

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6401148号
(P6401148)

(45) 発行日 平成30年10月3日 (2018. 10. 3)

(24) 登録日 平成30年9月14日 (2018. 9. 14)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K	39/102	(2006. 01)	A 6 1 K	39/102	Z N A
A 6 1 P	31/04	(2006. 01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	37/04	(2006. 01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	27/16	(2006. 01)	A 6 1 P	27/16	
A 6 1 K	39/095	(2006. 01)	A 6 1 K	39/095	

請求項の数 16 (全 82 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-507510 (P2015-507510)
(86) (22) 出願日	平成25年4月24日 (2013. 4. 24)
(65) 公表番号	特表2015-515486 (P2015-515486A)
(43) 公表日	平成27年5月28日 (2015. 5. 28)
(86) 国際出願番号	PCT/EP2013/058459
(87) 国際公開番号	W02013/160335
(87) 国際公開日	平成25年10月31日 (2013. 10. 31)
審査請求日	平成28年2月29日 (2016. 2. 29)
(31) 優先権主張番号	1207385. 4
(32) 優先日	平成24年4月26日 (2012. 4. 26)
(33) 優先権主張国	英国 (GB)
(31) 優先権主張番号	12199079. 0
(32) 優先日	平成24年12月21日 (2012. 12. 21)
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者	504389991 ノバルティス アーゲー スイス国 バーゼル リヒトシュトラッセ 35
(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(72) 発明者	ソリアニ, マルコ イタリア国 イー53100 シエナ, ヴィア フィオレンティーナ 1, ノバ ルティス ヴァクシンズ アンド ダイア グノスティクス エスアールエル 気付

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗原および抗原の組み合わせ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳動物においてインフルエンザ菌 (*H. influenzae*) 感染に対する防御免疫応答を上昇させる方法において使用するための NT067 抗原を含む免疫原性組成物であって、ここで、前記 NT067 抗原が、配列番号 5 または配列番号 52 に対して 90% 以上の同一性を有するアミノ酸配列ポリペプチドであり、前記免疫原性組成物がさらに、

(i) (8) CGSHiGG_00130 (NT052)、(1) NTHI0915 (NT018)、(2) NTHI1416 (NT024)、(3) NTHI2017 (NT032)、(4) CGSHiGG_02400 (NT038)、(6) NTHI0877 (NT001)、(7) NTHI0266 (NT016)、(9) NTHI1627 (NT002)、(10) NTHI1109 (NT026)、(11) NTHI0821 (NT009)、(12) NTHI0409 (NT025)、(13) NTHI1954 (NT028)、(14) NTHI0371 (NT029)、(15) NTHI0509 (NT031)、(16) NTHI0449 (NT015)、(17) NTHI1473 (NT023)、(18) gi-145633184 (NT100)、(19) NTHI1110 (NT040)、(20) gi-46129075 (NT048)、(21) gi-145628236 (NT053)、(22) NTHI1230 (NT066)、(23) NTHI0522 (NT097)、(50) NT004、(51) NT014、(52) NT022 からなる群より選択される 1 種または複数の分類不能型インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) の単離または組換えポリペプチド抗原；ならびに／あるいは

(i i) (2 4) P 4 8 (N T H I 0 2 5 4 、 N T 0 0 7 と も 定 義 さ れ る) 、 (2 5) H t r A (N T H I 1 9 0 5 、 N T 0 0 6 と も 定 義 さ れ る) 、 (2 6) P E (N T H I 0 2 6 7 、 N T 0 3 5 と も 定 義 さ れ る) 、 (2 7) P 2 6 (N T H I 0 5 0 1 、 N T 0 1 0 と も 定 義 さ れ る) 、 (2 8) P H i D (N T H I 0 8 1 1 、 N T 0 8 0 と も 定 義 さ れ る) 、 (2 9) P 6 (N T H I 0 5 0 1 、 N T 0 8 1 と も 定 義 さ れ る) か ら な る 群 よ り 選 択 さ れ る 1 種 ま た は 複 数 の 分 類 不 能 型 イ ン フ ル エ ン ザ 菌 (H . i n f l u e n z a e) の 単 離 ま た は 組 換 え ポ リ ペ プ チ ド 抗 原 ; な ら び に / あ る い は

(i i i) (3 0) N T 0 1 3 、 (3 1) N T 1 0 6 、 (3 2) N T 1 0 7 、 (3 3) N T 1 0 8 、 (3 4) N T 1 0 9 、 (3 5) N T 1 1 0 、 (3 6) N T 1 1 1 、 (3 7) N T 1 1 2 、 (3 8) N T 1 1 3 、 (3 9) N T 1 1 4 、 (4 0) N T 1 1 5 、 (4 1) N T 1 1 6 、 (4 2) N T 1 1 7 、 (4 3) N T 1 1 8 、 (4 4) N T 1 2 3 、 (4 5) N T 1 2 4 、 (4 6) N T 1 1 9 、 (4 7) N T 1 2 0 、 (4 8) N T 1 2 1 、 (4 9) N T 1 2 2 お よ び / ま た は (5 3) N T 0 6 1 か ら な る 群 よ り 選 択 さ れ る 1 種 ま た は 複 数 の 分 類 不 能 型 イ ン フ ル エ ン ザ 菌 (H . i n f l u e n z a e) の 単 離 ま た は 組 換 え ポ リ ペ

プ チ ド 抗 原

を 含 む 、 免 疫 原 性 組 成 物 。

【請求項 2】

3 種 以 上 の 抗 原 の 組 み 合 わ せ を 含 む 、 請 求 項 1 に 記 載 の 免 疫 原 性 組 成 物 。

【請求項 3】

前 記 分 類 不 能 型 イ ン フ ル エ ン ザ 菌 (H . i n f l u e n z a e) の 単 離 ま た は 組 換 え ポ リ ペ プ チ ド 抗 原 の 少 な く と も 1 つ が 種 々 の 病 原 性 の 分 類 不 能 型 イ ン フ ル エ ン ザ 菌 (H . i n f l u e n z a e) 株 の 間 で 保 存 さ れ て い る 、 請 求 項 1 に 記 載 の 組 成 物 。

【請求項 4】

— 髄膜炎菌 (N . m e n i n g i t i d i s) 血 清 群 A 、 B 、 C 、 W 1 3 5 お よ び / ま た は Y 由 来 の 抗 原

— 肺炎連鎖球菌 (S t r e p t o c o c c u s p n e u m o n i a e) 由 来 の 糖 類 ま た は ポ リ ペ プ チ ド 抗 原

— A 型 肝 炎 ウ イ ル ス 由 来 の 抗 原

— B 型 肝 炎 ウ イ ル ス 由 来 の 抗 原

— ジフテリアトキソイドなどのジフテリア抗原

— 破傷風抗原

— 百日咳菌 (B o r d e t e l l a p e r t u s s i s) 由 来 の 抗 原

— 全細胞百日咳抗原

— インフルエンザ菌 (H a e m o p h i l u s i n f l u e n z a e) B 由 来 の 糖 類 抗 原

— ポリオ抗原 (複数可)

— 麻疹、流行性耳下腺炎および / または風疹抗原

— インフルエンザ抗原 (複数可)

— モラクセラ・カタラーリス (M o r a x e l l a c a t a r r h a l i s) 由 来 の 抗 原

— 呼吸器系合胞体ウイルス由来の抗原

— ジフテリア (D) 、 破傷風 (T) 、 百日咳 (無細胞、成分) (P a) 、 B 型 肝 炎 (r D N A) (H B V) 、 灰 白 髄 炎 (不 活 化) (I P V) お よ び イ ン フ ル エ ン ザ 菌 (H a e m o p h i l u s i n f l u e n z a e) b 型 (H i b) 結 合 体 ワ ク チ ン (吸 着) を 含 む ワ ク チ ン 組 成 物 、 例 え ば I n f a n r i x - h e x a (登 録 商 標)

の い ず れ か か ら 選 択 さ れ る 分 類 不 能 型 イ ン フ ル エ ン ザ 菌 (H . i n f l u e n z a e) 抗 原 で は な い 少 な く と も 1 種 の ワ ク チ ン 抗 原 を さ ら に 含 む 、 請 求 項 1 ~ 3 の い ず れ か 一 項 に 記 載 の 組 成 物 。

【請求項 5】

1 種 ま た は 複 数 種 の 薬 学 的 に 許 容 さ れ る 担 体 、 希 釈 剤 お よ び / ま た は ア ジ ュ バ ン ト を さ

10

20

30

40

50

らに含む、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

医薬において使用するための、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

ワクチンである、請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の組成物。

【請求項 8】

インフルエンザ菌種 (*Haemophilus influenzae* sp) に対する免疫化剤として使用するための、請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の組成物。

【請求項 9】

中耳炎などの分類不能型インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) によって引き起こされる感染症に対する免疫化剤として使用するための、請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の組成物。

【請求項 10】

インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) によって引き起こされる疾患に対するワクチンとして使用するための、請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の組成物。

【請求項 11】

分類不能型インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) による感染を予防または処置するための、請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の組成物、または請求項 1 に記載の NT067 抗原と 2 種もしくはそれよりも多い抗原を含む組み合わせ物。

【請求項 12】

請求項 1 に記載の NT067 抗原と 2 種もしくはそれよりも多い抗原が同時に投与されることを特徴とする、請求項 11 に記載の組み合わせ物。

【請求項 13】

請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の NT067 抗原と 2 種もしくはそれよりも多い抗原が 2 つ以上のステップで別々に投与されることを特徴とする、請求項 11 に記載の組み合わせ物。

【請求項 14】

哺乳動物において免疫応答を上昇させることにおいて組み合わせて使用するための、請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の NT067 抗原と 2 種もしくはそれよりも多い抗原とを含む組み合わせ物、または、請求項 1 に記載の NT067 抗原と 1 種もしくはそれよりも多い抗原とを含む組み合わせ物。

【請求項 15】

1 種または複数の抗原をアジュバントと混合するステップを含む、請求項 1 から 5 までのいずれかに記載の組成物を調製するための方法。

【請求項 16】

混合物を医薬またはワクチンとして処方するステップをさらに含み、かつ場合により、その後処方物を医薬またはワクチンとして配布するために包装するステップをさらに含む、請求項 15 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この出願は、2012 年 4 月 26 日に提出された英国仮出願第 1207385.4 号および 2012 年 12 月 21 日に提出された欧州出願第 EP12199079.0 号（これら両方の完全な内容は、全ての目的のために参考として本明細書に援用される）の利益を主張する。

【0002】

本発明は、*Haemophilus influenzae* の免疫学およびワクチン学、具体的には、分類不能型 *H. influenzae* (NTHI) の分野に入る。本発明

10

20

30

40

50

は、H. influenzae 株に対する抗体および免疫応答を上昇させるための抗原ポリペプチドおよび抗原ポリペプチドの組み合わせを提供する。本発明は、そのような抗原を含有する組成物、およびH. influenzae に対するワクチンまたは薬物としてのその使用も提供する。本発明は、単独でもしくは組み合わせて使用される、またはその他のワクチンと一緒に使用されるそのような抗原を含有する免疫原性組成物も提供する。本発明は、H. influenzae に対する免疫応答を上昇させるための方法、およびH. influenzae による感染を処置および予防するための方法も提供する。

【背景技術】

【0003】

Haemophilus influenzae は、小さな非運動性のグラム陰性球杆菌である。Haemophilus influenzae は、上気道の無症候性コロニー形成（すなわち、保因）；コロニー形成された粘膜表面から広がって中耳炎（中耳の炎症）、気管支炎、結膜炎、副鼻腔炎、尿路感染症および肺炎を引き起こす感染症；ならびに菌血症、化膿性関節炎、喉頭蓋炎、肺炎、蓄膿症、心膜炎、蜂巣炎、骨髄炎および髄膜炎などの浸潤性感染症を含めた広範なヒト感染症を引き起こす呼吸器病原体である。H. influenzae は完全なゲノム配列が公開された最初の細菌であった [1]。

【0004】

H. influenzae 株は、莢膜を有する（分類可能である）か、莢膜を有さない（分類不可能である）かのいずれかであり、莢膜を有する株には6種の主要な血清型（a～f）が存在する。H. influenzae に引き起こされる浸潤性疾患の95%はH. influenzae b 型（「Hib」）株によって引き起こされる。Hib 疾患の最も重篤な症状発現は髄膜炎であるが、1980年代に結合体化したHib 莢膜糖に基づくワクチンが導入されたことにより、この疾患の発生率が大きく低下した。

【0005】

Hib 感染症は、現在はワクチン接種によって制御できるが、その他の病原性H. influenzae 株はリスクであるままである。例えば、分類不能型H. influenzae (NTHI) は、中耳炎(OM)、特に慢性OMおよび急性OMの原因となる。OMが死亡に関連することはめったにないが、著しい病的状態に関連する。聴力損失は最も一般的なOMの合併症であり、行動、教育および言葉の発達の遅延が、滲出液を伴う早発性OMの追加の結果である。急性OMは、USAにおける小児の最も一般的な細菌感染症である。分類不能型H. influenzae biogroup aegyptius は流行性結膜炎およびブラジル紫斑熱(BPF)を引き起こし [2]、BPFの死亡率は最大70%である。

【0006】

現在まで、抗生物質が、集合的にOMとして公知の臨床的実体のスペクトルに対する主要なツールになっているが、OMに対して抗生物質を広範にわたって使用することは、多抗生物質耐性微生物の出現に起因して、議論を呼んでいる。OMの病因およびそれに対する免疫応答の両方に関する理解が不完全であることに起因して、ワクチンへの進展は緩慢である。

【0007】

血清型d株KW20のゲノム配列 [1, 3] は、基本的なH. influenzae の生物学を理解するために有用なものになっているが、血清型d株は一般的に病原体ではないので、病原性H. influenzae 株を阻止することにおいてはそれほど有用なものにはなっていない。病原性の分類不能型H. influenzae 由来のポリペプチドが同定され、ワクチン候補として調査されている。参考文献4には、病原性の分類不能型H. influenzae 株由来の免疫原性ポリペプチドが開示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】国際公開第2005/111066号

10

20

30

40

50

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Fleischmannら、Science (1995) 269: 496～512

【非特許文献2】Liら、Mol Microbiol (2003) 47: 1101～1111

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

しかし、依然として、広域スペクトルのHaemophilus influenzae株から防御するワクチンをもたらすことが必要とされている。H. influenzaeは、新しいニッチに適合する能力および広域スペクトルの疾患を引き起こす能力が改善された多用途の微生物である。この微生物が種々の組織および宿主に適合することを可能にするために、適応度、ビルレンスおよびコロニー形成因子を変化させることができる。したがって、可能性のある抗原は高い選択圧力にさらされ、その結果として、異なる株の間で配列変動性を有し得る。

10

【0011】

したがって、依然として、分類不能型Haemophilus influenzaeワクチンに使用するためのさらなる改善された抗原を同定すること、具体的には、多数のNTHIに引き起こされる病態に有用なワクチンが必要とされている。

20

【0012】

ncbi.nlm.nih.gov under genomesにおいて利用可能なゲノムのデータベースに、わずか2,500タンパク質から4,000タンパク質までもを伴う病原性および非病原性のHaemophilus influenzaeゲノムが列挙された。しかし、そのような一覧表では、いずれが病原性NTHIのかかなりの部分にわたって保存されているか、そのように保存されたタンパク質において保存された領域はどこであるか、または何千もの可能性のあるタンパク質の中で、どのタンパク質が、最良の候補を同定するために多数のタンパク質をスクリーニングすることを必要とする、病原性NTHIから防御するための十分な免疫応答を生じさせるためのワクチンに使用され得るかは識別されない。

30

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明の目的は、H. influenzae病原体、具体的には、分類不能型H. influenzaeによって引き起こされる感染症を予防および／または処置するためワクチンの開発において使用するための、H. influenzaeの異なる株に対する免疫応答を上昇させることにおいて効果的なさらなるより良い抗原および／または組み合わせを提供することである。具体的には、目的は、そのような感染症、具体的には、急性中耳炎および慢性閉塞性肺疾患(COPD)を予防するためおよび／または処置することにおける改善された免疫原性組成物およびワクチンに使用するためのポリペプチドおよびポリペプチドの組み合わせを提供することである。ポリペプチドは、診断のために、また抗生物質の標的としても有用であり得る。

40

【0014】

本発明には、免疫化のために有用な、単独で、または組み合わせて使用するための分類不能型Haemophilus influenzae (NTHI) ポリペプチドが記載されている。これらのポリペプチドは、その他のNTHIポリペプチドとも同様に組み合わせることができる。抗原は、NTHIワクチンにおいて有用であるが、多数の病原体に対する免疫化のためのワクチンの成分としても使用され得る。

【0015】

2つの並行的手法、すなわち、外膜小胞(OMV)の逆ワクチン学(reverse vaccinology)およびプロテオミクス解析を使用することによって、86種の

50

異なるNTHI株の間で保存されている抗原を同定することが可能になった。逆ワクチン学では、*in silico*解析を使用して、異なるNTHI株のゲノム内に保存されており、潜在的に表面に露出しているタンパク質を同定する。第2の手法では、その代わりに、NTHIによって産生される外膜小胞に含有されるタンパク質の質量分析によって抗原を同定することに焦点が当てられる。

【0016】

NTHI株のゲノムは、約1800種の遺伝子を含む。本発明者らは、全て現在公的に入手可能な、15の完全なゲノムと、それに加えて、地理的分布に基づいて選択された39種の株および中耳炎Finnishコレクションに由来する32種の株から274種の保存された抗原を同定した。これらの274種から、特に興味深い53種のポリペプチドを選択した。これらの抗原は株NP86-028から選択されたが、例外として、CGSHiGG_00130はPittGから選択され、CGSHiGG_02400はPittGから選択され、gi-145633184は3655株から選択され、gi-145628236は22.1-21株から選択された。

【0017】

以下の53種の抗原の群の中で、免疫原性および保存の基準を考慮してさらなる選択が生じた：

- ・本明細書では「第1の抗原群」と呼ばれる26種の抗原のセット
- ・本明細書では「第2の抗原群」と呼ばれる6種の抗原のセット
- ・本明細書では「第3の抗原群」と呼ばれる21種の抗原のセット

最も好ましい抗原のセットは、本明細書では、「第1の抗原群」と呼ばれる。したがって、本発明は、(1) NTHI0915 (NT018)、(2) NTHI1416 (NT024)、(3) NTHI2017 (NT032)、(4) CGSHiGG_02400 (NT038)、(5) NTHI1292 (NT067)、(6) NTHI0877 (NT001)、(7) NTHI0266 (NT016)、(8) CGSHiGG_00130 (NT052)、(9) NTHI1627 (NT002)、(10) NTHI1109 (NT026)、(11) NTHI0821 (NT009)、(12) NTHI0409 (NT025)、(13) NTHI1954 (NT028)、(14) NTHI0371 (NT029)、(15) NTHI0509 (NT031)、(16) NTHI0449 (NT015)、(17) NTHI1473 (NT023)、(18) gi-145633184 (NT100)、(19) NTHI1110 (NT040)、(20) gi-46129075 (NT048)、(21) gi-145628236 (NT053)、(22) NTHI1230 (NT066)、(23) NTHI0522 (NT097)、(50) NT004、(51) NT014、(52) NT022からなる群より選択される少なくとも1種の抗原を含む、好ましくは1種または複数(すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い)の抗原を含む免疫原性組成物を提供する。これらの抗原は、表IIIおよび表IVに示されているように、陽性の殺菌活性を示す。

【0018】

第1の抗原群の中で、好ましい抗原は、(1) NTHI0915 (NT018) 抗原、(2) NTHI1416 (NT024) 抗原、(3) NTHI2017 (NT032) 抗原、(4) CGSHiGG_02400 (NT038)、(5) NTHI1292 抗原 (NT067)、(6) NTHI0877 (NT001) 抗原、(8) NT052 抗原、(50) NT004 抗原、(51) NT014 抗原、(52) NT022 抗原、(7) NTHI0266 NT016 抗原のいずれかのサブセットから選択される。これらの抗原は全て、表IIに示されているように良好な精製のレベルを示し、また、表IIIおよび表IVにおいて免疫原性有効性が報告されている。

【0019】

特に好ましい抗原はNT067、NT014、NT016、NT022であった。

【0020】

したがって、本発明は、「第1の抗原群」からなる群より選択される1種または複数（すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）の抗原を含む免疫原性組成物を提供する。

【0021】

本発明者らは、以下の6種のポリペプチドも同定した：(24) P48 (NTHI0254、NT007とも定義される)、(25) HtrA (NTHI1905、NT006とも定義される)、(26) PE (NTHI0267、NT035とも定義される)、(27) P26 (NTHI0501、NT010とも定義される)、(28) PHiD (NTHI0811、NT080とも定義される)、(29) P6 (NTHI0501、NT081とも定義される)。この6種の抗原のセットは、本明細書では「第2の抗原群」と呼ばれる。

10

【0022】

本発明者らは、以下の22種のポリペプチド：(30) NTHI0532 (NT013)、(31) NTHI0363 (NT106)、(32) NTHI0370 (NT107)、(33) NTHI0205 (NT108)、(34) NTHI0374 (NT109)、(35) NTHI0579 (NT110)、(36) NTHI0837 (NT111)、(37) NTHI0849 (NT112)、(38) NTHI0921 (NT113)、(39) NTHI0995 (NT114)、(40) NTHI1091 (NT115)、(41) NTHI1169 (NT116)、(42) NTHI1208 (NT117)、(43) NTHI1318 (NT118)、(44) NTHI1796 (NT123)、(45) NTHI1930 (NT124)、(46) NTHI1565 (NT119)、(47) NTHI1569 (NT120)、(48) NTHI1571 (NT121)、(49) NTHI1667 (NT122)、(53) NTHI0588 (NT061)、(54) NTHI0915 (NT017) も同定した。この22種の抗原のセットは、本明細書では、「第3の抗原群」と呼ばれる。

20

【0023】

一実施形態では、組成物は、第1の抗原群より選択される少なくとも1種の抗原（すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）および／または第2の抗原群より選択される少なくとも1種の抗原（すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）および／または第3の抗原群より選択される少なくとも1種の抗原（すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）を含む。第1の抗原群からの抗原は、最も好ましい抗原のサブセットから選択され得る。

30

【0024】

好ましくは、本発明は、第1の抗原群または第2の抗原群または第3の抗原群のいずれかから選択される1種の抗原を含む免疫原性組成物を提供する。

【0025】

したがって、本発明はまた、「第1の抗原群」および／または「第2の抗原群」および／または「第3の抗原群」からなる群より選択される2種以上（すなわち、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）の抗原を含む抗原の組み合わせを含む免疫原性組成物を提供する。

40

【0026】

組成物が「第2の抗原群」からの抗原を含む場合、好ましくは、組成物は、(i) 「第2の抗原群」からの少なくとも1種のさらなる抗原または(ii) 「第1の抗原群」または「第3の抗原群」からの少なくとも1種の抗原も包含すべきである。したがって、本発明は、「第2の抗原群」からの単一の抗原をその唯一の抗原性成分として含む組成物は包含しない。組成物が「第2の抗原群」からの2種以上の抗原を含む場合、好ましくは、組成物は、(a) P48抗原 (b) HtrA抗原 (c) PE抗原または(d) P26抗原ではない少なくとも1種の抗原を含むべきである。したがって、一部の実施形態では、本発

50

明は、P 4 8、H t r A、P Eおよび／またはP 2 6 のみの組み合わせを包含しない。同様に、一部の実施形態では、本発明は、P 4 8、H t r A、P Eおよび／またはP 2 6 からのみの「X」部分を含むハイブリッド抗原を包含しない。

【0027】

第1の抗原群の11種の好ましい抗原の中で、可能性のある異なる抗原の対は55対存在する。そのような対は全て本明細書に開示されており、本発明の一部である。したがって、本発明は、前記55対のうち1つである抗原の対を含む免疫原性組成物を提供する。

【0028】

一実施形態では、組成物は、第1の抗原群より選択される少なくとも1種の抗原（すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）および／または第2の抗原群より選択される少なくとも1種の抗原（すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）、および／または第3の抗原群より選択される少なくとも1種の抗原（すなわち、1種、2種、3種、4種、5種、6種またはそれより多い）を含む。

【0029】

全ての場合において、第1の抗原群からの抗原は、(1) N T H I 0 9 1 5 (N T 0 1 8)、(2) N T H I 1 4 1 6 (N T 0 2 4)、(3) N T H I 2 0 1 7 (N T 0 3 2)、(4) C G S H i G G _ 0 2 4 0 0 (N T 0 3 8)、(5) N T H I 1 2 9 2 (N T 0 6 7)、(6) N T H I 0 8 7 7 (N T 0 0 1)、(8) N T 0 5 2、(50) N T 0 0 4、(51) N T 0 1 4、(52) N T 0 2 2、(7) N T 0 1 6 のいずれかの最も好ましいサブセットから有利に選択され得る。

【0030】

本発明はまた、(1) N T H I 0 9 1 5 (N T 0 1 8)、(2) N T H I 1 4 1 6 (N T 0 2 4)、(3) N T H I 2 0 1 7 (N T 0 3 2)、(4) C G S H i G G _ 0 2 4 0 0 (N T 0 3 8)、(5) N T H I 1 2 9 2 (N T 0 6 7)、(6) N T H I 0 8 7 7 (N T 0 0 1)、(8) N T 0 5 2、(50) N T 0 0 4、(51) N T 0 1 4、(52) N T 0 2 2、(7) N T 0 1 6 からなる群より選択される2種以上（すなわち、2種、3種、4種または5種）の抗原を含む抗原の組み合わせを含む免疫原性組成物を提供する。組成物は、アジュバント、例えば水中油型エマルジョンまたはアルミニウム塩を含むアジュバントも含み得る。

【0031】

参考文献5では、分類不能型H. i n f l u e n z a e 抗原が、とりわけワクチンへの可能性のある使用の候補として考察されている。参考文献6～10は、個別に、それぞれ、分類不能型H. i n f l u e n z a e ポリペプチドであるP 4 8、H t r A、P EおよびP 2 6、とりわけ、それらの免疫原性の潜在性に関する。参考文献5でも同様に、H t r A、P EおよびP 2 6 について、個別に、より多数のワクチン候補の中で言及されており、また、例えば、参考文献10はポリペプチドP Eに関する。しかし、これらの抗原は「第2の抗原群」に属し、組み合わせへの使用については記載されていない。今では、驚いたことに、これらの抗原（第2の抗原群）のうち1種または複数と「第1の抗原群」に列挙されている抗原のうち少なくとも1種との組み合わせが、分類不能型H. i n f l u e n z a e に対する防御免疫応答を生成するために、したがって、上記の本発明の目的のために特に適していることが見いだされている。

【0032】

本発明の有利な組み合わせは、2種以上の抗原が相乗的に作用するものである。したがって、それらの併用投与によって実現されるN T H I 病原体に対する防御は、それらの個々の防御有効性を単に足し算することによって予測される防御を超える。

【0033】

第1の抗原群

NT018 抗原

「NT018」抗原は、TPR反復含有タンパク質としてアノテートされ、チトクロムc成熟化ヘムリアーゼサブユニットCc mH2としてもアノテートされる。これは、株86-028NPにおけるNTHI0915としてアノテートされている。前記配列は分析された全ての株の間で高度に保存されており、膜結合型金属ペプチダーゼであることが予測される。表IIIに示されているように、NT018は表面に露出している。NT018は、Finland中耳炎コレクションから単離された株である別の分類不能型株Fi176からクローニングされ、発現されている。

【0034】

有用なNT018抗原は、配列番号1を認識する抗体を惹起でき（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または（a）配列番号1に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号1の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT018タンパク質としては、クローニングされ、発現され、免疫原性に関して試験されている配列番号49などの配列番号1の改変体が挙げられる（表III、表IV）。（b）の好ましい断片は、配列番号1由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号1のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個、26個、27個、28個またはそれより多い）を欠くが、配列番号1の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0035】

本発明のNT018抗原は、NT018のその天然の28個のN末端アミノ酸（MNF T L I F I L T T L V V A L I C F Y P L L R Q F K A；配列番号69）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0036】

NT024 抗原

「NT024」抗原は、「假定タンパク質」としてアノテートされ、また、ゲノム86-028NPにおけるNTHI1416としてアノテートされている。この抗原は、Fi176株からクローニングされ、発現されている。

【0037】

有用なNT024抗原は、配列番号2を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号2に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号2の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT024タンパク質として、株Fi176からクローニングされた配列番号50などの配列番号2の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号2由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号2のC末端か

らの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号2の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0038】

本発明のNT024抗原は、NT024の天然の20個のN末端アミノ酸（MKLKLF F H I V L L C F S L P V W A；配列番号70）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMe t - A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

10

【0039】

NT032抗原

「NT032」抗原は、「假定タンパク質」としてアノテートされ、また、ゲノム86-028NPにおけるNTHI2017としてアノテートされている。試験された株の中で最も保存されているドメインは、「細菌OBフォールド（BOF）タンパク質」と記載される。この抗原は、F i l 7 6株からクローニングされ、発現されている。

【0040】

有用なNT032抗原は、配列番号3を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号3に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号3の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT032タンパク質として、F i l 7 6株からクローニングされた配列番号51などの配列番号3の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号3由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号3のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号3の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

30

【0041】

本発明のNT032抗原は、NT032の天然の19個のN末端アミノ酸（MKKFALLATIFALLATTSAFA；配列番号71）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMe t - A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

40

【0042】

NT067抗原

「NT067」抗原は、ABC輸送体タンパク質としてアノテートされ、ペリプラズムオリゴペプチド結合性タンパク質OppAとしてのその假定される機能が提唱されている。株86-028NPにおいて、NTHI1292としてアノテートされている。この抗原は、F i l 7 6株からクローニングされ、発現されている。

【0043】

有用なNT067抗原は、配列番号5を認識する抗体を惹起することができ（例えば、

50

ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号5に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および／または(b) 配列番号5の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT067タンパク質として、Fi176株からクローニングされた配列番号52などの配列番号5の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号5由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号5のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号5の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0044】

本発明のNT067抗原は、NT067の天然の20個のN末端アミノ酸(MQHKL L F S A I A L A L S Y S V Q A; 配列番号72)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMe t - A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

20

【0045】

NT038抗原

この抗原は、H i a (H a e m o p h i l u s i n f l u e n z a e a d h e s i n) タンパク質として公知であり[11]、株C G S H i G G _ 0 2 4 0 0において、282アミノ酸の長さで同定されているが、これは株86-028NPまたはその他のNT H i株における最初に記載されたH i a (616アミノ酸)の切断型である。この抗原は、R2846株からクローニングされている。

【0046】

有用なNT038抗原は、配列番号4を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号4に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および／または(b) 配列番号4の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT038タンパク質として、最初の23個の天然のN末端アミノ酸およびC末端の102個のアミノ酸を欠く配列番号53などの配列番号4の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号4由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号4のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)(102アミノ酸に至るまで)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、23個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号4の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

40

【0047】

本発明のNT038抗原は、NT038の天然の23個のN末端アミノ酸(M P F Q Y

50

V T E D G K T V V K V G N G Y Y E A ; 配列番号 73) とともに発現され得るか、または代替の N 末端配列とともに、例えば、単純な N 末端メチオニン、または Met - Ala -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0048】

NT001 抗原

この抗原は、ゲノム 86-028NP における NTHI0877 としてアノテートされており、また、D-メチオニン-結合性リポタンパク質 Met Q として公知である。Met D は、DL メチオニン取り込み系をコードする ABC 輸送体である。この抗原は、以前に BASB202 (28Kda) として開示されており [12、13]、NTHI に対するワクチンとしてのその使用が提唱されている。この抗原は、Ref (4) に記載されているホモログ抗原と 99、63% のアラインメント ID を共有し、また、本発明において検討された全ての株の間でよく保存されていることが見いだされている。本発明では、Fi176 株からクローニングされ、発現される。

【0049】

有用な NT001 抗原は、配列番号 6 を認識する抗体を惹起することができ (例えば、ヒトに投与されると)、かつ/または、(a) 配列番号 6 に対して 50% 以上 (例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% またはそれより高い) の同一性を有するアミノ酸配列; および/または (b) 配列番号 6 の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が 7 以上 (例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250 またはそれより多い) であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらの NT001 タンパク質として、配列番号 54 などの配列番号 4 の改変体が挙げられる。(b) の好ましい断片は、配列番号 6 由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号 6 の C 末端からの 1 個または複数のアミノ酸 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い) および/または N 末端からの 1 個または複数のアミノ酸 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、21 個、25 個またはそれより多い) を欠くが、配列番号 6 の少なくとも 1 つのエピトープを保持する。その他の断片では、1 つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0050】

本発明の NT001 抗原は、NT001 の天然の 21 個の N 末端アミノ酸 (MKLKQLFAITAIASALVLTGC; 配列番号 74) とともに発現され得るか、または代替の N 末端配列とともに、例えば、単純な N 末端メチオニン、または Met - Ala -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0051】

NT016 抗原

この抗原は、株 86-028NP における NTHI0266 としてアノテートされており、また、仮定リポタンパク質と記載されている。この抗原は、Fi176 株からクローニングされ、発現されている。

【0052】

有用な NT016 抗原は、配列番号 7 を認識する抗体を惹起することができ (例えば、ヒトに投与されると)、かつ/または、(a) 配列番号 7 に対して 50% 以上 (例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% またはそれより高い) の同一性を有するアミノ酸配列; および/または (b) 配列番号 7 の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が 7 以上 (例えば、8、10、12、1

4、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT016タンパク質として、配列番号55などの配列番号7の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号7由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号7のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、19個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号7の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0053】

本発明のNT016抗原は、NT016の天然の16個のN末端アミノ酸(MRKILSLALLAVAAALVIGC;配列番号75)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0054】

NT052抗原

この抗原は、PittGG株由来のCGSHiGG_00130としてアノテートされている。この抗原は、Se11ドメイン含有タンパク質ファミリーの一部である。この抗原は、R2846株からクローニングされており、クローニングされた配列は配列番号8として報告されている。R2846からクローニングされた配列はCGSHiGG_00130としてアノテートされた配列と64.16%の同一性しか共有しないにもかかわらず、効果的な抗原性をもたらすために有用な配列にわたって反復される保存されたSe11ドメインが存在することが示されている。この反復のコンセンサスは配列番号:EAVKWYRKAAEQである。

20

【0055】

有用なNT052抗原は、配列番号8を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ/または、(a)配列番号8に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号8の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT052タンパク質として、配列番号56などの配列番号8の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号8由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号8のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号8の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

40

【0056】

本発明のNT052抗原は、NT052の天然の11個のN末端アミノ酸(MLLFILSIWA;配列番号76)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る

50

。

【0057】

NT002 抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI1627として、およびリポタンパク質としてアノテートされている。この抗原は、Fi176株からクローニングされ、発現されている。

【0058】

有用なNT002抗原は、配列番号9を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号9に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号9の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT002タンパク質として、配列番号57などの配列番号9の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号9由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号9のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号9の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0059】

本発明のNT002抗原は、NT002の天然の18個のN末端アミノ酸（MKVYKSFLLIATASLFLFA；配列番号77）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0060】

本発明のNT002抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

【0061】

NT026 抗原

この抗原は、86-026NP株における仮定タンパク質NTHI1109としてアノテートされている。この抗原は、細胞質膜タンパク質であると予測されている。この抗原は、株Fi176からクローニングされ、発現されている。

【0062】

有用なNT026抗原は、配列番号10を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号10に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号10の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT026タンパク質として、Fi176株からクローニングされた配列番号58などの配列番号10の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号10由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号10のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、

6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い) および／または N 末端からの 1 個または複数のアミノ酸 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い) を欠くが、配列番号 10 の少なくとも 1 つのエピトープを保持する。その他の断片では、1 つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0063】

本発明の NT026 抗原は、NT026 の天然の 24 個の N 末端アミノ酸 (MQKGMTLVELLIGLAIIISIVLNFA; 配列番号 78) とともに発現され得るか、または代替の N 末端配列とともに、例えば、単純な N 末端メチオニン、または Met-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

10

【0064】

NT009 抗原

この抗原は、86-026 NP 株における NTHI0821 としてアノテートされており、OMP85 ファミリータンパク質の一部である。この抗原は、細菌の外膜内に位置する。この抗原は、Fi176 株からクローニングされ、発現されている。

【0065】

有用な NT009 抗原は、配列番号 11 を認識する抗体を惹起することができ (例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号 11 に対して 50% 以上 (例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% またはそれより高い) の同一性を有するアミノ酸配列; および／または (b) 配列番号 11 の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が 7 以上 (例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250 またはそれより多い) であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらの NT009 タンパク質として、Fi176 からクローニングされた配列番号 59 などの配列番号 11 の改変体が挙げられる。(b) の好ましい断片は、配列番号 11 由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号 11 の C 末端からの 1 個または複数のアミノ酸 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い) および／または N 末端からの 1 個または複数のアミノ酸 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、22 個、25 個またはそれより多い) を欠くが、配列番号 11 の少なくとも 1 つのエピトープを保持する。その他の断片では、1 つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

30

【0066】

本発明の NT009 抗原は、NT009 の天然の 22 個の N 末端アミノ酸 (MNKTL LKLTALFLALNCFPAFA; 配列番号 79) とともに発現され得るか、または代替の N 末端配列とともに、例えば、単純な N 末端メチオニン、または Met-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

40

【0067】

NT025 抗原

この抗原は、86-026 NP 株における NTHI0409 としてアノテートされており、また、IV 型ピリンサブユニットタンパク質ファミリーに属する。この抗原は、Fi176 株からクローニングされ、発現されている。

【0068】

有用な NT025 抗原は、配列番号 12 を認識する抗体を惹起することができ (例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号 12 に対して 50% 以上 (例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% またはそれより高い

50

）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号12の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT025タンパク質として、Fi176からクローニングされた配列番号60などの配列番号12の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号12由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号12のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、23個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号12の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0069】

本発明のNT025抗原は、NT025の天然の23個のN末端アミノ酸（MKLT TQQTLKKGF T L I E L M I V I A；配列番号80）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0070】

20

NT028抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI1954として、およぼりポタンパク質NlpCとしてアノテートされている。この抗原は、Fi176株からクローニングされ、発現されている。

【0071】

有用なNT028抗原は、配列番号13を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号13に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号13の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT028タンパク質として、Fi176からクローニングされた配列番号61などの配列番号13の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号13由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号13のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号13の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

40

【0072】

本発明のNT028抗原は、NT028の天然の21個のN末端アミノ酸（MLKR I L V I I G L A V L A T A C S N A；配列番号81）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0073】

本発明のNT028抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質

50

付加されたものであってよい。

【0074】

NT029抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI0371として、および外膜タンパク質ファミリーに属するヘム／ヘモペキシン結合性タンパク質Aとしてアノテートされている。この抗原は、R2846株からクローニングされ、発現されている。

【0075】

有用なNT029抗原は、配列番号14を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号14に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号14の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT029タンパク質として、R2846株からクローニングされた配列番号62などの配列番号14の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号14由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号14のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号14の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0076】

本発明のNT029抗原は、NT029の天然の21個のN末端アミノ酸（MYKLNVISLIILTTYTGATYA；配列番号82）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0077】

NT031抗原

この抗原は、86-026NP株における飢餓誘導性外膜リポタンパク質NTHI0509としてアノテートされている。この抗原は、R2846株からクローニングされ、発現されている。

【0078】

有用なNT031抗原は、配列番号15を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号15に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号15の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT031タンパク質として、R2846株からクローニングされ、発現された配列番号63などの配列番号15の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号15由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号15のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個

、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、18個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号15の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0079】

本発明のNT031抗原は、NT031の天然の18個のN末端アミノ酸(MK GK I T L F F T A L C F G L T G; 配列番号83)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0080】

本発明のNT031抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

【0081】

NT015抗原

この抗原は、86-026NP株における不透明性関連タンパク質(opacity associated protein)OapB NTHI0449としてアノテートされている。この抗原は、Fi176株からクローニングされ、発現されている。

【0082】

有用なNT015抗原は、配列番号16を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ/または、(a)配列番号16に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号16の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT015タンパク質として、Fi176からクローニングされ、発現された配列番号64などの配列番号16の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号16由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号16のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号16の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0083】

本発明のNT015抗原は、NT015の天然の17個のN末端アミノ酸(MLKK T S L I F T A L L L A G C; 配列番号84)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0084】

NT023抗原

この抗原は、86-026NP株における外膜リポタンパク質PCP、NTHI1473としてアノテートされている。この抗原は、Fi176株からクローニングされ、発現されている。

【0085】

有用なNT023抗原は、配列番号17を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ/または、(a)配列番号17に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93

10

20

30

40

50

％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号17の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT023タンパク質として、株Fi176からクローニングされ、発現された配列番号65などの配列番号17の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号17由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号17のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号17の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0086】

本発明のNT023抗原は、NT023の天然の20個のN末端アミノ酸(MKKTNMALALLVAFSVTGCA；配列番号85)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

20

【0087】

本発明のNT023抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

【0088】

NT100抗原

この抗原は、「推定ヒドロキサメート型鉄シデロフォア受容体(putative hydroxamate-type ferric siderophore receptor)」として、およびNCBIにおいて株3655由来のgi-145633184としてアノテートされている。この抗原は、R246株からクローニングされている。

【0089】

30

有用なNT100抗原は、配列番号18を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a)配列番号18に対して50％以上(例えば、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号18の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT100タンパク質として、配列番号66などの配列番号18の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号18由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号18のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号18の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

40

【0090】

本発明のNT100抗原は、NT100の天然の30個のN末端アミノ酸(MDLGP IYNTRDINDGKVINIDNPNTNPVA；配列番号86)とともに発現さ

50

れ得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0091】

NT040抗原

この抗原は、86-026NP株における假定タンパク質NTHI11110としてアノテートされている。この抗原は、R2846株からクローニングされ、発現されている。

【0092】

有用なNT040抗原は、配列番号19を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号19に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号19の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT040タンパク質として、配列番号19の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号19由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号19のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号19の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0093】

本発明のNT040抗原は、NT040の天然の26個のN末端アミノ酸（MMKTL LKGQTLLALMISLTLS S L L L L；配列番号87）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0094】

NT048抗原

この抗原は、株86-028NPにおけるNTHI11169としてアノテートされている。この抗原は、R2846株からクローニングされ、発現されている。

【0095】

有用なNT048抗原は、配列番号20を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号20に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号20の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT048タンパク質として、配列番号20の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号20由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号20のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号20の少なくとも1つのエピトープを保

持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0096】

本発明のNT048抗原は、NT048の天然の18個のN末端アミノ酸（MKSVPLITGGLSFLLSAC；配列番号88）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0097】

NT053抗原

この抗原は、R2846株におけるgi-145628236としてアノテートされており、また、前記株からクローニングされている。

10

【0098】

有用なNT053抗原は、配列番号21を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号21に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号21の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT053タンパク質として、配列番号21の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号21由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号21のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号21の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

【0099】

本発明のNT053抗原は、NT053の天然のN末端Metとともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、Met-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

30

【0100】

NT066抗原

この抗原は、NP86-028株におけるNTHI1230としてアノテートされており、また、細菌のペリプラズムに局在している。この抗原は、F1176株からクローニングされ、発現されている。

【0101】

有用なNT066抗原は、配列番号22を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号22に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号22の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT066タンパク質として、配列番号67などの配列番号22の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号22由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号22のC末端からの1個または複数のア

40

50

ミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個、27個、30個、33個またはそれより多い）を欠くが、配列番号22の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0102】

本発明のNT066抗原は、NT066の天然の33個のN末端アミノ酸（MKIYLRFVWILIIILNFLNLFIITNGVIVNA；配列番号90）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

10

【0103】

NT097抗原

この抗原は、NP86-028株におけるNTHI0522としてアノテートされており、また、外膜環境に存在することが予測される長鎖脂肪酸FadL様輸送体タンパク質として記載されている。この抗原は、R2846株からクローニングされ、発現されている。

【0104】

有用なNT097抗原は、配列番号23を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号23に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号23の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT097タンパク質として、配列番号23の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号23由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号23のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、22個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号23の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

30

【0105】

本発明のNT097抗原は、NT097の天然の22個のN末端アミノ酸（MKKFNQSILATAMLLAAGGANA；配列番号91）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

40

【0106】

NT004抗原

この抗原は、外膜環境にある株PittGG由来の假定タンパク質CGSHiGG_08215としてアノテートされている。この抗原は、F1176株からクローニングされ、発現されている。

【0107】

有用なNT004抗原は、配列番号122を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号122に対して50%以上（

50

例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号122の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT004タンパク質として、配列番号122の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号122由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号122のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、22個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号122の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0108】

本発明のNT004抗原は、NT004の天然の20個のN末端アミノ酸(MKKKNQILVSLSLIVALLGGC;配列番号125)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

20

【0109】

NT014抗原

この抗原は、株Rd KW20由来の仮定タンパク質HI1658としてアノテートされている。この抗原は、Fi176株からクローニングされ、発現されている。

【0110】

有用なNT014抗原は、配列番号123を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ/または、(a)配列番号123に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号123の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT014タンパク質として、配列番号123の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号123由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号123のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、22個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号123の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

40

【0111】

本発明のNT014抗原は、NT014の天然の22個のN末端アミノ酸(MTLSP LKKLAILLGATIFLQGC;配列番号126)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0112】

50

NT022 抗原

この抗原は、株NP86-028由来のNTHI0830としてアノテートされており、また、可能性のある外膜抗原性リポタンパク質Bであると同定されている。この抗原は、Fi176株からクローニングされ、発現されている。この抗原は、Ly t M触媒ドメインを含有すること、および表面に露出しおり、分泌されることも見いだされている。

【0113】

有用なNT022抗原は、配列番号124を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号124に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号124の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT022タンパク質として、配列番号124の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号124由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号124のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、22個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号124の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0114】

本発明のNT022抗原は、NT022の天然の18個のN末端アミノ酸（MKKSL L L L P L S L V V L S A C；配列番号127）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0115】

第2の抗原群

抗原P48

P48ポリペプチドは、文献において、Na（+）トランスロケーションNADH-キノンレダクターゼサブユニットAとしてアノテートされている。参照のために、P48の全長アミノ酸配列が本明細書において配列番号24として示されている。

【0116】

本発明で使用されるために好ましいP48ポリペプチドは、（a）配列番号24に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性、例えば、90%以上の同一性、または95%以上の同一性、または99%以上の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号24の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれ以上；例えば、20以上；または例えば、50以上；または例えば、80以上）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含む。これらのP48ポリペプチドとして、配列番号24の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号24由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号24のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、

2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い)を欠くが、配列番号24の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0117】

本発明のP48抗原は、理想的には、P48の天然の25個のN末端アミノ酸(MITIKKGLDLPIAGKPAQVIHSGNA;配列番号92)を有さず、したがって、代替のN末端配列、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現されるべきである。

【0118】

本発明によると、P48抗原は、本明細書に記載の抗原HtrA、PE、P26、PHiD抗原および/またはP6のうち1種または複数(例えば、1種、2種または3種)、具体的には、例えば、HtrAと有利に組み合わせることができる。

【0119】

抗原HtrA

HtrAポリペプチドは、文献において、ペリプラズムセリンプロテアーゼdo/HhooA様前駆体としてアノテートされており、また、熱ショックタンパク質またはシャペロンとして記載されている。参照のために、HtrAの全長アミノ酸配列が本明細書において配列番号25として示されている。

【0120】

本発明で使用されるために好ましいHtrAポリペプチドは、(a)配列番号25に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性、例えば、90%以上の同一性、または95%以上の同一性、または99%以上の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号25の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれ以上;例えば、20以上;または例えば、50以上;または例えば、80以上)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含む。これらのHtrAポリペプチドとして、配列番号25の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号25由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号25のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号25の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のポリペプチドドメインが省かれている。

【0121】

本発明のHtrA抗原は、理想的には、HtrAの天然の26個のN末端アミノ酸(MKKTRFVLNSIALGLSVLSTSFVAQA;配列番号93)を有さず、したがって、代替のN末端配列、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現されるべきである。

【0122】

本発明によると、HtrA抗原は、抗原P48、PE、P26、P6および/またはPHiDの1種または複数(例えば、1種、2種、または3種)、具体的には、例えば、P48と有利に組み合わせることができる。

【0123】

抗原PE

PEポリペプチドは、リボタンパク質ービトロネクチン結合性タンパク質として、また

10

20

30

40

50

は結合性 I g Dとしてアノテートされており、また、2型肺胞細胞への接着として作用する。参照のために、P Eの全長アミノ酸配列が本明細書において配列番号26として示されている。

【0124】

本発明で使用されるために好ましいP Eポリペプチドは、(a)配列番号26に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性、例えば、90%以上の同一性、または95%以上の同一性、または99%以上の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号26の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150またはそれ以上；例えば、20以上；または例えば、50以上；または例えば、80以上)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含む。これらのP Eポリペプチドとして、配列番号26の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号26由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号26のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号26の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のポリペプチドドメインが省かれている。

【0125】

本発明のP E抗原は、理想的には、P Eの天然の16個のN末端アミノ酸(MK K I I L T L S L G L L T A C；配列番号94)を有さず、したがって、代替のN末端配列、例えば、単純なN末端メチオニン、またはM e t - A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現されるべきである。

【0126】

本発明によると、P E抗原は、本明細書に記載の抗原P 48、H t r A、P 26、P 6および／またはP H i Dのうち1種または複数(例えば、1種、2種または3種)と有利に組み合わせることができる。

【0127】

抗原P 26

P 26ポリペプチドは、外膜タンパク質26としても公知である。P 26ポリペプチドは、タンパク質のS k pファミリーのメンバーとしてアノテートされており、その推定される機能は、外膜タンパク質のトランスロケーションである[5]。参照のために、P 26の全長アミノ酸配列が本明細書において配列番号27として示されている。

【0128】

本発明で使用されるために好ましいP 26ポリペプチドは、(a)配列番号27に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性、例えば、90%以上の同一性、または95%以上の同一性、または99%以上の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号27の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150またはそれ以上；例えば、20以上；または例えば、50以上；または例えば、80以上)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含む。これらのP 26ポリペプチドとして、配列番号27の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号27由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号27のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5

個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い) および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号27の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0129】

本発明によると、P26抗原は、本明細書に記載の抗原P48、HtrA、PE、PHiDおよび/またはP6の1種または複数(例えば、1種、2種、または3種)、具体的には、本明細書に記載のP48、HtrAおよび/またはPEのいずれかまたはその全てと有利に組み合わせることができる。

10

【0130】

PHiD抗原

PHiD抗原は「タンパク質D」としても公知であり、また、主に複合糖質NTHiクチン手法において担体タンパク質として使用されている[95]。この抗原は、F1176株からクローニングされ、発現されている。

【0131】

本発明で使用されるために好ましいPHiDポリペプチドは、(a)配列番号28に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性、例えば、90%以上の同一性、または95%以上の同一性、または99%以上の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号28の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150またはそれ以上;例えば、20以上;または例えば、50以上;または例えば、80以上)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含む。これらのPHiDポリペプチドとして、配列番号28の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号28由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号28のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号28の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

30

【0132】

本発明のPHiD抗原は、PHiDの天然の18個のN末端アミノ酸(MKLKTLALLSLLAAGVLAG;配列番号95)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0133】

本発明によると、PHiD抗原は、本明細書に記載の抗原P48、HtrA、PE、P26、および/またはP6の任意の1種または複数(例えば、1種、2種、または3種)と有利に組み合わせることができる。

40

【0134】

本発明のPHiD抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

【0135】

P6抗原

P6抗原は、OMP6(外膜タンパク質6)としても公知である[14]。この抗原はF1176株からクローニングされ、発現された。

50

【0136】

本発明で使用されるために好ましいP6ポリペプチドは、(a)配列番号29に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性、例えば、90%以上の同一性、または95%以上の同一性、または99%以上の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号29の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150またはそれ以上;例えば、20以上;または例えば、50以上;または例えば、80以上)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含む。これらのP6ポリペプチドとして、配列番号29の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号29由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号29のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および/またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号29の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0137】

本発明のP6抗原は、P6の天然の19個のN末端アミノ酸(MNK F V K S L L V A G S V A A L A A;配列番号96)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

20

【0138】

本発明によると、P6抗原は、本明細書に記載の抗原P48、HtrA、PE、P26、および/またはPHiDの任意の1種または複数(例えば、1種、2種、または3種)と有利に組み合わせることができる。

【0139】

本発明のP6抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

30

【0140】

第3の抗原群

NT013抗原

「NT013」抗原は、TPR反復含有タンパク質としてアノテートされ、チトクロムc成熟化ヘムリアーゼサブユニットCcMh2としてもアノテートされる。NT013は、株86-028NPにおけるNTHI0532として公開されている。NT013は、メタロプロテアーゼタンパク質ファミリーに属するとしてアノテートされており、また、NT013はLytM触媒ドメインを有する。

【0141】

有用なNT013抗原は、配列番号30を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ/または、(a)配列番号30に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および/または(b)配列番号30の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT013タンパク質として、配列番号30の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号30由来のエピトープを含む。その他

40

50

の好ましい断片は、配列番号30のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号30の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0142】

本発明のNT013抗原は、NT013の天然の42個のN末端アミノ酸（MPVQHVKLARDDRKKRTYIKVGVFVAILLILTGILLTIKDK；配列番号97）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

10

【0143】

NT106抗原

「NT106」抗原は、リポタンパク質としてアノテートされ、また、ゲノム86-028NPにおけるNTHI0363として公開されている。

【0144】

有用なNT106抗原は、配列番号31を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号31に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号31の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT106タンパク質として、配列番号31の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号31由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号31のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号31の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

30

【0145】

本発明のNT106抗原は、NT106の天然の17個のN末端アミノ酸（MKKILLNLVTAILLAGC；配列番号98）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0146】

本発明のNT106抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

40

【0147】

NT107抗原

「NT107」抗原は、「ヘム／ヘモペキシナー結合性タンパク質B」としてアノテートされ、ゲノム86-028NPにおけるNTHI0370として公開されている。

【0148】

有用なNT107抗原は、配列番号32を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号32に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93

50

％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号32の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT107タンパク質として、配列番号32の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号32由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号32のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号32の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0149】

本発明のNT107抗原は、NT107の天然の28個のN末端アミノ酸(MKMRPRYSVIAASAVSLGFVLSKSVMALG；配列番号99)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0150】

20

NT108抗原

「NT108」抗原は、ムレイントランスグリコシラーゼAリポタンパク質としてアノテートされる。株86-028NPにおけるNTHI0205としてアノテートされている。

【0151】

有用なNT108抗原は、配列番号33を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a)配列番号33に対して50％以上(例えば、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号33の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT108タンパク質として、配列番号33の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号33由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号33のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号33の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

40

【0152】

本発明のNT108抗原は、NT108の天然の24個のN末端アミノ酸(MSVC KPFWFKTFSSIIITALLVSC；配列番号100)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0153】

本発明のNT108抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

50

【0154】

NT109 抗原

この抗原は、硝酸／亜硝酸センサータンパク質 NarQ としてアノテートされており、株 86-028NP における NTHI0374 と同定されており、また、分析された株において保存されていることが見いだされている。

【0155】

有用な NT109 抗原は、配列番号 34 を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号 34 に対して 50% 以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号 34 の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が 7 以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250 またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらの NT109 タンパク質として、配列番号 34 の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号 34 由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号 34 の C 末端からの 1 個または複数のアミノ酸（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い）および／または N 末端からの 1 個または複数のアミノ酸（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い）を欠くが、配列番号 34 の少なくとも 1 つのエピトープを保持する。その他の断片では、1 つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0156】

本発明の NT109 抗原は、NT109 の天然の 33 個の N 末端アミノ酸（MYTKG SVSTRIAKYLFILIVAGV ISSLSLA IM；配列番号 101）とともに発現され得るか、または代替の N 末端配列とともに、例えば、単純な N 末端メチオニン、または Met-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0157】

NT110 抗原

この抗原は、ゲノム 86-028NP における NTHI0579 としてアノテートされており、また、推定溶血 TlyC として公知である。この抗原は、外膜に結合していることが見いだされている。

【0158】

有用な NT110 抗原は、配列番号 35 を認識する抗体を惹起できる（例えば、ヒトに投与されると）。

【0159】

（b）の好ましい断片は、配列番号 35 由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号 35 の C 末端からの 1 個または複数のアミノ酸（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い）および／または N 末端からの 1 個または複数のアミノ酸（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、15 個、20 個、25 個またはそれより多い）を欠くが、配列番号 35 の少なくとも 1 つのエピトープを保持する。その他の断片では、1 つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0160】

本発明の NT110 抗原は、NT110 の天然の 30 個の N 末端アミノ酸（MIMEL FHTILAIVALILSSAVVSSAEISLA；配列番号 102）とともに発現され得るか、または代替の N 末端配列とともに、例えば、単純な N 末端メチオニン、または Met-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0161】

NT111抗原

この抗原は、株86-028NPにおけるNTHI0837としてアノテートされており、また、推定リポタンパク質として記載されている。

【0162】

有用なNT111抗原は、配列番号36を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号36に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号36の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT111タンパク質として、配列番号36の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号36由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号36のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号36の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0163】

本発明のNT111抗原は、NT111の天然の19個のN末端アミノ酸（MKKTLVAALLISSVILLTG C；配列番号103）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0164】

本発明のNT110抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

【0165】

NT112抗原

この抗原は、NP86-028株由来のNTHI0849としてアノテートされている。この抗原は、VacJリポタンパク質としてアノテートされる。

【0166】

有用なNT112抗原は、配列番号37を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号37に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号37の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT112タンパク質として、配列番号37の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号37由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号37のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号37の少なくとも1つのエピトープを保

持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0167】

本発明のNT112抗原は、NT112の天然の19個のN末端アミノ酸（MKTKVILTALLSAIALTG C；配列番号104）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0168】

本発明のNT112抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

10

【0169】

NT113抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI0921として、およびリポタンパク質としてアノテートされている。

【0170】

有用なNT113抗原は、配列番号38を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号38に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号38の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT113タンパク質として、配列番号38の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号38由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号38のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号38の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

30

【0171】

本発明のNT113抗原は、NT113の天然の16個のN末端アミノ酸（MKKYLLALLLPFLYAC；配列番号105）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0172】

本発明のNT113抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

40

【0173】

NT114抗原

この抗原は、可溶性溶解性ムレイントランスグリコシラーゼタンパク質として、および86-026NP株におけるNTHI0995としてアノテートされている。

【0174】

有用なNT114抗原は、配列番号39を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号39に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号39の少なくとも「n

50

」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT114タンパク質として、配列番号39の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号39由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号39のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号39の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0175】

本発明のNT114抗原は、NT114の天然の19個のN末端アミノ酸（MKKVALISLCIFTAALSAFA；配列番号106）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0176】

NT115抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI1091として、および推定LptEリポタンパク質としてアノテートされている。この抗原は、細胞外環境に位置する。

20

【0177】

有用なNT115抗原は、配列番号40を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号40に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号40の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT115タンパク質として、配列番号40の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号40由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号40のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号40の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

【0178】

本発明のNT115抗原は、NT115の天然の35個のN末端アミノ酸（MKYLHFTRPPTIKVIFMINSIKTLLLIATLA ILSAC；配列番号107）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

40

【0179】

本発明のNT115抗原は、リポタンパク質、例えば、N末端システインにおいて脂質付加されたものであってよい。

【0180】

NT116抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI1169として記載されており、ま

50

た、トランスフェリンー結合性タンパク質ファミリーに属する。

【0181】

有用なNT116抗原は、配列番号41を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号41に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号41の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT116タンパク質として、配列番号41の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号41由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号41のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号41の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0182】

本発明のNT116抗原は、NT116の天然の18個のN末端アミノ酸（MKSVPLITGGLSFLLSAC；配列番号108）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

20

【0183】

NT117抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI1208および推定トランスグルタミナーゼとしてアノテートされている。この抗原は外膜に位置している。

【0184】

有用なNT117抗原は、配列番号42を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号42に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号42の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT117タンパク質として、配列番号42の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号42由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号42のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号42の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

40

【0185】

本発明のNT117抗原は、NT117の天然の19個のN末端アミノ酸（MKKLIAVAVFSACGSLAHA；配列番号109）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドと

50

ともに発現され得る。

【0186】

NT118抗原

この抗原は、86-026NP株におけるNTHI1318として、および仮定タンパク質としてアノテートされている。

【0187】

有用なNT118抗原は、配列番号43を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号43に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号43の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT118タンパク質として、配列番号43の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号43由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号43のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号43の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0188】

本発明のNT118抗原は、NT118の天然の18個のN末端アミノ酸（MNIRWNVILGVIALCALA；配列番号110）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0189】

NT119抗原

この抗原は、86-028NP株におけるNTHI1565仮定タンパク質としてアノテートされている。

【0190】

有用なNT119抗原は、配列番号114を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号114に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号114の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT119タンパク質として、配列番号114の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号114由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号114のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号114の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0191】

本発明のNT119抗原は、NT119の天然の26個のN末端アミノ酸(MRFTKTLFTTALLGASIFSFQSTAWA；配列番号118)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-A1a-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0192】

NT120抗原

この抗原は、86-028NP株におけるNTHI1569仮定タンパク質としてアノテートされている。

10

【0193】

有用なNT120抗原は、配列番号115を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a)配列番号115に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号115の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT120タンパク質として、配列番号115の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号115由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号115のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号115の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

【0194】

本発明のNT120抗原は、NT120の天然の26個のN末端アミノ酸(MKLTKTLLTTALFGASVFSFQSTAWA；配列番号119)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-A1a-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

30

【0195】

NT121抗原

この抗原は、86-028NP株におけるNTHI1571仮定タンパク質としてアノテートされている。

【0196】

有用なNT121抗原は、配列番号116を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a)配列番号116に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列；および／または(b)配列番号116の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT121タンパク質として、配列番号116の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号116由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号116のC末端からの1個または複数のアミノ酸

40

50

(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い) および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号116の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

【0197】

本発明のNT121抗原は、NT121の天然の26個のN末端アミノ酸(MKLTKTLLTTALLGASVFSFQSTAWA; 配列番号120)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMe t - A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

10

【0198】

NT122抗原

この抗原は、86-028NP株におけるNTHI1667假定タンパク質としてアノテートされている。

【0199】

有用なNT122抗原は、配列番号117を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号117に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列; および／または(b) 配列番号117の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT122タンパク質として、配列番号117の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号117由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号117のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い) および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号117の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

20

30

【0200】

本発明のNT122抗原は、NT122の天然の23個のN末端アミノ酸(MEKIMKKLTLLALVLGSA LAVTG C; 配列番号121)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMe t - A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

40

【0201】

NT123抗原

この抗原は、86-026NP株における垂鉛プロテアーゼNTHI1796としてアノテートされている。

【0202】

有用なNT123抗原は、配列番号44を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号44に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列; および／または(b) 配列番号44の少なくとも「n

50

」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT123タンパク質として、配列番号44の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号44由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号44のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号44の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0203】

本発明のNT123抗原は、NT123の天然の17個のN末端アミノ酸（MKKTTALFLLIFSLIAC；配列番号111）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

【0204】

NT124抗原

この抗原は、86-026NP株における假定タンパク質NTHI1930としてアノテートされている。

20

【0205】

有用なNT124抗原は、配列番号45を認識する抗体を惹起することができ（例えば、ヒトに投与されると）、かつ／または、（a）配列番号45に対して50%以上（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）の同一性を有するアミノ酸配列；および／または（b）配列番号45の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT124タンパク質として、配列番号45の改変体が挙げられる。（b）の好ましい断片は、配列番号45由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号45のC末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い）を欠くが、配列番号45の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

【0206】

本発明のNT124抗原は、NT124の天然の22個のN末端アミノ酸（MKKSKIAAGVVISLAAVWCAGA；配列番号89）とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMet-Ala-、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

40

【0207】

NT061抗原

この抗原は、86-026NP株における生存タンパク質SurA様タンパク質NTHI0588としてアノテートされている。

【0208】

有用なNT061抗原は、配列番号128を認識する抗体を惹起することができ（例え

50

ば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号128に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および／または(b) 配列番号128の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT061タンパク質として、配列番号128の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号128由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号128のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号128の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

10

【0209】

本発明のNT061抗原は、NT061の天然の27個のN末端アミノ酸(MKMKKFILKSFLATLGCVAF TSMAQA; 配列番号129)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMe t -A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

20

【0210】

NT017抗原

この抗原は、86-026NP株における生存タンパク質S u r A様タンパク質NTH I 0915としてアノテートされている。

【0211】

有用なNT017抗原は、配列番号130を認識する抗体を惹起することができ(例えば、ヒトに投与されると)、かつ／または、(a) 配列番号130に対して50%以上(例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い)の同一性を有するアミノ酸配列;および／または(b) 配列番号130の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上(例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い)であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列を含んでよい。これらのNT017タンパク質として、配列番号130の改変体が挙げられる。(b)の好ましい断片は、配列番号130由来のエピトープを含む。その他の好ましい断片は、配列番号130のC末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)および／またはN末端からの1個または複数のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個またはそれより多い)を欠くが、配列番号130の少なくとも1つのエピトープを保持する。その他の断片では、1つまたは複数のタンパク質ドメインが省かれている。

30

40

【0212】

本発明のNT017抗原は、NT017の天然の20個のN末端アミノ酸(MLRFV NQKTSLL L T A L L S C; 配列番号131)とともに発現され得るか、または代替のN末端配列とともに、例えば、単純なN末端メチオニン、またはMe t -A l a -、または発現されたタンパク質を所望の様式で標的とするまたは輸送するリーダーペプチドとともに発現され得る。

50

【0213】

ハイブリッドポリペプチド

本発明で使用するポリペプチドは、個別にまたはそれぞれ独立に別々のポリペプチド鎖上で発現させ得る。あるいは、本発明で使用するポリペプチドの2種以上を単一のポリペプチド鎖（「ハイブリッド」ポリペプチド）としても発現させ得る。ハイブリッドポリペプチドは、式 $\text{NH}_2 - \text{A} - \{ - \text{X} - \text{L} - \}_n - \text{B} - \text{COOH}$ で示すことができ、式中、Aは任意選択のN末端アミノ酸配列であり、Bは任意選択のC末端アミノ酸配列であり、nは2以上の整数（例えば、2、3、4、5、6など）であり、 X_n の少なくとも1つは、本発明の抗原のアミノ酸配列（上記の通り）であり、Lは任意選択のリンカーアミノ酸配列である。本発明によると、例えば、各 X_n は、(1) NTHI0915 (NT018)、(2) NTHI1416 (NT024)、(3) NTHI2017 (NT032)、(4) CGSHiGG_02400 (NT038、しかし、これはこの中で好ましいものではない)、(5) NTHI1292 (NT067)、(6) NTHI0877 (NT001)、(7) NTHI0266 (NT016)、(8) CGSHiGG_00130 (NT052)、(9) NTHI1627 (NT002)、(10) NTHI1109 (NT026)、(11) NTHI0821 (NT009)、(12) NTHI0409 (NT025)、(13) NTHI1954 (NT028)、(14) NTHI0371 (NT029)、(15) NTHI0509 (NT031)、(16) NTHI0449 (NT015)、(17) NTHI1473 (NT023)、(18) gi-145633184 (NT100)、(19) NTHI1110 (NT040)、(20) gi-46129075 (NT048)、(21) gi-145628236 (NT053)、(22) NTHI1230 (NT066)、(23) NTHI0522 (NT097)、(24) P48 (NTHI0254、NT007とも定義される)、(25) HtrA (NTHI1905、NT006とも定義される)、(26) PE (NTHI0267、NT035とも定義される)、(27) P26 (NTHI0501、NT010とも定義される)、(28) PHiD (NTHI0811、NT080とも定義される)、(29) P6 (NTHI0501、NT081とも定義される)、(30) NT013、(31) NT106、(32) NT107、(33) NT108、(34) NT109、(35) NT110、(36) NT111、(37) NT112、(38) NT113、(39) NT114、(40) NT115、(41) NT116、(42) NT117、(43) NT118、(46) NT119、(47) NT120、(48) NT121、(49)、NT122、(44) NT123、(45) NT124；(50) NT004；(51) NT014；(52) NT022 (NTHI0830としてもアノテートされる)；(7) NT016 (NTHI0266としてもアノテートされる) からなる群より選択される抗原のアミノ酸配列を含んでよい。

【0214】

本発明によると、 X_n は、「第1の抗原群」に列挙されている抗原のいずれかおよび「第2の抗原群」に列挙されている抗原のいずれかからなる群より選択される2種以上の抗原のアミノ酸配列を含んでよい。各 X_n は、本発明の抗原組み合わせの抗原のアミノ酸配列であってよい（上記の通り）。ある特定の実施形態では、nは2である。nが2である場合、上記の抗原のうち2種の任意の組み合わせも、本発明に従って使用され得る。nが3である場合、例えば、上記の3種の抗原の本発明の任意の組み合わせが使用され得る。一般的に、 X_n の2つ以上が同じ抗原であってもよく、nが2、3または4である場合には、各 X_n は異なる抗原であってもよい。 X_n の2つ以上が同じ抗原の配列である場合、前記2つ以上の X_n は同じポリペプチド配列を有してもよく、異なるポリペプチド配列を有してもよく、例えば、上記の通り、所与の抗原の異なる改変体または断片であってよい。

【0215】

これらの抗原が(a)所与の配列に対して50%以上（例えば、60%、65%、70

％、75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％またはそれより高い）の同一性を有すること；および／または（b）所与の配列の少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片を含むこと（ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれより多い）である）に関して定義される場合、（a）の同一性のレベルおよび（b）の「n」の値は、各Xについて同じであってよい。

【0216】

野生型形態の各-X部分のリーダーペプチド配列はハイブリッドタンパク質に含まれていても省かれていてもよい。一部の実施形態では、リーダーペプチドは、ハイブリッドタンパク質のN末端に位置する-X部分のリーダーペプチド以外は欠失させる、すなわち、 X_1 のリーダーペプチドは保持されるが、 $X_2 \cdots X_n$ のリーダーペプチドは省かれる。これは、全てのリーダーペプチドを欠失させ、 X_1 のリーダーペプチドを部分-Aとして使用することと等しい。

【0217】

{-X-L-}の各nの場合について、リンカーアミノ酸配列-Lが存在しても存在しなくてもよい。例えば、 $n=2$ の場合、ハイブリッドは、 $NH_2-X_1-L_1-X_2-L_2-COOH$ 、 $NH_2-X_1-X_2-COOH$ 、 $NH_2-X_1-L_1-X_2-COOH$ 、 $NH_2-X_1-X_2-L_2-COOH$ などであってよい。リンカーアミノ酸配列（複数可）-L-は、一般的には短い（例えば、20アミノ酸以下、すなわち、20アミノ酸、19アミノ酸、18アミノ酸、17アミノ酸、16アミノ酸、15アミノ酸、14アミノ酸、13アミノ酸、12アミノ酸、11アミノ酸、10アミノ酸、9アミノ酸、8アミノ酸、7アミノ酸、6アミノ酸、5アミノ酸、4アミノ酸、3アミノ酸、2アミノ酸、1アミノ酸）。例は、クローニングを容易にする短いペプチド配列、ポリグリシンリンカー（すなわち、 Gly_n 、 $n=2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$ またはそれより大きい、を含む）、およびヒスチジンタグ（すなわち、 His_n 、 $n=3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$ またはそれより大きい）を含む。その他の適切なリンカーアミノ酸配列は、当業者には明らかになるであろう。有用なリンカーは、GS GG GG（配列番号46）またはGS GS GG GG（配列番号47）であり、BamHI制限部位から $Gly-Ser$ ジペプチドが形成され、したがって、クローニングおよび操作の助けになり、また、 $(Gly)_4$ テトラペプチドは典型的なポリグリシンリンカーである。その他の適切なリンカー、特に最後の L_n として使用するためのリンカーは、 $Leu-Glu$ ジペプチドである。

【0218】

-A-は任意選択のN末端アミノ酸配列である。これは、一般的には短い（例えば、40アミノ酸以下、すなわち、40アミノ酸、39アミノ酸、38アミノ酸、37アミノ酸、36アミノ酸、35アミノ酸、34アミノ酸、33アミノ酸、32アミノ酸、31アミノ酸、30アミノ酸、29アミノ酸、28アミノ酸、27アミノ酸、26アミノ酸、25アミノ酸、24アミノ酸、23アミノ酸、22アミノ酸、21アミノ酸、20アミノ酸、19アミノ酸、18アミノ酸、17アミノ酸、16アミノ酸、15アミノ酸、14アミノ酸、13アミノ酸、12アミノ酸、11アミノ酸、10アミノ酸、9アミノ酸、8アミノ酸、7アミノ酸、6アミノ酸、5アミノ酸、4アミノ酸、3アミノ酸、2アミノ酸、1アミノ酸）。例として、タンパク質輸送を導くためのリーダー配列、またはクローニングまたは精製を容易にする短いペプチド配列（例えば、ヒスチジンタグ、すなわち、 His_n 、 $n=3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$ またはそれより大きい）、例えば、配列番号48などが挙げられる。その他の適切なN末端アミノ酸配列は当業者には明らかになるであろう。 X_1 がそれ自体のN末端メチオニンを欠く場合、-A-はN末端メチオニンをもたらずオリゴペプチド（例えば、1アミノ酸、2アミノ酸、3アミノ酸、4アミノ酸、5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸または8アミノ酸を有する）、例えば、 $Met-Ala-Ser$ 、または単一の Met 残基であることが好ましい。

【0219】

ーBーは任意選択のC末端アミノ酸配列である。これは、一般的には短い（例えば、40アミノ酸以下、すなわち、39アミノ酸、38アミノ酸、37アミノ酸、36アミノ酸、35アミノ酸、34アミノ酸、33アミノ酸、32アミノ酸、31アミノ酸、30アミノ酸、29アミノ酸、28アミノ酸、27アミノ酸、26アミノ酸、25アミノ酸、24アミノ酸、23アミノ酸、22アミノ酸、21アミノ酸、20アミノ酸、19アミノ酸、18アミノ酸、17アミノ酸、16アミノ酸、15アミノ酸、14アミノ酸、13アミノ酸、12アミノ酸、11アミノ酸、10アミノ酸、9アミノ酸、8アミノ酸、7アミノ酸、6アミノ酸、5アミノ酸、4アミノ酸、3アミノ酸、2アミノ酸、1アミノ酸）。例として、タンパク質輸送を導くための配列、クローニングまたは精製を容易にする短いペプチド配列（例えば、ヒスチジンタグ、すなわち、His_n、n=3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上、例えば配列番号68などを含む）、またはタンパク質安定性を増進する配列が挙げられる。その他の適切なC末端アミノ酸配列は当業者には明らかになるであろう。

10

【0220】

株および改変体

抗原は、文献からの命名規則、例えば、「NTHI」番号付け（株86-028NPのゲノムから）またはCGSHiGG番号付け（株PittGGのゲノムから）を参照することによって上で定義されている。そのような規則は、参考文献15（特に表1）においてより詳細に説明されている。本明細書の表Vは、本明細書で使用される「NT」命名法に対する現行の命名法に関する。したがって、任意の本発明の抗原の例示的なアミノ酸配列およびヌクレオチド配列は、示されている株についての公共の配列データベースにおいて容易に見いだすことができるが（機能のアノテーションなどの追加的な情報と一緒に）、本発明は、86-028NP株、3655株またはPittGG株からの配列に限定されない。いくつかのその他のNTHI株のゲノム配列が利用可能である（再度、参考文献15の表1を参照のこと）。標準の検索およびアラインメント技法を使用して、これらの（またはその他の）さらなるゲノム配列のいずれかにおいて本明細書において示されている任意の特定の配列のホモログが同定され得る。さらに、利用可能な配列を使用して、その他の株由来の相同な配列を増幅するためのプライマーを設計できる。したがって、本発明は、これらの特定の株に限定されるのではなく、その他のNTHI株由来のそのような改変体およびホモログ、ならびに非天然改変体を包含する。一般的に、特定の配列番号の適切な改変体として、その対立遺伝子改変体、その多型形態、そのホモログ、そのオルソログ、そのパラログ、その変異体などが挙げられる。例えば、配列番号49、52、54、55、57～59、64、65および67は、下記の変異を含む。

20

30

【0221】

したがって、例えば、本発明で使用されるポリペプチドは、本明細書の配列番号と比較して、1つまたは複数（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つなど）のアミノ酸置換、例えば、保存された置換（すなわち、あるアミノ酸の、関連する側鎖を有する別のアミノ酸への置換）などを含むことができる。遺伝子にコードされるアミノ酸は、一般的に、4つのファミリー：（1）酸性、すなわち、アスパラギン酸、グルタミン酸；（2）塩基性、すなわち、リシン、アルギニン、ヒスチジン；（3）非極性、すなわち、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン；および（4）非荷電極性、すなわち、グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシンに分けられる。フェニルアラニン、トリプトファン、およびチロシンは、時には、一緒に芳香族アミノ酸に分類される。一般的に、これらのファミリー内の単一のアミノ酸の置換は、生物学的活性に大きな影響を及ぼさない。ポリペプチドは、配列番号配列と比較して1つまたは複数（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つなど）の単一のアミノ酸欠失も含んでよい。ポリペプチドは、配列番号配列と比較して1つまたは複数（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つなど）の挿入（例えば、1アミノ酸、2アミノ酸、3アミノ酸、4アミノ酸または5アミノ酸のそれぞれ）も含んでよい。

40

50

【0222】

同様に、本発明で使用されるポリペプチドは、

(a) 配列表に開示されている配列と同一（すなわち、100%同一）であるアミノ酸配列；

(b) 配列表に開示されている配列と配列同一性（例えば、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれより高い）を共有するアミノ酸配列；

(c) (a) または (b) の配列と比較して、別々の位置におけるものであってもよく、連続していてもよい1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つまたは10（またはそれより多い）の単一のアミノ酸の変更（欠失、挿入、置換）を有するアミノ酸配列；および／または

(d) ペアワイズアラインメントアルゴリズムを使用して配列表からの特定の配列とアラインメントした場合に、xアミノ酸のN末端からC末端への各ムービングウィンドウ（したがって、pアミノ酸まで延びるアラインメントに関して、 $p > x$ である場合、そのようなウィンドウが $p - x + 1$ 個存在する）は、少なくとも $x \cdot y$ の同一のアラインメントされたアミノ酸を有し、ここでxは20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、150、200から選択され、yは0.50、0.60、0.70、0.75、0.80、0.85、0.90、0.91、0.92、0.93、0.94、0.95、0.96、0.97、0.98、0.99から選択され、また、 $x \cdot y$ が整数でない場合には最も近い整数に切り上げる。好ましいペアワイズアラインメントアルゴリズムは、デフォルトのパラメータ（例えば、ギャップ開始ペナルティ=10.0、およびギャップ伸長ペナルティ=0.5、EBL O S U M 6 2スコアリング行列を使用する）を使用したNeedleman-Wunschグローバルアラインメントアルゴリズム[16]である。このアルゴリズムは、EMBOSSパッケージ内のニードルツールで都合よく実装される[17]。

【0223】

ハイブリッドポリペプチドを使用する場合、ハイブリッド内の個々の抗原（すなわち、個々の-X-部分）は、1種または複数の株由来であってよい。 $n = 2$ である場合、例えば、 X_2 は、 X_1 と同じ株由来であってもよく、異なる株由来であってもよい。 $n = 3$ の場合、株は、(i) $X_1 = X_2 = X_3$ (ii) $X_1 = X_2 \neq X_3$ (iii) $X_1 \neq X_2 = X_3$ (iv) $X_1 \neq X_2 \neq X_3$ または (v) $X_1 = X_3 \neq X_2$ などであってよい。

【0224】

群(c)の中で、欠失または置換はN末端および／またはC末端におけるものであってもよく、2つの末端の間におけるものであってもよい。したがって、切断は欠失の一例である。切断は、N末端および／またはC末端における最大40個（またはそれより多い）のアミノ酸の欠失を伴ってよい。N末端切断により、例えば、異種宿主における組換え発現を容易にするためにリーダーペプチドを除去できる。C末端切断により、例えば、異種宿主における組換え発現を容易にするためにアンカー配列を除去できる。

【0225】

一般的に、抗原が、配列表からのNTHI配列と同一ではない配列を含む場合（例えば、抗原が、それと<100%配列同一性を有する配列表を含む、またはその断片を含む）、個々の例において、抗原により、配列表からのそれぞれのNTHI配列を認識する抗体が惹起され得ることが好ましい。

【0226】

変異体細菌

本発明は、本発明の抗原のうち1種または複数のノックアウトされたNTHi細菌も提供する[18]。ノックアウト細菌を作出するための技法は周知であり、NTHi株からの遺伝子のノックアウトは、すなわち、参考文献19において報告されている。ノックアウト変異は、遺伝子のコード領域内にあってもよく、その転写制御領域内（例えば、そのプロモーター内）にあってもよい。ノックアウト変異により、抗原をコードするmRNA

のレベルが、野生型細菌によって産生されるものの＜１％まで、好ましくは＜０．５％まで、より好ましくは＜０．１％まで、最も好ましくは０％まで低下する。

【０２２７】

本発明は、本発明の抗原のうち１種または複数が、その活性を阻害する変異を有するＮＴＨＩ細菌も提供する。抗原をコードする遺伝子は、コードされるアミノ酸配列を変化させるまたはその発現を無効にする変異を有する。変異は、欠失、置換、および／または挿入を伴ってよく、そのいずれにも１個または複数のアミノ酸が関与してよい。

【０２２８】

一実施形態は、本発明の抗原をコードする１種または複数の遺伝子の欠失を提供する。

【０２２９】

E. coli において、LytMドメインを有する分裂機構の２つの成分（EnvCおよびNlpD）は、細胞分離を担う細胞壁ヒドロラーゼ（アミダーゼ）（AmiA、AmiBおよびAmiC）の直接的な調節因子であることは公知であった〔２０〕。E. coli においてLytMメタロプロテアーゼが娘細胞分離のために絶対的に必要であることも公知である。

【０２３０】

一実施形態では、本発明は、LytM触媒ドメインを有するポリペプチドをコードするＮＴＨＩ遺伝子を提供する。一般的に、メタロプロテアーゼは、それらの触媒ドメイン内にHxHアミノ酸ドメインおよびHxxxDアミノ酸ドメインを含有すると同定される。好ましくは、これらの１種または複数の遺伝子はNT013、NT022またはNT017のいずれか１つをコードする。

【０２３１】

本発明には、LytM触媒ドメインを共通して有するポリペプチドをコードする１種または複数の遺伝子の変異または欠失により、細菌細胞分裂および細菌の表現型に著しい変化が生じることが記載されている。

【０２３２】

発明者らは、前記変異または欠失により、OMVまたは外膜小胞として公知の小胞が放出されるが、同じ野生型NTHi株は、通常はOMVを放出しないことも示した。

【０２３３】

特に好ましい一実施形態では、NT013および／またはNT022を欠失させることにより、細菌細胞分裂が影響を受けるだけでなく、通常はOMVを放出しないNTHi株における外膜小胞（OMV）の驚くべき産生および放出もあることが記載されている。

【０２３４】

好ましい実施形態は、NT013またはNT022またはNT017のいずれか１つをコードする１種または複数の遺伝子が欠失しているNTHi株を提供する。例えば、欠失した遺伝子は、抗生物質耐性カセット、例えば、エリスロマイシン（erythromycin）耐性カセットなどで置換され得る。上記のポリペプチドは全て、LytM触媒ドメインを共通して有し、また、全てメタロプロテアーゼであることが見いだされている。

【０２３５】

NT013およびNT022においてLytMドメインが保存されていることも見いだされている。NT013触媒活性部位は、C末端部分における以下のアミノ酸モチーフ－HKGD－および－HLH－で表される。NT022触媒活性部位は、C末端における以下のアミノ酸モチーフ－NKGI D－および－KLH－で表される。

【０２３６】

本発明はまた、本発明の抗原を高発現するNTHi細菌のような細菌を提供する。

【０２３７】

本発明はまた、本発明の抗原を構成的に発現するNTHi細菌のような細菌を提供する。本発明は、少なくとも本発明の抗原をコードする遺伝子を含み、当該遺伝子が誘導性プロモーターの制御下にあるE. coli も提供する。

【０２３８】

10

20

30

40

50

OMVに基づくワクチン

グラム陰性細菌は、2つの連続的な膜構造の層によって外部の媒体から分離されている。これらの構造は細胞膜および外膜（OM）と呼ばれ、構造的にも機能的にも異なる。外膜は、病原性細菌とそれらのそれぞれの宿主との相互作用において重要な役割を果たす。したがって、表面に露出した細菌分子は、宿主免疫応答の重要な標的を表し、これにより、外膜成分が、ワクチン、診断用試薬および治療用試薬をもたらすことにおいて魅力的な候補になる。

【0239】

本発明の変異体細菌は、NTHi抗原（例えば本発明の抗原）を含み、免疫原として使用され得る細菌外膜小胞を調製するために特に有用である。

10

【0240】

本発明はまた、好ましくはOMVを過剰産生することによって本発明の少なくとも1種の抗原を高発現するNTHi細菌のような細菌を提供する。

【0241】

上方制御を使用して、OMVにおける有用なNTHiタンパク質のレベルを上昇させることができる。

【0242】

本発明のOMVを過剰産生するNTHi細菌を作出するための方法も提供され、当該方法は、グラム陰性細菌株を以下のプロセスの1つまたは複数によって遺伝子改変することを含む：（a）株を操作して、1種または複数のToI遺伝子の発現を下方制御すること、および（b）ペプチドグリカン関連部位を含むタンパク質をコードする1種または複数の遺伝子（複数可）を変異させて、タンパク質（複数可）のペプチドグリカン結合活性を減弱させること、（c）LytM触媒ドメインを共通して有するポリペプチドをコードする1種または複数の遺伝子を変異または欠失させることによるもの。特に好ましい一実施形態では、NTHiは、活性なNT013遺伝子、NT022遺伝子および／または任意のToI遺伝子を発現しなくてよい[19]、[18]。

20

【0243】

本発明はまた、本発明のNTHi細菌を、その外膜により小胞が形成されるように処理するステップを含む、NTHi小胞を調製するためのプロセスを提供する。

【0244】

30

本発明はまた、本発明のNTHi細菌を、その外膜により小胞が自発的に脱落する条件下で培養するステップを含む、NTHi小胞を調製するためのプロセスを提供する。

【0245】

本発明はまた、OMVを過剰産生し、また本発明の抗原を高発現するNTHi細菌を提供する。

【0246】

本発明で使用されるポリペプチド

本発明で使用されるポリペプチドは、種々の形態をとることができる（例えば、天然形態、融合形態、グリコシル化形態、非グリコシル化形態、脂質付加形態、非脂質付加形態、リン酸化形態、非リン酸化形態、ミリスティル化形態、非ミリスティル化形態、モノマー形態、マルチマー形態、粒子状形態、変性形態など）。

40

【0247】

本発明で使用されるポリペプチドは、種々の手段（例えば、組換え発現、細胞培養物からの精製、化学合成など）によって調製できる。特にハイブリッドポリペプチドに関して、組換えによって発現されたタンパク質が好ましい。

【0248】

本発明で使用されるポリペプチドは、精製または実質的に精製された形態、すなわち、その他のポリペプチド、特に、その他のH. influenzae由来のものまたは宿主細胞ポリペプチドを実質的に含まず（例えば、天然に存在するポリペプチドを含まない）、一般的に、少なくとも約50%純粋（重量で）であり、通常は少なくとも約90%純粋

50

である、すなわち、組成物の約50%未満、より好ましくは約10%未満（例えば、5%）がその他の発現ポリペプチドで構成される形態で提供されることが好ましい。したがって、組成物中の抗原は、分子を発現させる生物体全体から分離されている。

【0249】

用語「ポリペプチド」とは、任意の長さのアミノ酸ポリマーを指す。ポリマーは、直鎖であっても、分岐していてもよく、修飾されたアミノ酸を含んでいてもよく、非アミノ酸によって割り込まれていてもよい。この用語はまた、天然に、または介入によって、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質付加、アセチル化、リン酸化または標識成分との結合体化などの任意のその他の操作または修飾によって修飾されているアミノ酸ポリマーも包含する。例えば、1個または複数のアミノ酸の類似体（例えば、非天然アミノ酸などを含めた）、ならびに当技術分野で公知のその他の修飾を含有するポリペプチドも包含される。ポリペプチドは、単一鎖または会合している鎖として生じ得る。

10

【0250】

本発明で使用されるポリペプチドは、配列-P-Q-または-Q-P-を含んでよく、-P-は上で定義されているアミノ酸配列であり、-Q-は、上で定義されているものではない配列である、すなわち、融合タンパク質として提供され得る。-P-のN末端コドンがATGではないが、このコドンがポリペプチドのN末端に存在しない場合、これは、Metとしてではなく、そのコドンに対する標準のアミノ酸として翻訳される。しかし、このコドンがポリペプチドのN末端にある場合には、Metとして翻訳される。-Q-部分の例として、これだけに限定されないが、ヒスチジンタグ（すなわち、His_n、n=3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上、例えば、配列番号68）、マルトース結合性タンパク質、またはグルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）が挙げられる。

20

【0251】

本発明で使用されるポリペプチドは、新生タンパク質として最初に発現される場合、配列-P-Q-または-Q-P-を含んでよいが、一部の実施形態では、タンパク質を使用する時点でタンパク質に-Q-部分が存在しなくてよい、例えば、リーダーペプチドが翻訳後に切断され得る。

【0252】

発現のために有用なN末端配列は配列番号48である。

30

【0253】

本発明で使用されるポリペプチドの発現は、H. influenzaeにおいて起こり得るが、本発明では、通常、発現（組換え発現）のために異種宿主を使用する。異種宿主は、原核生物（例えば、細菌）または真核生物であり得る。異種宿主はE. coliであり得るが、その他の適切な宿主として、Bacillus subtilis、Vibrio cholerae、Salmonella typhi、Salmonella typhimurium、Neisseria lactamica、Neisseria cinerea、マイコバクテリア（例えば、M. tuberculosis）、酵母などが挙げられる。本発明のポリペプチドをコードする野生型H. influenzae遺伝子と比較して、コドンを変化させて、そのような宿主における発現効率を、コードされるアミノ酸に影響を及ぼすことなく最適化することが有益である。

40

【0254】

本発明で使用されるポリペプチドは、化学的手段によってポリペプチドの少なくとも一部を合成するステップを含むプロセスによって合成され得る。

【0255】

核酸

本発明は、本発明で使用されるポリペプチド、本発明のポリペプチドの組み合わせまたはハイブリッドポリペプチドをコードする核酸も提供する（例えば、核酸の組み合わせ、ベクター、またはベクターの組み合わせ）。本発明は、本発明の抗原組み合わせの1種または複数（例えば、2種、3種または4種）のポリペプチドまたはハイブリッドポリペ

50

チドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸も提供する。核酸は、例えば、ベクター（例えば、クローニングベクターまたは発現ベクター）であってよい。

【0256】

本発明の1種または複数（少なくとも1種）の抗原および抗原組み合わせのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、公知のものであってもよく（例えば、参考文献6～9を参照のこと）、遺伝暗号にしたがって設計することもできる。したがって、本発明の中で、そのようなヌクレオチド配列は、（1）NTHI0915（NT018）、（2）NTHI1416（NT024）、（3）NTHI2017（NT032）、（4）CGSHiGG_02400（NT038）、（5）NTHI1292（NT067）、（6）NTHI0877（NT001）、（7）NTHI0266（NT016）、（8）CGSHiGG_00130（NT052）、（9）NTHI1627（NT002）、（10）NTHI1109（NT026）、（11）NTHI0821（NT009）、（12）NTHI0409（NT025）、（13）NTHI1954（NT028）、（14）NTHI0371（NT029）、（15）NTHI0509（NT031）、（16）NTHI0449（NT015）、（17）NTHI1473（NT023）、（18）gi-145633184（NT100）、（19）NTHI1110（NT040）、（20）gi-46129075（NT048）、（21）gi-145628236（NT053）、（22）NTHI1230（NT066）、（23）NTHI0522（NT097）またはP48抗原（例えば、配列番号24など）；HtrA抗原（例えば、配列番号25など）；PE抗原（例えば、配列番号26など）；P26抗原（例えば、配列番号27など）；PHiD抗原（例えば、配列番号28など）；P6抗原（例えば、配列番号29など）、（50）NT004、（51）NT014、（52）NT022または「第3の抗原群」からの1種または複数の抗原のうち1種または複数をコードしてもよく、（a）上記のポリペプチドのいずれかに対して50%以上の同一性（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%またはそれ以上、例えば、90%以上の同一性、または95%以上の同一性、または99%以上の同一性）を有するアミノ酸配列；および／または（b）前記ポリペプチド：1のいずれかの少なくとも「n」個の連続するアミノ酸の断片であって、ここで「n」が7以上（例えば、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250またはそれ以上；例えば20以上；または、例えば50以上；または、例えば80以上）であるアミノ酸の断片を含むアミノ酸配列をコードしてもよい。

【0257】

本発明は、これらの核酸とハイブリダイズできる核酸も提供する。ハイブリダイゼーション反応は、種々の「ストリンジェンシー」の条件下で実施され得る。当技術分野において広く知られており公開されている（例えば、参考文献121の752頁）ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーを上昇させる条件。関連する条件の例として、（ストリンジェンシーが上昇する順に）インキュベーション温度、25℃、37℃、50℃、55℃および68℃；緩衝液の濃度、10×SSC、6×SSC、1×SSC、0.1×SSC（SSCは、0.15MのNaClおよび15mMのクエン酸緩衝液である）およびその他の緩衝系を使用したそれらの等価物；ホルムアミド濃度、0%、25%、50%、および75%；インキュベーションの時間、5分から24時間まで；1回、2回、またはそれ以上の洗浄ステップ；洗浄インキュベーションの時間、1分、2分、または15分；ならびに洗浄溶液、6×SSC、1×SSC、0.1×SSC、または脱イオン水を含む。ハイブリダイゼーション技法およびそれらの最適化は当技術分野で周知である（例えば、参考文献21、22および123を参照のこと）。

【0258】

核酸は、低ストリンジェンシー条件下で標的とハイブリダイズすることができ、その他

の実施形態では、核酸は中間のストリンジェンシー条件下でハイブリダイズし、好ましい実施形態では、核酸は、高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする。例示的な低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件のセットは50℃および10×SSCである。例示的な中間のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件のセットは55℃および1×SSCである。例示的な高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件のセットは68℃および0.1×SSCである。

【0259】

本発明は、これらの配列と相補的な配列を含む核酸を包含する（例えば、アンチセンスもしくはプロービング用、またはプライマーとして使用するため）。

【0260】

本発明による核酸は、種々の形態をとることができる（例えば、一本鎖、二本鎖、ベクター、プライマー、プローブ、標識されたものなど）。本発明の核酸は環状であっても分岐していてもよいが、一般的に、直鎖である。別段の指定または必要性がない限り、核酸を利用する本発明の任意の実施形態では、二本鎖形態および二本鎖形態を構成する2つの相補的な一本鎖形態のそれぞれのどちらも利用できる。プライマーおよびプローブは、一般的に、アンチセンス核酸と同様に、一本鎖である。

【0261】

本明細書に記載の抗原をコードする核酸は、精製または実質的に精製された形態、すなわち、その他の核酸、特にその他のH. influenzae由来の核酸または宿主細胞核酸を実質的に含まず（例えば、天然に存在する核酸を含まず）、一般的に、少なくとも約50%純粋（重量で）であり、通常は少なくとも約90%純粋である形態で提供されることが好ましい。本発明の核酸は、好ましくはH. influenzae核酸である。

【0262】

本明細書に記載の抗原をコードする核酸は、多くの方法で、例えば、全体または部分的な化学合成によって（例えば、DNAのホスホラミダイト合成）、ヌクレアーゼ（例えば、制限酵素）を使用してより長い核酸を消化することによって、より短い核酸またはヌクレオチドをつなぐことによって（例えば、リガーゼまたはポリメラーゼを使用して）、ゲノムライブラリーまたはcDNAライブラリーなどから調製できる。

【0263】

核酸は、固体支持体（例えば、ビーズ、プレート、フィルター、フィルム、スライド、マイクロアレイ支持体、樹脂など）に付着させることができる。核酸は、例えば、放射性標識もしくは蛍光標識、またはビオチン標識を用いて標識できる。これは、核酸が検出技法において使用されるものである場合、例えば、核酸がプライマーであるまたはプローブとしてのものである場合に特に有用である。

【0264】

用語「核酸」とは、一般的な意味で、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む任意の長さのヌクレオチドのポリマーの形態を包含する。核酸は、DNA、RNA、DNA/RNAハイブリッドを包含する。核酸は、修飾された骨格（例えば、ペプチド核酸（PNA）またはホスホロチオエート）または修飾された塩基を含むものなどのDNA類似体またはRNA類似体も包含する。したがって、本発明は、mRNA、tRNA、rRNA、リボザイム、DNA、cDNA、組換え核酸、分枝核酸、プラスミド、ベクター、プローブ、プライマーなどを包含する。本発明の核酸がRNAの形態をとる場合、5'キャップを有しても有さなくてもよい。

【0265】

本明細書に記載の抗原をコードする核酸は、ベクターの一部、すなわち、1種または複数の細胞型を形質導入／トランスフェクションするために設計された核酸構築物の一部であってよい。ベクターは、例えば、挿入されたヌクレオチドを単離、増幅および複製するために設計された「クローニングベクター」、ヌクレオチド配列を宿主細胞において発現させるために設計された「発現ベクター」、組換えウイルスまたはウイルス様粒子の産生をもたらすために設計された「ウイルスベクター」、または2種類以上のベクターの特質

を含む「シャトルベクター」であってよい。好ましいベクターはプラスミドである。「宿主細胞」は、外因核酸のレシピエントになり得るまたはなっている個々の細胞または細胞培養物を包含する。宿主細胞とは、単一の宿主細胞の子孫を含み、子孫は、天然の、偶発的な、または意図的な変異および／または変化に起因して、元の親細胞と完全に同一である必要はない（形態または総DNA量（*complement*）において）。宿主細胞とは、*in vivo*または*in vitro*において本発明の核酸を用いてトランスフェクトしたまたは感染させた細胞を包含する。

【0266】

用語「相補体」または「相補的な」とは、核酸に関して使用される場合、ワトソン・クリック塩基対合を指す。したがって、Cの相補体はGであり、Gの相補体はCであり、Aの相補体はT（またはU）であり、T（またはU）の相補体は、Aである。I（プリンイノシン）などの塩基を使用して、例えば、ピリミジン（CまたはT）を相補することも可能である。

10

【0267】

本明細書に記載の抗原をコードする核酸は、例えば：ポリペプチドを作出するために；生体試料中の核酸を検出するためのハイブリダイゼーションプローブとして；核酸の追加的なコピーを作製するために；リボザイムもしくはアンチセンスオリゴヌクレオチドを作製するために；一本鎖DNAプライマーもしくはプローブとして；または三重鎖形成オリゴヌクレオチドとして使用され得る。

【0268】

20

本発明は、本明細書に記載の抗原をコードする核酸を作出するためのプロセスであって、核酸を一部または全部において化学的手段を使用して合成するプロセスを提供する。

【0269】

本発明は、本明細書に記載の抗原をコードするヌクレオチド配列を含むベクター（例えば、クローニングベクターまたは発現ベクター）およびそのようなベクターで形質転換した宿主細胞を提供する。

【0270】

本発明のある特定の実施形態に関して、核酸は、好ましくは、長さが少なくとも7ヌクレオチドである（例えば、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60、65、70、75、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300ヌクレオチドまたはそれより長い）。

30

【0271】

本発明のある特定の実施形態に関して、核酸は、好ましくは、長さが最大で500ヌクレオチドである（例えば、450、400、350、300、250、200、150、140、130、120、110、100、90、80、75、70、65、60、55、50、45、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15ヌクレオチドまたはそれより短い）。

40

【0272】

免疫原性組成物および医薬

本発明の免疫原性組成物はワクチンとして有用であり得る。本発明によるワクチンは、予防的（すなわち、感染症を予防するためのもの）であっても治療的（すなわち、感染症を処置するためのもの）であってもよいが、一般的には予防的なものである。

【0273】

したがって、組成物は、薬学的に許容され得る。組成物は、通常、抗原に加えて成分を含み、例えば、組成物は、一般的には、1種または複数の薬学的担体および／または賦形剤を含む。そのような成分の徹底的な考察が参考文献118において利用可能である。

50

【0274】

組成物は、一般的に、哺乳動物に水性形態で投与される。しかし、投与の前に、組成物は非水性形態であってよい。例えば、いくつかのワクチンは水性形態で製造され、次いで充填および配布され、同じく水性形態で投与されるが、その他のワクチンは製造中に凍結乾燥され、使用時に水性形態に再構成される。よって、本発明の組成物は、凍結乾燥処方物のように乾燥され得る。

【0275】

組成物は、チオメルサールまたは2-フェノキシエタノールのような防腐剤を含んでよい。しかし、好ましくは、ワクチンは、水銀物質を実質的に含まない（すなわち $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満）、例えばチオメルサールを含まないようにすべきである。水銀を含まないワクチンがより好ましい。防腐剤を含まないワクチンが特に好ましい。

10

【0276】

熱安定性を改善するために、組成物は、温度保護剤（temperature protective agent）を含んでよい。そのような薬剤のさらなる詳細は以下に提供される。

【0277】

張度を制御するために、ナトリウム塩のような生理的な塩を含むことが好ましい。塩化ナトリウム（ NaCl ）が好ましく、これは、 $1\sim 20\text{mg}/\text{ml}$ 、例えば約 $10\pm 2\text{mg}/\text{ml}$ NaCl で存在してよい。存在し得るその他の塩は、塩化カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸二ナトリウム無水物（disodium phosphate dehydrate）、塩化マグネシウム、塩化カルシウムなどを含む。

20

【0278】

組成物は、一般的に、 $200\text{mOsm}/\text{kg}\sim 400\text{mOsm}/\text{kg}$ 、好ましくは $240\sim 360\text{mOsm}/\text{kg}$ の質量オスモル濃度を有し、より好ましくは、 $290\sim 310\text{mOsm}/\text{kg}$ の範囲内にある。

【0279】

組成物は、1または複数の緩衝液を含んでよい。典型的な緩衝液は、リン酸緩衝液、Tris緩衝液、ホウ酸緩衝液、コハク酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液（特に水酸化アルミニウムアジュバントとともに）またはクエン酸緩衝液を含む。緩衝液は、典型的には、 $5\sim 20\text{mM}$ の範囲で含まれる。

30

【0280】

組成物のpHは、一般的に、 $5.0\sim 8.1$ であり、より典型的には $6.0\sim 8.0$ 、例えば 6.5 および 7.5 、または $7.0\sim 7.8$ である。

【0281】

組成物は、好ましくは無菌である。組成物は、好ましくは非発熱性であり、例えば用量あたり $< 1\text{EU}$ （内毒素単位、標準的な尺度）、好ましくは用量あたり $< 0.1\text{EU}$ を含有する。組成物は、好ましくは、グルテンを含まない。

【0282】

組成物は、単回の免疫化のための材料を含んでも、複数回の免疫化（すなわち「複数回用量（multidose）」キット）のための材料を含んでもよい。複数回用量の構成（arrangement）において、防腐剤を含むことが好ましい。複数回用量組成物に防腐剤を含める代わりに（またはそれに加えて）、組成物を、材料を取り出すための無菌アダプタを有する容器中に入れてよい。

40

【0283】

ヒトワクチンは、典型的には、約 0.5ml の投与体積で投与されるが、小児には半分の用量（すなわち約 0.25ml ）を投与してよい。

【0284】

本発明の免疫原性組成物は、1種または複数の免疫調節剤も含んでよい。好ましくは、免疫調節剤のうち1種または複数は1種または複数のアジュバントを含む。アジュバントは、以下にさらに考察するTH1アジュバントおよび/またはTH2アジュバントを含ん

50

でよい。

【0285】

本発明の組成物において使用され得るアジュバントとして、これだけに限定されないが、以下が挙げられる：

- ・無機塩、例えば、水酸化物（例えば、オキシ水酸化物）、リン酸塩（例えば、ヒドロキシリン酸塩、オルトリン酸塩）および硫酸塩などを含めたアルミニウム塩およびカルシウム塩 [例えば、参考文献23の8&9章を参照のこと]、

- ・水中油型エマルジョン、例えば、MF59（マイクロフルイダイザーを使用してサブミクロン粒子に処方された、5%スクアレン、0.5% Tween 80および0.5% Span 85）を含めたスクアレン-水エマルジョン [参考文献23の10章、参考文献24～26、参考文献27の12章も参照のこと]、完全フロイントアジュバント（CFA）および不完全フロイントアジュバント（IFA）、

- ・サポニン処方物 [参考文献23の22章]、例えば、QS21 [28] および ISCOM [参考文献23の23章]、

- ・ピロソームおよびウイルス様粒子（VLP） [29～35]、

- ・細菌または微生物誘導体、例えば、腸内細菌リポ多糖類（LPS）の非毒性誘導体、脂質A誘導体 [36、37]、IC-31（商標） [44]（26マーの配列5'-（IC）₁₃-3'（配列番号112）を含むデオキシヌクレオチドおよび11マーのアミノ酸配列KKLLKLLK（配列番号113）を含むポリカチオンポリマーペプチド）などの免疫賦活性オリゴヌクレオチド [38～43]、ならびにADP-リボシル化毒素およびその解毒された誘導体 [45～54]、

- ・インターロイキン（例えば、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-12 [55、56]、インターフェロン（例えば、インターフェロン-γ）、マクロファージコロニー刺激因子および腫瘍壊死因子などのサイトカインを含めたヒト免疫調節物質、

- ・生体付着性物質および粘膜付着性物質、例えばキトサンおよびその誘導体、エステル化ヒアルロン酸マイクロスフェア [57] または粘膜付着性物質、例えば、ポリ（アクリル酸）の架橋された誘導体、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、多糖およびカルボキシメチルセルロース [58]、

- ・生分解性で、非毒性である材料（例えば、ポリ（α-ヒドロキシ酸）、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリ酸無水物、ポリカプロラクトンなど）から形成されるマイクロパーティクル（すなわち、直径約100nm～約150μm、より好ましくは、直径約200nm～約30μmおよび最も好ましくは、直径約500nm～約10μmの粒子）、

- ・リポソーム [参考文献23の13&14章、参考文献59～61]、

- ・ポリオキシエチレンエーテルおよびポリオキシエチレンエステル [62]、

- ・PCPP処方物 [63および64]、

- ・N-アセチル-L-スレオニル-D-イソグルタミン（thr-MDP）、N-アセチル-L-アラニル-D-イソグルタミン（nor-MDP）およびN-アセチル-L-アラニル-D-イソグルタミル-L-アラニン-2-（1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ）-エチルアミンMTP-PE）を含めたムラミルペプチド、および

- ・イミクアモド（Imiquamod）およびその同族化合物（例えば、「レシキモド3M」）を含めたイミダゾキノロン化合物 [65および66]。

【0286】

本発明の免疫原性組成物およびワクチンは、上で同定されたアジュバントのうち1種または複数の態様の組み合わせも含み得る。例えば、本発明において以下のアジュバント組成物が使用され得る：（1）サポニンおよび水中油型エマルジョン [67]、（2）サポニン（例えば、QS21）+非毒性LPS誘導体（例えば、3dMPL） [68]、（3）サポニン（例えば、QS21）+非毒性LPS誘導体（例えば、3dMPL）+コレス

10

20

30

40

50

テロール、(4) サポニン (例えば、Q S 2 1) + 3 d M P L + I L - 1 2 (場合により、+ステロール) [69]、(5) 3 d M P L と、例えば、Q S 2 1 および/または水中油型エマルジョンとの組み合わせ [70]、(6) より大きな粒径のエマルジョンを作製するために、サブミクロンエマルジョンにマイクロフルイダイズされたか、またはポルテックス処理された、10%スクアラン、0.4% Tween 80 (商標)、5% プロニック-ブロッックポリマー-L 1 2 1 および t h r - M D P を含有する S A F。(7) 2% スクアレン、0.2% Tween 80 およびモノホスホリルリピド A (M P L)、ジミコール酸トレハロース (T D M) および細胞壁骨格 (C W S)、好ましくは、M P L + C W S (D e t o x (商標)) からなる群から1種または複数の細菌細胞壁成分を含有する R i b i (商標) アジュバントシステム (R A S)、(R i b i I m m u n o c h e m 10) および(8) 1種または複数の無機塩 (アルミニウム塩など) + L P S の非毒性誘導体 (3 d M P L など)。

【0287】

免疫刺激剤として作用するその他の物質は、参考文献23の7章に開示されている。

【0288】

水酸化アルミニウムおよび/またはリン酸アルミニウムアジュバントの使用が特に好ましく、抗原は、一般的に、これらの塩に吸着される。リン酸カルシウムは別の好ましいアジュバントである。その他の好ましいアジュバントの組み合わせとして、C p G & ミョウバンまたはレシキモド & ミョウバンなどの T h 1 および T h 2 アジュバントの組み合わせが挙げられる。リン酸アルミニウムおよび 3 d M P L の組み合わせを使用してもよい (これは、肺炎球菌免疫化において有効であると報告されている [71])。M F 5 9 アジュバントの使用は、特に、I M (筋肉内) 免疫化または I P (腹腔内) 免疫化の場合に好ましい。20

【0289】

本発明の組成物は、細胞媒介性免疫応答ならびに体液性免疫応答の両方を惹起できる。この免疫応答により、長く続く (例えば、中和性) 抗体および N T H I に曝露されると直ちに応答することができる細胞媒介性免疫が好ましく誘導される。

【0290】

2つの型のT細胞、C D 4 および C D 8 細胞は、一般的に、細胞媒介性免疫および体液性免疫を開始および/または増進するために必要であると考えられている。C D 8 T 細胞は、C D 8 共受容体を発現でき、細胞傷害性Tリンパ球 (C T L) と一般に呼ばれる。C D 8 T 細胞は、M H C クラス I 分子上に提示される抗原を認識でき、またはそれと相互作用できる。30

【0291】

C D 4 T 細胞は、C D 4 共受容体を発現でき、Tヘルパー細胞と一般に呼ばれる。C D 4 T 細胞は、M H C クラス I I 分子と結合した抗原性ペプチドを認識できる。M H C クラス I I 分子との相互作用の際に、C D 4 細胞は、サイトカインのような因子を分泌できる。これらの分泌されたサイトカインは、B細胞、細胞傷害性T細胞、マクロファージおよび免疫応答に参加するその他の細胞を活性化できる。ヘルパーT細胞またはC D 4 + 細胞は、2つの機能的に異なるサブセット：それらのサイトカインおよびエフェクター機能40が異なる T H 1 表現型および T H 2 表現型にさらに分けることができる。

【0292】

活性化 T H 1 細胞は、細胞性免疫を増進し (抗原特異的 C T L の生成の増加を含む)、よって、細胞内感染に対する応答において特に価値がある。活性化 T H 1 細胞は、I L - 2、I F N - γ および T N F - β の1または複数分泌し得る。T H 1 免疫応答は、マクロファージ、NK (ナチュラルキラー) 細胞および C D 8 細胞傷害性T細胞 (C T L) を活性化することにより局所的炎症反応をもたらし得る。T H 1 免疫応答は、B および T 細胞の増殖を、I L - 1 2 を用いて刺激することにより免疫応答を拡大するように作用することもある。T H 1 に刺激されたB細胞は、I g G 2 a を分泌し得る。

【0293】

活性化T H 2細胞は、抗体生成を増進し、よって、細胞外感染に対する応答において価値がある。活性化T H 2細胞は、I L-4、I L-5、I L-6およびI L-10の1または複数を分泌し得る。T H 2免疫応答は、I g G 1、I g E、I g Aおよび将来の防御のためのメモリーB細胞の生成をもたらし得る。

【0294】

増強された免疫応答は、増強されたT H 1免疫応答およびT H 2免疫応答の1または複数を含み得る。

【0295】

T H 1免疫応答は、C T Lの増加、T H 1免疫応答と関連するサイトカインの1もしくは複数（例えばI L-2、I F N- γ およびT N F- β ）の増加、活性化マクロファージの増加、NK活性の上昇、またはI g G 2 aの生成の増加の1または複数を含み得る。好ましくは、増強されたT H 1免疫応答は、I g G 2 a生成の増加を含む。

10

【0296】

T H 1免疫応答は、T H 1アジュバントを用いて惹起し得る。T H 1アジュバントは、一般的に、アジュバントなしの抗原での免疫化と比べて、増加したレベルのI g G 2 a生成を惹起する。本発明で用いるために適切なT H 1アジュバントは、例えばサポニン処方物、ピロソームおよびウイルス様粒子、腸内細菌リポ多糖（L P S）の非毒性誘導体、免疫刺激オリゴヌクレオチドを含んでよい。C p Gモチーフを含有するオリゴヌクレオチドのような免疫刺激オリゴヌクレオチドは、本発明で用いるために好ましいT H 1アジュバントである。

20

【0297】

T H 2免疫応答は、T H 2免疫応答と関連するサイトカインの1種もしくは複数（例えばI L-4、I L-5、I L-6およびI L-10）の増加、またはI g G 1、I g E、I g AおよびメモリーB細胞の生成の増加の1または複数を含み得る。好ましくは、増強されたT H 2免疫応答は、I g G 1生成の増加を含む。

【0298】

T H 2免疫応答は、T H 2アジュバントを用いて惹起し得る。T H 2アジュバントは、一般的に、アジュバントなしの抗原での免疫化と比べて、増加したレベルのI g G 1生成を惹起する。本発明で用いるために適切なT H 2アジュバントは、例えば無機質含有組成物、油性エマルジョンならびにA D P-リボシル化毒素およびその解毒化誘導体を含む。アルミニウム塩のような無機質含有組成物は、本発明で用いるために好ましいT H 2アジュバントである。

30

【0299】

好ましくは、本発明は、T H 1アジュバントとT H 2アジュバントとの組み合わせを含む組成物を包含する。好ましくは、このような組成物は、増強されたT H 1応答および増強されたT H 2応答を惹起し、すなわちアジュバントなしでの免疫化と比べて、I g G 1生成およびI g G 2 a生成の両方の生成の増加を惹起する。さらにより好ましくは、T H 1アジュバントとT H 2アジュバントとの組み合わせを含む組成物は、単一アジュバントを用いる免疫化と比べて（すなわち、T H 1アジュバントのみでの免疫化またはT H 2アジュバントのみでの免疫化と比べて）、T H 1免疫応答の増加および／またはT H 2免疫応答の増加を惹起する。

40

【0300】

免疫応答は、T H 1免疫応答およびT H 2応答の一方または両方であってよい。好ましくは、免疫応答は、増強されたT H 1応答および増強されたT H 2応答の一方または両方をもたらす。

【0301】

増強された免疫応答は、全身免疫応答および粘膜免疫応答の一方または両方であり得る。好ましくは、免疫応答は、増強された全身免疫応答および増強された粘膜免疫応答の一方または両方をもたらす。好ましくは、粘膜免疫応答は、T H 2免疫応答である。好ましくは、粘膜免疫応答は、I g Aの生成の増加を含む。

50

【0302】

H. influenzae 感染は、身体の種々の領域を侵し得、そのため本発明の組成物は、種々の形態で調製してよい。例えば、組成物は、液体溶液または懸濁物のいずれかとしての注射剤として調製してよい。注射前に液体ビヒクルに溶解または懸濁するために適切な固体の形態も調製できる（例えば凍結乾燥組成物または噴霧凍結乾燥組成物）。組成物は、局部投与用に、例えば軟膏剤、クリームまたは散剤として調製してよい。組成物は、経口投与用に、例えば錠剤もしくはカプセル剤として、噴霧剤として、またはシロップ剤（所望により矯味矯臭して）として調製してよい。組成物は、肺投与用に、例えば微細粉末または噴霧剤を用いる吸入器として調製してよい。組成物は、坐剤または腔坐剤として調製してよい。組成物は、鼻、耳または眼の投与用に、例えば滴剤として調製してよい。組成物は、組み合わせ組成物が、患者への投与の直前に再構成されるように設計されたキットの形態であってよい。このようなキットは、液体の形態の1または複数の抗原と、凍結乾燥された1または複数の抗原とを含んでよい。

10

【0303】

組成物が使用前に即席で調製され（例えば成分が凍結乾燥された形態である場合）、かつキットとして提示される場合、キットは2つのバイアルを含んでも、1つの充填済み（ready-filled）シリンジと1つのバイアルとを含んでもよく、シリンジの内容物は、注射前にバイアルの内容物を再活性化するために用いられる。

【0304】

ワクチンとして用いられる免疫原性組成物は、免疫学的有効量の抗原（複数可）と、必要に応じて任意のその他の成分とを含む。「免疫学的有効量」により、単回用量または一連のものの一部のいずれかとしてのその量を個体に投与することが、処置または予防のために有効であることを意味する。この量は、処置される個体の健康および身体の状態、年齢、処置される個体の分類群（例えば非ヒト霊長類、霊長類など）、抗体を合成する個体の免疫系の能力、所望される防御の程度、ワクチンの処方、医学的状況についての処置医師の評価、およびその他の関連する要因に依存して変動する。この量は、日常的な試験により決定できる比較的広い範囲内にあると予測される。組成物中に2種以上の抗原が含まれる場合には、2種の抗原は互いと同じ用量で存在しても異なる用量で存在してもよい。

20

【0305】

上記の通り、組成物は温度保護剤を含んでよく、この成分は、アジュバント化（adjuvanted）組成物（特にアルミニウム塩などの無機アジュバントを含有するもの）において特に有用であり得る。参考文献72に記載の通り、液体温度保護剤を水性ワクチン組成物に添加して、その凝固点を低下させること、例えば、凝固点を0℃未満まで低下させることができる。したがって、組成物を、0℃を下回るがその凝固点を上回る温度で保存して、熱による分解を阻害することができる。温度保護剤により、無機塩アジュバントを凍結および解凍後の凝塊形成または沈降から保護しながら組成物を凍結させることも可能になり、また、組成物を高温、例えば、40℃超で保護することもできる。出発水性ワクチンおよび液体温度保護剤を、液体温度保護剤が体積で最終混合物の1～80%を形成するように混合することができる。適切な温度保護剤は、ヒト投与のために安全であるべきであり、水に対して易混和性／可溶性であるべきであり、組成物中のその他の成分（例えば抗原およびアジュバント）を損傷させるものではないべきである。例として、グリセリン、プロピレングリコール、および／またはポリエチレングリコール（PEG）が挙げられる。適切なPEGの平均分子量は、200～20,000Daにわたり得る。好ましい実施形態では、ポリエチレングリコールの平均分子量は約300Daであり得る（「PEG-300」）。

30

40

【0306】

本発明の組成物は、（i）本発明の抗原組み合わせのうち2以上（例えば、1、2、3、4）の抗原を含む水性組成物と（ii）温度保護剤を混合することによって形成され得る。次いで、混合物は、例えば、0℃未満、0～20℃、20～35℃、35～55℃、またはそれより高い温度で保存され得る。混合物は、液体の形態でも凍結した形態でも保

50

存され得る。混合物は凍結乾燥され得る。あるいは、組成物は、(i) 本発明の抗原組み合わせのうち2以上(例えば、1、2、3、4)の抗原を含む乾燥した組成物と(ii) 温度保護剤を含む液体組成物を混合することによって形成され得る。したがって、成分(ii)を使用して成分(i)が再構成され得る。

【0307】

処置方法、およびワクチンの投与

本発明はまた、有効量の本発明の組成物を投与するステップ、または本発明の少なくとも1種、または複数(例えば、1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種または10種)の抗原を投与する1つまたは複数のステップを含む、哺乳動物において免疫応答を上昇させるための方法を提供する。免疫応答は、好ましくは、防御的であり、好ましくは、抗体および/または細胞性免疫を含む。方法は、追加免疫応答を引き起こし得る。

10

【0308】

本発明はまた、例えば、哺乳動物において免疫応答を上昇させることにおいて使用するための医薬として併用するための本発明の少なくとも1種、または複数の抗原を提供する。

【0309】

本発明はまた、哺乳動物において免疫応答を上昇させるための医薬の製造における、本発明の少なくとも1種、または複数の抗原の使用を提供する。

【0310】

本発明の方法および使用において、本発明の少なくとも1種、または複数(例えば、1種、2種、3種、4種)の抗原は、同時に、別々にまたは逐次的に投与され得る。

20

【0311】

これらの使用および方法により、哺乳動物において免疫応答を上昇させることによって、哺乳動物は、H. influenzae 感染に対して防御され得る。本発明は、種々の異なる血清型のH. influenzae に対して有効であるが、分類不能型H. influenzae l (NTHI) による感染によって生じる疾患に対する防御において特に有用であり得る。本発明によると、感染は、例えば、中耳炎(急性中耳炎を含む)、気管支炎、結膜炎、副鼻腔炎、尿路感染症、肺炎、菌血症、化膿性関節炎、喉頭蓋炎、肺炎、蓄膿症、心膜炎、蜂巣炎、骨髓炎、下気道感染症または髄膜炎から選択される疾患または状態と関連する可能性がある。本発明は、細菌がのどから耳管を介して中耳に移動し、次いで中耳においてコロニー形成することを予防する免疫応答を惹起することによって中耳の炎症を処置または予防するため、またはCOPD疾患を処置または予防するために特に有用である。

30

【0312】

本発明はまた、第1の成分および第2の成分を含むキットであって、第1の成分も第2の成分も上記の本発明の組成物ではないが、第1の成分と第2の成分を組み合わせる上記の本発明の組成物をもたらすことができるキットを提供する。キットは、説明書、シリンジまたはその他の送達デバイス、アジュバント、または薬学的に許容される処方溶液のうち1つまたは複数を含む第3の成分をさらに含んでよい。

40

【0313】

本発明はまた、本発明の免疫原性組成物で予め充填された送達デバイスを提供する。

【0314】

哺乳動物は、好ましくは、ヒト、例えば、ヒト患者である。ワクチンが予防用使用のためのものである場合、ヒトは、好ましくは、小児(例えば、よちよち歩きの幼児(toddler)または乳児)またはティーンエイジャーであり、ワクチンが治療用使用のためのものである場合には、ヒトは、好ましくは、ティーンエイジャーまたは成人である。小児のために意図されたワクチンはまた、例えば、安全性、投与量、免疫原性などを評価するために、成人に投与され得る。哺乳動物(例えば、ヒト、例えば、患者)は、疾患自体のリスクがあってもよく、妊婦、例えば、女性(「母体免疫化」)であってもよい。

50

【0315】

治療処置の有効性を調べる1つの方法は、本発明の組成物の投与後にH. influenzae感染をモニタリングすることを含む。予防処置の有効性を調べる1つの方法は、組成物の投与後の、本発明の組成物中の抗原に対する免疫応答を、全身的に（IgG1およびIgG2a生成のレベルをモニタリングすることなど）および／または粘膜的に（IgA生成のレベルをモニタリングすることなど）モニタリングすることを含む。本発明の組成物の免疫原性は、それらを試験被験体（例えば、12～16カ月齢の小児、またはチンチラモデルなどの動物モデル[73]）に投与し、次いで、IgGのELISA力価（GMT）を含めた標準のパラメータを決定することによって決定され得る。これらの免疫応答は、一般的に、組成物の投与後およそ4週間で、組成物の投与前に決定された値と比較して決定される。組成物の2つ以上の用量を投与する場合、投与後の決定は2回以上行われ得る。通常、抗原特異的血清抗体反応は免疫化後であるがチャレンジ前に決定されるが、抗原特異的粘膜抗体反応は免疫化後かつチャレンジ後に決定される。

10

【0316】

本発明の組成物の免疫原性を評価する別の方法は、イムノブロットおよび／またはマイクロアレイによって患者血清または粘膜分泌物をスクリーニングするために組換えによってタンパク質を発現させることである。タンパク質と患者試料の間の陽性の反応は、患者が、問題のタンパク質に対する免疫応答を開始したことを示す。この方法はまた、免疫優性抗原および／または抗原内のエピトープを同定するために用いてもよい。

20

【0317】

ワクチン組成物の有効性はまた、H. influenzae感染の動物モデル、例えば、モルモット、チンチラ、またはマウスにおけるワクチン組成物を用いた免疫化試験によってin vivoで決定することもできる。そのようなモデルの1つは、参考文献74に記載されている。

【0318】

本発明のワクチン組成物の有効性をin vivoで決定するために使用されるその他の有用な動物モデルは、参考文献75に記載されている。

【0319】

本発明の組成物は、一般的に、患者に直接投与される。直接送達は、非経口注射（例えば、皮下、腹腔内、静脈内、筋肉内、または組織の間質腔への注射）、または粘膜、例えば、直腸、経口（例えば、錠剤、噴霧剤）、膺、局部、経皮（transdermal）または経皮（transcutaneous）、鼻腔内、眼、耳、肺またはその他の粘膜投与によって達成され得る。

30

【0320】

本発明は、全身免疫および／または粘膜免疫を惹起するため、好ましくは増強された全身免疫および／または粘膜免疫を惹起するために使用され得る。

【0321】

好ましくは、増強された全身免疫および／または粘膜免疫は、増強されたTH1免疫応答および／またはTH2免疫応答に反映される。好ましくは、増強された免疫応答は、IgG1および／またはIgG2aおよび／またはIgAの生成の増加を含む。

40

【0322】

投薬は、単回用量スケジュールによるものであっても、複数回用量スケジュールによるものであってもよい。複数回用量は、一次免疫スケジュールにおいて、および／または追加免疫スケジュールにおいて使用され得る。複数回用量スケジュールでは、種々の用量を、同一または異なる経路、例えば、非経口初回刺激（prime）および粘膜追加刺激（boost）、粘膜初回刺激および非経口追加刺激などによって与えてもよい。複数回用量は、通常、少なくとも1週間隔てて（例えば、約2週間、約3週間、約4週間、約6週間、約8週間、約10週間、約12週間、約16週間など）投与される。

【0323】

本発明に従って調製されたワクチンは、小児および成人の両方を処置するために用いて

50

よい。したがって、ヒト患者は、1歳未満、1～5歳、5～15歳、15～55歳または少なくとも55歳であってよい。ワクチンを受ける好ましい患者は、高齢者（例えば、 ≥ 50 歳、 ≥ 60 歳、好ましくは、 ≥ 65 歳）、年少者（例えば、 ≤ 5 歳）、入院患者、医療従事者、軍隊および軍人、妊娠中の女性、慢性の病人または免疫不全患者である。ワクチンは、これらの群に対してのみ適しているわけではなく、より一般的には、集団において使用され得る。

【0324】

本発明によって作出されるワクチンは、その他のワクチンと実質的に同時に（例えば、医療専門家またはワクチン接種センターへの同一の医療相談または訪問中に）、例えば、麻疹ワクチン、流行性耳下腺炎ワクチン、風疹ワクチン、MMRワクチン、水痘ワクチン、MMRVワクチン、ジフテリアワクチン、破傷風ワクチン、百日咳ワクチン、DTPワクチン、結合体化H. influenzae b型ワクチン、不活化ポリオウイルスワクチン、B型肝炎ウイルスワクチン、髄膜炎菌結合体ワクチン（四価A-C-W135-Yワクチンなど）、呼吸器系合胞体ウイルスワクチンなどと実質的に同時に患者に投与してよい。

【0325】

粘膜免疫化

本発明は、粘膜免疫化のための本発明の抗原、抗原組み合わせ、および組成物を提供する。例えば、本発明は、(i) 本発明のポリペプチド抗原組み合わせ、および(ii) 細菌性ADP-リボシル化毒素および／またはその解毒された誘導体を含む免疫原性組成物を提供する。本発明はまた、有効量のそのような免疫原性組成物を哺乳動物に投与するステップを含む、哺乳動物において免疫応答を上昇させるための方法を提供する。組成物は、好ましくは、粘膜を介して（粘膜表面に）投与され、例えば、組成物は、鼻腔内に投与され得る。

【0326】

成分(ii)の毒素は、例えば、E. coli熱不安定性エンテロトキシン（「LT」）に由来することができる。誘導体は、そのAサブユニットに解毒化変異を有し得る。例えば、誘導体はLT-K63またはLT-R72であってよい。特に、誘導体はLT-K63であってよい。その他の実施形態では、誘導体はLT-K63ではない。

【0327】

本発明の抗原または組成物およびLT-K63アジュバントを鼻腔内投与することが好ましい。これにより、鼻咽頭、肺および血液におけるH. influenzae細菌負荷が減少し得、感染した哺乳動物の生存率が上昇し得る。

【0328】

本発明の組成物のさらなる抗原性成分

本発明はまた、少なくとも1種のさらなる分類不能型H. influenzae抗原をさらに含む組成物を提供する。

【0329】

本発明はまた、分類不能型H. influenzae抗原ではない少なくとも1種の抗原をさらに含む組成物を提供する。

【0330】

具体的には、本発明はまた、本発明の1種または複数のポリペプチドおよび以下のさらなる抗原の1種または複数を含む組成物を提供する：

—N. meningitidis血清群A、B、C、W135および／またはY由来の抗原

—Streptococcus pneumoniae由来の糖類またはポリペプチド抗原 [例えば、76、77、78]

—不活化ウイルスなどのA型肝炎ウイルス由来の抗原 [例えば、79、80]

—表面抗原および／またはコア抗原などのB型肝炎ウイルス由来の抗原 [例えば、80、81]

－ジフテリア抗原、例えば、ジフテリアトキソイド [例えば、参考文献 82 の 3 章] または CRM₁₉₇ 変異体 [例えば、83]

－破傷風トキソイドなどの破傷風抗原 [例えば、参考文献 82 の 4 章]

－*Bordetella pertussis* 由来の抗原、例えば、必要に応じてパーティタチンおよび／または凝集原 2 および 3 と組み合わせ、*B. pertussis* 由来の百日咳ホロ毒素 (PT) および線維状赤血球凝集素 (FHA) [例えば、参考文献 84 & 85]

－全細胞百日咳抗原

－*Haemophilus influenzae* B 由来の糖類抗原 [例えば、86]

10

－IPV などのポリオ抗原 (複数可) [例えば、87、88]

－麻疹、流行性耳下腺炎および／または風疹抗原 [例えば、参考文献 82 の 9 章、10 章 & 11 章]

－赤血球凝集素および／またはノイラミニダーゼ表面タンパク質などのインフルエンザ抗原 (複数可) [例えば、参考文献 82 の 19 章]

－*Moraxella catarrhalis* 由来の抗原 [例えば、89]

－*Streptococcus agalactiae* (B 群連鎖球菌) 由来のタンパク質抗原 [例えば、90、91]

－*Streptococcus agalactiae* (B 群連鎖球菌) 由来の糖類抗原

20

－*Streptococcus pyogenes* (A 群連鎖球菌) 由来の抗原 [例えば、91、92、93]

－*Staphylococcus aureus* 由来の抗原 [例えば、94]

－呼吸器系合胞体ウイルス由来の抗原、例えば、組換えタンパク質 F [例えば、142]

－ジフテリア (D)、破傷風 (T)、百日咳 (無細胞、成分) (Pa)、B 型肝炎 (rDNA) (HBV)、灰白髄炎 (不活化) (IPV) および *Haemophilus influenzae* b 型 (Hib) 結合体ワクチン (吸着) を含むワクチン組成物、例えば、*Infanrix-hexa*。

【0331】

30

組成物は、これらのさらなる抗原のうち 1 種または複数を含んでよい。RSV ワクチンとの組み合わせおよび／または DTPa 含有ワクチンとの組み合わせが特に興味深い。

【0332】

毒性タンパク質抗原は、必要な場合には解毒され得る (例えば、百日咳毒素の化学的手段および／または遺伝学的手段による解毒 [85])。

【0333】

ジフテリア抗原が組成物に含まれる場合、破傷風抗原および百日咳抗原も含まれることが好ましい。同様に、破傷風抗原が含まれる場合、ジフテリアおよび百日咳抗原も含まれることが好ましい。同様に、百日咳抗原が含まれる場合、ジフテリアおよび破傷風抗原も含まれることが好ましい。したがって、DTP の組み合わせが好ましい。

40

【0334】

糖類抗原は、好ましくは、結合体の形態である。結合体のための担体タンパク質として、ジフテリア毒素、破傷風毒素、*N. meningitidis* 外膜タンパク質 [95]、合成ペプチド [96、97]、熱ショックタンパク質 [98、99]、百日咳タンパク質 [100、101]、*H. influenzae* 由来のタンパク質 D [102]、サイトカイン [103]、リンフォカイン [103]、*Streptococcus* のタンパク質、ホルモン [103]、増殖因子 [103]、*C. difficile* 由来の毒素 A または毒素 B [104]、鉄取り込みタンパク質 (*iron-uptake protein*) [105] などが挙げられる。好ましい担体タンパク質は、ジフテリア毒素の CRM197 変異体である [106]。

50

【0335】

組成物中の抗原は、一般的には、それぞれ少なくとも $1\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で存在する。一般的に、任意の所与の抗原の濃度は、その抗原に対する免疫応答を惹起するために十分なものである。

【0336】

本発明の免疫原性組成物にタンパク質抗原を使用することの代替として、抗原をコードする核酸（好ましくは、DNA、例えば、プラスミドの形態で）が使用され得る。

【0337】

抗原は、好ましくは、アルミニウム塩に吸着される。

【0338】

抗体

本発明による抗原に対する抗体は、受動免疫化のために使用され得る[107]。したがって、本発明は、療法において使用するための、本発明の抗原に特異的な抗体を提供する。これらの抗体は、単独でまたは組み合わせて使用され得る。本発明はまた、そのような抗体を含む免疫原性かつ薬学的な組成物を提供する。

【0339】

抗体は、医薬品において、および療法において、例えば、NTHIに対する受動免疫化のために、またはNTHI感染を除去するために使用され得る。本発明はまた、医薬の製造におけるそのような抗体の使用を提供する。本発明はまた、有効量の本発明の抗体を投与するステップを含む、哺乳動物を処置するための方法を提供する。免疫原性組成物について上記の通り、これらの方法および使用により、哺乳動物がNTHI感染に対して防御されることが可能になる。具体的には、本発明の抗体は、哺乳動物に有効量の本明細書に記載の抗体、またはそのような抗体を含む組成物を投与するステップを含む、NTHIによる感染を処置または予防する方法において使用され得る。

【0340】

用語「抗体」とは、インタクトな免疫グロブリン分子（パリビズマブのような）、ならびにNTHI抗原に結合できるその断片を包含する。これらとして、ハイブリッド（キメラ）抗体分子[108、109]；F(ab')₂およびF(ab)断片およびFv分子；非共有結合性ヘテロ二量体[110、111]；単鎖Fv分子(sFv)[112]；二量体抗体断片構築物および三量体抗体断片構築物；小型抗体(minibody)[113、114]；ヒト化抗体分子[115～117]；およびそのような分子から得られる任意の機能性断片、ならびにファージディスプレイのような従来のものではないプロセスによって得られる抗体が挙げられる。好ましくは、抗体はモノクローナル抗体である。モノクローナル抗体を得る方法は当技術分野で周知である。ヒト化抗体または完全ヒト抗体が好ましい。本発明の抗体および抗体組み合わせは、精製または単離され得る。

【0341】

一般

本発明の実施は、特に断りのない限り、当技術分野の技術の範囲内の化学、生化学、分子生物学、免疫学および薬理学の従来の方法を使用する。このような技術は、文献において完全に説明されている。例えば、参考文献118～125などを参照のこと。

【0342】

本発明で「エピトープ」に関する場合、このエピトープは、B細胞エピトープおよび/またはT細胞エピトープであり得る。そのようなエピトープは経験的に同定することもでき（例えば、PEPSCAN[126、127]または同様の方法を使用して）、予測することもできる（例えば、Jameson-Wolf抗原性指数(antigenic index)[128]、マトリックスに基づく手法[129]、MAPITOPE[130]、TEPITOPE[131、132]、ニューラルネットワーク(neural network)[133]、OptiMer&EpiMer[134、135]、ADEPT[136]、Tsites[137]、親水性[138]、抗原性指数[139]または参考文献140～144に開示されている方法などを使用して）。エピトープは

、抗体またはT細胞受容体の抗原結合部位により認識され、それが結合する抗原の部分であり、「抗原決定基」とも呼ばれ得る。

【0343】

抗原「ドメイン」が省かれる場合、これには、シグナルペプチドの省略、細胞質ドメインの省略、膜貫通ドメインの省略、細胞外ドメインの省略などが含まれ得る。

【0344】

用語「含む (comprising)」とは、「含む (including)」ならびに「からなる (consisting)」を包含し、例えば、Xを「含む (comprising)」組成物は、排他的にXからなってもよく、追加的な何かを含んでもよい、例えば、X+Yであってよい。

10

【0345】

用語「約」とは、数値xとの関連では、任意選択であり、例えば、 $x \pm 10\%$ を意味する。

【0346】

2種のアミノ酸配列間の配列同一性パーセンテージへの言及は、アラインメントされた場合に、アミノ酸のそのパーセンテージが、2種の配列の比較において同じであることを意味する。このアラインメントおよび相同性または配列同一性パーセントは、当技術分野で公知のソフトウェアプログラム、例えば、参考文献22の7. 7. 18節に記載のものを使用して決定できる。好ましいアラインメントは、12のギャップオープンペナルティおよび2のギャップ伸長ペナルティ、62のBLOSUMマトリックスを用いるアフィンギャップ検索を使用するSmith-Waterman相同性検索アルゴリズムによって決定される。Smith-Waterman相同性検索アルゴリズムは、参考文献145に開示されている。

20

例えば、本発明は、以下の項目を提供する：

(項目1)

(5) NTHI1292 (NT067)、(8) CGSHiGG_00130 (NT052)、(1) NTHI0915 (NT018)、(2) NTHI1416 (NT024)、(3) NTHI2017 (NT032)、(4) CGSHiGG_02400 (NT038)、(6) NTHI0877 (NT001)、(7) NTHI0266 (NT016)、(9) NTHI1627 (NT002)、(10) NTHI1109 (NT026)、(11) NTHI0821 (NT009)、(12) NTHI0409 (NT025)、(13) NTHI1954 (NT028)、(14) NTHI0371 (NT029)、(15) NTHI0509 (NT031)、(16) NTHI0449 (NT015)、(17) NTHI1473 (NT023)、(18) gi-145633184 (NT100)、(19) NTHI1110 (NT040)、(20) gi-46129075 (NT048)、(21) gi-145628236 (NT053)、(22) NTHI1230 (NT066)、(23) NTHI0522 (NT097)、(50) NT004、(51) NT014、(52) NT022からなる群より選択される1種または複数の分類不能型H. influenzaeの単離または組換えポリペプチド抗原を含む免疫原性組成物。

30

40

(項目2)

上記NT067抗原が、(a) 配列番号5または配列番号52に対して80%以上の同一性を有するアミノ酸配列；および／あるいは(b) 配列番号5または配列番号52の少なくとも10個の連続するアミノ酸の断片であり、かつ配列番号5または配列番号52のエピトープを含むアミノ酸配列を含むポリペプチドであり、

上記NT016抗原が、(a) 配列番号7または配列番号55に対して80%以上の同一性を有するアミノ酸配列；および／あるいは(b) 配列番号7または配列番号55の少なくとも10個の連続するアミノ酸の断片であり、かつ配列番号7または配列番号55のエピトープを含むアミノ酸配列を含むポリペプチドであり、

上記NT014抗原が、(a) 配列番号123に対して80%以上の同一性を有するア

50

ミノ酸配列；および／あるいは（b）配列番号123の少なくとも10個の連続するアミノ酸の断片であり、かつ配列番号123のエピトープを含むアミノ酸配列を含むポリペプチドであり、

上記NT022抗原が、（a）配列番号124に対して80%以上の同一性を有するアミノ酸配列；および／あるいは（b）配列番号124の少なくとも10個の連続するアミノ酸の断片であり、かつ配列番号124のエピトープを含むアミノ酸配列を含むポリペプチドである、

項目1に記載の組成物。

（項目3）

（24）P48（NTHI0254、NT007とも定義される）、（25）HtrA（NTHI1905、NT006とも定義される）、（26）PE（NTHI0267、NT035とも定義される）、（27）P26（NTHI0501、NT010とも定義される）、（28）PHiD（NTHI0811、NT080とも定義される）、（29）P6（NTHI0501、NT081とも定義される）からなる群より選択される少なくとも1種のポリペプチドをさらに含む、項目1に記載の免疫原性組成物。

10

（項目4）

（30）NT013、（31）NT106、（32）NT107、（33）NT108、（34）NT109、（35）NT110、（36）NT111、（37）NT112、（38）NT113、（39）NT114、（40）NT115、（41）NT116、（42）NT117、（43）NT118、（44）NT123、（45）NT124、（46）NT119、（47）NT120、（48）NT121、（49）NT122および／または（53）NT061からなる群より選択される少なくとも1種のポリペプチドをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の免疫原性組成物。

20

（項目5）

2種以上の抗原の組み合わせを含む、項目1から4までに記載の免疫原性組成物。

（項目6）

上記分類不能型H. influenzaeの単離または組換えポリペプチド抗原の少なくとも1つが種々の病原性の分類不能型H. influenzae株の間で保存されている、項目1に記載の組成物。

（項目7）

－ N. meningitidis血清群A、B、C、W135および／またはY由来の抗原

30

－ Streptococcus pneumoniae由来の糖類またはポリペプチド抗原

－ A型肝炎ウイルス由来の抗原

－ B型肝炎ウイルス由来の抗原

－ ジフテリアトキソイドなどのジフテリア抗原

－ 破傷風抗原

－ Bordetella pertussis由来の抗原

－ 全細胞百日咳抗原

40

－ Haemophilus influenzae B由来の糖類抗原

－ ポリオ抗原（複数可）

－ 麻疹、流行性耳下腺炎および／または風疹抗原

－ インフルエンザ抗原（複数可）

－ Moraxella catarrhalis由来の抗原

－ 呼吸器系合胞体ウイルス由来の抗原

－ ジフテリア（D）、破傷風（T）、百日咳（無細胞、成分）（Pa）、B型肝炎（rDNA）（HBV）、灰白髄炎（不活化）（IPV）およびHaemophilus influenzae b型（Hib）結合体ワクチン（吸着）を含むワクチン組成物、例えばInfanrix-hexa

50

のいずれかから選択される分類不能型H. influenzae抗原ではない少なくとも1種のワクチン抗原をさらに含む、上記項目のいずれかに記載の組成物。

(項目8)

1種または複数種の薬学的に許容される担体、希釈剤および／またはアジュバントをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の組成物。

(項目9)

医薬において使用するための、上記項目のいずれかに記載の組成物。

(項目10)

ワクチンである、項目1から8までのいずれかに記載の組成物。

(項目11)

Haemophilus influenzae spに対する免疫化剤として使用するための、項目1から8までのいずれかに記載の組成物。

(項目12)

中耳炎などの分類不能型Haemophilus influenzaeによって引き起こされる感染症に対する免疫化剤として使用するための、項目1から8までのいずれかに記載の組成物。

(項目13)

Haemophilus influenzaeによって引き起こされる疾患に対するワクチンとして使用するための、項目1から8までのいずれかに記載の組成物。

(項目14)

分類不能型H. influenzaeによる感染を予防または処置するための方法であって、上記方法は、哺乳動物に、有効量の項目1から8までのいずれかに記載の組成物を投与するステップを含む、または項目1から4に記載の少なくとも1種の抗原を投与する1つまたは複数のステップを含む、方法。

(項目15)

項目1から4に記載の少なくとも1種の抗原を同時に投与するステップを含む、項目13のいずれかに記載の方法。

(項目16)

項目1から8までのいずれかに記載の少なくとも1種の抗原が2つ以上のステップで別々に投与される、項目13から14までのいずれかに記載の方法。

(項目17)

哺乳動物において免疫応答を上昇させることにおいて組み合わせて使用するための、項目1から8までのいずれかに記載の少なくとも1種の抗原。

(項目18)

1種または複数の抗原をアジュバントと混合するステップを含む、項目1から8までのいずれかに記載の組成物を調製するためのプロセス。

(項目19)

混合物を医薬またはワクチンとして処方するステップをさらに含み、かつ場合により、その後に処方物を医薬またはワクチンとして配布するために包装するステップをさらに含む、項目18に記載のプロセス。

【図面の簡単な説明】

【0347】

【図1A】図1は、BL21(DE3)T1^r細胞における抗原の強力な発現が確認される小規模誘導を示す図である。(a)：(LMWM：分子量標準マーカー)。

【図1B】図1は、BL21(DE3)T1^r細胞における抗原の強力な発現が確認される小規模誘導を示す図である。(a)：(LMWM：分子量標準マーカー)。

【図1C】図1は、BL21(DE3)T1^r細胞における抗原の強力な発現が確認される小規模誘導を示す図である。(a)：(LMWM：分子量標準マーカー)。

【図2】図2は、NT001、NT007、NT018、NT024、NT032およびNT067についての種々の結果を示す図である。NT052、NT004、NT014

10

20

30

40

50

、NT016またはNT022などのその他の好ましい抗原を使用して、同様の発現結果が得られた。各パネルは、ウエスタンブロットおよびFACSのデータを示す。ウエスタンブロットを、マウス血清を使用して実施し、レーンは、全細菌抽出物（「TE」）、NTHI外膜（「OMV」）から調製した小胞、または精製された組換えタンパク質（「PP」）との反応性を示す。陰性対照としてミョウバンのみを使用して、種々の抗原組成物を用いて免疫化したマウス由来の血清を不活化細菌と一緒にインキュベートした後にFACS分析を行った；免疫化前の血清である陰性対照は黒塗りの領域として示されており、試料血清を用いて得られた表面発現シグナルは一本線として示されている。

【図3】図3は、本発明の抗原に対する抗血清のNTHIを死滅させる能力を検証するための血清殺菌アッセイの96ウェルプレート上のレイアウトを示す図である。

10

【発明を実施するための形態】

【0348】

概要

本発明者らが実施した少なくとも86種の異なるNTHI株の比較分析において保存されていると同定された抗原の全てである抗原リストをクローニングし、発現させた。タンパク質を精製し、マウスを免疫化するために使用した。免疫したマウス由来の抗血清を使用し、免疫化において使用されたタンパク質の表面局在化および防御能力を検証した（表IIIおよび／または表IV）。結果は、NT052、NT024、NT032、NT001、NT067、NT004、NT014、NT022、NT016での免疫化がNTHIに対して高度に防御的であり、これらが、「第2の抗原群」と比較してさえも、細菌死滅活性SBA（血清殺菌アッセイ）力価がより高い、または少なくともそれに匹敵することを示す。

20

【0349】

株および改変体

本発明者らは、分析された86種のゲノム配列全てにおいて、NT022、NT016、NT014、NT018、NT024、NT032、NT067およびNT001をコードする遺伝子が存在しており、保存されていることを見いだした。

【0350】

コードされるNT018配列は、15種の完全なゲノムおよびFinnish耳炎コレクションからの32種の株で構成されるパネルにわたって95～100%同一であった。コードされるNT024配列は、15種の完全なゲノムおよびFinnish耳炎コレクションからの32種の株で構成されるパネルにおいて90～100%同一であった。

30

【0351】

コードされるNT032配列は、15種の完全なゲノムおよびFinnish耳炎コレクションからの32種の株で構成されるパネルにおいて95～100%同一であった；コードされるNT067配列は、15種の完全なゲノムおよびFinnish耳炎コレクションからの32種の株で構成されるパネルにおいて95～100%同一であった。コードされるNT001配列は、15種の完全なゲノムおよびFinnish耳炎コレクションからの32種の株で構成されるパネルにおいて95～100%同一であった。

【0352】

コードされるアミノ酸配列における保存が表Iに示されている。

40

【0353】

【表1】

表I:ヘモフィルス属(Haemophilus)ゲノムおよび株の間の抗原保存(同一性%)

抗原	NT018	NT024	NT032	NT067	NT001
%	95-100	90-100	95-100	95-100	95-100

【0354】

発現させるために、「第1の抗原群」および／または「第2の抗原群」に属する抗原を

50

、中耳炎の患者から得られた株の Finnish コレクションから単離された株の1つである株 F i 1 7 6 から、または株 R 2 8 4 6 [1 4 6] からクローニングした。選択され、かつ動物モデルにおいてさらに試験された抗原の大部分もまた、株、例えば、NT 0 1 6、NT 0 6 7、NT 0 2 2、NT 0 1 4 の間でよく保存されていることが見いだされた。

【0355】

いくつかの場合には、野生型配列に変異が導入されている。NT 0 1 8、NT 0 6 7、NT 0 0 1、NT 0 1 6、NT 0 0 2、NT 0 2 6、NT 0 0 9、NT 0 1 5、NT 0 2 3 および NT 0 6 6 についての配列表においてこれらの変異に下線が引かれている（配列番号 4 9、5 2、5 4、5 5、5 7～5 9、6 4、6 5 & 6 7 を参照のこと）。

10

【0356】

NTHI 組換えタンパク質のクローニングおよび発現

抗原のクローニングおよび発現は、標準の方法によって実施され得る [1 2 1] 。

【0357】

NTHI 株 F i 1 7 6 または R 2 8 4 6 由来の抗原についての ORF を、特異的なオリゴヌクレオチドおよび鋳型として NTHI 染色体 DNA を使用して PCR 増幅した。生じた PCR 産物を、クローニングベクターの PCR 増幅 (V-PCR) である PIPE 法、および挿入断片の PCR 増幅 (I-PCR) からなる PIPE 法 [1 4 7] を使用して pET 1 5 b (Novagen) にクローニングした。次いで、1 μ l の V-PCR および 1 μ l の I-PCR を混合し、化学的にコンピテントな HK 1 0 0 細胞において形質転換を行った [1 4 8]。I-PCR 反応は、それぞれ 1 μ M のフォワードプライマーおよびリバースプライマー、1 $\times$ クローニングされた Pfu DNA ポリメラーゼ反応緩衝液、2.5 ユニットの Pfu Turbo DNA ポリメラーゼ (Stratagene)、200 μ M の各 dNTP (Invitrogen) およびゲノム DNA 鋳型 50 ng を含有する設定であった。反応を以下の通り行った：最初の変性を 95 $^{\circ}$ C で 2 分行い、次いで、95 $^{\circ}$ C で 30 秒、55 $^{\circ}$ C で 45 秒、および 68 $^{\circ}$ C で 3 分を 25 サイクル行い、その後、最終的に 4 $^{\circ}$ C まで冷却した。V-PCR 反応は I-PCR 反応と同一であったが、68 $^{\circ}$ C のステップを 14 分続け、また、DNA 鋳型として pET 1 5 b プラスミド 2 ng を使用した。正しい形質転換体を PCR スクリーニングおよびベクター-インサート接合部の DNA プラスミド配列決定によって選択した。次いで、正しいプラスミドを、選択された HK 1 0 0 クローンから調製し、それを使用して、タンパク質の発現を可能にするために BL 2 1 (DE3) T1^r 細胞 (Sigma) を形質転換した。

20

30

【0358】

クローニングされたタンパク質を発現させるために、pET 1 5 b 構築物を含有する BL 2 1 (DE3) T1^r クローンを、100 μ g/ml のアンピシリンを含有する LB 培地中、37 $^{\circ}$ C で OD₆₀₀ = 0.5 になるまで増殖させた。次いで、1 mM の IPTG を添加し、同じ温度でさらに 3 時間増殖させることによってタンパク質の発現を誘導した。従来のタンパク質抽出および SDS-PAGE を実施して、タンパク質の発現を確認した。図 1 は、抗原の良好な発現が確認される小規模誘導を示す。

【0359】

タンパク質の精製

タンパク質を以下の一般的な手順によって精製した：BL 2 1 (DE3) T1 湿性バイオマスを溶解緩衝液に懸濁させ、遠心分離によって清澄化する。可溶性タンパク質 () を精製するために、溶解後の上清を His Multitrap HP 50 μ l Ni Sepharose High Performance 96 ウェルプレートに適用する。不溶性のタンパク質 (HtrA、PE および P48) については、溶解後の不溶性画分を含有するペレットを、6 M のグアニジン-HCl を用いて可溶化し、再度遠心分離し、上清を His Multitrap HP 50 ml Ni Sepharose High Performance 96 ウェルプレートに適用する。

40

【0360】

50

フロースルーを採取し、全てのウェルを、20 mMのイミダゾールを含有する緩衝液を用いて洗浄する。次いで、250 mMのイミダゾールを用いてHis融合タンパク質を溶出する。この手順は、真空システムを使用して実施する。精製された抗原を、本明細書に記載の免疫化スキームにおいて使用する。

【0361】

以下のプロトコールに従った：

1) BL21 (DE3) T1ペレット (1 g) をB-PER (商標) (Pierce) 緩衝液1.5 mlに再懸濁させ、リゾチーム15 μ l、DNase7.5 μ lおよび1 MのMgCl₂ 3 μ lを添加する

2) 溶解のために30分インキュベートする

3) 4℃、20000 rpmで30分、遠心分離する；あらゆる不溶性のタンパク質も精製するために、6 Mのグアニジン-HClを用いて溶解後の不溶性画分を含有するペレットを可溶化し、再度遠心分離する

4) 上清を回収し濾過する (0.8 μ mの孔)。

【0362】

5) 真空システムに接続されたHis Multitrap HP 50 μ l Ni Sepharose High Performance 96ウェルを使用する。

【0363】

緩衝液A：50 mMのNaPPi、300 mMのNaCl、pH 8

緩衝液B：50 mMのNaPPi、300 mMのNaCl、250 mMのイミダゾール、pH 8

緩衝液C：50 mMのNaPPi、300 mMのNaCl、20 mMのイミダゾール、pH 8。

【0364】

第1ステップ：プレートからエタノールを除去する

第2ステップ：400 μ lのmilliQ H₂Oを用いてプレートを洗浄する

第3ステップ：400 μ lの緩衝液Aを用いてプレートを平衡化する

第4ステップ：各タンパク質について12列のうち1つに出発材料600 μ lをローディングする。体積が大きい場合、材料の全てが十分にローディングされるまで繰り返す
フロースルーを回収する

第5ステップ：洗浄ステップ：400 μ lの緩衝液Cを用いて4回洗浄する。フロースルーを廃棄する

第6ステップ：溶出：2×300 μ lの緩衝液B (2つの溶出ステップ)

緩衝液の添加後、15分吸引 (vacuum) を作動させる

全抽出物1 μ l、出発材料1 μ l、フロースルー1 μ lおよび溶出体積10 μ l (各タンパク質について) をSDS-PAGEによって分析する

不溶性のタンパク質については、緩衝液Bを10 mMのトリス、50 mMのNa₂HPO₄、8 Mの尿素、250 mMのイミダゾール、40%グリセロールで置き換える。

【0365】

LAL試験

LAL試験は、endosafe (登録商標) -PTS (商標) Charles River technologyを使用してワクチン試料中の内毒素濃度を測定する試験である。

【0366】

試験技術

PTSでは、LAL動力的発色方法論を利用して、試料中の内毒素濃度に直接関連する色の強度を測定する。各カートリッジは、正確な量の認可されたLAL試薬、発色基質、および対照標準内毒素 (CSE) を含有する。カートリッジは、試験の正確度および製品の安定性を確実にするために、確固とした品質管理手順にしたがって製造されたものである。

10

20

30

40

50

【0367】

【表2】

表II:好ましい抗原の精製

内部 ID	アノテーション	kDa (予測)	kDa (推定 SE)	可溶性	純度%				LAL 試験 EU/μg
					濃度測定	RP- HPLC	SE- UPLC	SE- HPLC	
nt001	NTHI0877	30	36	あり	97	84		モノマー	0.47
nt018	NTHI0915	34	46	あり	80	88		モノマー	0.18
nt024	NTHI1416	20	20	あり	81	85	97	モノマー	3.77
nt032	NTHI2017	13	16	あり	91	76		モノマー	0.82
nt067	NTHI1292	60	50	あり	88	78		モノマー	0.06
nt052	CGSHiGG_00130	34	46	あり	88	88		モノマー	0.18
nt004	CGSHiGG_08215	20	34	あり	95		95	モノマー	0.09
nt014	HI1658	20	17	あり	89		87	モノマー	0.10
nt022	NTHI0830	43	77	あり	93		93	モノマー	0.10
nt016	NTHI0266	29	30	あり	98%			モノマー	0.13

【0368】

マウスの免疫化および抗血清の産生

5週齢のCD1マウス（各抗原について8匹）を、フロイントアジュバント（マウス当たり200マイクロリットル）を用いるか、ミョウバン（水酸化アルミニウムアジュバント；2mg/ml）を用いる、精製タンパク質抗原10マイクログラムを3回腹腔内注射すること（2週間ごと）によって免疫化した。3回目の注射の2週間後に血清を採取し、-20℃で貯蔵した。対照は、フロイントアジュバントのみまたはミョウバンのみを注射した。

【0369】

FACS分析

異なる株における選択された抗原の表面露出および発現のレベルを検査するために、FACSによる表面標識アッセイを実施した。NTHIを、組換えタンパク質または陰性対照を用いて免疫化したマウスに由来する血清と一緒にインキュベートし、FACSによって分析した。図2に結果が示されている。図2では、免疫化前の血清である陰性対照は黒塗りの領域として示されており、試料血清を用いて得られたシグナルは一本線として示されている。抗原P48、HtrA、PE、およびP26のFACS分析の結果は、これらの抗原のそれぞれが細菌の表面上に露出しており、したがって、抗体結合に利用できることを実証する。

【0370】

この分析では以下の材料および方法を使用した：

材料

1. 96U底ウェルプレート
2. ブロッキングおよび洗浄緩衝液：1%（w/v）BSAを含有するPBS
3. ヤギ抗マウスIgG-フルオレセインイソチオシアネートFITC
4. 0.5%（v/v）パラホルムアルデヒドを含有するPBS：アッセイ前に新鮮に4%（v/v）パラホルムアルデヒドのストック溶液をPBS中に希釈して0.5%（v/v）にし、濾過滅菌する（0.22μmのフィルター）
5. 1%（w/v）BSAを含有するPBS。この溶液を調製するために、1%（w/v）

v) BSAをPBS中に溶解させ、各株について少なくとも100mlを作製する。この溶液を濾過滅菌し(0.22μmのフィルター)、使用するために新鮮に調製する

6. FACScanチューブ(Becton Dickinson)

7. FACScaliburフローサイトメーター(Becton Dickinson)。

【0371】

方法

1. NTHIをOD_{600nm}値が0.5に達するまで増殖させ、次いで、培養物1mlを1.5mlの滅菌Eppendorfチューブに移し、微量遠心機において13000gで3分遠心分離して、細菌をペレット化する。上清を廃棄し、ペレットを、1% (w/v) BSAを含有するPBS1mlに懸濁させる。最後に、細菌懸濁液を、1% (w/v) BSAを含有するPBS中1/50に希釈する

2. ブロッキング緩衝液中に希釈した(1/100、1/200および1/400)血清の試料50μlを96ウェルプレートに添加する。抗OMV抗血清のような陽性対照を含める

3. 細菌細胞50μlを各ウェルに添加し、プレートを4℃で2時間保存する

4. 細胞を3500gで5分遠心分離し、上清を廃棄し、ウェル当たり200μlの洗浄緩衝液を添加することによって細胞を洗浄する

5. FITC結合体化ヤギ抗マウスIgの1/100希釈物50μlを各ウェルに添加し、プレートを4℃で1時間保存する

6. 細胞を3500gで5分遠心分離し、ウェル当たり200μlのPBSを用いてペレットを洗浄する

7. 遠心分離ステップを繰り返し、細胞を固定するために、上清を廃棄し、0.5% (v/v) パラホルムアルデヒドを含有するPBSをウェル当たり200μl添加する

8. 固定された試料を個々のFACScanチューブに移し、フローサイトメトリーによって、設備製造者の説明書に従って分析する。

【0372】

血清殺菌アッセイ(SBA)

NTHIの死滅を誘導することができる機能的な抗体の存在を検証するために、組換えタンパク質を用いて免疫化したマウスに由来する抗血清を血清殺菌アッセイにおいて試験した。免疫化前の血清およびアジュバントのみを注射したマウス由来の血清を陰性対照として使用した。NTHI(株176)培養物(BHI+NADおよびHaemin)を37℃で振とうしながら、OD_{595nm}が0.25~0.27になるまでインキュベートした。細菌細胞をD-PBS緩衝液中に作業希釈度1:50000で希釈した。血清を56℃で30分にわたって不活化させ、次いで、96ウェルU底プレート中のD-PBSに段階的に希釈した(図3参照)。図3に示されているプレートの列11および12は、細菌の増殖を評価するため、および、あらゆる非補体媒介性死滅を検出するための陰性対照を含有する。細菌および補体の供給源(ウサギ7504、Cedarlane)を、熱不活化された補体を受容した補体対照ウェルを除いた各ウェルに添加した。

【0373】

図3に示されている通り、列1~10のウェルは、希釈した血清25μl、活性な補体12.5μl、および細菌12.5μlを含有する。列11のウェルは、緩衝液25μl、活性な補体12.5μl、および細菌12.5μlを含有する。列12のウェルは、緩衝液25μl、血清5μl、熱不活化された補体12.5μl、および細菌12.5μlを含有する。

【0374】

ゼロ時間(T0)アッセイ対照10μl(列11~12)を寒天チョコレートプレート(Biomerieux)上で、スポットアンドチルト法(spot and tilt method)によって平板培養した。プレートを37℃、ONでインキュベートした。アッセイマイクロタイタープレートを37℃で1時間インキュベートした。この期間後

(T 6 0) に、各ウェルの 7 μ l を寒天チョコレートプレート上でスポットとして平板培養した (各ウェルを 2 連で平板培養した)。コロニーの数 (コロニー形成単位、C F U) を、コロニー計数器を使用して、または手動で計数した。コロニーの数が T = 0 の 5 0 % 未満の場合に殺菌効果が観察されたとみなした。

【 0 3 7 5 】

結果の概要が以下の表 I I I および表 I V において提供される。

【 0 3 7 6 】

【表 3 - 1】

表III:免疫原性の結果

内部 ID	アノテーション	配列番号	kDa	SBA 力価 フロイントアジュバント (176wt)	FACS
NT001	NTHI0877	配列番号 6 または配列番号 54	30	2048-8192	+++++
NT016	NTHI0266	配列番号 7 または配列番号 55	29	2048-8192	+++++
NT024	NTHI1416	配列番号 2 または配列番号 50	20	2048-8192	++
NT032	NTHI2017	配列番号 3 または配列番号 51	13	2048-8192	+
NT018	NTHI0915	配列番号 1 または配列番号 49	34	2048-4096	+
NT038	CGSHiGG_02400	配列番号 4 または配列番号 50	22	2048-4096	++
NT052	CGSHiGG_00130	配列番号 8 または配列番号 56	44	2048-4096	++
NT067	NTHI1292	配列番号 5 または配列番号 52	60	2048	++
NT002	NTHI1627	配列番号 9 または配列番号 57	18	1024-2048	+++
NT026	NTHI1109	配列番号 10 または配列番号 58	19	4096-8192	++++
NT009	NTHI0821	配列番号 11 または配列番号 59	64	4096	+++
NT025	NTHI0409	配列番号 12 または配列番号 60	17	4096	++++
NT028	NTHI1954	配列番号 13、配列番号 61	20	4096	+++
NT029	NTHI0371	配列番号 14、配列番号 62	101	4096	+++
NT031	NTHI0509	配列番号 15、配列番号 63	20	4096	+
NT015	NTHI0449	配列番号 16、配列番号 64	15	2048-4096	++
NT023	NTHI1473	配列番号 17、配列番号 65	17	2048-4096	++
NT100	gi145633184	配列番号 18、配列番号 66	34	2048-4096	+
NT040	NTHI1110	配列番号 19	26	1024-2048	+
NT048	gi-46129075	配列番号 20	71	1024-2048	+

【 0 3 7 7 】

【表 3 - 2】

NT053	gil45628236	配列番号 21	17	1024-2048	+
NT066	NTHI1230	配列番号 22 配列番号 67	59	1024-2048	+
NT097	NTHI0522	配列番号 23	50	1024-2048	++
NT006 (HtrA)	NTHI1905	配列番号 25	51	2048	++++
NT035 (PE)	NTHI0267	配列番号 26	18	512-1024	++
NT080 (PHiD)	NTHI0811	配列番号 28		512	
NT081(P6)	NTHI0501	配列番号 29		512	
NT010 (P26)	NTHI1083	配列番号 27	22	128-512	+++
NT007 (P48)	NTHI0254	配列番号 24	48	8192-16384	+++++
無関係の抗原				16	+
フロイントア ジュバント単 独				512/1024	

10

20

【 0 3 7 8 】

これらの結果は、選択された抗原が、NTHI病原体を死滅させることにおいて高度に有効であることを示す。具体的には、NT018、NT001、NT024、NT032、NT067、NT016は全て、特に強力な防御効果を示した。

【 0 3 7 9 】

【表 4】

表IV:NTHI抗原およびミョウバンを含む組成物を使用した免疫化実験

タンパク質抗原	純度	SBA (フロイント)	SBA (ミョウバン)	FACS、 フロイント	FACS、 ミョウバン	溶解性
NT001	97%	2048-8192	512-1024	+++++	+++	あり
NT024	94%	2048-8192	1024	++	+++	あり
NT038	97%	2048-4096	64	++	-	あり
NT018	80%	2048-4096	512-1024	+	+++	あり
NT032	99%	2048-8192	64-128	+	+	あり
NT067	88%	2048	512-2048	++	+++	あり
NT025	94%	4096	128-256	++++	+	なし
NT026	64%	4096-8192	64	++++	-	なし
NT028	81%	4096	128-256	+++	++	なし
NT029	52%	4096	128	+++	++	あり
NT023	80%	2048-4096	256-512	++	+	あり
NT015	78%	2048-4096	128-256	++	+	なし
NT031	90%	4096	128	+	+	なし
NT100	81%	2048-4096	512	+	+	あり
NT081 (P6)	88%	2048	256	+	+	なし
NT080 (PHiD)	92%	1024	128	+	+	
NT006 (HtrA)	57%	2048	256	++++	++++	
NT007 (P48)	79%	8192-16384	256-512	+++++	+++++	
NT052	88%	2048-4096	512-1024	+	+++	あり
NT014	87%	1024	512-1024	++	++	あり
NT004	95%	256-512	128-256	++	+	あり
NT022	93%	64-256	1024	+++	+	あり
NT016	98%	2048-8192	128	+++	++++	あり
NT106	82%	試験されていない	64-128	++	+++	あり
NT113	92%	試験されていない	128	++	+++	あり
NT061	83%	試験されていない	128	+++	+++	あり
フロイント		512	NA			
ミョウバン		NA	4-8			

【0380】

これらの結果により、選択された抗原が、ミョウバンをアジュバントとして用いる免疫原性組成物に使用した場合にも、NTHI病原体を死滅させることにおいて高度に有効であることがさらに確認された。

【0381】

具体的には、NT016、NT052、NT018、NT001、NT024、NT032、NT067、NT014、NT022の全てについて、血清殺菌アッセイ（SBA

10

20

30

40

50

）において測定された通り、特に強力な防御効果が確認された。

【0382】

特に好ましい抗原は、NT067、NT014、NT016、NT022であった。これらの抗原は、*in vivo*動物モデルにおいても、参考文献75に記載されているプロトコールに従って試験されている。

【0383】

*in vivo*ワクチン有効性試験

表IVに列挙されている個々の抗原は、中耳炎（OM）感染症から防御するそれらの能力について、Junbマウス変異体およびJeffマウス変異体[75]などの*in vivo*モデルを使用して試験され得る。

10

【0384】

*in vivo*防御実験におけるワクチン有効性を、マウス当たり10マイクログラムの、アジュバントを用いてか、用いずに処方された精製された組換えタンパク質抗原を3回投与し（0日目、21日目、35日目）、その後、選択されたNTHI病原性株を鼻腔内接種することを用いて実施する。

【0385】

免疫化前の血清、免疫化後の血清、およびNTHI接種の7日後の終末血清を採取し、 -80°C で保存する。対照を、アジュバントまたは無関係の抗原を対照として用いて免疫化する。中耳水泡および鼻咽腔（NP）洗浄試料を採取し、平板培養して、NTHi数を決定し、次いで、水泡感染および鼻咽頭保因率、および水泡NTHi力価を算出した。

20

【0386】

本発明は、上では単に例として記載されており、本発明の範囲および主旨の範囲内で修飾を行うことができることが理解されよう。

【0387】

【表 5 - 1】

表V:代表的な株との命名法の相互参照

		86-028NP	3655 株	PittG 株
配列番号	名称	NTHI_#		
1 または 49	NT018	NTHI0915		
2 または 50	NT024	NTHI1416		
3 または 51	NT032	NTHI2017		
4 または 53	NT038			CGSHiGG_02400
5 または 52	NT067	NTHI1292		
6 または 54	NT001	NTHI0877		
7 または 55	NT016	NTHI0266		
8 または 56	NT052			CGSHiGG_00130
9 または 57	NT002	NTHI1627		
10 または 58	NT026	NTHI1109		
11 または 59	NT009	NTHI0821		
12 または 60	NT025	NTHI0409		
13 または 61	NT028	NTHI1954		
14 または 62	NT029	NTHI0371		
15 または 63	NT031	NTHI0509		
16 または 64	NT015	NTHI0449		
17 または 65	NT023	NTHI1473		
18 または 66	NT100		gi-145633184	
19	NT040	NTHI1110		
20	NT048		gi-46129075	
21	NT053		gi-145628236	
22 または 67	NT066	NTHI1230		
23	NT097	NTHI0522		
24	NT007	P48		
25	NT006	HtrA		
26	NT035	PE		
27	NT010	P26		
28	NT080	PHiD		
29	NT081	P6		
30	NT013	NTHI0532		
31	NT106	NTHI0363		
32	NT107	NTHI0370		
33	NT108	NTHI0205		
34	NT109	NTHI0374		
35	NT110	NTHI0579		
36	NT111	NTHI0837		
37	NT112	NTHI0849		

【 0 3 8 8 】

【表 5 - 2】

38	NT113	NTHI0921		
39	NT114	NTHI0995		
40	NT115	NTHI1091		
41	NT116	NTHI1169		
42	NT117	NTHI1208		
43	NT118	NTHI1318		
44	NT123	NTHI1796		
45	NT124	NTHI1930		
114	NT119	NTHI1565		
115	NT120	NTHI1569		
116	NT121	NTHI1571		
117	NT122	NTHI1667		
122	NT004			CGSHiGG_08215
123	NT014		gi-145629254	
124	NT022	NTHI0830		
128	NT061	NTHI0588		
130	NT017	NTHI0915		

10

20

【 0 3 8 9 】

【化 1】

参考文献

- [1] Fleischmann *et al.* (1995) *Science* 269:496-512.
- [2] Li *et al.* (2003) *Mol Microbiol* 47:1101-1111.
- [3] GenBank accession NC_000907.
- [4] WO2005/111066
- [5] Murphy *et al.* Current Infectious Disease report (2009)11:177-182.
- [6] Webb DC *et al.* - Investigation of the potential of a 48 kDa protein as a vaccine candidate for infection against nontypable *Haemophilus influenzae*. *Vaccine*. 2007 May 16;25(20):4012-9. 10
- [7] Hallström T *et al.* - Nontypeable *Haemophilus influenzae* protein E binds vitronectin and is important for serum resistance. *J Immunol*. 2009 Aug 15;183(4):2593-601.
- [8] Loosmore SM *et al.* - The *Haemophilus influenzae* HtrA protein is a protective antigen. *Infect Immun*. 1998 Mar;66(3):899-906.
- [9] Kyd JM *et al.* - Potential of a novel protein, OMP26, from nontypeable *Haemophilus influenzae* to enhance pulmonary clearance in a rat model. *Infect Immun*. 1998 May;66(5):2272-8.
- [10] Ronander E, *The Journal of Infectious Diseases* (2009): 199 p522-530
- [11] WO00/55191.
- [12] WO02/24729. 20
- [13] Chanyangam M. *et al.*, (1991) *Infection and Immunity*, Vol. 59 (2), 600-608
- [14] Munson R.S.; Granoff D.M. (1985) *Infection and Immunity* 49 (3):544 - 549
- [15] Hogg *et al.* (2007) *Genome Biology* 8:R103.
- [16] Needleman & Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48, 443-453.
- [17] Rice *et al.* (2000) *Trends Genet* 16:276-277.
- [18] Bernadac A., *et al.* (1998) *Journal of Bacteriology* 180 (18) : 4872-4878
- [19] WO2002/062378
- [20] Uehara T. *et al.*, *The EMBO Journal* (2010) 29, 1412-1422
- [21] US patent 5,707,829
- [22] *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel *et al.* eds., 1987) Supplement 30. 30
- [23] *Vaccine Design* (1995) eds. Powell & Newman. ISBN: 030644867X. Plenum.
- [24] WO90/14837.
- [25] Podda & Del Giudice (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:197-203.
- [26] Podda (2001) *Vaccine* 19: 2673-2680.
- [27] *Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols* (Volume 42 of *Methods in Molecular Medicine* series). ISBN: 1-59259-083-7. Ed. O'Hagan.
- [28] US 5,057,540.
- [29] Niikura *et al.* (2002) *Virology* 293:273-280.
- [30] Lenz *et al.* (2001) *J Immunol* 166:5346-5355. 40
- [31] Pinto *et al.* (2003) *J Infect Dis* 188:327-338.

【化 2】

- [32] Gerber *et al.* (2001) *J Virol* 75:4752-4760.
- [33] WO03/024480.
- [34] WO03/024481.
- [35] Gluck *et al.* (2002) *Vaccine* 20:B10-B16.
- [36] Meraldi *et al.* (2003) *Vaccine* 21:2485-2491.
- [37] Pajak *et al.* (2003) *Vaccine* 21:836-842.
- [38] Krieg (2003) *Nature Medicine* 9:831-835.
- [39] McCluskie *et al.* (2002) *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 32:179-185. 10
- [40] WO98/40100.
- [41] US 6,207,646.
- [42] US 6,239,116.
- [43] US 6,429,199.
- [44] Schellack *et al.* (2006) *Vaccine* 24:5461-72.
- [45] Johnson *et al.* (1999) *Bioorg Med Chem Lett* 9:2273-2278.
- [46] Evans *et al.* (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:219-229.
- [47] Beignon *et al.* (2002) *Infect Immun* 70:3012-3019. 20
- [48] Pizza *et al.* (2001) *Vaccine* 19:2534-2541.
- [49] Pizza *et al.* (2000) *Int J Med Microbiol* 290:455-461.
- [50] Scharton-Kersten *et al.* (2000) *Infect Immun* 68:5306-5313.
- [51] Ryan *et al.* (1999) *Infect Immun* 67:6270-6280.
- [52] Partidos *et al.* (1999) *Immunol Lett* 67:209-216.
- [53] Peppoloni *et al.* (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:285-293.
- [54] Pine *et al.* (2002) *J Control Release* 85:263-270.
- [55] WO99/40936.
- [56] WO99/44636. 30
- [57] Singh *et al.* (2001) *J Cont Release* 70:267-276.
- [58] WO99/27960.
- [59] US 6,090,406.
- [60] US 5,916,588.
- [61] EP-A-0626169.
- [62] WO99/52549.
- [63] Andrianov *et al.* (1998) *Biomaterials* 19:109-115.
- [64] Payne *et al.* (1998) *Adv Drug Delivery Review* 31:185-196. 40
- [65] Stanley (2002) *Clin Exp Dermatol* 27:571-577.
- [66] Jones (2003) *Curr Opin Investig Drugs* 4:214-218.
- [67] WO99/11241.
- [68] WO94/00153.
- [69] WO98/57659.
- [70] European patent applications 0835318, 0735898 and 0761231.
- [71] Ogunniyi *et al.* (2001) *Infect Immun* 69:5997-6003.
- [72] WO2006/110603.

【 0 3 9 1】

【化 3】

- [73] Mason *et al.* (2003) *Infect Immun* 71:3454-3462.
- [74] Zwijnenburg *et al.* (2001) *J Infect Dis* 183:1143-6.
- [75] Cheeseman M. T. *et al.* (2011) *PLoS Genetics* 7 (10) : e1002336.
- [76] Watson (2000) *Pediatr Infect Dis J* 19:331-332.
- [77] Rubin (2000) *Pediatr Clin North Am* 47:269-285, v.
- [78] Jedrzejewski (2001) *Microbiol Mol Biol Rev* 65:187-207.
- [79] Bell (2000) *Pediatr Infect Dis J* 19:1187-1188.
- [80] Iwarson (1995) *APMIS* 103:321-326. 10
- [81] Gerlich *et al.* (1990) *Vaccine* 8 Suppl:S63-68 & 79-80.
- [82] *Vaccines* (1988) eds. Plotkin & Mortimer. ISBN 0-7216-1946-0.
- [83] Del Giudice *et al.* (1998) *Molecular Aspects of Medicine* 19:1-70.
- [84] Gustafsson *et al.* (1996) *N. Engl. J. Med.* 334:349-355.
- [85] Rappuoli *et al.* (1991) *TIBTECH* 9:232-238.
- [86] Costantino *et al.* (1999) *Vaccine* 17:1251-1263.
- [87] Sutter *et al.* (2000) *Pediatr Clin North Am* 47:287-308.
- [88] Zimmerman & Spann (1999) *Am Fam Physician* 59:113-118, 125-126. 20
- [89] McMichael (2000) *Vaccine* 19 Suppl 1:S101-107.
- [90] Schuchat (1999) *Lancet* 353(9146):51-6.
- [91] WO02/34771.
- [92] Dale (1999) *Infect Dis Clin North Am* 13:227-43, viii.
- [93] Ferretti *et al.* (2001) *PNAS USA* 98: 4658-4663.
- [94] Kuroda *et al.* (2001) *Lancet* 357(9264):1225-1240; see also pages 1218-1219.
- [95] EP-A-0372501
- [96] EP-A-0378881
- [97] EP-A-0427347 30
- [98] WO93/17712
- [99] WO94/03208
- [100] WO98/58668
- [101] EP-A-0471177
- [102] WO00/56360
- [103] WO91/01146
- [104] WO00/61761
- [105] WO01/72337 40
- [106] *Research Disclosure*, 453077 (Jan 2002)
- [107] Brandt *et al.* (2006) *J Antimicrob Chemother.* 58(6):1291-4. Epub 2006 Oct 26
- [108] Winter *et al.*, (1991) *Nature* 349:293-99
- [109] US 4,816,567.
- [110] Inbar *et al.*, (1972) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 69:2659-62.
- [111] Ehrlich *et al.*, (1980) *Biochem* 19:4091-96.
- [112] Huston *et al.*, (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5897-83.
- [113] Pack *et al.*, (1992) *Biochem* 31, 1579-84.

【 0 3 9 2】

【化 4】

- [114] Cumber *et al.*, (1992) *J. Immunology* 149B, 120-26.
- [115] Riechmann *et al.*, (1988) *Nature* 332, 323-27.
- [116] Verhoeyan *et al.*, (1988) *Science* 239, 1534-36.
- [117] GB 2,276,169.
- [118] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
- [119] *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
- [120] *Handbook of Experimental Immunology*, Vols. I-IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications) 10
- [121] Sambrook *et al.* (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [122] *Handbook of Surface and Colloidal Chemistry* (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
- [123] Ausubel *et al.* (eds) (2002) *Short protocols in molecular biology*, 5th edition (Current Protocols).
- [124] *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*, (Ream *et al.*, eds., 1998, Academic Press)
- [125] *PCR (Introduction to Biotechniques Series)*, 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
- [126] Geysen *et al.* (1984) *PNAS USA* 81:3998-4002. 20
- [127] Carter (1994) *Methods Mol Biol* 36:207-23.
- [128] Jameson, BA *et al.* 1988, *CABIOS* 4(1):181-186.
- [129] Raddrizzani & Hammer (2000) *Brief Bioinform* 1(2):179-89.
- [130] Bublil *et al.* (2007) *Proteins* 68(1):294-304.
- [131] De Lalla *et al.* (1999) *J. Immunol.* 163:1725-29.
- [132] Kwok *et al.* (2001) *Trends Immunol* 22:583-88.
- [133] Brusica *et al.* (1998) *Bioinformatics* 14(2):121-30
- [134] Meister *et al.* (1995) *Vaccine* 13(6):581-91.
- [135] Roberts *et al.* (1996) *AIDS Res Hum Retroviruses* 12(7):593-610. 30
- [136] Maksyutov & Zagrebelnaya (1993) *Comput Appl Biosci* 9(3):291-7.
- [137] Feller & de la Cruz (1991) *Nature* 349(6311):720-1.
- [138] Hopp (1993) *Peptide Research* 6:183-190.
- [139] Welling *et al.* (1985) *FEBS Lett.* 188:215-218.
- [140] Davenport *et al.* (1995) *Immunogenetics* 42:392-297.
- [141] Tsurui & Takahashi (2007) *J Pharmacol Sci.* 105(4):299-316.
- [142] Tong *et al.* (2007) *Brief Bioinform.* 8(2):96-108.
- [143] Schirle *et al.* (2001) *J Immunol Methods.* 257(1-2):1-16.
- [144] Chen *et al.* (2007) *Amino Acids* 33(3):423-8. 40
- [145] Smith & Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482-489.
- [146] Lundström *et al.* (2008) *Biochemistry*, 47 (22) :6025-38 Structural analysis of the lipopolysaccharide from nontypeable *Haemophilus influenzae* strain R2846.
- [147] Klock, H.E., *et al.* (2008). *Proteins* 71:982–994
- [148] Klock, H. E., *et al.* (2005) *J. Struct. Funct. Genomics* 6, 89–94

【図 1 A】

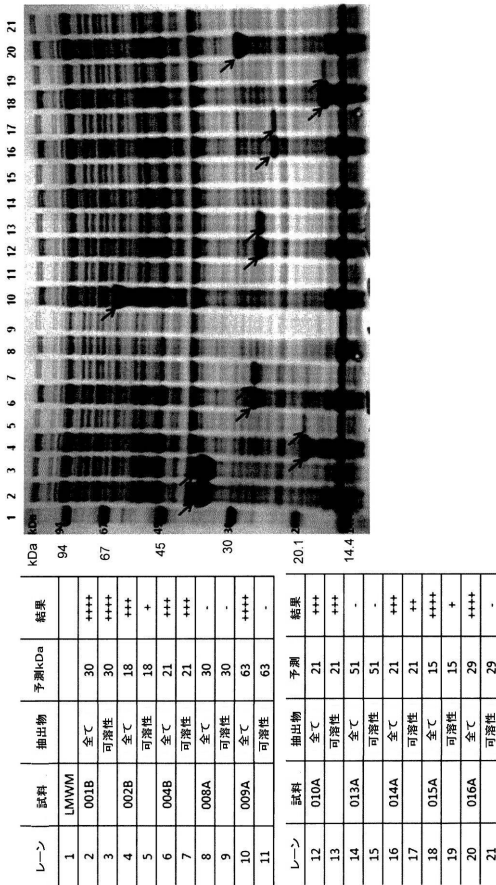


Fig. 1A

【図 1 B】

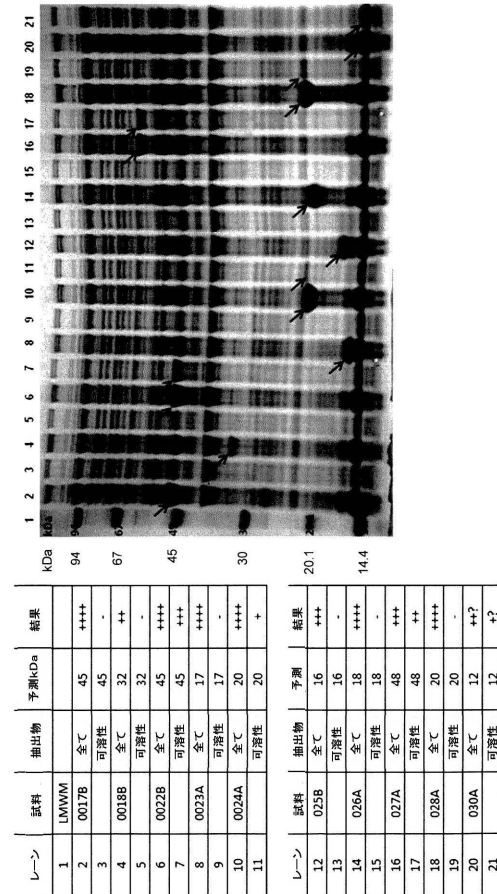


Fig. 1B

【図 1 C】

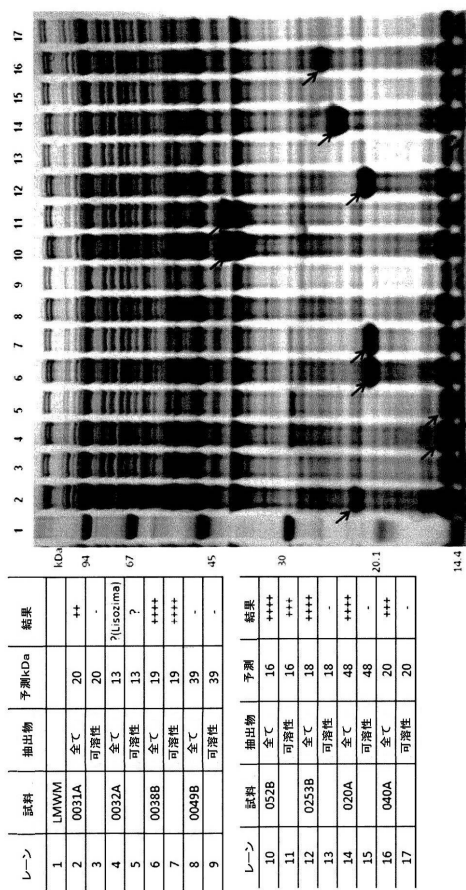


Fig. 1C

【図 2】

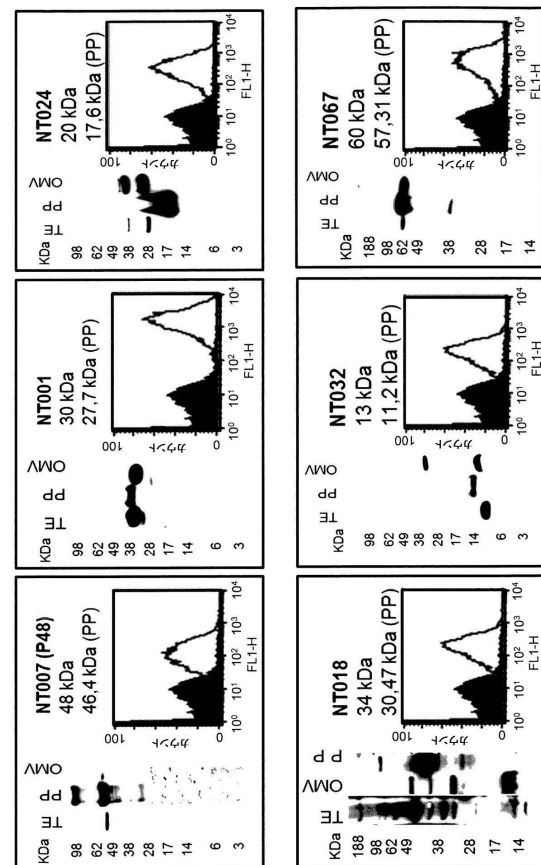


Fig. 2

【図 3】

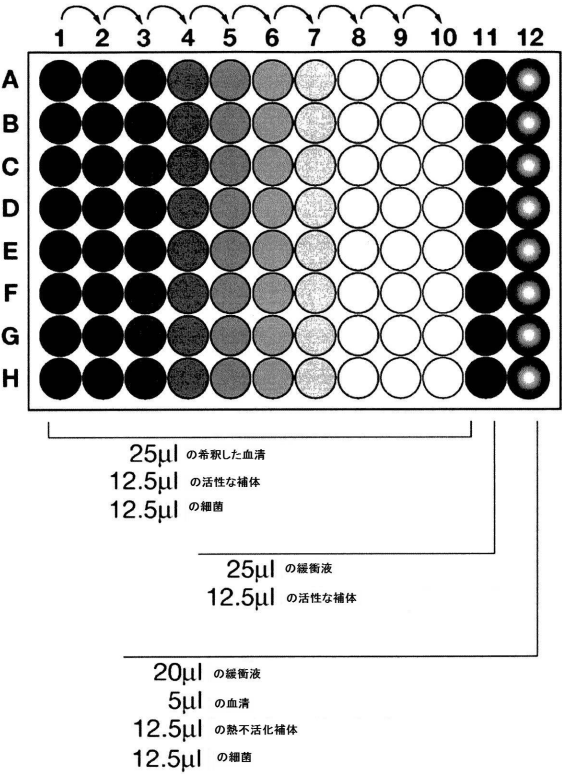


Fig. 3

【配列表】

0006401148000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 39/02	(2006.01)	A 6 1 K 39/02
A 6 1 K 39/29	(2006.01)	A 6 1 K 39/29
A 6 1 K 39/05	(2006.01)	A 6 1 K 39/05
A 6 1 K 39/08	(2006.01)	A 6 1 K 39/08
A 6 1 K 39/10	(2006.01)	A 6 1 K 39/10
A 6 1 K 39/13	(2006.01)	A 6 1 K 39/13
A 6 1 K 39/165	(2006.01)	A 6 1 K 39/165

- (72)発明者 スカーセッリ, マリア
 イタリア国 イー53100 シエナ, ヴィア フィオレンティーナ 1, ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス エスアールエル 気付
- (72)発明者 ノレイス, ナタリー
 イタリア国 イー53100 シエナ, ヴィア フィオレンティーナ 1, ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス エスアールエル 気付
- (72)発明者 ゴメス モリエル, ダニロ
 イタリア国 イー53100 シエナ, ヴィア フィオレンティーナ 1, ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス エスアールエル 気付
- (72)発明者 ロッシ パッカーニ, スィルヴィア
 イタリア国 イー53100 シエナ, ヴィア フィオレンティーナ 1, ノバルティス ヴァクシンズ アンド ダイアグノスティクス エスアールエル 気付

審査官 菊池 美香

- (56)参考文献 特表2008-506364 (JP, A)
 特表2004-509647 (JP, A)
 国際公開第2010/092176 (WO, A1)
 TSENG CHIUNG-YU, COMPARISON OF IMMUNOGENICITY OF SIMULTANEOUS 以下省略, ACTA PAEDIATRICA SINICA, THE CHINESE TAIPEI PEDIATRIC ASSOCIATION, 1999年 5月, V40 N3, P161-165

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- | | |
|---------|-------------|
| A 6 1 K | 3 9 / 1 0 2 |
| A 6 1 K | 3 9 / 0 2 |
| A 6 1 K | 3 9 / 0 5 |
| A 6 1 K | 3 9 / 0 8 |
| A 6 1 K | 3 9 / 0 9 5 |
| A 6 1 K | 3 9 / 1 0 |
| A 6 1 K | 3 9 / 1 3 |
| A 6 1 K | 3 9 / 1 6 5 |
| A 6 1 K | 3 9 / 2 9 |
| A 6 1 P | 2 7 / 1 6 |
| A 6 1 P | 3 1 / 0 4 |
| A 6 1 P | 3 7 / 0 4 |
- JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
 Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)