

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年11月14日(14.11.2019)



(10) 国際公開番号

WO 2019/216394 A1

(51) 国際特許分類:

C12N 15/62 (2006.01) *C12N 1/21* (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01) *C12N 5/10* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) *C12N 15/12* (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01) *C12N 15/63* (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/018657

(22) 国際出願日: 2019年5月10日(10.05.2019)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2018-091963 2018年5月11日(11.05.2018) JP

(71) 出願人: アステラス製薬株式会社(ASTELLAS PHARMA INC.) [JP/JP]; 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目5番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 丸井 崇則 (MARUI, Takanori); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目5番1号 アステラス製薬株式会社内 Tokyo (JP). 内田 征男 (UCHIDA, Masao); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目5番1号 アステラス製薬株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 鈴木 ▲頼 ▼子, 外 (SUZUKI, Yoriko et al.); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目5番1号 アステラス製薬株式会社知的財産部内 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 補正された請求の範囲 (条約第19条(1))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

(54) Title: NUCLEIC ACID FOR TREATING MITE ALLERGY

(54) 発明の名称: ダニアレルギー治療のための核酸

(57) Abstract: [Problem] To provide a nucleic acid expected to be useful in treating mite allergy. [Solution] Provided is a nucleic acid including, in the following order: a base sequence that encodes a signal peptide; a base sequence that encodes an LAMP intra-organelle stabilizing domain; a base sequence that encodes an allergen domain including Derp1, Derp2, Derp23, and Derp7; a base sequence that encodes a transmembrane domain; and a base sequence that encodes an LAMP endosomal/lysosomal targeting domain, wherein the nucleic acid includes a base sequence that encodes a chimeric protein.

(57) 要約: 【課題】 ダニアレルギー治療に有用であると期待される核酸を提供する。【解決手段】 シグナルペプチドをコードする塩基配列、LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、Derp1、Derp2、Derp23及びDerp7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、LAMPのエンドソーム/リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列を順番に含む核酸であって、キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸を提供する。

WO 2019/216394 A1

明 細 書

発明の名称：ダニアレルギー治療のための核酸

技術分野

[0001] 本発明は、医薬組成物の有効成分として有用であると期待される核酸であり、例えばダニアレルギー治療に有用であると期待される核酸に関する。

背景技術

[0002] ダニアレルギーは、ダニ由来のアレルゲンに反応して起こるアレルギー疾患である。アレルギー疾患は、1) 体内に取り込まれたアレルゲンが抗原提示細胞に貪食されてナイーブT細胞に抗原提示され、2) ナーブT細胞がTh2細胞へと分化し、3) Th2細胞等の免疫細胞からIL-4等のサイトカインが産生され、4) IL-4によってB細胞がIgEを産生し、5) アレルゲンに結合したIgEがマスト細胞に結合することによって引き起こされる。アレルギー疾患患者においては、IFN- γ 等を産生するTh1細胞が関与するTh1型免疫とIL-4等を産生するTh2細胞が関与するTh2型免疫の拮抗が、Th2型優位になり、Th2型の炎症免疫反応が起こっていることが知られている(Middleton's Allergy Seventh edition Principles & Practice、2009)。このように、IFN- γ はTh1型免疫の指標に、IL-4はTh2型免疫の指標に、使用され得る。また、マウスにおいては、IFN- γ が活性化されたB細胞におけるIgG2aアイソタイプへの優先したクラススイッチを起こさせている一方で、他のすべてのアイソタイプへの応答を抑制する。すなわちIgG2aもTh1型免疫の指標に使用され得る。例えば、IL-4欠損マウスではIgG2aの産生が促進され、IFN- γ 欠損マウスではIgG2a産生が抑制されることが知られている(Arthritis Res.、2002、Vol. 4、p. 54-58)。また、アレルゲン免疫療法の作用メカニズムに、B細胞から産生される抗体が関与しているという報告も存在する。例えば、ヒトにおいては、IgGはア

レルゲンに結合するIgEに拮抗して、アレルギー-IgE複合体形成を阻害し、マスト細胞からのヒスタミン遊離を阻害することが知られている（*J Allergy Clin Immunol.*、2017、Vol. 140、p. 1485-1498）。

[0003] 現在に至るまで、ダニアレルギーに対する複数の免疫療法の開発が進められてきた（*J Allergy Clin Immunol.*、2013、Vol. 132、p. 1322-1336；WO2014/195803；*Expert Rev Vaccines.*、2014、Vol. 13、p. 1427-1438）。また、ダニアレルギーに関連するアレルギーとして、Der p 1、Der p 2、Der p 7、Der p 23等（特許文献1、特許文献2、非特許文献1）が知られている。しかしながら、例えば、皮下免疫療法（subcutaneous immunotherapy（SCIT））及び舌下免疫療法（sublingual immunotherapy（SLIT））は、アナフィラキシーの可能性や数年に及ぶ長い治療期間等の課題を抱えている。

[0004] 核酸ワクチンの技術の1つとして、リソソーム関連膜タンパク質（lysosome-associated membrane protein；LAMP）を利用した、アレルギー治療のための核酸ワクチンが研究されている。そして、LAMPファミリーのメンバーであるLAMP-1及びクリプトメリア・ジャポニカ（*Cryptomeria japonica*）のアレルゲンであるCry J1及び／又はCry J2を含むキメラタンパク質をコードする核酸を含むプラスミドが構築された（特許文献3、非特許文献2）。そして、そのようなプラスミドは、アナフィラキシーの原因となる全身への遊離アレルギー放出を起こさず、Th1型の免疫反応を誘導することが報告されている。また、LAMP-1並びにピーナッツのアレルゲンであるAra H1、Ara H2及びAra H3を含むキメラタンパク質をコードする核酸を含むプラスミドは、マウスモデルでIgEの産生を緩和したことが報告されている（特許文献4）。ダニアレルギーの分野におい

ては、Der p 1並びにLAMP-1の膜貫通ドメイン及びエンドソーム／リソソーム標的ドメインを含むキメラタンパク質をコードする核酸を含むワクチンが構築されている（特許文献5、非特許文献3）。しかしながら、複数のダニアレルゲン抗原、並びに、LAMP-1の細胞小器官内安定化ドメイン及びエンドソーム／リソソーム標的ドメインを含む、ダニアレルギー治療のための核酸ワクチンは、未だ報告されていない。

先行技術文献

特許文献

- [0005] 特許文献1：国際公開番号1988/010297号
特許文献2：国際公開番号2007/124524号
特許文献3：国際公開番号2013/187906号
特許文献4：国際公開番号2015/200357号
特許文献5：国際公開番号2004/019978号

非特許文献

- [0006] 非特許文献1：「クリニカル・アンド・エクスペリメンタル・アレルギー（Clinical & Experimental Allergy）」、（英国）、1995；25：416-422
非特許文献2：「ジャーナル・オブ・イムノロジー・リサーチ（Journal of Immunology Research）」、（エジプト）、2016；Article ID 4857869
非特許文献3：「ワクチン（Vaccine）」、（オランダ）、2006；24（29-30）：5762-5771

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0007] 本発明の課題は、ダニアレルギー治療に有用であると期待される核酸を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、ダニアレルギー治療のための核酸の作製において相当の創意検討を重ねた結果、LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドを作製し（実施例1）、該プラスミドからキメラタンパク質が発現することを確認し（実施例2）、該プラスミドを投与したマウスにおいてTh1型免疫反応が誘導されることを見出した（実施例3、実施例4）。これらの結果、ダニアレルギー治療に有用であると期待される核酸を提供し、本発明を完成させた。

[0009] すなわち、本発明は、以下の[1]～[17]に関する。

[1]

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

シグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列

。

[2]

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

シグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列

。

[3]

シグナルペプチドがLAMPのシグナルペプチドである、[1]又は[2]に記載の核酸。

[4]

膜貫通ドメインがLAMPの膜貫通ドメインである、[1]～[3]のいずれかに記載の核酸。

[5]

シグナルペプチドが配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなり、細胞小器官内安定化ドメインが配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなり、アレルゲンドメインが、配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDerp 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDerp 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDerp 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDerp 7を含むアレルゲンドメインであり、膜貫通ドメインが配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなり、エンドソーム／リソソーム標的ドメインが配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなる、[1]～[4]のいずれかに記載の核酸。

[6]

配列番号2に示されるアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって

、
該核酸は、Derp 1、Derp 2、Derp 23及びDerp 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[7]

a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコー

ドする塩基配列を含む核酸、又は、

b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において1～10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[8]

配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸。

[9]

[1]～[8]のいずれかに記載の核酸を含む発現ベクター。

[10]

[8]に記載の核酸を含む発現ベクター。

[11]

[1]～[8]のいずれかに記載の核酸で形質転換された宿主細胞。

[12]

[1]～[8]のいずれかに記載の核酸で形質転換された宿主細胞を培養する工程を含む、核酸を生産する方法。

[13]

[10]に記載の発現ベクター及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

[14]

ダニアレルギーの予防又は治療用医薬組成物である、[13]に記載の医薬組成物。

[15]

[10]に記載の発現ベクターの予防有効量又は治療有効量を投与する工程を包含する、ダニアレルギーを予防又は治療する方法。

[16]

ダニアレルギーの予防又は治療に使用するための、[10]に記載の発現ベクター。

[17]

ダニアレルギーの予防又は治療用医薬組成物の製造における、[10]に記載の発現ベクターの使用。

発明の効果

[0010] 本発明の核酸は、ダニアレルギーの予防又は治療に使用できる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、本発明の核酸をマウスに投与した際に誘導されるDer p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7特異的IgG2a産生を示した図である。縦軸は450nmの吸光度、横軸は各投与群を示す。水平線は算術平均値を示す。

[図2]図2は、本発明の核酸を投与したマウスの脾細胞をDer p 1タンパク質、Der p 2タンパク質、Der p 7タンパク質又はDer p 23タンパク質で刺激した際のIFN- γ 産生を示した図である。縦軸は培養上清中IFN- γ 濃度(pg/mL)、横軸は各投与群を示す。水平線は算術平均値を示す。点線は定量下限値(LLOD)を示す。

[図3]図3は、本発明の核酸を投与したマウスの脾細胞をDer p 1タンパク質、Der p 2タンパク質、Der p 7タンパク質又はDer p 23タンパク質で刺激した際のIL-4産生を示した図である。縦軸は培養上清中IL-4濃度(pg/mL)、横軸は各投与群を示す。水平線は算術平均値を示す。点線は定量下限値(LLOD)を示す。

発明を実施するための形態

[0012] 以下に、本発明について詳述する。

[0013] <本発明の核酸>

本発明の核酸には、以下の特徴を有する核酸が含まれる：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列

は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

シグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7
を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列

。

[0014] 本発明において、核酸とは、ヌクレオチドが重合してできた任意の長さの塩基配列からなる高分子である。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、及び／又はそれらの類縁体を包含し得る。本発明の核酸は、例えば、DNA、RNA又はそれらの改変された核酸である。1つの実施形態において、本発明の核酸は、DNAである。

[0015] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、発現ベクターに組み込まれた核酸である。また、1つの実施形態において、本発明の核酸は、プラスミドベクターに組み込まれた核酸である。

[0016] 本明細書において、「キメラタンパク質」とは、遺伝子組み換え技術を用いて2個以上の遺伝子を融合させた塩基配列によりコードされるタンパク質を意味する。本発明の核酸は、シグナルペプチド、LAMPの細胞小器官内安定化ドメイン、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を含むアレルゲンドメイン、膜貫通ドメイン並びにLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをこの順番に含むキメラタンパク質（以下、「本発明に関するキメラタンパク質」という）をコードする塩基配列を含む。

[0017] LAMPは当業者に周知のタンパク質である（J Biol Chem, 1991, Vol. 266, p. 21327-21330）。本明細書においてLAMPとは、特に限定されないが、LAMP-1、LAMP-2、CD63/LAMP-3、DC-LAMP及びLIMP 11、並びに、そ

これらのホモログ、オルソログ、パラログ、変異体及び改変体を含む。本発明の1つの実施形態において、LAMPはLAMP-1である。本発明におけるLAMPの由来動物は特に限定されないが、1つの実施形態において、LAMPはヒトLAMPである。1つの実施形態において、ヒトLAMPはヒトLAMP-1である。ヒトLAMP-1のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号2のアミノ酸番号1から380に示されるアミノ酸配列のC末端に、配列番号2のアミノ酸番号1005から1040に示されるアミノ酸配列が結合したアミノ酸配列が挙げられる。

[0018] シグナルペプチドの一般的な構造は当業者に周知である (Annu Rev Biochem.、2003、Vol. 72、p. 395-447)。シグナルペプチドはタンパク質の輸送及び局在化を指示する機能を有する。本発明において使用されるシグナルペプチドとしては、タンパク質の輸送及び局在化を指示する機能を有する限り、任意の適切なシグナルペプチドを選択することが可能である。1つの実施形態において、本発明において使用されるシグナルペプチドはLAMPのシグナルペプチドである。1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPのシグナルペプチドは、LAMP-1のシグナルペプチドである。

[0019] 1つの実施形態において、本発明において使用されるシグナルペプチドは、以下の(a)又は(b)のアミノ酸配列からなる。

(a) 配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列；又は、

(b) 配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列において1~3個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び/若しくは付加されたアミノ酸配列。

[0020] 本明細書における「同一性」とは、EMBOSS Needle (Nucleic Acids Res.、2015、Vol. 43、p. W580-W584；https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/) を用いて、デフォルトで用意されているパラメータによって得られた Identit

yの値を意味する。前記のパラメータは以下のとおりである。

Gap Open Penalty = 10

Gap Extend Penalty = 0.5

Matrix = EBLOSUM62

End Gap Penalty = false

[0021] 1つの実施形態において、本発明において使用されるシグナルペプチドは、配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなる。

[0022] LAMPの細胞小器官内安定化ドメインの配列は当業者に周知である（国際公開番号2013/187906号）。LAMPの細胞小器官内安定化ドメインは、アレルゲンドメインを、タンパク質分解酵素、低pH、並びに、その他のタンパク質を不安定化させる物質及び条件から保護する機能を有する。本発明において使用されるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインとしては、アレルゲンドメインを、タンパク質分解酵素、低pH、並びに、その他のタンパク質を不安定化させる物質及び条件から保護する機能を有する限り、任意の適切なLAMPの細胞小器官内安定化ドメインを選択することが可能である。1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインは、LAMP-1の細胞小器官内安定化ドメインである。

[0023] 1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインは、以下の(a)又は(b)のアミノ酸配列からなる：

(a) 配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列；又は、

(b) 配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列において1～10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列。

[0024] 1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインは、配列番号2のアミノ酸番号28から380までのア

ミノ酸配列からなる。

[0025] 本発明において使用されるアレルゲンドメインは、アレルゲンとして Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を含む。Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7は、ダニに観察され得るアレルゲンである（国際公開番号1988/010297号；国際公開番号2007/124524号；Clin Exp Allergy、1995、Vol. 25、p. 416-422）。本発明において使用されるDer p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7は、抗原性を有する限り、それらの変異体であってもよい。任意のタンパク質が抗原性を有することは、例えば動物に投与することでそのタンパク質に対する抗体産生やT細胞応答が惹起されることを観察することで確認することができる（Bioanalysis、2012、Vol. 4、p. 397-406）。1つの実施形態において、本発明において使用されるDer p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7は、シグナルペプチドが欠失している。

[0026] 1つの実施形態において、Der p 1は、以下の（a）又は（b）のアミノ酸配列からなる：

（a）配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列；又は、

（b）配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列において1～10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列。

[0027] 1つの実施形態において、Der p 1は、配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなる。

[0028] 1つの実施形態において、Der p 2は、以下の（a）又は（b）のアミノ酸配列からなる：

（a）配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列との

同一性が90%以上であるアミノ酸配列；又は、

(b) 配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列において1~10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び/若しくは付加されたアミノ酸配列。

[0029] 1つの実施形態において、Der p 2は、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなる。

[0030] 1つの実施形態において、Der p 23は、以下の(a)又は(b)のアミノ酸配列からなる：

(a) 配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列；又は、

(b) 配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列において1~10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び/若しくは付加されたアミノ酸配列。

[0031] 1つの実施形態において、Der p 23は、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなる。

[0032] 1つの実施形態において、Der p 7は、以下の(a)又は(b)のアミノ酸配列からなる：

(a) 配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列；又は、

(b) 配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列において1~10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び/若しくは付加されたアミノ酸配列。

[0033] 1つの実施形態において、Der p 7は、配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなる。

[0034] 1つの実施形態において、本発明において使用されるアレルゲンドメイン

は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を任意の順番で含む。また、1つの実施形態において、本発明において使用されるアレルゲンドメインは、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7をこの順番で含む。

[0035] 1つの実施形態において、本発明において使用されるアレルゲンドメインは、配列番号2のアミノ酸番号383から1002までのアミノ酸配列からなる。

[0036] 膜貫通ドメインの一般的な構造は当業者に周知である（Annu Rev Biochem.、2007、Vol. 76、p. 125-140）。膜貫通ドメインはタンパク質を生体膜に係留する機能を有する。本発明において使用される膜貫通ドメインとしては、タンパク質を生体膜に係留する機能を有する限り、任意の適切な膜貫通ドメインを選択することが可能である。1つの実施形態において、本発明において使用される膜貫通ドメインはLAMPの膜貫通ドメインである。1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPの膜貫通ドメインは、LAMP-1の膜貫通ドメインである。

[0037] 1つの実施形態において、本発明において使用される膜貫通ドメインは、以下の（a）又は（b）のアミノ酸配列からなる：

（a）配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列；又は、

（b）配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列において1～2個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列。

[0038] 1つの実施形態において、本発明において使用される膜貫通ドメインは、配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる。

[0039] LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインの構造は当業者に周知

である（国際公開番号1994/017192号）。LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインは、タンパク質をリソソームに輸送する機能を有する。本発明において使用されるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインとしては、タンパク質をリソソームに輸送する機能を有する限り、任意の適切なLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインを選択することが可能である。1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインは、LAMP-1のエンドソーム／リソソーム標的ドメインである。

[0040] 1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインは、配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列、又は、配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列において1個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列からなる。

[0041] 1つの実施形態において、本発明において使用されるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインは、配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなる。

[0042] 本発明に関するキメラタンパク質において、シグナルペプチド、LAMPの細胞小器官内安定化ドメイン、アレルゲンドメインに含まれる各アレルゲン、膜貫通ドメイン及びLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインは、直接つながっていてもよく、又は、リンカーペプチドを介して間接的につながっていてもよい。使用されるリンカーペプチドは、当業者に適宜に選択され得る。1つの実施形態において、当該リンカーペプチドは10個以下のアミノ酸からなる。1つの実施形態において、LAMPの細胞小器官内安定化ドメインとアレルゲンドメインの間、各アレルゲンの間、及び、アレルゲンドメインと膜貫通ドメインの間に使用されるリンカーペプチドは、LeuGlu、GlyGlyGlyGly、及び、GluPheThrからなる群から選ばれるリンカーペプチドである。1つの実施形態において、膜貫通ドメインとLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインの間に使用さ

れるリンカーペプチドは、配列番号2のアミノ酸番号1029から1036までのアミノ酸配列からなるリンカーペプチドである。

[0043] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

LAMPのシグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

LAMPの膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列

。

[0044] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

LAMP-1のシグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMP-1の細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

LAMP-1の膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

LAMP-1のエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0045] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるL

AMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0046] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1029から1036までのアミノ酸配列から

なるペプチドリンカーをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0047] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

シグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7

を順番に含むアレルギードメインをコードする塩基配列、

膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列

。

[0048] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

LAMPのシグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7

を順番に含むアレルギードメインをコードする塩基配列、

LAMPの膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列

。

[0049] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

LAMP-1のシグナルペプチドをコードする塩基配列、

LAMP-1の細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、
Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7
を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、
LAMP-1の膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、
LAMP-1のエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基
配列。

[0050] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列
は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナ
ルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるL
AMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなる
Der p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ
酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から80
0までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸
番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を順番
に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列から
なる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列から
なるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配
列。

[0051] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列
は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナ

ルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1029から1036までのアミノ酸配列からなるペプチドリンカーをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0052] 本発明の核酸は、本発明に関するキメラタンパク質をコードし、該核酸がヒト又は動物に投与された場合に、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する限り、特に限定されない。ある核酸がヒト又は動物に投与された場合に、該核酸が上記アレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有するか否かは、例えば実施例3及び／又は実施例4に記載の方法で確認することができる。また、本発明の核酸は、該核酸がヒト又は動物に投与された場合に、Th1細胞優位の免疫反応を誘導する作用を有する核酸であってもよい。ある核酸がヒト又は動物に投与された場合に、該核酸がTh1細胞優位の免疫反応を誘導する作用を有するか否かは、例えば実施例4に記載の方法で確認することができる。

[0053] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

配列番号2に示されるアミノ酸配列との同一性が、90%、92%、94%、96%、98%又は99%以上であるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸。

[0054] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

配列番号2に示されるアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸。

[0055] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質、又は、配列番号2に示されるアミノ酸配列において1～10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列からなるキメラタンパク質、をコードする塩基配列を含む核酸。

[0056] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

配列番号2に示されるアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、

該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[0057] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸、又は、

b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において1～10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[0058] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

配列番号 2 に示されるアミノ酸配列との同一性が 90%以上であるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、

該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23 及び Der p 7 に対する Th1 型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[0059] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

a) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸、又は、

b) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において 1～10 個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23 及び Der p 7 に対する Th1 型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[0060] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、以下の核酸である：

配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸。

[0061] 1つの実施形態において、配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列とは、配列番号 1 に示される塩基配列である。

[0062] 本発明の核酸は、その塩基配列に基づき、当該分野で公知の方法を使用して、当業者によって容易に作製され得る。例えば、本発明の核酸は、当該分野で公知の遺伝子合成方法を利用して合成することが可能である。このような遺伝子合成方法としては、国際公開番号 90/07861 号に記載の抗体遺伝子の合成方法等の当業者に公知の種々の方法が使用され得る。

[0063] 本発明の核酸は、一度合成された後には、当該分野で公知の方法を使用して、当業者によって容易に複製され得る。例えば、本発明の核酸は、後述の〈本発明の核酸を生産する方法及び該方法により生産できる核酸〉に記載の方法で、複製することが可能である。

[0064] <本発明の発現ベクター>

本発明の発現ベクターには、本発明の核酸を含む発現ベクターが含まれる。

[0065] 本発明の核酸からキメラタンパク質を発現させるために用いる発現ベクターとしては、動物細胞中で本発明の核酸からキメラタンパク質を発現できるものである限り、特に制限されるものではない。1つの実施形態において、本発明の核酸からキメラタンパク質を発現させるために用いる発現ベクターは、ヒト体内においてキメラタンパク質を発現させるために用いることのできる発現ベクターである。本発明に用いる発現ベクターとしては、例えば、プラスミドベクター、ウイルスベクター（例えば、アデノウイルス、レトロウイルス、アデノ随伴ウイルス）等が挙げられる。1つの実施形態において、本発明に用いる発現ベクターは、プラスミドベクターである。本明細書において、「プラスミド」とは、プラスミドベクターを意味する。

[0066] 本発明の発現ベクターは、本発明の核酸に機能可能に連結されたプロモーターを含み得る。動物細胞で本発明の核酸からキメラタンパク質を発現させるためのプロモーターとしては、例えば、CMV (cytomegalovirus)、RSV (respiratory syncytial virus)、SV40 (simian virus 40) 等のウイルス由来プロモーター、アクチンプロモーター、EF (elongation factor) 1 α プロモーター、ヒートショックプロモーター等が挙げられる。1つの実施形態において、本発明の発現ベクターに含まれるプロモーターは、CMVプロモーターである。本発明の発現ベクターは、開始コドン及び終止コドンを含み得る。この場合、エンハンサー配列、非翻訳領域、スプライシング接合部、ポリアデニレーション部位、又は複製可能単位等を含んでもよい。

[0067] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、以下の核酸を含む発現ベクターである：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列

は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0068] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、以下の核酸を含む発現ベクターである：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸

番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1029から1036までのアミノ酸配列からなるペプチドリッカーをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0069] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、以下の核酸を含む発現ベクターである：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0070] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、以下の核酸を含む発現ベクターである：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1029から1036までのアミノ酸配列からなるペプチドリンカーをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0071] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸を含む発現ベクターである。

[0072] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、配列番号1に示される塩基配列を含む核酸を含む発現ベクターである。

[0073] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、配列番号3に示される塩基配列からなる核酸を含む発現ベクターである。

[0074] <本発明の宿主細胞>

本発明の宿主細胞には、本発明の核酸で形質転換された宿主細胞が含まれる。1つの実施形態において、本発明の宿主細胞は、本発明の発現ベクターで形質転換された宿主細胞である。1つの実施形態において、本発明の宿主細胞は、プラスミドベクターである本発明の発現ベクターで形質転換された宿主細胞である。

[0075] 本発明の核酸で形質転換される宿主細胞としては、特に限定されないが、核酸の複製に使用し得る細胞である限り、当該分野で公知の細胞を選択することができる。

[0076] 核酸の複製に使用し得る宿主細胞としては、例えば、本発明の技術分野において通常使用される天然細胞又は人工的に樹立された細胞等種々の細胞（例えば、動物細胞（例えば、CHO K1 SV細胞等）、昆虫細胞（例えば、Sf9等）、細菌（大腸菌等）、酵母（サッカロマイセス属、ピキア属等）等）が挙げられる。1つの実施形態において、大腸菌を宿主細胞として使用することができる。形質転換自体は、公知の方法で実施することができる。

[0077] <本発明の核酸を生産する方法及び該方法により生産できる核酸>

本発明の核酸を生産する方法には、本発明の核酸又は発現ベクターで形質転換された宿主細胞を培養する工程を含む、核酸又は発現ベクターを生産する方法が含まれる。1つの実施形態において、本発明の核酸を生産する方法は、本発明の核酸で形質転換された宿主細胞を培養し、本発明の核酸を複製する工程を含む。1つの実施形態において、本発明の核酸を生産する方法は、本発明の発現ベクターで形質転換された宿主細胞を培養し、本発明の発現ベクターを複製する工程を含む。

[0078] 1つの実施形態において、本発明の核酸を生産する方法に使用される宿主細胞は、大腸菌である。大腸菌の培養には、適切な培地、例えば、LB培地、M9培地、Terrific Broth培地、SOB培地、SOC培地、又は、2×YT培地等を選択することができる。また、当該大腸菌の培養は、炭素（資化可能な炭素化合物であれば特に限定されず、例えば、グリセ

リン等のポリオール類、又は、ピルビン酸、コハク酸若しくはクエン酸等の有機酸類)、窒素(大腸菌が利用可能な窒素化合物であれば特に限定されず、例えば、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、カゼイン加水分解物、大豆粕アルカリ抽出物、又はアンモニア若しくはその塩)、無機物及び無機イオン(特に限定されるものではないが、例えば、リン酸塩、炭酸塩、硫酸塩、マグネシウム、カルシウム、カリウム、鉄、マンガン及び亜鉛)、ビタミン源並びに消泡剤等が適正濃度に制御された環境で行うことができる。また、培養の制御には、pH、温度、攪拌、空気流、溶存酸素等のパラメータの制御が含まれる。1つの実施形態において、培養の条件は、pHが6.7から7.5、温度が20から37℃、及び、攪拌速度が200から300rpmの範囲である。

[0079] 本発明の核酸を生産する方法は、回収した培養液からライセート(溶菌液)を得る工程を含んでもよい。ライセートは、例えば、回収した培養液をアルカリ溶解法又はボイリング法で処理することで得ることができる。また、ライセートを得る工程には、最終的な溶解物を滅菌ろ過する工程を含んでもよい。

[0080] 本発明の核酸を生産する方法は、さらに、ライセートから核酸又は発現ベクターを精製する工程を含んでもよい。ライセートからの核酸又は発現ベクターの精製には、イオン交換クロマトグラフィー及び/又は疎水相互作用クロマトグラフィーを用いることができる。ライセートから核酸又は発現ベクターを精製する工程には、限外ろ過及び/又は透析ろ過をする工程を含んでもよい。また、精製の工程の最終処置として、滅菌ろ過をする工程を含んでもよい。

[0081] 1つの実施形態において、本発明の核酸は、本発明の核酸を生産する方法により生産された核酸である。

[0082] 1つの実施形態において、本発明の発現ベクターは、本発明の核酸を生産する方法により生産された発現ベクターである。

[0083] <本発明の医薬組成物>

本発明の医薬組成物には、本発明の核酸、及び、薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が含まれる。1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、本発明のベクター、及び、薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物である。本発明の医薬組成物は、当該分野において通常用いられている賦形剤、即ち、薬剤用賦形剤や薬剤用担体等を用いて、通常使用される方法によって調製することができる。これら医薬組成物の剤型の例としては、例えば、注射剤、点滴剤等の非経口剤が挙げられ、静脈内投与、皮下投与、皮内投与、筋肉内投与等により投与することができる。製剤化にあたっては、薬学的に許容される範囲で、これら剤型に応じた賦形剤、担体、添加剤等を使用することができる。

[0084] 1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、本発明の核酸又は発現ベクター、及び、薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物である。

[0085] 本発明の核酸又は発現ベクターの投与量は、患者の症状の程度や年齢、使用する製剤の剤型等により異なるが、例えば、 $0.001\text{ mg/kg} \sim 100\text{ mg/kg}$ 程度を用いることができる。また、そのような投与量に対応する量の本発明の核酸又は発現ベクターを添加して、製剤化することができる。

[0086] 本発明の医薬組成物は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7から選択されるアレルゲンに起因するアレルギーの予防又は治療剤として用いることができる。また、本発明の医薬組成物は、ダニアレルギーの予防又は治療剤として用いることができる。

[0087] 本発明には、本発明の核酸を含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物が含まれる。また、本発明には、本発明の核酸の予防有効量又は治療有効量を投与する工程を包含する、アレルギーを予防又は治療する方法が含まれる。また、本発明には、アレルギーの予防又は治療に使用するための、本発明の核酸が含まれる。また、本発明には、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物の製造における、本発明の核酸の使用が含まれる。1つの実施形態において、上記アレルギーは、Der p 1、Der p 2、Der p

23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに起因するアレルギーである。また、1つの実施形態において、上記アレルギーは、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに反応する抗体を有するアレルギー患者が罹患しているアレルギーである。さらに、1つの実施形態において、上記アレルギーは、ダニアレルギーである。

[0088] 1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、以下の核酸及び薬学的に許容される賦形剤を含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0089] 1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、以下の核酸及び薬学的に許容される賦形剤を含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物である

:

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0090] 1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸及び薬学的に許容される賦形剤を含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物である。

[0091] 本発明には、本発明の発現ベクターを含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物が含まれる。また、本発明には、本発明の発現ベクターの予防有効量又は治療有効量を投与する工程を包含する、アレルギーを予防又は治療する方法が含まれる。また、本発明には、アレルギーの予防又は治療に使用するための、本発明の発現ベクターが含まれる。また、本発明には、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物の製造における、本発明の発現ベクターの

使用が含まれる。1つの実施形態において、上記アレルギーは、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに起因するアレルギーである。また、1つの実施形態において、上記アレルギーは、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに反応する抗体を有するアレルギー患者が罹患しているアレルギーである。さらに、1つの実施形態において、上記アレルギーは、ダニアレルギーである。

[0092] 1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、以下の核酸を含む発現ベクター及び薬学的に許容される賦形剤を含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0093] 1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、以下の核酸を含む発現

ベクター及び薬学的に許容される賦形剤を含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物である：

キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：

配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなるシグナルペプチドをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなるLAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、

配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなる膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、

配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなるLAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。

[0094] 1つの実施形態において、本発明の医薬組成物は、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター及び薬学的に許容される賦形剤を含む、アレルギーの予防又は治療用医薬組成物である。

[0095] 本発明についてさらに理解を得るために参照する特定の実施例をここに提供するが、これらは例示目的とするものであって、本発明を限定するものではない。

実施例

[0096] [実施例1：LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 2

3-Der p 7プラスミドの構築]

配列番号3に示される塩基配列からなるLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列（すなわち、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列）を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のシグナルペプチド（配列番号2の1から27までのアミノ酸配列）をコードする塩基配列、LAMP-1の細胞小器官内安定化ドメイン（配列番号2の28から380までのアミノ酸配列）をコードする塩基配列、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を順番に含むアレルゲンドメイン（配列番号2の383から1002までのアミノ酸配列）をコードする塩基配列、LAMP-1の膜貫通ドメイン（配列番号2の1006から1028までのアミノ酸配列）をコードする塩基配列、並びに、LAMP-1のエンドソーム／リソソーム標的ドメイン（配列番号2の1037から1040までのアミノ酸配列）をコードする塩基配列）を構築した。当該プラスミドは、日本国特許第5807994号の配列番号6に記載のプラスミドのEcoRI-XhoIサイトに、配列番号1の塩基番号1147から3006までの塩基配列（Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列）の5'末側にXhoI認識配列、3'末側にEcoRI認識配列を付加した合成DNAを挿入することで構築することができる。構築したLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドで大腸菌を形質転換し、液体培養を行った。培養液を遠心し菌体を回収し、一般的なプラスミド抽出精製法（ミニプレップ法）に準じた方法で、増幅したLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドを得た。

[0097] [実施例2：LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7キメラタンパク質の発現]

ヒト胎児腎由来293T細胞株を用いてLAMP-Der p 1-De

r p 2-Der p 23-Der p 7キメラタンパク質（配列番号1に示される塩基配列がコードするアミノ酸配列（すなわち配列番号2に示されるアミノ酸配列）からなるキメラタンパク質）の*in vitro*発現を評価した。

[0098] (1) 細胞培養及びプラスミド導入

ヒト胎児腎由来293T細胞（Thermo Fisher Scientific社 Cat. HCL4517）を、10%ウシ胎児血清（Hyclone社、Cat. SH30070.03）及び100倍希釈のペニシリン-ストレプトマイシン（ThermoFisher Scientific社、Cat. 15070063）を含むD-MEM培地（Sigma-Aldrich社、Cat. D5796）にて、 3×10^5 細胞/ウェルになるように6ウェルプレート（IWAKI社、Cat. 3810-006）に播種した。播種した細胞を37℃、5%CO₂存在下で一晩培養後、LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミド：Lipofectamine 2000（Thermo Fisher Scientific社 Cat. 11668027）=2.5（ μ g）：10（ μ L）の混合液を添加した。さらに37℃、5%CO₂存在下で一晩培養後、培地を除去しPBSで一回洗浄の後、ウェスタンブロッティングを行った。

[0099] (2) ウェスタンブロッティング

前処理：細胞をプロテアーゼインヒビター（Sigma-Aldrich社 Cat. 1873580）を含むRIPAバッファー（Pierce社 Cat. 89900）にて溶解し、20000×g、5分間の遠心後の上清のタンパク質濃度を測定した。タンパク質濃度が200 μ g/mLになるようにプロテアーゼインヒビターを含むPBSで希釈した細胞溶解液5 μ Lに、100mM DTTを含むLDSサンプルバッファー（Thermo Fisher Scientific社 Cat. NP0007）5 μ Lを添加し、70℃で10分間加熱処理した。

SDS-PAGE: NuPAGE (登録商標) MOPS SDS Runningバッファ (Thermo Fisher Scientific社、Cat. NP0001) 及びNuPAGE (登録商標) 4-12% Bis-Tris Gel (Thermo Fisher Scientific社、Cat. NP0323) を用いて、前述の前処理を施した細胞溶解液を該Gelにアプライし、200Vの定電圧で電気泳動を行った。

ブロッキング: SDS-PAGE後のGelにPVDFメンブレン (Thermo Fisher Scientific社 Cat. LC2005) を接触させ、20%メタノール含有NuPAGE (登録商標) Transferバッファ (Thermo Fisher Scientific社、Cat. NP0006) を満たしたXCell II Blot Module (Thermo Fisher Scientific社、Cat. EI9051) 中にて、180mAで90分間通電し、ブロッキングを行った。

ブロッキング: Blocking One (ナカライテスク社、Cat. 03953-95) に通電後のメンブレンを浸漬し、室温で1時間振盪した。

1次抗体: Anti-human LAMP1抗体 (Sino biological社、Cat. 11215-RP01) を、10%Blocking Oneを含むTBS Tween-20バッファ (Thermo Fisher Scientific社、Cat. 28360) に1000倍希釈になるように加えた。このバッファにメンブレンを浸漬し、4℃で一晩振盪した。

2次抗体: TBS Tween-20バッファでメンブレンを洗浄した。Anti-rabbit IgG (H+L chain) pAb-HRP (MBL社、Cat. 458) を、10%Blocking Oneを含むTBS Tween-20バッファに3000倍希釈になるように加えた。このバッファにメンブレンを浸漬し、室温で1時間振盪した。

検出: TBS Tween-20バッファでメンブレンを洗浄した。EC

L prime western blotting detection reagent (GE Healthcare社、Cat. RPN2232) にメンブレンを浸漬し、LumiVision PRO 400EX (アイシン精機株式会社) で画像を検出した。当該画像において、キメラタンパク質に該当する anti-human LAMP1 抗体に反応するバンドが検出された。

[0100] 上記試験の結果、ヒト胎児腎由来293T細胞株にLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドを導入することにより、細胞内でのLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7キメラタンパク質が発現することが確認された。

[0101] [実施例3：LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミド投与によるIgG2aの産生誘導]

*in vivo*における抗体産生誘導の評価を行った。各群8例として、投与開始時7週齢のBALB/c雌性マウス(日本チャールス・リバー社)の耳に50 μ gのLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドを含むPBS溶液25 μ Lを1週間毎に3回、皮内投与し(0、7及び14日目)、最終投与1週間後に採血し血漿サンプルを取得した(21日目)。比較対照として、LAMP-Der p 23-Der p 7-Der p 2-Der p 1プラスミド(以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：配列番号2のアミノ酸番号1から380までのアミノ酸配列(以下、実施例3及び4において、LAMP-1のN末端という)をコードする塩基配列、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23(以下、実施例3及び4において、Der p 23ドメインという)、配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7(以下、実施例3及び4において、Der p 7ドメインという)、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ

酸配列からなるDer p 2（以下、実施例3及び4において、Der p 2ドメインという）及び、配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1（以下、実施例3及び4において、Der p 1ドメインという）を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、並びに、配列番号2のアミノ酸番号1006から1040までのアミノ酸配列（以下、実施例3及び4において、LAMP-1のC末端という）をコードする塩基配列）、並びに、LAMP-Der p 1-Der p 2プラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のN末端をコードする塩基配列、Der p 1ドメイン及びDer p 2ドメインを順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、並びに、LAMP-1のC末端をコードする塩基配列）とLAMP-Der p 23-Der p 7プラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のN末端をコードする塩基配列、Der p 23ドメイン及びDer p 7ドメインを順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、並びに、LAMP-1のC末端をコードする塩基配列）の混合物、並びに、LAMP-Der p 1プラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のN末端をコードする塩基配列、Der p 1ドメインを含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、及び、LAMP-1のC末端をコードする塩基配列）、LAMP-Der p 2プラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のN末端をコードする塩基配列、Der p 2ドメインを含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、及び、LAMP-1のC末端をコードする塩基配列）、LAMP-Der p 7プラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のN末端をコードする塩基配列、Der p 7ドメインを含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、及び、LAMP-1のC末端をコードする塩基配列）、及び、LAMP-Der p 23

プラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のN末端をコードする塩基配列、Der p 23ドメインを含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、及び、LAMP-1のC末端をコードする塩基配列）の混合物を準備した。なお、比較対象の各プラスミドは、実施例1に記載の方法と同様の方法により作製することができる。50 μ gの上記プラスミド及びプラスミド混合物を含むPBS溶液25 μ L、又は、25 μ LのPBSをマウスに投与した。抗体価の測定は100倍又は1000倍希釈の血漿サンプルを用いてELISA法により実施し、450nmの吸光度を測定した。ELISA測定は、テストプレートとしてF96 MAXISORP NUNC-IMMUNO PLATE (Nunc社、Cat. 439454)を用い、一般的なELISA法に準じて行った。精製タンパク質であるDer p 1 (Indoor biotechnologies社、NA-DP1-1、lot: 38052)、精製タンパク質であるDer p 2 (Indoor biotechnologies社、NA-DP2-1、lot: 36118)、組換え精製タンパク質であるDer p 7 (Indoor biotechnologies社、RP-DP7-1、lot: 34033)又は組換え精製タンパク質であるDer p 23 (Sysmex社、UniProtKB:A0A0K2DQU8)をPBSで1 μ g/mLに調製し、テストプレートに50 μ L/ウェルで添加し4°Cで一晩静置した。テストプレートを洗浄バッファー (PBS Tween-20バッファー、Thermo Fisher Scientific社、Cat. 28352)を用いて3回洗浄した後に1%BSA (Sigma-Aldrich社、Cat. A8022)を含むPBSを100 μ L/ウェルで添加し、室温に1時間静置した。洗浄バッファーを用いて3回洗浄した後に、1%BSA含有PBSで100倍又は1000倍希釈した血漿サンプルを50 μ L/ウェルで添加し、室温で1時間静置した。洗浄バッファーを用いて3回洗浄した後に、1%BSAを含むPBSで50000倍希釈した二次抗体Goat anti-mouse

IgG2a HRP Conjugated (Bethyl Laboratories社、Cat. A90-107P) を50 μ L/ウェルで添加し、テストプレート室温で1時間静置した。洗浄バッファーを用いて3回で洗浄した後に、基質溶液であるTMB Microwell Peroxidase Substrate System (セラケア社、Cat. 50-76-03) を50 μ L/ウェルで添加し、遮光して室温で15分間静置した。反応停止液(2N H₂SO₄) を50 μ L/ウェルで添加し、450nmの吸光度を測定した。

[0102] 上記試験の結果、LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミド(Der p1-p2-p23-p7) をマウスに投与することにより、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7特異的IgG2aの産生が検出された(図1)。一方LAMP-Der p 23-Der p 7-Der p 2-Der p 1プラスミド(Der p23-p7-p2-p1)、LAMP-Der p 1-Der p 2プラスミドとLAMP-Der p 23-Der p 7プラスミドの混合物(Der p1-p2 + Der p23-p7)、並びに、LAMP-Der p 1プラスミド、LAMP-Der p 2プラスミド、LAMP-Der p 7プラスミド、及び、LAMP-Der p 23プラスミドの混合物(4 plasmid mix) をマウスに投与しても、Der p 1特異的IgG2aの産生は検出されなかった。また、LAMP-Der p 1-Der p 2プラスミドとLAMP-Der p 23-Der p 7プラスミドの混合物(Der p1-p2 + Der p23-p7) のマウスへの投与では、Der p 2特異的IgG2aも産生が検出されなかった。すなわちプラスミドにコードされた全てのアレルゲンに特異的なIgG2aの産生が検出されたのはLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドだけであった。以上の結果により、試験したプラスミドのうち、LAMP-Der p 1-Der p 2-D

er p 23-Der p 7プラスミドのみが、プラスミドにコードされた全てのアレルゲンについてTh1免疫応答を誘導し、活性化されたB細胞のIgG2aアイソタイプへのクラススイッチを起こすことが示唆された。

- [0103] [実施例4：LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドによるIFN- γ 及びIL-4の産生誘導]
LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドを投与したマウスから採取した脾細胞を、アレルゲンで刺激した際のサイトカイン産生誘導の評価を行った。63日目に、実施例3で使用したマウス、及び、実施例3と同様のプロトコールでコントロールプラスミド（以下の塩基配列を順番に含む塩基配列を含む核酸を含む発現ベクター：LAMP-1のN末端をコードする塩基配列、及び、LAMP-1のC末端をコードする塩基配列）を投与したマウスから、一般的な方法に従い脾細胞を調製した。なお、コントロールプラスミドは、日本国特許第5807994号の配列番号6に記載のプラスミドのEcoRI-XhoIサイトを削除することで作製することができる。脾細胞を、10%ウシ胎児血清（Hyclone社、Cat. SH30070.03）及び100倍希釈のペニシリン-ストレプトマイシン（Thermo Fisher Scientific社、Cat. 15070063）を含むRPMI-1640培地（Sigma-Aldrich社、Cat. R8758）にて、 8×10^5 細胞/ウェルになるように96ウェルプレート（IWAKI社、Cat. 3860-096）に播種した。Der p 1（Indoor biotechnologies社、NA-DP1-1、lot: 38052）、Der p 2（Indoor biotechnologies社、NA-DP2-1、lot: 36118）、Der p 7（Indoor biotechnologies社、RP-DP7-1、lot: 34033）及びDer p 23（Sysmex社、UniProtKB:A0A0K2DQU8）を最終濃度がそれぞれ3、3、3及び1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$

になるように添加した。37℃、5%CO₂下で72時間培養を行った。培養上清中のIFN- γ 及びIL-4の濃度をELISA法により測定した。IFN- γ の測定には0.1% BSA及び0.05% Tween 20を含有するTBSで10倍希釈した上清サンプルを用い、IL-4の測定には上清原液サンプルを用いた。ELISA測定のテストプレートとしては、F96 MAXISORP NUNC-IMMUNO PLATE (Nunc社、Cat. 439454)を用いた。マウスIFN- γ DuoSet ELISA (R&Dシステムズ社、Cat. DY485)及びマウスIL-4 DuoSet ELISA (R&Dシステムズ社、Cat. DY404)を用いて添付プロトコールに準拠して行った。上記試験の結果、50 μ gのLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミド (Der p1-p2-p23-p7)をマウスに3回投与することで、ダニ由来アレルゲン特異的なIFN- γ 産生が誘導された (図2)。またLAMP-Der p 23-Der p 7-Der p 2-Der p 1プラスミド (Der p23-p7-p2-p1)、LAMP-Der p 1-Der p 2プラスミドとLAMP-Der p 23-Der p 7プラスミドの混合物 (Der p1-p2 + Der p23-p7)、並びに、LAMP-Der p 1プラスミド、LAMP-Der p 2プラスミド、LAMP-Der p 7プラスミド、及び、LAMP-Der p 23プラスミドの混合物 (4 plasmid mix)をマウスに3回投与した場合でも、同等のダニ由来アレルゲン特異的なIFN- γ 産生が誘導された。一方、50 μ gのLAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミド (Der p1-p2-p23-p7)を3回投与したマウスでは、ダニ由来アレルゲン特異的なIL-4産生は定量下限値であった (図3)。LAMP-Der p 23-Der p 7-Der p 2-Der p 1プラスミド (Der p23-p7-p2-p1)、LAMP-Der p 1-Der p 2プラスミドとLAMP-Der p 23-D

er p 7プラスミド (Der p 1-p 2 + Der p 23-p 7) の混合物、並びに、LAMP-Der p 1プラスミド、LAMP-Der p 2プラスミド、LAMP-Der p 7プラスミド、及び、LAMP-Der p 23プラスミドの混合物 (4 plasmid mix) をマウスに3回投与した場合でもダニ由来アレルゲン特異的なIL-4産生は定量下限値以下であった。

[0104] 上記試験の結果、LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミド、LAMP-Der p 23-Der p 7-Der p 2-Der p 1プラスミド、LAMP-Der p 1-Der p 2プラスミドとLAMP-Der p 23-Der p 7プラスミドの混合物、並びに、LAMP-Der p 1プラスミド、LAMP-Der p 2プラスミド、LAMP-Der p 7プラスミド、及び、LAMP-Der p 23プラスミドの混合物は、Th1細胞優位の免疫応答を誘導することが示された。

産業上の利用可能性

[0105] 本発明の核酸は、ダニアレルギーの予防又は治療に有用であることが期待される。また、本発明の核酸を生産する方法は、前記核酸を生産するのに有用である。

配列表フリーテキスト

[0106] 以下の配列表の数字見出し<223>には、「Artificial Sequence」の説明を記載する。具体的には、配列表の配列番号1で示される塩基配列は、LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7キメラタンパク質をコードする塩基配列であり、配列表の配列番号2で示されるアミノ酸配列は、配列番号1によりコードされるアミノ酸配列である。また、配列番号3で示される塩基配列は、LAMP-Der p 1-Der p 2-Der p 23-Der p 7プラスミドの塩基配列である。

請求の範囲

- [請求項1] キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：
シグナルペプチドをコードする塩基配列、
LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、
Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、
膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、
LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。
- [請求項2] キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：
シグナルペプチドをコードする塩基配列、
LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、
Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、
膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、
LAMPのエンドソーム／リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。
- [請求項3] シグナルペプチドがLAMPのシグナルペプチドである、請求項1又は2に記載の核酸。
- [請求項4] 膜貫通ドメインがLAMPの膜貫通ドメインである、請求項1～3のいずれかに記載の核酸。
- [請求項5] シグナルペプチドが配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなり、細胞小器官内安定化ドメインが配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなり、アレルゲンドメインが、配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599

から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインであり、膜貫通ドメインが配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなり、エンドソーム／リソソーム標的ドメインが配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなる、請求項1～4のいずれかに記載の核酸。

[請求項6] 配列番号2に示されるアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、

該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[請求項7] a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸、又は、

b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において1～10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び／若しくは付加されたアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[請求項8] 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸。

[請求項9] 請求項1～8のいずれかに記載の核酸を含む発現ベクター。

[請求項10] 請求項8に記載の核酸を含む発現ベクター。

[請求項11] 請求項1～8のいずれかに記載の核酸で形質転換された宿主細胞。

[請求項12] 請求項1～8のいずれかに記載の核酸で形質転換された宿主細胞を

培養する工程を含む、核酸を生産する方法。

- [請求項13] 請求項10に記載の発現ベクター及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。
- [請求項14] ダニアレルギーの予防又は治療用医薬組成物である、請求項13に記載の医薬組成物。
- [請求項15] 請求項10に記載の発現ベクターの予防有効量又は治療有効量を投与する工程を包含する、ダニアレルギーを予防又は治療する方法。
- [請求項16] ダニアレルギーの予防又は治療に使用するための、請求項10に記載の発現ベクター。
- [請求項17] ダニアレルギーの予防又は治療用医薬組成物の製造における、請求項10に記載の発現ベクターの使用。

補正された請求の範囲
[2019年8月6日(06.08.2019)国際事務局受理]

- [請求項1] (削除)
- [請求項2] キメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該塩基配列は、以下の塩基配列を順番に含む塩基配列である、核酸：
シグナルペプチドをコードする塩基配列、
LAMPの細胞小器官内安定化ドメインをコードする塩基配列、
Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7を順番に含むアレルゲンドメインをコードする塩基配列、
膜貫通ドメインをコードする塩基配列、並びに、
LAMPのエンドソーム/リソソーム標的ドメインをコードする塩基配列。
- [請求項3] (補正後) シグナルペプチドがLAMPのシグナルペプチドである、請求項2に記載の核酸。
- [請求項4] (補正後) 膜貫通ドメインがLAMPの膜貫通ドメインである、請求項2又は3のいずれかに記載の核酸。
- [請求項5] (補正後) シグナルペプチドが配列番号2のアミノ酸番号1から27までのアミノ酸配列からなり、細胞小器官内安定化ドメインが配列番号2のアミノ酸番号28から380までのアミノ酸配列からなり、アレルゲンドメインが、配列番号2のアミノ酸番号383から594までのアミノ酸配列からなるDer p 1、配列番号2のアミノ酸番号599から727までのアミノ酸配列からなるDer p 2、配列番号2のアミノ酸番号732から800までのアミノ酸配列からなるDer p 23及び配列番号2のアミノ酸番号805から1002までのアミノ酸配列からなるDer p 7を含むアレルゲンドメインであり、膜貫通ドメインが配列番号2のアミノ酸番号1006から1028までのアミノ酸配列からなり、エンドソーム/リソソーム

ム標的ドメインが配列番号2のアミノ酸番号1037から1040までのアミノ酸配列からなる、請求項2～4のいずれかに記載の核酸。

[請求項6] 配列番号2に示されるアミノ酸配列との同一性が90%以上であるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、

該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[請求項7] a) 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸、又は、

b) 配列番号2に示されるアミノ酸配列において1～10個のアミノ酸が欠失、置換、挿入、及び/若しくは付加されたアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸であって、該核酸は、Der p 1、Der p 2、Der p 23及びDer p 7からなる群から選ばれるアレルゲンに対するTh1型免疫を誘導する作用を有する、核酸。

[請求項8] 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるキメラタンパク質をコードする塩基配列を含む核酸。

[請求項9] (補正後) 請求項2～8のいずれかに記載の核酸を含む発現ベクター。

[請求項10] 請求項8に記載の核酸を含む発現ベクター。

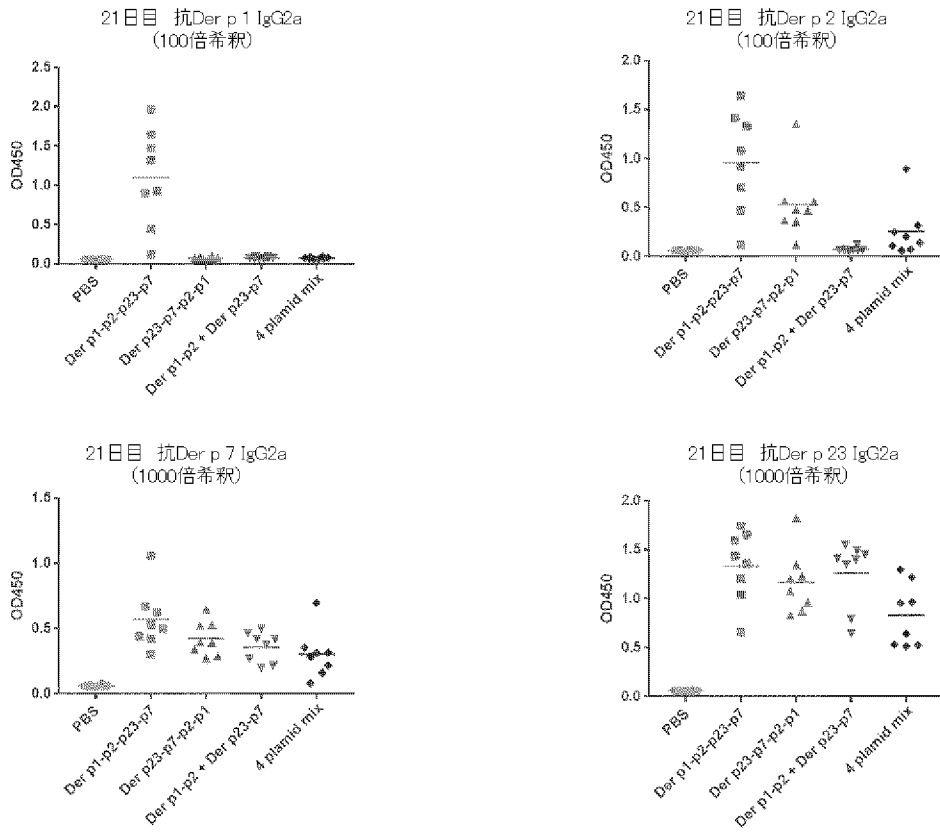
[請求項11] (補正後) 請求項2～8のいずれかに記載の核酸で形質転換された宿主細胞。

[請求項12] (補正後) 請求項2～8のいずれかに記載の核酸で形質転換された宿主細胞を培養する工程を含む、核酸を生産する方法。

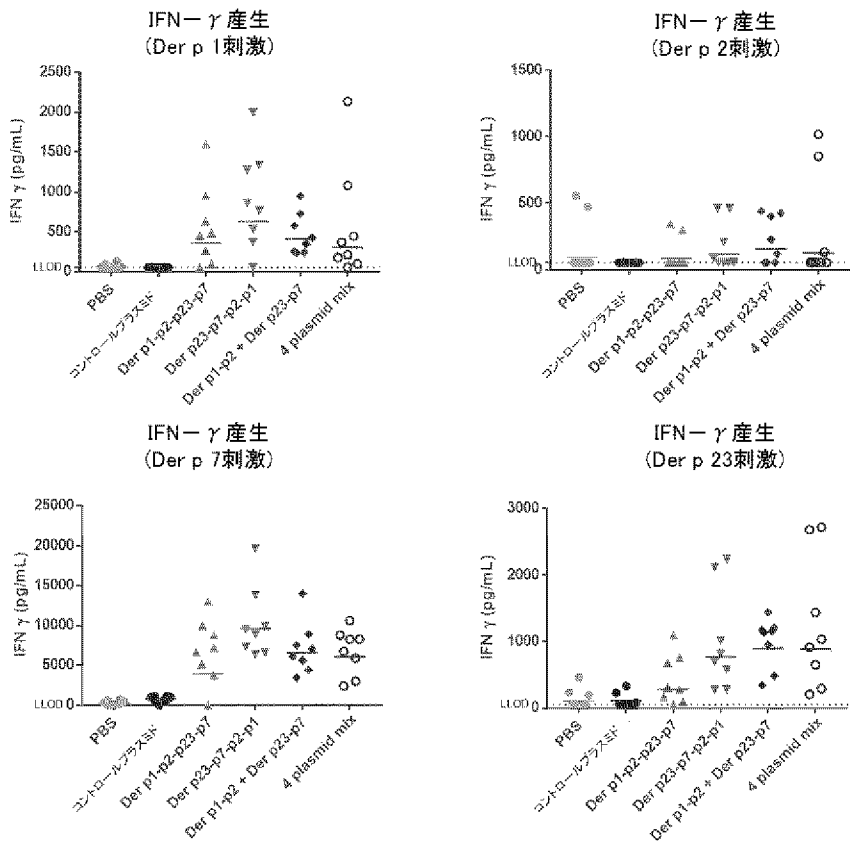
[請求項13] 請求項10に記載の発現ベクター及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

- [請求項14] ダニアレルギーの予防又は治療用医薬組成物である、請求項13に記載の医薬組成物。
- [請求項15] 請求項10に記載の発現ベクターの予防有効量又は治療有効量を投与する工程を包含する、ダニアレルギーを予防又は治療する方法。
- [請求項16] ダニアレルギーの予防又は治療に使用するための、請求項10に記載の発現ベクター。
- [請求項17] ダニアレルギーの予防又は治療用医薬組成物の製造における、請求項10に記載の発現ベクターの使用。

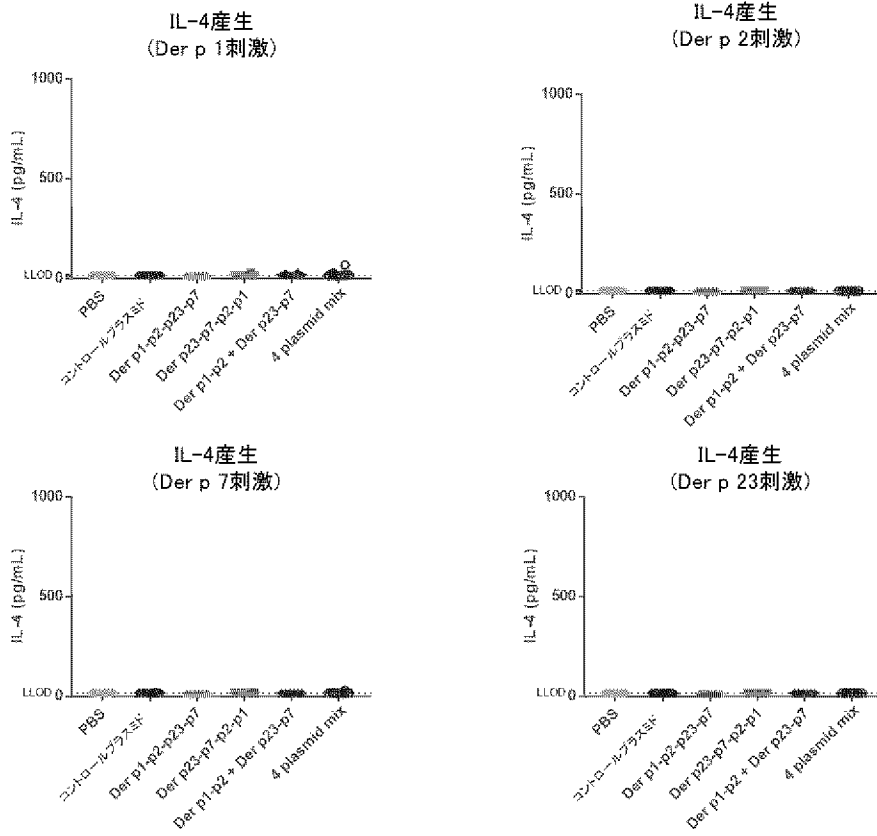
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/018657

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. C12N15/62 (2006.01) i, A61K31/7088 (2006.01) i, A61P37/00 (2006.01) i, C12N1/15 (2006.01) i, C12N1/19 (2006.01) i, C12N1/21 (2006.01) i, C12N5/10 (2006.01) i, C12N15/12 (2006.01) i, C12N15/63 (2006.01) i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. C12N15/62, A61K31/7088, A61P37/00, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/10, C12N15/12, C12N15/63 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2019 Registered utility model specifications of Japan 1996-2019 Published registered utility model applications of Japan 1994-2019 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), UniProt/GeneSeq, WPIDS/WPIX (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2015-521467 A (IMMUNOMIC THERAPEUTICS, INC.) 30 July 2015, claims, SEQ ID NO: 7, paragraph [0028] & US 2016/0185831 A1, claims, SEQ ID NO: 7, paragraph [0048] & WO 2013/187906 A1 & EP 2861240 A	1-17
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 04.07.2019		Date of mailing of the international search report 23.07.2019
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/018657

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2010-540500 A (BIOMAY AG) 24 December 2010, claims, example 23 & US 2017/0136121 A1, claims, example 23 & WO 2009/040443 A1 & EP 2042193 A1	1-17
Y	MUELLER, G. A. et al., Serological, genomic and structural analyses of the major mite allergen Der p 23, Clin. Exp. Allergy, 2016, vol. 46, pp. 365-376, fig. 1-3, table 1	1-17
Y	BANERJEE, S. et al., Der p 11 is a major allergen for house dust mite-allergic patients suffering from atopic dermatitis, J. Invest. Dermatol., 2015, vol. 135, pp. 102-109, table 2	1-17
P, Y	WO 2018/093932 A2 (IMMUNOMIC THERAPEUTICS, INC.) 24 May 2018 (Family: none)	1-17

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. C12N15/62(2006.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61P37/00(2006.01)i, C12N1/15(2006.01)i, C12N1/19(2006.01)i, C12N1/21(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)i, C12N15/12(2006.01)i, C12N15/63(2006.01)i</p>											
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. C12N15/62, A61K31/7088, A61P37/00, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/10, C12N15/12, C12N15/63</p>											
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:30%;">日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2019年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2019年	日本国実用新案登録公報	1996-2019年	日本国登録実用新案公報	1994-2019年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2019年										
日本国実用新案登録公報	1996-2019年										
日本国登録実用新案公報	1994-2019年										
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), UniProt/GeneSeq, WPIDS/WPIX (STN)</p>											
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">引用文献の カテゴリー*</th> <th style="width:70%;">引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th style="width:20%;">関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align:center;">Y</td> <td> JP 2015-521467 A (イミュノミック セラピューティックス, インコーポレイテッド) 2015.07.30, 特許請求の範囲, 配列番号7, 段落 [0028] & US 2016/0185831 A1, Claims, SEQ ID NO:7, [0048] & WO 2013/187906 A1 & EP 2861240 A </td> <td style="text-align:center;">1-17</td> </tr> </tbody> </table>				引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	Y	JP 2015-521467 A (イミュノミック セラピューティックス, インコーポレイテッド) 2015.07.30, 特許請求の範囲, 配列番号7, 段落 [0028] & US 2016/0185831 A1, Claims, SEQ ID NO:7, [0048] & WO 2013/187906 A1 & EP 2861240 A	1-17		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
Y	JP 2015-521467 A (イミュノミック セラピューティックス, インコーポレイテッド) 2015.07.30, 特許請求の範囲, 配列番号7, 段落 [0028] & US 2016/0185831 A1, Claims, SEQ ID NO:7, [0048] & WO 2013/187906 A1 & EP 2861240 A	1-17									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		<input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。									
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>		<p>の日の後に公表された文献</p> <p>「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&」同一パテントファミリー文献</p>									
<p>国際調査を完了した日</p> <p style="text-align:center;">04.07.2019</p>		<p>国際調査報告の発送日</p> <p style="text-align:center;">23.07.2019</p>									
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p style="text-align:center;">日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>		<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p style="text-align:center;">小倉 梢</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3488</p>									
		4N	4504								

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2010-540500 A (バイオマイ アクチエンゲゼルシャフト) 2010.12.24, 特許請求の範囲、実施例23 & US 2017/0136121 A1, Claims, Example 23 & WO 2009/040443 A1 & EP 2042193 A1	1-17
Y	MUELLER, G. A. et al., Serological, genomic and structural analyses of the major mite allergen Der p 23, Clin. Exp. Allergy, 2016, Vol. 46, p. 365-376, Fig. 1-3., Table 1.	1-17
Y	BANERJEE, Srinita et al., Der p 11 Is a Major Allergen for House Dust Mite-Allergic Patients Suffering from Atopic Dermatitis, J. Invest. Dermatol., 2015, Vol. 135, p. 102-109, Table 2.	1-17
P, Y	WO 2018/093932 A2 (IMMUNOMIC THERAPEUTICS, INC.) 2018.05.24, (ファミリーなし)	1-17