

【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24年4月5日 (2012.4.5)

【公表番号】特表2011-514155(P2011-514155A)

【公表日】平成23年5月6日 (2011.5.6)

【年通号数】公開・登録公報2011-018

【出願番号】特願2010-547265(P2010-547265)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 0 7 K 14/21 (2006.01)

A 6 1 K 39/108 (2006.01)

A 6 1 K 39/112 (2006.01)

A 6 1 K 39/104 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 21/02 C

C 0 7 K 14/21

A 6 1 K 39/108

A 6 1 K 39/112

A 6 1 K 39/104

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 P 31/04

【手続補正書】

【提出日】平成24年2月16日 (2012.2.16)

【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) 挿入されたコンセンサス配列 D / E - X - N - Z - S / T [式中、X および Z は、プロリン以外の任意の天然のアミノ酸であり得る] を含むタンパク質担体；及び

(i i) 前記タンパク質担体と連結した、少なくとも 1 つの細菌に由来する少なくとも 1 つの抗原性多糖であって、赤痢菌 (Shigella)、大腸菌 (E. coli) または緑膿菌 (Pseudomonas aeruginosa) のうちの 1 つまたは複数の株に由来する少なくとも 1 つの細菌 O 抗原である、少なくとも 1 つの抗原性多糖とを含むバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 2】

前記タンパク質担体が、少なくとも 1 つのコンセンサス配列を含有する改変された緑膿菌外毒素 (EPA) である、請求項 1 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 3】

前記 E P A が 2 つのコンセンサス配列を含有する、請求項 2 に記載のバイオコンジュゲ

ートワクチン。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 つの細菌 O 抗原が志賀赤痢菌 O 1 に由来する、請求項 1 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 つの細菌 O 抗原が腸外病原性大腸菌 (ExPEC) に由来する、請求項 1 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 6】

前記改変された E P A が配列番号 7 に示す配列を有する、請求項 2 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 7】

前記少なくとも 1 つの細菌 O 抗原が、志賀赤痢菌 (*Shigella dysenteriae*) O 1、フレクスナー赤痢菌 (*S. flexneri*) 2 a、フレクスナー赤痢菌 (*S. flexneri*) 3 a、フレクスナー赤痢菌 (*S. flexneri*) 3 b、フレクスナー赤痢菌 (*S. flexneri*) 6 およびソンネ赤痢菌 (*S. sonnei*) の 1 つまたは複数に由来する、請求項 1 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 8】

前記少なくとも 1 つの細菌 O 抗原が、大腸菌 O 4 : K 5 2 (ExPEC)、大腸菌 O 4 : K 6 (ExPEC)、大腸菌 O 6 : K 2 (ExPEC)、大腸菌 O 6 : K 5 4 (ExPEC)、大腸菌 O 2 2 (ExPEC)、大腸菌 O 7 5 (ExPEC)、大腸菌 O 8 3 (ExPEC)、大腸菌 O 7、大腸菌 O 9、大腸菌 O 1 6、大腸菌 O 1 2 1 および大腸菌 O 1 5 7 (EHEC) の 1 つまたは複数に由来する、請求項 1 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

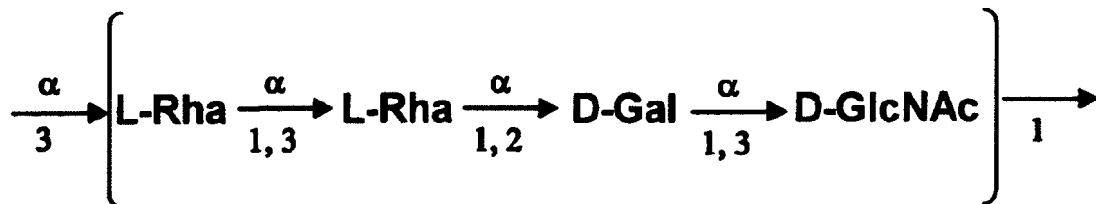
【請求項 9】

前記少なくとも 1 つの細菌 O 抗原が緑膿菌 O 1 1 に由来する、請求項 1 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 10】

前記多糖が以下の構造を有する、請求項 2 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【化 1】



【請求項 11】

前記タンパク質担体が、2 つのコンセンサス配列を含有する改変された E P A である、請求項 10 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 12】

前記タンパク質担体が、配列番号 7 に示す配列を有する、請求項 10 または 11 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 13】

さらにアジュバントを含む、請求項 1 に記載のバイオコンジュゲートワクチン。

【請求項 14】

配列番号 5 に示す配列を含むプラスミド若しくは遺伝子配列；配列番号 6 若しくは配列番号 7 に示す配列を含むアミノ酸配列；または p G V X N 6 4 で示されるベクター。

【請求項 15】

オリゴサッカリルトランスフェラーゼ (OST/Otase) をコードするヌクレオチド配列と；

タンパク質担体をコードするヌクレオチド配列と；

抗原性多糖が細菌 O 抗原である、少なくとも 1 つの細菌に由来する少なくとも 1 つの抗

原性多糖合成遺伝子クラスターと

を含む、少なくとも1つの細菌に対するバイオコンジュゲートワクチンを生成するための発現系。

【請求項16】

前記OST／OTaseが、配列番号2に示すアミノ酸配列を有する、請求項15に記載の発現系。

【請求項17】

前記タンパク質担体が、少なくとも1つのコンセンサス配列D／E－X－N－Z－S／T〔式中、XおよびZは、プロリン以外の任意の天然のアミノ酸であり得る〕を含有するように改変されているタンパク質である、請求項15に記載の発現系。

【請求項18】

前記タンパク質担体が、AcrAと、少なくとも1つのコンセンサス配列D／E－X－N－Z－S／T〔式中、XおよびZは、プロリン以外の任意の天然のアミノ酸であり得る〕を含有するように改変されているEPAとからなる群から選択される、請求項15に記載の発現系。

【請求項19】

前記ヌクレオチド配列が、配列番号6を含むタンパク質担体をコードする、請求項15に記載の発現系。

【請求項20】

前記細菌が、赤痢菌、大腸菌、緑膿菌O11または野兔病菌の病原性株からなる群から選択される、請求項15に記載の発現系。

【請求項21】

配列番号2を有するPgIBをコードするヌクレオチド配列と；

配列番号6を有する改変されたEPAをコードするヌクレオチド配列と；

配列番号5を含む多糖合成遺伝子クラスターと

を含む、志賀赤痢菌O1に対するバイオコンジュゲートワクチンを生成するための発現系。

【請求項22】

請求項21に記載の発現系を含む、改変された細菌であって、

PgIBをコードするヌクレオチド配列および改変されたEPAをコードするヌクレオチド配列が前記細菌のゲノム内に安定的に組み込まれており、

多糖合成遺伝子クラスターがプラスミドとして導入されている、改変された細菌。

【請求項23】

大腸菌である、請求項22に記載の細菌。

【請求項24】

細菌中で、少なくとも1つのコンセンサス配列D／E－X－N－Z－S／T〔式中、XおよびZは、プロリン以外の任意の天然のアミノ酸であり得る〕を含む改変されたEPAまたはAcrAと；PgIBと；1つまたは複数のO1多糖とを発現させる工程と；

前記細菌を一定期間育成し、一定量の、1つまたは複数のO1多糖と連結したAcrAまたは改変されたEPAを含むO1バイオコンジュゲートを生成させる工程と；

ペリプラズムタンパク質を抽出する工程と；

抽出した前記ペリプラズムタンパク質から前記O1バイオコンジュゲートを分離する工程と

を含む、バイオリアクター内でO1バイオコンジュゲートを生成する方法。

【請求項25】

(i) グリコシルトランスフェラーゼを使用することによって、組換え生物中で志賀赤痢菌の多糖をアセンブルさせる工程；

前記組換え生物中で、前記多糖を、1つまたは複数のT細胞エпитープを含有する1つまたは複数の標的タンパク質のアスパラギン残基と連結させる工程；または

(ii) 標的タンパク質のN-グリコシル化を実施する代謝装置をコードする遺伝情報

を、原核生物内に導入して、改変された原核生物を生成する工程であって、1つまたは複数の組換え標的タンパク質の発現に必要な遺伝情報が、前記原核生物内に導入され、前記代謝装置が、志賀赤痢菌の多糖を脂質担体上でアセンブルするための特異的グリコシルトランスフェラーゼおよびオリゴサッカリルトランスフェラーゼを含み、前記オリゴサッカリルトランスフェラーゼが、前記多糖を前記標的タンパク質のアスパラギン残基と共有結合させ、前記標的タンパク質が、少なくとも1つのT細胞エピトープを含有する工程；

前記改変された原核生物の培養物を生成する工程；及び

グリコシル化されたタンパク質を培地から得る工程とを含む、志賀赤痢菌バイオコンジュゲートワクチンを生成する方法。