(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-534442
(P2024-534442A)
(43)公表日　令和6年9月20日(2024.9.20)

| (51)国際特許分類 | | FI | | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|---|---|
| *Ａ６１Ｋ* | *48/00 (2006.01)* | Ａ６１Ｋ | 48/00 | | ４Ｃ０７６ |
| *Ｃ１２Ｎ* | *15/861 (2006.01)* | Ｃ１２Ｎ | 15/861 | Ｚ ＺＮＡ | ４Ｃ０８４ |
| *Ｃ１２Ｎ* | *15/867 (2006.01)* | Ｃ１２Ｎ | 15/867 | Ｚ | ４Ｃ０８５ |
| *Ｃ０７Ｋ* | *16/28 (2006.01)* | Ｃ０７Ｋ | 16/28 | | ４Ｃ０８６ |
| *Ｃ１２Ｎ* | *15/88 (2006.01)* | Ｃ１２Ｎ | 15/88 | Ｚ | ４Ｃ０８７ |

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全149頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-516893(P2024-516893)
(86)(22)出願日　令和4年9月19日(2022.9.19)
(85)翻訳文提出日　令和6年5月9日(2024.5.9)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/076678
(87)国際公開番号　WO2023/044492
(87)国際公開日　令和5年3月23日(2023.3.23)
(31)優先権主張番号　63/245,663
(32)優先日　令和3年9月17日(2021.9.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/281,027
(32)優先日　令和3年11月18日(2021.11.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/320,685
最終頁に続く

(71)出願人　518213307
グリットストーン バイオ インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 ９４６０８ カリフォルニア州 エメリービル ホートン ストリート ５９５９ スイート ３００
(74)代理人　100102978
弁理士　清水 初志
(74)代理人　100205707
弁理士　小寺 秀紀
(74)代理人　100160923
弁理士　山口 裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部 俊
(74)代理人　100142929
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ネオ抗原アジュバント及び維持療法

(57)【要約】
抗原コード核酸配列及び／または抗原ペプチドを含む組成物を、本明細書で開示する。ベクターを含む、ワクチンとしてのその使用を含む組成物と関連する、ヌクレオチド、細胞、及び方法、ならびに、異種プライム／ブーストワクチン接種戦略に関する方法もまた開示する。
【選択図】図１

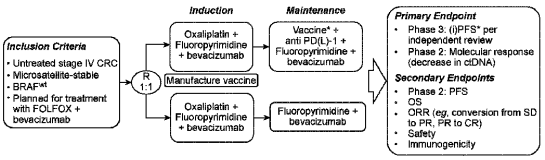


FIG. 1

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
対象における免疫応答を刺激するための方法であって、
前記対象に、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、前記対象に、チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、を含み、
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための前記組成物が、プライミング用量として投与され、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物が、１回以上のブースター用量として投与され、前記発現系が、少なくとも１つの抗原コード核酸配列をコードし、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系及び前記チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系が、維持療法として投与される、
前記方法。
【請求項２】
前記維持療法が、化学療法、免疫チェックポイント阻害剤療法、放射線療法、またはこれらの組み合わせとの併用療法を含み、任意で、前記化学療法が、フルオロピリミジン及び／またはベバシズマブを含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
対象における免疫応答を刺激するための方法であって、
前記対象に、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、前記対象に、チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、を含み、
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための前記組成物が、プライミング用量として投与され、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物が、１回以上のブースター用量として投与され、前記発現系が、少なくとも１つの抗原コード核酸配列をコードし、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系及び前記チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系が、補助療法として投与される、
前記方法。
【請求項４】
前記補助療法が、化学療法、免疫チェックポイント阻害剤療法、放射線療法、またはこれらの組み合わせとの併用療法を含み、任意で、前記化学療法が、フルオロピリミジン及び／またはベバシズマブを含む、請求項４に記載の方法。
【請求項５】
対象における免疫応答を刺激するための方法であって、
前記対象に、（１）自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物、または、（２）チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための組成物、のいずれかを投与することを含み、
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系または前記チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系が、補助療法として投与され、前記発現系が、少なくとも１つの抗原コード核酸配列をコードし、前記補助療法が、化学療法、免疫チェックポイント阻害剤療法、放射線療法、またはこれらの組み合わせとの併用療法を含み、任意で、前記化学療法が、フルオロピリミジン及び／またはベバシズマブを含む、
前記方法。
【請求項６】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物の１回以上のブースター用量が投与される、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記併用療法が、フルオロピリミジン及び／またはベバシズマブを含む、請求項２～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
前記併用療法が、フルオロピリミジン及びベバシズマブを含む、請求項２～５のいずれ

か１項に記載の方法。
【請求項９】
前記併用療法が、フルオロピリミジン、ベバシズマブ、及び、免疫チェックポイント阻害剤療法を含む、請求項２～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、
（１）抗ＰＤ－１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、（２）抗ＰＤ－Ｌ１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、及び／または、（３）抗ＣＴＬＡ－４抗体もしくはその抗原結合フラグメント
を含む、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記免疫チェックポイント阻害剤療法が、
前記プライミング用量及び前記第１のブースター用量だけを伴う、抗ＣＴＬＡ－４抗体またはその抗原結合フラグメントの投与
を含む、請求項９または１０に記載の方法。
【請求項１２】
前記抗ＣＴＬＡ－４抗体がイピリムマブを含む、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記イピリムマブが、３０ｍｇの用量で皮下投与される、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記免疫チェックポイント阻害剤療法が、４週毎（Ｑ４Ｗ）の、抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与を含む、請求項９～１３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
前記抗ＰＤ－Ｌ１抗体が、アテゾリズマブまたはニボルマブを含む、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記アテゾリズマブが、１６８０ｍｇの用量で静脈内投与される、または、前記ニボルマブが、４８０ｍｇの用量で静脈内投与される、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
前記免疫チェックポイント阻害剤療法が、少なくとも２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、１２回、または１３回の投与を含み、任意で、前記抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与が、少なくとも２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、１２回、または１３回の投与を含む、請求項９～１６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８】
前記免疫チェックポイント阻害剤療法が、少なくとも１３回の投与を含み、任意で、前記抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与が、少なくとも２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、１２回、または１３回の投与を含む、請求項９～１６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１９】
前記対象が、腫瘍及び／もしくはがん組織を取り除くための手術、化学療法、免疫療法（例えば、免疫チェックポイント阻害剤療法）、放射線療法、またはこれらの組み合わせを以前に受けている、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２０】
以前の化学療法が、オキサリプラチン、フルオロピリミジン、及び／または、ベバシズマブを含む、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
以前の化学療法が、オキサリプラチン、フルオロピリミジン、及び、ベバシズマブを含む、請求項１９に記載の方法。

【請求項２２】
以前の化学療法が、前記維持療法の投与前に最大２４週間にわたって投与された、請求項１９～２２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２３】
前記対象が結腸直腸癌（ＣＲＣ）を有する、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２４】
前記ＣＲＣが、ステージＩＶ、マイクロサテライト安定性、かつＢＲＡＦ$^{wt}$として分類される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
前記ＣＲＣが、ステージＩＩまたはＩＩＩとして分類される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２６】
前記対象がｃｔＤＮＡ陽性として分類される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２７】
２回以上のブースター用量が投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２８】
１、２、３、４、５、６、７、または８回のブースター用量が投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２９】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、ブースター用量としてさらに投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３０】
前記ＣｈＡｄＶベースのブースター用量が、単回ブースター用量として投与されるのみである、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の１４０日目、または約１４０日目に、前記ブースター用量として投与される、請求項２９または３０に記載の方法。
【請求項３２】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の２０週目、または約２０週目に、前記ブースター用量として投与される、請求項２９または３０に記載の方法。
【請求項３３】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の５ヶ月目、または約５ヶ月目に、前記ブースター用量として投与される、請求項２９または３０に記載の方法。
【請求項３４】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の１４０日目、または１４０日目よりも後に、前記ブースター用量として投与される、請求項２９または３０に記載の方法。
【請求項３５】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の２０週目、または２０週目よりも後に、前記ブースター用量として投与される、請求項２９または３０に記載の方法。
【請求項３６】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の５ヶ月目、または５ヶ月目よりも後に、前記ブースター用量として投与される、請求項２９または３０に記載の方法。
【請求項３７】

前記ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための前記組成物が、筋肉内（ＩＭ）、皮内（ＩＤ）、皮下（ＳＣ）、または静脈内（ＩＶ）投与される、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３８】

前記ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための前記組成物が、（ＩＭ）投与される、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３９】

前記ＩＭ投与が、別々の注射部位に施される、請求項３８に記載の方法。

【請求項４０】

前記別々の注射部位が、対向する三角筋内である、請求項３９に記載の方法。

【請求項４１】

前記別々の注射部位が、両側の殿筋または大腿直筋部位内である、請求項３９に記載の方法。

【請求項４２】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物が、筋肉内（ＩＭ）、皮内（ＩＤ）、皮下（ＳＣ）、または静脈内（ＩＶ）投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４３】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも２回のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４４】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも２８日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４５】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも４週（Ｑ４Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４６】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも１ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４７】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも５６日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４８】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも８週（Ｑ８Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４９】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも２ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項５０】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の２８及び８４日目、または約２８及び８４日目に、少なくとも２回のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項５１】

前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前

記プライミング用量後の４及び１２週目、または約４及び１２週目に、少なくとも２回のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５２】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量後の１及び３ヶ月目、または約１及び３ヶ月目に、少なくとも２回のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５３】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、少なくとも４回のブースター用量として投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５４】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量を基準として、２８、８４、２２４、及び３０８日目に、または、約２８、８４、２２４、及び３０８日目に投与される、請求項５３に記載の方法。
【請求項５５】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量を基準として、４、１２、３２、及び４４週目に、または、約４、１２、３２、及び４４週目に投与される、請求項５３に記載の方法。
【請求項５６】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、前記ＣｈＡｄＶベースの発現系の前記プライミング用量を基準として、１、３、８、及び１１ヶ月目に、または、約１、３、８、及び１１ヶ月目に投与される、請求項５３に記載の方法。
【請求項５７】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物が、（ＩＭ）投与される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５８】
前記ＩＭ投与が、別々の注射部位に施される、請求項５７に記載の方法。
【請求項５９】
前記別々の注射部位が、対向する三角筋内である、請求項５８に記載の方法。
【請求項６０】
前記別々の注射部位が、両側の殿筋または大腿直筋部位内である、請求項５８に記載の方法。
【請求項６１】
前記１回以上のブースター用量の注射部位が、前記プライミング用量の注射部位に可能な限り近い、請求項５７～６０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６２】
前記対象のＨＬＡハプロタイプを測定すること、または、測定したことをさらに含む、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６３】
前記免疫応答を前記刺激することが、分子応答を刺激することを含む、前記方法または組成物の請求項のいずれか１項。
【請求項６４】
前記分子応答が、ｃｔＤＮＡの減少を含む、請求項６３に記載の方法または組成物。
【請求項６５】
前記ｃｔＤＮＡの減少が、ｃｔＤＮＡの、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、または少なくとも５０％の減少を含む、請求項６４に記載の方法または組成物。
【請求項６６】
前記ｃｔＤＮＡの減少が、ｃｔＤＮＡの、少なくとも３０％の減少を含む、請求項６４に記載の方法または組成物。
【請求項６７】

前記ｃｔＤＮＡの減少が、ｃｔＤＮＡの、少なくとも５０％の減少を含む、請求項６４に記載の方法または組成物。
【請求項６８】
前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列が、対象特異的ネオ抗原コード核酸配列を含む、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６９】
前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列が、２０個の対象特異的ネオ抗原コード核酸配列を含む、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７０】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物が、
（Ａ）前記自己複製アルファウイルスベースの発現系であって、
（ａ）（ｉ）少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列と、
（ｉｉ）少なくとも１つのポリアデニル化（ポリ（Ａ））配列と
を含むＲＮＡアルファウイルス骨格、ならびに
（ｂ）カセットであって、
（ｉ）ａ．前記コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によりコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化
を任意で含むエピトープコード核酸配列、
ｂ．任意で、５’リンカー配列、および
ｃ．任意で、３’リンカー配列
を含む少なくとも１つの抗原コード核酸配列と、
（ｉｉ）任意で、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列と機能的に連結された第２のプロモーターヌクレオチド配列と、
（ｉｉｉ）任意で、少なくとも１つの第２のポリ（Ａ）配列であって、前記第２のポリ（Ａ）配列が、前記アルファウイルスにとって天然のポリ（Ａ）配列または外因性のポリ（Ａ）配列である、前記少なくとも１つの第２のポリ（Ａ）配列と
を含む、前記カセット
を含む1つ以上のベクターを含む、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系と、
（Ｂ）前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を封入する、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）と
を含む、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７１】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための前記組成物のカセットが、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物のカセットと同一である、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７２】
前記用量のそれぞれについて、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための前記組成物のカセットが同一である、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７３】
前記自己複製アルファウイルスベースの発現系が、
ヌクレティス（ｎｕｃｌｅｔｉｃｅｓ）７５４４及び１１１７５を欠くことを除いて、配列番号３または配列番号５の配列を含む、ベネズエラウマ脳炎ウイルスを含むアルファウイルス骨格
を含む、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７４】
前記ＲＮＡアルファウイルス骨格が、配列番号６または配列番号７に示す配列を含む、請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
前記カセットが、配列番号３または配列番号５の配列に記載される塩基対７５４４と１１１７５との間の欠失に取って代わるように７５４４位に挿入されている、請求項７３ま

たは７４に記載の方法。
【請求項７６】
ＣｈＡｄＶベクターが、
（ａ）（ｉ）少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列と、
（ｉｉ）少なくとも１つのポリアデニル化（ポリ（Ａ））配列と
を含むＣｈＡｄＶ骨格、及び
（ｂ）カセットであって、
（ｉ）ａ．前記コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によりコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化
を任意で含むエピトープコード核酸配列、
ｂ．任意で、５’リンカー配列、
ｃ．任意で、３’リンカー配列
を含む、少なくとも１つの抗原コード核酸配列
を含む、前記カセット
を含み、
前記カセットが、前記少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列および前記少なくとも１つのポリ（Ａ）配列に機能的に連結されている、
前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７７】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系が、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格を含み、
前記ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格が、
（１）Ｅ１欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド５７７～３４０３、
（２）Ｅ３欠失に対応する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５、及び、
任意で（３）ＣｈＡｄＶ６８の部分的に欠失されたＥ４遺伝子に対応する、ヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２
を欠くことを除いて、配列番号１に記載される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む、
前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７８】
前記カセットが、前記Ｅ１領域、Ｅ３領域、及び／または、前記カセットの組み込みを許容する任意の欠失されたＡｄＶ領域において前記ＣｈＡｄＶ骨格に挿入される、請求項７７に記載の方法。
【請求項７９】
前記エピトープコード核酸配列が、
翻訳された、対応する野生型核酸配列と比較して、前記コードされたエピトープの、その対応するＭＨＣアレルへの結合親和性を増大させる、少なくとも１つの変化
を含む、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８０】
前記エピトープコード核酸配列が、
翻訳された、対応する野生型核酸配列と比較して、前記コードされたエピトープの、その対応するＭＨＣアレルへの結合安定性を増大させる、少なくとも１つの変化
を含む、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８１】
前記エピトープコード核酸配列が、
翻訳された、対応する野生型核酸配列と比較して、前記コードされたエピトープの、その対応するＭＨＣアレルでの提示の可能性を増大させる、少なくとも１つの変化
を含む、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８２】

前記少なくとも１つの変化が、点変異、フレームシフト変異、非フレームシフト変異、欠失変異、挿入変異、スプライスバリアント、ゲノム再編成、またはプロテアソームにより生成されたスプライス抗原を含む、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項８３】

前記エピトープコード核酸配列が、がんを有すると知られているまたは疑われる対象において発現することが知られているまたは疑われているエピトープをコードする、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項８４】

前記がんが、固形腫瘍を含む、請求項８３に記載の方法。

【請求項８５】

前記がんが、肺癌、メラノーマ、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、胃癌、結腸癌、精巣癌、頭頸部癌、膵臓癌、膀胱癌、脳癌、Ｂ細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、成人急性リンパ芽球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、Ｔ細胞リンパ性白血病、非小細胞肺癌、及び小細胞肺癌からなる群から選択される、請求項８３または８４に記載の方法。

【請求項８６】

前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列が、少なくとも２～１０、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の抗原コード核酸配列を含み、任意で、各抗原コード核酸配列が、異なる抗原コード核酸配列をコードする、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項８７】

前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列が、少なくとも１１～２０、１５～２０、１１～１００、１１～２００、１１～３００、１１～４００、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、または最大で４００個の抗原コード核酸配列を含み、任意で、各抗原コード核酸配列が、異なる抗原コード核酸配列をコードする、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項８８】

前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列が、少なくとも１１～２０、１５～２０、１１～１００、１１～２００、１１～３００、１１～４００、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、または最大で４００個の抗原コード核酸配列を含む、前記方法の請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項８９】

前記カセットが、前記カセット内の隣接配列によって形成されたジャンクションエピトープ配列を含み、

少なくとも１つのもしくはそれぞれのジャンクションエピトープ配列が、ＭＨＣに対して５００ｎＭよりも高い親和性を有し、かつ／または、各ジャンクションエピトープ配列が非自己である、

前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項９０】

前記カセットが、翻訳後の野生型核酸配列を含む非治療的なＭＨＣクラスＩおよびＭＨＣクラスＩＩエピトープ核酸配列をコードしておらず、前記非治療的エピトープが前記対象のＭＨＣアレル上に提示されると予測される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項９１】

前記非治療的な予測されたＭＨＣクラスＩまたはＭＨＣクラスＩＩエピトープ配列が、前記カセット内の隣接配列によって形成されたジャンクションエピトープ配列である、請求項９０に記載の方法。

【請求項９２】

前記予測が、前記非治療的エピトープの配列を提示モデルに入力することによって生成される提示尤度に基づいたものである、請求項８９～９１に記載の方法。

【請求項９３】
前記ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための前記組成物が、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物中で製剤化される、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９４】
前記エピトープコード核酸配列のうちの１つ以上が、前記対象の腫瘍に由来する、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９５】
前記エピトープコード核酸配列のそれぞれが、前記対象の腫瘍に由来する、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９６】
前記エピトープコード核酸配列のうちの１つ以上が、前記対象の腫瘍に由来しない、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９７】
前記エピトープコード核酸配列のそれぞれが、前記対象の腫瘍に由来しない、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９８】
前記エピトープコード核酸配列が、配列番号５７～２９，３６４からなる群から選択されるエピトープを含む、前記請求項のいずれか１項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、あらゆる目的でその全容を参照によって本明細書に援用する２０２１年９月１７日出願の米国特許仮出願第６３／２４５，６６３号、２０２１年１１月１８日出願の同第６３／２８１，０２７号、及び、２０２２年３月１６日出願の同第６３／３２０，６８５号の利益を主張するものである。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩフォーマットで電子的に提出され、その全容を参照によって本明細書に援用する配列表を含む。前記ＡＳＣＩＩコピーは、ＸＸＸに作成され、ＸＸＸの名前が付けられており、そのサイズは＃＃＃，＃＃＃バイトである。
【背景技術】
【０００３】
腫瘍特異的抗原に基づく治療用ワクチンは、次世代の個別化がん免疫療法として極めて有望である。[1～3]例えば、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）及び黒色腫などの高い変異負荷を有するがんは、比較的ネオ抗原を生成しやすいことからこうした療法に特に適した標的となる。[4，5]初期のエビデンスは、ネオ抗原ベースのワクチン接種がＴ細胞応答を誘導し[6]、ネオ抗原を標的とした細胞療法が選択された患者における特定の状況下で腫瘍退縮を引き起こし得ることを示している。[7]
【０００４】
ネオ抗原ワクチン設計における疑問の１つは、対象の腫瘍に存在する多くのコーディング変異のうちのどれが、「最良の」治療抗原、例えば、抗腫瘍免疫を誘導し、腫瘍後退を引き起こすことができる抗原を誘導することができるのかということである。
【０００５】
候補ネオ抗原ペプチドの、次世代配列決定、ＲＮＡ遺伝子発現、及び、ＭＨＣ結合親和性の予測を用いる、変異ベースの分析を組み込む、初期の方法が、提示されている。[8]しかし、提示されたこれらの方法は、遺伝子発現及びＭＨＣ結合に加えて、多くのステップ（例えば、ＴＡＰ輸送、プロテアソーム切断、及び／またはＴＣＲ認識）を含有する、エピトープ生成プロセス全体のモデリングに失敗する可能性がある。[9]結果的に、既存の方法は、低い陽性適中率（ＰＰＶ）の低下を被る可能性が高い。

【０００６】
実際、複数の群により実施された腫瘍細胞により提示されるペプチドの分析は、予測されるペプチドの５％未満を、遺伝子発現を用いて提示することができ、ＭＨＣ結合親和性は、腫瘍表面ＭＨＣにて発見することができることを示している。[10,11]結合予測とＭＨＣ提示との、この相関の低さは、チェックポイント阻害剤応答に対する、結合が制限されたネオ抗原の予測精度の改善は、変異の数だけでは改善されないという最近の観察結果によって、さらに強化された。[12]
【０００７】
予測を提示するための既存の方法における、この陽性適中率（ＰＰＶ）の低さは、ネオ抗原ベースのワクチン設計に対して問題を提起している。ＰＰＶが低い予測を用いてワクチンを設計すると、大部分の患者は、治療用ネオ抗原を受ける可能性が低くなり、（提示されたペプチド全てを免疫原性と推定しても）２回以上受ける可能性のある患者は、より少ない。したがって、現行の方法によるネオ抗原ワクチン接種は、腫瘍を有する相当数の対象において、成功する可能性が低い。
【０００８】
加えて、以前のアプローチは、ｃｉｓ作用変異のみを用いて候補ネオ抗原を生成しており、複数の腫瘍タイプで生じ、多くの遺伝子の異常なスプライシングをもたらす、スプライシング因子での変異[13]、及び、プロテアーゼ切断部位を作製または除去する変異を含む、ネオＯＲＦのさらなる源を考慮に入れることをほとんど無視してきた。
【０００９】
最終的に、腫瘍ゲノム及びトランスクリプトーム分析の標準的なアプローチは、ライブラリー構築、エクソーム及びトランスクリプトーム捕捉、配列決定、またはデータ分析における最適でない条件が原因で、候補ネオ抗原を生じさせる体細胞突然変異を欠く可能性がある。同様に、標準的な腫瘍分析アプローチは、ネオ抗原としての配列アーチファクトまたは生殖細胞系多型を偶然に促進し、それぞれ、ワクチンの能力を十分用いることができないこと、または、自己免疫リスクに繋がる可能性がある。
【００１０】
現行のネオ抗原予測法の課題に加えて、多くがヒト由来のものである、ヒトにおけるネオ抗原送達に使用することができる既存のベクター系にもやはり特定の課題が存在する。例えば、多くのヒトは、過去の自然曝露の結果としてヒトウイルスに対する既存の免疫を有しており、この免疫が、がん治療のためにネオ抗原を送達するための組換えヒトウイルスの使用にとって大きな障害となりうる。
【００１１】
さらに、変異を有するネオ抗原、加えて、変異を有しない腫瘍抗原（例えば、不適切に発現された腫瘍抗原）の両方の標的化を含む、がんを患う患者間で共有される抗原の標的化は、ワクチン戦略として非常に有望である。共有された抗原ワクチン戦略での課題は、少なくとも上述したものを含む。
【発明の概要】
【００１２】
対象における免疫応答を刺激するための方法であって、対象に、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、対象に、チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、を含み、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物はプライミング用量として投与され、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物は、１回以上のブースター用量として投与され、前記発現系は、少なくとも１つの抗原コード核酸配列をコードし、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系及び前記チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系が、維持療法として投与される、前記方法。
【００１３】
いくつかの態様では、維持療法は、化学療法、免疫チェックポイント阻害剤療法、放射線療法、またはこれらの組み合わせとの併用療法を含み、任意で、化学療法は、フルオロ

ピリミジン及び／またはベバシズマブを含む。
【００１４】
本明細書では、対象における免疫応答を刺激するための方法であって、対象に、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、対象に、チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための組成物を投与することと、を含み、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物はプライミング用量として投与され、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物は、１回以上のブースター用量として投与され、前記発現系は、少なくとも１つの抗原コード核酸配列をコードし、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系及び前記チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系が、補助療法として投与される、前記方法も提供される。
【００１５】
いくつかの態様では、補助療法は、化学療法、免疫チェックポイント阻害剤療法、放射線療法、またはこれらの組み合わせとの併用療法を含み、任意で、化学療法は、フルオロピリミジン及び／またはベバシズマブを含む。
【００１６】
本明細書では、対象における免疫応答を刺激するための方法であって、前記対象に、（１）自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物、または、（２）チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための組成物、のいずれかを投与することを含み、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系または前記チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系は、補助療法として投与され、前記発現系は、少なくとも１つの抗原コード核酸配列をコードし、前記補助療法は、化学療法、免疫チェックポイント阻害剤療法、放射線療法、またはこれらの組み合わせとの併用療法を含み、任意で、前記化学療法は、フルオロピリミジン及び／またはベバシズマブを含む、前記方法も提供される。
【００１７】
いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物の１回以上のブースター用量が投与される。
【００１８】
いくつかの態様では、併用療法は、フルオロピリミジン及び／またはベバシズマブを含む。いくつかの態様では、併用療法は、フルオロピリミジン及びベバシズマブを含む。いくつかの態様では、併用療法は、フルオロピリミジン、ベバシズマブ、及び、免疫チェックポイント阻害剤療法を含む。いくつかの態様では、免疫チェックポイント阻害剤は、（１）抗ＰＤ－１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、（２）抗ＰＤ－Ｌ１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、及び／または、（３）抗ＣＴＬＡ－４抗体もしくはその抗原結合フラグメントを含む。いくつかの態様では、免疫チェックポイント阻害剤療法は、プライミング用量及び第１のブースター用量だけを伴う、抗ＣＴＬＡ－４抗体またはその抗原結合フラグメントの投与を含む。いくつかの態様では、抗ＣＴＬＡ－４抗体はイピリムマブを含む。いくつかの態様では、イピリムマブは、３０ｍｇの用量で皮下投与される。いくつかの態様では、免疫チェックポイント阻害剤療法は、４週毎（Ｑ４Ｗ）の、抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与を含む。いくつかの態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、アテゾリズマブまたはニボルマブを含む。いくつかの態様では、アテゾリズマブは、１６８０ｍｇの用量で静脈内投与される、いくつかの態様では、ニボルマブは、４８０ｍｇの用量で静脈内投与される、
【００１９】
いくつかの態様では、免疫チェックポイント阻害剤療法は、少なくとも２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、１２回、または１３回の投与を含む。いくつかの態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与は、少なくとも２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、１２回、または１３回の投与を含む。いくつかの態様では、免疫チェックポイント阻害剤療法は

、少なくとも１３回の投与を含む。いくつかの態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与は、少なくとも１３回の投与を含む。

【００２０】

いくつかの態様では、対象は以前に手術を受け、腫瘍及び／またはがん組織、化学療法、免疫療法（例えば、免疫チェックポイント阻害剤療法）、放射線療法、またはこれらの組み合わせを取り除いた。いくつかの態様では、以前の化学療法は、オキサリプラチン、フルオロピリミジン、及び／または、ベバシズマブを含む。いくつかの態様では、以前の化学療法は、オキサリプラチン、フルオロピリミジン、及びベバシズマブを含む。いくつかの態様では、以前の化学療法は、維持療法の投与前に最大２４週間にわたって投与された。

【００２１】

対象が結腸直腸癌（ＣＲＣ）を有する、上記請求項のいずれか１つに記載の方法。いくつかの態様では、ＣＲＣは、ステージＩＶ、マイクロサテライト安定性、かつＢＲＡＦ$^{wt}$として分類される。いくつかの態様では、ＣＲＣは、ステージＩＩまたはＩＩＩとして分類される。

【００２２】

いくつかの態様では、対象は、ｃｔＤＮＡ陽性として分類される。

【００２３】

いくつかの態様では、２回以上のブースター用量が投与される。いくつかの態様では、１、２、３、４、５、６、７、または８回のブースター用量が投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ブースター用量としてさらに投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースのブースター用量は、単回ブースター用量として投与されるのみである。

【００２４】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目、または約１４０日目に、ブースター用量として投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の２０週目、または約２０週目に、ブースター用量として投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の５ヶ月目、または約５ヶ月目に、ブースター用量として投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目、または１４０日目より後に、ブースター用量として投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の２０週目、または２０週目より後に、ブースター用量として投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の５ヶ月目、または５ヶ月目より後に、ブースター用量として投与される。

【００２５】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物は、筋肉内（ＩＭ）、皮内（ＩＤ）、皮下（ＳＣ）、または静脈内（ＩＶ）投与される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物は、（ＩＭ）投与される。いくつかの態様では、筋肉内（ＩＭ）投与は、別々の注射部位に施される。いくつかの態様では、別々の注射部位は対向する三角筋内である。いくつかの態様では、別々の注射部位は両側の殿筋または大腿直筋部位内である。

【００２６】

いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物は、筋肉内（ＩＭ）、皮内（ＩＤ）、皮下（ＳＣ）、または静脈内（ＩＶ）投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物は、（ＩＭ）投与される。

【００２７】

いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２回の

ブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２８日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも４週（Ｑ４Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも１ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも５６日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも８週（Ｑ８Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与される。

【００２８】

いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の２８及び８４日目、または約２８及び８４日目に、少なくとも２回のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の４及び１２週目、または約４及び１２週目に、少なくとも２回のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１及び３ヶ月目、または約１及び３ヶ月目に、少なくとも２回のブースター用量として投与される。

【００２９】

いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも４回のブースター用量として投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、２８、８４、２２４、及び３０８日目に、または、約２８、８４、２２４、及び３０８日目に投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、４、１２、３２、及び４４週目に、または、約４、１２、３２、及び４４週目に投与される。いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、１、３、８、及び１１ヶ月目に、または、約１、３、８、及び１１ヶ月目に投与される。

【００３０】

いくつかの態様では、方法は、対象のＨＬＡハプロタイプを測定すること、または、測定したことをさらに含む。

【００３１】

いくつかの態様では、免疫応答を刺激することは、分子応答を刺激することを含む。いくつかの態様では、分子応答は、ｃｔＤＮＡの減少を含む。

【００３２】

いくつかの態様では、ｃｔＤＮＡの減少は、ｃｔＤＮＡの、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、または少なくとも５０％の減少を含む。いくつかの態様では、ｃｔＤＮＡの減少は、ｃｔＤＮＡの、少なくとも３０％の減少を含む。いくつかの態様では、ｃｔＤＮＡの減少は、ｃｔＤＮＡの、少なくとも５０％の減少を含む。

【００３３】

いくつかの態様では、少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、対象特異的ネオ抗原コード核酸配列を含む。いくつかの態様では、少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、２０個の対象特異的ネオ抗原コード核酸配列を含む。

【００３４】

いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物は、

（Ａ）自己複製アルファウイルスベースの発現系であって、
（ａ）（ｉ）少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列と、
（ｉｉ）少なくとも１つのポリアデニル化（ポリ（Ａ））配列と
を含む、ＲＮＡアルファウイルス骨格；ならびに、
（ｂ）カセットであって、
（ｉ）ａ．コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によりコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化
を任意で含む、エピトープコード核酸配列、
ｂ．任意で、５’リンカー配列、および
ｃ．任意で、３’リンカー配列
を含む、少なくとも１つの抗原コード核酸配列と、
（ｉｉ）任意で、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列と機能的に連結された第２のプロモーターヌクレオチド配列と、
（ｉｉｉ）任意で、少なくとも１つの第２のポリ（Ａ）配列であって、前記第２のポリ（Ａ）配列が、前記アルファウイルスにとって天然のポリ（Ａ）配列または外因性のポリ（Ａ）配列である、前記少なくとも１つの第２のポリ（Ａ）配列と
を含む、前記カセット
を含む１つ以上のベクターを含む、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系と、
（Ｂ）自己複製アルファウイルスベースの発現系を封入する、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）と
を含む。

【００３５】

いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物は、
（Ａ）自己複製アルファウイルスベースの発現系であって、
（ａ）ＲＮＡアルファウイルス骨格であって、
前記ＲＮＡアルファウイルス骨格は、配列番号６で示される核酸配列を含み、
前記ＲＮＡアルファウイルス骨格配列は、２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列及びポリ（Ａ）配列を含み、
前記２６Ｓプロモーター配列はＲＮＡアルファウイルス骨格に外因性であり、
前記ポリ（Ａ）配列は、前記ＲＮＡアルファウイルス骨格に外因性である、
前記ＲＮＡアルファウイルス骨格、ならびに
（ｂ）前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列と前記ポリ（Ａ）配列との間に組み込まれるカセットであって、
前記カセットは、前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列に機能的に連結されており、
前記カセットは、
ａ．コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によりコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化
を任意で含む、エピトープコード核酸配列、
ｂ．任意で、５’リンカー配列、および
ｃ．任意で、３’リンカー配列
を含む少なくとも１つの抗原コード核酸配列
を含む、
前記カセット
を含む１つ以上のベクターを含む、前記自己複製アルファウイルスベースの発現系と、
（Ｂ）前記自己複製アルファウイルスベースの発現系を封入する、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）と
を含む。

【００３６】

いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成

物中のカセットの各要素の順序付けられた配列は、５’から３’方向に、$P_a$－（Ｌ５$_b$－Ｎ$_c$－Ｌ３$_d$）Ｘ－（Ｇ５$_e$－Ｕ$_f$）$_Y$－Ｇ３$_g$を含む式［式中、Ｐは、前記第２のプロモーターヌクレオチド配列を含み、ただし、ａ＝０または１であり、Ｎは、前記エピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、前記エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、ただしｃ＝１であり、Ｌ５は、５’リンカー配列を含み、ただしｂ＝０または１であり、Ｌ３は、３’リンカー配列を含み、ただしｄ＝０または１であり、Ｇ５は、ＧＰＧＰＧアミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、ただしｅ＝０または１であり、Ｇ３は、ＧＰＧＰＧアミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、ただしｇ＝０または１であり、Ｕは、前記少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、ただしｆ＝１であり、Ｘ＝１～４００であり、ただし各Ｘについて、対応するＮ$_c$は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、Ｙ＝０、１、または２であり、ただし各Ｙについて、対応するＵ$_f$は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である］で記述される。いくつかの態様では、各Ｘについて、対応するＮ$_c$は、異なるＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、各Ｙについて、対応するＵ$_f$は、異なるＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、ａ＝０、ｂ＝１、ｄ＝１、ｅ＝１、ｇ＝１、ｈ＝１、Ｘ＝２０、Ｙ＝２であり、前記少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、前記ＲＮＡアルファウイルス骨格により提供される単一の２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列であり、前記少なくとも１つのポリアデニル化ポリ（Ａ）配列は、前記ＲＮＡアルファウイルス骨格により提供される少なくとも１００個の連続したＡヌクレオチドのポリ（Ａ）配列であり、前記カセットは、前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列と前記ポリ（Ａ）配列との間に組み込まれ、前記カセットは、前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列及び前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列に機能的に連結されており、各Ｎは、アミノ酸７～１５個の長さのＭＨＣクラスＩエピトープをコードし、Ｌ５は、前記ＭＨＣ　ＩエピトープのＮ末端アミノ酸配列をコードする天然の５’リンカー配列であり、前記５’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｌ３は、前記ＭＨＣＩエピトープの天然のＣ末端アミノ酸配列をコードする天然の３’リンカー配列であり、前記３’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｕは、ＰＡＤＲＥクラスＩＩ配列、及び、破傷風トキソイドＭＨＣクラスＩＩ配列のそれぞれであり、前記ＲＮＡアルファウイルス骨格は、配列番号６示す配列であり、前記ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列のそれぞれは、長さが１３個～２５個のアミノ酸であるポリペプチドをコードする。

【００３７】

いくつかの態様では、ＬＮＰは、イオン性アミノ脂質、ホスファチジルコリン、コレステロール、ＰＥＧベースのコート脂質、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される脂質を含む。いくつかの態様では、ＬＮＰは、イオン性アミノ脂質、ホスファチジルコリン、コレステロール、及び、ＰＥＧベースのコート脂質を含む。いくつかの態様では、イオン化可能なアミノ脂質は、ＭＣ３様（ジリノレイルメチル－４－ジメチルアミノブチレート）分子を含む。いくつかの態様では、ＬＮＰ封入発現系は、約１００ｎｍの直径を有する。

【００３８】

いくつかの態様では、カセットは、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列と少なくとも１つのポリ（Ａ）配列との間に組み込まれる。

【００３９】

いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、カセットに機能的に連結されている。

【００４０】

いくつかの態様では、１つ以上のベクターは、１つ以上の＋鎖ＲＮＡベクターを含む。いくつかの態様では、１つ以上の＋鎖ＲＮＡベクターは、５’７－メチルグアノシン（ｍ

７ｇ）キャップを有する。いくつかの態様では、１つ以上の＋鎖ＲＮＡベクターは、インビトロ転写によって生成される。いくつかの態様では、１つ以上のベクターは、哺乳動物細胞内で自己複製する。いくつかの態様では、ＲＮＡアルファウイルス骨格は、アウラウイルス、フォートモルガンウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ロスリバーウイルス、セムリキ森林ウイルス、シンドビスウイルス、またはマヤロウイルスの少なくとも１つのヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、ＲＮＡアルファウイルス骨格は、ベネズエラウマ脳炎ウイルスの少なくとも１つのヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、ＲＮＡアルファウイルス骨格は、少なくとも、アウラウイルス、フォートモルガンウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ロスリバーウイルス、セムリキ森林ウイルス、シンドビスウイルス、またはマヤロウイルスのヌクレオチド配列によってコードされた、非構造タンパク質媒介増幅のための配列、２６Ｓプロモーター配列、ポリ（Ａ）配列、非構造タンパク質１（ｎｓＰ１）遺伝子、ｎｓＰ２遺伝子、ｎｓＰ３遺伝子、及びｎｓＰ４遺伝子を含む。いくつかの態様では、ＲＮＡアルファウイルス骨格は、少なくとも、アウラウイルス、フォートモルガンウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ロスリバーウイルス、セムリキ森林ウイルス、シンドビスウイルス、またはマヤロウイルスのヌクレオチド配列によってコードされた、非構造タンパク質媒介増幅のための配列、２６Ｓプロモーター配列、及びポリ（Ａ）配列を含む。いくつかの態様では、非構造タンパク質媒介増幅のための配列は、アルファウイルス５’　ＵＴＲ、５１ｎｔのＣＳＥ、２４ｎｔのＣＳＥ、２６Ｓサブゲノミックプロモーター配列、１９ｎｔのＣＳＥ、アルファウイルス３’　ＵＴＲ、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、ＲＮＡアルファウイルス骨格は、構造ビリオンタンパク質カプシドＥ２及びＥ１をコードしていない。いくつかの態様では、カセットは、アウラウイルス、フォートモルガンウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ロスリバーウイルス、セムリキ森林ウイルス、シンドビスウイルス、またはマヤロウイルスのヌクレオチド配列内の構造ビリオンタンパク質の代わりに挿入される。いくつかの態様では、ベネズエラウマ脳炎ウイルスは、配列番号３または配列番号５の配列を含む。いくつかの態様では、ベネズエラウマ脳炎ウイルスは、さらに塩基対７５４４と１１１７５との間の欠失を有する配列番号３または配列番号５の配列を含む。いくつかの態様では、ＲＮＡアルファウイルス骨格は、配列番号６または配列番号７に示す配列を含む。いくつかの態様では、カセットは、配列番号３または配列番号５の配列に記載される塩基対７５４４と１１１７５との間の欠失に取って代わるように７５４４位に挿入されている。いくつかの態様では、前記カセットの挿入は、前記ｎｓＰ１～４遺伝子及び前記少なくとも１つの核酸配列を含むポリシストロニックＲＮＡの転写をもたらし、前記ｎｓＰ１～４遺伝子及び前記少なくとも１つの核酸配列は別々のオープンリーディングフレーム内にある。

【００４１】

いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、ＲＮＡアルファウイルス骨格によってコードされた天然の２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、外因性のＲＮＡプロモーターである。いくつかの態様では、第２のプロモーターヌクレオチド配列は、２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、第２のプロモーターヌクレオチド配列は、複数の２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列を含み、各２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列が、別々のオープンリーディングフレームのうちの１つ以上の転写をもたらす。

【００４２】

いくつかの態様では、１つ以上のベクターは、それぞれ少なくとも３００ｎｔのサイズである。いくつかの態様では、１つ以上のベクターは、それぞれ少なくとも１ｋｂのサイズである。いくつかの態様では、１つ以上のベクターは、それぞれ２ｋｂのサイズである。いくつかの態様では、１つ以上のベクターは、それぞれ５ｋｂ未満のサイズである。

【００４３】

いくつかの態様では、少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、２つ以上の抗原コード

核酸配列を含む。いくつかの態様では、各抗原コード核酸配列が互いに直接連結されている。いくつかの態様では、各抗原コード核酸配列は、リンカーをコードする核酸配列によって異なる抗原コード核酸配列と連結されている。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列またはＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を、１個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、（１）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したグリシン残基、（２）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したアラニン残基、（３）２個のアルギニン残基（ＲＲ）、（４）アラニン、アラニン、チロシン（ＡＡＹ）、（５）哺乳動物プロテアーゼによって効率的にプロセシングされる、少なくともアミノ酸残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さのコンセンサス配列、及び（６）同種由来タンパク質に由来する抗原に隣接し、少なくともアミノ酸残基２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、または２～２０個の長さの１つ以上の天然配列からなる群から選択される。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列または１個のＭＨＣクラスＩＩ配列を、１個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、配列ＧＰＧＰＧを含む。

【００４４】

いくつかの態様では、抗原コード核酸配列は、抗原コード核酸配列の発現、安定性、細胞トラフィッキング、プロセシング及び提示、及び／または免疫原性を高める、分離した、または連続した配列に機能的または直接的に連結されている。いくつかの態様において、分離した、または連続した配列は、ユビキチン配列、プロテアソームターゲティング性を高めるように改変されたユビキチン配列（例えば、７６位にＧｌｙまたはＡｌａ置換を有するユビキチン配列）、免疫グロブリンシグナル配列（例えばＩｇＫ）、主要組織適合性クラスＩ配列、リソソーム関連膜タンパク質（ＬＡＭＰ）－１、ヒト樹状細胞リソソーム関連膜タンパク質、及び主要組織適合性クラスＩＩ配列のうちの少なくとも１つを含み、任意でプロテアソームターゲティング性を高めるように改変された前記ユビキチン配列がＡ７６である。

【００４５】

いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、少なくとも２～１０、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の抗原コード核酸配列を含み、任意で、各抗原コード核酸配列は、異なる抗原コード核酸配列をコードする。いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、少なくとも１１～２０、１５～２０、１１～１００、１１～２００、１１～３００、１１～４００、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、または最大で４００個の抗原コード核酸配列を含み、任意で、各抗原コード核酸配列は、異なる抗原コード核酸配列をコードする。いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、少なくとも１１～２０、１５～２０、１１～１００、１１～２００、１１～３００、１１～４００、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、または最大で４００個の抗原コード核酸配列を含む。いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は少なくとも２～４００個の抗原コード核酸配列を含み、前記抗原コード核酸配列のうちの少なくとも２個は、細胞表面で、ＭＨＣクラスＩによって提示されるポリペプチド配列またはその一部をコードする。いくつかの態様では、ＭＨＣクラスＩエピトープの少なくとも２個は、腫瘍細胞表面上のＭＨＣクラスＩによって提示される。

【００４６】

いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、少なくとも１個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を含み、各抗原コード核酸配列は、アミノ酸８～３５個の長さ、任意で、アミノ酸９～１７、９～２５、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４または３５個の長さのポリペプチド配列をコードす

る。

【００４７】

いくつかの態様では、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が存在する。いくつかの態様では、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が存在し、かつ、コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によってコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化を含む、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含む。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含み、各抗原コード核酸配列は、アミノ酸１２～２０、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、または２０～４０個の長さのポリペプチド配列をコードする。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含み、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が存在し、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が、少なくとも１つのユニバーサルＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含み、任意で、少なくとも１つのユニバーサル配列は、破傷風トキソイド及びＰＡＤＲＥの少なくとも一方を含む。

【００４８】

いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列または第２のプロモーターヌクレオチド配列は、誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列または第２のプロモーターヌクレオチド配列は、非誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、前記骨格に天然に存在するアルファウイルスを含む。いくつかの態様では、少なくともいくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも１つの核酸配列のうちの少なくとも１つと機能的に連結される。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、または少なくとも９０個の連続したＡヌクレオチドである。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも１００個の連続したＡヌクレオチドである。

【００４９】

いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を含み、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列は、（ａ）腫瘍から、エクソーム、トランスクリプトーム、または、全ゲノム腫瘍ヌクレオチド配列決定データのうちの少なくとも１つを得るステップであって、前記腫瘍ヌクレオチド配列決定データを使用して、エピトープのセットそれぞれのペプチド配列を表すデータが得られる、前記得るステップと、（ｂ）各エピトープのペプチド配列を提示モデルに入力して、エピトープのそれぞれが腫瘍の腫瘍細胞表面において１つ以上のＭＨＣアレルによって提示される数値的尤度のセットを生成するステップであって、前記一連の数値的尤度は、少なくとも、受信した質量分析データに基づき識別されている、前記生成するステップと、（ｃ）前記数値的尤度のセットに基づく前記エピトープのセットのサブセットを選択して、選択されたエピトープのセットを生成するステップであって、これを使用して、前記ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を生成する、前記生成するステップと、を行うことにより選択される。いくつかの態様では、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列のそれぞれは、（ａ）腫瘍から、エクソーム、トランスクリプトーム、または、全ゲノム腫瘍ヌクレオチド配列決定データのうちの少なくとも１つを得るステップであって、前記腫瘍ヌクレオチド配列決定データを使用して、エピトープのセットのそれぞれのペプチド配列を表すデータが得られる、前記得るステップと、（ｂ）各エピトープのペプチド配列を提示モデルに入力して、エピトープのそれぞれが腫瘍の腫瘍細胞表面において１つ以上のＭＨＣアレルによって提示される数値的尤度のセットを生成するステップであって、前記数値的尤度のセットは、少なくとも、受信した質量分析データに基づき識別されている、前記生成するステップと、（ｃ）前記数値的尤度のセットに基づく前記エピトープのセットのサブセットを選択して、選択されたエピトープのセットを生成するステップであって、これを使用し

て、少なくとも２０個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を生成する、前記生成するステップと、を行うことにより選択される。いくつかの態様では、選択されたエピトープのセットの数は、２～２０である。いくつかの態様では、提示モデルは、（ａ）前記ＭＨＣアレルのうちの特定の１つとペプチド配列の特定の位置の特定のアミノ酸とのペアの存在と、（ｂ）前記ペアの前記ＭＨＣアレルのうちの前記特定の１つによる、前記特定の位置に前記特定のアミノ酸を含むそのようなペプチド配列の腫瘍細胞表面上での提示の尤度との間の依存性を表す。いくつかの態様では、選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づき、選択されていないエピトープと比較して、腫瘍細胞表面上に提示されている可能性が増大しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づき、選択されていないエピトープと比較して、対象において腫瘍特異的免疫応答を誘導することができる可能性が増大しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、前記選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づいて選択されないエピトープに対してプロフェッショナルエピトープ提示細胞（ＡＰＣ）によってナイーブＴ細胞に対して提示される尤度が増大している抗原を選択することを含み、任意で、ＡＰＣは樹状細胞（ＤＣ）である。いくつかの態様では、前記選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づいて選択されないエピトープに対して中枢性寛容または末梢性寛容によって阻害される尤度が減少しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、前記選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づいて選択されないエピトープに対して対象に正常組織に対する自己免疫応答を誘導することができる尤度が減少しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、エクソームまたはトランスクリプトームヌクレオチド配列決定データ　は、腫瘍組織にて配列決定を行うことで取得される。いくつかの態様では、シークエンシングは、次世代シークエンシング（ＮＧＳ）または任意の大規模並列処理シークエンシングアプローチである。

【００５０】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベクターは、

（ａ）（ｉ）少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列と、

（ｉｉ）少なくとも１つのポリアデニル化（ポリ（Ａ））配列と

を含む、ＣｈＡｄＶ骨格；ならびに、

（ｂ）カセットであって、

（ｉ）ａ．コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によりコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化

を任意で含む、エピトープコード核酸配列、

ｂ．任意で、５’リンカー配列、

ｃ．任意で、３’リンカー配列

を含む、少なくとも１つの抗原コード核酸配列

を含む、前記カセット

を含み、

前記カセットは、前記少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列及び前記少なくとも１つのポリ（Ａ）配列に機能的に連結されている。

【００５１】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベクターは、

（ａ）ＣｈＡｄＶ骨格であって、

（ｉ）配列番号１に記載される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む修飾ＣｈＡｄＶ６８配列であって、前記ヌクレオチド２～３６，５１８は、

（１）Ｅ１欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド５７７～３４０３、

（２）Ｅ３欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５、及び、

任意で、（３）部分Ｅ４欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２
を欠く、前記配列と、
（ｉｉ）ＣＭＶプロモーターヌクレオチド配列と、
（ｉｉｉ）ＳＶ４０ポリアデニル化（ポリ（Ａ））配列と
を含む、前記ＣｈＡｄＶ骨格、ならびに、
（ｂ）カセットであって、
（ｉ）ａ．コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によりコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化
を任意で含む、エピトープコード核酸配列と、
ｂ．任意で、５’リンカー配列と、
ｃ．任意で、３’リンカー配列と
を含む、少なくとも１つの抗原コード核酸配列
を含む、前記カセット
を含み、
前記カセットは、前記Ｅ１欠失内に挿入され、前記カセットは、前記少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列及び前記ＳＶ４０ポリ（Ａ）配列に機能的に連結されている。

【００５２】

いくつかの態様では、前記エピトープコード核酸配列は、細胞の表面上のＭＨＣクラスＩによって提示されることが分かっているまたは疑われるエピトープをコードしており、任意で、前記細胞の表面は腫瘍細胞表面または感染細胞表面であり、任意で、前記細胞は前記対象の細胞である。いくつかの態様では、細胞は、肺癌、メラノーマ、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、胃癌、結腸癌、精巣癌、頭頸部癌、膵臓癌、脳癌、Ｂ細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、Ｔ細胞リンパ性白血病、非小細胞肺癌、及び小細胞肺癌からなる群から選択される腫瘍細胞であるか、または細胞は、病原体感染細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、真菌感染細胞、及び寄生虫感染細胞からなる群から選択される感染細胞である。いくつかの態様では、ウイルス感染細胞は、ＨＩＶ感染細胞である。

【００５３】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物中のカセットの各要素の順序付けられた配列は、５’から３’方向に、$P-(L5_b-N_c-L3_d)_X-(G5_e-U_f)_Y-G3_g$を含む式［式中、Ｐは、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列の少なくとも１つに機能的に連結された、少なくとも１つのプロモーター配列であり、ただし、ａ＝１であり、Ｎは、前記エピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、前記エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、ただしｃ＝１であり、Ｌ５は、５’リンカー配列を含み、ただしｂ＝０または１であり、Ｌ３は、３’リンカー配列を含み、ただしｄ＝０または１であり、Ｇ５は、ＧＰＧＰＧアミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、ただしｅ＝０または１であり、Ｇ３は、ＧＰＧＰＧアミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、ただしｇ＝０または１であり、Ｕは、前記少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、ただしｆ＝１であり、Ｘ＝１～４００であり、ただし各Ｘについて、対応する$N_c$は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、Ｙ＝０、１、または２であり、ただし各Ｙについて、対応する$U_f$は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である］で記述される。いくつかの態様では、各Ｘについて、対応する$N_c$は、異なるＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、各Ｙについて、対応する$U_f$は、異なるＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、ｂ＝１、ｄ＝１、ｅ＝１、ｇ＝１、ｈ＝１、Ｘ＝１６、Ｙ＝２であり、ＰはＣＭＶプロモーター配列であり、各Ｎは、アミノ酸７～１５個の長さのＭＨＣクラスＩエピトープをコードし、Ｌ５

は、前記ＭＨＣ　Ｉエピトープの天然のＮ末端アミノ酸配列をコードする天然の５’リンカー配列であり、前記５’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｌ３は、前記ＭＨＣ　Ｉエピトープの天然のＣ末端アミノ酸配列をコードする天然の３’リンカー配列であり、前記３’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｕは、ＰＡＤＲＥクラスＩＩ配列、及び、破傷風トキソイドＭＨＣクラスＩＩ配列のそれぞれであり、前記ＣｈＡｄＶベクターは、Ｅ１（ｎｔ　５７７～３４０３）欠失、及びＥ３（ｎｔ　２７，１２５～３１，８２５）欠失を含む配列番号１の配列を含む、修飾ＣｈＡｄＶ６８配列を含み、前記ネオ抗原カセットは、前記Ｅ１欠失内に挿入され、前記ＭＨＣクラスＩ抗原コード核酸配列のそれぞれは、長さが２５アミノ酸であるポリペプチドをコードする。

【００５４】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格を含み、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、

（１）Ｅ１欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド５７７～３４０３、

（２）Ｅ３欠失に対応する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５、及び、

任意で（３）ＣｈＡｄＶ６８の部分的に欠失されたＥ４遺伝子に対応する、ヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２

を欠くことを除いて、配列番号１に記載される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む。

【００５５】

いくつかの態様では、カセットは、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列と少なくとも１つのポリ（Ａ）配列との間に組み込まれる。いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、カセットに機能的に連結されている。

【００５６】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ骨格は、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格を含む。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、配列番号１に記載される配列を含む。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、ＣｈＡｄＶ６８ゲノムに関連する、または、配列番号１に示す配列に関連する、アデノウイルスＥ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４、及びＬ５遺伝子からなる群から選択される少なくとも１つの遺伝子において、機能的欠失を含み、任意で、前記アデノウイルス骨格または修飾ＣｈＡｄＶ６８配列は、アデノウイルスゲノムに関連する、または、配列番号１に示す配列に関連する、（１）Ｅ１Ａ及びＥ１ｂ、または（２）Ｅ１Ａ、Ｅ１ｂ、及びＥ３において完全に欠失されており、または機能的に欠失されており、任意で、Ｅ１遺伝子は、配列番号１に示す配列に関連する、少なくともヌクレオチド５７７～３４０３のＥ１欠失によって機能的に欠失されており、任意で、Ｅ３遺伝子は、配列番号１に示す配列に関連する、少なくともヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５のＥ３欠失によって機能的に欠失されている。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、ＣｈＡｄＶ６８ゲノムに関連する、または、配列番号１に示す配列に関連する、１つ以上の遺伝子または調節配列を含み、任意で、１つ以上の遺伝子または調節配列は、チンパンジーアデノウイルス反転末端反復（ＩＴＲ）、Ｅ１Ａ、Ｅ１ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４、及びＬ５遺伝子からなる群から選択される。

【００５７】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、部分欠失Ｅ４遺伝子を含む。いくつかの態様では、部分欠失Ｅ４遺伝子は、Ａ．配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２を欠く、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列、Ｂ．配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９１６～３４，９４２、ヌクレオチド３４，９５２～３５，３０５、配列番号１に示される配列のヌクレオチド３５，３０２～３５，６４２を欠き、ベクターが、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列、Ｃ．配

列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９８０～３５，５１６を欠き、ベクターが、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列、Ｄ．配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９７９～３５，６４２を欠き、ベクターが、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列、Ｅ．Ｅ４Ｏｒｆ２の少なくとも部分欠失、完全欠失したＥ４Ｏｒｆ３、及びＥ４Ｏｒｆ４の少なくとも部分欠失のＥ４欠失、Ｆ．Ｅ４Ｏｒｆ２の少なくとも部分欠失、Ｅ４Ｏｒｆ３の少なくとも部分欠失、及びＥ４Ｏｒｆ４の少なくとも部分欠失のＥ４欠失Ｇ．Ｅ４Ｏｒｆ１の少なくとも部分欠失、完全欠失したＥ４Ｏｒｆ２、及びＥ４Ｏｒｆ３の少なくとも部分欠失のＥ４欠失、または、Ｈ．Ｅ４Ｏｒｆ２の少なくとも部分欠失、及びＥ４Ｏｒｆ３の少なくとも部分欠失のＥ４欠失を含む。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む修飾ＣｈＡｄＶ６８配列を含み、前記ヌクレオチド２～３６，５１８は、（１）Ｅ１欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド５７７～３４０３、（２）Ｅ３欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５、及び、（３）部分Ｅ４欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２を欠き、任意で、前記抗原カセットは、前記Ｅ１欠失内に挿入される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、配列番号２９３６９に示す配列を含み、任意で、抗原カセットは、Ｅ１欠失内に挿入されている。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む修飾ＣｈＡｄＶ６８配列を含み、前記ヌクレオチド２～３６，５１８は、Ａ．Ｅ１欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド５７７～３４０３、Ｂ．Ｅ３欠失に対応する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５、Ｃ．部分Ｅ４欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２、Ｄ．配列番号１に示す配列のヌクレオチド４５６～３０１４、Ｅ．配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，８１６～３１，３３３、Ｆ．配列番号１に示される配列のヌクレオチド３９５７～１０３４６、Ｇ．配列番号１に示される配列のヌクレオチド２１７８７～２３３７０、Ｈ．配列番号１に示される配列のヌクレオチド３３４８６～３６１９３、またはこれらの組み合わせを欠く。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む修飾ＣｈＡｄＶ６８配列を含み、前記ヌクレオチド２～３６，５１８は、（１）Ｅ１欠失に対応する、配列番号１に示す配列のヌクレオチド５７７～３４０３、及び、（２）Ｅ３欠失に対応する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５を欠く。

【００５８】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、配列番号１に記載される配列のチンパンジーアデノウイルスＥ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４、及びＬ５遺伝子からなる群から選択される少なくとも１つの遺伝子が配列から完全に欠失されているかまたは機能的に欠失されている点を除いて、配列番号１に記載される配列を含み、任意で、前記配列は、配列番号１に示す配列の（１）Ｅ１Ａ及びＥ１Ｂ、（２）Ｅ１Ａ、Ｅ１Ｂ、及びＥ３、または（３）Ｅ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ３、及びＥ４が完全に欠失されているかまたは機能的に欠失されている。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、配列番号１の配列から得られる遺伝子または調節配列を含み、任意で、前記遺伝子は、配列番号１に示す配列のチンパンジーアデノウイルスの末端逆位繰り返し配列（ＩＴＲ）、Ｅ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４、及びＬ５遺伝子からなる群から選択される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、配列番号１に示す配列の塩基対番号５７７～３４０３の間、または塩基対４５６～３０１４の間に１つ以上の欠失を含み、任意で、ベクターは、塩基対２７，１２５～３１，８２５の間、または塩基対２７，８１６～３１，３３３の間に１つ以上の欠失をさらに有する。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ６８ベクター骨格は、配列番号１に示す配列の塩基対番号３９５７～１０３４６、塩基対番号２１７８７～２３３７０

、及び塩基対番号３３４８６～３６１９３の間に１つ以上の欠失を含む。
【００５９】
いくつかの態様では、カセットは、Ｅ１領域、Ｅ３領域、及び／または、カセットの組み込みを許容する任意の欠失されたＡｄＶ領域においてＣｈＡｄＶ骨格に挿入される。いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶ骨格は、第１世代、第２世代、または、ヘルパー依存性アデノウイルスベクターのうちの１つから生成される。
【００６０】
いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、ＣＭＶ、ＳＶ４０、ＥＦ－１、ＲＳＶ、ＰＧＫ、ＨＳＡ、ＭＣＫ、及びＥＢＶプロモーター配列からなる群から選択される。いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、ＣＭＶプロモーター配列である。
【００６１】
いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列の少なくとも１つは、発現し、翻訳される際に、対象の細胞上に、ＭＨＣクラスＩにより提示されることが可能なエピトープをコードする。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列の少なくとも１つは、発現し、翻訳される際に、対象の細胞上に、ＭＨＣクラスＩＩにより提示されることが可能なエピトープをコードする。
【００６２】
いくつかの態様では、少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、２つ以上の抗原コード核酸配列を含む。いくつかの態様では、各抗原コード核酸配列が互いに直接連結されている。
【００６３】
いくつかの態様では、各抗原コード核酸配列は、リンカーをコードする核酸配列によって異なる抗原コード核酸配列と連結されている。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列またはＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を、１個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、（１）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したグリシン残基、（２）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したアラニン残基、（３）２個のアルギニン残基（ＲＲ）、（４）アラニン、アラニン、チロシン（ＡＡＹ）、（５）哺乳動物プロテアーゼによって効率的にプロセシングされる、少なくともアミノ酸残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さのコンセンサス配列、及び（６）同種由来タンパク質に由来する抗原に隣接し、少なくともアミノ酸残基２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、または２～２０個の長さの１つ以上の天然配列からなる群から選択される。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列または１個のＭＨＣクラスＩＩ配列を、１個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、配列ＧＰＧＰＧを含む。
【００６４】
いくつかの態様では、抗原コード核酸配列は、抗原コード核酸配列の発現、安定性、細胞トラフィッキング、プロセシング及び提示、及び／または免疫原性を高める、分離した、または連続した配列に機能的または直接的に連結されている。いくつかの態様において、分離した、または連続した配列は、ユビキチン配列、プロテアソームターゲティング性を高めるように改変されたユビキチン配列（例えば、７６位にＧｌｙまたはＡｌａ置換を有するユビキチン配列）、免疫グロブリンシグナル配列（例えばＩｇＫ）、主要組織適合性クラスＩ配列、リソソーム関連膜タンパク質（ＬＡＭＰ）－１、ヒト樹状細胞リソソーム関連膜タンパク質、及び主要組織適合性クラスＩＩ配列のうちの少なくとも１つを含み、任意でプロテアソームターゲティング性を高めるように改変された前記ユビキチン配列がＡ７６である。
【００６５】

いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、翻訳された、対応する野生型核酸配列と比較して、コードされたエピトープの、その対応するＭＨＣアレルへの結合親和性を増大させる、少なくとも１つの変化を含む。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、翻訳された、対応する野生型核酸配列と比較して、コードされたエピトープの、その対応するＭＨＣアレルへの結合安定性を増大させる、少なくとも１つの変化を含む。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、翻訳された、対応する野生型核酸配列と比較して、コードされたエピトープの、その対応するＭＨＣアレルでの提示の可能性を増大させる、少なくとも１つの変化を含む。いくつかの態様では、前記少なくとも１つの変化は、点変異、フレームシフト変異、非フレームシフト変異、欠失変異、挿入変異、スプライスバリアント、ゲノム再編成、またはプロテアソームにより生成されたスプライス抗原を含む。

【００６６】

いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、がんを有すると知られているまたは疑われる対象において発現することが知られているまたは疑われているエピトープをコードする。いくつかの態様では、がんは、固形腫瘍を含む。いくつかの態様では、がんは、肺癌、メラノーマ、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、胃癌、結腸癌、精巣癌、頭頸部癌、膵臓癌、膀胱癌、脳癌、Ｂ細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、成人急性リンパ芽球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、Ｔ細胞リンパ性白血病、非小細胞肺癌、及び小細胞肺癌からなる群から選択される。

【００６７】

いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、少なくとも２～１０、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の抗原コード核酸配列を含み、任意で、各抗原コード核酸配列は、異なる抗原コード核酸配列をコードする。いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、少なくとも１１～２０、１５～２０、１１～１００、１１～２００、１１～３００、１１～４００、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、または最大で４００個の抗原コード核酸配列を含み、任意で、各抗原コード核酸配列は、異なる抗原コード核酸配列をコードする。いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、少なくとも１１～２０、１５～２０、１１～１００、１１～２００、１１～３００、１１～４００、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、または最大で４００個の抗原コード核酸配列を含む。いくつかの態様では、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列は少なくとも２～４００個の抗原コード核酸配列を含み、前記抗原コード核酸配列のうちの少なくとも２個は、細胞表面で、ＭＨＣクラスＩによって提示されるポリペプチド配列またはその一部をコードする。いくつかの態様では、ＭＨＣクラスＩエピトープの少なくとも２個は、腫瘍細胞表面上のＭＨＣクラスＩによって提示される。

【００６８】

いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、少なくとも１個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を含み、各抗原コード核酸配列は、アミノ酸８～３５個の長さ、任意でアミノ酸９～１７、９～２５、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４または３５個の長さの、ポリペプチド配列をコードする。

【００６９】

いくつかの態様では、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が存在する。いくつかの態様では、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が存在し、コードされたエピトープ配列を、野生型核酸配列によってコードされる対応するペプチド配列とは異なるものにする、少なくとも１つの変化を含む、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含む。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含み、各抗原コード核酸配列は、アミノ酸１２～２０、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９

、２０、または２０～４０個の長さのポリペプチド配列をコードする。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含み、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が存在し、少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列が、少なくとも１つのユニバーサルＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列を含み、任意で、少なくとも１つのユニバーサル配列は、破傷風トキソイド及びＰＡＤＲＥの少なくとも一方を含む。

【００７０】

いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、非誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、ウシ成長ホルモン（ＢＧＨ）ＳＶ４０ポリＡ配列を含む。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、または少なくとも９０個の連続したＡヌクレオチドである。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも１００個の連続したＡヌクレオチドである。

【００７１】

いくつかの態様では、カセットは、イントロン配列、ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節因子（ＷＰＲＥ）配列、内部リボソーム進入配列（ＩＲＥＳ）配列、２Ａ自己切断ペプチド配列をコードするヌクレオチド配列、フーリン切断部位をコードするヌクレオチド配列、または、少なくとも１つの抗原コード核酸配列のうちの少なくとも１つに機能的に連結された、ｍＲＮＡの核輸送、安定性、または翻訳効率を向上させることが知られている５’または３’末端の非コード領域内の配列のうちの少なくとも１つをさらに含む。いくつかの態様では、カセットは、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、ＧＦＰバリアント、分泌型アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、ルシフェラーゼバリアント、または検出可能なペプチドもしくはエピトープを含むがこれらに限定されないレポーター遺伝子をさらに含む。いくつかの態様では、検出可能なペプチドまたはエピトープは、ＨＡタグ、Ｆｌａｇタグ、Ｈｉｓタグ、またはＶ５タグからなる群から選択される。

【００７２】

いくつかの態様では、１つ以上のベクターは、少なくとも１つの免疫調節物質をコードする１つ以上の核酸配列をさらに含む。いくつかの態様では、免疫調節物質は、抗ＣＴＬＡ４抗体もしくはその抗原結合フラグメント、抗ＰＤ－１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、抗ＰＤ－Ｌ１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、抗４－１ＢＢ抗体もしくはその抗原結合フラグメント、または抗ＯＸ－４０抗体もしくはその抗原結合フラグメントである。いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、Ｆａｂフラグメント、Ｆａｂ’フラグメント、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、単一特異性抗体もしくは互いに連結された多重特異性抗体としての単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）（例えば、ラクダ科動物の抗体ドメイン）、または完全長の一本鎖抗体（例えば、柔軟なリンカーによって重鎖と軽鎖が連結された完全長ＩｇＧ）である。いくつかの態様では、抗体の前記重鎖配列と前記軽鎖配列とは、２ＡまたはＩＲＥＳのような自己切断配列によって分離された連続的配列であるか、または抗体の重鎖配列と軽鎖配列とは連続したグリシン残基のような柔軟性リンカーによって連結される。いくつかの態様では、免疫調節物質はサイトカインである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、もしくはＩＬ－２１、またはそれぞれのそのバリアントである。

【００７３】

いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を含み、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列は、（ａ）腫瘍から、エクソーム、トランスクリプトーム、または、全ゲノム腫瘍ヌクレオチド配列決定データのうちの少なくとも１つを得るステップであって、前記腫瘍ヌクレオチド配列決定データを使用して、エピトープのセットそれぞれのペプチド配列を表すデータが得られる、前記得るステップと、（ｂ）各エピトープのペプチド配列を提示モデルに入力して、エピトープのそ

れぞれが腫瘍の腫瘍細胞表面において１つ以上のＭＨＣアレルによって提示される数値的尤度のセットを生成するステップであって、前記一連の数値的尤度は、少なくとも、受信した質量分析データに基づき識別されている、前記生成するステップと、（ｃ）前記数値的尤度のセットに基づく前記エピトープのセットのサブセットを選択して、選択されたエピトープのセットを生成するステップであって、これを使用して、前記ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を生成する、前記生成するステップと、を行うことにより選択される。いくつかの態様では、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列のそれぞれは、（ａ）腫瘍から、エクソーム、トランスクリプトーム、または、全ゲノム腫瘍ヌクレオチド配列決定データのうちの少なくとも１つを得るステップであって、前記腫瘍ヌクレオチド配列決定データを使用して、エピトープのセットのそれぞれのペプチド配列を表すデータが得られる、前記得るステップと、（ｂ）各エピトープのペプチド配列を提示モデルに入力して、エピトープのそれぞれが腫瘍の腫瘍細胞表面において１つ以上のＭＨＣアレルによって提示される数値的尤度のセットを生成するステップであって、前記数値的尤度のセットは、少なくとも、受信した質量分析データに基づき識別されている、前記生成するステップと、（ｃ）前記数値的尤度のセットに基づく前記エピトープのセットのサブセットを選択して、選択されたエピトープのセットを生成するステップであって、これを使用して、少なくとも２０個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を生成する、前記生成するステップと、を行うことにより選択される。いくつかの態様では、選択されたエピトープのセットの数は、２～２０である。いくつかの態様では、提示モデルは、（ａ）前記ＭＨＣアレルのうちの特定の１つとペプチド配列の特定の位置の特定のアミノ酸とのペアの存在と、（ｂ）前記ペアの前記ＭＨＣアレルのうちの前記特定の１つによる、前記特定の位置に前記特定のアミノ酸を含むそのようなペプチド配列の腫瘍細胞表面上での提示の尤度との間の依存性を表す。いくつかの態様では、選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づき、選択されていないエピトープと比較して、腫瘍細胞表面上に提示されている可能性が増大しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づき、選択されていないエピトープと比較して、対象において腫瘍特異的免疫応答を誘導することができる可能性が増大しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、前記選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づいて選択されないエピトープに対してプロフェッショナルエピトープ提示細胞（ＡＰＣ）によってナイーブＴ細胞に対して提示される尤度が増大している抗原を選択することを含み、任意で、ＡＰＣは樹状細胞（ＤＣ）である。いくつかの態様では、前記選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づいて選択されないエピトープに対して中枢性寛容または末梢性寛容によって阻害される尤度が減少しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、前記選択されたエピトープのセットを選択することは、提示モデルに基づいて選択されないエピトープに対して対象に正常組織に対する自己免疫応答を誘導することができる尤度が減少しているエピトープを選択することを含む。いくつかの態様では、エクソームまたはトランスクリプトームヌクレオチド配列決定データ は、腫瘍組織にて配列決定を行うことで取得される。いくつかの態様では、シークエンシングは、次世代シークエンシング（ＮＧＳ）または任意の大規模並列処理シークエンシングアプローチである。

【００７４】

いくつかの態様では、カセットは、カセット内の隣接配列によって形成されたジャンクションエピトープ配列を含む。いくつかの態様では、少なくとも１つのまたはそれぞれのジャンクションエピトープ配列は、ＭＨＣに対して５００ｎＭよりも高い親和性を有する。いくつかの態様では、各ジャンクションエピトープ配列は、非自己である。

【００７５】

いくつかの態様では、カセットは、翻訳後の野生型核酸配列を含む非治療的なＭＨＣクラスＩおよびＭＨＣクラスＩＩエピトープ核酸配列をコードしておらず、非治療的エピトープが対象のＭＨＣアレル上に提示されると予測される。いくつかの態様では、非治療的

な予測されたＭＨＣクラスＩまたはＭＨＣクラスＩＩエピトープ配列は、カセット内の隣接配列によって形成されたジャンクションエピトープ配列である。いくつかの態様では、予測は、前記非治療的エピトープの配列を提示モデルに入力することによって生成される提示尤度に基づいたものである。いくつかの態様では、カセット内における抗原コード核酸配列の順序は、（ａ）前記抗原コード核酸配列の異なる順序に対応した候補カセット配列のセットを生成する工程と、（ｂ）前記各候補カセット配列について、候補カセット配列内の非治療的エピトープの提示に基づいた提示スコアを決定する工程と、（ｃ）所定の閾値を下回る提示スコアに関連する候補カセット配列を、ワクチン用のカセット配列として選択する工程と、を含む一連の工程によって決定される。

【００７６】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物は、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物中で製剤化される。

【００７７】

いくつかの態様では、前記エピトープコード核酸配列のうちの１つ以上が、前記対象の腫瘍に由来する。いくつかの態様では、前記エピトープコード核酸配列のそれぞれが、前記対象の腫瘍に由来する。いくつかの態様では、前記エピトープコード核酸配列のうちの１つ以上が、前記対象の腫瘍に由来しない。いくつかの態様では、前記エピトープコード核酸配列のそれぞれが、前記対象の腫瘍に由来しない。いくつかの態様では、エピトープコード核酸配列は、配列番号５７～２９，３６４からなる群から選択されるエピトープを含む。

【００７８】

いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物のカセットは、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物のカセットと同一である。いくつかの態様では、用量のそれぞれについて、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物のカセットは同一である。

【図面の簡単な説明】

【００７９】

本発明のこれら及び他の特徴、態様、及び利点は、以下の説明、及び添付の図面に関してよりよく理解されるであろう。

【００８０】

【図１】維持療法の臨床上の方法を示す概略図を表す。

【００８１】

【図２】補助療法の臨床上の方法を示す概略図を表す。

【００８２】

【図３】臨床維持療法投与レジメンを表す。ＳＴＳ＝研究治療ステージ。ＶＰＳ＝ワクチン生産ステージ。ＳＯＣ＝標準的なケア

【発明を実施するための形態】

【００８３】

詳細な説明

Ⅰ．定義

一般に、特許請求の範囲及び明細書において使用される用語は、当業者により理解される通常の意味を有するものとして解釈されるものとする。特定の用語を、さらなる明確性を与えるために下記に定義する。通常の意味と与えられる定義との間に矛盾が存在する場合、与えられる定義が用いられるものとする。

【００８４】

本明細書で使用するところの「抗原」という用語は、免疫反応を刺激する物質のことである。抗原は、ネオ抗原であってよい。抗原は、特定の集団、例えば、がん患者の特定の集団間にみられる抗原である「共有抗原」であってよい。

【００８５】

本明細書で使用するところの「ネオ抗原」なる用語は、例えば、腫瘍細胞の変異、また

は腫瘍細胞に特異的な翻訳後修飾によって、抗原を対応する野生型抗原とは異なるものにする、少なくとも１つの変化を有する抗原のことである。ネオ抗原は、ポリペプチド配列またはヌクレオチド配列を含んでよい。変異は、フレームシフトもしくは非フレームシフトインデル、ミスセンスもしくはナンセンス置換、スプライス部位変化、ゲノム再編成もしくは遺伝子融合、または、新生ＯＲＦを生じる任意のゲノム変化もしくは発現変化を含むことができる。変異はまた、スプライスバリアントも含むことができる。腫瘍細胞に特異的な翻訳後修飾は、異常リン酸化を含むことができる。腫瘍細胞に特異的な翻訳後修飾はまた、プロテアソームによって生成されるスプライス抗原も含むことができる。Ｌｉｅｐｅ ｅｔ ａｌ．，Ａ ｌａｒｇｅ ｆｒａｃｔｉｏｎ ｏｆ ＨＬＡ ｃｌａｓｓ Ｉ ｌｉｇａｎｄｓ ａｒｅ ｐｒｏｔｅａｓｏｍｅ－ ｇｅｎｅｒａｔｅｄ ｓｐｌｉｃｅｄ ｐｅｐｔｉｄｅｓ；Ｓｃｉｅｎｃｅ．２０１６ Ｏｃｔ ２１；３５４（６３１０）：３５４－３５８を参照されたい。例示的な、共有された抗原を、表Ａ、及び、ＡＡＣＲ ＧＥＮＩＥ結果（配列番号１０，７５５－２９，３５７）に示し、各抗原に対応するＨＬＡアレル（複数可）もまた示す。このような、共有されたネオ抗原は、投与により、対象において免疫応答を誘導するのに有用である。投与を行うための対象は、様々な診断方法、例えば、下記でさらに述べる患者選択方法の使用により特定することができる。

【００８６】

本明細書で使用するところの「腫瘍抗原」という用語は、対象の腫瘍細胞もしくは組織中に存在するが、対象の対応する正常細胞もしくは組織中には存在しない抗原、または正常細胞もしくは組織と比較して腫瘍細胞もしくはがん性組織中で発現が変化していることが知られているかまたは見出されているポリペプチドに由来する抗原である。

【００８７】

本明細書において使用するところの「抗原ベースワクチン」という用語は、１つ以上の抗原、例えば複数の抗原に基づいたワクチン組成物のことである。ワクチンは、ヌクレオチドベース（例えば、ウイルスベース、ＲＮＡベース、またはＤＮＡベース）、タンパク質ベース（例えば、ペプチドベース）、またはこれらの組み合わせであってよい。

【００８８】

本明細書において使用するところの「候補抗原」という用語は、抗原を表しうる配列を生じる変異または他の異常のことである。

【００８９】

本明細書において使用するところの「コード領域」という用語は、タンパク質をコードする遺伝子の部分（複数可）のことである。

【００９０】

本明細書において使用するところの「コード変異」という用語は、コード領域で生じる変異のことである。

【００９１】

本明細書において使用するところの「ＯＲＦ」という用語は、オープンリーディングフレームを意味する。

【００９２】

本明細書において使用するところの「新生ＯＲＦ」なる用語は、変異またはスプライシングなどの他の異常により生じる腫瘍特異的なＯＲＦのことである。

【００９３】

本明細書において使用するところの「ミスセンス変異」という用語は、１つのアミノ酸から別のアミノ酸への置換を引き起こす変異である。

【００９４】

本明細書において使用される場合、「ナンセンス変異」という用語は、アミノ酸から終止コドンへの置換を引き起こすか、またはカノニカル開始コドンの除去を引き起こす変異である。

【００９５】

本明細書において使用される場合、「フレームシフト変異」という用語は、タンパク質

のフレームに変更を引き起こす変異である。
【００９６】
本明細書において使用される場合、「インデル」という用語は、１つ以上の核酸の挿入または欠失である。
【００９７】
本明細書において使用される場合、２つ以上の核酸またはポリペプチドの配列との関連での「同一率」（％）という用語は、下記の配列比較アルゴリズム（例えば、ＢＬＡＳＴＰ及びＢＬＡＳＴＮ、または当業者が利用可能な他のアルゴリズム）のうちの１つを用いて、または目視検査により測定される、最大の一致について比較し、整列させた場合に、ヌクレオチドまたはアミノ酸残基の特定の比率（％）が同じである２つ以上の配列または部分配列のことを指す。用途に応じて、「同一率」（％）は、比較される配列の領域にわたって、例えば、機能ドメインにわたって存在するか、あるいは、比較される２つの配列の完全長にわたって存在することができる。
【００９８】
配列比較では、一般的に、１つの配列が、試験配列が比較される参照配列として機能する。配列比較アルゴリズムを用いる場合、試験配列及び参照配列をコンピュータに入力し、必要な場合には部分配列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムのパラメータを指定する。次いで、配列比較アルゴリズムが、指定されたプログラムパラメータに基づいて、参照配列に対する試験配列の配列同一率（％）を算出する。あるいは、配列の類似性または相違性は、選択された配列位置（例えば、配列モチーフ）における特定のヌクレオチドの、または翻訳後の配列ではアミノ酸の有無の組み合わせによって確立することもできる。
【００９９】
比較を行うための配列の最適なアラインメントは、例えば、Ｓｍｉｔｈ　＆　Ｗａｔｅｒｍａｎ，Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２（１９８１）の局所相同性アルゴリズムによって、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ　＆　Ｗｕｎｓｃｈ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３（１９７０）の相同性アラインメントアルゴリズムによって、Ｐｅａｒｓｏｎ　＆　Ｌｉｐｍａｎ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：２４４４（１９８８）の類似性の探索法によって、これらのアルゴリズムのコンピュータ処理による実行（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　Ｐａｃｋａｇｅ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｃｏｍｐｕｔｅｒ　Ｇｒｏｕｐ，５７５　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｄｒ．，Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．におけるＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ、及びＴＦＡＳＴＡ）によって、または目視検査によって実施することができる（一般的には、下記のＡｕｓｕｂｅｌ　ｅｔ　ａｌ．を参照）。
【０１００】
配列同一率（％）及び配列類似率（％）を決定するのに適したアルゴリズムの１つの例として、Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０（１９９０）に記載されるＢＬＡＳＴアルゴリズムがある。ＢＬＡＳＴ解析を行うためのソフトウェアは、Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｅｎｔｅｒ　ｆｏｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎを通して公に入手可能である。
【０１０１】
本明細書において使用される場合、「ノンストップまたはリードスルー」という用語は、天然の終止コドンの除去を引き起こす変異のことである。
【０１０２】
本明細書において使用される場合、「エピトープ」という用語は、抗体またはＴ細胞受容体が一般的に結合する、抗原の特異的な部分のことである。
【０１０３】
本明細書において使用される場合、「免疫原性」という用語は、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、またはその両方を介して免疫応答を刺激する能力のことである。
【０１０４】

本明細書において使用される場合、「ＨＬＡ結合親和性」、「ＭＨＣ結合親和性」という用語は、特異的な抗原と特異的なＨＬＡまたはＭＨＣアレルとの結合の親和性を意味する。

【０１０５】

本明細書において使用される場合、「ベイト」という用語は、ＤＮＡまたはＲＮＡの特定の配列を試料から濃縮するために使用される核酸プローブのことである。

【０１０６】

本明細書において使用される場合、「変異」という用語は、対象の核酸と、対照として使用される参照ヒトゲノムとの差である。

【０１０７】

本明細書において使用される場合、「変異コール」という用語は、典型的にはシークエンシングからの、変異の存在のアルゴリズム的決定である。

【０１０８】

本明細書において使用される場合、「多型」という用語は、生殖細胞系列変異、すなわち、個体のすべてのＤＮＡ保有細胞において見出される変異である。

【０１０９】

本明細書において使用される場合、「体細胞変異」という用語は、個体の非生殖系列細胞において生じる変異である。

【０１１０】

本明細書において使用される場合、「アレル」という用語は、遺伝子の１つのバージョンまたは遺伝子配列の１つのバージョンまたはタンパク質の１つのバージョンのことである。

【０１１１】

本明細書において使用される場合、「ＨＬＡ型」という用語は、ＨＬＡ遺伝子アレルの相補体のことである。

【０１１２】

本明細書において使用される場合、「ナンセンス変異依存分解機構」または「ＮＭＤ」という用語は、未成熟な終止コドンに起因する細胞によるｍＲＮＡの分解のことである。

【０１１３】

本明細書において使用される場合、「トランカル変異（ｔｒｕｎｃａｌ　ｍｕｔａｔｉｏｎ）」という用語は、腫瘍の発生の初期に生じ、腫瘍の細胞の大部分に存在する変異である。

【０１１４】

本明細書において使用される場合、「サブクローナル変異」という用語は、腫瘍の発生において後期に生じ、腫瘍の細胞の一部のみに存在する変異である。

【０１１５】

本明細書において使用される場合、「エクソーム」という用語は、タンパク質をコードするゲノムのサブセットである。エクソームは、ゲノムの集合的なエクソンでありうる。

【０１１６】

本明細書において使用される場合、「ロジスティック回帰」という用語は、従属変数が１に等しい確率のロジットが従属変数の線形関数としてモデル化される、統計からのバイナリデータ用の回帰モデルである。

【０１１７】

本明細書において使用される場合、「ニューラルネットワーク」という用語は、多層の線形変換に続いて一般的に確率的勾配降下法及び逆伝搬により訓練された要素ごとの非線形変換を行うことからなる分類または回帰のための機械学習モデルである。

【０１１８】

本明細書において使用される場合、「プロテオーム」という用語は、細胞、細胞の群、または個体によって発現される、及び／または翻訳されるすべてのタンパク質のセットのことである。

【０１１９】
本明細書において使用される場合、「ペプチドーム」という用語は、細胞表面上のＭＨＣ－ＩまたはＭＨＣ－ＩＩによって提示されるすべてのペプチドのセットのことである。ペプチドームは、細胞または細胞の集合の性質を指す場合もある（例えば、腫瘍ペプチドームは、腫瘍に含まれるすべての細胞ペプチドームの集合を意味する）。
【０１２０】
本明細書において使用される場合、「ＥＬＩＳｐｏｔ」という用語は、ヒト及び動物において免疫応答を観察するための一般的な方法である、酵素結合免疫吸着スポットアッセイを意味する。
【０１２１】
本明細書において使用される場合、「デキサトラマー」という用語は、フローサイトメトリーにおいて抗原特異的Ｔ細胞染色に使用される、デキストランベースのペプチド－ＭＨＣマルチマーである。
【０１２２】
本明細書において使用される場合、「寛容または免疫寛容」という用語は、１つ以上の抗原、例えば、自己抗原に対する免疫不応答の状態のことである。
【０１２３】
本明細書において使用される場合、「中枢性寛容」という用語は、自己反応性Ｔ細胞クローンを欠失させること、または自己反応性Ｔ細胞クローンの免疫抑制性制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）への分化を促進することのいずれかにより、胸腺において与えられる寛容である。
【０１２４】
本明細書において使用される場合、「末梢性寛容」という用語は、中枢性寛容を生き延びた自己反応性Ｔ細胞を下方制御もしくはアネルギー化すること、またはこれらのＴ細胞のＴｒｅｇへの分化を促進することにより、末梢系において与えられる寛容である。
【０１２５】
「試料」という用語は、静脈穿刺、排泄、射精、マッサージ、生検、針吸引、洗浄試料、擦過、外科的切開、もしくは介入、または当技術分野において公知の他の手段を含む手段によって対象から採取された、単一細胞、または複数の細胞、または細胞の断片、または体液のアリコートを含むことができる。
【０１２６】
「対象」という用語は、インビボ、エクスビボ、またはインビトロ、雄または雌のいずれかの、細胞、組織、または生物体、ヒトまたは非ヒトを包含する。対象という用語は、ヒトを含む哺乳動物を含める。
【０１２７】
「哺乳動物」という用語は、ヒト及び非ヒトの両方を包含し、ヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、マウス、ウシ、ウマ、及びブタを含むが、それらに限定されない。
【０１２８】
「臨床的因子」という用語は、対象の状態、例えば、疾患の活性または重症度の測定を指す。「臨床的因子」は、非試料マーカーを含む、対象の健康状態のすべてのマーカー、ならびに／または、非限定的に年齢及び性別などの、対象の他の特徴を包含する。臨床的因子は、対象または所定の条件下の対象由来の試料（または試料の集団）の評定から取得され得るスコア、値、または値のセットであることができる。臨床的因子はまた、マーカー、及び／または遺伝子発現代替物などの他のパラメータによっても予測することができる。臨床的因子は、腫瘍のタイプ、腫瘍のサブタイプ、及び喫煙歴を含むことができる。
【０１２９】
「腫瘍由来の抗原コード核酸配列」とは、例えばＲＴ－ＰＣＲによって腫瘍から得られた核酸配列、または、腫瘍をシークエンシングした後、例えば当該技術分野では周知の様々な合成法もしくはＰＣＲに基づく方法によりシークエンシングデータを利用して核酸配列を合成することによって得られた配列データのことを指す。得られる配列は、腫瘍から

得られた対応する天然の核酸配列と同じポリペプチド配列をコードする、配列最適化された核酸配列バリアント（例えば、コドン最適化及び／または他の形で発現が最適化された）などの核酸配列バリアントを含み得る。

【０１３０】

「アルファウイルス」という用語は、トガウイルス科のメンバーのことを指し、一本鎖プラス鎖ＲＮＡウイルスである。アルファウイルスは、一般的に、シンドビス、ロスリバー、マヤロ、チクングニア、及びセムリキ森林ウイルスなどの旧世界型、または、東部ウマ脳炎ウイルス、アウラ、フォートモルガン、もしくはベネズエラウマ脳炎ウイルス及びその誘導株ＴＣ－８３などの新世界型に分類される。アルファウイルスは一般的には自己複製ＲＮＡウイルスである。

【０１３１】

「アルファウイルス骨格」という用語は、ウイルスゲノムの自己複製を可能とするアルファウイルスの最小配列（複数可）のことを指す。最小配列としては、非構造タンパク質媒介増幅用の保存配列、非構造タンパク質１（ｎｓＰ１）遺伝子、ｎｓＰ２遺伝子、ｎｓＰ３遺伝子、ｎｓＰ４遺伝子、及びポリＡ配列、ならびに、サブゲノミック（例えば、２６Ｓ）プロモーター因子をはじめとするサブゲノミックウイルスＲＮＡの発現用の配列を挙げることができる。

【０１３２】

「非構造タンパク質媒介増幅用の保存配列」という用語には、当該技術分野では周知のアルファウイルス保存配列因子（ＣＳＥ）が含まれる。ＣＳＥとしては、これらに限定されるものではないが、アルファウイルス５’ＵＴＲ、５１－ｎｔ　ＣＳＥ、２４－ｎｔ　ＣＳＥ、サブゲノミックプロモーター配列（例えば、２６Ｓサブゲノミックプロモーター配列）、１９－ｎｔ　ＣＳＥ、及びアルファウイルス３’ＵＴＲが挙げられる。「ＲＮＡポリメラーゼ」という用語には、ＤＮＡ鋳型からのＲＮＡポリヌクレオチドの生成を触媒するポリメラーゼが含まれる。ＲＮＡポリメラーゼとしては、これらに限定されるものではないが、Ｔ３、Ｔ７、及びＳＰ６を含むバクテリオファージ由来ポリメラーゼが挙げられる。

【０１３３】

「脂質」という用語には、疎水性及び／または両親媒性分子が含まれる。脂質は、カチオン性、アニオン性、または中性であってよい。脂質は、合成または天然由来のものであってよく、特定の例では生分解性であってよい。脂質は、コレステロール、リン脂質、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）複合体（ＰＥＧ化脂質）を含む（ただしこれに限定されない）脂質複合体、ワックス、油類、グリセリド、脂肪、及び脂溶性ビタミンを含みうる。脂質には、ジリノレイルメチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＭＣ３）及びＭＣ３様分子も含まれうる。

【０１３４】

「脂質ナノ粒子」または「ＬＮＰ」という用語には、リポソームとも呼ばれる、水性の内部を包囲する脂質含有膜を用いて形成された小胞様構造が含まれる。脂質ナノ粒子は、界面活性剤により安定化された固体脂質コアを有する脂質ベースの組成物を含む。コア脂質は、脂肪酸、アシルグリセロール、ワックス、及びこれらの界面活性剤の混合物であってよい。リン脂質、スフィンゴミエリン、胆汁酸（タウロコール酸）、及びステロール類（コレステロール）のような生体膜脂質を安定化剤として用いることができる。脂質ナノ粒子は、１種類以上のカチオン性、アニオン性、または中性脂質の規定の比率を含む（ただし、これに限定されない）、規定の比率の異なる脂質分子を用いて形成することができる。脂質ナノ粒子は、外膜シェル内に分子を封入することができ、その後、標的細胞と接触させて封入分子を宿主細胞のサイトゾルに送達することができる。脂質ナノ粒子は、それらの表面などを非脂質分子で修飾または官能化することができる。脂質ナノ粒子は、単一層（単層）または多層（複層）とすることができる。脂質ナノ粒子は、核酸と複合体化することができる。単層脂質ナノ粒子を核酸と複合体化することができ、その場合、核酸は水性の内部となる。複層脂質ナノ粒子を核酸と複合体化することができ、その場合、核

酸は水性の内部となるか、またはその間を形成するかまたはその間に挟まれる。
【０１３５】
「薬学的に有効な量」という用語は、細胞に、十分なレベルのタンパク質、タンパク質発現、及び／または細胞シグナル伝達活性（例えば、アジュバント媒介活性化）を付与し、ワクチンの効果、即ち、ある程度測定可能なレベルの免疫を付与するのに、投与経路中で有効な、ワクチン構成成分（ペプチド、組換えベクター、及び／またはアジュバント）の量である。
【０１３６】
略語：ＭＨＣ：主要組織適合性複合体；ＨＬＡ：ヒト白血球抗原、またはヒトＭＨＣ遺伝子座；ＮＧＳ：次世代シークエンシング；ＰＰＶ：陽性適中率；ＴＳＮＡ：腫瘍特異的ネオ抗原；ＦＦＰＥ：ホルマリン固定パラフィン包埋；ＮＭＤ：ナンセンス変異依存分解機構；ＮＳＣＬＣ：非小細胞肺癌；ＤＣ：樹状細胞。
【０１３７】
本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は、文脈によってそうでない旨が明示されない限り、複数の指示物を含む点に留意されたい。
【０１３８】
特に断らない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書において使用される「約」という用語は、例えば、平均から標準偏差２つ分以内など、当該技術分野における公称公差の範囲内にあるものとして理解される。「約」は、記載される値の１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％、０．５％、０．１％、０．０５％、または０．０１％以内として理解することができる。文脈から明らかでない限り、本明細書に示される全ての数値は「約」という語によって修飾されている。
【０１３９】
本明細書において直接定義されていない用語は、本発明の技術分野の範囲内で理解されるような、一般的にそれらに付随する意味を有するものとして理解されるべきである。本発明の態様の組成物、装置、方法など、ならびにそれらの製造または使用法を説明するうえで実施者にさらなる手引きを与える目的で特定の用語が本明細書で検討される。同じものについて複数の言い方がなされうる点は認識されるであろう。したがって、代替的な語及び同義語が、本明細書で検討される用語の任意の１つ以上について用いられる場合がある。本明細書においてある用語が詳述または検討されているか否かに重きが置かれるべきではない。いくつかの同義語または代用可能な方法、材料などが提供される。１つまたは数個の同義語または均等物の記載は、明確に述べられない限り、他の同義語または均等物の使用を除外しない。用語の例を含む例の使用は、あくまで説明を目的としたものにすぎず、本明細書における発明の態様の範囲及び意味を限定しない。
【０１４０】
本明細書の本文において引用されるすべての参照文献、発行特許、及び特許出願は、あらゆる目的でそれらの全容を参照により本明細書に援用するものである。
【０１４１】
ＩＩ．抗原の特定
腫瘍の及び正常なエクソーム及びトランスクリプトームのＮＧＳ解析の研究モデルについては、これまでに記載されており、抗原特定空間で適用される。[6，14，15]臨床状況における抗原特定の感度及び特異性を高めるための特定の最適化を考慮することができる。これらの最適化は、実験室プロセスに関連するものと、ＮＧＳデータ解析に関連するものの２つの領域に分類することができる。記載される研究法は、感染症生物、対象の感染症、または対象の感染細胞からの特定など、他の状況での抗原の特定にも適用することができる。最適化の例は当業者には周知のものであり、例えば、そのような方法が、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用する米国特許第１０，０５５，５４０号、米国特許出願公開第ＵＳ２０２０００１０８４９Ａ１号、米国特許出願第１６／６０６，５７７号、及び国際特許出願公開第ＷＯ２０２０１８１２４０Ａ１号、同第Ｗ

Ｏ／２０１８／１９５３５７号及び同第ＷＯ２０１８／２０８８５６号により詳細に記載されている。

【０１４２】

共有された抗原（例えば、ネオ抗原）を特定するための方法は、樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞を含む、腫瘍もしくは免疫細胞の上面に提示される可能性が高い、及び／または、免疫原性である可能性が高い、対象の腫瘍に由来する抗原を特定することを含む。例として、かかる方法の１つは、対象の腫瘍細胞からエクソーム、トランスクリプトーム、または全ゲノムの腫瘍ヌクレオチドシークエンシング及び／または発現データのうちの少なくとも１つを取得する工程であって、前記腫瘍ヌクレオチドシークエンシングデータ及び／または発現データを用いて抗原（例えば、各ネオ抗原のペプチド配列が、対応する野生型ペプチド配列と異なるものにする少なくとも１つの変化を含むネオ抗原の場合、または、ペプチドが、通常の細胞もしくは組織と比較して、腫瘍細胞もしくはがん性組織において、変化した発現を有することが知られている、もしくは有することが発見されている任意のポリペプチドに由来する変異を有しない、共有された抗原の場合）のセットのそれぞれのペプチド配列を表すデータが得られる、前記工程と、各抗原のペプチド配列を１つ以上の提示モデルに入力して抗原のそれぞれが、対象の腫瘍細胞または腫瘍に存在する細胞の腫瘍細胞表面の１つ以上のＭＨＣアレルによって提示される数値的尤度のセットを生成する工程であって、前記数値的尤度のセットが、受け取られた質量分析データに少なくとも基づいて特定されたものである、前記工程と、前記数値的尤度のセットに基づいて抗原のセットのサブセットを選択して、選択された抗原のセットを生成する工程と、を含むことができる。

【０１４３】

ＩＩＩ．ネオ抗原の腫瘍特異的変異の特定

本明細書では、特定の変異（例えば、がん細胞に存在するバリアントまたはアレル）を特定するための方法も開示する。詳細には、これらの変異は、がんを有する対象のがん細胞のゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、またはエクソーム内に存在し得るが、対象からの正常組織には存在しない。腫瘍に特異的な共有ネオ抗原を含むネオ抗原を特定するための具体的な方法は当業者には周知のものであり、これらの方法は例えば、あらゆる目的で本明細書に参照によりそれらの全容をそれぞれ援用する米国特許第１０，０５５，５４０号、米国特許出願公開第ＵＳ２０２０００１０８４９Ａ１号、ならびに国際特許出願公開第ＷＯ／２０１８／１９５３５７号、及び同第ＷＯ／２０１８／２０８８５６号により詳細に記載されている。腫瘍に特異的な共有ネオ抗原の例は、あらゆる目的で本明細書にその全容を援用するところの国際特許出願公開第ＷＯ２０１９２２６９４１Ａ１号により詳細に記載されている。

【０１４４】

腫瘍の遺伝子変異は、こうした変異が、腫瘍においてのみタンパク質のアミノ酸配列の変化をもたらす場合に腫瘍の免疫学的ターゲティングに有用と考えられる。有用な変異としては、（１）タンパク質内に異なるアミノ酸を生じる非同義変異、（２）Ｃ末端に新規な腫瘍特異的配列を有するより長いタンパク質の翻訳を生じる、終止コドンが改変または欠失されたリードスルー変異、（３）成熟ｍＲＮＡへのイントロンの導入、それによる固有の腫瘍特異的タンパク質配列を生じるスプライス部位変異、（４）２個のタンパク質の接合部に腫瘍特異的配列を有するキメラタンパク質を生じる染色体再編成（すなわち、遺伝子融合）、（５）新規な腫瘍特異的タンパク質配列を有する新たなオープンリーディングフレームを生じるフレームシフト変異または欠失が挙げられる。変異には、非フレームシフトインデル、ミスセンスまたはナンセンス置換、スプライス部位変化、ゲノム再編成もしくは遺伝子融合、または新生ＯＲＦを生じる任意のゲノムもしくは発現変化のうちの１つ以上も含まれる。

【０１４５】

例えば、腫瘍細胞のスプライス部位、フレームシフト、リードスルー、または遺伝子融合変異から生じる変異を有するペプチドまたは変異ポリペプチドは、正常細胞に対して腫

瘍のＤＮＡ、ＲＮＡ、またはタンパク質をシークエンシングすることにより特定することができる。

【０１４６】

また、変異は、以前に特定されている腫瘍特異的変異も含み得る。既知の腫瘍変異は、ＣＯＳＭＩＣ（Ｃａｔａｌｏｇｕｅ ｏｆ Ｓｏｍａｔｉｃ Ｍｕｔａｔｉｏｎｓ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ）データベースで見つけることができる。

【０１４７】

個人のＤＮＡまたはＲＮＡの特定の変異またはアレルの存在を検出するための各種の方法が利用可能である。この分野での進歩により、正確で容易な、かつ低費用の大規模ＳＮＰ遺伝子型判定が可能となっている。例えば、動的アレル特異的ハイブリダイゼーション（ＤＡＳＨ）、マイクロプレートアレイダイアゴナルゲル電気泳動（ＭＡＤＧＥ）、パイロシークエンシング、オリゴヌクレオチド特異的ライゲーション、ＴａｑＭａｎシステム、ならびにＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘのＳＮＰチップのような様々なＤＮＡ「チップ」技術を含むいくつかの手法がこれまでに記載されている。これらの方法は、一般的にはＰＣＲによる標的遺伝子領域の増幅を利用したものである。侵襲的切断による小さなシグナル分子の生成に続き、質量分析または固定化したパッドロックプローブ及びローリングサークル増幅を行うことに基づくさらに他の方法もある。特定の変異を検出するための、当該技術分野では周知の方法のいくつかを下記に要約する。

【０１４８】

ＰＣＲベースの検出手段は、複数のマーカーの同時の多重増幅を含むことができる。例えば、サイズがオーバーラップせず、同時に解析することができるＰＣＲ産物を生成するようにＰＣＲプライマーを選択することは、当該技術分野では周知である。あるいは、差次的に標識され、したがって、それぞれを差次的に検出することができるプライマーで異なるマーカーを増幅することも可能である。ハイブリダイゼーションベースの検出手段によれば、試料中の複数のＰＣＲ産物の差次的な検出が可能になる点は言うまでもない。複数のマーカーの多重分析を可能とする他の手法も当該技術分野で知られている。

【０１４９】

ゲノムＤＮＡまたは細胞ＲＮＡの単一ヌクレオチド多型の分析を容易にするためのいくつかの方法が開発されている。例えば、一塩基多型は、例えば、Ｍｕｎｄｙ，Ｃ．Ｒ．（米国特許第４，６５６，１２７号）において開示されるような、特殊なエキソヌクレアーゼ抵抗性ヌクレオチドを用いることによって検出することができる。この方法によれば、多型部位のすぐ３’側のアレル配列と相補的なプライマーを、特定の動物またはヒトから得られた標的分子にハイブリダイズさせる。標的分子上の多型部位が、存在する特定のエキソヌクレアーゼ抵抗性ヌクレオチド誘導体と相補的であるヌクレオチドを含んでいる場合、その誘導体は、ハイブリダイズしたプライマーの末端に組み込まれる。このような組み込みにより、プライマーはエキソヌクレアーゼに対して抵抗性となるため、その検出が可能となる。試料のエキソヌクレアーゼ抵抗性誘導体の性質は分かっているため、プライマーがエキソヌクレアーゼに対して抵抗性になったという事実によって、標的分子の多型部位に存在するヌクレオチド（複数可）が、反応に用いられたヌクレオチド誘導体のヌクレオチドと相補的であることが示される。この方法は、大量の外来性配列データの決定を必要としないという利点を有する。

【０１５０】

多型部位のヌクレオチドの種類を決定するために、溶液ベースの方法を使用することができる（Ｃｏｈｅｎ，Ｄ．ｅｔ ａｌ．（フランス国特許第２，６５０，８４０号；ＰＣＴ出願第ＷＯ９１／０２０８７号）。米国特許第４，６５６，１２７号のＭｕｎｄｙの方法におけるように、多型部位のすぐ３’側のアレル配列に対して相補的であるプライマーが使用される。この方法は、多型部位のヌクレオチドに対して相補的である場合にプライマーの末端に組み込まれる標識されたジデオキシヌクレオチド誘導体を使用してその部位のヌクレオチドの性質を決定するものである。

【０１５１】

遺伝子ビット分析（Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｂｉｔ Ａｎａｌｙｓｉｓ）またはＧＢＡとして知られる代替的な方法が、Ｇｏｅｌｅｔ，Ｐ．ｅｔ ａｌ．（ＰＣＴ出願第９２／１５７１２号）により記載されている。Ｇｏｅｌｅｔ，Ｐ．ｅｔ ａｌ．の方法では、標識ターミネーターと、多型部位の３’側の配列に対して相補的であるプライマーとの混合物を使用する。したがって、組み込まれた標識ターミネーターは、評価される標的分子の多型部位に存在するヌクレオチドによって決定され、これらのヌクレオチドと相補的である。Ｃｏｈｅｎ ｅｔ ａｌ．（フランス国特許第２，６５０，８４０号；ＰＣＴ出願第ＷＯ９１／０２０８７号）の方法に対して、Ｇｏｅｌｅｔ，Ｐ．ｅｔ ａｌ．の方法は、プライマーまたは標的分子が固相に固定化される、不均一相アッセイとすることができる。

【０１５２】

ＤＮＡ内の多型部位をアッセイするためのいくつかのプライマーガイドヌクレオチド取り込み法がこれまでに記載されている（Ｋｏｍｈｅｒ，Ｊ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ．Ｒｅｓ．１７：７７７９－７７８４（１９８９）；Ｓｏｋｏｌｏｖ，Ｂ．Ｐ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１８：３６７１（１９９０）；Ｓｙｖａｎｅｎ，Ａ．－Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ８：６８４－６９２（１９９０）；Ｋｕｐｐｕｓｗａｍｙ，Ｍ．Ｎ．ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（Ｕ．Ｓ．Ａ．） ８８：１１４３－１１４７（１９９１）；Ｐｒｅｚａｎｔ，Ｔ．Ｒ．ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ．Ｍｕｔａｔ．１：１５９－１６４（１９９２）；Ｕｇｏｚｚｏｌｉ，Ｌ．ｅｔ ａｌ．，ＧＡＴＡ ９：１０７－１１２（１９９２）；Ｎｙｒｅｎ，Ｐ．ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２０８：１７１－１７５（１９９３））。これらの方法は、多型部位の塩基間で区別するために標識デオキシヌクレオチドの組み込みを用いている点でＧＢＡとは異なる。かかるフォーマットでは、シグナルが組み込まれたデオキシヌクレオチドの数に比例するため、同じヌクレオチドの複数のランに生じる多型は、ランの長さに比例したシグナルを生じ得る（Ｓｙｖａｎｅｎ，Ａ．－Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍｅｒ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．５２：４６－５９（１９９３））。

【０１５３】

多くの手法が、ＤＮＡまたはＲＮＡの数百万の個別の分子から並行して直接配列情報を得ている。逐次合成によるリアルタイムな単一分子シークエンシング（Ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｓｉｎｇｌｅ ｍｏｌｅｃｕｌｅ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ－ｂｙ－ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）技術は、シークエンシングされる鋳型に相補的なＤＮＡの新生鎖に蛍光ヌクレオチドが取り込まれることから蛍光ヌクレオチドの検出に基づいている。１つの方法では、３０～５０塩基の長さのオリゴヌクレオチドの５’末端がカバーグラスに共有結合によって固定される。これらの固定された鎖は２つの機能を果たす。第１に、これらの固定された鎖は、鋳型鎖が、表面に結合されたオリゴヌクレオチドに相補的な捕捉テールを有するように構成されている場合に標的鋳型鎖の捕捉鎖として機能する。これらは、配列読取りの基礎をなす鋳型誘導プライマー伸長のプライマーとしても機能する。捕捉プライマーは、色素リンカーの合成、検出、及び色素を除去するための化学的切断の複数のサイクルを用いた配列決定における固定位置部位として機能する。各サイクルは、ポリメラーゼ／標識ヌクレオチド混合物の添加、洗浄、イメージング、及び色素の切断を含む。別の方法では、ポリメラーゼを蛍光ドナー分子で修飾してカバーグラス上に固定する一方で、各ヌクレオチドを、γ位リン酸に結合されたアクセプター蛍光部分で色コード化する。このシステムは、蛍光標識されたポリメラーゼと蛍光修飾されたヌクレオチドとの相互作用を、ヌクレオチドが新生鎖に取り込まれる際に検出する。他の逐次合成によるシークエンシング技術も存在する。

【０１５４】

任意の適当な逐次合成によるシークエンシングプラットフォームを用いて変異を特定することができる。上記に述べたように、Ｒｏｃｈｅ／４５４ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓより提供されるＧｅｎｏｍｅ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｒ、Ｉｌｌｕｍｉｎａ／Ｓｏｌｅｘａより提供される１Ｇ Ａｎａｌｙｚｅｒ、Ａｐｐｌｉｅｄ ＢｉｏＳｙｓｔｅｍｓより提供されるＳＯＬｉＤシステム、及びＨｅｌｉｃｏｓ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓより提供さ

れるＨｅｌｉｓｃｏｐｅシステムの４つの主要な逐次合成によるシークエンシングプラットフォームが現在、利用可能である。逐次合成によるシークエンシングのプラットフォームは、Ｐａｃｉｆｉｃ　ＢｉｏＳｃｉｅｎｃｅｓ及びＶｉｓｉＧｅｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓによっても記載されている。いくつかの実施形態では、シークエンシングする複数の核酸分子を支持体（固体支持体）に結合させる。核酸を支持体上に固定するため、捕捉配列／ユニバーサルプライミング部位を鋳型の３’及び／または５’末端に付加することができる。核酸は、支持体に共有結合により結合させた相補的配列に捕捉配列をハイブリダイズさせることによって支持体に結合させることができる。捕捉配列（ユニバーサル捕捉配列とも呼ばれる）は、ユニバーサルプライマーとして二重に機能することができる、支持体に結合された配列に相補的な核酸配列である。

【０１５５】

捕捉配列に代わるものとして、カップリングペア（例えば、米国特許出願第２００６／０２５２０７７号に記載されるような、抗体／抗原、受容体／リガンド、またはアビジン／ビオチンのペア）のメンバーを、そのカップリングペアの対応する第２のメンバーでコーティングした表面上に捕捉させようとする各フラグメントと結合させることができる。

【０１５６】

捕捉後、配列を例えば、鋳型依存型の逐次合成によるシークエンシングを含む、実施例及び／または米国特許第７，２８３，３３７号に記載されるような単一分子検出／シークエンシングによって分析することができる。逐次合成によるシークエンシングでは、表面に結合させた分子を、ポリメラーゼの存在下で複数の標識ヌクレオチド三リン酸に曝露する。鋳型の配列は、成長する鎖の３’末端に取り込まれた標識ヌクレオチドの順序によって決定される。これは、リアルタイムで行うことができ、また、ステップ・アンド・リピートモードで行うことができる。リアルタイム分析では、各ヌクレオチドに対する異なる光学標識を取り込ませ、複数のレーザーを取り込まれたヌクレオチドの刺激に用いることができる。

【０１５７】

シークエンシングは、他の大規模並行シークエンシングまたは次世代シークエンシング（ＮＧＳ）技術及びプラットフォームを含んでもよい。大規模並行シークエンシング技術及びプラットフォームのさらなる例としては、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　ＨｉＳｅｑまたはＭｉＳｅｑ、Ｔｈｅｒｍｏ　ＰＧＭまたはＰｒｏｔｏｎ、Ｐａｃ　Ｂｉｏ　ＲＳ　ＩＩまたはＳｅｑｕｅｌ、ＱｉａｇｅｎのＧｅｎｅ　Ｒｅａｄｅｒ、及びＯｘｆｏｒｄ　Ｎａｎｏｐｏｒｅ　ＭｉｎＩＯＮがある。さらなる同様の現在の大規模並行シークエンシング技術、ならびにこれらの技術の将来的世代のものを用いることができる。

【０１５８】

任意の細胞タイプまたは組織を用いて本明細書に記載される方法で使用するための核酸試料を得ることができる。例えば、ＤＮＡまたはＲＮＡ試料は、腫瘍または既知の方法（例えば、静脈穿刺）によって得られた血液もしくは唾液などの体液から得ることができる。あるいは、乾燥試料（例えば、毛髪または皮膚）で核酸試験を行ってもよい。さらに、シークエンシング用の試料を腫瘍から得ることができ、その腫瘍と同じ組織タイプの正常組織から別の試料をシークエンシング用に得ることもできる。シークエンシング用の試料を腫瘍から得ることができ、その腫瘍とは異なる組織タイプの正常組織から別の試料をシークエンシング用に得ることもできる。

【０１５９】

腫瘍は、肺癌、メラノーマ、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、胃癌、結腸癌、精巣癌、頭頸部癌、膵臓癌、脳癌、Ｂ細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、及びＴ細胞リンパ性白血病、非小細胞肺癌、及び小細胞肺癌のうちの１つ以上のものを含むことができる。

【０１６０】

あるいは、タンパク質質量分析を用いて、腫瘍細胞上のＭＨＣタンパク質に結合した変異ペプチドの存在を特定または検証することもできる。ペプチドは、腫瘍細胞から、また

は腫瘍から免疫沈降したＨＬＡ分子から酸溶出し、その後、質量分析を用いて特定することができる。

【０１６１】

ＩＶ．抗原

抗原は、ヌクレオチドまたはポリペプチドを含みうる。例えば、抗原は、ポリペプチド配列をコードするＲＮＡ配列であってよい。したがって、ワクチンにおいて有用な抗原には、ヌクレオチド配列またはポリペプチド配列が含まれる。共有されたネオ抗原を、表Ａ（配列番号１０，７５５～２１，０１５を参照されたい）、及び、ＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥ結果（配列番号２１，０１６～２９．３５７）に示す。共有された抗原を、表１．２（配列番号５７～１０，７５４を参照されたい）に示す。

【０１６２】

本明細書では、本明細書に開示される方法によって特定された腫瘍特異的変異を含む単離されたペプチド、既知の腫瘍特異的変異を含むペプチド、及び本明細書に開示される方法によって特定された変異体ポリペプチドまたはそのフラグメントが開示される。ネオ抗原ペプチドはそれらのコード配列に関して記述することができ、ネオ抗原は関連するポリペプチド配列をコードするヌクレオチド配列（例えば、ＤＮＡまたはＲＮＡ）を含む。

【０１６３】

本明細書はまた、正常細胞または組織と比較して腫瘍細胞またはがん性組織中で発現が変化していることが知られているかまたは見出されている任意のポリペプチド、例えば、正常細胞または組織と比較して腫瘍細胞またはがん性組織中で異常に発現することが知られているかまたは見出されている任意のポリペプチドに由来するペプチドも開示する。抗原性ペプチドが由来しうる適当なポリペプチドは、例えば、ＣＯＳＭＩＣデータベースに見出すことができる。ＣＯＳＭＩＣは、ヒトのがんにおける体細胞変異に関する包括的な情報をキュレートしたものである。ペプチドは、腫瘍特異的変異を含む。腫瘍抗原（例えば、共有された腫瘍抗原及び腫瘍ネオ抗原）としては、これらに限定されるものではないが、あらゆる目的で本明細書に参照により援用する米国特許出願第１７／０５８，１２８号に記載されるものが挙げられる。抗原ペプチドはそれらのコード配列に関して記述することができ、抗原は関連するポリペプチド配列をコードするヌクレオチド配列（例えば、ＤＮＡまたはＲＮＡ）を含む。腫瘍細胞、または樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞を含む免疫細胞などの細胞の細胞表面上に提示されることが予測される抗原を選択することができる。免疫原性を有することが予測される抗原を選択することができる。

【０１６４】

抗原ヌクレオチド配列によってコードされる１つ以上のポリペプチドは、以下のうちの少なくとも１つを含むことができる：１０００ｎＭ未満のＩＣ５０値でのＭＨＣとの結合親和性、ＭＨＣクラスＩペプチドについてはアミノ酸８～１５、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個の長さ、プロテアソーム切断を促進するペプチド内またはその近くの配列モチーフの存在、及び、ＴＡＰ輸送を促進する配列モチーフの存在、ＭＨＣクラスＩＩのポリペプチドについてはアミノ酸６～３０、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８，１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、または３０個の長さ、細胞外もしくはリソソームプロテアーゼ（例えば、カテプシン）によるペプチド促進切断部位またはＨＬＡ－ＤＭにより触媒されるＨＬＡ結合部位内またはその近くの配列モチーフの存在。

【０１６５】

１つ以上の抗原は、腫瘍の表面上に存在することができる。

【０１６６】

１つ以上の抗原が、腫瘍を有する対象で免疫原性でありうる（例えば、対象のＴ細胞応答及び／またはＢ細胞応答を刺激することができる）。１つ以上の抗原が、１つ以上の抗原を認識する抗体（例えば、腫瘍を認識する抗体）の産生などのＢ細胞応答を刺激することが可能な場合がある。抗体は、直鎖状ポリペプチド配列を認識するか、または二次及び三次構造を認識することができる。したがって、Ｂ細胞の抗原としては、これらに限定さ

れるものではないが、完全長タンパク質、タンパク質サブユニット、タンパク質ドメイン、または二次及び三次構造を有することが知られているかもしくは予測される任意のポリペプチドを含む直鎖状ポリペプチド配列または二次及び三次構造を有するポリペプチドを挙げることができる。腫瘍に対するＢ細胞応答を刺激することができる抗原は、腫瘍細胞の表面に見出される抗原でありうる。腫瘍に対するＢ細胞応答を誘導することができる抗原は、腫瘍で発現される細胞内ネオ抗原でありうる。

【０１６７】

１つ以上の抗原は、Ｔ細胞応答を刺激することができる抗原（例えば、予測されるＴ細胞エピトープ配列を含むペプチド）と、Ｂ細胞応答を刺激することができる異なる抗原（例えば、完全長タンパク質、タンパク質サブユニット、タンパク質ドメイン）との組み合わせを含むことができる。

【０１６８】

対象において自己免疫応答を刺激する１つ以上の抗原は、対象のためのワクチン生成との関連において考察から除外することができる。

【０１６９】

少なくとも１つの抗原性ペプチド分子（例えば、エピトープ配列）のサイズは、約５個、約６個、約７個、約８個、約９個、約１０個、約１１個、約１２個、約１３個、約１４個、約１５個、約１６個、約１７個、約１８個、約１９個、約２０個、約２１個、約２２個、約２３個、約２４個、約２５個、約２６個、約２７個、約２８個、約２９個、約３０個、約３１個、約３２個、約３３個、約３４個、約３５個、約３６個、約３７個、約３８個、約３９個、約４０個、約４１個、約４２個、約４３個、約４４個、約４５個、約４６個、約４７個、約４８個、約４９個、約５０個、約６０個、約７０個、約８０個、約９０個、約１００個、約１１０個、約１２０個、またはそれよりも多いアミノ分子残基、及びこれらの範囲から導出される任意の範囲を含むことができるが、それらに限定されない。具体的な実施形態において、抗原性ペプチド分子は、アミノ酸５０個以下である。

【０１７０】

抗原性ペプチド及びポリペプチドは、ＭＨＣクラスＩについては長さが１５残基以下で、通常約８～約１１残基の間からなり、特に９または１０残基であることができ；ＭＨＣクラスＩＩについては、６～３０残基であることができる。

【０１７１】

望ましい場合、より長いペプチドを、いくつかのやり方において設計することができる。１つの例において、ＨＬＡアレル上のペプチドの提示尤度が予測されるかまたは公知である場合、より長いペプチドは、（１）各々の対応する遺伝子産物のＮ末端及びＣ末端に向かって２～５アミノ酸の伸長を有する個々の提示されるペプチド；（２）各々について伸長した配列を有する、提示されるペプチドのいくつかまたはすべての連鎖のいずれかからなることができる。別の場合では、シークエンシングによって腫瘍内の長い（１０個よりも多い残基）ネオエピトープ配列の存在が判明した場合（例えば、新規なペプチド配列をもたらすフレームシフト、リードスルー、またはイントロン導入による）、より長いペプチドは、（３）新規な腫瘍特異的アミノ酸のストレッチ全体からなる（これにより、最も強くＨＬＡ提示されるより短いペプチドを計算またはインビトロ試験選択に基づいて選択する必要がない）。いずれの場合も、より長いペプチドは、患者細胞による内因性プロセシングを可能とし、より効果的な抗原提示及びＴ細胞応答の刺激をもたらし得る。より長いペプチドは、腫瘍で発現されるものなど、ペプチドの完全長タンパク質、タンパク質サブユニット、タンパク質ドメイン、及びそれらの組み合わせを含んでもよい。Ｂ細胞応答を刺激するためにより長いペプチド（例えば、完全長タンパク質、タンパク質サブユニット、またはタンパク質ドメイン）及びそれらの組み合わせが含まれてもよい。

【０１７２】

抗原性ペプチド及びポリペプチドは、ＨＬＡタンパク質上に提示されることができる。いくつかの態様において、抗原性ペプチドまたはポリペプチドは、野生型ペプチドよりも高い親和性でＨＬＡタンパク質上に提示される。いくつかの態様において、抗原性ペプチ

ドまたはポリペプチドは、少なくとも５０００ｎＭ未満、少なくとも１０００ｎＭ未満、少なくとも５００ｎＭ未満、少なくとも２５０ｎＭ未満、少なくとも２００ｎＭ未満、少なくとも１５０ｎＭ未満、少なくとも１００ｎＭ未満、少なくとも５０ｎＭ未満、またはそれよりも小さいＩＣ５０を有することができる。

【０１７３】

いくつかの態様において、抗原性ペプチド及びポリペプチドは、対象に投与された場合に、自己免疫応答を誘導せず、及び／または免疫寛容を引き起こさない。

【０１７４】

少なくとも２つ以上の抗原性ペプチドを含む組成物も提供される。いくつかの実施形態では、組成物は少なくとも２つの異なるペプチドを含む。少なくとも２つの異なるペプチドは同じポリペプチドに由来するものであってよい。異なるペプチドとは、ペプチドが、長さ、アミノ酸配列、またはその両方において異なることを意味する。ペプチドは、腫瘍特異的変異を含み得る。腫瘍特異的ペプチドは、正常細胞または組織と比較して腫瘍細胞またはがん性組織中で発現が変化していることが知られているかまたは見出されている任意のポリペプチド、例えば、正常細胞または組織と比較して腫瘍細胞またはがん性組織中で異常に発現することが知られているかまたは見出されている任意のポリペプチドに由来する腫瘍特異的変異またはペプチドを含むことが知られているかまたは見出されている任意のポリペプチドに由来するものとすることができる。ペプチドは、感染症生物に関連することが知られているもしくは疑われる任意のポリペプチドに由来するものとするか、またはペプチドは、正常細胞または組織と比較して感染細胞で発現が変化していることが知られているかもしくは見出されている任意のポリペプチド（例えば、宿主細胞に発現が制限されている感染症ポリヌクレオチドまたはポリペプチドを含む感染症ポリヌクレオチドまたはポリペプチド）に由来するものとすることができる。抗原性ペプチドが由来しうる適当なポリペプチドは、例えば、ＣＯＳＭＩＣデータベースまたはＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥ（Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　Ｅｖｉｄｅｎｃｅ　Ｎｅｏｐｌａｓｉａ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ　Ｅｘｃｈａｎｇｅ）データベースに見出すことができる。ＣＯＳＭＩＣは、ヒトのがんにおける体細胞変異に関する包括的な情報をキュレートしたものである。ＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥは、数万人のがん患者からの臨床成績を用いた臨床グレードのがんゲノムデータを集約及びリンクしたものである。いくつかの態様では、腫瘍特異的変異は、特定のがんのタイプのドライバー変異である。

【０１７５】

望ましい活性または性質を有する抗原性ペプチド及びポリペプチドは、望ましいＭＨＣ分子に結合して適切なＴ細胞を活性化する非改変ペプチドの生物学的活性を増大させるかまたは実質的にそのすべてを少なくとも保持しつつ、特定の望ましい属性、例えば、改善された薬理学的特徴を与えるように改変することができる。例として、抗原性ペプチド及びポリペプチドを、保存的または非保存的のいずれかの置換などの、種々の改変にさらに供することができ、そのような改変は、改善されたＭＨＣ結合、安定性、または提示などの、それらの使用におけるある特定の利点を提供し得る。保存的置換とは、アミノ酸残基を、生物学的及び／または化学的に類似している別のもので、例えば、１つの疎水性残基を別の疎水性残基、または１つの極性残基を別の極性残基で置き換えることを意味する。置換は、Ｇｌｙ、Ａｌａ；Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ；Ａｓｐ、Ｇｌｕ；Ａｓｎ、Ｇｌｎ；Ｓｅｒ、Ｔｈｒ；Ｌｙｓ、Ａｒｇ；及びＰｈｅ、Ｔｙｒなどの組み合わせを含む。単一アミノ酸置換の効果はまた、Ｄ－アミノ酸を用いて探査してもよい。そのような改変は、例えば、Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２３２：３４１－３４７（１９８６），Ｂａｒａｎｙ　＆　Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ，Ｔｈｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ，Ｇｒｏｓｓ　＆　Ｍｅｉｅｎｈｏｆｅｒ，ｅｄｓ．（Ｎ．Ｙ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ），ｐｐ．１－２８４（１９７９）；及びＳｔｅｗａｒｔ　＆　Ｙｏｕｎｇ，Ｓｏｌｉｄ　Ｐｈａｓｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，Ｉｌｌ．，Ｐｉｅｒｃｅ），２ｄ　Ｅｄ．（１９８４）に記載されているように、周知のペプチド合成手順を用いて行うことができる。

【０１７６】
種々のアミノ酸模倣物または非天然アミノ酸でのペプチド及びポリペプチドの改変は、インビボでのペプチド及びポリペプチドの安定性の増大に特に有用である場合がある。安定性は多くの方法でアッセイすることができる。例として、ペプチダーゼ、ならびに、ヒト血漿及び血清などの種々の生物学的媒質が、安定性を試験するために使用されている。例えば、Ｖｅｒｈｏｅｆ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｄｒｕｇ Ｍｅｔａｂ Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎ．１１：２９１－３０２（１９８６）を参照されたい。ペプチドの半減期は、２５％ヒト血清（ｖ／ｖ）アッセイを用いて好都合に決定することができる。プロトコールは、概して以下のようなものである。プールしたヒト血清（タイプＡＢ、非熱不活性化）を、使用前に遠心分離によって脱脂する。次いで、血清を、ＲＰＭＩ組織培養培地で２５％に希釈し、ペプチド安定性を試験するために使用する。あらかじめ決定された時間間隔で、少量の反応溶液を取り出して、６％水性トリクロロ酢酸またはエタノールのいずれかに添加する。濁った反応試料を１５分間冷却（４℃）し、次いで、スピンして沈降血清タンパク質を沈殿させる。次いで、ペプチドの存在を、安定性特異的クロマトグラフィー条件を用いた逆相ＨＰＬＣによって決定する。

【０１７７】
ペプチド及びポリペプチドを、改善された血清半減期以外の望ましい属性を提供するために修飾することができる。例として、ＣＴＬ活性を刺激するペプチドの能力を、Ｔヘルパー細胞応答を刺激することができる少なくとも１つのエピトープを含有する配列への連結によって増強することができる。免疫原性ペプチド／Ｔヘルパーコンジュゲートは、スペーサー分子によって連結することができる。スペーサーは、典型的には、生理学的条件下で実質的に無電荷である、アミノ酸またはアミノ酸模倣物などの相対的に小さな中性分子から構成される。スペーサーは、典型的には、例えば、Ａｌａ、Ｇｌｙ、または、非極性アミノ酸もしくは中性極性アミノ酸の他の中性スペーサーから選択される。任意で存在するスペーサーは、同じ残基から構成される必要はなく、したがって、ヘテロオリゴマーまたはホモオリゴマーであり得ることが、理解されるであろう。存在する場合、スペーサーは、通常、少なくとも１または２残基、より通常は、３～６残基であろう。あるいは、ペプチドを、スペーサーなしでＴヘルパーペプチドに連結することができる。

【０１７８】
抗原性ペプチドは、ペプチドのアミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかで、直接またはスペーサーを介してのいずれかでＴヘルパーペプチドに連結することができる。抗原性ペプチドまたはＴヘルパーペプチドのいずれかのアミノ末端を、アシル化することができる。例示的なＴヘルパーペプチドは、破傷風トキソイドの８３０～８４３、インフルエンザの３０７～３１９、マラリアスポロゾイトの周囲３８２～３９８及び３７８～３８９を含む。

【０１７９】
タンパク質またはペプチドは、標準的な分子生物学的技法を通したタンパク質、ポリペプチド、もしくはペプチドの発現、天然由来源からのタンパク質もしくはペプチドの単離、またはタンパク質もしくはペプチドの化学合成を含む、当業者に公知の任意の技法によって作製することができる。種々の遺伝子に対応する、ヌクレオチドならびにタンパク質、ポリペプチド及びペプチドの配列は、以前に開示されており、当業者に公知のコンピュータ処理されたデータベースで見出すことができる。１つのそのようなデータベースは、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈのウェブサイトに位置する、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ＩｎｆｏｒｍａｔｉｏｎのＧｅｎｂａｎｋ及びＧｅｎＰｅｐｔデータベースである。公知の遺伝子のコード領域は、本明細書に開示する技法を用いて、または当業者に公知であるように、増幅及び／または発現させることができる。あるいは、タンパク質、ポリペプチド、及びペプチドの種々の商業的調製物が、当業者に公知である。

【０１８０】
さらなる態様において、抗原は、抗原性ペプチドまたはその一部をコードする核酸（例

えば、ポリヌクレオチド）を含む。ポリヌクレオチドは、例えば、ＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ＰＮＡ、ＣＮＡ、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）、例えば、ホスホロチオアートバックボーンを有するポリヌクレオチドなどの、ポリヌクレオチドの一本鎖及び／もしくは二本鎖、または天然形態もしくは安定化形態のいずれか、または、それらの組み合わせであることができ、イントロンを含有してもよく、または含有しなくてもよい。抗原をコードするポリヌクレオチド配列は、転写、翻訳、転写後プロセシング、及び／またはＲＮＡ安定性を改善することなどにより、発現を改善するために配列最適化することができる。例えば、抗原をコードするポリヌクレオチド配列はコドン最適化することができる。本明細書では「コドン最適化」とは、特定の生物のコドンバイアスに関して、低頻度で用いられるコドンを高頻度で用いられる同義コドンに置換することを指す。ポリヌクレオチド配列は、転写後プロセシングを改善するために最適化することができ、例えば、好ましいスプライシング事象にバイアスするように、スプライシングモチーフ（例えば、カノニカル及び／またはクリプティック／非カノニカルスプライスドナー、ブランチ、及び／またはアクセプター配列）の除去、及び／または外因性スプライシングモチーフ（スプライスドナー、ブランチ、及び／またはアクセプター配列）の導入などにより、意図しないスプライシングを減少させるように最適化することができる。外因性イントロン配列としては、これらに限定されるものではないが、ＳＶ４０に由来するもの（例えば、ＳＶ４０ミニイントロン）及び／または免疫グロブリンに由来するもの（例えば、ヒトβ－グロブリン遺伝子）が挙げられる。外因性イントロン配列は、プロモーター／エンハンサー配列と抗原（複数可）配列との間に組み込むことができる。発現ベクターで使用するための外因性イントロン配列は、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用するＣａｌｌｅｎｄｒｅｔ ｅｔ ａｌ．（Ｖｉｒｏｌｏｇｙ．２００７ Ｊｕｌ ５；３６３（２）： ２８８－３０２）により詳細に記載されている。ポリヌクレオチド配列は、例えば、ＲＮＡ安定性モチーフ（例えば、ＡＵリッチエレメント及び／または３’ＵＴＲモチーフ）及び／または反復ヌクレオチド配列の除去により転写物安定性を改善するように最適化することができる。ポリヌクレオチド配列は、例えば、クリプティックな転写イニシエーター及び／またはターミネーターの除去によって正確な転写を改善するように最適化することができる。ポリヌクレオチド配列は、例えば、クリプティックなＡＵＧ開始コドン、未成熟ポリＡ配列、及び／または二次構造モチーフの除去によって翻訳及び翻訳精度を改善するように最適化することができる。ポリヌクレオチド配列は、構成的輸送エレメント（ＣＴＥ）、ＲＮＡ輸送エレメント（ＲＴＥ）、またはウッドチャック転写後調節エレメント（ＷＰＲＥ）の付加などによって、転写物の核外輸送を改善するように最適化することができる。発現ベクターで使用するための核外輸送シグナルは、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用するＣａｌｌｅｎｄｒｅｔ ｅｔ ａｌ．（Ｖｉｒｏｌｏｇｙ．２００７ Ｊｕｌ ５；３６３（２）： ２８８－３０２）により詳細に記載されている。ポリヌクレオチド配列は、例えば、特定の生物の平均ＧＣ含量を反映するように、ＧＣ含量に関して最適化することができる。配列最適化によって、転写、翻訳、転写後プロセシング、及び／またはＲＮＡ安定性などの１つ以上の配列特性のバランスをとることができる。配列最適化によって、転写、翻訳、転写後プロセシング、及びＲＮＡ安定性のそれぞれのバランスをとる最適配列を生成することができる。配列最適化アルゴリズムは、ＧｅｎｅＡｒｔ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）、Ｃｏｄｏｎ Ｏｐｔｉｍｉｚａｔｉｏｎ Ｔｏｏｌ （ＩＤＴ）、Ｃｏｏｌ Ｔｏｏｌ（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｓｉｎｇａｐｏｒｅ）、ＳＧＩ－ＤＮＡ（Ｌａ Ｊｏｌｌａ Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）などの当業者には周知のものである。抗原コードタンパク質の１つ以上の領域を別々に配列最適化することができる。

【０１８１】

またさらなる態様は、ポリペプチドまたはその一部を発現することができる発現ベクターを提供する。様々な細胞タイプ用の発現ベクターが、当技術分野において周知であり、過度の実験なしで選択することができる。概して、ＤＮＡを、プラスミドなどの発現ベクター中に、発現のための適正な方向及び正確なリーディングフレームで挿入する。必要な

場合は、ＤＮＡを、望ましい宿主によって認識される適切な転写及び翻訳調節性制御ヌクレオチド配列に連結することができるが、そのような制御は、概して発現ベクターにおいて利用可能である。次いで、ベクターを、標準的な技法を通して宿主中に導入する。手引きは、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．（１９８９）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．において見出すことができる。

【０１８２】

Ｖ．ワクチン組成物

また、特異的な免疫応答、例えば、腫瘍特異的な免疫応答を生じることができる免疫原性組成物、例えば、ワクチン組成物も、本明細書に開示する。ワクチン組成物は、典型的に、本明細書に記載される、または、表Ａ、表１．２、もしくはＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥ結果に記載されるとおりの方法を用いて選択された１つまたは複数の抗原を含む。ワクチン組成物はワクチンと呼ぶこともできる。

【０１８３】

ワクチンは、１～３０個のペプチド、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、もしくは３０個の異なるペプチド、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、もしくは１４個の異なるペプチド、または１２、１３、もしくは１４個の異なるペプチドを含むことができる。ペプチドは、翻訳後修飾を有してもよい。ワクチンは、１～１００個以上のヌクレオチド配列、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４，９５、９６、９７、９８、９９、１００個、もしくはそれよりも多くの異なるヌクレオチド配列、６、７、８、９、１０　１１、１２、１３、もしくは１４個の異なる抗原コード核酸配列、または１２、１３もしくは１４個の異なる抗原コード核酸配列を含むことができる。ワクチンは、１～３０個の抗原配列、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４，９５、９６、９７、９８、９９、１００個、もしくはそれよりも多くの異なる抗原配列、６、７、８、９、１０　１１、１２、１３、もしくは１４個の異なる抗原配列、または１２、１３もしくは１４個の異なる抗原配列を含むことができる。

【０１８４】

ワクチンは、１～３０個の抗原コード核酸配列、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４，９５、９６、９７、９８、９９、１００個、もしくはそれ

よりも多くの異なる抗原コード核酸配列、６、７、８、９、１０　１１、１２、１３、もしくは１４個の異なる抗原コード核酸配列、または１２、１３もしくは１４個の異なる抗原コード核酸配列を含むことができる。抗原コード核酸配列は、「抗原カセット」の抗原コード部分を指す場合もある。抗原カセットの特性について本明細書でより詳細に説明する。抗原コード核酸配列は、１つ以上のエピトープコード核酸配列（例えば、連結されたＴ細胞エピトープをコードした抗原コード核酸配列）を含むことができる。

【０１８５】

ワクチンは、１～３０個の異なるエピトープコード核酸配列、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４，９５、９６、９７、９８、９９、１００個、もしくはそれよりも多くの異なるエピトープコード核酸配列、６、７、８、９、１０　１１、１２、１３、もしくは１４個の異なるエピトープコード核酸配列、または１２、１３もしくは１４個の異なるエピトープコード核酸配列を含むことができる。エピトープコード核酸配列とは、連結されたＴ細胞エピトープコード核酸配列をコードする抗原コード核酸配列中のＴ細胞エピトープのそれぞれなど、個別のエピトープ配列の配列を指す場合もある。

【０１８６】

ワクチンは、エピトープコード核酸配列の少なくとも２回の繰り返しを含むことができる。本明細書で使用される「繰り返し」（または互換的に「反復」）とは、抗原コード核酸配列内の２個以上の同じ核酸エピトープコード核酸配列（本明細書に記載される任意の５’リンカー配列及び／または任意の３’リンカー配列を含む）を指す。１つの例では、カセットの抗原コード核酸配列部分は、エピトープコード核酸配列の少なくとも２回の繰り返しをコードする。さらなる非限定的な例では、カセットの抗原コード核酸配列部分は複数の異なるエピトープをコードし、異なるエピトープのうちの少なくとも１つは、異なるエピトープをコードした核酸配列の少なくとも２回の繰り返し（すなわち、少なくとも２個の異なるエピトープコード核酸配列）によってコードされる。例示的な非限定例では、抗原コード核酸配列は、エピトープコード核酸配列Ａ（$E_A$）、エピトープコード配列Ｂ（$E_B$）、及びエピトープコード配列Ｃ（$E_C$）によってコードされるエピトープＡ、Ｂ、及びＣをコードし、異なるエピトープのうちの少なくとも１つの繰り返しを有する例示的な抗原コード核酸配列は、これらに限定されるものではないが、下式によって示される。

－１つの異なるエピトープの繰り返し（エピトープＡの繰り返し）：

$E_A-E_B-E_C-E_A$、または

$E_A-E_A-E_B-E_C$

－複数の異なるエピトープの繰り返し（エピトープＡ、Ｂ、及びＣの繰り返し）：

$E_A-E_B-E_C-E_A-E_B-E_C$、または

$E_A-E_A-E_B-E_B-E_C-E_C$

－複数の異なるエピトープの複数の繰り返し（エピトープＡ、Ｂ、及びＣの繰り返し）：

$E_A-E_B-E_C-E_A-E_B-E_C-E_A-E_B-E_C$、または

$E_A-E_A-E_A-E_B-E_B-E_B-E_C-E_C-E_C$

【０１８７】

上記の例は限定的なものではなく、異なるエピトープのうちの少なくとも１つの繰り返しを有する抗原コード核酸配列は、異なるエピトープのそれぞれを任意の順序または頻度でコードすることができる。例えば、順序及び頻度は、例えば式$E_A-E_B-E_C-E_C-E_A-E_B-E_A-E_C-E_A-E_C-E_C-E_B$によるエピトープＡ、Ｂ、及びＣを有

する例におけるように、異なるエピトープのランダムな配置とすることができる。

【０１８８】

本明細書では、５’から３’方向に、次式によって記述される少なくとも１つの抗原コード核酸配列を有する抗原コードカセットが提供される。

$(E_x-(E^N{}_n)_y)_z$

式中、Ｅは、異なるエピトープコード核酸配列を含むヌクレオチド配列を表し、

ｎは、別個の異なるエピトープコード核酸配列の数を表しかつ、０を含む任意の整数であり、

$E^N$は、それぞれの対応するｎで別個の異なるエピトープコード核酸配列を含むヌクレオチド配列を表し、

ｚの各繰り返しについて、各ｎについてｘ＝０または１、ｙ＝０または１であり、ｘまたはｙの少なくとも一方は１であり、

ｚ＝２以上であり、抗原コード核酸配列は、Ｅ、所与の$E^N$、またはこれらの組み合わせのうち少なくとも１つの２回の繰り返しを含む。

【０１８９】

各Ｅまたは$E^N$は、本明細書に記載されるエピトープコード核酸配列（例えば、感染症Ｔ細胞エピトープ及び／またはネオ抗原エピトープをコードするペプチド）を独立して含むことができる。例えば、各ＥまたはＥ$^N$は、５’から３’方向に、式（$L_b$5－Ｎｃ－Ｌ３ｄ）によって記述されるヌクレオチド配列を独立して含むことができ、式中、Ｎは、各ＥまたはＥ$^N$に関連付けられた異なるエピトープコード核酸配列を含み、ただしｃ＝１であり、Ｌ５は５’リンカー配列を含み、ただしｂ＝０または１であり、Ｌ３は３’リンカー配列を含み、ただしｄ＝０または１である。使用することができるエピトープ及びリンカーについては本明細書でさらに述べる。

【０１９０】

エピトープコード核酸配列（任意の５’リンカー配列及び／または任意の３’リンカー配列を含む）の繰り返しは互いに直接連結されてもよい（例えば、上記に示したように、$E_A-E_A-\cdots$）。エピトープコード核酸配列の繰り返しは、１つ以上のさらなるヌクレオチド配列によって分離されてもよい。一般的に、エピトープコード核酸配列の繰り返しは、本明細書に記載される組成物に適用可能な任意のサイズのヌクレオチド配列によって分離されうる。１つの例では、エピトープコード核酸配列の繰り返しは、別個の異なるエピトープコード核酸配列によって分離されうる（例えば、上記に示したように、$E_A-E_B-E_C-E_A\cdots$）。繰り返しが単一の別個の異なるエピトープコード核酸配列によって分離されており、各エピトープコード核酸配列（任意の５’リンカー配列及び／または任意の３’リンカー配列を含む）がアミノ酸２５個の長さのペプチドをコードする例では、繰り返しは、例えば$E_A-E_B-E_A\cdots$（ＥＡは７５個のヌクレオチドによって分離されている）により表される抗原コード核酸におけるように７５個のヌクレオチドによって分離されうる。例示的な１つの例では、２５マーの抗原Ｔｒｐ１（ＶＴＮＴＥＭＦＶＴＡＰＤＮＬＧＹＭＹＥＶＱＷＰＧＱ）［配列番号８６］及びＴｒｐ２（ＴＱＰＱＩＡＮＣＳＶＹＤＦＦＶＷＬＨＹＹＳＶＲＤＴ）［配列番号８７］の繰り返しをコードした配列ＶＴＮＴＥＭＦＶＴＡＰＤＮＬＧＹＭＹＥＶＱＷＰＧＱＴＱＰＱＩＡＮＣＳＶＹＤＦＦＶＷＬＨＹＹＳＶＲＤＴＶＴＮＴＥＭＦＶＴＡＰＤＮＬＧＹＭＹＥＶＱＷＰＧＱＴＱＰＱＩＡＮＣＳＶＹＤＦＦＶＷＬＨＹＹＳＶＲＤＴ（配列番号８５）を有する抗原コード核酸であり、Ｔｒｐ１の繰り返しが２５マーのＴｒｐ２によって分離されており、したがって、Ｔｒｐ１エピトープコード核酸配列の繰り返しは、ヌクレオチド７５個のＴｒｐ２エピトープコード核酸配列によって分離される。繰り返しが２、３、４、５、６、７、８、または９個の別個の異なるエピトープコード核酸配列によって分離されており、各エピトープコード核酸配列（任意の５’リンカー配列及び／または任意の３’リンカー配列を含む）がアミノ酸２５個の長さのペプチドをコードする例では、繰り返しは、それぞれ、１５０、２２５、３００、３７５、４５０、５２５、６００、または６７５個のヌクレオチドによって分離されうる。

【０１９１】
場合によって、さらなる抗原及び／またはエピトープをコードするカセット内の抗原またはエピトープは、コードされた他のエピトープに対して免疫優性なエピトープであってよい。一般的に、免疫優性とは、１個または数個のみの特定の免疫原性ペプチドに対する免疫応答の偏りである。免疫優性は、免疫モニタリングのプロトコールの一環として評価することができる。例えば、免疫優性は、コードされた抗原に対するＴ細胞及び／またはＢ細胞応答を評価することにより評価することができる。
【０１９２】
場合によっては、免疫優性なエピトープを含むワクチン組成物は避けることが望ましい場合もある。例えば、免疫優性なエピトープをコードしたワクチンカセットの設計は避けることが望ましい場合もある。理論に束縛されることを望むものではないが、免疫優性なエピトープをさらなるエピトープと一緒に投与及び／またはコードすると、さらなるエピトープに対する免疫応答が低下する場合があり、さらなるエピトープに対するワクチン有効性が最終的に低下する可能性がある。例示的な非限定例として、ＴＰ５３関連ネオエピトープを含むワクチン組成物は、ワクチン組成物中の他の抗原またはエピトープに負の影響を及ぼすようにＴＰ５３関連ネオエピトープの方向に偏った免疫応答、例えばＴ細胞応答を有し得る。
【０１９３】
一実施形態では、異なるペプチド及び／もしくはポリペプチド、またはそれらをコードするヌクレオチド配列は、ペプチド及び／またはポリペプチドが、異なるＭＨＣクラスＩ分子及び／または異なるＭＨＣクラスＩＩ分子などの異なるＭＨＣ分子と結合することができるように選択される。いくつかの態様において、１つのワクチン組成物は、最も頻繁に存在するＭＨＣクラスＩ分子及び／または異なるＭＨＣクラスＩＩ分子と結合することができるペプチド及び／またはポリペプチドのコード配列を含む。したがって、ワクチン組成物は、少なくとも２種類の好ましい、少なくとも３種類の好ましい、または少なくとも４種類の好ましいＭＨＣクラスＩ分子及び／または異なるＭＨＣクラスＩＩ分子と結合することができる異なる断片を含むことができる。
【０１９４】
ワクチン組成物は、特異的な細胞傷害性Ｔ細胞応答、及び／または特異的なヘルパーＴ細胞応答を刺激することができる。ワクチン組成物は、特異的な細胞傷害性Ｔ細胞応答、及び特異的なヘルパーＴ細胞応答を刺激することができる。
【０１９５】
ワクチン組成物は、特異的Ｂ細胞応答（例えば、抗体応答）を刺激することができる。
【０１９６】
ワクチン組成物は、特異的細胞傷害性Ｔ細胞応答、特異的ヘルパーＴ細胞応答、及び／または特異的Ｂ細胞応答（例えば、抗体応答）を刺激することができる。ワクチン組成物は、特異的細胞傷害性Ｔ細胞応答及び特異的Ｂ細胞応答を刺激することができる。ワクチン組成物は、特異的ヘルパーＴ細胞応答及び特異的Ｂ細胞応答を刺激することができる。ワクチン組成物は、特異的細胞傷害性Ｔ細胞応答、特異的ヘルパーＴ細胞応答、及び特異的Ｂ細胞応答を刺激することができる。
【０１９７】
ワクチン組成物は、アジュバント及び／または担体をさらに含むことができる。有用なアジュバント及び担体の例を本明細書で以下に示す。組成物は、例えば、タンパク質、またはペプチドをＴ細胞に提示することができる樹状細胞（ＤＣ）などの抗原提示細胞などの担体を伴ってもよい。
【０１９８】
アジュバントは、ワクチン組成物に混合することで抗原に対する免疫応答を増大または他の形で改変する任意の物質である。担体は、抗原が会合することができる、例えばポリペプチドまたは多糖類などのスカフォールド構造であってよい。任意で、アジュバントは共有結合または非共有結合により結合される。

【０１９９】
アジュバントが抗原に対する免疫応答を増大させる能力は、免疫介在反応の有意なもしくは大幅な増大、または疾患症状の低減として一般的に現れる。例えば、体液性免疫の増大は、抗原に対して生成された抗体の力価の有意な増大として一般的に現れ、Ｔ細胞活性の増大は細胞増殖、または細胞傷害性、またはサイトカイン分泌の増大として一般的に現れる。アジュバントはまた、例えば、主として体液性またはＴｈ応答を主として細胞性またはＴｈ応答に変化させることにより、免疫応答も変化させることができる。
【０２００】
適当なアジュバントとしては、これらに限定されるものではないが、１０１８　ＩＳＳ、ミョウバン、アルミニウム塩、Ａｍｐｌｉｖａｘ、ＡＳ１５、ＢＣＧ、ＣＰ－８７０，８９３、ＣｐＧ７９０９、ＣｙａＡ、ｄＳＬＩＭ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＣ３０、ＩＣ３１、イミキモド、ＩｍｕＦａｃｔ　ＩＭＰ３２１、ＩＳ　Ｐａｔｃｈ、ＩＳＳ、ＩＳＣＯＭＡＴＲＩＸ、ＪｕｖＩｍｍｕｎｅ、ＬｉｐｏＶａｃ、ＭＦ５９、モノホスホリル脂質Ａ、Ｍｏｎｔａｎｉｄｅ　ＩＭＳ　１３１２、Ｍｏｎｔａｎｉｄｅ　ＩＳＡ２０６、Ｍｏｎｔａｎｉｄｅ　ＩＳＡ　５０Ｖ、Ｍｏｎｔａｎｉｄｅ　ＩＳＡ－５１、ＯＫ－４３２、ＯＭ－１７４、ＯＭ－１９７－ＭＰ－ＥＣ、ＯＮＴＡＫ、ＰｅｐＴｅｌベクターシステム、ＰＬＧ微小粒子、レシキモド、ＳＲＬ１７２、ビロソーム及び他のウイルス様粒子、ＹＦ－１７Ｄ、ＶＥＧＦトラップ、Ｒ８４８、β－グルカン、Ｐａｍ３Ｃｙｓ、サポニンから誘導されるＡｑｕｉｌａ’ｓ　ＱＳ２１スティミュロン（Ａｑｕｉｌａ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒ，Ｍａｓｓ．，ＵＳＡ）、マイコバクテリウム抽出物及び合成細菌壁模倣体、ならびにＲｉｂｉ’ｓ　Ｄｅｔｏｘ．　ＱｕｉｌまたはＳｕｐｅｒｆｏｓなどの他の特許取得アジュバントが挙げられる。不完全フロイントまたはＧＭ－ＣＳＦなどのアジュバントが有用である。樹状細胞に対して特異的ないくつかの免疫学的アジュバント（例えば、ＭＦ５９）及びそれらの製剤がこれまでに記載されている（Ｄｕｐｕｉｓ　Ｍ，ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９８；１８６（１）：１８－２７；Ａｌｌｉｓｏｎ　Ａ　Ｃ；Ｄｅｖ　Ｂｉｏｌ　Ｓｔａｎｄ．１９９８；９２：３－１１）。サイトカインを用いることもできる。いくつかのサイトカインが、リンパ組織への樹状細胞の遊走に影響を及ぼし（例えば、ＴＮＦ－α）、Ｔリンパ球に対する効率的な抗原提示細胞への樹状細胞の成熟を加速させ（例えば、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１及びＩＬ－４）（参照によって本明細書にその全容を具体的に援用する米国特許第５，８４９，５８９号）、免疫アジュバントとして作用する（例えば、ＩＬ－１２）（ＧａｂｒｉｌｏｖｉｃｈＤＩ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ　Ｅｍｐｈａｓｉｓ　Ｔｕｍｏｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．　１９９６　（６）：４１４－４１８）ことに直接的な関連が示されている。
【０２０１】
ＣｐＧ免疫刺激オリゴヌクレオチドも、ワクチン環境におけるアジュバントの効果を高めることが報告されている。ＲＮＡ結合ＴＬＲ　７、ＴＬＲ　８及び／またはＴＬＲ　９のような他のＴＬＲ結合分子を使用することもできる。
【０２０２】
有用なアジュバントの他の例としては、これらに限定されるものではないが、化学修飾ＣｐＧ（例えば、ＣｐＲ、Ｉｄｅｒａ）、Ｐｏｌｙ（Ｉ：Ｃ）（例えば、ｐｏｌｙｉ：ＣＩ２Ｕ）、非ＣｐＧ細菌性ＤＮＡまたはＲＮＡ、ならびに、治療作用を有するか、及び／またはアジュバントとして作用しうる、シクロフォスファミド、スニチニブ、ベバシズマブ、セレブレックス、ＮＣＸ－４０１６、シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル、ソラフィニブ、ＸＬ－９９９、ＣＰ－５４７６３２、パゾパニブ、ＺＤ２１７１、ＡＺＤ２１７１、イピリムマブ、トレメリムマブ、及びＳＣ５８１７５などの免疫活性小分子及び抗体が挙げられる。アジュバント及び添加剤の量ならびに濃度は、当業者によれば不要な実験を行うことなく容易に決定することが可能である。さらなるアジュバントとしては、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ、サルグラモスティム）などのコロニー刺激因子が挙げられる。

【０２０３】
ワクチン組成物は、複数の異なるアジュバントを含むことができる。さらに、治療組成物は、上記のいずれかまたはそれらの組み合わせを含む、任意のアジュバント物質を含むことができる。ワクチンとアジュバントは、一緒に投与してもよく、または任意の適当な順序で別々に投与することもできる。
【０２０４】
担体（または賦形剤）がアジュバントとは独立して存在してもよい。担体の機能は、例えば特定の変異体の分子量を増やすことによって、活性もしくは免疫原性を高める、安定性を付与する、生物活性を高める、または血清半減期を延ばすことであってよい。さらに、担体は、Ｔ細胞へのペプチドの提示を助けることができる。担体は、例えば、タンパク質または抗原提示細胞などの当業者には周知の任意の適当な担体であってよい。担体タンパク質は、これらに限定されるものではないが、キーホールリンペットヘモシアニン；トランスフェリン、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、チログロブリンまたはオボアルブミンなどの血清タンパク質、免疫グロブリン；インスリンまたはパルミチン酸などのホルモンであってよい。ヒトの免疫化においては、担体は一般的に、ヒトに許容される、安全な生理学的に許容される担体である。しかしながら、破傷風トキソイド及び／またはジフテリアトキソイドは適当な担体である。あるいは、担体は、デキストラン、例えばセファロースであってもよい。
【０２０５】
細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＴＬ）は、インタクトな外来抗原自体ではなく、ＭＨＣ分子に結合したペプチドの形の抗原を認識する。ＭＨＣ分子自体は、抗原提示細胞の細胞表面に位置している。したがって、ＣＴＬの活性化は、ペプチド抗原、ＭＨＣ分子及びＡＰＣの三量体複合体が存在する場合に可能となる。これに対応して、ＣＴＬは、ペプチドのみがＣＴＬの活性化に用いられる場合でなく、対応するＭＨＣ分子を有するＡＰＣがさらに加えられる場合に免疫応答を増強することができる。したがって、特定の実施形態では、ワクチン組成物は少なくとも１つの抗原提示細胞をさらに含む。
【０２０６】
抗原は、ワクシニア、鶏痘、自己複製アルファウイルス、マラバウイルス、アデノウイルス（例えば、Ｔａｔｓｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｅｎｏｖｉｒｕｓｅｓ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ（２００４）１０，６１６－６２９を参照）、または、第２、第３、またはハイブリッド第２／第３世代レンチウイルス及び特定の細胞タイプまたは受容体をターゲティングするように設計された任意の世代の組換えレンチウイルス（例えば、Ｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｉｚａｔｉｏｎ Ｄｅｌｉｖｅｒｅｄ ｂｙ Ｌｅｎｔｉｖｉｒａｌ Ｖｅｃｔｏｒｓ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ ａｎｄ Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ Ｄｉｓｅａｓｅｓ，Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ．（２０１１）２３９（１）：４５－６１，Ｓａｋｕｍａ ｅｔ ａｌ．，Ｌｅｎｔｉｖｉｒａｌ ｖｅｃｔｏｒｓ：ｂａｓｉｃ ｔｏ ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｊ．（２０１２）４４３（３）：６０３－１８，Ｃｏｏｐｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｒｅｓｃｕｅ ｏｆ ｓｐｌｉｃｉｎｇ－ｍｅｄｉａｔｅｄ ｉｎｔｒｏｎ ｌｏｓｓ ｍａｘｉｍｉｚｅｓ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｉｎ ｌｅｎｔｉｖｉｒａｌ ｖｅｃｔｏｒｓ ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｔｈｅ ｈｕｍａｎ ｕｂｉｑｕｉｔｉｎ Ｃ ｐｒｏｍｏｔｅｒ，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．（２０１５）４３（１）：６８２－６９０，Ｚｕｆｆｅｒｅｙ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｌｆ－Ｉｎａｃｔｉｖａｔｉｎｇ Ｌｅｎｔｉｖｉｒｕｓ Ｖｅｃｔｏｒ ｆｏｒ Ｓａｆｅ ａｎｄ Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ Ｉｎ Ｖｉｖｏ Ｇｅｎｅ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．（１９９８）７２（１２）：９８７３－９８８０を参照）などのウイルスベクターに基づいたワクチンプラットフォームに含まれるようにしてもよい。上述のウイルスベクターベースのワクチンプラットフォームのパッケージング能力に依存して、このアプローチは、１つ以上の抗原ペプチドをコードする１つ以上のヌクレオチド配列を送達することができる。配列は、変異が導入されていない配列を隣接させてもよく、リンカーによって分離されてもよく、または細胞内区画をターゲティングする１つ以上の配列がその前に

配置されてもよい（例えば、Ｇｒｏｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｎｅｏａｎｔｉｇｅｎ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ ｉｎ ｔｈｅ ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ ｂｌｏｏｄ ｏｆ ｍｅｌａｎｏｍａ ｐａｔｉｅｎｔｓ，Ｎａｔ Ｍｅｄ．（２０１６）２２（４）：４３３－８，Ｓｔｒｏｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ ｃａｎｃｅｒ ｎｅｏａｎｔｉｇｅｎｓ ｗｉｔｈ ｄｏｎｏｒ－ｄｅｒｉｖｅｄ Ｔ ｃｅｌｌ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｒｅｐｅｒｔｏｉｒｅｓ，Ｓｃｉｅｎｃｅ．（２０１６）３５２（６２９１）：１３３７－４１，Ｌｕ ｅｔ ａｌ．，Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｍｕｔａｔｅｄ ｃａｎｃｅｒ ａｎｔｉｇｅｎｓ ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ ｂｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ｗｉｔｈ ｄｕｒａｂｌｅ ｔｕｍｏｒ ｒｅｇｒｅｓｓｉｏｎｓ，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２０１４）２０（１３）：３４０１－１０を参照）。宿主中への導入時に、感染した細胞は、抗原を発現し、それにより、ペプチドに対する宿主免疫（例えば、ＣＴＬ）応答を刺激する。免疫化プロトコールにおいて有用なワクシニアベクター及び方法は、例えば、米国特許第４，７２２，８４８号に記載されている。別のベクターは、ＢＣＧ（カルメット・ゲラン桿菌）である。ＢＣＧベクターは、Ｓｔｏｖｅｒ ｅｔ ａｌ．（Ｎａｔｕｒｅ ３５１：４５６－４６０（１９９１））に記載されている。抗原の治療的投与または免疫化に有用な、多種多様の他のワクチンベクター、例えば、チフス菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉ）ベクターなどが、本明細書における記載から当業者に明らかであろう。

【０２０７】

Ｖ．Ａ．抗原カセット

１つ以上の抗原の選択に用いられる方法、「抗原カセット」のクローニング及び構築、ならびにウイルスベクターへのその挿入は本明細書に与えられる教示を考慮すれば当該技術分野の範囲内である。「抗原カセット」または「カセット」とは、選択された抗原または複数の抗原（例えば、抗原コード核酸配列）と、この抗原（複数可）を転写し、転写産物を発現するために必要とされる他の調節エレメントとの組み合わせを意味する。選択された抗原または複数の抗原とは、異なるエピトープ配列を指す場合がある（例えば、カセット内の抗原コード核酸配列は、エピトープが転写されて発現されるようにエピトープコード核酸配列（または複数のエピトープコード核酸配列）をコードすることができる）。抗原または複数の抗原は、転写を可能とするような形で調節要素と機能的に連結することができる。かかる要素としては、ウイルスベクターをトランスフェクトした細胞内で抗原（複数可）の発現を誘導することができる従来の調節エレメントが挙げられる。したがって、抗原カセットは、抗原（複数可）に連結され、組換えベクターの選択されたウイルス配列内に他の任意選択的な調節エレメントとともに配置された選択されたプロモーターも含むことができる。カセットは、表Ａ及び／またはＡＡＣＲ ＧＥＮＩＥ結果に示す１つ以上のネオ抗原、及び／または、表１．２に示す１つ以上の抗原を含むことができる。

【０２０８】

カセットは、それぞれが独立して別個のプロモーターに機能的に連結されるか、及び／または、２Ａリボソームスキッピング配列エレメント（例えば、Ｅ２Ａ、Ｐ２Ａ、Ｆ２Ａ、またはＴ２Ａ配列）または内部リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）配列エレメントなどの他のマルチシストロニックシステムを用いて互いに連結された複数の抗原コード核酸配列を含むカセットなどの１つ以上の抗原コード核酸配列を有することができる。リンカーは、ＴＥＶまたはフーリン切断部位のような切断部位を有することもできる。切断部位を有するリンカーを、マルチシストロニックシステム内のエレメントなど、他のエレメントと組み合わせることもできる。非限定的な例示的な例では、フリンプロテアーゼ切断部位を２Ａリボソームスキッピング配列エレメントと組み合わせて使用して、翻訳後の２Ａ配列の除去を促進するようにフリンプロテアーゼ切断部位を構成することができる。複数の抗原コード核酸配列を含むカセットにおいて、各抗原コード核酸配列は、１つ以上のエピトープコード核酸配列（例えば、連結されたＴ細胞エピトープをコードした抗原コード核酸配列）を含むことができる。

【０２０９】
有用なプロモーターは、構成性プロモーター、または発現させる抗原（複数可）の量を制御することが可能な調節された（誘導性）プロモーターであってよい。例えば、望ましいプロモーターとして、サイトメガロウイルス最初期プロモーター／エンハンサーのものがある［例えば、Ｂｏｓｈａｒｔ　ｅｔ　ａｌ，Ｃｅｌｌ，４１：５２１－５３０（１９８５）を参照］。別の望ましいプロモーターとしては、ラウス肉腫ウイルスＬＴＲプロモーター／エンハンサーが挙げられる。さらに別のプロモーター／エンハンサー配列は、ニワトリβアクチンプロモーターである［Ｔ．Ａ．Ｋｏｓｔ　ｅｔ　ａｌ，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，１１（２３）：８２８７（１９８３）］。当業者であれば、他の適当な、または望ましいプロモーターも選択することができる。

【０２１０】
抗原カセットは、転写産物の効率的なポリアデニル化（ポリ（Ａ）、ポリＡまたはｐＡ）のためのシグナルを与える配列ならびに機能的スプライスドナー及びアクセプター部位を含むイントロンを含む、ウイルスベクター配列に対して異種の核酸配列も含みうる。本明細書の例示的なベクターに用いられる一般的なポリＡ配列は、パポバウイルスＳＶ－４０由来のものである。ポリＡ配列は、抗原ベースの配列の後で、ウイルスベクター配列の前にカセットに挿入することができる。一般的なイントロン配列もまたＳＶ－４０由来のものでよく、ＳＶ－４０Ｔイントロン配列と呼ばれる。抗原カセットは、プロモーター／エンハンサー配列と抗原（複数可）との間に位置するイントロンを含んでもよい。これら及び他の一般的なベクターエレメントの選択は従来のものであり［例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ，“Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ．Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ．”，２ｄ　ｅｄｉｔ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９８９）及び本明細書に引用される参照文献を参照］、多くのかかる配列が商業的及び産業的供給元、ならびにＧｅｎｂａｎｋより入手可能である。

【０２１１】
抗原カセットは１つ以上の抗原を有することができる。例えば、特定のカセットは、１～１０、１～２０、１～３０、１０～２０、１５～２５、１５～２０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、またはそれよりも多くの抗原を含むことができる。抗原は互いに直接連結されてもよい。抗原はリンカーによって互いに連結されてもよい。抗原は、Ｎ～ＣまたはＣ～Ｎを含む、互いに対して任意の方向とすることができる。

【０２１２】
本明細書の他の箇所で述べたように、抗原カセットは、選択することができるものの中でもとりわけ、例えば、ＶＥＥ骨格の欠失した構造タンパク質またはＣｈＡｄ－ベースベクターのＥ１遺伝子領域の欠失またはＥ３遺伝子領域の欠失の部位などのウイルスベクター内の任意の選択された欠失部位内に配置することができる。

【０２１３】
抗原カセットは、５’から３’方向に各要素の順序付けられた配列を記述する次式を用いて記述することができる。すなわち、

$$（Ｐ_{ａ}－（Ｌ５_{ｂ}－Ｎ_{ｃ}－Ｌ３_{ｄ}）_{Ｘ}）_{Ｚ}－（Ｐ２_{ｈ}－（Ｇ５_{ｅ}－Ｕ_{ｆ}）_{Ｙ}）_{Ｗ}－Ｇ３_{ｇ}$$

［式中、Ｐ及びＰ２は、プロモーターヌクレオチド配列を含み、Ｎは、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を含み、Ｌ５は、５’リンカー配列を含み、Ｌ３は、３’リンカー配列を含み、Ｇ５は、アミノ酸リンカーをコードする核酸配列を含み、Ｇ３は、アミノ酸リンカーをコードする少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、Ｕは、ＭＨＣクラスＩＩ抗原コード核酸配列を含み、ただし、各Ｘについて、対応するＮｃは、エピトープコード核酸配列であり、各Ｙについて、対応するＵｆは、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列（例えば、ユニバーサルなＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列）である。ユニバーサル配列は、破傷風トキソイド及びＰＡＤＲＥの少なくとも一方を含むことができる。ユニバーサル配列は、破傷風トキソイドペプチドを含むことができる。ユニ

バーサル配列は、ＰＡＤＲＥペプチドを含むことができる。ユニバーサル配列は、破傷風トキソイド及びＰＡＤＲＥペプチドを含むことができる。］。組成物及び順序付けられた配列は、存在する要素の数を選択することによってさらに定義することができ、例えば、ａ＝０または１である場合、ｂ＝０または１である場合、ｃ＝１である場合、ｄ＝０または１である場合、ｅ＝０または１である場合、ｆ＝１である場合、ｇ＝０または１である場合、ｈ＝０または１である場合、Ｘ＝１～４００であり、Ｙ＝０、１、２、３、４または５であり、Ｚ＝１～４００であり、かつＷ＝０、１、２、３、４または５である。

【０２１４】

１つの例では、存在する要素は、ａ＝０、ｂ＝１、ｄ＝１、ｅ＝１、ｇ＝１、ｈ＝０、Ｘ＝１０、Ｙ＝２、Ｚ＝１、かつＷ＝１であり、さらなるプロモーターが存在しない場合が記述される場合（例えば、ＲＮＡアルファウイルス骨格などのベクター骨格によって与えられるプロモーターヌクレオチド配列のみが存在する）、１０個のＭＨＣクラスＩエピトープが存在し、各Ｎで５’リンカーが存在し、各Ｎで３’リンカーが存在し、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープが存在し、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープを連結するリンカーが存在し、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープの５’末端を最後のＭＨＣクラスＩエピトープの３’リンカーに連結するリンカーが存在し、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープの３’末端をベクター骨格（例えば、ＲＮＡアルファウイルス骨格）に連結するリンカーが存在する。抗原カセットの３’末端の、ベクター骨格（例えば、ＲＮＡアルファウイルス骨格）との連結の例としては、３’の１９ｎｔのＣＳＥのような、ベクター骨格によって与えられる３’ＵＴＲ要素に直接連結することが挙げられる。抗原カセットの５’末端の、ベクター骨格（例えば、ＲＮＡアルファウイルス骨格）との連結の例としては、サブゲノミックプロモーター配列（例えば、２６Ｓサブゲノミックプロモーター配列）、アルファウイルスの５’ＵＴＲ、５１ｎｔのＣＳＥ、または２４ｎｔのＣＳＥなどのベクター骨格のプロモーターまたは５’ＵＴＲエレメントに直接連結することが挙げられる。

【０２１５】

他の例としては、ａ＝１であり、ベクター骨格（例えば、ＲＮＡアルファウイルス骨格）によって与えられるプロモーターヌクレオチド配列以外のプロモーターが存在する場合が記述される場合；ａ＝１かつＺが１よりも大きく、それぞれが１つ以上の異なるＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列の発現をもたらす、ベクター骨格によって与えられるプロモーターヌクレオチド配列以外の複数のプロモーターが存在する場合；ｈ＝１であり、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列の発現をもたらす別のプロモーターが存在することが記述される場合；及び、ｇ＝０であり、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列（存在する場合）がベクター骨格（例えば、ＲＮＡアルファウイルス骨格）に直接連結される場合などが挙げられる。

【０２１６】

他の例としては、存在する各ＭＨＣクラスＩエピトープが、５’リンカーを有する、３’リンカーを有する、どちらも有さない、または両方を有する場合が挙げられる。複数のＭＨＣクラスＩエピトープが同じ抗原カセット内に存在する例では、一部のＭＨＣクラスＩエピトープが５’リンカー及び３’リンカーの両方を有してよく、他のＭＨＣクラスＩエピトープが、５’リンカーまたは３’リンカーを有するか、またはどちらも有さなくてもよい。複数のＭＨＣクラスＩエピトープが同じ抗原カセット内に存在するその他の例では、一部のＭＨＣクラスＩエピトープが５’リンカーまたは３’リンカーのどちらかを有してよく、他のＭＨＣクラスＩエピトープが５’リンカーまたは３’リンカーを有するか、またはどちらも有さなくてもよい。

【０２１７】

複数のＭＨＣクラスＩＩエピトープが同じ抗原カセット内に存在する例では、一部のＭＨＣクラスＩＩエピトープが５’リンカー及び３’リンカーの両方を有してよく、他のＭＨＣクラスＩＩエピトープが５’リンカーまたは３’リンカーを有するか、またはどちらも有さなくてもよい。複数のＭＨＣクラスＩＩエピトープが同じ抗原カセット内に存在するその他の例では、一部のＭＨＣクラスＩＩエピトープが５’リンカーまたは３’リンカーのど

ちらかを有してよく、他のＭＨＣクラスＩＩエピトープが５’リンカーまたは３’リンカーを有するか、またはどちらも有さなくてもよい。

【０２１８】

他の例としては、存在する各抗原が、５’リンカーを有する、３’リンカーを有する、どちらも有さない、または両方を有する場合が挙げられる。複数の抗原が同じ抗原カセット内に存在する例では、一部の抗原が５’リンカー及び３’リンカーの両方を有してよく、他の抗原が、５’リンカーまたは３’リンカーを有するか、またはどちらも有さなくてもよい。複数の抗原が同じ抗原カセット内に存在するその他の例では、一部の抗原が５’リンカーまたは３’リンカーのどちらかを有してよく、他の抗原が５’リンカーまたは３’リンカーを有するか、またはどちらも有さなくてもよい。

【０２１９】

プロモーターヌクレオチド配列Ｐ及び／またはＰ２は、ＲＮＡアルファウイルス骨格などのベクター骨格によって与えられるプロモーターヌクレオチド配列と同じであってよい。例えば、ベクター骨格によって与えられるプロモーター配列であるＰｎ及びＰ２が、それぞれサブゲノミックプロモーター配列（例えば、２６Ｓサブゲノミックプロモーター配列）またはＣＭＶプロモーターを含むことができる。プロモーターヌクレオチド配列Ｐ及び／またはＰ２は、ベクター骨格（例えば、ＲＮＡアルファウイルス骨格）によって与えられるプロモーターヌクレオチド配列と異なっていてもよく、また、互いと異なっていてもよい。

【０２２０】

５’リンカーＬ５は、天然配列または非天然配列であってよい。非天然配列としては、これらに限定されるものではないが、ＡＡＹ、ＲＲ、及びＤＰＰが挙げられる。３’リンカーＬ３もまた、天然配列または非天然配列であってよい。さらに、Ｌ５及びＬ３は、いずれも天然配列であってよく、いずれも非天然配列であってよく、または一方が天然で他方が非天然であってもよい。各Ｘについて、アミノ酸リンカーは、アミノ酸２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個、２２個、２３個、２４個、２５個、２６個、２７個、２８個、２９個、３０個、３１個、３２個、３３個、３４個、３５個、３６個、３７個、３８個、３９個、４０個、４１個、４２個、４３個、４４個、４５個、４６個、４７個、４８個、４９個、５０個、５１個、５２個、５３個、５４個、５５個、５６個、５７個、５８個、５９個、６０個、６１個、６２個、６３個、６４個、６５個、６６個、６７個、６８個、６９個、７０個、７１個、７２個、７３個、７４個、７５個、７６個、７７個、７８個、７９個、８０個、８１個、８２個、８３個、８４個、８５個、８６個、８７個、８８個、８９個、９０個、９１個、９２個、９３個、９４個、９５個、９６個、９７個、９８個、９９個、１００個、またはそれ以上の長さであってよい。各Ｘについて、アミノ酸リンカーはまた、アミノ酸が少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、少なくとも２０個、少なくとも２１個、少なくとも２２個、少なくとも２３個、少なくとも２４個、少なくとも２５個、少なくとも２６個、少なくとも２７個、少なくとも２８個、少なくとも２９個、または少なくとも３０個の長さであってもよい。

【０２２１】

各Ｙについて、アミノ酸リンカーＧ５は、アミノ酸２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個、２２個、２３個、２４個、２５個、２６個、２７個、２８個、２９個、３０個、３１個、３２個、３３個、３４個、３５個、３６個、３７個、３８個、３９個、４０個、４１個、４２個、４３個、４４個、４５個、４６個、４７個、４８個、４９個、５０個、５１個、５２個、５３個、５４個、５５個、５６個、５７個、

５８個、５９個、６０個、６１個、６２個、６３個、６４個、６５個、６６個、６７個、６８個、６９個、７０個、７１個、７２個、７３個、７４個、７５個、７６個、７７個、７８個、７９個、８０個、８１個、８２個、８３個、８４個、８５個、８６個、８７個、８８個、８９個、９０個、９１個、９２個、９３個、９４個、９５個、９６個、９７個、９８個、９９個、１００個、またはそれ以上の長さであってよい。各Ｙについて、アミノ酸リンカーはまた、アミノ酸が少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、少なくとも２０個、少なくとも２１個、少なくとも２２個、少なくとも２３個、少なくとも２４個、少なくとも２５個、少なくとも２６個、少なくとも２７個、少なくとも２８個、少なくとも２９個、または少なくとも３０個の長さであってもよい。

【０２２２】

アミノ酸リンカーＧ３は、アミノ酸２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個、２２個、２３個、２４個、２５個、２６個、２７個、２８個、２９個、３０個、３１個、３２個、３３個、３４個、３５個、３６個、３７個、３８個、３９個、４０個、４１個、４２個、４３個、４４個、４５個、４６個、４７個、４８個、４９個、５０個、５１個、５２個、５３個、５４個、５５個、５６個、５７個、５８個、５９個、６０個、６１個、６２個、６３個、６４個、６５個、６６個、６７個、６８個、６９個、７０個、７１個、７２個、７３個、７４個、７５個、７６個、７７個、７８個、７９個、８０個、８１個、８２個、８３個、８４個、８５個、８６個、８７個、８８個、８９個、９０個、９１個、９２個、９３個、９４個、９５個、９６個、９７個、９８個、９９個、１００個、またはそれ以上の長さであってよい。Ｇ３はまた、アミノ酸が少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、少なくとも２０個、少なくとも２１個、少なくとも２２個、少なくとも２３個、少なくとも２４個、少なくとも２５個、少なくとも２６個、少なくとも２７個、少なくとも２８個、少なくとも２９個、または少なくとも３０個の長さであってもよい。

【０２２３】

各Ｘについて、各Ｎは、ＭＨＣクラスＩエピトープ、ＭＨＣクラスＩＩエピトープ、Ｂ細胞応答を刺激することができるエピトープ／抗原、またはこれらの組み合わせをコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、ＭＨＣクラスＩエピトープ、ＭＨＣクラスＩＩエピトープ、及びＢ細胞応答を刺激することができるエピトープ／抗原の組み合わせをコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、ＭＨＣクラスＩエピトープとＭＨＣクラスＩＩエピトープとの組み合わせをコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、ＭＨＣクラスＩエピトープとＢ細胞応答を刺激することができるエピトープ／抗原との組み合わせをコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、ＭＨＣクラスＩＩエピトープとＢ細胞応答を刺激することができるエピトープ／抗原との組み合わせをコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、ＭＨＣクラスＩＩエピトープをコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、Ｂ細胞応答を刺激することができるエピトープ／抗原をコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、アミノ酸７～１５個の長さのＭＨＣクラスＩエピトープをコードすることができる。各Ｘについて、各Ｎは、アミノ酸５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個、２２個、２３個、２４個、２５個、２６個、２７個、２８個、２９個、または３０個の長さのＭＨＣクラスＩエピトープをコードしてもよい。各Ｘについて、各Ｎはまた、アミノ酸が少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくと

も１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、少なくとも２０個、少なくとも２１個、少なくとも２２個、少なくとも２３個、少なくとも２４個、少なくとも２５個、少なくとも２６個、少なくとも２７個、少なくとも２８個、少なくとも２９個、または少なくとも３０個の長さのＭＨＣクラスＩエピトープをコードしてもよい。

【０２２４】

１つ以上の抗原をコードするカセットは、７００ヌクレオチド以下であってよい。１つ以上の抗原をコードするカセットは、７００ヌクレオチド以下であってよく、２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる（例えば、免疫原性ポリペプチドをコードする２個の異なる感染症または腫瘍由来核酸配列をコードする）。１つ以上の抗原をコードするカセットは、７００ヌクレオチド以下であってよく、少なくとも２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、７００ヌクレオチド以下であってよく、３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、７００ヌクレオチド以下であってよく、少なくとも３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、７００ヌクレオチド以下であってよく、１～１０個、１～５個、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個、またはそれよりも多い抗原を含むことができる。

【０２２５】

１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～７００ヌクレオチドの長さであってよい。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～７００ヌクレオチドの長さであってよく、２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる（例えば、免疫原性ポリペプチドをコードする２個の異なる感染症または腫瘍由来の核酸配列をコードする）。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～７００ヌクレオチドの長さであってよく、少なくとも２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～７００ヌクレオチドの長さであってよく、３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～７００ヌクレオチドの長さであってよく、少なくとも３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～７００ヌクレオチドの長さであってよく、１～１０個、１～５個、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個、またはそれよりも多い抗原を含むことができる。

【０２２６】

１つ以上の抗原をコードするカセットは、６００、５００、４００、３００、２００、または１００ヌクレオチド以下の長さであってよい。１つ以上の抗原をコードするカセットは、６００、５００、４００、３００、２００、または１００ヌクレオチド以下の長さであってよく、２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、６００、５００、４００、３００、２００、または１００ヌクレオチド以下の長さであってよく、少なくとも２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、６００、５００、４００、３００、２００、または１００ヌクレオチド以下の長さであってよく、３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、６００、５００、４００、３００、２００、または１００ヌクレオチド以下の長さであってよく、少なくとも３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、６００、５００、４００、３００、２００、または１００ヌクレオチド以下の長さであってよく、１～１０個、１～５個、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個、またはそれよりも多い抗原を含むことができる。

【０２２７】

１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～６００、３７５～５００、または３７５～４００ヌクレオチドの長さであってよい。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～６００、３７５～５００、または３７５～４００ヌクレオチドの長さであってよく、２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～６００、３７５～５００、または３７５～４００ヌクレオチドの長さであってよく、少なくとも２個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～６００、３７５～５００、または３７５～４００ヌクレオチドの長さであってよく、３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～６００、３７５～５００、または３７５～４００ヌクレオチドの長さであってよく、少なくとも３個の異なるエピトープコード核酸配列をコードすることができる。１つ以上の抗原をコードするカセットは、３７５～６００、３７５～５００、または３７５～４００ヌクレオチドの長さであってよく、１～１０個、１～５個、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個、またはそれよりも多い抗原を含むことができる。

【０２２８】

場合によって、さらなる抗原及び／またはエピトープをコードするカセット内の抗原またはエピトープは、コードされた他のエピトープに対して免疫優性なエピトープであってよい。一般的に、免疫優性とは、１個または数個のみの特定の免疫原性ペプチドに対する免疫応答の偏りである。免疫優性は、免疫モニタリングのプロトコールの一環として評価することができる。例えば、免疫優性は、コードされた抗原に対するＴ細胞及び／またはＢ細胞応答を評価することにより評価することができる。

【０２２９】

免疫優性は、免疫優性抗原の存在が、１つ以上の他の抗原に対する免疫応答に与える影響として評価することができる。例えば、免疫優性抗原及びその対応する免疫応答（例えば、免疫優性ＭＨＣクラスＩエピトープ）は、別の抗原の免疫応答を、免疫優性抗原の非存在下での免疫応答と比較して減少させ得る。この減少は、免疫優性抗原の存在下での免疫応答が治療的に有効な応答とみなされないようなものでありうる。例えば、ＭＨＣクラスＩエピトープは、他の抗原に対するＴ細胞応答が、免疫優性なＭＨＣクラスＩエピトープの非存在下で誘導される応答と比較して治療的に有効な応答とはみなされなくなった場合に一般的に免疫優性とみなされる。免疫応答は、免疫優性抗原の非存在下での応答と比較して検出限界未満または検出限界近くまで減少されてもよい。例えば、ＭＨＣクラスＩエピトープは、他の抗原に対するＴ細胞応答が、免疫優性なＭＨＣクラスＩエピトープの非存在下で誘導される応答と比較して検出限界以下である場合に一般的に免疫優性とみなされる。一般的に、免疫優性の評価は、それぞれ各エピトープを提示することが分かっているかまたは予測されている同種ＭＨＣアレルを保有する対象に投与されるワクチン組成物中の、どちらも免疫応答を刺激することができる２つの抗原間、例えば、２つのＴ細胞エピトープ間で行われる。免疫優性は、疑われる免疫優性抗原の存在下及び非存在下での他の抗原に対する相対免疫優性により評価することができる。

【０２３０】

免疫優性は、２つ以上の抗原間の免疫応答の相対差として評価することができる。免疫優性は、同じカセット内にコードされた別の抗原に対して、５倍、１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、または５０倍の特定の抗原の免疫応答を指し得る。免疫優性は、同じカセット内にコードされた別の抗原に対して、１００倍、２００倍、３００倍、４００倍、または５００倍の特定の抗原の免疫応答を指し得る。免疫優性は、同じカセット内にコードされた別の抗原に対して、１００倍、２００倍、３００倍、４００倍、または５００倍の特定の抗原の免疫応答を指し得る。免疫優性は、同じカセット内にコードされた別の抗原に対して、１０，０００倍の特定の抗原の免疫応答を指し得る。

【０２３１】

場合によっては、免疫優性なエピトープを含むワクチン組成物は避けることが望ましい場合もある。例えば、免疫優性なエピトープをコードしたワクチンカセットの設計は避け

ることが望ましい場合もある。理論に束縛されることを望むものではないが、免疫優性なエピトープをさらなるエピトープと一緒に投与及び／またはコードすると、さらなるエピトープに対する免疫応答が低下する場合があり、さらなるエピトープに対するワクチン有効性が最終的に低下する可能性がある。例示的な非限定例として、ＴＰ５３関連ネオエピトープを含むワクチン組成物は、ワクチン組成物中の他の抗原またはエピトープ（例えば、配列番号７５～８２に示されるＫＲＡＳ関連ＭＨＣクラスＩネオエピトープのいずれかなどのワクチン組成物中の１つ以上のＫＲＡＳ関連ネオエピトープ）に負の影響を及ぼすようにＴＰ５３関連ネオエピトープの方向に偏った（例えば、免疫応答が治療的に有効な応答でなくなるところまで、及び／または検出限界未満まで免疫応答を低下させる）免疫応答、例えばＴ細胞応答を有し得る。したがって、ワクチン組成物を、免疫優性なエピトープをコードしないワクチンカセット（例えば、（新生）抗原コードカセット）を設計するなど、免疫優性なエピトープを含まないように設計することができる。例えば、カセットは、免疫優性なＭＨＣクラスＩエピトープの非存在下で他のエピトープが投与された場合の免疫応答と比較して、ワクチン組成物中で対象に投与された場合にカセット内にコードされた別のエピトープに対する免疫応答を低下させるエピトープをコードしない。別の例では、カセットは、免疫優性なＭＨＣクラスＩエピトープの非存在下で他のエピトープが投与された場合の免疫応答と比較して、ワクチン組成物中で対象に投与された場合にカセット内にコードされた別のエピトープに対する免疫応答を検出限界未満まで低下させるエピトープをコードしない。別の例では、カセットは、免疫優性なＭＨＣクラスＩエピトープの非存在下で他のエピトープが投与された場合の免疫応答と比較して、ワクチン組成物中で対象に投与された場合にカセット内にコードされた別のエピトープに対する免疫応答を、免疫応答が治療的に有効でなくなるところまで低下させるエピトープをコードしない。別の例では、カセットは、各抗原が対象の免疫応答を刺激することができる場合にワクチン組成物中で対象に投与される同じカセット内にコードされた別のエピトープに対して５倍、１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、または５０倍、またはそれ以上高い免疫応答を刺激するエピトープをコードしない。別の例では、カセットは、各抗原が対象の免疫応答を刺激することができる場合にワクチン組成物中で対象に投与される同じカセット内にコードされた別のエピトープに対して１００倍、２００倍、３００倍、４００倍、または５００倍、またはそれ以上高い免疫応答を刺激するエピトープをコードしない。別の例では、カセットは、各抗原が対象の免疫応答を刺激することができる場合にワクチン組成物中で対象に投与される同じカセット内にコードされた別のエピトープに対して１０００倍、２０００倍、３０００倍、４０００倍、または５０００倍、またはそれ以上高い免疫応答を刺激するエピトープをコードしない。別の例では、カセットは、各抗原が対象の免疫応答を刺激することができる場合にワクチン組成物中で対象に投与される同じカセット内にコードされた別のエピトープに対して１０，０００倍、またはそれ以上高い免疫応答をもたらすエピトープをコードしない。

【０２３２】

Ｖ．Ｂ．免疫調節因子

本明細書に記載されるベクター、例えば本明細書に記載されるＣ６８ベクター、または本明細書に記載されるアルファウイルスベクターは少なくとも１つの抗原をコードする核酸を含むことができ、また、同じまたは別のベクターが、少なくとも１つの免疫調節因子をコードする核酸を含むことができる。免疫調節因子は、免疫チェックポイント分子に結合してその活性を遮断する結合分子（例えばｓｃＦｖなどの抗体）を含むことができる。免疫調節因子は、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１２（ＩＬ－１２　ｐ３５、ｐ４０、ｐ７０、及び／またはｐ７０融合コンストラクトを含む）、ＩＬ－１５、またはＩＬ－２１などのサイトカインを含むことができる。免疫調節因子は、修飾サイトカイン（例えば、ｐｅｇＩＬ－２）を含むことができる。ベクターは、抗原カセットと、免疫調節因子をコードする１つ以上の核酸分子とを含むことができる。

【０２３３】

遮断または阻害するための標的となりうる例示的な免疫チェックポイント分子としては

、これらに限定されるものではないが、ＣＴＬＡ－４、４－１ＢＢ　（ＣＤ１３７）、４－１ＢＢＬ　（ＣＤ１３７Ｌ）、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、ＰＤ１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＨＶＥＭ、ＴＩＭ３、ＧＡＬ９、ＬＡＧ３、ＴＩＭ３、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、ＶＩＳＴＡ、ＫＩＲ、２Ｂ４（ＣＤ２ファミリーの分子に属し、すべてのＮＫ（γδ）及びメモリーＣＤ８＋（αβ）Ｔ細胞で発現する）、ＣＤ１６０（ＢＹ５５とも呼ばれる）、及びＣＧＥＮ－１５０４９が挙げられる。免疫チェックポイント阻害剤には、ＣＴＬＡ－４、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、ＰＤ１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＨＶＥＭ、ＴＩＭ３、ＧＡＬ９、ＬＡＧ３、ＴＩＭ３、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、ＶＩＳＴＡ、ＫＩＲ、２Ｂ４、ＣＤ１６０、及びＣＧＥＮ－１５０４９の１つ以上に結合してその活性を遮断または阻害する抗体、またはその抗原結合フラグメント、または他の結合タンパク質が挙げられる。例示的な免疫チェックポイント阻害剤としては、トレメリムマブ（ＣＴＬＡ－４遮断抗体）、抗ＯＸ４０、ＰＤ－Ｌ１モノクローナル抗体（抗Ｂ７－Ｈ１；ＭＥＤＩ４７３６）、イピリムマブ、ＭＫ－３４７５（ＰＤ－１ｂｌｏｃｋｅｒ）、ニボルマブ（抗ＰＤ１抗体）、セミプリマブ（抗ＰＤ１抗体）、ＣＴ－０１１（抗ＰＤ１抗体）、ＢＹ５５モノクローナル抗体、ＡＭＰ２２４（抗ＰＤＬ１抗体）、ＢＭＳ－９３６５５９（抗ＰＤＬ１抗体）、ＭＰＬＤＬ３２８０Ａ／アテゾリズマブ（抗ＰＤＬ１抗体）、ＭＳＢ００１０７１８Ｃ（抗ＰＤＬ１抗体）、及びヤーボイ／イピリムマブ（抗ＣＴＬＡ－４チェックポイント阻害剤）が挙げられる。抗体をコードする配列は、当該技術分野における通常の技能を用いてベクターに操作により組み込むことができる。例示的な方法の１つが、あらゆる目的で参照により本明細書に援用する、Ｆａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｔａｂｌｅ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ａｔ　ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　ｌｅｖｅｌｓ　ｕｓｉｎｇ　ｔｈｅ　２Ａ　ｐｅｐｔｉｄｅ．　Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２００５　Ｍａｙ；２３（５）：５８４－９０．Ｅｐｕｂ　２００５　Ａｐｒ　１７に記載されている。

【０２３４】

Ｖ．Ｃ．ワクチン設計及び製造のさらなる考慮事項

Ｖ．Ｃ．１すべての腫瘍サブクローンをカバーするペプチドのセットの決定

すべてまたは大部分の腫瘍サブクローンによって提示されるペプチドを意味する躯幹ペプチド（ｔｒｕｎｃａｌ　ｐｅｐｔｉｄｅ）を、ワクチンに含めるために優先順位付けすることができる。[53]任意で、高確率で提示され、免疫原性であると予測される躯幹ペプチドが存在しない場合、または高確率で提示され、免疫原性であると予測される躯幹ペプチドの数が、さらなる非躯幹ペプチドをワクチンに含めることができるだけ充分に小さい場合、ワクチンによって包含される腫瘍サブクローンの数が最大となるように腫瘍サブクローンの数及び種類を推定し、ペプチドを選択することによってさらなるペプチドを順位付けすることができる。[54]

【０２３５】

Ｖ．Ｃ．２．抗原の優先順位決定

上記の抗原フィルターのすべてが適用された後、ワクチン技術が対応できるよりも多くの候補抗原が、ワクチン包含になおも利用可能である可能性がある。追加的に、抗原解析の種々の態様についての不確定度が残っている可能性があり、候補ワクチン抗原の様々な性状の間にトレードオフが存在する可能性がある。したがって、選択プロセスの各段階でのあらかじめ決定されたフィルターの代わりに、少なくとも以下の軸を有する空間に候補抗原を置き、積分アプローチを用いて選択を最適化する、積分多次元モデルを考えることができる。

１．自己免疫または寛容のリスク（生殖細胞系列のリスク）（より低い自己免疫のリスクが、典型的に好ましい）

２．シークエンシングアーチファクトの確率（より低いアーチファクトの確率が、典型的に好ましい）

３．免疫原性の確率（より高い免疫原性の確率が、典型的に好ましい）

４．提示の確率（より高い提示の確率が、典型的に好ましい）

５．遺伝子発現（より高い発現が、典型的に好ましい）
６．ＨＬＡ遺伝子のカバレッジ（抗原のセットの提示に関与する、より多い数のＨＬＡ分子は、腫瘍が、ＨＬＡ分子の下方制御または変異を介して免疫攻撃を回避するであろう確率を低くする可能性がある）
７．ＨＬＡクラスのカバレッジ（ＨＬＡ－Ｉ及びＨＬＡ－ＩＩの両方をカバーすることで、治療応答の確率が高まり、腫瘍の回避の確率が低くなる可能性がある）
【０２３６】
さらに、場合によっては、抗原が、患者の腫瘍のすべてまたは一部において喪失するかまたは不活性化されたＨＬＡアレルによって提示されることが予想される場合には、抗原のワクチン接種における優先順位を下げる（例えば除外）することができる。ＨＬＡアレルの喪失は、体細胞変異、ヘテロ接合性の喪失、または遺伝子座のホモ接合欠失のいずれかによって生じうる。ＨＬＡアレルの体細胞変異の検出方法は当該技術分野では周知のものである（例えば、Ｓｈｕｋｌａ ｅｔ ａｌ．，２０１５）。体細胞ＬＯＨ及びホモ接合欠失（ＨＬＡ遺伝子座を含む）の検出方法についても同様に述べられている（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，２０１２；ＭｃＧｒａｎａｈａｎ ｅｔ ａｌ．，２０１７；Ｖａｎ Ｌｏｏ ｅｔ ａｌ．，２０１０）。抗原は、質量分析データが、予測された抗原が予測されたＨＬＡアレルによって提示されないことを示す場合には優先順位付けを外してもよい。
【０２３７】
Ｖ．Ｄ．アルファウイルス
Ｖ．Ｄ．１．アルファウイルスの生物学
アルファウイルスは、トガウイルス科のメンバーであり、一本鎖プラス鎖ＲＮＡウイルスである。メンバーは、一般的に、シンドビス、ロスリバー、マヤロ、チクングニア、及びセムリキ森林ウイルスなどの旧世界型、または、東部ウマ脳炎ウイルス、アウラ、フォートモルガン、もしくはベネズエラウマ脳炎ウイルス及びその誘導株ＴＣ－８３などの新世界型に分類される（Ｓｔｒａｕｓｓ Ｍｉｃｒｏｂｉａｌ Ｒｅｖｉｅｗ １９９４）。天然のアルファウイルスゲノムは、通常、長さ約１２ｋｂであり、その最初の２／３は、ウイルスゲノムを自己複製するためのＲＮＡ複製複合体を形成する非構造タンパク質（ｎｓＰ）をコードする遺伝子を含んでおり、最後の１／３は、ビリオンを産生するための構造タンパク質をコードするサブゲノム発現カセットを含んでいる（Ｆｒｏｌｏｖ ＲＮＡ ２００１）。
【０２３８】
アルファウイルスのモデル生活環は、複数の異なるステップを含む（Ｓｔｒａｕｓｓ Ｍｉｃｒｏｂｉａｌ Ｒｅｖｉｅｗ １９９４，Ｊｏｓｅ Ｆｕｔｕｒｅ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ ２００９）。宿主細胞にウイルスが吸着した後、ビリオンが細胞内区画内の膜と融合し、最終的にゲノムＲＮＡをサイトゾル中に放出する。プラス鎖の向きを有し、５’末端のメチルグアニル酸キャップ及び３’末端のポリＡテールを有するゲノムＲＮＡは、翻訳されて非構造タンパク質ｎｓＰ１－４を生成し、これが複製複合体を形成する。感染初期には、プラス鎖はこの複合体によってマイナス鎖の鋳型に複製される。現在のモデルでは、複製複合体は感染が進行するにつれてさらにプロセシングされ、生じたプロセス後の複合体はマイナス鎖の完全長プラス鎖ゲノムＲＮＡ及び構造遺伝子を含む２６Ｓのサブゲノムプラス鎖ＲＮＡへの転写に切り替わる。アルファウイルスのいくつかの保存配列エレメント（ＣＳＥ）が、マイナス鎖鋳型からのプラス鎖ＲＮＡの複製における５’ＵＴＲの相補体、ゲノム鋳型からのマイナス鎖合成の複製における５１ｎｔのＣＳＥ、マイナス鎖からのサブゲノムＲＮＡの転写におけるｎｓＰと２６Ｓ ＲＮＡとのジャンクション領域内の２４ｎｔのＣＳＥ、及び、プラス鎖鋳型からのマイナス鎖合成における３’末端の１９ｎｔのＣＳＥを含む様々なＲＮＡ合成ステップにおいて潜在的に一定の役割を担っているものとして同定されている。
【０２３９】
ウイルスの自然の生活環では、異なるＲＮＡ種の複製後、ウイルス粒子が通常、アセン

ブルされる。２６Ｓ　ＲＮＡは翻訳され、生じたタンパク質はさらにプロセシングされて、カプシドタンパク質、糖タンパク質Ｅ１及びＥ２、ならびに２種類の小ポリペプチドＥ３及び６Ｋを含む構造タンパク質を生成する（Ｓｔｒａｕｓｓ　１９９４）。ウイルス粒子のカプシド形成が生じ、通常はゲノムＲＮＡのみに特異的なカプシドタンパク質がパッケージングされた後、ビリオンがアセンブルされ、膜表面に出芽する。

【０２４０】

Ｖ．Ｄ．２．送達ベクターとしてのアルファウイルス

アルファウイルス（アルファウイルス配列、特徴、及び、他の要素）を使用してアルファウイルスベースの送達ベクター（アルファウイルスベクター、アルファウイルスウイルスベクター、アルファウイルスワクチンベクター、自己複製ＲＮＡ（ｓｒＲＮＡ）ベクター、または自己増幅ｍＲＮＡ（ＳＡＭ）ベクターもしくはｓａｍＲＮＡベクターとも称される）を作製することができる。アルファウイルスは、発現ベクター系として使用するために従来、遺伝子操作がなされている（Ｐｕｓｈｋｏ　１９９７，Ｒｈｅｍｅ　２００４）。アルファウイルスは、異種抗原の発現が望ましい場合があるワクチン設定においていくつかの長所を有する。アルファウイルスは、宿主のサイトゾル中で自己複製するその能力のため、細胞内の発現カセットの高いコピー数を一般的に得ることができることから、高いレベルの異種抗原の産生を実現することができる。さらに、ベクターは一般的に一過性であるため、バイオセーフティーが高く、ベクターに対する免疫寛容の誘導は低い。また、一般公衆は、一般的にヒトアデノウイルスのような他の標準的ウイルスベクターと比較してアルファウイルスに対する既存の免疫を有していない。アルファウイルスに基づくベクターはまた、感染細胞に対する細胞傷害性反応を一般的に生じる。細胞傷害性は、発現された異種抗原に対する免疫応答を適性に刺激するためにワクチン設定においてある程度の重要性を有しうる。しかしながら、所望の細胞傷害性の程度はバランスの問題であり、そのため、ＶＥＥのＴＣ－８３株をはじめとするいくつかの弱毒化されたアルファウイルスが開発されている。したがって、本明細書に記載される抗原発現ベクターの一例では、高いレベルの抗原発現を可能とし、抗原に対する強い免疫応答を刺激し、ベクター自体に対する免疫応答は刺激せず、安全に使用することができるアルファウイルス骨格を用いることができる。さらに、抗原発現カセットは、ベクターが、ＶＥＥまたはその弱毒化誘導株ＴＣ－８３に由来する配列を含む（ただしこれらに限定されない）どのアルファウイルス配列を用いるかを最適化することを通じて異なるレベルの免疫応答を刺激するように設計することができる。

【０２４１】

アルファウイルス配列を用いたいくつかの発現ベクターの設計戦略が開発されている（Ｐｕｓｈｋｏ　１９９７）。１つの戦略では、アルファウイルスベクターの設計は、構造タンパク質遺伝子の下流に２６Ｓプロモーター配列因子の第２のコピーを挿入した後、異種遺伝子を挿入することを含む（Ｆｒｏｌｏｖ　１９９３）。これにより、天然の非構造及び構造タンパク質以外に、さらなる異種タンパク質を発現するサブゲノムＲＮＡが産生される。このシステムでは、感染性ビリオンを産生するためのすべての因子が存在し、したがって、非感染細胞において発現ベクターの繰り返しの感染のラウンドが行われうる。

【０２４２】

別の発現ベクターの設計では、ヘルパーウイルスシステムを利用する（Ｐｕｓｈｋｏ　１９９７）。この戦略では、構造タンパク質は異種遺伝子によって置換される。したがって、依然としてインタクトな非構造遺伝子によって媒介されるウイルスＲＮＡの自己複製の後、２６Ｓサブゲノムが異種タンパク質の発現をもたらす。従来、構造タンパク質を発現するさらなるベクターが、例えば、細胞株の同時トランスフェクションなどによってイン・トランスで与えられることで感染性ウイルスを生じる。１つのシステムが米国特許第８，０９３，０２１号に記載されており、当該特許の全容をあらゆる目的で参照によって本明細書に援用する。ヘルパーベクターシステムは、感染性粒子を形成する可能性を制限するという長所をもたらし、したがってバイオセーフティーを改善する。さらに、ヘルパーベクターシステムは、全ベクター長を短縮し、複製及び発現の効率を改善する可

能性がある。したがって、本明細書に記載される抗原発現ベクターの一例では、構造タンパク質が抗原カセットで置換されたアルファウイルス骨格を用いることができ、得られるベクターはバイオセーフティーの問題が低減されるのと同時に全体的な発現ベクターのサイズの減少により、効率的な発現を促進する。

【０２４３】

Ｖ．Ｄ．３．インビトロでのアルファウイルスの生成

アルファウイルス送達ベクターは一般的に、プラスセンスＲＮＡポリヌクレオチドである。ＲＮＡ生成のための当該技術分野では周知の従来の方法として、インビトロ翻訳（ＩＶＴ）がある。この方法では、所望のベクターのＤＮＡ鋳型が、クローニング、制限消化、ライゲーション、遺伝子合成（例えば、化学的及び／または酵素的合成）、及びポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）などの標準的な分子生物学的方法を含む当該技術分野では周知の方法によって最初に生成される。このＤＮＡ鋳型は、ＲＮＡに転写されることが望ましい配列の５’末端にＲＮＡポリメラーゼのプロモーターを有している。プロモーターとしては、これらに限定されるものではないが、Ｔ３、Ｔ７、またはＳＰ６などのバクテリオファージポリメラーゼのプロモーターが挙げられる。次に、ＤＮＡ鋳型は、適当なＲＮＡポリメラーゼ酵素、バッファー剤、及びヌクレオチド（ＮＴＰ）とインキュベートされる。得られたＲＮＡポリヌクレオチドは、７－メチルグアノシンまたは関連する構造などの５’キャップ構造の付加、及びポリアデニル化（ポリＡ）テールを有するように３’末端を任意で改変することを含む（ただしこれらに限定されない）方法によって、任意でさらに改変することができる。次に、ＲＮＡをフェノールクロロホルム抽出またはカラム精製（例えば、クロマトグラフィーベースの精製）などの当該技術分野では周知の方法を用いて精製することができる。

【０２４４】

Ｖ．Ｄ．４．脂質ナノ粒子による送達

ワクチンベクターの設計において考慮すべき重要な側面の１つとして、ベクター自体に対する免疫がある（Ｒｉｌｅｙ　２０１７）。これは、例えば特定のヒトアデノウイルス系などのベクター自体に対する既存の免疫の形である場合もあり、またはワクチンの投与後に生じるベクターに対する免疫の形である場合もある。後者は、例えば別々のプライミング及びブースター投与のように同じワクチンの複数回の投与が行われる場合、または異なる抗原カセットを送達するために同じワクチンベクターシステムが用いられるような場合に重要な考慮事項となる。

【０２４５】

アルファウイルスベクターの場合では、標準的な送達方法は、カプシド、Ｅ１、及びＥ２タンパク質をイン・トランスで与えることによって感染性のウイルス粒子を生じる上記に述べたヘルパーウイルスシステムである。しかしながら、Ｅ１及びＥ２タンパク質は、しばしば中和抗体の主要な標的である点に留意することが重要である（Ｓｔｒａｕｓｓ　１９９４）。したがって、対象とする抗原を標的細胞に送達するためにアルファウイルスベクターを使用することの有効性は、感染性粒子が中和抗体の標的とされる場合に低下する可能性がある。

【０２４６】

ウイルス粒子を媒介とした遺伝子送達の代替的手法として、ナノ粒子を用いた発現ベクターの送達がある（Ｒｉｌｅｙ　２０１７）。重要な点として、ナノ材料担体は、非免疫原性材料で形成することができ、送達ベクター自体に対する免疫の誘導を一般的に回避することができる。これらの材料としては、これらに限定されるものではないが、脂質、無機ナノ材料、及び他のポリマー材料を挙げることができる。脂質は、カチオン性、アニオン性、または中性であってよい。かかる材料は、合成または天然由来のものであってよく、特定の例では生分解性であってよい。脂質は、脂肪、コレステロール、リン脂質、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）複合体（ＰＥＧ化脂質）を含む（ただしこれに限定されない）脂質複合体、ワックス、油類、グリセリド、及び脂溶性ビタミンを含みうる。

【０２４７】

脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）は、膜及び小胞状構造の形成を可能とする脂質の両親媒性の性質のために魅力的な送達システムである（Ｒｉｌｅｙ　２０１７）。一般的にこれらの小胞は、標的細胞の膜内に吸収され、サイトゾル中に核酸を放出することによって発現ベクターを送達する。さらに、ＬＮＰは特定の細胞種のターゲティングを促すようにさらに改変または官能化することができる。ＬＮＰの設計における別の考慮事項は、ターゲティングの効率と細胞傷害性との間のバランスである。脂質の組成は一般的に、カチオン性、中性、アニオン性、及び両親媒性脂質の規定の混合物を含む。いくつかの例では、ＬＮＰの凝集を防止するか、脂質の酸化を防止するか、またはさらなる部分の付着を促す化学官能基を与えるために特定の脂質が含まれる。脂質の組成は、全体のＬＮＰのサイズ及び安定性に影響しうる。１つの例では、脂質の組成は、ジリノレイルメチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＭＣ３）またはＭＣ３様分子を含む。ＭＣ３及びＭＣ３様脂質の組成物は、例えばＰＥＧまたはＰＥＧ複合化脂質、ステロール、または中性脂質などの１種類以上の他の脂質を含むように製剤化することができる。

【０２４８】

血清に直接曝露された発現ベクターなどの核酸ベクターは、血清中のヌクレアーゼによる核酸の分解、または遊離核酸による免疫系のオフターゲットの刺激を含むいくつかの望ましくない影響を有しうる。したがって、アルファウイルスベクターの封入を利用して分解を防止する一方で、潜在的なオフターゲット効果も防止することができる。特定の例では、アルファウイルスベクターは、ＬＮＰの水性の内部など、送達担体内に完全に封入される。ＬＮＰ内へのアルファウイルスベクターの封入は、微小流体液滴生成装置で行われる微小流体混合及び液滴生成などの当該技術分野では周知の方法によって実施することができる。かかる装置としては、これらに限定されるものではないが、標準的なＴジャンクション装置またはフローフォーカシング装置が挙げられる。１つの例では、ＭＣ３またはＭＣ３様分子含有組成物などの所望の脂質製剤を、アルファウイルス送達ベクター及び他の所望の物質と並行して液滴生成装置に供給することで、送達ベクター及び所望の物質がＭＣ３またはＭＣ３様分子ベースのＬＮＰの内部に完全に封入される。１つの例では、液滴生成装置は、生成されたＬＮＰの粒径範囲及び粒度分布を制御することができる。例えば、ＬＮＰは、直径１～１０００ｎｍの範囲の粒径、例えば、１、１０、５０、１００、５００、または１０００ｎｍの粒径を有することができる。液滴生成の後、発現ベクターを封入した送達ベクターを、投与に備えてさらに処理または改変することができる。

【０２４９】

Ｖ．Ｅ．チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄ）

Ｖ．Ｅ．１．チンパンジーアデノウイルスによるウイルス送達

（例えば、表Ａ及び／またはＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥ結果に示す１つ以上のネオ抗原、及び／または、表１．２に示す１つ以上の抗原を含む抗原カセットにより）１つ以上の抗原を送達するためのワクチン組成物は、チンパンジー由来のアデノウイルスヌクレオチド配列、各種の新規ベクター、及びチンパンジーアデノウイルス遺伝子を発現する細胞株を与えることにより作出することができる。チンパンジーＣ６８アデノウイルス（本明細書ではＣｈＡｄＶ６８とも呼ぶ）のヌクレオチド配列を、抗原を送達するためのワクチン組成物中に使用することができる（配列番号１を参照）。Ｃ６８アデノウイルス由来ベクターの使用については米国特許第６，０８３，７１６号にさらに詳細に記載されており、当該特許の全容をあらゆる目的で参照によって本明細書に援用する。ＣｈＡｄＶ６８ベースのベクター及び送達システムは、あらゆる目的で本明細書に参照によりそれぞれ援用するところの米国特許出願公開第ＵＳ２０２００１９７５００Ａ１号及び国際特許出願公開第ＷＯ２０２０２４３７１９Ａ１に詳細に記載されている。

【０２５０】

さらなる態様において、本明細書では、Ｃ６８などのチンパンジーアデノウイルスのＤＮＡ配列と、発現を誘導する調節配列に機能的に連結された抗原カセットとを含む組換えアデノウイルスが提供される。この組換えウイルスは、哺乳動物、好ましくはヒトの細胞に感染させることが可能であり、細胞内でネオ抗原カセットの産物を発現することが可能

である。このベクターでは、天然のチンパンジーＥ１遺伝子、及び／またはＥ３遺伝子、及び／またはＥ４遺伝子を欠失させることができる。抗原カセットを、これらの遺伝子欠失部位のいずれに挿入することもできる。抗原カセットは、それに対するプライミングされた免疫応答が望ましい抗原を含むことができる。

【０２５１】

別の態様において、本明細書では、Ｃ６８などのチンパンジーアデノウイルスを感染させた哺乳動物細胞が提供される。

【０２５２】

さらなる別の態様では、チンパンジーアデノウイルス遺伝子（例えばＣ６８由来の）またはその機能的フラグメントを発現する新規な哺乳動物細胞株が提供される。

【０２５３】

いっそうさらなる態様において、本明細書では、哺乳動物細胞内に抗原カセットを送達するための方法であって、細胞内に、抗原カセットを発現するように操作された、有効量のＣ６８などのチンパンジーアデノウイルスを導入する工程を含む方法が提供される。

【０２５４】

さらなる別の態様は、がんを治療するために哺乳動物宿主に免疫応答を刺激する方法を提供する。この方法は、免疫応答が標的とする腫瘍に由来する１種類以上の抗原をコードする抗原カセットを含む、有効量のＣ６８などの組換えチンパンジーアデノウイルスを宿主に投与する工程を含むことができる。

【０２５５】

さらなる別の態様は、哺乳動物宿主に免疫応答を刺激して、対象の疾患を治療または予防するための方法を提供する。この方法は、免疫応答が標的とする疾患に由来する抗原などの１つ以上の抗原をコードする抗原カセットを含む、有効量のＣ６８などの組換えチンパンジーアデノウイルスを宿主に投与する工程を含むことができる。

【０２５６】

さらに、配列番号１の配列から得られるチンパンジーアデノウイルス遺伝子を発現する非サル哺乳動物細胞も開示される。この遺伝子は、配列番号１のアデノウイルスＥ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４及びＬ５からなる群から選択することができる。

【０２５７】

さらに、配列番号１の配列から得られる遺伝子を含むチンパンジーアデノウイルスのＤＮＡ配列を含む核酸分子も開示される。この遺伝子は、配列番号１の前記チンパンジーアデノウイルスＥ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４及びＬ５遺伝子からなる群から選択することができる。いくつかの態様において、核酸分子は、配列番号１を含む。いくつかの態様において、核酸分子は、配列番号１のＥ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４及びＬ５遺伝子からなる群から選択される少なくとも１つの遺伝子が欠失した、配列番号１の配列を含む。

【０２５８】

さらに、配列番号１から得られるチンパンジーアデノウイルスＤＮＡ配列と、異種宿主細胞内でカセットの発現を誘導する１つ以上の調節配列に機能的に連結された抗原カセットとを含むベクターであって、任意で、チンパンジーアデノウイルスＤＮＡ配列が、複製及びカプシド形成に必要とされる少なくともシスエレメントを含み、シスエレメントが抗原カセット及び調節配列に隣接している、ベクターも開示される。いくつかの態様において、チンパンジーアデノウイルスＤＮＡ配列は、配列番号１のＥ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４及びＬ５遺伝子配列から選択される遺伝子を含む。いくつかの態様において、ベクターは、Ｅ１Ａ及び／またはＥ１Ｂ遺伝子を欠失していてもよい。

【０２５９】

本明細書では、欠失または部分欠失Ｅ４ｏｒｆ２領域及び欠失または部分欠失Ｅ４ｏｒｆ３領域、及び任意で、欠失または部分欠失Ｅ４ｏｒｆ４領域を含む、部分欠失Ｅ４遺伝

子を含むアデノウイルスベクターも開示される。部分欠失Ｅ４は、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２のＥ４欠失を含むことができ、ベクターは、配列番号１に記載される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む。部分欠失Ｅ４は、配列番号１に示される配列のヌクレオチド３４，９１６～３４，９４２の少なくとも部分欠失、配列番号１に示される配列のヌクレオチド３４，９５２～３５，３０５の少なくとも部分欠失、及び配列番号１に示される配列のヌクレオチド３５，３０２～３５，６４２の少なくとも部分欠失のＥ４欠失を含むことができ、ベクターは、配列番号１に記載される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む。部分欠失Ｅ４は、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９８０～３６，５１６のＥ４欠失を含むことができ、ベクターは、配列番号１に記載される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む。部分欠失Ｅ４は、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９７９～３５，６４２のＥ４欠失を含むことができ、ベクターは、配列番号１に記載される配列の少なくともヌクレオチド２～３６，５１８を含む。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ２の少なくとも部分欠失、完全欠失したＥ４Ｏｒｆ３、及びＥ４Ｏｒｆ４の少なくとも部分欠失のＥ４欠失を含むことができる。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ２の少なくとも部分欠失、Ｅ４Ｏｒｆ３の少なくとも部分欠失、及びＥ４Ｏｒｆ４の少なくとも部分欠失のＥ４欠失を含むことができる。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ１の少なくとも部分欠失、完全欠失したＥ４Ｏｒｆ２、及びＥ４Ｏｒｆ３の少なくとも部分欠失のＥ４欠失を含むことができる。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ２の少なくとも部分欠失及びＥ４Ｏｒｆ３の少なくとも部分欠失のＥ４欠失を含むことができる。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ１の開始部位からＥ４Ｏｒｆ５の開始部位までのＥ４欠失を含むことができる。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ１の開始部位に隣接したＥ４欠失であってよい。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ２の開始部位に隣接したＥ４欠失であってよい。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ３の開始部位に隣接したＥ４欠失であってよい。部分欠失Ｅ４は、Ｅ４Ｏｒｆ４の開始部位に隣接したＥ４欠失であってよい。Ｅ４欠失は、少なくとも５０、少なくとも１００、少なくとも２００、少なくとも３００、少なくとも４００、少なくとも５００、少なくとも６００、少なくとも７００、少なくとも８００、少なくとも９００、少なくとも１０００、少なくとも１１００、少なくとも１２００、少なくとも１３００、少なくとも１４００、少なくとも１５００、少なくとも１６００、少なくとも１７００、少なくとも１８００、少なくとも１９００、または少なくとも２０００ヌクレオチドであることができる。Ｅ４欠失は、少なくとも７００ヌクレオチドであってよい。Ｅ４欠失は、少なくとも１５００ヌクレオチドであってよい。Ｅ４欠失は、５０以下、１００以下、２００以下、３００以下、４００以下、５００以下、６００以下、７００以下、８００以下、９００以下、１０００以下、１１００以下、１２００以下、１３００以下、１４００以下、１５００以下、１６００以下、１７００以下、１８００以下、１９００以下、または２０００ヌクレオチド以下であってよい。Ｅ４欠失は、７５０ヌクレオチド以下であってよい。Ｅ４欠失は、少なくとも１５５０ヌクレオチドまたはそれ以下であってよい。

【０２６０】

部分欠失Ｅ４遺伝子は、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２を欠く、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列であってよい。部分欠失Ｅ４遺伝子は、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列を欠き、かつ、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９１６～３４，９４２、ヌクレオチド３４，９５２～３５，３０５、及び配列番号１に示される配列のヌクレオチド３５，３０２～３５，６４２を欠く、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列であってよい。部分欠失Ｅ４遺伝子は、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９８０～３６，５１６を欠く、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列であってよい。部分欠失Ｅ４遺伝子は、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９７９～３５，６４２を欠く、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列であってよい。部分欠失Ｅ４遺伝子を有するアデノウイルスベクターは、カセットを含むことができ、カセットは少なくとも１つのペイロード核酸配列を含み、さらにカセットは、少なくとも１つのペイロード核酸配列に機能的に

連結された少なくとも１つのプロモーター配列を含む。部分欠失Ｅ４遺伝子を有するアデノウイルスベクターは、配列番号１に示されるＣｈＡｄＶ６８配列の１つ以上の遺伝子または調節配列を有することができ、任意で、１つ以上の遺伝子または調節配列は、配列番号１に示される配列のチンパンジーアデノウイルス末端逆位反復配列（ＩＴＲ）、Ｅ１Ａ、Ｅ１Ｂ、Ｅ２Ａ、Ｅ２Ｂ、Ｅ３、Ｅ４、Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４、及びＬ５遺伝子のうちの少なくとも１つを含む。部分欠失Ｅ４遺伝子を有するアデノウイルスベクターは配列番号１に示される配列のヌクレオチド２～３４，９１５を有することができ、部分欠失Ｅ４遺伝子は、ヌクレオチド２～３４，９１５の３’末端であり、任意でヌクレオチド２～３４，９１５は、Ｅ１欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド５７７～３４０３をさらに欠き、及び／またはＥ３欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５を欠く。部分欠失Ｅ４遺伝子を有するアデノウイルスベクターは、配列番号１に示されるヌクレオチド３５，６４３～３６，５１８を有することができ、部分欠失Ｅ４遺伝子はヌクレオチド３５，６４３～３６，５１８の５’末端である。部分欠失Ｅ４遺伝子を有するアデノウイルスベクターは配列番号１に示される配列のヌクレオチド２～３４，９１６を有することができ、部分欠失Ｅ４遺伝子は、ヌクレオチド２～３４，９１６の３’末端であり、ヌクレオチド２～３４，９１６は、Ｅ１欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド５７７～３４０３をさらに欠き、かつＥ３欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５を欠く。部分欠失Ｅ４遺伝子を有するアデノウイルスベクターは配列番号１に示される配列のヌクレオチド２～３４，９１５を有することができ、部分欠失Ｅ４遺伝子は、ヌクレオチド２～３４，９１６の３’末端であり、ヌクレオチド２～３４，９１５は、Ｅ１欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド５７７～３４０３をさらに欠き、かつＥ３欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５を欠き、かつ配列番号１に示される配列のヌクレオチド３５，６４３～３６，５１８を有し、部分欠失Ｅ４遺伝子は、ヌクレオチド３５，６４３～３６，５１８の５’末端である。

【０２６１】

部分欠失Ｅ４遺伝子を有するアデノウイルスベクターは、配列番号１に示される配列の少なくともヌクレオチド３４，９１６～３５，６４２、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２～３４，９１５を欠く、配列番号１に示されるＥ４遺伝子配列であってよく、部分欠失Ｅ４遺伝子は、ヌクレオチド２～３４，９１５の３’末端であり、ヌクレオチド２～３４，９１５は、Ｅ１欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド５７７～３４０３をさらに欠き、かつＥ３欠失に相当する、配列番号１に示される配列のヌクレオチド２７，１２５～３１，８２５を欠き、かつ配列番号１に示される配列のヌクレオチド３５，６４３～３６，５１８を有し、部分欠失Ｅ４遺伝子は、ヌクレオチド３５，６４３～３６，５１８の５’末端である。

【０２６２】

さらに、抗原カセットを発現するように操作されたＣ６８ベクターなどの本明細書に開示されるベクターをトランスフェクトした宿主細胞も開示される。さらに、細胞内に本明細書に開示されるベクターを導入することによって細胞内に導入された選択された遺伝子を発現するヒト細胞も開示される。

【０２６３】

さらに、哺乳動物細胞に抗原カセットを送達するための方法であって、前記細胞内に、抗原カセットを発現するように操作された有効量のＣｈＡｄベクターまたは自己複製ＲＮＡベクターなどの本明細書に開示されるベクターを導入することを含む方法も提供される。

【０２６４】

さらに、哺乳動物細胞内に本明細書に開示されるベクターを導入することと、適当な条件下で細胞を培養することと、抗原を産生することと、を含む、抗原を産生するための方法も開示される。

【０２６５】
Ｖ．Ｅ．２．Ｅ１を発現する相補性細胞株
本明細書に記載される遺伝子のいずれかにおいて欠失を有する組換えチンパンジーアデノウイルス（Ａｄ）を作製するため、欠失させた遺伝子領域の機能（ウイルスの複製及び感染性に不可欠である場合）をヘルパーウイルスまたは細胞株（すなわち、相補性またはパッケージング細胞株）によって組換えウイルスに供給することができる。例えば、複製欠損チンパンジーアデノウイルスベクターを作製するには、ヒトまたはチンパンジーアデノウイルスのＥ１遺伝子産物を発現する細胞株を使用することができ、そのような細胞株にはＨＥＫ２９３またはそのバリアントが含まれうる。チンパンジーＥ１遺伝子を発現する細胞株の作製のプロトコール（米国特許第６，０８３，７１６号の実施例３及び４）にしたがって任意の選択されたチンパンジーアデノウイルス遺伝子を発現する細胞株を作製することができる。
【０２６６】
ＡＡＶ強化アッセイを用いてチンパンジーアデノウイルスＥ１発現細胞株を同定することができる。このアッセイは、他の特性評価されていないアデノウイルス（例えば他の種由来）のＥ１遺伝子を使用して作製された細胞株においてＥ１の機能を同定するうえで有用である。このアッセイは米国特許第６，０８３，７１６号の実施例４Ｂに記載されている。
【０２６７】
選択されたチンパンジーアデノウイルス遺伝子（例えばＥ１）は、選択された親細胞株で発現するためのプロモーターの転写制御下にある可能性がある。この目的で誘導性または構成性プロモーターを用いることができる。誘導性プロモーターには、亜鉛によって誘導されるヒツジメタロチオニンプロモーター、または糖質コルチコイド、特にデキサメタゾンによって誘導されるマウス哺乳動物腫瘍ウイルス（ＭＭＴＶ）がある。本明細書に参照により援用するところの国際出願第ＷＯ９５／１３３９２号において特定されるものなどの他の誘導性プロモーターもパッケージング細胞株の作製に使用することができる。チンパンジーアデノウイルス遺伝子の発現を制御する構成性プロモーターも用いることができる。
【０２６８】
任意の所望のＣ６８遺伝子を発現する新規な細胞株を作製するために親細胞を選択することができる。限定されることなく、かかる親細胞株は、ＨｅＬａ［ＡＴＣＣ寄託番号ＣＣＬ２］、Ａ５４９［ＡＴＣＣ寄託番号ＣＣＬ１８５］、ＫＢ［ＣＣＬ１７］、Ｄｅｔｒｏｉｔ［例えばＤｅｔｒｏｉｔ５１０、ＣＣＬ７２］、及びＷＩ－３８［ＣＣＬ７５］細胞であってよい。他の適当な親細胞株を他の供給元から入手することができる。親細胞株としては、ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３またはそのバリアント、９１１、ＨｅＬａ、Ａ５４９、ＬＰ－２９３、ＰＥＲ．Ｃ６、またはＡＥ１－２ａを挙げることができる。
【０２６９】
Ｅ１発現細胞株は、組換えチンパンジーアデノウイルスＥ１欠失ベクターの作製において有用となりうる。１つ以上の他のチンパンジーアデノウイルス遺伝子産物を発現する基本的に同じ手順を用いて構築された細胞株は、これらの産物をコードする遺伝子に欠失を有する組換えチンパンジーアデノウイルスベクターの作製において有用である。さらに、他のヒトＡｄ　Ｅ１遺伝子産物を発現する細胞株も、チンパンジー組換えＡｄを作製するうえで有用である。
【０２７０】
Ｖ．Ｅ．３．ベクターとしての組換えウイルス粒子
本明細書に開示される組成物は、少なくとも１種類の抗原を細胞に送達するウイルスベクターを含むことができる。かかるベクターは、Ｃ６８のようなチンパンジーアデノウイルスＤＮＡ配列と、カセットを直接発現するための調節配列に機能的に連結された抗原カセットとを含む。Ｃ６８ベクターは、感染した哺乳動物細胞内でカセットを発現することが可能である。Ｃ６８ベクターは１つ以上のウイルス遺伝子に機能的欠失を有することが

できる。抗原カセットは、プロモーターなどの１つ以上の調節配列の制御下にある少なくとも１つの抗原を含む。任意選択的なヘルパーウイルス及び／またはパッケージング細胞株によって、チンパンジーウイルスベクターに、欠失させたアデノウイルス遺伝子の任意の必要な産物を供給することができる。

【０２７１】

「機能的に欠失された」という用語は、その遺伝子領域の充分な量が除去または例えば変異もしくは改変により他の形で変化させられていることにより、その遺伝子領域が遺伝子発現の１つ以上の機能的産物を産生できなくなっていることを意味する。機能的欠失につながりうる変異または改変としては、これらに限定されるものではないが、未成熟終止コドンの導入及び基準及び非基準開始コドンの除去のようなナンセンス変異、ｍＲＮＡスプライシングまたは他の転写プロセシングを変化させる変異、またはこれらの組み合わせが挙げられる。必要な場合、遺伝子領域全体を除去することができる。

【０２７２】

配列の欠失、挿入、及び他の変異を含む、本明細書に開示されるベクターを形成する核酸配列の改変は、標準的な分子生物学的手法を用いて生成することができるものであり、本明細書の範囲内である。

【０２７３】

Ｖ．Ｅ．４．ウイルスプラスミドベクターの構築

本発明で有用なチンパンジーアデノウイルスＣ６８ベクターには、組換え欠損アデノウイルス、すなわち、Ｅ１ａまたは Ｅ１ｂ遺伝子に機能的欠失を有し、例えば温度感受性変異または他の遺伝子における欠失などの他の変異を任意で有する、チンパンジーアデノウイルス配列が含まれる。これらのチンパンジー配列は、他のアデノウイルス及び／またはアデノ随伴ウイルス配列からハイブリッドベクターを形成するうえでも有用であると予想される。ヒトアデノウイルスから調製された同種アデノウイルスベクターについては、刊行文献に記載されている［例えば、上記に引用のＫｏｚａｒｓｋｙ　Ｉ及びＩＩ、ならびに同文献に引用された参照文献、米国特許第５，２４０，８４６号を参照］。

【０２７４】

抗原カセットをヒト（または他の哺乳動物）細胞に送達するための有用なチンパンジーアデノウイルスＣ６８ベクターの構築において、広範囲のアデノウイルス核酸配列をベクターに用いることができる。最小のチンパンジーＣ６８アデノウイルス配列を含むベクターをヘルパーウイルスとともに使用して感染性の組換えウイルス粒子を作製することができる。ヘルパーウイルスは、最小のチンパンジーアデノウイルスベクターのウイルス感染性及び増殖に必要な基本的な遺伝子産物を提供する。チンパンジーアデノウイルス遺伝子の１つ以上の選択された欠失のみが、欠失がなければ機能性のウイルスベクターに導入される場合、欠失された遺伝子産物は、欠失された遺伝子機能をイン・トランスで与えるウイルスを選択されたパッケージング細胞株内で増殖させることによるウイルスベクター作製プロセスで供給することができる。

【０２７５】

Ｖ．Ｅ．５．組換え最小アデノウイルス

最小チンパンジーＡｄ　Ｃ６８ウイルスとしては、複製及びビリオンのカプシド形成に必要なアデノウイルスのシスエレメントのみを含むウイルス粒子がある。すなわち、このベクターは、アデノウイルスのシス作用性の５’及び３’の末端逆位繰り返し配列（ＩＴＲ）（複製起点として機能する）と、天然の５’パッケージング／エンハンサードメイン（直鎖状のＡｄのゲノム及びＥ１プロモーターのエンハンサーエレメントをパッケージングするために必要な配列を含む）とを含む。例えば、国際出願第ＷＯ９６／１３５９７号において「最小」ヒトＡｄベクターの調製について述べられ、本明細書に参照によって援用する方法を参照されたい。

【０２７６】

Ｖ．Ｅ．６．他の欠損アデノウイルス

組換え複製不全アデノウイルスは、最小チンパンジーアデノウイルス配列以上のものを

含んでもよい。これらの他のＡｄベクターは、ウイルスの遺伝子領域の異なる部分の欠失、ならびに、必要に応じたヘルパーウイルス及び／またはパッケージング細胞株の使用によって形成される感染性ウイルス粒子によって特徴づけることができる。

【０２７７】

１つの例として、適当なベクターは、Ｃ６８アデノウイルスの最初期遺伝子Ｅ１ａ及び後初期遺伝子Ｅ１ｂの全体または充分な部分を欠失させることにより、それらの正常な生物学的機能を失わせることによって形成することができる。複製不全Ｅ１欠失ウイルスは、対応する遺伝子産物をイン・トランスで与える機能的アデノウイルスＥ１ａ及びＥ１ｂ遺伝子を含むチンパンジーのアデノウイルス形質転換相補性細胞株で増殖させた場合に感染性のウイルスを複製及び生成することが可能である。既知のアデノウイルス配列に対する相同性に基づけば、得られる組換えチンパンジーアデノウイルスは、当該技術分野のヒト組換えＥ１欠失アデノウイルスでそうであるように多くの細胞種に感染することが可能であり、抗原（複数可）を発現することができるが、チンパンジーＥ１領域ＤＮＡを有していない多くの細胞では、細胞が極めて高い感染多重度で感染していないかぎりは複製できないものと予想される。

【０２７８】

別の例として、Ｃ６８アデノウイルス後初期遺伝子Ｅ３の全体または一部を、組換えウイルスの一部を形成するチンパンジーアデノウイルス配列から除去することができる。

【０２７９】

チンパンジーアデノウイルスＣ６８ベクターは、Ｅ４遺伝子の欠失を有するように構築することもできる。さらに別のベクターは、後初期遺伝子Ｅ２ａに欠失を有することができる。

【０２８０】

欠失は、チンパンジーＣ６８アデノウイルスゲノムの後期遺伝子Ｌ１～Ｌ５のいずれに導入することもできる。同様に、中期遺伝子ＩＸ及びＩＶａ２内の欠失も特定の目的では有用となりうる。他の欠失を他の構造または非構造アデノウイルス遺伝子に導入することもできる。

【０２８１】

上記に述べた欠失は、個々に用いることもできる。すなわち、アデノウイルス配列はＥ１のみの欠失を有してもよい。また、それらの生物学的活性を破壊または低減するうえで効果的な遺伝子全体またはその一部を任意の組み合わせで用いることもできる。例えば、１つの例示的なベクターでは、アデノウイルスＣ６８配列は、Ｅ１遺伝子及びＥ４遺伝子、またはＥ１、Ｅ２ａ、及びＥ３遺伝子、またはＥ１及びＥ３遺伝子、または、Ｅ３の欠失をともなうかまたはともなわない、Ｅ１、Ｅ２ａ、及びＥ４遺伝子の欠失を有することができる。上記に述べたように、かかる欠失は、所望の結果を得るために温度感受性変異などの他の変異と組み合わせて用いることができる。

【０２８２】

抗原（複数可）を含むカセットを、任意でチンパンジーＣ６８Ａｄウイルスの任意の欠失領域に挿入する。また、必要に応じて既存の遺伝子領域内にカセットを挿入することでその領域の機能を破壊することもできる。

【０２８３】

Ｖ．Ｅ．７．ヘルパーウイルス

抗原カセットを送達するために用いられるウイルスベクターのチンパンジーアデノウイルス遺伝子の含量に応じて、ヘルパーアデノウイルスまたは非複製ウイルスフラグメントを用いて、カセットを含む感染性の組換えウイルス粒子を生成するのに充分なチンパンジーアデノウイルス遺伝子配列を与えることができる。

【０２８４】

有用なヘルパーウイルスは、アデノウイルスベクターコンストラクト中に存在しない、及び／またはベクターをトランスフェクトしたパッケージング細胞株によって発現されない選択されたアデノウイルス遺伝子配列を含む。ヘルパーウイルスは複製不全であってよ

く、上記に述べた配列以外の様々なアデノウイルス遺伝子を含むことができる。ヘルパーウイルスは、本明細書に記載されるＥ１発現細胞株と組み合わせて用いることができる。

【０２８５】

Ｃ６８では、「ヘルパー」ウイルスは、Ｃ６８ゲノムのＣ末端を、ウイルスの左端から約１３００ｂｐを除去するＳｓｐＩによって短縮することによって形成されるフラグメントとすることができる。次に、この短縮されたウイルスをプラスミドＤＮＡとともにＥ１発現細胞株内に同時トランスフェクトすることにより、プラスミド内のＣ６８配列との相同組み換えによって組換えウイルスを形成する。

【０２８６】

ヘルパーウイルスは、Ｗｕ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２６４：１６９８５－１６９８７ （１９８９）；Ｋ．Ｊ．Ｆｉｓｈｅｒ ａｎｄ Ｊ．Ｍ．Ｗｉｌｓｏｎ，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．，２９９：４９（Ａｐｒ．１，１９９４）に記載されるようなポリカチオン複合体として形成することもできる。ヘルパーウイルスは、任意でレポーター遺伝子を含んでもよい。多くのかかるレポーター遺伝子が当該技術分野で知られている。アデノウイルスベクター上の抗原カセットとは異なるヘルパーウイルス上のレポーター遺伝子の存在によって、Ａｄベクターとヘルパーウイルスを独立して観察することが可能となる。この第２のレポーター遺伝子を用いることで、精製時に得られた組換えウイルスとヘルパーウイルスとを分離することが可能である。

【０２８７】

Ｖ．Ｅ．８．ウイルス粒子のアセンブリと細胞株の感染

アデノウイルス、抗原カセット、及び他のベクター因子の選択されたＤＮＡ配列の様々な中間プラスミド及びシャトルベクターへのアセンブリ、ならびに組換えウイルス粒子を作製するためのプラスミド及びシャトルベクターの使用は、従来の手法を用いてすべて実現することができる。かかる手法としては、従来のｃＤＮＡのクローニング法、インビトロ組換え法（例えば、ギブソンアセンブリ）、アデノウイルスゲノムの重複するオリゴヌクレオチド配列の使用、ポリメラーゼ連鎖反応、及び所望のヌクレオチド配列を与える任意の適当な方法が挙げられる。標準的なトランスフェクション及び同時トランスフェクションの手法、例えば、ＣａＰＯ４沈殿法またはリポフェクタミンなどのリポソーム媒介トランスフェクション法が用いられる。用いられる他の従来の方法としては、ウイルスゲノムの相同組み換え、アガーオーバーレイ中でのウイルスのプラーク形成、シグナル発生測定の方法などが挙げられる。

【０２８８】

例えば、所望の抗原を含むウイルスベクターの構築及びアセンブリの後、ベクターをインビトロでヘルパーウイルスの存在下でパッケージング細胞株にトランスフェクトすることができる。ヘルパーとベクター配列との間で相同組み換えが起こり、これによりベクター内のアデノウイルス－抗原配列が複製されてビリオンカプシド内にパッケージングされ、組換えウイルスベクター粒子が得られる。

【０２８９】

得られた組換えチンパンジーＣ６８アデノウイルスは、抗原カセットを選択された細胞に導入するうえで有用である。パッケージング細胞株内で増殖させた組換えウイルスを用いたインビボ実験において、Ｅ１欠失組換えチンパンジーアデノウイルスが、カセットを非チンパンジー細胞、好ましくはヒト細胞に導入するうえで実用性を有することが実証されている。

【０２９０】

Ｖ．Ｅ．９．組換えウイルスベクターの使用

したがって、抗原カセットを含む得られた組換えチンパンジーＣ６８アデノウイルス（上記に述べたようなアデノウイルスベクターとヘルパーウイルス、またはアデノウイルスベクターとパッケージング細胞株の組み込みにより作製される）は、抗原（複数可）をインビボまたはエクスビボで対象に送達することができる効率的な遺伝子導入担体を与えるものである。

【０２９１】
上記に述べた組換えベクターは、遺伝子治療について公開されている方法にしたがってヒトに投与される。抗原カセットを有するチンパンジーウイルスベクターは、好ましくは生体適合性溶液または薬学的に許容される送達溶媒中に懸濁させて患者に投与することができる。適当な溶媒としては滅菌生理食塩水が挙げられる。薬学的に許容される担体として知られ、当業者には周知のものである他の水性及び非水性等張滅菌注射溶液、ならびに水性及び非水性滅菌懸濁液をこの目的で使用することもできる。
【０２９２】
チンパンジーアデノウイルスベクターは、ヒト細胞を形質転換し、医療分野の当業者によって判定することが可能な有害作用をともなわずに、または医学的に許容される生理学的作用をともなって、治療効果を与えるうえで充分なレベルの抗原の導入及び発現をもたらすのに充分な量で投与される。従来の薬学的に許容される投与経路としては、これらに限定されるものではないが、肝臓、鼻腔内、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、経口、及び他の非経口の投与経路が挙げられる。投与経路は必要に応じて組み合わせることができる。
【０２９３】
ウイルスベクターの用量は、治療される状態、患者の年齢、体重、及び健康状態などの因子に主として依存し、したがって患者間で異なりうる。用量は、あらゆる副作用に対して治療効果のバランスが取れるように調節され、かかる用量は、組換えベクターが用いられる治療用途に応じて異なりうる。抗原（複数可）の発現レベルを観察することにより、投与頻度を決定することができる。
【０２９４】
組換え複製不全アデノウイルスは、「薬学的有効量」、すなわち、所望の細胞をトランスフェクトし、ワクチン効果、すなわち一定の測定可能なレベルの防御免疫をもたらすような選択された遺伝子の充分な発現レベルを与えるのにある投与経路で有効な組換えアデノウイルスの量で投与することができる。抗原を含むＣ６８ベクターは、アジュバントと同時投与することができる。アジュバントは、ベクターとは別のモノマーのであってもよく（例えばミョウバン）または特にアジュバントがタンパク質である場合にはベクター内にコードされてもよい。アジュバントは当該技術分野では周知のものである。
【０２９５】
従来の薬学的に許容される投与経路としては、これらに限定されるものではないが、鼻腔内、筋肉内、気管内、皮下、皮内、直腸内、経口、及び他の非経口の投与経路が挙げられる。投与経路は必要に応じて組み合わせるか、または免疫原もしくは疾患に応じて調節することができる。例えば、狂犬病の予防では、皮下、気管内、及び鼻腔内経路が好ましい。投与経路は、主として治療される疾患の性質によって決められる。
【０２９６】
抗原（複数可）の発現レベルを観察することにより、ブースターの必要性（ある場合）を決定することができる。例えば、血清中の抗体力価の評価の後、必要に応じてブースター免疫が望ましい場合がある。
【０２９７】
ＶＩ．治療及び製造方法
本明細書に開示する方法を用いて特定された複数の抗原などの１つ以上の抗原を対象に投与することにより、対象の腫瘍特異的な免疫応答を刺激し、腫瘍に対するワクチン接種を行い、対象のがんを治療　並びに　又はその症状を緩和する方法も提供される。
【０２９８】
いくつかの実施形態では、対象は、がんと診断されているかまたはがんを発症するリスクを有する。対象は、以前にがん治療を受けている場合がある、例えば、以前に手術を受け、腫瘍及び／またはがん組織、化学療法、免疫療法（例えば、免疫チェックポイント阻害剤療法）、放射線療法、またはこれらの組み合わせを取り除いている場合がある。対象は、ヒト、イヌ、ネコ、ウマ、または腫瘍特異的な免疫応答が望ましい任意の動物とすることができる。腫瘍は、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、腎臓癌、胃癌、結腸癌、精巣癌

、頭頸部腫瘍、膵臓癌、脳腫瘍、黒色腫、及び他の組織臓器の腫瘍などの任意の固形腫瘍、ならびに、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、Ｔ細胞リンパ性白血病、及びＢ細胞リンパ腫を含むリンパ腫及び白血病などの血液腫瘍でありうる。

【０２９９】

抗原は、ＣＴＬ応答を刺激するのに充分な量で投与することができる。抗原は、Ｔ細胞応答を刺激するのに充分な量で投与することができる。抗原は、Ｂ細胞応答を刺激するのに充分な量で投与することができる。抗原は、Ｔ細胞応答及びＢ細胞応答の両方を刺激するのに充分な量で投与することができる。

【０３００】

抗原は、単独で、または他の治療薬と併用して投与することができる。治療剤とは、例えば、化学療法剤、放射線、または免疫療法である。特定のがんに対する、任意の好適な治療的処置を、投与することができる。治療に有効な量の治療剤を投与することができる。単独では一般的に、治療に有効な量と考えられないが、本明細書に記載する組成物のいずれかと同時投与する際には、有益な性質を示す、ある量の治療剤を投与することができる。

【０３０１】

さらに、対象に、チェックポイント阻害剤などの抗免疫抑制／免疫刺激剤をさらに投与することができる。例えば、対象に、抗ＣＴＬＡ抗体または抗ＰＤ－１または抗ＰＤ－Ｌ１をさらに投与することができる。ＣＴＬＡ４またはＰＤ－Ｌ１の遮断は、患者のがん性細胞に対する免疫応答を高めることができる。詳細には、ＣＴＬＡ４の遮断は、ワクチン接種プロトコールに従った場合に効果的であることが示されている。

【０３０２】

ワクチン組成物中に含まれる各抗原の最適量及び最適な投与レジメンを決定することができる。例えば、抗原またはそのバリアントは、静脈内（ｉ．ｖ．）注射、皮下（ｓ．ｃ．）注射、皮内　（ｉ．ｄ．）注射、腹腔内（ｉ．ｐ．）注射、筋肉内（ｉ．ｍ．）注射用に製剤化することができる。注射の方法としては、皮下（ｓ．ｃ．）、皮内（ｉ．ｄ．）、腹腔内（ｉ．ｐ．）、筋肉内（ｉ．ｍ．）、及び静脈内（ｉ．ｖ．）が挙げられる。ＤＮＡまたはＲＮＡの注射方法としては、皮内（ｉ．ｄ．）、筋肉内（ｉ．ｍ．）、皮下（ｓ．ｃ．）、腹腔内（ｉ．ｐ．）及び静脈内（ｉ．ｖ．）が挙げられる。ワクチン組成物の他の投与方法は、当業者には周知のものである。

【０３０３】

ワクチンは、組成物中に存在する抗原の選択、数、及び／または量が、組織、がん、及び／または患者に特異的であるように適合することができる。例えば、ペプチドの正確な選択は、特定の親タンパク質の発現パターンによって導くか、または患者の変異状態によって導くことができる。この選択は、特定のがんのタイプ、疾患の状態、初期の治療レジメン、患者の免疫状態、及び、言うまでもなく、患者のＨＬＡハロタイプに依存しうる。さらに、ワクチンは、特定の患者の個人的ニーズにしたがって、個別化された成分を含むことができる。例としては、特定の患者における抗原の発現にしたがって抗原の選択を変えること、または治療の第１ラウンドもしくはスキーム後の二次的治療を調整することが挙げられる。

【０３０４】

抗原ワクチンの投与を行うための患者は、様々な診断方法、例えば、下記でさらに述べる患者選択方法の使用により特定することができる。患者選択では、１つ以上の遺伝子の変異または発現パターンを特定することを行うことができる。場合によって、患者選択では、患者のハプロタイプを特定することを行う。様々な患者選択方法を並行して行うことができ、例えば、シークエンシング診断によって患者の変異及びハプロタイプの両方を特定することができる。様々な患者選択方法を順次行うこともでき、例えば、１つの診断検査で変異を特定し、別の診断検査で患者のハプロタイプを特定し、その場合、各検査は、同じ（例えば、両方ともハイスループットシークエンシング）か、または異なる（例えば、一方がハイスループットシークエンシングで他方がサンガーシークエンシング）診断方

法であってよい。

【０３０５】

組成物ががんのワクチンとして使用されるためには、正常組織で高量で発現される類似の正常な自己ペプチドを含む抗原が、本明細書に記載される組成物中で避けられるかまたは低量で存在してもよい。これに対して、患者の腫瘍が特定の抗原を高量で発現していることが分かっている場合、このがんの治療用のそれぞれの医薬組成物を高量で存在させることができ、及び／またはこの特定の抗原またはこの抗原の経路に対して特異的な複数の抗原が含まれてもよい。

【０３０６】

抗原を含む組成物を、既にがんに罹患している個人に投与することができる。治療用途では、組成物は、腫瘍抗原に対する効果的なＣＴＬを刺激するなど、免疫応答を刺激する、症状及び／または合併症を治癒または少なくとも部分的に阻止するうえで充分な量で対象に投与される。免疫応答は、腫瘍サイズまたは体積の低減を含むことができる。腫瘍サイズまたは体積の低減は、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％の低減を含むことができる。腫瘍サイズまたは体積の低減は、少なくとも１５％の低減を含むことができる。腫瘍サイズまたは体積の低減は、少なくとも２０％の低減を含むことができる。免疫応答は、腫瘍サイズまたは体積の安定化を含むことができる。免疫応答は、（例えば、臨床研究で説明される基準により調査されるように）完全奏功（ＣＲ）、部分奏功（ＰＲ）、または、安定した疾患（ＳＤ）などの、対象の疾患の回復をもたらすことができる。これを実現するのに適した量は、「治療有効用量」として定義される。この目的で有効な量は、例えば、組成物、投与形態、治療される疾患のステージ及び重症度、患者の体重及び一般的状態、ならびに処方医師の判断によって決められる。組成物は、特に、がんが転移している場合に、重篤な病状、すなわち命に関わる、または潜在的に命に関わる状況で一般的に用いることができることに留意すべきである。そのような場合、外来物質及び抗原の相対的非毒性特性の最小化を考慮すると、治療にあたる医師によってこれらの組成物の大幅な過剰量を投与することが可能であり、望ましいと感じられるものと考えられる。

【０３０７】

治療用途では、投与は、腫瘍の検出もしくは外科的除去時に開始することができる。これに続いて、少なくとも症状が実質的に消失し、その後の所定の期間、または免疫が得られたとみなされる（例えば、メモリーＢ細胞もしくはＴ細胞集団、または抗原特異的Ｂ細胞もしくは抗体が産生される）まで、ブースター用量を投与することができる。

【０３０８】

抗原を含む組成物（例えば、本明細書に記載する自己複製アルファウイルスベースの発現系またはチンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための、任意の組成物）を、補助療法として、一次療法を既に受けている対象に投与することができる。抗原を含む組成物を、一次療法の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４日後、または、一次療法の１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０週以上後に投与することができる。例えば、抗原を含む組成物を、手術の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４日後、または、手術の１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０週以上後を含む、腫瘍及び／またはがん組織を取り除く手術の後に、補助療法として投与することができる。

【０３０９】

抗原を含む組成物（例えば、本明細書に記載する自己複製アルファウイルスベースの発現系またはチンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄＶ）ベースの発現系を送達するための、任意の組成物）を、維持療法として、対象のがんが、一次療法後に寛解（例えば、完全寛解）しているなどの、一次療法を既に受けている対象に投与することができる。

【０３１０】
一次療法としては、腫瘍及び／もしくはがん組織を取り除くための手術、化学療法、免疫療法（例えば、免疫チェックポイント阻害剤療法）、放射線療法、またはこれらの組み合わせを挙げることができる。一次療法としては、手術を挙げることができる。一次療法としては、オキサリプラチン、フルオロピリミジン、及び／またはベバシズマブなどの化学療法を挙げることができる。一次療法としては、オキサリプラチン、フルオロピリミジン、及びベバシズマブの併用療法を挙げることができる。
【０３１１】
抗原を含む組成物を、化学療法、免疫チェックポイント阻害剤療法、放射線療法、またはこれらの組み合わせと組み合わせて投与されるなどの、追加療法との併用療法としての、アジュバント療法または維持療法として投与することができる。併用療法は、フルオロピリミジン、ベバシズマブ、及び／または、免疫チェックポイント阻害剤療法を含むことができる。併用療法は、フルオロピリミジン及びベバシズマブを含むことができる。併用療法は、フルオロピリミジン、ベバシズマブ、及び免疫チェックポイント阻害剤療法（例えば、抗ＰＤ－１または抗ＰＤ－Ｌ１抗体）を含むことができる。
【０３１２】
免疫チェックポイント阻害剤としては、（１）抗ＰＤ－１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、（２）抗ＰＤ－Ｌ１抗体もしくはその抗原結合フラグメント、及び／または、（３）抗ＣＴＬＡ－４抗体もしくはその抗原結合フラグメントを挙げることができる。免疫チェックポイント阻害剤療法は、プライミング用量及び第１のブースター用量だけを伴う、抗ＣＴＬＡ－４抗体またはその抗原結合フラグメントの投与を含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤療法は、抗ＣＴＬＡ－４抗体のイピリムマブを含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤療法は、３０ｍｇの用量で皮下投与されるイピリムマブを含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤療法は、４週毎（Ｑ４Ｗ）の、抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与を含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤療法は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体のアテゾリズマブまたはニボルマブを含むことができる。アテゾリズマブは、１６８０ｍｇの用量で静脈内投与することができる。ニボルマブは、４８０ｍｇの用量で静脈内投与することができる。
【０３１３】
免疫チェックポイント阻害剤療法は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、または１３回の個別投与、例えば、２８日毎または約２８日毎（あるいは、４週毎または約４週毎、及び／あるいは１ヶ月毎または約１ヶ月毎）の、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、または１３回の個別投与を含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤療法は、例えば、２８日毎または約２８日毎（あるいは、４週毎または約４週毎、及び／あるいは１ヶ月毎または約１ヶ月毎）の、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、または１３回の投与を含む、抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与を含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤療法は、例えば、２８日毎または約２８日毎（あるいは、４週毎または約４週毎、及び／あるいは１ヶ月毎または約１ヶ月毎）の、少なくとも１３回の個別投与を含むことができる。いくつかの態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合フラグメントの投与は、例えば、２８日毎または約２８日毎（あるいは、４週毎または約４週毎、及び／あるいは１ヶ月毎または約１ヶ月毎）の、少なくとも１３回の投与を含む。
【０３１４】
ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目、または約１４０日目に、ブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の２０週目、または約２０週目に、ブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の５ヶ月目、または約５ヶ月目に、ブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目、または１４０日目より後に、ブー

スター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の２０週目、または２０週目より後に、ブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の５ヶ月目、または５ヶ月目より後に、ブースター用量として投与することができる。

【０３１５】

自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２８日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも４週（Ｑ４Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも１ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも５６日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも８週（Ｑ８Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。

【０３１６】

自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の２８及び８４日目、または約２８及び８４日目に、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の４及び１２週目、または約４及び１２週目に、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１及び３ヶ月目、または約１及び３ヶ月目に、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。

【０３１７】

自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも４回のブースター用量として投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、２８、８４、２２４、及び３０８日目に、または、約２８、８４、２２４、及び３０８日目に投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、４、１２、３２、及び４４週目に、または、約４、１２、３２、及び４４週目に投与することができる。自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、１、３、８、及び１１ヶ月目に、または、約１、３、８、及び１１ヶ月目に投与することができる。

【０３１８】

ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２８日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるい

は、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも４週（Ｑ４Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも１ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも５６日の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも８週（Ｑ８Ｗ）の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも２ヶ月の間隔を空けて、少なくとも２回以上のブースター用量として投与することができる。

【０３１９】

ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の２８及び８４日目、または約２８及び８４日目に、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の４及び１２週目、または約４及び１２週目に、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１及び３ヶ月目、または約１及び３ヶ月目に、少なくとも２回のブースター用量として投与することができる。

【０３２０】

ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ

月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、少なくとも４回のブースター用量として投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、２８、８４、２２４、及び３０８日目に、または、約２８、８４、２２４、及び３０８日目に投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、４、１２、３２、及び４４週目に、または、約４、１２、３２、及び４４週目に投与することができる。ＣｈＡｄＶベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量後の１４０日目または約１４０日目、または１４０日目より後（あるいは、２０週目または約２０週目、または２０週目より後、及び／あるいは、５ヶ月目または約５ヶ月目、または５ヶ月目より後）に、ブースター用量として投与することができ、自己複製アルファウイルスベースの発現系は、ＣｈＡｄＶベースの発現系のプライミング用量を基準として、１、３、８、及び１１ヶ月目に、または、約１、３、８、及び１１ヶ月目に投与することができる。

【０３２１】

治療処置用の医薬組成物（例えば、ワクチン組成物）は、非経口、局所（ｔｏｐｉｃａｌ）、経鼻、経口、局所（ｌｏｃａｌ）投与を意図している。医薬組成物は、非経口的に、例えば、静脈内、皮下、皮内、または筋肉内投与することができる。組成物は、腫瘍に対する局所的免疫応答を刺激するために外科的切除の部位に投与することができる。組成物は、対象の特定の組織、臓器、及び／または細胞を標的として投与することができる。本明細書では、抗原の溶液を含む非経口投与用の組成物を開示し、ワクチン組成物は許容される担体、例えば水性担体中に溶解または懸濁される。例えば、水、緩衝された水、０．９％生理食潜水、０．３％グリシン、ヒアルロン酸などの様々な水性担体を使用することができる。これらの組成物は従来の周知の滅菌法によって滅菌するか、または滅菌濾過することができる。得られた水溶液はそのまま使用されるようにパッケージングされてもよく、または凍結乾燥し、凍結乾燥した製剤を投与に先立って滅菌溶液と加え合わせることができる。組成物は、ｐＨ調整及び緩衝剤、張度調整剤、湿潤剤等、例えば酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、モノラウリル酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン等の、生理学的条件に近づけるために必要な製薬上許容できる補助物質を含有してよい。

【０３２２】

抗原は、リンパ系組織などの特定の細胞組織に抗原をターゲティングするリポソームによって投与することもできる。リポソームは、半減期を増大させるうえでも有用である。リポソームとしては、エマルジョン、フォーム、ミセル、不溶性単分子膜、液晶、リン脂質分散液、ラメラ層などが挙げられる。これらの製剤中では、送達させようとする抗原を、単独で、または例えばＣＤ４５抗原に結合するモノクローナル抗体などのリンパ系細胞に多くみられる受容体に結合する分子、または他の治療用もしくは免疫原性組成物と共にリポソームの一部として取り込ませる。したがって、所望の抗原で充填されたリポソームをリンパ系細胞の部位に誘導することができ、そこでリポソームは選択された治療用／免疫原性組成物を送達する。リポソームは、一般的に中性及び負に帯電したリン脂質とコレステロールのようなステロールとを含む標準的な小胞形成脂質から形成することができる。脂質の選択は、例えば、リポソームのサイズ、酸不安定性、及び血流中でのリポソームの安定性を考慮して一般的に導かれる。例えば、Ｓｚｏｋａ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒ

ｅｖ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｂｉｏｅｎｇ．９；４６７　（１９８０）、米国特許第４，２３５，８７１号、同第４，５０１，７２８号、同第４，５０１，７２８号、同第４，８３７，０２８号、及び同第５，０１９，３６９号に記載されるようなリポソームを調製するための様々な方法がある。

【０３２３】

免疫細胞にターゲティングするため、リポソームに組み込むリガンドは、例えば、所望の免疫系細胞の細胞表面決定因子に特異的な抗体またはそのフラグメントを含むことができる。リポソーム懸濁液を、とりわけ、投与方法、送達されるペプチド、及び治療される疾患のステージに応じて異なる用量で静脈内、局所的（ｌｏｃａｌｌｙ）、局所的（ｔｏｐｉｃａｌｌｙ）といった要領で投与することができる。

【０３２４】

治療または免疫化の目的では、ペプチド及び任意で本明細書に記載されるペプチドの１つ以上をコードする核酸患者に投与してもよい。核酸を患者に投与するための多くの方法が便宜よく用いられる。例えば、核酸は「ネイキッドＤＮＡ」として直接投与することができる。このアプローチは、例えば、Ｗｏｌｆｆ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４７：１４６５－１４６８　（１９９０）、ならびに米国特許第５，５８０，８５９号及び同第５，５８９，４６６号に記載されている。核酸は、例えば、米国特許第５，２０４，２５３号に記載されるような弾道送達を用いて投与することもできる。ＤＮＡのみで構成された粒子を投与することもできる。あるいは、ＤＮＡを金粒子のような粒子に付着させてもよい。核酸配列を送達するためのアプローチとしては、エレクトロポレーションを伴う、または伴わないウイルスベクター、ｍＲＮＡベクター、及びＤＮＡベクターが挙げられる。

【０３２５】

核酸は、カチオン性脂質などのカチオン性化合物と複合体化して送達させることもできる。脂質により媒介される遺伝子送達法は、例えば、９６１８３７２ＷＯＡＷＯ　９６／１８３７２、９３２４６４０ＷＯＡＷＯ　９３／２４６４０、Ｍａｎｎｉｎｏ　＆　Ｇｏｕｌｄ－Ｆｏｇｅｒｉｔｅ，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　６（７）：　６８２－６９１（１９８８）、米国特許第５，２７９，８３３号Ｒｏｓｅ米国特許第５，２７９，８３３号、９１０６３０９ＷＯＡＷＯ　９１／０６３０９、及びＦｅｌｇｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８４：７４１３－７４１４（１９８７）に記載されている。

【０３２６】

抗原は、ワクシニア、鶏痘、自己複製アルファウイルス、マラバウイルス、アデノウイルス（例えば、Ｔａｔｓｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｄｅｎｏｖｉｒｕｓｅｓ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ（２００４）１０，６１６－６２９を参照）、または、第２、第３、またはハイブリッド第２／第３世代レンチウイルス及び特定の細胞タイプまたは受容体をターゲティングするように設計された任意の世代の組換えレンチウイルス（例えば、Ｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｉｚａｔｉｏｎ　Ｄｅｌｉｖｅｒｅｄ　ｂｙ　Ｌｅｎｔｉｖｉｒａｌ　Ｖｅｃｔｏｒｓ　ｆｏｒ　Ｃａｎｃｅｒ　ａｎｄ　Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ　Ｄｉｓｅａｓｅｓ，Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｒｅｖ．（２０１１）２３９（１）：４５－６１，Ｓａｋｕｍａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｌｅｎｔｉｖｉｒａｌ　ｖｅｃｔｏｒｓ：ｂａｓｉｃ　ｔｏ　ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ，Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｊ．（２０１２）４４３（３）：６０３－１８，Ｃｏｏｐｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｒｅｓｃｕｅ　ｏｆ　ｓｐｌｉｃｉｎｇ－ｍｅｄｉａｔｅｄ　ｉｎｔｒｏｎ　ｌｏｓｓ　ｍａｘｉｍｉｚｅｓ　ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ｉｎ　ｌｅｎｔｉｖｉｒａｌ　ｖｅｃｔｏｒｓ　ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ　ｔｈｅ　ｈｕｍａｎ　ｕｂｉｑｕｉｔｉｎ　Ｃ　ｐｒｏｍｏｔｅｒ，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．（２０１５）４３（１）：６８２－６９０，Ｚｕｆｆｅｒｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｌｆ－Ｉｎａｃｔｉｖａｔｉｎｇ　Ｌｅｎｔｉｖｉｒｕｓ　Ｖｅｃｔｏｒ　ｆｏｒ　Ｓａｆｅ　ａｎｄ　Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ　Ｉｎ　Ｖｉｖｏ　Ｇｅｎｅ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．（１９９８）７２（１２）：９８７３－９８８０を参照）などのウイルスベクタ

ーに基づいたワクチンプラットフォームに含まれるようにしてもよい。上述のウイルスベクターベースのワクチンプラットフォームのパッケージング能力に依存して、このアプローチは、１つ以上の抗原ペプチドをコードする１つ以上のヌクレオチド配列を送達することができる。配列は、変異が導入されていない配列を隣接させてもよく、リンカーによって分離されてもよく、または細胞内区画をターゲティングする１つ以上の配列がその前に配置されてもよい（例えば、Ｇｒｏｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｎｅｏａｎｔｉｇｅｎ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ ｉｎ ｔｈｅ ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ ｂｌｏｏｄ ｏｆ ｍｅｌａｎｏｍａ ｐａｔｉｅｎｔｓ，Ｎａｔ Ｍｅｄ．（２０１６）２２（４）：４３３－８，Ｓｔｒｏｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ ｃａｎｃｅｒ ｎｅｏａｎｔｉｇｅｎｓ ｗｉｔｈ ｄｏｎｏｒ－ｄｅｒｉｖｅｄ Ｔ ｃｅｌｌ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｒｅｐｅｒｔｏｉｒｅｓ，Ｓｃｉｅｎｃｅ．（２０１６）３５２（６２９１）：１３３７－４１，Ｌｕ ｅｔ ａｌ．，Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｍｕｔａｔｅｄ ｃａｎｃｅｒ ａｎｔｉｇｅｎｓ ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ ｂｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ｗｉｔｈ ｄｕｒａｂｌｅ ｔｕｍｏｒ ｒｅｇｒｅｓｓｉｏｎｓ，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２０１４）２０（１３）：３４０１－１０を参照）。宿主中への導入時に、感染した細胞は、抗原を発現し、それにより、ペプチドに対する宿主免疫（例えば、ＣＴＬ）応答を刺激する。免疫化プロトコールにおいて有用なワクシニアベクター及び方法は、例えば、米国特許第４，７２２，８４８号に記載されている。別のベクターは、ＢＣＧ（カルメット・ゲラン桿菌）である。ＢＣＧベクターは、Ｓｔｏｖｅｒ ｅｔ ａｌ．（Ｎａｔｕｒｅ ３５１：４５６－４６０（１９９１））に記載されている。抗原の治療的投与または免疫化に有用な、多種多様の他のワクチンベクター、例えば、チフス菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉ）ベクターなどが、本明細書における記載から当業者に明らかであろう。

【０３２７】

核酸を投与する手段の１つは、１つまたは複数のエピトープコード核酸配列をコードしたミニジーンコンストラクトを使用することである。ヒト細胞で発現させるための選択されたＣＴＬエピトープをコードしたＤＮＡ配列（ミニジーン）を作製するには、エピトープのアミノ酸配列を逆翻訳する。ヒトのコドン使用表を用いて各アミノ酸のコドン選択の手引きとする。これらのエピトープコードＤＮＡ配列を直接連結して、連続したポリペプチド配列を作製する。発現及び／または免疫原性を最適化するため、さらなるエレメントをミニジーンの設計に組み込むことができる。逆翻訳してミニジーン配列に組み込むことができるアミノ酸配列の例としては、ヘルパーＴリンパ球、エピトープ、リーダー（シグナル）配列、及び小胞体保留シグナルが挙げられる。さらに、ＣＴＬエピトープのＭＨＣによる提示は、合成（例えば、ポリアラニン）または天然のフランキング配列をＣＴＬエピトープに隣接して組み込むことによって向上させることができる。ミニジーン配列は、ミニジーンの＋鎖と－鎖をコードしたオリゴヌクレオチドをアセンブルすることによりＤＮＡに変換される。重複するオリゴヌクレオチド（３０～１００塩基の長さ）を周知の方法を用いて合成、リン酸化、精製し、適当な条件下でアニールする。オリゴヌクレオチドの末端同士を、Ｔ４ ＤＮＡリガーゼを用いてつなげる。次いで、ＣＴＬエピトープポリペプチドをコードしたこの合成ミニジーンを所望の発現ベクターにクローニングする。

【０３２８】

精製したプラスミドＤＮＡは、様々な製剤を用いて注射用に調製することができる。これらのうちで最も簡単なものは、凍結乾燥したＤＮＡを無菌リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で戻すことである。様々な方法がこれまでに記載されており、新たな技術も利用可能となる可能性がある。上記に述べたように、核酸はカチオン性脂質と便宜よく配合される。さらに、糖脂質、膜融合性リポソーム、ペプチド及びＰＩＮＣ（ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ，ｉｎｔｅｒａｃｔｉｖｅ，ｎｏｎ－ｃｏｎｄｅｎｓｉｎｇ、保護的、相互作用性、非凝縮性）と総称される化合物を、精製したプラスミドＤＮＡと複合体化することで安定性、筋肉内の分散性、または特定の臓器もしくは細胞タイプへのトラフィッキングなどの変数

に影響を及ぼすこともできる。

【０３２９】

本明細書に開示される方法の各工程を実行することと、複数の抗原または複数の抗原のサブセットを含むワクチン、例えば、腫瘍ワクチンを生産することとを含む、ワクチン、例えば、腫瘍ワクチンを製造する方法も開示される。

【０３３０】

本明細書に開示される抗原は、当該技術分野における周知の方法を用いて製造することができる。例えば、本明細書に開示される抗原またはベクター（例えば、１つ以上の抗原をコードする少なくとも１つの配列を含むベクター）の製造方法は、抗原またはベクターをコードする少なくとも１つのポリヌクレオチドを含む宿主細胞を、抗原またはベクターを発現するのに適した条件下で培養することと、抗原またはベクターを精製することと、を含むことができる。標準的な精製方法としては、クロマトグラフィー法、電気泳動法、免疫学的方法、沈殿、透析、濾過、濃縮、及びクロマト分画法が挙げられる。

【０３３１】

宿主細胞は、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＮＳ０細胞、酵母、またはＨＥＫ２９３細胞を含みうる。宿主細胞は、本明細書に開示される抗原またはベクターをコードする少なくとも１つの核酸配列を含む１つ以上のポリヌクレオチドで形質転換することができ、任意で、単離されたポリヌクレオチドは、抗原またはベクターをコードする少なくとも１つの核酸配列に機能的に連結されたプロモーター配列を含む。特定の実施形態では、単離されたポリペプチドはｃＤＮＡであってよい。

【０３３２】

ＶＩＩ．抗原の使用及び投与

ワクチン接種プロトコールを用いて対象に１つ以上の抗原を投与することができる。使用することが可能なワクチン接種法、プロトコール、及びスケジュールとしては、これらに限定されるものではないが、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用するところの国際出願公開第ＷＯ２０２１０９２０９５号に記載されるものが挙げられる。

【０３３３】

プライミングワクチンは、Ｃ６８（例えば、配列番号１または２に示される配列）またはＳａｍＲＮＡ（例えば、配列番号３または４に示される配列）に基づいたものとすることができる。ブースターワクチンも、Ｃ６８（例えば、配列番号１または２に示される配列）またはＳａｍＲＮＡ（例えば、配列番号３または４に示される配列）に基づいたものとすることができる。

【０３３４】

プライム／ブースト計画における各ベクターは、通常、抗原を含むカセットを含んでいる。カセットは、各抗原を通常取り囲む天然の配列、またはＡＡＹなどの他の非天然のスペーサー配列などのスペーサーによって分離された約１～５０個の抗原を含むことができる。カセットは、約２０個のネオ抗原、例えば、２０個の、対象及び／または腫瘍特異的抗原を含むことができる。カセットは、破傷風トキソイド抗原などのＭＨＣＩＩ抗原、及び普遍的なクラスＩＩ抗原とみなされるＰＡＤＲＥ抗原を含んでもよい。カセットは、ユビキチンターゲティング配列などのターゲティング配列を含んでもよい。さらに、各ワクチン用量は、免疫調節因子と組み合わせて（例えば、同時、その前、またはその後で）対象に投与することができる。各ワクチン用量は、チェックポイント阻害剤（ＣＰＩ）と組み合わせて（例えば、同時、その前、またはその後で）対象に投与することができる。ＣＰＩは、抗体またはその抗原結合部分など、ＣＴＬＡ４、ＰＤ１、及び／またはＰＤＬ１を阻害するものを含むことができる。かかる抗体としては、アテゾリズマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、セミプリマブ、トレメリムマブまたはデュルバルマブを挙げることができる。各ワクチン用量は、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１２（ＩＬ－１２　ｐ３５、ｐ４０、ｐ７０、及び／またはｐ７０融合コンストラクトを含む）、ＩＬ－１５、またはＩＬ－２１などのサイトカインと組み合わせて（例えば、同時、その前、またはその後で）対

象に投与することができる。各ワクチン用量は、修飾サイトカイン（例えば、ｐｅｇＩＬ－２）と組み合わせて（例えば、同時、その前、またはその後で）対象に投与することができる。

【０３３５】

プライミングワクチンは、対象に注射（例えば筋肉内に）することができる。用量ごとに両側性注射を用いることができる。例えば、ＣｈＡｄＶ６８（Ｃ６８）の１回以上の注射を用いることができ（例えば、総用量１×１０$^{12}$個のウイルス粒子）、０．００１～１ｕｇのＲＮＡの範囲から選択される低ワクチン用量、詳細には０．１もしくは１ｕｇのｓａｍＲＮＡベクターの１回以上の注射を用いることができ、または、１～１０００ｕｇのＲＮＡの範囲から選択される高ワクチン用量、詳細には３０μｇ、１００μｇ、もしくは３００μｇのＲＮＡの１回以上の注射を用いることができる。ＣｈＡｄＶ６８プライミングに対しては、１×１０$^{12}$個以下のウイルス粒子を投与することができる。ＣｈＡｄＶ６８プライミングに対しては、３×１０$^{11}$個以下のウイルス粒子を投与することができる。ＣｈＡｄＶ６８プライミングに対しては、少なくとも１×１０$^{11}$個のウイルス粒子を投与することができる。ＣｈＡｄＶ６８プライミングに対しては、１×１０$^{11}$個～１×１０$^{12}$個、３×１０$^{11}$～１×１０$^{12}$個、または、１×１０$^{11}$個～３×１０$^{11}$個のウイルス粒子を投与することができる。ＣｈＡｄＶ６８プライミングに対しては、１×１０$^{11}$個、３×１０$^{11}$個、または１×１０$^{12}$個のウイルス粒子を投与することができる。ＣｈＡｄＶ６８プライミングに対しては、ウイルス粒子は、５×１０$^{11}$ｖｐ／ｍＬの濃度であることができる。

【０３３６】

プライムワクチン接種後に、ワクチンブースト（ブースターワクチン）を注射（例えば筋肉内に）することができる。ブースターワクチンは、プライム後の約１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０週間ごと、例えば、４週間ごと、及び／または８週間ごとに投与することができる。用量ごとに両側性注射を用いることができる。例えば、ＣｈＡｄＶ６８（Ｃ６８）の１回以上の注射を用いることができ（例えば、総用量１×１０$^{12}$個のウイルス粒子）、０．００１～１ｕｇのＲＮＡの範囲から選択される低ワクチン用量、詳細には０．１もしくは１ｕｇのｓａｍＲＮＡベクターの１回以上の注射を用いることができ、または、１～１００μｇのＲＮＡの範囲から選択される高ワクチン用量、詳細には１０もしくは１００ｕｇのＳＡＭベクターの１回以上の注射を用いることができる。１０～３０μｇ、１０～１００μｇ、１０～３００μｇ、３０～１００μｇ、３０～３００μｇ、または１００～３００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。１０－５００μｇ、１０－１０００μｇ、３０－５００μｇ、３０－１０００μｇ、または５００－１０００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。少なくとも４００μｇ、少なくとも５００μｇ、少なくとも６００μｇ、少なくとも７００μｇ、少なくとも８００μｇ、少なくとも９００μｇ、少なくとも１０００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。１０μｇ、３０μｇ、１００μｇ、または３００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。３００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。１００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。３０μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。１０μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。少なくとも３００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。少なくとも１００μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。少なくとも３０μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。少なくとも１０μｇのＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。３００μｇ以下のＲＮＡの、ＳＡＭブースターを、投与することができる。

【０３３７】

抗ＣＴＬＡ－４（例えばトレメリムマブ）を対象に投与することもできる。例えば、抗ＣＴＬＡ４を筋肉内ワクチン注射（ＣｈＡｄＶ６８プライムまたはＳａｍＲＮＡ低用量）の部位の近くに皮下投与することで同じリンパ節内に確実に送り込むことができる。トレ

メリムマブは、ＣＴＬＡ－４の選択的ヒトＩｇＧ２ｍＡｂ阻害剤である。標的抗ＣＴＬＡ－４（トレメリムマブ）皮下用量は、通常、７０～７５ｍｇ（詳細には７５ｍｇ）であり、例えば、１～１００ｍｇまたは５～４２０ｍｇの用量範囲である。

【０３３８】

特定の場合では、デュルバルマブ（ＭＥＤＩ４７３６）などの抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用することができる。デュルバルマブは、ＰＤ－１及びＣＤ８０へのＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する選択的な高親和性のヒトＩｇＧ１　ｍＡｂである。デュルバルマブは一般的に４週間ごとに２０ｍｇ／ｋｇが静脈内投与される。

【０３３９】

免疫モニタリングを、ワクチン投与の前、その間、及び／またはその後に行うことができる。かかるモニタリングは、他のパラメータの中でもとりわけ、安全性及び有効性についての情報を与えることができる。

【０３４０】

免疫モニタリングを行うには、ＰＢＭＣが一般的に用いられる。ＰＢＭＣは、プライムワクチン接種の前、及びプライムワクチン接種の後（例えば、４週間及び８週間）に単離することができる。ＰＢＭＣは、ブーストワクチン接種の直前、及び各ブーストワクチン接種の後（例えば、４週間及び８週間）に採取することができる。

【０３４１】

Ｔ細胞応答及びＢ細胞応答などの免疫応答を、免疫モニタリングプロトコールの一環として評価することができる。例えば、本明細書に記載されるワクチン組成物が免疫応答を刺激する能力を監視及び／または評価することができる。本明細書で使用する「免疫応答を刺激する」とは、免疫応答を開始させること（例えば、ナイーブな対象において免疫応答の開始を刺激するプライミングワクチン）、または免疫応答の増強（例えば、プライミングワクチンにより開始された既存の免疫応答などの抗原に対する既存の免疫応答を有する対象における免疫応答の増強を刺激するブースターワクチン）などの免疫応答のあらゆる増加を指す。Ｔ細胞応答は、ＥＬＩＳｐｏｔ、細胞内サイトカイン染色、サイトカイン分泌、及び細胞表面捕捉、Ｔ細胞増殖、ＭＨＣマルチマー染色、または細胞傷害性アッセイなどの当業者には周知の１つ以上の方法を用いて測定することができる。ワクチンにコードされたエピトープに対するＴ細胞応答は、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイを用いて、ＩＦＮ－γなどのサイトカインの誘導を測定することによりＰＢＭＣから監視することができる。ワクチンにコードされたエピトープに対する特異的なＣＤ４またはＣＤ８　Ｔ細胞応答は、フローサイトメトリーを用いて、ＩＦＮ－γなどの細胞内または細胞外で捕捉されたサイトカインの誘導を測定することによりＰＢＭＣから監視することができる。ワクチンにコードされたエピトープに対する特異的なＣＤ４またはＣＤ８　Ｔ細胞応答は、ＭＨＣマルチマー染色を用い、エピトープ／ＭＨＣクラスＩ複合体に対して特異的なＴ細胞受容体を発現するＴ細胞集団を測定することによりＰＢＭＣから監視することができる。ワクチンにコードされたエピトープに対する特異的なＣＤ４またはＣＤ８　Ｔ細胞応答は、３Ｈチミジン、ブロモデオキシウリジン、及びカルボキシフルオロセインジアセテートスクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）の取り込み後に、Ｔ細胞集団のエクスビボ増殖を測定することによりＰＢＭＣから監視することができる。ワクチンにコードされたエピトープに特異的なＰＢＭＣ由来Ｔ細胞の抗原認識能及び溶解活性は、クロム放出アッセイまたは代替的な比色細胞傷害性アッセイにより機能的に評価することができる。

【０３４２】

Ｂ細胞応答は、Ｂ細胞の分化（例えば、形質細胞への分化）、Ｂ細胞または形質細胞の増殖、Ｂ細胞または形質細胞の活性化（例えば、ＣＤ８０またはＣＤ８６などの共刺激マーカーの増加）、抗体のクラススイッチ、及び／または抗体産生（例えば、ＥＬＩＳＡ）を判定するために用いられるアッセイなど、当該技術分野では周知の１つ以上の方法を用いて測定することができる。抗体は、機能について評価することもできる。

【０３４３】

対象の病状を、本明細書に記載されるワクチン組成物のいずれかの投与後にモニタリン

グすることができる。例えば、病状は、対象から単離された無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）（環状腫瘍ＤＮＡ「ｃｔＤＮＡ」ともまた呼ばれる）を使用してモニタリングすることができる。さらに、ワクチン療法の有効性を、対象から単離されたｃｆＤＮＡを使用してモニタリングすることができる。ｃｆＤＮＡモニタリングは、ａ．対象からｃｆＤＮＡを単離するかまたは既に単離している工程と、ｂ．単離されたｃｆＤＮＡをシークエンシングするかまたは既にシークエンシングしている工程と、ｃ．対象の野生型生殖系列核酸配列に対するｃｆＤＮＡの１つ以上の変異の頻度を決定するかまたは既に決定している工程と、ｄ．工程（ｃ）から対象の疾患の状態を評価するかまたは既に評価している工程と、を含むことができる。方法は、上記工程（ｃ）に続いて、ｄ．特定の対象について工程（ａ）～（ｃ）を複数回繰り返して行い、複数回の繰り返しで決定された１つ以上の変異の頻度を比較する工程と、ｆ．対象の疾患の状態を工程（ｄ）から評価するかまたは既に評価されている工程を含んでもよい。複数回の繰り返しは、ワクチン組成物の投与の前に行われる工程（ａ）～（ｃ）の１回目の繰り返し、及びワクチン組成物の投与の後に行われる工程（ａ）～（ｃ）の２回目の繰り返しなどの異なる時点で行うことができる。工程（ｃ）は、複数回の繰り返しで決定された１つ以上の変異の頻度を比較するか、または１回目の繰り返しで決定された１つ以上の変異の頻度を、２回目の繰り返しで決定された１つ以上の変異の頻度と比較することを含むことができる。後続の繰り返しまたは２回目の繰り返しで決定された１つ以上の変異の頻度の増加は、疾患の進行として評価することができる。後続の繰り返しまたは２回目の繰り返しで決定された１つ以上の変異の頻度の減少は、奏功として評価することができる。いくつかの態様では、応答は、完全奏功（ＣＲ）または部分奏功（ＰＲ）である。療法は、ｃｆＤＮＡの１つ以上の変異の頻度の評価が、対象が疾患を有していることを示す場合など、評価工程の後で対象に投与することができる。ｃｆＤＮＡの単離工程では、遠心分離を用いて細胞及び細胞破片からｃｆＤＮＡを分離することができる。ｃｆＤＮＡは、血漿層、バフィーコート、赤血を分離することなどにより、全血から単離することができる。ｃｆＤＮＡのシークエンシングでは、次世代シークエンシング（ＮＧＳ）、サンガーシークエンシング、デュプレックスシークエンシング、全エクソームシークエンシング、全ゲノムシークエンシング、デノボ・シークエンシング、フェーズド・シークエンシング、標的化アンプリコンシークエンシング、ショットガンシークエンシング、またはこれらの組み合わせを使用することができ、シークエンシングに先立ってｃｆＤＮＡを１つ以上の目的のポリヌクレオチド領域（例えば、１つ以上の変異をコードすることが知られているまたは疑われるポリヌクレオチド、コード領域、及び／または腫瘍エクソームのポリヌクレオチド）について濃縮することができる。ｃｆＤＮＡの濃縮は、修飾する（例えば、ビオチン化する）ことができる１つ以上のポリヌクレオチドプローブを、１つ以上の目的のポリヌクレオチド領域にハイブリダイズさせることを含み得る。一般的に、任意の数の変異を同時に、または並行してモニタリングすることができる。

【０３４４】

治療への応答（即ち、治療応答）は、例えば、例えば、Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｄｉｓｃｏｖ．２０２０；１０：１８４２－１８５３，Ｐａｒｉｋｈ ｅｔ ａｌ．Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２０２０；２６：１８７７－１８８５，ａｎｄ Ｖｅｇａ ｅｔ ａｌ．ＪＣＯ Ｐｒｅｃｉｓｉｏｎ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ２０２２；６：ｅ２１００３７２に記載されているように、ネオ抗原ｃｔＤＮＡ（例えば、バリアントアレル頻度「ＶＡＦ」）、または、例えば、Ｐａｌｍｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．２０２２；２８：１６１９－１６２９ ａｎｄ Ｃｈａｂｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ２０２０；５８０（７８０２）： ２４５－２５１に記載されている、ネオ抗原変異半数体ゲノム等価物（変異ｈＧＥ）を監視することによる、放射線医学調査及び／または分子応答により、測定することができる。分子応答は、基準ｃｔＤＮＡに対するｃｔＤＮＡの減少、例えば、基準ｃｔＤＮＡに対する、ｃｔＤＮＡの、２０％以上、３０％以上、４０％以上、５０％以上、６０％以上、７０％以上、８０％以上、９０％以上、または９５％以上の減少として定義することができる。いくつかの実施形態では、分子応答は、

基準ｃｔＤＮＡに対する、ｃｔＤＮＡの３０％以上の減少として定義される。いくつかの実施形態では、分子応答は、基準ｃｔＤＮＡに対する、ｃｔＤＮＡの３０％以上の減少として定義され、ｃｔＤＮＡの減少は、治療から２４ヶ月までに、１８ヶ月までに、１２ヶ月までに、または、６ヶ月までに生じる。いくつかの実施形態では、分子応答は、基準ｃｔＤＮＡに対する、ｃｔＤＮＡの３０％以上の減少として定義され、ｃｔＤＮＡの減少は、治療から１２週、８週、４週、または２週までに生じる。他の実施形態では、基準ｃｔＤＮＡに対する、ｃｔＤＮＡの５０％以上の減少として定義され、ｃｔＤＮＡの減少は、治療から２４ヶ月までに、１８ヶ月までに、１２ヶ月までに、または、６ヶ月までに生じる。他の実施形態では、基準ｃｔＤＮＡに対する、ｃｔＤＮＡの５０％以上の減少として定義される。いくつかの実施形態では、分子応答は、基準ｃｔＤＮＡに対する、ｃｔＤＮＡの５０％以上の減少として定義され、ｃｔＤＮＡの減少は、治療から１２週、８週、４週、または２週までに生じる。分子応答は、初期治療中の放射線医学的に安定した疾患（ＳＤ）の間に、及び／または、放射線医学的に進行性の疾患（ＰＤ）を有する患者において、観察することができる。

【０３４５】

ＶＩＩＩ．抗原の特定

ＶＩＩＩ．Ａ　抗原候補の特定

腫瘍の及び正常なエクソーム及びトランスクリプトームのＮＧＳ解析の研究モデルについては、これまでに記載されており、抗原特定空間で適用される。[6，14，15]臨床状況における抗原特定の感度及び特異性を高めるための特定の最適化を考慮することができる。これらの最適化は、実験室プロセスに関連するものと、ＮＧＳデータ解析に関連するものの２つの領域に分類することができる。最適化の例は当業者には周知のものであり、例えば、そのような方法が、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用する国際特許出願公開第ＷＯ／２０１７／１０６６３８号、同第ＷＯ／２０１８／１９５３５７号及び同第ＷＯ２０１８／２０８８５６号により詳細に記載されている。

【０３４６】

ＶＩＩＩ．Ｂ　ＨＬＡペプチドの単離及び検出

ＨＬＡペプチド分子の単離を、組織試料の溶解及び可溶化後に古典的な免疫沈降（ＩＰ）法を用いて行った（５５～５８）。清澄化したライセートをＨＬＡ特異的ＩＰに使用した。

【０３４７】

免疫沈降を、抗体がＨＬＡ分子に特異的である、ビーズにカップリングした抗体を用いて行った。汎クラスＩ　ＨＬＡ免疫沈降のためには、汎クラスＩ　ＣＲ抗体を使用し、クラスＩＩ　ＨＬＡ－ＤＲのためには、ＨＬＡ－ＤＲ抗体を使用する。抗体を、一晩インキュベーション中に、ＮＨＳ－セファロースビーズに共有結合で付着させる。共有結合性の付着後、ビーズを洗浄して、ＩＰのために等分した（５９，６０）。免疫沈降は、ビーズに共有結合されていない抗体を用いて行うこともできる。一般的に、これは、抗体をカラムに保持するためにＰｒｏｔｅｉｎＡ及び／またはＰｒｏｔｅｉｎＧでコーティングしたセファロースまたは磁気ビーズを使用して行われる。ＭＨＣ／ペプチド複合体を選択的に濃縮するために使用することができるいくつかの抗体を下記に示す。

| 抗体名 | 特異性 |
|---|---|
| W6/32 | クラスI HLA-A, B, C |
| L243 | クラスII - HLA-DR |
| Tu36 | クラスII - HLA-DR |
| LN3 | クラスII - HLA-DR |
| Tu39 | クラスII - HLA-DR, DP, DQ |
| SPVL3 | クラスII - HLA - DQ |
| B7/21 | クラスII - HLA - DP |

【０３４８】
清澄化した組織溶解物を、免疫沈降のために抗体ビーズに添加する。免疫沈降後、ビーズを溶解物から除去し、追加的なＩＰを含む追加的な実験のために、溶解物を保存する。標準的な技法を用いて、ＩＰビーズを洗浄して非特異的結合を除去し、ＨＬＡ／ペプチド複合体をビーズから溶出する。分子量スピンカラムまたはＣ１８分画を用いて、タンパク質構成要素をペプチドから除去する。結果として生じたペプチドを、ＳｐｅｅｄＶａｃ蒸発によって乾燥させ、いくつかの場合には、ＭＳ解析の前に－２０℃で保存する。ＨＬＡＩＰもまた、フィルター底を含有するプレートを用いて、９６ウェルプレート内で行うことができる。プレートを用いることで、複数のＩＰをタンデムに実施することができることとなる。

【０３４９】
乾燥したペプチドを、逆相クロマトグラフィーに適しているＨＰＬＣ緩衝液において再構成し、Ｆｕｓｉｏｎ　Ｌｕｍｏｓ質量分析計（Ｔｈｅｒｍｏ）における勾配溶出のために、Ｃ－１８マイクロキャピラリーＨＰＬＣカラム上にロードする。ペプチド質量／電荷（ｍ／ｚ）のＭＳ１スペクトルを、Ｏｒｂｉｔｒａｐ検出器において高解像度で収集し、その後、ＭＳ２低解像度スキャンを、選択イオンのＨＣＤフラグメンテーション後にイオントラップ検出器において収集した。追加的に、ＭＳ２スペクトルは、ＣＩＤもしくはＥＴＤフラグメンテーション法、または、ペプチドのより大きなアミノ酸カバレッジを獲得するための３つの技法の任意の組み合わせのいずれかを用いて、取得することができる。ＭＳ２スペクトルはまた、並行反応モニタリング（ｐａｒａｌｌｅｌ　ｒｅａｃｔｉｏｎ　ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ；ＰＲＭ）として知られる標的化方法により、Ｏｒｂｉｔｒａｐ検出器において高解像度質量精度で測定することもできる。標的化ＰＲＭでは、特定のペプチド前駆体イオンがＯｒｂｉｔｒａｐ検出器内で単離され、得られたすべてのＨＣＤフラグメンテーションイオンがペプチドピークの溶出全体にわたってスキャンされる。これにより、同時に注入される安定な同位体標識されたペプチド標準の存在下で、内因性ペプチドのペプチド同定及び定量化の両方が可能となる。

【０３５０】
各解析由来のＭＳ２スペクトルを、Ｃｏｍｅｔ（６１，６２）を用いてタンパク質データベースに対して検索し、ペプチド同定を、Ｐｅｒｃｏｌａｔｏｒ（６３～６５）を用いてスコア化する。ＰＥＡＫＳ　ｓｔｕｄｉｏ（Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ　Ｉｎｃ．）及び他のサーチエンジンを用いてさらなるシークエンシングを行うか、またはスペクトルマッチング及びデノボシークエンシング（９７）を含むシークエンシング法を用いることができる。

【０３５１】
ＶＩＩＩ．Ｂ．１．包括的ＨＬＡペプチドシークエンシングを支持するＭＳ検出限界試験

ペプチドＹＶＹＶＡＤＶＡＡＫ（配列番号２９３６４）を使用し、ＬＣカラムにロードした異なる量のペプチドを用いて検出限界を決定した。試験したペプチドの量は、１ｐｍｏｌ、１００ｆｍｏｌ、１０ｆｍｏｌ、１ｆｍｏｌ、及び１００ａｍｏｌとした。（表１）これらの結果は、最低検出限界（ＬｏＤ）がアトモル範囲（$10^{-18}$）内にあること、ダイナミックレンジは５桁にわたること、及び信号対雑音比が低フェムトモル範囲（$10^{-15}$）でのシークエンシングに充分と考えられることを示している。

【０３５２】

【表１】

| ペプチドm/z | カラムへのロード量 | 1e9細胞中のコピー数／細胞 |
|---|---|---|
| 566.830 | 1 pmol | 600 |
| 562.823 | 100 fmol | 60 |
| 559.816 | 10 fmol | 6 |
| 556.810 | 1 fmol | 0.6 |
| 553.802 | 100 amol | 0.06 |

【０３５３】

ＩＸ．提示モデル

提示モデルを用いて、患者におけるペプチド提示の尤度を特定することができる。異なる提示モデルは当業者には周知のものであり、例えば、そのような提示モデルは、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用する米国特許第１０，０５５，５４０号、米国特許出願公開第ＵＳ２０２０００１０８４９Ａ１号及び同第ＵＳ２０１１０２９３６３７、ならびに国際特許出願公開第ＷＯ／２０１８／１９５３５７号、同第ＷＯ／２０１８／２０８８５６号、及び同第ＷＯ２０１６１８７５０８号により詳細に記載されている。

【０３５４】

Ｘ．訓練モジュール

訓練モジュールを用いて、ペプチド配列がそのペプチド配列に関連したＭＨＣアレルによって提示される尤度を生成する１つ以上の提示モデルを訓練データセットに基づいて構築することができる。様々な訓練モジュールが当業者には周知であり、例えば、そのような提示モデルは、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用する米国特許第１０，０５５，５４０号、米国特許出願公開第ＵＳ２０２０００１０８４９Ａ１、ならびに国際特許出願公開第ＷＯ／２０１８／１９５３５７号、及び同第ＷＯ／２０１８／２０８８５６号により詳細に記載されている。訓練モジュールは、アレル毎ベースでペプチドの提示尤度を予測するための予測モデルを構築することができる。訓練モジュールは、２つ以上のＭＨＣアレルが存在する複数アレル場面においてペプチドの提示尤度を予測するための提示モデルも構築することができる。

【０３５５】

ＸＩ．予測モジュール

予測モジュールを用いて配列データを受け取り、提示モデルを用いて配列データ中の候補抗原を選択することができる。具体的には、配列データは、患者の腫瘍組織細胞から抽出されたＤＮＡ配列、ＲＮＡ配列、及び／またはタンパク質配列であってよい。予測モジュールは、患者の正常組織の細胞から抽出された配列データを、患者の腫瘍組織細胞から抽出された配列データと比較して１つ以上の変異を含む部分を特定することにより、変異したペプチド配列である候補ネオ抗原を特定することができる。予測モジュールは、患者の正常組織の細胞から抽出された配列データを、患者の腫瘍組織の細胞から抽出された配列データと比較して不適切に発現されている候補抗原を特定することにより、正常細胞または組織と比較して腫瘍細胞またはがん組織で発現が変化している候補抗原を特定することができる。

【０３５６】

提示モジュールは、１つ以上の提示モデルを処理されたペプチド配列に適用してペプチド配列の提示尤度を推定することができる。具体的には、予測モジュールは、提示モデル

を候補抗原に適用することによって、腫瘍のＨＬＡ分子上に提示される可能性が高い１つ以上の候補抗原ペプチド配列を選択することができる。一実現形態では、提示モジュールは、あらかじめ決定された閾値を上回る推定提示尤度を有する候補抗原配列を選択する。別の実現形態では、提示モデルは、最も高い推定提示尤度を有するＮ個の候補抗原配列を選択する（Ｎは、一般的に、ワクチン中で送達することができるエピトープの最大数である）。特定の患者について選択された候補抗原を含むワクチンを対象に注射して免疫応答を刺激することができる。

【０３５７】

ＸＩ．Ｂ．カセット設計モジュール

ＸＩ．Ｂ．１　概要

カセット設計モジュールを用いて、患者に注射するために選択された候補ペプチドに基づいてワクチンカセット配列を生成することができる。様々なカセット設計モジュールが当業者には周知であり、例えば、そのようなカセット設計訓練モジュールが、あらゆる目的で本明細書に参照によりそれらの全容をそれぞれ援用する米国特許第１０，０５５，５４０号、米国特許出願公開第ＵＳ２０２０００１０８４９Ａ１号、ならびに国際特許出願公開第ＷＯ／２０１８／１９５３５７号、及び同第ＷＯ／２０１８／２０８８５６号により詳細に記載されている。

【０３５８】

治療エピトープのセットは、所定の閾値を上回る提示尤度（提示尤度は、提示モデルにより決定される）に関連付けられた予測モジュールによって決定された選択されたペプチドに基づいて生成することができる。しかしながら、他の実施形態では、治療エピトープのセットは、多くの方法の任意の１つ以上（単独または組み合わせ）に基づいて、例えば、患者のＨＬＡクラスＩまたはＨＬＡクラスＩＩアレルに対する結合親和性もしくは予測される結合親和性、患者のＨＬＡクラスＩまたはＨＬＡクラスＩＩアレルに対する結合安定性もしくは予測される結合安定性、ランダムサンプリングなどに基づいて、生成することができる。

【０３５９】

治療エピトープはそれ自体が選択されたペプチドに相当してもよい。治療エピトープは、選択されたペプチド以外にＣ及び／またはＮ末端フランキング配列を含むこともできる。Ｎ及びＣ末端フランキング配列は、その由来源タンパク質との関連において治療ワクチンエピトープの天然のＮ及びＣ末端フランキング配列であってよい。治療エピトープは固定長のエピトープを表してもよい。治療エピトープは、可変長のエピトープを表してもよく、エピトープの長さは例えばＣまたはＮ末端フランキング配列の長さによって異なりうる。例えば、Ｃ末端フランキング配列及びＮ末端フランキング配列は、それぞれ２～５残基の異なる長さを有してよく、これによりエピトープの１６種類の可能な選択肢が与えられる。

【０３６０】

カセット設計モジュールは、カセット内の２個の治療エピトープ間の連結部にまたがるジャンクションエピトープの提示を考慮することによってカセット配列を生成することもできる。ジャンクションエピトープは、カセット内で治療エピトープ及びリンカー配列を連結するプロセスによってカセット内に生じる新規な非自己であるが無関係なエピトープ配列である。ジャンクションエピトープの新規な配列は、カセットの治療エピトープ自体とは異なる。

【０３６１】

カセット設計モジュールは、ジャンクションエピトープがその患者において提示される尤度を低下させるカセット配列を生成することができる。具体的には、カセットが患者に注射される際、ジャンクションエピトープは、患者のＨＬＡクラスＩまたはＨＬＡクラスＩＩアレルによって提示される可能性を有し、それぞれＣＤ８またはＣＤ４　Ｔ細胞応答を刺激する。かかる応答は、ジャンクションエピトープに対する反応性を有するＴ細胞は治療効果を有さないことから望ましくなく、抗原競合によりカセット内の選択された治療

エピトープに対する免疫応答を消失させる可能性がある[76]。

【０３６２】

カセット設計モジュールは、１つ以上の候補カセットについて繰り返し処理を行って、そのカセット配列に関連付けられたジャンクションエピトープの提示スコアが数値閾値を下回るカセット配列を決定することができる。ジャンクションエピトープ提示スコアは、カセット内のジャンクションエピトープの提示尤度に関連付けられた量であり、ジャンクションエピトープ提示スコアの値が高いほど、カセットのジャンクションエピトープがＨＬＡクラスＩまたはＨＬＡクラスＩＩまたはその両方によって提示されやすいことを示す。

【０３６３】

一実施形態では、カセット設計モジュールは、候補カセット配列間で最も低いジャンクションエピトープ提示スコアに関連付けられたカセット配列を決定することができる。

【０３６４】

カセット設計モジュールは、１つ以上の候補カセット配列について繰り返し処理を行い、各候補カセットのジャンクションエピトープ提示スコアを決定し、閾値を下回るジャンクションエピトープ提示スコアに関連付けられた最適なカセット配列を特定することができる。

【０３６５】

カセット設計モジュールは、候補カセット配列内のジャンクションエピトープのいずれかが、ワクチンを設計しようとする特定の患者の自己エピトープであるかどうかを識別するために１つ以上の候補カセット配列をさらに確認することができる。これを行うには、カセット設計モジュールは、ＢＬＡＳＴなどの既知のデータベースに対してジャンクションエピトープを確認する。一実施形態では、カセット設計モジュールは、ジャンクション自己エピトープを防止するカセットを設計するように構成することができる。

【０３６６】

カセット設計モジュールは、ブルートフォースアプローチを実行して、すべての、または大部分の可能な候補カセット配列について繰り返し処理を行うことで最小のジャンクションエピトープ提示スコアを有する配列を選択することができる。しかしながら、かかる候補カセットの数は、ワクチンの容量が大きくなるにしたがって途方もなく大きくなりうる。例えば、２０個のエピトープのワクチン容量では、カセット設計モジュールは、最小のエピトープ提示スコアを有するカセットを決定するために約$10^{18}$個の可能な候補カセットについて繰り返し処理を行わなければならない。この決定は、カセット設計モジュールが妥当な長さの時間内で患者に対するワクチンを生成するには計算の負荷（必要とされる計算処理リソースの点で）が大きくなり、時として処理不能となりうる。さらに、各候補カセットについて可能なジャンクションエピトープを処理することはよりいっそうの負荷となりうる。したがって、カセット設計モジュールは、ブルートフォースアプローチにおける候補カセット配列の数よりも大幅に小さい候補カセット配列の数について繰り返し処理を行う方法に基づいてカセット配列を選択することができる。

【０３６７】

カセット設計モジュールは、ランダムに、または少なくとも疑似ランダムに生成された候補カセットを生成し、所定の閾値を下回るジャンクションエピトープ提示スコアに関連付けられた候補カセットをカセット配列として選択することができる。さらに、カセット設計モジュールは、最小のジャンクションエピトープ提示スコアを有するサブセットからの候補カセットをカセット配列として選択することができる。例えば、カセット設計モジュールは、２０個の選択されたエピトープのセットについて約１００万の候補カセットのサブセットを生成し、最小のジャンクションエピトープ提示スコアを有する候補カセットを選択することができる。ランダムカセット配列のサブセットを生成し、このサブセットからジャンクションエピトープ提示スコアの低いカセット配列を選択することはブルートフォースアプローチと比べて最適とはいえないが、これは、必要な計算リソースが大幅に少なく、そのため、その実施が技術的に可能である。さらに、このより効率的な手法に対

してブルートフォース法を行うことは、ジャンクションエピトープ提示スコアのわずかな、またはさらには無視される程度の改善しかもたらされない可能性があるため、リソースの配分の観点からはあまり価値がない。カセット設計モジュールは、カセットのエピトープ配列を非対称巡回セールスマン問題（ＴＳＰ）として定式化することにより、改善されたカセット構成を決定することができる。ノードのリスト、及び各ノードのペア間の距離が与えられた場合、ＴＳＰは、各ノードをちょうど１回ずつ訪問して元のノードに戻るための最小の総距離に関連付けられたノードの配列を決定する。例えば、互いの間の距離が既知である都市Ａ、Ｂ、及びＣが与えられた場合、ＴＳＰの解は、可能な巡回路のうちで各都市をちょうど１回ずつ訪問するのに移動する総距離が最小となるような都市の閉じた配列を生成する。ＴＳＰの非対称バージョンは、ノードのペア間の距離が非対象である場合の最適なノードの配列を決定する。例えば、ノードＡからノードＢに移動するための「距離」は、ノードＢからノードＡに移動するための「距離」と異なる場合がある。非対称ＴＳＰを用いて改善された最適カセットについて解くことにより、カセット設計モジュールは、カセットの各エピトープ間のジャンクションにわたって低い提示スコアを与えるカセット配列を見つけることができる。非対称ＴＳＰの解は、カセットの各ジャンクションにわたったジャンクションエピトープ提示スコアを最小とするために各エピトープが連結されなければならない順序に対応した治療エピトープの配列を示す。このアプローチによって決定されたカセット配列は、ジャンクションエピトープの提示が大幅に低い配列を与える一方で、特に生成される候補カセット配列の数が大きい場合に、必要とされる計算リソースがランダムサンプリングアプローチよりも大幅に少なくなる可能性がある。異なる計算手法及び最適化カセット設計の比較の例示的な例が、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用する米国特許第１０，０５５，５４０号、米国特許出願公開第ＵＳ２０２０００１０８４９Ａ１、ならびに国際特許出願公開第ＷＯ／２０１８／１９５３５７号、及び同第ＷＯ／２０１８／２０８８５６号により詳細に記載されている。

【０３６８】

ＸＩ．Ｂ．２　共有された抗原ワクチン配列選択

共有抗原ワクチンに含めるための共有抗原の配列及びかかるワクチンによる治療に適当な患者は、本明細書で提供する詳細の開示を用いて、当業者が選択することができる。例えば、表：Ａ、１．２、追加のＭＳ認証ネオ抗原、または、ＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥ結果を、配列選択のために使用することができる。ある特定の場合において、（例えば、それぞれが対象に存在していることを示す所与の対象から入手可能な、配列決定データに基づき、）特定の変異、及び、ＨＬＡアレルの組み合わせが、好ましい可能性があり、続いて、これらを共に、組み合わせて使用し、ワクチンに含めるために、表Ａ、追加のＭＳ認証ネオ抗原、またはＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥ結果を用いて、共有ネオ抗原配列を識別することができる。

【０３６９】

ＸＩＩＩ．例示的なコンピュータ

本明細書に記載される計算方法のいずれにおいてもコンピュータを使用することができる。当業者には、コンピュータは異なるアーキテクチャを有し得る点が認識されよう。当業者には周知のコンピュータの例は、例えば、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容をそれぞれ援用する、米国特許第１０，０５５，５４０号、米国特許出願公開第ＵＳ２０２０００１０８４９Ａ１号、ならびに国際特許出願公開第ＷＯ／２０１７／１０６６３８号、同第ＷＯ／２０１８／１９５３５７号、及び同第ＷＯ／２０１８／２０８８５６号により詳細に記載されている。

【０３７０】

ＸＩＶ．補助及び維持療法におけるネオ抗原ワクチンの臨床評価

（本明細書を通して記載する）ネオエピトープカセットをコードする、個別化されたがんワクチンを、進行癌を有する患者において、免疫チェックポイント遮断薬と組み合わせて投与する。異種プライム／ブーストワクチンレジメンは、（１）プライムワクチン接種として使用されるＣｈＡｄＶ、及び、（２）ＣｈＡｄＶベクターの後にワクチン接種をブ

ーストするために用いられる、ＬＮＰ中で製剤化されるＳＡＭを伴う。ＣｈＡｄＶ及びＳＡＭベクターは共に、各対象に対して特異的な、同一の個別化されたネオエピトープカセットをコードし、これはまた、２つのユニバーサルＣＤ４　Ｔ細胞エピトープ（ＰＡＤＲＥ及び破傷風トキソイド）もコードする。対象を含めるために、腫瘍を、全エクソーム及びトランスクリプトームシーケンシングに用いて体細胞突然変異を検出し、血液を、ＨＬＡタイピングに用いる。

【０３７１】

ＣｈＡｄＶベクターは、サブグループＥのアデノウイルスである、チンパンジーアデノウイルス６８（Ｃ６８、６８／ＳＡｄＶ－２５、元々、Ｐａｎ９として示されていた）に基づく、複製欠損型Ｅ１、Ｅ３、Ｅ４オープンリーディングフレーム２－４（ＯＲＦ２－４）欠失アデノウイルスベクターである［ＣｈＡｄＶ６８－Ｅｍｐｔｙ－Ｅ４ｄｅｌｅｔｅｄ；Ｅ１欠失（５７７～３４０３）、Ｅ３欠失（２７，１２５～３１，８２５）、及び部分的Ｅ４欠失スパニングＯＲＦ２－４（３４，９１６～３５，６４２）を有する配列番号１を表す、配列番号２９３６５を参照されたい］。ＣｈＡｄＶベクターは、５×１０$^{11}$ｖｐ／ｍＬで溶液中にて製剤化され、１．０ｍＬを、それぞれ、反対の三角筋における２つの両側ワクチン注射部位にてＩＭ注射する（三角筋が好ましく、臀筋［背面もしくは腹面］、またはそれぞれの側の大腿直筋を使用してよい）。

【０３７２】

ＳＡＭベクター（ＧＲＴ－Ｒ９０２）はアルファウイルスに由来する。ＳＡＭベクターは、ウイルス性タンパク質、ならびに、ＲＮＡ増幅に必要な５’及び３’ＲＮＡ配列をコードするが、構造タンパク質はコードしなかった。ＳＡＭベクターを、４種類の脂質：イオン性アミノ脂質、ホスファチジルコリン、コレステロール、及び、ＰＥＧベースのコート脂質で構成されるＬＮＰ中で製剤化し、ＳＡＭを封入させて、ＬＮＰを形成する。ＳＡＭベクターは、ＣｈＡｄＶベクターで用いるのと同じネオ抗原発現カセットを含有する。ＳＡＭベクターは、ｍｇ／ｍＬで溶液中にて製剤化され、それぞれ、反対の三角筋における２つの両側ワクチン注射部位にてＩＭ注射する（三角筋が好ましく、臀筋［背面もしくは腹面］、またはそれぞれの側の大腿直筋を使用してよい）。ブースターワクチン接種部位は、できる限りプライムワクチン接種部位に近づける。注射量は、投与される用量に基づく。用量レベル量とは、ＳＡＭベクターの量を明示的に指す、即ち、ＬＮＰなどの他の構成成分を指すものではない。ＬＮＰ：ＳＡＭの比率は、およそ２４：１である。

【０３７３】

イピリムマブは、細胞毒性Ｔリンパ球関連抗原４（ＣＴＬＡ－４）に結合する、ヒトモノクローナルＩｇＧ１抗体である。イピリムマブは、５ｍｇ／ｍＬで溶液中にて製剤化され、両側のワクチン接種部位のそれぞれに、ＳＣに近接して（約２ｃｍ以内）注射される。イピリムマブのＳＣ経路は、認可されたＩＶ投与経路とは異なる。イピリムマブは、以下に示す２つの方法のうちの一方で、３０ｍｇの用量にて投与される：

１．両側のワクチン接種部位のそれぞれにおいて、ワクチン排出ＬＮに近い、４回の１．５ｍＬ（７．５ｍｇ）の注射（即ち、各三角筋、腰部の腹側臀筋、臀部の背側臀筋、または大腿直筋の、それぞれの両側の、ワクチン接種部位の下に１．５ｍＬ、及び、ワクチン接種部位の上に１．５ｍＬ［三角筋が好ましいが、臨床部位及び患者の好みに依存する］）。

２．両側のワクチン接種部位のそれぞれにおいて、ワクチン排出ＬＮに近い、６回の１ｍＬ（５ｍｇ）の注射（即ち、各三角筋、腰部の腹側臀筋、臀部の背側臀筋、または大腿直筋の、それぞれの両側の、ワクチン接種部位の下に１ｍＬ、ワクチン接種部位の横に１ｍＬ、及び、ワクチン接種部位の下に１．５ｍＬ、及び、ワクチン接種部位の上に１．５ｍＬ［三角筋が好ましいが、臨床部位及び患者の好みに依存する］）。

【０３７４】

ニボルマブは、ＰＤ－１と、そのリガンドであるＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２との相互作用を遮断する、ヒトモノクローナルＩｇＧ４抗体である。ニボルマブは、１０ｍｇ／ｍＬで溶液中で製剤化され、０．２ミクロン～１．２ミクロンの孔径、低タンパク結合のイン

ラインフィルターを通して、プロトコールにより規定される用量で、ＩＶ輸液として投与される。これは、ＩＶプッシュまたはボーラス注射としては投与されない。用量が固定される（例えば、２４０ｍｇの平坦用量）とき、ニボルマブ注射は未希釈のまま、または希釈されて輸液され、合計の輸液体積が１６０ｍＬを超えないようにする。ニボルマブ輸液の後、直ちに希釈液を一流しし、ラインをきれいにする。ニボルマブは、同日中にイピリムマブと共に、または、イピリムマブなしで、各ワクチン接種（即ち、ＳＡＭまたはＣｈＡｄＶワクチンのそれぞれ）の後に投与される。ニボルマブの用量及び経路は、食品医薬品局が認可した用量及び経路に基づく。ニボルマブの用量は、参加者がどれだけ十分に治療に耐えるかに応じて、中断する、遅らせる、または、中止することができる。投与訪問は飛ばされず、遅らせるのみである。研究員及びスポンサーが、ニボルマブなしでＳＡＭベクターを用いて治療することが、患者にとって最も関心あることと考えない限り、ワクチン接種は、ニボルマブなしでは行われない。例えば、メーカーの指示、及び／または、当業者により認識されている、測定された適切な用量に従い、アテゾリズマブまたはセミプリマブを、ニボルマブの代わりに投与することができる。他のＰＤ１及び／またはＰＤ－Ｌ１チェックポイント阻害剤を、代わりに用いてよい。例えば、アテゾリズマブを、４週毎に１６８０ｍｇの用量で、静脈内注射により投与することができる。

【０３７５】

第２相研究を実施し、循環腫瘍（ｃｔ）ＲＮＡにおける変化によって評価される、フルオロピリミジン／ベバシズマブと、フルオロピリミジン／ベバシズマブのみに加えて、チェックポイント阻害剤と組み合わせた、ＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２による維持療法の臨床活性を特性決定する。第３相研究を実施して、無増悪生存期間により評価される、治療方式の臨床的有効度を実証する。非同義デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）変異を有する腫瘍は、腫瘍細胞表面上に、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）の文脈で、自己抗原としてこれらの変異を含有するペプチドを提示することができる。変異したペプチドの画分は、排他的に腫瘍細胞を標的にする、Ｔ細胞応答を生成可能なネオ抗原をもたらす。これらの変異を選択的に検出することによって、各患者の腫瘍に特有のネオ抗原が、これらのネオ抗原を標的にする個別化されたがんワクチンに含まれることを識別することが可能となる。このワクチンレジメンは、免疫応答を刺激するために、異種プライム／ブーストアプローチとして、２つのワクチンベクター（最初ＧＲＴ－Ｃ９０１、続いて、ＧＲＴ－Ｃ９０２）を用いる。本研究は、フルオロピリミジン／ベバシズマブに加えて、チェックポイント阻害剤と組み合わせた、この患者特異的免疫療法の抗腫瘍活性を探求する。研究群を表２に示す。維持及び補助療法を示す概略図をそれぞれ、図１及び図２に示す。

【０３７６】

研究には２つのステージがある。ワクチン製造ステージでは、患者が、ＦＯＬＦＯＸ／ｂｅｖ誘導療法を受けながら、腫瘍生検、及びＧｒｉｔｓｔｏｎｅ社のＥＤＧＥ（商標）ネオ抗原生産モデルを用いて、ネオ抗原予測を実施する。ワクチン群に無作為化された患者に関しては、上位２０個の、予測されたネオ抗原を、ワクチンベクターに含める。オキサリプラチンの完了後、患者は研究治療ステージに突入する。対照群の患者は、維持療法を続ける一方で、ワクチン群の患者は、維持療法にワクチンレジメンを加える。ワクチンレジメンは、ＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２、加えて、ＳＣイピリムマブ（３０ｍｇ）、及びＩＶアテゾリズマブ（１６８０ｍｇ）で構成される。処置の最初の１年にわたり、６回のワクチン接種が生じる。イピリムマブは、第１用量のＧＲＴ－Ｃ９０１及びＧＲＴ－Ｒ９０２と共に、ＳＣ投与される。アテゾリズマブは、最大２年間、４週毎に投与される。

【０３７７】

包含基準：

－ベバシズマブと組み合わせて、フルオロピリミジン及びオキサリプラチンによる転移設定において、第一線の処置を１サイクル以下受ける予定の、または既に受けた、組織学的に確認された転移性結腸直腸癌（ＣＲＣ）を有する患者

－ＲＥＣＩＳＴ　ｖ１．１に従い測定可能な、かつ切除不能な疾患

－ホルマリン固定パラフィン埋包（ＦＦＰＥ）腫瘍被検査物が入手可能であること。
－１２～１７歳の患者に対して、０もしくは１、またはこれに等しい、米国東海岸癌臨床試験グループ（ＥＣＯＧ）性能ステータス
－患者が、研究員の意見では十分な臓器機能を有すること
－妊娠可能な女性（ＷＣＢＰ）の場合、妊娠試験を受ける意志がなければならず、治療期間の間、及び、最後の治験研究処置後、５ヶ月間は、少なくとも１回、非常に効果的な避妊法を用いることに同意すること。
【０３７８】
除外基準：
－マイクロサテライト不安定性－高疾患を有する患者
－患者が、１非同義置換／百万塩基未満の、既知の腫瘍変異負荷を有する
－既知のＤＮＡポリメラーゼε変異
－既知のＢＲＡＦＶ６００Ｅ変異を有する患者
－出血性疾患、または、ＩＭ注射もしくは輸血後の、顕著な紫斑もしくは出血歴
－研究処置時に予想される免疫抑制
－同種異系組織／固形臓器移植の病歴
－自己免疫疾患または免疫欠損が活性である、または病歴がある
－患者が、症候性、もしくは活性的に進行している中枢神経系（ＣＮＳ）転移、がん腫髄膜炎を有する、または、全脳照射で処置されている
－２年以内の、他のがんの病歴、ただし、潜在的な治癒療法を受けた腫瘍を除く
－研究員の判断により、現行の研究に対して患者が不適切となる、任意の深刻な、同時の非がん疾患
－活性の結核もしくは最近（２週間未満）の、臨床的に有意な感染症、活性Ｂ型肝炎もしくはＣ型肝炎の証拠；または、ＨＩＶに対して陽性試験の既知の病歴
－処置のために全身ステロイドが必要な、肺炎の病歴（フィールド内照射肺炎で以前に回復したものを除く）
－過去３ヶ月以内に、もしくは治療処置前に、心筋梗塞、不安定狭心症、深刻な制御不能の心不整脈、心筋炎の病歴、またはうっ血性心不全
－妊娠している、妊娠する予定がある、または看護されている。
【０３７９】

【表２】

| 群及び介入 | |
|---|---|
| 群 | 割り当てられた介入 |
| 実験：ワクチン群<br>フルオロピリミジン／オキサリプラチン／ベバシズマブの標準ケアによる最長２４週間の誘導療法を受け、ワクチン生産スクリーニングを受けた後、患者は、第１用量のＧＲＴ－Ｃ９０１及びＧＲＴ－Ｒ９０２のみを同時投与される、ＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２とイピリムマブの、合計６回の投与を受ける。患者は全員、標準ケアに従い、フルオロピリミジン及びベバシズマブの維持療法に加えて、アテゾリズマブを受ける。 | 薬剤：GRT-C901<br>プライミング及び単回ブースターとして、筋肉内（ＩＭ）注射により投与される、患者特異的なネオ抗原がんワクチン。<br>薬剤：GRT-R902<br>ＩＭ注射により投与される、患者特異的なネオ抗原がんワクチン。<br>薬剤：アテゾリズマブ<br>アテゾリズマブは、４週毎に、１６８０ｍｇの用量で、静脈内注射により投与される。<br>他の名称：テセントリク<br><br>薬剤：イピリムマブ<br>イピリムマブは、第１用量のＧＲＴ－Ｃ９０１及びＧＲＴ－Ｒ９０２ と共に、３０ｍｇの用量で、皮下注射により投与される。<br>他の名称：ヤーボイ<br>薬剤：フルオロピリミジン<br>フルオロピリミジンは、標準ケアに従い、維持療法として投与される。<br>薬剤：ベバシズマブ<br>ベバシズマブは、標準ケアに従い、維持療法として投与される。<br>他の名称：アバスチン<br><br>薬剤：オキサリプラチン<br>オキサリプラチンは、標準ケアに従い、誘導療法として投与される。<br>他の名称：エロキサチン |

| | |
|---|---|
| 活性比較因子：対照群<br>フルオロピリミジン／オキサリプラチン／ベバシズマブの標準ケアによる最長２４週間の誘導療法を受け、ワクチン生産スクリーニングを受けた後、患者は、標準ケアに従い、フルオロピリミジン及びベバシズマブの維持療法を受ける。 | 薬剤：フルオロピリミジン<br>フルオロピリミジンは、標準ケアに従い、維持療法として投与される。<br><br>薬剤：ベバシズマブ<br>ベバシズマブは、標準ケアに従い、維持療法として投与される。<br>他の名称：エロキサチン |

【０３８０】

**ＸＶ．大腸癌を有する患者に対する、免疫チェックポイント遮断薬と組み合わせた、ネ**

オ抗原ワクチンの臨床評価
非同義デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）変異を有する腫瘍は、腫瘍細胞表面上に、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）の文脈で、自己抗原としてこれらの変異を含有するペプチドを提示する。変異したペプチドの画分は、排他的に腫瘍細胞を標的にする、Ｔ細胞応答を生成可能なネオ抗原をもたらす。これらの変異を選択的に検出することによって、各患者の腫瘍に特有のネオ抗原が、これらのネオ抗原を標的にする個別化されたがんワクチンに含まれることを識別することが可能となる。
【０３８１】
２つのワクチンベクターを、異種プライム／ブーストアプローチ（プライミングとしてＧＲＴ－Ｃ９０１、及び、ブースターとしてＧＲＴ－Ｒ９０２）を使用して、免疫応答を刺激するワクチンレジメンを、評価する。本研究は、チェックポイント阻害剤と組み合わせた、本患者特異的免疫療法の抗腫瘍活性を探求する。本研究は、分子応答に基づき、チェックポイント阻害剤と組み合わせた、一般的にＧＲＡＮＩＴＥと呼ばれるワクチンレジメン（ＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２）による補助処置の抗腫瘍活性を評価し、特性決定し、手術による切除の後に、循環腫瘍デオキシリボ核酸（ｃｔＤＮＡ）陽性の、大腸癌を有する患者におけるチェックポイント遮断薬と組み合わせた、ＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２の安全性及び忍容性を評価する。
【０３８２】
（本明細書を通して記載する）ネオエピトープカセットをコードする、個別化されたがんワクチンを、進行癌を有する患者において、免疫チェックポイント遮断薬と組み合わせて投与する。異種プライム／ブーストワクチンレジメンは、（１）プライムワクチン接種として使用されるＣｈＡｄＶ、及び、（２）ＣｈＡｄＶベクターの後にワクチン接種をブーストするために用いられる、ＬＮＰ中で製剤化されるＳＡＭを伴う。ＣｈＡｄＶ及びＳＡＭベクターは共に、各対象に対して特異的な、同一の個別化されたネオエピトープカセットをコードし、これはまた、２つのユニバーサルＣＤ４　Ｔ細胞エピトープ（ＰＡＤＲＥ及び破傷風トキソイド）もコードする。対象を含めるために、腫瘍を、全エクソーム及びトランスクリプトームシーケンシングに用いて体細胞突然変異を検出し、血液を、ＨＬＡタイピングに用いる。
【０３８３】
ＣｈＡｄＶベクターは、サブグループＥのアデノウイルスである、チンパンジーアデノウイルス６８（Ｃ６８、６８／ＳＡｄＶ－２５、元々、Ｐａｎ９として示されていた）に基づく、複製欠損型Ｅ１、Ｅ３、Ｅ４オープンリーディングフレーム２－４（ＯＲＦ２－４）欠失アデノウイルスベクターである［ＣｈＡｄＶ６８－Ｅｍｐｔｙ－Ｅ４ｄｅｌｅｔｅｄ；Ｅ１欠失（５７７～３４０３）、Ｅ３欠失（２７，１２５～３１，８２５）、及び部分的Ｅ４欠失スパニングＯＲＦ２－４（３４，９１６～３５，６４２）を有する配列番号１を表す、配列番号２９３６５を参照されたい］。ＣｈＡｄＶベクターは、５×１０$^{11}$ｖｐ／ｍＬで溶液中にて製剤化され、１．０ｍＬを、それぞれ、反対の三角筋における２つの両側ワクチン注射部位にてＩＭ注射する（三角筋が好ましく、臀筋［背面もしくは腹面］、またはそれぞれの側の大腿直筋を使用してよい）。
【０３８４】
ＳＡＭベクター（ＧＲＴ－Ｒ９０２）はアルファウイルスに由来する。ＳＡＭベクターは、ウイルス性タンパク質、ならびに、ＲＮＡ増幅に必要な５’及び３’ＲＮＡ配列をコードするが、構造タンパク質はコードしなかった。ＳＡＭベクターを、４種類の脂質：イオン性アミノ脂質、ホスファチジルコリン、コレステロール、及び、ＰＥＧベースのコート脂質で構成されるＬＮＰ中で製剤化し、ＳＡＭを封入させて、ＬＮＰを形成する。ＳＡＭベクターは、ＣｈＡｄＶベクターで用いるのと同じネオ抗原発現カセットを含有する。ＳＡＭベクターは、ｍｇ／ｍＬで溶液中にて製剤化され、それぞれ、反対の三角筋における２つの両側ワクチン注射部位にてＩＭ注射する（三角筋が好ましく、臀筋［背面もしくは腹面］、またはそれぞれの側の大腿直筋を使用してよい）。ブースターワクチン接種部位は、できる限りプライムワクチン接種部位に近づける。注射量は、投与される用量に基づ

く。用量レベル量とは、ＳＡＭベクターの量を明示的に指す、即ち、ＬＮＰなどの他の構成成分を指すものではない。ＬＮＰ：ＳＡＭの比率は、およそ２４：１である。

【０３８５】

イピリムマブは、細胞毒性Ｔリンパ球関連抗原４（ＣＴＬＡ－４）に結合する、ヒトモノクローナルＩｇＧ１抗体である。イピリムマブは、５ｍｇ／ｍＬで溶液中にて製剤化され、両側のワクチン接種部位のそれぞれに、ＳＣに近接して（約２ｃｍ以内）注射される。イピリムマブのＳＣ経路は、認可されたＩＶ投与経路とは異なる。イピリムマブは、以下に示す２つの方法のうちの一方で、３０ｍｇの用量にて投与される：

１．両側のワクチン接種部位のそれぞれにおいて、ワクチン排出ＬＮに近い、４回の１．５ｍＬ（７．５ｍｇ）の注射（即ち、各三角筋、腰部の腹側臀筋、臀部の背側臀筋、または大腿直筋の、それぞれの両側の、ワクチン接種部位の下に１．５ｍＬ、及び、ワクチン接種部位の上に１．５ｍＬ［三角筋が好ましいが、臨床部位及び患者の好みに依存する］）。

２．両側のワクチン接種部位のそれぞれにおいて、ワクチン排出ＬＮに近い、６回の１ｍＬ（５ｍｇ）の注射（即ち、各三角筋、腰部の腹側臀筋、臀部の背側臀筋、または大腿直筋の、それぞれの両側の、ワクチン接種部位の下に１ｍＬ、ワクチン接種部位の横に１ｍＬ、及び、ワクチン接種部位の下に１．５ｍＬ、及び、ワクチン接種部位の上に１．５ｍＬ［三角筋が好ましいが、臨床部位及び患者の好みに依存する］）。

【０３８６】

ニボルマブは、ＰＤ－１と、そのリガンドであるＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２との相互作用を遮断する、ヒトモノクローナルＩｇＧ４抗体である。ニボルマブは、１０ｍｇ／ｍＬで溶液中で製剤化され、０．２ミクロン～１．２ミクロンの孔径、低タンパク結合のインラインフィルターを通して、プロトコールにより規定される用量で、ＩＶ輸液として投与される。これは、ＩＶプッシュまたはボーラス注射としては投与されない。用量が固定される（例えば、２４０ｍｇの平坦用量）とき、ニボルマブ注射は未希釈のまま、または希釈されて輸液され、合計の輸液体積が１６０ｍＬを超えないようにする。ニボルマブ輸液の後、直ちに希釈液を一流しし、ラインをきれいにする。ニボルマブは、同日中にイピリムマブと共に、または、イピリムマブなしで、各ワクチン接種（即ち、ＳＡＭまたはＣｈＡｄＶワクチンのそれぞれ）の後に投与される。ニボルマブの用量及び経路は、食品医薬品局が認可した用量及び経路に基づく。ニボルマブの用量は、参加者がどれだけ十分に治療に耐えるかに応じて、中断する、遅らせる、または、中止することができる。投与訪問は飛ばされず、遅らせるのみである。研究員及びスポンサーが、ニボルマブなしでＳＡＭベクターを用いて治療することが、患者にとって最も関心あることと考えない限り、ワクチン接種は、ニボルマブなしでは行われない。例えば、メーカーの指示、及び／または、当業者により認識されている、測定された適切な用量に従い、アテゾリズマブまたはセミプリマブを、ニボルマブの代わりに投与することができる。他のＰＤ１及び／またはＰＤ－Ｌ１チェックポイント阻害剤を、代わりに用いてよい。例えば、アテゾリズマブを、４週毎に１６８０ｍｇの用量で、静脈内注射により投与することができる。

【０３８７】

第２相研究を実施して、チェックポイント阻害剤と組み合わせた、ＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２による補助化学療法の臨床活性を特性決定する。研究群を表３に示す。

【０３８８】

ルーチンの化学療法を既に受けた、ＣＲＣ、胃癌、または肺癌を有する患者を、表３に示すように、第１／２相Ｆｉｒｓｔ　ｉｎ　Ｈｕｍａｎ研究で処置した。ワクチンレジメンは、ニボルマブ（ＩＶ　４８０ｍｇ　Ｑ４Ｗ）及びイピリムマブ（ＳＣ　３０ｍｇ）と組み合わせた、２０個の患者特異的ネオ抗原を含有する、連続したチンパンジーアデノウイルス及び自己増幅ｍＲＮＡベクターを含んだ。図３を参照されたい。

【０３８９】

処置を受けた２９名のうち、１３名がＣＲＣを有した。ＲＥＣＩＳＴ　ｖ１．１によると、１３名のうち６名は安定した疾患（ＳＤ）を有し、７名は進行性疾患（ＰＤ）を有し

た。６名の患者は、ｃｔＤＮＡの－３０％以上の減少として定義される、分子応答（ＭＲ）を達成した。分子応答を有しない患者と比較して、ＭＲを有する患者は、全生存期間（ＯＳ）が長くなった（表４を参照されたい）。分子応答を有する患者は、原発腫瘍の位置、肝臓転移、ＫＲＡＳ変異に関して有利ではなく、より高い腫瘍変異負荷（ＴＭＢ）、ＰＤ－Ｌ１、または、Ｔ細胞炎症性遺伝子発現（ＧＥＰ）に対して強化されず、同様の基準ｃｔＤＮＡ値（ｐ値＝０．１８）を有した（表４を参照されたい）。

【０３９０】

【表４】

ＣＲＣ対象における臨床応答

| | 全生存期間（月の中央値） | 原発腫瘍の位置 | 肝臓損傷 | 中央値ＴＭＢ（百万塩基当たりの変異、範囲） | ＰＤ－Ｌ１ | ＲＮＡｓｅｑに基づくＴ細胞炎症ＧＥＰ（ｚスコア） | 基準ｃｔＤＮＡ（平均ＶＡＦ、範囲） | ＲＥＣＩＳＴ　ｖ１．１当たりのＳＤ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MR (n=6) | 中央値：NR<br>12ヶ月：67% | 結腸：2<br>直腸：3<br>両方：1 | 4 | 2.9 (2.1-6.6) | <1%: 4<br>NE:2 | IFNg: -0.18 (-0.44-2.69)<br>CD8A:635 (390-1113)<br>CXCL9:100 (12-4402) | 3.2% (0.2-10.4) | 5 |
| MR なし (n=7) | 中央値：7.8<br>12ヶ月：0% | 結腸：5<br>直腸：1<br>両方：1 | 6 | 3.6 (2.5-17.6) | <1%: 5<br>NE:2 | IFNg: -0.32 (-0.56-0.46)<br>CD8A:582 (241-1901)<br>CXCL9:176 (25-436) | 6.4% (0.0-17.4) | 1 |

【０３９１】

主要アウトカム指標：

１．循環腫瘍デオキシリボ核酸（ｃｔＤＮＡ）における、基準から５０％以上の減少を有する患者の割合（％）［時間枠：基準、及び最大約２４ヶ月］

２．有害事象（ＡＥ）、免疫関連ＡＥ、処置関連ＡＥ、深刻なＡＥ、死をもたらすＡＥ、投与遅延をもたらすＡＥ、アメリカ国立がんセンター（ＮＣＩ）共通の用語を用いる、研究処置の中止をもたらすＡＥの発生［時間枠：最後の研究処置（最大６２週）の後、最大約１００日］

【０３９２】

副次アウトカム指標：

３．研究員により評価される、充実性腫瘍（ＲＥＣＩＳＴ）ｖ１．１における応答評価基準による、無再発生存期間（ＲＦＳ）［時間枠：無作為化のときから、同じがんの最初の再発、または死亡まで（最大約７２ヶ月）］

４．無病生存時間（ＤＦＳ）［時間枠：無作為化のときから、何らかのがんの最初の再発、または死亡まで（最大約７２ヶ月）］

５．全生存期間（ＯＳ）［時間枠：最大７２ヶ月］

６．ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）ベースアッセイにより評価した、基準においてｃｔＤＮＡを有する患者の、検出不可能なｃｔＤＮＡを有する患者への転換［時間枠：基準、及び最大約２４ヶ月］

７．基準からのｃｔＤＮＡ減少の、分子応答の最長期間［時間枠：基準、及び最大約２４ヶ月］

８．ワクチン製造の成功；ワクチン生産を保証するのに十分なネオ抗原を有する患者の数

により測定される、ワクチン製造の成功［時間枠：研究薬物投与１日目の前から、最大２８日］
９．末梢血単核球細胞（ＰＢＭＣ）を有するＴ細胞応答［時間枠：最大２４ヶ月］
【０３９３】
ワクチン生産ステージの包含基準：
－以下の基準のいずれかを満たすものとして定義される、ハイリスクステージＩＩ大腸癌を含む、ハイリスクステージＩＩまたはステージＩＩＩ大腸癌を有する患者：Ｔ４腫瘍、等級３以上、腸閉塞もしくは穿孔、血管またはリンパまたは神経周囲侵襲の組織学的徴候の、臨床的提示、及び、１２個未満の結節の調査
－患者が、ｃｔＤＮＡの存在に基づき、補助化学療法（ＡＣＴ）の開始前に、微小残存病変（ＭＲＤ）の証拠を有する
－患者が、およそ６週間未満のＡＣＴを受けていた。
－切除における、周辺陰性（Ｒ０）の病状
－ホルマリン固定パラフィン埋包（ＦＦＰＥ）腫瘍被検査物が入手できること
－１２～１７歳の患者に対して、０～１、またはこれに等しい、米国東海岸癌臨床試験グループ（ＥＣＯＧ）性能ステータス
－患者が、以下により定義される十分な臓器機能を有する：３０００／ｍｍ$^3$以上の、末梢白血球（ＷＢＣ）数、８００／ｍｍ$^3$以上の、絶対リンパ球数（ＡＬＣ）、１５００／ｍｍ$^3$以上の、絶対好中球数（ＡＮＣ）、１００，０００／ｍｍ$^3$以上の血小板、９ｇ／ｄＬ以上のヘモグロビン、３ｇ／ｄＬ以上のアルブミン、Ｃｏｃｋｃｒｏｆｔ－Ｇａｕｌｔの式を用いて計算される、５０ｍＬ／分を超えるクレアチニンクリアランス、アラニントランスアミナーゼ（ＡＬＴ）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）≦３×正常下限（ＵＬＮ）、全血清ビリルビン≦１．５×ＵＬＮ、または直接ビリルビン≦１×ＵＬＮ、国際標準比（ＩＮＲ）、プロトロンビン時間（ＰＴ）、または部分的トロンボプラスチン時間（ＰＴＴ）≦１．５×ＵＬＮ、ただし、患者が抗凝固剤療法を受けない限りであり、受ける場合、患者は、ＰＴ及びＰＴＴが、抗凝固剤の使用目的の治療域にあり、癌胎児性抗原レベルが≦１．５×ＵＬＮである場合に適格となる。
－妊娠可能な女性（ＷＣＢＰ）は、妊娠試験を受ける意志がなければならず、治療期間の間、及び、最後の治験研究処置後、５ヶ月間は、少なくとも１回、非常に効果的な避妊法を用いることに同意する。
【０３９４】
研究処置ステージの包含基準：
－ハイリスクステージＩＩまたはステージＩＩＩの、マイクロサテライト安定（ＭＳＳ）大腸癌の診断が確認されており、手術により腫瘍が切除されており、標準的なＡＣＴを完了し、Ｘ線写真により疾患の証拠がなく、ＡＣＴ後のｃｔＤＮＡ検出に基づくと、ＭＲＤの証拠がある
－１２～１７歳の患者に対して、０～１、またはこれに等しい、ＥＣＯＧ性能ステータス
－２０００／ｍｍ$^3$以上の末梢ＷＢＣ数、５００／ｍｍ$^3$以上のＡＬＣ、１０００／ｍｍ$^3$以上のＡＮＣ、７５，０００／ｍｍ$^3$以上の血小板、９ｇ／ｄＬ以上のヘモグロビン、３ｇ／ｄＬ以上のアルブミン、Ｃｏｃｋｃｒｏｆｔ－Ｇａｕｌｔの式を用いて計算される、４０ｍＬ／分を超えるクレアチニンクリアランス、ＡＬＴ及びＡＳＴ≦３×ＵＬＮ、全血清ビリルビン≦１．５×ＵＬＮ、または直接ビリルビン≦１×ＵＬＮ、及び、ＩＮＲ、ＰＴ、またはＰＴＴ≦１．５×ＵＬＮの、十分な臓器機能を有する
－ＷＣＢＰの場合、妊娠試験を受ける意志がなければならず、治療期間の間、及び、最後の治験研究処置後、５ヶ月間は、少なくとも１回、非常に効果的な避妊法を用いることに同意すること。
－男性、及び、ＷＣＢＰで性的に活性である場合、治療期間の間、及び、最後の治験研究処置後、５ヶ月間は、ラテックスコンドームなどの、非常に効果的な避妊を用い、加えて、パートナーが、非常に効果的な避妊法を用いることに同意する必要がある。
【０３９５】

ワクチン生産ステージの除外基準：
－マイクロサテライト不安定（ＭＳＩ）高疾患を有する患者
－１非同義置換／百万塩基未満の、既知の腫瘍変異負荷（ＴＭＢ）を有する患者
－既知のＤＮＡポリメラーゼε変異を有する患者
－過去６ヶ月以内に、チンパンジーアデノウイルス（ＣｈＡｄ）に曝露されたことが知られており、この先６ヶ月間、ＣｈＡｄベースワクチンを受ける計画がある、及び／または、ワクチン接種に対する反応において病歴またはアナフィラキシーがある
－出血性疾患、または、筋肉内（ＩＭ）注射もしくは輸血後の、顕著な紫斑もしくは出血歴
－研究処置時に予想される免疫抑制
－患者が、抗細胞毒性Ｔリンパ球関連抗原（ＣＴＬＡ－４）、抗プログラム細胞死１受容体（ＰＤ－１）、抗プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）、または、Ｔ細胞の同時刺激もしくはチェックポイント経路を特異的に標的にする、任意の他の抗体もしくは薬剤で構成される療法を以前に受けている
－同種異系組織／固形臓器移植の病歴
－自己免疫疾患または免疫欠損が活性である、または病歴がある
－２年以内の、他のがんの病歴
－活性の結核もしくは最近（２週間未満）の、臨床的に有意な感染症、もしくは、活性Ｂ型肝炎もしくはＣ型肝炎の証拠；またはＣＤ４＋　Ｔ細胞数が、２００ｃｅｌｌ／マイクロリットル以下である場合に、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）に対して陽性試験の既知の病歴
－処置のために全身ステロイドが必要な、肺炎の病歴（フィールド内照射肺炎で以前に回復したものを除く）
－３ヶ月以内に、もしくは治療処置前に、心筋梗塞、不安定狭心症、深刻な制御不能の心不整脈、心筋炎の病歴、またはうっ血性心不全
－妊娠している、妊娠する予定がある、または看護されている。

【０３９６】

研究処置ステージの除外基準：
－患者が、治験中の製品及び／または他の抗がん療法による処置を受けている。
－過去６ヶ月以内にＣｈＡｄに曝露されたことが知られており、この先６ヶ月間、ＣｈＡｄベースワクチンを受ける計画がある、及び／または、ワクチン接種に対する反応において病歴またはアナフィラキシーがある
－全身コルチコステロイドもしくは他の免疫抑制投薬、もしくは、低ガンマグロブリン血症などの状態、または放射線照射による、同時の、最近（４週間以内）の、または、予定の処置による、免疫抑制
－以前に、がん治療誘発ＡＥから回復していない患者
－任意の深刻な、同時の非がん疾患
－活性の結核もしくは最近（２週間未満）の、臨床的に有意な感染症、活性Ｂ型肝炎もしくはＣ型肝炎の証拠；またはＣＤ４＋　Ｔ細胞数が、２００ｃｅｌｌ／マイクロリットル以下である場合に、ＨＩＶに対して陽性試験の既知の病歴
－処置のために全身ステロイドが必要な、肺炎の病歴
－研究処置を始める６ヶ月以内に、心筋梗塞、不安定狭心症、深刻な制御不能の心不整脈、心筋炎の病歴、またはうっ血性心不全（ニューヨーク心臓協会［ＮＹＨＡ］グレード３及び４）。
－妊娠している、妊娠する予定がある、または看護されている。

【０３９７】

【表３】

| 群及び介入 | |
|---|---|
| 群 | 割り当てられた介入 |
| 実験：ＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２ワクチン群<br>手術による切除の後、患者は、１２～２４週間、補助化学療法を受け、この間に、患者はネオ抗原予測、無作為化、及びワクチン製造を受ける。研究治療スクリーニングの後、患者は、合計で、６用量のＧＲＴ－Ｃ９０１／ＧＲＴ－Ｒ９０２、２用量のイピリムマブ、及び、１３用量の<br>アテゾリズマブまたはニボルマブを受ける。研究訪問は、約２８日毎に生じる。 | 薬剤：GRT-C901<br>訪問１回目に、筋肉内（ＩＭ）注射により、及び、訪問６回目にブースターとして投与される、個別化されたネオ抗原癌ワクチン。<br>薬剤：GRT-R902<br>訪問２、４、９、及び１２回目に、ＩＭ注射により投与される、個別化されたネオ抗原癌ワクチン。<br>薬剤：アテゾリズマブまたはニボルマブ<br>訪問１～１３回目に、静脈内（ＩＶ）輸液により、４週毎（Ｑ４Ｗ）に投与される、１６８０ｍｇのアテゾリズマブ、または４８０ｍｇのニボルマブの用量<br>薬剤：イピリムマブ<br>訪問１回目に、第１用量のＧＲＴ－Ｃ９０１、及び、訪問２回目にＧＲＴ－Ｒ９０２のみの、皮下（ＳＣ）注射により投与される、３０ｍｇの用量。<br>他の名称：ヤーボイ<br>薬剤：補助化学療法<br>標準的なケアに従い投与される<br>薬剤：ベバシズマブ<br>ベバシズマブは、標準ケアに従い、維持療法として投与される。<br>他の名称：アバスチン<br>薬剤：オキサリプラチン<br>オキサリプラチンは、標準ケアに従い、誘導療法として投与される。<br>他の名称：エロキサチン |
| 活性比較因子：観察群<br>手術による切除の後、患者は、１２～２４週間、補助化学療法を受け、この間に、患者はネオ抗原予測及び無作為化を受ける。研究訪問は、１２週毎に生じる。 | 薬剤：補助化学療法<br>標準的なケアに従い投与される。 |

【０３９８】

本発明は、好ましい実施形態、及び様々な代替の実施形態を参照して具体的に示され記載されているものの、形態及び詳細の様々な変化が、本発明の精神及び範囲から逸脱することなしにその中で可能であることが当業者により理解されるであろう。

【０３９９】

配列

表Ａ

配列表の、配列番号１０，７５５～２１，０１５を参照されたい。明確性のため、ＥＤＧＥスコアが＞０．００１の、ＨＬＡアレルを有する、所与のＨＬＡアレルペプチドと関

連することが予測される、各ペプチドに、固有の配列番号を割り当てる。上記配列識別子のそれぞれは、ペプチドのアミノ酸配列、ＨＬＡ亜型、ペプチドに対応する遺伝子名、ペプチドと関連する変異、及び、ペプチド：ＨＬＡペアの普及が、０．１％（「１」と示す）、または、０．１％未満（「０」と示す）であるか否かと関連している。

【０４００】

表Ａは、その全容を参照によって本明細書に援用する、２０２１年９月１７日に出願された、米国仮出願第６３／２４５，６６３号に、その全体が開示されている。

【０４０１】

ＡＡＣＲ　ＧＥＮＩＥ結果

配列表の、配列番号２１，０１６～２９，３５７を参照されたい。明確性のため、ＥＤＧＥスコアが＞０．００１の、及び、普及が＞０．１％の、ＨＬＡアレルを有する、所与のＨＬＡアレルペプチドと関連することが予測される、各ペプチドに、固有の配列番号を割り当てる。上記配列識別子のそれぞれは、ペプチドに対応する遺伝子名及び変異、ＨＬＡ亜型、ならびに、ペプチドのアミノ酸配列と関連している。ＡＡＣＲ　Ｇｅｎｉｅ結果は、その全容を参照によって本明細書に援用する、２０２１年９月１７日に出願された、米国仮出願第６３／２４５，６６３号に、その全体が開示されている。

追加のＭＳ認証ネオ抗原（配列番号２９５１３～２９５１９）

| 配列番号： | 遺伝子 | 変異 | HLA クラスI 亜型 | 制限ペプチド |
|---|---|---|---|---|
| 29513 | CTNNB1 | S37Y点突然変異 | HLA-A*02:01 | YLDSGIHYGA |
| 29514 | CHD4 | CHD4_K73fs | HLA-B*08:01 | TVRAATIL |
| 29515 | CTNNB1 | CTNNB1_S45P | A*11:01 | TTAPPLSGK |
| 29516 | CTNNB1 | CTNNB1_T41A | A*11:01 | ATAPSLSGK |
| 29517 | KRAS | KRAS_G12V | A*03:01 | VVGAVGVGK |
| 29518 | KRAS | KRAS_Q61R | A*01:01 | ILDTAGREEY |
| 29519 | TP53 | TP53_R213L | A*02:01 | YLDDRNTFL |

【０４０２】

表１．２

配列表の、配列番号５７～１０，７５４を参照されたい。がん症例の少なくとも０．９８％で、少なくとも１０ＴＰＭのレベルで発現した遺伝子と関連する、予測される共有抗原上記配列識別子のそれぞれは、遺伝子名、ペプチドのアミノ酸配列、Ｅｎｓｅｍｂｌ ＩＤ、及び、対応するＨＬＡアレル（複数可）と関連する。

【０４０３】

特定の配列

本明細書で参照されるベクター、カセット、及び抗体を以下に記載し、配列番号で参照する。

| |
|---|
| トレメリムマブVL (配列番号16) |
| トレメリムマブVH (配列番号17) |
| トレメリムマブVH CDR1 (配列番号18) |
| トレメリムマブVH CDR2 (配列番号19) |
| トレメリムマブVH CDR3 (配列番号20) |
| トレメリムマブVL CDR1 (配列番号21) |
| トレメリムマブVL CDR2 (配列番号22) |
| トレメリムマブVL CDR3 (配列番号23) |
| デュルバルマブ(MEDI4736) VL (配列番号24) |
| MEDI4736 VH (配列番号25) |
| MEDI4736 VH CDR1 (配列番号26) |
| MEDI4736 VH CDR2 (配列番号27) |
| MEDI4736 VH CDR3 (配列番号28) |
| MEDI4736 VL CDR1 (配列番号29) |
| MEDI4736 VL CDR2 (配列番号30) |
| MEDI4736 VL CDR3 (配列番号31) |
| UbA76-25マーPDTTヌクレオチド(配列番号32) |
| UbA76-25マーPDTTポリペプチド(配列番号33) |
| MAG-25マーPDTTヌクレオチド(配列番号34) |
| MAG-25マーPDTTポリペプチド(配列番号35) |
| Ub7625マーPDTT_NoSFLヌクレオチド(配列番号36) |
| Ub7625マーPDTT_NoSFLポリペプチド(配列番号37) |
| ChAdV68.5WTnt.MAG25マー (配列番号2)；AC_000011.1のE1 (nt 577～3403)及びE3 (nt 27, 125～31,825)配列を欠失させたもの;対応するATCC VR-594ヌクレオチドは５つの位置で置換;モデル新生抗原カセットは、欠失させたE1の代わりに挿入されたCMVプロモーター／エンハンサーの制御下にある;カセットの3’側にSV40ポリA |
| ベネズエラウマ脳炎ウイルス [VEE](配列番号3) GenBank: L01442.2 |
| VEE-MAG25マー(配列番号4)；MAG-25マーPDTTヌクレオチドを含む（塩基30～1755） |
| ベネズエラウマ脳炎ウイルス株TC-83 [TC-83](配列番号5) GenBank : L01443.1 |
| ATAGGCGGCGCATGAGAGAAGCCCAGACCAATTACCTACCCAAAATGGAGAAAGTTCAC<br>GTTGACATCGAGGAAGACAGCCCATTCCTCAGAGCTTTGCAGCGGAGCTTCCCGCAGTTT<br>GAGGTAGAAGCCAAGCAGGTCACTGATAATGACCATGCTAATGCCAGAGCGTTTTCGCAT<br>CTGGCTTCAAAACTGATCGAAACGGAGGTGGACCCATCCGACACGATCCTTGACATTGGA<br>AGTGCGCCCGCCCGCAGAATGTATTCTAAGCACAAGTATCATTGTATCTGTCCGATGAGA<br>TGTGCGGAAGATCCGGACAGATTGTATAAGTATGCAACTAAGCTGAAGAAAAACTGTAA<br>GGAAATAACTGATAAGGAATTGGACAAGAAAATGAAGGAGCTCGCCGCCGTCATGAGCG<br>ACCCTGACCTGGAAACTGAGACTATGTGCCTCCACGACGACGAGTCGTGTCGCTACGAAG<br>GGCAAGTCGCTGTTTACCAGGATGTATACGCGGTTGACGGACCGACAAGTCTCTATCACC<br>AAGCCAATAAGGGAGTTAGAGTCGCCTACTGGATAGGCTTTGACACCACCCCTTTTATGT |

TTAAGAACTTGGCTGGAGCATATCCATCATACTCTACCAACTGGGCCGACGAAACCGTGT
TAACGGCTCGTAACATAGGCCTATGCAGCTCTGACGTTATGGAGCGGTCACGTAGAGGGA
TGTCCATTCTTAGAAAGAAGTATTTGAAACCATCCAACAATGTTCTATTCTCTGTTGGCTC
GACCATCTACCACGAGAAGAGGGACTTACTGAGGAGCTGGCACCTGCCGTCTGTATTTCA
CTTACGTGGCAAGCAAAATTACACATGTCGGTGTGAGACTATAGTTAGTTGCGACGGGTA
CGTCGTTAAAAGAATAGCTATCAGTCCAGGCCTGTATGGGAAGCCTTCAGGCTATGCTGC
TACGATGCACCGCGAGGGATTCTTGTGCTGCAAAGTGACAGACACATTGAACGGGGAGA
GGGTCTCTTTTCCCGTGTGCACGTATGTGCCAGCTACATTGTGTGACCAAATGACTGGCAT
ACTGGCAACAGATGTCAGTGCGGACGACGCGCAAAAACTGCTGGTTGGGCTCAACCAGC
GTATAGTCGTCAACGGTCGCACCCAGAGAAACACCAATACCATGAAAAATTACCTTTTGC
CCGTAGTGGCCCAGGCATTTGCTAGGTGGGCAAAGGAATATAAGGAAGATCAAGAAGAT
GAAAGGCCACTAGGACTACGAGATAGACAGTTAGTCATGGGGTGTTGTTGGGCTTTTAGA
AGGCACAAGATAACATCTATTTATAAGCGCCCGGATACCCAAACCATCATCAAAGTGAAC
AGCGATTTCCACTCATTCGTGCTGCCCAGGATAGGCAGTAACACATTGGAGATCGGGCTG
AGAACAAGAATCAGGAAAATGTTAGAGGAGCACAAGGAGCCGTCACCTCTCATTACCGC
CGAGGACGTACAAGAAGCTAAGTGCGCAGCCGATGAGGCTAAGGAGGTGCGTGAAGCCG
AGGAGTTGCGCGCAGCTCTACCACCTTTGGCAGCTGATGTTGAGGAGCCCACTCTGGAAG
CCGATGTCGACTTGATGTTACAAGAGGCTGGGGCCGGCTCAGTGGAGACACCTCGTGGCT
TGATAAAGGTTACCAGCTACGATGGCGAGGACAAGATCGGCTCTTACGCTGTGCTTTCTC
CGCAGGCTGTACTCAAGAGTGAAAAATTATCTTGCATCCACCCTCTCGCTGAACAAGTCA
TAGTGATAACACACTCTGGCCGAAAAGGGCGTTATGCCGTGGAACCATACCATGGTAAA
GTAGTGGTGCCAGAGGGACATGCAATACCCGTCCAGGACTTTCAAGCTCTGAGTGAAAGT
GCCACCATTGTGTACAACGAACGTGAGTTCGTAAACAGGTACCTGCACCATATTGCCACA
CATGGAGGAGCGCTGAACACTGATGAAGAATATTACAAAACTGTCAAGCCCAGCGAGCA
CGACGGCGAATACCTGTACGACATCGACAGGAAACAGTGCGTCAAGAAAGAACTAGTCA
CTGGGCTAGGGCTCACAGGCGAGCTGGTGGATCCTCCCTTCCATGAATTCGCCTACGAGA
GTCTGAGAACACGACCAGCCGCTCCTTACCAAGTACCAACCATAGGGGTGTATGGCGTGC
CAGGATCAGGCAAGTCTGGCATCATTAAAAGCGCAGTCACCAAAAAAGATCTAGTGGTG
AGCGCCAAGAAAGAAAACTGTGCAGAAATTATAAGGGACGTCAAGAAAATGAAAGGGC
TGGACGTCAATGCCAGAACTGTGGACTCAGTGCTCTTGAATGGATGCAAACACCCCGTAG
AGACCCTGTATATTGACGAAGCTTTTGCTTGTCATGCAGGTACTCTCAGAGCGCTCATAGC
CATTATAAGACCTAAAAAGGCAGTGCTCTGCGGGGATCCCAAACAGTGCGGTTTTTTTAA
CATGATGTGCCTGAAAGTGCATTTTAACCACGAGATTTGCACACAAGTCTTCCACAAAAG
CATCTCTCGCCGTTGCACTAAATCTGTGACTTCGGTCGTCTCAACCTTGTTTTACGACAAA
AAAATGAGAACGACGAATCCGAAAGAGACTAAGATTGTGATTGACACTACCGGCAGTAC
CAAACCTAAGCAGGACGATCTCATTCTCACTTGTTTCAGAGGGTGGGTGAAGCAGTTGCA
AATAGATTACAAAGGCAACGAAATAATGACGGCAGCTGCCTCTCAAGGGCTGACCCGTA
AAGGTGTGTATGCCGTTCGGTACAAGGTGAATGAAAATCCTCTGTACGCACCCACCTCAG
AACATGTGAACGTCCTACTGACCCGCACGGAGGACCGCATCGTGTGGAAAACACTAGCC
GGCGACCCATGGATAAAAACACTGACTGCCAAGTACCCTGGGAATTTCACTGCCACGATA
GAGGAGTGGCAAGCAGAGCATGATGCCATCATGAGGCACATCTTGGAGAGACCGGACCC
TACCGACGTCTTCCAGAATAAGGCAAACGTGTGTTGGGCCAAGGCTTTAGTGCCGGTGCT
GAAGACCGCTGGCATAGACATGACCACTGAACAATGGAACACTGTGGATTATTTTGAAAC
GGACAAAGCTCACTCAGCAGAGATAGTATTGAACCAACTATGCGTGAGGTTCTTTGGACT
CGATCTGGACTCCGGTCTATTTTCTGCACCCACTGTTCCGTTATCCATTAGGAATAATCAC

TGGGATAACTCCCCGTCGCCTAACATGTACGGGCTGAATAAAGAAGTGGTCCGTCAGCTC
TCTCGCAGGTACCCACAACTGCCTCGGGCAGTTGCCACTGGAAGAGTCTATGACATGAAC
ACTGGTACACTGCGCAATTATGATCCGCGCATAAACCTAGTACCTGTAAACAGAAGACTG
CCTCATGCTTTAGTCCTCCACCATAATGAACACCCACAGAGTGACTTTTCTTCATTCGTCA
GCAAATTGAAGGGCAGAACTGTCCTGGTGGTCGGGGAAAAGTTGTCCGTCCCAGGCAAA
ATGGTTGACTGGTTGTCAGACCGGCCTGAGGCTACCTTCAGAGCTCGGCTGGATTTAGGC
ATCCCAGGTGATGTGCCCAAATATGACATAATATTTGTTAATGTGAGGACCCCATATAAA
TACCATCACTATCAGCAGTGTGAAGACCATGCCATTAAGCTTAGCATGTTGACCAAGAAA
GCTTGTCTGCATCTGAATCCCGGCGGAACCTGTGTCAGCATAGGTTATGGTTACGCTGAC
AGGGCCAGCGAAAGCATCATTGGTGCTATAGCGCGGCAGTTCAAGTTTTCCCGGGTATGC
AAACCGAAATCCTCACTTGAAGAGACGGAAGTTCTGTTTGTATTCATTGGGTACGATCGC
AAGGCCCGTACGCACAATCCTTACAAGCTTTCATCAACCTTGACCAACATTTATACAGGT
TCCAGACTCCACGAAGCCGGATGTGCACCCTCATATCATGTGGTGCGAGGGGATATTGCC
ACGGCCACCGAAGGAGTGATTATAAATGCTGCTAACAGCAAAGGACAACCTGGCGGAGG
GGTGTGCGGAGCGCTGTATAAGAAATTCCCGGAAAGCTTCGATTTACAGCCGATCGAAGT
AGGAAAAGCGCGACTGGTCAAAGGTGCAGCTAAACATATCATTCATGCCGTAGGACCAA
ACTTCAACAAAGTTTCGGAGGTTGAAGGTGACAAACAGTTGGCAGAGGCTTATGAGTCCA
TCGCTAAGATTGTCAACGATAACAATTACAAGTCAGTAGCGATTCCACTGTTGTCCACCG
GCATCTTTTCCGGGAACAAAGATCGACTAACCCAATCATTGAACCATTTGCTGACAGCTT
TAGACACCACTGATGCAGATGTAGCCATATACTGCAGGGACAAGAAATGGGAAATGACT
CTCAAGGAAGCAGTGGCTAGGAGAGAAGCAGTGGAGGAGATATGCATATCCGACGACTC
TTCAGTGACAGAACCTGATGCAGAGCTGGTGAGGGTGCATCCGAAGAGTTCTTTGGCTGG
AAGGAAGGGCTACAGCACAAGCGATGGCAAAACTTTCTCATATTTGGAAGGGACCAAGT
TTCACCAGGCGGCCAAGGATATAGCAGAAATTAATGCCATGTGGCCCGTTGCAACGGAG
GCCAATGAGCAGGTATGCATGTATATCCTCGGAGAAAGCATGAGCAGTATTAGGTCGAA
ATGCCCCGTCGAAGAGTCGGAAGCCTCCACACCACCTAGCACGCTGCCTTGCTTGTGCAT
CCATGCCATGACTCCAGAAAGAGTACAGCGCCTAAAAGCCTCACGTCCAGAACAAATTA
CTGTGTGCTCATCCTTTCCATTGCCGAAGTATAGAATCACTGGTGTGCAGAAGATCCAAT
GCTCCCAGCCTATATTGTTCTCACCGAAAGTGCCTGCGTATATTCATCCAAGGAAGTATCT
CGTGGAAACACCACCGGTAGACGAGACTCCGGAGCCATCGGCAGAGAACCAATCCACAG
AGGGGACACCTGAACAACCACCACTTATAACCGAGGATGAGACCAGGACTAGAACGCCT
GAGCCGATCATCATCGAAGAGGAAGAAGAGGATAGCATAAGTTTGCTGTCAGATGGCCC
GACCCACCAGGTGCTGCAAGTCGAGGCAGACATTCACGGGCCGCCCTCTGTATCTAGCTC
ATCCTGGTCCATTCCTCATGCATCCGACTTTGATGTGGACAGTTTATCCATACTTGACACC
CTGGAGGGAGCTAGCGTGACCAGCGGGGCAACGTCAGCCGAGACTAACTCTTACTTCGC
AAAGAGTATGGAGTTTCTGGCGCGACCGGTGCCTGCGCCTCGAACAGTATTCAGGAACCC
TCCACATCCCGCTCCGCGCACAAGAACACCGTCACTTGCACCCAGCAGGGCCTGCTCGAG
AACCAGCCTAGTTTCCACCCCGCCAGGCGTGAATAGGGTGATCACTAGAGAGGAGCTCG
AGGCGCTTACCCCGTCACGCACTCCTAGCAGGTCGGTCTCGAGAACCAGCCTGGTCTCCA
ACCCGCCAGGCGTAAATAGGGTGATTACAAGAGAGGAGTTTGAGGCGTTCGTAGCACAA
CAACAATGACGGTTTGATGCGGGTGCATACATCTTTTCCTCCGACACCGGTCAAGGGCAT
TTACAACAAAAATCAGTAAGGCAAACGGTGCTATCCGAAGTGGTGTTGGAGAGGACCGA
ATTGGAGATTTCGTATGCCCCGCGCCTCGACCAAGAAAAAGAAGAATTACTACGCAAGA
AATTACAGTTAAATCCCACACCTGCTAACAGAAGCAGATACCAGTCCAGGAAGGTGGAG
AACATGAAAGCCATAACAGCTAGACGTATTCTGCAAGGCCTAGGGCATTATTTGAAGGCA

GAAGGAAAAGTGGAGTGCTACCGAACCCTGCATCCTGTTCCTTTGTATTCATCTAGTGTG
AACCGTGCCTTTTCAAGCCCCAAGGTCGCAGTGGAAGCCTGTAACGCCATGTTGAAAGAG
AACTTTCCGACTGTGGCTTCTTACTGTATTATTCCAGAGTACGATGCCTATTTGGACATGG
TTGACGGAGCTTCATGCTGCTTAGACACTGCCAGTTTTTGCCCTGCAAAGCTGCGCAGCTT
TCCAAAGAAACACTCCTATTTGGAACCCACAATACGATCGGCAGTGCCTTCAGCGATCCA
GAACACGCTCCAGAACGTCCTGGCAGCTGCCACAAAAAGAAATTGCAATGTCACGCAAA
TGAGAGAATTGCCCGTATTGGATTCGGCGGCCTTTAATGTGGAATGCTTCAAGAAATATG
CGTGTAATAATGAATATTGGGAAACGTTTAAAGAAAACCCCATCAGGCTTACTGAAGAA
AACGTGGTAAATTACATTACCAAATTAAAAGGACCAAAAGCTGCTGCTCTTTTTGCGAAG
ACACATAATTTGAATATGTTGCAGGACATACCAATGGACAGGTTTGTAATGGACTTAAAG
AGAGACGTGAAAGTGACTCCAGGAACAAAACATACTGAAGAACGGCCCAAGGTACAGGT
GATCCAGGCTGCCGATCCGCTAGCAACAGCGTATCTGTGCGGAATCCACCGAGAGCTGGT
TAGGAGATTAAATGCGGTCCTGCTTCCGAACATTCATACACTGTTTGATATGTCGGCTGA
AGACTTTGACGCTATTATAGCCGAGCACTTCCAGCCTGGGGATTGTGTTCTGGAAACTGA
CATCGCGTCGTTTGATAAAAGTGAGGACGACGCCATGGCTCTGACCGCGTTAATGATTCT
GGAAGACTTAGGTGTGGACGCAGAGCTGTTGACGCTGATTGAGGCGGCTTTCGGCGAAAT
TTCATCAATACATTTGCCCACTAAAACTAAATTTAAATTCGGAGCCATGATGAAATCTGG
AATGTTCCTCACACTGTTTGTGAACACAGTCATTAACATTGTAATCGCAAGCAGAGTGTT
GAGAGAACGGCTAACCGGATCACCATGTGCAGCATTCATTGGAGATGACAATATCGTGA
AAGGAGTCAAATCGGACAAATTAATGGCAGACAGGTGCGCCACCTGGTTGAATATGGAA
GTCAAGATTATAGATGCTGTGGTGGGCGAGAAAGCGCCTTATTTCTGTGGAGGGTTTATT
TTGTGTGACTCCGTGACCGGCACAGCGTGCCGTGTGGCAGACCCCCTAAAAAGGCTGTTT
AAGCTTGGCAAACCTCTGGCAGCAGACGATGAACATGATGATGACAGGAGAAGGGCATT
GCATGAAGAGTCAACACGCTGGAACCGAGTGGGTATTCTTTCAGAGCTGTGCAAGGCAGT
AGAATCAAGGTATGAAACCGTAGGAACTTCCATCATAGTTATGGCCATGACTACTCTAGC
TAGCAGTGTTAAATCATTCAGCTACCTGAGAGGGGCCCCTATAACTCTCTACGGCTAACC
TGAATGGACTACGACATAGTCTAGTCCGCCAAGATGTTCCCGTTCCAGCCAATGTATCCG
ATGCAGCCAATGCCCTATCGCAACCCGTTCGCGGCCCCGCGCAGGCCCTGGTTCCCCAGA
ACCGACCCTTTTCTGGCGATGCAGGTGCAGGAATTAACCCGCTCGATGGCTAACCTGACG
TTCAAGCAACGCCGGGACGCGCCACCTGAGGGGCCATCCGCTAAGAAACCGAAGAAGGA
GGCCTCGCAAAAACAGAAAGGGGGAGGCCAAGGGAAGAAGAAGAAGAACCAAGGGAA
GAAGAAGGCTAAGACAGGGCCGCCTAATCCGAAGGCACAGAATGGAAACAAGAAGAAG
ACCAACAAGAAACCAGGCAAGAGACAGCGCATGGTCATGAAATTGGAATCTGACAAGAC
GTTCCCAATCATGTTGGAAGGGAAGATAAACGGCTACGCTTGTGTGGTCGGAGGGAAGTT
ATTCAGGCCGATGCATGTGGAAGGCAAGATCGACAACGACGTTCTGGCCGCGCTTAAGA
CGAAGAAAGCATCCAAATACGATCTTGAGTATGCAGATGTGCCACAGAACATGCGGGCC
GATACATTCAAATACACCCATGAGAAACCCCAAGGCTATTACAGCTGGCATCATGGAGCA
GTCCAATATGAAAATGGGCGTTTCACGGTGCCGAAAGGAGTTGGGGCCAAGGGAGACAG
CGGACGACCCATTCTGGATAACCAGGGACGGGTGGTCGCTATTGTGCTGGGAGGTGTGAA
TGAAGGATCTAGGACAGCCCTTTCAGTCGTCATGTGGAACGAGAAGGGAGTTACCGTGA
AGTATACTCCGGAGAACTGCGAGCAATGGTCACTAGTGACCACCATGTGTCTGCTCGCCA
ATGTGACGTTCCCATGTGCTCAACCACCAATTTGCTACGACAGAAAACCAGCAGAGACTT
TGGCCATGCTCAGCGTTAACGTTGACAACCCGGGCTACGATGAGCTGCTGGAAGCAGCTG
TTAAGTGCCCCGGAAGGAAAAGGAGATCCACCGAGGAGCTGTTTAATGAGTATAAGCTA
ACGCGCCCTTACATGGCCAGATGCATCAGATGTGCAGTTGGGAGCTGCCATAGTCCAATA

GCAATCGAGGCAGTAAAGAGCGACGGGCACGACGGTTATGTTAGACTTCAGACTTCCTCG
CAGTATGGCCTGGATTCCTCCGGCAACTTAAAGGGCAGGACCATGCGGTATGACATGCAC
GGGACCATTAAAGAGATACCACTACATCAAGTGTCACTCTATACATCTCGCCCGTGTCAC
ATTGTGGATGGGCACGGTTATTTCCTGCTTGCCAGGTGCCCGGCAGGGGACTCCATCACC
ATGGAATTTAAGAAAGATTCCGTCAGACACTCCTGCTCGGTGCCGTATGAAGTGAAATTT
AATCCTGTAGGCAGAGAACTCTATACTCATCCCCCAGAACACGGAGTAGAGCAAGCGTG
CCAAGTCTACGCACATGATGCACAGAACAGAGGAGCTTATGTCGAGATGCACCTCCCGG
GCTCAGAAGTGGACAGCAGTTTGGTTTCCTTGAGCGGCAGTTCAGTCACCGTGACACCTC
CTGATGGGACTAGCGCCCTGGTGGAATGCGAGTGTGGCGGCACAAAGATCTCCGAGACC
ATCAACAAGACAAAACAGTTCAGCCAGTGCACAAAGAAGGAGCAGTGCAGAGCATATCG
GCTGCAGAACGATAAGTGGGTGTATAATTCTGACAAACTGCCCAAAGCAGCGGGAGCCA
CCTTAAAAGGAAAACTGCATGTCCCATTCTTGCTGGCAGACGGCAAATGCACCGTGCCTC
TAGCACCAGAACCTATGATAACCTTCGGTTTCAGATCAGTGTCACTGAAACTGCACCCTA
AGAATCCCACATATCTAATCACCCGCCAACTTGCTGATGAGCCTCACTACACGCACGAGC
TCATATCTGAACCAGCTGTTAGGAATTTTACCGTCACCGAAAAAGGGTGGGAGTTTGTAT
GGGGAAACCACCCGCCGAAAAGGTTTTGGGCACAGGAAACAGCACCCGGAAATCCACAT
GGGCTACCGCACGAGGTGATAACTCATTATTACCACAGATACCCTATGTCCACCATCCTG
GGTTTGTCAATTTGTGCCGCCATTGCAACCGTTTCCGTTGCAGCGTCTACCTGGCTGTTTT
GCAGATCTAGAGTTGCGTGCCTAACTCCTTACCGGCTAACACCTAACGCTAGGATACCAT
TTTGTCTGGCTGTGCTTTGCTGCGCCCGCACTGCCCGGGCCGAGACCACCTGGGAGTCCTT
GGATCACCTATGGAACAATAACCAACAGATGTTCTGGATTCAATTGCTGATCCCTCTGGC
CGCCTTGATCGTAGTGACTCGCCTGCTCAGGTGCGTGTGCTGTGTCGTGCCTTTTTTAGTC
ATGGCCGGCGCCGCAGGCGCCGGCGCCTACGAGCACGCGACCACGATGCCGAGCCAAGC
GGGAATCTCGTATAACACTATAGTCAACAGAGCAGGCTACGCACCACTCCCTATCAGCAT
AACACCAACAAAGATCAAGCTGATACCTACAGTGAACTTGGAGTACGTCACCTGCCACTA
CAAAACAGGAATGGATTCACCAGCCATCAAATGCTGCGGATCTCAGGAATGCACTCCAA
CTTACAGGCCTGATGAACAGTGCAAAGTCTTCACAGGGGTTTACCCGTTCATGTGGGGTG
GTGCATATTGCTTTTGCGACACTGAGAACACCCAAGTCAGCAAGGCCTACGTAATGAAAT
CTGACGACTGCCTTGCGGATCATGCTGAAGCATATAAAGCGCACACAGCCTCAGTGCAGG
CGTTCCTCAACATCACAGTGGGAGAACACTCTATTGTGACTACCGTGTATGTGAATGGAG
AAACTCCTGTGAATTTCAATGGGGTCAAAATAACTGCAGGTCCGCTTTCCACAGCTTGGA
CACCCTTTGATCGCAAAATCGTGCAGTATGCCGGGGAGATCTATAATTATGATTTTCCTGA
GTATGGGGCAGGACAACCAGGAGCATTTGGAGATATACAATCCAGAACAGTCTCAAGCT
CTGATCTGTATGCCAATACCAACCTAGTGCTGCAGAGACCCAAAGCAGGAGCGATCCACG
TGCCATACACTCAGGCACCTTCGGGTTTTGAGCAATGGAAGAAAGATAAAGCTCCATCAT
TGAAATTTACCGCCCCTTTCGGATGCGAAATATATACAAACCCCATTCGCGCCGAAAACT
GTGCTGTAGGGTCAATTCCATTAGCCTTTGACATTCCCGACGCCTTGTTCACCAGGGTGTC
AGAAACACCGACACTTTCAGCGGCCGAATGCACTCTTAACGAGTGCGTGTATTCTTCCGA
CTTTGGTGGGATCGCCACGGTCAAGTACTCGGCCAGCAAGTCAGGCAAGTGCGCAGTCCA
TGTGCCATCAGGGACTGCTACCCTAAAAGAAGCAGCAGTCGAGCTAACCGAGCAAGGGT
CGGCGACTATCCATTTCTCGACCGCAAATATCCACCCGGAGTTCAGGCTCCAAATATGCA
CATCATATGTTACGTGCAAAGGTGATTGTCACCCCCCGAAAGACCATATTGTGACACACC
CTCAGTATCACGCCCAAACATTTACAGCCGCGGTGTCAAAAACCGCGTGGACGTGGTTAA
CATCCCTGCTGGGAGGATCAGCCGTAATTATTATAATTGGCTTGGTGCTGGCTACTATTGT
GGCCATGTACGTGCTGACCAACCAGAAACATAATTGAATACAGCAGCAATTGGCAAGCT

GCTTACATAGAACTCGCGGCGATTGGCATGCCGCCTTAAAATTTTTATTTTATTTTTCTTTTCTTTTCCGAATCGGATTTTGTTTTTAATATTTC

VEE 送達ベクター(配列番号6)；VEEゲノムのヌクレオチド7544～11175を欠失させたもの[アルファウイルス構造タンパク質を除去]

ATGggcggcgcatgagagaagcccagaccaattacctacccaaaATGGagaaagttcacgttgacatcgaggaagacagcccattcctca
gagctttgcagcggagcttcccgcagtttgaggtagaagccaagcaggtcactgataatgaccatgctaatgccagagcgttttcgcatctggcttca
aaactgatcgaaacggaggtggacccatccgacacgatccttgacattggaagtgcgcccgcccgcagaatgtattctaagcacaagtatcattgta
tctgtccgatgagatgtgcggaagatccggacagattgtataagtatgcaactaagctgaagaaaaactgtaaggaaataactgataaggaattgga
caagaaaatgaaggagctcgccgccgtcatgagcgaccctgacctggaaactgagactatgtgcctccacgacgacgagtcgtgtcgctacgaag
ggcaagtcgctgtttaccaggatgtatacgcggttgacggaccgacaagtctctatcaccaagccaataagggagttagagtcgcctactggatagg
ctttgacaccacccctttatgtttaagaacttggctggagcatatccatcatactctaccaactgggccgacgaaaccgtgttaacggctcgtaacata
ggcctatgcagctctgacgttatggagcggtcacgtagagggatgtccattcttagaaagaagtatttgaaaccatccaacaatgttctattctctgttg
gctcgaccatctaccacgagaagagggacttactgaggagctggcacctgccgtctgtatttcacttacgtggcaagcaaaattacacatgtcggtgt
gagactatagttagttgcgacgggtacgtcgttaaaagaatagctatcagtccaggcctgtatgggaagccttcaggctatgctgctacgatgcaccg
cgagggattcttgtgctgcaaagtgacagacacattgaacggggagagggtctcttttcccgtgtgcacgtatgtgccagctacattgtgtgaccaaa
tgactggcatactggcaacagatgtcagtgcggacgacgcgcaaaaactgctggttgggctcaaccagcgtatagtcgtcaacggtcgcacccag
agaaacaccaataccatgaaaaattacctttgcccgtagtggcccaggcatttgctaggtgggcaaaggaatataaggaagatcaagaagatgaaa
ggccactaggactacgagatagacagttagtcatggggtgttgttgggcttttagaaggcacaagataacatctatttataagcgcccggatacccaa
accatcatcaaagtgaacagcgatttccactcattcgtgctgcccaggataggcagtaacacattggagatcgggctgagaacaagaatcaggaaa
atgttagaggagcacaaggagccgtcacctctcattaccgccgaggacgtacaagaagctaagtgcgcagccgatgaggctaaggaggtgcgtg
aagccgaggagttgcgcgcagctctaccacctttggcagctgatgttgaggagcccactctggaagccgatgtcgacttgatgttacaagaggctg
gggccggctcagtggagacacctcgtggcttgataaaggttaccagctacgctggcgaggacaagatcggctcttacgctgtgctttctccgcagg
ctgtactcaagagtgaaaaattatcttgcatccaccctctcgctgaacaagtcatagtgataacacactctggccgaaaagggcgttatgccgtggaa
ccataccatggtaaagtagtggtgccagagggacatgcaatacccgtccaggactttcaagctctgagtgaaagtgccaccattgtgtacaacgaac
gtgagttcgtaaacaggtacctgcaccatattgccacacatggaggagcgctgaacactgatgaagaatattacaaaactgtcaagcccagcgagc
acgacggcgaatacctgtacgacatcgacaggaaacagtgcgtcaagaaagaactagtcactgggctagggctcacaggcgagctggtggatcc
tcccttccatgaattcgcctacgagagtctgagaacacgaccagccgctccttaccaagtaccaaccataggggtgtatggcgtgccaggatcagg
caagtctggcatcattaaaagcgcagtcaccaaaaaagatctagtggtgagcgccaagaaagaaaactgtgcagaaattataagggacgtcaaga
aaatgaaagggctggacgtcaatgccagaactgtggactcagtgctcttgaatggatgcaaacaccccgtagagaccctgtatattgacgaagctttt
gcttgtcatgcaggtactctcagagcgctcatagccattataagacctaaaaaggcagtgctctgcggggatcccaaacagtgcggttttttaacatg
atgtgcctgaaagtgcattttaaccacgagatttgcacacaagtcttccacaaaagcatctctcgccgttgcactaaatctgtgacttcggtcgtctcaac
cttgttttacgacaaaaaaatgagaacgacgaatccgaaagagactaagattgtgattgacactaccggcagtaccaaacctaagcaggacgatctc
attctcacttgtttcagagggtgggtgaagcagttgcaaatagattacaaaggcaacgaaataatgacggcagctgcctctcaagggctgacccgta
aaggtgtgtatgccgttcggtacaaggtgaatgaaaatcctctgtacgcacccacctcagaacatgtgaacgtcctactgacccgcacggaggacc
gcatcgtgtggaaaacactagccggcgacccatggataaaaacactgactgccaagtaccctgggaatttcactgccacgatagaggagtggcaa
gcagagcatgatgccatcatgaggcacatcttggagagaccggaccctaccgacgtcttccagaataaggcaaacgtgtgttgggccaaggcttta

gtgccggtgctgaagaccgctggcatagacatgaccactgaacaatggaacactgtggattattttgaaacggacaaagctcactcagcagagata
gtattgaaccaactatgcgtgaggttctttggactcgatctggactccggtctattttctgcacccactgttccgttatccattaggaataatcactgggat
aactccccgtcgcctaacatgtacgggctgaataaagaagtggtccgtcagctctctcgcaggtacccacaactgcctcgggcagttgccactgga
agagtctatgacatgaacactggtacactgcgcaattatgatccgcgcataaacctagtacctgtaaacagaagactgcctcatgctttagtcctccac
cataatgaacacccacagagtgacttttcttcattcgtcagcaaattgaagggcagaactgtcctggtggtcggggaaaagttgtccgtcccaggcaa
aatggttgactggttgtcagaccggcctgaggctaccttcagagctcggctggatttaggcatcccaggtgatgtgcccaaatatgacataatatttgtt
aatgtgaggaccccatataaataccatcactatcagcagtgtgaagaccatgccattaagcttagcatgttgaccaagaaagcttgtctgcatctgaat
cccggcggaacctgtgtcagcataggttatggttacgctgacagggccagcgaaagcatcattggtgctatagcgcggcagttcaagttttcccggg
tatgcaaaccgaaatcctcacttgaagagacggaagttctgtttgtattcattgggtacgatcgcaaggcccgtacgcacaatccttacaagctttcatc
aaccttgaccaacatttatacaggttccagactccacgaagccggatgtgcaccctcatatcatgtggtgcgaggggatattgccacggccaccgaa
ggagtgattataaatgctgctaacagcaaaggacaacctggcggaggggtgtgcggagcgctgtataagaaattcccggaaagcttcgatttacag
ccgatcgaagtaggaaaagcgcgactggtcaaaggtgcagctaaacatatcattcatgccgtaggaccaaacttcaacaaagtttcggaggttgaa
ggtgacaaacagttggcagaggcttatgagtccatcgctaagattgtcaacgataacaattacaagtcagtagcgattccactgttgtccaccggcat
cttttccgggaacaaagatcgactaacccaatcattgaaccatttgctgacagctttagacaccactgatgcagatgtagccatatactgcagggacaa
gaaatgggaaatgactctcaaggaagcagtggctaggagagaagcagtggaggagatatgcatatccgacgactcttcagtgacagaacctgatg
cagagctggtgagggtgcatccgaagagttctttggctggaaggaagggctacagcacaagcgatggcaaaactttctcatatttggaagggacca
agtttcaccaggcggccaaggatatagcagaaattaatgccatgtggcccgttgcaacggaggccaatgagcaggtatgcatgtatatcctcggag
aaagcatgagcagtattaggtcgaaatgccccgtcgaagagtcggaagcctccacaccacctagcacgctgccttgcttgtgcatccatgccatgac
tccagaaagagtacagcgcctaaaagcctcacgtccagaacaaattactgtgtgctcatcctttccattgccgaagtatagaatcactggtgtgcaga
agatccaatgctcccagcctatattgttctcaccgaaagtgcctgcgtatattcatccaaggaagtatctcgtggaaacaccaccggtagacgagact
ccggagccatcggcagagaaccaatccacagaggggacacctgaacaaccaccacttataaccgaggatgagaccaggactagaacgcctgag
ccgatcatcatcgaagaggaagaagaggatagcataagtttgctgtcagatggcccgacccaccaggtgctgcaagtcgaggcagacattcacgg
gccgccctctgtatctagctcatcctggtccattcctcatgcatccgactttgatgtggacagtttatccatacttgacaccctggagggagctagcgtg
accagcggggcaacgtcagccgagactaactcttacttcgcaaagagtatggagtttctggcgcgaccggtgcctgcgcctcgaacagtattcagg
aaccctccacatcccgctccgcgcacaagaacaccgtcacttgcacccagcagggcctgctcgagaaccagcctagtttccaccccgccaggcgt
gaatagggtgatcactagagaggagctcgaggcgcttaccccgtcacgcactcctagcaggtcggtctcgagaaccagcctggtctccaacccgc
caggcgtaaatagggtgattacaagagaggagtttgaggcgttcgtagcacaacaacaatgacggtttgatgcgggtgcatacatcttttcctccgac
accggtcaagggcatttacaacaaaaatcagtaaggcaaacggtgctatccgaagtggtgttggagaggaccgaattggagatttcgtatgccccg
cgcctcgaccaagaaaaagaagaattactacgcaagaaattacagttaaatcccacacctgctaacagaagcagataccagtccaggaaggtgga
gaacatgaaagccataacagctagacgtattctgcaaggcctagggcattatttgaaggcagaaggaaaagtggagtgctaccgaaccctgcatcc
tgttcctttgtattcatctagtgtgaaccgtgccttttcaagccccaaggtcgcagtggaagcctgtaacgccatgttgaaagagaactttccgactgtg
gcttcttactgtattattccagagtacgatgcctatttggacatggttgacggagcttcatgctgcttagacactgccagtttttgccctgcaaagctgcgc
agctttccaaagaaacactcctatttggaacccacaatacgatcggcagtgccttcagcgatccagaacacgctccagaacgtcctggcagctgcca
caaaaagaaattgcaatgtcacgcaaatgagagaattgcccgtattggattcggcggcctttaatgtggaatgcttcaagaaatatgcgtgtaataatg
aatattgggaaacgtttaaagaaaaccccatcaggcttactgaagaaaacgtggtaaattacattaccaaattaaaaggaccaaaagctgctgctctttt
tgcgaagacacataatttgaatatgttgcaggacataccaatggacaggtttgtaatggacttaaagagagacgtgaaagtgactccaggaacaaaa
catactgaagaacggcccaaggtacaggtgatccaggctgccgatccgctagcaacagcgtatctgtgcggaatccaccgagagctggttaggag
attaaatgcggtcctgcttccgaacattcatacactgtttgatatgtcggctgaagactttgacgctattatagccgagcacttccagcctggggattgtg
ttctggaaactgacatcgcgtcgtttgataaaagtgaggacgacgccatggctctgaccgcgttaatgattctggaagacttaggtgtggacgcagag
ctgttgacgctgattgaggcggctttcggcgaaatttcatcaatacatttgcccactaaaactaaatttaaattcggagccatgatgaaatctggaatgtt
cctcacactgtttgtgaacacagtcattaacattgtaatcgcaagcagagtgttgagagaacggctaaccggatcaccatgtgcagcattcattggag
atgacaatatcgtgaaaggagtcaaatcggacaaattaatggcagacaggtgcgccacctggttgaatatggaagtcaagattatagatgctgtggt
gggcgagaaagcgccttatttctgtggagggtttattttgtgtgactccgtgaccggcacagcgtgccgtgtggcagacccccctaaaaaggctgttta
agcttggcaaacctctggcagcagacgatgaacatgatgatgacaggagaagggcattgcatgaagagtcaacacgctggaaccgagtgggtatt
ctttcagagctgtgcaaggcagtagaatcaaggtatgaaaccgtaggaacttccatcatagttatggccatgactactctagctagcagtgttaaatcat

tcagctacctgagaggggcccctataactctctacggcTAAcctgaatggactacgacgtatcacgcccaaacatttacagccgcggtgtcaaaa
accgcgtggacgtggttaacatccctgctgggaggatcagccgtaattattataattggcttggtgctggctactattgtggccatgtacgtgctgacca
accagaaacataattgaatacagcagcaattggcaagctgcttacatagaactcgcggcgattggcatgccgccttaaaatttttatttttatttttctttttct
tttccgaatcggattttgtttttaatatttcAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

TC-83送達ベクター(配列番号7)；TC-83ゲノムのヌクレオチド7544～11175を欠失させたもの
[アルファウイルス構造タンパク質を除去]

ATAGGCGGCGCATGAGAGAAGCCCAGACCAATTACCTACCCAAAATGGAGAAAGTTCAC
GTTGACATCGAGGAAGACAGCCCATTCCTCAGAGCTTTGCAGCGGAGCTTCCCGCAGTTT
GAGGTAGAAGCCAAGCAGGTCACTGATAATGACCATGCTAATGCCAGAGCGTTTTCGCAT
CTGGCTTCAAAACTGATCGAAACGGAGGTGGACCCATCCGACACGATCCTTGACATTGGA
AGTGCGCCCGCCCGCAGAATGTATTCTAAGCACAAGTATCATTGTATCTGTCCGATGAGA
TGTGCGGAAGATCCGGACAGATTGTATAAGTATGCAACTAAGCTGAAGAAAAACTGTAA
GGAAATAACTGATAAGGAATTGGACAAGAAAATGAAGGAGCTCGCCGCCGTCATGAGCG
ACCCTGACCTGGAAACTGAGACTATGTGCCTCCACGACGACGAGTCGTGTCGCTACGAAG
GGCAAGTCGCTGTTTACCAGGATGTATACGCGGTTGACGGACCGACAAGTCTCTATCACC
AAGCCAATAAGGGAGTTAGAGTCGCCTACTGGATAGGCTTTGACACCACCCCTTTTATGT
TTAAGAACTTGGCTGGAGCATATCCATCATACTCTACCAACTGGGCCGACGAAACCGTGT
TAACGGCTCGTAACATAGGCCTATGCAGCTCTGACGTTATGGAGCGGTCACGTAGAGGGA
TGTCCATTCTTAGAAAGAAGTATTTGAAACCATCCAACAATGTTCTATTCTCTGTTGGCTC
GACCATCTACCACGAGAAGAGGGACTTACTGAGGAGCTGGCACCTGCCGTCTGTATTTCA
CTTACGTGGCAAGCAAAATTACACATGTCGGTGTGAGACTATAGTTAGTTGCGACGGGTA
CGTCGTTAAAAGAATAGCTATCAGTCCAGGCCTGTATGGGAAGCCTTCAGGCTATGCTGC
TACGATGCACCGCGAGGGATTCTTGTGCTGCAAAGTGACAGACACATTGAACGGGGAGA
GGGTCTCTTTTCCCGTGTGCACGTATGTGCCAGCTACATTGTGTGACCAAATGACTGGCAT
ACTGGCAACAGATGTCAGTGCGGACGACGCGCAAAAACTGCTGGTTGGGCTCAACCAGC
GTATAGTCGTCAACGGTCGCACCCAGAGAAACACCAATACCATGAAAAATTACCTTTTGC
CCGTAGTGGCCCAGGCATTTGCTAGGTGGGCAAAGGAATATAAGGAAGATCAAGAAGAT
GAAAGGCCACTAGGACTACGAGATAGACAGTTAGTCATGGGGTGTTGTTGGGCTTTTAGA
AGGCACAAGATAACATCTATTTATAAGCGCCCGGATACCCAAACCATCATCAAAGTGAAC
AGCGATTTCCACTCATTCGTGCTGCCCAGGATAGGCAGTAACACATTGGAGATCGGGCTG
AGAACAAGAATCAGGAAAATGTTAGAGGAGCACAAGGAGCCGTCACCTCTCATTACCGC
CGAGGACGTACAAGAAGCTAAGTGCGCAGCCGATGAGGCTAAGGAGGTGCGTGAAGCCG
AGGAGTTGCGCGCAGCTCTACCACCTTTGGCAGCTGATGTTGAGGAGCCCACTCTGGAAG
CCGATGTCGACTTGATGTTACAAGAGGCTGGGGCCGGCTCAGTGGAGACACCTCGTGGCT
TGATAAAGGTTACCAGCTACGATGGCGAGGACAAGATCGGCTCTTACGCTGTGCTTTCTC
CGCAGGCTGTACTCAAGAGTGAAAAATTATCTTGCATCCACCCTCTCGCTGAACAAGTCA
TAGTGATAACACACTCTGGCCGAAAAGGGCGTTATGCCGTGGAACCATACCATGGTAAA
GTAGTGGTGCCAGAGGGACATGCAATACCCGTCCAGGACTTTCAAGCTCTGAGTGAAAGT
GCCACCATTGTGTACAACGAACGTGAGTTCGTAAACAGGTACCTGCACCATATTGCCACA
CATGGAGGAGCGCTGAACACTGATGAAGAATATTACAAAACTGTCAAGCCCAGCGAGCA
CGACGGCGAATACCTGTACGACATCGACAGGAAACAGTGCGTCAAGAAAGAACTAGTCA
CTGGGCTAGGGCTCACAGGCGAGCTGGTGGATCCTCCCTTCCATGAATTCGCCTACGAGA
GTCTGAGAACACGACCAGCCGCTCCTTACCAAGTACCAACCATAGGGGTGTATGGCGTGC
CAGGATCAGGCAAGTCTGGCATCATTAAAAGCGCAGTCACCAAAAAAGATCTAGTGGTG

AGCGCCAAGAAAGAAAACTGTGCAGAAATTATAAGGGACGTCAAGAAAATGAAAGGGC
TGGACGTCAATGCCAGAACTGTGGACTCAGTGCTCTTGAATGGATGCAAACACCCCGTAG
AGACCCTGTATATTGACGAAGCTTTTGCTTGTCATGCAGGTACTCTCAGAGCGCTCATAGC
CATTATAAGACCTAAAAAGGCAGTGCTCTGCGGGGATCCCAAACAGTGCGGTTTTTTTAA
CATGATGTGCCTGAAAGTGCATTTTAACCACGAGATTTGCACACAAGTCTTCCACAAAAG
CATCTCTCGCCGTTGCACTAAATCTGTGACTTCGGTCGTCTCAACCTTGTTTTACGACAAA
AAAATGAGAACGACGAATCCGAAAGAGACTAAGATTGTGATTGACACTACCGGCAGTAC
CAAACCTAAGCAGGACGATCTCATTCTCACTTGTTTCAGAGGGTGGGTGAAGCAGTTGCA
AATAGATTACAAAGGCAACGAAATAATGACGGCAGCTGCCTCTCAAGGGCTGACCCGTA
AAGGTGTGTATGCCGTTCGGTACAAGGTGAATGAAAATCCTCTGTACGCACCCACCTCAG
AACATGTGAACGTCCTACTGACCCGCACGGAGGACCGCATCGTGTGGAAAACACTAGCC
GGCGACCCATGGATAAAAACACTGACTGCCAAGTACCCTGGGAATTTCACTGCCACGATA
GAGGAGTGGCAAGCAGAGCATGATGCCATCATGAGGCACATCTTGGAGAGACCGGACCC
TACCGACGTCTTCCAGAATAAGGCAAACGTGTGTTGGGCCAAGGCTTTAGTGCCGGTGCT
GAAGACCGCTGGCATAGACATGACCACTGAACAATGGAACACTGTGGATTATTTTGAAAC
GGACAAAGCTCACTCAGCAGAGATAGTATTGAACCAACTATGCGTGAGGTTCTTTGGACT
CGATCTGGACTCCGGTCTATTTTCTGCACCCACTGTTCCGTTATCCATTAGGAATAATCAC
TGGGATAACTCCCCGTCGCCTAACATGTACGGGCTGAATAAAGAAGTGGTCCGTCAGCTC
TCTCGCAGGTACCCACAACTGCCTCGGGCAGTTGCCACTGGAAGAGTCTATGACATGAAC
ACTGGTACACTGCGCAATTATGATCCGCGCATAAACCTAGTACCTGTAAACAGAAGACTG
CCTCATGCTTTAGTCCTCCACCATAATGAACACCCACAGAGTGACTTTTCTTCATTCGTCA
GCAAATTGAAGGGCAGAACTGTCCTGGTGGTCGGGGAAAAGTTGTCCGTCCCAGGCAAA
ATGGTTGACTGGTTGTCAGACCGGCCTGAGGCTACCTTCAGAGCTCGGCTGGATTTAGGC
ATCCCAGGTGATGTGCCCAAATATGACATAATATTTGTTAATGTGAGGACCCCATATAAA
TACCATCACTATCAGCAGTGTGAAGACCATGCCATTAAGCTTAGCATGTTGACCAAGAAA
GCTTGTCTGCATCTGAATCCCGGCGGAACCTGTGTCAGCATAGGTTATGGTTACGCTGAC
AGGGCCAGCGAAAGCATCATTGGTGCTATAGCGCGGCAGTTCAAGTTTTCCCGGGTATGC
AAACCGAAATCCTCACTTGAAGAGACGGAAGTTCTGTTTGTATTCATTGGGTACGATCGC
AAGGCCCGTACGCACAATCCTTACAAGCTTTCATCAACCTTGACCAACATTTATACAGGT
TCCAGACTCCACGAAGCCGGATGTGCACCCTCATATCATGTGGTGCGAGGGGATATTGCC
ACGGCCACCGAAGGAGTGATTATAAATGCTGCTAACAGCAAAGGACAACCTGGCGGAGG
GGTGTGCGGAGCGCTGTATAAGAAATTCCCGGAAAGCTTCGATTTACAGCCGATCGAAGT
AGGAAAAGCGCGACTGGTCAAAGGTGCAGCTAAACATATCATTCATGCCGTAGGACCAA
ACTTCAACAAAGTTTCGGAGGTTGAAGGTGACAAACAGTTGGCAGAGGCTTATGAGTCCA
TCGCTAAGATTGTCAACGATAACAATTACAAGTCAGTAGCGATTCCACTGTTGTCCACCG
GCATCTTTTCCGGGAACAAAGATCGACTAACCCAATCATTGAACCATTTGCTGACAGCTT
TAGACACCACTGATGCAGATGTAGCCATATACTGCAGGGACAAGAAATGGGAAATGACT
CTCAAGGAAGCAGTGGCTAGGAGAGAAGCAGTGGAGGAGATATGCATATCCGACGACTC
TTCAGTGACAGAACCTGATGCAGAGCTGGTGAGGGTGCATCCGAAGAGTTCTTTGGCTGG
AAGGAAGGGCTACAGCACAAGCGATGGCAAAACTTTCTCATATTTGGAAGGGACCAAGT
TTCACCAGGCGGCCAAGGATATAGCAGAAATTAATGCCATGTGGCCCGTTGCAACGGAG
GCCAATGAGCAGGTATGCATGTATATCCTCGGAGAAAGCATGAGCAGTATTAGGTCGAA
ATGCCCCGTCGAAGAGTCGGAAGCCTCCACACCACCTAGCACGCTGCCTTGCTTGTGCAT
CCATGCCATGACTCCAGAAAGAGTACAGCGCCTAAAAGCCTCACGTCCAGAACAAATTA
CTGTGTGCTCATCCTTTCCATTGCCGAAGTATAGAATCACTGGTGTGCAGAAGATCCAAT

GCTCCCAGCCTATATTGTTCTCACCGAAAGTGCCTGCGTATATTCATCCAAGGAAGTATCT
CGTGGAAACACCACCGGTAGACGAGACTCCGGAGCCATCGGCAGAGAACCAATCCACAG
AGGGGACACCTGAACAACCACCACTTATAACCGAGGATGAGACCAGGACTAGAACGCCT
GAGCCGATCATCATCGAAGAGGAAGAAGAGGATAGCATAAGTTTGCTGTCAGATGGCCC
GACCCACCAGGTGCTGCAAGTCGAGGCAGACATTCACGGGCCGCCCTCTGTATCTAGCTC
ATCCTGGTCCATTCCTCATGCATCCGACTTTGATGTGGACAGTTTATCCATACTTGACACC
CTGGAGGGAGCTAGCGTGACCAGCGGGGCAACGTCAGCCGAGACTAACTCTTACTTCGC
AAAGAGTATGGAGTTTCTGGCGCGACCGGTGCCTGCGCCTCGAACAGTATTCAGGAACCC
TCCACATCCCGCTCCGCGCACAAGAACACCGTCACTTGCACCCAGCAGGGCCTGCTCGAG
AACCAGCCTAGTTTCCACCCCGCCAGGCGTGAATAGGGTGATCACTAGAGAGGAGCTCG
AGGCGCTTACCCCGTCACGCACTCCTAGCAGGTCGGTCTCGAGAACCAGCCTGGTCTCCA
ACCCGCCAGGCGTAAATAGGGTGATTACAAGAGAGGAGTTTGAGGCGTTCGTAGCACAA
CAACAATGACGGTTTGATGCGGGTGCATACATCTTTTCCTCCGACACCGGTCAAGGGCAT
TTACAACAAAAATCAGTAAGGCAAACGGTGCTATCCGAAGTGGTGTTGGAGAGGACCGA
ATTGGAGATTTCGTATGCCCCGCGCCTCGACCAAGAAAAAGAAGAATTACTACGCAAGA
AATTACAGTTAAATCCCACACCTGCTAACAGAAGCAGATACCAGTCCAGGAAGGTGGAG
AACATGAAAGCCATAACAGCTAGACGTATTCTGCAAGGCCTAGGGCATTATTTGAAGGCA
GAAGGAAAAGTGGAGTGCTACCGAACCCTGCATCCTGTTCCTTTGTATTCATCTAGTGTG
AACCGTGCCTTTTCAAGCCCCAAGGTCGCAGTGGAAGCCTGTAACGCCATGTTGAAAGAG
AACTTTCCGACTGTGGCTTCTTACTGTATTATTCCAGAGTACGATGCCTATTTGGACATGG
TTGACGGAGCTTCATGCTGCTTAGACACTGCCAGTTTTTGCCCTGCAAAGCTGCGCAGCTT
TCCAAAGAAACACTCCTATTTGGAACCCACAATACGATCGGCAGTGCCTTCAGCGATCCA
GAACACGCTCCAGAACGTCCTGGCAGCTGCCACAAAAAGAAATTGCAATGTCACGCAAA
TGAGAGAATTGCCCGTATTGGATTCGGCGGCCTTTAATGTGGAATGCTTCAAGAAATATG
CGTGTAATAATGAATATTGGGAAACGTTTAAAGAAAACCCCATCAGGCTTACTGAAGAA
AACGTGGTAAATTACATTACCAAATTAAAAGGACCAAAAGCTGCTGCTCTTTTTGCGAAG
ACACATAATTTGAATATGTTGCAGGACATACCAATGGACAGGTTTGTAATGGACTTAAAG
AGAGACGTGAAAGTGACTCCAGGAACAAAACATACTGAAGAACGGCCCAAGGTACAGGT
GATCCAGGCTGCCGATCCGCTAGCAACAGCGTATCTGTGCGGAATCCACCGAGAGCTGGT
TAGGAGATTAAATGCGGTCCTGCTTCCGAACATTCATACACTGTTTGATATGTCGGCTGA
AGACTTTGACGCTATTATAGCCGAGCACTTCCAGCCTGGGGATTGTGTTCTGGAAACTGA
CATCGCGTCGTTTGATAAAAGTGAGGACGACGCCATGGCTCTGACCGCGTTAATGATTCT
GGAAGACTTAGGTGTGGACGCAGAGCTGTTGACGCTGATTGAGGCGGCTTTCGGCGAAAT
TTCATCAATACATTTGCCCACTAAAACTAAATTTAAATTCGGAGCCATGATGAAATCTGG
AATGTTCCTCACACTGTTTGTGAACACAGTCATTAACATTGTAATCGCAAGCAGAGTGTT
GAGAGAACGGCTAACCGGATCACCATGTGCAGCATTCATTGGAGATGACAATATCGTGA
AAGGAGTCAAATCGGACAAATTAATGGCAGACAGGTGCGCCACCTGGTTGAATATGGAA
GTCAAGATTATAGATGCTGTGGTGGGCGAGAAAGCGCCTTATTTCTGTGGAGGGTTTATT
TTGTGTGACTCCGTGACCGGCACAGCGTGCCGTGTGGCAGACCCCCTAAAAAGGCTGTTT
AAGCTTGGCAAACCTCTGGCAGCAGACGATGAACATGATGATGACAGGAGAAGGGCATT
GCATGAAGAGTCAACACGCTGGAACCGAGTGGGTATTCTTTCAGAGCTGTGCAAGGCAGT
AGAATCAAGGTATGAAACCGTAGGAACTTCCATCATAGTTATGGCCATGACTACTCTAGC
TAGCAGTGTTAAATCATTCAGCTACCTGAGAGGGGCCCCTATAACTCTCTACGGCTAACC
TGAATGGACTACGACATAGTCTAGTCCGCCAAGATGTTCCCGTTCCAGCCAATGTATCCG
ATGCAGCCAATGCCCTATCGCAACCCGTTCGCGGCCCCGCGCAGGCCCTGGTTCCCCAGA

ACCGACCCTTTTCTGGCGATGCAGGTGCAGGAATTAACCCGCTCGATGGCTAACCTGACG
TTCAAGCAACGCCGGGACGCGCCACCTGAGGGGCCATCCGCTAAGAAACCGAAGAAGGA
GGCCTCGCAAAAACAGAAAGGGGGAGGCCAAGGGAAGAAGAAGAAGAACCAAGGGAA
GAAGAAGGCTAAGACAGGGCCGCCTAATCCGAAGGCACAGAATGGAAACAAGAAGAAG
ACCAACAAGAAACCAGGCAAGAGACAGCGCATGGTCATGAAATTGGAATCTGACAAGAC
GTTCCCAATCATGTTGGAAGGGAAGATAAACGGCTACGCTTGTGTGGTCGGAGGGAAGTT
ATTCAGGCCGATGCATGTGGAAGGCAAGATCGACAACGACGTTCTGGCCGCGCTTAAGA
CGAAGAAAGCATCCAAATACGATCTTGAGTATGCAGATGTGCCACAGAACATGCGGGCC
GATACATTCAAATACACCCATGAGAAACCCCAAGGCTATTACAGCTGGCATCATGGAGCA
GTCCAATATGAAAATGGGCGTTTCACGGTGCCGAAAGGAGTTGGGGCCAAGGGAGACAG
CGGACGACCCATTCTGGATAACCAGGGACGGGTGGTCGCTATTGTGCTGGGAGGTGTGAA
TGAAGGATCTAGGACAGCCCTTTCAGTCGTCATGTGGAACGAGAAGGGAGTTACCGTGA
AGTATACTCCGGAGAACTGCGAGCAATGGTCACTAGTGACCACCATGTGTCTGCTCGCCA
ATGTGACGTTCCCATGTGCTCAACCACCAATTTGCTACGACAGAAAACCAGCAGAGACTT
TGGCCATGCTCAGCGTTAACGTTGACAACCCGGGCTACGATGAGCTGCTGGAAGCAGCTG
TTAAGTGCCCCGGAAGGAAAAGGAGATCCACCGAGGAGCTGTTTAATGAGTATAAGCTA
ACGCGCCCTTACATGGCCAGATGCATCAGATGTGCAGTTGGGAGCTGCCATAGTCCAATA
GCAATCGAGGCAGTAAAGAGCGACGGGCACGACGGTTATGTTAGACTTCAGACTTCCTCG
CAGTATGGCCTGGATTCCTCCGGCAACTTAAAGGGCAGGACCATGCGGTATGACATGCAC
GGGACCATTAAAGAGATACCACTACATCAAGTGTCACTCTATACATCTCGCCCGTGTCAC
ATTGTGGATGGGCACGGTTATTTCCTGCTTGCCAGGTGCCCGGCAGGGGACTCCATCACC
ATGGAATTTAAGAAAGATTCCGTCAGACACTCCTGCTCGGTGCCGTATGAAGTGAAATTT
AATCCTGTAGGCAGAGAACTCTATACTCATCCCCCAGAACACGGAGTAGAGCAAGCGTG
CCAAGTCTACGCACATGATGCACAGAACAGAGGAGCTTATGTCGAGATGCACCTCCCGG
GCTCAGAAGTGGACAGCAGTTTGGTTTCCTTGAGCGGCAGTTCAGTCACCGTGACACCTC
CTGATGGGACTAGCGCCCTGGTGGAATGCGAGTGTGGCGGCACAAAGATCTCCGAGACC
ATCAACAAGACAAAACAGTTCAGCCAGTGCACAAAGAAGGAGCAGTGCAGAGCATATCG
GCTGCAGAACGATAAGTGGGTGTATAATTCTGACAAACTGCCCAAAGCAGCGGGAGCCA
CCTTAAAAGGAAAACTGCATGTCCCATTCTTGCTGGCAGACGGCAAATGCACCGTGCCTC
TAGCACCAGAACCTATGATAACCTTCGGTTTCAGATCAGTGTCACTGAAACTGCACCCTA
AGAATCCCACATATCTAATCACCCGCCAACTTGCTGATGAGCCTCACTACACGCACGAGC
TCATATCTGAACCAGCTGTTAGGAATTTTACCGTCACCGAAAAAGGGTGGGAGTTTGTAT
GGGGAAACCACCCGCCGAAAAGGTTTTGGGCACAGGAAACAGCACCCGGAAATCCACAT
GGGCTACCGCACGAGGTGATAACTCATTATTACCACAGATACCCTATGTCCACCATCCTG
GGTTTGTCAATTTGTGCCGCCATTGCAACCGTTTCCGTTGCAGCGTCTACCTGGCTGTTTT
GCAGATCTAGAGTTGCGTGCCTAACTCCTTACCGGCTAACACCTAACGCTAGGATACCAT
TTTGTCTGGCTGTGCTTTGCTGCGCCCGCACTGCCCGGGCCGAGACCACCTGGGAGTCCTT
GGATCACCTATGGAACAATAACCAACAGATGTTCTGGATTCAATTGCTGATCCCTCTGGC
CGCCTTGATCGTAGTGACTCGCCTGCTCAGGTGCGTGTGCTGTGTCGTGCCTTTTTTAGTC
ATGGCCGGCGCCGCAGGCGCCGGCGCCTACGAGCACGCGACCACGATGCCGAGCCAAGC
GGGAATCTCGTATAACACTATAGTCAACAGAGCAGGCTACGCACCACTCCCTATCAGCAT
AACACCAACAAAGATCAAGCTGATACCTACAGTGAACTTGGAGTACGTCACCTGCCACTA
CAAAACAGGAATGGATTCACCAGCCATCAAATGCTGCGGATCTCAGGAATGCACTCCAA
CTTACAGGCCTGATGAACAGTGCAAAGTCTTCACAGGGGTTTACCCGTTCATGTGGGGTG
GTGCATATTGCTTTTGCGACACTGAGAACACCCAAGTCAGCAAGGCCTACGTAATGAAAT

CTGACGACTGCCTTGCGGATCATGCTGAAGCATATAAAGCGCACACAGCCTCAGTGCAGG
CGTTCCTCAACATCACAGTGGGAGAACACTCTATTGTGACTACCGTGTATGTGAATGGAG
AAACTCCTGTGAATTTCAATGGGGTCAAAATAACTGCAGGTCCGCTTTCCACAGCTTGGA
CACCCTTTGATCGCAAAATCGTGCAGTATGCCGGGGAGATCTATAATTATGATTTTCCTGA
GTATGGGGCAGGACAACCAGGAGCATTTGGAGATATACAATCCAGAACAGTCTCAAGCT
CTGATCTGTATGCCAATACCAACCTAGTGCTGCAGAGACCCAAAGCAGGAGCGATCCACG
TGCCATACACTCAGGCACCTTCGGGTTTTGAGCAATGGAAGAAAGATAAAGCTCCATCAT
TGAAATTTACCGCCCCTTTCGGATGCGAAATATATACAAACCCCATTCGCGCCGAAAACT
GTGCTGTAGGGTCAATTCCATTAGCCTTTGACATTCCCGACGCCTTGTTCACCAGGGTGTC
AGAAACACCGACACTTTCAGCGGCCGAATGCACTCTTAACGAGTGCGTGTATTCTTCCGA
CTTTGGTGGGATCGCCACGGTCAAGTACTCGGCCAGCAAGTCAGGCAAGTGCGCAGTCCA
TGTGCCATCAGGGACTGCTACCCTAAAAGAAGCAGCAGTCGAGCTAACCGAGCAAGGGT
CGGCGACTATCCATTTCTCGACCGCAAATATCCACCCGGAGTTCAGGCTCCAAATATGCA
CATCATATGTTACGTGCAAAGGTGATTGTCACCCCCCGAAAGACCATATTGTGACACACC
CTCAGTATCACGCCCAAACATTTACAGCCGCGGTGTCAAAAACCGCGTGGACGTGGTTAA
CATCCCTGCTGGGAGGATCAGCCGTAATTATTATAATTGGCTTGGTGCTGGCTACTATTGT
GGCCATGTACGTGCTGACCAACCAGAAACATAATTGAATACAGCAGCAATTGGCAAGCT
GCTTACATAGAACTCGCGGCGATTGGCATGCCGCCTTAAAATTTTTATTTTATTTTTCTTTT
CTTTTCCGAATCGGATTTTGTTTTTAATATTTC

VEE産生ベクター(配列番号8)；VEE ゲノムのヌクレオチド7544～11175を欠失させ、5’ T7-プロモーターを加え、3’制限部位を加えたもの

TAATACGACTCACTATAGGATGggcggcgcatgagagaagcccagaccaattacctacccaaaATGGagaaagttcacg
ttgacatcgaggaagacagcccattcctcagagctttgcagcggagcttcccgcagtttgaggtagaagccaagcaggtcactgataatgaccatgc
taatgccagagcgttttcgcatctggcttcaaaactgatcgaaacggaggtggacccatccgacacgatccttgacattggaagtgcgcccgcccgc
agaatgtattctaagcacaagtatcattgtatctgtccgatgagatgtgcggaagatccggacagattgtataagtatgcaactaagctgaagaaaaac
tgtaaggaaataactgataaggaattggacaagaaaatgaaggagctcgccgccgtcatgagcgaccctgacctggaaactgagactatgtgcctc
cacgacgacgagtcgtgtcgctacgaagggcaagtcgctgtttaccaggatgtatacgcggttgacggaccgacaagtctctatcaccaagccaat
aagggagttagagtcgcctactggataggctttgacaccacccctttatgtttaagaacttggctggagcatatccatcatactctaccaactgggccg
acgaaaccgtgttaacggctcgtaacataggcctatgcagctctgacgttatggagcggtcacgtagagggatgtccattcttagaaagaagtatttg
aaaccatccaacaatgttctattctctgttggctcgaccatctaccacgagaagagggacttactgaggagctggcacctgccgtctgtatttcacttac
gtggcaagcaaaattacacatgtcggtgtgagactatagttagttgcgacgggtacgtcgttaaaagaatagctatcagtccaggcctgtatgggaag
ccttcaggctatgctgctacgatgcaccgcgagggattcttgtgctgcaaagtgacagacacattgaacggggagagggtctcttttcccgtgtgcac
gtatgtgccagctacattgtgtgaccaaatgactggcatactggcaacagatgtcagtgcggacgacgcgcaaaaactgctggttgggctcaacca
gcgtatagtcgtcaacggtcgcacccagagaaacaccaataccatgaaaaattacctttgcccgtagtggcccaggcatttgctaggtgggcaaag
gaatataaggaagatcaagaagatgaaaggccactaggactacgagatagacagttagtcatggggtgttgttgggcttttagaaggcacaagataa
catctatttataagcgcccggatacccaaaccatcatcaaagtgaacagcgatttccactcattcgtgctgcccaggataggcagtaacacattggag

atcgggctgagaacaagaatcaggaaaatgttagaggagcacaaggagccgtcacctctcattaccgccgaggacgtacaagaagctaagtgcg
cagccgatgaggctaaggaggtgcgtgaagccgaggagttgcgcgcagctctaccacctttggcagctgatgttgaggagcccactctggaagcc
gatgtcgacttgatgttacaagaggctggggccggctcagtggagacacctcgtggcttgataaaggttaccagctacgctggcgaggacaagatc
ggctcttacgctgtgctttctccgcaggctgtactcaagagtgaaaaattatcttgcatccaccctctcgctgaacaagtcatagtgataacacactctg
gccgaaaagggcgttatgccgtggaaccataccatggtaaagtagtggtgccagagggacatgcaatacccgtccaggactttcaagctctgagtg
aaagtgccaccattgtgtacaacgaacgtgagttcgtaaacaggtacctgcaccatattgccacacatggaggagcgctgaacactgatgaagaata
ttacaaaactgtcaagcccagcgagcacgacggcgaatacctgtacgacatcgacaggaaacagtgcgtcaagaaagaactagtcactgggctag
ggctcacaggcgagctggtggatcctcccttccatgaattcgcctacgagagtctgagaacacgaccagccgctccttaccaagtaccaaccatag
gggtgtatggcgtgccaggatcaggcaagtctggcatcattaaaagcgcagtcaccaaaaaagatctagtggtgagcgccaagaaagaaaactgt
gcagaaattataagggacgtcaagaaaatgaaagggctggacgtcaatgccagaactgtggactcagtgctcttgaatggatgcaaacaccccgta
gagaccctgtatattgacgaagcttttgcttgtcatgcaggtactctcagagcgctcatagccattataagacctaaaaaggcagtgctctgcggggat
cccaaacagtgcggtttttttaacatgatgtgcctgaaagtgcattttaaccacgagatttgcacacaagtcttccacaaaagcatctctcgccgttgcac
taaatctgtgacttcggtcgtctcaaccttgttttacgacaaaaaaatgagaacgacgaatccgaaagagactaagattgtgattgacactaccggcag
taccaaacctaagcaggacgatctcattctcacttgtttcagagggtgggtgaagcagttgcaaatagattacaaaggcaacgaaataatgacggca
gctgcctctcaagggctgacccgtaaaggtgtgtatgccgttcggtacaaggtgaatgaaaatcctctgtacgcacccacctcagaacatgtgaacg
tcctactgacccgcacggaggaccgcatcgtgtggaaaacactagccggcgacccatggataaaaacactgactgccaagtaccctgggaatttc
actgccacgatagaggagtggcaagcagagcatgatgccatcatgaggcacatcttggagagaccggaccctaccgacgtcttccagaataaggc
aaacgtgtgttgggccaaggctttagtgccggtgctgaagaccgctggcatagacatgaccactgaacaatggaacactgtggattattttgaaacg
gacaaagctcactcagcagagatagtattgaaccaactatgcgtgaggttctttggactcgatctggactccggtctatttttctgcacccactgttccgtt
atccattaggaataatcactgggataactccccgtcgcctaacatgtacgggctgaataaagaagtggtccgtcagctctctcgcaggtacccacaac
tgcctcgggcagttgccactggaagagtctatgacatgaacactggtacactgcgcaattatgatccgcgcataaacctagtacctgtaaacagaag
actgcctcatgctttagtcctccaccataatgaacacccacagagtgacttttcttcattcgtcagcaaattgaagggcagaactgtcctggtggtcggg
gaaaagttgtccgtcccaggcaaaatggttgactggttgtcagaccggcctgaggctaccttcagagctcggctggatttaggcatcccaggtgatgt
gcccaaatatgacataatatttgttaatgtgaggaccccatataaataccatcactatcagcagtgtgaagaccatgccattaagcttagcatgttgacc
aagaaagcttgtctgcatctgaatcccggcggaacctgtgtcagcataggttatggttacgctgacagggccagcgaaagcatcattggtgctatag
cgcggcagttcaagttttcccgggtatgcaaaccgaaatcctcacttgaagagacggaagttctgtttgtattcattgggtacgatcgcaaggcccgta
cgcacaatccttacaagctttcatcaaccttgaccaacatttatacaggttccagactccacgaagccggatgtgcaccctcatatcatgtggtgcgag
gggatattgccacggccaccgaaggagtgattataaatgctgctaacagcaaaggacaacctggcggaggggtgtgcggagcgctgtataagaa
attcccggaaagcttcgatttacagccgatcgaagtaggaaaagcgcgactggtcaaaggtgcagctaaacatatcattcatgccgtaggaccaaac
ttcaacaaagtttcggaggttgaaggtgacaaacagttggcagaggcttatgagtccatcgctaagattgtcaacgataacaattacaagtcagtagc
gattccactgttgtccaccggcatcttttccgggaacaaagatcgactaacccaatcattgaaccatttgctgacagctttagacaccactgatgcagat
gtagccatatactgcagggacaagaaatgggaaatgactctcaaggaagcagtggctaggagagaagcagtggaggagatatgcatatccgacg
actcttcagtgacagaacctgatgcagagctggtgagggtgcatccgaagagttctttggctggaaggaagggctacagcacaagcgatggcaaa
actttctcatatttggaagggaccaagtttcaccaggcggccaaggatatagcagaaattaatgccatgtggcccgttgcaacggaggccaatgagc
aggtatgcatgtatatcctcggagaaagcatgagcagtattaggtcgaaatgccccgtcgaagagtcggaagcctccacaccacctagcacgctgc
cttgcttgtgcatccatgccatgactccagaaagagtacagcgcctaaaagcctcacgtccagaacaaattactgtgtgctcatcctttccattgccga
agtatagaatcactggtgtgcagaagatccaatgctcccagcctatattgttctcaccgaaagtgcctgcgtatattcatccaaggaagtatctcgtgga
aacaccaccggtagacgagactccggagccatcggcagagaaccaatccacagaggggacacctgaacaaccaccacttataaccgaggatga
gaccaggactagaacgcctgagccgatcatcatcgaagaggaagaagaggatagcataagtttgctgtcagatggcccgacccaccaggtgctg
caagtcgaggcagacattcacgggccgccctctgtatctagctcatcctggtccattcctcatgcatccgactttgatgtggacagtttatccatacttga
caccctggagggagctagcgtgaccagcggggcaacgtcagccgagactaactcttacttcgcaaagagtatggagtttctggcgcgaccggtgc
ctgcgcctcgaacagtattcaggaaccctccacatcccgctccgcgcacaagaacaccgtcacttgcacccagcagggcctgctcgagaaccagc
ctagtttccaccccgccaggcgtgaatagggtgatcactagagaggagctcgaggcgcttaccccgtcacgcactcctagcaggtcggtctcgaga
accagcctggtctccaacccgccaggcgtaaatagggtgattacaagagaggagtttgaggcgttcgtagcacaacaacaatgacggtttgatgcg
ggtgcatacatcttttcctccgacaccggtcaagggcatttacaacaaaaatcagtaaggcaaacggtgctatccgaagtggtgttggagaggaccg

aattggagatttcgtatgccccgcgcctcgaccaagaaaaagaagaattactacgcaagaaattacagttaaatcccacacctgctaacagaagcag
ataccagtccaggaaggtggagaacatgaaagccataacagctagacgtattctgcaaggcctagggcattatttgaaggcagaaggaaaagtgg
agtgctaccgaaccctgcatcctgttcctttgtattcatctagtgtgaaccgtgccttttcaagccccaaggtcgcagtggaagcctgtaacgccatgtt
gaaagagaactttccgactgtggcttcttactgtattattccagagtacgatgcctatttggacatggttgacggagcttcatgctgcttagacactgcca
gtttttgccctgcaaagctgcgcagctttccaaagaaacactcctatttggaacccacaatacgatcggcagtgccttcagcgatccagaacacgctc
cagaacgtcctggcagctgccacaaaaagaaattgcaatgtcacgcaaatgagagaattgcccgtattggattcggcggcctttaatgtggaatgctt
caagaaatatgcgtgtaataatgaatattgggaaacgtttaaagaaaaccccatcaggcttactgaagaaaacgtggtaaattacattaccaaattaaa
aggaccaaaagctgctgctctttttgcgaagacacataatttgaatatgttgcaggacataccaatggacaggtttgtaatggacttaaagagagacgt
gaaagtgactccaggaacaaaacatactgaagaacggcccaaggtacaggtgatccaggctgccgatccgctagcaacagcgtatctgtgcggaa
atccaccgagagctggttaggagattaaatgcggtcctgcttccgaacattcatacactgtttgatatgtcggctgaagactttgacgctattatagccg
agcacttccagcctggggattgtgttctggaaactgacatcgcgtcgtttgataaaagtgaggacgacgccatggctctgaccgcgttaatgattctg
gaagacttaggtgtggacgcagagctgttgacgctgattgaggcggctttcggcgaaatttcatcaatacatttgcccactaaaactaaatttaaattcg
gagccatgatgaaatctggaatgttcctcacactgtttgtgaacacagtcattaacattgtaatcgcaagcagagtgttgagagaacggctaaccggat
caccatgtgcagcattcattggagatgacaatatcgtgaaaggagtcaaatcggacaaattaatggcagacaggtgcgccacctggttgaatatgga
agtcaagattatagatgctgtggtgggcgagaaagcgccttatttctgtggagggtttattttgtgtgactccgtgaccggcacagcgtgccgtgtggc
agacccccctaaaaaggctgtttaagcttggcaaacctctggcagcagacgatgaacatgatgatgacaggagaagggcattgcatgaagagtcaa
cacgctggaaccgagtgggtattctttcagagctgtgcaaggcagtagaatcaaggtatgaaaccgtaggaacttccatcatagttatggccatgact
actctagctagcagtgttaaatcattcagctacctgagaggggcccctataactctctacggcTAAcctgaatggactacgacgtatcacgcccaa
acatttacagccgcggtgtcaaaaaccgcgtggacgtggttaacatccctgctgggaggatcagccgtaattattataattggcttggtgctggctact
attgtggccatgtacgtgctgaccaaccagaaacataattgaatacagcagcaattggcaagctgcttacatagaactcgcggcgattggcatgccg
ccttaaaatttttatttttatttttctttttctttttccgaatcggattttgtttttaatatttcAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

TC-83産生ベクター(配列番号9)；TC-83ゲノムのヌクレオチド7544～11175を欠失させ、5’T7-プロモーターを加え、3’制限部位を加えたもの

ATAGGCGGCGCATGAGAGAAGCCCAGACCAATTACCTACCCAAAATGGAGAAAGTTCAC
GTTGACATCGAGGAAGACAGCCCATTCCTCAGAGCTTTGCAGCGGAGCTTCCCGCAGTTT
GAGGTAGAAGCCAAGCAGGTCACTGATAATGACCATGCTAATGCCAGAGCGTTTTCGCAT
CTGGCTTCAAAACTGATCGAAACGGAGGTGGACCCATCCGACACGATCCTTGACATTGGA
AGTGCGCCCGCCCGCAGAATGTATTCTAAGCACAAGTATCATTGTATCTGTCCGATGAGA
TGTGCGGAAGATCCGGACAGATTGTATAAGTATGCAACTAAGCTGAAGAAAAACTGTAA
GGAAATAACTGATAAGGAATTGGACAAGAAAATGAAGGAGCTCGCCGCCGTCATGAGCG
ACCCTGACCTGGAAACTGAGACTATGTGCCTCCACGACGACGAGTCGTGTCGCTACGAAG
GGCAAGTCGCTGTTTACCAGGATGTATACGCGGTTGACGGACCGACAAGTCTCTATCACC
AAGCCAATAAGGGAGTTAGAGTCGCCTACTGGATAGGCTTTGACACCACCCCTTTTATGT
TTAAGAACTTGGCTGGAGCATATCCATCATACTCTACCAACTGGGCCGACGAAACCGTGT
TAACGGCTCGTAACATAGGCCTATGCAGCTCTGACGTTATGGAGCGGTCACGTAGAGGGA
TGTCCATTCTTAGAAAGAAGTATTTGAAACCATCCAACAATGTTCTATTCTCTGTTGGCTC
GACCATCTACCACGAGAAGAGGGACTTACTGAGGAGCTGGCACCTGCCGTCTGTATTTCA
CTTACGTGGCAAGCAAAATTACACATGTCGGTGTGAGACTATAGTTAGTTGCGACGGGTA
CGTCGTTAAAAGAATAGCTATCAGTCCAGGCCTGTATGGGAAGCCTTCAGGCTATGCTGC
TACGATGCACCGCGAGGGATTCTTGTGCTGCAAAGTGACAGACACATTGAACGGGGAGA
GGGTCTCTTTTCCCGTGTGCACGTATGTGCCAGCTACATTGTGTGACCAAATGACTGGCAT
ACTGGCAACAGATGTCAGTGCGGACGACGCGCAAAAACTGCTGGTTGGGCTCAACCAGC
GTATAGTCGTCAACGGTCGCACCCAGAGAAACACCAATACCATGAAAAATTACCTTTTGC
CCGTAGTGGCCCAGGCATTTGCTAGGTGGGCAAAGGAATATAAGGAAGATCAAGAAGAT

GAAAGGCCACTAGGACTACGAGATAGACAGTTAGTCATGGGGTGTTGTTGGGCTTTTAGA
AGGCACAAGATAACATCTATTTATAAGCGCCCGGATACCCAAACCATCATCAAAGTGAAC
AGCGATTTCCACTCATTCGTGCTGCCCAGGATAGGCAGTAACACATTGGAGATCGGGCTG
AGAACAAGAATCAGGAAAATGTTAGAGGAGCACAAGGAGCCGTCACCTCTCATTACCGC
CGAGGACGTACAAGAAGCTAAGTGCGCAGCCGATGAGGCTAAGGAGGTGCGTGAAGCCG
AGGAGTTGCGCGCAGCTCTACCACCTTTGGCAGCTGATGTTGAGGAGCCCACTCTGGAAG
CCGATGTCGACTTGATGTTACAAGAGGCTGGGGCCGGCTCAGTGGAGACACCTCGTGGCT
TGATAAAGGTTACCAGCTACGATGGCGAGGACAAGATCGGCTCTTACGCTGTGCTTTCTC
CGCAGGCTGTACTCAAGAGTGAAAAATTATCTTGCATCCACCCTCTCGCTGAACAAGTCA
TAGTGATAACACACTCTGGCCGAAAAGGGCGTTATGCCGTGGAACCATACCATGGTAAA
GTAGTGGTGCCAGAGGGACATGCAATACCCGTCCAGGACTTTCAAGCTCTGAGTGAAAGT
GCCACCATTGTGTACAACGAACGTGAGTTCGTAAACAGGTACCTGCACCATATTGCCACA
CATGGAGGAGCGCTGAACACTGATGAAGAATATTACAAAACTGTCAAGCCCAGCGAGCA
CGACGGCGAATACCTGTACGACATCGACAGGAAACAGTGCGTCAAGAAAGAACTAGTCA
CTGGGCTAGGGCTCACAGGCGAGCTGGTGGATCCTCCCTTCCATGAATTCGCCTACGAGA
GTCTGAGAACACGACCAGCCGCTCCTTACCAAGTACCAACCATAGGGGTGTATGGCGTGC
CAGGATCAGGCAAGTCTGGCATCATTAAAAGCGCAGTCACCAAAAAAGATCTAGTGGTG
AGCGCCAAGAAAGAAAACTGTGCAGAAATTATAAGGGACGTCAAGAAAATGAAAGGGC
TGGACGTCAATGCCAGAACTGTGGACTCAGTGCTCTTGAATGGATGCAAACACCCCGTAG
AGACCCTGTATATTGACGAAGCTTTTGCTTGTCATGCAGGTACTCTCAGAGCGCTCATAGC
CATTATAAGACCTAAAAAGGCAGTGCTCTGCGGGGATCCCAAACAGTGCGGTTTTTTTAA
CATGATGTGCCTGAAAGTGCATTTTAACCACGAGATTTGCACACAAGTCTTCCACAAAAG
CATCTCTCGCCGTTGCACTAAATCTGTGACTTCGGTCGTCTCAACCTTGTTTTACGACAAA
AAAATGAGAACGACGAATCCGAAAGAGACTAAGATTGTGATTGACACTACCGGCAGTAC
CAAACCTAAGCAGGACGATCTCATTCTCACTTGTTTCAGAGGGTGGGTGAAGCAGTTGCA
AATAGATTACAAAGGCAACGAAATAATGACGGCAGCTGCCTCTCAAGGGCTGACCCGTA
AAGGTGTGTATGCCGTTCGGTACAAGGTGAATGAAAATCCTCTGTACGCACCCACCTCAG
AACATGTGAACGTCCTACTGACCCGCACGGAGGACCGCATCGTGTGGAAAACACTAGCC
GGCGACCCATGGATAAAAACACTGACTGCCAAGTACCCTGGGAATTTCACTGCCACGATA
GAGGAGTGGCAAGCAGAGCATGATGCCATCATGAGGCACATCTTGGAGAGACCGGACCC
TACCGACGTCTTCCAGAATAAGGCAAACGTGTGTTGGGCCAAGGCTTTAGTGCCGGTGCT
GAAGACCGCTGGCATAGACATGACCACTGAACAATGGAACACTGTGGATTATTTTGAAAC
GGACAAAGCTCACTCAGCAGAGATAGTATTGAACCAACTATGCGTGAGGTTCTTTGGACT
CGATCTGGACTCCGGTCTATTTTCTGCACCCACTGTTCCGTTATCCATTAGGAATAATCAC
TGGGATAACTCCCCGTCGCCTAACATGTACGGGCTGAATAAAGAAGTGGTCCGTCAGCTC
TCTCGCAGGTACCCACAACTGCCTCGGGCAGTTGCCACTGGAAGAGTCTATGACATGAAC
ACTGGTACACTGCGCAATTATGATCCGCGCATAAACCTAGTACCTGTAAACAGAAGACTG
CCTCATGCTTTAGTCCTCCACCATAATGAACACCCACAGAGTGACTTTTCTTCATTCGTCA
GCAAATTGAAGGGCAGAACTGTCCTGGTGGTCGGGGAAAAGTTGTCCGTCCCAGGCAAA
ATGGTTGACTGGTTGTCAGACCGGCCTGAGGCTACCTTCAGAGCTCGGCTGGATTTAGGC
ATCCCAGGTGATGTGCCCAAATATGACATAATATTTGTTAATGTGAGGACCCCATATAAA
TACCATCACTATCAGCAGTGTGAAGACCATGCCATTAAGCTTAGCATGTTGACCAAGAAA
GCTTGTCTGCATCTGAATCCCGGCGGAACCTGTGTCAGCATAGGTTATGGTTACGCTGAC
AGGGCCAGCGAAAGCATCATTGGTGCTATAGCGCGGCAGTTCAAGTTTTCCCGGGTATGC
AAACCGAAATCCTCACTTGAAGAGACGGAAGTTCTGTTTGTATTCATTGGGTACGATCGC

AAGGCCCGTACGCACAATCCTTACAAGCTTTCATCAACCTTGACCAACATTTATACAGGT
TCCAGACTCCACGAAGCCGGATGTGCACCCTCATATCATGTGGTGCGAGGGGATATTGCC
ACGGCCACCGAAGGAGTGATTATAAATGCTGCTAACAGCAAAGGACAACCTGGCGGAGG
GGTGTGCGGAGCGCTGTATAAGAAATTCCCGGAAAGCTTCGATTTACAGCCGATCGAAGT
AGGAAAAGCGCGACTGGTCAAAGGTGCAGCTAAACATATCATTCATGCCGTAGGACCAA
ACTTCAACAAAGTTTCGGAGGTTGAAGGTGACAAACAGTTGGCAGAGGCTTATGAGTCCA
TCGCTAAGATTGTCAACGATAACAATTACAAGTCAGTAGCGATTCCACTGTTGTCCACCG
GCATCTTTTCCGGGAACAAAGATCGACTAACCCAATCATTGAACCATTTGCTGACAGCTT
TAGACACCACTGATGCAGATGTAGCCATATACTGCAGGGACAAGAAATGGGAAATGACT
CTCAAGGAAGCAGTGGCTAGGAGAGAAGCAGTGGAGGAGATATGCATATCCGACGACTC
TTCAGTGACAGAACCTGATGCAGAGCTGGTGAGGGTGCATCCGAAGAGTTCTTTGGCTGG
AAGGAAGGGCTACAGCACAAGCGATGGCAAAACTTTCTCATATTTGGAAGGGACCAAGT
TTCACCAGGCGGCCAAGGATATAGCAGAAATTAATGCCATGTGGCCCGTTGCAACGGAG
GCCAATGAGCAGGTATGCATGTATATCCTCGGAGAAAGCATGAGCAGTATTAGGTCGAA
ATGCCCCGTCGAAGAGTCGGAAGCCTCCACACCACCTAGCACGCTGCCTTGCTTGTGCAT
CCATGCCATGACTCCAGAAAGAGTACAGCGCCTAAAAGCCTCACGTCCAGAACAAATTA
CTGTGTGCTCATCCTTTCCATTGCCGAAGTATAGAATCACTGGTGTGCAGAAGATCCAAT
GCTCCCAGCCTATATTGTTCTCACCGAAAGTGCCTGCGTATATTCATCCAAGGAAGTATCT
CGTGGAAACACCACCGGTAGACGAGACTCCGGAGCCATCGGCAGAGAACCAATCCACAG
AGGGGACACCTGAACAACCACCACTTATAACCGAGGATGAGACCAGGACTAGAACGCCT
GAGCCGATCATCATCGAAGAGGAAGAAGAGGATAGCATAAGTTTGCTGTCAGATGGCCC
GACCCACCAGGTGCTGCAAGTCGAGGCAGACATTCACGGGCCGCCCTCTGTATCTAGCTC
ATCCTGGTCCATTCCTCATGCATCCGACTTTGATGTGGACAGTTTATCCATACTTGACACC
CTGGAGGGAGCTAGCGTGACCAGCGGGGCAACGTCAGCCGAGACTAACTCTTACTTCGC
AAAGAGTATGGAGTTTCTGGCGCGACCGGTGCCTGCGCCTCGAACAGTATTCAGGAACCC
TCCACATCCCGCTCCGCGCACAAGAACACCGTCACTTGCACCCAGCAGGGCCTGCTCGAG
AACCAGCCTAGTTTCCACCCCGCCAGGCGTGAATAGGGTGATCACTAGAGAGGAGCTCG
AGGCGCTTACCCCGTCACGCACTCCTAGCAGGTCGGTCTCGAGAACCAGCCTGGTCTCCA
ACCCGCCAGGCGTAAATAGGGTGATTACAAGAGAGGAGTTTGAGGCGTTCGTAGCACAA
CAACAATGACGGTTTGATGCGGGTGCATACATCTTTTCCTCCGACACCGGTCAAGGGCAT
TTACAACAAAAATCAGTAAGGCAAACGGTGCTATCCGAAGTGGTGTTGGAGAGGACCGA
ATTGGAGATTTCGTATGCCCCGCGCCTCGACCAAGAAAAAGAAGAATTACTACGCAAGA
AATTACAGTTAAATCCCACACCTGCTAACAGAAGCAGATACCAGTCCAGGAAGGTGGAG
AACATGAAAGCCATAACAGCTAGACGTATTCTGCAAGGCCTAGGGCATTATTTGAAGGCA
GAAGGAAAAGTGGAGTGCTACCGAACCCTGCATCCTGTTCCTTTGTATTCATCTAGTGTG
AACCGTGCCTTTTCAAGCCCCAAGGTCGCAGTGGAAGCCTGTAACGCCATGTTGAAAGAG
AACTTTCCGACTGTGGCTTCTTACTGTATTATTCCAGAGTACGATGCCTATTTGGACATGG
TTGACGGAGCTTCATGCTGCTTAGACACTGCCAGTTTTTGCCCTGCAAAGCTGCGCAGCTT
TCCAAAGAAACACTCCTATTTGGAACCCACAATACGATCGGCAGTGCCTTCAGCGATCCA
GAACACGCTCCAGAACGTCCTGGCAGCTGCCACAAAAAGAAATTGCAATGTCACGCAAA
TGAGAGAATTGCCCGTATTGGATTCGGCGGCCTTTAATGTGGAATGCTTCAAGAAATATG
CGTGTAATAATGAATATTGGGAAACGTTTAAAGAAAACCCCATCAGGCTTACTGAAGAA
AACGTGGTAAATTACATTACCAAATTAAAAGGACCAAAAGCTGCTGCTCTTTTTGCGAAG
ACACATAATTTGAATATGTTGCAGGACATACCAATGGACAGGTTTGTAATGGACTTAAAG
AGAGACGTGAAAGTGACTCCAGGAACAAAACATACTGAAGAACGGCCCAAGGTACAGGT

| |
|---|
| GATCCAGGCTGCCGATCCGCTAGCAACAGCGTATCTGTGCGGAATCCACCGAGAGCTGGT<br>TAGGAGATTAAATGCGGTCCTGCTTCCGAACATTCATACACTGTTTGATATGTCGGCTGA<br>AGACTTTGACGCTATTATAGCCGAGCACTTCCAGCCTGGGGATTGTGTTCTGGAAACTGA<br>CATCGCGTCGTTTGATAAAAGTGAGGACGACGCCATGGCTCTGACCGCGTTAATGATTCT<br>GGAAGACTTAGGTGTGGACGCAGAGCTGTTGACGCTGATTGAGGCGGCTTTCGGCGAAAT<br>TTCATCAATACATTTGCCCACTAAAACTAAATTTAAATTCGGAGCCATGATGAAATCTGG<br>AATGTTCCTCACACTGTTTGTGAACACAGTCATTAACATTGTAATCGCAAGCAGAGTGTT<br>GAGAGAACGGCTAACCGGATCACCATGTGCAGCATTCATTGGAGATGACAATATCGTGA<br>AAGGAGTCAAATCGGACAAATTAATGGCAGACAGGTGCGCCACCTGGTTGAATATGGAA<br>GTCAAGATTATAGATGCTGTGGTGGGCGAGAAAGCGCCTTATTTCTGTGGAGGGTTTATT<br>TTGTGTGACTCCGTGACCGGCACAGCGTGCCGTGTGGCAGACCCCCTAAAAAGGCTGTTT<br>AAGCTTGGCAAACCTCTGGCAGCAGACGATGAACATGATGATGACAGGAGAAGGGCATT<br>GCATGAAGAGTCAACACGCTGGAACCGAGTGGGTATTCTTTCAGAGCTGTGCAAGGCAGT<br>AGAATCAAGGTATGAAACCGTAGGAACTTCCATCATAGTTATGGCCATGACTACTCTAGC<br>TAGCAGTGTTAAATCATTCAGCTACCTGAGAGGGGCCCCTATAACTCTCTACGGCTAACC<br>TGAATGGACTACGACGTATCACGCCCAAACATTTACAGCCGCGGTGTCAAAAACCGCGTG<br>GACGTGGTTAACATCCCTGCTGGGAGGATCAGCCGTAATTATTATAATTGGCTTGGTGCT<br>GGCTACTATTGTGGCCATGTACGTGCTGACCAACCAGAAACATAATTGAATACAGCAGCA<br>ATTGGCAAGCTGCTTACATAGAACTCGCGGCGATTGGCATGCCGCCTTAAAATTTTTATTT<br>TATTTTTCTTTTCTTTTCCGAATCGGATTTTGTTTTTAATATTTCAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA<br>AAAAAAA |
| VEE-UbAAY (配列番号14)；VEE送達ベクターにMHCクラスIマウス腫瘍エピトープ<br>SIINFEKL (配列番号29362)及びAH1-A5を挿入したもの |
| VEE-ルシフェラーゼ (配列番号15)；VEE送達ベクターの7545にルシフェラーゼ遺伝子を挿入したもの |
| ユビキチン(配列番号38)>UbG76 0～228 |
| ユビキチン A76 (配列番号39)>UbA76 0～228 |
| HLA-A2 (MHC クラスI)シグナルペプチド(配列番号40)>MHCシグナルペプチド0～78 |
| HLA-A2 (MHC クラスI) 膜貫通ドメイン(配列番号41)>HLA A2 TMドメイン0～201 |
| IgKリーダー配列(配列番号42)>IgKリーダー配列0～60 |
| ヒトDC-Lamp (配列番号43)>ヒトDCLAMP 0～3178 |
| マウスLAMP1 (配列番号44)>マウスLamp1 0～1858 |
| ヒトLamp1 cDNA (配列番号45)>ヒトLamp1 0～2339 |
| 破傷風トキソイド核酸配列(配列番号46) |
| 破傷風トキソイドアミノ酸配列(配列番号47) |
| PADREヌクレオチド配列(配列番号48) |
| PADREアミノ酸配列(配列番号49) |
| WPRE (配列番号50)>WPRE 0～593 |
| IRES (配列番号51)>eGFP_IRES_SEAP_インサート1746～2335 |
| GFP (配列番号52) |
| SEAP (配列番号53) |

| |
|---|
| ホタルルシフェラーゼ(配列番号54) |
| FMDV 2A (配列番号55) |
| イピリムマブ重鎖(配列番号29520) |
| QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISYDGNNKYYA<br>DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSSASTKG<br>PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV<br>VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD<br>TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF<br>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN<br>HYTQKSLSLSPGK |
| イピリムマブ軽鎖(配列番号29521) |
| EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFS<br>GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS<br>GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH<br>KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| ニボルマブ重鎖(配列番号29522) |
| QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYY<br>ADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF<br>PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS<br>SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP<br>EVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK<br>EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE<br>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSLGK |
| ニボルマブ軽鎖(配列番号29523) |
| EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG<br>SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT<br>ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK<br>VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| ChAdV68-Empty-E4deleted (配列番号29365) |
| CATCTTCAATAATATACCTCAAACTTTTTGTGCGCGTTAATATGCAAATGAGGCGTTTGAA<br>TTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGGATGAGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAG<br>TGACGTTTTGATGACGTGGTTGCGAGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGT<br>GACGTCAAACGAGGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTCTCTGACA<br>GGAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGGGCCATTTTCGCGCGAAAACT<br>GAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAATTTCGCGTTTATGGCAGGGAGGAGTATTTGCCGA<br>GGGCCGAGTAGACTTTGACCGATTACGTGGGGGTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAAT<br>TTCCGCGTACGGTGTCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCTGATCGCCAGGGTAT<br>TTAAACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTCTC<br>CTCCGCGCCGCGAGTCAGATCTACACTTTGAAAGTAGGGataaGGTAGCGAGTGAGTAGTG<br>TTCTGGGGCGGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAATAACTGAAATCTGTGCTTTTCTGT<br>GTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCGGCTCCTTTGAGGGAGGGGTATTCAGCCCTTATCT<br>GACGGGGCGTCTCCCCTCCTGGGCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGG |

ACGGCCGGCCCGTGCAGCCCGCGAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAGCTCTT
CGTCGTTGGACGCAGCTGCCGCCGCAGCTGCTGCATCTGCCGCCAGCGCCGTGCGCGGAA
TGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACTCTGGTGGCCAACTCGAGTTCCACCAATAATC
CCGCCAGCCTGAACGAGGAGAAGCTGTTGCTGCTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTTGACCC
AGCGCCTGGGCGAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGACGCGGGCCGCG
GTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAATAAATAAACGGAGACGGTTGTTG
ATTTTAACACAGAGTCTGAATCTTTATTTGATTTTTCGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACC
GGTCTCGATCATTGAGCACCCGGTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTTGGA
TGTTGAGGTACATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGCAGGGCCT
CGTGCTCGGGGGTGGTGTTGTAAATCACCCAGTCATAGCAGGGGCGCAGGGCATGGTGTT
GCACAATATCTTTGAGGAGGAGACTGATGGCCACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTA
CAAATCTGTTGAGCTGGGAGGGATGCATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATCTTGGCCTGG
ATCTTGAGATTGGCGATGTTACCGCCCAGATCCCGCCTGGGGTTCATGTTGTGCAGGACC
ACCAGCACGGTGTATCCGGTGCACTTGGGGAATTTATCATGCAACTTGGAAGGGAAGGCG
TGAAAGAATTTGGCGACGCCTTTGTGCCCGCCCAGGTTTTCCATGCACTCATCCATGATGA
TGGCGATGGGCCCGTGGGCGGCGGCCTGGGCAAAGACGTTTCGGGGGTCGGACACATCA
TAGTTGTGGTCCTGGGTGAGGTCATCATAGGCCATTTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTG
CCGGACTGGGGGACAAAGGTACCCTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCCTCACAGATCTGC
ATCTCCCAGGCTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCGGGGCGATAAAGAA
CACGGTTTCCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGCCGAAAGCAAGTTCCGGAGCAGCTGGG
ACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCCGTAGATGACCCCGATGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGA
GGGAGAGACAGCTGCCGTCCTCCCGGAGGAGGGGGGCCACCTCGTTCATCATCTCGCGCA
CGTGCATGTTCTCGCGCACCAGTTCCGCCAGGAGGCGCTCTCCCCCCAGGGATAGGAGCT
CCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTTCAGCGGCTTGAGTCCGTCGGCCATGGGCATTTTGGAGA
GGGTTTGTTGCAAGAGTTCCAGGCGGTCCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTC
GATCCAGCAGACCTCCTCGTTTCGCGGGTTGGGACGGCTGCGGGAGTAGGGCACCAGAC
GATGGGCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCCTTCCAGGGTCGCAGCGTCCGCGTCAGGG
TGGTCTCCGTCACGGTGAAGGGGTGCGCGCCGGGCTGGGCGCTTGCGAGGGTGCGCTTCA
GGCTCATCCGGCTGGTCGAAAACCGCTCCCGATCGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAGGTAGC
AATTGACCATGAGTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTGGCGCGGAGCTTAC
CTTTGGAAGTCTGCCCGCAGGCGGGACAGAGGAGGGACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGG
GCGAGGAAGACGGACTCGGGGGCGTAGGCGTCCGCGCCGCAGTGGGCGCAGACGGTCTC
GCACTCCACGAGCCAGGTGAGGTCGGGCTGGTCGGGGTCAAAAACCAGTTTCCCGCCGTT
CTTTTTGATGCGTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCCCCGCTGGGTGACAAAG
AGGCTGTCCGTGTCCCCGTAGACCGACTTTATGGGCCGGTCCTCGAGCGGTGTGCCGCGG
TCCTCCTCGTAGAGGAACCCCGCCCACTCCGAGACGAAAGCCCGGGTCCAGGCCAGCAC
GAAGGAGGCCACGTGGGACGGGTAGCGGTCGTTGTCCACCAGCGGGTCCACCTTTTCCAG
GGTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGAAGGTGATTGGCTTGTAAGTGTA
GGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGCCGGGGGGGTATAAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGT
CCTCACTGTCTTCCGGATCGCTGTCCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCTC
GAAGGCGGGCATGACCTCGGCACTCAGGTTGTCAGTTTCTAGAAACGAGGAGGATTTGAT
ATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTCAAGAGCCCCTCGTCCATCTGGTCAGAAAAGAC
GATCTTTTTGTTGTCGAGCTTGGTGGCGAAGGAGCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTT
GGCGATGGAGCGCATGGTCTGGTTTTTTTCCTTGTCGGCGCGCTCCTTGGCGGCGATGTTG
AGCTGCACGTACTCGCGCGCCACGCACTTCCATTCGGGGAAGACGGTGGTCAGCTCGTCG

GGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGATTATGCAGGGTGATGAGGTCCACACTGGTGGCC
ACCTCGCCGCGCAGGGGCTCATTAGTCCAGCAGAGGCGTCCGCCCTTGCGCGAGCAGAA
GGGGGGCAGGGGGTCCAGCATGACCTCGTCGGGGGGGTCGGCATCGATGGTGAAGATGC
CGGGCAGGAGGTCGGGGTCAAAGTAGCTGATGGAAGTGGCCAGATCGTCCAGGGCAGCT
TGCCATTCGCGCACGGCCAGCGCGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTGCCCCAGGGCAT
GGGATGGGTAAGCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTCGTAGACGTAGAGGGGCTCCT
CGAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCCGCGGATGCTGGCGCGCACGTAG
TCATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGCCCCGGGCCCAGGTTGGTGCGACTGGGCTTT
TCGGCGCGGTAGACGATCTGGCGGAAAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCCT
TTGGAAGATGTTGAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGCGGATGAAGTGGGCGT
AGGAGTCTTGCAGCTTGGCGACGAGCTCGGCGGTGACTAGGACGTCCAGAGCGCAGTAG
TCGAGGGTCTCCTGGATGATGTCATACTTGAGCTGTCCCTTTTGTTTCCACAGCTCGCGGT
TGAGAAGGAACTCTTCGCGGTCCTTCCAGTACTCTTCGAGGGGGAACCCGTCCTGATCTG
CACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAACTGGTTGACGGCCTTGTAGGCGCAGCAGCCCTTCT
CCACGGGGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCTTGCGCAGGGAGGTGTGCGTGAGGGCGAAA
GTGTCCCTGACCATGACCTTGAGGAACTGGTGCTTGAAGTCGATATCGTCGCAGCCCCCC
TGCTCCCAGAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTGTAGGCGGGGTTGGGCAAAGCGAAAGTA
ACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCGCGCGGGGCATAAAGTTGCGAGTGATGCGGAAAGG
TTGGGGCACCTCGGCCCGGTTGTTGATGACCTGGGCGGCGAGCACGATCTCGTCGAAGCC
GTTGATGTTGTGGCCCACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGG
CAGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTCGCTGAGCCCGTGCTGCTCGAG
CGCCCAGTCGGCGAGATGGGGGTTGGCGCGGAGGAAGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCA
GGGCGGTTTGCAGACGGTCCCGGTACTGACGGAACTGCTGCCCGACGGCCATTTTTTCGG
GGGTGACGCAGTAGAAGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCTGGAGG
GCGAGATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTCGTCCCCGGAGAGTTTCATGACCAGCAT
GAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACCCCATCCAGGTGTAGGTTTCCACATCGTAGGT
GAGGAAGAGCCTTTCGGTGCGAGGATGCGAGCCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCC
ACCAATTGGAGGAATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCGCCGAA
CACTCGTGCTTGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCTCGCAACGCTGCACGGGATGCACG
TGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTCCTTTGACGAGGAATTTCAGTGGGAAGTGGAGTCGT
GGCGCCTGCATCTCGTGCTGTACTACGTCGTGGTGGTCGGCCTGGCCCTCTTCTGCCTCGA
TGGTGGTCATGCTGACGAGCCCGCGCGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCGCGAGCGGGT
CGGAGAGCGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCCAGGGTCCTGAGACGCTGCGG
AGTCAGGTCAGTGGGCAGCGGCGGCGCGCGGTTGACTTGCAGGAGTTTTTCCAGGGCGCG
CGGGAGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGCGCCATTGGTGGCGACGTCGATGGCTTG
CAGGGTCCCGTGCCCCTGGGGTGTGACCACCGTCCCCCGTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGG
CGACGGGGGCGGTGCCTCTTCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGG
CAGGGGCGGCTCGGGGCCCGGAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGTCGGCGCCGCGCGCG
GGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCGGAGAAGACTGGCGTGAGCGACGACGCGACGGTTGAC
GTCCTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAAGGCCACGGGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGA
GAGTTCGACAGAATCAATCTCGGTATCGTTGACGGCGGCCTGCCGCAGGATCTCTTGCAC
GTCGCCCGAGTTGTCCTGGTAGGCGATCTCGGTCATGAACTGCTCGATCTCCTCCTCTTGA
AGGTCTCCGCGGCCGGCGCGCTCCACGGTGGCCGCGAGGTCGTTGGAGATGCGGCCCATG
AGCTGCGAGAAGGCGTTCATGCCCGCCTCGTTCCAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCC
TCGGGATCGCgGGCGCGCATGACCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAG

ACCGCGTAGTTGCAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGGCGATGTGCTCGGTG
ACGAAGAAATACATGATCCAGCGGCGGAGCGGCATCTCGCTGACGTCGCCCAGCGCCTC
CAAACGTTCCATGGCCTCGTAAAAGTCCACGGCGAAGTTGAAAAACTGGGAGTTGCGCG
CCGAGACGGTCAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCGCACCT
CGCGCTCGAAGGCCCCCGGGAGTTCCTCCACTTCCTCTTCTTCCTCCTCCACTAACATCTC
TTCTACTTCCTCCTCAGGCGGCAGTGGTGGCGGGGGAGGGGGCCTGCGTCGCCGGCGGCG
CACGGGCAGACGGTCGATGAAGCGCTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGCATGGTCTC
GGTGACGGCGCGCCCGTCCTCGCGGGGCCGCAGCGTGAAGACGCCGCCGCGCATCTCCA
GGTGGCCGGGGGGGTCCCCGTTGGGCAGGGAGAGGGCGCTGACGATGCATCTTATCAAT
TGCCCCGTAGGGACTCCGCGCAAGGACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGGATCTGAAAA
CCGCTGAACGAAGGCTTCGAGCCAGTCGCAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACGGTTTCTTC
TGGCGGGTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGTGATGAAGTTGAAAT
AGGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGGAGCACCAGGTCTTTGGGCCCGGCTTGCT
GGATGCGCAGACGGTCGGCCATGCCCCAGGCGTGGTCCTGACACCTGGCCAGGTCCTTGT
AGTAGTCCTGCATGAGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCCTCGCCCGCGCGGCCGTGCATGC
GCGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCAGGTCGGCGACGACGCGCTCG
GCGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGTGAGGGTGGTCTGGAAGTCATCAAAGTCGACGAA
GCGGTGGTAGGCTCCGGTGTTGATGGTGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGACCAGTTGAC
GGTCTGGTGGCCCGGACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGTAGGCGCGCGTGTC
GAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAGGTACTGGTAGCCGATGAGGAAGTGCGGCG
GCGGCTGGCGGTAGAGCGGCCATCGCTCGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCCTCG
AGCATGGTGCGGTGGTAGCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCGGCGGT
GGTGGAGGCGCGCGGGAACTCGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCAGGAAGT
AGTTCATGGTGGGCACGGTCTGGCCCGTGAGGCGCGCGCAGTCGTGGATGCTCTATACGG
GCAAAAACGAAAGCGGTCAGCGGCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGAACGGGTT
GGGCTGCGCGTGTACCCCGGTTCGAATCTCGAATCAGGCTGGAGCCGCAGCTAACGTGGT
ATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCCTGCACCAACCCTCCAGGATACGGAGGCGGGTCG
TTTTGCAACTTTTTTTTGGAGGCCGGATGAGACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCCGACCGC
GATGGCTCGCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGCCCCGG
TTCGAGGCCGGCCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCTGCCCCGTCGTTTCCAAGAC
CCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTACGGAGCGAGCCCCTCTTTTGTTTTGTTTGTTTTTG
CCAGATGCATCCCGTACTGCGGCAGATGCGCCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCC
CCCTCCACAGCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGCCACGACCGCCGC
GGCCGCCGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGATCACCAGCTGGCCTTGGAAGAGGGCG
AGGGGCTGGCGCGCCTGGGGGCGTCGTCGCCGGAGCGGCACCCGCGCGTGCAGATGAAA
AGGGACGCTCGCGAGGCCTACGTGCCCAAGCAGAACCTGTTCAGAGACAGGAGCGGCGA
GGAGCCCGAGGAGATGCGCGCGGCCCGGTTCCACGCGGGGCGGGAGCTGCGGCGCGGCC
TGGACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGACGAGGATTTCGAGGCGGACGAGCTGACGGGGATC
AGCCCCGCGCGCGCGCACGTGGCCGCGGCCAACCTGGTCACGGCGTACGAGCAGACCGT
GAAGGAGGAGAGCAACTTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCACCCTGATCGCGC
GCGAGGAGGTGACCCTGGGCCTGATGCACCTGTGGGACCTGCTGGAGGCCATCGTGCAG
AACCCCACCAGCAAGCCGCTGACGGCGCAGCTGTTCCTGGTGGTGCAGCATAGTCGGGAC
AACGAAGCGTTCAGGGAGGCGCTGCTGAATATCACCGAGCCCGAGGGCCGCTGGCTCCT
GGACCTGGTGAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCGGGCTGCCGCTGTCCGA
GAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTGAGTTTGGGCAAGTACTACGCTAGGAAGAT

CTACAAGACCCCGTACGTGCCCATAGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGGTTTTACATGC
GCATGACCCTGAAAGTGCTGACCCTGAGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCAACGACAGG
ATGCACCGTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCTGAGCGACCAGGAGCTGATGCA
TAGTCTGCAGCGGGCCCTGACCGGGGCCGGGACCGAGGGGGAGAGCTACTTTGACATGG
GCGCGGACCTGCACTGGCAGCCCAGCCGCCGGGCCTTGGAGGCGGCGGCAGGACCCTAC
GTAGAAGAGGTGGACGATGAGGTGGACGAGGAGGGCGAGTACCTGGAAGACTGATGGC
GCGACCGTATTTTTGCTAGATGCAACAACAACAGCCACCTCCTGATCCCGCGATGCGGGC
GGCGCTGCAGAGCCAGCCGTCCGGCATTAACTCCTCGGACGATTGGACCCAGGCCATGCA
ACGCATCATGGCGCTGACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGACAGCAGCCCCAGGCCA
ACCGGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGCCCTCGCGCTCCAACCCCACGCACGAGA
AGGTCCTGGCCATCGTGAACGCGCTGGTGGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAGGCC
GGCCTGGTGTACAACGCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCGCTACAACAGCACCAACGTGCA
GACCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGCCCAGCGCGAGCGGT
TCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGCGCTGAACGCCTTCCTCAGCACCCAGC
CCGCCAACGTGCCCCGGGGCCAGGAGGACTACACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGA
TGGTGACCGAGGTGCCCCAGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGCCGGACTACTTCTTCCAGA
CCAGTCGCCAGGGCTTGCAGACCGTGAACCTGAGCCAGGCTTTCAAGAACTTGCAGGGCC
TGTGGGGCGTGCAGGCCCCGGTCGGGGACCGCGCGACGGTGTCGAGCCTGCTGACGCCG
AACTCGCGCCTGCTGCTGCTGCTGGTGGCCCCCTTCACGGACAGCGGCAGCATCAACCGC
AACTCGTACCTGGGCTACCTGATTAACCTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGGCGCACGTG
GACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCGCGCCCTGGGCCAGGACGACCC
GGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAACTTTTTGCTGACCAACCGGTCGCAGAAGATCCCGCC
CCAGTACGCGCTCAGCACCGAGGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTGG
GCCTGTTCCTGATGCAGGAGGGGGCCACCCCCAGCGCCGCGCTCGACATGACCGCGCGCA
ACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGCCCGTTCATCAATAAACTGATGGACTACT
TGCATCGGGCGGCCGCCATGAACTCTGACTATTTCACCAACGCCATCCTGAATCCCCACT
GGCTCCCGCCGCCGGGGTTCTACACGGGCGAGTACGACATGCCCGACCCCAATGACGGGT
TCCTGTGGGACGATGTGGACAGCAGCGTGTTCTCCCCCCGACCGGGTGCTAACGAGCGCC
CCTTGTGGAAGAAGGAAGGCAGCGACCGACGCCCGTCCTCGGCGCTGTCCGGCCGCGAG
GGTGCTGCCGCGGCGGTGCCCGAGGCCGCCAGTCCTTTCCCGAGCTTGCCCTTCTCGCTG
AACAGTATCCGCAGCAGCGAGCTGGGCAGGATCACGCGCCCGCGCTTGCTGGGCGAAGA
GGAGTACTTGAATGACTCGCTGTTGAGACCCGAGCGGGAGAAGAACTTCCCCAATAACG
GGATAGAAAGCCTGGTGGACAAGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGG
GACGATCCCCGGGCGTCGCAGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCGCCCGTAAACGCCG
GTGGCACGACAGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGATGAGGACTCCGCCGACGACAGCA
GCGTGTTGGACTTGGGTGGGAGTGGTAACCCGTTCGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGC
GCATGATGTAAGAGAAACCGAAAATAAATGATACTCACCAAGGCCATGGCGACCAGCGT
GCGTTCGTTTCTTCTCTGTTGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCGTACCCGGAGGG
TCCTCCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGCGATGGCGGCGGCGGCGATGCAGCC
CCCGCTGGAGGCTCCTTACGTGCCCCCGCGGTACCTGGCGCCTACGGAGGGGCGGAACAG
CATTCGTTACTCGGAGCTGGCACCCTTGTACGATACCACCCGGTTGTACCTGGTGGACAA
CAAGTCGGCGGACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCACAGCAACTTCCTGACCAC
CGTGGTGCAGAACAATGACTTCACCCCCACGGAGGCCAGCACCCAGACCATCAACTTTGA
CGAGCGCTCGCGGTGGGGCGGCCAGCTGAAAACCATCATGCACACCAACATGCCCAACG
TGAACGAGTTCATGTACAGCAACAAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCCGCAAGACCC

CCAATGGGGTGACAGTGACAGAGGATTATGATGGTAGTCAGGATGAGCTGAAGTATGAA
TGGGTGGAATTTGAGCTGCCCGAAGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATCGACCTGATG
AACAACGCCATCATCGACAATTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAACGGGGTGCTGGAGAG
CGACATCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGAACTTCAGGCTGGGCTGGGACCCCGTGACCG
AGCTGGTCATGCCCGGGGTGTACACCAACGAGGCTTTCCATCCCGATATTGTCTTGCTGCC
CGGCTGCGGGGTGGACTTCACCGAGAGCCGCCTCAGCAACCTGCTGGGCATTCGCAAGA
GGCAGCCCTTCCAGGAAGGCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAGGGGGGCAACATC
CCCGCGCTCCTGGATGTCGACGCCTATGAGAAAAGCAAGGAGGATGCAGCAGCTGAAGC
AACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTCTACCGAGGTCAGGGGCGATAATTTTGCAAGCGCCGC
AGCAGTGGCAGCGGCCGAGGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATTCAGCCGGTGG
AGAAGGATAGCAAGAACAGGAGCTACAACGTACTACCGGACAAGATAAACACCGCCTAC
CGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACTATGGCGACCCCGAGAAGGGCGTGCGCTCCTGGACG
CTGCTCACCACCTCGGACGTCACCTGCGGCGTGGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCGAC
ATGATGCAAGACCCGGTCACCTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTG
GGCGCCGAGCTCCTGCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGCAGGCCGTCTACTCG
CAGCAGCTGCGCGCCTTCACCTCGCTTACGCACGTCTTCAACCGCTTCCCCGAGAACCAG
ATCCTCGTCCGCCCGCCCGCGCCCACCATTACCACCGTCAGTGAAAACGTTCCTGCTCTCA
CAGATCACGGGACCCTGCCGCTGCGCAGCAGTATCCGGGGAGTCCAGCGCGTGACCGTTA
CTGACGCCAGACGCCGCACCTGCCCCTACGTCTACAAGGCCCTGGGCATAGTCGCGCCGC
GCGTCCTCTCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGCCCAGTAATAACACCGG
TTGGGGCCTGCGCGCGCCCAGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGCCAACGCTCCACGCAAC
ACCCCGTGCGCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCTCCCTGGGGCGCCCTCAAGGGCCGCGTGC
GGTCGCGCACCACCGTCGACGACGTGATCGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTAC
ACCCCCGCCGCCGCGCCCGTCTCCACCGTGGACGCCGTCATCGACAGCGTGGTGGCcGAC
GCGCGCCGGTACGCCCGCGCCAAGAGCCGGCGGCGGCGCATCGCCCGGCGGCACCGGAG
CACCCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGCTGCGCAGGGCCAGGCGCACGGGACGCA
GGGCCATGCTCAGGGCGGCCAGACGCGCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGG
AGACGCGCGGCCACGGCGGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCGCGGCGAGG
GAACGTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCGCGTGCCCGTGCGCACCCGCCC
CCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTCGCGATGTTGATGTGTCCCAGCGGCGAGGAGGATG
TCCAAGCGCAAATTCAAGGAAGAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCCT
GCGGTGGTGAAGGAGGAAAGAAAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTCAAAAAGGACAAAA
AGGAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGTTTGTGCGCGAGTTCGCCCCCCGG
CGGCGCGTGCAGTGGCGCGGGCGGAAGGTGCAACCGGTGCTGAGACCCGGCACCACCGT
GGTCTTCACGCCCGGCGAGCGCTCCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGAGGTGTA
CGGGGATGATGATATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGCTTACGGCA
AGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATCCCGCTGGACCACGGCAAC
CCCACGCCGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGCAGCAGGTGCTGCCGACCGCGGCGCCGCGC
CGGGGGTTCAAGCGCGAGGGCGAGGATCTGTACCCCACCATGCAGCTGATGGTGCCCAA
GCGCCAGAAGCTGGAAGACGTGCTGGAGACCATGAAGGTGGACCCGGACGTGCAGCCCG
AGGTCAAGGTGCGGCCCATCAAGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGGCGTGCAGACCGTGGAC
ATCAAGATTCCCACGGAGCCCATGGAAACGCAGACCGAGCCCATGATCAAGCCCAGCAC
CAGCACCATGGAGGTGCAGACGGATCCCTGGATGCCATCGGCTCCTAGTCGAAGACCCCG
GCGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCTGCTGATGCCCAACTACGCGCTGCATCCTTCCATCAT
CCCCACGCCGGGCTACCGCGGCACGCGCTTCTACCGCGGTCATACCAGCAGCCGCCGCCG

CAAGACCACCACTCGCCGCCGCCGTCGCCGCACCGCCGCTGCAACCACCCCTGCCGCCCT
GGTGCGGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGCACCTCTGACCCTGCCGCGCGCGCGCTACCA
CCCGAGCATCGCCATTTAAACTTTCGCCtGCTTTGCAGATCAATGGCCCTCACATGCCGCC
TTCGCGTTCCCATTACGGGCTACCGAGGAAGAAAACCGCGCCGTAGAAGGCTGGCGGGG
AACGGGATGCGTCGCCACCACCACCGGCGGCGGCGCGCCATCAGCAAGCGGTTGGGGGG
AGGCTTCCTGCCCGCGCTGATCCCCATCATCGCCGCGGCGATCGGGGCGATCCCCGGCAT
TGCTTCCGTGGCGGTGCAGGCCTCTCAGCGCCACTGAGACACACTTGGAAACATCTTGTA
ATAAACCaATGGACTCTGACGCTCCTGGTCCTGTGATGTGTTTTCGTAGACAGATGGAAGA
CATCAATTTTTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCACGCGGCCGTTCATGGGCACCTGGAG
CGACATCGGCACCAGCCAACTGAACGGGGGCGCCTTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCG
GGCTTAAGAATTTCGGGTCCACGCTTAAAACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCACC
ACAGGGCAGGCGCTGAGGGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAGCAGAAGGTGGTCGA
TGGGCTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGGACCTGGCCAACCAGGCCGTGCAGCGGC
AGATCAACAGCCGCCTGGACCCGGTGCCGCCCGCCGGCTCCGTGGAGATGCCGCAGGTG
GAGGAGGAGCTGCCTCCCCTGGACAAGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGCCCCGATGCGGA
GGAGACGCTGCTGACGCACACGGACGAGCCGCCCCCGTACGAGGAGGCGGTGAAACTGG
GTCTGCCCACCACGCGGCCCATCGCGCCCCTGGCCACCGGGGTGCTGAAACCCGAAAAGC
CCGCGACCCTGGACTTGCCTCCTCCCCAGCCTTCCCGCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCCT
GCCGCCGGTGGCCGTGGCCCGCGCGCGACCCGGGGGCACCGCCCGCCCTCATGCGAACT
GGCAGAGCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGGGAGTGCAGAGTGTGAAGCGCCGCCGC
TGCTATTAAACCTACCGTAGCGCTTAACTTGCTTGTCTGTGTGTGTATGTATTATGTCGCC
GCCGCCGCTGTCCACCAGAAGGAGGAGTGAAGAGGCGCGTCGCCGAGTTGCAAGATGGC
CACCCCATCGATGCTGCCCCAGTGGGCGTACATGCACATCGCCGGACAGGACGCTTCGGA
GTACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTGCCCGCGCCACAGACACCTACTTCAGTCTGGG
GAACAAGTTTAGGAACCCCACGGTGGCGCCCACGCACGATGTGACCACCGACCGCAGCC
AGCGGCTGACGCTGCGCTTCGTGCCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTACTCGTACAAAG
TGCGCTACACGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCTGGACATGGCCAGCACCTACTTTG
ACATCCGCGGCGTGCTGGATCGGGGCCCTAGCTTCAAACCCTACTCCGGCACCGCCTACA
ACAGTCTGGCCCCCAAGGGAGCACCCAACACTTGTCAGTGGACATATAAAGCCGATGGT
GAAACTGCCACAGAAAAAACCTATACATATGGAAATGCACCCGTGCAGGGCATTAACAT
CACAAAAGATGGTATTCAACTTGGAACTGACACCGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAA
AACCTATCAGCCTGAACCTCAAGTGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCACTGGTACTGA
TGAAAAGTATGGAGGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAAAATGAAGCCTTGTTATGGTTC
TTTTGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAATGTGAAAACAGGAACAGGCA
CTACTAAAGAATATGACATAGACATGGCTTTCTTTGACAACAGAAGTGCGGCTGCTGCTG
GCCTAGCTCCAGAAATTGTTTTGTATACTGAAAATGTGGATTTGGAAACTCCAGATACCC
ATATTGTATACAAAGCAGGCACAGATGACAGCAGCTCTTCT
ATTAATTTGGGTCAGCAAGCCATGCCCAACAGACCTAACTACATTGGTTTCAGAGACAAC
TTTATCGGGCTCATGTACTACAACAGCACTGGCAATATGGGGGTGCTGGCCGGTCAGGCT
TCTCAGCTGAATGCTGTGGTTGACTTGCAAGACAGAAACACCGAGCTGTCCTACCAGCTC
TTGCTTGACTCTCTGGGTGACAGAACCCGGTATTTCAGTATGTGGAATCAGGCGGTGGAC
AGCTATGATCCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGGTGTGGAGGATGAACTTCCCAAC
TATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGAACAGATACTTATCAGGGAATTA

AGGCTAATGGAACTGATCAAACCACATGGACCAAAGATGACAGTGTCAATGATGCTAAT
GAGATAGGCAAGGGTAATCCATTCGCCATGGAAATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAG
GAACTTCCTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTGCCCGACTCTTACAAGTACACGCCGGC
CAATGTTACCCTGCCCACCAACACCAACACCTACGATTACATGAACGGCCGGGTGGTGGC
GCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCAACATCGGGGCGCGCTGGTCGCTGGATCCCATGGA
CAACGTGAACCCCTTCAACCACCACCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCT
GGGCAACGGGCGCTACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAATTTTTCGCCATCAA
GAGCCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCCTACACCTACGAGTGGAACTTCCGCAAGGACGTCAA
CATGATCCTGCAGAGCTCCCTCGGCAACGACCTGCGCACGGACGGGGCCTCCATCTCCTT
CACCAGCATCAACCTCTACGCCACCTTCTTCCCCATGGCGCACAACACGGCCTCCACGCT
CGAGGCCATGCTGCGCAACGACACCAACGACCAGTCCTTCAACGACTACCTCTCGGCGGC
CAACATGCTCTACCCCATCCCGGCCAACGCCACCAACGTGCCCATCTCCATCCCCTCGCG
CAACTGGGCCGCCTTCCGCGGCTGGTCCTTCACGCGTCTCAAGACCAAGGAGACGCCCTC
GCTGGGCTCCGGGTTCGACCCCTACTTCGTCTACTCGGGCTCCATCCCCTACCTCGACGGC
ACCTTCTACCTCAACCACACCTTCAAGAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCCGTCAGCT
GGCCCGGCAACGACCGGCTCCTGACGCCCAACGAGTTCGAAATCAAGCGCACCGTCGAC
GGCGAGGGCTACAACGTGGCCCAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTCCTGGTCCAGAT
GCTGGCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCCCGAGGGCTACAAGGACCG
CATGTACTCCTTCTTCCGCAACTTCCAGCCCATGAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAA
CTACAAGGACTACCAGGCCGTCACCCTGGCCTACCAGCACAACAACTCGGGCTTCGTCGG
CTACCTCGCGCCCACCATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACTACCCCTACCCGCT
CATCGGCAAGAGCGCCGTCACCAGCGTCACCCAGAAAAAGTTCCTCTGCGACAGGGTCAT
GTGGCGCATCCCCTTCTCCAGCAACTTCATGTCCATGGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCA
GAACATGCTCTATGCCAACTCCGCCCACGCGCTAGACATGAATTTCGAAGTCGACCCCAT
GGATGAGTCCACCCTTCTCTATGTTGTCTTCGAAGTCTTCGACGTCGTCCGAGTGCACCAG
CCCCACCGCGGCGTCATCGAGGCCGTCTACCTGCGCACCCCCTTCTCGGCCGGTAACGCC
ACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTGCAAGCCATGGCCGCGGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCA
GGGCCATCATCCGCGACCTGGGCTGCGGGCCCTACTTCCTGGGCACCTTCGATAAGCGCT
TCCCGGGATTCATGGCCCCGCACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAACACGGCCGGCCGCG
AGACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCCTGGAACCCGCGCTCGAACACCTGCTACC
TCTTCGACCCCTTCGGGTTCTCGGACGAGCGCCTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACG
AGGGCCTGCTGCGCCGCAGCGCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACCCTGGAAAAG
TCCACCCAGACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCGCCTGCGGGCTCTTCTGCTGCATGTTCC
TGCACGCCTTCGTGCACTGGCCCGACCGCCCCATGGACAAGAACCCCACCATGAACTTGC
TGACGGGGGTGCCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCACCCTGCGCCGCA
ACCAGGAGGCGCTCTACCGCTTCCTCAACTCCCACTCCGCCTACTTTCGCTCCCACCGCGC
GCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTTCGACCGCATGAATCAAGACATGTAAACCGTGTGTGT
ATGTTAAATGTCTTTAATAAACAGCACTTTCATGTTACACATGCATCTGAGATGATTTATT
TAGAAATCGAAAGGGTTCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCGCGGGCAGGGACACGTTGCG
GAACTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAACTCGGGGATCAGCAGTTTGGGCAGCGGGGTGTC
GGGGAAGGAGTCGGTCCACAGCTTCCGCGTCAGTTGCAGGGCGCCCAGCAGGTCGGGCG
CGGAGATCTTGAAATCGCAGTTGGGACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGTTGCGGTACACGG
GGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTCACGCTCGCCAGCACCGTCGCGT
CGGTGATGCTCTCCACGTCGAGGTCCTCGGCGTTGGCCATCCCGAAGGGGGTCATCTTGC
AGGTCTGCCTTCCCATGGTGGGCACGCACCCGGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGG

GGATCAGCATCATCTGGGCCTGGTCGGCGTTCATCCCCGGGTACATGGCCTTCATGAAAG
CCTCCAATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCTCGGTGAAGAAGACCCCGCAGG
ACTTGCTAGAGAACTGGTTGGTGGCGCACCCGGCGTCGTGCACGCAGCAGCGCGCGTCGT
TGTTGGCCAGCTGCACCACGCTGCGCCCCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCGGTCGG
GGTTCTCCTTCAGCGCGCGCTGCCCGTTCTCGCTCGCCACATCCATCTCGATCATGTGCTC
CTTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACCGCAGCTTGCCCTCGGCCTCGGTGCACCC
GTGCAGCCACAGCGCGCACCCGGTGCACTCCCAGTTCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGC
GTGCACGAAGCCCTGCAGGAAGCGGCCCATCATGGTGGTCAGGGTCTTGTTGCTAGTGAA
GGTCAGCGGAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGTGGCAGATGCGGCGGTACAC
CTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAAGTTGGCTTTCAGGTCGGTCTCCACGCGGTAGCG
GTCCATCAGCATAGTCATGATTTCCATACCCTTCTCCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCT
CATAGGGTTCTTCACCATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGGGTCGCTCTCGTC
CAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCCTTCTCGGTGATCCGCACCGGGGGGTAGCTGAA
GCCCACGGCCGCCAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTTCGTCCTCGCTGTCCTGGCTGACGTCC
TGCAGGACCACATGCTTGGTCTTGCGGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGAGAT
GTTGGAGATGGCGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCACTACTATCTCTTCCTCTTCTT
GGTCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTCTCTTCGGGGGCAGAGGCGGAGGCGACGGG
CTCTCGCCGCCGCGACTTGGCGGATGGCTGGCAGAGCCCCTTCCGCGTTCGGGGGTGCGC
TCCCGGCGGCGCTCTGACTGACTTCCTCCGCGGCCGGCCATTGTGTTCTCCTAGGGAGGA
ACAACAAGCATGGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCCATCTGCCCCCACCGCCGACGAG
AAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCCGCCCAGCCCCGCCACCTCCGA
CGCGGCCGTCCCAGACATGCAAGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGGCTATG
TGACGCCCGCGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTGCGCTTTTCACAAGAAGAGATACAC
CAAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAATGAGCAGAGTCAGGCTGGGCTCGAGCATG
ACGGCGACTACCTCCACCTGAGCGGGGGGGAGGACGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCGG
CAGGCCACCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCCTCAGCGTGGAG
GAGCTCAGCCGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGCGCGTGCCCCCCAAGCGCCAG
CCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCCGCGCCTCAACTTCTACCCGGTCTTCGCGGTGCCC
GAGGCCCTGGCCACCTACCACATCTTTTTCAAGAACCAAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGC
GCCAACCGCACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAACCTGGGTCCCGGCGCCCGCCTACCTGAT
ATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTCCCAAGATCTTCGAGGGTCTGGGCAGCGACGAGACTCGG
GCCGCGAACGCTCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGCATGAGCACCACAGCGCCCTGGTCGA
GTTGGAAGGCGACAACGCGCGGCTGGCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAGCTGACCCATT
TCGCCTACCCGGCTCTGAACCTGCCCCCCAAAGTCATGAGCGCGGTCATGGACCAGGTGC
TCATCAAGCGCGCGTCGCCCATCTCCGAGGACGAGGGCATGCAAGACTCCGAGGAGGGC
AAGCCCGTGGTCAGCGACGAGCAGCTGGCCCGGTGGCTGGGTCCTAATGCTAGTCCCCAG
AGTTTGGAAGAGCGGCGCAAACTCATGATGGCCGTGGTCCTGGTGACCGTGGAGCTGGA
GTGCCTGCGCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGACCCTGCGCAAGGTCGAGGAGAACCTGCA
CTACCTCTTCAGGCACGGGTTCGTGCGCCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGAC
CAACCTGGTCTCCTACATGGGCATCTTGCACGAGAACCGCCTGGGGCAGAACGTGCTGCA
CACCACCCTGCGCGGGGAGGCCCGGCGCGACTACATCCGCGACTGCGTCTACCTCTACCT
CTGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTGTGGCAGCAGTGTCTGGAGGAGCAGAACC
TGAAAGAGCTCTGCAAGCTCCTGCAGAAGAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGAC
GAGCGCACCACCGCCTCGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCAGGCTGACG
CTGCGCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCATGTTGCAAAACTTTCGCTCTTTCA

TCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCCGCCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGACTTCGTGCC
GCTGACCTTCCGCGAGTGCCCCCCGCCGCTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGC
CAACTACCTGGCCTACCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCGAGGGCCTGCTCGA
GTGCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCACCGCTCCCTGGCCTGCAACCCCCAGCT
GCTGAGCGAGACCCAGATCATCGGCACCTTCGAGTTGCAAGGGCCCAGCGAAGGCGAGG
GTTCAGCCGCCAAGGGGGGTCTGAAACTCACCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCTACTTGC
GCAAGTTCGTGCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAATCCC
ATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTCGGCCTGCGTCATCACCCAGGGGGCGATCCTGGCCCAAT
TGCAAGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAATTCTTGCTGAAAAAGGGCCGCGGGGTCTACC
TCGACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTCAACCCCGGCTTCCCCCAGGATGCCCCGAGGAAA
CAAGAAGCTGAAAGTGGAGCTGCCGCCCGTGGAGGATTTGGAGGAAGACTGGGAGAACA
GCAGTCAGGCAGAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTCAGGCAGAGGA
GGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAGGCAGAGGAGGAGGTGGAA
GAAGCAGCCGCCGCCAGACCGTCGTCCTCGGCGGGGGAGAAAGCAAGCAGCACGGATAC
CATCTCCGCTCCGGGTCGGGGTCCCGCTCGACCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGAC
GATTCCCGAACCCCACCACCCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCTGG
CGGGGGCACAAAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGCAGGCCTGCGGGGGCAACATCTCCTTC
ACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAACTTTCCCCGCAACATCTTGCATTACT
ACCGTCACCTCCACAGCCCCTACTACTTCCAAGAAGAGGCAGCAGCAGCAGAAAAAGAC
CAGCAGAAAACCAGCAGCTAGAAAATCCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCG
CGGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTTTCCCACCCTCTAT
GCCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCAGGAGCAGGAACTGAAAGTCAAGAACCGTTCTCT
GCGCTCGCTCACCCGCAGTTGTCTGTATCACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCT
CGAGGACGCCGAGGCTCTCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAGCCCGC
GCCCGCCCAGTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTCACCTGTGCCCTTCGCCCTAGCCGC
CTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGATTCCCACGCCTTACATGTGGAGCTACCAGCCCC
AGATGGGCCTGGCCGCCGGTGCCGCCCAGGACTACTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCG
CCGGGCCCGCGATGATCTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCCACCGAAACCAGATACTCC
TAGAACAGTCAGCGCTCACCGCCACGCCCCGCAATCACCTCAATCCGCGTAATTGGCCCG
CCGCCCTGGTGTACCAGGAAATTCCCCAGCCCACGACCGTACTACTTCCGCGAGACGCCC
AGGCCGAAGTCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGGCGGGCGGCGCCACCCTGTGTC
GTCACCGCCCCGCTCAGGGTATAAAGCGGCTGGTGATCCGGGGCAGAGGCACACAGCTC
AACGACGAGGTGGTGAGCTCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGAGTCTTCCAACTCGCC
GGATCGGGGAGATCTTCCTTCACGCCTCGTCAGGCCGTCCTGACTTTGGAGAGTTCGTCCT
CGCAGCCCCGCTCGGGTGGCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGAGGAGTTCACTCCCTCGG
TCTACTTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCACTACCCGGACGAGTTCATCCCGAACTT
CGACGCCATCAGCGAGTCGGTGGACGGCTACGATTGAAACTAATCACCCCCTTATCCAGT
GAAATAAAGATCATATTGATGATGATTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTTGATTTGAA
ATAAAGATACAATCATATTGATGATTTGAGTTTAACAAAAAAATAAAGAATCACTTACTT
GAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCTGCCAACACCACTTCACTCCCCTCTTCC
CAGCTCTGGTACTGCAGGCCCCGGCGGGCTGCAAACTTCCTCCACACGCTGAAGGGGATG
TCAAATTCCTCCTGTCCCTCAATCTTCATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAGCGCGT
CCGGGTGGATGATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGCAGACAACGCACCGACCGT
GCCCTTCATCAACCCCCCCTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCAAGAGAAGCCCCTGGGGGT
GTTGTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCACCACCAAGAACGGGGAAATCACCCTCAAGCT

GGGAGAGGGGGTGGACCTCGATTCCTCGGGAAAACTCATCTCCAACACGGCCACCAAGG
CCGCCGCCCCTCTCAGTTTTTCCAACAACACCATTTCCCTTAACATGGATCACCCCTTTTA
CACTAAAGATGGAAAATTATCCTTACAAGTTTCTCCACCATTAAATATACTGAGAACAAG
CATTCTAAACACACTAGCTTTAGGTTTTGGATCAGGTTTAGGACTCCGTGGCTCTGCCTTG
GCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTTGATACTGATGGAAACATAAAGCTTACCTTAG
ACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGGAGATGCAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAA
GGTTTAAAATTTGAAGATGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTTAGAGTTTGGA
AGCAGTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAAACTTGGATCT
GGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGGTAACAAAGAAGACGATAAACT
CACTTTGTGGACAACACCTGATCCATCACCAAACTGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGC
AAAACTAACACTTTGCTTGACTAAATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCAGTCTT
AGTTGTAGGAAGTGGAAACCTAAACCCCATTACTGGCACCGTAAGCAGTGCTCAGGTGTT
TCTACGTTTTGATGCAAACGGTGTTCTTTTAACAGAACATTCTACACTAAAAAAATACTGG
GGGTATAGGCAGGGAGATAGCATAGATGGCACTCCATATACCAATGCTGTAGGATTCATG
CCCAATTTAAAAGCTTATCCAAAGTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGGG
CAAGTATACATGAATGGAGATGTTTCAAAACCTATGCTTCTCACTATAACCCTCAATGGT
ACTGATGACAGCAACAGTACATATTCAATGTCATTTTCATACACCTGGACTAATGGAAGC
TATGTTGGAGCAACATTTGGGGCTAACTCTTATACCTTCTCATACATCGCCCAAGAATGA
ACACTGTATCCCACCCTGCATGCCAACCCTTCCCACCCCACTCTGTGGAACAAACTCTGA
AACACAAAATAAAATAAAGTTCAAGTGTTTTATTGATTCAACAGTTTTACAGGATTCGAG
CAGTTATTTTTCCTCCACCCTCCCAGGACATGGAATACACCACCCTCTCCCCCCGCACAGC
CTTGAACATCTGAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTTGGTCTCCACGTTCCACACAGTT
TCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACCCTCCGGGCACTCCCGCATC
TGCACCTCACAGCTCAACAGCTGAGGATTGTCCTCGGTGGTCGGGATCACGGTTATCTGG
AAGAAGCAGAAGAGCGGCGGTGGGAATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTGGTGT
CGCATCAGGCCCCGCAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAAGCTGCTGCTCAGGGGG
TCCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCCCACGGCCCTCAGCATCAGTCGTCTGGTG
CGGCGGGCGCAGCAGCGCATGCGGATCTCGCTCAGGTCGCTGCAGTACGTGCAACACAG
AACCACCAGGTTGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAAACTCATCGCGGG
AAGGATGCTACCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAAATCAAGTGGTGCCCCCT
CCAGAACACGCTGCCCACGTACATGATCTCCTTGGGCATGTGGCGGTTCACCACCTCCCG
GTACCACATCACCCTCTGGTTGAACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGGAACCACAGGGC
CAGCACCGCCCCGCCCGCCATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAATGGCAATGGA
GGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCTGAACAAGTCTATGTTGGCACAGC
ACAGGCATATGCTCATGCATCTCTTCAGCACTCTCAACTCCTCGGGGGTCAAAACCATAT
CCCAGGGCACGGGGAACTCTTGCAGGACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCCTCGC
ACAGAACTTACATTGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGCACCGGGTGATCCTCC
ACCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCACAGCGTGGTAAGGGGGCCGGCCGATACGG
GTGATGGCGGGACGCGGCTGATCGTGTTCGCGACCGTGTCATGATGCAGTTGCTTTCGGA
CATTTTCGTACTTGCTGTAGCAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGCCGGCGGC
GGTCTCGGCGCTTGGAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAAACAGCCACTCTCTCAGACCGT
GCAGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATCATGCCTGATGGCTCTGATCA
CATCGACCACCGTGGAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGATGCAATTTTGTTGGGTTTCGG
TGACGGCGAGCCTCGGGAACAACGATGAAGTAAATGCAAGCGGTGCGTTCCAGCATGGT
TAGTTAGCTGATCTGTAGAAAAAACAAAAATGAACATTAAACCATGCTAGCCTGGCGAA

CAGGTGGGTAAATCGTTCTCTCCAGCACCAGGCAGGCCACGGGGTCTCCGGCGCGACCCT
CGTAAAAATTGTCGCTATGATTGAAAACCATCACAGAGAGACGTTCCCGGTGGCCGGCGT
GAATGATTCGACAAGATGAATACACCCCCGGAACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAAAAG
CGCCCGAGGAAGCAATAAGGCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCC
ATGCGGATGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAATTACTCCCCTCCTGCAC
AGGCAGCAAAGCCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAAGCCTCAGCGTCCATAGCTTA
CCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCAAGAGTCAGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTGTCC
ACCCGCTCTCTGCTCAATATATAGCCCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAA
AATACCCGCCAAATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAAACCGGTGACACACTCA
AAAAAATACGCGCACTTCCTCAAACGCCCAAAACTGCCGTCATTTCCGGGTTCCCACGCT
ACGTCATCAAAACACGACTTTCAAATTCCGTCGACCGTTAAAAACGTCACCCGCCCCGCC
CCTAACGGTCGCCCGTCTCTCAGCCAATCAGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAACACCTC
ATTTGCATATTAACGCGCACAAAAAGTTTGAGGTATATTATTGATGATG

【０４０４】

参照文献


1．Desrichard, A., Snyder, A. & Chan, T. A. Cancer Neoantigens and Applications for Immunotherapy. Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. (2015). doi：10.1158／1078－0432.CCR－14－3175

2．Schumacher, T. N. & Schreiber, R. D. Neoantigens in cancer immunotherapy. Science 348, 69－74 (2015).

3．Gubin, M. M., Artyomov, M. N., Mardis, E. R. & Schreiber, R. D. Tumor neoantigens：building a framework for personalized cancer immunotherapy. J. Clin. Invest. 125, 3413－3421 (2015).

4．Rizvi, N. A. et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD－1 blockade in non－small cell lung cancer. Science 348, 124－128 (2015).

5．Snyder, A. et al. Genetic basis for clinical response to CTLA－4 blockade in melanoma. N. Engl. J. Med. 371, 2189－2199 (2014).

6．Carreno, B. M. et al. Cancer immunotherapy. A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen－specific T cells. Science 348, 803－808 (2015).

7．Tran, E. et al. Cancer immunotherapy based on mutation－specific CD4＋ T cells in a patient with epithelial cancer. Science 344, 641－645 (2014).

8．Hacohen, N. & Wu, C. J.－Y. United States Patent Application：20110293637 － COMPOSITIONS AND METHODS OF IDENTIFYING TUMOR SPECIFIC NEOANTIGENS. (A1). at ＜http：／

／appft1.uspto.gov／netacgi／nph－Parser？Sect1＝PTO1＆Sect2＝HITOFF＆d＝PG01＆p＝1＆u＝／netahtml／PTO／srchnum.html＆r＝1＆f＝G＆l＝50＆s1＝20210293637.PGNR.＞
9.Lundegaard, C., Hoof, I., Lund, O. & Nielsen, M. State of the art and challenges in sequence based T－cell epitope prediction. Immunome Res. 6 Suppl 2, S3 (2010).
10.Yadav, M. et al. Predicting immunogenic tumour mutations by combining mass spectrometry and exome sequencing. Nature 515, 572－576 (2014).
11.Bassani－Sternberg, M., Pletscher－Frankild, S., Jensen, L. J. & Mann, M. Mass spectrometry of human leukocyte antigen class I peptidomes reveals strong effects of protein abundance and turnover on antigen presentation. Mol. Cell. Proteomics MCP 14, 658－673 (2015).
12.Van Allen, E. M. et al. Genomic correlates of response to CTLA－4 blockade in metastatic melanoma. Science 350, 207－211 (2015).
13.Yoshida, K. & Ogawa, S. Splicing factor mutations and cancer. Wiley Interdisc ip. Rev. RNA 5, 445－459 (2014).
14.Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. Nature 511, 543－550 (2014).
15.Rajasagi, M. et al. Systematic identification of personal tumor－specific neoantigens in chronic lymphocytic leukemia. Blood 124, 453－462 (2014).
16.Downing, S. R. et al. United States Patent Application: 0120208706 － OPTIMIZATION OF MULTIGENE ANALYSIS OF TUMOR SAMPLES. (A1). at ＜http：／／appft1.uspto.gov／netacgi／nph－Parser？Sect1＝PTO1＆Sect2＝HITOFF＆d＝PG01＆p＝1＆u＝／netahtml／PTO／srchnum.html＆r＝1＆f＝G＆l＝50＆s1＝20120208706.PGNR.＞
17.Target Capture for NextGen Sequencing － IDT. at ＜http：／／www.idtdna.com／pages／products／nextgen／target－capture＞
18.Shukla, S. A. et al. Comprehensive analysis of cancer－associated somatic mutations in class I HLA genes. Nat. Biotechnol. 33, 1152－1158 (2015).
19.Cieslik, M. et al. The use of exome capture RNA－seq for highly degraded RNA wi

th application to clinical cancer sequencing. Genome Res. 25, 1372-1381 (2015).
20. Bodini, M. et al. The hidden genomic landscape of acute myeloid leukemia: subclonal structure revealed by undetected mutations. Blood 125, 600-605 (2015).
21. Saunders, C. T. et al. Strelka: accurate somatic small-variant calling from sequenced tumor-normal sample pairs. Bioinforma. Oxf. Engl. 28, 1811-1817 (2012).
22. Cibulskis, K. et al. Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. Nat. Biotechnol. 31, 213-219 (2013).
23. Wilkerson, M. D. et al. Integrated RNA and DNA sequencing improves mutation detection in low purity tumors. Nucleic Acids Res. 42, e107 (2014).
24. Mose, L. E., Wilkerson, M. D., Hayes, D. N., Perou, C. M. & Parker, J. S. ABRA: improved coding indel detection via assembly-based realignment. Bioinforma. Oxf. Engl. 30, 2813-2815 (2014).
25. Ye, K., Schulz, M. H., Long, Q., Apweiler, R. & Ning, Z. Pindel: a pattern growth approach to detect break points of large deletions and medium sized insertions from paired-end short reads. Bioinforma. Oxf. Engl. 25, 2865-2871 (2009).
26. Lam, H. Y. K. et al. Nucleotide-resolution analysis of structural variants using BreakSeq and a breakpoint library. Nat. Biotechnol. 28, 47-55 (2010).
27. Frampton, G. M. et al. Development and validation of a clinical cancer genomic profiling test based on massively parallel DNA sequencing. Nat. Biotechnol. 31, 1023-1031 (2013).
28. Boegel, S. et al. HLA typing from RNA-Seq sequence reads. Genome Med. 4, 102 (2012).
29. Liu, C. et al. ATHLATES: accurate typing of human leukocyte antigen through exome sequencing. Nucleic Acids Res. 41, e142 (2013).
30. Mayor, N. P. et al. HLA Typing for the Next Generation. PloS One 10, e0127153 (2015).
31. Roy, C. K., Olson, S., Graveley, B. R., Zamore, P. D. & Moore, M. J. Assessing

long-distance RNA sequence connectivity via RNA-templated DNA-DNA ligation. eLife 4, (2015).
32. Song, L. & Florea, L. CLASS: constrained transcript assembly of RNA-seq reads. BMC Bioinformatics 14 Suppl 5, S14 (2013).
33. Maretty, L., Sibbesen, J. A. & Krogh, A. Bayesian transcriptome assembly. Genome Biol. 15, 501 (2014).
34. Pertea, M. et al. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. Nat. Biotechnol. 33, 290-295 (2015).
35. Roberts, A., Pimentel, H., Trapnell, C. & Pachter, L. Identification of novel transcripts in annotated genomes using RNA-Seq. Bioinforma. Oxf. Engl. (2011). doi:10.1093/bioinformatics/btr355
36. Vitting-Seerup, K., Porse, B. T., Sandelin, A. & Waage, J. spliceR: an R package for classification of alternative splicing and prediction of coding potential from RNA-seq data. BMC Bioinformatics 15, 81 (2014).
37. Rivas, M. A. et al. Human genomics. Effect of predicted protein-truncating genetic variants on the human transcriptome. Science 348, 666-669 (2015).
38. Skelly, D. A., Johansson, M., Madeoy, J., Wakefield, J. & Akey, J. M. A powerful and flexible statistical framework for testing hypotheses of allele-specific gene expression from RNA-seq data. Genome Res. 21, 1728-1737 (2011).
39. Anders, S., Pyl, P. T. & Huber, W. HTSeq--a Python framework to work with high-throughput sequencing data. Bioinforma. Oxf. Engl. 31, 166-169 (2015).
40. Furney, S. J. et al. SF3B1 mutations are associated with alternative splicing in uveal melanoma. Cancer Discov. (2013). doi:10.1158/2159-8290.CD-13-0330
41. Zhou, Q. et al. A chemical genetics approach for the functional assessment of novel cancer genes. Cancer Res. (2015). doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-2930
42. Maguire, S. L. et al. SF3B1 mutations constitute a novel therapeutic target in breast cancer. J. Pathol. 235, 571-580 (2015).

43. Carithers, L. J. et al. A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. Biopreservation Biobanking 13, 311-319 (2015).
44. Xu, G. et al. RNA CoMPASS: a dual approach for pathogen and host transcriptome analysis of RNA-seq datasets. PloS One 9, e89445 (2014).
45. Andreatta, M. & Nielsen, M. Gapped sequence alignment using artificial neural networks: application to the MHC class I system. Bioinforma. Oxf. Engl. (2015). doi:10.1093/bioinformatics/btv639
46. Jorgensen, K. W., Rasmussen, M., Buus, S. & Nielsen, M. NetMHCstab - predicting stability of peptide-MHC-I complexes;impacts for cytotoxic T lymphocyte epitope discovery. Immunology 141, 18-26 (2014).
47. Larsen, M. V. et al. An integrative approach to CTL epitope prediction: a combined algorithm integrating MHC class I binding, TAP transport efficiency, and proteasomal cleavage predictions. Eur. J. Immunol. 35, 2295-2303 (2005).
48. Nielsen, M., Lundegaard, C., Lund, O. & Kesmir, C. The role of the proteasome in generating cytotoxic T-cell epitopes: insights obtained from improved predictions of proteasomal cleavage. Immunogenetics 57, 33-41 (2005).
49. Boisvert, F.-M. et al. A Quantitative Spatial Proteomics Analysis of Proteome Turnover in Human Cells. Mol. Cell. Proteomics 11, M111.011429-M111.011429 (2012).
50. Duan, F. et al. Genomic and bioinformatic profiling of mutational neoepitopes reveals new rules to predict anticancer immunogenicity. J. Exp. Med. 211, 2231-2248 (2014).
51. Janeway's Immunobiology: 9780815345312: Medicine & Health Science Books @ Amazon.com. at <http://www.amazon.com/Janeways-Immunobiology-Kenneth-Murphy/dp/0815345313>
52. Calis, J. J. A. et al. Properties of MHC Class I Presented Peptides That Enhance Immunogenicity. PLoS Comput. Biol. 9, e1003266 (2013).
53. Zhang, J. et al. Intratumor heterogeneity in localized lung adenocarcinomas d

elineated by multiregion sequencing. Science 346, 256-259 (2014)
54. Walter, M. J. et al. Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia. N. Engl. J. Med. 366, 1090-1098 (2012).
55. Hunt DF, Henderson RA, Shabanowitz J, Sakaguchi K, Michel H, Sevilir N, Cox AL, Appella E, Engelhard VH. Characterization of peptides bound to the class I MHC molecule HLA-A2.1 by mass spectrometry. Science 1992. 255: 1261-1263.
56. Zarling AL, Polefrone JM, Evans AM, Mikesh LM, Shabanowitz J, Lewis ST, Engelhard VH, Hunt DF. Identification of class I MHC-associated phosphopeptides as targets for cancer immunotherapy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Oct 3;103(40):14889-94.
57. Bassani-Sternberg M, Pletscher-Frankild S, Jensen LJ, Mann M. Mass spectrometry of human leukocyte antigen class I peptidomes reveals strong effects of protein abundance and turnover on antigen presentation. Mol Cell Proteomics. 2015 Mar;14(3):658-73. doi: 10.1074/mcp.M114.042812.
58. Abelin JG, Trantham PD, Penny SA, Patterson AM, Ward ST, Hildebrand WH, Cobbold M, Bai DL, Shabanowitz J, Hunt DF. Complementary IMAC enrichment methods for HLA-associated phosphopeptide identification by mass spectrometry. Nat Protoc. 2015 Sep;10(9):1308-18. doi: 10.1038/nprot.2015.086. Epub 2015 Aug 6
59. Barnstable CJ, Bodmer WF, Brown G, Galfre G, Milstein C, Williams AF, Ziegler A. Production of monoclonal antibodies to group A erythrocytes, HLA and other human cell surface antigens-new tools for genetic analysis. Cell. 1978 May;14(1):9-20.
60. Goldman JM, Hibbin J, Kearney L, Orchard K, Th'ng KH. HLA-DR monoclonal antibodies inhibit the proliferation of normal and chronic granulocytic leukaemia myeloid progenitor cells. Br J Haematol. 1982 Nov;52(3):411-20.
61. Eng JK, Jahan TA, Hoopmann MR. Comet: an open-source MS/MS sequence database search tool. Proteomics. 2013 Jan;13(1):22-

4. doi: 10.1002/pmic.201200439. Epub 2012 Dec 4.
62. Eng JK, Hoopmann MR, Jahan TA, Egertson JD, Noble WS, MacCoss MJ. A deeper look into Comet--implementation and features. J Am Soc Mass Spectrom. 2015 Nov;26(11):1865-74. doi: 10.1007/s13361-015-1179-x. Epub 2015 Jun 27.
63. Lukas Kall, Jesse Canterbury, Jason Weston, William Stafford Noble and Michael J. MacCoss. Semi-supervised learning for peptide identification from shotgun proteomics datasets. Nature Methods 4:923 - 925, November 2007
64. Lukas Kall, John D. Storey, Michael J. MacCoss and William Stafford Noble. Assigning confidence measures to peptides identified by tandem mass spectrometry. Journal of Proteome Research, 7(1):29-34, January 2008
65. Lukas Kall, John D. Storey and William Stafford Noble. Nonparametric estimation of posterior error probabilities associated with peptides identified by tandem mass spectrometry. Bioinformatics, 24(16):i42-i48, August 2008
66. Kinney RM, BJ Johnson , VL Brown , DW Trent. Nucleotide Sequence of the 26 S mRNA of the Virulent Trinidad Donkey Strain of Venezuelan Equine Encephalitis Virus and Deduced Sequence of the Encoded Structural Proteins. Virology 152 (2), 400-413.1986 Jul 30.
67. Jill E Slansky, Frederique M Rattis, Lisa F Boyd, Tarek Fahmy, Elizabeth M Jaffee, Jonathan P Schneck, David H Margulies, Drew M Pardoll. Enhanced Antigen-Specific Antitumor Immunity with Altered Peptide Ligands that Stabilize the MHC-Peptide-TCR Complex. Immunity, Volume 13, Issue 4, 1 October 2000, Pages 529-538.
68. A Y Huang, P H Gulden, A S Woods, M C Thomas, C D Tong, W Wang, V H Engelhard, G Pasternack, R Cotter, D Hunt, D M Pardoll, and E M Jaffee. The immunodominant major histocompatibility complex class I-restricted antigen of a murine colon tumor derives from an endogenous retroviral gene product. Proc Natl Acad Sci U S A.;93(18): 9730-9735, 1996 Sep 3.

69. JOHNSON, BARBARA J. B., RICHARD M. KINNEY, CRYSTLE L. KOST AND DENNIS W. TRENT. Molecular Determinants of Alphavirus Neurovirulence: Nucleotide and Deduced Protein Sequence Changes during Attenuation of Venezuelan Equine Encephalitis Virus. J Gen Virol 67：1951−1960, 1986.
70. Aarnoudse, C.A., Kruse, M., Konopitzky, R., Brouwenstijn, N., and Schrier, P.I. (2002). TCR reconstitution in Jurkat reporter cells facilitates the identification of novel tumor antigens by cDNA expression cloning. Int J Cancer 99, 7−13.
71. Alexander, J., Sidney, J., Southwood, S., Ruppert, J., Oseroff, C., Maewal, A., Snoke, K., Serra, H.M., Kubo, R.T., and Sette, A. (1994). Development of high potency universal DR−restricted helper epitopes by modification of high affinity DR−blocking peptides. Immunity 1, 751−761.
72. Banu, N., Chia, A., Ho, Z.Z., Garcia, A.T., Paravasivam, K., Grotenbreg, G.M., Bertoletti, A., and Gehring, A.J. (2014). Building and optimizing a virus−specific T cell receptor library for targeted immunotherapy in viral infections. Scientific Reports 4, 4166.
73. Cornet, S., Miconnet, I., Menez, J., Lemonnier, F., and Kosmatopoulos, K. (2006). Optimal organization of a polypeptide−based candidate cancer vaccine composed of cryptic tumor peptides with enhanced immunogenicity. Vaccine 24, 2102−2109.
74. Depla, E., van der Aa, A., Livingston, B.D., Crimi, C., Allosery, K., de Brabandere, V., Krakover, J., Murthy, S., Huang, M., Power, S., et al. (2008). Rational design of a multiepitope vaccine encoding T−lymphocyte epitopes for treatment of chronic hepatitis B virus infections. Journal of Virology 82, 435−450.
75. Ishioka, G.Y., Fikes, J., Hermanson, G., Livingston, B., Crimi, C., Qin, M., del Guercio, M.F., Oseroff, C., Dahlberg, C., Alexander, J., et al. (1999). Utilization of MHC class I transgenic mice for development of minigene DNA vaccines encoding multiple HLA−restricted CTL epitopes. J Immunol 162, 3915−3925.
76. Janetzki, S., Price, L., Schroeder,

H., Britten, C.M., Welters, M.J.P., and Hoos, A. (2015). Guidelines for the automated evaluation of Elispot assays. Nat Protoc 10, 1098-1115.
77. Lyons, G.E., Moore, T., Brasic, N., Li, M., Roszkowski, J.J., and Nishimura, M.I. (2006). Influence of human CD8 on antigen recognition by T-cell receptor-transduced cells. Cancer Res 66, 11455-11461.
78. Nagai, K., Ochi, T., Fujiwara, H., An, J., Shirakata, T., Mineno, J., Kuzushima, K., Shiku, H., Melenhorst, J.J., Gostick, E., et al. (2012). Aurora kinase A-specific T-cell receptor gene transfer redirects T lymphocytes to display effective antileukemia reactivity. Blood 119, 368-376.
79. Panina-Bordignon, P., Tan, A., Termijtelen, A., Demotz, S., Corradin, G., and Lanzavecchia, A. (1989). Universally immunogenic T cell epitopes: promiscuous binding to human MHC class II and promiscuous recognition by T cells. Eur J Immunol 19, 2237-2242.
80. Vitiello, A., Marchesini, D., Furze, J., Sherman, L.A., and Chesnut, R.W. (1991). Analysis of the HLA-restricted influenza-specific cytotoxic T lymphocyte response in transgenic mice carrying a chimeric human-mouse class I major histocompatibility complex. J Exp Med 173, 1007-1015.
81. Yachi, P.P., Ampudia, J., Zal, T., and Gascoigne, N.R.J. (2006). Altered peptide ligands induce delayed CD8-T cell receptor interaction--a role for CD8 in distinguishing antigen quality. Immunity 25, 203-211.
82. Pushko P, Parker M, Ludwig GV, Davis NL, Johnston RE, Smith JF. Replicon-helper systems from attenuated Venezuelan equine encephalitis virus: expression of heterologous genes in vitro and immunization against heterologous pathogens in vivo. Virology. 1997 Dec 22;239(2):389-401.
83. Strauss, JH and E G Strauss. The alphaviruses: gene expression, replication, and evolution. Microbiol Rev. 1994 Sep;58(3): 491-562.
84. Rheme C, Ehrengruber MU, Grandgirard

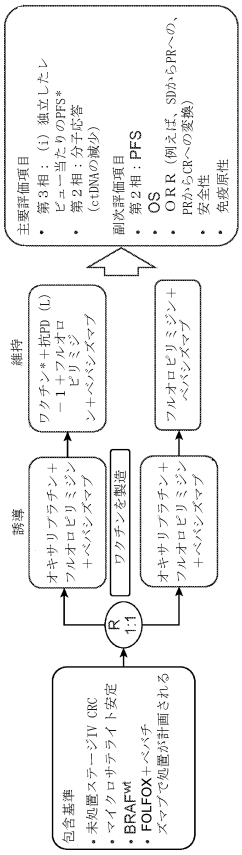
D. Alphaviral cytotoxicity and its implication in vector development. Exp Physiol. 2005 Jan;90(1):45-52. Epub 2004 Nov 12.
85. Riley, Michael K. II, and Wilfred Vermerris. Recent Advances in Nanomaterials for Gene Delivery- A Review. Nanomaterials 2017, 7(5), 94.
86. Frolov I, Hardy R, Rice CM. Cis-acting RNA elements at the 5' end of Sindbis virus genome RNA regulate minus- and plus-strand RNA synthesis. RNA. 2001 Nov;7(11):1638-51.
87. Jose J, Snyder JE, Kuhn RJ. A structural and functional perspective of alphavirus replication and assembly. Future Microbiol. 2009 Sep;4(7):837-56.
88. Bo Li and C. olin N. Dewey. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a referenfe genome. BMC Bioinformatics, 12:323, August 2011
89. Hillary Pearson, Tariq Daouda, Diana Paola Granados, Chantal Durette, Eric Bonneil, Mathieu Courcelles, Anja Rodenbrock, Jean-Philippe Laverdure, Caroline Cote, Sylvie Mader, Sebastien Lemieux, Pierre Thibault, and Claude Perreault. MHC class I-associated peptides derive from selective regions of the human genome. The Journal of Clinical Investigation, 2016,
90. Juliane Liepe, Fabio Marino, John Sidney, Anita Jeko, Daniel E. Bunting, Alessandro Sette, Peter M. Kloetzel, Michael P. H. Stumpf, Albert J. R. Heck, Michele Mishto. A large fraction of HLA class I ligands are proteasome-generated spliced peptides. Science, 21, October 2016.
91. Mommen GP., Marino, F., Meiring HD., Poelen, MC., van Gaans-van den Brink, JA., Mohammed S., Heck AJ., and van Els CA. Sampling From the Proteome to the Human Leukocyte Antigen-DR (HLA-DR) Ligandome Proceeds Via High Specificity. Mol Cell Proteomics 15(4): 1412-1423, April 2016.
92. Sebastian Kreiter, Mathias Vormehr, Niels van de Roemer, Mustafa Diken, Martin Lower, Jan Diekmann, Sebastian Boegel, Barbara Schrors, Fulvia Vascotto, John C. Castle, Arbel D. Tadmor, Stephen P. Schoenberger, Christoph Huber, Ozlem Tureci

, and Ugur Sahin. Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune responses to caner. Nature 520, 692−696, April 2015.
93. Tran E., Turcotte S., Gros A., Robbins P.F., Lu Y.C., Dudley M.E., Wunderlich J.R., Somerville R.P., Hogan K., Hinrichs C.S., Parkhurst M.R., Yang J.C., Rosenberg S.A. Cancer immunotherapy based on mutation−specific CD4+ T cells in a patient with epithelial cancer. Science 344(6184) 641−645, May 2014.
94. Andreatta M., Karosiene E., Rasmussen M., Stryhn A., Buus S., Nielsen M. Accurate pan−specific prediction of peptide−MHC class II binding affinity with improved binding core identification. Immunogenetics 67(11−12) 641−650, November 2015.
95. Nielsen, M., Lund, O. NN−align. An artificial neural network−based alignment algorithm for MHC class II peptide binding prediction. BMC Bioinformatics 10:296, September 2009.
96. Nielsen, M., Lundegaard, C., Lund, O. Prediction of MHC class II binding affinity using SMM−align, a novel stabilization matrix alignment method. BMC Bioinformatics 8:238, July 2007.
97. Zhang, J., et al. PEAKS DB: de novo sequencing assisted database search for sensitive and accurate peptide identification. Molecular & Cellular Proteomics. 11(4):1−8. 1/2/2012.
98. Jensen, Kamilla Kjaergaard, et al. “Improved Methods for Prediting Peptide Binding Affinity to MHC Class II Molecules.” Immunology, 2018, doi:10.1111/imm.12889.
99. Carter, S.L., Cibulskis, K., Helman, E., McKenna, A., Shen, H., Zack, T., Laird, P.W., Onofrio, R.C., Winckler, W., Weir, B.A., et al. (2012). Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. Nat. Biotechnol. 30, 413−421
100. McGranahan, N., Rosenthal, R., Hiley, C.T., Rowan, A.J., Watkins, T.B.K., Wilson, G.A., Birkbak, N.J., Veeriah, S., Van Loo, P., Herrero, J., et al. (2017). Allele−Specific HLA Loss and Immune Escape in Lung Cancer Evolution. Cell 171, 1259−1271.e11.

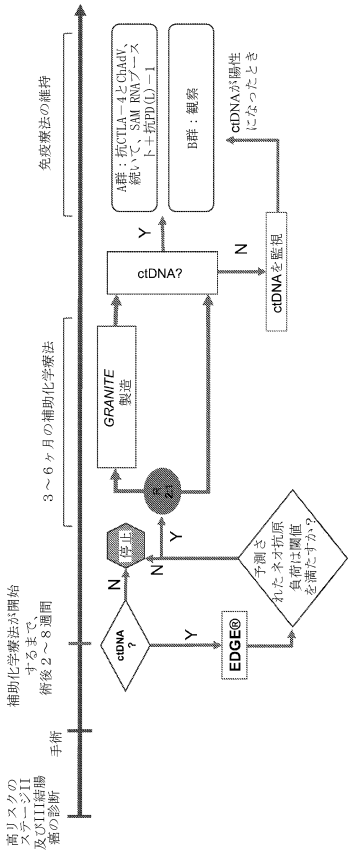
101. Shukla, S.A., Rooney, M.S., Rajasagi, M., Tiao, G., Dixon, P.M., Lawrence, M.S., Stevens, J., Lane, W.J., Dellagatta, J.L., Steelman, S., et al. (2015). Comprehensive analysis of cancer-associated somatic mutations in class I HLA genes. Nat. Biotechnol. 33, 1152-1158..
102. Van Loo, P., Nordgard, S.H., Lingjaerde, O.C., Russnes, H.G., Rye, I.H., Sun, W., Weigman, V.J., Marynen, P., Zetterberg, A., Naume, B., et al. (2010). Allele-specific copy number analysis of tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107, 16910-16915.
103. Van Loo, P., Nordgard, S.H., Lingjaerde, O.C., Russnes, H.G., Rye, I.H., Sun, W., Weigman, V.J., Marynen, P., Zetterberg, A., Naume, B., et al. (2010). Allele-specific copy number analysis of tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107, 16910-16915.

【図面】

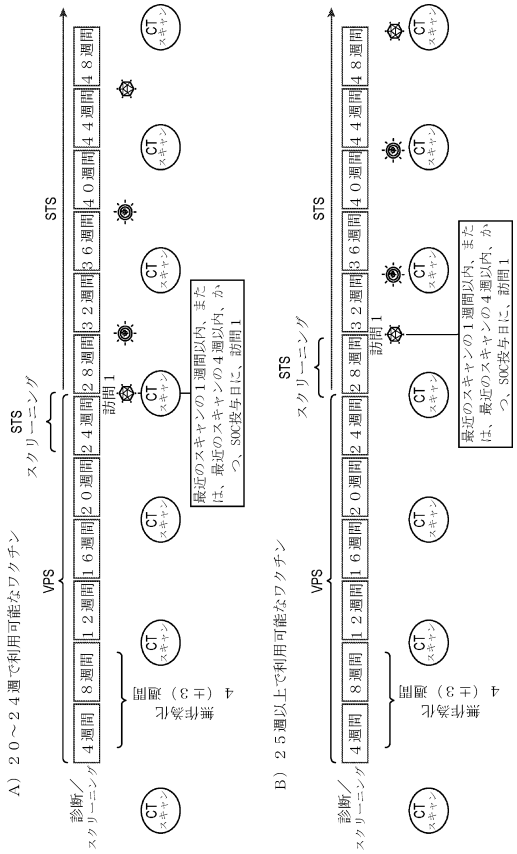
【図１】




【図２】



【図３】


A）２０～２４週で利用可能なワクチン
STS
スクリーニング
STS
VPS
診断／スクリーニング
４週間
８週間
１２週間
１６週間
２０週間
２４週間
２８週間
３２週間
３６週間
４０週間
４４週間
４８週間
訪問１
CTスキャン
無作為化
４（±３）週間
最近のスキャンの１週間以内、または、最近のスキャンの４週以内、かつ、SOC投与日に、訪問１
B）２５週以上で利用可能なワクチン
STS
スクリーニング
STS
VPS
診断／スクリーニング
４週間
８週間
１２週間
１６週間
２０週間
２４週間
２８週間
３２週間
３６週間
４０週間
４４週間
４８週間
訪問１
CTスキャン
無作為化
４（±３）週間
最近のスキャンの１週間以内、または、最近のスキャンの４週以内、かつ、SOC投与日に、訪問１

【手続補正書】
【提出日】令和6年8月5日(2024.8.5)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３６】
いくつかの態様では、自己複製アルファウイルスベースの発現系を送達するための組成物中のカセットの各要素の順序付けられた配列は、５’から３’方向に、$_{a}$Ｐ－（Ｌ５$_{b}$－Ｎ$_{c}$－Ｌ３$_{d}$）Ｘ－（Ｇ５$_{e}$－Ｕ$_{f}$）$_{Y}$－Ｇ３$_{g}$を含む式［式中、Ｐは、前記第２のプロモーターヌクレオチド配列を含み、ただし、ａ＝０または１であり、Ｎは、前記エピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、前記エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、ただしｃ＝１であり、Ｌ５は、５’リンカー配列を含み、ただしｂ＝０または１であり、Ｌ３は、３’リンカー配列を含み、ただしｄ＝０または１であり、Ｇ５は、ＧＰＧＰＧ（配列番号２９５２４）アミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、ただしｅ＝０または１であり、Ｇ３は、ＧＰＧＰＧ（配列番号２９５２４）アミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、ただしｇ＝０または１であり、Ｕは、前記少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、ただしｆ＝１であり、Ｘ＝１～４００であり、ただし各Ｘについて、対応するＮ$_{c}$は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、Ｙ＝０、１、または２であり、ただし各Ｙについて、対応するＵ$_{f}$は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である］で記述される。いくつかの態様では、各Ｘについて、対応するＮ$_{c}$は、異なるＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、各Ｙについて、対応するＵ$_{f}$は、異なるＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、ａ＝０、ｂ＝１、ｄ＝１、ｅ＝１、ｇ＝１、ｈ＝１、Ｘ＝２０、Ｙ＝２であり、前記少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、前記ＲＮＡアルファウイルス骨格により提供される単一の２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列であり、前記少なくとも１つのポリアデニル化ポリ（Ａ）配列は、前記ＲＮＡアルファウイルス骨格により提供される少なくとも１００個の連続したＡヌクレオチド（配列番号２９５２７）のポリ（Ａ）配列であり、前記カセットは、前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列と前記ポリ（Ａ）配列との間に組み込まれ、前記カセットは、前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列及び前記２６Ｓプロモーターヌクレオチド配列に機能的に連結されており、各Ｎは、アミノ酸７～１５個の長さのＭＨＣクラスＩエピトープをコードし、Ｌ５は、前記ＭＨＣ　Ｉエピトープの天然のＮ末端アミノ酸配列をコードする天然の５’リンカー配列であり、前記５’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｌ３は、前記ＭＨＣ　Ｉエピトープの天然のＣ末端アミノ酸配列をコードする天然の３’リンカー配列であり、前記３’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｕは、ＰＡＤＲＥクラスＩＩ配列、及び、破傷風トキソイドＭＨＣクラスＩＩ配列のそれぞれであり、前記ＲＮＡアルファウイルス骨格は、配列番号６示す配列であり、前記ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列のそれぞれは、長さが１３個～２５個のアミノ酸であるポリペプチドをコードする。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４３】
いくつかの態様では、少なくとも１つの抗原コード核酸配列は、２つ以上の抗原コード

核酸配列を含む。いくつかの態様では、各抗原コード核酸配列が互いに直接連結されている。いくつかの態様では、各抗原コード核酸配列は、リンカーをコードする核酸配列によって異なる抗原コード核酸配列と連結されている。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列またはＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を、１個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、（１）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したグリシン残基（配列番号２９５２５）、（２）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したアラニン残基（配列番号２９５２６）、（３）２個のアルギニン残基（ＲＲ）、（４）アラニン、アラニン、チロシン（ＡＡＹ）、（５）哺乳動物プロテアーゼによって効率的にプロセシングされる、少なくともアミノ酸残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さのコンセンサス配列、及び（６）同種由来タンパク質に由来する抗原に隣接し、少なくともアミノ酸残基２、３、４、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、または２～２０個の長さの１つ以上の天然配列からなる群から選択される。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列または１個のＭＨＣクラスＩＩ配列を、１個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、配列ＧＰＧＰＧ（配列番号２９５２４）を含む。

【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４８】
いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列または第２のプロモーターヌクレオチド配列は、誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列または第２のプロモーターヌクレオチド配列は、非誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、前記骨格に天然に存在するアルファウイルスを含む。いくつかの態様では、少なくともいくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも１つの核酸配列のうちの少なくとも１つと機能的に連結される。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、または少なくとも９０個の連続したＡヌクレオチドである。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも１００個の連続したＡヌクレオチド（配列番号２９５２７）である。

【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００５３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００５３】
いくつかの態様では、ＣｈＡｄＶベースの発現系を送達するための組成物中のカセットの各要素の順序付けられた配列は、５’から３’方向に、$_{a}$Ｐ－（Ｌ５$_{b}$－Ｎ$_{c}$－Ｌ３$_{d}$）Ｘ－（Ｇ５$_{e}$－Ｕ$_{f}$）$_{Y}$－Ｇ３$_{g}$を含む式［式中、Ｐは、前記少なくとも１つの抗原コード核酸配列の少なくとも１つに機能的に連結された、少なくとも１つのプロモーター配列であり、ただし、ａ＝１であり、Ｎは、前記エピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、前記エピトープコード核酸配列は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、ただしｃ＝１であり、Ｌ５は、５’リンカー配列を含み、ただしｂ＝０または１であり、Ｌ３は、３’リンカー配列を含み、ただしｄ＝０または１であり、Ｇ５は、ＧＰＧＰＧ（配列番号２９５２４）アミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列の

うちの１つを含み、ただしｅ＝０または１であり、Ｇ３は、ＧＰＧＰＧ（配列番号２９５２４）アミノ酸リンカーをコードする前記少なくとも１つの核酸配列のうちの１つを含み、ただしｇ＝０または１であり、Ｕは、前記少なくとも１つのＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列のうちの１つを含み、ただしｆ＝１であり、Ｘ＝１～４００であり、ただし各Ｘについて、対応するＮ$_c$は、ＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列であり、Ｙ＝０、１、または２であり、ただし各Ｙについて、対応するＵ$_f$は、ＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である］で記述される。いくつかの態様では、各Ｘについて、対応するＮ$_c$は、異なるＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、各Ｙについて、対応するＵ$_f$は、異なるＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列である。いくつかの態様では、ｂ＝１、ｄ＝１、ｅ＝１、ｇ＝１、ｈ＝１、Ｘ＝１６、Ｙ＝２であり、ＰはＣＭＶプロモーター配列であり、各Ｎは、アミノ酸７～１５個の長さのＭＨＣクラスＩエピトープをコードし、Ｌ５は、前記ＭＨＣ　ＩエピトープのＮ末端アミノ酸配列をコードする天然の５’リンカー配列であり、前記５’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｌ３は、前記ＭＨＣ　ＩエピトープのＣ末端アミノ酸配列をコードする天然の３’リンカー配列であり、前記３’リンカー配列は、少なくともアミノ酸３個の長さのペプチドをコードし、Ｕは、ＰＡＤＲＥクラスＩＩ配列、及び、破傷風トキソイドＭＨＣクラスＩＩ配列のそれぞれであり、前記ＣｈＡｄＶベクターは、Ｅ１（ｎｔ　５７７～３４０３）欠失、及びＥ３（ｎｔ　２７，１２５～３１，８２５）欠失を含む配列番号１の配列を含む、修飾ＣｈＡｄＶ６８配列を含み、前記ネオ抗原カセットは、前記Ｅ１欠失内に挿入され、前記ＭＨＣクラスＩ抗原コード核酸配列のそれぞれは、長さが２５アミノ酸であるポリペプチドをコードする。

【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６３】
いくつかの態様では、各抗原コード核酸配列は、リンカーをコードする核酸配列によって異なる抗原コード核酸配列と連結されている。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列またはＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列を、１個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、（１）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したグリシン残基（配列番号２９５２５）、（２）少なくとも残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さの連続したアラニン残基（配列番号２９５２６）、（３）２個のアルギニン残基（ＲＲ）、（４）アラニン、アラニン、チロシン（ＡＡＹ）、（５）哺乳動物プロテアーゼによって効率的にプロセシングされる、少なくともアミノ酸残基２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の長さのコンセンサス配列、及び（６）同種由来タンパク質に由来する抗原に隣接し、少なくともアミノ酸残基２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、または２～２０個の長さの１つ以上の天然配列からなる群から選択される。いくつかの態様では、リンカーは、２個のＭＨＣクラスＩＩエピトープコード核酸配列または１個のＭＨＣクラスＩＩ配列を、１個のＭＨＣクラスＩエピトープコード核酸配列と連結する。いくつかの態様では、リンカーは、配列ＧＰＧＰＧ（配列番号２９５２４）を含む。

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７０】

いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのプロモーターヌクレオチド配列は、非誘導性である。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、ウシ成長ホルモン（ＢＧＨ）ＳＶ４０ポリＡ配列を含む。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、または少なくとも９０個の連続したＡヌクレオチドである。いくつかの態様では、少なくとも１つのポリ（Ａ）配列は、少なくとも１００個の連続したＡヌクレオチド（配列番号２９５２７）である。

【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】配列表
【補正方法】追加
【補正の内容】
【配列表】
2024534442000001.xml

【国際調査報告】

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/US2022/076678

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - INV. - A61K 39/00; A61K 31/505; A61K 39/395; C12N 15/861 (2023.01)
ADD. - C12N 15/63; C12N 15/86 (2023.01)

CPC - INV. - A61K 39/0011; C12N 15/86; A61K 31/505; A61K 39/395 (2023.02)

ADD. - A61K 2039/5256; C12N 2710/10343 (2023.02)

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)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X<br>---<br>Y | WO 2021/092095 A1 (GRITSTONE ONCOLOGY INC.) 14 May 2021 (14.05.2021) entire document | 1-7<br>---<br>8-10 |
| Y | US 2021/0046177 A1 (NANTCELL INC. et al) 18 February 2021 (18.02.2021) entire document | 8-10 |
| A | WO 2021/119545 A1 (GRITSTONE BIO INC.) 17 June 2021 (17.06.2021) entire document | 1-10 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent 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 |
|---|---|
| 12 March 2023 | MAR 29 2023 |
| Name and mailing address of the ISA/<br>Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents<br>P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450<br>Facsimile No. 571-273-8300 | Authorized officer<br>Taina Matos<br>Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300 |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/US2022/076678

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed.

   b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),

      ☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/076678

**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.: 11-98
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:

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 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.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2022)

フロントページの続き

| (51)国際特許分類 | | FI | | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|---|---|
| *C07K 14/15* | *(2006.01)* | C07K | 14/15 | | 4H045 |
| *C12N 15/34* | *(2006.01)* | C12N | 15/34 | | |
| *C12N 15/12* | *(2006.01)* | C12N | 15/12 | | |
| *A61P 37/04* | *(2006.01)* | A61P | 37/04 | | |
| *A61K 35/76* | *(2015.01)* | A61K | 35/76 | | |
| *A61K 35/761* | *(2015.01)* | A61K | 35/761 | | |
| *A61P 43/00* | *(2006.01)* | A61P | 43/00 | 121 | |
| *A61K 45/00* | *(2006.01)* | A61K | 45/00 | | |
| *A61K 31/513* | *(2006.01)* | A61K | 31/513 | | |
| *A61K 39/395* | *(2006.01)* | A61K | 39/395 | N | |
| *A61P 35/00* | *(2006.01)* | A61K | 39/395 | T | |
| *A61P 1/00* | *(2006.01)* | A61K | 39/395 | G | |
| *A61K 9/51* | *(2006.01)* | A61K | 39/395 | U | |
| *A61P 35/02* | *(2006.01)* | A61K | 39/395 | E | |
| *A61K 39/00* | *(2006.01)* | A61P | 35/00 | | |
| | | A61P | 1/00 | | |
| | | A61K | 9/51 | | |
| | | A61P | 35/02 | | |
| | | A61K | 39/00 | Z | |

(32)優先日　令和4年3月16日(2022.3.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),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,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士　井上 隆一
(74)代理人　100148699
弁理士　佐藤 利光
(74)代理人　100188433
弁理士　梅村 幸輔
(74)代理人　100128048
弁理士　新見 浩一
(74)代理人　100129506
弁理士　小林 智彦
(74)代理人　100114340
弁理士　大関 雅人
(74)代理人　100214396
弁理士　塩田 真紀
(74)代理人　100121072
弁理士　川本 和弥
(72)発明者　ルソー ラファエル
アメリカ合衆国 ９４６０８ カリフォルニア州 エメリービル ホートン ストリート ５９５９ スイート ３００ グリットストーン バイオ インコーポレイテッド内
(72)発明者　ファーガスン アンドリュー
アメリカ合衆国 ９４６０８ カリフォルニア州 エメリービル ホートン ストリート ５９５９ スイート ３００ グリットストーン バイオ インコーポレイテッド内

(72)発明者　ヨース カリン
アメリカ合衆国 ９４６０８ カリフォルニア州 エメリービル ホートン ストリート ５９５９ スイート ３００ グリットストーン バイオ インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考）
4C076 AA16 AA65 BB11 BB13 BB15 BB16 CC07 CC27 EE51H
4C084 AA13 MA02 MA16 MA38 MA66 NA14 ZB09 ZB26 ZB27 ZC75
4C085 AA03 AA13 AA14 BB01 BB31 CC22 CC23 CC26 DD62 EE03 GG02 GG03 GG04 GG05
4C086 AA01 AA02 BC43 MA02 MA03 MA04 MA16 MA38 MA66 NA14 ZB09 ZB26 ZB27 ZC75
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 MA02 MA16 MA66 NA14 ZB09 ZB26 ZB27 ZC75
4H045 AA10 AA30 BA09 BA11 BA12 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 BA18 BA19 BA20 BA21 CA40 DA86 EA20 EA50 FA74