(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-513022
(P2025-513022A)
(43)公表日　令和7年4月22日(2025.4.22)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*15/12 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/12	ＺＮＡ	４Ｂ０６５
Ｃ１２Ｎ	*15/62 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/62	Ｚ	４Ｃ０８４
Ｃ１２Ｎ	*1/19 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/19		４Ｃ０８５
Ｃ１２Ｎ	*1/21 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/21		４Ｃ０８７
Ｃ１２Ｎ	*1/15 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/15		４Ｈ０４５

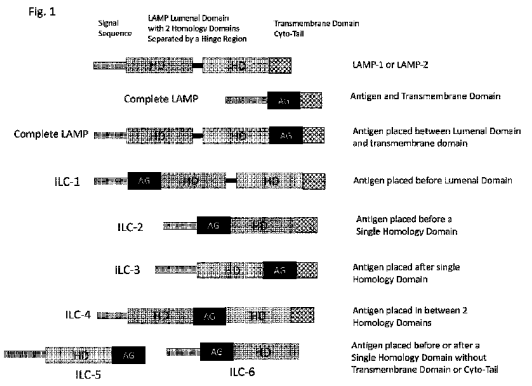
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全214頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-559610(P2024-559610)
(86)(22)出願日　令和5年4月10日(2023.4.10)
(85)翻訳文提出日　令和6年12月6日(2024.12.6)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/065588
(87)国際公開番号　WO2023/201201
(87)国際公開日　令和5年10月19日(2023.10.19)
(31)優先権主張番号　63/329,463
(32)優先日　令和4年4月10日(2022.4.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,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
最終頁に続く

(71)出願人　516384081
イミュノミック セラピューティックス，インコーポレイテッド
ＩＭＭＵＮＯＭＩＣ ＴＨＥＲＡＰＥＵＴＩＣＳ， ＩＮＣ．
アメリカ合衆国 メリーランド州 ２０８５０ ロックビル， ブロスクハート ロード １５０１０， スイート ２５０
(74)代理人　100189131
弁理士　佐伯 拓郎
(74)代理人　100182486
弁理士　中村 正展
(74)代理人　100147289
弁理士　佐伯 裕子
(72)発明者　ハイラント， テリー
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　免疫応答増強遺伝子を含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物およびその使用方法

(57)【要約】
本開示は、免疫応答をプライミングするための少なくとも１つの抗原を提供するために、ＬＡＭＰ内腔ドメインの特異的断片およびＬＡＭＰタンパク質に対して異種の抗原性ドメインを含むバイシストロニックまたはマルチシストロン性ＬＡＭＰ構築物をコードする核酸配列を含む核酸分子（例えば、プラスミドまたはベクター）を提供し、構築物によって発現される抗原は、任意選択でプロセシングされ、ＭＨＣクラスＩＩ分子に提示され、また、宿主細胞から任意選択で分泌される免疫応答増強ポリペプチドをコードする核酸配列も提供する。核酸分子は、例えば、疾患、特に、アレルギー、感染性疾患、糖尿病、過剰増殖性障害および／または癌の処置のために使用され得る。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：
ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメインと、前記ＬＡＭＰタンパク質に対して異種の抗原ドメインとを含むポリペプチド（集合的に「ＬＡＭＰ－抗原構築物」）をコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、前記抗原ドメインが前記２つの相同ドメインの間に配置されている、第１のポリヌクレオチド配列；および
ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列。
【請求項２】
ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ　２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、請求項１に記載の単離された核酸分子。
【請求項３】
ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、請求項２に記載の単離された核酸分子。
【請求項４】
前記ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、請求項１または２に記載の単離された核酸分子。
【請求項５】
前記ＬＡＭＰタンパク質が、ＬＡＭＰ－１であり、前記ＬＡＭＰ－抗原構築物の前記２つの相同ドメインが、ＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、請求項２に記載の単離された核酸分子。
【請求項６】
前記ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列を含む、請求項５に記載の単離された核酸分子。
【請求項７】
前記ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２が、配列番号１の残基２２８～３８１のアミノ酸配列を含む、請求項５または６に記載の単離された核酸分子。
【請求項８】
前記ＬＡＭＰ－抗原構築物が、前記２つの相同ドメインのうちの少なくとも１つと前記抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、請求項１～７のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項９】
リンカーがＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、請求項８に記載の単離された核酸分子。
【請求項１０】
前記ＬＡＭＰ－抗原構築物が、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、請求項１～９のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項１１】
前記膜貫通ドメインが、配列番号１の残基３８３～４０５を含む、請求項１０に記載の単離された核酸分子。
【請求項１２】
前記ＬＡＭＰ－抗原構築物が、シグナル配列をさらに含む、請求項１～１１のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。

【請求項１３】
シグナル配列が、配列番号１の残基１～２８または配列番号１９８の残基１～２８を含むシグナル配列などのＬＡＭＰタンパク質に由来する、請求項１２に記載の単離された核酸分子。
【請求項１４】
前記ＬＡＭＰ－抗原構築物が、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、請求項１～１３のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項１５】
前記細胞質ドメインが、配列番号１の残基４０６～４１７を含む、請求項１４に記載の単離された核酸分子。
【請求項１６】
前記ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３、またはその細胞外ドメインのうちの１つまたは複数を含み、任意選択で、前記ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、またはＩＬ－１５が、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されている、請求項１～１５のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項１７】
前記分泌シグナル配列が、前記ＩＲＥＧに対して異種である、請求項１～１６のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項１８】
前記分泌シグナル配列が、ＩｇＫＶＩＩＩ、Ｉｇ－カッパ、テトラネクチン、またはＩＬ－２に由来し、および／または前記第２のポリペプチドが、肺サーファクタント関連プロテインＤ（ＳＰＤ）をさらに含む、請求項１７に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項１９】
第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、請求項１８に記載の単離された核酸分子。
【請求項２０】
請求項１～１８のいずれか１項に記載の単離された核酸分子を含む組成物。
【請求項２１】
請求項１～１８のいずれか１項に記載の単離された核酸分子を含む宿主細胞。
【請求項２２】
請求項２０に記載の宿主細胞を含む組成物。
【請求項２３】
疾患もしくは障害を有する対象を治療するか、または疾患もしくは障害を有する対象もしくは疾患もしくは障害を発症するリスクのある対象において免疫応答を誘導する方法であって、請求項１～１８のいずれか１項に記載の単離された核酸分子、請求項１９に記載の組成物、または請求項２０に記載の宿主細胞を、前記疾患もしくは障害を治療するか、または前記対象において免疫応答を誘導するのに十分な量で前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項２４】
少なくとも１つの第２の治療剤を前記対象に投与する工程をさらに包含する、請求項２２に記載の方法。
【請求項２５】
単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：
ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメイン、およびＨＥＲ２細胞外ドメインを含む抗原性ドメイン（集合的に「ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ」）を含むポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、抗原性ドメインが２つのＬＡＭＰ相同ドメインの間に配置される、第１のポリヌクレオチド配列；および
ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲ

ＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列。
【請求項２６】
ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ　２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、請求項２５に記載の単離された核酸分子。
【請求項２７】
前記ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、請求項２６に記載の単離された核酸分子。
【請求項２８】
前記ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、請求項２５または２６に記載の単離された核酸分子。
【請求項２９】
前記ＬＡＭＰタンパク質がＬＡＭＰ－１であり、前記ＨＥＲ２－ＬＡＭＰの２つの相同ドメインが、ＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、請求項２６に記載の単離された核酸分子。
【請求項３０】
前記ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列を含む、請求項２９に記載の単離された核酸分子。
【請求項３１】
前記ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２が、配列番号１の残基２２８～３８１のアミノ酸配列を含むか、または配列番号２０２のアミノ酸配列を含む、請求項２９または３０に記載の単離された核酸分子。
【請求項３２】
前記ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、前記２つの相同性ドメインのうちの少なくとも１つと前記抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、請求項２５～３１のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項３３】
リンカーがＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、請求項３２に記載の単離された核酸分子。
【請求項３４】
前記ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、請求項２５～３３のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項３５】
前記膜貫通ドメインが、配列番号１の残基３８３～４０５を含む、請求項３４に記載の単離された核酸分子。
【請求項３６】
前記ＨＥＲ２－ＬＡＭＰがシグナル配列をさらに含む、請求項２５～３５のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項３７】
シグナル配列が、配列番号１のアミノ酸残基１～２８または配列番号１９８の残基１～２８を含むシグナル配列などのＬＡＭＰタンパク質に由来する、請求項３６に記載の単離された核酸分子。
【請求項３８】
前記ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、請求項２５～３７のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。

【請求項３９】
前記細胞質ドメインが、配列番号１の残基４０６～４１７を含む、請求項３８に記載の単離された核酸分子。
【請求項４０】
前記抗原性ドメインが、配列番号２００のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる、請求項２５～３９のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項４１】
前記ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、配列番号１もしくは配列番号１９８の残基１～１９４のアミノ酸配列、続いて配列番号２００のアミノ酸配列、続いて配列番号１もしくは配列番号２０２の残基２２８～３８１のアミノ酸配列を含むか、またはそれらからなる、請求項２５～４０のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項４２】
前記ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、またはＩＬ－３３、またはその細胞外ドメインのうちの１つまたは複数を含み、任意選択で、前記ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、またはＩＬ－１５が免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されている、請求項２５～４１のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項４３】
分泌シグナル配列がＩＲＥＧに対して異種である、請求項２５～４２のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項４４】
前記分泌シグナル配列が、ＩｇＫＶＩＩＩ、Ｉｇ－カッパ、テトラネクチン、またはＩＬ－２に由来する、請求項４３に記載の単離された核酸分子。
【請求項４５】
前記第２のポリペプチドが、ＳＰＤと可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）との融合物、ＳＰＤとＦｌｔ３Ｌとの融合物、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、Ｆｃドメインに融合したＯＸ４０Ｌ、Ｆｃドメインに融合したＣＤ８０、またはＩＬ－１５を含む、請求項２５～４４のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【請求項４６】
第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、請求項４５に記載の単離された核酸分子。
【請求項４７】
請求項２５～４６のいずれか１項に記載の単離された核酸分子を含む、組成物。
【請求項４８】
請求項２５～４６のいずれか１項に記載の単離された核酸分子を含む宿主細胞。
【請求項４９】
請求項４８に記載の宿主細胞を含む組成物。
【請求項５０】
癌を有する対象を治療する方法であって、請求項２５～４６のいずれか１項に記載の単離された核酸分子、請求項４７に記載の組成物、または請求項４８に記載の宿主細胞を、前記癌を治療するのに、または前記対象において前記癌に対する免疫応答を誘導するのに十分な量で前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項５１】
少なくとも１つの第２の治療剤を前記対象に投与する工程をさらに包含する、請求項５０に記載の方法。
【請求項５２】
ＤＮＡ、ｍＲＮＡ、または自己増幅ＲＮＡを含む、請求項１～１９または２５～４６のいずれか１項に記載の単離された核酸分子。
【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、２０２２年４月１０日に出願された米国仮特許出願第６３／３２９，４６３号の優先権を主張し、その内容は、その全体が本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表
本出願は、ＳＴ２６形式の配列表を含み、その全体が参照により組み込まれる（ファイル名：２０２３－０４－１０＿０１３０５－００２３－００ＰＣＴＳＴ２６；ファイルサイズ：１，４１７，５４３バイト。）
【０００３】
本開示は、バイシストロニックまたはマルチシストロン性ＬＡＭＰ（リソソーム関連膜タンパク質）をコードする単離された核酸分子（例えば、プラスミドまたはベクター）に関する。ＬＡＭＰ融合蛋白および第２の、場合により免疫反応増強遺伝子（ＩＲＥＧ）からのような分泌蛋白を含む構築物、および感染病、糖尿病、アレルギー、過増殖性障害および／または癌、特にＣＯＶＩＤ－１９に罹患している対象の処置におけるそれらの使用。さらに、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、非ヒト脊椎動物において抗体を生成するために使用され得、好ましくは、非ヒト脊椎動物のゲノムは、少なくとも部分的にヒト免疫グロブリン領域および／またはヒト化免疫グロブリン領域を含む。
【背景技術】
【０００４】
以下の議論では、背景および導入の目的で、特定の物品および方法を説明する。本明細書に含まれるものは、先行技術の「承認」として解釈されるべきではない。出願人は、適切な場合には、本明細書で参照される物品および方法が、適用可能な法定条項の下で先行技術を構成しないことを実証する権利を明示的に留保する。
【０００５】
ワクチンは、予防用ワクチンおよび治療用ワクチンの両方の開発のための新規で有望な候補である。それらは安全であることが証明されており、臨床的利益を達成するためにワクチン接種の反復サイクルが必要とされる場合、ベクター骨格に対する免疫応答の欠如は決定的な利点であり得る。しかしながら、従来のワクチンの１つの認められた欠点は、ヒトにおけるそれらの低い免疫原性である。エピトープベースのワクチンの免疫原性における重要な制限工程は、Ｔ細胞への主要組織適合性（ＭＨＣ）クラスＩＩ提示経路へのエピトープのアクセスであり得、これは、標的化技術を用いないワクチンの場合には確率的プロセスである可能性が高い。
【０００６】
様々な設計のＬＡＭＰ－抗原構築物が、例えば、米国特許第１１，２０３，６２９号に以前記載されている（その中の図１を参照されたい）。ＩＬＣ－４（本明細書の図１に示される）と名付けられた米国特許第１１，２０３，６２９号に記載される構築物の１つのタイプは、ＬＡＭＰタンパク質の第１の相同ドメインとＬＡＭＰタンパク質の第２の相同ドメインとの間（または少なくとも２つのシステイン保存断片の間）に融合された少なくとも１つの目的の抗原を含み、例えば、少なくとも１つの目的の抗原は、ＬＡＭＰヒンジ領域に配置され得る。いくつかの実施形態では、この構築物はまた、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメイン、および／またはＬＡＭＰタンパク質の細胞質ゾル尾部を含む。２つの相同ドメインは、例えば、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ－２、ＬＡＭＰ－３、またはＥｎｄｏｌｙｎタンパク質に由来し得る。あるいは、２つの異なるＬＡＭＰタンパク質由来の２つの相同性ドメインを使用してもよい。本発明者らは、ＩＬＣ－４などの改良されたＬＡＭＰ構築物が、例えば、目的の抗原（複数可）に対する強力なＴ細胞応答および抗体応答を誘発し、それらをワクチンとして使用するための実行可能な候補にすることができることを予想外に見出した。

【０００７】
上記にもかかわらず、例えば、アレルギー、感染性疾患、糖尿病、過剰増殖性障害および／または癌を効果的に治療するためのワクチンとして使用することができ、および／または有用な抗体の生成において使用することができる、新規で更に改善されたＬＡＭＰ構築物、及びそれらをコードする核酸分子を設計する更なる必要性がある。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００８】
本明細書にさらに記載されるように、本発明者らは、例えば、本明細書の図１に記載されているようなＬＡＭＰ構築物を発現するだけでなく、ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍または感染性疾患に対する免疫応答を増強することが見出されているＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－１５、またはＦｌｔ３Ｌなどの遺伝子をコードする特定のタイプの第２のポリペプチド、多くの場合、分泌ポリペプチドも発現する単離された核酸分子を設計することができること、および単離された核酸分子からこれらの２つのポリペプチドを発現させることにより、以前のＬＡＭＰ構築物と比較してだけでなく、第２の疾患抗原などのある特定の分泌抗原を含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物と比較しても、免疫応答が予想外に増強されることを見出した。
【０００９】
この概要は、以下の詳細な説明においてさらに説明される概念の選択を簡略化された形態で紹介するために提供される。この概要は、特許請求される主題の重要な特徴または本質的な特徴を特定することを意図しておらず、特許請求される主題の範囲を限定するために使用されることも意図していない。特許請求される主題の他の特徴、詳細、有用性、および利点は、添付の図面に示され、添付の特許請求の範囲において定義される態様を含む、以下に記載される詳細な説明から明らかになるであろう。
【００１０】
本開示の１つの目的は、対象となる抗原（複数可）を免疫系に効果的に提示して増強された免疫応答を生成するＬＡＭＰドメインの特異的断片および／または変異体を含む構築物（「バイシストロニックＬＡＭＰ構築物」）をコードする新規核酸分子を提供することである。これらのバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、抗原をリソソーム／エンドソーム区画に効果的に指向させ、そこで、抗原はプロセシングされ、主要組織適合性複合体（ＭＨＣ）クラスＩＩ分子に提示され、その結果、ヘルパーＴ細胞が優先的に刺激され、そして／または免疫応答を増強する能力とともに抗体が生成される。
【００１１】
本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子および方法は、対象において免疫応答を誘発し得る。免疫応答は、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物（例えば、ワクチン）にコードされた抗原のエピトープに対する免疫応答であり得る。ワクチンは、免疫系が対象におけるワクチンの抗原を含有するものを検出し、破壊し得るように、対象の免疫系を武装させる。本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子および方法は、対象においてＴｈｌ免疫応答を誘発し得る。Ｔｈｌ免疫応答は、免疫細胞（例えば、抗原特異的Ｔ細胞）のサブセットによる炎症性サイトカイン（例えば、ＩＦＮγ、ＴＮＦａ）の分泌を含み得る。場合によっては、炎症性サイトカインは、対象において抗原を含有するものを破壊し得る免疫細胞の別のサブタイプ（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞）を活性化する。
【００１２】
場合によっては、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物および方法において使用される抗原は、対象の免疫系によって認識されて、Ｔｈｌ免疫応答を誘発し、Ｉ型サイトカインを放出し得る。Ｔｈｌ応答は、エピトープとＴ細胞、より具体的にはＴ細胞によって発現される主要組織適合性複合体（ＭＨＣ）との間の相互作用によって開始され得る。例えば、ＭＨＣ受容体へのエピトープの高親和性結合は、Ｔｈｌ応答を刺激し得る。ＭＨＣ受容体は、複数のタイプのＭＨＣ受容体のうちの少なくとも１つであり得

る。Ｔ細胞上に結合したＭＨＣ受容体は、集団中の個体間で異なり得る。
【００１３】
場合によっては、免疫応答は、１型免疫応答である。場合によっては、免疫応答は、１より大きいＩ型サイトカイン産生とＩＩ型サイトカイン産生との比によって特徴付けられる。場合によっては、免疫応答は、１未満であるＩ型サイトカイン産生とＩＩ型サイトカイン産生との比によって特徴付けられる。場合によっては、免疫応答は、１より大きいＩＦＮγ産生対ＩＬ－１０産生の比によって特徴付けられる。場合によっては、免疫応答は、１未満であるＩＦＮγ産生対ＩＬ－１０産生の比によって特徴付けられる。
【００１４】
本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子はまた、免疫調節エレメント（ＩＲＥ）または免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ）の発現を提供して、対象における増強された免疫応答（例えば、有意により高い抗体価を含む免疫応答）を誘発するように使用することもできる。例えば、核酸分子（例えば、プラスミドまたはベクター）は、ヘルパーＴ細胞が優先的に刺激され、記憶細胞が開始され、および／または抗体が生成されるように、プロセシングされ、ＭＨＣクラスＩＩ分子に提示されるＬＡＭＰ－抗原ポリペプチドを含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物の発現を提供し、対象の循環中に分泌され得、例えば、ＬＡＭＰ抗原に対する体液性および細胞性免疫応答の両方をさらに増強し得るさらなるＩＲＥＧまたはＩＲＥポリペプチドの発現を提供し得る。
【００１５】
一態様では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子は、対象にワクチン接種するのに好適なワクチンベクターである。別の態様では、本開示は、エピトープおよび／または抗原をコードするポリヌクレオチドを含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子の細胞への導入を容易にするための送達ビヒクルを提供する。送達ビヒクルは、脂質ベース（例えば、リポソーム製剤）、ウイルスベース（例えば、核酸分子を封入するウイルスタンパク質を含む）、または細胞ベースであってもよい。
【００１６】
いくつかの実施形態では、本開示は、抗原に対する対象における免疫応答（例えば、抗体の生成）を誘発するためのバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする本明細書に記載される核酸分子を含む注射可能な組成物を提供する。いくつかの実施形態では、このワクチンは、Ｔｈ２応答に対して優先的なＴｈ１応答を生じる。
【００１７】
本開示はまた、免疫応答を生成するために使用することができるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする本明細書に記載される核酸分子を含む細胞を提供する。一態様では、細胞は抗原提示細胞である。抗原提示細胞は、プロフェッショナル抗原提示細胞（例えば、樹状細胞、マクロファージ、Ｂ細胞など）または操作された抗原提示細胞（例えば、ＭＨＣクラスＩＩ分子などの抗原提示に必要な分子を発現するように操作された非プロフェッショナル抗原提示細胞）であってもよい。抗原提示に必要な分子は、他の細胞に由来してもよく、例えば、天然に存在してもよく、またはそれ自体が操作されてもよい（例えば、抗原エピトープに対するより高いまたはより低い親和性などの所望の特性を発現するように変異または修飾される）。
【００１８】
本開示は、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする本明細書に記載される核酸分子を含む複数の細胞を含むキットをさらに提供する。細胞の少なくとも２つは、異なるＭＨＣクラスＩＩ分子を発現してもよく、各細胞は、同じＬＡＭＰ構築物を含んでもよい。一態様では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードするウイルスベクターを含むキットが提供される。
【００１９】
本開示はまた、本明細書に記載されるようなバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする細胞の少なくとも１つおよび／または核酸分子の少なくとも１つを含むトランスジェニック動物を提供する。本開示はまた、本明細書に記載される細胞のうちの少なくとも

１つを含むトランスジェニック動物を提供する。
【００２０】
本開示は、対象（例えば、ヒトまたは非ヒト脊椎動物）において抗原に対する増強された免疫応答を生じさせるための方法であって、対象に上記の細胞を投与することを含み、細胞が、対象においてバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を発現するか、または発現するように誘導され得る、方法をさらに提供する。一態様では、細胞は、対象のＭＨＣタンパク質と適合性のＭＨＣクラスＩＩ分子を含み、その結果、対象は、ＭＨＣクラスＩＩ分子に対する免疫応答を生じない。
【００２１】
さらなる一態様において、本開示は、抗原に対する増強された免疫応答を誘発するための方法であって、対象、例えばヒトまたは非ヒト脊椎動物に、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を投与することを含む方法を提供する。好ましくは、核酸分子は、対象の細胞に対して感染性である。例えば、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子は、ワクシニアベクターなどのウイルスベクターであってもよい。
【００２２】
本開示はまた、非ヒト脊椎動物において抗体を生成する方法であって、非ヒト脊椎動物に、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を注射する方法を含む。生成された抗体は、脊椎動物の血液から（ポリクローナルとして）単離され得、次いで、標準的な技術を使用してモノクローナル抗体を生成するためにさらに単離され得る。
【００２３】
本明細書に記載される方法は、診断および治療用途のための、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体を含む抗体の産生および／または最適化において使用され得る。そのような抗体を産生するハイブリドーマもまた、本開示のさらなる目的である。
【００２４】
本開示の特定の実施形態は、以下を含む：
１．単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：
ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメインと、前記ＬＡＭＰタンパク質に対して異種の抗原ドメインとを含むポリペプチド（集合的に「ＬＡＭＰ－抗原構築物」）をコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、前記抗原ドメインが前記２つの相同ドメインの間に配置されている、第１のポリヌクレオチド配列と
ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列
２．ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ　２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、実施形態１に記載の単離された核酸分子。
３．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、実施形態２に記載の単離された核酸分子。
４．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、実施形態１または２に記載の単離された核酸分子。
５．ＬＡＭＰタンパク質がＬＡＭＰ－１であり、ＬＡＭＰ－抗原構築物の２つの相同ドメインが、ＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、実施形態２に記載の単離された核酸分子。
６．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列を含むか、または

配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列もしくは配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号１９９のヌクレオチド配列もしくは配列番号１９９のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態５に記載の単離された核酸分子。

７．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２が、配列番号１の残基２２８～３８１もしくは配列番号１の残基２２８～３８２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号２０２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２２８～３８１のアミノ酸配列もしくは配列番号２０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号２０３のヌクレオチド配列もしくは配列番号２０３のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態５または６に記載の単離された核酸分子。

８．ＬＡＭＰ－抗原構築物が、２つの相同ドメインの少なくとも１つと抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、実施形態１～７のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

９．リンカーがＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、実施形態８に記載の単離された核酸分子。

１０．ＬＡＭＰ－抗原構築物が、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、実施形態１～９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１１．膜貫通ドメインが配列番号１の残基３８３～４０５を含む、実施形態１０に記載の単離された核酸分子。

１２．ＬＡＭＰ－抗原構築物がシグナル配列をさらに含む、実施形態１～１１のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１３．シグナル配列がＬＡＭＰタンパク質に由来する、実施形態１２に記載の単離された核酸分子。

１４．ＬＡＭＰ－抗原構築物が、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、実施形態１から１３のいずれか１つに記載の単離核酸分子。

１５．細胞質ドメインが配列番号１の残基４０６～４１７を含む、実施形態１４に記載の単離された核酸分子。

１６．ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３のうちの１つもしくは複数を含む（または、配列番号１３３、１４５、１４７、１４９、１５１、１５５、１５９、１６５、１６９、１７３、１７７、１８１、１８９、１９１、２０４、２３８、２４２、２４３、２５２、もしくは２５３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一のアミノ酸配列を含む）、またはその細胞外ドメインを含み、任意選択で、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、もしくはＩＬ－１５が、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されているか、あるいは単離された核酸分子が、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３をコードするヌクレオチド配列を含み、任意選択で、Ｆｃドメインに融合されており、ヌクレオチド配列が、配列番号１３４、１４６、１４８、１５０、１５２、１６０、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１９０、１９２、２０５、２３９、２４４、もしくは８８１のうちのいずれか１つのものと

少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一である、実施形態１～１５のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１７．分泌シグナル配列がＩＲＥＧに対して異種である、実施形態１～１６のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１８．分泌シグナル配列がＩｇＫＶＩＩＩ（例えば配列番号１２２）、Ｉｇ－カッパ（例えば配列番号１２０）、テトラネクチン、またはＩＬ－２に由来し、および／または第２のポリペプチドが肺サーファクタント関連プロテインＤ（ＳＰＤ）（例えば配列番号１３１）をさらに含む、実施形態１７に記載の単離されたポリペプチド。

１９．第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、実施形態１８に記載の単離された核酸分子。

２０．実施形態１～１８のいずれか１つに記載の単離された核酸分子を含む、組成物。

２１．実施形態１～１８のいずれか１つに記載の単離された核酸を含む宿主細胞。

２２．実施形態２０に記載の宿主細胞を含む組成物。

２３．疾患もしくは障害を有する対象を治療する、または疾患もしくは障害を有する対象において免疫応答を誘導する、または疾患もしくは障害を発症するリスクがある対象において免疫応答を誘導する方法であって、対象に、実施形態１～１８のいずれか１つに記載の単離核酸分子、実施形態１９に記載の組成物、または実施形態２０に記載の宿主細胞を、対象において疾患もしくは障害を治療する、または免疫応答を誘導するのに十分な量で投与することを含む、方法。

２４．少なくとも１つの第２の治療薬を対象に投与することをさらに含む、実施形態２３に記載の方法。

２５．単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：

ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメイン、およびＨＥＲ２細胞外ドメインを含む抗原性ドメイン（集合的に「ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ」）を含むポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、抗原性ドメインが２つのＬＡＭＰ相同ドメインの間に配置される、第１のポリヌクレオチド配列と；

ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列。

２６．ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ　２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、実施形態２５に記載の単離された核酸分子。

２７．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、実施形態２６に記載の単離された核酸分子。

２８．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、実施形態２５または２６に記載の単離された核酸分子。

２９．ＬＡＭＰタンパク質がＬＡＭＰ－１であり、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰの２つの相同ドメインがＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、実施形態２６に記載の単離された核酸分子。

３０．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列もしくは配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号１９９のヌクレオチド配列もしくは配列番号１９９のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくと

も９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態２９に記載の単離された核酸分子。

３１．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２が、配列番号１の残基２２８～３８１もしくは２２８～３８２のアミノ酸配列、または配列番号１の残基２２８～３８２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号２０２のアミノ酸配列、配列番号１の残基２２８～３８１のアミノ酸配列または配列番号２０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号２０３のヌクレオチド配列、または配列番号２０３のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態２９または３０に記載の単離された核酸分子。

３２．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、２つの相同性ドメインのうちの少なくとも１つと抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、実施形態２５～３１のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

３３．リンカーがＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、実施形態３２に記載の単離された核酸分子。

３４．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、実施形態２５から３３のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

３５．前記膜貫通ドメインが、配列番号１の残基３８３～４０５を含む、実施形態３４に記載の単離された核酸分子。

３６．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰがシグナル配列をさらに含む、実施形態２５～３５のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

３７．シグナル配列がＬＡＭＰタンパク質に由来する、実施形態３６に記載の単離された核酸分子。

３８．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、実施形態２５から３７のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

３９．前記細胞質ドメインが、配列番号１の残基４０６～４１７を含む、実施形態３８に記載の単離された核酸分子。

４０．抗原ドメインが、配列番号２００のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる、実施形態２５～３９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

４１．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰが、配列番号１もしくは配列番号２０２の残基１～１９４のアミノ酸配列、続いて配列番号２００のアミノ酸配列、続いて配列番号１もしくは配列番号１９８の残基２２８～３８１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる、実施形態２５～４０のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

４２．ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、またはＩＬ－３３のうちの１つもしくは複数を含む（または、配列番号１３３、１４５、１４７、１４９、１５１、１５５、１５９、１６５、１６９、１７３、１７７、１８１、１８９、１９１、１９３、２０４、２３８、２４２、２４３、２５２、または２５３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、または１００％同一のアミノ酸配列を含む）、またはその細胞外ドメインを含み、任意選択で、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、もしくはＩＬ－１５が、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されているか、あるいは単離された核酸分子が、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３をコードするヌクレオチド配列を含み、任意選択で、Ｆｃドメインに融合されており、ヌクレオチド配列が、配列番号１３４、

１４６、１４８、１５０、１５２、１６０、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１９０、１９２、１９４、２０５、２３９、２４４、もしくは８８１のうちのいずれか１つのものと少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一である、実施形態２５～４１のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

４３．分泌シグナル配列がＩＲＥＧに対して異種である、実施形態２５～４２のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

４４．分泌シグナル配列が、ＩｇＫＶＩＩＩ（例えば、配列番号１２２）、Ｉｇ－カッパ（例えば、配列番号１２０）、テトラネクチン、またはＩＬ－２に由来する、実施形態４３に記載の単離された核酸分子。

４５．第２のポリペプチドが、ＳＰＤと可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）との融合物、ＳＰＤとＦｌｔ３Ｌとの融合物、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、Ｆｃドメインに融合したＯＸ４０Ｌ、Ｆｃドメインに融合したＣＤ８０、またはＩＬ－１５（例えば、配列番号２３３、２３８、２４２、もしくは２５２と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるか、もしくは１００％同一であるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１３１のアミノ酸配列とそれに続く配列番号２０４、１５１、１４５、１４７、１４９、１９３、１８１、１５５、１５９、１６９、２５２、もしくは２５３のうちの１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるか、もしくは１００％同一であるアミノ酸配列を含む）を含むか、または核酸が、ＳＰＤと可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）との融合物、ＳＰＤとＦｌｔ３Ｌとの融合物、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、Ｆｃドメインに融合したＯＸ４０Ｌ、Ｆｃドメインに融合したＣＤ８０、またはＩＬ－１５（例えば、配列番号１３２の配列とそれに続く配列番号２０５、１５２、１４６、１４８、１５０、１９４、１８２、１５６、１７０、もしくは８８１のうちの１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるか、もしくは１００％同一であるアミノ酸配列を含む）をコードするヌクレオチド配列を含む、実施形態２５～４４のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

４６．第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、実施形態４５に記載の単離された核酸分子。

４７．実施形態２５～４６のいずれか１つに記載の単離された核酸分子を含む、組成物。

４８．実施形態２５～４６のいずれか１つに記載の単離された核酸を含む宿主細胞。

４９．実施形態４８に記載の宿主細胞を含む組成物。

５０．癌を有する対象を治療する方法であって、実施形態２５～４６のいずれか１つに記載の単離された核酸分子、実施形態４７に記載の組成物、または実施形態４８に記載の宿主細胞を、癌を治療するのに、または対象において癌に対する免疫応答を誘導するのに十分な量で対象に投与することを含む、方法。

５１．少なくとも１つの第２の治療薬を対象に投与することをさらに含む、実施形態５０に記載の方法。

５２．単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：

ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメインと、コロナウイルススパイクタンパク質抗原を含む抗原性ドメインとを含むポリペプチド（集合的に「Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ」）をコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、抗原性ドメインが２つのＬＡＭＰ相同ドメインの間に配置されている、第１のポリヌクレオチド配列と；

ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列。

５３．ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜

内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、実施形態５２に記載の単離された核酸分子。

５４．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、実施形態５３に記載の単離された核酸分子。

５５．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、実施形態５２または５３に記載の単離された核酸分子。

５６．ＬＡＭＰタンパク質がＬＡＭＰ－１であり、Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰの２つの相同ドメインがＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、実施形態５３に記載の単離された核酸分子。

５７．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列もしくは配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号１９９のヌクレオチド配列もしくは配列番号１９９のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態５６に記載の単離された核酸分子。

５８．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２は、配列番号１の残基２２８～３８１もしくは２２８～３８２、または配列番号１の残基２２８～３８２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号２０２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２２８～３８１のアミノ酸配列もしくは配列番号２０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、またはここで、核酸分子が、配列番号２０３のヌクレオチド配列、または配列番号２０３のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態５６または５７に記載の単離された核酸分子。

５９．Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰが、２つの相同ドメインの少なくとも１つと抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、実施形態５２～５８のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

６０．リンカーがＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、実施形態５９に記載の単離された核酸分子。

６１．Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、実施形態５２から６０のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

６２．前記膜貫通ドメインが、配列番号１の残基３８３～４０５を含む、実施形態６１に記載の単離された核酸分子。

６３．Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰがシグナル配列をさらに含む、実施形態５２～６２のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

６４．シグナル配列がＬＡＭＰタンパク質に由来する、実施形態６３に記載の単離された核酸分子。

６５．前記Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、実施形態５２～６４のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

６６．前記細胞質ドメインが、配列番号１の残基４０６～４１７を含む、実施形態６５に記載の単離された核酸分子。

６７．前記抗原性ドメインが、Ｓｐｉｋｅ　Ｓ１および／またはＳ２、または配列番号１１８もしくは１１９の配列を含むアミノ酸配列を含む、実施形態５２～６６のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

６８．Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰが、配列番号１もしくは配列番号２０２の残基１～１９４のアミノ酸配列、続いて配列番号２３１のアミノ酸配列、続いて配列番号１もしくは配列番号１９８の残基２２８～３８１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる、実施形態５２～６７のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

６９．ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、またはＩＬ－３３のうちの１つもしくは複数を含む（または、配列番号１３３、１４５、１４７、１４９、１５１、１５５、１５９、１６５、１６９、１７３、１７７、１８１、１８９、１９１、２０４、２３８、２４２、２４３、２５２、もしくは２５３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一のアミノ酸配列を含む）、またはその細胞外ドメインを含み、任意選択で、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、もしくはＩＬ－１５が、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されているか、あるいは単離された核酸分子が、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３をコードするヌクレオチド配列を含み、任意選択で、Ｆｃドメインに融合されており、ヌクレオチド配列が、配列番号１３４、１４６、１４８、１５０、１５２、１６０、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１９０、１９２、２０５、２３９、２４４、もしくは８８１のうちのいずれか１つのものと少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一である、実施形態５２～６８のいずれか１つの単離核酸分子。

７０．第２のポリペプチドがＳＰＤ－ｓＣＤ４０Ｌ融合ポリペプチドを含む、実施形態５２～６８のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

７１．前記分泌シグナル配列が、前記ＩＲＥＧに対して異種である、実施形態５２～７０のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

７２．分泌シグナル配列がＳＰＤに由来する、実施形態７１に記載の単離された核酸分子。

７３．第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、実施形態５２～７２のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

７４．実施形態５２～７３のいずれか１つに記載の単離された核酸分子を含む、組成物。

７５．実施形態５２～７３のいずれか１つに記載の単離された核酸を含む宿主細胞。

７６．実施形態７５に記載の宿主細胞を含む組成物。

７７．ＣＯＶＩＤ－１９などのコロナウイルス感染を有するか、またはそれを発症するリスクを有する対象を治療する方法であって、ＣＯＶＩＤ－１９などのコロナウイルス感染の症状の発症を治療もしくは予防するか、またはその重篤度を軽減するのに十分な量で、実施形態５２～７３のいずれか１つに記載の単離された核酸分子、実施形態７４に記載の組成物、または実施形態７５に記載の宿主細胞を対象に投与することを含む、方法。

７８．対象においてＳＡＲＳ　Ｃｏ－Ｖ２などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導する方法であって、対象においてＳＡＲＳ　Ｃｏ－Ｖ２などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導するのに十分な量で、実施形態５２～７３のいずれか１つに記載の単離された核酸分子、実施形態７４に記載の組成物、または実施形態７５に記載の宿主細胞を対象に投与することを含む、方法。

７９．単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：

ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメインと、ＮＹ－ＥＳＯ１またはＣＤ１６１タンパク質抗原を含む抗原性ドメインとを含むポリペプチド（「ＮＹ－ＥＳＯ１－ＬＡＭＰ」または「ＣＤ１６１－ＬＡＭＰ」ＬＡＭＰ－抗原構築物）をコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、抗原性ドメインが２つのＬＡＭＰ相同ドメインの間に配置される、第１のポリヌクレオチド配列と；

ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列。

８０．ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、実施形態７９に記載の単離された核酸分子。

８１．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、実施形態８０に記載の単離された核酸分子。

８２．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、実施形態７９または８０に記載の単離された核酸分子。

８３．ＬＡＭＰタンパク質がＬＡＭＰ－１であり、ＮＹ－ＥＳＯ１－ＬＡＭＰまたはＣＤ１６１－ＬＡＭＰの２つの相同ドメインが、ＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、実施形態７９に記載の単離された核酸分子。

８４．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列もしくは配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号１９９のヌクレオチド配列もしくは配列番号１９９のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態８３に記載の単離された核酸分子。

８５．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２が、配列番号１の残基２２８～３８１もしくは２２８～３８２のアミノ酸配列、または配列番号１の残基２２８～３８２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号２０２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２２８～３８１のアミノ酸配列または配列番号２０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号２０３のヌクレオチド配列、または配列番号２０３のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態８３または８４に記載の単離された核酸分子。

８６．ＬＡＭＰ－抗原構築物が、２つの相同ドメインの少なくとも１つと抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、実施形態７９～８５のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

８７．リンカーがＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、実施形態８６に記載の単離された核酸分子。

８８．ＬＡＭＰ－抗原構築物が、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、実施形態７９～８７のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

８９．前記膜貫通ドメインが、配列番号１の残基３８３～４０５を含む、実施形態８８

に記載の単離された核酸分子。
９０．ＬＡＭＰ－抗原構築物がシグナル配列をさらに含む、実施形態７９～８９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
９１．シグナル配列がＬＡＭＰタンパク質に由来する、実施形態９０に記載の単離された核酸分子。
９２．ＬＡＭＰ－抗原構築物が、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、実施形態７９～９１のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
９３．前記細胞質ドメインが、配列番号１の残基４０６～４１７を含む、実施形態９２に記載の単離された核酸分子。
９４．ＬＡＭＰ－抗原構築物が、配列番号１もしくは配列番号２０２の残基１～１９４のアミノ酸配列、続いて配列番号２２３のアミノ酸配列、続いて配列番号１もしくは配列番号１９８の残基２２８～３８１のアミノ酸配列、または配列番号１もしくは配列番号２０２の残基１～１９４のアミノ酸配列、続いて配列番号２３６のアミノ酸配列、続いて配列番号１もしくは配列番号１９８の残基２２８～３８１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる、実施形態７９～９３のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
９５．ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３のうちの１つもしくは複数を含む（または配列番号１３３、１４５、１４７、１４９、１５１、１５５、１５９、１６５、１６９、１７３、１７７、１８１、１８９、１９１、２０４、２３８、２４２、２４３、２５２、もしくは２５３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一のアミノ酸配列を含む）、またはその細胞外ドメインを含み、任意選択で、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、もしくはＩＬ－１５が、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されているか、あるいは単離された核酸分子が、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３をコードするヌクレオチド配列を含み、任意選択で、Ｆｃドメインに融合されており、ヌクレオチド配列が、配列番号１３４、１４６、１４８、１５０、１５２、１６０、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１９０、１９２、２０５、２３９、２４４、もしくは８８１のうちのいずれか１つのものと少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一である、実施形態７９～９４のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
９６．第２のポリペプチドが、ＳＰＤ－ｓＣＤ４０Ｌ融合ポリペプチドまたはＩＬ－１５ポリペプチド（例えば、配列番号２３３または１６９または２２５）を含む、実施形態７９～９５のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
９７．前記分泌シグナル配列が、前記ＩＲＥＧに対して異種である、実施形態７９～９６のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
９８．前記分泌シグナル配列が、ＳＰＤに由来するか、または配列番号１２０または１２２を含む、実施形態９７に記載の単離された核酸分子。
９９．第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、実施形態７９～９８のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１００．実施形態７９～９９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子を含む、組成物。
１０１．実施形態７９～９９のいずれか１つに記載の単離された核酸を含む宿主細胞。
１０２．実施形態１０１に記載の宿主細胞を含む組成物。
１０３．免疫応答を誘導することを必要とする対象において免疫応答を誘導する方法であって、対象に、ある量の実施形態７９～９９のいずれか１つに記載の単離された核酸分

子、実施形態１００に記載の組成物、または実施形態１０１に記載の宿主細胞を、対象において免疫応答を誘導するのに十分な量で投与することを含む、方法。

１０４．単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：

ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメインと、配列番号２９１、２９２、または２９３を含むものなどのｐｐ６５抗原を含み、任意選択で、配列番号２９４、２９５、２９６、または２９７を含むものなどのｇＢ抗原および配列番号２９８、２９９、または３００を含むものなどの１つまたは両方のＩＥ１抗原をさらに含み、任意選択で、ｐｐ６５とｇＢおよび／または１Ｅ１抗原配列との間にリンカーペプチドを含む抗原性ドメイン（集合的に「ｐｐ６５－ＬＡＭＰ」）とを含むポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、抗原性ドメインが２つのＬＡＭＰ相同ドメインの間に配置される、第１のポリヌクレオチド配列と；

ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列。

１０５．ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、実施形態１０４に記載の単離された核酸分子。

１０６．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、実施形態１０５に記載の単離された核酸分子。

１０７．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、実施形態１０４または１０５に記載の単離された核酸分子。

１０８．ＬＡＭＰタンパク質がＬＡＭＰ－１であり、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰの２つの相同ドメインがＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、実施形態１０５に記載の単離された核酸分子。

１０９．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９９の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列と、もしくは配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列と、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号１９９のヌクレオチド配列、もしくは配列番号のヌクレオチド配列と、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態１０８に記載の単離された核酸分子。

１１０．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２が、配列番号１の残基２２８～３８１もしくは２２８～３８２のアミノ酸配列、または配列番号１の残基２２８～３８２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号２０２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２２８～３８１のアミノ酸配列または配列番号２０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号２０３のヌクレオチド配列、または配列番号２０３のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられている）、実施形態１０８または１０９に記載の単離された核酸分子。

１１１．ｐｐ６５－ＬＡＭＰが、２つの相同ドメインの少なくとも１つと抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、実施形態１０４～１１０のいずれか１つに記載の単離された

核酸分子。
１１２．リンカーが、ＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、実施形態１１１に記載の単離された核酸分子。
１１３．ｐｐ６５－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、実施形態１０４から１１２のいずれか1つに記載の単離された核酸分子。
１１４．前記膜貫通ドメインが、配列番号１の残基３８３～４０５を含む、実施形態１１３に記載の単離された核酸分子。
１１５．ｐｐ６５－ＬＡＭＰがシグナル配列をさらに含む、実施形態１０４から１１４のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１１６．シグナル配列がＬＡＭＰタンパク質に由来する、実施形態１１５に記載の単離された核酸分子。
１１７．ｐｐ６５－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、実施形態１０４から１１６のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１１８．前記細胞質ドメインが、配列番号１の残基４０６～４１７を含む、実施形態１１７に記載の単離された核酸分子。
１１９．ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３のうちの１つもしくは複数を含む（または、配列番号１３３、１４５、１４７、１４９、１５１、１５５、１５９、１６５、１６９、１７３、１７７、１８１、１８９、１９１、２０４、２３８、２４２、２４３、２５２、もしくは２５３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一のアミノ酸配列を含む）、またはその細胞外ドメインを含み、任意で、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、もしくはＩＬ－１５が、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されているか、あるいは単離された核酸分子が、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３をコードするヌクレオチド配列を含み、任意選択で、Ｆｃドメインに融合されており、ヌクレオチド配列が、配列番号１３４、１４６、１４８、１５０、１５２、１６０、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１９０、１９２、２０５、２３９、２４４、もしくは８８１のうちのいずれか１つのものと少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一である、実施形態１０４～１１８のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１２０．分泌シグナル配列がＩＲＥＧに対して異種である、実施形態１０４～１１９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１２１．分泌シグナル配列が、ＩｇＫＶＩＩＩ（例えば、配列番号１２２）、Ｉｇ－カッパ（例えば、配列番号１２０）、テトラネクチン、またはＩＬ－２に由来する、実施形態１２０に記載の単離された核酸分子。
１２２．第２のポリペプチドが、ＳＰＤと可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）との融合物、ＳＰＤとＦｌｔ３Ｌとの融合物、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、Ｆｃドメインに融合したＯＸ４０Ｌ、Ｆｃドメインに融合したＣＤ８０、またはＩＬ－１５（例えば、配列番号１３１と、それに続く配列番号２０４、１５１、１４５、１４７、１４９、１９３、１８１、１５５、１５９、１６９、２５２、もしくは２５３のうちの１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるか、もしくは１００％同一であるアミノ酸配列を含む）を含むか、またはＳＰＤと可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）との融合物、ＳＰＤとＦｌｔ３Ｌとの融合物、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、Ｆｃドメインに融合したＯＸ４０Ｌ、Ｆｃドメインに融合したＣＤ８０、またはＩＬ－１５（例えば、配列番号１３２と、それに続く配列番号２０５、１５２、１４６、１４８、１５０、１９４、１８２、１５

６、１７０、もしくは８８１のうちの１つの配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるか、もしくは１００％同一であるアミノ酸配列を含む）を含む、実施形態１０４～１２１のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１２３．第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、実施形態１２２に記載の単離された核酸分子。

１２４．実施形態１０４～１２３のいずれか１つに記載の単離された核酸分子を含む、組成物。

１２５．実施形態１０４～１２３のいずれか１つに記載の単離された核酸を含む宿主細胞。

１２６．実施形態１２５に記載の宿主細胞を含む組成物。

１２７．癌を有する対象を治療する方法であって、実施形態１０４～１２３のいずれか１つに記載の単離された核酸分子、実施形態１２４に記載の組成物、または実施形態１２５に記載の宿主細胞を、癌を治療するのに十分な量で、または対象において癌に対する免疫応答を誘導するのに十分な量で、対象に投与することを含む、方法。

１２８．少なくとも１つの第２の治療薬を対象に投与することをさらに含む、実施形態１２７に記載の方法。

１２９．癌が、膠芽腫、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、および頭頸部癌から選択される、実施形態１２７または１２８に記載の方法。

１３０．単離された核酸分子であって、以下を含む核酸分子：

ａ．ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメインと、配列番号２５４、２５５、または２５６のアミノ酸配列を含むものなどのラージＴ抗原を含む抗原性ドメインとを含むポリペプチド（「ラージＴ－ＬＡＭＰ」）をコードする第１のポリヌクレオチド配列であって、抗原性ドメインが２つのＬＡＭＰ相同ドメインの間に配置されている、第１のポリヌクレオチド配列と；

ｂ．免疫応答増強遺伝子ポリペプチド（ＩＲＥＧ）または分泌シグナル配列を含むＩＲＥＧの細胞外ドメインを含む少なくとも１つの第２のポリペプチドをコードする第２のポリペプチド配列。

１３１．ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、リソソーム膜内在性タンパク－２（「ＬＩＭＰ２」）、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、または辺縁系関連膜タンパク（「ＬＩＭＢＩＣ」）から選択される、実施形態１３０に記載の単離された核酸分子。

１３２．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、実施形態１３１に記載の単離された核酸分子。

１３３．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である、実施形態１３０または１３１に記載の単離された核酸分子。

１３４．ＬＡＭＰタンパク質がＬＡＭＰ－１であり、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰの２つの相同ドメインがＬＡＭＰ－１相同ドメイン１およびＬＡＭＰ－１相同ドメイン２を含む、実施形態１３１に記載の単離された核酸分子。

１３５．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１が、配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列を含むか、または配列番号１の残基２９～１９４のアミノ酸配列または配列番号１９８の残基２９～１９５のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が配列番号１９９のヌクレオチド配列、または配列番号１９９のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられる）、実施形態１

３４に記載の単離された核酸分子。
１３６．ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン２が、配列番号１の残基２２８～３８１もしくは２２８～３８２のアミノ酸配列、または配列番号１の残基２２８～３８２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号２０２のアミノ酸配列を含むか、または配列番号1の残基２２８～３８１のアミノ酸配列もしくは配列番号２０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、または核酸分子が、配列番号２０３のヌクレオチド配列、または配列番号２０３のヌクレオチド配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む（ここで、ヌクレオチド配列がＲＮＡである場合、ＴはＵで置き換えられる）、実施形態１３４または１３５に記載の単離された核酸分子。
１３７．前記ラージＴ－ＬＡＭＰが、前記２つの相同ドメインのうちの少なくとも１つと前記抗原性ドメインとの間にリンカーを含む、実施形態１３０～１３６のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１３８．リンカーが、ＧＰＧＰＧまたはＰＭＧＬＰのアミノ酸配列を含む、実施形態１３７に記載の単離された核酸分子。
１３９．ラージＴ－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、実施形態１３０～１３８のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１４０．前記膜貫通ドメインが、配列番号１の残基３８３～４０５を含む、実施形態１４０に記載の単離された核酸分子。
１４１．ｐｐ６５－ＬＡＭＰがシグナル配列をさらに含む、実施形態１３０～１４０のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１４２．シグナル配列がＬＡＭＰタンパク質に由来する、実施形態１４１に記載の単離された核酸分子。
１４３．ラージＴ－ＬＡＭＰが、ＬＡＭＰタンパク質の細胞質ドメインをさらに含む、実施形態１３０～１４２のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１４４．前記細胞質ドメインが、配列番号１の残基４０６～４１７を含む、実施形態１４３に記載の単離された核酸分子。
１４５．ＩＲＥＧが、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３のうちの１つもしくは複数を含む（または、配列番号１３３、１４５、１４７、１４９、１５１、１５５、１５９、１６５、１６９、１７３、１７７、１８１、１８９、１９１、２０４、２３８、２４２、２４３、２５２、もしくは２５３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一のアミノ酸配列を含む）、またはその細胞外ドメインを含み、任意選択で、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、もしくはＩＬ－１５が、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合されているか、あるいは単離された核酸分子が、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３をコードするヌクレオチド配列を含み、任意選択で、Ｆｃドメインに融合されており、ヌクレオチド配列が、配列番号１３４、１４６、１４８、１５０、１５２、１６０、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１９０、１９２、２０５、２３９、２４４、もしくは８８１のうちのいずれか１つのものと少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一、もしくは１００％同一である、実施形態１３０～１４４のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。
１４６．分泌シグナル配列がＩＲＥＧに対して異種である、実施形態１３０～１４５のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１４７．分泌シグナル配列が、ＩｇＫＶＩＩＩ（例えば、配列番号１２２）、Ｉｇ－カッパ（例えば、配列番号１２０）、テトラネクチン、またはＩＬ－２に由来する、実施形態１４６に記載の単離された核酸分子。

１４８．第２のポリペプチドが、ＳＰＤと可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）との融合物、ＳＰＤとＦｌｔ３Ｌとの融合物、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、Ｆｃドメインに融合したＯＸ４０Ｌ、Ｆｃドメインに融合したＣＤ８０、またはＩＬ－１５（例えば、配列番号２３３、２３８、２４２、または２５２のアミノ酸配列と、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一であるか、または１００％同一であるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１３１と、それに続く配列番号２０４、１５１、１４５、１４７、１４９、１９３、１８１、１５５、１５９、１６９、２５２、または２５３のいずれかのアミノ酸配列と、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一であるか、または１００％同一であるアミノ酸配列を含む）を含むか、またはＳＰＤと可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）との融合物、ＳＰＤとＦｌｔ３Ｌとの融合物、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、Ｆｃドメインに融合したＯＸ４０Ｌ、Ｆｃドメインに融合したＣＤ８０、またはＩＬ－１５（例えば、配列番号１３２と、それに続く配列番号２０５、１５２、１４６、１４８、１５０、１９４、１８２、１５６、１７０、もしくは８８１のうちの１つの配列と、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％同一であるか、もしくは１００％同一であるヌクレオチド配列を含む）をコードするヌクレオチド配列を含む、実施形態１３０～１４７のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１４９．第２のポリペプチドが、配列番号１２４のプロモーターなどのＥＦ－１αコアプロモーターの制御下で発現される、実施形態１４８に記載の単離された核酸分子。

１５０．実施形態１３０～１４９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子を含む、組成物。

１５１．実施形態１３０～１４９のいずれか１つに記載の単離された核酸を含む宿主細胞。

１５２．実施形態１５１に記載の宿主細胞を含む組成物。

１５３．癌を有する対象を治療する方法であって、実施形態１３０～１４９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子、実施形態１５０に記載の組成物、または実施形態１５１に記載の宿主細胞を、癌を治療するのに十分な量で、または対象において癌に対する免疫応答を誘導するのに十分な量で、対象に投与することを含む、方法。

１５４．少なくとも１つの第２の治療薬を対象に投与することをさらに含む、実施形態１５３に記載の方法。

１５５．癌が、メルケル細胞癌などの皮膚癌である、実施形態１５３または１５４に記載の方法。

１５６．ＤＮＡ、ｍＲＮＡ、または自己増幅ＲＮＡを含む、実施形態１～１９、２５～４６、５２～７３、７９～９９、１０４～１２３、または１３０～１４９のいずれか１つに記載の単離された核酸分子。

１５７．実施形態１～１９、２５～４６、５２～７３、または７９～９９、１０４～１２３、または１３０～１４９のいずれか１つの単離された核酸によってコードされるポリペプチドのセット。

【００２５】

さらなる目的および利点は、以下の説明に部分的に記載され、部分的には、説明から理解されるか、または実践によって習得され得る。目的および利点は、添付の特許請求の範囲において特に指摘される要素および組合せによって実現され、達成される。

【００２６】

前述の一般的な説明および以下の詳細な説明の両方は、例示的かつ説明的なものにすぎず、特許請求の範囲を限定するものではないことを理解されたい。

【００２７】

本明細書に組み込まれ、その一部を構成する添付の図面は、１つ（いくつか）の実施形態を示し、説明とともに、本明細書に記載される原理を説明する役割を果たす。

【００２８】

本開示の目的および特徴は、以下の詳細な説明および添付の図面を参照してよりよく理解することができる。

【図面の簡単な説明】

【００２９】

【図１】図１は、本明細書に記載されるように使用することができる、異なるタイプの改善されたＬＡＭＰ－抗原構築物（ＩＬＣ－１、ＩＬＣ－２、ＩＬＣ－３、ＩＬＣ－４、ＩＬＣ－５、およびＩＬＣ－６として同定される）の一般的なスキームを例示する。特定の骨格構築物は、米国特許第１１，２０３，６２９号にさらに記載されており、その開示は、その全体が参照により組み込まれる。

【００３０】

【図２】図２Ｂは、本明細書で定義されるＬＡＭＰタンパク質のドメインを示し、図２Ａは、ヒトＬＡＭＰ－１（配列番号１）、ヒトＬＡＭＰ－２（配列番号２）、ヒトＬＡＭＰ－３（配列番号３）、ヒトＬＩＭＰ－２（配列番号４）、ヒトＥｎｄｏｌｙｎ（配列番号５）、ヒトマクロシアリン（配列番号８０）、ヒトＬＡＭＰ－５（配列番号９３）およびヒトＬＩＭＢＩＣ（配列番号６７）についてのこれらのドメインの特定のアミノ酸境界を定義する。本明細書に記載されるように、ＬＡＭＰ内腔ドメイン、相同性ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞質尾部およびシグナル配列を使用して、本明細書に記載されるようなバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を生成することができる。

【００３１】

【図３】図３は、ヒトＬＡＭＰ－１（配列番号１）と比較した、他の種において見出されるＬＡＭＰ－１タンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の同等のドメインを用いて、本明細書に記載のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を作製することができ、図２および図３においてヒトＬＡＭＰ－１について同定されたドメインを図３に示すアラインメントと比較することによって容易に同定可能である。

【００３２】

【図４】図４は、ヒトＬＡＭＰ－２（配列番号２）と比較した、他の種において見出されるＬＡＭＰ－２タンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の同等のドメインを用いて、本明細書に記載のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を作製することができ、図２および図４においてヒトＬＡＭＰ－２について同定されたドメインを図４に示すアラインメントと比較することによって容易に同定可能である。

【００３３】

【図５】図５は、ヒトＬＡＭＰ－３（配列番号３）と比較した、他の種において見出されるＬＡＭＰ－３タンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の同等のドメインを用いて、本明細書に記載のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を作製することができ、図２および図５においてヒトＬＡＭＰ－３について同定されたドメインを図５に示すアラインメントと比較することによって容易に同定可能である。

【００３４】

【図６】図６は、ヒトＬＩＭＰ－２（配列番号４）と比較した、他の種において見出されるＬＩＭＰ－２タンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の等価なドメインは、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を生成するために使用され得、そして図２および図６においてヒトＬＩＭＰ－２について同定されたドメインを、図６に示されるアラインメントと比較することによって容易に同定可能である。

【００３５】

【図７】図７は、ヒトＬＩＭＢＩＣ（配列番号６７）と比較した、他の種において見出されるＬＩＭＢＩＣタンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の等価なドメインを用いて、本明細書に記載のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を作製することができ、図２および図７においてヒトＬＩＭＢＩＣについて同定されたドメインを図７に示す

アラインメントと比較することによって容易に同定可能である。
【００３６】
【図８】図８は、ヒトＥｎｄｏｌｙｎ（配列番号５）と比較した、他の種に見られるＥｎｄｏｌｙｎタンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の同等のドメインを用いて、本明細書に記載のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を作製することができ、図２および図８においてヒトＥｎｄｏｌｙｎについて同定されたドメインを図８に示すアラインメントと比較することによって容易に同定可能である。
【００３７】
【図９】図９は、ヒトマクロシアリン（配列番号８０）と比較した、他の種に見られるマクロシアリンタンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の同等のドメインを使用して、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を生成することができ、図２および図９においてヒトマクロシアリンについて同定されたドメインを図９に示されるアラインメントと比較することによって容易に同定可能である。
【００３８】
【図１０】図１０は、ヒトＬＡＭＰ－５（配列番号９３）と比較した、他の種において見出されるＬＡＭＰ－５タンパク質のアラインメントを提供する。これらの他の種の同等のドメインを用いて、本明細書に記載のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を作製することができ、図２および図１０においてヒトＬＡＭＰ－５について同定されたドメインを図１０に示すアラインメントと比較することによって容易に同定可能である。
【００３９】
【図１１】図１１は、例示的なバイシストロニック構築物ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌの設計を示す。
【００４０】
【図１２】図１２は、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌワクチンでトランスフェクトした２９３Ｔ細胞の上清中のｓＣＤ４０Ｌの検出を示す。星印は、ｓＣＤ４０Ｌの存在を示すタンパク質バンドを示す。ビオチン化抗ＣＤ４０Ｌ抗体を用いた免疫沈降実験を使用して、対照２９３Ｔ細胞、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌをトランスフェクトした２９３Ｔ細胞、またはＧＦＰを発現する対照ベクターをトランスフェクトした２９３Ｔ細胞においてｓＣＤ４０Ｌを検出した。細胞培養上清をインプット（Ｉ）として使用した。フロースルー（ＦＴ）は、ビオチン化抗ＣＤ４０Ｌに結合しなかったタンパク質を示し、一方、結合（Ｂ）は、ビオチン化抗ＣＤ４０Ｌ抗体に結合したタンパク質を示す。
【００４１】
【図１３】図１３Ａ～Ｄは、ＩＴＩ－バイシストロニックワクチンまたは２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンの１回の免疫（図１３Ａ～Ｂ）または２回の免疫（図１３Ｃ～Ｄ）後のマウスにおけるスパイク特異的Ｔ細胞性応答の検出を示す。図１３Ａおよび１３Ｃ：ＥＬＩＳＰＯＴ。図１３Ｂおよび１３Ｄ：スポット数。ＣＶ＝対照ベクター（プラスミド単独）。ＳＦＣ＝スポット形成細胞。スチューデントＴ検定を使用して有意性を決定した。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１。
【００４２】
【図１４】図１４は、フローサイトメトリーによるスパイク特異的ＣＤ４およびＣＤ８Ｔ細胞の検出を示す。ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞応答の両方が、２－Ｖワクチンでのワクチン接種後に増強された。
【００４３】
【図１５】図１５は、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞におけるＩＦＮγ、ＴＮＦα、およびＩＬ－２の細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）を示す。
【００４４】
【図１６】図１６Ａ～Ｆは、ＩＴＩ－バイシストロニックワクチンまたは２－Ｖワクチンのいずれかによる１回の免疫化（図１６Ａ、１６Ｃ、および１６Ｅ）対２回の免疫化（図１６Ｂ、１６Ｄ、および１６Ｆ）後のＳ１特異的抗体の測定値を示す。スチューデントＴ

検定を使用して有意性を決定した。

【００４５】

【図１７】図１７Ａ～Ｂ：トランスフェクトされた２９３Ｔ細胞の上清中のＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌの検出。図１７Ａは、ＥＬＩＳＡのためのｓＣＤ４０Ｌ標準曲線を示す。図１７Ｂは、上清中のｓＣＤ４０Ｌの検出を示す。対照細胞＝バイシストロニック構築物でトランスフェクションしていない細胞。

【００４６】

【図１８】図１８Ａ～Ｆは、バイシストロニックワクチンが、強いＴ細胞および抗体応答を誘発することができることを示す。図１８Ａは、マウスを、２０μｇの対照ベクター、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ、またはバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌを用いた皮内（ＩＤ）注射によって免疫化した、例示的なワクチン接種スケジュールを示す。図１８Ｂは、ＩＦＮγスポット形成細胞（ＥＬＩＳＰＯＴ）を示す。図１８Ｃは、平均ＩＦＮγスポット形成細胞＋ＳＥＭを示す。図１８Ｄ～Ｆは、ＥＬＩＳＡによるＨＥＲ２特異的総ＩｇＧ（図１８Ｄ）、ＩｇＧ１（図１８Ｅ）、およびＩｇＧ２ａ（図１８Ｆ）を示す；Ｎ＝７。一元配置ＡＮＯＶＡを統計分析に使用した。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【００４７】

【図１９】図１９Ａ～Ｂは、ＣＤ４およびＣＤ８　Ｔ細胞におけるサイトカインＩＦＮγ（ＩＦＮｇ）、ＴＮＦα（ＴＮＦａ）、およびＩＬ－２の細胞内染色を示す。図１９Ａは、染色された細胞の％を平均＋ＳＥＭとして示す。図１９Ｂは、代表的なＦＡＣＳプロットを示す。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１。

【００４８】

【図２０】図２０は、ＥＬＩＳＡによって決定されたＨＥＲ２特異的抗体応答を示す。

【００４９】

【図２１】図２１Ａ～Ｂは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、ＨＥＲ２発現乳房腫瘍からマウスを保護することを示す。図２１Ａは、ＥＬＩＳＰＯＴによる結果を示す。図２１Ｂは、キャリパーで測定した腫瘍サイズを示す。

【００５０】

【図２２】図２２Ａ～Ｂは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌがマウスにおいて生存を増強することを示す。図２２Ａは、実験計画の概略図である。図２２Ｂは、単一の実験における腫瘍チャレンジ後のマウス生存を示す。Ｎ＝１０。

【００５１】

【図２３】図２３は、免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ；ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＲＥＧ）を有するＨＥＲ２－ＬＡＭＰワクチンの腫瘍体積に対する効果を示す。ＩＲＥＧ＝ＣＤ４０Ｌ、Ｆｌｔ３Ｌ、ＩＬ－２１、ＩＬ－１２、およびＯＸ４０Ｌ。＊＊ｐ＜０．０１；＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【００５２】

【図２４】図２４は、マウス生存に対するＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＲＥＧの効果を示す。

【００５３】

【図２５】図２５は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５が、ＥＬＩＳＡによって決定されるように、強い抗原特異的抗体応答を誘導することを示す。１群当たりＮ＝５。統計分析にはｔ検定を用いた。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１。

【００５４】

【図２６】図２６は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５が、ＥＬＩＳＰＯＴによって決定されるような強いＴ細胞応答を誘発することを示す。データは、平均ＩＦＮγスポット形成細胞＋ＳＥＭを表す。Ｎ＝５。統計分析にはｔ検定を用いた。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１。

【００５５】

【図２７】図２７Ａ～Ｂは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５の２回の投与が、ＥＬＩＳＰＯＴによって決定されるような強いＴ細胞応答を誘発することを示す。データは、元の

スポット（図２７Ａ）および平均ＩＦＮγスポット形成細胞＋ＳＥＭ（図２７Ｂ）を表す。Ｎ＝５。統計分析にはｔ検定を用いた。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．０００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【００５６】

【図２８】図２８Ａ～Ｃは、ＳＡＲＳ　ＣｏＶ－２　Ｓ１スパイクタンパク質を含む第１世代バイシストロニックＬＡＭＰ構築物に関する。図２８Ａは、標的抗原としてＳＡＲＳ　ＣｏＶ－２　Ｓ１スパイクタンパク質の断片を含み、分泌のための第２の抗原としてＩｇ－カッパリーダー（分泌シグナル）に作動可能に連結されたＳＡＲＳ　ＣｏＶ－２　Ｓ２スパイクタンパク質を発現するための発現カセットを含む第１世代バイシストロニックＬＡＭＰ構築物（ＩＬＣ－４に基づく）をコードするベクター（バイシストロニック－Ｓ１－ＬＡＭＰ－ＥＦ１　ＩｇＫ－Ｓ　２Ｐ；７４２７　ｂｐ）の一般的なスキームを示す。図２８Ｂは、第１世代ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤバイシストロニック構築物の別の表示（環状プラスミドとして）であり、配列をコードするポリヌクレオチドの配置の代表的であるが好ましい例を示す。図２８Ｃは、第１世代ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤバイシストロニック構築物の完全ポリヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドドメインを示す。

【００５７】

【図２９】図２９Ａ～Ｄは、対照（ＣＶ）および非バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰベクターと比較した、マウスＴＳＡ乳癌モデルにおいてＤＮＡベクターとして投与されたバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（可溶性ＣＤ４０リガンド）による腫瘍成長の抑制を示す。図２９Ａは、実験プロトコルを示す。図２９Ｂは、各マウスについての腫瘍増殖の変化を示し、図２９Ｃは、各群（対照、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ）における７匹のマウスについての腫瘍増殖の変化を示す。対照（ＣＶ；一番上の曲線）は黒丸で示され、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ（図２９Ｃの中央の曲線）は黒四角で示され、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（図２９Ｃの一番下の曲線）は黒三角で示される。図２９Ｄは、実験の終了時に測定された腫瘍重量を示す（＊はｐ＜０．０５を示し、＊＊はｐ＜０．０１を示す）。

【００５８】

【図３０】図３０は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、対照ベクターと比較してＣＤ３＋メモリーＴ細胞の産生を誘導することを示す。

【００５９】

【図３１】図３１Ａ～Ｃは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰおよび対照ベクターと比較して、腫瘍微小環境へのＴ細胞の浸潤を促進することを示す。図３１Ａは、腫瘍を得て、洗浄し、解離した後の、腫瘍中のＣＤ３＋Ｔ細胞の数を示す。図３１Ｂは、ＣＤ４＋Ｔ細胞の数を示す。図３１Ｃは、ＣＤ８＋Ｔ細胞の数を示す。＊はｐ＜０．０５を示し、＊＊はｐ＜０．０１を示す。

【００６０】

【図３２】図３２Ａ～Ｃは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌベクターによって産生された可溶性ＣＤ４０リガンド（ｓＣＤ４０Ｌ）が、流入領域リンパ節においてＩＬ－１２を産生する１型樹状細胞（ＤＣ１）の活性化を増強することを示す。図３２Ａは、実験で使用したゲーティングプロトコルを示し、図３２Ｂは、ＣＤ８発現ＤＣ１細胞を示し、図３２Ｃは、ＩＬ－１２産生ＤＣ１細胞を示す。＊はｐ＜０．０５を示す。

【００６１】

【図３３】図３３Ａ～Ｂは、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、腫瘍微小環境において炎症性シグナルを活性化することを示す。具体的には、図３３Ａは、腫瘍を得て、洗浄し、解離した後の、腫瘍中のＣＤ４＋ＣＤ６９＋細胞の数を示し、図３３Ｂは、腫瘍中のＣＤ８＋ＣＤ６９＋細胞の数を示す。＊はｐ＜０．０５を示す。

【００６２】

【図３４】図３４Ａ～Ｂは、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、腫瘍微小環境においてＰＤ－１を産生するＴ細胞を促進することを示す。具体的には、図３３Ａは、腫瘍を得て、洗浄し、解離した後の、腫瘍中のＣＤ４＋ＰＤ－１＋細胞の数を

示し、図３３Ｂは、腫瘍中のＣＤ８＋ＰＤ－１＋細胞の数を示す。＊はｐ＜０．０５を示し、＊＊はｐ＜０．０１を示す。

【００６３】

【図３５】図３５は、脾細胞をＨＥＲ２細胞外ドメインのいくつかの異なるプールされたペプチドと共にインキュベートした後の、図２９Ａに記載されたプロトコールに従ったマウスからの脾細胞のＥＬＩＳＰＯＴ分析の結果を示す。結果は、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、対照またはＨＥＲ２－ＬＡＭＰ構築物よりも、ある特定のプールされたＨＥＲ２ペプチドに対してより強い応答を誘導したことを示す。

【００６４】

【図３６】図３６は、図２９Ａ～Ｃに記載されたものと並行した実験からの結果を示し、対照、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ群あたり５匹のマウスを用い、バイシストロニック構築物が他の２つの群よりも腫瘍増殖を抑制することを確認した（ｐ＜０．０５）。

【００６５】

【図３７】図３７Ａ～Ｄは、図３６に示される実験（図２９Ａのプロトコールに従う）からの脾細胞のＦＡＣＳ分析の結果を示し、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、脾臓において多機能性ＣＤ４エフェクターメモリーＴ細胞（「ＴＥＭ」細胞）を誘導することを示す。図３７Ａは、ＣＤ４　ＴＥＭ細胞のパーセンテージを示す。図３７Ｂは、ＣＤ８　ＴＥＭ細胞のパーセンテージを示す。ＩＦＮｇ、ＴＮＦａ、またはＩＦＮｇおよびＴＮＦａの両方を発現するＣＤ４またはＣＤ８　ＴＥＭ細胞の量を棒グラフで示す。残りの図のパネルは、ＩＦＮｇおよびＴＮＦａの両方を発現するＣＤ４　ＴＥＭ細胞（図３７Ｃ）またはＣＤ８　ＴＥＭ細胞（図３７Ｄ）による、プールされたＨＥＲ２ペプチドに対する応答を示す。＊Ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【００６６】

【図３８】図３８Ａ～Ｂは、図２９Ａのマウスｔｓａモデルにおいて ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ構築物から発現された可溶性ＣＤ４０Ｌが、脾臓におけるＤＣ１樹状細胞の活性化を増強することを示す。ＦＡＣＳゲーティング戦略を図３８Ａに示し、ＤＣ１樹状細胞のパーセンテージを図３８Ｂに示す。＊はｐ＜０．０５を示し、＊＊はｐ＜０．０１を示す。

【００６７】

【図３９】図３９Ａ～Ｂは、図２９Ａのマウスｔｓａモデルにおいて ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ構築物から発現された可溶性ＣＤ４０Ｌが、腫瘍中のＣＤ４＋（図３９Ａ）およびＣＤ８＋Ｔ細胞（図３９Ｂ）の存在を増加させることを示す細胞染色実験からの結果を示す。

【００６８】

【図４０】図４０Ａ～Ｂは、マウスに対照ベクター（ＣＶ）、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ（すなわち、ＨＥＲ２－Ｈｉｎｇｅ－ＬＡＭＰ）、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌ、またはＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬおよびＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌの両方の組み合わせを注射し（１群あたり７匹のマウス）、続いて脾細胞のＥＬＩＳＰＯＴ分析を行った実験からの結果を示す。図４０Ａは、各群についての平均ＩＦＮｇ形成細胞＋／－ＳＥＭを示し、図４０Ｂは、５つの群のそれぞれからの様々なＨＥＲ２ペプチドプールを認識する細胞の数を示す。

【００６９】

【図４１】図４１は、図４０Ａの各群についてＥＬＩＳＡによって決定された抗体力価を示す。

【００７０】

【図４２】図４２Ａ～Ｄは、図４０Ａの実験後の様々なＨＥＲ２細胞外ドメインペプチドプールを認識する様々なＣＤ４およびＣＤ８　ＴＥＭ細胞、具体的にはＣＤ８　ＩＦＮｇ　ＴＮＦａ細胞（図４２Ａ）、ＣＤ８　ＩＦＮｇ細胞（図４２Ｂ）、ＣＤ４　ＩＦＮｇ　ＴＮＦａ細胞（図４２Ｃ）、およびＣＤ４　ＩＦＮｇ細胞（図４２Ｄ）のパーセンテージを

示す。
【００７１】
【図４３】図４３は、ＥＬＩＳＡによって測定された、２つのバイシストロニック構築物ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌの併用投与の血清抗体価に対する効果を示す。
【発明を実施するための形態】
【００７２】
本開示は、例えば、ワクチンを生成するために使用され得る、および／または抗体および／または体液性免疫応答を惹起するために使用され得る、バイシストロニックまたはマルチシストロン性ＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を包含する。核酸分子は、免疫応答を誘導するために使用され得る。一態様では、本開示は、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸（例えば、プラスミドまたはベクター）を提供することによって、アレルギー、コロナウイルスもしくはＣｏｖｉｄ－１９などの感染疾患、癌、または過剰増殖性障害を有する対象を治療するための方法を提供する。バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子はまた、非ヒト脊椎動物、好ましくは非ヒト哺乳動物において抗体を産生させるために使用することができる。
【００７３】
Ａ．定義
以下の定義は、以下の記載された説明において使用される特定の用語について提供される。
【００７４】
本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」および「ｔｈｅ」は、文脈が明らかに他のことを指示しない限り、複数の言及を含む。例えば、「細胞（ａ　ｃｅｌｌ）」という用語は、複数の細胞（それらの混合物を含む）を含む。用語「核酸分子」は、複数の核酸分子を含む。
【００７５】
本明細書で使用される場合、「含む」という用語は、核酸分子またはバイシストロニックＬＡＭＰ構築物および方法が、列挙された要素を含むが、他の要素を排除しないことを意味することが意図される。アミノ酸またはヌクレオチド配列の場合、他の配列エレメントが配列のいずれかの末端に付加され得ることを意味することが意図される。「本質的に～からなる」は、核酸分子、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物および方法を定義するために使用される場合、組み合わせまたはその機能に対して本質的に重要な他の要素を除外することを意味するものとする。したがって、本明細書で定義される要素から本質的になるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、単離および精製方法からの微量の混入物、ならびにリン酸緩衝生理食塩水、保存剤などの薬学的に許容される担体を除外しない。「からなる」は、他の成分の微量元素および本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を投与するための実質的な方法ステップよりも多くを除外することを意味するものとする。アミノ酸またはヌクレオチド配列の場合、「からなる」は、さらなる配列エレメントが配列のいずれの末端にも付加されないが、列挙された配列が、ＤＮＡメチル化またはグリコシル化などのような生理学的に生じるアミノ酸またはヌクレオチドに対する改変を組み込むことが可能であることを示す。これらの移行用語のそれぞれによって定義される実施形態は、本開示の範囲内である。
【００７６】
「約（ａｂｏｕｔ）」または「およそ（ａｐｐｒｏｘｉｍａｔｅｌｙ）」という用語は、当業者によって決定される特定の値について許容される範囲内を意味し、これは、部分的には、値がどのように測定または決定されるか、例えば、測定システムの限界に依存する。例えば、「約」は、所与の値の２０％まで、好ましくは１０％まで、より好ましくは５％まで、さらにより好ましくは１％までの範囲を意味し得る。あるいは、特に生物学的系またはプロセスに関して、この用語は、値の１桁以内、好ましくは５倍以内、より好ましくは２倍以内を意味し得る。特に明記しない限り、「約」という用語は、特定の値につ

いての許容される誤差範囲内、例えば±１～２０％、好ましくは±１～１０％、より好ましくは±１～５％を意味する。

【００７７】

値の範囲が提供される場合、その範囲の上限と下限との間の各介在値、およびその規定範囲内の任意の他の規定値または介在値が、本開示内に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限および下限は、独立して、より小さい範囲に含まれてもよく、また、本開示内に包含され、記載された範囲内の任意の具体的に除外された限界に従う。記載された範囲が限界の一方または両方を含む場合、それらの含まれる限界の両方を除外する範囲もまた、本開示に含まれる。

【００７８】

本明細書で使用される場合、「リソソーム／エンドソーム区画」は、膜内にＬＡＭＰ分子、抗原プロセシングにおいて機能する加水分解酵素、ならびに抗原認識および提示のためのＭＨＣクラスＩＩ分子を含有する、膜結合型酸性液胞を指す。この区画は、エンドサイトーシス、食作用およびピノサイトーシスを含む様々な機構のいずれかによって細胞表面から内在化された外来物質、ならびに特殊な自己分解現象によってこの区画に送達された細胞内物質の分解のための部位として機能する（ｄｅ　Ｄｕｖｅ，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１３７：３９１，１９８３）。本明細書で使用される「エンドソーム」という用語は、リソソームを包含する。

【００７９】

本明細書で使用される場合、「リソソーム関連オルガネラ」は、リソソームを含む任意のオルガネラを指し、ＭＩＩＣ、ＣＩＩＶ、メラノソーム、分泌顆粒、溶解性顆粒、高血小板顆粒、好塩基球顆粒、バーベック顆粒、ファゴリソソーム、分泌リソソームなどが含まれるが、これらに限定されない。好ましくは、そのようなオルガネラは、マンノース６－リン酸受容体を欠き、ＬＡＭＰを含むが、ＭＨＣクラスＩＩ分子を含んでもよく、または含まなくてもよい。総説については、例えば、Ｂｌｏｔｔ　ａｎｄ　Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ，Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖｉｅｗｓ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，２００２；Ｄｅｌｌ’Ａｎｇｅｌｉｃａ，ｅｔ　ａｌ．，Ｔｈｅ　ＦＡＳＥＢ　Ｊｏｕｒｎａｌ　１４：１２６５－１２７８，２０００を参照されたい。

【００８０】

本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」および「核酸分子」という用語は、任意の長さのヌクレオチドのポリマー形態を指すために互換的に使用される。ポリヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、および／またはそれらの類似体を含有してもよい。したがって、場合によっては、本明細書におけるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物核酸分子は、ＤＮＡベクター、例えば、ＤＮＡウイルスベクターなどのＤＮＡ分子であり得、他の場合において、それは、自己増幅ＲＮＡベクター（自己複製ＲＮＡベクターとしても知られる）を含むＲＮＡ分子であり得る。

【００８１】

ヌクレオチドは、任意の三次元構造を有し得、そして公知または未知の任意の機能を果たし得る。文脈に応じて、「ポリヌクレオチド」という用語は、例えば、一本鎖、二本鎖および三重らせん分子、遺伝子または遺伝子断片、エクソン、イントロン、ｍＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ｒＲＮＡ、リボザイム、アンチセンス分子、ｃＤＮＡ、組換えポリヌクレオチド、分岐ポリヌクレオチド、アプタマー、プラスミド、ベクター、任意の配列の単離ＤＮＡ、任意の配列の単離ＲＮＡ、核酸プローブ、およびプライマーも含む。核酸分子はまた、修飾核酸分子（例えば、修飾塩基、糖、および／またはヌクレオチド間リンカーを含む）を含み得る。

【００８２】

本明細書で使用される場合、「ペプチド」という用語は、２つ以上のサブユニットアミノ酸、アミノ酸アナログ、またはペプチド模倣物の化合物をいう。サブユニットは、ペプチド結合または他の結合（例えば、エステル、エーテルなどとして）によって連結され得る。

【００８３】
本明細書で使用される場合、「アミノ酸」という用語は、グリシンおよびＤまたはＬ光学異性体の両方、ならびにアミノ酸類似体およびペプチド模倣体を含む、天然および／または非天然または合成アミノ酸のいずれかを指す。３つ以上のアミノ酸のペプチドは、ペプチド鎖が短い場合、一般にオリゴペプチドと呼ばれる。ペプチド鎖が長い（例えば、約１０アミノ酸より長い）場合、ペプチドは、一般に、ポリペプチドまたはタンパク質と呼ばれる。「タンパク質」という用語は「ポリペプチド」という用語を包含するが、「ポリペプチド」は、全長タンパク質よりも短いものであり得る。
【００８４】
本明細書で使用される場合、「ＬＡＭＰタンパク質」または「ＬＡＭＰポリペプチド」は、本明細書に記載される哺乳動物リソソーム関連膜タンパク質ヒトＬＡＭＰ－１、ヒトＬＡＭＰ－２、ヒトＬＡＭＰ－３、ヒトＬＩＭＰ－２、ヒトＥｎｄｏｌｙｎ、ヒトＬＩＭＢＩＣ、ヒトＬＡＭＰ－５、またはヒトマクロシアリンのいずれか、ならびにオルソログ（例えば、図３～１０に示されるＬＡＭＰタンパク質など）、およびそれらの対立遺伝子変異体を指す。本明細書で使用される場合、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、ＬＩＭＰ２、マクロシアリン、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５またはＬＩＭＢＩＣは、他に明示的に記載されない限り、図３～１０に記載されるようなヒトタンパク質およびそれらの対立遺伝子改変体をいう。
【００８５】
本明細書で使用される場合、ＬＡＭＰ「相同ドメイン」は、図３～１０に示される少なくとも４つの均一に間隔を空けたシステイン残基を含む。これらのシステイン残基は、図３～１０に示されるように、各相同性ドメインにおいて１、２、３、および４と標識され（そしてＬＩＭＰ－２およびマクロシアリンにおいては、５つのシステインが同定され、ＬＩＭＢＩＣにおいては、６つのシステインが同定され、そしてエンドリンにおいては、８つのシステインが同定される）、そして本明細書中で「システイン保存フラグメント」として定義される。ＬＡＭＰタンパク質の完全な相同ドメインまで、およびそれを含むものを生成するために、システイン保存断片のＮ末端および／またはＣ末端のいずれかに追加のアミノ酸を含めることができる。これらの追加の付加アミノ酸は、システイン保存断片が由来する相同性ドメインから、または他のＬＡＭＰタンパク質相同性ドメインから誘導することができる。したがって、本明細書で使用される場合、ＬＡＭＰ相同ドメインは、１つのシステイン保存断片を含む、および／またはそれからなる。少なくとも２つのＬＡＭＰ相同ドメインが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ－２、ＬＡＭＰ－３、またはＥｎｄｏｌｙｎの内腔ドメインを構成する。
【００８６】
本明細書で使用される場合、「発現」は、ポリヌクレオチドがｍＲＮＡに転写され、かつ／またはペプチド、ポリペプチド、もしくはタンパク質に翻訳されるプロセスを指す。ポリヌクレオチドがゲノムＤＮＡに由来する場合、発現は、ゲノムＤＮＡから転写されたｍＲＮＡのスプライシングを含み得る。
【００８７】
本明細書で使用される場合、「転写制御下」または「作動可能に連結された」は、発現制御エレメントおよびコード配列の適切な並置によって制御されるポリヌクレオチド配列の発現（例えば、転写または翻訳）をいう。一態様では、核酸配列は、発現制御配列がその配列の転写を制御および調節する場合、発現制御配列に「作動可能に連結されている」。別の文脈において、「作動可能に連結された」という用語は、宿主細胞からのペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質の分泌をもたらすための、エピトープまたは抗原などのペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質と、分泌シグナル配列などのシグナル配列との連結を指す。
【００８８】
本明細書で使用される場合、「シグナル配列」または「シグナルペプチド」は、小胞体移行配列を示す。この配列は、細胞に連絡して、それが連結されている（例えば、化学結

合を介して）ポリペプチドを小胞体小胞区画に指向させ、細胞外／エンドサイトーシスオルガネラに進入させ、細胞小胞区画、細胞表面のいずれかに送達させるか、またはポリペプチドを分泌させるシグナルペプチドをコードする。このシグナル配列は、ポリペプチドの成熟において細胞によって切り取られることがある。シグナル配列は、原核生物および真核生物に固有の様々なタンパク質と関連して見出すことができる。「分泌シグナル配列」は、それが結合しているポリペプチドが細胞によって分泌されることをもたらすシグナル配列を指す。

【００８９】

本明細書で使用される場合、「コード配列」は、適切な発現制御配列の制御下に置かれた場合に、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質に転写および翻訳される配列である。コード配列の境界は、５’（アミノ）末端の開始コドンおよび３’（カルボキシル）末端の翻訳終止コドンによって決定される。コード配列は、原核生物配列、真核生物ｍＲＮＡ由来のｃＤＮＡ、真核生物（例えば、哺乳動物）ＤＮＡ由来のゲノムＤＮＡ配列、およびさらに合成ＤＮＡ配列を含み得るが、これらに限定されない。ポリアデニル化シグナルおよび転写終結配列は、通常、コード配列の３’側に位置する。

【００９０】

本明細書で使用される場合、２つのコード配列は、配列またはそれらの相補的配列が同じアミノ酸配列をコードする場合、互いに「対応する」。

【００９１】

本明細書で使用される場合、「輸送」は、抗原プロセシングおよびＭＨＣ　ＩＩへの結合が起こる、粗面小胞体からエンドソーム／リソソーム区画または関連する細胞小器官への経路における細胞小器官または区画を通る、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物によってコードされるポリペプチドの移動または進行を意味する。

【００９２】

本明細書で使用される「抗原」または「目的の抗原」という用語は、自然免疫応答または適応免疫応答を誘発するために使用されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子にクローニングされたポリヌクレオチド配列によってコードされる任意のポリペプチド配列を包含する。「抗原」は、単一の抗原ならびに複数の抗原性配列（同じまたは異なるタンパク質に由来する）の両方を包含する。場合によっては、「抗原」は、特定の「エピトープ」または抗体認識部位を提供する。場合によっては、「抗原」は、「標的抗原」であり、これは、それが、腫瘍細胞によって発現される腫瘍抗原などの、罹患細胞によって発現される特異的タンパク質、またはコロナウイルスもしくは他のタイプのウイルス由来のスパイクタンパク質などの、感染性疾患由来の特定の外来抗原を表すことを意味する。場合によっては、抗原は、ＬＡＭＰ融合タンパク質内で発現され、「ＬＡＭＰ－抗原構築物」を作製する。本明細書で使用することができるＬＡＭＰ－抗原構築物の異なる配置を、図１にＩＬＣ－１～ＩＬＣ－６として例示する。

【００９３】

本明細書で使用される場合、「バイシストロニックＬＡＭＰ構築物」および「抗原を含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物」および「標的抗原を含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物」および「目的の抗原を含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物」および「バイシストロニックＬＡＭＰ－抗原構築物」は、互換的に使用され、２つのポリペプチド、すなわち、ＬＡＭＰ－抗原構築物を含む第１のポリペプチドおよび第２のポリペプチド（いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧポリペプチドまたは第２の抗原をコードし得る）をコードまたは発現する核酸構築物を指す。場合によっては、本明細書におけるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物核酸分子は、ＤＮＡベクター、例えば、ＤＮＡウイルスベクターなどのＤＮＡ分子であり得、他の場合において、それは、自己増幅ＲＮＡベクター（自己複製ＲＮＡベクターとしても知られる）を含むＲＮＡ分子であり得る。他の場合には、文脈に基づいて、「バイシストロニックＬＡＭＰ構築物」は、核酸構築物から集合的に発現されるポリペプチドを指す。

【００９４】

本明細書で使用される場合、「免疫応答エレメント」または「免疫応答増強遺伝子」または「ＩＲＥＧ」は、対象における免疫応答、例えば、液性および／または細胞性免疫応答を増強し得るタンパク質をコードする遺伝子を広く指す。場合によっては、ＩＲＥＧという略語は、そのような遺伝子のコードされたポリペプチド、またはそのようなタンパク質の細胞外ドメイン、またはそのようなタンパク質もしくは細胞外ドメインを含む融合分子を指すためにも使用され得る。ＩＲＥＧの例としては、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、またはＩＬ－３３などの特定のサイトカインまたは免疫タンパク質が挙げられる。

【００９５】

本明細書で使用される場合、「バイシストロニックＬＡＭＰ構築物送達ビヒクル」は、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を宿主細胞に運ぶことができる任意の分子または分子もしくは高分子の群として定義される。

【００９６】

本明細書で使用される場合、「バイシストロニックＬＡＭＰ構築物送達」または「バイシストロニックＬＡＭＰ構築物移入」は、導入に使用される方法に関係なく、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子の宿主細胞への導入を指す。導入された核酸分子は、宿主細胞中で安定にまたは一時的に維持され得る。安定な維持は、典型的には、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする導入された核酸分子が、宿主細胞と適合性の複製起点を含有するか、または染色体外レプリコン（例えば、プラスミド）または核もしくはミトコンドリア染色体などの宿主細胞のレプリコンに組み込まれることを必要とする。

【００９７】

本明細書で使用される場合、「ウイルス性バイシストロニックＬＡＭＰ構築物」は、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏのいずれかで宿主細胞に送達されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を含む核酸分子を含むウイルスまたはウイルス粒子を指す。ウイルス性バイシストロニックＬＡＭＰ構築物の例としては、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レトロウイルスベクターなどが挙げられるが、これらに限定されない。遺伝子導入がアデノウイルスベクターによって媒介される態様では、ウイルスバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、アデノウイルスゲノムまたはその一部、および選択された非アデノウイルス遺伝子を、アデノウイルスカプシドタンパク質と共に含む。

【００９８】

本明細書で使用される場合、「アデノウイルス媒介遺伝子導入」または「アデノウイルス形質導入」は、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子が、細胞に侵入するアデノウイルスによって宿主細胞に導入されるプロセスを指す。好ましくは、核酸分子は、細胞内で複製および／または統合し、転写されることができる。

【００９９】

本明細書で使用される場合、「アデノウイルス粒子」は、外部カプシドおよびバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子から構成される個々のアデノウイルスビリオンであり、カプシドは、アデノウイルスエンベロープタンパク質からさらに構成される。アデノウイルスエンベロープタンパク質は、例えば、アデノウイルス粒子を特定の細胞および／または組織型に標的化するために、ウイルスタンパク質に共有結合されたポリペプチドリガンドを含む融合ポリペプチドを含むように改変され得る。

【０１００】

本明細書で使用される場合、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を「投与すること」または「免疫化すること」または「注射すること」という用語は、核酸分子を細胞に形質導入すること、トランスフェクトすること、マイクロインジェクションすること、エレクトロポレーションすること、または撃ち込むことを指す。いくつかの態様では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子は、標的細胞を送達

細胞と接触させることによって（例えば、細胞融合によって、または送達細胞が標的細胞に近接している場合には送達細胞を溶解することによって）標的細胞に導入される。

【０１０１】

本明細書で使用される「治療する」または「治療」などの用語は、対象における疾患または障害の改善または寛解、例えば、腫瘍の場合、例えば、腫瘍のサイズの低減、または腫瘍に関連する生化学的マーカーの変化、または疾患症状の低減などの、疾患または障害に関連する少なくとも１つの症状またはマーカーの改善または寛解を広く指す。癌または感染症などの疾患の場合、治療するまたは治療はまた、疾患または障害の少なくとも１つの症状の軽減を指す。治療するまたは治療はまた、例えば、疾患もしくは障害の発症の予防もしくは発症の遅延、または発症時の１つもしくは複数の症状（例えば、無症候性疾患対症候性疾患の発症を含む）の予防もしくは軽減を指す。治療するまたは治療はまた、例えば、対象における疾患または障害の症状の発症を予防する、症状の重症度を低減する、または少なくとも１つの既存の症状を改善することができる免疫応答を対象において誘導するための免疫化またはワクチン接種における使用を指す。

【０１０２】

本明細書で使用される場合、免疫応答の「標的増強」または単に「増強」という語句は、ＬＡＭＰ融合ポリペプチド中に治療される疾患または障害に関連する標的抗原を含む「ＬＡＭＰ抗原構築物」をコードする核酸分子、および（２）免疫応答を増強することが意図されるタンパク質（すなわち、ＩＲＥＧタンパク質）をコードするさらなる分泌ポリペプチドの使用を記載する。一般に、このような標的増強は、標的抗原および分泌されたＩＲＥＧの同時送達を可能にする。いくつかの実施形態では、このアプローチは、体液性免疫応答および細胞性免疫応答の両方を改善し得る。

【０１０３】

本明細書で使用される「分泌される」という用語は、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質が細胞外環境に放出され、例えば、対象の循環に入り得るように、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質が細胞壁を通して輸送されることをもたらす細胞内のプロセスおよび経路を指す。細胞外環境に向かう（すなわち、分泌される）ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質は、典型的には、一般にＮ末端に位置する分泌シグナル配列を備え、これは、リボソームがペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質を粗面小胞体（ｒｏｕｇｈ　ｅｎｄｏｐｌａｓｍｉｃ　ｒｅｔｉｃｕｌｕｍ）（粗面ＥＲ）に翻訳するように方向付け、そこから、新たに作製されたペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質が、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質を放出のために細胞表面に輸送する小さな輸送小胞または分泌小胞に組み込まれ得る。

【０１０４】

本明細書で使用される場合、「ハイブリダイゼーション」は、１つ以上のポリヌクレオチドが反応して、ヌクレオチド残基の塩基間の水素結合を介して安定化される複合体を形成する反応をいう。水素結合は、ワトソン－クリック塩基対形成、フーグスティーン結合、または任意の他の配列特異的様式によって生じ得る。複合体は、二重鎖構造を形成する２本の鎖、多重鎖複合体を形成する３本以上の鎖、単一の自己ハイブリダイズ鎖、またはこれらの任意の組み合わせを含み得る。ハイブリダイゼーション反応は、ＰＣＲ反応の開始、またはリボザイムによるポリヌクレオチドの酵素的切断などの、より広範なプロセスにおけるステップを構成し得る。

【０１０５】

本明細書で使用される場合、別の配列に対して特定のパーセンテージ（例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％）の「配列同一性」を有するポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチド領域（またはポリペプチドまたはポリペプチド領域）は、当該分野で慣用的なソフトウェアプログラムを使用して最大限に整列された場合、塩基（またはアミノ酸）のパーセンテージが２つの配列を比較する際に同じであることを意味する。

【０１０６】
２つの配列は、ヌクレオチドの少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０または少なくとも９５％がＤＮＡ配列の規定の長さにわたって一致する場合、「実質的に相同」または「実質的に類似」である。同様に、２つのポリペプチド配列は、ポリペプチドのアミノ酸残基の少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも６６％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも９０または少なくとも９５％がポリペプチド配列の規定の長さにわたって一致する場合、「実質的に相同」または「実質的に類似」である。実質的に相同な配列は、配列データバンクで利用可能な標準的なソフトウェアを使用して配列を比較することによって同定することができる。実質的に相同な核酸配列はまた、例えば、その特定の系について規定されるようなストリンジェントな条件下でのサザンハイブリダイゼーション実験において同定され得る。適切なハイブリダイゼーション条件を規定することは、当該分野の技術の範囲内である。例えば、ストリンジェントな条件は、以下の通りであり得る：５×ＳＳＣおよび５０％ホルムアミドで４２℃でハイブリダイゼーションし、０．１×ＳＳＣおよび０．１％ドデシル硫酸ナトリウムで６０℃で洗浄する。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件のさらなる例としては、約２５℃～約３７℃のインキュベーション温度；約６×ＳＳＣ～約１０×ＳＳＣのハイブリダイゼーション緩衝液濃度；約０％～約２５％のホルムアミド濃度；および約６×ＳＳＣの洗浄溶液が挙げられる。中程度のハイブリダイゼーション条件の例としては、約４０℃～約５０℃のインキュベーション温度；約９×ＳＳＣ～約２×ＳＳＣの緩衝液濃度；約３０％～約５０％のホルムアミド濃度；および約５×ＳＳＣ～約２×ＳＳＣの洗浄溶液が挙げられる。高ストリンジェンシー条件の例としては、約５５℃～約６８℃のインキュベーション温度；約１×ＳＳＣ～約０．１×ＳＳＣの緩衝液濃度；約５５％～約７５％のホルムアミド濃度；および約１×ＳＳＣ、０．１×ＳＳＣ、または脱イオン水の洗浄溶液が挙げられる。一般に、ハイブリダイゼーションインキュベーション時間は、５分～２４時間であり、１、２、またはそれ以上の洗浄工程を伴い、洗浄インキュベーション時間は、約１、２、または１５分である。ＳＳＣは、０．１５Ｍ　ＮａＣｌおよび１５ｍＭクエン酸緩衝液である。他の緩衝系を使用するＳＳＣの等価物を使用することができることが理解される。類似性は、配列決定によって検証され得るが、好ましくは、問題の特定のドメインに適切なアッセイを使用して、機能（例えば、エンドソーム区画への輸送能力など）によってもまたは代替的に検証される。

【０１０７】
「配列類似性パーセント（％）」、「配列同一性パーセント（％）」などの用語は、一般に、共通の進化的起源を共有してもしなくてもよい核酸分子の異なるヌクレオチド配列またはポリペプチドのアミノ酸配列間の同一性または一致の程度を指す（Ｒｅｅｃｋ　ｅｔ　ａｌ．，前出を参照のこと）。配列同一性は、ＢＬＡＳＴ、ＦＡＳＴＡ、ＤＮＡ　Ｓｔｒｉｄｅｒ、ＧＣＧ（Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｃｏｍｐｕｔｅｒ　Ｇｒｏｕｐ，　Ｐｒｏｇｒａｍ　Ｍａｎｕａｌ　ｆｏｒ　ｔｈｅ　ＧＣＧ　Ｐａｃｋａｇｅ，　Ｖｅｒｓｉｏｎ　７，　Ｍａｄｉｓｏｎ，　Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ）などの、多数の公的に利用可能な配列比較アルゴリズムのいずれかを使用して決定することができる。

【０１０８】
２つのアミノ酸配列または２つの核酸分子間の同一性パーセントを決定するために、配列は、最適な比較目的のために整列される。２つの配列間の同一性パーセントは、配列によって共有される同一の位置の数の関数である（すなわち、同一性パーセント＝同一の位置の数／位置（例えば、重複する位置）の総数×１００）。一実施形態では、２つの配列は、同じ長さであるか、またはほぼ同じ長さである。２つの配列間の同一性パーセントは、ギャップを許容するかまたは許容しない、以下に記載される技術と類似の技術を使用して決定され得る。配列同一性パーセントを計算する際には、典型的には、正確な一致が計数される。

【０１０９】

２つの配列間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成することができる。２つの配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの非限定的な例は、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １９９０，９０：５８７３－５８７７のように改変された、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １９９３，８７：２２６４のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９９０；２１５：４０３のＮＢＬＡＳＴおよびＸＢＬＡＳＴプログラムに組み込まれている。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索は、本開示の配列に相同なヌクレオチド配列を得るために、ＮＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝１００、ワード長＝１２を用いて実施することができる。ＢＬＡＳＴタンパク質検索は、本開示のタンパク質配列に相同なアミノ酸配列を得るために、ＸＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝５０、ワード長＝３を用いて実施することができる。比較目的のためのギャップ付きアラインメントを得るために、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１９９７，２５：３３８９に記載されているように、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴを利用することができる。あるいは、ＰＳＩ－Ｂｌａｓｔを使用して、分子間の距離関係を検出する反復検索を実施することができる。Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．（１９９７）前出を参照のこと。ＢＬＡＳＴ、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴ、およびＰＳＩ－Ｂｌａｓｔプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、ＸＢＬＡＳＴおよびＮＢＬＡＳＴ）のデフォルトパラメーターを使用することができる。ワールドワイドウェブ上のｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ＢＬＡＳＴ／を参照されたい。

【０１１０】

配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの別の非限定的な例は、Ｍｙｅｒｓ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒ，ＣＡＢＩＯＳ １９８８；４：１１－１７のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、ＧＣＧ配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためにＡＬＩＧＮプログラムを利用する場合、ＰＡＭ１２０重み残基表、１２のギャップ長ペナルティ、および４のギャップペナルティを使用することができる。

【０１１１】

一実施形態では、２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、Ｂｌｏｓｓｕｍ ６２マトリックスまたはＰＡＭ２５０マトリックスのいずれか、１６、１４、１２、１０、８、６、または４のギャップウェイト、および１、２、３、４、５、または６のレングスウェイトを使用して、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（Ａｃｃｅｌｒｙｓ、Ｂｕｒｌｉｎｇｔｏｎ、ＭＡ；ワールドワイドウェブ上のａｃｃｅｌｒｙｓ．ｃｏｍで入手可能）中のＧＡＰプログラムに組み込まれているＮｅｅｄｌｅｍａｎおよびＷｕｎｓｃｈ（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９７０、４８：４４４～４５３）のアルゴリズムを使用して決定される。さらに別の実施形態では、２つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰマトリックス、４０、５０、６０、７０、または８０のギャップウェイト、および１、２、３、４、５、または６のレングスウェイトを使用して、ＧＣＧソフトウェアパッケージ中のＧＡＰプログラムを使用して決定される。特定のパラメータのセット（および分子が本開示の配列同一性または相同性の限界であるかどうかを決定するためにどのパラメータを適用すべきかについて実施者が不確かである場合に使用することができるもの）は、ギャップオープンペナルティ１２、ギャップ伸長ペナルティ４、およびフレームシフトギャップペナルティ５を有するＢｌｏｓｓｕｍ ６２スコアリングマトリックスを使用している。

【０１１２】

同一性パーセントをどのように決定することができるかの別の非限定的な例は、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ Ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，１９８７）付録３０、セクション７．７．１８、表７．７．１に記載されているものなどのソフトウェアプログラムを使用することによる。好ましくは、デフォルトパラメータが位置合わせに使用される。アラインメント

プログラムは、デフォルトパラメータを使用するＢＬＡＳＴである。特に、プログラムは、以下のデフォルトパラメータを使用するＢＬＡＳＴＮおよびＢＬＡＳＴＰである：遺伝子コード＝標準；フィルター＝なし；鎖＝両方；カットオフ＝６０；期待値＝１０；マトリックス＝ＢＬＯＳＵＭ６２；記述＝５０配列；ソート＝ＨＩＧＨ　ＳＣＯＲＥ；データベース＝非冗長、ＧｅｎＢａｎｋ＋ＥＭＢＬ＋ＤＤＢＪ＋ＰＤＢ＋ＧｅｎＢａｎｋ　ＣＤＳ翻訳＋ＳｗｉｓｓＰｒｏｔｅｉｎ＋ＳＰｕｐｄａｔｅ＋ＰＩＲ。これらのプログラムの詳細は、以下のインターネットアドレス：ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ＢＬＡＳＴに見出すことができる。

【０１１３】

本明細書に記載される特性の統計分析は、標準的な試験、例えば、ｔ検定、ＡＮＯＶＡ、またはカイ二乗検定によって実施され得る。典型的には、統計的有意性は、ｐ＝０．０５（５％）、より好ましくはｐ＝０．０１、ｐ＝０．００１、ｐ＝０．０００１、ｐ＝０．０００００１のレベルまで測定される。

【０１１４】

ドメイン配列の「保存的に改変された変異体」もまた提供され得る。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された改変体は、同一または本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸をいうか、または核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一の配列をいう。具体的には、縮重コドン置換は、１つまたは複数の選択された（または全ての）コドンの第３の位置が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換されている配列を生成することによって達成することができる（Ｂａｔｚｅｒ，　ｅｔ　ａｌ．，　１９９１，　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｒｅｓ．　１９：　５０８１；　Ｏｈｔｓｕｋａ，ｅｔ　ａｌ．，　１９８５，　Ｊ．　Ｂｉｏｌ．　Ｃｈｅｍ．　２６０：　２６０５－２６０８；　Ｒｏｓｓｏｌｉｎｉ　ｅｔ　ａｌ．，　１９９４，　Ｍｏｌ．　Ｃｅｌｌ．　Ｐｒｏｂｅｓ　８：　９１－９８）。

【０１１５】

野生型タンパク質の「生物学的に活性な断片」、「生物学的に活性な形態」、「生物学的に活性な等価物」、および「機能的誘導体」という用語は、活性を検出するのに適したアッセイを使用して測定した場合に、野生型タンパク質の生物学的活性と少なくとも実質的に等しい（例えば、有意には異ならない）生物学的活性を有する。

【０１１６】

本明細書で使用される場合、「ｉｎ　ｖｉｖｏ核酸送達、核酸導入、核酸療法」などは、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を、ヒトまたは非ヒト哺乳動物などの対象の体内に直接導入し、それによって核酸分子がそのような生物の細胞にｉｎ　ｖｉｖｏで導入されることを指す。

【０１１７】

本明細書で使用される場合、「ｉｎ　ｓｉｔｕ」という用語は、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子が標的細胞に近接する（例えば、核酸が全身投与されない）、ある種のｉｎ　ｖｉｖｏ核酸送達を指す。例えば、ｉｎ　ｓｉｔｕ送達方法は、限定されないが、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を部位に（例えば、腫瘍または心筋などの組織に）直接注射すること、核酸分子を細胞または組織と開放手術野を通して接触させること、またはカテーテルなどの医療用アクセス装置を使用して核酸分子を部位に送達することを含む。

【０１１８】

本明細書で使用される場合、「単離された」または「精製された」という用語は、ポリヌクレオチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、またはその断片が通常天然で会合している、細胞および他の成分から分離されている（または実質的に遊離している）ことを意味する。例えば、本明細書に記載されるようなバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする単離された核酸分子に関して、単離されたポリヌクレオチドは、染色体において通常関連する５’および３’配列から分離されたものである。当業者には明らかなように、非天然ポリヌクレオチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、または

その断片は、その天然対応物と区別するための「単離」を必要としない。実質的に含まない、または実質的に精製されたとは、集団の少なくとも５０％、好ましくは少なくとも７０％、より好ましくは少なくとも８０％、さらにより好ましくは少なくとも９０％が、天然では会合している成分を含まないことを意味する。

【０１１９】

本明細書で使用される場合、「標的細胞」または「レシピエント細胞」は、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子のレシピエントであることが望ましいか、またはレシピエントであった個々の細胞または細胞を指す。この用語はまた、単一細胞の子孫を含むことが意図され、そしてこの子孫は、天然の変異、偶発的な変異、または意図的な変異に起因して、元の親細胞と必ずしも完全に同一（形態において、またはゲノムＤＮＡもしくは全ＤＮＡの相補物において）でなくてもよい。標的細胞は、他の細胞と接触していてもよく（例えば、組織中のように）、または生物の体内を循環していることが見出されてもよい。

【０１２０】

本明細書で使用される場合、「対象」は、特に断りのない限り、ヒトである。そのような他の場合、対象は哺乳動物であってもよい。哺乳動物には、マウス、サル、ヒト、家畜、競技用動物、およびペットが含まれるが、これらに限定されない。場合によっては、「対象」は、齧歯類（例えば、ラット、マウスまたはウサギ）、ラマ、ラクダ、ウシ、モルモット、ハムスター、イヌ、ネコ、ウマ、非ヒト霊長類、類人猿（例えば、サルまたは類人猿）、サル（例えば、マーモセット、ヒヒ、アカゲザル）、または類人猿（例えば、ゴリラ、チンパンジー、オランウータン、テナガザル）である。いくつかの実施形態では、非ヒト哺乳動物、特に、ヒトにおける治療有効性を実証するためのモデルとして従来使用される哺乳動物（例えば、マウス、霊長類、ブタ、イヌ、またはウサギ動物）が、採用されてもよい。

【０１２１】

「癌」、「新生物」、および「腫瘍」という用語は、互換的に使用され、単数形または複数形のいずれかで、宿主生物に対して病的にする悪性形質転換を受けた細胞を指す。宿主生物に対して病的にする原発性癌細胞の形質転換。原発性癌細胞（すなわち、悪性形質転換部位の近くから得られた細胞）は、十分に確立された技術、特に組織学的検査によって非癌性細胞と容易に区別することができる。本明細書で使用される癌細胞の定義は、原発性癌細胞だけでなく、癌細胞祖先に由来する任意の細胞を含む。これには、転移した癌細胞、ならびに癌細胞に由来するｉｎ　ｖｉｔｒｏ培養物および細胞株が含まれる。通常固形腫瘍として現れる癌のタイプを指す場合、「臨床的に検出可能な」腫瘍は、例えば、ＣＡＴスキャン、ＭＲイメージング、Ｘ線、超音波または触診などの手順によって、腫瘍塊に基づいて検出可能なもの、および／または患者から得ることができる試料中の１つまたは複数の癌特異的抗原の発現のために検出可能なものである。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、癌（過形成を含む進行の全ての段階を含む）は、腺癌、肉腫、皮膚癌、黒色腫、膀胱癌、脳腫瘍、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌（ＮＳＣＬＣ、ＳＣＬＣ、扁平上皮癌を含むが、これらに限定されない）、結腸直腸癌、肛門癌、直腸癌、子宮頸癌、肝臓癌、頭頸部癌、口腔癌、唾液腺癌、食道癌、膵臓癌、膵管腺癌（ＰＤＡ）、腎臓癌、胃癌、腎臓癌、多発性骨髄腫または脳腫瘍である。

【０１２３】

本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子はまた、例えば、食物アレルギー（例えば、Ａｒａ　Ｈ１、Ａｒａ　Ｈ２および／またはＡｒａ　Ｈ３などのピーナッツアレルゲン）などのアレルギー、または例えば、花粉（例えば、ＣＲＹ　Ｊ１またはＣＲＹ　Ｊ２などの樹木花粉）、イヌの鱗屑、ネコの唾液、またはチリダニなどの環境アレルゲンを処置するために使用することができる。

【０１２４】

場合によっては、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、ウイルスまたは細菌性疾患な

どの感染性疾患の治療において有用な抗原を含み得る。一例では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物を使用して、Ｃｏｖｉｄ－１９などからのコロナウイルス感染症を治療することができる。

【０１２５】

本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物で治療することができる他の疾患および／または障害としては、例えば、感染性疾患および糖尿病が挙げられる。

【０１２６】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という用語は、リン酸緩衝生理食塩水、水、および油／水または水／油乳剤などの乳剤、ならびに様々な種類の湿潤剤などの標準的な薬学的担体のいずれかを包含する。バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を含む組成物はまた、安定剤および保存剤を含むことができる。担体、安定剤およびアジュバントの例については、Ｍａｒｔｉｎ Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．，１５ ｔｈ Ｅｄ．（Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌ．Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ（１９７５））を参照されたい。

【０１２７】

細胞は、そのような核酸分子が細胞内に導入された場合、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子によって「形質転換」、「形質導入」、または「トランスフェクト」されている。形質転換ＤＮＡは、細胞のゲノムを構成する染色体ＤＮＡと統合（共有結合）されてもよく、または統合されなくてもよい。原核生物、酵母、および哺乳動物細胞において、例えば、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子は、プラスミドなどのエピソームエレメント上に維持され得る。真核細胞において、安定に形質転換された細胞は、染色体複製を介して娘細胞によって遺伝されるように、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子が染色体に組み込まれたものである。この安定性は、核酸分子を含む娘細胞の集団からなる細胞株またはクローンを確立する真核生物細胞の能力によって実証される。「クローン」は、有糸分裂によって単一細胞または共通の祖先から誘導された細胞の集団である。「細胞株」は、多くの世代（例えば、少なくとも１０）にわたってｉｎ ｖｉｔｒｏで安定に増殖し得る初代細胞のクローンである。

【０１２８】

本明細書で使用される場合、「有効量」または「治療有効量」は、有益なまたは所望の結果に影響を及ぼすのに、例えば、対象を処置するのに、または対象において免疫応答を誘導するのに十分な量である。

【０１２９】

「抗体」は、特異的抗原に結合する、抗体およびその断片を含む任意の免疫グロブリンである。この用語は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、およびキメラ抗体（例えば、二重特異性抗体）を包含する。「抗体結合部位」は、抗原に特異的に結合する重鎖および軽鎖の可変領域および超可変領域からなる抗体分子の構造部分である。例示的な抗体分子は、インタクトな免疫グロブリン分子、実質的にインタクトな免疫グロブリン分子、ならびにＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$およびＦ（ｖ）部分を含むパラトープを含む免疫グロブリン分子の部分である。したがって、抗体という用語は、抗体分子全体だけでなく、抗体断片ならびに抗体および抗体断片の変異体（融合タンパク質などの誘導体を含む）も包含する。本出願において「抗体」という用語によって記載される分子の例としては、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、Ｆａｂフラグメント、Ｆａｂ’フラグメント、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、Ｆｖ、およびＶＬドメインまたはＶＨドメインのいずれかを含むか、あるいはこれらからなるフラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用される「一本鎖Ｆｖ」または「ｓｃＦｖ」という用語は、抗体のＶＨドメインに連結された抗体のＶＬドメインを含むポリペプチドを指す。Ｃａｒｔｅｒ（２００６）Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６：２４３を参照。

【０１３０】

さらに、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を使用して生成され得る抗体としては、限定されないが、モノクローナル、多重特異性

、二重特異性、ヒト、ヒト化、マウス、またはキメラ抗体、一本鎖抗体、ラクダ科動物抗体、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）断片、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体（例えば、本開示の抗体に対する抗Ｉｄ抗体を含む）、ドメイン抗体および上記のいずれかのエピトープ結合断片が挙げられる。免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡおよびＩｇＹ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２）またはサブクラスであり得る。

【０１３１】

本明細書で使用される場合、「ヒト」抗体は、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体を含み、ヒト免疫グロブリンライブラリーおよびヒト抗体を産生するように遺伝子操作された異種マウスまたは他の生物から単離された抗体を含む。本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子は、例示されたプロトコールに記載されるように、ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を生成するための公知の技術と組み合わせて使用することができ、例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９８／２４８９３；ＷＯ９２／０１０４７；ＷＯ９６／３４０９６；ＷＯ９６／３３７３５；欧州特許第０５９８８７７号；米国特許第５，４１３，９２３号；同第５，６２５，１２６号；同第５，６３３，４２５号；同第５，５６９，８２５号；同第５，６６１，０１６号；同第５，５４５，８０６号；同第５，８１４，３１８号；同第５，８８５，７９３号；同第５，９１６，７７１号；および同第５，９３９，５９８号；ならびにＬｏｎｂｅｒｇ ａｎｄ Ｈｕｓｚａｒ，Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５－９３（１９９５）。

【０１３２】

ヒト抗体または「ヒト化」キメラモノクローナル抗体は、本明細書に記載されるか、またはそうでなければ当該技術分野において公知の技術と組み合わせて、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を使用して産生され得る。例えば、キメラ抗体を産生するための標準的な方法は、当該分野で公知である。総説として、以下の参考文献を参照されたい。Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０２（１９８５）；Ｏｉ ｅｔ ａｌ．，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４（１９８６）；Ｃａｂｉｌｌｙ ｅｔ ａｌ．，米国特許第４，８１６，５６７号；Ｔａｎｉｇｕｃｈｉ ｅｔ ａｌ．，ＥＰ１７１４９６；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，ＥＰ１７３４９４；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＷＯ８６０１５３３；Ｒｏｂｉｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，ＷＯ８７０２６７１；Ｂｏｕｌｉａｎｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３１２：６４３（１９８４）；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３１４：２６８（１９８５）。

【０１３３】

本明細書に記載のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を使用して生成され得る抗体は、一価、二価、三価または多価であり得る。例えば、一価ｓｃＦｖは、化学的に、または別のタンパク質もしくは物質との会合によってのいずれかで多量体化され得る。ヘキサヒスチジンタグまたはフラグタグに融合されたｓｃＦｖは、Ｎｉ－ＮＴＡアガロース（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して、または抗フラグ抗体（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ，Ｉｎｃ．）を使用して多量体化することができる。さらに、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を使用して、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物に含まれるコードされた抗原（複数可）に対する単一特異性、二重特異性、三重特異性またはより高い多重特異性を生成することができる。例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９３／１７７１５；ＷＯ９２／０８８０２；ＷＯ９１／００３６０；ＷＯ９２／０５７９３；Ｔｕｔｔ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０－６９（１９９１）；米国特許第４，４７４，８９３号；同第４，７１４，６８１号；同第４，９２５，６４８号；同第５，５７３，９２０号；同第５，６０１，８１９号；Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ．ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１５４７－１５５３（１９９２）。

【０１３４】

「エピトープ」は、通常、免疫系の成分によって特異的に認識されるか、または特異的

に結合される短いペプチド配列またはオリゴ糖から構成される構造である。Ｔ細胞エピトープは、一般に、直鎖状オリゴペプチドであることが示されている。２つのエピトープは、それらが同じ抗体によって特異的に結合され得る場合、互いに対応する。２つのエピトープは、両方が同じＢ細胞受容体または同じＴ細胞受容体に結合することができ、一方の抗体のそのエピトープへの結合が他方のエピトープによる結合を実質的に妨げる（例えば、他方のエピトープの約３０％未満、好ましくは約２０％未満、より好ましくは約１０％、５％、１％、または約０．１％未満が結合する）場合、互いに対応する。複数のエピトープが抗原を構成し得ることは、当業者によって理解される。

【０１３５】

本明細書で使用される「抗原提示細胞」という用語は、主要組織適合性複合体分子もしくはその一部、または１つもしくは複数の非古典的ＭＨＣ分子もしくはその一部と会合した抗原をその表面上に提示する任意の細胞を含む。適切なＡＰＣの例は、以下に詳細に議論され、そしてマクロファージ、樹状細胞、Ｂ細胞、ハイブリッドＡＰＣ、およびフォスター抗原提示細胞のような全細胞を含むが、これらに限定されない。

【０１３６】

本明細書で使用される場合、「操作された抗原提示細胞」は、その表面上に非天然分子部分を有する抗原提示細胞を指す。例えば、そのような細胞は、その表面上に共刺激因子を天然に有さないか、またはその表面上に天然の共刺激因子に加えてさらなる人工の共刺激因子を有し得るか、またはその表面上に非天然のクラスＩＩ分子を発現し得る。いくつかの実施形態では、操作された抗原提示細胞は、その表面上にバイシストロニックＬＡＭＰ構築物から発現される抗原を有する。

【０１３７】

本明細書で使用される場合、「免疫エフェクター細胞」は、抗原に結合することができ、免疫応答を媒介する細胞を指す。これらの細胞には、Ｔ細胞、Ｂ細胞、単球、マクロファージ、ＮＫ細胞、および細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）、例えば、ＣＴＬ株、ＣＴＬクローン、および腫瘍、炎症、または他の浸潤物由来のＣＴＬが含まれるが、これらに限定されない。

【０１３８】

本明細書で使用される場合、「部分的にヒト」は、ヒトおよび非ヒト脊椎動物の両方に由来する配列を有する核酸を指す。部分的にヒトの配列の文脈において、部分的にヒトの核酸は、ヒト免疫グロブリンコード領域の配列、および非ヒト脊椎動物の内因性免疫グロブリン領域の非コード配列に基づく配列を有する。非ヒト脊椎動物由来の内在性非コード配列に関して使用される場合、用語「に基づく」は、非コード配列に対応し、宿主脊椎動物、例えば、ＥＳ細胞が由来する非ヒト脊椎動物の内在性遺伝子座の非コード配列と比較的高い程度の相同性を共有する配列を指す。好ましくは、非コード配列は、非コード配列を含む部分的ヒト分子が導入された非ヒト脊椎動物宿主細胞の内因性遺伝子座に見出される対応する非コード配列と少なくとも８０％、より好ましくは９０％の相同性を共有する。

【０１３９】

本明細書で使用される「免疫グロブリン可変領域」という用語は、抗体分子の可変領域の全てもしくは一部、または抗体分子の発現を制御する調節ヌクレオチド配列の全てもしくは一部をコードするヌクレオチド配列を指す。重鎖の免疫グロブリン領域は、Ｖ、Ｄ、Ｊ、およびイントロンを含むスイッチ領域の全てまたは一部を含み得るが、これらに限定されない。軽鎖の免疫グロブリン領域は、軽鎖定常領域遺伝子に関連するかまたは隣接するＶおよびＪ領域、それらの上流隣接配列、イントロンを含み得るが、これらに限定されない。

【０１４０】

「トランスジェニック動物」とは、その細胞の一部に染色体外エレメントとして存在するか、またはその生殖系列ＤＮＡ（すなわち、その細胞のほとんどまたは全てのゲノム配列）に安定に組み込まれた外因性核酸配列を有する非ヒト動物（通常は哺乳動物）を意味

する。ヒト配列を含むトランスジェニック動物を作製する際に、部分的にヒトの核酸が、当該分野で周知の方法に従って、例えば、宿主動物の胚または胚性幹細胞の遺伝子操作によって、このようなトランスジェニック動物の生殖系列に導入される。

【０１４１】

「ベクター」は、プラスミドおよびウイルス、ならびに自己複製するか否かにかかわらず、細胞を形質転換またはトランスフェクトするために使用され得る任意のＤＮＡまたはＲＮＡ分子を含む。

【０１４２】

本明細書で使用される場合、「遺伝子改変」は、細胞の正常なヌクレオチドに対する任意の付加、欠失または破壊を指す。当該技術分野で認められている方法には、ウイルス媒介遺伝子導入、リポソーム媒介導入、形質転換、トランスフェクションおよび形質導入、例えば、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルスおよびヘルペスウイルスなどのＤＮＡウイルスに基づくバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子、ならびにレトロウイルスベースのベクターの使用などのウイルス媒介遺伝子導入が含まれる。

【０１４３】

本開示の実施は、ある特定の態様において、別段の指示がない限り、当技術分野の技術の範囲内の従来の分子生物学、微生物学、および組換えＤＮＡ技術を用いる。このような技術は、文献に十分に説明されている。例えば、Ｍａｎｉａｔｉｓ，Ｆｒｉｔｓｃｈ＆Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（１９８２）；ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｖｏｌｕｍｅｓ Ｉ ａｎｄ ＩＩ（Ｄ．Ｎ．Ｇｌｏｖｅｒ，ｅｄ．，１９８５）；Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｍ．Ｊ．Ｇａｉｔ，ｅｄ．，１９８４）；Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ＆Ｓ．Ｊ．Ｈｉｇｇｉｎｓ，ｅｄｓ．，１９８５）；Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ａｎｄ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ＆Ｓ．Ｉ．Ｈｉｇｇｉｎｓ，ｅｄｓ．，１９８４）；Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｒ．Ｉ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，ｅｄ．，１９８６）；Ｉｍｍｏｂｉｌｉｚｅｄ Ｃｅｌｌｓ ａｎｄ Ｅｎｚｙｍｅｓ（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，１９８６）；Ｂ．Ｐｅｒｂａｌ，Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ（１９８４）を参照のこと。

【０１４４】

別段の定義がない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書で言及される全ての刊行物は、本明細書に記載される開示に関連して使用され得るデバイス、製剤、および方法論を記載および開示する目的で、参照により組み込まれる。

【０１４５】

Ｂ．例示的なＬＡＭＰ－抗原融合ポリペプチド

以下は代表的な実施形態である：

【０１４６】

バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする、すなわち、ＬＡＭＰ－抗原融合タンパク質（ＬＡＭＰ構築物）および免疫増強タンパク質を、両方が宿主細胞または対象において発現されるようにコードする単離された核酸分子。場合によっては、本明細書における核酸は、例えば、第３のポリペプチドも発現される場合、マルチシストロン性構築物をコードし得る。

【０１４７】

場合によっては、抗原は、特定の疾患または障害の標的抗原である。場合によっては、免疫増強タンパク質は、ＩＲＥＧ由来のポリペプチドまたはポリペプチドドメイン、例えば、細胞外ドメインであり、任意選択で、免疫グロブリンのＦｃドメインなどのさらなる分子に融合される。場合によっては、免疫増強タンパク質は分泌され得、従って、分泌シ

グナル配列に作動可能に連結される。場合によっては、ＬＡＭＰ－抗原融合タンパク質は、本明細書の図１のＩＬＣ－１、ＩＬＣ－２、ＩＬＣ－３、ＩＬＣ－４、ＩＬＣ－５またはＩＬＣ－６のいずれか１つの骨格構造を有し得る。場合によっては、それは、ＩＬＣ－４の骨格構造を有する。場合によっては、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメイン間に配置された抗原を含む。他の場合では、抗原は、ＬＡＭＰ相同ドメインのＮ末端の前またはＬＡＭＰ相同ドメインのＣ末端の後であるが、ＬＡＭＰ膜貫通ドメインの前に配置される。本明細書で使用される場合、ＬＡＭＰタンパク質は、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、ＬＩＭＰ２、マクロシアリン、エンドリン、ＬＡＭＰ５またはＬＩＭＢＩＣから選択され得る。追加の実施形態では、ＬＡＭＰタンパク質は、アミノ酸配列番号１～１１３のいずれか１つに対して少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列から選択される。場合によっては、ＬＡＭＰタンパク質は、ＬＡＭＰ－１である。

【０１４８】

場合によっては、ＬＡＭＰ成分は、ＬＡＭＰの少なくとも２つの相同ドメインに加えて、ＬＡＭＰまたは異種タンパク質の膜貫通ドメイン、ならびに任意選択でＬＡＭＰまたは異種タンパク質のシグナル配列、および場合によってはＬＡＭＰの細胞質ドメインを含む。いくつかのそのような場合において、ＬＡＭＰタンパク質は、ＬＡＭＰ－１である。

【０１４９】

特に、ｃＤＮＡクローンから推定されるＬＡＭＰ－１（Ｃｈｅｎら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６３：８７５４、１９８８）は、大きな（３４６残基）管腔アミノ末端ドメイン、続いて２４残基の疎水性膜貫通領域および短い（１２残基）カルボキシル末端細胞質尾部を有する約３８２アミノ酸のポリペプチドコアからなる。図２Ａおよび図２Ｂを参照されたい。内腔ドメインは高度にグリコシル化されており、約２０アスパラギン結合複合型オリゴ糖で置換されており、プロリン／セリンリッチな２２残基の「ヒンジ（Ｈｉｎｇｅ）」領域によって分離された２つの約１６０残基の「相同ドメイン」からなる。これらの「相同性ドメイン」のそれぞれは、４つの均一に間隔を空けたシステイン残基を含み、ジスルフィド結合して、内腔ドメインの２つの半分内に対称的に配置された４つの３６～３８残基ループを形成する（Ａｒｔｅｒｂｕｒｎら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６５巻：７４１９頁、１９９０年；Ｃｈｅｎら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５巻：２６３頁（１８号）：８７５４～８頁、１９８８年も参照されたい）。図２Ａは、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ－２、ＬＡＭＰ－３、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＩＭＢＩＣ、ＬＡＭＰ５、またはマクロシアリンの間の保存ドメインを概略的に示す。

【０１５０】

以前に報告されたＬＡＭＰ構築物は、この特定の配置で以下のエレメントを含んだ：（ａ）ＬＡＭＰ－１タンパク質の完全な内腔ドメイン、抗原、次いでＬＡＭＰ－１タンパク質の完全な膜貫通／細胞質尾部；または（ｂ）抗原およびＬＡＭＰ－１タンパク質の完全な膜貫通／細胞質尾部。

【０１５１】

例（ａ）において、抗原性配列は、ＬＡＭＰ－１タンパク質の完全な内腔ドメインとＬＡＭＰ－１の完全な膜貫通ドメイン／細胞質尾部との間に挿入される。両方の構築物は、リソソーム／エンドソームに対して抗原配列を首尾よく標的化することが示されており、本明細書に記載される改善されたＬＡＭＰ構築物ＩＬＣ－１～ＩＬＣ－６と比較して、図１に示されるように「完全ＬＡＭＰ構築物」と呼ばれる。本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、完全なＬＡＭＰ構築物を含まない。その代わりに、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインのＮ末端、ＬＡＭＰタンパク質の少なくとも１つの相同ドメインのＮまたはＣ末端、またはＬＡＭＰタンパク質の少なくとも１つのシステイン保存断片のＮまたはＣ末端に融合された少なくとも１つの抗原を含み得る（例えば、図１のＩＬＣ－１～ＩＬＣ－６を参照

されたい）。しかしながら、いくつかのバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、ＬＡＭＰタンパク質の第１の相同ドメインとＬＡＭＰタンパク質の第２の相同ドメインとの間（または少なくとも２つのシステイン保存断片の間）に融合された少なくとも１つの抗原を含む（例えば、図１のＩＬＣ－４を参照されたい）。例えば、少なくとも１つの抗原は、ＬＡＭＰヒンジ領域に配置されてもよく、またはそれを置き換えてもよい。いくつかの実施形態では、この構築物はまた、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメイン、および／またはＬＡＭＰタンパク質の細胞質ゾル尾部を含む。

【０１５２】

具体的には、いくつかの実施形態では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、２つの相同ドメイン（例えば、図１のＩＬＣ－４）を含む。いくつかの実施形態では、これらの構築物はまた、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメイン、および／またはＬＡＭＰタンパク質の細胞質ゾル尾部を含む。他の実施形態では、抗原が膜貫通ドメインを含有する場合、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインおよび／またはＬＡＭＰタンパク質の細胞質尾部は不要である。さらに他の実施形態では、２つの相同ドメインは、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ－２、ＬＡＭＰ－３、またはＥｎｄｏｌｙｎタンパク質に由来する。あるいは、２つの相同ドメインは、異なるＬＡＭＰタンパク質に由来する。２つの相同ドメインを含むこれらの構築物において、ＬＡＭＰヒンジドメインも含まれ得る。

【０１５３】

バイシストロニックＬＡＭＰ構築物のＬＡＭＰ－抗原部分がＩＬＣ－４構造（図１に示す）を含む場合、例えば、ＬＡＭＰ構築物の第１のポリヌクレオチド配列が、ＬＡＭＰタンパク質の内腔ドメインの２つの相同ドメインと、ＬＡＭＰタンパク質に対して異種の抗原性ドメインとを含むポリペプチドを含むかまたはコードし、抗原性ドメインが２つの相同ドメインの間に配置される場合、２つのＬＡＭＰタンパク質相同ドメインは、例えば、配列番号１～１１３に由来する図３に示す相同ドメイン１および相同ドメイン２アミノ酸配列、またはそれらの配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列から選択され得る。したがって、例えば、そのような構築物中のＬＡＭＰがＬＡＭＰ－１である場合、天然ヒトＬＡＭＰ－１相同ドメイン１および相同ドメイン２は、ＬＡＭＰ－抗原構築物の抗原ドメインを取り囲んでもよい。場合によっては、相同性ドメインは、配列番号１のアミノ酸残基２９～１９４および２２８～３８１、またはそれらの配列と少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％もしくは少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列、または図２Ａおよび３に示されるそのようなドメインの配列のうちの１つ、または例えば、配列番号１９８および２０２の残基２９～１９５を含み得る。構築物がポリヌクレオチドである場合、構築物は、ＬＡＭＰ相同ドメイン１コード配列の開始前にシグナル配列、例えば、配列番号１の残基１～２８、または図２Ａおよび図３に別様に示されるシグナル配列、または例えば、配列番号１９８の残基１～２８をさらにコードし得る。場合によっては、異種（すなわち、非ＬＡＭＰ）シグナル配列も使用され得る。したがって、いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰの第１の相同ドメインは、配列番号１９８のＣ末端または配列番号１の残基２９～１９４に対して残基２９の少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む。場合によっては、配列番号１９８または配列番号１の残基１～２８などのＬＡＭＰシグナル配列も含まれ得る。場合によっては、ＬＡＭＰの第２の相同ドメインは、配列番号２０２または配列番号１の残基２２８～３８１の少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む。場合によっては、図２Ａおよび３に示されるような、すなわち、配列番号１の残基３８３～４０５を含むか、または別の天然ＬＡＭＰ膜貫通ドメイン配列を含むＬＡＭＰ膜貫通ドメインが含まれ得る。場合によっては、配列番号１の残基４０６～４１７を含むか、または図２Ａおよび３に示されるような、またはそうでなければ天然ＬＡＭＰ細胞質尾部配列を含むような

、ＬＡＭＰの細胞質尾部も含まれ得る。

【０１５４】

いくつかの他の実施形態において、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、ＬＡＭＰタンパク質の単一の相同ドメインまたはＬＡＭＰタンパク質の単一のシステイン保存断片のＣ末端に融合された少なくとも１つの抗原を含む。例えば、図１のＩＬＣ－３およびＩＬＣ－５を参照されたい。いくつかの実施形態では、これらの構築物はまた、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメイン、および／またはＬＡＭＰタンパク質の細胞質ゾル尾部を含む。他の実施形態では、抗原が膜貫通ドメインを含有する場合、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインおよび／またはＬＡＭＰタンパク質の細胞質尾部は不要である。

【０１５５】

上記のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、図に定義されるドメインを使用して生成することができる。例えば、図１に示されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物に含まれるドメインは、例えば、オーソロガス配列に由来する配列に由来し得ることが具体的に企図される。例えば、図３～図１０を参照されたい。図２Ａおよび図２Ｂに定義される等価なドメインを使用して、オーソロガス配列について図１に示されるベクター骨格を使用してバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を生成することが、明確に企図される。さらに、図３～図１０に示されるオーソロガス配列は、ドメインを生成するために使用され得る配列の代表である。他のオーソロガス配列および／またはアイソタイプを同定し、それらを図３～図１０に示されるアラインメントと比較することは、十分に当技術分野の技術の範囲内である。したがって、図３～図１０に示されるアラインメントを用いて、ヒトＬＡＭＰタンパク質について図２Ａおよび図２Ｂにおいて定義される等価な境界を同定することによって、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を生成することができる。

【０１５６】

当業者には十分に理解されるように、各ドメインの境界は近似であり、クローニングの考慮事項および制限酵素の配置に基づいて、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０アミノ酸に調整され得る。したがって、特定のドメイン（例えば、ＬＡＭＰ相同ドメイン）がバイシストロニックＬＡＭＰ構築物に含まれる場合、ドメインのアミノ酸開始および終了は、図２Ａに定義される境界として、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０アミノ酸だけ調整され得る。

【０１５７】

本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物のそれぞれは、当該技術分野において周知であるように、クローニング目的のために、各ドメイン間にシグナル配列および／または追加のアミノ酸をさらに含むことができる。さらに、ＬＡＭＰ相同ドメイン、ＬＡＭＰ内腔ドメイン、ＬＡＭＰ膜貫通ドメイン、および／またはＬＡＭＰ細胞質テールドメインは、同じＬＡＭＰタンパク質（例えば、ヒトＬＡＭＰ－１）または異なるＬＡＭＰタンパク質（例えば、ヒトＬＡＭＰ－１由来の内腔ドメインおよびヒトＬＡＭＰ－２由来の膜貫通ドメイン、ならびに／あるいは同じ遺伝子ファミリー（例えば、ＬＡＭＰ－１）または異なる遺伝子ファミリー（ＬＡＭＰ－１およびＬＡＭＰ－２）におけるオーソロガスドメインの混合に由来し得る。

【０１５８】

記載されたＬＡＭＰ構築物のポリペプチド変異体が企図される。例えば、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物のいずれかと少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％または少なくとも９９％同一のポリペプチド、ならびにこれらの変異体をコードするポリヌクレオチド。バイシストロニックＬＡＭＰ構築物の変異体は、抗原配列をリソソームに標的化することによって機能する能力を保持する。例えば、修飾された内腔配列は、元のドメイン配列と比較して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の有効性、すなわち、免疫応答を開始するために

キメラ配列を含む細胞による十分な抗原提示をもたらす有効性で、膜および非膜抗原性物質の両方をエンドソーム区画に輸送する能力を保持しなければならない。一態様では、適切な輸送シグナルを含有する配列は、オボアルブミンの十分に特徴付けられた抗原ドメイン、膜貫通ドメイン、および推定リソソーム／エンドソーム標的化シグナルを含有するタンパク質の細胞質ドメインを含有するバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を構築することによって同定され得る。標的化の効率は、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物を発現する抗原提示細胞が、ＨＡエピトープ特異的なＭＨＣクラスＩＩ拘束性Ｔ細胞を刺激する能力を決定することによって測定することができる（例えば、米国特許第５，６３３，２３４号の実施例５を参照されたい）。

【０１５９】

記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物のいずれかをコードするポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物ポリヌクレオチドのいずれかに対して少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一性のポリヌクレオチドと共に、本開示のいくつかの実施形態である。バイシストロニックＬＡＭＰ構築物の変異体は、抗原配列をリソソームに標的化することによって機能する能力を保持する。例えば、修飾された内腔配列は、元のドメイン配列と比較して少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも１００％の有効性、すなわち、免疫応答を開始するためにキメラ配列を含む細胞による十分な抗原提示をもたらす有効性で、膜および非膜抗原性物質の両方をエンドソーム区画に輸送する能力を保持しなければならない。一態様では、適切な輸送シグナルを含有する配列は、オボアルブミンの十分に特徴付けられた抗原ドメイン、膜貫通ドメイン、および推定リソソーム／エンドソーム標的化シグナルを含有するタンパク質の細胞質ドメインを含有するバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を構築することによって同定され得る。標的化の効率は、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物を発現する抗原提示細胞が、ＨＡエピトープ特異的なＭＨＣクラスＩＩ拘束性Ｔ細胞を刺激する能力を決定することによって測定することができる（例えば、米国特許第５，６３３，２３４号の実施例５を参照されたい）。

【０１６０】

Ｃ．例示的なバイシストロニックＬＡＭＰ構築物の構築

本明細書のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、例えば、ＬＡＭＰ－抗原構築物のプロモーター／エンハンサーおよびコード配列の後または前に、第２のプロモーター／エンハンサーおよび第２のポリペプチドのコード配列が核酸中にある単離されたヌクレオチド配列から構築され得る。場合によっては、第２のポリペプチドは、免疫応答を増強することが意図されるポリペプチド、すなわち、免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ）から発現されるタンパク質またはタンパク質の細胞外ドメインであり得る。場合によっては、第２のポリペプチドは分泌され得、従って、ヌクレオチドは、第２のポリペプチドについての適切な分泌シグナル配列を含み得、この分泌シグナル配列は、ポリペプチドコード配列中にすでに含まれ得るか、または異なるタンパク質由来であり得る。場合によっては、第２のポリペプチドは、融合タンパク質（例えば、別のポリペプチド配列（例えば、免疫グロブリンのＦｃドメイン、さらなる抗原など）に融合された細胞外ドメインまたは完全なＩＲＥＧポリペプチド）である。

【０１６１】

以下に記載するように、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用されるＬＡＭＰ－抗原構築物中の抗原は、ウイルススパイクタンパク質などの感染性疾患の標的抗原であってもよく、またはあるいは、特定の腫瘍もしくは腫瘍細胞において過剰発現されるポリペプチドなどの癌抗原であってもよい。

【０１６２】

例えば、以下の実施例に記載されるように、特定のバイシストロニックＬＡＭＰタンパク質は、ＳＡＲＳ　Ｃｏ－Ｖ２ウイルス由来のスパイクタンパク質またはスパイクタンパ

ク質サブユニットを使用して、ならびにＨＥＲ２細胞外ドメインなどの癌抗原を使用して、またはＮＹ－ＥＳＯ１もしくはＣＤ１６１を使用して作製された。したがって、いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、癌抗原またはウイルススパイクタンパク質抗原に融合されたＬＡＭＰを含む。このような抗原のコード領域は、場合によっては、ＩＲＥＧコード領域と組み合わされ得る。ＩＲＥＧの例としては、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、またはＩＬ－３３などの特定のサイトカインまたは免疫タンパク質が挙げられる。いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧは、第２のポリペプチドが発現された場合に分泌されるように、相同または異種の分泌シグナル配列コード領域を含む。

【０１６３】

以下の実施例に記載されるように、以下のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を構築した：（１）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（図１１；配列番号１９７）、（２）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦＬＴ３Ｌ（配列番号２０８）、（３）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２（配列番号２１２）、（４）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－２１（配列番号２１６）、（５）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＯＸ４０Ｌ（配列番号２４１）、（６）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ８０（配列番号：２５１）、（７）ＮＹ－ＥＳＯ１－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５（配列番号２２２）、（８）ＣＤ１６１－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（配列番号２３５）、（９）Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（２－Ｖ　Ｃｏｖｉｄワクチン；配列番号２３０）、および（１０）ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニックワクチン（ＩＴＩ－バイシストロニック－Ｓ１－ＬＡＭＰ－ＲＢＧ　ｐＡ－ＥＦ２－Ｓ２Ｐ　ＢＨＧ　ｐＡ；第１世代ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン；配列番号２２８）。これらの構築物およびそれらの成分の配列を以下の表に提供する。

【０１６４】

例えば、いくつかの実施形態に存在したＩＬＣ－４の構造、またはＬＡＭＰタンパク質の第１および第２の相同ドメイン間（または少なくとも２つのシステイン保存断片間）のＬＡＭＰヒンジ領域中に、もしくはそれを置き換えて、目的の第１の抗原（プライミング抗原）を含む類似の構造を含む、図１に示される異なる構造ＩＬＣ－１～ＩＬＣ－６を生成するための第１のポリヌクレオチド配列を含むウイルスベクターを構築することができる。図１に示されるＬＡＭＰドメインは、図３～図１０に示されるアミノ酸配列に由来した。対応するドメインはまた、ヒト配列と比較した場合に等価なドメインを同定することによって、オーソロガス配列からクローニングすることができる。目的の抗原（１つ以上の目的の抗原を含む）は、個々にまたは組み合わせて、記載されたＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができる。ウイルスベクターはまた、分泌シグナル配列に作動可能に連結され得る、ＩＲＥＧまたは第２の抗原をコードする第２のポリヌクレオチド配列を含む発現カセットをコードするように構築され得る。

【０１６５】

ＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物の比較的「コンパクトな」サイズは、第２のポリヌクレオチド配列を含むことに関連するサイズの制約を低減し得るので、いくつかの実施形態では有利である。さらに、上述の米国特許第１１，２０３，６２９号に記載されているように、ＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物は、試験した他のＬＡＭＰ構築物よりも強い免疫応答（例えば、より強いＴ細胞および／または抗体応答）を提供することが見出されている。したがって、いくつかの実施形態では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、ＩＬＣ－４設計を使用し、すなわち、ＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ－抗原構築物の一般構造を含む。

【０１６６】

いくつかの実施形態では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする発現カセットを含む単離された核酸、例えばベクターまたはワクチンは、ＤＮＡベクターであるが、他の場合において、それは、自己増幅ＲＮＡベクターを含むＲＮＡベクターである。

【０１６７】

Ｄ．バイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用するための抗原

１．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス抗原およびバイシストロニック構築物

いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物中の抗原は、ＳＡＲＳ　ＣｏＶ２またはウイルススパイクタンパク質などの他のウイルス感染因子由来の抗原を含み得る。場合によっては、バイシストロニック構築物はまた、分泌のために同じ感染性因子由来の第２の抗原を発現し得る。他の場合において、バイシストロニック構築物は、第２のポリペプチドとしてＩＲＥＧポリペプチドを発現し得る。

【０１６８】

１つの特定の例において、第１世代ベクターを、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス、そうでなければＣＯＶＩＤ－１９として知られる）に対するワクチンとして使用するために構築した。有効なワクチンによる中和抗体の生成を除いて、Ｔ細胞は、多くの感染性疾患に対する天然に獲得された防御免疫の重要な成分であり、ウイルス感染に対する多くのワクチンおよび開発中のワクチンは、しばしば、先天性免疫を活性化する能力を有するウイルス特異的Ｔ細胞応答を誘発し、直接的なエフェクター機能を有し、そして抗体応答を助け、これは、予防および治療の目的として使用され得る。

【０１６９】

Ｔ細胞および抗体応答の両方を誘導してＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２の感染を予防するか、または感染に関連する症状を軽減するために、２つのウイルスタンパク質が別々に発現されるベクターを設計した。ＬＡＭＰおよびウイルススパイクＳ１サブユニットタンパク質から構成される第１の融合タンパク質は、迅速かつ強力なＳ１特異的ＣＤ４＋Ｔ細胞応答を誘発することを目的とした。第２のタンパク質は、２つのプロリン置換を有する全長スパイクタンパク質であり、これは、独立したプロモーターであるヒト伸長因子－１α（ＥＦ１）によって駆動され、そのＮ末端に配列ペプチド（ＩｇＫ　ＳＰ）も有していた。ナブ設計は、融合前安定化スパイクタンパク質の生成およびＢ細胞に抗原を提示するためのその分泌を可能にした。第１のプロモーターによって誘発された頑強なＳ１特異的ＣＤ４　Ｔ細胞は、ＣＤ８　Ｔ細胞の機能を補助しただけでなく、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２に対する中和抗体を増強した（ベクターの説明については図２８Ａ～Ｃを参照されたい）。

【０１７０】

第１世代ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニックワクチンは、ウイルス表面に固定されたスパイク糖タンパク質のＳ１およびＳ２サブユニットの発現をコードする。スパイクのＳ１およびＳ２サブユニットは、宿主細胞へのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの侵入を媒介する。ＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物の核酸分子を使用して、Ｓ１コード配列（ＧｅｎＢａｎｋ　ＭＮ９０８９７４）を、２つのＬＡＭＰ相同ドメイン（Ｎ－ＬＡＭＰおよび内腔ドメイン２）をコードするポリヌクレオチド配列の間に配置した。Ｓ１コード配列は、ＣＭＶエンハンサー配列の影響下でＣＭＶプロモーターに作動可能に連結され、その結果、宿主細胞における発現は、プロセシングおよびＭＨＣクラスＩＩ分子への提示のためのＳ１抗原を含むＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物を生じた（すなわち、「プライミング抗原」を提供する）。Ｓ２コード配列は、ベクター上の他の場所に提供され、Ｉｇ－カッパ分泌シグナル（リーダー配列）およびＥＦ１プロモーター配列をコードするポリヌクレオチド配列に作動可能に連結され、その結果、宿主細胞における発現は、分泌のためのＳ２抗原を生じた（すなわち、「追加免疫抗原」を提供する）。それによって、ベクターは、増強された免疫応答を誘発するために、抗原のプライミングおよびブースティングの両方を提供し得る適切な宿主細胞または標的細胞への導入のための単一の核酸分子を提供した。したがって、これは、ＬＡＭＰ構築物によって誘発される免疫応答を増強するための任意の要望または要件が、１つまたは複数の時間間隔で別々に投与されるブースターワクチン（例えば、抗原を含む）の投与を必要とするので、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物のみをコードするベクターの使用に対して有意な利点を付与し得る。

【０１７１】

第２世代のＣＯＶＩＤ－１９ベクターであるＳｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、後に、以下の実施例１および２に記載されるように設計され、そして試験され、そして第

１世代のベクターに対して予想外にさらにより高い免疫反応を有することが見出された。この第２世代ベクターは、ＩＬＣ－４フォーマットで配列番号２２９に提供されるＬＡＭＰ－抗原配列をコードし、特定のスパイクはＢ１．３５１変異体に由来した。ＣＯＶＩＤ－１９がさらに進化するにつれて、他の改変体スパイク抗原が、このベクターのために使用される抗原を置換するために使用され得ることが理解されるべきである。そして、第２のポリペプチドとしての第２のＣＯＶＩＤ－１９抗体の代わりに、この第２世代ベクターは、配列番号２３３に提供されるような、肺性界面活性物質結合プロテインＤ（ＳＰＤ）およびＣＤ４０Ｌ細胞外ドメインの融合蛋白質をコードする。

【０１７２】

ＬＡＭＰ－抗体構築物が、ＣＯＶＩＤ－１９スパイクタンパクまたは類似のウイルス抗原タンパクおよびＩＲＥＧポリペプチド、例えばＳＰＤ－ＣＤ４０Ｌまたは別のＩＲＥＧの細胞外ドメインもしくは完全タンパク配列、例えばＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、またはＩＬ－３３を含み、場合によっては、免疫グロブリンＦｃドメインなどのドメインにさらに融合されていてもよい、そのような単離された核酸の変異体が本明細書に包含されることを理解されたい。リンカーはまた、いくつかの実施形態では、第１または第２のポリペプチドのドメイン間に存在し得る。そして、いくつかの実施形態では、第２のポリペプチドは、分泌され得、したがって、分泌シグナル配列に作動可能に連結され得る。

【０１７３】

ａ）例示的スパイクタンパク質配列

いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、細菌またはウイルス抗原などの感染性疾患抗原を含み得る。いくつかの実施形態では、ウイルス抗原は、スパイクタンパク質またはスパイクタンパク質のドメインである。場合によっては、ウイルス抗原は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（ＣＯＶＩＤ－１９）ウイルスなどのＳＡＲＳウイルスなどのコロナウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、本明細書におけるバイシストロニック構築物において使用される抗原は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスによってコードされる抗原（例えば、Ｓ１スパイクサブユニットまたはＳ２スパイクサブユニット）から選択される。そのようなＳ１スパイクサブユニットの例は、配列番号１１８の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性のアミノ酸配列、および／または配列番号１１９もしくは配列番号２３１の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％の配列同一性のアミノ酸配列を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２２９と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２３２と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を含むポリヌクレオチドを含む。

【０１７４】

場合によっては、バイシストロニック構築物によって発現される対応する第２のポリペプチドは、ＩＲＥＧポリペプチド、例えば、ＳＰＤ－ＣＤ４０Ｌまたは別のＩＲＥＧの細胞外ドメインもしくは完全タンパク質配列、例えば、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３であり、これらは、場合によっては、免疫

グロブリンＦｃドメインなどのドメインに任意選択でさらに融合され得る。
【０１７５】
２．癌関連抗原
他の実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、癌抗原を含み得る。本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を含むワクチンを使用する癌免疫療法の候補は、例えば、実証されたエプスタイン・バーウイルス関連リンパ腫を有する患者、ＨＰＶ関連子宮頸癌を有する患者、慢性ＨＣＶを有する患者、または癌遺伝子もしくは腫瘍抑制遺伝子における規定された再編成もしくは突然変異を有する患者などの癌を有する任意の患者である。
【０１７６】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を含むワクチンを使用して治療することができる癌としては、腺癌、肉腫、皮膚癌、黒色腫、メルケル細胞癌、膀胱癌、脳癌、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌（ＮＳＣＬＣ、ＳＣＬＣ、扁平上皮癌を含むが、これらに限定されない）、結腸直腸癌、肛門癌、直腸癌、子宮頸癌、肝臓癌、頭頸部癌、口腔癌、唾液腺癌、食道癌、膵臓（膵臓）癌、膵管腺癌（ＰＤＡ）、腎臓癌、胃癌、腎臓癌、多発性骨髄腫、または脳癌の過形成を含む、全ての進行段階が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１７７】
本明細書に記載される核酸分子を含むワクチン組成物を用いる治療は、一旦同定されると、個体の癌の経過の間の任意の期間で利用され得ることが想定される。高リスク患者において、その後の癌の発生を予防するためにワクチン接種することも可能である。
【０１７８】
このような癌抗原の例としては、ＨＥＲ２、ＣＤ１６１、およびＮＹ－ＥＳＯ１、またはそれらの細胞外ドメインが挙げられる。
【０１７９】
ａ）ＨＥＲ２
いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、ＨＥＲ２抗原を含む。場合によっては、ＨＥＲ２抗原は、ＨＥＲ２の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）部分を含む。場合によっては、抗原は、配列番号２００の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列から選択される。いくつかの実施形態では、ＨＥＲ２抗原をコードするヌクレオチド配列は、配列番号２０１と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有する。
【０１８０】
いくつかの実施形態では、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－抗原構築物は、配列番号１９５の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列をコードする。いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰをコードし、配列番号１９６の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ抗原構築物は、配列番号１９９、続いて配列番号２０１、続いて配列番号２０３の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するヌクレオ

チドコード配列を有する。いくつかの実施形態では、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ抗原構築物は、配列番号１９８、続いて配列番号２００、続いて配列番号２０２の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチド配列を有し、任意選択で、これらのセグメント間に１つまたは２つのリンカー配列を有する。

【０１８１】

場合によっては、バイシストロニック構築物によって発現される対応する第２のポリペプチドは、ＩＲＥＧポリペプチド、例えば、ＳＰＤ－ＣＤ４０Ｌまたは別のＩＲＥＧの細胞外ドメインもしくは完全タンパク質配列、例えば、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３であり、これらは、場合によっては、免疫グロブリンＦｃドメインなどのドメインに任意選択でさらに融合され得る。

【０１８２】

ｂ）ＮＹ－ＥＳＯ１

いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、ＮＹ－ＥＳＯ１の抗原を含む。そのようなＮＹ－ＥＳＯ１抗原配列の例としては、配列番号２２３の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ＮＹ－ＥＳＯ１ヌクレオチドコード配列は、配列番号２２４と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する。

【０１８３】

いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、（ａ）配列番号２２１の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物コード配列は、配列番号１９９、続いて配列番号２２４、続いて配列番号２０３の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する。

【０１８４】

場合によっては、バイシストロニック構築物によって発現される対応する第２のポリペプチドは、ＩＲＥＧポリペプチド、例えば、ＩＬ－１５または別のＩＲＥＧの細胞外ドメインもしくは完全タンパク質配列、例えば、ＣＤ４０、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、またはＩＬ－３３であり、これらは、場合によっては、免疫グロブリンＦｃドメインなどのドメインに任意選択でさらに融合され得る。

【０１８５】

ｃ）ＣＤ１６１

いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、ＣＤ１６１のＥＣＤなどのＣＤ１６１の抗原を含む。そのようなＣＤ１６１配列の例としては、配列番号２３６の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ＣＤ１６１　ＥＣＤヌクレオチ

ドコード配列は、配列番号２３７と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物は、（ａ）配列番号２３４の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物コード配列は、配列番号１９９、続いて配列番号２３７、続いて配列番号２０３の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する。

【０１８７】

場合によっては、バイシストロニック構築物によって発現される対応する第２のポリペプチドは、ＩＲＥＧポリペプチド、例えば、ＳＰＤ－ＣＤ４０Ｌまたは別のＩＲＥＧの細胞外ドメインもしくは完全タンパク質配列、例えば、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３であり、これらは、場合によっては、免疫グロブリンＦｃドメインなどのドメインに任意選択でさらに融合され得る。

【０１８８】

ｄ）さらなる癌抗原

表Ａに示される以下の抗原もまた、当業者に公知の技術を使用して、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ－抗原構築物の各々にクローニングすることができる。例えば、第４列に記載されている配列／断片／エピトープも、本明細書に記載されているＬＡＭＰ－抗原構築物にクローニングすることができる。さらに、表Ａに列挙される癌抗原のいずれか１つは、第４の列に記載される配列／断片／エピトープを含む表Ａに列挙される任意の他の抗原と組み合わされ、本明細書に記載されるようなＬＡＭＰ－抗原構築物に挿入され得る。または、表Ａの癌抗原のいずれか１つを、本開示に記載される任意の他の癌抗原と組み合わせ、本明細書のＬＡＭＰ－抗原構築物に挿入することができる。

【０１８９】

場合によっては、表Ａからの癌抗原を含むバイシストロニック構築物によって発現される対応する第２のポリペプチドは、ＩＲＥＧポリペプチド、例えばＳＰＤ－ＣＤ４０Ｌ、または別のＩＲＥＧの細胞外ドメインもしくは完全タンパク質配列、例えばＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、もしくはＩＬ－３３であり、これらは、場合によっては、免疫グロブリンＦｃドメインなどのドメインに任意選択でさらに融合され得る。

【０１９０】

【表１】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
254	ラージＴ抗原	YP_009111421	配列番号２５４のアミノ酸１～３２７はアミノ酸２２０に変異の有無があり、野生型のセリンが好ましくはアラニン（または他の不活性化アミノ酸）で置換されており（例えば、配列番号２５５～２５６）、したがって、Ｓｈａｒｍａ　ｅｔａｌ．３８、１１５３－１１６２（ＩＪＣ　２０１６）に記載のように、Ｒｂ結合モチーフのリン酸化が阻害されている。配列番号２５４のアミノ酸１～３２７の断片、例えば配列番号２５５～２５６として例示されるものなどもまた、これらの断片がメルケル細胞ポリオーマウイルス（ＭＣＰｙＶ）のラージＴ抗原に対する抗体応答を惹起する能力を保持する限り、企図される。 本明細書のバイシストロニック構築物と共に使用され得るラージＴ抗原ＬＡＭＰ構築物の一例は、配列番号８７９または８８０の構築物である。
255	ラージＴ抗原	YP_009111421	配列番号２５４のアミノ酸１～３２７であって、Ｓ２２０は任意のアミノ酸（Ｘ）である
256	ラージＴ抗原	YP_009111421	配列番号２５４のアミノ酸１～３２７であって、Ｓ２２０はアラニン（Ａ）である
257	スモールＴ抗原	YP_009111422	ＭＣＰｙＶｇｐ４スモールＴ抗原、完全長および断片
258	MAGE-A10	UniProtKB:A0A024RC14	
259	MAGE-A12	UniProtKB:P43365	
260	MAGE-A1	UniProtKB:P43355	
261	MAGE-A2	UniProtKB:P43356	
262	MAGE-A3	UniProtKB:P43357	
263	MAGE-A4	UniProtKB:A0A024RC12	
264	MAGE-A4	UniProtKB:P43358	
265	MAGE-A4	UniProtKB:Q1RN33	
266	MAGE-A6	UniProtKB:A8K072	
267	MAGE-A6	UniProtKB:P43360	

【０１９１】

【表２】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む。
268	MAGE-A6	UniProtKB:Q6FHI5	
269	MAGE-A9	UniProtKB:P43362	
270	MAGE-B10	UniProtKB:Q96LZ2	
271	MAGE-B16	UniProtKB:A2A368	
272	MAGE-B17	UniProtKB:A8MXT2	
273	MAGE-B1	UniProtKB:Q96TG1	
274	MAGE-B2	UniProtKB:O15479	
275	MAGE-B3	UniProtKB:O15480	
276	MAGE-B4	UniProtKB:O15481	
277	MAGE-B5	UniProtKB:Q9BZ81	
278	MAGE-B6	UniProtKB:Q8N7X4	
279	MAGE-C1	UniProtKB:O60732	
280	MAGE-C2	UniProtKB:Q9UBF1	
281	MAGE-C3	UniProtKB:Q8TD91	
282	MAGE-D1	UniProtKB:Q9Y5V3	
283	MAGE-D2	UniProtKB:Q9UNF1	
284	MAGE-D4	UniProtKB:Q96JG8	
285	MAGE-_E1	UniProtKB:Q6IAI7	
286	MAGE-F1(MAGE1)	UniProtKB:Q9HCI5	
287	MAGE-F2	UniProtKB:Q8TD90	
288	MAGE-F1	UniProtKB:Q9HAY2	
289	MAGE-H1	UniProtKB:Q9H213	

【０１９２】

【表３】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む。
290	MAGEL2	UniProtKB:Q9UJ55	
291-293	pp65	ABQ23593	本明細書のｐｐ６５－ＬＡＭＰ構築物において有用な例示的なｐｐ６５抗原配列はまた、ＬＬＱＴＧＩＨＶＲＶＳＱＰＳＬ（配列番号２９１、ｐｏｓ４１－５５）および／またはＡＬＰＬＫＭＬＮＩＰＳＩＮＶＨ（配列番号２９１、ｐｏｓ１１５－１２９）および／またはＤＱＹＶＫＶＹＬＥＳＦＣＥＤＶ（配列番号２９１、ｐｏｓ２２１－２３５）および／またはＩＩＫＰＧＫＩＳＨＩＭＬＤＶＡＦＴＳＨ（配列番号２９１、ｐｏｓ２８１－２９９）および／またはＰＱＹＳＥＨＰＴＦＴＳＱＹＲＩＱＧＫＬ（配列番号２９１、ｐｏｓ３６１－３７９）および／またはＰＰＷＱＡＧＩＬＡＲＮＬＶＰＭＶ（配列番号２９１、ｐｏｓ４８５－５００）および／またはＫＹＱＥＦＦＷＤＡＮＤＩＹＲＩＦＡ（配列番号２９１、ｐｏｓ５０９－５２５）を含むものを含み、各エピトープは、任意の順序および／または任意の組み合わせで組み合わせることができ、本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができ、各エピトープは、任意選択で、例えばＧＰＧＰＧ（配列番号２９２、ｐｏｓ３６－４０）またはＰＭＧＬＰ（配列番号２９３、ｐｏｓ３６－４０）などのリンカーによって分離されている。代表的な構築物インサートを配列番号２９２および配列番号２９３として示す。
294-297	gB	P06473	本明細書における例示的なｇＢ抗原配列はまた、ＴＴＳＡＱＴＲＳＶＹＳＱＨＶＴ（配列番号２９４、ｐｏｓ４４－５８）および／またはＱＬＩＰＤＤＹＳＮＴＨＳＴＲＹＶ（配列番号２９４、ｐｏｓ２１２－２２７）および／またはＶＳＶＦＥＴＳＧＧＬＶＶＦＷＱ（配列番号２９４、ｐｏｓ４１８－４３２）および／またはＮＳＡＹＥＹＶＤＹＬＦＫＲＭＩＤＬＳ（配列番号２９４、ｐｏｓ６２２－６３９）を含む配列を含み、各エピトープは、任意の順序および／または任意の組み合わせで組み合わせることができ、本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができ、各エピトープは、好ましくは、例えば、ＧＰＧＰＧ（配列番号２９６、ｐｏｓ１６－２０）またはＰＭＧＬＰ（配列番号２９７、ｐｏｓ１６－２０）などのリンカーによって分離される。代表的な構築物インサートを配列番号２９６および配列番号２９７として示す。
298-300	IE1	P13202	例示的なＩＥ１抗原配列はまた、ＶＬＡＥＬＶＫＱＩＫＶＲＶＤＭＶＲＨＲＩＫＥＨＭＬＫＫＹＴＱ（配列番号２９８、ｐｏｓ８１－１１０）および／またはＩＶＰＥＤＫＲＥＭＷＭＡＣＩＫＥＬＨ（配列番号２９８、ｐｏｓ１５８－１７５）および／またはＫＤＥＬＲＲＫＭＭＹＭＣＹＲＮＩＥＦＦＴＫＮＳＡＦＰＫＴＴ（配列番号２９８、ｐｏｓ１９７－２２５）および／またはＳＶＭＫＲＲＩＥＥＩＣＭＫ

【０１９３】

【表４】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
			ＶＦＡＱＹＩ（配列番号２９８、ｐｏｓ３３７－３５５）および／またはＡＩＡＥＥＳＤＥＥＡＩＶＡＹ（配列番号２９８、ｐｏｓ３７３－３８７）および／またはＶＫＳＥＰＶＳＥＩＥＥＶＡＰＥＥＥＥＤＧ（配列番号２９８、ｐｏｓ４４９－４６８）を含む配列を含み、各エピトープは、任意の順序および／または任意の組み合わせで組み合わせることができ、本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができ、各エピトープは、好ましくは、例えばＧＰＧＰＧ（配列番号２９９、ｐｏｓ３１－３５）またはＰＭＧＬＰ（配列番号３００、ｐｏｓ３１－３５）などのリンカーによって分離される。代表的な構築物インサートを配列番号２９９および配列番号３００として示す。
301	形態的形質転換領域II(「MTRII」)、ヒトβヘルペスウイルス)	AAA66543	
302	代表的なMTRII LAMP構築物インサート		
303	ヒトβヘルペスウイルス5	AMJ53524	
304	US28		
305	IGFBP2	NP_000588	例示的なＩＧＦＢＰ２抗原配列はまた、配列番号１２８のアミノ酸３９～３２８；（ｂ）配列番号１２８のアミノ酸４０～３２８；（ｃ）配列番号１２８のアミノ酸４３～１３５；（ｄ）配列番号１２８のアミノ酸１～１６３；（ｅ）配列番号１２８のアミノ酸２～１６３；（ｆ）配列番号１２８のアミノ酸３９～１６３；（ｇ）配列番号１２８のアミノ酸４０～１６３；（ｈ）配列番号１２８のアミノ酸２２９～３０９；（ｉ）配列番号１２８のアミノ酸２～３２８；および／または（ｊ）配列番号１２８のアミノ酸１～３２８を含む。
306	HCMVAウイルスインターロイキン-10（「IL10」）	P17150	
307	代表的なHCMVAウイルスIL-10 LAMP構築物インサート		

【０１９４】

【表５】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む。
308	HCMVM膜糖タンパク質 UL144（「UL144」）	F5HAM0	
309	代表的なHCMV膜糖タンパク質UL144 LAMP構築物インサート		
310	HCMVMタンパク質 UL141（「UL141」）	Q6RJQ3	
311	代表的なHCMVタンパク質UL141 LAMP構築物インサート		
312	HCMVA特有の短いUS11糖タンパク質（「US11」）	P09727	
313	代表的なHCMVA特有の短いUS11糖タンパク質LAMP構築物インサート		
314-317	HCMVエンベロープ糖タンパク質HOS（「HOS」）	A0A0G2TM81	例示的なＨＣＭＶエンベロープ糖タンパク質ＨＯＳ抗原配列には、ＴＹＮＳＳＬＲＮＳＴＶＶＲＥＮＡＩＳＦＮＦＦＱＳＹＮＱＶＹＶＦＨＭＰＲ（配列番号３１４、ｐｏｓ６０－９４）および／またはＤＬＴＥＴＬＥＲＹＱＱＲＬＮＴＹＡＬＶＳＫＤＬＡＳＹＲＳＦＳ（配列番号３１４、ｐｏｓ１１０－１３９）および／またはＳＨＴＴＳＧＬＨＲＰＨＦＮＱＴＣＩＬＦＤ（配列番号３１４、ｐｏｓ１８０－１９９）および／またはＱＬＮＲＨＳＹＬＫＤＰＤＦＬＤＡＡＬＤＦ（配列番号３１４、ｐｏｓ２８５－３０４）を含むものも含まれ、各エピトープは、任意の順序および／または任意の組合せで組み合わせることができ、本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができ、各エピトープは、好ましくは、例えば、ＧＰＧＰＧ（配列番号３１６、ｐｏｓ３６－４０）またはＰＭＧＬＰ（配列番号３１７、ｐｏｓ３６－４０）などのリンカーによって分離されている。例えば、配列番号３１５～３１７を参照のこと。

【０１９５】

【表６】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
318-320	HCMVTウイルス転写因子IE2（「IE2」）	Q6SWP7	例示的なＩＥ２抗原配列はまた、ＲＲＧＲＶＫＩＤＥＶＳＲＭＦＲ（配列番号３１８、ｐｏｓ３５６－３７０）および／またはＧＩＱＩＩＹＴＲＮＨＥＶＫＳＥ（配列番号３１８、ｐｏｓ４０８－４２２）および／またはＬＳＴＰＦＬＭＥＨＴＭＰＶＴＨＰＰＥＶＡ（配列番号３１８、ｐｏｓ４３８－４５７）に記載されており、各エピトープは、任意の順序及び／又は任意の組み合わせで組み合わせることができ、本明細書に記載されるＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができ、各エピトープは、好ましくは、ＧＰＧＰＧ（配列番号３１９、ｐｏｓ１６－２０）などのリンカーによって分離される。例えば、配列番号３１９～３２０を参照のこと。
321-323	TERTアイソフォーム1（「TERT」）	NP_937983.2	
324	サバイビン	NP_001125727	
325-327	破傷風	1AF9_A	例示的な破傷風菌配列はまた、ＰＧＩＮＧＫＡＩＨＬＶＮＮＥＳＳＥ（配列番号３２５、ｐｏｓ５３－６９）および／またはＦＮＮＦＴＶＳＦＷＬＲＶＰＫＶＳＡＳＨＬＥＱＹＧＴ（配列番号３２５、ｐｏｓ８４－１０８）および／またはＹＶＳＩＤＫＦＲＩＦＣＫＡＬＮＰＫＥＩＥＫＬＹＴＳＹＬＳ（配列番号３２５、ｐｏｓ２２０－２４７）および／またはＩＬＲＶＧＹＮＡＰＧＩＰＬＹＫＫＭＥＡＶＫＬＲＤＬＫ（配列番号３２５、ｐｏｓ３６１－３８６）を含む配列を含み、ここで、各エピトープは、任意の順序および／または任意の組み合わせで組み合わせることができ、本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができ、ここで、各エピトープは、好ましくは、ＧＰＧＰＧ（配列番号３２６、ｐｏｓ１８－２２）またはＰＭＧＬＰ（配列番号３２７、ｐｏｓ１８－２２）などのリンカーによって分離されている。代表的な構築物インサートを配列番号３２６および配列番号３２７として示す。
328	癌精巣抗原NY-ESO-1（「NY-ESO-1」）	NP-001318.1	
329-331	HER2	AAA75493.1	さらなる例示的なＨＥＲ２抗原配列は、配列番号１９８を含み、配列番号１９９によってコードされる。
332-334	HER3	NP_001973.2	配列番号３３２のアミノ酸２０～６４３、６６５～１２０１、および／または１２０９～１３４２のうちの少なくとも１つを含む構築物であって、各エピトープが任

【０１９６】

【表７】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
			意の順序および／または任意の組合せで組み合わされ、本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングされ得、各エピトープが、好ましくは、例えばＧＰＧＰＧ又はＰＭＧＬＰなどのリンカーによって分離されている、構築物。代表的な構築物インサートを配列番号３３３および配列番号３３４として示す。
335 336	HVEM	NP_003811.2	一例は、配列番号３３５のアミノ酸３９～２０２を含む配列である。
337-340	HPV構築物		例としては、構築物を作製するために使用される配列：（ａ）ＨＰＶ　１６　Ｅ６（配列番号３３７）；（ｂ）ＨＰＶ　１８　Ｅ６（配列番号３３８）；（ｃ）ＨＰＶ　１６　Ｅ７（配列番号３３９）；（ｄ）ＨＰＶ　１８　Ｅ７（配列番号３４０）が挙げられる。 代表的な構築物： 配列番号３４１（代表的なＨＰＶ　１６　Ｅ６－Ｅ７構築物） 配列番号３４２（代表的なＨＰＶ　１８　Ｅ６－Ｅ７構築物） 配列番号３４３（ＨＰＶ　１６　Ｅ６－リンカーＨＰＶ　１８　Ｅ６リンカーＨＰＶ　１６　Ｅ７リンカーＨＰＶ　１８　Ｅ７）
346-349	EBV構築物		以下の配列のいずれかを、任意の組み合わせで使用して、構築物（ａ）ＥＢＶ　ＥＢＮＡ１（配列番号３４６）；（ｂ）ＥＢＶ短縮型ＥＢＮＡ－１（配列番号３４７）；（ｃ）ＥＢＶ　ｇｐ３５０（配列番号３４８）；（ｄ）ＥＢＶ　ＬＭＰ２（配列番号３４９）を作製し得る。例えば、代表的な構築物は、短縮型ＥＢＮＡ－１およびＬＭＰ２を含み得る。
351-352	HBV構築物		以下の配列のいずれかを（いずれかの方向で）使用して、構築物を作製することができる。 ＨＢＶミドルＳタンパク質（配列番号３５１）およびＨＢＶ　Ｘタンパク質（配列番号３５２）。例えば、代表的な構築物は、ミドルＳタンパク質－Ｘタンパク質を含み得る。
353	TIGIT		
354	TEM8		
355	TEM1		
356	HER2 ECD+TM		

【０１９７】

【表８】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
357	CEA		
358	TARP		
359	PROSTEIN		
360	PSMA		
361	BIRC4		
362	ムチン-1		
363	ムチン-1アイソフォーム		
364	CD40リガンド		
352	WT-1		
366	WT-1切断		
367	PRAME		
368	LAGE-1		
369	MAGE A3		
370-374	サバイビン	NP_001125727	代表的な構築物としては、配列番号３７０～３７４のうちの１つを含む構築物が挙げられる。
375	1A01_HLA-A/m	UniProtKB:P30443	
376	1A02	UniProtKB:P01892	
377	5T4	UniProtKB:Q13641	
378	ACRBP	UniProtKB:Q8NEB7	
379	AFP	UniProtKB:P02771	
380	AKAP4	UniProtKB:Q5JQC9	
381	α-アクチニン-4/m	UniProtKB:B4DSX0	

【０１９８】

【表９】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
382	α-アクチニン-4/m	UniProtKB:B4E337	
383	α-アクチニン-4/m	UniProtKB:O43707	
384	α-メチルアシル-補酵素Ａラセマーゼ	UniProtKB:A0A024RE16	
385	α-メチルアシル-補酵素Ａラセマーゼ	UniProtKB:A8K4C3	
386	ANDR	UniProtKB:P10275	
387	ART-4	UniProtKB:Q9ULX3	
388	ARTC1/m	UniProtKB:P52961	
389	AURKB	UniProtKB:Q96GD4	
390	B2MG	UniProtKB:P61769	
391	B3GN5	UniProtKB:Q9BYG0	
392	B4GN1	UniProtKB:Q00973	
393	B7H4	UniProtKB:Q7Z7D3	
394	BAGE-1	UniProtKB:Q13072	
395	BASI	UniProtKB:P35613	
396	BCL-2	UniProtKB:A9QXG9	
397	bcr/abl	UniProtKB:A9UEZ4	
398	bcr/abl	UniProtKB:A9UEZ7	
399	bcr/abl	UniProtKB:A9UEZ8	
400	bcr/abl	UniProtKB:A9UEZ9	
401	bcr/abl	UniProtKB:A9UF00	

【０１９９】

【表１０】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
402	bcr/abl	UniProtKB:A9UF01	
403	bcr/abl	UniProtKB:A9UF03	
404	bcr/abl	UniProtKB:A9UF04	
405	bcr/abl	UniProtKB:A9UF05	
406	bcr/abl	UniProtKB:A9UF06	
407	bcr/abl	UniProtKB:A9UF08	
408	β-カテニン/m	UniProtKB:P35222	
409	β-カテニン/m	UniProtKB:Q8WYA6	
410	BING-4	UniProtKB:O15213	
411	BIRC7	UniProtKB:Q96CA5	
412	BRCA1/m	UniProtKB:A0A024R1V0	
413	BRCA1/m	UniProtKB:A0A024R1V7	
414	BRCA1/m	UniProtKB:A0A024R1Z8	
415	BRCA1/m	UniProtKB:A0A068BFX7	
416	BRCA1/m	UniProtKB:C6YB45	
417	BRCA1/m	UniProtKB:C6YB47	
418	BRCA1/m	UniProtKB:G3XAC3	
419	BY55	UniProtKB:O95971	
420	CAMEL	UniProtKB:O95987	
421	CASPA	UniProtKB:Q92851-4	
422	カテプシン_B	UniProtKB:A0A024R374	

【０２００】

【表１１】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
423	カテプシン_B	UniProtKB:P07858	
424	カテプシン_L	UniProtKB:A0A024R276	
425	カテプシン_L	UniProtKB:P07711	
426	カテプシン_L	UniProtKB:Q9HBQ7	
427	CD1A	UniProtKB:P06126	
428	CD1B	UniProtKB:P29016	
429	CD1C	UniProtKB:P29017	
430	CD1D	UniProtKB:P15813	
431	CD1E	UniProtKB:P15812	
432	CD20	UniProtKB:P11836	
433	CD22	UniProtKB:O60926	
434	CD22	UniProtKB:P20273	
435	CD22	UniProtKB:Q0EAF5	
436	CD276	UniProtKB:Q5ZPR3	
437	CD33	UniProtKB:B4DF51	
438	CD33	UniProtKB:P20138	
439	CD33	UniProtKB:Q546G0	
440	CD3E	UniProtKB:P07766	
441	CD3Z	UniProtKB:P20963	
442	CD44_アイソフォーム_1	UniProtKB:P16070	

【０２０１】

【表１２】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
443	CD44_アイソフォーム_6	UniProtKB:P16070-6	
444	CD4	UniProtKB:P01730	
445	CD52	UniProtKB:P31358	
446	CD52	UniProtKB:Q6IBD0	
447	CD52	UniProtKB:V9HWN9	
448	CD55	UniProtKB:B1AP15	
449	CD55	UniProtKB:D3DT85	
450	CD55	UniProtKB:D3DT86	
451	CD55	UniProtKB:P08174	
452	CD56	UniProtKB:P13591	
453	CD80	UniProtKB:A0N0P2	
454	CD80	UniProtKB:P33681	
455	CD86	UniProtKB:P42081	
456	CD8A	UniProtKB:P01732	
457	CDC27/m	UniProtKB:G5EA36	
458	CDC27/m	UniProtKB:P30260	
459	CDE30	UniProtKB:P28908	
460	CDK4/m	UniProtKB:A0A024RBB6	
461	CDK4/m	UniProtKB:P11802	
462	CDK4/m	UniProtKB:Q6LC83	
463	CDK4/m	UniProtKB:Q96BE9	

【０２０２】

【表１３】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
464	CDKN2A/m	UniProtKB:D1LYX3	
465	CDKN2A/m	UniProtKB:G3XAG3	
466	CDKN2A/m	UniProtKB:K7PML8	
467	CDKN2A/m	UniProtKB:L8E941	
468	CDKN2A/m	UniProtKB:Q8N726	
469	CEA	RefSeq:NP_004354	
470	CEAM6	UniProtKB:P40199	
471	CH3L2	UniProtKB:Q15782	
472	CLCA2	UniProtKB:Q9UQC9	
473	CML28	UniProtKB:Q9NQT4	
474	CML66	UniProtKB:Q96RS6	
475	COA-1/m	UniProtKB:Q5T124	
476	コアクシン様タンパク質	UniProtKB:Q14019	
477	コラーゲン_XXIII	UniProtKB:L8EAS4	
478	コラーゲン_XXIII	UniProtKB:Q86Y22	
479	COX-2	UniProtKB:Q6ZYK7	
480	CP1B1	UniProtKB:Q16678	
481	CSAG2	UniProtKB:Q9Y5P2-2	
482	CSAG2	UniProtKB:Q9Y5P2	
483	CT45A1	UniProtKB:Q5HYN5	
484	CT55	UniProtKB:Q8WUE5	

【０２０３】

【表１４】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
485	CT-_9/BRD6	UniProtKB:Q58F21	
48	CTAG2_アイソフォーム_LAGE-1A	UniProtKB:O75638-2	
487	CTAG2_アイソフォーム_LAGE-1B	UniProtKB:O75638	
488	CTCFL	UniProtKB:Q8NI51	
489	Cten	UniProtKB:Q8IZW8	
490	cyclin_B1	UniProtKB:P14635	
491	cyclin_D1	UniProtKB:P24385	
492	cyp-B	UniProtKB:P23284	
493	DAM-10	UniProtKB:P43366	
494	DEP1A	UniProtKB:Q5TB30	
495	E7	UniProtKB:P03129	
496	E7	UniProtKB:P06788	
497	E7	UniProtKB:P17387	
498	E7	UniProtKB:P06429	
499	E7	UniProtKB:P27230	
500	E7	UniProtKB:P24837	
501	E7	UniProtKB:P21736	
502	E7	UniProtKB:P26558	
503	E7	UniProtKB:P36831	
504	E7	UniProtKB:P36833	

【０２０４】

【表１５】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
505	E7	UniProtKB:Q9QCZ1	
506	E7	UniProtKB:Q81965	
507	E7	UniProtKB:Q80956	
508	EF1A2	UniProtKB:Q05639	
509	EFTUD2/m	UniProtKB:Q15029	
510	EGFR	UniProtKB:A0A0B4J1Y5	
511	EGFR	UniProtKB:E7BSV0	
512	EGFR	UniProtKB:L0R6G1	
513	EGFR	UniProtKB:P00533-2	
514	EGFR	UniProtKB:P00533	
515	EGFR	UniProtKB:Q147T7	
516	EGFR	UniProtKB:Q504U8	
517	EGFR	UniProtKB:Q8NDU8	
518	EGLN3	UniProtKB:Q9H6Z9	
519	ELF2/m	UniProtKB:B7Z720	
520	EMMPRIN	UniProtKB:Q54A51	
521	EpCam	UniProtKB:P16422	
522	EphA2	UniProtKB:P29317	
523	EphA3	UniProtKB:P29320	
524	EphA3	UniProtKB:Q6P4R6	
525	ErbB3	UniProtKB:B3KWG5	

【０２０５】

【表１６】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
526	ErbB3	UniProtKB:B4DGQ7	
527	ERBB4	UniProtKB:Q15303	
528	ERG	UniProtKB:P11308	
529	ETV6	UniProtKB:P41212	
530	EWS	UniProtKB:Q01844	
531	EZH2	UniProtKB:F2YMM1	
532	EZH2	UniProtKB:G3XAL2	
533	EZH2	UniProtKB:L0R855	
534	EZH2	UniProtKB:Q15910	
535	EZH2	UniProtKB:S4S3R8	
536	FABP7	UniProtKB:O15540	
537	FCGR3A_バージョン_1	UniProtKB:P08637	
538	FCGR3A_バージョン_2	CCDS:CCDS1232.1	
539	FGF5	UniProtKB:P12034	
540	FGF5	UniProtKB:Q60518	
541	FGFR2	UniProtKB:P21802	
542	フィブロネクチン	UniProtKB:A0A024R5I6	
543	フィブロネクチン	UniProtKB:A0A024RB01	
544	フィブロネクチン	UniProtKB:A0A024RDT9	
545	フィブロネクチン	UniProtKB:A0A024RDV5	
546	フィブロネクチン	UniProtKB:A6NH44	

【０２０６】

【表１７】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
547	フィブロネクチン	UniProtKB:A8K6A5	
548	フィブロネクチン	UniProtKB:B2R627	
549	フィブロネクチン	UniProtKB:B3KXM5	
550	フィブロネクチン	UniProtKB:B4DIC5	
551	フィブロネクチン	UniProtKB:B4DN21	
552	フィブロネクチン	UniProtKB:B4DS98	
553	フィブロネクチン	UniProtKB:B4DTH2	
554	フィブロネクチン	UniProtKB:B4DTK1	
555	フィブロネクチン	UniProtKB:B4DU16	
556	フィブロネクチン	UniProtKB:B7Z3W5	
557	フィブロネクチン	UniProtKB:B7Z939	
558	フィブロネクチン	UniProtKB:G5E9X3	
559	フィブロネクチン	UniProtKB:Q9H382	
560	FOS	UniProtKB:P01100	
561	FOXP3	UniProtKB:Q9BZS1	
562	FUT1	UniProtKB:P19526	
563	G250	UniProtKB:Q16790	
564	GAGE-1	Genbank:AAA82744。	
565	GAGE-2	UniProtKB:Q6NT46	
566	GAGE-3	UniProtKB:Q13067	
567	GAGE-4	UniProtKB:Q13068	

【０２０７】

【表１８】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
568	GAGE-5	UniProtKB:Q13069	
569	GAGE-6	UniProtKB:Q13070	
570	GAGE7b	UniProtKB:O76087	
571	GAGE-8(GAGE-2D)	UniProtKB:Q9UEU5	
572	GASR	UniProtKB:P32239	
573	GnT-V	UniProtKB:Q09328	
574	GPC3	UniProtKB:I6QJG3	
575	GPC3	UniProtKB:P51654	
576	GPC3	UniProtKB:Q8IYG2	
577	GPNMB/m	UniProtKB:A0A024RA55	
578	GPNMB/m	UniProtKB:Q14956	
579	GPNMB/m	UniProtKB:Q8IXJ5	
580	GPNMB/m	UniProtKB:Q96F58	
581	GRM3	UniProtKB:Q14832	
582	HAGE	UniProtKB:Q9NXZ2	
583	ヘプシン	UniProtKB:B2ZDQ2	
584	ヘプシン	UniProtKB:P05981	
585	Her2/neu	UniProtKB:B4DTR1	
586	Her2/neu	UniProtKB:L8E8G2	
587	Her2/neu	UniProtKB:P04626	
588	Her2/neu	UniProtKB:Q9UK79	

【０２０８】

【表１９】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
589	HLA-A2/m	UniProtKB:Q95387	
590	HLA-A2/m	UniProtKB:Q9MYF8	
591	homeobox_NKX3.1	UniProtKB:Q99801	
592	HOM-TES-85	UniProtKB:B2RBQ6	
593	HOM-TES-85	UniProtKB:Q9P127	
594	HPG1	Pubmed:12543784	
595	HS71A	UniProtKB:P0DMV8	
596	HS71B	UniProtKB:P0DMV9	
597	HST-2	UniProtKB:P10767	
598	hTERT	UniProtKB:O94807	
599	iCE	UniProtKB:O00748	
600	IF2B3	UniProtKB:O00425	
601	IL-13 Rα2	UniProtKB:Q14627	
602	IL2-RA	UniProtKB:P01589	
603	IL2-RB	UniProtKB:P14784	
604	IL2-RG	UniProtKB:P31785	
605	IMP3	UniProtKB:Q9NV31	
606	ITA5	UniProtKB:P08648	
607	ITB1	UniProtKB:P05556	
608	ITB6	UniProtKB:P18564	
609	カリクレイン-2	UniProtKB:A0A024R4J4	

【０２０９】

【表２０】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
610	カリクレイン-2	UniProtKB:A0A024R4N3	
611	カリクレイン-2	UniProtKB:B0AZU9	
612	カリクレイン-2	UniProtKB:B4DU77	
613	カリクレイン-2	UniProtKB:P20151	
614	カリクレイン-2	UniProtKB:Q6I774	
615	カリクレイン-2	UniProtKB:Q6I775	
616	カリクレイン-4	UniProtKB:A0A0C4DFQ5	
617	カリクレイン-4	UniProtKB:Q5BQA0	
618	カリクレイン-4	UniProtKB:Q96PT0	
619	カリクレイン-4	UniProtKB:Q96PT1	
620	カリクレイン-4	UniProtKB:Q9Y5K2	
621	KI20A	UniProtKB:O95235	
622	KIAA0205	UniProtKB:Q92604	
623	KIF2C	UniProtKB:Q99661	
624	KK-LC-1	UniProtKB:Q5H1943	
625	LDLR	UniProtKB:P01130	
626	LGMN	UniProtKB:Q99538	
627	LIRB2	UniProtKB:Q8N423	
628	LY6K	UniProtKB:Q17RY6	
629	MAGA5	UniProtKB:P43359	
630	MAGA8	UniProtKB:P43361	

【０２１０】

【表２１】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
631	MAGAB	UniProtKB:P43364	
632	MAGE-A10	UniProtKB:A0A024RC14	
633	MAGE-A12	UniProtKB:P43365	
634	MAGE-A1	UniProtKB:P43355	
635	MAGE-A2	UniProtKB:P43356	
636	MAGE-A3	UniProtKB:P43357	
637	MAGE-A4	UniProtKB:A0A024RC12	
638	MAGE-A4	UniProtKB:P43358	
639	MAGE-A4	UniProtKB:Q1RN33	
640	MAGE-A6	UniProtKB:A8K072	
641	MAGE-A6	UniProtKB:P43360	
642	MAGE-A6	UniProtKB:Q6FHI5	
643	MAGE-A9	UniProtKB:P43362	
644	MAGE-B10	UniProtKB:Q96LZ2	
645	MAGE-B16	UniProtKB:A2A368	
646	MAGE-B17	UniProtKB:A8MXT2	
647	MAGE-B1	UniProtKB:Q96TG1	
648	MAGE-B2	UniProtKB:O15479	
649	MAGE-B3	UniProtKB:O15480	
650	MAGE-B4	UniProtKB:O15481	
651	MAGE-B5	UniProtKB:Q9BZ81	

【０２１１】

【表２２】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
652	MAGE-B6	UniProtKB:Q8N7X4	
653	MAGE-C1	UniProtKB:O60732	
654	MAGE-C2	UniProtKB:Q9UBF1	
655	MAGE-C3	UniProtKB:Q8TD91	
656	MAGE-D1	UniProtKB:Q9Y5V3	
657	MAGE-D2	UniProtKB:Q9UNF1	
658	MAGE-D4	UniProtKB:Q96JG8	
659	MAGE-_E1	UniProtKB:Q6IAI7	
660	MAGE-E1(MAGE1)	UniProtKB:Q 9 HCI 5	
661	MAGE-E2	UniProtKB:Q8TD90	
662	MAGE-F1	UniProtKB:Q9HAY2	
663	MAGE-H1	UniProtKB:Q9H213	
664	MAGEL2	UniProtKB:Q9UJ55	
665	マンマグロビン A	UniProtKB:Q13296	
666	マンマグロビン A	UniProtKB:Q6NX70	
667	MART-1/メラン-A	UniProtKB:Q16655	
668	MART-2	UniProtKB:Q5VTY9	
669	MC1_R	UniProtKB:Q01726	
670	MC1_R	UniProtKB:Q1JUL4	
671	MC1_R	UniProtKB:Q1JUL6	
672	MC1_R	UniProtKB:Q1JUL8	

【０２１２】

【表２３】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
673	MC1_R	UniProtKB:Q1JUL9	
674	MC1_R	UniProtKB:Q1JUM0	
675	MC1_R	UniProtKB:Q1JUM2	
676	MC1_R	UniProtKB:Q1JUM3	
677	MC1_R	UniProtKB:Q1JUM4	
678	MC1_R	UniProtKB:Q1JUM5	
679	MC1_R	UniProtKB:Q6UR92	
680	MC1_R	UniProtKB:Q6UR94	
681	MC1_R	UniProtKB:Q6UR95	
682	MC1_R	UniProtKB:Q6UR96	
683	MC1_R	UniProtKB:Q6UR97	
684	MC1_R	UniProtKB:Q6UR98	
685	MC1_R	UniProtKB:Q6UR99	
686	MC1_R	UniProtKB:Q6URA0	
687	MC1_R	UniProtKB:Q86YW1	
688	MC1_R	UniProtKB:V9Q5S2	
689	MC1_R	UniProtKB:V9Q671	
690	MC1_R	UniProtKB:V9Q783	
691	MC1_R	UniProtKB:V9Q7F1	
692	MC1_R	UniProtKB:V9Q8N1	
693	MC1_R	UniProtKB:V9Q977	

【０２１３】

【表２４】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
694	MC1_R	UniProtKB:V9Q9P5	
695	MC1_R	UniProtKB:V9Q9R8	
696	MC1_R	UniProtKB:V9QAE0	
697	MC1_R	UniProtKB:V9QAR2	
698	MC1_R	UniProtKB:V9QAW3	
699	MC1_R	UniProtKB:V9QB02	
700	MC1_R	UniProtKB:V9QB58	
701	MC1_R	UniProtKB:V9QBY6	
702	MC1_R	UniProtKB:V9QC17	
703	MC1_R	UniProtKB:V9QC66	
704	MC1_R	UniProtKB:V9QCQ4	
705	MC1_R	UniProtKB:V9QDF4	
706	MC1_R	UniProtKB:V9QDN7	
707	MC1_R	UniProtKB:V9QDQ6	
708	メソテリン	UniProtKB:Q13421	
709	MITF	UniProtKB:O75030-8	
710	MITF	UniProtKB:O75030-9	
711	MITF	UniProtKB:O75030	
712	MMP1_1	UniProtKB:B3KQS8	
713	MMP7	UniProtKB:P09237	
714	MUC-1	Genbank:AAA60019。	

【０２１４】

【表２５】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
715	MUM-1/m	RefSeq:NP_116242	
716	MUM-2/m	UniProtKB:Q9Y5R8	
717	MYO1A	UniProtKB:Q9UBC5	
718	MYO1B	UniProtKB:O43795	
719	MYO1C	UniProtKB:O00159	
720	MYO1D	UniProtKB:O94832	
721	MYO1E	UniProtKB:Q12965	
722	MYO1F	UniProtKB:O00160	
723	MYO1G	UniProtKB:B0I1T2	
724	MYO1H	RefSeq:NP_001094891	
725	NA17	UniProtKB:Q3V5L5	
726	NA88-A	Pubmed:10790436	
727	Neo-PAP	UniProtKB:Q9BWT3	
728	NFYC/m	UniProtKB:Q13952	
729	NGEP	UniProtKB:Q6IWH7	
730	NPM	UniProtKB:P06748	
731	NRCAM	UniProtKB:Q92823	
732	NSE	UniProtKB:P09104	
733	NUF2	UniProtKB:Q9BZD4	
734	NY-ESO-1	UniProtKB:P78358	
735	OA1	UniProtKB:P51810	

【０２１５】

【表２６】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
736	OGT	UniProtKB:O15294	
737	OS-9	UniProtKB:B4DH11	
738	OS-9	UniProtKB:B4E321	
739	OS-9	UniProtKB:B7Z8E7	
740	OS-9	UniProtKB:Q13438	
741	オステオカルシン	UniProtKB:P02818	
742	オステオポンチン	UniProtKB:A0A024RDE2	
743	オステオポンチン	UniProtKB:A0A024RDE6	
744	オステオポンチン	UniProtKB:A0A024RDJ0	
745	オステオポンチン	UniProtKB:B7Z351	
746	オステオポンチン	UniProtKB:F2YQ21	
747	オステオポンチン	UniProtKB:P10451	
748	p53	UniProtKB:P04637	
749	PAGE-4	UniProtKB:O60829	
750	PAI-1	UniProtKB:P05121	
751	PAI-2	UniProtKB:P05120	
752	PAP	UniProtKB:Q06141	
753	PAP	UniProtKB:Q53S56	
754	PATE	UniProtKB:Q8WXA2	
755	PAX3	UniProtKB:P23760	
756	PAX5	UniProtKB:Q02548	

【０２１６】

【表２７】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
757	PD1L1	UniProtKB:Q9NZQ7	
758	PDCD1	UniProtKB:Q15116	
759	PDEF	UniProtKB:O95238	
760	PECA1	UniProtKB:P16284	
761	PGCB	UniProtKB:Q96GW7	
762	PGFRB	UniProtKB:P09619	
763	Pim-_1 キナーゼ	UniProtKB:A0A024RD25	
764	Pin-1	UniProtKB:O15428	
765	Pin-1	UniProtKB:Q13526	
766	Pin-1	UniProtKB:Q49AR7	
767	PLAC1	UniProtKB:Q9HBJ0	
768	PMEL	UniProtKB:P40967	
769	PML	UniProtKB:P29590	
770	POTEF	UniProtKB:A5A3E0	
771	POTE	UniProtKB:Q86YR6	
772	PRAME	UniProtKB:A0A024R1E6	
773	PRAME	UniProtKB:P78395	
774	PRDX5/m	UniProtKB:P30044	
775	PRM2	UniProtKB:P04554	
776	PROSTEIN	UniProtKB:Q96JT2	
777	プロテイナーゼ-3	UniProtKB:D6CHE9	

【０２１７】

【表２８】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
778	プロテイナーゼ-3	UniProtKB:P24158	
779	PSA	UniProtKB:P55786	
780	PSB9	UniProtKB:P28065	
781	PSCA	UniProtKB:D3DWI6	
782	PSCA	UniProtKB:O43653	
783	PSGR	UniProtKB:Q9H255	
784	PSM	UniProtKB:Q04609	
785	PTPRC	RefSeq:NP_002829	
786	RAB8A	UniProtKB:P61006	
787	RAGE-1	UniProtKB:Q9UQ07	
788	RARA	UniProtKB:P10276	
789	RASH	UniProtKB:P01112	
790	RASK	UniProtKB:P01116	
791	RASN	UniProtKB:P01111	
792	RGS5	UniProtKB:O15539	
793	RHAMM/CD168	UniProtKB:O75330	
794	RHOC	UniProtKB:P08134	
795	RSSIA	UniProtKB:P08865	
796	RU1	UniProtKB:Q9UHJ3	
797	RU2	UniProtKB:Q9UHG0	
798	RUNX1	UniProtKB:Q01196	

【０２１８】

【表２９】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
799	S-100	UniProtKB:V9HW39	
800	SAGE	UniProtKB:Q9NXZ1	
801	SART-1	UniProtKB:O43290	
802	SART-2	UniProtKB:Q9UL01	
803	SART-3	UniProtKB:Q15020	
804	SEPR	UniProtKB:Q12884	
805	SIA7F	UniProtKB:Q969X2	
806	SIA8A	UniProtKB:Q92185	
807	SIAT9	UniProtKB:Q9UNP4	
808	SIRT2/m	UniProtKB:A0A024R0G8	
809	SIRT2/m	UniProtKB:Q8IXJ6	
810	SOX10	UniProtKB:P56693	
811	SP17	UniProtKB:Q15506	
812	SPNXA	UniProtKB:Q9NS26	
813	SPXN3	UniProtKB:Q5MJ09	
814	SSX-1	UniProtKB:Q16384	
815	SSX-2	UniProtKB:Q16385	
816	SSX3	UniProtKB:Q99909	
817	SSX-4	UniProtKB:O60224	
818	ST1A1	UniProtKB:P50225	
819	STAG2	UniProtKB:Q8N3U4-2	

【０２１９】

【表３０】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
820	STAMP-1	UniProtKB:Q8NFT2	
821	STEAP-1	UniProtKB:A0A024RA63	
822	STEAP-1	UniProtKB:Q9UHE8	
823	サバイビン-2B	UniProtKB:O15392-2	
824	サバイビン	UniProtKB:O15392	
825	SYCP1	UniProtKB:A0A024R0I2	
826	SYCP1	UniProtKB:B7ZLS9	
827	SYCP1	UniProtKB:Q15431	
828	SYCP1	UniProtKB:Q3MHC4	
829	SYT-SSX-1	UniProtKB:A4PIV7	
830	SYT-SSX-1	UniProtKB:A4PIV8	
831	SYT-SSX-2	UniProtKB:A4PIV9	
832	SYT-SSX-2	UniProtKB:A4PIW0	
833	TARP	UniProtKB:Q0VGM3	
834	TCRg	UniProtKB:A2JGV3	
835	TF2AA	UniProtKB:P52655	
836	TGFR2	UniProtKB:P37173	
837	TGM-4	UniProtKB:B2R7D1	
838	TIE2	UniProtKB:Q02763	
839	TKTL1	UniProtKB:P51854	
840	TPI/m	UniProtKB:P60174	

【０２２０】

【表３１】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
841	TRGV11	UniProtKB:Q99601	
842	TRGV9	UniProtKB:A4D1X2	
843	TRGV9	UniProtKB:Q99603	
844	TRGV9	UniProtKB:Q99604	
845	TRPC1	UniProtKB:P48995	
846	TRP-p8	UniProtKB:Q7Z2W7	
847	TSG10	UniProtKB:Q9BZW7	
848	TSPY1	UniProtKB:Q01534	
849	TVC_(TRGV3)	Genbank:M13231.1	
850	TX101	UniProtKB:Q9BY14-2	
851	チロシナーゼ	UniProtKB:A0A024DBG7	
853	チロシナーゼ	UniProtKB:L8B082	
853	チロシナーゼ	UniProtKB:L8B086	
854	チロシナーゼ	UniProtKB:L8B0B9	
855	チロシナーゼ	UniProtKB:O75767	
856	チロシナーゼ	UniProtKB:P14679	
857	チロシナーゼ	UniProtKB:U3M8N0	
858	チロシナーゼ	UniProtKB:U3M9D5	
859	チロシナーゼ	UniProtKB:U3M9J2	
860	TYRP1	UniProtKB:P17643	
861	TYRP2	UniProtKB:P40126	

【０２２１】

【表３２】

配列番号	抗原のタンパク質名	アクセッション／由来	本明細書に記載のＬＡＭＰ構築物にクローニングできる例示的なエピトープ／断片は、少なくとも以下を含む
862	UPA	UniProtKB:Q96NZ9	
863	VEGFR1	UniProtKB:B5A924	
864	WT1	UniProtKB:A0A0H5AUY0	
865	WT1	UniProtKB:P19544	
866	WT1	UniProtKB:Q06250	
867	XAGE1	UniProtKB:Q9HD64	
868	IL-10	UniProtKB:P22301	
869	IL-5	UniProtKB:P05113	
870	M-CSF	UniProtKB:P09603	
871	TGFβ1	UniProtKB:P01137	
872	カスパーゼ８	UniProtKB:Q14790	
873	SERPINB5	UniProtKB:P36952	
874	カルレチクリン	UniProtKB:B4DHR1	
875	カルレチクリン	UniProtKB:B4E2Y9	
876	カルレチクリン	UniProtKB:P27797	
877	カルレチクリン	UniProtKB:Q96L12	
878	N-myc	UniProtKB:P04198	

【０２２２】

さらに、表Ａに記載される抗原（列４に示される配列／断片／エピトープを含む）は、本明細書に記載されるＬＡＭＰ－抗原構築物に、個々に、または互いに組み合わせてクローニングすることができる。したがって、表１の列４に記載されるエピトープ／断片を含む、表Ａの列１に示される配列のそれぞれ１つを使用して、表Ａの列１または列４からも選択される別の配列と組み合わせてＬＡＭＰ－抗原構築物を生成することができる。核酸構築物またはそのような核酸構築物を保有する細胞の場合、構築物は、例えば、表Ａまたは本明細書の他の箇所に列挙される抗原のうちの１つ以上をコードし得る。さらに、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物を作製するために、ＩＲＥＧ配列を第２のポリペプチド（

または核酸ベクターもしくはそのようなベクターを保有する細胞の場合には、ＩＲＥＧのコード配列）として含めることもできる。

【０２２３】

特定のＬＡＭＰ－抗原構築物における抗原の組み合わせの順序もまた、変化し得る。例えば、名前ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３は、表１に記載されるタンパク質をいい、そして表Ａの第１列に示される全長配列だけでなく、表Ａの第４列に記載されるような配列／フラグメント／エピトープも一般的にいうことが明確に意図される。したがって、表１の列４に記載されるエピトープ／断片を含む、表Ａの列１に示される配列のそれぞれ１つを使用して、ＬＡＭＰ構築物を生成することができ、次いで、これを、例えば、ＩＲＥＧ配列と共に組み込んで、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物を創出することができる。

【０２２４】

本開示を限定するものではないが、異なる、さらなる可能な抗体の組み合わせを例示するために、抗体の組み合わせ（表Ａの第１列に示される配列および／または表Ａの第４列に記載される配列／フラグメント／エピトープを含む）を、以下のようにＬＡＭＰ構築物にクローニングすることができる：（ａ）ｐｐ６５と、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｂ）ｇＢと、ｐｐ６５、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｃ）ＩＥ１とｐｐ６５、ｇＢ、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｄ）ＭＴＲＩＩと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６

Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｅ）ＵＳ２８と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｆ）ＩＧＦＢＰ２と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｇ）ＩＬ１０と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｈ）ＵＬ１４４と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｉ）ＵＬ１４１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｊ）ＵＳ１１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２

、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｋ）ＩＥ２と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｌ）ＴＥＲＴと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｍ）サバイビンと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｎ）破傷風と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｏ）ＮＹ－ＥＳＯ－１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｐ）ＨＥＲ２と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥ

Ｍ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｑ）ＨＥＲ３と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｒ）ＨＶＥＭと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｓ）ＨＯＳと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｔ）ＨＰＶ１６Ｅ６と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｕ）ＨＰＶ１８Ｅ６と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｖ）ＨＰＶ１６Ｅ７と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、Ｂ

ＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｗ）ＨＰＶ１８Ｅ７と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｘ）ＥＢＮＡ１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｙ）ＥＢＮＡ１　ｔｒｕｎｃと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ｚ）ｇｐ３５０と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａａ）ＬＭＰ２と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および/またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｂ）ＧＣＰ３と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、Ｗ

Ｔ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および/またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｃ）Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および/またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｄ）Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｅ）ＴＩＧＩＴと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｆ）ＴＥＭ８と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｇ）ＴＥＭ１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｈ）ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／ま

たはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｉ）ＣＥＡと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｊ）ＴＡＲＰと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｋ）ＰＲＯＳＴＥＩＮと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａ１）ＰＳＭＡと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｍ）ＢＩＲＣ４と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｎ）ＭＵＣＩＮ－１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｏ）ＭＵＣＩＮ－

１　ｉｓｏと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｐ）ＣＤ４０－Ｌと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｑ）ＷＴ－１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｒ）ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＰＲＡＭＥ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｓ）ＰＲＡＭＥと、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＬＡＧＥ－１、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；（ａｔ）ＬＡＧＥ－１と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ　ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ　Ｓ、Ｘ　Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２　ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１　ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１　ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、および／またはＭＡＧＥ　Ａ３のうちの少なくとも１つと；および/または（ａｕ）ＭＡＧＥ　Ａ３と、ｐｐ６５、ｇＢ、ＩＥ１、ＭＴＲＩＩ、ＵＳ２８、

ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ１０、ＵＬ１４４、ＵＬ１４１、ＵＳ１１、ＨＯＳ、ＩＥ２、ＴＥＲＴ、サバイビン、破傷風、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、ＨＶＥＭ、ＨＰＶ１６Ｅ６、ＨＰＶ１８Ｅ６、ＨＰＶ１６Ｅ７、ＨＰＶ１８Ｅ７、ＥＢＮＡ１、ＥＢＮＡ ｔｒｕｎｃ、ｇｐ３５０、ＬＭＰ２、ＧＣＰ３、Ｍｉｄｄｌｅ Ｓ、Ｘ Ｐｒｏｔｅｉｎ、ＴＩＧＩＴ、ＴＥＭ８、ＴＥＭ１、ＨＥＲ２ ＥＣＤ＋ＴＭ、ＣＥＡ、ＴＡＲＰ、ＰＲＯＳＴＥＩＮ、ＰＳＭＡ、ＢＩＲＣ４、ＭＵＣＩＮ－１、ＭＵＣＩＮ－１ ｉｓｏ、ＣＤ４０－Ｌ、ＷＴ－１、ＷＴ－１ ｔｒｕｎｃ、ＰＲＡＭＥ、および／またはＬＡＧＥ－１のうちの少なくとも１つ。特定のＬＡＭＰ構築物における上記の抗原の組み合わせの順序は、このリストが、ＬＡＭＰ構築物が含むものを記載し、必ずしも特定の構築物内の抗原の配置を記載するものではないため、変動し得る。さらに、これらの抗原は、単一のＬＡＭＰ構築物内で組み合わせることができるか、または複数のＬＡＭＰ構築物を含む組成物中で送達することができることが具体的に想定される。

【０２２５】

本明細書のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用され得る抗原のさらなる例としては、例えば、国際公開ＷＯ２０１８／２０４５３４号、その刊行物の表１および図１９～２０、または国際公開ＷＯ２０２１／０７７０５１号、その刊行物の表１および図１１Ａに開示されているものが挙げられる。これらの刊行物はいずれも、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【０２２６】

場合によっては、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用される抗原は、ｐｐ６５抗原を含み、例えば、配列番号２９１、２９２、もしくは２９３、または表Ａの列４に示される配列番号２９１の部分のうちの１つもしくは複数を含む。場合によっては、抗原は、配列番号２９２または２９３を含む。場合によっては、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用される抗原は、配列番号２９４、２９５、２９６、もしくは２９７、または表Ａの列４に示される配列番号２９４からの抗原断片のうちの１つ以上を含む等のｇＢ抗原を含む。場合によっては、抗原は、配列番号２９６または２９７を含む。場合によっては、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用される抗原は、１Ｅ１抗原、例えば、配列番号２９８、２９９、もしくは３００、または表Ａの列４に示される１Ｅ１ポリペプチド配列のうちの１つもしくは複数を含む。場合によっては、抗原は、配列番号２９９または３００を含む。場合によっては、抗原は、例えば、表Ａの列４に示されるものなどの１つまたは複数のリンカーペプチド配列によって連結された、ｐｐ６５、ｇＢ、および１Ｅ１抗原配列のうちの２つ以上を含む。場合によっては、抗原は、ｐｐ６５、ｇＢ、および１Ｅ１抗原配列、例えば、（ａ）配列番号２９２または２９３を含む、（ｂ）配列番号２９６または２９７を含む、および（ｃ）配列番号２９９または３００を含む抗原配列のセットから選択される配列のそれぞれを含む。例えば、そのようなｐｐ６５、ｇＢ、および１Ｅ１抗原のポリヌクレオチドコード配列を、ＩＲＥＧタンパク質コード配列と共にバイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用することができる。例えば、ポリペプチド、ポリヌクレオチド（すなわち、ＤＮＡベクターまたは自己複製ＲＮＡベクター）、または細胞形態のこのような構築物は、例えば、癌（過形成を含む進行の全ての段階を含む）が腺癌、肉腫、皮膚癌、黒色腫、膀胱癌、脳腫瘍、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌（ＮＳＣＬＣ、ＳＣＬＣ、扁平上皮癌を含むが、これらに限定されない）、結腸直腸癌、肛門癌、直腸癌、子宮頸癌、肝臓癌、頭頸部癌、口腔癌、唾液腺癌、食道癌、膵臓癌、膵管腺癌（ＰＤＡ）、腎臓癌、胃癌、腎臓癌、多発性骨髄腫または脳腫瘍である場合を含む、上記に列挙されたものなどの様々な癌の治療に使用され得る。場合によっては、癌は多形神経膠芽腫である。場合によっては、癌は乳癌である。場合によっては、癌は前立腺癌である。場合によっては、癌は頭頸部癌である。場合によっては、癌は結腸直腸癌である。

【０２２７】

他の場合において、抗原は、配列番号２５４、２５５、または２５６のアミノ酸配列を含むものなどのラージＴ抗原を含む。場合によっては、抗原は、配列番号２５５または配

列番号２５６のアミノ酸配列を含む。場合によっては、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物内のＬＡＭＰ－抗原構築物は、配列番号８７９または配列番号８８０のアミノ酸配列を含み、これらの両方は、ＬＡＭＰ１の相同ドメインが隣接し、シグナル配列を含む配列番号２５６のアミノ酸配列を含む。配列番号８７９は、ＬＡＭＰ膜貫通ドメインおよび細胞質領域をさらに含む。本明細書のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物では、構築物は、ＩＲＥＧタンパク質をさらに含むか、またはコードしてもよい。抗原がラージＴ抗原である構築物は、例えば、癌（例えば、皮膚癌（例えば、メルケル細胞癌））の処置において使用され得る。このような抗原は、第２のポリペプチドとしてＩＲＥＧと組み合わされ得、その例は、以下および本開示の他の箇所に提供される。

【０２２８】

Ｅ．バイシストロニックＬＡＭＰ構築物において使用するための例示的な免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ）

いくつかの実施形態では、第２のポリペプチドは、バイシストロニックＬＡＭＰ－抗原構築物に対するＴ細胞応答および／または抗体応答を増加させ得る免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ）によってコードされるドメインまたは抗原を含み得る。ＩＲＥＧポリペプチドの例としては、例えば、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、ＯＸ４０、Ｆｌｔ３Ｌ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＣＤ７０、ＣＤ８６、ＩＬ－７、ＩＬ－１８、ＩＬ－３３、ＧＭ－ＣＳＦ、４－１ＢＢ、４－１ＢＢＬ、ＩＬ－２７、またはＣＣＬ２０が挙げられる。

【０２２９】

１．ＣＤ４０リガンド（ＣＤ４０Ｌ）

いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧはＣＤ４０Ｌである。ＣＤ４０Ｌは、活性化Ｔ細胞、特にＣＤ４　Ｔ細胞の表面上に発現される膜貫通タンパク質である。ＣＤ４０Ｌは、樹状細胞（ＤＣ）およびマクロファージなどの抗原提示細胞（ＡＰＣ）、ならびにＴ細胞および抗体応答を増強するためのＢ細胞のＣＤ４０依存性活性化を刺激する。いくつかの実施形態では、ＣＤ４０Ｌは、ＣＤ４０Ｌの可溶性バージョン（ｓＣＤ４０Ｌ）である。いくつかの実施態様では、ｓＣＤ４０Ｌは、４－三量体、すなわち、ＣＤ４０Ｌの三量体の四量体を含むタンパク質複合体である。いくつかの実施形態では、ｓＣＤ４０Ｌは、天然のＣＤ４０Ｌよりも可溶性であり、および／またはより良好な分泌を有する。そのようなＣＤ４０Ｌ配列の例としては、配列番号２０４の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２３０】

場合によっては、ｓＣＤ４０Ｌは、ＳＰＤなどの別のポリペプチドに融合される。いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号１９６、２３３、もしくは２３８、または配列番号１３１もしくは１３３とそれに続く配列番号２０４の組合せと少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％もしくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列をコードする第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号１９６、２３３、もしくは２３８、または配列番号１３１もしくは１３３とそれに続く配列番号２０４との組み合わせの少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％のアミノ酸配列をコードするか、または１００％の配列同一性を有する第２のポリヌクレオチドを含む。場合によっては、第２のポリペプチドのコード配列は、配列番号２３９または２３７または２０５の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なく

とも９９％のヌクレオチド配列を含むか、または１００％の配列同一性を有する。
【０２３１】
２．ＦＬＴ３Ｌ
いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧはＦＬＴ３Ｌである。そのようなＦＬＴ３Ｌ配列の例には、配列番号１５１または２０９の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が含まれるが、これらに限定されない。
【０２３２】
いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、ＳＰＤポリペプチドが先行するヒトＦｌｔ３Ｌポリペプチドを含む第２のポリペプチドをコードし、したがって融合タンパク質を作製する。いくつかのそのような場合において、バイシストロニック構築物は、配列番号２０７の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％のアミノ酸配列を有するか、または１００％の配列同一性を有する第２のポリペプチドをコードする。
【０２３３】
３．ＩＬ－１２
いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧはＩＬ－１２である。そのようなＩＬ－１２配列の例としては、配列番号１３７、１３９、１４３、１４５、１４７、１４９、１８７、１８９、１９３、または２１３の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。
【０２３４】
いくつかの実施形態では、ＩＬ－１２のヌクレオチドコード配列は、配列番号１３８、１４０、１４４、１４６、１４８、１５０、１８８、１９０、１９４、または２１４の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。
【０２３５】
４．ＩＬ－２１
いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧはＩＬ－２１である。そのようなＩＬ－２１配列の例としては、配列番号１７９、１８１、または２１７の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。
【０２３６】
いくつかの実施形態では、ＩＬ－２１のヌクレオチドコード配列は、配列番号１８０、１８２、または２１８の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。
【０２３７】
５．ＯＸ４０リガンド（ＯＸ４０Ｌ）
いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧはＯＸ４０Ｌである。そのようなＯＸ４０Ｌ配列の例としては、配列番号１５３、１５５、または２４３の少なくとも６０％、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％、少

なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。場合によっては、ＯＸ４０Ｌは、ＩＬ－２由来のものなどの異種シグナルペプチドに融合される。場合によっては、ＯＸ４０Ｌ配列は、細胞外ドメイン配列である。場合によっては、ＯＸ４０Ｌ細胞外ドメインはまた、免疫グロブリンのＦｃドメインに融合される。場合によっては、バイシストロニック構築物は、配列番号２４２、または配列番号２４６もしくは２４８とそれに続く配列番号２４３の組み合わせの少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％のアミノ酸配列をコードするか、または１００％の配列同一性を有する第２のポリヌクレオチドを含む。

【０２３８】

６．ＩＬ－１５

いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧはＩＬ－１５である。そのようなＩＬ－１５配列の例としては、配列番号１６７または１６９の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ＩＬ－１５のヌクレオチドコード配列は、配列番号１６８または１７０の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２３９】

場合によっては、ＩＬ－１５は、ＩｇＫＶＩＩＩまたはＩｇ－カッパなどの異種シグナル配列の後ろで発現される。そのようなＩＬ－１５配列の例としては、配列番号２２５の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ＩＬ－１５のヌクレオチドコード配列は、配列番号２２６と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％もしくは１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４０】

７．ＣＤ８０

いくつかの実施形態では、ＩＲＥＧはＣＤ８０である。そのようなＣＤ８０配列の例としては、配列番号１５７、１５９、または２５３の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ＣＤ８０のヌクレオチドコード配列は、配列番号１５８または１６０または２５４と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４１】

場合によっては、ＣＤ８０は、ＩＬ－２シグナル配列などの異種シグナル配列の後ろに発現される。場合によっては、ＣＤ８０は、ＣＤ８０の細胞外ドメインである。場合によっては、ＣＤ８０の細胞外ドメインは、免疫グロブリンのＦｃドメインにさらに融合され

る。そのような配列の例としては、配列番号２５２または２５３の少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性のアミノ酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２４２】

Ｆ．例示的なバイシストロニックＬＡＭＰ構築物配列

いくつかの実施形態では、バイシストロニック（ｂｉｃｉｔｒｏｎｉｃ）構築物は、ＬＡＭＰタンパクの内腔ドメインの２つの相同ドメインと、ＬＡＭＰタンパクに対して異種の抗原性ドメインとを含むＬＡＭＰ－抗原ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含み、抗原性ドメインは、２つの相同ドメインの間に配置される。場合によっては、ＬＡＭＰの第１の相同ドメインは、配列番号１９８のＣ末端または配列番号１の残基２９～１９４に対して少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む。場合によっては、ＬＡＭＰの第２の相同ドメインは、配列番号２０２または配列番号１の残基２２８～３８１に対して少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２３０と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２２８と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４５】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号１９７と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４６】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２０８と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４７】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２１２と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４８】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２１６と少なくとも

６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２４９】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２２２と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２５０】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２４１と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２５１と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２５２】

いくつかの実施形態では、バイシストロニック構築物は、配列番号２３５と少なくとも６０％、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％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【０２５３】

Ｇ．バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする配列のアセンブリ

目的の抗原を含むバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を構築するための手順は、当該技術分野において周知である（例えば、Ｗｉｌｌｉａｍｓ，　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．１１１：９５５，　１９９０を参照されたい）。所望のセグメントをコードするＤＮＡ配列は、容易に入手可能な組換えＤＮＡ材料（例えば、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，　１２３０１　Ｐａｒｋｌａｗｎ　Ｄｒｉｖｅ，　Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，　Ｍｄ．　２０８５２，　Ｕ．Ｓ．Ａ．から入手可能なもの）から、または所望のＤＮＡを含むＤＮＡライブラリーから得られ得る。

【０２５４】

例えば、所望のドメイン配列に対応するＤＮＡセグメントは、組換えＤＮＡ方法論の慣用的な手順を使用して、適切な制御配列およびシグナル配列とアセンブルされ得る。例えば、米国特許第４，５９３，００２号、およびＬａｎｇｆｏｒｄ，　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｏｌｅｃ．　Ｃｅｌｌ．　Ｂｉｏｌ．　６：　３１９１，　１９８６に記載されているものを参照されたい。

【０２５５】

タンパク質またはポリペプチドをコードするＤＮＡ配列は、化学的に合成され得るか、またはいくつかのアプローチのうちの１つによって単離され得る。合成されるＤＮＡ配列は、所望のアミノ酸配列に適切なコドンを用いて設計され得る。一般に、配列が発現のために使用される意図される宿主に好ましいコドンが選択される。完全な配列は、標準的な方法によって調製された重複オリゴヌクレオチドからアセンブルされ得、そして完全なコード配列にアセンブルされ得る。例えば、Ｅｄｇｅ，　Ｎａｔｕｒｅ　２９２：７５６，

１９８１；Ｎａｍｂａｉｒ，ｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２３：１２９９，１９８４；Ｊａｙ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５９：６３１１，１９８４を参照されたい。

【０２５６】

一態様では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物のドメイン配列をコードするポリヌクレオチドの１つまたは複数を、ポリメラーゼ連鎖反応を使用して個々に単離する（Ｍ．Ａ．Ｉｎｎｉｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｉｎ ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ：Ａ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９９０）。ドメインは、好ましくは、それらを含むことが知られている公的に入手可能なクローンから単離されるが、それらはまた、ゲノムＤＮＡまたはｃＤＮＡライブラリーから単離され得る。好ましくは、単離された断片は、抗原配列をコードするバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を構築することを可能にする適合性の制限エンドヌクレアーゼ部位によって境界を定められる。この技術は当業者に周知である。ドメイン配列は、互いに直接融合されてもよく（例えば、介在配列なしで）、または互いに挿入されてもよく（例えば、ドメイン配列が不連続である場合）、または介在配列（例えば、リンカー配列など）によって分離されてもよい。

【０２５７】

オリゴヌクレオチドプライマー、プローブおよびＤＮＡライブラリーを調製するための基本的な戦略、ならびに核酸ハイブリダイゼーションによるそれらのスクリーニングは、当業者に周知である。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ，ｅｔ ａｌ．，１９８９、前出；Ｐｅｒｂａｌ，１９８４、前出を参照のこと。適切なゲノムＤＮＡまたはｃＤＮＡライブラリーの構築は、当該分野の技術の範囲内である。例えば、Ｐｅｒｂａｌ，１９８４、前出を参照のこと。あるいは、適切なＤＮＡライブラリーまたは公的に入手可能なクローンは、ＣｌｏｎｅｔｅｃｈおよびＳｔｒａｔａｇｅｎｅのような生物学的研究材料の供給業者、ならびにＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎのような公的な寄託機関から入手可能である。

【０２５８】

選択は、ＤＮＡの発現ライブラリーから配列を発現させ、発現されたペプチドを免疫学的に検出することによって達成され得る。ＭＨＣ ＩＩ分子および所望の抗体／Ｔ細胞受容体に結合するペプチドを発現するクローンを選択する。これらの選択手順は、当業者に周知である（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ，ｅｔ ａｌ．，１９８９、前出を参照のこと）。

【０２５９】

所望のポリペプチド配列のコード配列を含むクローンが調製または単離されたら、その配列を、好ましくは宿主細胞中でその配列を維持するための複製起点を含む任意の適切なベクターにクローニングすることができる。

【０２６０】

Ｈ．核酸送達ビヒクル

一態様では、本開示は、（ｉ）ＬＡＭＰタンパク質の第１の相同ドメインとＬＡＭＰタンパク質の第２の相同ドメインとの間（または少なくとも２つのシステイン保存断片の間）に融合された本明細書に記載の抗原をコードする第１のポリヌクレオチド配列（例えば、少なくとも１つの目的の抗原は、ＬＡＭＰヒンジ領域に配置され得るか、またはそれを置換し得る）；および（ｉｉ）分泌シグナル配列に作動可能に連結された少なくとも１つのＩＲＥＧまたはさらなる抗原をコードする第２のポリヌクレオチド配列を含む核酸分子（例えば、プラスミドまたはベクター）を提供し、ここで、ＩＲＥＧまたはさらなる抗原は、対象の循環中に分泌される。さらなる例示的な核酸の実施形態は、発明の概要および特許請求の範囲の項、ならびに本明細書の開示全体に記載されている。

【０２６１】

核酸分子は、ワクチン組成物として提供され、細胞に導入され得る。細胞は、核酸分子を複製するための、またはバイシストロニックＬＡＭＰ構築物（ＬＡＭＰ－抗原構築物を

提供する）および分泌シグナル配列に作動可能に連結されたＩＲＥＧまたは第２の抗原（ＩＲＥＧまたは第２の抗原を含む第２のポリペプチドが細胞から分泌されるように）を発現するための宿主細胞であり得る。好ましくは、宿主細胞は抗原提示細胞である（以下にさらに記載される）。いくつかの実施形態では、ワクチンは、ＤＮＡ、ｍＲＮＡ、または自己増幅ＲＮＡを含む。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、ＬＡＭＰ－抗原構築物をコードする第１のポリヌクレオチド配列は、標的細胞への挿入のためのポリヌクレオチド配列、および細胞における第１のポリヌクレオチド配列の発現（例えば、転写および／または翻訳）を制御するためにそれに作動可能に連結された発現制御配列をさらに含む。同様に、いくつかの態様において、ＩＲＥＧまたはさらなる抗原を含む第２のポリペプチドをコードする第２のポリヌクレオチド配列は、標的細胞への挿入のためのポリヌクレオチド配列、および細胞における第２のポリヌクレオチド配列の発現（例えば、転写および／または翻訳）を制御するためにそれに機能的に連結された発現制御配列をさらに含む。第１および第２のポリヌクレオチド配列を含む核酸分子は、例えば、プラスミド、ファージ、自律複製配列（ＡＲＳ）、セントロメア、ならびにｉｎ　ｖｉｔｒｏもしくは宿主細胞（例えば、細菌、酵母、もしくは昆虫細胞など）および／または標的細胞（例えば、哺乳動物細胞、好ましくは抗原提示細胞など）において複製するかもしくは複製され得る、および／または標的細胞内の所望の位置に発現された配列を運搬することができる他の配列として提供され得る。

【０２６３】

組換え発現ベクターは、ヒト、ウマ、ウシ、ブタ、ラマ、キリン、イヌ、ネコまたはニワトリを含む動物に容易に感染する微生物に由来し得る。本明細書中の特定のベクターとしては、ワクシニアのような生ワクチンとして既に使用されているベクターが挙げられる。これらの組換え体は、宿主に直接接種され得、微生物ベクターに免疫を付与するだけでなく、外来抗原を発現するためにも免疫を付与する。生組換えワクチンとして本明細書で意図されるいくつかのベクターには、ＲＮＡウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポリオウイルス、ならびにワクシニアウイルスおよびその他のポックスウイルスが含まれる。例えば、Ｆｌｅｘｎｅｒ，　Ａｄｖ．　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．　２１：　５１，１９９０に教示されている。

【０２６４】

発現制御配列としては、ＲＮＡポリメラーゼに結合するプロモーター配列、転写アクチベーターおよびリプレッサーにそれぞれ結合するエンハンサー配列もしくは負の調節エレメント、および／またはリボソーム結合のための翻訳開始配列が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、細菌発現ベクターは、ｌａｃプロモーターなどのプロモーター、および転写開始のために、シャイン・ダルガーノ配列および開始コドンＡＵＧを含み得る（Ｓａｍｂｒｏｏｋら、１９８９、前出）。同様に、真核生物発現ベクターは、好ましくは、ＲＮＡポリメラーゼＩＩのための異種、同種、またはキメラプロモーター、下流ポリアデニル化シグナル、開始コドンＡＵＧ、およびリボソームの脱離のための終止コドンを含む。

【０２６５】

発現制御配列は、天然に存在する遺伝子から得られ得るか、または設計され得る。設計された発現制御配列には、変異および／またはキメラ発現制御配列、または合成もしくはクローニングされたコンセンサス配列が含まれるが、これらに限定されない。プロモーターと、ポリヌクレオチドが作動可能に連結され得るクローニング部位との両方を含むベクターは、当該分野で周知である。このようなベクターは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏでＲＮＡを転写し得、そしてＳｔｒａｔａｇｅｎｅ（Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，　Ｃａｌｉｆ．）およびＰｒｏｍｅｇａ　Ｂｉｏｔｅｃｈ（Ｍａｄｉｓｏｎ，　Ｗｉｓ．）のような供給源から市販されている。

【０２６６】

発現および／または転写を最適化するために、ベクターの５’および／または３’非翻訳

部分を除去、付加または改変して、転写または翻訳のレベルのいずれかで発現を妨害または減少し得る、余分なまたは代替の翻訳開始コドンまたは他の配列を排除することが必要であり得る。あるいは、コンセンサスリボソーム結合部位を開始コドンの５’に直接挿入して、発現を増強することができる。広範な種々の発現制御配列（それに作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現を制御する配列）が、本開示のポリヌクレオチド配列を発現するために、これらのベクターにおいて使用され得る。このような有用な発現制御配列としては、例えば、ＳＶ４０、ＣＭＶ、ワクシニア、ポリオーマ、アデノウイルス、ヘルペスウイルスの初期または後期プロモーター、および哺乳動物細胞の遺伝子の発現を制御することが公知の他の配列、ならびにそれらの種々の組み合わせが挙げられる。

【０２６７】

第１および第２のポリヌクレオチド配列（ＬＡＭＰ－抗原構築物および第２のポリペプチドをコードする）は、同じまたは異なる発現制御配列から発現され得る。例えば、単一のプロモーターを、両方のポリペプチドをコードするバイシストロニックｍＲＮＡ分子の転写のために使用してもよく、または異なるプロモーターを使用して、２つの異なるポリペプチドの発現を制御してもよい。当業者は、翻訳の終結後再開を達成するために、内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）（Ｐｌａｎｋ ｅｔ ａｌ．，Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｄｉｓｃｉｐ．Ｒｅｖ．ＲＮＡ ３：１９５－２１２，２０１２）または非構造化接合配列などの翻訳増強エレメントを含めることによって、コードされたタンパク質の「第２の」翻訳が達成され得ることを認識するであろう（Ｏｎｉｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｇ３（Ｂｅｔｈｅｓｄａ）６（１２）：４１１５－４１２５，２０１６）。しかしながら、いくつかの実施形態では、２つのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列は、異なる発現制御配列（例えば、異なるプロモーター）から発現される。

【０２６８】

第２のポリヌクレオチドの分泌を達成するために、そのコード配列は、第２のポリヌクレオチド配列の発現が分泌シグナル配列に作動可能に連結されるように、典型的には１６～３０アミノ酸長の分泌シグナル配列（リーダー配列としても知られる）をコードするポリヌクレオチド配列を含み得る。当業者は、適切な分泌シグナル配列を十分に認識しており、例えば、インターロイキン－２、ＣＤ５、免疫グロブリンカッパ軽鎖（以下、Ｉｇ－カッパリーダーと称する）、トリプシノーゲン、血清アルブミン、およびプロラクチンのシグナル配列が挙げられる（Ｓｔｅｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ Ｃｅｌｌ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２：１－１７，２００７；Ｋｏｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇｉｎ．１１０：１１６４－１１７３，２０１３）。分泌シグナル配列は、場合によっては、ＩＲＥＧまたは第２のポリペプチド抗原に対して「ネイティブ」である分泌シグナル配列であり得る。

【０２６９】

一態様では、核酸分子は、複製のための複製起点を含む。好ましくは、起点は、標的細胞への送達に使用するための配列の十分な数のコピーを生成するために使用され得る少なくとも１つの型の宿主細胞において機能する。したがって、適切な起点としては、細菌細胞（例えば、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｓｐ．、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｓｐ．、Ｐｒｏｔｅｕｓ ｓｐ．、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐ．、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｓｐ．、Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｐ．、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｓｐ．、およびＰｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ｓｐ．）、酵母（例えば、Ｓａｃｃｈａｒａｍｙｃｅｓ ｓｐ．またはＰｉｃｈｉａ ｓｐ．）、昆虫細胞、および哺乳動物細胞において機能する起点が挙げられるが、これらに限定されない。一態様では、核酸送達ビヒクルが導入される標的細胞（例えば、ヒト細胞のような哺乳動物細胞）において機能する複製起点が提供される。別の態様では、少なくとも２つの複製起点が提供され、１つは宿主細胞で機能し、１つは標的細胞で機能する。

【０２７０】

核酸分子は、代替的に、または追加的に、標的細胞染色体への核酸分子（例えば、送達ベクター）の少なくとも一部の組み込みを容易にするためのポリヌクレオチド配列（複数

可）を含み得る。例えば、核酸分子は、標的細胞染色体ＤＮＡに対して相同性の領域を含み得る。一態様では、核酸分子は、ＬＡＭＰ－抗原構築物および第２のポリペプチドをコードする核酸配列、および／またはバイシストロニックＬＡＭＰ構築物自体に隣接する２つ以上の組換え部位を含む送達ベクターとして提供される。

【０２７１】

ベクターは、ベクターが標的細胞に首尾よく導入されたこと、および／または標的細胞によって発現され得ることを検証するための検出可能および／または選択可能なマーカーをさらに含み得る。これらのマーカーは、ＲＮＡ、ペプチド、またはタンパク質の産生などの活性をコードすることができ、あるいはＲＮＡ、ペプチド、タンパク質、無機および有機化合物または組成物などの結合部位を提供することができる。

【０２７２】

検出可能／選択可能マーカー遺伝子の例としては、他の毒性化合物（例えば、抗生物質）に対する耐性を提供する産物をコードするＤＮＡセグメント；レシピエント細胞において他の方法で欠損している産物をコードするＤＮＡセグメント（例えば、ｔＲＮＡ遺伝子、栄養要求性マーカー）；遺伝子産物の活性を抑制する産物をコードするＤＮＡセグメント；容易に同定され得る産物をコードするＤＮＡセグメント（例えば、β－ガラクトシダーゼ、蛍光タンパク質（ＧＦＰ、ＣＦＰ、ＹＦＧ、ＢＦＰ、ＲＦＰ、ＥＧＦＰ、ＥＹＦＰ、ＥＢＦＰ、ｄｓＲｅｄ、それらの変異形態、改変形態、または増強形態など）、および細胞表面タンパク質のような表現型マーカー）；細胞の生存および／または機能に有害な産物に結合するＤＮＡセグメント；他の核酸セグメントの活性を阻害するＤＮＡセグメント（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）；基質を改変する産物を結合するＤＮＡセグメント（例えば、制限エンドヌクレアーゼ）；所望の分子を単離または同定するために使用され得るＤＮＡセグメント（例えば、特定のタンパク質結合部位をコードするセグメント）；プライマー配列；存在しない場合に、特定の化合物に対する耐性または感受性を直接的または間接的に付与するＤＮＡセグメント；および／またはレシピエント細胞において毒性である産物をコードするＤＮＡセグメントが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２７３】

マーカー遺伝子は、成功した遺伝子導入のコンフォメーションのマーカーとして、および／または導入された遺伝子を発現する細胞を単離するために、および／または細胞から導入された遺伝子を回収するために使用することができる。例えば、一態様では、マーカー遺伝子は、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を発現する抗原提示細胞を単離および精製するために使用される。

【０２７４】

実質的に類似の遺伝子、例えば、既知の遺伝子に対して約５０％超、約７０％超、８０％超、約９０％超、好ましくは約９５％超の同一性を有する遺伝子が提供され得る。実質的に類似のドメイン配列は、最初に、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で目的のドメイン配列に特異的にハイブリダイズする配列を選択することによって同定され得る。相同、変異体、または修飾ドメイン配列の適合性を決定するためのアッセイを行うことは、単に、適切な活性を発現する配列をスクリーニングすることの問題である。このようなスクリーニングは、当該分野で慣用的である。

【０２７５】

ＬＡＭＰ－抗原構築物および第２のポリペプチドをコードするバイシストロニックＬＡＭＰ構築物は、裸の核酸分子として、または細胞への核酸の侵入を容易にするための１つもしくは複数の分子と会合した送達ビヒクル中で提供され得る。適切な送達ビヒクルとしては、リポソーム処方物、ポリペプチド、多糖類、リポ多糖類、ウイルス処方物（例えば、ウイルス、ウイルス粒子、人工ウイルスエンベロープなどを含む）、細胞送達ビヒクルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２７６】

Ｉ．脂質ベースの製剤

バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子の細胞内送達を容易にするように設計された送達ビヒクルは、非極性環境および極性環境の両方（例えば、細胞膜、組織液、細胞内の区画などの中または上）と相互作用しなければならない。したがって、好ましくは、送達ビヒクルは、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を細胞内に移行させるための極性および非極性ドメインの両方または移行配列を含有するように設計される。

【０２７７】

極性および非極性ドメインを有する化合物は、両親媒性物質と呼ばれる。カチオン性両親媒性物質は、ＤＮＡなどの負に荷電したポリヌクレオチドと相互作用するために、生理学的ｐＨまたはその付近で正に荷電することができる極性基を有する。

【０２７８】

バイシストロニック（ｂｉｓｃｉｓｔｒｏｎｉｃ）ＬＡＭＰ構築物を含む核酸分子は、細胞膜を横切るベクターの移動を容易にするために、脂質単層または二重層を含む製剤中に提供され得る。リポソームまたは脂質膜の任意の形態（例えば、平面脂質膜またはインタクトな細胞（例えば、赤血球）の細胞膜）が使用され得る。リポソーム製剤は、静脈内または経口投与を含む任意の手段によって投与することができる。

【０２７９】

リポソームおよびリポソーム製剤は、標準的な方法に従って調製することができ、当技術分野で周知であり、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ； Ａｋｉｍａｒｕ， １９９５，Ｃｙｔｏｋｉｎｅｓ Ｍｏｌ． Ｔｈｅｒ． １： １９７－２１０； Ａｌｖｉｎｇ，１９９５， Ｉｍｍｕｎｏｌ． Ｒｅｖ． １４５： ５－３１； Ｓｚｏｋａ， １９８０， Ａｎｎ． Ｒｅｖ． Ｂｉｏｐｈｙｓ． Ｂｉｏｅｎｇ． ９： ４６７；米国特許第４，２３５，８７１号；米国特許第４，５０１，７２８号；および米国特許第４，８３７，０２８号を参照されたい。一態様では、リポソームは、リポソーム：核酸分子（本明細書のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物）複合体を特定の細胞型に標的化するための標的化分子を含む。特定の態様では、標的化分子は、標的組織に見られる血管または細胞の表面上の生体分子（例えば、受容体またはリガンド）に対する結合パートナー（例えば、リガンドまたは受容体）を含む。

【０２８０】

リポソームの電荷は、血液からのリポソームクリアランスにおける重要な決定因子であり、負に荷電したリポソームは、細網内皮系によってより迅速に取り込まれる（Ｊｕｌｉａｎｏ， １９７５， Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．６３：６５１）、したがって、血流中でより短い半減期を有する。ホスファチジルエタノールアミン誘導体を組み込むことは、リポソーム凝集を防止することによって循環時間を増強する。例えば、Ｎ－（オメガ－カルボキシ）ａｃｙｌａｍｉｄｏｐｈｏｓｐｈａｔｉｄｙｌｅｔｈａｎｏｌａｍｉｎｅｓをＬ－α－ジステアロイルホスファチジルコリンの大きな単層小胞に組み込むことにより、ｉｎ ｖｉｖｏでのリポソームの循環寿命が劇的に増加する（例えば、Ａｈｌ， １９９７， Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ １３２９：３７０－３８２）。延長された循環半減期を有するリポソームは、典型的には、治療および診断用途に望ましい。薬物動態の一般的な考察については、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ， Ｃｈａｐｔｅｒｓ ３７－３９， Ｌｅｅ， ｅｔ ａｌ．， Ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃ Ａｎａｌｙｓｉｓ： Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｔｅｃｈｎｏｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ ＡＧ， Ｂａｓｅｌ， Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ １９９６）を参照のこと。

【０２８１】

典型的には、リポソームは、約５～１５モルパーセントの負に荷電したリン脂質（例えば、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリンまたはホスファチジル－イノシトール）を用いて調製される。ホスファチジルグリセロールなどの負に荷電したリン脂質を添加することも、自発的なリポソーム凝集を防止するのに役立ち、したがって、サイズが小さいリポソーム凝集体形成のリスクを最小限にする。少なくとも５０モルパーセント

、および５～１５モルパーセントのモノシアリルガングリオシドの濃度のスフィンゴミエリンまたは飽和中性リン脂質などの膜剛性化剤もまた、剛性などのリポソーム特性を望ましく付与することができる（例えば、米国特許第４，８３７，０２８号を参照されたい）。

【０２８２】

さらに、リポソーム懸濁液は、貯蔵時のフリーラジカルおよび脂質過酸化損傷から脂質を保護する脂質保護剤を含むことができる。α－トコフェロールなどの親油性フリーラジカルクエンチャーおよびフェリオキサニンなどの水溶性鉄特異的キレート剤を使用することができる。

【０２８３】

本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物はまた、不均一なサイズの多重膜小胞に組み込むこともできる。例えば、小胞形成脂質を適切な有機溶媒または溶媒系に溶解し、真空または不活性ガス下で乾燥させて、薄い脂質フィルムを形成することができる。所望により、フィルムを第三級ブタノールなどの適当な溶媒に再溶解し、次いで凍結乾燥して、より容易に水和される粉末様形態であるより均一な脂質混合物を形成することができる。このフィルムをペプチドまたはポリペプチド複合体の水溶液で覆い、典型的には１５分～６０分間にわたって撹拌しながら水和させる。得られる多層小胞のサイズ分布は、より激しい攪拌条件下で脂質を水和することによって、またはデオキシコール酸塩などの可溶化界面活性剤を添加することによって、より小さいサイズにシフトさせることができる。水和媒体は、好ましくは、最終リポソーム懸濁液中のリポソームの内部容積において所望される濃度で核酸を含む。

【０２８４】

リポソーム調製後、リポソームは、所望のサイズ範囲および比較的狭い分布のリポソームサイズを達成するようにサイズ調整され得る。１つの例示的なサイズ範囲は、約０．２～０．４ミクロンであり、これは、リポソーム懸濁液が、従来のフィルター（代表的には、０．２２ミクロンフィルター）を通す濾過によって滅菌されることを可能にする。リポソームが約０．２～０．４ミクロンまで小さくされた場合、濾過滅菌は、高スループットベースで実施され得る。リポソームを所望のサイズにするために、いくつかの技術が利用可能である（例えば、米国特許第４，７３７，３２３号を参照のこと）。

【０２８５】

適切な脂質としては、ＤＯＴＭＡ（Ｆｅｌｇｎｅｒ，ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８４：７４１３－７４１７）、ＤＯＧＳまたはＴｒａｎｓｆｅｃｔａｉｎ（商標）（Ｂｅｈｒ，ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：６９８２－６９８６）、ＤＮＥＲＩＥまたはＤＯＲＩＥ（Ｆｅｌｇｎｅｒ，ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ５：６７－７５）、ＤＣＣＨＯＬ（Ｇａｏ ａｎｄ Ｈｕａｎｇ，１９９１，ＢＢＲＣ １７９：２８０－２８５）、ＤＯＴＡＰ（商標）（ＭｃＬａｃｈｌａｎ，ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ２：６７４－６８２）、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）、およびグリセロ脂質化合物（例えば、ＥＰ９０１４６３およびＷＯ９８／３７９１６を参照のこと）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２８６】

バイシストロニックＬＡＭＰ構築物との複合体化に適した他の分子には、ポリアミドアミン（Ｈａｅｎｓｌｅｒ ａｎｄ Ｓｚｏｋａ，１９９３，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．４：３７２－３７９）、デンドリティックポリリシン（ＷＯ ９５／２４２２１）、ポリエチレンｉｒｉｎｅまたはポリプロピレンｈ－ニン（ＷＯ ９６／０２６５５）、ポリリシン（米国特許第５，５９５，８９７号；ＦＲ ２ ７１９ ３１６）、キトサン（米国特許第５，７４４，１６６号）、ＤＮＡ－ゼラチンコアセルベート（例えば、米国特許第６，２０７，１９５号；米国特許第６，０２５，３３７号；米国特許第５，９７２，７０７号を参照のこと）またはＤＥＡＥデキストラン（Ｌｏｐａｔａ

，ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．１２：５７０７－５７１７）などの陽イオン性分子が含まれ得る。

【０２８７】

Ｊ．ウイルスベースの遺伝子送達ビヒクル

一態様では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物を含む核酸分子は、ウイルスまたはウイルス粒子を含む送達ビヒクルとして提供される。この態様では、好ましくは、核酸分子はウイルスベクターを含む。レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、およびヘルペスウイルスなどのウイルスベクターは、しばしば、２つの成分、改変ウイルスゲノムおよびそれを取り囲むコート構造から構成されるが（例えば、Ｓｍｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．４９：８０７－８３８を参照されたい）、時には、ウイルスベクターは、裸の形態で導入されるか、またはウイルスタンパク質以外のタンパク質でコーティングされる。現在のベクターのほとんどは、野生型ウイルスと同様のコート構造を有する。この構造は、ウイルス核酸をパッケージして保護し、標的細胞に結合して侵入する手段を提供する。

【０２８８】

好ましくは、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を含むウイルスベクターは、標的細胞におけるウイルスの増殖を不能にする一方で、感染性粒子を調製するために使用される宿主細胞（例えば、パッケージング細胞またはヘルパー細胞など）におけるウイルスの増殖を可能にするように、野生型ウイルスゲノムから改変される。ベクター核酸は、一般に、ヘルパー株における複製およびパッケージングのための必須のシス作用性ウイルス配列、ならびに標的細胞に送達されるポリヌクレオチドの発現を調節するための発現制御配列である。他のウイルス機能は、当該分野で公知のように、特定のパッケージング細胞株またはヘルパー細胞株においてトランスで発現される。

【０２８９】

ウイルスベクターは、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、泡沫状ウイルス、レンチウイルス、セムリキ森林ウイルス、ＡＡＶ（アデノ随伴ウイルス）、ポックスウイルス、アデノウイルスおよびレトロウイルスからなる群から選択されるウイルスに由来し得る。このようなウイルスベクターは、当該分野で周知である。

【０２９０】

一態様では、使用されるウイルスベクターは、アデノウイルスベクターである。アデノウイルスゲノムは、ウイルス複製サイクルを完了するのに必要な約３０個を超える遺伝子を有する約３６ｋｂの線状二本鎖ＤＮＡ分子からなる。初期遺伝子は、抗ウイルス宿主免疫応答を調節すると考えられているＥ３領域を除いて、ウイルス複製に必須である４つの領域（Ｅ１～Ｅ４）に分けられる。Ｅ１領域（ＥＩＡおよびＥＩＢ）は、ウイルスゲノムの転写の調節を担うタンパク質をコードする。Ｅ２領域遺伝子（Ｅ２ＡおよびＥ２Ｂ）の発現は、ウイルス複製に必要なポリペプチドの合成をもたらす。Ｅ３領域によってコードされるタンパク質は、細胞傷害性Ｔ細胞および腫瘍壊死因子による細胞溶解を防止する（Ｗｏｌｄ ａｎｄ Ｇｏｏｄｉｎｇ，１９９１，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ １８４：１－８）。Ｅ４領域によってコードされるタンパク質は、ＤＮＡ複製、後期遺伝子発現およびスプライシングならびに宿主細胞シャットオフに関与する（Ｈａｌｂｅｒｔ，ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．５６：２５０－２５７）。後期遺伝子は、一般に、ウイルスキャプシドに寄与する構造タンパク質をコードする。さらに、アデノウイルスゲノムは、シス作用５’および３’ＩＴＲ（逆方向末端反復）ならびにＤＮＡ複製に必須のパッケージング配列を保有する。ＩＴＲはＤＮＡ複製起点を有し、一方、キャプシド形成領域は、アデノウイルスＤＮＡを感染性粒子にパッケージングするために必要である。

【０２９１】

アデノウイルスベクターは、Ｈｅｉｓｅ ａｎｄ Ｋｉｍ（２０００，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１０５：８４７－８５１）に記載されるように、特定の細胞(例えば、増殖性細胞など)において選択的に複製するために、条件的に複製可能であるように操作され得る（ＣＲＡｄベクター）。別の態様では、アデノウイルスベクターは、Ｅ

１機能について複製欠損である（例えば、Ｅ１の全体的もしくは部分的欠失または変異誘発による）。ベクターのアデノウイルス骨格は、さらなる改変（１つまたは複数のウイルス遺伝子における欠失、挿入または変異）を含み得る。Ｅ２修飾の例は、ＤＢＰ（ＤＮＡ結合タンパク質）をコードする遺伝子上に局在する温度感受性変異によって例示される（Ｅｎｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９７２， Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．１０：３２８－３３９）。アデノウイルス配列はまた、Ｅ４領域の全てまたは一部を欠失していてもよい（例えば、ＥＰ ９７４ ６６８； Ｃｈｒｉｓｔ， ｅｔ ａｌ．， ２０００， Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ． １１： ４１５－４２７； Ｌｕｓｋｙ， ｅｔ ａｌ．， １９９９， Ｊ． Ｖｉｒｏｌ． ７３： ８３０８－８３１９）。非必須Ｅ３領域内のさらなる欠失は、送達されるポリヌクレオチドのサイズを増加させることを可能にし得る（Ｙｅｈ， ｅｔ ａｌ．， １９９７， ＦＡＳＥＢ Ｊｏｕｒｎａｌ １１： ６１５ ６２３）。しかしながら、ウイルスが免疫系（Ｇｏｏｄｉｎｇ， ｅｔ ａｌ．， １９９０， Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １０： ５３－７１）または炎症反応（ＥＰ ００４４０２６７．３）を回避することを可能にするポリペプチド（例えば、ｇｐ１９ｋなど）をコードするＥ３配列の全てまたは一部を保持することが有利であり得る。

【０２９２】

形質導入細胞における発現遺伝子の長期発現を改善するために、ＩＴＲおよびパッケージング配列を保持し、ウイルス抗原の残存合成を無効にするための実質的な遺伝子改変を含む第二世代ベクターも使用され得る（例えば、ＷＯ ９４／２８１５２；Ｌｕｓｋｙ，ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ ７２：２０２２－２０３２を参照されたい）。

【０２９３】

細胞に導入される本開示の核酸分子は、シス作用配列を除いて、ウイルスゲノムの任意の位置に挿入され得る。好ましくは、それは、欠失領域（Ｅ１、Ｅ３および／またはＥ４）の代わりに、好ましくは欠失Ｅ１領域内に挿入される。

【０２９４】

アデノウイルスは、任意のヒトまたは動物供給源、特にイヌ（例えば、ＣＡＶ－１またはＣＡＶ－２のＧｅｎｂａｎｋ参照番号は、それぞれＣＡＶＩＧＥＮＯＭとＣＡＶ７７０８２）、トリ（Ｇｅｎｂａｎｋ参照番号、ＡＡＶＥＤＳＤＮＡ）、ウシ（ＢＡＶ３など；Ｒｅｄｄｙ， ｅｔ ａｌ．， １９９８， Ｊ． Ｖｉｒｏｌ． ７２： １３９４ １４０２）、マウス（Ｇｅｎｂａｎｋ参照番号、ＡＤＲＭＵＳＭＡＶＩ）、ヒツジ、ネコ、ブタまたはサル供給源に由来し得るか、あるいはハイブリッドウイルスであり得る。任意の血清型を使用することができる。場合によっては、Ｃ亜群のヒトアデノウイルス、特にアデノウイルス２（Ａｄ２）および５（Ａｄ５）が使用される。このようなウイルスは、例えば、ＡＴＣＣから入手可能である。

【０２９５】

アデノウイルス粒子または空のアデノウイルスキャプシドもまた、米国特許第５，９２８，９４４号に記載されるようなウイルス媒介性共インターナリゼーションプロセスによって、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を移入するために使用され得る。このプロセスは、ポリカルベンまたは１つ以上の脂質層を含む脂質小胞などのカチオン性薬剤の存在下で達成することができる。

【０２９６】

アデノウイルス粒子は、ウイルス複製に必要な欠損ウイルス遺伝子をトランスで供給する相補細胞株またはヘルパーウイルスを用いて、当該分野における任意の従来の技術（例えば、ＷＯ ９６／１７０７０）に従って調製および増殖され得る。細胞株２９３（Ｇｒａｈａｍ ｅｔ ａｌ．，１９７７， Ｊ．Ｇｅｎ．Ｖｉｒｏｌ．３６：５９－７２）およびＰＥＲＣ６（Ｆａｌｌａｕｘ ｅｔ ａｌ．，１９９８， Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ９：１９０９－１９１７）が、Ｅ１欠失を補完するために一般的に使用される。他の細胞株は、欠損ベクターを補完するように操作されている（Ｙｅｈ， ｅｔ ａｌ．， １９９６， Ｊ． Ｖｉｒｏｌ． ７０： ５５９－５６５； Ｋｒｏｕｇｈ

ａｋ ａｎｄ Ｇｒａｈａｍ，１９９５，Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．６：１５７５－１５８６；Ｗａｎｇ，ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．２：７７５－７８３；Ｌｕｓｋｙ，ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７２：２０２２－２０３；ＥＰ ９１９６２７およびＷＯ９７／０４１１９）。アデノウイルス粒子は、培養上清から回収され得るが、溶解後の細胞からも回収され得、そして必要に応じて、標準的な技術（例えば、ＷＯ９６／２７６７７、ＷＯ９８／００５２４、ＷＯ９８／２６０４８およびＷＯ００／５０５７３に記載されるような、クロマトグラフィー、超遠心分離）に従ってさらに精製され得る。

【０２９７】

細胞型特異的標的化は、ウイルス表面タンパク質の改変によって、広い宿主範囲を有するアデノウイルス由来のベクターを用いて達成され得る。例えば、アデノウイルスの感染の特異性は、許容細胞の表面に存在する細胞受容体への付着によって決定される。この点に関して、アデノウイルスカプシドの表面に存在するファイバーおよびペントンは、細胞接着において重要な役割を果たす（Ｄｅｆｅｒ，ｅｔ ａｌ．，１９９０，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．６４：３６６１－３６７３）。したがって、アデノウイルスの細胞標的化は、ファイバーおよび／またはペントンをコードするウイルス遺伝子の遺伝的改変によって実施され得、独特の細胞表面レセプターとの特異的相互作用が可能な改変されたファイバーおよび／またはペントンを生成する。そのような修飾の例は、Ｗｉｃｋａｒｎ，ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７１：８２２１－８２２９；Ａｒｒｉｂｅｒｇ，ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｖｉｒｏｌ．Ｃｈｅｍ ２６８：６８６６－６８６９；Ｒｏｕｘ，ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：９０７９－９０８３；Ｍｉｌｌｅｒ ａｎｄ Ｖｉｌｅ，１９９５，ＦＡＳＥＢ Ｊ．９：１９０－１９９；ＷＯ ９３／０９２２１，およびＷＯ ９５／２８４９４に記載されている。

【０２９８】

特定の態様では、アデノ随伴ウイルス配列がベクターとして使用される。ヒトパルボウイルスＡＡＶ－２（アデノ随伴ウイルス２型）由来のベクターは、現在開発されている最も有望な遺伝子送達ビヒクルの１つである。一本鎖ＤＮＡをパッケージングするためのこのシステムの特徴のいくつかは、送達のための裸のＤＮＡに対する可能な代替物としてそれを示唆する。ワクシニアまたはアデノウイルスのような他のウイルスベクターとは対照的に、主要な魅力的な特徴は、ＡＡＶベクターがいかなるウイルス遺伝子も発現しないことである。ワクチン構築物に含まれる唯一のウイルスＤＮＡ配列は、１４５ｂｐの逆方向末端反復（ＩＴＲ）である。したがって、裸のＤＮＡでの免疫の場合のように、発現される唯一の遺伝子は、抗原または抗原キメラの遺伝子である。さらに、ＡＡＶベクターは、持続的な導入遺伝子発現を伴い、かつ粘膜免疫の生成のための経口および鼻腔内送達の可能性を伴い、分裂細胞および非分裂細胞（例えば、ヒト末梢血単球由来樹状細胞）の両方を形質導入することが公知である。さらに、必要とされるＤＮＡの量は、５０μｇまたは約10^{15}コピーの裸のＤＮＡ用量とは対照的に、10^{10}～10^{11}粒子またはＤＮＡのコピーの用量で最大応答を有して、数桁の大きさではるかに少ないようである。

【０２９９】

一態様では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ ＩＴＲキメラタンパク質をコードする構築物に含有されるＤＮＡと、ＩＴＲを含まないＡＡＶコード領域（ＡＡＶ ｒｅｐおよびｃａｐ遺伝子）を含有するＡＡＶヘルパープラスミドＡＣＧ２とを用いた、好適な細胞株（例えば、ヒト２９３細胞）の同時トランスフェクションによってパッケージングされる。続いて、細胞をアデノウイルスＡｄ５に感染させる。ベクターは、当該分野で公知の方法（例えば、塩化セシウム密度勾配超遠心分離）を使用して細胞溶解物から精製され得、そしてそれらが検出可能な複製能力のあるＡＡＶまたはアデノウイルスを含まないことを確実にするために（例えば、細胞変性効果バイオアッセイによって）確認される。ＡＡＶ力価は、プロテイナーゼＫで消化した後に調製したウイルスＤＮＡサンプルを用いた定量ＰＣＲによって決定することができる。好ましくは、このような方法によって産生されるベク

ター力価は、１ｍｌあたり約５×１０^{12}～１×１０^{13}のＤＮａｓｅ耐性粒子である。
【０３００】
他の態様では、レトロウイルスベクターが使用される。レトロウイルスは、ウイルスにコードされた逆転写酵素を用いて複製し、ウイルスＲＮＡゲノムを複製して二本鎖ＤＮＡにし、これが感染細胞（例えば、標的細胞）の染色体ＤＮＡに組み込まれる、組込みウイルスのクラスである。このようなベクターとしては、マウス白血病ウイルス、特にモロニー（Ｇｉｌｂｏａら、１９８８、Ａｄｖ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．２４１：２９）またはフレンドのＦＢ２９株（ＷＯ　９５／０１４４７）に由来するベクターが挙げられる。一般に、レトロウイルスベクターは、ウイルス遺伝子ｇａｇ、ｐｏｌおよびｅｎｖの全てまたは一部が欠失しており、５’および３’ＬＴＲならびにキャプシド形成配列を保持している。これらのエレメントは、レトロウイルスベクターの発現レベルまたは安定性を増加させるために改変され得る。このような改変は、レトロウイルスキャプシド形成配列の、レトロトランスポゾン（例えば、ＶＬ３０）の１つによる置換を含む（例えば、米国特許第５，７４７，３２３号を参照のこと）。好ましくは、本開示の核酸分子は、カプシド形成配列の下流に、好ましくはレトロウイルスゲノムに対して反対方向に挿入される。細胞特異的標的化は、当該分野で公知のように、抗体または抗体フラグメントをレトロウイルスエンベロープタンパク質に結合体化することによって達成され得る。
【０３０１】
レトロウイルス粒子は、ヘルパーウイルスの存在下で、またはレトロウイルスベクターが欠損しているレトロウイルス遺伝子（例えば、ｇａｇ／ｐｏｌおよびｅｎｖ）をそのゲノムに組み込んで含む適切な相補性（パッケージング）細胞株において調製される。そのような細胞株は、先行技術（Ｍｉｌｌｅｒ　ａｎｄ　Ｒｏｓｍａｎ，　１９８９，　ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　７：９８０；Ｄａｎｏｓ　ａｎｄ　Ｍｕｌｌｉｇａｎ，　１９８８，　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：６４６０；Ｍａｒｋｏｗｉｔｚ，　ｅｔ　ａｌ．，１９８８，　Ｖｉｒｏｌ．１６７：４００）に記載されている。ｅｎｖ遺伝子の産物は、標的細胞の表面上に存在するウイルス受容体へのウイルス粒子の結合を担い、したがって、レトロウイルス粒子の宿主範囲を決定する。本開示の文脈において、ヒトおよび他の種の標的細胞の感染を可能にするために、両種指向性エンベロープタンパク質を含有するＰＡ３１７細胞（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　９０７８）または２９３ＥＩ６（ＷＯ９７／３５９９６）などのパッケージング細胞株を使用することが有利である。レトロウイルス粒子は、好ましくは、培養上清から回収され、そして必要に応じて、標準的な技術（例えば、クロマトグラフィー、超遠心分離）に従ってさらに精製され得る。
【０３０２】
他の適切なウイルスにはポックスウイルスが含まれる。ポックスウイルス科のいくつかのメンバーのゲノムがマッピングされ、配列決定されている。ポックスウイルスベクターは、ポックスウイルス科の任意のメンバー、特にカナリア痘、鶏痘およびワクシニアウイルスから得ることができる。適切なワクシニアウイルスとしては、コペンハーゲン株（Ｇｏｅｂｅｌら、１９９０年、Ｖｉｒｏｌ．１７９：２４７－２６６；Ｊｏｈｎｓｏｎら、１９９３、Ｖｉｒｏｌ．１９６：３８１－４０１）、Ｗｙｅｔｈ株および改変Ａｎｋａｒａ（ＭＶＡ）株（Ａｎｔｏｉｎｅ，　ｅｔ　ａｌ．，１９９８，　Ｖｉｒｏｌ．２４４：３６５－３９６）。適切なワクシニアウイルスとしては、コペンハーゲン株（Ｇｏｅｂｅｌ，　ｅｔ　ａｌ．，　１９９０，　Ｖｉｒｏｌ．　１７９：　２４７－２６６；　Ｊｏｈｎｓｏｎ，　ｅｔ　ａｌ．，　１９９３，　Ｖｉｒｏｌ．　１９６：　３８１－４０１）、ワイス株および改変アンカラ（ＭＶＡ）株（Ａｎｔｏｉｎｅ，　ｅｔ　ａｌ．，１９９８，　Ｖｉｒｏｌ．２４４：３６５－３９６）が含まれるが、これらに限定されない。ワクシニアウイルスベクターを構築するための一般的な条件は、当該技術分野において公知である（例えば、ＥＰ　８３　２８６およびＥＰ　２０６　９２０；Ｍａｙｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９７５，　Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ　３：６－１４；Ｓｕｔｔｅｒ　ａｎｄ　Ｍｏｓｓ，　１９９２，　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９：１０８４７

－１０８５１を参照のこと）。好ましくは、目的のポリヌクレオチドは、非コード遺伝子間領域、または不活性化もしくは欠失がウイルスの増殖および複製を有意に損なわない任意の遺伝子のような、非必須遺伝子座内に挿入される。

【０３０３】

ポックスウイルス粒子は、当該分野で記載されるように調製される（Ｐｉｃｃｉｎｉら、１９８７、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｏｆ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　１５３：５４５－５６３；米国特許第４，７６９，３３０号；米国特許第４，７７２，８４８号；米国特許第４，６０３，１１２号；米国特許第５，１００，５８７号および米国特許第５，１７９，９９３号）。一般に、ドナープラスミドを構築し、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）中での増殖により増幅し、従来の手順により単離する。次いで、それをポックスウイルスゲノムと共に適切な細胞培養物（例えば、ニワトリ胚線維芽細胞）に導入して、相同組換えによってポックスウイルス粒子を産生する。これらは、培養上清から、または溶解工程（例えば、化学的溶解、凍結／解凍、浸透圧ショック、超音波処理など）後の培養細胞から回収され得る。プラーク精製の連続ラウンドを用いて、混入している野生型ウイルスを除去することができる。次いで、ウイルス粒子は、当該分野で公知の技術（例えば、クロマトグラフィー法または塩化セシウムもしくはスクロース勾配での超遠心分離）を使用して精製され得る。

【０３０４】

天然痘を根絶するための世界的なキャンペーンにおける生ウイルスワクチンとしてのワクシニアの使用は、生組換えワクチンベクターとしての開発のための明白な選択肢となった。１００種近くの異なる外来タンパク質を発現する生組換えワクシニアウイルスが報告されており、これらの多くは有効な実験ワクチンである（Ｍｏｓｓ　ａｎｄ　Ｆｌｅｘｎｅｒ，　１９８７によって総説されている）。ワクシニアは、その大きなゲノムサイズ、少なくとも２５，０００塩基対の外来ＤＮＡを受容する能力、および昆虫細胞を含むほとんどの真核生物細胞型に感染するその能力のために、発現ベクターとして特に多用途である（同書）。他のＤＮＡウイルスとは異なり、ポックスウイルスは感染細胞の細胞質中で排他的に複製し、宿主染色体との組換えウイルスＤＮＡの遺伝子交換の可能性を減少させる。組換えワクシニアベクターは、ヒト、他の哺乳動物、寄生虫、ＲＮＡおよびＤＮＡウイルス、細菌およびバクテリオファージを含む種々の供給源からのタンパク質を適切にプロセシングし、そして発現することが示されている。

【０３０５】

外来タンパク質をコードするＤＮＡの発現は、上流プロモーター配列および必要な場合にはＲＮＡプロセシングシグナルを含む宿主ウイルス調節エレメントによって制御される。ワクシニアウイルスゲノムの非必須領域への外来ＤＮＡの挿入は、相同組換えによって行われている（Ｐａｎｉｃａｌｉら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７９巻：４９２７頁、１９８２年；Ｍａｃｋｅｔｔら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７９巻：７４１５頁、１９８２年）。

【０３０６】

本開示の核酸分子によるポリペプチドの発現は、挿入部位もしくはその近傍の転写調節エレメントのために、またはより正確な遺伝子操作によって起こり得る。外来遺伝子の挿入および発現を大いに促進するプラスミドベクターが構築されている（Ｍａｃｋｅｔｔ，ｅｔ　ａｌ．，　Ｊ．　Ｖｉｒｏｌ，　４９：　８５７，　１９８２）。これらのベクターは、ワクシニア転写プロモーターと、ワクシニアゲノムの非必須領域由来のＤＮＡが隣接する外来コード配列の挿入のための１つ以上の固有の制限エンドヌクレアーゼ部位とから構成される発現部位を含む。プロモーターの選択は、発現の時期（例えば、初期または後期）およびレベルの両方を決定し、一方、隣接するＤＮＡ配列は、相同組換えの部位を決定する。

【０３０７】

この手順によって産生される１０００個のウイルス粒子のうちの約１個のみが組換え体である。組換えウイルスプラークはＤＮＡハイブリダイゼーションによって同定することができるが、効率的な選択手順が開発されている。非必須ワクシニアウイルスチミジンキ

ナーゼ（ＴＫ）遺伝子のセグメントを隣接配列として使用することによって、外来遺伝子はＴＫ遺伝子座に組換えられ、挿入によってＴＫ遺伝子を不活性化する。ＴＫウイルスの選択は、５－ブロモデオキシウリジンの存在下でＴＫ細胞においてウイルスプラークアッセイを行うことによって達成される。ヌクレオシド類似体のリン酸化およびその結果としてのウイルスＤＮＡへの致死的取り込みは、ＴＫ＋親ウイルスに感染した細胞においてのみ起こる。トランスフェクションおよび組換えの効率に依存して、８０個までのプラークが所望の組換え体であり、そして残りは、自発的ＴＫ変異体である。

【０３０８】

大腸菌β－ガラクトシダーゼ遺伝子、ならびに第２の遺伝子の発現部位を含有するプラスミドベクターは、親ウイルスから組換えウイルスを区別する代替方法を可能にする（Ｃｈａｋｒａｂａｒｔｉ，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，５：３４０３，１９８５）。このような組換え体によって形成されるプラークは、適切な指標の添加の際に形成する青色によって、ポジティブに同定され得る。ＴＫ選択とβ－ガラクトシダーゼ発現の両方を組み合わせることによって、組換えウイルスは容易かつ迅速に単離される。次いで、組換え体を、適切な細胞株における増殖によって増幅し、そして挿入された遺伝子の発現を、適切な酵素学的手順、免疫学的手順または物理的手順によってチェックする。

【０３０９】

ワクシニアウイルスゲノムに付加され得る遺伝情報の量の上限は、まだ知られていない。しかし、外来ＤＮＡのほぼ２５，０００塩基対の付加は、ウイルス収量に対して明らかな有害な効果を有さなかった（Ｓｍｉｔｈ，ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ，２５：２１，１９８３）。必要であれば、ワクシニアウイルスゲノムの大きなセグメントを欠失させて、さらなる能力を提供することができる（Ｍｏｓｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．４０：３８７，１９８１）。

【０３１０】

ウイルスカプシド分子は、細胞への標的化および／または侵入を容易にするための標的化部分を含み得る。適切な標的化分子としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：化学的結合体、脂質、糖脂質、ホルモン、糖、ポリマー（例えば、ＰＥＧ、ポリリジン、ＰＥＩなど）、ペプチド、ポリペプチド（例えば、ＷＯ９４／４０９５８を参照のこと）、ビタミン、抗原、レクチン、抗体およびそれらのフラグメント。好ましくは、そのような標的化分子は、細胞特異的マーカー、組織特異的マーカー、細胞受容体、ウイルス抗原、抗原性エピトープまたは腫瘍関連マーカーを認識し、それらに結合する。

【０３１１】

ウイルス粒子に基づくバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を含む組成物は、１０～10^{14}ｉ．ｕ．（感染単位）、好ましくは１０～10^{11}ｉ．ｕ．の用量の形態で製剤化され得る。力価は、従来の技術によって決定され得る。バイシストロニックＬＡＭＰ構築物の用量は、好ましくは０．０１～１０ｍｇ／ｋｇ、より具体的には０．１～２ｍｇ／ｋｇである。

【０３１２】

Ｋ．自己複製ＲＮＡ

自己複製ＲＮＡウイルスベクター（自己増幅ＲＮＡウイルスベクターとも呼ばれる）もまた、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を使用して構築することができる。例えば、アルファウイルス、フラビウイルス、麻疹ウイルスおよびラブドウイルスを使用して、自己複製ＲＮＡウイルスワクチンを作製することができる。自己複製ＲＮＡウイルスの例示的な株としては、狂犬病ウイルス（ＲＡＢＶ）、水疱性ｓｔｏｍａｔｉｓｉｔｉｓウイルス（ＶＳＶ）、西ナイルウイルス、クンジンウイルス、セムリキ森林熱ウイルス（ＳＦＶ）、シンドビスウイルス（ＳＩＮ）および／またはベネズエラウマ脳炎ウイルス（ＶＥＥ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３１３】

自己複製ＲＮＡウイルスは、組織への送達時に天然抗原を発現し、したがって病原性へ

の復帰のリスクを有することなく弱毒生ワクチンを模倣する。それらはまた、先天性免疫系を刺激し、従って応答を増強する。例えば、Ｌｊｕｎｇｂｅｒｇ，Ｋ．”Ｓｅｌｆ－ｒｅｐｌｉｃａｔｉｎｇ ａｌｐｈａｖｉｒｕｓ ＲＮＡ ｖａｃｃｉｎｅｓ，” Ｅｘｐｅｒｔ Ｒｅｖ Ｖａｃｃｉｎｅｓ （２）：１７７－９４ （２０１５）；Ｌｕｎｄｓｔｒｏｍ，Ｋ．，”Ｏｎｃｏｌｙｔｉｃ Ａｌｐｈａｖｉｒｕｓｅｓ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ”，Ｖａｃｃｉｎｅｓ ５：９ （２０１７）；Ｌｕｎｄｓｔｒｏｍ，Ｋ．“Ｒｅｐｌｉｃｏｎ ＲＮＡ Ｖｉｒａｌ Ｖｅｃｔｏｒｓ ａｓ Ｖａｃｃｉｎｅｓ，” Ｖａｃｃｉｎｅｓ ４：３９ （２０１６）を参照されたい。（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を含む自己複製ワクチンの使用はまた、プライム－ブーストプロトコルにおいて使用され得る。

【０３１４】

さらに、自己複製ＲＮＡウイルスはまた、送達および標的化を改善するために、本明細書中に記載されるように、リポソームによってカプセル化され得る。本明細書に記載される核酸分子を含む自己複製ＲＮＡウイルスによる免疫化は、抗原のより高い一過性発現レベルを提供し、中和抗体応答の生成および安全な条件下での致死的チャレンジに対する保護をもたらし得る。

【０３１５】

Ｌ．細胞ベースの送達ビヒクル

本開示による核酸分子は、構築物を含む他の細胞（「送達細胞」）によって標的細胞に送達することができる。核酸分子を細胞に導入する方法は、当該技術分野において既知であり、細胞の核へのＤＮＡのマイクロインジェクション（Ｃａｐｅｃｈｉ，ｅｔ ａｌ．，１９８０，Ｃｅｌｌ ２２：４７９－４８８）；ＣａＰ０$_4$によるトランスフェクション（Ｃｈｅｎ ａｎｄ Ｏｋａｙａｍａ，１９８７，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．７：２７４５ ２７５２）、エレクトロポレーション（Ｃｈｕ，ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．１５：１３１１－１３２６）；リポフェクション／リポソーム融合（Ｆｅｉｇｎｅｒ，ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８４：７４１３－７４１７）、及び粒子衝撃（Ｙａｎｇ，ｅｔ ａｌ．，１９９０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７：９５６８－９５７２）が挙げられる。適切な細胞には、自己細胞および非自己細胞が含まれ、異種細胞が含まれてもよい。送達細胞は、その死を誘導することによって（例えば、誘導性自殺遺伝子をこれらの細胞に提供することによって）、その内容物を標的細胞に送達するように誘導され得る。

【０３１６】

Ｍ．アクセサリー分子

本開示による核酸分子を含む組成物は、細胞への核酸分子の導入を容易にするための、および／または特定の治療効果を増強するための、および／または抗体産生を増強するための１つまたは複数のアクセサリー分子を含み得る。

【０３１７】

さらに、組成物は、動物／ヒトの体内での分解を阻害するために、および／または標的細胞へのベクターのトランスフェクション／感染を改善するために、１つまたは複数の安定化物質、例えば脂質、ヌクレアーゼ阻害剤、ヒドロゲル、ヒアルロニダーゼ（ＷＯ９８／５３８５３）、コラゲナーゼ、ポリマー、キレート剤（ＥＰ ８９０３６２）を含み得る。このような物質は、単独でまたは組み合わせて（例えば、カチオン性脂質および中性脂質）使用され得る。

【０３１８】

アデノウイルスタンパク質は、エンドソームを不安定化させ、細胞へのＤＮＡの取り込みを増強することができることも示されている。脂質複合体化ＤＮＡベクターを含有する溶液へのアデノウイルスの混合、またはタンパク質架橋剤を使用してアデノウイルスに共有結合されたポリリジンへのＤＮＡの結合は、核酸分子を含むバイシストロニックＬＡＭ

Ｐ構築物の取り込みおよび発現を実質的に改善し得る（例えば、Ｃｕｒｉｅｌ，　ｅｔａｌ．，１９９２，　Ａｍ．Ｉ．Ｒｅｓｐｉｒ．細胞。Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．６：２４７－２５２）。

【０３１９】

Ｎ．宿主細胞

本開示による核酸分子は、原核細胞（例えば、大腸菌、ブドウ球菌種、バチルス種）；酵母細胞（例えば、サッカロミセス属種）；昆虫細胞；線虫細胞；植物細胞；両生類細胞（例えば、アフリカツメガエル）；鳥類細胞；および哺乳動物細胞（例えば、ヒト細胞、マウス細胞、哺乳動物細胞株、解剖組織などからの初代培養哺乳動物細胞）を含むが、これらに限定されない様々な宿主細胞において発現させることができる。

【０３２０】

分子は、生物から単離された宿主細胞、生物の一部である宿主細胞、または生物に導入された宿主細胞において発現され得る。一態様では、核酸分子は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、例えば、培養物中で宿主細胞において発現される。別の態様では、核酸分子は、本明細書のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸を含む体細胞及び／または生殖細胞を含むトランスジェニック生物（例えば、トランスジェニックマウス、ラット、ウサギ、ブタ、霊長類など）において発現される。トランスジェニック動物を構築する方法は、当該分野で周知であり、そして慣用的である。

【０３２１】

本明細書に記載される核酸分子はまた、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで細胞に導入され得、そして細胞（例えば、幹細胞、造血細胞、リンパ球など）は、宿主生物に導入され得る。細胞は、宿主生物に対して異種または自己であってもよい。例えば、細胞は宿主生物から得られ、核酸分子はｉｎ　ｖｉｔｒｏで細胞に導入され、次いで宿主生物に再導入され得る。

【０３２２】

Ｏ．抗原提示細胞

本開示の一態様では、本明細書に記載される核酸分子は、天然または操作された抗原提示細胞に導入される。

【０３２３】

本明細書で使用される「抗原提示細胞」（ＡＰＣ）という用語は、主要組織適合性複合体分子、好ましくはＭＨＣクラスＩＩ分子、またはその一部と会合した抗原をその表面上に提示する任意の細胞を意図する。適切なＡＰＣの例は、以下に詳細に議論され、そしてマクロファージ、樹状細胞、Ｂ細胞、ハイブリッドＡＰＣ、およびフォスター抗原提示細胞のような全細胞を含むが、これらに限定されない。ハイブリッドＡＰＣを作製する方法は、当該分野で記載され、そして公知である。

【０３２４】

樹状細胞（ＤＣ）は、強力な抗原提示細胞である。ＤＣは、Ｔ細胞の活性化および増殖に必要な全てのシグナルを提供することが示されている。これらの信号は２つのタイプに分類することができる。免疫応答に特異性を与える第１のタイプは、Ｔ細胞受容体／ＣＤ３（「ＴＣＲ／ＣＤ３」）複合体と、ＡＰＣの表面上の主要組織適合性複合体（上記で定義された「ＭＨＣ」）クラスＩまたはＩＩタンパク質によって提示される抗原性ペプチドとの間の相互作用を介して媒介される。この相互作用は、Ｔ細胞活性化が起こるために必要であるが、十分ではない。実際、第２のタイプのシグナルがなければ、第１のタイプのシグナルはＴ細胞アネルギーをもたらし得る。共刺激シグナルと呼ばれる第２のタイプのシグナルは、抗原特異的でもＭＨＣ拘束性でもなく、第１のタイプのシグナルの存在下でＴ細胞の完全な増殖応答およびＴ細胞エフェクター機能の誘導をもたらすことができる。

【０３２５】

いくつかの分子は、共刺激活性を増強することが示されている。これらには、熱安定性抗原（ＨＳＡ）、コンドロイチン硫酸修飾ＭＨＣインバリアント鎖（Ｉｉ－ＣＳ）、細胞内接着分子Ｉ（ＩＣＡＭ－１）、およびＡＰＣ表面上のＢ７共刺激分子、ならびにＴ細胞上のそのカウンター受容体ＣＤ２８またはＣＴＬＡ－４が含まれるが、これらに限定され

ない。

【０３２６】

他の重要な共刺激分子は、ＣＤ４０、ＣＤ５４、ＣＤ８０、ＣＤ８６である。本明細書で使用される場合、「共刺激分子」という用語は、Ｔ細胞の表面上のＴＣＲによって結合されるペプチド／ＭＨＣ複合体と一緒に作用する場合に、ペプチドに結合するＴ細胞の活性化を達成する共刺激効果を提供する、任意の単一分子または分子の組み合わせを包含する。従って、この用語は、Ｂ７、またはＡＰＣ上の他の同時刺激分子、そのフラグメント（単独、別の分子と複合体化された、または融合タンパク質の一部として）を包含し、これらは、ペプチド／ＭＨＣ複合体と一緒に、同族リガンドに結合し、そしてＴ細胞の表面上のＴＣＲがペプチドに特異的に結合する場合に、Ｔ細胞の活性化を生じる。共刺激分子は、例えば、Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒを含む様々な供給源から市販されている。

【０３２７】

本開示の一態様では、Ｒｏｍａｎｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１９６：１３５－１５１，　１９９６、及びＢｅｎｄｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１９６：１２１－１３５，　１９９６は、マウス、サルまたはヒトなどの哺乳動物の末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）から未熟および成熟樹状細胞の両方を生成するために使用される。簡単に述べると、単離されたＰＢＭＣを、免疫磁気技術によって前処理して、Ｔ細胞およびＢ細胞を枯渇させる。次いで、リンパ球枯渇ＰＢＭＣを、ヒト血漿（好ましくは、自己血漿）およびＧＭ－ＣＳＦ／ＩＬ－４を補充したＲＰＭＩ培地中で培養して（例えば、約７日間）、樹状細胞を生成する。樹状細胞は、それらの単球前駆体と比較した場合、非接着性である。したがって、約７日目に、非接着細胞をさらなる処理のために収集する。

【０３２８】

ＧＭ－ＣＳＦおよびＩＬ－４の存在下でＰＢＭＣから誘導された樹状細胞は、それらが非接着特性を失い、そしてサイトカイン刺激が培養物から除去される場合にマクロファージ細胞の運命に戻り得るという点で、未成熟である。未熟状態の樹状細胞は、ＭＨＣクラスＩＩ制限経路のための天然タンパク質抗原のプロセシングに非常に有効である（Ｒｏｍａｎｉ，　ｅｔ　ａｌ．，　Ｊ．　Ｅｘｐ．　Ｍｅｄ．　１６９：１１６９，　１９８９）。培養された樹状細胞のさらなる成熟は、必要な成熟因子を含むマクロファージ馴化培地（ＣＭ）中で３日間培養することによって達成される。成熟樹状細胞は、提示のための新しいタンパク質を捕捉する能力が低いが、増殖および分化するために休止Ｔ細胞（ＣＤ４およびＣＤ８の両方）を刺激する能力がはるかに高い。

【０３２９】

成熟樹状細胞は、より運動性の細胞質プロセスの形成などの形態の変化によって；非接着性によって；以下のマーカー：ＣＤ８３、ＣＤ６８、ＨＬＡ－ＤＲもしくはＣＤ８６のうちの少なくとも１つの存在によって；またはＣＤ１１５などのＦｃ受容体の喪失によって同定することができる（Ｓｔｅｉｎｍａｎ，　Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：２７１，　１９９１）。成熟樹状細胞は、典型的な細胞蛍光光度法および細胞選別技術および装置、例えばＦＡＣＳｃａｎおよびＦＡＣＳｔａｒを用いて収集および分析することができる。フローサイトメトリーに使用される一次抗体は、成熟樹状細胞の細胞表面抗原に特異的なものであり、市販されている。二次抗体は、ビオチン化Ｉｇ、続いてＦＩＴＣまたはＰＥ結合ストレプトアビジンであり得る。

【０３３０】

あるいは、他の研究者らは、樹状細胞をアップレギュレート（活性化）し、単球を活性化樹状細胞表現型に変換する方法を報告している。この方法は、単球を活性化樹状細胞に変換するために、培地にカルシウムイオノフォアを添加することを含む。例えば、２４～４８時間の培養期間の開始時にカルシウム２１イオノフォアＡ２３１８７を添加すると、プールされた「単球＋ＤＣ」画分の均一な活性化および樹状細胞表現型変換が生じた：特徴的に、活性化された集団は、均一にＣＤ１４（Ｌｅｕ　Ｍ３）陰性になり、そしてＨＬＡ－ＤＲ、ＨＬＡ－ＤＱ、ＩＣＡＭ－１、１３７．１、および１３７．２をアップレギュ

レートする。さらに、この活性化されたバルク集団は、少数ベースでは、さらに精製されたものとしても機能する。サイトカインの特定の組み合わせ（複数可）を使用して、カルシウムイオノフォアで達成される活性化／変換を増幅する（または部分的に置換する）ことに成功している：これらのサイトカインとしては、Ｇ－ＣＳＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、およびＩＬ－４が挙げられるが、これらに限定されない。各サイトカインは、単独で与えられた場合、最適なアップレギュレーションには不十分である。

【０３３１】

ＡＰＣを単離するための第２のアプローチは、血液中に既に循環している比較的多数の前もって拘束されたＡＰＣを収集することである。ヒト末梢血からコミットされたＡＰＣを単離するための従来の技術には、メトリザミド勾配および接着／非接着ステップ（Ｆｒｅｕｄｅｎｔｈａｌ ｅｔ ａｌ．ＰＮＡＳ ８７：７６９８－７７０２，１９９０）；パーコール勾配分離（Ｍｅｈｔａ－Ｄａｍａｎｉ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５３：９９６－１００３，１９９４）；および蛍光活性化細胞選別技術（Ｔｈｏｍａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：６８４０－５２，１９９３）などの物理的手順の組み合わせが含まれていた。

【０３３２】

プロフェッショナル抗原提示細胞（またはそれらの前駆体）を単離するための当技術分野において日常的な多くの他の方法が存在し、そのような方法および開発され得る他の方法は、限定的ではなく、本開示の範囲内に包含される。

【０３３３】

一実施形態では、ＡＰＣ、したがって１つまたは複数の抗原を提示する細胞は、自己由来である。別の実施形態では、抗原を提示するＡＰＣは同種異系であり、すなわち、異なる対象に由来する。

【０３３４】

本明細書で考察されるように、本明細書に記載される核酸分子は、上記の方法、またはトランスフェクション、エレクトロポレーション、融合、マイクロインジェクション、ウイルスベースの送達、もしくは細胞ベースの送達を含むがこれらに限定されない当技術分野で公知の他の方法を使用して、ＡＰＣに導入することができる。Ａｒｔｈｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ４（ｌ）：１７－２５，１９９７は、ヒト樹状細胞における遺伝子導入法の比較を報告している。

【０３３５】

既知の部分的および推定ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）、ヒトＭＨＣの遺伝子名、コンセンサス配列を含むアミノ酸およびヌクレオチド配列が公開されており（例えば、Ｚｅｍｍｏｕｒ ａｎｄ Ｐａｒｈａｍ，Ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ ３３：３１０－３２０，１９９１を参照のこと）、ＨＬＡ変異体を発現する細胞株も既知であり、一般に入手可能であり、多くはアメリカンタイプカルチャーコレクション（「ＡＴＣＣ」）から入手可能である。したがって、ＰＣＲを使用して、ＭＨＣクラスＩＩをコードするヌクレオチド配列は、本開示の発現ベクターに容易に作動可能に連結され、次いで、その中での発現のために適切な細胞を形質転換するために使用される。

【０３３６】

マクロファージ、Ｂ細胞、単球、樹状細胞、およびランゲルハンス細胞などの専門的なＡＰＣを使用することができる。これらは、１）自己ドナー；２）処置される宿主とは異なるＨＬＡ特異性を有する異種ドナー；または３）標準的な手順を使用して異なる種の異種ドナーの血液または組織から収集される（Ｃｏｌｉｇａｎら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第３節および第１４節、１９９４）。細胞は、正常な宿主、または感染性疾患、癌、自己免疫疾患、もしくはアレルギーを有する患者から単離され得る。

【０３３７】

プロフェッショナルＡＰＣは、白血球搬出法および「ＦＩＣＯＬＬ／ＨＹＰＡＱＵＥ」密度勾配遠心分離（Ｆｉｃｏｌｌおよび不連続Ｐｅｒｃｏｌｌ密度勾配を介する段階的遠

心分離）を使用して、末梢血から得られ得る。ＡＰＣによって内在化され得る抗原へのＡＰＣの曝露を回避し、目的の抗原に特異的でないＴ細胞の活性化を導く手順が利用される。

【０３３８】

天然には抗原提示しない細胞は、適切な分子をコードする配列を導入することによって抗原提示するように操作され得る。例えば、ＭＨＣクラスＩＩ分子、アクセサリー分子、共刺激分子および抗原プロセシング補助分子をコードする核酸配列は、直接合成、クローニング、このような遺伝子を含む細胞からのＤＮＡの精製などの後に導入され得る。本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物および方法において使用される分子をコードするための遺伝子を得るための１つの好都合な手段は、選択されたオリゴヌクレオチドプライマー対を用いた選択された核酸鋳型上でのポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）増幅によるものである。例えば、上皮細胞、内皮細胞、腫瘍細胞、線維芽細胞、活性化Ｔ細胞、好酸球、ケラチノサイト、星状細胞、小膠細胞、胸腺皮質上皮細胞、シュワン細胞、網膜色素上皮細胞、筋芽細胞、血管平滑筋細胞、軟骨細胞、腸細胞、甲状腺細胞および尿細管細胞を使用することができる。これらは、宿主から最近外植され、樹立細胞株を形成するために細胞培養において広範に継代されていない初代細胞、または比較的均一であり、そして多くの世代にわたってまたは無期限に増殖し得る樹立細胞株であり得る。

【０３３９】

プロフェッショナルＡＰＣではない細胞は、自己ドナー；異種ドナーまたは異種ドナーの任意の組織から単離され、ここで、それらは、種々の公知の分離方法を使用して存在する（Ｄａｒｌｉｎｇ，　Ａｎｉｍａｌ　Ｃｅｌｌｓ：　Ｃｕｌｔｕｒｅ　ａｎｄ　Ｍｅｄｉａ．　Ｊ．　Ｗｉｌｅｙ，　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，　１９９４；　Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，　Ｃｕｌｔｕｒｅ　ｏｆ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃｅｌｌｓ．　Ａｌａｎ　Ｒ．　Ｌｉｓｓ，　Ｉｎｃ．，　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，　１９８７）。非自己細胞、例えば、異種または外因性細胞は、公知のヒトＨＬＡ特異性に適合するＨＬＡクラスＩおよびクラスＩＩ分子を発現するようにｅｘ　ｖｉｖｏで操作され得る。次いで、これらの細胞を、操作された細胞のＨＬＡ特異性に適合するヒト対象に導入することができる。細胞は、本開示による１つまたは複数のＬＡＭＰ構築物を発現するようにｅｘ　ｖｉｖｏでさらに操作される。

【０３４０】

操作された細胞は、標準的な細胞培養法によって細胞培養中で維持される（Ｄａｒｌｉｎｇ，　Ａｎｉｍａｌ　Ｃｅｌｌｓ：　Ｃｕｌｔｕｒｅ　ａｎｄ　Ｍｅｄｉａ，　Ｊ．　Ｗｉｌｅｙ，　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，　１９９４；　Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，　Ｃｕｌｔｕｒｅ　ｏｆ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃｅｌｌｓ，　Ａｌａｎ　Ｒ．　Ｌｉｓｓ，　Ｉｎｃ．，　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，　１９８７）。本開示で使用するための細胞株は、様々な供給源（例えば、ＡＴＣＣ　Ｃａｔａｌｏｇｕｅ　ｏｆ　Ｃｅｌｌ　Ｌｉｎｅｓ　＆　Ｈｙｂｉｄｏｍａｓ，　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，　８ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，　１９９５）から得られるか、または標準的な方法（Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，　Ｃｕｌｔｕｒｅ　ｏｆ　Ｉｍｍｏｒｔａｌｉｚｅｄ　Ｃｅｌｌｓ，　Ｗｉｌｅｙ－Ｌｉｓｓ，　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，　１９９６）を使用して産生される。非形質転換細胞株は、ヒト対象における使用に好ましい。

【０３４１】

一態様では、ＧＭ－ＣＳＦの影響下で樹状細胞に分化しているＣＤ３４＋前駆体を対象の身体から得て、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を細胞に導入し、次いで、これを対象に注射する。本明細書に記載される核酸分子の使用は、形質導入された抗原提示細胞上のＭＨＣクラスＩＩ分子との特定の抗原に由来するペプチドの会合を増強し、有意により強力な全身性Ｔ細胞依存性免疫応答および／または抗体産生をもたらす。この戦略でトランスフェクトされる抗原提示細胞は、好ましくは自己細胞であるが、宿主において抗原を効果的に提示する任意のＭＨＣクラスＩＩ細胞が、上記のように使用され得る。

【０３４２】

Ｐ．投与

本開示によるワクチン材料は、本明細書に記載される免疫刺激性バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を含有してもよく、または免疫刺激性バイシストロニックＬＡＭＰ構築物を発現する組換え微生物もしくは抗原提示細胞であってもよい。個体の免疫化のためのこのような核酸分子の調製および投与は、当業者に周知の免疫化の原理に従って達成される。

【０３４３】

大量のこれらの物質は、核酸分子を含む組換え細胞または形質転換細胞を培養することによって得られ得る。培養方法は当業者に周知であり、上記に引用した１つ以上の文献に教示されている。本明細書に記載される核酸分子を含むワクチンは、一般に、組換え細胞または形質転換細胞の培養によって産生され、そして当該分野（例えば、米国特許第４，４４６，１２８号（本明細書中に参考として援用される））に記載されるように、薬理学的に受容可能な溶液または懸濁液（これは、通常、生理学的に適合性の水溶液である）中に、あるいはコーティングされた錠剤、錠剤、カプセル、坐剤またはアンプル中に処方される。投与は、経口、直腸、鼻腔内、または注射（注射は、例えば、経皮、皮下、筋肉内、または静脈内であり得る）を含む任意の適切な経路であり得る。

【０３４４】

本明細書に記載される核酸分子は、哺乳動物において免疫応答を誘導するのに十分な量で哺乳動物に投与され得る。いくつかの実施形態では、投与のための最小量は、投与前に存在した濃度の少なくとも４倍の濃度まで抗体形成を誘発するのに必要とされる量である。投与のための典型的な初期用量は、組換えベクターの10^{5}～10^{11}プラーク形成単位であるが、この量は、免疫応答を誘導するワクチンおよび他の薬剤の投与において一般的に生じるように、投与を行う臨床医によって調節され得る。免疫を誘導するには、通常、単回投与で十分であり得る。

【０３４５】

本明細書に記載される核酸分子を含むワクチンは、最初に非ヒト哺乳動物（例えば、マウスまたは霊長類）において試験され得る。例えば、接種されたマウスの免疫応答のアッセイを使用して、野生型抗原に対するよりも、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物に対するより大きな抗体、Ｔ細胞増殖、および細胞傷害性Ｔ細胞応答を実証することができる。ワクチンは、マウスにおいて非常に有効なワクチン製剤が適切なサル免疫応答も誘発するかどうかを決定するために、アカゲザルにおいて評価され得る。一態様では、各サルは、免疫付与あたり合計５ｍｇの核酸分子を受け、ＩＭ送達され、２つの部位に分割され、０日目ならびに４週目、８週目、および２０週目に免疫付与され、追加の用量は任意選択である。抗体応答、ＡＤＣＣ、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞サイトカイン産生、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞抗原特異的サイトカイン染色を測定して、ワクチンに対する免疫応答をモニターすることができる。

【０３４６】

本開示による製剤および投与の適切な方法のさらなる記載は、米国特許第４，４５４，１１６号（構築物）、米国特許第４，６８１，７６２号（組換え細菌）、ならびに米国特許第４，５９２，００２号および同第４，９２０，２０９号（組換えウイルス）に見出され得る。

【０３４７】

Ｑ．治療のための手順

一実施形態では、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子は、患者の悪性腫瘍の経過中の任意の適切な時点で患者に注射することができる。例えば、本明細書に記載される核酸分子は、腫瘍負荷が低い段階で注射される。核酸分子が個体の抗原提示細胞に導入される代替の実施形態において、抗原提示細胞または成熟抗原提示細胞の前駆体は、静脈穿刺によって個体の骨髄または末梢血のいずれかから引き出される。これらの細胞は、培養中に確立され、続いて核酸分子で形質導入される。形質導入が起こった後、これらの抗原提示細胞を患者に注射して戻す。

【０３４８】
特定の実施形態において、本開示は、疾患の初期、新生物腫瘍の切除後、または腫瘍細胞の負荷が別の方法で低減されるときなどの、低い腫瘍負荷を有するがん患者のための処置の方法を提供する。この方法では、ＭＨＣクラスＩＩ分子を発現する抗原提示細胞に分化することができる自己幹細胞を含む細胞集団を患者から得る。これらの細胞は、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を導入することによって培養および形質転換され、区画／オルガネラ内または抗原が送達される別の区画／オルガネラ内のいずれかでＭＨＣクラスＩＩ分子と会合する抗原を送達し、第２の抗原またはＩＲＥＧを循環中に分泌する。
【０３４９】
次いで、トランスフェクトされた幹細胞集団は、患者に再導入され、ここで、幹細胞は、抗原由来のＴｈエピトープと複合体化したＭＨＣクラスＩＩ分子を発現する抗原提示細胞に分化する。抗原に対する免疫応答は、ヘルパーＴ細胞集団の刺激の増強によって増強される。分泌された抗原またはＩＲＥＧは、例えば、記憶応答を拡大することによって免疫応答を増強する。
【０３５０】
より一般的には、一実施形態において、本開示は、抗原に対する哺乳動物における免疫応答を調節する（すなわち、そのような応答を刺激する、増強する、または低減する）ためのバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子を含むワクチン組成物を提供する。
【０３５１】
Ｒ．キット
本開示は、本明細書に記載される方法の実施を容易にするためのキットをさらに含む。一態様では、キットは、本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードする核酸分子と、核酸分子を受容するための細胞とを含む。一態様では、細胞はプロフェッショナルＡＰＣである。細胞は、共刺激分子を発現してもしなくてもよい。ある態様では、細胞が共刺激分子を発現しない場合、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物によってコードされる抗原は、自己抗原である。別の態様では、異なるＭＨＣ分子（例えば、ヒトにおいて発現されることが知られている）を発現する細胞のパネルが提供される。さらなる態様において、キットは、核酸分子の細胞への侵入を促進するための試薬（例えば、脂質ベースの製剤、ウイルスパッケージング材料、細胞など）を含む。さらに別の態様では、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物が免疫応答を誘発、調節、または増強する能力を検証するために、核酸分子によってコードされる抗原に特異的な１つまたは複数のＴ細胞株が提供される。
【０３５２】
Ｓ．追加の実施形態
本明細書におけるさらなる実施形態は、以下を含む。
１．核酸分子であって、以下を含む核酸分子：
ａ．抗原とＬＡＭＰタンパク質のシステイン保存断片とを含むＬＡＭＰ－抗原構築物をコードする第１のポリヌクレオチド配列と；
ｂ．分泌シグナル配列に作動可能に連結された少なくとも１つのＩＲＥＧポリペプチドをコードする第２のポリヌクレオチド配列；
ｃ．ここで、前記第１および第２のポリヌクレオチド配列は、宿主または標的細胞におけるＬＡＭＰ－抗原構築物およびＩＲＥＧの発現のための発現制御配列（複数可）に作動可能に連結されている。
２．実施形態１の核酸分子：ここで、
ａ．抗原は、システイン保存断片のＮ末端に配置される；
ｂ．抗原が、システイン保存断片のＣ末端に配置されている；または
ｃ．抗原は、２つのシステイン保存断片の間に配置される。
３．核酸分子であって、以下を含む核酸分子：

ａ．２つのシステイン保存断片の間に配置された抗原を含むＬＡＭＰ－抗原構築物をコードする第１のポリヌクレオチド配列と；
ｂ．分泌シグナル配列に作動可能に連結された少なくとも１つのＩＲＥＧポリペプチドをコードする第２のポリヌクレオチド配列；
ｃ．ここで前記第１および第２のポリヌクレオチド配列が、宿主または標的細胞におけるＬＡＭＰ－抗原構築物およびＩＲＥＧポリペプチドの発現のための発現制御配列（複数可）に作動可能に連結されている。
４．改善されたＬＡＭＰ構築物が、ＩＬＣ－１、ＩＬＣ－２、ＩＬＣ－３、ＩＬＣ－４、ＩＬＣ－５、またはＩＬＣ－６の図１に示される構造を含む（すなわち、第１のポリヌクレオチド配列が、ＩＬＣ－１、ＩＬＣ－２、ＩＬＣ－３、ＩＬＣ－４、ＩＬＣ－５、またはＩＬＣ－６の図１に示される構造を含むポリペプチドをコードする）、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
５．システイン保存断片が、ＬＡＭＰタンパク質の相同ドメインを含む、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
６．改善されたＬＡＭＰ構築物が、ＬＡＭＰタンパク質の膜貫通ドメインをさらに含む、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
７．改善されたＬＡＭＰ構築物が、シグナル配列をさらに含む、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
８．シグナル配列がＬＡＭＰタンパク質に由来する、実施形態７に記載の核酸分子。
９．ＬＡＭＰ－抗原構築物を含む抗原が、ＬＡＭＰヒンジ領域に配置されるか、またはそれを置き換える、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
１０．ＬＡＭＰタンパクが、ＬＡＭＰ－１、ＬＡＭＰ２、ＬＡＭＰ－３、ＬＩＭＰ２、マクロシアリン（Ｍａｃｒｏｓａｉｌｉｎ）、Ｅｎｄｏｌｙｎ、ＬＡＭＰ５、またはＬＩＭＢＩＣから選択される、先行する実施形態のいずれか１つに記載の方法。
１１．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３のいずれか１つから選択される、実施形態１０に記載の核酸分子。
１２．ＬＡＭＰタンパク質が、配列番号１～１１３と少なくとも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％、少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一である、実施形態１０の核酸分子。
１３．宿主または標的細胞におけるＬＡＭＰ－抗原構築物の発現が、免疫応答を誘発するための抗原のプロセシングおよびＭＨＣクラスＩＩ経路への提示をもたらす、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
１４．宿主または標的細胞におけるＩＲＥＧの発現が、ＩＲＥＧの分泌をもたらす、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
１５．ＩＲＥＧの分泌が、抗原によって誘発される免疫応答を増強し得る、実施形態１４に記載の核酸分子。
１６．前記抗原は、Ｃｏｖｉｄ－１９、癌に関連する抗原、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスＳ１スパイクサブユニット、ＨＥＲ２、ＮＹ－ＥＳＯ１、もしくはＣＤ１６１、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスＳ１スパイクサブユニット、ＨＥＲ２、ＮＹ－ＥＳＯ１、もしくはＣＤ１６１のドメインである、実施形態１～１５のいずれか１つに記載の方法。
１７．核酸分子がプラスミドまたはベクターである、先行する実施形態のいずれか１つに記載の核酸分子。
１８．前記核酸分子がウイルスベクターである、実施形態１７に記載の核酸分子。
１９．実施形態１～１８のいずれか１つに記載の核酸分子を含む宿主細胞。
２０．実施形態１～１８のいずれか１つに記載の核酸分子、または実施形態１９に記載の宿主細胞を含む組成物。
２１．疾患または障害を有する対象を治療する方法であって、それを必要とする対象に、実施形態１～１８のいずれか１つに記載の核酸分子または実施形態１９に記載の宿主細胞、または実施形態２０に記載の組成物を、前記疾患または障害を軽減または治療するの

に十分な量で投与することを含む、方法。
【実施例】
【０３５３】
本開示は、ここで、以下の実施例を参照してさらに例示される。以下の説明は単なる例示であり、本開示の範囲内にありながら、詳細に対して変更を加えることができることが理解されるであろう。
【０３５４】
実施例１．バイシストロニックＬＡＭＰ構築物をコードするベクターの構築
ＬＡＭＰ融合蛋白として１つのＣＯＶＩＤ－１９抗体をコードし、分泌蛋白として第２のＣＯＶＩＤ－１９抗体をコードする第１世代ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン候補を設計した。この構築物は、ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニック構築物（ＩＴＩ－バイシストロニック－Ｓ１－ＬＡＭＰ－ＲＢＧ　ｐＡ－ＥＦ１－Ｓ２Ｐ　ＢＧＨ　ｐＡ；配列番号２２８、図２８Ｃ）と命名され、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２特異的抗体およびＴ細胞性応答の両方を誘導することが実証された。最適な抗体およびＴ細胞応答を得るために、ワクチンの用量（２０μｇ）および初回免疫と追加免疫との間の期間（例えば、１４日間）を研究した。２０μｇのＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニックワクチンで２回免疫した後、強いＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイク特異的Ｔ細胞および抗体が誘導された。重要なことに、ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニックワクチンは、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２を中和する免疫応答を誘発した。
【０３５５】
スパイクのＳ１およびＳ２サブユニットは、宿主細胞へのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの侵入を媒介する。ＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物の核酸分子を使用して、Ｓ１コード配列（ＧｅｎＢａｎｋ　ＭＮ９０８９７４）を、２つのＬＡＭＰ相同ドメイン（Ｎ－ＬＡＭＰおよび内腔ドメイン２）をコードするポリヌクレオチド配列の間に配置した。Ｓ１コード配列は、ＣＭＶエンハンサー配列の影響下でＣＭＶプロモーターに作動可能に連結され、その結果、宿主細胞における発現は、プロセシングおよびＭＨＣクラスＩＩ分子への提示のためのＳ１抗原を含むＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物を生じた（すなわち、「プライミング抗原」を提供する）。Ｓ２コード配列は、ベクター上の他の場所に提供され、Ｉｇ－κ分泌シグナル（リーダー配列）およびＥＦ１プロモーター配列をコードするポリヌクレオチド配列に作動可能に連結され、その結果、宿主細胞における発現は、分泌のためのＳ２抗原を生じた（すなわち、「追加免疫抗原」を提供する）。それによって、ベクターは、増強された免疫応答を誘発するために、抗原のプライミングおよびブースティングの両方を提供し得る適切な宿主細胞または標的細胞への導入のための単一の核酸分子を提供した。したがって、これは、ＬＡＭＰ構築物によって誘発される免疫応答をブーストするための任意の要望または要件が、１つまたは複数の時間間隔で別々に投与されるブースターワクチン（例えば、抗原を含む）の投与を必要とするので、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物のみをコードするベクターの使用に対して有意な利点を付与し得る。
【０３５６】
第１世代ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニックワクチンは、ウイルス表面に固定されたスパイク糖タンパク質のＳ１およびＳ２サブユニットを発現する。スパイクのＳ１およびＳ２サブユニットは、宿主細胞へのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの侵入を媒介する。ＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物の核酸分子を使用して、Ｓ１コード配列（ＧｅｎＢａｎｋ　ＭＮ９０８９７４）を、２つのＬＡＭＰ相同ドメイン（Ｎ－ＬＡＭＰおよび内腔ドメイン２）をコードするポリヌクレオチド配列の間に配置した。Ｓ１コード配列は、ＣＭＶエンハンサー配列の影響下でＣＭＶプロモーターに作動可能に連結され、その結果、宿主細胞における発現は、プロセシングおよびＭＨＣクラスＩＩ分子への提示のためのＳ１抗原を含むＩＬＣ－４　ＬＡＭＰ構築物を生じる（すなわち、「プライミング抗原」を提供する）。Ｓ２コード配列は、ベクター上の他の場所に提供され、そしてＩｇ－κ分泌シグナル（リーダー配列）およびＥＦ１プロモーター配列をコードするポリヌクレオチド配列に作動可能に連結され、その結果、宿主細胞における発現は、分泌のためのＳ２抗原を

生じる（すなわち、「追加免疫抗原」を提供する）。それによって、ベクターは、増強された免疫応答を誘発するために標的抗原および増強抗原を提供し得る適切な宿主細胞または標的細胞への導入のための単一の核酸分子を提供する。したがって、これは、ＬＡＭＰ構築物によって誘発される免疫応答を増強するための任意の要望または要件が、１つまたは複数の時間間隔で別々に投与されるブースターワクチン（例えば、抗原を含む）の投与を必要とするので、バイシストロニックＬＡＭＰ構築物のみをコードするベクターの使用に対して有意な利点を付与し得る。

【０３５７】

この第１世代ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニック構築物のポリヌクレオチド配列を図２８Ｃに示す。Ｓ１およびＳ２のＤＮＡ配列は、例えば、Ｇｅｎｂａｎｋ（ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｇｅｎｂａｎｋ／ｓａｒｓ－ｃｏｖ－２－ｓｅｑｓ／＃ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ－ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ）から得た。図２８Ａに示されるベクターにおいて、Ｓ２ポリヌクレオチド配列は、２つのプロリン（Ｐ）置換を含むＳ２変異体をコードする。特に、ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニックワクチン（第一世代ワクチン）は、以下により詳細に記載するように、Ｓ１－ＬＡＭＰ配列（図２８Ｃに示す配列番号：２２７の残基９５０～２００４）およびＩｇ－カッパリーダー配列（図２８Ｃ；配列番号：２２７の残基２１４５～３４２３を参照）を有するスパイクタンパク質（残基１６～１２７３）を発現する。

【０３５８】

以下の表１は、上記のバイシストロニックＬＡＭＰ構築物の例示的なＤＮＡおよびタンパク質配列、ならびに本明細書に記載されるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を構築する際に使用され得る様々な例示的なプロモーター／エンハンサー配列およびポリペプチド配列を提供する。

【０３５９】

以下のさらなるバイシストロニックＬＡＭＰ構築物を、当業者に周知の標準的な分子生物学的技術を使用して構築した：（１）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（図１１；配列番号１９７）、（２）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦＬＴ３Ｌ（配列番号２０８）、（３）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２（配列番号２１２）、（４）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－２１（配列番号２１６）、（５）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＯＸ４０Ｌ（配列番号２４１）、（６）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ８０（配列番号２５１）、（７）ＮＹ－ＥＳＯ１－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５（配列番号２２２）、（８）ＣＤ１６１－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（配列番号２３５）、および第２世代Ｃｏｖｉｄ－１９構築物（９）Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（２－Ｖ　Ｃｏｖｉｄワクチン；配列番号２３０）。これらの構築物およびそれらの成分の配列を以下の表に提供する。

【０３６０】

ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰポリペプチド配列番号１９５およびｍＳＰＤ－ｓＣＤ４０Ｌ融合タンパク質配列番号１９６を発現する。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦＬＴ３Ｌは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰポリペプチド（配列番号１９５）およびＳＰＤ－ｍＦＬＴ３Ｌポリペプチド配列番号２０７を発現する。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰポリペプチド（配列番号１９５）およびマウスＩＬ－１２　ｐ３６－Ｐ２Ａ－ＩＬ－１２ｐ４０ポリペプチド配列番号２１３を発現する。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－２１は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰポリペプチド（配列番号１９５）およびマウスＩＬ－２１ポリペプチド配列番号２１７を発現する。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＯＸ４０Ｌは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰポリペプチド（配列番号１９５）およびＯＸ４０Ｌ細胞外ドメイン（ＥＣＤ）を発現する。マウスＩＬ－２シグナルペプチド（ＳＰ）配列番号２４２を有するＦｃ融合タンパク質。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ８０は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰポリペプチド（配列番号１９５）およびマウスＩＬ－２　ＳＰ配列番号２５２を有するＣＤ８０　ＥＣＤを発現する。Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰポリペプチド配列番号２２９およびＳＰＤ－ｓＣＤ４０Ｌポリペプチド配列番号２３３を発現する。これらおよび他の配列を示す表を以下に示す。米国仮特許出願と比較して

、配列番号１９５は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰポリペプチド配列が配列番号１９８、続いて配列番号２００、続いて配列番号２０２を含むことを反映するように更新されており、仮特許出願に含まれた重複ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ配列は、周囲の配列の全体的な番号付けを変更することなく削除されている。配列番号２２１および２２９は、ＮＹ－ＥＳＯ１－ＬＡＭＰおよびＳｐｉｋｅ－ＬＡＭＰポリペプチド配列が、配列番号１９８、続いてＮＹ－ＥＳＯ１抗原またはスパイク抗原、続いて配列番号２０２を含むことを反映するように同様に更新される。

【０３６１】

【表３３】

表１．バイストロニック構築物中のＤＮＡおよびタンパク質配列

タンパク質	配列番号	配列
H. sapiens LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_005552.3	1	図３参照
H. sapiens LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_002285.1	2	図４参照
H. sapiens LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_055213.2	3	図５参照
H. sapiens LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_005497.1	4	図６参照
H. sapiens Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 NP_006007.2	5	図８参照
M. musculus LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_034814.2	6	図３参照
D. rerio LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_955996.1	7	図３参照
X. laevis LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001087042.1	8	図３参照
P. troglodytes LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001233491.1	9	図３参照
M. mulatta LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001087801.1	10	図３参照

【０３６２】

【表３４】

C, lupus familiaris LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_534193.2	11	図３参照
O. cuniculus LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_002723509.1	12	図３参照
B. taurus LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001068592.1	13	図３参照
R. novegicus LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_036989.1	14	図３参照
G. gallus LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_990614.1	15	図３参照
S. scrofa LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001011507.1	16	図３参照
M. domestica LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001374132.1	17	図３参照
M. gallopavo LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003203252.1	18	図３参照
T. guttate LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_002191607.2	19	図３参照
A. carolinensis LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003218797.1	20	図３参照
O. latipes LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_004067118.1	21	図３参照

【０３６３】

【表３５】

T. rubripes LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003969941.1	22	図３参照
S. salar LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001158846.1	23	図３参照
O. niloticus LAMP-1 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003452974.1	24	図３参照
M. musculus LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_034815.2	25	図４参照
X. laevis LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001087881.1	26	図４参照
D. rerio LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001013551.1	27	図４参照
142 nubisbis LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003918270.1	28	図４参照
M. mulatta LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001084005.2	29	図４参照
P. troglodytes LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003317709.1	30	図４参照
C. lupus familiaris LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_005641822.1	31	図４参照
E. caballus LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001493687.3	32	図４参照

【０３６４】

【表３６】

B. taurus LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001029742.1	33	図４参照
S. scrofa LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001231184.1	34	図４参照
O. aries LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_004022401.1	35	図４参照
R. norvegicus LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_058764.2	36	図４参照
O. anatinus LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001510101.2	37	図４参照
G. gallus LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001001749.1	38	図４参照
T. guttata LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_002191794.1	39	図４参照
X. tropicalis LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001116192.2	40	図４参照
S. salar LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001133282.1	41	図４参照
O. niloticus LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003445830.1	42	図４参照
T. rubripes LAMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003961835.1	43	図４参照

【０３６５】

【表３７】

P. troglodytes LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001155195.3	44	図５参照
143nubisbis LAMP-3 タンパク配列；アクセッション番号 XP_003894825.1	45	図５参照
M. mulatta LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001028044.1	46	図５参照
C. lupus familiaris LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_848889.2	47	図５参照
S. scrofa LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_003358746.1	48	図５参照
D. rerio LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001342688.2	49	図５参照
E. caballus LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001496333.1	50	図５参照
B. taurus LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001095605.1	51	図５参照
O. aries LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_004003158.1	52	図５参照
R. norvegicus LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001012015.1	53	図５参照
M. musculus LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_796330.2	54	図５参照

【０３６６】

【表３８】

X. tropicalis LAMP-3 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_002936919.2	55	図５参照
P. troglodytes LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_517214.2	56	図６参照
M. mulatta LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001096458.1	57	図６参照
C. lupus familiaris LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_005639134.1	58	図６参照
B. taurus LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001095623.1	59	図６参照
M. musculus LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_031670.1	60	図６参照
D. rerio LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_775366.1	61	図６参照
R. norvegicus LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_446453.1	62	図６参照
G. gallus LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_420593.1	63	図６参照
X. tropicalis LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001016557.1	64	図６参照
D. melanogaster LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_726504.2	65	図６参照

【０３６７】

【表３９】

A. gambiae LIMP-2 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_314345.2	66	図６参照
H. sapiens LIMBIC/SLA MP タンパク質配列；アクセッション番号 NP_002329.2	67	図７参照
P. troglodytes LIMBIC/SLAMP タンパク質配列;アクセッション番号 XP_516662.2	68	図７参照
O. cuniculus LIMBIC/SLAMP タンパク質配列;アクセッション番号 XP_002716722.1	69	図７参照
M. musculus LIMBIC/SLAMP タンパク質配列;アクセッション番号 NP_780757.1	70	図７参照
X. laevis LIMBIC/SLAM P タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001086181.1	71	図７参照
D. rerio LIMBIC/SLAMP タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001034942 1.1	72	図７参照
M. musculus Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 NP_058594.1	73	図８参照
M. mulatta Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001091286.1	74	図８参照
S. scrofa Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001924661.2	75	図８参照
B. taurus Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001039506.1	76	図８参照

【０３６８】

【表４０】

O. aries Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 XP_004011265.1。	77	図８参照
C. lupus familiaris Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 XP_532256.2	78	図８参照
R. norvegicus Endolyn タンパク質配列；アクセッション番号 NP_114000.1	79	図８参照
H. sapiens マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 NP_001242.2	80	図９参照
P. troglodytes マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 XP_003315403.1	81	図９参照
B. taurus マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 NP_001039367.1	82	図９参照
M. musculus マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 BAA23738.1	83	図９参照
M. mulatta マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 XP_014974003.1	84	図９参照
R. norvegicus マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 NP_001026808.1	85	図９参照
C. lupus familiaris マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 XP_849733.1	86	図９参照
E. caballus マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 NP_001093232.1	87	図９参照

【０３６９】

【表４１】

O. aries マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 XP_002719034.1	88	図９参照
S. scrofa マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 XP_003131995.1	89	図９参照
147mubisbis マクロシアリンタンパク配列；アクセッション番号 XP_03912313.1	90	図９参照
D. domestica マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 XP_001369761.1	91	図９参照
O. anatinus マクロシアリンタンパク質配列；アクセッション番号 XP_001517723.2	92	図９参照
H. sapiens LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_036393.1	93	図10参照
P. troglodytes LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_036393.1	94	図10参照
M. mulatta LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001181627.1	95	図10参照
C. lupus familiaris LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_850634.1	96	図10参照
B. taurus LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001076887.1	97	図10参照
M. musculus LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_083806.2	98	図10参照

【０３７０】

【表４２】

R. norvegicus LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001014205.1	99	図 10 参照
G. gallus LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 XP_004935300.1	100	図 10 参照
X. tropicalis LAMP5 タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001090781.1	101	図 10 参照
R. norvegicus LIMBIC/SLAMP タンパク質配列；アクセッション番号 NP_058938.1	102	図 7 参照
E. caballus LIMBIC/SLAMP タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001502710.1	103	図 7 参照
S. scrofa LIMBIC/SLAMP タンパク質配列；アクセッション番号 NP_001231626.1	104	図 7 参照
B. taurus LIMBIC/SLAMP タンパク質配列;アクセッション番号 NP_001192297.1	105	図 7 参照
A. gambiae LIMBIC/SLAMP タンパク質配列；アクセッション番号 XP_312298.5	106	図 7 参照
X. tropicalis LIMBIC/SLAMP タンパク質配列;アクセッション番号 NP_001096385.1	107	図 7 参照
C. lupus familiaris LIMBIC/SLAMP タンパク質配列;アクセッション番号 XP_003434117.1	108	図 7 参照
M. domestica LIMBIC/SLAMP タンパク質配列；アクセッション番号 XP_001362972.1	109	図 7 参照

【０３７１】

【表４３】

G. gallus LIMBIC/SLAMPタンパク質配列；アクセッション番号 NP_990205.1	110	図７参照
T. guttate LIMBIC/SLA MPタンパク質配列；アクセッション番号 XP_002190582.1	111	図７参照
X. tropicalis LIMBIC/SLAMPタンパク質配列；アクセッション番号 NP_001096385.1	112	図７参照
O. niloticus LIMBIC/SLAMPタンパク質配列；アクセッション番号 XP_003449349.1	113	図７参照
例示的なLAMPシグナル配列；タンパク質配列	114	MAPRSARRPLLLLLLLLLLGLMHCASA
N-LAMPタンパク質配列	115	AMFMVKNGNGTACIMANFSAAFSVNYDTKSGPKNMTLDLPSDATVVLNRSSCGKENTSDPSLVIAFGRGHTLTLNFTRNA TRYSVQLMSFVYNLSDTHLFPNASSKEIKTVESITDIRADIDKKYRCVSGTQVHMNNVTVTLHDATIQAYLSNSSFSRGET RCEQD
C-LAMPタンパク質配列	116	ADPHRCGWCPGGAGPHRPHRLPRRQEEESRRLPDYL
TM Cyto LAMPタンパク質配列	117	LIPIAVGGALAGLVLIVLIAYLVGRKRSHAGYQTI
SARS CoV-2 S1 スパイクタンパク質配列	118	VNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTE KSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTA GAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVF NATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYN YKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGV GYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEI LDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDI PIGAGICASYQTQTNSPRRAR
例示的なSARS CoV-2スパイクタンパク質配列(16－1273)	119	VNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTE KSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTA GAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVF NATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYN YKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGV GYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEI

【０３７２】

【表４４】

		LDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDI PIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLA DAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIG VTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEV QIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQE KNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELD KYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLC CMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
マウス Ig-カッパリーダー；タンパク質配列	120	METDTLLLWVLLLWVPGSTGD
マウス Ig-カッパリーダー；DNA 配列	121	atggaaaccgatacactgctgctgtgggtgctgttgctctgggttccaggatctacaggcgac
ヒト IgKVIII リーダー；タンパク質配列	122	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC
ヒト IgKVIII リーダー；DNA 配列	123	atggacatgcgtgtgccggcccaactgcttggtttgctgctcctctggcttcgggcgcaagatgc
ヒト EF-1α コアプロモーター；DNA 配列	124	gggcagagcgcacatcgcccacagtccccgaggaagttgggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcgggtaaactggg aaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgc cgccagaacacag
ヒトテトラネクチン；タンパク質配列	125	EPPTQKPKKIVNAKKDVVNTKMFEELKSRLDTLAQEVALLKEQQALQTV
ヒトテトラネクチン；DNA 配列	126	gagccaccaacccagaagcccaagaagattgtaaatgccaagaaagatgttgtgaacacaaagatgtttgaggagctcaagagccgtctggacaccct ggcccaggaggtggccctgctgaaggagcagcaggccctgcagacggtc
マウステトラネクチン；タンパク質配列	127	ESPTPKAKKAANAKKDLVSSKMFEELKNRMDVLAQEVALLKEKQALQTV
マウステトラネクチン；DNA 配列	128	gagtcacccactcccaaggccaagaaggctgcaaatgccaagaaagatttggtgagctcaaagatgttcgaggagctcaagaacaggatggatgtcctg gcccaggaggtggccctgctgaaggagaagcaggccttacagactgtg
マウス肺サーファクタント関連タンパク質 D(SPD)；タンパク質配列	129	MLPFLSMLVLLVQPLGNLGAEMKSLSQRSVPNTCTLVMCSPTENGLPGRDGRDGREGPRGEKGDPGLPGPMGLSGLQGP TGPVGPKGENGSAGEPGPKGERGLSGPPGLPGIPGPAGKEGPSGKQGNIGPQGKPGPKGEAGPKGEVGAPGMQGSTGAK GSTGPKGERGAPGVQGAPGNAGAAGPAGPAGPQGAPGSRGPPGLKGDRGVPGDRGIKGESGLPDSAALRQQMEALKGK LQRLEVAFSHYQKAALFPDG
マウス肺サーファクタント関連タンパク質 D(SPD)；DNA 配列	130	atgctgccctttctctccatgcttgtctgttacagccccctgggaaatctgggagcagaaatgaagagcctctgcagagatcagtacccaacacctgca ccctagtcatgtgtagcccaacagagaatggcctgcctggtcgtgatggacgggatgggagagaaggtcaccgggtgaagaggtgatccaggtttgc caggacctatgggggctcaggttgcagggccctacaggtccagttggacccaaaggagagaatggctctgctggcgaacctggaccaaagggagaa

【０３７３】

【表４５】

		cgtggactaagtggacctccaggacttccaggtattcctggtccagctgggaaagaaggtccctgggaagcagggaacataggacctcaaggcaaa ccaggtcctaaaggagaggctgggcccaaaggagaagtaggtgctcctggcatgcaaggatctacagggcaaaaggctccacaggcccaaggga gaaagaggtgcccctggtgtgcaaggagcccaggaatgctggagcagcaggacctgccggacctgccggtccacagggagctccaggttccaggg ggcccccaggactcaaggggacagaggtgttcctggagacagaggaatcaaaggtgaaagcgggcttccagacaagtgctgctctgaggcagcagat ggaggccttaaaggaaaactacagcgtctagaggttgccttctcccactatcagaaagctgcattgttccctgatggc
ヒト肺サーファクタント関連タンパク質 D(SPD)；タンパク質配列	131	MLLFLLSALVLLTQPLGYLEAEMKTYSHRTMPSACTLVMCSSVESGLPGRDGRDGREGPPRGEKGDPGLPGAAGQAGMPG QAGPVGPKGDNGSVGEPGPKGDTGPSGPPGPPGVPGPAGREGPLGKQGNIGPQGKPGPKGEAGPKGEVGAPGMQGSAG ARGLAGPKGERGVPGERGVPGNTGAAGSAGAMGPQGSPGARGPPGLKGDKGIPGDKGAKGESGLPDVASLRQQVEALQ GQVQHLQAAFSQYKKVELFPNGQSVGEKIFKTAGFVKPFTEAQLLCTQAGGQLASPRSAAENAALQQLVVAKNEAAFLSM TDSKTEGKFTYPTGESLVYSNWAPGEPNDDGGSEDCVEIFTNGKWNDRACGEKRLVVCEF
ヒト肺サーファクタント関連タンパク質 D(SPD)；DNA 配列	132	atgctgctcttcctcctctctgcactggtcctgctcacacagccccttgggctacctgaagcagaaatgaagacctactcccacagaacaatgcccagtgctt gcaccctggtcatgtagtagctcagtggagagtggcctgcctggtcgcgatggacgggatgggagagagggccctcgggcgagaagggggacccagg tttgccaggagctgcagggcaagcagcagggatgcctggacaagctggcccagttgggcccaaagggacaatggctctgttggagaacctggaccaaagg gagacactgggccaagtggacctccaggacctcccggtgtgcctggtcagctggaagagaaggtccctgggaagcagggggaacataggacctca gggcaagccaggcccaaaggagaagctgggcccaaaggagaagtaggtgccccaggcatgcagggctcggcagggggcaagaggcctcgcaggcc ctaagggagagcgcaggtgtcctggtgagcgtggagtccctggaaacacagggggcagcaggttctgctggagccatgggtcccccagggaagtccagg tgccagggggaccccgggattgaaggggggacaaaggcattcctggagacaaaggagcaaaggagaaagtgggcttccagatgttgcttctgaggc agcaggttgaggccttacagggacaagtacagcacctccaggctgctttctctcagtataagaaagttgagctcttcccaaatggccaaagtgtcgggggag aagatttcaagacagcaggctttgtaaaaccatttacggaggcacagctgctgtgcacacaggctggtggacagttggcctctccacgctctgaccgctga gaatgccgccttgcaacagctggtcgtagctaagaacgaggctgctttcctgagcatgactgattccaagacagaggggcaagttcactaccccacagga gagtccctggtctattccaactgggcccccagggggagcccaacgatgatggcgggtcagaggactgtgtggagatcttcaccaatggcaagtggaatgac agggcttgtggagaaaaggcgtctttgtggtctgcgagttc
ヒト可溶性 CD70；タンパク質配列	133	QRFAQAQQQLPLESLGWDVAELQLNHTGPQQDPRLYWQGGPALGRSFLHGPELDKGQLRIHRDGIYMVHIQVTLAICSS TTASRHHPTTLAVGICSPASRSISLLRLSFHQGCTIASQRLTPLARGDTLCTNLTGTLLPSRNTDETFFGVQWVRP
ヒト可溶性 CD70；DNA 配列	134	cagcgcttcgcacaggctcagcagcagctgccgctcgagtcacttgggtgggacgtagctgagctgcagctgaatcacacaggacctcagcaggacccc aggctatactggcaggggggcccagcactgggccgctccttcctgcatggaccagagctgggacaaggggcagctacgtatccatcgtgatggcatctaca tggtacacatccaggtgacgctgggccatctgttcctccacgacggcctccaggcaccacccccaccctgccgtgggaatctgctctcccgcctcccgta gcatcagcctgctgcgtctcagcttccaccaaggttgtaccattgcctcccagcgcctgacgccctggcccgaggggacacactctgcaccaacctcactg ggacacttttgccttcccgaaacactgatgagacctctttggagtgcagtgggtgccccc
マウス可溶性 CD70；タンパク質配列	135	SKQQQRLLEHPEPHTAELQLNLTVPRKDPTLRWGAGPALGRSFTHGPELEEGHLRIHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQ HRATLAVGICSPAAHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCTNLTLPLLPSRNADETFFGVQWICP
マウス可溶性 CD70；DNA 配列	136	agtaagcagcaacagaggctgctggagcacccctgagccgcacacagctgagttacagctgaatctcacagttcctcggaagggacccccacactgcgctgg ggagcaggcccagcctttgggaaggtccttcacacacggaccagagctggaggagggccatctgcgtatcccatcaaggatggcctctacaggctgcatatc caggtgacactggccaactgtcttcccccaggcagcaccctgcagcacagggcccacctggctgtgggcatctgctcccccgctgcgcacggcatcagctt gctgcgtgggcgctttggacaggactgtacagtggcattacagcgcctgacatacctggtccacggagatgtcctctgtaccaacctcaccctgctgct gccgtcccgcaacgctgatgagaccttctttggagttcagtggatatgccct

【０３７４】

【表４６】

マウス IL-12p35-P2A-IL-12p40；タンパク質配列	137	MVSVPTASPSASSSSSQCRSSMCQSRYLLFLATLALLNHLSLARVIPVSGPARCLSQSRNLLKTTDDMVKTAREKLKHYSC TAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSLMMTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQ NHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSAAAAGSGA TNFSLLKQAGDVEENPGPGSCPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITW TSDQRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLLHKKENGIWSTEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSW LVQRNMDLKFNIKSSSSSPDSRAVTCGMASLSAEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYS TSFFIRDIIKPDPPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKGAFLVEKTSTEV QCKGGNVCVQAQDRYYNSSCSKWACVPCRVRS
マウス IL-12p35-P2A-IL-12p40；DNA 配列	138	atggtcagcgttccaacagcctcaccctcggcatccagcagctcctctcagtgccggtccagcatgtgtcaatcacgctacctcctcttttttggccaccctttgcc ctcctaaaccacctcagtttggccagggtcattccagtctctggacctgccaggtgtctttagccagtcccgaaacctgctgaagaccacagatgacatggtg aagacggccagagaaaaactgaaacatttatttcctgcactgctgaagacatcgatcatgaagacatcacacggaccaaaccagcacattgaagacctgt ttaccactggaactacacaagaacgagagttgcctggctactagagagacttcttccacaacaagagggagctgcctgcccccacagaagacgtctttgat gatgaccctgtgccttggtagcatctatgaggacttgaagatgtaccagacagaggttccaggccatcaacgcagcacttcagaatcacaaccatcagcag atcattcttgacaagggcatgctggtggccatcgatgagctgatgcagtctctgaatcataatggcgaggactctgcgccagaaacctcctgtgggagaagc agacccttacagagtgaaaatgaagctctgcatcctgcttcacgccttcagcacccgcgtcgtcgtgaccatcaacagggtgatgggctatctgagctccgccg cggccgcaggatctgggccaccaacttttcattgctcaagcaggcgggcgatgtggaggaaaaccctggccccggatcctgtcctcagaagctaaccat ctcctggtttgccatcgttttgctggtgtctccactcatggccatgtgggagctggagaaaagacgtttatgttgtagaggtggactcccgatgcccctg gagaaacagtgaacctcacctgtgacacgcctgaagaagatgacatcacctggacctcagacaccagagacatggagtctatagggctctgaaagaccctg accatcactgtcaaagagtttcttgatgctggccagtacacctgccacaaaggaggcgagactctgagccactcacatctgctgctccacaagaaggaaa atggaatttggtccactgaaatttaaagaatttcaagaacaaagactttcctgaagtgtgaagcaccaaattactccggacggttcacgtgctcatggctggt gcaaagaaacatggacttgaagttcaacatcaagagcagtagcagttcccctgactctcgggcagtgacatgtggaatggcgtctctgtctgcagagaag gtcacactggaccaaagggactatgagaagtattcagtgtcctgccaggagatgtcacctgcccaactgccgagggagaccctgcccattgaactggcgt tggaagcacggcagcagaataaatatgagaactacagcaccagcttcttcatcagggacatcatcaaaccagacccgcccaagaacttgcagatgaagc ctttgaagaactcacaggtggaggtcagctgggagtaccctgactcctggagcactcccccattcctacttctccctcaagttctttgttcgaatccagcgcaag aaagaaaagatgaaggagacagaggagggggtgtaaccagaaaggtgcgttcctcgtagagaagacatctaccgaagtccaatgcaaaggcgggaat gtctgcgtgcaagctcaggatcgctattacaattcctcatgcagcaagtgggcatgttccctgcagggtccgatcctag
マウス IL-12p35 タンパク質配列	139	MVSVPTASPSASSSSSQCRSSMCQSRYLLFLATLALLNHLSLARVIPVSGPARCLSQSRNLLKTTDDMVKTAREKLKHYSC TAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSLMMTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQ NHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSAAAA
マウス IL-12p35 DNA 配列	140	atggtcagcgttccaacagcctcaccctcggcatccagcagctcctctcagtgccggtccagcatgtgtcaatcacgctacctcctcttttttggccaccctttgcc ctcctaaaccacctcagtttggccagggtcattccagtctctggacctgccaggtgtctttagccagtcccgaaacctgctgaagaccacagatgacatggtg aagacggccagagaaaaactgaaacatttatttcctgcactgctgaagacatcgatcatgaagacatcacacggaccaaaccagcacattgaagacctgt ttaccactggaactacacaagaacgagagttgcctggctactagagagacttcttccacaacaagagggagctgcctgcccccacagaagacgtctttgat gatgaccctgtgccttggtagcatctatgaggacttgaagatgtaccagacagaggttccaggccatcaacgcagcacttcagaatcacaaccatcagcag atcattcttgacaagggcatgctggtggccatcgatgagctgatgcagtctctgaatcataatggcgaggactctgcgccagaaacctcctgtgggagaagc

【０３７５】

【表４７】

		agacccttacagagtgaaaatgaagctctgcatcctgcttcacgccttcagcacccgcgtcgtgaccatcaacagggtgatgggctatctgagctccgccg cggccgca
例示的な P2A タンパク質配列	141	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGPG
例示的な P2A DNA 配列	142	ggatctgggcccaccaacttttcattgctcaagcaggcgggcgatgtggaggaaaaccctggcccccgga
IL-12p40 タンパク質配列	143	SCPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITWTSDQRHGVIGSGKTLTITVK EFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLHKKENGIWSTEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSWLVQRNMDLKFNIKSSSSSP DSRAVTCGMASLSAEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIIKPDPPKNLQM KPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKGAFLVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRYYN SSCSKWACVPCRVRS
IL-12p40 DNA 配列	144	atcctgtcctcagaagctaaccatctcctggtttgccatcgtttgctgtgtctccactcatggccatgtgggagctggagaaagacgtttatgttgtagagg tggactggactcccgatgccctggagaaacagtgaacctacctgtgacacgcctgaagaagatgacatcacctggacctcagaccagagacatggag tcataggctctggaaagaccctgaccatcactgtcaaagagtttcttgatgctggccagtacacctgcccacaaaggaggcgagactctgagccactcacat ctgctgctccacaagaaggaaaatggaatttgctccactgaaatttaagaatttcaagaacaaagactttcctgaagtgtgaagcaccaaattactccgg acggttcacgtgctcatggctggtgcaaagaaacatggacttgaagttcaacatcaagagcagtagcagttcccctgactctcgggcagtgacatgtgga atggcgtctctgtctgcagagaaggtcacactggaccaaagggactatgagaagtattccagtgtcctgccaggaggatgtcacctgcccaactgccgagg agacctgcccattgaactggcgttggaagcacggcagcagaataaatatgagaactacagcaccagcttcttcatcagggacatcatcaaaccagaccc gcccaagaacttgcagatgaagcctttgaagaactcacaggtggaggtcagctgggagtaccctgactcctggagcactcccccattcctacttctccctcaa gttctttgttcgaatccagcgcaagaaagaaaagatgaaggagacagaggagggtgtaaccagaaaggtgcgttcctcgtagagaagacatctaccg aagtccaatgcaaaggcgggaatgtctgcgtgcaagctcaggatcgctattacaattcctcatgcagcaagtgggcatgttcctcgcagggtccgatcc tag
ヒトIL-12p35-P2A-IL-12p40 タンパク質配列	145	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEIDHEDITKDKTST VEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVI DELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASATNFSLLKQAGDVEENPGPGMCHQQ LVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDP QGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLK NSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVP CS
ヒトIL-12p35-P2A-IL-12p40 DNA 配列	146	atgtgcccggcgcgcagcctgctgctggtggcgaccctggtgctgtggatcatctgagcctggcgcgcaacctgccggtggcgacccccggatccgggca tgtttccgtgcctgcatcatagccagaacctgctgcgcgcggtgagcaacatgctgcagaaagcgcgccagacccctggaatttatccgtgcaccagcgaa gaaattgatcatgaagatattaccaaagatataaacccagcaccgtggaagcgtgcctgccgctggaactgaccaaaaacgaaagctgcctgaacagccg cgaaaccagctttattaccaacggcagctgcctggcgagccgcaaaaccagctttatgatggcgtgtgcctgagcagcatttatgaagatctgaaaatgt atcaggtggaatttaaaaccatgaacgcgaaactgctgatggatccgaaacgccagatttttctggatcagaacatgctggcggtgattgatgaactgatg caggcgctgaactttaacagcgaaaccgtgccgcagaaaagcagcctggaagaaccggatttttataaaaccaaaattaaactgtgcattctgctgcatg cgtttcgcattcgcgcggtgaccattgatcgcgtgatgagctatctgaacgcgagcgcgaccaactttagcctgctgaaacaggcgggcgatgtggaaga aaacccggcccgggcatgtgccatcagcagctggtgattagctggttgtttctggcgagcccgctggtggcgatttgggaactgaaaaaa

【０３７６】

【表４８】

		gatgtgtatgtggtggaactggattggtatccggatgcgccgggcgaaatggtggtgctgacctgcgatacccccggaagaagatggcattacctggaccc tggatcagagcagcgaagtgctgggcagcggcaaaaccctgaccattcaggtgaaagaatttggcgatgcgggccagtatacctgccatataaggcggc gaagtgctgagccatagcctgctgctgctgcatataaaaagaagatggcatttggagcaccgatattctgaaagatcagaaagaaccgaaaaacaaaacc tttctgcgctgcgaagcgaaaaactatagcggccgctttacctgctggtggctgaccaccattagcaccgatctgaccttcgcgtgaaaagcagccgcgg cagcagcgatccgcagggcgtgacctgcggcgcggcgaccctgagcgcggaacgcgtgcgcggcgataacaaagaatatgaatatagcgtggaatgc caggaagatagccgctgtcccggcggcggaagaaagcctgccgattgaagtgatggtggatgcggtgcataaactgaaatatgaaaactataccagcag ctttttattcgcgatattataaccggatccgccgaaaaacctgcagctgaaaccgctgaaaaacagccgccaggtggaagtgagctgggaatatccgg atacctggagcacccccgatagctatttagcctgaccttttgcgtgcaggtgcagggcaaagcaaacgcgaaaaaaaagatcgcgtgtttaccgataa aaccagcgcgaccgtgatttgccgcaaaaacgcgagcattagcgtgcgcgcgcaggatcgctattatagcagcagctggagcgaatgggcgaggcgtgc cgtgcagc
ヒトIL-12p35 タンパク質配列	147	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEIDHEDITKDKTST VEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVI DELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
ヒトIL-12p35 DNA 配列	148	atgtgcccggcgcgcagcctgctgctggtggcgacctggtgctgctggatcatctgagcctggcgccgcaacctgccggtggcgacccccggatccgggca tgtttccgtgcctgcatcatagccagaacctgctgcgccggtgagcaacatgctgcagaaagcgccgccagaccctggaatttatccgtgcaccagccgaa gaaattgatcatgaagatattaccaaagataaaaccagcaccgtggaagcgtgcctgccgctggaactgaccaaaaacgaaagctgcctgaacagccg cgaaaccagctttattaccaacggcagctgcctggcgaggccgcaaaaccagctttatggcgctgtgcctgagcagcatttatgaagatctgaaaatgt atcaggtggaatttaaaaccatgaacgcgaaactgctgatggatccgaaacgccagatttttctggatcagaacatgctggcggtgattgatgaactgatg caggcgctgaacttaacagcgaaaccgtgccgcagaaaagcagcctggaagaaccggatttttataaaaccaaaattaaactgtgcattctgctgcatg cgtttcgcattcgcgcggtgaccattgatgcgtgatgagctatctgaacgcgagc
ヒトIL-12p40 タンパク質配列	149	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVK EFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNL QLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWS EWASVPCS
ヒトIL-12p40 DNA 配列	150	atgtgccatcagcagctggtgattagctggtttagcctggtttctggcgagcccgctggtggcgatttgggaactgaaaaaagatgtgtatgtggtggaa ctggattggtatccggatgcgccgggcgaaatggtggtgctgacctgcgatacccccggaagaagatggcattacctggaccctggatcagagcagccgaa gtgctgggcagcggcgcaaaaccctgaccattcaggtgaaagaatttggcgatgcgggccagtatacctgccataaaggcggcgaagtgctgagccatagc ctgctgctgctgcatgcataaaaaagaagatggcatttggagcaccgatattctgaaagatcagaaagaaccgaaaaacaaaacctttctgcgctgcgaagcg aaaaactatagcggccgctttacctgctggtggctgaccaccattagcaccgatctgaccttttagcgtgaaaagcagccgcggcagcagcgatccgcagg gcgtgacctgcggcgcggcgacctgagcgcggaacgcgtgcgcggcgataacaaagaatatgaatatagcgtggaatgccaggaagatagcgccgtg cccggcggcggaagaaagcctgccgattgaagtgatggtggatgcggtgcataaactgaaatatgaaaactataccagcagctttttattccgcgatatta ttaaaccggatccgccgaaaaacctgcagctgaaaccgctgaaaaacagccgccaggtggaagtgagctgggaatatccggatacctggagcacccccg catagctatttagcctgaccttttgcgtgcaggtgcagggcaaagcaaacgcgaaaaaaaagatcgcgtgtttaccgataaaaccagcgcgaccgtga tttgccgcaaaaacgcgagcattagcgtgcgcgcgcaggatcgctattatagcagcagctggagcgaatgggcgaggcgtgcccgtgcagc

【０３７７】

【表４９】

ヒトFLT3L タンパク質配列	151	TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTEIH FVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFSRCLELQCQPDSSTLPPPWSPRPLEATAPTAPQP
ヒトFLT3L DNA 配列	152	atgacagtgctggcgccaggcctggagcccaacaacctatctcctcctgctgctgctgagctcggtacccaggactgctcctttcaacac agccccatctcctccgacttcgctgtcaaaatccgtgagctgtctgactacctgcttcaagattacccagtcaccgtggcctcccaacctgcaggacgaggag ctctgcgggggcctctggcggctggtcctggcacagcgctggatggaagcggctcaagactgtcgctgggtccaagatgcaaggcttgctggagccgctg aacacggagatacactttgtaccaaatgtgcctttcagccc
マウスOX40L タンパク質配列	153	SSSPAKDPPIQRLRGAVTRCEDGQLFISSYKNEYQTMEVQNNSVVIKCDGLYIIYLKGSFFQEVKIDLHFREDHNPISIPML NDGRRIVFTVVASLAFKDKVYLTVNAPDTLCEHLQINDGELIVVQLTPGYCAPEGSYHSTVNQVPL
マウスOX40L DNA 配列	154	agcagcagccctgccaaggaccctcctattcagaggctgagggcgcccgtgacaaggtgcgaggacggacagctgttcatcagcagctacaagaacga gtatcagaccatggaggtgcagaacaacagcgtggtgatcaagtgcgacggcctgtacatcatcacctgaagggcagcttcttccaagaggtgaagatc gacctgcacttagggaggaccacaacctatcagcatccctatgctgaacgacggaagaggatcgtgttcaccgtggtggctagcctggccttcaagg acaaggtgtacctgaccgtgaacgccccctgacacctgtgcgagcacctgcagatcaacgacggcgagctgatcgtggtgcagctgaccctggctactg cgcccctgagggcagctaccacagcaccgtgaaccaagtgcctctg
ヒトOX40L タンパク質配列	155	QVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFILTSQKEDEIMKVQNNSVIINCDGFYLISLKGYFSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVR SVNSLMVASLTYKDKVYLNVTTDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCVL
ヒトOX40L DNA 配列	156	caggtatcacatcggtatcctcgaattcaaagtatcaaagtacaatttaccgaatataagaaggagaaaggtttcatcctcacttcccaaaaggaggatga aatcatgaaggtgcagaacaactcagtcatcatcaactgtgatgggttttatctcatctccctgaagggctacttctcccaggaagtcaacattagccttcatt accagaaggatgaggagccccctcttccaactgaagaaggtcaggtctgtcaactccttgatggtggcctctctgacttacaaagacaaagtctacttgaatg tgaccactgacaatacctcccctggatgacttccatgtgaatggcggagaactgattcttatccatcaaaatcctggtgaattctgtgtcctt
マウスCD80 タンパク質配列	157	VDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIYWQKHDKVVLSVIAGKLKVWPEYKNRTLYDNTTYSLIILGLVLSDRGTYS CVVQKKERGTYEVKHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFPKPRFSWLENGRELPGINTTISQDPESEL YTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPPDSKN
マウスCD80 DNA 配列	158	Gtggacgagcagctgagcaagagcgtgaaggacaaggtgctgctgcccttgtaggtacaacagcgcctcacgaggacgagagcgaggataggatctact ggcagaagcacgacaaggtagtgctgagtgtgatagccggcaagctgaaggtgtggccctgagtacaagaataggaccctgtacgacaacaccacctac agcctgatcatcctgggcctggtgctgagcgatagggggtacctacagctgcgtggtgcagaagaaggagaggggcacctacgaggtgaagcacctggc cctggtgaagctgagcatcaaggccgacttcagcaccctaacatcaccgagagcggcaacccctagccgccacaccaagaggatcacctgcttcgctag cggcggcttccctaagcctaggttcagctggctggagaacggaagggagctgcctggcataaacacgaccatatctcaagaccctgagagcgagctgta caccatcagctctcagctggacttcaacacacccgcaatcacaccatcaagtgcctgatcaagtacggcgacgcccacgtgagcgaggacttcacctgg gagaagcctcctgaggaccctcctgacagcaagaac
ヒトCD80 タンパク質配列	159	VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSVEELAQTRIYWQKEKKMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDITNNLSIVILALRPSDEGTYE CVVLKYEKDAFKREHLAEVTLSVKADFPTPSISDFEIPTSNIRRIICSTSGGFPEPHLSWLENGEELNAINTTVSQDPETELY AVSSKLDFNMTTNHSFMCLIKYGHLRVNQTFNWNTTKQEHFPDN
ヒトCD80 DNA 配列	160	gttatccacgtgaccaaggaagtgaaagaagtggcaacgctgtcctgtggtcacaatgtttctgttgaagagctggcacaaactcgcatctactggcaaaa ggagaagaaaatggtgctgactatgatgtctgggggacatgaatatatggcccgagtacaagaaccggacccatctttgatatcactaataacctctccattgt gatcctggctctgcgcccatctgacgagggcacatacgagtgtgttgttctgaagtatgtgaaaaagacgctttcaagcgggaacacctggctgaagtgacgt tatcagtcaaagctgacttccctacacctagtatatctgacttttgaaattccaacttctaatattagaaggataatttgctcaacctctggaggttttccagagc

【０３７８】

【表５０】

		ctcacctcctcctggttggaaaatggagaagaattaaatgccatcaacacaacagtttcccaagatcctgaaactgagctctatgctgttagcagcaaactgg atttcaatatgacaaccaacccaacagcttcatgtgtctcatcaagtatggacatttaagagtgaatcagaccttcaactggaatacaaccaaggcaatgagcatt ttcctgataac
マウス CD86 タンパク質配列	161	MDPRCTMGLAILIFVTVLLISDAVSVETQAYFNGTAYLPCPFTKAQNISLSELVVFWQDQQKLVLYEHYLGTEKLDSVNAK YLGRTSFDRNNWTLRLHNVQIKDMGSYDCFIQKKPPTGSIILQQTLTELSVIANFSEPEIKLAQNVTGNSGINLTCTSKQG HPKPKKMYFLITNSTNEYGDNMQISQDNVTELFSISNSLSLSFPDGVWHMTVVCVLETESMKISSKPLNFTQEFPSPQTY WK
マウス CD86 DNA 配列	162	atggatccgcgctgcaccatgggcctggcgattctgatttttgtgaccgtgctgctgattagcgatgcggtgagcgtggaaacccaggcgtatttaacggc accgcgtatctgccgtgcccgtttaccaaagccagaacattagcctgagcgaactggtggtgtttttggcaggatcagcagaaactggtgctgtatgaaca ttatctgggcaccgaaaaactggatagcgtgaacgcgaaatatcttgggccgcaccagctttgatcgcaacaactggacccctgcgcctgcataacgtgcag attaaagatatgggcagctatgattgctttattcagaaaaaaccgcccgaccggcagcattattctgcagcagaccctgaccgaactgagcgtgattgcgaa ctttagcgaacccggaaattaaactggcgcagaacgtgaccggcaacagcggcattaacctgacctgcaccagcaaacagggccatccgaaaccgaaaa aaatgtattttctgattaccaacagcaccaacgaatatggcgataacatgcagattagccaggataacgtgaccgaactgtttagcattagcaacagcctg agcctgagctttccggatggcgtgtggcatatgaccgtggtgtgcgtgctggaaaccgaaagcatgaaaattagcagcaaaccgctgaactttacccagg aatttccgagcccgcagacctattggaaag
マウス IL-18 タンパク質配列	163	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYMYKDSEVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISF EEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS
マウス IL-18 DNA 配列	164	atggctgccatgtcagaagactcttgcgtcaacttcaaggaaatgatgtttattgacaacacgctttacttatacctgaagaaaatggagacctggaatca gacaactttggccgacttcactgtacaaccgcagtaatacggaatataaatgaccaagttctcttcgttgacacaaagacagcctgtgttcgaggatatgact gatattgatcaaagtgccagtgaacccagaccagactgataatatacatgtacaaagacagtgaagtaagaggactggctgtgacccttctgtgaagg atagtaaaatgtctacctctcctgtaagaacaagatcatttccttggaggaaatggatcccctgaaaatattgatgatatacaaagtgatctcatattctttc agaaacgtgttccaggacacaacaagatggagtttgaatcttcactgtatgaaggacactttctttgcttgccaaaggaagatgatgctttcaaactcattct gaaaaaaaaggatgaaaatgggggataaatctgtaatgttcactctcactaacttacatcaaagttag
分泌ヒト IL-18 タンパク質配列	165	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISF KEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRSVPGHDNKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED
分泌ヒト IL-18 DNA 配列	166	aactttggccgacttcactgtacaaccgcagtaatacggaatataaatgaccaagttctcttcgttgacacaaagacagcctgtgttcgaggatatgactgat attgatcaaagtgccagtgaacccagaccagactgataatatacatgtacaaagacagtgaagtaagaggactggctgtgacccttctgtgaaggata gtaaaatgtctacctctcctgtaagaacaagatcatttccttggaggaaatggatcccctgaaaatattgatgatatacaaagtgatctcatattctttcag aaacgtgttccaggacacaacaagatggagtttgaatcttcactgtatgaaggacactttctttgcttgccaaaggaagatgatgctttcaaactcattctga aaaaaaaggatgaaaatgggggataaatctgtaatgttcactctcactaacttacatcaaagttag
マウス IL-15 タンパク質配列	167	NWIDVRYDLEKIESLIQSIHIDTTLYTDSDFHPSCKVTAMNCFLLELQVILHEYSNMTLNETVRNVLYLANSTLSSNKNVAE SGCKECEELEEKTFTEFLQSFIRIVQMFINTS
マウス IL-15 DNA 配列	168	aactggatagatgtaagatatgacctggagaaaattgaaagccttattcaatcttattcatattgacaccacttttacactgacagtgactttcatcccagttg caaagttactgcaatgaactgcttttcctcctggaattgcaggttatttttacatgagtacagtaacatgactcttaatgaaacagtaagaaacgtgctctaccttg caaacagcactctgtcttctaacaagaaatgtagcagaatctggctgcaaggaatgtgaggagctggaggagaaaaccttcacagagtttttgcaaagcttt atacgcattgtccaaatgttcatcaacagctcc

【０３７９】

【表５１】

ヒトIL-15 タンパク質配列	169	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTE SGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
ヒトIL-15 DNA 配列	170	aactgggtgaatgtaataagtgatttgaaaaaaattgaagatcttattcaatctatgcatattgatgctacttttatatacggaaagtgatgttcaccccagttg caaagtaacagcaatgaagtgctttcttcttgagttacaagttatttcacttgagtccggagatgcaagtattcatgatacagtagaaaatctgatcatccta gcaaacaacagtttgtcttctaatgggaatgtaacagaatctggatgcaaagaatgtgaggaactggaggaaaaaatattaaagaatttttgcagagttt tgtacatattgttccaaatgttcatcaacacttct
マウスIL-7 タンパク質配列	171	ECHIKDKEGKAYESVLMISIDELDKMTGTDSNCPNNEPNFFRKHVCDDTKEAAFLNRAARKLKQFLKMNISEEFNVHLLTV SQGTQTLVNCTSKEEKNVKEQKKNDACFLKRLLREIKTCWNKILKGSI
マウスIL-7 DNA 配列	172	gagtgccacattaaagacaaagaaggtaaagcatatgagagtgtactgatgatcagcatcgatgaattggacaaaatgacaggaactgatagtaattgc ccgaatatgaaccaaacttttttagaaaacatgtatgtgatgatacaaaggaagctgcttttctaaatcgtgctgctcgcaagttgaagcaatttcttaaaat gaatatcagtgaagaattcaatgtccacttactaacagtatcacaaggcacacaaacactggtgaactgcacaagtaaggaagaaaaaacgtaaagg aacagaaaaaagaatgatgcatgtttcctaaagagactactgagagaaataaaaacttgttggaataaaatttttgaaggcagtatataa
ヒトIL-7 タンパク質配列	173	DCDIEGKDGKQYESVLMVSIDQLLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL KVSEGTTILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLLQEIKTCWNKILMGTKEH
ヒトIL-7 DNA 配列	174	gattgtgatattgaaggtaaagatggcaaacaatatgagagtgttctaatggttcagcatcgatcaattattggacagcatgaaagaaattggtagcaattg cctgaataatgaatttaacttttttaaagacatatctgtgatgctaataaggaaggtatgttttattccgtgctgctcgcaagttgaggcaatttcttaaaatg aatagcactggtgatttgatctccacttattaaaagtttcagaaggcacacaacaatactgttgaactgcactggccaggttaaaggaagaaaaccagctgcc ctgggtgaagcccaaccacacaaagagtttggaagaaaataaatctttaaaggaacagaaaaaactgaatgacttgtgtttcctaaagagactattacaag agataaaaacttgttggaataaaatttgatgtggcactaaagaacactga
マウスIL-33 タンパク質配列	175	AASVDTLSIQGTSLLTQSPASLSTYNDQSVSFVLENGCYVINVDDSGKDQEQDQVLLRYYESPCPASQSGDGVDGKKLMV NMSPIKDTDIWLHANDKDYSVELQRGDVSPPEQAFFVLHKKSSDFVSFECKNLPGTYIGVKDNQLALVEEKDESCNNIMF KLSKI
マウスIL-33 DNA 配列	176	gctgcgtctgttgacacattgagcatccaaggaacttcactttaacacagtctcctgcctccctgagtacatacaatgaccaatctgttagtttgttttggag aatggatgttatgtgatcaatgttgacgcacttggaaaagaccaagagcaagaccaggtgctactacgctactatgagtctccctgtcctgcaagtcaatca ggcgacggtgtggatgtgggaagaagctgatggtgaacatgagttccatcaaagacacagacatctggctgcatgccaacgacaaggactactccgtgga gcttcaaagggtgacgtctcgcctccggaacaggccttcttcgtcctcacaaaaagtcctcggacttgtttcatttgaatgcaagaatcttcctggcactta cataggagtgaaggacaaccagctggctctagtggaggaaaaagatgagagctgcaacaatattatgtttaagctctcgaaaatctaa
ヒトIL-33 タンパク質配列	177	AFGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDESYEIYVEDLKKDEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGV DGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKEHSVELHKCEKPLPDQAFFVLHNMHSNCVSFECKTDPGVFIGVKDNHLALIKVDSSE NLCTENILFKLSET
ヒトIL-33 DNA 配列	178	gcctttggtatatcagggtccagaaatatactagagcacttcatgattcaagtatcacaggaatttcacctattacagagtatcttgcttcttctaagcacata caatgatcaatccattacttttgctttggaggatgaaagttatgagatatatgttgaagacttgaaaaaagatgaaaagaaagatgtgttactgagtta ctatgagtctcaacaccctcaaatgaatcaggtgacggtgttgatggtaagatgttaatggtaaccctgagtcctacaaaagacttctggttgcatgccaa caacaaggaacactctgtggagctccataagtgtgaaaaaccactgccagaccaggccttctttgtccttcataatatgcactccaactgtgtttcatttgaat gcaagactgatcctggagtgtttataggtgtaaaggatatcatcttgctctgattaaagtagacttcttctgagaatttgtgtactgaaaatatcttgtttaagc tctctgaaact

【０３８０】

【表５２】

マウス IL-21 タンパク質配列	179	HKSSPQGPDRLLIRLRHLIDIVEQLKIYENDLDPELLSAPQDVKGHCEHAAFACFQKAKLKPSNPGNNKTFIIDLVAQLRRR LPARRGGKKQKHIAKCPSCDSYEKRTPKEFLERLKWLLQKMIHQHLS
マウス IL-21 DNA 配列	180	cataaatcaagccccccaagggccagatcgcctcctgattagacttcgtcaccttattgacattgttgaacagctgaaaatctatgaaaatgacttggatcctg aacttctatcagctccacaagatgtaaagggcactgtgagcatgcagctttgcctgttttcagaaggccaaactcaagccatcaaaccctggaaacaat aagacattcatcattgacctcgtggcccagctcaggaggaggctgcctgccaggagggaggaaagaaacagaagcacatagctaaatgcccttcctgt gattcgtatgagaaaaggacacccaaagaattcctagaaagactaaaatggctcttcaaaagatgattcatcagcatctctcc
ヒト IL-21 タンパク質配列	181	HKSSSQGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQHLSSRTHGSEDS
ヒト IL-21 DNA 配列	182	cacaaatcaagctcccaaggtcaagatcgcccacatgattagaatgcgtcaacttatagatattgttgatcagctgaaaaattatgtgaatgacttggtccctg aatttctgccagctccagaaggatgtagagacaaactgtgagtggtcagctttttcctgtttttcagaaggcccaactaaagtcagcaaatacaggaaacaat gaaaggataatcaatgtatcaattaaaaagctgaagaggaaaccacctccacaaatgcagggagaagacagaaacacagactaacatgcccttcatgt gattcttatgagaaaaaaccacccaaagaattcctagaaaagattcaaatcacttctccaaaagatgattcatcagcatctgtcctctagaacacacggaagt gaagattcc
マウス IL-23a p19-P2A-IL-12 p40 タンパク質配列	183	MLDCRAVIMLWLLPWVTQGLAVPRSSSPDWAQCQQLSRNLCMLAWNAHAPAGHMNLLREEDEETKNNVPRIQCEDG CDPQGLKDNSQFCLQRIRQGLAFYKHLLDSDIFKGEPALLPDSPMEQLHTSLLGLSQLLQPEDHPRETQQMPSLSSSQQW QRPLLRSKILRSLQAFLAIAARVFAHGAATLTEPLVPTAATNFSLLKQAGDVEENPGPCPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWE LEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITWTSDQRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLH KKENGIWSTEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSWLVQRNMDLKFNIKSSSSSPDSRAVTCGTASLSAEKVTLDQRDYE KYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIIKPDPPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYF SLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKGALLVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRYYNSSCSKWACVPCRVRS
マウス IL-23a p19-P2A-IL-12 p40 DNA 配列	184	atgctggattgcagagcagtaataatgctatggctgttgccctgggtcactcagggcctggctgtgcctaggagtagcagtcctgactgggctcagtgcca gcagctctctggaatctctgcatgctagcctggaacgcacatgcaccagcgggacatatgaatctactaagagaagaagaggatgaagagactaaaaa taatgtgcccgtatccagtgtgaagatggttgtgacccacaaggactcaaggacaacagccagttctgcttgcaaaggatccgccaaggttctggctttta taagcacctgcttgactctgacatcttcaaagggagcctgctctactcccctgatagcccccatggagcaacttcacacctccctactaggactcagccaactc ctccagccagaggatcacccccgggagacccaacagatgcccagcctgagttctagtcagcagtggcagcgccccctttccgttccaagatccttcgaag cctccaggcctttttggccatagctgcccgggtctttgcccacggagcagcaactctgactgagcccttagtgccaacagctgccaccaactttttcattgctca agcaggcgggcgatgtggaggaaaacctggccccggatcctgtcctcagaagctaaccatctccctggtttgccatcgttttgctggtgtctccactcatgg ccatgtgggagctggagaaagacgtttatgttgtagaggtggactggactcccgatgcccctggagaaacagtgaacctcacctgtgacacgcctgaaga agatgacatcacctggacctcagaccagagacatggagtcataggctctggaaagaccctgaccatcactgtcaaagagtttctagatgctggccagtac acctgccacaaaggaggcgagactctgagccactcacatctgctgctccacaagaaggaaatggaatttggtccactgaaatttaaaaaatttcaaaa acaagactttcctgaagtgtgaagcaccaaattactccggacggttcacgtgctcatggctggtgcaaagaaacatggacttgaagttcaacatcaagagc agtagcagttcccctgactctcgggcagtgacatgtggaacggcgctcttgtctgcagagaaggtcacactggaccaaagggactatgagaagtattcag tgtcctgccaggaggatgtcacctgcccaactgccgaggagaccctgcccattgaactggcgttggaagcacggcagcagaataaatatgagaactaca gcaccagcttcttcatcagggacatcatcaaaccagacccgcccaagaacttgcagatgaagccttgaagaactcacaggtggaggtcagctgggagta ccctgactcctggagcactcccccattcctacttctccctcaagttctttgttcgaatccagcgcaagaaagaaatgatgaaggagacagaggaggggtgta

【０３８１】

【表５３】

		accagaaaggtgcgctcctcgtagagaagacatctaccgaagtccaatgcaaaggcgggaatgtctgcgtgcaagctcaggatcgctattacaattcctc gtgcagcaagtgggcatgtgttccctgcagggtccgatcctag
マウス IL-23a p19 タンパク質配列	185	MLDCRAVIMLWLLPWVTQGLAVPRSSSPDWAQCQQLSRNLCMLAWNAHAPAGHMNLLREEDEETKNNVPRIQCEDG CDPQGLKDNSQFCLQRIRQGLAFYKHLLDSDIFKGEPALLPDSPMEQLHTSLLGLSQLLQPEDHPRETQQMPSLSSSQQW QRPLLRSKILRSLQAFLAIAARVFAHGAATLTEPLVPTA
マウス IL-23a p19 DNA 配列	186	gccaccatgctgtggggagcagagctgtaatgctgctgttgctgctccctggacagctcagggcagagctgtgcctgggggcagcagccctgcctggactc agtgccagcagcttttcacagaagctctgcacactggcctggagtgcacatccactagtgggacacatggatctaagagaagagggagatgaagagact acaaatgatgttcccatatccagtgtggagatggctgtgaccccaaggactcagggacaacagtcagttctgcttgcaaaggatccaccagggtctgat tttttatgagaagctgctaggatcggatatttttcacagggggagccttctgctccctgatagccctgtgggccagcttcatgcctccctactgggcctcagcc aactcctgcagcctgagggtcaccactgggagactcagcagattccaagcctcagtcccagccagccatggcagcgtctccttctccgcttcaaaatccttc gcagcctccaggccctttgtggctgtagccgcccgggtctttgcccatggagcagcaaccctgagtccc
マウス IL-12 p40 タンパク質配列	187	CPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITWTSDQRHGVIGSGKTLTITVKE FLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLHKKENGIWSTEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSWLVQRNMDLKFNIKSSSSSPD SRAVTCGTASLSAEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIIKPDPPKNLQMKP LKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKGALLVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRYYNSS CSKWACVPCRVRS
マウス IL-12 p40 DNA 配列	188	ggatccatgtgtcaccagcagttggtcatctcttggtttttccctggtttttctggtcatctcccctcgtggccatatgggaactgaagaaagatgtttatgtcgta gaattggattggtatccggatgcccctggagaaaatggtggtctcctcacctgtgacaccctgaagaaagatggtatcacctggaccagagcagtg aggtcttaggctctggcaaaacccctgaccatccaagtcaaagagtttggagatgctggccagtcacacctgtcacaaaggaggcgaggttctaagccattc gctcctgctgcttcacaaaaggaagatggaatttggtccactgatatttttaaggaccagaaagaacccaaaaataagaccttttctaagatgcgaggcc aagaattattctggacgtttcacctgctggtggctgacgacaatcagtactgatttgacatttcagtgtcaaaagcagcagaggctcttctgaccccaaggg gtgacgtcgcggagctgctacactcttctgcagagagagtcagagggggacaacaaggagtatgagtactcagtggagtgccaggaggacagtgcctgccc agctgctgaggagaagtctgcccattgaggtcatggtggatgcccgttcacaagctcaagtatgaaaactacaccagcagcttcttcatcagggacatcatca aacctgacccacccaagaacttgcagctgaaggccatttaaagaattctcggcaggtggaggtcagctgggagtaccctgacacctggagtactccacattc ctacttctccctgacattctgcgttcaggtccagggcaagagcaagagagaaaagaaagatagaagtcttcacggacaagacctcagccacggtcatctgc cgcaaaaatgccagcattagcgtgcgggcccaggaccgctactatagctcatcttggagcgaatgggcatctgtgccctgcagttag
ヒト IL-23a p19-P2A-IL-12 p40 タンパク質配列	189	MLGSRAVMLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLREEGDEETTNDVPHIQCGDGCD PQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFTGEPSLLPDSPVGQLHASLLGLSQLLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQRL LLRFKILRSLQAFVAVAARVFAHGAATLSPATNFSLLKQAGDVEENPGPMCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYV VELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYS VECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSL TFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
ヒト IL-23a p19-P2A-IL-12 p40 DNA 配列	190	gccaccatgctgtggggagcagagctgtaatgctgctgttgctgctccctggacagctcagggcagagctgtgcctgggggcagcagccctgcctggactc agtgccagcagcttttcacagaagctctgcacactggcctggagtgcacatccactagtgggacacatggatctaagagaagagggagatgaagagact acaaatgatgttcccatatccagtgtggagatggctgtgaccccaaggactcagggacaacagtcagttctgcttgcaaaggatccaccagggtctgat

【０３８２】

【表５４】

		ttttatgagaagctgctaggatcggatatatttcacagggagagccttctctgctccctgatagaccctgtgggccagcttcatgcctcccctactggcctcagcc aactcctgcagcctgagggtcaccactgggagactcagcagatttcaagcctcagtcccagccagccatggcagcgtctccttctccgcttcaaaatcctttc gcagcctccagccctttgtggctgtagccgcccgggtctttgcccatggagcagcaaccctgagtcccgccaccaacttttcattgctcaagcagccgggcg atgtggaggaaaaccctggcccccggatccatcatgtgtcaccagcagttggtcatctcttggttttccctggttttttctggcatctcccctcgtggccatatgggaa ctgaagaaaagatgtttatgtcgtagaatttggaattggtatccggatgcccctggagaaatgtggtgctcctcaccttgtgacacccctgaagaagatggtatcacc tggaccttggaccagagcagtgaggtcttaggctctggcaaaacccctgaccatccaagtcaaagagtttggagatgctggccagtacacctgtcacaaag gaggcgaggttctaagccattcgctcctcgctgcttcacaaaaaggaagatggaatttggtccactgatatttaaaggaccacgaaaggaacccaaaaataa gaccttttctaagatgcgaggccaagaattattctggacgtttcacctgctggtggctgacgacaatcagtactgatttgacattcagtgtcaaaagcagcag aggctcttctgacccccaagggtgacgtgcggagctgctacactctctgcagagagatcagagggagcaacacaggagtatgagtactcagtggagtg ccaggaggacagtgcctgcccagctgctgaggagagtctgcccattgaggtcatggtggatgccgttcacaagctcaagtatgaaaactacaccagcag cttcttcatcagggacatcatcaaacctgacccacccaagaacttgcagctgaagccattaaagaattctcggcaggtggaggtcagctgggagtaccctg acacctggagtactccacattccctacttcctcctgacattctgcgttcaggtccaggcaagagcaagagagaaaagaaagatagagtcttcacggacaa gacctcagccacggtcatctgccgcaaaaatgccagcattagcgtgcgggcccaggaccgctactatagctcatcttggagcgaatgggcatctgtgccct gcagttag
ヒトIL-23a p19 タンパク質配列	191	MLGSRAVMLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLREEGDEETTNDVPHIQCGDGCD PQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFTGEPSLLPDSPVGQLHASLLGLSQLLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQRL LLRFKILRSLQAFVAVAARVFAHGAATLSP
ヒトIL-23a p19 DNA 配列	192	gccaccatgctggggagcagagctgtaatgctgctgttgctgctgccctggacagctcagggcagagctgtgccctgggggcagcagcccctgcctggactc agtgccagcagctttcacagaagctctgcacactggcctggagtgcacatccactagtgggacacatggatctaagagaagagggagatgaagagact acaaatgatgttcccatatccagtgtggagatggctgtgaccccaaggactcagggacaacagtcagttctgcttgcaaggatcccaccaggtctgat ttttatgagaagctgctaggatcggatattttcacagggagccttctctgctccctgatagccctgtgggccagcttcatgcctcccctactggcctcagcc aactcctgcagcctgagggtcaccactgggagactcagcagatttcaagcctcagtcccagccagccatggcagcgtctccttctccgcttcaaaatcctttc gcagcctccaggcctttgtggctgtagccgcccgggtctttgcccatggagcagcaaccctgagtccc
ヒトIL-12 p40 タンパク質配列	193	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVK EFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNL QLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWS EWASVPCS
ヒトIL-12 p40 DNA 配列	194	ggatccatgtgtcaccagcagttggtcatcttctttggtttttccctggtttttctggcatctccctcgtggccatatgggaactgaagaaagatgtttatgtcgta gaattggattggtatccggatgcccctggagaaatggtggtcctcacctgtgacaccctgaagaagatggtatcacctggaccttggaccagagcagtg aggtcttaggctctggcaaaaccctgaccatccaagtcaaagagtttggagatgctggccagtacacctgtcacaagaggcgaggttctaagccattc gctcctgctgcttcacaaaaaggaagatggaatttggtccactgatatttaaaggaccacgaaaggaacccaaaaataagacctttctaagatgcgaggcc aagaattattctggacgtttcacctgctggtggctgacgacaatcagtactgatttgacattcagtgtcaaaagcagcagaggctcttctgacccccaaggg gtgacgtgcggagctgctacactctctgcagagagagtcagagggggacaacaaggagtatgagtactcagtggagtgccaggagacagtgcctgccc agctgctgaggagagtctgcccattgaggtcatggtggatgccgttcacaagctcaagtatgaaaactacaccagcagcttcttcatcagggacatcatca aacctgaccccacccaagaacttgcagctgaagccattaaagaattctcggcaggtggaggtcagctgggagtaccctgaccctggagtactccacattc

【０３８３】

【表５５】

		ctacttctccctgacattctgcgttcaggtccagggcaagagcaagagagaaaaagaaagatagagtcttcacggacaagacctcagccacggtcatctgc cgcaaaaatgcccagcattagcgtgcgggcccaggaccgctactatagctcatcttggagcgaatgggcatctgtgccctgcagttag
HER2-LAMP タンパク質配列	195	MAPRSARRPLLLLLLLLLGLMHCASAAMFMVKNGNGTACIMANFSAAFSVNYDTKSGPKNMTLDLPSDATVVLNRSSCG KENTSDPSLVIAFGRGHTLTLNFTRNATRYSVQLMSFVYNLSDTHLFPNASSKEIKTVESITDIRADIDKKYRCVSGTQVH MNNVTVTLHDATIQAYLSNSSFSRGETRCEQDLETQVCTGTDMKLRLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTN ASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEIL KGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQSLTRTVCAGGCARCK GPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDV GSCTLVCPLHNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNT APLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGISWLGLRSLRELGSGLALIHHN THLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQG LPREYVNARHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPIN CTHEFTCLLASMGLQLNLTYERKDNTTVTRLLNINPNKTSASGSCGAHLVTLELHSEGTTVLLFQFGMNASSSRFFLQGIQ LNTILPDARDPAFKAANGSLRALQATVGNSYKCNAEEHVRVTKAFSVNIFKVWVQAFKVEGGQFGSVEECLLDENSM
mSPD+sCD40L タンパク質配列	196	MLPFLSMLVLLVQPLGNLGAEMKSLSQRSVPNTCTLVMCSPTENGLPGRDGRDGREGPRGEKGDPGLPGPMGLSGLQGP TGPVGPKGENGSAGEPGPKGERGLSGPPGLPGIPGPAGKEGPSGKQGNIGPQGKPGPKGEAGPKGEVGAPGMQGSTGAK GSTGPKGERGAPGVQGAPGNAGAAGPAGPAGPQGAPGSRGPPGLKGDRGVPGDRGIKGESGLPDSAALRQQMEALKGK LQRLEVAFSHYQKAALFPDGHRRLDKVEEEVNLHEDFVFIKKLKRCNKGEGSLSLLNCEEMRRQFEDLVKDITLNKEEKKE NSFEMQRGDEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKGYYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCSNREPSSQ RPFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLCEQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSSFGLLKL
HER2-LAMP-sCD40L；HER2(細胞外ドメイン)+LAMP+EF-1α+SPD+sCD40L；DNA 配列	197	atggtgaaaaatggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgccttctagtgaactacgacaccaagatggccctaagaacatgaccct tgacctgccatcagatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaaggagaacacttctgaccccagtctcgtgattgctttggaagaggacatac actcactctcaatttcacggagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagtttgtttataacttgtcagacacacactttcccaatgcgagctcca aagaaatcaagactgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaaatacagatgtgttagtggcacccaggtccacatgaacaacgtga ccgtaacgctccatgatgccaccatccaggcgtacctttccaacagcagcttcagcccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgagacacaagttctg caccggcaccgacatgaagctgagactgcccgccagcccgaaacccatctggacatgctgcggcatctgtaccaaggctgtcaagtggtgcaaggcaa tctggaactgacatatctgcctaccaacgcctctctgagctttctgcaagacatccaagaagtgcaaggctacgtcctcattgcccacaaccaagtccgaca agtgccactgcagcggctgagaatcgtgcgggcacccagctgttcgaggacaactatgctctggccgtgctggacaacggcgacctctgaacaaac cacaccagtgactggcgcctctcccggcggactgagagaactgcagctgcgctctctgaccgagattctgaagggcggcgtgctgatccagcggaaccct cagctgtgctaccaagacaccattctgtggaaggacatcttccacaagaacaaccagctggtctgaccctcatgacaccaacagaagccgggcttgcc accctgcagcccatgtgcaagggcagcagatgttgggcgagagcagcgaggactgccagtctctgaccagaaccgtgtgtgccggcggatgcgcc agatgcaagggccctctgccaaccgattgctgccacgaacagtgcgccgctggctgtaccggccccaagcacagcgattgtctggcttgtcacttcaa ccactccggcatctgcgagctgcactgcccagccctcgtgacatacaaccaccgacacattcgagagcatgcccaaccccgagggcagatacacattcggc gccagctgtgtgaccgcttgcccctacaactatctgagcaccgacgtgggcagctgcaccctcgtgtgccctctgcacaatcaagaagtgaccgccgagga cggcacccagagatgcgagaagtgctccaagccttgcgccagagtgtgctacggactgggcatggaaatctcgcgggaagtgcgggccgtgaccagcg ccaatatccaagaatttgccggctgcaagaagatttttggcagtctggccttctgcccgagagcttcgatggcgcaccccgcctctaacacagccccctctgc

【０３８４】

【表５６】

agccagagcagctccaagtgttcgagacactggaagaagatcaccggctatctgtacatcagcgcttggcccgactctctgcccgatctgagcgtgttccag aatctgcaagtcatcagaggccggattctgcacaacgggcgcctattctctgacactgcaaggactgggaatcagctggctgggactgcggagtctgagag agctgggcagcggactggcactgatcccaccacaacacccatctgtcttcgtgcacaccgtgccttgggatcagctgttccggaatcccccaccgaagctctgc tgcacaccgccaacagacccgaggatgagtgtgtgggcgagggggctggcttgccatcagctctgtgccagaggacactgttgggggacccggccctaccc agtgcgtgaactgctcccagtttctgcgggggccaagaatgcgtggaagagtgcagagtgctccaaggactgccccgcgagtacgtgaacgccagacact gtctgccatgccacccccgagtgccagcctcagaatggcagcgtgacatgcttcggccccgaggccgatcagtgtgtggcttgcgctcactacaaggaccct ccctttctgcgtggcccggtgtcctttctggcgtgaaacccgatctgtcctacatgcctatctgaagttcccccgacgaggaaggcgcttgtcagccttgcccca tcaactgcacccacgaattcacctgcctgctggccagcatggggctgcagctgaacctcacctatgagaggaaggaacaacacgacggtgacaaggcttct caacatcaacccccaacaagacctcggccagcgggagctgcggcgcccacctggtgactctgagagctgcacagcgaggcaccaccgtcctgctcttcca gttcgggatgaatgcaagttctagccggttttcctacaaggaatccagttgaatacaattcttcctgacgccagagacctgccttaaagctgccaacggc tccctgcgagcgctgcaggcccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagt gtgggtccaggcttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggagtgtctgctggacgagaacagcatgctgatccccatcgctgtgggtggtg ccctggcgggggctggtcctcatcgtcctcatcgcctacctcgtcggcaggaagaggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatcttttccctctg ccaaaaattatgggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctc actcggaaggacataaggcggccgcggtaccgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggg ggagggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcgggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtggg ggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttttcgcaacgggtttgccgccagaacacagctacgaggatccgccgccaccatggaaac cgatacactgctgctgtgggtgctgttgctctgggttccaggatctacaggcgacatgctgccctttctcccatgcttgttctttgctacagccctgggaaa tctgggagcagaaatgaagagcctctcgcagagatcagtacccaacacctgcaccctagtcatgtgtagcccaacagagaatggcctgctgtcgtgat ggacgggatgtgggagagaaggtccacgggtgagaagggtgatccaggtttgccaggacctatgggctctcagggttgcagggcccctacaggttccagt tggacccaaaggagagaatggctctgctggcgaacctggacccaaagggagaacgtggactaagtggacttccaggattcctggttccagc tgggaaagaaggtccctctgggaagcagggggaacatagggacctcaaggcaaaccaggtcctaaaggagaggctgggcccaaaggagaagtaggtgc tcctggcatgcaaggatctacagggggcaaaaggctccacaggcccaaggagaaaagaggtgcccctggtgtgcaaggagccccagggaatgctggga gcagcaggacctgccggacctgccggtccacagggagctccaggttccaggggcccccaggactcaaggggacagaggttcctggagacagag gaatcaaaggtgaaagcgggcttccagacagtgctgctctgaggcagcagatggaggccttaaaggaaaactacagcgtctagaggttgccttctccc actatcagaaagctgcattgttccctgatggccatagaagattggatcgaaggaggaagtaaaccttcatgaagattttgtattcataaaaaagcta aagagatgcaacaaaggagaaggaggatctttatccttgctgaactgtgaggagatgagaaggcaatttgaagaccttgtcaaggatataacgttaaacaaa gaagagaaaaaagaaaacagcttgaaatgcaaagaggtgatgaggatcctcaaattgcagcacacgttgtaagcgaagccaacagtaatgcagcatc cgttctacagtgggccaagaaaggatattataccatgaaaagcaacttggtaatgcttgaaaatgggaaacagctgacggttaaagagaagaggactctat tatgtctacactcaagtcaccttctgctctaatcgggagccttcgagtcaacgcccattcatcgtcggcctctggctgaagcccagcagtggatctgagaaa tcttactcaaggcggcaaatacccacagttcctcccagctttgcgagcagcagtctgttcacttgggcggagtgtttgaattacaagctggtgcttctgtgttt gtcaacgtgactgaagcaagccaagtgatccacagagttggcttctcatcttttggcttactcaaactctgaacgcgtttcctgtgcttctagttgccagccat ctgttgtttgcccctccccgtgccttcctgaccctggaaggtgccactcccactgtccttttctaataaaatgaggaaattgcatcgcattgtctgagtaggt gtcattctatttctgggggggtgggggtgggcaggacagcaagggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatggccc cggg		

【０３８５】

【表５７】

LAMP シグナル配列(残基 1～28)およびルミナルドメイン１	198	MAPRSARRPLLLLLLLLLLGLMHCASAAMFMVKNGNGTACIMANFSAAFSVNYDTKSGPKNMTLDLPSDATVVLNRSSCG KENTSDPSLVIAFGRGHTLTLNFTRNATRYSVQLMSFVYNLSDTHLFPNASSKEIKTVESITDIRADIDKKYRCVSGTQVH MNNVTVTLHDATIQAYLSNSSFSRGETRCEQDLE
LAMP シグナル配列およびルミナルドメイン１	199	atggcgcccccgcagcgccccggcgaccctgctgctactgctgttgctgctcctcggcctcatgcattgtgcgtcagcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgcttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccttgacctgccatc agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaagagaacacttctgaccccagttctcgtgattgctttggaagaggacatacactcactctcaa tttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagtttgtttataacttgtcagacacacacctttcccaatgcgagctccaaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaatacagatgttagtggcacccaggttccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccaggcgtacctttccaacagcagcttcagccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgag
HER2(細胞外ドメイン)タンパク質配列	200	TQVCTGTDMKLRLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIV RGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTL IDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQSLTRTVCAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHS GICELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVCPLHNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARV CYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPDLS VFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGISWLGLRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDE CVGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEA DQCVACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINCTHEF
HER2(細胞外ドメイン)DNA 配列	201	acccaggtgtgcaccggcaccgatatgaaactgcgcctgccggcgagcccggaaacccatctggatatgctgccgccatctgtatcagggctgccaggtgg tgcagggcaacctggaactgacctatctgccgaccaacgcgagcctgagctttctgcaggatattcaggaagtgcagggctatgtgctgattgccgcataac caggtgcgccaggtgccgctgcagcgcctgcgcattgtgcgcggcacccagctgtttgaagataactatgcgctggcggtgctggataacggcgatccgc tgaacaacaccacccccggtgaccggcgcgagcccgggcggcctgcgcgaactgcagctgcgcagcctgaccgaaattctgaaaggcggcgtgctgatt cagcgcaacccgcagctgtgctatcaggatacccattctgtggaaagatattttttcataaaaacaaccaggtgcgctgaccctgatttgatcaccaaccgcag ccgcgctgccatccgtgcagcccgatgtgcaaaggcagccgctgctgggggcgaaagcagccgaagattgccagagcctgacccgcaccgtgtgcgcgg gcggctgcgcgctgcaaaggcccgctgccgaccgattgctgccatgaacagtgcgcggcgggctgcaccggcccgaaacatagcgattgcctggcgt gcctgcatttaaccatagcggcatttgcgaactgcattgcccggcgctggtgacctataacaccgatacctttgaaagcatgcccgaacccggaaggcccgct atacctttggcgcgagctgcgtgaccgcgtgcccgtataactatctgagcaccgatgtgggcagctgcacctggtgtgcccgctgcataaccaggaagtg accgcggaagatggcacccagcgctgcgaaaaatgcagcaaaccgtgcgcgcgcgtgtgctatggcctgggcatggaacatctgcgcgaagtgcgcgc ggtgaccagcgcgaacatttcaggaatttgcgggctgcaaaaaaatttttggcagcctggcgtttctgccggaaagctttgatggcgatccggcgagcaac accgcgccgctgcagccggaacagctgcaggtgtttgaaaccctggaagaaattaccggctatctgtatattagcgcgtggccggatagcctgccggatct gagcgtgtttcagaacctgcaggtgattcgcggccgcattctgcataacggcgcgtatagcctgaccctgcagggcctgggcattagctggctgggcctgc gcagcctgcgcgaactgggcagcggcctggcgctgattcatcataacacccatctgtgcttttgtgcataccgtgccgtgggatcagctgtttcgcaacccgc atcaggcgctgctgcatacccgcgaaccgcccgggaagatgaatgcgtgggcgaaggcctggcgtgccatcagctgtgcgcgcgcggccattgctgggccc cgggcccgacccagtgcgtgaactgcagccagtttctgcgcggccaggaatgccgcgtgctgcagggcctgccgcgcgaatatgtga acgcgcgccattgcctgccgtgccatccggaatgccagccgcagaacggcagcgtgacctgctttggcccggaagcggatcagtgcgtggcgtgcgcgc attataaagatccgccgttttgcgtggcgcgtgcccgagcggcgtgaaaccggatctgagctatatgccgatttggaaatttccggatgaagaaggcgcg tgccagccgtgcccgattaactgcacccatgaatttt

【０３８６】

【表５８】

LAMP タンパク質配列のルミナルドメイン 2	202	TCLLASMGLQLNLTYERKDNTTVTRLLNINPNKTSASGSCGAHLVTLELHSEGTTVLLFQFGMNASSSRFFLQGIQLNTILP DARDPAFKAANGSLRALQATVGNSYKCNAEEHVRVTKAFSVNIFKVWVQAFKVEGGQFGSVEECLLDENSM
LAMP DNA 配列のルミナルドメイン 2	203	acctgcctgctggccagcatgggctgcagctgaacctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctcaacatcaaccccaacaag acctcggccagcgggagctgcggcgcccacctggtgactctggagctgcacagcgaggccaccacgtcctgctcttccagttccgggatgaatgcaagtt ctagccggttttcctacaaggaatccagttgaatacaatttcttcctgacgccagagaccctgccttttaaagctgccaacggctccctgcgagcgctgcaggc cacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagtgtgggtccaggctttcaagg tggaaggtggccagtttggctctgtggaggagtgtctgctggacgagaacagcatg
sCD40L タンパク質配列	204	HRRLDKVEEEVNLHEDFVFIKKLKRCNKGEGSLSLLNCEEMRRQFEDLVKDITLNKEEKKENSFEMQRGDEDPQIAAHVVS EANSNAASVLQWAKKGYYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCSNREPSSQRPFIVGLWLKPSSGSERILLKA ANTHSSSQLCEQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSSFGLLKL
sCD40L DNA 配列	205	catcgccgcctggataaagtggaagaagaagtgaacctgcatgaagatttgtgtttattaaaaactgaaacgctgcaacaaaggcgaaggcagcctg agcctgctgaactgcgaagaaatgccgcccgcagtttgaagatctggtgaaagatattaccctgaacaaagaagaaaaaaagaaaacagctttgaaat gcagcgcggcgatgaagatccgcagattgcggcgcatgtggtgagcgaagcgaacgcaacgcggcgagcgtgctgcagtgggcgaaaaaaggcta ttataccatgaaaagcaacctgtgatgctggaaaacggcaaacagctgaccgtgaaacgcgaagggcctgtattatgtgtatacccaggtgaccttttgca gcaaccgcgaaccgagcagccagcgcccgtttattgtgggcctgtggctgaaaccgagcagcggcagcgaacgcattctgctgaaagcggcgaacacc catagcagcagccagctgtgcgaacagcagagcgtgcatctgggcggcgtgtttgaactgcaggcgggcgcgagcgtgtttgtgaacgtgaccgaagc gagccaggtgattcatcgcgtgggctttagcagctttggcctgctgaaactgtaa
	206	
SPD+mFLT3L タンパク質配列	207	MLPFLSMLVLLVQPLGNLGAEMKSLSQRSVPNTCTLVMCSPTENGLPGRDGRDGREGPRGEKGDPGLPGPMGLSGLQGP TGPVGPKGENGSAGEPGPKGERGLSGPPGLPGIPGPAGKEGPSGKQGNIGPQGKPGPKGEAGPKGEVGAPGMQGSTGAK GSTGPKGERGAPGVQGAPGNAGAAGPAGPAGPQGAPGSRGPPGLKGDRGVPGDRGIKGESGLPDSAALRQQMEALKGK LQRLEVAFSHYQKAALFPDGPCLRGTPDCYFSHSPISSNFKVKFRELTDHLLKDYPVTVAVNLQDEKHCKALWSLFLAQR WIEQLKTVAGSKMQTLLEDVNTEIHFVTSCTFQPLPECLRFVQTNISHLLKDTCTQLLALKPCIGKACQNFSRCLEVQCQP DSSTLLPPRSPIALEATELPEPRPRQ
HER2-LAMP-mFLT3L；HER2(細胞外ドメイン)+LAMP+EF-1α+SPD+mFLT3L；DNA 配列	208	atggcgcccccgcagcgcccggcgaccctgctgctactgctgttgctgctcggcctcatgcattgtgcgtcagcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgccttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccctttgacctgccatc agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaagagaacacttctgaccccagtctccgtgattgctttttggaagaggacatacactcactctcaa tttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagtttgtttataacttgtcagacacacacctttttccccaatgcgagctccaaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaaatacagatgtgttagtggcacccaggttccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccaggcgtacctttccaacagcagcttcagccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgagacaaagtctgcaccggcaccg acatgaagctgagactgcccgccagcccgaaacccatctggacatgctgcggcatctgtaccaaggctgtcaagtggtgcaaggcaattctggaactgac atatctgcctaccaacgccttcttgagctttctgcaagacatccaagaagtgcaaggctacgtcttcattgcccacaacaaccaagtccgacaagtgccactgca gcggctgagaatcgtgcgggcacccagctgttcgaggacaactatgctctggccgtgctggacaacggcgacccctctgaacaacaccacaccagtgac tggcgcctctcccggcgactgagagaactgcagctgcgctctctgaccgagattctgaagggcggcgtgctgatccagcggaaccctcagctgtgctac caagacaccattctgtggaaggacatcttccacaagaacaacgagctggctctgaccctcatcgacaccaacagaagccgggcttgccaccttgcagcc ccatgtgcaagggcagcagatgttgggcgagagcgagactgccagtctctgaccagaaccgtgtgccggcgatgcgccagatgcaagggg

【０３８７】

【表５９】

ccctctgccaaccgattgctgccacgaacagtgcgccgctggctgtaccggccccaagcacagcgattgtctggcttgtctgcacttcaaccactccggcat ctgcgagctgcactgcccagccctcgtgacatacaacaccgacacattcgagagcatgcccaacccccgagggcagatacacattcggcgccagctgtgtg accgcttgcccctacaactatctgagcaccgacgtgggcagctgcaccctcgtgtgccctctgcacaatcaagaagtgaccgccgaggacggcacccaga gatgcgagaagtgctccaagccttgcgcccagagtgtgctacggactgggcatgtgaacatctgcgggaagtgcgggccgtgaccagccgccaatatccaa gaatttgccggctgcaagaagattttcggcagtctggcctttctgcccgagagcttcgatggcgacccgcctctaacacagccccctgcagccagagca gctccaagtgttccgagacactggaagagatcaccggctatctgtacatcagcgcttggcccgactctctgcccgatctgagcgtgttccagaatctgcaagt catcagaggccggattctgcacaacgcgcctattctgacactgcaaggactgggaatcagctggctgggactgcggagtctgagagagctgggcag cggactggcactgatccaccacaacacccatctgtgcttcgtgcacaccgtgccttgggatcagctgttccggaatcccccaccaagctctgctgcacaccgc caacagacccgaggatgagtgtgtgggcgagggggctggcttgccatcagctctgtgccagaggacactgttgggagcccggcctacccagtgcgtgaa ctgctcccagtttctgcgggccaagaatgcgtggaagagtgcagagtgctccaaggactgccccgcgagtacgtgaacgccagacactgtctgccatgc caccccgagtgccagcctcagaatggcagcgtgacatgcttcgggccccgaggccgatcagtgtgtggcttgcgctcactacaaggacctcccctttctgcgt ggcccggtgtctttctggcgtgaaacccgatctgtcctacatgcctatctgaagttcccgacgaggaagggcgcttgttgcagccttgcccccatcaactgcac ccacgaattcacctgcctgctggccagcatgggggctgcagctgaacctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctcaacatcaa ccccaacaagacctcggccagcgggagctgcgcgccacctggtgactctggagctgcacagcgagggccaccaccgtcctgctcttccagttcgggatg aatgcaagttctagccggttttcctacaaggaatccagttgaatacaattcttcctgacgccagagacctgccttttaaagctgccaacggctccctgcgag cgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagtgtgggtcca ggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggagtgtctgctggacgagaacagcatgctgatcccatcgctgtgggtgccctggcg gggctggtcctcatcgtcctcatcgcctacctcgtcggcaggaaggaggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatcttttccctctgcccaaaaat tatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactcggaa ggacataagggcggccgcggtacccgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccagtcccgagaagttgggggggagggggt cggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgaggtggggggagaacc gtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttgccaacgggtttgccgccagaacacagtctagaggatccgccgccaccatggaaaccgatacact gctgctgtgggtgctgttgctctgggttccaggatctacaggcgacatgctgccctttctctccatgcttgtcttgctgtacagcccctgggaaatctgggag cagaaatgaagagcctctcgcagagatcagtacccaacacactgcaccctagtcatgtgtagcccaacagagaatggcctgcctgtcgtgatggacggg atgggagagaaggtccacgggtgagaagggtgatccaggtttgccaggacctatgggctctcagggttgcagggccctacaggtccagttggaccc aaaggagagaatggctctgctggcgaacctggaccaaagggagaacgtggactaagtggacctcccaggacttccaggtattcctggtccagctgggaa agaaggtccctctgggaagcagggggaacataggacctcaaggcaaaccaggtcctaaaggagaggctgggcccaaaggagaagtaggtgctccctggc atgcaaggatctacagggggcaaaaggctccacaggcccaagggagaaagaggtgcccctggtgtgcaaggagcccccagggaatgctggagcagca ggacctgccggacctgccggtccacagggagctccaggttccagggggcccccaggactcaagggggacagaggtgttcctggagacagaggaatca aaggtgaaagcgggcttccagacagtgctgctctgaggcagcagatggaggcctttaaaggaaaactacagcgtctagaggttgccttctcccactatca gaaagctgcattgttcctgatggccctgcctgagagggcaccctgattgctacttctctacagcccatcagcagcaacttcaaagtgaagttcagaga gctgaccgaccatctgctgaaggactaccctgtgaccgtggccgtgaacctgcaggatgagaagcactgcaaagccctgtggtccctgtttctggcccaga gatggatcgagcagctgaaaacagtggccggcagcaagatgcagacctgctggaagatgtgaacaccgagatccacttcgtgaccagctgcaccttcc agcctctgcctgagtgcctgagattcgtgcagaccaacatcagccatctgctcaaagacacatgcacccagctgctggccctgaagccttgtatcggcaaa gcctgccagaacttcagccggtgcctggaagttcagtgccagcctgatagcagcacactgctgcctccaagaagccctatgctctggaagccacagagc tgcctgagcctagacctcggcag		

【０３８８】

【表６０】

mFLT3L；タンパク質配列	209	PCLRGTPDCYFSHSPISSNFKVKFRELTDHLLKDYPVTVAVNLQDEKHCKALWSLFLAQRWIEQLKTVAGSKMQTLLEDV NTEIHFVTSCTFQPLPECLRFVQTNISHLLKDTCTQLLALKPCIGKACQNFSRCLEVQCQPDSSTLLPPRSPIALEATELPEP RPRQ
mFLT3L；DNA 配列	210	ccgtgcctgcgcggcaccccggattgctatttagccatagcccgattagcagcaactttaaagtgaaatttcgcgaactgaccgatcatctgctgaaagatt atccggtgaccgtggcggtgaacctgcaggatgaaaaacattgcaaagcgctgtggagcctgtttctggcgcagcgctggattgaacagctgaaaaccgt ggcgggcagcaaaatgcagaccctgctggaagatgtgaacaccgaaattcatttttgtgaccagctgcacctttcagccgtgccggaatgcctgcgctttg tgcagaccaacattagccatctgctgaaagatacctgcaccagctgctggcgctgaaaccgtgcattggcaaagcgtgccagaacttttagccgctgcctg gaagtgcagtgccagccggatagcagcacccctgctgccgcgcagcccgattgcgctggaagcgaccgaactgccggaaccgcgcccgccgccag
	211	
HER2-LAMP-IL-12； HER2(細胞外ドメイン)+LAMP+EF-1α+IL-12； DNA 配列	212	atggcgcccccgcagcgcccggcgaccctgctgctactgctgttgctgctcggcctcatgcattgtgcgtcagcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgccttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccctttgacctgccatc agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaagagaacacttctgaccccagttcgtgattgcttttgaagaggacatacactcactctcaa tttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagtttgtttataacttgtcagacacacacctttcccaatgcgagctccaaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaaatacagatgtgttagtggcacccaggtccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccaggcgtaccttccaacagcgcttcagccgggagagcacgctgtgaacaagacctcgagacacaagtctgcaccggcaccg acatgaagctgagactgcccgccagcccgaaacccatctggacatgctgcggcatctgtaccaaggctgtcaagtggtgcaaggcaatctggaactgac atatctgcctaccaacgcctcttctgagctttctgcaagacatccaagaagtgcaaggctacgtcctcattgcccacaaccaagtccgacaagtgccactgca gcggctgagaatcgtgcgggcacccagctgttcgaggacaactatgctctggccgtgctgtggacaacggcgacctctgaacaacaccacacgtgac tggcgcctctcccggcggactgagagaactgcagctgcgctctctgaccgagattctgaagggcggcgtgctgatccagcggaaccctcagctgtgctac caagacaccattctgtggaaggacatcttccacaagaacaaccagctggtctgacctcatcgacaccaacagaagccgggcttgccaccttgcagcc ccatgtgcaagggcagcagatgttggggcgagagcagcgaggactgccagtctctgaccagaaccgtgtgccggcggatgcgccagatgcaaggg ccctctgccaaccgattgctgccacgaacagtgcgccgctggctgtaccggcccccaagcacgcgattgtctggcttgtctgcacttcaaccactccggcat ctgcgagctgcactgcccagcctctgtgacatacaacaccgacacattcgagagcatgcccaacccgagggcagatacacattcggcgccagctgtgtg accgcttgcccctacaactatctgagcaccgacgtgggcagctgcaccctcgtgtgccctctgcacaatcaagaagtgaccgcgaggacggcacccaga gatgcgagaagtgctccaagccttgcgccagagtgtgctacggactgggcatggaacatctgcgggaagtgcgggccgtgaccagcgccaatatccaa gaatttgccggctgcaagaagatttttcggcagtctggcctttctgcccgagagcttcgatggcgcaccccgcctctaacacagcccctctgcagccagagca gctccaagtgttcgagacactggaagagatcaccggctatctgtacatcagcgcttggcccgacttctgcccgatctgagcgtgttccagaatctgcaagt catcagaggccggattctgcacaacggcgcctattctctgacactgcaaggactgggaatcagctggctgggactgcggagtctgagagaggctgggcag cggactggcactgatccaccacaacacacccatctgtgcttcgtgcacaccgtgccttgggatcagctgttccggaatcccccaccaagctctgctgcacaccgc caacagacccgaggatgagtgtgtgggcgaggggctggcttgccatcagctctgtgccagaggacacgttggtgggaccccggcctacccagtgcgtgaa ctgctcccagtttctgcgggccaagaatgcgtggaagagtgcagagtgctccaaggactgccccgcgagtacgtgaacgccagacactgtctgccatgc caccccgagtgccagcctcagaatggcagcgtgacatgcttcggccccgaggccgatcagtgtgtggcttgcgctcactacaaggaccctcccttctgcgt ggcccggtgtccttctggcgtgaaacccgatctgtcctacatgcctatctgagaagttcccgacgaggaaggcgcttgtcagccttgcccccatcaactgcac ccacgaattcacctgcctgctggccagcatgggggctgcagctgaacctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaagggcttctcaacatcaa ccccaacaagacctcggccagcgggagctgcggccgcccacctggtgactctggagctgcacagcgagggcaccaccgtcctgctcttccagttcgggatg aatgcaagttctagccggttttcctacaaggaatccagttgaatacaattcttcctgacgccagagaccctgccttttaaagctgccaacggctcccctgcgag

【０３８９】

【表６１】

		cgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagtgtgggtcca ggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggagtgtctgtggacgagaacagcatgctgatccccatcgctgtgggtggtgccctggcg gggctggtcctcatcgtcctcatcgcctacttcgtcggcaggaagaggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatctttttccctctgccaaaaat tatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttttgtgtctctcactcggaa ggacataagggcggccgcggtaccccgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgtgggggaggaggggt cggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgtgggggagaacc gtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacagctctagaggatccgccgccaccatggagaggacctgg tgtgcctggtggtgatcttcctgggcaccgtggcccacaagagcagccctaaggccctgattaggctgctgattaggctgaggcacctgatcgacatcgtg gagcagctgaagatctacgagaacgacctggaccctgagctgctgagcgccctcaagacgtgaagggccactgcgagcacgccgccttcgcctgctttc agaaggccaagctgaagcctagcaaccctggcaacacaacaagacctttcatcatcgacctggtggctcagctgaggaggaggctgcctgctagaggggc ggcaagaagcagaagcacatcgccaagtgccctagctgcgacagctacgagaagaggaccctaaggagttcctggagaggctgaagtggctgctgc agaagatgatccatcagcacctgagctgaac
マウス IL-12(IL-12 p36-P2A-IL-12p40)タンパク質配列	213	MVSVPTASPSASSSSSQCRSSMCQSRYLLFLATLALLNHLSLARVIPVSGPARCLSQSRNLLKTTDDMVKTAREKLKHYSC TAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSLMMTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQ NHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSAAAAGSGA TNFSLLKQAGDVEENPGPGSCPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITW TSDQRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLHKKENGIWSTEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSW LVQRNMDLKFNIKSSSSSPDSRAVTCGMASLSAEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYS TSFFIRDIIKPDPPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKGAFLVEKTSTEV QCKGGNVCVQAQDRYYNSSCSKWACVPCRVRS
マウス IL-12(IL-12 p36-P2A-IL-12p40)DNA 配列	214	atggtcagcgttccaacagctcctcacctcggcatccagcagctcctctcagtgccggtccagcatgtgtcaatcacgctacctcctctttttggccaccctttgcc ctcctaaaccacctcagtttggccagggtcattccagtcttggacctgccaggtgtcttagccagtcccgaaacctgctgaagaccacagatgacatggtg aagacggccagagaaaaactgaaacatttatttcctgcactgctgaagacatcgatcatgaagacatccacacgggaccaaaccagcacattgaagacctgt ttaccactggaactacacaagaacgagagttgcctggctactagagagacttcttccacaacaagagggagctgcctgccccacagaagacgtctttgat gatgaccctgtgccttggtagcatctatgaggacttgaagatgtaccagacagagttccaggccatcaacgcagcacttcagaatcacaaccatcagcag atcattcttgacaagggcatgctggtggccatcgatgagctgatgcagtctctgaatcataatggcgaagactctgcgccagaaacctcctgtgggagaagc agacccttacagagtgaaaatgaagctctgcatcctgcttcacgccttcagcacccgcgtcgtgaccatcaacagggtgatgggctatctgagctccgccg cggccgcaggatctgggccaccaacttttcattgctcaagcaggcgggcgatgtgaggaaaaccctggccccggatcctgtcctcagaagctaaccat ctcctggtttgccatcgtttgctggtgtctccactatggccatgtgggagctggagaaagacgtttatgttgtagaggtggactggactcccgatgcccctg gagaaacagtgaacctcacctgtgacacgcctgaagaagatgacatcacctggacctcagaccagagacatggagtcataggctctggaaagaccctg accatcactgtcaaagagtttcttgatgctggccagtacacctgccacaaaggaggcgagactctgagccactcacatctgctgctccacaagaaggaaa atggaatttggtccactgaaatttaaagaatttcaagaacaagacttcctgaagtgtgaagcaccaaattactccggacgggttcacgtgctcatggctggt gcaaagaaacatggacttgaagttcaacatcaagagcagtagcagttcccctgactctcggcagtgacatggaatggcgtctctgtctgcagagaag gtcacactggacccaaagggactatgagaagtattcagtgtctgccaggaggatgtcacctgcccaactgccgaggagaccctgcccattgaactggcgt tggaagcacggcagcagaataaatatgagaactacagcaccagcttctttcatcagggacatcatcaaaccgacccgcccaagaacttgcagatgaagc ctttgaagaactcacaggtggaggtcagctgggagtaccctgactcctggagcactccccattcctacttctcctcaagtttcttgttcgaatccagcgcaag

【０３９０】

【表６２】

		aaagaaaagatgaaggagacagaggagggggtgtaaccagaaaaggtgcgttcctcgtagagaagacatctaccgaagtccaatgcaaaggcgggaat gtctgcgtgcaagctcaggatcgctattacaattcctcatgcagcaagtgggcatgtgttccctgcagggtccgatccctag
	215	
HER2-LAMP-IL-21；HER2(細胞外ドメイン)+LAMP+EF-1α+IL-21；DNA 配列	216	atggcgcccccgcagcgcccggcgacccctgctgctactgctgttgctgctcctgcattgtgcgtcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgcttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccttgacctgccatc agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaaggagaacacttctgacccagtctcgtgattgcttttggaagaggacatacactactctcaa ttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagtttgtttataacttgtcagacacacactttcccaatgcgagctccaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaaatacagatgtgttagtggcacccaggtccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccagcgctaccttccaacagcagcttcagccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgagacacaagtctgcaccggcaccg acatgaagctgagactgcccgccagcccgaaacccatctggacatgctgcggcatctgtaccaaggctgtcaaggcaatctggaactgac atatctgcctaccaacgcctctctgagctttctgcaagacatccaagaagtgcaaggctacgttcctcattgcccacaacccaagtccgacaagtgccactgca gcggctgagaatcgtgcgggcacccagctgttcgaggacaactatgctctggccgtgctggacaacggcgaccctctgaacaacaccacccagtgac tggcgctctcccggcggactgagagaactgcagctgcgctctctgaccgagattctgaaggcggcgtgctgatccagcggaaccctcagctgtgctac caagacaccattctgtggaaggacatcttccacaagaacaaccagctggctctgaccctcatcgacaccaacagaagccgggcttgccaccctgcagcc ccatgtgcaaggcagcagatgttgggggcgagagcagcgaggactgccagtctctgaccagaaccgtgtgtgccggcggatgccagatgcaaggg ccctctgccaaccgattgctgccacgaacagtgccgctggctgtaccggcccccaagcacagcgattgtctggcttgtctgcacttcaaccactccggcat ctgcgagctgcactgcccagccctcgtgacatacaacaccgacacattcgagagcatgcccaacccgagggcagatacacattcggcgccagctgtgtg accgcttgccctacaactatctgagcaccgacgtgggcagctgcaccctcgtgtgccctctgcacaatcaagaagtgaccgccgaggacggcacccaga gatgcgagaagtgctccaagcctgccgccagagtgtgctacggactgggcatggaacatctgcgggaagtgcgggccgtgaccagcgccaatatccaa gaatttgccggctgcaagaagatttttcggcagtctggccttctgcccgagagcttcgatggcgacccccgctctaacacagcccctctgcagccagagca gctccaagtgttcgagacactggaagagatcaccggctatctgtacatcagcgcttggcccgactctgcccgatctgagcgtgttccagaatctgcaagt catcagaggccggattctgcacaaccggcgcctattctctgacactgcaagactgggaatcagctggctgggactctgcggagtctgagaagagctgggcag cggactggcactgatccaccacaacacccatctgtgcttcgtgcacaccgtgccttgggatcagctgttccggaatcccccaccaagctctgctgcacaccgc caacagacccgaggatgagtgtgtgggcgagggctggcttgccatcagctctgtgccagaggacactgttgggggacccggccctacccagtgcgtgaa ctgctcccagtttctgcggggccaagaatgcgtggaagagtgcagagtgctccaaggactgccccgcgagtacgtgaacgccagacactgtctgccatgc cacccccgagtgccagcctcagaatggcagcgtgacatgcttcggccccgaggccgatcagtgtggcttgcgctcactacaaggacctccctcttctgcgt ggcccggtgtccttctggcgtgaaacccgatctgtcctacatgcctatctggaagttcccccgacgaggaaggcgcttgtcagccttgccccatcaactgcac ccacgaattcacctgcctgctggccagcatggggctgcagctgaacctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctcaacatcaa ccccaacaagacctcggccagcgggagctgcggcgcccacctggtgactctggagctgcacagcgagggcaccacccgtcctgctcttccagttccgggatg aatgcaagttctagccggttttctcacaaggaatccagttgaatacaattcttcctgacgccagagaccctgctttaaagctgccaacggctccctgcgag cgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagtgtggtcca ggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggagtgtctgctggacgagaacagcatgctgatcccccatcgtgtggtggtgccctggcg gggctggtcctcatcgtcctcatcgctacctgcgtgcaggaagaggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatcttttcctctgccaaaaat tatgggacatcatgaagccctttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttatttttcattgcaatagtgtgttggaatttttttgtctctcactcggaa ggacataagggcggccgcggtaccctgaggctcccgtgtgcccgtcagtgggcagagccgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggggt cggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcgggtaaactgggaaagtgatgtcgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaaccc

【０３９１】

【表６３】

		gtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttgcaacgggtttgccgccagaacacagtctagaggatccgccgccaccatggaggaggaccctgg tgtgcctggtggtgatcttcctgggcaccgtggcccacacaagagcagccctcaaggccctgataggctgctgattaggctgaggcacctgatcgacatcgtg gagcagctgaagatctacgagaagaacgacctggaccctgagctgctgagcgccctcaagacgtgaagggccactgcgagcacgccgccttcgcctgctttc agaaggccaagctgaagcctacgccaccctggcaacacaacaagaccttcatcatcgacctggtggctcagctgaggaggaagctgcctgctaggagggcc ggcaagaagcagaagcacatcgccaagtgccctagctgcgacagctacgagaagaggaccccttaaggagttcctggagaggctgaagtggctgctgc agaaagatgatccatcagcacctgaggctgaac
例示的なマウス IL-21 タンパク質配列	217	MERTLVCLVVIFLGTVAHKSSPQGPDRLLIRLRHLIDIVEQLKIYENDLDPELLSAPQDVKGHCEHAAFACFQKAKLKPSNP GNNKTFIIDLVAQLRRRLPARRGGKKQKHIAKCPSCDSYEKRTPKEFLERLKWLLQKMIHQHLS
例示的なマウス IL-21 DNA 配列	218	atggagaggacccttggtgtggtgctcctgggcaccgtggcccacaagagcagcccctcaaggccctgataggctgctgattaggctgaggc acctgatcgacatcgtggagcagctgaagatctacgagaacgacctggaccctgagctgctgagcgccctcaagacgtgaagggccactgcgagcac gccgccttcgcctgctttcagaaggccaagctgaagcctacgccaccctggcaacaacaagaccttcatcatcgacctggtggctcagctgaggaggaggc tgcctgctaggagggcggcaagaagcagaagcacatcgccaagtgccctagctgcgacagctacgagaagaggaccccttaaggagttcctggagag gctgaagtggctgctgcagaagatgatccatcagcacctgaggctga
CD80(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)タンパク質配列	219	VDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIYWQKHDKVVLSVIAGKLKVWPEYKNRTLYDNTTYSLIILGLVLSDRGTYS CVVQKKERGTYEVKHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFPKPRFSWLENGRELPGINTTISQDPESEL YTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPPDSKNDIGGGGSGGGGSGGGGSPRGPTIKPCPPCKCPAPNLEGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKA FACAVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
CD80(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)DNA 配列	220	gtggacgagcagctgagcaagagcgtgaaggacaaggtgctgctgcttgtaggtacaacagccctcacgaggacgagagcgaggataggatctact ggcagaagcacgacaaggtagtgctgagtgtgataggccggcaagctgaaggtgtggcctgagtacaagaataggaccctgtacgacaacaccacctac agcctgatcatcctgggcctggtgctgagcgatagggggtacctacagctgcgtggtgcagaagaaggagaggggcacctacgaggtgaagcacctggc cctggtgaagctgagcatcaaggccgacttcagcaccctaacatcaccgagagcggcaaccctagcgccgacaccaagaggatcacctgcttcgctag cggcggcttccctaagcctaggttcagctggctggaagaacggaagggagctgcctggcataaacacgaccatatctcaagaccctgagagcgagctgta caccatcagctctcagctggacttcaacaccacccgcaatcacaccatcaagtgcctgatcaagtacggcgacgcccacgtgagcgaggacttcacctgg gagaagcctcctgagggaccctcctgacagcaagaacgatatcggaggcggaggaagcggaggcggaggaagccccagagggcccacaatcaagcccc tgtcctccatgcaaatgcccagcacctaacctcgagggtggaccatccgtcttcatcttccctccaaagatcaaggatgtactcatgatctccctgagccccat agtcacatgtggtggtggatgtgagcgaggatgacccagatgtccagatcagctggtttgtgaacaacgtggaagtacacacagctcagacacaaac ccatagaggaggattacaacagtactctccgggtggtcagtgccctcccatccagcaccaggactggatgagtggcaaggcgttcgcatgcgcggtcaac aacaaagacctccccagcgcccatcgagagaaccatctcaaaacccaaagggtcagtaagagctccacaggtatatgtcttgcctccaccagaagaggag atgactaagaaacaggtcactctgacctgcatggtcacagacttcatgcctgaagacatttacgtggagtggaccaacaacgggaaaacagagctaaact acaagaacactgaaccagtcctggactctgatggttcttacttccatgtacagcaagctgagagtggaaaagaagaactgggtggaaagaaatagctactc ctgttcagtggtccacgagggtcacaatcaccacgactaagagcttctcccgggactccgggtaaa
NY-ESO1-LAMP タンパク質配列	221	MAPRSARRPLLLLLLLLLLGLMHCASAAMFMVKNGNGTACIMANFSAAFSVNYDTKSGPKNMTLDLPSDATVVLNRSSCG KENTSDPSLVIAFGRGHTLTLNFTRNATRYSVQLMSFVYNLSDTHLFPNASSKEIKTVESITDIRADIDKKYRCVSGTQVH MNNVTVTLHDATIQAYLSNSSFSRGETRCEQDLEMQAEGRGTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRG

【０３９２】

【表６４】

		PRGAGAARASGPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPLPVPGVLLK EFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQQRRTCLLASMGLQLNLTYERKDNTTVTRLLNINPNKTSASGSCGAHLVTLE LHSEGTTVLLFQFGMNASSSRFFLQGIQLNTILPDARDPAFKAANGSLRALQATVGNSYKCNAEEHVRVTKAFSVNIFKVW VQAFKVEGGQFGSVEECLLDENSM
NY-ESO1-LAMP-IL-15；NY-ESO1+LAMP+EF-1α+Ig-カッパ+IL-15；DNA配列	222	atggcgccccgcagcgcccggcgaccctgctgctactgctgttgctgctcggcctcatgcattgtgcgtcagcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgcttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccttgaccttgccatc agatgccacagttggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaaggagaacacttctgaccccagttctcgtgattgctttggaagaggacatacactcactctcaa ttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagtttgtttataacttgtcagacacacacctttcccaatgcgagctccaaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaatacagatgtgttagtggcacccaggttccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccaggcgtacctttccaacagcagcttcagccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgagatgcaagcccgaaggcagagga accggtggatctactgggagtgctgatggtcccggtggaccccggcggaaatgctggcggtcccggcgaagctggtgctactg gtggaagaggaccaagaggcgctggtgccctagagcttctggcccggtggcggagcccctagaggaccacatggcggagctgcatcttggactgaat ggctgctgtagatgcggcgccagaggaccagaaagccggctgcttgagttctatctggccatgccttttcgccacaccaatggaagccgagctggctagac gcagtctggcccaagatgctcctccacttccagttccgggcgtgctgctgaaagagtttaccgtcagcggcaacattctgaccatccggctgacagccgccg accatagacagctgcaactgagcatctccagctgcctccagcagcagagaagagaattcacctgctgctggccagcatgggctgcagctgaacctcac ctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctcaacatcaacccaacaagacctcggccagcgcgggagctgcggcgcccacctggtgactc tggagctgcacagcgagggcaccaccgtcctgctcttccagttcgggatgaatgcaagttctagccggttttttcctacaaggaatccagttgaatacaattct tcctgacgccagagaccctgcctttaaagctgccaacggctcctgcgagcgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcac gtccgtgtcacgaaggcgtttttcagtcaatatattcaaagtgtgggtccaggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctgtgtggaggagtgtctgctg gacgagaacagcatgctgatcccccatcgctgtggtggtgccctggcggggctggtcctcatcgtcctcatcgctacctgcggcaggaagaggagtc acgcaggctaccagactatctagtaaagatcttttcccctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaggga aatttatttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactcggaaggacataagggcggccgcggtaccgtgaggctccggtgcccgtcagtgg gcagagcgcacatcgcccacagtcccgagaagttggggggagggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaa agtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgaggtgtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttgcaacgggtttgccg ccagaacacagttctagaggatccgccgccaccatggaaaccgatacactgctgtgggtgctgttgctctggttccaggatctacaggcgacaactg gatcgacgtccgctacgacctggaaaagatcgagagcctgatccagacgcatccacatcgacaccacactgtacaccgacagcgactttcacccccagctgc aaagtgaccgccatgaactgctttctgctggaactgcaagtgatcctgcacgagtacagcaacatgaccctgaacgagacagtgcggaacgtgctgtacc tggccaatagcaccctgagcagcaacaagaacgtggccgagagcggctgcaaagagtgcgaggaactggaagagaaaacctttcaccgagtttctgca gagcttcatccggatcgtgcagatgttcatcaacaccagc
NY-ESO1 タンパク質配列	223	MQAEGRGTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRGPRGAGAARASGPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCR CGARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPLPVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQQRR
NY-ESO1(-tm)DNA 配列	224	atgcaagccgaaggcagaggaaccggtggatctactgggagatgctgatggtccccggtggaccccggtattccagatggaccccggcgaaatgctggcgg tcccggcgaagctggtgctactggtggaagaggaccaagaggcgctggtgccgctagagcttctggccccggtggcggagccccctagaggaccacatg gcggagctgcatcttggactgaatggctgctgtagatgcggcgccagaggaccagaaagccggctgcttgagttctatctggccatgccttttcgccacacca atggaagccgagctggctagacgcagtctggcccaagatgctctccacttccagttccgggcgtgctgctgaaagagtttaccgtcagcggcaacattct gaccatccggctgacagccgccggaccatagacagctgcaactgagcatctccagctgcctccagcagcagagaaga

【０３９３】

【表６５】

Ig-カッパおよび IL-15 タンパク質配列	225	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDNWIDVRYDLEKIESLIQSIHIDTTLYTDSDFHPSCKVTAMNCFLLELQVILHEYSNMTLN ETVRNVLYLANSTLSSNKNVAESGCKECEELEEKTFTEFLQSFIRIVQMFINTS
Ig-カッパおよび IL-15 DNA 配列	226	
ITI-COVID-19 バイシストロニックワクチン(ITI-バイシストロニック-S1-LAMP-RBG pA-EF2-S2P BHG pA；第１世代 COVID-19 ワクチン)；タンパク質配列	227	図 28C 参照
ITI-COVID-19 バイシストロニックワクチン(ITI-バイシストロニック-S1-LAMP-RBG pA-EF2-S2P BHG pA；第１世代 COVID-19 ワクチン)；DNA 配列	228	図 28C 参照
スパイク-LAMP-sCD40L に使用されるスパイク-LAMP ポリペプチド配列；SARS-CoV-2 B.1.351 スパイク(南アフリカ変種、SP および TM なし)+LAMP+EF-1α+SPD+sCD40L	229	MAPRSARRPLLLLLLLLLLGLMHCASAAMFMVKNGNGTACIMANFSAAFSVNYDTKSGPKNMTLDLPSDATVVLNRSSCG KENTSDPSLVIAFGRGHTLTLNFTRNATRYSVQLMSFVYNLSDTHLFPNASSKEIKTVESITDIRADIDKKYRCVSGTQVH MNNVTVTLHDATIQAYLSNSSFSRGETRCEQDLEVNFTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV TWFHAIHVSGTNGTKRFANPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGV YYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRGLPQGFSALE PLVDLPIGINITRFQTLHISYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDL CFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTE IYQAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVL TESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTW RVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLGVENSVAYSNNSIAIP TNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDF GGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAG TITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALN TLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDF CGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFV SGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELG KYEQYIKWPWYCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYTTCLLASMGLQLNLTYERKDNTTVTRLLNINP NKTSASGSCGAHLVTLELHSEGTTVLLFQFGMNASSSRFFLQGIQLNTILPDARDPAFKAANGSLRALQATVGNSYKCNAE EHVRVTKAFSVNIFKVWVQAFKVEGGQFGSVEECLLDENSM
スパイク-LAMP-sCD40L；SARS-CoV-2 B.1.351 スパイ	230	atggcgccccgcagccgcccggcgaccctgctgctactgctgttgctgctcctgccctcatgcattgtgcgtcagcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgccttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccctgaccatc

【０３９４】

【表６６】

7(南アフリカ変種、SP および TM なし)+LAMP+EF-1α +SPD+sCD40L；DNA 配列	agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaagagaacacttctgaccccagtctcgtgattgctttggaagaggacatacactcactcttcaa tttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagttttgtttataacttgtcagacacacacctttttccccaatgcgagctccaaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaatacagatgtgttagtggcacccaggttccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccaggcgtacctttccaacagcagcttcagccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgaggtcaacttcaccacgagaacaca gctgcctccagcctacacaacagcttcaccagaggcgtgtactacccgcagaaggttcagatccagcgtgctgcactctacccaggacctgttcctgcc ttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatcccacgtgtccggcaccaatggcaccaagagattcgccaatcctgtgctgccttcaacgacgggggtgta ctttgccagcaccgagaagtccaacatcatcagaggctggatcttcggcaccacactggacagcaagacccagagcctgctgatcgtgaacaacgccacc aacgtggtcatcaaagtgtgcgagttccagttctgcaaccgacccctttcctgggcgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaaagcgagttcc gggtgtacagcagcgccaacaactgcaccttcgagtacgtgtccccagctttcctgatggacctgggaaggcaagcagggcaacttcaagaacctgcgcga gttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcacaccctatcaacctcgtgcgggactgcctcagggcttttctgctctggaaccc ctggtggatctgcccatcggcatcaacatcacccggtttcagacctgcatcagctacctgacctggcgatagcagctctggatggacagctggcgc cgctgcctactatgtgggatacctgcagcctcggacctttcctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggattgtgctctggatcctct gagcgagacaaagtgcaccctgaagtccttcaccgtggaaaagggcatctaccagaccagcaacttccgggtgcagcccaccgaatccatcgtgcggttc cccaatatcaccaatctgtgcccttcggcgaggtgttcaatgccaccagattccgcctctgtgtacgccttggaaccggaagcggatcagcaattgcgtggcc gactactccgtgctgtacaactccgccagcttcagcaccttcaagtgctacggcgtgtccctaccaagctgaacgacctgtgcttcacaaacgtgtacgcc gacagcttcgtgatccggggagatgaagtgcggcagattgcccctggacagaccggcaatatcgccgactacaactacaagctgcccgacgacttcacc ggctgtgtgattgcctggaacagcaacaacctggactccaaagtcggcggcaactacaattacctgtaccggctgttccggaagtccaatctgaagccctt cgagcgggacatcagcaccgaaatctatcaggccggcagcaccctttgcaatggcgtgaagggctttaactgctactttcccactgcagctcctacggcttcc agccaacatacggcgtgggctaccagcctacagagtggtggtgctgagcttcgagctgctgcatgctcctgccacagtgtgcggccctaagaaaagcac caatctcgtgaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggcaccggcgtgctgacagaggagcaacaagaagttcctgccattccagcag ttcggccgggacattgccgataccacagatgctgtcagagatccccagacactggaaatcctggacatcacccatgcagcttcggcggagtgtctgtgat caccctggcaccaacaccagcaatcaggtggcagtgctgtaccagggcgtgaactgtacagaggtgccagtggccattcacgccgatcagctgacccct acttggcgggtgtactccacaggcagcaatgtgttccagaccagagccggctgtctgatcggagccgagcacgtgaacaatagctacgagtgcgacatcc ccatcggcgctggcatctgtgccagctatcagacccagacaaacagccccagacgggctagaagtgtggccagcccagagcatcattgcctacacaatgtc tctgggcgtcgagaacagcgtggcctactccaacaactctatcgctatcccccaccaatttcaccatcagcgtgaccaccgagatcctgccctgtgtccatgacc aagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgcggcgattccacccgagtgctccaacctgctgctgcagtacggcagcttctgcacccagctgaatagagc cctgacagggatcgccgtggaacaggacaagaacacccaagaggtgttcgcccaagtgaagcaaatctacaagaccccctcctatcaaggacttcggcg gcttcaatttcagccagattctgcccgatcctagcaagcccagcaagcggagcttcatcgaggacctgctgttcaacaaagtgacactggccgacgccggc ttcatcaagcagtatggcgattgtctgggcgacattgcagcccgggatctgatttgcgcccagaagtttaacggactgaccgtgctgcctcctctgctgacc gatgagatgatcgcccagtacacatctgccctgctggccggcacaatcacaagcggctggacatttggagctggcgctgccctgcagatcccctttgctatg cagatggcctaccggttcaacggcatcggagtgacccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttcaacagcgccatcggcaag atccaggacagcctgagcagcacagccagcgctctgggaaagctgcaggacgttggtcaaccagaatgcccaggcactgaacaccctggtcaagcagct gtcttagcaacttcggcgccatcagctctgtgctgaacgatatcctgagcagactgggacaaggtggaagccgaggtgcagatcgacaagactgatcaccgg aaggctgcagtccctgcagacctacgttacccagcagctgatcgagcgccgagattagagcctctgccaatctggcccgccaccaagatgttgagtgtg tgctgggccagagcaagagagtggactttttgcggcaagggctaccacctgatgagcttccctcagtctgcaccacacggcgtggtgtttctgcacgtgaca tacgtgcccgtcaagagaagaacttcacaacagcccctgccatctgccacgacggcaaagcccacttccctagagaagggcgtgttcgtgtccaacggca	

【０３９５】

【表６７】

		cccattggttcgtgacccagcggaacttctacgagccccagatcatcaccaccgacaacaccttcgtgtctggcaactgcgacgtcgtgatcggcattgtga
		acaataccgtgtacgacctctcgagccccgagctggacagcttcaaagaggaactggataagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctgg
		gcgatatcagcggaatcaatgccagcgtcgtgaacatccagaaagagatcgaccggctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctgatcgac
		ctgcaagaactggggaagtacgagcagtacatcaagtggccttggtactgcatgaccagctgctgtagctgcctgaagggctgttgcagctgtggctcctg
		ctgcaagttcgacgaggacgatttgagcccgtgctgaaaggcgtgaagctgcactacacagaatttcacctgcctgctggccagcatgggctgcagctg
		aacctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctaacatcaaccccaacaagacctcggccagcgggagctgcggcgcccacct
		ggtgactctggagctgcacagcgagggcaccaccgtcctgctcttccagttcgggatgaatgcaagttctagccggttttcctacaaggaatccagttgaa
		tacaattcttcctgacgcccagagaccctgcctttaaagctgccaacggctccctgcgagcgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcgg
		aggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagtgtgggtccaggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggag
		tgtctgctggacgagaacagcatgctgatccccatcgctgtgggtggtgccctggcgggctggtcctcatcgtcctcatcgtcctacctgtcgacaggaag
		aggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatcttttcctctgccaaaaattatgggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaa
		taaaggaaatttatttttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactcggaaggacataagggcggccgcggtaccccgtgaggctccggtgccc
		gtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtcccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaa
		ctgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgg
		gtttgccgccagaacacagtctagaggatccgccgccaccatgctgccctttctctccatgcttgtcttgctgtacagccctgggaaatctgggagcagaa
		atgaagagcctctcgcagagatcagtacccaacacctgcacctagtcatgtgtagcccaacagagaatggcctgcctggtcgtgatggacgggatggg
		agagaaggtccacgggtgagaagggtgatccaggtttgccaggacctatgggctctcaggtttgcagggccctacaggtccagttggacccaaagg
		agagaatggctctgctggcgaacctggcgaccaaagggagaacgtggactaagtggacctccaggacttccaggtattctggtccagctgggaaagaag
		gtcccctctgggaagcagggggaacataggacctcaaggcaaacccaggtcctaaaggagaggctgggcccaaaggagaagtaggtgctcctggcatgca
		aggatctacagggcaaaaggctccacaggcccaagggagaaaagaggtgcccctggttgtgcaaggagcccagggaatgctggagcagcaggacc
		tgccggacctgccggtccacagggagctccaggttccagggggcccccaggactcaagggggacagaggttgttcctggagacagaggaatcaaaggt
		gaaagcgggcttccagacagtgctgctctgaggcagcagatggaggccttaaaggaaaactacagcgtctagaggttgccttctcccactatcagaaa
		gctgcattgttccctgatggccatagaagattggatcaaggtcgaagaggaagtaaccttcatgaagattttgtattcataaaaaagctaaagagatgcaa
		caaaggagaaggatctttatccttgctgaactgtgaggagatgagaagggcaatttgaagacctttgtcaaggatataacgttaaacaaagaagagaaaaa
		agaaaacagctttgaaatgcaaagaggtgatgaggatcctcaaattgcagcacacgttgtaagcgaagccaacacagtaatgcagcatccgttctacagtg
		ggccaagaaaggatattatacccatgaaaagcaacttggtaatgcttgaaaatgggaaacagctgacggttaaaagagaaggactctattatgtctacact
		caagtcaccttctgctctaatcgggagccttcgagtcaacgcccattcatcgtcgcctctggctgaagcccagcagtggatctgagagaatcttactcaag
		gcggcaaatacccacagttcctcccagctttgcgagcagcagtctgttcacttgggcggagtgtttgaattacaagctggtgctcttgtgtttgtcaacgtgac
		tgaagcaagccaagtgatccacagagttggcttctcatcttttggcttactcaaactc
SARS-COV-2 B.1.351 SPIKE(南アフリカ変異体(SP および TM を含まない)；タンパク質配列	231	VNFTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFANPVLPFNDGVYFASTE KSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRGLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLHISYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATR FASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGNIADYNYKLPD DFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQP YRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITP

【０３９６】

【表６８】

		CSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAG ICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLGVENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSN LLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNV LYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLI TGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTT APAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKN HTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDE DDSEPVLKGVKLHYT
SARS-COV-2 B.1.351 SPIKE(南アフリカ変異体(SPおよびTMを含まない)；DNA配列	232	gtgaactttaccacccgcacccagctgccgccggcgtataccaacagctttacccgcggcgtgtattatccggataaagtgtttcgcagcagcgtgctgcat agcacccaggatctgtttctgccgttttttagcaacgtgacctggtttcatgcgattcatgtgagcggcaccaacggcaccaaacgctttgcgaacccggtgc tgccgtttaacgatggcgtgtatttgcgagcaccgaaaaaagcaacattattcgcggctggatttttggcaccacccctggatagcaaaacccagagcctgc tgattgtgaacaacgcgaccaacgtggtgattaaagtgtgcgaatttcagtttgcaacgatccgtttctgggcgtgtattatcataaaaacaacaaaagct ggatggaaagcgaatttcgcgtgtatagcagcgccgaacaactgcaccttgaatatgtgagcccagccgtttctgatggatctggaaggcaaacagggcaa ctttaaaaacctgcgcgaatttgtgtttaaaaacattgatggctatttaaaatttatagcaaacatacccgattaacctggtgcgcggcctgcccgcagggc tttagcgcgctggaaccgctggtggatctgccgattggcattaacattaccgctttcagaccctgcatattagctatctgaccccgggcgatagcagcagc ggctggaccgcgggcgcggcgcggcgtattatgtgggctatctgcagccgcgcaccttttctgctgaaatataacgaaaacggcaccattaccgatgcggtgg attgcgcgctggatccgctgagcgaaaccaaatgcaccctgaaaagctttaccgtggaaaaaggcatttatcagaccagcaactttcgcgtgcagccgac cgaaagcattgtgcgctttccgaacattaccaacctgtgcccgtttggcgaagtgtttaacgcgaccgctttgcgagcgtgtatgcgtggaaccgcaaacg cattagcaactgcgtggcggattatagcgtgctgtataacagcgcgagctttagcacctttaaatgctatggcgtgagcccgaccaaactgaacgatcttgtg ctttaccaacgtgtatgcggataggctttgtgattcgcggcgatgaagtgcgcccagattgcgccgggccagaccgcaacattgcgattatataactaaact gccggatgatttaccggctgcgtgattgcgtggaacagcaacaacctggatagcaaagtgggcggcaactatactatctgtatcgcctgtttcgcaaaa gcaacctgaaaccgtttgaacgcgatattagcaccgaaatttatcaggcgggcagcaccccgtgcaacggcgtgaaaggcttaactgctatttccgctgc agagctatggctttcagccgacctatggcgtgggctatcagccgtatcgcgtggtggtgctgagctttgaactgctgcatgcgccggcgaccgtgtgcggc ccgaaaaaagcaccaacctggtgaaaacaaatgcgtgaactttaacttttaacggcctgaccggcaccggcgtgctgaccgaaagcaacaaaaaatttt ctgccgtttcagcagtttggccgcgatattgccggatataccaccgatgcggtgcgcgatccgcagaccctgaaattctggatattaccccgtgcagctttggc ggcgtgagcgtgattaccccgggcaccaacaccagcaaccaggtggcggtgctgtatcagggcgtgaactgcaccgaagtgccggtggcgattcatgcg gatcagctgacccgacctggcgcgtgtatagcaccggcagcaacgtgtttcagacccgcgcgggctgcctgattggcgcggaacatgtgaacaacagct atgaatgcgatattccgattggcgcgggcatttgcgcgagctatcagaccagaccaacagcccgccgcgcgcgcagcgtggcgagccagagcatta ttgcgtataccatgagcctgggcgtggaaaacagcgtggcgtatagcaacaacagcattgcgattccgaccaactttaccattagcgtgaccaccgaaatt ctgccggtgagcatgaccaaaaccagcgtggattgcaccatgtatatttgcggcgatagcaccgaatgcagcaacctgctgcagtatggcagcttttg cacccagctgaaccgcgctgaccggcattgcggtggaacagatcccaggaagtgtttgcgcaggtgaaacagatttataaaaccccgcc gattaaagatttttggcggcttaactttagccagattctgccggatccgagcaaaccgagcaaacgcagctttattgaagatctgctgtttaacaaagtgacc ctggcggatgcgggcttttataaacagtatggcgattgcctgggcgatattggcgcgcgcatcgatttgcgcgcagaaatttaacggcctgaccgtgctg ccgccgctgctgaccgatgaaatgattgcgcagtataccagcgcgctggcgggcaccattaccagcggtggacctttggcgcgggcgcgcgctgc agattccgtttgcgatgcagatggcgtatcgctttaacggcattggcgtgacccagaacgtgctgtatgaaaaccagaaactgattgcgaaccagtttaac

【０３９７】

【表６９】

		agcgcgattggcaaaattcaggatagcctgagcagcaccgcgagcgcgctgggcaaactgcaggatgtggtgaaccagaacgcgcaggcgctgaaca ccctggtgaaacagctgagcagcaactttggcgcgattagcagcgtgctgaacgatattctgagccgcctggataaagtggaagcggaagtgcagattg atcgcctgattaccggccgcctgcagagcctgcagacctatgtgacccagcagctgattcgcgcggcggaaattcgcgcgagcgcgaacctggcggcga ccaaaatgagcgaatgcgtgctgggccagagcaaacgcgtggatttttgcggcaaaggctatcatctgatgagctttccgcagagcgcgccgcatggcgt ggtgtttctgcatgtgacctatgtgccggcgcaggaaaaaactttaccaccgccggcgatttgccatgatggcaaagcgcatttccgcgcgaaggcg tgtttgtgagcaacggcacccattggtttgtgacccagcgcaacttttatgaaccgcagattattaccaccgatacctttgtgagcggcaactgcgatgt ggtgattggcattgtgaacaacaccgtgtatgatccgctgcagccggaactggatagctttaaagaagaactggataaatatttaaaaccatcaccagcc cggatgtggatctgggcgatattagcggcattaacgcgagcgtggtgaacattcagaaagaaattgatcgcctgaacgaagtggcgaaaaacctgaacg aaagcctgattgatctgcaggaactgggcgaaatatgaacagtatattaaatggccgtggtattgcatgaccagctgctgcagctgcctgaaaggctgctgc agctgcggcagctgctgcaaatttgatgaagatgatagcgaaccggtgctgaaaggcgtgaaactgcattatacc
SPD-xCD40L タンパク質配列	233	MLPFLSMLVLLVQPLGNLGAEMKSLSQRSVPNTCTLVMCSPTENGLPGRDGRDGREGPRGEKGDPGLPGPMGLSGLQGP TGPVGPKGENGSAGEPGPKGERGLSGPPGLPGIPGPAGKEGPSGKQGNIGPQGKPGPKGEAGPKGEVGAPGMQGSTGAK GSTGPKGERGAPGVQGAPGNAGAAGPAGPAGPQGAPGSRGPPGLKGDRGVPGDRGIKGESGLPDSAALRQQMEALKGK LQRLEVAFSHYQKAALFPDGHRRLDKVEEEVNLHEDFVFIKKLKRCNKGEGSLSLLNCEEMRRQFEDLVKDITLNKEEKKE NSFEMQRGDEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKGYYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCSNREPSSQ RPFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLCEQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSSFGLLKL
CD161-LAMP タンパク質配列	234	MAPRSARRPLLLLLLLLLLGLMHCASAAMFMVKNGNGTACIMANFSAAFSVNYDTKSGPKNMTLDLPSDATVVLNRSSCG KENTSDPSLVIAFGRGHTLTLNFTRNATRYSVQLMSFVYNLSDTHLFPNASSKEIKTVESITDIRADIDKKYRCVSGTQVH MNNVTVTLHDATIQAYLSNSSFSRGETRCEQDLEQKSSIEKCSVDIQQSRNKTTERPGLLNCPIYWQQLREKCLLFSHTVN PWNNSLADCSTKESSLLLIRDKDELIHTQNLIRDKAILFWIGLNFSLSEKNWKWINGSFLNSNDLEIRGDAKENSCISISQT SVYSEYCSTEIRWICQKELTPVRNKVYPDSTCLLASMGLQLNLTYERKDNTTVTRLLNINPNKTSASGSCGAHLVTLELHS EGTTVLLFQFGMNASSSRFFLQGIQLNTILPDARDPAFKAANGSLRALQATVGNSYKCNAEEHVRVTKAFSVNIFKVWVQ AFKVEGGQFGSVEECLLDENSM
CD161-LAMP-sCD40L； CD161(細胞外ドメイン)+ LAMP+EF-1α+SPD+ sCD40L;DNA 配列	235	atggcgccccgcagccccggcgaccctgctgctactgctgttgctgctcggccctcatgcattgtgcgtcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgccttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccttgacctgccatc agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaagagaacacttctgaccccagtctcgtgattgcttttggaagaggacatacactcactcttcaa tttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagttttgtttaacttgtcagacacacacctttcccccaatgcgagctcccaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaaatacagatgtgttagtggcacccaggttccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccaggcgtaccttccaacagcagcttcagccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgagcagaagtccagcatcgagaagt gcagcgtggacatccagcagagccggaacaagaccaccgaaagacccggcctgctgaactgccctatctactgtggcagcagctgagagagaagtgcctg ctgttcagccacaccgtgaatcccttggaacaacagcctggccgactgcagcacaaaagagagcagcctgctgctgatcagagacaaggacgagctgatc cacacacagaacctgatccgcgacaaggccatcctgttctggatcggcctgaacttcagcctgagcgagaagaactggaagtggatcaacggcagctttcc tgaactccaacgacctggaaatccgggcgacgccaaagagaacagctgcatcagcatcagccagaccagcgtgtacagcgagtactgctccaccgag

【０３９８】

【表７０】

		atcagatggatctgccagaaagaactgaccctgtgcggaacaaggtgtaccccgattctgaattcacctgcctgctggccagcatgggctgcagctga acctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctcaacatcaaccccaacaagacctcggccagcgggagctgcggcgcccacctg gtgactctggagctgcacagcgagggcaccaccgtcctgctcttccagttcgggatgaatgcaagttctagccggttttttcctacaaggaatccagttgaat acaattcttcctgacgccagagacctgccttttaaagctgccaacggctccctgcgagcgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcgga ggagcacgtccgtgtcacgaaggcgttttcagtcaatatattcaaagtgtgggtccaggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggagt gtctgctggacgagaacacgcatgctgatccccatcgctgtgggtggtgccctggcgggggctggttcctcatcgtcctcatcgcctacctcgtcggcaggaag aggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatctttttccctctgccaaaaattatgggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaa taaaggaaatttatttttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactcggaaggacataagggcggccgcggtacccgtgaggctccggtgccc gtcagtggcagagcgcacatcgcccacagtcccccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcgggtaaa ctgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttttcgcaacgg gtttgccgccagaacacagctgaaggatccgccgccaccatggaaaccgatacactgctgtgtgggtgctgttgctctgggttccaggatctacaggcg acatgctgccctttctctccatgcttgtcttgctgtacagccccctgggaaatctgggagcagaaatgaagagcctctcgcagagatcagtacccaacacctg caccctagtcatgtgtagccccaacagagaatggcctgcctggtcgtgatggacgggatgtgggagagaaggtccacgggtgtagaagggtgatccaggttt gccaggacctatgtgggctctcaggttgcagggccctacaggttccagttggacccaaaggagagaatggctcctgctggcgaacctggaccaaagggag aacgtggactaagtggacctccaggacttccaggtattcctggtccagctgggaaagaaggtccctctgggaagcagggaacataggacctcaaggca aaccaggtcctaaaggagaggctgggcccaaaggagaagtaggtgctcctggcatgcaaggatctacagggcaaaaggctccacaggccccaagg gagaaagaggtgcccctggtgtgcaaggaggccccagggaatgctggagcagcaggacctgccggacctgccggtccacagggagctccaggttccag ggggccccaggactcaagggggacagaggtgttcctggagacagaggaatcaaaggtgaaagcgggcttccagacagtgctgctctgaggcagcag atggaggccttaaaaggaaaactacagcgtctagaggttgccttctcccactatcagaaagctgcattgttccctgatggccatagaagattggataaggt cgaagaggaagtaaaccttcatgaagatttttgtattcataaaaagctaaagagatgcaacaaaggagaaggatctttatccttgctgaactgtgaggag atgagaaggcaatttgaagaccttgtcaaggatataacgttaaacaaagaagagaaaaaagaaaacagctttgaaatgcaaagaggtgatgaggatcc tcaaattgcagcacacgttgtaagcgaagccaacagtaatgcagcatccgttctacagtgggccaagaaaggatattatacccatgaaaagcaacttggta atgcttgaaaatgggaaacagctgacggttaaaagagaaggactctattatgtctacactcaagtcaccttctgctaatcgggagccttcgagtcaacgc ccattcatcgtcggcctctggctgaagcccagcagtgggatctgagagaatcttactcaaggcggcaaatacccacagttcctcccagctttgcgagcaga gtctgttcacttgggcggagtgtttgaattacaagctggtgcttctgtgtttgtcaacgtgactgaagcaagccaagtgatccacagagttggcttctcatctttt tggcttactcaaactc
CD161(細胞外ドメイン)タンパク質配列	236	QKSSIEKCSVDIQQSRNKTTERPGLLNCPIYWQQLREKCLLFSHTVNPWNNSLADCSTKESSLLLIRDKDELIHTQNLTRD KAILFWIGLNFSLSEKNWKWINGSFLNSNDLEIRGDAKENSCISISQTSVYSEYCSTEIRWICQKELTPVRNKVYPDS
CD161(細胞外ドメイン)DNA配列	237	cagaagtccagcatcggagaagtgcagcgtggacatccagcagagccggaacaagaccaccgaaagacccggcctgctgaactgccctatctactggca gcagctgagaggagaagtggcctgcttgttcagccacaccgtgaatccctggaacacagcctggccgactgcagcacaaaagagagcagcctgctgctgat cagagacaaggacgagctgatccacacacagaacctgatccgcgacaaggccatcctgttctggatcggcctgaacttcagcctgagcgagaagaactg gaagtggatcaacggcagcttcctgaactccaacgacctggaaatccgggggcgacgcccaaagagaacagctgcatcagcatcagccagaccagcgtgt acagcgagtactgctccaccgagatcgatctgccagaaagaactgaccctgtgcggaacaaggtgtaccccgattct
SPD-sCD40L タンパク質配列	238	MLPFLSMLVLLVQPLGNLGAEMKSLSQRSVPNTCTLVMCSPTENGLPGRDGRDGREGPRGEKGDPGLPGPMGLSGLQGP TGPVGPKGENGSAGEPGPKGERGLSGPPGLPGIPGPAGKEGPSGKQGNIGPQGKPGPKGEAGPKGEVGAPGMQGSTGAK GSTGPKGERGAPGVQGAPGNAGAAGPAGPAGPQGAPGSRGPPGLKGDRGVPGDRGIKGESGLPDSAALRQQMEALKGK

【０３９９】

【表７１】

		LQRLEVAFSHYQKAALFPDGHRRLDKVEEEVNLHEDFVFIKKLKRCNKGEGSLSLLNCEEMRRQFEDLVKDITLNKEEKKE NSFEMQRGDEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKGYYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVYTQVTFCSNREPSSQ RPFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLCEQQSVHLGGVFELQAGASVFVNVTEASQVIHRVGFSSFGLLKL
SPD-sCD40L DNA 配列	239	atgctgccctttctctccatgcttgtctttgctacagcccctgggaaatctgggagcagaaatgaagagcctctcgcagagatcagtacccaacacctgca ccctagtcatgtgtagcccaacagagaatggcctgcctggtctgtgatggacgggatgtggagagaaggtccacgggggtgagaagggtgatccaggtttgc caggacctatgggggctctcagggttgcagggccctacagttggacccaaaggagagaatggctctgtggcgaacctggaccaaagggagaa cgtggactaagtggacctccaggacttccaggtattcctggtccagctgggaaagaaggtccctctgggaagcagggggaacataggacctcaaggcaaa ccaggtcctaaaggagaggctgggcccaaaggagaagtaggtgctcctggcatgcaaggatctacagggggcaaaaggctccacaggccccaaggga gaaagaggtgcccctggtgtgcaaggagccccagggaatgctggagcagcaggacctgccggacctgccagggagctccagttccaggg ggcccccaggactcaaggggacagaggttcctggagacagaggaatcaaaggtgaaagcgggcttccagacagtgctgctctgaggcagcagat ggaggccttaaaaggaaaactacagcgtctagaggttgccttctcccactatcagaaagctgcattgttccctgatggccatagaagattggataaggtcg aagaggaagtaaaccttcatgaagatttttgtattcataaaaagctaaagagatgcaacaaaggagaaggatctttatccttgctgaactgtgaggagat gagaaggcaatttgaagaccttgtcaaggatataacgttaaacaaagagaggaaaaaagaaaaacagctttgaaatgcaaggagtgatgaggatcctc aaattgcagcacacgttgtaagcgaagccaacagtaatgcagccatccgttctacagtgggccaagaaaggatattataccatgaaaagcaacttggtaat gcttgaaaatgggaaacagctgacggttaaaagagaagaaggactctattatgtctacactcaagtcacctttctgctaatcgggagccttcgagtcaacgccc attcatcgtcggcctctggctgaagcccagcagtggatctgagagaatctactcaaggcggcaaatacccacagttcctcccagctttgcgagcagcagtc tgttcacttgggcggagtgtttgaattacaagctggtgcttctgtgtttgtcaacgtgactgaagcaagccaagtgatccacagagttggcttctcatctttttg gcttactcaaactctga
	240	
HER2-LAMP-OX40L；HER2(細胞外ドメイン)+LAMP+EF-1α+IL-2 SP+OX40L(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)；DNA 配列	241	atggcgcccgcagcgcccggcgacccctgctgctactgctgttgctgctcggcctcatgcattgtgcgtcagcagaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgccttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccttgaccctgccatc agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaagagaacacttctgaccccagtctcgtgattgcttttggaagaggacatacactcactcttcaa tttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagttttgtttataacttgtcagacacacacctttcccccaatgcgagctccaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaaatacagatgtgttagtggcacccaggtccacatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccaccatccaggcgtaccttccaacagcagcttcagccgggagagacacgctgtgaacaagacctcgagacacaagtctcgaccggcaccg acatgaagctgagactgcccgccagcccgaaacccatctggacatgctgcggcatctgtaccaaggctgtcaagtggtgcaaggcaatctggaactgac atatctgcctaccaacgcctctctgagctttctgcaagacatccaagaagtgcaaggctacgtcctcattgcccacacaccaagtccgacaagtgccactgca gcggctgagaatcgtgcgggcacccagctgttcgaggacaactatgctctggccgtgctggacaacgcggcgaccttcgaacaacaccacagtgac tggcgcctctcccggcggactgagagaactgcagctgcgctctgaccgagattctgaaggcggcgtgctgatccagcggaaccctcagctgtgctac caagacaccattctgtggaaggacatcttccacaagaacaaccagctggctctgacctcatcgacaccaacagaagccgggcttgccaccctgcagcc ccatgtgcaagggcagcagatgttgggggcgagagcagcgaggactgccagtctctgaccagaaccgtgtgtgccggcggatgccgccagatgcaaggg ccctctgccaaccgattgctgccacgaacagtgcgccgctggtgtaccggccccaagcacagcgattgtctggcttgtctgcacttcaaccactccggcat ctgcgagctgcactgcccagccctcgtgacatacaacaccgacacatttgagagcatgcccaaccccgagggcagatacacattcggcgccagctgtgtg accgcttgcccctacaactatctgagcaccgacgtgggcagctgcaccctcgtgtgccctctgcacaatcaagaagtgaccgccgaggacgcacccaga gatgcgagaagtgctccaagccttgcgccagagtgtgctacggactgggcatggaacatctgcgggaagtgcgggcctgtgaccagcgccaatatccaa gaatttgccggctgcaagaagatttccggcagtctggccttctgcccgagagcttcgatggcgaccccgcctctaacacagccccctgcagccagagca

【０４００】

【表７２】

IL-2 SP-OX40L 細胞外ドメイン-Fc タンパク質配列	242	gctccaagtgttcgagacactggaagagatcaccggctatctgtacatcagcgcttggcccgactctctgcccgatctgagcgtgttccagaatctgcaagt catcagaggccggattctgcacaacgggcgcctattctctgacactgcaaggactgggaatcagctggctgggactgcggagtctgagagagctgggcag cggactggcactgatccccacacaacacccatctgtgcttcgtgcacaccgtgccttgggatcagctgttccggaatcccccaccaagctctgctgcacaccgc caacagacccgaggatgagtgtgtgggcgagggggctggcttgccatcagctctgtgccagaggacacagttgtgggagacccggcctacccagtgcgtgaa ctgctcccagtttctgcgggccaagaatgcgtggaagagtgcagagtgctccaaggactgcccgcgagtacgtgaacgccagacactgtctgccatgc cacccgagtgccagcctcagaatggcagcgtgacatgcttcggcccgaggccgatcaagtgtggcttgcgctcactacaaggacctcccttctgcgt ggcccggtgtcttctggcgtgaaacccgatctgtcctacatgccttatgagaggaaggcgcttgtcagccttgcccccatcaactgcac ccacgaattcacctgcctgctggccagcatgggctgcagctgaacctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctcaacatcaa ccccaacaagacctcggccagcgggagctgcggccgcccacctggtgactctggagctgcacaggcgagggcaccaccgtcctgctcttccagttcgggatg aatgcaagttctagccggttttcctacaaggaatccagttgaatacaattcttcctgacgccagagacctgccttaaagctgccaacggctccctgcgag cgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagtgtgggtcca ggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggagtgtctgctggacgagaacagcatgctgatccccatcgctgtgggtggtgccctggcg gggctggtcctcatcgtcctcatcgcctacctcgtgctggcaggaagaggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatcttttccctgccaaaaat tatgggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttatttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactcggaa ggacataaggcggccgcggtaccgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtcccgagaagttgggggggagggggt cggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaacc gtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttgcgcaacgggtttgcccgccagaacacagtctagaggatccgccgccaccatgtacaggatgcaact cctgtcttgcattgcactaagtcttgcacttgtcacgaattcgataagcagcagccctgccaaggaccctcctattcagaggctgaggggcgccgtgacaag gtgcgaggacggacagctgttcatcagcagctacacaagaacgagtatcagaccatggaggtgcagaacaacagcgtggtgatcaagtgcgacggcctgt acatcatctacctgaagggcagcttcttccaagaggtgaagatcgacctgcacttagggaggaccacaacctatcagcatccctatgctgaacgacgga aggaggatcgtgttcaccgtggtggctagcctggccttcaaggacaaggtgtacctgaccgtgaacgcccctgacacccttgtgcgagcacctgcagatca acgacggcgagctgatcgtgtgcagctgaccctggctactgcgcccctgagggcagctaccacagcaccgtgaaccaagtgcctctggatatcggag gcggaggaagcggaggcggaggaagcccccagagggcccacaatcaagccctgtcctccatgcaaatgcccagcacctaacctcgaggtggaccatc cgtcttcatcttccctccaaagatcaaggatgtactcatgatctccctgagcccccatagtcacatgtgtggtggatgtgagcgaggatgacccagatgtc cagatcagctggtttgtgaacaacgtggaagtacacacagctcagacacaaacccatagagaggattacaacagtactctccgggtggtcagtgccctcc ccatccagcaccaggactggatgagtggcaaggcgttcgcatgcgcggtcaacaacaaagacctcccagcgcccatcgagagaaccatctcaaaacccca aagggtcagtaagagctccacaggtatatgtcttgcctccaccagaagaagagatgactaagaaacaggtcactctgcatggtcacagacttcat gcctgaagacatttacgtggagtggaccaacaacgggaaaacagagctaactacaagaacactgaaccagtcctggactctgatggttcttacttcatgt acagcaagctgagagtggaaaagaagaactggtggaaagaaatagctactccttgttcagtggtccacgagggttgtccacaatcaccacacgactaag agcttctcccggactccgggtaaa MYRMQLLSCIALSLALVTNSSSSPAKDPPIQRLRGAVTRCEDGQLFISSYKNEYQTMEVQNNSVVIKCDGLYIIYLKGSFFQ EVKIDLHFREDHNPISIPMLNDGRRIVFTVVASLAFKDKVYLTVNAPDTLCEHLQINDGELIVVQLTPGYCAPEGSYHSTVN QVPLDIGGGGSGGGGSPRGPTIKPCPPCKCPAPNLEGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKAFACAVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK

【０４０１】

【表７３】

OX40L(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)タンパク質配列	243	SSSPAKDPPIQRLRGAVTRCEDGQLFISSYKNEYQTMEVQNNSVVIKCDGLYIIYLKGSFFQEVKIDLHFREDHNPISIPML NDGRRIVFTVVASLAFKDKVYLTVNAPDTLCEHLQINDGELIVVQLTPGYCAPEGSYHSTVNQVPLDIGGGGSGGGGSPR GPTIKPCPPCKCPAPNLEGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKAFACAVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
OX40L(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)DNA 配列	244	agcagcagccctgccaaggaccctcctattcagaggctgagggcgccgtgacaaggtgcgaggacggacagctgttcatcagcagctacaagaacga gtatcagaccatggaggtgcagaacaacagcgtggtgatcaagtgcgacggcctgtacatcatcacctgaagggcagcttcttccaagaggtgaagatc gacctgcactttagggaggaccacaacccctatcagcatccctatgctgaacgacggaaggagatcgtgttcaccgtggtggctagcctggccttcaagg acaaggtgtacctgaccgtgaacgccccctgacaccctgtgcgagcacctgcagatcaacgacggcgagctgatcgtggtgcagctgaccctggctactg cgccctgaggggcagctaccacagcaccgtgaaccaagtgcctctggatatcggaggcggaagcggaggcggaagccccagaggcccac aatcaagccctgtcctccatgcaaatgcccagcacctaacctcgagggtggaccatccgtcttcatcttcctccaaagatcaaggatgtactcatgatctcc ctgagcccatagtcacatgtgtggtggatgtgagcgaggatgacccagatgtccagatcagctggtttgtgaacaacgtggaagtacacacagctc agacacaaacccatagaggaggattacaacagtactctccgggtggtcagtgccctcccccatccagcaccaggactggatgagtggcaaggcgttccgcat gcgcggtcaacaacaaagacctcccagcgcccatcgagagaaccatctcaaaacccaaagggtcagtaagagctccacaggtatatgtcttgcctccacc agaagaagagatgactaagaaacaggtcactctgacctgcatggtcacagacttcatgcctgaagacatttacgtggagtggaccaacaacgggaaaac agagctaaactacaagaacactgaaccagtcctggactctgatggttcttacttcatgtacagcaagctgagagtggaaaagaagaactgggtggaaag aaatagctactcctgttcagtggtccacgagggtctgcacaatcaccacgactaagagcttctcccggactccgggtaaa
EF-1α コアプロモーター	245	gggcgaggcgcacatcgcccacagtcccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaacggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggg aaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgc cgccagaacacag
マウス IL-2 シグナルペプチド(SP)アミノ酸配列	246	MYRMQLLSCIALSLALVTNS
マウス IL-2 SP ヌクレオチド配列	247	atgtacaggatgcaactcctgtcttgcattgcactaagtcttgcacttgtcacgaattcg
ヒト IL-2 SP アミノ酸配列	248	MYRMQLLSCIALSLALVTNS
ヒト IL-2 SP ヌクレオチド配列	249	atgtacaggatgcaactcctgtcttgcattgcactaagtcttgcacttgtcacaaacagt
	250	
HER2-LAMP-CD80；HER2(細胞外ドメイン)+LAMP+EF-1α+IL-2 SP+CD80(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)；DNA 配列	251	atggcgcccccgcagcgcccggcgacccctgctgctgctactgctgttgctgctcggcctcatgcattgtgcgtcagcagcaatgtttatggtgaaaaat ggcaacgggaccgcgtgcataatggccaacttctctgctgcctttctcagtgaactacgacaccaagagtggccctaagaacatgaccttgacctgccatc agatgccacagtggtgctcaaccgcagctcctgtggaaaagagaacacttctgaccccagtctcgtgattgctttggaagaggacatacactcactcttcaa tttcacgagaaatgcaacacgttacagcgtccagctcatgagttttgtttaatacttgtcagacacacacctttcccaatgcgagctccaaagaaatcaag actgtggaatctataactgacatcagggcagatatagataaaaaatacagatgtgttagtggcacccaggtcacaatgaacaacgtgaccgtaacgctcc atgatgccacccatccaggcgtacctttcaacagcagctcagccggggagagacgctgtgaacaagacctcgagacacaagtctgcaccggcaccg acatgaagctgagactgccgccagccccgaaacccatctggacatgctgcggcatctgtaccaaggctgtcaagtggtgcaaggcaatctggaactgac

【０４０２】

【表７４】

atatctgcctaccaacgcctctctgagctttctgcaagacatccaagaagtgcaaggctacgtcctcattgcccacaaccaagtccgacaagtgccactgca gcggctgagaatcgtgcgggcacccagctgttcgaggacaactatgtctggccgtgctggacaacggcgacccctcgaacaacaccacaccagtgac tggcgcctctcccggcggactgagagaactgcagctgcgctctctgaccgagattctgaagggcggcgtgctgatccagcgaaccctcagctgtgctac		
caagacaccattctgtggaaggacatcttccacaagaacaacaaccagctggctctgacctcatcgacaccaacagaagccgggcttgccaccttgcagcc ccatgtgcaagggcagcagatgttgggcgagaggcagcgaggactgccagtctctgaccagaaccgtgtgccggcgggatgccgcagatgcaaggg ccctctgccaaccgattgctgccacgaacagtgcgccgctggctgtaccggcccccaagcacagcgattgtctggcttgtctgcacttcaaccactccggcat		
ctgcgagctgcactgcccagcctctgtgacatacaacaccgacacattcgagagcatgcccaacccgagggcagatacacattcggcgccagctgtgtg accgcttgcccctacaactatctgagcaccgacgtgggcagctgcaccctcgtgtgccctctgcacaatcaagaagtgaccgccgaggacggcacccaga		
gatgcgagaagtgctccaagccttgcgcccagagtgtgctacggactgggcatgggaacatctgcgggaagtgcgggccgtgaccagcgccaatatccaa gaatttgccggctgcaagaagatttttcggcagtctggcctttctgcccgagagcttcgatggcgacccccgcctctaacacagcccctcgcagccagagca		
gctccaagtgttcgagacactggaagagatcaccggctatctgtacatcagcgcttggcccgactctctgcccgatctgagcgtgttccagaatctgcaagt catcagaggccggattctgcacaacggcgcctattctctgacactgcaaggactgggaatcagctggctgggactgcggagtctgagagaagctgggcag		
cggactggcactgatccaccacacaacacccatctgtgcttcgtgcacaccgtgccttgggatcagctgttccggaatcccccaccaagctctgctgcacaccgc caacagacccgaggatgagtgtgtggcgagggggctggcttgccatcagctctgtgccagaggacactgttgggaccccggccctacccagtgcgtgaa		
ctgctcccagtttctgcgggggccaagaatgcgtggaagagtgcagagtgctccaaggactgccccgcgagtacgtgaacgccagacactgtctgccatgc caccccgagtgccagcctcagaatggcagcgtgacatgcttcggccccgaggccgatcagtgtgtggcttgcgctcactacaaggacctcccttctgcgt		
ggcccggtgtccttctggcgtgaaacccgatctgtcctacatgcctatctggaagttcccgacgaggaagggcgtttgtcagccttgccccatcaactgcac ccacgaattcacctgctggccagcatgggggctgcagctgaacctcacctatgagaggaaggacaacacgacggtgacaaggcttctcaacatcaa		
cccaacaagacctcggccagcgggagctgcggcgcccacctggtgactctggagctgcacagcgagggcaccaccgtcctgctcttccagttcgggatg aatgcaagttctagccggttttcctacaaggaatccagttgaatacaatttcttcgtgacgccaagacctgctttaaagctgccaacggctcccctgcgag		
cgctgcaggccacagtcggcaattcctacaagtgcaacgcggaggagcacgtccgtgtcacgaaggcgtttcagtcaatatattcaaagtgtgggtcca ggctttcaaggtggaaggtggccagtttggctctgtggaggagtgtctgctggacgagaacagcatgctgatcccatcgctgtgggtgctgccctggcg		
gggctggtcctcatcgtcctcatcgcctacctcgtcggcaggaagaggagtcacgcaggctaccagactatctagtaaagatcttttccctgccaaaaat tatgggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactccggaa		
ggacataaggcggccgcggtaccgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtcccgagaagttgggggggagggggt cggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcgggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaacc		
gtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgccgccagaacacagctagaggatcgccgccgccaccatgtacaggatgcaact cctgtcttgcattgcactaagttcttgcacttgtcacgaattcgatagtggacgagcagctgagcaagagccgtgaaggacaaggtgctgctgccttgtaggta		
caacagcctcacgaggacgagagcgaggatgaggatcttactggcagaagcacgacaaggtagtgctgagtgtgatagccggcaagctgaaggtgtgg cctgagtacaagaatagggacccttgtacgacaacacacctacagcctgatcatcctgggcctggtgctgaggcgatagggtacctacagctgcgtggtgc		
agaagaaggagagggggcacctacgaggtgaagcacctggccctggtgaagctgagcatcaaggccgacttcagcaccctaacatcaccgagagcgg caaccctagcgccgacaccaagaggatcacctgcttcgctagcggcggcttccctaagcctaggttcagctggctggagaacggaagggagctgcctgg		
cataaacacgaccatatctcaagaccctgagagcgagctgtacaccatcagctctcagctggacttcaacaccaccccgcaatcacaccatcaagtgcctga tcaagtacggcgacgcccacgtgagcgaggacttcacctgggagaagcctcctgaggaccctctgacagcaagaacgatatcggaggccggaggaag		
cggaggcggaggaagccccagagggcccacaatcaagccctgttcctcatgcaaatgcccagcacctaacctgagggtggaccatccgtcttcatcttc cctccaaagatcaaggatgtactcatgatctccctgagccccatagtcacatgtggtggtggatgtgagcgaggatgacccagatgtccagatcagctg		

【０４０３】

【表７５】

		gtttgtgaacaacgtggaagtacacacagctcagacacaaacccatagaggaggattacaacagtactctccgggtggtcagtgccctccccatccagcac caggactggatgagtggcaaggcgttccgcatgcgcggtcaacaacaaagacctcccagccccatcgagagaaccatctcaaaacccaaaggtcagt aagagctccacaggtatatgtcttgcctccaccagaagaagagatgactaagaaacaggtcactctgacctgcatggtcacagacttcatgcctgaagac atttacgtggagtggaccaacaacgggaaaacagagctaaactacaagaacactgaaccagtcctggactctgatggttcttacttcatgtacagcaagct gagagtggaaaagaagaactgggtgaaagaaatagctactcctgttcagtggtccacgagggtctgcacaatcaccacacgactaagagcttctcccg gactccgggtaaa
IL-2 SP+CD80 細胞外ドメイン+FC	252	MYRMQLLSCIALSLALVTNSVDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIYWQKHDKVVLSVIAGKLKVWPEYKNRTLY DNTTYSLIILGLVLSDRGTYSCVVQKKERGTYEVKHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFPKPRFSWL ENGRELPGINTTISQDPESELYTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPPDSKNDIGGGGSGGGGSPR GPTIKPCPPCKCPAPNLEGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKAFACAVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
CD80(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)タンパク質配列	253	VDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIYWQKHDKVVLSVIAGKLKVWPEYKNRTLYDNTTYSLIILGLVLSDRGTYS CVVQKKERGTYEVKHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFPKPRFSWLENGRELPGINTTISQDPESEL YTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPPDSKNDIGGGGSGGGGSPRGPTIKPCPPCKCPAPNLEGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKA FACAVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
CD80(細胞外ドメイン+Fc ドメイン)DNA 配列	881	gtggacgagcagctgagcaagagcgtgaaggacaaggtgctgctgccttgtaggtacaacagccctcacgaggacgagagcgaggataggatctact ggcagaagcacgacaaggtagtgctgagtgtgatagccggcaagctgaaggtgtggcctgagtacaagaataggaccctgtacgacaacaccactac agcctgatcatcctgggcctggtgctgagcgatagggtacctacagctgcgtggtgcagaagaaggagaggggcacctacgaggtgaagcacctggc cctggtgaagctgagcatcaaggccgacttcagcaccctaacatcaccgagagcggcaacctagcgccgacaccaagaggatcacctgcttcgctag cggcggcttcctaagcctaggttcagctggctggagaacggaagggagctgcctggcataaaacacgaccatatctcaagaccctgagagcgagctgta caccatcagctctcagctggacttcaacaccacccgcaatcacaccatcaagtgcctgatcaagtacggcgacgcccacgtgagcgaggacttcacctgg gagaagcctcctgaggacctcctgacagcaagaacgatatcggaggcggaggaagcggaggcggaagaggcccagagggcccacaatcaagccc tgtcctccatgcaaatgcccagcacctaacctcgagggtggaccatccgtcttcatcttccctccaaagatcaaggatgtactcatgatctccctgagccccat agtcacatgtgtggtgtggatgtgagcgaggatgacccagatgtccagatcagctggtttgtgaacaacgtggaagtacacacagctcagacacaaac ccatagaggattacaacagtactctccgggtggtcagtgccctcccatccagcaccaggactggatgagtggcaaggcgttccgcatgcgcggtcaac aacaaagacctcccagcgcccatcgagagaaccatctcaaaacccaaagggtcagtaagagctccacaggtatatgtcttgcctccaccagaagaagag atgactaagaaacaggtcactctgacctgcatggtcacagacttcatgcctgaagacatttacgtggagtggaccaacaacgggaaaacagagctaaact acaagaacactgaaccagtcctggactctgatggttcttacttcatgtacagcaagctgagagtggaaaagaagaactgggtgaaagaaatagctactc ctgttcagtggtccacgagggtctgcacaatcaccacacgactaagagcttctcccggactccgggtaaa

【０４０４】

【表７６】

LAMP1 膜貫通および細胞質領域ならびに LAMP1 シグナル配列を含む例示的なヒト LAMP1-ラージ T 抗原断片配列	879	
LAMP1 シグナル配列を含み、LAMP1 膜貫通および細胞質領域を含まない、例示的なヒト LAMP1-ラージ T 抗原断片配列	880	
ITI-COVID-19 バイシストロニックワクチンに対する相補配列 (ITI-バイシストロニック-S1-LAMP-RBG pA-EF2-S2P BHG pA；第１世代 COVID-19 ワクチン)；DNA 配列(配列番号 228)	882	図 28C 参照

【０４０５】

実施例２．第２世代のバイシストロニックＣＯＶＩＤワクチン（２－Ｖ－ＣＯＶＩＤ）は、マウスにおいてＴ細胞性免疫応答および免疫応答を誘発する。

十分な抗原特異的Ｔ細胞および抗体応答を生成するための主要な課題は、ＤＮＡワクチンの低い免疫原性である。ＤＮＡワクチンに対するＴ細胞応答を増加させるために、新規のバイシストロニックＤＮＡワクチンを設計した。本実施例は、（１）ＬＡＭＰと融合した全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、および（２）可溶性ＣＤ４０Ｌ（ｓＣＤ４０Ｌ）を含む、第２世代ＣＯＶＩＤ－１９　ＤＮＡワクチン、Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（２－Ｖ－Ｃｏｖｉｄワクチン；ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｂ．１．３５１

スパイク（南アフリカ変種、ＳＰおよびＴＭを含まない）＋ＬＡＭＰ＋ＥＦ－１α＋ＳＰＤ＋ｓＣＤ４０Ｌ；配列番号２４２～２４３）を考察し、これらの両方は別々に発現された。このバイシストロニックＤＮＡワクチンは、比較的低いレベルでｓＣＤ４０Ｌの局所発現を誘導するように設計され、それによって、全身的な組換えＣＤ４０Ｌまたはアゴニスト抗ＣＤ４０抗体を使用する安全なアプローチを提供する（ｖａｎミールロら、２００２）。

【０４０６】

ＣＤ４０リガンド（ＣＤ４０Ｌ；ＣＤ１５４）は、樹状細胞およびＢ細胞を刺激することによって適応免疫応答を増強する。ＣＤ４０Ｌ遺伝子を含むＤＮＡワクチンは、ｉｎｖｉｖｏでＴ細胞および抗体応答を増強することが示されている。（図示せず。免疫原性が改善されたＣＯＶＩＤワクチンを製造するために、２つの別々のカセット中でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２全長スパイク蛋白および可溶性ＣＤ４０Ｌを発現するように第２世代ワクチンを設計した。この２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンの免疫原性をＢＡＬＢ／ｃマウスで評価した。２回の免疫後、新規ワクチンは、実施例１に記載された第１世代ＣＯＶＩＤ－１９ＤＮＡワクチンと比較して、より強いスパイク特異的Ｔ細胞性応答およびより高いレベルのスパイク特異的免疫応答を誘導した。以下の実施例で考察されるデータは、新規ワクチンがより免疫原性であり、ＣＯＶＩＤ１９および将来の新興感染症に対する防御を改善する可能性を有することを示唆する。

【０４０７】

ＣＤ４０Ｌは、活性化Ｔ細胞、特にＣＤ４　Ｔ細胞の表面上に発現される膜貫通タンパク質である。ＣＤ４０Ｌは、樹状細胞（ＤＣ）およびマクロファージなどの抗原提示細胞（ＡＰＣ）、ならびにＴ細胞および抗体応答を増強するためのＢ細胞のＣＤ４０依存性活性化を刺激する（Ｇｒｅｗａｌ＆Ｆｌａｖｅｌｌ，１９９８；Ｓｃｈｏｅｎｂｅｒｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９９８）。組換え可溶性ＣＤ４０Ｌまたはアゴニスト抗体は、臨床において使用されており、様々な癌において有望な結果を示している（Ｂｅａｔｔｙ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１，　２０１７；Ｖｏｎｄｅｒｈｅｉｄｅ　ｅｔ　ａｌ．，２００１）。その結果、ＣＤ４０Ｌのこれらの免疫刺激機能は、ＣＤ４０Ｌを感染性疾患および癌に対する有望なワクチンアジュバントにした。本明細書および以下の実施例で考察されるように、ｓＣＤ４０Ｌはスパイク特異的Ｔ細胞および抗体応答を増強した。本明細書で考察されるデータは、感染性疾患に対するバイシストロニックＤＮＡワクチンの使用を支持する。

【０４０８】

Ａ．材料および方法

１．ワクチン構築物

ＩＴＩ－ＣＯＶＩＤ－１９バイシストロニックワクチン（ＩＴＩ－バイシストロニック－Ｓ１－ＬＡＭＰ－ＲＢＧ　ｐＡ－ＥＦ２－Ｓ２Ｐ　ＢＨＧ　ｐＡ；第１世代ＣＯＶＩＤ－１９　ＤＮＡワクチン、「ＩＴＩ－バイシストロニックワクチン」；図２８Ｃに示す、配列番号２２８）を、上記の実施例１に記載されるように以前に構築した。

【０４０９】

第２世代Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ構築物（「２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチン」、配列番号２２８）もまた、上記の実施例１に記載される方法に従って構築した。２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンは、ＣＭＶプロモーターおよびＥＦ１プロモーターによって独立して駆動される２つの別個のカセットを有した。第１のカセットは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２南アフリカ変種（Ｂ．１．３５１）感染性クローンの全長スパイク遺伝子を発現した（配列番号２２７）。第２のカセットは、マウス肺サーファクタント関連プロテインＤ（ＳＰＤ）タンパク質と融合した可溶性マウスＣＤ４０Ｌ細胞外ドメインを発現した（配列番号２３３）。

【０４１０】

使用される対照ベクター（ＣＶ）は、遺伝子挿入を全く含まないベクターである。

【０４１１】

２．試薬
フローサイトメトリーおよび酵素結合免疫スポット（ＥＬＩＳＰＯＴ）のための抗体はＢｉｏｌｅｇｅｎｄから購入し、ＳＡ－ＨＲＰおよびＡＥＣキットはＢＤから購入した。スパイクタンパク質に対する抗体、ならびに組換えスパイク（Ｓ１）（カタログ番号４０５９１－Ｖ０８Ｈ）およびＲＢＤ（カタログ番号４０５９２－Ｖ０８Ｂ）タンパク質を、Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓから購入した。ウサギポリクローナル抗Ｓ１抗体は、Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓから購入した。抗体力価は、Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈからの ＨＲＰ抗マウス抗体を用いて評価した。ウミシイタケルシフェラーゼレポーターアッセイは、Ｐｒｏｍｅｇａ（カタログ番号Ｅ２７１０）から購入した。Ｅｐｉｖａｘペプチドは、ＧｅｎＳｃｒｉｐｔによって合成された。

【０４１２】
ヒトＡＣＥ２の過剰発現のためのプレメークレンチウイルス粒子は、ＧｅｎＴａｒｇｅｔ　Ｉｎｃ（カタログ番号ＬｖＰ１３１０）に注文した。

【０４１３】
ＪＰＴ　ＰｅｐＭｉｘ（商標）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２重複ペプチドプールは、ＪＰＴ（カタログ番号ＰＭ－ＷＣＰＶ－Ｓ）から購入した。ペプチドプールは、Ｓｐｉｋｅ（ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ０ＤＴＣ２）を介したペプチドスキャン（１１アミノ酸重複を有する１５ｍｅｒセグメント）に由来する合計３１５個のペプチド（１５８および１５７個のペプチドの２つのサブプールで送達される）を含有した。

【０４１４】
偽型ルシフェラーゼｒＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイクウイルスは、ＣｒｅａｔｉｖｅＤｉａｇｎｏｓｔｉｃｓから購入した（Ｎｏ：Ｃｏｖ－ＰＳ０１、Ｌｏｔ．Ｎｏ．：ＣＬ－１１４Ａ）。これは、ルシフェラーゼをレポーターとして有するＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２ Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１に基づく。

【０４１５】
３．構築物の一過性トランスフェクション
２９３Ｔ細胞を、リポフェクタミン２０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して、対照ベクター（ＣＶ）またはバイシストロニックワクチン構築物で一過性にトランスフェクトした。トランスフェクションの４８時間後、上清を収集し、遠心分離し、濾過した。上清を可溶性ＣＤ４０Ｌの発現について分析した。

【０４１６】
いくつかの実施形態では、２９３Ｔ細胞は、ヒトＡＣＥ２で形質導入され得る。２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞株は、ヒトＡＣＥ２（アンジオテンシンＩ転換酵素２、ＮＭ＿０２１８０４）を発現するレンチウイルスを２９３Ｔに形質導入することによって作製され、レンチウイルスは、ＧｅｎｅＴａｒｇｅｔ社によって作製され、ＲＦＰおよびブラスチシジン二重選択マーカーを含有する。感染後、１５ｕｇ／ｍｌのブラスチシジンを使用して、ＲＦＰおよびＡＣＥｓの両方を発現する単一細胞クローンを単離する。図に示されるように、ヒトＡＣＥ２の発現は、抗ヒトＡＣＥ２抗体（Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ、ウサギＰａｂ、カタログ番号：１０１０８－Ｔ６０）で染色することによって検出された。２９３Ｔ－ＡＣＥ３クローン２およびクローン５はｈＡＣＥ２のより高い発現を有し、クローン５をこの研究における中和試験に使用した。

【０４１７】
４．ウエスタンブロットおよび免疫沈降法
ビオチン化抗ＣＤ４０Ｌ抗体（Ｃｌｏｎｅ　ＭＲ１　ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ　Ｃａｔ＃１０６５０３）をストレプトアビジン被覆磁気ビーズに結合させ、ＣＤ４０Ｌを単離するために使用した。ビーズをウエスタンブロットイメージングのためにゲルにロードした。以下の抗体もウエスタンブロットに使用した：（１）一次抗ＣＤ４０Ｌ／ＣＤ１５４抗体（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　ＰＡ５－７８９８３）およびヤギ抗ウサギＩｇＧ－ＨＲＰの二次抗体（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　４０３０－０５）。

【０４１８】

５．免疫および血清収集

６週～８週齢の雌ＢＡＬＢ／ｃマウスを飼育し、認可された飼育施設で維持した。

【０４１９】

ＩＴＩ－バイシストロニックワクチンおよび２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンの免疫スケジュールを表２に示す。マウスを、耳へのＩＤ注射、続いてエレクトロポレーションによってＤＮＡワクチンで免疫化した。血液サンプルを、免疫の前および２回目の免疫の１４日後に収集した。２８日目に、マウスを予定通りに　　殺し、Ｔ細胞および抗体応答の測定のために脾臓および血清を採取した。

【表７７】

表２．免疫化スケジュール

グループ	治療	濃度 (mg/mL)	用量 (μg)	経路	#マウス	体積 (μL)	マウスID	0日目	14日目	14日目	28日目
A	対照ベクター(CV)	3.3	20	ID(耳)	10	20	001-010	１回目の免疫化	ELISAおよびELISPOTのために各群５匹のマウスを屠殺した	２回目の免疫化	ELISAおよびELISPOTのための終了
B	ITI-バイシストロニックワクチン	2.0	20	ID(耳)	10	20	011-020				
C	スパイク-LAMP-sCD40L(2-V COVIDワクチン)	2.0	20	IM(耳)	10	20	021-030				

【０４２０】

６．ＥＬＩＳＰＯＴによる抗原特異的Ｔ細胞応答の評価。

ワクチン接種マウスにおける抗原特異的Ｔ細胞応答を評価するために、ワクチン接種マウスからの脾細胞を、酵素結合免疫スポット（ＥＬＩＳＰＯＴ）によって抗原特異的ＩＦＮγについて評価した。ＥＬＩＳＰＯＴアッセイは、本明細書に記載されるように実施した。簡潔には、脾細胞を３×１０^{5}細胞／ウェルでプレーティングし、２００μｌ／ウェルのＴ細胞培地の総体積中で、１μｇ／ｍｌのＪＰＴ重複スパイクペプチド、０．２５μｇ／ｍＬのコンカナバリンＡ、または培地単独と共に、５％CO_2中、３７℃で４８時間共培養した。プレートを５０μｌ／ウェルのＡＥＣ発色溶液で最大３０分間発色させた。水道水を流しながら洗浄することによって発色を停止させた。風乾後、ＡＩＤ　ＥＬＩＳＰＯＴ　Ｈｉｇｈ－Ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎ　Ｒｅａｄｅｒ　ＳｙｓｔｅｍおよびＡＩＤ　ＥＬＩＳＰＯＴソフトウェアバージョン３．５（Ａｕｔｏｉｍｍｕｎ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｋａ　ＧｍｂＨ）を用いて、着色スポットを計数した。Ｓｔｕｄｅｎｔ　Ｔ検定を用い

て、ＩＴＩ－バイシストロニックワクチンおよび２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンでトランスフェクトした細胞間の有意な差を決定した。

【０４２１】

７．ＥＬＩＳＡ

ワクチンに対するマウス抗体応答を間接ＥＬＩＳＡによって評価した。ＥＬＩＳＡプレート（ＭａｘｉＳｏｒｐ）を１μｇ／ｍｌの組換えＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイクＳ１、またはＲＢＤタンパク質で一晩コーティングし、次いでＰＢＳ中の２％ＢＳＡでブロッキングした。血清試料をＰＢＳ－Ｔで希釈した（１：２）。試料を１：６０００ヤギ抗マウスＩｇＧ－ＨＲＰ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，　Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，　ＡＬ）で検出した。反応をＳｕｒｅＢｌｕｅ　ＴＭＢ基質で展開し、ＫＰＬ（Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，　ＭＤ）からのＴＭＢ停止溶液で停止させた。Ｅｐｏｃｈ　ＥＬＩＳＡリーダー（ＢｉｏＴｅｋ，　Ｗｉｎｏｏｓｋｉ，　ＶＴ）を使用してプレートを読み取った（ＯＤ４５０）。

【０４２２】

８．ＳＡＲＳ－ＣＯＶ－２偽ウイルス中和試験（ＰＶＮＴ）

いくつかの実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２偽ウイルス中和試験を使用した。シュードタイプルシフェラーゼｒＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓｐｉｋｅは、Ｃｒｅａｔｉｖｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ　Ｉｎｃ．から購入し、このレンチウイルスベースのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓシュードタイプウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質（Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１分離株に基づく）を含有する複製制限組換えシュードタイプレンチウイルス粒子である。シュードタイプルシフェラーゼｒＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染力は、１回の複製に限定されるので、レンチウイルスベクターゲノム中にウミシイタケルシフェラーゼをコードする。そのゲノムが細胞に侵入した後に組み込まれる場合、ルシフェラーゼ発現および活性は、形質導入された細胞の数に比例する。

【０４２３】

ｐＶＮＴを決定するために、２０μＬのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクシュードタイプウイルス（１０５　ＲＬＵ）を、２倍連続希釈した試験血清試料（１：１０の希釈から開始）と共に、５０μＬの最終体積で３７℃で１時間プレインキュベートし、続いて５×１０４個のＨＥＫ２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞を５０μＬの体積で添加することができる。感染後４８～７２時間で、等量のウミシイタケルシフェラーゼ基質（Ｐｒｏｍｅｇａ、カタログ番号２７１０）を添加し、マイクロプレートリーダー（ＢｉｏＴｅｋ）をＧｅｎ５ソフトウェアと共に使用して発光シグナルを測定した。測定は、ＣＶプール血清試料については二連で、Ｂ群プール血清試料については三連で行うことができる。ｐＶＮＴの中和％およびＩＣ５０を、以前に記載されたように計算する（Ｌｅ　Ｂｅｒｔ　ｅｔ　ａｌ．，２０２０）。

【０４２４】

９．フローサイトメトリーおよび細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）

脾細胞を、２ｕｇ／ｍＬの濃度のスパイクペプチドで６時間刺激した。６時間のインキュベーション後、細胞をＺｏｍｂｉｅ　ａｑｕａで染色し、続いて表面染色し、Ｐｅｒｍ／固定溶液（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で固定し、１×ｐｅｒｍ／洗浄緩衝液中の細胞内抗体で染色した。試料をＣｙｔｏＦｌｅｘフローサイトメーター（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ）で分析し、カウージャソフトウェア（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ）を使用して分析した。

【０４２５】

細胞を、ＩＦＮγ、ＴＮＦα、およびＩＬ－２について細胞内サイトカインについて染色した。ＣＤ４　Ｔ細胞（エフェクターメモリーＣＤ４）を、ＣＤ３＋ＣＤ４＋ＣＤ８－ＣＤ４４＋ＣＤ６２Ｌ－リンパ球に対してゲーティングした。ＣＤ８　Ｔ細胞（エフェクターメモリーＣＤ４）を、ＣＤ３＋ＣＤ４－ＣＤ８＋ＣＤ４４＋ＣＤ６２Ｌ－リンパ球に対してゲーティングした。

【０４２６】

Ｂ．結果

１．可溶性ＣＤ４０リガンド（ＳＣＤ４０Ｌ）を２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンによって発現させた

２９３Ｔ細胞を２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンでトランスフェクトし、ｓＣＤ４０Ｌの発現について分析した。免疫沈降およびウェスタンブロット法を用いて、２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンからのｓＣＤ４０Ｌの発現を確認した（図１２；四角で囲んだバンドはｓＣＤ４０Ｌを示す）。

【０４２７】

２．２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンはＴ細胞性応答を誘発した

２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンの免疫原性を、第１の免疫の１４日後および第２の免疫の１４日後に決定した（表２）。データは、２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンが、第１世代ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンと比較して、有意に増強されたＴ細胞性応答を誘導したことを示す（図１３Ａ～Ｄ）。データは、ｓＣＤ４０Ｌの存在が、より大きなＴ細胞性応答を誘発することによって２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンを改善したことを示す。

【０４２８】

３．２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンは、ｉｎ　ｖｉｖｏでスパイク特異的ＣＤ４およびＣＤ８　Ｔ細胞を刺激した

ＩＴＩ－バイシストロニックワクチンと比較して、２－Ｖワクチンをワクチン接種したマウスからの脾細胞において、より多数のＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞が観察された（図１４）。データは、ｓＣＤ４０Ｌの存在が増強を提供したことを示す。ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞はまた、細胞内サイトカインについて染色され、ＩＴＩ－バイシストロニックワクチンと比較して、２－Ｖワクチンをワクチン接種したマウスにおいて、より高い割合のＩＦＮγ、ＴＮＦα、およびＩＬ－２が染色された（図１５）。

【０４２９】

４．２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンは、ｉｎ　ｖｉｖｏでスパイク特異的抗原応答を誘発した

免疫したマウスからの血清を、１回または２回の免疫後にＳ１特異的抗体についてＥＬＩＳＡによって分析した。図１６Ａ～Ｂは、Ｓ１結合抗体の総ＩｇＧを示す。図１６Ｃ～Ｄは、ＩｇＧ２ａ抗体を示す。図１６Ｅ～Ｆは、ＩｇＧ１抗体を示す。データは、２－ＶＣＯＶＩＤワクチンがＩＴＩ－バイシストロニックワクチンと比較して優れたＳ１特異的抗原応答を誘発したことを実証する。ＩｇＧ１応答は、２－Ｖ　ＣＯＶＩＤワクチンの単回投与後に特に顕著であった（図１６Ｅ）。

【０４３０】

５．概要

２－Ｖワクチンは、第１世代ワクチンと比較して、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞応答の両方を含むスパイク特異的Ｔ細胞応答を有意に増強した。２－Ｖワクチンはまた、単回免疫用量後にＳ１特異的抗体応答、特にＩｇＧ１レベルを増強した。

【０４３１】

実施例３．可溶性ＣＤ４０Ｌ（ＳＣＤ４０Ｌ）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＣＤ４０Ｌバイシストロニックワクチンから発現される

この実施例では、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（図１１；配列番号１９７）、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰをコードするバイシストロニックＤＮＡワクチン、およびｓＣＤ４０Ｌの４－三量体バージョンを考察する。本明細書で考察されるデータは、癌に対するバイシストロニックＤＮＡワクチンの使用を支持する。

【０４３２】

ＣＤ４０リガンド（ＣＤ４０Ｌ）は、活性化Ｔ細胞、特にＣＤ４　Ｔ細胞の表面上に発現される膜貫通タンパク質であり、抗原提示細胞（ＡＰＣ）のＣＤ４０依存性活性化を刺激し、Ｔ細胞および抗体応答の増強をもたらす。ＣＤ４０Ｌの可溶性多量体形態（ｓＣＤ４０Ｌ）は、ワクチン免疫原性を増強するためのアジュバントとして作用し得る。この実施例に記載されるように、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌバイシストロニック構築物

を、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰを発現するが、ｓＣＤ４０Ｌなどのいかなる第２のポリペプチドも発現しない構築物に対して試験した。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、対照ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ　ＤＮＡで免疫化したマウスと比較して、マウスにおいて有意に増強されたＨＥＲ２特異的Ｔ細胞および抗体応答を誘発した。細胞内染色は、ワクチン中にｓＣＤ４０Ｌを含めることが、主にＣＤ４　Ｔ細胞において、強力な抗原特異的Ｔ細胞（ＩＦＮγ）産生を誘導したことを明らかにした。さらに、マウスＴＳＡ乳癌ｍｏｃｅｌにおいて、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、治療ワクチン設定において腫瘍増殖を有意に阻害し、生存を延長し、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌワクチンがｉｎ　ｖｉｖｏで抗腫瘍有効性を促進するための有効な戦略であることを示唆した。

【０４３３】

Ａ．材料および方法

一般に、この実施例で使用した材料および方法は、上記の実施例１～２に記載した通りであり、以下の変更を加えた。

【０４３４】

１．ワクチン構築物

これらの実施例で論じられるＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌバイシストロニック構築物（図１１；配列番号１９７）は、２つの発現カセットを含む。第１のカセットは、ＣＭＶプロモーターによって駆動されて、ＬＡＭＰ－ＨＥＲ２／ＥｒＢＢ２融合タンパク質（配列番号１９５；または配列番号１９８、続いて配列番号２００、続いて配列番号２０２）を発現する。第２のカセットは、ＥＦ１プロモーターによって駆動されて、界面活性剤タンパク質Ｄ（ＳＰＤ）（配列番号１９６）の本体に融合された４－三量体可溶性ＣＤ４０Ｌ（Ｇｏｍｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，　２００９；　Ｓｔｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，　２００６）をコードする可溶性マウスＣＤ４０リガンド（ｓＣＤ４０Ｌ；ＧｅｎＢａｎｋ受託番号Ｘ６５４５３．２）を発現する。３つのアミノ酸ＨＲＲがＳＰＤとｓＣＤ４０Ｌとの間に存在する。構築物は、ＨＥＲ２抗原をＭＨＣ　ＩＩコンパートメントに送達するように設計され、これは、抗体産生およびＣＤ４　Ｔ細胞応答の両方を増強し得るが、ｓＣＤ４０Ｌポリペプチド構築物は分泌される。

【０４３５】

ｓＣＤ４０Ｌを含まないＨＥＲ２－ＬＡＭＰ構築物を対照ワクチンとして使用した。

【０４３６】

スパイクをコードするバイシストロニックＤＮＡワクチン（Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ）を対照ベクター（すなわち、陰性対照）として使用した。

【０４３７】

２．免疫および血清収集

６週～８週齢の雌Ｃ５７ＢＬ／６マウスを飼育し、認可された飼育施設で維持した。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌワクチンの免疫スケジュールを図１３Ａおよび表３に示す。マウスを、耳への皮内（ＩＤ）注射によって、２０μｇの対照ベクターまたはワクチンで免疫化した。実験は、２回目の投与の１週間後、すなわち２２日目に終了した。脾細胞を１μｇ／ｍＬのＨＥＲ２プールペプチドで４８時間処理した。

【表７８】

表 3. 免疫化スケジュール

グループ	治療	濃度 (mg/mL)	用量 (μg)	経路	#マウス	体積 (μL)	マウスID	0日目	14日目	22日目
A	対照ベクタースパイク-LAMP	3.1	20	ID(耳)	5	20	001-005	1回目の免疫化	2回目の免疫化	T細胞および抗体応答を決定するための終了
B	LAMP-Hinge-HER2	3.0	20	ID(耳)	7	20	006-012			
C	LAMP-HER2-sCD40L	2.0	20	IM(耳)	7	20	013-019			

【０４３８】
３．構築物の一過性トランスフェクションおよびＥＬＩＳＡ
ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌをトランスフェクトした２９３Ｔ細胞を、ｓＣＤ４０Ｌの発現について分析した。スパイクをコードするバイシストロニックＤＮＡワクチン（Ｓｐｉｋｅ－ＬＡＭＰ）を陰性対照とした。トランスフェクションの５日後、これらの細胞からの上清を回収し、ＥＬＩＳＡを用いてｓＣＤ４０Ｌを検出した。
【０４３９】
４．ＥＬＩＳＰＯＴによる抗原特異的Ｔ細胞応答の評価
材料および方法は、重複スパイクペプチドの代わりに重複ＨＥＲ２ペプチド（ＧｅｎｓｃｒｉｐｔまたはＪＰＴから購入）を使用したことを除いて、上記の実施例２に記載されている通りであった。
【０４４０】
５．フローサイトメトリーおよび細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）
免疫マウスからの脾細胞（図１８Ａ）を、ＨＥＲ２ペプチドプールと共に、またはそれなしで、ブレフェルジンＡおよびモネンシンと共に５時間インキュベートした。
【０４４１】
６．ＥＬＩＳＡ
ＨＥＲ２に対するマウス抗体応答を間接ＥＬＩＳＡによって評価した。ＥＬＩＳＡプレート（ＭａｘｉＳｏｒｐ）を１μｇ／ｍｌのＨＥＲ２タンパク質で一晩コーティングした。
【０４４２】
７．統計
統計分析は、Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用して行った。一元配置ＡＮＯＶＡを使用して、各群を比較した。
【０４４３】

８．マウス乳房腫瘍モデル

マウスを、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬまたはＨＥＲ２－ＬＡＭＰの２回の用量で免疫し、続いて、２×１０^{5}個のＨＥＲ２発現ＴＳＡ（マウス乳癌）細胞を注射した。血液細胞を１μｇ／ｍＬのＨＥＲ２ペプチドプールで刺激し、ＥＬＩＳＰＯＴによって分析した。腫瘍を、キャリパーを使用して測定した。

【０４４４】

Ｂ．結果

１．可溶性ＣＤ４０リガンド（ＳＣＤ４０Ｌ）をＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＣＤ４０Ｌによって発現させた

２９３Ｔ細胞をＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌでトランスフェクトし、ｓＣＤ４０Ｌの発現について分析した。ＥＬＩＳＡを使用して、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬからのｓＣＤ４０Ｌの発現を確認した（図１７Ａ～Ｂ）。例えば、ｓＣＤ４０Ｌは、２９３Ｔ細胞の上清中に検出された。

【０４４５】

２．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＣＤ４０Ｌは、ＨＥＲ２特異的細胞性および体液性応答を誘発した

ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌの免疫原性を、第２の免疫化用量の１週間後である２２日目に決定した（図１８Ａおよび表３）。データは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬをワクチンＬ接種したマウスが、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ、すなわちｓＣＤ４０Ｌを含まずに構築されたワクチンをワクチン接種したマウスと比較して、有意なＴ細胞応答を有したことを示す（図１８Ｂ～Ｃ）。データはまた、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬをワクチンＬ接種したマウスが、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ対照をワクチン接種したマウスと比較して、総ＩｇＧ（図１８Ｄ）、ＩｇＧ１（図１８Ｄ）、およびＩｇＧ２ａ（図１８Ｄ）抗体を増加させたことを示す。まとめると、データは、ｓＣＤ４０Ｌの存在が、ｉｎ　ｖｉｖｏでのＴ細胞および抗体応答の改善を促進したことを示す。

【０４４６】

３．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＣＤ４０Ｌは、ＣＤ８　Ｔ細胞よりも効率的にＣＤ４　Ｔ細胞を刺激した。

免疫したマウスからの脾細胞を、ＨＥＲ２ペプチドプールを用いてまたは用いずに、ブレフェルジンＡおよびモネンシン（方法のパート５を参照のこと）の存在下で５時間インキュベートした。次いで、細胞を細胞内染色し、フローサイトメトリーによって分析した。エフェクターメモリーＣＤ４またはＣＤ８　Ｔ細胞を、ＣＤ３＋ＣＤ４４＋ＣＤ６２Ｌ－ＣＤ４＋またはＣＤ８％リンパ球に対してゲーティングした。図１９Ａ～Ｂのデータは、図１９Ａでは平均＋／－ＳＥＭとして、図１９Ｂでは代表的なＦＡＣＳプロットとして示される。図１９Ａ～Ｂに示されるように、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、ＣＤ８　Ｔ細胞よりも効率的にＣＤ４　Ｔ細胞を刺激した。データはまた、ｓＣＤ４０Ｌの存在がＣＤ４およびＣＤ８　Ｔ細胞の両方の刺激の増強を提供したことを示す（図１９Ａ～Ｂ）。

【０４４７】

４．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＣＤ４０Ｌは、ｉｎ　ｖｉｖｏでＨＥＲ２特異的抗体応答を誘発した

ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬまたはＨＥＲ２－ＬＡＭＰまたはベクター対照（ＣＶ）のいずれかの２回の免疫化後に、免疫化マウスからの血清をＨＥＲ２特異的ＩｇＧ抗体についてＥＬＩＳＡによって分析した。図２０は、ＨＥＲ２結合抗体の総ＩｇＧを示す。データは、ｓＣＤ４０Ｌの存在が、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰと比較して改善された抗体応答を誘発したことを実証する。

【０４４８】

５．概要

ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌワクチンは、ｉｎ　ｖｉｖｏで強いＨＥＲ２特異的Ｔ細胞および抗体応答を誘発した。ワクチンはまた、ＣＤ８　Ｔ細胞と比較してＣＤ４

Ｔ細胞を増強し、ｓＣＤ４０Ｌがｉｎ　ｖｉｖｏでＣＤ４　Ｔ細胞に優先的に作用することを示唆した。以下の実施例４は、マウス乳房腫瘍モデルにおけるＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌの効果を考察する。

【０４４９】

別の研究（示さず）において、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ自己増幅ＲＮＡ構築物もまた調製し、そしてＢＨＫ－２１細胞をトランスフェクトするために使用し、そしてトランスフェクトされた細胞がｓＣＤ４０Ｌを分泌したことをウエスタンブロットによって確認した。

【０４５０】

実施例４．ＴＳＡ乳癌モデルにおけるバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ　ＩＲＥＧ発現ＤＮＡワクチンの抗腫瘍効果

ワクチン誘導性免疫応答は、免疫応答を増幅し、免疫応答の質を変化させ、かつ／または免疫細胞浸潤をもたらす腫瘍微小環境を創出することができる免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ）の発現によって増強することができる。先の実施例は、ＤＮＡワクチンへのＣＤ４０Ｌの添加が、ｉｎ　ｖｉｖｏで増強されたＴ細胞および抗体応答を誘発したことを議論する。この実施例は、ＩＲＥＧ　Ｆｌｔ３Ｌ、ＩＬ－２１、ＩＬ－２１、またはＯＸ４０Ｌを有するＨＥＲ２－ＬＡＭＰワクチンを考察する。データは、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＲＥＧワクチンが免疫原性を増強し、抗腫瘍特性を有することを実証する。

【０４５１】

Ａ．材料および方法

一般に、この実施例で使用した材料および方法は、上記の実施例１～３に記載した通りであり、以下の変更を加えた。

【０４５２】

１．ワクチン構築物

ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ（配列番号１９７）およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ対照は、上記の実施例１および３に記載されている通りであった。

【０４５３】

ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦＬＴ３Ｌ（配列番号２０８）、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２（配列番号２１２）、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－２１（配列番号２１６）、およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＯＸ４０Ｌ（配列番号２４１）を、実施例１に記載されるように構築した。

【０４５４】

対照ベクター（ＣＶ）は、遺伝子挿入を全く伴わないベクターを使用した。

【０４５５】

２．免疫化

６週～８週齢の雌ＢＡＬＢ／ｃマウスをＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（Ｍａｉｎｅ，　ＵＳＡ）から購入した。2×10^{5}個のＴＳＡ－ＨＥＲ腫瘍細胞を皮下（ｓｃ）注射した２日後、マウスの耳にＤＮＡワクチンをＩＤによって免疫した。マウスを、表４に示すように、さらに３回免疫した。

【表７９】

表４．免疫化スケジュール

グループ	ワクチン	用量(μg)	#マウス	体積(μL)	マウスID	0日目	2日目	9日目	16日目	23日目	45日目
A	対照ベクター(CV)	20	10	20	41－50	2×10^5個のTSA-HER2細胞のsc注射	１回目の免疫化(ID耳)	２回目の免疫化(ID耳)	３回目の免疫化(ID耳)	４回目の免疫化(ID耳)	腫瘍増殖およびマウス生存をモニターするための最終日
B	HER2-LAMP-CD40L	20	10	20	51－60						
C	HER2-LAMP-Flt3L	20	10	20	61－70						
D	HER2-LAMP-IL-21	20	10	20	71－80						
E	HER2-LAMP-IL-12	20	10	20	81－90						
F	HER2-LAMP-OX40L	20	10	20	91－100						

【０４５６】

３．腫瘍モニタリング

２×１０^{5}個のＴＳＡ－ＨＥＲ２腫瘍細胞を、初回免疫の２日前に乳腺脂肪パッドに注射した。腫瘍を週２回または週１回測定した。腫瘍直径を長さ×幅の平方根として計算し、腫瘍体積を式４／３πｒ^{3}を用いて計算した。腫瘍体積が２，０００ｍｍ^{3}に達したとき、または瀕死のときにマウスを安楽死させた。

【０４５７】

４．統計

結果は、平均＋標準偏差として示される。統計分析は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェア、バージョン９．０．２を使用することによって実施した。両側スチューデントＴ検定を使用した。＊ｐ＜０．０５；＊＊ｐ＜０．０１；＊＊＊ｐ＜０．００１；＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【０４５８】

Ｂ．結果

１．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＣＤ４０Ｌは、ｉｎ　ｖｉｖｏでＨＥＲ２に対して抗腫瘍効果を示した

マウス乳房腫瘍モデルにおけるＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌの効果を試験した。マウスを、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬまたはＨＥＲ２－ＬＡＭＰの２回の投与で免疫化した後、ＨＥＲ２発現ＴＳＡ細胞でチャレンジした。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌで処置したマウスからの血液細胞は、より多くのＩＦＮγスポットを有した（図２１Ａ）。いずれかのワクチンで処置したマウスは１７日間腫瘍増殖を有しなかったので、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬまたはＨＥＲ２－ＬＡＭＰの両方は抗腫瘍効果を有した（図２１Ｂ）。また、マウスを４５日間観察して、ワクチンがマウス生存に影響を及ぼすかどうかを決定した。処置マウスの生存の確率を図２２Ｂに示す。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰの両方がマウス生存を増強したが、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、ＨＥＲ２発現細胞に対してより保護的であるようであった。

【０４５９】

２．免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ）を有するバイシストロニックワクチンｉｎ　ｖｉｖｏでの抗腫瘍効果の実証

他のＩＲＥＧと組み合わせたＨＥＲ２－ＬＡＭＰの効果を試験した。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０Ｌに加えて、ワクチンについて以下を試験した：（１）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－Ｆｌｔ３Ｌ（配列番号２０８）、（２）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－２１（配列番号２１６）、（３）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２（配列番号２１２）、および（４）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＯＸ４０Ｌ（配列番号２４１）。全ての場合において、ワクチン接種マウスの腫瘍は、ＣＶ処置マウスの腫瘍よりも遅い増殖速度を示した（図２３）。試験した５つのＨＥＲ２－ＬＡＭＰワクチンのうち、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－２１は、最も低いレベルの腫瘍抑制を示したが、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０ＬおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－Ｆｌｔ３Ｌは、最も高いレベルの腫瘍抑制を示した（図２３）。

【０４６０】

３．免疫応答増強遺伝子（ＩＲＥＧ）を有するバイシストロニックワクチンマウス生存の改善

５種のＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＲＥＧワクチン－（１）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０Ｌ、（２）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－Ｆｌｔ３Ｌ、（３）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－２１、（４）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２、および（５）ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＯＸ４０Ｌの全てを、マウス生存に対するそれらの影響について試験した。マウスに、最初にＴＳＡ－ＨＥＲ２細胞を皮下注射し、次いで、ＴＳＡ－ＨＥＲ２細胞の注射の２、９、１６、および２３日後に４回の別々の免疫化を施した。４５日間にわたって、マウスの生存をモニターした。データは、全ての免疫化マウスが、対照ベクター（ＣＶ）で処置されたマウスと比較して生存を改善したことを示す（図２４）。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０Ｌを受けたマウスは、最も高い生存確率を示した（図２４）。

【０４６１】

４．概要

腫瘍増殖は、試験した全てのＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＲＥＧワクチンによって抑制された。ＣＤ４０Ｌは、最も高い抗腫瘍保護を提供し、Ｆｌｔ３ＬおよびＩＬ－１２が続いた。また、全てのＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＲＥＧワクチンはマウス生存を改善した。マウス生存の改善は、腫瘍増殖のワクチン抑制に対応する。

【０４６２】

実施例５．バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５ワクチンは、マウスにおいて抗原特異的Ｔ細胞応答を誘発する

ＩＬ－１５は、顕著な抗腫瘍免疫応答を有することが実証されているＴヘルパー１型サイトカインであり（Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，２０１４）、特定の前臨床試験において腫瘍抗原の宿主寛容を逆転させ得る。ＩＬ－１５は、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、ガンマ・デルタ（γδ）Ｔ細胞、ＩＬＣ１細胞、上皮内リンパ球（ＩＥＬ）、ＣＤ１０３＋ＣＤ５６＋ＣＤ４４＋を発現する自然細胞、及びメモリーＣＤ８　Ｔ細胞の生成を刺激する１４～１５　ｋＤａの４アルファ－ヘリックス－バンドルファミリーサイトカインファミリーメンバーである（Ｍｏｔｅｇｉ　ｅｔ　ａｌ．

，２００８；Ｗｕ＆Ｘｕ，２０１０）。ＩＬ－１５は、ＩＬ－２と同様に、Ｔ細胞の増殖を刺激し、細胞傷害性リンパ球および記憶表現型ＣＤ８　Ｔ細胞の生成を誘導し、そしてＮＫ細胞の増殖および維持を刺激する。ＩＬ－２とは対照的に、ＩＬ－１５は、活性化誘導細胞死滅（ＡＩＣＤ）を媒介せず、Ｔｒｅｇを一貫して活性化せず、毛細血管漏出症候群を引き起こすことが少ない。ＩＬ－１５の有効性は、同系導入遺伝子腺癌マウス前立腺癌細胞（ＴＲＡＭＰ－Ｃ２）、Ｐｍｅｌ－１マウス、Ｂ１６黒色腫細胞、Ｍｃ３８細胞、およびＣＴ２６結腸癌細胞を用いた試験を含む、複数のマウス免疫療法試験において観察された。これらの研究は、ＩＬ－１５が癌治療においてＩＬ－２よりも有効であり得ることを示唆する（Ｇｕｏ　ｅｔ　ａｌ．，２０２１；Ｈｅｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，２０１５；Ｋｌｅｂａｎｏｆｆ　ｅｔ　ａｌ．，２００４；Ｍｏｒｒｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，２０１４；Ｒａｕｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，２０１４）。

【０４６３】

この実施例は、バイシストロニックＨＥＲ２　ＤＮＡワクチンによって誘導されるマウス免疫応答に対するＩＬ－１５の効果を考察する。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０ＬおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５によって誘導される免疫応答を比較した。

【０４６４】

Ａ．材料および方法

一般に、この実施例で使用した材料および方法は、上記の実施例１～４に記載した通りであり、以下の変更を加えた。

【０４６５】

１．ワクチン構築物

この実施例で考察されるワクチンは、ＬＡＭＰ－Ｈｉｎｇｅ－ＨＥＲ２（ＩＲＥＧポリペプチドを伴わずにＨＥＲ２－ＬＡＭＰのみを発現する）、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５構築物（ポリペプチドＨＥＲ２－ＬＡＭＰを発現する、例えば、配列番号１９５を参照されたい）、および分泌ＩＬ－１５、例えば、Ｉｇ－カッパシグナル配列配列番号２２５を有するＩＬ－１５）、ＬＡＭＰ－ＨＥＲ２－ＣＤ４０Ｌ（配列番号１９７）、および対照ベクター（ＣＶ、すなわち、いかなる遺伝子挿入も伴わないベクター）である。これらのワクチンは、先の実施例に記載されたように調製した。

【０４６６】

２．免疫化

６週～８週齢の雌ＢＡＬＢ／ｃマウスを飼育し、認可された飼育施設で維持した。マウスを、耳への皮内（ＩＤ）注射によって、以下の表５に示されるようなワクチンで処置した。マウスを０日目および１６日目にワクチンで免疫した。マウスを３６日目に採血した。血清を回収し、－３０℃で保存した。脾臓を１４日目および３６日目に採取し、ＥＬＩＳＰＯＴのために処理して、ＨＥＲ２特異的Ｔ細胞応答を評価した。

【表８０】

表５．免疫化スケジュール

グループ	ワクチン	濃度 (mg/mL)	用量 (μg)	#マウス	体積 (μL)	マウスID	-1日目	0日目	14日目	15～17日目	29日目	36日目
A	対照ベクター (CV)	3.3	20	10	20	2095-2104	前抽気	１回目の免疫化(ID 耳)	１群当たり５匹のマウスを屠殺し、血清および脾臓を採取する。	２回目の免疫化(ID 耳)	採血血清	終了マウス;血清および脾臓を採取した。
B	LAMP-Hinge-HER2	3.0	20	10	20	2105-2114						
C	HER2-LAMP CD40L	2.0	20	10	20	2115-2124						
D	HER2 LAMP IL-15	1	20	10	50	2125-2134						

【０４６７】

３．抗原特異的Ｔ細胞応答の評価

脾細胞から赤血球（ＲＢＣ）を枯渇させ、Ｕ底９６ウェルプレートにおいて、２００μｌ／ウェルのＴ細胞培地（Ｌ－グルタミンおよびＨＥＰＥＳ（ＡＴＣＣ）、１％ペニシリン、１％ストレプトマイシン、および５×１０$^{-5}$Ｍβメルカプトエタノール（βＭＥ）を含むＲＰＭＩ－１６４０）中、１×１０^{6}細胞／ウェルで、１μｇ／ｍＬ　ＨＥＲ２ペプチド混合物または培地単独と共に、ブレフェルジンＡ下、５％CO_2中、３７℃で５時間、共培養した。プレートを１２００ｒｐｍで６分間遠心分離し、細胞ペレットを細胞内染色のために収集した。

【０４６８】

４．ＥＬＩＳＰＯＴ

Ｔ細胞応答についてのＥＬＩＳＰＯＴ分析に関する一般的な材料および方法は、上記の実施例２～３に記載された通りであったが、この実施例に関する改変および特定の詳細は、本明細書に提供される。９６ウェルニトロセルロースプレート（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を、ＰＢＳ中の捕捉モノクローナル抗体１００μＬ／ウェルで４℃にて一晩コーティングした。プレートを２００μＬ／ウェルのＴ細胞培地で３回洗浄し、２００μＬ／ウェルのＴ細胞培地で少なくとも２時間室温でブロッキングした。脾細胞を３×１０^{5}細胞／ウェルでプレーティングし、１μｇ／ウェルのＴ細胞培地（Ｌ－グルタミンおよびＨＥＰＥＳ（ＡＴＣＣ）、１％ペニシリン、１％ストレプトマイシン、および５×１０$^{-5}$Ｍβメルカプトエタノール（βＭＥ）を含むＲＰＭＩ－１６４０）と共に、５％CO_2中、３７℃で４８時間共培養した。プレートを２００μＬ／ウェルのＰＢＳで２回、２００μＬ／ウェルのＰＢＳ－Ｔ（ＰＢＳ中０．０５％Ｔｗｅｅｎ）で２回洗浄した。希釈した検出抗体（ＰＢＳ－Ｔ／０．５％ＢＳＡ中５０μＬ／ウェル）を添加し、プレートを室温で振盪しながら２時間インキュベートした。プレートをＰＢＳで４回洗浄した。ＰＢＳ（５０μＬ／ウェル）で希釈したストレプトアビジン－アルカリホスファターゼを添加し、２時間イ

ンキュベートした。プレートをＰＢＳで４回洗浄し、５０μＬ／ウェルの３－アミノ－９－エチルカルバゾール（ＡＥＣ、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）基質で１０分間発色させた。水道水を流しながら洗浄することによって発色を停止させた。暗所で室温で７２時間乾燥させた後、ＡＩＤ　ＥＬＩＳＰＯＴ　Ｈｉｇｈ－Ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎ　Ｒｅａｄｅｒ　ＳｙｓｔｅｍおよびＡＩＤ　ＥＬＩＳＰＯＴソフトウェアバージョン３．５（Ａｕｔｏｉｍｍｕｎ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｋａ　ＧｍｂＨ）を使用して、ｃｏｌｒｏｅｄスポットを計数した。

【０４６９】

５．フローサイトメトリー

Ｔ細胞応答についてのＥＬＩＳＰＯＴ分析に関する一般的な材料および方法は、先の実施例に記載されている通りであったが、この実施例に関する改変および特定の詳細は、本明細書に提供されている。細胞を、最初にＰＢＳ中のＺｏｍｂｉｅ　ａｑｕａ　ｆｉｘａｂｌｅ　ｖｉａｂｉｌｉｔｙ　ｄｙｅ（１：５００希釈）で標識し、続いて染色緩衝液（ＰＢＳ中の４％ＦＢＳ、２％ラット血清、２％マウス血清）中の表面抗体（１：１００希釈）で標識した。細胞内染色のために、細胞をＺｏｍｂｉｅ　ａｑｕａで染色し、続いて表面染色し、４％パラホルムアルデヒドで固定し、透過処理緩衝液（１％ＦＣＳ、０．１％サポニンを含むＰＢＳ）中の細胞内抗体で染色した。

【０４７０】

６．統計

統計的有意性を評価するために、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　６．０ソフトウェアを使用してＴ検定を実施した。各マウスのＲＰＭＩの結果を、抗原活性化の結果から差し引いた。

【０４７１】

Ｂ．結果

１．ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－５は強いＴ細胞応答を誘発した

ＩＲＥＧを含まないＨＥＲ２ワクチン（ＬＡＭＰ－Ｈｉｎｇｅ－ＨＥＲ２）と比較した場合、ＩＲＥＧを含む２つのバイシストロニックワクチン、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５、およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０Ｌは、ＥＬＩＳＡによって測定されるように、より強い抗原特異的抗体応答を誘導した（図２５）。バイシストロニックワクチンはまた、強力なＴ細胞応答を誘発した。いずれかのバイシストロニックワクチンの１回用量は、前記応答を誘発するのに十分であったが（図２６）、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５の２回用量は、ＬＡＭＰ－Ｈｉｎｇｅ－ＨＥＲ２またはＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０Ｌのいずれかの２回用量よりも強い応答を誘発した（図２７Ａ～Ｂ）。

【０４７２】

２．概要

Ｈｉｎｇｅ－ＬＡＭＰ－ＨＥＲ２、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５、およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０Ｌによって誘導される免疫応答を比較した。両方のバイシストロニックワクチン、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５、およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＣＤ４０Ｌは、特に各ワクチンの２用量を投与した場合、Ｈｉｎｇｅ－ＬＡＭＰ－ＨＥＲ２と比較して、強いＴ細胞応答を誘導した。両方のバイシストロニックワクチンは、ＣＤ８　Ｔ細胞と比較して、ＩＦＮγを産生するＣＤ４　Ｔ細胞を増強した。しかしながら、ＨＥＲ２－ＣＤ４０ＬとＨＥＲ２－ＩＬ－１５処置の間に有意差はなかった。ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１５の抗腫瘍活性を決定するための研究が進行中である。

【０４７３】

本明細書に記載されているものの変形、修正、および他の実装形態が、本開示および特許請求の範囲の趣旨および範囲から逸脱することなく当業者には想起されるであろう。特定された特許、特許出願、国際出願、および参考文献の全ては、その全体が参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０４７４】

実施例６．ＩＮ　ＶＩＶＯでのバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＯＬＵＢＬ

Ｅ－ＣＤ４０Ｌの抗腫瘍活性

Ａ．導入

ＤＮＡベクターによって送達された非バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰおよびバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌの抗腫瘍有効性を乳房腫瘍モデルにおいて比較し、腫瘍微小環境におけるサイトカインプロファイルを調査した。投与および分析スケジュールを図２９Ａに示す。図２９～３９にまとめて示される全体的な結果は、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、腫瘍増殖の有意な抑制によって抗腫瘍効果を増強すること（図２９および３６）；バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、メモリーＴ細胞および腫瘍微小環境（ＴＭＥ）へのＴ細胞の浸潤に系統的に影響を及ぼすこと（図３０～３１）；バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、流入領域リンパ節におけるＤＣ１樹状細胞の活性化によって、抗原提示細胞がＩＬ－１２を産生することを誘導すること（図３２）；バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、ＴＭＥにおける炎症反応を活性化し、腫瘍を「コールド」から「ホット」に変えること（図３３）；バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、ＴＭＥにおいてＣＤ４　Ｔ細胞がＰＤ－１を産生するのを促進すること（図３４）；バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、脾臓においてＨＥＲ２－ＬＡＭＰ　ＤＮＡワクチンと比較してより強いＩＦＮｇ産生を誘発すること（図３７）；構築物によって発現される可溶性ＣＤ４０Ｌが、脾臓において抗原提示細胞を誘導してＤＣ１活性化を増強すること（図３８）；ならびにバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、腫瘍周囲組織および腫瘍内組織においてＣＤ４およびＣＤ８Ｔ細胞を増加させること（図３９）を示した。

【０４７５】

Ｂ．概要および結果

非バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ及びバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌのｉｎ　ｖｉｖｏでの腫瘍増殖抑制能を試験するために、乳房腫瘍モデルにおいて、雌ＢＡＬＢ／ｃマウスに、０日目にＨｅｒ２を発現する1×10^{5}個のＴＳＡ細胞を接種し（乳腺脂肪パッドに注射）、続いて２日目及び９日目に２０μｇの対照ベクター、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ、又はバイシストロニック－Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌを２０μｌのＰＢＳで免疫した。各処置群には７匹のマウスがいた。腫瘍サイズをキャリパーによってモニターした。腫瘍直径を長さ×幅の平方根として計算し、腫瘍体積を式$4/3\pi r^{3}$を用いて計算した。血清を、最後の投与の５日後（または１４日目）に収集した。実験は、最後の投与の６日後（または１５日目）に終了し、腫瘍は終了時に秤量した。図２９Ａは、研究設計の概略図を示す。図２９Ｂ～Ｃは、各群７匹のマウスを用いたこの実験の実行からの結果を示す。これらの図は、個々の動物および各動物群について、腫瘍移植後４～１３日の腫瘍サイズ（mm^{3}）の変化を示す。図２９Ｂ～Ｃに見られるように、バイシストロニック構築物は、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰまたは対照のいずれかよりも効果的に腫瘍成長を抑制した。図２９Ｄは、腫瘍重量（ｇ）の変化を示す。図から分かるように、バイシストロニック構築物を対照と比較して腫瘍重量の統計的に有意な減少（＊＊ｐ＜０．０１）、ならびにＨＥＲ２－ＬＡＭＰ群とバイシストロニック構築物群との間の腫瘍重量の統計的に有意な差（＊ｐ＜０．０５）があった。

【０４７６】

その後の実験のために、腫瘍をはさみで２～４ｍｍ片に細かく切り刻み、２．５ｍｌの解離培地（１００μｌの酵素Ｄ、５０μｌの酵素Ｒおよび１２．５μｌの酵素Ａを含む２．３５ｍｌのＲＰＭＩ）を含むｇｅｎｔｌｅＭＡＣＳ（商標）Ｃチューブに入れた。腫瘍をｇｅｎｔｌｅＭＡＣＳ（商標）分離装置で処理し、続いて３７℃でインキュベートした。細胞を７０ｍｍメッシュフィルターを通して濾過し、１０ｍｌのＲＰＭＩで２回洗浄し（３００ｇで７分間）、次いでＰＢＳ／１％ＦＢＳ染色緩衝液中に再懸濁し、蛍光抗体と共にインキュベートし、以下に記載するようにフローサイトメトリーに供した。蛍光結合ＣＤ３、ＣＤ４５、ＣＤ１１ｃ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１０３、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＮＫ１．１、ＣＤ２５、ＦｏｘＰ３、ＣＤ２４、ＩＬ－１２、ＩＬ－２、ＣＤ４、ＣＤ８、Ｃ

Ｄ４４、ＣＤ６２Ｌ、ＩＦＮγ、ＴＮＦαモノクローナル抗体およびＺｏｍｂｉｅ ａｑｕａ ｆｉｘａｂｌｅ ｖｉａｂｉｌｉｔｙ ｋｉｔは、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）から購入した。一元配置ＡＮＯＶＡを、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ（登録商標）６．０ソフトウェアを使用して実施して、以下に記載されるように、統計的有意性を評価した。各マウスのＲＰＭＩの結果を、抗原活性化の結果から差し引いた。

【０４７７】

図３０は、各処置群における終了時の脾細胞中のＣＤ３＋メモリーＴ細胞のパーセンテージを示す。脾臓細胞を、Ｚｏｍｂｉｅ、細胞表面マーカー、および社内染色プロトコールに従った細胞内染色によって染色した。細胞を、Ｚｏｍｂｉｅ－ＣＤ４４＋ＣＤ６２Ｌ－ＣＤ３＋メモリーＴ細胞に対してゲーティングした。図３０のデータは、平均＋ＳＥＭ（１群当たり７匹のマウス）を表す。この実験に基づいて、図に示されるように、対照と比較して、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ処置群においてＣＤ３＋メモリーＴ細胞の統計的に有意な増加があった（＊ｐ＜０．０５）。

【０４７８】

図３１Ａ～Ｃは、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ構築物が、腫瘍微小環境（ＴＭＥ）へのＴ細胞の浸潤を促進したことを示す。終了の１日後、腫瘍を洗浄し、秤量し、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ（登録商標）腫瘍解離キットおよびｇｅｎｔｌｅＭＡＣＳ（商標）解離装置を使用して消化し、蛍光抗体で染色した。細胞は、ＣＤ４およびＣＤ８についてはＣＤ４５＋ＣＤ３＋Ｚｏｍｂｉｅ－ｐｏｐｕｌａｔｉｏｎに、エフェクターメモリーＴ細胞（ＴＥＭ細胞）についてはＣＤ４５＋ＣＤ３＋Ｚｏｍｂｉｅ－ＣＤ４４＋ＣＤ６２Ｌにゲートをかけた。結果を図３１Ａ～Ｃに示し、データは平均＋ＳＥＭを表す。データが示すように、対照またはＨＥＲ２－ＬＡＭＰ構築物と比較して、バイシストロニック構築物を投与したマウスにおいて、腫瘍微小環境へのＴ細胞の浸潤が統計的により高い。

【０４７９】

図３２Ａ～Ｃは、マウスにおいてバイシストロニック構築物から発現された可溶性ＣＤ４０Ｌが、流入領域リンパ節においてＩＬ－１２を産生する１型樹状細胞（ＤＣ１細胞）の活性化を増強したことを示す。終了後、リンパ球細胞を調製し、Ｚｏｍｂｉｅ表面マーカーによって染色し、細胞内染色を社内染色プロトコールに従って行った。図３２Ａに示すように、ＤＣ１細胞を、Ｚｏｍｂｉｅ－ＣＤ４５＋ＭＨＣＩＩ＋ＣＤ１１ｃ＋ＣＤ２４＋ＣＤ１０３＋細胞に対してゲーティングした。ＤＣ細胞はＭＨＣＩＩ＋ＣＤ１１Ｃ＋と定義し、ＤＣ１細胞はＭＨＣＩＩ＋ＣＤ１１Ｃ＋ＣＤ２４＋ＣＤ１０３＋ＣＤ１１ｂ－と定義し、ＤＣ２細胞はＭＨＣＩＩ＋ＣＤ１１Ｃ＋ＣＤ２４＋ＣＤ１１ｂ＋と定義した。図３２Ｂは、ＣＤ８を発現するＤＣ１細胞の割合を示し、図３２Ｃは、ＩＬ－１２を発現するＤＣ１細胞の割合を示す。一元配置ＡＮＯＶＡ統計分析は、バイシストロニック構築物が、対照およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ実験の両方と比較して、そのようなＩＬ－１２発現ＤＣ１細胞の統計的に有意な増加をもたらしたことを示す。

【０４８０】

図３３Ａ～Ｂは、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ構築物が、腫瘍微小環境において炎症性シグナルを活性化することを示す。実験終了の１日後、腫瘍を洗浄し、秤量し、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ（登録商標）腫瘍解離キットおよびｇｅｎｔｌｅＭＡＣＳ（商標）解離装置を使用して消化し、蛍光抗体で染色した。細胞を、Ｚｏｍｂｉｅ－ＣＤ４５＋ＣＤ６９ＣＤ４＋／ＣＤ８＋細胞に対してゲーティングした。データは、平均＋ＳＥＭを表す。図に示すように、対照と比較して、バイシストロニック構築物での処置後の腫瘍においてＣＤ４＋ＣＤ６９＋およびＣＤ８＋ＣＤ６９＋細胞の統計的に有意な増加があった（＊はｐ＜０．５を示す）。

【０４８１】

図３４Ａ～Ｂに示されるさらなるデータは、バイシストロニック構築物がまた、腫瘍微小環境においてＴ細胞がＰＤ－１を産生することを促進したことを示す。実験終了の１日後、腫瘍を洗浄し、秤量し、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ（登録商標）腫瘍解離キットおよびｇｅｎ

ｔｌｅＭＡＣＳ（商標）解離装置を使用して消化し、蛍光抗体で染色した。細胞を、ＣＤ４についてはＣＤ４５＋ＣＤ３＋ＰＤ１＋ＣＤ４＋Ｚｏｍｂｉｅ－ｐｏｐｕｌａｔｉｏｎに、ＣＤ８についてはＣＤ４５＋ＣＤ３＋ＰＤ１＋ＣＤ８＋Ｚｏｍｂｉｅ－にゲートした。図に示されるように、バイシストロニック構築物は、対照及びＨＥＲ２－ＬＡＭＰ構築物の両方と比較して、ＣＤ４　ＰＤ－１＋細胞の数の統計的に有意な増加を示した。

【０４８２】

図２９Ａに記載のプロトコールに従って、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰおよび対照と比較して統計的に有意な様式で腫瘍成長を抑制したことを示すさらなるデータを図３６に提供し、ここで、実験を１群あたり５匹のマウスで繰り返した。１群あたり５匹のマウスを用いた実験のこの実行後、さらなるデータを収集した。図３５は、バイシストロニック構築物がまた、ＨＥＲ２細胞外ドメイン（ＥＣＤ）の特定のプールされたペプチドに対してより強いＴ細胞応答を誘導したことを示す。実験の終了時に、マウスからの脾細胞を、１μｇ／ｍｌのＨｅｒ２プールペプチド（個々のペプチドは、ＧｅｎＳｃｒｉｐｔから合成し、Ｐ１～Ｐ６と呼ばれる６つの異なるプールにプールした）と共に４８時間インキュベートした。データは、元のスポット（上）および平均ＩＦＮγスポット形成細胞±ＳＥＭ（下、ｎ＝５）を表す。統計分析には二元配置分散分析を用いた。＊ｐ＜０．０５、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。具体的には、ワクチン接種マウスからの脾細胞を、酵素結合免疫スポット（ＥＬＩＳＰＯＴ）によって抗原特異的ＩＦＮγ産生について評価し、検出抗体の添加後の着色スポットを、ＡＩＤ　ＥＬＩＳＰＯＴ高分解能リーダーシステムおよびＡＩＤ　ＥＬＩＳＰＯＴソフトウェアバージョン３．５（Ａｕｔｏｉｍｍｕｎ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｋａ　ＧｍｂＨ）を使用して計数した。フローサイトメトリーのために、細胞を、まずＰＢＳ中のＺｏｍｂｉｅ　ａｑｕａ　ｆｉｘａｂｌｅ　ｖｉａｂｉｌｉｔｙ　ｄｙｅ（１：５００希釈）で標識し、続いて染色緩衝液（ＰＢＳ中の４％ＦＢＳ、２％ラット血清、２％マウス血清）中の表面抗体（１：１００希釈）で標識した。細胞内染色のために、細胞をＺｏｍｂｉｅ　ａｑｕａで染色し、続いて表面染色し、４％パラホルムアルデヒドで固定し、透過処理緩衝液（１％ＦＣＳ、０．１％サポニンを含むＰＢＳ）中の細胞内抗体で染色した。試料をＣｙｔｏＦｌｅｘ（登録商標）フローサイトメーター（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ）で分析し、Ｋａｌｕｚａ（登録商標）ソフトウェア（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ）を使用して分析した。図３７Ａ～Ｄに提供されるＦＡＣＳ分析からの棒グラフは、バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ構築物が、脾臓において多機能性ＣＤ４エフェクターメモリーＴ細胞を誘導したことを示す。この分析のために、脾細胞を、ブレフェルジンＡおよびモネンシンの存在下で、Ｈｅｒ２プールペプチド（個々のペプチドは、ＧｅｎＳｃｒｉｐｔから合成した）と共に６時間インキュベートした。細胞を回収し、Ｚｏｍｂｉｅ、表面マーカーによって染色し、細胞内染色し、記憶Ｔ細胞にゲートをかけた。図３７Ａ～Ｄは、ＦＡＣＳからのバーｇｒｓｐｈｓを示す。データは、平均±ＳＥＭを表す。統計分析には二元配置ＡＮＯＶＡを用い、＊Ｐ＜０．０５、＊＊Ｐ＜０．０１、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１であった。

【０４８３】

１群あたり５匹のマウスを用いた実験のこの第２の実行からの樹状細胞もまた分析した。図３８Ａ～Ｂに示すように、脾細胞を採取し、Ｚｏｍｂｉｅで染色し、Ｚｏｍｂｉｅ－ＣＤ４５＋ＭＨＣＩＩ＋ＣＤ１１ｃ＋ＣＤ２４＋ＣＤ１０３＋にゲートをかけ、そのようなＣＤ２４＋ＣＤ１１ｂ－ＣＤ１０３＋樹状細胞のパーセンテージを決定した。図３８Ｂに示すように、対照と比較して、およびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ構築物と比較して、バイシストロニック構築物を受けたマウスの脾臓において、統計的により多くのそのような細胞が存在した（＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１；ｎ＝５／群）。

【０４８４】

最後に、図３９は、バイシストロニック構築物から発現されたｓＣＤ４０Ｌが、対照及びＨＥＲ２－ＬＡＭＰ構築物と比較して、統計的に有意な様式で、腫瘍中のＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を増加させたことを示す細胞染色データの結果をさらに示す。具体的には

、ｉｎ　ｖｉｖｏ実験の終了後、腫瘍を収集し、１０％ホルマリン中で固定した。組織を切断し、スライドにマウントし、Ｕｌｔｉｖｕｅ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＭＡ、ＵＳＡ）によってＤＡＰＩ、抗ＣＤ４または抗ＣＤ８、および抗ＦｏｘＰ３で染色した。図３９Ａ～Ｂは、元の画像化データから分析された棒グラフを示す。データは、平均＋ＳＥＭを表す。ＣＶおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰについてはｎ＝３、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌについてはｎ＝４。一元配置ＡＮＯＶＡを統計分析に使用した。＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１。

【０４８５】

実施例７．バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＭＦＬＴ３ＬおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＳＣＤ４０Ｌを用いたｉｎ　ｖｉｖｏ研究

この研究の目的は、免疫応答が、ＤＮＡベクターとして提供されるバイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌ構築物の両方での免疫化によって増強されるか否かを決定することであった。６週～８週齢のＢａｌｂ／ｃマウスをＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（Ｍａｉｎｅ，ＵＳＡ）から購入した。２０μｇの対照ベクター、ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ（ＨＥＲ２－Ｈｉｎｇｅ－ＬＡＭＰとも呼ばれる）、バイシストロニック－Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ、バイシストロニック－ＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌ、またはＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０ＬおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌの両方のワクチンを、皮内注射のために、１用量あたり１マウスあたり２０μｌの総体積で使用した。各群には７匹のマウスを含めた。マウスを０日目および１４日目に免疫し、２回目の投与の１０日後に終了した。Ｈｅｒ２特異的Ｔ細胞応答をＥＬＩＳＰＯＴおよびＦＡＣＳアッセイによって評価した。実験は、最後の投与の１０日後に終了した。脾細胞をＨｅｒ２プールペプチド（ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ）と共に４８時間インキュベートした。データを図４０Ａ～Ｂに示し、元のスポット（上）および平均ＩＦＮγスポット形成細胞±ＳＥＭを表す。一元配置ＡＮＯＶＡを統計分析に使用した（＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１）。図４０Ａ～Ｂに見られるように、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌは、Ｈｅｒ２プールペプチド１、２、３、４および５によってリコールされる有意により強いＴ細胞応答を誘導したが、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰおよびＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌは、プールペプチド１および２に対するＴ細胞応答のみを誘発した。さらに、バイシストロニック構築物のそれぞれは、個々に投与された場合、特定のプールされたＨｅｒ２　ＥＣＤペプチドの脾細胞認識をもたらしたが、そのような認識に関して相乗効果は見られなかった。

【０４８６】

図４１に示すように、バイシストロニックＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌ、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌ、および組み合わせワクチンもまた、モノシストロン性ＤＮＡと比較してより高い抗体応答を誘導し、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌワクチンが最も高い抗体応答を示した。具体的には、実験の終了時に、血清試料を収集し、ＨＥＲ２特異的ＩｇＧを間接ＥＬＩＳＡによって測定した。データを図４１に示し、抗体力価の平均±ＳＥＭを表す。１群当たりｎ＝６。統計分析にはｔ検定を用いた。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１。

【０４８７】

図４２Ａ～Ｄに示すように、研究は、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ　ＤＮＡワクチンと比較して、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｓＣＤ４０Ｌが多機能性ＣＤ４　Ｔ細胞を増加させる一方で、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌが多機能性ＣＤ８　Ｔ細胞を増強することをさらに実証した。この分析のために、脾細胞（１×１０^{6}／ウェル）を、モネシンおよびブレフェルジンＡを含むＴ細胞培地（１０％熱不活性化ＦＢＳ、１％ペニシリン／ストレプトマイシン、および１×β－ＭＥを含むＲＰＭＩ）中のＨｅｒ２プールペプチド（１μｇ／ｍｌ、ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ）で５時間刺激した。細胞を回収し、Ｚｏｍｂｉｅ、表面マーカー、および細胞内染色により、社内染色プロトコールに従って染色した。細胞を、メモリーＴ細胞上でＦＡＣＳのためにゲーティングした。図４２Ａ～Ｄは、元のＦＡＣＳから分析された棒グラフを示す。データは、平均＋ＳＥＭを表す。一元配置分散分析を統計分析に使

用した。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【０４８８】

実施例８．バイシストロニックＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＭＦＬＴ３ＬおよびＨＥＲ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２を用いたｉｎ　ｖｉｖｏ研究

さらなる実験において、雌Ｂａｌｂ／ｃマウスに、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰまたはＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２またはＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３ＬをコードするｐＤＮＡベクター２０μｇ、または対照ベクターまたはＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２およびＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌの混合物２０μｇを０日目および１４日目に皮内注射した。血清試料を２２日目に採取した。ＨＥＲ２特異的ＩｇＧを間接ＥＬＩＳＡによって測定した。結果を図４３に示し、Ｈｅｒ２－ＬＡＭＰ－ｍＦｌｔ３Ｌ構築物がＨｅｒ２－ＬＡＭＰ－ＩＬ－１２構築物よりも高い抗体応答を提供したことを示す。

【０４８９】

参考文献

Beatty, G. L., Chiorean, E. G., Fishman, M. P., Saboury, B., Teitelbaum, U. R., Sun, W., Huhn, R. D., Song, W., Li, D., Sharp, L. L., Torigian, D. A., O ’ Dwyer, P. J., & Vonderheide, R. H. (2011). CD40 agonists alter tumor stroma and show efficacy against pancreatic carcinoma in mice and humans. Science (New York, N.Y.), 331(6024), 1612-1616. https://doi.org/10.1126/science.1198443

Beatty, G. L., Li, Y., & Long, K. B. (2017). Cancer immunotherapy: Activating innate and adaptive immunity through CD40 agonists. Expert Review of Anticancer Therapy, 17(2), 175-186. https://doi.org/10.1080/14737140.2017.1270208

Chen, X., Ni, J., Meng, H., Li, D., Wei, Y., Luo, Y., & Wu, Y. (2014). Interleukin-15: A potent adjuvant enhancing the efficacy of an autologous whole-cell tumor vaccine against Lewis lung carcinoma. Molecular Medicine Reports, 10(4), 1828-1834. https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2474

Gomez, C. E., Najera, J. L., Sanchez, R., Jimenez, V., & Esteban, M. (2009). Multimeric soluble CD40 ligand (sCD40L) efficiently enhances HIV specific cellular immune responses during DNA prime and boost with attenuated poxvirus vectors MVA and NYVAC expressing HIV antigens. Vaccine, 27(24), 3165-3174. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.03.049

Grewal, I. S., & Flavell, R. A. (1998). CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. Annual Review of Immunology, 16, 111-135. https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.16.1.111

Guo, J., Liang, Y., Xue, D., Shen, J., Cai, Y., Zhu, J., Fu, Y.-X., & Peng, H. (2021). Tumor-conditional IL-15 pro-cytokine reactivates anti-tumor immunity with limited toxicity. Cell Research, 31(11), 1190-1198. https://doi.org/10.1038/s41422-021-00543-4

Heon, E. K., Wulan, H., Macdonald, L. P., Malek, A. O., Braunstein, G. H., Eaves, C. G., Schattner, M. D., Allen, P. M., Alexander, M. O., Hawkins, C. A., McGovern, D. W., Freeman, R. L., Amir, E. P., Huse, J. D., Zaltzman, J. S., Kauff, N. P., Meyers, P. G., Gleason, M. H., Overholtzer, M. G., … Press, O. A. (2015). IL-15 induces strong but short-lived tumor-infiltrating CD8 T cell responses through the regulation of Tim-3 in breast cancer. Biochemical and Biophysical Research Communications, 464(1), 360-366. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.162

Klebanoff, C. A., Finkelstein, S. E., Surman, D. R., Lichtman, M. K., Ga

ttinoni, L., Theoret, M. R., Grewal, N., Spiess, P. J., Antony, P. A., Palmer, D. C., Tagaya, Y., Rosenberg, S. A., Waldmann, T. A., & Restifo, N. P. (2004). IL-15 enhances the in vivo antitumor activity of tumor-reactive CD8+ T cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(7), 1969-1974. https://doi.org/10.1073/pnas.0307298101

Le Bert, N., Tan, A. T., Kunasegaran, K., Tham, C. Y. L., Hafezi, M., Chia, A., Chng, M. H. Y., Lin, M., Tan, N., Linster, M., Chia, W. N., Chen, M. I.-C., Wang, L.-F., Ooi, E. E., Kalimuddin, S., Tambyah, P. A., Low, J. G.-H., Tan, Y.-J., & Bertoletti, A. (2020). SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. Nature, 584(7821), 457-462. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2550-z

Morris, J. C., Ramlogan-Steel, C. A., Yu, P., Black, B. A., Mannan, P., Allison, J. P., Waldmann, T. A., & Steel, J. C. (2014). Vaccination with tumor cells expressing IL-15 and IL-15Rα inhibits murine breast and prostate cancer. Gene Therapy, 21(4), 393-401. https://doi.org/10.1038/gt.2014.10

Motegi, A., Kinoshita, M., Inatsu, A., Habu, Y., Saitoh, D., & Seki, S. (2008). IL-15-induced CD8+CD122+ T cells increase antibacterial and anti-tumor immune responses: Implications for immune function in aged mice. Journal of Leukocyte Biology, 84(4), 1047-1056. https://doi.org/10.1189/jlb.0807530

Rauch, D. A., Harding, J. C., & Ratner, L. (2014). IL-15 deficient tax mice reveal a role for IL-1α in tumor immunity. PloS One, 9(1), e85028. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085028

Schoenberger, S. P., Toes, R. E., van der Voort, E. I., Offringa, R., & Melief, C. J. (1998). T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. Nature, 393(6684), 480-483. https://doi.org/10.1038/31002

Stone, G. W., Barzee, S., Snarsky, V., Kee, K., Spina, C. A., Yu, X.-F., & Kornbluth, R. S. (2006). Multimeric soluble CD40 ligand and GITR ligand as adjuvants for human immunodeficiency virus DNA vaccines. Journal of Virology, 80(4), 1762-1772. https://doi.org/10.1128/JVI.80.4.1762-1772.2006

van Mierlo, G. J. D., den Boer, A. T., Medema, J. P., van der Voort, E. I. H., Fransen, M. F., Offringa, R., Melief, C. J. M., & Toes, R. E. M. (2002). CD40 stimulation leads to effective therapy of CD40(-) tumors through induction of strong systemic cytotoxic T lymphocyte immunity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99(8), 5561-5566. https://doi.org/10.1073/pnas.082107699

Vonderheide, R. H., Dutcher, J. P., Anderson, J. E., Eckhardt, S. G., Stephans, K. F., Razvillas, B., Garl, S., Butine, M. D., Perry, V. P., Armitage, R. J., Ghalie, R., Caron, D. A., & Gribben, J. G. (2001). Phase I study of recombinant human CD40 ligand in cancer patients. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 19(13), 3280-3287. https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.13.3280

Wu, Z., & Xu, Y. (2010). IL-15R alpha-IgG1-Fc enhances IL-2 and IL-15 anti-tumor action through NK and CD8+ T cells proliferation and activation. Journal of Molecular Cell Biology, 2(4), 217-222. https://doi.org/10.1093/jmcb/mjq012

【０４９０】

均等物

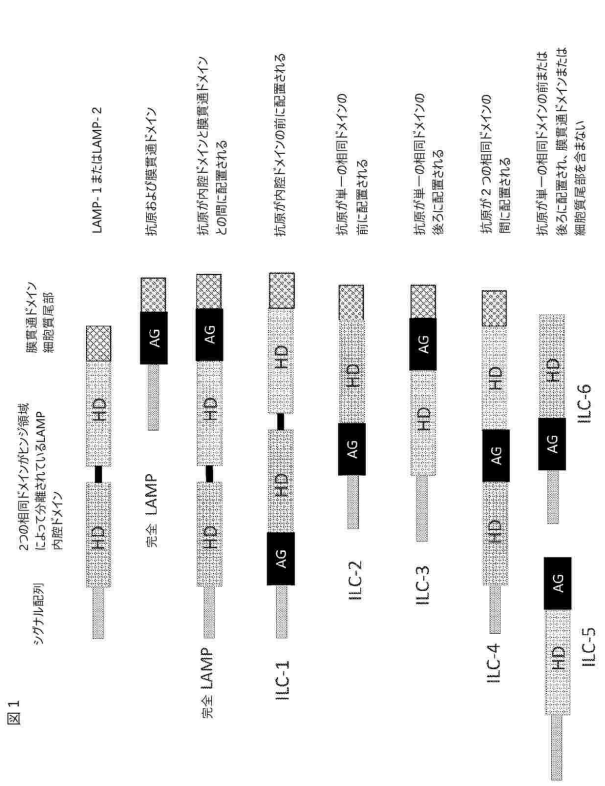
上記の明細書は、当業者が実施形態を実施することを可能にするのに十分であると考えられる。上記の説明および実施例は、特定の実施形態を詳述し、本発明者らによって企図される最良の形態を記載する。しかしながら、上記がテキストにおいていかに詳細に現れても、実施形態は、多くの方法で実施されてもよく、添付の特許請求の範囲およびその任意の均等物に従って解釈されるべきであることが理解されるであろう。

【０４９１】

本明細書で使用される場合、約という用語は、明示的に示されているか否かにかかわらず、例えば、整数、分数、およびパーセンテージを含む数値を指す。約という用語は、一般に、当業者が列挙された値と同等である（例えば、同じ機能または結果を有する）と考える数値の範囲（例えば、列挙された範囲の＋／－５～１０％）を指す。少なくともおよび約などの用語が数値または範囲のリストに先行する場合、その用語は、リストに提供される値または範囲のすべてを修飾する。いくつかの例では、約という用語は、最も近い有効数字に丸められた数値を含み得る。

【図面】

【図１】



【図２Ａ－１】

図2A

遺伝子名 アクセション番号	別名	配列番号	オルソログ	シグナル配列	内腔ドメイン			膜貫通ドメイン	細胞質尾部
					第1の相同ドメイン	ヒンジ領域	第2の相同ドメイン		
h. LAMP-1 NP_005552.3	CD107a; LAMPA; LGP120	1	SEQ ID NO: 6-24	1-28	29-194	195-227	228 から 381 または 382	382 または 383 から 405	406-417
h. LAMP-2 NP_002285.1	CD107b; LAMPB; LGP110	2	SEQ ID NO:25-43	1-28	29-192	193-228	229-375	376-399	400-410
h. LAMP-3 NP_055213.2	CD208; DC LAMP; DC-LAMP; DCLAMP; TSC403	3	SEQ ID NO:44-55	1-27	28-219	220-234	235-381	382-402	403-416
LIMP-2 Q14108	AMRF; EPM4; LGP85; CD36L2; HLGP85; LIMPII; SR-BII; SCARB2	4	SEQ ID NO:56-66	*5-27 膜貫通 *切断不能	28-433			434-459	460-478
h. Endolyn NP_006007.2	シアロムチン CD164 MUC-24	5	SEQ ID NO:73-79	1-23	24-162			163-183	184-197
マクロシアリン NP_001242.2	CD68	80	SEQ ID NO: 81-92	1-21	22-319			320-344	345-354

【図２Ａ－２】

図2A つづき

	BD-LAMP	93	SEQ ID NO: 94-101	1-29	30-235	236-256	257-280
h. LIMBiC NP_002329.2	LSAMP IGLON3	67	SEQ ID NO: 68-72 and 102-113	1-28	29-315	316-338	尾部を含まず

【図２Ｂ】

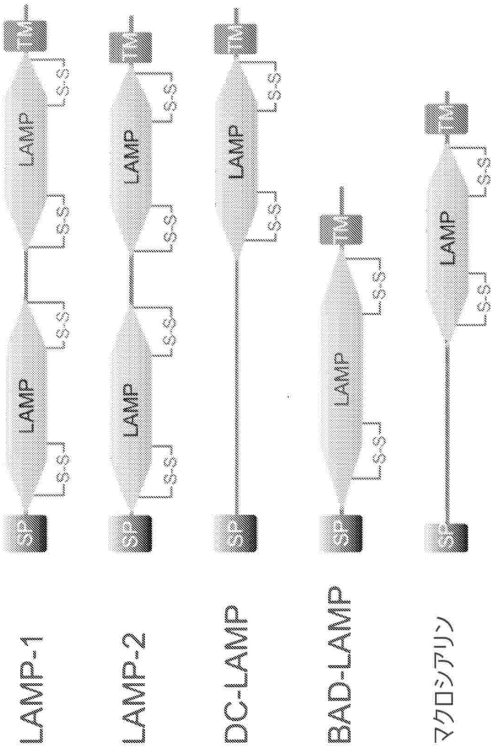
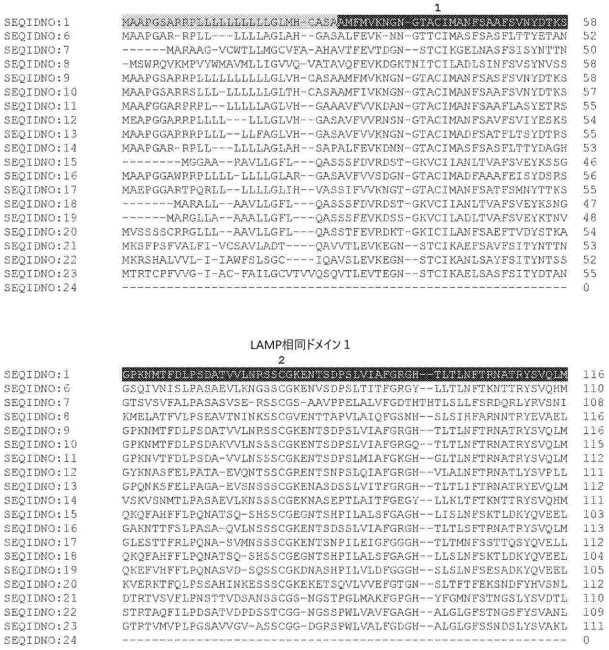


図2B

【図３－１】

図３：ヒトLAMP－１とオルソロガス配列とのアライメント



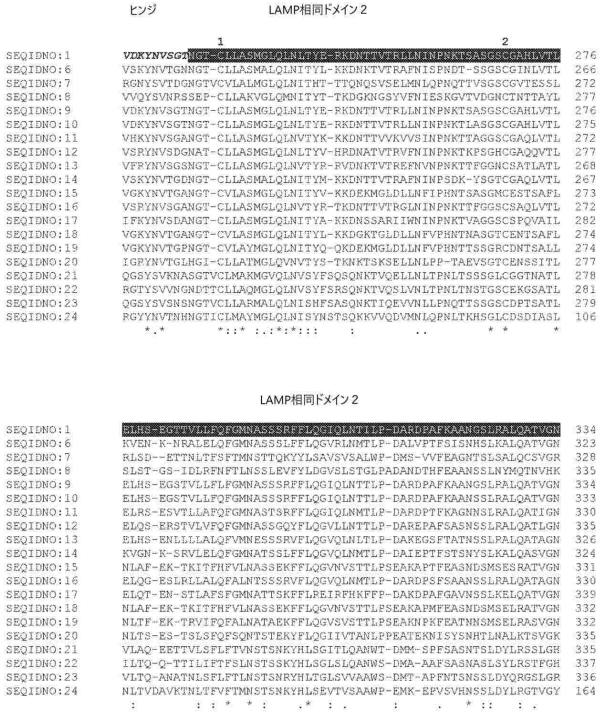
【図３－２】

図３つづき



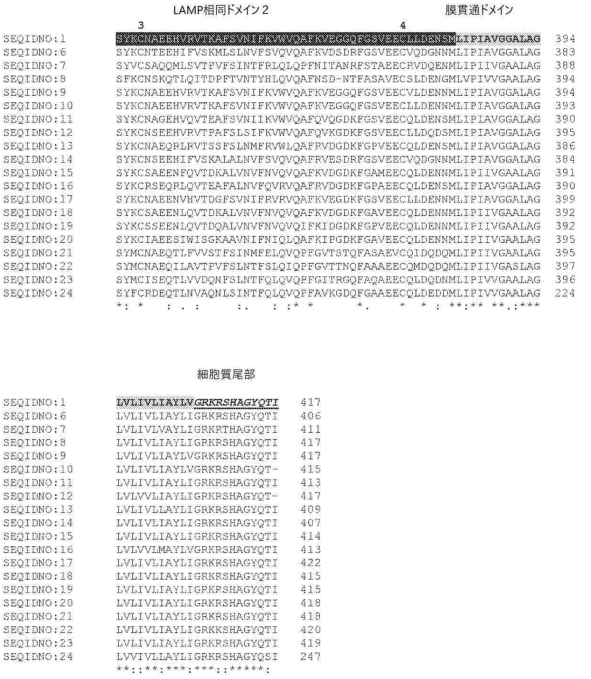
【図３－３】

図３つづき



【図３－４】

図３つづき



【図３－５】

図３つづき

LAMP-1					
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_005552.3	*H. sapiens*	1	NP_990614.1	*G. gallus*	15
NP_034814.2	*M. musculus*	6	NP_001011507.1	*S. scrofa*	16
NP_955996.1	*D. rerio*	7	XP_001374132.1	*M. domestica*	17
NP_001087042.1	*X. laevis*	8	XP_003203252.1	*M. gallopavo*	18
NP_001233491.1	*P. troglodytes*	9	XP_002191607.2	*T. guttate*	19
XP_001087801.1	*M. mulatta*	10	XP_003218797.1	*A. carolinensis*	20
XP_534193.2	*C. lupus familiaris*	11	XP_004067118.1	*O. latipes*	21
XP_002723509.1	*O. cuniculus*	12	XP_003969941.1	*T. rubripes*	22
NP_001068592.1	*B. taurus*	13	NP_001158846.1	*S. salar*	23
NP_036989.1	*R. novegicus*	14	XP_003452974.1	*O. niloticus*	24

【図４－１】

図４：ヒトLAMP－２とオルソロガス配列とのアライメント



【図４－２】

図４つづき



【図４－３】

図４つづき



【図４－４】

図４つづき



【図４－５】

図４つづき



【図４－６】

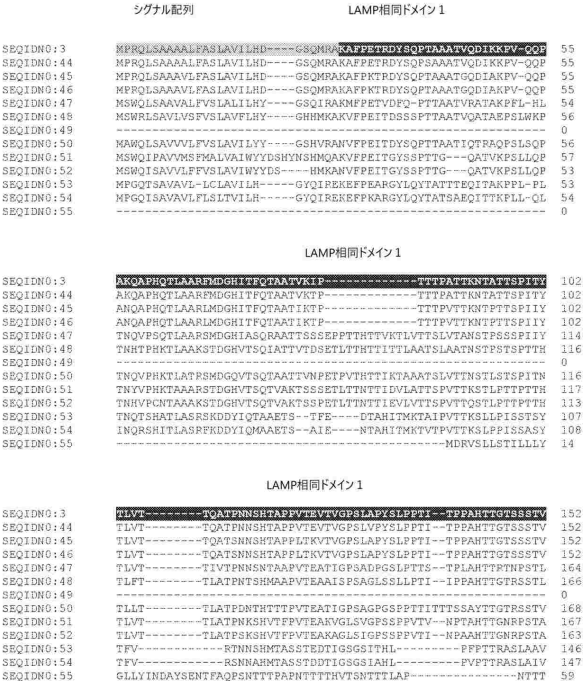
図４つづき



	LAMP-2				
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_002285.1	*H. sapiens*	2	NP_001231184.1	*S. scrofa*	34
NP_034815.2	*M. musculus*	25	XP_004022401.1	*O. aries*	35
NP_001087881.1	*X. laevis*	26	NP_058764.2	*R. norvegicus*	36
NP_001013551.1	*D. rerio*	27	XP_001510101.2	*O. anatinus*	37
XP_003918270.1	*P. Anubis*	28	NP_001001749.1	*G. gallus*	38
XP_001084005.2	*M. mulatta*	29	XP_002191794.1	*T. guttata*	39
XP_003317709.1	*P. troglodytes*	30	NP_001116192.2	*X. tropicalis*	40
XP_005641822.1	*C. lupus familiaris*	31	NP_001133282.1	*S. salar*	41
XP_001493687.3	*E. caballus*	32	XP_003445830.1	*O. niloticus*	42
NP_001029742.1	*B. Taurus*	33	XP_003961835.1	*T. rubripes*	43

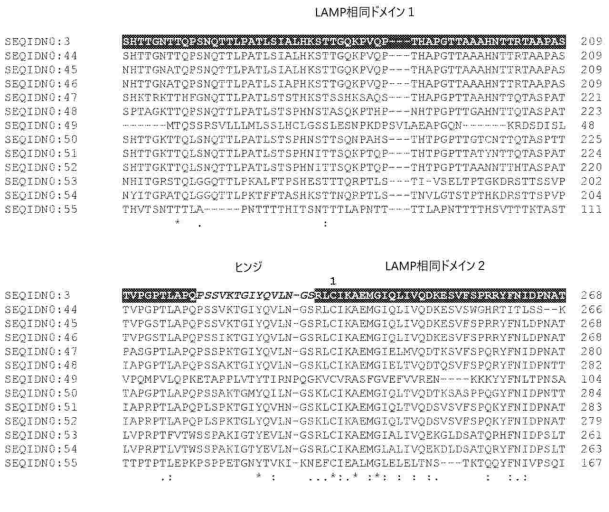
【図５－１】

図５：ヒトLAMP－３とオルソログス配列とのアライメント



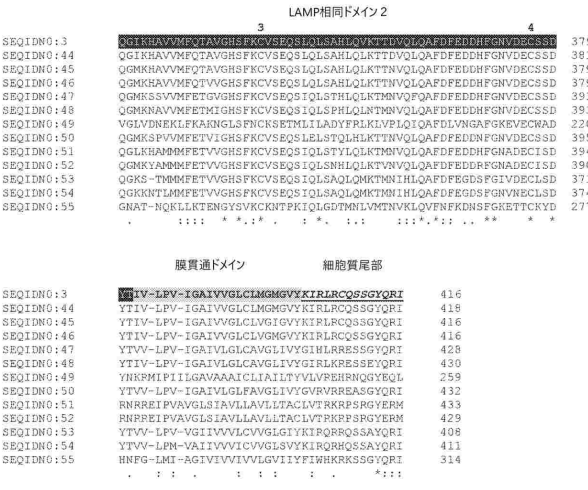
【図５－２】

図５つづき



【図５－３】

図５つづき



	LAMP-3				
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_055213.2	*H. sapiens*	3	XP_001496333.1	*E. caballus*	50
XP_001155195.3	*P. troglodytes*	44	NP_001095605.1	*B. Taurus*	51
XP_003894825.1	*P. Anubis*	45	XP_004003158.1	*O. aries*	52
NP_001028044.1	*M. mulatta*	46	NP_001012015.1	*R. norvegicus*	53
XP_848889.2	*C. lupus familiaris*	47	NP_796330.2	*M. musculus*	54
XP_003358746.1	*S. scrofa*	48	XP_002936919.2	*X. tropicalis*	55
XP_001342688.2	*D. rerio*	49			

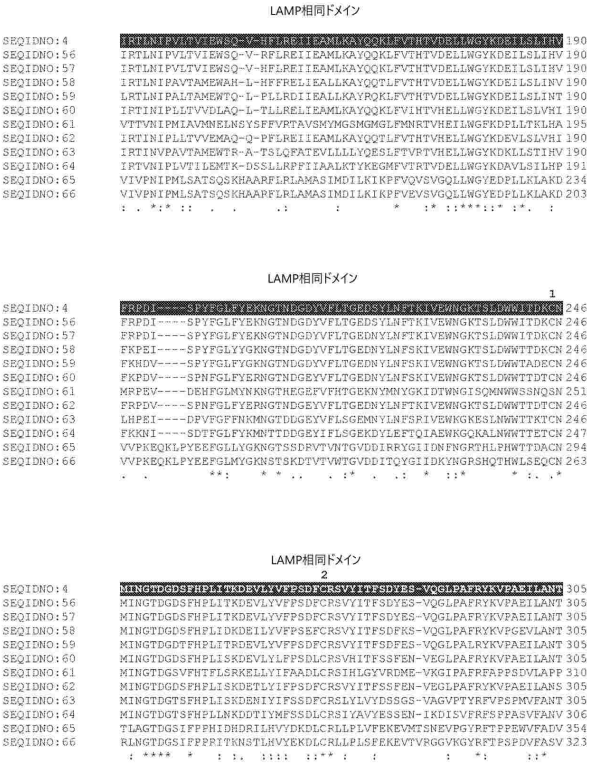
【図６－１】

図６：ヒトLAMP－２とオルソロガス配列とのアライメント



【図６－２】

図６つづき



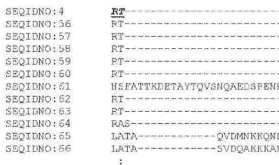
【図６－３】

図６つづき



【図６－４】

図６つづき



LIMP-2					
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_005497.1	*H. sapiens*	4	NP_775366.1	*D. rerio*	61
XP_517214.2	*P. troglodytes*	56	NP_446453.1	*R. norvegicus*	62
XP_001096458.1	*M. mulatta*	57	XP_420593.1	*G. gallus*	63
XP_005639134.1	*C. lupus familiaris*	58	NP_001016557.1	*X. tropicalis*	64
NP_001095623.1	*B. Taurus*	59	NP_726504.2	*D. Melanogaster*	65
NP_031670.1	*M. musculus*	60	XP_314345.2	*A.gambiae*	66

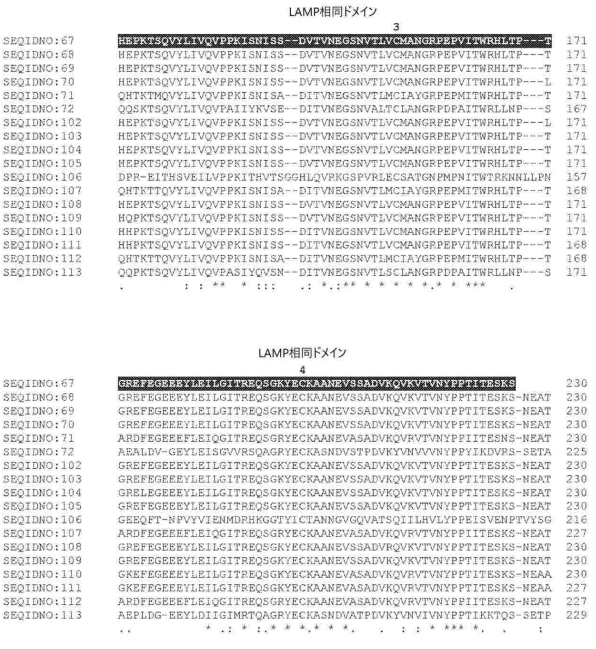
【図７－１】

図７：ヒトLIMBIC／SLAMPとオルソロガス配列とのアライメント



【図７－２】

図７つづき



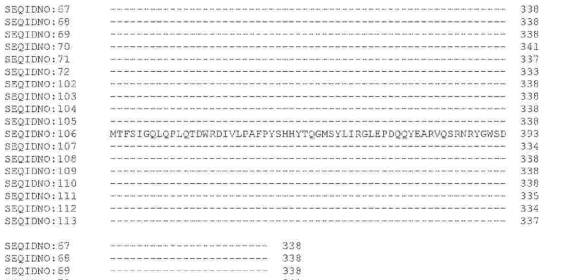
【図７－３】

図７つづき



【図７－４】

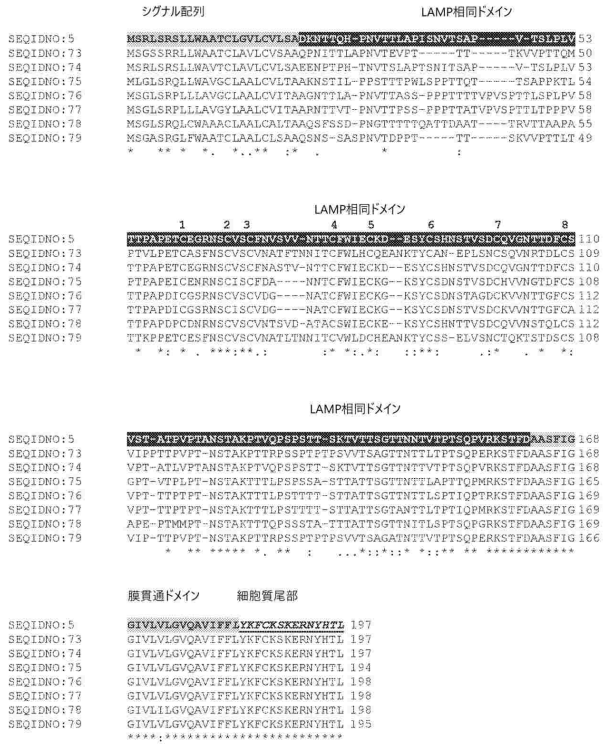
図７つづき



LIMBIC/LSAMP					
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_002329.2	*H. saplens*	67	NP_001192297.1	*B. Taurus*	105
XP_516662.2	*P. troglodytes*	68	XP_312298.5	*A.gambiae*	106
XP_002716722.1	*O. cuniculus*	69	NP_001096385.1	*X.tropicalis*	107
NP_780757.1	*M. musculus*	70	XP_003434117.1	*C. lupus familiaris*	108
NP_001086181.1	*X. laevis*	71	XP_001362972.1	*M. domestica*	109
NP_001034921.1	*D. rerio*	72	NP_990205.1	*G. gallus*	110
NP_058938.1	*R. norvegicus*	102	XP_002190582.1	*T. guttate*	111
XP_001502710.1	*E. caballus*	103	NP_001096385.1	*X. tropicalis*	112
NP_001231626.1	*S. scrofa*	104	XP_003449349.1	*O. niloticus*	113

【図８－１】

図8：ヒトENDOLYNとオルソロガス配列とのアライメント



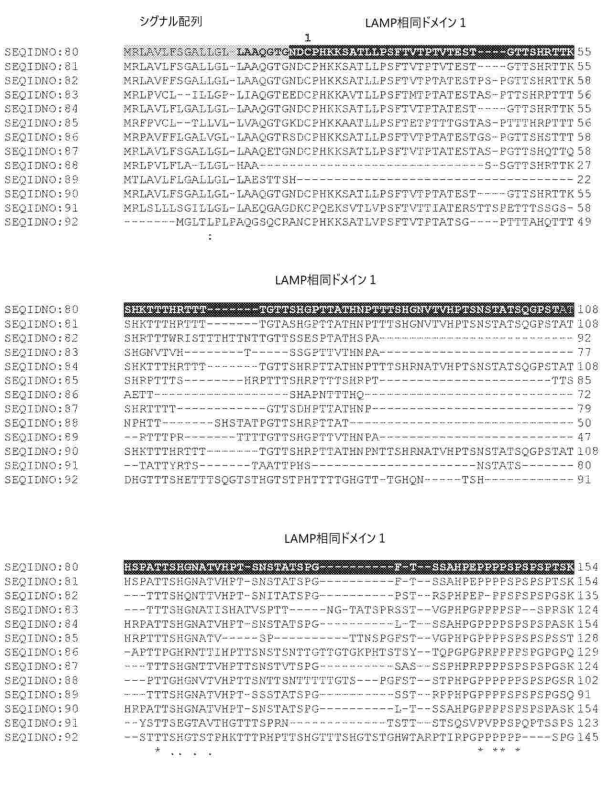
【図８－２】

図８つづき

	Endolyn				
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_006007.2	*H. sapiens*	5	NP_001039506.1	*B. taurus*	76
NP_058594.1	*M. musculus*	73	XP_004011265.1	*O. aries*	77
XP_001091286.1	*M. mulatta*	74	XP_532256.2	*C. lupus familiaris*	78
XP_001924661.2	*S. scrofa*	75	NP_114000.1	*R. norvegicus*	79

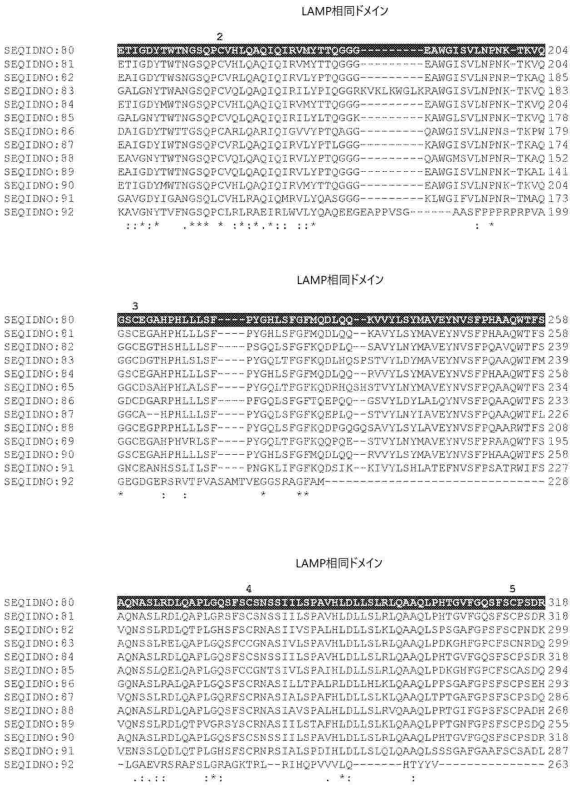
【図９－１】

図9：ヒトマクロシアリン（MACROSAILIN）とオルソロガス配列とのアライメント



【図９－２】

図９つづき



【図９－３】

図９つづき

膜貫通ドメイン　細胞質尾部

```
SEQIDNO:80   -SILLPLIIGLILLGLLALVLIAFCII RRRPSAYQAL 354
SEQIDNO:81   -SILLPLIIGLILLGLLALVLIAFCIIRRRPSAYQAL 354
SEQIDNO:82   -SILLPLIIGLILLGLLTLVLVTFCIIRRRPPTYQPL 335
SEQIDNO:83   -SLLLPLIIGLVLLGLLTLVLIAFCIIRRRQSTYQPL 335
SEQIDNO:84   -SILLPLIIGLVLLGLLALVLIAFCIVRRRPSAYQAL 354
SEQIDNO:85   -SLLLPLIIGLVLLGLLTLVLIAFCVIRRRQSTYQPL 330
SEQIDNO:86   -FNLLPLIVGVISLGLLALALVTFCIIRRRPPTYQPL 329
SEQIDNO:87   -SILLPLIIGLILLGLFALVLITFCVIRRRPPTYQAL 322
SEQIDNO:88   PSILVPLIIGLILVGLLALVLVAFCIARRRPSAYQAL 305
SEQIDNO:89   -TLLLPLIIGLIFLGLLILVLVTFCIIRRRPPAYQPL 291
SEQIDNO:90   -SILLPLIIGLVLLGLLALVLIAFCIVRRRPSAYQAL 354
SEQIDNO:91   -NILVPLVVGLVLLTLLIIVLSAFCISRRRPPAYQPL 323
SEQIDNO:92   ------------------------------------ 263
```

	マクロシアリン（Macrosailin）				
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_001242.2	*H. sapiens*	80	XP_849733.1	*C. lupus familiaris*	86
XP_003315403.1	*P. troglodytes*	81	NP_001093232.1	*E. caballus*	87
NP_001039367.1	*B. taurus*	82	XP_002719034.1	*O. aries*	88
BAA23738.1	*M. musculus*	83	XP_003131995.1	*S. scrofa*	89
XP_014974003.1	*M. mulatta*	84	XP_003912313.1	*P. anubis*	90
NP_001026808.1	*R. norvegicus*	85	XP_001369761.1	*M. domestica*	91
			XP_001517723.2	*O. anatinus*	92

【図１０－１】

図10：ヒトLAMP5とオルソログス配列とのアライメント

シグナル配列　LAMP相同ドメイン

```
                                                  1
SEQIDNO:93   MDLQGRGVPSIDRLRVLLMLFHTMAQIMAEQEVENLSGLSTNPEKDIFVVRENGTTCLMA 60
SEQIDNO:94   MDLRGRAVPSIDRLRVLLMLFHTMAQIMAEQEVENLSGLSTNPEKDIFVVRENGTTCLMA 60
SEQIDNO:95   MDLQGRAVPSVDRLRVLLMLFHTMAQIMAEQEVENLSGLSTNPEKDIFVVRENGTTCLMA 60
SEQIDNO:96   MDLRGRAFPSVYRLRVLLMLFYTMARITAEQEVENLSGLSTNPEKDIFVVRENGTTCLMA 60
SEQIDNO:97   MDLRRRALLGVDGLRVLLMLFHTVTRIMAEQEVENLSGLSTNPEKDIFVVRENGTTCLMA 60
SEQIDNO:98   MDLRVPTLLGGDRLRILLMFFHVMVQTVAEQEVENLSGLSTNPEKDIFVVRENGTTCLMA 60
SEQIDNO:99   MDLRGRALLGGDRLRILLMFFHAMAQTVAEQEVENLSGLSTNPEKDIFVVRENGTTCLMA 60
SEQIDNO:100  ---------MAAGRLPGLLFLLHAAARLAAEQEVENLSGLSPNPEKDIFVVRENRTTCLMA 52
SEQIDNO:101  ---MDYRACTSALRMPVLLLLLCTFSCNLAEQEVENLSGLSSNPDKNIFAIRENGTTCLMA 58
                        .   :  **::: .     ************ **:*:**.:*** ******
```

LAMP相同ドメイン

```
                                                  2
SEQIDNO:93   EFAAKFIVPYDVWASNYVDLITEQADIALTRGAEVKGRCGHSQSELQVFWVDRAYALKML 120
SEQIDNO:94   EFAAKFIVPYDVWASNYVDLITEQADIALTRGAEVKGRCGHSESELQVFWVDRAYALKML 120
SEQIDNO:95   EFAAKFIVPYDVWASNYVDLITEQADIALTRGAEVKGRCGHSESELQVFWVDRAYALKML 120
SEQIDNO:96   EFAAKFIVPYDVWASNYVDLITEQADISLTRGAEVKGHCGHNESELQVFWVDRAYALRML 120
SEQIDNO:97   EFAAKFIVPYDVWASNYVDLITEQADISLTRGAEVKGHCGHDESELQVFWVDRAYALKML 120
SEQIDNO:98   EFAAKFIVPYDVWASNYVDLITEQAEISLTRGAEVKGHCGHNESELEVFWVDHAYTLRML 120
SEQIDNO:99   EFAAKFIVPYDVWASNYVDLITEQAEISLTRGAEVKGRCGHNESELQVFWVDRAYTLKML 120
SEQIDNO:100  EFAAKFVVPYDVWASNYVDLITEQADIPLSRGAEMKGKCGTNESELEISWLERAYTLKLF 112
SEQIDNO:101  EFSARILVPYEVPSSNEVDWDLEEASIQLPRDTEIRGKCWNNESELHLSWLDKAYTLKLF 118
             **:*:::***:* :** **   *:*.* * *.:*::*:*  .:***.:: *:::**:*:::
```

LAMP相同ドメイン

```
SEQIDNO:93   FVK-----------------------ESHNMSKGPEATWRLSKVQFVYDSSEKTHF 153
SEQIDNO:94   FVK---------------------------ESHNMSKGPEATWRLSKVQFVYDSSEKTHF 153
SEQIDNO:95   FVK---------------------------ESHNTSKGPEATWRLSKVQFVYDSSEKTHF 153
SEQIDNO:96   FVK---------------------------ESRNASKGPEATWRLSKVQFVYDSSEKTHF 153
SEQIDNO:97   FLK---------------------------ESHNTPKGPEATWKLSKVQFVYDSSEKTHF 153
SEQIDNO:98   FVK---------------------------ESHNTSKGPEATWNLNKVHFVYDSSEKTHF 153
SEQIDNO:99   FVK---------------------------ESHNTSKGLEATWKLSKVQFVYDSSEKTHF 153
SEQIDNO:100  FLKVRGCPPRLGRGRCAAALRGPDQFCPPQEGHNTSRGPEAFWRLSRIQFSYDTSERTYF 172
SEQIDNO:101  FSK---------------------------EGQDA--SKSRSWKMSKIQFLYDPSEHTIF 149
             * *                            *.::   . .  *.:.:::* ** **:* *
```

【図１０－２】

図10つづき

LAMP相同ドメイン

```
                                                  3
SEQIDNO:93   KDAVSAGKHTANSHHLSALVTPAGKSYECQAQQTISLASSDPQKTVTMILSAVHIQPFDI 213
SEQIDNO:94   KDAVSAGKHTANSHHLSALVTPAGKSYECQAQQTISLASSDLQKTVTMILSAVHIQPFDI 213
SEQIDNO:95   KDAVSAGKHTANSHHLSALVTPAGKSYECQAQQTISLASSDPQKMVTMILSAVHIQPFDI 213
SEQIDNO:96   KDAVSAGKHTANSHRLSALVTPAGKSYECQAQQSISLASSDPQKTVTMILSAVHIQPFDI 213
SEQIDNO:97   KDAVSAGKHTANSHHLSALVTPAGKSYECQAQQTISLASSDPQKTVTMILSAVHIQPFDI 213
SEQIDNO:98   KAPVKVNKYIASSHHLSALVTPAGMSYECQAQQTISLASSDPQKTVTMILSAVHIQPFDI 213
SEQIDNO:99   KDAVSAGKHTANSHHLSALVTPAGMSYECQAQQTISLASSDPQKTVTMILSAVHIQPFDI 213
SEQIDNO:100  KDAVSPGKHTASSHRLSALVTPAGKSYECQAQQTISLISSDHQKSVQLLLSEVRIQPFDI 232
SEQIDNO:101  KSGARPGRHTANSHHLSLMVTPAGMSYECEATQRISLTSTDHQKIVVLYLSEVHLQPFDI 209
             *  .  .:: *.**:** :***** ****:* * *** *:* ** * : ** *::*****
```

膜貫通ドメイン　細胞質尾部

```
                                                  4
SEQIDNO:93   ISDFVFSEEHKCPVDEREQLEETLPLILGLILGLVIMVTLAIYHVHHKMTANQVQIPRDR 273
SEQIDNO:94   ISDFVFSEEHKCPVDEREQLEETLPLILGLILGLVIMVTLAIYHVHHKMTANQVQIPRDR 273
SEQIDNO:95   ISDFVFSEEHKCPVDEREQLEETLPLILGLILGLVIVVTLTIYHVHHKMTANQVQIPRDR 273
SEQIDNO:96   ISDFVFSEEHKCPVDEREQLEETLPLILGLILGLVIVVTLAIYHIHHKMTANQVQIPRDR 273
SEQIDNO:97   ISDFVFSEEHKCPVDEREQLEETLPLILGLILGLVIVVTLVIYHIHHKMTANQVQIPRDR 273
SEQIDNO:98   ISDFVFSEEHKCPVDEQEQLEETLPLILGLILGLVIVITLVIYHIHHKMTANQVQIPRDR 273
SEQIDNO:99   ISDFVFSEEHKCPVDEREQLEETLPLILGLVIVITLVIYHIHHKMTANQVQIPRDR 273
SEQIDNO:100  TADFVFSEEHKCPVDQREQLEETLPLILGLILGLVIVITLCVYHIHHKLTANQVQIPRDR 292
SEQIDNO:101  KSDFVYSEEYKCPTDQRKQLEETLPLILGLILGLTLGVAILIIVAVYHIHHKMTANQVQIPRDR 269
              :***:***:***.*:::************ **:.*:: : :**:***:**********
```

```
SEQIDNO:93   SQYKHMG      280
SEQIDNO:94   SQYKHMG      280
SEQIDNO:95   SQYKHMG      280
SEQIDNO:96   SQYKHMG      280
SEQIDNO:97   SQYKHMG      280
SEQIDNO:98   SQYKHMG      280
SEQIDNO:99   SQYKHMG      280
SEQIDNO:100  SQYKHMG      299
SEQIDNO:101  SLYKHMG      276
             * *****
```

LAMP5					
アクセッション番号	種	配列番号	アクセッション番号	種	配列番号
NP_036393.1	*H. sapiens*	93	NP_001076887.1	*B. taurus*	97
XP_514512.3	*P. troglodytes*	94	NP_083806.2	*M. musculus*	98
NP_001181627.1	*M. mulatta*	95	NP_001014205.1	*R. norvegicus*	99
XP_850634.1	*C. lupus familiaris*	96	XP_004935300.1	*G. gallus*	100
			NP_001090781.1	*X. tropicalis*	101

【図１１】

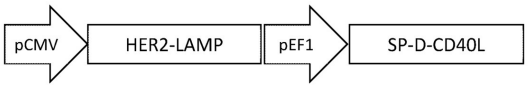


図 11

【図１２】

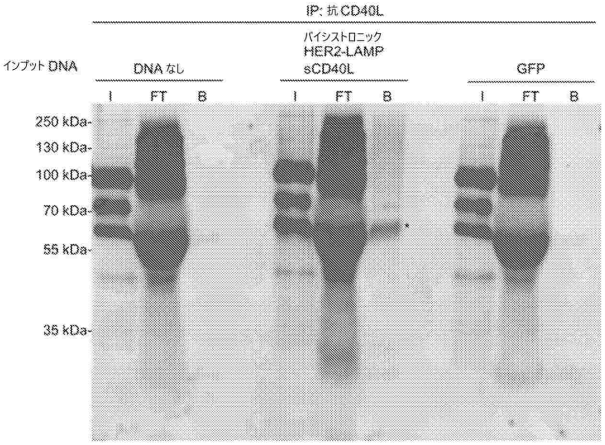


図 12

【図１３－１】

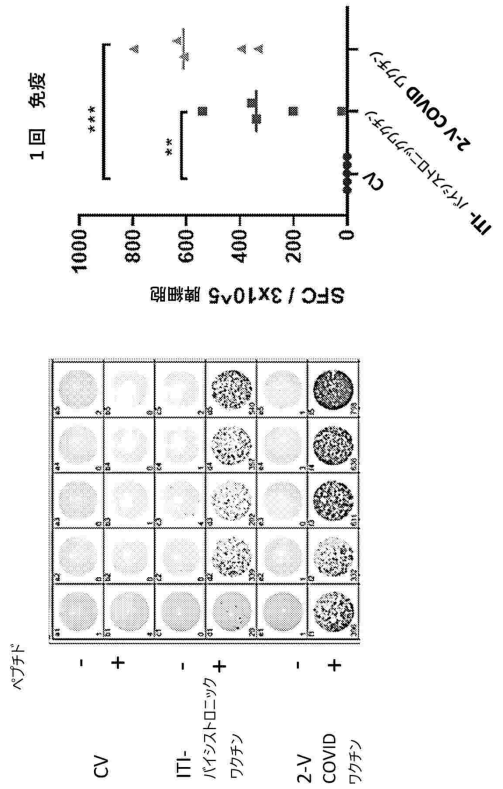


図 13B

図 13A

【図１３－２】

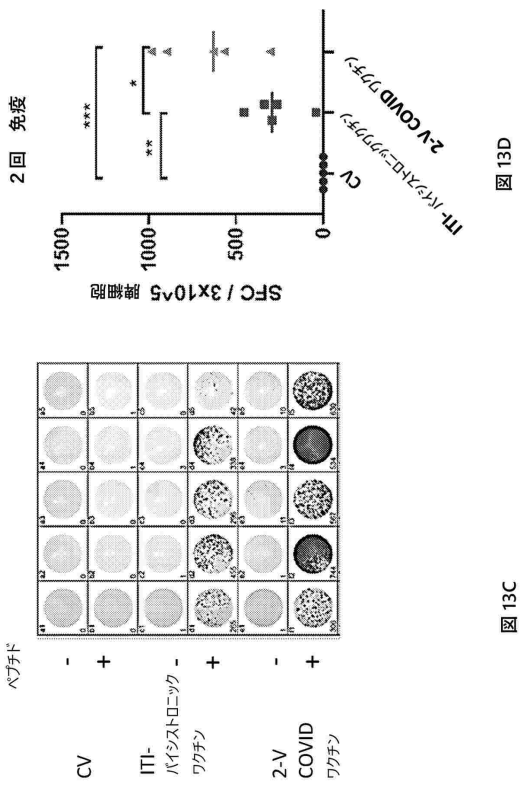


図 13D

図 13C

【図１４】

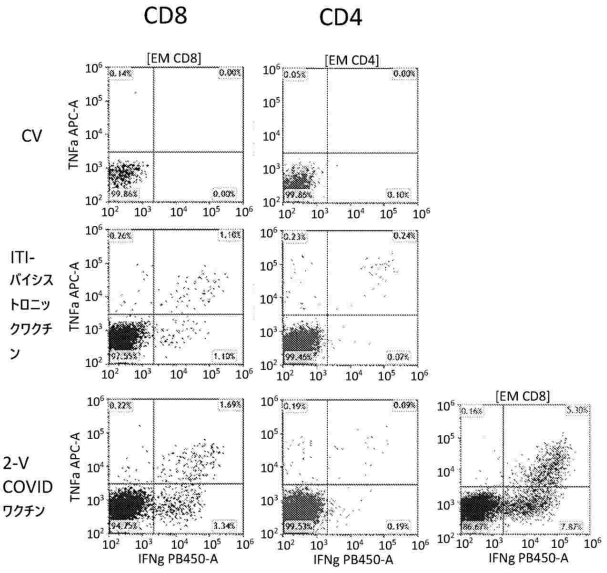


図 14

【図１５】

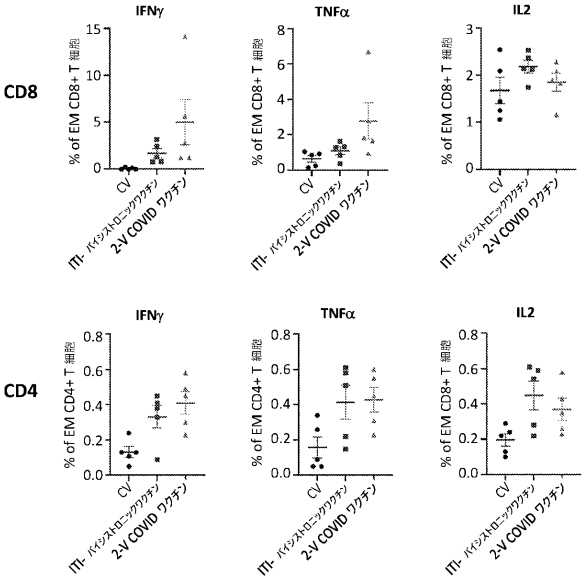


図 15

【図１６－１】

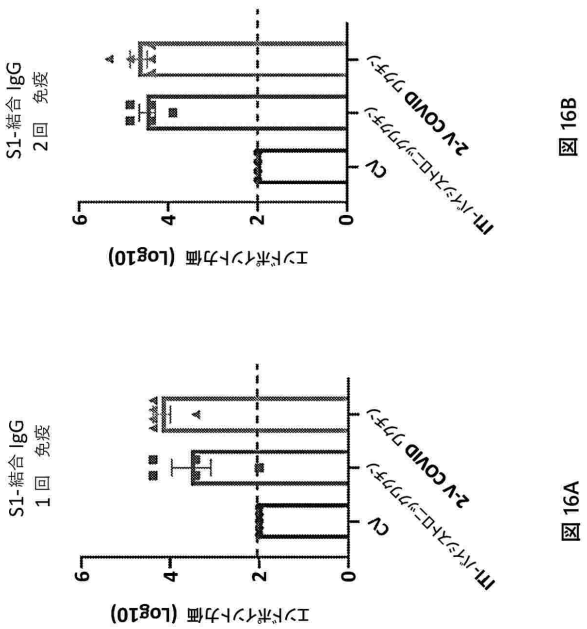


図 16B

図 16A

【図１６－２】

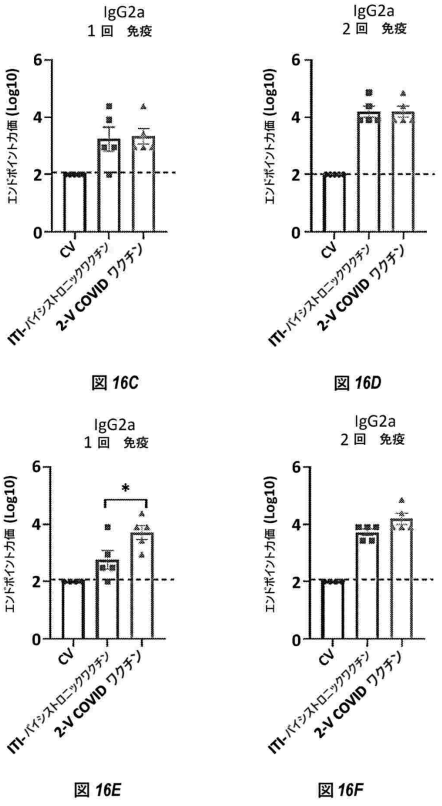


図 16C

図 16D

図 16E

図 16F

【図１７】

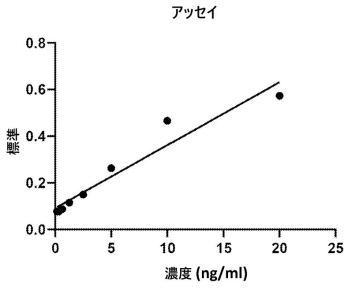


図 17A

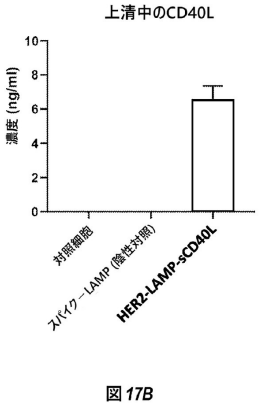


図 17B

【図１８－１】

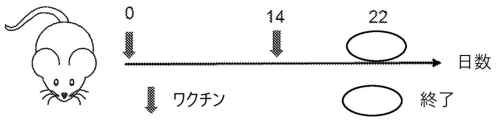


図 *18A*

【図１８－２】

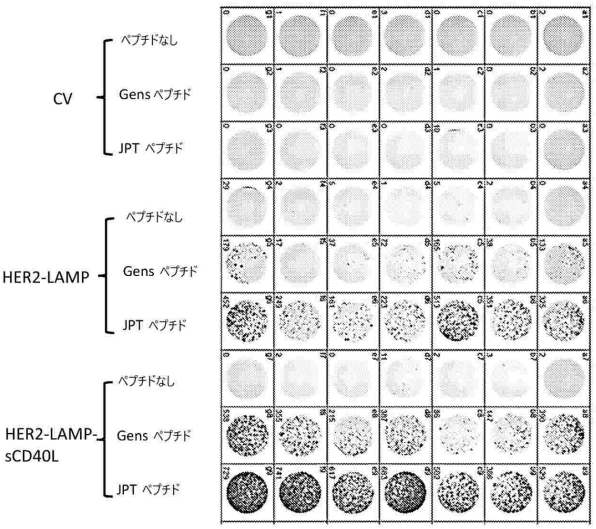


図 *18B*

【図１８－３】

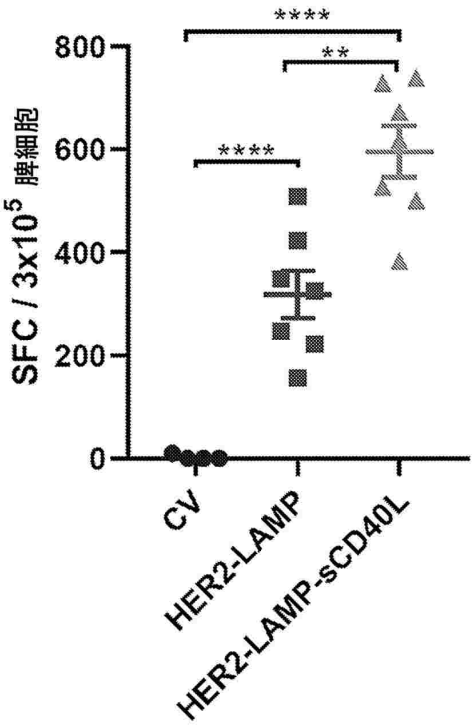


図 *18C*

【図１８－４】

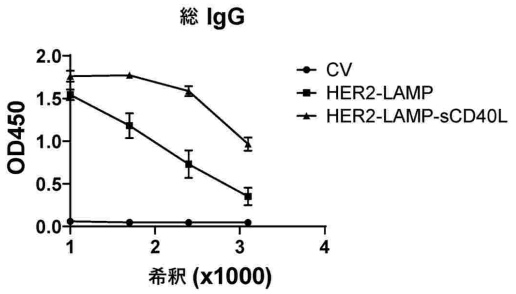


図 *18D*

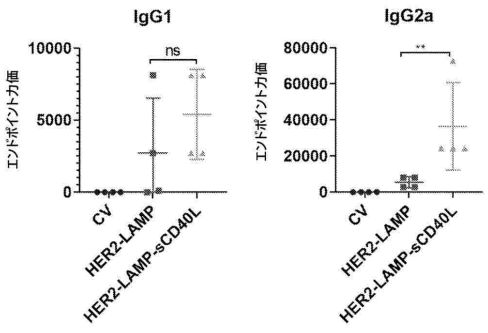


図 *18E* 図 *18F*

【図１９Ａ】

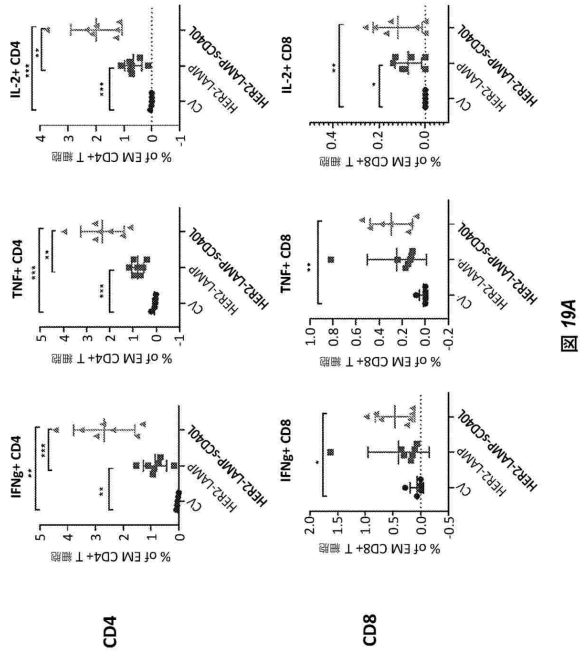


図 19A

【図１９Ｂ】

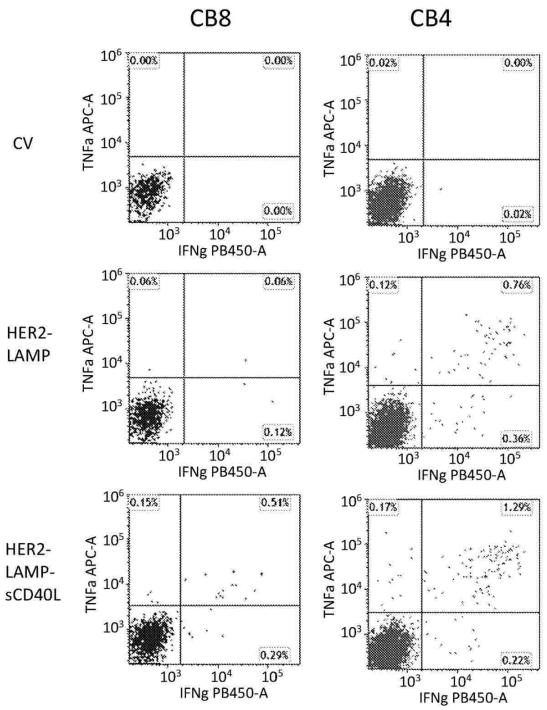


図 19B

【図２０】

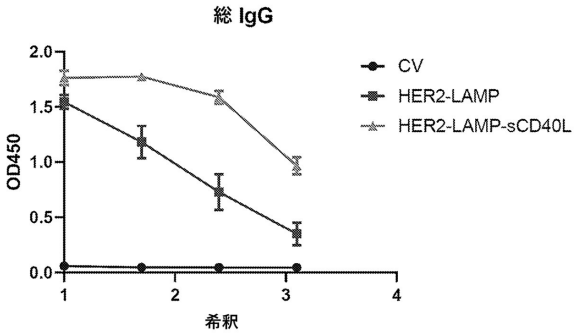


図 20

【図２１Ａ】

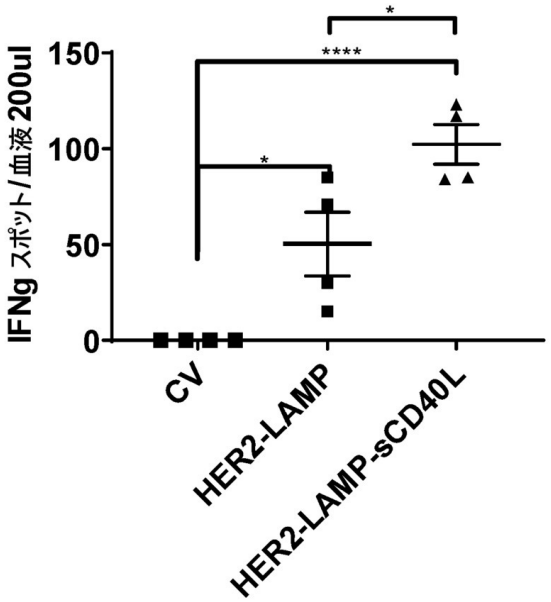


図 21A

【図２１Ｂ】

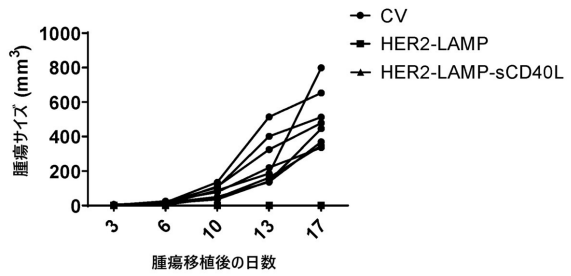


図 *21B*

【図２２Ａ】

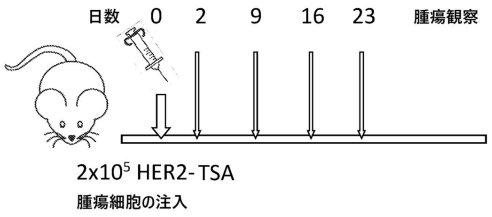


図 *22A*

【図２２Ｂ】

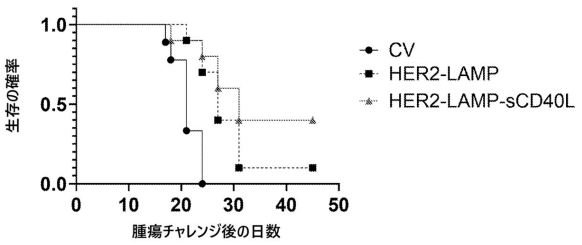


図 *22B*

【図２３】

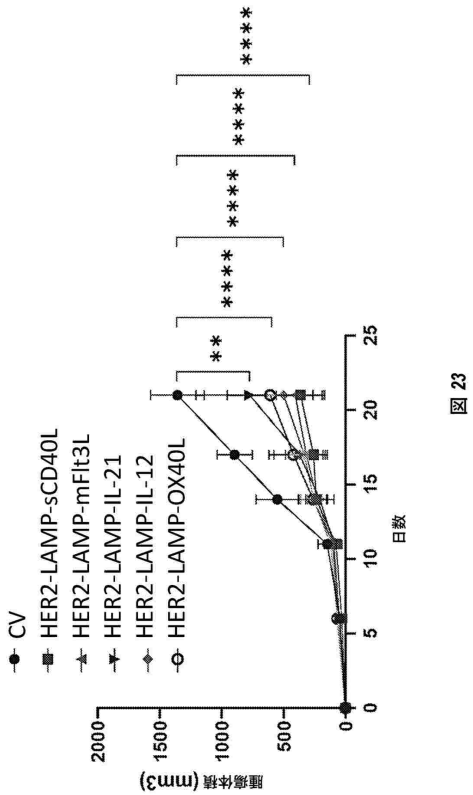


図 *23*

【図２４】

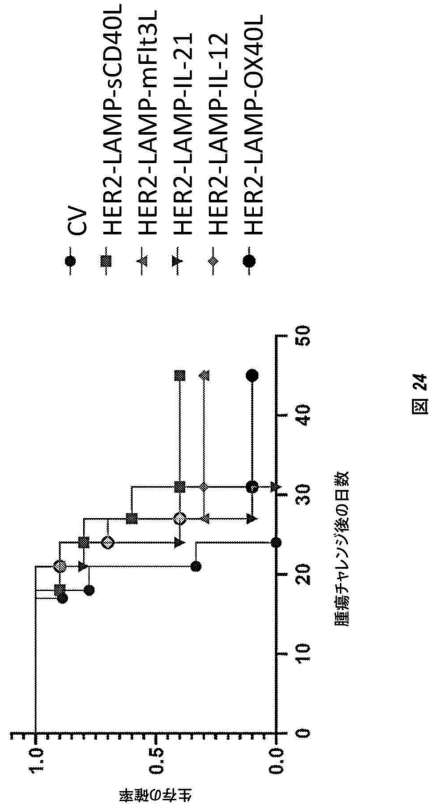


図 24

【図２５】

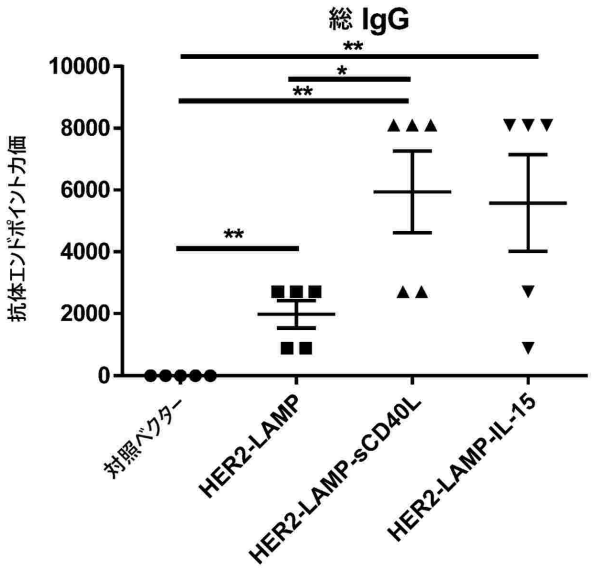


図 25

【図２６】

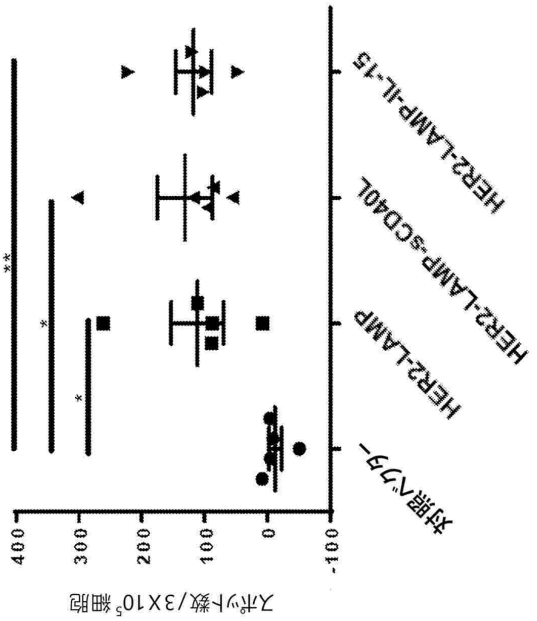


図 26

【図２７Ａ】

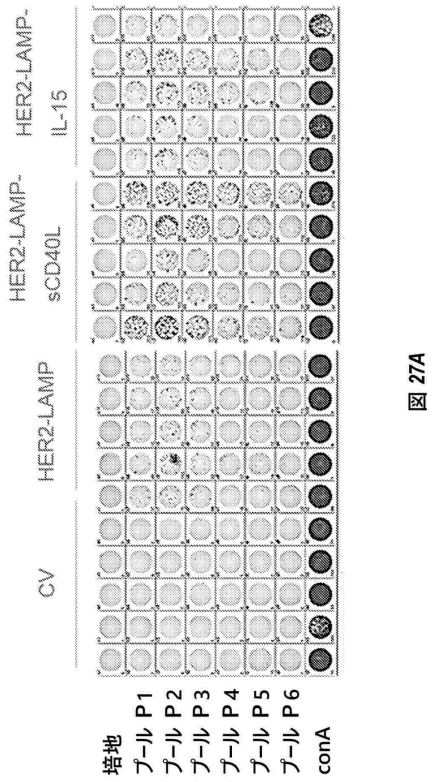


図 27A

【図２７Ｂ】

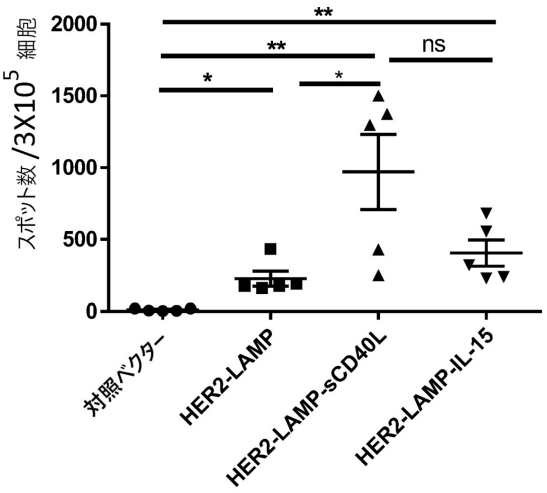


図 27B

【図２８Ａ】

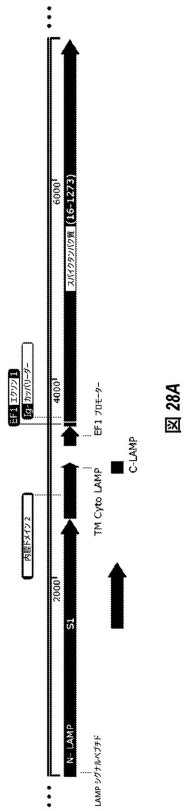


図 28A

【図２８Ｂ】

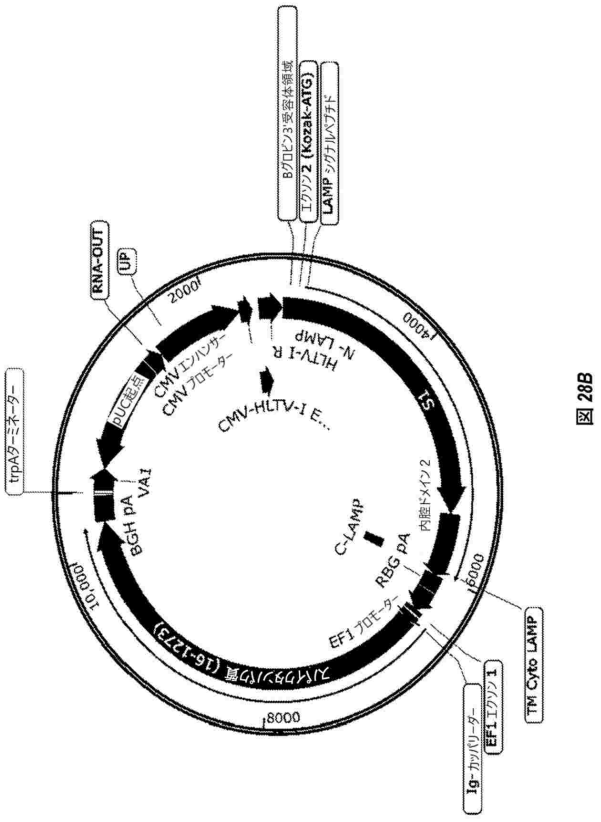


図 28B

【図２８Ｃ－１】

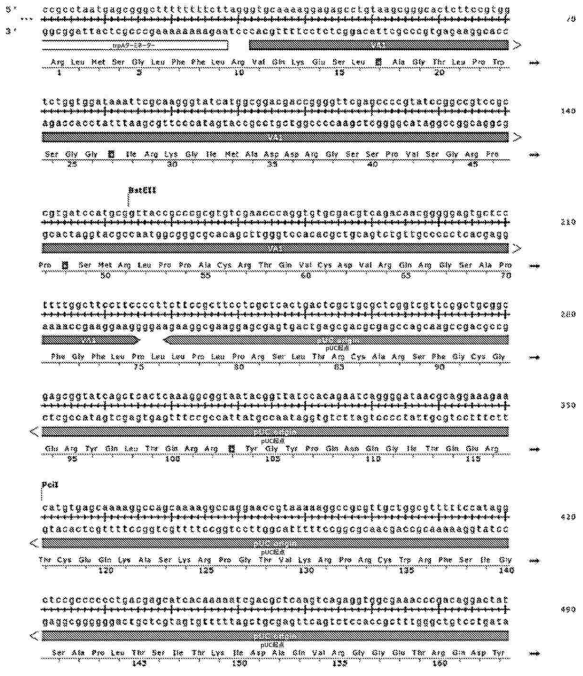


図 28C

10

20

30

40

50

【図２８Ｃ－２】

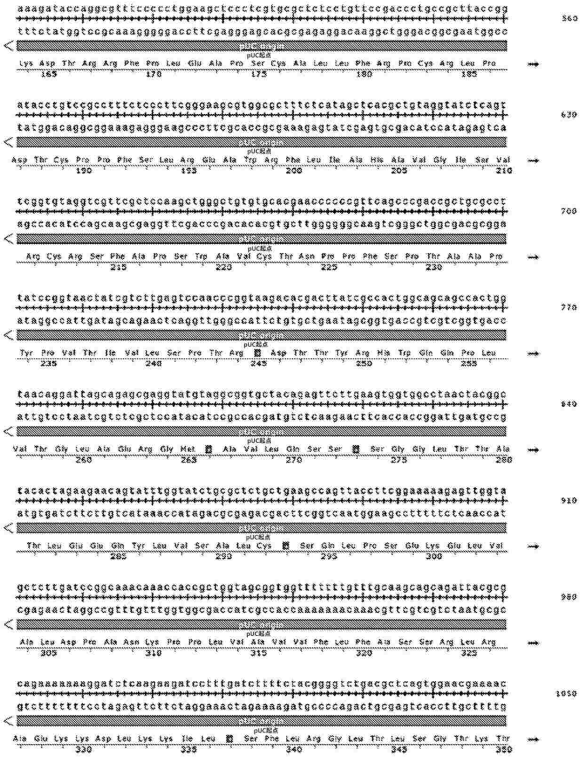


図 *28C* (つづき)

【図２８Ｃ－３】

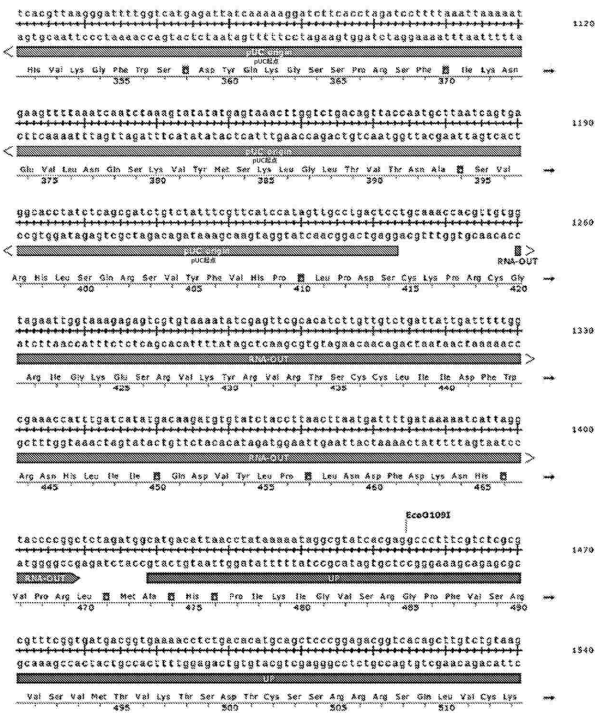


図 *28C* (つづき)

【図２８Ｃ－４】

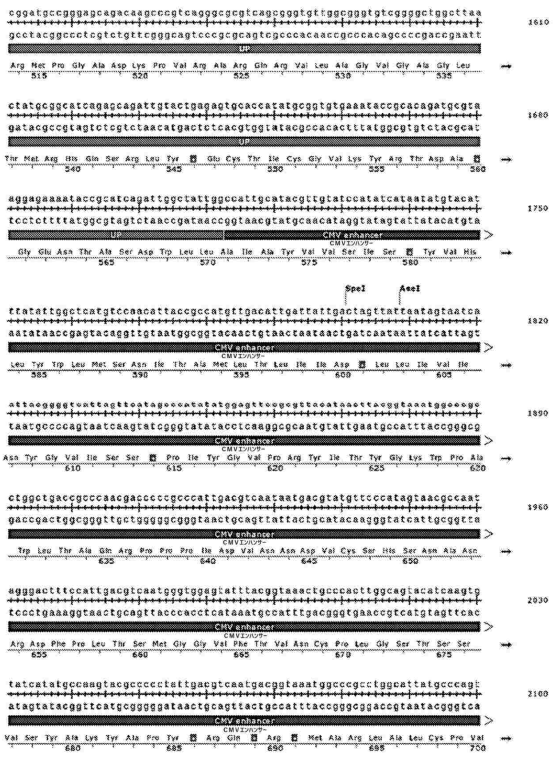


図 *28C* (つづき)

【図２８Ｃ－５】

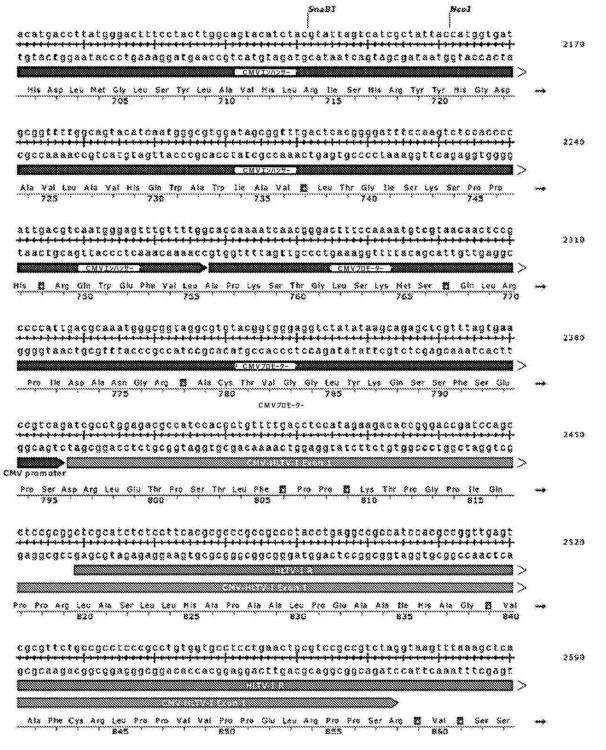


図 *28C* (つづき)

【図２８Ｃ－６】

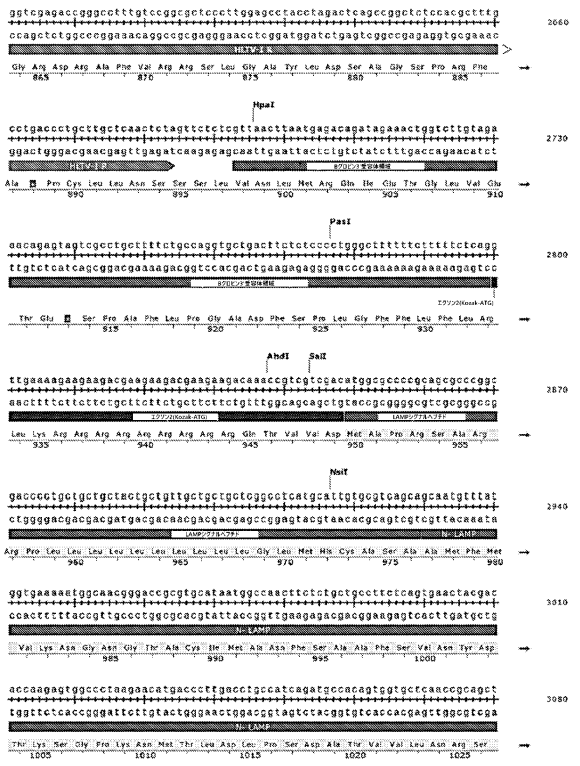


図 *28C (つづき)*

【図２８Ｃ－７】

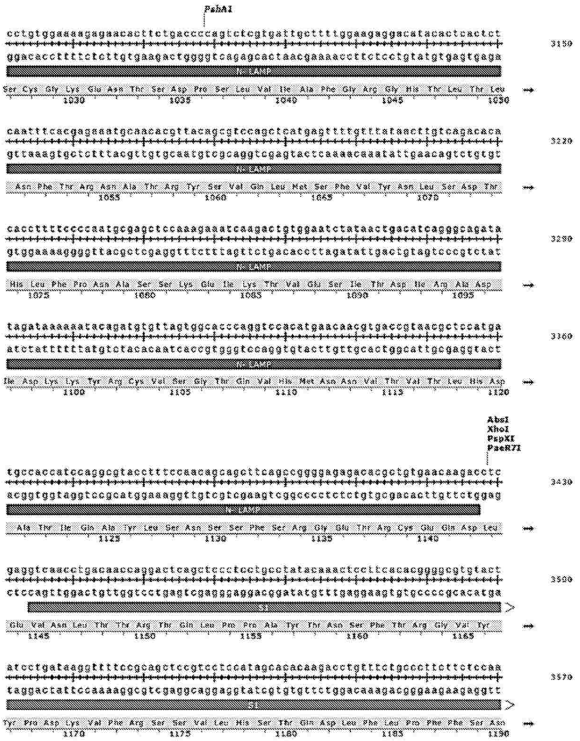


図 *28C (つづき)*

【図２８Ｃ－８】

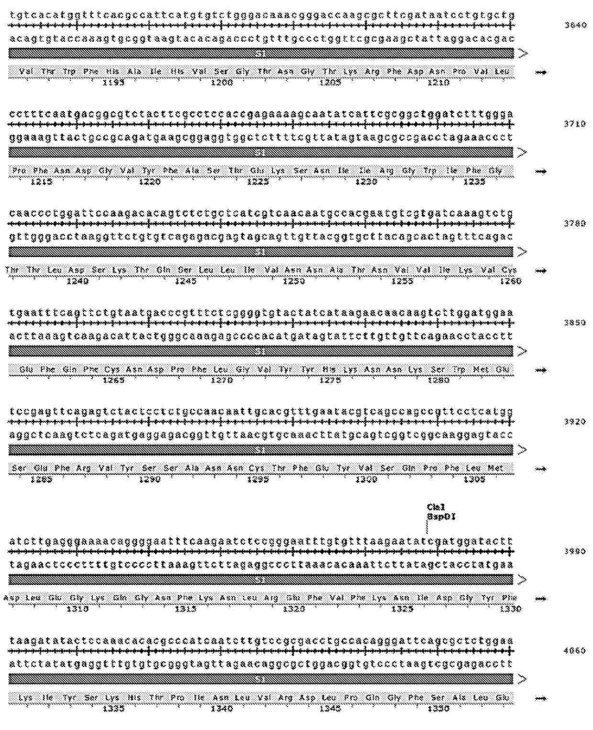


図 *28C (つづき)*

【図２９Ａ】

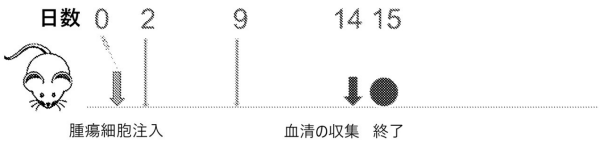


図 *29A*

【図２９Ｂ】

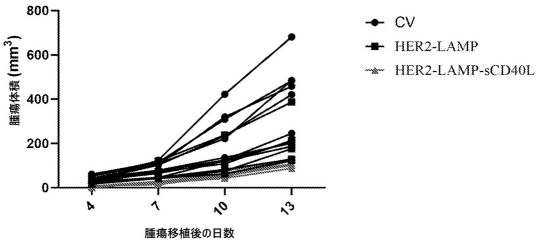


図 29B

【図２９Ｃ】

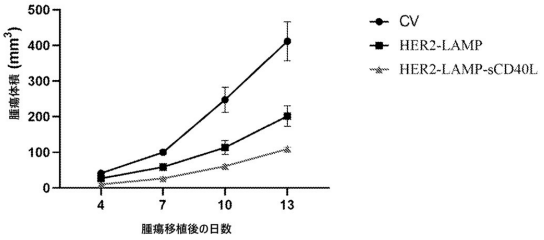


図 29C

【図２９Ｄ】

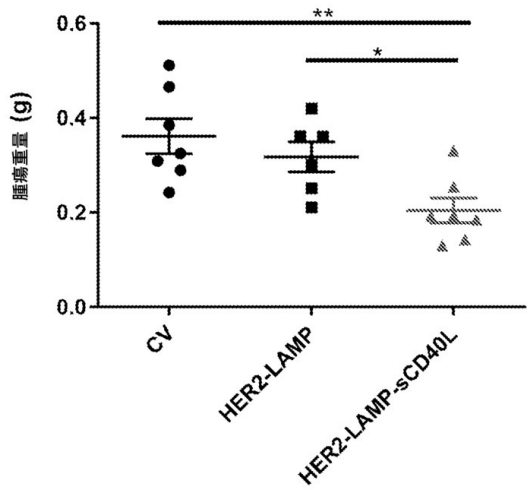


図 29D

【図３０】

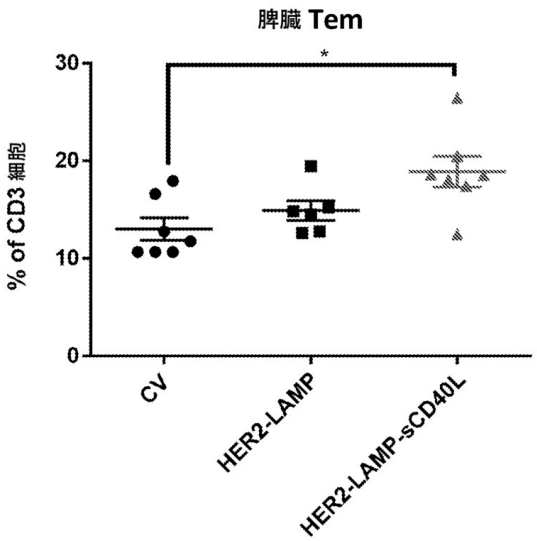


図30

【図３１】

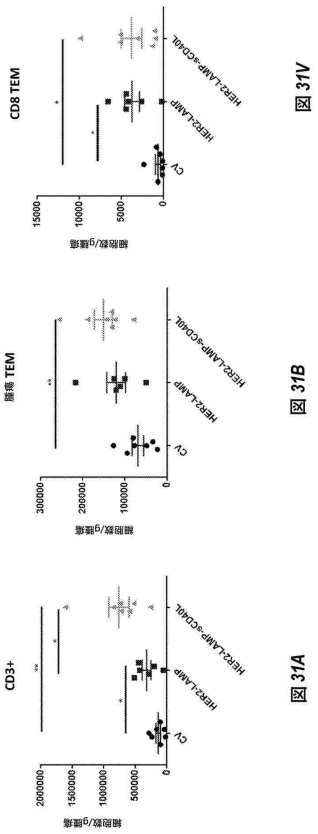


図 31A　図 31B　図 31V

【図３２－１】

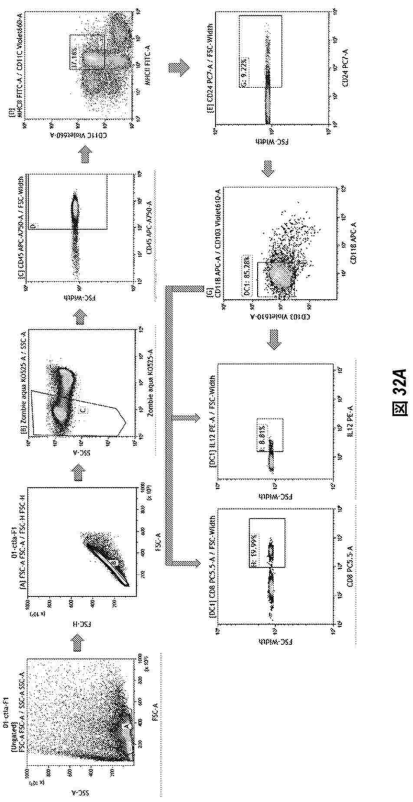


図 32A

【図３２－２】

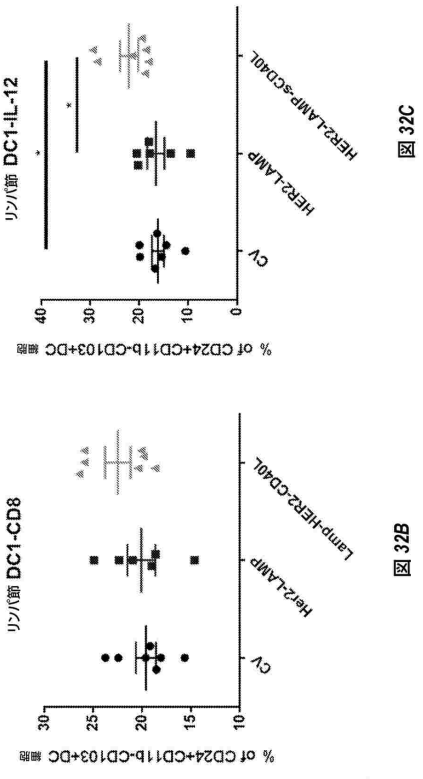


図 32B　図 32C

【図３３】

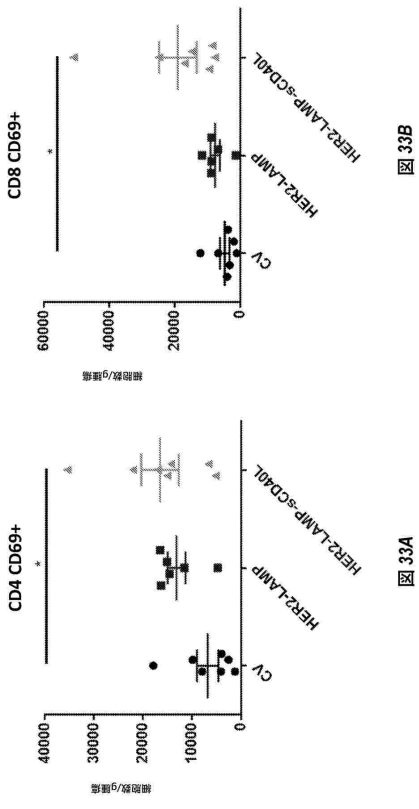


図 33A　図 33B

【図３４】

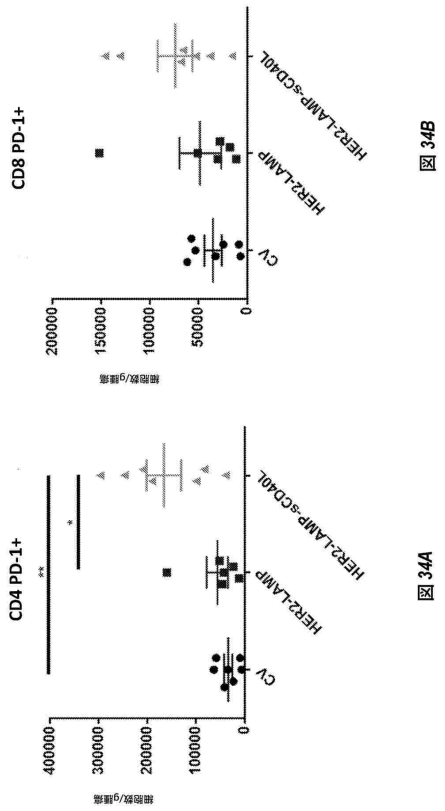


図 34B

図 34A

【図３５】

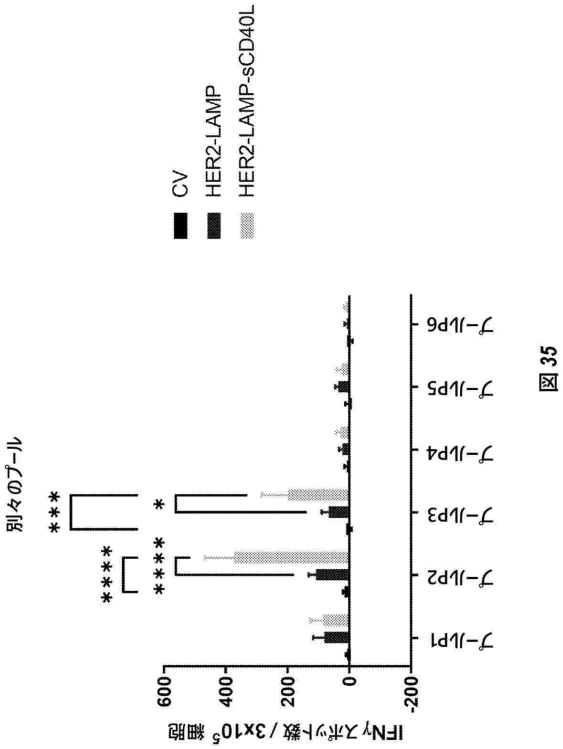


図 35

【図３６】

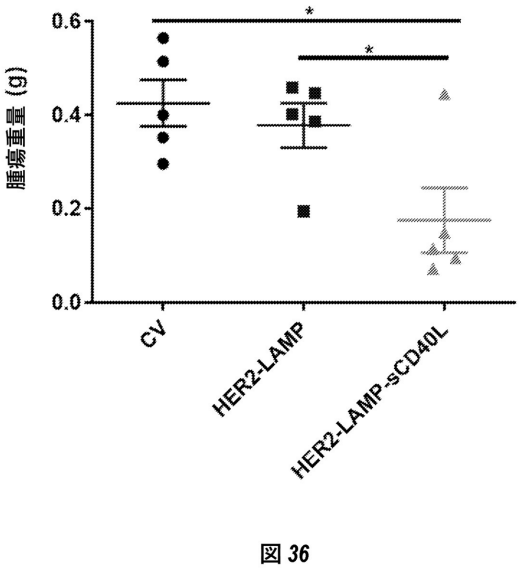
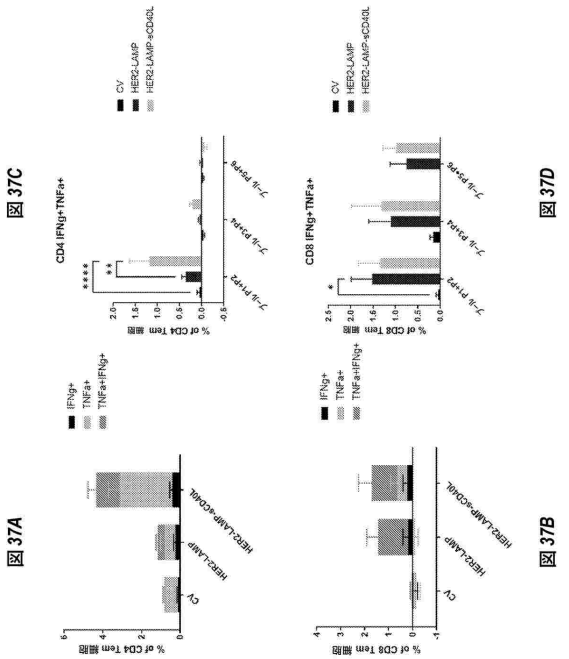


図 36

【図３７】



【図３８Ａ】

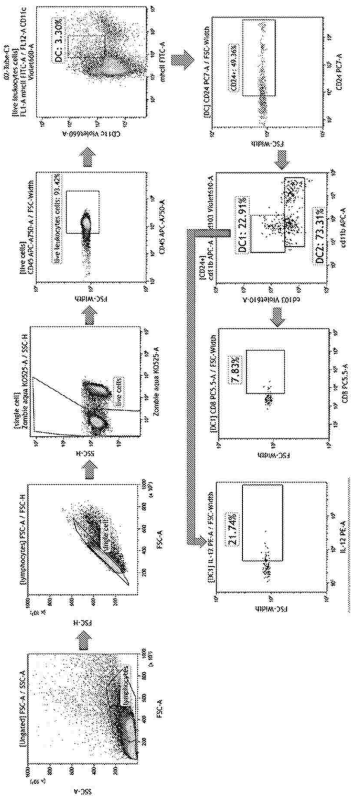


図 38A

【図３８Ｂ】

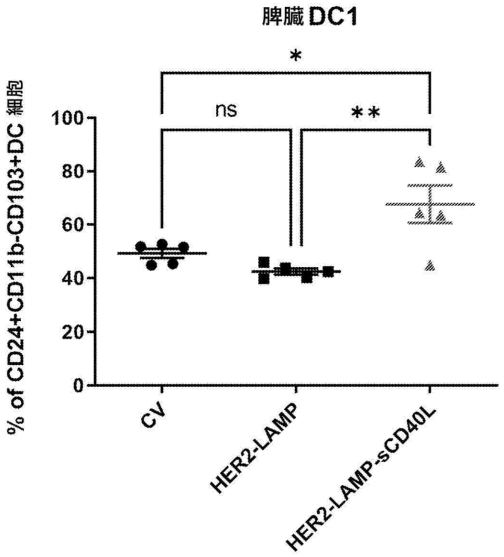


図 38B

【図３９】

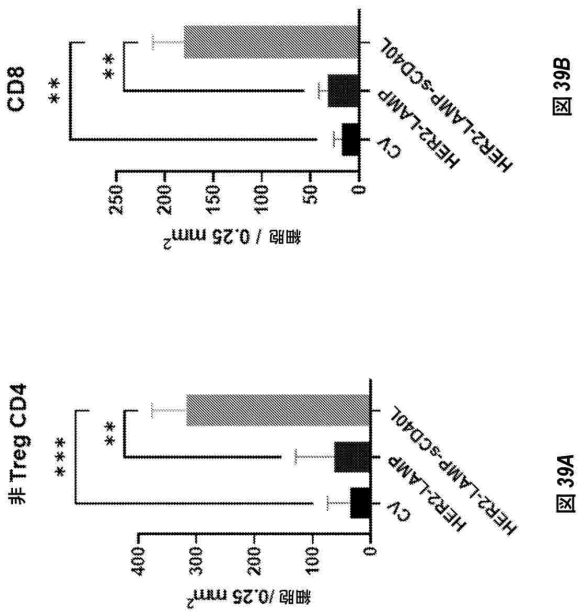


図 39B

図 39A

【図４０Ａ】

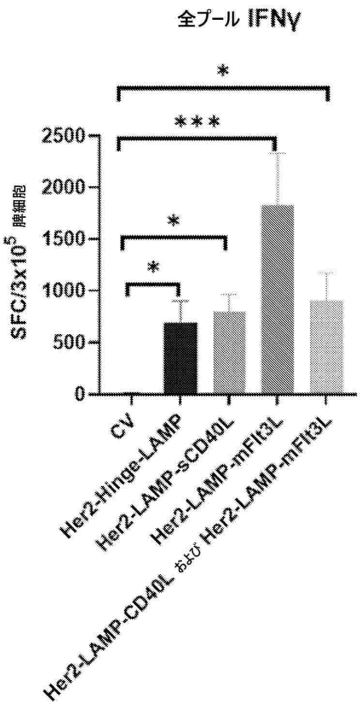


図 40A

【図４０Ｂ】

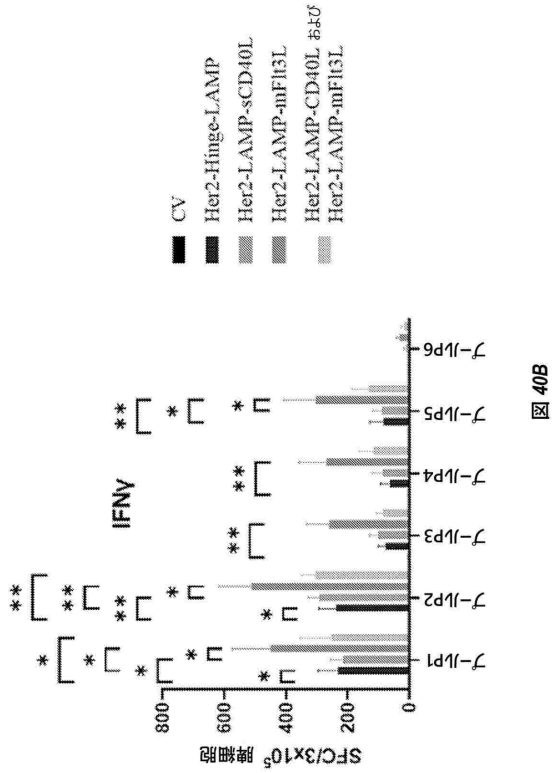


図 40B

【図４１】

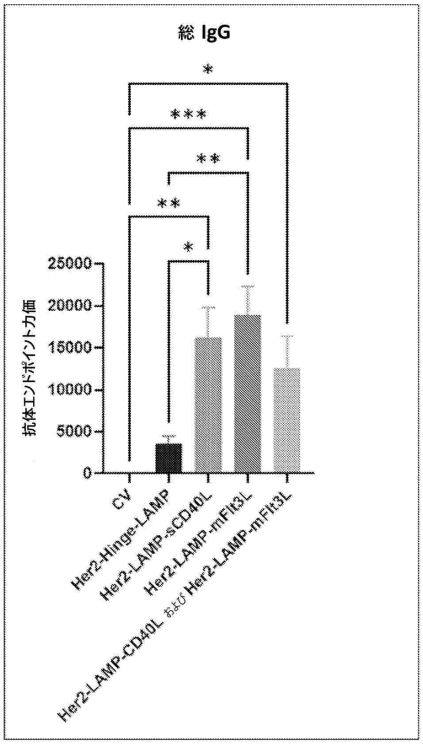


図 41

【図４２Ａ】

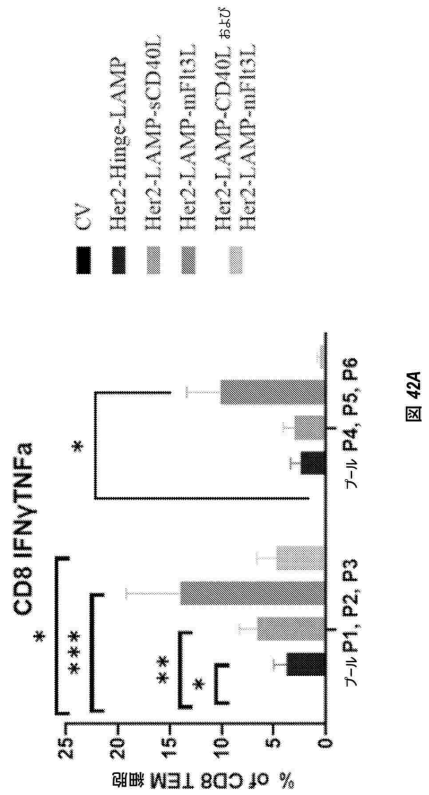


図 42A

【図４２Ｂ】

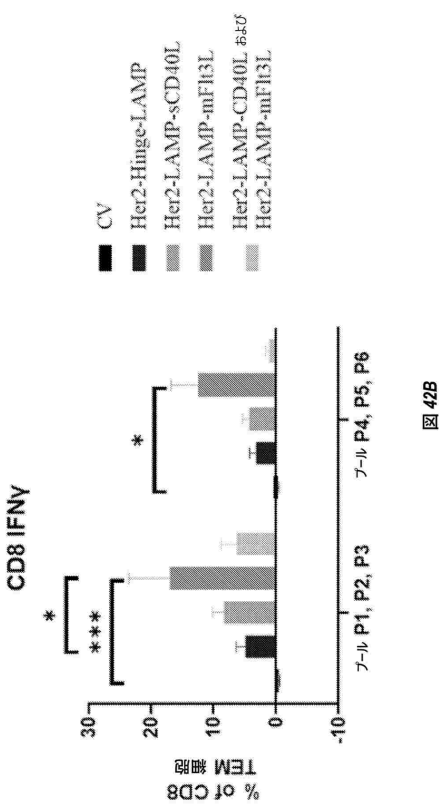


図 42B

【図４２Ｃ】

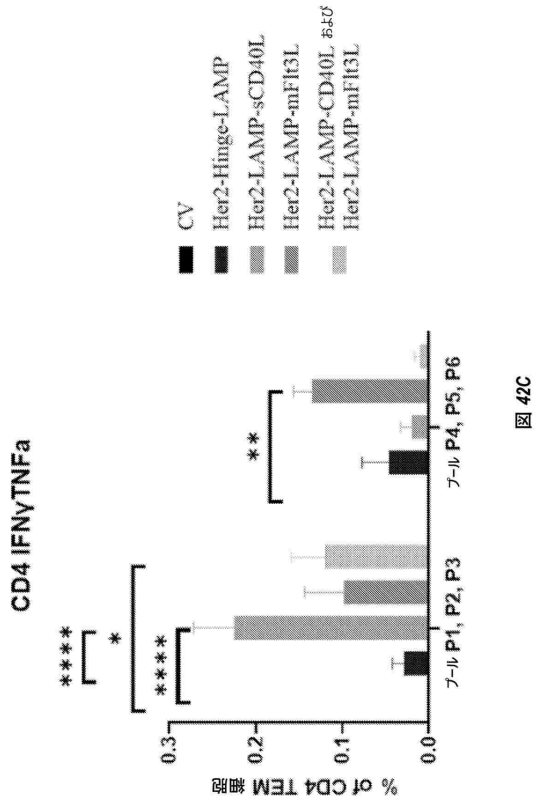


図 42C

【図４２Ｄ】

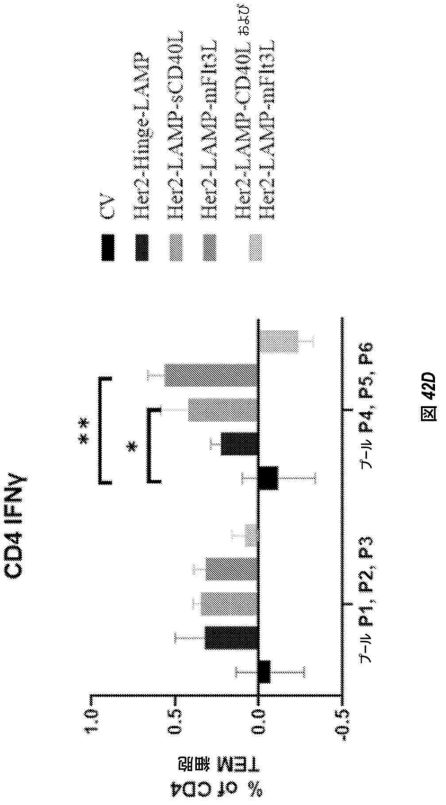


図 42D

【図４３】

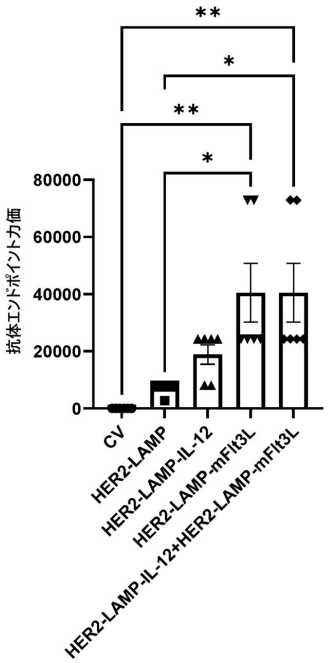


図 43

【配列表】
20255130220000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/065588

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/54 A61K38/16 A61K39/00 A61K39/215 A61P31/14
A61P35/00 C07K14/165 C07K14/705 C07K14/71 C07K14/82
C12N9/12 C12N15/86
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)
C07K A61K A61P C12N

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/204534 A1 (IMMUNOMIC THERAPEUTICS INC [US]) 8 November 2018 (2018-11-08)	1-18, 20-44, 47-52
Y	claims 1-23; para. [0001], [0020], [0060], [0136], [0140]-[0143], [0146], [0149]-[0150], [0154], [0158], [0259]; Table 1; Figures 1, 2A, 19; SEQ ID NOs: 1-113, 154, 197	19,45,46

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier 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
30 June 2023	11/07/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Benzerari, Maëlis

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/065588

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Shen Wei ET AL: "AACR 2022 Poster Presentation: Her2-LAMP DNA Vaccine - Immunomic Therapeutics", , 8 April 2022 (2022-04-08), pages 1-3, XP093053895, Retrieved from the Internet: URL:https://www.immunomix.com/aacr-2022-poster-presentation-merkel-cell-polyomavirus-2/ [retrieved on 2023-06-13] the whole document	19,45,46
Y	Anonymous: "Immunomic Therapeutics Reports Preclinical Data on Its MCP[gamma]V-LT and Her2/Neu DNA Vaccines at the American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2022", , 8 April 2022 (2022-04-08), pages 1-3, XP93054705, Retrieved from the Internet: URL:https://www.businesswire.com/news/home/20220408005009/en/Immunomic-Therapeutics-Reports-Preclinical-Data-on-Its-MCP%CE%B3V-LT-and-Her2Neu-DNA-Vaccines-at-the-American-Association-for-Cancer-Research-AACR-Annual-Meeting-2022 [retrieved on 2023-06-15] the whole document	19,45,46
A	US 11 203 629 B2 (IMMUNOMIC THERAPEUTICS INC [US]) 21 December 2021 (2021-12-21) paragraph bridging columns 21-22; Figures 1, 2A; claims 1-23	1-52
A	Xu Renhuan ET AL: "AACR 2019 Poster: DNA vaccine co-expressing Her2/ErbB2 antigen, fused with LAMP, elicits strong antitumor effects in vivo by increasing tumor infiltration with CD8 + T cells", , 2 April 2019 (2019-04-02), pages 1-2, XP093053916, Retrieved from the Internet: URL:https://www.immunomix.com/poster-from-aacr-2019/ [retrieved on 2023-06-13] the whole document	1-52

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/065588

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHEN ALAN CHEN ET AL: "HER2--LAMP-vaccines- effectively -traffic- to endolysosomal compartments and generate enhanced polyfunctional T cell responses that induce complete tumor regression", J IMMUNOTHER CANCER, [Online] vol. 8, 12 June 2020 (2020-06-12), page 258, XP093053901, DOI: 10.1136/jitc-2019-000258 Internet Retrieved from the Internet: URL:https://jitc.bmj.com/content/jitc/8/1/e000258.full.pdf> [retrieved on 2023-06-13] Abstract -----	1-52
A	WO 01/42298 A1 (KORNBLUTH RICHARD S [US]) 14 June 2001 (2001-06-14) Figure 1; p.1,l.12-15 -----	1-52
A	WO 2014/145355 A1 (STONE GEOFFREY W [US]; KORNBLUTH RICHARD S [US]) 18 September 2014 (2014-09-18) para. [077], [086], [091]; Ex. 1 -----	1-52
A	TERASAWA KAZUE ET AL: "Direct homophilic interaction of LAMP2A with the two-domain architecture revealed by site-directed photo-crosslinks and steric hindrances in mammalian cells", AUTOPHAGY, [Online] vol. 17, no. 12, 14 April 2021 (2021-04-14), pages 4286-4304, XP093054855, US ISSN: 1554-8627, DOI: 10.1080/15548627.2021.1911017 Internet Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8726616/pdf/KAUP_17_1911017.pdf> [retrieved on 2023-06-13] Abstract, Introduction; Figure 1A-B -----	1-52

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/065588

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. [X] 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

Information on patent family members

International application No
PCT/US2023/065588

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018204534 A1	08-11-2018	AU 2018263923 A1	31-10-2019
		BR 112019023014 A2	19-05-2020
		CA 3061950 A1	08-11-2018
		CN 110913892 A	24-03-2020
		EP 3618854 A1	11-03-2020
		IL 270271 A	31-12-2019
		IL 297073 A	01-12-2022
		JP 7222915 B2	15-02-2023
		JP 2020518613 A	25-06-2020
		JP 2023036863 A	14-03-2023
		KR 20200016224 A	14-02-2020
		US 2020087365 A1	19-03-2020
		WO 2018204534 A1	08-11-2018
US 11203629 B2	21-12-2021	AU 2018254776 A1	31-10-2019
		AU 2022241594 A1	08-12-2022
		BR 112019022108 A2	12-05-2020
		CA 3061206 A1	25-10-2018
		CN 110799529 A	14-02-2020
		EP 3612556 A1	26-02-2020
		JP 2020517271 A	18-06-2020
		JP 2023015342 A	31-01-2023
		KR 20200018777 A	20-02-2020
		US 2020377570 A1	03-12-2020
		US 2022153809 A1	19-05-2022
		WO 2018195527 A1	25-10-2018
WO 0142298 A1	14-06-2001	AT 437180 T	15-08-2009
		AU 785297 B2	04-01-2007
		CA 2393659 A1	14-06-2001
		DK 1235853 T3	23-11-2009
		EP 1235853 A1	04-09-2002
		EP 2128174 A1	02-12-2009
		ES 2329334 T3	25-11-2009
		US 7300774 B1	27-11-2007
		US 2005158831 A1	21-07-2005
		US 2009263348 A1	22-10-2009
		WO 0142298 A1	14-06-2001
WO 2014145355 A1	18-09-2014	AU 2014233114 A1	15-10-2015
		CA 2907384 A1	18-09-2014
		DK 2970427 T3	09-03-2020
		EP 2970427 A1	20-01-2016
		ES 2775278 T3	24-07-2020
		PL 2970427 T3	01-06-2020
		US 2016122412 A1	05-05-2016
		US 2019010240 A1	10-01-2019
		WO 2014145355 A1	18-09-2014

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

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）
C12N	*15/50*	*(2006.01)*	C12N	15/50		
A61P	*37/04*	*(2006.01)*	A61P	37/04		
A61K	*48/00*	*(2006.01)*	A61K	48/00		
A61K	*39/00*	*(2006.01)*	A61K	39/00	Z	
A61K	*38/02*	*(2006.01)*	A61K	38/02		
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121	
A61K	*38/17*	*(2006.01)*	A61K	38/17		
A61K	*38/19*	*(2006.01)*	A61K	38/19		
A61K	*38/20*	*(2006.01)*	A61K	38/20		
A61K	*35/12*	*(2015.01)*	A61K	35/12		
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
C07K	*14/71*	*(2006.01)*	A61K	39/00	H	
C07K	*14/47*	*(2006.01)*	C07K	14/71		
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	14/47		
C07K	*14/165*	*(2006.01)*	C07K	19/00		
			C07K	14/165		

,MC,ME,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,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

アメリカ合衆国 ２０８５０ メリーランド州 ロックビル， ブロスクハート ロード １５０１０，スイート ２５０

(72)発明者 シェン， ウェイ
アメリカ合衆国 ２０８５０ メリーランド州 ロックビル， ブロスクハート ロード １５０１０，スイート ２５０

(72)発明者 カオ， ユン－ティン
アメリカ合衆国 ２０８５０ メリーランド州 ロックビル， ブロスクハート ロード １５０１０，スイート ２５０

(72)発明者 シュ， レンファン
アメリカ合衆国 ２０８５０ メリーランド州 ロックビル， ブロスクハート ロード １５０１０，スイート ２５０

Ｆターム（参考） 4B065 AA90Y AA93X AA95Y AB01 AC14 BA02 BA05 CA23 CA24 CA45
4C084 AA02 AA13 BA41 BA44 DA12 DA19 DC50 MA02 MA66 NA14 ZB09 ZB26 ZC75
4C085 AA03 BB01 BB24 DD62 EE03 GG01
4C087 AA01 AA02 BB65 CA12 MA02 MA66 NA14 ZB09 ZB26 ZC75
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 CA01 CA40 DA50 DA86 EA31 FA74