



# 国家知识产权局

610000

成都市天府新区华阳华府大道1段1号蓝润ISC2栋1单元2008号 成都天汇致远知识产权代理事务所(普通合伙)  
韩晓银(028-87763797)

发文日:

2023年10月26日



申请号: 202010004404.3

发文序号: 2023102601740680

申请人: 西南民族大学

发明创造名称: 牛冠状病毒 HE 基因重组株及其制备的灭活疫苗和应用

## 驳 回 决 定

1. 根据专利法第 38 条及其实施细则第 53 条的规定, 决定驳回上述专利申请, 驳回的依据是:

- ☐ 申请不符合专利法第 2 条第 2 款的规定。
- ☐ 申请属于专利法第 5 条或者第 25 条规定的不授予专利权的范围。
- ☐ 申请不符合专利法第 9 条第 1 款的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 19 条第 1 款的规定。
- ☒ 申请不符合专利法第 22 条的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 26 条第 3 款或者第 4 款的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 26 条第 5 款或者实施细则第 26 条的规定。
- ☐ 申请不符合专利法第 31 条第 1 款的规定。
- ☐ 申请的修改不符合专利法第 33 条的规定。
- ☐ 申请不符合专利法实施细则第 20 条第 2 款的规定。
- ☐ 分案申请不符合专利法实施细则第 43 条第 1 款的规定。
- ☐ \_\_\_\_\_

详细的驳回理由见驳回决定正文部分(共 5 页)。

2. 本驳回决定是针对下列申请文件作出的:

- ☐ 原始申请文件。 ☐ 分案申请递交日提交的文件。 ☒ 下列申请文件:

申请日提交的说明书第 1-77 段、说明书附图、说明书摘要、摘要附图、说明书核苷酸和氨基酸序列表以及 2023 年 03 月 21 日提交的权利要求第 1-6 项。

3. 根据专利法第 41 条及实施细则第 60 条的规定, 申请人对本驳回决定不服的, 可以在收到本决定之日起 3 个月内向专利局复审和无效审理部请求复审。根据专利法实施细则第 96 条的规定, 复审费应在上述期限内缴纳, 期满未缴纳或者未缴足的, 视为未提出请求。

审 查 员: 刘涛

联系电话: 010-53961942

审查部门: 专利审查协作北京中心



210407  
2022.10

纸件申请, 回函请寄: 100088 北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 国家知识产权局专利局受理处收  
电子申请, 应当通过电子专利申请系统以电子文件形式提交相关文件。除另有规定外, 以纸件等其他形式提交的文件视为未提交。



## 驳回决定

### 一、案由

应申请人提出的实质审查请求，审查员对本申请进行了实质审查，并于 2022 年 08 月 02 日发出了第一次审查意见通知书，指出权利要求 1-10 不具备创造性。通知书中引用了如下对比文件：

对比文件 1：“Prevalence of a novel bovine coronavirus strain with a recombinant hemagglutinin/esterase gene in dairy calves in China”，Abi keha et al.，Transbound Emerg Dis.，Vol.66，Issue5，Pages 1971-1981，公开日为 2019 年 05 月 11 日；

对比文件 2：CN1250380A，公开日为 2000 年 04 月 12 日。

针对第一次审查意见通知书，申请人于 2022 年 12 月 15 日提交了意见陈述书和权利要求书的全文替换页。申请人陈述了修改后的权利要求 1-7 具备创造性的理由。

审查员继续审查，并于 2023 年 01 月 05 日发出了第二次审查意见通知书，指出权利要求 1-7 不具备创造性。该通知书未引用新的对比文件。

针对第二次审查意见通知书，申请人于 2023 年 03 月 21 日提交了意见陈述书和权利要求书的全文替换页，所作的修改在于：将权利要求 2 并入权利要求 1 中，并增加限定“所述 BCoV-LNA1 株的重组区域的开始重组断点为 150bp，断点末端在 724bp”；适应性修改权利要求的编号及引用关系。将申请人的修改后权利要求 1-6 具备创造性的理由概述如下：（1）对比文件 1 的研究主要是到农场进行腹泻乳牛的取样以及对所提取的菌株进行 BCoV 基因的具体研究，并不涉及动物实验，且未公开发生 HE 重组的 10 个菌株重组部位具体在哪。从对比文件 1 公开的内容，根本无法确定本申请所获得的牛冠状病毒 HE 基因重组株和对比文件 1 的菌株是否同源，更加无法确定其所提取的 13 个菌株是否具备开发成疫苗的潜质。对比文件 2 公开了灭活型疫苗含有 BECV 分离物或从其得到的抗原，BECV 和本申请的牛冠状病毒 HE 基因重组株并不相同，本领域技术人员不能显而易见地获得通过牛冠状病毒 HE 基因重组株制备牛冠状病



毒疫苗的技术内容。(2)“抗体水平”和“中和抗体水平”概念不同,抗体水平的高低是与病毒含量密切相关,病毒量高,产生的抗体水平越高,而中和抗体水平是指疫苗能刺激机体产生能够阻止病毒入侵细胞的抗体的多少,中和抗体的水平不取决于疫苗中病毒量的多少,而是取决于疫苗的中和抗体效价。本申请实施例3中进行免疫效力对比试验是测定两种疫苗产生的中和抗体效价。中和抗体效价越高,表示免疫相同病毒量的疫苗所产生的中和抗体水平越高,从而表示新冠病毒 HE 基因重组株 BCoV-LNA1 株的免疫效力更强。

审查员认为,本案事实已经清楚,因此针对该案于申请日提交的说明书第1-77段、说明书附图、说明书摘要、摘要附图、说明书核苷酸和氨基酸序列表以及2023年03月21日提交的权利要求第1-6项,作出本驳回决定。

## 二、 驳回理由

### (I) 权利要求1-6不具备创造性

#### 1.权利要求1请求保护一株新冠病毒 HE 基因重组株。

对比文件1 (“Prevalence of a novel bovine coronavirus strain with a recombinant hemagglutinin/esterase gene in dairy calves in China”, Abi keha et al., Transbound Emerg Dis., Vol.66, Issue5, Pages 1971-1981, 公开日为2019年05月11日)公开了以下内容:从中国六个省份的14个农场共采集了190份腹泻奶牛粪便样本,通过逆转录聚合酶链反应在18.95%(36/190)的样本中检测到新冠病毒(BCoV);从来自四个省份(山西,河南,辽宁,四川)的8个农场的13个阳性样本中成功克隆出HE基因,HE基因长度为1275bp,编码424个氨基酸;13株菌株中有10株(GenBank accession number: MK095135-MK095140, MK095142, MK095145-MK095147)被鉴定为HE重组菌株,这些菌株经历了相同的重组事件并携带相同的重组位点,开始重组断点为150bp,断点末端在724bp,假定的主要亲本毒株为KCD1(GenBank accession number: DQ389642)和可能的次要亲本毒株为LY-138(GenBank accession number: M84486),使用SimPlot 3.5.1推测亲本毒株的交叉位点为168-702bp, RDP 4.0和SimPlot两个



程序都显示重组断点位于 HE 中的酯酶域和凝集素域之间；这 10 株重组菌株从地理距离较远的 4 个省的 8 个农场中回收，距离最远的两个省相距超过 1000 多公里，因此，这些新型 HE 重组菌株已在中国奶牛中广泛传播（参见对比文件 1 的摘要，第 3.4 节，第 1977 页左栏第 1 段）。

权利要求 1 请求保护的技术方案与对比文件 1 公开内容的区别在于：权利要求 1 限定了牛冠状病毒 HE 基因重组株 BCoV-LNA1 株及其保藏相关信息、BCoV-LNA1 株的病毒含量。

基于上述区别技术特征，权利要求 1 实际解决的技术问题是提供一种替代的牛冠状病毒 HE 基因重组株。

对于上述区别技术特征，基于对比文件 1 公开的分离自四个省份的 8 个农场的 HE 重组菌株的重组信息如断点、交叉位点位置等，以及该 HE 重组菌株已在中国奶牛中广泛传播，结合本领域常规技术手段，本领域技术人员能够容易地分离鉴定得到经历了与对比文件 1 中 HE 基因重组株具有相同的重组事件并携带相同重组位点的牛冠状病毒 HE 基因重组株，并且可以常规选择保藏单位进行生物保藏，由此获得相应的保藏信息如保藏编号、分类命名等，且不存在技术困难。并且，病毒含量的限定并不会对所述牛冠状病毒 HE 基因重组株的结构和/或组成带来任何影响，此外，表征病毒含量属于本领域常规技术手段，本领域技术人员可以根据实际需要常规调整或选择病毒含量。在技术效果方面，本申请仅将经分离鉴定所得牛冠状病毒 HE 基因重组株 BCoV-LNA1 应用于制备灭活疫苗，验证了所得灭活疫苗的安全性和免疫效力，安全性试验结果显示：未见不良反应，疫苗安全性好；免疫效力试验显示：分离株 BCoV-LNA1 株与经典株 Mebus 株两者所制备的灭活疫苗能够产生交叉保护的作用，且由 HE 基因重组株 BCoV-LNA1 株制备的灭活疫苗能够在对 HE 基因重组毒株产生更高水平的中和抗体。但是，牛冠状病毒具有免疫原性以及病毒灭活疫苗通常具有良好的安全性属于本领域公知常识，并且，本申请说明书实施例 3 中在比较分离株 BCoV-LNA1 株与经典株 Mebus 株的免疫效力时，使用了实施例 2 制备的 BCoV-LNA1 株灭活疫苗以及市售 Soour Guard 3R(K)C 灭活疫苗，但依据实施例 2、3 的记载，本领域技术人员并不能获知上述两种灭活疫苗中牛冠状病毒的相对含量，而



灭活疫苗的免疫效力如产生的中和抗体水平显然与灭活疫苗中的病毒含量密切相关，在无法确认上述两种疫苗中牛冠状病毒的相对含量的前提下，得出二者的免疫效力孰强孰弱的结论显然是无法令人信服的，由此，依据本申请说明书的记载也无法确认权利要求 1 请求保护的牛冠状病毒 HE 基因重组株能够产生预料不到的技术效果。

因此，权利要求 1 所要求保护的技术方案，对所属技术领域的技术人员来说是显而易见的，不具备突出的实质性特点和显著的进步，因而不具备专利法第二十二条第三款规定的创造性。

2. 权利要求 2 请求保护权利要求 1 所述的一株牛冠状病毒 HE 基因重组株在制备牛冠状病毒疫苗中的应用。权利要求 3 请求保护权利要求 1 所述的一株牛冠状病毒 HE 基因重组株制备的牛冠状病毒疫苗。

理由如前所述，权利要求 1 不具备创造性；并且，对比文件 2（CN1250380A，公开日为 2000 年 04 月 12 日）公开了一种灭活型的疫苗，用于在牛中预防牛肠道冠状病毒（BECV）引起的疾病，其中含有免疫有效量的 BECV 分离物或从其得到的抗原；免疫牛以预防牛肠道冠状病毒（BECV）引起的疾病，其中使用免疫有效量的 BECV 分离物或从其得到的抗原；BECV 分离物或从其得到的抗原可以为灭活病毒（参见对比文件 2 的说明书第 1 页第 9 行，第 4 页第 11-13 行）。由此，进一步结合对比文件 2 公开的内容，本领域技术人员容易想到并能够将所得牛冠状病毒 HE 基因重组株用于制备牛冠状病毒疫苗，并由此获得相应的疫苗。因此，权利要求 2、3 所要求保护的技术方案，对所属技术领域的技术人员来说是显而易见的，不具备突出的实质性特点和显著的进步，因而不具备专利法第二十二条第三款规定的创造性。

权利要求 4 引用权利要求 3，并作了进一步限定。对比文件 2 还公开了佐剂可以与灭活收获物液体一起用于疫苗制剂，如果佐剂用于制备疫苗，已知可以加入任何佐剂，以增加疫苗的有效性（参见对比文件 2 的说明书第 7 页第 5-7 行）。由此，本领域技术人员容易想到使疫苗包含预防上有效量的灭活牛冠状病毒 HE 基因重组株和药学上可接受的佐剂。因此，在其引用的在先权利要求不具备创造性时，权利要求 4 所要求保护的技术方案也不具备专利法第二十二条



第三款规定的创造性。

3.权利要求 5 请求保护权利要求 4 所述的牛冠状病毒疫苗的制备方法。

理由如前所述，权利要求 4 不具备创造性；并且，对比文件 2 还公开了产生免疫有效量的 BECV 的方法，包括以下步骤：（1）在存在组织培养基的容器表面或悬浮液中增殖高敏感细胞至有效地产生可接受活细胞数至少为  $1 \times 10^5/\text{ml}$  的细胞；（2）用 BECV 接种高敏感细胞，制备感染的细胞培养物；（3）在  $30-38^\circ\text{C}$  培养感染的细胞培养物，直到产生可接受的 CPE，最好在  $35-37^\circ\text{C}$  之间培养；（4）收获得到的感染细胞培养物，转移到收集容器中；表现可接受的 CPE 的病毒感染的组织培养物收集（收获）到单一容器中，制备收获液体；收获液体可以用任意几种灭活试剂灭活，以制备灭活形式的疫苗，灭活试剂选自  $\beta$ -丙内酯、甲醛等；佐剂可以与灭活收获物液体一起用于疫苗制剂（参见对比文件 2 的说明书第 5 页第 8 行至第 7 页第 7 行）。而 Vero 细胞是本领域中常用于扩增病毒的高敏感细胞，且离心病毒培养液取上清获得病毒上清液，加入佐剂后乳化均属于本领域常规技术手段。由此，进一步结合对比文件 2 公开的内容及本领域常规技术手段，本领域技术人员容易想到并能够选择采用 Vero 细胞增殖牛冠状病毒 HE 基因重组株，并将灭活试剂选择为  $\beta$ -丙内酯，且可以常规选择或通过有限的试验调整  $\beta$ -丙内酯的使用终浓度以及灭活病毒上清液与佐剂的比例，进而显而易见地获得牛冠状病毒疫苗的制备方法。

因此，权利要求 5 所要求保护的技术方案，对所属技术领域的技术人员来说是显而易见的，不具备突出的实质性特点和显著的进步，因而不具备专利法第二十二条第三款规定的创造性。

4.权利要求 6 引用权利要求 5，并作了进一步限定。具体的灭活参数如灭活温度、时间等亦可由本领域技术人员通过有限的试验调整确定，且不存在技术困难。因此，在其引用的在先权利要求不具备创造性时，权利要求 6 所要求保护的技术方案也不具备专利法第二十二条第三款规定的创造性。

（II）针对申请人的意见陈述，审查员认为：



(1) 对比文件 1 公开 13 株菌株中有 10 株被鉴定为 HE 重组菌株, 这些菌株经历了相同的重组事件并携带相同的重组位点, 开始重组断点为 150bp, 断点末端在 724bp, 假定的主要亲本毒株为 KCD1 ( GenBank accession number : DQ389642 ) 和可能的次要亲本毒株为 LY-138 ( GenBank accession number : M84486 ), 使用 SimPlot 3.5.1 推测亲本毒株的交叉位点为 168-702bp, RDP 4.0 和 SimPlot 两个程序都显示重组断点位于 HE 中的酯酶域和凝集素域之间。对比文件 1 公开的上述内容与本申请说明书第[0049]段记载的重组分析结果完全一致。基于对比文件 1 公开的分离自四个省份的 8 个农场的 10 株 HE 重组菌株经历了相同的重组事件并具有相同的重组信息如断点、交叉位点位置等, 以及该 HE 重组菌株已在中国奶牛中广泛传播, 结合本领域常规技术手段, 本领域技术人员能够分离鉴定得到经历了与对比文件 1 中 HE 基因重组株具有相同的重组事件并携带相同重组位点的牛冠状病毒 HE 基因重组株, 并常规保藏。牛冠状病毒具有免疫原性以及病毒灭活疫苗通常具有良好的安全性属于本领域公知常识, 且对比文件 2 公开了一种灭活型的疫苗, 用于在牛中预防牛肠道冠状病毒 ( BECV ) 引起的疾病, 其中含有免疫有效量的 BECV 分离物。由此, 本领域技术人员容易想到并能够将所得牛冠状病毒 HE 基因重组株用于制备牛冠状病毒疫苗, 并能够通过有限的试验验证其技术效果。

(2) 抗体效价代表了参与抗原-抗体反应体系中抗体的数量, 抗体质量的优劣则由抗体亲和力和大小来表现。可见, 中和抗体效价或水平均反映中和抗体的含量。对于申请人所述的“免疫相同病毒量的疫苗”, 本申请说明书中仅记载了“1 组接种牛冠状病毒 HE 基因重组株 BCoV-LNA1 株灭活疫苗, 经肌肉注射上述疫苗 2.0ml; 1 组接种 Soour Guard 3R(K)C 灭活疫苗, 肌肉注射上述疫苗 2.0ml”, 即仅记载了免疫疫苗的体积相同, 然而体积相同并不代表其中含有的病毒含量相同。灭活疫苗本质上是一种抗原疫苗, 经灭活疫苗免疫动物所得抗血清中中和抗体的效价或水平显然与灭活疫苗中的病毒含量密切相关。本申请说明书实施例 1 中的粪便样本中的病毒含量是本领域技术人员无法获知的, 经过病毒分离过程后的病毒含量也是本领域技术人员无法获知的; 实施例 2 记载了“将实施例 1 分离的牛冠状病毒 HE 基因重组株 BCoV-LNA1



株经 Vero 细胞培养增殖，当细胞病变达到 80% 时，收获增殖的病毒液”并利用收获的病毒液制备灭活疫苗，其中并没有记载病毒株的接种量、Vero 细胞量等相关信息。由此，由本申请说明书实施例 1、2 的记载，本领域技术人员无法获知本申请疫苗中的病毒含量。并且，本申请说明书实施例 3 中在比较分离株 BCoV-LNA1 株与经典株 Mebus 株的免疫效力时，使用了实施例 2 制备的 BCoV-LNA1 株灭活疫苗以及市售 Soour Guard 3R(K)C 灭活疫苗，但依据实施例 2、3 的记载，本领域技术人员并不能获知上述两种灭活疫苗中牛冠状病毒的相对含量。在无法确认上述两种疫苗中牛冠状病毒的相对含量的前提下，得出二者的免疫效力孰强孰弱的结论显然是无法令人信服的，由此，依据本申请说明书的记载也无法确认权利要求 1 请求保护的牛冠状病毒 HE 基因重组株能够产生预料不到的技术效果。

综上所述，申请人的修改后的权利要求 1-6 具有创造性的观点不能被接受。

### 三、决定

综上所述，本发明专利申请不符合专利法第二十二条第三款规定，属于专利法实施细则第五十三条第二项的情况，因此根据专利法第三十八条予以驳回。

根据专利法第四十一条第一款的规定，申请人如果对本驳回决定不服，可以在收到本驳回决定之日起三个月内，向专利局复审和无效审理部请求复审。

审查员姓名:刘涛  
审查员代码:30081706