

【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25年9月5日 (2013.9.5)

【公表番号】特表2013-500015(P2013-500015A)

【公表日】平成25年1月7日 (2013.1.7)

【年通号数】公開・登録公報2013-001

【出願番号】特願2012-521778(P2012-521778)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 7/06 (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 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 31/18 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 7/06 Z N A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 31/18

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成25年7月19日 (2013.7.19)

【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】

( a ) ( i ) 1 6 0 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である配列番号 1 のシンドビスウイルス E 2 糖タンパク質、または樹状細胞に感染することができ、1 6 0 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である、配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % の同一性を有するその配列番号 1 の変異体を含むエンベロープであって、E 2 は、シンドビスウイルス E 3 との融合タンパク質の一部ではなく、好ましくは前記 E 2 糖タンパク質または E 2 糖タンパク質変異体は、DC - SIGN に結合する、エンベロープと、

(b) 1つ以上の関心の配列を含む、レンチウイルスベクターゲノムと、を含む、レンチウイルスベクター粒子。

【請求項2】

前記160Xは、存在しないか、またはグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンである、請求項1に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項3】

前記E2糖タンパク質変異体は、その正味正電荷を低減するように変更された少なくとも1つのアミノ酸を有する、請求項1または2に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項4】

(a) 前記変更されたアミノ酸は、配列番号1のリシン70、リシン76、またはリシン159から成る群から選択され、そして随意に、置換がグルタミン酸またはアスパラギン酸から独立して選択される、および/あるいは(b)配列番号1の残基71~75の配列が未変化であるか、または前記変異体がDCに感染する能力に影響しないが、この領域内のアミノ酸の数を変更しない、1つもしくは2つの置換を有する、請求項3に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項5】

前記E2糖タンパク質変異体の配列は、配列番号3のアミノ酸残基66~488、配列番号4のアミノ酸残基66~488、配列番号5のアミノ酸残基66~488、またはそれらに対して少なくとも80%同一、好ましくはそれらに対して85%もしくは90%同一なアミノ酸配列である、請求項1、2、3または4に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項6】

前記関心の配列は、1つ以上の抗原をコードする、請求項1~5のいずれかに記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項7】

前記抗原は、腫瘍特異的抗原またはウイルス由来抗原であり、随意に、前記腫瘍特異的抗原は、炭酸脱水酵素IX、NY-ESO-1、MAGE、BAGE、RAGE、MART-1/Melan-A、gp100、gp75、mda-7、チロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質、5T4、SM22-、炭酸脱水酵素I、HIF-1、HIF-2、PSMA、PSA、STEAPおよびNKX3.1からなる群より選択されるか、または随意に、前記ウイルス由来抗原は、HIV抗原、SIV抗原、アデノウイルス抗原、エンテロウイルス抗原、コロナウイルス抗原、カリシウイルス抗原、ジステンパーウイルス抗原、エボラウイルス抗原、フラビウイルス抗原、肝炎ウイルス抗原、ヘルペスウイルス抗原、感染性腹膜炎ウイルス抗原、インフルエンザウイルス抗原、白血病ウイルス抗原、マルバーグウイルス抗原、オルトミクソウイルス抗原、パピローマウイルス抗原、パラインフルエンザウイルス抗原、パラミクソウイルス抗原、パルボウイルス抗原、ペスチウイルス抗原、ピコルナウイルス抗原、ポリオウイルス抗原、ポックスウイルス抗原、狂犬病ウイルス抗原、レオウイルス抗原、レトロウイルス抗原またはロタウイルス抗原である、請求項6に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項8】

前記粒子は、少なくとも $10^5$ /mLのIUを有する、請求項1~7のいずれかに記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項9】

配列番号1のシンドビスウイルスE2糖タンパク質または配列番号1に対して少なくとも80%の同一性を有するその配列番号1の変異体をコードする核酸であって、ここで、  
(a) 160Xが存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸であり、  
(b) (i) 配列番号1のリシン70、リシン76、もしくはリシン159のうちの1つ以上がグルタミン酸もしくはアスパラギン酸で置換されているか、あるいは(ii) 配列番号1の残基71~75の配列が未変化であるか、または前記変異体が樹状細胞に感染する能力に影響しない1つもしくは2つの置換を有するか、あるいは(i)および(ii)

の両方であり、そして

E 2 は発現された場合、シンドビスウイルス E 3 から開裂される、核酸。

【請求項 10】

偽型レンチウイルスベクター粒子を産生するためのレンチウイルスベクターパッケージ化システムであって、

( i ) 請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のアミノ酸配列を有するシンドビスウイルス E 2 糖タンパク質をコードする、第 1 の核酸分子と、

( i i ) g a g タンパク質および p o l タンパク質をコードする、第 2 の核酸分子と、

( i i i ) r e v をコードする、第 3 の核酸分子と、

( i v ) 1 つ以上の関心の配列を含む、レンチウイルスベクターゲノムと、

( v ) パッケージ化細胞と、

を含む、パッケージ化システム。

【請求項 11】

前記 p o l タンパク質は、非機能的インテグラーゼを有し、随意に、前記非機能的インテグラーゼは、D 6 4 V 変異を有する、請求項 10 に記載のパッケージ化システム。

【請求項 12】

前記レンチウイルスベクターゲノムは、非組み込みレンチウイルスゲノムである、請求項 10 および 11 のいずれか 1 項に記載のパッケージ化システム。

【請求項 13】

前記レンチウイルスベクターゲノムは、組み込みレンチウイルスゲノムである、請求項 10 ~ 12 のいずれか 1 項に記載のパッケージ化システム。

【請求項 14】

前記レンチウイルスベクター粒子は、少なくとも  $10^5$  I U / m L のタイターに産生される、請求項 10 ~ 13 のいずれか 1 項に記載のパッケージ化システム。

【請求項 15】

請求項 1 ( a ) ( i ) または請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の E 2 糖タンパク質または変異体をコードするヌクレオチド配列を含む、単離核酸分子。

【請求項 16】

請求項 15 に記載の核酸分子を含む、発現ベクター。

【請求項 17】

請求項 16 に記載の発現ベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 18】

細胞において、

( i ) 160 X がグルタミン酸以外である配列番号 1 のシンドビスウイルス E 2 糖タンパク質、または配列番号 1 に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有し、160 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である、樹状細胞に感染することができるその変異体をコードし、ここで、E 2 は、シンドビスウイルス E 3 との融合タンパク質の一部ではない、第 1 の核酸分子と、

( i i ) 第 2 の核酸分子であって、転写されることができ、前記転写物が偽型レンチウイルスベクター粒子へと構築される、第 2 の核酸分子と、  
を発現させることを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子を作製する方法。

【請求項 19】

ヒトまたは動物被検体の治療のための、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子を含む組成物。

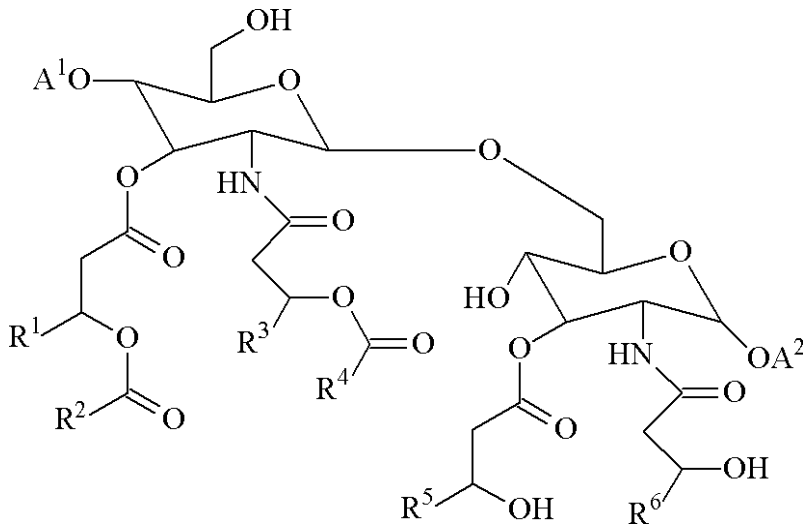
【請求項 20】

レンチウイルスベクター粒子をインビトロで細胞に送達する方法であって、前記細胞を、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子と混合することを含む、方法。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子、および薬学的に許容される賦形剤を含む、治療または予防ワクチンであって、随意に、前記治療または予防ワクチンは、アジュバントをさらに含み、随意に、前記アジュバントは、式 (I) :

【化 1】



のアジュバントであり、  
ここで：

(a) A<sup>1</sup> は、リン酸またはリン酸塩であり、A<sup>2</sup> は、水素であり、

(b) (i) R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>5</sup> および R<sup>6</sup> は、C<sub>11</sub> - C<sub>20</sub> アルキルであり、R<sup>2</sup> および R<sup>4</sup> は C<sub>12</sub> - C<sub>20</sub> ヒドロカルビルであるか；または

(ii) R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>5</sup> および R<sup>6</sup> は、C<sub>11</sub> アルキルであり、R<sup>2</sup> および R<sup>4</sup> は C<sub>13</sub> ヒドロカルビルであるか；または

(iii) R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>5</sup> および R<sup>6</sup> は、ウンデシルであり、R<sup>2</sup> および R<sup>4</sup> はトリデシルである、治療または予防ワクチン。

【請求項 2 2】

前記レンチウイルスベクターゲノムが、不活性化 3' 末端反復配列 (LTR) または自己不活性化 3' 末端反復配列 (LTR) を有し、随意に、前記レンチウイルスベクターゲノムは、エンハンサー配列、TATA ボックス、Sp1 部位、NF-B 部位またはポリプリン区画 (PPT) のうちの少なくとも 1 つの欠失を有する U3 要素を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項 2 3】

前記レンチウイルスベクターゲノムは、樹状細胞成熟 / 刺激因子をコードするヌクレオチド配列をさらに含み、随意に、前記樹状細胞成熟 / 刺激因子は、GM-CSF、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-15、IL-21、IL-23、TNF、B7.1、B7.2、4-1BB、CD40 リガンドおよび薬物誘導 CD40 からなる群より選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項 2 4】

抗原をコードするヌクレオチド配列の発現は、ヒトユビキチン C プロモーター (Ubic)、サイトメガロウイルス前初期プロモーター (CMV)、ラウス肉腫ウイルスプロモーター (RSV) およびテトラサイクリン応答性プロモーターからなる群より選択されるプロモーターによって制御される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子。

【請求項 2 5】

偽型レンチウイルスベクター粒子を産生するためのレンチウイルスベクターパッケージ化システムであって、

(i) 配列番号 1 のシンドビスウイルス E2 糖タンパク質または配列番号 1 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するその変異体をコードする、第 1 の核酸分子と、

( i i ) g a g タンパク質および p o l タンパク質をコードする、第 2 の核酸分子であって、前記 p o l タンパク質は、非機能的インテグラーゼを有する、第 2 の核酸分子と、

( i i i ) r e v をコードする、第 3 の核酸分子と、

( i v ) 関心の配列を含む、レンチウイルスベクターゲノムであって、前記レンチウイルスベクターゲノムが機能的なポリプリン路 ( P P T ) を欠失している、レンチウイルスベクターゲノムと、

( v ) パッケージ化細胞と、  
を含む、パッケージ化システム。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 9】

本発明のこれらの態様および他の態様は、以下の詳細な説明および添付の図面を参照するときに明らかとなるであろう。さらに、2 0 0 9 年 7 月 2 4 日に出願された米国特許出願第 6 1 / 2 2 8 , 4 9 1 号は、あらゆる目的で、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

( 項目 1 )

( a ) 1 6 0 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である配列番号 1 のシンドビスウイルス E 2 糖タンパク質、または樹状細胞に感染することができ、1 6 0 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である、配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % の同一性を有するその配列番号 1 の変異体を含むエンベロープであって、E 2 は、シンドビスウイルス E 3 との融合タンパク質の一部ではない、エンベロープと、

( b ) 関心の配列を含む、レンチウイルスベクターゲノムと、  
を含む、レンチウイルスベクター粒子。

( 項目 2 )

前記 E 2 糖タンパク質または変異体は、D C - S I G N に結合する、項目 1 に記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 3 )

前記 1 6 0 X は、存在しないか、またはグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンであり、例えば、グリシン、バリン、ロイシン、またはイソロイシンから選択される、項目 1 または項目 2 に記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 4 )

1 6 0 X は、グリシンである、項目 1 または項目 2 に記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 5 )

前記 E 2 糖タンパク質変異体は、その正味正電荷を低減するように変更された少なくとも 1 つのアミノ酸を有する、項目 1、2、3、または 4 に記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 6 )

前記変更されたアミノ酸は、配列番号 1 のリシン 7 0、リシン 7 6、またはリシン 1 5 9 から成る群から選択され、置換がグルタミン酸またはアスパラギン酸から随意に独立して選択される、項目 5 に記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 7 )

前記 E 2 変異体配列は、配列番号 2、3、または 4 であり ( 変異体 1、2、および 3 )、1 つ以上のさらなる置換、挿入、または欠失を随意に含む、項目 1、2、3、4、5、または 6 に記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 8 )

配列番号 1 の残基 7 1 ~ 7 5 の配列が未変化である変異体か、または前記変異体が D C に感染する能力に影響しないが、この領域内のアミノ酸の数を変更しない、1 つもしくは 2 つの置換を有する変異体である、項目 1、2、3、4、5、6、または 7 に記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 9 )

前記関心の配列は、腫瘍特異的抗原またはウイルス由来抗原、例えば、H I V もしくは S I V 抗原をコードする、前記項目のいずれかに記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 1 0 )

前記粒子は、少なくとも  $10^5$  / m L の I U を有する、前記項目のいずれかに記載のレンチウイルスベクター粒子。

( 項目 1 1 )

シンドビスウイルス E 2 糖タンパク質変異体を含むエンベロープ内に偽型化されたレンチウイルスベクターゲノムであって、前記ゲノムは、関心の配列を含み、前記 E 2 糖タンパク質変異体は、前記レンチウイルスベクター粒子による樹状細胞の感染を促進し、前記 E 2 糖タンパク質変異体は、上記項目 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載のアミノ酸配列を有する、レンチウイルスベクターゲノム。

( 項目 1 2 )

偽型レンチウイルスベクター粒子を産生するためのレンチウイルスベクターパッケージ化システムであって、

( i ) 1 6 0 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である配列番号 1 のシンドビス E 2 糖タンパク質、または配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有し、1 6 0 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である、樹状細胞に感染することができるその変異体をコードする、第 1 の核酸分子と、

( i i ) g a g タンパク質および p o l タンパク質をコードする、第 2 の核酸分子と、

( i i i ) r e v をコードする、第 3 の核酸分子と、

( i v ) 関心の配列を含む、レンチウイルスベクターゲノムと、  
を含む、パッケージ化システム。

( 項目 1 3 )

前記 E 2 糖タンパク質は、上記項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のアミノ酸配列を有する、項目 1 2 に記載のパッケージ化システム。

( 項目 1 4 )

前記 p o l タンパク質は、非機能的インテグラーゼを有する、項目 1 2 または 1 3 に記載のパッケージ化システム。

( 項目 1 5 )

前記非機能的インテグラーゼは、D 6 4 V 変異を有する、項目 1 4 に記載のパッケージ化システム。

( 項目 1 6 )

前記第 4 の核酸分子は、非組み込みレンチウイルスゲノムである、項目 1 2、1 3、1 4、または 1 5 に記載のパッケージ化システム。

( 項目 1 7 )

前記レンチウイルスベクター粒子は、少なくとも  $10^5$  I U / m L のタイターに産生される、項目 1 2、1 3、1 4、1 5、または 1 6 に記載のパッケージ化システム。

( 項目 1 8 )

項目 1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、または 1 7 のいずれか 1 項に記載の第 1 および第 4 の核酸分子でトランスフェクトされた細胞。

( 項目 1 9 )

項目 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 1 0 のいずれか 1 項に記載のタンパク質、または随意にシンドビス E 3 / E 2 / 6 K / E 1 ポリタンパク質の形態である E 3 / E 2 糖タンパク質、または前記 E 3 配列が、配列番号 2 0 の残基 1 ~ 6 5 に対応する、

E 3 / E 2 糖タンパク質、または配列番号 2 0 の残基 1 ~ 6 5 に対して少なくとも 8 0 % の同一性を有するその変異体をコードする単離核酸分子であって、残基 6 2 ~ 6 5 が R S K R であり ( 配列番号 2 7 ) 、前記変異体は、偽型ウイルスエンベロープに組み込まれることができ、随意にさらに、E 2 ポリタンパク質の残基 1 は S e r である、単離核酸分子

。

( 項目 2 0 )

項目 1 9 に記載の核酸分子を含む、発現ベクター。

( 項目 2 1 )

項目 2 0 に記載の発現ベクターを含む、宿主細胞。

( 項目 2 2 )

細胞において、

( i ) 1 6 0 X がグルタミン酸以外である配列番号 1 のシンドビスウイルス E 2 糖タンパク質、または配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有し、1 6 0 X が存在しないか、もしくはグルタミン酸以外のアミノ酸である、樹状細胞に感染することができるその変異体をコードする、第 1 の核酸分子と、

( i i ) 第 2 の核酸分子であって、転写されることができ、前記転写物が偽型レンチウイルスベクター粒子へと構築される、第 2 の核酸分子と、  
を発現させることを含む、項目 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子を作製する方法。

( 項目 2 3 )

ヒトまたは動物被検体の治療方法において使用するための、項目 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または 1 1 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子

。

( 項目 2 4 )

レンチウイルスベクター粒子をインビトロで細胞に送達する方法であって、前記細胞を、項目 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または 1 1 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子と混合することを含む、方法。

( 項目 2 5 )

項目 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または 1 1 のいずれか 1 項に記載のレンチウイルスベクター粒子、および薬学的に許容される賦形剤を含む、治療または予防ワクチン。