

【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 19 年 2 月 8 日 (2007.2.8)

【公表番号】 特表 2006-509523 (P2006-509523A)
 【公表日】 平成 18 年 3 月 23 日 (2006.3.23)
 【年通号数】 公開・登録公報 2006-012
 【出願番号】 特願 2004-560854 (P2004-560854)
 【国際特許分類】

C 1 2 N	7/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/015	(2006.01)
A 6 1 K	39/02	(2006.01)
A 6 1 K	39/04	(2006.01)
A 6 1 K	39/145	(2006.01)
A 6 1 K	39/155	(2006.01)
A 6 1 K	39/245	(2006.01)
A 6 1 K	39/295	(2006.01)
A 6 1 P	31/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	33/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 P	37/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
C 0 7 K	14/08	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	7/00	Z N A
A 6 1 K	39/00	H
A 6 1 K	39/00	K
A 6 1 K	39/015	
A 6 1 K	39/02	
A 6 1 K	39/04	
A 6 1 K	39/145	
A 6 1 K	39/155	
A 6 1 K	39/245	
A 6 1 K	39/295	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	33/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	37/00	
A 6 1 P	37/04	
C 0 7 K	14/08	
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】
 【提出日】 平成 18 年 12 月 14 日 (2006.12.14)

【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】

複数の抗原をコードしかつ発現するアルファウイルス・レプリコン粒子(A R P s)の製造方法であって、以下のステップ：

(a) 複数のアルファウイルス・レプリコン核酸を複数の細胞へ導入し、ここで該細胞は、アルファウイルス複製及びパッケージングに許容状態であり、ここで該レプリコン核酸が、少なくともウイルス・パッケージング・シグナル及び上記アルファウイルス・レプリコン核酸中で発現できる少なくとも 1 の異種コード配列を含み、ここで該細胞が改変細胞を生成するために少なくとも 1 のヘルパー機能を含み、そしてここで該複数のアルファウイルス・レプリコン核酸が複数の改変細胞を生成するために、複数の抗原をコードし；

(b) ステップ(a)の上記複数の改変細胞を、上記少なくとも 1 のヘルパー機能の発現を許容し、上記アルファウイルス・レプリコン核酸の複製及び該アルファウイルス・レプリコン核酸のパッケージングを許容する条件下で培養して、A R P sを形成し；

(c) ステップ(b)の後に上記改変細胞を 0.2 M～5 Mのイオン強度を有する水溶液と接触して、上記 A R P sを水溶液中に放出させて A R Pを含む溶液を生成し；そして

(d) ステップ(c)の上記 A R Pを含む溶液から A R P sを収集する

を含む、前記方法。

【請求項 2】

ステップ(a)の前記宿主細胞における前記少なくとも 1 のヘルパー機能は、該宿主細胞のゲノム中に安定して組み込まれる核酸配列によりコードされる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記細胞における前記少なくとも 1 のヘルパー機能は、前記アルファウイルス・レプリコン核酸を結合できるキャプシド・タンパク質、及び少なくとも 1 のアルファウイルス糖タンパク質をコードする少なくとも 1 のヘルパー核酸に基いて導入され、ここで該アルファウイルス糖タンパク質は、該アルファウイルス・レプリコン核酸及び該キャプシドタンパク質と会合し、ここで該少なくとも 1 のヘルパー核酸分子が、該アルファウイルス・レプリコン核酸と共に該細胞内に導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 のヘルパー機能が、少なくとも 2 個のヘルパー核酸分子によりコードされ、ここで該 2 個のヘルパー核酸分子の各々が、少なくとも 1 のアルファウイルス・ヘルパー機能をコードする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 のヘルパー核酸分子及び前記アルファウイルス・レプリコン R N A が R N A 分子である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 のヘルパー核酸分子が、キャップされていない、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記少なくとも 1 のヘルパー核酸分子が、D N A 分子である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記レプリコン核酸が、電気穿孔により前記宿主細胞内に導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記電気穿孔環境において前記細胞密度が、1 m l あたり $10^7 \sim 5 \times 10^8$ である、請

求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記電気穿孔が、電気穿孔キュベット内で行われる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

ステップ(d)の後にイオン交換クロマトグラフィー・ステップ又はヘパリン・アフィニティー・クロマトグラフィー・ステップを行う、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記アルファウイルスが、弱毒化アルファウイルスである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記弱毒化アルファウイルスが、ベネズエラ・ウマ脳炎ウイルス(V E E)である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記弱毒化 V E E が、3014 株である、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記洗浄ステップが、NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂、NH₄Cl、(NH₄)₂SO₄、酢酸アンモニウム、又は重炭酸アンモニウムである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

請求項 1 に記載の方法により製造されるアルファウイルス・レプリコン粒子調製品。

【請求項 17】

前記複数のコードされた抗原が腫瘍細胞由来である、請求項 16 に記載のアルファウイルス・レプリコン粒子調製品。

【請求項 18】

前記複数のコードされた抗原が、寄生生物若しくは病原体由来である、請求項 16 に記載のアルファウイルス・レプリコン粒子調製品。

【請求項 19】

前記複数のコードされた抗原が、ウイルス、真菌、酵母、細菌、及び原生動物からなる群から選ばれる病原体由来である、請求項 18 に記載のアルファウイルス・レプリコン粒子調製品。

【請求項 20】

ヒト又は動物を寄生生物、病原体、又は癌に対して免疫化する方法であって、該寄生生物、病原体、又は癌の少なくとも 1 の抗原に免疫応答を作るために有効な、請求項 16 に記載のウイルス・レプリコン粒子調製品の量を投与するステップを含む、前記方法。

【請求項 21】

前記病原体が、ウイルス、細菌、酵母、真菌、又は原生動物である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記ウイルスが、インフルエンザ・ウイルス、ヘルペス・ウイルス、パラインフルエンザ・ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、サイトメガロウイルス、ヒト・パピローマウイルス、又はヒト免疫不全ウイルスである、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記原生動物が、プラスモジウム・ファルシパルム(Plasmodium falciparum)である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 24】

前記細菌が、マイコバクテリウム・ツベルクロシス(Mycobacterium tuberculosis)である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 25】

前記癌が、膵臓癌、腎臓癌、肉腫、神経芽細胞腫、神経膠腫、大腸癌、メラノーマ、乳癌、卵巣癌、及び前立腺癌からなる群から選ばれる、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 26】

複数の抗原をコードしかつ発現するアルファウイルス・レプリコン粒子(A R P s)の製

造方法であって、以下のステップ：

(a) 複数のアルファウイルス・レプリコン核酸を複数の細胞へ導入し、ここで該細胞は、アルファウイルス複製及びパッケージングに許容状態であり、ここで該レプリコン核酸が、少なくともウイルス・パッケージング・シグナル及び上記アルファウイルス・レプリコン核酸中で発現できる少なくとも1の異種コード配列を含み、ここで該細胞が改変細胞を生成するために少なくとも1のヘルパー機能を含み、そしてここで該複数のアルファウイルス・レプリコン核酸が複数の改変細胞を生成するために、複数の抗原をコードし、ここで核酸を導入するステップが、該細胞を電気穿孔混合液1mlあたり $5 \times 10^7 \sim 5 \times 10^8$ の密度で電気穿孔することにより行われ；

(b) ステップ(a)の上記複数の改変細胞を、上記少なくとも1のヘルパー機能の発現を許容し、上記アルファウイルス・レプリコン核酸の複製及び該アルファウイルス・レプリコン核酸のパッケージングを許容する条件下で培養して、ARPsを形成し；

(c) ステップ(b)の後に上記改変細胞を0.2M～5Mのイオン強度を有する水溶液と接触して、上記ARPsを水溶液中に放出させてARPを含む溶液を生成し；そして

(d) ステップ(c)の上記ARPを含む溶液からARPsを収集する
を含む、前記方法。

【請求項27】

前記複数の抗原が、ウイルス、細菌、酵母、真菌、原生動物、又は癌細胞由来である、
請求項1に記載の方法。

【請求項28】

前記ウイルスが、インフルエンザ・ウイルス、ヘルペス・ウイルス、パラインフルエンザ・ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、サイトメガロウイルス、ヒト・パピローマウイルス、又はヒト免疫不全ウイルスである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記原生動物が、プラスモジウム・ファルシパルム(Plasmodium falciparum)である、
請求項27に記載の方法。

【請求項30】

前記細菌が、マイコバクテリウム・ツベルクロシス(Mycobacterium tuberculosis)である、
請求項27に記載の方法。

【請求項31】

前記癌細胞が、膵臓癌細胞、腎臓癌細胞、肉腫細胞、神経芽腫細胞、神経膠腫細胞、大腸癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、卵巣癌細胞、及び前立腺癌細胞からなる群から選ばれる、請求項27に記載の方法。