

【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 25 年 1 月 10 日 (2013.1.10)

【公表番号】特表 2011-504487 (P2011-504487A)

【公表日】平成 23 年 2 月 10 日 (2011.2.10)

【年通号数】公開・登録公報 2011-006

【出願番号】特願 2010-534565 (P2010-534565)

【国際特許分類】

A 6 1 K 39/385 (2006.01)

A 6 1 K 39/39 (2006.01)

A 6 1 P 31/10 (2006.01)

C 0 8 B 37/00 (2006.01)

C 0 8 B 37/18 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 39/385

A 6 1 K 39/39

A 6 1 P 31/10

C 0 8 B 37/00 C

C 0 8 B 37/18

【手続補正書】

【提出日】平成 23 年 11 月 22 日 (2011.11.22)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 8】

また、本発明は、結合体化工程が、 $> 10 \text{ mM}$  のリン酸塩を含むリン酸緩衝液中で行なわれる、担体タンパク質に結合体化させたグルカンの作製方法；およびこのような方法によって得られる結合体に関する。

したがって、本発明は、以下の項目を提供する：

(項目 1)

(a) - 1, 3 - 結合および / または - 1, 6 - 結合を含むグルカン；ならびに (b) アジュバントを含む免疫原性組成物であって、ただし、成分 (b) は完全フロイントアジュバントではなく、コレラ毒素でもない、免疫原性組成物。

(項目 2)

上記グルカンが単一の分子種である、項目 1 に記載の組成物。

(項目 3)

- 1, 3 - 結合および / または - 1, 6 - 結合を含むグルカンを含む免疫原性組成物であって、該グルカンが単一の分子種であり、かつ担体タンパク質に結合体化されている、免疫原性組成物。

(項目 4)

さらにアジュバントを含む、項目 3 に記載の組成物。

(項目 5)

上記グルカンが担体タンパク質に結合体化されている、項目 1 または 2 に記載の組成物。

(項目 6)

上記グルカンが上記担体タンパク質に直接結合体化されている、項目 3 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 7)

上記グルカンが上記担体タンパク質にリンカーによって結合体化されている、項目 3 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 8)

上記担体タンパク質が、細菌毒素もしくはトキシド、またはその変異体である、項目 3 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9)

上記担体タンパク質が CRM 197 である、項目 8 に記載の組成物。

(項目 10)

上記グルカンが、100 kDa 未満 (例えば、80、70、60、50、40、30、25、20 または 15 kDa 未満) の分子量を有する、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 11)

上記グルカンが、60 個以下のグルコース単糖単位を有する、項目 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 12)

上記グルカンが、一部 - 1, 6 分枝を有する - 1, 3 グルカンである、項目 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 13)

上記グルカンがラミナリンである、項目 12 に記載の組成物。

(項目 14)

上記グルカンの - 1, 3 - 結合グルコース残基および - 1, 6 - 結合グルコース残基において、- 1, 6 - 結合残基に対する - 1, 3 結合グルコース残基の比が少なくとも 8 : 1 である、ならびに / または - 1, 3 結合のみによって他の残基に連結された少なくとも 5 つの隣接する非末端残基の配列が 1 つ以上存在する、項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 15)

上記グルカンが - 1, 3 - 結合グルコース残基と - 1, 6 - 結合グルコース残基との両方を含み、- 1, 6 - 結合残基に対する - 1, 3 結合グルコース残基の比が少なくとも 8 : 1 である、項目 13 に記載の組成物。

(項目 16)

上記グルカンが排他的に - 1, 3 結合を有する、項目 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 17)

上記グルカンがカードランである、項目 14 ~ 16 いずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 18)

薬学的に許容され得る担体を含む、項目 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 19)

上記アジュバントが、水酸化アルミニウムなどのアルミニウム塩；水中油型乳剤；免疫刺激性オリゴヌクレオチド；および / または - グリコシルセラミドの 1 種類以上を含む、項目 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 20)

上記アジュバントが、免疫刺激性オリゴヌクレオチドおよびポリカチオンオリゴペプチドを含む、項目 19 に記載の組成物。

(項目 21)

哺乳動物に項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の組成物を投与することを含む、哺乳動物の免疫応答を惹起するための方法。

(項目 22)

フロロタンニンをグルカンから分離し、水中 1 mg / ml で、270 nm において 0.17 未満の UV 吸光度を有するグルカンを得る工程を含む、グルカンの精製プロセス。

( 項目 2 3 )

上記フロロタンニンが上記グルカンからデプスフィルタを用いた濾過によって分離される、項目 2 2 に記載のプロセス。

( 項目 2 4 )

上記グルカンの上記フロロタンニン夾雑物を測定する後続の工程をさらに含む、項目 2 2 または 2 3 に記載のプロセス。

( 項目 2 5 )

水中 1 m g / m l で、2 7 0 n m において 0 . 1 7 未満の UV 吸光度を有するグルカン。

( 項目 2 6 )

項目 2 2 ~ 2 4 いずれか 1 項に記載のプロセスによって取得された、または取得可能なグルカン。

( 項目 2 7 )

結合体化工程が、> 1 0 m M のリン酸塩を含むリン酸緩衝液中で行なわれる、担体タンパク質に結合体化されたグルカンの作製方法。

( 項目 2 8 )

上記結合体化工程が、9 0 ~ 1 1 0 m M のリン酸塩を含むリン酸緩衝液中で行なわれる、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 2 9 )

上記結合体化工程前に上記グルカンをリンカーに結合させる、項目 2 8 に記載の方法。

( 項目 3 0 )

上記リンカーの遊離端がエステル基を含む、項目 2 9 に記載の方法。

( 項目 3 1 )

項目 2 7 ~ 3 0 いずれか 1 項に記載の方法によって得られる結合体。

**【 手続補正 2 】**

**【 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 ) - 1 , 3 - 結合および / または - 1 , 6 - 結合を含むグルカン ; ならびに ( b ) アジュバントを含む免疫原性組成物であって、ただし、成分 ( b ) は完全フロイントアジュバントではなく、コレラ毒素でもない、免疫原性組成物。

**【 請求項 2 】**

前記グルカンが単一の分子種である、請求項 1 に記載の組成物。

**【 請求項 3 】**

- 1 , 3 - 結合および / または - 1 , 6 - 結合を含むグルカンを含む免疫原性組成物であって、該グルカンが単一の分子種であり、かつ担体タンパク質に結合体化されている、免疫原性組成物。

**【 請求項 4 】**

さらにアジュバントを含む、請求項 3 に記載の組成物。

**【 請求項 5 】**

前記グルカンが担体タンパク質に結合体化されている、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

**【 請求項 6 】**

前記グルカンが前記担体タンパク質に直接結合体化されている、請求項 3 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

**【 請求項 7 】**

前記グルカンが前記担体タンパク質にリンカーによって結合体化されている、請求項 3 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記担体タンパク質が、細菌毒素もしくはトキシイド、またはその変異体である、請求項 3 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記担体タンパク質が CRM 197 である、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記グルカンが、100 kDa 未満（例えば、80、70、60、50、40、30、25、20 または 15 kDa 未満）の分子量を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記グルカンが、60 個以下のグルコース単糖単位を有する、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記グルカンが、一部 - 1, 6 分枝を有する - 1, 3 グルカンである、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記グルカンがラミナリンである、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記グルカンの - 1, 3 - 結合グルコース残基および - 1, 6 - 結合グルコース残基において、 - 1, 6 - 結合残基に対する - 1, 3 結合グルコース残基の比が少なくとも 8 : 1 である、ならびに / または - 1, 3 結合のみによって他の残基に連結された少なくとも 5 つの隣接する非末端残基の配列が 1 つ以上存在する、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 15】

前記グルカンが - 1, 3 - 結合グルコース残基と - 1, 6 - 結合グルコース残基との両方を含み、 - 1, 6 - 結合残基に対する - 1, 3 結合グルコース残基の比が少なくとも 8 : 1 である、請求項 13 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記グルカンが排他的に - 1, 3 結合を有する、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 17】

前記グルカンがカードランである、請求項 14 ~ 16 いずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 18】

薬学的に許容され得る担体を含む、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 19】

前記アジュバントが、水酸化アルミニウムなどのアルミニウム塩；水中油型乳剤；免疫刺激性オリゴヌクレオチド；および / または - グリコシルセラミドの 1 種類以上を含む、請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 20】

前記アジュバントが、免疫刺激性オリゴヌクレオチドおよびポリカチオンオリゴペプチドを含む、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の組成物を含む、哺乳動物の免疫応答を惹起するための組成物。

【請求項 22】

フロロタンニンをグルカンから分離し、水中 1 mg / ml で、270 nm において 0.17 未満の UV 吸光度を有するグルカンを得る工程を含む、グルカンの精製プロセス。

【請求項 23】

前記フロロタンニンが前記グルカンからデブスフィルタを用いた濾過によって分離される、請求項 22 に記載のプロセス。

【請求項 24】

前記グルカンの前記フロロタンニン夾雑物を測定する後続の工程をさらに含む、請求項 22 または 23 に記載のプロセス。

【請求項 25】

水中 1 mg / ml で、270 nm において 0.17 未満の UV 吸光度を有するグルカン。

【請求項 26】

請求項 22 ~ 24 いずれか 1 項に記載のプロセスによって取得された、または取得可能なグルカン。

【請求項 27】

結合体化工程が、 $> 10$  mM のリン酸塩を含むリン酸緩衝液中で行なわれる、担体タンパク質に結合体化されたグルカンの作製方法。

【請求項 28】

前記結合体化工程が、90 ~ 110 mM のリン酸塩を含むリン酸緩衝液中で行なわれる、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記結合体化工程前に前記グルカンをリンカーに結合させる、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記リンカーの遊離端がエステル基を含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

請求項 27 ~ 30 いずれか 1 項に記載の方法によって得られる結合体。