

【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】令和 3 年 5 月 20 日 (2021.5.20)

【公表番号】特表 2020-516277 (P2020-516277A)

【公表日】令和 2 年 6 月 11 日 (2020.6.11)

【年通号数】公開・登録公報 2020-023

【出願番号】特願 2019-555574 (P2019-555574)

【国際特許分類】

C 1 2 N 7/01 (2006.01)

C 1 2 N 7/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/24 (2006.01)

C 1 2 N 15/25 (2006.01)

C 1 2 N 15/23 (2006.01)

C 1 2 N 15/54 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/34 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 7/01 Z N A

C 1 2 N 7/02

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/113 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/24

C 1 2 N 15/25

C 1 2 N 15/23

C 1 2 N 15/54

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/34

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 4 月 9 日 (2021.4.9)

【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】

(a) A549 宿主細胞に組み換えウイルスを感染させて感染した A549 宿主細胞を産生する工程；および

(b) 感染した A549 宿主細胞を、血清非含有培地中、組み換えウイルスの複製を可能にする条件下で懸濁培養し、それにより組み換えウイルスを産生する工程

を含む、組み換えウイルスを産生するための方法であって、任意に、ウイルスが、アデノウイルス（好ましくは、5 型アデノウイルス (Ad5)）またはアデノ随伴ウイルスである、方

法。

【請求項 2】

(a) A549 宿主細胞に組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを感染させて感染した A549 宿主細胞を産生する工程、または組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を A549 宿主細胞に導入する工程；および

(b) A549 宿主細胞を、血清非含有培地中、組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスの産生を可能にする条件下で懸濁培養して、それにより組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを産生する工程

を含む、組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを産生するための方法であって、アデノウイルスが、好ましくは、5 型アデノウイルス (Ad5) である、方法。

【請求項 3】

A549 宿主細胞が SF-BMAdR 281 A549 細胞である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

A549 宿主細胞を少なくとも 3 日間培養する、請求項 1～3 いずれか一項記載の方法。

【請求項 5】

工程 (b) の後に、組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを精製する工程をさらに含む、請求項 1～4 いずれか一項記載の方法。

【請求項 6】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを精製する工程が A549 宿主細胞を溶解することを含む、請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを精製する工程がヌクレアーゼ処理を含む、請求項 5 または 6 記載の方法。

【請求項 8】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを精製する工程がイオン交換クロマトグラフィーを含む、請求項 5～7 いずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを精製する工程が、

(i) 感染した A549 宿主細胞を溶解して細胞溶解物を産生すること；

(ii) 細胞溶解物をヌクレアーゼで処理して、処理された細胞溶解物を産生すること；および

(iii) イオン交換クロマトグラフィーにより、処理された細胞溶解物から組み換えウイルスを精製すること

を含む、請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

工程 (a) において、組み換え腫瘍崩壊性ウイルスをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を HEK293 宿主に導入する工程、および工程 (b) において、HEK293 宿主細胞を、血清非含有培地中、組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスの産生を可能にする条件下で懸濁培養する工程；

工程 (b) において、A549 宿主細胞を、血清非含有培地中、組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスの複製を可能にする条件下で接着培養する工程；および／または

工程 (b) において、A549 宿主細胞を、血清含有培地中、組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスの複製を可能にする条件下で懸濁培養する工程

を含む同様の方法と比較して、少なくとも 10x 多い組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスを生じる、請求項 2～9 いずれか一項記載の方法。

【請求項 11】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスが、機能性 Pea3 結合部位の欠失を有する Ela プロモーターを含み、任意に、欠失が、Ela の開始部位の約 -300～約 -250 上流に対応するヌクレオチドの欠失（例えば、Ela の開始部位の -305～-255 上流に対応するヌクレオチドの欠失、または Ela の開始部位の -304～-255 上流に対応するヌクレオチドの欠失）および／また

はAd5ゲノム(配列番号：1)の195～244に対応するヌクレオチドの欠失を含み、および／または任意に、Elaプロモーターが配列GGTGTTTTGG(配列番号：2)を含む、請求項2～10いずれか一項記載の方法。

【請求項12】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスが、機能性TATAボックスの欠失を有するElaプロモーターを含み、任意に、欠失がTATAボックス全体の欠失、Elaプロモーターの-27～-24に対応するヌクレオチドの欠失(例えば、Elaプロモーターの-31～-24に対応するヌクレオチドの欠失、Elaプロモーターの-44～+54に対応するヌクレオチドの欠失またはElaプロモーターの-146～+54に対応するヌクレオチドの欠失)および／またはAd5ゲノム(配列番号：1)の472～475に対応するヌクレオチドの欠失(例えば、Ad5ゲノム(配列番号：1)の468～475に対応するヌクレオチドの欠失、Ad5ゲノム(配列番号：1)の455～552に対応するヌクレオチドの欠失またはAd5ゲノム(配列番号：1)の353～552に対応するヌクレオチドの欠失)を含む、請求項2～11いずれか一項記載の方法。

【請求項13】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスが、配列CTAGGACTG(配列番号：3)、AGTGCCCG(配列番号：8)および／またはTATTCCCG(配列番号：9)を含むウイルスを生じるポリヌクレオチド欠失を含む、請求項2～12いずれか一項記載の方法。

【請求項14】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスが、機能性CAATボックスの欠失を有するElaプロモーターを含み、任意に、欠失が、CAATボックス全体の欠失、Elaプロモーターの-76～-68に対応するヌクレオチドの欠失および／またはAd5ゲノム(配列番号：1)の423～431に対応するヌクレオチドの欠失を含み、および／または任意に、Elaプロモーターが、配列TTCCGTGGCG(配列番号：10)を含む、請求項2～13いずれか一項記載の方法。

【請求項15】

組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスが、トランスジーンをコードするヌクレオチド配列を含み、任意に、トランスジーンが、CD80、CD137L、IL-23、IL-23A/p19、p40、IL-27、IL-27A/p28、IL-27B/EBI3、ICAM-1、TGF- β トラップ、TGF- β 、CD19、CD20、IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、CD154、CD86、BORIS/CTCF、FGF、IL-24、MAGE、NY-ESO-1、アセチルコリン、インターフェロン γ 、DKK1/Wnt、p53、チミジンキナーゼ、抗PD-1抗体重鎖または軽鎖、および抗PD-L1抗体重鎖または軽鎖から選択されるポリペプチドをコードする、請求項2～14いずれか一項記載の方法。

【請求項16】

ヌクレオチド配列がE1b-19K挿入部位に挿入され、E1b-19K挿入部位がE1b-19Kの開始部位とE1b-19Kの停止部位の間に配置され、任意に、E1b-19K挿入部位が、E1b-19Kの開始部位に隣接する約200ヌクレオチドの欠失(例えば、E1b-19Kの開始部位に隣接する202ヌクレオチドまたは203ヌクレオチドの欠失)、Ad5ゲノム(配列番号：1)のヌクレオチド1714～1917に対応する欠失もしくはAd5ゲノム(配列番号：1)のヌクレオチド1714～1916に対応する欠失を含み、任意に、トランスジーンが、Ad5ゲノム(配列番号：1)の1714に対応するヌクレオチドと1917に対応するヌクレオチドの間もしくは1714に対応するヌクレオチドと1916に対応するヌクレオチドの間もしくはCTGACCTC(配列番号：4)とTCACCAGG(配列番号：5)の間に挿入され、および／または任意に、組み換え腫瘍崩壊性アデノウイルスが、5'～3'の方向で、CTGACCTC(配列番号：4)、トランスジーンおよびTCACCAGG(配列番号：5)を含む、請求項15記載の方法。

【請求項17】

トランスジーンが外来性のプロモーター配列に操作可能に連結されない、および／または組み換えウイルスが、過増殖性細胞においてトランスジーンを選択的に発現する、請求項15または16記載の方法。

【請求項18】

組み換えウイルスが過増殖性細胞において選択的に複製する、請求項1～17いずれか一項記載の方法。