

【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 19 年 6 月 28 日 (2007.6.28)

【公表番号】特表 2003-528573 (P2003-528573A)

【公表日】平成 15 年 9 月 30 日 (2003.9.30)

【出願番号】特願 2000-616786 (P2000-616786)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2006.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	19/02	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	31/10	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
C 0 7 K	14/005	(2006.01)
C 0 7 K	14/195	(2006.01)
C 0 7 K	14/54	(2006.01)
C 0 7 K	14/73	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	39/00	H
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/10	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/06	
C 0 7 K	14/005	
C 0 7 K	14/195	
C 0 7 K	14/54	
C 0 7 K	14/73	

C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 N	5/00	B

【手続補正書】

【提出日】平成19年5月7日(2007.5.7)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクター。

【請求項 2】 発現ベクターが、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る、前記発現ベクターを含んで成る形質転換された細胞。

【請求項 3】 シグナル配列、抗原および細胞結合要素を含んで成る融合タンパク質。

【請求項 4】 発現ベクターが、プロモーター配列をコードするポリヌクレオチド、分泌シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリアデニル化配列をコードするポリヌクレオチドを含んで成り、前記配列が操作可能に連結される、前記発現ベクターを含んで成るワクチン。

【請求項 5】 抗原提示細胞が、請求項 3 記載の融合タンパク質でインビトロで形質導入される、前記抗原提示細胞を含んで成るワクチン。

【請求項 6】 抗原提示細胞が、請求項 1 記載の発現ベクターでインビトロで形質導入される、前記抗原提示細胞を含んで成るワクチン。

【請求項 7】 請求項 3 記載の融合タンパク質を含んで成るワクチン。

【請求項 8】 少なくとも、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチドおよび細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドを含んで成る発現ベクター。

【請求項 9】 発現ベクターを抗原提示細胞中に導入して、形質導入された抗原提示細胞を産生させること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；

前記形質導入された抗原提示細胞を、処理を受けたことのない T 細胞もしくはプライミングされた T 細胞と接触させること；ならびに

いずれかの処理を受けたことのない T 細胞もしくはプライミングされた T 細胞が前記形質導入された抗原提示細胞との接触に際して活性化されるかどうかを評価すること（ここで、前記 T 細胞の活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパー T 細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示す）、

の段階を含んで成る、CD4+ ヘルパー T 細胞を活性化することが可能である最低 1 種

のMHC-I Iに拘束されるエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の同定方法。

【請求項10】 発現ベクターを抗原提示細胞中に導入して、形質導入された抗原提示細胞を産生させること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；

前記形質導入された抗原提示細胞を、非経口経路を介して哺乳動物に投与すること；

脾細胞からT細胞を収集すること、および樹状細胞と共培養すること；ならびに

T細胞の活性化を評価すること（ここで、T細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能なポリヌクレオチド配列もしくはそのフラグメントであることを示す）、

の段階を含んで成る、インビボで免疫応答を導き出すことが可能である最低1種のMHC-I Iに拘束されるエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の同定方法。

【請求項11】 非経口経路を介して発現ベクターを哺乳動物に投与すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；

脾細胞からT細胞を収集すること、および樹状細胞と共培養すること；ならびにT細胞の活性化を評価すること（ここで、T細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能なポリヌクレオチド配列もしくはそのフラグメントであることを示す）、

の段階を含んで成る、インビボで免疫応答を導き出すことが可能である最低1種のMHC-I Iに拘束されるエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の同定方法。

【請求項12】 抗原提示細胞中に発現ベクターを導入して形質導入された抗原提示細胞を産生させることにより前記抗原提示細胞を形質導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに

抗原が細胞から分泌される条件下で前記ベクターを発現させて前記抗原を産生させること、

の段階を含んで成る、哺乳動物を免疫感作するためのワクチンの製造方法。

【請求項13】 発現ベクターを抗原提示細胞中に導入して形質導入された抗原提示細胞を産生させることにより、前記抗原提示細胞を形質導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに

融合タンパク質が細胞から分泌される条件下で前記ベクターを発現させて前記融合タンパク質を産生させること、

の段階を含んで成る、融合タンパク質の製造方法。

【請求項14】 哺乳動物に投与する前にインビトロで融合タンパク質で形質導入された抗原提示細胞を投与することを含んで成る、融合タンパク質の投与方法。

【請求項15】 細胞中に発現ベクターを導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、細胞内タンパク質をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに

融合タンパク質が細胞から分泌される条件下で、前記ベクターを発現させて前記融合タン

パク質を産生させること、
の段階を含んで成る、細胞内タンパク質の分泌方法。

【請求項16】 発現ベクターを細胞中に導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、膜タンパク質をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに

融合タンパク質が細胞から分泌される条件下で、前記ベクターを発現させて前記融合タンパク質を産生させること、
の段階を含んで成る、膜タンパク質の分泌方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0206

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0206】

本発明の主要な特徴または態様は次のとおりである。

1. 全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクター。
2. 前記ポリヌクレオチドプロモーター配列が、構成プロモーター、誘導可能なプロモーターおよび組織特異的プロモーターより成る群から選択される、態様1記載の発現ベクター。
3. 前記構成プロモーターが、SV40初期プロモーター、マウス乳腺腫瘍ウイルスプロモーター、ヒト免疫不全ウイルス末端反復配列プロモーター、モロニーウイルスプロモーター、トリ白血病毒プロモーター、エプスタインバーウイルス前初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、ヒトアクチンプロモーター、ヒトミオシンプロモーター、ヒトヘモグロビンプロモーター、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーターおよびヒト筋クレアチンプロモーターより成る群から選択される、態様2記載の発現ベクター。
4. 前記誘導可能なプロモーターが、メタロチオネインプロモーター、糖質コルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーターおよびテトラサイクリンプロモーターより成る群から選択される、態様2記載の発現ベクター。
5. 前記組織特異的プロモーターが、HER-2プロモーターおよびPSA関連プロモーターより成る群から選択される、請求項2記載の発現ベクター。
6. シグナル配列をコードする前記ポリヌクレオチドが、B型肝炎ウイルスE抗原シグナル配列、免疫グロブリン重鎖リーダー配列およびサイトカインリーダー配列より成る群から選択される、態様1記載の発現ベクター。
7. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが最低1個のエピトープのポリヌクレオチド配列を含んで成り、前記最低1個のエピトープが哺乳動物におけるB細胞応答を誘導する、態様1記載の発現ベクター。
8. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが最低1個のエピトープのポリヌクレオチド配列を含んで成り、前記最低1個のエピトープが哺乳動物におけるCD4+ T細胞応答を誘導する、態様1記載の発現ベクター。
9. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが最低1個のエピトープのポリヌクレオチド配列を含んで成り、前記最低1個のエピトープが哺乳動物におけるCD8+ T細胞応答を誘導する、態様1記載の発現ベクター。
10. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが最低1個のエピトープのポリヌクレオチド配列を含んで成り、前記最低1個のエピトープが、前記抗原が導入される哺乳動物にお

けるB細胞応答、CD4＋ T細胞応答およびCD8＋ T細胞応答を誘導する、態様1記載の発現ベクター。

11. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが複数のエピトープのポリヌクレオチド配列を含んで成り、前記複数のエピトープが、前記抗原が誘導される哺乳動物におけるB細胞応答、CD4＋ T細胞応答およびCD8＋ T細胞応答を誘導する、態様1記載の発現ベクター。

12. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、疾患と関連する最低1種のポリヌクレオチド配列から選択されるポリヌクレオチド配列であり、前記疾患が感染性疾患、癌および自己免疫疾患より成る群から選択される、態様1記載の発現ベクター。

13. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、感染性疾患からの最低1種のポリヌクレオチド配列から選択されるポリヌクレオチド配列であり、前記感染性疾患が、ウイルス、細菌、真菌および原生動物より成る群から選択される病原性微生物により引き起こされる、態様12記載の発現ベクター。

14. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、ウイルス遺伝子からの最低1種のポリヌクレオチド配列から選択されるポリヌクレオチド配列であり、前記ウイルス遺伝子が、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、パピローマウイルスおよびヘルペスウイルスより成る群から選択される、態様13記載の発現ベクター。

15. 前記B型肝炎ウイルスが、B型肝炎ウイルスe抗原もしくはB型肝炎ウイルスコア抗原である、態様14記載の発現ベクター。

16. 前記ヒト免疫不全ウイルスがgp160もしくはgp120である、態様14記載の発現ベクター。

17. 前記パピローマウイルスがパピローマウイルスE7もしくはパピローマウイルスE6である、態様14記載の発現ベクター。

18. 前記ヘルペスウイルスが、単純疱疹ウイルスタイプ1、単純疱疹ウイルスタイプ2、エプスタインバーウイルス、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス6、ヒトヘルペスウイルス7およびヒトヘルペスウイルス8より成る群から選択される、態様14記載の発現ベクター。

19. 疾患が、乳癌、子宮頸部癌、黒色腫、腎癌および前立腺癌より成る群から選択される、請求項12記載の発現ベクター。

20. 抗原の配列をコードする前記ポリヌクレオチドが、チロシナーゼ、MART、trp、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、gp100、HER-2、RasおよびPSAをコードするポリヌクレオチド配列より成る群から選択されるポリヌクレオチド配列である、請求項1記載の発現ベクター。

21. 疾患が、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、乾癬およびクローン病より成る群から選択される、請求項12記載の発現ベクター。

22. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、Fc抗体フラグメントもしくはインターロイキンをコードする、請求項1記載の発現ベクター。

23. ポリヌクレオチド配列がインターロイキン5をコードする、態様22記載の発現ベクター。

24. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが、細胞表面受容体に結合するリガンドのポリヌクレオチド配列である、態様1記載の発現ベクター。

25. リガンドの前記ポリヌクレオチド配列が、Fcフラグメント、トキシン細胞結合ドメイン、サイトカイン、小ペプチドおよび抗体をコードするポリヌクレオチド配列より成る群から選択される、態様24記載の発現ベクター。

26. 前記ポリヌクレオチド配列がシュードモナス属の外毒素の細胞結合ドメインをコードする、態様25記載の発現ベクター。

27. 前記ポリヌクレオチド配列がインターロイキン5もしくはインターロイキン6をコードする、態様25記載の発現ベクター。

28. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが、同種ポリヌクレオチド配列もしくは異種ポリヌクレオチド配列である、態様1記載の発現ベクター。

29. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが同種のFcフラグメントである、態様28記載の発現ベクター。
30. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが異種のFcフラグメントである、態様28記載の発現ベクター。
31. 前記発現ベクターが、細胞のゲノム中への前記発現ベクターの組込みを助長する組込みシグナル配列をさらに含んで成る、態様1記載の発現ベクター。
32. 組込みシグナル配列が、ウイルスの末端反復配列もしくはアデノ随伴ウイルスのITR配列である、態様31記載の発現ベクター。
33. ベクターが、ウイルスベクター、細菌ベクターおよび哺乳動物ベクターより成る群から選択される、態様1記載の発現ベクター。
34. 発現ベクターが、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る、前記発現ベクターを含んで成る形質転換された細胞。
35. 前記細胞が原核生物もしくは真核生物である、態様34記載の細胞。
36. 前記真核生物細胞が、酵母、昆虫および哺乳動物より成る真核生物細胞の群から選択される、態様35記載の細胞。
37. シグナル配列、抗原および細胞結合要素を含んで成る融合タンパク質。
38. 発現ベクターが、プロモーター配列をコードするポリヌクレオチド、分泌シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリアデニル化配列をコードするポリヌクレオチドを含んで成り、前記配列が操作可能に連結される、前記発現ベクターを含んで成るワクチン。
39. 抗原提示細胞が、態様37記載の融合タンパク質でインビトロで形質導入される、前記抗原提示細胞を含んで成るワクチン。
40. 抗原提示細胞が、態様1記載の発現ベクターでインビトロで形質導入される、前記抗原提示細胞を含んで成るワクチン。
41. 態様37記載の融合タンパク質を含んで成るワクチン。
42. 少なくとも、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチドおよび細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドを含んで成る発現ベクター。
43. 発現ベクターを細胞中に導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、前記抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに前記抗原が細胞から分泌される条件下で前記ベクターを発現させて前記抗原を産生させることであって；前記分泌された抗原は細胞中にエンドサイトーシスされ；前記エンドサイトーシスされた抗原が細胞の内側でプロセッシングされ；そして前記プロセッシングされた抗原が細胞表面タンパク質に提示されて、T細胞に媒介される免疫応答を導き出す、の段階を含んで成る、抗原に対し向けられる免疫応答を導き出す方法。
44. プロセッシングされた抗原が、MHC-I、MHC-IIもしくはB細胞受容体より成る群から選択される細胞表面タンパク質に提示される、態様43記載の方法。
45. 抗原が第一の細胞により分泌されかつ第二の細胞によりインターナリゼーションされる、態様43記載の方法。
46. 第一の細胞および第二の細胞が抗原提示細胞である、態様45記載の方法。
47. 第一の細胞が非抗原提示細胞でありかつ第二の細胞が抗原提示細胞である、態様45記載の方法。
48. 第一の細胞が筋細胞である、態様47記載の方法。
49. 請求項1記載の発現ベクターを、非経口経路を介して哺乳動物に直接投与する段階を含んで成る、抗原に対し向けられる免疫応答を導き出す方法。

50. 前記ポリヌクレオチドプロモーター配列が、構成プロモーター、誘導可能なプロモーターおよび組織特異的プロモーターより成る群から選択される、態様43記載の方法。

51. 前記構成プロモーターが、SV40初期プロモーター、マウス乳腺腫瘍ウイルスプロモーター、ヒト免疫不全ウイルス末端反復配列プロモーター、モロニーウイルスプロモーター、トリ白血病毒プロモーター、エプスタインバーウイルス前初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、ヒトアクチンプロモーター、ヒトミオシンプロモーター、ヒトヘモグロビンプロモーター、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーターおよびヒト筋クレアチンプロモーターより成る群から選択される、態様50記載の方法。

52. 前記誘導可能なプロモーターが、メタロチオネインプロモーター、糖質コルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーターおよびテトラサイクリンプロモーターより成る群から選択される、態様50記載の方法。

53. 前記組織特異的プロモーターが、HER-2プロモーターおよびPSA関連プロモーターより成る群から選択される、態様50記載の方法。

54. シグナル配列をコードする前記ポリヌクレオチドが、B型肝炎ウイルスe抗原シグナル配列、免疫グロブリン重鎖リーダー配列およびサイトカインリーダー配列より成る群から選択される、態様43記載の方法。

55. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、疾患と関連する最低1種のポリヌクレオチド配列から選択されるポリヌクレオチド配列であり、前記疾患が感染性疾患、癌および自己免疫疾患より成る群から選択される、態様43記載の方法。

56. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、感染性疾患からの最低1種のポリヌクレオチド配列から選択されるポリヌクレオチド配列であり、前記感染性疾患が、ウイルス、細菌、真菌および原生動物より成る群から選択される病原性微生物により引き起こされる、態様55記載の方法。

57. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、ウイルス遺伝子からの最低1種のポリヌクレオチド配列から選択されるポリヌクレオチド配列であり、前記ウイルス遺伝子が、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、パピローマウイルスおよびヘルペスウイルスより成る群から選択される、態様56記載の方法。

58. 前記B型肝炎ウイルスが、B型肝炎ウイルスe抗原もしくはB型肝炎ウイルスコア抗原である、態様57記載の方法。

59. 前記ヒト免疫不全ウイルスがgp160もしくはgp120である、態様57記載の方法。

60. 前記パピローマウイルスがパピローマウイルスE7もしくはパピローマウイルスE6である、態様57記載の方法。

61. 前記ヘルペスウイルスが、単純疱疹ウイルスタイプ1、単純疱疹ウイルスタイプ2、エプスタインバーウイルス、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス6、ヒトヘルペスウイルス7およびヒトヘルペスウイルス8より成る群から選択される、態様57記載の方法。

62. 疾患が、乳癌、子宮頸部癌、黒色腫、腎癌および前立腺癌より成る群から選択される、態様55記載の方法。

63. 疾患が、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、乾癬およびクローン病より成る群から選択される、態様55記載の方法。

64. 抗原をコードする前記ポリヌクレオチドが、Fc抗体フラグメントもしくはインターロイキンをコードする、態様43記載の方法。

65. ポリヌクレオチド配列がインターロイキン5をコードする、態様64記載の方法。

66. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが、細胞表面受容体に結合するリガンドのポリヌクレオチド配列である、態様43記載の方法。

67. リガンドの前記ポリヌクレオチド配列が、Fcフラグメント、トキシン細胞結合ドメイン、サイトカイン、小ペプチドおよび抗体をコードするポリヌクレオチド配列より成る群から選択される、態様66記載の方法。

68. 前記ポリヌクレオチド配列がシュドモナス属の外毒素の細胞結合ドメインをコードする、態様67記載の方法。

69. 前記ポリヌクレオチド配列がインターロイキン5もしくはインターロイキン6をコードする、態様67記載の方法。

70. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが、同種ポリヌクレオチド配列もしくは異種ポリヌクレオチド配列である、態様43記載の方法。

71. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが同種のFcフラグメントである、態様70記載の方法。

72. 細胞結合要素をコードする前記ポリヌクレオチドが異種のFcフラグメントである、態様70記載の方法。

73. 前記発現ベクターが、細胞のゲノム中への前記発現ベクターの組込みを助長する組込みシグナル配列をさらに含んで成る、態様43記載の方法。

74. 組込みシグナル配列が、ウイルスの末端反復配列もしくはアデノ随伴ウイルスのITR配列である、態様73記載の方法。

75. ベクターが、ウイルスベクター、細菌ベクターおよび哺乳動物ベクターより成る群から選択される、態様43記載の方法。

76. 発現ベクターを抗原提示細胞中に導入して、形質導入された抗原提示細胞を産生させること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；前記形質導入された抗原提示細胞を、処理を受けたことのないT細胞もしくはプライミングされたT細胞と接触させること；ならびにいずれかの処理を受けたことのないT細胞もしくはプライミングされたT細胞が前記形質導入された抗原提示細胞との接触に際して活性化されるかどうかを評価すること（ここで、前記T細胞の活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示す）、の段階を含んで成る、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能である最低1種のMHC-I Iに拘束されるエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の同定方法。

77. 試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが腫瘍細胞系から単離されたcDNAライブラリーである、態様76記載の方法。

78. 試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、ウイルスゲノム、細菌ゲノム、寄生虫ゲノムおよびヒトゲノムより成るcDNAライブラリーの群から選択される、態様76記載の方法。

79. 発現ベクターを抗原提示細胞中に導入して、形質導入された抗原提示細胞を産生させること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；前記形質導入された抗原提示細胞を、非経口経路を介して哺乳動物に投与すること；

脾細胞からT細胞を収集すること、および樹状細胞と共培養すること；ならびにT細胞の活性化を評価すること（ここで、T細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能なポリヌクレオチド配列もしくはそのフラグメントであることを示す）、の段階を含んで成る、インビボで免疫応答を導き出すことが可能である最低1種のMHC-I Iに拘束されるエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の同定方法。

80. 試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが腫瘍細胞系から単離されたcDNAライブラリーである、態様79記載の方法。

81. 試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、ウイルスゲノム、細菌ゲノム、寄生虫ゲノムおよびヒトゲノムより成るcDNAライブラリーの群から選択される、態

様 7 9 記載の方法。

8 2. 非経口経路を介して発現ベクターを哺乳動物に投与すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；脾細胞から T 細胞を収集すること、および樹状細胞と共培養すること；ならびに T 細胞の活性化を評価すること（ここで、T 細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD 4+ ヘルパー T 細胞を活性化することが可能なポリヌクレオチド配列もしくはそのフラグメントであることを示す）、の段階を含んで成る、インビボで免疫応答を導き出すことが可能である最低 1 種の MHC-I I に拘束されるエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の同定方法。

8 3. 試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが腫瘍細胞系から単離された cDNA ライブラリーである、態様 8 2 記載の方法。

8 4. 試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、ウイルスゲノム、細菌ゲノム、寄生虫ゲノムおよびヒトゲノムより成る cDNA ライブラリーの群から選択される、態様 8 2 記載の方法。

8 5. 最低 1 種の MHC-I I に拘束されるエピトープをコードする試験ポリペプチドを同定すること（ここで、前記ポリペプチドは、全部が操作可能に連結されたポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクターで抗原提示細胞を形質導入する条件下で同定され）、ならびに T 細胞の活性化を評価すること（ここで、T 細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD 4+ ヘルパー T 細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示し）；ならびに非経口経路を介して抗原提示細胞を哺乳動物に投与すること（ここで、前記抗原提示細胞は試験ポリペプチドで形質導入される）、の段階を含んで成る、癌の治療方法。

8 6. 最低 1 種の MHC-I I に拘束されるエピトープをコードする試験ポリペプチドを同定すること（ここで、前記ポリペプチドは、全部が操作可能に連結されたポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクターで抗原提示細胞を形質導入する条件下で同定され）、ならびに T 細胞の活性化を評価すること（ここで、T 細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD 4+ ヘルパー T 細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示し）；ならびに非経口経路を介して発現ベクターを哺乳動物に投与すること（ここで、前記発現ベクターは、少なくとも、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドおよび細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドを含んで成る）の段階を含んで成る、癌の治療方法。

8 7. 最低 1 種の MHC-I I に拘束されるエピトープをコードする試験ポリペプチドを同定すること（ここで、前記ポリペプチドは、全部が操作可能に連結されたポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクターで抗原提示細胞を形質導入する条件下で同定され）、ならびに T 細胞の活性化を評価すること（ここで、T 細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD 4+ ヘルパー T 細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示し）；ならびに非経口経路を介して抗原提示細胞を哺乳動物に投与すること（ここで、前記抗原提示細胞は試験ポリペプチドで形質導入される）の段階を含んで成る、ウイルス感染症の治療方法。

8 8. 最低 1 種の MHC-I I に拘束されるエピトープをコードする試験ポリペプチドを同定すること（ここで、前記ポリペプチドは、全部が操作可能に連結されたポリヌクレオ

チドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクターで抗原提示細胞を形質導入する条件下で同定され)、ならびにT細胞の活性化を評価すること(ここで、T細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示し);ならびに非経口経路を介して発現ベクターを哺乳動物に投与すること(ここで、前記発現ベクターは、少なくとも、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドおよび細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドを含んで成る)、の段階を含んで成る、ウイルス感染症の治療方法。

89. 最低1種のMHC-I Iに拘束されるエピトープをコードする試験ポリペプチドを同定すること(ここで、前記ポリペプチドは、全部が操作可能に連結されたポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクターで抗原提示細胞を形質導入する条件下で同定され)、ならびにT細胞の活性化を評価すること(ここで、T細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示し);ならびに非経口経路を介して抗原提示細胞を哺乳動物に投与すること(ここで、前記抗原提示細胞は試験ポリペプチドで形質導入される)、の段階を含んで成る、自己免疫疾患の治療方法。

90. 最低1種のMHC-I Iに拘束されるエピトープをコードする試験ポリペプチドを同定すること(ここで、前記ポリペプチドは、全部が操作可能に連結されたポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る発現ベクターで抗原提示細胞を形質導入する条件下で同定され)、ならびにT細胞の活性化を評価すること(ここで、T細胞の前記活性化は、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、CD4+ ヘルパーT細胞を活性化することが可能な遺伝子もしくはそのフラグメントであることを示し);ならびに非経口経路を介して発現ベクターを哺乳動物に投与すること(ここで、前記発現ベクターは、少なくとも、試験ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列および細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドを含んで成る)、の段階を含んで成る、自己免疫疾患の治療方法。

91. 抗原提示細胞中に発現ベクターを導入して形質導入された抗原提示細胞を産生させることにより前記抗原提示細胞を形質導入すること(ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り);ならびに抗原が細胞から分泌される条件下で前記ベクターを発現させて前記抗原を産生させること、の段階を含んで成る、哺乳動物を免疫感作するためのワクチンの製造方法。

92. 抗原提示細胞が、哺乳動物に投与する前にインビトロでワクチンで形質導入される、態様41記載のワクチンの投与方法。

93. ワクチンが非経口で投与される、態様38記載のワクチンの投与方法。

94. 抗原提示細胞が、哺乳動物に投与する前にエクスピボでワクチンで形質導入される、態様41記載のワクチンの投与方法。

95. サイトカイン発現ベクターおよびレトロゲン発現ベクターを哺乳動物に共投与すること(ここで、レトロゲン発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る)の段階を含んで成る、免疫応答の誘導方法。

96. サイトカイン発現ベクターがGM-CSFの配列を含有する、態様95記載の方法。
97. サイトカイン発現ベクターがIL-2の配列を含有する、態様95記載の方法。
98. 哺乳動物に1種の発現ベクターを投与すること（ここで、前記発現ベクターは、1個のプロモーターの転写制御下に、サイトカインタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列および融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を含んで成り、前記融合タンパク質はシグナル配列、抗原および細胞結合要素を含んで成る）の段階を含んで成る、免疫応答の誘導方法。
99. サイトカインタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列および融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列が別個の転写制御下にあり、また、サイトカインタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列および融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列が1個の発現ベクター中で縦列にある、態様98記載の方法。
100. 哺乳動物に2種の異なるレトロゲン発現ベクターを共投与すること（ここで、第一のレトロゲン発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、第一の抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り；また、第二のレトロゲン発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、第二の抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成る）の段階を含んで成る、免疫応答の誘導方法。
101. 哺乳動物に1種の発現ベクターを投与すること（ここで、前記発現ベクターは、1個のプロモーターの転写制御下に第一の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列および第二の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を含んで成り、前記第一の融合タンパク質は、第一のシグナル配列、第一の抗原および第一の細胞結合要素を含んで成り、かつ、前記第二の融合タンパク質は、第二のシグナル配列、第二の抗原および第二の細胞結合要素を含んで成る）の段階を含んで成る、免疫応答の誘導方法。
102. 前記第一および第二のシグナル配列が同一のシグナル配列であり、第一および第二の抗原が異なる抗原であり、そして前記第一および第二の細胞結合要素がFcフラグメントである、態様101記載の方法。
103. 前記第一および第二のシグナル配列が同一のシグナル配列であり、第一および第二の抗原が異なる抗原であり、そして前記第一および第二の細胞結合要素が同一の細胞結合要素である、態様101記載の方法。
104. 前記第一および第二のシグナル配列が異なるシグナル配列であり、第一および第二の抗原が異なる抗原であり、そして前記第一および第二の細胞結合要素が同一の細胞結合要素である、態様101記載の方法。
105. 前記第一および第二のシグナル配列が同一のシグナル配列であり、第一および第二の抗原が異なる抗原であり、そして前記第一および第二の細胞結合要素が異なる細胞結合要素である、態様101記載の方法。
106. 前記第一および第二のシグナル配列が異なるシグナル配列であり、第一および第二の抗原が異なる抗原であり、そして前記第一および第二の細胞結合要素が異なる細胞結合要素である、態様101記載の方法。
107. 第一の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列および第二の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列が別個の転写制御下にあり、また、第一の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列および第二の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列が1個の発現ベクター中で縦列にある、態様101記載の方法。
108. 融合タンパク質を投与すること（ここで、該タンパク質は細胞結合要素に融合されたMHC-IおよびMHC-IIエピトープの双方を含んで成る）の段階を含んで成る、CD4+およびCD8+双方のT細胞の同時誘導方法。
109. 発現ベクターを抗原提示細胞中に導入して形質導入された抗原提示細胞を産生さ

せることにより、前記抗原提示細胞を形質導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、抗原をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに融合タンパク質が細胞から分泌される条件下で前記ベクターを発現させて前記融合タンパク質を産生させること、の段階を含んで成る、融合タンパク質の製造方法。

1 1 0．哺乳動物に投与する前にインビトロで融合タンパク質で形質導入された抗原提示細胞を投与することを含んで成る、融合タンパク質の投与方法。

1 1 1．哺乳動物に融合タンパク質を非経口で投与することを含んで成る、融合タンパク質の投与方法。

1 1 2．細胞中に発現ベクターを導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、細胞内タンパク質をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに融合タンパク質が細胞から分泌される条件下で、前記ベクターを発現させて前記融合タンパク質を産生させること、の段階を含んで成る、細胞内タンパク質の分泌方法。

1 1 3．細胞内タンパク質をコードする前記ポリヌクレオチドの一領域が、分泌の効率を増大させるよう短縮される、態様 1 1 2 記載の方法。

1 1 4．細胞内タンパク質をコードする前記ポリヌクレオチドの一領域が、分泌の効率を増大させるよう突然変異される、態様 1 1 2 記載の方法。

1 1 5．細胞内タンパク質をコードする前記ポリヌクレオチドが H P V 1 6 E 7 である、態様 1 1 2 記載の方法。

1 1 6．発現ベクターを細胞中に導入すること（ここで、前記発現ベクターは、全部が操作可能に連結された、ポリヌクレオチドプロモーター配列、シグナル配列をコードするポリヌクレオチド、膜タンパク質をコードするポリヌクレオチド、細胞結合要素をコードするポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチドポリアデニル化配列を含んで成り）；ならびに融合タンパク質が細胞から分泌される条件下で、前記ベクターを発現させて前記融合タンパク質を産生させること、の段階を含んで成る、膜タンパク質の分泌方法。

1 1 7．膜タンパク質をコードする前記ポリヌクレオチドの一領域が、分泌の効率を増大させるよう短縮される、態様 1 1 6 記載の方法。

1 1 8．膜タンパク質をコードする前記ポリヌクレオチドの一領域が、分泌の効率を増大させるよう突然変異される、態様 1 1 6 記載の方法。

1 1 9．膜タンパク質をコードする前記ポリヌクレオチドが E B V 核抗原 1 である、態様 1 1 6 記載の方法。