

【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26年7月10日(2014.7.10)

【公表番号】特表2013-529913(P2013-529913A)

【公表日】平成25年7月25日(2013.7.25)

【年通号数】公開・登録公報2013-040

【出願番号】特願2013-512943(P2013-512943)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 7/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 7/00 Z N A

【手続補正書】

【提出日】平成26年5月22日(2014.5.22)

【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】

マイナス鎖の分節化したRNAウィルスの生産方法であって、

a) いかなる増幅及び/又は選択配列も含まない線状発現コンストラクトを提供する工程、このコンストラクトは、RNAポリメラーゼI (polI) プロモーター及びpolI終結シグナルを含み、両者はRNAポリメラーゼII (polII) プロモーター及びポリアデニル化シグナルの間に挿入されており、このコンストラクトはさらに、polIプロモーター及びpolI終結シグナルの間に挿入されたHA及び/又はNA遺伝子分節を含む、

b) 宿主細胞を前記線状発現コンストラクトでトランスフェクションする工程、

c) 前記宿主細胞を、ヘルパーウイルスHA及び/又はNAタンパク質を有するヘルパーウイルスで感染させる工程、その際、前記NAタンパク質は、N末端の細胞質ドメイン内に少なくとも1のアミノ酸改変を含む、

d) 前記宿主細胞を培養して、ウイルス粒子を増殖させる工程、

e)

(i) 前記線状発現コンストラクト由来の前記HA及び/又はNAタンパク質を含むが、

(ii) 前記ヘルパーウイルスHA及びNAタンパク質、又はこの分節を含まない、ウイルス粒子を選択する工程、

その際、前記選択は、前記HA及び/又はNAタンパク質のフェノタイプの、ゲノタイプの又は抗原の特性に基づく、及び任意に

f) ヘルパーウイルスHA及びNAタンパク質の非存在を、核酸又はアミノ酸配列の分析により決定する工程

を含む生産方法。

【請求項2】

宿主細胞が、PB1、PB2、PA、NS、M及びNPからなる群から選択されるタンパク質をコードする線状コンストラクトでトランスフェクションされる請求項1記載の方法。

【請求項3】

前記ヘルパーウイルス由来のH Aタンパク質を含む子孫ウイルス粒子が、子孫ウイルス粒子をプロテアーゼで処理することにより候補ウイルス粒子から分離され、その際、前記プロテアーゼは、ヘルパーウイルス由来のH Aタンパク質を切断しないが、前記候補ウイルス粒子のH Aタンパク質を切断する請求項1又は2記載の方法。

【請求項4】

前記プロテアーゼが、トリプシン、エラスターゼ、キモトリプシン、パパインからなる群から選択される請求項1から3のいずれか1項記載の方法。

【請求項5】

ヘルパーウイルスのH Aタンパク質が、プロテアーゼにより切断されるように改変され、その際、前記プロテアーゼがトリプシンでない請求項1又は2記載の方法。

【請求項6】

ヘルパーウイルス起源のH A及びN Aタンパク質を含む子孫ウイルス粒子が、低pH条件を提供することにより候補ウイルス粒子から分離される請求項1又は3記載の方法。

【請求項7】

ヘルパーウイルス起源のH A及び/又はN Aタンパク質を含む子孫ウイルス粒子が、この子孫ウイルスと、前記H A及び/又はN Aタンパク質に結合する抗体とを接触させることにより候補ウイルス粒子から分離される請求項1から6のいずれか1項記載の方法。

【請求項8】

ヘルパーウイルスN Aタンパク質が、配列番号10の番号付けに応じた配列に比較してN末端アミノ酸1～6の少なくとも1の欠失を含む請求項1から7のいずれか1項記載の方法。

【請求項9】

前記ヘルパーウイルスN Aタンパク質が、配列番号10の番号付けに応じた配列に比較してN末端アミノ酸2～6の欠失を含む請求項1から8のいずれか1項記載の方法。

【請求項10】

前記ヘルパーウイルスが、減少した活性を有するN Aタンパク質を含むか、又は機能的N Aタンパク質を欠損する請求項1から9のいずれか1項記載の方法。

【請求項11】

前記ヘルパーウイルスが、インフルエンザCウイルスのH E Fタンパク質を含む請求項1から10のいずれか1項記載の方法。

【請求項12】

前記ヘルパーウイルスのH E Fタンパク質が、プロテアーゼにより切断されるように改変され、その際、前記プロテアーゼがトリプシンでない請求項10記載の方法。

【請求項13】

前記ヘルパーウイルスが、コロナウイルスのH Aタンパク質を含む請求項1から10のいずれか1項記載の方法。

【請求項14】

前記ウイルス粒子が、インフルエンザウイルス粒子である請求項1から13のいずれか1項記載の方法。

【請求項15】

前記ウイルス粒子が、弱毒したインフルエンザウイルス粒子である請求項1から14のいずれか1項記載の方法。

【請求項16】

前記ウイルスが、N S 1遺伝子内で欠失又は改変を含む請求項1から15のいずれか1項記載の方法。

【請求項17】

前記ヘルパーウイルスが、改変したか又は欠失したN S遺伝子を含み、かつ、インターフェロンコンピテント細胞において成長不全である請求項1から16のいずれか1項記載の方法。

【請求項18】

前記ヘルパーウイルスが、生産すべきウイルスに対して同一である、少なくとも4、好ましくは少なくとも5、好ましくは6の分節を含む請求項1から17のいずれか1項記載の方法。

【請求項19】

エラスターゼ切断部位を有するHAタンパク質及び少なくとも1のアミノ酸改変をN末端の細胞質ドメイン内に有するNAタンパク質を含むヘルパーウイルス。

【請求項20】

前記NAタンパク質のN末端アミノ酸2～6が欠失している請求項19記載のヘルパーウイルス。

【請求項21】

HA及びNAタンパク質が、A/ニューカレドニア/20/99に起源を有し、かつ、HAタンパク質がエラスターゼ切断部位を含み、NAタンパク質が末端アミノ酸2～6の欠失を含むヘルパーウイルス。