

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-522427

(P2004-522427A)

(43) 公表日 平成16年7月29日(2004.7.29)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09</b>	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
<b>A O 1 K 67/027</b>	A O 1 K 67/027	4 B O 2 4
<b>A 6 1 K 31/7088</b>	A 6 1 K 31/7088	4 B O 6 3
<b>A 6 1 K 38/00</b>	A 6 1 K 48/00	4 B O 6 5
<b>A 6 1 K 48/00</b>	A 6 1 P 3/10	4 C O 8 4
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 46 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-547951 (P2002-547951)	(71) 出願人	503136185
(86) (22) 出願日	平成13年12月4日 (2001.12.4)		バイロン・セラピューティックス・インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日	平成15年6月4日 (2003.6.4)		カナダ国オンタリオ エヌ6ジー・4エック
(86) 国際出願番号	PCT/CA2001/001734		クス8, ロンドン, コリップ・サークル
(87) 国際公開番号	W02002/046214		700, スウィート 203, ユーダブリ
(87) 国際公開日	平成14年6月13日 (2002.6.13)		ューオー・リサーチ・パーク
(31) 優先権主張番号	60/251, 147	(74) 代理人	100089705
(32) 優先日	平成12年12月4日 (2000.12.4)		弁理士 社本 一夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100076691
			弁理士 増井 忠式
		(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規免疫修飾性タンパク質およびその有用な態様

## (57) 【要約】

本発明は、ポックスウィルスファミリー、すなわちヤバサル腫瘍ウイルス、のゲノムから単離する新規分泌型ウィルスタンパク質を特徴とする。本発明は、例えば、疾患の治療において、in vivoで投与した場合に、抗-炎症性および/または免疫修飾性作用を有するタンパク質を使用する方法もまた特徴とする。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

ヤバサル腫瘍ウイルス (Yaba Monkey Tumor Virus) に由来する、(i) SEQ ID NO: 1により定義された、精製された核酸分子、およびそのフラグメント、ホモログおよびそれらのアナログ。

## 【請求項2】

(i) SEQ ID NO: 1に記載の配列に対して相補的な配列、またはそのフラグメント、アナログおよびホモログ、を含む、請求項1に記載の核酸分子。

## 【請求項3】

請求項1に示す配列を含む核酸分子であって、それぞれのTがUにより置換されていてもよい、前記核酸分子。

10

## 【請求項4】

請求項1に記載の核酸配列をコードする、1またはそれ以上の核酸配列を含有する、組換え核酸ベクター。

## 【請求項5】

請求項1に記載の核酸配列、またはそのフラグメント、アナログおよびホモログを含有する、宿主細胞。

## 【請求項6】

宿主細胞が真核細胞である、請求項5に記載の宿主細胞。

## 【請求項7】

宿主細胞が原核細胞である、請求項5に記載の宿主細胞。

20

## 【請求項8】

請求項1において示される核酸配列、またはそのフラグメント、アナログおよびホモログによりコードされるか、またはSEQ ID NO: 2によりコードされる、タンパク質分子。

## 【請求項9】

請求項8に記載のタンパク質分子のエピトープに対する特異性を有する、抗体分子またはそのフラグメント。

## 【請求項10】

タンパク質または非-タンパク質ベース部分と結合されている、請求項8に記載のタンパク質分子。

30

## 【請求項11】

前記抗体がタンパク質および/または非-タンパク質部分により標識される、請求項9に記載の抗体分子またはそのフラグメント。

## 【請求項12】

請求項1に記載の1またはそれ以上の核酸配列の発現を介して、ケモカイン機能をモジュレートする方法。

## 【請求項13】

前記タンパク質が非-共有的に1またはそれ以上の哺乳動物ケモカインと結合する、請求項8における前記タンパク質間の相互作用を介して、ケモカイン機能をモジュレートする方法。

40

## 【請求項14】

請求項1に記載の1またはそれ以上の核酸配列の発現を介して、サイトカイン機能をモジュレートする方法。

## 【請求項15】

前記タンパク質が非-共有的に1またはそれ以上の哺乳動物サイトカインと結合する、請求項8に記載の前記タンパク質間の相互作用を介して、サイトカイン機能をモジュレートする方法。

## 【請求項16】

請求項1に記載の1またはそれ以上の核酸配列の発現を介して、ケモカイン受容体機能をモジュレートする方法。

50

## 【請求項 17】

前記タンパク質が非-共有的に1またはそれ以上の哺乳動物ケモカイン受容体と結合する、請求項8における前記タンパク質間の相互作用を介して、ケモカイン受容体機能をモジュレートする方法。

## 【請求項 18】

請求項1に記載のものの中でコードされるタンパク質分子と結合することができる物質を、同定する方法。

## 【請求項 19】

請求項1に記載のものの中でコードされる本明細書中の核酸の転写をモジュレートする剤を同定する方法。

10

## 【請求項 20】

請求項8に記載のもの由来の1または複数のタンパク質の翻訳をモジュレートする剤を同定する方法。

## 【請求項 21】

請求項8に記載のもの由来の1または複数のタンパク質の後-翻訳修飾をモジュレートする剤を同定する方法。

## 【請求項 22】

哺乳動物生体中の炎症を治療するための、請求項1に記載の核酸からなる組成物。

## 【請求項 23】

哺乳動物生体中の炎症を治療するための、請求項8に記載の1または複数のタンパク質を含む組成物。

20

## 【請求項 24】

炎症により媒介されるヒト症状を治療するための、請求項1に記載の核酸を含む組成物。

## 【請求項 25】

炎症により媒介されるヒト症状を治療するための、請求項8に記載の1または複数のタンパク質を含む組成物。

## 【請求項 26】

自己免疫により媒介されるヒト症状を治療するための、請求項1に記載の核酸を含む組成物。

## 【請求項 27】

自己免疫により媒介されるヒト症状を治療するための、請求項8に記載の1または複数のタンパク質を含む組成物。

30

## 【請求項 28】

炎症と関連するヒト症状を予防するための、請求項1に記載の核酸を含む組成物。

## 【請求項 29】

炎症と関連するヒト症状を予防するための、請求項8に記載の1または複数のタンパク質を含む組成物。

## 【請求項 30】

自己免疫と関連するヒト症状を予防するための、請求項1に記載の核酸を含む組成物。

## 【請求項 31】

自己免疫と関連するヒト症状を予防するための、請求項8に記載の1または複数のタンパク質を含む組成物。

40

## 【請求項 32】

前記症状が：

(i) アレルギー性炎症；または

(ii) 喘息；または

(iii) 乾癬；または

(iv) 糖尿病；または

(v) 慢性関節リウマチ；または

(vi) 多発性硬化症；または

50

- (vii) エリテマトーデス；または
- (viii) 移植拒絶；または
- (ix) 移植片拒絶；または
- (x) 腎炎；または
- (xi) 動脈再狭窄；または
- (xii) 冠動脈閉塞症；または
- (xiii) 移植血管疾患；または
- (xiv) アテローム性動脈硬化；または
- (xv) 不安定型アテローム性動脈硬化性プラーク破裂；または
- (xvi) 虚血再灌流損傷；または
- (xvii) 腎炎

10

のいずれかである、ヒト症状を治療するための組成物。

【請求項33】

前記症状が慢性的性質のものである、請求項32に記載の組成物。

【請求項34】

前記症状が急性または亜急性の性質のものである、請求項32に記載の組成物。

【請求項35】

免疫修飾性症状を有する哺乳動物に対して治療的有効量の請求項1または請求項8に記載の化合物を投与することを含み、前記化合物が前記哺乳動物において免疫修飾性作用を有する、前記免疫修飾性症状を有する哺乳動物を治療する方法。

20

【請求項36】

症状が、アレルギー性炎症、喘息、乾癬、糖尿病、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、エリテマトーデス、移植拒絶、移植片拒絶、腎炎、動脈再狭窄、冠動脈閉塞症、移植血管疾患、アテローム性動脈硬化、不安定型アテローム性動脈硬化性プラーク破裂、虚血再灌流損傷、腎炎、から選択される、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

実質的に純粋なヤタボックスウイルスサイトカイン阻害剤ポリペプチド。

【請求項38】

ヤタボックスウイルスサイトカイン阻害剤ポリペプチドをコードする、実質的に純粋なヤタボックスウイルス核酸分子。

30

【請求項39】

ゲノムDNA、cDNA、およびmRNAから選択される、請求項11に記載の核酸分子。

【請求項40】

請求項1または請求項38に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項41】

遺伝子治療ベクターである、請求項40に記載のベクター。

【請求項42】

請求項40に記載のベクターを含む細胞。

【請求項43】

前記核酸分子がヤタボックスウイルスサイトカイン阻害剤ポリペプチドの発現のための制御配列に対して機能可能に連結しており、そして前記制御配列がプロモーターを含む、請求項40に記載のベクター。

40

【請求項44】

請求項1または請求項38に記載の核酸分子を含む、非-ヒトトランスジェニック動物。

【請求項45】

請求項44に記載の非-ヒトトランスジェニック動物由来の細胞。

【請求項46】

ヤタボックスウイルスサイトカイン阻害剤ポリペプチドと実質的に同一なポリペプチドをコードする片方または両方のアレルにおいてノックアウト変異を有する非-ヒトトランスジェニック動物。

50

## 【請求項47】

ヤタボックスウイルス遺伝子またはヤタボックスウイルス遺伝子ホモログまたはそれらのフラグメントを解析するためのプローブであって、前記プローブがヤタボックスウイルスサイトカイン阻害剤ポリペプチドまたはそのフラグメントをコードする配列と少なくとも50%のヌクレオチド配列同一性を有し、前記ポリペプチドフラグメントが少なくとも6アミノ酸を含み、そして前記プローブが高ストリンジェントな条件下で、少なくともヤタボックスウイルス核酸分子の部分に対してハイブリダイズする、前記プローブ。

## 【請求項48】

被検体中に存在するヤタボックスウイルス核酸分子を解析するための核酸分子プローブを含む、ヤタボックスウイルス核酸分子の解析用キット。

10

## 【請求項49】

被検体中に存在するヤタボックスウイルスサイトカイン阻害剤ポリペプチドを解析するための抗体を含む、ヤタボックスウイルスサイトカイン阻害剤ポリペプチドを解析するためのキット。

## 【発明の詳細な説明】

## 【発明の開示】

## 【0001】

発明の属する技術分野

本発明は、ヒトの疾患を治療する際に有用である場合がある、新規の分泌型ウイルスタンパク質に関する。本明細書中で開示されるタンパク質は、ボックスウイルスファミリーのゲノムから単離されたものであり、ここで前記ウイルスはヤバサル腫瘍ウイルス (Yaba Monkey Tumor Virus) である。本発明は、*in vivo*で投与した場合に抗炎症性および/または免疫修飾性の役割を媒介することができる、この新規な免疫修飾性タンパク質の配列およびその有用な態様の非-自明な発見を示す。

20

## 【0002】

発明の背景

ボックスウイルスは、様々な哺乳動物種に感染することが知られるDNAウイルスの大きなファミリーである。現在までに、およそ50種のボックスウイルスゲノムが同定され、それぞれのゲノムは、その中でコードされる約200個のオープンリーディングフレームを含有する。ボックスウイルスファミリー、あるいはボックスウイルス科として知られるもの、には、2種のサブファミリーが含まれ (ChordopoxvirinaeおよびEntomopoxvirinae)、ここでこれらの種は、それぞれ8種および3種の属に分類され、これらの種にはオルソボックスウイルス属、パラボックスウイルス属、アピボックスウイルス属、カプリボックスウイルス属、レポリボックスウイルス属、スイボックスウイルス属、モルシボックスウイルス (Molluscipoxvirus) およびヤタボックスウイルスが含まれるがこれらには限定されず、これらの属にはミキソーマウイルス、ワクシニアウイルス、豚痘ウイルス、伝染性軟腫ウイルス (Molluscum Contagiosum Virus) およびヤバサル腫瘍ウイルスとして知られる種が含まれるが、これらには限定されない。ボックスウイルスは、ファミリーに属する様々な種の間で抗原性決定基を共有する、複雑な対称性を有する大型のレンガ-状ビリオンとして特徴づけられる。

30

40

## 【0003】

宿主生物の感染の際に、ボックスウイルスゲノムは、宿主中のホメオスタシスを妨害しそしてモジュレートする、多数のタンパク質の発現を媒介することが、当該技術分野において周知である。細胞内作用を媒介するタンパク質に加えて、ボックスウイルスはまた、感染した動物の循環系中にタンパク質を分泌することも知られる。このような分泌されたタンパク質には、哺乳動物の免疫系の様々な異なる性質に結合しそして阻害する物質が含まれ、そしてウイルスの免疫媒介性クリアランスを最小限にする。

## 【0004】

ヤバサル腫瘍ウイルス (YMTV) は、ヤタウイルス属のボックスウイルスであり、そしてアカゲザルの大流行が起こっている間の1958年に特徴づけられた。サルにおけるYMTV感染は

50

、表皮性組織球腫を引き起こし、それは化膿性の炎症反応へと進行する。YMTVは、136キロベースのDNAゲノムを有し、そのゲノムの大部分は未だクローニングされておらずそして特徴づけられていない。YMTVは、霊長類細胞培養系において相対的にゆっくりと増殖し、そしてその宿主域は少数の霊長類と、場合により感染したサルに偶発的に曝露されたヒトに限定されている。

#### 【0005】

IL-18は、 $T_H1$ -様免疫応答の強化において重要な初期機能を果たしている、前-炎症性哺乳動物サイトカインである。その独立した作用に加えて、IL-18はIL-12と相乗作用して、様々な免疫細胞型からのIFN- $\gamma$ 産生を誘導する。IL-18の特定の細胞-表面受容体に対する結合によりNF- $\kappa$ B活性化が誘導され、そしてIL-18はin vivoにおいて炎症性疾患に寄与する可能性があるIFN- $\gamma$ 産生および炎症性応答の産生のために重要である。これらの疾患には、アレルギー性炎症、アテローム斑形成および不安定なプラークの破綻、動脈再狭窄、バイパス移植片閉塞、ゴーシェ病、糖尿病、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、移植片拒絶、移植片血管病変(transplant vasculopathy)および腎炎が含まれるが、これらのものには限定されない。

10

#### 【0006】

本発明は、YMTVに由来するタンパク質の非-自明な同定および特性決定を提供し、ここで前記タンパク質はYMTVサイトカイン阻害剤、またはYCIとして記載する。本発明は、前記YCIをコードする核酸およびアミノ酸ポリマーを包含し、前記YCIを検出しおよび産生する方法を含む。本発明は、生物内での免疫応答をモジュレートする方法としてこのYCIの使用をさらに包含する。開示される核酸およびアミノ酸配列は、上述したような炎症および免疫-媒介性疾患を含むが、これらのものには限定されない、1またはそれ以上の免疫-関連性疾患の発症を予防し、治療し、または逆転させることを目的として、ヒト個体の治療のために利用することができる、ということをもさらに請求の範囲に記載する。

20

#### 【0007】

##### 発明の概要

本明細書中で開示される本発明は、ヤバサル腫瘍ウイルス(YMTV)に由来する新規核酸およびタンパク質配列の特徴を明らかにする。本発明は、DNAおよびそれに由来するRNAフラグメント、並びに開示された配列から由来されるアミノ酸配列を含む、前記配列に関連する全ての組成物を包含するが、これらのものには限定されない。開示されるタンパク質配列、並びにそのホモログ、アナログおよびフラグメントは、哺乳動物免疫系の性質を検出可能な親和性および安定性と結合させることができる、ということが本明細書中で企図される。そのような一態様において、そのような結合は、開示されたタンパク質と、1またはそれ以上の哺乳動物サイトカインとの間で生じ、その場合にあるそのようなサイトカインはインターロイキン-18、あるいは当該技術分野において知られる様なIL-18である。開示されるタンパク質は、したがって、YMTVサイトカイン阻害剤、またはYCIとして記載される。本発明はさらに、それに対して相補的な配列を含む前記YCI核酸の使用、そして様々な診断用途および治療用途のためのタンパク質配列の使用、を包含する。そのような一態様において、本明細書中では、YCI配列は免疫関連タンパク質との相互作用を同定するために利用することができることが、企図される。さらなる態様においては、本明細書中で開示されるYCI配列を、哺乳動物生物体内での炎症性疾患、自己免疫疾患、または免疫媒介性疾患症状の発生、進行、および病理をモジュレートすることを目的として、前記哺乳動物生物中に、導入することができる。

30

40

#### 【0008】

##### 発明の詳細な説明

以下に開示する本発明では、ポックスウイルスファミリーの構成ウイルスとして当該技術分野で周知であり、そしてその中のヤタポックスウイルス属のさらなるサブセットとして周知である、ヤバサル腫瘍ウイルスに由来する新規タンパク質を同定する。前記ヤバサル腫瘍ウイルスは、本明細書の以下において、“YMTV”として記載する。特に、本発明は、ヤバサイトカイン阻害剤として記載される免疫修飾性核酸およびそれに関連するアミノ酸

50

配列を開示し、ここで、核酸配列およびアミノ酸配列のホモログ、アナログおよび短縮型を含む、核酸配列およびアミノ酸配列を、本明細書中の以下において集合的に“YCI”として略記する。本明細書中の開示は、本明細書に添付したSEQ ID NO: 1およびSEQ ID NO: 2のそれぞれにおける、YCIの対応する核酸およびタンパク質配列を含有する。したがって、YCI遺伝子は、411ヌクレオチドの長さを有し、それによりコードされる137アミノ酸のアミノ酸配列に対応する。

【0009】

本発明の範囲には、以下に定義される核酸配列の変異体：

- (1) SEQ ID NO: 1に提供される核酸配列の短縮型、アナログおよびホモログ；
- (2) TをUに置換することによりSEQ ID NO: 1とは異なる核酸配列；
- (3) SEQ ID NO: 1の全長に相補的な核酸配列またはそれに由来する核酸フラグメントに対して相補的な核酸配列；
- (4) SEQ ID NO: 1中に示される核酸配列とハイブリダイズする核酸配列；
- (5) 遺伝コードの縮重によりSEQ ID NO: 1の全長と異なる核酸配列；

が含まれる。

【0010】

“核酸”という用語は、一本鎖構造または二本鎖構造のいずれであってもよい、DNAおよびRNAを含むことを意図する。“タンパク質”または“ポリペプチド”という用語は、触媒機能を有するかまたは有しない、折り畳まれていないかまたは折り畳まれた立体的構成において存在するアミノ酸ポリマーのことをいう。“抗体”という用語は、哺乳動物起源のB細胞の、ポリクローナル集団またはモノクローナル集団から由来するタンパク質分子のことをいう。“抗体フラグメント”という用語は、異なる断片に切断され、および/または検出の目的で蛍光分子化合物で標識していてもよい、上述した抗体分子のことをいう。“ケモカイン”という用語は、白血球の組織中への動員および浸潤を媒介する、哺乳動物生物中で発現される全ての既知の走化性サイトカインのことをいう。“ケモカイン”という用語には、サイトカイン中のシスチン残基の分布に基づいて当該技術分野においては分類される、走化性サイトカインのCファミリー、CCファミリー、CXCファミリー、およびCXXXCファミリーの全ての哺乳動物構成分子が含まれるが、これらのものには限定されない。“ケモカイン受容体”という用語は、1またはそれ以上のケモカインと相互作用することが当該技術分野において知られる、全ての既知の膜貫通型タンパク質のことをいう。“ケモカイン受容体”という用語には、CR、CCR、CXCRおよびCXXXCRとして当該技術分野において分類される、全てのケモカイン受容体が含まれるが、これらには限定されない。“サイトカイン”という用語は、細胞表面上の細胞外受容体と結合し、それにより細胞機能をモジュレートする、当該技術分野において既知の全てのヒトサイトカインのことをいい、IL-1、IL-4、IL-6、IL-18、TNF- およびIFN- が含まれるが、これらには限定されない。“サイトカイン受容体”という用語は、本明細書の以下において定義する様に、1またはそれ以上のサイトカインと結合する、当該技術分野における全てのヒトサイトカイン受容体のことをいい、IL-1、IL-4、IL-6、IL-18、TNF- およびIFN- の受容体が含まれるが、これらには限定されない。

【0011】

本発明の明細書およびそれに含まれる図面の全体にわたって、以下の標準的な略語を使用する：DNA - デオキシリボ核酸；RNA - リボ核酸；C - シトシン；G - グアニン；A - アデノシン；T - チミジン；N - 未知；A, Ala - アラニン；C, Cys - システイン；D, Asp - アスパラギン酸；E, Glu - グルタミン酸；F, Phe - フェニルアラニン；G, Gly - グリシン；H, His - ヒスチジン；I, Ile - イソロイシン；K, Lys - リジン；L, Leu - ロイシン；M, Met - メチオニン；N, Asn - アスパラギン；P, Pro - プロリン；Q, Gln - グルタミン；R, Arg - アルギニン；S, Ser - セリン；T, Thr - トレオニン；V, Val - バリン；W, Trp - トリプトファン；Y, Tyr - チロシン；およびpY, pTyr - ホスホチロシン。

【0012】

10

20

30

40

50

一態様において、本発明は、SEQ ID NO: 1において特定される核酸分子、またはその関連する短縮型、ホモログおよびアナログと、相補的な核酸配列との核酸分子の水素結合を介して形成される、精製されたまたは単離された二本鎖核酸分子のことを企図する。

【0013】

SEQ ID NO: 1として本明細書中で特定される核酸分子は、原核細胞および真核細胞中の挿入された配列の転写および翻訳のための、挿入される核酸の上流および下流の必要な構成要素を含有する、発現ベクターで中に挿入されていてもよい。本発明は、SEQ ID NO: 1において特定された核酸分子またはその関連する短縮型、ホモログおよびアナログを含む、核酸分子に機能可能に連結された1またはそれ以上の転写および翻訳構成要素を有する発現ベクターが含まれる。可能性のある発現ベクターには、コスミド、プラスミド、および修飾ウィルスベクター（複製-欠損レトロウィルス、アデノウィルスおよびアデノ-関連ウィルス）が含まれるが、これらのものには限定されない。

10

【0014】

組換え発現ベクターを使用して、本明細書中でSEQ ID NO: 1により特定される核酸配列中にコードされるタンパク質、またはその関連する短縮型、ホモログおよびアナログ、を発現するトランスフォーム細胞系を調製することができる。本発明は、本明細書中でSEQ ID NO: 1中で特定される組換え核酸分子、またはその関連する短縮型、ホモログおよびアナログを含有する、真核細胞型および原核細胞型を含む細胞系を提供する。

【0015】

本発明はまた、トランスジェニック非-ヒト動物であって、その生殖細胞および体細胞がSEQ ID NO: 1で特定される核酸分子、またはその関連する短縮型、アナログまたはホモログを含む組換え分子を含有する、トランスジェニック非-ヒト動物を企図する。このような配列を、ゼブラフィッシュ (zebrafish)、アフリカツメガエル (xenopus)、ショウジョウバエ (drosophila)、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタおよびニワトリを含むが、これらには限定されない、非-ヒト種において発現することができる。

20

【0016】

本発明にはまた、SEQ ID NO: 2によりコードされるYCI、またはその関連するホモログ、短縮型、およびアナログが包含される。本発明は、YCIおよび関連するホモログ、短縮型、およびアナログの全ての後-翻訳修飾を包含する。そのような後-翻訳修飾には、グリコシレーション、ミリスチレーション (myristylation)、チロシンリン酸化、セリンリン酸化、トレオニンリン酸化、ユビキチン化、およびタンパク質溶解性分解が含まれるが、これらのものに限定されない。

30

【0017】

本発明はまた、SEQ ID NO: 2によりコードされるYCI、またはその関連する短縮型、アナログおよびホモログを調製する方法を包含する。そのようなタンパク質分子を調製する方法には、(1) SEQ ID NO: 1によりコードされる本明細書中で特定されるYCIの組換え発現ベクターをトランスファーし、(2) トランスフォームした宿主細胞を、トランスフォームしていない細胞から選抜し、(3) SEQ ID NO: 1によりコードされる特定のYCIの発現を可能にしたり誘導する条件下で、宿主細胞を培養し、そして(4) 適切な精製手順を用いて培養した宿主細胞からYCIを単離する、ことが包含される。このような態様において、YCIを、原核宿主細胞または真核宿主細胞のいずれかの中で、適宜産生させることができる。

40

【0018】

本発明は、SEQ ID NO: 2によりコードされるYCI、またはその関連する短縮型、アナログおよびホモログの精製もまた包含する。一態様において、本明細書中で特定されるYCIの物理的および化学的特性を使用して、前記タンパク質を他のタンパク質分子または非-タンパク質分子から分離する。そのような物理的および化学的特性には、密度、分子量、等電点、リガンド親和性、溶解性、温度感受性などが含まれるが、これらには限定されない。

【0019】

50

本発明は、SEQ ID NO: 2によりコードされるYCI、またはその関連する短縮型、アナログおよびホモログの、他のタンパク質または非-タンパク質分子との複合体もまた包含する。このことは、複合体形成性分子の、SEQ ID NO:2によりコードされる特定のYCI、またはその関連する短縮型、アナログおよびホモログのいずれかの残基との共有結合により、達成することができる。

【0020】

本発明は、SEQ ID NO: 2によりコードされる特定のYCI、またはそのいずれかの断片と特異的に結合することができる、抗体または抗体-誘導性フラグメントもまた企図する。したがって、本発明は、SEQ ID NO: 2によりコードされる特定のYCI、またはそのアミノ酸配列の断片を、哺乳動物生物体内に注入することを介して、哺乳動物種中に抗体を生成させる方法もまた提供する。

10

【0021】

さらに、SEQ ID NO: 2によりコードされる特定のYCI、またはその断片に特異的な抗体または抗体フラグメントは、組織内または細胞内で、YCIまたはSEQ ID NO: 2中で特定される関連する配列の検出を可能にする、蛍光分子またはペルオキシダーゼなどの検出可能な物質で標識してもよい。本発明は、YCIまたはその関連するホモログ、アナログおよび短縮型を、細胞および組織から精製するためのそのような抗体の使用もまた、カバーする。

【0022】

本発明は、SEQ ID NO: 1によりコードされるYCIまたはその変異体をコードする核酸分子に独自のヌクレオチドプローブの設計および構築のための方法もまた提供する。そのようなヌクレオチドプローブは、組織内および細胞内で、YCIをコードする核酸配列の検出を可能にする検出可能な物質で標識されていてもよい。さらに、ヌクレオチドプローブを診断ツールとして使用して、細胞内でのYCI発現の向上を評価することもできる。あるいは、標識したヌクレオチドプローブを使用して、YCI関連核酸分子を、デオキシリボ核酸および/またはリボ核酸（例えば、cDNAライブラリー、ゲノムDNAライブラリー、またはゲノムRNAライブラリー）の異種集団から同定することができる。

20

【0023】

本発明は、ポリメラーゼ連鎖反応または関連するポリメラーゼ反応を使用して、関連する短縮型、アナログまたはその短縮型を含む、YCIをコードする核酸を増幅または生成することもまた、包含する。一態様において、SEQ ID NO: 1に開示したヌクレオチド配列の断片から生成した合成オリゴヌクレオチドプライマーを使用して、ゲノムDNA、cDNAライブラリー、RNA分子、またはその他の核酸混合物から、YCI-コード配列を増幅することができる。

30

【0024】

本発明は、細胞、組織、器官、および生物内部でのYCI発現をモジュレートする方法もまた提供する。細胞内部および組織内部での核酸分子の相互作用を使用して、YCIをコードする核酸またはその関連する短縮型、アナログまたはホモログ、またはSEQ ID NO: 1により特定されるような関連する核酸配列の転写および翻訳を増幅することができる。あるいは、YCIをコードする核酸または関連する短縮型、アナログまたはホモログ、またはSEQ ID NO: 1により特定されるような関連する核酸配列の転写および翻訳をブロックする、相補的な核酸配列の誘導により、YCI発現を低下させることができる。

40

【0025】

好ましい態様においては、本明細書中でSEQ ID NO: 2としてコードされるYCIは、哺乳動物生物中で誘導されるかまたは存在する、1またはそれ以上のタイプのケモカインと結合することができる。したがって、YCIをin vivoで投与して、哺乳動物生物体内で1またはそれ以上のケモカインタンパク質と結合することができる。さらに、YCIを特異的な哺乳動物組織中に投与してまたは発現させて、前記組織中に存在するケモカインと結合させることができる。YCIと前記ケモカインとの間の結合が、減少され、阻害され、および/またはそうでなければ哺乳動物生物中での通常の機能を行う前記ケモカインの能力を減少させることが、本明細書中で予想される。一態様において、YCIと1またはそれ以上のケモカ

50

インとの結合をその対応する受容体との相互作用に寄与するケモカイン分子の領域において生じさせ、その結果、前記ケモカインとその対応するケモカイン受容体との間の共有的相互作用または非-共有的相互作用を妨害する。

【0026】

別の好ましい態様において、本明細書中でSEQ ID NO: 2としてコードされるYCIは、本明細書中でケモカインとして定義されるもの以外の哺乳動物サイトカインと結合することができる。したがって、YCIをin vivoで投与して、哺乳動物生物中で1またはそれ以上の型のサイトカインと結合させることができる。あるいは、YCIを具体的な哺乳動物組織中に投与するかまたは発現させて、前記組織中で本明細書中でケモカインとして定義させるもの以外のサイトカインに結合させることができる。本明細書中でYCIと前記サイトカインとの間の結合により、前記サイトカインが哺乳動物生物中でその正常な機能を果たす能力を低下し、阻害しおよび/または減少させることが想定される。一態様において、YCIと1またはそれ以上のサイトカインとの結合が、対応するその受容体との相互作用の原因となるサイトカイン分子の領域において生じ、その結果、前記サイトカインとその対応するサイトカイン受容体との間の共有結合的または非-共有結合的相互作用を妨げる。

10

【0027】

別の好ましい態様において、本明細書中でSEQ ID NO: 2としてコードされるYCIは、上述したように、哺乳動物ケモカイン受容体と結合することができる。YCIと1またはそれ以上のケモカイン受容体との間のそのような結合は、前記受容体の細胞外ドメインで生じる場合がある。さらに、本明細書中では、YCIと1またはそれ以上の前記ケモカイン受容体とのそのような結合により、前記受容体が適切なケモカインリガンドと連動する際に生じる、当該技術分野において既知の正常なシグナル伝達を中断させることができると想定される。したがって、本明細書中でSEQ ID NO: 2としてコードされるYCIを投与して、1またはそれ以上のケモカイン受容体と結合させることができ、そしてそのようなケモカイン受容体により媒介されるシグナル伝達機能を低下し、阻害し、および/または減少させることができる。

20

【0028】

本発明は、本明細書中でSEQ ID NO: 2としてコードされるYCI、あるいはウイルス、細菌または哺乳動物供給源に由来する関連する短縮型、アナログ、またはホモログと結合することができる物質の同定のための方法をさらに提供する。一態様において、YCIは、結合が生じるために必要とされる適切な条件を含む、哺乳動物供給源由来の他のタンパク質の近傍に存在し、一方、結合は、YCI-特異的標識抗体を使用して検出する。別の態様において、酵母ツーハイブリッドアッセイ系を、YCI、哺乳動物供給源由来のその短縮型、アナログまたはホモログと相互作用するタンパク質を同定するための方法として、使用する。別の態様において、YCIと免疫-関連タンパク質を含むがこれらには限定されない他のタンパク質との相互作用を、YCIとそれに対して顕著な親和性を示すその他のタンパク質との共有結合を媒介することが当該技術分野において知られる架橋剤を介して、検出する。

30

【0029】

本発明は、YCIをコードする核酸であって、短縮型、アナログおよびホモログを含む前記タンパク質を発現する細胞中のSEQ ID NO: 1として示されるものを含むもの(これらには限定されない)の転写および/または翻訳に影響を与える試剤を同定する方法をさらに提供する。一態様において、YCIをコードするRNAおよび完全長タンパク質のパターンおよびレベルを、アッセイ条件下でYCI発現細胞を処理する際にアッセイするが、これにはYCI発現細胞を増殖因子、ホルモン、サイトカイン、ホルボールエステル、ヘムアグルチニン、抗体および抗体フラグメントで処理することを含むが、これらには限定されない。

40

【0030】

本明細書中の発明は、短縮型、アナログおよびホモログを含むYCIの後-翻訳修飾をモジュレートする試剤を同定する方法もまた提供する。そのような修飾は、YCIタンパク質機能、サイトカインタンパク質機能、ケモカインタンパク質機能、ケモカイン受容体機能、およびその他の機能、またはそれを引き起こす機能不全において役割を果たす場合がある。

50

そのような修飾の例としては、タンパク質フォールディング、ジスルフィド結合、グリコシレーション、ミリスチレーション (myristylation)、パルミトイレーション (palmitoylation)、チロシンリン酸化、セリンリン酸化、トレオニンリン酸化、ユビキチン化、およびタンパク質溶解性分解が含まれるが、これらには限定されない。

#### 【0031】

本発明は、*in vivo*または*in vitro*条件下でのYCI-をコードする核酸およびタンパク質機能を研究するための実験モデルを作製する方法もまた、提供する。YCIをコードする核酸、YCIまたはいずれかの関連するその短縮型、アナログまたはホモログを発現し、過剰発現し、または低発現する細胞、組織、および非-ヒト動物を、本明細書中の発明の態様にしたがって、確立することができる。特に、トランスジェニック非-ヒト動物を、YCIをコードする核酸のYCIをコードする核酸の核卵母細胞マイクロインジェクションを介して作製することができ、それによりYCI構造および機能を決定するための新規なモデルを提供することができる。本発明は、造血、神経発生、乳腺発生、および肺上皮発生、細胞ホメオスタシス、細胞シグナル伝達、細胞死、分化、および神経発生を含むが、これらには限定されない、様々な発生系において、細胞株を開発してYCIの発現、過剰発現または低発現の作用を研究するためのYCIをコードする核酸の使用を可能にする。

10

#### 【0032】

さらに、本発明は、本発明中で開示されるYCIをコードする核酸に由来するヒトの治療的使用を企図する。好ましい態様において、上述した方法を使用して、炎症に関連するかまたはそれにより媒介されるヒト症状を、減少させ、治療し、妨げ、またはそうでなければ低下させる。一つの好ましい態様において、本明細書中で開示されるYCIをコードする核酸を、当該技術分野において周知の方法および手順を介して、哺乳動物中に導入する。このような状況下において、前記核酸の複製、転写および/または翻訳を媒介する細胞および組織中に、そのような核酸を導入することが想定される。別の好ましい態様において、YCIをコードする核酸は、炎症に関連する疾患状態の治療、予防、および/または減少のため、哺乳動物の具体的な組織型または細胞型中に存在する。さらに別の好ましい態様において、YCIをコードする核酸は、*in vitro*または*ex vivo*条件下にある際に、細胞および組織中に導入され、前記核酸の複製、転写および/または移植を媒介し、その後炎症に関連するかまたはそれにより媒介される疾患状態を減少させ、治療し、予防し、そしてそうでなければ低下させる目的で、哺乳動物生物中のこのようなYCIを発現する細胞および組織の移植を行う。

20

30

#### 【0033】

本明細書中で開示された本発明は、本明細書中に記載する他の態様を介して、本明細書中で開示したYCIおよび/または同一物の修飾に由来するヒトの治療的使用をさらに企図する。好ましい態様において、本明細書中で開示されたYCI、および関連するその短縮型、アナログおよびホモログは、炎症が関与するかまたはそれにより媒介される疾患状態を治療し、予防し、減少させ、またはそうでなければ低下させる目的で、哺乳動物生物中に導入される。好ましい態様において、本明細書中で開示されたYCI、および関連するその短縮型、アナログおよびホモログを、炎症が関連するかまたはそれにより媒介される疾患状態の部位または位置であることが当該技術分野において知られる具体的な組織型中に*in vivo*で特異的に導入する。別の態様において、本明細書中で開示されたYCI、および関連するその短縮型、アナログおよびホモログを*in vitro*または*ex vivo*条件にある際に細胞および/または組織中に導入し、その後、炎症が関与するかまたはそれにより媒介される疾患状態を治療し、予防し、減少させ、またはそうでなければ低下させる目的で、哺乳動物生物中に前記細胞および/または組織を移植する。

40

#### 【0034】

さらに、本発明の範囲には、本発明の使用、本発明に関連する核酸、タンパク質、抗体、複合体、そのアナログ、ホモログおよび短縮型、および炎症の発症により媒介されるかまたはそれと関連する全てのヒト疾患および/または症状ならびに自己免疫により媒介されるかまたはそれと関連するヒト疾患および/または症状の治療のための本発明の態様、が

50

含まれる。そのような疾患および/または症状には、炎症、自己免疫疾患、そしてアレルギー性炎症、動脈再狭窄、バイパス移植片閉塞、ゴーシェ病、糖尿病、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、移植片拒絶、移植片血管病変 (transplant vasculopathy) および腎炎が含まれるがこれらには限定されない、免疫-媒介性症状、が含まれるが、これらには限定されない。

#### 【0035】

本発明は、本明細書中で概説した治療および診断に適した試薬を、医薬的に許容可能なビヒクルを使用して投与することができることもまた、企図する。そのようなビヒクルには、発現ベクター、マイクロインジェクション、リポソーム送達、皮下注射、静脈内注射、経口投与、吸入、経皮投与、または直腸投与が含まれるが、これらには限定されない。そのようなビヒクルおよび関連する治療計画は、個人の疾患ステージ、年齢、性別および体重などの因子にしたがって、最適化することができる。一態様において、本明細書中で概説した治療および診断に適した試薬を、適切な容器中にパッケージした必要な物質を提供する、便利なキット中にパッケージすることができる。そのようなキットには、本明細書中に概説した治療および診断ストラテジーを行う際に有用でそして補助となる適切なサポートが含まれる。

10

#### 【0036】

本明細書中で提供され、添付された図面中に示された方法の結果として、より明瞭になる本発明の他の目的、特徴および利点が、本発明中に含まれる。本発明の実施例および好ましい態様は説明により与えられること、そして本発明の範囲内の様々な改変および修飾は、本明細書中の発明の一部として含まれることは、理解されるべきである。当業者であれば、本明細書中の発明の改変および修飾を認識するだろうが、しかしながら、それは本発明の一部として尊重されなければならない。

20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0037】

本発明は、以下の図面およびその関連する記載を用いて、さらに理解されそしてサポートされる。これらの記載および図面は、どのような状況下においても本発明を限定することを意味するものではなく、そして本明細書中に開示する発明の可能性のある態様として解釈されるべきものである。これらの図面により示されるデータの作成において用いられた方法は、当該技術分野において一般的に知られた方法であり、そして本明細書中に記載される方法を用いることにより、同一の結果を再現することができる。

30

【図1】図1は、本明細書中の以下において“SEQ ID NO: 1”として記載する、YMTV内のYCI遺伝子のゲノム核酸配列を示し、そして本明細書中の以下において“SEQ ID NO: 2”として記載される、YMTVにより発現されるYCIタンパク質のアミノ酸配列をさらに示す。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
13 June 2002 (13.06.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/46214 A2

(51) International Patent Classification: C07K 14/005

(21) International Application Number: PCT/CA01/01734

(22) International Filing Date: 4 December 2001 (04.12.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
60/251,147 4 December 2000 (04.12.2000) US

(71) Applicant (for all designated States except US): VIRON THERAPEUTICS INC. [CA/CA]; UWO Research Park, Suite 103, 100 Collip Circle, London, Ontario N6G 4X8 (CA).

(72) Inventors; and  
(75) Inventors/Applicants (for US only): MCFADDEN,

Grant [CA/CA]; 1435 Corley Drive South, London, Ontario N6G 2K5 (CA). LUCAS, Alexandra [CA/CA]; 1435 Corley Drive South, London, Ontario N6G 2K5 (CA). LI, Xing [CA/CA]; 110 Scotchpine Crescent, London, Ontario N6G 2E3 (CA).

(74) Agents: ROBINSON, J., Christopher et al.; Smart & Biggar, Suite 2200, 650 West Georgia Street, Box 11560, Vancouver, British Columbia V6B 4N8 (CA).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TI, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Continued on next page]

(54) Title: NOVEL IMMUNOMODULATORY PROTEIN AND USEFUL EMBODIMENTS THEREOF

SEQUENCE LISTING

5 <110> Viron Therapeutics Inc.  
<120> Novel Immunomodulatory Protein and Therapeutic Embodiments Thereof  
<130> Yaba Cytokine Inhibitor Protein Sequence  
<140>  
10 <141>  
<160> 2  
<170> PatentIn Ver. 2.0  
<210> 1  
<211> 411  
15 <212> DNA  
<213> Yaba Monkey Tumor Virus  
<400> 1  
atgaaataa tgaattat tttttttt ttgatttt ttcttcctg tgaaggaga 60  
aaagatgag atagcatag atggtttat attaaatgac cgtgtagaa aactagcag 120  
gtgtgtttt ggtgtacag ttgtttgtt tttaagtt ttgtttgt ttctgtgct 180  
gtggagaaa gagaacctt agatcagtg caacaant ccggtatgg tgaaccagt 240  
caaccttaa aacctcaaga gtgtgaaac ttactagcg cagattagt ttgacagat 300  
atgacagaa aatgctgta caaanagtg actgtgtgt ttatggacc agacggcac 360  
atgacagat cttgtttt acgognatg tggatgtt ttacaanaa n 411  
25  
<210> 2  
<211> 137  
<212> PRT  
<213> Yaba Monkey Tumor Virus

(57) Abstract: This invention features a novel secreted viral protein that is isolated from the genome of the poxvirus family, namely, the Yaba Monkey Tumor Virus. The invention also features methods of using the protein, for example, in the treatment of diseases, wherein the protein has an anti-inflammatory and/or immunomodulatory effect when administered *in vivo*.



WO 02/46214 A2

WO 02/46214 A2



(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Published:**

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

5        **NOVEL IMMUNOMODULATORY PROTEIN AND USEFUL  
         EMBODIMENTS THEREOF**

**Field of the Invention**

10        This invention relates to a novel secreted viral protein that  
         may be utilized in the treatment of human diseases. The protein  
         disclosed herein is isolated from the genome of the poxvirus family,  
         where said virus is the Yaba Monkey Tumor Virus. This invention  
         reveals the non-obvious discovery of the sequence of this novel  
15        immunomodulatory protein and useful embodiments thereof that may  
         mediate an anti-inflammatory and/or immunomodulatory role when  
         administered in vivo.

**Background of the Invention**

20        Poxviruses are a large family of DNA viruses known to infect  
         a variety of mammalian species. To date, approximately 50 poxvirus  
         genomes have been identified and each genome contains about 200  
         open reading frames encoded therein. The poxvirus family,  
         otherwise known as Poxviridae, includes two subfamilies  
         (Chordopoxvirinae and Entomopoxvirinae) wherein the species are  
25        divided into eight and three genera respectively, including but  
         limited to Orthopoxvirus, Parapoxvirus, Avipoxvirus, Capripoxvirus,  
         Leporipoxvirus, Suipoxvirus, Molluscipoxvirus and Yatapoxvirus,  
         which include but are not limited to the species known as Myxoma  
         Virus, Vaccinia Virus, Swinepox Virus, Molluscum Contagiosum  
30        Virus and Yaba Monkey Tumor Virus. Poxviruses are characterized

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

as large, brick-like virions with complex symmetry that share antigenic determinants among different species of the family.

It is well known within the art that, upon infection of a host organism, the poxvirus genome mediates expression of numerous proteins that interfere and modulate homeostasis within the host. In addition to proteins that mediate an intracellular effect, poxviruses are also known to secrete proteins into the circulatory system of the infected animal. Such secreted proteins include agents that bind and inhibit various different aspects of the mammalian immune system and minimize immune-mediated clearance of the virus.

The Yaba Monkey Tumor Virus (YMTV) is poxvirus of the Yatavirus genus and was characterized in 1958 during outbreaks of rhesus monkeys. YMTV infection in monkeys leads to epidermal histiocytomas that advance to suppurative inflammatory reactions. YMTV has a DNA genome of 136 kilobases with a large part of the genome yet to be cloned and characterized. YMTV grows relatively slowly in primate cell culture lines and its host range is restricted to a small number of primates, and occasionally man following accidental exposure to infected monkeys.

IL-18 is a pro-inflammatory mammalian cytokine that plays an important early function in the potentiation of  $T_H1$ -like immune responses. In addition to its independent effects, IL-18 synergizes with IL-12 to induce IFN- $\gamma$  production from various immune cell types. Binding of IL-18 to specific cell-surface receptors induces NF- $\kappa$ B activation and IL-18 is important in vivo for production of IFN- $\gamma$  and inflammatory responses that may contribute to inflammatory disease. These diseases include but are not limited to allergic inflammation, atherosclerotic plaque growth and unstable plaque rupture, arterial restenosis, by-pass graft occlusion, Gaucher's

disease, diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, transplant rejection, transplant vasculopathy and glomerulonephritis.

This invention provides the non-obvious identification and characterization of a protein derived from YMTV, where said protein is referred to as YMTV Cytokine Inhibitor, or YCI. The invention embodies nucleic acid and amino acid polymers encoding said YCI, including methods of detecting and producing said YCI. The invention further embodies the use of this YCI as a method of modulating the immune response within an organism. It is further claimed herein that the nucleic acid and amino acid sequences disclosed may be utilized for the treatment of human individuals for the purpose of preventing, treating or reversing the onset of one or more immune-related diseases, including inflammation and the immune-mediated diseases outlined above, but not limited to such.

#### **Brief Description of the Drawings**

The present invention will be further understood and supported using the following drawings and their associated descriptions. These descriptions and drawings are not meant to limit the invention by any circumstance and are to be interpreted as possible embodiments of the invention disclosed herein. The methods utilized in the generation of the data represented by these drawings are commonly known within the art and may be reproduced identically by employing the methods described herein.

Figure 1 illustrates the genomic nucleic acid sequence of the YCI gene within YMTV, hereinafter referred to as "SEQ ID NO:1" and further illustrates the amino acid sequence of YCI protein expressed by YMTV, hereinafter referred to as "SEQ ID NO:2".

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

**Summary of the Invention**

The invention disclosed herein characterizes a novel nucleic acid and protein sequence derived from the Yaba Monkey Tumor Virus (YMTV). The invention embodies all compositions associated with said sequences, including but not restricted to DNA and RNA fragments derived thereof, as well as amino acid sequences derived of the disclosed sequence. It is contemplated herein that the disclosed protein sequence, as well as homologs, analogs and fragments thereof, are capable of binding aspects of the mammalian immune system with detectable affinity and stability. In one such embodiment, such binding occurs between the disclosed protein and one or more mammalian cytokines, where one such cytokine is interleukin-18, or IL-18 as known within the art. The disclosed protein is therefore herein referred to as YMTV Cytokine Inhibitor, or YCI. The invention further embodies use of said YCI nucleic acid, including complimentary sequences thereto, and protein sequences for a variety of diagnostic and therapeutic applications. In one such embodiment, it is contemplated herein that YCI sequences may be utilized to identify interactions with immune related proteins. In a further embodiment, the YCI sequences disclosed herein may be introduced into a mammalian organism for the purpose of modulating the incidence, progression and pathogenesis of an inflammatory, auto-immune or immune-mediated disease condition within said organism.

25

**Detailed Description of the Invention**

The invention disclosed hereinunder identifies a novel protein derived from the Yaba Monkey Tumor Virus, which is well known within the art as a member of the poxvirus family and a further subset of the Yatapoxvirus genus therein. Said Yaba Monkey Tumor Virus is hereinafter referred to as "YMTV". In particular, this invention discloses an immunomodulatory nucleic acid and amino acid sequence relating thereto, referred to as the Yaba Cytokine Inhibitor, where the nucleic acid sequence and amino acid sequences, including homologs, analogs and truncations thereof, are hereinafter collectively abbreviated as "YCI". The disclosure herein contains relevant nucleic acid and protein sequences of YCI within SEQ ID NO:1 and SEQ ID NO:2, respectively, as attached hereinafter. Thus, the YCI gene has a length of 411 nucleotides, corresponding to an amino acid sequence of 137 amino acids encoded therein.

The scope of this invention includes variations of the nucleic acid sequences defined as follows:

- (1) truncations, analogs and homologs of the nucleic acid sequences provided in SEQ ID NO:1;
- (2) nucleic acid sequences differing from SEQ ID NO:1 by substitution of a T with a U;
- (3) nucleic acid sequences complimentary to either the full length of SEQ ID NO:1, or complimentary to nucleic acid fragments derived thereof;
- (4) nucleic acid sequences that hybridize with the nucleic acid sequences represented within SEQ ID NO:1;
- (5) nucleic acid sequences differing from the full length of SEQ ID NO:1 due to the degeneracy of the genetic code.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

The term "nucleic acid" is intended to include DNA and RNA that can either be of single or double stranded structure. The term "protein" or "polypeptide" refers to amino acid polymers existing in an unfolded or folded spatial organization and with or without catalytic function. The term "antibody" refers to protein molecules derived from a polyclonal or monoclonal population of B cells of mammalian origin. The term "antibody fragment" refers to the aforementioned antibody molecules that have been cleaved into different segments and/or may be labeled with fluorochrome compounds for the purpose of detection. The term "chemokine" refers to all known chemotactic cytokines expressed within mammalian organisms that mediate the recruitment and infiltration of leukocytes into tissues. The term "chemokine" includes but is not limited to all mammalian members of the C, CC, CXC, and CXXXC families of chemotactic cytokines, classified within the art based upon the distribution of cystine residues therein. The term "chemokine receptor" refers to all known transmembrane proteins known within the art to interact with one or more chemokines. The term "chemokine receptor" shall include but is not limited to all chemokine receptors classified within the art as CR, CCR, CXCR and CXXXCR. The term "cytokine" refers to all human cytokines known within the art that bind extracellular receptors upon the cell surface and thereby modulate cell function, including but not limited to IL-1, IL-4, IL-6, IL-18, TNF- and IFN- . The term "cytokine receptor" refers to all human cytokine receptors within the art that bind one or more cytokine(s), as defined hereunder, including but not limited to receptors of IL-1, IL-4, IL-6, IL-18, TNF- and IFN- .

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

The following standard abbreviations are utilized throughout specification of the present invention and its included drawings:

DNA - deoxyribonucleic acid; RNA - ribonucleic acid; C - cytosine; G - guanine; A - adenosine; T - thymidine; N - unknown; Ala - alanine; C, Cys - cysteine; D, Asp - aspartic acid; E, Glu - glutamic acid; F, Phe - phenylalanine; G, Gly - glycine; H, His - histidine; I, Ile - isoleucine; K, Lys - lysine; L, Leu - leucine; M, Met - methionine; N, Asn - asparagine; P, Pro - proline; Q, Gln - glutamine; R, Arg - arginine; S, Ser - serine; T, Thr - threonine; V, Val - valine; W, Trp - tryptophan; Y, Tyr - tyrosine; and pY, pTyr - phosphotyrosine.

In one embodiment, this invention contemplates a purified or isolated double stranded nucleic acid molecule formed through hydrogen bonding of the nucleic acid molecules specified in SEQ ID NO:1, or related truncations, homologs and analogs thereof, to a complimentary nucleic acid sequence.

The nucleic acid molecules specified herein as SEQ ID NO:1 may also be inserted into an expression vector that contains necessary elements upstream and downstream of the inserted nucleic acid for the transcription and translation of the inserted sequence within prokaryotic and eukaryotic cells. The invention embodies expression vectors which comprise a nucleic acid molecule specified in SEQ ID NO:1, or related truncations, homologs and analogs thereof, with one or more transcription and translation elements operatively linked to the nucleic acid molecule. Possible expression vectors include, but are not limited to, cosmids, plasmids and modified viral vectors (replication-defective retroviruses, adenoviruses and adeno-associated viruses).

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

Recombinant expression vectors may be used to prepare transformed cell lines expressing the proteins encoded within nucleic acid sequences specified herein by SEQ ID NO:1, or related truncations, homologs and analogs thereof. This invention provides cell lines, including eukaryotic and prokaryotic cell types, containing a recombinant nucleic acid molecule specified herein within SEQ ID NO:1, or related truncations, homologs and analogs thereof.

This invention also contemplates transgenic non-human animals whose germ cells and somatic cells contain a recombinant molecule comprising a nucleic acid molecule specified in SEQ ID NO:1, or a related truncation, analog or homolog thereof. Such sequences may be expressed in non-human species including but not limited to zebrafish, xenopus, drosophila, mice, rats, rabbits, sheep, pigs and chickens.

This invention also embodies YCI encoded by SEQ ID NO:2, or related homologs, truncations and analogs thereof. This invention embodies all post-translational modifications of YCI and related homologs, truncations and analogs thereof. Such post-translational modifications include, but are not limited to, glycosylation, myristylation, tyrosine phosphorylation, serine phosphorylation, threonine phosphorylation, ubiquitination and proteolytic degradation.

This invention also embodies a method of preparing YCI encoded by SEQ ID NO:2, or related truncations, analogs and homologs thereof. A method of preparing such protein molecules is embodied by (1) transferring a recombinant expression vector of the herein specified YCI encoded by SEQ ID NO:1, (2) selecting transformed host cells from untransformed cells, (3) culturing the host cell under conditions that allow or induce the expression of the

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

specified YCI encoded by SEQ ID NO:1 and (4) isolation of YCI from cultured host cells using a suitable purification procedure. In such embodiments, YCI may be produced within either prokaryotic or eukaryotic host cells, as appropriate.

5 This invention also embodies the purification of YCI encoded by SEQ ID NO:2, or related truncations, analogs and homologs thereof. In one embodiment, physical and chemical characteristics of YCI as specified herein are utilized to separate said protein from other protein or non-protein molecules. Such physical and chemical  
10 characteristics include but are not limited to, density, molecular weight, isoelectric point, ligand affinity, solubility, temperature-sensitivity, etc.

This invention also contemplates the conjugation of YCI encoded by SEQ ID NO:2, or related truncations, analogs and  
15 homologs thereof, to other protein or non-protein molecules. This may be accomplished by covalent attachment of conjugating molecules to any residue of the specified YCI encoded by SEQ ID NO:2, or related truncations, analogs and homologs thereof.

This invention also contemplates antibodies or antibody-derived fragments specifically capable of binding the specified YCI encoded by SEQ ID NO:2 or any segment thereof. Therefore, this  
20 invention also provides a method of generating antibodies within mammalian species through injection of the specified YCI encoded by SEQ ID NO:2 or segments of the amino acid sequence thereof into  
25 a mammalian organism.

Furthermore, antibodies or antibody fragments specific for the specified YCI encoded by SEQ ID NO:2 or segments thereof may be labeled with detectable substances, such as fluorochromes or peroxidases, that permit detection of the YCI, or related sequences

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

specified within SEQ ID NO:2, within tissues and cells. The invention also covers use of such antibodies to purify YCI or its related homologs, analogs and truncations from cells and tissues.

5 This invention also provides a method for the design and construction of nucleotide probes unique to nucleic acid molecules encoding YCI encoded by SEQ ID NO:1 or variations thereof. Such nucleotide probes may also be labeled with detectable substances that permit detection of YCI encoding nucleic acid sequences within tissues and cells. In addition, nucleotide probes may also be utilized  
10 as a diagnostic tool to assess the upregulation of YCI expression within cells. Labeled nucleotide probes may alternatively be used to identify YCI related nucleic acid molecules from a heterogeneous population of deoxyribonucleic acids and/or ribonucleic acids (e.g., a cDNA library, a genomic DNA library or a genomic RNA library).

15 This invention also embodies the use of the polymerase chain reaction or related polymerase reactions to amplify or generate nucleic acids encoding YCI, including related truncations, analogs or truncations thereof. In one embodiment, synthetic oligonucleotide primers generated from segments of the nucleotide sequence  
20 disclosed in SEQ ID NO:1 can be utilized to amplify YCI-encoding sequence(s) from genomic DNA, cDNA libraries, RNA molecules or other nucleic acid mixtures.

This invention also provides a method of modulating YCI expression within cells, tissues, organs and organisms. The  
25 introduction of nucleic acid molecules into cells and tissues may be utilized to amplify the transcription and translation of YCI-encoding nucleic acids or related truncations, analogs or homologs or related nucleic acid sequences as specified by SEQ ID NO:1. Alternatively, YCI expression may be downregulated by the introduction of

10

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

complimentary nucleic acid sequences that block transcription and translation of YCI-encoding nucleic acids or related truncations, analogs or homologs or related nucleic acid sequences as specified by SEQ ID NO:1.

5 In a preferred embodiment, YCI encoded herein as SEQ ID NO:2 may bind one or more types of chemokines derived from or present within mammalian organisms. Therefore, YCI may be administered in vivo to bind one or more chemokine proteins within mammalian organisms. Furthermore, YCI may be administered or  
10 expressed within specific mammalian tissues to bind chemokines present within said tissue. It is envisioned herein that the binding between YCI and said chemokine shall reduce, inhibit and/or otherwise diminish the ability of said chemokine to conduct its normal function within mammalian organisms. In one embodiment,  
15 the binding between YCI and one or more chemokine(s) shall occur in the region of the chemokine molecule responsible for interaction with a corresponding receptor thereof, hence preventing the covalent or non-covalent interaction between said chemokine and its corresponding chemokine receptor.

20 In another preferred embodiment, YCI encoded herein as SEQ ID NO:2 may bind mammalian cytokines, other than those defined herein as chemokines. As such, YCI may be administered in vivo to bind one or more types of cytokines within mammalian organisms. Alternatively, YCI may be administered or expressed within specific  
25 mammalian tissues to bind cytokines, other than those herein defined as chemokines, within said tissue. It is envisioned herein that the binding between YCI and said cytokine shall reduce, inhibit and/or other diminish the ability of said cytokine to conduct its normal function within mammalian organisms. In one embodiment, the

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

binding between YCI and one or more cytokine(s) shall occur in the region of the cytokine molecule responsible for interaction with a corresponding receptor thereof, hence preventing the covalent or non-covalent interaction between said cytokine and its corresponding  
5 cytokine receptor.

In another preferred embodiment, YCI encoded herein as SEQ ID NO:2 may bind mammalian chemokine receptors, as defined above. Such binding between YCI and one or more chemokine receptors may occur at the extracellular domain of said receptor.  
10 Furthermore, it is envisioned herein that such binding between YCI and one or more of the said chemokine receptors may disrupt normal signaling known within the art to occur upon engagement of said receptor with the appropriate chemokine ligand. As such, YCI encoded herein as SEQ ID NO:2 may be administered in vivo to bind  
15 one or more chemokine receptors and reduce, inhibit and/or other diminish the signaling functions mediated by such chemokine receptors.

This invention further provides a method for the identification of substances capable of binding YCI encoded herein as SEQ ID  
20 NO:2, or related truncations, analogs or homologs derived from viral, bacterial or mammalian sources. In one embodiment, YCI is present in proximity to other proteins derived from mammalian sources, including the appropriate conditions necessary for binding to occur, while binding is detected using YCI-specific labeled antibodies. In  
25 another embodiment, a yeast two hybrid assay system is utilized as a method for the identification of proteins interacting with YCI, its truncations, analogs or homologs derived from mammalian sources. In another embodiment, interactions between YCI and other proteins, including but not restricted to immune-related proteins, are detected

12

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

through cross-linking agents as are known within the art that mediate covalent bonds between YCI and other proteins that demonstrate significant affinity thereto.

5 This invention further provides a method of identifying agents that affect the transcription and or translation of YCI encoding nucleic acids, including but not limited to those represented as SEQ ID NO:1 within cells expressing said protein, including truncations, analogs and homologs. In one embodiment, the pattern and level of YCI encoding RNA and full-length protein is assayed upon treatment  
10 of YCI expressing cells under assay conditions including, but not limited to, the treatment of YCI expressing cells with growth factors, hormones, cytokines, phorbol esters, hemagglutinins, antibodies and antibody fragments.

The invention herein also provides a method of identifying  
15 agents that modulate post-translational modification of YCI, including truncations, analogs and homologs. Such modifications may play a role in YCI protein functions, cytokine protein functions, chemokine protein functions, chemokine receptor functions and other functions or dysfunctions derived thereof. Examples of such  
20 modifications include, but are not limited to, protein folding, disulfide linkage, glycosylation, myristylation, palmitoylation, tyrosine phosphorylation, serine phosphorylation, threonine phosphorylation, ubiquitination and proteolytic degradation.

This invention also provides methods for the generation of  
25 experimental models for the study of YCI-encoding nucleic acid and protein functions in vivo or in vitro conditions. Cells, tissues and non-human animals that express, over-express or underexpress YCI-encoding nucleic acids, YCI or any related truncations, analogs or homologs thereof, can be established according to the embodiments

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

of the invention herein. In particular, the generation of transgenic non-human animals may be accomplished via nuclear oocyte microinjection of YCI-encoding nucleic acids will provide novel models for the determination of YCI structure and function. This invention also permits the use of YCI-encoding nucleic acids to develop cell lines to study the effect of YCI expression, over-expression or under-expression in various developmental systems, including, but not limited to, hematopoiesis, neurogenesis, mammary development and lung epithelial development, cell homeostasis, cell signaling, cell death, differentiation and neuronal development.

In addition, this invention contemplates human therapeutic uses derived from the herein disclosed YCI-encoding nucleic acids. In a preferred embodiment, the aforementioned methods are utilized to reduce, treat, prevent or otherwise lower human conditions associated or mediated by inflammation. In one preferred embodiment, the herein disclosed YCI-encoding nucleic acids are introduced into a mammalian animal through methods and procedures well known within the art. In such situations, it is envisioned that such nucleic acids shall be introduced into cells and tissues that shall mediate replication, transcription and/or translation of said nucleic acids. In another preferred embodiment, YCI-encoding nucleic acids are into specific tissue or cell type of a mammalian animal for the treatment, prevention and/or reduction of disease conditions associated with inflammation. In yet another preferred embodiment, YCI-encoding nucleic acids are introduced into cells and tissues while in vitro or ex vivo conditions, that shall mediate replication, transcription and/or transplantation of said nucleic acids, prior to the transplantation of such YCI-expressing

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

cells and tissues into a mammalian organism for the purpose of reducing, treating, preventing and otherwise lowering disease conditions associated or mediated by inflammation.

5 The invention disclosed herein further contemplates human therapeutic uses derived from the herein disclosed YCI and/or modifications of the same through other embodiments described herein. In a preferred embodiment, the YCI disclosed herein, and related truncations, analogs and homologs thereof, are introduced into a mammalian organism for the purpose of treating, preventing, 10 reducing or otherwise lowering disease conditions associated or mediated by inflammation. In one preferred embodiment, YCI disclosed herein, and related truncations, analogs and homologs thereof, are specifically introduced in vivo within a specific tissue type that is known within the art to be the site or location of a disease 15 conditions associated or mediated by inflammation. In another embodiment, the YCI disclosed herein, and related truncations, analogs and homologs thereof, are introduced into cells and/or a tissue while in vitro or ex vivo conditions, prior to the transplantation of said cells and/or a tissue into a mammalian organism for the 20 purpose of treating, preventing, reducing or otherwise lowering disease conditions associated or mediated by inflammation.

Further envisioned within the scope of this invention is the usage of the invention, its associated nucleic acids, proteins, antibodies, conjugates, analogs, homologs and truncations thereof, 25 and of its embodiment for the treatment of all human diseases and/or conditions that are mediated or associated with the onset of inflammation, as well as human diseases and/or conditions that are mediated or associated with autoimmunity. Such diseases and/or conditions include but are not restricted to inflammation, autoimmune

15

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

disease and immune-mediated disorders, which include but are not restricted to, allergic inflammation, arterial restenosis, by-pass graft occlusion, Gaucher's disease, diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, transplant rejection, transplant vasculopathy and  
5 glomerulonephritis.

This invention also contemplates that reagents suitable for the therapies and diagnostics outlined herein may be administered using pharmaceutically acceptable vehicles. Such vehicles include, but are not limited to, expression vectors, microinjection, liposome delivery,  
10 subcutaneous injection, intravenous injection, oral administration, inhalation, transdermal application or rectal administration. Such vehicles and related therapeutic regimens may be optimized for according to factors such as disease stage, age, sex and weight of the individual. In one embodiment, reagents suitable for the therapies and  
15 diagnostics outlined herein may be packaged into convenient kits providing the necessary materials packaged into suitable containers. Such kits may include suitable supports useful and assisting in performing the therapeutic and diagnostic strategies outlined herein.

Other objects, features and advantages of the present invention  
20 that become clear as a result of the methods provided herein and depicted in the enclosed drawings are included in this invention. It should be understood that examples and preferred embodiments of the invention herein are given by way of illustration and various alterations and modifications within the spirit of the invention are  
25 included as part of the invention herein. Those skilled in the art will recognize alterations and modifications of the invention herein that must however be respected as a part of the present invention.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

We claim:

1. A purified nucleic acid molecule derived from the Yaba Monkey  
Tumor Virus, as defined by the following, including a fragment,  
5 homolog and analog thereof:  
(i) SEQ ID NO:1.
2. A nucleic acid molecule as claimed in claim 1, comprising a  
sequence complimentary to the following, or a fragment, analog  
10 and homolog thereof:  
(i) SEQ ID NO:1.
3. A nucleic acid molecule comprising a sequence as in claim 1,  
where each T may be replaced with a U.  
15
4. A recombinant nucleic acid vector containing one or more nucleic  
acid sequences encoding the nucleic acid sequences of claim 1.
5. A host cell containing a nucleic acid sequence as in claim 1, or a  
20 fragment, analog and homolog thereof.
6. As claimed in claim 5, where the host cell is a eukaryotic cell.
7. As claimed in claim 5, where the host cell is a prokaryotic cell.  
25
8. A protein molecule encoded by the nucleic acid sequences as  
claimed in claim 1, or fragments, analogs and homologs thereof,  
or as encoded by SEQ ID NO:2.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

9. An antibody molecule, or fragment thereof, having specificity against an epitope of the protein molecules claimed in claim 8.
10. As in claim 8, where said protein is conjugated with a protein or  
5 non-protein based moiety.
11. As in claim 9, where the antibody is labeled with protein and/or non-protein moieties.
- 10 12. A method of modulating chemokine function through expression of one or more nucleic acid sequences as claimed in claim 1.
13. A method of modulating chemokine function through interaction between said proteins in claim 8, wherein said proteins non-  
15 covalently bind one or more mammalian chemokine(s).
14. A method of modulating cytokine function through expression of one or more nucleic acid sequences as claimed in claim 1.
- 20 15. A method of modulating cytokine function through interaction between said proteins in claim 8, wherein said proteins non-covalently bind one or more mammalian cytokine(s).
- 25 16. A method of modulating chemokine receptor function through expression of one or more nucleic acid sequences as claimed in claim 1.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

- 5
17. A method of modulating chemokine receptor function through interaction between said proteins in claim 8, wherein said proteins non-covalently bind one or more mammalian chemokine receptor(s).
18. A method of identifying substances that may bind the protein molecules encoded within those claimed in claim 1.
- 10
19. A method of identifying agents that modulate the transcription of the nucleic acids herein encoded within those claimed in claim 1.
20. A method of identifying agents that modulate the translation of protein(s) derived from those claimed in claim 8.
- 15
21. A method of identifying agents that modulate post-translational modification of protein(s) derived from those claimed in claim 8.
22. A composition for the treatment of inflammation in mammalian organisms composed of the nucleic acids claimed in claim 1.
- 20
23. A composition for the treatment of inflammation in mammalian organisms, where said composition includes the protein(s) claimed in claim 8.
- 25
24. A composition for the treatment of human disorders mediated by inflammation, where said composition includes the nucleic acids claimed in claim 1.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

25. A composition for the treatment of human disorders mediated by inflammation, where said composition includes the protein(s) claimed in claim 8.
- 5 26. A composition for the treatment of human disorders mediated by autoimmunity, where said composition includes the nucleic acids claimed in claim 1.
- 10 27. A composition for the treatment of human disorders mediated by autoimmunity, where said composition includes the protein(s) claimed in claim 8.
- 15 28. A composition for the prevention of human disorders associated with inflammation, where said composition includes the nucleic acids claimed in claim 1.
- 20 29. A composition for the prevention of human disorders associated with inflammation, where said composition includes the protein(s) claimed in claim 8.
30. A composition for the prevention of human disorders associated with autoimmunity, where said composition includes the nucleic acids claimed in claim 1.
- 25 31. A composition for the prevention of human disorders associated with autoimmunity, where said composition includes the protein(s) claimed in claim 8.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

32. A composition for the treatment of a human disorder, where said disorder is either:

- (i) allergic inflammation; or
- (ii) asthma; or
- 5 (iii) psoriasis; or
- (iv) diabetes mellitus; or
- (v) rheumatoid arthritis; or
- (vi) multiple sclerosis; or
- (vii) lupus erythematosus; or
- 10 (viii) transplant rejection;
- (ix) graft rejection; or
- (x) glomerulonephritis; or
- (xi) arterial restenosis; or
- (xii) coronary occlusion; or
- 15 (xiii) transplant vasculopathy; or
- (xiv) atherosclerosis; or
- (xv) unstable atherosclerotic plaque rupture; or
- (xvi) Ischemic reperfusion injury; or
- 20 (xvii) glomerulonephritis.

33. As in claim 32, where said disorder is of a chronic nature.

34. As in claim 32, where said disorder is of an acute or sub-acute nature.

25

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

35. A method of treating a mammal having an immunomodulatory disorder, said method comprising administering to a mammal a therapeutically effective amount of a compound of claim 1 or claim 8, wherein said compound has an immunomodulatory effect in said mammal.
36. The method of claim 35, wherein the disorder is selected from allergic inflammation, asthma, psoriasis, diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, lupus, erythematous, transplant rejection, graft rejection, glomerulonephritis, arterial restenosis, coronary occlusion, transplant vasculopathy, atherosclerosis, unstable atherosclerotic plaque rupture, ischemic reperfusion injury, and glomerulonephritis.
37. A substantially pure Yatapoxvirus cytokine inhibitor polypeptide.
38. A substantially pure Yatapoxvirus nucleic acid molecule, wherein said nucleic acid molecule encodes a Yatapoxvirus cytokine inhibitor polypeptide.
39. The nucleic acid molecule of claim 11, wherein said nucleic acid molecule is selected from genomic DNA, cDNA, and mRNA.
40. A vector comprising the nucleic acid molecule of claim 1 or claim 38.
41. The vector of claim 40, wherein said vector is a gene therapy vector.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

42. A cell comprising the vector of claim 40.
43. The vector of claim 40, wherein said nucleic acid molecule is operably linked to regulatory sequences for expression of Yatapoxvirus cytokine inhibitor polypeptide and wherein said regulatory sequences comprise a promoter.
44. A non-human transgenic animal comprising the nucleic acid molecule of claim 1 or claim 38.
45. A cell from the non-human transgenic animal of claim 44.
46. A non-human transgenic animal having a knockout mutation in one or both alleles encoding a polypeptide substantially identical to a Yatapoxvirus cytokine inhibitor polypeptide.
47. A probe for analyzing a Yatapoxvirus gene or a Yatapoxvirus gene homolog or fragment thereof, said probe having at least 50% nucleotide sequence identity to a sequence encoding a Yatapoxvirus cytokine inhibitor polypeptide or fragment thereof, wherein said polypeptide fragment comprises at least six amino acids, and said probe hybridizes under high stringency conditions to at least a portion of a Yatapoxvirus nucleic acid molecule.
48. A kit for the analysis of a Yatapoxvirus nucleic acid molecule, said kit comprising a nucleic acid molecule probe for analyzing a Yatapoxvirus nucleic acid molecule present in a test subject.

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

49. A kit for the analysis of a Yatapoxvirus cytokine inhibitor polypeptide, said kit comprising an antibody for analyzing a Yatapoxvirus cytokine inhibitor polypeptide present in a test subject.

5

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

Figure 1

## SEQUENCE LISTING

- 5 <110> Viron Therapeutics Inc.  
 <120> Novel Immunomodulatory Protein and Therapeutic Embodiments  
 Thereof  
 <130> Yaba Cytokine Inhibitor Protein Sequence  
 <140>
- 10 <141>  
 <160> 2  
 <170> PatentIn Ver. 2.0  
 <210> 1  
 <211> 411
- 15 <212> DNA  
 <213> Yaba Monkey Tumor Virus  
 <400> 1  
 atgaaaaaaa ttgcaattat ttgtttttg ttgagtttt gttttcatg tgacggigaa 60  
 aaagaatgcg ataagcatag aagcgtfaat atfcaagttc cgatgaaaga aactagcgag 120  
 20 gtgttgtaa ggtgtaccgg tagttcgat ttaagcatt ttagtatgt ttactggctt 180  
 gtggagaaaa gcgaaaccgt agatcagttg caacaaatt cgggatgg tgaaccagt 240  
 caccotcaa aacctcaaga gtgtggaac ttactagcg ccgattagt tctgacgaat 300  
 atgacagaaa aaatcgtga cacaaagttg acttgtgtgt taatggacc agacggacac 360  
 attgacgaat cttagtatt acgcgaagtg tgggattgtt ttaacaaac a 411
- 25 <210> 2  
 <211> 137  
 <212> PRT  
 <213> Yaba Monkey Tumor Virus

1/2

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/46214

PCT/CA01/01734

Figure 1 (Cont'd)

<400> 2  
 Met Lys Lys Ile Ala Ile Ile Leu Phe Leu Leu Ser Phe Cys Phe Ser  
 5 1 5 10 15  
 Cys Asp Gly Glu Lys Glu Cys Asp Lys His Arg Ser Val Asn Ile Gln  
 20 25 30  
 Val Pro Met Lys Glu Thr Ser Glu Val Leu Leu Arg Cys Thr Gly Ser  
 35 40 45  
 10 Ser Tyr Phe Lys His Phe Ser Tyr Val Tyr Trp Leu Val Gly Glu Ser  
 50 55 60  
 Glu Thr Val Asp Gln Leu Gln Gln Asn Ser Gly Tyr Gly Glu Thr Ser  
 65 70 75 80  
 His Pro Ser Lys Pro His Glu Cys Gly Asn Leu Pro Ser Ala Asp Leu  
 15 85 90 95  
 Val Leu Thr Asn Met Thr Glu Lys Met Arg Asp Thr Lys Leu Thr Cys  
 100 105 110  
 Val Leu Met Asp Pro Asp Gly His Ile Asp Glu Ser Leu Val Leu Arg  
 115 120 125  
 20 Glu Val Trp Asp Cys Phe Asn Lys Thr  
 130 135

2/2

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

## 【国際公開パンフレット(コレクトバージョン)】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
13 June 2002 (13.06.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/046214 A3

- (51) International Patent Classification: C07K 14/065, C12N 15/39, A61P 37/00, A61K 48/00, 38/16, G01N 33/68
- (52) International Application Number: PCT/CA01/01734
- (53) International Filing Date: 4 December 2001 (04.12.2001)
- (54) Filing Language: English
- (55) Publication Language: English
- (56) Priority Data: 60/251,147 4 December 2000 (04.12.2000) US
- (57) Applicant (for all designated States except US): VIRON THERAPEUTICS INC. [CA/CA]; UWO Research Park, Suite 103, 100 Gallip Circle, London, Ontario N6G 4X8 (CA).
- (58) Inventors; and Inventors/Applicants (for US only): MCFADDEN, Grant [CA/CA]; 1435 Corley Drive South, London, Ontario N6G 2K5 (CA); LUCAS, Alexandra [CA/CA]; 1435 Corley Drive South, London, Ontario N6G 2K5 (CA); LI, Xing [CA/CA]; 110 Scotchpine Crescent, London, Ontario N6G 2L3 (CA).
- (59) Agents: ROBINSON, J., Christopher et al.; Smart & Biggar, Suite 2200, 650 West Georgia Street, Box 11560, Vancouver, British Columbia V6B 4N8 (CA).
- (60) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KR, KG, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (61) Designated States (regional): ARIPO patent (GI, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), European patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:  
— with international search report
- (62) Date of publication of the international search report: 26 September 2002
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/046214 A3

(54) Title: IMMUNOMODULATORY PROTEIN DERIVED FROM THE YABA MONKEY TUMOR VIRUS

(57) Abstract: This invention features a novel secreted viral protein that is isolated from the genome of the poxvirus family, namely, the Yaba Monkey Tumor Virus. The invention also features methods of using the protein, for example, in the treatment of diseases, wherein the protein has an anti-inflammatory and/or immunomodulatory effect when administered *in vivo*.

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/CA 01/01734
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 C07K14/065 C12N15/39 A61P37/00 A61K48/00 A61K38/16 601N33/68 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) SEQUENCE SEARCH, MEDLINE, BIOSIS, WPI Data, CHEM ABS Data, SCISEARCH, EMBASE, EPO-Internal		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 1 034 789 A (UNIV ALBERTA) 13 September 2000 (2000-09-13) the whole document	
A	WO 00 12555 A (HAYASHIBARA BIOCHEM LAB ;TANIAI MADOKA (JP); TORIGOE KAKUJI (JP)); 9 March 2000 (2000-03-09) page 65; example 4	
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 document text 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 *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 3 May 2002		Date of mailing of the international search report 23/05/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-3040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Niemann, F

International Application No. PCT/CA 01 01734

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 37-49

Present claims 37-49 relate to a Yatapoxvirus polypeptide or a Yatapoxvirus nucleic acid molecule defined by reference to a desirable characteristic or property, namely being a cytokine inhibitor or encoding a cytokine inhibitor.

The claims cover all Yatapoxvirus polypeptides or Yatapoxvirus nucleic acid molecules having this characteristic or property, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such Yatapoxvirus polypeptides or Yatapoxvirus nucleic acid molecules. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the Yatapoxvirus polypeptide or Yatapoxvirus nucleic acid molecule by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to the Yaba Monkey Tumor Virus (SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:2).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
 Information on patent family members

 International Application No.  
 PCT/CA 01/01734

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1034789	A	13-09-2000	EP 1034789 A1 13-09-2000
			AT 196091 T 15-09-2000
			AU 3136197 A 09-12-1997
			BR 9710028 A 10-08-1999
			CN 1226171 A 18-08-1999
			CZ 9803789 A3 14-07-1999
			DE 69703040 D1 12-10-2000
			DE 69703040 T2 03-05-2001
			DK 901379 T3 27-12-2000
			EP 0901379 A2 17-03-1999
			ES 2152095 T3 16-01-2001
			JP 2000511535 T 05-09-2000
			NO 985412 A 20-01-1999
			NZ 333456 A 25-08-2000
			PL 330149 A1 26-04-1999
			PT 901379 T 28-02-2001
TR 9802392 T2 22-02-1999			
WO 9744054 A2 27-11-1997			
WO 0012555	A	09-03-2000	EP 1110969 A1 27-06-2001
			WO 0012555 A1 09-03-2000
			JP 2000210087 A 02-08-2000

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 9/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/08	4 H 0 4 5
A 6 1 P 9/08	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 13/12	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/08	
C 0 7 K 14/065	C 0 7 K 14/065	
C 0 7 K 16/08	C 0 7 K 16/08	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/532	A
G 0 1 N 33/532	C 1 2 N 5/00	A
	A 6 1 K 37/02	

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(74) 代理人 100117813

弁理士 深澤 憲広

(72) 発明者 マクファデン, グラント

カナダ国オンタリオ エヌ6ジー・2ケイ5, ロンドン, コーレイ・ドライブ・サウス 1 4 3 5

(72) 発明者 ルーカス, アレクサンドラ

カナダ国オンタリオ エヌ6ジー・2ケイ5, ロンドン, コーレイ・ドライブ・サウス 1 4 3 5

(72) 発明者 リー, シン

カナダ国オンタリオ エヌ6ジー・2イー3, ロンドン, スコッチパイン・クレセント 1 1 0

F ターム(参考) 2G045 CB01 DA13 DA36 FB03

4B024 AA01 AA11 BA51 CA01 CA04 CA09 CA11 DA02 DA05 DA11

EA02 EA03 EA04 FA02 GA01 GA11 HA01 HA11

4B063 QA01 QA08 QA18 QQ05 QQ13 QQ42 QQ52 QR08 QR33 QR42

	QR55	QR59	QR62	QR74	QR80	QR82	QS05	QS25	QS32	QS36
	QX02									
4B065	AA01X	AA57X	AA90X	AA95Y	AB01	BA01	BA08	CA24	CA25	CA44
	CA46									
4C084	AA02	AA07	AA13	BA01	BA08	BA21	BA23	CA01	MA55	NA01
	NA13	NA14	NA15	ZA022	ZA362	ZA392	ZA452	ZA592	ZA812	ZA892
	ZA962	ZB072	ZB082	ZB112	ZB132	ZB152	ZC352			
4C086	AA01	AA02	AA03	EA16	MA01	MA04	MA55	NA01	NA13	NA14
	NA15	ZA02	ZA36	ZA39	ZA45	ZA59	ZA81	ZA89	ZA96	ZB07
	ZB08	ZB11	ZB13	ZB15	ZC35					
4H045	AA10	AA11	AA30	BA10	CA01	DA76	EA20	EA50	FA72	FA74

专利名称(译)	新型免疫调节蛋白及其有用形式		
公开(公告)号	<a href="#">JP2004522427A</a>	公开(公告)日	2004-07-29
申请号	JP2002547951	申请日	2001-12-04
[标]申请(专利权)人(译)	バイロンセラピューティクスインコーポレーテッド		
申请(专利权)人(译)	拜伦Therapeutics公司		
[标]发明人	マクファデングラント ルーカスアレクサンドラ リーシン		
发明人	マクファデン,グラント ルーカス,アレクサンドラ リー,シン		
IPC分类号	A01K67/027 A61K31/7088 A61K38/00 A61K48/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/08 A61P9/10 A61P11/06 A61P13/12 A61P17/06 A61P19/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 C07H21/04 C07K14/065 C07K16/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N7/00 C12N15/09 C12N15/86 C12Q1/02 C12Q1/68 C12Q1/70 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/532		
CPC分类号	A01K2217/05 A61K38/00 A61K48/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/08 A61P9/10 A61P11/06 A61P13/12 A61P17/06 A61P19/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/005 C12N2710/24022		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A01K67/027 A61K31/7088 A61K48/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/08 A61P9/10 A61P11/06 A61P13/12 A61P17/06 A61P19/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P29/00.101 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 C07K14/065 C07K16/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/532.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA51 4B024/CA01 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/EA02 4B024/EA03 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/GA01 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA11 4B063/QA01 4B063/QA08 4B063/QA18 4B063/QQ05 4B063/QQ13 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR33 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063/QR74 4B063/QR80 4B063/QR82 4B063/QS05 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QS36 4B063/QX02 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA90X 4B065/AA95Y 4B065/AB01 4B065/BA01 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA21 4C084/BA23 4C084/CA01 4C084/MA55 4C084/NA01 4C084/NA13 4C084/NA14 4C084/NA15 4C084/ZA022 4C084/ZA362 4C084/ZA392 4C084/ZA452 4C084/ZA592 4C084/ZA812 4C084/ZA892 4C084/ZA962 4C084/ZB072 4C084/ZB082 4C084/ZB112 4C084/ZB132 4C084/ZB152 4C084/ZC352 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA55 4C086/NA01 4C086/NA13 4C086/NA14 4C086/NA15 4C086/ZA02 4C086/ZA36 4C086/ZA39 4C086/ZA45 4C086/ZA59 4C086/ZA81 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB11 4C086/ZB13 4C086/ZB15 4C086/ZC35 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA01 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	60/251147 2000-12-04 US		
其他公开文献	JP4472252B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

## 摘要(译)

本发明通常特征在于Yaba猴肿瘤病毒核酸分子和多肽在治疗或预防免疫相关疾病中的用途。

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09	C12N 15/00	ZNAA 2G045
A01K 67/027	A01K 67/027	4B024
A61K 31/7088	A61K 31/7088	4B063
A61K 38/00	A61K 48/00	4B065
A61K 48/00	A61P 3/10	4C084

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 46 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-547851 (P2002-547851)	(71) 出願人	503136185
(86) (2) 出願日	平成13年12月4日 (2001.12.4)		
(85) 翻訳文提出日	平成15年6月4日 (2003.6.4)		
(86) 国際出願番号	PCT/CA2001/001734		
(87) 国際公開番号	W02002/046214		
(87) 国際公開日	平成14年6月13日 (2002.6.13)		
(31) 優先権主張番号	60/251,147		
(32) 優先日	平成12年12月4日 (2000.12.4)	(74) 代理人	100089705
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 社本 一夫
		(74) 代理人	100076691
			弁理士 増井 忠武
		(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 崇
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】新規免疫修飾性タンパク質およびその有用な態様