

【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17年12月22日(2005.12.22)

【公表番号】特表2005-503766(P2005-503766A)

【公表日】平成17年2月10日(2005.2.10)

【年通号数】公開・登録公報2005-006

【出願番号】特願2002-576654(P2002-576654)

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 15/09
 A 0 1 K 67/027
 A 6 1 K 39/155
 A 6 1 K 39/395
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 31/14
 C 0 7 K 14/115
 C 0 7 K 16/10
 C 0 7 K 19/00
 C 1 2 N 5/06
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 N 7/00
 C 1 2 Q 1/02
 C 1 2 Q 1/68
 G 0 1 N 33/53
 G 0 1 N 33/569
 // C 1 2 P 21/08

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A
 A 0 1 K 67/027
 A 6 1 K 39/155
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 S
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 31/14
 C 0 7 K 14/115
 C 0 7 K 16/10
 C 0 7 K 19/00
 C 1 2 N 7/00
 C 1 2 Q 1/02
 C 1 2 Q 1/68 A
 G 0 1 N 33/53 D
 G 0 1 N 33/53 M
 G 0 1 N 33/569 L
 C 1 2 N 5/00 A
 C 1 2 N 5/00 E
 C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成17年2月7日(2005.2.7)

【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】

(A) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置1～15246、

(B) (A)に相補なヌクレオチド配列、又は

(C)少なくとも約5ヌクレオチド長である、(A)又は(B)のクリプトウイルス特異的フラグメント、

を含む単離核酸。

【請求項2】

前記(C)のクリプトウイルス特異的フラグメントが、

(i) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置152～1678、相補配列、又は縮重コード配列、

(ii) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置1850～2515、相補配列、又は縮重コード配列、

(iii) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置1850～3023、相補配列、又は縮重コード配列、

(iv) (配列番号1)のヌクレオチド位置2339と(配列番号1)のヌクレオチド位置2340の間にさらに挿入された2つのゲアニン残基を結合した(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置1850～3023、相補配列、又は縮重コード配列、

(v) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置3141～4271、相補配列、又は縮重コード配列、

(vi) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4530～6182、相補配列、又は縮重コード配列、

(vii) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4587～6182、相補配列、又は縮重コード配列、

(viii) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4587～4835、相補配列、又は縮重コード配列、

(ix) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4836～6182、相補配列、又は縮重コード配列、

(x) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4272～6515、相補配列、又は縮重コード配列、

(xi) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置6303～6434、相補配列、又は縮重コード配列、

(xii) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置6584～8278、相補配列、又は縮重コード配列、並びに

(xiii) (配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置8414～15178、相補配列、又は縮重コード配列、

から成る群から選択される核酸セグメントを含む、請求項1に記載の核酸。

【請求項3】

前記クリプトウイルス特異的フラグメントを含み、前記フラグメントが約7ヌクレオチドから約500ヌクレオチド長である、請求項1に記載の核酸。

【請求項4】

前記フラグメントが約7ヌクレオチドから約50ヌクレオチド長である、請求項3に記載の核酸。

【請求項5】

前記フラグメントが約 15 ヌクレオチドから約 35 ヌクレオチド長である、請求項 4 に記載の核酸。

【請求項 6】

前記核酸が RNA である、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 7】

前記核酸が cDNA である、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の核酸、及びキャリアを含む、組成物。

【請求項 9】

請求項 1 に記載の核酸を含む、核酸構築物。

【請求項 10】

ワクチン製造における請求項 1 に記載の核酸の使用。

【請求項 11】

ワクチン製造における請求項 9 に記載の核酸構築物の使用。

【請求項 12】

請求項 9 に記載の核酸構築物を含む発現ベクター。

【請求項 13】

請求項 9 に記載の核酸構築物を含むクローニングベクター。

【請求項 14】

請求項 12 に記載の発現ベクター又は請求項 13 に記載のクローニングベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 15】

前記細胞が哺乳類細胞である、請求項 14 に記載の宿主細胞。

【請求項 16】

(A) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 152 ~ 1678 、又は縮重配列、

(B) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 1850 ~ 2515 、又は縮重配列、

(C) (配列番号 1) のヌクレオチド位置 2339 と (配列番号 1) のヌクレオチド位置 2340 の間にさらに挿入された 2 つのグアニン残基を結合した (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 1850 ~ 3023 、又は縮重コード配列、

(D) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 3141 ~ 4271 、又は縮重配列、

(E) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 4530 ~ 6182 、又は縮重配列、

(F) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 4587 ~ 6182 、又は縮重配列、

(G) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 4587 ~ 4835 、又は縮重配列、

(H) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 4836 ~ 6182 、又は縮重配列、

(I) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 6303 ~ 6434 、又は縮重配列、

(J) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 6584 ~ 8278 、又は縮重配列、あるいは

(K) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 8414 ~ 15178 、又は縮重配列、を含む核酸セグメントによってコードされる単離クリプトウイルスタンパク質。

【請求項 17】

前記タンパク質が (E) 、 (F) 、 (G) 、 (H) 、 (I) 、 又は (J) を含む核酸セグメントによってコードされるクリプトウイルスエンベローブタンパク質である、請求項 16 に記載のタンパク質。

【請求項 18】

請求項 16 に記載のタンパク質、及びキャリアを含む、組成物。

【請求項 19】

(A) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 152 ~ 1678 、又は縮重配列、

(B) (配列番号 1) の隣接ヌクレオチド位置 1850 ~ 2515 、又は縮重配列、

(C) (配列番号 1) のヌクレオチド位置 2339 と (配列番号 1) のヌクレオチド位置 2340 の間のヌクレオチド配列中にさらに挿入された 2 つのグアニン残基を結合した

(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置1850～3023、又は縮重配列、
(D)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置3141～4271、又は縮重配列、
(E)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4530～6182、又は縮重配列、
(F)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4587～6182、又は縮重配列、
(G)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4587～4835、又は縮重配列、
(H)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4836～6182、又は縮重配列、
(I)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置6303～6434、又は縮重配列、
(J)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置6584～8278、又は縮重配列、あるいは

(K)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置8414～15178、又は縮重配列、を含む核酸セグメントによってコードされるクリプトウイルスタンパク質を含むキメラタンパク質。

【請求項20】

前記クリプトウイルスタンパク質が(E)、(F)、(G)、(H)、(I)、又は(J)を含む核酸セグメントによってコードされるクリプトウイルスエンベロープタンパク質である、請求項19に記載のキメラタンパク質。

【請求項21】

クリプトウイルス特異抗体産生における請求項16又は請求項19に記載のタンパク質の使用。

【請求項22】

ワクチン製造における請求項16又は請求項19に記載のタンパク質の使用。

【請求項23】

請求項16に記載のタンパク質に特異的に結合する単離抗体。

【請求項24】

請求項23に記載の抗体、及びキャリアを含む、組成物

【請求項25】

(A)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4530～6182、又は縮重配列、
(B)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4587～6182、又は縮重配列、
(C)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4587～4835、又は縮重配列、
(D)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置4836～6182、又は縮重配列、
(E)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置6303～6434、又は縮重配列、あるいは

(F)(配列番号1)の隣接ヌクレオチド位置6584～8278、又は縮重配列、によってコードされるクリプトウイルスエンベロープタンパク質を特異的に結合する、請求項23に記載の抗体。

【請求項26】

前記抗体がポリクローナル性である、請求項23に記載の抗体。

【請求項27】

前記抗体がモノクローナル性である、請求項23に記載の抗体。

【請求項28】

前記抗体がキメラである、請求項23に記載の抗体。

【請求項29】

クリプトウイルス感染症治療用薬剤の製造における、請求項23に記載の抗体の使用。

【請求項30】

請求項1に記載の核酸を含む、単離ウイルス粒子。

【請求項31】

請求項30に記載のビリオン、及びキャリアを含む、組成物。

【請求項32】

請求項17に記載のタンパク質を含む、単離ウイルス粒子。

【請求項33】

(配列番号 1) に完全相補なヌクレオチド配列を有するゲノムを含む、単離クリプトウイルス粒子。

【請求項 3 4】

ワクチン製造における請求項 3 2 に記載のウイルス粒子の使用。

【請求項 3 5】

ワクチン製造における請求項 3 3 に記載のクリプトウイルス粒子の使用。

【請求項 3 6】

前記ウイルス粒子が弱毒ビリオンである、請求項 3 4 又は 3 5 に記載の使用。

【請求項 3 7】

前記ウイルス粒子が、死菌ビリオンである、請求項 3 4 又は 3 5 に記載の使用。

【請求項 3 8】

前記クリプトウイルスが B B R 株である、単離クリプトウイルス粒子。

【請求項 3 9】

請求項 3 に記載の核酸を含む、プローブ。

【請求項 4 0】

請求項 5 に記載の核酸を含む、プライマー。

【請求項 4 1】

生物材料サンプル中におけるクリプトウイルスタンパク質の存在の有無を検出する方法であって、前記方法が、

生物材料サンプルを、請求項 2 3 に記載の抗体に接触する工程、及び

前記サンプルの構成要素に対する前記抗体の特異的結合を検出する工程であって、特異的結合の存在が、前記サンプル中における前記クリプトウイルスタンパク質の存在を示す工程、

を含む方法。

【請求項 4 2】

生物材料サンプル中におけるクリプトウイルス特異的 R N A の存在の有無を検出する方法であって、前記方法が、

R N A を含む生物材料サンプルを得る工程、

少なくとも中程度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で前記サンプルを請求項 3 9 に記載のプローブに接触させる工程であって、検出可能なハイブリダイゼーション産物の形成が、前記サンプル中に前記クリプトウイルス特異的 R N A が存在することを示す工程、

を含む方法。

【請求項 4 3】

生物材料サンプル中におけるクリプトウイルス特異的 R N A の存在の有無を検出する方法であって、前記方法が、

R N A を含む生物材料サンプルを得る工程、

増幅反応混合物中で、請求項 4 0 に記載のプライマーを少なくとも一つ使用して、前記サンプル中のクリプトウイルス特異的 R N A を増幅する工程、

次に、前記増幅反応混合物中におけるクリプトウイルス特異的増幅産物の存在の有無を検出する工程であって、前記反応混合物中の前記増幅産物の存在が、前記サンプル中における前記クリプトウイルス R N A の存在を示す工程、

を含む方法。

【請求項 4 4】

前記生物材料が細胞材料である、請求項 4 1、4 2、又は 4 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 5】

前記生物材料が血液又は血清である、請求項 4 1、4 2、又は 4 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 6】

前記生物材料が脳脊髄液である、請求項 4 1、4 2、又は 4 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 7】

前記生物材料がリンパ組織である、請求項 4 1、4 2、又は 4 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 8】

前記生物材料が神経組織である、請求項 4 1、4 2、又は 4 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 9】

前記神経組織が脳組織である、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

生物材料サンプル中におけるクリプトウイルス特異抗体の存在の有無を検出する方法であって、前記方法が、

前記サンプルを請求項 1 6 に記載のタンパク質に接触する工程、

特異的タンパク質 - 抗体複合体の形成させる工程、

前記特異的タンパク質 抗体複合体の存在を検出する工程であって、該特異的タンパク質 抗体複合体の存在が、前記サンプル中における前記クリプトウイルス特異抗体の存在を示す工程、

を含む方法。

【請求項 5 1】

生物材料サンプル中におけるクリプトウイルス特異抗体の存在の有無を検出する方法であって、前記方法が、

前記サンプルを請求項 1 9 に記載のタンパク質に接触する工程、

特異的タンパク質 - 抗体複合体の形成させる工程、及び

前記特異的タンパク質 抗体複合体の存在を検出する工程であって、該特異的タンパク質 抗体複合体の存在が、前記サンプル中における前記クリプトウイルス特異抗体の存在を示す工程、

を含む方法。

【請求項 5 2】

ヒト由来の抗体を含有する生物材料サンプル中におけるクリプトウイルスを選択的に結合する抗体の存在の有無を検出するためのアッセイ法であって、前記アッセイ法が、

クリプトウイルス感染症を罹患していると疑われる個体に由来するサンプルである、前記サンプルを、クリプトウイルスを選択的に結合する抗体が存在しているならば、抗体が結合したエンベロープタンパク質複合体を形成するように、請求項 1 7 のエンベロープタンパク質に接触させる工程、

形成された任意の抗体結合エンベロープタンパク質複合体を、抗ヒト抗体を結合する抗体に接触して、前記抗体と前記抗体結合エンベロープタンパク質複合体との複合体を形成させる工程、及び

形成された任意の抗体結合エンベロープタンパク質複合体の存在の有無を検出する工程であって、前記複合体の存在が、クリプトウイルスを選択的に結合する抗体がサンプル中に存在することを示す工程、

を含むアッセイ法。

【請求項 5 3】

ヒト由来の抗体を含有する生物材料サンプル中においてクリプトウイルス抗原を選択的に結合する抗体の存在の有無を検出するためのアッセイ法であって、前記アッセイ法が、

クリプトウイルス感染症を罹患していると疑われる個体に由来するサンプルである、前記サンプルを、クリプトウイルスを選択的に結合する抗体が存在しているならば、抗体が結合したウイルス複合体を形成するように、請求項 3 2 に記載のウイルス粒子に接触させる工程、

かくして形成された任意の抗体結合ウイルス複合体を、抗ヒト抗体を結合する抗体に接

触して、前記抗ヒト抗体結合抗体と前記抗体結合ウイルス複合体との複合体を形成させる工程、及び

形成された任意の複合体の存在の有無を検出する工程であって、前記複合体の存在が、クリプトウイルスを選択的に結合する抗体がサンプル中に存在することを示す工程、を含むアッセイ法。

【請求項 5 4】

哺乳類におけるクリプトウイルス感染の検出法であって、前記方法が、

前記哺乳類から生物材料サンプルを得る工程、及び

前記サンプルを用いて請求項 4 1、4 2、4 3、5 0、5 1、5 2、又は5 3のいずれかの方法を行い、これにより、前記哺乳類におけるクリプトウイルス感染を示す前記サンプル中にあるクリプトウイルスタンパク質、クリプトウイルス特異的 RNA、及び／又はクリプトウイルス特異抗体の存在を検出する工程

を含む方法。

【請求項 5 5】

前記哺乳類がヒトである、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記ヒトが神経学的、神経変性、及び／又は神経精神医学的疾患を有する、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記ヒトが、原発性気道及び／又はリンパ節腫脹関連疾患を有する、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 8】

培養哺乳類羊膜細胞であって、前記細胞が、クリプトウイルスに非増殖的に急性感染してあり、細胞株 AV₃ / S S P E の特徴を有する細胞。

【請求項 5 9】

クリプトウイルスビリオン単離方法であって、前記方法が、

(a) クリプトウイルス感染を有するヒトから得られた複数の末梢血単核細胞を、細胞グアニリルシクラーゼ活性を増加する薬剤を含む人工水性培地で培養する工程、

(b) 複数の末梢血単核細胞を複数の哺乳類羊膜細胞と共に、細胞グアニリルシクラーゼ活性を増加する薬剤を含む新鮮人工水性培地で共培養する工程、

(c) 前記末梢血単核細胞を前記哺乳類羊膜細胞と共に共培養基中で継代培養する工程、

(d) 複数の哺乳類上皮細胞を前記末梢血単核細胞及び前記哺乳類羊膜細胞と共に、細胞グアニリルシクラーゼ活性を増加する薬剤を含む新鮮人工水性培地で共培養する工程、並びに

(e) 上清中にあるクリプトウイルスビリオンを得るために、前記水性培地の前記上清を、前記細胞から分離する工程、

を含む方法。

【請求項 6 0】

クリプトウイルスの増殖方法であって、前記方法が、

(a) 複数の哺乳類上皮細胞を、請求項 5 9 に記載の方法によって単離された複数の無細胞クリプトウイルスビリオンに曝露する工程、及び

(b) ビリオンに曝露された、前記哺乳類上皮細胞を、細胞グアニリルシクラーゼ活性を増加する薬剤を含む人工水性培地でさらに培養する工程、を含む方法。

【請求項 6 1】

クリプトウイルスで非増殖型感染された哺乳類細胞株の產生方法であって、前記方法が、

(a) 前記哺乳類羊膜細胞がクリプトウイルスによって非増殖型感染されるように、クリプトウイルスに感染しているヒトから得られた末梢血単核細胞を、哺乳類羊膜細胞と共に

に、細胞グアニリルシクラーゼを増加する薬剤を含む人工水性培地中で共培養する工程、
(b) 前記非増殖型感染哺乳類羊膜細胞を、前記末梢血単核細胞と共に継代培養して、
前記共培養物が非増殖型感染された哺乳類羊膜細胞の単培養とする工程、
を含む方法。

【請求項 6 2】

前記哺乳類羊膜細胞がヒト羊膜細胞である、請求項 5 9 又は請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記ヒト羊膜細胞が A V₃ 細胞である、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記哺乳類上皮細胞が、Vero 又は CV-1 細胞から成る群から選択されるシミアン上皮細胞である、請求項 5 9 又は請求項 6 0 に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記 CV-1 細胞が CV-1 細胞亜株である、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

細胞グアニリルシクラーゼ活性を増加する前記薬剤が、サイクリック GMP、インスリン、亜鉛ジカチオン、又はこれらのいずれかの組み合わせである、請求項 5 9、6 0、又は6 1 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記人工水性培地中で前記サイクリック GMP 濃度が約 0.05 ~ 約 5 mM である、請求項 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 8】

細胞グアニリルシクラーゼ活性を増加する薬剤が、一酸化窒素又は、有機硝酸塩化合物、ニトロシル鉄化合物、S-ニトロソチオール化合物、シドノンイミン化合物、及び NO_{NO} エート化合物から成る群から選択される一酸化窒素ドナーである、請求項 5 9、6 0、又は6 1 に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記水性培地がさらにグルタミンを含む、請求項 5 9、6 0、又は6 1 に記載の方法。

【請求項 7 0】

請求項 6 0 に記載の方法を含む、クリプトウイルスで急性感染された哺乳類上皮細胞株を產生する方法。

【請求項 7 1】

クリプトウイルスで急性感染された哺乳類上皮細胞であって、前記細胞が請求項 6 0 の方法によって產生される、哺乳類上皮細胞。

【請求項 7 2】

クリプトウイルスで非増殖型感染された細胞であって、前記細胞が請求項 6 1 に記載の方法に従って產生される、細胞。

【請求項 7 3】

抗ウイルス治療薬候補のインビトロスクリーニング方法であって、前記方法が、
(a) 請求項 7 1 に記載の細胞を培養する工程、
(b) 前記細胞を前記抗ウイルス治療薬候補に曝露する工程、並びに
(c) クリプトウイルス複製及び / 又はクリプトウイルスビリオンのアセンブリに対する前記薬剤の有効性を測定する工程であって、コントロールに比較してクリプトウイルス複製及び / 又はクリプトウイルスビリオンのアセンブリが阻害されることが、前記治療薬候補の抗ウイルス活性を示す工程、
を含む方法。

【請求項 7 4】

抗ウイルス治療薬候補のインビトロスクリーニング方法であって、前記方法が、
(a) 請求項 5 8 又は 7 2 に記載の細胞を培養する工程、
(b) 前記細胞を前記抗ウイルス治療薬候補に曝露する工程、並びに
(c) クリプトウイルス複製、クリプトウイルスゲノム複製、及び / 又はクリプトウイ

ルス特異的転写に対する前記薬剤の有効性を測定する工程であって、コントロールに比較してクリプトウイルス複製、クリプトウイルスゲノム複製、及び／又はクリプトウイルス特異的転写が阻害されることが、前記治療薬候補の抗ウイルス活性を示す工程、を含む方法。

【請求項 7 5】

ヒト疾患研究のための動物モデルであって、前記モデルが、非ヒト哺乳類を含み、前記非ヒト哺乳類が、（配列番号1）に相補である一本鎖RNAを含むゲノムを有する感染性無細胞クリプトウイルスを人工的に接種されるか、あるいは前記クリプトウイルスで非増殖型感染された細胞を接種されており、これによって前記非ヒト哺乳類が、接種された後、以前に前記非ヒト哺乳類によって呈示されていなかった症状である、ヒト疾患に特徴的な症状を少なくとも一つ呈示する動物モデル。

【請求項 7 6】

前記非ヒト哺乳類が齧歯類又はウサギ類である、請求項 7 5に記載の動物モデル。

【請求項 7 7】

前記非ヒト哺乳類が非ヒト靈長類である、請求項 7 5に記載の動物モデル。

【請求項 7 8】

前記ヒト疾患が、神経学的、神経変性、及び／又は神経精神医学的疾患である、請求項 7 5に記載の動物モデル。

【請求項 7 9】

治療薬候補のインビオスクリーニング方法であって、前記方法が、

（a）請求項 7 5に記載の動物モデルに前記スクリーンされる治療薬候補を投与する工程であって、前記非ヒト哺乳類が、前記治療薬候補の投与前に、ヒト疾患に特徴的な症状を少なくとも一つ呈示している工程、及び

（b）前記治療薬候補の有益な抗ウイルス効果の有無を検出する工程であって、有益な抗ウイルス効果の存在が前記治療薬候補の活性を示す工程、を含む方法。

【請求項 8 0】

予防薬候補のインビオスクリーニング方法であって、前記方法が、

（a）前記スクリーニングされる予防薬候補を、以前にヒト疾患症状を有していない非ヒト哺乳類に投与する工程、

（b）（配列番号1）に相補である一本鎖RNAを含むゲノムを有する感染性無細胞クリプトウイルス、あるいは前記クリプトウイルスで非増殖型感染された哺乳類細胞で、前記非ヒト哺乳類を接種する工程、並びに

（c）前記非ヒト哺乳類において、その後の有益な抗ウイルス効果の有無を検出する工程であって、前記接種された非ヒト哺乳類における有益な抗ウイルス効果の存在が前記予防薬候補の活性を示す工程、を含む方法。

【請求項 8 1】

前記予防薬候補が免疫予防薬である、請求項 8 0記載の方法。

【請求項 8 2】

前記非ヒト哺乳類が齧歯類又はウサギ類である、請求項 7 9 請求項 8 0に記載の方法。

【請求項 8 3】

前記非ヒト哺乳類が非ヒト靈長類である、請求項 7 9 又は請求項 8 0に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記ヒト疾患が神経学的、神経変性、及び／又は神経精神医学的疾患である、請求項 7 9 又は請求項 8 0に記載の方法。

【請求項 8 5】

抗クリプトウイルス抗体検出キットであって、前記キットが、

請求項33に記載のクリプトウイルス粒子、及び

標識抗ヒト抗体結合抗体、

を含むキット。

【請求項 8 6】

前記クリプトウイルス粒子を支持するための固体マトリックスをさらに含む、請求項 8 5に記載の抗クリプトウイルス抗体検出キット。

【請求項 8 7】

抗クリプトウイルス抗体検出キットであって、前記キットが、
請求項 1 6 又は請求項 1 9 に記載のタンパク質、及び
標識抗ヒト抗体結合抗体、
を含むキット。

【請求項 8 8】

前記タンパク質を支持するための固体マトリックスをさらに含む、請求項 8 7に記載の抗クリプトウイルス抗体検出キット。

【請求項 8 9】

(C)の前記クリプトウイルス特異的フラグメントが、(配列番号 3 4)、(配列番号 3 5)、(配列番号 3 6)、(配列番号 3 7)、(配列番号 3 8)、(配列番号 3 9)、(配列番号 4 0)、(配列番号 4 1)、(配列番号 4 2)、(配列番号 4 3)、(配列番号 4 4)、(配列番号 4 5)、(配列番号 4 6)、(配列番号 4 7)、又は(配列番号 4 8)を含むか、あるいはこれらのいずれかの相補ヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の核酸。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】発明の名称

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の名称】ルプラウイルス (R U B U L A V I R U S) 属に属するニューロビルレントウイルス (N E U R O V I R U L E N T) (クリプトウイルス (C R Y P T O V I R U S)) とその使用

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 9】

本発明に従って、人工水性培地は、必須ではないが、さらに約 0 . 5 ~ 約 5 m M の好ましい濃度のグルタミンを含むことが好ましい。培地中のさらに好ましいグルタミン濃度は、約 1 ~ 約 3 m M である。

本発明によるクリプトウイルスピリオンの単離とクリプトウイルスで非増殖型感染された哺乳類細胞株の產生の方法において、P B M N C は、前述のように人工水性培地中で哺乳類羊膜細胞と共に培養される。

有用な哺乳類細胞の例は、限定はされないが、齧歯類、ウサギ、靈長類、ヒツジ、ウシ、イヌ、ネコまたはブタ細胞を含む。

本発明に従って、一つの好ましい実施形態は、靈長類細胞、即ち、靈長類を源とする細胞である。靈長類は、哺乳類目のメンバーで、キツネザル、メガネザル、サル(例えば、アフリカミドリザル、コロブスモンキー、及びバブーン)、類人猿(例えば、チンパンジー、ゴリラ、オランウータン、及びギボン)、並びにヒトを含む。

羊膜細胞は、羊膜または羊膜腔を起源とする培養細胞である。

好ましい靈長類羊膜細胞は、ヒト羊膜細胞、例えば A V₃ である。

本方法によって非増殖型感染された本発明の細胞の例は、A T C C 受託番号()として寄託されている、A V₃ / S S P E である。

これらの発明の方法では、P B M N C と哺乳類羊膜細胞共培養物の継代培養は 1 回以上

行われる。培養細胞の新鮮培地（前述の培地）への継代培養は、典型的には一週間あたり2回行われる。本方法に従って、少なくとも約2～約12継代培養を行うことが好ましい。典型的には共培養を8～12継代すると、実質的に全ての哺乳類羊膜細胞がクリプトウイルスによって非増殖型感染される。一般的には、約2～約3継代のうちに、PBMNCは培養基から消失して、哺乳類羊膜細胞のみが残る。

本発明に従って、哺乳類上皮細胞は、哺乳類上皮組織に起源を発する培養細胞である。一つの好ましい実施形態では、哺乳類上皮細胞は、仔ハムスター腎臓（BHK）細胞のような、齧歯類上皮細胞である。他の好ましい実施形態では、哺乳類上皮細胞は、例えば、VeroまたはCV-1細胞のようなサル上皮細胞である。最も好ましくは、CV-1細胞は、亜株CV-1_c細胞である。

本発明のクリプトウイルス粒子を同定するために本願に提供された配列情報に加えて、本発明のクリプトウイルスとそのウイルスサブコンポーネントは、以下に例示するものを含む、数々のウイルス学的、生化学的、及び分子技術によって特徴づけすることが可能であり、これが実行されてきた。

ラーク滴定アッセイ：単層の哺乳類上皮細胞（例えば、BHK、Vero、またはCV-1_c）上に肉眼で可視なラク形成を使って、感染性クリプトウイルスの調製物を定量することができる（Robbinsら，“J. Infect. Disease” 143: 396～403, 1981）。

中和滴定アッセイ：ラク形成は、臨床血清検体及びウサギで產生したクリプトウイルス特異的抗血清の段階希釈で阻害され得る（例えば、Robbinsら，“J. Infect. Disease” 143: 396～403, 1981）。中和滴定アッセイは、所定の患者がある特定のウイルスに対する中和抗体を有することを実証するために医学ウイルス学研究において日常的に使用される。中和アッセイは、クリプトウイルスに対する中和抗体の有無についての診断に使用することができる。中和アッセイの典型例では、検査対象の血清またはCSFサンプルのような生物材料の段階希釈は、一般的には、最終ブレーティング濃度が最終希釈液（希釈血清またはCSFを含む）0.2mLあたり約100～200ラク形成単位のウイルスとなるように、十分に感染性のあるウイルスを加えて4で約1時間インキュベートする。インキュベーション後、約0.2mLの希釈ウイルス-血清（またはCSF）混合物を、典型的には単層の感受性細胞（例えば、VeroまたはCV-1）に播種して、細胞を部分的CO₂大気（例えば5%（容積/容積））中37でインキュベートする（典型的には15分ごとに接種物を攪拌する）。インキュベーション期間の終わりに、接種された単層は、典型的には、十分量の2%（重量/容量）カルボキシメチルセルローズ溶液を含有する人工水性細胞培養基（例えば、一般的にはウシ胎児血清及び約200ユニットペニシリン/mL及び/または100μgストレプトマイシン/mLのような適量の抗生物質を含み、pH約6.8～約7.4に緩衝された、IMEMZO培地）で、10～12日間存続するようにオーバーレイされる（即ち、単層が乾燥しないために十分な量）。至適には、インキュベーション期間中はプレートを移動してはならない。10～12日後、オーバーレイを吸引除去して、細胞をホルマリン固定液で固定して、タンパク質染色（例えば、ギムザ）を行う。各プレート上に形成されたラク数を次に列挙して、PRD₅₀を計算する（PRD₅₀ = ラク減少希釈度、コントロール[ウイルスと生理食塩水のみを含む試験管]上に形成されたラク数を50%減少する血清またはCSFの希釈）。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0051

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0051】

クリプトウイルス特異抗体は、血清陽性個体の血清中に発見され、現在あるいは過去のクリプトウイルス感染を指摘するが、これらの抗体は必ずしもテンカン様または脳疾患の

兆候ではない。クリプトウイルスは、必ずしも脳疾患を起因することなく、かなりの割合の個体の P B M N C 中に感染または存在していると思われる。これらの個体は、明白に無症候性であると考えられる。ウイルスの神経病理学的（例えば、テンカン様、脳性、及びその他の神経学的、神経変性、及び／または神経精神医学的疾患）潜在能力は、ウイルスが神経系組織を感染した個体においてのみ顕在化するように思われる。結局、脳脊髄液（C S F）中に発見されたクリプトウイルス特異抗体のみ（即ち、ウイルスの主要エンベロープタンパク質、F と H N に対して誘導されたもの）が、神経学的、神経変性、及び／または神経精神医学的疾患の完全な兆候であり、したがって、それらは実質的に常に兆候である。さらなる例として、顕著な短期記憶喪失を伴う慢性疲労症候群であることが過去に診断され、C S F サンプルを得ることのできた 10 人のヒト患者は、その全員が C S F 中にクリプトウイルス特異抗体、並びに欠神テンカン（即ち小発作性テンカン）の診断と一貫する脳波プロファイルを有することが見いだされている。

本発明はまた、特に抗体を含有する生物材料において、生物サンプルの検査またはアッセイに有用である、抗クリプトウイルス抗体検出キットに関する。したがって、本発明のキットは、ヒト血液、血清、血小板、血漿、組織及び臓器である臨床用サプライを、輸血または移植目的でその安全性を判定するためのスクリーニングに有益である。本発明のキットの診断への適用もまた有用である。

本発明のキットは、クリプトウイルス及びその抗原を選択的に結合する抗体を検出するための本発明のアッセイ法及びクリプトウイルス特異抗体の存在の有無についての本発明による検出方法を実施するために特に有用である。いくつかの好ましい実施形態では、このキットは、（配列番号 1）と完全相補なヌクレオチド配列を有するゲノムを含む、単離クリプトウイルス粒子を含む。キットは、標識抗ヒト抗体を結合する抗体、好ましくは抗ヒト免疫グロブリン、または、F a b 及び／または F (a b ')₂ のような、標識抗ヒト抗体を結合する抗体フラグメントを含む。キットの好ましい実施形態は、さらにクリプトウイルス粒子（複数でもよい）を支持するための固体マトリックスを含む。好ましい実施形態では、抗クリプトウイルス抗体検出キットにおけるクリプトウイルス粒子は、クリプトウイルスビリオンであり、好ましい実施形態では、クリプトウイルスビリオンは、急性感染仔ハムスター腎臓（B H K）細胞由来細胞株、V e r o 由来細胞株、または C V - 1 - 由来細胞株（例えば、C V - 1_c 由来細胞株、以下に説明）のような急性クリプトウイルス感染細胞株から產生される。

一方、クリプトウイルス粒子を含まない本発明の抗クリプトウイルス抗体検出キットの最も好ましい実施形態では、キットは、前述のように、複数の一つ以上の種類の単離クリプトウイルスタンパク質及び／またはクリプトウイルスタンパク質成分を含むキメラタンパク質を含む。いくつかの好ましい実施形態では、クリプトウイルスタンパク質またはタンパク質成分は、本願に説明するように、エンベロープタンパク質である。係る実施形態はまた、抗ヒト免疫グロブリンのような、標識抗ヒト抗体を結合する抗体または、F a b 及び／または F (a b ')₂ フラグメントのような、標識抗ヒト抗体を結合する抗体フラグメントを含む。係るキットの好ましい実施形態は、さらにクリプトウイルスタンパク質を支持するための固体マトリックスを含む。

固体マトリックス、または支持体、並びに固体マトリックスにウイルス粒子及びタンパク質を付着または吸収する方法は当該分野で公知である。本発明のキットに従って、「固体マトリックス」という用語は、ウイルス粒子またはタンパク質が固定または接着することができる任意の固体または半流動体支持体または表面を含む。適切な支持体は、ガラス、プラスチック、金属、ポリマーゲルなどを含み、ビーズ、ウェル（单一、複数ウェル血清プレート）スライド、ディップスティック、膜などの形態をとる。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図4】

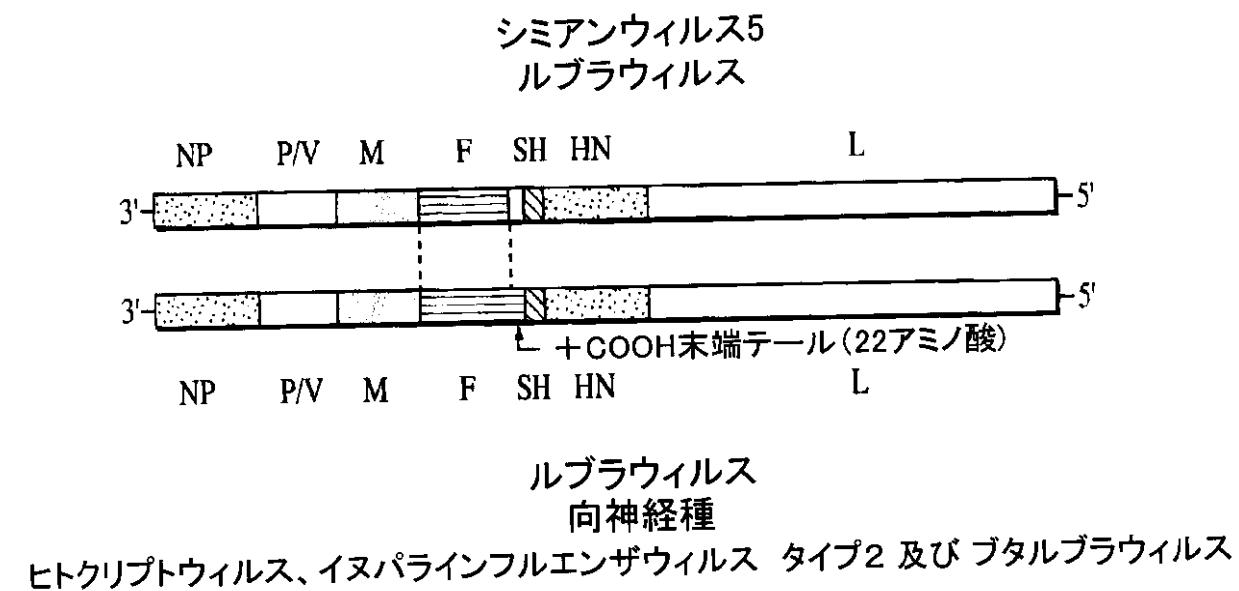


FIG. 4