

【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29年7月20日 (2017.7.20)

【公表番号】特表2016-521553(P2016-521553A)

【公表日】平成28年7月25日 (2016.7.25)

【年通号数】公開・登録公報2016-044

【出願番号】特願2016-517733(P2016-517733)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/11 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 7/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

C 1 2 N 7/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/145 (2006.01)

A 6 1 P 31/16 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/11

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 7/02

C 1 2 N 5/071

C 1 2 N 7/00

A 6 1 K 39/145

A 6 1 P 31/16

【手続補正書】

【提出日】平成29年6月5日 (2017.6.5)

【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】

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、シグナルペプチド、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメントであって、

a) 前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、A / P u e r t o R i c o / 8 / 3 4、A / W S N / 3 3 または B / L e e / 4 0 ではない第 2 のインフルエンザ株由来であり、前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株は、両者共にインフルエンザ A 株またはインフルエンザ B 株であるか；あるいは

b) 前記外部ドメインは、H 1 インフルエンザ株または H 5 インフルエンザ株ではない第 1 のインフルエンザ A 株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフルエンザ株由来であり、前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株は、両者共にインフルエンザ A 株またはインフルエンザ B 株で

あるか；あるいは

c) 前記外部ドメインは、第1のインフルエンザB株由来であり、前記5' - 非コード領域、前記3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち1種または複数は、インフルエンザB株またはH1株もしくはH3株ではないインフルエンザA株である第2のインフルエンザ株由来であるか；あるいは

d) 前記外部ドメインは、第1のインフルエンザ株由来であり、前記5' - 非コード領域、前記3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち1種または複数は、第2のインフルエンザ株由来であり、前記セグメントは、ペアワイズアライメントアルゴリズムを使用して配列番号15と整列させた場合、以下：

i) 配列番号15のヌクレオチド24に対応する位置におけるグアニン、および／または

ii) 配列番号15のヌクレオチド38に対応する位置におけるアデニン、および／または

iii) 配列番号15のヌクレオチド40に対応する位置におけるチミン、および／または

iv) 配列番号15のヌクレオチド44に対応する位置におけるアデニン、および／または

v) 配列番号15のヌクレオチド53に対応する位置におけるチミン、および／または

vi) 配列番号15のヌクレオチド63に対応する位置におけるアデニン、および／または

vii) 配列番号15のヌクレオチド66に対応する位置におけるチミン、および／または

viii) 配列番号15のヌクレオチド69に対応する位置におけるアデニン、および／または

ix) 配列番号15のヌクレオチド75に対応する位置におけるアデニン、および／または

x) 配列番号15のヌクレオチド78に対応する位置におけるチミン、および／または

xi) 配列番号15のヌクレオチド1637に対応する位置におけるアデニン、および／または

xii) 配列番号15のヌクレオチド1649に対応する位置におけるシトシン、および／または

xiii) 配列番号15のヌクレオチド1655に対応する位置におけるチミン、および／または

xiv) 配列番号15のヌクレオチド1682に対応する位置におけるシトシン、および／または

xv) 配列番号15のヌクレオチド1697に対応する位置におけるシトシン、および／または

xvi) 配列番号15のヌクレオチド1703に対応する位置におけるグアニン、および／または

xvii) 配列番号15のヌクレオチド1715に対応する位置におけるチミン、および／または

xviii) 配列番号15のヌクレオチド1729に対応する位置におけるアデニン、および／または

xix) 配列番号15のヌクレオチド1733に対応する位置におけるシトシン、および／または

xx) 配列番号15のヌクレオチド1734に対応する位置におけるシトシン、および／または

xxi) 配列番号15のヌクレオチド1746に対応する位置におけるアデニン、および／または

xxii) 配列番号 15 のヌクレオチド 1751 に対応する位置におけるアデニンのうち 1 種または複数を含む、  
キメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメント。

【請求項 2】

請求項 1 の前記 d) の特徴を有し、(i) ~ (xxii) の前記ヌクレオチドの全てを含む、請求項 1 に記載のキメラ赤血球凝集素セグメント。

【請求項 3】

配列番号 105 の前記 5' - NCR ドメイン、および / または配列番号 106 の前記 SP、および / または配列番号 107 の前記 TM ドメイン、および / または配列番号 108 の前記 CT ドメイン、および / または配列番号 109 の前記 3' - NCR のうち 1 種または複数を含む、請求項 1 または請求項 2 に記載のキメラ赤血球凝集素セグメント。

【請求項 4】

前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株が、両者共にインフルエンザ A ウイルスまたはインフルエンザ B ウイルスである、請求項 1、2 または 3 に記載のキメラ赤血球凝集素セグメントであって、請求項 1 に従属する場合、請求項 1 の前記 d) の特徴を有する、キメラ赤血球凝集素セグメント。

【請求項 5】

a) 前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である；および / または

b) 前記セグメントが、配列番号 7 と整列させた場合、アミノ酸 545 に対応する位置にチロシンを有さないタンパク質をコードする、  
請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のキメラ赤血球凝集素セグメント。

【請求項 6】

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラインフルエンザノイラミニダーゼセグメントであって、

a) 前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、A / Puerto Rico / 8 / 34 または A / WSN / 33 ではない第 2 のインフルエンザ株由来であるか；あるいは

b) 前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインは、第 2 のインフルエンザ株由来であり、前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株は、両者共にインフルエンザ A 株であるまたは両者共にインフルエンザ B 株であるか；あるいは

c) 前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフルエンザ株由来であり、前記セグメントは、ペアワイズアライメントアルゴリズムを使用して配列番号 16 と整列させた場合、以下：

i) 配列番号 16 のヌクレオチド 13 に対応する位置におけるアデニン、および / または

ii) 配列番号 16 のヌクレオチド 35 に対応する位置におけるアデニン、および / または

iii) 配列番号 16 のヌクレオチド 60 に対応する位置におけるアデニン、および / または

iv) 配列番号 16 のヌクレオチド 63 に対応する位置におけるアデニン、および / または

v) 配列番号 16 のヌクレオチド 65 に対応する位置におけるアデニン、および / または

vi) 配列番号 16 のヌクレオチド 67 に対応する位置におけるシトシン、および / ま

たは

v i i ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 6 9 に対応する位置におけるアデニン、および /

または

v i i i ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 7 5 に対応する位置におけるアデニン、および /

/ または

i x ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 8 3 に対応する位置におけるチミン、および / また

は

x ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 8 9 に対応する位置におけるグアニン、および / また

は

x i ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 1 0 1 に対応する位置におけるアデニン、および /

または

x i i ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 1 0 7 に対応する位置におけるチミン、および /

または

x i i i ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 1 1 0 に対応する位置におけるチミン、および /

/ または

x i v ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 1 2 0 に対応する位置におけるグアニン、および /

/ または

x v ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 1 2 1 に対応する位置におけるシトシン、および /

または

x v i ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 1 2 5 に対応する位置におけるチミン、および /

または

x v i i ) 配列番号 1 6 のヌクレオチド 1 2 7 に対応する位置におけるチミン

を含む、

キメラインフルエンザノイラミニダーゼセグメント。

【請求項 7】

請求項 6 の前記 c ) の特徴を有し、( a ) ~ ( q ) の前記ヌクレオチドの全てを含む、  
請求項 6 に記載のキメラノイラミニダーゼセグメント。

【請求項 8】

配列番号 1 1 0 の前記 5 ' - N C R ドメイン、および / または配列番号 1 1 1 の前記 C  
T ドメイン、および / または配列番号 1 1 2 の前記 T M ドメイン、および / または配列番  
号 1 1 3 の前記 3 ' - N C R のうち 1 種または複数を含む、請求項 6 または請求項 7 に記  
載のキメラノイラミニダーゼセグメント。

【請求項 9】

前記 5 ' - 非コード領域、前記 3 ' - 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細  
胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である、請求項 6 ~ 8 のいずれか  
一項に記載のキメラノイラミニダーゼセグメント。

【請求項 10】

前記第 2 のインフルエンザ株が、H 1 インフルエンザ株である、請求項 1 ~ 5 のいずれ  
か一項に記載のキメラ赤血球凝集素セグメントまたは請求項 6 ~ 9 のいずれか一項に記載  
のキメラノイラミニダーゼセグメント。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のキメラ赤血球凝集素セグメントにコードされるキ  
メラ赤血球凝集素タンパク質、または請求項 6 ~ 10 のいずれかに記載のキメラノイラミ  
ニダーゼセグメントにコードされるキメラノイラミニダーゼタンパク質。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のキメラ赤血球凝集素セグメントおよび / または  
キメラノイラミニダーゼセグメントを含む、リアソータントインフルエンザウイルス。

【請求項 13】

前記バックボーンセグメントの全てが、1 0 5 p 3 0 および P R 8 - X からなる群より  
選択されるインフルエンザ株由来である、請求項 12 に記載のリアソータントインフルエ

ンザウイルス。

【請求項 1 4】

リアソータントインフルエンザウイルスであって、以下：

a) 外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、シグナルペプチド、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラ赤血球凝集素タンパク質であって、前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフルエンザ株由来であるキメラ赤血球凝集素タンパク質；ならびに / あるいは外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラノイラミニダーゼタンパク質であって、前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記非コード領域、前記細胞質ドメインおよび前記膜貫通ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフルエンザ株由来である、キメラノイラミニダーゼタンパク質と、

b) 以下：

i. 2 種またはそれを超える異なるドナー株由来のバックボーンセグメント、

i i. 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、P B 1 セグメントおよび P B 2 セグメントが、同じドナー株由来である、バックボーンセグメント、

i i i. 2 または 3 種のドナー株由来のバックボーンセグメントであって、各ドナー株が、2 種以上のバックボーンセグメントを提供する、バックボーンセグメント、

i v. 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、P B 1 セグメントが、A / T e x a s / 1 / 7 7 インフルエンザ株由来でない、バックボーンセグメント、

v. 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、少なくとも P A セグメント、N P セグメントまたは M セグメントが、A / P u e r t o R i c o / 8 / 3 4 由来でない、バックボーンセグメント、

v i. 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、H A セグメントおよび P B 1 セグメントが、同じインフルエンザウイルス H A サブタイプを有する異なるインフルエンザ A 株由来である、バックボーンセグメント、

v i i. 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、H A セグメントおよび P B 1 セグメントが、同じインフルエンザウイルス H A サブタイプを有する異なるインフルエンザ A 株由来である、バックボーンセグメント

のうち 1 種または複数と

を含む、リアソータントインフルエンザウイルス。

【請求項 1 5】

前記キメラ赤血球凝集素の前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である、および / または前記キメラノイラミニダーゼタンパク質の前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である、請求項 1 4 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

【請求項 1 6】

a) 前記第 2 のインフルエンザ株が、1 0 5 p 3 0 および P R 8 - X からなる群より選択されるか；あるいは

b) ベアワイズアラインメントアルゴリズムを使用して配列番号 3 3 と整列させた場合、配列番号 3 3 のアミノ酸 9 5 に対応する位置にリシンを有する M ゲノムセグメントを含むか；あるいは

c) 1 0 5 p 3 0 および P R 8 - X からなる群より選択されるドナー株由来の少なくとも 1 種のバックボーンウイルスセグメントを含む、

請求項 1 2 ~ 1 5 のいずれか一項に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

**【請求項 17】**

請求項 16 の前記 c) の特徴を有し、前記少なくとも 1 種のバックボーンウイルスセグメントが、配列番号 9 ~ 14 または配列番号 17 ~ 22 からなる群より選択される配列と少なくとも 95 % の同一性、少なくとも 96 % の同一性、少なくとも 97 % の同一性、少なくとも 98 % の同一性、少なくとも 99 % の同一性または 100 % の同一性を有する配列を有する、請求項 16 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

**【請求項 18】**

a) 前記少なくとも 1 種のバックボーンウイルスセグメントが、配列番号 17 または配列番号 20 の配列を有するか；あるいは

b) 前記 P B 1 ウイルスセグメントおよび前記 P B 2 ウイルスセグメントが、配列番号 18 および 19 の配列と少なくとも 95 % の同一性、少なくとも 96 % の同一性、少なくとも 97 % の同一性、少なくとも 98 % の同一性、少なくとも 99 % の同一性または 100 % の同一性を有する、

請求項 16 または請求項 17 に記載のリアソータントインフルエンザウイルスであって、請求項 16 に従属する場合、請求項 16 の前記 c) の特徴を有する、リアソータントインフルエンザウイルス。

**【請求項 19】**

請求項 18 の前記 b) の特徴を有し、配列番号 17 ~ 22 からなる群より選択される配列と少なくとも 95 % の同一性を有するウイルスセグメントをさらに含む、請求項 18 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

**【請求項 20】**

a) 配列番号 9 ~ 14 の全セグメントを含むか；あるいは

b) 配列番号 9 の前記 P A セグメント、配列番号 13 の前記 M セグメント、配列番号 14 の前記 N S セグメント、配列番号 18 の前記 P B 1 セグメント、配列番号 19 の前記 P B 2 セグメントおよび配列番号 20 の前記 N P セグメントを含むか；あるいは

c) 配列番号 9 の前記 P A セグメント、配列番号 13 の前記 M セグメント、配列番号 14 の前記 N S セグメント、配列番号 52 の前記 P B 1 セグメント、配列番号 11 の前記 P B 2 セグメントおよび配列番号 12 の前記 N P セグメントを含む、  
請求項 17 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

**【請求項 21】**

リアソータントインフルエンザ A ウイルスを調製する方法であって、前記方法は、以下：

( i ) 培養宿主に、請求項 12 ~ 19 のいずれか一項に記載のインフルエンザウイルスの産生に必要とされるウイルスセグメントをコードする 1 種または複数の発現構築物（複数可）を導入するステップと、

( i i ) リアソータントウイルスを産生するために前記培養宿主を培養するステップとを含む、方法。

**【請求項 22】**

リアソータントインフルエンザウイルスを調製する方法であって、前記方法は、以下：

( a ) 請求項 10 ~ 20 に記載のリアソータントインフルエンザウイルスまたは請求項 21 に記載の方法によって得られるウイルスに培養宿主を感染させるステップと、

( b ) ステップ ( a ) の前記宿主を培養して、前記ウイルスを産生するステップとを含む、方法。

**【請求項 23】**

、  
( c ) ステップ ( b ) において得られる前記ウイルスを精製するステップを含む、請求項 22 に記載の方法。

**【請求項 24】**

ワクチンを調製する方法であって、前記方法は、以下：

( a ) 請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法によってウイルスを調製するステップと、

( b ) 前記ウイルスからワクチンを調製するステップとを含む、方法。

【請求項 2 5】

a ) 前記培養宿主が、孵化鶏卵であるか；または

b ) 前記培養宿主が、哺乳動物細胞であり、例えば、前記細胞が、M D C K 細胞、V e r o 細胞または P e r C 6 細胞である、ならびに / あるいは

i ) 前記細胞が、接着して成長するか；または

i i ) 前記細胞が、懸濁物中で成長し、例えば、前記 M D C K 細胞が、細胞株 M D C K 3 3 0 1 6 ( D S M A C C 2 2 1 9 ) のものである、

請求項 2 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

( a ) ステップ ( b ) が、前記ウイルスの不活化を伴う；および / または

( b ) 前記ワクチンが、全ビリオンワクチン、スプリットビリオンワクチン、表面抗原ワクチンまたはピロソームワクチンである；および / または

( c ) 前記ワクチンが、用量当たり 1 0 n g 未満の残留宿主細胞 D N A を含有する、

請求項 2 4 または請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

請求項 1 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載のリアソータントインフルエンザウイルスのセグメントをコードする 1 種または複数の発現構築物 ( 複数可 ) を含む発現系。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 2 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 2 9】

本発明が、ほんの一例として記載されており、本発明の範囲および精神内にとどまりつつ変更を行ってよいことが理解できよう。

例えば、本発明は以下の項目を提供する。

( 項目 1 )

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、シグナルペプチド、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメントであって、前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、A / P u e r t o R i c o / 8 / 3 4、A / W S N / 3 3 または B / L e e / 4 0 ではない第 2 のインフルエンザ株由来であり、前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株は、両者共にインフルエンザ A 株またはインフルエンザ B 株である、キメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメント。

( 項目 2 )

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、シグナルペプチド、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメントであって、前記外部ドメインは、H 1 インフルエンザ株または H 5 インフルエンザ株ではない第 1 のインフルエンザ A 株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフルエンザ株由来であり、前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株は、両者共にインフルエンザ A 株またはインフルエンザ B 株である、キメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメント。

( 項目 3 )

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、シグナルペプチド、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメントであって、前記外部ドメインは、第1のインフルエンザB株由来であり、前記5' - 非コード領域、前記3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち1種または複数は、インフルエンザB株またはH1株もしくはH3株ではないインフルエンザA株である第2のインフルエンザ株由来である、キメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメント。

( 項目 4 )

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、シグナルペプチド、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメントであって、前記外部ドメインは、第1のインフルエンザ株由来であり、前記5' - 非コード領域、前記3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち1種または複数は、第2のインフルエンザ株由来であり、前記セグメントは、ペアワイズアラインメントアルゴリズムを使用して配列番号15と整列させた場合、以下：

- a) 配列番号15のヌクレオチド24に対応する位置におけるグアニン、および / または
- b) 配列番号15のヌクレオチド38に対応する位置におけるアデニン、および / または
- c) 配列番号15のヌクレオチド40に対応する位置におけるチミン、および / または
- d) 配列番号15のヌクレオチド44に対応する位置におけるアデニン、および / または
- e) 配列番号15のヌクレオチド53に対応する位置におけるチミン、および / または
- f) 配列番号15のヌクレオチド63に対応する位置におけるアデニン、および / または
- g) 配列番号15のヌクレオチド66に対応する位置におけるチミン、および / または
- h) 配列番号15のヌクレオチド69に対応する位置におけるアデニン、および / または
- i) 配列番号15のヌクレオチド75に対応する位置におけるアデニン、および / または
- j) 配列番号15のヌクレオチド78に対応する位置におけるチミン、および / または
- k) 配列番号15のヌクレオチド1637に対応する位置におけるアデニン、および / または
- l) 配列番号15のヌクレオチド1649に対応する位置におけるシトシン、および / または
- m) 配列番号15のヌクレオチド1655に対応する位置におけるチミン、および / または
- n) 配列番号15のヌクレオチド1682に対応する位置におけるシトシン、および / または
- o) 配列番号15のヌクレオチド1697に対応する位置におけるシトシン、および / または
- p) 配列番号15のヌクレオチド1703に対応する位置におけるグアニン、および / または
- q) 配列番号15のヌクレオチド1715に対応する位置におけるチミン、および / または
- r) 配列番号15のヌクレオチド1729に対応する位置におけるアデニン、および / または
- s) 配列番号15のヌクレオチド1733に対応する位置におけるシトシン、および / または



t) 配列番号 15 のヌクレオチド 1734 に対応する位置におけるシトシン、および / または

u) 配列番号 15 のヌクレオチド 1746 に対応する位置におけるアデニン、および / または

v) 配列番号 15 のヌクレオチド 1751 に対応する位置におけるアデニン  
のうち 1 種または複数を含む、キメラインフルエンザ赤血球凝集素セグメント。

(項目 5)

(a) ~ (v) の前記ヌクレオチドの全てを含む、項目 4 に記載のキメラ赤血球凝集素セグメント。

(項目 6)

配列番号 105 の前記 5' - NCR ドメイン、および / または配列番号 106 の前記 S  
P、および / または配列番号 107 の前記 TM ドメイン、および / または配列番号 108  
の前記 CT ドメイン、および / または配列番号 109 の前記 3' - NCR のうち 1 種また  
は複数を含む、前記項目のいずれかに記載のキメラ赤血球凝集素セグメント。

(項目 7)

前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株が、両者共にインフル  
エンザ A ウイルスまたはインフルエンザ B ウイルスである、項目 4 ~ 6 のいずれか一項に  
記載のキメラ赤血球凝集素セグメント。

(項目 8)

前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫  
通ドメインおよび前記細胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である、  
前記項目のいずれかに記載のキメラ赤血球凝集素セグメント。

(項目 9)

前記セグメントが、配列番号 7 と整列させた場合、アミノ酸 545 に対応する位置にチ  
ロシンを有さないタンパク質をコードする、前記項目のいずれかに記載のキメラ赤血球凝  
集素セグメント。

(項目 10)

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、膜貫通ドメインおよび細胞  
質ドメインを有するキメラインフルエンザノイラミニダーゼセグメントであって、前記外  
部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3'  
- 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数  
は、A / Puerto Rico / 8 / 34 または A / WSN / 33 ではない第 2 のインフ  
ルエンザ株由来である、キメラインフルエンザノイラミニダーゼセグメント。

(項目 11)

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、膜貫通ドメインおよび細胞  
質ドメインを有するキメラインフルエンザノイラミニダーゼセグメントであって、前記外  
部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3'  
- 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインは、第 2 のインフル  
エンザ株由来であり、前記第 1 のインフルエンザ株および前記第 2 のインフルエンザ株は、両  
者共にインフルエンザ A 株であるまたは両者共にインフルエンザ B 株である、キメライン  
フルエンザノイラミニダーゼセグメント。

(項目 12)

外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、膜貫通ドメインおよび細胞  
質ドメインを有するキメラノイラミニダーゼセグメントであって、前記外部ドメインは、  
第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域  
、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフ  
ルエンザ株由来であり、前記セグメントは、ペアワイズアライメントアルゴリズムを使  
用して配列番号 16 と整列させた場合、以下：

a) 配列番号 16 のヌクレオチド 13 に対応する位置におけるアデニン、および / また  
は

- b) 配列番号 16 のヌクレオチド 35 に対応する位置におけるアデニン、および / または
- c) 配列番号 16 のヌクレオチド 60 に対応する位置におけるアデニン、および / または
- d) 配列番号 16 のヌクレオチド 63 に対応する位置におけるアデニン、および / または
- e) 配列番号 16 のヌクレオチド 65 に対応する位置におけるアデニン、および / または
- f) 配列番号 16 のヌクレオチド 67 に対応する位置におけるシトシン、および / または
- g) 配列番号 16 のヌクレオチド 69 に対応する位置におけるアデニン、および / または
- h) 配列番号 16 のヌクレオチド 75 に対応する位置におけるアデニン、および / または
- i) 配列番号 16 のヌクレオチド 83 に対応する位置におけるチミン、および / または
- j) 配列番号 16 のヌクレオチド 89 に対応する位置におけるグアニン、および / または
- k) 配列番号 16 のヌクレオチド 101 に対応する位置におけるアデニン、および / または
- l) 配列番号 16 のヌクレオチド 107 に対応する位置におけるチミン、および / または
- m) 配列番号 16 のヌクレオチド 110 に対応する位置におけるチミン、および / または
- n) 配列番号 16 のヌクレオチド 120 に対応する位置におけるグアニン、および / または
- o) 配列番号 16 のヌクレオチド 121 に対応する位置におけるシトシン、および / または
- p) 配列番号 16 のヌクレオチド 125 に対応する位置におけるチミン、および / または
- q) 配列番号 16 のヌクレオチド 127 に対応する位置におけるチミンを含む、キメラノイラミニダーゼセグメント。

(項目 13)

(a) ~ (q) の前記ヌクレオチドの全てを含む、項目 12 に記載のキメラノイラミニダーゼセグメント。

(項目 14)

配列番号 110 の前記 5' - NCR ドメイン、および / または配列番号 111 の前記 CT ドメイン、および / または配列番号 112 の前記 TM ドメイン、および / または配列番号 113 の前記 3' - NCR のうち 1 種または複数を含む、項目 10 ~ 13 のいずれか一項に記載のキメラノイラミニダーゼセグメント。

(項目 15)

前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である、項目 10 ~ 14 のいずれか一項に記載のキメラノイラミニダーゼセグメント。

(項目 16)

前記第 2 のインフルエンザ株が、H1 インフルエンザ株である、前記項目のいずれかに記載のキメラ赤血球凝集素セグメントまたはキメラノイラミニダーゼセグメント。

(項目 17)

項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のキメラ赤血球凝集素セグメントにコードされるキメラ赤血球凝集素タンパク質、または項目 10 ~ 16 のいずれかに記載のキメラノイラミニダーゼセグメントにコードされるキメラノイラミニダーゼタンパク質。

( 項目 1 8 )

項目 1 ～ 1 7 のいずれか一項に記載のキメラ赤血球凝集素セグメントおよび / またはキメラノイラミニダーゼセグメントを含む、リアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 1 9 )

前記バックボーンセグメントの全てが、105 p 30 および P R 8 - X からなる群より選択されるインフルエンザ株由来である、項目 1 8 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 0 )

リアソータントインフルエンザウイルスであって、以下：

a ) 外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、シグナルペプチド、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラ赤血球凝集素タンパク質であって、前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフルエンザ株由来であるキメラ赤血球凝集素タンパク質；ならびに / あるいは外部ドメイン、5' - 非コード領域、3' - 非コード領域、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを有するキメラノイラミニダーゼタンパク質であって、前記外部ドメインは、第 1 のインフルエンザ株由来であり、前記非コード領域、前記細胞質ドメインおよび前記膜貫通ドメインのうち 1 種または複数は、第 2 のインフルエンザ株由来である、キメラノイラミニダーゼタンパク質と、

b ) 以下：

i . 2 種またはそれを超える異なるドナー株由来のバックボーンセグメント、

i i . 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、P B 1 セグメントおよび P B 2 セグメントが、同じドナー株由来である、バックボーンセグメント、

i i i . 2 または 3 種のドナー株由来のバックボーンセグメントであって、各ドナー株が、2 種以上のバックボーンセグメントを提供する、バックボーンセグメント、

i v . 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、P B 1 セグメントが、A / T e x a s / 1 / 77 インフルエンザ株由来でない、バックボーンセグメント、

v . 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、少なくとも P A セグメント、N P セグメントまたは M セグメントが、A / P u e r t o R i c o / 8 / 34 由来でない、バックボーンセグメント、

v i . 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、H A セグメントおよび P B 1 セグメントが、同じインフルエンザウイルス H A サブタイプを有する異なるインフルエンザ A 株由来である、バックボーンセグメント、

v i i . 2 種またはそれを超えるドナー株由来のバックボーンセグメントであって、H A セグメントおよび P B 1 セグメントが、同じインフルエンザウイルス H A サブタイプを有する異なるインフルエンザ A 株由来である、バックボーンセグメント

のうち 1 種または複数と

を含む、リアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 1 )

前記キメラ赤血球凝集素の前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記シグナルペプチド、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である、および / または前記キメラノイラミニダーゼタンパク質の前記 5' - 非コード領域、前記 3' - 非コード領域、前記膜貫通ドメインおよび前記細胞質ドメインが全て、前記第 2 のインフルエンザ株由来である、項目 2 0 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 2 )

前記第 2 のインフルエンザ株が、105 p 30 および P R 8 - X からなる群より選択される、項目 1 8 ～ 2 1 のいずれか一項に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 3 )

ペアワイズアラインメントアルゴリズムを使用して配列番号 3 3 と整列させた場合、配列番号 3 3 のアミノ酸 9 5 に対応する位置にリシンを有する M ゲノムセグメントを含む、項目 1 8 ~ 2 2 のいずれか一項に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 4 )

1 0 5 p 3 0 および P R 8 - X からなる群より選択されるドナー株由来の少なくとも 1 種のバックボーンウイルスセグメントを含む、項目 1 8 または 2 0 ~ 2 3 のいずれか一項に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 5 )

前記少なくとも 1 種のバックボーンウイルスセグメントが、配列番号 9 ~ 1 4 または配列番号 1 7 ~ 2 2 からなる群より選択される配列と少なくとも 9 5 % の同一性、少なくとも 9 6 % の同一性、少なくとも 9 7 % の同一性、少なくとも 9 8 % の同一性、少なくとも 9 9 % の同一性または 1 0 0 % の同一性を有する配列を有する、項目 2 4 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 6 )

前記少なくとも 1 種のバックボーンウイルスセグメントが、配列番号 1 7 または配列番号 2 0 の配列を有する、項目 2 4 または項目 2 5 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 7 )

前記 P B 1 ウイルスセグメントおよび前記 P B 2 ウイルスセグメントが、配列番号 1 8 および 1 9 の配列と少なくとも 9 5 % の同一性、少なくとも 9 6 % の同一性、少なくとも 9 7 % の同一性、少なくとも 9 8 % の同一性、少なくとも 9 9 % の同一性または 1 0 0 % の同一性を有する、項目 2 4 または項目 2 5 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 8 )

配列番号 1 7 ~ 2 2 からなる群より選択される配列と少なくとも 9 5 % の同一性を有するウイルスセグメントをさらに含む、項目 2 7 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 2 9 )

配列番号 9 ~ 1 4 の全セグメントを含む、項目 2 5 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 3 0 )

配列番号 9 の前記 P A セグメント、配列番号 1 3 の前記 M セグメント、配列番号 1 4 の前記 N S セグメント、配列番号 1 8 の前記 P B 1 セグメント、配列番号 1 9 の前記 P B 2 セグメントおよび配列番号 2 0 の前記 N P セグメントを含む、項目 2 5 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 3 1 )

配列番号 9 の前記 P A セグメント、配列番号 1 3 の前記 M セグメント、配列番号 1 4 の前記 N S セグメント、配列番号 5 2 の前記 P B 1 セグメント、配列番号 1 1 の前記 P B 2 セグメントおよび配列番号 1 2 の前記 N P セグメントを含む、項目 2 5 に記載のリアソータントインフルエンザウイルス。

( 項目 3 2 )

リアソータントインフルエンザ A ウイルスを調製する方法であって、前記方法は、以下

：

( i ) 培養宿主に、項目 1 8 ~ 2 8 のいずれか一項に記載のインフルエンザウイルスの産生に必要とされるウイルスセグメントをコードする 1 種または複数の発現構築物 ( 複数可 ) を導入するステップと、

( i i ) リアソータントウイルスを産生するために前記培養宿主を培養するステップとを含む、方法。

( 項目 3 3 )

リアソータントインフルエンザウイルスを調製する方法であって、前記方法は、以下：

( a ) 項目 1 7 ~ 3 1 に記載のリアソータントインフルエンザウイルスまたは項目 3 2 に記載の方法によって得られるウイルスに培養宿主を感染させるステップと、

( b ) ステップ ( a ) の前記宿主を培養して、前記ウイルスを産生するステップと、  
任意選択で ( c ) ステップ ( b ) において得られる前記ウイルスを精製するステップと  
を含む、方法。

( 項目 3 4 )

ワクチンを調製する方法であって、前記方法は、以下：

( a ) 項目 3 2 または項目 3 3 に記載の方法によってウイルスを調製するステップと、

( b ) 前記ウイルスからワクチンを調製するステップと  
を含む、方法。

( 項目 3 5 )

前記培養宿主が、孵化鶏卵である、項目 3 2 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 6 )

前記培養宿主が、哺乳動物細胞である、項目 3 2 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 7 )

前記細胞が、M D C K 細胞、V e r o 細胞または P e r C 6 細胞である、項目 3 6 に記載の方法。

( 項目 3 8 )

前記細胞が、接着して成長する、項目 3 7 に記載の方法。

( 項目 3 9 )

前記細胞が、懸濁物中で成長する、項目 3 7 に記載の方法。

( 項目 4 0 )

前記 M D C K 細胞が、細胞株 M D C K 3 3 0 1 6 ( D S M A C C 2 2 1 9 ) のものである、項目 3 9 に記載の方法。

( 項目 4 1 )

ステップ ( b ) が、前記ウイルスの不活化を伴う、項目 3 4 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 4 2 )

前記ワクチンが、全ビリオンワクチンである、項目 3 4 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 4 3 )

前記ワクチンが、スプリットビリオンワクチンである、項目 3 4 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 4 4 )

前記ワクチンが、表面抗原ワクチンである、項目 3 4 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 4 5 )

前記ワクチンが、ピロソームワクチンである、項目 3 4 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 4 6 )

前記ワクチンが、用量当たり 1 0 n g 未満の残留宿主細胞 D N A を含有する、項目 3 4 ~ 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 4 7 )

項目 1 7 ~ 3 1 のいずれか一項に記載のリアソータントインフルエンザウイルスのセグメントをコードする 1 種または複数の発現構築物 ( 複数可 ) を含む発現系。