(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-505274
(P2024-505274A)
(43)公表日　令和6年2月5日(2024.2.5)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*15/863 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/863	Ｚ	４Ｂ０６５
Ｃ１２Ｎ	*7/01 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	7/01		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*35/76 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/76		４Ｃ０８７
Ａ６１Ｐ	*31/12 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/12		
Ａ６１Ｐ	*31/22 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/22		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全170頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-547031(P2023-547031)
(86)(22)出願日　令和4年2月2日(2022.2.2)
(85)翻訳文提出日　令和5年9月19日(2023.9.19)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/014970
(87)国際公開番号　WO2022/169895
(87)国際公開日　令和4年8月11日(2022.8.11)
(31)優先権主張番号　63/144,834
(32)優先日　令和3年2月2日(2021.2.2)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　522322088
ゲオバックス インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 ３００８０ ジョージア スマーナ レイク パーク ドライブ １９００ スイート ３８０
(71)出願人　519091317
レイドス， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 バージニア ２０１９０， レストン， フリーダム ドライブ １１９５１
(74)代理人　110000796
弁理士法人三枝国際特許事務所
(72)発明者　ハウザー メアリー ジョー
アメリカ合衆国 ３００８０ ジョージア スマーナ レイク パーク ドライブ １９
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ワクチン接種中のＴ細胞プライミングの強化において使用されるウイルスコンストラクト

(57)【要約】
本発明は、ワクチン接種レジメン中の宿主における抗原に対するＴ細胞プライミングを強化する際の有効なアジュバントとして使用される、免疫チェックポイント阻害剤インサートを含むウイルスベースの発現ベクターを提供する。特に、本明細書に記載される組成物は、投与すると多量体構造で発現され、その後、切断されて細胞から分泌される１つ以上のペプチドをコードする新規の組換え改変ワクシニアアンカラ（ＭＶＡ）ウイルスコンストラクトである。このようなペプチドは、例えば、プログラム細胞死タンパク質１（ＰＤ－１）、プログラム細胞死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）、細胞傷害性Ｔリンパ球関連タンパク質４（ＣＴＬＡ－４）、若しくは別の免疫チェックポイント調節因子、又はそれらの組合せの活性化を阻害することによって、免疫チェックポイント経路を下方調節することができる。ワクチン接種方略中の抗原の投与と協調して使用すると、免疫チェックポイントを発現するＭＶＡウイルスコンストラクトは、抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞増殖の大幅な改善、抗原性応答の増加、及びワクチン接種の有効性の改善をもたらす。

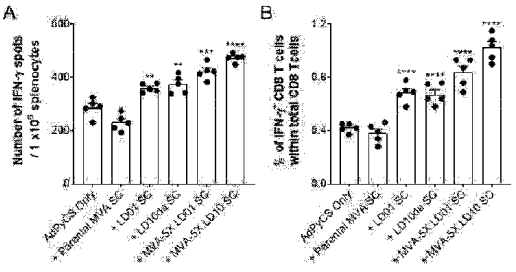


FIG. 9

【特許請求の範囲】
【請求項１】
異種ポリシストロン性核酸を含む組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（ここで、ｘ＝２～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項２】
異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項３】
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項４】
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号１５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～３のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５】
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１若しくは配列番号５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～４のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項６】
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項７】
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項８】
前記分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～７のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項９】
前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６５から選択されるアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０】
前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６６から選択されるアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１１】
前記切断可能なペプチドは、配列番号９１～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～１０のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２】
前記切断可能なペプチドは、配列番号９３、配列番号１２０、及び配列番号１２３から

選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１３】
前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）を含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１４】
前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝Ｒ、Ｋ、又はＨである）（配列番号９２）を含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５】
前記切断可能なペプチドは、ＲＡＫＲ（配列番号９３）である、請求項１～１２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１６】
前記切断可能なペプチドは、ＲＲＲＲ（配列番号９４）である、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１７】
前記切断可能なペプチドは、ＲＫＲＲ（配列番号９５）である、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８】
前記切断可能なペプチドは、ＲＲＫＲ（配列番号９６）である、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１９】
前記切断可能なペプチドは、ＲＫＫＲ（配列番号９７）である、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２０】
前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３～配列番号１２７のアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列である、請求項１～１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２１】
前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸である、請求項１～１２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２２】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３０９～配列番号３２４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２３】
ｘ≧４である、請求項１～２２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２４】
ｘ＝３、４、又は５である、請求項１～２２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２５】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３２５～配列番号３４０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２６】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３４１～配列番号３４４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２７】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３４５～配列番号３４８から選択されるアミノ

酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２８】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３２５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項２９】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３２９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３０】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３３３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３１】
前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３３７のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、請求項１又は２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３２】
前記ポリシストロン性核酸は更に、抗原性ペプチドをコードする、請求項１～３１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３３】
前記抗原性ペプチドは、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群に由来する、請求項３２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３４】
前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、請求項３３に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３５】
前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、請求項３４に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３６】
前記抗原性ペプチドは、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、請求項３２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項３７】
前記抗原性ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質

武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＭＵＣ－１　ＭＡＲＶのＧＰＴＭのアミノ酸配列、マールブルグウイルスのＶＰ４０のアミノ酸配列、並びにＭＵＣ－１－ＥＣＤ－ＭＡＲＶＴＭ－ＩＣＤ配列、又はそれらの断片からなる群に由来する、請求項３２に記載のｒＭＶＡ。

【請求項３８】

前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、請求項３３に記載のｒＭＶＡ。

【請求項３９】

前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、請求項３３に記載のｒＭＶＡ。

【請求項４０】

前記抗原性ペプチドは、ムチン１又はその断片から誘導される、請求項３２に記載のｒＭＶＡ。

【請求項４１】

前記ムチン１は、配列番号４０２の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列によってコードされる、請求項４０に記載のｒＭＶＡ。

【請求項４２】

前記ムチン１は、配列番号３４９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項４０に記載の方法。

【請求項４３】

前記ムチン１は、配列番号４０３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項４０に記載のｒＭＶＡ。

【請求項４４】

前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片を含む、請求項４０に記載のｒＭＶＡ。

【請求項４５】
前記ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片は、配列番号３５８～配列番号３６１、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、請求項４４に記載のｒＭＶＡ。
【請求項４６】
前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片を含む、請求項４０に記載のｒＭＶＡ。
【請求項４７】
前記ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片は、配列番号３６２のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項４６に記載のｒＭＶＡ。
【請求項４８】
前記ムチン１は、配列番号３６３若しくは配列番号３６４、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、請求項４０に記載の方法。
【請求項４９】
前記ムチン１は、配列番号３６３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項４８に記載の方法。
【請求項５０】
前記ムチン１は、配列番号３６４のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項４８に記載の方法。
【請求項５１】
前記抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３５７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項３２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５２】
前記抗原性ペプチドは、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項３２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５３】
前記抗原性ペプチドは、配列番号３５０、配列番号３５４、配列番号３５６、配列番号３６５、配列番号３６６、配列番号３６７、配列番号３６８、配列番号３６９、配列番号３７７、配列番号３７９から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項５１又は５２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５４】
前記抗原性ペプチドは、分泌シグナルを含む、請求項３２～５３のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５５】
前記分泌シグナルは、前記抗原性ペプチドのＮ末端に融合されている、請求項５４に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５６】
前記分泌シグナルは、配列番号５７～配列番号９０のアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、請求項５５に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５７】
前記分泌シグナルは、配列番号６５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項５６に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５８】
前記分泌シグナルは、配列番号６６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項５６に記載のｒＭＶＡ。
【請求項５９】
前記ポリシストロン性核酸は、２つの必須の高度に保存されたＭＶＡ遺伝子の間に挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項６０】
前記ポリシストロン性核酸は、天然の欠失部位に挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項６１】
前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項６２】
前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項６３】
前記ポリシストロン性核酸は、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項６４】
前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項６５】
前記抗原性ペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸は、メチオニン（Ｍ）開始コドンの下流のオープンリーディングフレームにある、請求項３２～６４のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項６６】
患者における標的抗原に対する免疫応答を増加させる方法であって、有効量の請求項１～６５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡウイルスベクターを前記患者に投与することを含み、ここで、前記患者には、有効量の前記標的抗原が投与されたか、又は投与されている、方法。
【請求項６７】
前記ｒＭＶＡウイルスベクターを、前記標的抗原の投与と同時に、又は前記標的抗原の投与の後に投与する、請求項６６に記載の方法。
【請求項６８】
前記標的抗原は、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群から選択される、請求項６６又は６７に記載の方法。
【請求項６９】
前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、請求項６８に記載の方法。
【請求項７０】
前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、請求項６９に記載の方法。
【請求項７１】
前記標的抗原は、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブ

ルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、請求項６６又は６７に記載の方法。

【請求項７２】

前記標的抗原は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片からなる群に由来する、請求項６６又は６７に記載の方法。

【請求項７３】

前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、請求項６８に記載の方法。

【請求項７４】

前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、請求項６８に記載の方法。

【請求項７５】

前記標的抗原は、ムチン１又はその断片から誘導される、請求項６６又は６７に記載の方法。

【請求項７６】

前記ムチン１は、配列番号４０２の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列によってコードされる、請求項７５に記載の方法。
【請求項７７】
前記ムチン１は、配列番号３４９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項７５に記載の方法。
【請求項７８】
前記ムチン１は、配列番号４０３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項７５に記載の方法。
【請求項７９】
前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片を含む、請求項７５に記載の方法。
【請求項８０】
前記ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片は、配列番号３５８～配列番号３６１、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、請求項７９に記載の方法。
【請求項８１】
前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片を含む、請求項７５に記載の方法。
【請求項８２】
前記ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片は、配列番号３６２のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８１に記載の方法。
【請求項８３】
前記ムチン１は、配列番号３６３若しくは配列番号３６４、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、請求項７５に記載の方法。
【請求項８４】
前記ムチン１は、配列番号３６３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８３に記載の方法。
【請求項８５】
前記ムチン１は、配列番号３６４のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８３に記載の方法。
【請求項８６】
前記標的抗原は、配列番号３４９～配列番号３５７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項６６又は６７に記載の方法。
【請求項８７】
前記標的抗原は、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項６６又は６７に記載の方法。
【請求項８８】
前記標的抗原は、配列番号３５０、配列番号３５４、配列番号３５６、配列番号３６５、配列番号３６６、配列番号３６７、配列番号３６８、配列番号３６９、配列番号３７７、配列番号３７９から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項６６又は６７に記載の方法。
【請求項８９】
異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項９０】
異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－

切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。

【請求項９１】

異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ペプチド－切断可能なペプチド）（ウイルスマトリックスタンパク質）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。

【請求項９２】

ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、前記ポリペプチドは、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクター。

【請求項９３】

前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項９４】

前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号１５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９３のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項９５】

前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１若しくは配列番号５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９４のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項９６】

前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項９７】

前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項９８】

前記分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９７のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項９９】

前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１００】

前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～９８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１０１】

前記切断可能なペプチドは、配列番号９１～配列番号１２６から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～１００のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１０２】
前記切断可能なペプチドは、配列番号９３、配列番号１２０、及び配列番号１２３から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０３】
前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）を含む、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０４】
前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝Ｒ、Ｋ、又はＨである）（配列番号９２）を含む、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０５】
前記切断可能なペプチドは、ＲＡＫＲ（配列番号９３）である、請求項８９～１０２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０６】
前記切断可能なペプチドは、ＲＲＲＲ（配列番号９４）である、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０７】
前記切断可能なペプチドは、ＲＫＲＲ（配列番号９５）である、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０８】
前記切断可能なペプチドは、ＲＲＫＲ（配列番号９６）である、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１０９】
前記切断可能なペプチドは、ＲＫＫＲ（配列番号９７）である、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１１０】
前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～１０１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１１１】
前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸を含む、請求項８９～１０２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１１２】
前記抗原性ペプチドは、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群に由来する、請求項８９～１１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１１３】
前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、請求項１１２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１１４】
前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、請求項１１３に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１１５】

前記抗原性ペプチドは、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、請求項８９～１１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１１６】

前記抗原性ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片からなる群に由来する、請求項８９～１１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１１７】

前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、請求項１１２に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１１８】

前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、請求項１１２に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１１９】
前記抗原性ペプチドは、ムチン１又はその断片から誘導される、請求項８９～１１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２０】
前記ムチン１は、配列番号４０２の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列によってコードされる、請求項１１９に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２１】
前記ムチン１は、配列番号３４９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１１９に記載の方法。
【請求項１２２】
前記ムチン１は、配列番号４０３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１１９に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２３】
前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片を含む、請求項１１９に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２４】
前記ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片は、配列番号３５８～配列番号３６１、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、請求項１２３に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２５】
前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片を含む、請求項１１９に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２６】
前記ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片は、配列番号３６２のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１２５に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１２７】
前記ムチン１は、配列番号３６３若しくは配列番号３６４、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、請求項１１９に記載の方法。
【請求項１２８】
前記ムチン１は、配列番号３６３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１２７に記載の方法。
【請求項１２９】
前記ムチン１は、配列番号３６４のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１２７に記載の方法。
【請求項１３０】
前記抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３５７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項８９～１１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１３１】
前記抗原性ペプチドは、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項８９～１１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１３２】
前記抗原性ペプチドは、配列番号４０３から選択されるアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項８９～１１１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１３３】
前記糖タンパク質シグナルペプチドは、フィロウイルス科に由来する、請求項８９～１３２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１３４】

前記糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～１３３のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１３５】

前記糖タンパク質膜貫通ペプチドは、配列番号３９８のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～１３３のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１３６】

前記ウイルスマトリックスタンパク質は、配列番号４００のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項８９～１３５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１３７】

ｘ≧４である、請求項８９～１３６のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１３８】

ｘは、３、４、又は５である、請求項８９～１３６のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１３９】

前記ポリシストロン性核酸は、２つの必須の高度に保存されたＭＶＡ遺伝子の間に挿入されている、請求項８９～１３８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１４０】

前記ポリシストロン性核酸は、天然の欠失部位に挿入されている、請求項８９～１３８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１４１】

前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項８９～１３８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１４２】

前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１４３】

前記ポリシストロン性核酸は、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１４４】

前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、請求項１～５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１４５】

前記抗原性ペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸は、メチオニン（Ｍ）開始コドンの下流のオープンリーディングフレームにある、請求項８９～１４４のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１４６】

ａ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、

ｂ）抗原性ペプチドをコードする第２の核酸配列と、

を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、

前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５７の配列を有するアミノ酸から選択され、かつ、

前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、１つ以上のワクシニアウイルスプロモー

ターの制御下にある、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項１４７】
ａ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、
ｂ）抗原性ペプチドをコードする第２の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１であり、かつ、前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、１つ以上のワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項１４８】
ａ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、
ｂ）抗原性ペプチドをコードする第２の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５であり、かつ、前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、１つ以上のワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項１４９】
前記分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１４６～１４８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５０】
前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１４６～１４９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５１】
前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１４６～１４９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５２】
前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１２８～配列番号３０８の核酸配列から選択される、請求項１４６～１５１のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５３】
前記抗原性ペプチドは、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群に由来する、請求項１５２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５４】
前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、請求項１５３に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５５】
前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又

はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、請求項１５４に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５６】
前記抗原性ペプチドは、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、請求項１５２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５７】
前記抗原性ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片からなる群に由来する、請求項１５２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５８】
前記抗原性ペプチドは、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、請求項１５２に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１５９】
前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、必須のＭＶＡ遺伝子間で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項１４６～１５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１６０】
前記第１の核酸配列は、必須のＭＶＡ遺伝子間で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項１４６～１５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１６１】
前記第２の核酸配列は、必須のＭＶＡ遺伝子間で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項１４６～１６０のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１６２】
前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間

、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項１４６～１５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１６３】

前記第１の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項１４６～１５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１６４】

前記第２の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、請求項１４６～１５８のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１６５】

前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１２８～配列番号１３０の核酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一の核酸配列である、請求項１４６～１６４のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１６６】

前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１３０、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列である、請求項１４６～１６５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１６７】

前記抗原性ペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸は、メチオニン（Ｍ）開始コドンの下流のオープンリーディングフレームにある、請求項１４６～１６６のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１６８】

ｘ≧４である、請求項１４６～１６７のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１６９】

ｘは、３、４、又は５である、請求項１４６～１６７のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１７０】

ｉ）（ムチン１細胞外断片ペプチド－糖タンパク質膜貫通ペプチド－ムチン１細胞内断片ペプチド）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、

ｉｉ）マールブルグウイルス（ＭＡＲＶ）のＶＰ４０タンパク質を含むアミノ酸配列をコードする第２の核酸配列と、

ｉｉｉ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第３の核酸配列と、

を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、

前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、前記キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質は一緒に集合してウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ｒＭＶＡウイルスベクター。

【請求項１７１】

ｉ）キメラアミノ酸配列をコードする配列番号４０２の核酸配列を含む第１の核酸配列と、

ｉｉ）配列番号４０４の核酸配列を含む第２の核酸配列と、

ｉｉｉ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第３の

核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、前記キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質は一緒に集合してウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項１７２】
ｉ）配列番号４０３のアミノ酸配列を含むキメラアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、
ｉｉ）配列番号４０５のアミノ酸配列を含むＭＡＲＶのＶＰ４０マトリックスタンパク質をコードする第２の核酸配列と、
ｉｉｉ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第３の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、前記キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質は一緒に集合してウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ｒＭＶＡウイルスベクター。
【請求項１７３】
前記第３の核酸配列は、配列番号４０８の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列を含む、請求項１７０～１７２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１７４】
前記第３の核酸配列は、配列番号４０９の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列を含む、請求項１７０～１７２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１７５】
前記第３の核酸配列は、配列番号１、配列番号５、若しくは配列番号３０９～配列番号３４８から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸である、請求項１７０～１７２のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１７６】
前記第３の核酸配列は、配列番号３２５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、請求項１７５に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１７７】
前記第３の核酸配列は、配列番号３２９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、請求項１７５に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１７８】
前記第３の核酸配列は、配列番号３３３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、請求項１７５に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１７９】
前記第３の核酸配列は、配列番号３３７のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、請求項１７５に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８０】
前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、２つの必須の高度に保存されたＭＶＡ遺伝子の間に挿入されている、請求項１７０～１７９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。

【請求項１８１】
前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、請求項１７０～１７９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８２】
前記第１の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間に挿入されている、請求項１７０～１７９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８３】
前記第２の核酸配列は、前記再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間に挿入されている、請求項１７０～１７９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８４】
前記第３の核酸配列は、２つの必須のＭＶＡ遺伝子のＡ５ＲとＡ６Ｌとの間に挿入されている、請求項１７０～１７９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８５】
前記第１の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間に挿入されており、前記第２の核酸配列は、前記再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間に挿入されており、かつ前記第３の核酸配列は、２つの必須のＭＶＡ遺伝子のＡ５ＲとＡ６Ｌとの間に挿入されている、請求項１７０～１７９のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８６】
前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１２８～配列番号３０８から選択される核酸配列である、請求項１７０～１８５のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８７】
前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１３０、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列である、請求項１７０～１８６のいずれか一項に記載のｒＭＶＡ。
【請求項１８８】
請求項８９～１８７のいずれか一項に記載の少なくとも１つのｒＭＶＡと、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。
【請求項１８９】
予防、治療、又は誘導を必要とする患者における標的抗原に対する免疫応答を予防、治療、又は誘導する方法であって、有効量の請求項１８８に記載の医薬組成物を投与することを含み、ここで、前記医薬組成物は、前記標的抗原に対する免疫を強化する、方法。
【請求項１９０】
前記標的抗原は、腫瘍関連抗原及び感染性因子からなる群から選択される、請求項１８９に記載の方法。
【請求項１９１】
前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、請求項１９０に記載の方法。
【請求項１９２】
前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン

関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、請求項１９０に記載の方法。

【請求項１９３】

前記患者は、癌を患っているヒトである、請求項１８９～１９２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１９４】

前記癌は、腸癌、卵巣癌、乳癌、悪性黒色腫、肝細胞癌、精巣癌、前立腺癌、多発性骨髄腫、リンパ腫、結腸直腸癌、胆管癌、膵臓癌、肺癌、黒色腫、軟部肉腫、又は結腸癌から選択される、請求項１９３に記載の方法。

【請求項１９５】

前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、請求項１９０に記載の方法。

【請求項１９６】

前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、請求項１９５に記載の方法。

【請求項１９７】

前記感染性因子は、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２

のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片から誘導される、請求項１９０に記載の方法。

【請求項１９８】

前記患者は、前記感染性因子に曝露されたヒトである、請求項１９５～１９７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１９９】

前記曝露されたヒトには症状が出ている、請求項１９８に記載の方法。

【請求項２００】

前記曝露されたヒトには症状が出ていない、請求項１９８に記載の方法。

【請求項２０１】

前記患者は、前記感染性因子に曝露されていないヒトである、請求項１９５～１９７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２０２】

前記ｒＭＶＡ投与は、筋肉内注射、動脈内注射、血管内注射、静脈内注射、腹腔内注射、又は皮下注射から選択される、請求項１８８～２０１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２０３】

前記ｒＭＶＡは、免疫応答を強化するアジュバントを含む、請求項１８８～２０２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２０４】

前記ｒＭＶＡは、免疫応答を誘導するワクチンを含む、請求項１８８～２０２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２０５】

前記患者に、前記医薬組成物を少なくとも２回以上投与する、請求項１９２～２０４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２０６】

前記投与には、少なくとも４週間の間隔が空けられる、請求項２０５に記載の方法。

【請求項２０７】

患者における免疫応答を強化する方法であって、有効量の請求項８９～１８７のいずれか一項に記載のｒＭＶＡを前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項２０８】

患者におけるＭＵＣ１抗原に対する免疫応答を誘導する方法であって、有効量の請求項１１９～１４５又は請求項１７０～１８７のいずれか一項に記載のｒＭＶＡを前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項２０９】

前記患者は、ヒトである、請求項２０７又は２０８に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

［関連出願の相互参照］

本出願は、２０２１年２月２日付で出願された米国仮特許出願第６３／１４４，８３４号の利益を主張する。この出願の全体があらゆる目的で引用することにより本明細書の一部をなす。

【０００２】

本発明は、ワクチン接種レジメン中の宿主における抗原に対するＴ細胞プライミングを強化する際に有効なアジュバントとして使用される、免疫チェックポイント阻害剤をコードする核酸インサートを含むウイルスベースの発現ベクターを提供する。特に、本明細書

に記載される組成物は、投与すると多量体構造で発現され、その後、切断されて細胞から分泌される免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする新規の組換え改変ワクシニアアンカラ（ＭＶＡ）ウイルスコンストラクトである。

【０００３】

［参照による援用］

テキストファイルのコンテンツは、「１９１０１－０１４ＷＯ１＿ＳＥＱ＿ＴＸＴ」と名前が付けられ、２０２２年２月１日に作成され、サイズ５６４ＫＢであり、その内容全体を引用することにより本明細書の一部をなす。

【背景技術】

【０００４】

ワクチンは現代医学における最も重要な進歩の１つと考えられ、多くの重篤な感染性疾患を軽減又は排除することによって生活の質を大幅に改善した。ワクチンは、例えば、細菌毒素（例えば、破傷風毒素及びジフテリア毒素）、急性ウイルス病原体（例えば、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、風疹ウイルス）、潜伏性又は慢性のウイルス病原体（例えば、それぞれ水痘帯状疱疹ウイルス［ＶＺＶ］及びヒトパピローマウイルス［ＨＰＶ］）、呼吸器病原体（例えば、インフルエンザウイルス、ボルデテラ・パーツシス（Bordetella pertussis）ウイルス）、及び腸内病原体（例えば、ポリオウイルス、サルモネラ・チフィ（Salmonella typhi）ウイルス）を含む幅広いヒト病原体に対して開発されている。承認されたワクチンのほとんどは、弱毒化生ワクチン、非複製型全粒子ワクチン（ウイルス様粒子、すなわちＶＬＰを含む）、及びサブユニットワクチンとして分類され得る。

【０００５】

しかしながら、ワクチンの開発を成功させるには、体液性免疫応答及び細胞性免疫応答からなる強力で持続的な防御免疫が必要とされる。病原体を効果的に排除するには、免疫の両方の要素が不可欠である。多くの病原体に対するワクチンの開発に進展が見られているが、強力で耐久性のある防御的なＴ細胞免疫、特にＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞応答を誘発することができないことが大きな障害となっており、特に細胞内病原体に対する多くのワクチン開発の取り組みに失敗する主な理由となっている（例えば、非特許文献１を参照）。

【０００６】

これらの固有の障害を克服する１つの方略は、免疫原性を増強するアジュバントを特定し使用することであり、自然免疫活性化並びにモデル抗原及び潜在的なワクチンへの適応免疫応答に対する推定上のアジュバントの影響を評価することにかなりの研究が費やされてきた（例えば、非特許文献２、非特許文献３、非特許文献４を参照）。

【０００７】

例えば、アルハイドロゲルは、特徴がはっきりした水酸化アルミニウムアジュバントであり、これは、現在、幾つかのＦＤＡ承認ワクチンに含まれている。アルハイドロゲルは、抗原がｉｎ　ｖｉｖｏでよりゆっくりと放出されるデポー効果を与えることから、抗原曝露の延長がもたらされ、これはアジュバント性に寄与する場合も、又は寄与しない場合もある（非特許文献５）。さらに、アルハイドロゲルは、アルハイドロゲルベースのワクチンの免疫原性に寄与し得るインフラマソームを活性化することが明らかになっている（非特許文献６）。

【０００８】

ＰｏｌｙＩＣＬＣは、カルボキシメチルセルロース中のポリ－Ｌ－リジンによって安定化された二本鎖ＲＮＡである（非特許文献７）。ＰｏｌｙＩＣＬＣは、トール様受容体－３（ＴＬＲ３）及び潜在的に黒色腫分化関連タンパク質５（ＭＤＡ５）受容体を介してシグナルを伝達することから、強力なＩ型ＩＦＮ応答が誘発され、これにより免疫応答がＴｈ１プロファイル応答に偏る（非特許文献８）。ＰｏｌｙＩＣＬＣは、治療目的及びワクチン目的の両方について多数の臨床試験中にある（非特許文献９）。

【０００９】

ＣｐＧオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちＣｐＧ　ＯＤＮ）は、シトシン三リン酸

デオキシヌクレオチド（「Ｃ」）と、それに続くグアニン三リン酸デオキシヌクレオチド（「Ｇ」）とを含む短い一本鎖合成ＤＮＡ分子である。「ｐ」は連続するヌクレオチド間のホスホジエステル連結を指すが、ＯＤＮは代わりに修飾ホスホロチオエート（ＰＳ）骨格を有する場合もある。これらのＣｐＧモチーフがメチル化されていない場合、これらは免疫賦活剤として作用し、アジュバントとしても調査されている（非特許文献１０）。

【００１０】

ＭＰＬはＴＬＲ４アゴニストであり、ＧＳＫアジュバントＡＳ０４の活性成分である（非特許文献１１）。ＭＰＬは、特にアルハイドロゲルのようなアルミニウムベースのアジュバント又はナノ粒子製剤と組み合わせると、アジュバントとして非常に有効であることが明らかになっている（非特許文献１２）。

【００１１】

その他のよく知られたアジュバントとしては、ミョウバンベースのアジュバント、オイルベースのアジュバント、フロイントアジュバント、ｓｐｅｃｏｌ、Ｒｉｂｉアジュバント、マイコバクテリウム・バッカエ（myobacterium vaccae）、免疫刺激複合体（ＩＳＣＯＭＳ）、ＭＦ－５９、ＳＢＡＳ－２、ＳＢＡＳ－４、ｄｅｔｏｘ　Ｂ　ＳＥ（Ｅｎｈａｎｚｙｎ（商標））、リピドＡミメティックＲＣ－５２９、アミノアルキルグルコサミニド４－ホスフェート（ＡＧＰ）、ＣＲＸ－５２７、モノホスホリルリピドＡ（例えば、ＭＰＬ－ＳＥ）、解毒されたサポニン誘導体（例えば、ＱＳ－２１、ＱＳ７）、エスシン、ジギトニン、カスミソウ（gypsophila）サポニン及びキヌア（Chenopodium quinoa）サポニンが挙げられる（例えば、非特許文献１３を参照）。

【００１２】

アジュバントの配合及び使用の大幅な進展にもかかわらず、アジュバントの大部分は自然炎症危険シグナル（innate inflammatory danger signals）を生成するように設計されている。これらの危険シグナルは、抗原提示及びサイトカイン産生を含む自然免疫活性化に不可欠であるが、Ｔ細胞プライミングへの直接的な効果は限られており（非特許文献１４、非特許文献１５）、一般的なアジュバントを使用するワクチン接種方略のほとんどは長期メモリーＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞を誘発することができない（非特許文献１６）。これは、免疫抑制微小環境を克服するのに必要なＴ細胞応答を強化する免疫調節方略を要する、慢性感染症及び癌を対象としたワクチン接種中に特に当てはまる。

【００１３】

そのような方略の１つは、プログラム細胞死タンパク質１（ＰＤ－１）又はプログラム細胞死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）等の免疫チェックポイント阻害受容体を下方調節することであった。例えば、ＰＤ－１は、抗原提示に対するＴ細胞応答の閾値、強度、及び期間を調節する際に機能する（非特許文献１７）。ＰＤ１は、ナイーブＴ細胞の活性化時に急速に上方調節され、これは、感染中及び感染後の制御不能な炎症による宿主への損傷を最小限に抑えるのに必要とされる（非特許文献１８）。非ヒト霊長類において、ＳＩＶｇａｇアデノウイルスベースのワクチンと、抗ＰＤ１モノクローナル抗体との組合せによる免疫化は、Ｇａｇ特異的Ｔ細胞応答のピークを大幅に上昇させた（非特許文献１９）。

【００１４】

癌を治療するのに開発されたモノクローナル抗体（ｍＡｂ）ベースのチェックポイント阻害剤は、免疫機能を効果的に回復することができるが、感染性疾患のワクチン学の分野には直ちに役立たない。それらの長い血清中半減期のため、抗ＰＤ１モノクローナル抗体は、重度の免疫関連有害事象（ｉｒＡＥ）を引き起こし、自己免疫疾患に陥らせる可能性があることから（非特許文献２０、非特許文献２１）、これらを予防的ワクチンアジュバントとして使用することは許容され得ない。

【００１５】

したがって、安全かつ有効な免疫化をもたらすワクチン接種方略において免疫チェックポイント阻害剤を使用する改善された方法が求められている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【００１６】
【非特許文献１】Seder et al.著の「細胞性免疫を必要とする細胞内感染症に対するワクチン（Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity.）」 Nature. 2000 Aug 17;406(6797):793-8
【非特許文献２】Halbroth et al.著の「抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を強化する分子アジュバントの開発（Development of a Molecular Adjuvant to Enhance Antigen-Specific CD8+T Cell Responses.）」 Sci Rep. 2018 Oct 9;8(1):15020
【非特許文献３】Counoupas et al.著の「デルタイヌリンベースのアジュバントは、多機能性ＣＤ４＋Ｔ細胞応答の生成及びマイコバクテリウム・ツベルクローシス感染症に対する防御を促進する（Delta inulin-based adjuvants promote the generation of polyfunctional CD4+T cell responses and protection against Mycobacterium tuberculosis infection.）」 Sci Rep. 2017 Aug 17;7(1):8582
【非特許文献４】Thakur et al.著の「細胞内病原体：宿主免疫及び微生物持続方略（Intracellular Pathogens: Host Immunity and Microbial Persistence Strategies.）」 Immunol Res. 2019 Apr 14;2019:1356540
【非特許文献５】Hutchison et al.著の「抗原デポーはミョウバンアジュバント性には必要とされない（Antigen depot is not required for alum adjuvanticity.）」 FASEB J. 2012;26:1272-1279
【非特許文献６】Guven et al.著の「水酸化アルミニウムアジュバントは、代替経路の主要な関与により３つの補体経路を異なる様式で活性化する（Aluminum hydroxide adjuvant differentially activates the three complement pathways with major involvement of the alternative pathway.）」 PLoS One. 2013;8:e74445
【非特許文献７】Levy et al.著の「霊長類においてインターフェロンを誘導する修飾ポリリボイノシン酸－ポリリボシチジル酸複合体（A modified polyriboinosinic-polyribocytidylic acid complex that induces interferon in primates.）」 J. Infect. Dis. 1975;132:434-439
【非特許文献８】Wang et al.著の「最前線：ポリイノシン酸：ポリシチジル酸は、間質細胞において発現される黒色腫分化関連タンパク質５を介してメモリーＣＤ８Ｔ細胞の生成を高める（Cutting edge: polyinosinic:polycytidylic acid boosts the generation of memory CD8 T cells through melanoma differentiation-associated protein 5 expressed in stromal cells.）」 J. Immunol. 2010;184:2751-2755
【非特許文献９】Martins et al.著の「ｐｏｌｙ－ｉｃ及び誘導体のワクチンアジュバントでの使用（Vaccine adjuvant uses of poly-ic and derivatives.）」 Expert Rev. Vaccines. 2015;14:447-459
【非特許文献１０】Marshall et al.著の「Ｂ細胞及び形質細胞様樹状細胞の機能を最適に刺激する新規のｃｐｇ　ＤＮＡクラス及びモチーフの特定（Identification of a novel cpg DNA class and motif that optimally stimulate B cell and plasmacytoid dendritic cell functions.）」 J. Leukoc. Biol. 2003;73:781-792
【非特許文献１１】Einstein et al.著の「１８歳～４５歳の健康な女性におけるヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）－１６／１８　ＡＳ０４アジュバントワクチン及びＨＰＶ－６／１１／１６／１８ワクチンの体液性免疫原性及び細胞性免疫原性と安全性との比較：第ＩＩＩ相無作為化研究における４８ヶ月目までのフォローアップ（Comparative humoral and cellular immunogenicity and safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine and HPV-6/11/16/18 vaccine in healthy women aged 18-45 years: follow-up through month 48 in a Phase III randomized study.）」 Hum. Vaccines Immunother. 2014;10:3455-3465
【非特許文献１２】Bohannon et al.著の「トール様受容体４アゴニストの免疫生物学：エンドトキシン耐性から免疫アジュバントまで（The immunobiology of Toll-Like receptor 4 agonists: from endotoxin tolerance to immunoadjuvants.）

」 Shock. 2013;40:451-462
【非特許文献１３】Alving et al.著の「ヒトワクチン用のアジュバント（Adjuvants for Human Vaccines.）」 Curr Opin Immunol. 2012 Jun; 24(3): 310-315
【非特許文献１４】Powell et al.著の「ポリイオン性ワクチンアジュバント：アルミニウム塩及び高分子電解質の見直し（Polyionic vaccine adjuvants: another look at aluminum salts and polyelectrolytes.）」 Clin Exp Vaccine Res. 2015 Jan;4(1):23-45
【非特許文献１５】Petrovsky N.著の「ワクチンアジュバントの安全性の比較：現在の証拠及び将来の需要の概要（Comparative Safety of Vaccine Adjuvants: A Summary of Current Evidence and Future Needs.）」 Drug Saf. 2015 Nov;38(11):1059-74
【非特許文献１６】Kamphorst et al.著の「アジュバントを超えて：Ｔ細胞免疫を強化する免疫調節方略（Beyond Adjuvants: Immunomodulation strategies to enhance T cell immunity.）」 Vaccine. 2015 Jun 8; 33(0 2): B21-B28
【非特許文献１７】Okazaki et al.著の「免疫応答用のレオスタット：ＰＤ－１の特有の特性及び臨床応用に関するそれらの利点（A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application.）」 Nat Immunol. 2013 Dec;14(12):1212-8
【非特許文献１８】Ahn et al.著の「エフェクターＣＤ８Ｔ細胞分化中のＰＤ－１の役割（Role of PD-1 during effector CD8 T cell differentiation.）」 PNAS 2018 May 1;115(18):4749-4754
【非特許文献１９】Finnefrock et al.著の「アカゲザルにおけるＰＤ－１遮断：慢性感染症に対する影響及び予防的ワクチン接種（PD-1 blockade in rhesus macaques: impact on chronic infection and prophylactic vaccination.）」 J Immunol. 2009 Jan 15;182(2):980-7
【非特許文献２０】Brahmer et al.著の「難治性固形腫瘍における単剤抗プログラム死１（ＭＤＸ－１１０６）の第Ｉ相研究：安全性、臨床活性、薬力学、及び免疫学的相関（Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates.）」 J Clin Oncol. 2010 Jul 1;28(19):3167-75
【非特許文献２１】Topalian et al.著の「癌における抗ＰＤ－１抗体の安全性、活性、及び免疫相関（Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer.）」 N Engl J Med. 2012 Jun 28;366(26):2443-54

【発明の概要】
【００１７】
本明細書において、ヒト等の宿主における免疫化プロトコル中にアジュバント又はワクチンとして使用される、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターを含む組成物が提供される。ｒＭＶＡは、１つ以上の免疫チェックポイント経路を阻害することができるペプチド（免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）を高濃度で発現するように構築されている。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ポリシストロン性の多量体核酸インサートから発現され、細胞から分泌される。
【００１８】
ＰＤ－１阻害剤ペプチド（ＬＤ０１－配列番号１）をアデノウイルスベースの又は放射線照射スポロゾイトベースの予防的マラリアワクチンと組み合わせて投与して使用すると、免疫コンピテントマウスにおける抗原特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の増殖が強化されることが以前に明らかにされた（Phares et al.著の「ペプチドベースのＰＤ１アンタゴニストは、Ｔ細胞プライミング及び予防的マラリアワクチンの有効性を高め、致死性マラリアモデルにおける生存を促進する（A peptide-based PD1 antagonist enhances T-cell priming and efficacy of a prophylactic malaria vaccine and promotes survival in a lethal malaria model.）」 Front. Immunol. 11, 1377 (2020)

（引用することにより本明細書の一部をなす）を参照）。本明細書に示されるように、ＭＶＡウイルスベクターの自然向性には流入領域リンパ節に遊走して全身に広がり得る樹状細胞等の専門的な抗原提示細胞が含まれるため、送達運搬体としてＭＶＡを使用して免疫チェックポイント阻害剤を発現させることが、ワクチン接種方略中に重大な利点をもたらすことが目下判明した。宿主の抗原への曝露中に、十分かつ大量の治療レベルの免疫チェックポイント阻害剤をリンパ節環境において、例えばポリシストロン性の多量体構造で発現させることにより、ＣＤ８＋Ｔ細胞プライミングが大幅に強化されると考えられている。以下の実施例に示されるように、ワクチン接種方略中に抗原の投与と協調して使用すると、免疫チェックポイントを発現するｒＭＶＡウイルスコンストラクトは、例えば、そのような免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのそのままの投与と比較して、抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞増殖の大幅な改善、抗原応答の増加、及びワクチン接種の有効性の改善をもたらし、従来技術のアジュバント方略に対して大幅な改善をもたらす。

【００１９】

一態様においては、本明細書において、１つ以上のキメラポリペプチド、例えば１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、又は１０以上のキメラポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、各キメラポリペプチドが、分泌シグナルペプチド及び免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、２つ以上のキメラポリペプチドをコードする異種核酸インサートを含み、ここで、２つ以上のキメラポリペプチドは、単一の異種ポリシストロン性核酸インサートから発現され、２つ以上のキメラポリペプチドをコードする核酸配列のそれぞれは、ポリシストロン性核酸配列において作動可能に連結されている。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡは、２つ以上の異種ポリシストロン性インサート、例えば２つ、３つ、又は４つ以上のポリシストロン性インサートを含む。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡから発現されるキメラポリペプチドの集団は、２つ以上の異なる免疫チェックポイント阻害剤ペプチドから構成される。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡは、ｒＭＶＡによって発現されると、感染性因子に対する防御免疫を提供又は強化するのに十分な免疫原性を誘導することができる１つ以上の抗原性ペプチドを更にコードする。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡは、ｒＭＶＡによって発現されると、宿主において、障害、例えば、感染性疾患又は癌の１つ以上の症状又は病態を改善する免疫応答を誘導することができる。

【００２０】

幾つかの態様において、ポリシストロン性核酸インサートによってコードされる分泌シグナルペプチド及び免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを含むキメラポリペプチドのそれぞれは、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に連結された翻訳中又は翻訳後に切断され得るペプチド配列を含む。分泌型免疫チェックポイント阻害剤ペプチドが多量体構造で挿入される場合、切断可能なペプチドを含めることにより、多量体の各キメラポリペプチドが翻訳中に（例えば、翻訳の新生鎖分離事象を通じて）単量体として発現されるか、又は代替的な実施の形態において、翻訳後に単量体に切断されるか、又は両方の組合せが可能となる。幾つかの実施の形態において、最も３’側の核酸によってコードされるキメラポリペプチドは、切断可能なペプチド配列を欠如している。

【００２１】

幾つかの実施の形態においては、本明細書において、ポリペプチドをコードする異種核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、ポリペプチドが、配列（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）$_x$（ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される。

【００２２】

幾つかの実施の形態においては、本明細書において、ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、ポリペプチド

が、タンデムリピート配列（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される（例えば、図１Ａ及び図１Ｂを参照）。幾つかの実施の形態においては、本明細書において、タンデムリピート配列における２つ以上のポリペプチドと、最後のポリペプチドのＣ末端に融合されたタンデムリピート配列における追加のポリペプチドとをコードする（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍはメチオニンである）異種ポリシストロン性核酸インサートを含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される（例えば、図２Ａ及び図２Ｂを参照）。

【００２３】

幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、２つ以上のポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートを含み、ここで、ポリペプチドは、本明細書に記載されるタンデムリピート配列、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンであり、第１のポリペプチドをコードする配列は、５’→３’方向に配向される）を含む第１のポリペプチドタンデムリピート配列と、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンであり、第２のポリペプチドをコードする配列は、３’→５’方向に配向される）を含む第２のポリペプチドタンデムリピート配列とを含み、ここで、各シストロンは、転写を開始することができるポックスウイルスプロモーターを含む。幾つかの実施の形態において、ｘ＝３、４、５、又は６である。

【００２４】

本明細書において提供されるように、ｒＭＶＡをアジュバントとして使用して、ワクチン接種プロトコル中に１つ以上の同時投与される抗原の免疫原性を高める。１つ以上のチェックポイント阻害剤経路を下方調節することができる１つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを局在的に大量に発現させることにより、免疫を誘導するのに十分な抗原性の発生を妨げることがよく見られる免疫調節活性を下方調節することができる。或る特定の態様において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、限定されるものではないが、プログラム細胞死タンパク質－１（ＰＤ－１）、プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）、プログラム死リガンド２（ＰＤ－Ｌ２）、細胞傷害性Ｔリンパ球関連タンパク質４（ＣＴＬＡ－４）、リンパ球活性化遺伝子３（ＬＡＧ－３）、Ｔ細胞免疫グロブリン及びムチンドメイン－３（ＴＩＭ－３）、Ｔ細胞活性化のＶドメインＩｇサプレッサー（ＶＩＳＴＡ）、Ｂ７ホモログタンパク質（Ｂ７）、Ｂ７ホモログ３タンパク質（Ｂ７－Ｈ３）、Ｂ７ホモログ４タンパク質（Ｂ７－Ｈ４）、Ｂ７ホモログ５タンパク質（Ｂ７－Ｈ５）、ＯＸ－４０（ＯＸ－４０）、ＯＸ－４０リガンド（ＯＸ－４０Ｌ）、グルココルチコイド誘導性ＴＮＦＲ関連タンパク質（ＧＩＴＲ）、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、Ｂ及びＴリンパ球アテニュエーター（ＢＴＬＡ）、ヘルペスウイルス侵入メディエーター（ＨＶＥＭ）、ガラクチン－９（ＧＡＬ９）、キラー細胞免疫グロブリン様受容体（ＫＩＲ）、ナチュラルキラー細胞受容体２Ｂ４（２Ｂ４）、ＣＤ１６０、チェックポイントキナーゼ１（ＣＨＫ１）、チェックポイントキナーゼ２（ＣＨＫ２）、アデノシンＡ２ａ受容体（Ａ２ａＲ）、Ｉｇ及びＩＴＩＭドメインを有するＴ細胞免疫受容体（ＴＩＧＩＴ）、誘導性Ｔ細胞共刺激因子（ＩＣＯＳ）、誘導性Ｔ細胞共刺激因子リガンド（ＩＣＯＳ－Ｌ）、又はそれらの組合せから選択される受容体タンパク質によって媒介される免疫チェックポイント経路の活性を阻害することができる。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－１を阻害することができる。幾つかの実施の形態において、免疫

チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－Ｌ１を阻害することができる。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＣＴＬＡ－４を阻害することができる。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、若しくはＣＴＬＡ－４、又はそれらの組合せを阻害することができる。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の両方を阻害することができる。

【００２５】

幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、表１に記載されるペプチド、又はそれらのホモログ、誘導体、若しくは断片から選択される。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチド、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチド、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列（ＣＲＲＴＳＴＧＱＩＳＴＬＲＶＮＩＴＡＰＬＳＱ）を有するペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列（ＳＴＧＱＩＳＴＬＲＶＮＩＴＡＰＬＳＱ）を有するペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するアミノ酸から選択される。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列（ＳＴＧＱＩＳＴＬＡＶＮＩＴＡＰＬＳＱ）を有するペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するアミノ酸から選択される。

【００２６】

本明細書において提供される幾つかの態様において、ｒＭＶＡによって発現される免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのそれぞれは、そのＮ末端で分泌シグナルペプチドに融合され、ここで、ｒＭＶＡは２つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを発現し、そのＣ末端で１つ以上の切断可能なペプチドに融合されている。分泌シグナルペプチドにより、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは小胞体（ＥＲ）へと移行することが可能となる。成長中のペプチド鎖の翻訳と同時のＥＲ内腔への挿入後に、シグナルペプチダーゼにより免疫チェックポイント阻害剤ペプチドからシグナルペプチドが切断され、免疫チェックポイント阻害剤が分泌される（例えば、図３Ａ、図３Ｂ、及び図３Ｃを参照）。本明細書において使用される分泌シグナルペプチドは、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドの分泌を可能にするあらゆる適切なシグナルペプチドであり得る。本発明において使用される分泌シグナルペプチドは、当該技術分野において知られている（例えば、Kober et al.著の「高発現ＣＨＯ細胞系統の開発に最適化されたシグナルペプチド（Optimized signal peptides for the development of high expressing CHO cell lines.）」 Biotechnol Bioengin. 2013;110:1164-1173（引用することにより本明細書の一部をなす）を参照）。幾つかの実施の形態において、分泌シグナルペプチドは、天然のヒト排出タンパク質から誘導される約１５アミノ酸から３０アミノ酸の間の長さを有する短いペプチドである。幾つかの実施の形態において、分泌シグナルは、表２（配列番号５７～配列番号９０）の分泌シグナル、又はそれらのホモログ、誘導体、若しくは断片から選択される分泌シグナルである。幾つかの実施の形態において、分泌シグナルペプチドは、例えば、限定されるものではないが、ヒト成長因子、ヒトサイトカイン、インターロイキン－１、インターロイキン－２、ヒト免疫グロブリンカッパ軽鎖、トリプシノーゲン、血清アルブミン、プロラクチン、組織プラスミノーゲン活性化因子、アルカリホスファターゼ、又は本明細書に記載される他の適切な分泌シグナル配列であるか、又はそれらから

誘導される。幾つかの実施の形態において、分泌シグナルペプチドは、ヒト組織プラスミノーゲン活性化因子から誘導される。幾つかの実施の形態において、分泌シグナルペプチドは、アミノ酸配列ＤＡＭＫＲＧＬＣＣＶＬＬＬＣＧＡＶＦＶＳＰＳＱ（配列番号６５）を含むヒト組織プラスミノーゲン活性化因子、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから誘導される。幾つかの実施の形態において、分泌シグナルペプチドは、アミノ酸配列ＤＡＭＫＲＧＬＣＣＶＬＬＬＣＧＡＶＦＶＳＰＳＱＥＩＨＡＲＦＲＲＧＡＲ（配列番号６６）を含むヒト組織プラスミノーゲン活性化因子、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから誘導される。幾つかの実施の形態において、ポリシストロン性核酸インサートによってコードされる第１のポリペプチドの分泌シグナルペプチドは、開始アミノ酸のメチオニン（Ｍ）を更に含む。

【００２７】

幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤キメラポリペプチドのうちの１つ以上は、ポリシストロン性核酸の翻訳中若しくは翻訳後に、又はそれらの組合せで切断され得る、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された１つ以上のペプチド配列を含む（例えば、図３Ａ、図３Ｂ、及び図３Ｃを参照）。幾つかの実施の形態において、最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤キメラポリペプチドは、切断可能なペプチドを含まない。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチドは、例えば、限定されるものではないが、フーリン又はフーリン様プロタンパク質コンバターゼを含むプロタンパク質コンバターゼ酵素によって切断され得る。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチド配列は、塩基性アミノ酸標的配列（標準的には、ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ）（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）を含む。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチド配列は、塩基性アミノ酸標的配列（標準的には、ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ）（ここで、Ｘ＝Ｒ、Ｋ、又はＨである）（配列番号９２）を含む。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチド配列は、ＲＡＫＲ（配列番号９３）である。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチド配列は、ＲＲＲＲ（配列番号９４）である。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチドは、ＲＫＲＲ（配列番号９５）である。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチドは、ＲＲＫＲ（配列番号９６）である。幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチドは、ＲＫＫＲ（配列番号９７）である。共有結合で連結されたキメラポリペプチドのそれぞれに切断可能なペプチド配列を含めることによって、ポリシストロン性核酸インサートの翻訳中に発現される多量体ポリペプチドは、翻訳後に切断機構を通じて単量体キメラポリペプチドへとプロセシングされ得る。これにより、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを含む各キメラポリペプチドが細胞から分泌され、不所望な免疫チェックポイント経路を下方調節するように機能することが可能となる（例えば、図３Ａを参照）。

【００２８】

幾つかの実施の形態において、各キメラポリペプチドは、ポリシストロン性核酸の翻訳中にリボザイムスキッピング（ribozyme skipping）を誘導し得る免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された１つ以上のペプチド配列を含む。リボソーム「スキッピング」は、特定のペプチド配列がリボソームによる新たな挿入されるアミノ酸の共有結合での連結を妨げるが、それでも翻訳が継続される翻訳の代替機構である。これにより、リボソームスキッピングの誘導によってポリタンパク質の「切断」がもたらされる。幾つかの実施の形態において、リボソームスキッピングを誘導することができるペプチドは、シス作用性ヒドロラーゼエレメントペプチド（ＣＨＹＳＥＬ）である。幾つかの実施の形態において、ＣＨＹＳＥＬ配列は、強力なαヘリックス性向を有するアミノ酸の非保存配列と、それに続くコンセンサス配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）とを含み、ここで、リボソームスキッピング切断はＧ配列とＰ配列との間で起こる。幾つかの実施の形態において、ＣＨＹＳＥＬ配列は、ＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号９９）を含む。幾つかの実施の形態において、ＣＨＹＳＥＬペプチド配列は、表４における配列から選択される配列、又はそれらと少なくとも８５％、

９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。幾つかの実施の形態において、ＣＨＹＳＥＬペプチド配列は、配列番号１００～配列番号１２２から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。幾つかの実施の形態において、ＣＨＹＳＥＬペプチド配列は、配列番号１１８～配列番号１２２から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。幾つかの実施の形態において、ＣＨＹＳＥＬペプチド配列は、ＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２０）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを含む。リボソームスキッピングを誘導するペプチド配列を含めることによって、ポリシストロン性核酸インサートによりコードされる多数のキメラポリペプチドが単量体として発現され、その後これらは細胞から分泌され、不所望な免疫チェックポイント経路を下方調節するように機能する（例えば、図３Ｂを参照）。

【００２９】

幾つかの実施の形態において、切断可能なペプチド配列は、異なる機構によって切断され得る２つ以上の配列、例えば、ポリシストロン性核酸の翻訳後に切断され得る切断可能なペプチド配列と、ポリシストロン性核酸の翻訳中にリボザイムスキッピングを誘導し得るペプチド配列とを含む。多数の切断方式に従う切断可能なペプチド配列を提供することによって、ポリシストロン性核酸からの単量体形成の効率を改善することができる。幾つかの実施の形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、そのＣ末端でフーリン切断可能なペプチド配列、例えば、ペプチド配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）に融合されており、フーリン切断可能なペプチド配列のＣ末端に融合されているのは、例えば、Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）を含むＣＨＹＳＥＬペプチド配列である。例えば、各キメラポリペプチド間のＣＨＹＳＥＬペプチド配列のＮ末端に融合されたＲＡＫＲ（配列番号９３）等のフーリン切断可能なペプチド配列を含めることによって、転写されたポリシストロン性核酸は翻訳中にリボザイムスキッピングを受け、その結果、単量体キメラポリペプチドの産生がもたらされ、翻訳後プロセシング及びフーリンペプチドの切断後に、フーリン切断配列のアルギニン（Ｒ）残基及びアラニン（Ａ）残基以外の全ては免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に残ることから、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドの機能に対する余分なアミノ酸配列の潜在的な干渉は限定される（例えば、図３Ｃを参照）。代替的な実施の形態において、フーリン切断可能なペプチドであるＲＲＲＲ（配列番号９４）、ＲＫＲＲ（配列番号９５）、又はＲＲＫＲ（配列番号９６）の使用により、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端からの完全なフーリン切断配列の除去がもたらされ、残留アミノ酸は残らない。幾つかの実施の形態において、ハイブリッド切断配列は、ＲＡＫＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２３）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。幾つかの実施の形態において、ハイブリッド切断配列は、ＲＲＲＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２４）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。幾つかの実施の形態において、ハイブリッド切断配列は、ＲＫＲＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２５）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。幾つかの実施の形態において、ハイブリッド切断配列は、ＲＲＫＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２６）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。幾つかの実施の形態において、ハイブリッド切断配列は、ＲＫＫＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２７）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドである。

【００３０】

幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、配列番号３０９～配列番号３４０、又は配列番号３４１～配列番号３４８から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、配列番号３２５～配列番号３４０、又は配列番号３４５～配列番号３４８のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、配列番号３２５のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、配列番号３２９のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、配列番号３３３のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、配列番号３３７のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む。

【００３１】

核酸インサートの転写は、核酸内に含まれる第１のコーディング配列の最初の開始コドンの５’に位置し、そこに作動可能に連結されたＭＶＡウイルスベクターと適合可能な１つ以上のプロモーターによって開始され得る。ポックスウイルス発現ベクターと適合可能な適切なプロモーターは当該技術分野において知られており、限定されるものではないが、ｐｍＨ５、ｐ１１、ｐＳｙｎ、ｐＨｙｂ、又はあらゆる他の適切なＭＶＡプロモーター配列が挙げられる。幾つかの実施の形態において、プロモーターは、ＭＶＡのＯＲＦ用の天然プロモーターである。幾つかの実施の形態において、プロモーターは、表７におけるプロモーター、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の配列を有する核酸から選択される。幾つかの実施の形態において、プロモーター配列は、配列番号１２８～配列番号３０８、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列から選択される。幾つかの実施の形態において、プロモーター配列は、配列番号１３０～配列番号１３２、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列から選択される。幾つかの実施の形態において、プロモーター配列は、配列番号１３０、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列である。

【００３２】

多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドが発現される幾つかの実施の形態において、キメラポリペプチドが単一の転写物として転写されるため、ポリシストロン性核酸インサートは、最後のキメラポリペプチドのＯＲＦ配列のみに続いて、１つ以上の終結シグナル（例えば、ＴＡＡ、ＴＡＧ、若しくはＴＧＡ等の終止コドン、又はそれらの組合せ若しくは繰り返し）を含む。転写されると、多数のキメラポリペプチドは単一の転写物を生じ、その後これは翻訳される。翻訳後プロセシングの後に、多数の単量体キメラポリペプチドが生成される。

【００３３】

本発明の提供されるｒＭＶＡウイルスコンストラクトをアジュバントとして使用して、被験体における感染性疾患若しくは癌を治療若しくは予防し、又は感染性疾患若しくは癌に対する免疫応答を誘導することができる。幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトは、投与を必要とする被験体、例えばヒトに、感染性疾患を予防する予防的ワクチン接種プロトコルにおいて、例えば初回接種段階、追加接種段階、又は初回接種段階及び追加接種段階の両方で投与される。代替的な実施の形態において、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトは、投与を必要とする被験体、例えばヒトに、例えば癌を治療するワクチン接種プロトコルを含む治療法において投与される。したがって、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトを、抗原性標的に対する免疫応答を誘導することが意図される１つ以上の抗原と協調して投与して、誘導を必要とする被験体における部分的又は完全な免疫化を誘導することができる。

【００３４】
したがって、本発明のｒＭＶＡを、感染性疾患又は癌を標的とする１つ以上の抗原とともに投与することができる。ｒＭＶＡをアジュバントとして一緒に使用することができる抗原及び抗原送達運搬体の例としては、抗原性タンパク質、ポリペプチド、若しくはペプチド、若しくはそれらの断片、１つ以上の抗原をコードする核酸、例えばｍＲＮＡ若しくはＤＮＡ、多糖類、若しくは多糖類とタンパク質とのコンジュゲート、糖脂質、例えばガングリオシド、トキソイド、サブユニット（例えば、ウイルス、細菌、真菌、アメーバ、寄生虫等のサブユニット）、ウイルス様粒子、生ウイルス、スプリットウイルス、弱毒化ウイルス、不活化ウイルス、エンベロープを有するウイルス、１つ以上の抗原を発現するウイルスベクター、腫瘍関連抗原、又はそれらのあらゆる組合せが挙げられる。

【００３５】
特定の態様において、本発明は、予防若しくは治療又は誘導を必要とする被験体における感染性疾患を予防若しくは治療する、又はそれに対する免疫応答を誘導する方法であって、有効量の本発明のｒＭＶＡを、予防的有効量又は治療的有効量の１つ以上の抗原又は抗原を発現するベクターと組み合わせて、それらと交互に、又はそれらと連係して投与することを含み、ここで、ｒＭＶＡが、標的となる感染性疾患に対する免疫を強化する、方法を提供する。

【００３６】
幾つかの実施の形態において、標的となる感染症は、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、及びポックスウイルスを含むがこれらに限定されない二本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルスを含むがこれに限定されない一本鎖ＤＮＡウイルス、レオウイルスを含むがこれに限定されない二本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ピコルナウイルス、及びトガウイルスを含むがこれらに限定されないプラス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス及びラブドウイルスを含むがこれらに限定されないマイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、レトロウイルスを含むがこれに限定されない一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、又はヘパドナウイルスを含むがこれに限定されない二本鎖ＤＮＡレトロウイルスを含むがこれらに限定されないウイルス感染症である。幾つかの実施の形態において、標的となるウイルスは、アデノウイルス、鳥インフルエンザウイルス、コクサッキーウイルス、サイトメガロウイルス、デング熱ウイルス、エボラウイルス、エプスタインバーウイルス、ウマ脳炎ウイルス、フラビウイルス、ヘパドナウイルス、Ａ型肝炎ウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、Ｃ型肝炎ウイルス、Ｄ型肝炎ウイルス、Ｅ型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトパピローマウイルス、インフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルス、ＪＣウイルス、麻疹ウイルス（measles morbillivirus）、マールブルグウイルス、中東呼吸器症候群コロナウイルス、ムンプスルブラウイルス、オルソミクソウイルス、パピローマウイルス、パラインフルエンザウイルス、パルボウイルス、ピコルナウイルス、ポリオウイルス、ポックスウイルス、狂犬病ウイルス、レオウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、レトロウイルス、ラブドウイルス、ライノウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ロタウイルス、風疹ウイルス、はしかウイルス（rubeola virus）、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス１型、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２型、天然痘ウイルス、トガウイルス、ブタインフルエンザウイルス、水痘－帯状疱疹ウイルス、大痘瘡ウイルス、小痘瘡ウイルス、及び黄熱病ウイルスである。

【００３７】
幾つかの実施の形態において、標的となる感染症は、ボレリア属の複数種（Borrelia species）、バチルス・アンシラシス（Bacillus anthraces）、ボレリア・ブルグドルフェリ（Borrelia burgdorferi）、ボルデテラ・パーツシス（Bordetella pertussis）、カンピロバクター・ジェジュニ（Camphylobacter jejuni）、クラミジア属の複数種（Chlamydia species）、クラミジア・プシッタシ（Chlamydial psittaci）、クラミジア・トラコマティス（Chlamydial trachomatis）、クロストリジウム属の複数種（Clostridium species）、クロストリジウム・テタニ（Clostridium tetani）、クロストリジウム・ボツリナム（Clostridium botulinum）、クロストリジウム

・パーフリンジェンス（Clostridium perfringens）、コリネバクテリウム・ジフテリアエ（Corynebacterium diphtheriae）、コクシエラ属の複数種（Coxiella species）、エンテロコッカス属の複数種（Enterococcus species）、エーリキア属の複数種（Erlichia species）、エシェリキア・コリ（Escherichia coli）、フランシセラ・ツラレンシス（Francisella tularensis）、ヘモフィルス属の複数種（Haemophilus species）、ヘモフィルス・インフルエンザエ（Haemophilus influenzae）、ヘモフィルス・パラインフルエンザエ（Haemophilus parainjluenzae）、ラクトバシラス属の複数種（Lactobacillus species）、レジオネラ属の複数種（Legionella species）、レジオネラ・ニューモフィラ（Legionella pneumophila）、レプトスピロシス・インターロガンス（Leptospirosis interrogans）、リステリア属の複数種（Listeria species）、リステリア・モノサイトゲネス（Listeria monocytogenes）、マイコバクテリウム属の複数種（Mycobacterium species）、マイコバクテリウム・ツベルクローシス（Mycobacterium tuberculosis）、マイコバクテリウム・レプラエ（Mycobacterium leprae）、マイコプラズマ属の複数種（Mycoplasma species）、マイコプラズマ・ニューモニエ（Mycoplasma pneumoniae）、ナイセリア属の複数種（Neisseria species）、ナイセリア・メニンギティディス（Neisseria meningitidis）、ナイセリア・ゴノレア（Neisseria gonorrhoeae）、ニューモコッカス属の複数種（Pneumococcus species）、シュードモナス属の複数種（Pseudomonas species）、シュードモナス・エルギノーザ（Pseudomonas aeruginosa）、サルモネラ属の複数種（Salmonella species）、サルモネラ・チフィ（Salmonella typhi）、サルモネラ・エンテリカ（Salmonella enterica）、ストレプトコッカス属の複数種（Streptococcus species）、リケッチア属の複数種（Rickettsia species）、リケッチア・リケッチイ（Rickettsia ricketsii）、リケッチア・チフィ（Rickettsia typhi）、シゲラ属の複数種（Shigella species）、スタフィロコッカス属の複数種（Staphylococcus species）、スタフィロコッカス・アウレウス（Staphylococcus aureus）、ストレプトコッカス属の複数種（Streptococcus species）、ストレプトコッカス・ニューモニエ（Streptococccus pneumoniae）、ストレプトコッカス・ピオゲネス（Streptococcus pyrogenes）、ストレプトコッカス・ミュータンス（Streptococcus mutans）、トレポネーマ属の複数種（Treponema species）、トレポネーマ・パリズム（Treponema pallidum）、ビブリオ属の複数種（Vibrio species）、ビブリオ・コレラエ（Vibrio cholerae）、及びエルシニア・ペスティス（Yersinia pestis）を含むがこれらに限定されない細菌である。

【００３８】

幾つかの実施の形態において、標的となる感染症は、アスペルギルス属の複数種（Aspergillus species）、カンジダ属の複数種（Candida species）、カンジダ・アルビカンス（Candida albicans）、カンジダ・トロピカリス（Candida tropicalis）、クリプトコッカス属の複数種（Cryptococcus species）、クリプトコッカス・ネオフォルマンス（Cryptococcus neoformans）、エントアメーバ・ヒストリティカ（Entamoeba histolytica）、ヒストプラズマ・カプスラーツム（Histoplasma capsulatum）、リーシュマニア属の複数種（Leishmania species）、ノカルジア・アステロイデス（Nocardia asteroides）、プラスモディウム・ファルシパルム（Plasmodium falciparum）、トキソプラズマ・ゴンディ（Toxoplasma gondii）、トリコモナス・バギナリス（Trichomonas vaginalis）、トキソプラズマ属の複数種（Toxoplasma species）、トリパノソーマ・ブルセイ（Trypanosoma brucei）、シストソーマ・マンソニ（Schistosoma mansoni）、フサリウム属の複数種（Fusarium species）、及びトリコフィトン属の複数種（Trichophyton species）の真菌を含むがこれらに限定されない真菌感染症である。

【００３９】

幾つかの実施の形態において、標的となる感染症は、プラスモディウム属の複数種（Plasmodium species）、トキソプラズマ属の複数種（Toxoplasma species）、エン

トアメーバ属の複数種（Entamoeba species）、バベシア属の複数種（Babesia species）、トリパノソーマ属の複数種（Trypanosoma species）、リーシュマニア属の複数種（Leshmania species）、ニューモシスチス属の複数種（Pneumocystis species）、トリコモナス属の複数種（Trichomonas species）、ジアルジア属の複数種（Giardia species）、及びシストソーマ属の複数種（Schisostoma species）からの寄生虫を含むがこれらに限定されない寄生虫である。

【００４０】

幾つかの実施の形態において、予防若しくは治療又は誘導を必要とする被験体における癌を予防若しくは治療する、又はそれに対する免疫応答を誘導する方法であって、有効量の本発明のｒＭＶＡを、予防的有効量又は治療的有効量の１つ以上の腫瘍関連抗原又は腫瘍関連抗原を発現するベクターと組み合わせて、それらと交互に、又はそれらと連係して投与することを含み、ここで、ｒＭＶＡが、癌に対する免疫を強化する、方法。幾つかの実施の形態において、腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）は、限定されるものではないが、典型的には胎児組織及び癌性体細胞でのみ発現される癌胎児性ＴＡＡ、典型的には造腫瘍性形質転換ウイルスによってコードされる腫瘍ウイルス性ＴＡＡ、典型的には正常組織及び新生物組織の両方によって発現され、新生物では発現レベルが大幅に上昇する過剰発現／蓄積したＴＡＡ、典型的には癌細胞並びに精巣及び胎盤等の成体生殖組織によってのみ発現される癌－精巣ＴＡＡ、典型的には単一の癌組織型によって主に発現される系譜限定のＴＡＡ、典型的には遺伝子突然変異又は転写の変化の結果として癌によってのみ発現される突然変異したＴＡＡ、典型的にはグリコシル化等における腫瘍関連の変化を有する翻訳後改変されたＴＡＡ、並びに典型的には腫瘍細胞が特定の「クロノタイプ」を発現する、すなわちクローン異常から生ずるＢ細胞、Ｔ細胞のリンパ腫／白血病と同様の高度に多型性の遺伝子であるイディオタイプＴＡＡである。幾つかの実施の形態において、ＴＡＡは、ウィルムス腫瘍タンパク質（ＷＴ１）、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、サバイビン、癌／精巣抗原１（ＮＹ－ＥＳＯ－１）、黒色腫関連抗原３（ＭＡＧＥ－Ａ３）、黒色腫関連抗原４（ＭＡＧＥ－Ａ４）、プロテイナーゼ３（Ｐｒ３）、サイクリンＡ１、高度の相同性を示す滑膜肉腫Ｘ２（ＳＳＸ２）、好中球エラスターゼ（ＮＥ）、ムチン１（ＭＵＣ１）、α－フェトプロテイン（ＡＦＰ）、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、癌抗原１２５（ＣＡ－１２５）、上皮腫瘍抗原（ＥＴＡ）、チロシナーゼ、ｒａｓの異常産物、ｐ５３の異常産物、エプスタインバーウイルス初期抗原（ＥＡ）、潜伏膜タンパク質１（ＬＭＰ１）、及び潜伏膜タンパク質２（ＬＭＰ２）、ガングリオシド、例えば、ＧＭ１ｂ、ＧＤ１ｃ、ＧＭ３、ＧＭ２、ＧＭ１ａ、ＧＤ１ａ、ＧＴ１ａ、ＧＤ３、ＧＤ２、ＧＤ１ｂ、ＧＴ１ｂ、ＧＱ１ｂ、ＧＴ３、ＧＴ２、ＧＴ１ｃ、ＧＱ１ｃ、及びＧＰ１ｃ、並びにガングリオシド誘導体、例えば９－Ｏ－Ａｃ－ＧＤ３、９－Ｏ－Ａｃ－ＧＤ２、５－Ｎ－ｄｅ－ＧＭ３、Ｎ－グリコリルＧＭ３、ＮｅｕＧｃＧＭ３、及びフコシル－ＧＭ１、又はそれらの組合せから選択される。

【００４１】

幾つかの実施の形態において、抗原は、配列番号３４９～配列番号３９４のアミノ酸配列から誘導される。

【００４２】

代替的な実施の形態において、本発明のｒＭＶＡウイルスベクターを、多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを発現する能力に加えて、１つ以上の抗原性ペプチドをコードし発現するように更に構築することができる。１つ以上の抗原性ペプチドは、１つ以上の別個の核酸インサート上にコードされ得るか、又は代替的な実施の形態において、１つ以上の抗原性ペプチドは、多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドと同じポリシストロン性核酸インサート上にコードされる。幾つかの実施の形態においては、本明細書において、ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、ポリペプチドが、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンであ

る）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合された分泌シグナルペプチドを含むキメラポリペプチドに含まれており、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である（例えば、図４Ａ及び図４Ｂを参照）。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドはまた、２つ以上の抗原性ペプチドがポリシストロン性核酸インサートにおいてコードされ、各キメラポリペプチドが本明細書に記載される切断可能なペプチドによって分離されるように提供される。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合された分泌シグナルペプチドと、抗原性ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含むキメラポリペプチドに含まれており、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_y$）（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、最後の抗原含有キメラポリペプチドのＣ末端に融合された抗原含有キメラポリペプチドは切断可能な配列を含まず、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドのＮ末端に融合された分泌シグナルペプチドと、抗原性ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含むキメラポリペプチドに含まれている抗原性ペプチドは、ポリシストロン性核酸インサートにおいて、抗原含有キメラポリペプチドをコードする核酸が免疫チェックポイント阻害剤ペプチド含有キメラポリペプチドの５’に位置するように配向されていてもよく、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、又は代替的には（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドは、その天然の分泌シグナルペプチドを含む。代替的なペプチドにおいて、分泌シグナルペプチドは抗原に由来するのではなく、むしろ異なるタンパク質、合成分泌シグナル、又はコンセンサス分泌シグナルペプチドに由来する。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択される。

【００４３】

幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡにおけるポリシストロン性核酸インサートによってコードされる抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合されたウイルス糖タンパク質シグナル配列と、抗原性ペプチドのＣ末端に融合されたウイルス糖タンパク質膜貫通ドメインとを含むキメラポリペプチドに含まれており、ｒＭＶＡは更に、ウイルスマトリックスタンパク質をコードするように構築されており、ここで、抗原含有キメラペプチドの翻訳切断時に、ウイルスマトリックスタンパク質及び抗原－ウイルス糖タンパク質キメラポリペプチドは、非感染性ウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる。幾つかの実施の形態においては、本明細書において、ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、ポリペプチドが、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、

Ｍ＝メチオニンである）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される（例えば、図５Ａ及び図５Ｂを参照）。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合されたウイルス糖タンパク質シグナル配列と、抗原性ペプチドのＣ末端に融合されたウイルス糖タンパク質膜貫通ドメインと、ウイルス糖タンパク質膜貫通ドメインのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含むキメラポリペプチドに含まれており、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_x$）（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、最後の抗原含有キメラポリペプチドのＣ末端に融合された抗原含有キメラポリペプチドは、切断可能な配列を含まず、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ここで、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超える）は、ポリシストロン性核酸インサートにおいて、抗原含有キメラポリペプチドをコードする核酸が免疫チェックポイント阻害剤ペプチド含有キメラポリペプチドの５’に位置するように配向されていてもよく、例えば（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、又は代替的には（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。なおも更なる実施の形態において、ｒＭＶＡのポリシストロン性核酸インサートは、ウイルスマトリックスタンパク質を更にコードし、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）（ウイルスマトリックスタンパク質））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である（例えば、図６Ａ及び図６Ｂを参照）。代替的な実施の形態において、抗原含有キメラポリペプチド及びウイルスマトリックスタンパク質の両方についてのコーディング配列は、ポリシストロン性核酸において１つ以上のコピーで含まれており、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$）（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、最もＣ末端側のウイルスマトリックスタンパク質は、切断可能なペプチドを欠如し、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_x$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性

ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$）（ここで、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）は、ポリシストロン性核酸インサートにおいて、これらの配列が免疫チェックポイント阻害剤ペプチド含有キメラポリペプチドの５’に位置するように配向されていてもよく、例えば（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、又は代替的には（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施の形態において、抗原からの天然の分泌シグナルは、ウイルス糖タンパク質シグナルペプチドで置き換えられる。幾つかの実施の形態において、抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択される。

【００４４】

標的抗原を含むウイルス様粒子の生成は、これらが強力かつ持続的な体液性免疫応答及び細胞性免疫応答の両方を誘導することができるため、エンベロープを有するウイルスに対するワクチン方略において使用するのに特に適している。例えば、Salvato et al.著の「ラッサウイルス様粒子を発現する改変ワクシニアアンカラの単回投与は致死性脳内ウイルス曝露からマウスを防御する（A Single Dose of Modified Vaccinia Ankara Expressing Lassa Virus-like Particles Protects Mice from Lethal Intra-cerebral Virus Challenge.）」 Pathogens (2019) 8:133を参照。抗原含有ＶＬＰの生成に使用するのに適した糖タンパク質及びマトリックスタンパク質としては、限定されるものではないが、フィロウイルス科（Filoviridae）、例えばマールブルグウイルス、エボラウイルス、又はスーダンウイルス、レトロウイルス科（Retroviridae）、例えばヒト免疫不全ウイルス１型（ＨＩＶ－１）、アレナウイルス科（Arenaviridaea）、例えばラッサウイルス、フラビウイルス科（Flaviviridae）、例えばデングウイルス及びジカウイルスに由来するものが挙げられる。特定の実施の形態において、糖タンパク質及びマトリックスタンパク質は、マールブルグウイルス（ＭＡＲＶ）に由来する。特定の実施の形態において、糖タンパク質は、ＭＡＲＶのＧＰタンパク質（Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＡＦＶ３１２０２．１）に由来する。ＭＡＲＶのＧＰタンパク質のアミノ酸配列は、以下の表１０において配列番号３９５として示される。特定の実施の形態において、ＭＡＲＶのＧＰＳドメインは、糖タンパク質のアミノ酸２～アミノ酸１９（ＷＴＴＣＦＦＩＳＬＩＬＩＱＧＩＫＴＬ）（配列番号３９６、これは、例えば配列番号３９７のＭＶＡに最適化された核酸配列によってコードされ得る）を含み、ＧＰＴＭドメインは、糖タンパク質のアミノ酸配列６４４～６７３（ＷＷＴＳＤＷＧＶＬＴＮＬＧＩＬＬＬＬＳＩＡＶＬＩＡＬＳＣＩＣＲＩＦＴＫＹＩＧ）（配列番号３９８、これは、例えば配列番号３９９のＭＶＡに最適化された核酸配列によってコードされ得る）を含む。幾つかの実施の形態において、ＭＡＲＶのＧＰＳシグナルは、最初のアミノ酸としてメチオニンを更に含む。

【００４５】

ＭＡＲＶのＶＰ４０アミノ酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＪＸ４５８８３４で入手可能であり、以下の表１０における配列番号４００、又はそれと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一の核酸配列として提供される。幾つかの実施の形態において、ＭＡＲＶのＶＰ４０シグナルは、最初のアミノ酸としてメチオニンを更に含む。

【００４６】

幾つかの実施の形態において、ｒＭＶＡにおけるポリシストロン性核酸インサートによってコードされるｒＭＶＡ抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合されたウイルス糖タンパク質シグナル配列と、抗原性ペプチドのＣ末端に融合されたウイルス糖タンパク質膜貫通ドメインとを含むキメラポリペプチドに含まれており、ｒＭＶＡは更に、ウイルスマトリックスタンパク質をコードするように構築されており、ここで、抗原含有キメラペプチドの翻訳切断時に、ウイルスマトリックスタンパク質及び抗原－ウイルス糖タンパク質キメラポリペプチドは、非感染性ウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる。

【００４７】

代替的な実施の形態において、本発明のｒＭＶＡウイルスベクターは、多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを発現する能力に加えて、１つ以上の抗原性ペプチドをコードし発現するように更に構築され、ここで、１つ以上の抗原性ペプチドは、１つ以上の別個の核酸インサート上にコードされる。

【００４８】

幾つかの態様においては、本明細書において、１つ以上のキメラポリペプチドをコードする１つ以上の異種核酸インサートを含み、各キメラポリペプチドが（（Ｍ）（免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）$_{x}$）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、異種核酸インサートが、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ウイルスベクターが提供される。特定の態様においては、本明細書において、１つ以上のキメラポリペプチドをコードする１つ以上の異種核酸インサートを含み、各キメラポリペプチドが（（Ｍ）（免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）$_{x}$）（ここで、ｘ＝１～１０であり、免疫チェックポイント阻害剤は配列番号１を含み、Ｍはメチオニンである）を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、異種核酸インサートが、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ウイルスベクターが提供される。特定の態様においては、本明細書において、１つ以上のキメラポリペプチドをコードする１つ以上の異種核酸インサートを含み、各キメラポリペプチドが（（Ｍ）（免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）$_{x}$）（ここで、ｘ＝１～１０であり、免疫チェックポイント阻害剤は配列番号５を含み、Ｍはメチオニンである）を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、異種核酸インサートが、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ウイルスベクターが提供される。

【００４９】

幾つかの態様においては、本明細書において、ｉ）（ａ）ＭＵＣ－１の細胞外断片、（ｂ）マールブルグウイルス（ＭＡＲＶ）の糖タンパク質（ＧＰ）の膜貫通ドメイン、及び（ｃ）ＭＵＣ－１の細胞内断片を含むキメラアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、ｉｉ）ＭＡＲＶのＶＰ４０マトリックスタンパク質をコードする第２の核酸配列と、ｉｉｉ）１つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする第３の核酸配列とを含む組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列が、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質が一緒に集合して、ウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ウイルスベクターが提供される。特定の態様においては、本明細書において、ｉ）配列番号４０２の核酸配列を含む第１の核酸配列と、ｉｉ）配列番号４０４の核酸配列を含む第２の核酸配列と、ｉｉｉ）１つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする第３の核酸配列とを含む組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列が、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質が一緒に集合して、ウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ウイルスベクターが提供される。特定の態様においては、本明細書において、ｉ）配列番号４０３のアミノ酸配列を含むキメラアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、ｉｉ）配列番号４０５の

アミノ酸配列を含むＭＡＲＶのＶＰ４０マトリックスタンパク質をコードする第２の核酸配列と、ｉｉｉ）１つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする第３の核酸配列とを含む組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列が、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質が一緒に集合して、ウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ウイルスベクターが提供される。

【００５０】

一実施の形態において、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列は、Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、又はＶＩから選択されるＭＶＡの１つ以上の欠失部位へと挿入される。

【００５１】

別の実施の形態において、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列は、天然の欠失部位、改変された天然の欠失部位で、又は必須若しくは非必須のＭＶＡ遺伝子間でＭＶＡへと挿入される。

【００５２】

別の実施の形態において、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列は、同じ天然の欠失部位、改変された天然の欠失部位へと、又は同じ必須若しくは非必須のＭＶＡ遺伝子の間に挿入される。

【００５３】

別の実施の形態において、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列は、異なる天然の欠失部位、異なる改変された欠失部位へと、又は異なる必須若しくは非必須のＭＶＡ遺伝子の間に挿入される。

【００５４】

別の実施の形態において、第１の核酸配列、第２の核酸配列、及び第３の核酸配列は、２つの必須の高度に保存されたＭＶＡ遺伝子の間に挿入され、マトリックスタンパク質配列は、再構築され改変された欠失ＩＩＩへと挿入される。

【００５５】

別の実施の形態において、第１の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間に挿入されており、第２の核酸配列は、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間に挿入されており、かつ第３の核酸配列は、２つの必須のＭＶＡ遺伝子のＡ５ＲとＡ６Ｌとの間に挿入されている。

【００５６】

別の実施の形態において、ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１２８～配列番号３０８から選択される核酸配列である。

【００５７】

別の実施の形態において、ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１３０、又はそれと９５％同一の核酸配列である。

【００５８】

幾つかの実施の形態において、ＭＵＣ－１核酸配列は、配列番号４０３、又はそれと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一の核酸配列として提供される。幾つかの実施の形態において、マールブルグＶＰ４０核酸配列は、配列番号４０４、又はそれと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一の核酸配列として提供される。幾つかの実施の形態において、５ｘＬＤ０１核酸配列は、配列番号４０８、又はそれと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一の核酸配列として提供される。幾つかの実施の形態において、５ｘＬＤ１０核酸配列は、配列番号４０９、又はそれと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一の核酸配列として提供される。

【００５９】

また、本明細書において、本明細書に記載されるＭＶＡへと挿入されるポリシストロン

性核酸配列を含むシャトルベクターだけでなく、本明細書に記載されるポリシストロン性核酸配列インサートを含む単離された核酸配列も提供される。さらに、本明細書において、本明細書に記載されるｒＭＶＡウイルスベクターを含む細胞が提供される。

【図面の簡単な説明】

【００６０】

【図１Ａ】多数のキメラポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示し、ここで、各キメラポリペプチドは、分泌シグナルペプチドと、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチドと、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含む。ポリシストロン性核酸インサートは、２個～１０個以上のキメラポリペプチドをコードすることができ、その最初のアミノ酸としてメチオニンを含む。

【図１Ｂ】多数のキメラポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートを含む例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示し、ここで、各キメラポリペプチドは、分泌シグナルペプチド（ＳＰ）と、分泌シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチド（ＩＣＩＰ）と、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチド（切断配列）とを含む。例示されるように、ＭＶＡのＯＲＦの転写を開始することができるプロモーター（例えば、ｍＨ５プロモーター（ｐｍＨ５））は、多数のキメラポリペプチドをコードする核酸に作動可能に連結されている。インサートは、最も５’側のキメラポリペプチドのＯＲＦの開始コドンの前に、翻訳開始配列、例えばコザック配列を含んでもよい。例示されるように、最後のキメラポリペプチドのＯＲＦの３’に終止コドンが存在する。

【図２Ａ】多数のキメラポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示し、ここで、全てのキメラポリペプチドは、切断可能なペプチドを欠如する最もＣ末端側のキメラポリペプチドを除き、分泌シグナルペプチド（ＳＰ）と、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチドと、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含む。ポリシストロン性核酸インサートは、２個～１０個以上のキメラポリペプチドをコードすることができ、その最初のアミノ酸としてメチオニンを含む。

【図２Ｂ】多数のキメラポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートを含む例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示し、ここで、各キメラポリペプチドは、切断可能なペプチドを欠如する最もＣ末端側のキメラポリペプチドを除き、分泌シグナルペプチド（ＳＰ）と、分泌シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチド（ＩＣＩＰ）と、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチド（切断配列）とを含む。例示されるように、ＭＶＡのＯＲＦの転写を開始することができるプロモーター（例えば、ｍＨ５プロモーター（ｐｍＨ５））は、多数のキメラポリペプチドをコードする核酸に作動可能に連結されている。インサートは、最も５’側のキメラポリペプチドのＯＲＦの開始コドンの前に、翻訳開始配列、例えばコザック配列を含んでもよい。例示されるように、最後のキメラポリペプチドのＯＲＦの３’に終止コドンが存在する。

【図３Ａ－３Ｃ】本発明のポリシストロン性核酸インサートによってコードされる様々な発現されたキメラポリペプチドの翻訳プロセシングの例示的な概略図を示す図である。図３Ａにおいて、キメラポリペプチドは、ポリシストロン性核酸転写物の翻訳後に切断される、切断可能なペプチド配列、例えばフーリン切断配列又はフーリン様切断配列をコードする。さらに、翻訳中又は翻訳後に、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドに融合された分泌シグナルペプチドも切断され、結果として得られる単量体の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドが、引き続き細胞から分泌される。図３Ｂにおいて、キメラポリペプチドは、リボソームスキッピングを誘導する切断可能なペプチド配列、例えばＣＨＹＳＥＬ切断配列をコードし、ここで、ポリタンパク質は、翻訳と同時の切断を受けることから、結果

として、翻訳中に単量体の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドの生成がもたらされる。翻訳後又は翻訳中に、キメラポリペプチドは、分泌されるシグナルペプチドの更なる切断を受け、結果として得られる単量体の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドが、続いて細胞から分泌される。図３Ｃにおいて、キメラポリペプチドは、多数の切断可能なペプチド配列、例えばフーリン切断配列又はフーリン様切断配列及びＣＨＹＳＥＬ配列、例えばＲＡＫＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２３）の両方をコードする。翻訳中に、ＣＨＹＳＥＬ配列のＣ末端にあるグリシン（Ｇ）及びプロリン（Ｐ）のアミノ酸でのリボソームスキッピングが誘導され、ここで、ポリタンパク質は、翻訳と同時の切断を受けることから、結果として、翻訳中に単量体の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドの生成がもたらされる。単量体の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、翻訳中又は翻訳後に更なるプロセシングを受け、ここで、分泌されるシグナルペプチドが切断される。さらに、翻訳後に、フーリンペプチド配列又はフーリン様ペプチド配列が切断されることから、その結果、フーリン切断配列又はフーリン様切断配列のアルギニン（Ｒ）残基及びアラニン（Ａ）残基のみを含む単量体の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドがもたらされ、免疫チェックポイント阻害ペプチドによる干渉の可能性が低下する。

【図４Ａ】分泌シグナルペプチドと、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチドと、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとのタンデムリピートを含む多数のキメラポリペプチド、及び抗原性ペプチドに融合されたシグナルペプチドを含むキメラポリペプチドをコードし、抗原含有キメラポリペプチドが、最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラペプチドに融合されている、ポリシストロン性核酸インサートのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示す。ポリシストロン性核酸インサートは、１個～１０個以上の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラペプチドをコードすることができ、その最初のアミノ酸としてメチオニンを含む。この上記の同じ一般概念は、切断可能な配列を含む本明細書において提供されるコンストラクトのいずれにも適用することができる。

【図４Ｂ】分泌シグナルペプチド（ＳＰ）と、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチド（ＩＣＩＰ）と、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチド（切断配列）とのタンデムリピートを含む多数のキメラポリペプチド、及び抗原性ペプチド（抗原）に融合された分泌シグナルペプチド（ＳＰ）を含む抗原含有キメラポリペプチドをコードし、抗原含有キメラポリペプチドが、最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラペプチドに融合されている、ポリシストロン性核酸インサートを含む例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示す。例示されるように、ＭＶＡのＯＲＦの転写を開始することができるプロモーター（例えば、ｍＨ５プロモーター（ｐｍＨ５））は、多数のキメラポリペプチドをコードする核酸に作動可能に連結されている。インサートは、最も５’側のキメラポリペプチドのＯＲＦの開始コドンの前に、翻訳開始配列、例えばコザック配列を含んでいてもよい。例示されるように、最後のキメラポリペプチドのＯＲＦの３’に終止コドンが存在する。

【図５Ａ】分泌シグナルペプチドと、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチドと、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとのタンデムリピートを含む多数のキメラポリペプチド、及び抗原性ペプチドに融合されたウイルス糖タンパク質シグナルペプチドを含む抗原含有キメラポリペプチドをコードし、この抗原性ペプチドが、ウイルス糖タンパク質の膜貫通ドメインに融合されており、ここで、抗原含有キメラポリペプチドが、最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラペプチドに融合されている、ポリシストロン性核酸インサートのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示す。ポリシストロン性核酸インサートは、１個～１０個以上の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラポリペプチドをコードすることができ、その最初のアミノ酸としてメチオニンを含む。

【図５Ｂ】分泌シグナルペプチド（ＳＰ）と、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチド（ＩＣＩＰ）と、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチド（切断配列）とのタンデムリピートを含む多数のキメラポリペプチド、及び抗原性ペプチド（抗原）に融合されたウイルス糖タンパク質シグナルペプチド（ＧＰＳＰ）を含む抗原含有キメラポリペプチドをコードし、この抗原性ペプチド（抗原）が、ウイルス糖タンパク質膜貫通ドメイン（ＧＰＴＭ）の膜貫通ドメインに融合されており、これが最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラペプチドに融合されている、ポリシストロン性核酸インサートを含む例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示す。例示されるように、ＭＶＡのＯＲＦの転写を開始することができるプロモーター（例えば、ｍＨ５プロモーター（ｐｍＨ５））は、多数のキメラポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸に作動可能に連結されている。インサートは、最も５’側のキメラポリペプチドのＯＲＦの開始コドンの前に、翻訳開始配列、例えばコザック配列を含んでいてもよい。例示されるように、最後のポリペプチドのＯＲＦの３’に終止コドンが存在する。

【図６Ａ】分泌シグナルペプチドと、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチドと、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとのタンデムリピートを含む多数のキメラポリペプチド、及び抗原性ペプチドに融合されたウイルス糖タンパク質シグナルペプチドを含む抗原含有キメラポリペプチドをコードし、この抗原性ペプチドが、ウイルス糖タンパク質の膜貫通ドメインに融合されており、更に切断可能なペプチドに融合されており、ここで、抗原含有キメラポリペプチドが、最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラペプチドに融合されており、更にウイルスマトリックスタンパク質を含み、ウイルスマトリックスタンパク質が、抗原含有キメラポリペプチドの切断可能なペプチドのＣ末端に融合されている、ポリシストロン性核酸インサートのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示す。ポリシストロン性核酸インサートは、１個～１０個以上の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラポリペプチドをコードすることができ、その最初のアミノ酸としてメチオニンを含む。

【図６Ｂ】分泌シグナルペプチド（ＳＰ）と、シグナルペプチドのＣ末端に融合された免疫チェックポイント阻害剤ペプチド（ＩＣＩＰ）と、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチド（切断配列）とを含む多数のキメラポリペプチド、及び抗原性ペプチド（抗原）に融合されたウイルス糖タンパク質シグナルペプチド（ＧＰＳＰ）を含む抗原含有キメラポリペプチドをコードし、この抗原性ペプチド（抗原）が、切断可能なペプチドに融合されたウイルス糖タンパク質膜貫通ドメイン（ＧＰＴＭ）の膜貫通ドメインに融合されており、ここで、抗原含有キメラポリペプチドが、最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤含有キメラペプチドに融合されており、更にウイルスマトリックスタンパク質を含み、ウイルスマトリックスタンパク質が、抗原含有キメラポリペプチドの切断可能なペプチドのＣ末端に融合されている、ポリシストロン性核酸インサートを含む例示的な組換えＭＶＡウイルスベクターの例示的な線図を示す。例示されるように、ＭＶＡのＯＲＦの転写を開始することができるプロモーター（例えば、ｍＨ５プロモーター（ｐｍＨ５））は、多数のキメラポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸に作動可能に連結されている。インサートは、最も５’側のキメラポリペプチドのＯＲＦの開始コドンの前に、翻訳開始配列、例えばコザック配列を含んでいてもよい。例示されるように、ウイルスマトリックスタンパク質ＯＲＦの３’に終止コドンが存在する。

【図７】ＭＶＡ特異的プロモーターの制御下で２つの必須遺伝子の間でＭＶＡゲノムに挿入されたペプチド配列の設計を示す、ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１ベクター及びＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０ベクターの概略図である。ＬＤ０１配列及びＬＤ１０配列に先行して、ペプチドをルーティングして分泌するシグナル配列があり、ＬＤ０１配列及びＬＤ１０配列に続いて、繰り返しのペプチドを分離する切断部位がある。分泌シグナル、ペプチド配列、及び切断部位が５回繰り返された後に、終止コドンで転写が終結する。

【図８】ＭＶＡ感染細胞によるＬＤ０１及びＬＤ１０の産生を示す図である。（図８Ａ）

ＤＦ－１細胞にＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１、ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０、又は親ＭＶＡを感染させた。感染の２日後に、細胞を固定し、透過処理し、ＬＤ０１及びＬＤ１０に特異的な抗体で染色した。結果はペプチドが細胞内で検出されることを示している。ＬＤ０１陽性細胞及びＬＤ１０陽性細胞は示されるように染色された。顕微鏡写真は２０倍の倍率で表示される。（図８Ｂ）ＤＦ－１細胞にＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１、ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０、又は親ＭＶＡを感染させた。感染の２日後に、上清を採取し、濃縮し、化学的に合成されたペプチド（ＬＤ０１）とともにメンブレン上に点在させ、ＬＤ０１及びＬＤ１０に特異的な抗体を用いてプロービングした。結果はペプチドが感染細胞から分泌されることを示している。

【図９】ウイルスベクターを介したＬＤ０１又はＬＤ１０の送達により、ワクチン誘導性の抗原特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の増殖が強化されることを示す図である。（図９Ａ及び図９Ｂ）ＡｄＰｙＣＳ免疫化後１２日目に、Ｈ－２ｋｄ拘束性ＣＤ８エピトープＳＹＶＰＳＡＥＱＩ（配列番号４０６）での刺激後にＥＬＩＳｐｏｔアッセイ（図９Ａ）及びフローサイトメトリー（図９Ｂ）を使用して脾臓のＰｙＣＳ特異的ＩＦＮ－γ分泌性ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の数を測定することによって免疫原性を評価した。ワクチン接種直後に、１００μｇ用量のＬＤ０１又はＬＤ１０ｄａをＳＣ投与した。ウイルスベクターについては、10^{7}のＴＣＩＤ$_{50}$のＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１、ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０、又は親ＭＶＡをワクチン接種後にＳＣ注射した。データは平均±ＳＥＭとして表される。２つの独立した実験のうちの１つからのデータが示されている。ＡｄＰｙＣＳ単独マウスと治療マウスとの間の有意差を、対応のない両側ｔ検定を使用して決定し、＊＊（ｐ＜０．００１）、＊＊＊（ｐ＜０．０００５）、及び＊＊＊＊（ｐ＜０．０００１）によって示す。図９Ａについては、ｘ軸はＡｄＰｙＣＳ単独マウス及び治療マウスであり、ｙ軸はカウントで測定された1×10^{6}個の脾細胞当たりのＩＦＮ－γスポットの数である。図９Ｂについては、ｘ軸はＡｄＰｙＣＳ単独マウス及び治療マウスであり、ｙ軸はパーセンテージで測定された総ＣＢ８Ｔ細胞内のＩＦＮ－γ　ＣＢ８Ｔ細胞の数である。

【図１０】ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ウイルスを感染させたＤＦ－１細胞のＤＮＡ試料から増幅されたＬＤ１０インサート、ＭＵＣ－１インサート、及びＶＰ４０インサートのＰＣＲゲルを示す図である。親ＭＶＡ（ネガティブコントロール）、ＬＤ１０インサート、ＭＵＣ－１インサート、若しくはＶＰ４０インサートを有するプラスミド（ポジティブコントロール）、又はＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０組換えウイルスを感染させたＤＦ１細胞をウイルスＤＮＡ用に採取した。ＰＣＲ分析によりインサートの完全性を確認した。

【図１１】ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ウイルスを感染させたＤＦ－１細胞から収集されたＬＤ１０インサート、ＭＵＣ－１インサート、及びＶＰ４０インサートのサイズの予想されるＰＣＲ断片サイズを示す。予想される断片のサイズは、ＰＣＲゲルのバンドサイズと一致した。

【図１２】ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０を感染させたＤＦ－１細胞における組換えＭＵＣ－１タンパク質の発現を示す図である。ＤＦ１細胞に、親改変ワクシニアアンカラ（ｐＭＶＡ）又はＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０をコードするＭＶＡを感染させた。ネガティブコントロールとして未感染の細胞を含めた。細胞溶解物及び上清をタンパク質用に採取し、免疫ブロッティングによって分析した。メンブレンをＭＵＣ－１抗体（マウスモノクローナルＶＵ４Ｈ５、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚの番号ｓｃ－７３１３、１：２００）を用いてプロービングしたところ、ＭＶＳ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０溶解物試料中のおよそ６３ｋＤａのタンパク質バンドが標識された。

【図１３】ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０を感染させたＤＦ－１細胞における組換えＶＰ４０タンパク質の発現を示す図である。ＤＦ１細胞に、親改変ワクシニアアンカラ（ｐＭＶＡ）又はＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０をコードするＭＶＡを感染させた。ネガティブコントロールとして未感染の細胞を含めた。細胞溶解物及び上清をタンパク質用に採取し、免疫ブロッティングによって分析した。メンブレンを、ＶＰ４０抗体を用いてプロービングしたところ、ＭＶＳ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０上清及び溶解物試料中

のおよそ３２ｋＤａのタンパク質バンドが標識された。
【図１４】ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０を感染させたＤＦ－１細胞における組換えＬＤ１０タンパク質の発現を示す図である。ＤＦ１細胞に、親改変ワクシニアアンカラ（ｐＭＶＡ）又はＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０をコードするＭＶＡをトランスフェクトさせた。ネガティブコントロールとして未感染の細胞を含めた。細胞溶解物をタンパク質用に採取し、ドットブロット装置を使用してニトロセルロースメンブレンに適用した。ＬＤ１０抗体のポジティブコントロールとして、２０マイクログラムのＬＤ１０ペプチドもメンブレン上にロードした。メンブレンを、ＬＤ１０抗体を用いてプロービングしたところ、ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ペプチド試料及びＬＤ１０ペプチド試料においてシグナルが示された。
【図１５】様々な量の組換えＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ウイルスをＤＦ－１細胞に感染させた後のＭＵＣ－１陽性プラークのパーセンテージを示す図である。６ウェルプレートにおいて、ＤＦ１細胞に、それぞれ３０プラーク形成単位（ＰＦＵ）及び６０ＰＦＵのＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ウイルスをそれぞれ３つのウェルで感染させた。全てのウェルを、ＭＵＣ－１抗体を用いてプロービングし、ＭＵＣ－１陽性プラークの数を計数した。次いで、ウェルを洗浄した後に、ＭＶＡ抗体を用いて再びプロービングし、ＭＶＡ陽性プラークの数を計数した。ワクチンの純度を計算するのに、ＭＶＡ陽性プラークの数に対するＭＵＣ－１陽性プラークのパーセンテージを示す。図面の下部に個々の複製物ごとの陽性プラークの数を示す。
【図１６】様々な量の組換えＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ウイルスをＤＦ－１細胞に感染させた後のＶＰ４０陽性プラークのパーセンテージを示す図である。６ウェルプレートにおいて、ＤＦ１細胞に、それぞれ３０プラーク形成単位（ＰＦＵ）及び６０ＰＦＵのＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ウイルスをそれぞれ３つのウェルで感染させた。全てのウェルを、ＭＵＣ－１抗体を用いてプロービングし、ＶＰ４０陽性プラークの数を計数した。次いで、ウェルを洗浄した後に、ＭＶＡ抗体を用いて再びプロービングし、ＭＶＡ陽性プラークの数を計数した。ワクチンの純度を計算するのに、ＭＶＡ陽性プラークの数に対するＶＰ４０陽性プラークのパーセンテージを示す。図面の下部に個々の複製物ごとの陽性プラークの数を示す。
【発明を実施するための形態】
【００６１】
定義
用語が単数形で提供される場合、本発明者らは、その用語の複数形によって記述される本発明の態様も企図する。本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」、及び「その（ｔｈｅ）」は、文脈上明確に別段の指示がない限り、複数の対象を含み、例えば、「ペプチド（ａ ｐｅｐｔｉｄｅ）」又は「キメラポリペプチド（ａ "ｃｈｉｍｅｒｉｃ ｐｏｌｙｐｅｐｔｉｄｅ"）」は複数のペプチド又は複数のキメラポリペプチドを含む。したがって、例えば、「方法」への言及は、本明細書に記載されるタイプの１つ以上の方法、及び／又は工程を含み、及び／又はこれは、本開示を読むことによって当業者に明らかになるであろう。
【００６２】
本明細書において使用される「アジュバント」という用語は、１つ以上の抗原の免疫原性を強化するための本明細書に記載されるｒＭＶＡの使用を意味する。
【００６３】
「抗原」という用語は、免疫応答を誘導することができる、タンパク質等の物質若しくは分子又はそれらの断片、例えばペプチドを指す。
【００６４】
本明細書において使用される「キメラ」又は「融合された」とは、天然には存在しないペプチド又はタンパク質を共有結合で接続し、結果としてハイブリッドポリペプチドが得られることを示す。本明細書に記載されるキメラポリペプチド又は融合されたポリペプチドの翻訳により、それぞれの融合されたペプチド又はタンパク質のそれぞれに由来する機

能的特性がもたらされる。

【００６５】

本明細書において使用される「コーディング配列」又は「コードする核酸」又は「コードする核酸配列」等は、アミノ酸配列、例えば、ポリタンパク質、ポリペプチド、タンパク質、ペプチド又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含む核酸（ＲＮＡ又はＤＮＡ分子）を意味する。コーディング配列は、核酸が投与されるヒト又は哺乳動物の細胞における発現を指示することができるプロモーター及びポリアデニル化シグナルを含む調節エレメントに作動可能に連結された開始及び終了シグナルを更に含むことができる。

【００６６】

「保存的アミノ酸置換」という用語は、その位置におけるアミノ酸残基のサイズ、極性、電荷、疎水性、又は親水性にほとんど又は全く影響を及ぼさず、実質的に変化した免疫原性を生じることのない、非天然アミノ酸残基による天然アミノ酸残基の置換を指す。例えば、これらは、以下のグループ内の置換であり得る：バリン；グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン、ロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸；アスパラギン、グルタミン；セリン、スレオニン；リジン、アルギニン；及びフェニルアラニン、チロシン。ポリペプチドの配列に対する保存的アミノ酸改変（及びコードヌクレオチドに対する対応する改変）は、親ポリペプチドのものと同様の機能的及び化学的特徴を有するポリペプチドを産生し得る。

【００６７】

ポリペプチド又はタンパク質に関連して「欠失」という用語は、ポリペプチド又はタンパク質配列からの１つ以上のアミノ酸残基に対するコドンの除去を指し、両側の領域は共に結合される。核酸に関連して欠失という用語は、核酸配列からの１つ以上の塩基の除去を指し、両側の領域は共に結合される。

【００６８】

タンパク質性物質に関連して「断片」という用語は、ペプチド、ポリペプチド又はタンパク質のアミノ酸配列の少なくとも２個の連続するアミノ酸残基、少なくとも５個の連続するアミノ酸残基、少なくとも１０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも１５個の連続するアミノ酸残基、少なくとも２０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも２５個の連続するアミノ酸残基、少なくとも４０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも５０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも６０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも７０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも８０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも９０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも１００個の連続するアミノ酸残基、少なくとも１２５個の連続するアミノ酸残基、少なくとも１５０個の連続するアミノ酸残基、少なくとも１７５個の連続するアミノ酸残基、少なくとも２００個の連続するアミノ酸残基、又は少なくとも２５０個の連続するアミノ酸残基のアミノ酸配列を含むペプチド又はポリペプチドを指す。一実施形態において、断片は、参照ポリペプチドの全長の少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、又は９０％を構成する。一実施形態において、全長タンパク質の断片は、全長タンパク質の活性を保持する。別の実施形態において、全長タンパク質の断片は、全長タンパク質の活性を保持しない。

【００６９】

核酸に関連して、「断片」という用語は、ペプチド、ポリペプチド又はタンパク質をコードする核酸配列の少なくとも２個の連続するヌクレオチド、少なくとも５個の連続するヌクレオチド、少なくとも１０個の連続するヌクレオチド、少なくとも１５個の連続するヌクレオチド、少なくとも２０個の連続するヌクレオチド、少なくとも２５個の連続するヌクレオチド、少なくとも３０個の連続するヌクレオチド、少なくとも３５個の連続するヌクレオチド、少なくとも４０個の連続するヌクレオチド、少なくとも５０個の連続するヌクレオチド、少なくとも６０個の連続するヌクレオチド、少なくとも７０個の連続するヌクレオチド、少なくとも連続する８０ヌクレオチド、少なくとも９０個の連続するヌクレオチド、少なくとも１００個の連続するヌクレオチド、少なくとも１２５個の連続するヌクレオチド、少なくとも１５０個の連続するヌクレオチド、少なくとも１７５個の連続

するヌクレオチド、少なくとも２００個の連続するヌクレオチド、少なくとも２５０個の連続するヌクレオチド、少なくとも３００個の連続するヌクレオチド、少なくとも３５０個の連続するヌクレオチド、又は少なくとも３８０個の連続するヌクレオチドの核酸配列を含む核酸を指す。一実施形態において、断片は、参照核酸配列の全長の少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、又は９０％を構成する。好ましい実施形態において、核酸の断片は、全長タンパク質の活性を保持するペプチド又はポリペプチドをコードする。別の実施形態において、断片は、全長タンパク質のものが全長タンパク質の活性を保持しないペプチド又はポリペプチドをコードする。

【００７０】

本明細書において使用される場合、「異種配列」という語句は、関心のある別の核酸又はタンパク質、ポリペプチド又はペプチド配列と通常自然に会合していない任意の核酸、タンパク質、ポリペプチド又はペプチド配列を指す。

【００７１】

本明細書において使用される場合、「異種核酸インサート」という語句は、本明細書に記載の組換えベクターに挿入されている、又は挿入される予定の任意の核酸配列を指す。異種核酸インサートは、遺伝子産物をコードする配列のみを指す場合もあり、又はプロモーターを含む配列、遺伝子産物をコードする配列（例えば、分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのキメラポリペプチド）、及びそれに会合した若しくは作動可能に連結された任意の調節配列を指す場合もある。

【００７２】

「ホモポリマーストレッチ」という用語は、任意の他のヌクレオチドによって中断されない少なくとも４つの同じヌクレオチド、例えば、ＧＧＧＧ又はＴＴＴＴＴＴＴＴを含む配列を指す。

【００７３】

「パーセント同一」、「パーセント相同」、又は「パーセントの類似性」という用語等は、核酸配列の文脈において使用される場合、２つの配列内の残基を比較し、これらが最大の一致となるようにアラインメントされた場合に同じであることを指す。配列同一性の比較の長さは、配列の全長、又は代替的には少なくとも約５０ヌクレオチド～２５００ヌクレオチドの断片に及んでもよい。同様に、「パーセント同一」、「パーセント相同」、又は「パーセントの類似性」という用語は、タンパク質又はその断片の全長にわたるアミノ酸配列について容易に決定され得る。適切には、断片は少なくとも約８アミノ酸の長さであり、最大約７５００アミノ酸であってもよい。適切な断片の例は本明細書に記載されている。一般に、「同一性」、「相同性」、又は「類似性」は、「アラインメントされた」配列を基準にして決定される。「アラインメントされた」配列又は「アラインメント」とは、多数の核酸配列又はタンパク質（アミノ酸）配列に対して言及しており、しばしば参照配列と比較して欠落した又は追加の塩基又はアミノ酸についての補正が含まれる。公的に入手可能な又は市販されている様々な多重配列アラインメントプログラムのいずれかを使用して、アラインメントを実施することができる。このようなプログラムの例としては、「Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｏｍｅｇａ」、「Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｗ」、「ＣＡＰ　Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　Ａｓｓｅｍｂｌｙ」、「ＭＡＰ」、及び「ＭＥＭＥ」が挙げられ、これらは、インターネット上のＷｅｂサーバーを通じてアクセス可能である。このようなプログラムについての他のソースは当業者に知られている。代替的には、Ｖｅｃｔｏｒ　ＮＴＩユーティリティも使用される。また、ヌクレオチド配列の同一性を測定するのに使用することができる当該技術分野において知られるアルゴリズムも多数存在し、これには上記のプログラムに含まれるものが挙げられる。別の例として、ポリヌクレオチド配列を、ＧＣＧバージョン６．１におけるプログラムであるＦａｓｔａ（商標）を使用して比較することができる。Ｆａｓｔａ（商標）は、クエリ配列と検索配列との間で最も高い重複の領域のアラインメント及びパーセントの配列同一性を提供する。例えば、核酸配列間のパーセント配列同一性を、Ｆａｓｔａ（商標）を使用してＧＣＧバージョン６．１（引用することにより本明細書の一部をなす）において提供されるそのデフォルトパラメーター（６のワード

サイズ及びスコアリング行列についてのＮＯＰＡＭ係数）を用いて決定することができる。アミノ酸配列について、多重配列アラインメントプログラム、例えば「Ｃｌｕｓｔａｌ Ｏｍｅｇａ」プログラム、「Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｘ」プログラム、「ＭＡＰ」プログラム、「ＰＩＭＡ」プログラム、「ＭＳＡ」プログラム、「ＢＬＯＣＫＭＡＫＥＲ」プログラム、「ＭＥＭＥ」プログラム、及び「Ｍａｔｃｈ－Ｂｏｘ」プログラムも利用可能である。一般に、これらのプログラムはいずれもデフォルト設定で使用されるが、当業者は必要に応じてこれらの設定を変更することができる。代替的には、当業者は、参照されるアルゴリズム及びプログラムによって提供されるようなレベルの同一性又はアラインメントを少なくとも提供する別のアルゴリズム又はコンピュータープログラムを利用することができる。例えば、J. D. Thomson et al, Nucl. Acids. Res., 「多重配列アラインメントの包括的な比較（A comprehensive comparison of multiple sequence alignments）」, 27(13):2682-2690 (1999)を参照。

【００７４】

「免疫応答を誘導する」という用語は、ｒＭＶＡが投与された被験体においてｒＭＶＡによって発現される１つ以上の抗原性タンパク質又はその断片に対する体液性応答（例えば、抗体の産生）又は細胞性応答（例えば、Ｔ細胞の活性化）、又は体液性反応と細胞性反応の両方を惹起することを意味する。

【００７５】

「改変ワクシニアアンカラ（"modified vaccinia Ankara," "modified vaccinia ankara," "Modified Vaccinia Ankara,"）」、すなわち「ＭＶＡ」という用語は、通常、アントン・マイヤー（Anton Mayr）博士によってヒヨコ胚線維芽細胞での連続継代によって開発された高度に弱毒化されたワクシニアウイルス株、又はその変異体若しくは誘導体を指す。ＭＶＡはMayr, A. et al. 1975 Infection 3:6-14で概説される。ＭＶＡ及び様々な変異体のゲノム配列は、例えば、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＹ６０３３５５、Ｕ９４８４８、及びＤＱ９８３２３８で記載されている。幾つかの実施形態において、本明細書において提供されるＭＶＡを、例えば、化学合成されたプラスミドを介して合成的に得ることができ、例えば、米国特許出願公開第２０１８／０２５１７３６号、米国特許出願公開第２０２１／０２３０５６０号、及び国際公開第２０２１／１５８５６５号（それぞれ、引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されるように、宿主細胞内で全長ゲノムＭＶＡ配列に再構成することができる。

【００７６】

本明細書において使用される「核酸」又は「オリゴヌクレオチド」又は「ポリヌクレオチド」は、互いに共有結合で連結された少なくとも２つのヌクレオチドを意味する。一本鎖の描写はまた、相補鎖の配列を規定する。したがって、核酸は、描写される一本鎖の相補鎖も包含する。核酸の多くの変異体は、所与の核酸と同じ目的のために使用することができる。したがって、核酸は、実質的に同一の核酸及びその相補体も包含する。一本鎖は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で標的配列にハイブリダイズすることができるプローブを提供する。したがって、核酸は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするプローブも包含する。

【００７７】

核酸は、一本鎖若しくは二本鎖であることができ、又は二本鎖配列及び一本鎖配列の両方の部分を含むことができる。核酸は、ＤＮＡ（ゲノム及びｃＤＮＡの両方）、ＲＮＡ、又はハイブリッドであってもよく、核酸は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドの組合せ、並びにウラシル、アデニン、チミン、シトシン、グアニン、イノシン、キサンチン、ヒポキサンチン、イソシトシン及びイソグアニンを含む塩基の組合せを含み得る。核酸は、化学合成法又は組換え法により得ることができる。

【００７８】

本明細書において使用される「作動可能に連結された」とは、遺伝子の発現が、それが空間的に接続されているプロモーターの制御下にあることを意味する。プロモーターは、その制御下にある遺伝子の５’（上流）又は３’（下流）に配置することができる。プロモ

ーターと遺伝子との間の距離は、プロモーターと、プロモーターが由来する遺伝子においてそのプロモーターが制御する遺伝子との間の距離とほぼ同じであり得る。当該技術分野で知られているように、この距離の変動は、プロモーター機能を失うことなく調整することができる。

【００７９】

本明細書において使用される「ペプチド」、「タンパク質」、「ポリペプチド」、又は「ポリタンパク質」は、アミノ酸の連結配列を意味し得て、天然、合成若しくは改変、又は天然と合成との組合せであり得る。

【００８０】

本明細書において使用される「プロモーター」は、細胞内で核酸の転写を付与、活性化又は増強することができる合成又は天然由来の分子を意味する。プロモーターは、発現を更に増強し、及び／又はその空間的発現及び／又は時間的発現を変化させるために、１つ以上の特異的転写調節配列を含むことができる。プロモーターはまた、遠位エンハンサー又はリプレッサーエレメントを含むことができ、これは転写の開始部位から数千塩基対も位置することができる。

【００８１】

「予防する」、「予防すること」、及び「予防」という用語は、或る病態（例えば、感染症）の発生若しくは発症の阻害、又は治療法の適用若しくは治療法の組合せの適用から生じる被験体における病態の１つ以上の症状の再発、発症、又は発生の予防を指す。

【００８２】

「予防有効量」という用語は、組成物（例えば、本明細書に記載の標的抗原性組成物及び／又はｒＭＶＡ）の量を指し、これは、或る病態若しくはその症状（例えば、ウイルス感染症）若しくはそれに関連する症状の発生、再発若しくは発症の予防をもたらすか、又は別の治療法の予防効果（複数の場合もある）を増強若しくは改善するのに十分である。

【００８３】

ウイルスベクターに関連して「組換え」という用語は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで操作されたベクター（例えば、ウイルスゲノム）を意味し、例えば、組換え核酸技術を用いて異種ウイルス核酸配列を発現させる。

【００８４】

「調節配列（"regulatory sequence" and "regulatory sequences"）」という用語は、プロモーター配列、ポリアデニル化シグナル、転写終結配列、上流調節ドメイン、複製起点、内部リボソーム侵入部位（「ＩＲＥＳ」）、エンハンサー等を総称するものであり、これらはコーディング配列の転写及び翻訳を集合的に提供する。選択された遺伝子が転写及び翻訳され得る限り、これらの制御配列の全てが常に存在する必要はない。

【００８５】

「シャトルベクター」という用語は、或る宿主系から別の宿主系に遺伝物質を移すのに有用である遺伝的ベクター（例えば、ＤＮＡプラスミド）を指す。シャトルベクターは、少なくとも１つの宿主（例えば、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ））において単独で（他のどのベクターの存在もなしに）複製することができる。ＭＶＡベクターの構築に関連して、シャトルベクターは、通常、大腸菌内で操作することができ、次いでＭＶＡベクターに感染した培養細胞に導入することができるＤＮＡプラスミドであり、その結果、例えば相同組換えを介して新たな組換えＭＶＡベクターの生成をもたらす。

【００８６】

「サイレント突然変異」という用語は、ヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質の一次構造の変化を引き起こさないヌクレオチド配列の変化、例えば、ＡＡＡ（リジンをコードする）からＡＡＧ（同じくリジンをコードする）への変化を意味する。

【００８７】

治療される「宿主」、「患者」、又は「被験体」は、典型的にはヒト患者であるが、本明細書に記載される方法は、哺乳動物等の他の動物に対しても有効であることが理解されるべきである。より詳細には、患者という用語には、限定されるものではないが、マウス

、ラット、サル、イヌ、ブタ、及びウサギだけでなく、家畜豚（ブタ及びホッグ）、反芻動物、ウマ、家禽、ネコ、ウシ、ネズミ、イヌ等も含む、前臨床試験において使用される動物等のアッセイにおいて使用される動物が含まれ得る。それらの「リスクがある」被験体の判定は、被験体又は医療提供者の診断試験又は意見（例えば、遺伝子検査、酵素又はタンパク質マーカー、マーカー歴等）による任意の客観的又は主観的な判定によって行うことができる。

【００８８】

「同義語コドン」という用語は、同じアミノ酸をコードする異なる核酸配列を有するコドン、例えばＡＡＡ及びＡＡＧ（いずれもリジンをコードする）の使用を指す。コドン最適化は、タンパク質のコドンを、ベクター又は宿主細胞によって最も頻繁に使用される同義語コドンに変更する。

【００８９】

「治療的有効量」という用語は、被験体に投与して、障害、例えば感染症又は癌を治療又は予防する場合に、障害についてのそのような治療又は予防に影響を与えるのに十分な組成物（例えば、抗原性組成物及び／又は組換えＭＶＡベクター又は医薬組成物）の量を意味する。

【００９０】

「治療すること」又は「治療する」という用語は、１つ以上の治療法の適用によりもたらされる、障害の根絶又は制御、障害又はその障害によって引き起こされる１つ以上の症状の進行、重症度、及び／又は持続時間の減少又は改善を指す。

【００９１】

「ワクチン」という用語は、免疫応答を誘発し、物質を被験体に投与した後に免疫を付与するために使用される物質を意味する。かかる免疫は、被験体がワクチン投与後に免疫原に曝露されたときに生じる細胞性又は体液性の免疫応答を含み得る。

【００９２】

「ウイルス様粒子」すなわち「ＶＬＰ」という用語は、ウイルスに似ているが、ウイルス遺伝物質を含まないため感染性ではない構造物を指す。

【００９３】

本明細書における数値範囲の列挙に関しては、その間に介在する各数値が同程度の精度で明示的に企図される。例えば、６～９の範囲の場合、６及び９に加えて数値７及び８が企図され、６．０～７．０の範囲の場合、数値６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９、及び７．０が明示的に企図される。

【００９４】

改変ワクシニアアンカラ（ＭＶＡ）ウイルスベクター

特に、改変ワクシニアアンカラ（ＭＶＡ）は、感染性疾患に対する安全で強力なウイルスベクターワクチンとして使用されている。ＭＶＡは、ニワトリ胚線維芽細胞（ＣＥＦ）における広範な連続継代によって得られるワクシニアウイルスの高度に弱毒化された株である（Sutter G, Staib C.著の「候補ワクチンとしてのワクシニアベクター：抗原送達用の改変ワクシニアウイルスアンカラの開発（Vaccinia vectors as candidate vaccines: the development of modified vaccinia virus Ankara for antigen delivery.）」 Current Drug Targets-Infectious Disorders. 2003;3:263-71）。ＭＶＡは、良好な免疫原性を維持しながらの、霊長類細胞における毒性の減弱及び複製能力の低下によって実証されるように、その大幅な弱毒化によって区別される。ＭＶＡウイルスを分析して、親株である漿尿膜ワクシニアウイルスアンカラ（ＣＶＡ）株に対するゲノムの変化が決定されている。合計３１０００塩基対のゲノムＤＮＡの６つの主要な欠失（欠失Ｉ、欠失ＩＩ、欠失ＩＩＩ、欠失ＩＶ、欠失Ｖ、及び欠失ＶＩ）が特定されている（Meyer, H. et al. 1991 J Gen Virol 72: 1031-1038）。結果として得られるＭＶＡウイルスの宿主細胞は鳥細胞に限定されている。したがって、ＭＶＡワクチンを、ニワトリ細胞系統において大規模に生産することができる。

【００９５】

本明細書において提供されるウイルスベクター組成物は、ワクシニアウイルス株の改変ワクシニアアンカラ（ＭＶＡ）を含む。改変ワクシニアアンカラ（ＭＶＡ）は、ワクシニアウイルスのアンカラ株（ＣＶＡ）をニワトリ胚線維芽細胞において長期的に連続継代することによって作製された（概要については、Mayr A, et al.著の「弱毒化ワクシニア株の由来、特性、及び使用（Abstammung, eigenschafter und verwendung des attenuierten vaccinia-stammes.）」 Infection 3: 6-14, 1975、スイス特許第５６８，３９２号を参照）。ＭＶＡウイルスは、アメリカンタイプカルチャーコレクションからＡＴＣＣ番号ＶＲ－１５０８として公的に入手可能である。ＭＶＡは、良好な免疫原性を維持しながら、霊長類細胞における病原性の低下及び複製能力の低下によって実証されるように、その大幅な弱毒化によって区別される。ＭＶＡウイルスは、親ＣＶＡ株に対するゲノムの変化を決定するために分析されている。ゲノムＤＮＡの６つの主要な欠失（欠失Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、及びＶＩ）が合計３１０００塩基対で同定されている（Meyer, H. et al. 1991 J Gen Virol 72:1031-1038）。得られたＭＶＡウイルスは、宿主細胞への複製が鳥類細胞に限定されている。

【００９６】

特定の実施形態において、使用されるＭＶＡは、ＡＴＣＣ　ＶＲ－１５６６として入手可能なＭＶＡであり、これは、アントン・マイヤー教授の研究室においてヒヨコ胚線維芽細胞（ＣＥＦ）におけるＣＶＡ（アンカラ）株の連続継代によって分離され、その後、アメリカ国立衛生研究所（National Institutes of Health）に託されたウイルスであり、ＣＥＦ細胞において３回純化されたプラークであった。ＶＲ－１５６６は、ＮＩＨから受け取ったストックをＳＬ－２９ニワトリ胚線維芽細胞系統［ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１５９０］において更に限定的に継代することによって得られた。

【００９７】

代替的な実施形態において、ＭＶＡは、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＹ６０３３５５、Ｕ９４８４８、及びＤＱ９８３２３８に記載されるゲノム配列を有するＭＶＡから得られる。幾つかの実施形態において、本明細書において提供されるＭＶＡを、例えば、化学合成されたプラスミドを介して合成的に得ることができ、例えば、米国特許出願公開第２０１８／０２５１７３６号、米国特許出願公開第２０２１／０２３０５６０号、及び国際公開第２０２１／１５８５６５号（それぞれ、引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されるように、宿主細胞内で全長ゲノムＭＶＡ配列に再構成することができる。

【００９８】

本発明の組換えＭＶＡ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターの構築を、当該技術分野において知られる方法によって準備することができる。例えば、本明細書に記載される異種ポリシストロン性核酸配列を含むＤＮＡコンストラクトは、予め決められた挿入部位（例えば、Ｉ８Ｒ／Ｇ１Ｌ等の２つの保存された必須ＭＶＡ遺伝子の間（例えば、米国特許第９，１３３，４７８号（引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）を参照）、再構成され改変された欠失ＩＩＩ中（例えば、米国特許第９，１３３，４８０号（引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）を参照）、又はＭＶＡゲノム内の他の非必須部位で）に隣接するＭＶＡのＤＮＡ配列を両側に有してよく、ＭＶＡを感染させた細胞に導入することで、相同組換えが可能となる。ＤＮＡコンストラクトが真核細胞に導入され、外来ＤＮＡがウイルスＤＮＡと組み換えられると、それ自体既知の様式で、好ましくはマーカーを利用して、所望のｒＭＶＡを単離することが可能である。挿入されるＤＮＡコンストラクトは、線状であっても、又は環状であってもよい。プラスミド又はポリメラーゼ連鎖反応産物が好ましい。組換えＭＶＡベクターを作製するそのような方法は、例えば、米国特許第９，１３３，４７８号（引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されている。ＤＮＡ配列又は遺伝子の発現には、ポリシストロン性核酸配列の転写に必要とされる調節配列がＤＮＡ上に存在することが必要である。このような調節配列（プロモーターと呼ばれる）は当業者に知られており、例えば以下に更に記載されるものが挙げられる。ＤＮＡコンストラクトを、トランスフェクションによって、例えばリン酸カルシウ

ム沈殿によって（Graham et al. 1973 Virol 52:456-467、Wigler et al. 1979 Cell 16:777-785）、エレクトロポレーションによって（Neumann et al. 1982 EMBO J. 1 :841-845）、マイクロインジェクションによって（Graessmann et al. 1983 Meth Enzymol 101:482-492）、リポソームを用いて（Straubinger et al. 1983 Meth Enzymol 101:512-527）、スフェロプラストによって（Schaffher 1980 PNAS USA 77:2163-2167）、又は当業者に知られている他の方法によってＭＶＡ感染細胞に導入することができる。

【００９９】

幾つかの実施形態において、本明細書において提供されるｒＭＶＡを、例えば、化学合成されたプラスミドを介して合成的に得ることができ、例えば、米国特許出願公開第２０１８／０２５１７３６号、米国特許出願公開第２０２１／０２３０５６０号、及び国際公開第２０２１／１５８５６５号（それぞれ、引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されるように、宿主細胞内で全長ゲノムＭＶＡ配列に再構成することができる。

【０１００】

上記のように、本発明の異種ポリシストロン性核酸配列を、ｒＭＶＡゲノム配列内のあらゆる適切な部位に挿入することができる。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸配列は、天然の欠失部位、改変された天然の欠失部位で、又は必須若しくは非必須のＭＶＡ遺伝子間でＭＶＡベクターへと挿入される。

【０１０１】

免疫チェックポイント阻害剤ペプチド

本明細書においては、ヒト等の宿主における免疫化プロトコル中にアジュバント又はワクチンとして使用される、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターを含む組成物であって、ｒＭＶＡが、１つ以上の免疫チェックポイント経路を阻害することができるペプチド（免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）を高濃度で発現するように構築されている、組成物が提供される。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、単量体にプロセシングされ、細胞から分泌されて、標的となる抗原の免疫原性を強化することができる免疫チェックポイント阻害剤のタンデムリピートを含むポリシストロン性核酸配列から発現される。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡをアジュバントとして使用して、ワクチン接種プロトコル中に１つ以上の同時投与される抗原の免疫原性を高める。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは更に、１つ以上の抗原性ペプチドをコードし、アジュバント化ワクチンとして使用される。１つ以上のチェックポイント阻害剤経路を下方調節することができる２つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを局在的に大量に発現させることにより、免疫を誘導するのに十分な抗原性の発生を妨げることがよく見られる免疫調節活性を下方調節することができる。

【０１０２】

或る特定の態様において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、限定されるものではないが、プログラム細胞死タンパク質－１（ＰＤ－１）、プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）、プログラム死リガンド２（ＰＤ－Ｌ２）、細胞傷害性Ｔリンパ球関連タンパク質４（ＣＴＬＡ－４）、リンパ球活性化遺伝子３（ＬＡＧ－３）、Ｔ細胞免疫グロブリン及びムチンドメイン－３（ＴＩＭ－３）、Ｔ細胞活性化のＶドメインＩｇサプレッサー（ＶＩＳＴＡ）、Ｂ７ホモログタンパク質（Ｂ７）、Ｂ７ホモログ３タンパク質（Ｂ７－Ｈ３）、Ｂ７ホモログ４タンパク質（Ｂ７－Ｈ４）、Ｂ７ホモログ５タンパク質（Ｂ７－Ｈ５）、ＯＸ－４０（ＯＸ－４０）、ＯＸ－４０リガンド（ＯＸ－４０Ｌ）、グルココルチコイド誘導性ＴＮＦＲ関連タンパク質（ＧＩＴＲ）、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、Ｂ及びＴリンパ球アテニュエーター（ＢＴＬＡ）、ヘルペスウイルス侵入メディエーター（ＨＶＥＭ）、ガラクチン－９（ＧＡＬ９）、キラー細胞免疫グロブリン様受容体（ＫＩＲ）、ナチュラルキラー細胞受容体２Ｂ４（２Ｂ４）、ＣＤ１６０、チェックポイントキナーゼ１（ＣＨＫ１）、チェックポイントキナーゼ２（ＣＨＫ２）、アデノシンＡ２ａ受容体（Ａ２ａＲ）、Ｉｇ及びＩＴＩＭドメインを有するＴ細胞免疫受容体（ＴＩＧＩＴ）、誘導性Ｔ細胞共刺激因子（ＩＣＯＳ）、誘導性Ｔ細胞共刺激因子リガンド（ＩＣＯＳ－Ｌ）、又

はそれらの組合せから選択される受容体タンパク質によって媒介される免疫チェックポイント経路の活性を阻害することができる。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－１を阻害することができる。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－Ｌ１を阻害することができる。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＣＴＬＡ－４を阻害することができる。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、若しくはＣＴＬＡ－４、又はそれらの組合せを阻害することができる。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の両方を阻害することができる。

【０１０３】

幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ３、ＯＸ４０、又はそれらの組合せを阻害することができる阻害剤である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１及びＣＴＬＡ４を阻害することができる。

【０１０４】

幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、表１に開示されるペプチド配列、又はそれらの断片、ホモログ、若しくは誘導体から選択される。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６のペプチド配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号１５のペプチド配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号２のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号３のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号４のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号６のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号７のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号８のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号９のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１０のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１１のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する

。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１２のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１３のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１４のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１５のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１６～配列番号５６から選択されるペプチド配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。

【０１０５】

【表１】

表１－免疫チェックポイント阻害ペプチド

配列番号	ペプチド識別名	ペプチド配列
1	LD01	CRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
2	LD01r	RTSTGDITSLRVITA
3	LD01 TQ19	TSTGQISTLRVNITAPLSQ
4	LD04	STLRVNITAPLSQRYRVRIR
5	LD10	STGQISTLRVNITAPLSQ
6	LD10 R9A	STGQISTLAVNITAPLSQ
7	LD10 P15A	STGQISTLRVNITAALSQ
8	LD11	CHHTSTGQISTLRVNITAPLSQ
9	LD17m	STGQISTARVNITAPLSQ
10	LD40	QISTLRVNITA
11	QP20	QTRTVPMPKIHHPPWQNVVP
12	HD20	HHHQVYQVRSHWTGMHSGHD
13	WQ20	WNLPASFHNHHIRPHEHEWIQ
14	SQ20	SSYHHFKMPELHFGKNTFHQ
15	LD12	CRRTSTGQISTARVNITAPLSQ
16	C1	YSAYQCWCWRQQGTS
17	C2	YHQYSCWCWRPPGPY
18	C3	YASYHCWCWRDPGRS
19	C4	TAYWNCWCWREKAGQ
20	C5	TYGYSCWCWRQHPWT
21	C6	STAYHCWCWREPYGN
22	C7	TTRYSCWCWRDDAYA
23	CLP001	HYPFRPHANQAS
24	CLP002	WHRSYYTWNLNT
25	CLP003	WHFSYNWRWLPP
26	CLP004	DYHDPSLPTLRK
27	ヒトＰＤ－Ｌ１阻害剤Ｉ	FNWDYSWKSERLKEAYDL
28	ヒトＰＤ－Ｌ１阻害剤ＩＩ	FNWDYSLEELREKAKYK
29	ヒトＰＤ－Ｌ１阻害剤ＩＩＩ	TEKDYRHGNIRMKLAYDL
30	ヒトＰＤ－Ｌ１阻害剤ＩＶ	GNWDYNSQRAQLYNQ
31	ヒトＰＤ－Ｌ１阻害剤Ｖ	LDYVNRRKMYQ
32	PPA-1	NYSKPTDRQYHF
33	PPA-2	KHAHHTHNLRLP
34	PPA-3	AAKMDGHLHGGQ
35	PPA-4	MRNRERYPKPYY
36	PPA-5	TYLQRPSTNLER
37	P1	SCFPNWSLRPMNQM
38	P2	MDEKAQKGPAKLVFFACEKG
39	TP	SCFPNWSLRPMNQM
40	AP	MDEKAQKGPAKLVFFACEKG
41	PD6478	MLNWNRLSPSNQTEK
42	PL120131	GADYKRITVKVN
43	C17	CNMHTPMVC
44	C19	CNWMINKEC
45	C25	CVPMTYRAC
46	P29	ADFRVMADMSMY
47	P1309	SHTTTEHAKDKI
48	P26	GLIPLTTHMHIGK
49	P1310	TFLNSVPTYSYW
50	P1307	SHDTRSPFTWGR
51	P24	GSWNTFRAQPTI
52	P22	SFAGVHQFRPAP
53	P1303	ALWPSSSMSSTI
54	P1301	HDAFPRPHLFRN
55	P20	LTPHKHHKHLHA
56	GTX89379	C-KWYSHSKEKIQN

【０１０６】
表１の免疫チェックポイント阻害剤、例えば、配列番号１～配列番号１５は、米国特許第１０，０９８，９５０号、米国特許第１０，７９９，５５５号、及び米国特許第１０，７９９，５８１号、並びに米国特許出願公開第２０１８／００７１３８５号、米国特許出願公開第２０１８／０１８５４７４号、米国特許出願公開第２０１８／０２００３２８号、及び米国特許出願公開第２０１８／０３３９０４４号において、配列番号１６～配列番号２２は、Li et al.著の「癌免疫療法のためのＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用のペプチド遮断（Peptide Blocking of PD-1/PD-L1 Interaction for Cancer Immunotherapy）」, Cancer Immunol Res February 1 2018 (6) (2) 178-188において、配列番号２３～配列番号２６は、Liu et al.著の「癌免疫療法のための低分子量抗ＰＤ－Ｌ１ペプチドの発見（Discovery of low-molecular weight anti-PD-L1 peptides for cancer immunotherapy.）」 J. Immunotherapy Cancer 7, 270 (2019)において、配列番号２７～配列番号３１は、Keir et al.著の「Ｔ細胞免疫におけるＤ－１及びそのリガンド（D-1 and its ligands in T-cell immunity.）」 Curr Opin Immunol. 2007;19(3):309-14及びLi et al.著の「ヒトプログラム死１（ＰＤ－１）受容体を標的とするペプチド阻害剤の発見（Discovery of peptide inhibitors targeting human programmed death 1 (PD-1) receptor.）」 Oncotarget. 2016;7(40):64967-64976において、配列番号３２～配列番号３６は、Wang et al., Journal of Medicinal Chemistry 2019 62 (4), 1715-1730において、配列番号３７～配列番号４０は、Xiao et al., ACS Appl. Mater. Interfaces 2020, 12, 36, 40042-40051において、配列番号４１～配列番号４２は、Boohaker et al.著の「ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用についてのペプチド阻害剤の合理的な設計及び開発（Rational design and development of a peptide inhibitor for the PD-1/PD-L1 interaction）」, Cancer Letters, 2018, 434, Pages 11-21において、配列番号４３～配列番号４５は、Zhai et al.著の「抗原特異的なＣＤ８＋Ｔ細胞応答を活性化することによる癌免疫療法のためのＬＡＧ－３を標的とする新規の環状ペプチド（A novel cyclic peptide targeting LAG-3 for cancer immunotherapy by activating antigen-specific CD8+ T cell responses）」, Acta Pharmaceutica Sinica B, 2020, 10(6), Pages 1047-1060; 6, June 2020において、配列番号４６～配列番号５６は、Zhong et al.著の「新規のＴＩＭ３結合ペプチドＰ２６のｉｎ ｖｉｔｒｏ及びｉｎ ｖｉｖｏでの生物学的機能の特定（The biologically functional identification of a novel TIM3-binding peptide P26 in vitro and in vivo）」 Cancer Chemother Pharmacol. 2020;86(6):783-792において以前に記載されている。全ての参考文献は引用することにより本明細書の一部をなす。

【０１０７】
分泌シグナルペプチド
本明細書において提供されるように、ｒＭＶＡによって発現される免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは細胞から分泌される。幾つかの実施形態において、分泌は、該当する場合、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドに関連する天然の分泌シグナルを含めることによって達成され得る。代替的な実施形態において、ｒＭＶＡによって発現される免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、宿主に対して異種であっても、又は宿主細胞からの分泌を保証する適切な分泌シグナル伝達を有していなくてもよい。このため、免疫チェックポイント阻害ペプチドの分泌を、免疫チェックポイント阻害ペプチドに融合された分泌シグナルペプチドを含むキメラポリペプチドを発現させることによって達成することができる。

【０１０８】
分泌シグナルペプチド及び免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを含むキメラポリペプチドの翻訳中に、シグナルペプチドは、リボソームから出たときに認識され、シグナル認識粒子（ＳＲＰ）によって結合され、翻訳が停止する。この複合体全体は小胞体（ＥＲ）の外面に輸送され、そこでＳＲＰ受容体に結合し、シグナル配列がトランスロコンに移送

される。トランスロコンに結合している間に翻訳が再開され、タンパク質はＥＲ膜を通過して内腔に入る。この際、シグナルペプチドはシグナルペプチダーゼによって認識され、切断されて免疫チェックポイント阻害ペプチドが生成され、これがゴルジネットワークを介してトラフィッキングされ、その後、古典的な分泌経路を介して細胞から分泌される。

【０１０９】

本発明における使用に適した分泌シグナルは、天然に存在する分泌シグナル、コンセンサス分泌シグナル（例えば、米国特許出願公開第２０１０／０３０５００２号（引用することにより本明細書の一部をなす）を参照）、又は合成分泌シグナルであり得る。

【０１１０】

幾つかの実施形態において、分泌シグナルは、表２のペプチド配列、又はそれらのホモログ、誘導体、若しくは断片から選択される。幾つかの実施形態において、分泌シグナルは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるペプチド配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。

【０１１１】

幾つかの実施形態において、分泌シグナルは、ヒト組織プラスミノーゲン活性化因子（ｔＰＡ）分泌シグナル、又はそのホモログ、誘導体、若しくは断片から誘導される。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６５のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のペプチド配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドを有する。ｔＰＡ分泌シグナルは、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドの発現を更に強化するため、本発明において使用するのに特に適した分泌シグナルであることが判明した。

【０１１２】

【表２】

表２－分泌シグナルペプチド

配列番号	分泌シグナル	ペプチド配列
57	ヒトＯＳＭ	GVLLTQRTLLSLVLALLFPSMASM
58	VSV-G	KCLLYLAFLFIGVNC
59	マウスＩｇカッパ	ETDTLLLWVLLLWVPGSTGD
60	ヒトＩｇＧ２　Ｈ	GWSCIILFLVATATGVHS
61	BM40	RAWIFFLLCLAGRALA
62	セクレコン	WWRLWWLLLLLLLLWPMVWA
63	ヒトＩｇＫ　ＶＩＩＩ	DMRVPAQLLGLLLLWLRGARC
64	CD33	PLLLLLPLLWAGALA
65	組織プラスミノーゲン活性化因子（ｔＰＡ）	DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPS
66	組織プラスミノーゲン活性化因子（ｔＰＡ）	DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHAR FRRGAR
67	ヒトキモトリプシノーゲン	AFLWLLSCWALLGTTFG
68	ヒトトリプシノーゲン－２	NLLLILTFVAAAVA
69	ヒトＩＬ－２	YRMQLLSCIALSLALVTNS
70	ガウシアｌｕｃ	GVKVLFALICIAVAEA
71	アルブミン（ＨＳＡ）	KWVTFISLLFSSAYS
72	インフルエンザヘマグルチニン	KTIIALSYIFCLVLG
73	ヒトインスリン	ALWMRLLPLLALLALWGPDPAAA
74	カイコフィブロインＬＣ	KPIFLVLL
75	アルカリホスファターゼ	LGPCMLLLLLLGLRLQLSLG
76	セクロン２	RPTWAWWLFLVLLLALWAPARG
77	ヒトシスタチンｓ	AGPLRAPLLLLAILAVALAVSPAAGSS
78	ラクトトランスフェリン	HKLVFLVLLFLGALGLCLA
79	エリスロポエチン	GVHECPAWLWLLLSLLSLPLGLPVLG
80	ヒトα－１－アンチキモトリプシン	ERMLPLLALGLLAAGFCPAVLC
81	ＴＮＦ受容体スーパーファミリー－メンバー６アイソフォーム４	HLGIWTLLPLVLTSVA
82	ヒトプロラクチン	NIKGSPWKGSLLLLLVSNLLLCQSVAP
83	オステオポンチン	RLAVVCLCLFGLASC
84	ATC	GRMLPLLALLLLAAGFCPAVLA
85	コンセンサス	RSLSVLALLLLLLLAPASAA
86	コンセンサス	KSLSALVLLLLLLLLPGALAA
87	コンセンサス	RGAALVLLLLLLLLLALALAAPVP
88	コンセンサス	RGAALVLLLLLLLLLAGVLAAP
89	コンセンサス	RGAALVLLLLLLLLLSPALA
90	コンセンサス	RSLSVLALLLLLLLAPASAA

【０１１３】

幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートによってコードされる第１のポリペプチドの分泌シグナルペプチドは、開始アミノ酸のメチオニン（Ｍ）を更に含

む。
【０１１４】
切断可能な配列
各免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＮ末端の分泌シグナルペプチドに加えて、ポリペプチドはまた、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された自己切断ペプチドも含み得る。免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された自己切断ペプチド配列を提供することにより、翻訳中又は翻訳後に多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを多数の単量体へと切断することができる。適切な切断配列は当該技術分野において知られている（例えば、Donnelly et al.著の「アフトウイルス２Ａ／２Ｂポリタンパク質「切断」機構の分析により、タンパク質分解反応ではなく、新規の翻訳効果：推定上のリボソーム「スキップ」が示される（Analysis of the aphthovirus 2A/2B polyprotein 'cleavage' mechanism indicates not a proteolytic reaction, but a novel translational effect: a putative ribosomal 'skip'.）」 J. Gen. Virol. 82, 1013-1025 (2001)（引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）を参照）。
【０１１５】
幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤キメラポリペプチドのうちの１つ以上は、ポリシストロン性核酸の翻訳中若しくは翻訳後に又はそれらの組合せで切断され得る、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された１つ以上のペプチド配列を含む（例えば、図３Ａ、図３Ｂ、及び図３Ｃを参照）。幾つかの実施形態において、最もＣ末端側の免疫チェックポイント阻害剤キメラポリペプチドは、切断可能なペプチドを含まない。
【０１１６】
幾つかの実施形態において、切断可能なペプチドは、例えば、限定されるものではないが、フーリン又はフーリン様プロタンパク質コンバターゼを含むプロタンパク質コンバターゼ酵素によって切断され得る（表３）。幾つかの実施形態において、切断可能なペプチド配列は、塩基性アミノ酸標的配列（標準的には、ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ）（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）を含む。幾つかの実施形態において、切断可能なペプチド配列は、塩基性アミノ酸標的配列（標準的には、ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ）（ここで、Ｘ＝Ｒ、Ｋ、又はＨである）（配列番号９２）を含む。幾つかの実施形態において、切断可能なペプチド配列は、ＲＡＫＲ（配列番号９３）である。幾つかの実施形態において、切断可能なペプチド配列は、ＲＲＲＲ（配列番号９４）である。幾つかの実施形態において、切断可能なペプチドは、ＲＫＲＲ（配列番号９５）である。幾つかの実施形態において、切断可能なペプチドは、ＲＲＫＲ（配列番号９６）である。幾つかの実施形態において、切断可能なペプチドは、ＲＫＫＲ（配列番号９７）である。共有結合で連結されたキメラポリペプチドのそれぞれに切断可能なペプチド配列を含めることによって、ポリシストロン性核酸インサートの翻訳中に発現される多量体ポリペプチドは、翻訳後に切断機構を通じて単量体キメラポリペプチドへとプロセシングされ得る。これにより、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを含む各キメラポリペプチドが細胞から分泌され、不所望な免疫チェックポイント経路を下方調節するように機能することが可能となる（例えば、図３Ａを参照）。
【０１１７】

【表３】

表３－切断可能なペプチド配列

配列番号	切断可能なペプチド配列
91	RX(R/K)R
92	RX(R/K)R、X=R、K、又はH
93	RAKR
94	RRRR
95	RKRR
96	RRKR
97	RKKR

【０１１８】

幾つかの実施形態において、各キメラポリペプチドは、ポリシストロン性核酸の翻訳中にリボザイムスキッピングを誘導し得る免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に融合された１つ以上のペプチド配列を含む。リボソーム「スキッピング」は、特定のペプチド配列がリボソームによる新たな挿入されるアミノ酸の共有結合での連結を妨げるが、それでも翻訳が継続される翻訳の代替機構である。これにより、リボソームスキッピングの誘導によってポリタンパク質の「切断」がもたらされる（例えば、図３Ｂを参照）。

【０１１９】

幾つかの実施形態において、リボソームスキッピングを誘導することができるペプチドは、シス作用性ヒドロラーゼエレメントペプチド（ＣＨＹＳＥＬ）である。幾つかの実施形態において、ＣＨＹＳＥＬ配列は、強力なαヘリックス性向を有するアミノ酸の非保存配列と、それに続くコンセンサス配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）とを含み、ここで、リボソームスキッピング切断はＧ配列とＰ配列との間で起こる。幾つかの実施形態において、ＣＨＹＳＥＬ配列は、ＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号９９）を含む。

【０１２０】

幾つかの実施形態において、ＣＨＹＳＥＬ切断配列は、１つ以上の２Ａ自己プロセシングペプチドから誘導される。２Ａ配列は、ウイルス科、例えばピコルナウイルス科の一部のメンバーにおけるＰ１タンパク質とＰ２タンパク質との間に位置するオリゴペプチドであり、真核細胞において自己切断を受けて成熟ウイルスタンパク質Ｐ１及びＰ２を生成することができる（Ahier et al.著の「汎用性の高い２Ａベースのツールキットを介したカエノラブディティス・エレガンスにおける単一プロモーター下での多数のタンパク質の同時発現（Simultaneous expression of multiple proteins under a single promoter in Caenorhabditis elegans via a versatile 2A-based toolkit.）」Genetics. 2014;196:605-613、Luke et al.著の「ウイルスゲノムにおける「２Ａ様」配列の発生、機能、及び進化的起源（Occurrence, function and evolutionary origins of '2A-like' sequences in virus genomes.）」Ｊ Gen Virol. 2008 Apr;89(Pt 4):1036-42、Doronina et al.著の「翻訳と同時の新生鎖分離事象の詳細な分析（Dissection of a co-translational nascent chain separation event.）」Biochem Soc Trans. 2008 Aug;36(Pt 4):712-6、Martin et al.著の「真核生物リボソームにおける非化学量論的な翻訳と同時のタンパク質切断についてのモデル（A Model for Nonstoichiometric, Cotranslational Protein Scission in Eukaryotic Ribosomes.）」Bioorganic Chemistry, Volume 27, Issue 1, February 1999, 55-79）。最初に発見された２ＡはＦ２Ａ（口蹄疫ウイルス）であり、後に、Ｅ２Ａ（ウマ鼻炎Ａウイルス）、Ｐ２Ａ（ブタテシオウイルス－１　２Ａ）、及び

Ｔ２Ａ（トセアアシグナウイルス（thosea asigna virus）２Ａ）も特定された（Ryan et al.著の「口蹄疫ウイルスポリタンパク質の切断は、１９アミノ酸の配列内に位置する残基によって媒介される（Cleavage of foot-and-mouth disease virus polyprotein is mediated by residues located within a 19 amino acid sequence.）」 The Journal of general virology. 1991;72(Pt 11):2727-2732、Szymczak et al.著の「多シストロン性ベクターの設計における２Ａペプチドベースの方略の開発（Development of 2A peptide-based strategies in the design of multicistronic vectors.）」 Expert opinion on biological therapy. 2005;5:627-638）。

【０１２１】

幾つかの実施形態において、ＣＨＹＳＥＬ切断配列は、表４において提供される１つ以上の２Ａ自己プロセシングペプチド、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから誘導される。幾つかの実施形態において、ＣＨＹＳＥＬ切断配列は、配列番号１００～配列番号１１７から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の２Ａ自己プロセシングペプチド、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから誘導される。

【０１２２】

【表４】

表４－ＣＨＹＳＥＬ配列

配列番号	起源	ペプチド配列
98		D(V/I)EXNPGP
99		DVEENPGP
100	ピコルナウイルス科：アフトウイルス：口蹄疫ウイルス	PSDARHKQRIVAPAKQLLNFDLLKLAGDVESNPGP
101	アビシウイルス：アビシウイルスＡ	ARRTLEWARREVGAIDETDHKDILLGGDIEENPGP
102	アビヘパトウイルス：アヒルＡ型肝炎ウイルス	RLKTLAFELNLEIESDQIRNKKDLTTEGVEPNPGP
103	カルジオウイルス：脳心筋炎ウイルス	VREENVFGLYRIFNAHYAGYFADLLIHDIETNPGP
104	コサウイルス：コサウイルスＡ	IMADSVLPRPLTRAERDVARDLLLIAGDIESNPGP
105	エルボウイルス：ウマＢ型鼻炎ウイルス	SEPIPEATLSTILSEGATNFSLLKLAGDVELNPGP
106	エルボウイルス：セネカバレーウイルス	RYKNARAWCPSMLPFRSYKQKMLMQSGDIETNPGP
107	フンニウイルス：フンニウイルスＡ	CPRPGMAIDPPAQSSGATNFSLLRLAGDVELNPGP
108	クンサギウイルス：クンサギウイルスＡ	SPRSLLHFLIGRPRPRVPPSPSLLLSGDVEPNPG|P
109	ミスチウイルス（Mischivirus）：ミスチウイルスＡ	DSYPASGEEEEDDFHDMEDHSDILLGGDVEENPGP
110	モサウイルス：モサウイルスＡ２	TNSRAKLMVDEDYVIQRSAHRSVLLDGDVESNPGP
111	パシウイルス：パシウイルスＡ１	DIPSFQRDFINWLGSKEELQNMILQCGDVEQNPGP
112	テシオウイルス：ブタテシオウイルス１	EGLSSAMTVMAFQGPGATNFSLLKQAGDVEENPGP
113	イフラウイルス科：イフラウイルス：伝染性軟化病ウイルス	NYPLVPSIGNVARTLTRAEIEDELIRAGIESNPGP
114	テトラウイルス科：ベータテトラウイルス：トセアアシグナウイルス	RSRRLRGPRPQNLGVRAEGRGSLLTCGDVEENPGP
115	ジシストロウイルス科：クリパウイルス：コオロギ麻痺ウイルス	FQQWKLVSSNDECRAFLRKRTQLLMSGDVESNPGP
116	レオウイルス科：ロタウイルス：ヒトロタウイルスＣ	LKKHNGAGYPLIVANSKFQIDKILISGDIELNPGP
117	サイポウイルス：マイマイガ：サイポウイルス１	TDFLSMTAFDFQQAVFRSNYDLLKLCGDVESNPGP

【０１２３】

幾つかの実施形態において、切断配列は、口蹄疫ウイルス（ＦＭＤＶ）から誘導される、例えばＶＫＱＴＬＮＦＤＬＬＫＬＡＧＤＶＥＳＮＰＧＰ（配列番号１１８）を含むアミノ酸配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから誘導される２Ａ切断配列である。幾つかの実施形態において、２Ａ切断配列は、ＧＳＧＥＧＲＧＳＬＬＴＣＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１１９）、ＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２０）、ＧＳＧＱＣＴＮＹＡＬＬＫＬＡＧＤＶＥＳＮＰＧＰ（配列番号１２１）、若しくはＧＳＧＶＫＱＴＬＮＦＤＬＬＫＬＡＧＤＶＥＳＮＰＧＰ（配列番号１２２）、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドから選択される２Ａ切断配列又は２Ａ様切断配列である。特定の実施形態において、２Ａ様切断配列は、ＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２０）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列

を有するペプチドである。

【０１２４】

【表５】

表５－２Ａ／２Ａ様切断配列

配列番号	ペプチド配列
118	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
119	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP
120	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
121	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP
122	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

【０１２５】

幾つかの実施形態において、切断可能なペプチド配列は、異なる機構によって切断され得る２つ以上の配列、例えば、ポリシストロン性核酸の翻訳後に切断され得る切断可能なペプチド配列と、ポリシストロン性核酸の翻訳中にリボザイムスキッピングを誘導し得るペプチド配列とを含む。多数の切断方式に従う切断可能なペプチド配列を提供することによって、ポリシストロン性核酸からの単量体形成の効率を改善することができる。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、そのＣ末端でフーリン切断可能なペプチド配列、例えば、ペプチド配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）に融合されており、フーリン切断可能なペプチド配列のＣ末端に融合されているのは、ＣＨＹＳＥＬペプチド配列、例えば、アミノ酸配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）を含むペプチドである。各キメラポリペプチド間のＣＨＹＳＥＬペプチド配列のＮ末端に融合されたＲＡＫＲ（配列番号９３）等のフーリン切断可能なペプチド配列を含めることによって、転写されたポリシストロン性核酸は翻訳中にリボザイムスキッピングを受け、その結果、単量体キメラポリペプチドの産生がもたらされ、フーリン切断配列のアルギニン（Ｒ）残基及びアラニン（Ａ）残基以外の全ては免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端に残ることから、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドの機能に対する余分なアミノ酸配列の潜在的な干渉が限定される（例えば、図３Ｃを参照）。各キメラポリペプチド間のＣＨＹＳＥＬペプチド配列のＮ末端に融合されたＲＲＲＲ（配列番号９４）、ＲＫＲＲ（配列番号９５）、又はＲＲＫＲ（配列番号９６）等のフーリン切断可能なペプチド配列を含む代替的な実施形態において、転写されたポリシストロン性核酸は翻訳中にリボザイムスキッピングを受け、その結果、単量体キメラポリペプチドの産生がもたらされ、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドのＣ末端で残りのフーリン切断配列及びＣＨＹＳＥＬペプチド配列が除去される。

【０１２６】

幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、アミノ酸配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）を含むＣＨＹＳＥＬに融合されたＲＡＫＲ（配列番号９３）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１００～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＡＫＲ（配列番号９３）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１１８～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＡＫＲ（配列番号９３）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１２

０のアミノ酸のＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＡＫＲ（配列番号９３）を含む。特定の実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチドは、ＲＡＫＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２３）である。

【０１２７】

幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、アミノ酸配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）を含むＣＨＹＳＥＬに融合されたＲＲＲＲ（配列番号９４）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１００～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＲＲＲ（配列番号９４）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１１８～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＲＲＲ（配列番号９３）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１２０のアミノ酸のＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＲＲＲ（配列番号９４）を含む。特定の実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチドは、ＲＲＲＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２４）である。

【０１２８】

幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、アミノ酸配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）を含むＣＨＹＳＥＬに融合されたＲＫＲＲ（配列番号９５）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１００～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＫＲＲ（配列番号９５）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１１８～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＫＲＲ（配列番号９５）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１２０のアミノ酸のＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＫＲＲ（配列番号９５）を含む。特定の実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチドは、ＲＫＲＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２５）である。

【０１２９】

幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、アミノ酸配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）を含むＣＨＹＳＥＬに融合されたＲＲＫＲ（配列番号９６）を含む（表６）。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１００～配列番号１２３からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＲＫＲ（配列番号９６）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１１８～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＲＫＲ（配列番号９６

）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１２０のアミノ酸のＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＲＫＲ（配列番号９６）を含む。特定の実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチドは、ＲＲＫＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２６）である。

【０１３０】

幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、アミノ酸配列Ｄ（Ｖ／Ｉ）ＥＸＮＰＧＰ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９８）を含むＣＨＹＳＥＬに融合されたＲＫＫＲ（配列番号９７）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１００～配列番号１２３からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＫＫＲ（配列番号９７）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１１８～配列番号１２２からなる群から選択されるＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＫＫＲ（配列番号９７）を含む。幾つかの実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチド配列は、配列番号１２０のアミノ酸のＣＨＹＳＥＬアミノ酸配列、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するペプチドに融合されたＲＫＫＲ（配列番号９７）を含む。特定の実施形態において、ハイブリッドの切断可能なペプチドは、ＲＫＫＲＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号１２７）である。

【０１３１】

【表６】

表６－ハイブリッドの切断可能なペプチド配列

配列番号	ペプチド配列
123	RAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
124	RRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
125	RKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
126	RRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
127	RKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

【０１３２】

調節配列

本明細書において提供されるように、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、ＭＶＡゲノム配列内の適切な位置に挿入された核酸配列から発現される。ｒＭＶＡゲノム骨格内の核酸インサートの発現について、ポリタンパク質をコードするポリシストロン性核酸の転写に必要とされるプロモーター等の調節配列は、核酸インサートの５’領域において、転写を開始する転写開始部位に隣接して位置している必要がある。核酸インサートが単一のポリタンパク質として多数のタンパク質／ペプチドをコードするポリシストロン性核酸である場合、１つ以上のプロモーターが、ポリタンパク質の最もＮ末端のポリペプチドをコードするＯＲＦの転写開始部位に対して５’に位置し得る。

【０１３３】

ＭＶＡは細胞質ウイルスであるため、幾つかの実施形態において、適切なプロモーターとしては、天然に存在するポックスウイルスプロモーターから誘導されるプロモーターが挙げられる。ポックスウイルスの遺伝子、プロモーター、及び転写因子は、ポックスウイ

ルス感染の際のそれらの発現のタイミングに応じて、初期、中期、及び後期のクラスに分類される（例えば、Assarsson et al.著の「完全なポックスウイルスのトランスクリプトームの動態分析により、中期ないし初期のクラスの遺伝子が明らかになる（Kinetic analysis of a complete poxvirus transcriptome reveals an immediate-early class of genes.）」 PNAS 2008;105(6):2140-2145、Yang Zet al.著の「ワクシニアウイルス初期ｍＲＮＡの５’末端及び３’末端のゲノムワイド分析により、アノテーションされた異常な転写物の調節配列が示される（Genome-wide analysis of the 5' and 3' ends of vaccinia virus early mRNAs delineates regulatory sequences of annotated and anomalous transcripts.）」 Ｊ Virol. 2011;85(12):5897-5909を参照）。殆どの哺乳類細胞（非許容細胞）におけるＭＶＡの複製は、発現の全ての段階が行われた後、子孫ビリオンの集合に際して停止する。これは、導入遺伝子発現を制御する後期プロモーターを含む全てのプロモータークラスの有用性を裏付けている（Sancho et al.著の「ＨｅＬａ細胞における改変ワクシニアウイルスアンカラの集合の遮断により、ワクシニアウイルス形態形成への新たな洞察が明らかになる（The block in assembly of modified vaccinia virus Ankara in HeLa cells reveals new insights into vaccinia virus morphogenesis.）」 Ｊ Virol. 2002;76(16):8318-8334、Geiben-Lynn et al.著の「組換えアデノウイルス５型、ワクシニアウイルス、改変ワクシニアアンカラウイルス、並びにｉｎ ｖｉｖｏでのＤＮＡ抗原発現及びメモリーＴリンパ球応答の誘導の動態（Kinetics of recombinant adenovirus type 5, vaccinia virus, modified vaccinia ankara virus, and DNA antigen expression in vivo and the induction of memory T-lymphocyte responses.）」 Clin Vaccine Immunol. 2008;15(4):691-696）。一部のポックスウイルスプロモーターは初期エレメント及び後期エレメントの両方を有することから、それらのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）又は組換え抗原を、それぞれウイルス感染の初期及びウイルスゲノム複製後の後期に発現させることができる（Broyles SS著の「ワクシニアウイルスの転写（Vaccinia virus transcription.）」 Ｊ Gen Virol. 2003;84(Pt 9):2293-2303）。ポックスウイルスプロモーターを株間にわたって利用することができる（Prideaux et al.著の「鶏痘及びワクシニアウイルス組換え体におけるワクシニアウイルスプロモーター活性の比較分析（Comparative analysis of vaccinia virus promoter activity in fowlpox and vaccinia virus recombinants.）」 Virus Res. 1990;16(1):43-57、Tripathy et al.著の「ワクシニアウイルスプロモーターによる鶏痘ウイルスにおける外来遺伝子の調節（Regulation of foreign gene in fowlpox virus by a vaccinia virus promoter.）」 Avian Dis. 1990;34(1):218-220を参照）。

【０１３４】

このようなＭＶＡプロモーター配列は当業者に知られており、例えば、Ｆ１７ＲのＯＲＦによってコードされる１１ｋタンパク質の発現を駆動するｐ１１プロモーター（Witte k et al.著の「ワクシニアウイルスゲノムにおける主要後期構造ポリペプチドをコードする遺伝子のマッピング（Mapping of a gene coding for a major late structural polypeptide on the vaccinia virus genome.）」 Ｊ Virol. 1984;49(2):371-378）、ｐ７．５プロモーター（Cochran et al.著の「ワクシニアウイルス遺伝子についてのプロモーター領域のｉｎ ｖｉｔｒｏ突然変異誘発：タンデムの初期調節シグナル及び後期制御シグナルの証拠（In vitro mutagenesis of the promoter region for a vaccinia virus gene: evidence for tandem early and late regulatory signals.）」 Ｊ Virol. 1985;54(1):30-37）、ｐＩ１Ｌプロモーター（Schmitt et al.著の「ワクシニアウイルスＨｉｎｄＩＩＩ Ｉ断片の配列及び転写分析（Sequence and transcriptional analysis of the vaccinia virus HindIII I fragment.）」 Ｊ Virol. 1988;62(6):1889-1897）、ｐＴＫプロモーター（Weir and Moss著の「チミジンキナーゼをコードする初期ワクシニアウイルス遺伝子のプロモーター領域の決定（Determination of the promoter region of an early vaccinia virus g

ene encoding thymidine kinase.）」 Virology. 1987;158(1):206-210）、ｐＦ７Ｌプロモーター（Coupar et al.著の「組換えワクシニアウイルスにおける単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ発現によってモニタリングされるワクシニアウイルス初期プロモーター領域におけるｉｎ　ｖｉｔｒｏ突然変異の効果（Effect of in vitro mutations in a vaccinia virus early promoter region monitored by herpes simplex virus thymidine kinase expression in recombinant vaccinia virus.）」 Ｊ Gen Virol. 1987;68(Pt 9):2299-2309）、ｐＨ５プロモーター（Perkus et al.著の「宿主域選択システムを使用したワクシニアウイルスにおける外来遺伝子のクローニング及び発現（Cloning and expression of foreign genes in vaccinia virus, using a host range selection system.）」 Ｊ Virol. 1989;63(9):3829-3836）、短い合成プロモーターｐＳｙｎ（Chakrabarti et al.著の「タンパク質発現用の小型の合成ワクシニアウイルス初期／後期プロモーター（Compact, synthetic, vaccinia virus early/late promoter for protein expression.）」 Biotechniques. 1997;23(6):1094-1097、Hammond et al.著の「強化された初期活性及び後期活性を有する合成ワクシニアウイルスプロモーター（A synthetic vaccinia virus promoter with enhanced early and late activity.）」 Ｊ Virol Methods. 1997;66(1):135-1380）、ｐｍＨ５プロモーター（Wyatt et al.著の「動物モデルにおけるパラインフルエンザウイルス３感染に対して有効な複製欠損組換えワクシニアウイルスワクチンの開発（Development of a replication-deficient recombinant vaccinia virus vaccine effective against parainfluenza virus 3 infection in an animal model.）」 Vaccine. 1996;14(15):1451-1458）、ｐＨｙｂプロモーター（Sancho et al.著の「ＨｅＬａ細胞における改変ワクシニアウイルスアンカラの集合の遮断により、ワクシニアウイルス形態形成への新たな洞察が明らかになる（The block in assembly of modified vaccinia virus Ankara in HeLa cells reveals new insights into vaccinia virus morphogenesis.）」 Ｊ Virol. 2002;76(16):8318-8334）、ＬＥＯプロモーター（Wyatt et al.著の「組換え改変ワクシニアウイルスアンカラＨＩＶワクチンの免疫原性とｉｎ　ｖｉｔｒｏ発現レベルとの相関（Correlation of immunogenicities and in vitro expression levels of recombinant modified vaccinia virus Ankara HIV vaccines.）」 Vaccine. 2008;26(4):486-493）、ｐＢ８プロモーター（Orubu et al.著の「ＭＶＡにおけるそれらの真正遺伝子座での内因性ポックスウイルス初期プロモーターによって駆動されるトランスジェニック抗原の発現及び細胞免疫原性（Expression and cellular immunogenicity of a transgenic antigen driven by endogenous poxviral early promoters at their authentic loci in MVA.）」 PLoS One. 2012;7(6):e40167）、ｐＦ１１プロモーター（Orubu et al.著の「ＭＶＡにおけるそれらの真正遺伝子座での内因性ポックスウイルス初期プロモーターによって駆動されるトランスジェニック抗原の発現及び細胞免疫原性（Expression and cellular immunogenicity of a transgenic antigen driven by endogenous poxviral early promoters at their authentic loci in MVA.）」 PLoS One. 2012;7(6):e40167）が挙げられる。幾つかの実施形態において、プロモーターは、ｐＭＨ５、ｐ１１、ｐＳｙｎ、ｐＨｙｂのうちの１つ以上、又はそれらの組合せから選択される。

【０１３５】

幾つかの実施形態において、プロモーターは、ｐＨ５プロモーターＡＡＡＡＡＡＴＧＡＡＡＴＡＡＡＴＡＣＡＡＡＧＧＴＴＣＴＴＧＡＧＧＧＴＴＧＴＧＴＴＡＡＡＴＴＧＡＡＡＧＣＧＡＧＡＡＡＴＡＡＴＣＡＴＡＡ（配列番号１２８）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列である。幾つかの実施形態において、プロモーターは、ｐＨ５プロモーターＡＡＡＡＡＡＴＧＡＡＡＡＴＡＡＡＴＡＣＡＡＡＧＧＴＴＣＴＴＧＡＧＧＧＴＴＧＴＧＴＴＡＡＡＴＴＧＡＡＡＧＣＧＡＧＡＡＡＴＡＡＴＣＡＴＡＡＡＴＴ（配列番号１２９）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列である。

【０１３６】
幾つかの実施形態において、プロモーターは、改変ｐＨ５プロモーター（ｐｍＨ５）ＡＡＡＡＡＴＴＧＡＡＡＡＴＡＡＡＴＡＣＡＡＡＧＧＴＴＣＴＴＧＡＧＧＧＴＴＧＴＧＴＴＡＡＡＴＴＧＡＡＡＧＣＧＡＧＡＡＡＴＡＡＴＣＡＴＡＡ（配列番号１３０）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列である。幾つかの実施形態において、プロモーターは、改変ｐＨ５プロモーター（ｐｍＨ５）ＡＡＡＡＡＴＴＧＡＡＡＡＴＡＡＡＴＡＣＡＡＡＧＧＴＴＣＴＴＧＡＧＧＧＴＴＧＴＧＴＴＡＡＡＴＴＧＡＡＡＧＣＧＡＧＡＡＡＴＡＡＴＣＡＴＡＡＡＴＡ（配列番号１３１）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列である。幾つかの実施形態において、プロモーターは、改変ｐＨ５プロモーター（ｐｍＨ５）ＡＡＡＡＡＡＴＧＡＡＡＡＴＡＡＡＴＡＣＡＡＡＧＧＴＴＣＴＴＧＡＧＧＧＴＴＧＴＧＴＴＡＡＡＴＴＧＡＡＡＧＣＧＡＧＡＡＡＴＡＡＴＣＡＴＡＡＡＴＡ（配列番号１３２）、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列である。

【０１３７】
本発明におけるプロモーターとして特に適切であり得る追加のワクシニアウイルスプロモーターとしては、例えば、以下の表７に示される天然のプロモーター配列、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列から誘導されるものが挙げられ、ここで、遺伝子座についての命名法は、ワクチンウイルスのＷＲ株及びコペンハーゲン株について当初使用されたＯＲＦ命名法に基づいている。幾つかの実施形態において、プロモーターは、配列番号１３３～配列番号３０８のうちの１つ以上、若しくはそれらの組合せ、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一の核酸配列から選択される。

【０１３８】

【表７】

表７－追加のワクシニアウイルスプロモーター

配列番号	遺伝子座	プロモーター配列
128	ｐＨ５プロモーター	AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAG CGAGAAATAATCATAA
129	ｐＨ５プロモーター	AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAG CGAGAAATAATCATAAATT
130	改変ｐＨ５プロモーター（ｐｍＨ５）	AAAAATTGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAG CGAGAAATAATCATAA
131	改変ｐＨ５プロモーター（ｐｍＨ５）	AAAAATTGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAG CGAGAAATAATCATAAATA
132	改変ｐＨ５プロモーター（ｐｍＨ５）	AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAG CGAGAAATAATCATAAATA
133	C23L	AAAGTAGAAAATATA
134	偽遺伝子	TATCCGGAGACGTCA
135	C11R	ATTACTGAATTAATA
136	C10L	GCAACGTAAAACACA
137	オルソログなし	AAAAAATAAAAAAAA
138	オルソログなし	AGTAAAGAAAAAGAA
139	オルソログなし	AAAATTGATAAATAA
140	オルソログなし	AAATTAGACATTTGA
141	C9L	ATAACTGAAATGAAA
142	C7L	AAAGATGAAAAAGTA
143	C6L	ATTAATGAAATAATA
144	C5L	AAAAATGAAAATGGA
145	C4L	AAAACATAAAAATTA
146	N2L	ATAACATAAAAATAA
147	M2L	AAGATAGATTTCCTA
148	K1L	AAAAATGAAAAAATA

149	K3L	GAAAAAGAAATTCCT
150	K5L	AATGGTGAAAAAATG
151	K6L	AAAACATAAAAATAA
152	K7R	ATAATTGTAAAAACA
153	F7L	ATAATTGAAAATGGA
154	F8L	AAAAATTTAATTACA
155	F11L	AAAAGTGAAAAACAA
156	F12L	AAAAAAGAAAATAGA
157	F14L	GTAGAAGAAAATAAT
158	F15L	AAAAATGAAACGTAA
159	F16L	AAAAAACAAAATGAA
160	E1L	GAGACAGTAGTTTTA
161	E3L	AAAAATGATAAAATA
162	E4L	AATAATGAAAAAATA
163	E5R	ACAAAAGTGAATATA
164	E9L	TTAAATGAAAATATA
165	OIL	AATAATGAAAAAACA
166	I3L	TAAAGTGAAAATATA
167	I4L	ATTAATGAAAAGTTA
168	G2R	ATAACAAAAATAAAA
169	G5R	AAAAATGATAAGATA
170	G5.5R	AAAACTGTAACACGA
171	L2R	AAAACTGAAAATATA
172	J2R	TAAAGTGAACAATAA
173	J6R	AAAAGGGAAATTTGA
174	H3L	AGAATTGAAAACGAA
175	H5R	AAAAATGAAAATAAA
176	D1R	GTAAATGAAAAAAAA
177	D4R	GAAAATGAAAAGGTA
178	D7R	AAAACTGATGAAATA
179	D9R	AAAAATGAAATGATA
180	D12L	AATAATGAAAACAAA
181	A4L	AATTCTGAAACTAGA
182	A5R	AAAATTGAATTGCGA
183	A8R	TAAAGTGAAAATCTA
184	A18R	GCAATAGAAAAGATG

185	A20R	AAGAATGAAATAACA
186	A23R	AAAAATGTAATAACG
187	A29L	AAAGTCGAAAAAGAA
188	A31R	AAAACATAAATATAA
189	A33R	AATATGGAAAACTAA
190	A35R	AAAAATGAATTAATA
191	A37R	AAAATTGAAGTAATA
192	A40R	AATACTTAAAATGTA
193	A41L	AAAATATAAAATAAA
194	268	AAAAATGAACTCTTA
195	A44L	AAAATAGAATAAGTA
196	A46R	ATAAATGAAAAGATA
197	A47L	AAAACTGAAAATAAA
198	A48R	AAATTGTAAAAAATA
199	A50R	AAATATTAAAAAAAA
200	A52R	GAAATAAAAAACATA
201	A55R	AAAAATAAAAATATA
202	A56R	AATTTTGTAAAAATA
203		ATTACATATTATATA
204	B1R	AAAACTTAAAATTTA
205	B2R	ATAAAAATTAAAAAA
206	B5R	ATATCTAAAAATCTT
207	B6R	AAAAATAATGACCAA
208	B8R	ATTATTCAAAATATG
209	B11R	GAAAATGAAAATATA
210	B12R	AAAACATAAAAAACA
211	B13R	AAGATTGAAATTATA
212	B17L	AAATATGTAAATATG
213	B19R	AAAACTGATATTATA
214	偽遺伝子	ATAAATGTAGACTCT
215	C12L	TAAACTGAAGTTTAA
216	K2L	ATTTTTATACCGAACATAAAAATAAGGTTAATTATTAATACCATAAAATC
217	K4L	GGATTTTTAATAGAGTGAAGTGATATAGGATTATTCTTTTAACAAATAAA
218	F13L	ATTCTAGAATCGTTGATAGAACAGGATGTATAAGTTTTTATGTTAACTAA
219	E11L	TTTGTATCATTTGTCCATCAACGTCATTTCAATAATATTGGATGATATAA
220	O2L	ACTAAAGAGTTAAATAAGTCGAGATAGTTTTATATCACTTAAATATTAAA

221	O3L	GTGCCTAATATTACTATATCAAGTAATGCTGAATAAAAATATTTATAAAT
222	I1L	TTCTACTACTATTGATATATTTGTATTTAAAAGTTGTTTGGTGAACTTAA
223	I5L	ATACAACTAGGACTTTGTCACATATTCTTTGATCTAATTTTTAGATATAA
224	I6L	TGTGATATGTGATAAATTAACTACAAAATTAAATAGAATAGTAAACGACG
225	G4L	CAGTGATTTATTTTCCAGCAGTAACGATTTTAAGTTTTTGATACCCATAA
226	H1L	AATTACACGCGTTTACCGATAAAGTAGTTTTATCCATTTGTACGTTATAA
227	H3L	AAAATATAACTCGTATTAAAGAGTTGTATATGATTAATTTCAATAACTAA
228	D8L	AATTCCCATACTAAGAGCTATTTTTAAACAGTTATCATTTCATTTTTACT
229	D11L	TAAACTACTGCTGTGATTTTTAAAACATAGTTATTACTTATCACTCATAA
230	D13L	GATATTTCTCTACGGAGTTTATTGTAAGCTTTTTCCATTTTAAATAGAAA
231	A1L	AGGTTTTCTACTTGCTCATTAGAAGTATAAAAAAATAGTTCCGTAATTAA
232	A2L	AAAATGTTTTTATATAAAATATTGGACGACGAGATACGTAGAGTGTTAAC
233	A3L	AGATTGGATATTAAAATCACGCTTTCGAGTAAAAACTACGAATATAAATA
234	A6L	AACTCTGGAAGAGCACAAATAAATTAAACAACTAAATCTGTAAATAAATA
235	A12L	TATAATCTAGTTAAATCTTCTGTATAAATAAAAATATTTTTAGCTTCTAA
236	A15L	CTATTTTATATCTATTTATTCGCGTCCTAAAATTAAAACAAATGATATAA
237	A16L	GATGTTGATATACCAACATTTAACAGTTTAAATACTGACGATTATTAAGA
238	A19L	TTGCACGATCGTGTTATAGGGCATATTCTGACTTATTTTTTACTACCTAA
239		AATTCGAAAGAAAAAGAATCACAGTCCTAAAAGCTGAACTTCGGAAATCT
240		ATCTAGAATATCAGATCTTGAAAGACAGTTGAACGACTGTAGACGTAATA
241	A25L	TTATAATTACCCGATTGTAGTTAAGTTTTGAATAAAATTTTTTATAATAA
242	A27L	TACCAAATATAAATAACGCAGAGTGTCAGTTTCTAAAATCTGTACTTTAA
243	A30L	TCCATAAAAGACGAATAAGATACAAACACAAATGTTTATATAATATTTAA
244	A30.5L	ATGTTTTTTCCAAAAACCTAAGTGTATTTAAAATAGATGCCATGTTAAAA
245	A32L	TCCATATTTTGATTTATTATCAAATTAATTTAGTAACTGTAAATATAATT
246	A38L	CAAAATAGAATAAAATAAATAACAAAGGTATCATTTTAAATAAATAAAAA
247		GATATCCATGGTATAGACCAAACAATAACGATATATATCATAAATAAATAA
248	E6R	TAATTATTAGAATAAGAGTGTAGTATCATAGATAACTCTCTTCTATAAAA
249	E7R	TATACATAGATATAATTATCACATATTAAAAATTCACACATTTTTGATAA
250	E8R	ACATAAAAACTCATTACATAGTTGATAAAAAGCGGTAGGATATAAATATT
251	I8R	TAGTTCTGGTATTTTACTAATTACTAAATCTGTATATCTTTCCATTTATC
252	G8R	CGACGCTGTTCTGCAGCCATTTAACTTTAAATAATTTACAAAAATTTAAA
253	L4R	TTTGTAACATCGGTACGGGTATTCATTTATCACAAAAAAAACTTCTCTAA
254	J1R	TAGTAAACCGATAGTGTATAAAGATTGTGCAAAGCTTTTGCGATCAATAA
255	H7R	CTACGGATGGATGATATAGATCTTTACACAAATAATTACAAAACCGATAA
256	D6R	ATCTCCGTAAATATATGCTCATATATTTATAGAAGATATCACATATCTAA

257	D10R	GATAAATACGAATATCTGTCTTATATTTATAATATGCTAGTTAATAGTAA
258	A22R	CAATATTGAAAATACTAATTGTTTAAATAACCCGAGTATTGAAACTATAT
259	A34R	TATTTTTGTGTTAAAACAATGAACTAATATTTATTTTTGTACATTAATAA
260		GATACGATACTATATGTATTCTTCGATAGTCCGCATTATGTACCTATTCT
261	A42R	CAAGTTTATTCCAATAGATGTCTTATTAAAAACATATATAATAAATAACA
262	A43R	AACTGGTAATTAAAATAAAAAGTAATATTCATATGTAGTGTCAATTTTAA
263	A53R	TTTTTGATGGTGGTTTAACGTTTTAAAAAAAGATTTTGTTATTGTAGTAT
264	B4R	TAACATTGTTAATTGAAAAGGGATAACATGTTACAGAATATAAATTATAT
265	B9R	TGCATATTATACACTGGTTAACGCCCTTATAGGCTCTAACCATTTTCAAG
266		TTGCAGTGTTCATCTCCCAACTGCAAGTGAAGGATTGATAACTGAAGGCA
267		CTCTTCTCCCTTTCCCAGAAACAAACTTTTTTTACCCACTATAAAATAAA
268	C13L	AATAGTATAAACTAAAAATTAAACAAATCGTTATTATAAGTAATATCAAA
269	C19L	TTCTGTTTTTCTTTCACATCTTTAATTATGAAAAAGTAAATCATTATGAG
270	C8L	CACTTACTAAATAGCCAAGGTGATTATTCGTATTTTTTTAAGGAGTAACC
271	C3L	TTTTATTATTTGTACGATGTCCAGGATAACATTTTTACGGATAAATAAAT
272	F9L	TAGTTTCTTGGAAAAATTTATTATGAGAGACATTTTCTCAGACTGGATAA
273	F10L	TCTATCAAACCTGGACTTTCGTTTGTAAATTGGGGCTTTTTGTACAATAA
274	I2L	ATGAATATGATGAAGATAGCGATAAAGAAAAGCCAATATTCAATGTATAA
275	I7L	AACGCAGTTTGGAAAAAAGAAGATATCTGGTAAATTCTTTTCCATGATAA
276	G1L	TACGATGATAACGACATACGAACATTACTTCCTATTTTACTCCTTAGTAA
277	G3L	ATCTTCTGTAAGTAGGAATTTGGACAAGTTGAACAAAATTAGATCTCTAA
278	G7L	ATTTTTATACGGATGCTCATTTTAAATTTTTGTAAATTATTTAAAGTTAA
279	L3L	ATGAGGTTTTCTAGCAGTAGACTCATTTAGAGAAGTTTTTTTTGTGATAA
280	J5L	TTATTACAACTATAAAAATAATAGTTATATTTACACTTTAAATTTTTATC
281	H4L	TAAAAAAATTATACATCATAAACCAATTTCCTAGTTGTTTGTAACTTTAA
282	D2L	CGTTATCGTCGTTATCTACTTTGGGATACTTATTATCCTTAACTATAAAA
283	A2.5L	TATATTAGCGCTAGACATATTACAGAACTATTTTAGATTATGATATTTAA
284	A7L	AAGACTTACATCATCGGTAGTAGATTTTCACTTTACCCCACGATATAAAT
285	A9L	AAAATCTAAATATGACAGATGGTGACTCTGTCTCTTTTGATGATGAATAA
286	A10L	ATCGTTTTGTATATCCGTCACTGGTACGGTCGTCATTTAATACTAAATAA
287	A13L	AAAAGATGATATATTGCATACTTGATCAATAGTGAAGTTATTGTCAATAA
288	A14L	GTTTATATTCCACTTTGTTCATTCGGCGATTTAAAATTTTTATTAGTTAA
289	A14.5L	ATTCGTATTATTTGAGCAAGAAAATATCCCACCACCTTTTCGTCTAGTAA
290	A17L	GGCATAAAGATTATACTCCATCTTTAATAGTGACATTTTTTAATATATAA
291	A21L	TGTACAGACTAAGTAATTCTTTTAAGTTAGTTAAATCAGCGCTAGAAGTC
292	A26L	ACTTAACTCTTTTGTTAATTAAAAGTATATTCAAAAAATGAGTTATATAA

293	A28L	CATTGTCTGATGCGTGTAAAAAAATTTTGTCAGCTTCTAATAGATTATAA
294	F17R	TGTATGTAAAAATATAGTAGAATTTCATTTTGTTTTTTTCTATGCTATAA
295	E10R	TAATGCACCGAACATCCATTTATAGAATTTAGAAATATATTTTCATTTAA
296	G6R	AGAACCTCAACGTAACTTAACAGTGCAACCTCTATTGGATATAAACTAAT
297	G9R	GATCAACATCTTTATGGCGTTTTTAGATTAATACTTTCAATGAGATAAAT
298	L1R	TCAGTTTATTATCTCTCTTGGTAATATGGATACTAATTGTAGCTATTTAA
299	L5R	AAAAGAATATTCCTCTAACAGATATTCCGACAAAGGATTGATTACTATAA
300	H2R	GTAGTAGTAAGTATTTATACAAACTTTTCTTATCCATTTATAACGTACAA
301	H6R	AGGGAAAATCTAAAGTTGTTCGTAAAAAAGTTAAAACTTGTAAGAAGTAA
302	D3R	ATAAAATACTACTGTTGAGTAAATCAGTTATTTTTTTTATATCGATATTG
303	A11L	TTGATCAAGAGTAACTATTGACTTAATAGGCATCATTTATTTAGTATTAA
304	A39R	CCAATTTCCATCTAATATACTTTGTCGGATTATCTATAGTACACGGAATA
305	A45R	CCATTGCTGCCACTCATAATATCAGACTACTTATTCTATTTTACTAAATA
306	B7R	TTTGTATAAATAATTATTTCAATATACTAGTTAAAATTTTAAGATTTTAA
307		TCCATCCACAGACGTTACCGAACCGATTAGTGATGTGACACCATCGGTGG
308		ATACGAGGACGTGTATAGAGTAAGTAAAGAAAAAGAATGTGGAATTTGCT

【０１３９】

さらに、挿入用の核酸配列は、例えば、コザックコンセンサス配列（ＧＣＣＡＣＣ／ＡＴＧ）等の適切な翻訳開始配列を更に含み得る。

【０１４０】

さらに、挿入用のポリシストロン性核酸配列は、ポリペプチドの最後のアミノ酸コーディング配列に続く核酸配列の３’末端に、適切な終止コドン、例えばＴＡＡ、ＴＡＧ、若しくはＴＧＡ、又はそれらの組合せ若しくは繰り返しを含み得る。さらに、核酸配列は、ポリタンパク質の最後の終止コドンの３’にワクシニアウイルス終結配列を含み得る。さらに、挿入用の核酸配列は、免疫チェックポイント阻害剤のコーディング配列の挿入を容易にするシャトルベクターを作製するのに有用な制限酵素部位を更に含んでいてもよい。

【０１４１】

抗原性標的

本発明の提供されるｒＭＶＡウイルスコンストラクトをアジュバントとして使用して、被験体における感染性疾患又は癌を治療又は予防することができる。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトを、投与を必要とする被験体、例えばヒトに、予防的ワクチン接種プロトコルにおいて、例えば初回接種段階、追加接種段階、又は初回接種段階及び追加接種段階の両方で投与して、感染性疾患を予防する。代替的な実施形態において、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトを、投与を必要とする被験体、例えばヒトに、ワクチン接種プロトコルを含む治療法において投与して、例えば癌を治療する。したがって、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトを、抗原性標的に対する免疫応答を誘導することが意図される１つ以上の抗原と協調して投与して、誘導を必要とする被験体における部分的又は完全な免疫化を誘導することができる。

【０１４２】

したがって、本発明のｒＭＶＡを、感染性疾患又は癌を標的とする１つ以上の抗原とともに投与することができる。ｒＭＶＡをアジュバントとして一緒に使用することができる抗原及び抗原送達運搬体の例としては、抗原性タンパク質、ポリペプチド、若しくはペプチド、若しくはそれらの断片、１つ以上の抗原をコードする核酸、例えばｍＲＮＡ若しく

はＤＮＡ、多糖類、若しくは多糖類とタンパク質とのコンジュゲート、糖脂質、例えばガングリオシド、トキソイド、サブユニット（例えば、ウイルス、細菌、真菌、アメーバ、寄生虫等のサブユニット）、ウイルス様粒子、生ウイルス、スプリットウイルス、弱毒化ウイルス、不活化ウイルス、エンベロープを有するウイルス、１つ以上の抗原を発現するウイルスベクター、腫瘍関連抗原、又はそれらのあらゆる組合せが挙げられる。

【０１４３】

特定の態様において、本発明は、予防又は治療を必要とする被験体における感染性疾患を予防又は治療する方法であって、有効量の本発明のｒＭＶＡを、予防的有効量又は治療的有効量の１つ以上の抗原又は抗原を発現するベクターと組み合わせて、それらと交互に、又はそれらと連係して投与することを含み、ここで、ｒＭＶＡが、標的となる感染性疾患に対する免疫を強化する、方法を提供する。

【０１４４】

幾つかの実施形態において、標的となる感染症は、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、及びポックスウイルスを含むがこれらに限定されない二本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルスを含むがこれに限定されない一本鎖ＤＮＡウイルス、レオウイルスを含むがこれに限定されない二本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、及びトガウイルスを含むがこれらに限定されないプラス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス及びラブドウイルスを含むがこれらに限定されないマイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、レトロウイルスを含むがこれに限定されない一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、又はヘパドナウイルスを含むがこれに限定されない二本鎖ＤＮＡレトロウイルスを含むがこれらに限定されないウイルス感染症である。幾つかの実施形態において、標的となるウイルスは、アデノウイルス、鳥インフルエンザウイルス、コクサッキーウイルス、サイトメガロウイルス、デング熱ウイルス、エボラウイルス、エプスタインバーウイルス、ウマ脳炎ウイルス、フラビウイルス、ヘパドナウイルス、Ａ型肝炎ウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、Ｃ型肝炎ウイルス、Ｄ型肝炎ウイルス、Ｅ型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトパピローマウイルス、インフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルス、ＪＣウイルス、麻疹ウイルス、マールブルグウイルス、中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ－ＣｏＶ）コロナウイルス、ムンプスルブラウイルス、オルソミクソウイルス、パピローマウイルス、パラインフルエンザウイルス、パルボウイルス、ピコルナウイルス、ポリオウイルス、ポックスウイルス、狂犬病ウイルス、レオウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、レトロウイルス、ラブドウイルス、ライノウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ロタウイルス、風疹ウイルス、はしかウイルス、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス１型（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２型（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２）、天然痘ウイルス、トガウイルス、ブタインフルエンザウイルス、水痘－帯状疱疹ウイルス、大痘瘡ウイルス、小痘瘡ウイルス、及び黄熱病ウイルスである。抗原として使用され得るウイルスの例としては、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス（ムンプスルブラウイルス）、風疹ウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、又はそれらの４つ全て若しくは３つの組合せ（例えば、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、及び風疹ウイルス）も挙げられる。

【０１４５】

幾つかの実施形態において、標的となる感染性因子は、フラビウイルス属及びペスチウイルス属のウイルスによる感染症を含むフラビウイルス科ウイルスである。フラビウイルス感染症としては、デング熱、キャサヌル森林病、ポワッサン病、ウェッセルスブロン病、西ナイル熱、黄熱、ジカウイルス、リオブラボー（Ｒｉｏ ｂｒａｖｏ）、ロシオ（Ｒｏｃｉｏ）、ネギシ（Ｎｅｇｉｓｈｉ）、並びにカリフォルニア脳炎、中央ヨーロッパ脳炎、イルヘウスウイルス、マレーバレー脳炎、セントルイス脳炎、Ｂ型日本脳炎、跳躍病、及びロシア春（齧歯動物）夏脳炎（Ｒｕｓｓｉａｎ ｓｐｒｉｎｇ-ｒｏｄｅｎｔｓ ｓｕｍｍｅｒ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）を含む脳炎が挙げられる。ペスチウイルス感染症としては、主にブタにおける豚熱、牛におけるＢＶＤＶ（ウシウイルス性下痢ウイルス）感染症、又はボーダー病ウイルス感染症を含む家畜の疾患が挙げられる。

【０１４６】

幾つかの実施形態において、標的となる感染性因子は、アルファウイルス属ウイルス、例えば、東部ウマ脳炎（ＥＥＥ）ウイルス、ベネズエラウマ脳炎（ＶＥＥ）ウイルス、西部ウマ脳炎（ＷＥＥ）ウイルス、エバーグレイズウイルス、チクングニアウイルス、マヤロウイルス、オッケルボウイルス、オニョンニョンウイルス、ロスリバーウイルス、セムリキフォレストウイルス、又はシンドビスウイルス（ＳＩＮＶ）である。

【０１４７】

幾つかの実施形態において、標的となる感染性因子は、ウマ動脈炎ウイルス、ウシウイルス性下痢ウイルス（ＢＶＤＶ）、ホッグコレラウイルス、又はボーダー病ウイルスである。ルビウイルス属の唯一のメンバーは風疹ウイルスである。

【０１４８】

幾つかの実施形態において、標的となる感染性因子は、エボラウイルス及びマールブルグウイルス等のフィロウイルス科ウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、ニパウイルス、ヘンドラウイルス、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）、及びニューカッスル病ウイルス（ＮＤＶ）等のパラミクソウイルス科ウイルス、狂犬病ウイルス等のラブドウイルス科ウイルス、ニアウイルス等のニヤミウイルス科ウイルス、ラッサウイルス等のアレナウイルス科ウイルス、ハンタウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス等のブニヤウイルス科ウイルス、又はインフルエンザウイルス等のオフィオウイルス科ウイルス及びオルソミクソウイルス科ウイルスである。

【０１４９】

一実施形態において、抗原は、ボレリア属の複数種、バチルス・アンシラシス、ボレリア・ブルグドルフェリ、ボルデテラ・パーツシス、カンピロバクター・ジェジュニ、クラミジア属の複数種、クラミジア・プシッタシ、クラミジア・トラコマティス、クロストリジウム属の複数種、クロストリジウム・テタニ、クロストリジウム・ボツリナム、クロストリジウム・パーフリンジェンス、コリネバクテリウム・ジフテリアエ、コクシエラ属の複数種、エンテロコッカス属の複数種、エーリキア属の複数種、エシェリキア・コリ、フランシセラ・ツラレンシス、ヘモフィルス属の複数種、ヘモフィルス・インフルエンザエ、ヘモフィルス・パラインフルエンザエ、ラクトバシラス属の複数種、レジオネラ属の複数種、レジオネラ・ニューモフィラ、レプトスピロシス・インターロガンス、リステリア属の複数種、リステリア・モノサイトゲネス、マイコバクテリウム属の複数種、マイコバクテリウム・ツベルクローシス、マイコバクテリウム・レプラエ、マイコプラズマ属の複数種、マイコプラズマ・ニューモニエ、ナイセリア属の複数種、ナイセリア・メニンギティディス、ナイセリア・ゴノレア、ニューモコッカス属の複数種、シュードモナス属の複数種、シュードモナス・エルギノーザ、サルモネラ属の複数種、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・エンテリカ、ストレプトコッカス属の複数種、リケッチア属の複数種、リケッチア・リケッチイ、リケッチア・チフィ、シゲラ属の複数種、スタフィロコッカス属の複数種、スタフィロコッカス・アウレウス、ストレプトコッカス属の複数種、ストレプトコッカス・ニューモニエ、ストレプトコッカス・ピオゲネス、ストレプトコッカス・ミュータンス、トレポネーマ属の複数種、トレポネーマ・パリズム、ビブリオ属の複数種、ビブリオ・コレラエ、及びエルシニア・ペスティスから選択される１種以上の細菌から採取される。このような細菌は、（例えば、生きている、弱毒化された、又は不活化された）全細胞、又はそのような細菌のポリペプチド若しくは多糖であり得る。

【０１５０】

幾つかの実施形態において、標的となる感染性因子は細菌である。標的とする抗原性細菌因子は、肺炎球菌（例えば、Ｓ．ニューモニア（S. pneumonia））多糖（例えば、細胞莢膜糖類）－タンパク質（例えば、ジフテリアタンパク質）コンジュゲート等の多糖－ポリペプチド抗原であり得る。幾つかの実施形態において、コンジュゲートは、タンパク質（例えば、ジフテリアタンパク質）にコンジュゲートされたＳ．ニューモニアの細胞捕捉糖類を含み、例えば、細胞莢膜糖類は、Ｓ．ニューモニエ細菌の７種の血清型（４、６Ｂ、９Ｖ、１４、１８Ｃ、１９Ｆ、及び２３Ｆ）のものであり、これがジフテリアタンパク質とコンジュゲートされる。幾つかの実施形態において、コンジュゲートは、分類不

可能なヘモフィルス・インフルエンザ（Haemophilus influenza）由来のプロテインＤ、破傷風トキソイドキャリアタンパク質及び／又はジフテリアトキソイドキャリアタンパク質等のタンパク質にコンジュゲートされた血清型１、４、５、６Ｂ、７Ｆ、９Ｖ、１４、１８Ｃ、１９Ｆ、及び２３Ｆの肺炎球菌多糖を含む。幾つかの実施形態において、コンジュゲートは、ジフテリアタンパク質にコンジュゲートされたストレプトコッカス・ニューモニア莢膜多糖、例えば、ジフテリアｃｒｍ１９７タンパク質等のタンパク質にコンジュゲートされたストレプトコッカス・ニューモニエの１型、３型、４型、５型、６ａ型、６ｂ型、７ｆ型、９ｖ型、１４型、１８ｃ型、２３ｆ型、１９ａ型、及び１９ｆ型の莢膜多糖を含む。幾つかの実施形態において、多糖－タンパク質コンジュゲートの１つ以上は、１つ以上のキャリアタンパク質にコンジュゲートされた、ストレプトコッカス・ニューモニエの血清型１、２、３、４、５、６Ａ、６Ｂ、６Ｃ、６Ｄ、６Ｅ、６Ｇ、６Ｈ、７Ｆ、７Ａ、７Ｂ、７Ｃ、８、９Ａ、９Ｌ、９Ｎ、９Ｖ、１０Ｆ、１０Ａ、１０Ｂ、１０Ｃ、１１Ｆ、１１Ａ、１１Ｂ、１１Ｃ、１１Ｄ、１１Ｅ、１２Ｆ、１２Ａ、１２Ｂ、１３、１４、１５Ｆ、１５Ａ、１５Ｂ、１５Ｃ、１６Ｆ、１６Ａ、１７Ｆ、１７Ａ，１８Ｆ、１８Ａ、１８Ｂ、１８Ｃ、１９Ｆ、１９Ａ、１９Ｂ、１９Ｃ、２０Ａ、２０Ｂ、２１、２２Ｆ、２２Ａ、２３Ｆ、２３Ａ、２３Ｂ、２４Ｆ、２４Ａ、２４Ｂ、２５Ｆ、２５Ａ、２７、２８Ｆ、２８Ａ、２９、３１、３２Ｆ、３２Ａ、３３Ｆ、３３Ａ、３３Ｂ、３３Ｃ、３３Ｄ、３３Ｅ、３４、３５Ｆ、３５Ａ、３５Ｂ、３５Ｃ、３６、３７、３８、３９、４０、４１Ｆ、４１Ａ、４２、４３、４４、４５、４６、４７Ｆ、４７Ａ、４８、ＣＷＰＳ１、ＣＷＰＳ２、ＣＷＰＳ３の少なくとも１つに由来する莢膜多糖を含む。

【０１５１】

幾つかの実施形態において、標的となる感染性因子は、真菌、例えば、限定されるものではないが、アスペルギルス属の複数種、カンジダ属の複数種、カンジダ・アルビカンス、カンジダ・トロピカリス、クリプトコッカス属の複数種、クリプトコッカス・ネオフォルマンス、エントアメーバ・ヒストリティカ、ヒストプラズマ・カプスラーツム、リーシュマニア属の複数種、ノカルジア・アステロイデス、プラスモディウム・ファルシパルム、トキソプラズマ・ゴンディ、トリコモナス・バギナリス、トキソプラズマ属の複数種、トリパノソーマ・ブルセイ、シストソーマ・マンソニ、フサリウム属の複数種、及び／又はトリコフィトン属の複数種から選択される１つ以上の真菌である。このような真菌は、（例えば、生きている、弱毒化された、又は不活化された）全細胞、又はそのような真菌のポリペプチド若しくは多糖であり得る。

【０１５２】

幾つかの実施形態において、標的となる感染性因子は、プラスモディウム属の複数種、トキソプラズマ属の複数種、エントアメーバ属の複数種、バベシア属の複数種、トリパノソーマ属の複数種、リーシュマニア属の複数種、ニューモシスチス属の複数種、トリコモナス属の複数種、ジアルジア属の複数種、及び／又はシストソーマ属の複数種から選択される１つ以上の寄生虫である。このような寄生虫抗原は、（例えば、生きている、弱毒化された、又は不活化された）全細胞、又はそのような寄生虫のポリペプチド若しくは多糖であり得る。

【０１５３】

幾つかの実施形態において、抗原性作用物質は核酸によってコードされる。例えば、幾つかの実施形態において、抗原性作用物質は、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ｍＲＮＡ等から選択される核酸によってコードされる。

【０１５４】

幾つかの実施形態において、抗原はトキソイドである。幾つかの実施形態において、トキソイドは、ジフテリアトキソイド又は破傷風トキソイド又はＣ．ディフィシル（Ｃ．Ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）由来のトキソイドである。

【０１５５】

特定の実施形態において、標的となる抗原は、エボラウイルス、例えば、エボラウイルスザイール株のエンベロープ糖タンパク質（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｐ８７６７１

（ＶＧＰ＿ＥＢＯＥＣ））、エボラウイルスザイール株のマトリックスタンパク質ＶＰ４０（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｑ０５１２８（ＶＰ４０＿ＥＢＯＺＭ））、又はエボラウイルススーダン株のマトリックスタンパク質（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｑ７Ｔ９Ｄ９（ＶＧＰ＿ＥＢＯＳＵ））、ラッサウイルス、例えば、タンパク質Ｚ（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｏ７３５５７（Ｚ＿ＬＡＳＳＪ））、ジカウイルス、例えば、非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、例えば、マールブルグウイルス糖タンパク質（ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＦＶ３１２０２．１）、マールブルグウイルスＶＰ４０マトリックスタンパク質（ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＪＸ４５８８３４）、プラスモディウム属の種の寄生虫、例えば、プラスモディウム・ファルシパルム、例えば、スポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、又はＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原（ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＰＦ３Ｄ７＿１４６２３００）、ヒト免疫不全ウイルス、例えばＥｎｖタンパク質、例えば、ｇｐ４１、ｇｐ１２０、ｇｐ１６０、Ｇａｇタンパク質、ＭＡ、ＣＡ、ＳＰ１、ＮＣ、ＳＰ２、Ｐ６、又はＰｏｌタンパク質ＲＴ、ＲＮアーゼＨ、ＩＮ、ＰＲから誘導される。

【０１５６】

代替的な実施形態において、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトを、投与を必要とする被験体、例えばヒトに、ワクチン接種プロトコルを含む治療法において投与して、例えば癌を治療する。したがって、ｒＭＶＡウイルスコンストラクトを、抗原性標的に対する免疫応答を誘導することが意図される１つ以上の抗原と協調して投与して、誘導を必要とする被験体における部分的又は完全な免疫化を誘導することができる。

【０１５７】

癌免疫療法に使用される抗原は、一般に、腫瘍細胞に対する独自性、正常細胞と比較した腫瘍細胞でのより高い発現、又は正常細胞若しくは正常組織を重大な危険にさらすことなく抗原発現を伴う正常細胞が悪影響を受ける可能性のいずれかに基づいて意図的に選択される。腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）は、癌胎児性ＴＡＡ（典型的には胎児組織及び癌性体細胞でのみ発現される）、腫瘍ウイルス性ＴＡＡ（造腫瘍性形質転換ウイルスによってコードされる）、過剰発現／蓄積したＴＡＡ（正常組織及び新生物組織の両方によって発現され、新生物では発現レベルが大幅に上昇する）、癌－精巣ＴＡＡ（癌細胞並びに精巣及び胎盤等の成体生殖組織によってのみ発現される）、系譜限定のＴＡＡ（単一の癌組織型によって主に発現される）、突然変異したＴＡＡ（遺伝子突然変異又は転写の変化の結果として癌によってのみ発現される）、翻訳後改変されたＴＡＡ（グリコシル化等における腫瘍関連の変化）、又はイディオタイプＴＡＡ（腫瘍細胞が特定の「クロノタイプ」を発現する、すなわちクローン異常から生ずるＢ細胞、Ｔ細胞のリンパ腫／白血病と同様の高度に多型性の遺伝子）として大まかに分類され得る。ＴＡＡは、腫瘍細胞によって優先的に発現されるが、正常組織において見られることも多い。しかしながら、それらの発現は、腫瘍におけるそれらの発現の程度、正常な対応物と比較したそれらのタンパク質構造の変化、又は悪性細胞若しくは腫瘍細胞内のそれらの異常な細胞内局在の点で、正常組織の発現とは異なる。

【０１５８】

癌胎児性腫瘍関連抗原の例としては、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、未熟ラミニン受容体、及び腫瘍関連糖タンパク質（ＴＡＧ）７２が挙げられる。過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原の例としては、ＢＩＮＧ－４、カルシウム活性化クロライドチャネル（ＣＬＣＡ）２、サイクリン$Ａ_{1}$、サイクリン$Ｂ_{1}$、９Ｄ７、上皮細胞接着分子（Ｅｐ－Ｃａｍ）、ＥｐｈＡ３、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、テロメラーゼ、メソテリン、オーファンチロシンキナーゼ受容体（ＲＯＲ１）、胃癌関連タンパク質チロシンホスファターゼ１（ＳＡＰ－１）、及びサバイビンが挙げられる。

【０１５９】

癌－精巣抗原の例としては、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（Ｃ

ＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、並びに滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２が挙げられる。系譜限定の腫瘍抗原の例としては、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原が挙げられる。突然変異した腫瘍抗原の例としては、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、及びＴＧＦ－βＲＩＩが挙げられる。翻訳後改変された腫瘍抗原の一例は、ムチン（ＭＵＣ）１である。イディオタイプ腫瘍抗原の例としては、免疫グロブリン（Ｉｇ）及びＴ細胞受容体（ＴＣＲ）が挙げられる。

【０１６０】

幾つかの実施形態において、疾患又は障害に関連する抗原は、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、Ｂ型肝炎表面抗原、抗葉酸受容体、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ４４、ＥＧＦＲ、ＥＧＰ－２、ＥＧＰ－４、０ＥＰＨａ２、ＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ３、若しくはＥｒｂＢ４、ＦＢＰ、胎児型アセチルコリン受容体、ＨＭＷ－ＭＡＡ、ＩＬ－２２Ｒ－アルファ、ＩＬ－１３Ｒ－アルファ、ｋｄｒ、カッパ軽鎖、Ｌｅｗｉｓ　Ｙ、ＭＵＣ１６（ＣＡ－１２５）、ＰＳＣＡ、ＮＫＧ２Ｄリガンド、癌胎児性抗原、ＶＥＧＦ－Ｒ２、ＰＳＭＡ、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、エフリンＢ２、ＣＤ１２３、ＣＳ－１、ｃ－Ｍｅｔ及び／又はビオチン化分子、及び／又はＨＩＶ、ＨＣＶ、ＨＢＶ又は他の病原体によって発現される分子からなる群から選択される。

【０１６１】

例示的な腫瘍抗原としては、少なくとも以下が挙げられる：腸癌についての癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、卵巣癌についてのＣＡ－１２５、乳癌についてのＭＵＣ１又は上皮腫瘍抗原（ＥＴＡ）又はＣＡ１５－３、悪性黒色腫についてのチロシナーゼ又は黒色腫関連抗原（ＭＡＧＥ）、並びに様々な種類の腫瘍についてのｒａｓ、ｐ５３の異常産物、肝癌、卵巣癌、又は精巣癌についてのα－フェトプロテイン、精巣癌を伴う男性についてのｈＣＧのβ－サブユニット、前立腺癌についての前立腺特異抗原、多発性骨髄腫についての及び一部のリンパ腫におけるβ２－ミクログロブリン、結腸直腸癌、胆管癌、及び膵臓癌についてのＣＡ１９－９、肺癌及び前立腺癌についてのクロモグラニンＡ、黒色腫、軟部肉腫、並びに乳癌、結腸癌、及び肺癌についてのＴＡ９０。ＴＡＡの例は、当該技術分野において、例えば、N. Vigneron著の「ヒト腫瘍抗原及び癌免疫療法（Human Tumor Antigens and Cancer Immunotherapy）」 BioMed Research International, vol. 2015, Article ID 948501, 17 pages, 2015. doi:10.1155/2015/948501、Ilyas et al., J Immunol. (2015) Dec 1; 195(11): 5117-5122、Coulie et al., Nature Reviews Cancer (2014) volume 14, pages 135-146、Cheever et al., Clin Cancer Res. (2009) Sep 1;15(17):5323-37（これらは、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）において知られている。

【０１６２】

腫瘍ウイルス性ＴＡＡの例としては、ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）のＬ１、Ｅ６、及びＥ７、エプスタインバーウイルス（ＥＢＶ）のエプスタインバー核抗原（ＥＢＮＡ）１及びＥＢＮＡ２、ＥＢＶウイルスのキャプシド抗原（ＶＣＡ）Ｉｇｍ又はＩｇＧ、ＥＢＶの初期抗原（ＥＡ）、潜伏膜タンパク質（ＬＭＰ）１及びＬＭＰ２、Ｂ型肝炎表面抗原（ＨＢｓＡｇ）、Ｂ型肝炎ｅ抗原（ＨＢｅＡｇ）、Ｂ型肝炎コア抗原（ＨＢｃＡｇ）、Ｂ型肝炎ｘ抗原（ＨＢｘＡｇ）、Ｃ型肝炎コア抗原（ＨＣＶコアＡｇ）、ヒトＴリンパ向性ウイルス１型のコア抗原（ＨＴＬＶ－１コア抗原）、ＨＴＬＶ－１のＴａｘ抗原、ＨＴＬＶ－１の群特異的（Ｇａｇ）抗原、ＨＴＬＶ－１のエンベロープ（Ｅｎｖ）、ＨＴＬＶ－１のプロテアーゼ抗原（Ｐｒｏ）、ＨＴＬＶ－１のＴｏｆ、ＨＴＬＶ－１のＲｏｆ、ＨＴＬＶ－１のポリメラーゼ（Ｐｒｏ）抗原、ヒトＴリンパ向性ウイルス２型のコア抗原（

ＨＴＬＶ－２コア抗原）、ＨＴＬＶ－２のＴａｘ抗原、ＨＴＬＶ－２の群特異的（Ｇａｇ）抗原、ＨＴＬＶ－２のエンベロープ（Ｅｎｖ）、ＨＴＬＶ－２のプロテアーゼ抗原（Ｐｒｏ）、ＨＴＬＶ－２のＴｏｆ、ＨＴＬＶ－２のＲｏｆ、ＨＴＬＶ－２のポリメラーゼ（Ｐｒｏ）抗原、潜伏期関連核抗原（ＬＡＮＡ）、ヒトヘルペスウイルス－８（ＨＨＶ－８）のＫ８．１、メルケル細胞ポリオーマウイルスのラージＴ抗原（ＬＴＡｇ）、及びメルケル細胞ポリオーマウイルスのスモールＴ抗原（ｓＴＡｇ）が挙げられる。

【０１６３】

或る特定の種類の糖脂質、例えばガングリオシドの発現の上昇は、或る特定の種類の癌における腫瘍生存の促進と関連している。ガングリオシドの例としては、例えば、ＧＭ１ｂ、ＧＤ１ｃ、ＧＭ３、ＧＭ２、ＧＭ１ａ、ＧＤ１ａ、ＧＴ１ａ、ＧＤ３、ＧＤ２、ＧＤ１ｂ、ＧＴ１ｂ、ＧＱ１ｂ、ＧＴ３、ＧＴ２、ＧＴ１ｃ、ＧＱ１ｃ、及びＧＰ１ｃが挙げられる。ガングリオシド誘導体の例としては、例えば、９－Ｏ－Ａｃ－ＧＤ３、９－Ｏ－Ａｃ－ＧＤ２、５－Ｎ－ｄｅ－ＧＭ３、Ｎ－グリコリルＧＭ３、ＮｅｕＧｃＧＭ３、及びフコシル－ＧＭ１が挙げられる。腫瘍、例えば黒色腫、小細胞肺癌、肉腫、及び神経芽腫においてより高いレベルで存在することが多い例示的なガングリオシドとしては、ＧＤ３、ＧＭ２、及びＧＤ２が挙げられる。

【０１６４】

上記のＴＡＡに加えて、別のクラスのＴＡＡは、腫瘍特異的ネオアンチゲンであり、これらはアミノ酸コーディング配列を変更する突然変異（非同義体細胞突然変異）を介して生ずる。これらの突然変異ペプチドの一部は、細胞表面上で発現され、プロセシングされ、提示され、その後、Ｔ細胞によって認識される。正常組織はこれらの体細胞突然変異を有しないため、ネオアンチゲン特異的Ｔ細胞は中枢性免疫寛容及び末梢性免疫寛容を受けず、また正常組織の破壊を誘導する能力も欠如している。例えば、Lu & Robins著の「ネオアンチゲンを標的とする癌免疫療法（Cancer Immunotherapy Targeting Neoantigens）」, Seminars in Immunology, Volume 28, Issue 1, February 2016, Pages 22-27（引用することにより本明細書の一部をなす）を参照。

【０１６５】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、未熟ラミニン受容体、オーファンチロシンキナーゼ受容体（ＲＯＲ１）、及び腫瘍関連糖タンパク質（ＴＡＧ）７２からなる群から選択される癌胎児性ＴＡＡに特異的である。

【０１６６】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）のＥ６及びＥ７、エプスタインバーウイルス（ＥＢＶ）のエプスタインバー核抗原（ＥＢＮＡ）１及びＥＢＮＡ２、潜伏膜タンパク質（ＬＭＰ）１及びＬＭＰ２からなる群から選択される腫瘍ウイルス性ＴＡＡに特異的である。

【０１６７】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ＢＩＮＧ－４、カルシウム活性化クロライドチャネル（ＣＬＣＡ）２、サイクリン$Ａ_1$、サイクリン$Ｂ_1$、９Ｄ７、上皮細胞接着分子（Ｅｐ－Ｃａｍ）、ＥｐｈＡ３、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、Ｌ１細胞接着分子（Ｌ１－Ｃａｍ）、テロメラーゼ、メソテリン、胃癌関連タンパク質チロシンホスファターゼ１（ＳＡＰ－１）、及びサバイビンからなる群から選択される過剰発現／蓄積したＴＡＡに特異的である。

【０１６８】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、皮膚Ｔ細胞リンパ腫関連抗原ファミリー（ｃＴＡＧＥ）、インターロイキン－１３受容体サブユニットα－１（ＩＬ１３ＲＡ）、ＣＴ９、推定腫瘍抗原ＮＡ８８－Ａ、ロイシンジッパータンパク質４（ＬＵＺＰ４）、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、ヘリカーゼ抗原（ＨＡＧＥ）、リパーゼＩ（ＬＩＰＩ）、腫瘍において優先的に発現される黒色腫

抗原（ＰＲＡＭＥ）、滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）ファミリー、Ｘ染色体上の核に関連する精子タンパク質（ＳＰＡＮＸ）ファミリー、癌／精巣抗原２（ＣＴＡＧ２）、カルシウム結合チロシンリン酸化調節繊維鞘タンパク質（ＣＡＢＹＲ）、アクロシン結合タンパク質（ＡＣＲＢＰ）、中心体タンパク質５５（ＣＥＰ５５）、及びシナプトネマ複合体タンパク質１（ＳＹＣＰ１）からなる群から選択される癌－精巣抗原に特異的である。

【０１６９】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシナーゼ、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原からなる群から選択される系譜限定の腫瘍抗原に特異的である。

【０１７０】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ＭＡＲＴ－２、ｐ５３、Ｒａｓ、ＴＧＦ－βＲＩＩ、及び部分型上皮成長因子（ｔＥＧＦＲ）からなる群から選択される突然変異したＴＡＡに特異的である。

【０１７１】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、翻訳後改変されたＴＡＡムチン（ＭＵＣ）１に特異的である。

【０１７２】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、免疫グロブリン（Ｉｇ）及びＴ細胞受容体（ＴＣＲ）からなる群から選択されるイディオタイプＴＡＡに特異的である。

【０１７３】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ＢＣＭＡに特異的である。幾つかの実施形態において、少なくとも１つのＴ細胞部分集団は、ＢＣＭＡに特異的である。

【０１７４】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ＣＳ１に特異的である。

【０１７５】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ＸＢＰ－１に特異的である。

【０１７６】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ＣＤ１３８に特異的である。

【０１７７】

幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、ＷＴ１、ＰＲＡＭＥ、サバイビン、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＭＡＧＥ－Ａ３、ＭＡＧＥ－Ａ４、Ｐｒ３、サイクリンＡ１、ＳＳＸ２、好中球エラスターゼ（ＮＥ）、ＨＰＶのＥ６、ＨＰＶのＥ７、ＥＢＶのＬＭＰ１、ＥＢＶのＬＭＰ２、ＥＢＶのＥＢＮＡ１、又はＥＢＶのＥＢＮＡ２に特異的である。

【０１７８】

上記のＴＡＡに加えて、別のクラスのＴＡＡは、腫瘍特異的ネオアンチゲンであり、これらはアミノ酸コーディング配列を変更する突然変異（非同義体細胞突然変異）を介して生ずる。これらの突然変異ペプチドの一部は、細胞表面上で発現され、プロセシングされ、提示され、その後、Ｔ細胞によって認識される。正常組織はこれらの体細胞突然変異を有しないため、ネオアンチゲン特異的Ｔ細胞は中枢性免疫寛容及び末梢性免疫寛容を受けず、また正常組織の破壊を誘導する能力も欠如している。例えば、Ｌｕ ＆ Ｒｏｂｉｎｓ著の「ネオアンチゲンを標的とする癌免疫療法（Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｎｅｏａｎｔｉｇｅｎｓ）」，Ｓｅｍｉｎａｒｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌｕｍｅ ２８，Ｉｓｓｕｅ １，Ｆｅｂｒｕａｒｙ ２０１６，Ｐａｇｅｓ ２２-２７（引用することにより本明細書の一部をなす）を参照。

【０１７９】

特定の実施形態において、ＴＡＡは、ムチン１（ＭＵＣ１）（ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｐ１５９４１（ＭＵＣ１＿ＨＵＭＡＮ））から誘導される。幾つかの実施形態において、ＴＡＡは、サイクリンＢ１（ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｐ１４６３５（ＣＣＮＢ１＿ＨＵＭＡＮ

））から誘導される。

【０１８０】

ｒＭＶＡウイルスベクター

本明細書において提供されるのは、細胞から分泌され得る免疫チェックポイント阻害剤をコードする異種核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターである。

【０１８１】

幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、ポリペプチドをコードする異種核酸インサートを含み、ここで、ポリペプチドは、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤）$_x$（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含む。

【０１８２】

幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡウイルスベクターは、ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含み、ここで、ポリペプチドは、タンデムリピート配列（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含む（例えば、図１Ａ及び図１Ｂを参照）。

【０１８３】

幾つかの実施形態においては、本明細書において、タンデムリピート配列における１つ以上のポリペプチドと、タンデムリピート配列における最後のポリペプチドのＣ末端に融合された追加のポリペプチドとをコードする（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）異種ポリシストロン性核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターが提供される（例えば、図２Ａ及び図２Ｂを参照）。特定の実施形態において、コードされるポリペプチドは、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超える）、又は別の実施形態において、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含み、ここで、分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、切断可能なペプチドは、配列番号９１～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６５及び配列番号６６から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、切断可能なペプチドは、配列番号９３～配列番号９７、配列番号１２０、及び配列番号１２３～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。

【０１８４】

幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドである。

【０１８５】

幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝２～１０である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェッ

クポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ≧４である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝４、５、又は６である。

【０１８６】

幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドである。

【０１８７】

幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝２～１０である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ≧４である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝４、５、又は６である。

【０１８８】

幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、以下の表８のアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３０９～配列番号３４０若しくは配列番号３４１～配列番号３４８のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３０９のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１０のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１１０のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１２のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１３のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１４のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１５のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少な

くとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１６のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１７のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１８のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３１９のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２０のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２１のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２２のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２３のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２４のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２５のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２６のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２７のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２８のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３２９のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３０のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３１のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９

７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３２のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３３のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３４のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３５のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３６のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３７のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３８のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３３９のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４０のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４１のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４２のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４３のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４４のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４５のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４６のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４７のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ

酸配列を有するポリペプチドをコードする。
幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４８のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸を含むポリペプチド、又はそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。
【０１８９】
【表８】

表８－ｒＭＶＡウイルスベクター

配列番号	配列の説明	コードされるポリペプチド
309	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
310	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
311	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
312	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
313	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
314	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
315	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
316	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
317	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。

318	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
319	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
320	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
321	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
322	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
323	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
324	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
325	（Ｍ）（ｔＰＡ＋	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA

	ＬＤ０１＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	PLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
326	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
327	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
328	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
329	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQ
330	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQ
331	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLK

	（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
332	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
333	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
334	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
335	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
336	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
337	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＡＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
338	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＲＲ切断可能な配列＋２Ａ／２	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRR

50

	Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	RGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFR RGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKR GLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
339	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ RKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHA RFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDA MKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKR RGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFR RGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKR GLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
340	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＲＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ RRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHA RFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDA MKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRK RGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFR RGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKR GLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
341	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVN ITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
342	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAP LSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$, ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
343	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVN ITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAV FVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
344	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_x$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAP LSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)$_x$(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSP SQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), ここで、ｘ＝２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上である。
345	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
346	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫ	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ RKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHA

	ＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_5$	RFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDA MKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKK RGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFR RGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKR GLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGS GATNFSLLKQAGDVEENPGP
347	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ０１＋ＲＫＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ０１）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITA PLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ EIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDV EENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLK QAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQ ISTLRVNITAPLSQ
348	（Ｍ）（ｔＰＡ＋ＬＤ１０＋ＲＫＫＲ切断可能な配列＋２Ａ／２Ａ様切断配列）$_4$（ｔＰＡ＋ＬＤ１０）	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ RKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHA RFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDA MKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKK RGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFR RGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKR GLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ

【０１９０】

本明細書において提供されるように、本明細書に記載される免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートは、任意の適切な位置で、例えば、天然の欠失部位、改変された天然の欠失部位で、非必須ＭＶＡ遺伝子、例えばＭＶＡチミジンキナーゼ遺伝子座において、又は必須若しくは非必須のＭＶＡ遺伝子間の遺伝子間領域においてＭＶＡゲノムへと挿入され得る。適切な挿入部位は、例えば、米国特許第６，９９８，２５２号、米国特許第９，１３３，４７８号、Ober et al.著の「欠損ワクシニアウイルスｌｉｓｔｅｒの免疫原性及び安全性：改変ワクシニアウイルスアンカラとの比較（Immunogenicity and safety of defective vaccinia virus lister: comparison with modified vaccinia virus Ankara.）」 J. Virol., Aug. 2002 (pg. 7713-7723)、米国特許第９，１３３，４８０号、米国特許第８，２８８，１２５号（それぞれは、引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されている。

【０１９１】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートは、天然の欠失部位、例えば、天然の欠失部位Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、若しくはＶＩから選択される欠失部位、改変された天然の欠失部位、例えば、ＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間の再構築され改変された欠失ＩＩＩ部位（例えば、米国特許第９，１３３，４８０号を参照）、非必須ＭＶＡ遺伝子間、必須ＭＶＡ遺伝子間、例えばＩ８ＲとＧ１Ｌとの間若しくはＡ５ＲとＡ６Ｌとの間、又は非必須遺伝子座、例えばＭＶＡのＴＫ遺伝子座における他の適切な挿入部位、又はそれらの組合せへと挿入される。

【０１９２】

代替的な実施形態において、本発明のｒＭＶＡウイルスベクターを、多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを発現する能力に加えて、１つ以上の抗原ペプチドをコードし発現するように更に構築することができる。１つ以上の抗原性ペプチドは、１つ以上の別個の核酸インサート上にコードされ得るか、又は代替的な実施形態において、１つ以上の抗原性ペプチドは、多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドと同じポリシストロン性核酸インサート上にコードされる。

【０１９３】

幾つかの実施形態においては、本明細書において、ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、ポリペプチドが、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される。幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合された分泌シグナルペプチドを含むキメラポリペプチド、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）に含まれている（例えば、図４Ａ及び図４Ｂを参照）。幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドはまた、２つ以上の抗原性ペプチドがポリシストロン性核酸インサートにおいてコードされ、各キメラポリペプチドが本明細書に記載される切断可能なペプチドによって分離されるように提供される。幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合された分泌シグナルペプチドと、抗原性ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含むキメラポリペプチド、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_y$）（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）に含まれている。幾つかの実施形態において、最後の抗原含有キメラポリペプチドのＣ末端に融合された抗原含有キメラポリペプチドは、切断可能な配列を含まず、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドのＮ末端に融合された分泌シグナルペプチドと、抗原性ペプチドのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含むキメラポリペプチドに含まれている抗原性ペプチドは、ポリシストロン性核酸インサートにおいて、抗原含有キメラポリペプチドをコードする核酸が免疫チェックポイント阻害剤ペプチド含有キメラポリペプチドの５’に位置するように配向されていてもよく、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、又は代替的には（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。

【０１９４】

幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイドに由来するペプチド、又は代替的に、腫瘍関連抗原、又は上記の「抗原性標的」と題するセクションに記載される因子に由来する抗原であり、これは、明示的にこのセクションの一部をなす。

【０１９５】

幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、以下の表９の抗原アミノ酸を含むポリペプチド、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。幾つかの実施形態において、ポリシストロン性核酸インサートは、配列番号３４９～配列番号３９６、配列番号３９８、配列番号４００、配列番号４０２、若しくは配列番号４０５から選択されるアミノ酸配列から誘導されるアミノ酸を含む抗原、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９７％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列を有

するポリペプチドをコードする。

【０１９６】

【表９】

表９－抗原性ペプチド

配列番号	抗原	アミノ酸配列
349	ヒトムチン１	TPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNAV SMTSSVLSSHSPGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPA LGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTS APDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAP PAHGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSASGSASTLVHNGTSARATTTPA SKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTHHSTVPPLTSSNHSTSPQLSTG VSFFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNI KFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVP FPFSAQSGAGV
350	サイクリンＢ１	LPGMALRVTRNSKINAENKAKINMAGAKRVPTAPAATSKPGLRPRTALGDIGN KVSEQLQAKMPMKKEAKPSATGKVIDKKLPKPLEKVPMLVPVPVSEPVPEPEP EPEPEPVKEEKLSPEPILVDTASPSPMETSGCAPAEEDLCQAFSDVILAVNDV DAEDGADPNLCSEYVKDIYAYLRQLEEEQAVRPKYLLGREVTGNMRAILIDWL VQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPKKMLQLVGVTAMFIASKYEEMY PPEIGDFAFVTDNTYTKHQIRQMEMKILRALNFGLGRPLPLHFLRRASKIGEV DVEQHTLAKYLMELTMLDYDMVHFPPSQIAAGAFCLALKILDNGEWTPTLQHY LSYTEESLLPVMQHLAKNVVMVNQGLTKHMTVKNKYATSKHAKISTLPQLNSA LVQDLAKAVAKV
351	ＨＢＶのＰｒｅＳ２	QWNSTTFHQTLQDPRVRGLYFPAGGSSSGAVNPVPTTASPLSSIFSRIGDPAL NMENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQN SQSPTSNHSPTSCPPTCPGYRWMCLRRFIIFLFILLLCLIFLLVLLDYQGMLP VCPLIPGSSTTSTGPCRTCMTTAQGTSMYPSCCCTKPSDGNCTCIPIPSSWAF GKFLWEWASARFSWLSLLVPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSP FLPLLPIFFCLWVYI
352	ＨＢＶのＰｒｅＣｏｒｅ／Ｃｏｒｅ	HLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFP SVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGVNLED PASRDLVVSYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPA YRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSREPQC
353	ＨＢＶの部分型Ｘ遺伝子産物	AARLCCQLDPARDVLCLRPVGAESCGRPFSGSLETLSSPSPSAVPTDHGAHLS LRGLPAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEEIRLKVFVLGGCRHKLVCAPAPCT FFTSA
354	ＨＢＶのＰｒｅＳ，ＨＡ（インフルエンザＨＡのシグナルペプチド、ｐｒｅＳ、及びインフルエンザＨＡの膜貫通／細胞質ドメインを含むキメラ融合物）	EAKLFVLFCAFTALKAMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPI KDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQS GRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYLPAGGSSSGTVNPA PNIASHISSISARTGDPVTNKLESVGVHQILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFW MCSNGSLQCRICI
355	プラスモディウム属の種のＣＳＰ	ARPGMMRKLAILSVSSFLFVEALFQEYQCYGSSSNTRVLNELNYDNAGTNLYN ELEMNYYGKQENWYSLKKNSRSLGENDDGNNEDNEKLRKPKHKKLKQPADGNP DPGGGSNKNNQGNGQGHNMPNDPNRNVDENANANSAVKNNNNEEPSDKHIKEY LNKIQNSLSTEWSPCSVTCGNGIQVRIKPGSANKPKDELDYANDIEKKICKME KCSSVFNVVNS
356	プラスモディウム属の種の	PIPGMMRKLAILSVSSFLFVEALFQEYQCYGSSSNTRVLNELNYDNAGTNLYN ELEMNYYGKQENWYSLKKNSRSLGENDDGNNEDNEKLRKPKHKKLKQPADGNP

	ＣＳＰ　ＣＳＰ２１Ｒ（２１リピート）	DPNANPNVDPNANPNVDPNANPNVDPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNAN PNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNVDPNANPNKNN QGNGQGHNMPNDPNRNVDENANANSAVKNNNNEEPSDKHIKEYLNKIQNSLST EWSPCSVTCGNGIQVRIKPGSANKPKDELDYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVN S
357	プラスモディウム属の種のＰｆｓ２３０	PGATMSVLQSGALPSVGVDELDKIDLSYETTESGDTAVSEDSYDKYASNNTNK EYVCDFTDQLKPTESGPKVKKCEVKVNEPLIKVKIICPLKGSVEKLYDNIEYV PKKSPYVVVLTKEETKLKEKLLSKLIYGLLISPTVNEKENNFKEGVIEFTLPPV VHKATVFYFICDNSKTEDDNKKGNRGIVEVYVEPYGNKING
358	ヒトムチン－Ｉ細胞外ドメイン断片	AHGVTSAPDTRPAPGSTAPP
359	ヒトムチン－Ｉ細胞外ドメイン断片	AHGVTSAPDNRPALGSTAPP
360	ヒトムチン－Ｉ細胞外ドメイン断片	AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNRPALGSTAPP
361	ヒトムチン－Ｉ細胞外ドメイン断片	AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPA PGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNRPALGSTAPP
362	ヒトムチン－Ｉ細胞内ドメイン断片	RRKNYGQLDIFPARDTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGS SLSYTNPAVAATSANL
363	ヒトムチン－Ｉ　１タンデムリピート	TPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNAV SMTSSVLSSHSPGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPA LGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPIAHGVTSAPDTRPAPGSTAPAAHGVT SAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSASGSASTLVHNGTSARATTTPASKSTPF SIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTHHSTVPPLTSSNHSTSPQLSTGVSFFFL SFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNIKFRPGS VVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVPFPFSAQ SGAGVPGWGIALLVLVCVLVALAIVYLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPARDTYH PMSEYPTYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSSLS YTNPAVAATSANL
364	ヒトムチン－Ｉ　４タンデムリピート	TPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNAV SMTSSVLSSHSPGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPA LGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPP HGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSASGSASTLVHNGTSARATTTPASK STPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTHHSTVPPLTSSNHSTSPQLSTGVS FFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNIKF RPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVPFP FSAQSGAGVPGWGIALLVLVCVLVALAIVYLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPAR DTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSSLSYTNPAVAATSA NL
365	ラッサウイルスの糖タンパク質	GQIVTFFQEVPHVIEEVMNIVLIALSVLAVLKGLYNFATCGLVGLVTFLLLCG RSCTTSLYKGVYELQTLELNMETLNMTMPLSCTKNNSHHYIMVGNETGLELTL TNTSIINHKFCNLSDAHKKNLYDHALMSIISTFHLSIPNFNQYEAMSCDFNGG KISVQYNLSHSYAGDAANHCGTVANGVLQTFMRMAWGGSYIALDSGRGNWDCI MTSYQYLIIQNTTWEDHCQFSRPSPIGYLGLLSQRTRDIYISRRLLGTFTWTL SDSEGKDTPGGYCLTRWMLIEAELKCFGNTAVAKCNEKHDEEFCDMLRLFDFN KQAIQRLKAEAQMSIQLINKAVNALINDQLIMKNHLRDIMGIPYCNYSKYWYL NHTTTGRTSLPKCWLVSNGSYLNETHFSDDIEQQADNMITEMLQKEYMERQGK TPLGLVDLFVFSTSFYLISIFLHLVKIPTHRHIVGKSCPKPHRLNHMGICSCG

		LYKQPGVPVKWKR
366	ラッサウイルスのＺタンパク質	GNKQAKAPESKDSPRASLIPDATHLGPQFCKSCWFENKGLVECNNHYLCLNCL TLLLSVSNRCPICKMPLPTKLRPSAAPTAPPTGAADSIRPPPYSP
367	エボラウイルスの糖タンパク質	GVTGILQLPRDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCR DKLSSTNQLRSVGLNLEGNGVATDVPSVTKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAEN CYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYVHKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFF LYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKDFFSSHPLREPVNATEDPSSGY YSTTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQLNETIYASGKR SNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTAVSNGPKNIS GQSPARTSSDPETNTTNEDHKIMASENSSAMVQVHSQGRKAAVSHLTTLATIS TSPQPPTTKTGPDNSTHNTPVYKLDISEATQVGQHHRRADNDSTASDTPPATT AAGPLKAENTNTSKSADSLDLATTTSPQNYSETAGNNNTHHQDTGEESASSGK LGLITNTIAGVAGLITGGRRTRREVIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAW IPYFGPAAEGIYTEGLMHNQDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSI LNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCCIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPD QGDNDNWWTGWRQWIPAGIGVTGVIIAVIALFCICKFVF
368	エボラウイルスのＶＰ４０タンパク質	RRVILPTAPPEYMEAIYPARSNSTIARGGNSNTGFLTPESVNGDTPSNPLRPI ADDTIDHASHTPGSVSSAFILEAMVNVISGPKVLMKQIPIWLPLGVADQKTYS FDSTTAAIMLASYTITHFGKATNPLVRVNRLGPGIPDHPLRLLRIGNQAFLQE FVLPPVQLPQYFTFDLTALKLITQPLPAATWTDDTPTGSNGALRPGISFHPKL RPILLPNKSGKKGNSADLTSPEKIQAIMTSLQDFKIVPIDPTKNIMGIEVPET LVHKLTGKKVTSKNGQPIIPVLLPKYIGLDPVAPGDLTMVITQDCDTCHSPAS LPAVVEK
369	ジカウイルス－ＧｅｎＢａｎｋ（ＡＬＸ３５６５９）からのジカについてのネイティブポリタンパク質配列	KNPKKKSGGFRIVNMLKRGVARVSPFGGLKRLPAGLLLGHGPIRMVLAILAFL RFTAIKPSLGLINRWGSVGKKEAMEIIKKFKKDLAAMLRIINARKEKKRRGAD TSVGIVGLLLTTAMAAEVTRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNKCYIQI MDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKGEARRS RRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAW LLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVLEHGG CVTVMAQDKPTVDIELVTTTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQGEAYL DKQSDTQYVCKRTLVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSIQPENL EYRIMLSVHGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGFGSLGL DCEPRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWNNKEA LVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHLKCRLK MDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVPAQMAV DMQTLTPVGRLITANPVITESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKKITHHW HRSGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIFGAAF KSLFGGMSWFSQILIGTLLMWLGLNAKNGSISLMCLALGGVLIFLSTAVSADV GCSVDFSKKETRCGTGVFVYNDVEAWRDRYKYHPDSPRRLAAAVKQAWEDGIC GISSVSRMENIMWRSVEGELNAILEENGVQLTVVVGSVKNPMWRGPQRLPVPV NELPHGWKAWGKSYFVRAAKTNNSFVVDGDTLKECPLKHRAWNSFLVEDHGFG VFHTSVWLKVREDYSLECDPAVIGTAVKGKEAVHSDLGYWIESEKNDTWRLKR AHLIEMKTCEWPKSHTLWTDGIEESDLIIPKSLAGPLSHHNTREGYRTQMKGP WHSEELEIRFEECPGTKVHVEETCGTRGPSLRSTTASGRVIEEWCCRECTMPP LSFRAKDGCWYGMEIRPRKEPESNLVRSMVTAGSTDHMDHFSLGVLVILLMVQ EGLKKRMTTKIIISTSMAVLVAMILGGFSMSDLAKLAILMGATFAEMNTGGDV AHLALIAAFKVRPALLVSFIFRANWTPRESMLLALASCLLQTAISALEGDLMV LINGFALAWLAIRAMVVPRTDNITLAILAALTPLARGTLLVAWRAGLATCGGF MLLSLKGKGSVKKNLPFVMALGLTAVRLVDPINVVGLLLLTRSGKRSWPPSEV LTAVGLICALAGGFAKADIEMAGPMAAVGLLIVSYVVSGKSVDMYIERAGDIT WEKDAEVTGNSPRLDVALDESGDFSLVEDDGPPMREIILKVVLMTICGMNPIA IPFAAGAWYVYVKTGKRSGALWDVPAPKEVKKGETTDGVYRVMTRRLLGSTQV

		GVGVMQEGVFHTMWHVTKGSALRSGEGRLDPYWGDVKQDLVSYCGPWKLDAAW DGHSEVQLLAVPPGERARNIQTLPGIFKTKDGDIGAVALDYPAGTSGSPILDK CGRVIGLYGNGVVIKNGSYVSAITQGRREEETPVECFEPSMLKKKQLTVLDLH PGAGKTRRVLPEIVREAIKTRLRTVILAPTRVVAAEMEEALRGLPVRYMTTAV NVTHSGTEIVDLMCHATFTSRLLQPIRVPNYNLYIMDEAHFTDPSSIAARGYI STRVEMGEAAAIFMTATPPGTRDAFPDSNSPIMDTEVEVPERAWSSGFDWVTD HSGKTVWFVPSVRNGNEIAACLTKAGKRVIQLSRKTFETEFQKTKHQEWDFVV TTDISEMGANFKADRVIDSRRCLKPVILDGERVILAGPMPVTHASAAQRRGRI GRNPNKPGDEYLYGGGCAETDEDHAHWLEARMLLDNIYLQDGLIASLYRPEAD KVAAIEGEFKLRTEQRKTFVELMKRGDLPVWLAYQVASAGITYTDRRWCFDGT TNNTIMEDSVPAEVWTRHGEKRVLKPRWMDARVCSDHAALKSFKEFAAGKRGA AFGVMEALGTLPGHMTERFQEAIDNLAVLMRAETGSRPYKAAAAQLPETLETI MLLGLLGTVSLGIFFVLMRNKGIGKMGFGMVTLGASAWLMWLSEIEPARIACV LIVVFLLLVVLIPEPEKQRSPQDNQMAIIIMVAVGLLGLITANELGWLERTKS DLSHLMGRREEGATIGFSMDIDLRPASAWAIYAALTTFITPAVQHAVTTSYNN YSLMAMATQAGVLFGMGKGMPFYAWDFGVPLLMIGCYSQLTPLTLIVAIILLV AHYMYLIPGLQAAAARAAQKRTAAGIMKNPVVDGIVVTDIDTMTIDPQVEKKM GQVLLIAVAVSSAILSRTAWGWGEAGALITAATSTLWEGSPNKYWNSSTATSL CNIFRGSYLAGASLIYTVTRNAGLVKRRGGGTGETLGEKWKARLNQMSALEFY SYKKSGITEVCREEARRALKDGVATGGHAVSRGSAKLRWLVERGYLQPYGKVI DLGCGRGGWSYYAATIRKVQEVKGYTKGGPGHEEPVLVQSYGWNIVRLKSGVD VFHMAAEPCDTLLCDIGESSSSPEVEEARTLRVLSMVGDWLEKRPGAFCIKVL CPYTSTMMETLERLQRRYGGGLVRVPLSRNSTHEMYWVSGAKSNTIKSVSTTS QLLLGRMDGPRRPVKYEEDVNLGSGTRAVVSCAEAPNMKIIGNRIERIRSEHA ETWFFDENHPYRTWAYHGSYEAPTQGSASSLINGVVRLLSKPWDVVTGVTGIA MTDTTPYGQQRVFKEKVDTRVPDPQEGTRQVMSMVSSWLWKELGKHKRPRVCT KEEFINKVRSNAALGAIFEEEKEWKTAVEAVNDPRFWALVDKEREHHLRGECQ SCVYNMMGKREKKQGEFGKAKGSRAIWYMWLGARFLEFEALGFLNEDHWMGRE NSGGGVEGLGLQRLGYVLEEMSRIPGGRMYADDTAGWDTRISRFDLENEALIT NQMEKGHRALALAIIKYTYQNKVVKVLRPAEKGKTVMDIISRQDQRGSGQVVT YALNTFTNLVVQLIRNMEAEEVLEMQDLWLLRRSEKVTNWLQSNGWDRLKRMA VSGDDCVVKPIDDRFAHALRFLNDMGKVRKDTQEWKPSTGWDNWEEVPFCSHH FNKLHLKDGRSIVVPCRHQDELIGRARVSPGAGWSIRETACLAKSYAQMWQLL YFHRRDLRLMANAICSSVPVDWVPTGRTTWSIHGKGEWMTTEDMLVVWNRVWI EENDHMEDKTPVTKWTDIPYLGKREDLWCGSLIGHRPRTTWAENIKNTVNMVR RIIGDEEKYMDYLSTQVRYLGEEGSTPGVL
370	ジカウイルス－ＰｒＭ＋Ｅ	TRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMSYECPML DEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRS QTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILL IAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVLEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVT TTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQGEAYLDKQSDTQYVCKRTLVDRG WGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSIQPENLEYRIMLSVHGSQHSGMIV NDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGFGSLGLDCEPRTGLDFSDLYYLTM NNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWNNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLG SQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAF TFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLTPVGRLITANPVI TESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGA KRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIFGAAFKSLFGGMSWFSQILIGTL LMWLGLNAKNGSISLMCLALGGVLIFLSTAVSA
371	ジカウイルス－ＪＥＶシグナル	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGA
372	ジカウイルス	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGATRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNK

	－ＪＥＶシグナル＋ＰｒＭ＋Ｅ	CYIQIMDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKG EARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAA AAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVV LEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQ GEAYLDKQSDTQYVCKRTLVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSI QPENLEYRIMLSVHGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGF GSLGLDCEPRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHW NNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHL KCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVP AQMAVDMQTLTPVGRLITANPVITESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKK ITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQI FGAAFKSLFGGMSWFSQILIGTLLMWLGLNAKNGSISLMCLALGGVLIFLSTA VSA
373	ジカウイルス－全長ジカウイルスＮＳ１タンパク質配列	VGCSVDFSKKETRCGTGVFVYNDVEAWRDRYKYHPDSPRRLAAAVKQAWEDGI CGISSVSRMENIMWRSVEGELNAILEENGVQLTVVVGSVKNPMWRGPQRLPVP VNELPHGWKAWGKSYFVRAAKTNNSFVVDGDTLKECPLKHRAWNSFLVEDHGF GVFHTSVWLKVREDYSLECDPAVIGTAVKGKEAVHSDLGYWIESEKNDTWRLK RAHLIEMKTCEWPKSHTLWTDGIEESDLIIPKSLAGPLSHHNTREGYRTQMKG PWHSEELEIRFEECPGTKVHVEETCGTRGPSLRSTTASGRVIEEWCCRECTMP PLSFRAKDGCWYGMEIRPRKEPESNLVRSMVTAG
374	ジカウイルス－ジカウイルスポリタンパク質ＪＥＶシグナル＋ｐｒＭ＋Ｅ＋Ｋ６４３－Ｓ６４４	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGATRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNK CYIQIMDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKG EARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAA AAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVV LEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQ GEAYLDKQSDTQYVCKRTLVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSI QPENLEYRIMLSVHGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGF GSLGLDCEPRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHW NNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHL KCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVP AQMAVDMQTLTPVGRLITANPVITESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKK ITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQI FGAAFKSLFGGMSWFSQILIGTLLMWLGLNAKNGSISLMCLALGGVLIFLSTA VSA
375	ジカウイルス－遺伝子産物	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGATRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNK CYIQIMDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKG EARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAA AAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVV LEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQ GEAYLDKQSDTQYVCKRTLVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSI QPENLEYRIMLSVHGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGF GSLGLDCEPRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHW NNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHL KCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVP AQMAVDMQTLTPVGRLITANPVITESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKK ITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQI FGAAFK
376	ジカウイルス－ｐｒＭｓＥ	TRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMSYECPML DEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRS QTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILL IAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVLEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVT TTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQGEAYLDKQSDTQYVCKRTLVDRG WGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSIQPENLEYRIMLSVHGSQHSGMIV

		NDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGFGSLGLDCEPRTGLDFSDLYYLTM NNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWNNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLG SQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAF TFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLTPVGRLITANPVI TESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGA KRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIFGAAFK
377	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質－武漢株	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVY SSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLV RDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYY VGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFR VQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSA SFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGST PCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKST NLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEI LDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYS TGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQ SIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYIC GDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKD FGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQM AYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQN AQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQI ITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLG DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
378	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質－Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙ	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVY SSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLV RDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYY VGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFR VQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSA SFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGTIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGST PCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKST NLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEI LDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYS TGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQ SIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYIC GDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKD FGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQM AYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQN AQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQI ITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLG DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF

		IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
379	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質－デルタ変異体	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKNNKSWMESGVYSS ANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRD LPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVG YLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQ PTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASF STFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPD DFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPC NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNL VKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILD ITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTG SNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFG GFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLIC AQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAY RFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQ ALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQ QLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFL HVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIIT TDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDI SGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIA GLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
380	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質－デルタ変異体プラス	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHFSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKNNKSWMESGVYSS ANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRD LPQGFSVLEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGLTAGAAAYYVG YLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQ PTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASF STFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGNIADYNYKLPD DFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPC NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNL VKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILD ITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTG SNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFG GFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLIC AQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAY RFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQ ALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQ QLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFL HVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIIT TDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDI SGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIA GLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
381	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVY

	－２つのプロリン置換で安定化	SSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLV RDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYY VGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFR VQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSA SFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGST PCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKST NLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEI LDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYS TGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQ SIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYIC GDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKD FGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQM AYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQN AQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQI ITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLG DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
382	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長安定化Ｓタンパク質－Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙ	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVY SSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLV RDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYY VGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFR VQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSA SFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGTIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGST PCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKST NLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEI LDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYS TGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQ SIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYIC GDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKD FGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQM AYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQN AQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQI ITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLG DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
383	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長安定化Ｓタンパク質デルタ変異体	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKNNKSWMESGVYSS ANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRD LPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVG YLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQ

		PTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASF STFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPD DFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPC NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNL VKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILD ITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTG SNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFG GFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLIC AQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAY RFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQ ALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQ QLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFL HVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIIT TDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDI SGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIA GLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
384	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長安定化Ｓタンパク質デルタ変異体プラス	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDL FLPFFSNVTWFHAIHFSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKNNKSWMESGVYSS ANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRD LPQGFSVLEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGLTAGAAAYYVG YLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQ PTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASF STFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGNIADYNYKLPD DFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPC NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNL VKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILD ITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTG SNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFG GFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLIC AQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAY RFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQ ALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQ QLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFL HVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIIT TDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDI SGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIA GLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
385	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質のアミノ酸配列	YSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKP SFYVYSRVKNLNSSRVPDLLV
386	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質のアミノ酸配列	ADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFLTWICLLQFAYANRNRFLYIIKLIFL WLLWPVTLACFVLAAVYRINWITGGIAIAMACLVGLMWLSYFIASFRLFARTR SMWSFNPETNILLNVPLHGTILTRPLLESELVIGAVILRGHLRIAGHHLGRCD IKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVAGDSGFAAYSRYRIGNYKLNTDHSSS SDNIALLVQ
387	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ	ESLVPGFNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEVLSEARQHLKDGTCGLV EVEKGVLPQLEQPYVFIKRSDARTAPHGHVMVELVAELEGIQYGRSGETLGVL

	１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列	VPHVGEIPVAYRKVLLRKNGNKGAGGHSYGADLKSFDLGDELGTDPYEDFQEN WNTKHSSGVTRELMRELNGGAYTRYVDNNFCGPDGYPLECIKDLLARAGKASC TLSEQLDFIDTKRGVYCCREHEHEIAWYTERSEKSYELQTPFEIKLAKKFDTF NGECPNFVFPLNSIIKTIQPRVEKKKLDGFMGRIRSVYPVASPNECNQMCLST LMKCDHCGETSWQTGDFVKATCEFCGTENLTKEGATTCGYLPQNAVVKIYCPA CHNSEVGPEHSLAEYHNESGLKTILRKGGRTIAFGGCVFSYVGCHNKCAYWVP RASANIGCNHTGVVGEGSEGLNDNLLEILQKEKVNINIVGDFKLNEEIAIILA SFSASTSAFVETVKGLDYKAFKQIVESCGNFKVTKGKAKKGAWNIGEQKSILS PLYAFASEAARVVRSIFSRTLETAQNSVRVLQKAAITILDGISQYSLRLIDAM MFTSDLATNNLVVMAYITGGVVQLTSQWLTNIFGTVYEKLKPVLDWLEEKFKE GVEFLRDGWEIVKFISTCACEIVGGQIVTCAKEIKESVQTFFKLVNKFLALCA DSIIIGGAKLKALNLGETFVTHSKGLYRKCVKSREETGLLMPLKAPKEIIFLE GETLPTEVLTEEVVLKTGDLQPLEQPTSEAVEAPLVGTPVCINGLMLLEIKDT EKYCALAPNMMVTNNTFTLKGGAPTKVTFGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERI DKVLNEKCSAYTVELGTEVNEFACVVADAVIKTLQPVSELLTPLGIDLDEWSM ATYYLFDESGEFKLASHMYCSFYPPDEDEEEGDCEEEEFEPSTQYEYGTEDDY QGKPLEFGATSAALQPEEEQEEDWLDDDSQQTVGQQDGSEDNQTTTIQTIVEV QPQLEMELTPVVQTIEVNSFSGYLKLTDNVYIKNADIVEEAKKVKPTVVVNAA NVYLKHGGGVAGALNKATNNAMQVESDDYIATNGPLKVGGSCVLSGHNLAKHC LHVVGPNVNKGEDIQLLKSAYENFNQHEVLLAPLLSAGIFGADPIHSLRVCVD TVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEKQVEQKIAEIPKEEVKPFITESKP SVEQRKQDDKKIKACVEEVTTTLEETKFLTENLLLYIDINGNLHPDSATLVSD IDITFLKKDAPYIVGDVVQEGVLTAVVIPTKKAGGTTEMLAKALRKVPTDNYI TTYPGQGLNGYTVEEAKTVLKKCKSAFYILPSIISNEKQEILGTVSWNLREML AHAEETRKLMPVCVETKAIVSTIQRKYKGIKIQEGVVDYGARFYFYTSKTTVA SLINTLNDLNETLVTMPLGYVTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAVTA YNGYLTSSSKTPEEHFIETISLAGSYKDWSYSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYT SNPTTFHLDGEVITFDNLKTLLSLREVRTIKVFTTVDNINLHTQVVDMSMTYG QQFGPTYLDGADVTKIKPHNSHEGKTFYVLPNDDTLRVEAFEYYHTTDPSFLG RYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWADNNCYLATALLTLQQIELKFNPPALQD AYYRARAGEAANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMSYLFQHANLDSCKRVLNV VCKTCGQQQTTLKGVEAVMYMGTLSYEQFKKGVQIPCTCGKQATKYLVQQESP FVMMSAPPAQYELKHGTFTCASEYTGNYQCGHYKHITSKETLYCIDGALLTKS SEYKGPITDVFYKENSYTTTIKPVTYKLDGVVCTEIDPKLDNYYKKDNSYFTE QPIDLVPNQPYPNASFDNFKFVCDNIKFADDLNQLTGYKKPASRELKVTFFPD LNGDVVAIDYKHYTPSFKKGAKLLHKPIVWHVNNATNKATYKPNTWCIRCLWS TKPVETSNSFDVLKSEDAQGMDNLACEDLKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKT TEVVGDIILKPANNSLKITEEVGHTDLMAAYVDNSSLTIKKPNELSRVLGLKT LATHGLAAVNSVPWDTIANYAKPFLNKVVSTTTNIVTRCLNRVCTNYMPYFFT LLLQLCTFTRSTNSRIKASMPTTIAKNTVKSVGKFCLEASFNYLKSPNFSKLI NIIIWFLLLSVCLGSLIYSTAALGVLMSNLGMPSYCTGYREGYLNSTNVTIAT YCTGSIPCSVCLSGLDSLDTYPSLETIQITISSFKWDLTAFGLVAEWFLAYIL FTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLMWLIINLVQMAPISAMVRMYIF FASFYYVWKSYVHVVDGCNSSTCMMCYKRNRATRVECTTIVNGVRRSFYVYAN GGKGFCKLHNWNCVNCDTFCAGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVD SVTVKNGSIHLYFDKAGQKTYERHSLSHFVNLDNLRANNTKGSLPINVIVFDG KSKCEESSAKSASVYYSQLMCQPILLLDQALVSDVGDSAEVAVKMFDAYVNTF SSTFNVPMEKLKTLVATAEAELAKNVSLDNVLSTFISAARQGFVDSDVETKDV VECLKLSHQSDIEVTGDSCNNYMLTYNKVENMTPRDLGACIDCSARHINAQVA KSHNIALIWNVKDFMSLSEQLRKQIRSAAKKNNLPFKLTCATTRQVVNVVTTK IALKGGKIVNNWLKQLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVMSKHTDFSSEIIGYK AIDGGVTRDIASTDTCFANKHADFDTWFSQRGGSYTNDKACPLIAAVITREVG FVVPGLPGTILRTTNGDFLHFLPRVFSAVGNICYTPSKLIEYTDFATSACVLA

		AECTIFKDASGKPVPYCYDTNVLEGSVAYESLRPDTRYVLMDGSIIQFPNTYL EGSVRVVTTFDSEYCRHGTCERSEAGVCVSTSGRWVLNNDYYRSLPGVFCGVD AVNLLTNMFTPLIQPIGALDISASIVAGGIVAIVVTCLAYYFMRFRRAFGEYS HVVAFNTLLFLMSFTVLCLTPVYSFLPGVYSVIYLYLTFYLTNDVSFLAHIQW MVMFTPLVPFWITIAYIICISTKHFYWFFSNYLKRRVVFNGVSFSTFEEAALC TFLLNKEMYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNKYKYFSGAMDTTSYREAACCHL AKALNDFSNSGSDVLYQPPQTSITSAVLQSGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGT TTLNGLWLDDVVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRV IGHSMQNCVLKLKVDTANPKTPKYKFVRIQPGQTFSVLACYNGSPSGVYQCAM RPNFTIKGSFLNGSCGSVGFNIDYDCVSFCYMHHMELPTGVHAGTDLEGNFYG PFVDRQTAQAAGTDTTITVNVLAWLYAAVINGDRWFLNRFTTTLNDFNLVAMK YNYEPLTQDHVDILGPLSAQTGIAVLDMCASLKELLQNGMNGRTILGSALLED EFTPFDVVRQCSGVTFQSAVKRTIKGTHHWLLLTILTSLLVLVQSTQWSLFFF LYENAFLPFAMGIIAMSAFAMMFVKHKHAFLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPAS WVMRIMTWLDMVDTSLSGFKLKDCVMYASAVVLLILMTARTVYDDGARRVWTL MNVLTLVYKVYYGNALDQAISMWALIISVTSNYSGVVTTVMFLARGIVFMCVE YCPIFFITGNTLQCIMLVYCFLGYFCTCYFGLFCLLNRYFRLTLGVYDYLVST QEFRYMNSQGLLPPKNSIDAFKLNIKLLGVGGKPCIKVATVQSKMSDVKCTSV VLLSVLQQLRVESSSKLWAQCVQLHNDILLAKDTTEAFEKMVSLLSVLLSMQG AVDINKLCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPSYAAFATAQEAYEQAVANGDSEVV LKKLKKSLNVAKSEFDRDAAMQRKLEKMADQAMTQMYKQARSEDKRAKVTSAM QTMLFTMLRKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTTAAKLMVVIPDYNTYKN TCDGTTFTYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEISMDNSPNLAWPLIVTALRANS AVKLQNNELSPVALRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYYNTTKGGRFVLALLSDL QDLKWARFPKSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPKVKYLYFIKGLNNLNRGM VLGSLAATVRLQAGNATEVPANSTVLSFCAFAVDAAKAYKDYLASGGQPITNC VKMLCTHTGTGQAITVTPEANMDQESFGGASCCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKG KYVQIPTTCANDPVGFTLKNTVCTVCGMWKGYGCSCDQLREPMLQSADAQSFL NRVCGVSAARLTPCGTGTSTDVVYRAFDIYNDKVAGFAKFLKTNCCRFQEKDE DDNLIDSYFVVKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCPAVAKHDFFKFRIDGDMVPHI SRQRLTKYTMADLVYALRHFDEGNCDTLKEILVTYNCCDDDYFNKKDWYDFVE NPDILRVYANLGERVRQALLKTVQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDLNGNWYDFG DFIQTTPGSGVPVVDSYYSLLMPILTLTRALTAESHVDTDLTKPYIKWDLLKY DFTEERLKLFDRYFKYWDQTYHPNCVNCLDDRCILHCANFNVLFSTVFPPTSF GPLVRKIFVDGVPFVVSTGYHFRELGVVHNQDVNLHSSRLSFKELLVYAADPA MHAASGNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFNKDFYDFAVSKGFFKEG SSVELKHFFFAQDGNAAISDYDYYRYNLPTMCDIRQLLFVVEVVDKYFDCYDG GCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYEDQDALFAYTKRNVIPT ITQMNLKYAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQFHQKLLKSIAATRGATVVIGT SKFYGGWHNMLKTVYSDVENPHLMGWDYPKCDRAMPNMLRIMASLVLARKHTT CCSLSHRFYRLANECAQVLSEMVMCGGSLYVKPGGTSSGDATTAYANSVFNIC QAVTANVNALLSTDGNKIADKYVRNLQHRLYECLYRNRDVDTDFVNEFYAYLR KHFSMMILSDDAVVCFNSTYASQGLVASIKNFKSVLYYQNNVFMSEAKCWTET DLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDDYVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIVKTDGTLMI ERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLQYIRKLHDELTGHMLDMYSVMLTN DNTSRYWEPEFYEAMYTPHTVLQAVGACVLCNSQTSLRCGACIRRPFLCCKCC YDHVISTSHKLVLSVNPYVCNAPGCDVTDVTQLYLGGMSYYCKSHKPPISFPL CANGQVFGLYKNTCVGSDNVTDFNAIATCDWTNAGDYILANTCTERLKLFAAE TLKATEETFKLSYGIATVREVLSDRELHLSWEVGKPRPPLNRNYVFTGYRVTK NSKVQIGEYTFEKGDYGDAVVYRGTTTYKLNVGDYFVLTSHTVMPLSAPTLVP QEHYVRITGLYPTLNISDEFSSNVANYQKVGMQKYSTLQGPPGTGKSHFAIGL ALYYPSARIVYTACSHAAVDALCEKALKYLPIDKCSRIIPARARVECFDKFKV NSTLEQYVFCTVNALPETTADIVVFDEISMATNYDLSVVNARLRAKHYVYIGD

		PAQLPAPRTLLTKGTLEPEYFNSVCRLMKTIGPDMFLGTCRRCPAEIVDTVSA LVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYKGVITHDVSSAINRPQIGVVREFLTRNPAWR KAVFISPYNSQNAVASKILGLPTQTVDSSQGSEYDYVIFTQTTETAHSCNVNR FNVAITRAKVGILCIMSDRDLYDKLQFTSLEIPRRNVATLQAENVTGLFKDCS KVITGLHPTQAPTHLSVDTKFKTEGLCVDIPGIPKDMTYRRLISMMGFKMNYQ VNGYPNMFITREEAIRHVRAWIGFDVEGCHATREAVGTNLPLQLGFSTGVNLV AVPTGYVDTPNNTDFSRVSAKPPPGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVRIKIVQMLS DTLKNLSDRVVFVLWAHGFELTSMKYFVKIGPERTCCLCDRRATCFSTASDTY ACWHHSIGFDYVYNPFMIDVQQWGFTGNLQSNHDLYCQVHGNAHVASCDAIMT RCLAVHECFVKRVDWTIEYPIIGDELKINAACRKVQHMVVKAALLADKFPVLH DIGNPKAIKCVPQADVEWKFYDAQPCSDKAYKIEELFYSYATHSDKFTDGVCL FWNCNVDRYPANSIVCRFDTRVLSNLNLPGCDGGSLYVNKHAFHTPAFDKSAF VNLKQLPFFYYSDSPCESHGKQVVSDIDYVPLKSATCITRCNLGGAVCRHHAN EYRLYLDAYNMMISAGFSLWVYKQFDTYNLWNTFTRLQSLENVAFNVVNKGHF DGQQGEVPVSIINNTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFELWAKRNIKPVPE VKILNNLGVDIAANTVIWDYKRDAPAHISTIGVCSMTDIAKKPTETICAPLTV FFDGRVDGQVDLFRNARNGVLITEGSVKGLQPSVGPKQASLNGVTLIGEAVKT QFNYYKKVDGVVQQLPETYFTQSRNLQEFKPRSQMEIDFLELAMDEFIERYKL EGYAFEHIVYGDFSHSQLGGLHLLIGLAKRFKESPFELEDFIPMDSTVKNYFI TDAQTGSSKCVCSVIDLLLDDFVEIIKSQDLSVVSKVVKVTIDYTEISFMLWC KDGHVETFYPKLQSSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKCDLQNYGDSATLPKGI MMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHFGAGSDKGVAPGTAVLRQWLPTGT LLVDSDLNDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDMYDPKTKNVTKENDSK EGFFTYICGFIQQKLALGGSVAIKITEHSWNADLYKLMGHFAWWTAFVTNVNA SSSEAFLIGCNYLGKPREQIDGYVMHANYIFWRNTNPIQLSSYSLFDMSKFPL KLRGTAVMSLKEGQINDMILSLLSKGRLIIRENNRVVISSDVLVNN
388	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢－Ｈｕ－１）	ESLVPGFNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEVLSEARQHLKDGTCGLV EVEKGVLPQLEQPYVFIKRSDARTAPHGHVMVELVAELEGIQYGRSGETLGVL VPHVGEIPVAYRKVLLRKNGNKGAGGHSYGADLKSFDLGDELGTDPYEDFQEN WNTKHSSGVTRELMRELNGGAYTRYVDNNFCGPDGYPLECIKDLLARAGKASC TLSEQLDFIDTKRGVYCCREHEHEIAWYTERSEKSYELQTPFEIKLAKKFDTF NGECPNFVFPLNSIIKTIQPRVEKKKLDGFMGRIRSVYPVASPNECNQMCLST LMKCDHCGETSWQTGDFVKATCEFCGTENLTKEGATTCGYLPQNAVVKIYCPA CHNSEVGPEHSLAEYHNESGLKTILRKGGRTIAFGGCVFSYVGCHNKCAYWVP RASANIGCNHTGVVGEGSEGLNDNLLEILQKEKVNINIVGDFKLNEEIAIILA SFSASTSAFVETVKGLDYKAFKQIVESCGNFKVTKGKAKKGAWNIGEQKSILS PLYAFASEAARVVRSIFSRTLETAQNSVRVLQKAAITILDGISQYSLRLIDAM MFTSDLATNNLVVMAYITGGVVQLTSQWLTNIFGTVYEKLKPVLDWLEEKFKE GVEFLRDGWEIVKFISTCACEIVGGQIVTCAKEIKESVQTFFKLVNKFLALCA DSIIIGGAKLKALNLGETFVTHSKGLYRKCVKSREETGLLMPLKAPKEIIFLE GETLPTEVLTEEVVLKTGDLQPLEQPTSEAVEAPLVGTPVCINGLMLLEIKDT EKYCALAPNMMVTNNTFTLKGGAPTKVTFGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERI DKVLNEKCSAYTVELGTEVNEFACVVADAVIKTLQPVSELLTPLGIDLDEWSM ATYYLFDESGEFKLASHMYCSFYPPDEDEEEGDCEEEEFEPSTQYEYGTEDDY QGKPLEFGATSAALQPEEEQEEDWLDDDSQQTVGQQDGSEDNQTTTIQTIVEV QPQLEMELTPVVQTIEVNSFSGYLKLTDNVYIKNADIVEEAKKVKPTVVVNAA NVYLKHGGGVAGALNKATNNAMQVESDDYIATNGPLKVGGSCVLSGHNLAKHC LHVVGPNVNKGEDIQLLKSAYENFNQHEVLLAPLLSAGIFGADPIHSLRVCVD TVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEKQVEQKIAEIPKEEVKPFITESKP SVEQRKQDDKKIKACVEEVTTTLEETKFLTENLLLYIDINGNLHPDSATLVSD IDITFLKKDAPYIVGDVVQEGVLTAVVIPTKKAGGTTEMLAKALRKVPTDNYI TTYPGQGLNGYTVEEAKTVLKKCKSAFYILPSIISNEKQEILGTVSWNLREML AHAEETRKLMPVCVETKAIVSTIQRKYKGIKIQEGVVDYGARFYFYTSKTTVA

		SLINTLNDLNETLVTMPLGYVTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAVTA YNGYLTSSSKTPEEHFIETISLAGSYKDWSYSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYT SNPTTFHLDGEVITFDNLKTLLSLREVRTIKVFTTVDNINLHTQVVDMSMTYG QQFGPTYLDGADVTKIKPHNSHEGKTFYVLPNDDTLRVEAFEYYHTTDPSFLG RYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWADNNCYLATALLTLQQIELKFNPPALQD AYYRARAGEAANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMSYLFQHANLDSCKRVLNV VCKTCGQQQTTLKGVEAVMYMGTLSYEQFKKGVQIPCTCGKQATKYLVQQESP FVMMSAPPAQYELKHGTFTCASEYTGNYQCGHYKHITSKETLYCIDGALLTKS SEYKGPITDVFYKENSYTTTIKPVTYKLDGVVCTEIDPKLDNYYKKDNSYFTE QPIDLVPNQPYPNASFDNFKFVCDNIKFADDLNQLTGYKKPASRELKVTFFPD LNGDVVAIDYKHYTPSFKKGAKLLHKPIVWHVNNATNKATYKPNTWCIRCLWS TKPVETSNSFDVLKSEDAQGMDNLACEDLKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKT TEVVGDIILKPANNSLKITEEVGHTDLMAAYVDNSSLTIKKPNELSRVLGLKT LATHGLAAVNSVPWDTIANYAKPFLNKVVSTTTNIVTRCLNRVCTNYMPYFFT LLLQLCTFTRSTNSRIKASMPTTIAKNTVKSVGKFCLEASFNYLKSPNFSKLI NIIIWFLLLSVCLGSLIYSTAALGVLMSNLGMPSYCTGYREGYLNSTNVTIAT YCTGSIPCSVCLSGLDSLDTYPSLETIQITISSFKWDLTAFGLVAEWFLAYIL FTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLMWLIINLVQMAPISAMVRMYIF FASFYYVWKSYVHVVDGCNSSTCMMCYKRNRATRVECTTIVNGVRRSFYVYAN GGKGFCKLHNWNCVNCDTFCAGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVD SVTVKNGSIHLYFDKAGQKTYERHSLSHFVNLDNLRANNTKGSLPINVIVFDG KSKCEESSAKSASVYYSQLMCQPILLLDQALVSDVGDSAEVAVKMFDAYVNTF SSTFNVPMEKLKTLVATAEAELAKNVSLDNVLSTFISAARQGFVDSDVETKDV VECLKLSHQSDIEVTGDSCNNYMLTYNKVENMTPRDLGACIDCSARHINAQVA KSHNIALIWNVKDFMSLSEQLRKQIRSAAKKNNLPFKLTCATTRQVVNVVTTK IALKGGKIVNNWLKQLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVMSKHTDFSSEIIGYK AIDGGVTRDIASTDTCFANKHADFDTWFSQRGGSYTNDKACPLIAAVITREVG FVVPGLPGTILRTTNGDFLHFLPRVFSAVGNICYTPSKLIEYTDFATSACVLA AECTIFKDASGKPVPYCYDTNVLEGSVAYESLRPDTRYVLMDGSIIQFPNTYL EGSVRVVTTFDSEYCRHGTCERSEAGVCVSTSGRWVLNNDYYRSLPGVFCGVD AVNLLTNMFTPLIQPIGALDISASIVAGGIVAIVVTCLAYYFMRFRRAFGEYS HVVAFNTLLFLMSFTVLCLTPVYSFLPGVYSVIYLYLTFYLTNDVSFLAHIQW MVMFTPLVPFWITIAYIICISTKHFYWFFSNYLKRRVVFNGVSFSTFEEAALC TFLLNKEMYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNKYKYFSGAMDTTSYREAACCHL AKALNDFSNSGSDVLYQPPQTSITSAVLQSGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGT TTLNGLWLDDVVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRV IGHSMQNCVLKLKVDTANPKTPKYKFVRIQPGQTFSVLACYNGSPSGVYQCAM RPNFTIKGSFLNGSCGSVGFNIDYDCVSFCYMHHMELPTGVHAGTDLEGNFYG PFVDRQTAQAAGTDTTITVNVLAWLYAAVINGDRWFLNRFTTTLNDFNLVAMK YNYEPLTQDHVDILGPLSAQTGIAVLDMCASLKELLQNGMNGRTILGSALLED EFTPFDVVRQCSGVTFQSAVKRTIKGTHHWLLLTILTSLLVLVQSTQWSLFFF LYENAFLPFAMGIIAMSAFAMMFVKHKHAFLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPAS WVMRIMTWLDMVDTSLSGFKLKDCVMYASAVVLLILMTARTVYDDGARRVWTL MNVLTLVYKVYYGNALDQAISMWALIISVTSNYSGVVTTVMFLARGIVFMCVE YCPIFFITGNTLQCIMLVYCFLGYFCTCYFGLFCLLNRYFRLTLGVYDYLVST QEFRYMNSQGLLPPKNSIDAFKLNIKLLGVGGKPCIKVATVQSKMSDVKCTSV VLLSVLQQLRVESSSKLWAQCVQLHNDILLAKDTTEAFEKMVSLLSVLLSMQG AVDINKLCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPSYAAFATAQEAYEQAVANGDSEVV LKKLKKSLNVAKSEFDRDAAMQRKLEKMADQAMTQMYKQARSEDKRAKVTSAM QTMLFTMLRKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTTAAKLMVVIPDYNTYKN TCDGTTFTYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEISMDNSPNLAWPLIVTALRANS AVKLQNNELSPVALRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYYNTTKGGRFVLALLSDL QDLWARFPKSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPKVKYLYFIKGLNNLNRGMV

		LGSLAATVRLQAGNATEVPANSTVLSFCAFAVDAAKAYKDYLASGGQPITNCV KMLCTHTGTGQAITVTPEANMDQESFGGASCCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKGK YVQIPTTCANDPVGFTLKNTVCTVCGMWKGYGCSCDQLREPMLQSADAQSFLN GFAV
389	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）	ESLVPGFNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEVLSEARQHLKDGTCGLV EVEKGVLPQLEQPYVFIKRSDARTAPHGHVMVELVAELEGIQYGRSGETLGVL VPHVGEIPVAYRKVLLRKNGNKGAGGHSYGADLKSFDLGDELGTDPYEDFQEN WNTKHSSGVTRELMRELNGGAYTRYVDNNFCGPDGYPLECIKDLLARAGKASC TLSEQLDFIDTKRGVYCCREHEHEIAWYTERSEKSYELQTPFEIKLAKKFDTF NGECPNFVFPLNSIIKTIQPRVEKKKLDGFMGRIRSVYPVASPNECNQMCLST LMKCDHCGETSWQTGDFVKATCEFCGTENLTKEGATTCGYLPQNAVVKIYCPA CHNSEVGPEHSLAEYHNESGLKTILRKGGRTIAFGGCVFSYVGCHNKCAYWVP RASANIGCNHTGVVGEGSEGLNDNLLEILQKEKVNINIVGDFKLNEEIAIILA SFSASTSAFVETVKGLDYKAFKQIVESCGNFKVTKGKAKKGAWNIGEQKSILS PLYAFASEAARVVRSIFSRTLETAQNSVRVLQKAAITILDGISQYSLRLIDAM MFTSDLATNNLVVMAYITGGVVQLTSQWLTNIFGTVYEKLKPVLDWLEEKFKE GVEFLRDGWEIVKFISTCACEIVGGQIVTCAKEIKESVQTFFKLVNKFLALCA DSIIIGGAKLKALNLGETFVTHSKGLYRKCVKSREETGLLMPLKAPKEIIFLE GETLPTEVLTEEVVLKTGDLQPLEQPTSEAVEAPLVGTPVCINGLMLLEIKDT EKYCALAPNMMVTNNTFTLKGGAPTKVTFGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERI DKVLNEKCSAYTVELGTEVNEFACVVADAVIKTLQPVSELLTPLGIDLDEWSM ATYYLFDESGEFKLASHMYCSFYPPDEDEEEGDCEEEEFEPSTQYEYGTEDDY QGKPLEFGATSAALQPEEEQEEDWLDDDSQQTVGQQDGSEDNQTTTIQTIVEV QPQLEMELTPVVQTIEVNSFSGYLKLTDNVYIKNADIVEEAKKVKPTVVVNAA NVYLKHGGGVAGALNKATNNAMQVESDDYIATNGPLKVGGSCVLSGHNLAKHC LHVVGPNVNKGEDIQLLKSAYENFNQHEVLLAPLLSAGIFGADPIHSLRVCVD TVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEKQVEQKIAEIPKEEVKPFITESKP SVEQRKQDDKKIKACVEEVTTTLEETKFLTENLLLYIDINGNLHPDSATLVSD IDITFLKKDAPYIVGDVVQEGVLTAVVIPTKKAGGTTEMLAKALRKVPTDNYI TTYPGQGLNGYTVEEAKTVLKKCKSAFYILPSIISNEKQEILGTVSWNLREML AHAEETRKLMPVCVETKAIVSTIQRKYKGIKIQEGVVDYGARFYFYTSKTTVA SLINTLNDLNETLVTMPLGYVTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAVTA YNGYLTSSSKTPEEHFIETISLAGSYKDWSYSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYT SNPTTFHLDGEVITFDNLKTLLSLREVRTIKVFTTVDNINLHTQVVDMSMTYG QQFGPTYLDGADVTKIKPHNSHEGKTFYVLPNDDTLRVEAFEYYHTTDPSFLG RYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWADNNCYLATALLTLQQIELKFNPPALQD AYYRARAGEAANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMSYLFQHANLDSCKRVLNV VCKTCGQQQTTLKGVEAVMYMGTLSYEQFKKGVQIPCTCGKQATKYLVQQESP FVMMSAPPAQYELKHGTFTCASEYTGNYQCGHYKHITSKETLYCIDGALLTKS SEYKGPITDVFYKENSYTTTIKPVTYKLDGVVCTEIDPKLDNYYKKDNSYFTE QPIDLVPNQPYPNASFDNFKFVCDNIKFADDLNQLTGYKKPASRELKVTFFPD LNGDVVAIDYKHYTPSFKKGAKLLHKPIVWHVNNATNKATYKPNTWCIRCLWS TKPVETSNSFDVLKSEDAQGMDNLACEDLKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKT TEVVGDIILKPANNSLKITEEVGHTDLMAAYVDNSSLTIKKPNELSRVLGLKT LATHGLAAVNSVPWDTIANYAKPFLNKVVSTTTNIVTRCLNRVCTNYMPYFFT LLLQLCTFTRSTNSRIKASMPTTIAKNTVKSVGKFCLEASFNYLKSPNFSKLI NIIIWFLLLSVCLGSLIYSTAALGVLMSNLGMPSYCTGYREGYLNSTNVTIAT YCTGSIPCSVCLSGLDSLDTYPSLETIQITISSFKWDLTAFGLVAEWFLAYIL FTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLMWLIINLVQMAPISAMVRMYIF FASFYYVWKSYVHVVDGCNSSTCMMCYKRNRATRVECTTIVNGVRRSFYVYAN GGKGFCKLHNWNCVNCDTFCAGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVD SVTVKNGSIHLYFDKAGQKTYERHSLSHFVNLDNLRANNTKGSLPINVIVFDG KSKCEESSAKSASVYYSQLMCQPILLLDQALVSDVGDSAEVAVKMFDAYVNTF

		SSTFNVPMEKLKTLVATAEAELAKNVSLDNVLSTFISAARQGFVDSDVETKDV VECLKLSHQSDIEVTGDSCNNYMLTYNKVENMTPRDLGACIDCSARHINAQVA KSHNIALIWNVKDFMSLSEQLRKQIRSAAKKNNLPFKLTCATTRQVVNVVTTK IALKGG
390	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）	KIVNNWLKQLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVMSKHTDFSSEIIGYKAIDGGV TRDIASTDTCFANKHADFDTWFSQRGGSYTNDKACPLIAAVITREVGFVVPGL PGTILRTTNGDFLHFLPRVFSAVGNICYTPSKLIEYTDFATSACVLAAECTIF KDASGKPVPYCYDTNVLEGSVAYESLRPDTRYVLMDGSIIQFPNTYLEGSVRV VTTFDSEYCRHGTCERSEAGVCVSTSGRWVLNNDYYRSLPGVFCGVDAVNLLT NMFTPLIQPIGALDISASIVAGGIVAIVVTCLAYYFMRFRRAFGEYSHVVAFN TLLFLMSFTVLCLTPVYSFLPGVYSVIYLYLTFYLTNDVSFLAHIQWMVMFTP LVPFWITIAYIICISTKHFYWFFSNYLKRRVVFNGVSFSTFEEAALCTFLLNK EMYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNKYKYFSGAMDTTSYREAACCHLAKALND FSNSGSDVLYQPPQTSITSAVLQSGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTLNGL WLDDVVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRVIGHSMQ NCVLKLKVDTANPKTPKYKFVRIQPGQTFSVLACYNGSPSGVYQCAMRPNFTI KGSFLNGSCGSVGFNIDYDCVSFCYMHHMELPTGVHAGTDLEGNFYGPFVDRQ TAQAAGTDTTITVNVLAWLYAAVINGDRWFLNRFTTTLNDFNLVAMKYNYEPL TQDHVDILGPLSAQTGIAVLDMCASLKELLQNGMNGRTILGSALLEDEFTPFD VVRQCSGVTFQSAVKRTIKGTHHWLLLTILTSLLVLVQSTQWSLFFFLYENAF LPFAMGIIAMSAFAMMFVKHKHAFLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPASWVMRIM TWLDMVDTSLSGFKLKDCVMYASAVVLLILMTARTVYDDGARRVWTLMNVLTL VYKVYYGNALDQAISMWALIISVTSNYSGVVTTVMFLARGIVFMCVEYCPIFF ITGNTLQCIMLVYCFLGYFCTCYFGLFCLLNRYFRLTLGVYDYLVSTQEFRYM NSQGLLPPKNSIDAFKLNIKLLGVGGKPCIKVATVQSKMSDVKCTSVVLLSVL QQLRVESSSKLWAQCVQLHNDILLAKDTTEAFEKMVSLLSVLLSMQGAVDINK LCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPSYAAFATAQEAYEQAVANGDSEVVLKKLKK SLNVAKSEFDRDAAMQRKLEKMADQAMTQMYKQARSEDKRAKVTSAMQTMLFT MLRKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTTAAKLMVVIPDYNTYKNTCDGTT FTYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEISMDNSPNLAWPLIVTALRANSAVKLQN NELSPVALRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYYNTTKGGRFVLALLSDLQDLKWA RFPKSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPKVKYLYFIKGLNNLNRGMVLGSLA ATVRLQAGNATEVPANSTVLSFCAFAVDAAKAYKDYLASGGQPITNCVKMLCT HTGTGQAITVTPEANMDQESFGGASCCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKGKYVQIP TTCANDPVGFTLKNTVCTVCGMWKGYGCSCDQLREPMLQSADAQSFLNGFAV
391	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）	SADAQSFLNRVCGVSAARLTPCGTGTSTDVVYRAFDIYNDKVAGFAKFLKTNC CRFQEKDEDDNLIDSYFVVKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCPAVAKHDFFKFRI DGDMVPHISRQRLTKYTMADLVYALRHFDEGNCDTLKEILVTYNCCDDDYFNK KDWYDFVENPDILRVYANLGERVRQALLKTVQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDL NGNWYDFGDFIQTTPGSGVPVVDSYYSLLMPILTLTRALTAESHVDTDLTKPY IKWDLLKYDFTEERLKLFDRYFKYWDQTYHPNCVNCLDDRCILHCANFNVLFS TVFPPTSFGPLVRKIFVDGVPFVVSTGYHFRELGVVHNQDVNLHSSRLSFKEL LVYAADPAMHAASGNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFNKDFYDFAV SKGFFKEGSSVELKHFFFAQDGNAAISDYDYYRYNLPTMCDIRQLLFVVEVVD KYFDCYDGGCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYEDQDALFAY TKRNVIPTITQMNLKYAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQFHQKLLKSIAATR GATVVIGTSKFYGGWHNMLKTVYSDVENPHLMGWDYPKCDRAMPNMLRIMASL VLARKHTTCCSLSHRFYRLANECAQVLSEMVMCGGSLYVKPGGTSSGDATTAY ANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIADKYVRNLQHRLYECLYRNRDVDTDFV NEFYAYLRKHFSMMILSDDAVVCFNSTYASQGLVASIKNFKSVLYYQNNVFMS EAKCWTETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDDYVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIV KTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLQYIRKLHDELTGHMLD MYSVMLTNDNTSRYWEPEFYEAMYTPHTVLQAVGACVLCNSQTSLRCGACIRR

		PFLCCKCCYDHVISTSHKLVLSVNPYVCNAPGCDVTDVTQLYLGGMSYYCKSH KPPISFPLCANGQVFGLYKNTCVGSDNVTDFNAIATCDWTNAGDYILANTCTE RLKLFAAETLKATEETFKLSYGIATVREVLSDRELHLSWEVGKPRPPLNRNYV FTGYRVTKNSKVQIGEYTFEKGDYGDAVVYRGTTTYKLNVGDYFVLTSHTVMP LSAPTLVPQEHYVRITGLYPTLNISDEFSSNVANYQKVGMQKYSTLQGPPGTG KSHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVDALCEKALKYLPIDKCSRIIPARARV ECFDKFKVNSTLEQYVFCTVNALPETTADIVVFDEISMATNYDLSVVNARLRA KHYVYIGDPAQLPAPRTLLTKGTLEPEYFNSVCRLMKTIGPDMFLGTCRRCPA EIVDTVSALVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYKGVITHDVSSAINRPQIGVVREF LTRNPAWRKAVFISPYNSQNAVASKILGLPTQTVDSSQGSEYDYVIFTQTTET AHSCNVNRFNVAITRAKVGILCIMSDRDLYDKLQFTSLEIPRRNVATLQAENV TGLFKDCSKVITGLHPTQAPTHLSVDTKFKTEGLCVDIPGIPKDMTYRRLISM MGFKMNYQVNGYPNMFITREEAIRHVRAWIGFDVEGCHATREAVGTNLPLQLG FSTGVNLVAVPTGYVDTPNNTDFSRVSAKPPPGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVR IKIVQMLSDTLKNLSDRVVFVLWAHGFELTSMKYFVKIGPERTCCLCDRRATC FSTASDTYACWHHSIGFDYVYNPFMIDVQQWGFTGNLQSNHDLYCQVHGNAHV ASCDAIMTRCLAVHECFVKRVDWTIEYPIIGDELKINAACRKVQHMVVKAALL ADKFPVLHDIGNPKAIKCVPQADVEWKFYDAQPCSDKAYKIEELFYSYATHSD KFTDGVCLFWNCNVDRYPANSIVCRFDTRVLSNLNLPGCDGGSLYVNKHAFHT PAFDKSAFVNLKQLPFFYYSDSPCESHGKQVVSDIDYVPLKSATCITRCNLGG AVCRHHANEYRLYLDAYNMMISAGFSLWVYKQFDTYNLWNTFTRLQSLENVAF NVVNKGHFDGQQGEVPVSIINNTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFELWAK RNIKPVPEVKILNNLGVDIAANTVIWDYKRDAPAHISTIGVCSMTDIAKKPTE TICAPLTVFFDGRVDGQVDLFRNARNGVLITEGSVKGLQPSVGPKQASLNGVT LIGEAVKTQFNYYKKVDGVVQQLPETYFTQSRNLQEFKPRSQMEIDFLELAMD EFIERYKLEGYAFEHIVYGDFSHSQLGGLHLLIGLAKRFKESPFELEDFIPMD STVKNYFITDAQTGSSKCVCSVIDLLLDDFVEIIKSQDLSVVSKVVKVTIDYT EISFMLWCKDGHVETFYPKLQSSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKCDLQNYGD SATLPKGIMMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHFGAGSDKGVAPGTAVL RQWLPTGTLLVDSDLNDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDMYDPKTKN VTKENDSKEGFFTYICGFIQQKLALGGSVAIKITEHSWNADLYKLMGHFAWWT AFVTNVNASSSEAFLIGCNYLGKPREQIDGYVMHANYIFWRNTNPIQLSSYSL FDMSKFPLKLRGTAVMSLKEGQINDMILSLLSKGRLIIRENNRVVISSDVLVN N
392	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）	SADAQSFLNRVCGVSAARLTPCGTGTSTDVVYRAFDIYNDKVAGFAKFLKTNC CRFQEKDEDDNLIDSYFVVKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCPAVAKHDFFKFRI DGDMVPHISRQRLTKYTMADLVYALRHFDEGNCDTLKEILVTYNCCDDDYFNK KDWYDFVENPDILRVYANLGERVRQALLKTVQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDL NGNWYDFGDFIQTTPGSGVPVVDSYYSLLMPILTLTRALTAESHVDTDLTKPY IKWDLLKYDFTEERLKLFDRYFKYWDQTYHPNCVNCLDDRCILHCANFNVLFS TVFPPTSFGPLVRKIFVDGVPFVVSTGYHFRELGVVHNQDVNLHSSRLSFKEL LVYAADPAMHAASGNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFNKDFYDFAV SKGFFKEGSSVELKHFFFAQDGNAAISDYDYYRYNLPTMCDIRQLLFVVEVVD KYFDCYDGGCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYEDQDALFAY TKRNVIPTITQMNLKYAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQFHQKLLKSIAATR GATVVIGTSKFYGGWHNMLKTVYSDVENPHLMGWDYPKCDRAMPNMLRIMASL VLARKHTTCCSLSHRFYRLANECAQVLSEMVMCGGSLYVKPGGTSSGDATTAY ANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIADKYVRNLQHRLYECLYRNRDVDTDFV NEFYAYLRKHFSMMILSDDAVVCFNSTYASQGLVASIKNFKSVLYYQNNVFMS EAKCWTETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDDYVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIV KTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLQYIRKLHDELTGHMLD MYSVMLTNDNTSRYWEPEFYEAMYTPHTVLQ
393	ＳＡＲＳ－Ｃ	AVGACVLCNSQTSLRCGACIRRPFLCCKCCYDHVISTSHKLVLSVNPYVCNAP

	ｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）	GCDVTDVTQLYLGGMSYYCKSHKPPISFPLCANGQVFGLYKNTCVGSDNVTDF NAIATCDWTNAGDYILANTCTERLKLFAAETLKATEETFKLSYGIATVREVLS DRELHLSWEVGKPRPPLNRNYVFTGYRVTKNSKVQIGEYTFEKGDYGDAVVYR GTTTYKLNVGDYFVLTSHTVMPLSAPTLVPQEHYVRITGLYPTLNISDEFSSN VANYQKVGMQKYSTLQGPPGTGKSHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVDALC EKALKYLPIDKCSRIIPARARVECFDKFKVNSTLEQYVFCTVNALPETTADIV VFDEISMATNYDLSVVNARLRAKHYVYIGDPAQLPAPRTLLTKGTLEPEYFNS VCRLMKTIGPDMFLGTCRRCPAEIVDTVSALVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYK GVITHDVSSAINRPQIGVVREFLTRNPAWRKAVFISPYNSQNAVASKILGLPT QTVDSSQGSEYDYVIFTQTTETAHSCNVNRFNVAITRAKVGILCIMSDRDLYD KLQFTSLEIPRRNVATLQAENVTGLFKDCSKVITGLHPTQAPTHLSVDTKFKT EGLCVDIPGIPKDMTYRRLISMMGFKMNYQVNGYPNMFITREEAIRHVRAWIG FDVEGCHATREAVGTNLPLQLGFSTGVNLVAVPTGYVDTPNNTDFSRVSAKPP PGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVRIKIVQMLSDTLKNLSDRVVFVLWAHGFELTS MKYFVKIGPERTCCLCDRRATCFSTASDTYACWHHSIGFDYVYNPFMIDVQQW GFTGNLQSNHDLYCQVHGNAHVASCDAIMTRCLAVHECFVKRVDWTIEYPIIG DELKINAACRKVQHMVVKAALLADKFPVLHDIGNPKAIKCVPQADVEWKFYDA QPCSDKAYKIEELFYSYATHSDKFTDGVCLFWNCNVDRYPANSIVCRFDTRVL SNLNLPGCDGGSLYVNKHAFHTPAFDKSAFVNLKQLPFFYYSDSPCESHGKQV VSDIDYVPLKSATCITRCNLGGAVCRHHANEYRLYLDAYNMMISAGFSLWVYK QFDTYNLWNTFTRLQ
394	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）	SLENVAFNVVNKGHFDGQQGEVPVSIINNTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNV AFELWAKRNIKPVPEVKILNNLGVDIAANTVIWDYKRDAPAHISTIGVCSMTD IAKKPTETICAPLTVFFDGRVDGQVDLFRNARNGVLITEGSVKGLQPSVGPKQ ASLNGVTLIGEAVKTQFNYYKKVDGVVQQLPETYFTQSRNLQEFKPRSQMEID FLELAMDEFIERYKLEGYAFEHIVYGDFSHSQLGGLHLLIGLAKRFKESPFEL EDFIPMDSTVKNYFITDAQTGSSKCVCSVIDLLLDDFVEIIKSQDLSVVSKVV KVTIDYTEISFMLWCKDGHVETFYPKLQSSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKC DLQNYGDSATLPKGIMMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHFGAGSDKGV APGTAVLRQWLPTGTLLVDSDLNDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDM YDPKTKNVTKENDSKEGFFTYICGFIQQKLALGGSVAIKITEHSWNADLYKLM GHFAWWTAFVTNVNASSSEAFLIGCNYLGKPREQIDGYVMHANYIFWRNTNPI QLSSYSLFDMSKFPLKLRGTAVMSLKEGQINDMILSLLSKGRLIIRENNRVVI SSDVLVNN

【０１９７】

幾つかの実施形態において、上記の配列番号３４９～配列番号３９５、又は配列番号４０１のいずれかは、最初のアミノ酸残基としてアミノ酸残基メチオニン（Ｍ）を更に含む。

【０１９８】

幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、腫瘍関連抗原から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、ヒトムチン－１、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３４９、配列番号３５８～配列番号３６４、若しくは配列番号４０３から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。

【０１９９】

幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、ヒトサイクリンＢ１タンパク質、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３５０から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列か

ら誘導される。
【０２００】
幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、Ｂ型肝炎ウイルスタンパク質、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３５１～配列番号３５４から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。
【０２０１】
幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、プラスモディウム属の種のタンパク質、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３５５～配列番号３５７から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。
【０２０２】
幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、ラッサウイルスタンパク質、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３６５若しくは配列番号３６６から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。
【０２０３】
幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、エボラウイルスタンパク質、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３６７若しくは配列番号３６８から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。
【０２０４】
幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、ジカウイルスタンパク質、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３６９～配列番号３７６から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。
【０２０５】
幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、１つ以上のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のタンパク質又はポリペプチド、例えば、スパイク（Ｓ）（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９０）、膜（Ｍ）（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９３）、エンベロープ（Ｅ）（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９２）、ヌクレオシド（Ｎ）（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９７）、ＯＲＦ１ＡＢ（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３８９）、ＯＲＦ３ａ（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９１）、ＯＲＦ６（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９４）、ＯＲＦ７ａ（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９５）、ＯＲＦ７ｂ（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２５３１８）、ＯＲＦ８（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９６）、又はＯＲＦ１０（ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２５２５５）の１つ以上から誘導されるタンパク質又はペプチドから誘導される。或る特定の実施形態において、抗原性インサートは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、又はその変異体から誘導される。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、ＮＣＢＩ参照配列ＹＰ＿００９７２４３９０と比較して１つ以上のアミノ酸置換を含む。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、配列番号３７７のアミノ酸配列、若しくはその断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号３７７のＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、又はＮ５０１Ｙから選択される１つ以上の置換を

含む。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の置換：配列番号３７７のＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙを含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、若しくはＰ６８１Ｒでの置換、又はそれらの組合せを更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＮ４４０Ｋ、Ｓ４４３Ａ、Ｇ４７６Ｓ、Ｅ４８４Ｒ、及び／又はＧ５０２Ｐでの置換、又はそれらの組合せを更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＴ１９Ｒ、Ｇ１４２Ｄ、Ｒ１５８Ｇ、Ｋ４１７Ｎ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、Ｄ９５０Ｎ、Ｅ１５６ｄｅｌ、Ｆ１５７ｄｅｌ、Ｎ５０１Ｙ、スパイク欠失６９－７０ｄｅｌ、スパイク欠失１４４ｄｅｌ、Ａ５７０Ｄ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、Ｄ１１１８Ｈ、Ｐ６８１Ｈ、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、２４２－２４４ｄｅｌ、Ｒ２４６Ｉ、Ｋ４７１Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ａ７０１Ｖ、Ｎ４４０Ｋ、Ｓ４４３Ａ、Ｇ４７６Ｓ、Ｅ４８４Ｒ、及びＧ５０２Ｐの１つ以上での置換、又はそれらのあらゆる組合せを更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＴ１９Ｒ、Ｔ９５Ｉ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６ｄｅｌ、Ｆ１５７ｄｅｌ、Ｒ１５８Ｇ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、置換はＫ４１７Ｎである。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＴ１９Ｒ、Ｖ７０Ｆ、Ｔ９５Ｉ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６ｄｅｌ、Ｆ１５７ｄｅｌ、Ｒ１５８Ｇ、Ａ２２２Ｖ、Ｗ２５８Ｌ、Ｋ４１７Ｎ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＮ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＫ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＨ６５５Ｙでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＱ６７７Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＳ４７７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＲ３４６Ｋ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｑ、Ｆ４９０Ｓ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＱ４１４Ｋ、Ｎ４５０Ｋ、ｉｎｓ２１４ＴＤＲ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態にお

いて、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＶ３６７Ｆ、Ｅ４８４Ｋ、及びＱ６１３Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｎ５０１Ｙ、Ａ６５３Ｖ、及びＨ６５５Ｙでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｔ、及びＨ６５５Ｙでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＰ３８４Ｌ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＫ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｅ５１６Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＳ４９４Ｐ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｄ６１４Ｇ、及びＱ６７７Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｎ６７９Ｋ、及びｉｎｓ６７９ＧＩＡＬでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＳ４７７Ｎ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＥ４８４Ｋ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＴ４７８Ｋ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＮ４３９Ｋ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＤ６１４Ｇ、Ｅ４８４Ｋ、Ｈ６５５Ｙ、Ｋ４１７Ｔ、Ｎ５０１Ｙ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＫ４１７Ｎでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３７７のＤ６１４Ｇ、Ｅ４８４Ｋ、Ｈ６５５Ｙ、Ｎ５０１Ｙ、Ｎ６７９Ｋ、及びＹ４４９Ｈでの置換を更に含むＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。

【０２０６】

幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号３７７の１つ以上のスパイクタンパク質アミノ酸Ｈ６９、Ｖ７０、若しくはＹ１４４の欠失、又はそれらの組合せを有する。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号３７７のＤ６１４Ｇ、Ａ５７０Ｄ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、Ｄ１１１８Ｈ、Ｋ４１７Ｎ若しくはＫ４１７Ｔ、Ｄ２１５Ｇ、Ａ７０１Ｖ、Ｌ１８Ｆ、Ｒ２４６Ｉ、Ｙ４５３Ｆ、Ｉ６９２Ｖ、Ｍ１２２９Ｉ、Ｎ４３９Ｋ、Ａ２２２Ｖ、Ｓ４７７Ｎ、若しくはＡ３７６Ｔから選択される１つ以上の置換、又はそれらの組合せを含む。幾つかの実施形態において、変異株は、配列番号３７７のアミノ酸２４２～アミノ酸２４４にスパイクタンパク質の欠失を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ウイル

スである。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の欠失及び置換：配列番号３７７のアミノ酸６９及びアミノ酸７０の欠失、アミノ酸Ｙ１４４の欠失、アミノ酸置換Ｎ５０１Ｙ、アミノ酸置換Ａ５７０Ｄ、アミノ酸置換Ｄ６１４Ｇ、アミノ酸置換Ｐ６８１Ｈ、アミノ酸置換Ｔ７１６Ｉ、アミノ酸置換Ｓ９８２Ａ、及びアミノ酸置換Ｄ１１１８Ｈを含む。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の欠失及び置換：配列番号３７７のＮ５０１Ｙ、Ｋ４１７Ｎ又はＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ８０Ａ、Ａ７０１Ｖ、Ｌ１８Ｆ、及びアミノ酸２４２～アミノ酸２４４でのアミノ酸欠失を含む。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の置換：配列番号３７７のＤ６１４Ｇ、Ｄ９３６Ｙ、Ｐ１２６３Ｌ、Ｌ５Ｆ、Ｎ４３９Ｋ、Ｒ２１Ｉ、Ｄ８３９Ｙ、Ｌ５４Ｆ、Ａ８７９Ｓ、Ｌ１８Ｆ、Ｆ１１２１Ｌ、Ｒ８４７Ｋ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｉ、Ａ８２９Ｔ、Ｑ６７５Ｈ、Ｓ４７７Ｎ、Ｈ４９Ｙ、Ｔ２９Ｉ、Ｇ７６９Ｖ、Ｇ１１２４Ｖ、Ｖ１１７６Ｆ、Ｋ１０７３Ｎ、Ｐ４７９Ｓ、Ｓ１２５２Ｐ、Ｙ１４５欠失、Ｅ５８３Ｄ、Ｒ２１４Ｌ、Ａ１０２０Ｖ、Ｑ１２０８Ｈ、Ｄ２１５Ｇ、Ｈ１４６Ｙ、Ｓ９８Ｆ、Ｔ９５Ｉ、Ｇ１２１９Ｃ、Ａ８４６Ｖ、Ｉ１９７Ｖ、Ｒ１０２Ｉ、Ｖ３６７Ｆ、Ｔ５７２Ｉ、Ａ１０７８Ｓ、Ａ８３１Ｖ、Ｐ１１６２Ｌ、Ｔ７３Ｉ、Ａ８４５Ｓ、Ｇ１２１９Ｖ、Ｈ２４５Ｙ、Ｌ８Ｖ、Ｑ６７５Ｒ、Ｓ２５４Ｆ、Ｖ４８３Ａ、Ｑ６７７Ｈ、Ｄ１３８Ｈ、Ｄ８０Ｙ、Ｍ１２３７Ｔ、Ｄ１１４６Ｈ、Ｅ６５４Ｄ、Ｈ６５５Ｙ、Ｓ５０Ｌ、Ｓ９３９Ｆ、Ｓ９４３Ｐ、Ｇ４８５Ｒ、Ｑ６１３Ｈ、Ｔ７６Ｉ、Ｖ３４１Ｉ、Ｍ１５３Ｉ、Ｓ２２１Ｌ、Ｔ８５９Ｉ、Ｗ２５８Ｌ、Ｌ２４２Ｆ、Ｐ６８１Ｌ、Ｖ２８９Ｉ、Ａ５２０Ｓ、Ｖ１１０４Ｌ、Ｖ１２２８Ｌ、Ｌ１７６Ｆ、Ｍ１２３７Ｉ、Ｔ３０７Ｉ、Ｔ７１６Ｉ、Ｌ１４１、Ｍ１２２９Ｉ、Ａ１０８７Ｓ、Ｐ２６Ｓ、Ｐ３３０Ｓ、Ｐ３８４Ｌ、Ｒ７６５Ｌ、Ｓ９４０Ｆ、Ｔ３２３Ｉ、Ｖ８２６Ｌ、Ｅ１２０２Ｑ、Ｌ１２０３Ｆ、Ｌ６１１Ｆ、Ｖ６１５Ｉ、Ａ２６２Ｓ、Ａ５２２Ｖ、Ａ６８８Ｖ、Ａ７０６Ｖ、Ａ８９２Ｓ、Ｅ５５４Ｄ、Ｑ８３６Ｈ、Ｔ１０２７Ｉ、Ｔ２２Ｉ、Ａ２２２Ｖ、Ａ２７Ｓ、Ａ６２６Ｖ、Ｃ１２４７Ｆ、Ｋ１１９１Ｎ、Ｍ７３１Ｉ、Ｐ２６Ｌ、Ｓ１１４７Ｌ、Ｓ１２５２Ｆ、Ｓ２５５Ｆ、Ｖ１２６４Ｌ、Ｖ３０８Ｌ、Ｄ８０Ａ、Ｉ６７０Ｌ、Ｐ２５１Ｌ、Ｐ６３１Ｓ、＊１２７４Ｑ、Ａ３４４Ｓ、Ａ７７１Ｓ、Ａ８７９Ｔ、Ｄ１０８４Ｙ、Ｄ２５３Ｇ、Ｈ１１０１Ｙ、Ｌ１２００Ｆ、Ｑ１４Ｈ、Ｑ２３９Ｋ、Ａ６２３Ｖ、Ｄ２１５Ｙ、Ｅ１１５０Ｄ、Ｇ４７６Ｓ、Ｋ７７Ｍ、Ｍ１７７Ｉ、Ｐ８１２Ｓ、Ｓ７０４Ｌ、Ｔ５１Ｉ、Ｔ５４７Ｉ、Ｔ７９１Ｉ、Ｖ１１２２Ｌ、Ｙ１４５Ｈ、Ｄ５７４Ｙ、Ｇ１４２Ｄ、Ｇ１８１Ｖ、Ｉ８３４Ｔ、Ｎ３７０Ｓ、Ｐ８１２Ｌ、Ｓ１２Ｆ、Ｔ７９１Ｐ、Ｖ９０Ｆ、Ｗ１５２Ｌ、Ａ２９２Ｓ、Ａ５７０Ｖ、Ａ６４７Ｓ、Ａ８４５Ｖ、Ｄ１１６３Ｙ、Ｇ１８１Ｒ、Ｌ８４Ｉ、Ｌ９３８Ｆ、Ｐ１１４３Ｌ、Ｐ８０９Ｓ、Ｒ７８Ｍ、Ｔ１１６０Ｉ、Ｖ１１３３Ｆ、Ｖ２１３Ｌ、Ｖ６１５Ｆ、Ａ８３１Ｖ、Ｄ８３９Ｙ、Ｄ８３９Ｎ、Ｄ８３９Ｅ、Ｓ９４３Ｐ、Ｐ１２６３Ｌ、Ｓ１３Ｉ、又はＶ６２２Ｆの１つ以上、及びそれらの組合せを含む。

【０２０７】

幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、配列番号３７７～配列番号３８４、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から選択される。

【０２０８】

幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号３８１のＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、又はＮ５０１Ｙから選択される１つ以上の置換を含む。幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の置換：配列番号３８１のＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙを含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、若しくはＰ６８１Ｒでの置換、又はそれらの組合せを更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、

配列番号３８１のＮ４４０Ｋ、Ｓ４４３Ａ、Ｇ４７６Ｓ、Ｅ４８４Ｒ、及び／又はＧ５０２Ｐでの置換、又はそれらの組合せを更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＴ１９Ｒ、Ｇ１４２Ｄ、Ｒ１５８Ｇ、Ｋ４１７Ｎ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、Ｄ９５０Ｎ、Ｅ１５６ｄｅｌ、Ｆ１５７ｄｅｌ、Ｎ５０１Ｙ、スパイク欠失６９－７０ｄｅｌ、スパイク欠失１４４ｄｅｌ、Ａ５７０Ｄ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、Ｄ１１１８Ｈ、Ｐ６８１Ｈ、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、２４２－２４４ｄｅｌ、Ｒ２４６Ｉ、Ｋ４７１Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ａ７０１Ｖ、Ｎ４４０Ｋ、Ｓ４４３Ａ、Ｇ４７６Ｓ、Ｅ４８４Ｒ、及びＧ５０２Ｐの１つ以上での置換、又はそれらのあらゆる組合せを更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＴ１９Ｒ、Ｔ９５Ｉ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６ｄｅｌ、Ｆ１５７ｄｅｌ、Ｒ１５８Ｇ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、置換はＫ４１７Ｎである。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＴ１９Ｒ、Ｖ７０Ｆ、Ｔ９５Ｉ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６ｄｅｌ、Ｆ１５７ｄｅｌ、Ｒ１５８Ｇ、Ａ２２２Ｖ、Ｗ２５８Ｌ、Ｋ４１７Ｎ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＮ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＫ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＨ６５５Ｙでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＱ６７７Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＳ４７７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＲ３４６Ｋ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｑ、Ｆ４９０Ｓ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号８のＬ４５２Ｒ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＱ４１４Ｋ、Ｎ４５０Ｋ、ｉｎｓ２１４ＴＤＲ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＶ３６７Ｆ、Ｅ４８４Ｋ、及びＱ６１３Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｎ５０１Ｙ、Ａ６５３Ｖ、及びＨ６５５Ｙでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む

。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｔ、及びＨ６５５Ｙでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＰ３８４Ｌ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＫ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｅ５１６Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＳ４９４Ｐ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｄ６１４Ｇ、及びＱ６７７Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｎ６７９Ｋ、及びｉｎｓ６７９ＧＩＡＬでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号８のＬ４５２Ｒ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＳ４７７Ｎ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＥ４８４Ｋ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＴ４７８Ｋ、及びＤ６１４Ｇでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＮ４３９Ｋ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＤ６１４Ｇ、Ｅ４８４Ｋ、Ｈ６５５Ｙ、Ｋ４１７Ｔ、Ｎ５０１Ｙ、及びＰ６８１Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＫ４１７Ｎでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＤ６１４Ｇ、Ｅ４８４Ｋ、Ｈ６５５Ｙ、Ｎ５０１Ｙ、Ｎ６７９Ｋ、及びＹ４４９Ｈでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。

【０２０９】

幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号３８１の１つ以上のスパイクタンパク質アミノ酸Ｈ６９、Ｖ７０、若しくはＹ１４４の欠失、又はそれらの組合せを有する。幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号１のＤ６１４Ｇ、Ａ５７０Ｄ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、Ｄ１１１８Ｈ、Ｋ４１７Ｎ若しくはＫ４１７Ｔ、Ｄ２１５Ｇ、Ａ７０１Ｖ、Ｌ１８Ｆ、Ｒ２４６Ｉ、Ｙ４５３Ｆ、Ｉ６９２Ｖ、Ｍ１２２９Ｉ、Ｎ４３９Ｋ、Ａ２２２Ｖ、Ｓ４７７Ｎ、若しくはＡ３７６Ｔから選択される１つ以上の置換、又はそれらの組合せを含む。幾つかの実施形態において、変異株は、配列番号３８１のアミノ酸２４２～アミノ酸２４４にスパイクタンパク質の欠失を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ウイルスである。幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質

は、全長タンパク質として発現され、以下の欠失及び置換：配列番号３８１のアミノ酸６９及びアミノ酸７０の欠失、アミノ酸Ｙ１４４の欠失、アミノ酸置換Ｎ５０１Ｙ、アミノ酸置換Ａ５７０Ｄ、アミノ酸置換Ｄ６１４Ｇ、アミノ酸置換Ｐ６８１Ｈ、アミノ酸置換Ｔ７１６Ｉ、アミノ酸置換Ｓ９８２Ａ、及びアミノ酸置換Ｄ１１１８Ｈを含む。幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の欠失及び置換：配列番号３８１のＮ５０１Ｙ、Ｋ４１７Ｎ又はＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ８０Ａ、Ａ７０１Ｖ、Ｌ１８Ｆ、及びアミノ酸２４２～アミノ酸２４４でのアミノ酸欠失を含む。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号３８１の１つ以上のスパイクタンパク質アミノ酸Ｈ６９、Ｖ７０、若しくはＹ１４４の欠失、又はそれらの組合せを有する。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、配列番号３８１のＤ６１４Ｇ、Ａ５７０Ｄ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、Ｄ１１１８Ｈ、Ｋ４１７Ｎ、Ｋ４１７Ｔ、Ｄ２１５Ｇ、Ａ７０１Ｖ、Ｌ１８Ｆ、Ｒ２４６Ｉ、Ｙ４５３Ｆ、Ｉ６９２Ｖ、Ｍ１２２９Ｉ、Ｎ４３９Ｋ、Ａ２２２Ｖ、Ｓ４７７Ｎ、若しくはＡ３７６Ｔから選択される１つ以上の置換、又はそれらの組合せを含む。幾つかの実施形態において、スパイクタンパク質は、配列番号３８１のアミノ酸２４２～アミノ酸２４４に欠失を含む。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の欠失及び置換：配列番号３８１のアミノ酸６９及びアミノ酸７０の欠失、アミノ酸Ｙ１４４の欠失、アミノ酸置換Ｎ５０１Ｙ、アミノ酸置換Ａ５７０Ｄ、アミノ酸置換Ｄ６１４Ｇ、アミノ酸置換Ｐ６８１Ｈ、アミノ酸置換Ｔ７１６Ｉ、アミノ酸置換Ｓ９８２Ａ、及びアミノ酸置換Ｄ１１１８Ｈを含む。幾つかの実施形態において、Ｓタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の欠失及び置換：配列番号３８１のＮ５０１Ｙ、Ｋ４１７Ｎ又はＫ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ８０Ａ、Ａ７０１Ｖ、Ｌ１８Ｆ、及びアミノ酸２４２～アミノ酸２４４でのアミノ酸欠失を含む。配列番号３８１のＬ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、及びＰ６８１Ｒでの置換を更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＮ４４０Ｋ、Ｓ４４３Ａ、Ｇ４７６Ｓ、Ｅ４８４Ｒ、及び／又はＧ５０２Ｐでの置換、又はそれらの組合せを更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３８１のＴ１９Ｒ、Ｇ１４２Ｄ、Ｒ１５８Ｇ、Ｋ４１７Ｎ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、Ｄ９５０Ｎ、Ｅ１５６ｄｅｌ、Ｆ１５７ｄｅｌ、Ｎ５０１Ｙ、スパイク６９－７０ｄｅｌ、スパイク欠失１４４ｄｅｌ、Ａ５７０Ｄ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、Ｄ１１１８Ｈ、Ｐ６８１Ｈ、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、２４２－２４４ｄｅｌ、Ｒ２４６Ｉ、Ｋ４７１Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ａ７０１Ｖ、Ｎ４４０Ｋ、Ｓ４４３Ａ、Ｇ４７６Ｓ、Ｅ４８４Ｒ、及びＧ５０２Ｐの１つ以上での置換、又はそれらのあらゆる組合せを更に含む安定化されたＳタンパク質をコードする核酸配列を含む。

【０２１０】

幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質は、全長タンパク質として発現され、以下の置換：配列番号３８１のＤ６１４Ｇ、Ｄ９３６Ｙ、Ｐ１２６３Ｌ、Ｌ５Ｆ、Ｎ４３９Ｋ、Ｒ２１Ｉ、Ｄ８３９Ｙ、Ｌ５４Ｆ、Ａ８７９Ｓ、Ｌ１８Ｆ、Ｆ１１２１Ｌ、Ｒ８４７Ｋ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｉ、Ａ８２９Ｔ、Ｑ６７５Ｈ、Ｓ４７７Ｎ、Ｈ４９Ｙ、Ｔ２９Ｉ、Ｇ７６９Ｖ、Ｇ１１２４Ｖ、Ｖ１１７６Ｆ、Ｋ１０７３Ｎ、Ｐ４７９Ｓ、Ｓ１２５２Ｐ、Ｙ１４５欠失、Ｅ５８３Ｄ、Ｒ２１４Ｌ、Ａ１０２０Ｖ、Ｑ１２０８Ｈ、Ｄ２１５Ｇ、Ｈ１４６Ｙ、Ｓ９８Ｆ、Ｔ９５Ｉ、Ｇ１２１９Ｃ、Ａ８４６Ｖ、Ｉ１９７Ｖ、Ｒ１０２Ｉ、Ｖ３６７Ｆ、Ｔ５７２Ｉ、Ａ１０７８Ｓ、Ａ８３１Ｖ、Ｐ１１６２Ｌ、Ｔ７３Ｉ、Ａ８４５Ｓ、Ｇ１２１９Ｖ、Ｈ２４５Ｙ、Ｌ８Ｖ、Ｑ６７５Ｒ、Ｓ２５４Ｆ、Ｖ４８３Ａ、Ｑ６７７Ｈ、Ｄ１３８Ｈ、Ｄ８０Ｙ、Ｍ１２３７Ｔ、Ｄ１１４６Ｈ、Ｅ６５４Ｄ、Ｈ６５５Ｙ、Ｓ５０Ｌ、Ｓ９３９Ｆ、Ｓ９４３Ｐ、Ｇ４８５Ｒ、Ｑ６１３Ｈ、Ｔ７６Ｉ、Ｖ３４１Ｉ、Ｍ１５３Ｉ、Ｓ２２１Ｌ、Ｔ８５９Ｉ、Ｗ２５８Ｌ、Ｌ２４２Ｆ、Ｐ６８１Ｌ、Ｖ２８９Ｉ、Ａ５２０Ｓ、Ｖ１１０４Ｌ、Ｖ１２２８Ｌ、Ｌ１７６Ｆ、Ｍ１２３７Ｉ、Ｔ３０７Ｉ、Ｔ７１６Ｉ、Ｌ１４１、Ｍ１２２９Ｉ、Ａ１０８７Ｓ、Ｐ２６Ｓ、Ｐ３

３０Ｓ、Ｐ３８４Ｌ、Ｒ７６５Ｌ、Ｓ９４０Ｆ、Ｔ３２３Ｉ、Ｖ８２６Ｌ、Ｅ１２０２Ｑ、Ｌ１２０３Ｆ、Ｌ６１１Ｆ、Ｖ６１５Ｉ、Ａ２６２Ｓ、Ａ５２２Ｖ、Ａ６８８Ｖ、Ａ７０６Ｖ、Ａ８９２Ｓ、Ｅ５５４Ｄ、Ｑ８３６Ｈ、Ｔ１０２７Ｉ、Ｔ２２Ｉ、Ａ２２２Ｖ、Ａ２７Ｓ、Ａ６２６Ｖ、Ｃ１２４７Ｆ、Ｋ１１９１Ｎ、Ｍ７３１Ｉ、Ｐ２６Ｌ、Ｓ１１４７Ｌ、Ｓ１２５２Ｆ、Ｓ２５５Ｆ、Ｖ１２６４Ｌ、Ｖ３０８Ｌ、Ｄ８０Ａ、Ｉ６７０Ｌ、Ｐ２５１Ｌ、Ｐ６３１Ｓ、＊１２７４Ｑ、Ａ３４４Ｓ、Ａ７７１Ｓ、Ａ８７９Ｔ、Ｄ１０８４Ｙ、Ｄ２５３Ｇ、Ｈ１１０１Ｙ、Ｌ１２００Ｆ、Ｑ１４Ｈ、Ｑ２３９Ｋ、Ａ６２３Ｖ、Ｄ２１５Ｙ、Ｅ１１５０Ｄ、Ｇ４７６Ｓ、Ｋ７７Ｍ、Ｍ１７７Ｉ、Ｐ８１２Ｓ、Ｓ７０４Ｌ、Ｔ５１Ｉ、Ｔ５４７Ｉ、Ｔ７９１Ｉ、Ｖ１１２２Ｌ、Ｙ１４５Ｈ、Ｄ５７４Ｙ、Ｇ１４２Ｄ、Ｇ１８１Ｖ、Ｉ８３４Ｔ、Ｎ３７０Ｓ、Ｐ８１２Ｌ、Ｓ１２Ｆ、Ｔ７９１Ｐ、Ｖ９０Ｆ、Ｗ１５２Ｌ、Ａ２９２Ｓ、Ａ５７０Ｖ、Ａ６４７Ｓ、Ａ８４５Ｖ、Ｄ１１６３Ｙ、Ｇ１８１Ｒ、Ｌ８４Ｉ、Ｌ９３８Ｆ、Ｐ１１４３Ｌ、Ｐ８０９Ｓ、Ｒ７８Ｍ、Ｔ１１６０Ｉ、Ｖ１１３３Ｆ、Ｖ２１３Ｌ、Ｖ６１５Ｆ、Ａ８３１Ｖ、Ｄ８３９Ｙ、Ｄ８３９Ｎ、Ｄ８３９Ｅ、Ｓ９４３Ｐ、Ｐ１２６３Ｌ、Ｓ１３Ｉ、又はＶ６２２Ｆの１つ以上、及びそれらの組合せを含む。

【０２１１】

幾つかの実施形態において、安定化されたＳタンパク質は、配列番号３７８、配列番号３７９、配列番号３８０、配列番号３８１、配列番号３８２、配列番号３８３、若しくは配列番号３８４の全長タンパク質、又はそれらと８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、若しくは９９％相同のアミノ酸配列として発現される。

【０２１２】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、コロナウイルス疾患２０１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を引き起こす、エンベロープを有するポジティブセンス一本鎖ＲＮＡウイルスである。ウイルス粒子は、ＲＮＡ遺伝物質と、宿主細胞の侵入に必要とされる構造タンパク質とを含む。細胞内に入ると、感染ＲＮＡは、ウイルス粒子を構成する構造タンパク質と、ウイルスの集合、転写、複製、及び宿主制御を誘導する非構造タンパク質と、機能が確定していないアクセサリータンパク質とをコードするのに使用される。最大の遺伝子であるＯＲＦ１ａｂは、ポリタンパク質ＰＰ１ａｂ及びＰＰ１ａをコードする重複するオープンリーディングフレームを含む。ポリタンパク質が切断されて、１６個の非構造タンパク質ＮＳＰ１～ＮＳＰ１６が生ずる。長い方のタンパク質（ＰＰ１ａｂ）又は短い方のタンパク質（ＰＰ１ａ）の産生は、－１のリボソームフレームシフト事象に依存する。他のコロナウイルスとの類似性に基づくタンパク質としては、パパイン様プロテイナーゼタンパク質（ＮＳＰ３）、３Ｃ様プロテイナーゼ（ＮＳＰ５）、ＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ（ＮＳＰ１２、ＲｄＲｐ）、ヘリカーゼ（ＮＳＰ１３、ＨＥＬ）、エンドＲＮアーゼ（ＮＳＰ１５）、２’－Ｏ－リボース－メチルトランスフェラーゼ（ＮＳＰ１６）、及びその他の非構造タンパク質が挙げられる。ＯＲＦ１ａｂによってコードされる様々なＮＳＰの説明は、例えば、Arya et al.著の「ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質の構造的洞察（Structural insights into SARS-CoV-2 proteins.）」 J Mol Biol. 2021 Jan 22; 433(2): 166725（引用することにより本明細書の一部をなす）に見出すことができる。本明細書において提供される幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡ抗原性インサートは、配列番号３７７～配列番号３９４から選択される１つ以上のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のタンパク質又はポリペプチドから誘導される。

【０２１３】

幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、マールブルグウイルスタンパク質、又はその断片から誘導される。幾つかの実施形態において、抗原性インサートは、配列番号３９５若しくは配列番号３９６、配列番号３９８、若しくは配列番号４００から選択されるアミノ酸配列、若しくはそれらの断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。

【０２１４】

特定の実施形態において、コードされるポリペプチドは、様々な代替的な実施形態にお

いて、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（抗原性ペプチド））、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド））、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_y$）、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド））（ここで、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含み、分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、切断可能なペプチドは、配列番号９１～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドである。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６５及び配列番号６６から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、切断可能なペプチドは、配列番号９３、配列番号１２０、及び配列番号１２３から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択される。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝２～１０である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ≧４である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝４、５、又は６である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝２～１０である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ≧４である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ここで、ｘ＝４、５、又は６である。幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択される。

【０２１５】

幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡにおけるポリシストロン性核酸インサートによってコードされる抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合されたウイルス糖タンパク質シグナル配列と、抗原性ペプチドのＣ末端に融合されたウイルス糖タンパク質膜貫通ドメインとを含むキメラポリペプチドに含まれており、ｒＭＶＡは更に、ウイルスマトリックスタンパク質をコードするように構築されており、ここで、抗原含有キメラペプチドの翻訳切断時に、ウイルスマトリックスタンパク質及び抗原－ウイルス糖タンパク質キ

メラポリペプチドは、非感染性ウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる。幾つかの実施形態においては、本明細書において、ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、ポリペプチドが、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクターが提供される（例えば、図５Ａ及び図５Ｂを参照）。幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドは、抗原性ペプチドのＮ末端に融合されたウイルス糖タンパク質シグナル配列と、抗原性ペプチドのＣ末端に融合されたウイルス糖タンパク質膜貫通ドメインと、ウイルス糖タンパク質膜貫通ドメインのＣ末端に融合された切断可能なペプチドとを含むキメラポリペプチドに含まれており、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$）（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施形態において、最後の抗原含有キメラポリペプチドのＣ末端に融合された抗原含有キメラポリペプチドは、切断可能な配列を含まず、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施形態において、（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ここで、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超える）は、ポリシストロン性核酸インサートにおいて、抗原含有キメラポリペプチドをコードする核酸が免疫チェックポイント阻害剤ペプチド含有キメラポリペプチドの５’に位置するように配向されていてもよく、例えば（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、又は代替的には（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。なおも更なる実施形態において、ｒＭＶＡのポリシストロン性核酸インサートは、ウイルスマトリックスタンパク質を更にコードし、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）（ウイルスマトリックスタンパク質））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である（例えば、図６Ａ及び図６Ｂを参照）。代替的な実施形態において、抗原含有キメラポリペプチド及びウイルスマトリックスタンパク質の両方についてのコーディング配列は、ポリシストロン性核酸において１つ以上のコピーで含まれており、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$）（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施形態において、最もＣ末端側のウイルスマトリックスタンパク質は、切断可能なペプチドを欠如し

、例えば（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_x$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。幾つかの実施形態において、（（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$）（ここで、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）は、ポリシストロン性核酸インサートにおいて、これらの配列が免疫チェックポイント阻害剤ペプチド含有キメラポリペプチドの５’に位置するように配向されていてもよく、例えば（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、又は代替的には（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）である。

【０２１６】

特定の実施形態において、糖タンパク質及びマトリックスタンパク質は、マールブルグウイルス（ＭＡＲＶ）に由来する。特定の実施形態において、糖タンパク質は、ＭＡＲＶのＧＰタンパク質（Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＡＦＶ３１２０２．１）に由来する。ＭＡＲＶのＧＰタンパク質のアミノ酸配列は、以下の表１０において配列番号３９５として示される。特定の実施形態において、ＭＡＲＶのＧＰＳドメインは、糖タンパク質のアミノ酸２～アミノ酸１９（ＷＴＴＣＦＦＩＳＬＩＬＩＱＧＩＫＴＬ）（配列番号３９６、これは、例えば配列番号３９７のＭＶＡに最適化された核酸配列によってコードされ得る）を含み、ＧＰＴＭドメインは、糖タンパク質のアミノ酸配列６４４～６７３（ＷＷＴＳＤＷＧＶＬＴＮＬＧＩＬＬＬＬＳＩＡＶＬＩＡＬＳＣＩＣＲＩＦＴＫＹＩＧ）（配列番号３９８、これは、例えば配列番号３９９のＭＶＡに最適化された核酸配列によってコードされ得る）、又はそれらと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一の核酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＭＡＲＶのＧＰＳシグナルは、最初のアミノ酸としてメチオニンを更に含む。

【０２１７】

ＭＡＲＶのＶＰ４０アミノ酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＪＸ４５８８３４で入手可能であり、以下で表１０において、例えば配列番号４０１のＭＶＡに最適化された核酸配列によってコードされ得る配列番号４００として示されるか、又はそれと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一の核酸配列である。幾つかの実施形態において、ＭＡＲＶのＶＰ４０アミノ酸配列は、最初のアミノ酸としてメチオニンを更に含む。

【０２１８】

【表１０】

表１０－ＭＡＲＶの糖タンパク質ドメイン及びＶＰ４０タンパク質

配列番号	配列
３９５－ＧＰＭＡＲＶのアミノ酸配列	WTTCFFISLILIQGIKTLPILEIASNDQPQNVDSVCSGTLQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSP LEASKRWAFRTGVPPKNVEYTEGEEAKTCYNISVTDPSGKSLLLDPPTNVRDYPKCKTIHHI QGQNPHAQGIALHLWGAFFLYDRIASTTMYRGKVFTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYR HMNLTSTNKYWTSSNGTQTNDTGCFGTLQEYNSTKNQTCAPSKTPPPPPTAHPEIKPTSTPT DATRLNTTNPNSDDEDLTTSGSGSGEQEPYTTSDAVTKQGLSSTMPPTLSPQPGTPQQGGNN TNHSQDAATELDNTNTTAQPPMPSHNTTTISTNNTSKHNLSTLSEPPQNTTNPNTQSMATEN EKTSAPPKTTLPPTESPTTEKSTNNTKSPTTMEPNTTNGHFTSPSSTPNSTTQHLIYFRRKR SILWREGDMFPFLDGLINAPIDFDPVPNTKTIFDESSSSGASAEEDQHASSNISLTLSYLPH TSENTAYSGENENDCDAELRIWSVQEDDLAAGLSWIPFFGPGIEGLYTAGLIKNQNNLVCRL RRLANQTAKSLELLLRVTTEERTFSLINRHAIDFLLTRWGGTCKVLGPDCCIGIEDLSRNIS EQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDWGVLTNLGILLLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG
３９６－ＧＰＭＡＲＶのシグナルペプチドアミノ酸配列	WTTCFFISLILIQGIKTL
３９７－ＧＰＭＡＲＶのシグナルペプチド核酸配列（最適化）	TGGACGACCTGCTTCTTCATCTCCCTAATCCTAATCCAGGGAATCAAGACCCTA
３９８－ＧＰＭＡＲＶの膜貫通ドメインのアミノ酸配列	WWTSDWGVLTNLGILLLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG
３９９－ＧＰＭＡＲＶの膜貫通ドメイン核酸配列（最適化）	TGGTGGACATCTGACTGGGGAGTCCTAACGAACCTAGGAATCCTACTACTATTGTCGATCGC GGTCCTAATCGCGCTATCCTGTATCTGTAGAATCTTCACCAAGTACATCGGA
４００－ＭＡＲＶのＶＰ４０のアミノ酸配列	ASSSNYNTYMQYLNPPPYADHGANQLIPADQLSNQHGITPNYVGDLNLDDQFKGNVCHAFTL EAIIDISAYNERTVKGVPAWLPLGIMSNFEYPLAHTVAALLTGSYTITQFTHNGQKFVRVNR LGTGIPAHPLRMLREGNQAFIQNMVIPRNFSTNQFTYNLTNLVLSVQKLPDDAWRPSKDKLI GNTMHPAISIHPNLPPIVLPTVKKQAYRQHKNPNNGPLLAISGILHQLRVEKVPEKTSLFRI SLPADMFSVKEGMMKKRGESSPVVYFQAPENFPLNGFNNRQVVLAYANPTLSAI
４０１－ＭＡＲＶのＶＰ４０の核酸配列（最適化）	GCGTCTAGTTCTAATTATAATACTTATATGCAATATCTAAATCCACCACCATATGCGGATCA TGGTGCTAATCAACTAATTCCAGCGGATCAACTATCTAATCAACATGGAATTACACCAAATT ATGTTGGAGATCTAAATCTAGATGATCAGTTTAAAGGAAATGTTTGTCATGCGTTTACACTA GAAGCGATTATTGATATTTCTGCGTATAATGAAAGAACAGTAAAAGGTGTACCAGCTTGGCT ACCACTAGGAATTATGTCTAATTTTGAATATCCACTAGCGCATACAGTAGCGGCGCTATTGA CAGGATCTTATACAATTACACAGTTTACACATAATGGACAAAAgTTTGTTAGAGTAAATAGA CTAGGAACTGGAATACCAGCGCATCCACTAAGAATGCTAAGAGAAGGAAATCAAGCTTTTAT TCAAAATATGGTTATTCCAAGAAATTTcTCTACAAATCAGTTTACTTATAATCTAACTAATC TAGTACTATCTGTACAAAAGCTACCAGATGATGCTTGGAGACCATCTAAAGATAAACTAATT GGAAATACAATGCATCCAGCGATTTCTATTCATCCAAATCTACCACCAATAGTACTACCAAC TGTAAAgAAACAAGCGTATAGACAACATAAgAATCCAAATAATGGACCACTATTGGCGATTT CTGGAATTCTACATCAACTAAGAGTAGAAAAgGTACCAGAAAAgACATCTTTGTTTAGAATT TCTCTACCAGCGGATATGTTTTCTGTAAAAGAAGGAATGATGAAgAAAAGAGGAGAATCTTC TCCAGTAGTATATTTTCAAGCGCCAGAAAATTTTCCATTGAATGGTTTTAATAATAGACAAG TAGTACTAGCGTATGCGAATCCAACACTATCTGCGATATAATAA

【０２１９】

幾つかの実施形態において、上記の配列番号３９５及び配列番号３９６及び配列番号４００のいずれかは、最初のアミノ酸残基としてアミノ酸残基メチオニン（Ｍ）を更に含む。幾つかの実施形態において、上記の配列番号３９７及び配列番号４０１のいずれかは、コーディング配列の最初のコドンとして核酸コドンＡＴＧを更に含む。特定の実施形態において、コードされるポリペプチドは、様々な代替的な実施形態において、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン））、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプ

チド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_x$）、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン））、（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）（ウイルスマトリックスタンパク質））、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$）、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_x$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質））、（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$）、（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$）、又は（（Ｍ）（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ドメイン－切断可能なペプチド）$_y$（ウイルスマトリックスタンパク質－切断可能なペプチド）$_y$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、ｙ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又は１０を超え、Ｍ＝メチオニンである）を含み、分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、切断可能なペプチドは、配列番号９１～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドである。

幾つかの実施形態において、抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択される。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６５及び配列番号６６から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、切断可能なペプチドは、配列番号９３、配列番号１２０、及び配列番号１２３から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドから選択され、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌

、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択される。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択され、ｘ＝１～１０である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択され、ｘ≧４である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択され、ｘ＝４、５、又は６である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択され、ｘ＝１～１０である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであり、抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択され、ｘ≧４である。幾つかの実施形態において、分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列を有するペプチドであり

、免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するペプチドであり、切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択され、ｘ＝４、５、又は６である。幾つかの実施形態において、コードされるポリペプチドは、配列番号３２５又は配列番号３３３を含み、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択される。

幾つかの実施形態において、コードされるポリペプチドは、配列番号３２９又は配列番号３３７を含み、糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列を有するペプチドであり、糖タンパク質膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸配列を有するペプチドであり、ウイルスマトリックスタンパク質は、存在する場合、配列番号４００のアミノ酸配列を有するペプチドであり、抗原性ペプチドは、感染性因子、例えば、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、若しくはトキソイド、又は代替的には腫瘍関連抗原に由来するペプチドであるか、又は抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９４から選択される。

【０２２０】

代替的な実施形態において、本発明のｒＭＶＡウイルスベクターは、多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドを発現する能力に加えて、１つ以上の別個の核酸インサート上にコードされる１つ以上の抗原ペプチドをコードし発現するように更に構築されていてもよい。幾つかの実施形態において、本明細書に記載される多数の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする核酸配列は、ｒＭＶＡの１つの遺伝子座に挿入され、抗原性ペプチドをコードする１つ以上の異種核酸配列は、ｒＭＶＡの別個の遺伝子座に挿入される。１つ以上の抗原性ペプチドは、「抗原性標的」のセクションに記載される標的のいずれかに由来することができ、これらは、あらゆる目的のためにその全体がこのセクションの一部をなす。幾つかの実施形態において、抗原ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３９６、配列番号３９８、若しくは配列番号４００から選択されるアミノ酸配列のいずれか、若しくはそれらから誘導される断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。別個の核酸インサートとして挿入される場合、アミノ酸残基メチオニン（Ｍ）をコードする開始コドンは、配列番号３４９～配列番号３９６、配列番号３９８、若しくは配列番号４００から選択されるアミノ酸配列のいずれか、若しくはそれらから誘導される断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される抗原ペプチドの最初の残基として含まれ得る。

【０２２１】

或る特定の実施形態において、ｒＭＶＡは、本明細書に記載される免疫チェックポイント阻害剤ポリペプチドをコードするポリシストロン性核酸に加えて、抗原の細胞外ドメインと、ウイルス糖タンパク質の膜貫通ドメインとを含むキメラペプチドを含む抗原性ペプチドを更にコードし、かつウイルスマトリックスタンパク質を更にコードしており、ここで、キメラペプチド及びウイルスマトリックスタンパク質は、発現されると、ｉｎ　ｖｉｖｏでウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる。幾つかの実施形態において、ウイルス糖タンパク質の膜貫通ドメインは、配列番号３９８のアミノ酸、若しくはその断

片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。幾つかの実施形態において、ウイルスマトリックスタンパク質は、例えば、配列番号４０４に示されるマールブルグウイルスのＶＰ４０タンパク質、若しくはその断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列から誘導される。幾つかの実施形態において、ｒＭＶＡは、配列番号３２９のアミノ酸配列、若しくはその断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列、配列番号４０２のアミノ酸配列、若しくはその断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列、及び配列番号４０４のアミノ酸配列、若しくはその断片、又はそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、若しくは９９％同一のアミノ酸配列をコードする。

【０２２２】

【表１１】

表１１－ＭＵＣ－インサート配列

配列番号４０２－ＭＵＣ－１－ＭＡＲＶのＧＰＴＭ－最適化された核酸配列	ATGACACCTGGAACACAATCTCCATTCTTCCTACTACTACTATTGACAGTACTAACAGTAGTAAC AGGATCTGGACATGCGTCTAGTACACCAGGTGGAGAGAAGGAAACATCTGCGACTCAAAGATCTT CTGTACCATCTTCTACAGAGAAGAATGCGGTATCTATGACATCTAGTGTACTATCTTCTCATTCT CCTGGATCTGGATCTTCTACTACACAAGGACAAGATGTAACACTAGCGCCAGCTACAGAACCAGC TTCTGGATCTGCTGCTACTTGGGGTCAAGATGTTACTTCTGTTCCAGTAACAAGACCAGCGCTAG GATCTACAACACCACCAGCGCATGATGTAACAAGTGCGCCAGATAATAAGCCAGCGCCTGGTTCT ACTGCTCCACCAGCTCATGGTGTTACTTCAGCGCCTGATACAAGACCCGCACCCGGATCTACCGC TCCGCCTGCACACGGCGTCACATCTGCTCCCGACACTCGTCCAGCTCCTGGTAGCACAGCACCTC CAGCGCATGGAGTAACCAGTGCACCAGATACCCGACCTGCGCCGGGCAGTACTGCCCCACCGGCC CACGGGGTGACGAGCGCCCCGGACACGCGCCCAGCTCCAGGGTCAACGGCGCCCCCTGCTCATGG TGTTACAAGTGCACCTGATAATAGACCTGCGTTGGGATCTACTGCGCCTCCAGTTCATAATGTAA CATCAGCGTCTGGAAGTGCGTCTGGTTCTGCGTCTACATTGGTTCATAATGGTACATCTGCGAGA GCGACAACAACTCCAGCGTCTAAGTCTACACCATTCTCTATTCCATCTCATCATTCTGATACACC AACAACATTGGCGAGTCATTCTACAAAGACAGATGCGAGTTCTACACATCATTCTACTGTACCAC CACTAACATCTTCTAATCATAGTACATCTCCACAACTATCTACTGGTGTATCTTTCTTCTTCCTA TCCTTTCATATTTCTAATCTACAGTTCAATTCTAGTTTGGAAGATCCATCTACAGATTATTATCA AGAACTACAAAGAGATATTTCTGAAATGTTTCTACAAATATATAAACAAGGAGGATTTCTAGGAC TATCTAATATTAAGTTTAGACCAGGATCTGTAGTAGTTCAACTAACTCTAGCGTTTAGAGAAGGT ACTATTAATGTACATGATGTTGAAACACAGTTTAATCAATATAAGACAGAAGCGGCGTCTAGATA TAATCTAACAATTTCTGATGTATCTGTATCTGATGTTCCATTTCCATTCTCTGCGCAATCTGGTG CTGGTGTATGGTGGACATCTGATTGGGGAGTACTAACTAATCTAGGAATTCTACTATTGCTATCT ATTGCGGTACTAATTGCGCTATCTTGTATATGTAGAAGAAAGAATTATGGACAACTAGATATTTT CCCAGCGAGAGATACTTATCATCCAATGTCTGAATATCCAACATATCATACACATGGAAGATATG TACCACCTTCTTCAACAGATAGATCTCCATATGAGAAGGTATCTGCGGGAAATGGTGGTTCTTCT CTATCTTATACAAATCCAGCGGTAGCGGCGACTTCTGCGAATCTATAA
配列番号４０３－ＭＵＣ－１－ＭＡＲＶのＧＰＴＭ－アミノ酸配列	MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNAVSMTSSVLSSHS PGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGS TAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSASGSASTLVHNGTSAR ATTTPASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTHHSTVPPLTSSNHSTSPQLSTGVSFFFL SFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREG TINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVPFPFSAQSGAGVWWTSDWGVLTNLGILLLLS IAVLIALSCICRRKNYGQLDIFPARDTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSS LSYTNPAVAATSANL
配列番号４０４－マールブルグウイルスのＶＰ４０の核酸配列	ATGGCGTCTAGTTCTAATTATAATACTTATATGCAATATCTAAATCCACCACCATATGCGGATCA TGGTGCTAATCAACTAATTCCAGCGGATCAACTATCTAATCAACATGGAATTACACCAAATTATG TTGGAGATCTAAATCTAGATGATCAGTTTAAAGGAAATGTTTGTCATGCGTTTACACTAGAAGCG ATTATTGATATTTCTGCGTATAATGAAAGAACAGTAAAAGGTGTACCAGCTTGGCTACCACTAGG AATTATGTCTAATTTTGAATATCCACTAGCGCATACAGTAGCGGCGCTATTGACAGGATCTTATA CAATTACACAGTTTACACATAATGGACAAAAGTTTGTTAGAGTAAATAGACTAGGAACTGGAATA CCAGCGCATCCACTAAGAATGCTAAGAGAAGGAAATCAAGCTTTTATTCAAAATATGGTTATTCC AAGAAATTTCTCTACAAATCAGTTTACTTATAATCTAACTAATCTAGTACTATCTGTACAAAAGC TACCAGATGATGCTTGGAGACCATCTAAAGATAAACTAATTGGAAATACAATGCATCCAGCGATT TCTATTCATCCAAATCTACCACCAATAGTACTACCAACTGTAAAGAAACAAGCGTATAGACAACA TAAGAATCCAAATAATGGACCACTATTGGCGATTTCTGGAATTCTACATCAACTAAGAGTAGAAA AGGTACCAGAAAAGACATCTTTGTTTAGAATTTCTCTACCAGCGGATATGTTTTCTGTAAAAGAA GGAATGATGAAGAAAAGAGGAGAATCTTCTCCAGTAGTATATTTTCAAGCGCCAGAAAATTTTCC ATTGAATGGTTTTAATAATAGACAAGTAGTACTAGCGTATGCGAATCCAACACTATCTGCGATAT AA
配列番号４０５－マールブルグウイルスのＶＰ４０のアミノ酸配列	MASSSNYNTYMQYLNPPPYADHGANQLIPADQLSNQHGITPNYVGDLNLDDQFKGNVCHAFTLEA IIDISAYNERTVKGVPAWLPLGIMSNFEYPLAHTVAALLTGSYTITQFTHNGQKFVRVNRLGTGI PAHPLRMLREGNQAFIQNMVIPRNFSTNQFTYNLTNLVLSVQKLPDDAWRPSKDKLIGNTMHPAI SIHPNLPPIVLPTVKKQAYRQHKNPNNGPLLAISGILHQLRVEKVPEKTSLFRISLPADMFSVKE GMMKKRGESSPVVYFQAPENFPLNGFNNRQVVLAYANPTLSAI

【０２２３】

配列の最適化

本明細書において提供されるｒＭＶＡのポリシストロン性核酸インサートを含む１つ以上の核酸配列は、ＭＶＡベクターにおける使用について最適化され得る。最適化としては、サイレント突然変異を使用して、ネイティブ配列から選択されたコドンを、宿主ベクター系によって最適に発現される同義語コドンへと変更するコドン最適化が挙げられる。他の種類の最適化としては、サイレント突然変異を使用して、ホモポリマーストレッチ又は転写ターミネーターモチーフを中断することが挙げられる。これらの最適化方略のそれぞれは、遺伝子の安定性を改善し、転写物の安定性を改善し、又は配列からのタンパク質発現レベルを改善することができる。例示的な実施形態において、コンストラクトを安定化するには、異種ＤＮＡインサート配列中のホモポリマーストレッチの数を減少させることになる。サイレント突然変異により、ワクシニア終結シグナルに類似したものが提供され得る。

【０２２４】

例示的な実施形態において、配列は、ＭＶＡにおける発現についてコドン最適化されており、５個を超えるデオキシグアノシン、５個を超えるデオキシシチジン、５個を超えるデオキシアデノシン、及び５個を超えるデオキシチミジンの流れを有する配列をサイレント突然変異によって中断して、フレームシフト突然変異による発現の損失を最小限に抑える。

【０２２５】

特に、元のＤＮＡ配列をコドン最適化することによって、挿入用の核酸を最適化することができる。例えば、「InvitrogenのＧｅｎｅＡｒｔ　Ｇｅｎｅソフトウェア」を使用して、ＤＮＡ配列をコドン最適化することができる。遺伝子配列を完全に最適化するには、ホモポリマー配列（Ｇ／Ｃリッチ領域又はＴ／Ａリッチ領域）をサイレント突然変異（複数の場合もある）によって中断する。核酸インサート配列内に存在する範囲で、ＭＶＡ転写ターミネーター（Ｔ５ＮＴ（ＵＵＵＵＵＮＵ））をサイレント突然変異（複数の場合もある）によって中断する。更なる最適化としては、例えば、コザック配列（ＧＣＣＡＣＣ／ＡＴＧ）の付加、第２の終止コドンの付加、及びワクシニアウイルス転写ターミネーター、具体的には「ＴＴＴＴＴＡＴ」の付加、又はそれらの変形形態及び／又は組合せが挙げられ得る。

【０２２６】

医薬組成物

本発明の組換えＭＶＡウイルスベクターは、単独で又は組み合わせて、獣医学又はヒトに使用される医薬組成物として容易に製剤化される。医薬組成物は、薬学的に許容可能な希釈剤、賦形剤、担体、若しくはアジュバント、又は代替的な実施形態において、１つ以上の抗原性作用物質、例えば、感染性疾患に由来する抗原、又は代替的な実施形態において、腫瘍関連抗原を含んでいてもよい。

【０２２７】

一実施形態において、ｒＭＶＡは、感染性因子に対する免疫原性を強化して感染症に対して防御する及び／又は感染症を治療するのに有効なアジュバントとして使用され、ここで、ｒＭＶＡは、本明細書に記載される少なくとも２つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートを含む。代替的な実施形態において、ｒＭＶＡは、感染性因子に対する免疫原性を強化して感染症に対して防御する及び／又は感染症を治療するのに有効なワクチンとして使用され、ここで、ｒＭＶＡは、本明細書に記載される少なくとも２つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチド及び１つ以上の抗原性ペプチドをコードするポリシストロン性核酸インサートを含む。

【０２２８】

本明細書において使用される「薬学的に許容され得る担体」という語句は、標準的な薬学的担体のいずれか、例えば、非経口投与に適したもの、例えば、筋肉内、関節内（関節において）、静脈内、皮内、腹腔内、及び皮下の経路によるものを包含する。かかる製剤の例としては、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、及び製剤を意図されるレシピエントの血液と等張にする溶質を含む水性及び非水性の等張性滅菌注射溶液、並びに懸濁化剤、可溶化剤

、増粘剤、安定化剤及び防腐剤を含むことができる水性及び非水性の滅菌懸濁液が挙げられる。１つの例示的な薬学的に許容され得る担体は、生理食塩水である。担体としては、賦形剤及び希釈剤が挙げられ、これらは、治療される患者への投与に適したものにするのに十分に高い純度及び十分に低い毒性のものでなければならない。担体は不活性である場合もあり、又はそれ自体の医薬的便益を有する場合もある。化合物と組み合わせて使用される担体の量は、化合物の単位用量当たりの投与される物質の実用的な量を提供するのに十分である。

【０２２９】

他の生理学的に許容される希釈剤、賦形剤、担体、又は追加のアジュバント及びそれらの製剤が、当業者に知られている。

【０２３０】

幾つかの実施形態において、追加のアジュバントは、更なる免疫応答増強剤として使用される。様々な実施形態において、追加の免疫応答増強剤は、アルミニウム系（alum-based）アジュバント、油性アジュバント、Ｓｐｅｃｏｌ、ＲＩＢＩ、ＴｉｔｅｒＭａｘ、Ｍｏｎｔａｎｉｄｅ　ＩＳＡ５０又はＭｏｎｔａｎｉｄｅ　ＩＳＡ　７２０、ＧＭ－ＣＳＦ、非イオン性ブロックコポリマー系アジュバント、ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミド（ＤＤＡ）系アジュバントＡＳ－１、ＡＳ－２、Ｒｉｂｉアジュバント系アジュバント、ＱＳ２１、Ｑｕｉｌ　Ａ、ＳＡＦ（微小流動形態のＳｙｎｔｅｘアジュバント（ＳＡＦ－ｍ））、ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミド（ＤＤＡ）、ヒト補体系アジュバントマイコバクテリウム・バッカエ（ｍ．ｖａｃｃａｅ）、ＩＳＣＯＭＳ、ＭＦ－５９、ＳＢＡＳ－２、ＳＢＡＳ－４、Ｅｎｈａｎｚｙｎ（商標）、ＲＣ－５２９、ＡＧＰ、ＭＰＬ－ＳＥ、ＱＳ７、エスシン；ジギトニン；カスミソウ（Gypsophila）；及びケノポジウム・キノア（Chenopodium quinoa）サポニンからなる群から選択される。

【０２３１】

本明細書に記載の方法において利用される組成物は、例えば、非経口、筋肉内、動脈内、血管内、静脈内、腹腔内、皮下、皮膚、経皮、眼、吸入、頬側、舌下、舌周囲、鼻腔内、局所投与、及び経口投与から選択される経路によって投与することができる。好ましい投与方法は、様々な要因（例えば、投与される組成物の成分、及び治療される病態の重症度）に応じて変化し得る。経口投与に適した製剤は、液体溶液、例えば有効量の組成物を希釈剤（例えば、水、生理食塩水、又はＰＥＧ－４００）に溶解したもの、カプセル剤、サッシェ又は錠剤からなることができ、それぞれ所定量のワクチンを含む。医薬組成物はまた、例えば、気管支通路への吸入のためのエアロゾル製剤であってもよい。エアロゾル製剤は、加圧された、薬学的に許容され得る噴射剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、又は窒素）と混合され得る。

【０２３２】

本発明の目的のため、治療剤又は生物学的に活性な薬剤を送達するのに適した医薬組成物は、例えば、錠剤、ゲルキャップ、カプセル剤、丸剤、粉末剤、顆粒剤、懸濁剤、乳剤、溶液剤、ゲル剤、ヒドロゲル剤、経口ゲル剤、ペースト剤、点眼剤、軟膏剤、クリーム剤、硬膏剤、ドレンチ剤、送達装置、坐剤、浣腸剤、注射剤、インプラント剤、スプレー剤、又はエアゾル剤を含むことができる。これらの製剤のいずれも、当該技術分野でよく知られており、受け入れられた方法によって調製することができる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (21 st ed.), ed. A. R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2005、及びEncyclopedia of Pharmaceutical Technology, ed. J. Swarbrick, Informa Healthcare, 2006を参照されたい（これらはそれぞれ引用することにより本明細書の一部をなす）。

【０２３３】

経口投与に適した製剤は、（ａ）液体溶液、例えば有効量のワクチンを希釈剤、例えば水、生理食塩水又はＰＥＧ４００に溶解したもの；（ｂ）カプセル剤、サッシェ又は錠剤（それぞれ所定量のワクチンを、液体、固体、顆粒又はゼラチンとして含む）；（ｃ）適

切な液体中の懸濁液；（ｄ）適切なエマルジョン；及び（ｅ）キチン等の多糖類ポリマーからなり得る。ワクチンは、単独で、又は他の適切な成分と組み合わせて、吸入を介して、例えば気管支通路に投与されるエアロゾル製剤にすることもできる。エアロゾル製剤は、加圧された許容可能な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素等に入れることができる。

【０２３４】

直腸投与に好適な製剤は、例えば、坐剤を含み、これは、坐剤基剤を含むワクチンからなる。適切な坐剤基剤としては、天然又は合成のトリグリセリド又はパラフィン炭化水素が挙げられる。さらに、ワクチンと、例えば、液体トリグリセリド、ポリエチレングリコール、及びパラフィン炭化水素を含む基剤との組合せからなるゼラチン直腸カプセルを使用することもできる。本発明のワクチンはまた、免疫原性を更に増強するためにサイトカインと同時投与され得る。サイトカインは、当業者に既知の方法により、例えば、プラスミド形態の核酸分子として、又はタンパク質若しくは融合タンパク質として投与され得る。

【０２３５】

活性化合物に加えて、医薬製剤は、ｐＨ調整添加剤等の他の添加剤を含み得る。特に、有用なｐＨ調整剤としては、塩酸等の酸、塩基、又は乳酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、若しくはグルコン酸ナトリウム等のバッファーが挙げられる。さらに、製剤は抗微生物性保存剤を含み得る。有用な抗微生物性保存剤としては、メチルパラベン、プロピルパラベン、及びベンジルアルコールが挙げられる。抗微生物性保存剤は、典型的には、製剤を多回投与用に設計されたバイアルに入れる場合に使用される。本明細書に記載される医薬製剤を、当該技術分野においてよく知られる技術を使用して凍結乾燥させることができる。

【０２３６】

水性懸濁液剤及び／又はエリキシル剤が経口投与に望まれる場合、本開示事項の組成物を、様々な甘味剤、フレーバリング剤、着色剤、乳化剤、及び／又は懸濁剤だけでなく、水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリンのような希釈剤及びそれらの様々な同様の組合せとも組み合わせることができる。

【０２３７】

更に別の実施形態において、医薬組成物は、密封容器中の単位剤形において、本明細書に記載されるｒＭＶＡを含む注射可能な安定した滅菌製剤として提供される。ｒＭＶＡは、適切な薬学的に許容可能な担体で再構成して、宿主への注射に適した液体製剤を形成することができる凍結乾燥物の形態で提供され得る。

【０２３８】

担体のクラスとしては、限定されるものではないが、結合剤、緩衝剤、着色剤、希釈剤、崩壊剤、乳化剤、着香剤、滑沢剤（glidents）、滑剤、保存剤、安定剤、界面活性剤、錠剤化剤、及び湿潤剤が挙げられる。一部の担体は２つ以上のクラスに列挙される場合があり、例えば、植物油は、或る製剤においては滑剤として使用され、他の製剤においては希釈剤として使用される場合がある。薬学的に許容可能な担体は、対応する医薬組成物に使用される量で投与される場合に、人体に重度の有害反応を一切引き起こさない担体である。例示的な薬学的に許容可能な担体としては、糖類、デンプン、セルロース、トラガント末、モルト、ゼラチン、タルク、及び植物油が挙げられる。本発明の形態（morphic form）又は医薬組成物の活性を実質的に妨げない任意の活性作用物質が医薬組成物中に含まれていてもよい。

【０２３９】

肺への投与に適した製剤は、広範な受動呼吸駆動及び能動動力駆動の単回／多回投与乾燥粉末吸入器（ＤＰＩ）によって送達され得る。呼吸器送達に最も一般的に使用されるデバイスとしては、ネブライザー、定量吸入器、及び乾燥粉末吸入器が挙げられる。ジェットネブライザー、超音波ネブライザー、及び振動メッシュネブライザーを含む幾つかのタイプのネブライザーが利用可能である。適切な肺送達デバイスの選択は、薬物及びその製

剤の性質、作用部位、並びに肺の病態生理等のパラメーターに依存する。

【０２４０】

或る特定の実施形態において、本明細書に記載されるｒＭＶＡを含む医薬組成物は、Handbook of Pharmaceutical Excipients 第9版（又はそれ以前）からの１つ以上の賦形剤を含む医薬組成物として投与される。

【０２４１】

薬学的に許容可能な賦形剤の追加の非限定的な例としては、植物油、動物油、魚油、又は鉱油が挙げられる。例えば、中鎖脂肪酸トリグリセリド、アマランサス油、アプリコット油、リンゴ油、アルガン油、アーティチョーク油、アボカド油、アーモンド油、アサイーベリー抽出物、落花生油、バッファローカボチャ油、ボラージ種子油、ボラージ油、ババス油、ココナッツ油、トウモロコシ油、綿実油（cottonseed oil (cotton seed oil)）、カシュー油、キャロブ油、コリアンダー油、ツバキ油（camellia oil (Camellia oil)）、カリフラワー油、ケープチェスナット油、カシス油、シカ油、月見草油、グレープシロップオイラ油（grape syrup Oila oil）（ハイビスカス油）、グレープシード油、ヒョウタン油、ヘーゼルナッツ油、ヘンプ油、カポック油、クリル油、亜麻仁油、マカダミアナッツ油、モンゴリア油（Mongolia oil）、モリンガ油、マルーラ油、メドウフォーム油、マスタード油、ニガーシード油、オリーブ油、オクラオ油（okrao oil）（ハイビスカス油）、パーム油、パーム核油、ピーナッツ油、ピーカン油、パイン油、ピスタチオ油、カボチャ油、パパイヤ油、エゴマ油（perilla oil (perilla oil)）、ケシ油、プルーン油、ノコギリヤシ油、キノア油、菜種油、米胚芽油、米ぬか油、米油、ラレルマンチア油（rarelman cheer oil）、紅花油（Safflower oil (safflower oil)）、大豆油、ゴマ油、ヒマワリ油、シスル油、トマト油、小麦胚芽油、クルミ油、スイカ油、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）、エイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）、ビタミンＡ油、ビタミンＤ油、ビタミンＥ油、ビタミンＫ油、及びそれらの誘導体、及びレシチン等のグリセロリン脂質、並びにそれらのあらゆる組合せからなる群から選択される油。

【０２４２】

或る特定の実施形態において、本発明における賦形剤は、室温で液体（脂肪油等）であっても、又は室温で固体（脂肪等）であってもよい。

【０２４３】

使用方法

本発明の組成物を、免疫応答を強化するアジュバントとして、又は免疫応答を誘導するワクチンとして使用することができる。

【０２４４】

例示的な実施形態において、本発明は、予防を必要とする被験体（例えば、非曝露被験体）における感染症を予防する方法に使用されるアジュバントであって、上記方法が、本発明の組成物を有効量の抗原性作用物質と組み合わせて被験体に投与することを含む、アジュバントを提供する。代替的には、本発明は、予防を必要とする被験体（例えば、非曝露被験体）における感染症を予防する方法に使用されるワクチンであって、上記方法が、本発明の組成物を被験体に投与することを含む、ワクチンを提供する。この方法の結果は、被験体が感染症に対して部分的に又は完全に免疫化されることである。

【０２４５】

他の例示的な実施形態において、本発明は、治療を必要とする被験体における癌等の病態を治療する方法に使用されるアジュバントであって、上記方法が、本発明の組成物を有効量の腫瘍関連抗原性作用物質と組み合わせて被験体に投与することを含む、アジュバントを提供する。代替的には、本発明は、治療を必要とする被験体における癌等の病態を治療する方法に使用されるワクチンであって、上記方法が、本発明の組成物を被験体に投与することを含む、ワクチンを提供する。

【０２４６】

例示的な実施形態において、本発明は、感染性因子（例えば、最近曝露されたが、まだ症状が出ていない被験体、又は最近曝露され軽度の症状しか出ていない被験体等の曝露さ

れた被験体）を治療する方法において使用されるアジュバントであって、上記方法が、本発明の組成物を治療的有効量の感染性因子を標的とする抗原性作用物質と組み合わせて被験体に投与することを含む、アジュバントを提供する。例示的な実施形態において、本発明は、感染性因子（例えば、最近曝露されたが、まだ症状が出ていない被験体、又は最近曝露され軽度の症状しか出ていない被験体等の曝露された被験体）を治療する方法において使用されるワクチンであって、上記方法が、本発明の組成物を被験体に投与することを含む、ワクチンを提供する。治療の結果は、被験体が改善された治療プロファイルを有することである。結果は、改善された治療プロファイルである。場合によっては、同等の未治療のコントロールと比較して、任意の標準的技術によって測定して、治療は障害又はその症状を、例えば、５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、又は１００％改善することができる。場合によっては、治療は、感染性因子の複製の阻害、感染性因子の力価又は負荷の減少、感染性因子の根絶又は除去をもたらし得る。他の実施形態において、治療は、上記で特定されたあらゆる症状を含む、感染症の１つ以上の症状の改善をもたらし得る。この実施形態によれば、治療の確認を、症状の改善又は不存在を検出することによって評価することができる。

【０２４７】

記載された方法に従って治療される被験体は、医師によってそのような病態を有すると診断された被験体であり得る。診断は、あらゆる適切な手段によって実施され得る。感染症の発症が予防されている被験体は、そのような診断を受けている場合も、又は受けていない場合もある。当業者であれば、本発明に従って治療される被験体が、標準的な試験を使用して特定されている場合も、又は１つ以上のリスク因子（例えば、２０１９－ｎＣｏＶへの曝露等）の存在により検査なしで高リスクの被験体であると特定されている場合もあることを理解するであろう。

【０２４８】

他の実施形態において、治療は、被験体が別の未感染の被験体に感染症を伝染する能力の低下又は排除をもたらし得る。この実施形態による治療の確認は一般に、障害の改善を決定するのに使用されるのと同じ方法を使用して評価されるが、伝染を予防するのに必要なウイルス力価又はウイルス量の減少は、障害を改善するのに必要なウイルス力価又はウイルス量の減少とは異なる場合がある。

【０２４９】

一実施形態において、本発明は、２つ以上の免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする本明細書に記載される組換えＭＶＡウイルスベクターを抗原性作用物質と組み合わせて被験体（例えば、ヒト）に投与することによって、被験体における免疫応答を誘導する方法である。免疫応答は、細胞性免疫応答、若しくは体液性免疫応答、又はそれらの組合せであってもよい。

【０２５０】

組成物を、例えば、注射（例えば、筋肉内、動脈内、血管内、静脈内、腹腔内、又は皮下）によって投与することができる。

【０２５１】

本発明のワクチンを投与する２つ以上の経路を同時に又は逐次的（例えば、追加接種）に使用することができることが理解されるであろう。さらに、本発明のアジュバント又はワクチンを、タンパク質抗原、ワクシニアウイルス及び不活化ウイルスをワクチンとして使用する等の従来の免疫化アプローチと組み合わせて使用することができる。したがって、一実施形態において、本発明のワクチンを被験体に投与し（被験体には、本発明のワクチンが「初回接種」される）、次いで、従来のワクチンを投与する（被験体には、従来のワクチンが「追加接種」される）。別の実施形態において、従来のワクチンを最初に被験体に投与し、続いて本発明のアジュバント又はワクチンを投与する。更に別の実施形態において、従来のワクチン及び本発明のアジュバント又はワクチンを同時投与する。

【０２５２】

いかなる特定の機構にも縛られるものではないが、本明細書に記載される医薬組成物を

接種すると、宿主の免疫系は、感染性因子又は腫瘍関連抗原に特異的な分泌抗体及び血清の両方の抗体を生成することによって、そして標的となる因子に特異的な細胞媒介性免疫応答を生ずることによって、抗原性作用物質と組み合わせたアジュバント、又はワクチンに応答すると考えられる。ワクチン接種の結果として、宿主は、標的となる感染症に対して少なくとも部分的に若しくは完全に免疫を獲得するか、又は標的となる感染症によって引き起こされる中等度若しくは重度の疾患の発症に対する抵抗力を持つ。

【０２５３】

幾つかの実施形態において、投与は１回である。幾つかの実施形態において、投与を、少なくとも２回、少なくとも３回、少なくとも４回、少なくとも５回、少なくとも６回、少なくとも７回、少なくとも８回、又は８回より多く繰り返す。

【０２５４】

一実施形態において、投与を２回繰り返す。

【０２５５】

一実施形態において、約２回～８回、約４回～８回、又は約６回～８回の投与が提供される。

【０２５６】

一実施形態では、投与間に約１週間～４週間、２週間～４週間、３週間～４週間、１週間、２週間、３週間、４週間、又は４週間を超える間隔が設けられる。

【０２５７】

特定の一実施形態において、２回の投与の間に４週間の間隔が使用される。

【０２５８】

投与量

抗原性作用物質と組み合わせたアジュバント又はワクチンは、投与製剤に適合する様式で、治療的に有効で、免疫原性及び防御的であるような量で投与される。投与される量は、治療される被験体に依存し、例えば、抗体を合成する個体の免疫系の能力、及び必要に応じて、細胞媒介性免疫応答を生じる能力を含む。投与されるのに必要な活性成分の正確な量は、開業医の判断に依存し、患者ごとに監視され得る。しかしながら、適切な用量範囲は、当業者によって容易に決定可能であり、一般に、約5.0×10^{6} $TCID_{50}$～5.0×10^{9} $TCID_{50}$の範囲である。投与量はまた、限定されるものではないが、投与経路、患者の健康状態及び体重、並びに製剤の性質に依存し得る。

【０２５９】

本発明の医薬組成物は、標的となる抗原の免疫原性を増強する治療的に有効な量で投与される。投与される投与量は、治療される被験体（例えば、投与様式及び年齢、体重、免疫系の能力、並びに治療される被験体の健康全般）に依存する。組成物は、過度の有害な生理学的効果を伴わずに免疫応答を高める又は惹起する十分なレベルの発現を提供する量で投与される。好ましくは、本発明の組成物は、例えば、1.0×10^{4}～9.9×10^{12} $TCID_{50}$のウイルスベクター、好ましくは1.0×10^{5} $TCID_{50}$～1.0×10^{11} $TCID_{50}pfu$、より好ましくは1.0×10^{6}～1.0×10^{10} $TCID_{50}pfu$、又は最も好ましくは5.0×10^{6}～5.0×10^{9} $TCID_{50}$の投与量で投与される。組成物は、例えば、少なくとも5.0×10^{6} $TCID_{50}$のウイルスベクター（例えば、1.0×10^{8} $TCID_{50}$のウイルスベクター）を含み得る。医師又は研究者は、適切な量及び投与レジメンを決定することができる。

【０２６０】

上記方法の組成物は、例えば、1.0×10^{4}～9.9×10^{12} $TCID_{50}$のウイルスベクター、好ましくは1.0×10^{5} $TCID_{50}$～1.0×10^{11} $TCID_{50}pfu$、より好ましくは1.0×10^{6}～1.0×10^{10} $TCID_{50}pfu$、又は最も好ましくは5.0×10^{6}～5.0×10^{9} $TCID_{50}$を含み得る。組成物は、例えば、少なくとも5.0×10^{6} $TCID_{50}$のウイルスベクター（例えば、1.0×10^{8} $TCID_{50}$のウイルスベクター）を含み得る。この方法は、例えば、組成物を被験体に２回以上投与することを含み得る。

【０２６１】
「有効量」という用語は、臨床的に関連する様式で被験体の病態、又は障害の症状を改善、阻害又は回復させる（例えば、アレナウイルスによる感染を改善、阻害若しくは回復させるか、又は感染に有効な免疫応答を提供する）ために投与される組成物の量を意味する。被験体におけるいかなる改善も、治療を達成するのに十分であると考えられる。好ましくは、治療するのに十分な量は、発生若しくは１つ以上の症状を予防する量であるか、又は標的となる感染又は癌の１つ以上の症状の重症度若しくは被験体がそれに苦しむ期間の長さを（例えば、本発明の組成物で治療されていないコントロール被験体に対して、少なくとも１０％、２０％、又は３０％、より好ましくは少なくとも５０％、６０％、又は７０％、最も好ましくは少なくとも８０％、９０％、９５％、９９％、又はそれ以上）低減する量である。
【０２６２】
幾つかの例では、本発明のｒＭＶＡを、２種以上の感染性因子、特に他のウイルスに対する防御応答を誘導する免疫原性組成物と組み合わせることが望ましい場合がある。例えば、本発明のアジュバント組成物は、インフルエンザ（Ulmer, J. B. et al., Science 259:1745-1749 (1993)、Raz, E. et al., PNAS (USA) 91 :9519-9523 (1994)）、マラリア（Doolan, D. L. et al., J. Exp. Med. 183:1739-1746 (1996)、Sedegah, M. et al., PNAS (USA) 91 :9866-9870 (1994)）、及び結核（Tascon, R. C. et al., Nat.Med.2:888-892 (1996)）用のもの等の他の遺伝子免疫ワクチンと同時に、別々に、又は逐次的に投与することができる。
【０２６３】
投与
本明細書において使用される「投与する（こと）」という用語は、本発明の医薬組成物の投与量を被験体に与える方法を指す。本明細書に記載の方法において利用される組成物は、例えば、非経口、皮膚、経皮、眼、吸入、頬側、舌下、舌周囲、鼻腔、直腸、局所投与、及び経口投与から選択される経路によって投与することができる。非経口投与は、静脈内、腹腔内、皮下、動脈内、血管内、及び筋肉内の投与を含む。好ましい投与方法は、様々な要因（例えば、投与される組成物の成分、及び治療される病態の重症度）に応じて変化し得る。
【０２６４】
本発明の医薬組成物（例えば、アジュバント又はワクチン）の投与は、当業者に知られている任意の経路によって行うことができる。投与は、例えば筋肉内注射による場合がある。本明細書に記載の方法において利用される組成物はまた、例えば、非経口、皮膚、経皮、眼、吸入、頬側、舌下、舌周囲、鼻腔、直腸、局所の投与、及び経口投与から選択される経路によって投与することができる。非経口投与は、静脈内、腹腔内、皮下、及び筋肉内の投与を含む。好ましい投与方法は、様々な要因、例えば、投与される組成物の成分、及び治療される病態の重症度に応じて変化し得る。
【０２６５】
さらに、本発明の組成物の単回又は複数回の投与が被験体に与えられてもよい。例えば、標的となる抗原性作用物質の影響を特に受けやすい被験体は、ウイルスに対する防御を確立及び／又は維持するために複数の治療を必要とする可能性がある。本明細書に記載の医薬組成物によって提供される誘導免疫のレベルは、例えば、中和分泌型抗体及び中和血清抗体の量を測定することによってモニターすることができる。投与量は、次いで、ウイルス感染に対する防御の所望のレベルを維持するために、必要に応じて調整又は反復され得る。
【０２６６】
実施形態
本明細書において、少なくとも以下の実施形態が提供される：
１．　異種ポリシストロン性核酸を含む組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－

免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（ここで、ｘ＝２～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。
２．　異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド））（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。
３．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
４．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号１５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～３のｒＭＶＡ。
５．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１若しくは配列番号５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～４のｒＭＶＡ。
６．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～５のｒＭＶＡ。
７．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～５のｒＭＶＡ。
８．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～７のｒＭＶＡ。
９．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６５から選択されるアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～８のｒＭＶＡ。
１０．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６６から選択されるアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～８のｒＭＶＡ。
１１．　前記切断可能なペプチドは、配列番号９１～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～１０のｒＭＶＡ。
１２．　前記切断可能なペプチドは、配列番号９３、配列番号１２０、及び配列番号１２３から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。
１３．　前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）を含む、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。
１４．　前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝Ｒ、Ｋ、又はＨである）（配列番号９２）を含む、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。
１５．　前記切断可能なペプチドは、ＲＡＫＲ（配列番号９３）である、実施形態１～１２のｒＭＶＡ。
１６．　前記切断可能なペプチドは、ＲＲＲＲ（配列番号９４）である、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。
１７．　前記切断可能なペプチドは、ＲＫＲＲ（配列番号９５）である、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。
１８．　前記切断可能なペプチドは、ＲＲＫＲ（配列番号９６）である、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。
１９．　前記切断可能なペプチドは、ＲＫＫＲ（配列番号９７）である、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。
２０．　前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３～配列番号１２７のアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列である、実施形態１～１１のｒＭＶＡ。

２１．　前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸である、実施形態１～１２のｒＭＶＡ。
２２．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３０９～配列番号３２４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
２３．　ｘ≧４である、実施形態１～２２のｒＭＶＡ。
２４．　ｘ＝３、４、又は５である、実施形態１～２２のｒＭＶＡ。
２５．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３２５～配列番号３４０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
２６．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３４１～配列番号３４４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
２７．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３４５～配列番号３４８から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
２８．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３２５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
２９．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３２９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
３０．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３３３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
３１．　前記ポリシストロン性核酸は、配列番号３３７のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列をコードする、実施形態１又は２のｒＭＶＡ。
３２．　前記ポリシストロン性核酸は更に、抗原性ペプチドをコードする、実施形態１～３１のｒＭＶＡ。
３３．　前記抗原性ペプチドは、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群に由来する、実施形態３２のｒＭＶＡ。
３４．　前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、実施形態３３のｒＭＶＡ。
３５．　前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、実施形態３４のｒＭＶＡ。
３６．　前記抗原性ペプチドは、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ

１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態３２のｒＭＶＡ。

３７．　前記抗原性ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＭＵＣ－１　ＭＡＲＶのＧＰＴＭのアミノ酸配列、マールブルグウイルスのＶＰ４０のアミノ酸配列、並びにＭＵＣ－１－ＥＣＤ－ＭＡＲＶＴＭ－ＩＣＤ配列、又はそれらの断片からなる群に由来する、実施形態３２のｒＭＶＡ。

３８．　前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、実施形態３３のｒＭＶＡ。

３９．　前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態３３のｒＭＶＡ。

４０．　前記抗原性ペプチドは、ムチン１又はその断片から誘導される、実施形態３２のｒＭＶＡ。

４１．　前記ムチン１は、配列番号４０２の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列によってコードされる、実施形態４０のｒＭＶＡ。

４２．　前記ムチン１は、配列番号３４９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態４０の方法。

４３．　前記ムチン１は、配列番号４０３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態４０のｒＭＶＡ。

４４．　前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片を含む、実施形態４０のｒＭＶＡ。

４５．　前記ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片は、配列番号３５８～配列番号３６１、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、実施形態４４のｒＭＶＡ。

４６．　前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片を含む、実施形態４０のｒＭＶＡ。
４７．　前記ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片は、配列番号３６２のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態４６のｒＭＶＡ。
４８．　前記ムチン１は、配列番号３６３若しくは配列番号３６４、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、実施形態４０の方法。
４９．　前記ムチン１は、配列番号３６３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態４８の方法。
５０．　前記ムチン１は、配列番号３６４のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態４８の方法。
５１．　前記抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３５７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態３２のｒＭＶＡ。
５２．　前記抗原性ペプチドは、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態３２のｒＭＶＡ。
５３．　前記抗原性ペプチドは、配列番号３５０、配列番号３５４、配列番号３５６、配列番号３６５、配列番号３６６、配列番号３６７、配列番号３６８、配列番号３６９、配列番号３７７、配列番号３７９から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態５１又は５２のｒＭＶＡ。
５４．　前記抗原性ペプチドは、分泌シグナルを含む、実施形態３２～５３のｒＭＶＡ。
５５．　前記分泌シグナルは、前記抗原性ペプチドのＮ末端に融合されている、実施形態５４のｒＭＶＡ。
５６．　前記分泌シグナルは、配列番号５７～配列番号９０のアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、実施形態５５のｒＭＶＡ。
５７．　前記分泌シグナルは、配列番号６５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態５６のｒＭＶＡ。
５８．　前記分泌シグナルは、配列番号６６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態５６のｒＭＶＡ。
５９．　前記ポリシストロン性核酸は、２つの必須の高度に保存されたＭＶＡ遺伝子の間に挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
６０．　前記ポリシストロン性核酸は、天然の欠失部位に挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
６１．　前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
６２．　前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
６３．　前記ポリシストロン性核酸は、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
６４．　前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
６５．　前記抗原性ペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸は、メチオニン（Ｍ）開始コドンの下流のオープンリーディングフレームにある、実施形態３２～６４のｒＭＶＡ。
６６．　患者における標的抗原に対する免疫応答を増加させる方法であって、有効量の実施形態１～６５のｒＭＶＡウイルスベクターを前記患者に投与することを含み、ここで、前記患者には、有効量の前記標的抗原が投与されたか、又は投与されている、方法。
６７．　前記ｒＭＶＡウイルスベクターを、前記標的抗原の投与と同時に、又は前記標的

抗原の投与の後に投与する、実施形態６６の方法。
６８．　前記標的抗原は、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群から選択される、実施形態６６又は６７の方法。
６９．　前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、実施形態６８の方法。
７０．　前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、実施形態６９の方法。
７１．　前記標的抗原は、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態６６又は６７の方法。
７２．　前記標的抗原は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片からなる群に由来する、実施形態６６又は６７の方法。
７３．　前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、実施形態６８の方法。
７４．　前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（Ｃ

ＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態６８の方法。

７５．　前記標的抗原は、ムチン１又はその断片から誘導される、実施形態６６又は６７の方法。

７６．　前記ムチン１は、配列番号４０２の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列によってコードされる、実施形態７５の方法。

７７．　前記ムチン１は、配列番号３４９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態７５の方法。

７８．　前記ムチン１は、配列番号４０３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態７５の方法。

７９．　前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片を含む、実施形態７５の方法。

８０．　前記ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片は、配列番号３５８～配列番号３６１、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、実施形態７９の方法。

８１．　前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片を含む、実施形態７５の方法。

８２．　前記ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片は、配列番号３６２のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８１の方法。

８３．　前記ムチン１は、配列番号３６３若しくは配列番号３６４、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、実施形態７５の方法。

８４．　前記ムチン１は、配列番号３６３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８３の方法。

８５．　前記ムチン１は、配列番号３６４のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８３の方法。

８６．　前記標的抗原は、配列番号３４９～配列番号３５７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態６６又は６７の方法。

８７．　前記標的抗原は、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態６６又は６７の方法。

８８．　前記標的抗原は、配列番号３５０、配列番号３５４、配列番号３５６、配列番号３６５、配列番号３６６、配列番号３６７、配列番号３６８、配列番号３６９、配列番号３７７、配列番号３７９から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態６６又は６７の方法。

８９．　異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－抗原性ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。

９０．　異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タ

ンパク質膜貫通ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。
９１．　異種ポリシストロン性核酸を含むｒＭＶＡウイルスベクターであって、前記ポリシストロン性核酸は、（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（糖タンパク質シグナルペプチド－抗原性ペプチド－糖タンパク質膜貫通ペプチド－切断可能なペプチド）（ウイルスマトリックスタンパク質）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）をコードする、ｒＭＶＡウイルスベクター。
９２．　ポリペプチドをコードする異種ポリシストロン性核酸インサートを含む組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、前記ポリペプチドは、（（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断可能なペプチド）$_x$（抗原性ペプチド））（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含む、ｒＭＶＡウイルスベクター。
９３．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５６から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９２のｒＭＶＡ。
９４．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号１５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９３のｒＭＶＡ。
９５．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１若しくは配列番号５から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９４のｒＭＶＡ。
９６．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９５のｒＭＶＡ。
９７．　前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９５のｒＭＶＡ。
９８．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９７のｒＭＶＡ。
９９．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９８のｒＭＶＡ。
１００．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～９８のｒＭＶＡ。
１０１．　前記切断可能なペプチドは、配列番号９１～配列番号１２６から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～１００のｒＭＶＡ。
１０２．　前記切断可能なペプチドは、配列番号９３、配列番号１２０、及び配列番号１２３から選択されるアミノ酸配列を含む、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。
１０３．　前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝任意のアミノ酸である）（配列番号９１）を含む、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。
１０４．　前記切断可能なペプチドは、アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ（ここで、Ｘ＝Ｒ、Ｋ、又はＨである）（配列番号９２）を含む、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。
１０５．　前記切断可能なペプチドは、ＲＡＫＲ（配列番号９３）である、実施形態８９～１０２のｒＭＶＡ。
１０６．　前記切断可能なペプチドは、ＲＲＲＲ（配列番号９４）である、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。
１０７．　前記切断可能なペプチドは、ＲＫＲＲ（配列番号９５）である、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。
１０８．　前記切断可能なペプチドは、ＲＲＫＲ（配列番号９６）である、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。

１０９．　前記切断可能なペプチドは、ＲＫＫＲ（配列番号９７）である、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。
１１０．　前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３～配列番号１２７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～１０１のｒＭＶＡ。
１１１．　前記切断可能なペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸を含む、実施形態８９～１０２のｒＭＶＡ。
１１２．　前記抗原性ペプチドは、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群に由来する、実施形態８９～１１１のｒＭＶＡ。
１１３．　前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、実施形態１１２のｒＭＶＡ。
１１４．　前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、実施形態１１３のｒＭＶＡ。
１１５．　前記抗原性ペプチドは、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態８９～１１１のｒＭＶＡ。
１１６．　前記抗原性ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸

配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片からなる群に由来する、実施形態８９～１１１のｒＭＶＡ。
１１７．　前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、実施形態１１２のｒＭＶＡ。
１１８．　前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態１１２のｒＭＶＡ。
１１９．　前記抗原性ペプチドは、ムチン１又はその断片から誘導される、実施形態８９～１１１のｒＭＶＡ。
１２０．　前記ムチン１は、配列番号４０２の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列によってコードされる、実施形態１１９のｒＭＶＡ。
１２１．　前記ムチン１は、配列番号３４９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１１９の方法。
１２２．　前記ムチン１は、配列番号４０３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１１９のｒＭＶＡ。
１２３．　前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片を含む、実施形態１１９のｒＭＶＡ。
１２４．　前記ヒトムチン１の細胞外ドメイン断片は、配列番号３５８～配列番号３６１、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、実施形態１２３のｒＭＶＡ。
１２５．　前記ムチン１は、ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片を含む、実施形態１１９のｒＭＶＡ。
１２６．　前記ヒトムチン１の細胞内ドメイン断片は、配列番号３６２のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１２５のｒＭＶＡ。
１２７．　前記ムチン１は、配列番号３６３若しくは配列番号３６４、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から選択される、実施形態１１９の方法。
１２８．　前記ムチン１は、配列番号３６３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１２７の方法。
１２９．　前記ムチン１は、配列番号３６４のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１２７の方法。
１３０．　前記抗原性ペプチドは、配列番号３４９～配列番号３５７から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態８９～１１１のｒＭＶＡ。
１３１．　前記抗原性ペプチドは、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態８９～１１１のｒＭＶＡ。
１３２．　前記抗原性ペプチドは、配列番号４０３から選択されるアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態８９～１１１のｒＭＶＡ。
１３３．　前記糖タンパク質シグナルペプチドは、フィロウイルス科に由来する、実施形

態８９～１３２のｒＭＶＡ。
１３４．　前記糖タンパク質シグナルペプチドは、配列番号３９６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～１３３のｒＭＶＡ。
１３５．　前記糖タンパク質膜貫通ペプチドは、配列番号３９８のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～１３３のｒＭＶＡ。
１３６．　前記ウイルスマトリックスタンパク質は、配列番号４００のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態８９～１３５のｒＭＶＡ。
１３７．　ｘ≧４である、実施形態８９～１３６のｒＭＶＡ。
１３８．　ｘは、３、４、又は５である、実施形態８９～１３６のｒＭＶＡ。
１３９．　前記ポリシストロン性核酸は、２つの必須の高度に保存されたＭＶＡ遺伝子の間に挿入されている、実施形態８９～１３８のｒＭＶＡ。
１４０．　前記ポリシストロン性核酸は、天然の欠失部位に挿入されている、実施形態８９～１３８のｒＭＶＡ。
１４１．　前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態８９～１３８のｒＭＶＡ。
１４２．　前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
１４３．　前記ポリシストロン性核酸は、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
１４４．　前記ポリシストロン性核酸は、ＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、実施形態１～５８のｒＭＶＡ。
１４５．　前記抗原性ペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸は、メチオニン（Ｍ）開始コドンの下流のオープンリーディングフレームにある、実施形態８９～１４４のｒＭＶＡ。
１４６．
　ａ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、
　ｂ）抗原性ペプチドをコードする第２の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１～配列番号５７の配列を有するアミノ酸から選択され、かつ、
前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、１つ以上のワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ｒＭＶＡウイルスベクター。
１４７．
　ａ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、
　ｂ）抗原性ペプチドをコードする第２の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号１であり、かつ、前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、１つ以上のワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ｒＭＶＡウイルスベクター。
１４８．

ａ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_{x}$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、
ｂ）抗原性ペプチドをコードする第２の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記免疫チェックポイント阻害剤ペプチドは、配列番号５であり、かつ、前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、１つ以上のワクシニアウイルスプロモーターの制御下にある、ｒＭＶＡウイルスベクター。
１４９．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号５７～配列番号９０から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１４６～１４８のｒＭＶＡ。
１５０．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１４６～１４９のｒＭＶＡ。
１５１．　前記分泌シグナルペプチドは、配列番号６６のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、実施形態１４６～１４９のｒＭＶＡ。
１５２．　前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１２８～配列番号３０８の核酸配列から選択される、実施形態１４６～１５１のｒＭＶＡ。
１５３．　前記抗原性ペプチドは、感染性因子及び腫瘍関連抗原からなる群に由来する、実施形態１５２のｒＭＶＡ。
１５４．　前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、実施形態１５３のｒＭＶＡ。
１５５．　前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、実施形態１５４のｒＭＶＡ。
１５６．　前記抗原性ペプチドは、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態１５２のｒＭＶＡ。
１５７．　前記抗原性ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化され

たＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片からなる群に由来する、実施形態１５２のｒＭＶＡ。

１５８．　前記抗原性ペプチドは、配列番号３５８～配列番号３９４から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列から誘導される、実施形態１５２のｒＭＶＡ。

１５９．　前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、必須のＭＶＡ遺伝子間で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態１４６～１５８のｒＭＶＡ。

１６０．　前記第１の核酸配列は、必須のＭＶＡ遺伝子間で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態１４６～１５８のｒＭＶＡ。

１６１．　前記第２の核酸配列は、必須のＭＶＡ遺伝子間で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態１４６～１６０のｒＭＶＡ。

１６２．　前記第１の核酸配列及び前記第２の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態１４６～１５８のｒＭＶＡ。

１６３．　前記第１の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態１４６～１５８のｒＭＶＡ。

１６４．　前記第２の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ＭＶＡに挿入されている、実施形態１４６～１５８のｒＭＶＡ。

１６５．　前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１２８～配列番号１３０の核酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一の核酸配列である、実施形態１４６～１６４のｒＭＶＡ。

１６６．　前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１３０、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列である、実施形態１４６～１６５のｒＭＶＡ。

１６７．　前記抗原性ペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸は、メチオニン（Ｍ）開始コドンの下流のオープンリーディングフレームにある、実施形態１４６～１６６のｒＭＶＡ。

１６８．　ｘ≧４である、実施形態１４６～１６７のｒＭＶＡ。

１６９．　ｘは、３、４、又は５である、実施形態１４６～１６７のｒＭＶＡ。

１７０．

ｉ）（ムチン１細胞外断片ペプチド－糖タンパク質膜貫通ペプチド－ムチン１細胞内断片ペプチド）を含むアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、

ｉｉ）マールブルグウイルス（ＭＡＲＶ）のＶＰ４０タンパク質を含むアミノ酸配列をコードする第２の核酸配列と、

ｉｉｉ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断

ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第３の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、前記キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質は一緒に集合してウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ｒＭＶＡウイルスベクター。
１７１．
ｉ）キメラアミノ酸配列をコードする配列番号４０２の核酸配列を含む第１の核酸配列と、
ｉｉ）配列番号４０４の核酸配列を含む第２の核酸配列と、
ｉｉｉ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第３の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、前記キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質は一緒に集合してウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ｒＭＶＡウイルスベクター。
１７２．
ｉ）配列番号４０３のアミノ酸配列を含むキメラアミノ酸配列をコードする第１の核酸配列と、
ｉｉ）配列番号４０５のアミノ酸配列を含むＭＡＲＶのＶＰ４０マトリックスタンパク質をコードする第２の核酸配列と、
ｉｉｉ）（Ｍ）（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド－切断ペプチド）$_x$（分泌シグナルペプチド－免疫チェックポイント阻害剤ペプチド）（ここで、ｘ＝１～１０であり、Ｍはメチオニンである）を含むアミノ酸配列をコードする第３の核酸配列と、
を含む、組換え改変ワクシニアアンカラ（ｒＭＶＡ）ウイルスベクターであって、
前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ワクシニアウイルスプロモーターの制御下にあり、発現されると、前記キメラアミノ酸配列及びＶＰ４０マトリックスタンパク質は一緒に集合してウイルス様粒子（ＶＬＰ）を形成することができる、ｒＭＶＡウイルスベクター。
１７３．　前記第３の核酸配列は、配列番号４０８の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列を含む、実施形態１７０～１７２のｒＭＶＡ。
１７４．　前記第３の核酸配列は、配列番号４０９の核酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列を含む、実施形態１７０～１７２のｒＭＶＡ。
１７５．　前記第３の核酸配列は、配列番号１、配列番号５、若しくは配列番号３０９～配列番号３４８から選択されるアミノ酸配列、又はそれらと少なくとも９５％同一のアミノ酸である、実施形態１７０～１７２のｒＭＶＡ。
１７６．　前記第３の核酸配列は、配列番号３２５のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、実施形態１７５のｒＭＶＡ。
１７７．　前記第３の核酸配列は、配列番号３２９のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、実施形態１７５のｒＭＶＡ。
１７８．　前記第３の核酸配列は、配列番号３３３のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、

実施形態１７５のｒＭＶＡ。
１７９．　前記第３の核酸配列は、配列番号３３７のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む免疫チェックポイント阻害剤ペプチドをコードする、実施形態１７５のｒＭＶＡ。
１８０．　前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、２つの必須の高度に保存されたＭＶＡ遺伝子の間に挿入されている、実施形態１７０～１７９のｒＭＶＡ。
１８１．　前記第１の核酸配列、前記第２の核酸配列、及び前記第３の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間、又はＭＶＡ遺伝子のＡ５とＡ６Ｌとの間から選択される部位で前記ｒＭＶＡに挿入されている、実施形態１７０～１７９のｒＭＶＡ。
１８２．　前記第１の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間に挿入されている、実施形態１７０～１７９のｒＭＶＡ。
１８３．　前記第２の核酸配列は、前記再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間に挿入されている、実施形態１７０～１７９のｒＭＶＡ。
１８４．　前記第３の核酸配列は、２つの必須のＭＶＡ遺伝子のＡ５ＲとＡ６Ｌとの間に挿入されている、実施形態１７０～１７９のｒＭＶＡ。
１８５．　前記第１の核酸配列は、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間に挿入されており、前記第２の核酸配列は、前記再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおけるＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間に挿入されており、かつ前記第３の核酸配列は、２つの必須のＭＶＡ遺伝子のＡ５ＲとＡ６Ｌとの間に挿入されている、実施形態１７０～１７９のｒＭＶＡ。
１８６．　前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１２８～配列番号３０８から選択される核酸配列である、実施形態１７０～１８５のｒＭＶＡ。
１８７．　前記ワクシニアウイルスプロモーターは、配列番号１３０、又はそれと少なくとも９５％同一の核酸配列である、実施形態１７０～１８６のｒＭＶＡ。
１８８．　実施形態８９～１８７の少なくとも１つのｒＭＶＡと、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。
１８９．　予防、治療、又は誘導を必要とする患者における標的抗原に対する免疫応答を予防、治療、又は誘導する方法であって、有効量の実施形態１８８の医薬組成物を投与することを含み、ここで、前記医薬組成物は、前記標的抗原に対する免疫を強化する、方法。
１９０．　前記標的抗原は、腫瘍関連抗原及び感染性因子からなる群から選択される、実施形態１８９の方法。
１９１．　前記腫瘍関連抗原は、癌胎児性腫瘍関連抗原、腫瘍ウイルス性腫瘍関連抗原、過剰発現／蓄積した腫瘍関連抗原、癌－精巣腫瘍関連抗原、系譜限定の腫瘍関連抗原、突然変異した腫瘍関連抗原、若しくはイディオタイプ腫瘍関連抗原、又はそれらの断片から誘導される、実施形態１９０の方法。
１９２．　前記腫瘍関連抗原は、ｂ黒色腫抗原（ＢＡＧＥ）ファミリー、癌関連遺伝子（ＣＡＧＥ）ファミリー、Ｇ抗原（ＧＡＧＥ）ファミリー、黒色腫抗原（ＭＡＧＥ）ファミリー、肉腫抗原（ＳＡＧＥ）ファミリー、及びＸ抗原（ＸＡＧＥ）ファミリー、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＮＹ－ＥＳＯ－１、Ｌ抗原（ＬＡＧＥ）１、腫瘍において優先的に発現される黒色腫抗原（ＰＲＡＭＥ）、及び滑膜肉腫Ｘ（ＳＳＸ）２、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原－１／２（Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１／２）、Ｇｐ１００／ｐｍｅｌ１７、チロシン関連タンパク質（ＴＲＰ）１及びＴＲＰ２、Ｐ．ポリペプチド、メラノコルチン１受容体（ＭＣ１Ｒ）、並びに前立腺特異抗原、β－カテニン、乳癌抗原（ＢＲＣＡ）１／２、サイクリン依存性キナーゼ（ＣＤＫ）４、慢性骨髄性白血病抗原（ＣＭＬ）６６、フィブロネクチン、ｐ５３、Ｒａｓ、若しくはＴＧＦ－βＲＩＩ、又はそれらの断片から誘導される、実施形態１９０の方法。

１９３．　前記患者は、癌を患っているヒトである、実施形態１８９～１９２の方法。
１９４．　前記癌は、腸癌、卵巣癌、乳癌、悪性黒色腫、肝細胞癌、精巣癌、前立腺癌、多発性骨髄腫、リンパ腫、結腸直腸癌、胆管癌、膵臓癌、肺癌、黒色腫、軟部肉腫、又は結腸癌から選択される、実施形態１９３の方法。
１９５．　前記感染性因子は、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、又はアメーバである、実施形態１９０の方法。
１９６．　前記ウイルスは、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、一本鎖ＤＮＡウイルス、パルボウイルス、二本鎖ＲＮＡウイルス、レオウイルス、プラス一本鎖ＲＮＡウイルス、コロナウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、マイナス一本鎖ＲＮＡウイルス、オルソミクソウイルス、ラブドウイルス、一本鎖ＲＮＡレトロウイルス、二本鎖ＤＮＡレトロウイルス、フラビウイルス科ウイルス、アルファウイルス属ウイルス、フィロウイルス科ウイルス、パラミクソウイルス科ウイルス、ラブドウイルス科ウイルス、ニヤミウイルス科ウイルス、アレナウイルス科ウイルス、ブニヤウイルス科ウイルス、又はオフィオウイルス科ウイルス、及びオルソミクソウイルス科ウイルスからなる群から選択される、実施形態１９５の方法。
１９７．　前記感染性因子は、エボラウイルス、エボラウイルスのエンベロープ糖タンパク質、エボラウイルスのマトリックスタンパク質ＶＰ４０、ラッサウイルス、ラッサウイルスのタンパク質Ｚ、ジカウイルス、ジカウイルスの非構造タンパク質１（ＮＳＰ－１）、マールブルグウイルス、マールブルグウイルスの糖タンパク質、マールブルグのＶＰ４０マトリックスタンパク質、プラスモディウム属の種の寄生虫、プラスモディウム・ファルシパルム、プラスモディウム属の種のスポロゾイト周囲タンパク質（ＣＳＰ）、プラスモディウム属の種の雄性生殖体表面タンパク質Ｐ２３０ｐ（Ｐｆｓ２３０抗原）、細胞横断に必須のプラスモディウム属の種のスポロゾイトミクロネームタンパク質（ＳＰＥＣＴ２）、プラスモディウム属の種のＧＴＰ結合タンパク質、推定上の抗原、ヒト免疫不全ウイルス、ＨＩＶのＥｎｖタンパク質、ＨＩＶのｇｐ４１、ＨＩＶのｇｐ１２０、ＨＩＶのｇｐ１６０、ＨＩＶのＧａｇタンパク質、ＨＩＶのＭＡ、ＨＩＶのＣＡ、ＨＩＶのＳＰ１、ＨＩＶのＮＣ、ＨＩＶのＳＰ２、ＨＩＶのＰ６、ＨＩＶのＰｏｌタンパク質、ＨＩＶのＲＴ、ＨＩＶのＲＮアーゼＨ、ＨＩＶのＩＮ、及びＨＩＶのＰＲ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質武漢株、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質デルタ変異体プラス、２つのプロリン置換によって安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、及びＮ５０１Ｙの置換を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の全長の安定化されたＳタンパク質デルタ変異体プラス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＥタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＭタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａｂポリタンパク質のアミノ酸配列、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＰＰ１ａポリタンパク質のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１～ＮＳＰ３のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ４～ＮＳＰ１１のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＯＲＦ１ｂのポリタンパク質ＮＳＰ１２～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１２のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１３～ＮＳＰ１４のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮＳＰ１５～ＮＳＰ１６のアミノ酸配列（武漢Ｈｕ１）、又はそれらの断片から誘導される、実施形態１９０の方法。
１９８．　前記患者は、前記感染性因子に曝露されたヒトである、実施形態１９５～１９７の方法。
１９９．　前記曝露されたヒトには症状が出ている、実施形態１９８の方法。
２００．　前記曝露されたヒトには症状が出ていない、実施形態１９８の方法。
２０１．　前記患者は、前記感染性因子に曝露されていないヒトである、実施形態１９５

～１９７の方法。
２０２．　前記ｒＭＶＡ投与は、筋肉内注射、動脈内注射、血管内注射、静脈内注射、腹腔内注射、又は皮下注射から選択される、実施形態１８８～２０１の方法。
２０３．　前記ｒＭＶＡは、免疫応答を強化するアジュバントを含む、実施形態１８８～２０２の方法。
２０４．　前記ｒＭＶＡは、免疫応答を誘導するワクチンを含む、実施形態１８８～２０２の方法。
２０５．　前記患者に、前記医薬組成物を少なくとも２回以上投与する、実施形態１９２～２０４の方法。
２０６．　前記投与には、少なくとも４週間の間隔が空けられる、実施形態２０５の方法。
２０７．　患者における免疫応答を強化する方法であって、有効量の実施形態８９～１８７のｒＭＶＡを前記患者に投与することを含む、方法。
２０８．　患者におけるＭＵＣ１抗原に対する免疫応答を誘導する方法であって、有効量の実施形態１１９～１４５又は実施形態１７０～１８７のｒＭＶＡを前記患者に投与することを含む、方法。
２０９．　前記患者は、ヒトである、実施形態２０７又は２０８の方法。
【実施例】
【０２６７】
特許請求の範囲に記載された発明を、以下の非限定的な実施例によって更に説明する。本発明の更なる態様及び実施形態は、限定ではなく例示として含まれる上記の開示及び以下の実験的例示を考慮し、添付の図面を参照すれば、当業者には明らかとなるであろう。
【０２６８】
実施例１．マウス
全ての動物実験をアメリカ公衆衛生局の実験動物の人道的管理及び使用に関する方針に厳密に従って実施した。このプロトコルは、ロックフェラー大学の施設内動物管理使用委員会（Institutional Animal Care and Use Committee）（ＩＡＣＵＣ）によって承認された。CO_2を使用してマウスを安楽死させ、苦痛を最小限に抑えるのにあらゆる努力を行った。ヒト胎児肝臓試料を非営利パートナー（Advanced Bioscience Resources、カリフォルニア州アラメダ）を通じて入手した。試料の由来となった被験体を特定する情報は得られなかったため、それらの使用に対する施設内倫理委員会の承認は必要とされなかった（Huang J. et al.著の「ＡＡＶベクターを介した遺伝子送達アプローチにより、マウスにおける機能的なヒトＣＤ８＋Ｔ細胞の再構成が促進される（An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human CD8+ T cells in mice）」, PLoS One, 2014 Feb 6, 9(2), e88205. doi: 10.1371/journal.pone.0088205. eCollection 2014.PMID:24516613を参照）。
【０２６９】
６週齢～８週齢の雌ＢＡＬＢ／ｃマウスを、ジャクソン研究所（The Jackson Laboratory）（メイン州バーハーバー）から購入した。重度複合免疫不全突然変異及びインターロイキン（ＩＬ）－２受容体ガンマ鎖欠損の両方の特徴を示すＮＯＤ．Ｃｇｔｍ１Ｕｎｃ　Ｐｒｋｄｃｓｃｉｄ　Ｉｌ２ｒｇｔｍ１Ｗｊｌ／ＳｚＪ（ＮＳＧ）マウスもジャクソン研究所から購入し、ロックフェラー大学比較生物科学センター（The Rockefeller University Comparative Bioscience Center）の動物施設において特定病原体不在条件下で維持した。全てのマウスをロックフェラー大学の実験動物研究センター（Laboratory Animal Research Center）において標準的な条件下で維持した。プロトコルはロックフェラー大学の施設内動物管理使用委員会によって承認された（保証番号Ａ３０８１－０１）。
【０２７０】
実施例２．ＨＩＳ－ＣＤ８マウスの作製
ヒトＩＬ－３、ＩＬ－１５、ＧＭ－ＣＳＦ、及びＨＬＡ－Ａ＊０２０１をコードする組

換えＡＡＶ９（ｒＡＡＶ９）ベクターの調製物を構築した（Huang J. et al.著の「ＡＡＶベクターを介した遺伝子送達アプローチにより、マウスにおける機能的なヒトＣＤ８＋Ｔ細胞の再構成が促進される（An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human CD8+ T cells in mice）」, PLoS One, 2014 Feb 6, 9(2), e88205. doi: 10.1371/journal.pone.0088205. eCollection 2014.PMID:24516613を参照）。

【０２７１】

４週齢のＮＳＧマウスに、胸郭周囲での注射によってＨＬＡ－Ａ＊０２０１をコードするｒＡＡＶ９を形質導入し、ＩＶ注射によってＨＬＡ－Ａ＊０２０１をコードするｒＡＡＶ９並びにヒトＩＬ－３、ＩＬ－１５、及びＧＭ－ＣＳＦをコードするＡＡＶ９を形質導入した（Huang J. et al.著の「ＡＡＶベクターを介した遺伝子送達アプローチにより、マウスにおける機能的なヒトＣＤ８＋Ｔ細胞の再構成が促進される（An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human CD8+ T cells in mice）」, PLoS One, 2014 Feb 6, 9(2), e88205. doi: 10.1371/journal.pone.0088205. eCollection 2014.PMID:24516613を参照）。

【０２７２】

２週間後、マウスに１５０Ｇｙの全身亜致死量照射を行って骨髄破壊し、数時間後、それぞれの形質導入された照射マウスに１×１０^{5}個のＨＬＡ－Ａ＊０２０１＋適合ＣＤ３４＋ヒト造血幹細胞（ＨＳＣ）を静脈内移植した。ＨＬＡ－Ａ＊０２０１＋胎児肝臓試料から得られたリンパ球中のＣＤ３４＋ＨＳＣを、ヒトＣＤ３４陽性選択キット（Stem Cell Technologies Inc.（カナダ、ブリティッシュコロンビア州バンクーバー）；Lepus CM, et al.著の「ＮＯＤ－ｓｃｉｄ／ｇａｍｍａｃ－／－免疫不全マウス、Ｂａｌｂ／ｃ－Ｒａｇ１－／－ｇａｍｍａｃ－／－免疫不全マウス、及びＣ．Ｂ－１７－ｓｃｉｄ／ｂｇ免疫不全マウスにおけるヒト胎児肝臓、臍帯血、及び成人血液造血幹細胞移植の比較（Comparison of human fetal liver, umbilical cord blood, and adult blood hematopoietic stem cell engraftment in NOD-scid/gammac-/-, Balb/c-Rag1-/-gammac-/-, and C.B-17-scid/bg immunodeficient mice）」）, Hum Immunol., 2009 Oct, 70(10), 790-802. doi: 10.1016/j.humimm.2009.06.005. Epub 2009 Jun 12. PMID: 19524633を参照）を使用して分離した。ＨＳＣ移植の１４週間後、ＨＩＳ－ＣＤ８マウスの血液中のヒトＣＤ４５＋細胞の再構成状態をフローサイトメトリー分析によって決定した（Huang J. et al.著の「ＡＡＶベクターを介した遺伝子送達アプローチにより、マウスにおける機能的なヒトＣＤ８＋Ｔ細胞の再構成が促進される（An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human CD8+ T cells in mice）」, PLoS One, 2014 Feb 6, 9(2), e88205. doi: 10.1371/journal.pone.0088205. eCollection 2014.PMID:24516613を参照）。

【０２７３】

実施例３．ＡｄＰｙＣＳワクチン及びＡｄＰｆＣＳワクチン

Ｐ．ヨーエリ（P. yoelii）のスポロゾイト周囲タンパク質（ＰｙＣＳ）のＡｄＰｙＣＳを発現する組換え血清型５アデノウイルスの調製物を構築した（Rodrigues EG, et al.著の「組換えアデノウイルスの単回免疫化投与により、マラリアに対するＣＤ８＋Ｔ細胞媒介性防御免疫が効果的に誘導される（Single immunizing dose of recombinant adenovirus efficiently induces CD8+ T cell-mediated protective immunity against malaria）」, J Immunol., 1997 Feb 1, 158(3), 1268-74. PMID: 9013969を参照）。

【０２７４】

実施例４．抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞を測定するＥＬＩＳｐｏｔアッセイ及びフローサイトメトリー

ＡｄＰｙＣＳ免疫化マウスの脾臓ＰｙＣＳ特異的ＩＦＮ－γ分泌ＣＤ８＋Ｔ細胞の相対

数を、マウスＩＦＮ－γ　ＥＬＩＳｐｏｔキット（Abcam、マサチューセッツ州ケンブリッジ）及びＰｙＣＳ内の免疫優性ＣＤ８＋Ｔ細胞エピトープに対応する合成９マーペプチドＳＹＶＰＳＡＥＱＩ（配列番号４０６）（Peptide 2.0 Inc.、バージニア州シャンティリー）を使用してＥＬＩＳｐｏｔアッセイによって決定した（Li X, et al.著の「ヒトＣＤ８＋Ｔ細胞は、ヒト免疫系マウスにおいてヒトマラリアワクチンによって誘導される防御免疫を媒介する（Human CD8+ T cells mediate protective immunity induced by a human malaria vaccine in human immune system mice）」, Vaccine, 2016 Aug 31, 34(38), 4501-4506. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.08.006. Epub 2016 Aug 5; PMID: 27502569を参照）。ＡｄＰｙＣＳ免疫化から１２日後のマウスから脾細胞を収集した後に、５×１０^{5}個の脾細胞をＩＦＮ－γ抗体でプレコートされた９６ウェルＥＬＩＳｐｏｔプレートの各ウェルに入れ、５μｇ／ｍＬのＳＹＶＰＳＡＥＱＩ（配列番号４０６）ペプチドとともにＣＯ$_2$インキュベーター内で３７℃にて２４時間インキュベートした。ＥＬＩＳｐｏｔプレートを洗浄した後に、これらをビオチン化抗マウスＩＦＮ－γ抗体とともに室温で２時間～３時間インキュベートし、続いてアビジンがコンジュゲートされた西洋わさびペルオキシダーゼとともに暗所で室温にて４５分間インキュベートした。最後に、ＥＬＩＳｐｏｔ基質（Abcam）を添加した後、スポットを顕色させた。各ウェル内のＩＦＮ－γ分泌ＣＤ８＋Ｔ細胞の数を特定するのに、ペプチドの存在下で脾細胞とともにインキュベートしたウェルにおいて計数されたスポットの平均数（２連の場合）を、脾細胞のみとともにインキュベートしたウェルにおいて計数されたスポットの平均数（２連の場合）によって減算した。免疫化マウスの脾細胞中のＩＦＮ－γ＋Ｔ細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって決定した。脾細胞を分離した後、細胞を２回洗浄し、抗ＣＤ１６／ＣＤ３２（クローン９３－Bio Legend、米国、カリフォルニア州サンディエゴ）を補充した不活化正常マウス血清を使用して氷上で５分間ブロッキングした。

【０２７５】

実施例５．ＹＬＮＫＩＱＮＳＬペプチドを負荷したＨＬＡ－Ａ／０２０１テトラマーによる染色

ＰｆＣＳＰ　ＣＤ８＋Ｔ細胞エピトープに対応するペプチドＹＬＮＫＩＱＮＳＬ（配列番号４０７）を負荷したアロフィコシアニン（ＡＰＣ）標識ヒトＨＬＡ－Ａ＊０２０１テトラマーは、ＮＩＨテトラマーコア施設（NIH Tetramer Core Facility）によって提供された（Blum-Tirouvanziam U, et al.著の「プラスモディウム・ファルシパルムのスポロゾイト周囲タンパク質におけるＨＬＡ－Ａ２．１拘束性Ｔ細胞エピトープの局在化（Localization of HLA-A2.1-restricted T cell epitopes in the circumsporozoite protein of Plasmodium falciparum）」, J Immunol., 1995 Apr 15, 154(8), 3922-31; PMID: 7535817; 43、Bonelo A, et al.著の「マラリア特異的ヒトＣＤ８＋リンパ球クローンの作製及び特性評価：肝臓細胞によるＴ細胞認識及び内因性同族抗原提示に対する天然多型の効果（Generation and characterization of malaria-specific human CD8+ lymphocyte clones: effect of natural polymorphism on T cell recognition and endogenous cognate antigen presentation by liver cells）」, Eur J Immunol., 2000 Nov, 30(11), 3079-88; doi: 10.1002/1521-4141(200011)30:11〈3079::AID-IMMU3079〉3.0.CO;2-7. PMID: 11093122を参照）（表１２）。

【０２７６】

【表１２】

表１２－合成９マーペプチド配列

配列番号	ペプチド配列
406	SYVPSAEQI
407	YLNKIQNSL

【０２７７】
ＨＩＳ－ＣＤ８マウスをＡｄＰｆＣＳで免疫化してから１２日後に、マウスから脾臓を採取し、脾細胞をＹＬＮＫＩＱＮＳＬ（配列番号４０７）及びＰＥ標識抗ヒトＣＤ８抗体（BioLegend、カリフォルニア州サンディエゴ）を負荷したＡＰＣ標識ヒトＨＬＡ－Ａ＊０２０１テトラマーで染色した。全ヒトＣＤ８$^+$Ｔ細胞集団中のＨＬＡ－Ａ＊０２０１拘束性ＰｆＣＳＰ特異的ＣＤ８$^+$Ｔ細胞のパーセンテージを、BDのＬＳＲ　ＩＩフローサイトメーター（ニュージャージー州フランクリンレイクス）を使用して決定した（Li X, et al.著の「ヒトＣＤ８$^+$Ｔ細胞は、ヒト免疫系マウスにおいてヒトマラリアワクチンによって誘導される防御免疫を媒介する（Human CD8$^+$ T cells mediate protective immunity induced by a human malaria vaccine in human immune system mice）」, Vaccine, 2016 Aug 31, 34(38), 4501-4506; doi: 10.1016/j.vaccine.2016.08.006. Epub 2016 Aug 5. PMID: 27502569を参照）。
【０２７８】
実施例６．ＭＶＡの構築、シードストックの調製、ＶＬＰの形成、及びタンパク質の発現
２つの組換えＭＶＡである、ポリシストロン形式でＬＤ０１（配列番号４０８）又はＬＤ１０（配列番号４０９）の５つのリピートの最適化された核酸配列をコードするＭＶＡ－５ｘ．ＬＤ０１及びＭＶＡ－５ｘ．ＬＤ１０を構築した（表１３）。ペプチドをルーティングして細胞から分泌させるシグナル配列（配列番号６６）をＬＤ０１又はＬＤ１０の前に付加し、これらの配列の後に二重切断部位（配列番号１２３）を付加して、ポリシストロン性設計からの単量体ペプチドの産生を促進した。得られたＬＤ０１インサートは、配列番号３３２のアミノ酸配列をコードしていた。得られたＬＤ１０インサートは、配列番号３３７のアミノ酸配列をコードしていた。組換えウイルスを生成する出発材料は、ウシ海綿状脳症／伝染性海綿状脳症（ＢＳＥ／ＴＳＥ）が出現する前の１９７４年に採取された親ＭＶＡであり、ＢＳＥを含まない供給源からの認証試薬を使用してプラークを３回精製した。シャトルベクターを使用して、相同組換えによりＭＶＡの２つの必須遺伝子Ｉ８Ｒ／Ｇ１Ｌの間にＬＤ０１配列又はＬＤ１０配列を挿入した。選択された挿入部位は、高い発現及び挿入の安定性を支持するものと確認されている。全ての挿入された配列を以下のようにＭＶＡ用にコドン最適化した：
【０２７９】

【表１３】

表１３－配列の最適化

配列番号	識別名	核酸配列
408	5xLD01	ATGGACGCCATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGTCCTACTACTATGCGGAGCGGTATT CGTATCTCCGTCGCAAGAAATTCACGCGAGATTCAGAAGAGGTGCCAGATGCAGAA GAACATCTACCGGACAGATCTCCACCTTGAGAGTAAATATCACAGCGCCGCTATCT CAGAGAGCCAAGAGAGGATCGGGAGCGACAAACTTCTCGCTATTGAAACAAGCGGG AGATGTCGAAGAGAACCCAGGACCAGATGCTATGAAGAGAGGACTTTGCTGCGTAT TGCTATTGTGCGGAGCCGTCTTCGTCTCACCATCTCAAGAAATCCATGCCAGATTC AGAAGAGGTGCTAGATGTAGAAGAACCTCCACGGGACAAATCAGTACCCTAAGAGT TAACATCACCGCGCCGTTGAGTCAAAGAGCTAAGAGAGGTTCCGGAGCCACCAACT TCAGTTTGCTAAAGCAGGCGGGAGATGTGGAAGAGAATCCTGGTCCTGACGCAATG AAGAGAGGACTTTGCTGCGTTCTATTGCTATGCGGTGCCGTCTTTGTTTCTCCGAG TCAAGAGATACACGCTAGATTCAGAAGAGGTGCAAGATGTAGAAGAACCTCGACCG GTCAAATCTCGACGCTTAGAGTCAATATTACCGCGCCATTGTCGCAGAGAGCGAAG AGAGGATCGGGAGCCACTAATTTCAGTCTACTTAAGCAAGCGGGAGATGTAGAGGA GAATCCTGGACCGGATGCCATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGTTCTGTTGCTTTGCG GAGCTGTGTTCGTCAGTCCTTCTCAAGAGATTCATGCAAGATTCAGAAGAGGTGCA AGATGCAGAAGAACCAGTACGGGACAGATTTCGACATTAAGAGTGAACATTACTGC GCCTTTGTCTCAAAGAGCGAAGAGAGGTTCCGGAGCGACGAATTTCTCGTTGCTCA AGCAAGCGGGAGATGTAGAAGAGAACCCAGGACCTGATGCAATGAAGAGAGGACTT TGTTGCGTATTACTTCTTTGCGGTGCAGTGTTTGTCTCGCCGTCACAAGAGATCCA CGCAAGATTCAGAAGAGGTGCCAGATGTAGAAGAACTAGTACAGGACAAATCTCCA CGCTAAGAGTAAACATAACGGCACCACTATCTCAATAA
409	5xLD10	ATGGACGCCATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGTCCTACTACTATGCGGAGCGGTATT CGTATCTCCGTCGCAAGAAATTCACGCGAGATTCAGAAGAGGTGCCAGATCTACAG GACAGATCTCTACCCTAAGAGTCAATATCACAGCGCCGCTATCTCAGAGAGCGAAG AGAGGATCGGGAGCGACAAACTTCTCGCTATTGAAACAAGCGGGAGATGTCGAGGA GAACCCAGGACCAGATGCTATGAAGAGAGGACTTTGCTGCGTATTGCTATTGTGCG GAGCCGTGTTCGTCTCGCCATCTCAAGAAATCCATGCCAGATTCAGAAGAGGTGCT AGAAGTACCGGACAAATCTCCACGTTGAGAGTAAACATTACCGCGCCGTTGTCGCA AAGAGCTAAGAGAGGTTCCGGAGCCACTAACTTCAGTTTGCTAAAGCAGGCGGGAG ATGTGGAAGAGAATCCTGGTCCTGACGCAATGAAGAGAGGACTTTGCTGCGTTCTA TTGCTATGCGGTGCCGTCTTTGTTTCTCCGAGTCAAGAGATACACGCTAGATTCAG AAGAGGTGCTAGATCCACGGGACAAATCAGTACCCTTAGAGTGAACATCACGGCGC CACTTTCTCAAAGAGCCAAGAGAGGTTCCGGAGCGACCAATTTCTCGTTGCTAAAG CAAGCGGGAGATGTAGAAGAGAATCCCGGACCGGATGCCATGAAGAGAGGACTTTG TTGCGTGCTGTTGCTTTGCGGAGCTGTGTTCGTCAGTCCTTCTCAAGAGATTCATG CAAGATTCAGAAGAGGTGCAAGATCGACCGGTCAAATTTCGACGCTAAGAGTTAAC ATAACGGCGCCCTTGAGTCAGAGAGCCAAGAGAGGATCGGGAGCCACTAACTTCTC GTTGTTGAAGCAGGCGGGAGATGTAGAAGAGAATCCGGGTCCAGATGCAATGAAGA GAGGACTTTGTTGCGTATTACTTCTTTGCGGTGCAGTGTTTGTCTCGCCGTCACAA GAGATCCACGCAAGATTCAGAAGAGGTGCCAGAAGTACGGGTCAAATTAGTACCTT GAGAGTCAATATTACGGCGCCTTTGTCACAGTAATGA

【０２８０】

サイレント突然変異を導入してホモポリマー配列（４個より多いＧ／Ｃ及び４個より多いＡ／Ｔ）を中断したことにより、フレームシフト突然変異を引き起こす可能性のあるＲＮＡポリメラーゼエラーが減少する。全てのワクチンインサートを改変Ｈ５初期／後期ワクシニアプロモーター（配列番号１３０）の制御下に置いた。ベクター、リサーチシードウイルス（ＲＳＶ）、及びリサーチストック（ＲＳ）を、ＢＳＥ／ＴＳＥ不含の原材料を使用して完全なトレーサビリティ及び全ての工程の完全な文書化を伴って専用の部屋で調製したため、ｃＧＭＰマスターシードウイルス（Master Seed Virus）（ＭＳＶ）の生成に直接使用することができる。動物研究用のＲＳＶを生成するのに、ニワトリ胚線維芽

細胞系統ＤＦ－１細胞（ＡＴＣＣ、ＣＲＬ－１２２０３）を滅菌組織培養フラスコへと播種し、これらにＭＶＡ－５ｘ．ＬＤ０１又はＭＶＡ－５ｘ．ＬＤ１０を０．０１のＭＯＩで感染させた。感染の３日後に細胞を回収し、超音波処理によって破砕し、バルクの採取材料を低速遠心分離によって清澄化した。清澄化されたウイルス採取物を、ショ糖クッション超遠心分離を使用して２回精製した。精製されたウイルスをＤＦ１細胞において限界希釈によって力価測定し、滅菌ＰＢＳ＋７％のショ糖において１ｍＬ当たり1×10^{8}のＴＣＩＤ$_{50}$に希釈し、滅菌バイアルに分注し、－８０℃で貯蔵した。

【０２８１】

実施例７．抗ＬＤ０１／ＬＤ１０モノクローナル抗体の生成

Ｓｉｇｍａ ａｄｊｕｖａｎｔ ｓｙｓｔｅｍ（カタログ番号Ｓ６３２２）において配合されたＫＬＨコンジュゲートＬＤ０１ペプチドを使用して、ＳＪＬ／Ｊマウスを筋肉内で免疫化した。２週間間隔で２回の同様の筋肉内追加接種を行った後に、マウスを　殺し、脾臓及びリンパ節を収集した。脾細胞及びリンパ球を分離し、ＨＬ－１マウス骨髄腫細胞に融合させ、１３日間培養した。１３日目に、コロニーを手動で採取し、選択培地に移した。ＢＳＡコンジュゲートペプチドがコーティングされたプレートを使用するＥＬＩＳＡによって、培養上清を特異性についてスクリーニングした。上清をＢＳＡコンジュゲートＬＤ０１ペプチドだけでなく、ＬＤ１０に対してもスクリーニングした。２つのクローン（３Ｆ１１及び７Ｇ１０）を、両方のペプチドへのそれらの高レベルの結合だけでなく、高濃度の上清抗体にも基づいて選択した。これら２つのクローンのモノクローナル培養物を増殖させ、上清を使用して抗体を精製した。２つのＴ－７５フラスコにおける少なくとも8.0×10^{7}個の細胞を含む細胞懸濁液を、２つの５０ｍＬの遠心分離管に無菌的に移し、１０００ｒｐｍで５分間遠心分離した。得られた細胞ペレットを２５ｍＬのＨｙＣｌｏｎｅ ＨＹＱＳＦＭＭＡＢ培地＋５％のＦＢＳ中に再懸濁し、２２５ｍＬのＨｙＣｌｏｎｅ ＨＹＱＳＦＭＭＡＢ培地＋５％のＦＢＳが入った２５０ｍＬのバッグにゆっくり加えた。このバッグを５％のCO_2、３７℃に設定したインキュベーター内に１０日間～１４日間置いた。１０日間～１４日間成長させた後、２５０ｍＬのバッグの内容物を２５０ｍＬの遠心分離ボトルに移し、そこに１０ｍＬの中和バッファー（１ＭのＴＲＩＳ、１．５ＭのＮａＣｌ、ｐＨ８．５）を加え、Ｓｏｒｖａｌｌ ＧＳＡローターを使用して８６００ｒｐｍで１０分間遠心分離した。上清を０．４５μｍのボトルトップフィルターを使用して濾過した。ＦＰＬＣ精製システムに接続された５ｍＬのプロテインＡカラムを２５ｍＬの超純水で洗浄し、続いて２５ｍＬの（５０ｍＭのＴＲＩＳ、２５０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ８．０）で洗浄した。濾過した上清を７ｍＬ／分の流速でカラムにロードした。カラムを更に、１５ｍＬの（５０ｍＭのＴＲＩＳ、２５０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ８．０）で洗浄した。溶出画分を、８００μＬの中和バッファー（１ＭのＴｒｉｓ塩基、１．５ＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）が入った１５ｍＬのチューブに収集した。抗体を２０ｍＬの５０ｍＭのグリシン（ｐＨ３．０）で溶出し、スターラー上で４℃にて一晩、（精製抗体の容量に応じて）１Ｌ～２Ｌの１×ＰＢＳ（ｐＨ７．４）に対して透析した。透析した抗体を滅菌濾過し、アリコートに分けて貯蔵した。

【０２８２】

実施例８．ドットブロットアッセイ

ＤＦ－１細胞に、親ＭＶＡ、ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１、又はＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０を０．５の感染多重度で感染させ、４８時間後に上清を収集した。分泌されたペプチドを濃縮するのに、上清をＰｉｅｒｃｅ Ｃ－１８チップ（Thermofisher、カタログ番号８７７８２）に通過させた。各試料からの２０マイクロリットル及び１２５ｎｇの合成ＬＤ０１ペプチドをＰＶＤＦメンブレン上にスポットし、室温で乾燥させた後に、Ｉｎｔｅｒｃｅｐｔブロッキングバッファー（Li-Cor、カタログ番号９２７－７０００１）で室温にて３０分間ブロッキングした。メンブレンを、ブロッキングバッファー中で１：１０００に希釈した一次抗体（Leidos、クローン：７Ｇ１０）において４℃で一晩インキュベートした。ＰＢＳＴ（０．０５％のＴｗｅｅｎ－２０を含むＰＢＳ）で３回洗浄を行い、メンブレンを抗マウス６８０ＲＤ（Invitrogen、カタログ番号Ａ－２１０５８）（１：

１００００）を用いて１時間プロービングした。次いで、メンブレンを再度洗浄し、Ｏｄｙｓｓｅｙイメージャーを使用してイメージングした。

【０２８３】

実施例９．免疫細胞化学アッセイ

ＤＦ－１細胞に、親ＭＶＡ、ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１、又はＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０を０．５の感染多重度で４８時間感染させ、その後、細胞を１：１のメタノール：アセトン中で固定し、水で洗浄した。次いで、細胞をマウス抗ＬＤ０１／ＬＤ１０抗体（Leidos、クローン：３Ｆ１１）を用いて室温で１時間プロービングした。水で３回洗浄を行い、細胞を、抗マウスＨＲＰを用いて１：１０００希釈で１時間染色した（VWR、カタログ番号１０１５０－４００）。次いで、細胞を再度洗浄し、ＡＥＰ基質キット（Abcamのカタログ番号ａｂ６４２５２）で顕色させた。染色された細胞の画像を、光学顕微鏡法を使用して２０倍の倍率で取得した。

【０２８４】

実施例１０．データ分析

統計分析を、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ（GraphPad Software, Inc.、カリフォルニア州ラホヤ）を使用して実施した。対応のない両側ｔ検定を使用して、２つの群間を判定した。データを平均±ＳＥＭとして表し、Ｐ＜０．０５を統計的に有意であるとみなした。

【０２８５】

実施例１１．ＭＶＡベクターの構築

ＬＤ１０がウイルスベクターであるポリシストロン性の形式のＬＤ１０配列の５つのリピートをコードする組換えＭＶＡウイルス（ＭＶＡ－５ｘ．ＬＤ１０）（図７）によって発現され得るかどうかを確認するのに、ＬＤ０１配列の５つのリピートを発現する同様の組換えＭＶＡウイルスを、実施例６に従って構築した（ＭＶＡ－５ｘ．ＬＤ０１）（図７）。ペプチド分泌を促進するのに、ＬＤ０１又はＬＤ１０の前にシグナル配列を付加し、これらの配列の後に二重切断部位を付加して、ポリシストロン性設計からの単量体ＬＤ０１又はＬＤ１０の産生を促進した。

【０２８６】

感染した細胞の免疫組織化学を、ＬＤ０１及びＬＤ１０と交差反応性のモノクローナル抗体を使用して実施し、最初に、組換えＭＶＡベクターがＬＤ０１又はＬＤ１０を発現するかどうかを決定した。細胞を固定し、５０：５０のメタノール／アセトンで透過処理した。

【０２８７】

実施例１２．ＬＤ０１及びＬＤ１０はＭＶＡ感染細胞によって産生される

感染細胞の上清に対してドットブロットを実施し、ＬＤ０１又はＬＤ１０が組換えＭＶＡベクターによって分泌されていることを確認した。親ＭＶＡベクターは、図８Ｂに示されるようにごく僅かなシグナルしか示さなかった。細胞上清の液体クロマトグラフィータンデム質量分析によりＬＤ０１断片及びＬＤ１０断片が特定され、ドットブロットの結果が裏付けられた。

【０２８８】

親ＭＶＡベクターを感染させた細胞は特異的な染色を示さなかったが、ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１ベクター又はＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０ベクターのいずれかを感染させた細胞は、図８Ａに示されるように陽性染色を示したことから、これらのペプチドの細胞内発現を示している。ＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１ベクター及びＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０ベクターの試料は両方とも陽性染色を示したことから、ＬＤ０１及びＬＤ１０の分泌の証拠となる。ＬＤ０１及びＬＤ１０は、組換えＭＶＡベクターによって発現され分泌される。上記の技術を使用して、図８における画像を生成した。

【０２８９】

実施例１３．ウイルスベクターを介したＬＤ０１又はＬＤ１０の送達により、ワクチン誘導性の抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞の増殖が強化される

ＬＤ０１及びＬＤ１０が、ペプチドをコードするＭＶＡコンストラクトを感染させた細胞内で発現され、その細胞から分泌されることを確認したので（図８Ａ及び図８Ｂ）、ＭＶＡがコードしているＬＤ０１又はＬＤ１０での処理後のＡｄＰｙＣＳ特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の増殖を評価した。親ＭＶＡベクターをネガティブコントロールとして含め、合成ＬＤ０１及びＬＤ１０ｄａはポジティブコントロールとして機能した。図９に示されるように、ワクチン接種直後に１００μｇのＬＤ０１又はＬＤ１０ｄａで処理すると、ＡｄＰｙＣＳ単独と比べて、抗原特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞数が有意に増加した。同様に、10^{8}のＴＣＩＤ$_{50}$のＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ０１又はＭＶＡ－５Ｘ．ＬＤ１０の注射は、抗原特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の増殖を高め、これは親ＭＶＡベクターによる処理とは対照的であった（図９）。まとめると、これらのｉｎ　ｖｉｖｏの結果は、ＭＶＡベクターを介したＬＤ０１又はＬＤ１０の送達により、免疫エフェクター細胞の活性化及び免疫調節活性の増加がもたらされることを示しており、これは、それらのｉｎ　ｖｉｖｏでの発現によるものである可能性が高い。したがって、これらの結果は、ペプチドベースの免疫調節剤がウイルスベクターによって効果的に送達され、大幅に強化された免疫応答を誘導し得ることを裏付けている。

【０２９０】

実施例１４．ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０の構築及びインサートの完全性の検証

親ＭＶＡウイルスから出発して、シャトルベクターを使用して、相同組み換えによって、ＭＶＡ遺伝子のＩ８ＲとＧ１Ｌとの間にＭＵＣ－１－ＭＡＲＶのＧＰＴＭアミノ酸配列（配列番号４０３）をコードする最適化されたＭＵＣ－１及びマールブルグウイルス（ＭＡＲＶ）の膜貫通糖タンパク質（ＧＰ）膜貫通ドメイン（ＴＭ）キメラ核酸配列（配列番号４０２）を挿入し、再構築され改変された欠失部位ＩＩＩにおいてＭＶＡ遺伝子のＡ５０ＲとＢ１Ｒとの間にＭＡＲＶのＶＰ４０アミノ酸配列（配列番号４０５）をコードするＭＡＲＶのＶＰ４０核酸配列（配列番号４０４）を挿入し、かつ２つの必須のＭＶＡ遺伝子のＡ５ＲとＡ６Ｌとの間に５つのＬＤ１０アミノ酸配列（配列番号３３７）をコードする５つのＬＤ１０（配列番号４０９）核酸配列を挿入した。これらの挿入部位は、導入遺伝子の高い発現及び安定性を支持することが以前に実証された。サイレント突然変異を導入してホモポリマー配列（４個より多いＧ／Ｃ及び４個より多いＡ／Ｔ）を中断し、これにより、フレームシフト突然変異を引き起こす可能性のあるＲＮＡポリメラーゼエラーが減少する。挿入された配列を、ＭＶＡウイルスによる改変Ｈ５初期／後期ワクシニアプロモーター（配列番号１３０）の制御下での発現についてコドン最適化した。

【０２９１】

ウイルスベクター、リサーチシードウイルス（ＲＳＶ）、及びリサーチストック（ＲＳ）を、ｃＧＭＰマスターシードウイルス（ＭＳＶ）を製造することができるＢＳＥ／ＴＳＥ不含の原材料を使用して完全なトレーサビリティ及び全ての工程の完全な文書化を伴って専用の部屋で上記（実施例６）のように調製した。ニワトリ胚線維芽細胞系統であるＤＦ－１細胞（ATCC、ＣＲＬ－１２２０３）を滅菌組織培養フラスコに播種し、これらにＭＶＡ親ウイルス又はＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０組換えウイルスのいずれかを０．０１の感染多重度で感染させた。これらの細胞から採取したウイルスＤＮＡ試料をＰＣＲにより分析して、各インサートの上流及び下流の特定のプライマーを使用して導入遺伝子インサートの完全性（図１０）を調べた（表１４）。ＭＶＡ親ウイルスＤＮＡをネガティブコントロールとして使用し、Ｍｕｃ１遺伝子、ＶＰ４０遺伝子、又はＬＤ１０遺伝子を含む３つの異なるプラスミドからのＤＮＡをポジティブコントロールとして使用した。特定されたバンドは、予想されるサイズと一致していた（図１１）。

【０２９２】

【表１４】
表１４－プライマー配列

配列番号	配列の説明	核酸配列
410	p55 LD10 F	AGATCGGAGATGACTGCGATG
411	p54 LD10R/ GFP R	CGATGGATGGTCAGATTGTCC
412	p35 MUC-1 F	GAGAGGACGGGAGAATTAACTA
413	p36 MUC-1 R	TGGTAGGAATACCAGATACGAC
414	p44 VP40 F	GGAGCAGAGTTTACATCTTCCAA
415	p10 VP40 R	CTCCGTGAGAATATCCTTGCTC

【０２９３】
実施例１５．ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０感染ＤＦ－１細胞による組換えタンパク質産生の検証
組換えＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０ウイルスベクターからのＭＵＣ－１及びＶＰ４０タンパク質の発現を確認するのに、ＤＦ１細胞を６ウェルプレートにおいて培養し、これらに親改変ワクシニアアンカラ（ｐＭＶＡ）又はＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０をコードする組換えＭＶＡウイルスのいずれかを感染させた。細胞上清及び溶解物を採取し、Ｍｉｎｉ－Ｐｒｏｔｅａｎ　ＴＧＸゲル上でＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析し、ＰＶＤＦメンブレンに転写した。次いで、メンブレンをＭＵＣ１抗体（マウスモノクローナルＶＵ４Ｈ５、Santa Cruzの番号ｓｃ－７３１３、１：２００）を用いてプロービングした。ＭＵＣ－１タンパク質の予想サイズは６３ｋＤａである。ＭＵＣ－１タンパク質の力強い発現は、ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０溶解物においてのみ観察され、ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０をコードする組換えＭＶＡウイルスを感染させた細胞の上清画分においては観察されなかった（図１２）。他の全てのネガティブコントロール試料においては、ごく僅かなシグナルしか観察されなかった。
【０２９４】
転写されたメンブレンを同様にＶＰ４０抗体（ウサギポリクローナル、IBT Bioservicesの番号０３０３－００１、１：１０００）を用いてプロービングした。組換えＶＰ４０タンパク質の予想サイズは３２ｋＤａである。ＶＰ４０タンパク質の力強い発現がＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０細胞上清及び溶解物において観察されたことから、ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０をコードする組換えＭＶＡウイルスを感染させた細胞においてはＶＰ４０が発現され、また分泌されることを示唆している（図１３）。
【０２９５】
ＬＤ１０ペプチドの発現を確認するのに、感染細胞溶解物に対してドットブロットを実施した。ポジティブコントロールとして、２０ｎｇのLeidosのＬＤ１０ペプチドを含めた。メンブレンを、ＬＤ１０抗体（マウス、Leidos 014、７Ｇ１０）を用いてプロービングした。ペプチド及びＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ＿１－ＬＤ１０試料の標識により、ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０感染細胞におけるＬＤ１０発現が確認された（図１４）。
【０２９６】
実施例１６．ＭＶＡ－ＶＬＰ－ＭＵＣ－１－ＬＤ１０を感染させたＤＦ－１細胞のＭＶＡワクチン純度の確認
６ウェルプレートにおいて、ＤＦ１細胞に、３０プラーク形成単位（ＰＦＵ）のウイルスを技術的３連で感染させ、別個に６０ＰＦＵのウイルスを技術的３連で感染させた。全てのウェルをＭＵＣ－１抗体（マウスモノクローナルＶＵ４Ｈ５、Santa Cruzの番号ｓｃ－７３１３、１：２００）を用いてプロービングし、プラークの数を計数した（図１５）。ウェルを洗浄した後に、ＭＶＡ抗体を用いて再びプロービングし、ＭＶＡ陽性プラー

クを計数した。ＭＶＡプラークの数に対するＭＵＣ１プラークのパーセンテージを計算して、ワクチンの純度を観察した。およそ９５％以上のＭＶＡ陽性プラークは、両方の感染量でＭＵＣ－１発現についても陽性であった。

【０２９７】

６ウェルプレートにおいて、ＤＦ１細胞に、３０ＰＦＵのウイルスを技術的３連で感染させ、別個に６０ＰＦＵのウイルスを技術的３連で感染させた。全てのウェルをＶＰ４０抗体（ウサギポリクローナル、IBT Bioservicesの番号０３０３－００１、１：１０００）を用いてプロービングし、プラークの数を計数した（図１６）。ウェルを洗浄した後に、ＭＶＡ抗体を用いて再びプロービングし、ＭＶＡ陽性プラークを計数した。ＭＶＡプラークの数に対するＶＰ４０プラークのパーセンテージを計算して、ワクチンの純度を観察した。およそ９５％以上のＭＶＡ陽性プラークは、両方の感染量でＶＰ４０発現についても陽性であった。

【図面】

【図１Ａ】

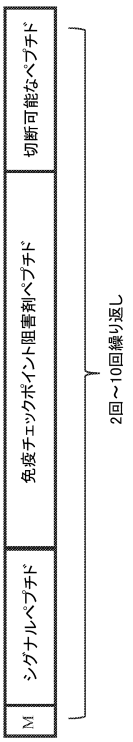


Fig. 1A

【図１Ｂ】

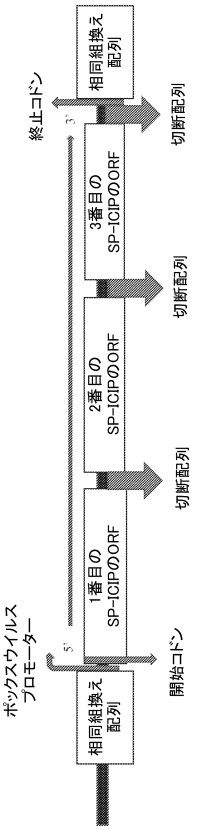


Fig. 1B

【図２Ａ】

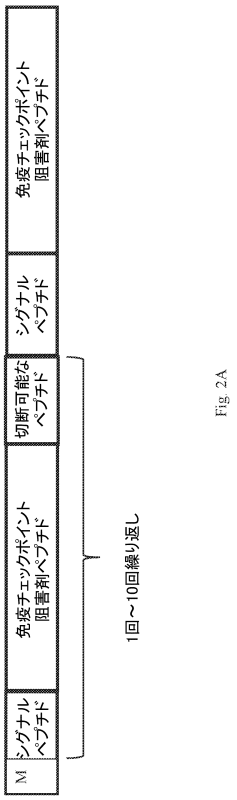


Fig. 2A

【図２Ｂ】

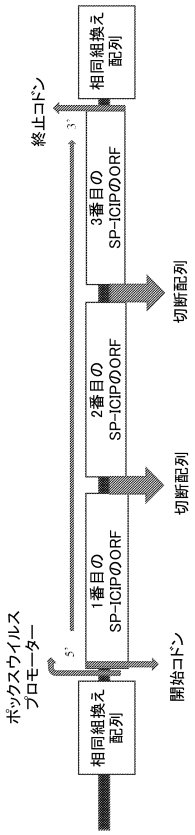


Fig. 2B

【図３Ａ】

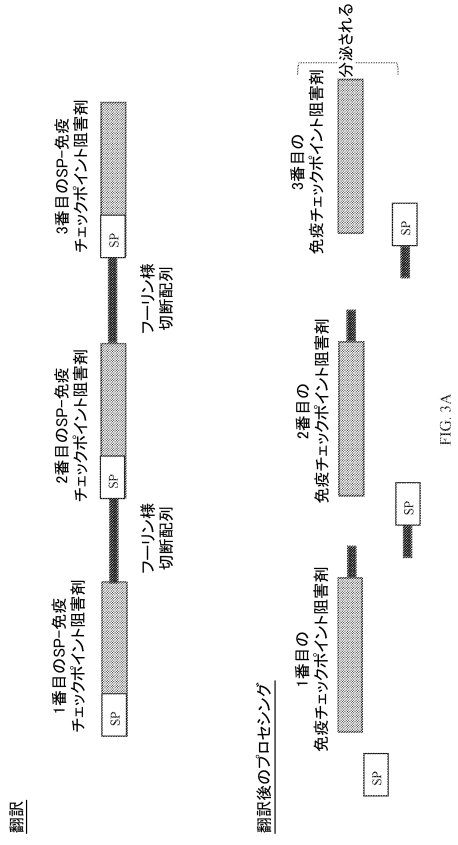


FIG. 3A

【図３Ｂ】

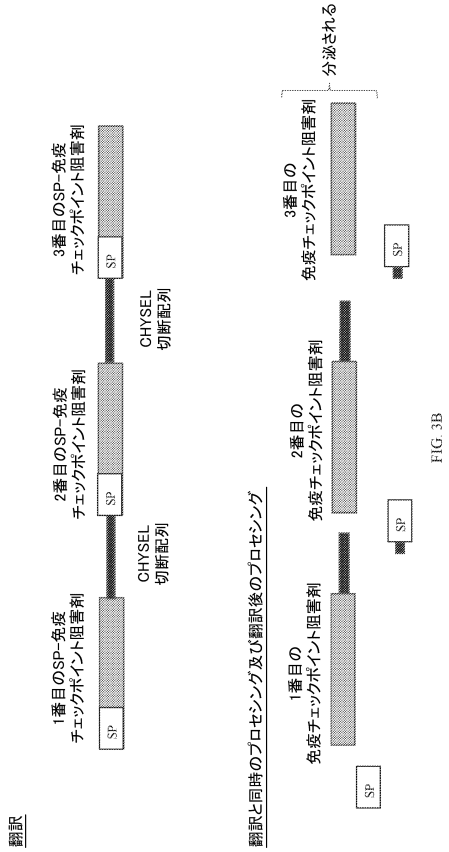


FIG. 3B

【図３Ｃ】

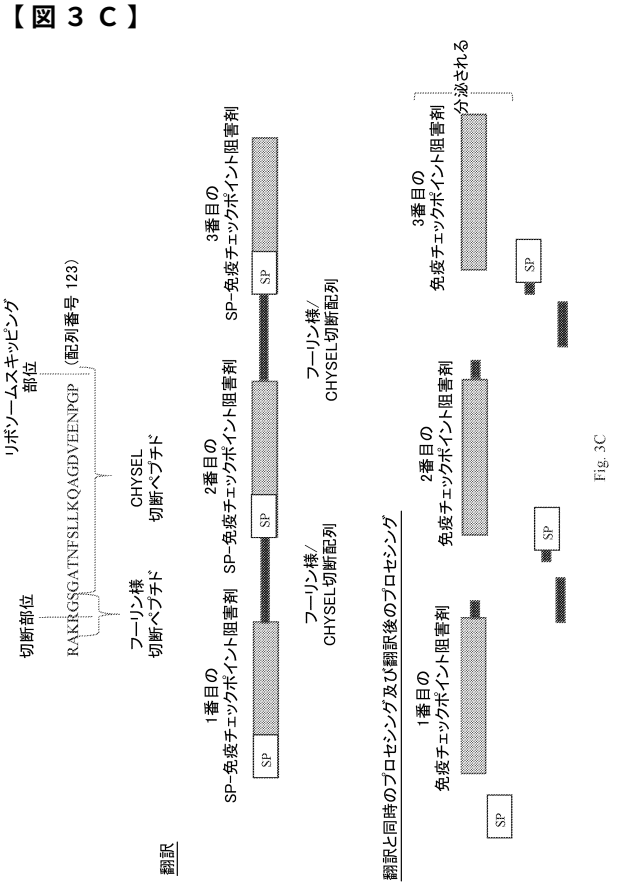


Fig. 3C

【図４Ａ】

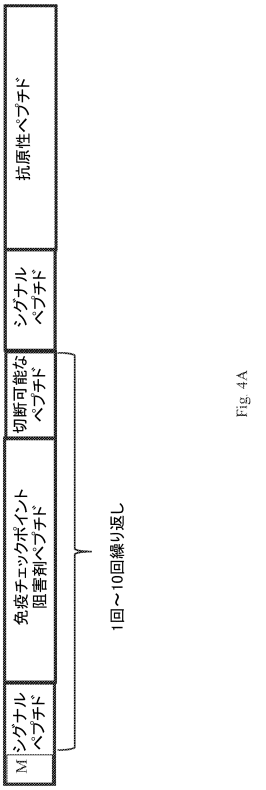


Fig. 4A

【図４Ｂ】

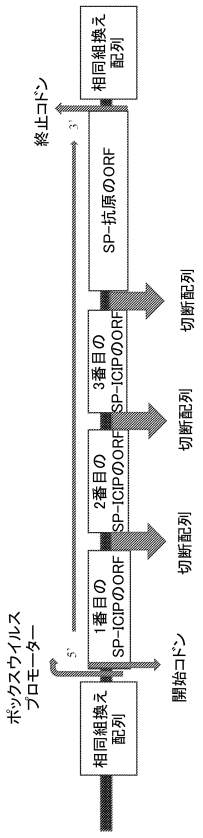


Fig. 4B

【図５Ａ】

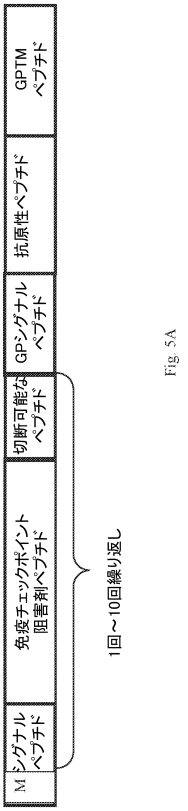


Fig. 5A

【図５Ｂ】

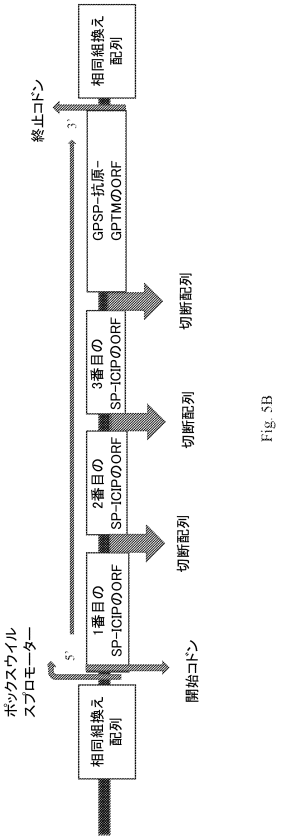


Fig. 5B

【図６Ａ】

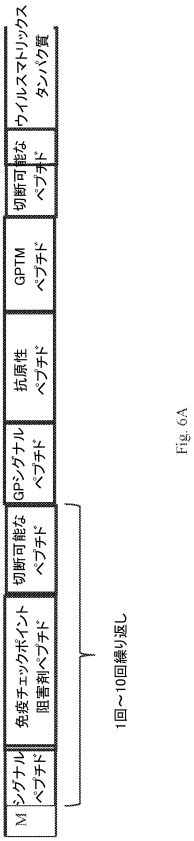


Fig. 6A

【図６Ｂ】

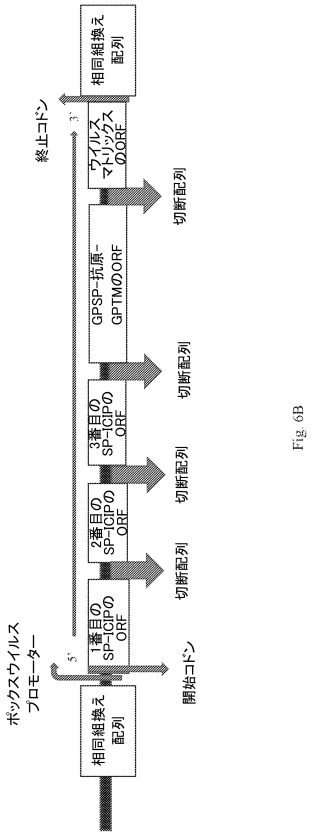


Fig. 6B

【図７】

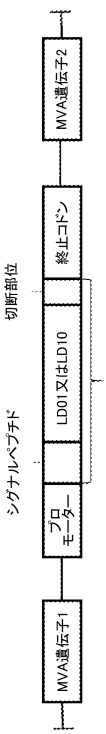


FIG. 7

【図８】

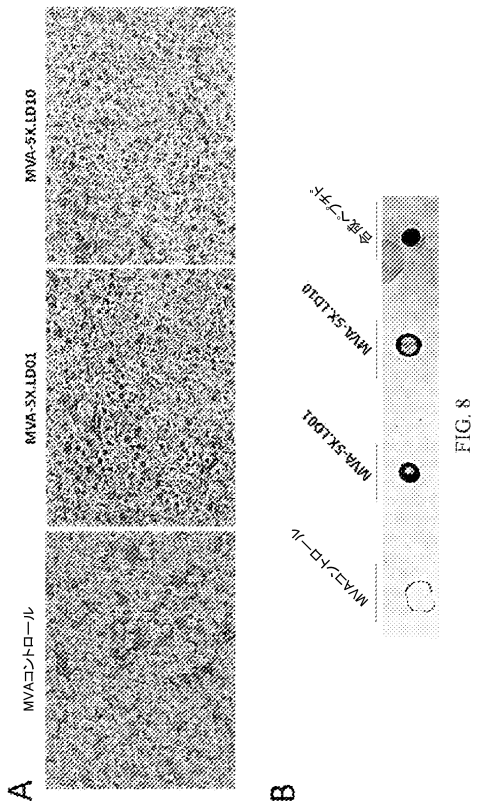


FIG. 8

【図９】

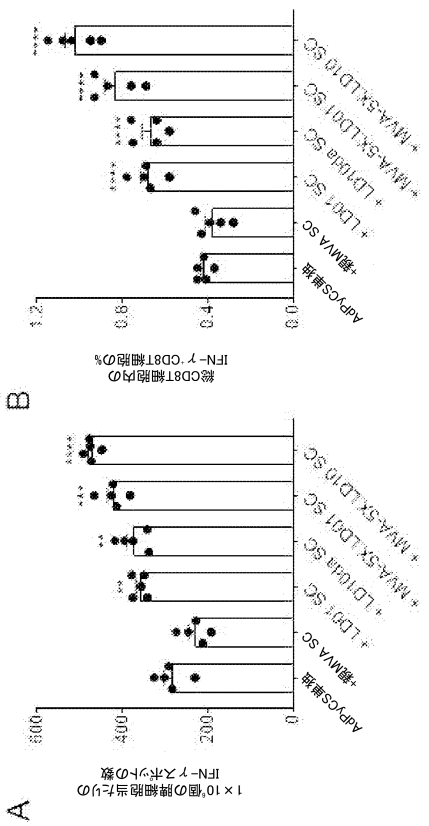


FIG. 9

【図１０】

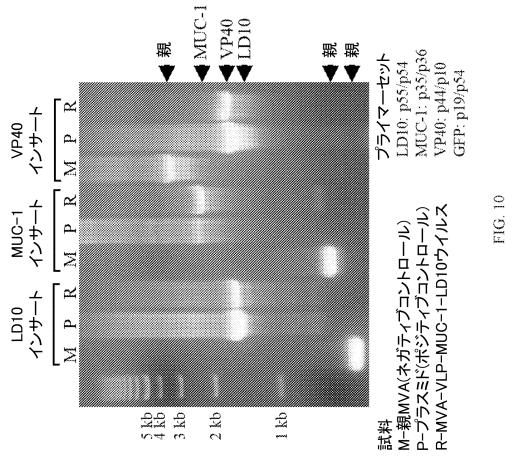


FIG. 10

【図１１】

PCRの予想される断片			
インサート(抗原)	**LD10**	**Muc1**	**VP40**
MVA親(M)	337 bp	553 bp	3302 bp
pGeo-5xLD10 (P)	1631 bp	2273 bp	1700 bp
Muc1-5xLD10 (R)	1631 bp	2273 bp	1700 bp

FIG. 11

【図１２】

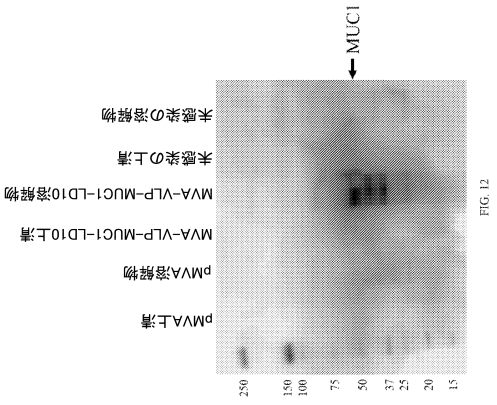


FIG. 12

【図１３】

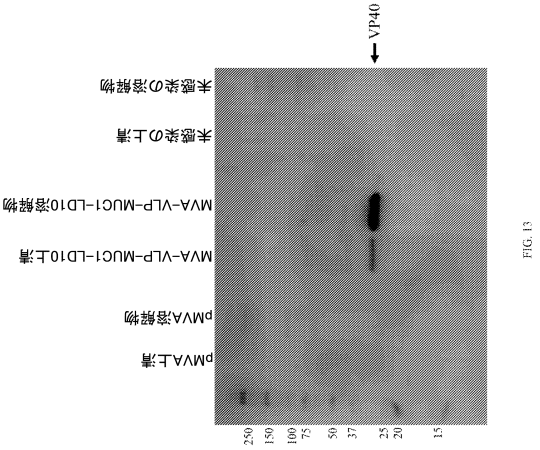


FIG. 13

【図１４】

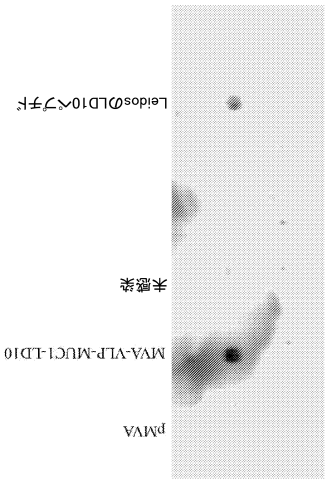


FIG. 14

【図１５】

	MUC1 (PFU)	pMVA (PFU)	%純度
30 PFU	16.7	17	98.24
60 PFU	43.7	46.3	94.38

	MUC1 (PFU)	pMVA (PFU)
30 PFU	16	17
30 PFU	14	14
30 PFU	20	20
60 PFU	52	55
60 PFU	40	42
60 PFU	39	42

FIG. 15

【図１６】

	VP40 (PFU)	pMVA (PFU)	%純度
30 PFU	21	22	95.45
60 PFU	35.7	37.7	94.69

	VP40 (PFU)	pMVA (PFU)
30 PFU	23	23
30 PFU	19	20
30 PFU	21	23
60 PFU	39	41
60 PFU	43	45
60 PFU	25	27

FIG. 16

【配列表】

<u>2024505274000001.app</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/14970

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A61K 35/768, C12N 15/86, C12N 15/87, C12N 15/90 (2022.01)
CPC - C12N 15/86, C07K 14/195, C12N 15/85, C12N 15/87, A61K 38/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2019/199994 A1 (CANCER TARGETING SYSTEM, INC.) 17 October 2019 (17.10.2019) Claim 1, Claim 2, para [0041], [0129], Figures 1A-1C	1, 3/1
Y	YAN et al "Signal sequence is still required in genes downstream of "autocleaving" 2A peptide for secretary or membrane-anchored expression" Analytical Biochemistry 2010, Vol. 399, pp. 144-146; abstract	1, 3/1
Y	US 2018/0339044 A1 (LEIDOS, INC.) 29 November 2018 (29.11.2018) abstract, para [0023], SEQ ID NO: 1	3/1

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
06 June 2022	JUL 01 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Karl Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/14970

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

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

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/14970

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 4-88, 93-145, 149-169, 173-209
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- see extra sheet for Box No. III Observations where unity of invention is lacking -

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 3/1

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/14970

Box No. III. Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1, 3/1, drawn to a recombinant modified vaccinia Ankara (rMVA) viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid, wherein the last cistron comprises a cleavable peptide.

Group II: Claims 2, 3/2, drawn to a rMVA viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid, wherein the last cistron does not comprises a cleavable peptide.

Group III: claims 89-92, drawn to a rMVA viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid, wherein the last cistron comprises an antigenic peptide.

Group IV: claims 146-148, drawn to a rMVA viral vector comprising a first nucleic acid sequence and a second nucleic acid sequence.

Group V: claims 170-172, drawn to a rMVA viral vector comprising a first nucleic acid sequence, a second nucleic acid sequence, and a third nucleic acid sequence.

The inventions listed as Groups I through V do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Groups I, II and III include the special technical feature of a rMVA viral vector comprising a single nucleic acid sequence, which differs from the special technical feature of a rMVA viral vector comprising two nucleic acid sequences, as disclosed by Group IV; and the special technical feature of a rMVA viral vector comprising three nucleic acid sequences, as disclosed by Group V.

Group I includes the special technical feature of a rMVA viral vector wherein the last cistron comprises a cleavable peptide, not required by Groups II and III.

Groups II and III include the special technical feature of a rMVA viral vector wherein the last cistron does not comprise a cleavable peptide, not required by Group I.

Group II includes the special technical feature of a rMVA viral vector wherein the last cistron comprises an Immune Checkpoint Inhibitor Peptide, not required by Group III.

Group III includes the special technical feature of a rMVA viral vector wherein the last cistron comprises an antigenic peptide, not required by Group II.

Common Technical Features

The inventions of Groups I-V share the technical feature of a rMVA viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid, wherein the polycistronic nucleic acid encodes (M)(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide-Cleavable Peptide)x.

The inventions of Groups II, IV and V share the technical feature of a rMVA viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid, wherein the polycistronic nucleic acid encodes an amino acid sequence comprising (M)(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide-Cleavage Peptide)x)(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide).

The inventions of Groups III and IV share the technical feature of a rMVA viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid, wherein the polycistronic nucleic acid encodes an antigenic peptide.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of WO 2019/199994 A1 to Cancer Targeting System, Inc. (hereinafter "CTS") and the article "Signal sequence is still required in genes downstream of "autocleaving" 2A peptide for secretary or membrane-anchored expression" by Yan et al. (hereinafter "Yan") (Analytical Biochemistry 2010, Vol. 399, pp. 144-146).

—continued on next sheet—

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/14970

Box No. III. Observations where unity of invention is lacking

CTS teaches (instant claim 1) a recombinant modified vaccinia Ankara (rMVA) viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid (Claim 1, A method for treating cancer in a subject in need thereof, comprising administering to the subject a nucleic acid construct comprising an expression cassette, wherein the expression cassette comprises a cancer-specific promoter and one or more therapeutic genes.; Claim 2, wherein the cancer-specific promoter is the PEG-3 promoter.; para [0078], Illustrative viral vectors include but are not limited to.....Herpes simplex virus vectors.....vaccinia virus vectors), wherein the polycistronic nucleic acid encodes (M)(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide-Cleavable Peptide)x, wherein x = 2-10, and M is methionine (para [0041], Figures 1A-1C are diagrams of exemplary expression cassettes of the constructs.....Each CpG-free expression cassette is driven by the cancer specific activity of PEG-3. Cassettes are shown including a therapeutic gene, such as.....a checkpoint inhibitor.....X, Y, and Z, and can be any combination of the above. Each is separated by a picornavirus ribosome skipping sequence, such as P2A or T2A and a Furin-GSG site where removal of the 2A sequence is required.; [0129], PD-1 Fc: The extracellular domain (ECD) of human PD-1.....The PD-1 sequence, to be used in the fusion, encompassed residues 25-170 fused to a signal sequence from human IgG heavy chain 5' to the PD-1 coding region (for secretion from the cells). As an example of cloning, a 5' BamHI restriction endonuclease and a P2A ribosome skipping sequence are placed 5' to the signal sequence. The BamHI site is used for ligation of a first gene containing a 3' BamHI site, for example, to the P2A-signal sequence-PDIECD cassette following digestion with BamHI of both products.) (see Figure 1C: the nucleic acid PEG3-X-(2A)-Y(2A)-Z corresponds to (M)(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide-Cleavable Peptide)x, wherein x = 2). Although CTS does not specifically teach N-terminal methionine, however, it is well known to one of ordinary skill in the art that the ATG is the most common start codon, which codes for methionine.

CTS does not specifically teach wherein the Immune Checkpoint Inhibitor Peptide in the first cistron also comprises Secretion Signal Peptide placed 5' of the Immune Checkpoint Inhibitor Peptide. Yan teaches that Secretion Signal Peptide is needed in each cistron to facilitate the secretion of recombinant peptide (abstract, 2A Peptide sequences are now being widely used to construct multicistronic expression vectors. It is suggested that when only the first 2A-linked protein bears a signal sequence, the signal-less protein(s) downstream of 2A can also be translocated into the mammalian endoplasmic reticulum system through a "slipstreaming" mechanism. By using flow cytometry and cell surface CD90 as a localization indicator, we show here that slipstreaming translocation does not occur in mammalian cells; that is, the second protein downstream of 2A still requires signal sequence for secretary or membrane-anchored expression.). Accordingly, it would have been obvious to one of ordinary skill in the art to have placed a Secretion Signal Peptide 5' of the Immune Checkpoint Inhibitor Peptide.

CTS teaches (instant claim 2) an rMVA viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid (Claim 1, Claim 2, para [0078]), wherein the polycistronic nucleic acid encodes ((M)(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide-Cleavable Peptide)x(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide)), wherein x = 1-10, and M is methionine (para [0041], [0129]) (see Figure 1C: the nucleic acid PEG3-X-(2A)-Y(2A)-Z corresponds to (M)(Secretion Signal Peptide-Immune Checkpoint Inhibitor Peptide-Cleavable Peptide)x(Immune Checkpoint Inhibitor Peptide), wherein x = 2). Although CTS does not specifically teach N-terminal methionine, however, it is well known to one of ordinary skill in the art that the ATG is the most common start codon, which codes for methionine.

CTS does not specifically teach wherein the Immune Checkpoint Inhibitor Peptide in the first and third cistron also comprise Secretion Signal Peptide placed 5' of the Immune Checkpoint Inhibitor Peptide. Yan teaches that Secretion Signal Peptide is needed in each cistron to facilitate the secretion of recombinant peptide (abstract, 2A Peptide sequences are now being widely used to construct multicistronic expression vectors. It is suggested that when only the first 2A-linked protein bears a signal sequence, the signal-less protein(s) downstream of 2A can also be translocated into the mammalian endoplasmic reticulum system through a "slipstreaming" mechanism. By using flow cytometry and cell surface CD90 as a localization indicator, we show here that slipstreaming translocation does not occur in mammalian cells; that is, the second protein downstream of 2A still requires signal sequence for secretary or membrane-anchored expression.). Accordingly, it would have been obvious to one of ordinary skill in the art to have placed a Secretion Signal Peptide 5' of the Immune Checkpoint Inhibitor Peptide.

CTS further teaches an rMVA viral vector comprising a heterologous, polycistronic nucleic acid (Claim 1, Claim 2, para [0078]), comprising an antigenic peptide (para [0130], The known TLR5 stimulatory epitopes of flagellin (FliC) from Salmonella typhimurium (Genbank D13689.1) (76 CpG sites removed - SEQ ID NO: 12) were synthesized as codon optimized and CpG-free sequences.).

As said technical feetures were known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I through V therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued):
Claims 4-88, 93-145, 149-169, 173-209 are improper multiple dependent claims because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*31/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/14		
Ａ６１Ｐ	*31/20*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/20		
Ａ６１Ｐ	*31/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/18		
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｐ	*37/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		
Ａ６１Ｋ	*39/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/00	Ｈ	
Ａ６１Ｋ	*39/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/12		
Ａ６１Ｋ	*39/15*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/15		
Ａ６１Ｋ	*39/205*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/205		
Ａ６１Ｋ	*39/215*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/215		
Ａ６１Ｋ	*39/23*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/23		
Ａ６１Ｋ	*39/235*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/235		
Ａ６１Ｋ	*39/275*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/275		
Ａ６１Ｐ	*31/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04		
Ａ６１Ｐ	*31/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/10		
Ａ６１Ｐ	*33/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	33/00		
Ａ６１Ｐ	*33/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	33/04		
Ａ６１Ｋ	*39/39*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/39		
Ｃ１２Ｎ	*15/12*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/12		

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

００ スイート ３８０ シー／オー ゲオバックス インコーポレイテッド

(72)発明者 ドミ アーバン

アメリカ合衆国 ３００８０ ジョージア スマーナ レイク パーク ドライブ １９００ スイート ３８０ シー／オー ゲオバックス インコーポレイテッド

(72)発明者 グティエレス ガブリエル

アメリカ合衆国 ２０１９０ バージニア レストン フリーダム ドライブ １１９５１ シー／オー レイドス インコーポレイテッド

(72)発明者 パンヌッチ ジェイムス

アメリカ合衆国 ２０１９０ バージニア レストン フリーダム ドライブ １１９５１ シー／オー レイドス インコーポレイテッド

(72)発明者 コトラーイャ ヴィナーヤカ

アメリカ合衆国 ２０１９０ バージニア レストン フリーダム ドライブ １１９５１ シー／オー レイドス インコーポレイテッド

(72)発明者 ファレス ティモシー

アメリカ合衆国 ２０１９０ バージニア レストン フリーダム ドライブ １１９５１ シー／オー レイドス インコーポレイテッド

(72)発明者 ブォンテンポ ピーター

アメリカ合衆国 ２０１９０ バージニア レストン フリーダム ドライブ １１９５１ シー／オー レイドス インコーポレイテッド

(72)発明者 ブラウン セシール

アメリカ合衆国 ２０１９０ バージニア レストン フリーダム ドライブ １１９５１ シー／オー レイドス インコーポレイテッド

Ｆターム（参考） 4B065 AA93Y AA95X AB01 BA02 CA43 CA44

Fターム（参考） 4C085 AA03 AA38 BA51 BA56 BA59 BA64 BA69 BA71 BA75 BA77
BA85 BB01 CC08 DD62 EE03 FF24 GG02 GG03 GG04 GG06
4C087 AA01 AA02 BC83 MA02 MA56 MA65 MA66 NA05 NA14 ZB09
ZB26 ZB32 ZB33 ZB35 ZB37 ZB38