

【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】平成22年6月17日(2010.6.17)

【公表番号】特表2009-539845(P2009-539845A)
 【公表日】平成21年11月19日(2009.11.19)
 【年通号数】公開・登録公報2009-046
 【出願番号】特願2009-514365(P2009-514365)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 39/245 (2006.01)
 C 0 7 K 16/08 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/02 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/22 (2006.01)
 C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 39/245 Z N A
 C 0 7 K 16/08
 C 1 2 Q 1/02
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 S
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 P 31/22
 C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成22年4月27日(2010.4.27)

【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】

医薬的に許容される担体、ならびにpUL128またはpUL130および適宜他のウイルスまたはCMVビリオン複合体の細胞成分の少なくとも1つを含有するサイトメガロウイルス(CMV)タンパク質の複合体、を含む免疫原性組成物。

【請求項2】

該他のウイルスまたは該ビリオン複合体の細胞成分がpUL131、gH、gLまたはgBのうちの1以上である、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

医薬的に許容される担体、ならびに、pUL128、pUL130、またはpUL128もしくはpUL130を含む複合体から選択される少なくとも1つのサイトメガロウイルス(CMV)タンパク質またはそのフラグメントおよび適宜他のウイルスもしくはCMVビリオン複合体の細胞成分の少なくとも1つを含むサブユニットワクチンであって、該ワクチンがレシピエント中でCMVに対する免疫反応を誘導するサブユニットワクチン。

【請求項4】

該複合体のタンパク質の少なくとも1つがキャリアタンパク質に結合している、請求項3に記載のサブユニットワクチン。

【請求項 5】

該タンパク質、タンパク質フラグメントまたは複合体が弱毒化CMVウイルス粒子の表面で発現している、請求項 3 に記載のサブユニットワクチン。

【請求項 6】

該タンパク質またはそのフラグメントが、CMVウイルス粒子の表面に存在する 1 以上の他のタンパク質またはそのフラグメントに融合している、請求項 3 に記載のサブユニットワクチン。

【請求項 7】

医薬的に許容される担体、および、pUL128、pUL130、またはpUL128もしくはpUL130を含む複合体から選択されるCMVタンパク質またはそのフラグメントをコードする少なくとも 1 つの核酸分子を含有するベクター、を含む核酸ワクチンであって、少なくとも 1 つの核酸分子がワクチンレシピエント中で発現し、該発現産物が該レシピエント中でCMVに対する免疫反応を誘導する核酸ワクチン。

【請求項 8】

pUL128またはpUL130を含むCMVビリオン複合体由来のウイルス-コードタンパク質に特異的に結合し、CMVビリオン複合体の細胞受容体への結合または細胞のCMV感染、あるいはその両方を阻害する、抗体またはそのエピトープ-結合フラグメント。

【請求項 9】

ヒトまたはヒト化抗体である、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 10】

pUL128に特異的に結合し、ATCC寄託番号[PTA-8474]の抗血清のポリクローナル抗体と同等以上のpUL128に対する結合親和性を有する、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 11】

pUL128に特異的に結合し、ATCC寄託番号[PTA-8473]のハイブリドーマ細胞株により産生されるモノクローナル抗体と同等以上のpUL128に対する結合親和性を有する、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 12】

ATCC寄託番号[PTA-8473]のハイブリドーマ細胞株により産生されるモノクローナル抗体と同様に、pUL128上の同一のエピトープに競って結合するか、または同一のエピトープに結合する、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 13】

ATCC寄託番号[PTA-8473]のハイブリドーマ細胞株により産生される抗体に存在する 1 以上の相補性決定領域(CDR)に対して70%またはそれ以上の同一性を有する配列を結合する 1 以上のビリオンを含み、pUL128を有するCMVビリオン複合体の中和結合パートナー。

【請求項 14】

pUL130に特異的に結合し、ATCC寄託番号[PTA-8472]のハイブリドーマ細胞株により産生されるモノクローナル抗体と同等以上のpUL130に対する結合親和性を有する、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 15】

ATCC寄託番号[PTA-8472]のハイブリドーマ細胞株により産生されるモノクローナル抗体により認識されるpUL130上の同一のエピトープに競って結合するか、または同一のエピトープに結合する、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 16】

ATCC寄託番号[PTA-8472]のハイブリドーマ細胞株により産生されるモノクローナル抗体に存在する相補性決定領域(CDR)に対して70%またはそれ以上の同一性を有する配列を結合する 1 以上のビリオンを含み、pUL130を有するCMVビリオン複合体の中和結合パートナー。

【請求項 17】

CMVの宿主細胞への侵入を阻害する能力に関する化合物のスクリーニング方法であって

：

a) 試験化合物の存在または非存在下において、宿主細胞または宿主細胞の1以上の細胞受容体を、(i)pUL128もしくはそのフラグメント、(ii)pUL130もしくはそのフラグメント、または(iii)pUL128もしくはpUL130および適宜他のウイルスもしくはCMVビリオン複合体の細胞成分の少なくとも1つを含む複合体、から選択されるCMVビリオンもしくはその成分に暴露すること；および、

b) 試験化合物がCMVビリオンまたはその成分の宿主細胞または細胞受容体への結合を妨げるかどうかを決定することであって、該結合の妨害は該試験化合物がCMVの宿主細胞への侵入阻害能力を有することの指標であること、を特徴とする方法。

【請求項18】

CMVまたはその成分が宿主細胞または細胞受容体に結合するのを妨害する能力を有する選択された試験化合物を：

a) 選択された試験化合物の存在または非存在下において宿主細胞をCMVビリオンに暴露すること；および、

b) 選択された試験化合物が、(i) 宿主細胞内でのCMVタンパク質の産生；(ii) CMV感染の細胞変性効果；または(iii) ウイルスタンパク質の細胞から細胞への拡散、のうちの1つ以上を阻害するかどうかを決定することであって、該阻害は該試験化合物がCMV感染を阻害する能力を有することのさらなる指標であること、を特徴とする二次スクリーニングにかける、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

内皮または上皮細胞のヒトCMV感染性の中和能力に関する化合物のスクリーニング方法であって：

a) 試験化合物の存在または非存在下において、上皮または内皮細胞をpUL128またはpUL130を含むビリオン複合体を含有するCMVビリオンに暴露すること；および、

b) 該試験化合物がCMVの宿主細胞への侵入を阻害するかどうかを決定することであって、該阻害は試験化合物が内皮または上皮細胞のヒトCMV感染性の中和能力を有することの指標であること、を特徴とする方法。

【請求項20】

該試験化合物が抗体またはそのエピトープ-結合フラグメント、あるいはpUL130またはpUL128を含有するCMVビリオン複合体の中和結合パートナーである、請求項19に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

本発明の別の態様は、医薬的に許容可能な担体、および、pUL128、pUL130、あるいはpUL128またはpUL130を含む複合体から選択されるCMVタンパク質またはそのフラグメントをコードする少なくとも1つの核酸分子を含有するベクターを含む核酸ワクチンを特徴とし、該少なくとも1つの核酸分子がワクチンレシピエントで発現し、該発現産物がレシピエントにおいてCMVに対する免疫反応を誘導する。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0032

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0032】

本発明の別の態様は、患者がサブユニットワクチンに対する免疫反応を発現できる条件

下において、医薬的に許容可能な担体、ならびに、pUL128、pUL130、またはpUL128もしくはpUL130を含む複合体から選択される少なくとも1つのサイトメガロウイルス(CMV)タンパク質またはそのフラグメント、および適宜他のウイルスまたはCMVビリオン複合体の細胞成分の少なくとも1つを含有するサブユニットワクチンを患者に投与することにより、患者にCMV感染に対する免疫力をつけさせる方法の特徴とする。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0033

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0033】

本発明のさらに別の態様は、患者が核酸ワクチンによりコードされるタンパク質に対する免疫反応を進行できる条件下において、医薬的に許容可能な担体、および、pUL128、pUL130、あるいはpUL128またはpUL130を含む複合体から選択されるCMVタンパク質またはそのフラグメントをコードする少なくとも1つの核酸分子を含有するベクターを含む核酸ワクチンであって、該少なくとも1つの核酸分子が患者において発現する該核酸ワクチンを患者に投与することにより、患者にCMV感染に対する免疫力をつけさせる方法の特徴とする。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0078

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0078】

免疫原性化合物およびワクチン、および使用方法:

本発明の一態様は、医薬的に許容される担体、ならびに、pUL128またはpUL130を含むサイトメガロウイルス(CMV)タンパク質複合体および他のウイルスまたはpUL128またはpUL130を含むビリオン複合体の細胞成分の少なくとも1つ、を含有する免疫原性組成物である。一態様において、該ビリオン複合体は、pUL128またはpUL130を単独で有する。別の態様において、該ビリオン複合体はpUL128およびpUL130を含む。別の態様において、該ビリオン複合体は糖タンパク質gLおよび/またはgH、あるいはその両方を含む。別の態様において、該ビリオン複合体はpUL128、pUL130、gLおよびgHを含む。別の態様において、該ビリオン複合体はpUL131を含むか、またはpUL131に関連する。さらに別の態様において、上記のタンパク質のフラグメントが、単一のポリペプチドか融合産物のいずれかとして用いられる。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0086

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0086】

pUL128および/またはpUL130、あるいはpUL128および/またはpUL130のフラグメントを含むタンパク質またはタンパク質複合体はキャリアタンパク質に結合し得る。当技術分野の範囲内において、CMVタンパク質複合体に結合するように、好ましいキャリアタンパク質を選択する。好ましいキャリアタンパク質の例としては、アルブミン、オボアルブミン、緑膿菌外毒素、破傷風毒素、リシン毒素、ジフテリア毒素、コレラ毒素、易熱性エンテロトキシン、キーホールリンペットヘモシアニン、上皮細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子、トランスフェリン、血小板由来増殖因子、ポリ-L-リジン、ポリ-L-グルタミン、マンノース-6-ホスフェート、並びに細胞表面タンパク質および膜タンパク質などが挙げられるが、これに限定されない。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0087

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0087】

いくつかの態様において、pUL128および/またはpUL130、あるいはpUL128および/またはpUL130のフラグメントを含むタンパク質またはタンパク質複合体は弱毒化CMVウイルス粒子の表面で発現する。当分野において、ウイルスを弱毒化する方法が知られている。例えば、線維芽細胞中での連続継代を用いてCMVを弱毒化することができる。ウイルス感染した宿主細胞をin vitroで繰り返し継代することにより、ウイルスを十分に弱毒化することができる。継代は、特異的な環境条件下（例えば、温度、pH、湿度が調節されているなど）で実施され、それにより感染性または病原性が低下したウイルスを選定する。突然変異誘発もまた用いられ得る。例えば、当分野において既知の方法に従って、CMVビリオンを紫外線またはイオン化放射線または化学的突然変異誘発因子に暴露するなどが可能である。組み換え技術も弱毒化CMVビリオンの作製に用いることができる。例えば、部位特異的突然変異誘発、遺伝子置換、または遺伝子ノックアウト技術を用いて、感染性または病原性を弱めたウイルス株を誘導することができる。弱毒化CMVは感染力および/または病原性の低下を示すが、CMV感染に対抗して宿主を治療または保護する免疫反応の誘導能力を残していることが望ましい。弱毒化CMV株の例としては、ほぼ線維芽細胞の中だけで複製する実験室株（例えば、AD169およびTowneなど）が挙げられるが、これに限定されない。pUL128および/またはpUL130あるいはpUL128および/またはpUL130のフラグメントを含有する表面タンパク質またはタンパク質複合体の生成に携わる、そのような弱毒化株は、線維芽細胞または他の細胞種（例えば上皮細胞など）において増殖させてワクチンとして用いることができる。

いくつかの態様において、ここに記載のpUL128および/またはpUL130タンパク質またはタンパク質複合体、およびその誘導体は、付加的なCMV遺伝子産物を含むより大きな複合体ワクチンの成分として投与される。これらの付加的なCMV遺伝子産物は、完全タンパク質および/またはタンパク質のフラグメントであり得る。一態様において、pUL128および/またはpUL130の免疫原性フラグメントは単独で存在するか、あるいはpUL128-pUL130ビリオン複合体の付加的な成分（例えば、gH）の免疫原性フラグメント、および/またはビリオンの付加的な成分（例えば、gBなど）を含む1つのポリペプチド鎖に結合し得る。そのような複合的免疫原性フラグメントを含むポリペプチドは、非-CMVおよび/または合成アミノ酸配列もまた有し得る。

いくつかの態様において、ここに記載のpUL128および/またはpUL130タンパク質またはタンパク質複合体、およびその誘導体はワクチンベクターの成分として投与され得る。ワクチンベクターには、改変ウイルス、バクテリアおよび他の微生物が含まれる。例えば、1以上のアデノウイルス遺伝子または遺伝子フラグメントを欠き、その代わりに、pUL128および/またはpUL130タンパク質またはタンパク質複合体およびその誘導体をコードする核酸を含む、アデノウイルス誘導体を産生することができる。

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0098

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0098】

pUL128またはpUL130、あるいはビリオン中にこれらのタンパク質を含むタンパク質複合体の成分に特異的に結合する抗体が、本発明において用いられ得る。CD46に特異的に結合する抗体もまた、本発明において用いられ得る。リコンビナント抗体（例えば、一本鎖抗体およびファージ提示抗体など）、および抗体の抗原結合フラグメント（例えば、Fabま

たはFv)もまた用いることができるけれども、モノクローナル(単一の抗体または抗体の混合)および/またはポリクローナル抗体を用いることができ、どんな原料から作られたものでもよい。pUL128、pUL130、pUL128およびpUL130を有するCMVタンパク質複合体のいずれかの成分、およびCD46を認識する抗体を、本発明において用いることができる。一態様において、該抗体は、複合体に存在するためpUL128、pUL130、またはビリオン複合体の他の成分のエピトープを認識するが、溶液中またはビリオン複合体から離れたその他の場所ではpUL128、pUL130またはビリオン複合体の他の成分を認識しない。別の態様においては、該抗体は溶液中またはビリオン複合体から離れたその他の場所でpUL128、pUL130またはビリオン複合体の他の成分を認識する。該抗体がどのように作製されるかにかかわらず、本発明の望ましい態様は、中和抗体を利用、または対象とする。実際に、以下に説明する本発明の別の態様は、目的とする中和抗体の同定アッセイを特徴とする。抗体の作製、精製方法は、当分野において周知である。さらに、モノクローナル抗体は、最初にKohlerおよびMilsteinにより開発された技術(1975) Nature 256:495-497を含む、当分野において周知の非常に多くの技術により調製できる。