

【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

(ii) 非構造タンパク質4(nsp4)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RNAコード配列の開始AUGとの間に、内部リボソーム侵入部位(IRES)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IRES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II型ピコルナウイルスIRESまたは他のIRES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IRES配列は、エンテロウイルスIRES、エンテロウイルス71 IRES(

E V 7 1 I R E S ) 、ライノウイルス I R E S 、ヒトライノウイルス I R E S ( H R V I R E S ) 、アフトウイルス I R E S 、アフトウイルス：サブタイプ：口蹄疫ウイルス ( F M D V I R E S ) 、テロウイルス I R E S ( T M E V I R E S ) 、及びフラビウイルス I R E S 、フラビウイルスサブタイプ：ヘパシウイルス ( H C V I R E S ) 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 ( n s P 4 ) コード配列の末端とサブゲノム R N A コード配列の開始 A U G との間の前記サブゲノム R N A の 5 ' U T R 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 ( C H I K ) 、オニヨンニヨンウイルス、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、ベバールウイルス、マヤロウイルス、サブタイプ：ウナウイルス、オニヨンニヨンウイルス：サブタイプ：イボ - オラウイルス ( I g b o - O r a v i r u s ) 、ロスリバーウイルス：サブタイプ：ベバールウイルス、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：M e T r 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 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 7 4 7 4 、 7 4 7 7 、 7 4 8 0 、 7 4 8 1 、 7 4 8 3 、 7 4 8 6 、 7 4 8 9 、 7 4 9 2 、 7 4 9 5 、 7 4 9 8 、 7 5 0 1 、 7 5 0 2 、及び 7 5 0 3 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变しない、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 I R E S は、エンテロウイルス 7 1 I R E S ( E V 7 1 I R E S ) 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 I R E S は、ヒトライノウイルス I R E S ( H R V I R E S ) 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 I R E S は、口蹄疫ウイルス I R E S ( F M D V I R E S ) 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 I R E S は、テロウイルス I R E S ( T M E V I R E S ) 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 1 3】

前記 I R E S は、ヘパシウイルス I R E S ( H C V I R E S ) 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 1 4】

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 ~ 1 3 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 1 5】

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 ~ 1 3 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 1 6】

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 ~ 1 5 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 1 7】

請求項 1 ~ 1 5 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 1 8】

請求項 1 7 に記載の前記ベクターを含み、発現する宿主細胞。

【請求項 1 9】

請求項 1 ~ 1 6 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 2 0】

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 1 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 1】

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 2 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

蚊に感染することができない、請求項 1 ~ 1 6 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 ( n s P 4 ) 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 R N A コード配列の開始 A U G との間に、

エンテロウイルス I R E S 、ライノウイルス I R E S 、アフトウイルス I R E S 、アフトウイルス : I R E S 、及びフラビウイルス I R E S からなる群から選択される内部リボソーム進入部位 ( I R E S ) をクローニングすることを含む方法。

【請求項 2 3】

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 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記 I R E S は、 E V 7 1 I R E S 、 H R V I R E S 、 F M D V I R E S 、 T M E V I R E S 、または H C V I R E S を含む請求項 2 2 または 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

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 ( C H I K ) 、オニヨンニヨンウイルス、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、ベバールウイルス、マヤロウイルス、サブタイプ : ウナウイルス、オニヨンニヨンウイルス : 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 : ベバールウイルス、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 : M e T r 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26】

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27】

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28】

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產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29】

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30】

前記IRESは、エンテロウイルス71IRES(EV71IRES)、ヒトライノウイルスIRES(HRVIRES)、口蹄疫ウイルスIRES(FMDVIRES)、タイロウイルスIRES(TMEVIRES)、またはヘパシウイルスIRES(HCVIRES)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31】

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)、オニヨンニヨンウイルス、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、ベバールウイルス、マヤロウイルス、サブタイプ：ウナウイルス、オニヨンニヨンウイルス：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：ベバールウイルス、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：MeTri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32】

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、 C H I K V - E V 7 1 I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 2 は、 C H I K V - H R V 2 I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 3 は、 C H I K V - F M D V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 4 は、 C H I K V - T M E V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 5 は、 C H I K V - H C V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 6 は、 E V 7 1 I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 7 は、 H R V 2 I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 8 は、 F M D V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 9 は、 T M E V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 10 は、 H C V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 11 は、 C H I K V - H A V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 12 は、 C H I K V - F G F 1 I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 13 は、 H A V I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 14 は、 F G F 1 I R E S 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、 C H I K - I R E S のいくつかの構造ポリペプチドを表し、配列番号 19 は、 C H I K - I R E S 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、 E M C V - I R E S のポリヌクレオチド配列の例であり、配列番号 21 は、 V E E V Z P C 9 3 8 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 E E V Z P C 9 3 8 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、 V E E V Z P C 9 3 8 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、 V E E V 6 8 U 2 0 1 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、 V E E V 6 8 U 2 0 1 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、 V E E V 6 8 U 2 0 1 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、 W E E V I m p 1 8 1 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、 W E E V I m p 1 8 1 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、 W E E V I m p 1 8 1 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 E E V F L 9 3 - 9 3 9 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、 E E E V F L 9 3 - 9 3 9 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、 E E E V F L 9 3 - 9 3 9 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、 C H I K V L a R e u n i o n 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、 C H I K V L a R e u n i o n 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、 C H I K V L a R e u n i o n 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。