

【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28年10月20日 (2016.10.20)

【公表番号】特表2014-521353(P2014-521353A)  
 【公表日】平成26年8月28日 (2014.8.28)  
 【年通号数】公開・登録公報2014-046  
 【出願番号】特願2014-524110(P2014-524110)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 7/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 7/00 Z B P

【誤訳訂正書】  
 【提出日】平成28年9月2日 (2016.9.2)  
 【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲  
 【訂正対象項目名】請求項 1 4  
 【訂正方法】変更  
 【訂正の内容】  
 【請求項 1 4】

前記 H e L a 細胞が、少なくとも一つのローラーボトル培養容器で継代され、該ローラーボトル培養容器が、直前の培養容器と比べて増加した培養面積を有する、請求項 1 3 に記載の方法。

【誤訳訂正 2】  
 【訂正対象書類名】明細書  
 【訂正対象項目名】0 0 1 8  
 【訂正方法】変更  
 【訂正の内容】  
 【0 0 1 8】

本方法は、感染の前、最中または後に、H e L a 細胞培養物を増大させるステップをさらに含んでもよい。H e L a 細胞は、少なくとも 1 本、2 本、3 本、4 本、5 本、またはそれ以上の培養容器、例えば、ローラーボトル培養容器で継代させてもよい。特定の態様では、細胞は、例えば H y Q t a s e (登録商標) 等のプロテアーゼおよび/またはコラーゲン分解酵素を含む剥離溶液と処理することにより表面から剥離させる。各容器は、直前の培養容器に比べて増加した培養面積を有してもよい。特定の態様では、これら培養容器の全培養面積は、少なくとも  $84,000\text{ cm}^2 \sim 1,000,000\text{ cm}^2$  である。特定の態様では、最終通路は、少なくとも  $168,000\text{ cm}^2$  の培養面積を有する培養容器である。

【誤訳訂正 3】  
 【訂正対象書類名】明細書  
 【訂正対象項目名】0 0 2 7  
 【訂正方法】変更  
 【訂正の内容】  
 【0 0 2 7】

[本発明1001]

ワクシニアウィルスを生成するための方法であって、  
 (a) 表面に接着した H e L a 細胞を  $0.005 \sim 1.0$  プラーク形成単位 (p f u) / 細胞の感染多重度 (m . o . i .) でワクシニアウィルスと接触させることにより、該 H e L a 細胞をワクシニアウィルスに感染させるステップと、

(b) pH7.1超を有する感染培地中で、感染させた該細胞を培養するステップと、  
(c) 培養物からワクシニアウィルスを採取するステップと  
を含む、方法。

[本発明1002]

ステップ(a)の間、接着したHeLa細胞の密度が、 $10^4 \sim 10^6$ 個のHeLa細胞/cm<sup>2</sup>である、本発明1001の方法。

[本発明1003]

ステップ(a)の間、接着したHeLa細胞の密度が、約 $10^5$ 個のHeLa細胞/cm<sup>2</sup>である、本発明1002の方法。

[本発明1004]

前記HeLa細胞が、セルキューブ、セルファクトリー、T型フラスコ、ローラーボトル、またはマイクロキャリアに接着している、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1005]

前記HeLa細胞が、一つ以上のプラスチックのローラーボトル容器に接着している、本発明1004の方法。

[本発明1006]

前記一つ以上のローラーボトルが少なくとも168,000cm<sup>2</sup>の培養面積を備えている、本発明1005の方法。

[本発明1007]

ステップ(a)の間、ワクシニアウィルスの濃度が $10^3 \sim 10^5$  p f u / m l である、本発明1001～1006のいずれかの方法。

[本発明1008]

ステップ(a)の間、ワクシニアウィルスの濃度が約 $10^4$  p f u / m l である、本発明1007の方法。

[本発明1009]

前記感染培地のpHが、7.2超であり、かつ好ましくは約7.3である、本発明1001～1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

ステップ(a)およびステップ(b)が、36～37.5の温度で、好ましくは37で実施される、本発明1001～1009のいずれかの方法。

[本発明1011]

ステップ(b)が、40～80時間、好ましくは約44時間の期間実施される、本発明1001～1010のいずれかの方法。

[本発明1012]

HeLa細胞1個当たり少なくとも50 p f u のワクシニアウィルスが生成され、好ましくは、HeLa細胞1個当たり少なくとも75 p f u のワクシニアウィルスが生成される、本発明1001～1011のいずれかの方法。

[本発明1013]

前記培地が、硫酸デキストラン、Pluronic(登録商標)F-68、ポリソルベート80、および大豆加水分解物のうちの一つ以上を含まない、本発明1001～1012のいずれかの方法。

[本発明1014]

前記培地が硫酸デキストランを含まない、本発明1013の方法。

[本発明1015]

前記培地が、硫酸デキストラン、Pluronic(登録商標)F-68、ポリソルベート80、および大豆加水分解物を欠如している、本発明1014の方法。

[本発明1016]

前記培地がウシ胎児血清を含む、本発明1001～1015のいずれかの方法。

[本発明1017]

前記培地が10%未満のウシ胎児血清を含む、本発明1016の方法。

[本発明1018]

前記培地が血清を含まない、本発明1001～1015のいずれかの方法。

[本発明1019]

ステップ(a)のm.o.i.が、約0.01～0.5 p f u /細胞であり、かつ好ましくは約0.02 p f u /細胞である、本発明1001～1018のいずれかの方法。

[本発明1019]

採取された前記ウィルスが一つ以上の精製ステップに供される、本発明1001～1018のいずれかの方法。

[本発明1020]

前記精製が、H e L a細胞核酸を除去するためのヌクレアーゼによる前記採取されたウィルスの処理、および/またはH e L a細胞タンパク質を除去するためのプロテアーゼによる該採取されたウィルスの処理を含む、本発明1019の方法。

[本発明1021]

前記精製がタンジェンシャルフロー濾過ステップを含む、本発明1019または1020の方法。

[本発明1022]

前記精製が、ヘパリンアフィニティークロマトグラフィーステップを含む、本発明1019～1021のいずれかの方法。

[本発明1023]

前記精製が、膜吸収クロマトグラフィーステップを含む、本発明1019～1022のいずれかの方法。

[本発明1024]

前記ワクシニアウィルスが、ワクシニアウィルスのI H D - J株、ワイス株、ウェスタンリザーブ株、またはコペンハーゲン株である、本発明1001～1023のいずれかの方法。

[本発明1025]

前記ワクシニアウィルスが組み換え型ワクシニアウィルスである、本発明1024の方法。

[本発明1026]

前記組み換え型ワクシニアウィルスが、免疫促進性ポリペプチドをコードする異種のコード領域を含む、本発明1025の方法。

[本発明1027]

前記免疫促進性ポリペプチドがサイトカインである、本発明1026の方法。

[本発明1028]

前記サイトカインが顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(G M - C S F)である、本発明1027の方法。

[本発明1029]

前記組み換え型ワクシニアウィルスが腫瘍細胞において選択的に複製する、本発明1028の方法。

[本発明1030]

前記組み換え型ワクシニアウィルスが内因性遺伝子中に突然変異を含んでいる、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記組み換え型ワクシニアウィルスが機能性チミジンキナーゼ遺伝子を欠如している、本発明1030の方法。

[本発明1032]

前記組み換え型ワクシニアウィルスが、ワクシニアウィルスのI H D - J株、ワイス(W y e t h)株、ウェスタンリザーブ株、またはコペンハーゲン株である、本発明1031の方法。

[本発明1033]

前記組み換え型ワクシニアウィルスが、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子ポリペプチドをコードする、本発明1032の方法。

## [本発明1034]

感染の前に H e L a 培養物を増大させることをさらに含む、本発明1001～1033のいずれかの方法。

## [本発明1035]

前記 H e L a 細胞が、少なくとも一つのローラーボトル培養容器で継代され、該ローラーボトル培養容器が、直前の培養容器と比べて増加した培養面積を有する、本発明1034の方法。

## [本発明1036]

前記ローラーボトル培養容器が少なくとも  $850\text{ cm}^2$  の培養面積を有する、本発明1035の方法。

## [本発明1037]

最終通路が、少なくとも  $168,000\text{ cm}^2$  の培養面積を有するローラーボトル培養容器である、本発明1035の方法。

## [本発明1038]

前記ローラーボトル培養容器の播種と、感染との間の間隔が、48～96時間である、本発明1037の方法。

## [本発明1039]

前記接着 H e L a 細胞を  $2 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$  個の組み換え型複製コンピテントワクシニアウイルス / ml と接触させる、本発明1038の方法。

本発明の他の目的、特徴および利点は、以下の詳細な説明から明らかになる。しかしながら、本発明では特定の実施形態を示しているが、詳細な説明および特定の各実施例は、例示目的にのみ示すものであると理解されるべきであり、この理由は、本発明の主旨およびその範囲内での各種の変形および変更は、この詳細な説明から当業者に明らかになるからである。