

【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18年4月20日(2006.4.20)

【公表番号】特表2005-519617(P2005-519617A)

【公表日】平成17年7月7日(2005.7.7)

【年通号数】公開・登録公報2005-026

【出願番号】特願2003-575917(P2003-575917)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (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 P 19/04 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 1/00

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 37/02

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 16/18

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 19/04

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 N 5/00 A

A 6 1 K 37/02

【手続補正書】

【提出日】平成18年2月28日(2006.2.28)

【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】**

単離された核酸分子であって、(a) 配列番号 1 に記載のヌクレオチド配列；(b) 配列番号 2 に記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；(c) (a) または (b) の相補体に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および (d) (a) ~ (c) のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 2】

単離された核酸分子であって、(a) 配列番号 2 で記載されるポリペプチドと少なくとも約 70% 同一のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(b) 配列番号 1 または (a) で記載されるヌクレオチド配列の対立遺伝子改変体をコードするヌクレオチド配列；(c) 少なくとも約 9 アミノ酸残基のポリペプチド断片をコードする、配列番号 1、(a)、または (b) のヌクレオチド配列の領域であって、ここで該ポリペプチド断片は、配列番号 2 で記載されるコードされたポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、領域；(d) 少なくとも約 16 ヌクレオチドの断片を含む、配列番号 1、または (a) ~ (c) のいずれかのヌクレオチド配列の領域；(e) (a) ~ (d) のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および (f) (a) ~ (d) のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 3】

単離された核酸分子であって、(a) 少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する、配列番号 2 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(b) 少なくとも 1 つのアミノ酸挿入を有する、配列番号 2 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(c) 少なくとも 1 つのアミノ酸欠失を有する、配列番号 2 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(d) C - 末端短縮および / または N - 末端短縮を有する、配列番号 2 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C - 末端短縮、および N - 末端短縮からなる群から選択される少なくとも 1 つの修飾を有する、配列番号 2 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(f) 少なくとも約 16 ヌクレオチドの断片を含む、(a) ~ (e) のいずれかのヌクレオチド配列；(g) (a) ~ (f) のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および (h) (a) ~ (e) のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 4】

請求項 1、2、または 3 のいずれかに記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 5】

請求項 4 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 6】

配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 7】

単離されたポリペプチドであって、(a) 配列番号 2 のオルソログのアミノ酸配列；(b)

）配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも約 70 % 同一であるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；（c）少なくとも約 9 アミノ酸残基を含む、配列番号 2 で記載されるアミノ酸配列の断片であって、ここで該断片は、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、断片；および（d）配列番号 2、（a）または（b）で記載されるアミノ酸配列の対立遺伝子改変体のアミノ酸配列からなる群から選択アミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 8】

単離されたポリペプチドであって、（a）少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する、配列番号 2 で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；（b）少なくとも 1 つのアミノ酸挿入を有する、配列番号 2 で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；（c）少なくとも 1 つのアミノ酸欠失を有する、配列番号 2 で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；（d）C - 末端短縮および / または N - 末端短縮を有する、配列番号 2 で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；および（e）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C - 末端短縮、および N - 末端短縮からなる群から選択される、少なくとも 1 つの修飾を有する、配列番号 2 で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 2 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 9】

請求項 1、2、または 3 のいずれかに核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチドであって、該ポリペプチドが配列番号 2 に記載されるポリペプチドの活性を有する、単離されたポリペプチド。

【請求項 10】

請求項 6、7 または 8 のいずれかに記載のポリペプチドに特異的に結合する、選択的結合剤またはその断片。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の選択的結合剤またはその断片であって、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列を含むポリペプチドまたはその断片に特異的に結合する、選択的結合剤またはその断片。

【請求項 12】

抗体またはその断片である、請求項 10 に記載の選択的結合剤。

【請求項 13】

異種のアミノ酸配列に融合した請求項 6、7 または 8 のいずれかに記載のポリペプチドを含む、融合ポリペプチド。

【請求項 14】

単離された核酸分子であって、（a）配列番号 3 に記載のヌクレオチド配列；（b）配列番号 4 に記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；（c）（a）または（b）の相補体に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および（d）（a）～（c）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 15】

単離された核酸分子であって、（a）配列番号 4 で記載されるポリペプチドと少なくとも約 70 % 同一のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；（b）配列番号 3 または（a）で記載されるヌクレオチド配列の対立遺伝子改変体をコードするヌクレオチド配列；（c）少なくとも約 9 アミノ酸残基のポリペプチド断

片をコードする、配列番号 3、(a)、または(b)のヌクレオチド配列の領域であって、ここで該ポリペプチド断片は、配列番号 4 で記載されるコードされたポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、領域；(d)少なくとも約 16 ヌクレオチドの断片を含む、配列番号 3、または(a)～(c)のいずれかのヌクレオチド配列の領域；(e)(a)～(d)のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および(f)(a)～(d)のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 16】

単離された核酸分子であって、(a)少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する、配列番号 4 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(b)少なくとも 1 つのアミノ酸挿入を有する、配列番号 4 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(c)少なくとも 1 つのアミノ酸欠失を有する、配列番号 4 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(d)C - 末端短縮および/またはN - 末端短縮を有する、配列番号 4 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(e)アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C - 末端短縮、およびN - 末端短縮からなる群から選択される少なくとも 1 つの修飾を有する、配列番号 4 で記載されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで該コードされるポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；(f)少なくとも約 16 ヌクレオチドの断片を含む、(a)～(e)のいずれかのヌクレオチド配列；(g)(a)～(f)のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および(h)(a)～(e)のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 17】

請求項 14、15、または 16 のいずれかに記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 18】

請求項 17 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 19】

配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 20】

単離されたポリペプチドであって、(a)配列番号 4 のオルソログのアミノ酸配列；(b)配列番号 4 のアミノ酸配列と少なくとも約 70 % 同一であるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；(c)少なくとも約 9 アミノ酸残基を含む、配列番号 4 で記載されるアミノ酸配列の断片であって、ここで該断片は、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、断片；および(d)配列番号 4、(a)または(b)で記載されるアミノ酸配列の対立遺伝子改変体のアミノ酸配列からなる群から選択アミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 21】

単離されたポリペプチドであって、(a)少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する、配列番号 4 で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；(b)少なくとも 1 つのアミノ酸挿入を有する、配列番号 4 で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号 4 で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；(c)少な

くとも1つのアミノ酸欠失を有する、配列番号4で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号4で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；(d) C-末端短縮および/またはN-末端短縮を有する、配列番号4で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号4で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；および(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C-末端短縮、およびN-末端短縮からなる群から選択される、少なくとも1つの修飾を有する、配列番号4で記載されるアミノ酸配列であって、ここで該ポリペプチドは、配列番号4で記載されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項22】

請求項14、15、または16のいずれかに核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチドであって、該ポリペプチドが配列番号4に記載されるポリペプチドの活性有する、単離されたポリペプチド。

【請求項23】

請求項19、20または21のいずれかに記載のポリペプチドに特異的に結合する、選択的結合剤またはその断片。

【請求項24】

請求項23に記載の選択的結合剤またはその断片であって、配列番号4に記載されるアミノ酸配列を含むポリペプチドまたはその断片に特異的に結合する、選択的結合剤またはその断片。

【請求項25】

抗体またはその断片である、請求項23に記載の選択的結合剤。

【請求項26】

異種のアミノ酸配列に融合した請求項19、20または21のいずれかに記載のポリペプチドを含む、融合ポリペプチド。

【請求項27】

res02発現が不可能である、細菌細胞。

【請求項28】

inv19発現が不可能である、細菌細胞。

【請求項29】

PSA、PSB、PSD、PSE、PSF、PSG、およびPSHからなる群から選択される、特定の莢膜多糖を安定に発現する細菌細胞の集団。

【請求項30】

前記特定の莢膜多糖がPSAである、請求項29に記載の細菌細胞の集団。

【請求項31】

請求項29または請求項30に記載の細菌細胞の集団であって、該細菌細胞が、B. fragilisである、細菌細胞の集団。

【請求項32】

請求項29または請求項30に記載の細菌細胞の集団であって、該細菌細胞が、B. fragilis NCTC 9343である、細菌細胞の集団。

【請求項33】

請求項29または請求項30に記載の細菌細胞の集団であって、該細菌細胞が、B. fragilis 9343 res02 mut44である、細菌細胞の集団。

【請求項34】

請求項29または請求項30に記載の細菌細胞の集団であって、該細菌細胞が、B. fragilis 9343 res02 mut2である、細菌細胞の集団。

【請求項35】

PSA、PSB、PSD、PSE、PSF、PSG、およびPSHからなる群から選択される莢膜多糖を発現する細菌細胞であって、該莢膜多糖の発現を制御するプロモーターは、オンに固定されている、細菌細胞。

【請求項 36】

請求項 35 に記載の細菌細胞であって、前記莢膜多糖が、P S Aである、細菌細胞。

【請求項 37】

請求項 36 に記載の細菌細胞であって、さらに、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される各および全ての莢膜多糖の発現を制御するプロモーターは、オフに固定されている、細菌細胞。

【請求項 38】

請求項 35 に記載の細菌細胞であって、さらに、P S A、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される莢膜多糖のいずれか1つまたは組み合わせは、発現されない、細菌細胞。

【請求項 39】

請求項 35 に記載の細菌細胞であって、さらに、P S A、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される莢膜多糖のいずれか1つまたは組み合わせの発現を制御するプロモーターは、オフに固定されている、細菌細胞。

【請求項 40】

請求項 35 ~ 39 のいずれか一項に記載の細菌細胞であって、r e s 0 2 発現が、不可能である、細菌細胞。

【請求項 41】

請求項 27、28 または 35 ~ 39 のいずれか一項に記載の細菌細胞であって、該細菌細胞が、B . f r a g i l i s である、細菌細胞。

【請求項 42】

請求項 27、28 または 35 ~ 39 のいずれか一項に記載の細菌細胞であって、該細菌細胞が、B . f r a g i l i s N C T C 9 3 4 3 である、細菌細胞。

【請求項 43】

請求項 27、35 または 36 のいずれか一項に記載の細菌細胞であって、該細菌細胞が、B . f r a g i l i s 9 3 4 3 r e s 0 2 m u t 4 4 である、細菌細胞。

【請求項 44】

請求項 27、35 または 36 のいずれか一項に記載の細菌細胞であって、該細菌細胞が、B . f r a g i l i s 9 3 4 3 r e s 0 2 m u t 2 である、細菌細胞。

【請求項 45】

莢膜多糖合成遺伝子の、相可変プロモーターをオンに固定する方法であって、以下：

細菌細胞においてr e s 0 2 を不活性化して、莢膜多糖合成遺伝子の相可変プロモーターをオンに固定する工程、
を包含する、方法。

【請求項 46】

請求項 45 に記載の方法であって、さらに、以下：

P S A、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される少なくとも1つの莢膜多糖を発現する細菌細胞を選択する工程、
を包含する、方法。

【請求項 47】

請求項 45 に記載の方法であって、さらに、以下：P S A、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される1つの莢膜多糖のみを発現する細菌細胞を選択する工程、
を包含する、方法。

【請求項 48】

請求項 47 に記載の方法であって、前記1つの莢膜多糖がP S Aである、方法。

【請求項 49】

細菌細胞からP S Aを精製する方法であって、改良が、以下：

P S Aのプロモーターがオンまたはオフに固定されるように該細菌細胞においてr e s 0 2 を不活性化する工程；および

P S Aを発現する細菌細胞を選択する工程、
を包含する、方法。

【請求項50】

請求項45～49のいずれか一項に記載の方法であって、前記細菌細胞が、B . f r a g i l l i sである、方法。

【請求項51】

請求項45～49のいずれか一項に記載の方法であって、前記細菌細胞が、B . f r a g i l l i s N C T C 9 3 4 3である、方法。

【請求項52】

純粋な莢膜多糖を産生する方法であって、以下：

P S A、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される、特定の莢膜多糖、または特定の莢膜多糖を含む、限られたセットの莢膜多糖のみを安定に発現する細菌細胞の集団を増殖させる工程；および

細菌細胞の集団から特定の莢膜多糖を単離して純粋な莢膜多糖を産生する工程、
を包含する、方法。

【請求項53】

請求項52に記載の方法であって、特定の莢膜多糖を除く、P S A、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される、莢膜多糖のいずれか1つまたは組み合わせの発現を制御するプロモーターは、オフに固定されている、方法。

【請求項54】

請求項52に記載の方法であって、前記特定莢膜多糖は、P S Aである、方法。

【請求項55】

請求項54に記載の方法であって、P S B、P S D、P S E、P S F、P S G、およびP S Hからなる群から選択される、各およびすべての莢膜多糖の発現を調節するプロモーターは、オフに固定されている、方法。

【請求項56】

請求項52～55のいずれか一項に記載の方法であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l l i sである、方法。

【請求項57】

請求項52～55のいずれか一項に記載の方法であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l l i s N C T C 9 3 4 3である、方法。

【請求項58】

請求項55に記載の方法であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l l i s 9 3 4 3 r e s 0 2 m u t 4 4である、方法。

【請求項59】

請求項55に記載の方法であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l l i s 9 3 4 3 r e s 0 2 m u t 2である、方法。

【請求項60】

炎症性腸疾患を処置または予防するための薬学的組成物であって、以下：

特定の莢膜多糖を安定に発現する、炎症性腸疾患を処置または予防するために有効な量の細菌細胞の集団、
を含有する、薬学的組成物。

【請求項61】

請求項60に記載の薬学的組成物であって、前記特定の莢膜多糖が、P S Aである、薬学的組成物。

【請求項62】

請求項60に記載の薬学的組成物であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l l i sである、薬学的組成物。

【請求項63】

請求項60に記載の薬学的組成物であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l l i

s N C T C 9 3 4 3 である、薬学的組成物。

【請求項 6 4】

請求項 6 0 に記載の薬学的組成物であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l i s 9 3 4 3 r e s 0 2 m u t 4 4 である、薬学的組成物。

【請求項 6 5】

請求項 6 0 に記載の薬学的組成物であって、前記細菌細胞の集団が、B . f r a g i l i s 9 3 4 3 r e s 0 2 m u t 2 である、薬学的組成物。