

【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】令和 2 年 11 月 5 日 (2020.11.5)

【公表番号】特表 2019-533015 (P2019-533015A)

【公表日】令和 1 年 11 月 14 日 (2019.11.14)

【年通号数】公開・登録公報 2019-046

【出願番号】特願 2019-538097 (P2019-538097)

【国際特許分類】

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/763 (2015.01)

A 6 1 K 35/765 (2015.01)

A 6 1 K 35/766 (2015.01)

A 6 1 K 35/768 (2015.01)

C 1 2 N 7/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/01 (2006.01)

C 1 2 N 7/01 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/70 (2006.01)

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 35/761 Z N A

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 2 1

A 6 1 K 35/763

A 6 1 K 35/765

A 6 1 K 35/766

A 6 1 K 35/768

C 1 2 N 7/00

C 1 2 N 15/01 Z

C 1 2 N 7/01

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/70

C 1 2 N 15/10 2 0 0 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 9 月 11 日 (2020.9.11)

【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】

がん患者を処置するための組み合わせ物であって、

少なくとも 1 種の第 1 の腫瘍溶解性ウイルスを含有する第 1 の組成物であって、前記患者に第 1 の期間中投与されることを特徴とする、第 1 の組成物と、

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスとは異なる少なくとも 1 種の第 2 の腫瘍溶解性ウイルス

を含有する第 2 の組成物であって、前記患者に第 2 の期間中投与されることを特徴とする、第 2 の組成物と

を含む、組み合わせ物。

【請求項 2】

前記第 2 の組成物が、前記第 1 の組成物が投与された後 2 4 時間 ~ 2 4 週間の間に投与されることを特徴とする、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 3】

前記第 2 の組成物が、前記第 1 の組成物が投与された後 1 週間 ~ 6 週間の間に投与されることを特徴とする、請求項 2 に記載の組み合わせ物。

【請求項 4】

前記第 1 の組成物が、前記第 1 の期間中、複数回投与されることを特徴とし、前記第 2 の組成物が、前記第 2 の期間中、複数回投与されることを特徴とする、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 5】

前記第 1 および第 2 の組成物が、経口で、経鼻で、静脈内に、動脈内に、皮内に、皮下に、筋内に、腹腔内に、胸膜内に、腔内に、尿道内に、腫瘍内に、頭蓋内に、脊髄内に、または *in vitro* で、前記第 1 もしくは第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを感染させた細胞担体の手段により投与されることを特徴とする、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 6】

前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、約 1×10^4 TCID₅₀ ~ 約 1×10^{11} TCID₅₀ の投与量で存在する、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 7】

前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、細胞移入に必要なそれらの宿主細胞表面受容体において異なっている、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 8】

細胞移入に必要な前記宿主細胞表面受容体が、CD155、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、インテグリン $\alpha V \beta 3$ 、インテグリン $\alpha V \beta 6$ 、ICAM-1、CD55、CXADR、CD46、JAM-1、PVR1、PVR4、CD150、L-SIGN、VLDLR、NRAMP2、シアル酸、PGSL-1 (別名 CD162)、SCARB2 (スカベンジャー受容体クラス B、メンバー 2)、アネキシン II、DC-SIGN (樹状細胞特異的 ICAM3 結合ノンインテグリン)、hPVR (ヒトポリオウイルス受容体)、CD34+、LDLR (低密度リポタンパク質受容体)、JAM (接合部接着分子) またはヘパリン硫酸である、請求項 7 に記載の組み合わせ物。

【請求項 9】

前記第 1 および第 2 の組成物各々が、複数の腫瘍溶解性ウイルスを含有する、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 10】

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび前記第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが独立して、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス、ヘルペスウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス、ボックスウイルスおよびハイブリッドウイルスから選択される、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 11】

がん患者を処置するための組成物であって、前記組成物が、少なくとも 1 種の第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを含み、前記組成物が、第 1 の期間中投与されることを特徴とし、前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、細胞移入に必要なそれらの宿主細胞表面受容体において異なっている、組成物。

【請求項 12】

前記組成物が、前記第 1 の期間中、複数回投与されることを特徴とする、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記組成物が、経口で、経鼻で、静脈内に、動脈内に、皮内に、皮下に、筋内に、腹腔内に、胸膜内に、腔内に、尿道内に、腫瘍内に、頭蓋内に、脊髄内に、または *in vitro* で、前記第 1 もしくは第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを感染させた細胞担体の手段により投与されることを特徴とする、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルス各々が、約 1×10^4 TCID₅₀ ~ 約 1×10^{11} TCID₅₀ の投与量で存在する、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび第 2 の腫瘍溶解性ウイルスの細胞移入に必要な前記宿主細胞表面受容体が独立して、CD155、インテグリン 21、インテグリン V3、インテグリン V6、ICAM-1、CD55、CXADR、CD46、JAM-1、PVRL1、PVRL4、CD150、L-SIGN、VLDLR、NRAMP2、シアル酸、PGSL-1 (別名 CD162)、SCARB2 (スカベンジャー受容体クラス B、メンバー 2)、アネキシン II、DC-SIGN (樹状細胞特異的 ICAM3 結合ノンインテグリン)、hPVR (ヒトポリオウイルス受容体)、CD34+、LDLR (低密度リポタンパク質受容体)、JAM (接合部接着分子) またはヘパリン硫酸から選択される、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび前記第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが独立して、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス、ヘルペスウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス、ボックスウイルスおよびハイブリッドウイルスから選択される、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 17】

最適化腫瘍溶解性ウイルスを生成する方法であって、

(i) 突然変異誘発を受けたウイルスを創出するために、合成リボヌクレオシドまたはリボヌクレオチドアナログの存在下、第 1 の細胞培養物で第 1 の腫瘍溶解性ウイルスを培養することと、

(ii) 前記最適化腫瘍溶解性ウイルスを特定するために、連続希釈を使用して第 2 の細胞培養物で前記突然変異誘発を受けたウイルスを培養することとを含む、方法。

【請求項 18】

前記合成リボヌクレオシドアナログが、リバビリン；5-アザシチジン；5-フルオロウラシル；5-アザ-5,6-ジヒドロ-2-デオキシシチジン；N4-アミノシチジン；N1-メチル-N4-アミノシチジン；3,N4-エテノシチジン；3-メチルシチジン；5-ヒドロキシシチジン；N4-ジメチルシチジン；5-(2-ヒドロキシエチル)-シチジン；5-クロロシチジン；5-プロモシチジン；N4-メチル-N4-アミノシチジン；5-アミノシチジン；5-ニトロソシチジン；5-(ヒドロキシアルキル)-シチジン；5-(チオアルキル)-シチジンおよびシチジングリコール；5-ヒドロキシウリジン；3-ヒドロキシエチルウリジン；3-メチルウリジン；O2-メチルウリジン；O2-エチルウリジン；5-アミノウリジン；O4-メチルウリジン；O4-エチルウリジン；O4-イソブチルウリジン；O4-アルキルウリジン；5-ニトロソウリジン；5-(ヒドロキシアルキル)-ウリジン；5-(チオアルキル)-ウリジン；1,N6-エテノアデノシン；3-メチルアデノシン；N6-メチルアデノシン；8-ヒドロキシグアノシン；O6-メチルグアノシン；O6-エチルグアノシン；O6-イソプロピルグアノシン；3,N2-エテノグアノシン；O6-アルキルグアノシン；8-オキソ-グアノシン；2,N3-エテノグアノシン；または 8-アミノグアノシンである、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記合成リボヌクレオシドまたはリボヌクレオチドアナログが、約 0.02 mM ~ 約 0.5 mM の量で前記第 1 の細胞培養物と共に存在する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 20】

前記第2の細胞培養物が、前記第1の細胞培養物とは異なり、前記最適化腫瘍溶解性ウイルスの所望の標的である細胞を含有する、請求項17に記載の方法。

【請求項 21】

前記突然変異誘発を受けたウイルスが、約12時間～約36時間の第1の期間後に前記第1の細胞培養物から収集される、請求項17に記載の方法。

【請求項 22】

前記第1の腫瘍溶解性ウイルスが、約0.05 PFU/細胞～約0.50 PFU/細胞の量で前記第1の細胞培養物に添加される、請求項17に記載の方法。

【請求項 23】

前記最適化腫瘍溶解性ウイルスが抗体への抵抗性を有するように、前記第1の腫瘍溶解性ウイルスもまた、前記抗体の存在下、前記第1の細胞培養物で培養される、請求項17に記載の方法。

【請求項 24】

ステップ(i)および(ii)が、連続的に繰り返され、ステップ(ii)の前記最適化腫瘍溶解性ウイルスが、各後続の繰返しにつきステップ(i)の前記第1の腫瘍溶解性ウイルスとして使用される、請求項17に記載の方法。

【請求項 25】

参照細胞に関する参照ウイルスから、標的細胞に関する合成標的化ウイルスを生成する方法であって、

所与のアミノ酸をコードする前記参照ウイルスにおける所与の位置の各コドンにつき、前記標的細胞における前記所与のアミノ酸をコードする各コドンのコドン頻度を特定すること、

前記標的細胞における前記所与のアミノ酸につき、前記参照ウイルスにおける前記コドンに最もよく対応するコドンを選択すること、

前記参照ウイルスにおける前記所与の位置に適合する前記合成標的化ウイルスにおける位置に、前記標的細胞における前記所与のアミノ酸につき選択されたコドンを使用すること

を含む、方法。

【請求項 26】

前記参照ウイルスが、腫瘍溶解性ウイルスである、請求項25に記載の方法。

【請求項 27】

前記合成標的化ウイルスが、前記参照ウイルスと80%未満の同一性を有する、請求項25に記載の方法。

【請求項 28】

前記参照ウイルスにおける前記コドンに最もよく対応する、前記標的細胞における前記所与のアミノ酸についての前記コドンが、(a)前記合成標的化ウイルスにおけるコドン対と前記参照ウイルスにおけるコドン対との間のコドン頻度の差を最小限にすることと；

(b)前記選択されたコドンにおけるゆらぎを最小限にすることにより選択される、請求項25に記載の方法。

【請求項 29】

請求項25から28のいずれかに記載の方法に従って産生される、合成標的化ウイルス。

【請求項 30】

第1の腫瘍溶解性ウイルスの濃度を患者の腫瘍溶解性ウイルスへの感受性の指標とする方法であって、前記方法が、

前記患者から得た腫瘍細胞を第1の腫瘍溶解性ウイルスに感染させることと、

前記第1の腫瘍溶解性ウイルスの濃度を決定するために、感染した前記腫瘍細胞を培養することと

を含み、

前記濃度が閾値より大きい場合、前記患者が前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスに感受性であることを示す、方法。

【請求項 3 1】

前記閾値が、 10^6 TCID₅₀ / mL である、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記腫瘍細胞が、手術または生検のいずれかにより収集される、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記腫瘍細胞が、感染される前に、細胞培養培地中に懸濁される、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記感染した腫瘍細胞が、約 5 % CO₂ を含有する雰囲気における約 35 ~ 約 45 の温度でのインキュベーションにより約 24 時間 ~ 約 72 時間の期間培養される、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記腫瘍溶解性ウイルスが、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス、ヘルペスウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス、ポックスウイルスまたはハイブリッドウイルスである、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 6】

有効量の少なくとも 1 種の第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを含有する組成物であって、前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、細胞移入に必要なそれらの宿主細胞表面受容体において異なっている、組成物。

【請求項 3 7】

前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルス各々が、約 5×10^7 TCID₅₀ ~ 約 2×10^8 TCID₅₀ の投与量で存在する、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび第 2 の腫瘍溶解性ウイルスの細胞移入に必要な前記宿主細胞表面受容体が独立して、CD155、インテグリン 2 1、インテグリン V 3、インテグリン V 6、ICAM-1、CD55、CXADR、CD46、JAM-1、PVRL1、PVRL4、CD150、L-SIGN、VLDLR、NRAMP2、シアル酸、PGSL-1 (別名 CD162)、SCARB2 (スカベンジャー受容体クラス B、メンバー 2)、アネキシン II、DC-SIGN (樹状細胞特異的 ICAM3 結合ノンインテグリン)、hPVR (ヒトポリオウイルス受容体)、CD34+、LDLR (低密度リポタンパク質受容体)、JAM (接合部接着分子) またはヘパリン硫酸から選択される、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 9】

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび前記第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが独立して、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス、ヘルペスウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス、ポックスウイルスまたはハイブリッドウイルスから選択される、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 4 0】

少なくとも前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスが、請求項 25 から 28 のいずれかに記載の方法に従って産生される合成標的化ウイルスである、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 4 1】

少なくとも 1 種の第 1 の腫瘍溶解性ウイルスを含む、がん患者を処置するための組成物であって、前記組成物が、前記患者に第 1 の期間中投与されることを特徴とし、前記組成物が、前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスとは異なる少なくとも 1 種の第 2 の腫瘍溶解性ウイルスと組み合わせて投与されることを特徴とし、前記第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、前記患者に第 2 の期間中投与されることを特徴とする、組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0028】

本明細書で説明する腫瘍溶解性ウイルス組成物は、化学療法、免疫療法、放射線療法、薬物療法または細胞移植との組合せで投与することができる。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

がん患者を処置する方法であって、

前記患者に、有効量の少なくとも 1 種の第 1 の腫瘍溶解性ウイルスを含有する第 1 の組成物を第 1 の期間中投与することと、

前記患者に、有効量の、前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスとは異なる少なくとも 1 種の第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを含有する第 2 の組成物を第 2 の期間中投与することとを含む、方法。

(項目 2)

前記第 2 の組成物が、前記第 1 の組成物が投与された後 24 時間 ~ 24 週間の間に投与される、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記第 2 の組成物が、前記第 1 の組成物が投与された後 1 週間 ~ 6 週間の間に投与される、項目 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記第 1 の組成物が、前記第 1 の期間中、複数回投与され、前記第 2 の組成物が、前記第 2 の期間中、複数回投与される、項目 1 に記載の方法。

(項目 5)

前記第 1 および第 2 の組成物が、経口で、経鼻で、静脈内に、動脈内に、皮内に、皮下に、筋内に、腹腔内に、胸膜内に、腔内に、尿道内に、腫瘍内に、頭蓋内に、脊髄内に、または *in vitro* で、前記第 1 もしくは第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを感染させた細胞担体の手段により投与される、項目 1 に記載の方法。

(項目 6)

前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、約 1×10^4 TCID₅₀ ~ 約 1×10^{11} TCID₅₀ の投与量で存在する、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、細胞移入に必要なそれらの宿主細胞表面受容体において異なっている、項目 1 に記載の方法。

(項目 8)

細胞移入に必要な前記宿主細胞表面受容体が、CD155、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、インテグリン $\alpha V \beta 3$ 、インテグリン $\alpha V \beta 6$ 、ICAM-1、CD55、CXADR、CD46、JAM-1、PVRL1、PVRL4、CD150、L-SIGN、VLDLR、NRAMP2、シアル酸、PGSL-1 (別名 CD162)、SCARB2 (スカベンジャー受容体クラス B、メンバー 2)、アネキシン II、DC-SIGN (樹状細胞特異的 ICAM3 結合ノンインテグリン)、hPVR (ヒトポリオウイルス受容体)、CD34⁺、LDLR (低密度リボタンパク質受容体)、JAM (接合部接着分子) またはヘパリン硫酸である、項目 7 に記載の方法。

(項目 9)

前記第 1 および第 2 の組成物各々が、複数の腫瘍溶解性ウイルスを含有する、項目 1 に記載の方法。

(項目 10)

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび前記第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが独立して、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス、ヘルペスウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス、ボックスウイルスおよびハイブリッドウイルスから選択される、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 1)

がん患者を処置する方法であって、

前記患者に、有効量の少なくとも 1 種の第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを含有する第 1 の組成物を第 1 の期間中投与するステップであって、前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが、細胞移入に必要なそれらの宿主細胞表面受容体において異なっている、ステップを含む、方法。

(項目 1 2)

前記第 1 の組成物が、前記第 1 の期間中、複数回投与される、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 3)

前記第 1 の組成物が、経口で、経鼻で、静脈内に、動脈内に、皮内に、皮下に、筋内に、腹腔内に、胸膜内に、腔内に、尿道内に、腫瘍内に、頭蓋内に、脊髄内に、または *in vitro* で、前記第 1 もしくは第 2 の腫瘍溶解性ウイルスを感染させた細胞担体の手段により投与される、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 4)

前記第 1 および第 2 の腫瘍溶解性ウイルス各々が、約 1×10^4 TCID₅₀ ~ 約 1×10^{11} TCID₅₀ の投与量で存在する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 5)

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび第 2 の腫瘍溶解性ウイルスの細胞移入に必要な前記宿主細胞表面受容体が独立して、CD155、インテグリン 2 1、インテグリン V 3、インテグリン V 6、ICAM-1、CD55、CXADR、CD46、JAM-1、PVRL1、PVRL4、CD150、L-SIGN、VLDLR、NRAMP2、シアル酸、PGSL-1 (別名 CD162)、SCARB2 (スカベンジャー受容体クラス B、メンバー 2)、アネキシン II、DC-SIGN (樹状細胞特異的 ICAM3 結合ノンインテグリン)、hPVR (ヒトポリオウイルス受容体)、CD34+、LDLR (低密度リポタンパク質受容体)、JAM (接合部接着分子) またはヘパリン硫酸から選択される、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 6)

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスおよび前記第 2 の腫瘍溶解性ウイルスが独立して、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス、ヘルペスウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス、ボックスウイルスおよびハイブリッドウイルスから選択される、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 7)

最適化腫瘍溶解性ウイルスを生成する方法であって、

(i) 突然変異誘発を受けたウイルスを創出するために、合成リボヌクレオシドまたはリボヌクレオチドアナログの存在下、第 1 の細胞培養物で第 1 の腫瘍溶解性ウイルスを培養することと、

(ii) 前記最適化腫瘍溶解性ウイルスを特定するために、連続希釈を使用して第 2 の細胞培養物で前記突然変異誘発を受けたウイルスを培養することとを含む、方法。

(項目 1 8)

前記合成リボヌクレオシドアナログが、リバビリン；5-アザシチジン；5-フルオロウラシル；5-アザ-5,6-ジヒドロ-2-デオキシシチジン；N4-アミノシチジン；N1-メチル-N4-アミノシチジン；3,N4-エテノシチジン；3-メチルシチジン；5-ヒドロキシシチジン；N4-ジメチルシチジン；5-(2-ヒドロキシエチル)-シチジン；5-クロロシチジン；5-プロモシチジン；N4-メチル-N4-アミノシ

チジン； 5 - アミノシチジン； 5 - ニトロソシチジン； 5 - (ヒドロキシアルキル) - シチジン； 5 - (チオアルキル) - シチジンおよびシチジングリコール； 5 - ヒドロキシウリジン； 3 - ヒドロキシエチルウリジン； 3 - メチルウリジン； 0 2 - メチルウリジン； 0 2 - エチルウリジン； 5 - アミノウリジン； 0 4 - メチルウリジン； 0 4 - エチルウリジン； 0 4 - イソブチルウリジン； 0 4 - アルキルウリジン； 5 - ニトロソウリジン； 5 - (ヒドロキシアルキル) - ウリジン； 5 - (チオアルキル) - ウリジン； 1, N 6 - エテノアデノシン； 3 - メチルアデノシン； N 6 - メチルアデノシン； 8 - ヒドロキシグアノシン； 0 6 - メチルグアノシン； 0 6 - エチルグアノシン； 0 6 - イソプロピルグアノシン； 3, N 2 - エテノグアノシン； 0 6 - アルキルグアノシン； 8 - オキソ - グアノシン； 2, N 3 - エテノグアノシン；または 8 - アミノグアノシンである、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記合成リボヌクレオシドまたはリボヌクレオチドアナログが、約 0 . 0 2 m M ~ 約 0 . 5 m M の量で前記第 1 の細胞培養物と共に存在する、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記第 2 の細胞培養物が、前記第 1 の細胞培養物とは異なり、前記最適化腫瘍溶解性ウイルスの所望の標的である細胞を含有する、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記突然変異誘発を受けたウイルスが、約 1 2 時間 ~ 約 3 6 時間の第 1 の期間後に前記第 1 の細胞培養物から収集される、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 2)

前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスが、約 0 . 0 5 P F U / 細胞 ~ 約 0 . 5 0 P F U / 細胞の量で前記第 1 の細胞培養物に添加される、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 3)

前記最適化腫瘍溶解性ウイルスが抗体への抵抗性を有するように、前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスもまた、前記抗体の存在下、前記第 1 の細胞培養物で培養される、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 4)

ステップ (i) および (i i) が、連続的に繰り返され、ステップ (i i) の前記最適化腫瘍溶解性ウイルスが、各後続の繰返しにつきステップ (i) の前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスとして使用される、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 5)

参照細胞に関する参照ウイルスから、標的細胞に関する合成標的化ウイルスを生成する方法であって、

所与のアミノ酸をコードする前記参照ウイルスにおける所与の位置の各コドンにつき、前記標的細胞における前記所与のアミノ酸をコードする各コドンのコドン頻度を特定することと、

前記標的細胞における前記所与のアミノ酸につき、前記参照ウイルスにおける前記コドンに最もよく対応するコドンを選択することと、

前記参照ウイルスにおける前記所与の位置に適合する前記合成標的化ウイルスにおける位置に、前記標的細胞における前記所与のアミノ酸につき選択されたコドンを使用することと

を含む、方法。

(項目 2 6)

前記参照ウイルスが、腫瘍溶解性ウイルスである、項目 2 5 に記載の方法。

(項目 2 7)

前記合成標的化ウイルスが、前記参照ウイルスと 8 0 % 未満の同一性を有する、項目 2 5 に記載の方法。

(項目 2 8)

前記参照ウイルスにおける前記コドンに最もよく対応する、前記標的細胞における前記

所与のアミノ酸についての前記コドンが、(a)前記合成標的化ウイルスにおけるコドン対と前記参照ウイルスにおけるコドン対との間のコドン頻度の差を最小限にすることと；
(b)前記選択されたコドンにおけるゆらぎを最小限にすることとにより選択される、項目25に記載の方法。

(項目29)

項目25から28のいずれかに記載の方法に従って産生される、合成標的化ウイルス。

(項目30)

患者の腫瘍溶解性ウイルスへの感受性を特定するための方法であって、

前記患者から得た腫瘍細胞を第1の腫瘍溶解性ウイルスに感染させることと、

前記第1の腫瘍溶解性ウイルスの濃度を決定するために、感染した前記腫瘍細胞を培養することと、

前記濃度が閾値より大きい場合、前記患者が前記第1の腫瘍溶解性ウイルスに感受性であると特定することと

を含む、方法。

(項目31)

前記閾値が、 10^6 TCID₅₀/mLである、項目30に記載の方法。

(項目32)

前記腫瘍細胞が、手術または生検のいずれかにより収集される、項目30に記載の方法

。

(項目33)

前記腫瘍細胞が、感染される前に、細胞培養培地中に懸濁される、項目30に記載の方法。

(項目34)

前記感染した腫瘍細胞が、約5% CO₂を含有する雰囲気における約35 ~ 約45の温度でのインキュベーションにより約24時間 ~ 約72時間の期間培養される、項目30に記載の方法。

(項目35)

前記腫瘍溶解性ウイルスが、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス、ヘルペスウイルス、バルボウイルス、アデノウイルス、ポックスウイルスまたはハイブリッドウイルスである、項目30に記載の方法。

(項目36)

有効量の少なくとも1種の第1の腫瘍溶解性ウイルスおよび第2の腫瘍溶解性ウイルスを含有する組成物であって、前記第1および第2の腫瘍溶解性ウイルスが、細胞移入に必要なそれらの宿主細胞表面受容体において異なっている、組成物。

(項目37)

前記第1および第2の腫瘍溶解性ウイルス各々が、約 5×10^7 TCID₅₀ ~ 約 2×10^8 TCID₅₀の投与量で存在する、項目36に記載の組成物。

(項目38)

前記第1の腫瘍溶解性ウイルスおよび第2の腫瘍溶解性ウイルスの細胞移入に必要な前記宿主細胞表面受容体が独立して、CD155、インテグリン α 2 β 1、インテグリン α V β 3、インテグリン α V β 6、ICAM-1、CD55、CXADR、CD46、JAM-1、PVR1、PVR4、CD150、L-SIGN、VLDLR、NRAMP2、シアル酸、PGSL-1(別名CD162)、SCARB2(スカベンジャー受容体クラスB、メンバー2)、アネキシンII、DC-SIGN(樹状細胞特異的ICAM3結合ノンインテグリン)、hPVR(ヒトポリオウイルス受容体)、CD34+、LDLR(低密度リポタンパク質受容体)、JAM(接合部接着分子)またはヘパリン硫酸から選択される、項目36に記載の組成物。

(項目39)

前記第1の腫瘍溶解性ウイルスおよび前記第2の腫瘍溶解性ウイルスが独立して、ヒトエンテロウイルス、レオウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、トガウイルス

、ヘルペスウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス、ボックスウイルスまたはハイブリッドウイルスから選択される、項目 36 に記載の組成物。

(項目 40)

少なくとも前記第 1 の腫瘍溶解性ウイルスが、項目 25 から 28 のいずれかに記載の方法に従って産生される合成標的化ウイルスである、項目 36 に記載の組成物。