

目 次

第VII部 特定技術分野の審査基準(改訂案)

第2章 生物関連発明

1. 遺伝子工学	
2. 微生物	
3. 植物	
4. 動物	
5. 寄託	
6. 遺伝子関連発明事例集	
7. タンパク質立体構造関連発明事例集	
8. 微生物等の寄託の可否に関する事例集(案).....	46
8.1 細菌に関する発明.....	47
8.2 抗体に関する発明.....	50
8.3 細胞に関する発明.....	53
8.4 動物に関する発明.....	55

[付録1] 分類学的性質の記載要領

[付録2] 国際寄託当局一覧・国際寄託当局が寄託を認めている微生物の種類一覧

[付録3] 塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン

第2章 生物関連発明

8. 微生物等の寄託の要否に関する事例集(案)

以下においては、出願前に微生物等(ここにおいて「微生物等」には、微生物、植物、動物が含まれる。)を寄託する必要があるか否かの判断に関して、具体的な事例に基づいて説明する。

寄託の要否に関する一般的な事項については「5. 寄託」参照。

本事例集には、以下の事例が含まれている。

8.1 細菌に関する発明

事例 1-1 当業者が細菌を容易に入手できる事例(寄託不要)

事例 1-2 当業者が細菌を容易に入手できない事例(寄託必要)

事例 1-3 細菌由来のDNAに係る発明の事例(寄託不要)

8.2 抗体に関する発明

事例 2-1 明細書の記載に基づいて当業者がハイブリドーマを製造しうる事例(寄託不要)

事例 2-2 明細書の記載に基づいて当業者がハイブリドーマを製造しうる事例(寄託不要)

事例 2-3 当業者がハイブリドーマを容易に入手できない事例(寄託必要)

8.3 細胞に関する発明

事例 3-1 明細書の記載に基づいて当業者が細胞を製造しうる事例(寄託不要)

事例 3-2 当業者が細胞を容易に入手できない事例(寄託必要)

8.4 動物に関する発明

事例 4-1 明細書の記載に基づいて当業者が動物を製造しうる事例(寄託不要)

事例 4-2 当業者が動物を容易に入手できない事例(寄託必要)

(留意事項)

本事例集は、各事例において、新規性・進歩性の欠如等の拒絶理由がないことを意味するものではない。

8.1 細菌に関する発明

事例 1-1 当事者が細菌を容易に入手できる事例(寄託不要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

ストレプトマイセス・リビダンス xyz-1 株 (Streptomyces lividans xyz-1; ATCC *****) 由来であって、下記の理化学的性質を有する β -ガラクトシダーゼ。

- (a) 作用および基質特異性: β -D-ガラクトシド結合を有する基質を加水分解し、D-ガラクトース基を遊離する。
- (b) 至適 pH: 4.5
- (c) 安定 pH: 3.0~5.5
- (d) 至適温度: 55°C
- (e) 安定温度: 50°C
- (f) 分子量: ゲル濾過法による測定で 200kD である。

発明の詳細な説明の概要

β -ガラクトシダーゼによる加工の対象として、牛乳、チーズホエー、乳糖液等の中性～酸性の原料が想定されるため、酸性領域で十分な酵素活性を有する β -ガラクトシダーゼが望まれていたが、酸性領域で十分な酵素活性を有する β -ガラクトシダーゼを産生する微生物は出願時まで知られていなかった。

発明者らは、ストレプトマイセス・リビダンス xyz-1 株から、請求項 1 に係る β -ガラクトシダーゼを特定の手法を用いることにより単離した。また、該ストレプトマイセス・リビダンス xyz-1 株は、ATCC が発行するカタログに保存番号 ATCC *****) として掲載されており、出願前に自由に分譲されうるものであった。

[微生物等の寄託の要否に関する説明]

本事例においては、発明の詳細な説明の記載からみて、ストレプトマイセス・リビダンス xyz-1 株は、信用できる保存機関である ATCC に保存され、ATCC の発行するカタログにより自由に分譲されうることが出願前に明らかな微生物である。また、発明の詳細な説明には、ストレプトマイセス・リビダンス xyz-1 株の保存番号も記載されている。

したがって、ストレプトマイセス・リビダンス xyz-1 株は当事者が容易に入手することができる微生物であり、当事者であれば明細書に記載の特定の手法を用いて請求項 1 に係る β -ガラクトシダーゼを単離することができる。

よって、ストレプトマイセス・リビダンス xyz-1 株を寄託する必要はない。

事例 1-2 当業者が細菌を容易に入手できない事例(寄託必要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

ダイオキシン分解能を有する、バチルス ズブチルス(Bacillus subtilis) T-169 株。

発明の詳細な説明の概要

富山湾の海底泥を試料として採取し、当該試料から当業者に周知の方法でバチルス ズブチルス T-169 株を単離した。該バチルス ズブチルス T-169 株の分類学的性質を詳細に分析し、同種内の公知の菌株との相違点を検討したところ、該バチルス ズブチルス T-169 株は新菌株であることが判明した。また、実験を行うことにより、該バチルス ズブチルス T-169 株がダイオキシンを高効率で分解できることが明らかとなった。

[微生物等の寄託の要否に関する説明]

通常、土壌や海水などに存在する微生物の種類や量は、その土壌や海水が特定の地域から得られたものであっても、必ずしも一定であるとは限らない。

したがって、特定の地域の土壌や海水などから採取した試料を用いて新規な微生物を単離した場合でも、該土壌や海水などから再度採取した試料の中に、該新規な微生物が存在することの合理的な根拠がない限り、該新規な微生物を再現性をもって取得することは困難である。

本事例においては、発明の詳細な説明に、富山湾の海底泥から再度採取した試料の中に、バチルス ズブチルス T-169 株が存在することの合理的な根拠が記載されていない。

してみると、当業者が追試をした時に、再現性をもってバチルス ズブチルス T-169 株を取得することはできないので、バチルス ズブチルス T-169 株は明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる微生物ではない。

よって、バチルス ズブチルス T-169 株は当業者が容易に入手することができる微生物ではないので、バチルス ズブチルス T-169 株を寄託する必要がある。

事例 1-3 細菌由来のDNAに係る発明の事例(寄託不要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

コリネ型細菌 K-336 株由来のアルギノコハク酸シターゼをコードし、配列番号1で表される塩基配列を含むDNA。

【請求項 2】

請求項 1 記載のDNAを含む発現ベクター。

【請求項 3】

請求項 2 記載のベクターを発現可能に保持する、形質転換体。

発明の詳細な説明の概要

薬剤耐性に基づき土壌から単離した、L-アルギニンを産生するコリネ型細菌 K-336 株の分類学的性質を詳細に分析し、在来の類似種との異同を検討したところ、該コリネ型細菌 K-336 株は新種であることが判明した。

コリネ型細菌におけるL-アルギニン生合成経路には ArgA から ArgH までの遺伝子が関与することは出願時に公知であった。発明者らは、コリネ型細菌 K-336 株から、配列番号1で表される塩基配列を含む ArgG 遺伝子を初めて単離精製し、ArgG 遺伝子を周知の遺伝子工学的手法で発現させ、ArgG 遺伝子がコードするタンパク質がアルギノコハク酸シターゼであることを確認した。

[微生物等の寄託の要否に関する説明]

本事例においては、請求項1に係る発明はDNAに係るものであって、コリネ型細菌 K-336 株に係るものではない。そして、当該DNAの塩基配列は明細書に具体的に記載されているから、当業者はこの塩基配列に基づき、人工合成方法等を通じて当該DNAを取得することができる。また、当業者であれば、当該DNAを適切な発現ベクターに組み込んで、当該発現ベクターを発現可能に保持する形質転換体を製造することができる。

よって、コリネ型細菌 K-336 株を寄託する必要はない。

8.2 抗体に関する発明

事例 2-1 明細書の記載に基づいて当業者がハイブリドーマを製造しうる事例(寄託不要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなる抗原タンパク質A。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の抗原タンパク質Aに対するモノクローナル抗体。

【請求項 3】

請求項 2 に記載のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ。

発明の詳細な説明の概要

ウイルスXの外膜から新規な抗原タンパク質Aを単離精製したところ、抗原タンパク質Aは、ウイルスX感染者由来の血清のみと反応したことから、抗原タンパク質AはウイルスX感染者の同定に有用である。

また、抗原タンパク質Aの部分アミノ酸配列を決定し、該部分アミノ酸配列に基づいて周知の遺伝子工学的手法により、配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなる抗原タンパク質Aをコードする遺伝子をクローニングした。

(注)抗原タンパク質Aに対して特異的に反応するモノクローナル抗体を製造した実施例はない。

[微生物等の寄託の要否に関する説明]

本事例において、請求項 2 に係るモノクローナル抗体は、抗原のみで特定されたモノクローナル抗体である。

一般に、免疫原性を有するタンパク質が得られた際に、該タンパク質を免疫原として周知のハイブリドーマ法により、該タンパク質に対するモノクローナル抗体を得ることができるとの技術常識がある。

そして、当業者であれば、発明の詳細な説明の記載に基づいて、抗原タンパク質Aをコードする遺伝子を取得し、周知の遺伝子工学的手法を用いて該遺伝子を発現させ、配列番号1で表されるアミノ酸配列からなる抗原タンパク質Aを製造することができる。また、該抗原タンパク質Aが免疫原性を有することは明らかである。

してみれば、当業者であれば、発明の詳細な説明の記載に基づいて、抗原タンパク質Aを製造し、該抗原タンパク質Aを免疫原として、周知のハイブリドーマ法により、請求項 2 に係るモノクローナル抗体とそれを産生するハイブリドーマを取得することができる。

したがって、請求項 3 に係るハイブリドーマは明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる微生物である。

よって、請求項 3 に係るハイブリドーマは当業者が容易に入手することができる微生物であるので、請求項 3 に係るハイブリドーマを寄託する必要はない。

事例 2-2 明細書の記載に基づいて当業者がハイブリドーマを製造しうる事例(寄託不要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

ウイルスYの表面抗原Pに対して結合定数： $10^{10}M^{-1}$ 以上で反応することを特徴とする、IgM型モノクローナル抗体。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ。

発明の詳細な説明の概要

ウイルスYの表面抗原Pは既に単離精製され、それを検出できる抗体も出願時に公知であった。しかしながら、IgM型モノクローナル抗体は、凝集しやすい性質等のために、検出にはあまり望ましくないと考えられていたところ、発明者らは、IgM型モノクローナル抗体であって、高感度にウイルスYの表面抗原Pを検出できるものを初めて取得した。

発明者らは、該表面抗原Pをコードするアミノ酸配列から、ある特定の部分アミノ酸配列を選択して、該特定の部分アミノ酸配列からなるポリペプチドを製造し、該ポリペプチドが免疫原として機能することを確認した。そして、該ポリペプチドを用いて、周知のハイブリドーマ法に基づきモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを製造した。その結果、抗体産生が確認できるハイブリドーマが 149 株得られた。そのうち、10 株を選択し、該選択したハイブリドーマが産生する抗体の結合定数を測定したところ、IgM型であって結合定数： $10^{10}M^{-1}$ 以上を満たす抗体を産生するハイブリドーマは 3 株しか確認できなかった。しかし、同様のハイブリドーマ製造実験を 3 回繰り返し実施したところ、いずれの場合においても、IgM型であって結合定数： $10^{10}M^{-1}$ 以上を満たす抗体を産生するハイブリドーマが少なくとも 1 株は取得された。

[微生物等の寄託の要否に関する説明]

本事例において、請求項 1 に係るモノクローナル抗体は、「ウイルスYの表面抗原Pに対して結合定数： $10^{10}M^{-1}$ 以上で反応する」という限定的な条件を満たすモノクローナル抗体である。

一般に、限定的な条件を満たすモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを取得することは、再現性がない場合が多いとの技術常識がある。

しかしながら、発明の詳細な説明には、ウイルスYの表面抗原Pをコードするアミノ酸配列から、ある特定の部分アミノ酸配列を選択することによって、「ウイルスYの表面抗原Pに対して結合定数： $10^{10}M^{-1}$ 以上で反応する」という限定的な条件を満たすIgM型モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを複数株取得することができたことが記載されている。さらに、該特定の部分アミノ酸配列からなるポリペプチドを免疫原として、同様のハイブリドーマ製造実験を繰り返し行うことにより、このような限定的な条件を満たすIgM型モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを、繰り返して取得することができたことが記載されている。

してみれば、当業者が追試をした時に、再現性をもって請求項 1 に係るモノクローナル抗体、及び、それを産生するハイブリドーマを取得することができる。

したがって、請求項 2 に係るハイブリドーマは明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる微生物である。

よって、請求項 2 に係るハイブリドーマは当業者が容易に入手することができる微生物であるので、取得されたハイブリドーマを寄託する必要はない。

事例 2-3 当業者がハイブリドーマを容易に入手できない事例(寄託必要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

受容体Zに結合して、細胞増殖を抑制することを特徴とする、モノクローナル抗体 ABC-1。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の抗体を産生するハイブリドーマ H-ABC-1。

発明の詳細な説明の概要

受容体Zは既に単離精製されており、受容体Zにアゴニストが結合することにより、細胞増殖が抑制されることは出願時に公知であった。また、受容体Zに結合して細胞増殖を抑制するモノクローナル抗体を製造する試みも出願時までになされていた。しかしながら、受容体Zに結合して細胞増殖を抑制する抗体は、出願時までには取得されていなかった。

発明者らは、受容体Zを免疫原として、周知のハイブリドーマ法に基づき、モノクローナル抗体を製造したところ、受容体Zに結合するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは多数取得されたが、その中で細胞増殖を抑制するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは1株のみであった。そして、該細胞増殖を抑制するモノクローナル抗体を「モノクローナル抗体 ABC-1」と命名し、該「モノクローナル抗体 ABC-1」を産生するハイブリドーマを「ハイブリドーマ H-ABC-1」と命名した。

[微生物等の寄託の要否に関する説明]

本事例において、請求項1に係るモノクローナル抗体ABC-1は、ハイブリドーマH-ABC-1という特定の株のハイブリドーマにより産生されるモノクローナル抗体である。

一般に、特定の株のハイブリドーマを、周知のハイブリドーマ法により意図的に取得することは困難であるとの技術常識がある。

そして、発明の詳細な説明には、周知のハイブリドーマ法に基づき、モノクローナル抗体 ABC-1 を産生するハイブリドーマ H-ABC-1 が1株だけ取得されたことが記載されているのみであり、ハイブリドーマ H-ABC-1 を再現性をもって取得する方法について記載されていない。

したがって、当業者が追試をした時に、再現性をもって当該モノクローナル抗体 ABC-1 あるいはハイブリドーマ H-ABC-1 を取得することはできないので、ハイブリドーマ H-ABC-1 は明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる微生物ではない。

よって、ハイブリドーマ H-ABC-1 は当業者が容易に入手することができる微生物ではないので、ハイブリドーマ H-ABC-1 を寄託する必要がある。

8.3 細胞に関する発明

事例 3-1 明細書の記載に基づいて当業者が細胞を製造しうる事例(寄託不要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

マウス由来の肺癌細胞を含む不均一な細胞集団からマウス由来の肺癌細胞を分離する方法であって、
(1) 配列番号 1 で表される塩基配列からなる肺癌細胞特異的プロモーターの支配下に、蛍光タンパク質をコードする核酸分子を連結したベクターを作製する工程、
(2) 前記細胞集団に該ベクターを導入する工程、
(3) 該細胞集団の中から蛍光を発する細胞としてマウス由来の肺癌細胞を同定し、分離する工程を含む方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法により分離された、マウス由来の肺癌細胞。

発明の詳細な説明の概要

肺癌細胞において特異的に機能する新規プロモーターをマウスからクローニングした。該プロモーターの塩基配列は配列番号 1 で表されるものである。また、周知技術に基づき、肺癌細胞を含む不均一な細胞集団をマウスより調製した。次に、該細胞集団に、該プロモーターの支配下に蛍光タンパク質の一種として周知である GFP をコードする核酸分子を連結したベクターを導入することにより、該細胞集団内の肺癌細胞のみにおいて GFP を発現させ、該細胞集団の中から蛍光を発する細胞としてマウス由来の肺癌細胞を同定し分離した。

[微生物等の寄託の要否に関する説明]

本事例においては、発明の詳細な説明に、肺癌細胞で特異的に機能するプロモーターの塩基配列が具体的に記載されており、その支配下に GFP をコードする核酸分子を連結したベクターを用いて、不均一な細胞集団の中からマウス由来の肺癌細胞を同定・分離したことが記載されている。

してみれば、当業者が追試をした時に、再現性をもってマウス由来の肺癌細胞を同定・分離することができる。

したがって、請求項 2 に係るマウス由来の肺癌細胞は明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる微生物である。

よって、請求項 2 に係るマウス由来の肺癌細胞は当業者が容易に入手することができる微生物であるので、同定・分離したマウス由来の肺癌細胞を寄託する必要はない。

事例 3-2 当業者が細胞を容易に入手できない事例(寄託必要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

マウス間葉系幹細胞に由来し、1%以下の血清を含む培地で継代培養可能であって、該低血清培地で培養すると繊維状を呈し、目的とする細胞の馴化培地を含む培地で培養することにより、80%以上の割合で目的とする細胞に分化誘導される間葉系幹細胞 H01 株。

発明の詳細な説明の概要

マウス骨髄から取得した間葉系幹細胞を無血清培地で3週間培養し、死滅した細胞を除去した。その後、残存する細胞について継代を繰り返しながら分化能を検討したところ、アストロサイト馴化培地を含む培地で培養することによりアストロサイト様細胞に分化する突然変異細胞株が偶発的に得られた。そして、該突然変異細胞株を間葉系幹細胞 H01 株と命名した。ここで、該間葉系幹細胞 H01 株についてさらなる分化能の解析を行ったところ、脂肪細胞、平滑筋細胞、繊維芽細胞等の馴化培地を含む培地で培養することにより、ほぼ 100%の割合でそれぞれの細胞へと分化誘導された。

【微生物等の寄託の要否に関する説明】

一般に、細胞の培養中に細胞のゲノムに生じる突然変異は、ランダムに生じるものであるため、特定の突然変異細胞株を、細胞培養中に意図的に取得することは困難であるとの技術常識がある。

本事例においては、発明の詳細な説明に、間葉系幹細胞 H01 株はマウス骨髄から取得した間葉系幹細胞を継代培養している過程で偶発的に得られた突然変異細胞株から樹立されたものであることが記載されているのみであり、間葉系幹細胞 H01 株を再現性をもって取得する方法について記載されていない。

したがって、当業者が追試をした時に、再現性をもって間葉系幹細胞 H01 株を取得することはできないので、間葉系幹細胞 H01 株は明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる微生物ではない。

よって、間葉系幹細胞 H01 株は当業者が容易に入手することができる微生物ではないので、間葉系幹細胞 H01 株を寄託する必要がある。

8.4 動物に関する発明

事例 4-1 明細書の記載に基づいて当業者が動物を製造しうる事例(寄託不要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

配列番号 1 で表される塩基配列からなる原癌遺伝子を導入したトランスジェニックマウス。

発明の詳細な説明の概要

配列番号 1 で表される塩基配列からなる新規な原癌遺伝子をヒトからクローニングした。また、周知の遺伝子導入方法に基づいて、当該遺伝子を市販のBALB/c系マウス受精卵に導入し発生させることにより、複数のトランスジェニックマウスを作製したところ、それらは生後平均 5 ヶ月齢において腫瘍を発症した。

【微生物等の寄託の要否に関する説明】

本事例においては、発明の詳細な説明に、配列番号 1 で表される塩基配列からなる新規な原癌遺伝子が記載されており、市販のマウスを用いて、周知の遺伝子導入方法に基づいて、トランスジェニックマウスを作製したことが記載されている。

してみれば、当業者が追試をした時に、再現性をもって配列番号 1 で表される塩基配列からなる原癌遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製することができる。

したがって、請求項 1 に係るトランスジェニックマウスは明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる動物である。

よって、請求項 1 に係るトランスジェニックマウスは当業者が容易に入手することができる動物であるので、作製されたトランスジェニックマウス(その受精卵等)を寄託する必要はない。

事例 4-2 当業者が動物を容易に入手できない事例(寄託必要)

特許請求の範囲

【請求項 1】

初期病変として、生後 3 週齢で眼周囲に浮腫が認められるという特性を有する、皮膚炎を自然発症するRFGマウス。

発明の詳細な説明の概要

BALB/c系マウスを系統維持している過程において、初期病変として、生後 3 週齢で眼周囲に浮腫が認められ、清浄環境下で皮膚炎を自然発症する突然変異個体を偶発的に得た。その後、該突然変異個体から近交系を確立し、RFGマウスと命名した。近交系確立後、25 世代を経る過程において、RFGマウスは初期病変として、生後 3 週齢で眼周囲に浮腫が認められるという特性を維持し、皮膚炎を自然発症した。

【微生物等の寄託の要否に関する説明】

一般に、マウスを系統維持している過程において、マウスのゲノムに生じる突然変異はランダムに生じるものであるため、特定の突然変異個体を、系統維持している過程において再現性をもって取得することは困難であるとの技術常識がある。

本事例においては、発明の詳細な説明に、RFGマウスは、BALB/c系マウスを系統維持している過程において偶発的に得られた突然変異個体から確立された近交系であることが記載されているのみであり、RFGマウスを再現性をもって取得する方法については記載されていない。

したがって、当業者が追試をした時に、再現性をもってRFGマウスを取得することはできないので、RFGマウスは明細書の記載に基づいて当業者が製造しうる動物ではない。

よって、RFGマウスは当業者が容易に入手することができる動物ではないので、RFGマウス(その受精卵等)を寄託する必要がある。