

【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3部門第2区分

【発行日】令和5年3月9日(2023.3.9)

【公開番号】特開2022-130378(P2022-130378A)

【公開日】令和4年9月6日(2022.9.6)

【年通号数】公開公報(特許)2022-164

【出願番号】特願2022-87418(P2022-87418)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/47(2006.01)

10

C 0 7 K 7/00(2006.01)

C 0 7 K 17/00(2006.01)

C 0 7 K 16/18(2006.01)

C 1 2 M 1/34(2006.01)

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 1 2 P 21/08(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

G 0 1 N 33/53(2006.01)

C 1 2 N 9/52(2006.01)

【F I】

20

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 7/00 Z N A

C 0 7 K 17/00

C 0 7 K 16/18

C 1 2 M 1/34 F

C 1 2 N 15/13

C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 15/12

G 0 1 N 33/53 D

C 1 2 N 9/52

30

【手続補正書】

【提出日】令和5年3月1日(2023.3.1)

【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】

40

VAMPエピトープを含む抗原ポリペプチドであって、前記抗原ポリペプチドは、10～19個のアミノ酸残基からなり、前記VAMPエピトープは、前記VAMP中のボツリヌス神経毒血清型X(BoNT/X)切断部位のすぐC末端側にある少なくとも8個のアミノ酸残基を含むVAMP配列に対して少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、抗原ポリペプチド。

【請求項2】

前記VAMPエピトープは、前記VAMP中の前記BoNT/X切断部位のすぐC末端側にある、少なくとも11、12、13、14、15、16または17個のアミノ酸残基を含むVAMP配列に対して少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項1に記載の抗原ポリペプチド。

50

【請求項 3】

前記ポリペプチドが、10～17個のアミノ酸残基、10～16個のアミノ酸残基、又は10～15個のアミノ酸残基からなる、請求項1又は2に記載の抗原ポリペプチド。

【請求項 4】

前記VAMPが、VAMP1、VAMP2、VAMP3、VAMP4、VAMP5及び/又はYKT6から選択される、請求項1から3のいずれか一項に記載の抗原ポリペプチド。

【請求項 5】

前記VAMPエピトープが、配列番号53～配列番号61、配列番号62～配列番号65、配列番号66～配列番号74、又は配列番号75～配列番号78から選択されるVAMP配列に対して少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む又はからなる、請求項1から4のいずれか一項に記載の抗原ポリペプチド。

10

【請求項 6】

前記VAMPエピトープが、ADALQAGASQF(配列番号53)を含む又はからなるVAMP1、VAMP2及び/又はVAMP3エピトープである、請求項1から5のいずれか一項に記載の抗原ポリペプチド。

【請求項 7】

前記VAMPエピトープが、SESLSDNATAF(配列番号62)、SDQLLDMSSTF(配列番号66)またはSEVLGTQSKAF(配列番号75)を含む又はからなるVAMP4、VAMP5及び/又はYKT6エピトープである、請求項1から5のいずれか一項に記載の抗原ポリペプチド。

20

【請求項 8】

請求項1から7のいずれか一項に記載の抗原ポリペプチドを含むポリペプチドであって、天然に存在するVAMPアミノ酸配列に対して100%の配列同一性を有する17個を超える、16個を超える、又は15個を超える連続アミノ酸の領域を含まない、ポリペプチド。

【請求項 9】

担体に共有結合によって連結された、請求項1から7のいずれか一項に記載のポリペプチドまたは請求項8に記載のポリペプチドを含む抗原タンパク質。

【請求項 10】

C末端側VAMP切断産物に対する抗体を作製するための、請求項1から7のいずれか一項に記載の抗原ポリペプチドまたは請求項8に記載のポリペプチドまたは請求項9に記載の抗原タンパク質の使用。

30

【請求項 11】

請求項1から7のいずれか一項に記載の抗原ポリペプチドと結合する、または請求項8に記載のポリペプチドと結合する、または請求項9に記載の抗原タンパク質と結合する抗体。

【請求項 12】

ポリクローナル抗体である、請求項11に記載の抗体。

【請求項 13】

モノクローナル抗体である、請求項11に記載の抗体。

【請求項 14】

前記抗体および前記エピトープ間の K_D が、 10^{-7} M未満である、請求項11から13のいずれか一項に記載の抗体。

40

【請求項 15】

VAMP切断性クロストリジウム神経毒によるVAMP切断についてのシグナル獲得型細胞性アッセイ(gain of signal cellular assay)における、請求項11から14のいずれか一項に記載の抗体の使用。

【請求項 16】

細胞における、ボツリヌス神経毒血清型X(BoNT/X)軽鎖を含むクロストリジウム神経毒によるVAMPの切断を決定する方法であって、

a)クロストリジウム神経毒活性に適した条件下で、細胞をクロストリジウム神経毒と

50

接触させる工程と、

b)前記細胞の細胞質内容物を、BoNT/X軽鎖によるVAMPの切断後に、C末端側VAMP切断産物に対する第1の検出抗体と、第1の検出抗体がC末端側VAMP切断産物と結合するのに適した条件下で接触させる工程であって、前記の第1の検出抗体が、請求項11から14のいずれか一項に記載の抗体である工程と、

c)適した手段によって、前記の第1の検出抗体とC末端側VAMP切断産物との結合を検出する工程と

を含む方法。

【請求項17】

d)適した手段によって、前記の第1の検出抗体に結合したC末端側VAMP切断産物の量を定量化する工程をさらに含む、請求項16に記載の方法。 10

【請求項18】

対象において、ボツリヌス神経毒血清型X(BoNT/X)軽鎖を含むクロストリジウム神経毒に対する免疫抵抗性を決定する方法であって、

a)対象から得られた試験サンプルに、BoNT/X軽鎖を含むクロストリジウム神経毒を添加する工程と、

b)細胞を、クロストリジウム神経毒活性に適した条件下で、工程a)の試験サンプルと接触させる工程と、

c)前記細胞の細胞質内容物を、BoNT/X軽鎖によるVAMPの切断後に、C末端側VAMP切断産物に対する第1の検出抗体と、第1の検出抗体がC末端側VAMP切断産物と結合するのに適した条件下で接触させる工程であって、前記の第1の検出抗体が、請求項11から14のいずれか一項に記載の抗体である工程と、 20

d)適した手段によって、第1の検出抗体とC末端側VAMP切断産物との結合を検出する工程と、

e)第1の検出抗体に結合したC末端側VAMP切断産物の量を定量化する工程と、

f)試験サンプルの代わりに陰性対照サンプルを用いて工程a)～e)を反復する工程と、

g)工程(e)及び(f)における前記第1の検出抗体に結合したC末端側VAMP切断産物の量を比較する工程であって、工程(f)における前記第1の検出抗体に結合したC末端側VAMP切断産物の量と比較して、工程(e)における前記第1の検出抗体に結合したC末端側VAMP切断産物の量が低く検出されることは、BoNT/X軽鎖を含むクロストリジウム神経毒に対する中和抗体の存在を示す工程と 30

を含む方法。

【請求項19】

ボツリヌス神経毒血清型X(BoNT/X)軽鎖を含むクロストリジウム神経毒による中毒に対して感受性である細胞および切断されたVAMPに対する第1の検出抗体を含むキットであって、前記の第1の検出抗体が、請求項11から14のいずれか一項に記載の抗体である、キット。