

【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5月9日(2013.5.9)

【公表番号】特表2012-521207(P2012-521207A)

【公表日】平成24年9月13日(2012.9.13)

【年通号数】公開・登録公報2012-037

【出願番号】特願2012-501286(P2012-501286)

【国際特許分類】

C 1 2 N	9/90	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	33/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	31/10	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	9/90	Z N A
A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	33/00	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/10	
A 6 1 K	37/02	
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成25年3月22日(2013.3.22)

【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】

配列番号1、7、8又は9に記載のアデニレートシクラーゼ(CyaA)の断片を含むポリペプチドであって、当該断片が、

(1)配列番号1、7又は8に記載のCyaAの少なくとも350アミノ酸残基を有する断片であって、(a)配列番号1、7又は8にそれぞれ記載のボルデテラ・ペルツッシス(Bordetella pertussis)、ボルデテラ・パラペルツッシス(Bordetella parapertussis)又はボルデテラ・ヒンジイ(Bordetella hinzii)の天然CyaA配列の位置570に対応するグルタミン酸残基が、グルタミン残基又はAsn、Met、Thr、Ser、Gly、Arg、Lys、Val、Leu、Cys、Ile及びAspからなる群より選択される保存残基で置換され、(b)配列番号1、7又は8にそれぞれ記載のボルデテラ・ペルツッシス(Bordetella pertussis)、ボルデテラ・パラペルツッシス(Bordetella parapertussis)又はボルデテラ・ヒンジイ(Bordetella hinzii)の天然CyaA配列の位置860に相当するリシン残基が、アルギニン残基又はAsn、Gln、Met、Thr、Ser、Gly、Val、Leu、Cys及びIleからなる群より選択される保

存残基で置換され、更に( c ) 0 ~ 5 0 の置換、欠失及び／又は挿入を有する断片、並びに、

( 2 ) 配列番号 9 に記載のCyaAの少なくとも 3 5 0 アミノ酸残基を有する断片であって、( a ) 配列番号 9 に記載のボルデテラ・ブロンキセプティカ (Bordetella bronchiseptica) の天然CyaA配列の位置 5 6 9 に対応するグルタミン酸残基が、グルタミン残基又はAsn、Met、Thr、Ser、Gly、Arg、Lys、Val、Leu、Cys、Ile及びAspからなる群より選択される保存残基で置換され、( b ) 配列番号 9 に記載のボルデテラ・ブロンキセプティカ (Bordetella bronchiseptica) の天然CyaA配列の位置 8 5 9 に対応するリシン残基が、アルギニン残基又はAsn、Gln、Met、Thr、Ser、Gly、Val、Leu、Cys及びIleからなる群より選択される保存残基で置換され、更に( c ) 0 ~ 5 0 の置換、欠失及び／又は挿入を有する断片

からなる群より選択され、

前記ポリペプチドが、ボルデテラ・ペルツッシス (Bordetella pertussis)、ボルデテラ・パラペルツッシス (Bordetella parapertussis)、ボルデテラ・ヒンジイ (Bordetella hinzii) 又はボルデテラ・ブロンキセプティカ (Bordetella bronchiseptica) のCyaAタンパク質による、CD11b/CD18受容体発現細胞のCD11b/CD18受容体への結合能を有する、ポリペプチド。

#### 【請求項 2】

N末端アデニレートシクラーゼ酵素ドメイン又はその一部をCD11b/CD18発現細胞内に転位させる能力を有する、請求項 1 に記載のポリペプチド。

#### 【請求項 3】

( i ) 配列番号 1、7 若しくは 8 に記載の配列の位置 5 7 0、又は、配列番号 9 に記載の配列の位置 5 6 9 に対応するグルタミン酸残基が、グルタミン残基で置換されるとともに、( ii ) 配列番号 1、7 若しくは 8 に記載の配列の位置 8 6 0、又は、配列番号 9 に記載の配列の位置 8 5 9 に対応するリシン残基が、アルギニン残基で置換されてなる、請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド。

#### 【請求項 4】

前記断片が、配列番号 1、7、8 又は 9 の少なくとも 4 0 0、5 0 0、6 0 0、7 0 0、8 0 0、9 0 0、1 0 0 0、1 1 0 0、1 2 0 0、1 3 0 0、1 4 0 0、1 5 0 0 又は 1 6 0 0 のアミノ酸残基を有する、請求項 1 ~ 3 の何れか一項に記載のポリペプチド。

#### 【請求項 5】

前記ポリペプチドのアミノ酸配列が、  
 ( 1 ) 配列番号 1、7 又は 8 に記載の配列において、( a ) 配列番号 1、7 又は 8 にそれぞれ記載のボルデテラ・ペルツッシス (Bordetella pertussis)、ボルデテラ・パラペルツッシス (Bordetella parapertussis) 又はボルデテラ・ヒンジイ (Bordetella hinzii) の天然CyaA配列の位置 5 7 0 に対応するグルタミン酸残基の、グルタミン残基又はAsn、Met、Thr、Ser、Gly、Arg、Lys、Val、Leu、Cys、Ile及びAspからなる群より選択される保存残基による置換、及び、( b ) 配列番号 1、7 又は 8 にそれぞれ記載のボルデテラ・ペルツッシス (Bordetella pertussis)、ボルデテラ・パラペルツッシス (Bordetella parapertussis) 又はボルデテラ・ヒンジイ (Bordetella hinzii) の天然CyaA配列の位置 8 6 0 に対応するリシン残基の、アルギニン残基又はAsn、Gln、Met、Thr、Ser、Gly、Val、Leu、Cys及びIleからなる群より選択される保存残基による置換、が導入された配列、並びに、

( 2 ) 配列番号 9 に記載の配列において、( a ) in 配列番号 9 に記載のボルデテラ・ブロンキセプティカ (Bordetella bronchiseptica) の天然CyaA配列の位置 5 6 9 に対応するグルタミン酸残基の、グルタミン残基又はAsn、Met、Thr、Ser、Gly、Arg、Lys、Val、Leu、Cys、Ile及びAspからなる群より選択される保存残基による置換、及び、( b ) 配列番号 9 に記載のボルデテラ・ブロンキセプティカ (Bordetella bronchiseptica) の天然CyaA配列の位置 8 5 9 に対応するリシン残基の、アルギニン残基又はAsn、Gln、Met、Thr、Ser、Gly、Val、Leu、Cys及びIleからなる群より選択される保存残基による置換、が導

### 入された配列

からなる群より選択される、請求項 1 ~ 3 の何れか一項に記載のポリペプチド。

#### 【請求項 6】

前記ポリペプチドのアミノ酸配列が、

(1) 配列番号 1、7 又は 8 に記載の配列において、(a) 配列番号 1、7 又は 8 にそれぞれ記載のボルデテラ・ペルツッシス (*Bordetella pertussis*)、ボルデテラ・パラペルツッシス (*Bordetella parapertussis*) 又はボルデテラ・ヒンジイ (*Bordetella hinzii*) の天然CyaA配列の位置 570 に対応するグルタミン酸残基のグルタミン残基による置換、及び、(b) 配列番号 1、7 又は 8 にそれぞれ記載のボルデテラ・ペルツッシス (*Bordetella pertussis*)、ボルデテラ・パラペルツッシス (*Bordetella parapertussis*) 又はボルデテラ・ヒンジイ (*Bordetella hinzii*) の天然CyaA配列の位置 860 に対応するリシン残基のアルギニン残基による置換、が導入された配列、並びに、

(2) 配列番号 9 に記載の配列において、(a) 配列番号 9 に記載のボルデテラ・ブロンキセプティカ (*Bordetella bronchiseptica*) の天然CyaA配列の位置 569 に対応するグルタミン酸残基の、グルタミン残基による置換、及び、(b) 配列番号 9 に記載のボルデテラ・ブロンキセプティカ (*Bordetella bronchiseptica*) の天然CyaA配列の位置 859 に対応するリシン残基の、アルギニン残基による置換、が導入された配列

からなる群より選択される、請求項 5 に記載のポリペプチド。

#### 【請求項 7】

アデニレートシクラーゼトキソイドの突然変異体であって、細胞内におけるアデニレートシクラーゼ活性が、partly 又は totally suppressed as compared to that of the ボルデテラ・ペルツッシス (*Bordetella pertussis*)、ボルデテラ・パラペルツッシス (*Bordetella parapertussis*)、ボルデテラ・ヒンジイ (*Bordetella hinzii*) 又はボルデテラ・ブロンキセプティカ (*Bordetella bronchiseptica*) CyaA毒素と比べて、部分的に又は完全に抑制されてなる、請求項 1 ~ 6 の何れか一項に記載のポリペプチド。

#### 【請求項 8】

アデニレートシクラーゼ活性の部分的又は完全な抑制が、特に配列番号 1、7、8 又は 9 にそれぞれ記載の、アデニレートシクラーゼ of ボルデテラ・ペルツッシス (*Bordetella pertussis*)、ボルデテラ・パラペルツッシス (*Bordetella parapertussis*)、ボルデテラ・ヒンジイ (*Bordetella hinzii*) 又はボルデテラ・ブロンキセプティカ (*Bordetella bronchiseptica*) の位置 188 及び 189 に対応するアミノ酸残基間へのジペプチド挿入により達成される、請求項 7 に記載のポリペプチド。

#### 【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 の何れか一項に記載のポリペプチドと、1 又は 2 以上の別の分子とを含むポリペプチド誘導体。

#### 【請求項 10】

前記 1 又は 2 以上の分子の各々が、免疫応答を誘発し得るアミノ酸配列を有する、請求項 9 に記載のポリペプチド誘導体。

#### 【請求項 11】

前記免疫応答を誘発し得るアミノ酸配列が、5 ~ 800、特に 300 ~ 600、又は 400 ~ 500 のアミノ酸残基からなる、請求項 10 に記載のポリペプチド誘導体。

#### 【請求項 12】

前記免疫応答を誘発し得るアミノ酸配列が、ポリオウイルス抗原、HIVウイルス抗原、インフルエンザウイルス抗原、脈絡膜炎ウイルス配列、及び腫瘍抗原からなる群より選択される抗原のアミノ酸配列、又は当該抗原のアミノ酸配列の少なくとも 1 つエピトープを含む部分配列を含む、請求項 10 又は 11 に記載のポリペプチド誘導体。

#### 【請求項 13】

前記ポリペプチドが、前記免疫応答を誘発し得るアミノ酸配列が前記ポリペプチドの許容し得る部位内に挿入された組換ポリペプチドであるとともに、前記ポリペプチドの N 末端アデニレートシクラーゼ酵素ドメインを CD11b/CD18 発現細胞に転位する能力が保存され

てなる、請求項 10～12 の何れか一項に記載のポリペプチド誘導体。

【請求項 14】

前記免疫応答を誘発し得るアミノ酸配列が、前記ポリペプチドのアミノ酸残基にグラフト、特に化学的にグラフトされてなる、請求項 10 又は 11 に記載のポリペプチド誘導体。

【請求項 15】

請求項 1～8 の何れか一項に記載のポリペプチド、又は、請求項 9～14 の何れか一項に記載のポリペプチド誘導体の、医薬の製造における使用。

【請求項 16】

当該医薬が、宿主において T 細胞及び / 又は B 細胞の免疫応答を誘発するための医薬である、請求項 15 に記載の使用。

【請求項 17】

当該医薬が、新生物、癌、及び、ウイルス性、レトロウイルス性、細菌性、寄生生物性又は真菌性疾患から選択される感染性疾患の予防又は治療のための医薬である、請求項 15 に記載の使用。

【請求項 18】

前記医薬が、アジュバントと共に、及び / 又は、治療活性を有する他の分子との組み合わせて投与される、請求項 15～17 の何れか一項に記載の使用。

【請求項 19】

前記医薬が、アジュバントとの組み合わせでは投与されない、請求項 15～17 の何れか一項に記載の使用。

【請求項 20】

請求項 1～8 の何れか一項に記載のポリペプチド、又は、請求項 9～14 の何れか一項に記載のポリペプチド誘導体を含む医薬組成物。

【請求項 21】

医薬的に許容可能な担体と、任意によりアジュバント及び / 又は治療活性を有する分子とを更に含む、請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

新生物、癌、及び、ウイルス性、レトロウイルス性、細菌性、寄生生物性又は真菌性疾患から選択される感染性疾患の予防又は治療のための、請求項 20 又は 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

CD11b/CD18 発現細胞に分子を送達するためのタンパク質ベクターを調製する方法であつて、前記分子を請求項 1～7 の何れか一項に記載のポリペプチドに結合させることを含む方法。

【請求項 24】

請求項 1～8 の何れか一項に記載の CyaA ポリペプチド、又は、請求項 9～14 の何れか一項に記載のポリペプチド誘導体をコードする DNA 分子。