

【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6月7日(2007.6.7)

【公表番号】特表2003-504064(P2003-504064A)

【公表日】平成15年2月4日(2003.2.4)

【出願番号】特願2001-509524(P2001-509524)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 9/12 (2006.01)

A 6 1 K 39/145 (2006.01)

A 6 1 P 31/16 (2006.01)

C 1 2 N 7/00 (2006.01)

C 1 2 R 1/93 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 9/12

A 6 1 K 39/145

A 6 1 P 31/16

C 1 2 N 7/00

C 1 2 N 7/00

C 1 2 R 1:93

【手続補正書】

【提出日】平成19年4月11日(2007.4.11)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 主要ヌクレオキャプシド(N)タンパク質、ヌクレオキャプシドリンタンパク質(P)、ラージポリメラーゼタンパク質(L)、および異なるPIVの1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合してヒト-ウシキメラPIVゲノムまたはアンチゲノムを形成した、ヒトPIV(HPIV)またはウシPIV(BPIV)の部分または完全PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む、単離した感染性ヒト-ウシキメラ-パラインフルエンザウイルス(PIV)。

【請求項2】 1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが、1以上のPIV N、P、C、D、V、M、F、HNおよび/またはLタンパク質またはそのフラグメントをコードする、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項3】 1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが、1以上のPIV N、P、C、D、V、M、F、HNおよび/またはLタンパク質の完全オープンリーディングフレーム(ORF)をコードする、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項4】 1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントに、遺伝子外3'リーダー領域もしくは5'トレイラー領域、遺伝子開始シグナル、遺伝子終止シグナル、RNA編集部位、キャプシド化シグナル、遺伝子間領域、または3'もしくは5'側非翻訳領域を含むヘテロロガス調節要素が含まれる、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項5】 バックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムが、バックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムに組み込まれたヘテロロガスゲノムセグメントを取り込んでキメラ遺伝子を形成した、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項6】 キメラゲノムまたはアンチゲノムがキメラ糖タンパク質をコードする、請求項5に記載のキメラPIV。

【請求項7】 ヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが、部分PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中のカウンターパート遺伝子またはゲノムセグメントを置換した、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項8】 ヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが、部分または完全PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムの非コード領域に隣接して、または非コード領域内に、付加された、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項9】 ヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが、部分または完全PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中のカウンターパート遺伝子もしくはゲノムセグメントの野生型遺伝子オーダー位置に対応する位置において、付加または置換した、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項10】 ヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが、部分または完全PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中のカウンターパート遺伝子もしくはゲノムセグメントの野生型遺伝子オーダー位置に対比して、よりプロモーターに近い位置またはプロモーターから遠い位置において、付加または置換した、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項11】 キメラゲノムまたはアンチゲノムが、ヒトPIV由来の1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合した部分または完全BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項12】 HNおよびFから選択される1以上のHPIV糖タンパク質遺伝子、またはその細胞質ドメイン、貫膜ドメイン、エクトドメインもしくは免疫原エピトープをコードする1以上のゲノムセグメントが、BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中の1以上のカウンターパート遺伝子またはゲノムセグメントを置換した、請求項11に記載のキメラPIV。

【請求項13】 HNおよびFから選択される1以上のHPIV糖タンパク質遺伝子が、BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中の1以上のカウンターパート糖タンパク質遺伝子を置換した、請求項11に記載のキメラPIV。

【請求項14】 HPIV糖タンパク質遺伝子HNおよびFの両方が、BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中の1以上のカウンターパートHNおよびF糖タンパク質遺伝子を置換した、請求項13に記載のキメラPIV。

【請求項15】 rBPIV3-F_HHN_Hである、請求項13に記載のキメラPIV。

【請求項16】 ヒト-ウシキメラPIVゲノムまたはアンチゲノムが、HPIV糖タンパク質エクトドメイン、抗原決定因子または免疫原エピトープを有するキメラ糖タンパク質をコードする、請求項11に記載のキメラPIV。

【請求項17】 ヘテロロガスゲノムセグメントが糖タンパク質エクトドメインをコードする、請求項16に記載のキメラPIV。

【請求項18】 1以上のHPIV糖タンパク質遺伝子HNおよびF、またはその細胞質ドメイン、貫膜ドメイン、エクトドメインもしくは免疫原エピトープをコードするゲノムセグメントが、BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムに付加され、または取り込まれた、請求項11に記載のキメラPIV。

【請求項19】 キメラゲノムまたはアンチゲノムがさらに、キメラウイルスの遺伝子安定性を高めるために、または弱毒性、反応原性もしくは培養における増殖性を変化させるために、部分または完全ウシバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中においてヒトPIV由来の1以上の追加ヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントの付加または置換により修飾された、請求項11に記載のキメラPIV。

【請求項20】 キメラゲノムまたはアンチゲノムが、ウシPIV由来の1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合した部分または完全ヒトPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項21】 ヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントがウシPIV3 Nタンパク質をコードする、請求項20に記載のキメラPIV。

【請求項 2 2】 ウシPIV3 Nオープンリーディングフレーム (ORF) が、キメラゲノムまたはアンチゲノム中においてヒトPIV3 N ORFを置換した、請求項20に記載のキメラPIV。

【請求項 2 3】 rHPIV3-N₆である、請求項22に記載のキメラPIV。

【請求項 2 4】 ゲノムまたはアンチゲノムがさらに、生物由来の変異PIVまたは他の変異した非セグメント化マイナス鎖RNAウイルス中に同定される1以上の弱毒変異の導入により修飾された、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項 2 5】 ゲノムまたはアンチゲノムが、HPIV3 JS cp45中に存在する弱毒変異のうちの少なくとも1つの相補体から完全な相補体までを取り込んだ、請求項24に記載のキメラPIV。

【請求項 2 6】 ゲノムまたはアンチゲノムが、Lタンパク質においてJSのTyr₉₄₂、Leu₉₉₂、もしくはThr₁₅₅₈に対応する位置、Nタンパク質においてJSの残基Val₉₆もしくはSer₃₈₉に対応する位置、Cタンパク質においてJSのIle₉₆に対応する位置、Mタンパク質においてJSのPro₁₉₉に対応する位置、Fタンパク質においてJSの残基Ile₄₂₀もしくはAla₄₅₀に対応する位置、HNタンパク質においてJSの残基Val₃₈₄に対応する位置のアミノ酸置換；キメラウイルスの3'リーダー配列においてJS cp45のヌクレオチド23、24、28もしくは45に対応する位置のヌクレオチド置換；および/またはN遺伝子開始配列においてJS cp45のヌクレオチド62に対応する位置の変異を特定する弱毒変異のうち少なくとも1つの相補体から完全な相補体までを取り込んだ、請求項24に記載のキメラPIV。

【請求項 2 7】 ゲノムまたはアンチゲノムが、生物に由来する異なる変異PIVからの弱毒変異を取り込んだ、請求項24に記載のキメラPIV。

【請求項 2 8】 ゲノムまたはアンチゲノムが、ヘテロログス変異マイナス鎖RNAウイルス中に同定された弱毒変異のアミノ酸位置に対応するアミノ酸位置に弱毒変異を取り込んだ、請求項24に記載のキメラPIV。

【請求項 2 9】 ゲノムまたはアンチゲノムが、変異を特定するコドンにおける多重ヌクレオチド変更により安定化された少なくとも1つの弱毒変異を含む、請求項24に記載のキメラPIV。

【請求項 3 0】 ゲノムまたはアンチゲノムが、増殖特性、弱毒性、温度感受性、低温適応性、ブランクサイズ、宿主域制限の変更、または免疫原性変更から選択される表現型変更を特定する追加のヌクレオチド修飾を含む、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項 3 1】 追加のヌクレオチド修飾が、PIV N、P、C、D、V、M、F、HNおよび/またはL遺伝子、および/または3'リーダー、5'トレイラー、RNA編集部位、キャプシド化シグナル、および/または遺伝子間領域のうち1以上を改変するものである、請求項30に記載のキメラPIV。

【請求項 3 2】 RNA編集部位の変異により、フレームシフト変異により、開始コドンによって特定されるアミノ酸を改変する変異により、または1以上の停止コドンを遺伝子のオープンリーディングフレーム (ORF) 中に導入することにより、キメラウイルスの1以上の遺伝子の全体または一部を欠失させ、あるいは遺伝子の発現を低下または排除させた、請求項30に記載のキメラPIV。

【請求項 3 3】 1以上のC、Dおよび/またはV ORFの部分または完全欠失、あるいは1以上のC、Dおよび/またはV ORFの発現を低下または排除させる1以上のヌクレオチド変化を含む修飾を、キメラゲノムまたはアンチゲノムに導入した、請求項30に記載のキメラPIV。

【請求項 3 4】 サイトカイン、Tリンパ球ヘルパーエピトープ、制限部位マーカー、または哺乳動物宿主において防御免疫応答を誘発することができる微生物病原体タンパク質から選択される非PIV分子をコードするように、キメラゲノムまたはアンチゲノムが修飾された、請求項30に記載のキメラPIV。

【請求項 3 5】 ウシ-ヒトキメラゲノムまたはアンチゲノムが、1以上のヘテロログス病原体の1以上の抗原決定因子をコードする1以上のヘテロログス遺伝子またはゲノムセグメントと結合した部分または完全PIVベクターゲノムまたはアンチゲノムを含む、請求項1

に記載のキメラPIV。

【請求項36】 1以上のヘテロロガス病原体がヘテロロガスPIVであり、ヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが1以上のPIV N、P、C、D、V、M、F、HNおよび/またはLタンパク質あるいはそのフラグメントをコードする、請求項35に記載のキメラPIV。

【請求項37】 ベクターゲノムまたはアンチゲノムが部分または完全HPIVゲノムまたはアンチゲノムであり、抗原決定因子をコードするヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが1以上のヘテロロガスPIVである、請求項35に記載のキメラPIV。

【請求項38】 1以上のヘテロロガスPIVが、HPIV1、HPIV2またはHPIV3から選択される、請求項37に記載のキメラPIV。

【請求項39】 ベクターゲノムまたはアンチゲノムが部分または完全HPIVゲノムまたはアンチゲノムであり、抗原決定因子をコードするヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが1以上のヘテロロガスHPIVである、請求項37に記載のキメラPIV。

【請求項40】 ベクターゲノムまたはアンチゲノムが部分または完全HPIV3ゲノムまたはアンチゲノムであり、抗原決定因子をコードするヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが1以上のヘテロロガスHPIVである、請求項39に記載のキメラPIV。

【請求項41】 キメラゲノムまたはアンチゲノムが、弱毒性を特定する1以上のBPIV遺伝子またはゲノムセグメントを取り込んだ、請求項40に記載のキメラPIV。

【請求項42】 1以上のHNおよび/またはF糖タンパク質あるいはその抗原性ドメイン、フラグメントまたはエピトープをコードする1以上のHPIV1またはHPIV2遺伝子またはゲノムセグメントが、部分または完全HPIV3ベクターゲノムまたはアンチゲノムに付加され、あるいは取り込まれた、請求項35に記載のキメラPIV。

【請求項43】 HNおよびF糖タンパク質をコードする両方のHPIV1遺伝子が、カウンターパートHPIV3 HNおよびF遺伝子を置換してキメラHPIV3-1ベクターゲノムまたはアンチゲノムを形成し、これがさらに、HPIV2の1以上の抗原決定因子をコードする1以上の遺伝子または遺伝子セグメントおよび弱毒性を特定するBPIVの1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントの付加または取込みにより修飾された、請求項35に記載のキメラPIV。

【請求項44】 HPIV2 HNまたはF遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)を含む転写ユニットが、キメラHPIV3-1ベクターゲノムまたはアンチゲノムに付加され、あるいは取り込まれた、請求項43に記載のキメラPIV。

【請求項45】 ベクターゲノムまたはアンチゲノムが部分または完全BPIVゲノムまたはアンチゲノムであり、抗原決定因子をコードするヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが1以上のHPIVである、請求項35に記載のキメラPIV。

【請求項46】 1以上の抗原決定因子が、HPIV1、HPIV2またはHPIV3 HNおよびF糖タンパク質、ならびにその抗原性ドメイン、フラグメントおよびエピトープから選択される、請求項45に記載のキメラPIV。

【請求項47】 HPIV2の1以上の抗原決定因子をコードする1以上の遺伝子またはゲノムセグメントが、部分または完全BPIVベクターゲノムまたはアンチゲノム中において付加または置換した、請求項45に記載のキメラPIV。

【請求項48】 複数のHPIVの抗原決定因子をコードする複数のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントが、部分または完全BPIVベクターゲノムまたはアンチゲノムに付加され、あるいは取り込まれた、請求項45に記載のキメラPIV。

【請求項49】 ベクターゲノムまたはアンチゲノムが部分または完全HPIVゲノムまたはアンチゲノムであり、ヘテロロガス病原体が麻疹ウイルス、サブグループAおよびサブグループB呼吸系発疹ウイルス、ムンプスウイルス、ヒトパピローマウイルス、1型および2型ヒト免疫不全ウイルス、単純ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、フィロウイルス、ブニヤウイルス、フラビウイルス、アルファウイルスおよびインフルエンザウイルスから選択される、請求項35に記載のキメラPIV。

【請求項50】 ベクターゲノムまたはアンチゲノムが部分または完全BPIVゲノムまた

はアンチゲノムであり、ヘテロロガス病原体が麻疹ウイルス、サブグループAおよびサブグループB呼吸系発疹ウイルス、ムンプスウイルス、ヒトパピローマウイルス、1型および2型ヒト免疫不全ウイルス、単純ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、フィロウイルス、ブニヤウイルス、フラビウイルス、アルファウイルスおよびインフルエンザウイルスから選択される、請求項35に記載のキメラPIV。

【請求項51】 1以上のヘテロロガス抗原決定因子が、麻疹ウイルスHAおよびFタンパク質、サブグループAおよびサブグループB呼吸系発疹ウイルスF、G、SHおよびM2タンパク質、ムンプスウイルスHNおよびFタンパク質、ヒトパピローマウイルスL1タンパク質、1型および2型ヒト免疫不全ウイルスgp160タンパク質、単純ヘルペスウイルスおよびサイトメガロウイルスgB、gC、gD、gE、gG、gH、gI、gJ、gK、gLおよびgMタンパク質、狂犬病ウイルスGタンパク質、エプスタイン・バーウイルスgp350タンパク質、フィロウイルスGタンパク質、ブニヤウイルスGタンパク質、フラビウイルスEおよびNSIタンパク質、ならびにアルファウイルスEタンパク質、ならびにその抗原性ドメイン、フラグメントおよびエピトープから選択される、請求項50に記載のキメラPIV。

【請求項52】 ヘテロロガス病原体が麻疹ウイルスであり、ヘテロロガス抗原決定因子が麻疹ウイルスHAおよびFタンパク質、ならびにその抗原性ドメイン、フラグメントおよびエピトープから選択される、請求項51に記載のキメラPIV。

【請求項53】 麻疹ウイルスHA遺伝子のオープンリーディングフレーム（ORF）を含む転写ユニットがHPIV3ベクターゲノムまたはアンチゲノム中に付加され、あるいは取り込まれた、請求項52に記載のキメラPIV。

【請求項54】 呼吸系発疹ウイルス（RSV）由来の遺伝子またはゲノムセグメントを取り込んだ、請求項51に記載のキメラPIV。

【請求項55】 遺伝子またはゲノムセグメントがRSV Fおよび/またはG糖タンパク質、あるいはその抗原性ドメインまたはエピトープをコードする、請求項54に記載のキメラPIV。

【請求項56】 ウイルスである、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項57】 サブウイルス粒子である、請求項1に記載のキメラPIV。

【請求項58】 PIVに対する免疫応答を誘発するための免疫原組成物であって、免疫学的に十分な量の請求項1～57のいずれか1項記載のキメラPIVを生理学的に許容できるキャリアー中に含む組成物。

【請求項59】 $10^3 \sim 10^7$ PFUの用量で配合された、請求項58に記載の免疫原組成物。

【請求項60】 上気道にスプレー、液滴またはエアロゾルにより投与するために配合された、請求項58に記載の免疫原組成物。

【請求項61】 キメラPIVがHPIV1、HPIV2およびHPIV3から選択される1以上のウイルスに対する免疫応答を誘発する、請求項58に記載の免疫原組成物。

【請求項62】 キメラPIVがHPIV3、ならびにHPIV1、HPIV2およびHPIV3から選択される他のウイルスに対する免疫応答を誘発する、請求項61に記載の免疫原組成物。

【請求項63】 異なるPIVのヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合してヒト-ウシキメラPIVゲノムまたはアンチゲノムを形成した、ヒトまたはウシPIVの部分または完全PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む単離ポリヌクレオチド分子。

【請求項64】 キメラゲノムまたはアンチゲノムが、ヒトPIVに由来する1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合した部分または完全BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む、請求項63に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項65】 HNおよびF、またはその細胞質ドメイン、貫膜ドメイン、エクトドメインもしくは免疫原エピトープをコードする1以上のゲノムセグメントから選択される1以上のHPIV糖タンパク質遺伝子が、BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中の1以上のカウンターパート遺伝子またはゲノムセグメントを置換した、請求項64に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 66】 HNおよびFから選択される1以上のHPIV糖タンパク質遺伝子が、BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中の1以上のカウンターパート糖タンパク質遺伝子を置換した、請求項64に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 67】 HPIV糖タンパク質遺伝子HNおよびFの両方が、BPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中のカウンターパートHNおよびF糖タンパク質遺伝子を置換した、請求項66に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 68】 プラスミドpBPIV(215)を含む、請求項66に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 69】 キメラゲノムまたはアンチゲノムが、ウシPIVに由来する1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合した部分または完全ヒトPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む、請求項63に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 70】 HNおよびFから選択される1以上のBPIV糖タンパク質遺伝子が、HPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中の1以上のカウンターパート糖タンパク質遺伝子を置換した、請求項69に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 71】 BPIV糖タンパク質遺伝子HNおよびFの両方が、HPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中のカウンターパートHNおよびF糖タンパク質遺伝子を置換した、請求項75に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 72】 プラスミドpHPIV(215)を含む、請求項71に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 73】 ウシN遺伝子が、ヒトPIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノム中のN遺伝子を置換した、請求項69に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 74】 キメラゲノムまたはアンチゲノムがさらに、1以上の弱毒変異により修飾された、請求項63~73のいずれか1項記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 75】 さらに、増殖特性、弱毒性、温度感受性、低温適応性、プラークサイズ、宿主域制限の変更、または免疫原性の変更から選択される表現型変更を特定するヌクレオチド修飾を含む、請求項63に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 76】 感染性弱毒キメラPIVをコードする1以上の請求項63~77のいずれか1項記載の単離ポリヌクレオチド分子から感染性弱毒キメラPIV粒子を製造する方法であって、

異なるPIVのヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合してヒト-ウシキメラPIVゲノムまたはアンチゲノムを形成した、ヒトまたはウシPIVの部分または完全PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む単離ポリヌクレオチドを含む発現ベクター、ならびにPIV N、PおよびLタンパク質を、無細胞溶解物中において発現させることを含む方法。

【請求項 77】 キメラPIVゲノムまたはアンチゲノムと、PIV N、PおよびLタンパク質が、2以上の異なる発現ベクターにより発現する、請求項77に記載の方法。

【請求項 78】 作動可能な状態で結合した転写プロモーター、異なるPIVの1以上のヘテロロガス遺伝子またはゲノムセグメントと結合してヒト-ウシキメラPIVゲノムまたはアンチゲノムを形成した、ヒトまたはウシPIVの部分または完全PIVバックグラウンドゲノムまたはアンチゲノムを含む、請求項63~77のいずれか1項記載のポリヌクレオチドの配列、および転写ターミネーターを含む発現ベクター。