

【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 18 年 1 月 19 日 (2006.1.19)

【公表番号】特表 2005-510244 (P2005-510244A)

【公表日】平成 17 年 4 月 21 日 (2005.4.21)

【年通号数】公開・登録公報 2005-016

【出願番号】特願 2003-547621 (P2003-547621)

【国際特許分類】

**C 1 2 N 15/09 (2006.01)**

**A 6 1 K 35/76 (2006.01)**

**A 6 1 K 39/00 (2006.01)**

**A 6 1 K 39/12 (2006.01)**

**A 6 1 P 31/14 (2006.01)**

**A 6 1 P 35/00 (2006.01)**

**C 1 2 N 5/10 (2006.01)**

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 39/00 Z

A 6 1 K 39/12

A 6 1 P 31/14

A 6 1 P 35/00

C 1 2 N 5/00 B

【手続補正書】

【提出日】平成 17 年 11 月 25 日 (2005.11.25)

【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】

( i ) 感染性ウイルスを産生することができないフラビウイルスレプリコンをコードし、前記フラビウイルスレプリコンが 1 つまたは複数の変異フラビウイルス非構造タンパク質をコードするヌクレオチド配列と、

( i i ) 異種核酸の挿入部位と、

( i i i ) 前記フラビウイルスレプリコンをコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーターと、

( i v ) 少なくとも 1 つの自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列とを含む、発現ベクター。

【請求項 2】

2 つの自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列を含み、少なくとも 2 つの前記自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列の第 1 の配列が、前記挿入部位の 5 ' に存在し、少なくとも 2 つの前記自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列の第 2 の配列が、前記挿入部位の 3 ' に存在する、請求項 1 の発現ベクター。

【請求項 3】

前記自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列が、それぞれ口蹄疫ウイルス 2 A 自己プロテアーゼをコードする、請求項 1 の発現ベクター。

**【請求項 4】**

前記 ( i ) 中の変異フラビウイルス非構造タンパク質が、

( i ) プロリン 250 のロイシンへの変異を有する非構造タンパク質 NS 1、

( i i ) アラニン 30 のプロリンの変異を有する非構造タンパク質 NS 2 A、

( i i i ) アスパラギン 101 のアスパラギン酸の変異を有する非構造タンパク質 NS 2 A、および

( i v ) プロリン 270 のセリンへの変異を有する非構造タンパク質 NS 5

からなる群から選択される、請求項 1 の発現ベクター。

**【請求項 5】**

C タンパク質の最初の 20 個のアミノ酸 ( C 20 ) および E タンパク質の最後の 22 個のアミノ酸 ( E 22 ) をそれぞれコードするヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 1 の発現ベクター。

**【請求項 6】**

前記レプリコンが、NS 1、NS 2 A、NS 2 B、NS 3、NS 4 A、NS 4 B、および NS 5 から選択される野生型非構造フラビウイルスタンパク質をそれぞれコードする 1 つまたは複数のヌクレオチド配列を含む、請求項 1 の発現ベクター。

**【請求項 7】**

前記レプリコンがクンジンウイルスに由来する、請求項 1 の発現ベクター。

**【請求項 8】**

SP6KUNrep5 または pKUNrep5 である、請求項 1 の発現ベクター。

**【請求項 9】**

SP6KUNrep6 または pKUNrep6 である、請求項 2 の発現ベクター。

**【請求項 10】**

( i ) 感染性ウイルスを産生することができないフラビウイルスレプリコンをコードし、前記フラビウイルスレプリコンが 1 つまたは複数の変異フラビウイルス非構造タンパク質をコードするヌクレオチド配列と、

( i i ) 異種核酸と、

( i i i ) 前記フラビウイルスレプリコンをコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーターと、

( i v ) 少なくとも 1 つの自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列とを含む、発現構築物。

**【請求項 11】**

少なくとも 2 つの自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列を含み、少なくとも 1 つの前記自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列の第 1 の配列が、前記異種核酸の 5' に存在し、少なくとも 1 つの前記自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列の第 2 の配列が、前記異種核酸の 3' に存在する、請求項 10 の発現構築物。

**【請求項 12】**

前記自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列が、それぞれ口蹄疫ウイルス 2 A 自己プロテアーゼをコードする、請求項 10 の発現ベクター。

**【請求項 13】**

前記 ( i ) 中の変異フラビウイルス非構造タンパク質が、

( i ) プロリン 250 のロイシンへの変異を有する非構造タンパク質 NS 1、

( i i ) アラニン 30 のプロリンの変異を有する非構造タンパク質 NS 2 A、

( i i i ) アスパラギン 101 のアスパラギン酸の変異を有する非構造タンパク質 NS 2 A、および

( i v ) プロリン 270 のセリンへの変異を有する非構造タンパク質 NS 5 からなる群から選択される、請求項 10 の発現構築物。

**【請求項 14】**

C タンパク質の最初の 20 個のアミノ酸 ( C 20 ) および E タンパク質の最後の 22 個のアミノ酸 ( E 22 ) をそれぞれコードするヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 10

の発現構築物。

【請求項 15】

NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B、およびNS5から選択されるフラビウイルス野生型非構造タンパク質をそれぞれコードするヌクレオチド配列をさらに含む、請求項10の発現構築物。

【請求項 16】

前記フラビウイルスレプリコンがクンジンウイルスに由来する、請求項15の発現構築物。

【請求項 17】

前記異種核酸が、免疫原性タンパク質をコードする、請求項10の発現構築物。

【請求項 18】

前記免疫原が、1つまたは複数のエピトープ配列YPHFMP TNL、RPQASGVYM、TYQRT RALOV、SYIPSAEKI、およびSIIINF EKLを有するマウスポリエピトープタンパク質である、請求項17の発現構築物。

【請求項 19】

前記免疫原性タンパク質がHIV gagタンパク質である、請求項17の発現構築物。

【請求項 20】

RNA構築物である、請求項10の発現構築物。

【請求項 21】

RNA LeuMpt、RNA Prompt、またはKUNRNA gagである、請求項20の発現構築物。

【請求項 22】

DNA構築物である、請求項10の発現構築物。

【請求項 23】

DNA LeuMpt、DNA Prompt、またはKUNDNA gagである、請求項22の発現構築物。

【請求項 24】

請求項10の発現構築物を含む、宿主細胞。

【請求項 25】

(i) 請求項10の発現構築物と、

(ii) 前記発現構築物のフラビウイルスウイルス様粒子(VLP)へのパッケージングを容易にする1つまたは複数のタンパク質を発現することができる少なくとも別の発現構築物とを含む、発現系。

【請求項 26】

前記別の発現構築物が、セムリキ森林熱ウイルス(SFV)またはシンドビスウイルス(SIN)に由来する、請求項25の発現系。

【請求項 27】

SFVに由来する、請求項26の発現系。

【請求項 28】

SFVの変異nsP2遺伝子をさらに含む、請求項26の発現系。

【請求項 29】

前記SFVの変異nsP2遺伝子がロイシン713のプロリンへの置換をコードする、請求項28の発現系。

【請求項 30】

前記少なくとも別の発現構築物が、SFVMEC/L713P/Neo、pSFV3L713PLacZNeo、またはSFVMEC/L713Pである、請求項29の発現系。

【請求項 31】

SFVMEC/L713P/Neo、pSFV3L713PLacZNeo、またはS

F V M E C / L 7 1 3 から選択される少なくとも別の発現構築物を含む、宿主細胞。

【請求項 3 2】

S F V M E C / L 7 1 3 P / N e o または p S F V 3 L 7 1 3 P L a c Z N e o によって安定にトランスフェクトされた B H K 2 1 細胞である、請求項 3 1 の宿主細胞。

【請求項 3 3】

請求項 1 0 の発現構築物をさらに含む、請求項 3 1 の宿主細胞。

【請求項 3 4】

異種免疫原性タンパク質をコードする R N A を含む 1 つまたは複数の V L P を産生する、請求項 3 3 の宿主細胞。

【請求項 3 5】

D N A 発現構築物および薬学的に許容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤を含むワクチンであって、前記 D N A 発現構築物からの R N A は動物細胞で転写可能であり、前記転写可能な R N A が、

( i ) 感染性ウイルスを産生することができないフラビウイルスレプリコンと、

( i i ) 異種免疫原性タンパク質と

をコードする、動物に投与すると防御的 T 細胞応答を誘発することができるワクチン。

【請求項 3 6】

D N A 発現構築物から転写可能な R N A および薬学的に許容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤を含むワクチンであって、前記 R N A が、

( i ) 感染性ウイルスを産生することができないフラビウイルスレプリコンと、

( i i ) 異種免疫原性タンパク質と

をコードする、動物に投与すると防御的 T 細胞応答を誘発することができるワクチン。

【請求項 3 7】

前記 D N A 発現構築物が、

( i ) 感染性ウイルスを産生することができないフラビウイルスレプリコンをコードし、前記フラビウイルスレプリコンが 1 つまたは複数の変異フラビウイルス非構造タンパク質をコードする D N A 配列と、

( i i ) 前記免疫原性タンパク質をコードする異種 D N A と、

( i i i ) 動物細胞中で作動可能であり、且つフラビウイルスレプリコンをコードする D N A 配列に作動可能に連結されたプロモーターと、

( i v ) 少なくとも 1 つの自己プロテアーゼをコードするヌクレオチド配列とを含む、請求項 3 5 または 3 6 のワクチン。

【請求項 3 8】

前記フラビウイルスレプリコンがクンジンウイルスレプリコンである、請求項 3 5 または 3 6 のワクチン。

【請求項 3 9】

前記 T 細胞応答が C T L 応答である、請求項 3 5 または 3 6 のワクチン。

【請求項 4 0】

前記 C T L 応答が、長期エフェクター C D 8 + T 細胞応答によって特徴付けられる、請求項 3 9 のワクチン。

【請求項 4 1】

前記免疫原性タンパク質がウイルスタンパク質である、請求項 4 0 のワクチン。

【請求項 4 2】

前記ウイルスタンパク質が H I V g a g である、請求項 4 1 のワクチン。

【請求項 4 3】

前記動物が哺乳動物である、請求項 3 5 または 3 6 のワクチン。

【請求項 4 4】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 4 3 のワクチン。

【請求項 4 5】

動物に投与すると防御的 T 細胞応答を誘発することができ、請求項 1 6 の発現系によっ

て産生される１つまたは複数のVLPを含むワクチンであって、前記VLPが異種免疫原性タンパク質をコードするRNAを含むワクチン。

【請求項４６】

前記免疫原性タンパク質がウイルスタンパク質である、請求項４５のワクチン。

【請求項４７】

前記ウイルスタンパク質がHIV gagである、請求項４６のワクチン。

【請求項４８】

請求項３５、３６又は４５のワクチンを動物に投与し、それにより前記動物に免疫が誘導されるステップを含む、動物の免疫化方法。

【請求項４９】

前記免疫が抗体によって媒介される免疫である、請求項４８の方法。

【請求項５０】

前記Ｔ細胞免疫が、CD８＋細胞傷害性リンパ球（CTL）応答によって特徴付けられる、請求項４８の方法。

【請求項５１】

前記Ｔ細胞免疫が、長期エフェクターCD８＋CTL応答の誘導によって特徴付けられる、請求項５０の方法。

【請求項５２】

前記Ｔ細胞免疫が、CD４＋Ｔ細胞応答によって特徴付けられる、請求項４８の方法。

【請求項５３】

ウイルス感染に対する免疫が動物で誘導される、請求項４８の方法。

【請求項５４】

前記動物で腫瘍免疫が誘導される、請求項４８の方法。

【請求項５５】

前記動物で黒色腫に対する免疫が誘導される、請求項５４の方法。

【請求項５６】

前記動物が哺乳動物である、請求項４８の方法。

【請求項５７】

前記哺乳動物がヒトである、請求項５６の方法。

【請求項５８】

SFVMEC/L713P/Neo、pSFV3L713PLacZNeo、またはSFVMEC/L713Pからなる群から選択されるパッケージング構築物。

【請求項５９】

請求項５８のパッケージング構築物を含む、宿主細胞。

【請求項６０】

SFVMEC/L713P/NeoまたはpSFV3L713PLacZNeoで安定にトランスフェクトされたBHK21細胞である、請求項５９の宿主細胞。