

【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23年9月29日(2011.9.29)

【公開番号】特開2011-97940(P2011-97940A)

【公開日】平成23年5月19日(2011.5.19)

【年通号数】公開・登録公報2011-020

【出願番号】特願2010-249581(P2010-249581)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/415 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

A 6 1 K 39/36 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/08 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/711 (2006.01)

G 0 1 N 30/88 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/415

C 1 2 P 21/02 C

A 6 1 K 39/36

A 6 1 P 37/04

A 6 1 K 39/00 G

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 P 37/08

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/711

G 0 1 N 30/88 2 0 1 R

【手続補正書】

【提出日】平成23年8月16日(2011.8.16)

【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】

オオアワガエリからの主要アレルゲン P h l p 1 の変異体であって、野生型と比較して追加の C y s 残基を有することを特徴とし、ここで追加の C y s 残基が、アミノ酸位置 1 4 0 よりも高い位置に位置することを特徴とする前記アレルゲン変異体。

【請求項 2】

追加の C y s 残基が、アミノ酸置換に由来することを特徴とする、請求項 1 に記載のアレルゲン変異体。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載のアレルゲン変異体をコードする D N A 分子。

【請求項 4】

請求項 1 または 2 に記載の組換え主要アレルゲン r P h l p 1 の変異体の製造方法であって、自体公知の方法により、

－C y s をコードする塩基トリプレットを、対応する遺伝子に、挿入または置換により導入すること、

－このように改変された遺伝子を、宿主生物で過剰発現させること、および

－過剰発現により得たアレルゲン変異体を精製すること、

を特徴とする、前記方法。

【請求項 5】

最初是不溶性である粗タンパク質を変性させ、次いで希釈により再生し、そして生化学的精製工程で精製することの特徴とする、可溶性形態での、請求項 4 に記載の組換え主要アレルゲン r P h l p 1 の変異体の製造および精製方法。

【請求項 6】

精製目的のための H i s タグを有する、過剰発現された、最初是不溶性である粗タンパク質から出発し、2 段階金属イオンキレートアフィニティークロマトグラフィーおよび H i s タグの除去を包含する、複数の生化学的精製工程を行うことの特徴とする、可溶性形態での、請求項 4 に記載の組換え主要アレルゲン r P h l p 1 の変異体の精製方法。

【請求項 7】

r P h l p 1－LM および r P h l p 1－HM の折り畳み形態で存在することの特徴とする、請求項 1 または 2 に記載のアレルゲン変異体。

【請求項 8】

請求項 1 または 2 に記載のアレルゲン変異体の折り畳み形態 r P h l p 1－LM であって、以下の処理工程：

－H i s タグを有する r P h l p 1 アレルゲンを、宿主生物において過剰発現させる工程、

－宿主生物から単離した封入体を、グアニジニウムクロリドを用いて変性させる工程、

－溶解したタンパク質を、キレートアフィニティークロマトグラフィーカラムで再生する工程、

－H i s タグを除去する工程、

－ゲルろ過工程

－さらなるキレートアフィニティークロマトグラフィー工程、

－標的タンパク質を流出液から単離する工程、

－ゲルろ過工程、

を行うことにより得ることができる、前記 r P h l p 1－LM。

【請求項 9】

請求項 1 または 2 に記載のアレルゲン変異体の折り畳み形態 r P h l p 1－HM であって、以下の処理工程：

－H i s タグを有する r P h l p 1 アレルゲンを、宿主生物において過剰発現させる工程、

－宿主生物から単離した封入体を、グアニジニウムクロリドを用いて変性させる工程、

－溶解したタンパク質を、キレートアフィニティークロマトグラフィーカラムで再生する工程、

－H i s タグを除去する工程、

－ゲルろ過工程

－さらなるキレートアフィニティークロマトグラフィー工程、

－標的タンパク質をイミダゾール勾配により溶出する工程、

－ゲルろ過工程、

を行うことにより得ることができる、前記 r P h l p 1－HM。

【請求項 10】

医薬としての、請求項 1、2 および 7～9 のいずれか一項に記載のアレルゲン変異体。

【請求項 11】

請求項 10 に記載のアレルゲン変異体の、オオアワガエリからの主要アレルゲン Ph l p 1 が誘発に関与しているアレルギーの、特異的免疫療法のための医薬の製造への使用。

【請求項 12】

請求項 10 に記載のアレルゲン変異体と、所望により、賦形剤および／または添加剤を含む、医薬組成物。

【請求項 13】

オオアワガエリからの主要アレルゲン Ph l p 1 が誘発に関与しているアレルギーの、免疫療法的 DNA ワクチン接種による処置のための、請求項 3 に記載の DNA 分子を含有する組換え DNA 発現ベクター。

【請求項 14】

請求項 13 に記載の発現ベクターの、オオアワガエリからの主要アレルゲン Ph l p 1 が誘発に関与しているアレルギーの、免疫療法的 DNA ワクチン接種による処置のための、医薬の製造への使用。

【請求項 15】

請求項 13 に記載の発現ベクターと、所望により、賦形剤および／または添加剤を含む、オオアワガエリからの主要アレルゲン Ph l p 1 が誘発に関与しているアレルギーの、免疫療法的 DNA ワクチン接種による処置のための、医薬組成物。