

【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29年8月10日(2017.8.10)

【公表番号】特表2016-530236(P2016-530236A)

【公表日】平成28年9月29日(2016.9.29)

【年通号数】公開・登録公報2016-057

【出願番号】特願2016-524801(P2016-524801)

【国際特許分類】

A 6 1 K	35/765	(2015.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	14/14	(2006.01)
C 1 2 N	7/04	(2006.01)
C 1 2 Q	1/70	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/15	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	35/765	Z N A
C 1 2 N	15/00	A
C 0 7 K	14/14	
C 1 2 N	7/04	
C 1 2 Q	1/70	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	39/15	
A 6 1 P	37/04	
C 0 7 K	19/00	

【手続補正書】

【提出日】平成29年6月27日(2017.6.27)

【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】

異種タンパク質と連結したロタウイルス表面タンパク質を含むキメラ表面タンパク質であって、前記ロタウイルス表面タンパク質が、2つの部分からなるアダプター系によって前記異種タンパク質と非共有結合で連結しており、前記アダプター系の一方の部分が前記ロタウイルス表面タンパク質と連結し、前記アダプターの他方の部分が前記異種タンパク質と連結し、それにより、前記アダプター系の両部分が互いに安定な複合体を形成している、キメラ表面タンパク質。

【請求項2】

前記アダプターの一方の部分が第1のアダプターポリペプチドによって形成され、前記アダプターの他方の部分が第2のアダプターポリペプチドによって形成され、前記第1のアダプターポリペプチドと前記第2のアダプターポリペプチドが互いに相互作用して安定な複合体を形成している、請求項1に記載のキメラ表面タンパク質。

【請求項3】

前記第1のアダプターポリペプチドが、任意選択でリンカー配列を介して前記ロタウイルス表面タンパク質と融合しており、前記第2のアダプターポリペプチドが、任意選択でリンカー配列を介して前記異種タンパク質と融合している、請求項2に記載のキメラ表面タンパク質。

【請求項4】

前記第1のアダプターポリペプチドおよび前記第2のアダプターポリペプチドが7アミノ酸反復配列を含む、請求項2または3に記載のキメラ表面タンパク質。

【請求項5】

請求項1から4までのいずれか一項に記載のキメラ表面タンパク質を含むロタウイルス粒子。

【請求項6】

異種タンパク質と連結したロタウイルス表面タンパク質を含むキメラ表面タンパク質を含む組成物であって、前記ロタウイルス表面タンパク質が、2つの部分からなるアダプター系によって前記異種タンパク質と非共有結合で連結しており、前記アダプター系の一方の部分が前記ロタウイルス表面タンパク質と連結し、前記アダプターの他方の部分が前記異種タンパク質と連結し、それにより、前記アダプター系の両部分が互いに安定な複合体を形成している、組成物。

【請求項7】

(a) ロタウイルス表面タンパク質、第1のアダプターポリペプチド、および任意選択でリンカー配列を含む改変ロタウイルス表面タンパク質をコードするオープンリーディングフレーム、ならびに

(b) 異種タンパク質、第2のアダプターポリペプチド、および任意選択でリンカー配列を含む融合タンパク質をコードするオープンリーディングフレームを含む、核酸組成物であって、

任意選択で、前記オープンリーディングフレームはプロモーター配列と作動的に連結している、核酸組成物。

【請求項8】

前記アダプターポリペプチドが7アミノ酸反復配列を含む、請求項7に記載の核酸組成物。

【請求項9】

(a) ロタウイルス表面タンパク質および第1のアダプターポリペプチドを含む改変ロタウイルス表面タンパク質をコードする第1の核酸、ならびに第2のアダプターポリペプチドをコードするヌクレオチド配列および多重クローニング部位を含む第2の核酸であって、異種タンパク質のコード領域を前記多重クローニング部位に挿入することにより、前記異種タンパク質および前記第2のアダプターポリペプチドを含む融合タンパク質をコードするオープンリーディングフレームがもたらされる、第2の核酸、あるいは

(b) ロタウイルス表面タンパク質および第1のアダプターポリペプチドを含む改変ロタウイルス表面タンパク質をコードする第1の核酸、ならびに異種タンパク質および第2のアダプターポリペプチドを含む融合タンパク質をコードする第2の核酸を含む、キットであって、

前記第1のアダプターポリペプチドと前記第2のアダプターポリペプチドとが安定な複合体を形成することができ、

任意選択で、前記キットは、前記ロタウイルス表面タンパク質と同じ種のロタウイルスに由来するかまたは異なるロタウイルス種に由来するロタウイルス粒子をさらに含む、キット。

【請求項10】

請求項5に記載のロタウイルス粒子を調製するための方法であって、前記方法は、外層を含むロタウイルス粒子を、培養培地中で成長させた細胞において増殖させるステップ、前記ロタウイルス粒子を前記培養培地から精製するステップ、前記外層を前記ロタウイルス粒子から取り除いてロタウイルス二層粒子(DLP)を得るステップ、および前記ロタ

ウイルスDLPを請求項1から4までのいずれか一項に記載のキメラ表面タンパク質を用いて再外被形成して請求項5に記載のロタウイルス粒子をもたらすステップを含む、方法。

#### 【請求項11】

請求項5に記載のロタウイルス粒子を調製するための方法であって、前記方法は、外層を含むロタウイルス粒子を、培養培地中で成長させた細胞において増殖させるステップ、前記ロタウイルス粒子を前記培養培地から精製するステップ、前記外層を前記ロタウイルス粒子から取り除いてロタウイルスDLPを得るステップ、ならびに、前記ロタウイルスDLPを、三量体形成性ロタウイルス表面タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第1の融合タンパク質を用いて再外被形成するステップ、ならびに、再外被形成された前記ロタウイルスDLPを、三量体形成性異種タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第2の融合タンパク質と混合して請求項5に記載のロタウイルス粒子をもたらすステップを含む、方法。

#### 【請求項12】

請求項5に記載のロタウイルス粒子を調製するための方法であって、前記方法は、三量体形成性ロタウイルス表面タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第1の融合タンパク質を含むロタウイルス粒子を、三量体形成性異種タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第2の融合タンパク質と混合するステップを含む、方法。

#### 【請求項13】

異種タンパク質の構造を決定するための方法であって、前記方法は、(i)ロタウイルスDLPを、異種タンパク質の全部または一部を含むキメラ表面タンパク質を用いて再外被形成して、前記キメラ表面タンパク質を提示しているロタウイルス粒子の懸濁物をもたらすステップ、(ii)前記懸濁物を凍結させるステップ、(iii)cryo-EMを使用して前記ロタウイルス粒子を画像化して複数の顕微鏡写真を得るステップ、および(iv)前記複数の顕微鏡写真を解析して前記キメラ表面タンパク質の3次元モデルを得るステップを含む、方法。

#### 【請求項14】

分子との複合体中の異種タンパク質の構造を決定するための方法であって、前記方法は、(i)ロタウイルスDLPを、異種タンパク質の全部または一部を含むキメラ表面タンパク質を用いて再外被形成して、前記キメラ表面タンパク質を提示しているロタウイルス粒子の懸濁物をもたらすステップ、(ii)前記懸濁物に、前記異種タンパク質に特異的に結合する分子を添加するステップであって、前記分子が前記キメラ表面タンパク質と複合体を形成するステップ、(iii)前記懸濁物を凍結させるステップ、(iv)cryo-EMを使用して前記ロタウイルス粒子を画像化して複数の顕微鏡写真を得るステップ、および(v)前記複数の顕微鏡写真を解析して前記分子と複合体を形成した前記キメラ表面タンパク質の3次元モデルを得るステップを含む、方法。

#### 【請求項15】

前記分子が、タンパク質性分子、例えば(a)前記異種タンパク質に特異的に結合する抗体もしくはその断片、または(b)細胞表面受容体であって、ここで前記異種タンパク質がウイルス細胞侵入タンパク質であり、かつ前記タンパク質性分子に前記ウイルス細胞侵入タンパク質が結合する、細胞表面受容体である、請求項14に記載の方法。

#### 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0168

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0168】

ポリペプチド配列間の同一性は、MPSRCHプログラム(Oxford Molec

u l a r ) において実行される Smith - Waterman 相同性検索アルゴリズムにより、ギャップ開始ペナルティ (gap open penalty) = 12 およびギャップ伸長ペナルティ (gap extension penalty) = 1 のパラメータを用いたアフィンギャップ検索を使用して決定することが好ましい。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

異種タンパク質と連結したロタウイルス表面タンパク質を含むキメラ表面タンパク質を含む組成物であって、前記ロタウイルス表面タンパク質が、2つの部分からなるアダプター系によって前記異種タンパク質と非共有結合で連結しており、前記アダプター系の一方の部分が前記ロタウイルス表面タンパク質と連結し、前記アダプターの他方の部分が前記異種タンパク質と連結し、それにより、前記アダプター系の両部分が互いに安定な複合体を形成している、組成物。

(項目 2)

前記アダプターの一方の部分が第1のアダプターポリペプチドによって形成され、前記アダプターの他方の部分が第2のアダプターポリペプチドによって形成され、前記第1のアダプターポリペプチドと前記第2のアダプターポリペプチドが互いに相互作用して安定な複合体を形成している、項目1に記載のキメラ表面タンパク質。

(項目 3)

前記第1のアダプターポリペプチドが、任意選択でリンカー配列を介して前記ロタウイルス表面タンパク質と融合しており、前記第2のアダプターポリペプチドが、任意選択でリンカー配列を介して前記異種タンパク質と融合している、項目2に記載のキメラ表面タンパク質。

(項目 4)

前記第1のアダプターポリペプチドおよび前記第2のアダプターポリペプチドが7アミノ酸反復配列を含む、項目2または3に記載のキメラ表面タンパク質。

(項目 5)

項目1から4までのいずれか一項に記載のキメラ表面タンパク質を含むロタウイルス粒子。

(項目 6)

医薬として使用するための、項目5に記載のロタウイルス粒子。

(項目 7)

(a) ロタウイルス表面タンパク質、第1のアダプターポリペプチド、および任意選択でリンカー配列を含む改変ロタウイルス表面タンパク質をコードするオープンリーディングフレーム、ならびに

(b) 異種タンパク質、第2のアダプターポリペプチド、および任意選択でリンカー配列を含む融合タンパク質をコードするオープンリーディングフレームを含む、核酸組成物であって、

任意選択で、前記オープンリーディングフレームはプロモーター配列と作動的に連結している、核酸組成物。

(項目 8)

前記アダプターポリペプチドが7アミノ酸反復配列を含む、項目7に記載の核酸組成物。

(項目 9)

(a) ロタウイルス表面タンパク質および第1のアダプターポリペプチドを含む改変ロタウイルス表面タンパク質をコードする第1の核酸、ならびに第2のアダプターポリペプチドをコードするヌクレオチド配列および多重クローニング部位を含む第2の核酸であって、異種タンパク質のコード領域を前記多重クローニング部位に挿入することにより、前記異種タンパク質および前記第2のアダプターポリペプチドを含む融合タンパク質をコードするオープンリーディングフレームがもたらされる、第2の核酸、あるいは

(b) ロタウイルス表面タンパク質および第1のアダプターポリペプチドを含む改変ロ

タウイルス表面タンパク質をコードする第1の核酸、ならびに異種タンパク質および第2のアダプターポリペプチドを含む融合タンパク質をコードする第2の核酸を含む、キットであって、

前記第1のアダプターポリペプチドと前記第2のアダプターポリペプチドとが安定な複合体を形成することができ、

任意選択で、前記キットは、前記ロタウイルス表面タンパク質と同じ種のロタウイルスに由来するかまたは異なるロタウイルス種に由来するロタウイルス粒子をさらに含む、キット。

(項目10)

項目5に記載のロタウイルス粒子を調製するための方法であって、前記方法は、外層を含むロタウイルス粒子を、培養培地内で成長させた細胞において増殖させるステップ、前記ロタウイルス粒子を前記培養培地から精製するステップ、前記外層を前記ロタウイルス粒子から取り除いてロタウイルス二層粒子(DLP)を得るステップ、および前記ロタウイルスDLPを項目1から4までのいずれか一項に記載のキメラ表面タンパク質を用いて再外被形成して項目5に記載のロタウイルス粒子をもたらすステップを含む、方法。

(項目11)

項目5に記載のロタウイルス粒子を調製するための方法であって、前記方法は、外層を含むロタウイルス粒子を、培養培地内で成長させた細胞において増殖させるステップ、前記ロタウイルス粒子を前記培養培地から精製するステップ、前記外層を前記ロタウイルス粒子から取り除いてロタウイルスDLPを得るステップ、ならびに、前記ロタウイルスDLPを、三量体形成性ロタウイルス表面タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第1の融合タンパク質を用いて再外被形成するステップ、ならびに、再外被形成された前記ロタウイルスDLPを、三量体形成性異種タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第2の融合タンパク質と混合して項目5に記載のロタウイルス粒子をもたらすステップを含む、方法。

(項目12)

項目5に記載のロタウイルス粒子を調製するための方法であって、前記方法は、三量体形成性ロタウイルス表面タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第1の融合タンパク質を含むロタウイルス粒子を、三量体形成性異種タンパク質、7アミノ酸反復配列、および任意選択でリンカー配列を含む第2の融合タンパク質と混合するステップを含む、方法。

(項目13)

異種タンパク質の構造を決定するための方法であって、前記方法は、(i)ロタウイルスDLPを、異種タンパク質の全部または一部を含むキメラ表面タンパク質を用いて再外被形成して、前記キメラ表面タンパク質を提示しているロタウイルス粒子の懸濁物をもたらすステップ、(ii)前記懸濁物を凍結させるステップ、(iii)cryo-EMを使用して前記ロタウイルス粒子を画像化して複数の顕微鏡写真を得るステップ、および(iv)前記複数の顕微鏡写真を解析して前記キメラ表面タンパク質の3次元モデルを得るステップを含む、方法。

(項目14)

分子との複合体中の異種タンパク質の構造を決定するための方法であって、前記方法は、(i)ロタウイルスDLPを、異種タンパク質の全部または一部を含むキメラ表面タンパク質を用いて再外被形成して、前記キメラ表面タンパク質を提示しているロタウイルス粒子の懸濁物をもたらすステップ、(ii)前記懸濁物に、前記異種タンパク質に特異的に結合する分子を添加するステップであって、前記分子が前記キメラ表面タンパク質と複合体を形成するステップ、(iii)前記懸濁物を凍結させるステップ、(iv)cryo-EMを使用して前記ロタウイルス粒子を画像化して複数の顕微鏡写真を得るステップ、および(v)前記複数の顕微鏡写真を解析して前記分子と複合体を形成した前記キメラ表面タンパク質の3次元モデルを得るステップを含む、方法。

(項目15)

前記分子が、タンパク質性分子、例えば( a )前記異種タンパク質に特異的に結合する抗体もしくはその断片、または( b )細胞表面受容体であって、ここで前記異種タンパク質がウイルス細胞侵入タンパク質であり、かつ前記タンパク質性分子に前記ウイルス細胞侵入タンパク質が結合する、細胞表面受容体である、項目14に記載の方法。