



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202333778 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：111138262

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 10 月 07 日

(51)Int. Cl.：

*A61K39/12 (2006.01)**A61P31/16 (2006.01)**G16H50/80 (2018.01)*

(30)優先權：2021/10/08

美國

63/253,986

2021/11/10

美國

63/277,848

(71)申請人：美商賽諾菲巴斯德公司(美國) SANOFI PASTEUR INC. (US)

美國

(72)發明人：阿萊凡蒂斯 提莫西 ALEFANTIS, TIMOTHY (US)；巴羅 馬里歐 BARRO,

MARIO (US)；拜爾斯 安東尼 BYERS, ANTHONY (US)；戴維森 菲利浦

DAVIDSON, PHILIP (US)；吉爾馬龍尼 瑪麗安 GIEL-MOLONEY, MARYANN

(US)；吉爾伯特 菲利普 亞歷山大 GILBERT, PHILIPPE-ALEXANDRE (US)；

克林蘇斯 哈洛德 KLEANTHOS, HAROLD (US)；奈克 阿瑪甘 NAIK,

ARMAGHAN (US)；普加喬夫 康斯坦丁 PUGACHEV, KONSTANTIN (US)；斯

里達爾 薩蘭亞 SRIDHAR, SARANYA (GB)；沃倫 威廉 WARREN, WILLIAM

(US)；澤爾多維奇 康斯坦丁 ZELDOVICH, KONSTANTIN (US)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：55 項 圖式數：9 共 110 頁

(54)名稱

多價流感疫苗

(57)摘要

公開了包含以下的多價疫苗或免疫原性組成物：來自護理標準流感病毒株的流感病毒血球凝集素（HA），或編碼所述血球凝集素的核糖核酸分子；和由機器學習鑒定或設計的一種或多種流感病毒 HA，或編碼所述由機器學習鑒定或設計的流感病毒 HA 的一種或多種核糖核酸分子。還公開了使用所述疫苗或免疫原性組成物的方法。

Disclosed are multivalent vaccine or immunogenic compositions comprising influenza virus hemagglutinin (HA) from standard of care influenza virus strains, or ribonucleic acid molecules encoding the same; and one or more influenza virus HA identified or designed by machine learning, or one or more ribonucleic acid molecules that encode the influenza virus HA identified or designed by machine learning. Also disclosed are methods of using the vaccine or immunogenic compositions.

【發明摘要】

【中文發明名稱】多價流感疫苗

【英文發明名稱】MULTIVALENT INFLUENZA VACCINES

【中文】

公開了包含以下的多價疫苗或免疫原性組成物：來自護理標準流感病毒株的流感病毒血球凝集素（HA），或編碼所述血球凝集素的核糖核酸分子；和由機器學習鑒定或設計的一種或多種流感病毒HA，或編碼所述由機器學習鑒定或設計的流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子。還公開了使用所述疫苗或免疫原性組成物的方法。

【英文】

Disclosed are multivalent vaccine or immunogenic compositions comprising influenza virus hemagglutinin (HA) from standard of care influenza virus strains, or ribonucleic acid molecules encoding the same; and one or more influenza virus HA identified or designed by machine learning, or one or more ribonucleic acid molecules that encode the influenza virus HA identified or designed by machine learning. Also disclosed are methods of using the vaccine or immunogenic compositions.

【指定代表圖】無。

【代表圖之符號簡單說明】無。

【特徵化學式】無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】多價流感疫苗

【英文發明名稱】MULTIVALENT INFLUENZA VACCINES

【技術領域】

【0001】 本文公開了多價流感疫苗或免疫原性組成物，所述多價流感疫苗或免疫原性組成物包含多種流感病毒血球凝集素（HA）蛋白，或編碼流感病毒HA的核糖核酸分子，其中所述多價疫苗或免疫原性組成物包括具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的至少一種流感病毒HA（或編碼所述至少一種流感病毒HA的核糖核酸分子）。本文進一步公開了使用多價流感疫苗或免疫原性組成物的方法。

【先前技術】

【0002】 流感是由主要攻擊上呼吸道（包括鼻、喉和支氣管，很少還有肺）的病毒引起的。感染通常持續約一週。它的特徵在於突發高燒、肌痛、頭痛和嚴重不適、無痰乾咳、咽喉痛和鼻炎。大多數人在一到兩週內康復，不需要任何藥物治療。然而，在非常年輕的人、老年人和患有醫學病症（如肺部疾病、糖尿病、癌症、腎臟或心臟問題）的人中，流感構成了嚴重的風險。在這些人中，感染可導致基礎疾病的嚴重併發症、肺炎和死亡，即使是健康的成年人和年齡較大的兒童也會受到影響。每年的季節性流感流行被認為會導致全世界每年三百萬與五百萬例之間的嚴重疾患和在250,000與500,000例之間的死亡。

【0003】 流感病毒是正黏病毒科的成員。流感病毒存在三種主要亞型，分

別為甲型流感、乙型流感和丙型流感。流感病毒體含有分段的負義RNA基因組，所述基因組編碼以下蛋白質：血球凝集素（HA）、神經胺糖酸酶（NA）、基質（M1）、質子離子通道蛋白（M2）、核蛋白（NP）、聚合酶鹼性蛋白1（PB1）、聚合酶鹼性蛋白2（PB2）、聚合酶酸性蛋白（PA）和非結構蛋白2（NS2）。HA、NA、M1和M2是膜相關的，而NP、PB1、PB2、PA和NS2是核衣殼相關蛋白。HA和NA蛋白是包膜糖蛋白，分別主要負責病毒附著和病毒顆粒滲透到細胞中並且從細胞釋放。

【0004】 HA和NA蛋白兩者都是病毒中和和保護性免疫的主要免疫優勢表位的來源，使得HA和NA蛋白成為預防性流感疫苗的重要組分。流感病毒的基因組成允許頻繁的微小遺傳變化，稱為抗原漂移。因此，流感的主要抗原（包括HA和NA）的胺基酸序列在某些組、亞型和/或毒株之間是高度可變的。出於這個原因，每年都推薦使用當前的季節性流感疫苗，並且需要每年進行監測，以說明HA中的突變（抗原漂移）並且匹配快速進化的病毒株。

【0005】 某些已知的經許可的流感疫苗組成物是滅活疫苗（所述滅活疫苗含有整個病毒體或經受用溶解脂質的藥劑處理的病毒體（“裂解”疫苗））、在細胞培養物中表現的純化糖蛋白（“亞單位疫苗”）或減毒活病毒疫苗。正在開發其他類型的疫苗，如基於RNA/DNA的疫苗、基於病毒載體的疫苗等。這些疫苗通過誘發受試者產生針對抗原（例如HA）的抗體而提供保護。通過突變引起的流感病毒的抗原進化導致HA中的修飾，並且在較小程度上導致NA中的修飾。因此，可用的疫苗可能只能針對具有包含相同或交叉反應性表位的表面糖蛋白的毒株提供保護。為了提供足夠的抗原譜，常規疫苗包含來自幾種不同病毒株（包括來自甲型流感和乙型流感的毒株）的組分。每年對用於疫苗的毒株的選擇進行

審查，並且根據世界衛生組織（World Health Organization，WHO）推薦進行確定。這些推薦反映了國際流行病學的觀察結果。

【0006】 推薦的WHO毒株被稱為護理標準毒株，典型地包括H1N1亞型、H3N2亞型、B/山形譜系和B/維多利亞譜系。如上所述，由於抗原漂移，每年必須更新護理標準毒株的選擇，以嘗試匹配該年預期傳播的毒株。因此，可商購獲得的常規流感疫苗典型地是包括來自流感病毒株的四種HA（來自H1（H1N1）、H3（H3N2）、B/山形和B/維多利亞亞型/譜系中的每一種的HA）的四價疫苗。疫苗組成物可以包含重組HA蛋白、滅活病毒體（如裂解滅活病毒體）或減毒病毒體。WHO必須在流感季節開始之前選擇護理標準毒株，以便製造商有足夠的時間提供全球疫苗供應，這意味著由WHO選擇的護理標準毒株並不總是與特定年份的傳播的流感毒株相匹配。流感疫苗的有效性取決於年份和亞型從約40%-60%變化，並且是高度可變的，尤其是對於A/H3N2。A/H3N2的快速抗原漂移在過去如在北半球2018-2019季節引起了疫苗不匹配。如果季節性疫苗製劑中包括的由WHO選擇的推薦護理標準毒株與一種或多種給定季節的傳播流感毒株不同，則可商購獲得的常規流感疫苗可提供降低的抗原覆蓋率，從而提供對流感疾病的更低保護功效。

【0007】 因此，用一種或多種另外的抗原補充疫苗中的護理標準流感毒株的能力是所希望的，所述一種或多種另外的抗原可以賦予另外的保護和/或針對更廣泛種類的流感毒株和漂移的HA毒株的保護。

【發明內容】

【0008】 本公開文本提供了一種多價疫苗或免疫原性組成物，所述多價疫

苗或免疫原性組成物包含來自護理標準流感病毒株的流感病毒HA，或編碼來自護理標準流感毒株的流感病毒HA的核糖核酸分子，和一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述機器學習流感病毒HA的核糖核酸分子。可以選擇一種或多種機器學習流感病毒HA（或編碼所述HA的核糖核酸）以提供針對傳播流感毒株的（與護理標準毒株相比）增強的和/或更廣泛的保護並且增加疫苗有效性。

【0009】 本文公開了一種疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含 (a) 來自護理標準流感病毒株的至少三種或至少四種流感病毒HA，或編碼所述流感病毒HA的至少三種或至少4種核糖核酸分子；和 (b) 具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子。在某些實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0010】 在一態樣，本文公開了一種疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含 (a) 第一流感病毒血球凝集素（HA），其中所述第一流感病毒HA是來自第一護理標準流感病毒株的H1 HA，或編碼所述第一流感病毒H1 HA的第一核糖核酸分子；(b) 第二流感病毒HA，其中所述第二流感病毒HA是來自第二護理標準流感病毒株的H3 HA，或編碼所述第二流感病毒H3 HA的第二核糖核酸分子；(c) 第三流感病毒HA，其中所述第三流感病毒HA來自來自B/維多利亞譜系的第三護理標準流感病毒株，或編碼所述來自B/維多利亞譜系的第三流感病毒HA的第三核糖核酸分子；(d) 第四流感病毒HA，其中所述第四流感病毒HA來自來自B/山形譜系的第四護理標準流感病毒株，或編碼所述來自B/山形譜系的第四流感病毒HA的第四核糖核酸分子；和 (e) 具有由機器學習模型鑒定

或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種HA中的每一種（並且獨立於其他，如果有的話），或者編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子中的每一種（並且獨立於其他，如果有的話）在某些態樣與它們在所述免疫原性組成物中相應的護理標準流感病毒株HA相比可在抗原性方面不相似、在抗原性方面相似、來自不同的進化支、來自相同的進化支、增強所誘發的保護性免疫反應、和/或擴寬所誘發的保護性免疫反應。

【0011】 在某些實施例中，所述核糖核酸是mRNA分子，並且在某些實施例中，所述核糖核酸分子被包封在脂質奈米顆粒（LNP）中。在某些實施例中，所述核糖核酸分子被包封在LNP中，所述LNP包含陽離子脂質、PEG化脂質、基於膽固醇的脂質和輔助脂質。

【0012】 在本文公開的各種實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含野生型流感病毒HA分子序列，並且在某些實施例中，所述機器學習流感病毒HA包含非野生型流感病毒HA分子序列。在某些實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA是重組流感病毒HA，並且在某些實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA存在於滅活流感病毒，如在裂解滅活病毒中。在某些實施例中，所述多價流感疫苗包含編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA中的至少一種的一種或多種核糖核酸分子。

【0013】 在各種實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五

流感病毒HA，或編碼所述第五流感病毒HA的核糖核酸分子，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA。在某些態樣，所述第五流感病毒H3 HA可以與第二流感H3 HA在抗原性方面不相似，與第二流感H3 HA在抗原性方面相似，增強了由第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應，和/或擴寬了由第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應。在某些態樣，所述第五流感病毒H3 HA可以來自與第二流感H3 HA相比不同的進化支或者可以來自與第二流感H3 HA相比相同的進化支。在某些實施例中，所述第五流感病毒H3 HA來自3C.2A進化支，並且在某些實施例中，所述第五流感病毒H3 HA來自3C.3A進化支。

【0014】 在各種實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，或編碼所述第五流感病毒HA的核糖核酸分子，其中所述第五流感病毒HA是H1 HA。在某些態樣，所述第五流感病毒H1 HA可以與第一流感H1 HA在抗原性方面不相似，與第一流感H1 HA在抗原性方面相似，增強了由第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，和/或擴寬了由第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應。在某些態樣，所述第五流感病毒H1 HA可以來自與第一流感H1 HA相比不同的進化支或者可以來自與第一流感H1 HA相比相同的進化支。

【0015】 在本文公開的疫苗或免疫原性組成物的某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物進一步包含第六流感病毒HA。在某些實施例中，所述第六流感病毒HA是H3 HA，並且在某些實施例中，所述第六流感病毒是具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的H3 HA，或編碼所述第六流感病毒HA的核糖核酸分子。在某些實施例中，所述第六流感病毒HA是H1 HA，如具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的H1 HA，或編碼所述第六流感病毒HA的核糖核酸分子。在某些實施例中，所述第六流感H1 HA與第一流感H1 HA在抗原性方面不

相似，增強了由第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，擴寬了由第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，來自與第一流感H1 HA相比不同的進化支，來自與第一流感H1 HA相比相同的進化支，或與第一流感H1 HA在抗原性方面相似。在某些實施例中，所述第六流感H3 HA與第二流感H3 HA在抗原性方面不相似，增強了由第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應，擴寬了由第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應，來自與第二流感H3 HA相比不同的進化支，來自與第二流感H3 HA相比相同的進化支，或與第二流感H3 HA在抗原性方面相似。

【0016】 在某些實施例中，本文公開的疫苗或免疫原性組成物進一步包含來自B/維多利亞譜系或來自B/山形譜系並且具有由機器學習模型鑒定或設計的分
子序列的第七流感病毒HA，或編碼所述第七流感病毒HA的核糖核酸分子。

【0017】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物進一步包含具有由機器學習模型鑒定或設計的分
子序列的來自B/維多利亞譜系的第七流感病毒HA和來自B/山形譜系的第八流感病毒，或編碼所述第七和第八流感病毒HA的核糖核酸分子。

【0018】 在某些態樣，所述機器學習模型係被訓練來預測生物反應，如人類、雪貂或小鼠生物反應，並且在某些態樣，所述生物反應包括血球凝集素抑制測定（HAI）、抗體鑑識（antibody forensics，AF）或中和測定。在某些實施例中，所述分子序列是胺基酸序列或核酸序列。在某些實施例中，所述分子序列是胺基酸序列。

【0019】 在本文公開的疫苗或免疫原性組成物的各種態樣，所述第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種是重組流感病毒HA，如由在經培養的昆蟲細胞中的桿狀病毒表現系統所產生的重組流感病毒HA。在某些態樣，所述第

一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種存在於滅活流感病毒，如在裂解滅活病毒中。在再另外的態樣，所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的第一、第二、第三和第四核糖核酸分子。

【0020】 在本文公開的某些實施例中，所述第一流感病毒HA是來自H1N1流感病毒株的H1 HA並且所述第二流感病毒HA是來自H3N2流感病毒株的H3 HA。

【0021】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物進一步包含佐劑，如水包鯊烯佐劑（如AF03）或基於脂質體的佐劑（如SPA14）。

【0022】 本公開文本的另一態樣涉及使受試者對流感病毒免疫的方法，所述方法包括向所述受試者投予免疫有效量的本文公開的疫苗或免疫原性組成物。同樣地，本公開文本提供了免疫有效量的如本文所述的疫苗或免疫原性組成物，用於使受試者對流感病毒免疫。類似地，本公開文本還提供了免疫有效量的如本文所述的疫苗或免疫原性組成物用於製造用於對流感病毒免疫的藥劑的用途。在某些實施例中，所述方法或用途預防受試者的流感病毒感染，並且在某些實施例中，所述方法或用途引起受試者的保護性免疫反應，如HA抗體反應。在本文公開的方法或用途的某些實施例中，所述受試者是人類，並且在某些實施例中，所述人類為6月齡或更大、6至35月齡、至少2歲、至少3歲、小於18歲、至少18歲、至少60歲、至少65歲、至少6月齡且小於18歲、至少3歲且小於18歲、或至少18歲且小於65歲。在某些實施例中，將所述疫苗或免疫原性組成物肌內、皮內、皮下、靜脈內、鼻內、通過吸入或腹膜內投予或製備為肌內、皮內、皮下、靜脈內、鼻內、通過吸入或腹膜內投予。在某些實施例中，本文公開的方法或用途治療或預防由季節性和大流行性流感毒株之一或兩者引起的疾病。

【0023】 本文還公開了減輕流感病毒感染的一種或多種症狀的方法，所述方法包括向受試者投予預防有效量的本文公開的疫苗或免疫原性組成物。同樣地，本公開文本提供了預防有效量的如本文所述的疫苗或免疫原性組成物，用於減輕受試者的流感病毒感染的一種或多種症狀。類似地，本公開文本還提供了預防有效量的如本文所述的疫苗或免疫原性組成物用於製造用於減輕受試者的流感病毒感染的一種或多種症狀的藥劑的用途。在某些態樣，本文公開的方法或用途包括向受試者以2-6週、視情況4週的間隔投予兩劑的疫苗或免疫原性組成物。

【0024】 在另一態樣，本文公開了一種疫苗組成物，所述疫苗組成物包含本文公開的免疫原性組成物。

【圖式簡單說明】

【0025】 圖1是描繪在HAI測定中評分的病毒樣品病毒1和病毒2的假設例子的模型展示，其中可將病毒1和病毒2的HAI力價與前一季節的疫苗病毒進行比較以評估不同病毒株的抗原相似性或不相似性。

【0026】 圖2是示出了單獨被A/香港/45/2019（灰色）、單獨被A/阿拉斯加州/43/2019（綠色）感染以及被A/香港/45/2019和A/阿拉斯加州/43/2019的組合（橙色）共感染的每組雪貂的平均微量中和力價的橫條圖，如實例1所述。左側示出了觀察到的3C.2進化支的七種毒株的力價，右側示出了觀察到的五種3C.3進化支毒株的力價。

【0027】 圖3是示出了單獨被A/香港/45/2019（綠色）、單獨被A/堪薩斯州/14/2017（藍色）感染以及被A/香港/45/2019和A/堪薩斯州/14/2017的組合（橙色）

共感染的每組雪貂的平均微量中和力價的橫條圖，如實例1所述。左側示出了觀察到的七種3C.2進化支毒株的力價，右側示出了觀察到的五種3C.3進化支毒株的力價。

【0028】 圖4A是展示了在單獨用A/香港/45/2019（淺灰色）、單獨用A/阿拉斯加州/43/2019（深灰色）感染以及用A/香港/45/2019和A/阿拉斯加州/43/2019的組合（橙色）共感染後，流感病毒的3C.2進化支毒株（頂部）和流感病毒的3C.3毒株（底部）的微量中和力價的圖，如實例1所述。

【0029】 圖4B是展示了在單獨用A/香港/45/2019（淺灰色）、單獨用A/堪薩斯州/14/2017（深灰色）以及用A/香港/45/2019和A/堪薩斯州/14/2017的組合（橙色）共感染後，流感病毒的3C.2進化支毒株（頂部）和流感病毒的3C.3毒株（底部）的微量中和力價的圖，如實例1所述。

【0030】 圖5是示出了在用A/香港/45/2019和A/阿拉斯加州/43/2019的組合（藍色）共感染後以及在用A/香港/45/2019和A/堪薩斯州/14/2017的組合（橙色）激發後的平均中和力價與所評價的十二種毒株中的每一種的最大平均單個力價相比的圖，如實例1所述。

【0031】 圖6是展示了組1-7和10針對A/塔斯馬尼亞/503/2020、A/維多利亞/2570/2019、B/普吉島/3073/2013和B/華盛頓02/2019中的每一種的幾何平均力價（GMT）微量中和測定力價的圖，如實例2所述。

【0032】 圖7是示出了組1-7和10針對3C.2A進化支中的病毒（每組的左側條形）和3C.3A進化支中的病毒（每組的右側條形）的GMT微量中和測定力價的橫條圖，如實例2所述。

【0033】 圖8是展示了組1-7和10針對A/孟加拉/3190613015/2019、A/香港

/45/2019、A/新加坡/INFIMH160019/2016、A/巴利亞多利德/182/2017、A/堪薩斯州/14/2017和A/墨西哥/2356/2019中的每一種的幾何平均力價（GMT）微量中和測定力價的圖，如實例2所述。

【0034】 圖9是示出了組1-7各自針對3C.2A進化支中的病毒（每組的左側條形）和3C.3A進化支中的病毒（每組的右側條形）的覆蓋百分比（ $> 1:160$ GMT值）的橫條圖，如實例2所述。

【實施方式】

相關申請的交叉引用

【0035】 本申請要求2021年10月8日提交的美國臨時專利申請號63/253,986和2021年11月10日提交的美國臨時專利申請號63/277,848的權益並且依賴於上述申請的提交日期，將上述申請的全部公開內容通過引用併入本文。

【0036】 一些病毒能夠在其包膜糖蛋白組分的結構中發生重大變異。例如，流感病毒不斷改變其包膜糖蛋白的胺基酸序列。大的胺基酸變異（抗原轉變）或小的變異（抗原漂移）都可以產生新的表位，從而使病毒逃避免疫系統。抗原變異是反復流感爆發的主要原因。在先前的病毒被群體中產生的特異性抗體抑制時，亞型（即H1或H3）內的抗原變體出現並且被逐漸選為主要病毒。隨著序列變體的出現，針對一種變體的中和抗體的有效性通常變得越來越低。對亞型內變體的免疫反應可取決於宿主的先前經驗。

【0037】 已經顯示沉默核苷酸取代的速率高於流感病毒的所有基因（包括HA的基因）的編碼核苷酸取代的速率（綜述於Webster等人；Webster, R. G., 等

人, 1992)。然而, HA的編碼變化速率比內部蛋白質高得多。與其他基因相比, HA基因中編碼核苷酸變化的速率升高已被視為免疫選擇是其進化的重要因素的證據(Palese, P., 等人, 1982)。使用重配抗原消除任何非特異性空間位阻, Kilbourne等人研究了在10年時間段內從人類分離的流行病學上重要的HA和NA抗原的進化速率, 並且確定HA的進化比神經胺糖酸酶(NA)更快(Kilbourne, E. D., 等人, 1990)。這在甲型H1N1和H3N2病毒中均顯示出來, 並且已經通過隨後的最新毒株實驗得到確認。進化速率明顯不同的原因尚不清楚, 但可能是由於針對HA的抗體中和病毒並且防止感染的事實。這給HA施加了更大的選擇性壓力, 以使其在部分免疫群體中維持自身。

【0038】 因此, 疫苗有效性可能會隨著源自補充毒株的HA抗原的添加而增加。功效的增加可能是由於兩種主要機制。首先, 包含一種或多種另外的HA抗原可以允許針對更廣泛的傳播流感毒株的保護, 例如如果傳播毒株與一種或多種另外的毒株匹配或在抗原性方面相似, 但是不與護理標準毒株匹配或在抗原性方面相似。其次, 對於在抗原性方面類似於護理標準毒株和另外的毒株的傳播毒株, 可以有效地加倍疫苗中匹配或相似抗原的劑量, 進而增加抗體力價和血清轉化率。任何一種或兩種機制都可以提高疫苗的有效性。

【0039】 因此, 本文公開了多價流感疫苗, 除源自護理標準流感病毒株的流感病毒HA(和/或編碼此類護理標準流感病毒HA的核糖核酸分子)之外, 所述多價流感疫苗還包含可以使用機器學習模型鑒定或設計的一種或多種補充的HA蛋白, 或編碼所述HA蛋白的核糖核酸分子。

定義

【0040】 為了更容易理解本公開文本，首先在下面定義某些術語。以下術語和其他術語的另外的定義可以通過說明書來闡述。如果下文闡述的術語的定義與通過引用併入的申請或專利中的定義不一致，則應使用本申請中闡述的定義來理解所述術語的含義。

【0041】 除非上下文另有明確規定，否則如在本說明書和所附權利要求中所使用的，單數形式“一種/一個”（“a”）、“一種/一個”（“an”）和“所述”包括複數指示物。因此，例如，對“一種方法”的提及包括一種或多種方法、和/或本文所述的和/或在閱讀本公開文本之後對於本領域技術人員而言將變得清楚的類型的步驟等等。

【0042】 在權利要求中使用諸如“第一”、“第二”、“第三”等的序數術語來修飾請求項要素本身並不意味著一個請求項要素比另一個請求項要素的任何優先權、優先或順序，或者進行方法的行為的時間順序，而是僅用作標籤，以區分具有特定名稱的一個請求項要素與具有相同名稱（但是使用序數術語）的另一個要素以區分請求項要素。

【0043】 *佐劑*：如本文所用，術語“佐劑”是指可用于增強對疫苗的抗原組分的免疫反應的物質或物質的組合。

【0044】 *抗原*：如本文所用，術語“抗原”是指引發免疫反應的因子；和/或當暴露或投予于生物體時由T細胞受體結合的因子（例如，當由MHC分子呈遞時）或與抗體（例如，由B細胞產生）結合的因子。在一些實施例中，抗原在生物體中引發體液反應（例如，包括抗原特異性抗體的產生）；可替代地或另外地，在一些實施例中，抗原在生物體中引發細胞反應（例如，涉及其受體與抗原特異性相互作用的T細胞）。本領域技術人員將理解，特定抗原可以在靶標生

物體（例如，小鼠、雪貂、兔、靈長類動物、人類）的一個或幾個成員中引發免疫反應，但是不能在靶標生物體物種的所有成員中引發免疫反應。在一些實施例中，抗原在靶標生物體物種的至少約25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的成員中引發免疫反應。在一些實施例中，抗原與抗體和/或T細胞受體結合，並且在生物體中可能誘發或可能不誘發特定生理反應。在一些實施例中，例如，抗原可以在體外與抗體和/或T細胞受體結合，無論在體內是否發生這種相互作用。在一些實施例中，抗原與特定體液或細胞免疫的產物（包括由異源免疫原誘發的那些）反應。抗原包括如本文所述的HA形式。

【0045】 *在抗原性方面不相似*：如本文所用，術語“在抗原性方面不相似”指示兩種抗原（例如，HA抗原）產生如通過結合力價或中和力價測量的彼此之間大於4倍的抗體反應，如下所述。來自不同進化支的HA抗原可能在抗原性方面不相似。

【0046】 *在抗原性方面相似*：如本文所用，術語“在抗原性方面相似”指示兩種抗原產生如通過結合力價或中和力價測量的彼此之間在4倍之內的抗體反應，如下所述。

【0047】 為了評估兩種抗原是在抗原性方面不相似還是在抗原性方面相似，可以如實例中所述使用未經處理的雪貂模型。在此模型中，將未經處理的雪貂鼻內感染活流感病毒，並且收集血清以評估對所述病毒的抗體反應。可以通過以下來測量抗體反應：測量病毒抗體結合力價的血球凝集素抑制（HAI）測定，或測量病毒中和力價的中和測定（例如，微量中和測定）。結合或中和異源病毒株的效率可以指示毒株是在抗原性方面不相似還是在抗原性方面相似。

圖1展示了在HAI測定中評分的病毒樣品。當將傳播病毒1與疫苗病毒進行比較時，傳播病毒1相差一個稀釋度（相差2倍），因此被認為與前一季節的疫苗病毒在抗原性方面相似。當將傳播病毒2與疫苗病毒進行比較時，傳播病毒2相差5個稀釋度（相差32倍），因此被認為與前一季節的疫苗病毒在抗原性方面不相似。

【0048】 大約：如本文所用，如應用於一個或多個目的值的術語“大約”或“約”是指與所陳述的參考值類似的值。在一些實施例中，除非另外陳述或者上下文另有明確含義，否則術語“大約”或“約”是指落在所陳述參考值的任一方向（大於或小於）上的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小內的值的範圍（這個數字會超過可能值的100%的情況除外）。

【0049】 載體：如本文所用，術語“載體”是指與組成物一起投予的稀釋劑、佐劑、賦形劑或媒劑。在一些示例性實施例中，載體可以包括無菌液體，例如水和油，包括石油、動物、植物或合成來源的油，例如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油等。在一些實施例中，載體是或包括一種或多種固體組分。

【0050】 表位：如本文所用，術語“表位”包括全部或部分地被免疫球蛋白（例如，抗體或T細胞受體）結合組分特異性識別的任何部分。在一些實施例中，表位由抗原上的多個化學原子或基團構成。在一些實施例中，當抗原採用相關的三維構形時，此類化學原子或基團是表面暴露的。在一些實施例中，當抗原採用這種構形時，此類化學原子或基團在空間上物理上彼此靠近。在一些實施例中，當抗原採用可替代構形（例如被線性化）時，至少一些此類化學原子或基團在物理上彼此分離。

【0051】 賦形劑：如本文所用，術語“賦形劑”是指可以包含在醫藥組成物

中例如以提供或有助於所需的稠度或穩定作用的任何非治療劑。合適的藥物賦形劑包括例如澱粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明膠、麥芽、稻、麵粉、白堊、矽膠、硬脂酸鈉、單硬脂酸甘油酯、滑石、氯化鈉、脫脂乳粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。

【0052】 免疫反應：如本文所用，術語“免疫反應”是指免疫系統的細胞（如B細胞、T細胞、樹突細胞、巨噬細胞或多形核細胞）對刺激物（如抗原、免疫原或疫苗）的反應。免疫反應可以包括身體的參與宿主防禦反應的任何細胞，包括例如分泌干擾素或細胞因子的上皮細胞。免疫反應包括但不限於先天性和/或適應性免疫反應。測量免疫反應的方法是本領域熟知的，並且包括例如測量淋巴細胞（如B或T細胞）的增殖和/或活性、細胞因子或趨化因子的分泌、炎症、抗體產生等。抗體反應或體液反應是產生抗體的免疫反應。“細胞免疫反應”是由T細胞和/或其他白細胞介導的免疫反應。

【0053】 免疫原：如本文所用，術語“免疫原”或“免疫原性的”是指能夠在適當條件下在動物中刺激免疫反應（如產生抗體或T細胞反應）的化合物、組成物或物質，包括注射或吸收到動物體內的組成物。如本文所用，“免疫”意指在受試者中誘發針對感染性疾病（例如，流感）的保護性免疫反應。

【0054】 免疫有效量：如本文所用，術語“免疫有效量”意指足以免疫受試者的量。

【0055】 在一些實施例中：除非上下文另有明確指示，否則如本文所用，術語“在一些實施例中”是指本公開文本的所有態樣的實施例。

【0056】 機器學習：如本文所用，術語“機器學習”是指使用通過經驗和/或通過使用資料自動改進的演算法。機器學習可以涉及構建預測模型（如流感

抗原性模型)以允許預測資料，包括使用設計成通過預測模型選擇候選抗原的演算法。可以鑒定靶標毒株，然後可以構建選擇演算法。機器學習演算法和方法的例子可以在例如標題為用於設計疫苗的系統和方法 (Systems and Methods for Designing Vaccines) 的PCT申請號WO 2021/080990 A1和標題為用於預測生物反應的系統和方法 (Systems and Methods for Predicting Biological Responses) 的WO 2021/080999 A1中找到，將其兩者均通過引用以其整體併入本文。如本文所用的機器學習還可以包括應用計算工具來分析和解釋資料，例如生物資訊學分析，如系統發生分析。同樣，“機器學習流感病毒HA”指示已經通過機器學習鑒定或設計的流感病毒HA。“機器學習模型”指示使用這樣的演算法的模型，所述演算法通過經驗和/或通過使用資料來自動改進，以便預測資料，如候選抗原。

【0057】 大流行毒株：“大流行”流感毒株是已經引起受試者群體（如人群體）的大流行感染或具有引起所述大流行感染的能力的流感毒株。在一些實施例中，大流行毒株引起大流行感染。在一些實施例中，這種大流行感染涉及跨多個地區的流行性感染；在一些實施例中，大流行感染涉及跨彼此分離（例如，通過山脈、水體、作為不同大陸的一部分等）使得感染通常不會在它們之間傳播的地區的感染。

【0058】 預防：如本文所用，術語“預防”是指預防、避免疾病顯現，延遲特定疾病、障礙或病症（例如，被例如流感病毒感染）的一種或多種症狀的發作，和/或降低所述一種或多種症狀的頻率和/或嚴重程度。在一些實施例中，在群體的基礎上評估預防，使得如果在易患特定疾病、障礙或病症的群體中觀察到所述疾病、障礙或病症的一種或多種症狀的發展、頻率和/或強度的統計上顯著的降低，則認為藥劑“預防”所述疾病、障礙或病症。

【0059】 *重組*：如本文所用，術語“重組”旨在指代通過重組手段設計、工程化、製備、表現、產生或分離的多肽（例如，如本文所述的HA多肽），如使用轉染到宿主細胞中的重組表現載體表現的多肽，從重組、組合的多肽文庫中分離的多肽，或通過涉及將選定的序列元件彼此剪接的任何其他方式製備、表現、產生或分離的多肽。在一些實施例中，在自然界中發現一種或多種此類選定的序列元件。在一些實施例中，經由電腦模擬設計一種或多種此類選定的序列元件。在一些實施例中，一種或多種此類選定的序列元件產生自例如來自天然或合成來源的已知序列元件的誘變（例如，在體內或在體外）。在一些實施例中，一種或多種此類選定的序列元件產生自不是天然存在於同一多肽中的多種（例如，兩種或更多種）已知序列元件（例如，來自兩個單獨的HA多肽的兩個表位）的組合。

【0060】 *季節性毒株*：“季節性”流感毒株是已經引起受試者群體（如人群體）的季節性感染（例如，每年流行）或具有引起所述季節性感染的能力的流感毒株。在一些實施例中，季節性毒株已經引起季節性感染。

【0061】 *序列同一性*：胺基酸或核酸序列之間的相似性以所述序列之間的相似性表示，原本也稱為序列同一性。序列同一性經常用百分比同一性（或相似性或同源性）來測量；百分比越高，兩個序列越相似。兩個核酸序列之間的“序列同一性”指示序列之間相同的核苷酸的百分比。兩個胺基酸序列之間的“序列同一性”指示序列之間相同的胺基酸的百分比。當使用標準方法比對時，給定基因或蛋白質的同源物或變體將具有相對較高程度的序列同一性。

【0062】 術語“相同%”、“同一性%”或類似術語旨在具體是指在待比較的序列之間的最佳比對中相同的核苷酸或胺基酸的百分比。所述百分比是純粹統

計學的，並且兩個序列之間的差異可以但不一定隨機分佈在待比較的序列的整個長度上。兩個序列的比較通常通過以下方式進行：在最佳比對之後，關於區段或“比較視窗”比較所述序列，以鑒定相應序列的局部區域。用於比較的最佳比對可以手動地或借助於Smith和Waterman, 1981, *Adv. App. Math.* 2, 482的局部同源性演算法、借助於Needleman和Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48, 443的局部同源性演算法、借助於Pearson和Lipman, 1988, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 2444的相似性搜索演算法、或借助於使用所述演算法的電腦程式（威斯康辛州遺傳學套裝軟體（Genetics Computer Group, 575 Science Drive, 麥迪森，威斯康辛州）中的GAP、BESTFIT、FASTA、BLAST P、BLAST N和TFASTA）來進行。

【0063】 通過以下方式獲得同一性百分比：確定待比較的序列對應的相同位置的數目，用此數目除以比較的位置的數目（例如，參考序列中的位置的數目），並且將此結果乘以100。

【0064】 在一些實施例中，同一性程度是針對區域給出的，所述區域是參考序列的整個長度的至少50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%。例如，如果參考核酸序列由200個核苷酸組成，則針對至少約100、至少約120、至少約140、至少約160、至少約180或約200個核苷酸（在一些實施例中為連續核苷酸）給出同一性程度。在一些實施例中，針對參考序列的整個長度給出同一性程度。

【0065】 分別與給定核酸序列或胺基酸序列具有特定同一性程度的核酸序列或胺基酸序列可以具有所述給定序列的至少一種功能和/或結構特性，例如並且在一些情況下，在功能上和/或在結構上等同於所述給定序列。在一些實施

例中，與給定核酸序列或胺基酸序列具有特定同一性程度的核酸序列或胺基酸序列在功能上和/或在結構上等同於所述給定序列。

【0066】 護理標準毒株：每年，根據密集的監測工作，世界衛生組織（WHO）選擇納入季節性疫苗製劑中的流感毒株。如本文所用，術語“護理標準毒株”或“SOC毒株”是指由世界衛生組織（WHO）選擇納入季節性疫苗製劑中（例如用於北半球和南半球）的流感毒株。護理標準毒株可以包括歷史護理標準毒株、當前護理標準毒株或未來護理標準毒株。

【0067】 受試者：如本文所用，術語“受試者”意指動物界的任何成員。在一些實施例中，“受試者”是指人類。在一些實施例中，“受試者”是指非人類動物。在一些實施例中，受試者包括但不限於哺乳動物、鳥、爬行動物、兩棲動物、魚、昆蟲和/或蠕蟲。在一些實施例中，所述非人類受試者是哺乳動物（例如，齧齒動物、小鼠、大鼠、兔、雪貂、猴、狗、貓、綿羊、牛、靈長類動物和/豬）。在一些實施例中，受試者可以是轉基因動物、基因工程化動物和/或殖株。在一些實施例中，所述受試者是成年人、青少年或嬰兒。在一些實施例中，術語“個體”或“患者”被使用並且旨在與“受試者”可互換。

【0068】 疫苗組成物：如本文所用，術語“疫苗組成物”或“疫苗”是指在受試者中產生保護性免疫反應的組成物。如本文所用，“保護性免疫反應”是指保護受試者免受感染（預防感染或預防與感染相關的疾病的發生）或減輕感染（例如流感病毒感染）的症狀的免疫反應。疫苗可能引發預防性（prophylactic）（預防性（preventative））和治療性反應。投予方法根據疫苗而有所不同，但可包括接種、攝入、吸入或其他投予形式。接種可以通過多種途徑（包括腸胃外，如靜脈內、皮下、腹膜內、皮內或肌內）中的任一種遞送。疫苗可與佐劑一起

投予以增強免疫反應。

【0069】 *免疫原性組成物*：如本文所用，術語“免疫原性組成物”是指產生免疫反應的組成物，所述免疫反應可以是或可以不是保護性免疫反應。

【0070】 *疫苗接種*：如本文所用，術語“疫苗接種”等是指投予以在受試者中產生保護性免疫反應的疫苗組成物，例如致病劑如流感病毒。疫苗接種可以在暴露於致病因子和/或發生一種或多種症狀之前、期間和/或之後發生，並且在一些實施例中，在暴露於所述因子之前、期間和/或之後不久發生。在一些實施例中，疫苗接種包括間隔適當時間多次投予疫苗組成物。

【0071】 *野生型 (WT)*：如本領域所理解的，術語“野生型”通常是指蛋白質或核酸的正常形式，如在自然界中發現的那樣。例如，在流感病毒的天然分離物中發現野生型HA多肽。在NCBI流感病毒序列資料庫中可以找到多種不同的野生型HA序列。

流感病毒的命名法

【0072】 用於分類流感病毒的所有命名法都是本領域技術人員常用的命名法。因此，一類或一組流感病毒是指感染人類的三種主要類型的流感：甲型流感、乙型流感或丙型流感。甲型和乙型流感每年都會導致顯著的發病率和死亡率。本領域技術人員應理解，將病毒指定為特定類型涉及相應的M1（基質）蛋白或P（核蛋白）中的序列差異。甲型流感病毒被進一步分為組1和組2。這些組被進一步分為亞型，所述亞型是指根據病毒表面上的兩種蛋白質即HA和NA的序列對病毒的分類。目前，存在18個識別的HA亞型（H1-H18）和11個識別的NA亞型（N1-N11）。組1含有N1、N4、N5和N8以及H1、H2、H5、H6、H8、H9、

H11、H12、H13、H16、H17和H18。組2含有N2、N3、N6、N7和N9以及H3、H4、H7、H10、H14和H15。已經在從蝙蝠分離的流感樣基因組中鑒定出N10和N11（Wu等人, Trends in Microbiology, 2014, 22(4):183-91）。雖然潛在地存在198種不同的甲型流感亞型組合，但是在自然界中僅檢測到約131種亞型。目前通常在人群體中傳播的引起季節性爆發的甲型流感病毒亞型包括：A(H1N1)和A(H3N2)。

【0073】 為了方便起見，可以使用某些縮寫來指代本文所述的蛋白質構建體及其部分。例如，HA可以指流感血球凝集素蛋白。H1是指來自流感亞型1毒株的HA。H3是指來自流感亞型3毒株的HA。

【0074】 甲型流感亞型可以被進一步分解為不同的遺傳“進化支”和“子進化支”。例如，A亞型A(H1N1)含有進化支6B.1和子進化支6B.1A。A亞型A(H3N2)含有進化支3C.2A和3C.3A以及子進化支3C.2A1、3C.2A2、3C.2A3和3C.2A4。同樣，B亞型維多利亞含有進化支V1A和子進化支V1A.1、V1A.2和V1A.3，而B亞型山形含有進化支Y1、Y2和Y3。最後，術語毒株是指鑒於它們在基因組中具有較小的遺傳變異而彼此不同的在亞型內的病毒。

血球凝集素 (HA)

【0075】 血球凝集素（HA）連同神經胺糖酸酶（NA）是兩種主要的流感表面蛋白中的一種。HA的功能涉及與唾液酸的相互作用，唾液酸是與細胞表面上表現的糖蛋白或糖脂上的糖部分結合的末端分子。HA與細胞表面上的唾液酸的結合會誘發細胞對病毒的胞吞作用，使病毒進入細胞並且感染細胞。唾液酸作為在感染的細胞內發生的糖基化過程的一部分也被添加到HA。

【0076】 HA被認為在病毒滲透到細胞中的過程仲介導流感病毒與宿主細胞的附著以及病毒與細胞膜的融合。HA分子中的抗原變異是導致流感頻繁爆發和通過免疫控制感染有限的原因。

【0077】 HA作為三聚體存在於成熟的流感病毒中。每個HA單體由通過二硫鍵連接的兩個多肽（HA1和HA2）組成。這些多肽是通過在流感病毒成熟過程中切割單個前體蛋白HA0而衍生的。在某種程度上，由於這些分子緊密折疊，HA0與成熟的HA1和HA2在構形和抗原特徵上略有不同。此外，HA0更穩定，並且對變性和蛋白水解更具有抗性。已知桿狀病毒/昆蟲細胞培養物衍生的重組HA0賦予對流感的保護性免疫力。

【0078】 本文公開的疫苗或免疫原性組成物中存在的流感病毒HA可以是任何形式的流感病毒HA，並且可以包括來自護理標準流感病毒株的HA和機器學習流感病毒HA的任何組合。例如，在某些實施例中，來自護理標準流感毒株的流感病毒HA可以作為存在於滅活流感病毒中的HA、重組流感病毒HA，或編碼上述流感病毒HA的核糖核酸分子或其任何組合存在於疫苗或免疫原性組成物中。在某些另外的實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA可以作為存在於滅活流感病毒上的HA、重組流感病毒HA、編碼前述機器學習流感病毒HA的核糖核酸分子或其組合存在於疫苗或免疫原性組成物中。

【0079】 同樣地，在本文公開的實施例中，來自護理標準流感毒株的流感病毒HA和由機器學習鑒定或設計的HA可以是野生型HA、非野生型HA、來自季節性大流行流感病毒株的HA和/或本領域已知的任何其他形式的HA。在本文公開的某些實施例中，所述流感病毒HA來自大流行毒株或具有大流行潛力的毒株，包括例如H1、H2、H3、H5、H7和/或H10。

【0080】 在本文公開的某些實施例中，來自護理標準流感病毒株的HA和/或機器學習流感病毒HA存在於滅活流感病毒中。

【0081】 某些許可的流感疫苗可以包含來自多種流感亞型的福馬林滅活的完整或化學裂解的亞基製劑，所述多種流感亞型包括例如甲型流感亞型H1N1、甲型流感H3N2、乙型流感/維多利亞和/或乙型流感/山形。用於這種甲型和乙型流感疫苗的種子病毒可以是天然存在的毒株（即野生型毒株），所述毒株在雞蛋的尿囊腔或培養的細胞中複製至高力價。

【0082】 可替代地，這些毒株可以是具有正確表面抗原基因的重配病毒。重配病毒是一種由於病毒基因組的分割而具有每種親本毒株的特徵的病毒。當多於一種的流感病毒株感染細胞時，這些病毒區段混合以產生含有來自親本各種基因的子代病毒體。用於產生感染性重配病毒的反向遺傳學方法是本領域技術人員熟知的，並且包括但不限於使用以下的方法：在Neuman等人, 1999, Proc Natl Acad Sci USA, 96(16):9345-9350；Neumann等人, 2005, Proc Natl Acad Sci USA, 102(46):16825-16829；Zhang等人, 2009, J Virol, 83(18):9296-9303；Massin等人, 2005, J Virol, 79(21):13811-13816；Murakami等人, 2008, 82(3):1605-1609中描述的質體；和/或在Neuman等人, 1999, Proc Natl Acad Sci USA, 96(16):9345-9350；Neumann等人, 2005, Proc Natl Acad Sci USA, 102(46):16825-16829；Zhang等人, 2009, J Virol, 83(18):9296-9303；Massin等人, 2005, J Virol, 79(21):13811-13816；Murakami等人, 2008, 82(3):1605-1609；Koudstaal等人, 2009, Vaccine, 27(19):2588-2593；Schickli等人, 2001, Philos Trans R Soc Lond Biol Sci, 356(1416):1965-1973；Nicolson等人, 2005, Vaccine, 23(22):2943-2952；Legastelois等人, 2007, Influenza Other Respi Viruses, 1(3):95-104；Whiteley等人,

2007, Influenza Other Respi Viruses, 1 (4): 157-166中描述的細胞。

【0083】 因此，本文公開的HA蛋白包括存在於滅活病毒體中的HA。在某些實施例中，所述滅活病毒是裂解滅活病毒。在某些實施例中，本文公開了一種存在於滅活病毒中的流感病毒HA，其中所述HA選自來自護理標準流感病毒的H1 HA、來自護理標準流感病毒的H3 HA、來自來自B/維多利亞譜系的護理標準流感病毒株的HA、或來自來自B/山形譜系的護理標準流感病毒的HA。

【0084】 在某些實施例中，本文公開了機器學習流感病毒HA，其中所述HA存在於滅活病毒中，並且其中所述機器學習HA選自以下的一種或多種：H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0085】 本文還公開了疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含重組HA，包括來自護理標準流感病毒株的重組HA和/或機器學習重組HA。

【0086】 為了選殖所需的HA基因，流感病毒株的分離、繁殖和純化可以通過本領域已知的任何方法（包括例如披露於美國專利號5,762,939中的方法，將其通過引用併入本文）進行。

【0087】 使重組HA抗原在用病毒血球凝集素載體感染的細胞（如昆蟲細胞）中表現。主要基因產物是未經加工的全長HA（rHA0），並且不被分泌但是仍與感染的細胞的外周膜相關聯。在昆蟲細胞中，這種rHA0被N連接的高甘露糖型聚糖糖基化，並且有證據表明rHA0在轉譯後形成三聚體，然後所述三聚體在細胞質細胞膜中積累。

【0088】 可以用非變性的非離子去污劑或本領域已知的用於從細胞（例如昆蟲細胞）中純化重組蛋白的其他方法（包括例如親和或凝膠色譜、抗原結合、

DEAE離子交換或扁豆凝集素親和色譜)從外周膜選擇性地提取rHA0。然後可以將純化的rHA0重懸於等滲緩衝溶液中。在某些實施例中,將所述rHA0純化至至少約80%,如至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%。

【0089】 在某些實施例中,可以用桿狀病毒表現載體在培養的昆蟲細胞中產生來自流感病毒的全長未切割(HA0)血球凝集素抗原,並且可以將其例如在非變性條件下進一步純化。可以將來自甲型流感和/或乙型流感毒株的兩種或更多種(如三種、四種或更多種)純化的血球凝集素抗原混合在一起以產生多價流感疫苗。

【0090】 桿狀病毒是桿狀病毒科的DNA病毒。已知這些病毒具有狹窄的宿主範圍,主要限於昆蟲的鱗翅目(*Lepidopteran*)物種(例如蝴蝶和飛蛾)。例如,桿狀病毒苜蓿銀紋夜蛾(*Autographa californica*)核型多角體病毒(AcNPV)在易感培養的昆蟲細胞中有效複製。AcNOV具有約130,000個鹼基對的雙鏈閉合環狀DNA基因組,並且在宿主範圍、分子生物學和遺傳學方面是良好表徵的。

【0091】 許多桿狀病毒(包括AcNPV)在感染的細胞的細胞核內形成大的蛋白質結晶包涵物。稱為多角體蛋白的單個多肽約占這些包涵體的蛋白質品質的95%。多角體蛋白的基因以單拷貝存在於AcNPV病毒基因組中。由於在培養的細胞中病毒複製不需要多角體蛋白基因,因此可以很容易地對所述多角體蛋白基因進行修飾以表現外源基因。可以將外源基因序列僅在多角體蛋白啟動子序列的3'處插入AcNPV基因中,以使所述外源基因序列處於多角體蛋白啟動子的轉錄控制之下。然後可以使重組桿狀病毒(包括編碼重組HA蛋白的重組桿狀病毒)在多種昆蟲細胞系中複製。重組HA蛋白也可以在其他表現載體,包括例

如昆蟲痘病毒（昆蟲的痘病毒）、細胞質多角體病毒（CPV）中表現並且將昆蟲細胞用一種或多種重組HA基因轉化。

編碼HA的核糖核酸分子

【0092】 本文還公開了編碼本文公開的一種或多種流感病毒HA的核糖核酸分子，如mRNA分子。所述核糖核酸分子如mRNA可以編碼護理標準流感病毒株，如H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA或來自B/山形譜系的HA的任一種組合。在某些實施例中，所述核糖核酸分子如mRNA可以編碼機器學習流感病毒HA，如H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA或來自B/山形譜系的HA的任一種組合。在某些實施例中，所述核糖核酸分子被包封在脂質奈米顆粒(LNP)中。

【0093】 示例性mRNA和LNP披露於例如2021年11月5日提交的國際申請號PCT/US2021/058250中，將其通過引用以其整體併入。

【0094】 任何已知的LNP配製品可用于本文公開的實施例中。在某些實施例中，所述LNP包含以下四種脂質的混合物：可電離（例如陽離子）脂質、聚乙二醇（PEG）綴合的脂質、基於膽固醇的脂質和輔助脂質（如磷脂）。LNP用於包封核糖核酸分子（例如mRNA）。所包封的mRNA分子可以由天然存在的核糖核苷酸、經化學修飾的核苷酸或其組合組成，並且可以各自或共同編碼一種或多種蛋白質。

【0095】 可電離的脂質促進mRNA包封，並且可以是陽離子脂質。陽離子脂質在低pH下提供帶正電荷的環境，以促進帶負電荷的mRNA藥物的有效包封。

【0096】 所考慮的PEG化脂質包括但不限於長度長達5 kDa的聚乙二醇（PEG）鏈，其共價附接至具有C₆-C₂₀（例如，C₈、C₁₀、C₁₂、C₁₄、C₁₆或C₁₈）長度的一條或多條烷基鏈的脂質，如衍生化的神經醯胺（例如，N-辛醯基-鞘胺醇-1-[琥珀醯基(甲氧基聚乙二醇)]（C8 PEG神經醯胺））。在一些實施例中，PEG化脂質是1,2-二肉豆蔻醯基-*rac*-甘油-3-甲氧基聚乙二醇（DMG-PEG）；1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油-3-磷醯乙醇胺-聚乙二醇（DSPE-PEG）；1,2-二月桂醯基-*sn*-甘油-3-磷醯乙醇胺-聚乙二醇（DLPE-PEG）；1,2-二硬脂醯基-*rac*-甘油-聚乙二醇（DSG-PEG）；N,N-雙十四烷基乙醯胺-聚乙二醇（例如，ALC-0159）；或1-單甲氧基聚乙二醇-2,3-二肉豆蔻基甘油（例如，PEG2000-DMG）。

【0097】 PEG優選具有高分子量，例如2000-2400 g/mol。在一些實施例中，PEG是PEG2000（或PEG-2K）。在特定實施例中，本文的PEG化脂質是DMG-PEG2000、DSPE-PEG2000、DLPE-PEG2000、DSG-PEG2000或C8 PEG2000。PEG化脂質組分提供了對奈米顆粒的細微性和穩定性的控制。此類組分的添加可以防止複合物聚集，並且提供了用於增加脂質-核酸醫藥組成物的循環壽命並增加其至靶組織的遞送的手段（Klibanov等人, *FEBS Letters* (1990) 268 (1):235-7）。可以選擇這些組分以在體內快速交換出醫藥組成物（參見例如，美國專利5,885,613）。

【0098】 膽固醇組分為奈米顆粒內的脂質雙層結構提供了穩定性。在一些實施例中，LNP包含一種或多種基於膽固醇的脂質。合適的基於膽固醇的脂質包括例如：DC-Choi（N,N-二甲基-N-乙基甲醯胺基膽固醇）、1,4-雙(3-N-油烯基胺基-丙基)吡啶（Gao等人, *Biochem Biophys Res Comm.* (1991) 179:280；Wolf等人, *BioTechniques* (1997) 23:139；美國專利5,744,335）、咪唑膽固醇酯（“ICE”；WO

2011/068810)、 β -穀甾醇、岩藻甾醇、豆固醇和膽固醇的其他修飾形式。在一些實施例中，在LNP中使用的基於膽固醇的脂質是膽固醇。

【0099】 輔助脂質增強了LNP的結構穩定性，並且說明LNP在內體中逃逸。它改善了mRNA藥物有效載荷的攝取和釋放。在一些實施例中，輔助脂質是兩性離子脂質，其具有用於增強藥物有效載荷的攝取和釋放的促融合特性。在某些實施例中，所述輔助脂質是磷脂。輔助脂質的例子是1,2-二油醯基-SN-甘油-3-磷醯乙醇胺(DOPE)；1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷醯膽鹼(DSPC)；1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸-L-絲胺酸(DOPS)；1,2-二反油醯基-sn-甘油-3-磷醯乙醇胺(DEPE)；以及1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷醯膽鹼(DPOC)；二棕櫚醯磷脂醯膽鹼(DPPC)；1,2-二月桂醯基-sn-甘油-3-磷醯膽鹼(DLPC)；1,2-二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺(DSPE)；和1,2-二月桂醯基-sn-甘油-3-磷醯乙醇胺(DLPE)。

【0100】 其他示例性輔助脂質是二油醯磷脂醯膽鹼(DOPC)、二油醯磷脂醯甘油(DOPG)、二棕櫚醯磷脂醯甘油(DPPG)、棕櫚醯油醯磷脂醯膽鹼(POPC)、棕櫚醯油醯基-磷脂醯乙醇胺(POPE)、二油醯基-磷脂醯乙醇胺4-(N-馬來醯亞胺基甲基)-環己烷-1-甲酸酯(DOPE-mal)、二棕櫚醯磷脂醯乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻醯磷脂醯乙醇胺(DMPE)、磷脂醯絲胺酸、鞘脂、腦苷脂、神經節苷脂、16-O-單甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺(SOPE)或其組合。

【0101】 在本文公開的某些實施例中，所述LNP包含 (i) 選自OF-02、cKK-E10、GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1、GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10、GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14、ALC-0315或SM-102的陽離子脂質；(ii) DMG-PEG2000；(iii) 膽固醇；和(iv) DOPE。

【0102】 在本文公開的某些實施例中，所述LNP包含 (i) 作為陽離子脂質的ALC-0315，(ii) 作為PEG化脂質的N,N 雙十四烷基乙醯胺-聚乙二醇（例如，ALC-0159），(iii) 作為輔助脂質的DSPC和 (iv) 膽固醇。在某些實施例中，所述LNP包含 (i) 莫耳比為約25%至約65%，例如約46.3%的作為陽離子脂質的ALC-0315；(ii) 莫耳比為約0.5%至約2.6%，例如1.6%的作為PEG化脂質的N,N 雙十四烷基乙醯胺-聚乙二醇（例如，ALC-0159）；(iii) 莫耳比為約5%至約15%，例如9.4%的作為輔助脂質的DSPC；和 (iv) 莫耳比為約20%至約60%，例如42.7%的膽固醇。

【0103】 上述LNP組分的莫耳比可有助於LNP有效遞送mRNA。陽離子脂質、PEG化脂質、基於膽固醇的脂質和輔助脂質的莫耳比是A : B : C : D，其中 $A + B + C + D = 100\%$ 。在一些實施例中，在LNP中陽離子脂質相對於總脂質的莫耳比（即，A）是35%-50%。在一些實施例中，PEG化脂質組分相對於總脂質的莫耳比（即，B）是0.25%-2.75%。在一些實施例中，基於膽固醇的脂質相對於總脂質的莫耳比（即，C）是20%-50%。在一些實施例中，輔助脂質相對於總脂質的莫耳比（即，D）是5%-35%。在一些實施例中，（PEG化脂質 + 膽固醇）組分具有與輔助脂質相同的莫耳量。在一些實施例中，LNP所含有的陽離子脂質與輔助脂質的莫耳比大於1。

【0104】 為了計算待放入LNP配製品中的每種脂質的實際量，首先基於所需的N/P比確定陽離子脂質的莫耳量，其中N是陽離子脂質中氮原子的數量，並且P是待由LNP轉運的mRNA中的磷酸基團的數量。接下來，基於陽離子脂質的莫耳量和所選擇的莫耳比計算每種其他脂質的莫耳量。然後使用每種脂質的分子量將這些莫耳量轉化為重量。

【0105】 在特定實施例中，LNP含有莫耳比為40：1.5：28.5：30的陽離子脂質、PEG化脂質、基於膽固醇的脂質和輔助脂質。在進一步的具體實施例中，LNP含有40：1.5：28.5：30的(i) OF-02、cKK-E10、GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1、GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10或GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14；(ii) DMG-PEG2000；(iii) 膽固醇；和(iv) DOPE。

【0106】 在所需的情況下，LNP或LNP配製品可以是多價的。在一些實施例中，LNP可以攜帶編碼來自相同或不同病原體的超過一種抗原(如兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種或更多種抗原)的核糖核酸分子(例如，mRNA)。例如，LNP可以攜帶多種核糖核酸分子(例如，mRNA)，每種編碼不同的抗原；或者攜帶可以轉譯成超過一種抗原的多順反子mRNA(例如，每個抗原編碼序列由編碼自切割肽(如2A肽)的核苷酸接頭隔開)。攜帶不同核糖核酸分子(例如，mRNA)的LNP通常包含(包封)每種mRNA分子的多個拷貝。例如，攜帶或包封兩種不同核糖核酸分子(例如，mRNA)的LNP通常攜帶這兩種不同核糖核酸分子(例如，mRNA)中的每一種的多個拷貝。

【0107】 在一些實施例中，單一LNP配製品可以包含多種(例如，兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種或更多種)LNP，每種攜帶不同的核糖核酸分子(例如，mRNA)。

【0108】 在一些實施例中，本文公開的疫苗或免疫原性組成物包含編碼源自一種或多種(例如，二、三、四、五、六、七、八、九或十種)選自以下的流感病毒蛋白的多肽的核糖核酸分子：H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA和/或來自B/山形譜系的HA。在進一步的實施例中，本文公開的疫苗或免疫原性組成物含有四種核糖核酸分子(例如，mRNA)，其中第一核糖核酸分子編

碼來自第一護理標準流感病毒株的H1 HA，第二核糖核酸分子編碼來自第二護理標準流感病毒株的H3 HA，第三核糖核酸分子編碼來自來自B/維多利亞譜系的第三護理標準流感病毒株的HA，以及第四核糖核酸分子編碼來自來自B/山形譜系的第四護理標準流感病毒株的HA。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物進一步包含編碼如本文公開的一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子（例如，mRNA），其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0109】 在某些實施例中，本文公開的疫苗或免疫原性組成物可以包含一種或多種自擴增核糖核酸，如編碼流感病毒HA的一種或多種自擴增mRNA。來自傳統mRNA的抗原表現與成功遞送至受試者的來自疫苗或免疫原性組成物的mRNA分子的數量成比例。然而，自擴增mRNA包含源自自複製病毒的基因工程化複製子，因此可以以比傳統mRNA更低的劑量添加到疫苗或免疫原性組成物中同時實現可比的結果。

【0110】 自擴增mRNA可以編碼本文公開的任一種流感病毒HA，包括例如來自護理標準流感病毒的H3 HA、來自護理標準流感病毒的H1 HA、來自來自B/維多利亞譜系的護理標準流感病毒的HA、來自來自B/山形譜系的護理標準流感病毒的HA、和/或一種或多種機器學習流感病毒HA。

【0111】 核糖核酸分子（例如，mRNA）可以是未經修飾的（即，僅含有由磷酸二酯鍵連接的天然核糖核苷酸A、U、C和/或G），或者可以是經化學修飾的（例如，包括核苷酸類似物，如假尿苷（例如，N-1-甲基假尿苷）、2'-氟核糖核苷酸和2'-甲氧基核糖核苷酸；和/或硫代磷酸酯鍵）。核糖核酸分子（例如，

mRNA) 可以包含5'帽和聚A尾。在某些實施例中，所述一種或多種核糖核酸分子包含一種或多種經修飾的核苷酸，並且在某些實施例中，所述一種或多種經修飾的核苷酸選自假尿苷、甲基假尿苷、2-硫代尿苷、4'-硫代尿苷、5-甲基胞嘧啶、2-硫代-1-甲基-1-去氮-假尿苷、2-硫代-1-甲基-假尿苷、2-硫代-5-氮雜-尿苷、2-硫代-二氫假尿苷、2-硫代-二氫尿苷、2-硫代假尿苷、4-甲氧基-2-硫代-假尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-硫代-1-甲基-假尿苷、4-硫代-假尿苷、5-氮雜-尿苷、二氫假尿苷、5-甲氧基尿苷和2'-O-甲基尿苷。在一個實施例中，所述經修飾的核苷酸是甲基假尿苷，特別是1N-甲基假尿苷。在某些實施例中，核糖核酸分子中的每個尿苷被假尿苷，例如甲基假尿苷，如1N-甲基假尿苷替代。

【0112】 每種核糖核酸分子可以以有效誘發被投予所述組成物的受試者的免疫反應的量存在于本文公開的組成物中。在某些實施例中，每種核糖核酸分子可以以範圍為例如從約0.1 µg至約150 µg，如從約5 µg至約120 µg、從約10 µg至約60 µg或約15 µg至約45 µg的量存在于本文公開的疫苗或免疫原性組成物中。在某些實施例中，每種核糖核酸分子以足以編碼例如從約5 µg至約120 µg，如從約10 µg至約60 µg或約15 µg至約45 µg流感病毒HA的量存在於疫苗或免疫原性組成物中。

【0113】 為了穩定核酸和/或LNP（例如，為了延長疫苗產品的保質期），為了促進LNP醫藥組成物的投予，和/或為了增強核酸的體內表現，可以將核酸和/或LNP與一種或多種載體、靶向配體、穩定試劑（例如，防腐劑和抗氧化劑）和/或其他醫藥上可接受的賦形劑組合配製。此類賦形劑的例子是對羥基苯甲酸酯、硫柳汞（thimerosal）、硫柳汞鈉（thiomersal）、氯丁醇、苯紮氯銨、和螯合劑（例如，EDTA）。

【0114】 本公開文本的LNP組成物可以作為冷凍液體形式或凍幹形式提供。可以使用各種冷凍保護劑，包括而不限於蔗糖、海藻糖、葡萄糖、甘露醇、甘露糖、右旋糖等。一旦用冷凍保護劑配製，LNP組成物便可以在-20°C至-80°C°C下冷凍(或凍幹和冷凍保存)。可以將LNP組成物在水性緩衝溶液中提供給患者：如果先前冷凍，則解凍，或者如果先前凍幹，則在床邊在水性緩衝溶液中重構。緩衝溶液優選是等滲的，並且適用於例如肌內或皮內注射。在一些實施例中，緩衝溶液是磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）。

機器學習

【0115】 為了補充由當前可用的包含來自WHO每年選擇的四種護理標準流感病毒株的HA分子的四價疫苗提供的保護作用，本文公開的疫苗或免疫原性組成物和方法進一步包含具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0116】 在本文公開的實施例中，除來自護理標準流感病毒株的HA之外，疫苗或免疫原性組成物還可以包含如上文所公開的具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子。在某些實施例中，所述一種或多種機器學習HA可以選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0117】 本文公開的機器學習HA可以是任何形式的HA，包括存在於滅活

病毒中的HA、或重組HA、或本文公開的核糖核酸分子，包括編碼任何上述HA的HA核酸分子（例如，mRNA）。

【0118】 當選擇一種或多種機器學習流感病毒HA時，可以使用任何機器學習演算法。例如，本文設想了披露於以下文獻的任何機器學習演算法和方法：標題為用於設計疫苗的系統和方法（Systems and Methods for Designing Vaccines）的PCT申請號WO 2021/080990 A1、標題為用於預測生物反應的系統和方法（Systems and Methods for Predicting Biological Responses）的WO 2021/080999 A1、標題為用於疫苗產生的蛋白質設計中的機器學習技術（Machine-Learning Techniques in Protein Design for Vaccine Generation）的美國臨時申請號63/319,692、和標題為用於疫苗產生的蛋白質設計中的機器學習技術（Machine-Learning Techniques in Protein Design for Vaccine Generation）的美國臨時申請號63/319,700，將所有這些文獻通過引用以其整體併入本文。

【0119】 在某些實施例中，可以構建流感抗原性的預測性機器學習模型，允許預測動物模型和/或人類中的抗體力價。在某些實施例中，機器學習模型可以從訓練集的輸入資料中提取特徵值，這些特徵是被認為與輸入資料項目是否具有一種或多種相關特性潛在相關的變數。輸入資料的特徵的有序列表可以稱為輸入資料的特徵向量。在某些實施例中，所述機器學習模型應用降維（例如，經由線性判別分析（LDA）、主分量分析（PCA）、從神經網路學習的深度特徵等）來將輸入資料的特徵向量中的資料量減少到更小、更有代表性的資料集。

【0120】 然後可以鑒定要對抗的一組流感序列（例如，靶標毒株），並且構建選擇演算法。在某些實施例中，提供了一種用於設計疫苗的系統。所述系統包括一個或多個處理器。所述系統包括存儲可執行電腦指令的電腦存儲裝置，

其中當所述可執行電腦指令由所述一個或多個處理器執行時，使得所述一個或多個處理器執行一個或多個操作。所述一個或多個操作包括將多個驅動器模型應用於第一時間序列資料集，所述多個驅動器模型被配置為生成表示一個或多個分子序列的輸出資料，所述第一時間序列資料集指示：一個或多個分子序列，以及對於所述一個或多個分子序列中的每個，包括該分子序列作為天然抗原的致病株的流行的一個或多個時間。所述一個或多個操作包括對於所述多個驅動器模型中的每個，通過以下方式訓練所述驅動器模型：i) 從所述驅動器模型接收輸出資料，所述輸出資料表示基於所接收的第一時間序列資料集的一個或多個所預測分子序列；ii) 將平移模型應用於表示所預測的一個或多個分子序列的所述輸出資料，所述平移模型被配置為基於所述輸出資料的一個或多個所預測分子序列來預測關於多個平移軸線對分子序列的生物反應，以生成表示對應於所述多個平移軸線中特定平移軸線的一個或多個第一平移反應的第一平移反應資料；iii) 基於所述第一平移反應資料調整所述驅動器模型的一個或多個參數；以及iv) 重複步驟i-iii多次反覆運算，以生成表示對應於所述特定平移軸線的一個或多個經訓練平移反應的經訓練平移反應資料。所述一個或多個操作包括基於所述一個或多個經訓練平移反應選擇所述多個驅動器模型中的一組經訓練驅動器模型。所述一個或多個操作包括：對於所述組的經訓練驅動器模型中的每個經訓練驅動器模型，將所述經訓練驅動器模型應用於第二時間序列資料集，以生成表示針對特定季節的一個或多個所預測分子序列的經訓練輸出資料；將所述平移模型應用於最終輸出資料，以生成第二平移反應資料，所述第二平移反應資料表示關於所述多個平移軸線中的每個平移軸線的一個或多個第二平移反應；以及基於所述第二平移反應資料，選擇所述組的經訓練驅動器模型中的經訓練

驅動器模型的子集。

【0121】 所述多個驅動器模型中的至少一個可以包括遞迴神經網路。所述多個驅動器模型中的至少一個包括長短期記憶遞迴神經網路。

【0122】 表示基於所接收的第一時間序列資料集的一個或多個所預測分子序列的所述輸出資料可以包括表示多個致病季節中每個季節的抗原的輸出資料。表示多個致病季節中每個季節的抗原的所述輸出資料可以包括通過預測如下分子序列確定的抗原，所述分子序列將跨在特定季節流行的所有致病株生成最大化的合計生物反應。表示多個致病季節中每個季節的抗原的所述輸出資料可以包括通過預測如下分子序列確定的抗原，所述分子序列將生成將有效針對特定季節流行的最大數量的病毒免疫的反應。

【0123】 所述多個平移軸線可以包括以下中的至少一者：雪貂中和軸線、雪貂抗體鑑識（AF）軸線、雪貂血凝抑制測定（HAI）軸線、小鼠中和軸線、小鼠AF軸線、小鼠HAI軸線、人類中和軸線、人類複製品AF軸線、人類AF軸線或人類HAI軸線。反覆運算次數可以基於預定的反覆運算次數。反覆運算次數可以基於預定的誤差值。所述一個或多個第一平移反應可以包括以下中的至少一者：預測的雪貂HAI力價、預測的雪貂AF力價、預測的小鼠AF力價、預測的小鼠HAI力價、預測的人類複製品AF力價、預測的人類AF力價或預測的人類HAI力價。

【0124】 選擇所述多個驅動器模型中的所述組的經訓練驅動器模型可以包括將所述多個驅動器模型中的每個驅動器模型分配給一類驅動器模型，其中每個類與用於訓練該驅動器模型的多個平移軸線中的特定平移軸線相關聯。選擇所述多個驅動器模型中的所述組的經訓練驅動器模型可以包括，對於所述多

個驅動器模型中的每個驅動器模型，將該驅動器模型的一個或多個經訓練平移反應與分配給和該驅動器模型相同類的至少一個其他驅動器模型的一個或多個經訓練平移反應進行比較。

【0125】 所述操作可以進一步包括：對於所述經訓練驅動器模型的子集中的每個經訓練驅動器模型，通過將對應於該經訓練驅動器模型的第二平移反應資料與觀察到的實驗反應資料進行比較來驗證所述經訓練驅動器模型；以及回應於驗證該經訓練驅動器模型，生成疫苗，所述疫苗包括由對應於該經訓練驅動器模型的經訓練輸出資料表示的一個或多個分子序列。

【0126】 在一個態樣，提供了一種系統。所述系統包括包含電腦可執行指令的電腦可讀記憶體。所述系統包括至少一個處理器，所述至少一個處理器被配置為執行包括至少一個機器學習模型的可執行邏輯，所述至少一個機器學習模型被訓練來預測一個或多個分子序列，其中當所述至少一個處理器正在執行所述電腦可執行指令時，所述至少一個處理器被配置為執行一個或多個操作。所述一個或多個操作包括接收時間序列資料，所述時間序列資料指示：一個或多個分子序列，以及對於所述一個或多個分子序列中的每個，包括該分子序列作為天然抗原的致病株的流行的一個或多個時間。所述一個或多個操作包括：通過存儲在所述機器學習模型中包括的可執行邏輯的一個或多個部分的一個或多個資料結構來處理所述時間序列資料，以基於所述時間序列資料來預測一個或多個分子序列。

【0127】 基於所述時間序列資料預測一個或多個分子序列可以包括預測所預測的一個或多個分子序列將賦予的用於在未來時間使用的一種或多種免疫學特性。基於所述時間序列資料預測所述一個或多個分子序列可以包括預測如

下一個或多個分子序列，所述一個或多個分子序列將跨所述時間序列資料的所有致病株生成最大化的合計生物反應。基於所述時間序列資料預測所述一個或多個分子序列可以包括預測如下一個或多個分子序列，所述一個或多個分子序列將生成將有效覆蓋所述時間序列資料的最大數量致病株的生物反應。所預測的一個或多個分子序列能夠用於設計針對在所述時間序列資料的流行的一個或多個時間之後的時間期間流行的致病株的疫苗。

【0128】 機器學習模型可以包括遞迴神經網路。

【0129】 在某些實施例中，提供了一種用於預測生物反應的資料處理系統。所述系統包括包含電腦可執行指令的電腦可讀記憶體。所述系統包括至少一個處理器，所述至少一個處理器被配置為執行包括至少一個機器學習模型的可執行邏輯，所述至少一個機器學習模型被訓練來預測生物反應，其中當所述至少一個處理器正在執行所述電腦可執行指令時，所述至少一個處理器執行一個或多個操作。所述一個或多個操作包括接收第一分子序列的第一序列資料。所述一個或多個操作包括接收第二分子序列的第二序列資料。所述一個或多個操作包括至少部分地基於所接收的第一序列資料和第二序列資料預測對第二分子序列的生物反應。

【0130】 所述一個或多個操作可以包括接收對應于第一分子序列和第二分子序列的非人類生物反應資料。所述一個或多個操作可以包括預測生物反應進一步至少部分地基於非人類生物反應資料。所述一個或多個操作可以包括將第一序列資料和第二序列資料編碼為胺基酸錯配。

【0131】 第一分子序列可以包括候選抗原。第二分子序列可以包括已知的病毒株。

【0132】 預測生物反應可以包括預測人類生物反應。預測生物反應可以包括預測至少一種人類生物反應和至少一種非人類生物反應。生物反應可以包括抗體力價。機器學習模型可以包括深度神經網路。

【0133】 機器學習技術可以用於訓練機器學習模型來預測生物反應，使得減少假陽性和假陰性的發生率。與常規技術相比，所描述的系統和方法中的至少一些可以用於高效地處理固有稀疏的資料，例如通過減少資料的維度。所描述的系統和方法中的至少一些可以利用所接收的資料中的非線性關係來相對於傳統技術提高預測準確度。所描述的系統和方法中的至少一些可以用於同時預測人類生物反應和非人類生物反應。所描述的系統和方法中的至少一些可以用於預測實驗未觀察到的結局。

【0134】 在某些實施例中，一台或多台電腦的系統可以被配置為借助於將軟體、固件、硬體或其組合安裝在所述系統中來執行特定操作或動作，所述軟體、固件、硬體或其組合在運行時使系統執行所述動作。一個或多個電腦程式可以被配置為借助於包括指令來執行特定操作或動作，所述指令在由資料處理設備執行時使所述設備執行所述動作。一個一般態樣包括一種用於通過使用連續資料演算法製造疫苗的方法。所述方法包括接收可以包括多個第一離散值的離散資料物件，所述離散資料物件可以包括一種或多種胺基酸序列。所述方法還包括將所述離散資料物件轉換成連續資料物件，所述連續資料物件可以包括多個第一連續值。所述方法還包括向所述連續資料物件應用連續資料演算法以生成可以包括多個第二連續值的連續結果物件。所述方法還包括將所述連續結果物件轉換為可以包括多個第二離散值的離散結果物件。所述方法還包括製造疫苗，所述疫苗可以包括以下中的至少一種：i) 由所述離散結果物件定義的蛋白

質，ii) 能夠產生由所述離散結果物件定義的蛋白質的核酸，和iii) 能夠產生由所述離散結果物件定義的蛋白質的遞送載具。此態樣的其他實施例包括記錄在一個或多個電腦存儲裝置上的相應電腦系統、設備和電腦程式，各自均被配置為執行所述方法的動作。

【0135】 實現方式可以包括以下特徵中的一個或多個。在所述方法中所述一個或多個胺基酸序列可以包括：第一胺基酸序列和第二胺基酸序列，所述第一胺基酸序列和所述第二胺基酸序列中的每一個包括相應的單字母或相應的字母串。將離散資料物件轉換為連續資料物件可以包括：為每個第一離散值生成權重值的權重向量，每個權重值表示第一離散值代表特定胺基酸的可能性；為每個權重向量的每個權重值生成屬性值的屬性向量，每個屬性值表示特定胺基酸的物理化學屬性；以及將權重向量和屬性向量組合以創建連續資料物件的第一連續值。每個權重向量具有二十個權重值，每個權重值對應於二十個可能的胺基酸中的一個。將所述連續結果物件轉換成離散結果物件可以包括對於每個第二連續值確定相應的單個胺基酸，其中所確定的單個胺基酸形成多個第二離散值。所述方法可以進一步包括：生成多個候選離散結果物件；以及從所述多個候選離散結果物件中排除指定未通過可製造性測試的胺基酸的至少一個離散結果物件。應用連續資料演算法以生成連續結果物件可以包括以基於多個損失標準確定損失值的損失函數應用梯度下降，所述損失函數可以包括：基於在兩個胺基酸序列情況下的免疫反應的第一損失標準；第二損失標準，其修改在野生型序列的資料集中未找到的子序列或未預測為正確折疊的子序列的損失值；以及第三損失標準，其對於每個權重向量基於第二連續值中的最大值修改損失值。所描述的技術的實施方式可以包括電腦可訪問介質上的硬體、方法或過程、

或電腦軟體。

【0136】 一個一般態樣包括用於生成胺基酸序列的系統，所述系統可以包括電腦記憶體。所述系統還可以包括一個或多個處理器。所述系統還可以包括存儲指令的電腦記憶體，所述指令在由處理器執行時使所述處理器執行操作，所述操作可以包括：接收包含多個第一離散值的離散資料物件，所述離散資料物件包含一個或多個胺基酸序列；將所述離散資料物件轉換為包含多個第一連續值的連續資料物件；將連續資料演算法應用於所述連續資料物件以生成包含多個第二連續值的連續結果對象；將所述連續結果對象轉換為包含多個第二離散值的離散結果對象；以及製造疫苗，所述疫苗包含以下中的至少一種：i) 由所述離散結果物件定義的蛋白質，ii) 能夠產生由所述離散結果物件定義的蛋白質的核酸，和iii) 能夠產生由所述離散結果物件定義的蛋白質的遞送載具。此態樣的其他實施例包括記錄在一個或多個電腦存儲裝置上的相應電腦系統、設備和電腦程式，各自均被配置為執行所述方法的動作。

【0137】 實現方式可以包括以下特徵中的一個或多個。在一個實施例中，存在這樣一種系統，在所述系統中所述一個或多個胺基酸序列可以包括：第一胺基酸序列和第二胺基酸序列，所述第一胺基酸序列和所述第二胺基酸序列中的每一個包括相應的單字母或相應的字母串。將離散資料物件轉換為連續資料物件可以包括：為每個第一離散值生成權重值的權重向量，每個權重值表示第一離散值代表特定胺基酸的可能性；為每個權重向量的每個權重值生成屬性值的屬性向量，每個屬性值表示特定胺基酸的物理化學屬性；以及將權重向量和屬性向量組合以創建連續資料物件的第一連續值。每個權重向量具有二十個權重值，每個權重值對應於二十個可能的胺基酸中的一個。將所述連續結果物件

轉換成離散結果物件可以包括對於每個第二連續值確定相應的單個胺基酸，其中所確定的單個胺基酸形成多個第二離散值。所述操作可以進一步包括：生成多個候選離散結果物件；以及從所述多個候選離散結果物件中排除指定未通過可製造性測試的胺基酸的至少一個離散結果物件。應用連續資料演算法以生成連續結果物件可以包括以基於多個損失標準確定損失值的損失函數應用梯度下降，其中所述損失函數可以包括：基於在兩個胺基酸序列情況下的免疫反應的第一損失標準；第二損失標準，其修改在野生型序列的資料集中未找到的子序列或未預測為正確折疊的子序列的損失值；以及第三損失標準，其對於每個權重向量基於第二連續值中的最大值修改損失值。所描述的技術的實施方式可以包括電腦可訪問介質上的硬體、方法或過程、或電腦軟體。

【0138】 一個一般態樣包括存儲指令的非暫時性電腦可讀介質，所述指令在由一個或多個處理器執行時使所述一個或多個處理器執行操作，所述操作可以包括：接收包含多個第一離散值的離散資料物件，所述離散資料物件包含一個或多個胺基酸序列；將所述離散資料物件轉換為包含多個第一連續值的連續資料物件；將連續資料演算法應用於所述連續資料物件以生成包含多個第二連續值的連續結果對象；將所述連續結果對象轉換為包含多個第二離散值的離散結果對象；以及製造疫苗，所述疫苗包含以下中的至少一種：i) 由所述離散結果物件定義的蛋白質，ii) 能夠產生由所述離散結果物件定義的蛋白質的核酸，和iii) 能夠產生由所述離散結果物件定義的蛋白質的遞送載具。此態樣的其他實施例包括記錄在一個或多個電腦存儲裝置上的相應電腦系統、設備和電腦程式，各自均被配置為執行所述方法的動作。

【0139】 實現方式可以包括以下特徵中的一個或多個。在所述介質中所述

一個或多個胺基酸序列可以包括：第一胺基酸序列和第二胺基酸序列，所述第一胺基酸序列和所述第二胺基酸序列中的每一個包括相應的單字母或相應的字母串。將離散資料物件轉換為連續資料物件可以包括：為每個第一離散值生成權重值的權重向量，每個權重值表示第一離散值代表特定胺基酸的可能性；為每個權重向量的每個權重值生成屬性值的屬性向量，每個屬性值表示特定胺基酸的物理化學屬性；以及將權重向量和屬性向量組合以創建連續資料物件的第一連續值。每個權重向量具有二十個權重值，每個權重值對應於二十個可能的胺基酸中的一個。將所述連續結果物件轉換成離散結果物件可以包括對於每個第二連續值確定相應的單個胺基酸，其中所確定的單個胺基酸形成多個第二離散值。所描述的技術的實施方式可以包括電腦可訪問介質上的硬體、方法或過程、或電腦軟體。

【0140】 在某些實施例中，本文公開了一種可以產生用作疫苗的流感抗原的演算法。在一個實施方式中，這可以包括：1) 通過機器學習（例如，變分自動編碼器體系結構）使用以下兩個步驟為所有野生型血球凝集素序列生成降維空間：

- a) 可變地嵌入到約減空間中，例如，模型預測輸入序列的平均值和方差，其中嵌入座標選自具有預測平均值和方差的正態分佈；以及
- b) 然後執行從約減空間位置“自動編碼器”損失函數解碼回原始序列，減少輸入和輸出序列的相似性。

【0141】 2) 基於抗原（候選疫苗）和讀出毒株（readout strain）（靶序列）在降維空間中的位置訓練免疫反應預測模型 [輸入：由步驟1的模型嵌入的抗原和讀出，輸出：免疫反應的測量，如抗體力價]。

【0142】 3) 從約減空間對候選疫苗組分代表物進行取樣，使用步驟2中描述的模型通過預測的針對靶序列性能對候選疫苗組分代表物進行排名，並鑒定頂部候選物。

【0143】 4) 將頂部候選代表物解碼 [使用來自步驟1b的模型]，以發出在原始野生型集中觀察到或沒有觀察到的血球凝集素序列。

【0144】 一台或多台電腦的系統可以被配置為借助於將軟體、固件、硬體或其組合安裝在所述系統中來執行特定操作或動作，所述軟體、固件、硬體或其組合在運行時使系統執行所述動作。一個或多個電腦程式可以被配置為借助於包括指令來執行特定操作或動作，所述指令在由資料處理設備執行時使所述設備執行所述動作。一個一般態樣包括用於生成胺基酸序列的降維方法，所述方法由一個或多個電腦的系統執行。所述方法包括接收定義多個野生型胺基酸序列的一個或多個資料物件。所述方法還包括從所述一個或多個資料物件生成降維空間中的多個降維序列，在所述降維空間中：每個降維序列含有所述野生型胺基酸序列中的至少一個的相應資料，所述降維空間具有比所述野生型胺基酸序列更低的維度，並且所述多個降維序列定義了沿著所述降維空間的每個維度的值的分佈。所述方法還包括使用所述多個降維序列在所述降維空間中生成多個候選序列。所述方法還包括接收定義病毒胺基酸序列的一個或多個資料物件。所述方法還包括在所述降維空間中生成至少一個降維病毒序列。所述方法還包括提供所述候選序列中的每一個和所述降維病毒序列中的至少一個作為力價預測器的輸入。所述方法還包括接收每個候選序列的候選物得分作為從力價預測器的輸出。所述方法還包括從所述候選序列中選擇至少一個候選序列。所述方法還包括為每個選定的候選序列生成至少一個新的胺基酸序列。所述方法

還包括提供所生成的至少一個胺基酸序列。所述方法還包括其中所生成的胺基酸序列中的每一個適合於製造相應疫苗的操作，所述相應疫苗可以包括以下中的至少一種：i) 由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質，ii) 能夠產生由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質的核酸，和iii) 能夠產生由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質的遞送載具。此態樣的其他實施例包括記錄在一個或多個電腦存儲裝置上的相應電腦系統、設備和電腦程式，各自均被配置為執行所述方法的動作。

【0145】 實現方式可以包括以下特徵中的一個或多個。所述方法包括如下操作，在所述操作中生成多個降維序列可以包括使用預測輸入資料的平均值和方差值的變分自動編碼器來創建野生型胺基酸序列的代表。每個降維序列包括相應的一組值，並且在降維空間中生成多個候選序列可以包括對多個降維序列的值的分佈進行取樣。力價預測器被配置為：接收i) 降維空間中的第一序列和ii) 降維空間中的第二序列作為輸入；以及提供力價得分作為候選物得分作為輸出，所述力價得分定義了第一序列與第二序列之間的生物反應的量度。選擇所述至少一個候選序列作為選定的候選序列可以包括選擇具有最高候選物得分的n個候選序列。所述方法包括其中n是1的值的操作，從而選擇單個候選序列。所述方法包括其中n是大於1的值的操作，從而選擇多個候選序列。選擇所述至少一個候選序列作為選定的候選序列可以包括選擇具有大於閾值的相應候選物得分的候選序列。每個生成的胺基酸序列均不同於任何野生型胺基酸序列。所述候選序列中的至少一個在所述多個降維序列中。所描述的技術的實施方式可以包括電腦可訪問介質上的硬體、方法或過程、或電腦軟體。

【0146】 一個一般態樣包括用於生成胺基酸序列的系統，所述系統可以包括電腦記憶體。所述系統還包括一個或多個處理器。所述系統還包括存儲指令

的電腦記憶體，所述指令在由處理器執行時使所述處理器執行操作，所述操作可以包括：接收定義多個野生型胺基酸序列的一個或多個資料物件；從所述一個或多個資料物件生成降維空間中的多個降維序列，其中：每個降維序列含有所述野生型胺基酸序列中的至少一個的對應資料，所述降維空間具有比所述野生型胺基酸序列更低的維度，並且所述多個降維序列定義沿著所述降維空間的每個維度的值的分佈，使用所述多個降維序列在所述降維空間中生成多個候選序列；接收定義病毒胺基酸序列的一個或多個資料物件；在所述降維空間中生成至少一個降維病毒序列；提供所述候選序列中的每一個和所述降維病毒序列中的至少一個作為力價預測器的輸入；接收每個候選序列的候選物得分作為從力價預測器的輸出；從所述候選序列中選擇至少一個候選序列；為每個選定的候選序列生成至少一個新的胺基酸序列；以及提供所生成的至少一個胺基酸序列，其中所生成的胺基酸序列中的每一個均適合於製造相應疫苗，所述相應疫苗包含以下中的至少一種：i) 由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質，ii) 能夠產生由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質的核酸，和iii) 能夠產生由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質的遞送載具。此態樣的其他實施例包括記錄在一個或多個電腦存儲裝置上的相應電腦系統、設備和電腦程式，各自均被配置為執行所述方法的動作。

【0147】 實現方式可以包括以下特徵中的一個或多個。在系統中，生成多個降維序列可以包括使用預測輸入資料的平均值和方差值的變分自動編碼器來創建野生型胺基酸序列的代表。每個降維序列包括相應的一組值，並且在降維空間中生成多個候選序列可以包括對多個降維序列的值的分佈進行取樣。力價預測器被配置為：接收i) 降維空間中的第一序列和ii) 降維空間中的第二序列作

為輸入；以及提供力價得分作為候選物得分作為輸出，所述力價得分定義了第一序列與第二序列之間的生物反應的量度。選擇所述至少一個候選序列作為選定的候選序列可以包括選擇具有最高候選物得分的 n 個候選序列。所描述的技術的實施方式可以包括電腦可訪問介質上的硬體、方法或過程、或電腦軟體。

【0148】 一個一般態樣包括存儲指令的非暫時性電腦可讀介質，所述指令在由一個或多個處理器執行時使所述一個或多個處理器執行操作，所述操作包括：接收定義多個野生型胺基酸序列的一個或多個資料物件；從所述一個或多個資料物件生成降維空間中的多個降維序列，其中：每個降維序列含有所述野生型胺基酸序列中的至少一個的對應資料，所述降維空間具有比所述野生型胺基酸序列更低的維度，並且所述多個降維序列定義沿著所述降維空間的每個維度的值的分佈，使用所述多個降維序列在所述降維空間中生成多個候選序列；接收定義病毒胺基酸序列的一個或多個資料物件；在所述降維空間中生成至少一個降維病毒序列；提供所述候選序列中的每一個和所述降維病毒序列中的至少一個作為力價預測器的輸入；接收每個候選序列的候選物得分作為從力價預測器的輸出；從所述候選序列中選擇至少一個候選序列；為每個選定的候選序列生成至少一個新的胺基酸序列；以及提供所生成的至少一個胺基酸序列，其中所生成的胺基酸序列中的每一個均適合於製造相應疫苗，所述相應疫苗包含以下中的至少一種：i) 由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質，ii) 能夠產生由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質的核酸，和iii) 能夠產生由所生成的胺基酸序列定義的蛋白質的遞送載具。此態樣的其他實施例包括記錄在一個或多個電腦存儲裝置上的相應電腦系統、設備和電腦程式，各自均被配置為執行所述方法的動作。

【0149】 實現方式可以包括以下特徵中的一個或多個。在介質中，生成多個降維序列可以包括使用預測輸入資料的平均值和方差值的變分自動編碼器來創建野生型胺基酸序列的代表。每個降維序列包括相應的一組值，並且在降維空間中生成多個候選序列可以包括對多個降維序列的值的分佈進行取樣。力價預測器被配置為：接收i) 降維空間中的第一序列和ii) 降維空間中的第二序列作為輸入；以及提供力價得分作為候選物得分作為輸出，所述力價得分定義了第一序列與第二序列之間的生物反應的量度。所描述的技術的實施方式可以包括電腦可訪問介質上的硬體、方法或過程、或電腦軟體。

【0150】 這些和其他態樣、特徵和實現方式可以被表現為方法、設備、系統、部件、程式產品、執行交易的方法、用於執行功能的手段或步驟，以及其他方式，並且將從包括申請專利範圍在內的以下描述中變得清楚。

【0151】 本公開文本的實現方式可以提供以下優點。與傳統技術相比，可以為未來的致病季節設計疫苗，以在對該未來致病季節的至少一個致病株的生物反應量方面提供更多保護。與傳統技術相比，可以為未來的致病季節設計疫苗，以在有效覆蓋該未來致病季節的多種致病株的廣度方面提供更多保護（也就是說，在未來的致病季節引發對多種致病株的有效免疫反應）。與傳統技術不同，可以對很少觀察到的毒株（其可能提供“更多的保護”，因為它們與經常觀察到的毒株相比與更多的毒株發生交叉反應）進行評估，並且可以預測它們的疫苗接種有效性。

測量生物反應的方法

【0152】 本文公開的疫苗或免疫原性組成物當被投予於受試者時誘發生

物反應（例如，免疫反應）。這些生物反應可用於比較疫苗或免疫原性組成物，並且確定例如所述疫苗或免疫原性組成物相對於沒有一種或多種機器學習HA的疫苗或免疫原性組成物，是否增強或擴寬免疫反應。

【0153】 可以用於測量生物反應的一種示例性測定是血凝抑制測定（HAI）。HAI應用如下血凝過程，其中紅細胞（RBC）表面上的唾液酸受體與流感病毒（和幾種其他病毒）表面上存在的血球凝集素糖蛋白結合，並且創建相互連接的RBC和病毒顆粒的網路或晶格結構，稱為血凝，其以濃度依賴性方式發生在病毒顆粒上。這是一種物理測量，作為病毒結合體內病原體靶向細胞上的類似唾液酸受體的能力的替代。在人類或動物中對另一種病毒（可能與測定中用於結合RBC的病毒在遺傳上相似或不同）的免疫反應中產生的抗病毒抗體的引入會干擾病毒-RBC相互作用，並且改變病毒濃度，足以改變在測定中觀察到血凝時的濃度。HAI的一個目標可以是表徵抗血清或其他含有抗體的樣品中抗體的濃度，這與它們在測定中抑制血凝的能力有關。防止血凝的抗體的最高稀釋度稱為HAI力價（即測量的反應）。

【0154】 另一個測量生物反應的方法是測量由人類或動物免疫反應引發的潛在的更大組的抗體，所述潛在的更大組的抗體不一定能夠影響HAI測定中的血凝。為此，一種常見的方法是利用酶聯免疫吸附測定（ELISA）技術，其中將病毒抗原（例如血球凝集素）固定在固體表面，然後允許來自抗血清中的抗體與抗原結合。讀出測量外源酶對底物的催化作用，所述底物與來自抗血清的抗體或自身與抗血清的抗體結合的其他抗體複合。對底物的催化作用產生可易於檢測的產物。這種體外測定有許多變型。一種這樣的變型稱為抗體鑑識（AF）；這是一種多重珠陣列技術，允許同時針對許多抗原測量單個血清樣品。與HAI

力價相比，這些測量表徵了濃度和總抗體識別，HAI力價被認為更具體地與對血球凝集素分子和唾液酸結合的干擾有關。因此，抗血清的抗體在一些情況下可能具有與一種病毒的血球凝集素分子（相對於另一種病毒的血球凝集素分子）的對應HAI力價相比成比例更高或更低的測量值；換句話說，AF和HAI這兩個測量值通常不是線性相關的。

【0155】 測量體液免疫反應的另一種方法包括病毒中和測定（例如，微量中和測定），其中通過在將病毒與抗體/血清樣品的連續稀釋物一起培育後，在容許的所培養細胞中噬斑、病灶和/或螢光信號的減少（取決於具體的中和測定技術）來測量抗體力價。

疫苗或免疫原性組成物

【0156】 本公開文本提供了一種多價疫苗或免疫原性組成物，所述多價疫苗或免疫原性組成物包含來自護理標準流感病毒株的流感病毒HA（例如，來自至少三種或至少四種護理標準流感毒株的HA），或編碼所述來自護理標準流感毒株的流感病毒HA的核糖核酸分子，和具有由機器學習模型鑒定或設計的分序列的一種或多種流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子。

【0157】 在某些態樣，本文公開了一種疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含：

(a) 第一流感病毒血球凝集素（HA），其中所述第一流感病毒HA是來自第一護理標準流感病毒株的H1 HA，或編碼所述第一流感病毒H1 HA的第一核糖核酸分子；

(b) 第二流感病毒HA，其中所述第二流感病毒HA是來自第二護理標準流感病毒株的H3 HA，或編碼所述第二流感病毒H3 HA的第二核糖核酸分子；

(c) 第三流感病毒HA，其中所述第三流感病毒HA來自來自所述B/維多利亞譜系的第三護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/維多利亞譜系的第三流感病毒HA的第三核糖核酸分子；

(d) 第四流感病毒HA，其中所述第四流感病毒HA來自來自所述B/山形譜系的第四護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/山形譜系的第四流感病毒HA的第四核糖核酸分子；和

(e) 具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0158】 在本文公開的疫苗或免疫原性組成物的某些實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中所述第五流感H3 HA與所述第二流感H3 HA在抗原性方面不相似。在某些實施例中，所述第五流感H3 HA與所述第二流感H3 HA在抗原性方面相似。在某些實施例中，所述第五流感H3 HA增強或擴寬了由所述第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應。在某些實施例中，所述第五流感H3 HA來自與所述第二流感H3 HA相比不同的進化支，並且在某些實施例中，所述第五流感H3 HA來自與所述第二流感H3 HA相比相同的進化支。在某些實施例中，所述第五H3 HA來自3C.2A進化支，並且在某些實施例中，所述第五H3 HA來自3C.3A進化支。在某些實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含兩種或更多種H3

HA，如2、3或4種H3 HA。

【0159】 在本文公開的疫苗或免疫原性組成物的某些另外的實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中所述第五流感H1 HA與所述第一流感H1 HA在抗原性方面不相似。在某些實施例中，所述第五流感H1 HA與所述第一流感H1 HA在抗原性方面相似。在某些實施例中，所述第五流感H1 HA增強或擴寬了由所述第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應。在某些實施例中，所述第五流感H1 HA來自與所述第一流感H1 HA相比不同的進化支，並且在某些實施例中，所述第五H1 HA來自與所述第一流感H1 HA相比相同的進化支。在某些實施例中，所述H1 HA來自6B.1進化支，並且在某些實施例中，所述H1 HA來自6B.1A子進化支。在某些實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含兩種或更多種H1 HA，如2、3或4種H1 HA。

【0160】 在本文公開的疫苗或免疫原性組成物的某些另外的實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA是來自B/維多利亞譜系的第五流感病毒HA，並且其中所述第五流感與所述第三流感病毒HA在抗原性方面不相似。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA與所述第三流感病毒HA在抗原性方面相似。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA增強或擴寬了由所述第三流感病毒HA誘發的保護性免疫反應。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自與所述第三流感病毒HA相比不同的進化支，並且在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自與所述第三流感病毒HA相比相同的進化支。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自B/維多利亞的V1A進化支，並且在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自B/維多利亞的V1A.1子進化支、V1A.2子進化支或V1A.3子進化支。在某些

實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含兩種或更多種來自B/維多利亞譜系的HA，如2、3或4種來自B/維多利亞譜系的HA。

【0161】 在本文公開的疫苗或免疫原性組成物的某些另外的實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA是來自B/山形譜系的第五流感病毒HA，並且其中所述第五流感與所述第四流感病毒HA在抗原性方面不相似。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA與所述第四流感病毒HA在抗原性方面相似。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA增強或擴寬了由所述第四流感病毒HA誘發的保護性免疫反應。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自與所述第四流感病毒HA相比不同的進化支，並且在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自與所述第四流感病毒HA相比相同的進化支。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自B/山形的Y1進化支，並且在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自B/山形的Y2進化支。在某些實施例中，所述第五流感病毒HA來自B/山形的Y3進化支。在某些實施例中，所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含兩種或更多種來自B/山形譜系的HA，如2、3或4種來自B/山形譜系的HA。

【0162】 在本公開文本的某些態樣中，所述疫苗或免疫原性組成物包含第六流感病毒HA，其中所述第六流感病毒HA是具有由機器學習模型鑒定或設計的分序列的H1 HA或H3 HA，或編碼所述第六流感病毒HA的核酸分子。

【0163】 在某些實施例中，所述第六流感是H1 HA並且與所述第一流感H1 HA在抗原性方面不相似，增強或擴寬了由所述第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，來自與所述第一流感H1 HA相比不同的進化支，來自與所述第一流感H1 HA相比相同的進化支，或與所述第一流感H1 HA在抗原性方面相似。在某些實施例中，所述第六流感是H3 HA並且與第二流感H3 HA在抗原性方面不相似，

增強或擴寬了由第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應，來自與第二流感H3 HA相比不同的進化支，來自與第二流感H3 HA相比相同的進化支，或與所述第二流感H3 HA在抗原性方面相似。

【0164】 在本文公開的疫苗或免疫原性組成物的某些實施例中，所述第一流感病毒HA是來自H1N1流感病毒株的H1 HA，並且所述第二流感病毒HA是來自H3N2流感病毒株的H3 HA。

【0165】 多價疫苗或免疫原性組成物中的一種或多種HA可以是重組HA並且可以單獨或與其他重組HA抗原組合(包括與來自護理標準流感病毒株的HA和/或機器學習HA組合)配製和包裝。在某些實施例中，將所述重組HA與一種、兩種或三種另外的重組HA抗原(如來自護理標準流感病毒株的一種、兩種或三種另外的重組抗原)一起配製。在某些實施例中，將所述重組HA與三種另外的重組HA抗原一起配製以產生四價疫苗或免疫原性組成物。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以含有來自護理標準流感病毒株的四種重組抗原和一種或多種(如一種、兩種、三種或四種)機器學習流感病毒HA。

【0166】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含重組H3 HA、重組H1 HA、來自B/維多利亞譜系的重組HA、來自B/山形譜系的重組HA和重組機器學習H3 HA。

【0167】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含重組H3 HA、重組H1 HA、來自B/維多利亞譜系的重組HA、來自B/山形譜系的重組HA和重組機器學習H1 HA。

【0168】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含重組H3 HA、重組H1 HA、來自B/維多利亞譜系的重組HA、來自B/山形譜系的重組HA、

重組機器學習H3 HA和重組機器學習H1 HA。

【0169】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含重組H3 HA、重組H1 HA、來自B/維多利亞譜系的重組HA、來自B/山形譜系的重組HA、重組機器學習H3 HA、重組機器學習H1 HA和來自B/維多利亞譜系的重組機器學習HA。

【0170】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含重組H3 HA、重組H1 HA、來自B/維多利亞譜系的重組HA、來自B/山形譜系的重組HA、重組機器學習H3 HA、重組機器學習H1 HA和來自B/山形譜系的重組機器學習HA。

【0171】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含重組H3 HA、重組H1 HA、來自B/維多利亞譜系的重組HA、來自B/山形譜系的重組HA、重組機器學習H3 HA、重組機器學習H1 HA、來自B/維多利亞譜系的重組機器學習HA和來自B/山形譜系的重組機器學習HA。

【0172】 在其中所述疫苗或免疫原性組成物包含重組HA的任一實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物中的一種或多種重組HA可以被存在於滅活流感病毒中的一種或多種HA替代或被編碼所述流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子替代。例如，在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含滅活流感病毒H3 HA、滅活流感病毒H1 HA、來自B/維多利亞譜系的滅活流感病毒HA、來自B/山形譜系的滅活流感病毒HA、和重組機器學習H3 HA，或編碼機器學習流感病毒H3 HA的核糖核酸。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含編碼流感病毒H3 HA的核糖核酸、編碼流感病毒H1 HA的核糖核酸、編碼來自B/維多利亞譜系的流感病毒HA的核糖核酸、編碼來自B/山形譜系的流感病毒

HA的核糖核酸、和重組機器學習H3 HA，或編碼機器學習流感病毒H3 HA的核糖核酸。

【0173】 所述多價疫苗或免疫原性組成物中的HA的一種或多種可以存在於滅活流感病毒中，如本文所公開的，並且可以單獨或與其他HA（包括與來自護理標準流感病毒株的HA和/或機器學習HA（包括重組HA）、存在於滅活流感病毒中的其他HA組合），或編碼所述HA的核糖核酸組合配製和包裝。

【0174】 在某些實施例中，將存在於滅活流感病毒中的HA與存在於滅活流感病毒中的一種、兩種或三種另外的HA（如來自護理標準流感病毒株的一種、兩種或三種另外的HA）一起配製。在某些實施例中，將存在於滅活流感病毒中的HA與存在於滅活流感病毒中的三種另外的HA一起配製，以產生四價疫苗或免疫原性組成物。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以含有存在於來自護理標準流感病毒株的滅活流感病毒中的四種HA和一種或多種（如一種、兩種、三種或四種）機器學習流感病毒HA。

【0175】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含H3 HA、H1 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA和機器學習H3 HA，其中所述組成物中的每種HA存在於滅活流感病毒中。

【0176】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含H3 HA、H1 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA和機器學習H1 HA，其中所述組成物中的每種HA存在於滅活流感病毒中。

【0177】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含H3 HA、H1 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA、機器學習H3 HA和機器學習H1 HA，其中所述組成物中的每種HA存在於滅活流感病毒中。

【0178】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含H3 HA、H1 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA、機器學習H3 HA、機器學習H1 HA和來自B/維多利亞譜系的機器學習HA，其中所述組成物中的每種HA存在於滅活流感病毒中。

【0179】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含H3 HA、H1 HA、來自B/維多利亞譜系的HA抗原、來自B/山形譜系的HA、機器學習H3 HA、機器學習H1 HA和來自B/山形譜系的機器學習HA，其中所述組成物中的每種HA存在於滅活流感病毒中。

【0180】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物可以包含H3 HA、H1 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA、機器學習H3 HA、機器學習H1 HA、來自B/維多利亞譜系的機器學習HA和來自B/山形譜系的機器學習HA，其中所述組成物中的每種HA存在於滅活流感病毒中。

【0181】 在其中所述疫苗或免疫原性組成物包含存在於滅活流感病毒中的HA的任一實施例中，存在於滅活流感病毒中的HA中的一種或多種可以被一種或多種重組HA替代或被編碼所述流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子替代。

【0182】 每種重組HA可以以有效誘發被投予所述組成物的受試者的免疫反應的量存在于本文公開的組成物中。在某些實施例中，每種重組HA可以以範圍為例如從約5 μ g至約120 μ g，如從約10 μ g至約60 μ g、或約15 μ g至約45 μ g的量存在于本文公開的疫苗或免疫原性組成物中。在某些實施例中，每種重組HA以約5 μ g、約10 μ g、約15 μ g、約20 μ g、約25 μ g、約30 μ g、約35 μ g、約40 μ g、約45 μ g、約50 μ g、約55 μ g或約60 μ g的量存在于本文公開的疫苗或免疫原性組

成物中。

【0183】 編碼HA的核糖核酸分子可以各自以範圍為例如從約5 μg 至約120 μg ，如從約10 μg 至約60 μg 、或約15 μg 至約45 μg 的量存在于本文公開的疫苗或免疫原性組成物中。在某些實施例中，編碼HA的核糖核酸分子以約5 μg 、約10 μg 、約15 μg 、約20 μg 、約25 μg 、約30 μg 、約35 μg 、約40 μg 、約45 μg 、約50 μg 、約55 μg 、約60 μg 、約65 μg 、約70 μg 、約75 μg 、約80 μg 、約85 μg 、約90 μg 、約95 μg 或約100 μg 的量存在于本文公開的疫苗或免疫原性組成物中。

【0184】 存在於滅活病毒中的每種HA可以以有效誘發被投予所述組成物的受試者的免疫反應的量存在于本文公開的組成物中。在某些實施例中，存在於滅活病毒中的每種HA可以以範圍為例如從約5 μg 至約120 μg ，如從約10 μg 至約100 μg 、約10 μg 至約60 μg 、或約15 μg 至約45 μg 的量存在于本文公開的疫苗或免疫原性組成物中。在某些實施例中，存在於滅活病毒中的每種HA以約5 μg 、約10 μg 、約15 μg 、約20 μg 、約25 μg 、約30 μg 、約35 μg 、約40 μg 、約45 μg 、約50 μg 、約55 μg 、約60 μg 、約65 μg 、約70 μg 、約75 μg 、約80 μg 、約85 μg 、約90 μg 、約95 μg 或約100 μg 的量存在于本文公開的疫苗或免疫原性組成物中。

【0185】 本文進一步公開了一種疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含：

(a) 第一流感病毒HA，其中所述第一流感病毒HA是來自第一護理標準流感病毒株的H1 HA，或編碼所述第一流感病毒H1 HA的第一核糖核酸分子；

(b) 第二流感病毒HA，其中所述第二流感病毒HA來自來自所述B/維多利亞譜系的第二護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/維多利亞譜系的第二流感病毒HA的第二核糖核酸分子；

(c) 第三流感病毒HA，其中所述第三流感病毒HA來自來自所述B/山形譜系的第三護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/山形譜系的第三流感病毒HA的第三核糖核酸分子；和

(d) 第四流感病毒HA，其中所述第四流感病毒HA是具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的機器學習流感病毒H3 HA，或編碼所述機器學習流感病毒H3 HA的一種或多種核糖核酸分子。

【0186】 本文進一步公開了一種疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含：

(a) 第一流感病毒HA，其中所述第一流感病毒HA是來自第一護理標準流感病毒株的H3 HA，或編碼所述第一流感病毒H3 HA的第一核糖核酸分子；

(b) 第二流感病毒HA，其中所述第二流感病毒HA來自來自所述B/維多利亞譜系的第二護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/維多利亞譜系的第二流感病毒HA的第二核糖核酸分子；

(c) 第三流感病毒HA，其中所述第三流感病毒HA來自來自所述B/山形譜系的第三護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/山形譜系的第三流感病毒HA的第三核糖核酸分子；和

(d) 第四流感病毒HA，其中所述第四流感病毒HA是具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的機器學習流感病毒H1 HA，或編碼所述機器學習流感病毒H1 HA的一種或多種核糖核酸分子。

【0187】 在某些實施例中，本文公開的疫苗或免疫原性組成物進一步包含另外的流感病毒H1 HA和另外的流感病毒H3 HA、來自B/維多利亞譜系的流感病毒HA、和/或來自B/山形譜系的流感病毒HA，其中每種另外的HA具有由機器學

習模型鑒定或設計的分子序列；或編碼所述另外的機器學習流感病毒HA的核糖核酸分子。

【0188】 在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物是四價HA疫苗。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物是五價HA疫苗。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物是六價HA疫苗。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物是七價HA疫苗。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物是八價HA疫苗。在某些實施例中，所述疫苗或免疫原性組成物是包含多於8種不同的HA分子的多價疫苗或免疫原性組成物。

【0189】 所述疫苗或免疫原性組成物還可以進一步包含佐劑。佐劑可以包括其上吸附有抗原的礦物質（明礬、鋁鹽，包括例如氫氧化鋁/羥基氧化鋁（ AlOOH ）、磷酸鋁（ AlPO_4 ）、羥基磷酸硫酸鋁（AAHS）和/或硫酸鋁鉀）的懸浮液；或其中抗原溶液在礦物油中乳化的油包水乳液（例如，弗氏不完全佐劑），有時會包含殺死的分枝桿菌（弗氏完全佐劑）以進一步增強抗原性。免疫刺激寡核苷酸（如，包括CpG基序的那些）也可以用作佐劑（例如，參見美國專利號6,194,388；6,207,646；6,214,806；6,218,371；6,239,116；6,339,068；6,406,705；和6,429,199）。佐劑還包括生物分子，如脂質和共刺激分子。示例性生物佐劑包括AS04（Didierlaurent, A.M.等人, *J. Immunol.*, 2009, 183: 6186-6197）、IL-2、RANTES、GM-CSF、TNF- α 、IFN- γ 、G-CSF、LFA-3、CD72、B7-1、B7-2、OX-40L和41 BBL。

【0190】 在某些實施例中，所述佐劑是基於鯊烯的佐劑，其包含至少含有以下的水包油佐劑乳液：鯊烯、水性溶劑、聚氧乙烯烷基醚親水性非離子表面活性劑和疏水性非離子表面活性劑。在某些實施例中，所述乳液是熱可逆的，

視情況地其中油滴的按體積計90%的群體具有小於200 nm的大小。

【0191】 在某些實施例中，所述聚氧乙烯烷基醚具有式 $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_x-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ ，其中n是從10至60的整數，並且x是從11至17的整數。在某些實施例中，所述聚氧乙烯烷基醚表面活性劑是聚氧乙烯(12)十六烷十八烷基醚。

【0192】 在某些實施例中，油滴的按體積計90%的群體具有小於160 nm的大小。在某些實施例中，油滴的按體積計90%的群體具有小於150 nm的大小。在某些實施例中，油滴的按體積計50%的群體具有小於100 nm的大小。在某些實施例中，油滴的按體積計50%的群體具有小於90 nm的大小。

【0193】 在某些實施例中，所述佐劑進一步包含至少一種糖醇，包括但不限於甘油、赤蘚糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇。

【0194】 在某些實施例中，所述親水性非離子表面活性劑的親水/親脂平衡值（HLB）大於或等於10。在某些實施例中，所述疏水性非離子表面活性劑的HLB小於9。在某些實施例中，所述親水性非離子表面活性劑的HLB大於或等於10，並且所述疏水性非離子表面活性劑的HLB小於9。

【0195】 在某些實施例中，所述疏水性非離子表面活性劑是脫水山梨糖醇酯（如脫水山梨糖醇單油酸酯）或脫水甘露糖醇酯表面活性劑。在某些實施例中，鯊烯的量在5%與45%之間。在某些實施例中，聚氧乙烯烷基醚表面活性劑的量在0.9%與9%之間。在某些實施例中，疏水性非離子表面活性劑的量在0.7%與7%之間。在某些實施例中，所述佐劑包含：i) 32.5%的鯊烯，ii) 6.18%的聚氧乙烯(12)十六烷十八烷基醚，iii) 4.82%的脫水山梨糖醇單油酸酯，和iv) 6%的甘露糖醇。

【0196】 在某些實施例中，所述佐劑進一步包含烷基多糖苷和/或冷凍保護劑，如糖，特別是十二烷基麥芽糖苷和/或蔗糖。

【0197】 在某些實施例中，所述佐劑包括AF03，如Klucker等人, J. Pharm. Sci. 2012, 101(12):4490-500中所述，將其通過引用以其整體特此併入。在某些實施例中，所述佐劑包括基於脂質體的佐劑，如SPA14，如例如WO 2022/090359中所述，將其通過引用以其整體特此併入。

【0198】 除了HA和視情況的佐劑之外，所述疫苗或免疫原性組成物還可以進一步包含一種或多種醫藥上可接受的賦形劑。通常，所述賦形劑的性質將取決於所使用的特定投予方式。例如，腸胃外配製品通常包含注射液，所述注射液包括醫藥上和生理學上可接受的流體，如作為媒劑的水、生理鹽水、平衡鹽溶液、右旋糖水溶液、甘油等。對於固體組成物（例如，粉末、丸劑、片劑或膠囊形式），常規的無毒固體載體可以包括，例如，藥用級的甘露糖醇、乳糖、澱粉或硬脂酸鎂。除生物中性載體外，待投予的疫苗或免疫原性組成物可以含有少量的無毒輔助物質，如潤濕劑或乳化劑、醫藥上可接受的鹽（以調節滲透壓）、防腐劑、穩定劑、緩衝液、糖、氨基酸和pH緩衝劑等，例如乙酸鈉或脫水山梨糖醇單月桂酸酯。

【0199】 典型地，所述疫苗或免疫原性組成物是被配製用於腸胃外投予（如靜脈內、皮下、腹膜內、皮內或肌內投予）的無菌液體溶液。所述疫苗或免疫原性組成物也可以被配製用於鼻內或吸入投予。所述疫苗或免疫原性組成物也可以被配製用於任何其他預期的投予途徑。

【0200】 在一些實施例中，疫苗或免疫原性組成物被配製用於皮內注射、鼻內投予或肌內注射。在一些實施例中，注射劑以常規形式製備，作為液體溶

液劑或混懸劑、適合於在注射前溶解或懸浮於液體中的固體形式，或作為乳劑。在一些實施例中，注射溶液劑和混懸劑由無菌粉末或顆粒製備。在用於通過這些途徑投予的藥劑的配製和製造中的一般考慮可以見於例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 第19版, Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995（通過引用併入本文）中。目前，口服或鼻用噴霧劑或氣溶膠途徑（例如，通過吸入）最常用於將治療劑直接遞送至肺和呼吸系統。在一些實施例中，使用遞送計量劑量的疫苗或免疫原性組成物的裝置投予疫苗或免疫原性組成物。用於遞送本文所述的皮內醫藥組成物的合適裝置包括短針裝置，如描述在以下中的那些：美國專利號4,886,499、美國專利號5,190,521、美國專利號5,328,483、美國專利號5,527,288、美國專利號4,270,537、美國專利號5,015,235、美國專利號5,141,496、美國專利號5,417,662（將其全部通過引用併入本文）。皮內組成物也可以通過限制針進入皮膚的有效穿透長度的裝置投予，如通過引用併入本文中的WO1999/34850中描述的那些及其功能等同物。此外，射流注射裝置也是合適的，其經由液體射流注射器或經由刺穿角質層的針將液體疫苗遞送至真皮，並產生到達真皮的射流。射流注射裝置描述於例如美國專利號5,480,381、美國專利號5,599,302、美國專利號5,334,144、美國專利號5,993,412、美國專利號5,649,912、美國專利號5,569,189、美國專利號5,704,911、美國專利號5,383,851、美國專利號5,893,397、美國專利號5,466,220、美國專利號5,339,163、美國專利號5,312,335、美國專利號5,503,627、美國專利號5,064,413、美國專利號5,520,639、美國專利號4,596,556、美國專利號4,790,824、美國專利號4,941,880、美國專利號4,940,460、WO1997/37705和WO1997/13537（將所有這些都通過引用併入本文）。此外，彈道粉末/顆粒遞送裝置也是合適的，其使用壓縮氣體來加速呈粉末形式的疫苗穿

過皮膚外層至真皮。另外，常規針筒可以用於皮內投予的經典曼托（mantoux）方法中。

【0201】 用於腸胃外投予的製劑典型地包括無菌的水性或非水性溶液劑、混懸劑和乳劑。非水性溶劑的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油（如橄欖油）以及可注射的有機酯（如油酸乙酯）。水性載體包括水、醇/水溶液、乳液或懸浮液，包括鹽水和緩衝介質。腸胃外媒劑包括氯化鈉溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化鈉、乳酸林格氏液或固定油。靜脈內媒劑包括流體和營養補充劑、電解質補充劑（如基於林格氏右旋糖的那些）等。也可以存在防腐劑和其他添加劑，例如抗微生物劑、抗氧化劑、螯合劑和惰性氣體等。

套組

【0202】 本文進一步公開了用於本文所公開的疫苗或免疫原性組成物的套組。套組可以包括包含疫苗或免疫原性組成物的一個合適容器或包含疫苗或免疫原性組成物的不同組分的多個容器，視情況地帶有使用說明書。

【0203】 在某些實施例中，所述套組可以包含多個容器，包括例如第一容器和第二容器，所述第一容器包含：(a) 第一流感病毒HA，其中所述第一流感病毒HA是來自第一護理標準流感病毒株的H1 HA；(b) 第二流感病毒HA，其中所述第二流感病毒HA是來自第二護理標準流感病毒株的H3 HA；(c) 第三流感病毒HA，其中所述第三流感病毒HA來自來自B/維多利亞譜系的第三護理標準流感病毒株；和 (d) 第四流感病毒HA，其中所述第四流感病毒HA來自來自B/山形譜系的第四護理標準流感病毒株；所述第二容器包含：具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機

器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0204】 在某些實施例中，所述第一容器中的第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種是重組流感病毒HA，並且所述第二容器中的一種或多種機器學習流感病毒HA是重組流感病毒HA。可替代地，所述第二容器中的一種或多種機器學習流感病毒HA存在於滅活病毒中，或者所述第二容器包含編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子。

【0205】 在某些實施例中，所述第一容器中的第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種存在於滅活流感病毒中，並且所述第二容器中的一種或多種機器學習流感病毒HA存在於滅活病毒中。可替代地，所述第二容器中的一種或多種機器學習流感病毒HA是重組HA，或者所述第二容器包含編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子。

【0206】 在某些實施例中，所述第一容器中的第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種以各自編碼相應的流感病毒HA的核糖核酸分子存在，並且所述第二容器中的一種或多種機器學習流感病毒HA以各自編碼相應的流感病毒HA的核糖核酸分子存在。可替代地，所述第二容器中的一種或多種機器學習流感病毒HA是重組HA或存在於滅活流感病毒中。

核酸、選殖和表現系統

【0207】 本公開文本進一步提供了編碼所公開的HA的核酸分子。所述核酸可用於例如表現可用於疫苗或免疫原性組成物中的重組HA，或用作疫苗或免

疫原性組成物的組分。核酸可以包含DNA或RNA，並且可以是全部或部分合成的或重組的。除非上下文另有要求，否則對本文所述的核苷酸序列的提及涵蓋具有指定序列的DNA分子，並且涵蓋具有其中U或其衍生物（如假尿苷）取代T的指定序列的RNA分子。其他核苷酸衍生物或經修飾的核苷酸可以摻入編碼所公開的HA的核酸分子中。

【0208】 本公開文本還提供了呈載體（例如，質體、噬菌體、黏粒、轉錄盒或表現盒、人工染色體等）形式的構建體，所述構建體包含編碼如本文公開的HA的人工核酸分子。本公開文本進一步提供了一種宿主細胞，所述宿主細胞包含一種或多種如上所述的構建體。

【0209】 還提供了製造由這些核酸分子編碼的HA的方法。可以使用重組技術產生HA多肽。重組蛋白的產生和表現是本領域熟知的，並且可以使用常規程式（如披露於Sambrook等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (第4版 2012), Cold Spring Harbor Press中的那些）進行。例如，HA多肽的表現可以通過在適當條件下培養含有編碼如本文公開的HA的核酸分子的宿主細胞來實現。在通過表現產生後，可以使用任何合適的技術分離和/或純化HA，然後視情況使用。

【0210】 用於在各種不同宿主細胞中選殖和表現多肽的系統是本領域熟知的。可以使用與本申請中公開的構建體相容的任何蛋白質表現系統（例如穩定的或暫態的）來產生本文所述的HA。

【0211】 可以選擇或構建合適的載體，使得它們含有適當的調控序列，包括啟動子序列、終止子序列、多腺苷酸化序列、增強子序列、標記基因和其他適當的序列。

【0212】 為了表現重組HA，可以將編碼HA的核酸引入宿主細胞。所述引入可以採用任何可用的技術。對於真核細胞，合適的技術可以包括磷酸鈣轉染、DEAE-葡聚糖、電穿孔、脂質體介導的轉染以及使用反轉錄病毒或其他病毒（例如痘苗病毒）或對於昆蟲細胞而言使用桿狀病毒的轉導。對於細菌細胞，合適的技術可以包括氯化鈣轉化、電穿孔和使用噬菌體的轉染。這些技術是本領域中熟知的。（參見例如，“Current Protocols in Molecular Biology,” Ausubel等人編輯, John Wiley & Sons, 2010）。DNA引入之後可以採用選擇方法（例如，抗生素抗性）來選擇含有載體的細胞。

【0213】 宿主細胞可以是植物細胞、酵母細胞或動物細胞。動物細胞涵蓋無脊椎動物（例如昆蟲細胞）、非哺乳動物脊椎動物（例如，禽類、爬行動物和兩棲動物）和哺乳動物細胞。在一個實施例中，所述宿主細胞是哺乳動物細胞。哺乳動物細胞的例子包括但不限於COS-7細胞、HEK293細胞；幼倉鼠腎（BHK）細胞；中國倉鼠卵巢（CHO）細胞；小鼠支援細胞；非洲綠猴腎細胞（VERO-76）；人宮頸癌細胞（例如，HeLa）；犬腎細胞（例如MDCK）等。在一個實施例中，所述宿主細胞是昆蟲細胞。

使用方法

【0214】 本公開文本提供了向受試者投予本文所述的疫苗或免疫原性組成物的方法。所述方法可用於使受試者接種針對流感病毒的疫苗。在一些實施例中，疫苗接種方法包括向有需要的受試者投予使所述受試者有效接種針對流感病毒的疫苗的量疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子和視情況的佐劑。同樣地，本公開文本提供

了一種用於使受試者接種針對流感病毒的疫苗的疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子。本公開文本還提供了包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子的疫苗或免疫原性組成物用於製造用於使受試者接種針對流感病毒的疫苗的藥劑的用途。

【0215】 本公開文本還提供了使受試者對流感病毒免疫的方法，所述方法包括向所述受試者投予免疫有效量的疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子和視情況的佐劑。同樣地，本公開文本提供了一種用於使受試者對流感病毒免疫的疫苗或免疫原性組成物，所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子。本公開文本還提供了包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子的疫苗或免疫原性組成物用於製造用於使受試者對流感病毒免疫的藥劑的用途。

【0216】 在一些實施例中，所述方法或用途預防受試者中的流感病毒感染或疾病。在一些實施例中，所述方法或用途引起所述受試者的保護性免疫反應。在一些實施例中，所述保護性免疫反應是抗體反應。

【0217】 本文提供的免疫方法（或相關用途）可以引發針對一種或多種流感病毒的廣泛中和免疫反應。因此，在各種實施例中，本文所述的組成物可以提供針對不同類型的流感病毒的廣泛交叉保護。在一些實施例中，組成物提供針對禽流感、豬流感、季節性流感和/或大流行流感病毒的交叉保護。在一些實施例中，所述免疫方法（或相關用途）能夠引發改善的針對一種或多種季節性流感毒株（例如護理標準毒株）的免疫反應。例如，改善的免疫反應可以是改善的體液免疫反應。在一些實施例中，所述免疫方法（或相關用途）能夠引發改善的針對一種或多種大流行流感毒株的免疫反應。在一些實施例中，所述免

疫方法(或相關用途)能夠引發改善的針對一種或多種豬流感毒株的免疫反應。在一些實施例中,所述免疫方法(或相關用途)能夠引發改善的針對一種或多種禽流感毒株的免疫反應。

【0218】 還提供了預防受試者的流感病毒疾病的方法,所述方法包括向所述受試者投予有效預防所述受試者的流感病毒疾病的量的疫苗或免疫原性組成物,所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑。同樣地,本公開文本提供了一種用於預防受試者的流感病毒疾病的疫苗或免疫原性組成物,所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑。本公開文本還提供了包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑的疫苗或免疫原性組成物用於製造用於預防受試者的流感病毒疾病的藥劑的用途。

【0219】 還提供了誘發受試者中針對流感病毒HA的免疫反應的方法,所述方法包括向所述受試者投予疫苗或免疫原性組成物,所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑。同樣地,本公開文本提供了一種用於誘發受試者中針對流感病毒HA的免疫反應的疫苗或免疫原性組成物,所述疫苗或免疫原性組成物包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑。本公開文本還提供了包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑的疫苗或免疫原性組成物用於製造用於誘發受試者中針對流感病毒的免疫反應的藥劑的用途。

【0220】 可以在流感感染的一種或多種症狀發展之前或之後投予包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑的疫苗或免疫原性組成物。即,在一些實施例中,可以預防性投予本文所述的疫苗或免疫原性組成物以預

防流感感染或改善潛在的流感感染的症狀。在一些實施例中，如果受試者將與已知或懷疑已經被大流行流感病毒感染的其他個體或牲畜（例如，豬）接觸和/或如果受試者將出現在已知或被認為流感感染常見或流行的地方，則所述受試者具有流感病毒感染的風險。在一些實施例中，將所述疫苗或免疫原性組成物投予於患有流感感染的受試者，或者所述受試者顯示出通常與流感感染相關的一種或多種症狀。在一些實施例中，已知或認為受試者已經暴露於流感病毒。在一些實施例中，如果已知或相信受試者已經暴露於流感病毒，則所述受試者具有流感感染的風險或易患流感感染。在一些實施例中，如果受試者已經與已知或懷疑已經被大流行流感病毒感染的其他個體或牲畜（例如，豬）接觸和/或如果受試者出現或已經出現在已知或被認為流感感染常見或流行的地方，則已知或相信所述受試者已經暴露於流感病毒。本文公開的疫苗或免疫原性組成物可用於治療或預防由季節性大流行流感毒株之一或兩者引起的疾病。

【0221】 可以以適合實現所需結局的任何量或劑量投予根據本公開文本的疫苗或免疫原性組成物。在一些實施例中，所需結局是誘發針對廣譜流感毒株（包括季節性和大流行毒株兩者）的持久適應性免疫反應。在一些實施例中，所需結局是降低一種或多種流感感染症狀的強度、嚴重程度、和/或頻率，和/或延遲一種或多種流感感染症狀的發作。所需的劑量將根據以下而在受試者之間有所不同：受試者的物種、年齡、體重和一般狀況，被治療的感染的嚴重程度，所使用的特定組成物及其投予方式。

【0222】 在各種實施例中，將本文所述的疫苗或免疫原性組成物投予於受試者，其中所述受試者可以是動物界的任何成員。在一些實施例中，所述受試者是非人類動物。在一些實施例中，所述非人類受試者是禽類（例如，雞或鳥）、

爬行動物、兩棲動物、魚、昆蟲和/或蠕蟲。在一些實施例中，所述非人類受試者是哺乳動物（例如，雪貂、齧齒動物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、貓、綿羊、牛、靈長類動物和/豬）。

【0223】 在一些實施例中，將本文所述的疫苗或免疫原性組成物投予於人類受試者。在特定實施例中，人類受試者為6月齡或更大、6月齡至35月齡、至少兩歲、至少3歲、36個月至8歲、9歲或更大、至少6月齡且小於18歲、或至少3歲且小於18歲。在一些實施例中，所述人類受試者是嬰兒（小於36個月）。在一些實施例中，所述人類受試者是兒童或青少年（小於18歲）。在一些實施例中，所述人類受試者是老年人（至少60歲或至少65歲）。在一些實施例中，所述人類受試者是非老年成人（至少18歲且小於65歲）。在一些實施例中，本文所述的疫苗或免疫原性組成物的方法和用途包括初免-加強疫苗接種策略。初免-加強疫苗接種包括投予初免疫苗，然後在經過一段時間後，向所述受試者投予加強疫苗。免疫反應在投予初免疫苗後被“啟動”，並且在投予加強疫苗後被“加強”。所述初免疫苗可以包括包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑的疫苗或免疫原性組成物。同樣地，所述加強疫苗可以包括包含如本文所述的HA和/或核糖核酸分子以及視情況的佐劑的疫苗或免疫原性組成物。初免疫苗或免疫原性組成物可以但不必需與加強疫苗相同。加強疫苗的投予通常是在投予初免組成物後的幾週或幾個月，優選約2-3週或4週、或8週、或16週、或20週、或24週、或28週、或32週。

【0224】 可以使用任何合適的投予途徑投予（包括例如，腸胃外遞送）所述疫苗或免疫原性組成物，如上文所討論的。

【0225】 典型地，將如本文所述的HA和/或核糖核酸分子和視情況的佐劑

作為同一疫苗或免疫原性組成物的組分一起投予。然而，不是必需將如本文所述的HA和/或核糖核酸分子作為同一疫苗或免疫原性組成物的一部分投予。也就是說，如果需要，可以將本文所述的HA和/或核糖核酸分子和視情況的佐劑依序投予於受試者。

本公開文本的代表性實施例

【0226】 1. 一種免疫原性組成物，所述免疫原性組成物包含：

(a) 第一流感病毒血球凝集素（HA），其中所述第一流感病毒HA是來自第一護理標準流感病毒株的H1 HA，或編碼所述第一流感病毒H1 HA的第一核糖核酸分子；

(b) 第二流感病毒HA，其中所述第二流感病毒HA是來自第二護理標準流感病毒株的H3 HA，或編碼所述第二流感病毒H3 HA的第二核糖核酸分子；

(c) 第三流感病毒HA，其中所述第三流感病毒HA來自來自所述B/維多利亞譜系的第三護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/維多利亞譜系的第三流感病毒HA的第三核糖核酸分子；

(d) 第四流感病毒HA，其中所述第四流感病毒HA來自來自所述B/山形譜系的第四護理標準流感病毒株，或編碼來自所述B/山形譜系的第四流感病毒HA的第四核糖核酸分子；和

(e) 具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【0227】 2. 根據實施例1所述的免疫原性組成物，其中所述核糖核酸分子是mRNA分子。

【0228】 3. 根據實施例1或2所述的免疫原性組成物，其中所述核糖核酸分子被包封在脂質奈米顆粒（LNP）中。

【0229】 4. 根據實施例1-3中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述分子序列是胺基酸序列或核酸序列。

【0230】 5. 根據實施例1-4中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含野生型流感病毒HA分子序列。

【0231】 6. 根據實施例1-5中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA包含非野生型流感病毒HA分子序列。

【0232】 7. 根據實施例1-6中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是重組流感病毒HA。

【0233】 8. 根據實施例1-6中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA存在於滅活流感病毒，視情況地在裂解滅活病毒中。

【0234】 9. 根據實施例1-6中任一項所述的免疫原性組成物，所述免疫原性組成物包含編碼所述一種或多種機器學習流感病毒HA中的至少一種的核糖核酸分子。

【0235】 10. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中所述第五流感H3 HA與所述第二流感H3 HA在抗原性方面不相似。

【0236】 11. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中所述第五流感H3 HA增強了由所述第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應。

【0237】 12. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中所述第五流感H3 HA擴寬了由所述第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應。

【0238】 13. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中所述第五流感H3 HA來自與所述第二流感H3 HA相比不同的進化支。

【0239】 14. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中所述第五流感H3 HA與所述第二流感H3 HA在抗原性方面相似。

【0240】 15. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中所述第五流感H3 HA來自與所述第二流感H3 HA相比相同的進化支。

【0241】 16. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA

是H1 HA，並且其中所述第五流感H1 HA與所述第一流感H1 HA在抗原性方面不相似。

【0242】 17. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中所述第五流感H1 HA增強了由所述第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應。

【0243】 18. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中所述第五流感H1 HA擴寬了由所述第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應。

【0244】 19. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中所述第五流感H1 HA來自與所述第一流感H1 HA相比不同的進化支。

【0245】 20. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中所述第五流感H1 HA與所述第一流感H1 HA在抗原性方面相似。

【0246】 21. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中所述第五流感H1 HA來自與所述第一流感H1 HA相比相同的進化支。

【0247】 22. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是來自3C.2A進化支的H3 HA。

【0248】 23. 根據實施例1-9中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中所述第五流感病毒HA是來自3C.3A進化支的H3 HA。

【0249】 24. 根據實施例1-15中任一項所述的免疫原性組成物，所述免疫原性組成物進一步包含第六流感病毒HA。

【0250】 25. 根據實施例24所述的免疫原性組成物，其中所述第六流感病毒HA是具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的H1 HA，或編碼所述第六流感病毒HA的核糖核酸分子。

【0251】 26. 根據實施例25所述的免疫原性組成物，其中所述第六流感H1 HA與所述第一流感H1 HA在抗原性方面不相似，其中所述第六流感H1 HA增強了由所述第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，其中所述第六流感H1 HA擴寬了由所述第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，其中所述第六流感H1 HA來自與所述第一流感H1 HA相比不同的進化支，其中所述第六流感H1 HA來自與所述第一流感H1 HA相比相同的進化支，或者其中所述第六流感H1 HA與所述第一流感H1 HA在抗原性方面相似。

【0252】 27. 根據實施例24-26中任一項所述的免疫原性組成物，所述免疫原性組成物進一步包含具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的來自所述B/維多利亞譜系的第七流感病毒HA，或編碼所述第七流感病毒HA的核糖核酸分子。

【0253】 28. 根據實施例24-27中任一項所述的免疫原性組成物，所述免疫原性組成物進一步包含具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的來自所述B/山形譜系的第八流感病毒HA，或編碼所述第八流感病毒HA的核糖核酸分子。

【0254】 29. 根據實施例1-28中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述機器學習模型係被訓練來預測生物反應。

【0255】 30. 根據實施例29所述的免疫原性組成物，其中所述生物反應是人類、雪貂或小鼠生物反應。

【0256】 31. 根據實施例29或30所述的免疫原性組成物，其中所述生物反應包括血球凝集素抑制測定（HAI）、抗體鑑識（AF）或中和測定。

【0257】 32. 根據實施例1-31中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種是重組流感病毒HA。

【0258】 33. 根據實施例1-31中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種存在於滅活流感病毒中。

【0259】 34. 根據實施例1-31中任一項所述的免疫原性組成物，所述免疫原性組成物包含作為核糖核酸分子的所述第一、第二、第三和第四流感病毒HA。

【0260】 35. 根據實施例7-34中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述重組流感病毒HA中的每一種均由在經培養的昆蟲細胞中的桿狀病毒表現系統所產生。

【0261】 36. 根據實施例1-35中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述第一流感病毒HA是來自H1N1流感病毒株的H1 HA，並且所述第二流感病毒HA是來自H3N2流感病毒株的H3 HA。

【0262】 37. 根據實施例1-36中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述組成物進一步包含佐劑。

【0263】 38. 根據實施例37所述的免疫原性組成物，其中所述佐劑包括水包鯊烯佐劑或基於脂質體的佐劑。

【0264】 39. 根據實施例38所述的免疫原性組成物，其中所述水包鯊烯佐劑包括AF03。

【0265】 40. 根據實施例38所述的免疫原性組成物，其中所述基於脂質體的佐劑包括SPA14。

【0266】 41. 根據實施例1-40中任一項所述的免疫原性組成物，其中每種核糖核酸分子包含一種或多種經修飾的核苷酸。

【0267】 42. 根據實施例1-41中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述組成物被配製用於肌肉注射。

【0268】 43. 根據實施例1-42中任一項所述的免疫原性組成物，其中所述核糖核酸分子被包封在LNP中，所述LNP包含陽離子脂質、PEG化脂質、基於膽固醇的脂質和輔助脂質。

【0269】 44. 一種使受試者對流感病毒免疫的方法，所述方法包括向所述受試者投予免疫有效量的根據實施例1-43中任一項所述的免疫原性組成物。

【0270】 45. 根據實施例44所述的方法，其中所述方法預防所述受試者的流感病毒感染。

【0271】 46. 根據實施例44或45所述的方法，其中所述方法引起所述受試者的保護性免疫反應。

【0272】 47. 根據實施例46所述的方法，其中所述保護性免疫反應包括

HA抗體反應。

【0273】 48. 根據實施例44-47中任一項所述的方法，其中所述受試者是人類。

【0274】 49. 根據實施例44-48中任一項所述的方法，其中將所述免疫原性組成物肌內、皮內、皮下、靜脈內、鼻內、通過吸入或腹膜內投予。

【0275】 50. 根據實施例44-49中任一項所述的方法，其中所述方法治療或預防由季節性和大流行性流感毒株之一或兩者引起的疾病。

【0276】 51. 根據實施例44-50中任一項所述的方法，其中所述受試者是人類，並且所述人類為6月齡或更大、6至35月齡、至少2歲、至少3歲、小於18歲、至少18歲、至少60歲、至少65歲、至少6月齡且小於18歲、至少3歲且小於18歲、或至少18歲且小於65歲。

【0277】 52. 一種減輕流感病毒感染的一種或多種症狀的方法，所述方法包括向受試者投予預防有效量的根據實施例1-43中任一項所述的免疫原性組成物。

【0278】 53. 根據實施例44-52中任一項所述的方法，所述方法包括向所述受試者以2-6週、視情況地4週的間隔投予兩劑的所述免疫原性組成物。

【0279】 54. 一種疫苗組成物，所述疫苗組成物包含根據實施例1-43中任一項所述的免疫原性組成物。

【0280】 55. 根據實施例44-53中任一項所述的方法，其中所述免疫原性組成物是疫苗組成物。

【0281】 通過參考下述實例，會更加全面地理解本公開文本。

實例

【0282】 以下實例被認為是說明性的，而非限制上述公開文本的範圍。

【0283】 動物實驗是遵循公共衛生服務（Public Health Service，PHS）關於實驗動物的人道護理和使用的政策以及實驗動物護理和使用指南（Guide for the Care and Use of Laboratory Animals）進行的，並且是用批准的來自Sanofi機構動物護理和使用委員會（Institutional Animal Care and Use Committee，IACUC）的動物方案進行的。所有動物都在指定的無病原體條件下用食物和水隨意飼養。

【0284】 *血球凝集素抑制（HAI）測定*：在HAI測定之前，將血清用破壞受體的酶（RDE；Denka Seiken, Co.，日本）處理以滅活非特異性抑制物。將RDE處理的血清在v型底微量滴定板中連續稀釋（2倍稀釋度）。將來自HAI讀出組套（readout panel）的相等體積的每種病毒添加到每個孔中（每個孔中4個血凝單位（HAU））。所使用的同源病毒組套描述於下文實例，並且除非另有指示，否則在雞蛋中生長。將板覆蓋並且在室溫下培育20分鐘（或45 - 60 min），然後添加雞紅細胞（紅細胞；CRBC）在PBS中的1%混合物或火雞紅細胞（TRBC）（Lampire Biologicals）在PBS中的0.5%混合物。將板通過攪動混合並且覆蓋，並且允許RBC在室溫下沉澱大約30分鐘至1小時。通過含有非凝集RBC的最後一個孔的稀釋度倒數確定HAI力價。

【0285】 *HINT mNT流感方案*：如從Jorquera, P.A.等人, *Insights into the antigenic advancement of influenza A (H3N2) viruses, 2011-2018*, Sci. Reports 9, 2676 (2019)改編的測量針對流感毒株的中和力價。簡言之，將從1：20至1：2,560的連續2倍稀釋的RDE處理的血清與等體積的病毒（約1000個病灶形成單位（FFU））

混合，並且在37°C下培育60分鐘。培育後，將MDCK-SIAT1細胞懸浮液添加到病毒：血清混合物中並且培育約22 h。將單層用甲醇固定並且準備染色。然後將孔與針對核蛋白（NP）的抗流感單株抗體培育，然後與ALEXA FLUOR® 488綴合的二抗（Thermo Fisher Scientific；沃爾瑟姆，麻塞諸塞州）培育。將細胞洗滌並且將板在CTL IMMUNOSPOT[®]細胞成像v2（CTL，克利夫蘭，俄亥俄州）上掃描。將來自板的計數轉移到Graphpad Prism軟體中，並且使用s形劑量-反應、可變斜率、非線性回歸計算中和力價50（NT50）。抑制僅病毒輸入的對照孔的病毒感染的50%的血清樣品的NT50力價是根據s形曲線計算的力價。所述測定不包括胰蛋白酶，並且測量了與沒有血清的病毒輸入對照孔相比的病毒進入的抑制作用。計數為單獨的受感染的細胞，並且所述測定適用於所有活病毒亞型，包括H1、H3、B/維多利亞和B/山形。

實例1 – 對多種H3 HA毒株投予的免疫反應

【0286】 為了確定對HA免疫反應的影響，在未經處理的雪貂模型中投予多種H3 HA。使雪貂感染單一的H3N2滅活病毒或兩種H3N2滅活病毒的混合物，以確定針對抗原多樣性病毒讀出組套由所述混合物引發的抗體反應是否比由單一病毒引發的反應顯示出增加的廣度。

【0287】 所選擇的用於共同感染的病毒選自相同的進化支3C.2A（相似的病毒）或不同的進化支3C.2A和3C.3A（不相似的病毒），並且示於下表1中。

表1 – 用於感染的H3N2病毒

毒株	進化支名稱	類別
A/香港/45/2019	3C.2A1B/135K/137F	單一病毒
A/阿拉斯加州/43/2019	3C.2A1B/131K/197R	單一病毒
A/堪薩斯州/14/2017	3C.3A	單一病毒

毒株	進化支名稱	類別
A/香港/45/2019 + A/阿拉斯加州/43/2019	3C.2A1B/135K/137F + 3C.2A1B/131K/197R	病毒混合物(在抗原性方面相似)
A/香港/45/2019 + A/堪薩斯州/14/2017	3C.2A1B/135K/137F + 3C.3A	病毒混合物(在抗原性方面不相似)

【0288】 讀出組套含有從2016至2019年時間段的病毒，並且代表來自兩個在抗原性方面不同的進化支3C.2A和3C.3A的傳播毒株，以評估交叉進化支覆蓋率。讀出組套中使用了以下七種3C.2A病毒：A/巴利亞多利德/182/2017、A/阿拉斯加州/43/2019、A/孟加拉/3190613015/2019、A/香港/45/2019、A/維多利亞/617/2017、A/秘魯/9519/2019和A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016。讀出組套中使用了以下五種3C.3A病毒：A/堪薩斯州/14/2017、A/布里斯班/34/2018、A/墨西哥/2356/2019、A/蘇利南/0902/2019和A/印第安那州/08/2018。

【0289】 將未經處理的雪貂（每組2只）鼻內接種 (1) 僅A/香港/45/2019；(2) 僅A/阿拉斯加州/43/2019；(3) 僅A/堪薩斯州/14/2017；(4) A/香港/45/2019和A/阿拉斯加州/43/2019的1:1組合；或(5) A/香港/45/2019和A/堪薩斯州/14/2017的1:1組合。每種病毒以以下相同劑量給予：5 log₁₀病灶形成單位（FFU）。在第8天收集血液，在第0天使雪貂免疫，並在第14天再次收集血液。

【0290】 從被A/香港/45/2019 + A/堪薩斯州/14/2017病毒的組合感染的雪貂中觀察到針對覆蓋3C.2A和3C.3A進化支的讀出病毒的高微量中和力價。參見圖3和圖4B。相比之下，被含有A/香港/45/2019 + A/阿拉斯加州/43/2019的組合的在抗原性方面相似的病毒混合物感染的雪貂展現出更多的進化支受限反應，並且觀察到針對來自3C.2A進化支的讀出毒株的高力價。參見圖2和圖4B。病毒的組合混合物顯現不會干擾所引發的針對混合物內每種單獨毒株的反應，就像在單一感染中觀察到的那樣。參見圖5。

【0291】 來自截然不同的進化支（3C.2A和3C.3A）的H3 HA的混合物顯示出抗體反應的累加效應，所述抗體反應展現出交叉進化支廣度，並且中和力價的幅度最高。因此，在這種3C.2A + 3C.3A混合物中觀察到的總體反應類似於3C.2A和3C.3A病毒的單一感染所觀察到的反應。來自相同3C.2A進化支的病毒混合物沒有引發與3C.2A + 3C.3A病毒混合物相同幅度的擴展到3C.3A進化支中的力價，但是這種混合物確實表明，將A/阿拉斯加州/43/2019病毒添加到護理標準病毒A/香港/45/2019中，確實改善了跨整個讀出組套的抗體力價。參見圖2，將(1) A/香港/45/2019力價與 (2) 來自A/香港/45/2019和A/阿拉斯加州/43/2019的組合的力價進行比較。資料顯示，組合不同的H3 HA可以增加廣度，從而使得改善抗原性多樣化流感病毒的覆蓋率。

實例2 – 評價四價和五價流感疫苗在未經處理的雪貂模型中的免疫原性

【0292】 所述研究的目的是確定在未經處理的雪貂模型中，將在修飾的非複製（MNR）mRNA配製品中遞送的兩種H3 HA混合是否引發對HA免疫反應的累加、協同或拮抗作用。所述研究進一步評價了與沒有另外的毒株的四價流感疫苗（QIV）相比，包含另外的H3毒株的五價流感疫苗（PIV）擴寬覆蓋率的可行性。

【0293】 將用於評估多價疫苗免疫原性的未經處理的雪貂用如下表2中所述的以下10組中的一種以21天間隔接種疫苗兩次（在第0天和第21天）：

組 (1) 五種編碼HA抗原的mRNA的混合物，其中四種選自2021-2022北半球WHO護理標準（WHO SOC）毒株（H1、H3、BVic和BYam））（具體來自毒株A/威斯康辛州/588/2019（H1N1）、A/塔斯馬尼亞/503/2020（H3N2）、B/

華盛頓/02/2019（維多利亞譜系）和B/普吉島/3073/2013（山形譜系）），以及其中一種經由機器學習選擇以提供進化支H3C.2A保護（具體是野生型A/挪威/2629/2015），其中來自每種毒株的HA mRNA以15 µg的量存在；

組 (2) 五種編碼HA抗原的mRNA的混合物，其中四種是WHO SOC毒株，以及其中一種經由機器學習選擇以提供進化支H3C.2A保護（具體是非野生型A/設計/H3S25/2019），其中來自每種毒株的HA mRNA以15 µg的量存在；

組 (3) 五種編碼HA抗原的mRNA的混合物，其中四種是WHO SOC毒株，以及其中一種經由機器學習選擇以提供進化支H3C.3A保護（具體是野生型A/華盛頓/526/2019），其中來自每種毒株的HA mRNA以15 µg的量存在；

組 (4) 五種編碼HA抗原的mRNA的混合物，其中四種是上文所指出的WHO SOC毒株，以及其中一種是選定的另外的WHO SOC毒株A/堪薩斯州/14/2017以提供進化支H3C.3A保護，其中來自每種毒株的HA mRNA以15 µg的量存在；

組 (5) 五種編碼HA抗原的mRNA的混合物，其中四種是上文所指出的WHO SOC毒株，以及其中一種是另外的2019-2020北半球WHO SOC毒株A/堪薩斯州/14/2017，其中來自H1、BYam和BVic中的每一種的HA mRNA各自以15 µg的量存在，並且兩種H3毒株（A/塔斯馬尼亞/503/2020和A/堪薩斯州/14/2017）的mRNA各自以7.5 µg的量存在；

組 (6) 四種編碼WHO SOC毒株的mRNA的混合物，其中來自H1、BYam和BVic毒株中的每一種的mRNA以15 µg的量存在，並且來自H3毒株的mRNA以30 µg的量存在；

組 (7) 四種編碼WHO SOC毒株的mRNA的混合物，其中來自四種毒株中

的每一種的mRNA以15 µg的量存在；

組 (8) 四種選自WHO SOC毒株的重組HA蛋白的混合物，其中來自四種毒株中的每一種的重組HA以45 µg的量存在；

組 (9) 四種選自WHO SOC毒株的滅活病毒的混合物，其中四種毒株中的每一種以60 µg的量存在；和

組 (10) 磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）。

【0294】 除組8-10外的所有疫苗配製品均含有單包封(單亞型/LNP)MNR mRNA HA，在免疫前將所述單包封MNR mRNA HA合併為單一配製品以產生所需的疫苗組合。

【0295】 在第0天和第21天將雪貂肌內免疫，並在第二次免疫後一個月在第49天使用微量中和（mNT）測定以測量功能性HA抗體反應來評價體液反應。

表2 – 未經處理的雪貂研究組

組號	疫苗類型(進化支)	機器學習免疫原 H3毒株	µg/毒株 HA mRNA(總µg mRNA)	µg/毒株HA 蛋白(總µg HA蛋白)
1	四 價 WHO SOC mRNA(3C.2A)+ 機器 學習WT(3C.2A)	A/挪威/ 2629/2015	15 (75)	
2	四 價 WHO SOC mRNA(3C.2A)+ 機器 學習非WT(3C.2A)	A/設計/ H3S25/2019	15 (75)	
3	四 價 WHO SOC mRNA(3C.2A)+ 機器 學習WT(3C.3A)	A/華盛頓/ 526/2019	15 (75)	
4	四 價 WHO SOC mRNA(3C.2A)+ 另外 的WHO SOC mRNA A/堪薩斯州(3C.3A)	--	15 (75)	
5	四 價 WHO SOC mRNA(3C.2A)+ 另外 的WHO SOC mRNA A/堪薩斯州(3C.3A)	--	7.5 H3(總15 H3)； 15 H1；15 B/Yam；15	

組號	疫苗類型(進化支)	機器學習免疫原 H3毒株	μg/毒株 HA mRNA(總μg mRNA)	μg/毒株HA 蛋白(總μg HA蛋白)
			B/Vic(60)	
6	四 價 WHO SOC mRNA(3C.2A)	--	30 H3 ; 15 H1 ; 15 B/Yam ; 15 B/Vic(75)	
7	四 價 WHO SOC mRNA(3C.2A)	--	15 (60)	
8	四價WHO SOC重組 蛋白(3C.2A)	--	--	45 (180)
9	高劑量四價滅活病毒 (3C.2A)	--	--	60 (240)
10	PBS	--	--	--

【0296】 對於每組，n = 6只雪貂。針對以下雞蛋擴增的流感病毒株測量mNT抗體力價：A/塔斯馬尼亞/503/2020、A/維多利亞/2570/2019、B/普吉島/3073/2013和B/華盛頓/02/2019，並且計算幾何平均力價（GMT）值。結果報告於圖6中。

【0297】 H1（A/維多利亞/2570/2019）的力價上限在6,000-7,000之間。如上文和圖6所示，接受四價mRNA疫苗的雪貂（組6和組7）到第49天產生針對所有4種同源流感亞型H1N1、H3N2、B/山形和B/維多利亞的功能性抗體反應。H1反應對於所有組1-9都是穩健的，其中力價上限為1：6,000。

【0298】 對於接受含有15 μg HA mRNA/毒株的PIV（組1-組4）的雪貂中的B/維多利亞反應，針對B/華盛頓/02/2019引發的中和力價與從接受含有15 μg HA mRNA/毒株的QIV（組7）的雪貂引發的中和力價是可比的。同樣地，對於組2-組4和組7觀察到類似的B/山形反應，但是對於組1，其中的四隻雪貂沒有產生針對B/普吉島/3073/2013的同源中和力價，並且總力價顯著低於組7的總力價（混合模型分析的p < 0.0001）。不受理論的束縛，可能的是結果指示關於免疫

或毒株特異性作用的技術問題，因為在其他PIV組中添加H3毒株不會導致mNT力價的任何顯著下降。

【0299】 在15 µg劑量的H3 A/塔斯馬尼亞/503/2020或30 µg劑量的H3 A/塔斯馬尼亞/503/2020 QIV mRNA疫苗組6與組7之間，第49天測量的抗體反應沒有統計學上顯著的差異（ $p = 0.95$ ，混合模型分析）。這表明將H3抗原劑量加倍不會增加此劑量範圍內中和抗體力價的幅度。

【0300】 與用QIV配製品（組6和組7，其中分別以15 µg和30 µg給藥H3組分）免疫的雪貂相比，用在PIV配製品中的7.5 µg劑量的H3（組5）免疫的雪貂示出了顯著更高的A/塔斯馬尼亞/503/2020 mNT力價（ $p < 0.05$ ；混合模型分析）。

【0301】 組1-組4，其中的每一個均在PIV配製品中含有兩種H3毒株（H3總計30 µg），示出了在QIV對照GMT力價（組6和組7）的2倍內的可比同源A/塔斯馬尼亞/503/2020 mNT力價（通過混合模型分析無顯著差異）。與組6和組7的反應相比，用更低劑量（7.5 µg的每種H3毒株）免疫的組5中的雪貂引發顯著更高的同源反應，其中反應是2.3倍（通過混合模型分析 $p < 0.05$ ）。顯著的是，資料指示添加H3毒株以創建PIV配製品並不妨礙由H1、H3、B/維多利亞或B/山形WHO SOC毒株引發的同源mNT反應。

【0302】 所述研究還解決了是否可以通過將來自機器學習選擇或來自先前的WHO SOC選擇的第二H3毒株添加到QIV中來擴寬H3抗原空間的覆蓋率，以創建PIV（例如組1-組5）。儘管WHO 2021-2022 SOC H3毒株A/塔斯馬尼亞/503/2020（3C.2A傳播進化支）是QIV配製品的一部分，但是以下兩種替代性H3進化支3C.2A毒株作為第五毒株被包括在PIV配製品中：機器學習選擇的野生型毒株A/挪威/2629/2015（組1）和機器學習選擇的非野生型毒株A/設計/H3S25/2019

（組2）。與QIV中的單一3C.2A配製品（組7）相比，這些含有兩種3C.2AH3毒株的PIV配製品顯示出略微增加的GMT mNT力價，並且當在未經處理的雪貂中共同投予類似的HA時，對異源反應沒有負面干擾。結果在下表3中示出。還參見圖7，示出了PIV（組1-組5）和QIV（組6和組7）疫苗配製品兩者跨3C.2A和3C.3A毒株的mNT GMT值。

表3 - PIV和QIV疫苗配製品跨3C.2A和3C.3A的中和GMT力價

組	3C.2A GMT	3C.3A GMT
1	479	130
2	507	263
3	152	762
4	245	700
5	446	1391
6	449	181
7	282	103
10	21	20

【0303】 總體上，用來自3C.2A進化支的兩種H3（組1和組2）免疫的雪貂沒有將寬度擴展到3C.3A空間內；然而，與QIV對照組6和組7不同，機器學習設計的H3毒株A/設計/H3S25/2019確實有效地中和了50%的3C.3A病毒。參見圖9。

【0304】 可替代地，當與異源多進化支3C.2A和3C.3A病毒相比時，將來自3C.3A進化支的H3毒株添加到四價疫苗的H3 3C.2A毒株中（如組3-組5所完成的）至少顯示出抗體反應的累加效應，如圖8所示和下表4所報告的。

【0305】 對於組1-組7中的每一組，測量針對以下由細胞擴增的流感病毒株的mNT力價：A/孟加拉/3190613015/2019；A/墨西哥/2356/2019；A/巴利亞多利德/182/2017；A/布里斯班/75/2019；A/塔斯馬尼亞/503/2020；A/香港/45/2019；A/堪薩斯州/14/2017；和A/新加坡/Infimh160019/2016。A/墨西哥/2356/2019和A/堪薩斯州/14/2017兩者均是進化支3C.3A。A/孟加拉/3190613015/2019；A/布里斯班/75/2019；A/塔斯馬尼亞/503/2020；和A/香港/45/2019均是進化支/子進化支

3C.2A1b。A/巴利亞多利德/182/2017是進化支/子進化支3C.2A4，並且A/新加坡/Infimh160019/2016是進化支/子進化支3C.2A1。結果報告於下表4中。

表4 – 多價疫苗的幾何平均力價（GMT）（第49天）

組號	HINT mNT測定的GMT					
	進化支3C.2A				進化支3C.3A	
	A/孟加拉	A/香港	A/新加坡	A/巴利亞多利德	A/堪薩斯州	A/墨西哥
1	515	174	387	1,516	37	56
2	732	279	303	1,069	92	168
3	284	86	54	406	913	832
4	427	140	132	456	612	598
5	748	227	318	729	1,244	1,148
6	684	212	209	1,340	38	64
7	487	148	134	656	23	26
10	20	25	20	20	20	20

【0306】 如上表4和圖8所示，除了增加mNT力價的幅度之外，在PIV配製品組3-組5中，不同的3C.3A進化支中的毒株的覆蓋率是100%，而在QIV配製品組6和組7中沒有觀察到3C.3A進化支的覆蓋率，如圖9所示。通過遞送兩種不同的H3 HA使多進化支季節中的覆蓋率最大化，證明了改善護理標準四價疫苗配製品的功效的潛力。

【0307】 還應注意，除非上下文另外清楚地指明，否則如在本公開文本和所附申請專利範圍中使用的，單數形式“一個/一種（a）”、“一個/一種（an）”和“所述（the）”包括複數指示物。視情況（optional或optionally）意指隨後描述的事件或情況可以發生或可以不發生，並且所述描述包括發生所述事件或情況的情形和不發生所述事件或情況的情形。例如，短語視情況地組成物可以包含組合意指組成物可以包含不同分子的組合或可以不包含組合，使得所述描述包括組合和不存在組合（即，組合的單獨成員）兩者。範圍可以在本文中被表述為從約一個特定值和/或至約另一個特定值。當表現這樣的範圍時，另一態樣包括從一個特定值和/或至另一個特定值。類似地，當通過使用先行詞約將值表示

為近似值時，將理解所述特定值形成另一個態樣。應當進一步理解，每個範圍的端點相對於其他端點都是重要的，並且獨立於其他端點。將本公開文本中引用的所有參考文獻通過引用以其整體特此併入。

【符號說明】無。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種免疫原性組成物，該免疫原性組成物包含：

(a) 第一流感病毒血球凝集素（HA），其中該第一流感病毒HA是來自第一護理標準流感病毒株的H1 HA，或編碼該第一流感病毒H1 HA的第一核糖核酸分子；

(b) 第二流感病毒HA，其中該第二流感病毒HA是來自第二護理標準流感病毒株的H3 HA，或編碼該第二流感病毒H3 HA的第二核糖核酸分子；

(c) 第三流感病毒HA，其中該第三流感病毒HA來自B/維多利亞譜系的第三護理標準流感病毒株，或編碼來自該B/維多利亞譜系的第三流感病毒HA的第三核糖核酸分子；

(d) 第四流感病毒HA，其中該第四流感病毒HA來自B/山形譜系的第四護理標準流感病毒株，或編碼來自該B/山形譜系的第四流感病毒HA的第四核糖核酸分子；和

(e) 具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的一種或多種機器學習流感病毒HA，或編碼該一種或多種機器學習流感病毒HA的一種或多種核糖核酸分子，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA選自H1 HA、H3 HA、來自B/維多利亞譜系的HA、來自B/山形譜系的HA或其組合。

【請求項2】 如請求項1所述的免疫原性組成物，其中該核糖核酸分子是mRNA分子。

【請求項3】 如請求項1或2所述的免疫原性組成物，其中該核糖核酸分子被包封在脂質奈米顆粒（LNP）中。

【請求項4】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該分子序

列是胺基酸序列或核酸序列。

【請求項5】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA包含野生型流感病毒HA分子序列。

【請求項6】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA包含非野生型流感病毒HA分子序列。

【請求項7】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是重組流感病毒HA。

【請求項8】 如請求項1至6中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA存在於滅活流感病毒，視情況地在裂解滅活病毒中。

【請求項9】 如請求項1至6中任一項所述的免疫原性組成物，包含編碼該一種或多種機器學習流感病毒HA中的至少一種的核糖核酸分子。

【請求項10】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中該第五流感H3 HA與該第二流感H3 HA在抗原性方面不相似。

【請求項11】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中該第五流感H3 HA增強了由該第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應。

【請求項12】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中該第五流感H3 HA擴寬了由該第二流感H3 HA誘發的保護性免疫反應。

【請求項13】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中第五流感H3 HA來自與該第二流感H3 HA相比不同的進化支。

【請求項14】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中該第五流感H3 HA與該第二流感H3 HA在抗原性方面相似。

【請求項15】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H3 HA，並且其中該第五流感H3 HA來自與該第二流感H3 HA相比相同的進化支。

【請求項16】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中該第五流感H1 HA與該第一流感H1 HA在抗原性方面不相似。

【請求項17】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中該第五流感H1 HA增強了由該第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應。

【請求項18】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中該第五流感H1 HA擴寬了由該第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應。

【請求項19】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H1

HA，並且其中該第五流感H1 HA來自與該第一流感H1 HA相比不同的進化支。

【請求項20】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中該第五流感H1 HA與該第一流感H1 HA在抗原性方面相似。

【請求項21】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是H1 HA，並且其中該第五流感H1 HA來自與該第一流感H1 HA相比相同的進化支。

【請求項22】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是來自3C.2A進化支的H3 HA。

【請求項23】 如請求項1至9中任一項所述的免疫原性組成物，其中該一種或多種機器學習流感病毒HA是第五流感病毒HA，其中該第五流感病毒HA是來自3C.3A進化支的H3 HA。

【請求項24】 如請求項1至15中任一項所述的免疫原性組成物，該免疫原性組成物進一步包含第六流感病毒HA。

【請求項25】 如請求項24所述的免疫原性組成物，其中該第六流感病毒HA是具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的H1 HA，或編碼該第六流感病毒HA的核糖核酸分子。

【請求項26】 如請求項25所述的免疫原性組成物，其中該第六流感H1 HA與該第一流感H1 HA在抗原性方面不相似，其中該第六流感H1 HA增強了由該第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，其中該第六流感H1 HA擴寬了由該第一流感H1 HA誘發的保護性免疫反應，其中該第六流感H1 HA來自與該第一流感H1 HA

相比不同的進化支，其中該第六流感H1 HA來自與該第一流感H1 HA相比相同的進化支，或者其中該第六流感H1 HA與該第一流感H1 HA在抗原性方面相似。

【請求項27】 如請求項24至26中任一項所述的免疫原性組成物，該免疫原性組成物進一步包含具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的來自該B/維多利亞譜系的第七流感病毒HA，或編碼該第七流感病毒HA的核糖核酸分子。

【請求項28】 如請求項24至27中任一項所述的免疫原性組成物，該免疫原性組成物進一步包含具有由機器學習模型鑒定或設計的分子序列的來自該B/山形譜系的第八流感病毒HA，或編碼該第八流感病毒HA的核糖核酸分子。

【請求項29】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該機器學習模型係被訓練來預測生物反應。

【請求項30】 如請求項29所述的免疫原性組成物，其中該生物反應是人類、雪貂或小鼠生物反應。

【請求項31】 如請求項29或30所述的免疫原性組成物，其中該生物反應包括血球凝集素抑制測定（hemagglutinin inhibition assay，HAI）、抗體鑑識（antibody forensics，AF）或中和測定（neutralization assay）。

【請求項32】 如請求項1至31中任一項所述的免疫原性組成物，其中該第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種均是重組流感病毒HA。

【請求項33】 如請求項1至31中任一項所述的免疫原性組成物，其中該第一、第二、第三和第四流感病毒HA中的每一種均存在於滅活流感病毒中。

【請求項34】 如請求項1至31中任一項所述的免疫原性組成物，包含作為核糖核酸分子的該第一、第二、第三和第四流感病毒HA。

【請求項35】 如請求項7至34中任一項所述的免疫原性組成物，其中該重組

流感病毒HA中的每一種均由在經培養昆蟲細胞中的桿狀病毒表現系統所產生。

【請求項36】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該第一流感病毒HA是來自H1N1流感病毒株的H1 HA，並且該第二流感病毒HA是來自H3N2流感病毒株的H3 HA。

【請求項37】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該組成物進一步包含佐劑。

【請求項38】 如請求項37所述的免疫原性組成物，其中該佐劑包括水包鯊烯佐劑或基於脂質體的佐劑。

【請求項39】 如請求項38所述的免疫原性組成物，其中該水包鯊烯佐劑包括AF03。

【請求項40】 如請求項38所述的免疫原性組成物，其中該基於脂質體的佐劑包括SPA14。

【請求項41】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中每個核糖核酸分子包含一個或多個經修飾的核苷酸。

【請求項42】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該組成物被配製用於肌肉注射。

【請求項43】 如前述請求項中任一項所述的免疫原性組成物，其中該核糖核酸分子被包封在LNP中，該LNP包含陽離子脂質、PEG化脂質、基於膽固醇的脂質和輔助脂質。

【請求項44】 一種使受試者對流感病毒免疫的方法，該方法包括向該受試者投予免疫有效量的如請求項1至43中任一項所述的免疫原性組成物。

【請求項45】 如請求項44所述的方法，其中該方法預防該受試者的流感病毒感染。

【請求項46】 如請求項44或45所述的方法，其中該方法引起該受試者的保護性免疫反應。

【請求項47】 如請求項46所述的方法，其中該保護性免疫反應包括HA抗體反應。

【請求項48】 如請求項44至47中任一項所述的方法，其中該受試者是人類。

【請求項49】 如請求項44至48中任一項所述的方法，其中將該免疫原性組成物係肌內、皮內、皮下、靜脈內、鼻內、通過吸入或腹膜內投予。

【請求項50】 如請求項44至49中任一項所述的方法，其中該方法治療或預防由季節性和大流行性流感毒株之一或兩者引起的疾病。

【請求項51】 如請求項44至50中任一項所述的方法，其中該受試者是人類，並且該人類為6月齡或更大、6至35月齡、至少2歲、至少3歲、小於18歲、至少18歲、至少60歲、至少65歲、至少6月齡且小於18歲、至少3歲且小於18歲、或至少18歲且小於65歲。

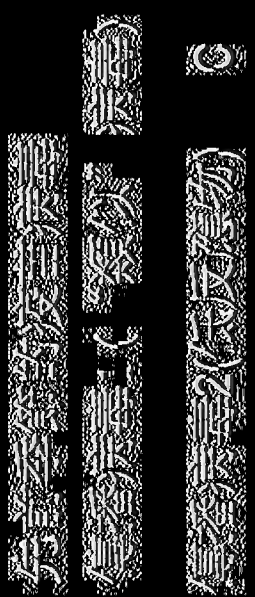
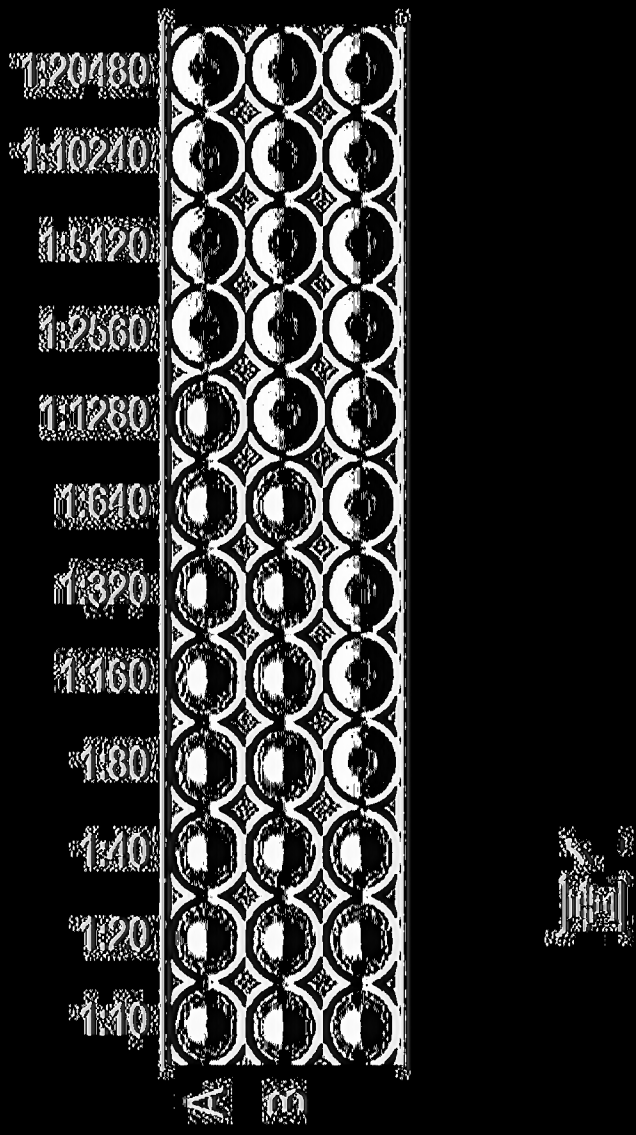
【請求項52】 一種減輕流感病毒感染的一種或多種症狀的方法，該方法包括向受試者投予預防有效量的如請求項1至43中任一項所述的免疫原性組成物。

【請求項53】 如請求項44至52中任一項所述的方法，該方法包括向該受試者以2至6週、視情況地4週的間隔投予兩劑的所述免疫原性組成物。

【請求項54】 一種疫苗組成物，該疫苗組成物包含如請求項1至43中任一項所述的免疫原性組成物。

【請求項55】 如請求項44至53中任一項所述的方法，其中該免疫原性組成物是疫苗組成物。

|(發明圖式)|



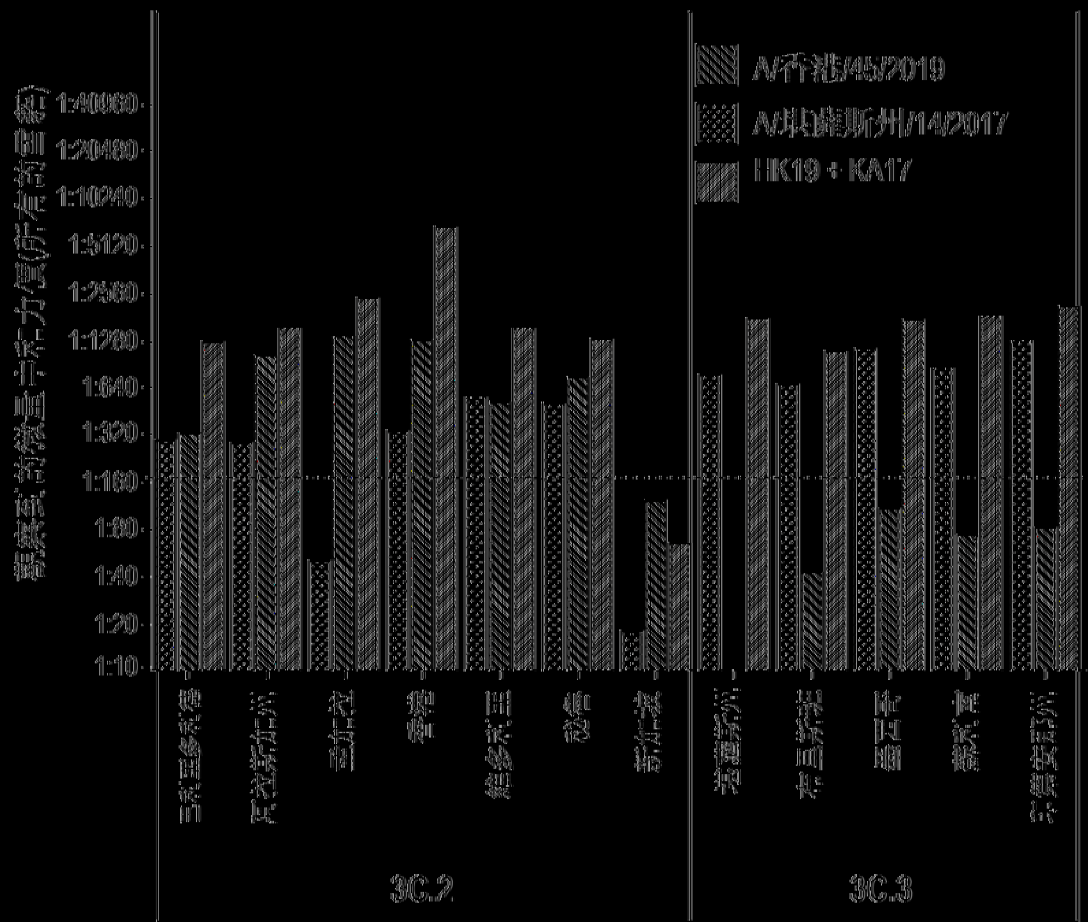
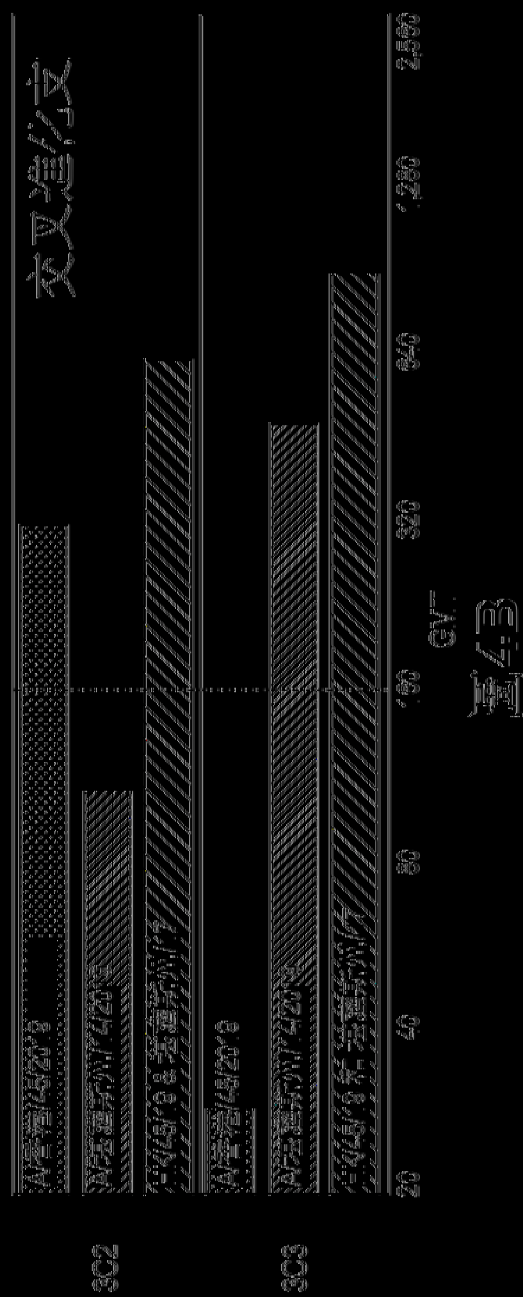
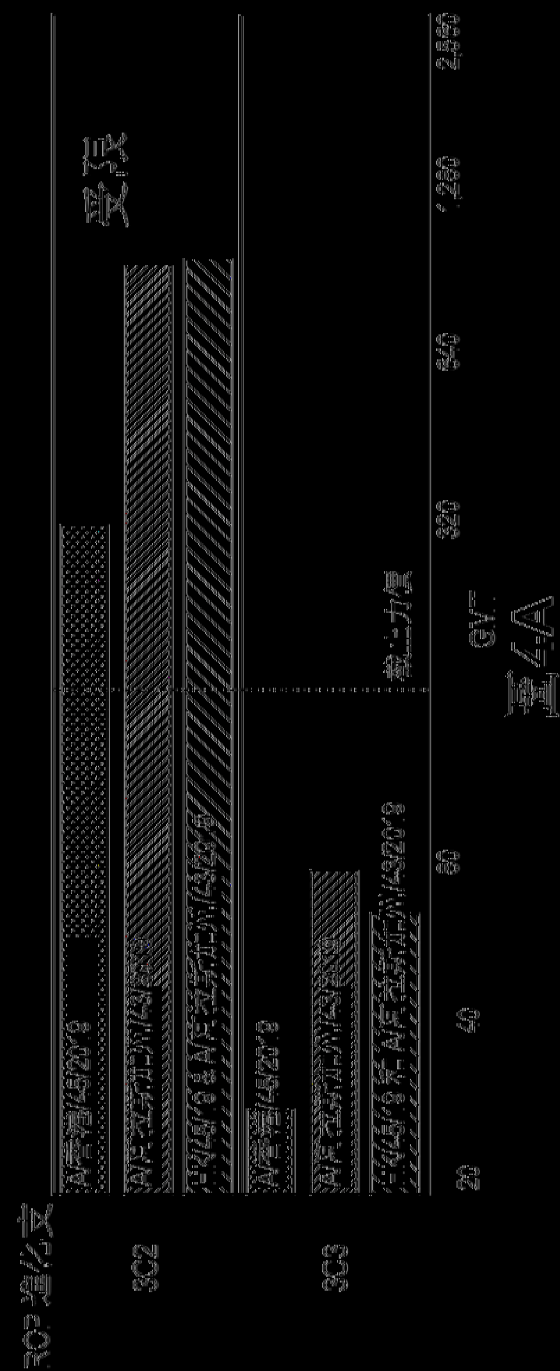


圖3



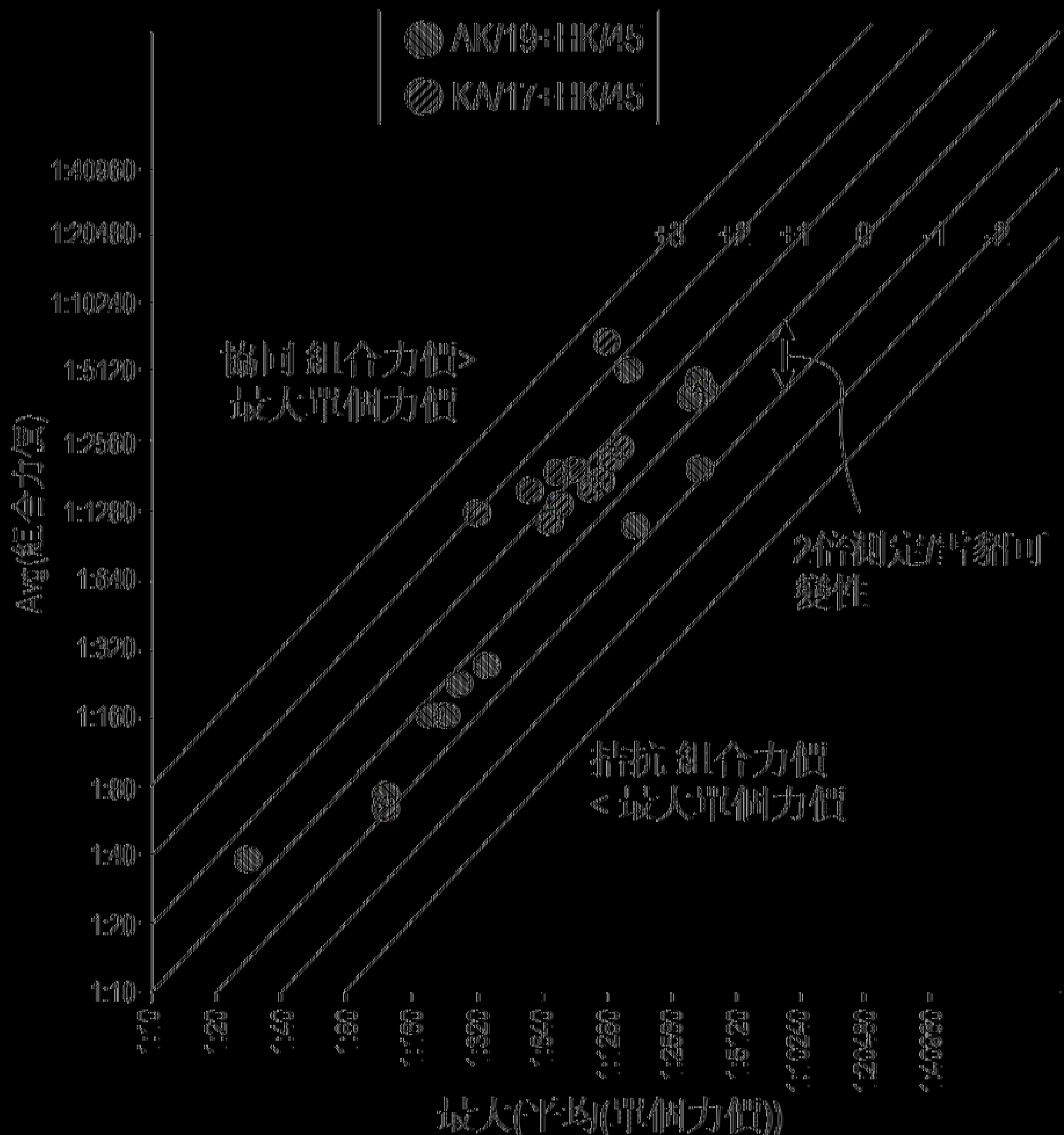


圖5



進化文
■ 902
△ 903

303 毒蛇										
武器品	重量 (kg)	A 三爪拉...		A 骨管...		A 三爪五步蛇...		A 毒龍...		
		GV	GV	GV	GV	GV	GV	GV	GV	
		5	40	320	5	40	320	5	40	320
QV 三爪	15	257	725	1737	1335	222	245	245	245	
	30-33, 15 33-36, 3	652	212	249	1344	38	38	38	38	
303/20 (2A) + V67 5 (2A)	40	515	714	357	1515	37	37	37	37	
	15	732	219	303	1559	92	92	92	92	
303/20 (2A) + V68 152 (3A)	15	227	65	327	205	37	37	37	37	
	75-78, 15 78-81, 3	725	221	315	720	224	224	224	224	
303/20 (2A) + V67 17 (3A)	15	227	140	132	250	32	32	32	32	
	36	205	24	20	20	20	20	20	20	
336	無	205	24	20	20	20	20	20	20	
		5	40	320	5	40	320	5	40	320



2A和3A進化支的覆蓋率% > = 60力價

■ 2A 覆蓋率 ■ 3A 覆蓋率



圖9