

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第3部門第2区分  
 【発行日】平成26年1月23日(2014.1.23)

【公開番号】特開2012-62257(P2012-62257A)  
 【公開日】平成24年3月29日(2012.3.29)  
 【年通号数】公開・登録公報2012-013  
 【出願番号】特願2010-206146(P2010-206146)  
 【国際特許分類】

A 6 1 K 35/56 (2006.01)  
 A 6 1 L 9/14 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/12 (2006.01)  
 A 6 1 L 9/01 (2006.01)  
 B 0 9 B 3/00 (2006.01)  
 A 6 1 K 33/06 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 35/56  
 A 6 1 L 9/14 Z A B  
 A 6 1 P 31/12  
 A 6 1 L 9/01 B  
 B 0 9 B 3/00 Z  
 B 0 9 B 3/00 3 0 3 Z  
 A 6 1 K 33/06

【手続補正書】  
 【提出日】平成25年10月1日(2013.10.1)  
 【手続補正1】  
 【補正対象書類名】明細書  
 【補正対象項目名】0040  
 【補正方法】変更  
 【補正の内容】  
 【0040】  
 【表3】

上清液(0.15%)のウイルス力価

感作時間(秒)	1	5	15	30	60	180
2倍希釈上清液	<2.50	<2.50	<2.50	<2.50	<2.50	<2.50
10倍希釈上清液	6.75	5.75	5.75	5.00	4.75	3.75
未処理ウイルス						6.75

ウイルス力価単位:log<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/ml

【手続補正2】  
 【補正対象書類名】明細書  
 【補正対象項目名】0041  
 【補正方法】変更  
 【補正の内容】  
 【0041】

表3に示すように、未処理のウイルスのウイルス力価が10<sup>6.75</sup>TCID<sub>50</sub>/mlであるのに対し、2倍希釈上清液のウイルス力価は、前記感作時間が5秒以内で10<sup>2.50</sup>TCID<sub>50</sub>/ml未満となり、抗ウイルス効果が認められた。さらに、10倍希釈上清液

のウイルス力価は、前記感作時間が  $180$  秒間で  $10^{3.75}$  TCID<sub>50</sub>/ml となり、抗ウイルス効果が認められた。

【試験例 2】貝殻焼成カルシウム上清液に緩衝液を添加した場合 (1)

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0044

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0044】

また、前記貝殻焼成カルシウム上清液に、緩衝液 (1M Tris-HCl、pH 7.2) を添加することによって、2倍、10倍に希釈してアルカリ度を下げ、各希釈液を得た。

(2) 試験資材のウイルス感作

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0046

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0046】

【表 4】

上清液(0.15%)のウイルス力価

感作時間(秒)	1	5	15	30	60	180
2倍希釈上清液	6.75		7.00		7.00	7.00
10倍希釈上清液			6.50		6.50	6.25
未処理						7.50

ウイルス力価単位: log<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/ml

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0047

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0047】

表 4 に示すように、未処理のウイルスのウイルス力価が  $10^{7.50}$  TCID<sub>50</sub>/ml であるのに対し、2倍希釈上清液は、前記感作時間が 180 秒間であっても、ウイルス力価は  $10^{7.00}$  TCID<sub>50</sub>/ml を示し、ウイルスの不活化は認められなかった。また、10倍希釈上清液のウイルス力価は、前記感作時間が 180 秒間でも、 $10^{6.25}$  TCID<sub>50</sub>/ml となり、ウイルス不活化が認められなかった。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0048

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0048】

さらに、前述の各希釈上清液、あるいは各希釈液にトリインフルエンザウイルスを混合して、10分間感作した後、赤血球凝集活性 (HA 価) を測定した。この結果、希釈液においては、HA 価が 160 倍となり、未処理のウイルスの HA 価と同じ値となった。一方、2倍希釈上清液、あるいは10倍希釈上清液の HA 価は、20倍未満となった。この結

果により、2倍希釈上清液、あるいは10倍希釈上清液のアルカリによって、ウイルス表面の糖タンパク質（赤血球凝集素）が変成したと考えられる。

【試験例3】貝殻焼成カルシウム上清液に緩衝液を添加した場合（2）

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0050

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0050】

試験例2において調製した450 $\mu$ lの貝殻焼成カルシウム上清液に、450 $\mu$ lの緩衝液（1M Tris-HCl、pH7.2）を添加することによって、2倍に希釈してアルカリ度数を下げ、2倍希釈液を得た。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0067

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0067】

この結果、前記室温での感作時間を5分間とした場合、貝殻焼成カルシウム混合液および10倍希釈混合液のウイルス力価は、 $10^{2.50}$  TCID<sub>50</sub>/ml未満、100倍希釈混合液のウイルス力価は、 $10^{6.75}$  TCID<sub>50</sub>/mlとなった。このとき、未処理ウイルスのウイルス力価が $10^{7.00}$  TCID<sub>50</sub>/mlであったので、10倍希釈混合液の抗ウイルス効果が認められた。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0071

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0071】

表8に示すように、10倍希釈混合液のウイルス力価は、前記室温での感作時間を30秒間あるいは1分間とした場合で $10^{4.50}$  TCID<sub>50</sub>/ml、3分間とした場合で $10^{4.00}$  TCID<sub>50</sub>/mlとなり、抗ウイルス効果が認められた。また、40倍希釈混合液のウイルス力価は、前記室温での感作時間を3分間とした場合に $10^{5.50}$  TCID<sub>50</sub>/mlとなり、抗ウイルス効果は認められなかった。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0093

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0093】

【表 1 0】

濃度	感作時間	ウイルス力価	不活化指数
0.10%	10分	>6.5	<2
0.10%	30分	6	2.5
0.10%	60分	5.75	2.75
0.50%	10分	3.5	5
0.50%	30分	3.75	4.75
0.50%	60分	4.25	4.25
1%	0分	6.25	2.25
1%	10分	3	5.5
1%	30分	<2.5	>6
1%	60分	4	4.5

未処理ウイルスのウイルス力価 8.5

ウイルス力価単位:log<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/ml

【手続補正 1 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 9 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 9 6】

1%貝殻焼成カルシウム混合液については、10分間の感作を行った場合のNIは5.5となり、30分間感作ではNIが6以下、60分間感作ではNIが4.5となり、いずれも抗ウイルス効果が認められた。

【手続補正 1 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 0 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 0 5】

【表 1 3】

濃度	温度	感作時間	ウイルス力価	不活化指数
1%	25°C	0分	>6.5	
		1分	>6.5	0
		5分	>6.5	0
		10分	6	>0.5
		30分	5	>1.5
	37°C	0分	>6.5	
		1分	>6.5	0
		5分	3.75	2.75
		10分	4	>2.5
		30分	3	>3.5

未処理ウイルスのウイルス力価>6.5

ウイルス力価単位 : log<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/ml