

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成30年9月6日(2018.9.6)

【公開番号】特開2017-23143(P2017-23143A)

【公開日】平成29年2月2日(2017.2.2)

【年通号数】公開・登録公報2017-005

【出願番号】特願2016-144065(P2016-144065)

【国際特許分類】

C 1 2 N 7/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 7/02 Z N A

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/50 T

【手続補正書】

【提出日】平成30年7月24日(2018.7.24)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

高力価のE型肝炎ウイルス(HEV)を産生する方法であって、

a) 約1 µg/ml ~ 約5 µg/mlの濃度のポリブレンを含む培地においてインビトロで細胞株を培養する工程であって、前記細胞株が、ATCC番号 HB-8065で寄託されたHepG2又はATCC番号 CRL-10741で寄託されたHepG2/C3Aである、工程、及び

b)細胞株にHEVを感染させる工程を含む方法。

【請求項2】

HEVの高力価が、約 10^8 コピー/mL ~ 約 10^{10} コピー/mLである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

HEVの高力価が、約 10^7 コピー/mL ~ 約 10^{10} コピー/mLである、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

工程b)のHEV感染細胞株を、約1 µg/mL ~ 約5 µg/mLの濃度のポリブレンを含む培養培地において継代する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

培地及び/又は感染細胞において得られるHEVの高力価が、約 10^8 コピー/mL ~ 約 10^{10} コピー/mLである、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

培地及び/又は感染細胞において得られるHEVの高力価が、約 10^7 コピー/mL ~ 約 10^{10} コピー/mLである、請求項4に記載の方法。

【請求項7】

試料中のHEVの存在及び/又はレベルを特定する方法であって、

a)細胞株及び培養培地を含む混合物に試料を供給する工程であって、前記細胞株が、ATCC番号 HB-8065で寄託されたHepG2又はATCC番号 CRL-10741で寄託されたHepG2/C3Aであり、前記培養培地が約1 µg/mL ~ 約5 µg/mLの濃度のポリブレンを含む、工程；

b) 試料中にHEVが存在する場合にHEVの増殖を可能にするために、工程a)からの試料を含む混合物をインキュベートする工程；

c) 工程b)の一部を収集する工程であって、HEVが存在し工程b)の間に増殖した場合、一部分がHEVを含む、工程；並びに

d) 収集した一部分中におけるHEVに関連する生物学的物質の存在及び/又はレベルを測定する工程

を含む方法。

【請求項 8】

生物学的物質が、HEVのポリヌクレオチド及び/又はポリペプチド配列を含む、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

生物学的物質の存在及び/又はレベルを測定する工程が、

a) 収集した一部分中にHEVが存在する場合にHEVのポリヌクレオチドを曝露するために、収集した一部分を第一の溶液と混合することによって第一の反応混合物を用意する工程であって、ポリヌクレオチドがHEVのRNAである、工程；

b) HEVのRNAに対して少なくとも部分的に相補的である相補的デオキシリボ核酸(cDNA)を産生するために、第一の反応混合物に第一の試薬を加えることによって第二の反応混合物を用意する工程；

c) 1対のポリヌクレオチドのそれぞれに対して少なくとも部分的に相補的であるcDNAの配列を増幅するために、1対のポリヌクレオチドを含む第二の試薬を第二の反応混合物に加えることによって第三の反応混合物を用意する工程；

d) 配列を増幅することによって第四の反応混合物を用意する工程；及び

e) 第四の反応混合物中の増幅された配列の濃度を特定する工程を含む、請求項7に記載の方法。

【請求項 10】

濃度を特定する前記工程が、

a) 第四の反応混合物を用意する工程；

b) 所定の量のHEVのcDNAを含む1つ又は複数の対照を用意する工程；

c) 第四の反応混合物及び1つ又は複数の対照に薬剤を加える工程であって、前記薬剤が、第四の反応混合物中の増幅された配列、及び1つ又は複数の対照中の所定の量のHEVのcDNAに対して少なくとも部分的に特異的である、工程；並びに

d) 1つ又は複数の対照に対する、第四の反応混合物中の薬剤によるHEVの認識のレベルを計算する工程

を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

前記1対のポリヌクレオチドが、

a) 5'-CGGCTATCGGCCAGAAAGTT-3' (配列番号1)

b) 5'-CCGTGGCTATAACTGTGGTCT-3' (配列番号2)

を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 12】

薬剤が、

5'-FAM-TTTTTACGC-ZEN-AGGCTGCCAAGGCC-3' (配列番号3)

を含む、請求項10に記載の方法。

【請求項 13】

約1 µg/ml ~ 約5 µg/mlの範囲のポリブレン及び細胞株を含む培養培地の使用を含むHEV力価測定アッセイであって、前記細胞株が、ATCC番号 HB-8065で寄託されたHepG2又はATCC番号 CRL-10741で寄託されたHepG2/C3Aである、HEV力価測定アッセイ。