

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-540705

(P2013-540705A)

(43) 公表日 平成25年11月7日(2013.11.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/095 (2006.01)	A 6 1 K 39/095	4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/34 (2006.01)	A 6 1 K 47/34	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	4 H 0 4 5
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18	
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 56 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-525399 (P2013-525399)	(71) 出願人	309040701
(86) (22) 出願日	平成23年8月22日 (2011. 8. 22)		ワイス・エルエルシー
(85) 翻訳文提出日	平成25年4月19日 (2013. 4. 19)		アメリカ合衆国 ニュージャージー州 O
(86) 国際出願番号	PCT/IB2011/053684		7940. マジソン, ファイブ ジラルダ
(87) 国際公開番号	W02012/025873		ファームズ
(87) 国際公開日	平成24年3月1日 (2012. 3. 1)	(74) 代理人	100133927
(31) 優先権主張番号	61/376, 160		弁理士 四本 能尚
(32) 優先日	平成22年8月23日 (2010. 8. 23)	(74) 代理人	100137040
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 宮澤 純子
		(74) 代理人	100147186
			弁理士 佐藤 真紀
		(74) 代理人	100174447
			弁理士 龍田 美幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ナイセリア・メニンギティディス (Neisseriameningitidis) rLP2086 抗原の安定な製剤

(57) 【要約】

本発明は、免疫原性組成物としてのナイセリア・メニンギティディス (Neisseriameningitidis) rLP2086 サブファミリー B 抗原の安定な製剤に関する。また、本発明は、ナイセリア・メニンギティディス (Neisseriameningitidis) rLP2086 抗原の立体構造を保存する方法、およびナイセリア・メニンギティディス (Neisseriameningitidis) rLP2086 抗原の効力を決定するための方法にも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

LP2086 (fHBP) サブファミリー-B ポリペプチドの効力が経時的に安定であるように製剤化された、LP2086 (fHBP) サブファミリー-B ポリペプチドを含む免疫原性組成物。

【請求項 2】

界面活性剤およびLP2086 (fHBP) サブファミリー-B ポリペプチドを10 : 1未満の界面活性剤対タンパク質のモル比で含む免疫原性組成物。

【請求項 3】

LP2086 (fHBP) サブファミリー-B ポリペプチドの効力の少なくとも50%が、少なくとも1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、9カ月間、12カ月間、18カ月間、24カ月間、30カ月間、36カ月間、42カ月間、48カ月間、54カ月間または60カ月間維持される、請求項1または2に記載の免疫原性組成物。

10

【請求項 4】

LP2086 (fHBP) サブファミリー-A ポリペプチドをさらに含む、請求項1から3のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。

【請求項 5】

界面活性剤をさらに含む、請求項1に記載の免疫原性組成物。

【請求項 6】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約0.5 : 1 ~ 約10 : 1の間である、請求項1から5のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。

20

【請求項 7】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約1 : 1 ~ 約5 : 1の間である、請求項6に記載の免疫原性組成物。

【請求項 8】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約1.4 : 1 ~ 約4.2 : 1の間である、請求項7に記載の免疫原性組成物。

【請求項 9】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約2.8 : 1である、請求項8に記載の免疫原性組成物。

30

【請求項 10】

界面活性剤の量が、容器中でのケイ素とポリペプチドの結合を低下させるのに十分である、請求項1から9のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。

【請求項 11】

容器が、シリンジまたはバイアルである、請求項10に記載の免疫原性組成物。

【請求項 12】

界面活性剤が、非イオン性界面活性剤である、請求項1から11のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。

【請求項 13】

界面活性剤が、ポリソルベート界面活性剤である、請求項12に記載の免疫原性組成物。

40

【請求項 14】

界面活性剤が、ポリソルベート80である、請求項13に記載の免疫原性組成物。

【請求項 15】

多価カチオンをさらに含む、請求項1から14のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。

【請求項 16】

多価カチオンが、カルシウムまたはアルミニウムである、請求項15に記載の免疫原性組成物。

50

- 【請求項 17】
(Ca)₃(PO₄)₂を含む、請求項 16 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 18】
アルミニウムの濃度が、約 0.1 mg/ml ~ 約 1 mg/ml の間である、請求項 16 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 19】
アルミニウムの濃度が、約 0.5 mg/ml である、請求項 18 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 20】
AlPO₄、Al(OH)₃、Al₂(SO₄)₃ およびミョウバンのうちの 1 つまたは複数を含む、請求項 16 から 19 のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。 10
- 【請求項 21】
ヒスチジンをさらに含む、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 22】
ヒスチジンの濃度が、約 2 mM ~ 約 20 mM の間である、請求項 21 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 23】
ヒスチジンの濃度が、約 5 mM ~ 約 15 mM の間である、請求項 22 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 24】
コハク酸塩をさらに含む、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。 20
- 【請求項 25】
コハク酸塩の濃度が、約 2 mM ~ 約 10 mM の間である、請求項 24 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 26】
コハク酸塩の濃度が、約 3 mM ~ 約 7 mM の間である、請求項 25 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 27】
コハク酸塩の濃度が、約 5 mM である、請求項 25 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 28】
pH が、約 5.0 ~ 約 8.0 の間である、請求項 1 から 27 のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。 30
- 【請求項 29】
pH が、約 5.8 ~ 6.0 の間である、請求項 28 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 30】
ヒスチジンの濃度が、約 10 mM、pH 6.0 である、請求項 29 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 31】
凍結乾燥されている、請求項 1 から 30 のいずれか一項に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 32】
凍結乾燥された組成物が、アルミニウムを含む緩衝液中に再懸濁されている、請求項 31 に記載の免疫原性組成物。 40
- 【請求項 33】
緩衝液が、AlPO₄、Al(OH)₃、Al₂(SO₄)₃ またはミョウバンを含む、請求項 32 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 34】
タンパク質に対して約 2.8 : 1 のモル比のポリソルベート 80、AlPO₄ としての 0.5 mg/ml アルミニウム、10 mM ヒスチジン、pH 6.0、および 150 mM NaCl を含む、請求項 1 または 2 に記載の免疫原性組成物。
- 【請求項 35】 50

200 ug/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリー-Bポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、10 mMヒスチジン、pH6.0、および150 mM NaClから本質的になる、請求項1または2に記載の免疫原性組成物。

【請求項36】

200 ug/mLのrLP2086 (fHBP) サブファミリー-Aポリペプチド、200 ug/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリー-Bポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、10 mMヒスチジン、pH6.0、および150 mM NaClから本質的になる、請求項1または2に記載の免疫原性組成物。

10

【請求項37】

タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、5 mMコハク酸塩、pH6.0、および150 mM NaClを含む、請求項1または2に記載の免疫原性組成物。

【請求項38】

200 ug/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリー-Bポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、5 mMコハク酸塩、pH6.0、および150 mM NaClから本質的になる、請求項1または2に記載の免疫原性組成物。

【請求項39】

200 ug/mLのrLP2086 (fHBP) サブファミリー-Aポリペプチド、200 ug/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリー-Bポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、5 mMコハク酸塩、pH6.0、および150 mM NaClから本質的になる、請求項1または2に記載の免疫原性組成物。

20

【請求項40】

免疫原性組成物中のLP2086 (fHBP) サブファミリー-Bポリペプチドの効力を安定化させるための方法であって、(a)約0.5:1~約10:1の間の界面活性剤対タンパク質のモル比を有する組成物中にLP2086 (fHBP) サブファミリー-Bポリペプチドを製剤化するステップを含む方法。

30

【請求項41】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約1:1~約5:1の間である、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約1.4:1~約4.2:1の間である、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約2.8:1である、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

界面活性剤の量が、容器中でのケイ素とポリペプチドの結合を低下させるのに十分である、請求項40から43のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項45】

容器が、シリンジまたはバイアルである、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

界面活性剤が、非イオン性界面活性剤である、請求項40から45のいずれか一項に記載の方法。

【請求項47】

界面活性剤が、ポリソルベート界面活性剤である、請求項46に記載の方法。

【請求項48】

界面活性剤が、ポリソルベート80である、請求項47に記載の方法。

50

【請求項 49】

組成物が、多価カチオンをさらに含む、請求項 40 から 48 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

多価カチオンが、カルシウムまたはアルミニウムである、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

組成物が、 $(Ca)_3(PO_4)_2$ を含む、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

アルミニウムの濃度が、約 0.1 mg/ml ~ 約 1 mg/ml の間である、請求項 50 に記載の方法。

10

【請求項 53】

アルミニウムの濃度が、約 0.5 mg/ml である、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

組成物が、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ またはミョウバンを含む、請求項 49 から 53 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 55】

ヒスチジンをさらに含む、請求項 40 から 54 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 56】

ヒスチジンの濃度が、約 2 mM ~ 約 20 mM の間である、請求項 55 に記載の方法。

20

【請求項 57】

ヒスチジンの濃度が、約 5 mM ~ 約 15 mM の間である、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 58】

コハク酸塩をさらに含む、請求項 40 から 54 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 59】

コハク酸塩の濃度が、約 2 mM ~ 約 10 mM の間である、請求項 58 に記載の方法。

【請求項 60】

コハク酸塩の濃度が、約 3 mM ~ 約 7 mM の間である、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 61】

pH が、約 5.0 ~ 約 8.0 の間である、請求項 40 から 60 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 62】

pH が、約 5.8 ~ 6.0 の間である、請求項 61 に記載の方法。

【請求項 63】

ヒスチジンの濃度が、約 10 mM 、pH 6.0 である、請求項 62 に記載の方法。

【請求項 64】

コハク酸塩の濃度が、約 5 mM 、pH 6.0 である、請求項 62 に記載の方法。

【請求項 65】

(b) 免疫原性組成物を凍結乾燥するステップをさらに含む、請求項 40 から 64 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 66】

(c) 凍結乾燥された組成物を、アルミニウムを含む緩衝液中に再懸濁するステップをさらに含む、請求項 65 に記載の方法。

【請求項 67】

緩衝液が、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ またはミョウバンを含む、請求項 66 に記載の方法。

【請求項 68】

サブファミリー B タンパク質を、タンパク質に対して約 $2.8 : 1$ のモル比のポリソルベート 80、 $AlPO_4$ としての 0.5 mg/mL アルミニウム、 10 mM ヒスチジン、pH 6.0 、および 150 mM $NaCl$ から本質的になる組成物中に製剤化する、請求項 40 に記載の方法。

50

【請求項 69】

サブファミリー B タンパク質を、タンパク質に対して約 2.8 : 1 のモル比のポリソルベート 80、 $AlPO_4$ としての 0.5 mg/mL アルミニウム、5 mM コハク酸塩、pH 6.0、および 150 mM NaCl から本質的になる組成物中に製剤化する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 70】

免疫原性組成物中の LP2086 (fHBP) サブファミリー B ポリペプチドの効力を安定化させるための方法であって、(a) LP2086 (fHBP) サブファミリー B ポリペプチドを、約 0.1 mg/mL ~ 約 1 mg/mL の間のアルミニウムを有し、約 0.5 : 1 および約 10 : 1 の間の界面活性剤対タンパク質のモル比を有する組成物中に製剤化するステップを含む方法。

10

【請求項 71】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約 1 : 1 ~ 約 5 : 1 の間である、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 72】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約 1.4 : 1 ~ 約 4.2 : 1 の間である、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 73】

界面活性剤対タンパク質のモル比が、約 2.8 : 1 である、請求項 72 に記載の方法。

【請求項 74】

界面活性剤の量が、容器中でのケイ素とポリペプチドの結合を低下させるのに十分である、請求項 70 から 73 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 75】

容器が、シリンジまたはバイアルである、請求項 74 に記載の方法。

【請求項 76】

界面活性剤が、非イオン性界面活性剤である、請求項 70 から 75 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 77】

界面活性剤が、ポリソルベート界面活性剤である、請求項 76 に記載の方法。

【請求項 78】

界面活性剤が、ポリソルベート 80 である、請求項 77 に記載の方法。

30

【請求項 79】

アルミニウムの濃度が、約 0.5 mg/mL である、請求項 70 から 78 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 80】

組成物が、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ またはミョウバンを含む、請求項 70 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 81】

ヒスチジンをさらに含む、請求項 70 から 80 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 82】

ヒスチジンの濃度が、約 2 mM ~ 約 20 mM の間である、請求項 81 に記載の方法。

40

【請求項 83】

ヒスチジンの濃度が、約 5 mM ~ 約 15 mM の間である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 84】

コハク酸塩をさらに含む、請求項 70 から 80 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 85】

コハク酸塩の濃度が、約 2 mM ~ 約 10 mM の間である、請求項 84 に記載の方法。

【請求項 86】

コハク酸塩の濃度が、約 3 mM ~ 約 7 mM の間である、請求項 85 に記載の方法。

【請求項 87】

50

pHが、約5.0～約8.0の間である、請求項70から86のいずれか一項に記載の方法。

【請求項88】

pHが、約5.8～6.0の間である、請求項87に記載の方法。

【請求項89】

ヒスチジンの濃度が、約10mM、pH6.0である、請求項88に記載の方法。

【請求項90】

(b)免疫原性組成物を凍結乾燥するステップをさらに含む、請求項70から89のいずれか一項に記載の方法。

【請求項91】

(c)凍結乾燥された組成物を、アルミニウムを含む緩衝液中に再懸濁するステップをさらに含む、請求項90に記載の方法。

【請求項92】

緩衝液が、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ またはミョウバンを含む、請求項91に記載の方法。

【請求項93】

サブファミリーBタンパク質を、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5mg/mLアルミニウム、10mMヒスチジン、pH6.0、および150mM NaClから本質的になる組成物中に製剤化する、請求項70に記載の方法。

【請求項94】

サブファミリーBタンパク質を、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5mg/mLアルミニウム、5mMコハク酸塩、pH6.0、および150mM NaClから本質的になる組成物中に製剤化する、請求項70に記載の方法。

【請求項95】

免疫原性組成物中の2086(fHBP)ポリペプチドの効力を決定するための方法であって、(1)第1のモノクローナルAbおよび第2のmAbを、2086タンパク質を含む免疫原性組成物と共にインキュベートするステップであって、第1のmAbがmAbを捕捉するために使用する第1のタグにコンジュゲートしており、第2のmAbが検出可能である第2のタグにコンジュゲートしており、第1および第2のmAbは、2086基準タンパク質上の異なる立体構造エピトープを標的とするステップと、(2)第1のmAbに結合している2086タンパク質を、第1のタグを使用して捕捉するステップと、(3)第2のタグを使用して捕捉した第2のmAbに結合している2086タンパク質を検出し、その量を定量化するステップとを含む方法。

【請求項96】

第1のタグが、ビオチン、GST、6xHisタグまたはビーズである、請求項95に記載の方法。

【請求項97】

ビーズが、カルボキシル化ポリスチレンビーズまたは常磁性ビーズである、請求項96に記載の方法。

【請求項98】

第1のタグを、ストレプトアビジンビーズ、ストレプトアビジンカラム、グルタチオンビーズ、グルタチオンカラム、ニッケルビーズ、ニッケルカラム、遠心分離、または磁場を用いて捕捉する、請求項96に記載の方法。

【請求項99】

第2のタグが、ビオチン、HRP、蛍光体または放射標識である、請求項95から98のいずれか一項に記載の方法。

【請求項100】

第2のタグを、蛍光体またはHRPにコンジュゲートさせたストレプトアビジンを用い

10

20

30

40

50

て、電気化学発光、蛍光検出または放射活性検出によって検出する、請求項 99 に記載の方法。

【請求項 101】

2086 ポリペプチドが、サブファミリー A ポリペプチドである、請求項 95 から 100 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 102】

2086 ポリペプチドが、サブファミリー B ポリペプチドである、請求項 95 から 100 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 103】

2086 ポリペプチドに、脂質が付加されている、請求項 95 から 102 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 104】

2086 ポリペプチドに、脂質が付加されていない、請求項 95 から 102 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 105】

2086 ポリペプチドが組換えである、請求項 95 から 104 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 106】

両方の抗体により認識されるエピトープを示しているポリペプチドを定量化することができる、請求項 95 から 105 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 107】

試料の効力を基準物質の効力と比較する、請求項 95 から 106 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、本明細書に記載するように、免疫原性組成物としてのナイセリア・メニンギティディス (*Neisseria meningitidis*) rLP2086 サブファミリー B 抗原の製剤に関する。また、本発明は、ナイセリア・メニンギティディス (*Neisseria meningitidis*) rLP2086 抗原の立体構造を保存する方法、およびナイセリア・メニンギティディス (*Neisseria meningitidis*) rLP2086 抗原の効力を決定するための方法にも関する。

【背景技術】

【0002】

rLP2086 は、いくつかのナイセリア・メニンギティディス (*Neisseria meningitidis*) 株に対する交差反応性細菌抗体を誘発する、組換えの 28 キロダルトンのリポタンパク質である。推定されるアミノ酸配列相同性に基づいて、rLP2086 の 2 つの異なるサブファミリー、すなわち、A および B が同定された。これら 2 つのサブファミリーが、種々のレベルのポリソルベート 80 (PS-80) を伴って、10 mM ヒスチジン (pH 6.0)、150 mM NaCl および 0.5 mg/mL アルミニウム中に各 20、60、120 および 200 μ g/mL を含有する、MnB-rLP2086 ワクチン試料の製剤において使用された。ポリソルベート 80 は、TWEEN 80 としてもまた公知であり、ソルビトールから誘導された非イオン性界面活性物質かつ乳化剤であり、医薬製剤中では、乳化剤、可溶化剤および安定化剤として頻繁に使用される。MnB-rLP2086 免疫原性組成物中のポリソルベート 80 の存在が、製剤化、加工、ろ過、充填および輸送の間の凝集を阻止し、フィルターメンブランの吸収を低下させ、チューブの吸収を低下させると考えられている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

10

20

30

40

50

【課題を解決するための手段】

【0004】

いくつかの実施形態では、本発明は、安定な免疫原性組成物を提供し、組成物中のLP2086サブファミリーBポリペプチドの効力が、少なくとも約1～12カ月間、約6～18カ月間、約12～24カ月間、約24～36カ月間または約36～48カ月間維持される。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、LP2086サブファミリーAポリペプチドをさらに含む。

【0005】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、界面活性剤をさらに含む。いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質のモル比が、約0.5：1～約10：1の間、約1：1～約5：1の間、または約1.4：1～4.2：1の間である。いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質のモル比が、約2.8：1である。いくつかの実施形態では、界面活性剤の量が、容器、例として、シリンジまたはバイアル中でのケイ素とポリペプチドの結合を低下させるのに十分である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤、例として、ポリソルベート界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート-80である。

10

【0006】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、多価カチオンをさらに含む。いくつかの実施形態では、多価カチオンは、カルシウムまたはアルミニウムである。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、リン酸カルシウムを含む。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、アルミニウムを、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、硫酸アルミニウムまたはミョウバンとして含む。いくつかの実施形態では、アルミニウムの濃度は、約0.1mg/mL～1.0mg/mLの間である。いくつかの実施形態では、アルミニウムの濃度は、約0.5mg/mLである。

20

【0007】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、ヒスチジンをさらに含む。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約2mM～約20mMの間または約5mM～約15mMの間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約10mMである。いくつかの実施形態では、ヒスチジンのpHは、約5.0～約8.0の間または約5.8～約6.0の間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、10mM、pH6.0である。

30

【0008】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、コハク酸塩をさらに含む。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約2mM～約10mMの間または約3mM～約7mMの間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約5mMである。いくつかの実施形態では、コハク酸塩のpHは、約5.0～約8.0の間または約5.8～約6.0の間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、5mM、pH6.0である。

【0009】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、凍結乾燥されている。いくつかの実施形態では、凍結乾燥された組成物は、アルミニウムを含む緩衝液中に再懸濁されている。いくつかの実施形態では、アルミニウムは、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、硫酸アルミニウムまたはミョウバンとして存在する。

40

【0010】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、タンパク質に対して約2.8：1のモル比のポリソルベート80、AlPO₄としての0.5mg/mLアルミニウム、10mMヒスチジン、pH6.0、および150mM NaClを含む。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200ug/mLのLP2086(fHBP)サブファミリーBポリペプチド、タンパク質に対して約2.8：1のモル比のポリソルベート80、AlPO₄としての0.5mg/mLアルミニウム、10mMヒスチジン、pH6.0、および1

50

50 mM NaCl から本質的になる。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200 µg/mL の rLP2086 (fHBP) サブファミリー A ポリペプチド、200 µg/mL の LP2086 (fHBP) サブファミリー B ポリペプチド、タンパク質に対して約 2.8 : 1 のモル比のポリソルベート 80、AlPO₄ としての 0.5 mg/mL アルミニウム、10 mM ヒスチジン、pH 6.0、および 150 mM NaCl から本質的になる。

【0011】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、タンパク質に対して約 2.8 : 1 のモル比のポリソルベート 80、AlPO₄ としての 0.5 mg/mL アルミニウム、5 mM コハク酸塩、pH 6.0、および 150 mM NaCl を含む。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200 µg/mL の LP2086 (fHBP) サブファミリー B ポリペプチド、タンパク質に対して約 2.8 : 1 のモル比のポリソルベート 80、AlPO₄ としての 0.5 mg/mL アルミニウム、5 mM コハク酸塩、pH 6.0、および 150 mM NaCl から本質的になる。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200 µg/mL の rLP2086 (fHBP) サブファミリー A ポリペプチド、200 µg/mL の LP2086 (fHBP) サブファミリー B ポリペプチド、タンパク質に対して約 2.8 : 1 のモル比のポリソルベート 80、AlPO₄ としての 0.5 mg/mL アルミニウム、5 mM コハク酸塩、pH 6.0、および 150 mM NaCl から本質的になる。

10

【0012】

別の態様では、本発明は、約 0.5 : 1 ~ 10 : 1 の間、約 1 : 1 ~ 約 5 : 1 の間、または約 1.4 : 1 ~ 約 4.2 : 1 の間の界面活性剤対タンパク質のモル比を有する緩衝液中に LP2086 サブファミリー B ポリペプチドを保存することによって、免疫原性組成物中の LP2086 サブファミリー B ポリペプチドの効力を安定化させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 2.8 : 1 である。いくつかの実施形態では、界面活性剤の量が、容器、例として、シリンジまたはバイアル中でのケイ素とポリペプチドの結合を低下させるのに十分である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤、例として、ポリソルベート界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート - 80 である。

20

【0013】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、多価カチオンをさらに含む。いくつかの実施形態では、多価カチオンが、カルシウムまたはアルミニウムである。いくつかの実施形態では、緩衝液が、リン酸カルシウムを含む。いくつかの実施形態では、緩衝液が、アルミニウムを、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、硫酸アルミニウムまたはミョウバンとして含む。いくつかの実施形態では、アルミニウムの濃度が、約 0.1 mg/mL ~ 1.0 mg/mL の間である。いくつかの実施形態では、アルミニウムの濃度は、約 0.5 mg/mL である。

30

【0014】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、ヒスチジンをさらに含む。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度が、約 2 mM ~ 約 20 mM の間または約 5 mM ~ 約 15 mM の間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約 10 mM である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの pH が、約 5.0 ~ 約 8.0 の間または約 5.8 ~ 約 6.0 の間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、10 mM、pH 6.0 である。

40

【0015】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、コハク酸塩をさらに含む。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度が、約 2 mM ~ 約 10 mM の間または約 3 mM ~ 約 7 mM の間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約 5 mM である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の pH が、約 5.0 ~ 約 8.0 の間または約 5.8 ~ 約 6.0 の間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、10 mM、pH 6.0 である。

50

【0016】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、凍結乾燥されている。いくつかの実施形態では、凍結乾燥された組成物は、アルミニウムを含む緩衝液中に再懸濁されている。いくつかの実施形態では、アルミニウムは、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、硫酸アルミニウムまたはミョウバンとして存在する。

【0017】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5mg/mLアルミニウム、10mMヒスチジン、pH6.0、および150mM NaClから本質的になる。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200ug/mLのLP2086(fHBP)サブファミリーBポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5mg/mLアルミニウム、10mMヒスチジン、pH6.0、および150mM NaClから本質的になる。

10

【0018】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5mg/mLアルミニウム、5mMコハク酸塩、pH6.0、および150mM NaClから本質的になる。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200ug/mLのLP2086(fHBP)サブファミリーBポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5mg/mLアルミニウム、5mMコハク酸塩、pH6.0、および150mM NaClから本質的になる。

20

【0019】

別の態様では、本発明は、約0.1mg/mL~約10mg/mLの間のアルミニウムを有し、約0.5:1~10:1の間の界面活性剤対タンパク質のモル比を有する緩衝液中に、LP2086サブファミリーAポリペプチドおよびLP2086サブファミリーBポリペプチドを保存することによって、免疫原性組成物中のLP2086サブファミリーAポリペプチドおよびLP2086サブファミリーBポリペプチドの効力を安定化させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質のモル比は、約1:1~約5:1の間、または約1.4:1~約4.2:1の間である。いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質のモル比は、約2.8:1である。いくつかの実施形態では、界面活性剤の量が、容器、例として、シリンジまたはバイアル中でのケイ素とポリペプチドの結合を低下させるのに十分である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤、例として、ポリソルベート界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート-80である。

30

【0020】

いくつかの実施形態では、アルミニウムは、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、硫酸アルミニウムまたはミョウバンとして存在する。いくつかの実施形態では、アルミニウムの濃度は、約0.5mg/mLである。

【0021】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、ヒスチジンをさらに含む。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度が、約2mM~約20mMの間または約5mM~約15mMの間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約10mMである。いくつかの実施形態では、ヒスチジンのpHが、約5.0~約8.0の間または約5.8~約6.0の間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、10mM、pH6.0である。

40

【0022】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、コハク酸塩をさらに含む。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度が、約2mM~約10mMの間または約3mM~約7mMの間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約5mMである。いくつかの実施形態では、コハク酸塩のpHが、約5.0~約8.0の間または約5.8~約6.0の間である。

50

ある。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、10 mM、pH 6.0である。

【0023】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、凍結乾燥されている。いくつかの実施形態では、凍結乾燥された組成物は、アルミニウムを含む緩衝液中に再懸濁されている。いくつかの実施形態では、アルミニウムは、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、硫酸アルミニウムまたはミョウバンとして存在する。

【0024】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、10 mMヒスチジン、pH 6.0、および150 mM NaClから本質的になる。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200 μ g/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリーAポリペプチド、200 μ g/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリーBポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、10 mMヒスチジン、pH 6.0、および150 mM NaClから本質的になる。

【0025】

いくつかの実施形態では、緩衝液が、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、5 mMコハク酸塩、pH 6.0、および150 mM NaClから本質的になる。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、200 μ g/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリーAポリペプチド、200 μ g/mLのLP2086 (fHBP) サブファミリーBポリペプチド、タンパク質に対して約2.8:1のモル比のポリソルベート80、 $AlPO_4$ としての0.5 mg/mLアルミニウム、5 mMコハク酸塩、pH 6.0、および150 mM NaClから本質的になる。

【0026】

別の態様では、本発明は、rLP2086サブファミリーAポリペプチドおよび/またはrLP2086サブファミリーBポリペプチドの効力を決定するための方法を提供し、この方法は、(a)各サブファミリータンパク質上の立体構造エピトープを認識する第1および第2の機能性モノクローナル抗体を、免疫原性組成物に結合させるステップと、(b)当該ポリペプチドに結合している抗体を定量化するステップとを含む。いくつかの実施形態では、定量化を、電気化学発光により実施する。いくつかの実施形態では、両方の抗体により認識されるエピトープを示しているポリペプチドを定量化する。いくつかの実施形態では、第1の抗体を、標識、例として、ビオチンにコンジュゲートさせる。いくつかの実施形態では、第1の抗体を、コンジュゲートした標識に結合する化合物、例として、ストレプトアビジンビーズまたはストレプトアビジンカラムにより単離する。いくつかの実施形態では、第2の抗体は、定量的な標識により結合される。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物の効力を、基準物質の効力と比較する。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】ポリソルベート80の種々の濃度を有する製剤中のサブファミリーBの安定性を示すグラフである。

【図2】ポリソルベート80の種々の濃度を伴うサブファミリーBの加速安定性を示すグラフである。

【図3】200 μ g/mLのサブファミリーBの28日にわたる効力を示すグラフである。

【図4】20 μ g/mLのサブファミリーBの28日にわたる効力を示すグラフである。

【図5】異なるモル比を有する200 μ g/mLについての効力の結果を示すグラフである。

【図6】異なるモル比を有する20 μ g/mLについての効力の結果を示すグラフである。

。

10

20

30

40

50

【図 7】 pH 6.5 におけるリン酸アルミニウムとタンパク質の結合を示すグラフである。

【図 8】 pH の関数としての、MnB r L P 2 0 8 6 サブファミリー A および B の結合を示すグラフである。

【図 9】 pH、緩衝液およびタンパク質濃度の、r L P 2 0 8 6 サブファミリー A および B の結合に対する作用を示すグラフである。

【図 10】 リン酸アルミニウムを有さない r L P 2 0 8 6 製剤の視覚的外観を示す図である。

【図 11】 外観試料、2 ~ 8 の OD 測定値を示すグラフである。

【図 12】 $AlPO_4$ を有する製剤および $AlPO_4$ を有さない製剤の場合のサブファミリー A についての効力の結果を示すグラフである。

【図 13】 $AlPO_4$ を有する製剤および $AlPO_4$ を有さない製剤の場合のサブファミリー B についての効力の結果を示すグラフである。

【図 14】 0.5 mg / mL アルミニウムを有する r L P 2 0 8 6 プラセボにおけるポリソルベート 80 の結果を示すグラフである。

【図 15】 サブファミリー A についてのポリソルベート 80 の結果を示すグラフである。

【図 16】 サブファミリー B についてのポリソルベート 80 の結果を示すグラフである。

【図 17】 サブファミリー B についての効力と結合型モル比との相関性を示すグラフである。

【図 18】 サブファミリー A についてのモル比の結果を示すグラフである。

【図 19】 サブファミリー B についてのモル比の結果を示すグラフである。

【図 20】 400 μ g / mL の r L P 2 0 8 6 製剤についてのモル比の結果を示すグラフである。

【図 21】 異なる時点における r L P 2 0 8 6 薬剤についてのポリソルベート 80 の結果を示すグラフである。

【図 22】 異なる時点における r L P 2 0 8 6 薬剤についての結合型モル比の結果を示すグラフである。

【図 23】 サブファミリー A についての効力および結合型モル比の結果を示すグラフである。

【図 24】 サブファミリー B についての効力および結合型モル比の結果を示すグラフである。

【図 25】 コハク酸緩衝液およびヒスチジン緩衝液中の $AlPO_4$ を有する場合のサブファミリー A の結合を示すグラフである。

【図 26】 コハク酸緩衝液およびヒスチジン緩衝液中の $AlPO_4$ を有する場合のサブファミリー B の結合を示すグラフである。

【図 27】 コハク酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液およびリン酸緩衝液中における結合の比較を示すグラフである。

【図 28】 $AlPO_4$ を有する場合のサブファミリー A の pH 依存性の結合を示すグラフである。

【図 29】 $AlPO_4$ を有する場合のサブファミリー B の pH 依存性の結合を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0028】

別段の定義がない限り、本明細書において使用する全ての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者が一般に理解する意味と同じ意味を有する。本明細書に記載するものに類似するかまたはそれらと同等である方法および材料を、本発明の実行または試験において使用することができるが、適切な方法および材料を、下記に記載する。材料、方法および例は、例示のためのものに過ぎず、それらに本発明を限定する意図はない。本明細書において言及する刊行物、特許およびその他の文献は全て、それらの全体が参照により組み込まれている。

10

20

30

40

50

【0029】

本明細書全体を通して、単語「含む (comprise)」、または変化形、例として、「含む (comprises)」もしくは「含む (comprising)」は、記述する整数または整数の群を包含するが、任意のその他の整数および整数の群を排除しないことを示していることが理解されよう。

【0030】

定義

本明細書で使用する場合、単数形「ある (a)」、「ある (an)」および「この (the)」は、文脈からそうでないことが明らかでない限り、複数形への言及を含む。したがって、例えば、「この方法」という言及は、本明細書に記載し、かつ/または当業者であれば、本開示を読み取れば明らかになるであろう等のタイプの1つまたは複数の方法および/またはステップを含む。

10

【0031】

本明細書で使用する場合、複数形は、文脈からそうでないことが明らかでない限り、単数形への言及を含む。したがって、例えば、「これらの方法」という言及は、本明細書に記載し、かつ/または当業者であれば、本開示を読み取れば明らかになるであろう等のタイプの1つまたは複数の方法および/またはステップを含む。

【0032】

本明細書で使用する場合、「約」は、値、例として、記述する濃度範囲、時間枠、分子量、温度またはpHの統計学的に意味のある範囲内を意味する。そのような範囲は、指標内、典型的には所与の値または範囲の20%の範囲内、さらにより典型的には10%の範囲内、さらにより典型的には5%の範囲内であり得る。用語「約」が包含する、許される変動は、研究下の特定の系によって異なることになり、当業者であれば容易に理解することができる。また、本出願内で範囲を記載する場合は常に、範囲内の全ての整数も、本発明の実施形態として企図される。

20

【0033】

用語「アジュバント」は、本明細書においてさらに記載および例示するように、抗原に対する免疫応答を増強する化合物または混合物を指す。本発明のワクチン中で使用することができるアジュバントの非限定的な例として、RIBIAアジュバント系 (Ribivax Inc., Hamilton, Mont.)、ミョウバン、水酸化アルミニウムゲル等の鉱物ゲル、水中油型乳剤、例えば、フロイントの完全および不完全アジュバント等の油中水型乳剤、ブロックコポリマー (CytRx, Atlanta Ga.)、QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge Mass.)、SAF-M (Chiron, Emeryville Calif.)、AMPHIGEN (登録商標)アジュバント、サポニン、Quil Aまたはその他のサポニン画分、モノホスホリルリピドA、ならびにアブリジン脂質 - アミンアジュバントが挙げられる。

30

【0034】

用語「アルミニウムとタンパク質の結合」は、アルミニウムに結合しているタンパク質分子の組成物中のパーセントを指す。アルミニウムとタンパク質の結合は、本明細書に開示するかまたは当技術分野で公知である方法を使用して決定することができる。

40

【0035】

用語「有効免疫原性量」は、本明細書で使用する場合、脊椎動物宿主中で免疫応答を惹起するのに有効であるポリペプチドまたはポリペプチドを含む組成物の量を指す。例えば、本発明のrLP2086タンパク質の有効免疫原性量は、脊椎動物宿主中で免疫応答を惹起するのに有効な量である。具体的な「有効免疫原性投与量または量」は、宿主の年齢、体重および医学的状態、ならびに投与方法によって異なることになる。当業者であれば、適切な用量を容易に決定する。

【0036】

用語「モル比」は、本明細書で使用する場合、組成物中の2つの異なる要素のモル数の比を指す。いくつかの実施形態では、モル比は、界面活性剤のモル対タンパク質のモルの

50

比である。いくつかの実施形態では、モル比は、ポリソルベート 80 のモル対タンパク質のモルの比である。タンパク質およびポリソルベート 80 の濃度に基づいて、以下の式を使用して、モル比を計算する。

【 0 0 3 7 】

【 数 1 】

$$\text{モル比} = \frac{\% \text{PS80}}{\text{mg/mL タンパク質}} \times 216$$

10

例えば、0.01%ポリソルベート 80 および 200 μg を含む組成物は、10.8 : 1 [(0 . 0 1 / 0 . 2) × 2 1 6] の界面活性剤対タンパク質のモル比を有する。3モルのポリソルベート 80 対 2モルのタンパク質の比は、3 : 2 の PS 80 対タンパク質のモル比と表わされるであろう。さらに、モル比を単一の数として記載する場合、モル比は、その単一の数対 1 の比を指す。例えば、0.5、2 および 10 のポリソルベート 80 対タンパク質の比はそれぞれ、0.5 : 1、2 : 1 および 10 : 1 の比を指す。本明細書で使用する場合、用語「界面活性剤対タンパク質」のモル比および「ポリソルベート 80 対タンパク質」のモル比は一般に、界面活性剤（またはポリソルベート 80）対タンパク質抗原、特に、P 2 0 8 6 抗原のモル比を指す。本明細書に開示する教示に基づいて、当業者であれば、その他の界面活性剤についてのモル比およびその他の界面活性剤を有する製剤に最適なモル比を計算するための方法を決定することができるであろう。本明細書で使用する場合、「低い」モル比は一般に、「高い」モル比よりも少ない、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質抗原のモル比を指す。「高い」モル比は一般に、「低い」モル比よりも多い、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質抗原のモル比を指す。いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質の「高いモル比」は、10 : 1 よりも多いモル比を指す。いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質の「低いモル比」は、0.5 : 1 ~ 10 : 1 の間のモル比を指す。

20

【 0 0 3 8 】

用語「ORF 2 0 8 6」は、本明細書で使用する場合、ナイセリア種の細菌に由来するオープンリーディングフレーム 2 0 8 6 を指す。ナイセリア ORF 2 0 8 6、そこからコードされるタンパク質、それらのタンパク質の断片、およびそれらのタンパク質を含む免疫原性組成物は、当技術分野で公知であり、例えば、それらのそれぞれの全体が、参照により本明細書に組み込まれている、米国特許出願公開第 US 2 0 0 6 0 2 5 7 4 1 3 号 および第 US 2 0 0 9 0 2 0 2 5 9 3 号 に記載されている。用語「P 2 0 8 6」は一般に、ORF 2 0 8 6 がコードするタンパク質を指す。本発明の P 2 0 8 6 タンパク質は、脂質が付加されていてもよく、または脂質が付加されていなくてもよい。「LP 2 0 8 6」および「P 2 0 8 6」は典型的にはそれぞれ、2 0 8 6 タンパク質の脂質が付加されている形態および脂質が付加されていない形態を指す。本発明の P 2 0 8 6 タンパク質は、組換えであり得る。「rLP 2 0 8 6」および「rP 2 0 8 6」は典型的にはそれぞれ、組換え 2 0 8 6 タンパク質の脂質が付加されている形態および脂質が付加されていない形態を指す。

30

40

【 0 0 3 9 】

用語「薬学的に許容できる担体」は、本明細書で使用する場合、ヒトまたはその他の脊椎動物宿主への投与に適合するあらゆる溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張化剤および吸収遅延剤等を含むことを意図する。典型的には、薬学的に許容できる担体は、ヒトおよび非ヒト哺乳動物を含めた、動物において使用するために連邦、州政府の規制当局もしくはその他の規制当局による承認を得ているかまたは米国薬局方もしくはその他の一般に認識されている薬局方に収載されている担体である。用語「担体」は、それと共に医薬組成物が投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤またはビヒクルを

50

指す。そのような薬学的担体は、無菌の液体、例として、水、および石油、動物、植物または合成の起源のものを含めた、油であり得る。水、生理食塩水、ならびにデキストロスおよびグリセロールの水溶液を、液体の担体として、特に、注射用液剤のために用いることができる。適切な薬学的賦形剤は、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール等を含む。また、組成物は所望により、少量の湿潤剤、増量剤、乳化剤またはpH緩衝剤を含有してもよい。これらの組成物は、液剤、懸濁剤、乳剤、持続放出性製剤等の剤型をとることができる。適切な薬学的担体の例が、E . W . M a r t i n による「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載されている。製剤は、投与様式に適すべきである。適切な担体は、当業者に明らかであり、投与経路に大いに依存することになる。

10

【0040】

用語「効力」は、免疫原性応答を起こす抗原の能力を指す。いくつかの実施形態では、効力を、抗体に結合するエピトープの能力により測定する。効力は、抗原もしくはエピトープの完全性の喪失または抗原もしくはエピトープの立体構造の変化に起因して経時的に喪失または低下し得る。効力は、これらに限定されないが、光、温度、凍結/解凍のサイクル、攪拌およびpHを含めた要因に起因して、喪失または低下し得る。効力は、本明細書において開示する方法および当技術分野で公知のアッセイにより測定することができる。そのような効力決定アッセイは、これらに限定されないが、動物ワクチン接種モデル、血清殺菌力アッセイ(SBA)、フローサイトメトリー、および*in vitro*における効力アッセイを含む。効力を決定するための好ましい方法は、SBAおよび*in vitro*における効力アッセイである。効力を決定するためのより好ましい方法は、SBAである。いくつかの実施形態では、効力を、免疫応答に關与する少なくとも1つのエピトープを標的とする少なくとも1つのモノクローナル抗体を使用して決定することができる。いくつかの実施形態では、試験試料の効力を、基準標準物質の効力と比較する。いくつかの実施形態では、基準標準物質は、 T_0 時の試験試料である。いくつかの実施形態では、基準標準物質は、界面活性剤を有さない免疫原性組成物である。いくつかの実施形態では、基準標準物質は、10:1よりも高い界面活性剤対タンパク質のモル比を有する免疫原性組成物である。

20

30

【0041】

「防御」免疫応答は、対象を感染から防御するように働く、液性または細胞媒介性のいずれかの免疫応答を惹起する免疫原性組成物の能力を指す。もたらされる防御は、絶対的である必要はなく、すなわち、対照の対象集団、例えば、ワクチンまたは免疫原性組成物を投与されない感染動物と比較して統計学的に有意な改善があるならば、感染を完全に予防または根絶する必要はない。防御は、感染症状の重症度または発症速度の緩和に限定され得る。一般に、「防御免疫応答」は、各抗原に対する測定可能な機能性抗体の応答の何らかのレベルを含めた、少なくとも50%の対象における特定の抗原に特異的な抗体のレベルの増加の誘発を含むであろう。特定の状況では、「防御免疫応答」は、各抗原に対する測定可能な機能性抗体の応答の何らかのレベルを含めた、少なくとも50%の対象における、特定の抗原に特異的な抗体のレベルの2倍の増加または4倍の増加の誘発を含むことができるであろう。特定の実施形態では、オプソニン化抗体が、防御免疫応答と相關する。したがって、オプソニン化貪食作用アッセイ、例えば、下記に記載するアッセイにおいて細菌数のパーセント減少を測定することによって、防御免疫応答をアッセイすることができる。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物の非存在下の細菌数と比較して、少なくとも10%、25%、50%、65%、75%、80%、85%、90%、95%以上の細菌数の減少がある。

40

【0042】

用語「タンパク質」、「ポリペプチド」および「ペプチド」は、アミノ酸残基のポリマーを指し、産物の最小の長さに制限されない。したがって、ペプチド、オリゴペプチド、

50

二量体、多量体等が、この定義の内に含まれる。完全長タンパク質およびそれらの断片の両方が、この定義により包含される。また、これらの用語は、好ましくは、タンパク質を投与する動物内で免疫学的応答を惹起する能力をタンパク質が維持するような、未変性配列に対する（一般に、保存的な性質であるが、非保存的であってもよい）改変、例として、欠失、付加および置換も含む。また、発現後の改変、例えば、グリコシル化、アセチル化、脂質付加、リン酸化等も含まれる。

【0043】

用語「組換え」は、本明細書で使用する場合、遺伝子工学的方法により産生される任意のタンパク質、ポリペプチド、または目的の遺伝子を発現する細胞を指す。用語「組換え」は、タンパク質またはポリペプチドに関して使用する場合、組換えポリヌクレオチドの発現により産生されるポリペプチドを意味する。本発明のタンパク質は、天然の供給源から単離するかまたは遺伝子工学的方法により産生することができる。「組換え」は、本明細書で使用する場合、その起源または操作に起因して、それが本来結び付いているポリヌクレオチドの全部または一部と結び付いていない核酸分子をさらに表す。用語「組換え」は、宿主細胞に関して使用する場合、組換えポリヌクレオチドを含む宿主細胞を意味する。

10

【0044】

用語「安定な」および「安定性」は、免疫原性を一定期間にわたり維持する抗原の能力を指す。安定性を、経時的な効力として測定することができる。用語「安定な」および「安定性」は、免疫原性組成物の物理的、化学的および立体構造的な安定性をさらに指す。タンパク質組成の不安定性は、化学的分解、またはタンパク質分子が凝集して、より高次のポリマーを形成することによってか、ヘテロ二量体がモノマーに解離すること、脱グリコシル化、グリコシル化の改変、または本発明中に含むタンパク質組成の少なくとも1つの生物学的活性を低下させる任意のその他の構造的改変によって引き起こされ得る。安定性は、試料の光散乱、光（吸光度もしくは光学密度）の見かけの減弱、（例えば、分子ふるいクロマトグラフィーによる）サイズ、*in vitro*もしくは*in vivo*における生物学的活性、および/または示差走査熱量測定（DSC）による特性の測定を含めた、当技術分野で周知の方法によって評価することができる。安定性を評価するためのその他の方法は、当技術分野で公知であり、また、本発明に従って使用することもできる。

20

【0045】

いくつかの実施形態では、本発明の安定な製剤中の抗原は、基準標準物質と比較して、少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の効力を、少なくとも1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、9カ月間、12カ月間、18カ月間、24カ月間、30カ月間、36カ月間、42カ月間、48カ月間、54カ月間または60カ月間維持することができる。いくつかの実施形態では、本発明の安定な製剤中の抗原は、基準標準物質と比較して、少なくとも50%の効力を、少なくとも1年間、2年間、3年間、4年間または5年間維持することができる。また、用語「安定な」および「安定性」は、エпитープまたは免疫反応性を一定期間にわたり維持する抗原の能力も指す。例えば、本発明の安定な製剤中の抗原は、基準標準物質と比較して、そのエпитープまたは免疫反応性の少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%を、少なくとも1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、9カ月間、12カ月間、18カ月間、24カ月間、30カ月間、36カ月間、42カ月間、48カ月間、54カ月間または60カ月間維持することができる。いくつかの実施形態では、安定性を、環境条件に関して測定する。環境条件の非限定的な例として、光、温度、凍結/解凍のサイクル、攪拌およびpHが挙げられる。当業者であれば、抗原性エпитープの存在または免疫反応性を、本明細書において開示する方法または当技術分野で公知のその他の方法を使用して決定することができるであろう。例えば、McNeilら、Vaccine、27:3417~3421(2009)を参照されたい。いくつかの実施形態では、抗原の安定性を、その製剤化の日から測

30

40

50

定する。いくつかの実施形態では、抗原の安定性を、その保存条件を変化させた日から測定する。保存条件の変化の非限定的な例として、凍結から冷蔵への変化、凍結から室温への変化、冷蔵から室温への変化、冷蔵から凍結への変化、室温から凍結への変化、室温から冷蔵への変化、明所から暗所への変化、または攪拌の導入が挙げられる。

【0046】

用語「安定化剤」は、抗原に結合し、抗原のエピトープまたは免疫反応性を一定期間にわたり維持する化合物を指す。安定化剤は、当技術分野で公知である。安定化剤の例として、多価カチオン、例えば、カルシウムまたはアルミニウムが挙げられる。

【0047】

用語「対象」は、哺乳動物、鳥、魚、爬虫類、または任意のその他の動物を指す。また、用語「対象」は、ヒトも含む。また、用語「対象」は、家庭用ペットも含む。家庭用ペットの非限定的な例として、イヌ、ネコ、ブタ、ウサギ、ラット、マウス、スナネズミ、ハムスター、モルモット、ケナガイタチ、鳥、ヘビ、トカゲ、魚、カメおよびカエルが挙げられる。また、用語「対象」は、家畜動物も含む。家畜動物の非限定的な例として、アルパカ、バイソン、ラクダ、ウシ、シカ、ブタ、ウマ、ラマ、ラバ、ロバ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、トナカイ、ヤク、ニワトリ、ガチョウおよびシチメンチョウが挙げられる。

10

【0048】

用語「ワクチン」または「ワクチン組成物」は、互換的に使用し、対象内において免疫応答を誘発する少なくとも1つの免疫原性組成物を含む医薬組成物を指す。

【0049】

一般的な説明

本発明は、rLP2086サブファミリーA抗原ではなく、rLP2086サブファミリーB抗原が、二価のワクチン製剤中で効力を経時的に喪失し、したがって、不安定であるという新規の発見から生み出されている。二価の製剤中の構成成分を変化させることによって、二価のワクチン製剤中の界面活性剤対タンパク質の高いモル比により、rLP2086サブファミリーB抗原に特異的な不安定性が生じることを決定した。二価および一価の製剤中の界面活性剤対タンパク質のモル比を低下させると、効力の経時的な維持により決定した場合、rLP2086サブファミリーB抗原の安定性の増加が生じ、rLP2086サブファミリーA抗原の安定性には影響が及ばなかった。この結果は驚くべきものであるが、これは、リポタンパク質は典型的には、それらの疎水性脂質部分の凝集を阻止するために高い界面活性剤濃度を使用して精製および保存されるからである。したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、rLP2086サブファミリーB抗原を含み、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を備える免疫原性組成物を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、免疫原性組成物中のrLP2086サブファミリーB抗原の安定性を維持する方法を提供し、この方法は、rLP2086サブファミリーB抗原を、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を備える緩衝液中に保存するステップを含む。

20

30

【0050】

さらなる研究から、低いモル比の免疫原性組成物を攪拌すると、低いモル比の製剤からは、rLP2086サブファミリーA抗原およびB抗原の凝集が生じることが明らかになった。しかし、低いモル比の組成物中のアルミニウム濃度を増加させると、攪拌しても、rLP2086サブファミリーA抗原およびB抗原の凝集が阻止された。さらに、rLP0286サブファミリーA抗原は、アルミニウムの非存在下では、低い界面活性剤のモル比の作用に対して感受性が高まる。したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、rLP2086サブファミリーA抗原、rLP2086サブファミリーB抗原、高い濃度のアルミニウムを含み、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を備える免疫原性組成物を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、免疫原性組成物中のrLP2086サブファミリーA抗原およびrLP2086サブファミリーB抗原の安定性を維持する方法を提供し、この方法は、rLP2086サブファミリーA抗原およびrLP2086サブファミリーB抗原を、高い濃度のアルミニウムを含み、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を備える緩衝液中に保存するステップを含む。

40

50

【0051】

免疫原性組成物

ナイセリア・メニンギティディス (*Neisseria meningitidis*) のORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードするタンパク質を含む免疫原性組成物は、当技術分野で公知である。例示的な免疫原性組成物として、米国特許出願公開第US20060257413号および第US20090202593号に記載されているものが挙げられ、それらの出願公開は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれている。そこに記載されているそのような免疫原性組成物は、ORF2086タンパク質と同定されている、殺菌活性を示すタンパク質、その免疫原性部分、および/またはそれらの生物学的同等物を含む。ORF2086タンパク質は、ナイセリア種のオープンリーディングフレーム2086がコードするタンパク質を指す。

10

【0052】

タンパク質は、組換えタンパク質であっても、または自然のナイセリア種から単離したタンパク質であってもよい。例えば、ナイセリアORF2086タンパク質は、細菌株、例として、ナイセリア・メニンギティディス (*Neisseria meningitidis*) (血清群A、B、C、D、W-135、X、Y、Zおよび29E)、ナイセリア・ゴノレア (*Neisseria gonorrhoeae*) ならびにナイセリア・ラクタミカ (*Neisseria lactamica*) の株を含めた、ナイセリア種の細菌株から単離することができ、前記タンパク質の免疫原性部分および/または生物学的同等物であってもよい。

20

【0053】

ORF2086タンパク質は、2086のサブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質、それらの免疫原性部分、および/またはそれらの生物学的同等物を含む。ORF2086タンパク質またはそれらの同等物等は、脂質が付加されていてもよく、または脂質が付加されていなくてもよい。好ましくは、ナイセリアORF2086タンパク質は、脂質が付加されている。

【0054】

ある1つの実施形態では、免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードするタンパク質に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する単離タンパク質を含む。

30

【0055】

一実施形態では、免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードするサブファミリーAタンパク質に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する単離タンパク質を含む。好ましくは、免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードする単離サブファミリーAタンパク質を含む。

【0056】

別の実施形態では、免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードするサブファミリーBタンパク質に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する単離タンパク質を含む。好ましくは、免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードする単離サブファミリーBタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、ORF2086サブファミリーBタンパク質は、B01変異体である。

40

【0057】

さらに別の実施形態では、免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードするサブファミリーAタンパク質に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する単離タンパク質、およびナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードするサブファミリーBタンパク質に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する単離タンパク質を含む。好ましくは、免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードする単離サブファミリーA

50

タンパク質、およびナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードする単離サブファミリーBタンパク質を含む。

【0058】

一実施形態では、免疫原性組成物は、1:1のサブファミリーAタンパク質対サブファミリーBタンパク質の比を含む。

【0059】

免疫原性組成物は、ナイセリアORF2086に由来するヌクレオチド配列がコードするタンパク質、ポリヌクレオチドまたはそれらの同等物を、免疫原性組成物中の唯一の活性免疫原として含むことができる。あるいは、免疫原性組成物は、その他のナイセリア種の免疫原性ポリペプチド、あるいは1つまたは複数のその他の微生物病原体（例えば、非限定的に、ウイルス、プリオン、細菌もしくは真菌）の免疫学的に活性なタンパク質、または莢膜多糖体を含めて、活性免疫原をさらに含んでもよい。組成物は、1つまたは複数の所望のタンパク質、断片、または選ばれた適応に望まれる医薬化合物を含むことができる。

10

【0060】

本発明は、いずれの多抗原型または多価の免疫原性組成物も企図する。例えば、免疫原性組成物は、2つ以上のORF2086タンパク質の組合せ、ORF2086タンパク質と1つまたは複数のPorAタンパク質との組合せ、ORF2086タンパク質と髄膜炎菌血清群A、C、YおよびW135の多糖体および/もしくは多糖体コンジュゲートとの組合せ、ORF2086タンパク質を、髄膜炎菌および肺炎球菌の組合せと組み合わせたもの、または前述のうちのいずれかの組合せを、所望の投与、例えば、粘膜送達に適した剤型をとって含むことができる。当業者であれば、そのような多抗原型または多価の免疫学的組成物を容易に製剤化することができるであろう。

20

【0061】

また、本発明は、複合免疫化投与計画も企図し、ある病原体に対して有用な任意の組成物を、本発明の組成物の中にかまたは本発明の組成物と組み合わせることができる。例えば、非限定的に、患者は、本発明の免疫原性組成物、および複合免疫化投与計画の一部としての、ヒトパピローマウイルスウイルス（HPV）に対して免疫化するための別の免疫学的組成物、例として、HPVワクチンGARDA SIL（登録商標）の投与を受けることができる。当業者であれば、複合免疫化投与計画を開発および実行する目的で、本発明の免疫原性組成物と併せて使用するための免疫原性組成物を容易に選択することができるであろう。

30

【0062】

ORF2086ポリペプチド、断片および同等物を、コンジュゲート免疫原性組成物の一部として使用することができる、いくつかの血清型および/またはいくつかの疾患に対して免疫原性の特性を有する組成物を生成するために、1つまたは複数のタンパク質またはポリペプチドを担体にコンジュゲートさせる。あるいは、ORF2086ポリペプチドのうちの一つを、その他の免疫原性ポリペプチドのための担体タンパク質として使用することができる。そのような免疫原性組成物の製剤化は、当業者に周知である。

【0063】

本発明の免疫原性組成物は、好ましくは、薬学的に許容できる担体を含む。適切な薬学的に許容できる担体および/または希釈剤は、あらゆる従来の溶媒、分散媒体、充填剤、固体の担体、水溶液、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張化剤および吸収遅延剤等を含む。適切な薬学的に許容できる担体は、例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝溶液、デキストロース、グリセロール、エタノール等のうちの一つまたは複数、およびそれらの組合せを含む。

40

【0064】

薬学的に許容できる担体は、少量の補助物質、例として、湿潤剤もしくは乳化剤、保存剤、または緩衝剤をさらに含むこともでき、これらは、抗体の有効期間または有効性を増強する。薬学的に許容できる担体の調製および使用は、当技術分野で周知である。任意の

50

従来の媒体または作用物質が活性成分と不適合でない限り、本発明の免疫原性組成物中のそれらの使用が企図される。

【0065】

免疫原性組成物は、例えば、皮下注射または筋肉内注射のいずれかにより非経口投与してもよく、経口によりまたは鼻腔内に投与してもよい。筋肉内免疫化ための方法は、Wolffら、*Biotechniques*; 11(4): 474~85(1991)およびSedegahら、*PNAS* 91巻、pp. 9866~9870(1994)により記載されている。その他の投与様式は、例えば、非限定的に、経口製剤、肺用製剤、坐剤および経皮適用を用いる。経口製剤は、例えば、非限定的に、例えば、医薬品等級のマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウム等のような通常用いられる賦形剤を含む。好ましくは、免疫原性組成物は、筋肉内投与する。

10

【0066】

本発明の免疫原性組成物は、1つまたは複数のアジュバントを含むことができる。例示的なアジュバントとして、これらに限定されないが、水酸化アルミニウム；リン酸アルミニウム；STIMULON(商標)QS-21(Aquila Biopharmaceuticals, Inc., Framingham, Mass.); MPL(商標)(3-O-脱アシル化モノホスホリルリピドA; Corixa, Hamilton, Mont.)、529(アミノアルキルグルコサミンホスフェート化合物、Corixa, Hamilton, Mont.)、IL-12(Genetics Institute, Cambridge, Mass.); GM-CSF(ImmuneX Corp., Seattle, Wash.); N-アセチル-ムラミル-L-スレオニル-D-イソグルタミン(thr-MDP); N-アセチル-ノル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン(CGP11637、nor-MDPと呼ばれる); N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミル-L-アラニン-2-(1'-2'-ジバルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ-エチルアミン)(CGP19835A、MTP-PEと呼ばれる); およびコレラ毒素が挙げられる。特定の好ましい実施形態では、アジュバントはQS-21である。

20

【0067】

さらなる例示的なアジュバントとして、Aサブユニットを含めた、コレラ毒素の無毒性の誘導体、および/あるいはナイセリア・メニンギティディス(N. meningitidis)ポリペプチドと、コレラ毒素もしくはそのBサブユニット(「CTB」)とのコンジュゲートもしくは遺伝子工学的に作製した融合体、プロコレラゲノイド(procholeragenoid)、シゾフィランを含めた、真菌の多糖体、ムラミルジペプチド、ムラミルジペプチド(「MDP」)誘導体、ホルポールエステル、大腸菌(E. coli)の熱不安定毒素、ブロックポリマー、またはサポニンが挙げられる。

30

【0068】

リン酸アルミニウムは、アジュバントとして、第一相臨床試験において、0.125mg/用量の濃度まで使用されており、この濃度は、米国連邦規制基準[610.15(a)]が特定する限度の0.85mg/用量よりもはるかに低い。アルミニウム含有アジュバントは、筋肉内または皮下投与の場合、抗原の免疫応答を強化するために、ヒトにおいて広く使用されている。

40

【0069】

特定の好ましい実施形態では、本発明のタンパク質を、粘膜アジュバントを含む経口投与のための免疫原性組成物中で使用し、ヒト宿主においてナイセリア・メニンギティディス(N. meningitidis)感染を治療または予防するために使用する。粘膜アジュバントは、コレラ毒素であってよい; しかし、好ましくは、本発明に従って使用することができるコレラ毒素以外の粘膜アジュバントとして、Aサブユニットを突然変異させたコレラ毒素の無毒性の誘導体、化学的に改変したコレラ毒素、またはコレラ毒素のアミノ酸配列の改変により産生させた関連のタンパク質が挙げられる。本発明の免疫原性

50

組成物を調製するのに特に有用であり得る特定のコレラ毒素については、その全体が参照により本明細書に組み込まれている国際出願公開W O O O / 1 8 4 3 4 に開示されている突然変異体のコレラ毒素E 2 9 Hを参照されたい。これらを、本発明のポリペプチドに添加するかまたは本発明のポリペプチドとコンジュゲートさせることができる。同じ技法を、粘膜アジュバント特性または送達特性を有するその他の分子、例として、大腸菌 (*Escherichia coli*) の熱不安定毒素 (LT) に適用することができる。粘膜アジュバント活性または送達活性を有するその他の化合物、例として、胆汁；ポリカチオン、例として、DEAE-デキストランおよびポリオルニチン；界面活性剤、例として、ドデシルベンゼン硫酸ナトリウム；脂質コンジュゲート物質；抗生物質、例として、ストレプトマイシン；ビタミンA；ならびに粘膜表面の構造的または機能的な完全性を変化させるその他の化合物を使用することができる。その他の粘膜活性を示す化合物は、微生物構造の誘導体、例として、MDP；アクリジンおよびシメチジンを含む。また、上記したSTIMULON (商標) QS-21、MPLおよびIL-12も使用することができる。

10

【0070】

本発明の免疫原性組成物は、ISCOM (免疫賦活複合体)、CTBを含有するISCOM、リポソームの形態で送達するか、または吸着に適したサイズのマイクロスフェアを形成するために、アクリレートまたはポリ (DL-ラクチド-co-グリコシド) 等の化合物中に被包することができる。また、本発明のタンパク質は、油性乳剤中に組み込むこともできる。

20

【0071】

患者に投与する免疫原性組成物の量 (すなわち、用量) を、特定の抗原、(存在する場合には) アジュバント、特定の患者の年齢、性別、体重、種、状態、および投与経路等の要因を考慮に入れて、当業者に公知の標準的な技法に従って決定することができる。

【0072】

例えば、思春期のヒト患者のための投与量は、少なくとも $0.1 \mu\text{g}$ 、 $1 \mu\text{g}$ 、 $10 \mu\text{g}$ または $50 \mu\text{g}$ のナイセリアORF2086タンパク質を含み、最大 $80 \mu\text{g}$ 、 $100 \mu\text{g}$ 、 $150 \mu\text{g}$ または $200 \mu\text{g}$ のナイセリアORF2086タンパク質を含むことができる。任意の最小値と任意の最大値とを組み合わせ、適切な範囲を定義することができる。

30

【0073】

*in vitro*における効力アッセイ

免疫原性組成物中のサブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質中の機能性エピトープを、立体構造に特異的なモノクローナル抗体を使用して、rLP2086基準物質と比べて定量化することによって、効力を決定する。*in vivo*において免疫応答を惹起して、殺菌性抗体を生成させることになるサブファミリーAまたはサブファミリーBのrLP2086タンパク質中の機能性エピトープを定量的に測定することによって、効力を決定する。選択したモノクローナル抗体 (mAb) を用いる効力アッセイに定量化技術を使用する。立体構造的であり、オーバーラップしない2つの機能性モノクローナル抗体を、免疫原性組成物中の各サブファミリーのrLP2086タンパク質について選択する。2つの精製モノクローナル抗体のうち、第1の抗体を、第1のタグにコンジュゲートさせ、第1のタグを使用して、rLP2086タンパク質分子を捕捉する。いくつかの実施形態では、第1のタグは、ビオチン、グルタチオン-Sトランスフェラーゼ (GST)、 $6 \times \text{His}$ タグ、またはビーズ (例えば、カルボキシル化ポリスチレンビーズもしくは常磁性ビーズ) である。いくつかの実施形態では、第1のタグを、ストレプトアビジンビーズ、ストレプトアビジンカラム、ニッケルビーズ、ニッケルカラム、遠心分離を用いて、または磁場を用いて捕捉する。第2の抗体を、第2のタグにコンジュゲートさせ、第2のタグは定量化可能である。いくつかの実施形態では、第2のタグは、ビオチン、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP)、蛍光体または放射標識である。いくつかの実施形態では、第2のタグを、蛍光体またはHRPにコンジュゲートさせたストレプト

40

50

アビジンを用いて、電気化学発光、蛍光検出または放射活性検出によって検出する。各免疫原性組成物中の2つのmAbにより認識される両方のエピトープを示すタンパク質のみが測定されることになる。タンパク質のいずれか一方または両方のエピトープの変化が反映されることになる。試料の効力を、基準物質の効力と比べて報告する。

【0074】

いくつかの実施形態では、本発明は、2086タンパク質の効力を決定するための方法を包含する。いくつかの実施形態では、この方法は、(1)第1のモノクローナルAbおよび第2のmAbを、2086タンパク質を含む免疫原性組成物と共にインキュベートするステップであって、第1のmAbがmAbを捕捉するために使用する第1のタグにコンジュゲートしており、第2のmAbが検出可能である第2のタグにコンジュゲートしており、第1および第2のmAbは、2086基準タンパク質上の異なる立体構造エピトープを標的とするステップと、(2)第1のmAbに結合している2086タンパク質を、第1のタグを使用して捕捉するステップと、(3)第2のタグを使用して捕捉した第2のmAbに結合している2086タンパク質を検出し、その量を定量化するステップとを含む。いくつかの実施形態では、2086タンパク質は、サブファミリーAタンパク質である。いくつかの実施形態では、2086タンパク質は、サブファミリーBタンパク質である。いくつかの実施形態では、2086タンパク質は、脂質が付加されている。いくつかの実施形態では、2086タンパク質は、脂質が付加されていない。いくつかの実施形態では、2086タンパク質は組換えである。いくつかの実施形態では、第1のタグは、ビオチン、6xHisタグ、またはビーズ(例えば、カルボキシル化ポリスチレンビーズもしくは常磁性ビーズ)である。いくつかの実施形態では、第1のタグを、ストレプトアビジンビーズ、ストレプトアビジンカラム、グルタチオンビーズ、グルタチオンカラム、ニッケルビーズ、ニッケルカラム、遠心分離を用いて、または磁場を用いて捕捉する。いくつかの実施形態では、第2のタグは、ビオチン、HRP、蛍光体または放射標識である。いくつかの実施形態では、第2のタグを、蛍光体またはHRPにコンジュゲートさせたストレプトアビジンを用いて、電気化学発光、蛍光検出または放射活性検出によって検出する。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、複数の2086タンパク質変異体を含む。

10

20

【0075】

rLP2086サブファミリーB抗原の効力の安定性

いくつかの実施形態では、本発明は、rLP2086サブファミリーB抗原を経時的に安定化させる免疫原性組成物を提供し、この免疫原性組成物は、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を有する緩衝液を含む。

30

【0076】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約0.5~約10の間である。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約1~約5の間である。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約1.4~約4.2の間である。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約0.5、約0.6、約0.7、約0.8、約0.9、約1.0、約1.1、約1.2、約1.3、約1.4、約1.5、約1.6、約1.7、約1.8、約1.9、約2.0、約2.1、約2.2、約2.3、約2.4、約2.5、約2.6、約2.7、約2.8、約2.9、約3.0、約3.1、約3.2、約3.3、約3.4、約3.5、約3.6、約3.7、約3.8、約3.9、約4.0、約4.1、約4.2、約4.3、約4.4、約4.5、約4.6、約4.7、約4.8、約4.9、約5.0、約5.5、約6.0、約6.5、約7.0、約7.5、約8.0、約8.5、約9.0、約9.5または約10である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート80である。

40

【0077】

50

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、多価カチオンをさらに含む。いくつかの実施形態では、多価カチオンは、カルシウムまたはアルミニウムである。いくつかの実施形態では、アルミニウムは、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ およびミョウバンのうちの1つまたは複数として存在する。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、約0.1 mg/mL ~ 約1 mg/mLの間、約0.25 mg/mL ~ 約0.75 mg/mLの間、または約0.4 mg/mL ~ 約0.6 mg/mLの間のアルミニウムを含む。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、約0.1 mg/mL、約0.15 mg/mL、約0.2 mg/mL、約0.25 mg/mL、約0.3 mg/mL、約0.35 mg/mL、約0.4 mg/mL、約0.45 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.55 mg/mL、約0.6 mg/mL、約0.65 mg/mL、約0.7 mg/mL、約0.75 mg/mL、約0.8 mg/mL、約0.85 mg/mL、約0.9 mg/mL、約0.95 mg/mLまたは約1 mg/mLのアルミニウムを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%のアルミニウムとタンパク質の結合がある。

10

20

30

40

50

【0078】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、ヒスチジンを含む緩衝液をさらに含む。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約2 mM ~ 約20 mMの間、約5 mM ~ 約15 mMの間、または約8 mM ~ 12 mMの間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM、約10 mM、約11 mM、約12 mM、約13 mM、約14 mM、約15 mM、約16 mM、約17 mM、約18 mM、約19 mMまたは約20 mMである。

【0079】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、コハク酸塩を含む緩衝液をさらに含む。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約2 mM ~ 約20 mMの間、約2 mM ~ 約10 mMの間、または約3 mM ~ 7 mMの間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM、約10 mM、約11 mM、約12 mM、約13 mM、約14 mM、約15 mM、約16 mM、約17 mM、約18 mM、約19 mMまたは約20 mMである。

【0080】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物のpHは、約5.0 ~ 約8.0の間、約5.5 ~ 約7.0の間、または約5.8 ~ 約6.0の間のpHを有する。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物のpHは、約5.0、約5.1、約5.2、約5.3、約5.4、約5.5、約5.6、約5.7、約5.8、約5.9、約6.0、約6.1、約6.2、約6.3、約6.4または約6.5のpHを有する。

【0081】

いくつかの実施形態では、MnB rLP2086サブファミリーBタンパク質抗原の免疫原性組成物の製剤は、リン酸アルミニウムとしての0.5 mg/mLアルミニウムを含有し、2.8のポリソルベート80：タンパク質のモル比をもつ10 mMヒスチジン緩衝溶液、pH 6.0である。

【0082】

いくつかの実施形態では、MnB rLP2086サブファミリーBタンパク質抗原の免疫原性組成物の製剤は、リン酸アルミニウムとしての0.5 mg/mLアルミニウムを含有し、2.8のポリソルベート80：タンパク質のモル比をもつ5 mMコハク酸緩衝溶液、pH 6.0である。

【0083】

いくつかの実施形態では、本発明は、rLP2086サブファミリーB抗原を経時的に安定化させる方法を提供し、この方法は、抗原を、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を有する緩衝液中に保存するステップを含む。

【0084】

いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 0.5 ~ 約 10 の間である。いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 1 ~ 約 5 の間である。いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 1.4 ~ 約 4.2 の間である。いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 0.5、約 0.6、約 0.7、約 0.8、約 0.9、約 1.0、約 1.1、約 1.2、約 1.3、約 1.4、約 1.5、約 1.6、約 1.7、約 1.8、約 1.9、約 2.0、約 2.1、約 2.2、約 2.3、約 2.4、約 2.5、約 2.6、約 2.7、約 2.8、約 2.9、約 3.0、約 3.1、約 3.2、約 3.3、約 3.4、約 3.5、約 3.6、約 3.7、約 3.8、約 3.9、約 4.0、約 4.1、約 4.2、約 4.3、約 4.4、約 4.5、約 4.6、約 4.7、約 4.8、約 4.9、約 5.0、約 5.5、約 6.0、約 6.5、約 7.0、約 7.5、約 8.0、約 8.5、約 9.0、約 9.5 または約 10 である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート - 80 である。

【0085】

いくつかの実施形態では、緩衝液は、多価カチオンをさらに含む。いくつかの実施形態では、多価カチオンは、カルシウムまたはアルミニウムである。いくつかの実施形態では、アルミニウムは、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ およびミョウバンのうちの 1 つまたは複数として存在する。いくつかの実施形態では、緩衝液中の安定化剤は、約 0.1 mg/mL ~ 約 1 mg/mL の間、約 0.25 mg/mL ~ 約 0.75 mg/mL の間、または約 0.4 mg/mL ~ 約 0.6 mg/mL の間のアルミニウムである。いくつかの実施形態では、緩衝液中の安定化剤は、約 0.1 mg/mL、約 0.15 mg/mL、約 0.2 mg/mL、約 0.25 mg/mL、約 0.3 mg/mL、約 0.35 mg/mL、約 0.4 mg/mL、約 0.45 mg/mL、約 0.5 mg/mL、約 0.55 mg/mL、約 0.6 mg/mL、約 0.65 mg/mL、約 0.7 mg/mL、約 0.75 mg/mL、約 0.8 mg/mL、約 0.85 mg/mL、約 0.9 mg/mL、約 0.95 mg/mL または約 1 mg/mL のアルミニウムである。いくつかの実施形態では、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% のアルミニウムとタンパク質の結合がある。

【0086】

いくつかの実施形態では、緩衝液は、ヒスチジンをさらに含む。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約 2 mM ~ 約 20 mM の間、約 5 mM ~ 約 15 mM の間、または約 8 mM ~ 12 mM の間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約 2 mM、約 3 mM、約 4 mM、約 5 mM、約 6 mM、約 7 mM、約 8 mM、約 9 mM、約 10 mM、約 11 mM、約 12 mM、約 13 mM、約 14 mM、約 15 mM、約 16 mM、約 17 mM、約 18 mM、約 19 mM または約 20 mM である。

【0087】

いくつかの実施形態では、緩衝液は、コハク酸塩をさらに含む。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約 2 mM ~ 約 20 mM の間、約 2 mM ~ 約 10 mM の間、または約 3 mM ~ 7 mM の間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約 2 mM、約 3 mM、約 4 mM、約 5 mM、約 6 mM、約 7 mM、約 8 mM、約 9 mM、約 10 mM、約 11 mM、約 12 mM、約 13 mM、約 14 mM、約 15 mM、約 16 mM、約 17 mM、約 18 mM、約 19 mM または約 20 mM である。

【0088】

いくつかの実施形態では、緩衝液は、約 5.0 ~ 約 8.0 の間、約 5.5 ~ 約 7.0 の間、または約 5.8 ~ 約 6.0 の間の pH を有する。いくつかの実施形態では、緩衝液は、約 5.0、約 5.1、約 5.2、約 5.3、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9、約 6.0、約 6.1、約 6.2、約 6.3、約 6.4 または約 6

．5のpHを有する。

【0089】

いくつかの実施形態では、MnB rLP2086サブファミリー-Bタンパク質抗原を保存する緩衝液は、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムを含有し、2.8のポリソルベート80：タンパク質のモル比をもつ10mMヒスチジン緩衝溶液、pH6.0である。

【0090】

いくつかの実施形態では、MnB rLP2086サブファミリー-Bタンパク質抗原を保存する緩衝液は、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムを含有し、2.8のポリソルベート80：タンパク質のモル比をもつ5mMコハク酸緩衝溶液、pH6.0である。

10

【0091】

rLP2086サブファミリー-A抗原およびB抗原の効力の安定性

いくつかの実施形態では、本発明は、rLP2086サブファミリー-A抗原および/またはrLP2086サブファミリー-B抗原を経時的に安定化させる免疫原性組成物を提供し、この免疫原性組成物は、安定化剤の高い濃度を有し、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を有する緩衝液を含む。

【0092】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約0.5～約10の間である。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約1～約5の間である。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約1.4～約4.2の間である。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約0.5、約0.6、約0.7、約0.8、約0.9、約1.0、約1.1、約1.2、約1.3、約1.4、約1.5、約1.6、約1.7、約1.8、約1.9、約2.0、約2.1、約2.2、約2.3、約2.4、約2.5、約2.6、約2.7、約2.8、約2.9、約3.0、約3.1、約3.2、約3.3、約3.4、約3.5、約3.6、約3.7、約3.8、約3.9、約4.0、約4.1、約4.2、約4.3、約4.4、約4.5、約4.6、約4.7、約4.8、約4.9、約5.0、約5.5、約6.0、約6.5、約7.0、約7.5、約8.0、約8.5、約9.0、約9.5または約10である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート80である。

20

30

【0093】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、多価カチオンをさらに含む。いくつかの実施形態では、多価カチオンは、カルシウムまたはアルミニウムである。いくつかの実施形態では、アルミニウムは、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ およびミョウバンのうちの1つまたは複数として存在する。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、約0.1mg/mL～約1mg/mLの間、約0.25mg/mL～約0.75mg/mLの間、または約0.4mg/mL～約0.6mg/mLの間のアルミニウムを含む。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、約0.1mg/mL、約0.15mg/mL；約0.2mg/mL、約0.25mg/mL、約0.3mg/mL、約0.35mg/mL、約0.4mg/mL、約0.45mg/mL、約0.5mg/mL、約0.55mg/mL、約0.6mg/mL、約0.65mg/mL、約0.7mg/mL、約0.75mg/mL、約0.8mg/mL、約0.85mg/mL、0.9mg/mL、約0.95mg/mLまたは約1mg/mLのアルミニウムを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%のアルミニウムとタンパク質の結合がある。

40

【0094】

50

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、ヒスチジンを含む緩衝液をさらに含む。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約 2 m M ~ 約 2 0 m M の間、約 5 m M ~ 約 1 5 m M の間、または約 8 m M ~ 1 2 m M の間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約 2 m M、約 3 m M、約 4 m M、約 5 m M、約 6 m M、約 7 m M、約 8 m M、約 9 m M、約 1 0 m M、約 1 1 m M、約 1 2 m M、約 1 3 m M、約 1 4 m M、約 1 5 m M、約 1 6 m M、約 1 7 m M、約 1 8 m M、約 1 9 m M または約 2 0 m M である。

【 0 0 9 5 】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、コハク酸塩を含む緩衝液をさらに含む。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約 2 m M ~ 約 2 0 m M の間、約 2 m M ~ 約 1 0 m M の間、または約 3 m M ~ 7 m M の間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約 2 m M、約 3 m M、約 4 m M、約 5 m M、約 6 m M、約 7 m M、約 8 m M、約 9 m M、約 1 0 m M、約 1 1 m M、約 1 2 m M、約 1 3 m M、約 1 4 m M、約 1 5 m M、約 1 6 m M、約 1 7 m M、約 1 8 m M、約 1 9 m M または約 2 0 m M である。

10

【 0 0 9 6 】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、約 5 . 0 ~ 約 8 . 0 の間、約 5 . 5 ~ 約 7 . 0 の間、または約 5 . 8 ~ 約 6 . 0 の間の pH を有する。いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、約 5 . 0、約 5 . 1、約 5 . 2、約 5 . 3、約 5 . 4、約 5 . 5、約 5 . 6、約 5 . 7、約 5 . 8、約 5 . 9、約 6 . 0、約 6 . 1、約 6 . 2、約 6 . 3、約 6 . 4 または約 6 . 5 の pH を有する。

【 0 0 9 7 】

いくつかの実施形態では、M n B r L P 2 0 8 6 サブファミリー A および B のタンパク質抗原の製剤は、リン酸アルミニウムとしての 0 . 5 m g / m L アルミニウムを含有し、2 . 8 のポリソルベート 8 0 : タンパク質のモル比をもつ 1 0 m M ヒスチジン緩衝溶液、p H 6 . 0 である。

20

【 0 0 9 8 】

いくつかの実施形態では、M n B r L P 2 0 8 6 サブファミリー B タンパク質抗原の免疫原性組成物の製剤は、リン酸アルミニウムとしての 0 . 5 m g / m L アルミニウムを含有し、2 . 8 のポリソルベート 8 0 : タンパク質のモル比をもつ 5 m M コハク酸緩衝溶液、p H 6 . 0 である。

【 0 0 9 9 】

いくつかの実施形態では、本発明は、r L P 2 0 8 6 サブファミリー A 抗原および / または r L P 2 0 8 6 サブファミリー B 抗原を経時的に安定化させる方法を提供し、この方法は、抗原を、安定化剤の高い濃度を有し、界面活性剤対タンパク質の低いモル比を有する緩衝液中に保存するステップを含む。

30

【 0 1 0 0 】

いくつかの実施形態では、界面活性剤対タンパク質のモル比は、1 0 : 1 未満である。いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 0 . 5 ~ 約 1 0 の間である。いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 1 ~ 約 5 の間である。いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 1 . 4 ~ 約 4 . 2 の間である。いくつかの実施形態では、緩衝液中の界面活性剤対タンパク質のモル比は、約 0 . 5、約 0 . 6、約 0 . 7、約 0 . 8、約 0 . 9、約 1 . 0、約 1 . 1、約 1 . 2、約 1 . 3、約 1 . 4、約 1 . 5、約 1 . 6、約 1 . 7、約 1 . 8、約 1 . 9、約 2 . 0、約 2 . 1、約 2 . 2、約 2 . 3、約 2 . 4、約 2 . 5、約 2 . 6、約 2 . 7、約 2 . 8、約 2 . 9、約 3 . 0、約 3 . 1、約 3 . 2、約 3 . 3、約 3 . 4、約 3 . 5、約 3 . 6、約 3 . 7、約 3 . 8、約 3 . 9、約 4 . 0、約 4 . 1、約 4 . 2、約 4 . 3、約 4 . 4、約 4 . 5、約 4 . 6、約 4 . 7、約 4 . 8、約 4 . 9、約 5 . 0、約 5 . 5、約 6 . 0、約 6 . 5、約 7 . 0、約 7 . 5、約 8 . 0、約 8 . 5、約 9 . 0、約 9 . 5 または約 1 0 である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート 8 0 である。

40

50

【0101】

いくつかの実施形態では、緩衝液中の安定化剤は、多価カチオンである。いくつかの実施形態では、多価カチオンは、カルシウムまたはアルミニウムである。いくつかの実施形態では、アルミニウムは、 $AlPO_4$ 、 $Al(OH)_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ およびミョウバンのうちの1つまたは複数として存在する。いくつかの実施形態では、緩衝液中の安定化剤は、約0.1 mg/mL ~ 約1 mg/mLの間、約0.25 mg/mL ~ 約0.75 mg/mLの間、または約0.4 mg/mL ~ 約0.6 mg/mLの間のアルミニウムである。いくつかの実施形態では、緩衝液中の安定化剤は、約0.1 mg/mL、約0.15 mg/mL、約0.2 mg/mL、約0.25 mg/mL、約0.3 mg/mL、約0.35 mg/mL、約0.4 mg/mL、約0.45 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.55 mg/mL、約0.6 mg/mL、約0.65 mg/mL、約0.7 mg/mL、約0.75 mg/mL、約0.8 mg/mL、約0.85 mg/mL、約0.9 mg/mL、約0.95 mg/mLまたは約1 mg/mLのアルミニウムである。いくつかの実施形態では、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%のアルミニウムとタンパク質の結合がある。

10

【0102】

いくつかの実施形態では、緩衝液は、ヒスチジンをさらに含む。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約2 mM ~ 約20 mMの間、約5 mM ~ 約15 mMの間、または約8 mM ~ 12 mMの間である。いくつかの実施形態では、ヒスチジンの濃度は、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM、約10 mM、約11 mM、約12 mM、約13 mM、約14 mM、約15 mM、約16 mM、約17 mM、約18 mM、約19 mMまたは約20 mMである。

20

【0103】

いくつかの実施形態では、緩衝液は、コハク酸塩をさらに含む。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約2 mM ~ 約20 mMの間、約2 mM ~ 約10 mMの間、または約3 mM ~ 7 mMの間である。いくつかの実施形態では、コハク酸塩の濃度は、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM、約10 mM、約11 mM、約12 mM、約13 mM、約14 mM、約15 mM、約16 mM、約17 mM、約18 mM、約19 mMまたは約20 mMである。

30

【0104】

いくつかの実施形態では、緩衝液は、約5.0 ~ 約8.0の間、約5.5 ~ 約7.0の間、または約5.8 ~ 約6.0の間のpHを有する。いくつかの実施形態では、緩衝液は、約5.0、約5.1、約5.2、約5.3、約5.4、約5.5、約5.6、約5.7、約5.8、約5.9、約6.0、約6.1、約6.2、約6.3、約6.4または約6.5のpHを有する。

【0105】

いくつかの実施形態では、MnB_rLP2086サブファミリーAおよびBのタンパク質抗原を保存する緩衝液は、リン酸アルミニウムとしての0.5 mg/mLアルミニウムを含有し、2.8のポリソルベート80：タンパク質のモル比をもつ10 mMヒスチジン緩衝溶液、pH 6.0である。

40

【0106】

いくつかの実施形態では、MnB_rLP2086サブファミリーAおよびBのタンパク質抗原を保存する緩衝液は、リン酸アルミニウムとしての0.5 mg/mLアルミニウムを含有し、2.8のポリソルベート80：タンパク質のモル比をもつ5 mMコハク酸緩衝溶液、pH 6.0である。

【0107】

本発明がより良好に理解され得るために、以下の実施例を記載する。実施例は例示のためのものに過ぎず、実施例により本発明の範囲が限定されると解釈してはならない。

【0108】

50

本明細書に引用する参考文献は全て、参照により本明細書に組み込まれている。

【実施例】

【0109】

(実施例1)

実験手順

アルミニウムの結合の決定

アルミニウムおよび少なくとも1つのタンパク質抗原を含む組成物を遠心分離し、その結果、アルミニウムがペレット化された。アルミニウム吸収タンパク質の遠心分離は、当技術分野で公知である。例えば、Eganら、Vaccine、27巻(24):3175~3180(2009)を参照されたい。また、アルミニウム結合型のタンパク質もペレット化され、一方、アルミニウム非結合型のタンパク質は、上清中に残留した。上清およびペレット中の総タンパク質を、ローリーアッセイにより決定した。上清中の総タンパク質を、組成物に添加した総タンパク質で割り、100%を乗じることによって、パーセント結合型タンパク質を計算した。同様に、パーセント非結合型タンパク質を、上清中の総タンパク質を、組成物に添加した総タンパク質で割り、100%を乗じることによって計算した。

10

【0110】

サブファミリーA抗原およびサブファミリーB抗原の両方を含む組成物については、上清中のサブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質の個々の濃度を、イオン交換クロマトグラフィーにより決定した。サブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質の分離および溶出を、強力なアニオンカラムおよび高い塩濃度の溶出液を使用して実施した。サブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質の両方を、励起=280runおよび放射=310runに設定した蛍光検出器を使用して検出および定量化した。サブファミリーAタンパク質とサブファミリーBタンパク質とは、明確に異なる保持時間で溶出し、rLP2086タンパク質基準物質に対して得た検量線を使用して定量化した。パーセント非結合型タンパク質は、上清中の総タンパク質を、組成物に添加した総タンパク質で割り、100%を乗じることによって計算した。パーセント結合型タンパク質は、100%からパーセント非結合型タンパク質を減じることによって計算した。

20

【0111】

*in vitro*における効力アッセイ

rLP2086の効力アッセイは、rLP2086薬物物質の単一のタンパク質分子上の、立体構造的であり、オーバーラップしないエピトープを認識する2つの機能性モノクローナル抗体に依存する均一な捕捉アッセイまたはサンドイッチアッセイである。一方の精製モノクローナル抗体は、捕捉抗体(mAb)として働き、特有の色でコードされた識別子を有するカルボキシル化ポリスチレンビーズに化学的にコンジュゲートしている。第2の抗体は、ビオチン化されており、検出抗体として働き、続いて、この抗体に、蛍光体R-フィコエリトリンにコンジュゲートしているストレプトアビジン(SA-PE)が結合する。Bio-plex検出装置の流体素子が、個々のマイクロスフェアおよびそれらに伴うSA-PEシグナルを定量化する。マイクロスフェアを伴うR-フィコエリトリンからの蛍光シグナルは、ビーズコンジュゲート抗体、抗原および検出抗体の間で三成分複合体が形成されることによってのみ検出されることになり、rLP2086試料中の機能性エピトープの数に比例することになる。一方または両方のエピトープが変化すると、基準標準物質に比して蛍光の喪失が生じ、このことは、効力の喪失を示すことになる。

40

試薬

モノクローナル抗体コンジュゲートマイクロスフェア(Luminex Microplex Microsphereのビーズ領域12番またはビーズ領域66番にコンジュゲートしている)。

ビオチン化モノクローナル抗体。

rLP2086基準物質、サブファミリーAおよびB、2mg/ml。-70で保存。

50

r L P 2 0 8 6 サブファミリー A および B の二価の対照

ストレプトアビジン、R - フィコエリトリンにコンジュゲート、凍結乾燥

緩衝液

1 0 m M ヒスチジン、1 5 0 m M N a C l、p H 6 . 0

0 . 8 5 % w / v 生理食塩水中の 5 % w / v ポリソルベート 8 0 (P S - 8 0)。

マトリックス緩衝液 (1 0 m M ヒスチジン、0 . 0 2 % ポリソルベート 8 0、1 5 0 m M N a C l、p H 6 . 0)。

アッセイ用緩衝液 (0 . 1 % B S A、0 . 0 2 % ポリソルベート 8 0、0 . 1 % アジドを有する P B S、p H 7 . 4)。

1 0 0 × ストレプトアビジン、R - フィコエリトリンコンジュゲート (S A - P E) - 凍結乾燥ストレプトアビジン、R - フィコエリトリンのバイアルを開け、1 m L の蒸留水を添加する。完全に溶解するまでボルテックスした。

【 0 1 1 2 】

手順

2 0 0 μ L のサブファミリー A タンパク質および 2 0 0 μ L のサブファミリー B タンパク質を、6 0 0 μ L のマトリックス緩衝液に添加して、各サブファミリーの 4 0 0 μ g / m l の濃度を得た。8 つの濃度 (3 3 3 3 ~ 1 . 5 n g / m L) の検量線を、ストック溶液をアッセイ用緩衝液中に希釈することによって得た。

【 0 1 1 3 】

2 0 0 μ L の二価の対照を、8 0 0 μ L のマトリックス緩衝液に添加して、各サブファミリーの 4 0 0 μ g / m L の濃度を得た。1 0 0、5 0 および 1 2 . 5 n g / m L の作業濃度を作製するために、4 0 0 μ g / m L のストックをアッセイ用緩衝液中で希釈した。1 0 0 および 1 2 . 5 n g / m L はそれぞれ、高い対照および低い対照、すなわち、(C H) および (C L) を表した。

【 0 1 1 4 】

試験試料を、マトリックス緩衝液中で 4 0 0 μ g / m L の濃度に希釈した。1 0 0、5 0 および 1 2 . 5 n g / m L の作業溶液を、4 0 0 μ g / m L のストックから調製した。

【 0 1 1 5 】

アッセイ用緩衝液中の 2×10^5 ビーズ / m L のコンジュゲートビーズ濃度および 3 0 μ g / m L の検出抗体濃度を使用した均質アッセイ用混合物を調製した。0 . 4 m L の標準物質、対照、試料またはブランクを、2 m L の 9 6 ウェルの深いウェルプレートに添加することによって、試料プレートを調製した。9 6 ウェルの M u l t i S c r e e n _{H T} _S - B V フィルタープレートのフィルターを、1 0 0 μ L のアッセイ用緩衝液を添加することによってあらかじめ湿潤させ、次いで、この緩衝液を、真空吸引 (v a c u u m s u c t i o n) により、フィルターを通して吸引した。2 5 μ L の調製した均質アッセイ用混合物を、9 6 ウェルのプレートに添加した。標準物質、対照、試料またはブランク溶液それぞれの 2 5 μ L を、9 6 ウェルのフィルタープレートの各ウェルに添加した。プレートを、室温で振とうしながら 1 時間インキュベートした。

【 0 1 1 6 】

抗原と抗体とのインキュベーションの後に、緩衝液を、真空吸引 (v a c u u m a s p i r a t i o n) により、フィルターを通して除去した。各ウェルのフィルターを、1 0 0 μ L のアッセイ用緩衝液を用いて 3 回洗浄し、続いて、真空吸引 (v a c u u m a s p i r a t i o n) した。最終の洗浄の後、5 0 μ L の 1 × S A - P E を各ウェルに添加した。暗所において、タイター上で、室温で振とうしながら 1 0 分間プレートをインキュベートした。

【 0 1 1 7 】

S A - P E とのインキュベーションの後に、7 5 μ L のアッセイ用緩衝液をプレートの各ウェルに添加して、1 2 5 μ L の総体積を得た。プレートを、B i o - P l e x 2 0 0 S y s t e m 上で直ちに読み取った。

【 0 1 1 8 】

10

20

30

40

50

血清殺菌力アッセイ

Charles River Canada (St. Constant, QC、カナダ) から得た New Zealand White ウサギ、雌、2.5 ~ 3.0 kg を全細胞 ELISA によりあらかじめスクリーニングして、2 つの異なる髄膜炎菌株 (それぞれの P2086 サブファミリーから 1 つ) に対して低い反応性を示すウサギを同定した。これらのウサギは一般に、非常に低いバックグラウンドを有し、最も低い値を示すウサギを選択して、使用した。ウサギに、一価の rLP2086-A05 ワクチン、一価の rLP2086-B01 ワクチンまたは二価の rLP2086-A05+B01 ワクチンのいずれかを用いて、0、4 および 9 週目に筋肉内にワクチン接種した。それぞれの用量は、一価のワクチンについては 100 μ g のタンパク質および二価のワクチンについては 100 μ g の各タンパク質を含有し、10 mM ヒスチジン緩衝液、pH 6.0、150 mM NaCl、0.02% ポリソルベート 80 および 250 μ g の AlPO₄ 中に製剤化した。ワクチンを、右後ろ足中に筋肉内注射した (0.5 ml / 投与)。対照として、ウサギの 1 つの群に、製剤用緩衝液単独を用いてワクチン接種した。免疫前 (0 週目) の血清試料および免疫された (10 週目) 血清試料を得て、解析した。動物プロトコールは全て、確立された Institutional Animal Care and Use Committee の指針に忠実に従った。

10

【0119】

rLP2086 ワクチンを用いて免疫化したウサギ中の血清殺菌性抗体を、ヒト補体を用いる SBA を使用して決定した。ウサギ免疫血清を、内因性の補体活性を除去するために熱不活性化し、続いて、96 ウェルのマイクロタイタープレート中の Ca²⁺ および Mg²⁺ を有するダルベッコ PBS (D-PBS) 中で 1:2 に段階希釈して、ナイセリア・メニンギティディス (N. meningitidis) 株に対する血清殺菌活性について試験した。アッセイに使用する細菌は、ケログの補充物質を補充した GC 培地 (GCK) 中で増殖させ、650 nm における光学密度によりモニターした。細菌は、アッセイにおいて使用するために、0.50 ~ 0.55 の最終的な OD₆₅₀ で採取し、D-PBS 中に希釈し、1000 ~ 3000 CFU を、20% ヒト補体と共にアッセイ混合物に添加した。

20

【0120】

検出可能な殺菌活性を示さないヒト血清を、外来の補体供給源として使用した。補体供給源を、それぞれの個々の試験株に対する適切性について試験した。補体供給源は、免疫血清が添加されていない対照中で生存する細菌の数が > 75% である場合のみに使用した。この研究に記載する SBA を実施するには、10 種の特有の補体供給源が必要であった。

30

【0121】

5% CO₂ 下、37 °C における 30 分間のインキュベーションの後、D-PBS を、反応混合物に添加し、一定分量を、50% GCK 培地を充填したマイクロフィルタープレートに移した。マイクロフィルタープレートをろ過し、5% CO₂ 下、37 °C で一晩インキュベートし、マイクロコロニーを染色し、定量化した。血清殺菌力価を、免疫血清を有さない対照ウェル中の CFU と比較して、CFU の 50% の低下をもたらす補間した血清希釈度の逆数と定義した。SBA 力価を、37 °C における 30 分間のインキュベーションの後に細菌数の 50% の低下を引き起こす補間した試験血清の希釈度の逆数と定義する。P2086 免疫血清について、対応する免疫前血清と比較して SBA 力価の 4 倍以上の上昇がある場合に、P2086 免疫血清による死滅に対する感受性が確立された。検出限度は、ウサギ血清については、8 の力価であった。アッセイ株に対して開始希釈度では陰性である血清には、アッセイについての検出限度の 2 分の 1 の力価 (すなわち、ウサギについては 4) を割り当てた。

40

【0122】

フローサイトメトリー

MnB 細胞を、0.45 ~ 0.55 の OD₆₅₀ まで増殖させ、続いて、1 x PBS 中

50

の1% (v/v) パラホルムアルデヒド中に10分間固定した。100マイクロリットル/ウェルの細菌を、96ウェルのU底ポリスチレン製プレート中に蒔き、遠心沈殿させ、1×PBS中の1% (w/v) BSA中で1回洗浄した。抗LP2086モノクローナル抗体を、細菌ペレットに添加し、再懸濁し、氷上で30分間インキュベートした。1% BSA/PBS中での2回の洗浄の後、ビオチン化ヤギ抗マウスIgG (サブクラス1+2a+2b+3) (Jackson ImmunoResearch) を、細胞ペレットに添加し、再懸濁し、氷上で30分間インキュベートした。細胞を、2回洗浄し、ストربتアビジン-PE (BD Biosciences) 中に再懸濁し、氷上で30分間インキュベートした。1% BSA/PBS中での2回の洗浄の後、細胞ペレットを、1% パラホルムアルデヒド中に再懸濁した。マウスIgGを、陰性対照として含めた。1ウェル当たり2万(20,000)個の事象を、BD LSR IIフローサイトメーター上で獲得し、FlowJo v7ソフトウェア (TreeStar, Ashland, Oregon) を使用して解析した。対数のFSC対SSCのドットプロット中で、細菌細胞に関するゲーティング後の各試料について、PEチャンネルの平均蛍光強度(MFI)を決定した。MFIが、対照のマウスIgGのMFIの3倍である場合に、MFIを陽性とみなした。

10

【0123】

(実施例2)

rLP2086タンパク質とポリソルベート80の結合

rLP2086タンパク質AおよびBのそれぞれに結合しているポリソルベート80の安定性を理解するために、200μg/mLサブファミリーAをアルミニウム(Al)と共に用いて製剤化したrLP2086試料および200μg/mLサブファミリーBを用いて製剤化した別のrLP2086試料の両方を、2~8および25で保存し、それらのタンパク質およびポリソルベート80の含有量について5カ月後に試験した。また、プラセボ(タンパク質を有さない緩衝液+Al)についても解析した。プラセボ中のポリソルベート80の分布を、図14に示し、一方、サブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質についてのポリソルベート80の分布をそれぞれ、図15および図16に示す。図17に示すように、サブファミリーBについての相対効力(%)を、結合型モル比と比較した。

20

【0124】

結果

図14に示すように、総%ポリソルベート80と上清中の%ポリソルベート80とが同じであり(0.017%)、このことは、ポリソルベート80は、アルミニウムに結合することも、ペレット中に捕捉されることもなかったことを示している。さらに、ポリソルベート80は、2~8および25の両方で5カ月後も安定であった。

30

【0125】

rLP2086サブファミリーA試料およびサブファミリーB試料の、結合型(ペレット)、非結合型(上清)および全体のポリソルベート80の分布をそれぞれ、図15および図16に示す。サブファミリーAについては、上清およびペレット中の%ポリソルベート80は、2~8および25、5カ月目の時点においては変化がなかった。しかし、サブファミリーB試料については、25、5カ月目の時点において、ペレット中により多くのポリソルベート80が観察された。上清およびペレット中のポリソルベート80の2~8と25とにおける異なる濃度にもかかわらず、両方のサブファミリーについて、正確な質量バランスが達成された。このマトリックスでは、rLP2086タンパク質はリン酸アルミニウムに100%結合するので、ペレットにおいて結び付いているポリソルベート80は、タンパク質分子に結合している可能性が最も高かった。

40

【0126】

タンパク質AおよびBの両方がポリソルベート80に結合したが、タンパク質Aの結合は、2~8で保存した試料と25で保存した試料とで同じであり、タンパク質Bの結合は、2~8で保存した試料と比較して、25で保存した試料ではほとんど2倍であ

50

った。サブファミリー B についての相対効力を、 T_0 および 5 カ月目の時点において、2 ~ 8 および 25 の両方で決定し、図 17 に記載するように、サブファミリー B の相対効力は、結合型モル比に反比例する挙動を示すことが見出された。%効力は、 T_0 時の 120 から、5 M / 25 においては 16 % に低下し、一方、結合型モル比は、同じ期間中に、5.3 から 13.9 に増加した。

【0127】

(実施例 3)

臨界モル比の研究

r L P 2 0 8 6 の安定性に必要なポリソルベート 8 0 の臨界濃度を決定するために、表 1 に記載するように、200 μ g / mL および 400 μ g / mL のサブファミリー A のみ、サブファミリー B のみ、ならびにサブファミリー A および B の両方を、異なるポリソルベート 8 0 の濃度と共に含有する 40 個の r L P 2 0 8 6 製剤を調製した。各試料について、総タンパク質および結合型タンパク質、ならびに全体、上清およびペレットの %ポリソルベート 8 0 を、時間ゼロ (T_0)、14 日目および 1 カ月目において、2 ~ 8 および 25 の両方で決定した。この研究から得られた結果を図 18 ~ 図 24 に示す。

【0128】

【表 1】

総 タンパク 質抗原	タンパク質 サブ ファミリー	%ポリソルベート 80						
		0.003	X	0.005	X	X	X	0.02
0	プラセボ	0.003	X	0.005	X	X	X	0.02
200	A	X	0.004	0.005	0.006	0.008	0.01	0.02
200	B	0.003	0.004	0.005	0.006	0.008	0.01	0.02
400	A+B	X	X	X	0.007	X	0.01	0.02
400	A	X	X	X	0.007	X	0.01	0.02
400	B	X	X	X	0.007	X	0.01	0.02

表1

【0129】

結果

上清、ペレットおよび全体のポリソルベート 8 0 の濃度を、リン酸アルミニウムを有する r L P 2 0 8 6 製剤試料 40 個全てについて決定した。全体および結合型のモル比を、サブファミリー A および B の両方について決定したが、200 μ g / mL における 0.005 % ポリソルベート 8 0 (5.4 のモル比) 以下を含有する両方のサブファミリーについては、それぞれ図 18 および図 19 に示すように、全体のモル比と結合型モル比とが類似するように見える。しかし、0.0065 % ポリソルベート 8 0 (7.0 のモル比) 以上を含有する試料については、サブファミリー B についての全体のモル比が、結合型モル比よりもはるかに高かった。また、図 20 に記載するように、各 400 μ g / mL におけるサブファミリー A、サブファミリー B およびサブファミリー A + B についての全体のモル比と結合型モル比とについてのデータは、0.008 % ポリソルベート 8 0 (8.6 のモル比) 以下を含有する製剤については同様に近かったが、0.017 % ポリソルベート 8 0 (18.4 のモル比) を含有する製剤については、全体のモル比が結合型モル比よりもはるかに高かった。

【0130】

(実施例 4)

経時的なポリソルベート 8 0 の結合

上清およびペレット中のパーセント(%)ポリソルベート80を、 $AlPO_4$ を有するサブファミリーAおよびBの製剤試料について、 T_0 、14日目/25、1カ月目/4、および1カ月目/25において決定した。サブファミリーAおよびBの製剤試料の両方について、上清中の%ポリソルベート80は、2~8で保存した試料については比較的同じであった。しかし、上清中の%ポリソルベート80は、25で保存した試料については、わずか14日後でさえ劇的に減少した。サブファミリーAおよびBの両方について、ペレット中の%ポリソルベート80は、 $T_0/5$ および1カ月目/5において比較的類似していた。しかし、上清中の%ポリソルベートは、25で保存した試料、とりわけ、0.008%ポリソルベート80(8.6のモル比)以上を含有するサブファミリーBについては顕著に増加した。また、%ポリソルベート80を、上清およびペレット中で、 $AlPO_4$ を有するrLP2086サブファミリーAおよびBの製剤について、 T_0 、14日目/25、1カ月目/4、および1カ月目/25において決定した。図21に示すように、ポリソルベート80の濃度は、0.008%を含有する試料については、4つの時点全てについておよそ同じであった。しかし、ポリソルベート80の濃度は、25で保存した、0.017%ポリソルベート80を含有する試料については増加した。ポリソルベート80は、0.008%以下のポリソルベート80を含有する試料の上清中には見出されなかった。図22に示すように、結合型モル比は、0.008%以下のポリソルベート80を含有する試料については、4つの時点全てにおいて安定であった。しかし、結合型モル比は、25で保存した、0.017%ポリソルベート80を含有する試料については増加した。

10

20

【0131】

効力を、 $AlPO_4$ を有するサブファミリーAおよびBの製剤試料について、 T_0 および14日目/25において決定した(それぞれ、図23および図25)。図23に記載するように、異なる全体のモル比におけるサブファミリーAについての効力は、5および25の両方において91~102の範囲に及んだ。また、結合型モル比の結果も、いずれの温度においても比較的同じであったが、全体のモル比/結合型モル比が増加するにつれて、効力の軽微な増加が見られた。

【0132】

5の試料については、サブファミリーBについての効力は、9.0までの全体のモル比については約95%であった。しかし、全体のモル比が18.1に増加すると、サブファミリーBの効力は79%に減少した。さらに、18.1の全体のモル比を有する試料は、その他の試料と比較して、より高い結合型モル比を有した。25においては、全体のモル比が、5.3から18.1まで増加するにつれて、サブファミリーBの効力は83%から5%への顕著な低下を示した。結合型モル比の値は、25の試料については、全体のモル比が増加するにつれて、5.3から13.8まで増加した。したがって、サブファミリーBについての効力は、結合型モル比に反比例する。

30

【0133】

サブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質の両方が、ポリソルベート80に結合した。サブファミリーAの結合は、2~8で保存した試料と25で保存した試料とで同じであったが、サブファミリーBの結合は、25で保存した試料では、ほとんど2倍であった。さらに、臨界モル比の研究から、 $200\mu g/mL$ の製剤試料は、0.008%以下のポリソルベート80を含有する場合に安定であることも示され、この濃度は、4.2以下の全体のモル比と同等である。

40

【0134】

(実施例5)

界面活性剤濃度とrLP2086サブファミリーB抗原の効力

ポリソルベート80の種々の濃度を伴う、さらなる安定性の研究により、効力を維持するためのポリソルベート80対タンパク質のモル比の臨界が裏付けられた。1つの実験では、免疫原性組成物を、 $200\mu g$ の投与量($400\mu g/mL$ の総タンパク質濃度)で、 $0.5mg/mL$ アルミニウム(リン酸アルミニウムとして)を有し、0.01%、0

50

． 0 2 %、 0 . 0 5 % または 0 . 1 % のポリソルベート 8 0 (5 . 3、 1 0 . 7、 2 6 . 7 および 5 3 . 4 のポリソルベート 8 0 対 r L P 2 0 8 6 タンパク質の対応するモル比) でスパイクした 1 0 m M ヒスチジン緩衝溶液 (H B S) 中、 p H 6 . 3 において製剤化した。製剤化した試料は、 2 5 でインキュベートし、対照試料は、 2 ~ 8 で保存した。時間「 0 」においては、 0 . 1 % までのポリソルベート 8 0 の濃度では、効力の顕著な変化はなかった。しかし、より長い期間については、 2 ~ 8 および 2 5 において、効力の低下が、温度およびポリソルベート 8 0 の濃度の関数として観察された。免疫原性組成物中のポリソルベート 8 0 の濃度を、 0 . 0 1 % から 0 . 1 % まで増加させると、安定性の 3 カ月目の時点で、 2 5 および 2 ~ 8 においてそれぞれ、サブファミリー B タンパク質の効力が 1 0 % 未満および 2 5 % に低下することが示された (図 1) 。

10

【 0 1 3 5 】

さらなる安定性の研究 (図 2) を実施し、サブファミリー B タンパク質を、 H B S 中の 4 m g / m L の濃度で評価し、 0 . 0 6、 0 . 5 および 1 % の最終濃度 (3 . 3、 2 6 . 7 および 5 3 . 4 の対応するモル比) までポリソルベート 8 0 でスパイクした。対照は、 0 . 0 9 % ポリソルベート 8 0 を含有した。 0 . 0 6 % ポリソルベート 8 0 (3 . 3 のモル比) 中のサブファミリー B タンパク質は安定であった。ポリソルベート 8 0 を、濃度を 0 . 5 % および 1 % (それぞれ、 2 6 . 7 および 5 3 . 4 のモル比) に増加させて含有させた同じ試料は不安定であった。 4 0 0 μ g / m L の免疫原性組成物製剤については、サブファミリー B タンパク質の不安定性が、 0 . 0 1 % (5 . 3 のモル比) 以上の濃度のポリソルベート 8 0 を含有する製剤全てにおいて認められた。しかし、 4 m g / m L タンパク質と 0 . 0 6 % ポリソルベート 8 0 との濃度においては、効力の低下はなかったが、これは、ポリソルベート 8 0 対タンパク質の比 (3 . 3) が、 4 0 0 μ g / m L タンパク質と 0 . 0 1 % ポリソルベート 8 0 との濃度における比 (5 . 3 のモル比) よりも低いことによる。したがって、ポリソルベート 8 0 によるサブファミリー B タンパク質の効力の低下は、ポリソルベート 8 0 界面活性剤対タンパク質のモル比に相関し、マトリックス中のポリソルベート 8 0 の絶対濃度には相関しなかった。

20

【 0 1 3 6 】

したがって、ワクチン中の、および続いて 2 ~ 8 で保存する間のサブファミリー B タンパク質の安定性を維持するためには、ポリソルベート 8 0 の濃度を、免疫原性組成物中では低下させなければならない。 2 0 および 2 0 0 μ g の投与量において、ポリソルベート 8 0 の種々のモル比 (0、 1 . 1、 2 . 7 および 5 . 3) を伴う免疫原性組成物について 2 8 日間の加速安定性の研究を設計した (図 3 および図 4) 。二価の (サブファミリー A とサブファミリー B との) 製剤を、 1 0 m M ヒスチジン緩衝溶液、 p H 6 . 0、リン酸アルミニウムとしての 0 . 5 m g / m L アルミニウム中に、ポリソルベート 8 0 の種々の濃度を伴って調製した。 2 ~ 8 の対照群と併せて、試料を 2 5 でインキュベートした。試料を効力について 0、 7、 1 4 および 2 8 日目に解析した。サブファミリー A タンパク質 (データは図示せず) およびサブファミリー B タンパク質の両方が、 5 . 3 未満のポリソルベート 8 0 対タンパク質のモル比をもつ群全てについて安定であった。 8 0 % 超の効力の値を、アッセイの変動性の範囲内にあるとみなす。 5 . 3 のモル比においては、サブファミリー B タンパク質の効力についての減少傾向を、 2 5 の試料について観察した。

30

40

【 0 1 3 7 】

包括的な研究により、ポリソルベート 8 0 対タンパク質の種々のモル比を伴って製剤化した全ての予測される臨床投与量 (2 0、 6 0、 1 2 0 および 2 0 0 μ g の投与量) を、加速保存安定性条件下で評価して、ポリソルベート 8 0 対タンパク質のモル比の、 M n B r L P 2 0 8 6 タンパク質の安定性に対する作用を調査した。およそ 1 . 4 ~ 1 0 . 7 の範囲に及ぶポリソルベート 8 0 対タンパク質のモル比で製剤化した二価の M n B r L P 2 0 8 6 免疫原性組成物を使用した。ポリソルベート 8 0 対タンパク質のモル比を (1 . 4、 2 . 4、 3 . 4、 3 . 9、 4 . 3、 4 . 7 および 1 0 . 7 に) 増加させて製剤化した免疫原性組成物を生成するために、免疫原性組成物を製剤化する間に、さらなるポリソ

50

ルベート 80 を必要としないように、ポリソルベート 80 を添加することによって、抗原を変動するモル比に対して調節した。この研究では、2 セットの抗原のロットを使用した。一方のセットのサブファミリー A および B のロットは、1.4 のポリソルベート 80 対タンパク質のモル比で生成し、他方は 2.4 に設定した。2.4 のモル比を有するセットのタンパク質を使用して、さらなるポリソルベート 80 でスパイクすることによって、3.4、3.9、4.3 および 10.7 のモル比を調節した。免疫原性組成物の最終的なマトリックスは、10 mM ヒスチジン、150 mM NaCl、pH 6.0、0.5 mg/mL リン酸アルミニウムであり、上記で言及したポリソルベート 80 対タンパク質のモル比を有した。2~8 または 25 における特定の期間にわたる保存の後、試験の 24 時間前に、ロッカーを用いて穏やかな混合を適用した。IEX-HPLC による総タンパク質、効力、外観、上清画分の 320 nm における光学密度、および pH を試験した。

10

【0138】

200 および 20 μ g の用量の効力の結果をそれぞれ、図 5 および図 6 に示す。効力アッセイは、研究で使用したその他の試験よりも感度がよかった。全体的に、サブファミリー A 抗原またはサブファミリー B 抗原のいずれについても、4.3 以下のモル比を有する全ての投与量については、最初の時点と比較して、効力の顕著な低下は観察されなかった。25 で保存したサブファミリー B タンパク質については、4.7 のモル比を有する製剤を、効力の軽微な低下に起因して限界であるとみなした。10.7 のモル比の製剤については、サブファミリー B 抗原についての効力の結果は、25 で保存した試料の場合、2~8 で保存した試料よりも顕著に低かった。

20

【0139】

(実施例 6)

アルミニウム濃度と rLP2086 サブファミリー A 抗原および B 抗原の効力

いくつかの実験を実施して、サブファミリー A タンパク質およびサブファミリー B タンパク質の両方の 95% 超の結合を確保するのに最適なリン酸アルミニウムのレベルを決定した。最初の研究は、pH 6.5 における製剤化の最適化に焦点を合わせた。製剤を、サブファミリー A タンパク質およびサブファミリー B タンパク質に由来するそれぞれのタンパク質の 200 μ g/mL を標的投与量として、0.02% ポリソルベート 80 および 0.25 mg/mL または 0.5 mg/mL のいずれかのアルミニウム (リン酸アルミニウムとして) を有する pH 6.5 の 10 mM ヒスチジン緩衝液中に調製した。サブファミリー B タンパク質は、サブファミリー A タンパク質よりも低い程度でリン酸アルミニウムに結合した (図 7)。アルミニウム含有量を 0.25 mg/mL から 0.5 mg/mL に増加させると、サブファミリー B タンパク質の結合が、>80% に増加した。タンパク質とアルミニウム懸濁液との間の結合機構が大部分はイオン性の相互作用であることから、懸濁液の pH が、結合に影響を及ぼす要因である。

30

【0140】

製剤の pH を、サブファミリー B タンパク質の 90~95% 超の結合を確保するように最適化した。異なるロットの免疫原性組成物を用いた、A タンパク質および B タンパク質のそれぞれが 200 μ g/mL であり、5.6~6.5 の範囲に及ぶ pH を有する複数の製剤について調べた (図 8)。両方のタンパク質の 90~95% 超の結合が、5.6~6.4 の範囲に及ぶ pH を有する製剤において生じた。製剤の pH を 6.5 以上に増加させると、サブファミリー B タンパク質の結合が顕著に低下した。サブファミリー A タンパク質およびサブファミリー B タンパク質の両方の 90% 超の結合を確保するために推奨される標的 pH は 6.0 である。

40

【0141】

また、pH、緩衝液、タンパク質およびポリソルベート 80 の濃度を変化させることによる製剤化の変数および/または限界下での製剤のロバスト性も評価した (図 9)。サブファミリー A タンパク質の結合は、総タンパク質濃度が 500 μ g/mL (各タンパク質 250 μ g/mL) までは、一貫して高かった (95%) が、サブファミリー B タンパク質の結合は、タンパク質濃度および pH に対してより感受性を示した。市販の製剤は、

50

200 μ g の投与量で使用されるので、この実験から得られた結果により、0.5 mg / mL リン酸アルミニウムを用いた 6.0 の pH における製剤化の推奨がさらに支持される。

【0142】

リン酸アルミニウムを有する製剤とリン酸アルミニウムを有さない製剤とを評価して、サブファミリー B タンパク質の安定性のために十分低いポリソルベート 80 の濃度で、リン酸アルミニウムを有さない安定な製剤を提供することの実現可能性を調査した。免疫原性組成物を、20 および 200 μ g の投与量で、0 ~ 5.3 のモル比の範囲に及ぶポリソルベート 80 の濃度を有するヒスチジン緩衝溶液の緩衝液中に製剤化した。試料の半分を、パルスモード（2 秒間のオンおよび 1 秒間のオフ）下で 500 rpm に設定したデジタル複数チューブ型ボルテックスミキサーを用いて、試験の前に 24 時間撹拌した。この条件を採用して、輸送条件の間の極度の振動を模倣するために、最終的な免疫原性組成物の出荷包装段階において典型的に実施される I S T A 試験（国際安全輸送協会）をシミュレートした。

10

【0143】

撹拌すると、リン酸アルミニウムを有さない製剤は沈殿し、沈殿により最終的には、サブファミリー A 抗原および B 抗原の両方の効力の喪失に至った。外観試験（図 10）および $\lambda = 320$ nm における吸光度の測定（図 11）から、リン酸アルミニウムを有さない製剤を撹拌すると、凝集体および / または沈殿物が形成されることが示された。これらの試料の効力試験（図 12 および図 13）から、試験した時点全てにおいて、サブファミリー A タンパク質および B タンパク質の両方について、効力の顕著な喪失が示された。低い量のポリソルベート 80 を含有する製剤において、効力の喪失が最も著しかった。低い量のポリソルベート 80 は、サブファミリー B タンパク質の安定化を維持するのに必要であることから、安定性を保つには、製剤中にリン酸アルミニウムを含めることが必要である。r L P 2086 免疫原性組成物は、リン酸アルミニウムと共に製剤化することができ、リン酸アルミニウムは、*in vitro* における効力アッセイにより測定されるように効力の安定性を増強するように働くであろう。

20

【0144】

（実施例 7）

緩衝剤としてのコハク酸塩およびヒスチジン

一連の製剤を調製して、コハク酸塩中とヒスチジン中とで、r L P 2086 サブファミリー A タンパク質および B タンパク質の結合、ならびに pH、ポリソルベート 80 および M g C 12 の結合に対する作用を比較した（表 2）。pH、緩衝液、タンパク質およびポリソルベートの濃度を変化させることによる製剤化の変数および / または限界下での製剤のロバスト性を評価した（図 25 および 26）。アルミニウムとサブファミリー A タンパク質およびサブファミリー B タンパク質の結合は、使用した緩衝液（ヒスチジンまたはコハク酸）にかかわらず類似していた。

30

【0145】

【表 2】

表 2:rLP2086 の AlPO_4 との結合に関して、ヒスチジン緩衝液およびコハク酸緩衝液、 MgCl_2 、ポリソルベート 80 ならびに pH5.6~6.0 を評価するための製剤¹

rLP2086 A ($\mu\text{g/mL}$)	rLP2086 B ($\mu\text{g/mL}$)	ヒスチジン (mM)	コハク 酸塩 (mM)	PS 80 (%)	生理食 塩水 (%)	MgCl_2 (mM)	標的 pH
200	200	0	5	0.020	0.9	0	6.0
200	200	0	5	0.020	0.9	0	5.8
200	200	0	5	0.020	0.9	0	5.6
200	200	0	5	0.010	0.9	0	6.0
200	200	0	5	0.005	0.9	0	6.0
250	250	0	5	0.020	0.9	0	6.0
250	250	0	5	0.020	0.9	0	5.8
250	250	0	5	0.020	0.9	0	5.6
200	200	0	10	0.020	0.9	0	6.0
200	200	0	20	0.020	0.9	0	6.0
200	200	0	5	0.020	0.9	10	6.0
200	200	10	0	0.020	0.9	0	6.0
200	200	10	0	0.020	0.9	0	5.8
200	200	10	0	0.020	0.9	0	5.6
200	200	10	0	0.010	0.9	0	6.0
200	200	10	0	0.005	0.9	0	6.0
250	250	10	0	0.020	0.9	0	6.0
250	250	10	0	0.020	0.9	0	5.8
250	250	10	0	0.020	0.9	0	5.6
200	200	5	0	0.020	0.9	0	6.0
200	200	20	0	0.020	0.9	0	6.0
200	200	10	0	0.020	0.9	10	6.0

¹表 2 に記載する製剤は全て、0.5mg の Al/mL を含有する。

【 0 1 4 6 】

緩衝塩および混合時間の、アルミニウムの結合に対する作用を、3つの一般に使用されている緩衝塩を用いて評価し、これらの緩衝塩は、それらの pK_a が生理的な範囲内にあり、これらの塩が一般に安全であるとみなされていることから選ばれた。rLP2086 サブファミリー A タンパク質および B タンパク質を、3つの緩衝塩、すなわち、5 mM コハク酸塩、10 mM ヒスチジンまたは 10 mM リン酸塩のうちの1つと共に、それぞれの塩の pK_a に適している pH で製剤化して、それぞれの条件における結合の程度を決定した。結合が完了に達するのに必要な時間を、試料を 5 分または 120 分のいずれかの間混合させてから、結合したタンパク質の量を測定することによって評価した。

【 0 1 4 7 】

図 27 に示すように、サブファミリー B タンパク質は、リン酸緩衝液中、pH 6.8 において結合の低下を示し、一方、サブファミリー A タンパク質は、同じ条件において顕著な影響は受けなかった。アルミニウムに結合したタンパク質の量は、ヒスチジンと共に製剤化した試料またはコハク酸塩と共に製剤化した試料で類似していた。したがって、これら 2つの緩衝塩を選んで、さらに評価した。理論に縛られる意図はないが、リン酸緩衝液中の結合の低下は、 AlPO_4 上の結合部位についての、添加されたリン酸イオンとの競合から生じる可能性がある。

【 0 1 4 8 】

これらの条件、ならびにタンパク質および AlPO_4 の濃度では、結合は、室温での 5 分間の混合の後に完了し、類似の結果が、2時間の混合の後にも得られた。

【 0 1 4 9 】

リン酸緩衝液中、pH 6.8 におけるサブファミリー B タンパク質の結合の低下が pH または緩衝塩間の差に起因するかどうかをさらに調べるために、ヒスチジン緩衝製剤またはコハク酸緩衝製剤のいずれかの中で、5.3~7.0 の pH 範囲にわたり、結合を測定した。0.2 mg/mL の各サブファミリータンパク質 (0.4 mg/mL の総タンパク

10

20

30

40

50

質)、0.02%PS80、0.5mgのAl/mLおよび150mM NaClを含有する二価の製剤を調製した。試料を10mMヒスチジンまたは5mMコハク酸塩のいずれかの中に製剤化して、緩衝塩の作用を比較した。製剤化の後、各試料のpHを個々に検証した。

【0150】

pH5.3~7.0の結合プロファイルを、サブファミリーAタンパク質については図28に、サブファミリーBタンパク質については図29に示す。サブファミリーAタンパク質は、結合したタンパク質の量の変化をほとんど示さず、試験したpH範囲にわたり、95%超の結合を維持した。標的pHが7.0である、ヒスチジンを含有する製剤からは、6.8のpHが生じた。タンパク質または $AlPO_4$ に対して起こり得る作用を回避するために、pHの7.0への(例えば、塩基の添加による)調節は行わず、したがって、このデータポイントについての結果は利用できない。

10

【0151】

サブファミリーBタンパク質の結合プロファイル(図29に示す)は、pH依存性の傾向を示した。しかし、結合を、ヒスチジン緩衝製剤中で実施した場合であっても、コハク酸緩衝製剤中で実施した場合であっても、アルミニウムに結合したタンパク質の量は類似していた。結合は、緩衝塩ではなく、製剤のpHに依存した。結合は、pH6.5までは95%(ヒスチジン中では94%、コハク酸塩中では95%)で維持されたが、pHが6.5超になると減少した。pH7.0では、結合が約82%まで減少し、緩衝塩間で小さな差が生じた。

20

【0152】

これらの濃度におけるサブファミリーBタンパク質の $AlPO_4$ とのロバストな結合を得るためには、6.5以下のpHが好ましい。

【0153】

(実施例8)

安全性、耐容性および免疫原性の研究

0および2カ月目の投与; 0、2および6カ月目の投与; 0および2カ月目の投与、続いて、12カ月目の追加免疫の投与のいずれかの投与計画に従って、研究を実施して、健全な思春期の集団において、投与したrLP2086ワクチンの安全性、耐容性および免疫原性を評価した。

30

【0154】

免疫原性組成物は、rLP2086ワクチン(脂質が付加されている組換え体)である。免疫原性組成物は、大腸菌(*Escherichia coli*)中に発現させたナイセリア・メニンギティディス(*N. meningitidis*)血清群B組換えORF2086タンパク質を含み、rLP2086の1つのサブファミリーA株および1つのサブファミリーB株から構成される二価のワクチンとして製剤化されている。特に、免疫原性組成物は、それぞれ60 μ g、120 μ gまたは200 μ gの精製サブファミリーA rLP2086タンパク質および精製サブファミリーB rLP2086タンパク質、2.8のモル比のポリソルベート80ならびに $AlPO_4$ として、0.25mgの Al^{3+} 、pH6.0の10mMヒスチジン緩衝溶液を含有するように製剤化した0.5mL用量である。対照の組成物は、0.5mL用量中に、生理食塩水(0.9%塩化ナトリウム)を含む。

40

【0155】

対象を、5群に無作為に帰属させる。表3を参照されたい。対象を、2つの年齢群、すなわち、11歳~<14歳、および14歳~<19歳に階層化する。

【0156】

【表 3】

表3:研究設計							
	ワクチン 接種1	ワクチン 接種2	ワクチン 接種2後 の採血	ワクチン 接種3	ワクチン 接種3後 の採血	ワクチン 接種4	ワクチン 接種4後 の採血
来診番号	1	2	3	4	5	6	7
およその 月数	0	2	3	6	7	12	13
群1	rLP2086	rLP2086		生理 食塩水		生理 食塩水	
群2	rLP2086	rLP2086		rLP2086		生理 食塩水	
群3	rLP2086	rLP2086		生理 食塩水		rLP2086	
群4	rLP2086	生理 食塩水		rLP2086		生理 食塩水	
群5	生理 食塩水	生理 食塩水		rLP2086		rLP2086	
採血	20mL		20mL		20mL	20mL	20mL

10

20

【0157】

生理食塩水を、プラセボとして使用するが、これは、活性な対照として働くことができる、安全で、免疫原性を示し、かつ有効な、実績のあるMnBに対するワクチンがないことによる。

【0158】

表3に従って、ワクチン接種の各来診（例えば、来診1、2、4および6）時に、対象は、1回用量のrLP2086ワクチンまたは生理食塩水の投与を受ける。標準的なワクチン接種の慣行を順守し、ワクチンは血管内には注射しない。rLP2086ワクチンを、上部三角筋内に0.5mLを注射することによって筋肉内投与する。生理食塩水を、上部三角筋内に筋肉内投与する。

30

40

A. 来診1

来診1、1日目、ワクチン接種1の際に、対象は、最初に採血され、次いで、ワクチン接種を受ける。来診1の採血およびワクチン接種1は、同日に行う。ワクチン接種の前に、血液試料（およそ20mL）を、対象から収集する。群1、2、3および4に無作為化した対象については、rLP2086ワクチンの単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。群5の対象については、生理食塩水の単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。

B. 来診2（来診1の42～70日後）、ワクチン接種2

群1、2および3については、rLP2086ワクチンの単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。群4および5については、生理食塩水の単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。

C. 来診3（来診2の28～42日後）、ワクチン接種2後の採血

血液試料（およそ20mL）を、対象から収集する。

D. 来診4（来診2の105～126日後）、ワクチン接種3

群2、4および5については、rLP2086ワクチンの単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。群1および3については、生理食塩水の単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。

50

E．来診5（来診4の28～42日後）、ワクチン接種3後の採血
血液試料（およそ20mL）を、対象から収集する。

F．来診6（来診4の161～175日後）、ワクチン接種4

来診6時に、対象は、最初に採血され、次いで、ワクチン接種を受ける。来診6の採血およびワクチン接種4は、同日に行う。ワクチン接種の前に、血液試料（およそ20mL）を、対象から収集する。群3および5については、rLP2086ワクチンの単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。群1、2および4の対象については、生理食塩水の単回の0.5mLの筋肉内注射を、上部三角筋内に投与する。

G．来診7（来診6の28～42日後）、ワクチン接種4後の採血
血液試料（およそ20mL）を、対象から収集する。

10

【0159】

免疫原性の結果

この研究の主要な目標は、LP2086サブファミリーAタンパク質およびLP2086サブファミリーBタンパク質を発現するMnB株を用いて実施するSBAにより測定する場合の60μg、120μgおよび200μgのrLP2086ワクチンの免疫原性を評価することであった。

【0160】

この研究の副次的な目標は、rLP2086ワクチンのサブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質とIgの結合の定量化により決定する場合の60μg、120μgおよび200μgのrLP2086ワクチンの免疫原性を評価することであった。

20

【0161】

表4に示すように、SBA活性を、3つのサブファミリーA株および3つのサブファミリーB株を使用して評価した。

【0162】

【表 4】

表 4:SBA 力価の投与前 1 からの ≥ 4 倍の上昇を達成した対象の
解析-mITT 集団(研究 6108A1-2001-WW/B1971005)

株	無作為化ワクチン		N ^a	n ^b (%)	(95%CI ^c)	p-値 ^d
	群					
投与2の1カ月後						
サブファミリーA株1	対照		80	1 (1.3)	(0.0, 6.8)	>0.9999
	60 μ gのrLP2086ワクチン		18	16 (88.9)	(65.3, 98.6)	0.0007
	120 μ gのrLP2086ワクチン		115	96 (83.5)	(75.4, 89.7)	<0.0001
	200 μ gのrLP2086ワクチン		106	93 (87.7)	(79.9, 93.3)	<0.0001
サブファミリーB株1	対照		84	0 (0.0)	(0.0, 4.3)	>0.9999
	60 μ gのrLP2086ワクチン		21	15 (71.4)	(47.8, 88.7)	0.0392
	120 μ gのrLP2086ワクチン		121	72 (59.5)	(50.2, 68.3)	0.0225
	200 μ gのrLP2086ワクチン		114	68 (59.6)	(50.1, 68.7)	0.0244
投与3の1カ月後						
サブファミリーA株1	対照		73	4 (5.5)	(1.5, 13.4)	>0.9999
	60 μ gのrLP2086ワクチン		19	17 (89.5)	(66.9, 98.7)	0.0004
	120 μ gのrLP2086ワクチン		111	103 (92.8)	(86.3, 96.8)	<0.0001
	200 μ gのrLP2086ワクチン		100	94 (94.0)	(87.4, 97.8)	<0.0001
サブファミリーB株1	対照		79	1 (1.3)	(0.0, 6.9)	>0.9999
	60 μ gのrLP2086ワクチン		21	17 (81.0)	(58.1, 94.6)	0.0036
	120 μ gのrLP2086ワクチン		112	97 (86.6)	(78.9, 92.3)	<0.0001
	200 μ gのrLP2086ワクチン		105	89 (84.8)	(76.4, 91.0)	<0.0001

略語:CI=信頼区間;SBA=血清殺菌力アッセイ。

注記:アッセイの妥当性確認により、サブファミリーA株1=9およびサブファミリーB株1=10の定量下限(LLOQ)が支持される。LLOQを上回るSBA力価を正確であるとみなし、それらを定量化した値を報告することとする。LLOQを下回るかまたはLLOQを下回ることを意味する値は、解析のために、0.5*LLOQに設定することとする。

【 0 1 6 3 】

規定したレベルに達する力価を示した対象の比率を、表 5 に示す。両方のサブファミリーについて、規定した S B A 力価のレベルを達成した対象の比率は、投与 2 の後においてよりも、投与 3 の後においての方が多かった。

【 0 1 6 4 】

10

20

30

【表 5 - 1】

表 5:段階 1 において、規定した SBA 力価のレベルを達成した対象-mITT 集団(研究 6108A1-2001-WW/B1971005)

株	試料採取の 時点	SBA 力価	(無作為化した)ワクチン群 rLP2086ワクチン																
			対照				60 µg			120 µg			200 µg						
			N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	
サブファミリー A株2	投与前1	32	64	7	10.9	(5.3, 21.2)	15	0	0.0	(0.2, 35.8)	90	9	10.0	(5.3, 18.1)	92	11	12.0	(6.7, 20.3)	
		64	64	2	3.1	(0.8, 11.7)	15	0	0.0	(0.2, 35.8)	90	7	7.8	(3.8, 15.4)	92	5	5.4	(2.3, 12.4)	
		128	64	0	0.0	(0.0, 11.2)	15	0	0.0	(0.2, 35.8)	90	1	1.1	(0.2, 7.5)	92	0	0.0	(0.0, 8.0)	
	投与2の1カ月後	32	69	3	4.3	(1.4, 12.6)	21	20	95.2	(72.9, 99.3)	115	113	98.3	(93.3, 99.6)	115	105	91.3	(84.6, 95.3)	
		64	69	1	1.4	(0.2, 9.6)	21	18	85.7	(63.9, 95.3)	115	95	82.6	(74.6, 88.5)	115	83	72.2	(63.3, 79.6)	
		128	69	1	1.4	(0.2, 9.6)	21	11	52.4	(31.8, 72.1)	115	51	44.3	(35.5, 53.5)	115	49	42.6	(33.9, 51.8)	
	投与3の1カ月後	32	57	5	8.8	(3.7, 19.4)	19	18	94.7	(70.6, 99.3)	108	108	100.0	(93.1, 100.0)	99	98	99.0	(93.2, 99.9)	
		64	57	3	5.3	(1.7, 15.1)	19	18	94.7	(70.6, 99.3)	108	103	95.4	(89.4, 98.1)	99	90	90.9	(83.4, 95.2)	
		128	57	2	3.5	(0.9, 13.0)	19	13	68.4	(45.2, 85.1)	108	73	67.6	(58.2, 75.7)	99	67	67.7	(57.9, 76.1)	
	サブファミリー A株1	投与前1	16	81	10	12.3	(6.8, 21.4)	21	1	4.8	(0.7, 27.1)	122	11	9.0	(5.1, 15.6)	114	7	6.1	(3.0, 12.3)
			32	81	6	7.4	(3.4, 15.5)	21	1	4.8	(0.7, 27.1)	122	7	5.7	(2.8, 11.5)	114	5	4.4	(1.8, 10.1)
			64	81	4	4.9	(1.9, 12.4)	21	0	0.0	(0.1, 28.2)	122	3	2.5	(0.8, 7.3)	114	2	1.8	(0.4, 6.7)
128			81	1	1.2	(0.2, 8.2)	21	0	0.0	(0.1, 28.2)	122	1	0.8	(0.1, 5.6)	114	0	0.0	(0.0, 6.6)	
投与2の1カ月後		16	83	6	7.2	(3.3, 15.2)	18	16	88.9	(64.8, 97.2)	118	105	89.0	(81.9, 93.5)	110	100	90.9	(83.9, 95.0)	
		32	83	3	3.6	(1.2, 10.6)	18	16	88.9	(64.8, 97.2)	118	101	85.6	(78.0, 90.9)	110	90	81.8	(73.5, 88.0)	
		64	83	1	1.2	(0.2, 8.1)	18	15	83.3	(59.1, 94.5)	118	70	59.3	(50.2, 67.8)	110	71	64.5	(55.2, 72.9)	
		128	83	0	0.0	(0.0, 8.9)	18	6	33.3	(15.8, 57.1)	118	33	28.0	(20.6, 36.7)	110	44	40.0	(31.3, 49.4)	

10

20

【 0 1 6 5 】

【表 5 - 2】

表 5:段階 1 において、規定した SBA 力価のレベルを達成した対象-mITT 集団(研究 6108A1-2001-WW/B1971005)

株	試料採取の 時点	SBA 力価	(無作為化した)ワクチン群 rLP2086ワクチン															
			対照				60 µg			120 µg			200 µg					
			N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)
サブファミリー A株3	投与3の1カ月後	16	76	9	11.8	(6.3, 21.2)	20	18	90.0	(67.6, 97.5)	114	110	96.5	(91.0, 98.7)	104	100	96.2	(90.2, 98.5)
		32	76	6	7.9	(3.6, 16.5)	20	18	90.0	(67.6, 97.5)	114	108	94.7	(88.8, 97.6)	104	99	95.2	(89.0, 98.0)
		64	76	3	3.9	(1.3, 11.5)	20	17	85.0	(62.4, 95.1)	114	102	89.5	(82.4, 93.9)	104	91	87.5	(79.7, 92.6)
		128	76	1	1.3	(0.2, 8.8)	20	8	40.0	(21.4, 62.0)	114	78	68.4	(59.3, 76.3)	104	63	60.6	(50.9, 69.5)
	投与2の1カ月後	16	81	10	12.3	(6.8, 21.4)	20	17	85.0	(62.4, 95.1)	117	111	94.9	(89.1, 97.7)	107	103	96.3	(90.5, 98.6)
		32	81	9	11.1	(5.9, 20.0)	20	17	85.0	(62.4, 95.1)	117	106	90.6	(83.8, 94.7)	107	95	88.8	(81.3, 93.5)
		64	81	8	9.9	(5.0, 18.5)	20	16	80.0	(57.2, 92.3)	117	94	80.3	(72.1, 86.6)	107	76	71.0	(61.8, 78.8)
		128	81	2	2.5	(0.6, 9.3)	20	9	45.0	(25.3, 66.4)	117	46	39.3	(30.9, 48.4)	107	49	45.8	(36.6, 55.3)
	投与3の1カ月後	16	78	9	11.5	(6.1, 20.7)	21	20	95.2	(72.9, 99.3)	114	111	97.4	(92.2, 99.1)	112	107	95.5	(89.7, 98.1)
		32	78	7	9.0	(4.3, 17.6)	21	18	85.7	(63.9, 95.3)	114	107	93.9	(87.7, 97.0)	112	105	93.8	(87.5, 97.0)
		64	78	3	3.8	(1.2, 11.3)	21	15	71.4	(49.2, 86.6)	114	104	91.2	(84.5, 95.2)	112	95	84.8	(76.9, 90.4)
		128	78	2	2.6	(0.6, 9.7)	21	13	61.9	(40.2, 79.7)	114	85	74.6	(65.8, 81.7)	112	75	67.0	(57.8, 75.0)
サブファミリー B株1	投与前1	16	84	3	3.6	(1.2, 10.5)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	124	2	1.6	(0.4, 6.2)	118	3	2.5	(0.8, 7.6)
		32	84	1	1.2	(0.2, 8.0)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	124	1	0.8	(0.1, 5.5)	118	2	1.7	(0.4, 6.5)

30

40

【 0 1 6 6 】

【表 5 - 3】

表 5:段階 1 において、規定した SBA 力価のレベルを達成した対象-mITT 集団(研究 6108A1-2001-WW/B1971005)

株	試料採取の 時点	SBA 力価	(無作為化した)ワクチン群 rLP2086ワクチン															
			対照				60 µg			120 µg			200 µg					
			N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)
		64	84	0	0.0	(0.0, 8.8)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	124	1	0.8	(0.1, 5.5)	118	0	0.0	(0.0, 6.4)
		128	84	0	0.0	(0.0, 8.8)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	124	1	0.8	(0.1, 5.5)	118	0	0.0	(0.0, 6.4)
	投与2の1カ月後	16	84	1	1.2	(0.2, 8.0)	21	16	76.2	(54.0, 89.7)	122	84	68.9	(60.1, 76.4)	114	75	65.8	(56.6, 73.9)
		32	84	0	0.0	(0.0, 8.8)	21	12	57.1	(36.0, 76.0)	122	56	45.9	(37.3, 54.8)	114	55	48.2	(39.2, 57.4)
		64	84	0	0.0	(0.0, 8.8)	21	9	42.9	(24.0, 64.0)	122	31	25.4	(18.5, 33.9)	114	25	21.9	(15.3, 30.4)
		128	84	0	0.0	(0.0, 8.8)	21	3	14.3	(4.7, 36.1)	122	9	7.4	(3.9, 13.6)	114	10	8.8	(4.8, 15.5)
	投与3の1カ月後	16	79	3	3.8	(1.2, 11.1)	21	18	85.7	(63.9, 95.3)	113	102	90.3	(83.3, 94.5)	105	90	85.7	(77.6, 91.2)
		32	79	1	1.3	(0.2, 8.4)	21	17	81.0	(58.8, 92.7)	113	89	78.8	(70.3, 85.3)	105	83	79.0	(70.2, 85.8)
		64	79	0	0.0	(0.0, 9.3)	21	12	57.1	(36.0, 76.0)	113	59	52.2	(43.0, 61.2)	105	63	60.0	(50.4, 68.9)
		128	79	0	0.0	(0.0, 9.3)	21	9	42.9	(24.0, 64.0)	113	22	19.5	(13.2, 27.8)	105	20	19.0	(12.6, 27.7)
サブファミリー B株2	投与前1	16	83	2	2.4	(0.6, 9.1)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	118	3	2.5	(0.8, 7.6)	117	3	2.6	(0.8, 7.6)
		32	83	2	2.4	(0.6, 9.1)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	118	3	2.5	(0.8, 7.6)	117	3	2.6	(0.8, 7.6)
		64	83	1	1.2	(0.2, 8.1)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	118	0	0.0	(0.0, 6.4)	117	1	0.9	(0.1, 5.8)
		128	83	0	0.0	(0.0, 8.9)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	118	0	0.0	(0.0, 6.4)	117	0	0.0	(0.0, 6.4)
	投与2の1カ月後	16	84	2	2.4	(0.6, 9.0)	19	4	21.1	(8.1, 44.6)	102	33	32.4	(24.0, 42.0)	96	29	30.2	(21.9, 40.1)
		32	84	2	2.4	(0.6, 9.0)	19	4	21.1	(8.1, 44.6)	102	31	30.4	(22.3, 40.0)	96	27	28.1	(20.0, 37.9)
		64	84	1	1.2	(0.2, 8.0)	19	1	5.3	(0.7, 29.4)	102	23	22.5	(15.5, 31.7)	96	19	19.8	(13.0, 29.0)
		128	84	0	0.0	(0.0, 8.8)	19	0	0.0	(0.2, 30.4)	102	11	10.8	(6.1, 18.4)	96	8	8.3	(4.2, 15.8)
	投与3の1カ月後	16	68	4	5.9	(2.2, 14.6)	15	8	53.3	(29.3, 75.9)	86	65	75.6	(65.4, 83.5)	81	55	67.9	(57.0, 77.1)
		32	68	3	4.4	(1.4, 12.8)	15	8	53.3	(29.3, 75.9)	86	65	75.6	(65.4, 83.5)	81	54	66.7	(55.8, 76.0)

10

20

【 0 1 6 7 】

【表 5 - 4】

表 5:段階 1 において、規定した SBA 力価のレベルを達成した対象-mITT 集団(研究 6108A1-2001-WW/B1971005)

株	試料採取の 時点	SBA 力価	(無作為化した)ワクチン群 rLP2086ワクチン															
			対照				60 µg			120 µg			200 µg					
			N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)	N ^a	n ^b	%	(95% CI ^c)
		64	68	1	1.5	(0.2, 9.7)	15	7	46.7	(24.1, 70.7)	86	52	60.5	(49.8, 70.2)	81	47	58.0	(47.1, 68.2)
		128	68	0	0.0	(0.0, 10.6)	15	4	26.7	(10.4, 53.3)	86	24	27.9	(19.5, 38.3)	81	20	24.7	(16.5, 35.2)
サブファミリー B株3	投与前1	8	81	2	2.5	(0.6, 9.3)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	120	4	3.3	(1.3, 8.5)	116	3	2.6	(0.8, 7.7)
		16	81	1	1.2	(0.2, 8.2)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	120	2	1.7	(0.4, 6.4)	116	3	2.6	(0.8, 7.7)
		32	81	0	0.0	(0.0, 9.1)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	120	0	0.0	(0.0, 6.3)	116	2	1.7	(0.4, 6.6)
		64	81	0	0.0	(0.0, 9.1)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	120	0	0.0	(0.0, 6.3)	116	1	0.9	(0.1, 5.9)
		128	81	0	0.0	(0.0, 9.1)	22	0	0.0	(0.1, 27.3)	120	0	0.0	(0.0, 6.3)	116	1	0.9	(0.1, 5.9)
	投与2の1カ月後	8	81	1	1.2	(0.2, 8.2)	21	13	61.9	(40.2, 79.7)	115	79	68.7	(59.7, 76.5)	106	75	70.8	(61.4, 78.6)
		16	81	0	0.0	(0.0, 9.1)	21	13	61.9	(40.2, 79.7)	115	70	60.9	(51.7, 69.3)	106	68	64.2	(54.6, 72.7)
		32	81	0	0.0	(0.0, 9.1)	21	10	47.6	(27.9, 68.2)	115	50	43.5	(34.7, 52.7)	106	45	42.5	(33.4, 52.0)
		64	81	0	0.0	(0.0, 9.1)	21	5	23.8	(10.3, 46.0)	115	26	22.6	(15.9, 31.1)	106	27	25.5	(18.1, 34.6)
		128	81	0	0.0	(0.0, 9.1)	21	0	0.0	(0.1, 28.2)	115	7	6.1	(2.9, 12.2)	106	12	11.3	(6.5, 18.9)
	投与3の1カ月後	8	83	4	4.8	(1.8, 12.1)	21	16	76.2	(54.0, 89.7)	115	102	88.7	(81.5, 93.3)	111	96	86.5	(78.8, 91.7)
		16	83	1	1.2	(0.2, 8.1)	21	16	76.2	(54.0, 89.7)	115	99	86.1	(78.5, 91.3)	111	95	85.6	(77.8, 91.0)
		32	83	0	0.0	(0.0, 8.9)	21	16	76.2	(54.0, 89.7)	115	93	80.9	(72.6, 87.1)	111	89	80.2	(71.7, 86.6)
		64	83	0	0.0	(0.0, 8.9)	21	10	47.6	(27.9, 68.2)	115	62	53.9	(44.8, 62.8)	111	68	61.3	(51.9, 69.9)
		128	83	0	0.0	(0.0, 8.9)	21	2	9.5	(2.4, 31.1)	115	26	22.6	(15.9, 31.1)	111	22	19.8	(13.4, 28.3)

略語:CI=信頼区間;SBA=血清殺菌カアッセイ;LLOQ=定量下限。
注記:LLOQ:A/1=9、A/2=18、A/3=12、B/1=10、B/2=9、B/3=7。

30

40

【 0 1 6 8 】

免疫原性データから、ワクチンは、M n B のサブファミリー A 株およびサブファミリー B 株に対して顕著な S B A 活性を有する抗体を生成することができることが示されている。サブファミリー A 株 2 については、投与 2 の後、S B A 応答率は、88.9% ~ 90.9% の範囲に及び、投与 3 の後、S B A 応答率は、90.0% ~ 97.4% の範囲に及んだ。サブファミリー A 株 1 の変異体については、投与 2 および投与 3 の両方の後、100

50

・0%の対象が、60 μgおよび120 μgの両方の用量レベルにおいて、この変異体に対するSBA応答を示した。200 μgの用量レベルにおいては、投与2および投与3の後にそれぞれ、対象の96.5%および99.0%がSBA応答を示した。サブファミリーA株1の変異体については、SBA応答率は、投与2の後には85.0%~96.3%および投与3の後には95.2%~97.4%の範囲に及んだ。

【0169】

サブファミリーB株1の変異体については、投与2の後、SBA応答率は、76.2%~81.0%の範囲に及び、投与3の後、SBA応答率は、89.5%~92.0%の範囲に及んだ。サブファミリーB株2の変異体については、投与2の後、SBA応答率を有する対象のパーセントは、21.1%~33.3%の範囲に及んだ。しかし、第3の投与の後、60 μg、120 μgおよび200 μgの用量レベルにおいてそれぞれ、対象の53.3%、75.6%および67.9%がSBA応答を示した。サブファミリーB株3の変異体については、SBA応答率は、投与2の後には61.9%~70.8%および投与3の後には76.2%~88.7%の範囲に及んだ。

【0170】

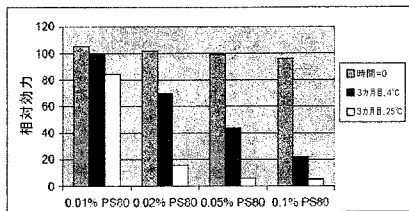
全体的に、試験したのがサブファミリーA株であるかまたはサブファミリーB株であるかにかかわらず、高い比率の対象が、LLOQのSBA力価で応答した。hSBAデータは、60 μg~200 μgの用量において、ロバストな免疫応答を示したが、明確な用量応答関係はなかった。応答の頻度は、調べた解析方法にかかわらず、120 μgの群の数値が最も高かった。200 μgの群は、120 μgの用量レベルを上回る免疫応答の改善を示さなかった。

10

20

【図1】

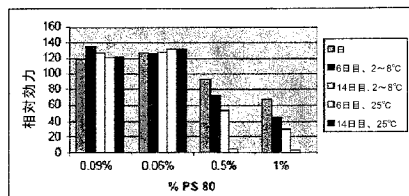
図1 ポリソルベート80の種々の濃度を有する製剤中のサブファミリーBの安定性



それぞれ200 μg/mLのサブファミリーAおよびBを、0.5mg/mLアルミニウムおよび変動するポリソルベート80の濃度を有するpH6.3の10mMヒスタジン緩衝液中に製剤化した。製剤を、BDシリンジ中に充填し、2~8℃または25℃で保存した。最初および3カ月目の時点におけるサブファミリーBについての効力値を示す。

【図2】

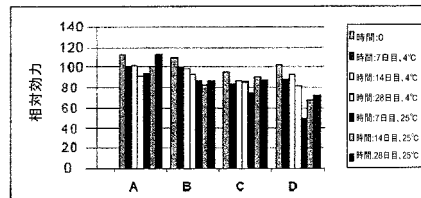
図2 ポリソルベート80の種々の濃度を伴うサブファミリーBの加速安定性



0.09%ポリソルベート80、10mMヒスタジン、pH6.5中に製剤化した薬物物質サブファミリーBに、変動するポリソルベート80の濃度でスパイクして、安定性に対するポリソルベート80の作用をモニターした。試料を、2~8℃または25℃で保存し、効力を、最初、6日目および14日目の時点で測定した。

【図3】

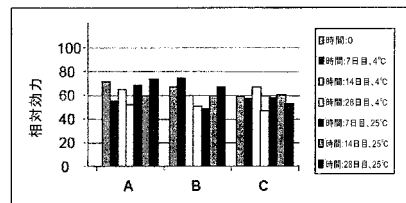
図3 200 μg/mLのサブファミリーBの28日にわたる効力



MnB rLP2086サブファミリーA+Bを、それぞれ200 μg/mLの投与量で、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムと共に、濃度を変化させた(A=0%、B=0.002%、C=0.005%およびD=0.01%)ポリソルベート80の存在下で製剤化し、2~8℃または25℃のいずれかで保存した。A、B、CおよびDのポリソルベート80:タンパク質のモル比はそれぞれ、0、1、1、2.7および5.3である。次いで、サブファミリーBタンパク質の効力を、0、7、14および28日目に試験した。各時点で、試料を、記載のように、試験の前に24時間撹拌した。

【図4】

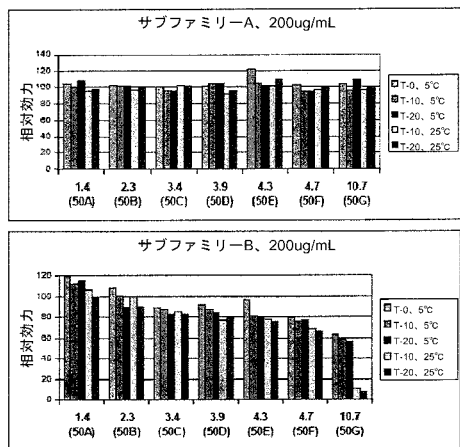
図4 200 μg/mLのサブファミリーBの28日にわたる効力



MnB rLP2086サブファミリーA+Bを、それぞれ20 μg/mLの投与量で、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムと共に、濃度を変化させた(A=0%、B=0.0005%およびC=0.001%)ポリソルベート80の存在下で製剤化し、2~8℃または25℃のいずれかで保存した。A、BおよびCのポリソルベート80:タンパク質のモル比はそれぞれ、0、2.7および5.3である。次いで、サブファミリーBタンパク質の効力を、0、7、14および28日目に試験した。各時点で、試料を、記載のように、試験の前に24時間撹拌した。

【 図 5 】

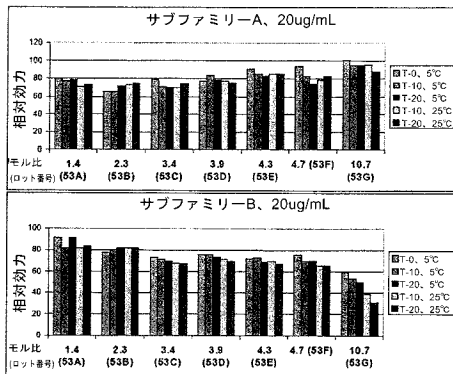
図5 異なるモル比を有する200 μg/mLについての効力の結果



MnB rLP2086サブファミリーA+Bを、200 μg/mLで、1.4、2.3、3.4、3.9、4.3、4.7、10.7のポリソルベート-80:タンパク質のモル比で製剤化し、それぞれ、ロット50A、50B、50C、50D、50E、50F、50Gを得た。T-0、T-10およびT-20はそれぞれ、時間ゼロ、10日目および20日目を示す。上のグラフは、サブファミリーAについての効力の結果であり、下のグラフは、サブファミリーBタンパク質についての効力の結果である。各時点で、試料を、記載のように、試験の前に24時間撹拌した。

【 図 6 】

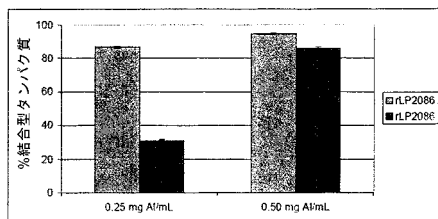
図6 異なるモル比を有する20 μg/mLについての効力の結果



MnB rLP2086サブファミリーA+Bを、20 μg/mLで、1.4、2.3、3.4、3.9、4.3、4.7、10.7のポリソルベート-80:タンパク質のモル比で製剤化し、それぞれ、ロット53A、53B、53C、53D、53E、53F、53Gを得た。T-0、T-10およびT-20はそれぞれ、時間ゼロ、10日目および20日目を示す。上のグラフは、サブファミリーAについての効力の結果であり、下のグラフは、サブファミリーBタンパク質についての効力の結果である。各時点で、試料を、記載のように、試験の前に24時間撹拌した。

【 図 7 】

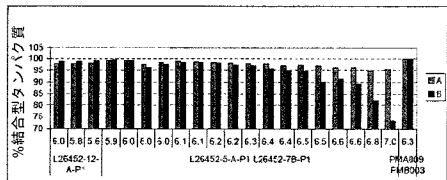
図7 pH6.5におけるリン酸アルミニウムとタンパク質の結合



MnB rLP2086サブファミリーA+Bを、400 μg/mLで、150mM NaClおよび0.02%のポリソルベート-80の濃度を有するpH6.5の10mMヒスチジン緩衝液中に製剤化した。X軸は、製剤中のアルミニウム含有量を示し、Y軸は、IEX-HPLCアッセイにより測定したパーセント結合型タンパク質である。

【 図 8 】

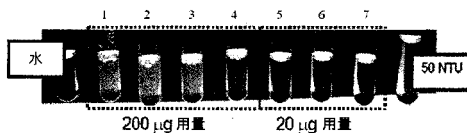
図8 pHの関数としての、MnB rLP2086サブファミリーAおよびBの結合



それぞれ200 μg/mLのサブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質のMnBサブファミリーA+B製剤を、pHを変化させた、150mM NaClを有する10mMヒスチジン緩衝液中で、リン酸アルミニウムとして0.5mg/mLアルミニウムと共に製剤化した。図に示すように、複数のロットは、異なるロットのDSを用いて調整した製剤を示す。

【 図 10 】

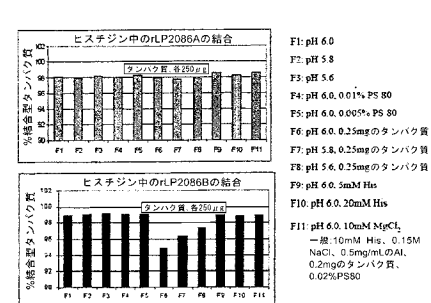
図10 リン酸アルミニウムを有さないrLP2086製剤の視覚的外観



種々の濃度のポリソルベート-80を伴う、リン酸アルミニウムを有さない200 μg/mL(左)および20 μg/mL(右)のrLP2086Aタンパク質+rLP2086Bタンパク質の2つの製剤の濁度(パーセントで表されるポリソルベート-80の濃度を、上部に示す(1=0%、2=0.002%、3=0.005%、4=0.01%、5=0%、6=0.0005%、7=0.001%))。試験管は全て、5°Cで14日間インキュベートし、試験の前に24時間撹拌した。水および50NTU(比濁分析濃度単位)の濃度の標準物質を、両方の端に、視覚的比較のために含めた。水は、透明であることを示し、50NTUは、濁った溶液の外観を示す。注記:撹拌の結果が、1、7および28日間のインキュベーションの後に得られた。

【 図 9 】

図9 pH、緩衝液およびタンパク質濃度の、rLP2086サブファミリーAおよびBの結合に対する作用

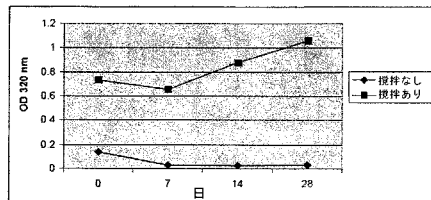


- F1: pH 6.0
- F2: pH 5.8
- F3: pH 5.6
- F4: pH 6.0, 0.01% PS 80
- F5: pH 6.0, 0.005% PS 80
- F6: pH 6.0, 0.25mgのタンパク質
- F7: pH 5.8, 0.25mgのタンパク質
- F8: pH 5.6, 0.25mgのタンパク質
- F9: pH 6.0, 5mM His
- F10: pH 6.0, 20mM His
- F11: pH 6.0, 10mM MgCl₂
一級: 10mM His, 0.15M NaCl, 0.5mg/mLのAl, 0.2mgのタンパク質, 0.02%PS80

サブファミリーAタンパク質およびサブファミリーBタンパク質を有するMnBサブファミリーA+B製剤11種を、150mM NaClおよび0.02%のPS80を有する10mMヒスチジン緩衝液中に、各200 μg/mLで、0.5mg/mLリン酸アルミニウムと共に製剤化した。pHを変化させた場合(F1~F3:200 μg/mLの各タンパク質および0.02%ポリソルベート-80を有する)、ポリソルベート-80のポリソルベート濃度を、0.01%から0.005%に変化させた場合(F4~F5)、各サブファミリータンパク質についてタンパク質濃度を250 μg/mLに変化させた場合(F6~F8)、ヒスチジン緩衝液の濃度を5mMおよび20mMに変化させた場合(F9およびF10)、10mM MgCl₂を追加した場合(F11)。

【 図 11 】

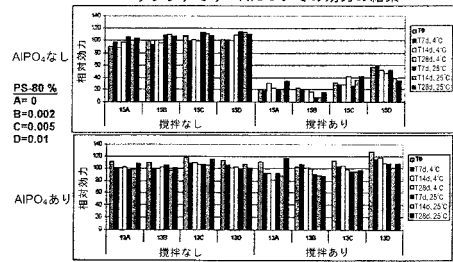
図11 外観試料、2~8°CのOD測定値



λ=320nmで、15°Cと名付けたrLP2086の200 μg/mL製剤(0.005%ポリソルベート-80)についての、5°Cで1か月にわたる、リン酸アルミニウムを有さない製剤から得られた試料の光学密度の測定値。撹拌した試料を赤色の四角で、撹拌しなかった試料を青色のひし形で示す。

【 図 1 2 】

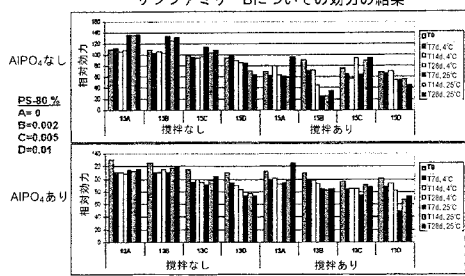
図12 AIPO₃を有する製剤およびAIPO₃を有さない製剤の場合のサブファミリーAについての効力の結果



MnB rLP2086サブファミリーA+Bを、200 μg/mLの各サブファミリーで製剤化した。製剤を、AIPO₃を有する場合および有さない場合のヒステジン緩衝生理食塩水中で、種々のレベルのポリソルベート80を作って作製した。上のグラフは、AIPO₃を有さない製剤を示し、下のグラフは、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムを有する製剤を示す。各グラフの下のX軸に表示するように、グラフの左半分4つの群は、攪拌なしを示し、右の他の4つの群は、攪拌ありを示す。Y軸は、パーセント相対効力を示す。最終的な製剤中のポリソルベート80の濃度は、ロット15Aまたは15Bまたは15C、15Dまたは13C、および15Dまたは13Dそれぞれについて、0%、0.0005%、0.001%および0.01%である。これらのポリソルベート80の濃度について、対応するポリソルベート80タンパク質のモル比はそれぞれ、0、1.1、2.7および5.3である。試料を、2~8°Cおよび25°Cで保存した。T0、T7d、T14dおよびT28dは、時間ゼロ、7日目、14日目および28日目を示す。各バーは、各時点のデータを示す。

【 図 1 3 】

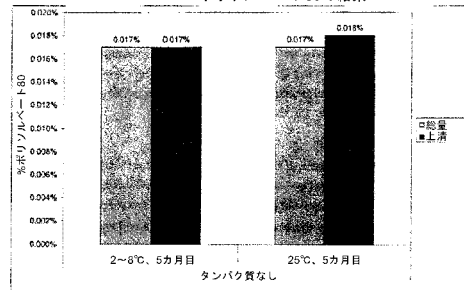
図13 AIPO₃を有する製剤およびAIPO₃を有さない製剤の場合のサブファミリーBについての効力の結果



MnB rLP2086サブファミリーA+Bを、200 μg/mLの各サブファミリーで製剤化した。製剤を、AIPO₃を有する場合および有さない場合のヒステジン緩衝生理食塩水中で、種々のレベルのポリソルベート80を作って作製した。上のグラフは、AIPO₃を有さない製剤を示し、下のグラフは、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムを有する製剤を示す。各グラフの下のX軸に表示するように、グラフの左半分4つの群は、攪拌なしを示し、右の他の4つの群は、攪拌ありを示す。Y軸は、パーセント相対効力を示す。最終的な製剤中のポリソルベート80の濃度は、ロット15Aまたは15Bまたは15C、15Dまたは13C、および15Dまたは13Dそれぞれについて、0%、0.0005%、0.001%および0.01%である。これらのポリソルベート80の濃度について、対応するポリソルベート80タンパク質のモル比はそれぞれ、0、1.1、2.7および5.3である。試料を、2~8°Cおよび25°Cで保存した。T0、T7d、T14dおよびT28dは、時間ゼロ、7日目、14日目および28日目を示す。各バーは、各時点のデータを示す。

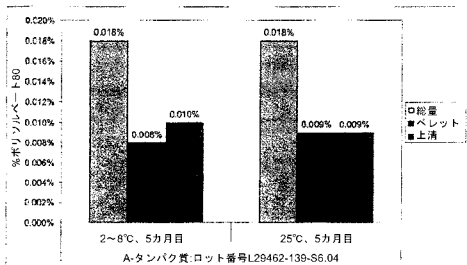
【 図 1 4 】

図14 0.5mg/mLアルミニウムを有するrLP2086プラセボにおけるポリソルベート80の結果



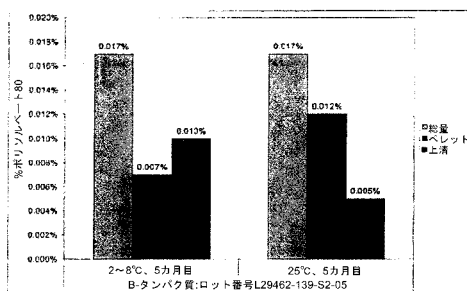
【 図 1 5 】

図15 サブファミリーAについてのポリソルベート80の結果



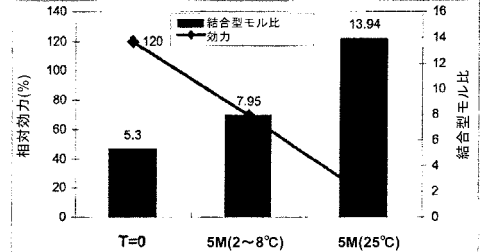
【 図 1 6 】

図16 サブファミリーBについてのポリソルベート80の結果



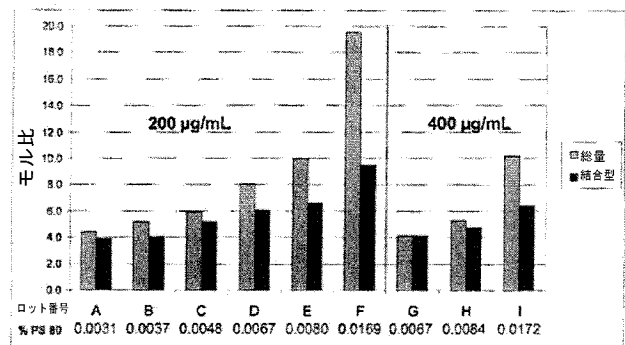
【 図 1 7 】

図17 サブファミリーBについての効力と結合型モル比との相関性



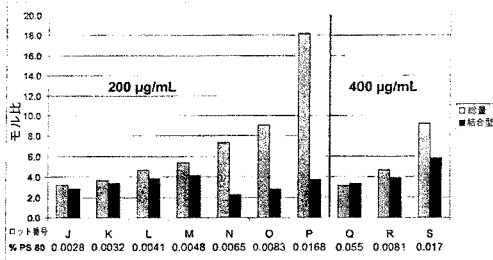
【 図 1 8 】

図18 サブファミリーAについてのモル比の結果



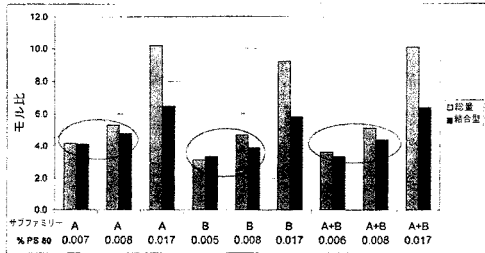
【 図 1 9 】

図19 サブファミリーBについてのモル比の結果



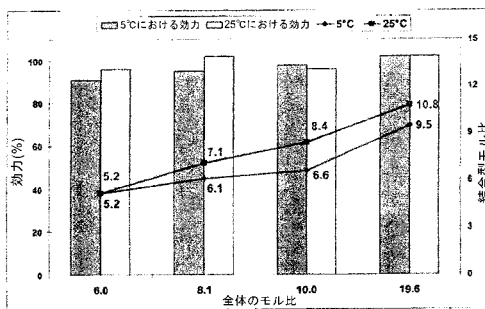
【 図 2 0 】

図20 400 µg/mLのrLP2086製剤についてのモル比の結果



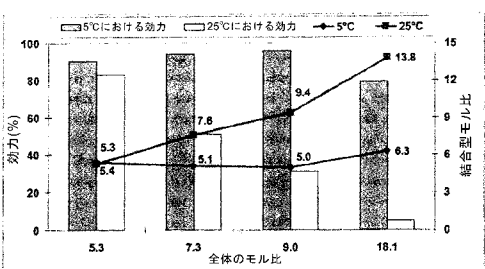
【 図 2 3 】

図23 サブファミリーAについての効力および結合型モル比の結果



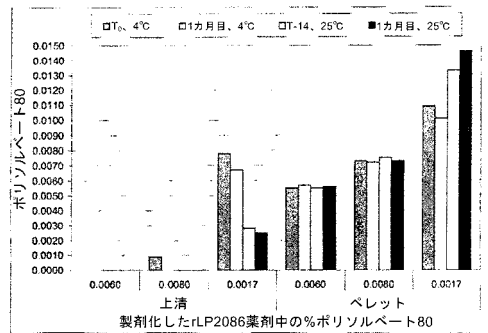
【 図 2 4 】

図24 サブファミリーBについての効力および結合型モル比の結果



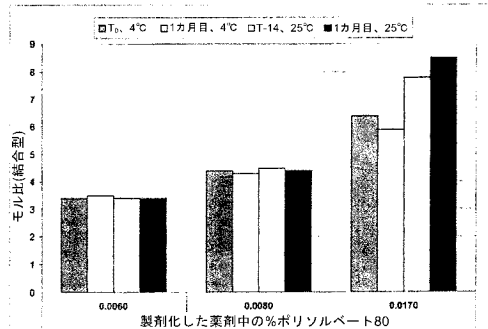
【 図 2 1 】

図21 異なる時点におけるrLP2086製剤についてのポリソルベート80の結果



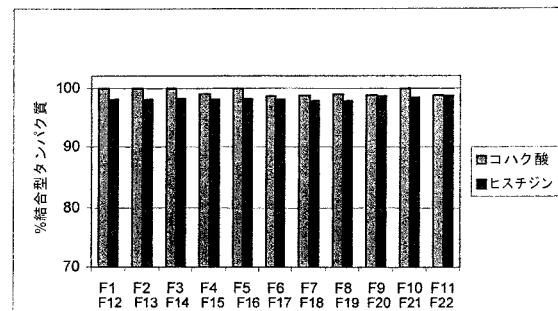
【 図 2 2 】

図22 異なる時点におけるrLP2086製剤についての結合型モル比の結果



【 図 2 5 】

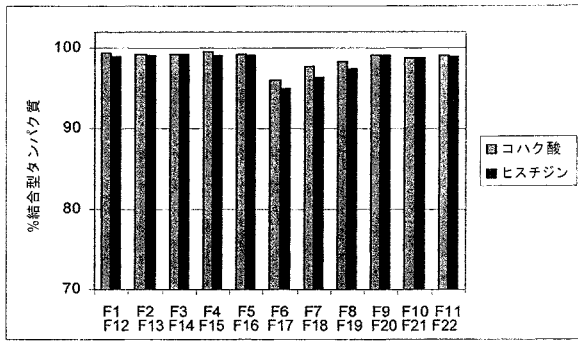
図25 コハク酸緩衝液およびヒスチジン緩衝液中のAlPO₄を有する場合のサブファミリーAの結合



pHを変化させた場合(F1~F3:200 µg/mLの各タンパク質および0.02%のPS80を有する);PS-80のポリソルベート濃度を、0.01、0.05から変化させた場合(F4~F5);タンパク質濃度を250 µg/mLに変化させた場合(F6~F8);ヒスチジン緩衝液の濃度を5mMおよび20mMに変化させた場合(F9およびF10);10mM MgCl₂を追加した場合(F11)の、150mM NaClおよび0.02%のPS80を有する10mMヒスチジン緩衝液中に、200 µg/mLの各タンパク質で、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムと共に製剤化した二種のMnB製剤から得たサブファミリーAタンパク質の結合。

【 図 2 6 】

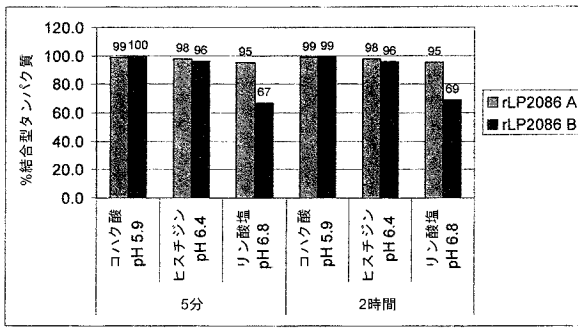
図26 コハク酸緩衝液およびヒスタジン緩衝液中のAlPO₄を有する場合のサブファミリーBの結合



pHを変化させた場合(F1~F3:200 μg/mLの各タンパク質および0.02%のPS80を有する);PS-80のポリソルベート濃度を、0.01、0.05から変化させた場合(F4~F5);タンパク質濃度を250 μg/mLに変化させた場合(F6~F8)、ヒスタジン緩衝液の濃度を5mMおよび20mMに変化させた場合(F9およびF10);10mM MgCl₂を追加した場合(F11)の、150mM NaClおよび0.02%のPS80を有する10mMヒスタジン緩衝液中に、200 μg/mLの各タンパク質で、リン酸アルミニウムとしての0.5mg/mLアルミニウムと共に製剤化した二重のMnB製剤から得たサブファミリーBタンパク質の結合。

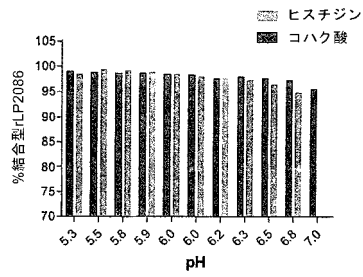
【 図 2 7 】

図27 コハク酸緩衝液、ヒスタジン緩衝液およびリン酸緩衝液中における結合の比較



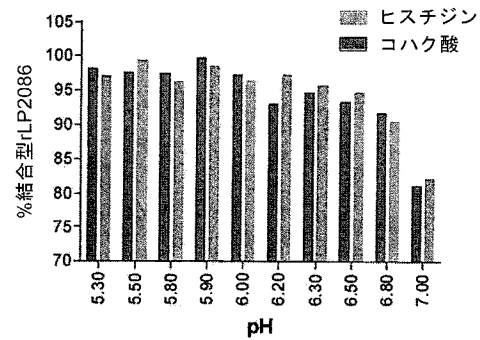
【 図 2 8 】

図28 AlPO₄を有する場合のサブファミリーAのpH依存性の結合



【 図 2 9 】

図29 AlPO₄を有する場合のサブファミリーBのpH依存性の結合



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2011/053684

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/095 A61K47/02 A61K47/34 A61K47/44 G01N33/569 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, INSPEC		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/050586 A1 (NOVARTIS AG [CH]; CONTORNI MARIO [IT]; KAZZAZ JINA [US]; O'HAGAN DEREK) 23 April 2009 (2009-04-23) page 5, lines 16,17 page 5, line 34 - page 6, line 6 page 11, lines 13-35 page 24, lines 3-10 claims	1,3,4, 21-33
X	WO 2009/104097 A2 (NOVARTIS AG [CH]; PIZZA MARIAGRAZIA [IT]; SCARSELLI MARIA [IT]; GIULIA) 27 August 2009 (2009-08-27) page 9, line 31 - page 10, line 1 page 10, line 23 - page 11, line 15 page 14, lines 19-35	1,2, 5-14, 40-48
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
9 March 2012		23/03/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Villa Riva, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2011/053684

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2006/257413 A1 (ZLOTNICK GARY W [US] ET AL) 16 November 2006 (2006-11-16) paragraphs [0453], [0454] example 2 abstract -----	1,2, 5-14, 40-48
X	US 2009/035328 A1 (GRANOFF DAN [US]) 5 February 2009 (2009-02-05) paragraphs [0145] - [0147] paragraphs [0086], [0096], [0097] -----	1-39
X	MASIGNANI V ET AL: "Vaccination against Neisseria meningitidis using three variants of the lipoprotein GNA1870", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol. 197, no. 6, 17 March 2003 (2003-03-17), pages 789-799, XP002286107, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.20021911 page 791, right-hand column, lines 51-60 -----	1,15-33
E	WO 2011/161653 A1 (NOVARTIS AG [CH]; ARICO BEATRICE MARIA [IT]; BRUNELLI BRUNELLA [IT]; C) 29 December 2011 (2011-12-29) the whole document -----	1-39
X	WO 2009/158142 A1 (U S A AS REPRESENTED BY THE SE [US]; ZOLLINGER WENDELL DAVID [US]; DON) 30 December 2009 (2009-12-30) paragraph [0062]; claims; examples -----	1,15-33
Y	US 6 245 892 B1 (OAKS EDWIN V [US] ET AL) 12 June 2001 (2001-06-12) column 10, lines 40-53 column 11, line 1 - column 12, line 29 -----	95-107
Y	HOUGHTEN R A: "GENERAL METHOD FOR THE RAPID SOLID-PHASE SYNTHESIS OF LARGE NUMBERS OF PEPTIDES: SPECIFICITY OF ANTIGEN-ANTIBODY INTERACTION AT THE LEVEL OF INDIVIDUAL AMINO ACIDS", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC; US, vol. 82, 1 August 1995 (1995-08-01), pages 5131-5135, XP000611717, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.82.15.5131 page 5132, left-hand column, line 26 - right-hand column, line 12 -----	95-107

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/IB2011/053684**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/IB2011/053684

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1(completely); 3, 4, 21-39(partially)

Immunogenic LP2086(fHBP) Subfamily B polypeptide composition wherein the immunogenic potency is stable in time

2. claims: 2, 5-14(completely); 3, 4, 21-48, 55-69(partially)

Immunogenic LP2086(fHBP) Subfamily B polypeptide composition comprising a detergent, and method of stabilizing the potency of said immunogenic composition by the presence of a detergent

3. claims: 15-20, 49-54, 70-94(completely); 21-33, 40-48, 55-69(partially)

Immunogenic LP2086(fHBP) Subfamily B polypeptide composition comprising a multivalent cation, and method of stabilizing the potency of said immunogenic composition by the presence of a detergent and a multivalent cation

4. claims: 95-107

Method for determining the potency of any 2086 (fHBP) polypeptide in an immunogenic composition

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2011/053684

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009050586 A1	23-04-2009	AU 2008313424 A1	23-04-2009
		CA 2702871 A1	23-04-2009
		CN 101951949 A	19-01-2011
		CO 6270339 A2	20-04-2011
		EP 2200642 A1	30-06-2010
		JP 2011500662 A	06-01-2011
		RU 2010119947 A	27-11-2011
		US 2010285069 A1	11-11-2010
		WO 2009050586 A1	23-04-2009
		-----	-----
WO 2009104097 A2	27-08-2009	AU 2009215364 A1	27-08-2009
		CA 2716212 A1	27-08-2009
		CN 102356089 A	15-02-2012
		EP 2245048 A2	03-11-2010
		US 2011020390 A1	27-01-2011
		WO 2009104097 A2	27-08-2009
-----	-----	-----	-----
US 2006257413 A1	16-11-2006	BR 0212999 A	23-05-2006
		CA 2463476 A1	07-08-2003
		CN 1578785 A	09-02-2005
		EP 1442047 A2	04-08-2004
		EP 2332961 A2	15-06-2011
		EP 2341062 A2	06-07-2011
		EP 2341063 A2	06-07-2011
		EP 2343308 A2	13-07-2011
		EP 2348034 A2	27-07-2011
		EP 2348035 A2	27-07-2011
		EP 2348036 A2	27-07-2011
		EP 2351767 A2	03-08-2011
		EP 2366707 A1	21-09-2011
		EP 2371836 A1	05-10-2011
		EP 2371837 A1	05-10-2011
		EP 2371838 A1	05-10-2011
		JP 2005515771 A	02-06-2005
		JP 2010162023 A	29-07-2010
		KR 20100028657 A	12-03-2010
		KR 20100121699 A	18-11-2010
		KR 20110117726 A	27-10-2011
		MX PA04003356 A	29-11-2004
		US 2006257413 A1	16-11-2006
		US 2011076299 A1	31-03-2011
		US 2012034261 A1	09-02-2012
		WO 03063766 A2	07-08-2003
		-----	-----
US 2009035328 A1	05-02-2009	CA 2695467 A1	26-03-2009
		EP 2185576 A1	19-05-2010
		US 2009035328 A1	05-02-2009
		WO 2009038889 A1	26-03-2009
-----	-----	-----	-----
WO 2011161653 A1	29-12-2011	NONE	
-----	-----	-----	-----
WO 2009158142 A1	30-12-2009	AU 2009262893 A1	30-12-2009
		CA 2726465 A1	30-12-2009
		CN 102105166 A	22-06-2011
		CO 6341569 A2	21-11-2011
		CR 11812 A	06-07-2011
		DO P2010000364 A	15-07-2011
		EC SP10010723 A	31-05-2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2011/053684

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
		EP 2296699 A1	23-03-2011	
		JP 2011521976 A	28-07-2011	
		KR 20110053314 A	20-05-2011	
		US 2011182942 A1	28-07-2011	
		WO 2009158142 A1	30-12-2009	

US 6245892	B1	12-06-2001	US 6245892 B1	12-06-2001
			US 2001009957 A1	26-07-2001

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 9/10 (2006.01)	A 6 1 K 9/10	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/543	U
C 0 7 K 14/22 (2006.01)	G 0 1 N 33/543	5 4 1 A
	G 0 1 N 33/543	5 7 5
	G 0 1 N 33/543	5 4 1 B
	G 0 1 N 33/543	5 4 5 A
	C 0 7 K 14/22	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, I D, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO , NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM

(72) 発明者 ラクシュミ カンドキ
 アメリカ合衆国 0 7 9 4 0 ニュージャージー州 マジソン市 ファイブ・ジラルダ・ファーム
 ズ ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・デベロップメント内

(72) 発明者 ラサッパ アルマグハム
 アメリカ合衆国 0 7 9 4 0 ニュージャージー州 マジソン市 ファイブ・ジラルダ・ファーム
 ズ ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・デベロップメント内

(72) 発明者 パウソン ローン
 アメリカ合衆国 6 3 1 4 1 ミゾーリ州 セント・ルイス市 マリヴィル・センター・ドライブ
 5 7 5 ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・デベロップメント内

F ターム(参考) 4C076 AA16 BB11 CC06 DD09F DD21 DD24 DD26 DD30 DD42Z DD51
 FF16 FF43 FF61 GG06
 4C085 AA03 BB11 CC21 DD86 EE01 FF24 GG01
 4H045 AA30 BA10 CA11 DA86 EA31 EA54 FA74 GA45

专利名称(译)	脑膜炎奈瑟菌rLP 2086抗原的稳定制备		
公开(公告)号	JP2013540705A	公开(公告)日	2013-11-07
申请号	JP2013525399	申请日	2011-08-22
[标]申请(专利权)人(译)	惠氏公司		
申请(专利权)人(译)	魏斯, LLC		
[标]发明人	ラクシュミカンドキ ラサッパアルマグハム パウソンローン		
发明人	ラクシュミ カンドキ ラサッパアルマグハム パウソン ローン		
IPC分类号	A61K39/095 A61K47/34 A61K47/02 A61K47/18 A61K47/12 A61K9/10 A61P31/04 G01N33/53 G01N33/543 C07K14/22		
CPC分类号	A61K31/194 A61K31/4172 A61K38/164 A61K39/095 A61K2039/55505 A61K2039/55555 A61K2300/00 A61P31/04 G01N33/56911 C07K14/22		
FI分类号	A61K39/095 A61K47/34 A61K47/02 A61K47/18 A61K47/12 A61K9/10 A61P31/04 G01N33/53.D G01N33/53.U G01N33/543.541.A G01N33/543.575 G01N33/543.541.B G01N33/543.545.A C07K14/22		
F-TERM分类号	4C076/AA16 4C076/BB11 4C076/CC06 4C076/DD09F 4C076/DD21 4C076/DD24 4C076/DD26 4C076/DD30 4C076/DD42Z 4C076/DD51 4C076/FF16 4C076/FF43 4C076/FF61 4C076/GG06 4C085/AA03 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/DD86 4C085/EE01 4C085/FF24 4C085/GG01 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA11 4H045/DA86 4H045/EA31 4H045/EA54 4H045/FA74 4H045/GA45		
代理人(译)	四本 能尚 宫泽顺子 佐藤 真纪		
优先权	61/376160 2010-08-23 US		
其他公开文献	JP5945538B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及免疫原性组合物中的奈瑟氏球菌脑膜炎rLP2086亚家族B抗原的稳定剂。本发明还涉及保持奈瑟氏球菌脑膜炎rLP2086抗原构象的方法和测定脑膜炎奈瑟菌rLP2086抗原效力的方法。

%PS80

mg/mLタンパク質