

【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2月9日(2012.2.9)

【公表番号】特表2011-507514(P2011-507514A)

【公表日】平成23年3月10日(2011.3.10)

【年通号数】公開・登録公報2011-010

【出願番号】特願2010-539474(P2010-539474)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	7/04	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 K	39/205	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	7/04	Z N A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
A 6 1 K	39/205	
A 6 1 P	31/12	

【手続補正書】

【提出日】平成23年12月12日(2011.12.12)

【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】

細胞培養物中で弱毒化した水疱性口内炎ウイルス(VSV)を產生する方法であって、RNAあるいはコドンを最適化したVSV Gタンパク質をコードする核酸配列を含む細胞を提供すること、ここで、当該最適化核酸配列からVSV Gタンパク質の発現が誘導可能である。

前記最適化核酸配列からVSV Gタンパク質が発現されるように、細胞を誘導することと、

誘導した細胞を弱毒化したVSVで感染させることと、

感染した細胞を培養で成長させることと、

弱毒化したVSVを培養物から回収することと

を含む方法。

【請求項2】

弱毒化したVSVが繁殖欠損VSVである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

細胞が、VSV Gタンパク質の発現を制御するための熱ショック誘導可能な転写制御

配列を有する核酸、または、V S V G タンパク質の発現を制御するための熱ショック誘導可能な転写制御配列を有する核酸であって、当該熱ショック誘導可能な転写制御配列が、最小限のh C M V プロモーターの5'側に位置する複数コピーの熱ショックエレメントを含むハイブリッドプロモーターを含有する、を含む、請求項1または2のいずれか一項に記載の方法。

【請求項4】

熱ショック誘導可能な転写制御配列が、R N A ポリメラーゼI I によって認識され、熱誘導の際に機能的なm R N A を生じる転写単位を調節する、または、熱ショックエレメントが、5' - G A A n n T T C - 3' (配列番号7)、5' - G A A C G T T C - 3' (配列番号8)、5' - G A A G C T T C - 3' (配列番号9)、5' - G A A A T T T C - 3' (配列番号10)、5' - G A A T A T T C - 3' (配列番号11)もしくはその組合せからなる請求項3に記載の方法。

【請求項5】

最小限のh C M V プロモーターが配列番号12によって表される、請求項3または4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

熱ショック誘導可能な転写制御配列が配列番号6によって表される、請求項3から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

弱毒化したV S V が、異種抗原、病原体由来の異種抗原、または、病原体由来の異種抗原であって、病原体が、麻疹ウイルス、サブグループAおよびサブグループBの呼吸器合胞体ウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、1型または2型のヒトパピローマウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、単純ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、エブスタインバーウィルス、フィロウイルス、ブンヤウイルス、フラビウイルス、アルファウイルスまたはインフルエンザウイルスから選択される、をコードしている、請求項1から6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

弱毒化したV S V が、サイトカイン、T - ヘルパーエピトープ、制限部位マーカー、または哺乳動物宿主において免疫応答を誘発することができる微生物病原体もしくは寄生生物のタンパク質から選択される、非ウイルス分子をさらにコードしている、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

細胞が適格な産生細胞、または、V e r o 細胞である、請求項1から8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

最適化したV S V G 遺伝子が、インディアナ血清型またはニュージャージー血清型に由来する、または、配列番号3、配列番号4および配列番号5からなる群から選択される、請求項1から9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

弱毒化したV S V が、V S V G タンパク質を欠く(V S V - G)、
切断された細胞外ドメインを有するGタンパク質を発現する(V S V - G s t e m)、
切断された細胞質尾部(C T)領域を有するGタンパク質を発現する、
1個のアミノ酸に切断された細胞質尾部領域を有するGタンパク質(G - C T 1)を発現する、または、
9個のアミノ酸に切断された細胞質尾部領域を有するGタンパク質(G - C T 9)を発現する、
請求項1から10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

弱毒化したV S V が、ウイルスゲノム中のその野生型の位置から下流に転座しているN

遺伝子を含み、それによってNタンパク質発現が低下させる、または、非細胞変性性M遺伝子突然変異(M n c p)を含み、前記突然変異が、内部A U Gでタンパク質合成を開始すること、IFN誘導に影響を与えること、核輸送に影響を与えること、もしくはその組合せによって、Mタンパク質のmRNAから発現される2つの重複するインフレームのポリペプチドの発現を低下させる、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

細胞培養物中で弱毒化した水疱性口内炎ウイルス(VSV)を產生する方法であって、RNAあるいはコドンを最適化したVSV Gタンパク質をコードする核酸配列を含む細胞を提供すること、ここで、当該最適化核酸配列からVSV Gタンパク質の発現が誘導可能である、

前記最適化した核酸配列を含む細胞を、弱毒化したVSVのゲノムまたはアンチゲノムをコードしているポリヌクレオチドを含むウイルスcDNA発現ベクター、VSVのN、P、LおよびGタンパク質をコードしている1つまたは複数の支持プラスミド、およびDNA依存性RNAポリメラーゼをコードしているプラスミドで形質転換することと、

前記最適化した核酸配列からVSV Gタンパク質が発現されるように、形質転換した細胞を誘導することと、

誘導した細胞を培養で成長させることと、

弱毒化したVSVを培養物から回収することとを含む方法。

【請求項14】

細胞を、VSVのMタンパク質をコードしている支持プラスミドでさらに形質移入する、または、弱毒化したVSVが繁殖欠損VSVであり、および、細胞をVSVのMタンパク質をコードしている支持プラスミドで形質移入する、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

請求項13または14のいずれか一項に記載の方法であって、

DNA依存性RNAポリメラーゼがT7 RNAポリメラーゼであり、ウイルスcDNA発現ベクターおよび支持プラスミドがT7プロモーターの制御下にある、およびまたは、

RNAが、弱毒化したVSVのゲノムまたはアンチゲノムをコードしているポリヌクレオチドから転写される、およびまたは、

支持プラスミドによってコードされているGタンパク質が、RNAあるいはコドンを最適化していないVSV G遺伝子をコードする核酸配列によってコードされている、およびまたは、

前記最適化した核酸配列からのVSV Gタンパク質の発現が、サイトメガロウイルスに由来するRNAポリメラーゼIIプロモーターの制御下にある、およびまたは、

前記最適化した核酸配列がインディアナ血清型またはニュージャージー血清型に由来する、およびまたは、

細胞が電気穿孔によって形質転換される、およびまたは、

弱毒化したVSVが異種抗原をコードしている、およびまたは、

最適化したVSV G遺伝子が、配列番号3、配列番号4および配列番号5からなる群から選択される、およびまたは、

弱毒化したVSVがVSV Gタンパク質を欠く(VSV-G)、もしくは、切断された細胞外ドメインを有するGタンパク質を発現する(VSV-G system)、およびまたは、

細胞が、VSV Gタンパク質の発現を制御するための熱ショック誘導可能な転写制御配列を有する核酸、もしくは、VSV Gタンパク質の発現を制御するための熱ショック誘導可能な転写制御配列を有する核酸であって、当該熱ショック誘導可能な転写制御配列が、最小限のhCMVプロモーターの5'側に位置する複数コピーの熱ショックエレメントを含むハイブリッドプロモーターを含有する、もしくは、VSV Gタンパク質の発現を制御するための熱ショック誘導可能な転写制御配列を有する核酸であって、当該熱シ

ヨック誘導可能な転写制御配列が、最小限のhCMVプロモーターの5'側に位置する複数コピーの熱ショックエレメントを含むハイブリッドプロモーターを含有し、熱ショックエレメントが、5'-GAA_nTTTC-3'（配列番号7）、5'-GAA_nGTTC-3'（配列番号8）、5'-GAA_nGCTTC-3'（配列番号9）、5'-GAAA_nTTTC-3'（配列番号10）、5'-GAATATTTC-3'（配列番号11）もしくはその組合せからなる、を含む、およびまたは、

最小限のhCMVプロモーターが配列番号12によって表される、およびまたは、

熱ショック誘導可能な転写制御配列が配列番号6によって表される、

方法。

【請求項16】

繁殖欠損水疱性口内炎ウイルス（VSV）のパッケージングを改善する方法であって、

a) RNAあるいはコドンを最適化したVSV Gタンパク質をコードする核酸配列を含む細胞を提供すること、ここで、当該最適化核酸配列からVSV Gタンパク質の発現が誘導可能である、、

b) 前記最適化核酸配列からVSV Gタンパク質が発現されるように、細胞を誘導することと、

c) 繁殖欠損VSVを細胞内に導入することと、

d) 細胞を培養で成長させることと、

e) パッケージングされたVSVを培養物から回収することと

を含む方法。

【請求項17】

薬学的に許容できる担体中に、請求項1から16のいずれか一項に記載の方法に従って產生した、免疫原的に有効な量の弱毒化したVSVを含む免疫原性組成物。

【請求項18】

単離した細胞であって、RNAあるいはコドンを最適化したVSV Gタンパク質をコードする核酸配列を含む、または、

熱ショック誘導可能な転写制御配列に作動可能に連結し、RNAあるいはコドンを最適化したVSV Gタンパク質をコードする核酸配列を含む、または、

温度の上昇に曝された場合にVSV Gタンパク質を発現する、または、

約39～約45の温度に曝された場合にVSV Gタンパク質を発現する、または、約30分間～約6時間の間、約39～約45の温度に曝された場合に、VSV Gタンパク質を発現する、

前記細胞。

【請求項19】

転写制御配列がハイブリッド熱ショックエレメント（HSE）/CMVプロモーターを含む、または、

転写制御配列がハイブリッド熱ショックエレメント（HSE）/CMVプロモーターを含み、ここで当該ハイブリッドプロモーターが、最小限のhCMVプロモーターの5'側に位置する複数コピーの熱ショックエレメントを含む、または、

転写制御配列がハイブリッド熱ショックエレメント（HSE）/CMVプロモーターを含み、ここで当該ハイブリッドプロモーターが、最小限のhCMVプロモーターの5'側に位置する複数コピーの熱ショックエレメントを含み、ここで、当該熱ショックエレメントが5'-GAA_nTTTC-3'（配列番号7）である、または、

転写制御配列がハイブリッド熱ショックエレメント（HSE）/CMVプロモーターを含み、ここで当該ハイブリッドプロモーターが、最小限のhCMVプロモーターの5'側に位置する複数コピーの熱ショックエレメントを含み、ここで、当該熱ショックエレメントが、5'-GAA_nGTTC-3'（配列番号8）、5'-GAA_nGCTTC-3'（配列番号9）、5'-GAATATTTC-3'（配列番号10）、5'-GAATATTTC-3'（配列番号11）およびその組合せからなる群から選択される、または、

転写制御配列がハイブリッド熱ショックエレメント（HSE）/CMVプロモーターを含

み、ここで当該 C M V プロモーターが配列番号 1 2 によって表される、または、
転写制御配列が配列番号 6 によって表される、または、
R N A あるいはコドンを最適化した V S V G タンパク質をコードする核酸配列が、配列
番号 3 、配列番号 4 および配列番号 5 からなる群から選択される、
請求項 1 8 に記載の細胞。

【請求項 2 0 】

配列番号 6 によって表される転写制御配列。

【手続補正 2 】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図1】

図1

