

【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25年7月25日 (2013.7.25)

【公表番号】特表2012-532933(P2012-532933A)

【公表日】平成24年12月20日 (2012.12.20)

【年通号数】公開・登録公報2012-054

【出願番号】特願2012-520712(P2012-520712)

【国際特許分類】

A 6 1 K 39/12 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 39/02 (2006.01)

A 6 1 K 39/145 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/16 (2006.01)

A 6 1 K 9/50 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/74 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 39/12

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 3

A 6 1 K 39/02

A 6 1 K 39/145

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/16

A 6 1 K 9/50

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/74 D

【手続補正書】

【提出日】平成25年6月4日 (2013.6.4)

【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】

抗原を発現する遺伝子組み換え型の細菌を含む、被験体において抗原への免疫反応を引き起こすための組成物。

【請求項 2】

前記細菌が、マイクロカプセルへと調剤されることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

【請求項 3】

前記抗原が、細菌抗原またはウイルス抗原であることを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記細菌が、前記抗原を発現するDNAと複合化されることを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記細菌が、ラクトコッカス属であることを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記抗原が、鳥インフルエンザウイルス H5N1 の赤血球凝集素であることを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記抗原が、粘膜細胞膜の表面上のグリコシル化された分子を結合することができることを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記抗原が、キメラタンパク質であることを特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 9】

被験体において免疫反応を引き起こすための医薬として使用するための請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

被験体において免疫反応を引き起こすための医薬を調製するための請求項 1 に記載の組成物の使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0267

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0267】

プラスミドの構築及び形質転換

(Prof. Ze Chen, Wuhan, Chinaから快く供給された) pGEM-HAからHA遺伝子を含む 1704 bp断片を、下線を引いたNaeIまたはHindIIIの部位：5'-tctgccggcgagaaaatagtgcttctt-3' (配列番号 53)と、5'-cccaagctttaaatgcaaatctgcattgtaacg-3' (配列番号 54)を有する以下のプライマー対を使用して、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって増幅させた。PCR産物を配列決定した。結果として生じるNaeI/HindIII断片を、L. lactis-pHA (細胞質中で発現したHAタンパク質)、L. lactis-pSHA (分泌されたHAタンパク質) 及び L. lactis-pgsA-HA (HAタンパク質は細胞壁の表面に表示された) を含む、様々なベクターへとクローン化した。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0307

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0307】

F. 免疫学的技術

IBDV、HCV、PRRSV及びあらかじめ染色されたタンパク質標識 (board range, Bio-Rad) を、6Xローディングバッファー (30mMのトリス-Cl、pH6.8、30%のグリセロール、10%のSDS、600mMのジチオスレイトール、0.012%のプロモフェノールブルー) と混合し、10分間沸騰水浴中で変性させた。変性したウイルスタンパク質を、その後、垂直電気泳動装置 (Hofer Scientific Instruments) を備えた、ナトリウムドデシル硫酸塩-ポリアクリルアミドのゲル電気泳動法 (SDS-PAGE) によって分析した。サンプルを最初に、5%の濃縮用ゲル中に濃縮し、次に、12%の分離ゲル中で分離した。電気泳動を、タンパク質ランニングバッファー (protein running buffer) 中で、80Vで2.5時間実行した。ゲルを、クーマシーブルーで染色するか、又はウエスタンブロットのために使用した。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0341

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0341】

【表 2 2】

表 2 2					
対照群におけるマウスの IBDV 特異的 ELISA の読み取り					
群番号	マウスの コード	ELISA の読み取り			
		0日目	7日目	15日目	28日目
対照群 *	1	0.240	0.206	0.215	0.218
	2	0.417	0.417	0.316	0.284
	3	0.266	0.282	0.353	0.205
	4	0.333	0.254	0.206	0.222
	5	0.242	0.328	0.247	0.212

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0403

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0403】

< 実施例 7 >

ニワトリの病原ウイルスの分離及び特徴づけの実証

本実施例は、S-1 遺伝子の多様性に基づいた、ニワトリ伝染性気管支炎ウイルス (IBV) の異なる亜株の分離及び特徴づけを実証する。中国南部の異なる地理的地域から集められた、5つの領域性13V分離株は、PCR配列決定とともに特徴付けられた。IBVの全体のS-1遺伝子に隣接する1対のプライマーを、公開された配列データに従って設計し、推測されるPCR産物のサイズは、1760塩基対である。結果として生じるPCR産物を、pGEM-Tのイージーベクター (easy vector) へさらにサブクローン化し、配列決定させた。分離株間の遺伝的関係の分析は、中国南部の5つの分離株のS-1遺伝子の多様性が、非常に高かったことを示す。これらの5つの分離株の間のヌクレオチド変異は、8%~48%までの範囲であって、5つの分離株は、進化系統樹分析に従って、3つの群に分類され得る。2つの保存領域および2つの高頻度可変領域もまた、これらの分離株間で同定された。本実施例は、中国の異なる地域の養鶏場が、ワクチン接種の失敗を防ぐために、特定の地域のそれぞれの遺伝子型と一致したワクチン株でニワトリにワクチン接種するべきであることを示す。さらに、他の病原体の亜株は、本発明に従って、より有効なワクチンの調製及び投与に関して同定され得る。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0409

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0409】

S-1遺伝子の全体の配列を、3つのプライマー対（プライマー-1及びプライマー-2；IBV-F及びIBV-R；IBV-FOR及びIBV-REV）で配列決定することによって得た。S-1遺伝子の全体の配列を得るために、V1、V2、V3、V4及びV5の分離株に対するS-1遺伝子の800塩基対フラグメントを、RT-PCR増幅し、3つの陽性クローンを、pGEM-Tのイージーベクターへサブクローン化した。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2012532933000001.app