

【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25年4月4日 (2013.4.4)

【公表番号】特表2012-520681(P2012-520681A)

【公表日】平成24年9月10日 (2012.9.10)

【年通号数】公開・登録公報2012-036

【出願番号】特願2012-500899(P2012-500899)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (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 N 15/113 (2010.01)

C 0 7 K 16/44 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 N 5/07 (2010.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

A 6 1 K 38/45 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/48 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 9/10 Z N A

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 N 15/00 G

C 0 7 K 16/44

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 N 5/00 2 0 2

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 K 37/52

A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
G 0 1 N	33/48	M
G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N	33/15	Z

【手続補正書】

【提出日】平成25年2月18日(2013.2.18)

【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】

抗炎症活性を有する単離組換えヒスチジル - tRNA シンターゼ (HRS) スプライスバリアントポリペプチドであって、該ポリペプチドは、長さが50～70アミノ酸であり、かつ (a) 配列番号6のうちの少なくとも50の隣接アミノ酸、または (b) 配列番号6に対して少なくとも90%の配列同一性を有する、(a) のバリアント、を含み、ここで、該ポリペプチドが、WHEPドメインを含み、機能的アミノアシル化ドメインを欠失している、単離組換えHRS スプライスバリアントポリペプチド。

【請求項 2】

前記ポリペプチドが配列番号6のアミノ酸配列を含む、請求項1に記載の単離組換えHRS スプライスバリアントポリペプチド。

【請求項 3】

前記ポリペプチドは、長さが約60アミノ酸である、請求項1または2に記載の単離組換えHRS スプライスバリアントポリペプチド。

【請求項 4】

前記ポリペプチドは、配列番号6に対して少なくとも95%の配列同一性を有する、請求項3に記載の単離組換えHRS スプライスバリアントポリペプチド。

【請求項 5】

前記HRS ポリペプチドは、配列番号6のアミノ酸配列を含む、請求項3に記載の単離組換えHRS スプライスバリアントポリペプチド。

【請求項 6】

抗炎症活性を有する単離ヒスチジル - tRNA シンターゼ (HRS) スプライスバリアントポリペプチドであって、該ポリペプチドは、長さが約175アミノ酸までであり、かつ (a) 配列番号9のうちの少なくとも150の隣接アミノ酸、または (b) 配列番号9に対して少なくとも90%の配列同一性を有する、(a) のバリアント、を含み、ここで、該ポリペプチドが、WHEPドメインを含み、機能的アミノアシル化ドメインを欠失している、単離HRS スプライスバリアントポリペプチド。

【請求項 7】

前記ポリペプチドが配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 8】

前記ポリペプチドは、長さが約 171 アミノ酸である、請求項 6 または 7 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 9】

前記ポリペプチドは、配列番号 9 に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する、請求項 8 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 10】

前記ポリペプチドは、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 11】

抗炎症活性を有する単離ヒスチジル - tRNA シンターゼ (H R S) スプライスバリエーションポリペプチドであって、該ポリペプチドが、(a) 配列番号 11 のアミノ酸配列、または (b) 配列番号 11 に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する、(a) のバリエーション、を含み、ここで、該ポリペプチドが、WHEP ドメインを含み、機能的アミノシル化ドメインを欠失している、単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 12】

前記ポリペプチドが配列番号 11 のアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 13】

前記ポリペプチドは、長さが約 212 アミノ酸である、請求項 11 または 12 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 14】

前記ポリペプチドは、配列番号 11 に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する、請求項 13 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 15】

前記ポリペプチドは、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む、請求項 13 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 16】

抗炎症活性を有する単離組換えヒスチジル - tRNA シンターゼ (H R S) スプライスバリエーションポリペプチドであって、該ポリペプチドが、配列番号 6 のアミノ酸配列から本質的になる、単離組換え H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 17】

抗炎症活性を有する単離ヒスチジル - tRNA シンターゼ (H R S) スプライスバリエーションポリペプチドであって、該ポリペプチドが、配列番号 6 のアミノ酸配列から本質的になり、該ポリペプチドが、1 つ以上の構成アミノ酸における少なくとも 1 つの化学的または酵素的誘導体化を含む、単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 18】

抗炎症活性を有する単離ヒスチジル - tRNA シンターゼ (H R S) スプライスバリエーションポリペプチドであって、該ポリペプチドが、配列番号 9 または配列番号 11 のアミノ酸配列から本質的になる、単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 19】

異種融合パートナーをさらに含む、請求項 1 ~ 18 のいずれかに記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 20】

前記異種融合パートナーが、ポリヒスチジントグを含む、請求項 19 に記載の単離 H R S スプライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 21】

前記異種融合パートナーが、Fc フラグメントを含む、請求項 19 に記載の単離 H R S ス

プライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 22】

前記ポリペプチドがペグ化によって修飾されている、請求項 1 ～ 18 のいずれかに記載の単離 HRS プライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 23】

前記ポリペプチドが、1 つ以上の構成アミノ酸における少なくとも 1 つの化学的または酵素的誘導体化を含む、請求項 1 ～ 18 のいずれかに記載の単離 HRS プライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 24】

前記少なくとも 1 つの化学的または酵素的誘導体化が、アセチル化、ヒドロキシ化、メチル化、アミド化、グリコシル化および脂質化から選択される、請求項 23 に記載の単離 HRS プライスバリエーションポリペプチド。

【請求項 25】

生理学的に許容され得る担体、ならびに請求項 1 ～ 24 のいずれかに記載の単離 HRS プライスバリエーションポリペプチドを含む、製薬組成物。

【請求項 26】

炎症性疾患を処置するための、請求項 25 に記載の製薬組成物。

【請求項 27】

前記炎症性疾患が自己免疫疾患である、請求項 26 に記載の製薬組成物。

【請求項 28】

前記炎症性疾患が、多発性筋炎、皮膚筋炎、炎症性ミオパシー、炎症性肺疾患、痛風性関節炎、または炎症性腸疾患である、請求項 26 に記載の製薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0026

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0026】

なお他の態様において、本発明のポリペプチド、抗体および/または他の組成物は、当分野で公知および利用可能な本質的にいずれの種類のスクリーニングアッセイでも使用され得る。たとえば本発明の組成物（たとえばポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび/または抗体）は、本発明による処置に適する好適な細胞型および/または疾患状態を同定するために、本質的にいずれの公知のスクリーニング方法論とも併せて使用され得る。他の実施例において、本発明の組成物（たとえばポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび/または抗体）は、本明細書の組成物の非カノニカル活性を直接もしくは間接的にのどちらかで媒介もしくは調節する結合パートナー、競合的阻害薬および/または他の細胞エフェクタを同定するために、公知のスクリーニング方法論と併せて使用され得る。たとえば特定の実施形態において、本発明の組成物と調節を受けるその結合パートナー、細胞エフェクタおよび/または細胞型の 1 つ以上との間の相互作用の阻害薬、または代わりに増強薬としての試験化合物を同定するスクリーニング方法が提供される。これはたとえば (i) 本発明の組成物、(ii) 前記組成物により調節されることが公知である結合パートナー、細胞エフェクタおよび/または細胞型、ならびに (iii) 試験化合物を含む反応混合物を形成するステップと；試験化合物と結合パートナー、細胞エフェクタおよび/または細胞型との相互作用を検出するステップとを包含し得る。試験化合物の非存在下での相互作用と比較して、試験化合物の存在下での活性または調節の統計的に有意な変化（増強または阻害）は、活性の潜在的なアゴニスト（ミメティックまたは増強薬）またはアンタゴニスト（阻害薬）を指摘している。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

（項目 1）

非カノニカル生物学的活性を有する単離ヒスチジル - tRNA シンテターゼ（HRS）ス

プライスバリエーションポリペプチド、またはその活性フラグメントもしくは活性変異体。

(項目2)

前記ポリペプチドが少なくともHRSのWHEPドメインを含む、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目3)

前記ポリペプチドが少なくともHRSのアンチコドン結合ドメインを含む、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目4)

前記ポリペプチドが機能性アミノアシル化ドメインを欠失している、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目5)

前記ポリペプチドが少なくともHRSのWHEPドメインおよびHRSのアンチコドン結合ドメインを含むが、機能性アミノアシル化ドメインを欠失している、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目6)

前記ポリペプチドが配列番号6または配列番号9または配列番号11で示す配列を含む、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目7)

前記その活性変異体が配列番号6または配列番号9または配列番号11で示す配列に少なくとも90%の同一性を有するポリペプチドである、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目8)

前記その活性フラグメントが配列番号6または配列番号9または配列番号11で示す配列の少なくとも20隣接アミノ酸残基を含む、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目9)

前記非カノニカル生物学的活性が、RNA結合、アミノ酸結合、細胞増殖の調節、細胞移動の調節、細胞分化の調節、アポトーシスまたは細胞死の調節、細胞シグナル伝達の調節、血管新生の調節、細胞結合の調節、細胞代謝の調節、サイトカイン産生または活性の調節、サイトカイン受容体活性の調節、炎症の調節からなる群より選択される、項目1に記載の単離ヒスチジル-tRNAシンテターゼポリペプチド。

(項目10)

項目1~9のいずれか1項に記載のポリペプチドおよび異種融合パートナーを含む、融合ポリペプチド。

(項目11)

項目1に記載の少なくとも1つの単離ポリペプチドを含む、ダイマー複合体またはマルチマー複合体。

(項目12)

項目1~10のいずれか1項に記載のポリペプチドをエンコードする単離ポリヌクレオチド。

(項目13)

前記ポリヌクレオチドが配列番号5、8もしくは10で示す配列、またはその相補体を含む、項目12に記載の単離ポリヌクレオチド。

(項目14)

項目13に記載の単離ポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

(項目15)

項目14に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

(項目16)

配列番号5、8または10のポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド。

(項目 1 7)

プライマー、プローブ、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドから選択される、項目 1 6 に記載のオリゴヌクレオチド。

(項目 1 8)

項目 1 に記載の単離 H R S ポリペプチド、該 H R S ポリペプチドの細胞結合パートナー、またはそれらの両方に結合特異性を示す結合剤。

(項目 1 9)

抗体、その抗原結合フラグメント、ペプチド、ペプチドミメティック、小型分子、およびアプタマーから選択される、項目 1 8 に記載の結合剤。

(項目 2 0)

前記結合剤が前記 H R S ポリペプチドの非カノニカル活性と拮抗する、項目 1 8 に記載の結合剤。

(項目 2 1)

前記結合剤が前記 H R S ポリペプチドの非カノニカル活性を作動させる、項目 1 8 に記載の結合剤。

(項目 2 2)

試料中のヒスチジル - t R N A シンテターゼ (H R S) スプライスバリエーションのポリヌクレオチド配列の存在またはレベルを決定する方法であって、該方法は、該試料と、配列番号 5、8、または 10 で示す H R S スプライスバリエーションに特異的にハイブリダイズする 1 つ以上のオリゴヌクレオチドとを接触させる工程と、該試料での該オリゴヌクレオチドの存在または非存在を検出する工程と、これにより該 H R S スプライスバリエーションのポリヌクレオチド配列の存在またはレベルを決定する工程とを含む、方法。

(項目 2 3)

試料中のヒスチジル - t R N A シンテターゼ (H R S) スプライスバリエーションのポリヌクレオチド配列の存在またはレベルを決定する方法であって、該方法は、該試料と、配列番号 5、8、または 10 で示す H R S スプライスバリエーションを特異的に増幅する少なくとも 2 つのオリゴヌクレオチドとを接触させる工程と、増幅反応を行う工程と、増幅された生成物の存在または非存在を検出する工程と、これにより該 H R S スプライスバリエーションのポリヌクレオチド配列の存在またはレベルを決定する工程とを含む、方法。

(項目 2 4)

前記オリゴヌクレオチド (複数可) が、前記 H R S スプライスバリエーションに固有であるスプライス部位に特異的にハイブリダイズする、または該スプライス部位を特異的に増幅する、項目 2 2 または 2 3 に記載の方法。

(項目 2 5)

前記 H R S スプライスバリエーションの存在またはレベルを対照試料または所定の値と比較する工程を含む、項目 2 2 または 2 3 に記載の方法。

(項目 2 6)

前記試料を対照と区別するために該試料の状態を特徴づけする工程を含む、項目 2 5 に記載の方法。

(項目 2 7)

前記試料および対照が細胞または組織を含み、前記方法が異なる種の細胞もしくは組織、異なる組織もしくは臓器の細胞、異なる細胞発生状態にある細胞、異なる細胞分化状態にある細胞、または健常および罹患細胞の間で区別する工程を含む、項目 2 6 に記載の方法。

(項目 2 8)

配列番号 6、9、もしくは 11 で示すヒスチジル - t R N A シンテターゼ (H R S) スプライスバリエーションポリペプチド、またはその細胞結合パートナーの 1 つ以上に特異的に結合する化合物を同定する方法であって、該方法は、a) 該 H R S ポリペプチドもしくはその細胞結合パートナーまたはそれらの両方を少なくとも 1 つの試験化合物と好適な条件下で組合せる工程と、b) 該 H R S ポリペプチドもしくはその細胞結合パートナーまたはそ

これらの両方の該試験化合物に対する結合を検出して、これにより該HRSポリペプチドもしくはその細胞結合パートナーまたはそれらの両方に特異的に結合する化合物を同定する工程とを含む、方法。

(項目29)

前記試験化合物がポリペプチドもしくはペプチド、抗体もしくはその抗原結合フラグメント、ペプチドミメティック、または小型分子である、項目28に記載の方法。

(項目30)

前記試験化合物が、前記HRSポリペプチドまたはその細胞結合パートナーの非カノニカル生物学的活性を作用させる、項目28に記載の方法。

(項目31)

前記試験化合物が、前記HRSポリペプチドまたはその細胞結合パートナーの非カノニカル生物学的活性と拮抗する、項目28に記載の方法。

(項目32)

項目28～31のいずれか1項に記載の方法によって同定される化合物。

(項目33)

生理学的に許容され得る担体、ならびに(i)項目1に記載の単離ポリペプチド；(ii)項目10に記載の融合タンパク質；(iii)項目11に記載のダイマー複合体またはマルチマー複合体；(iv)項目12に記載の単離ポリヌクレオチド；(v)項目13に記載の発現ベクター；(vi)項目16に記載のオリゴヌクレオチド；(vii)項目18に記載の結合剤；および(viii)項目32に記載の化合物；からなる群より選択される少なくとも1つの構成要素を含む、製薬組成物。

(項目34)

細胞または組織と、項目33に記載の組成物とを接触させる工程を含む、細胞活性を調節するための方法。

(項目35)

前記細胞活性が細胞増殖、細胞移動、細胞分化、アポトーシスまたは細胞死、細胞シグナル伝達、血管新生、細胞結合、代謝、サイトカイン産生または活性、サイトカイン受容体活性、および炎症からなる群より選択される、項目34に記載の方法。

(項目36)

前記細胞活性がサイトカイン産生または分泌である、項目37に記載の方法。

(項目37)

前記サイトカインがIL-2、TNF- α 、またはMIP1- α のいずれか1つ以上である、項目36に記載の方法。

(項目38)

前記細胞活性がサイトカイン受容体活性である、項目35に記載の方法。

(項目39)

前記サイトカイン受容体はCCR1である、項目38に記載の方法。

(項目40)

前記細胞活性が細胞移動である、項目35に記載の方法。

(項目41)

単球の細胞移動を減少させる工程を含む、項目40に記載の方法。

(項目42)

前記細胞活性がトル様受容体(TLR)を通じた細胞シグナル伝達である、項目41に記載の方法。

(項目43)

前記細胞が被験体内にある、項目35に記載の方法。

(項目44)

状態を処置するための方法であって、該方法は、処置を必要とする被験体に項目33に記載の製薬組成物を投与することを含み、該状態は、炎症性疾患、自己免疫疾患、新生物性疾患、代謝病、神経疾患、感染、心血管疾患、異常な血管新生に関係する疾患、および異

常な細胞生存に係る疾患からなる群より選択される、状態を処置する方法。

(項目45)

前記状態が神経疾患である、項目44に記載の方法。

(項目46)

前記神経疾患が6-ヒドロキシドーパミン(6-OHDA)誘発ニューロン死に係る、項目45に記載の方法。

(項目47)

前記状態が炎症性疾患である、項目44に記載の方法。

(項目48)

前記炎症性疾患が痛風性関節炎または炎症性腸疾患である、項目47に記載の方法。

(項目49)

細胞活性のモジュレータを同定するためのスクリーニング方法であって、該方法は：

(a)以下：

(i)項目1～9のいずれか1項に記載のポリペプチド；項目10に記載の融合ポリペプチド；項目12に記載のポリヌクレオチド；および項目13に記載の発現ベクター；からなる群より選択される構成要素と；

(ii)該構成要素に結合および/または調節される、結合パートナー、細胞エフェクタおよび/または細胞型と；

(iii)試験化合物と；

を含む反応混合物を形成する工程と；

(b)該構成要素と該結合パートナー、細胞エフェクタおよび/または細胞型との相互作用を検出する工程であって、試験化合物の非存在下での該相互作用に対する該試験化合物の存在下での該相互作用の変化によって、細胞シグナル伝達のモジュレータを同定する、工程と；

を含む、方法。