

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第1部門第1区分
 【発行日】令和2年7月9日(2020.7.9)

【公表番号】特表2019-525733(P2019-525733A)
 【公表日】令和1年9月12日(2019.9.12)
 【年通号数】公開・登録公報2019-037
 【出願番号】特願2018-563423(P2018-563423)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/44 (2006.01)
 C 0 7 K 14/11 (2006.01)
 C 1 2 N 15/63 (2006.01)
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 N 7/01 (2006.01)
 A 6 1 P 37/04 (2006.01)
 A 6 1 P 31/16 (2006.01)
 A 6 1 K 38/16 (2006.01)
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)
 G 0 1 N 33/543 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/44 Z N A
 C 0 7 K 14/11
 C 1 2 N 15/63 Z
 C 1 2 N 1/15
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 N 7/01
 A 6 1 P 37/04
 A 6 1 P 31/16
 A 6 1 K 38/16
 G 0 1 N 33/53 D
 G 0 1 N 33/543 5 9 7

【手続補正書】
 【提出日】令和2年5月29日(2020.5.29)
 【手続補正1】
 【補正対象書類名】特許請求の範囲
 【補正対象項目名】全文
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【特許請求の範囲】
 【請求項1】

組換えインフルエンザヘマグルチニン(HA)ポリペプチドであって、
 支配的季節性免疫プロファイルを備えた改変HAポリペプチド由来の改変頭部領域と、
 パンデミック株由来のステム領域と、を含み、
 必要に応じて、前記改変頭部領域が、配列番号1(SMART__DO2a配列)の13

5～269位、125～277位、もしくは63～278位に相当するアミノ酸に対して少なくとも95%同一、例えば配列番号1(SMART_DO2a配列)の135～269位、125～277位、もしくは63～278位に相当するアミノ酸に対して少なくとも96%同一、例えば配列番号1(SMART_DO2a配列)の135～269位、125～277位、もしくは63～278位に相当するアミノ酸に対して少なくとも98%同一の配列を含む、または配列が配列番号1(SMART_DO2a配列)の135～269位、125～277位、もしくは63～278位に相当するアミノ酸に対して同一であり、かつ/あるいは

必要に応じて、前記ステム領域が、A/カリフォルニア/07/2009、A/ニュージャージー/10/1976、もしくはA/サウスカロライナ/1/1918、またはパンデミック免疫プロファイルを有する改変HAポリペプチドなどの天然に存在するパンデミック株由来であり、必要に応じて、パンデミック免疫プロファイルを有する前記改変HAポリペプチドが、コンピュータ最適化広域反応性抗原(COBR A)技術、モザイク技術、インフルエンザ株のインフルエンザコンセンサス配列ベースの組み合わせ、構造ドメインの欠失および/もしくは再配列、ドメインスワッピング、または複数のインフルエンザ株に含まれる中和エピトープもしくは交差反応性エピトープの組み合わせ、によって改変される、前記ポリペプチド。

【請求項2】

(a) 支配的季節性免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつN x S / T y (xとyはPではない)のコンセンサス配列によって定められる一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位において、前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位が破壊されるように、一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入を含む、改変頭部領域を備え、

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入の各々が、パンデミック株の対応する配列由来である；あるいは

(b) 支配的パンデミック免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつN x S / T y (xとyはPではない)のコンセンサス配列によって定められる一つ以上の改変された推定N結合型グリコシル化部位を含む、改変頭部領域を備え、

前記一つ以上の改変された推定N結合型グリコシル化部位の各々が、季節性株の対応する配列に基づいて、アミノ酸の置換、欠失、または挿入によって改変されている、組換えインフルエンザヘマグルチニン(HA)ポリペプチド。

【請求項3】

前記ヘマグルチニンが、サブタイプH1N1などのA型インフルエンザに対応し、かつ/もしくは前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位が、(CA09ナンバリング)の142～145位および/もしくは177～179位に相当し、かつ/または

前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位が、受容体結合部位(RBS)の15オングストローム以内にあり、前記RBSが、三次元(3-D)構造において、W167(CA09ナンバリング)に相当する位置の15オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められており、

必要に応じて、前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、もしくは挿入が、表4もしくは表5から選択され、かつ/または

前記コンセンサス配列N x S / T yを $z^1 z^2 z^3 z^4$ に修飾することを含み、式中、
 z^1 は、N、D、K、またはSであり、
 z^2 は、Yであるか、または変化せず、
 z^3 は、E、D、またはNであり、
 z^4 は、I、L、P、S、もしくはTであるか、または変化せず、かつ/または

一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、もしくは挿入が誘導されるパンデミック株もしくは季節性株が、A/カリフォルニア/07/2009およびA/サウスカロライナ/1/1918などの循環インフルエンザ株であり、かつ/または

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、もしくは挿入が、前記N x S / T y コンセンサ

ス配列の1～5アミノ酸以内へのリジン（K）残基もしくはアルギニン（R）残基の挿入を含み、例えば前記リジン（K）残基もしくはアルギニン（R）残基が前記N x S / T y コンセンサス配列の1～5アミノ酸3'内にあり、かつ/もしくは前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、もしくは挿入が、A / カリフォルニア / 07 / 2009の147に相当する位置での挿入を含み、例えば147に相当する位置での前記挿入が、リジン（K）もしくはアルギニン（R）の挿入を含む、請求項2に記載の組換えインフルエンザヘマグルチニン。

【請求項4】

(a) 支配的季節性免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつ60と291と（CA09ナンバリング）に相当する位置の間に一つ以上のアミノ酸置換を含む、改変頭部領域を備え、

前記一つ以上のアミノ酸置換の各々が、表6から選択される一つ以上のアミノ酸置換などのパンデミック株の対応する配列由来であり、

必要に応じて、前記一つ以上のアミノ酸置換が、137と262と（CA09ナンバリング）に相当する位置の間にあり、前記一つ以上のアミノ酸置換が表7から選択される、または

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表6もしくは表7から選択される2個以上のアミノ酸置換、例えば表6もしくは表7から選択される3個以上、5個以上、10個以上のアミノ酸置換を含む、もしくは前記一つ以上のアミノ酸置換が、表6もしくは表7から選択される少なくとも2個、3個、4個、5個、もしくは10個の連続する置換を含む、または

前記一つ以上のアミノ酸置換が、137、144、145、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、214、244、245、および/もしくは262（CA09ナンバリング）に相当する位置で、好ましくは137、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、214、244、および/もしくは245（CA09ナンバリング）に相当する位置で、もしくは137、144、145、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、214、および/もしくは262（CA09ナンバリング）に相当する位置で起こる；あるいは

(b) 支配的季節性免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつ受容体結合部位（RBS）の15オングストローム以内に一つ以上のアミノ酸置換を含み、前記RBSが、三次元（3-D）構造において、W167（CA09ナンバリング）に相当する位置の15オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められている、改変頭部領域を備え、

前記一つ以上のアミノ酸置換の各々が、循環インフルエンザウイルスなどのパンデミック株の対応する配列由来であり、

必要に応じて、前記一つ以上のアミノ酸置換が、受容体結合部位（RBS）の10オングストローム以内にある、もしくは前記一つ以上のアミノ酸置換が表8から選択され、例えば表8から2個以上、3個以上、5個以上、10個以上のアミノ酸置換が選択される、または

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表8から選択される少なくとも2個、3個、4個、5個、もしくは10個の連続する置換を含み、好ましくは前記一つ以上のアミノ酸置換が、137、144、145、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、および/もしくは214（CA09ナンバリング）に相当する位置で起こる；あるいは

(c) 支配的季節性免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつ表9から選択される一つ以上のアミノ酸修飾を含む、改変頭部領域を備える、組換えインフルエンザヘマグルチニン（HA）ポリペプチド。

【請求項5】

支配的季節性免疫プロファイルを備えた前記HAポリペプチドまたは支配的パンデミック免疫プロファイルを備えた前記HAポリペプチドが、COBRA（コンピュータ最適化

広域反応性抗原：computationally optimized broadly reactive antigens) 技術、モザイク技術、インフルエンザ株のインフルエンザコンセンサス配列ベースの組み合わせ、構造ドメインの欠失および/もしくは再配列、ドメインスワッピング、または複数のインフルエンザ株に含まれる中和エピートープもしくは交差反応性エピートープの組み合わせ、によって改変される、または前記組換え H A ポリペプチドが、インフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発する、または前記組換え H A ポリペプチドが、インフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対する、よりバランスの取れた免疫原性プロファイルによって特徴付けられている、請求項 1 から請求項 4 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

【請求項 6】

請求項 1 から請求項 5 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチドをコードする単離された核酸。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のベクターを含む、ヒト細胞などの単離された細胞。

【請求項 9】

請求項 1 から請求項 5 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチドを含み、必要に応じてインフルエンザノイラミニダーゼ (N A) タンパク質、ヒト免疫不全ウイルス (H I V) g a g タンパク質、またはその両方をさらに含むインフルエンザウイルス様粒子 (V L P) 。

【請求項 10】

請求項 1 から請求項 5 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド、または請求項 9 に記載のインフルエンザ V L P を含む医薬組成物。

【請求項 11】

季節性およびパンデミックのインフルエンザウイルスに対して対象を免疫化するための、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

改変ヘマグルチニン (H A) ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であって、

前記改変 H A ポリペプチドの頭部領域を選択することと、

前記改変 H A ポリペプチドの前記選択された頭部領域で、別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する頭部領域を置換し、それによって、変更された免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生成することと、を含み、必要に応じて、

(a) 前記改変 H A ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、

さらに支配的季節性免疫プロファイルを備えた前記改変 H A ポリペプチドの前記選択された頭部領域が、配列番号 1 (S M A R t _ D O 2 a 配列) の残基 63 ~ 278、125 ~ 277、または 135 ~ 269 に相当し、好ましくは別の免疫原性プロファイル (支配的パンデミック) を備えた前記 H A ポリペプチドの対応する頭部領域が、

配列番号 2 (完全長野生型 N C 0 9 (A / カリフォルニア / 0 7 / 2 0 0 9 H A 配列) 配列) の 63 ~ 277 の残基 ;

配列番号 3 (完全長野生型 S C 1 9 1 8 配列) の 63 ~ 277 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 N J 1 9 7 6 配列) の 63 ~ 277 の残基と、

配列番号 2 (完全長野生型 N C 0 9 配列) の 125 ~ 277 の残基と、

配列番号 3 (完全長野生型 S C 1 9 1 8 配列) の 125 ~ 277 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 N J 1 9 7 6 配列) の 125 ~ 277 の残基と、

配列番号 2 (完全長野生型 NC09 配列) の 135 ~ 269 の残基と、
配列番号 3 (完全長野生型 SC1918 配列) の 135 ~ 269 の残基と、
配列番号 4 (完全長野生型 NJ1976 配列) の 135 ~ 269 の残基と、 からなる群
 から選択され、必要に応じて、

別の免疫原性プロファイル (支配的パンデミック) を備えた前記 HA ポリペプチドが、
野生型インフルエンザウイルス由来の HA ポリペプチド、または配列番号 5 (DO1A の
完全長配列) を含むものなどの改変 HA ポリペプチドである；あるいは

(b) 前記改変 HA ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、別の
免疫原性プロファイルを備えた前記 HA ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを
有し、支配的パンデミック免疫プロファイルを備えた前記改変 HA ポリペプチドの選択さ
れた頭部領域が、

配列番号 2 (完全長野生型 NC09 (A / カリフォルニア / 07 / 2009 HA 配列)
配列) の 63 ~ 277 の残基と、

配列番号 3 (完全長野生型 SC1918 配列) の 63 ~ 277 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 NJ1976 配列) の 63 ~ 277 の残基と、

配列番号 2 (完全長野生型 NC09 配列) の 125 ~ 277 の残基と、

配列番号 3 (完全長野生型 SC1918 配列) の 125 ~ 277 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 NJ1976 配列) の 125 ~ 277 の残基と、

配列番号 2 (完全長野生型 NC09 配列) の 135 ~ 269 の残基と、

配列番号 3 (完全長野生型 SC1918 配列) の 135 ~ 269 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 NJ1976 配列) の 135 ~ 269 の残基と、 からなる群
 から選択され、必要に応じて、

別の免疫原性プロファイル (支配的季節性) を備えた前記 HA ポリペプチドの対応する
頭部領域が、配列番号 1 (SMART__DO2a の完全長配列) の残基 63 ~ 278、1
25 ~ 277、または 135 ~ 269 を含む、

必要に応じて、前記方法が、前記再設計された HA ポリペプチドの発現および構造を評
価すること、および / または前記再設計された HA ポリペプチドがインフルエンザウイル
スの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定するこ
とをさらに含む、

前記方法。

【請求項 13】

改変ヘマグルチニン (HA) ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であ
 って、

別の免疫原性プロファイルを備えた HA ポリペプチドの対応する頭部領域と比較して、
 前記改変 HA ポリペプチドの頭部領域における一つ以上の推定 N 結合型グリコシル化部位
 の有無を判定することと、

前記改変 HA ポリペプチドの前記頭部領域に一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または
 挿入を導入して、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 HA ポリペプチドの対応する配
 列に基づいて、前記一つ以上の推定 N 結合型グリコシル化部位を破壊するかまたは追加の
 N 結合型グリコシル化部位を挿入し、それにより変更した免疫原性プロファイルを有する
 再設計された HA ポリペプチドを生じさせることと、を含む、

必要に応じて、前記一つ以上の推定または追加の N 結合型グリコシル化部位が、 $N \times S$
 $/ T y$ (x と y は P ではない) のコンセンサス配列によって定められ、かつ / または前記
 改変 HA ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイ
 ルを備えた前記 HA ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、前記一
 つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が前記改変 HA ポリペプチドに導入されて、
 前記一つ以上の推定 N 結合型グリコシル化部位を破壊し、前記再設計された HA ポリペ
 プチドがよりパンデミックになるように変更され、かつ / または前記改変 HA ポリペプチド
 が支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記
 HA ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、前記一つ以上のアミノ酸の置

換、欠失、または挿入が前記改変 H A ポリペプチドに導入されて、追加の N 結合型グリコシル化部位を挿入し、前記再設計された H A ポリペプチドがより季節性になるように変更され、必要に応じて、前記再設計された H A ポリペプチドの発現および構造を評価することをさらに含み、必要に応じて、前記再設計された H A ポリペプチドがインフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定することをさらに含む、方法。

【請求項 14】

改変ヘマグルチニン (H A) ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であって、

(a) 一つ以上のアミノ酸置換を受容体結合部位 (R B S) の 15 オングストローム以内に導入することであって、前記 R B S が、三次元 (3 - D) 構造において、W 1 6 7 (C A 0 9 ナンバリング) に相当する位置の 15 オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められている、前記導入することを含んでおり、

前記一つ以上のアミノ酸置換の各々が、特定の位置のアミノ酸残基を、別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する位置で観察されるアミノ酸残基と置き換えることを含み、

それにより、変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生じさせ、必要に応じて、

別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが循環の季節性インフルエンザ株もしくはパンデミックインフルエンザ株由来である、もしくは前記改変 H A ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、前記再設計された H A ポリペプチドがよりパンデミックになるように変更される、または

前記改変 H A ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、

前記再設計された H A ポリペプチドがより季節性になるように変更される、かつ/または前記方法が、前記再設計された H A ポリペプチドの発現および構造を評価すること、および/もしくは前記再設計された H A ポリペプチドがインフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定することをさらに含む ; あるいは

(b) 表 4、表 5、表 6、表 7、表 8、もしくは表 9 に示されている修飾から選択される一つ以上の修飾を、前記改変 H A ポリペプチドの一つ以上対応する位置に導入し、それにより変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生じさせ、好ましくは前記一つ以上の修飾が、1 3 7、1 4 4、1 4 5、1 5 4、1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 8、1 5 9、1 7 7、2 1 0、2 1 1、2 1 2、2 1 3、2 1 4、2 4 4、2 4 5、および/もしくは 2 6 2 (C A 0 9 ナンバリング) に相当する位置で生じ、好ましくは前記一つ以上の修飾が、1 3 7、1 4 4、1 4 5、1 5 4、1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 8、1 5 9、1 7 7、2 1 0、2 1 1、2 1 2、2 1 3、および/もしくは 2 1 4 (C A 0 9 ナンバリング) に相当する位置で生じ、

必要に応じて、前記一つ以上の修飾が、表 4、表 5、表 6、表 7、表 8、もしくは表 9 で示した修飾から選択される 2 個以上、3 個以上、4 個以上、5 個以上、もしくは 10 個以上の修飾を含み、

必要に応じて、前記方法が、前記再設計された H A ポリペプチドの発現および構造を評価すること、および/もしくは前記再設計された H A ポリペプチドがインフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定することをさらに含む ; あるいは

(c) 前記方法が、

(i) 前記改変 H A ポリペプチドの頭部領域を選択することと、前記改変 H A ポリペプチドの前記選択された頭部領域で、別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する頭部領域を置換することと、

(i i) 別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する頭部領域と比較して、前記改変 H A ポリペプチドの頭部領域における一つ以上の推定 N 結合型グリコシル化部位の有無を判定することと、前記改変 H A ポリペプチドの前記頭部領域に一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、もしくは挿入を導入して、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドの対応する配列に基づいて、前記一つ以上の推定 N 結合型グリコシル化部位を破壊もしくは改変するか、もしくは追加の N 結合型グリコシル化部位を挿入することと、

(i i i) 一つ以上のアミノ酸置換を受容体結合部位 (R B S) の 1 5 オングストローム以内に導入することとあって、前記 R B S が、三次元 (3 - D) 構造において、W 1 6 7 (C A 0 9 ナンパリング) に相当する位置の 1 5 オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められており、前記一つ以上のアミノ酸置換の各々は、ある特定の位置のアミノ酸残基を、別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する位置で観察されるアミノ酸残基と置き換えることを含む、前記導入することと、

(i v) 表 4、表 5、表 6、表 7、表 8、もしくは表 9 に示した修飾から選択される一つ以上修飾を、前記改変 H A ポリペプチドの一つ以上の対応する位置に導入することと、からなる群から選択される二つ以上の修飾を選択することを含む、

それにより、変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生じさせる、
前記方法。

【請求項 1 5】

変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生成することが、パンデミックインフルエンザ株に対する抗頭部モノクローナル抗体の結合範囲を増大させることなどの季節性インフルエンザ株および/またはパンデミックインフルエンザ株に対する一つ以上の抗頭部モノクローナル抗体の結合を増大させることを含む、必要に応じて結合の増加が、哺乳類細胞の表面で発現した再設計された H A ポリペプチドに結合した前記モノクローナル抗体をフローサイトメトリーで検出することによって決定される、かつ/またはモノクローナル抗体の結合のレベルを定量化することをさらに含む、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 1 から請求項 1 5 のいずれか 1 項に記載の方法による再設計されたヘマグルチニン (H A) ポリペプチド。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 4 0】

【図 6】推定 N 結合型グリコシル化部位 (出現順に、それぞれ配列番号 3 2 ~ 3 5) と、リジンループ挿入部位 (出現順に、それぞれ配列番号 3 6 ~ 3 7) と、R B S 部位周囲の残基の修飾とを図解したものである。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 9 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 9 3】

原理証明として評価された、季節性免疫プロファイルを備える改変 H A ポリペプチドの残基の修飾について、表 9 に記載している。これらの修飾には、R B S 領域修飾と、上述のグリコシル化プロファイル修飾 (例えば、グリコシル化部位の切除) との組み合わせが

含まれる。これらの修飾によって、適正にフォールディングし、表面発現された組換え H A ポリペプチドが得られた (図 7)。再度、頭部領域の修飾が抗ステム m A b への結合のわずかな増加を誘導したのを観察し、1箇所での置換が、遠隔部位に広範囲のアロステリック効果を与えることができることを示した。再設計された組換え H A は、パンデミックと季節性の両方の特定の抗体によって認識された (図 8)。興味深いことに、R B S 修飾は単独で季節性免疫プロファイルを改善した (図 8、D O 2 a __ m 4 ~ m 5、「修飾された C H 6 5」) が、パンデミックプロファイルにはほとんど影響を及ぼさなかった。しかしながら、R B S 領域修飾とグリコシル化修飾を組み合わせることで、季節性とパンデミックの免疫プロファイルの両方が有意に改善した。(図 8、D O 2 a __ m 7 ~ m 9、「グリコシル + m C H 6 5」)。このデータが示したのは、修飾は、季節性免疫プロファイル (「m A b 結合の増加」) を改良し、より多くのパンデミック免疫プロファイル (「範囲の増加」) を付与し、それによって、改変 H A ポリペプチドの例 (例えば、S M A R t __ D O 2 a) において抗原変異および抗原不連続変異に対処することができる全体的によりバランスの取れた免疫プロファイルをもたらしたことである。

【表 9】
表 9

構築物	修飾	残基インデックス (CA09 ナンバリング)	改変HAの元の配列 (SMART_D O2a)	修飾された配列
1	E137T (荷電変化)	137	E	T
	抗原部位 C a	154~159	SHNGKS (配列番号 28)	PHAGAK (配列番号 29)
	抗原部位 S a	210~214	HTEN (配列番号 30)	QNAD (配列番号 31)
	N262T	262	N	T
2	抗原部位 C a	154~159	SHNGKS (配列番号 28)	PHAGAK (配列番号 29)
3	抗原部位 S a	210~214	HTEN (配列番号 30)	QNAD (配列番号 31)
4	E137T (荷電変化)	137	E	T
	N g l y 142	144~145	TV	NT
	抗原部位 C a	154~159	SHNGKS (配列番号 28)	PHAGAK (配列番号 29)
	N g l y 177	177	N	T
	抗原部位 S a	210~214	HTEN (配列番号 30)	QNAD (配列番号 31)
	N262T	262	N	T
5	N g l y 142	144~145	TV	NT
	抗原部位 C a	154~159	SHNGKS (配列番号 28)	PHAGAK (配列番号 29)
	N g l y 177	177	N	T
6	N g l y 142	144~145	TV	NT
	N g l y 177	177	N	T
	抗原部位 S a	210~214	HTEN (配列番号 30)	QNAD (配列番号 31)

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0230

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0230】

本明細書および特許請求の範囲で使用される冠詞「a」および「an」は、明確に反対の指示がない限り、複数の指示対象を含むと理解されるべきである。グループの一つまたは複数のメンバーとの間に「または」を含むクレームまたは説明は、グループメンバーの一つ、1以上、またはすべてが、文脈から逆のまたはそうでないことが示されていない限り、所与の製品またはプロセスに存在し、採用され、またはそうでなければ関連する場合に満足されると考えられる。本発明は、グループのちょうど一つのメンバーが所与の製品またはプロセスに存在し、使用され、または関連する実施形態を含む。本発明はまた、二つ以上の、またはグループメンバー全体が所与の製品またはプロセスに存在し、使用され、または関連する実施形態も含む。さらに、本発明は、別段の指示がない限り、または当業者には矛盾または不一致が生じることが明らかでない限り、列挙された請求項の一つ以上からの一つ以上の制限、要素、句、記述的用語などが、同じ基本クレーム（または関連する他の請求項）に従属する別の請求項に導入されるすべての変形、組み合わせ、および置換を包含することが理解されるべきである。要素がリスト（例えば、マーカッシュグループまたは類似のフォーマット）として提示される場合、要素の各サブグループも開示され、任意の要素がグループから除去され得ることが理解されるべきである。一般に、本発明または本発明の態様は、特定の要素、特徴などを含むものとして言及し、本発明の特定の実施形態または本発明の態様は、そのような要素、特徴などからなるか、またはそれらから本質的になることを理解されたい。簡潔にするために、これらの実施形態は、すべての場合において、本明細書中に多くの言葉で具体的に記載されているわけではない。特定の排除が明細書に列挙されているかどうかにかかわらず、本発明の任意の実施形態または態様は、特許請求の範囲から明白に除外することができることも理解されるべきである。本発明の背景を説明し、その実施に関するさらなる詳細を提供するために本明細書で参照される刊行物、ウェブサイトおよび他の参考資料は、参照により本明細書に組み込まれる。

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

組換えインフルエンザヘマグルチニン(HA)ポリペプチドであって、

支配的季節性免疫プロファイルを備えた改変HAポリペプチド由来の改変頭部領域と、
パンデミック株由来のステム領域と、を含む、前記ポリペプチド。

(項目2)

前記改変頭部領域が、配列番号1(SMART__DO2a配列)の135~269位、
125~277位、または63~278位に相当するアミノ酸に対して少なくとも95%
同一の配列を含む、項目1に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド

(項目3)

前記配列が、配列番号1(SMART__DO2a配列)の135~269位、125~
277位、または63~278位に相当するアミノ酸に対して少なくとも96%同一であ
る、項目2に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド。

(項目4)

前記配列が、配列番号1(SMART__DO2a配列)の135~269位、125~
277位、または63~278位に相当するアミノ酸に対して少なくとも98%同一であ
る、項目2または項目3に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド。

(項目5)

前記配列が、配列番号1(SMART__DO2a配列)の135~269位、125~
277位、または63~278位に相当するアミノ酸に対して同一である、項目2から項
目4のいずれか1項に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド。

(項目6)

前記ステム領域が天然に存在するパンデミック株由来である、先行項目のいずれか1項
に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド。

(項目7)

前記天然に存在するパンデミック株がA/カリフォルニア/07/2009、A/ニュ

ージャー/10/1976、またはA/サウスカロライナ/1/1918から選択される、項目6に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド。

(項目8)

前記STEM領域がパンデミック免疫プロファイルを有する改変HAポリペプチド由来である、先行項目のいずれか1項に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド。

(項目9)

パンデミック免疫プロファイルを有する前記改変HAポリペプチドが、COBRA(コンピュータ最適化広域反応性抗原: computationally optimized broadly reactive antigens)技術、モザイク技術、インフルエンザ株のインフルエンザコンセンサス配列ベースの組み合わせ、構造ドメインの欠失および/もしくは再配列、ドメインスワッピング、または複数のインフルエンザ株に含まれる中和エピトープもしくは交差反応性エピトープの組み合わせ、によって改変される、項目8に記載の組換えインフルエンザHAポリペプチド。

(項目10)

支配的季節性免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつ $N \times S / T y$ (x と y は P ではない)のコンセンサス配列によって定められる一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位において、前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位が破壊されるように、一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入を含む、改変頭部領域を備え、前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入の各々が、パンデミック株の対応する配列由来である、組換えインフルエンザヘマグルチニン(HA)ポリペプチド。

(項目11)

支配的パンデミック免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつ $N \times S / T y$ (x と y は P ではない)のコンセンサス配列によって定められる一つ以上の改変された推定N結合型グリコシル化部位を含む、改変頭部領域を備え、

前記一つ以上の改変された推定N結合型グリコシル化部位が、季節性株の対応する配列に基づいて、アミノ酸の置換、欠失、または挿入によって改変されている、組換えインフルエンザヘマグルチニン(HA)ポリペプチド。

(項目12)

前記ヘマグルチニンがA型インフルエンザに対応する、項目10または項目11に記載の組換えインフルエンザヘマグルチニン。

(項目13)

前記A型インフルエンザがサブタイプH1N1である、項目12に記載の組換えインフルエンザヘマグルチニン。

(項目14)

前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位が、(CA09ナンバリング)の142~145位および/または177~179位に相当する、項目10から項目13のいずれか1項に記載の組換えヘマグルチニン(HA)ポリペプチド。

(項目15)

前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位が、受容体結合部位(RBS)の15オングストローム以内であり、前記RBSが、三次元(3-D)構造において、W167(CA09ナンバリング)に相当する位置の15オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められている、項目10から項目13のいずれか1項に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目16)

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が、表4から選択される、項目14に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目17)

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が、表5から選択される、項目14または項目16に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目18)

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が、前記コンセンサス配列 N x S / T y を $z^1 z^2 z^3 z^4$ に修飾することを含み、式中、

z^1 は、N、D、K、またはSであり、

z^2 は、Yであるか、または変化せず、

z^3 は、E、D、またはNであり、

z^4 は、I、L、P、S、もしくはTであるか、または変化しない、項目10から項目17のいずれか1項に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目19)

一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が誘導されるパンデミック株または季節性株が、循環インフルエンザ株である、項目10から項目18のいずれか1項に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目20)

前記循環インフルエンザ株が、A/カリフォルニア/07/2009およびA/サウスカロライナ/1/1918からなる群から選択される、項目19に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目21)

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が、前記N x S / T y コンセンサス配列の1~5アミノ酸以内へのリジン(K)残基またはアルギニン(R)残基の挿入を含む、項目10から項目20のいずれか1項に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目22)

前記リジン(K)残基またはアルギニン(R)残基が前記N x S / T y コンセンサス配列の1~5アミノ酸3'内にある、項目21に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目23)

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が、A/カリフォルニア/07/2009の147に相当する位置での挿入を含む、項目10から項目21のいずれかに記載の組換えHAポリペプチド。

(項目24)

147に相当する位置での前記挿入が、リジン(K)またはアルギニン(R)の挿入を含む、項目23に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目25)

支配的季節性免疫プロファイルを備えたHAポリペプチド由来であり、かつ60と291と(CA09ナンバリング)に相当する位置の間に一つ以上のアミノ酸置換を含む、改変頭部領域を備え、

前記一つ以上のアミノ酸置換の各々が、パンデミック株の対応する配列由来である、組換えインフルエンザヘマグルチニン(HA)ポリペプチド。

(項目26)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表6から選択される、項目25に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目27)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、137と262と(CA09ナンバリング)に相当する位置の間にあり、前記一つ以上のアミノ酸置換が表7から選択される、項目25に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目28)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表6または表7から選択される2個以上のアミノ酸置換を含む、項目25から項目27のいずれか1項に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目29)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表6または表7から選択される3個以上のアミノ酸置換を含む、項目25から項目28のいずれか1項に記載の組換えHAポリペプチド。

(項目30)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表6または表7から選択される5個以上のアミノ酸置

換を含む、項目 25 から項目 29 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 31)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 6 または表 7 から選択される 10 個以上のアミノ酸置換を含む、項目 25 から項目 30 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 32)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 6 または表 7 から選択される少なくとも 2 個、3 個、4 個、5 個、または 10 個の連続する置換を含む、項目 25 から項目 31 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 33)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、137、144、145、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、214、244、245、および/または 262 (CA09 ナンバリング) に相当する位置で起こる、項目 25 から項目 32 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 34)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、137、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、214、244、および/または 245 (CA09 ナンバリング) に相当する位置で起こる、項目 25 から項目 33 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 35)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、137、144、145、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、214、および/または 262 (CA09 ナンバリング) に相当する位置で起こる、項目 25 から項目 33 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 36)

支配的季節性免疫プロファイルを備えた H A ポリペプチド由来であり、かつ受容体結合部位 (RBS) の 15 オングストローム以内に一つ以上のアミノ酸置換を含み、前記 RBS が、三次元 (3-D) 構造において、W167 (CA09 ナンバリング) に相当する位置の 15 オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められている、改変頭部領域を備え、

前記一つ以上のアミノ酸置換の各々が、パンデミック株の対応する配列由来である、組換えインフルエンザヘマグルチニン (H A) ポリペプチド。

(項目 37)

前記パンデミック株が循環インフルエンザウイルスである、項目 36 に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 38)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、受容体結合部位 (RBS) の 10 オングストローム以内にある、項目 36 に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 39)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 8 から選択される、項目 36 に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 40)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 8 から選択される 2 個以上のアミノ酸置換を含む、項目 38 または項目 39 に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 41)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 8 から選択される 3 個以上のアミノ酸置換を含む、項目 38 から項目 40 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 42)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 8 から選択される 5 個以上のアミノ酸置換を含む、項目 38 から項目 41 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 43)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 8 から選択される 10 個以上のアミノ酸置換を含む、項目 38 から項目 42 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 44)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、表 8 から選択される少なくとも 2 個、3 個、4 個、5 個、または 10 個の連続する置換を含む、項目 38 から項目 43 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 45)

前記一つ以上のアミノ酸置換が、137、144、145、154、155、156、157、158、159、177、210、211、212、213、および/または 214 (CA09 ナンバリング) に相当する位置で起こる、項目 38 から項目 44 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 46)

支配的季節性免疫プロファイルを備えた H A ポリペプチド由来であり、かつ表 9 から選択される一つ以上のアミノ酸修飾を含む、改変頭部領域を備えた、組換えインフルエンザヘマグルチニン (H A) ポリペプチド。

(項目 47)

支配的季節性免疫プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドまたは支配的パンデミック免疫プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが、COBRA (コンピュータ最適化広域反応性抗原: computationally optimized broadly reactive antigens) 技術、モザイク技術、インフルエンザ株のインフルエンザコンセンサス配列ベースの組み合わせ、構造ドメインの欠失および/もしくは再配列、ドメインスワッピング、または複数のインフルエンザ株に含まれる中和エピートープもしくは交差反応性エピートープの組み合わせ、によって改変される、先行項目のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 48)

前記組換え H A ポリペプチドが、インフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発する、先行項目のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 49)

前記組換え H A ポリペプチドが、インフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対する、よりバランスの取れた免疫原性プロファイルによって特徴付けられている、先行項目のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチド。

(項目 50)

先行項目のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチドをコードする単離された核酸。

(項目 51)

項目 50 に記載の核酸を含むベクター。

(項目 52)

項目 51 に記載のベクターを含む単離された細胞。

(項目 53)

前記細胞がヒトである、項目 52 に記載の単離された細胞。

(項目 54)

項目 1 から項目 47 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチドを含むインフルエンザウイルス様粒子 (VLP)。

(項目 55)

インフルエンザノイラミニダーゼ (NA) タンパク質、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) gag タンパク質、またはその両方をさらに含む、項目 49 に記載のインフルエンザ VLP。

(項目 56)

項目 1 から項目 47 のいずれか 1 項に記載の組換え H A ポリペプチドを含む医薬組成物

。

(項目57)

項目54または項目55に記載のインフルエンザVLPを含む医薬組成物。

(項目58)

季節性およびパンデミックのインフルエンザウイルスに対して対象を免疫化する方法であって、項目56または項目57に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目59)

改変ヘマグルチニン(HA)ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であって、

前記改変HAポリペプチドの頭部領域を選択することと、

前記改変HAポリペプチドの前記選択された頭部領域で、別の免疫原性プロファイルを備えたHAポリペプチドの対応する頭部領域を置換し、それによって、変更された免疫原性プロファイルを備えた再設計されたHAポリペプチドを生成することと、を含む、前記方法。

(項目60)

前記改変HAポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記HAポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有する、項目59の方法。

(項目61)

支配的季節性免疫プロファイルを備えた前記改変HAポリペプチドの前記選択された頭部領域が、配列番号1(SMART__DO2a配列)の残基63~278、125~277、または135~269に相当する、項目60に記載の方法。

(項目62)

別の免疫原性プロファイル(支配的パンデミック)を備えた前記HAポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号2(完全長野生型NC09(A/カリフォルニア/07/2009HA配列)配列)の63~277の残基を含む、項目61に記載の方法。

(項目63)

別の免疫原性プロファイル(支配的パンデミック)を備えた前記HAポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号3(完全長野生型SC1918配列)の63~277の残基を含む、項目61に記載の方法。

(項目64)

別の免疫原性プロファイル(支配的パンデミック)を備えた前記HAポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号4(完全長野生型NJ1976配列)の63~277の残基を含む、項目61に記載の方法。

(項目65)

別の免疫原性プロファイル(支配的パンデミック)を備えた前記HAポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号2(完全長野生型NC09配列)の125~277の残基を含む、項目61に記載の方法。

(項目66)

別の免疫原性プロファイル(支配的パンデミック)を備えた前記HAポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号3(完全長野生型SC1918配列)の125~277の残基を含む、項目61に記載の方法。

(項目67)

別の免疫原性プロファイル(支配的パンデミック)を備えた前記HAポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号4(完全長野生型NJ1976配列)の125~277の残基を含む、項目61に記載の方法。

(項目68)

別の免疫原性プロファイル(支配的パンデミック)を備えた前記HAポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号2(完全長野生型NC09配列)の135~269の残基を

含む、項目 6 1 に記載の方法。

(項目 6 9)

別の免疫原性プロファイル (支配的パンデミック) を備えた前記 H A ポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号 3 (完全長野生型 S C 1 9 1 8 配列) の 1 3 5 ~ 2 6 9 の残基を含む、項目 6 1 に記載の方法。

(項目 7 0)

別の免疫原性プロファイル (支配的パンデミック) を備えた前記 H A ポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号 4 (完全長野生型 N J 1 9 7 6 配列) の 1 3 5 ~ 2 6 9 の残基を含む、項目 6 1 に記載の方法。

(項目 7 1)

別の免疫原性プロファイル (支配的パンデミック) を備えた前記 H A ポリペプチドが、野生型インフルエンザウイルス由来の H A ポリペプチドである、項目 6 1 から項目 7 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 2)

別の免疫原性プロファイル (支配的パンデミック) を備えた前記 H A ポリペプチドが、改変 H A ポリペプチドである、項目 6 1 から項目 7 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 3)

別の免疫原性プロファイル (支配的パンデミック) を備えた前記 H A ポリペプチドが、配列番号 5 (D O 1 A の完全長配列) を含む、項目 7 2 に記載の方法。

(項目 7 4)

前記改変 H A ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有する、項目 5 9 の方法。

(項目 7 5)

支配的パンデミック免疫プロファイルを備えた前記改変 H A ポリペプチドの選択された頭部領域が、

配列番号 2 (完全長野生型 N C 0 9 (A / カリフォルニア / 0 7 / 2 0 0 9 H A 配列) 配列) の 6 3 ~ 2 7 7 の残基と、

配列番号 3 (完全長野生型 S C 1 9 1 8 配列) の 6 3 ~ 2 7 7 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 N J 1 9 7 6 配列) の 6 3 ~ 2 7 7 の残基と、

配列番号 2 (完全長野生型 N C 0 9 配列) の 1 2 5 ~ 2 7 7 の残基と、

配列番号 3 (完全長野生型 S C 1 9 1 8 配列) の 1 2 5 ~ 2 7 7 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 N J 1 9 7 6 配列) の 1 2 5 ~ 2 7 7 の残基と、

配列番号 2 (完全長野生型 N C 0 9 配列) の 1 3 5 ~ 2 6 9 の残基と、

配列番号 3 (完全長野生型 S C 1 9 1 8 配列) の 1 3 5 ~ 2 6 9 の残基と、

配列番号 4 (完全長野生型 N J 1 9 7 6 配列) の 1 3 5 ~ 2 6 9 の残基と、からなる群から選択される、項目 7 4 に記載の方法。

(項目 7 6)

別の免疫原性プロファイル (支配的季節性) を備えた前記 H A ポリペプチドの対応する頭部領域が、配列番号 1 (S M A R t _ D O 2 a の完全長配列) の残基 6 3 ~ 2 7 8 、 1 2 5 ~ 2 7 7 、または 1 3 5 ~ 2 6 9 を含む、項目 7 4 または項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7)

前記再設計された H A ポリペプチドの発現および構造を評価することをさらに含む、項目 5 9 から項目 7 6 のいずれかに記載の方法。

(項目 7 8)

前記再設計された H A ポリペプチドがインフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定することをさらに含む、項目 5 9 から項目 7 6 のいずれかに記載の方法。

(項目 7 9)

改変ヘマグルチニン (H A) ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であ

って、

別の免疫原性プロファイルを備えたHAポリペプチドの対応する頭部領域と比較して、前記改変HAポリペプチドの頭部領域における一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位の有無を判定すること、

前記改変HAポリペプチドの前記頭部領域に一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入を導入して、別の免疫原性プロファイルを備えた前記HAポリペプチドの対応する配列に基づいて、前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位を破壊するかまたは追加のN結合型グリコシル化部位を挿入し、それにより変更した免疫原性プロファイルを有する再設計されたHAポリペプチドを生じさせることと、を含む方法。

(項目80)

前記一つ以上の推定または追加のN結合型グリコシル化部位が、 $N \times S / T y$ (x と y はPではない)のコンセンサス配列によって定められる、項目79に記載の方法。

(項目81)

前記改変HAポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記HAポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が前記改変HAポリペプチドに導入されて、前記一つ以上の推定N結合型グリコシル化部位を破壊し、

前記再設計されたHAポリペプチドがよりパンデミックになるように変更される、項目79または項目80に記載の方法。

(項目82)

前記改変HAポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記HAポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、

前記一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入が前記改変HAポリペプチドに導入されて、追加のN結合型グリコシル化部位を挿入し、

前記再設計されたHAポリペプチドがより季節性になるように変更される、項目79または項目80に記載の方法。

(項目83)

前記再設計されたHAポリペプチドの発現および構造を評価することをさらに含む、項目79から項目82のいずれか1項に記載の方法。

(項目84)

前記再設計されたHAポリペプチドがインフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定することをさらに含む、項目79から項目83のいずれか1項に記載の方法。

(項目85)

改変ヘマグルチニン(HA)ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であって、

一つ以上のアミノ酸置換を受容体結合部位(RBS)の15オングストローム以内に導入することであって、前記RBSが、三次元(3-D)構造において、W167(CA09ナンバリング)に相当する位置の15オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められている、前記導入することを含んでおり、

前記一つ以上のアミノ酸置換の各々が、特定の位置のアミノ酸残基を、別の免疫原性プロファイルを備えたHAポリペプチドの対応する位置で観察されるアミノ酸残基と置き換えることを含む、

それにより、変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計されたHAポリペプチドを生じさせる、前記方法。

(項目86)

別の免疫原性プロファイルを備えた前記HAポリペプチドが循環の季節性インフルエンザ株またはパンデミックインフルエンザ株由来である、項目85に記載の方法。

(項目87)

前記改変HAポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロ

ファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、前記再設計された H A ポリペプチドがよりパンデミックになるように変更される、項目 8 5 または項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記改変 H A ポリペプチドが支配的パンデミック免疫プロファイルを有し、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドが支配的季節性免疫プロファイルを有し、前記再設計された H A ポリペプチドがより季節性になるように変更される、項目 8 5 または項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記再設計された H A ポリペプチドの発現および構造を評価することをさらに含む、項目 8 5 から項目 8 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 0)

前記再設計された H A ポリペプチドがインフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定することをさらに含む、項目 8 5 から項目 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 1)

改変ヘマグルチニン (H A) ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であって、

表 4、表 5、表 6、表 7、表 8、または表 9 に示されている修飾から選択される一つ以上の修飾を、前記改変 H A ポリペプチドの一つ以上対応する位置に導入し、それにより変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生じさせることを含む、前記方法。

(項目 9 2)

前記一つ以上の修飾が、1 3 7、1 4 4、1 4 5、1 5 4、1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 8、1 5 9、1 7 7、2 1 0、2 1 1、2 1 2、2 1 3、2 1 4、2 4 4、2 4 5、および / または 2 6 2 (C A 0 9 ナンバリング) に相当する位置で生じる、項目 9 1 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記一つ以上の修飾が、1 3 7、1 4 4、1 4 5、1 5 4、1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 8、1 5 9、1 7 7、2 1 0、2 1 1、2 1 2、2 1 3、および / または 2 1 4 (C A 0 9 ナンバリング) に相当する位置で生じる、項目 9 1 または項目 9 2 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記一つ以上の修飾が、表 4、表 5、表 6、表 7、表 8、または表 9 で示した修飾から選択される 2 個以上、3 個以上、4 個以上、5 個以上、または 1 0 個以上の修飾を含む、項目 9 1 から項目 9 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 5)

前記再設計された H A ポリペプチドの発現および構造を評価することをさらに含む、項目 9 1 から項目 9 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 6)

前記再設計された H A ポリペプチドがインフルエンザウイルスの季節性株とパンデミック株の両方に対して中和抗体を誘発するか否かを判定することをさらに含む、項目 9 1 から項目 9 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 7)

改変ヘマグルチニン (H A) ポリペプチドの免疫原性プロファイルを変更する方法であって、

(i) 前記改変 H A ポリペプチドの頭部領域を選択することと、前記改変 H A ポリペプチドの前記選択された頭部領域で、別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する頭部領域を置換することと、

(i i) 別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する頭部領域と比較して、前記改変 H A ポリペプチドの頭部領域における一つ以上の推定 N 結合型グリコシ

ル化部位の有無を判定することと、前記改変 H A ポリペプチドの前記頭部領域に一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、または挿入を導入して、別の免疫原性プロファイルを備えた前記 H A ポリペプチドの対応する配列に基づいて、前記一つ以上の推定 N 結合型グリコシル化部位を破壊もしくは改変するか、または追加の N 結合型グリコシル化部位を挿入することと、

(i i i) 一つ以上のアミノ酸置換を受容体結合部位 (R B S) の 1 5 オングストローム以内に導入することであって、前記 R B S が、三次元 (3 - D) 構造において、W 1 6 7 (C A 0 9 ナンバリング) に相当する位置の 1 5 オングストローム以内の全てのアミノ酸残基として定められており、前記一つ以上のアミノ酸置換の各々は、ある特定の位置のアミノ酸残基を、別の免疫原性プロファイルを備えた H A ポリペプチドの対応する位置で観察されるアミノ酸残基と置き換えることを含む、前記導入することと、

(i v) 表 4、表 5、表 6、表 7、表 8、または表 9 に示した修飾から選択される一つ以上修飾を、前記改変 H A ポリペプチドの一つ以上の対応する位置に導入することと、からなる群から選択される二つ以上の修飾を選択することを含み、

それにより、変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生じさせる、前記方法。

(項目 9 8)

変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生成することが、季節性インフルエンザ株および / またはパンデミックインフルエンザ株に対する一つ以上の抗頭部モノクローナル抗体の結合を増大させることを含む、項目 5 9 から項目 9 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 9)

変更した免疫原性プロファイルを備えた再設計された H A ポリペプチドを生成することが、パンデミックインフルエンザ株に対する抗頭部モノクローナル抗体の結合範囲を増大させることを含む、項目 9 8 に記載の方法。

(項目 1 0 0)

結合の増加を、哺乳類細胞の表面で発現した再設計された H A ポリペプチドに結合した前記モノクローナル抗体をフローサイトメトリーで検出することによって測定する、項目 9 8 または項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 1)

モノクローナル抗体の結合のレベルを定量化することをさらに含む、項目 1 0 0 に記載の方法。

(項目 1 0 2)

項目 5 7 から項目 1 0 1 のいずれか 1 項に記載の方法による再設計されたヘマグルチニン (H A) ポリペプチド。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2019525733A5	公开(公告)日	2020-07-09
申请号	JP2018563423	申请日	2017-06-02
发明人	ストラグネル, トッド オルー, エリウド オーメン, レイモンド		
IPC分类号	C12N15/44 C07K14/11 C12N15/63 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N7/01 A61P37/04 A61P31/16 A61K38/16 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	C07K14/005 C12N2760/16122 C12N2760/16134 A61P31/16 A61P37/04 A61K38/162 A61K39/145 A61K2039/5258 C12N2760/16123		
FI分类号	C12N15/44.ZNA C07K14/11 C12N15/63.Z C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N7/01 A61P37/04 A61P31/16 A61K38/16 G01N33/53.D G01N33/543.597		
F-TERM分类号	4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA95X 4B065/AA95Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA45 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084 /BA22 4C084/BA23 4C084/CA01 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA22 4C084/MA23 4C084/MA28 4C084/MA31 4C084/MA52 4C084/MA56 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA63 4C084 /MA66 4C084/NA14 4C084/ZB091 4C084/ZB092 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	62/345502 2016-06-03 US		
其他公开文献	JP2019525733A		

摘要(译)

本发明特别提供了具有宽泛的免疫原性的修饰的重组HA多肽，其将范围扩展至抗原不同的流感毒株，以及制备和使用它们的方法。[选择]图1

表 9

精製物	修饰	残基インデックス (CA09 ナンバリング)	改良HAの元の配列 (S M A R K T 2 D O 2 a)	修饰された配列
1	E 137 T (荷電変化)	137	E	T
	抗原部位 C a	154~159	S H N G K S (配列番号 2 8)	P H A G A K (配列番号 2 9)
	抗原部位 S a	210~214	H T E N (配列番号 3 0)	Q N A D (配列番号 3 1)
	N 262 T	262	N	T
2	抗原部位 C a	154~159	S H N G K S (配列番号 2 8)	P H A G A K (配列番号 2 9)
	抗原部位 S a	210~214	H T E N (配列番号 3 0)	Q N A D (配列番号 3 1)
	E 137 T (荷電変化)	137	E	T
	N g 1 y 142	144~145	T V	N T
3	抗原部位 C a	154~159	S H N G K S (配列番号 2 8)	P H A G A K (配列番号 2 9)
	抗原部位 S a	210~214	H T E N (配列番号 3 0)	Q N A D (配列番号 3 1)
	N g 1 y 177	177	N	T
	N 262 T	262	N	T
4	抗原部位 C a	154~159	S H N G K S (配列番号 2 8)	P H A G A K (配列番号 2 9)
	抗原部位 S a	210~214	H T E N (配列番号 3 0)	Q N A D (配列番号 3 1)
	N g 1 y 142	144~145	T V	N T
	N g 1 y 177	177	N	T
5	抗原部位 C a	154~159	S H N G K S (配列番号 2 8)	P H A G A K (配列番号 2 9)
	抗原部位 S a	210~214	H T E N (配列番号 3 0)	Q N A D (配列番号 3 1)
	N g 1 y 142	144~145	T V	N T
	N g 1 y 177	177	N	T
6	抗原部位 C a	154~159	S H N G K S (配列番号 2 8)	P H A G A K (配列番号 2 9)
	抗原部位 S a	210~214	H T E N (配列番号 3 0)	Q N A D (配列番号 3 1)
	N g 1 y 142	144~145	T V	N T
	N g 1 y 177	177	N	T