

【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26年2月27日(2014.2.27)

【公表番号】特表2013-516978(P2013-516978A)  
 【公表日】平成25年5月16日(2013.5.16)  
 【年通号数】公開・登録公報2013-024  
 【出願番号】特願2012-548518(P2012-548518)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 7/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)  
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)  
 C 1 2 N 15/09 (2006.01)  
 A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 7/00 Z N A  
 A 6 1 P 43/00 1 0 5  
 A 6 1 P 35/00  
 A 6 1 K 48/00  
 C 1 2 N 15/00 A  
 A 6 1 K 37/02

【手続補正書】  
 【提出日】平成26年1月10日(2014.1.10)  
 【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】

アデノウイルスを生産する方法であって、マウスプレプロエンドセリンプロモーターを含むアデノウイルスを感染させたPER.C6細胞を、無血清懸濁培養物中または接着培養物中で培養する工程を含み、これによってアデノウイルスが生産される、方法。

【請求項2】

アデノウイルスが、非複製性アデノウイルスおよび条件複製性アデノウイルスからなる群より選択される、請求項1記載の方法。

【請求項3】

非複製性アデノウイルスが、(i) マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されているfasキメラ導入遺伝子、(ii) マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている抗血管新生導入遺伝子、(iii) マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている血管新生促進導入遺伝子、または(iv) マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている自殺導入遺伝子、を含むポリヌクレオチドを含む、請求項2記載の方法。

【請求項4】

条件複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている、請求項2記載の方法。

【請求項5】

非複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結

されている抗血管新生導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、請求項2~4のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

非複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている血管新生促進導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、請求項2~5のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている条件複製性アデノウイルスであり、かつ、該アデノウイルスが、血管新生促進作用物質または抗血管新生作用物質をコードする非ウイルス異種配列を含まない、請求項2または4記載の方法。

【請求項8】

アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに機能的に連結されている治療作用物質をコードする異種核酸配列をさらに含む、請求項1または2記載の方法。

【請求項9】

異種核酸配列がアポトーシス遺伝子を含む、請求項8記載の方法。

【請求項10】

培養工程の後に細胞からウイルスを回収する工程をさらに含む、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

fasキメラ導入遺伝子が、配列番号2、配列番号3、および配列番号4からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項3記載の方法。

【請求項12】

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号5、配列番号6またはそのアンチセンス配列、配列番号7またはそのアンチセンス配列、配列番号8またはそのアンチセンス配列、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択されるヌクレオチド配列をさらに含む、請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号12で示されるヌクレオチド配列を含む、請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

アデノウイルスがアデノウイルス血清型5である、請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

アデノウイルス血清型5が、配列番号9または10で示される核酸配列を含む、請求項14記載の方法。

【請求項16】

請求項1~15のいずれか一項記載の方法によって生成され、かつ、(a) 図7A~Bのイオン交換およびサイズ排除クロマトグラフィーのトレースならびに表6の生産物プロフィール、または(b) 表3の生産物プロフィールを示す、ウイルス調製物。

【請求項17】

有効成分として請求項16記載のウイルス調製物を含む、薬学的組成物。

【請求項18】

それを必要とする対象において血管新生を減少させる薬学的組成物であって、有効成分として請求項16記載のウイルス調製物を含む、薬学的組成物。

【請求項19】

対象が癌を有する、請求項17または18記載の薬学的組成物。

【請求項20】

非経口投与用に処方されている、請求項17または18記載の薬学的組成物。

【請求項21】

大規模生産方法である、請求項1～15のいずれか一項記載の方法。

【請求項22】

5～200Lの培養容量で行われる、請求項21記載の方法。

【請求項23】

5～100Lの培養容量で行われる、請求項21記載の方法。

【請求項24】

癌が固形腫瘍である、請求項19記載の薬学的組成物。

【請求項25】

固形腫瘍が原発性腫瘍または転移性腫瘍である、請求項24記載の薬学的組成物。

【請求項26】

非経口投与が静脈内投与である、請求項20記載の薬学的組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0060

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0060】

[本発明1001]

アデノウイルスの大規模生産方法であって、マウスプレプロエンドセリンプロモーターを含むアデノウイルスを感染させたPER.C6細胞を無血清懸濁培養物中で培養する工程を含み、それによってアデノウイルスを生産する、方法。

[本発明1002]

アデノウイルスが、非複製性アデノウイルスおよび条件複製性アデノウイルスからなる群より選択される、本発明1001の方法。

[本発明1003]

非複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されているfasキメラ導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1002の方法。

[本発明1004]

条件複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている、本発明1002の方法。

[本発明1005]

非複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている抗血管新生導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1002の方法。

[本発明1006]

非複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている血管新生促進導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1002の方法。

[本発明1007]

非複製性アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている自殺導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1002の方法。

[本発明1008]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている条件複製性アデノウイルスが、血管新生促進作用物質または抗血管新生作用物質をコードする非ウイルス異種配列を含まない、本発明1002または1004の方法。

[本発明1009]

自殺導入遺伝子がチミジンキナーゼを含む、本発明1007の方法。

[本発明1010]

アデノウイルスが、マウスプレプロエンドセリンプロモーターに機能的に連結されている治療作用物質をコードする異種核酸配列をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1011]

異種核酸配列がアポトーシス遺伝子を含む、本発明1010の方法。

[本発明1012]

培養工程の後に細胞からウイルスを回収する工程をさらに含む、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1013]

回収工程が、感染3～4日後の収穫点（POH）およびMOI 5で行われる、本発明1012の方法。

[本発明1014]

培養工程が5～100L容量で行われる、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1015]

培養工程が25L容量で行われる、本発明1014の方法。

[本発明1016]

培養工程が50L容量で行われる、本発明1015の方法。

[本発明1017]

培養工程が100L容量で行われる、本発明1015の方法。

[本発明1018]

培養工程が、使い捨てバッグを用いて行われる、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1019]

回収工程が、細胞を界面活性剤による溶解に供することにより行われる、本発明1012の方法。

[本発明1020]

界面活性剤がTriton X-100を含む、本発明1019の方法。

[本発明1021]

清澄な原料を得るために細胞DNAおよび細胞残屑を除去する工程をさらに含む、本発明1019の方法。

[本発明1022]

前記原料が、タンジェンシャルフローろ過（TFF）に供される、本発明1021の方法。

[本発明1023]

ウイルスペレットを得る工程と、ウイルスペレットを陰イオン交換クロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーに供する工程とをさらに含む、本発明1022の方法。

[本発明1024]

fasキメラ導入遺伝子が、配列番号2で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1003の方法。

[本発明1025]

fasキメラ導入遺伝子が、配列番号3で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1003の方法。

[本発明1026]

fasキメラ導入遺伝子が、配列番号4で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1003の方法。

[本発明1027]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号5で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1028]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号6で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1029]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号6で示されるヌクレオチド配列を少なくとも2コピー有するポリヌクレオチドを含む、本発明1028の方法。

[本発明1030]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号8で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1031]

マウスブレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号7で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1001～1005のいずれかの方法。

[本発明1032]

マウスブレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号13で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1033]

マウスブレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号12で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1034]

非複製性アデノウイルスベクターがアデノウイルス5ベクターである、本発明1003、1005、1006または1007のいずれかの方法。

[本発明1035]

アデノウイルス5ベクターが、配列番号9または10で示される核酸配列を含む、本発明1003の方法。

[本発明1036]

アデノウイルスの大規模生産方法であって、配列番号9または10で示される核酸配列を含むアデノウイルスを感染させたPER.C6細胞を無血清懸濁培養物中で培養する工程を含み、それによってアデノウイルスを生産する、方法。

[本発明1037]

アデノウイルスの生産方法であって、マウスブレプロエンドセリンプロモーターを含むアデノウイルスを感染させたPER.C6細胞を、ウイルスの繁殖に適した条件下、接着培養物中で培養する工程を含み、それによってアデノウイルスを生産する、方法。

[本発明1038]

アデノウイルスが、非複製性アデノウイルスおよび条件複製性アデノウイルスからなる群より選択される、本発明1037の方法。

[本発明1039]

非複製性アデノウイルスが、マウスブレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されているfasキメラ導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1038の方法。

[本発明1040]

条件複製性アデノウイルスが、マウスブレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている、本発明1038の方法。

[本発明1041]

非複製性アデノウイルスが、マウスブレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている抗血管新生導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1038の方法。

[本発明1042]

非複製性アデノウイルスが、マウスブレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている血管新生促進導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1038の方法。

[本発明1043]

非複製性アデノウイルスが、マウスブレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている自殺導入遺伝子を含むポリヌクレオチドを含む、本発明1038の方法。

[本発明1044]

マウスブレプロエンドセリンプロモーターに転写的に連結されている条件複製性アデノウイルスが、血管新生促進作用物質または抗血管新生作用物質をコードする非ウイルス異種配列を含まない、本発明1040の方法。

[本発明1045]

自殺導入遺伝子がチミジンキナーゼを含む、本発明1043の方法。

[本発明1046]

アデノウイルスが、マウスブレプロエンドセリンプロモーターに機能的に連結されている治療作用物質をコードする異種核酸配列をさらに含む、本発明1037の方法。

[本発明1047]

異種核酸配列がアポトーシス遺伝子を含む、本発明1046の方法。

[本発明1048]

前記条件が血清を含む、本発明1037～1042のいずれかの方法。

[本発明1049]

培養工程の後に細胞からウイルスを回収する工程をさらに含む、本発明1037～1042のいずれかの方法。

[本発明1050]

回収工程が、感染3～4日後の収穫点（POH）で行われる、本発明1049の方法。

[本発明1051]

回収工程が、凍結解凍によるウイルスの放出により行われる、本発明1049の方法。

[本発明1052]

清澄な原料を得るために超遠心分離により細胞DNAおよび細胞残屑を除去する工程をさらに含む、本発明1051の方法。

[本発明1053]

清澄な原料をCsCl勾配中で遠心分離する工程をさらに含む、本発明1052の方法。

[本発明1054]

セファデックス脱塩カラムを用いてCsClを除去する工程をさらに含む、本発明1053の方法。

[本発明1055]

fasキメラ導入遺伝子が、配列番号2で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1039の方法。

[本発明1056]

fasキメラ導入遺伝子が、配列番号3で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1039の方法。

[本発明1057]

fasキメラ導入遺伝子が、配列番号4で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1039の方法。

[本発明1058]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号5で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1037の方法。

[本発明1059]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号6で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1037の方法。

[本発明1060]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号6で示されるヌクレオチド配列を少なくとも2コピー有するポリヌクレオチドを含む、本発明1059の方法。

[本発明1061]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号8で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1037の方法。

[本発明1062]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号7で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1037の方法。

[本発明1063]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号13で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1037の方法。

[本発明1064]

マウスプレプロエンドセリンプロモーターが、配列番号12で示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含む、本発明1037の方法。

[本発明1065]

非複製性アデノウイルスベクターがアデノウイルス5ベクターである、本発明1038の方法。

[本発明1066]

アデノウイルス5ベクターが、配列番号9または10で示される核酸配列を含む、本発明1039の方法。

[本発明1067]

アデノウイルスの生産方法であって、配列番号9または10で示される核酸配列を含むアデノウイルスを感染させたPER.C6細胞を、ウイルスの繁殖に適した条件下、接着培養物中で培養する工程を含み、それによってアデノウイルスを生産する、方法。

[本発明1068]

本発明1001～1036のいずれかの方法によって生成され、かつ、図7A～Bのイオン交換およびサイズ排除クロマトグラフィーのトレースならびに表6の生産物プロファイルを示す、ウイルス調製物。

[本発明1069]

本発明1037～1067のいずれかの方法により生成され、かつ、表3の生産物プロファイルを有する、ウイルス調製物。

[本発明1070]

有効成分として本発明1068または1069のウイルス調製物を含む、薬学的組成物。

[本発明1071]

それを必要とする対象において血管新生を減少させる方法であって、対象に治療有効量の本発明1068または1069のウイルス調製物を投与する工程を含み、それによって対象における血管新生を減少させる、方法。

[本発明1072]

対象が固形腫瘍を有する、本発明1071の方法。

[本発明1073]

投与工程が静脈内投与を含む、本発明1071の方法。

別途定義がなされていない限り、本明細書で使用されるすべての技術および/または科学用語は、本発明の属する技術の分野における通常の知識を有する者により一般に理解されているのと同じ意味を有する。本発明の態様の実施または試験には、本明細書に記載されているのと類似または等価な方法および材料を使用することができるが、以下では例示的な方法および/または材料について記述する。相反がある場合は、定義を含めて本特許明細書が優先される。さらに、これらの材料、方法および実施例は例示にすぎず、必須の制限であることが意図されていない。