

【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17年12月22日(2005.12.22)

【公表番号】特表2005-505503(P2005-505503A)

【公表日】平成17年2月24日(2005.2.24)

【年通号数】公開・登録公報2005-008

【出願番号】特願2002-587459(P2002-587459)

【国際特許分類第7版】

C 0 7 K 14/025

A 6 1 K 39/00

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 35/00

C 1 2 Q 1/02

G 0 1 N 33/48

【F I】

C 0 7 K 14/025 Z N A

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 35/00

C 1 2 Q 1/02

G 0 1 N 33/48 M

【手続補正書】

【提出日】平成17年4月26日(2005.4.26)

【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】

子宮頸癌又は皮膚の良性障害に関するHPVのE6タンパク質及び/又はE7タンパク質に由来するペプチドの混合物であって、

該混合物に含まれる各ペプチドが、その頻度が白人個体群において5%を超える少なくとも1つのHLA-DRB1(第1遺伝子)分子、及び、所望により、少なくとも1つのHLA-DRB3、HLA-DRB4又はHLA-DRB5(第2遺伝子)分子に、結合活性<1000nM、好ましくは<800nMで結合するものであり、

該ペプチドの混合物が、その頻度が白人個体群において5%を超え、アレレHLA DRB1\*0101、DRB1\*0301、DRB1\*0401、DRB1\*0701、DRB1\*1101、DRB1\*1301及びDRB1\*1501( DR1、DR3、DR4、DR7、DR11、DR13及びDR15分子)(第1遺伝子)、並びに、アレレDRB3\*0101、DRB4\*0101及びDRB5\*0101( B3、B4及びB5)(第2遺伝子)の群から選択されるアレレによりエンコードされる少なくとも8つのHLAクラスII分子に結合するものであることを特徴とするペプチドの混合物。

【請求項2】

HPVのE6タンパク質に由来するペプチドが、HPV16に由来し：

HPV16のE6タンパク質の

(a) 位置14及び46の間に含まれ、位置14~34に相当するペプチド及び位置14~46に相当するペプチド(SEQ ID Nos.8、19)の群から選択されるペプチド、

(b) 位置30~50に相当するペプチド(SEQ ID No. 10)、

- (c) 位置44及び67の間に含まれ、位置45～67に相当するペプチド及び位置44～67に相当するペプチド (SEQ ID Nos.26, 27) の群から選択されるペプチド、
- (d) 位置61～80に相当するペプチド (SEQ ID No. 11)、
- (e) 位置76及び119の間に含まれ、位置76～95に相当するペプチド、位置91～110に相当するペプチド及び位置91～119に相当するペプチド (SEQ ID Nos.12, 35, 13) の群から選択されるペプチド、
- (f) 位置118～140の間に含まれ、位置118～140に相当するペプチド及び位置121～140に相当するペプチド (SEQ ID Nos.40, 41) の群から選択されるペプチド、
- (g) 位置135～158に相当するペプチド (SEQ ID No. 44)、並びに、
- (h) (a)～(g)で規定したペプチドと少なくとも60%の相同性若しくは少なくとも80%の類似性、好ましくは少なくとも70%の相同性若しくは少なくとも99%の類似性を有するアミノ酸配列を示す、好ましくは15～20個のアミノ酸のペプチドであって、該ペプチドが、大きさが同一であり、(a)～(g)で規定したペプチド若しくはこれらのペプチドと完全に若しくは部分的にオーバーラップする他のペプチドに含まれるものであり、HPV16のE6タンパク質の位置15～44、46～67、80～108及び118～139に相当するペプチド (SEQ ID Nos. 53～56) を除くペプチド

の群から選択される

ことを特徴とする請求項1に記載のペプチドの混合物。

**【請求項3】**

E7タンパク質に由来するペプチドが、HPV16に由来し、  
 HPV16の該E7タンパク質の位置1～20に相当するペプチド、位置7～27に相当するペプチド、位置65～87に相当するペプチド及び位置78～98に相当するペプチド、並びに、  
 該ペプチドと少なくとも60%の相同性若しくは少なくとも80%の類似性、好ましくは少なくとも70%の相同性若しくは少なくとも99%の類似性を有するアミノ酸配列を示す、好ましくは15～20個のアミノ酸のペプチドであって、該ペプチドが、大きさが同一であるか、又は、前記ペプチド若しくはこれらのペプチドと完全に若しくは部分的にオーバーラップする他のペプチドに含まれるものであり、HPV16のE7タンパク質の位置3～25及び79～97に相当するペプチド (SEQIDNos.57, 58) を除くペプチド

の群から選択される

ことを特徴とする請求項1又は2に記載のペプチドの混合物。

**【請求項4】**

以下の混合物の群から選択される

ことを特徴とする請求項1～3のいずれか1つに記載のペプチドの混合物：

- \* 位置14～34又は位置14～46に相当するペプチド、位置30～50に相当するペプチド及び位置44～67又は位置45～67に相当するペプチドからなる：HPV16のE6タンパク質に由来するペプチドの混合物；
- \* 位置61～80に相当するペプチド、位置76～95に相当するペプチド及び位置91～119に相当するペプチドからなる：HPV16のE6タンパク質に由来するペプチドの混合物；
- \* 位置1～20に相当するペプチド及び位置7～27に相当するペプチドからなる：HPV16のE7タンパク質に由来するペプチドの混合物；
- \* 位置65～87に相当するペプチド及び位置78～98に相当するペプチドからなる：HPV16のE7タンパク質に由来するペプチドの混合物；
- \* 並びに、HPV16のE6タンパク質に由来するペプチドの混合物の1つ、及び、HPV16のE7タンパク質に由来する混合物の1つからなる混合物。

**【請求項5】**

少なくとも1つの医薬上受容な媒体、及び、所望により少なくとも1つのアジュバントと組み合わせた請求項1～4のいずれか1つに記載のHPVのE6タンパク質に由来するペプチドの混合物及び/又はHPVのE7タンパク質に由来するペプチドの混合物からなる  
 ことを特徴とする免疫原性抗HPV16組成物。

**【請求項6】**

前記ペプチドが、リポペプチドの形態であるか、組換えウイルス又は遺伝子治療のためのウイルスベクターに組み込まれているか、タンパク質に包含されているか、化学的に修飾されているかのいずれかであることを特徴とする請求項5に記載の組成物。

【請求項7】

前記ペプチドの混合物が：

- 1つ以上のCD8+エピトープ、より特異的にはHPVタンパク質、特にHPV16タンパク質に由来するCD8+エピトープを含む1つ以上のペプチド若しくはリポペプチド、及び／又は、
- 破傷風毒素TTペプチド(位置830～846)、インフルエンザヘマグロチニンHAペプチド(位置307～319)、PADRE、プラスモディウムファルシパルムLSA3ペプチド等の多価CD4+エピトープからなるその他のペプチド、及び／又は、
- 1つ以上のBエピトープ、より特異的にはHPV16タンパク質に由来するBエピトープを含む1つ以上のペプチド若しくはリポペプチドと組み合わされる

ことを特徴とする請求項5又は請求項6に記載の組成物。

【請求項8】

請求項1～4のいずれか1つで規定したペプチドをエンコードする配列を含むことを特徴とする免疫原性組成物。

【請求項9】

請求項5～8のいずれか1つに記載の免疫原性組成物を含むことを特徴とするワクチン。

【請求項10】

HPV、特にHPV16のE6タンパク質及び／又はHPV、特にHPV16のE7タンパク質に由来するペプチドであって：

- 請求項1～6で規定したように、白人個体群において主要である少なくとも1つのHLA II (HLA-DR) 分子について<1000nM、好ましくは<800nMの結合活性を有することができ、該ペプチドに特異的なCD4+ Tリンパ球により認識されることができ、該ペプチドに特異的なCD4+ Tリンパ球を誘導することができるCD4+エピトープを含み、
- HPV16のE6タンパク質の以下のペプチド：ペプチドE6(14～34若しくは14～45)、ペプチドE6(30～50)、ペプチドE6(61～80)、ペプチドE6(76～95)、ペプチドE6(91～119)及びペプチドE6(20～34、24～38、28～42、31～45、36～50、42～56、50～64、55～69、76～90、78～92、81～95、84～98、89～103、93～107、97～111、101～115、124～138、130～144)、又は、HPV16のE7タンパク質の以下のペプチド：ペプチドE7(1～20)ペプチドE7(7～27)、ペプチドE7(60～74)ペプチドE7(65～87)、ペプチドE7(78～98)及びペプチドE7(6～20、9～23、13～27、65～79、67～81、72～86、77～91、84～98)にそれぞれ相当する配列SEQ ID Nos.8～18、21～25、28～34、36～39、42～43及び45～52の断片の群から選択される

ことを特徴とするペプチド。

【請求項11】

請求項1～4のいずれか1つで規定したペプチド又は請求項10に記載のペプチドの群から選択され、

該ペプチドが、多量体の複合体の形態にあり、任意にラベルされているか複合化されている

ことを特徴とする診断試薬。

【請求項12】

ELISPOTアッセイ、T細胞増殖アッセイ若しくは多量体の複合体を用いるアッセイを用いて請求項1～4のいずれか1つで規定したE6及び／又はE7ペプチドに特異的なCD4+ T細胞の存在を検出する段階を含む

ことを特徴とする個体の免疫状態の評価方法。

【請求項13】

少なくとも以下の段階を含む

ことを特徴とするHPV16特異的Tリンパ球の選別方法：

- 選別されることとなる細胞の懸濁物をインキュベーションするか、又は、請求項1～4及び10のいずれか1つで規定したE6及び／若しくはE7ペプチド／溶解性のビオチン化HLA II分子で構成される多量体の複合体から形成され、フルオロクロムでラベルされたストレプトアビジンに結合された1つ以上の四量体とともに1～3時間接觸させる、
- フローサイトメトリーにより分析する、並びに、
- 四量体でラベルされた細胞を選別する。

【請求項14】

h)で規定した前記ペプチドが、HPV16のE6タンパク質の位置20～34、24～38、28～42、31～45、36～50、42～56、50～64、55～69、76～90、78～92、81～95、84～98、89～103、93～107、97～111、101～115、124～138及び130～144(SEQID Nos.21～25、28～34、36～39、42～43)にそれぞれ相当するペプチドの群から選択される

ことを特徴とする請求項2に記載のペプチドの混合物。

【請求項15】

前記ペプチドが、HPV16のE7タンパク質の位置6～20、9～23、13～27、65～79、67～81、72～86、77～91及び84～98にそれぞれ相当するペプチド(SEQID Nos.45～52)の群から選択される

ことを特徴とする請求項3に記載のペプチドの混合物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0035】

上記混合物の好適な態様によると、HPVのE6タンパク質に由来するペプチドが、HPV16に由来し：

HPV16のE6タンパク質の

- (a) 位置14及び46の間に含まれ、位置14～34に相当するペプチド及び位置14～46に相当するペプチド(SEQ ID Nos.8、19)の群から選択されるペプチド、
- (b) 位置30～50に相当するペプチド(SEQ ID No. 10)、
- (c) 位置44及び67の間に含まれ、位置45～67に相当するペプチド及び位置44～67に相当するペプチド(SEQ ID Nos.26、27)の群から選択されるペプチド、
- (d) 位置61～80に相当するペプチド(SEQ ID No. 11)、
- (e) 位置76及び119の間に含まれ、位置76～95に相当するペプチド、位置91～110に相当するペプチド及び位置91～119に相当するペプチド(SEQ ID Nos.12、35、13)の群から選択されるペプチド、
- (f) 位置118～140の間に含まれ、位置118～140に相当するペプチド及び位置121～140に相当するペプチド(SEQ ID Nos.40、41)の群から選択されるペプチド、
- (g) 位置135～158に相当するペプチド(SEQ ID No. 44)、並びに、
- (h) (a)～(g)で規定したペプチドと少なくとも60%の相同性若しくは少なくとも80%の類似性、好ましくは少なくとも70%の相同性若しくは少なくとも99%の類似性を有するアミノ酸配列を示す、好ましくは15～20個のアミノ酸のペプチドであって、上記ペプチドが、大きさが同一であり、(a)～(g)で規定されたペプチド若しくはこれらのペプチドと完全に若しくは部分的にオーバーラップするその他のペプチドに含まれるものであり、HPV16のE6タンパク質の位置15～44、46～67、80～108及び118～139に相当するペプチド(SEQ ID Nos.53～56)を除くペプチドの群から選択される。