

【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25年11月21日 (2013.11.21)

【公開番号】特開2013-179943(P2013-179943A)

【公開日】平成25年9月12日 (2013.9.12)

【年通号数】公開・登録公報2013-050

【出願番号】特願2013-89445(P2013-89445)

【国際特許分類】

C 1 2 N 7/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 7/00 Z N A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成25年10月4日 (2013.10.4)

【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】

1 1 4 位置にアラニンへのアミノ酸置換を含み、4 1 0 位置にヒスチジンへのアミノ酸置換を含む N P ポリペプチドをもたらす突然変異を含有する人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルスであって、該 N P ポリペプチドが 5 5 位置にスレオニンを含み、且つ該インフルエンザ B ウイルスが温度感受性表現型をもつものである人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 2】

前記 N P ポリペプチドが、5 0 9 位置にスレオニンへのアミノ酸置換を含むものである請求項 1 に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 3】

前記 N P ポリペプチド中のアミノ酸置換が、1 1 4 位置でのアラニンへの置換、4 1 0 位置でのヒスチジンへの置換、及び 5 0 9 位置でのスレオニンへの置換から構成されるものである請求項 2 に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 4】

4 3 1 位置にメチオニンへのアミノ酸置換及び / 又は 4 9 7 位置でのヒスチジンへのアミノ酸置換の少なくとも 1 個を含む P A ポリペプチドをもたらす 1 個以上の突然変異を含有する請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 5】

1 5 9 位置でのグルタミンへのアミノ酸置換及び 1 8 3 位置でのバリンへのアミノ酸置換の少なくとも 1 個を含む M 1 ポリペプチドをもたらす 1 個以上の突然変異を含有する人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルスを含み、且つ該インフルエンザ B ウイルスが弱毒性表現型をもつ請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 6】

6 3 0 位置にアルギニンへのアミノ酸置換を含む P B 2 ポリペプチドをもたらす 1 個以

上の突然変異を含有する請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 7】

リアソータントインフルエンザ B ウイルスが 6 : 2 リアソータントインフルエンザ B ウイルスである請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 8】

33 の細胞培養で増殖したウイルスの力価が、37 で増殖した同じウイルスの力価に比較して少なくとも $2 \log_{10}$ 大きい請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 9】

ウイルスがインフルエンザ B / Ann Arbor / 1 / 66 株に由来する請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 10】

インフルエンザ B ウイルスが、フェレット弱毒アッセイにおいて、アミノ酸置換を含有しないインフルエンザ B ウイルスに比較して少なくとも $2.0 \log_{10} \sim 5.0 \log_{10}$ の複製低下を示す請求項 5 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 11】

インフルエンザ B ウイルスが、フェレット弱毒アッセイにおいて検出不能な複製を示す請求項 10 に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルス。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルスと、医薬キャリアー又は賦形剤とを含む組成物。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の組成物を投与する段階を含む、免疫応答を刺激する方法。

【請求項 14】

(a) 114 位置にアラニンへのアミノ酸置換を含み、410 位置にヒスチジンへのアミノ酸置換を含む NP ポリペプチドをもたらし突然変異をインフルエンザ B ウイルスゲノムに導入する段階であって、前記 NP ポリペプチドが 55 位置にスレオニンを含むものである該段階、

(b) 培養した宿主細胞集団に複数のベクターを導入する段階であって、該複数のベクターはインフルエンザ B ウイルスゲノムに相当し、且つ (a) 段階で生じた突然変異を含有するものである該段階、

(c) 宿主細胞集団を培養する段階、及び

(d) (c) 段階の宿主細胞により生産された人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルスを回収する段階であって、前記インフルエンザ B ウイルスは温度感受性表現型をもつものである該段階、

を含む人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザ B ウイルスの製造方法。

【請求項 15】

509 位置にスレオニンへのアミノ酸置換を含む NP ポリペプチドをもたらし 1 個以上の突然変異をインフルエンザ B ウイルスゲノムに導入する段階を含む請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

114 位置でのアラニンへの置換、410 位置でのヒスチジンへの置換、及び 509 位置でのスレオニンへの置換から構成されるアミノ酸置換を有する NP ポリペプチドをもたらし突然変異をインフルエンザ B ウイルスゲノムに導入する段階を含む請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

431 位置でのメチオニンへのアミノ酸置換及び497 位置でのヒスチジンへのアミノ酸置換の少なくとも1 個を含有するPAポリペプチドをもたらす1 個以上の突然変異をインフルエンザB ウイルスゲノムに導入する段階を含む請求項14～16 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項18】

159 位置でのグルタミンへのアミノ酸置換及び183 位置でのバリンへのアミノ酸置換の少なくとも1 個を含有するM1ポリペプチドをもたらす突然変異をインフルエンザB ウイルスゲノムに導入する段階を含み、且つ前記インフルエンザB ウイルスが弱毒表現型をもつものである請求項14～17 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項19】

630 位置にアルギニンへのアミノ酸置換を含むPB2ポリペプチドをもたらす突然変異をインフルエンザB ウイルスゲノムに導入する段階を含む請求項14～18 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項20】

リアソータントインフルエンザB ウイルスが6：2 リアソータントインフルエンザB ウイルスである請求項14～19 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項21】

33 の細胞培養で増殖したウイルスの力価が、37 で増殖した同じウイルスの力価に比較して少なくとも $2.1 \log_{10}$ 大きい請求項14～20 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項22】

ウイルスがインフルエンザB / Ann Arbor / 1 / 66 株に由来する請求項14～21 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項23】

人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザB ウイルスを、(d) 段階後、培養細胞中又は鶏卵中に通過させることにより増幅する段階を更に含む請求項14～22 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項24】

インフルエンザB ウイルスが、フェレット弱毒アッセイにおいて、アミノ酸置換を含有しないインフルエンザB ウイルスに比較して少なくとも $2.0 \log_{10} \sim 5.0 \log_{10}$ の複製低下を示す請求項18～23 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項25】

インフルエンザB ウイルスが、フェレット弱毒アッセイにおいて検出不能な複製を示す請求項24 に記載の方法。

【請求項26】

細胞が35 以下の温度で培養される請求項14～25 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項27】

培養細胞又は宿主細胞が独立にVero細胞、MDCK細胞、293T細胞及びCOS細胞から選択される請求項14～26 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項28】

突然変異が部位特異的突然変異誘発法により導入される請求項14～27 のいずれか1 項に記載の方法。

【請求項29】

人工構築組換え又はリアソータントインフルエンザB ウイルスを、(d) 段階後、医薬キャリアー又は賦形剤と配合する段階を更に含む請求項14～27 のいずれか1 項に記載の方法。