

【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】令和 2 年 5 月 7 日 (2020.5.7)

【公表番号】特表 2019-509750 (P2019-509750A)

【公表日】平成 31 年 4 月 11 日 (2019.4.11)

【年通号数】公開・登録公報 2019-014

【出願番号】特願 2018-551252 (P2018-551252)

【国際特許分類】

C 1 2 N 7/04 (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 N 15/63 (2006.01)

A 6 1 K 39/12 (2006.01)

A 6 1 K 39/215 (2006.01)

A 6 1 K 39/193 (2006.01)

A 6 1 P 31/14 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 7/04

C 1 2 N 1/15 Z N A

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/63 Z

A 6 1 K 39/12

A 6 1 K 39/215

A 6 1 K 39/193

A 6 1 P 31/14

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 3 月 27 日 (2020.3.27)

【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】

生弱毒化組換えアルファウイルスであって、

(i) 不活性化されたサブゲノムプロモーター、及び

(i i) 非構造タンパク質 4 (n s P 4) コード配列の末端の 1 つと前記アルファウイルスのサブゲノム R N A コード配列の開始 A U G との間に、内部リボソーム侵入部位 (I R E S) の挿入を有するアルファウイルス核酸を含み、

少なくとも 1 つのウイルス I R E S は、生存可能な弱毒化アルファウイルスを産生することができる I 型または I I 型ピコルナウイルス I R E S または他の I R E S 配列を含む前記生弱毒化組換えアルファウイルス。

【請求項 2】

前記 I R E S 配列は、エンテロウイルス I R E S 、エンテロウイルス 7 1 I R E S (

EV71 IRES)、ライノウイルスIRES、ヒトラノウイルスIRES(HRV IRES)、アフトウイルスIRES、アフトウイルス：サブタイプ：口蹄疫ウイルス(FMDV IRES)、テロウイルスIRES(TMEV IRES)、及びフラビウイルスIRES、フラビウイルスサブタイプ：ヘパシウイルス(HCV IRES)からなる群から選択され、

前記アルファウイルスは弱毒化される、請求項1に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項3】

前記サブゲノムプロモーターは、前記非構造タンパク質4(nsp4)コード配列の末端とサブゲノムRNAコード配列の開始AUGとの間の前記サブゲノムRNAの5'UTRの欠失により不活性化される、請求項1または2に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項4】

前記サブゲノムプロモーターは、前記アルファウイルスの非構造タンパク質4の前記カルボキシ末端に位置するクラスター化点突然変異によって不活性化される、請求項1または2に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項5】

前記生アルファウイルスは、チクングニヤウイルス(CHIK)、オニオンニオンウイルス、ロスリバーウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、またはコロナウイルス科及びトガウイルス科の他のアルファウイルス、ベパールウイルス、マヤロウイルス、サブタイプ：ウナウイルス、オニオンニオンウイルス：サブタイプ：イボ-オラウイルス(Igbo-Ora virus)、ロスリバーウイルス：サブタイプ：ベパールウイルス、サブタイプ：ゲッタウイルス；サブタイプ：サギヤマウイルス、セムリキ森林ウイルス：サブタイプ：Me Triウイルスを含むセムリキ森林ウイルス複合体、及びそれらの組み合わせの1つ以上を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項6】

前記クラスター化点突然変異は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、及び配列番号5からなる群から選択される少なくとも1つのポリヌクレオチド配列の7474、7477、7480、7481、7483、7486、7489、7492、7495、7498、7501、7502、及び7503の位置に2つ以上の点突然変異を含む同義の点突然変異である請求項4に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項7】

前記サブゲノムプロモーターの前記突然変異は、非構造タンパク質4の前記カルボキシ末端の前記アミノ酸配列を改変しない、請求項3、4または6に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項8】

前記アルファウイルスの前記非構造タンパク質のいずれか1つに適応変異をさらに含み、
前記適応変異は、ウイルス複製、放出、及びウイルス力価の増加のために選択され得る請求項1～7のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項9】

前記IRESは、エンテロウイルス71IRES(EV71 IRES)を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項10】

前記IRESは、ヒトラノウイルスIRES(HRV IRES)を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項11】

前記IRESは、口蹄疫ウイルスIRES(FMDV IRES)を含む請求項1～8のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項12】

前記IRESは、テロウイルスIRES(TMEV IRES)を含む、請求項1～8

のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項 13】

前記 IRES は、ヘパシウイルス IRES (HCV IRES) を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項 14】

前記アルファウイルスは、チクングニヤウイルスである請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項 15】

前記アルファウイルスは、東部ウマ脳炎ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、または西洋ウマ脳炎ウイルスである請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項 16】

前記アルファウイルスは、蚊及び蚊細胞において複製することができない請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の生弱毒化アルファウイルスをコードするヌクレオチド配列を含むベクター。

【請求項 18】

請求項 17 に記載の前記ベクターを含み、発現する宿主細胞。

【請求項 19】

請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の弱毒化組換えアルファウイルス、及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 20】

前記アルファウイルスへの曝露から前記アルファウイルスへの感染の発症を減少させるために、対象において免疫応答を誘導するための、請求項 19 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

前記対象は、ヒト、家畜、または他の飼育動物またはペットである請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

蚊に感染することができない、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の生弱毒化組換えアルファウイルスを製造する方法であって、非構造タンパク質 4 (nsP4) コード配列の一端と前記アルファウイルスのサブゲノム RNA コード配列の開始 AUG との間に、エンテロウイルス IRES、ライノウイルス IRES、アフトウイルス IRES、アフトウイルス：IRES、及びフラビウイルス IRES からなる群から選択される内部リボソーム進入部位 (IRES) をクローニングすることを含む方法。

【請求項 23】

前記アルファウイルスは、前記サブゲノムプロモーターを不活性化することによりさらに弱毒化される請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記 IRES は、EV71 IRES、HRV IRES、FMDV IRES、TM
EV IRES、または HCV IRES を含む請求項 22 または 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記生弱毒化組換えアルファウイルスは、チクングニヤウイルス (CHIK)、オニオンニオンウイルス、ロスリバーウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、またはコロナウイルス科及びトガウイルス科の他のアルファウイルス、ベパールウイルス、マヤロウイルス、サブタイプ：ウナウイルス、オニオンニオンウイルス：サブタイプ：イボ - オラウイルス、ロスリバーウイルス：サブタイプ：ベパールウイルス、サブタイプ：ゲッタウイルス；サブタイプ：サギヤマウイルス、セムリキ森林ウイルス：サブタイプ：Me Tr i ウイルスを含むセムリキ森林ウイルス複

合体、及びそれらの組み合わせの1つ以上を含む請求項2 2または2 3に記載の方法。

【請求項 2 6】

キットであって、

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の少なくとも1つの生弱毒化組換えアルファウイルス、及び

少なくとも1つの容器を含む前記キット。

【請求項 2 7】

1つ以上の安定剤を含む組成物をさらに含み、

前記組成物は、生弱毒化組換えアルファウイルスの不活性化を減少させる、請求項2 6に記載のキット。

【請求項 2 8】

生弱毒化組換えアルファウイルスであって、

a) エンベロープ糖タンパク質遺伝子の下流にあり、前記アルファウイルスの前記 3' UTR の上流に配置されたキャプシド遺伝子、

b) 前記エンベロープ糖タンパク質遺伝子の 3' 末端と前記配置されたキャプシド遺伝子との間に導入された、少なくとも1つのIRESで、前記遺伝子は、エンベロープ糖タンパク質遺伝子、挿入IRES、配置されたキャプシド遺伝子、及び3' UTRとして、5' から3' に位置し、また、

c) 前記IRESの上流に位置する前記エンベロープ糖タンパク質遺伝子は、IRES非依存的な様式で翻訳され、一方、前記配置されたキャプシドはIRES依存的に翻訳され、

前記少なくとも1つのウイルスIRESは、生存可能な生弱毒化アルファウイルスを産生することができるI型またはII型ピコルナウイルスIRESまたは他のIRES配列である、生弱毒化組換えアルファウイルス。

【請求項 2 9】

前記IRES配列は、エンテロウイルスIRES、ライノウイルスIRES、アフトウイルスIRES、タイロウイルスIRES、及びフラビウイルスIRESからなる群より選択され、前記アルファウイルスは、弱毒化されている、請求項2 8に記載の生弱毒化組換えアルファウイルス。

【請求項 3 0】

前記IRESは、エンテロウイルス71IRES (EV71 IRES)、ヒトラノウイルスIRES (HRV IRES)、口蹄疫ウイルスIRES (FMDV IRES)、タイロウイルスIRES (TMENV IRES)、またはヘパシウイルスIRES (HCV IRES)を含む請求項2 8または2 9に記載の生弱毒化組換えアルファウイルス。

【請求項 3 1】

前記生弱毒化組換えアルファウイルスは、チクングニヤウイルス(CHIK)、オニオンニオンウイルス、ロスリバーウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、またはコロナウイルス科及びトガウイルス科の他のアルファウイルス、ベパールウイルス、マヤロウイルス、サブタイプ：ウナウイルス、オニオンニオンウイルス：サブタイプ：イボ-オラウイルス、ロスリバーウイルス：サブタイプ：ベパールウイルス、サブタイプ：ゲッタウイルス；サブタイプ：サギヤマウイルス、セムリキ森林ウイルス：サブタイプ：Me Tr iウイルスを含むセムリキ森林ウイルス複合体、及びそれらの組み合わせの1つ以上を含む、請求項2 8 ~ 3 0のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【請求項 3 2】

前記生弱毒化アルファウイルスは、チクングニヤウイルス(CHIKV)である請求項2 8 ~ 3 1のいずれか一項に記載の弱毒化アルファウイルス。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 1 7

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 1 7 】

配列の簡単な説明

配列番号 1 は、CHIKV - EV71 IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、
 配列番号 2 は、CHIKV - HRV2 IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配
 列番号 3 は、CHIKV - FMDV IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配
 列番号 4 は、CHIKV - TMEM IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配
 列番号 5 は、CHIKV - HCV IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配
 列番号 6 は、EV71 IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 7 は、HRV2
 IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 8 は、FMDV IRES のポリ
 ヌクレオチド配列の例であり、配列番号 9 は、TMEM IRES のポリヌクレオチド配
 列の例であり、配列番号 10 は、HCV IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、
 配列番号 11 は、CHIKV - HAV IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配
 列番号 12 は、CHIKV - FGF1 IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配
 列番号 13 は、HAV IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 14 は、
 FGF1 IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 15 は、本明細書に開
 示される特定の実施形態において使用されるプライマーのポリヌクレオチド配列の例であ
 り、配列番号 16 は、本明細書に開示される特定の実施形態において使用されるプライマ
 ーのポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 17 は、本明細書に開示される特定の実
 施形態において使用されるプローブのポリヌクレオチド配列の一例であり、配列番号 18
 は、CHIK - IRES のいくつかの構造ポリペプチドを表し、配列番号 19 は、CHIK
 - IRES 非構造ポリペプチドの非構造ポリペプチドを表し、また、配列番号 20 は、
 EMCV - IRES のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 21 は、VEEV Z
 PC938 フラグメント野生型のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 22 は、V
 EEV ZPC938 フラグメント野生型のポリペプチド配列の例であり、配列番号 23
 は、VEEV ZPC938 フラグメント突然変異体のポリヌクレオチド配列の例であり
 、配列番号 24 は、VEEV 68U201 フラグメント野生型のポリヌクレオチド配列
 の例であり、配列番号 25 は、VEEV 68U201 フラグメント野生型のポリペプチ
 ド配列の例であり、配列番号 26 は、VEEV 68U201 フラグメント突然変異体の
 ポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 27 は、WE EV Imp181 フラグメン
 ト野生型のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 28 は、WE EV Imp181
 フラグメント野生型のポリペプチド配列の例であり、配列番号 29 は、WE EV Imp
 181 フラグメント突然変異体のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 30 は、E
 EV FL93 - 939 フラグメント野生型のポリヌクレオチド配列の例であり、配
 列番号 31 は、EE EV FL93 - 939 フラグメント野生型のポリペプチド配列の例で
 あり、配列番号 32 は、EE EV FL93 - 939 フラグメント突然変異体のポリヌク
 レオチド配列の例であり、配列番号 33 は、CHIKV LaReunion フラグメン
 ト野生型のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 34 は、CHIKV LaReu
 nion フラグメント野生型のポリペプチド配列の例であり、配列番号 35 は、CHIK
 V LaReunion フラグメント突然変異体のポリヌクレオチド配列の例である。