

【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28年5月12日(2016.5.12)

【公表番号】特表2015-527296(P2015-527296A)

【公表日】平成27年9月17日(2015.9.17)

【年通号数】公開・登録公報2015-058

【出願番号】特願2015-503322(P2015-503322)

【国際特許分類】

C 07 K	19/00	(2006.01)
C 12 N	7/00	(2006.01)
C 12 N	5/10	(2006.01)
C 12 N	15/09	(2006.01)
C 07 K	14/15	(2006.01)
C 07 K	14/005	(2006.01)
A 61 K	48/00	(2006.01)
A 61 K	35/76	(2015.01)
A 61 K	9/127	(2006.01)
A 61 K	47/42	(2006.01)
A 61 K	31/7105	(2006.01)
A 61 K	31/713	(2006.01)

【F I】

C 07 K	19/00	Z N A
C 12 N	7/00	
C 12 N	5/00	1 0 2
C 12 N	15/00	A
C 07 K	14/15	
C 07 K	14/005	
A 61 K	48/00	
A 61 K	35/76	
A 61 K	9/127	
A 61 K	47/42	
A 61 K	31/7105	
A 61 K	31/713	

【手続補正書】

【提出日】平成28年3月14日(2016.3.14)

【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】

ウイルス様粒子(VLP)であって、

a. 組み換え型ポリヌクレオチドを有するアルファウイルスレブリコンと、

b. レトロウイルスのgagタンパク質と、

c. 融合エンベロープタンパク質と

を有し、前記VLPはアルファウイルス構造タンパク質遺伝子を含まないウイルス様粒子(VLP)。

【請求項 2】

請求項 1 記載の VLP において、前記アルファウイルスレプリコンはシンドビスウイルスまたはベネズエラウマ脳炎ウイルスに由来するものである VLP。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 記載の VLP において、前記アルファウイルスレプリコンは、
a. シンドビスウイルスまたはベネズエラウマ脳炎ウイルス非構造タンパク質 NSP 1
、NSP 2、NSP 3、および NSP 4 と、
b. レトロウイルスパッケージングシグナルと
をコードする配列を有するポリヌクレオチドを有するものである VLP。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載の VLP において、前記レトロウイルスの gag タンパク質は、ラウス肉腫ウイルスまたはマウス白血病ウイルスのゲノム配列を有するポリヌクレオチドによってコードされるものである VLP。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載の VLP において、前記融合エンベロープタンパク質は、ヘマグルチニン、ラウス肉腫ウイルス融合タンパク質、ダニ媒介性脳炎ウイルスおよびデング熱ウイルスの E タンパク質、セムリキ森林ウイルスの E 1 タンパク質、バキュロウイルス g p 6 4 、 VSV - Envelope 、および VSV - G タンパク質から成る群から選択されるエンベロープタンパク質をコードするゲノム配列を有するポリヌクレオチドによってコードされるものである VLP。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の VLP において、前記 VLP は真核細胞と結合することが可能である VLP。

【請求項 7】

請求項 1 記載の VLP において、前記レプリコンは真核細胞において複製されるものである VLP。

【請求項 8】

請求項 1 記載の VLP において、前記 VLP は宿主細胞に細胞変性をもたらさないものである VLP。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の VLP において、前記アルファウイルスレプリコンは、前記組み換え型ポリヌクレオチドに操作可能に結合したウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼのプロモーターを有するものである VLP。

【請求項 10】

請求項 1 記載の VLP において、前記組み換え型ポリヌクレオチドは、アンチセンス RNA 、 shRNA 、または miRNA をコードし、前記アンチセンス RNA 、 shRNA 、または miRNA は、前記細胞において遺伝子の発現をノックダウンするものである VLP。

【請求項 11】

請求項 1 記載の VLP において、前記組み換え型ポリヌクレオチドはタンパク質に翻訳されることが可能な RNA を有するものである VLP。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 つに記載の VLP を產生する方法であって、
a. 真核細胞を同時形質転換する工程であって、
i. 前記アルファウイルスレプリコンをコードするポリヌクレオチド配列を有する第 1 のベクターであって、前記アルファウイルスレプリコンが目的のポリヌクレオチドを含むものである第 1 のベクターと、
ii. 前記レトロウイルスの gag タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を有する第 2 のベクターと、
iii. 前記融合エンベロープタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を有す

る第3のベクターと

により真核細胞を同時形質転換する、前記同時形質転換する工程と、

b. 各々のベクターがそのコードする産物を産生させるのに適した条件下で前記同時形質転換した細胞を培養し、それにより前記VLPを産生する工程と、

c. 前記細胞から前記VLPを単離する工程と

を有し、前記ベクターおよび前記細胞はいかなるアルファウイルス構造タンパク質遺伝子を含まない方法。

【請求項13】

真核細胞において少なくとも1つの組み換え型ポリヌクレオチドを発現する方法であって、請求項1～11のいずれか1つに記載のVLPを細胞に接触させる工程を有する方法。

【請求項14】

請求項1～11のいずれか1つに記載のVLPを有する医薬組成物。

【請求項15】

真核細胞であって、

a. アルファウイルスレブリコンをコードするポリヌクレオチド配列を有するプラスミドであって、前記アルファウイルスレブリコンが目的のポリヌクレオチドを含むものであるプラスミドと、

b. gagタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を有するプラスミドと、

c. 異種融合エンベロープタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を有するプラスミドと

を有し、前記プラスミドおよび前記細胞はアルファウイルス構造タンパク質をコードする遺伝子を含まない真核細胞。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

ターゲティングの特異性が欠如しているため、遺伝子治療の分野においてアルファウイルスの使用には限界がある。しかしながら、E2の構造の非保存ループの可変抗体領域の導入を通し、特定の細胞集団が標的とされる。さらにまた、いくつかの内在性アルファウイルスタンパク質が感染においてアポトーシスの誘導に関与しているので、また、アルファウイルスカプシドが宿主細胞へのmRNAの一過性導入のみを介して行われるので、遺伝子治療の場合、全てのアルファウイルスの使用は限られた有効性しか持たない。これらの限界のどちらも、レトロウイルスまたはレンチウイルスのアルファウイルスエンベロープの偽型には及ばない。

この出願の発明に関連する先行技術文献情報としては、以下のものがある（国際出願日以降国際段階で引用された文献及び他国に国内移行した際に引用された文献を含む）。

（先行技術文献）

（特許文献）

（特許文献1）米国特許出願公開第2011/0250675号明細書

（特許文献2）米国特許出願公開第2008/0118956号明細書

（特許文献3）米国特許第6,541,010号明細書

（特許文献4）米国特許第6,783,939号明細書

（特許文献5）米国特許第7,425,337号明細書

（特許文献6）国際公開第2008/115199号

（非特許文献）

（非特許文献1）Harvey et al., Kunjin Virus Replicon Vectors for Human Immunodeficiency

y Virus Vaccine Development JOURNAL OF VIROLOGY, July 2003, p. 7796-7803

(非特許文献2) Kaczmarczyk Protein delivery using engineered virus-like particles PNAS October 11, 2011 pp. 16998-17003

(非特許文献3) Frolov et al. ; "Selection of RNA Replicons Capable of Persistent Noncytopathic Replication in Mammalian Cells" ; Journal of Virology ; May 1999 ; Vol. 73 No. 5 ; p. 3854-3865

(非特許文献4) Xiong et al. ; "Sindbis virus: an efficient, broad host range vector for gene expression in animal cells" ; Science ; March 3, 1989 ; Vol. 243 No. 4895 ; p. 1188-1191

(非特許文献5) Bredenbeek et al. ; Sindbis Virus Expression Vectors: Packaging of RNA Replicons by Using Defective Helper RNAs" ; Journal of Virology ; November 1993 ; Vol. 67 No. 11 ; p. 6439-6446

(非特許文献6) Piver et al. ; "Mobilization of Full-Length Semliki Forest Virus Replication by Retrovirus Particles" ; Journal of Virology ; October 2006 ; Vol. 80 No. 19 ; p. 9889-9895

(非特許文献7) Jurgens et al. ; "A Novel Self-Replicating Chimeric Lentivirus-Like Particle" ; Journal of Virology ; January 2012 ; Vol. 86 No. 1 ; p. 246-261

(非特許文献8) Schell et al. ; "Significant Protection against High-Dose Simian Immunodeficiency Virus Challenge Conferred by a New Prime-Booster Vaccine Regimen" ; Journal of Virology ; June 2011 ; Vol. 85 No. 12 ; p. 5764-5772

(非特許文献9) Li et al. ; "Production of infectious recombinant Moloney murine leukemia virus particles in BHK cells using Semliki Forest virus-derived RNA expression vectors" ; Proc. Natl. Acad. Sci. ; October 1996 ; Vol. 93 ; p. 11658-11663

(非特許文献10) Diatt et al. ; "Semliki Forest virus-derived virus-like particles: characterization of their production and transduction pathways" ; Journal of General Virology ; November 2005 ; Vol. 86 ; p. 3129-3136