

【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28年9月1日(2016.9.1)

【公表番号】特表2015-533491(P2015-533491A)

【公表日】平成27年11月26日(2015.11.26)

【年通号数】公開・登録公報2015-074

【出願番号】特願2015-532125(P2015-532125)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/112 (2006.01)

A 6 1 K 39/02 (2006.01)

A 6 1 K 39/108 (2006.01)

A 6 1 K 39/002 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/21

A 6 1 P 31/04

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 39/112

A 6 1 K 39/02

A 6 1 K 39/108

A 6 1 K 39/002

【手続補正書】

【提出日】平成28年7月14日(2016.7.14)

【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】

Salmonella typhi Ty21a染色体に挿入されたShigella sonneiのO抗原生合成遺伝子領域を含むSalmonella typhi Ty21aであって、

a) 同種のSalmonella typhiのO抗原と共に又はなしで異種のShigella sonneiの1型O抗原が安定して発現され、

b) 毒性Shigella sonneiの攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性Salmonella typhiの攻撃感染に対して免疫防御が誘発される

、

前記Salmonella typhi Ty21a。

【請求項2】

Salmonella typhi Ty21a染色体に挿入されたShigella sonneiのO抗原生合成遺伝子領域を含むSalmonella typhi Ty21aであって、

a) 同種のSalmonella typhiのO抗原と共に異種のShigella

sonnei の 1 型 O 抗原が安定して発現され、

b) 毒性 *Shigella sonnei* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性 *Salmonella typhi* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発される

、

前記 *Salmonella typhi* Ty 2 1 a。

【請求項 3】

該領域が、

a) 配列番号 2 に示された DNA 配列、

b) 配列番号 2 に示された DNA 配列と少なくとも約 90% の配列同一性を有する DNA 配列、及び

c) 配列番号 2 に示された DNA 配列の機能的変異体である DNA 配列

からなる群から選択される DNA 配列でコードされる、請求項 1 に記載の Ty 2 1 a。

【請求項 4】

Shigella 種 (*Shigella dysenteriae*、*Shigella flexneri* 及び *Shigella boydii*)、*Escherichia coli* セロタイプ、*Salmonella enterica* 血清型、*Vibrio cholerae* セロタイプ、*Enterobacter* 種、*Yersinia* 種及び *Pseudomonas* 種からなる群から選択される細菌株由来の O 抗原生合成遺伝子領域をさらに含む、請求項 1 に記載の Ty 2 1 a。

【請求項 5】

Salmonella typhi Ty 2 1 a 染色体に挿入された *Shigella dysenteriae* 1 の O 抗原生合成遺伝子領域を含む *Salmonella typhi* Ty 2 1 a であって、

a) 同種の *Salmonella typhi* の O 抗原と共に又はなしで異種の *Shigella dysenteriae* セロタイプ 1 の O 抗原が安定して発現され、

b) 毒性 *Shigella dysenteriae* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性 *Salmonella Typhi* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発される

、

前記 *Salmonella typhi* Ty 2 1 a。

【請求項 6】

Salmonella typhi Ty 2 1 a 染色体に挿入された *Shigella dysenteriae* 1 の O 抗原生合成遺伝子領域を含む *Salmonella typhi* Ty 2 1 a であって、

a) 同種の *Salmonella typhi* の O 抗原と共に異種の *Shigella dysenteriae* セロタイプ 1 の O 抗原が安定して発現され、

b) 毒性 *Shigella dysenteriae* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性 *Salmonella Typhi* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発される

、

前記 *Salmonella typhi* Ty 2 1 a。

【請求項 7】

該領域が、

a) 配列番号 33 に示された DNA 配列、

b) 配列番号 33 に示された DNA 配列と少なくとも約 90% の配列同一性を有する DNA 配列、及び

c) 配列番号 33 に示された DNA 配列の機能的変異体である DNA 配列

からなる群から選択される DNA 配列でコードされる、請求項 5 に記載の Ty 2 1 a。

【請求項 8】

Shigella 種 (*Shigella sonnei*、*Shigella flex*

neri及び*Shigella boydii*)、*Escherichia coli*セロタイプ、*Salmonella enterica*血清型、*Vibrio cholerae*セロタイプ、*Enterobacter*種、*Yersinia*種及び*Pseudomonas*種からなる群から選択される細菌株由来のO抗原生合成遺伝子領域をさらに含む、請求項5に記載のTy21a。

【請求項9】

i) 配列番号1に示されたDNA配列、又はii) 配列番号1に示されたDNA配列と少なくとも約90%の配列同一性を有するDNA配列を有する、プラスミド構築物。

【請求項10】

*Shigella sonnei*のO抗原生合成遺伝子領域をさらに含む、請求項9に記載のプラスミド構築物。

【請求項11】

Shigella dysenteriae 1のO抗原生合成遺伝子領域をさらに含む、請求項9に記載のプラスミド構築物。

【請求項12】

大きな抗原性遺伝子領域を細菌の染色体中に組換え操作する方法であって、

i) 以下：

ia) 5'及び3'がそれぞれFRT部位に隣接する遺伝的選択マーカー、

ib) 3' FRT部位の下流のマルチクロニング部位、及び

ic) 2つのうちの1つが5' FRT部位の上流に位置し、2つのうちの1つがマルチクロニング部位の下流に位置する、2つの染色体相同性部位を含むベクターに該領域をクロニングするステップ、

ii) red組換えを使用して、該領域を細菌の染色体に組み込むステップ、

iii) 遺伝的選択マーカーについて選択するステップ、並びに

iv) 選択マーカーを除去するステップ

を含み、

このようにして該領域を染色体中に組換え操作する、前記方法。

【請求項13】

抗原性遺伝子領域が約5から約20kbの長さである、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

ベクターが、プラスミド、ファージ、ファスミド及びコスミド構築物からなる群から選択される、請求項12に記載の方法。

【請求項15】

プラスミド構築物が請求項9に記載の構築物である、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

細菌の染色体が*Salmonella typhi* Ty21aである、請求項12に記載の方法。

【請求項17】

遺伝的選択マーカーが抗生物質耐性マーカーである、請求項12に記載の方法。

【請求項18】

抗生物質耐性マーカーがカナマイシンである、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

抗原性領域が*Shigella sonnei*のO抗原生合成遺伝子領域である、請求項12に記載の方法。

【請求項20】

抗原性領域が*Shigella dysenteriae* 1のO抗原生合成遺伝子領域である、請求項12に記載の方法。

【請求項21】

抗原性領域が*Shigella flexneri* 2aのO抗原生合成遺伝子領域である、請求項12に記載の方法。

【請求項 22】

抗原性領域が *Shigella flexneri* 3a の O 抗原生合成遺伝子領域である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 23】

該領域が、ステップ i i の前に、約 500 から約 1000 bp の細菌の染色体相同性領域同士の間で操作して入れられる、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 24】

カナマイシン耐性遺伝子が pCP20 での形質転換の後に誘導される組換えを介して除去される、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 25】

Salmonella typhi Ty21a 染色体に挿入された *Shigella flexneri* 2a の O 抗原生合成遺伝子領域を含む *Salmonella typhi* Ty21a であって、

a) 同種の *Salmonella typhi* の O 抗原と共に又はなしで異種の *Shigella flexneri* 2a の O 抗原が安定して発現され、

b) 毒性 *Shigella flexneri* 2a の攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性 *Salmonella typhi* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発される、

前記 *Salmonella typhi* Ty21a。

【請求項 26】

Salmonella typhi Ty21a 染色体に挿入された *Shigella flexneri* 2a の O 抗原生合成遺伝子領域を含む *Salmonella typhi* Ty21a であって、

a) 同種の *Salmonella typhi* の O 抗原と共に異種の *Shigella flexneri* 2a の O 抗原が安定して発現され、

b) 毒性 *Shigella flexneri* 2a の攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性 *Salmonella typhi* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発される、

前記 *Salmonella typhi* Ty21a。

【請求項 27】

Salmonella typhi Ty21a 染色体に挿入された *Shigella flexneri* 3a の O 抗原生合成遺伝子領域を含む *Salmonella typhi* Ty21a であって、

a) 同種の *Salmonella typhi* の O 抗原と共に又はなしで異種の *Shigella flexneri* 3a の O 抗原が安定して発現され、

b) 毒性 *Shigella flexneri* 3a の攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性 *Salmonella typhi* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発される、

Salmonella typhi Ty21a。

【請求項 28】

Salmonella typhi Ty21a 染色体に挿入された *Shigella flexneri* 3a の O 抗原生合成遺伝子領域を含む *Salmonella typhi* Ty21a であって、

a) 同種の *Salmonella typhi* の O 抗原と共に異種の *Shigella flexneri* 3a の O 抗原が安定して発現され、

b) 毒性 *Shigella flexneri* 3a の攻撃感染に対して免疫防御が誘発され、

c) 毒性 *Salmonella typhi* の攻撃感染に対して免疫防御が誘発される、
Salmonella typhi Ty 2 1 a。

【請求項 2 9】

請求項 1 ~ 8 及び 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の *Salmonella typhi* Ty 2 1 a を生理学的に許容可能な担体と組み合わせて含む、組成物。

【請求項 3 0】

請求項 1 ~ 8 及び 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の *Salmonella typhi* Ty 2 1 a を生理学的に許容可能な担体と組み合わせて含むワクチン。

【請求項 3 1】

少なくとも 1 つの細菌性感染を予防又は治療するための医薬組成物であって、請求項 1 ~ 8 及び 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の *Salmonella typhi* Ty 2 1 a を含む、前記 医薬組成物。

【請求項 3 2】

遺伝子領域が部分的に又は完全に化学合成される、請求項 1 ~ 8 及び 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の *Salmonella typhi* Ty 2 1 a。

【請求項 3 3】

DNA 配列が部分的に又は完全に化学合成される、請求項 9 に記載のプラスミド構築物。

【請求項 3 4】

タンパク質 - LPS コンジュゲート生成物を化学的に製造するために設計されている細菌株での、O 抗原生合成遺伝子領域の使用。

【請求項 3 5】

全細胞細菌ワクチンにおいて使用するための、請求項 1 2 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

弱毒化された生きた *Salmonella* 株、*Shigella* 株、*Listeria* 株、*Yersinia* 株、*Escherichia coli* 株、*Enterobacteriaceae* 株、原生動物株、又は別のベクター化生ワクチンにおいて使用するのための、請求項 1 2 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。