

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】令和1年9月12日(2019.9.12)

【公表番号】特表2018-528191(P2018-528191A)

【公表日】平成30年9月27日(2018.9.27)

【年通号数】公開・登録公報2018-037

【出願番号】特願2018-508678(P2018-508678)

【国際特許分類】

A 6 1 K 39/00 (2006.01)
 C 0 7 K 14/00 (2006.01)
 C 0 7 K 16/18 (2006.01)
 A 0 1 K 67/027 (2006.01)
 C 0 7 K 16/46 (2006.01)
 C 1 2 N 15/13 (2006.01)
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 A 6 1 K 39/12 (2006.01)
 A 6 1 K 39/21 (2006.01)
 A 6 1 K 39/145 (2006.01)
 A 6 1 K 39/002 (2006.01)
 A 6 1 P 31/12 (2006.01)
 A 6 1 P 31/14 (2006.01)
 A 6 1 P 31/16 (2006.01)
 A 6 1 P 31/18 (2006.01)
 A 6 1 P 31/20 (2006.01)
 A 6 1 P 33/06 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 39/00 Z N A H
 C 0 7 K 14/00
 C 0 7 K 16/18
 A 0 1 K 67/027
 C 0 7 K 16/46
 C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 1/15
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 A 6 1 K 39/12
 A 6 1 K 39/21
 A 6 1 K 39/145
 A 6 1 K 39/002
 A 6 1 P 31/12
 A 6 1 P 31/14
 A 6 1 P 31/16
 A 6 1 P 31/18
 A 6 1 P 31/20
 A 6 1 P 33/06

【手続補正書】

【提出日】令和1年7月31日(2019.7.31)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物を生成する方法であって、
開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物を設計するステップであって、
前記ペプチド原性タンパク質が前記開始タンパク質と比べて変化した立体構造動力学を有し、
前記ペプチド原性タンパク質が立体構造において前記開始ペプチドに類似している、
ステップを含み、

ここで、前記ペプチド原性タンパク質の混合物は、前記ペプチド原性タンパク質の混合物を導入した動物において免疫応答を生成する、
方法。

【請求項2】

前記立体構造動力学を、

- a. 前記開始タンパク質の3-D構造を調べ、前記開始タンパク質の非表面アミノ酸残基を同定し、前記開始タンパク質中の少なくとも1つの非表面アミノ酸残基を置き換えて前記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または
- b. 前記開始タンパク質の3-D構造のモデルを調べ、前記開始タンパク質の非表面アミノ酸残基を同定し、前記開始タンパク質中の少なくとも1つの非表面アミノ酸残基を置き換えて前記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または
- c. 異なる種由来の前記開始タンパク質にオルソロガスなタンパク質にわたって保存されたアミノ酸相同性のパターンを比較して前記開始タンパク質の非表面アミノ酸残基を同定し、前記開始タンパク質中の少なくとも1つの非表面アミノ酸残基を置き換えて前記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または
- d. 前記開始タンパク質の少なくとも1つの非表面アミノ酸残基を置き換えて、前記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または
- e. 少なくとも1つの非表面アミノ酸残基をより小さなアミノ酸残基で置き換えること；または
- f. 少なくとも1つの非表面アミノ酸残基をアラニンもしくはグリシンで置き換えること；または
- g. 前記開始タンパク質中の少なくとも1つのジスルフィド結合を取り除くことにより変化させる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記開始タンパク質内で、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸を置き換える、請求項1または2のいずれかに記載の方法。

【請求項4】

前記開始タンパク質の立体構造動力学を、

- a. 少なくとも1つのスレオニンをバリン、アラニン、グリシンもしくはセリンで；または
- b. 少なくとも1つのシステインをアラニン、バリン、グリシン、セリンもしくはスレオニンで；または
- c. 少なくとも1つのバリンをアラニン、グリシン、ロイシンもしくはイソロイシンで；または

- d . 少なくとも1つのロイシンをアラニン、バリン、グリシン、もしくはイソロイシンで ; または
- e . 少なくとも1つのイソロイシンをアラニン、バリン、ロイシン、もしくはグリシンで ; または
- f . 少なくとも1つのプロリンをメチオニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、もしくはグリシンで ; または
- g . 少なくとも1つのメチオニンをアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで ; または
- h . 少なくとも1つのフェニルアラニンをチロシン、メチオニン、ヒスチジン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで ; または
- i . 少なくとも1つのチロシンをフェニルアラニン、メチオニン、ヒスチジン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで ; または
- j . 少なくとも1つのトリプトファンをチロシン、フェニルアラニン、メチオニン、ヒスチジン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで ; または
- k . 少なくとも1つのアスパラギン酸を、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンで ; または
- l . 少なくとも1つのアスパラギンをグリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、グルタミン、グルタミン酸もしくはアスパラギン酸で ; または
- m . 少なくとも1つのグルタミン酸をアスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンで ; または
- n . 少なくとも1つのグルタミンを、グルタミン酸、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンで ; または
- o . 少なくとも1つのリシンをアルギニン、ヒスチジン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、メチオニン、ロイシン、もしくはイソロイシンで ; または
- p . 少なくとも1つのアルギニンをリシン、ヒスチジン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、メチオニン、ロイシン、もしくはイソロイシンで ; または
- q . 少なくとも1つのヒスチジンをフェニルアラニン、チロシン、リシン、アルギニン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、グルタミン、アスパラギン、ロイシン、メチオニンもしくはイソロイシンで ; または
- r . 少なくとも1つのアラニンをグリシンまたはプロリンで ; または
- s . 少なくとも1つのグリシンをアラニンもしくはプロリンで ; または
- t . 少なくとも1つのセリンをアラニンもしくはグリシンで ; または
- u . 少なくとも1つの残基を非天然アミノ酸で ; または
- v . 上記の組み合わせのいずれか

で置き換えることによって変化させる、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記ペプチド原性タンパク質の立体構造動力学の変化が :

- a . 前記開始タンパク質と比べた場合の融解温度の変化 ; または
- b . 安定化のギブズ自由エネルギーもしくはタンパク質分解感受性アッセイの変化 ; または
- c . 安定化のギブズ自由エネルギーの変化が、尿素もしくはグアニジニウム塩酸塩アンフォールディングなどの変性剤調節平衡アンフォールディングにより測定される、ギブズ自由エネルギーの変化により測定される、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

類似の立体構造が :

- a . 前記ペプチド原性タンパク質と前記開始タンパク質の両方に結合する交差反応抗体 ;
 または
 b . 交差反応性が、免疫沈降アッセイ、表面プラズモン共鳴、等温滴定量測定、斜入射反射差 (O I - R D)、ウェスタンブロット、放射免疫アッセイ、E L I S A (酵素結合免疫吸着アッセイ)、 「 サンドイッチ 」 免疫アッセイ、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体固定アッセイ、免疫放射定量アッセイ、蛍光免疫アッセイ、および / もしくはプロテイン A 免疫アッセイにより測定される、 (a) の前記交差反応抗体 ;
 または
 c . 交差反応性が結合アッセイにより測定される、 (a) の前記交差反応抗体 ; または
 d . 10^{-9} M 未満もしくはこれに等しい解離定数 (K D) を有する、 (a) の前記交差反応抗体 ; または
 e . 10^{-8} M 未満もしくはこれに等しい、 10^{-7} M 未満もしくはこれに等しい、もしくは 10^{-6} M 未満もしくはこれに等しい解離定数 (K D) を有する、 (a) の前記交差反応抗体 ;
 により測定される、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記開始タンパク質が :

- a . ヒト免疫不全ウイルス (H I V) のエンベロープ糖タンパク質、H I V g p 1 2 0、H I V g p 4 1、H I V g p 1 6 0、エボラ抗原、ウイルス抗原、細菌抗原、寄生虫抗原、アレルゲン、毒液、毒素、腫瘍関連抗原、膜貫通ドメインタンパク質、G タンパク質共役受容体、イオンチャネル、C 型肝炎ウイルス抗原、B 型肝炎ウイルス抗原、M E R S - C o V 抗原、Z i k a ウイルス抗原、インフルエンザウイルス抗原、マラリア抗原 ;
 および / または
 b . 表 2 に収載されるマラリア抗原のうちのいずれか 1 つ ;
 および / または
 c . 表 5 に収載される標的のうちのいずれか 1 つ ;
 および / または
 d . M A G E - A 1、M A G E - A 2、M A G E - A 3、M A G E - A 4、M A G E - A 5、M A G E - A 6、M A G E - A 7、M A G E - A 8、M A G E - A 9、M A G E - A 1 0、M A G E - A 1 1、M A G E - A 1 2、G A G E - I、G A G E - 2、G A G E - 3、G A G E - 4、G A G E - 5、G A G E - 6、G A G E - 7、G A G E - 8、B A G E - I、R A G E - 1、L B 3 3 / M U M - 1、P R A M E、N A G、M A G E - X p 2 (M A G E - B 2)、M A G E - X p 3 (M A G E - B 3)、M A G E - X p 4 (M A G E - B 4)、M A G E - C 1 / C T 7、M A G E - C 2、N Y - E S O - I、L A G E - I、S S X - I、S S X - 2 (H O M - M E L - 4 0)、S S X - 3、S S X - 4、S S X - 5、S C P - I および X A G E、メラニン細胞分化抗原、p 5 3、r a s、C E A、M U C 1、P M S A、P S A、チロシナーゼ、メラニン A、M A R T - 1、g p 1 0 0、g p 7 5、アルファ - アクチニン - 4、B c r - A b 1 融合タンパク質、C a s p - 8、ベータ - カテニン、c d c 2 7、c d k 4、c d k n 2 a、c o a - 1、d e k - c a n 融合タンパク質、E F 2、E T V 6 - A M L 1 融合タンパク質、L D L R - フコシルトランスフェラーゼ A S 融合タンパク質、H L A - A 2、H L A - A 1 1、h s p 7 0 - 2、K I A A O 2 0 5、M a r t 2、M u m - 2、および 3、n e o - P A P、ミオシンクラス I、O S - 9、p m 1 - R A R アルファ融合タンパク質、P T P R K、K - r a s、N - r a s、トリオースリン酸イソメラーゼ、G n T V、H e r v - K - m e 1、N A - 8 8、S P 1 7、および T R P 2 - I n t 2、(M A R T - I)、E 2 A - P R L、H 4 - R E T、I G H - I G K、M Y L - R A R、エプスタインバーウイルス抗原、E B N A、ヒトパピローマウイルス (H P V) 抗原 E 6 および E 7、T S P - 1 8 0、M A G E - 4、M A G E - 5、M A G E - 6、p 1 8 5 e r b B 2、p 1 8 0 e r b B - 3、c - m e t、n m - 2 3 H 1、P S A、T A G - 7 2 - 4、C A 1 9 - 9、C A 7 2 - 4、C A M 1 7 . 1、N u M a、K - r a s、アルファ - フェトタンパク質、1 3 H C G、B C A 2 2 5、B T A A、C A 1 2 5、C A 1 5 - 3 (C A 2 7 . 2 9 \ B C A A)、C A 1 9 5、C A 2 4 2、C A - 5 0、C A M 4 3、C D 6 8 \ K P 1、C O - 0 2

9、FGF-5、G250、Ga733 (EPCAM)、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB\170K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90 (Mac-2 結合タンパク質\シクロフィリンC 関連タンパク質)、TAAL6、TAG72、TLP、TPS、チロシナーゼ関連タンパク質、TRP-1、TRP-2、またはサイトメガロウイルスリントタンパク質65 (pp65) から選択される腫瘍関連抗原

から選択される、請求項1から6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

前記ペプチド原性タンパク質が：

- a. 同じ開始タンパク質；または
- b. 複数の開始タンパク質；または
- c. 複数の関連する開始タンパク質

由来である、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記ペプチド原性タンパク質をコードするポリヌクレオチドの混合物を得るステップをさらに含み、

ここで、ポリヌクレオチドの前記混合物は、ポリヌクレオチドの前記混合物を導入した動物において免疫応答を生成し、前記ペプチド原性タンパク質が前記ポリヌクレオチドから発現される、請求項1から8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記ポリヌクレオチドが：

- a. *in vitro*で合成される；または
- b. DNA；または
- c. *in vitro*で転写された (IVT) mRNA；または
- d. ポリ(A)テイルを含むIVT mRNA；または
- e. 5'キャップを含むIVT mRNA

であり、

好ましくは、前記ポリヌクレオチドが：

- f. いかなるターゲティング構成成分とも会合していない；または
 - g. 細胞もしくは臓器を標的に前記ポリヌクレオチドを向けることができるターゲティング構成成分と会合している；または
 - h. 細胞もしくは臓器を標的に前記ポリヌクレオチドを向けることができるターゲティング構成成分と会合しており、前記ターゲティング構成成分がベクターである、
- 請求項9に記載の方法。

【請求項11】

請求項1から8のいずれか一項に記載のペプチド原性タンパク質または請求項9もしくは10に記載のポリヌクレオチドを含む非ヒト動物。

【請求項12】

前記動物が哺乳動物、マウス、ウサギ、ラマ、またはウシである、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法または請求項11に記載の動物。

【請求項13】

前記ポリヌクレオチドが前記動物への注射用に設計されており、

好ましくは、前記ポリヌクレオチドが、

- a. 前記動物の筋肉内への直接注射用に設計されており、
 - b. 前記動物内への複数回注射用に設計されている、
- 請求項9から10もしくは12のいずれか一項に記載の方法または請求項11に記載の動物。

【請求項14】

前記免疫応答が抗体を産生する、請求項1から11または13から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

抗体を生成するための方法であって、

- a. 開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物を設計するステップであって、前記ペプチド原性タンパク質が前記開始タンパク質と比べて変化した立体構造動力学を有し、前記ペプチド原性タンパク質が立体構造において前記開始ペプチドに類似している、ステップと、
 - b. 非ヒト動物にペプチド原性タンパク質の前記混合物を導入するステップと、
 - c. 抗体を生成する免疫応答を生成するステップと、
 - d. 前記抗体を単離するステップと
- を含む、方法。

【請求項 16】

前記抗体が完全ヒト抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、モノクローナル抗体、および/またはポリクローナル抗体であり、好ましくは、前記ポリクローナル抗体は、単一の単離された抗体種を得るためにさらに分画される、請求項 14 または 15 に記載の方法。

【請求項 17】

請求項 14 から 16 のいずれか一項に記載の方法により産生される抗体であって、好ましくは、請求項 16 に記載の方法により産生される単一抗体種である、抗体。

【請求項 18】

前記抗体が親和性成熟している、請求項 14 から 16 のいずれか一項に記載の方法または請求項 17 で産生される抗体または請求項 17 で産生される単一抗体種であって、好ましくは、前記親和性成熟が：

- a. ファージディスプレイ、酵母ディスプレイ、もしくはリボソームディスプレイ；または
 - b. パニング技法
- により起こる、
方法または抗体。

【請求項 19】

請求項 18 に記載の方法により産生される抗体。

【請求項 20】

請求項 17 または 19 に記載の抗体をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 21】

異種プロモーターをさらに含み、好ましくは、ベクター配列をさらに含む、請求項 20 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 22】

請求項 10 または 19 から 21 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む宿主細胞。

【請求項 23】

ペプチド原性タンパク質の混合物をコードするポリヌクレオチドの混合物であって、好ましくは、前記ポリヌクレオチドが：

- a. 同じ開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物をコードする；または
 - b. 複数の開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物をコードする；または
 - c. 複数の関連する開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物をコードする；または
 - d. in vitro で合成される；または
 - e. DNA である；または
 - f. in vitro で転写された (IVT) mRNA である；または
 - g. ポリ(A)テイルを含む IVT mRNA である；または
 - h. 5' キャップを含む IVT mRNA である、
- ポリヌクレオチドの混合物。

【請求項 24】

請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のペプチド原性タンパク質、
請求項 9 または 10 に記載のポリヌクレオチド、および/または
請求項 17 から 19 のいずれか一項に記載の抗体
 を含む、医薬組成物。

【請求項 25】

請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のペプチド原性タンパク質の混合物、および/ま
たは

請求項 9 または 10 に記載のポリヌクレオチドの混合物、
 を含む、ワクチン。

【請求項 26】

免疫応答の生成に使用するための、開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混
合物、前記ペプチド原性タンパク質の混合物をコードするポリヌクレオチドの混合物、ま
たは前記ペプチド原性タンパク質の混合物をコードするポリヌクレオチドの混合物がトラ
ンスフェクトされた抗原提示細胞であって、

ここで、前記開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物は、請求項 1 から
10 のいずれか一項に方法に従って設計されており、前記ペプチド原性タンパク質は前記
開始タンパク質と比べて変化した立体構造動力学を有し、前記ペプチド原性タンパク質は
立体構造において前記開始ペプチドに類似しており、前記ペプチド原性タンパク質の混
合物は、前記ペプチド原性タンパク質の混合物を導入した動物において導入した場合に免疫
応答を生成する、

ペプチド原性タンパク質の混合物、ポリヌクレオチドの混合物、または抗原提示細胞。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0031

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0031】

好ましい実施形態では、抗原提示細胞は樹状細胞、B細胞、単球またはマクロファージである。さらなる好ましい実施形態では、方法は *in vitro* または *ex vivo* で行われる。さらなる好ましい実施形態では、抗原提示細胞はペプチド原性タンパク質（単数または複数）をコードするポリヌクレオチドをトランスフェクトされるおよび/またはペプチド原性タンパク質（単数または複数）と接触させる。さらなる好ましい実施形態では、抗原提示細胞はペプチド原性タンパク質（単数または複数）またはポリヌクレオチド（単数または複数）の食作用または飲作用を受ける。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

免疫応答を生成する方法であって、

a. 開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物を設計するステップであって
、前記ペプチド原性タンパク質が前記開始タンパク質と比べて変化した立体構造動力学を
有し、前記ペプチド原性タンパク質が立体構造において前記開始ペプチドに類似している
、ステップと

b. 動物にペプチド原性タンパク質の前記混合物を導入するステップと、

c. 免疫応答を生成するステップと

を含む、方法。

(項目 2)

前記立体構造動力学を、

a. 前記開始タンパク質の 3 - D 構造を調べ、前記開始タンパク質の非表面アミノ酸残基
を同定し、前記開始タンパク質中の少なくとも 1 つの非表面アミノ酸残基を置き換えて前

記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または

b . 前記開始タンパク質の 3 - D 構造のモデルを調べ、前記開始タンパク質の非表面アミノ酸残基を同定し、前記開始タンパク質中の少なくとも 1 つの非表面アミノ酸残基を置き換えて前記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または

c . 異なる種由来の前記開始タンパク質にオルソロガスなタンパク質にわたって保存されたアミノ酸相同性のパターンを比較して前記開始タンパク質の非表面アミノ酸残基を同定し、前記開始タンパク質中の少なくとも 1 つの非表面アミノ酸残基を置き換えて前記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または

d . 前記開始タンパク質の少なくとも 1 つの非表面アミノ酸残基を置き換えて、前記ペプチド原性タンパク質を作成すること；または

e . 少なくとも 1 つの非表面アミノ酸残基をより小さなアミノ酸残基で置き換えること；または

f . 少なくとも 1 つの非表面アミノ酸残基をアラニンもしくはグリシンで置き換えること；または

g . 前記開始タンパク質中の少なくとも 1 つのジスルフィド結合を取り除くことにより変化させる、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記開始タンパク質内で、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 のアミノ酸を置き換える、項目 1 または 2 のいずれかに記載の方法。

(項目 4)

前記開始タンパク質の立体構造動力学を、

a . 少なくとも 1 つのスレオニンをバリン、アラニン、グリシンもしくはセリンで；または

b . 少なくとも 1 つのシステインをアラニン、バリン、グリシン、セリンもしくはスレオニンで；または

c . 少なくとも 1 つのバリンをアラニン、グリシン、ロイシンもしくはイソロイシンで；または

d . 少なくとも 1 つのロイシンをアラニン、バリン、グリシン、もしくはイソロイシンで；または

e . 少なくとも 1 つのイソロイシンをアラニン、バリン、ロイシン、もしくはグリシンで；または

f . 少なくとも 1 つのプロリンをメチオニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、もしくはグリシンで；または

g . 少なくとも 1 つのメチオニンをアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで；または

h . 少なくとも 1 つのフェニルアラニンをチロシン、メチオニン、ヒスチジン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで；または

i . 少なくとも 1 つのチロシンをフェニルアラニン、メチオニン、ヒスチジン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで；または

j . 少なくとも 1 つのトリプトファンをチロシン、フェニルアラニン、メチオニン、ヒスチジン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンもしくはグリシンで；または

k . 少なくとも 1 つのアスパラギン酸を、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンで；

また
l . 少なくとも 1 つのアスパラギンをグリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、グルタミン、グルタミン酸もしくはアスパラギン酸で；また

は

m . 少なくとも 1 つのグルタミン酸をアスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンで；ま

たは

n . 少なくとも1つのグルタミンを、グルタミン酸、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、ロイシン、もしくはイソロイシンで；または

o . 少なくとも1つのリシンをアルギニン、ヒスチジン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、メチオニン、ロイシン、もしくはイソロイシンで；または

p . 少なくとも1つのアルギニンをリシン、ヒスチジン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、メチオニン、ロイシン、もしくはイソロイシンで；または

q . 少なくとも1つのヒスチジンをフェニルアラニン、チロシン、リシン、アルギニン、グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、バリン、グルタミン、アスパラギン、ロイシン、メチオニンもしくはイソロイシンで；または

r . 少なくとも1つのアラニンをグリシンまたはプロリンで；または

s . 少なくとも1つのグリシンをアラニンもしくはプロリンで；または

t . 少なくとも1つのセリンをアラニンもしくはグリシンで；または

u . 少なくとも1つの残基を非天然アミノ酸で；または

v . 上記の組み合わせのいずれか

で置き換えることによって変化させる、項目1から3のいずれか一項に記載の方法。

(項目5)

前記ペプチド原性タンパク質の立体構造動力学的変化が：

a . 前記開始タンパク質と比べた場合の融解温度の変化；または

b . 安定化のギブズ自由エネルギーもしくはタンパク質分解感受性アッセイの変化；または

c . 安定化のギブズ自由エネルギーの変化が、尿素もしくはグアニジニウム塩酸塩アンフォールディングなどの変性剤調節平衡アンフォールディングにより測定される、ギブズ自由エネルギーの変化

により測定される、項目1から4のいずれか一項に記載の方法。

(項目6)

類似の立体構造が：

a . 前記ペプチド原性タンパク質と前記開始タンパク質の両方に結合する交差反応抗体；または

b . 交差反応性が、免疫沈降アッセイ、表面プラズモン共鳴、等温滴定量測定、斜入射反射差(OI-RD)、ウェスタンブロット、放射免疫アッセイ、ELISA(酵素結合免疫吸着アッセイ)、「サンドイッチ」免疫アッセイ、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体固定アッセイ、免疫放射定量アッセイ、蛍光免疫アッセイ、および/もしくはプロテインA免疫アッセイにより測定される、(a)の前記交差反応抗体；または

c . 交差反応性が結合アッセイにより測定される、(a)の前記交差反応抗体；または

d . 10^{-9} M未満もしくはこれに等しい解離定数(KD)を有する、(a)の前記交差反応抗体；または

e . 10^{-8} M未満もしくはこれに等しい、 10^{-7} M未満もしくはこれに等しい、もしくは 10^{-6} M未満もしくはこれに等しい解離定数(KD)を有する、(a)の前記交差反応抗体；

により測定される、項目1から5のいずれか一項に記載の方法。

(項目7)

前記開始タンパク質が：

a . ヒト免疫不全ウイルス(HIV)のエンベロープ糖タンパク質、HIV gp120、HIV gp41、HIV gp160、エボラ抗原、ウイルス抗原、細菌抗原、寄生虫抗原、アレルゲン、毒液、毒素、腫瘍関連抗原、膜貫通ドメインタンパク質、Gタンパク質共役受容体、イオンチャネル、C型肝炎ウイルス抗原、B型肝炎ウイルス抗原、MERS-CoV抗原、Zikaウイルス抗原、インフルエンザウイルス抗原、マラリア抗原

；および／または

b . 表 2 に 収 載 さ れ る マ ラ リ ア 抗 原 の う ち の い ず れ か 1 つ ； お よ び / ま た は

c . 表 5 に 収 載 さ れ る 標 的 の う ち の い ず れ か 1 つ ； お よ び / ま た は

d . M A G E - A 1、M A G E - A 2、M A G E - A 3、M A G E - A 4、M A G E - A 5、M A G E - A 6、M A G E - A 7、M A G E - A 8、M A G E - A 9、M A G E - A 1 0、M A G E - A 1 1、M A G E - A 1 2、G A G E - I、G A G E - 2、G A G E - 3、G A G E - 4、G A G E - 5、G A G E - 6、G A G E - 7、G A G E - 8、B A G E - I、R A G E - 1、L B 3 3 / M U M - 1、P R A M E、N A G、M A G E - X p 2 (M A G E - B 2)、M A G E - X p 3 (M A G E - B 3)、M A G E - X p 4 (M A G E - B 4)、M A G E - C 1 / C T 7、M A G E - C 2、N Y - E S O - I、L A G E - I、S S X - I、S S X - 2 (H O M - M E L - 4 0)、S S X - 3、S S X - 4、S S X - 5、S C P - I お よ び X A G E、メ ラ ニ ン 細 胞 分 化 抗 原、p 5 3、r a s、C E A、M U C 1、P M S A、P S A、チ ロ シ ナ ー ゼ、メ ラ ン A、M A R T - 1、g p 1 0 0、g p 7 5、ア ル フ ァ - ア ク チ ニ ン - 4、B c r - A b 1 融 合 タ ン パ ク 質、C a s p - 8、ベ ー タ - カ テ ニ ン、c d c 2 7、c d k 4、c d k n 2 a、c o a - 1、d e k - c a n 融 合 タ ン パ ク 質、E F 2、E T V 6 - A M L 1 融 合 タ ン パ ク 質、L D L R - フ コ シ ル ト ラ ン ス フ ェ ラ ー ゼ A S 融 合 タ ン パ ク 質、H L A - A 2、H L A - A 1 1、h s p 7 0 - 2、K I A A O 2 0 5、M a r t 2、M u m - 2、お よ び 3、n e o - P A P、ミ オ シ ン ク ラ ス I、O S - 9、p m 1 - R A R ア ル フ ァ 融 合 タ ン パ ク 質、P T P R K、K - r a s、N - r a s、ト リ オ ー ス リ ン 酸 イ ソ メ ラ ー ゼ、G n T V、H e r v - K - m e 1、N A - 8 8、S P 1 7、お よ び T R P 2 - I n t 2、(M A R T - I)、E 2 A - P R L、H 4 - R E T、I G H - I G K、M Y L - R A R、エ プ ス タ イ ン バ ー ウ イ ル ス 抗 原、E B N A、ヒ ト パ ピ ロ ー マ ウ イ ル ス (H P V) 抗 原 E 6 お よ び E 7、T S P - 1 8 0、M A G E - 4、M A G E - 5、M A G E - 6、p 1 8 5 e r b B 2、p 1 8 0 e r b B - 3、c - m e t、n m - 2 3 H 1、P S A、T A G - 7 2 - 4、C A 1 9 - 9、C A 7 2 - 4、C A M 1 7 . 1、N u M a、K - r a s、ア ル フ ァ - フ ェ ト タ ン パ ク 質、1 3 H C G、B C A 2 2 5、B T A A、C A 1 2 5、C A 1 5 - 3 (C A 2 7 . 2 9 \ B C A A)、C A 1 9 5、C A 2 4 2、C A - 5 0、C A M 4 3、C D 6 8 \ K P 1、C O - 0 2 9、F G F - 5、G 2 5 0、G a 7 3 3 (E p C A M)、H T g p - 1 7 5、M 3 4 4、M A - 5 0、M G 7 - A g、M O V 1 8、N B \ 1 7 0 K、N Y - C O - 1、R C A S 1、S D C C A G 1 6、T A - 9 0 (M a c - 2 結 合 タ ン パ ク 質 \ シ ク ロ フ ィ リ ン C 関 連 タ ン パ ク 質)、T A A L 6、T A G 7 2、T L P、T P S、チ ロ シ ナ ー ゼ 関 連 タ ン パ ク 質、T R P - 1、T R P - 2、ま た は サ イ ト メ ガ ロ ウ イ ル ス リ ン タ ン パ ク 質 6 5 (p p 6 5)

から 選 択 さ れ る 腫 瘍 関 連 抗 原

から 選 択 さ れ る、項 目 1 から 8 の い ず れ か 一 項 に 記 載 の 方 法。

(項 目 8)

前 記 ペ プ チ ド 原 性 タ ン パ ク 質 が 前 記 動 物 に 直 接 投 与 さ れ る、項 目 1 から 7 の い ず れ か 一 項 に 記 載 の 方 法。

(項 目 9)

前 記 ペ プ チ ド 原 性 タ ン パ ク 質 が ；

a . 同 じ 開 始 タ ン パ ク 質 ； ま た は

b . 複 数 の 開 始 タ ン パ ク 質 ； ま た は

c . 複 数 の 関 連 す る 開 始 タ ン パ ク 質

由 来 で あ る、項 目 1 から 8 の い ず れ か 一 項 に 記 載 の 方 法。

(項 目 1 0)

a . 前 記 ペ プ チ ド 原 性 タ ン パ ク 質 を コ ー ド す る ポ リ ヌ ク レ オ チ ド の 混 合 物 を 得 る ス テ ッ プ と ；

b . ポ リ ヌ ク レ オ チ ド の 前 記 混 合 物 を 動 物 内 に 導 入 す る ス テ ッ プ で あ っ て、前 記 ペ プ チ ド 原 性 タ ン パ ク 質 が 前 記 ポ リ ヌ ク レ オ チ ド から 発 現 さ れ る、ス テ ッ プ と

を さ ら に 含 む、項 目 1 から 9 の い ず れ か 一 項 に 記 載 の 方 法。

(項目11)

前記ポリヌクレオチドが：

- a. in vitroで合成される；または
- b. DNA；または
- c. in vitroで転写された(IVT)mRNA；または
- d. ポリ(A)テイルを含むIVT mRNA；または
- e. 5'キャップを含むIVT mRNA

である、項目10に記載の方法。

(項目12)

前記ポリヌクレオチドが：

- a. いかなるターゲティング構成成分とも会合していない；または
 - b. 細胞もしくは臓器を標的に前記ポリヌクレオチドを向けることができるターゲティング構成成分と会合している；または
 - c. 細胞もしくは臓器を標的に前記ポリヌクレオチドを向けることができるターゲティング構成成分と会合しており、前記ターゲティング構成成分がベクターである、
- 項目10または11のいずれかに記載の方法。

(項目13)

項目1から9のいずれか一項に記載のペプチド原性タンパク質または項目10から12のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む動物。

(項目14)

前記動物が哺乳動物、ヒト、マウス、ウサギ、ラマ、またはウシである、項目1から12のいずれか一項に記載の方法または項目13に記載の動物。

(項目15)

前記動物が前記ポリヌクレオチドを注射されている、項目10から12もしくは14のいずれか一項に記載の方法または項目13に記載の動物。

(項目16)

前記ポリヌクレオチドが

- a. 前記動物の筋肉内に直接注射される；
 - b. 前記動物内に複数回注射される、
- 項目15に記載の方法。

(項目17)

前記免疫応答が抗体を産生する、項目1から12または14から17のいずれか一項に記載の方法。

(項目18)

前記抗体を単離するステップをさらに含む、項目17に記載の方法。

(項目19)

前記抗体が完全ヒト抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、モノクローナル抗体、および/またはポリクローナル抗体である、項目18に記載の方法。

(項目20)

項目17から19のいずれか一項に記載の方法により産生される抗体。

(項目21)

前記ポリクローナル抗体が、単一の単離された抗体種を得るためにさらに分画される、項目19に記載の方法。

(項目22)

項目21に記載の方法により産生される単一抗体種。

(項目23)

前記抗体が親和性成熟している、項目17から19もしくは21のいずれか一項に記載の方法または項目20で産生される抗体または項目22で産生される単一抗体種。

(項目24)

前記親和性成熟が：

a . フェージディスプレイ、酵母ディスプレイ、もしくはリボソームディスプレイ ; または

b . パニング技法

により起こる、項目 2 3 に記載の方法または抗体。

(項目 2 5)

項目 2 3 または 2 4 のいずれかに記載の方法により産生される抗体。

(項目 2 6)

項目 2 0、2 2、または 2 5 のいずれか一項に記載の抗体をコードするポリヌクレオチド。

(項目 2 7)

異種プロモーターをさらに含む、項目 2 6 に記載のポリヌクレオチド。

(項目 2 8)

ベクター配列をさらに含む項目 2 6 または 2 7 のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

(項目 2 9)

項目 1 1 から 1 2 または 2 5 から 2 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む宿主細胞。

(項目 3 0)

ペプチド原性タンパク質の混合物をコードするポリヌクレオチドの混合物。

(項目 3 1)

前記ポリヌクレオチドが :

a . 同じ開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物をコードする ; または

b . 複数の開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物をコードする ; または

c . 複数の関連する開始タンパク質由来のペプチド原性タンパク質の混合物をコードする ; または

d . in vitro で合成される ; または

e . DNA である ; または

f . in vitro で転写された (I V T) mRNA である ; または

g . ポリ (A) テイルを含む I V T mRNA である ; または

h . 5 ' キャップを含む I V T mRNA である、

項目 3 0 に記載のポリヌクレオチドの混合物。