

【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 2 月 16 日 (2006.2.16)

【公表番号】特表 2001-526902(P2001-526902A)

【公表日】平成 13 年 12 月 25 日 (2001.12.25)

【出願番号】特願 2000-525570(P2000-525570)

【国際特許分類】

**C 1 2 P 19/04 (2006.01)**

**C 0 8 B 37/00 (2006.01)**

**C 1 2 P 19/26 (2006.01)**

C 1 2 R 1/46 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 19/04 C

C 0 8 B 37/00 P

C 1 2 P 19/26

C 1 2 P 19/04 C

C 1 2 R 1:46

【手続補正書】

【提出日】平成 17 年 12 月 20 日 (2005.12.20)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 莢膜多糖をさらに含む組成物から、核酸および / またはタンパク質を分離して精製莢膜多糖を得る方法であって、該組成物を塩基試薬と接触させ、そして、核酸および / またはタンパク質を塩基処理することによって生じる不純物から、莢膜多糖を分離することを含む、前記方法。

【請求項 2】 莢膜多糖上に存在する N - アセチル基の一部を、抽出中に加水分解し、そしてその後、再度アシル化し、再度 N - アシル化された莢膜多糖が天然莢膜多糖と交差反応性になるようにする、請求項 1 の方法。

【請求項 3】 請求項 1 の、莢膜多糖をさらに含む組成物から核酸および / またはタンパク質を分離する方法であって、さらに：

( a ) 所望により、クロマトグラフィーにより、核酸および / またはタンパク質から莢膜多糖を分離し；

( b ) 段階 ( a ) 由来の莢膜多糖をアシル化剤と反応させ；

( c ) 段階 ( b ) 由来の莢膜多糖をクロマトグラフィーにより精製する

段階を含む、前記方法。

【請求項 4】 塩基性条件の pH が約 9 および 14 の間である、請求項 3 の方法。

【請求項 5】 塩基性条件の pH が約 12 である、請求項 4 の方法。

【請求項 6】 莢膜多糖が連鎖球菌 ( S t r e p t o c o c c i ) 属のいかなる細菌由来であってもよい、請求項 3 の方法。

【請求項 7】 莢膜多糖が B 群連鎖球菌由来である、請求項 3 の方法。

【請求項 8】 莢膜多糖が B 群連鎖球菌 I a、I b、I I、I I I、V、V I および V I I I 型由来である、請求項 3 の方法。

【請求項 9】 塩基試薬が有機塩基を含む、請求項 3 の方法。

【請求項 10】 塩基試薬が無機塩基を含む、請求項 3 の方法。

【請求項 1 1】 塩基試薬が  $\text{NaOH}$ 、 $\text{KOH}$  または  $\text{LiOH}$  を含む、請求項 3 の方法。

【請求項 1 2】 クロマトグラフィーにより分離する段階が、疎水性相互作用クロマトグラフィーである、請求項 3 の方法。

【請求項 1 3】 アシル化剤が無水酢酸、塩化アセチル、酢酸ペンタフルオロフェニル、または酢酸 4 - ニトロフェニルである、請求項 3 の方法。

【請求項 1 4】 クロマトグラフィーにより莢膜多糖を精製する段階が、ゲル浸透クロマトグラフィーである、請求項 3 の方法。

【請求項 1 5】 塩基試薬が無機塩基を含み、クロマトグラフィーにより分離する段階が疎水性クロマトグラフィーであり、アシル化試薬が無水酢酸、塩化アセチル、酢酸ペンタフルオロフェニルまたは酢酸 4 - ニトロフェニルであり、そしてクロマトグラフィーにより莢膜多糖を精製する段階がゲル浸透クロマトグラフィーである、請求項 3 の方法。

【請求項 1 6】 塩基試薬が  $\text{NaOH}$  を含み、クロマトグラフィーにより分離する段階が疎水性相互作用クロマトグラフィーであり、アシル化試薬が無水酢酸であり、そしてクロマトグラフィーにより莢膜多糖を回収する段階がゲル濾過クロマトグラフィーである、請求項 3 の方法。

【請求項 1 7】 莢膜多糖がナイセリア (*Neisseria*) 属のいかなる細菌由来であってもよい、請求項 3 の方法。

【請求項 1 8】 莢膜多糖が髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) C 型由来である、請求項 3 の方法。

【請求項 1 9】 精製莢膜多糖が、重量約 1 % 未満の核酸および約  $1 \mu\text{g/ml}$  未満のタンパク質を含む、請求項 1 の方法。

【請求項 2 0】 B 群連鎖球菌莢膜多糖および核酸および / またはタンパク質を含む組成物を、塩基試薬で処理し、そして精製莢膜多糖を分離することを含む方法により産生される B 群連鎖球菌莢膜多糖であって：

I a 型 CPS が： およそ 0.010 - 0.005 の範囲の  $K_{av}$   
 およそ 318 - 311 の範囲の  $M_w$  ( $\text{kg/mol}$ )  
 およそ 1.35 - 1.31 の範囲の  $M_w / M_n$  を有し  
 I b 型 CPS が： およそ 0.191 - 0.150 の範囲の  $K_{av}$   
 およそ 218 - 170 の範囲の  $M_w$  ( $\text{kg/mol}$ )  
 およそ 1.61 - 1.20 の範囲の  $M_w / M_n$  を有し  
 I I 型 CPS が： およそ 0.152 - 0.115 の範囲の  $K_{av}$   
 およそ 289 - 246 の範囲の  $M_w$  ( $\text{kg/mol}$ )  
 およそ 1.46 の  $M_w / M_n$  を有し  
 I I I 型 CPS が： およそ 0.343 - 0.268 の範囲の  $K_{av}$   
 およそ 108 - 104 の範囲の  $M_w$  ( $\text{kg/mol}$ )  
 およそ 1.24 - 1.22 の範囲の  $M_w / M_n$  を有し  
 V 型 CPS が： およそ 0.257 - 0.156 の範囲の  $K_{av}$   
 およそ 179 - 92 の範囲の  $M_w$  ( $\text{kg/mol}$ )  
 およそ 1.28 - 1.15 の範囲の  $M_w / M_n$  を有する

前記莢膜多糖。

【請求項 2 1】 莢膜多糖を、グラム陰性およびグラム陽性細菌の他の細胞構成成分から抽出する方法であって、細菌細胞、ホモジナイズした細菌細胞、馴化培地 (*conditioned medium*)、細菌培養上清、またはこれらの混合物を、塩基性条件下で塩基試薬と接触させ、そして他の細胞構成成分を前記塩基試薬と接触させることにより生じる不純物から、莢膜多糖を分離して精製莢膜多糖を得ることを含む、前記方法。

【請求項 2 2】 塩基性条件が約 pH 9 および pH 14 の間である、請求項 1 8 の方法。

【請求項 2 3】 塩基性条件が約 pH 12 である、請求項 1 9 の方法。

【請求項 2 4】 該方法が、細菌細胞を塩基試薬と接触させることを含む、請求項 2

0の方法。

【請求項25】 精製莢膜多糖が、重量約1%未満の核酸および約1  $\mu$ g/ml未満のタンパク質を含む、請求項25の方法。

【請求項26】 分離段階がクロマトグラフィー分離である、請求項25の方法。

【請求項27】 莢膜多糖がナイセリア属のいかなる細菌由来であってもよい、請求項25の方法。

【請求項28】 莢膜多糖が髄膜炎菌C型由来である、請求項25の方法。

【請求項29】 莢膜多糖が連鎖球菌属のいかなる細菌由来であってもよい、請求項25の方法。

【請求項30】 莢膜多糖がB群連鎖球菌由来である、請求項25の方法。

【請求項31】 該細菌がB群連鎖球菌Ia、Ib、II、III、V、VIまたはVIIである、請求項25の方法。

【請求項32】 C群髄膜炎菌(meningococcus)多糖結合体ワクチンを産生する方法であって、(a)C群髄膜炎菌莢膜多糖を含む、C群髄膜炎菌細菌細胞、ホモジナイズした細菌細胞、馴化培地、細菌培養上清、またはそれらの混合物を、C群髄膜炎菌多糖のN-アセチル基の少なくとも1つを加水分解するのに十分に塩基性である塩基性条件下で、塩基試薬と接触させ、(b)莢膜多糖を段階(a)の産物から分離し、そして該多糖をポリペプチドと結合させることを含む、前記方法。

【請求項33】 結合が還元性アミノ化により達成される、請求項32の方法。

【請求項34】 さらに、脱N-アセチル化多糖を、アシル化剤で処理し、そして該N-アシル化多糖を酸化剤で処理し、隣接(vicinal)ジオールを酸化的に切断し、アルデヒド基を産生する段階を含む、請求項33の方法。

【請求項35】 さらに、脱N-アセチル化多糖を単離し、そして再アシル化産物を単離することを含む、請求項34の方法。

【請求項36】 塩基試薬が水酸化ナトリウム、水酸化カリウムおよび水酸化リチウムからなる群より選択され、そしてアシル化剤が無水酢酸および塩化アセチルからなる群より選択される、請求項34の方法。