

【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2年8月20日(2020.8.20)

【公表番号】特表2019-521154(P2019-521154A)

【公表日】令和1年7月25日(2019.7.25)

【年通号数】公開・登録公報2019-030

【出願番号】特願2019-501917(P2019-501917)

【国際特許分類】

A 6 1 K	39/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	15/79	(2006.01)
C 1 2 N	15/85	(2006.01)
C 1 2 N	15/65	(2006.01)
C 1 2 N	15/87	(2006.01)
C 1 2 N	15/68	(2006.01)
C 1 2 N	15/70	(2006.01)
C 1 2 N	15/74	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/74	(2015.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	39/00	H
C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/79	Z
C 1 2 N	15/85	Z
C 1 2 N	15/65	Z
C 1 2 N	15/87	Z
C 1 2 N	15/68	Z
C 1 2 N	15/70	Z
C 1 2 N	15/74	Z
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	35/74	Z
C 1 2 N	1/21	Z N A
C 1 2 N	5/10	

【手続補正書】

【提出日】令和2年7月8日(2020.7.8)

【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】

癌免疫療法用のDNAワクチンの製造方法であって、少なくとも以下のステップ：

(a) 少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片をコードする少なくとも

1つの真核生物の発現カセットを含む少なくとも1つのDNA分子を用いて、サルモネラの弱毒化株を形質転換し；

(b)ステップ(a)で得られた少なくとも1つの形質転換細胞クローンを特徴づけし；

(c)ステップ(b)で特徴づけした少なくとも1つの形質転換細胞クローンを選択し、そして、前述の少なくとも1つの選択された形質転換細胞クローンを更に特徴づけすること、

を含み；

前記ステップ(b)が、以下のサブステップ：

(bi)経時的に、ステップ(a)で得られた少なくとも1つの形質転換細胞クローンの細胞増殖を評価し；

(bi i)ステップ(a)で得られた少なくとも1つの形質転換細胞クローンにおける少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片をコードする少なくとも1つの発現カセットを含む少なくとも1つのDNA分子の安定性を評価し；

(bi ii)ステップ(a)で得られた少なくとも1つの形質転換細胞クローンから、少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片をコードする少なくとも1つの発現カセットを含む少なくとも1つのDNA分子を単離し、そして、少なくとも1つの単離されたDNA分子を、制限分析および/または配列決定によって特徴づけし；

(bi v)ステップ(a)で得られた少なくとも1つの形質転換細胞クローンから、少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片をコードする少なくとも1つの発現カセットを含む少なくとも1つのDNA分子を単離し、少なくとも1つの単離されたDNA分子を少なくとも1つの真核細胞にトランスフェクトし、そして、前記少なくとも1つの真核細胞において該少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片の発現を評価すること；

のうちの少なくとも1つを含み；

前記ステップ(c)が、以下のサブステップ：

(ci)ステップ(c)で選択された少なくとも1つの形質転換細胞クローンの細胞懸濁液1mlあたりの生細胞数を評価し；

(ci i)ステップ(c)で選択された少なくとも1つの形質転換細胞クローンにおける少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片をコードする少なくとも1つの発現カセットを含む少なくとも1つのDNA分子の安定性を評価し；

(ci ii)ステップ(c)で選択された少なくとも1つの形質転換細胞クローンから、少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片をコードする少なくとも1つの発現カセットを含む少なくとも1つのDNA分子を単離し、そして、少なくとも1つの単離されたDNA分子を、制限分析および/または配列決定によって特徴づけし；

(ci v)ステップ(c)で選択された少なくとも1つの形質転換細胞クローンから、少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片をコードする少なくとも1つの発現カセットを含む少なくとも1つのDNA分子を単離し、少なくとも1つの単離されたDNA分子を少なくとも1つの真核細胞にトランスフェクトし、そして、前記少なくとも1つの真核細胞において少なくとも1つの抗原または少なくとも1つのその断片の発現を評価し；

(cv)ステップ(c)で選択された少なくとも1つの形質転換細胞クローンにおいての細菌、真菌および/またはウイルス混入物の存在を試験し；

(cv i)ステップ(c)で選択された少なくとも1つの形質転換細胞クローンの細菌株の同一性を確認すること；

のうちの少なくとも1つを含み；かつ、

前記サルモネラの弱毒化株が、サルモネラ・チフィTy21aである、方法。

## 【請求項2】

前記少なくとも1つの抗原が、腫瘍抗原および腫瘍間質抗原から成る群から選択され、特にヒト腫瘍抗原およびヒト腫瘍間質抗原から成る群から選択され、より特にはヒト野生

型腫瘍抗原、ヒト野性型腫瘍抗原と少なくとも 80 % の配列同一性を有するタンパク質、ヒト野性型腫瘍間質抗原、およびヒト野性型腫瘍間質抗原と少なくとも 80 % の配列同一性を有するタンパク質から成る群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記少なくとも 1 つの抗原が腫瘍抗原であり、該腫瘍抗原が新生抗原である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記腫瘍抗原および / または腫瘍間質抗原は、ある特定の患者の腫瘍細胞または腫瘍間質によって発現されることが示された抗原である、請求項 2 又は 3 に記載の方法。

【請求項 5】

患者特異的腫瘍抗原および / または腫瘍間質抗原は、mRNA またはタンパク質レベルでの患者の腫瘍および / または腫瘍間質に関する発現プロファイル、あるいは、患者の腫瘍抗原および / または腫瘍間質抗原に対する既存の T 細胞性免疫応答を ex vivo で評価することによって同定された抗原である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つの DNA 分子が、カナマイシン抗生物質耐性遺伝子、pMB1 o<sub>r</sub>i、および前記抗原をコードする真核生物の発現カセットを、CMV プロモーターの制御下で含み、特にここで、前記 DNA 分子が DNA プラスミドであり、より特にはここで、該 DNA プラスミドが、配列番号 1 に示される核酸配列を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記ステップ (a) における前記サルモネラの弱毒化株が、少なくとも 1 つの抗原または少なくとも 1 つのその断片をコードする少なくとも 1 つの発現カセットを含む前記少なくとも 1 つの DNA 分子を用いたエレクトロポレーションによって形質転換される、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記ステップ (b) が、前記サブステップ (b i) 、(b ii) 、(b iii) および (b iv) のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つすべてを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記ステップ (c) が、前記サブステップ (c i) 、(c ii) 、(c iii) 、(c iv) 、(c v) および (c vi) のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたは 6 つすべてを含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記ステップ (c v) における細菌および / または真菌混入物の存在が、少なくとも 1 つの好適な選択培地の中またはその上で、ステップ (c) において選択された少なくとも 1 つの形質転換細胞クローニングを培養することによって試験される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記ステップ (c vi) における細菌株の同一性が、プロモチモールブルーガラクトース寒天培地および / または K 1 i g 1 e r 鉄寒天培地で、ステップ (c) において選択された少なくとも 1 つの形質転換細胞クローニングを培養することによって、および / またはサルモネラ O 5 および / または O 9 表面抗原の存在下で評価することによって検証される、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法によって入手可能な DNA ワクチンであつて、

前記少なくとも 1 つの抗原が腫瘍抗原であり、該腫瘍抗原が新生抗原である DNA ワクチン。

【請求項 13】

癌免疫療法における使用のための、請求項 1\_2 に記載の DNA ワクチン。

【請求項 1 4】

前記癌免疫療法が個別化癌免疫療法を含む、請求項 1\_3 に記載の使用のための DNA ワクチン。

【請求項 1 5】

患者の少なくとも 1 つの腫瘍抗原および / または少なくとも 1 つの腫瘍間質抗原の発現、あるいは / もしくは、少なくとも 1 つの腫瘍抗原および / または少なくとも 1 つの腫瘍間質抗原に対する既存の T 細胞性免疫応答が評価されている、請求項 1\_4 に記載の使用のための DNA ワクチン。