

【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】令和2年1月23日(2020.1.23)

【公表番号】特表2018-536428(P2018-536428A)

【公表日】平成30年12月13日(2018.12.13)

【年通号数】公開・登録公報2018-048

【出願番号】特願2018-530548(P2018-530548)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/45 (2006.01)

C 1 2 N 7/01 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 39/155 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/14 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/45

C 1 2 N 7/01 Z N A

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 5/10

A 6 1 K 39/155

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 31/14

【手続補正書】

【提出日】令和1年12月5日(2019.12.5)

【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】

組換えRSV(respiratory syncytial virus)ゲノムに対する1つまたは複数の改変によって弱毒化された組換えRSVであって、該1つまたは複数の改変が、

(a) SEQ ID NO:1の8198Aおよび8200Gに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8203～8436位の234ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2 ORFの欠失(「M2-2-AcII」)；

(b) SEQ ID NO:1のT8161、T8167およびT8179に対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8189～8429位の241ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2オープンリーディングフレーム(ORF)の欠失(「M2-2」)；または

(c) SEQ ID NO:1の8198Aおよび8199Gに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8203～8436位の234ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2 ORFの欠失(「M2-2-HindIII」)

を含み、

該組換えRSVゲノムが該1つまたは複数の改変によって弱毒化されたD46ゲノムである、組換えRSV。

**【請求項 2】**

前記1つまたは複数の改変が、SEQ ID NO:1のC4489T、C4492T、A4495T、A4497GおよびG4498Aに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の4499～4610位に対応する112ヌクレオチドの欠失(「6120」)をさらに含む、請求項1に記載の組換えRSV。

**【請求項 3】**

組換えRSVゲノムに対する1つまたは複数の改変によって弱毒化された組換えRSVであって、該1つまたは複数の改変が、

SEQ ID NO:1の8198Aおよび8199Gに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8203～8436位の234ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2 ORFの欠失(「M2-2-HindIII」)；および

SEQ ID NO:1のC4489T、C4492T、A4495T、A4497GおよびG4498Aに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の4499～4610位に対応する112ヌクレオチドの欠失(「6120」)を含む、組換えRSV。

**【請求項 4】**

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのNタンパク質におけるV267I、Fタンパク質におけるE218AおよびT523I、ならびにLタンパク質におけるC319YおよびH1690Yのアミノ酸置換をコードするヌクレオチド変異(「cp」)をさらに含む；

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのLタンパク質にY1321K置換を導入するヌクレオチド変異をさらに含み、該Lタンパク質が、S1313残基を含み、Y1321K置換およびS1313残基をコードするコドンが、それぞれAAAおよびTCAコドンである(「1030s」)；

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのNS2タンパク質におけるアミノ酸置換K51Rをコードするヌクレオチド変異(「NS2」)をさらに含む；

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのNタンパク質におけるアミノ酸置換T24Aをコードするヌクレオチド変異(「N」)をさらに含む；

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのNS2タンパク質におけるアミノ酸置換K51RおよびNタンパク質におけるアミノ酸置換T24Aをコードするヌクレオチド変異(「NS2/N」)をさらに含む；

前記1つもしくは複数の改変が、SEQ ID NO:1の4198～4616位の419ヌクレオチドの欠失に対応するSH ORFの欠失(「SH」)をさらに含む；かつ/または

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのGタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、臨床分離株A/Maryland/001/11由来のGタンパク質をコードする対応するコドン最適化ヌクレオチド配列と置き換えることをさらに含む、  
請求項1～3のいずれか一項に記載の組換えRSV。

**【請求項 5】**

臨床分離株A/Maryland/001/11由来のGタンパク質をコードするコドン最適化ヌクレオチド配列が、SEQ ID NO:8 (G001BB)に対応するヌクレオチド配列を含む、請求項4に記載の組換えRSV。

**【請求項 6】**

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのFタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、SEQ ID NO:9 (FBB)として示される対応するコドン最適化ヌクレオチド配列と置き換えることをさらに含む；または

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのFタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、臨床分離株A/Maryland/001/11由来のFタンパク質をコードするSEQ ID NO:10 (F001)として示される対応するヌクレオチド配列と置き換えることをさらに含む、

請求項1～5のいずれか一項に記載の組換えRSV。

**【請求項 7】**

前記1つまたは複数の改変が、RSVのFタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、臨床分離株A/Maryland/001/11由来のFタンパク質をコードする対応するコドン最適化ヌクレ

オチド配列と置き換えることをさらに含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の組換えRSV。

【請求項8】

臨床分離株A/Maryland/001/11由来のFタンパク質をコードするコドン最適化ヌクレオチド配列が、SEQ ID NO:11 (F001BB)に対応するヌクレオチド配列を含む、請求項7に記載の組換えRSV。

【請求項9】

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのFタンパク質におけるアミノ酸置換K66EおよびQ101Pをコードするヌクレオチド変異(「HEK」)をさらに含む；

前記1つもしくは複数の改変が、RSVのFタンパク質におけるアミノ酸置換E218AおよびT523Iをコードするヌクレオチド変異(F cp置換)をさらに含む；かつ/または

前記1つもしくは複数の改変が、RSVゲノム中のGタンパク質とFタンパク質をコードする遺伝子の順序を入れ替えることをさらに含む、

請求項1～8のいずれか一項に記載の組換えRSV。

【請求項10】

前記1つまたは複数の改変が、以下の突然変異：

ΔM2-2, cp/ΔM2-2, cp/ΔM2-2/HEK, ΔM2-2/1030s, NS2/N/ΔM2-2, NS2/ΔM2-2, N/ΔM2-2, ΔSH/ΔM2-2, cp/ΔSH/ΔM2-2, 6120/ΔM2-2, 6120/cp/ΔM2-2, 6120/ΔM2-2/1030s, 6120/NS2/N/ΔM2-2, 6120/G001BB/FBB/ΔM2-2, 6120/FBB/G001BB/ΔM2-2, 6120/G001BB/F/ΔM2-2, 6120/G/FBB/ΔM2-2, 6120/G/FBBHEK/ΔM2-2, 6120/G/FBBcpHEK/ΔM2-2, 6120/FBB/G/ΔM2-2, 6120/G001BB/F001BB/ΔM2-2, 6120/NS2/ΔM2-2, もしくは 6120/N/ΔM2-2; または

ΔM2-2-AcII, cp/ΔM2-2-AcII, cp/ΔM2-2-AcII/HEK, ΔM2-2-AcII/1030s, NS2/N/ΔM2-2-AcII, NS2/ΔM2-2-AcII, N/ΔM2-2-AcII, ΔSH/ΔM2-2-AcII, cp/ΔSH/ΔM2-2-AcII, 6120/ΔM2-2-AcII, 6120/cp/ΔM2-2-AcII, 6120/ΔM2-2-AcII/1030s, 6120/NS2/N/ΔM2-2-AcII, 6120/G001BB/FBB/ΔM2-2-AcII, 6120/FBB/G001BB/ΔM2-2-AcII, 6120/G001BB/F/ΔM2-2-AcII, 6120/G/FBB/ΔM2-2-AcII, 6120/G/FBBHEK/ΔM2-2-AcII, 6120/G/FBBcpHEK/ΔM2-2-AcII, 6120/FBB/G/ΔM2-2-AcII, 6120/G001BB/F001BB/ΔM2-2-AcII, 6120/NS2/ΔM2-2-AcII, もしくは 6120/N/ΔM2-2-AcII; または

ΔM2-2-HindIII, cp/ΔM2-2-HindIII, cp/ΔM2-2-HindIII/HEK, ΔM2-2-HindIII/1030s, NS2/N/ΔM2-2-HindIII, NS2/ΔM2-2-HindIII, N/ΔM2-2-HindIII, ΔSH/ΔM2-2-HindIII, cp/ΔSH/ΔM2-2-HindIII, 6120/ΔM2-2-HindIII, 6120/cp/ΔM2-2-HindIII, 6120/ΔM2-2-HindIII/1030s, 6120/NS2/N/ΔM2-2-HindIII, 6120/G001BB/FBB/ΔM2-2-HindIII, 6120/FBB/G001BB/ΔM2-2-HindIII, 6120/G001BB/F/ΔM2-2-HindIII, 6120/G/FBB/ΔM2-2-HindIII, 6120/G/FBBHEK/ΔM2-2-HindIII, 6120/G/FBBcpHEK/ΔM2-2-HindIII, 6120/FBB/G/ΔM2-2-HindIII, 6120/G001BB/F001BB/ΔM2-2-HindIII, 6120/NS2/ΔM2-2-HindIII, もしくは 6120/N/ΔM2-2-HindIII

のいずれか1つから選択される突然変異の組み合わせを含むか、またはそれからなる、請求項1に記載の組換えRSV。

【請求項11】

組換えRSVゲノムが、前記1つもしくは複数の改変と、SEQ ID NO:1と少なくとも90%もしくは少なくとも95%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を含む；

組換えRSVゲノムが、前記1つもしくは複数の改変を含み、該RSVゲノムの残りのヌクレオチドが、SEQ ID NO:1と少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を含む；かつ/または

組換えRSVゲノムが、前記1つもしくは複数の改変を含むD46ゲノムである、  
請求項1～10のいずれか一項に記載の組換えRSV。

【請求項12】

組換えRSVゲノムが、

(a) 6120および M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:5 (LID/ M2-2配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(b) cpおよび M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:1 (D46配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(c) cpおよび M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:15 (D46/cp/ M2-2配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(d) 6120、 M2-2、および1030s変異、ならびにSEQ ID NO:16 (LID/ M2-2/1030s配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(e) 6120、cp、および M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:17 (LID/cp/ M2-2配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(f) NS2、N、 M2-2-HindIII変異、ならびにSEQ ID NO:4 (D46/ M2-2-HindIII配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(g) NS2、N、 M2-2-HindIII変異、ならびにSEQ ID NO:18 (D46/NS2/N/ M2-2-HindIII配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(h) NS2、N、 M2-2-AclI変異、ならびにSEQ ID NO:3 (D46/ M2-2-AclI配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；または

(i) NS2、N、および M2-2-AclI変異、SEQ ID NO:1に対する位置での次のヌクレオチド変異：404C、779G、C1099の欠失、1139A、1140G、1182G、1210G、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T、7560A、7702G、10515T、および13634A；ならびにSEQ ID NO:19 (276配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列

の1つを含む、請求項1に記載の組換えRSV。

#### 【請求項 1 3】

組換えRSVゲノムが、

D46/cp/ M2-2ゲノム；

LID/ M2-2/1030sゲノム；

LID/cp/ M2-2ゲノム；

D46/NS2/N/ M2-2-HindIIIゲノム；

LID/ M2-2ゲノム；または

276ゲノム

の1つである、請求項1に記載の組換えRSV。

#### 【請求項 1 4】

組換えRSVゲノムのヌクレオチド配列が、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、もしくはSEQ ID NO:18のいずれか1つとして示されるポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を含むか、またはそれからなる、請求項1に記載の組換えRSV。

#### 【請求項 1 5】

SEQ ID NO:1に対する次のヌクレオチド変異：404C、779G、1099T、1139A、1140G、1182G、1210G、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T、7560A、7702G、10515T、および13634Aの導入によってさらに改変された、SEQ ID NO:3として示されるポ

ジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を、組換えRSVゲノムが含む；

SEQ ID NO:1に対する次のヌクレオチド変異：404C、779G、C1099の欠失、1139A、1140G、1182G、1210G、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T、7560A、7702G、10515T、および13634Aの導入によってさらに改変された、SEQ ID NO:3として示されるポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を、組換えRSVゲノムが含む；

SEQ ID NO:1に対する位置での次のヌクレオチド置換：404C、779G、1099T、1139A、1140G、1182G、1210G、1938A、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T、7560A、7702G、10515T、13634A、13901Tの1つもしくは複数の導入によってさらに改変された、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3およびSEQ ID NO:4からなる群より選択された配列を、組換えRSVゲノムもしくはアンチゲノムが含む、

請求項1に記載の組換えRSV。

【請求項16】

サブタイプAのRSVである、請求項1～15のいずれか一項に記載の組換えRSV。

【請求項17】

サブタイプBのRSVである、請求項1～10のいずれか一項に記載の組換えRSV。

【請求項18】

感染性であり、弱毒化されており、かつ自己複製性である、請求項1～17のいずれか一項に記載の組換えRSV。

【請求項19】

請求項1～18のいずれか一項に記載の組換えRSVゲノムのヌクレオチド配列、または該RSVゲノムのアンチゲノムcDNAもしくはRNA配列を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項20】

請求項19に記載のポリヌクレオチド分子を含む、ベクター。

【請求項21】

請求項19に記載のポリヌクレオチド分子または請求項20に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項22】

請求項20に記載のベクターで許容性細胞培養物をトランスフェクトする段階；

該細胞培養物を、ウイルス複製を可能にするのに十分な期間インキュベートする段階；  
および

複製された組換えRSVを精製する段階  
を含む、組換えRSVを産生する方法。

【請求項23】

請求項22に記載の方法によって産生された、組換えRSV。

【請求項24】

請求項1～18または23のいずれか一項に記載の組換えRSVを含む、薬学的組成物。

【請求項25】

請求項1～18または23のいずれか一項に記載の組換えRSVを免疫原として有効な量で含む、対象においてRSVに対する免疫応答を誘発するための薬学的組成物。

【請求項26】

前記免疫応答が防御免疫応答である、請求項25に記載の薬学的組成物。

【請求項27】

鼻腔内投与される；または

注射、エアロゾル送達、鼻腔用スプレー、もしくは点鼻剤によって投与される、  
請求項25または26に記載の薬学的組成物。

【請求項28】

前記対象がヒトである；

前記対象が1～6ヶ月齢である；かつ/または

前記対象がRSVについて血清反応陰性である、

請求項25～27のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0020

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0020】

## [本発明1001]

組換えRSV(respiratory syncytial virus)ゲノムに対する1つまたは複数の改変によって弱毒化された組換えRSVであって、該1つまたは複数の改変が、

(a) SEQ ID NO:1のT8161、T8167およびT8179に対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8189～8429位の241ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2オープンリーディングフレーム(ORF)の欠失(「M2-2」)；

(b) SEQ ID NO:1の8198Aおよび8200Gに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8203～8436位の234ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2 ORFの欠失(「M2-2-AcII」)；または

(c) SEQ ID NO:1の8198Aおよび8199Gに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8203～8436位の234ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2 ORFの欠失(「M2-2-HindIII」)

を含み、

該組換えRSVゲノムが該1つまたは複数の改変によって弱毒化されたD46ゲノムである、組換えRSV。

## [本発明1002]

前記1つまたは複数の改変が、SEQ ID NO:1のC4489T、C4492T、A4495T、A4497GおよびG4498Aに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の4499～4610位に対応する112ヌクレオチドの欠失(「6120」)をさらに含む、本発明1001の組換えRSV。

## [本発明1003]

組換えRSVゲノムに対する1つまたは複数の改変によって弱毒化された組換えRSVであって、該1つまたは複数の改変が、

SEQ ID NO:1の8198Aおよび8199Gに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の8203～8436位の234ヌクレオチドの欠失に対応するM2-2 ORFの欠失(「M2-2-HindIII」)；および

SEQ ID NO:1のC4489T、C4492T、A4495T、A4497GおよびG4498Aに対応する位置でのヌクレオチド変異と組み合わせた、SEQ ID NO:1の4499～4610位に対応する112ヌクレオチドの欠失(「6120」)

を含む、組換えRSV。

## [本発明1004]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのNタンパク質におけるV267I、Fタンパク質におけるE218AおよびT523I、ならびにLタンパク質におけるC319YおよびH1690Yのアミノ酸置換をコードするヌクレオチド変異(「cp」)をさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

## [本発明1005]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのLタンパク質にY1321K置換を導入するヌクレオチド変異をさらに含み、該Lタンパク質が、S1313残基を含み、Y1321K置換およびS1313残基をコードするコドンが、それぞれAAAおよびTCAコドンである(「1030s」)、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

## [本発明1006]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのNS2タンパク質におけるアミノ酸置換K51Rをコードするヌクレオチド変異(「NS2」)をさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

## [本発明1007]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのNタンパク質におけるアミノ酸置換T24Aをコードするヌクレオチド変異(「N」)をさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1008]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのNS2タンパク質におけるアミノ酸置換K51RおよびNタンパク質におけるアミノ酸置換T24Aをコードするヌクレオチド変異(「NS2/N」)をさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1009]

前記1つまたは複数の改変が、SEQ ID NO:1の4198～4616位の419ヌクレオチドの欠失に対応するSH ORFの欠失(「SH」)をさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1010]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのGタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、臨床分離株A/Maryland/001/11由来のGタンパク質をコードする対応するコドン最適化ヌクレオチド配列と置き換えることをさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1011]

臨床分離株A/Maryland/001/11由来のGタンパク質をコードするコドン最適化ヌクレオチド配列が、SEQ ID NO:8 (G001BB)に対応するヌクレオチド配列を含む、本発明1010の組換えRSV。

[本発明1012]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのFタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、SEQ ID NO:9 (FBB)として示される対応するコドン最適化ヌクレオチド配列と置き換えることをさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1013]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのFタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、臨床分離株A/Maryland/001/11由来のFタンパク質をコードするSEQ ID NO:10 (F001)として示される対応するヌクレオチド配列と置き換えることをさらに含む、本発明1001～1011のいずれかの組換えRSV。

[本発明1014]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのFタンパク質をコードするヌクレオチド配列を、臨床分離株A/Maryland/001/11由来のFタンパク質をコードする対応するコドン最適化ヌクレオチド配列と置き換えることをさらに含む、本発明1001～1011のいずれかの組換えRSV。

[本発明1015]

臨床分離株A/Maryland/001/11由来のFタンパク質をコードするコドン最適化ヌクレオチド配列が、SEQ ID NO:11 (F001BB)に対応するヌクレオチド配列を含む、本発明1014の組換えRSV。

[本発明1016]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのFタンパク質におけるアミノ酸置換K66EおよびQ101Pをコードするヌクレオチド変異(「HEK」)をさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1017]

前記1つまたは複数の改変が、RSVのFタンパク質におけるアミノ酸置換E218AおよびT523Iをコードするヌクレオチド変異(F cp置換)をさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1018]

前記1つまたは複数の改変が、RSVゲノム中のGタンパク質とFタンパク質をコードする遺伝子の順序を入れ替えることをさらに含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1019]

前記1つまたは複数の改変が、以下の突然変異：

$\Delta M2-2$ , cp/ $\Delta M2-2$ , cp/ $\Delta M2-2$ /HEK,  $\Delta M2-2/1030s$ , NS2/N/ $\Delta M2-2$ , NS2/ $\Delta M2-2$ , N/ $\Delta M2-2$ ,  $\Delta SH/\Delta M2-2$ , cp/ $\Delta SH/\Delta M2-2$ , 6120/ $\Delta M2-2$ , 6120/cp/ $\Delta M2-2$ , 6120/ $\Delta M2-2/1030s$ , 6120/NS2/N/ $\Delta M2-2$ , 6120/G001BB/FBB/ $\Delta M2-2$ , 6120/FBB/G001BB/ $\Delta M2-2$ , 6120/G001BB/F/ $\Delta M2-2$ , 6120/G/FBB/ $\Delta M2-2$ , 6120/G/FBBHEK/ $\Delta M2-2$ , 6120/G/FBBcpHEK/ $\Delta M2-2$ , 6120/FBB/G/ $\Delta M2-2$ , 6120/G001BB/F001BB/ $\Delta M2-2$ , 6120/NS2/ $\Delta M2-2$ , もしくは 6120/N/ $\Delta M2-2$ ; または

$\Delta M2-2-AcII$ , cp/ $\Delta M2-2-AcII$ , cp/ $\Delta M2-2-AcII$ /HEK,  $\Delta M2-2-AcII/1030s$ , NS2/N/ $\Delta M2-2-AcII$ , NS2/ $\Delta M2-2-AcII$ , N/ $\Delta M2-2-AcII$ ,  $\Delta SH/\Delta M2-2-AcII$ , cp/ $\Delta SH/\Delta M2-2-AcII$ , 6120/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/cp/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/ $\Delta M2-2-AcII/1030s$ , 6120/NS2/N/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/G001BB/FBB/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/FBB/G001BB/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/G001BB/F/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/G/FBB/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/G/FBBHEK/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/G/FBBcpHEK/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/FBB/G/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/G001BB/F001BB/ $\Delta M2-2-AcII$ , 6120/NS2/ $\Delta M2-2-AcII$ , もしくは 6120/N/ $\Delta M2-2-AcII$ ; または

$\Delta M2-2-HindIII$ , cp/ $\Delta M2-2-HindIII$ , cp/ $\Delta M2-2-HindIII$ /HEK,  $\Delta M2-2-HindIII/1030s$ , NS2/N/ $\Delta M2-2-HindIII$ , NS2/ $\Delta M2-2-HindIII$ , N/ $\Delta M2-2-HindIII$ ,  $\Delta SH/\Delta M2-2-HindIII$ , cp/ $\Delta SH/\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/cp/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/ $\Delta M2-2-HindIII/1030s$ , 6120/NS2/N/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/G001BB/FBB/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/FBB/G001BB/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/G001BB/F/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/G/FBB/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/G/FBBHEK/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/G/FBBcpHEK/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/FBB/G/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/G001BB/F001BB/ $\Delta M2-2-HindIII$ , 6120/NS2/ $\Delta M2-2-HindIII$ , もしくは 6120/N/ $\Delta M2-2-HindIII$

のいずれか1つから選択される突然変異の組み合わせを含むか、またはそれからなる、本発明1001の組換えRSV。

[本発明1020]

組換えRSVゲノムが、前記1つまたは複数の改変と、SEQ ID NO:1と少なくとも90%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列とを含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1021]

組換えRSVゲノムが、前記1つまたは複数の改変と、SEQ ID NO:1と少なくとも95%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列とを含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1022]

組換えRSVゲノムが、前記1つまたは複数の改変を含み、該RSVゲノムの残りのヌクレオチドが、SEQ ID NO:1と少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を含む、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1023]

組換えRSVゲノムが、前記1つまたは複数の改変を含むD46ゲノムである、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1024]

組換えRSVゲノムが、

(a) 6120および M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:5 (LID/ M2-2配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列;

(b) cpおよび M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:1 (D46配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列;

(c) cpおよび M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:15 (D46/cp/ M2-2配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列;



(d) 6120、 M2-2、および1030s変異、ならびにSEQ ID NO:16 (LID/ M2-2/1030s配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(e) 6120、cp、および M2-2変異、ならびにSEQ ID NO:17 (LID/cp/ M2-2配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(f) NS2、N、 M2-2-HindIII変異、ならびにSEQ ID NO:4 (D46/ M2-2-HindIII配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(g) NS2、N、 M2-2-HindIII変異、ならびにSEQ ID NO:18 (D46/NS2/N/ M2-2-HindIII配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；

(h) NS2、N、 M2-2-AclI変異、ならびにSEQ ID NO:3 (D46/ M2-2-AclI配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列；または

(i) NS2、N、および M2-2-AclI変異、SEQ ID NO:1に対する位置での次のヌクレオチド変異：404C、779G、C1099の欠失、1139A、1140G、1182G、1210G、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T、7560A、7702G、10515T、および13634A；ならびにSEQ ID NO:19 (276配列)と少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、および/または少なくとも99%同一のポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列の1つを含む、本発明1001の組換えRSV。

[本発明1025]

組換えRSVゲノムが、

D46/cp/ M2-2ゲノム；

LID/ M2-2/1030sゲノム；

LID/cp/ M2-2ゲノム；

D46/NS2/N/ M2-2-HindIIIゲノム；

LID/ M2-2ゲノム；または

276ゲノム

の1つである、本発明1001の組換えRSV。

[本発明1026]

組換えRSVゲノムのヌクレオチド配列が、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、もしくはSEQ ID NO:19のいずれか1つとして示されるポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を含むか、またはそれからなる、本発明1001の組換えRSV。

[本発明1027]

SEQ ID NO:1に対する次のヌクレオチド変異：404C、779G、1099T、1139A、1140G、1182G、1210G、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T、7560A、7702G、10515T、および13634Aの導入によってさらに改変された、SEQ ID NO:3として示されるポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を、組換えRSVゲノムを含む、本発明1001の組換えRSV。

[本発明1028]

SEQ ID NO:1に対する次のヌクレオチド変異：404C、779G、C1099の欠失、1139A、1140G、1182G、1210G、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T、7560A、7702G、10515T、および13634Aの導入によってさらに改変された、SEQ ID NO:3として示されるポジティブセンス配列に対応するヌクレオチド配列を、組換えRSVゲノムを含む、本発明1001の組換えRSV。

[本発明1029]

SEQ ID NO:1に対する位置での次のヌクレオチド置換：404C、779G、1099T、1139A、1140G、1182G、1210G、1938A、5612A、5616A、5640G、6216C、6222C、6387T、7215C、7482T

、7560A、7702G、10515T、13634A、13901Tの1つまたは複数の導入によってさらに改変された、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3およびSEQ ID NO:4からなる群より選択された配列を、組換えRSVゲノムまたはアンチゲノムを含む、本発明1001の組換えRSV。

[本発明1030]

サブタイプAのRSVである、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1031]

サブタイプBのRSVである、本発明1001～1019のいずれかの組換えRSV。

[本発明1032]

感染性であり、弱毒化されており、かつ自己複製性である、前記本発明のいずれかの組換えRSV。

[本発明1033]

本発明1001～1032のいずれかの組換えRSVゲノムのヌクレオチド配列、または該RSVゲノムのアンチゲノムcDNAもしくはRNA配列を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

[本発明1034]

本発明1033のポリヌクレオチド分子を含む、ベクター。

[本発明1035]

本発明1033のポリヌクレオチド分子または本発明1034のベクターを含む、細胞。

[本発明1036]

本発明1034のベクターで許容性細胞培養物をトランスフェクトする段階；  
該細胞培養物を、ウイルス複製を可能にするのに十分な期間インキュベートする段階；  
および

複製された組換えRSVを精製する段階  
を含む、組換えRSVを産生する方法。

[本発明1037]

本発明1036の方法によって産生された、組換えRSV。

[本発明1038]

本発明1001～1032または1037のいずれかの組換えRSVを含む、薬学的組成物。

[本発明1039]

免疫原として有効な量の本発明1038の薬学的組成物を対象に投与する段階を含む、対象においてRSVに対する免疫応答を誘発する方法。

[本発明1040]

前記免疫応答が防御免疫応答である、本発明1039の方法。

[本発明1041]

薬学的組成物が鼻腔内投与される、本発明1039または1040の方法。

[本発明1042]

前記RSVが注射、エアロゾル送達、鼻腔用スプレー、または点鼻剤によって投与される、本発明1039または1040の方法。

[本発明1043]

前記対象がヒトである、本発明1039～1042のいずれかの方法。

[本発明1044]

前記対象が1～6ヶ月齢である、本発明1039～1043のいずれかの方法。

[本発明1045]

前記対象がRSVについて血清反応陰性である、本発明1039～1044のいずれかの方法。

[本発明1046]

対象においてRSVに対する免疫応答を誘発するための、本発明1001～1032または本発明1037のいずれかの組換えRSVの使用。

本開示の上記のおよび他の特徴ならびに利点は、添付の図面を参照しながら進めるいくつかの態様の以下の詳細な説明から、より明らかになるであろう。