

【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】平成29年4月13日(2017.4.13)

【公表番号】特表2016-515133(P2016-515133A)

【公表日】平成28年5月26日(2016.5.26)

【年通号数】公開・登録公報2016-032

【出願番号】特願2016-502428(P2016-502428)

【国際特許分類】

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/245 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 43/00 1 7 1

A 6 1 P 31/04 1 7 1

A 6 1 P 31/04

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 K 48/00

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/245

【手続補正書】

【提出日】平成29年3月7日(2017.3.7)

【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、配列番号:1と90%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列、及び少なくとも6アミノ酸の長さのその免疫原性フラグメントからなる群から選択されるポリペプチドからなるPALポリペプチドをコードする第一のポリヌクレオチド配列を含むワクチンベクターであって、該PALポリペプチドが該ワクチンベクターの表面で発現される、前記ワクチンベクター。

【請求項2】

免疫刺激性ポリペプチドをコードする第二のポリヌクレオチド配列を更に含み、該免疫刺激性ポリペプチドが該ワクチンベクターの表面で発現される、請求項1に記載のワクチンベクター。

【請求項3】

該免疫刺激性ポリペプチドが、HMGB1ポリペプチド、又はCD40と結合する能力を有するCD154ポリペプチドを含む、請求項2に記載のワクチンベクター。

【請求項4】

該HMGB1ポリペプチドが、配列番号:15～23の少なくとも1つ及び配列番号:15～23の少なくとも1つのフラグメントからなる群から選択されるポリペプチドを含む、請求項3に記載のワクチンベクター。

【請求項5】

該CD154ポリペプチドが50未満のアミノ酸を有し、かつ配列番号:24、配列番号:25及びそのホモログからなる群から選択されるポリペプチドのアミノ酸140～149を含むか、又は配列番号:26、配列番号:27、配列番号:28、配列番号:29及び配列番号:30からなる群から選択されるポリペプチドを含む、請求項3に記載のワクチンベクター。

【請求項6】

該PALポリペプチドが、配列番号:1、配列番号:2、配列番号:3、配列番号:4、配列番号:5、配列番号:6、配列番号:32、配列番号:36、配列番号:37及びそれらの組合せからなる群から選択される、請求項1～5のいずれか1項に記載のワクチンベクター。

【請求項7】

該ワクチンベクターが、1を超えるコピーの該第一のポリヌクレオチド及び/又は1を超えるコピーの該第二のポリヌクレオチド配列を含む、請求項2～6のいずれか1項に記載のワクチンベクター。

【請求項8】

該第一のポリヌクレオチド配列が該第二のポリヌクレオチド配列と同じリーディングフレームで連結されている、請求項2～7のいずれか1項に記載のワクチンベクター。

【請求項9】

該第一のポリヌクレオチド及び該第二のポリヌクレオチドがスパーサーヌクレオチド配列を介して連結されている、請求項8に記載のワクチンベクター。

【請求項10】

該ワクチンベクターがウイルス、細菌、酵母、及びリボソームから成る群から選択される、請求項1～9のいずれか1項に記載のワクチンベクター。

【請求項11】

該ワクチンベクターが、バシルス属の種、サルモネラ属の種、乳酸杆菌属の種、及びエシェリキア属の種からなる群から選択される、請求項10に記載のワクチンベクター。

【請求項12】

第二の抗原性ポリペプチドをコードする第三のポリヌクレオチドを更に含む、請求項1～11のいずれか1項に記載のワクチンベクター。

【請求項13】

該第二の抗原性ポリペプチドが配列番号:7及び配列番号:31からなる群から選択されるポリペプチドである、請求項12に記載のワクチンベクター。

【請求項14】

配列番号:42、配列番号:44、配列番号:46、配列番号:42と90%配列同一性を有するポリペプチド、配列番号:44と90%配列同一性を有するポリペプチド、及び配列番号:46と90%配列同一性を有するポリペプチドの内の少なくとも1つからなる群から選択されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ワクチンベクター。

【請求項15】

請求項1～14のいずれか1項に記載のワクチンベクター及び医薬的に許容できる担体を含む医薬組成物。

【請求項16】

非ヒト対象におけるグラム陰性細菌に対する免疫応答を強化する方法であって、グラム陰性細菌に対する該非ヒト対象の免疫応答の強化に有効な量で、請求項1～14のいずれか1項に記載のワクチンベクター又は請求項15に記載の医薬組成物を該対象に投与する工程を含む、前記方法。

【請求項17】

該強化された免疫応答が、強化された抗体応答、強化されたT細胞応答又は両方を含む、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

非ヒト対象におけるグラム陰性細菌による感染に関連する罹病率を低下させる方法であって、ワクチンベクターを投与されていないコントロール対象と比較してグラム陰性細菌による非ヒト対象の後の感染に関連する罹病率を低下させるのに有効な量で、請求項1～14のいずれか1項に記載のワクチンベクター又は請求項15に記載の医薬組成物を該非ヒト対象に投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 19】

該ワクチンベクターが、経口、粘膜、非経口、皮下、筋肉内、眼内及び卵内から成る群から選択されるルートによって投与される、請求項16～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 20】

該対象が家禽種のメンバー及び非ヒト哺乳動物からなる群から選択される、請求項16～19のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 21】

該家禽種がニワトリ又はシチメンチョウである、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】

該ワクチンの約 10^4 ～約 10^9 ベクターコピーが該対象に投与される、請求項16～21のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 23】

該ワクチンベクターが、該対象への投与前に殺滅されるか、又は該対象において複製する能力がない、請求項16～22のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 24】

該グラム陰性細菌が、サルモネラ属の種、エシェリキア属の種、赤痢菌属の種、ビブリオ属の種、エルウイニア属の種、クレブシエラ属の種、シトロバクター属の種、エルジニア属の種、及びプロビデンシア属の種からなる群から選択される、請求項16～23のいずれか1項に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0055

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0055】

腸炎菌細胞表面でのPAL発現はBリンパ球と直接相互作用して抗体産生を刺激する。腸炎菌細胞表面でのHMGB1発現はネズミマクロファージのパーセンテージ食作用取り込みに影響を与える（図8）。Raw264細胞株由来ネズミマクロファージを、生腸炎菌ワクチンベクター、腸炎菌-CJ0113-PAL-HMGB1、腸炎菌-CJ0113-HMGB1-PAL又は腸炎菌-HMGB1-CJ0113-PALと1時間共培養した。大腸菌pHrodo赤色バイオ粒子を各培養に添加し、2時間インキュベートした。バイオ粒子及び細菌がマクロファージに飲み込まれた後、ファゴソームが生成される。ファゴソームはリソソームと融合し、ファゴリソソームの内部を酸性化する。バイオ粒子の蛍光強度はpHがより酸性になるにつれ増加する。したがってファゴリソソーム内のバイオ粒子はより強い蛍光強度を有するであろう。腸炎菌-CJ0113-PAL-HMGB1のパーセンテージ食作用取り込みは、腸炎菌-HMGB1-CJ0113-PALよりも高く（腸炎菌-HMGB1-CJ0113-PALは腸炎菌-CJ0113-HMGB1-PALよりも高かった）、このことは、挿入物の末端のHMGB1は細胞表面と優先的に相互作用し、食作用取り込みを強化することを暗示している。

これらのデータによれば、キメラDNAの直線的ディスプレイは、荷電アミノ酸の位置に依存するタンパク質の折り畳みを変化させる。抗原及び免疫刺激性分子の種々の直線的組合せは、細菌細胞表面の各抗原及び免疫刺激性分子の空間的配置に影響を与えるであろう。これら直線的組合せ物のタンパク質発現は、細菌表面のチャネルタンパク質が周囲のチャネルタンパク質とともに立体的障害を生じるので各細菌種について異なり得る。ワクチン有効性の低下は、立体的障害による望ましくないPAL又はHMGB1タンパク質発現の結果であり得る。

本発明の好ましい態様は、下記の通りである。

- 〔 1 〕 配列番号:1のPALポリペプチド、配列番号:1と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列、又は少なくとも6アミノ酸の長さのその免疫原性フラグメントをコードする第一のポリヌクレオチド配列を含むワクチンベクターであって、該PALポリペプチドが該ワクチンベクターの表面で発現される、前記ワクチンベクター。
- 〔 2 〕 免疫刺激性ポリペプチドをコードする第二のポリヌクレオチド配列を更に含み、該免疫刺激性ポリペプチドが該ワクチンベクターの表面で発現される、前記〔 1 〕に記載のワクチンベクター。
- 〔 3 〕 該免疫刺激性ポリペプチドが、HMGB1ポリペプチド又はCD40と結合する能力を有するCD154ポリペプチドである、前記〔 2 〕に記載のワクチンベクター。
- 〔 4 〕 該HMGB1ポリペプチドが、配列番号:15~23の少なくとも1つ又は配列番号:15~23の少なくとも1つのフラグメントから選択されるポリペプチドを含む、前記〔 3 〕に記載のワクチンベクター。
- 〔 5 〕 該CD154ポリペプチドが50未満のアミノ酸を有し、かつ配列番号:24、配列番号:25又はそのホモログのアミノ酸140~149を含む、前記〔 3 〕に記載のワクチンベクター。
- 〔 6 〕 該CD154ポリペプチドが、配列番号:26、配列番号:27、配列番号:28、配列番号:29又は配列番号:30を含む、前記〔 5 〕に記載のワクチンベクター。
- 〔 7 〕 該PALポリペプチドが、配列番号:1、配列番号:2、配列番号:3、配列番号:4、配列番号:5、配列番号:6、配列番号:32、配列番号:36、配列番号:37又はそれらの組合せである、前記〔 1 〕~〔 6 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター。
- 〔 8 〕 該ベクターが、2コピー以上の該第一のポリヌクレオチド及び/又は2コピー以上の該第二のポリヌクレオチド配列を含む、前記〔 1 〕~〔 7 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター。
- 〔 9 〕 該第一のポリヌクレオチド配列が該第二のポリヌクレオチド配列とインフレームで連結されている、前記〔 2 〕~〔 8 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター。
- 〔 1 0 〕 該第一のポリヌクレオチド及び該第二のポリヌクレオチドがスパーサーヌクレオチドを介して連結されている、前記〔 9 〕に記載のワクチンベクター。
- 〔 1 1 〕 該ベクターがウイルス、細菌、酵母、及びリボソームから成る群から選択される、前記〔 1 〕~〔 1 0 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター。
- 〔 1 2 〕 該ワクチンベクターが、バシルス属の種、サルモネラ属の種、乳酸杆菌属の種、又はエシェリキア属の種である、前記〔 1 1 〕に記載のワクチンベクター。
- 〔 1 3 〕 第二の抗原性ポリペプチドをコードする第三のポリヌクレオチドを更に含む、前記〔 1 〕~〔 1 2 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター。
- 〔 1 4 〕 該第二の抗原性ポリペプチドが配列番号:7又は配列番号:31から選択されるポリペプチドである、前記〔 1 〕~〔 1 3 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター。
- 〔 1 5 〕 配列番号:42、44若しくは46の少なくとも1つのポリペプチド、又は配列番号:42、44若しくは46と90%同一性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ワクチンベクター。
- 〔 1 6 〕 前記〔 1 〕~〔 1 5 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター及び医薬的に許容できる担体を含む医薬組成物。
- 〔 1 7 〕 対象におけるグラム陰性細菌に対する免疫応答を強化する方法であって、グラム陰性細菌に対する該対象の免疫応答の強化に有効な量で、前記〔 1 〕~〔 1 5 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター又は前記〔 1 6 〕に記載の医薬組成物を該対象に投与する工程を含む、前記方法。
- 〔 1 8 〕 該強化された免疫応答が、強化された抗体応答、強化されたT細胞応答又は両方を含む、前記〔 1 7 〕に記載の方法。
- 〔 1 9 〕 対象におけるグラム陰性細菌による感染に関連する罹病率を低下させる方法であって、該ワクチンベクターを投与されていないコントロール対象と比較してグラム陰性細菌による対象の後の感染に関連する罹病率を低下させるのに有効な量で、前記〔 1 〕~〔 1 5 〕のいずれか1項に記載のワクチンベクター又は前記〔 1 6 〕に記載の医薬組成物を該対象

に投与する工程を含む、前記方法。

〔 2 0 〕該ワクチンベクターが、経口、粘膜、非経口、皮下、筋肉内、眼内及び卵内から成る群から選択されるルートによって投与される、前記〔17〕～〔19〕のいずれか1項に記載の方法。

〔 2 1 〕該対象が家禽種のメンバーである、前記〔17〕～〔20〕のいずれか1項に記載の方法。

〔 2 2 〕該家禽種がニワトリ又はシチメンチョウである、前記〔21〕に記載の方法。

〔 2 3 〕該対象が哺乳動物である、前記〔17〕～〔22〕のいずれか1項に記載の方法。

〔 2 4 〕該対象がヒトである、前記〔23〕に記載の方法。

〔 2 5 〕該ワクチンの約 10^4 ～約 10^9 ベクターコピーが該対象に投与される、前記〔17〕～〔24〕のいずれか1項に記載の方法。

〔 2 6 〕該ワクチンの約 10^5 ～約 10^7 ベクターコピーが該対象に投与される、前記〔17〕～〔24〕のいずれか1項に記載の方法。

〔 2 7 〕該ワクチンベクターが、該対象への投与前に殺滅されるか、又は該対象において複製する能力がない、前記〔17〕～〔26〕のいずれか1項に記載の方法。

〔 2 8 〕該グラム陰性細菌が、サルモネラ属の種、エシェリキア属の種、赤痢菌属の種、ビブリオ属の種、エルウイニア属の種、クレブシーラ属の種、シトロバクター属の種、エルギニア属の種、及びプロビデンシア属の種から選択される、前記〔17〕～〔27〕のいずれか1項に記載の方法。