



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0057403
(43) 공개일자 2023년04월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/245 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01) A61P 31/22 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/245 (2013.01)
A61K 9/5123 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7009798
(22) 출원일자(국제) 2021년08월25일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년03월22일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/047541
(87) 국제공개번호 WO 2022/046898
국제공개일자 2022년03월03일
(30) 우선권주장
63/070,134 2020년08월25일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
모더나티엑스, 인크.
미국 02139 매사추세츠주 케임브리지 테크놀로지 스
스퀘어 200
(72) 발명자
크라마르치크, 잭, 에프.
미국 02139 매사추세츠 케임브리지 테크놀로지 스
스퀘어 200
해셋, 김벌리
미국 02139 매사추세츠 케임브리지 테크놀로지 스
스퀘어 200
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

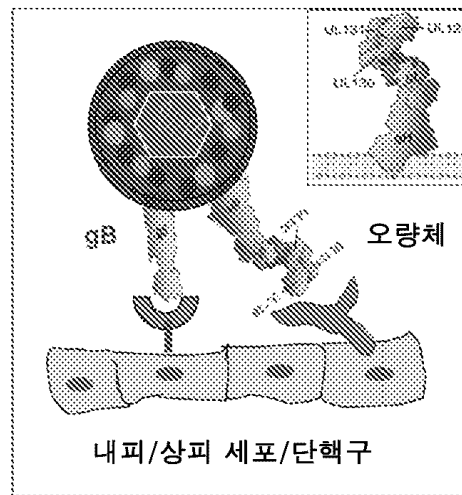
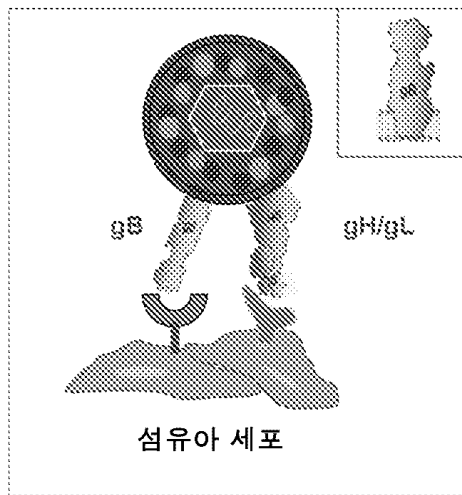
전체 청구항 수 : 총 69 항

(54) 발명의 명칭 **사람 시토메갈로바이러스 백신**

(57) 요약

본원 개시내용의 양상은 mRNA 백신을 투여함에 의해 대상체에서 사람 시토메갈로바이러스(hCMV)에 대한 항원 특
이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61P 31/22 (2018.01)
A61K 2039/53 (2013.01)
A61K 2039/55555 (2013.01)
A61K 2039/55566 (2013.01)
A61K 2039/6018 (2013.01)
C12N 2710/16134 (2013.01)

(72) 발명자

존, 시누

미국 02138 매사추세츠 케임브리지 콩코드 애비뉴
312

화이트, 필

미국 02139 매사추세츠 케임브리지 테크놀로지 스
퀘어 200

카르피, 안드레아

미국 02139 매사추세츠 케임브리지 테크놀로지 스
퀘어 200

(30) 우선권주장

63/079,421 2020년09월16일 미국(US)

63/136,117 2021년01월11일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

사람 시토크갈로바이러스(hCMV) 면역원성 조성물로서, (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하며, 여기서:

면역원성 조성물 내 (a):(f)의 몰비가 약 1:1이고;

면역원성 조성물 내 (b):(c):(d):(e)의 몰비가 약 1:1:1:1이고;

면역원성 조성물 내 (a) 및 (f) 각각 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비가 약 1.5:1 내지 2:1인, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비가 약 2:1:1:1:1:2인, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 환자에게 투여하는데 사용할때까지 액체 제형으로 유지되는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 4

청구항 1 또는 2에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 환자에게 투여하는데 사용할 때까지 동결건조된 제형으로 유지되는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 저장될 때 적어도 3개월 동안 안정한, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 6

청구항 5에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 저장될 때 적어도 12개월 내지 18개월 동안 안정한, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 7

청구항 6에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 저장될 때 적어도 24개월 동안 안정한, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 약 5°C의 온도에서 저장될 때 적어도 3개월 동안 안정한, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 약 5°C의 온도에서 저장될 때 적어도 12개월 내지 18개월 동안 안

정한, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 약 5℃의 온도에서 저장될 때 적어도 24개월 동안 안정적인, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 11

청구항 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성을 갖는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 0℃ 초과 내지 10℃ 이하의 온도에서 적어도 3개월 동안 저장될 때 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성을 갖는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 13

청구항 12에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 0℃ 초과 내지 10℃ 이하의 온도에서 적어도 24개월 동안 저장될 때 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성을 갖는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 14

청구항 1 내지 13 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 오량체 발현을 갖는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 15

청구항 1 내지 14 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 오량체 항체 수준을 유도하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 16

청구항 1 내지 15 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 gB 발현을 갖는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 17

청구항 1 내지 16 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 gB 항체 수준을 유도하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 18

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드가 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하기에 충분한 양으로 적어도 하나의 지질 나노입자로 제형화되는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 19

청구항 1 내지 18 중 어느 한 항에 있어서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드가 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하기에 충분한 양으로 적어도 하나의 지질 나노입자로 제형화되고, 동결건조되는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 20

청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 있어서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드 중 적어도 하나가 화학적 변형을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 21

청구항 20에 있어서, mRNA 폴리뉴클레오타이드 (a)-(f)의 개방 관독 프레임에서 우라실의 적어도 80%가 N1-메틸-슈도우리딘 또는 N1-에틸-슈도우리딘으로부터 선택된 화학적 변형을 갖는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 22

청구항 21에 있어서, 화학적 변형이 우라실의 탄소-5 위치에 있는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 23

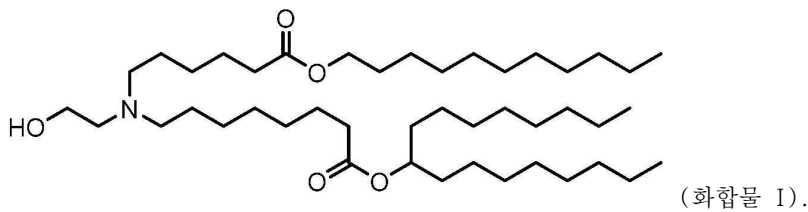
청구항 1 내지 22 중 어느 한 항에 있어서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드 중 적어도 하나가 적어도 하나의 5' 말단 캡, 7mG(5')ppp(5')N1mpNp를 추가로 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 24

제18항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 나노입자가 이온화 가능한 아미노 지질; 콜레스테롤; 1,2-디스테인올-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC); 및 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤, 메톡시폴리에틸렌글리콜(DMG-PEG)을 포함하는 지질의 혼합물을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 25

청구항 24에 있어서, 이온화 가능한 아미노 지질이 화합물 I를 포함하는, hCMV 면역원성 조성물:



청구항 26

청구항 24 또는 25에 있어서, 지질 나노입자가 20-60 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 25-55 mol%의 콜레스테롤, 5-25 mol%의 DSPC, 및 0.5-15 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 지질 나노입자가 45-55 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 35-40 mol%의 콜레스테롤, 5-15 mol%의 DSPC, 및 1-2 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 28

청구항 27에 있어서, 지질 나노입자가 50 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 10 mol%의 DSPC, 및 1.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 29

청구항 27에 있어서, 지질 나노입자가 49 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 10 mol%의 DSPC, 및 2.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 30

청구항 27에 있어서, 지질 나노입자가 48 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 11 mol%의 DSPC, 및 2.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 31

청구항 27에 있어서, 지질 나노입자가 47 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 11.5

mol%의 DSPC, 및 3 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 32

청구항 1 내지 31 중 어느 한 항에 있어서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비가 약 2:1:1:1:1:2이고, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 10%, 20%, 30% 40% 또는 50% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 33

청구항 1 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비가 약 2:1:1:1:1:2이고, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 30% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 34

청구항 1 내지 33 중 어느 한 항에 있어서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비가 약 2:1:1:1:1:2이고, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 40% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 35

청구항 1 내지 34 중 어느 한 항에 있어서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비가 약 2:1:1:1:1:2이고, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 50% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 36

청구항 1 내지 35 중 어느 한 항에 있어서, hCMV gH 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 5의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV gL 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 6의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL128 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 2의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL130 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 3의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL131A 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 4의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 1의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 37

청구항 36에 있어서, hCMV gH 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 5의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV gL 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 6의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL128 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 2의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL130 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 3의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL131A 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 4의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 단백질을 암호화하는 mRNA가 서열번호 1의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 38

청구항 1 내지 37 중 어느 한 항에 있어서, hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임이 서열번호 11의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임이 서열번호 12의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임이 서열번호 8의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임이 서열번호 9의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임이 서열번호 10의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임이 서열번호 7의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 39

청구항 38에 있어서, hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임이 서열번호 11을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임이 서열번호 12를 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임이 서열번호 8을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임이 서열번호 9를 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임이 서열번호 10을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임이 서열번호 7의 서열을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 40

청구항 1 내지 39 중 어느 한 항에 있어서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드 각각이 폴리A 테일을 추가로 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 41

청구항 40에 있어서, 폴리A 테일이 100개 뉴클레오타이드 길이인, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 42

청구항 1 내지 41 중 어느 한 항에 있어서, hCMV gH 폴리펩타이드가 서열번호 19의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드가 서열번호 20의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드가 서열번호 16의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드가 서열번호 17의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드가 서열번호 18의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드가 서열번호 15의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 43

청구항 42에 있어서, hCMV gH 폴리펩타이드가 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드가 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드가 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드가 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드가 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드가 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 44

대상체에서 사람 시토메갈로바이러스(hCMV)에 대한 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법으로서, 제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 45

청구항 44에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 근육내 주사를 통해 투여되는, 방법.

청구항 46

청구항 44 또는 45에 있어서, 사람 대상체가 hCMV mRNA 백신을 투여 받기 전에 CMV 혈청양성인, 방법.

청구항 47

청구항 44 또는 45에 있어서, 사람 대상체가 hCMV mRNA 백신을 투여 받기 전에 CMV 혈청음성인, 방법.

청구항 48

청구항 44 내지 47 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 25 μ g - 300 μ g mRNA의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 49

청구항 48에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 50 μ g - 150 μ g mRNA의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 50

청구항 49에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 50 μ g의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 51

청구항 49에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 100 μ g의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 52

청구항 49에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 150 μ g의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 53

청구항 44 내지 52 중 어느 한 항에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 적어도 1회, 적어도 2회 또는 적어도 3회 투여되는, 방법.

청구항 54

청구항 53에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 1차 면역화에 이어서 하나의 부스터 면역화로 투여되는, 방법.

청구항 55

청구항 53에 있어서, hCMV 면역원성 조성물이 1차 면역화에 이어서 2회 부스터 면역화로 투여되는, 방법.

청구항 56

청구항 44 내지 55 중 어느 한 항에 있어서, 유효량이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 상피 세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가를 생성하기에 충분한, 방법.

청구항 57

청구항 44 내지 56 중 어느 한 항에 있어서, 유효량이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 섬유아세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가를 생성하기에 충분한, 방법.

청구항 58

청구항 44 내지 57 중 어느 한 항에 있어서, 유효량이 면역화 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 상피 세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가 및 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 1회 이상의 시점에서 기준선 후/기준선 역가의 연합 기하 평균 비율(GMR)을 생성하기에 충분한, 방법.

청구항 59

청구항 44 내지 58 중 어느 한 항에 있어서, 유효량이 면역화 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 섬유아세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가 및 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 1회 이상의 시점에서 기준선 후/기준선 역가의 연합 기하 평균 비율(GMR)을 생성하기에 충분한, 방법.

청구항 60

청구항 44 내지 59 중 어느 한 항에 있어서, 상피 세포 감염에 대한 기준선 보다 중화 항체(nAb)가 ≥ 2 배, ≥ 3 배, ≥ 4 배, ≥ 5 배, ≥ 6 배, ≥ 7 배, ≥ 8 배, ≥ 9 배, ≥ 10 배, ≥ 11 배, ≥ 12 배, 또는 ≥ 13 배 증가된 사람 대상체의 비율이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%인, 방법.

청구항 61

청구항 44 내지 60 중 어느 한 항에 있어서, 섬유아세포 감염에 대한 기준선 보다 중화 항체(nAb)가 ≥ 2 배 증

가한 사람 대상체의 비율이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%인, 방법.

청구항 62

대상체에서 사람 시토메갈로바이러스 (hCMV)에 대해 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법으로서, (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고,

hCMV 면역원성 조성물이 25 µg - 300 µg mRNA 용량으로 투여되고,

상피 세포 감염에 대한 기준선 보다 중화 항체(nAb)가 ≥ 2배, ≥ 3배, ≥ 4배, ≥ 5배, ≥ 6배, ≥ 7배, ≥ 8배, ≥ 9배, ≥ 10배, ≥ 11배, ≥ 12배, 또는 ≥ 13배 증가된 사람 대상체의 비율이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%인, 방법.

청구항 63

대상체에서 사람 시토메갈로바이러스 (hCMV)에 대해 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법으로서, (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고,

hCMV 면역원성 조성물이 25 µg - 300 µg mRNA 용량으로 투여되고,

섬유아세포 감염에 대한 기준선 보다 중화 항체(nAb)가 ≥ 2배 증가한 사람 대상체의 비율이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%인, 방법.

청구항 64

대상체에서 사람 시토메갈로바이러스 (hCMV)에 대해 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법으로서, (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고,

hCMV 면역원성 조성물이 25 µg - 300 µg mRNA 용량으로 투여되고,

기준선 보다 항-오량체 결합 항체(bAb)가 ≥ 2배, ≥ 3배, ≥ 4배, ≥ 5배, ≥ 6배, ≥ 7배, ≥ 8배, ≥ 9배, 또는 ≥ 10배 증가된 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%인, 방법.

청구항 65

대상체에서 사람 시토메갈로바이러스 (hCMV)에 대해 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법으로서, (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고,

hCMV 면역원성 조성물이 25 µg - 300 µg mRNA 용량으로 투여되고,

기준선 보다 항-gB 결합 항체(Ab)가 ≥ 2배 증가한 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%인, 방법.

청구항 66

청구항 1 내지 43 중 어느 한 항에 있어서, 사람 대상체에서 측정된 상피 세포 감염에 대한 중화 항체의 기하 평균 비율(GMR)이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 약 8-14인, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 67

청구항 1 내지 43 또는 66 중 어느 한 항에 있어서, 사람 대상체에서 항-오량체 결합 항체(bAb)의 기하 평균 비율(GMR)이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 약 6-10인, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 68

청구항 1 내지 43 또는 66 내지 67 중 어느 한 항에 있어서, 사람 대상체에서 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체의 기하 평균 비율(GMR)이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 약 2인, hCMV 면역원성 조성물.

청구항 69

청구항 1 내지 43 또는 66 내지 68 중 어느 한 항에 있어서, 사람 대상체에서 항-gB 결합 항체(Ab)의 기하 평균 비율(GMR)이 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 약 2인, hCMV 면역원성 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하의 "사람 시토메갈로바이러스 백신(Human Cytomegalovirus Vaccine)"이란 발명의 명칭의 2020년 8월 25일자로 출원된 미국 가출원 번호 제63/070,134호, "사람 시토메갈로바이러스 백신"이란 발명의 명칭의 2020년 9월 16일자로 출원된 미국 가출원 제63/079,421호 및 "사람 시토메갈로바이러스 백신"이란 발명의 명칭의 2021년 1월 11일자로 출원된 미국 가출원 번호 제63/136,117호의 우선권을 주장하고 이들 각각은 이의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

배경 기술

[0003] 시토메갈로바이러스(CMV)는 바이러스의 헤르페스비리대 과의 구성원이다. CMV는 주로 감염성 점막 분비물 또는 자궁 내 접촉을 통해 획득되며, 1차 감염 후 잠복기를 확립한다. 전반적으로 미국의 CMV 혈청 유병률은 50.4%이지만 자원이 부족한 지역에서는 60% 내지 100%의 유병률이 보고되었다.

[0004] CMV는 가장 흔한 선천성 바이러스 감염으로, 미국에서 매년 30,000 내지 40,000명의 영아(출생아의 0.6% 내지 2%)에게 영향을 미친다. 임신 초기 3개월의 선천성 CMV 감염이 가장 부작용의 임신 결과와 관련이 있지만 증상이 있는 선천성 CMV는 임신 중 언제라도 감염으로부터 비롯될 수 있다. 임신 중 1차 CMV 감염 산모의 대략 30 내지 35%가 바이러스를 태아에게 전염시키고; 이들 신생아의 12%는 증상이 있는 질환을 갖고 대략 4%는 생후 1년 안에 사망한다. 또한 출생 시 증상이 있는 CMV 감염 영아의 대략 절반은 지적 장애, 감각신경성 청력 상실

및 발달 지연과 같은 후기 합병증이 발생한다. 선천성 CMV 감염이 소아 건강에 미치는 중대한 영향으로 인해 2017 의학 기관(Institute of Medicine) 보고서는 선천성 CMV 감염 예방을 위한 CMV 백신 개발을 최우선 순위 범주에 위치시킨다.

[0005] 고형 장기 또는 조혈 줄기 세포 이식 후 만성 면역억제 의약을 복용하는 개체에서, 이식 거부 또는 말단 장기 질환으로 이어지는 CMV 감염은 높은 사망률과 관련이 있다. 미국에서는 매년 대략 30,000명의 성인이 고형 장기 이식을 받고 22,000명이 조혈 세포 이식을 받는다. 전반적으로 항바이러스 예방요법을 받는 고형 장기 이식의 8% 내지 40% 및 조혈 세포 이식 환자의 3% 내지 6%에서 CMV로 인한 이식 후 합병증이 발생한다. 이식 수용자에서 CMV 감염의 주요 합병증은 이식된 조직의 급성 또는 만성 거부 및 대장염, 간염 및 뇌염과 같은 침습성 질환을 포함한다.

발명의 내용

[0006] 상당한 미충족 의학적 요구는 선천성 CMV 감염 예방을 위한 안전하고 효과적인 방법이다. 충족되지 않은 또 다른 의학적 요구는 고형 장기 또는 조혈 줄기 세포 이식 후 만성 면역억제 의약을 복용하는 개체에서 CMV 감염 예방이다.

[0007] 전령 리보핵산(mRNA) 기반 백신 플랫폼은 표적 바이러스 단백질 또는 항원이 지질 나노입자로 제형화된 면역원성 조성물의 전달로부터 상응하는 합성 바이러스 mRNA의 전달 및 세포 흡수에 의해 생체 내에서 생성될 수 있다는 원리 및 관찰에 기초하여 개발되었다. 이어서 mRNA는 세포내 리보솜 해독을 거쳐 합성 바이러스 mRNA를 포함하는 백신 면역원성 조성물에 의해 암호화된 바이러스 단백질 항원을 내인성으로 발현한다. 이들 mRNA 기반 백신은 세포핵에 진입하거나 사람 계놈과 상호 작용하지 않고 복제되지 않으며 일시적으로 발현된다. mRNA 백신 및 면역원성 조성물은 야생형 바이러스 감염을 정확히 모방하고 CMV와 같은 감염성 병원체에 대해 고도로 표적화된 면역 반응을 유도할 수 있는 방식으로 구조적으로 온전하고 적절하게 폴딩된 사람 글리코실화된 바이러스 당단백질 및 단백질 항원의 내인성 생산을 자극하는 기전을 제공한다.

[0008] 본원 개시내용의 양상은 (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 hCMV 면역원성 조성물에 관한 것이고, 여기서:

[0009] 면역원성 조성물 내의 (a):(f)의 몰비는 약 1:1이고; 면역원성 조성물 내 (b):(c):(d):(e)의 몰비는 약 1:1:1:1이고; 면역원성 조성물 내에서 각각의 (a) 및 (f) 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비는 약 1.5:1 내지 2:1이다.

[0010] 일부 구현예에서, (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비는 약 2:1:1:1:1:2이다.

[0011] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 환자에게 투여할 때까지 액체 제형으로 유지된다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 환자에게 투여할 때까지 동결건조된 제형으로 유지된다.

[0012] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 저장될 때 적어도 3개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 저장될 때 적어도 12개월 내지 18개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 저장될 때 적어도 24개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 약 5°C의 온도에서 저장될 때 적어도 3개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 약 5°C의 온도에서 저장될 때 적어도 12개월 내지 18개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 약 5°C의 온도에서 저장될 때 적어도 24개월 동안 안정하다.

[0013] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성을 갖는다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 적어도 3개월 동안 저장될 때 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성을 갖는다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 0°C 초과 내지 10°C 이하의 온도에서 적어도 24개월 동안 저장될 때 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성을 갖

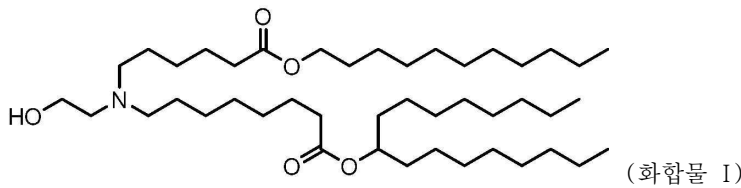
는다.

[0014] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 오량체 발현을 갖는다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 오량체 항체 수준을 유도한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 gB 발현을 갖는다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 (a)-(f)가 대략 균등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 gB 항체 수준을 유도한다.

[0015] 일부 구현예에서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원-특이적 면역 반응을 유도하기에 충분한 양으로 적어도 하나의 지질 나노입자로 제형화된다. 일부 구현예에서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원-특이적 면역 반응을 유도하기에 충분한 양으로 적어도 하나의 지질 나노입자로 제형화되고, 동결건조된다.

[0016] 일부 구현예에서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 화학적 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, mRNA 폴리뉴클레오타이드 (a)-(f)의 개방 판독 프레임에서 우라실의 적어도 80%는 N1-메틸-슈도우리딘 또는 N1-에틸-슈도우리딘으로부터 선택된 화학적 변형을 갖는다. 일부 구현예에서, 화학적 변형은 우라실의 탄소-5 위치에 있다. 일부 구현예에서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 추가로 적어도 하나의 5'-말단 캡, 7mG(5')ppp(5')NmpNp를 포함한다.

[0017] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 이온화 가능한 아미노 지질; 콜레스테롤; 1,2-디스테아로일-sn-글리세롤-3-포스포콜린(DSPC); 및 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤, 메톡시폴리에틸렌글리콜(DMG-PEG)을 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 이온화 가능한 아미노 지질은 화합물 I를 포함한다:



[0018] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 20-60 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 25-55 mol%의 콜레스테롤, 5-25 mol%의 DSPC, 및 0.5-15 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 45-55 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 35-40 mol%의 콜레스테롤, 5-15 mol%의 DSPC, 및 1-2 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 50 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 10 mol%의 DSPC, 및 1.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 49 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 10 mol%의 DSPC, 및 2.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 48 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 11 mol%의 DSPC, 및 2.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 47 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 11.5 mol%의 DSPC, 및 3 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다.

[0020] 일부 구현예에서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비는 약 2:1:1:1:1:2이고 mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 10%, 20%, 30% 40% 또는 50% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 한다. 일부 구현예에서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비는 약 2:1:1:1:1:2이고 mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 30% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 한다. 일부 구현예에서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비는 약 2:1:1:1:1:2이고 mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 40% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 한다. 일부 구현예에서, mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비는 약 2:1:1:1:1:2이고 mRNA (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 균등한 질량이 투여되는 경우와 비교하여 50% 미만의 지질이 환자에게 투여되도록 한다.

[0021] 일부 구현예에서, hCMV gH 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 5의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV gL 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 6의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL128 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 2의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포

함하고, hCMV UL130 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 3의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL131A 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 4의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 1의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, hCMV gH 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 5의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV gL 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 6의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL128 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 2의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL130 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 3의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, hCMV UL131A 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 4의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 1의 서열의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0023] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 11의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 12의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 8의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 9의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 10의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 7의 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0024] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 11을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 12를 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 8을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 9를 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 10을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임은 서열번호 7의 서열을 포함한다.

[0025] 일부 구현예에서, (a)-(f)의 mRNA 폴리뉴클레오타이드 각각은 폴리A 테일을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리A 테일은 길이가 100개 뉴클레오타이드이다.

[0026] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드는 서열번호 20의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드는 서열번호 16의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드는 서열번호 17의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드는 서열번호 18의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드는 서열번호 15의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV gL 폴리펩타이드는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL128 폴리펩타이드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL130 폴리펩타이드는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, hCMV UL131A 폴리펩타이드는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 hCMV gB 폴리펩타이드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다.

[0028] 본원 개시내용의 양상은 대상체에서 hCMV에 대한 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 본원에 기재된 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함한다.

[0029] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 근육내 주사를 통해 투여된다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 hCMV mRNA 백신을 투여 받기 전에 CMV 혈청양성이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 hCMV mRNA 백신을 투여 받기 전에 CMV 혈청음성이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 25 µg - 300 µg mRNA 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 50 µg - 150 µg mRNA 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 50 µg 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 100 µg 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 150 µg 용량으로 투여된다.

[0030] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 적어도 1회, 적어도 2회, 또는 적어도 3회 투여된다. 일부 구현예에

서, hCMV 면역원성 조성물은 1차 면역화에 이어서 하나의 부스터 면역화로 투여된다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물은 1차 면역화에 이어서 2회 부스터 면역화로 투여된다.

[0031] 일부 구현예에서, 유효량은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 상피 세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가를 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 유효량은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 섬유아세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가를 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 유효량은 면역화 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일째에 상피 세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가 및 상기 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 1회 이상의 시점에서 기준선 후/기준선 역가의 연합 기하 평균 비율 (GMR)을 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 유효량은 면역화 후 임의의 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 섬유아세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가 및 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 1회 이상의 시점에서 기준선 후/기준선 역가의 연합 기하 평균 비율(GMR)을 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 상피 세포 감염에 대한 기준선에 비해 중화 항체 (nAb)가 ≥ 2 배, ≥ 3 배 또는 ≥ 4 배 증가한 참가자의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 1회 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 섬유아세포 감염에 대한 기준선에 비해 중화 항체(nAb)가 ≥ 2 -배, ≥ 3 배 또는 ≥ 4 배 증가한 참가자의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%이다.

[0032] 본원 개시내용의 양상은 대상체에서 사람 시토메갈로바이러스 (hCMV)에 대한 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 hCMV 면역원성 조성물은 25 μ g - 300 μ g mRNA의 용량으로 투여되고, 여기서 상피 세포 감염에 대한 기준선 대비 중화 항체(nAb)가 ≥ 2 배, ≥ 3 배, ≥ 4 배, ≥ 5 배, ≥ 6 배, ≥ 7 배, ≥ 8 배, ≥ 9 배, ≥ 10 배, ≥ 11 배, ≥ 12 배 또는 ≥ 13 배 증가된 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%이다.

[0033] 본원 개시내용의 추가의 양상은 대상체에서 사람 시토메갈로바이러스 (hCMV)에 대한 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 hCMV 면역원성 조성물은 25 μ g - 300 μ g mRNA의 용량으로 투여되고, 여기서 섬유아세포 감염에 대한 기준선 대비 중화 항체(nAb)가 ≥ 2 배 증가된 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%이다.

[0034] 본원 개시내용의 양상은 대상체에서 사람 시토메갈로바이러스 (hCMV)에 대한 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 hCMV 면역원성 조성물은 25 μ g - 300 μ g mRNA의

용량으로 투여되고, 여기서 기준선 대비 항-오량체 결합 항체(bAb)가 ≥ 2 배, ≥ 3 배, ≥ 4 배, ≥ 5 배, ≥ 6 배, ≥ 7 배, ≥ 8 배, ≥ 9 배 또는 ≥ 10 배 증가된 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%이다.

[0035] 본원 개시내용의 추가의 양상은 대상체에서 사람 시토크갈로바이러스 (hCMV)에 대한 항원 특이적 면역 반응을 생성하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임 을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임 을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임 을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임 을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임 을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임 을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물을 사람 대상체에게 투여하여 사람 대상체에서 hCMV 또는 hCMV 항원에 대한 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 hCMV 면역원성 조성물은 25 μ g - 300 μ g mRNA의 용량으로 투여되고, 여기서 기준선 대비 항-gB 결합 항체(Ab)가 ≥ 2 배 증가된 사람 대상체의 비율 은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%이다.

[0036] 일부 구현예에서, 사람 대상체에서 측정된 상피 세포 감염에 대한 중화 항체의 기하 평균 비율(GMR)은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 한 시점에서 약 8-14이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체에서 항-오량체 결합 항체 (bAb)의 기하 평균 비율(GMR)은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 한 시점에서 약 6-10이다.

[0037] 일부 구현예에서, 사람 대상체에서 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체의 기하 평균 비율(GMR)은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 한 시점에서 약 2이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체에서 항-gB 결합 항체(Ab)의 기하 평균 비율(GMR)은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 한 시점에서 약 2이다.

[0038] 본 발명의 각각의 제한은 본 발명의 다양한 구현예를 포함할 수 있다. 따라서, 임의의 하나의 요소 또는 요소들 의 조합을 포함하는 본 발명의 각각의 제한은 본 발명의 각 양상에 포함될 수 있는 것으로 예상된다. 본 발명은 이하의 설명에 기재되거나 도면에 예시된 구성요소의 작제 및 배열의 세부 사항에 대한 적용에 제한되지 않는다. 본 발명은 다른 구현예가 가능하고 다양한 방식으로 실시되거나 수행될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0039] 첨부된 도면은 스케일에 맞게 도시되지 않았다. 도면에서, 다양한 도면에 도시된 각각의 동일하거나 거의 동일한 구성요소는 동일한 번호로 나타난다. 명확성을 위해 모든 도면에 모든 구성 요소에 표시될 수 없다. 도면에서,

도 1a 및 1b는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물이 바이러스 항원 gB 및 오량체(gH/gL/UL128/UL130/UL131 A)를 암호화하는 mRNA를 포함한다는 것을 보여주는 도식을 제공한다. CMV 항원은 별개의 당단백질과 관련이 있다. gB 및 오량체는 중화 항체의 중요한 표적이다. 혈청양성 개체에서 대부분의 중화 항체는 오량체에 대한 것이다.

도 2a 및 2b는 gB, gH, gL, UL128, UL130 및 UL131A를 암호화하는 mRNA를 포함하는 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, hCMV mRNA 백신) 내의 성분을 나타내는 그래프를 제공한다. 도 2a는 백신의 각각의 mRNA 성분의 분해율(k_{관찰된})이 mRNA 작제물의 길이와 상관관계가 있음을 보여주는 그래프를 제공한다. 도 2a에 나타난 바와 같이, 보다 높은 분해율은 보다 큰 mRNA 분자 gH 및 gB와 관련이 있었다. 도 2b는 hCMV mRNA를 포함하는 면역원성 조성물의 100 μ g RNA 용량 중 각 mRNA 성분의 양을 보여주고, 여기서 mRNA 성분은 동일한 질량(좌측 컬럼)에 기초하여 또는 미리 지정된 몰비(우측 컬럼)에 기초하여 포함되었다. 그 양은 질량(μ g)과 몰(나노몰)의 두 가지 방식으로 나타난다.

도 3a-3b는 각각의 gL, UL128, UL130 및 UL131A에 대한 2X gH 및 2X gB를 포함하는 hCMV mRNA 성분의 몰비가 시험관내에서 hCMV 오량체 및 hCMV gB의 발현 수준을 증가시키고(Emax에 의해 지적된 바와 같이) hCMV mRNA 구성요소에 대한 동일한 질량 비율의 사용에 비해 hCMV 오량체 및 hCMV gB의 상대적 효능을 증가시킴을 보여주는 그래프를 제공한다.

도 4는 몰 함량에 기초하여 디자인된 제형이 상당히 적은 gL, UL130, UL128 및 UL131을 투여하는 경우에도 마우스에서 강한 항체 반응을 유지할 수 있음을 보여주는 그래프를 제공한다. 상단 패널에서 2개 제형(그룹 8 및 그

그룹 1)의 함량은 질량(mg) 및 몰(피코몰)로 나타내고 막대의 높이는 각 mRNA의 상대적인 양을 반영한다. 그룹 1에서, gH의 함량은 오량체를 생성하는데 제한 인자(투여 당 0.6 피코몰)이다. 그룹 8에서 gL, UL130, UL128 및 UL131 각각의 함량도 투여 당 0.6 피코몰이 되도록 디자인하여 오량체 용량을 몰 기준으로 그룹 1과 일치시켰다. 하단 패널에서 오량체 특이적 항체 반응은 그룹 8과 1에 대한 총 질량 용량의 함수로 그래프로 나타낸다. 반응 수준은 유사하지만, 그룹 8은 보다 낮은 총 용량(2.3 mg 대 3 mg)을 사용하고 gL, UL130, UL128 및 UL131을 상당히 적게 사용하였다. 추가로, gB는 그룹 1과 상대적으로 그룹 8에서 1.2X이다.

도 5는 각각의 hCMV 오량체 성분의 몰 비율을 개별적으로 증강시키는 항-오량체 IgG 반응에 대한 효과를 나타내는 그래프를 제공한다. 상기 결과는 과도한 gH가 마우스에서 항-오량체 IgG를 증가시킨다는 것을 보여준다.

도 6a-6d는 동일한 질량 비율(Lot #4)과 비교하여 mRNA 성분의 특정 몰 비율을 기초로 3개의 제형(Lot #1, 2 및 3)에 대해 마우스에서 항-gB 항체 및 항-오량체 항체의 용량 반응을 보여주는 그래프를 제공한다. 도 6a는 hCMV mRNA 번역원성 조성물이 동일한 질량 비율 또는 제안된 몰 비율에 기초하는 경우 μg 및 피코몰 단위의 각 mRNA 분자의 양을 나타낸다. 도 6b는 일련의 hCMV mRNA 번역원성 조성물에서 상대 몰 함량이 조절됨에 따라 항-gB 항체의 용량 반응을 보여준다. 증가된 항체 반응은 증가된 gB 함량으로 관찰된다. 도 6c는 일련의 hCMV mRNA 번역원성 조성물에서 상대 몰 함량이 조절됨에 따라 항-오량체 항체의 용량 반응을 보여준다. 증가된 항체 반응은 증가된 gB 함량으로 관찰된다. 도 6d는 일련의 hCMV mRNA 번역원성 조성물에서 상대 몰 함량이 조절됨에 따라 항-오량체 항체의 용량 반응을 보여준다. Lot #1, #2 및 #3에서 UL131A는 제한 오량체 성분이고, 이러한 그룹에서 증가된 항체 반응은 증가된 UL131A 함량으로 관찰된다. Lot #4에서, gH는 제한 오량체 성분이고, UL131A는 상당한 과량으로 투여하였다. Lot #4에서 오량체 제한 gH의 몰 함량은 Lot #1에서 오량체 제한 UL131A의 몰 함량과 동일하지만, Lot #4의 항체 반응은 Lot #1의 항체 반응보다 적고, 이는 과량의 gH가 항체 반응을 최대화하는 데 유리함을 지적한다. hCMV 오량체는 다른 오량체 폴리펩타이드가 조립될 수 있는 기본 구성 요소로서 gH와 함께 형성된다. 따라서, gH가 부재인 경우, 오량체 형성은 방해된다.

도 7은 mRNA 성분이 mRNA 성분의 특정 몰 비율(상단 패널) 또는 성분의 동일한 질량(하단 패널)에 기초하여 제형화되는 hCMV mRNA 백신 내의 성분의 시간 경과에 따른 이론적 불활성화를 나타내는 그래프를 제공한다. 불활성화 비율은 도 2a에 나타난 비율-대-길이 관계에 기초한다. 상단 패널은 다른 mRNA 구성요소에 비해 2X gB 및 2X gH를 갖는 hCMV mRNA 백신에서 gH 및 gB가 적어도 36개월까지 과잉으로 유지될 것으로 예측된다는 것을 밝힌다. 하단 패널은 동일 질량 제형에서 gH 및 gB가 시간이 경과됨에 따라 불활성화가 발생하기 때문에 동일한 질량 비율로 유지되지 않는다는 것을 보여준다.

도 8a-8b는 몰 기반 X 축 상으로 플롯팅된 단계 I 임상 시험에서 hCMV mRNA 백신의 사람에서 중화 항체 반응을 보여주는 그래프를 제공한다. 플롯팅된 값은 mRNA 구성요소가 동일한 질량을 기준으로 제형화된 hCMV 백신을 사용했지만 여기서는 계산된 피코몰로 나타낸다. X축의 화살표는 X축 상에서 마이크로그램을 기반으로 한 대안적 제형이 증첩되는 위치를 입증하기 위해 제공된다. 상기 X축을 사용하면 2개의 다르게 디자인된 제형을 동일한 연속 축에 플롯팅되도록 하여 후속 시도를 위한 용량 선택을 가능하게 하는 반면, 총 질량 용량(mg)에 대한 플로팅은 2개 제형 사이에 불연속적인 용량 반응 곡선을 생성한다. 용량-상승 단계 A 및 B 및 용량 선택 단계 B(30, 90, 180 μg)는 개별 대상으로서 그래프로 나타낸다. 용량 선택 단계 C(300 μg) 데이터는 연구가 맹검 해제될 때까지 GMT \pm 95% 신뢰 구간으로서 그래프로 나타낸다. 도 8a는 상피 세포 감염에 대한 중화 항체(nAb)(주로 오량체 특이적 nAb)를 보여준다. 도 8b는 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체(nAb)(주로 gB 특이적 nAb)를 보여준다.

도 9a-9b는 hCMV 백신의 바이알이 만료될 때까지 효능이 있음을 보장하기 위한 공칭 용량 선택을 보여주는 그래프를 제공한다. 도 9a는 상피 세포 감염에 대한 중화 항체(nAb)를 보여준다. 도 9b는 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체(nAb)를 보여준다. 나타난 정규 가우시안 분포는 순도를 기반으로 한 배치의 이론적인 분포이다.

도 10은 시간 경과에 따른 gB 순도 퍼센트를 기준으로 5°C에서 hCMV 백신의 22개 배치의 모델링된 분해를 보여주는 그래프를 제공한다. 데이터는 1차 동역학을 입증한다.

도 11은 다양한 수준의 gB 순도에서 마우스에서 항-오량체 반응(상단 패널) 및 항-gB 반응(하단 패널)을 나타내는 그래프를 제공한다. 그래프는 약 26개월에 gB 순도가 49% 아래로 떨어질 때까지 오량체 및 gB 둘 다에 대한 면역 반응이 영향을 받지 않았음을 입증한다. 이러한 결과는 gB mRNA가 시간 경과에 따른 배치 효능에 대한 단일 지표로서 작용할 수 있음을 지적하였다.

도 12는 단계 II 임상 시험 연구 디자인의 개요를 도시하는 도식을 제공한다. 약어: IST, 내부 안전성 팀;

mRNA, 전령 리보핵산.

도 13은 생리식염수(N. 식염수)로 제조된 동결건조 제형 용량에 대한 높은 희석으로 pH 변화를 나타내는 그래프를 제공한다. 상업용 USP 생리식염수는 pH 범위가 4.5-7.0이고 생리식염수의 측정된 pH는 6.3이다.

도 14a-14b는 물 비율에 기초한 2개의 제형이 시험관내에서 hCMV 오랑체 및 hCMV gB의 발현 수준을 증가시킨다는 것을 보여주는 그래프를 제공한다.

도 15a-15b는 동일한 질량 비율(0.03 g 스케일)과 비교하여 mRNA 성분의 물 비율(0.4g 및 1g 스케일)에 기초한 2개의 제형에 대한 마우스에서 항-gB 항체 및 항-오랑체 항체의 용량 반응을 보여주는 그래프를 제공한다. 도 15a는 항-gB 항체의 용량 반응을 보여준다. 도 15b는 항-오랑체 항체의 용량 반응을 보여준다. 스케일은 시험관내 전사(IVT)를 사용하여 mRNA를 제조하는 데 사용되는 배치의 크기를 지칭한다.

도 16a-16b는 mRNA의 0.03 g 대 1.0 g 스케일의 시험관내 전사(IVT) 제조를 사용하여 상이한 제조 배치로부터 상이한 제형에 의해 도출된 CMV 중화 항체 역가를 비교하는 그래프를 제공한다. 도 16a는 상피 세포에서 동일한 질량 비율(1g 스케일)에 기초한 대규모 동결건조 제형이 동일한 질량 비율(0.03 g 스케일)에 기초한 소규모 액체 제형보다 보다 높은 CMV 중화 항체 역가를 유발하였음을 보여준다. 도 16b는 물 비율(1 스케일)에 기초한 대규모 동결건조 제형이 2 µg mRNA의 용량에서 높은 CMV 중화 항체 역가를 유도했음을 보여준다.

도 17은 항체-매개 면역원성에 대한 프로토콜 세트 당 CMV 혈청상태 및 백신 접종 그룹에 의한 단계 II 시험에서 3개월(2차 백신 접종 후 1개월)까지 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 역가를 보여준다. Neg: CMV-혈청음성, Pos: CMV-혈청양성. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg은 mRNA 백신의 용량을 지칭한다. 신뢰 구간(CI)은 log 전환 값의 t-분포를 사용하여 계산하였다. 검정 실선 참조 선은 기준선에서 모든 CMV 혈청양성 대상체의 기준선 GMT를 지적한다.

도 18은 항체-매개 면역원성에 대한 프로토콜 세트 당 CMV 혈청상태 및 백신 접종 그룹에 의한 단계 II 시험에서 3개월(2차 백신 접종 후 1개월)까지 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 역가를 보여준다. Neg: CMV-혈청음성, Pos: CMV-혈청양성. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg은 mRNA 백신의 용량을 지칭한다. 신뢰 구간(CI)은 log 전환 값의 t-분포를 사용하여 계산하였다. 검정 실선 참조 선은 기준선에서 모든 CMV 혈청양성 대상체의 기준선 GMT를 지적한다.

도 19는 항체-매개 면역원성에 대한 프로토콜 세트 당 CMV 혈청상태 및 백신 접종 그룹에 의한 단계 II 시험에서 7개월(3차 백신 접종 후 1개월)까지 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 역가를 보여준다. Neg: CMV-혈청음성, Pos: CMV-혈청양성. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg은 mRNA 백신의 용량을 지칭한다. 신뢰 구간(CI)은 log 전환 값의 t-분포를 사용하여 계산하였다. 검정 실선 참조 선은 기준선에서 모든 CMV 혈청양성 대상체의 기준선 GMT를 지적한다.

도 20은 항체-매개 면역원성에 대한 프로토콜 세트 당 CMV 혈청상태 및 백신 접종 그룹에 의한 단계 II 시험에서 7개월(2차 백신 접종 후 1개월)까지 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 역가를 보여준다. Neg: CMV-혈청음성, Pos: CMV-혈청양성. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg은 mRNA 백신의 용량을 지칭한다. 신뢰 구간(CI)은 log 전환 값의 t-분포를 사용하여 계산하였다. 검정 실선 참조 선은 기준선에서 모든 CMV 혈청양성 대상체의 기준선 GMT를 지적한다.

도 21은 항체-매개 면역원성에 대한 프로토콜 세트 당 CMV 혈청상태 및 백신 접종 그룹에 의한 단계 II 시험에서 7개월(2차 백신 접종 후 1개월)까지 항-오랑체 결합 항체 역가를 보여준다. Neg: CMV-혈청음성, Pos: CMV-혈청양성. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg은 mRNA 백신의 용량을 지칭한다. 신뢰 구간(CI)은 log 전환 값의 t-분포를 사용하여 계산하였다. 검정 실선 참조 선은 기준선에서 모든 CMV 혈청양성 대상체의 기준선 GMT를 지적한다.

도 22는 항체-매개 면역원성에 대한 프로토콜 세트 당 CMV 혈청상태 및 백신 접종 그룹에 의한 단계 II 시험에서 7개월(2차 백신 접종 후 1개월)까지 항-gB 결합 항체 역가를 보여준다. Neg: CMV-혈청음성, Pos: CMV-혈청양성. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg은 mRNA 백신의 용량을 지칭한다. 신뢰 구간(CI)은 log 전환 값의 t-분포를 사용하여 계산하였다. 검정 실선 참조 선은 기준선에서 모든 CMV 혈청양성 대상체의 기준선 GMT를 지적한다.

도 23은 실시예 7에 기재된 단계 III 연구에 대한 연구 흐름도를 보여주는 도식이다. 약어: B = 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환을 위한 혈액 샘플링(CMV-혈청음성 코호트); CMV = 시토메갈로바이러스; D = 일; EOS = 연구 종료; I = 항체 매개 면역원성에 대한 혈청 샘플링; M = 월; n = 총 참가자 수; U = CMV 혈청양성 코호트에서 CMV 배출을 위한 소변 샘플링.

도 24는 실시예 8에 기재된 영아 결과 서브연구에서 선천성 CMV 감염 예상을 보여주는 도식이다.

도 25는 실시예 8에 기재된 영아 결과 서브연구에서 신생아에서 샘플 수거 개요를 보여주는 도식이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] hCMV 오량체(gH, gL, UL128, UL130, 및 UL131A) 및 gB를 암호화하는 mRNA를 동일한 질량 비율(예를 들어, 대략 1:1:1:1:1:1의 gH:gL:UL128:UL130:UL131A:gB에 대한 mRNA 질량 비율)로 함유하는 HCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신과 같은 백신)은 단계 I 임상 시험 연구에서 hCMV에 대한 중화 항체를 유도하는데 효과적인 것으로 나타났다. 그러나 모든 mRNA 성분에 대해 동일한 질량 비율을 사용하면 일부 mRNA 성분이 몰 기준으로 과도하게 표현되고 다른 성분은 분자량의 차이로 인해 과소 표현된다. 놀랍게도, gH, gL, UL128, UL130, UL131A, 및 gB를 포함하는 hCMV 면역원성 조성물 내의 특정 mRNA 성분의 몰 비율을 특정하는 것이 개선된 성질을 야기한다는 것을 본원에 나타낸다. 특히, 대략 동일한 몰 비율의 gL, UL128, UL130 및 UL131A를 사용하는 반면, hCMV 면역원성 조성물 내의 다른 mRNA 성분에 비해 gB 및/또는 gH의 몰 비율을 증가시키면 오량체 발현을 개선시키고, gB 발현을 개선시키고, 항-오량체 항체 반응을 개선시키고 항-gB 항체 반응을 개선시켰다. 추가로, 이러한 몰 비율은 제품 효능을 유지함으로써 hCMV 면역원성 조성물의 유통기한을 증가시킨다.
- [0041] 다가 hCMV mRNA 백신 내에서 mRNA 비율을 변형시키기 위한 이론적 근거는 일단 백신 내 mRNA가 단백질로 해독되면 hCMV 오량체 형성의 몰 화학양론에 적어도 부분적으로 기초한다. 몰 화학양론과 일치하는 비율로 개별 mRNA 작제물을 제공하면 환자에게 투여된 mRNA의 질량당 최대 단백질 발현이 가능하다. gB 및 gH는 면역원성 조성물에서 최대 당단백질 성분이고, gH는 기본 구조이고 이들 상에 보다 작은 오량체 단백질 복합체가 성숙한 오량체를 형성한다. 또한, 적어도 부분적으로는 mRNA 작제물 길이에 의존하는 저장 동안 mRNA 분해의 상대적 비율을 기준으로 비율을 조정하면 약물 제품 지속 기간에 걸쳐 최적의 기능적 수행능이 가능하다. 실시예에 나타난 바와 같이, 최대 mRNA는 전체 백신 배치의 효능을 위한 대용물로서 작용할 수 있다. gB 성분이 분해에 의해 변형되지 않고 49% 이상 남아 있는 한, 전체 백신의 면역원성은 온전하였다. 대략 동일한 몰량의 UL128, gL, UL130 및 UL131A 및 과량(예를 들어, 적어도 1.5X 또는 적어도 2X) 몰량의 gB 및 gH를 포함하는 변형된 비율은 여기에서 시험관 내 및 마우스에서 효과적인 것으로 입증되었다. 소정의 총 용량에 대해, 몰비에 기초한 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 단백질 발현에 의해 나타나는 바와 같이 증가된 효능 및/또는 동일한 질량 비율에 기초한 hCMV mRNA 백신과 비교하여 개선된 항체 반응을 초래할 수 있다.
- [0042] 일부 구현예에서, 몰 비율을 기준으로 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 효능에 있어서 약 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50% 또는 50% 초과 증가를 유도할 수 있다. 특정 구현예에서, 몰 비율을 기준으로 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 효능에서 약 40% 증가를 유발할 수 있다. 일부 구현예에서, 몰 비율을 기준으로 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 상품의 비용에서 약 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50% 또는 50% 초과 감소를 유도할 수 있다. 특정 구현예에서, 몰 비율을 기초로 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 제품의 비용에서 약 40% 감소를 유발할 수 있다. 일부 구현예에서, 몰 비율을 기준으로 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50% 또는 50% 초과보다 낮은 지질 투여 때문에 증가된 관용성을 유발할 수 있다. 특정 구현예에서, 몰 비율을 기준으로 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 40%의 보다 낮은 지질 용량 때문에 증가된 관용성을 유발할 수 있다.
- [0043] **항원**
- [0044] 항원은 면역 반응을 유도할 수 있는 단백질 또는 폴리사카라이드이다(예를 들어, 면역계가 항원에 대한 항체를 생성하도록 함). 여기서, 용어 항원의 사용은 달리 언급되지 않는 한 hCMV에 대한 면역 반응을 유도하는(또는 유도할 수 있는) 면역원성 단백질 및 면역원성 단편을 포함한다. "단백질"이라는 용어는 펩타이드를 포함하고 "항원"이라는 용어는 항원 단편을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0045] HCMV는 바이러스 부착 및 다른 세포 유형으로의 진입에 관여하는 여러 표면 당단백질을 포함한다. gH/gL/UL128/UL130/UL131A 로 구성된 오량체 복합체 (PC)(참조: Hahn 등, 2004; Ryckman 등, 2008; Wang and

Shenk, 2005b, 이의 각각은 본원에 참조로 인용됨)는 내피 세포, 상피 세포 및 골수 세포로의 진입을 매개한다.

- [0046] HCMV 단백질 UL128, UL130, 및 UL131A는 gH 및 gL 단백질과 어셈블리하여 이중성 오량체 복합체를 형성하고 이는 gH/gL/UL128-131A로 지정되고 HCMV의 표면 상에서 발견된다. 천연 변이체 및 결실 및 돌연변이 분석은 gH/gL/UL128-131A 복합체의 단백질을 예를 들어 내피 세포, 상피 세포 및 백혈구를 포함하는 특정 세포 유형을 감염시키는 능력에 연루시켰다.
- [0047] HCMV는 이의 외피를 세포질막(섬유아세포) 또는 엔도솜 막(상피 및 내피 세포) 중 어느 하나와 융합시켜 세포에 진입한다. HCMV는 외피 당단백질 M(gM) 또는 gB를 사용하여 세포 표면 heparan 설페이트 프로테오글리칸에 부착하여 세포 진입을 개시한다. 상피 단계에 이어서 진입을 촉발하거나 세포내 신호전달을 개시하는 세포 표면 수용체와 상호작용한다. 진입 수용체 기능은 gH/gL 당단백질 복합체에 의해 제공된다. 상이한 gH/gL 복합체는 상피 세포, 내피 세포 또는 섬유아세포로의 진입을 용이하게 하는 것으로 공지되어 있다. 예를 들어, 섬유아세포에 진입하려면 gH/gL 이중이량체가 필요하지만, 상피 및 내피 세포에 진입하려면 gH/gL 외에 오량체 복합체 gH/gL/UL128/UL130/UL131이 필요하다. 따라서, 상이한 gH/gL 복합체는 상피/내피 세포 및 섬유아세포 상의 별개의 진입 수용체와 결합한다. 수용체 결합에 이어서 gB 및 gH/gL에 의해 매개되는 과정인 막 융합이다. 초기 항체 연구는 HCMV 진입에서 gB 및 gH/gL 둘 다에 대한 중요한 역할을 지지하였다. gB는 진입 및 세포 확산을 위해 필수적이다. gB 및 gH/gL은 세포 융합에 필요하고 충분하므로 다른 헤르페스바이러스 중에서 보존되는 HCMV의 "코어 융합 기구"를 구성한다. 따라서, 4개의 당단백질 복합체는 바이러스 부착, 결합, 융합 및 숙주 세포로의 진입에 중요한 역할을 한다.
- [0048] gH/gL/UL128-131A 복합체를 포함하는 연구는 UL128, UL130 및 UL131A 단백질 뿐만 아니라 HCMV 당단백질 gB, gH, gL, gM 및 gN이 면역원성이고 다양한 세포 유형에서 면역자극 반응에 관여함을 보여주었다. 더욱이, UL128, UL130 및 UL131A 유전자는 HCMV 분리주 중에서 상대적으로 보존되어 있으므로 백신접종을 위한 매력적인 표적이 된다. 더욱이, 최근 연구는 오량체 gH/gL/UL128-131 복합체 내의 에피토프에 대한 항체가 내피, 상피 및 기타 세포 유형으로의 진입을 중화하여 HCMV가 여러 세포 유형을 감염시키는 능력을 차단한다는 것을 보여주었다.
- [0049] 임의의 이론에 국한시키고자 하는 것 없이, 다수의 중화 항체는 외피 당단백질에 지시될 수 있고(참조: Britt 등, 1990; Fouts 등, 2012; Macagno 등, 2010; Marshall 등, 1992, 본원에 참조로 인용됨), 반면, 강한 T 세포 반응은 테구먼트 단백질 pp65 및 비구조적 단백질, 예를 들어 IE1 및 IE2에 지시될 수 있다(참조: Blanco-Lobo 등, 2016; Borysiewicz 등, 1988; Kern 등, 2002, 본원에 참조로 인용됨).
- [0050] HCMV 외피 당단백질 복합체(예를 들어, gH/gL/UL128/UL130/UL131A)는 항바이러스 면역 반응의 주요 항원 표적이 된다. 본원 개시내용의 구현예는 HCMV 항원, 특히 HCMV 당단백질 복합체 중 하나로부터의 HCMV 항원을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 RNA(예를 들어, mRNA) 백신을 제공한다. 본원 개시내용의 구현예는 적어도 하나의 HCMV 항원성 폴리펩타이드를 암호화하는 적어도 하나의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 RNA(예를 들어, mRNA) 백신을 제공한다. 본원에서 제공되는 HCMV RNA 백신은 DNA 백신 및 약독화 생백신과 관련된 많은 위험 없이 세포 및 체액 면역 둘 다를 포함하는 균형화된 면역 반응을 유도하기 위해 사용될 수 있다.
- [0051] 문헌(참조: "Nucleic Acid Vaccines"란 발명의 명칭의 국제 출원 번호 PCT/US2015/027400 (WO 2015/164674), "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE"란 발명의 명칭의 국제 출원 번호 PCT/US2016/058310 (WO2017/070613), "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE"이란 발명의 명칭의 국제 출원 번호 PCT/US2017/057748 (WO2018/075980), "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE"란 발명의 명칭의 미국 특허 제10,064,935호, "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE"이란 발명의 명칭의 미국 특허 제10,383,937호, 및 "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE"이란 발명의 명칭의 미국 특허 제10,064,935호 및 "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE"이란 발명의 명칭의 미국 특허 제10,716,846호)의 전체 내용은 본원에 참조로 인용된다.
- [0052] 본원 개시내용의 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신과 같은 백신)의 HCMV 항원은 본원의 표 13에 제공된다. 일부 구현예에서, HCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 (a) HCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) HCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) HCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) HCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) HCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) HCMV gB를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, HCMV 백신 성분은 표 13에 제공된 서열을 포함한다.

- [0053] 일부 구현예에서, hCMV gH 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 5의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0054] 일부 구현예에서, hCMV gL 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 6의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0055] 일부 구현예에서, hCMV UL128 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 2의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0056] 일부 구현예에서, hCMV UL130 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 3의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0057] 일부 구현예에서, hCMV UL131A 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 4의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0058] 일부 구현예에서, hCMV gB 단백질을 암호화하는 mRNA는 서열번호 1의 서열의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0059] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 5의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 6의 뉴클레오타이드 서열의 개방 판독 프레임(ORF)을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 2의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 3의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 1의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0060] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임은 서열번호 11의 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0061] 일부 구현예에서, hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임은 서열번호 12의 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0062] 일부 구현예에서, hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임은 서열번호 8의 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0063] 일부 구현예에서, hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임은 서열번호 9의 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0064] 일부 구현예에서, hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임은 서열번호 10의 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 서열을 포함

한다.

- [0065] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 11의 뉴클레오타이드 서열의 개방 관독 프레임(ORF)을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열의 개방 관독 프레임(ORF)을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 8의 뉴클레오타이드 서열의 개방 관독 프레임(ORF)을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 9의 뉴클레오타이드 서열의 개방 관독 프레임(ORF)을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 10의 뉴클레오타이드 서열의 개방 관독 프레임(ORF)을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA는 서열번호 7의 뉴클레오타이드 서열의 개방 관독 프레임(ORF)을 포함한다.
- [0066] 일부 구현예에서, hCMV gB 폴리펩타이드는 서열번호 7의 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0067] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0068] 일부 구현예에서, hCMV gL 폴리펩타이드는 서열번호 20의 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0069] 일부 구현예에서, hCMV UL128 폴리펩타이드는 서열번호 16의 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0070] 일부 구현예에서, hCMV UL130 폴리펩타이드는 서열번호 17의 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0071] 일부 구현예에서, hCMV UL131A 폴리펩타이드는 서열번호 18의 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0072] 일부 구현예에서, hCMV gB 폴리펩타이드는 서열번호 15의 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성 또는 99% 초과 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0073] 일부 구현예에서, hCMV gH 폴리펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV gL 폴리펩타이드는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL128 폴리펩타이드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL130 폴리펩타이드는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV UL131A 폴리펩타이드는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV gB 폴리펩타이드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0074] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 mRNA 성분은 동일한 질량으로 존재한다. 다른 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 mRNA 성분은 동일한 질량으로 존재하지 않는다. 동일 질량의 mRNA 성분의 내포는 적어도 부분적으로 분해로 인해 보다 긴 mRNA 작제물 중 일부의 과소포시를 야기한다는 것이 본원에서 밝혀졌다. 따라서, 실시예에 설명된 바와 같이, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 mRNA 성분의 제형화를 위해 mRNA 성분의 물비에 기초한 대안적 접근법이 본원에서 개발되었다.
- [0075] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 (a) hCMV gH 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 전령 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드; (b) hCMV gL 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (c) hCMV UL128 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (d) hCMV UL130 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; (e) hCMV UL131A 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리뉴클레오타이드; 및 (f) hCMV gB 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 관독 프레임을 포함하는 mRNA 폴리

뉴클레오타이드로서, 여기서: 면역원성 조성물 내의 (a):(f)의 몰비는 약 1:1이고; 면역원성 조성물 내 (b):(c):(d):(e)의 몰비는 약 1:1:1:1이고; 면역원성 조성물 내의 (a) 및 (f) 각각 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비는 약 1.5:1 내지 2:1(예를 들어, 1.5:1 내지 2:1, 1.5:1 내지 1.9:1, 1.5:1 내지 1.8:1, 1.5:1 내지 1.7:1, 1.5:1 내지 1.6:1, 1.6:1 내지 2:1, 1.6:1 내지 1.9:1, 1.6:1 내지 1.8:1, 1.6:1 내지 1.7:1, 1.7:1 내지 2:1, 1.7:1 내지 1.9:1, 1.7:1 내지 1.8:1, 1.8:1 내지 2:1, 1.8:1 내지 1.9:1 또는 1.9:1 내지 2:1)인, 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0076] 일부 구현예에서, 면역원성 조성물 내의 (a) 및 (f) 각각 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비는 약 1.5:1 내지 2:1(예를 들어, 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1, 1.9:1 또는 2:1)이다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물 내의 (a) 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비는 약 1.5:1 내지 2:1(예를 들어, 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1, 1.9:1 또는 2:1)이다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물 내의 (f) 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비는 약 1.5:1 내지 2:1(예를 들어, 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1, 1.9:1 또는 2:1)이다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물 내의 (a) 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비는 약 1.5:1 내지 2:1(예를 들어, 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1, 1.9:1 또는 2:1)이고, 면역원성 조성물 내의 (f) 대 (b), (c), (d) 또는 (e) 중 어느 하나의 몰비는 약 1.5:1 내지 2:1(예를 들어, 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1, 1.9:1, 또는 2:1)이다. 일부 구현예에서, (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비는 약 1.5:1:1:1:1:1.5이다. 일부 구현예에서, (a):(b):(c):(d):(e):(f)의 몰비는 약 2:1:1:1:1:2이다.

[0077] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물과 관련된 mRNA는 추가로 5' 캡(예를 들어, 7mG(5')ppp(5')NImpNp), 폴리A 테일(예를 들어, ~ 100개 뉴클레오타이드), 또는 5' 캡 및 폴리A 테일을 포함할 수 있다.

[0078] 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 신호 서열을 포함할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 본원 개시내용의 hCMV mRNA 백신은 또한 임의의 5' 비해독 영역(UTR) 및/또는 임의의 3' UTR을 포함할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 예시적인 UTR 서열은 표 13에 제공되고; 그러나, 다른 UTR 서열이 사용되거나 본원에 기재된 임의의 UTR 서열에 대해 교환될 수 있다. UTR은 또한 본원에 제공된 백신 작제물로부터 생략될 수 있다.

[0079] 임의의 이론에 구애됨이 없이, 각각의 mRNA 성분의 양을 결정하기 위해 몰비가 사용되는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 mRNA 성분이 동일한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에 비해 증가된 안정성을 가질 수 있다. 이러한 증가된 안정성은 hCMV 면역원성 조성물이 이들 조성물을 함유하는 약물 제품의 유통기한 전체에 걸쳐 안정하고 약물 제품의 특정 만료일까지 대상체에게 투여하기에 여전히 충분히 효능이 있음을 보장하는 데 도움이 될 수 있다.

[0080] mRNA 작제물의 안정성은 당업자에게 공지된 임의의 수단에 의해 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, mRNA 작제물의 안정성은 mRNA 작제물의 분해 및/또는 순도 측정에 기초하여 계산된다. 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물 내의 보다 긴 mRNA 작제물, 예를 들어, gH 및 gB는 동일한 hCMV 면역원성 조성물 내의 보다 짧은 mRNA 작제물보다 더 빨리 분해될 것으로 예상된다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물의 안정성은 gH 및/또는 gB의 분해 및/또는 순도를 측정함으로써 측정된다. 본원에서 사용된 "순도"는 질량 기준으로 mRNA의 총 인풋(예를 들어, gB를 암호화하는 mRNA) 대비 전장의 온전한 mRNA(예를 들어, gB를 암호화하는 mRNA)의 양을 지칭한다.

[0081] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물의 모든 mRNA 성분은 적절한 저장 조건(예를 들어, 0°C 초과와 온도 및 10°C 이하의 온도에서)하의 예상된 유통 기간(예를 들어, 2년 이하) 전반에 걸쳐 적어도 45%(예를 들어, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 이상)의 순도를 유지한다. 일부 구현예에서, gH 및/또는 gB는 적절한 저장 조건(예를 들어, -80°C 이상 및 10°C 이하의 온도, 예를 들어, -80, -70, -40, -20, 0, 5, 또는 10°C의 온도에서)하의 예상된 유통 기간(예를 들어, 2년 이하) 전반에 걸쳐 적어도 45%(예를 들어, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 이상)의 순도를 유지한다.

[0082] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 -80°C 이상 10°C 이하의 온도에서 저장되는 경우 적어도 3개월(예를 들어, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 13개월, 적어도 14개월, 적어도 15개월, 적어도 16개월, 적어도 17개월, 적어도 18개월, 적어도 19개월, 적어도 20개월, 적어도 21개월, 적어도 22개월, 적어도 23개월, 적어도 24개월, 적어도 25개월, 적어도 26개월, 적어도 27개월, 적어도 28개월,

적어도 29개월, 적어도 30개월, 적어도 31개월, 적어도 32개월, 적어도 33개월, 적어도 34개월, 적어도 35개월, 적어도 36개월 이상)동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 -80, -70, -40, -20, 0, 5, 또는 10°C의 온도에서 저장한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물(예를 들어, 백신)은 약 -80°C의 온도에서 저장한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물(예를 들어, 백신)은 약 -20°C의 온도에서 저장한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물(예를 들어, 백신)은 약 5°C의 온도에서 저장한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 -80, -20 또는 5°C의 온도에서 저장되는 경우 적어도 3개월 (예를 들어, 적어도 3개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월, 적어도 12개월, 적어도 15개월, 적어도 18개월, 적어도 21개월, 적어도 24개월, 적어도 30개월 또는 적어도 36개월) 동안 안정하다.

[0083] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 -80°C 이상 및 10°C 이하(예를 들어, -80, -70, -40, -20, 0, 5, 또는 10°C)의 온도에서 저장되는 경우 적어도 12 내지 18개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 -80°C의 온도에서 저장되는 경우 적어도 12 내지 18개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 -20°C의 온도에서 저장되는 경우 적어도 12 내지 18개월 동안 안정하다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 5°C의 온도에서 저장되는 경우 적어도 12 내지 18개월 동안 안정하다.

[0084] 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기반으로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 mRNA 성분이 대략 동일한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성(예를 들어, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 100%, 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배 이상까지 증가된)을 갖는다. 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기초로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 -80°C 이상 및 10°C 이하(예를 들어, -80, -70, -40, -20, 0, 5 또는 10°C)의 온도에서 적어도 3개월, 예를 들어, 적어도 3개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월, 적어도 12개월, 적어도 15개월, 적어도 18개월, 적어도 21개월, 적어도 24개월 또는 적어도 36개월 동안 저장되는 경우 mRNA 성분이 대략 동등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성(예를 들어, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 100%, 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배 이상까지 증가된)을 갖는다.

[0085] 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기초로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 -80°C 이상 및 10°C 이하(예를 들어, -80, -70, -40, -20, 0, 5 또는 10°C)의 온도에서 적어도 24개월 동안 저장되는 경우 mRNA 성분이 대략 동등한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성(예를 들어, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 100%, 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배 이상까지 증가된)을 갖는다. 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기반으로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 -80, -20, 또는 5°C의 온도에서 적어도 24개월 동안 저장되는 경우 mRNA 성분이 대략 동일한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된 안정성(예를 들어, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 100%, 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배 이상까지 증가된)을 갖는다.

[0086] 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기반으로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 mRNA가 대략 동일한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된(예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 90%, 적어도 2배, 적어도 10배까지 증가된) 오량체 발현 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내)을 유도한다.

[0087] 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기반으로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 mRNA가 대략 동일한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된(예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 90%, 적어도 2배, 적어도 10배까지 증가된) gB 발현 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내)을 유도한다.

[0088] 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기반으로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 mRNA가 대략 동일한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된(예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 90%, 적어도 2배, 적어도 10배까지 증가된) 항-오량체 항체 수준을 유도한다.

[0089] 일부 구현예에서, mRNA 성분이 특정 몰비를 기반으로 하는 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 mRNA가 대략 동일한 질량으로 존재하는 hCMV 면역원성 조성물에 비해 증가된(예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 90%, 적어도 2배, 적어도 10배까지 증가된) 항-gB 항체 수준을 유도한다.

[0090] **핵산**

[0091] 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 적어도 하나의 hCMV 항원을 암호화하는 개방 판독 프레임을 갖는 적어도 하나(하나 이상)의 리보핵산(RNA)을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 적어도 하나의 hCMV 항원을 암호화하는 개방 판독 프레임을 갖는 전령 RNA(mRNA)이다. 일부 구현예에서, RNA(예를 들어, mRNA)는 (적어도 하나의) 5' UTR, 3' UTR, 폴리A 테일 및/또는 5 캡을 추가로 포함한다.

[0092] 핵산은 또한 폴리뉴클레오타이드로서 언급되는 뉴클레오타이드 (뉴클레오타이드 단량체)의 중합체를 포함한다. 핵산은 예를 들어 데옥시리보핵산(DNA), 리보핵산(RNA), 트레오스 핵산(TNA), 글리콜 핵산(GNA), 펩타이드 핵산(PNA), 잠긴 핵산(β -D-리보 배위를 갖는 LNA, α -L-리보 배위를 갖는 α -LNA(LNA의 부분입체이성질체), 2'-아미노 기능화를 갖는 2'-아미노-LNA, 및 2'-아미노 기능화를 갖는 2'-아미노- α -LNA를 포함하는 LNA), 에틸렌 핵산(ENA), 사이클로헥세닐 핵산(CeNA) 및/또는 키메라 및/또는 이들의 조합일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0093] 전령 RNA(mRNA)는 (적어도 하나의) 단백질(천연적으로 존재하는, 비천연적으로 존재하는 또는 변형된 아미노산 중합체)을 암호화하는 임의의 리보핵산이고, 시험관내, 생체내, 동일계 또는 생체의에서 암호화된 단백질을 생산하기 위해 해독될 수 있다. 당업자는 달리 언급되는 것을 제외하고는 한 본 출원에 제시된 핵산 서열이 대표적인 DNA 서열에서 "T"를 언급할 수 있지만 서열이 RNA(예를 들어, mRNA)를 나타내는 경우 "T"는 "U"로 대체됨을 이해한다. 따라서, 본원에 기재되고 본원에서 특정 서열 확인 번호에 의해 동정된 임의의 DNA는 또한 DNA 서열의 각각의 "T"가 "U"로 치환되는, DNA에 상보적인 상응하는 RNA(예를 들어, mRNA) 서열을 기재한다.

[0094] 개방 판독 프레임(ORF)은 개시 코돈(예를 들어, 메티오닌 (ATG 또는 AUG))으로 개시하고 정지 코돈(예를 들어, TAA, TAG 또는 TGA, 또는 UAA, UAG 또는 UGA)으로 종료되는 연속 스트레치의 DNA 또는 RNA이다. ORF는 전형적으로 단백질을 암호화한다. 본원에 기재된 서열은 추가로 추가의 요소들, 예를 들어, 5' 및 3' UTR을 포함할 수 있지만 ORF와 같지 않게 이들 요소는 본원 개시내용의 백신에 필수적으로 존재할 필요가 없는 것으로 이해된다.

[0095] **변이체**

[0096] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 hCMV 항원 변이체를 암호화하는 mRNA를 포함한다. 항원 또는 다른 폴리펩타이드 변이체는 아미노산 서열이 야생형, 천연 또는 참조 서열과 다른 분자를 지칭한다. 항원/폴리펩타이드 변이체는 고유 또는 참조 서열과 비교하여 아미노산 서열 내의 특정 위치에서 치환, 결실 및/또는 삽입을 가질 수 있다. 통상적으로 변이체는 야생형, 천연 또는 참조 서열과 적어도 50%의 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 변이체는 야생형, 천연 또는 참조 서열과 적어도 80% 또는 적어도 90% 동일성을 공유한다.

[0097] 본원 개시내용의 핵산에 의해 암호화된 변이체 항원/폴리펩타이드는 임의의 다수의 바람직한 성질을 부여하고, 예를 들어 대상체에서 이의 면역원성을 증진시키고, 이의 발현을 증진시키고/시키거나 이의 안정성 또는 PK/PD 성질을 개선시키는 아미노산 변화를 함유할 수 있다. 변이체 항원/폴리펩타이드는 일상적인 돌연변이 유발 기술을 사용하여 제조될 수 있고, 이들이 목적하는 성질을 보유하고 있는지의 여부를 결정하기 위해 적절하게 검정될 수 있다. 발현 수준 및 면역원성을 결정하기 위한 검정은 당업계에 널리 공지되어 있다. 유사하게, 단백질 변이체의 PK/PD 성질은 예를 들어, 시간 경과에 따라 백신 접종된 대상체에서 항원의 발현을 결정하고/하거나 유도된 면역 반응의 지속성을 조사함으로써 당업계 인지된 기술을 사용하여 측정될 수 있다. 변이체 핵산에 의해 암호화된 단백질(들)의 안정성은 열 안정성 또는 우레아 변성 시 안정성을 검정함으로써 측정될 수 있거나 인 실리코 예측을 사용하여 측정될 수 있다. 이러한 실험 및 인 실리코 결정을 위한 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0098] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 본원에 제공된 서열(예를 들어, 표 13 참조) 중 임의의 하나에 의해 동정된 뉴클레오타이드 서열을 갖거나 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한(이들 사이의 모든 값을 포함하는) 뉴클레오타이드 서열을 갖는 mRNA ORF를 포함한다.

[0099] "동일성"이라는 용어는 서열을 비교함으로써 결정되는 2개 이상의 폴리펩타이드(예를 들어, 항원) 또는 폴리뉴클레오타이드(핵산)의 서열 사이의 관계를 지칭한다. 동일성은 또한 2개 이상의 아미노산 잔기 또는 핵산 잔기의 문자열 사이의 매칭 수에 의해 결정되는 서열 사이 간에 또는 이들 서열 중에 서열 관련성 정도를 지칭한다. 동일성은 특정 수학적 모델 또는 컴퓨터 프로그램(예: "알고리즘")에 의해 처리되는 갭 정렬(존재하는 경우)이 있는 2개 이상의 서열 중 보다 작은 서열 간의 동일한 매칭 퍼센트를 측정한다. 관련 항원 또는 핵산의 동일성은 공지된 방법에 의해 용이하게 계산될 수 있다. 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열에 적용되는 "퍼센트(%) 동일성"은 서열을 정렬하고 필요한 경우 갭을 도입하여 최대 퍼센트 동일성을 성취한 후 제2 서열의 아

미노산 서열 또는 핵산 서열의 잔기와 동일한 후보 아미노산 또는 핵산 서열 내 잔기(아미노산 잔기 또는 핵산 잔기)의 퍼센트로서 정의된다. 정렬을 위한 방법 및 컴퓨터 프로그램은 당업계에 널리 공지되어 있다. 동일성은 동일성 퍼센트 계산에 의존하지만 계산에 도입된 갭 및 페널티로 인해 값이 상이할 수 있는 것으로 이해된다. 일반적으로, 특정 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드(예를 들어, 항원)의 변이체는 본원에 기재되고 당업자에게 공지된 서열 정렬 프로그램 및 파라미터에 의한 결정시 특정 참조 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드와 적어도 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 그러나 100% 미만의 서열 동일성일 갖는다. 정렬을 위한 상기 도구는 BLAST 슈트의 것들을 포함한다(참조: Stephen F. Altschul, 등 (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402). 인기있는 또 다른 국소 정렬 기술은 스미스-워터맨(Smith-Waterman) 알고리즘을 기반으로 한다(참조: Smith, T.F. & Waterman, M.S. (1981) "Identification of common molecular subsequences." *J. Mol. Biol.* 147:195-197). 역학적 프로그래밍을 기준으로 일반 전반적 정렬 기술은 니들만-운슈(Needleman-Wunsch) 알고리즘이다(참조: Needleman, S.B. & Wunsch, C.D. (1970) "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequences of two proteins." *J. Mol. Biol.* 48:443-453). 보다 최근에, 신속 최적 전반적 서열 정렬 알고리즘(FOGSAA)이 개발되었고 이는 니들만-운슈 알고리즘을 포함하는 다른 최적의 전반적 정렬 방법보다 신속하게 뉴클레오타이드 및 단백질 서열의 전반적 정렬을 생성하는 것으로 알려져 있다.

[0100] 이와 같이, 참조 서열, 특히 본원에 개시된 폴리펩타이드(예를 들어, 항원) 서열에 대한 치환, 삽입 및/또는 추가, 결실 및 공유 변형을 함유하는 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 본원 개시 내용의 범위 내에 포함된다. 예를 들어, 서열 태그 또는 아미노산, 예를 들어, 하나 이상의 라이신은 펩타이드 서열에 (예를 들어, N-말단 또는 C-말단에서) 첨가될 수 있다. 서열 태그는 펩타이드 검출, 정제 또는 국소화를 위해 사용될 수 있다. 라이신은 펩타이드 용해도를 증가시키거나 비오틴닐화가 가능하도록 사용될 수 있다. 대안적으로, 펩타이드 또는 단백질의 아미노산 서열의 카복시 및 아미노 말단 영역에 위치한 아미노산 잔기는 임의로 결실되어 절단된 서열을 제공할 수 있다. 특정 아미노산(예를 들어, C-말단 또는 N-말단 잔기)은 가용성이거나 고체 지지체에 연결된 보다 큰 서열의 일부로서 서열의 발현과 같은 서열의 용도에 따라 대안적으로 결실될 수 있다. 일부 구현예에서, 신호 서열, 종결 서열, 막관통 도메인, 링커, 다량체화 도메인(예를 들어, 폴돈 영역) 등에 대한(또는 암호화하는) 서열은 동일하거나 유사한 기능을 달성하는 대안적 서열로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어 보다 큰 아미노산을 도입함으로써 안정성을 개선하기 위해 단백질 코어의 공동을 채울 수 있다. 다른 구현예에서, 매립된 수소 결합 네트워크는 안정성을 개선하기 위해 소수성 잔기로 대체될 수 있다. 여전히 다른 구현예에서, 당화 부위는 제거될 수 있고 적당한 잔기로 대체될 수 있다. 당업자는 상기 서열을 용이하게 동정할 수 있다. 또한, 본원에 제공된 서열 중 일부는 예를 들어 RNA(예를 들어, mRNA) 백신의 제조에 사용하기 전에 결실될 수 있는 서열 태그 또는 말단 펩타이드 서열(예를 들어, N-말단 또는 C-말단)을 함유하는 것으로 이해되어야 한다.

[0101] 당업자가 인지하는 바와 같이, 단백질 단편, 기능성 단백질 도메인 및 상동 단백질도 관심 대상의 hCMV 항원의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 예를 들어, 단편이 면역원성이고 hCMV 병원체에 대한 보호 면역 반응을 부여한다면, 참조 단백질의 임의의 단백질 단편(참조 항원 서열보다 짧지만 다른 점은 동일한 적어도 하나의 아미노산 잔기의 폴리펩타이드 서열을 의미함)이 본원에 제공된다. 참조 단백질과 동일하지만 절단된 변이체에 추가로, 일부 구현예에서, 항원은 본원에 제공되거나 참조된 임의의 서열에 비해 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 돌연변이를 포함한다. 항원/항원성 폴리펩타이드는 길이가 약 4, 6 또는 8개 아미노산에서 전장 단백질까지 다양할 수 있다.

[0102] **안정화 요소**

[0103] 천연적으로 존재하는 진핵 mRNA 분자는 5'-캡 구조 또는 3'-폴리(A) 테일과 같은 다른 구조적 특성에 추가로 5'-말단(5' UTR) 및/또는 3'-말단(3' UTR)에서 해독되지 않은 영역(UTR)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 안정화 요소를 포함할 수 있다. 5' UTR과 3' UTR은 둘 다는 일반적으로 게놈 DNA로부터 전사되고 초기 mRNA의 요소이다. 5'-캡 및 3'-폴리(A) 테일과 같은 성숙한 mRNA의 특징적인 구조적 특성은 일반적으로 mRNA 프로세싱 동안에 전사된(조기) mRNA에 첨가된다.

[0104] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 적어도 하나의 변형, 적어도 하나의 5' 말단 캡을 갖는 적어도 하나의 항원성 폴리펩타이드를 암호화하는 개방 판독 프레임에 갖는 적어도 하나의 RNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 지질 나노입자 내에 제형화된다. 폴리뉴클레오타이드의 5'-캡핑은 제조업체 프로토콜에 따라 5'-구아노신 캡 구조를 생성하기 위해 다음의 화학적 RNA 캡 유사체를 사용하여 시험관내 전사 반응

동안 부수적으로 완료될 수 있다: 3'-O-Me-m7G(5')ppp(5') G [ARCA 캡];G(5')ppp(5')A; G(5')ppp(5')G; m7G(5')ppp(5')A; m7G(5')ppp(5')G (New England BioLabs, Ipswich, MA). 변형된 RNA의 5'-캡핑은 "캡 0" 구조: m7G(5')ppp(5')G를 생성하기 위해 백시니아 바이러스 캡핑 효소를 사용하여 전사 후 완료될 수 있다(New England BioLabs, Ipswich, MA). 캡 1 구조는 m7G(5')ppp(5')G-2'-O-메틸을 생성하기 위해 백시니아 바이러스 캡핑 효소 및 2'-O 메틸-트랜스퍼라제 둘 다를 사용하여 생성될 수 있다. 캡 2 구조는 2'-O 메틸-트랜스퍼라제를 사용하여 5'-말단에서 두 번째 뉴클레오타이드의 2'-O-메틸화가 뒤따르는 캡 1 구조로부터 생성될 수 있다. 캡 3 구조는 2'-O 메틸-트랜스퍼라제를 사용하여 5'-말단에서 두 번째 뉴클레오타이드의 2'-O-메틸화가 뒤따르는 캡 2 구조로부터 생성될 수 있다. 효소는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다.

[0105] 3'-폴리(A) 테일은 일반적으로 전사된 mRNA의 3'-말단에 첨가된 아데닌 뉴클레오타이드 스트레치이다. 일부 경우에 약 400개 이하의 아데닌 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 3'-폴리(A) 테일의 길이는 개별 mRNA의 안정성과 관련하여 필수적인 요소일 수 있다.

[0106] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 하나 이상의 안정화 요소를 포함한다. 안정화 요소는 예를 들어, 히스톤 스템-루프를 포함할 수 있다. 32 kDa 스템 루프 결합 단백질(SLBP)이 보고되었다. 이것은 핵 및 세포질 둘 다에서 히스톤 메시지의 3' 말단에서 히스톤 스템 루프와 관련된다. 이의 발현 수준은 세포 주기에 의해 조절되고; 히스톤 mRNA 수준이 또한 상승되는 경우 S 단계 동안 최고조에 달한다. 상기 단백질은 U7 snRNP에 의한 히스톤 프레-mRNA의 효율적인 3' 말단 프로세싱에 필수적인 것으로 나타났다. SLBP는 프로세싱 후에 스템 루프와 계속 연관되고 성숙한 히스톤 mRNA의 세포질에서 히스톤 단백질로의 해독을 자극한다. SLBP의 RNA 결합 도메인은 후생동물과 원생동물을 통해 보존되고; 히스톤 스템 루프에 대한 결합은 루프의 구조에 의존한다. 번역 결합 부위는 스템 루프에 상대적으로 5'에 적어도 3개의 뉴클레오타이드 및 3'에 2개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0107] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 암호화 영역, 적어도 하나의 히스톤 스템-루프, 및 임의로 폴리(A) 서열 또는 폴리아데닐화 신호를 포함한다. 폴리(A) 서열 또는 폴리아데닐화 신호는 일반적으로 암호화된 단백질의 발현 수준을 증진시켜야 한다. 암호화된 단백질은 일부 구현예에서 히스톤 단백질, 리포터 단백질(예를 들어, 루시퍼라제, GFP, EGFP, β-갈락토시다제, EGFP) 또는 마커 또는 선택 단백질(예를 들어, 알파-글로빈, 갈락토키나제 및 크산틴:구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제(GPT))이 아니다.

[0108] 일부 구현예에서, 폴리(A) 서열 또는 폴리아데닐화 신호 및 적어도 하나의 히스톤 스템 루프의 조합은, 둘 다 자연에서 대안적 기전을 나타내지만, 상승적으로 작용하여 개별 요소 중 하나에서 관찰된 수준 이상으로 단백질 발현을 증가시킨다. 폴리(A)와 적어도 하나의 히스톤 스템 루프 조합의 상승작용 효과는 요소의 순서나 폴리(A) 서열의 길이에 의존하지 않는다.

[0109] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 히스톤 다운스트림 요소(HDE)를 포함하지 않는다. "히스톤 다운스트림 요소"(HDE)는 히스톤 프레-mRNA의 성숙한 히스톤 mRNA로의 프로세싱에 관여하는 U7 snRNA에 대한 결합 부위를 나타내는, 천연적으로 존재하는 스템 루프의 3'에 대략 15 내지 20개 뉴클레오타이드 스트레치의 퓨린 풍부 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 인트론을 포함하지 않는다.

[0110] hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 변형되거나 변형되지 않을 수 있거나 활성화되거나 불활성화될 수 있는 인핸서 및/또는 프로모터 서열을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 히스톤 스템 루프는 일반적으로 히스톤 유전자로부터 유래되고, 구조의 루프를 형성하는 짧은 서열로 이루어진, 스페이서에 의해 분리된 2개의 인접한 부분적으로 또는 전체적으로 역 상보적인 서열의 분자내 염기쌍을 포함한다. 쌍을 이루지 않은 루프 영역은 일반적으로 스템 루프 요소 중 하나와 염기쌍을 형성할 수 없다. 그것은 많은 RNA 2차 구조의 핵심 구성 요소이기 때문에 RNA에서 보다 흔하게 존재하지만 단일 가닥 DNA에도 존재할 수 있다. 스템 루프 구조의 안정성은 일반적으로 쌍을 이룬 영역의 길이, 미스매칭 또는 벌지(bulge)의 수 및 기본 조성에 따라 다양하다. 일부 구현예에서, 워블 염기쌍 형성(비-왓슨-크릭 염기쌍 형성)이 유도될 수 있다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 히스톤 스템 루프 서열은 15 내지 45개 뉴클레오타이드 길이를 포함한다.

[0111] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 하나 이상의 AU-풍부 서열이 제거되어 있다. 이들 서열은 때로는 AURES로 지칭되고 3' UTR에서 발견되는 불안정화 서열이다. AURES는 RNA 백신으로부터 제거될 수 있다. 대안적으로 AURES는 RNA 백신에 잔류할 수 있다.

[0112] **신호 펩타이드**

[0113] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 hCMV 항원에 융합된 신호 펩타이드를 암호화

하는 ORF를 갖는 mRNA를 포함한다. 단백질의 N-말단 15-60개 아미노산을 포함하는 신호 펩타이드는 일반적으로 분비 경로에서 막을 가로지르는 전좌에 필요하므로 진핵생물과 원핵생물 둘 다에서 대부분의 단백질이 분비 경로로 진입하는 것을 보편적으로 제어한다. 진핵생물에서 초기 전구체 단백질(프레-단백질(pre-protein))의 신호 펩타이드는 리보솜을 조면소포체(ER) 막으로 향하게 하고 프로세싱을 위해 성장하는 펩타이드 쇄의 수송을 개시한다. ER 프로세싱은 성숙한 단백질을 생성하고, 여기서 신호 펩타이드는 전형적으로 숙주 세포의 ER-거주 신호 펩티다제에 의해 전구체 단백질로부터 절단되거나, 이들은 절단되지 않은 상태로 잔류하고 막 앵커로서 기능한다. 신호 펩타이드는 또한 단백질의 세포 막으로의 표적화를 촉진시킬 수 있다.

[0114] 신호 펩타이드는 15-60개 아미노산의 길이를 가질 수 있다. 예를 들어, 신호 펩타이드는 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60개 아미노산의 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 신호 펩타이드는 20-60, 25-60, 30-60, 35- 60, 40-60, 45- 60, 50-60, 55-60, 15-55, 20-55, 25-55, 30-55, 35-55, 40-55, 45-55, 50-55, 15-50, 20-50, 25-50, 30-50, 35-50, 40-50, 45-50, 15-45, 20-45, 25-45, 30-45, 35-45, 40-45, 15-40, 20-40, 25-40, 30-40, 35-40, 15-35, 20-35, 25-35, 30-35, 15-30, 20-30, 25-30, 15-25, 20-25, 또는 15-20개 아미노산의 길이를 갖는다.

[0115] 이중성 유전자로부터 신호 펩타이드 (이는 천연의 hCMV 항원 이외의 다른 유전자의 발현을 조절한다)는 당업계에 공지되어 있고, 목적하는 성질에 대해 시험될 수 있고 이어서 본원 개시내용의 핵산으로 도입될 수 있다. 일부 구현예에서, 신호 펩타이드는 하기의 서열 중 하나를 포함할 수 있다: MDSKGSSQKGSRLLLLLVSNLLLPQGVVG (서열번호 25), MDWTWILFLVAAATRVHS (서열번호 26); METPAQLLFLLLLWLPDITG (서열번호 13); MLGSNSGQRVFTILLLLVAPAYS (서열번호 27); MKCLLYLAFLFIGVNCA (서열번호 28); MWLVSLAIVTACAGA (서열번호 29).

[0116] **서열 최적화**

[0117] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 항원을 암호화하는 ORF는 코돈 최적화되어 있다. 코돈 최적화 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 본원에 제공된 서열 중 어느 하나 이상의 ORF는 코돈 최적화될 수 있다. 일부 구현예에서 코돈 최적화는 적절한 폴딩을 보장하기 위해 표적 및 숙주 유기체에서 코돈 빈도를 매칭시키거나; mRNA 안정성을 증가시키거나 2차 구조를 감소시키기 위해 GC 함량을 편향시키거나; 유전자 작제 또는 발현을 손상시킬 수 있는 탠덤 반복 코돈 또는 염기 실행을 최소화하거나; 전사 및 해독 제어 영역을 사용자 지정하거나; 단백질 트래피킹 서열을 삽입하거나 제거하거나; 암호화된 단백질에서 해독 후 변형 부위(예를 들어, 글리코실화 부위)를 제거/추가하거나; 단백질 도메인을 추가, 제거 또는 서플링하거나; 제한 부위를 삽입하거나 삭제하거나; 리보솜 결합 부위 및 mRNA 분해 부위를 변형시키거나; 단백질의 다양한 도메인이 적절하게 폴딩될 수 있도록 해독 속도를 조정하거나; 폴리뉴클레오타이드 내의 문제 2차 구조를 감소시키거나 제거하기 위해 사용될 수 있다. 코돈 최적화 도구, 알고리즘 및 서비스는 당업계에 공지되어 있고, 비제한적 예는 GeneArt(Life Technologies), DNA2.0(Menlo Park CA) 및/또는 독점 방법의 서비스가 포함된다. 일부 구현예에서, 개방 판독 프레임(ORF) 서열은 최적화 알고리즘을 사용하여 최적화된다.

[0118] 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 서열은 천연적으로 존재하거나 야생형 서열 ORF(예를 들어, hCMV 항원을 암호화하는 천연적으로 존재하거나 야생형 mRNA 서열)에 대해 95% 미만의 서열 동일성을 공유한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 서열은 천연적으로 존재하거나 야생형 서열(예를 들어, hCMV 항원을 암호화하는 천연적으로 존재하거나 야생형 mRNA 서열)에 대해 90% 미만의 서열 동일성을 공유한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 서열은 천연적으로 존재하거나 야생형 서열(예를 들어, hCMV 항원을 암호화하는 천연적으로 존재하거나 야생형 mRNA 서열)에 대해 85% 미만의 서열 동일성을 공유한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 서열은 천연적으로 존재하거나 야생형 서열(예를 들어, hCMV 항원을 암호화하는 천연적으로 존재하거나 야생형 mRNA 서열)에 대해 80% 미만의 서열 동일성을 공유한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 서열은 천연적으로 존재하거나 야생형 서열(예를 들어, hCMV 항원을 암호화하는 천연적으로 존재하거나 야생형 mRNA 서열)에 대해 75% 미만의 서열 동일성을 공유한다.

[0119] 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 mRNA 서열은 천연적으로 존재하거나 야생형 서열(예를 들어, hCMV 항원을 암호화하는 천연적으로 존재하거나 야생형 mRNA 서열)에 대해 65% 내지 85% (예를 들어, 약 67% 내지 약 85% 또는 약 67% 내지 약 80%)의 서열 동일성을 공유한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 서열은 천연적으로 존재하거나 야생형 서열(예를 들어, hCMV 항원을 암호화하는 천연적으로 존재하거나 야생형 mRNA 서열)에 대해 65% 내지 75% 또는 약 80%의 서열 동일성을 공유한다.

[0120] 일부 구현예에서, 코돈-최적화된 mRNA 서열은 코돈-최적화되지 않은 서열에 의해 암호화된 hCMV 항원만큼의 면

역원성 또는 이보다 큰(예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 100%, 또는 적어도 200% 이상) 번역원성인 항원을 암호화한다.

[0121] 포유동물 숙주 세포에 형질감염된 경우, 변형된 mRNA는 12-18시간 또는 18시간 초과, 예를 들어 24, 36, 48, 60 또는 72시간 초과 안정성을 갖고 포유동물 숙주 세포에 의해 발현될 수 있다.

[0122] 일부 구현예에서, 코돈 최적화된 RNA는 G/C의 수준이 증진된 것일 수 있다. 핵산 분자(예를 들어, mRNA)의 G/C-함량은 RNA의 안정성에 영향을 미칠 수 있다. 증가된 양의 구아닌(G) 및/또는 시토신(C) 잔기를 갖는 RNA는 더 많은 양의 아데닌(A) 및 티민(T) 또는 우라실(U) 뉴클레오타이드를 함유하는 RNA보다 기능적으로 더 안정할 수 있다. 하나의 예로서, W002/098443은 해독된 영역에서 서열 변형에 의해 안정화된 mRNA를 함유하는 약제학적 조성물을 기재한다. 유전자 코드의 축퇴로 인해, 변형은 생성된 아미노산을 변경하지 않고 기존 코돈을 더 큰 RNA 안정성을 촉진하는 코돈으로 치환함에 의해 작동한다. 접근법은 RNA의 암호화 영역으로 제한된다.

[0123] **화학적으로 변형되지 않은 뉴클레오타이드**

[0124] 일부 구현예에서, 본 발명의 hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 적어도 하나의 RNA(예를 들어, mRNA)는 화학적으로 변형되지 않고 아데노신, 구아노신, 시토신 및 우라실로 이루어진 표준 리보뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드는 전사된 RNA에 존재하는 것과 같은 표준 뉴클레오사이드 잔기(예를 들어, A, G, C 또는 U)를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드는 DNA에 존재하는 것과 같은 표준 데옥시뉴클레오사이드(예를 들어, dA, dG, dC 또는 dT)를 포함한다.

[0125] **화학적 변형**

[0126] 본원 개시내용의 hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 일부 구현예에서 적어도 하나의 hCMV 항원을 암호화하는 개방 관독 프레임을 갖는 적어도 하나의 핵산(예를 들어, RNA)을 포함하고, 여기서 핵산은 표준(변형되지 않은) 또는 당업계에 공지된 바와 같이 변형될 수 있는 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오사이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드는 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오사이드를 포함한다. 이러한 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드는 천연적으로 존재하는 변형 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드 또는 천연적으로 존재하지 않는 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드일 수 있다. 이러한 변형은 당해 분야에서 인지되는 바와 같이 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오사이드의 당, 백본 또는 핵염기 부분에서의 변형을 포함할 수 있다.

[0127] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 천연적으로 존재하는 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오사이드는 당업계에 일반적으로 공지되어 있거나 인지되는 바와 같은 것이다. 이러한 천연적으로 존재하는 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드의 비제한적 예는 특히 널리 인지되는 MODOMICS 데이터베이스에서 찾을 수 있다.

[0128] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 천연적으로 존재하지 않는 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오사이드는 당업계에 일반적으로 공지되어 있거나 인지되는 바와 같은 것이다. 상기 천연적으로 존재하지 않는 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드의 비제한적인 예는 특히 공개된 미국 출원 PCT/US2012/058519; PCT/US2013/075177; PCT/US2014/058897; PCT/US2014/058891; PCT/US2014/070413; PCT/US2015/36773; PCT/US2015/36759; PCT/US2015/36771; 또는 PCT/IB2017/051367에서 찾을 수 있고, 이들 모두는 본원에 참조로 인용된다.

[0129] 따라서, 본원 개시내용의 핵산(예를 들어, DNA 핵산 및 mRNA 핵산과 같은 RNA 핵산)은 표준 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드, 천연적으로 존재하는 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드, 천연적으로 존재하지 않는 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드, 또는 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0130] 본원 개시내용의 핵산(예를 들어, DNA 핵산 및 mRNA 핵산과 같은 RNA 핵산)은 일부 구현예에서 다양한(하나 초과) 상이한 유형의 표준 및/또는 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산의 특정 영역은 1개, 2개 또는 그 이상(선택적으로 상이한) 유형의 표준 및/또는 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드를 함유한다.

[0131] 일부 구현예에서, 세포 또는 유기체에 도입된 변형된 RNA 핵산(예를 들어, 변형된 mRNA 핵산)은 표준 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드를 포함하는 변형되지 않은 핵산에 비해 각각 세포 또는 유기체에서 감소된 분해를 나타낸다.

[0132] 일부 구현예에서, 세포 또는 유기체에 도입된 변형된 RNA 핵산(예를 들어, 변형된 mRNA 핵산)은 표준 뉴클레오

타이드 및 뉴클레오사이드를 포함하는 변형되지 않은 핵산에 비해 각각 세포 또는 유기체에서 감소된 번역원성 (예를 들어, 감소된 선천적 반응)을 나타낼 수 있다.

- [0133] 핵산(예를 들어, mRNA 핵산과 같은 RNA 핵산)은 일부 구현예에서 목적하는 기능 또는 성질을 성취하기 위해 핵산의 합성 동안 또는 합성 후 도입되는 비천연 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 상기 변형은 뉴클레오타이드 간 결합, 퓨린 또는 피리미딘 염기 또는 당에 존재할 수 있다. 변형은 화학적 합성 또는 쉐의 말단 또는 쉐의 다른 어느 곳에서나 폴리머라제 효소로 도입될 수 있다. 임의의 핵산 범위는 화학적으로 변형될 수 있다.
- [0134] 본원 개시내용은 핵산(예를 들어, mRNA 핵산과 같은 RNA 핵산)의 변형된 뉴클레오사이드 및 뉴클레오타이드를 제공한다. "뉴클레오사이드"는 당 분자(예를 들어, 펜토스 또는 리보스) 또는 유기 염기(예를 들어, 퓨린 또는 피리미딘) 또는 이의 유도체(또한 본원에서 "핵염기"로서 지칭됨)와 조합된 유도체를 함유하는 화합물을 지칭한다. "뉴클레오타이드"는 포스페이트 그룹을 포함하는 뉴클레오사이드를 지칭한다. 변형된 뉴클레오타이드는 임의의 유용한 방법, 예를 들어 화학적으로, 효소적으로 또는 재조합적으로 합성되어 하나 이상의 변형된 또는 비천연 뉴클레오사이드를 포함할 수 있다. 핵산은 연결된 뉴클레오사이드의 영역 또는 영역들을 포함할 수 있다. 상기 영역은 다양한 백본 연결을 가질 수 있다. 연결은 표준 포스포다이에스테르 연결일 수 있고, 이 경우 핵산은 뉴클레오타이드 영역을 포함한다.
- [0135] 변형된 뉴클레오타이드 염기쌍은 표준 아데노신-티민, 아데노신-우라실 또는 구아노신-시토신 염기쌍뿐만 아니라 뉴클레오타이드 및/또는 비표준 또는 변형된 염기를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 사이에 형성된 염기쌍을 포함하고, 여기서 수소 결합 공여체 및 수소 결합 수용체의 배열은 예를 들어 적어도 하나의 화학적 변형을 갖는 핵산에서와 같이 비표준 염기와 표준 염기 사이 또는 2개의 상보적인 비표준 염기 구조 사이의 수소 결합을 가능하게 한다. 이러한 비표준 염기쌍 형성의 한 가지 예는 변형된 뉴클레오타이드 이노신과 아데닌, 시토신 또는 우라실 사이의 염기쌍 형성이다. 염기/당 또는 링커의 임의의 조합은 본원 개시내용의 핵산에 도입될 수 있다.
- [0136] 일부 구현예에서, 핵산(예를 들어, mRNA 핵산과 같은 RNA 핵산) 중에 변형된 핵염기는 1-메틸-슈도우리딘(m1 ψ), 1-에틸-슈도우리딘(e1 ψ), 5-메톡시-우리딘(mo5U), 5-메틸-시티딘(m5C), 및/또는 슈도우리딘(ψ)을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산(예를 들어, mRNA 핵산과 같은 RNA 핵산)에서 변형된 핵염기는 5-메톡시메틸 우리딘, 5-메틸티오 우리딘, 1-메톡시메틸 슈도우리딘, 5-메틸 시티딘, 및/또는 5-메톡시 시티딘을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리리보뉴클레오타이드는 화학적 변형을 포함하나 이에 제한되지 않는 상기 언급된 임의의 변형된 핵염기 중 적어도 2개(예를 들어, 2, 3, 4개 이상)의 조합을 포함한다.
- [0137] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 mRNA는 핵산의 하나 이상 또는 모든 우리딘 위치에서 1-메틸-슈도우리딘(m1 ψ) 치환을 포함한다.
- [0138] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 mRNA는 핵산의 하나 이상 또는 모든 우리딘 위치에서 1-메틸-슈도우리딘(m1 ψ) 치환 및 핵산의 하나 이상 또는 모든 시티딘 위치에서 5-메틸 시티딘 치환을 포함한다.
- [0139] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 mRNA는 핵산의 하나 이상 또는 모든 우리딘 위치에서 슈도우리딘(ψ) 치환을 포함한다.
- [0140] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 mRNA는 핵산의 하나 이상 또는 모든 우리딘 위치에서 슈도우리딘(ψ) 치환 및 핵산의 하나 이상 또는 모든 시티딘 위치에서 5-메틸 시티딘 치환을 포함한다.
- [0141] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 mRNA는 핵산의 하나 이상 또는 모든 우리딘 위치에서 우리딘을 포함한다.
- [0142] 일부 구현예에서, mRNA는 특정 변형을 위해 균일하게 변형된다(예를 들어, 완전 변형, 전체 서열에 걸쳐 변형). 예를 들어, 핵산은 1-메틸-슈도우리딘으로 균일하게 변형될 수 있고, 이는 mRNA 서열의 모든 우리딘 잔기가 1-메틸-슈도우리딘으로 대체됨을 의미한다. 유사하게, 핵산은 상기 제시된 것과 같은 변형된 잔기로 대체함으로써 서열에 존재하는 임의의 유형의 뉴클레오사이드 잔기에 대해 균일하게 변형될 수 있다.
- [0143] 본원 개시내용의 핵산은 분자의 전체 길이를 따라 부분적으로 또는 완전히 변형될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상 또는 모두 또는 주어진 유형의 뉴클레오타이드(예를 들어, 퓨린 또는 피리미딘, 또는 A, G, U, C 중 임의의 하나 이상 또는 모두)는 본원 개시내용의 핵산에서 또는 이의 예정된 서열 영역에서(예를 들어, 폴리A 테일을 포함하거나 배제하는 mRNA에서) 균일하게 변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 핵산에서 (또는 이의 서열 영역에서) 모든 뉴클레오타이드 X는 변형된 뉴클레오타이드이고, 여기서, X는 뉴클레오타이드 A, G, U, C 중 하나, 또는 A+G, A+U, A+C, G+U, G+C, U+C, A+G+U, A+G+C, G+U+C 또는 A+G+C 조합 중 어느 하나일 수

있다.

[0144] 핵산은 약 1% 내지 약 100% 변형된 뉴클레오타이드(전체 뉴클레오타이드 함량과 관련하여 또는 하나 이상의 유형의 뉴클레오타이드, 즉 A, G, U 또는 C 중 임의의 하나 이상과 관련하여) 또는 임의의 개입 퍼센트(예를 들어, 1% 내지 20%, 1% 내지 25%, 1% 내지 50%, 1% 내지 60%, 1% 내지 70%, 1% 내지 80%, 1% 내지 90%, 1% 내지 95%, 10% 내지 20%, 10% 내지 25%, 10% 내지 50%, 10% 내지 60%, 10% 내지 70%, 10% 내지 80%, 10% 내지 90%, 10% 내지 95%, 10% 내지 100%, 20% 내지 25%, 20% 내지 50%, 20% 내지 60%, 20% 내지 70%, 20% 내지 80%, 20% 내지 90%, 20% 내지 95%, 20% 내지 100%, 50% 내지 60%, 50% 내지 70%, 50% 내지 80%, 50% 내지 90%, 50% 내지 95%, 50% 내지 100%, 70% 내지 80%, 70% 내지 90%, 70% 내지 95%, 70% 내지 100%, 80% 내지 90%, 80% 내지 95%, 80% 내지 100%, 90% 내지 95%, 90% 내지 100%, 및 95% 내지 100%)를 포함할 수 있다. 임의의 나머지 퍼센트는 변형되지 않은 A, G, U 또는 C의 존재에 의해 설명된다는 것을 이해할 것이다.

[0145] mRNA는 최소 1% 및 최대 100%의 변형된 뉴클레오타이드, 또는 적어도 5%의 변형된 뉴클레오타이드, 적어도 10%의 변형된 뉴클레오타이드, 적어도 25%의 변형된 뉴클레오타이드, 적어도 50%의 변형된 뉴클레오타이드, 적어도 80% 변형된 뉴클레오타이드, 또는 적어도 90% 변형된 뉴클레오타이드와 같은 임의의 개입 퍼센트를 포함할 수 있다. 예를 들어, 핵산은 변형된 우라실 또는 시토신과 같은 변형된 피리미딘을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 핵산 내 우라실의 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 25%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 100%는 변형된 우라실(예를 들어, 5-치환된 우라실)로 대체된다. 변형된 우라실은 단일의 고유 구조를 갖는 화합물로 대체될 수 있거나, 또는 상이한 구조(예를 들어, 2, 3, 4 또는 그 이상의 고유 구조)를 갖는 복수의 화합물로 대체될 수 있다. 일부 구현예에서, 핵산 내 시토신의 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 25%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 100%는 변형된 시토신(예를 들어, 5-치환된 시토신)으로 대체된다. 변형된 시토신은 단일의 고유 구조를 갖는 화합물로 대체될 수 있거나, 또는 상이한 구조(예를 들어, 2, 3, 4 또는 그 이상의 고유 구조)를 갖는 다수의 화합물로 대체될 수 있다.

[0146] **비해독된 영역(UTR)**

[0147] 본원 개시내용의 mRNA는 해독되지 않은 영역으로 작용하거나 기능하는 하나 이상의 영역 또는 부분을 포함할 수 있다. mRNA가 적어도 하나의 관심 대상의 항원을 암호화하도록 디자인되는 경우, 핵산은 이러한 비해독 영역(UTR) 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 핵산의 야생형 해독되지 않은 영역은 전사되지만 해독되지 않는다. mRNA에서 5' UTR은 전사 시작 부위에서 시작하여 시작 코돈까지 계속되지만 시작 코돈은 포함하지 않는 반면 3' UTR은 정지 코돈 바로 다음에 시작하여 전사 종료 신호까지 계속된다. 핵산 분자 및 해독의 안정성 측면에서 UTR이 수행하는 조절 역할에 대한 증거가 늘어나고 있다. UTR의 조절 특성은 무엇보다도 분자의 안정성을 증진시키기 위해 본원 개시내용의 폴리뉴클레오타이드에 혼입될 수 있다. 목적하지 않는 기관 부위로 잘못 전달되는 경우 전사체의 제어된 하향 조절을 보장하기 위해 특정 특성이 혼입될 수도 있다. 다양한 5'UTR 및 3'UTR 서열은 당 업계에 공지되어 있고 이용가능하다.

[0148] 5' UTR은 시작 코돈(리보솜에 의해 해독된 mRNA 전사물의 첫 번째 코돈)의 바로 업스트림(5')에 있는 mRNA의 영역이다. 5' UTR은 단백질을 암호화하지 않는다(비-암호화이다). 천연의 5' UTR에는 해독 개시에서 역할을 하는 특성을 갖는다. 이들은 리보솜이 많은 유전자의 해독을 개시하는 과정에 관여하는 것으로 일반적으로 알려진 Kozak 서열과 같은 시그니처를 함유한다. Kozak 서열은 컨센서스 CCR(A/G)CCAUGG(서열번호 30)를 갖고, 여기서 R은 시작 코돈(AUG)에 이어서 또 다른 'G'의 3개의 염기 업스트림에 있는 퓨린(아데닌 또는 구아닌)이다. 5' UTR은 또한 연장 인자 결합에 관여하는 2차 구조를 형성하는 것으로 공지되었다.

[0149] 본원 개시내용의 일부 구현예에서, 5' UTR은 이중성 UTR이고, 즉, 상이한 ORF가 연관된 천연적으로 발견되는 UTR이다. 또 다른 구현예에서, 5' UTR은 합성 UTR이고, 즉 천연적으로 존재하지 않는다. 합성 UTR은 예를 들어, 완전히 합성된 UTR 뿐만 아니라 유전자 발현을 증가시키는 이들의 성질을 개선하기 위해 돌연변이된 UTR을 포함한다. 예시적인 5' UTR은 제노푸스(Xenopus) 또는 사람 유래된 α-글로빈 또는 β-글로빈 (US8278063; US9012219), 사람 시토크롬 b-245 α 폴리펩타이드, 및 하이드록시스테로이드 (17b) 테하이드로게나제, 및 타바코 예치 바이러스(Tobacco etch virus) (US8278063, 9012219)를 포함한다. CMV 이메디에이트-어얼리 1 (IE1) 유전자(US20140206753, WO2013/185069), 서열 GGGAUCCUACC (서열번호 18) (WO2014144196)이 또한 사용될 수 있다. 또 다른 구현예에서, TOP 유전자의 5' UTR은 5' TOP 모터프(올리고피리미딘 트랙)가 부재인 TOP 유전자의 5' UTR이고 (예를 들어, 참조: WO/2015101414, WO2015101415, WO/2015/062738, WO2015024667, WO2015024667); 리보솜 단백질 대형 32(L32) 유전자 (WO/2015101414, WO2015101415, WO/2015/062738)로부터 유래된 5' UTR 요소, 하이드록시스테로이드 (17-β) 테하이드로게나제 4 유전자(HSD17B4)로부터 유래된 5' UTR 요소

(WO2015024667), 또는 5' ATP5A1의 5' UTR로부터 유래된 5' UTR 요소 (WO2015024667)가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)는 5' UTR 대신 사용된다.

[0150] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 5' UTR은 서열번호 13의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0151] 3' UTR은 정지 코돈 (해독 종료를 신호전달하는 mRNA 전사체의 코돈)의 바로 다운스트림(3')에 있는 mRNA의 영역이다. 3' UTR은 단백질을 암호화하지 않는다(비-암호화이다). 천연 또는 야생형 3' UTR은 이들에 매립된 아데노신 및 우리딘 스트레치를 갖는 것으로 공지되어 있다. 이러한 AU 풍부한 시그니처는 전환율이 높은 유전자에서 특히 만연되어 있다. 이들의 서열 특성 및 기능적 성질을 기반으로 AU 풍부한 요소(ARE)는 3개의 부류로 분리될 수 있다: 부류 I ARE는 U가 풍부한 영역 내에서 AUUUA 모티프의 여러 분산 카피를 포함한다. C-Myc 및 MyoD는 부류 I ARE를 포함한다. 부류 II ARE는 2개 이상의 중첩 UUAUUUA(U/A)(U/A) (서열번호 18) 노나머를 갖는다. 상기 유형의 ARE를 포함하는 분자는 GM-CSF 및 TNF- α 를 포함한다. 부류 III ARE는 널리 규명되어 있지 않다. 이들 U 풍부 영역은 AUUUA 모티프를 포함하지 않는다. c-Jun 및 미오게닌은 상기 부류의 2개의 널리 연구된 예이다. ARE에 결합하는 대부분의 단백질은 메신저를 불안정화시키는 것으로 공지되어 있는 반면 ELAV 계열의 구성원, 특히 HuR은 mRNA의 안정성을 증가시키는 것으로 보고되었다. HuR은 모든 3개의 부류의 ARE에 결합한다. HuR 특이적 결합 부위의 핵산 분자의 3' UTR로의 가공은 HuR 결합을 유도하고 따라서 생체내 메시지를 안정화시킨다.

[0152] 3' UTR은 이중성이거나 합성일 수 있다. 3' UTR과 관련하여, 제노푸스 β -글로빈 UTR 및 사람 β -글로빈 UTR을 포함하는 글로빈 UTR은 당업계에 공지되어 있다(참조: US8278063, US9012219, US20110086907). 2개의 순차적 사람 β -글로빈 3' UTR을 헤드 투 테일로 클로닝함에 의해 일부 세포 유형에서 증진된 안정성을 갖는 변형된 β -글로빈 작제물이 개발되었고 당업계에 널리 공지되어 있다(참조: US2012/0195936, WO2014/071963). 추가로, α 2-글로빈, α 1-글로빈, UTR 및 이의 돌연변이체는 또한 당업계에 공지되어 있다(참조: WO2015101415, WO2015024667). 비-특허 문헌에서 mRNA 작제물에 기재된 기타 3' UTR은 CYBA(참조: Ferizi 등, 2015) 및 알부민(참조: Thess 등, 2015)을 포함한다. 다른 예시적인 3' UTR은 소 또는 사람 성장 호르몬(야생형 또는 변형된)(WO2013/185069, US20140206753, WO2014152774), 토끼 β 글로빈 및 B형 간염 바이러스(HBV)의 UTR을 포함하고, α -글로빈 3' UTR 및 바이러스 VEEV 3' UTR 서열은 또한 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 서열 UUUGAAUU (WO2014144196)이 사용된다. 일부 구현예에서, 사람 및 마우스 리보솜 단백질의 3' UTR이 사용된다. 다른 예는 rps9 3' UTR(WO2015101414), FIG4 (WO2015101415), 및 사람 알부민 7 (WO2015101415)을 포함한다.

[0153] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 3' UTR은 서열번호 14의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0154] 당업자는 이중성이거나 합성인 5' UTR이 임의의 목적하는 3' UTR 서열과 함께 사용될 수 있는 것으로 이해한다. 예를 들어, 이중성 5' UTR은 합성 3' UTR 또는 이중성 3' UTR과 함께 사용될 수 있다.

[0155] 특성의 조합은 플랭킹 영역에 포함될 수 있고 다른 특성 내에 포함될 수 있다. 예를 들어, ORF는 강한 Kozak 해독 개시 신호를 포함할 수 있는 5' UTR 및/또는 폴리-A 테일의 주형 첨가를 위해 올리고(dT) 서열을 포함할 수 있는 3' UTR에 의해 플랭킹될 수 있다. 5' UTR은 본원에서 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된 미국 특허 출원 공개 공보 20100293625 및 PCT/US2014/069155에 기재된 5' UTR과 같은, 동이하고/하거나 상이한 유전자로부터의 제1 폴리뉴클레오타이드 단편 및 제2 폴리뉴클레오타이드 단편을 포함할 수 있다.

[0156] **RNA의 시험관내 전사**

[0157] 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드를 암호화하는 cDNA는 시험관내 전사(IVT) 시스템을 사용하여 전사될 수 있다. RNA의 시험관내 전사는 당업계에 공지되어 있고 국제 공개 공보 WO/2014/152027에 기재되어 있고, 이는 이의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

[0158] 일부 구현예에서, RNA 전사체는 RNA 전사체를 생성하기 위한 시험관내 전사 반응에서 증폭되지 않고 선형화된 DNA 주형을 사용하여 생성된다. 일부 구현예에서, 주형 DNA는 단리된 DNA이다. 일부 구현예에서, 주형 DNA는 cDNA이다. 일부 구현예에서, cDNA는 예를 들어 hCMV mRNA로 제한되지 않지만 RNA 폴리뉴클레오타이드의 역전사에 의해 형성된다. 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, 세균 세포, 예를 들어, 이. 콜라이(*E. coli*) 예를 들어, DH-1 세포는 플라스미드 DNA 주형으로 형질감염시킨다. 일부 구현예에서, 형질감염된 세포를 배양하여 플라스미드 DNA를 복제하고 이어서 이는 단리하고 정제한다. 일부 구현예에서, DNA 주형은 RNA 폴리머라제 프로모터, 예를 들어, 관심 대상의 유전자의 5' 에 위치하고 이에 작동적으로 연결된 T7 프로모터를 포함한다.

[0159] 일부 구현예에서, 시험관내 전사 주형은 5' 비해독(UTR) 영역을 암호화하고, 개방 판독 프레임을 포함하고, 3'

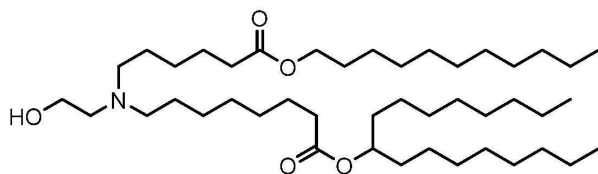
UTR 및 폴리A 테일을 암호화한다. 시험관 내 전사 주형의 특정 핵산 서열 구성 및 길이는 주형에 의해 암호화된 mRNA에 따라 다양하다.

- [0160] RNA 전사체가 생성되는 경우, 5' UTR은 프로모터 서열을 포함할 수 있다. 상기 프로모터 서열은 당업계에 공지되어 있다. 상기 프로모터 서열은 본원 개시내용의 백신에 존재하지 않는 것으로 이해해야 한다.
- [0161] 폴리A 테일은 10 내지 300개 아데노신 모노포스페이트를 포함할 수 있다. 예를 들어, 폴리A 테일은 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300개 아데노신 모노포스페이트를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리A 테일은 50 내지 250개 아데노신 모노포스페이트를 포함한다. 관련 생물학적 세팅(예를 들어, 세포 내, 생체 내)에서 폴리(A) 테일은 예를 들어 세포질에서 효소 분해로부터 mRNA를 보호하는 기능을 하고, 전사 종결 및/또는 핵에서 mRNA의 배출 및 해독을 도와준다.
- [0162] 일부 구현예에서, 핵산은 200 내지 3,000개 뉴클레오타이드를 포함한다. 예를 들어, 핵산은 200 내지 500개, 200 내지 1000개, 200 내지 1500개, 200 내지 3000개, 500 내지 1000개, 500 내지 1500개, 500 내지 2000개, 500 내지 3000개, 1000 내지 1500개, 1000 내지 2000개, 1000 내지 3000개, 1500 내지 3000개, 또는 2000 내지 3000개 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.
- [0163] 일부 구현예에서, RNA 전사체는 효소 캡핑을 통해 캡핑된다. 일부 구현예에서, RNA는 5' 종결 캡, 예를 들어, 7mG(5')ppp(5')NmpNp를 포함한다.
- [0164] **화학적 합성**
- [0165] **고형상 화학적 합성.** 본원 개시내용의 핵산은 전체적으로 또는 부분적으로 고형상 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 핵산의 고형상 화학적 합성은 분자가 고형 지지체에 고정화되고 반응 용액에서 단계적으로 합성되는 자동화된 방법이다. 고형상 합성은 핵산 서열 내 화학적 변형의 부위 특이적 도입에 유용하다.
- [0166] **액체상 화학적 합성.** 단량체 빌딩 블록의 순차적 첨가에 의한 본원 개시내용의 핵산의 합성은 액체상에서 수행될 수 있다.
- [0167] **합성 방법의 조합.** 상기 논의된 각각의 합성 방법은 그들 자체의 이점 및 한계를 갖는다. 한계를 극복하기 위해 이들 방법을 조합하기 위한 시도가 수행되었다. 이러한 방법의 조합은 본원 개시내용의 범위 내에 있다. 효소 연결과 함께 고형상 또는 액체상 화학 합성을 사용하면 화학 합성만으로는 얻을 수 없는 장쇄 핵산을 생성하는 효율적인 방법을 제공한다.
- [0168] **핵산 영역 또는 서브영역의 연결**
- [0169] 리가제에 의한 핵산의 어셈블링이 또한 사용될 수 있다. DNA 또는 RNA 리가제는 포스포디에스테르 결합의 형성을 통해 폴리뉴클레오타이드 쇄의 5' 및 3' 말단의 분자간 연결을 촉진시킨다. 키메라 폴리뉴클레오타이드 및/또는 환형 핵산과 같은 핵산은 하나 이상의 영역 또는 서브영역의 연결에 의해 제조될 수 있다. DNA 단편은 리가제 촉매 반응에 의해 결합되어 다른 기능을 가진 제조합 DNA를 생성할 수 있다. 하나는 5' 포스포릴 그룹을 갖고 다른 하나는 자유 3' 하이드록실 그룹을 갖는 두 개의 올리고데옥시뉴클레오타이드는 DNA 리가제에 대한 기질로서 작용한다.
- [0170] **정제**
- [0171] 본원에 기재된 핵산의 정제는 핵산 클린업, 품질 보증 및 품질 관리를 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 클린업은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 AGENCOURT® 비드(참조: Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA), 폴리-T 비드, LNATM 올리고-T 포획 프로브(EXIQON® Inc, Vedbaek, Denmark) 또는 HPLC 기반 정제 방법, 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 강음이온 교환 HPLC, 약음이온 교환 HPLC, 역상 HPLC (RP-HPLC), 및 수소성 상호작용 HPLC(HIC-HPLC)에 의해 수행될 수 있다. 용어 "정제된"은 "정제된 핵산"과 같은 핵산과 관련하여 사용될 때 적어도 하나의 오염물로부터 분리된 것을 지칭한다. "오염물"은 다르게는 부적합하거나, 불순하거나 열등하게 하는 임의의 물질이다. 따라서 정제된 핵산(예를 들어, DNA 및 RNA)은 자연에서 발견되는 것과 다른 형태 또는 세팅으로 존재하거나 이를 처리 또는 정제 방법에 적용하기 전에 존재했던 것과 다른 형태 또는 세팅으로 존재한다.
- [0172] 품질 보증 및/또는 품질 관리 검사는 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 겔 전기영동, UV 흡광도 또는 분석학적 HPLC와 같은 방법을 사용하여 수행할 수 있다.

- [0173] 일부 구현예에서, 핵산은 역전사 효소 PCR을 포함하지만 이에 제한되지 않는 방법에 의해 서열분석될 수 있다.
- [0174] **정량**
- [0175] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 핵산은 엑소솜에서 또는 하나 이상의 체액으로부터 유래될 때 정량화될 수 있다. 체액은 말초혈액, 혈청, 혈장, 복수, 소변, 뇌척수액(CSF), 객담, 타액, 골수, 윤활액, 방수, 양수, 귀지, 모유, 기관지폐포세척액, 정액, 전립선액, 쿠퍼액(cowper's fluid) 또는 사정전액, 땀, 대변, 모발, 눈물, 낭종액, 흉막액 및 복막액, 심낭액, 림프액, 미즙액, 유즙액, 담즙, 간질액, 월경, 고름, 피지, 토사물, 질 분비물, 점막 분비물, 대변수, 채장액, 부비강 세척액, 기관지폐 흡인액, 포배강액, 체대혈을 포함한다. 대안적으로, 엑소솜은 폐, 심장, 채장, 위, 장, 방광, 콩팥, 난소, 고환, 피부, 결장, 유방, 전립선, 뇌, 식도, 간 및 태반으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 기관으로부터 회수될 수 있다.
- [0176] 작제물 특이적 프로브, 세포측정법, qRT-PCR, 실시간 PCR, PCR, 유동 세포측정법, 전기영동, 질량분광측정법 또는 이들의 조합을 사용하여 검정을 수행할 수 있고, 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA) 방법과 같은 면역조직화학적 방법을 사용하여 엑소솜을 단리할 수 있다. 엑소솜은 또한 크기 배제 크로마토그래피, 밀도 구배 원심분리, 차등 원심분리, 나노막 환의여과, 면역흡수 포획, 친화성 정제, 미세유체 분리 또는 이들의 조합에 의해 단리될 수 있다.
- [0177] 이러한 방법을 통해 연구자는 실시간으로 잔류하거나 전달되는 핵산의 수준을 모니터링할 수 있다. 이는 본원 개시내용의 핵산이 일부 구현예에서 구조적 또는 화학적 변형으로 인해 내인성 형태와 상이하기 때문에 가능하다.
- [0178] 일부 구현예에서, 핵산은 이에 제한되지 않지만 자외선 가시 분광측정(UV/Vis)과 같은 방법을 사용하여 정량화될 수 있다. UV/Vis 분광측정기의 비제한적인 예는 NANODROP® 분광측정기(ThermoFisher, Waltham, MA)이다. 정량화된 핵산은 핵산이 적절한 크기인지 결정하고 핵산 분해가 발생하지 않았는지 확인하기 위해 분석될 수 있다. 핵산의 분해는 이에 제한되지 않는 아가로스 겔 전기영동과 같은 방법, 이에 제한되지 않지만 강음이온 교환 HPLC, 약음이온 교환 HPLC, 역상 HPLC(RP-HPLC) 및 소수성 상호 작용 HPLC(HIC-HPLC), 액체 크로마토그래피-질량 분광측정(LCMS), 모세관 전기영동(CE) 및 모세관 겔 전기영동(CGE)과 같은 HPLC 기반 정제 방법에 의해 확인될 수 있다.
- [0179] **지질 나노입자(LNP)**
- [0180] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 하나 이상의 지질 나노입자(LNP)로 제형화된다. 지질 나노입자는 전형적으로 관심 대상의 핵산 카고(cargo)와 함께 이온화 가능한 아미노(양이온성) 지질, 비양이온성 지질, 스테롤 및 PEG 지질 성분을 포함한다. 본원 개시내용의 지질 나노입자는 당 업계에 공지된 바와 같은 성분, 조성물 및 방법을 사용하여 생성될 수 있고, 예를 들어, PCT/US2016/052352; PCT/US2016/068300; PCT/US2017/037551; PCT/US2015/027400; PCT/US2016/047406; PCT/US2016000129; PCT/US2016/014280; PCT/US2016/014280; PCT/US2017/038426; PCT/US2014/027077; PCT/US2014/055394; PCT/US2016/52117; PCT/US2012/069610; PCT/US2017/027492; PCT/US2016/059575 및 PCT/US2016/069491을 참조하고, 이 모두는 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다.
- [0181] 본원의 개시내용은 전형적으로 지질 나노입자로 제형화된다. 예를 들어, 백신은 하나는 mRNA를 함유하고 다른 하나는 지질 성분을 갖는 2개의 유체 스트립의 미세유체 및 T-접합 혼합과 같은 혼합 공정을 사용하여 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 백신은 이온화 가능한 아미노 지질, 인지질(예를 들어, DOPE 또는 DSPC), PEG 지질(예를 들어, 1,2-디미리스토일-OT-글리세롤 메톡시폴리 에틸렌 글리콜, 또한 PEG-DMG로서 공지된)과, 알코올(예를 들어, 에탄올) 중의 구조적 지질(예를 들어, 콜레스테롤)을 조합함에 의해 제조된다. 지질은 목적하는 물비를 산출하도록 조합될 수 있고, 예를 들어 약 5.5 mM 내지 약 25 mM의 최종 지질 농도가 되도록 물 및 알코올(예를 들어, 에탄올)로 희석될 수 있다.
- [0182] mRNA 및 지질 성분을 포함하는 백신은 예를 들어, 지질 용액과 mRNA 용액을 조합함에 의해 제조될 수 있고 지질 성분 대 mRNA wt:wt 비율은 약 5:1 내지 약 50:1이다. 지질 용액은 미세유체 기반 시스템(예를 들어, NanoAssembler)을 사용하여 예를 들어 약 10ml/분 내지 약 18ml/분의 유속으로 mRNA 용액에 신속하게 주사되어 현탁액(예를 들어, 물 대 알코올의 비율은 약 1:1 내지 약 4:1이다)을 생성할 수 있다.
- [0183] 백신은 희석에 의해 가공되어 알코올(예를 들어, 에탄올)을 제거하고 완충액 교환을 성취할 수 있다. 제형은 포스페이트 완충 식염수(PBS), pH 7.4에 대해, 예를 들어 1차 생성물보다 더 큰 용적에서(예를 들어, Slide-A-Lyzer

카세트(Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL)를 사용하여 투석될 수 있고, 예를 들어, 분자량 컷오프는 10 kD이다. 이전의 예시적인 방법은 나노침전 및 입자 형성을 유도한다. T-접합 및 직접적인 주사를 포함하지만 이에 제한되지 않는 대안적 공정을 사용하여 동일한 나노침전을 성취할 수 있다.

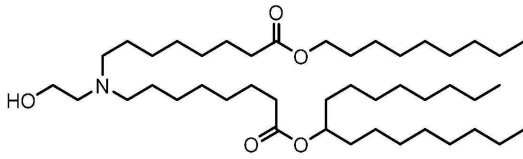
- [0184] 본원의 개시내용은 전형적으로 지질 나노입자로 제형화된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 적어도 하나의 이온화 가능한 아미노 지질, 적어도 하나의 비양이온성 지질, 적어도 하나의 스테롤, 및/또는 적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-변형된 지질을 포함한다.
- [0185] 본원 개시내용의 지질 나노입자는 지질의 혼합물로 구성되고 그 양은 지질 나노입자에서 각 지질 성분의 몰 분율 또는 몰 퍼센트에 따라 측정된다. 몰 퍼센트는 몰 분율에 100%를 곱하여 수득한다. 지질 혼합물이 수치로 설명되는 경우 mRNA 및 물은 나타내지 않는다.
- [0186] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 20-60 mol% 이온화 가능한 아미노 지질을 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 20-50 mol%, 20-40 mol%, 20-30 mol%, 30-60 mol%, 30-50 mol%, 30-40 mol%, 40-60 mol%, 40-50 mol%, 또는 50-60 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질의 몰 퍼센트를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 20 mol%, 30 mol%, 40 mol%, 50 mol%, 또는 60 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질을 포함한다.
- [0187] 상기 이온화 가능한 아미노 지질은 때로는 문헌에서 양이온성 지질로서 지칭될 수 있지만, 상기 문헌은 이온화 가능한 아미노 지질 명명법을 채택하여 미지의 지질이 단지 특정 pH 조건하에서 양이온임을 반영한다.
- [0188] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 5-25 mol%의 비-양이온성 지질을 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 5-20 mol%, 5-15 mol%, 5-10 mol%, 10-25 mol%, 10-20 mol%, 10-15 mol%, 15-25 mol%, 15-20 mol%, 또는 20-25 mol% 비-양이온성 지질을 포함하는 비-양이온성 지질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 5 mol%, 10 mol%, 15 mol%, 20 mol%, 또는 25 mol%의 비-양이온성 지질을 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다.
- [0189] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 25-55 mol%의 스테롤을 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 25-50 mol%, 25-45 mol%, 25-40 mol%, 25-35 mol%, 25-30 mol%, 30-55 mol%, 30-50 mol%, 30-45 mol%, 30-40 mol%, 30-35 mol%, 35-55 mol%, 35-50 mol%, 35-45 mol%, 35-40 mol%, 40-55 mol%, 40-50 mol%, 40-45 mol%, 45-55 mol%, 45-50 mol%, 또는 50-55 mol% 스테롤을 포함하는 스테롤을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 25 mol%, 30 mol%, 35 mol%, 40 mol%, 45 mol%, 50 mol%, 또는 55 mol% 스테롤의 몰 퍼센트를 포함한다.
- [0190] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 0.5-15 mol%의 PEG-변형된 지질을 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 0.5-10 mol%, 0.5-5 mol%, 1-15 mol%, 1-10 mol%, 1-5 mol%, 2-15 mol%, 2-10 mol%, 2-5 mol%, 5-15 mol%, 5-10 mol%, 또는 10-15 mol%의 PEG-변형된 지질의 몰 퍼센트를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 0.5 mol%, 1 mol%, 2 mol%, 3 mol%, 4 mol%, 5 mol%, 6 mol%, 7 mol%, 8 mol%, 9 mol%, 10 mol%, 11 mol%, 12 mol%, 13 mol%, 14 mol%, 또는 15 mol% PEG-변형된 지질의 몰 퍼센트를 포함한다.
- [0191] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 20-60% 이온화 가능한 아미노 지질, 5-25% 비-양이온성 지질, 25-55% 스테롤 및 0.5-15% PEG-변형된 지질의 몰 비를 포함한다.
- [0192] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 49 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 10 mol%의 DSPC, 및 2.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 48 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 11 mol%의 DSPC, 및 2.5 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 47 mol%의 이온화 가능한 아미노 지질, 38.5 mol%의 콜레스테롤, 11.5 mol%의 DSPC, 및 3 mol%의 DMG-PEG를 포함하는 지질의 혼합물을 포함한다.
- [0193] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 이온화 가능한 아미노 지질은 하기의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:



(화합물 I).

[0194]

[0195] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 이온화 가능한 아미노 지질은 하기의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:



[0196] (화합물 II).

[0197] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 비-양이온성 지질은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE), 1,2-딜리놀레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DLPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-포스포콜린(DMPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DOPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디운데카노일-sn-글리세로-포스포콜린(DUPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POPC), 1,2-디-O-옥타데세닐-sn-글리세로-3-포스포콜린(18:0 디에테르 PC), 1-올레오일-2-콜레스테릴헤미숙시노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(OChemsPC), 1-헥사데실-sn-글리세로-3-포스포콜린(C16 리소 PC), 1,2-딜리놀레노일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디아라키도노일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디도코사헥사에노일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디피타노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(ME 16.0 PE), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-딜리놀레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-딜리놀레노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디아라키도노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디도코사헥사에노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포-락-(1-글리세롤) 나트륨 염(DOPG), 스펅고미엘린 및 이들의 혼합물을 포함한다.

[0198] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 PEG 변형된 지질은 PEG-변형된 포스파티딜에탄올아민, PEG-변형된 포스파타이드산, PEG-변형된 세라미드, PEG-변형된 디알킬아민, PEG-변형된 디알킬글리세롤, PEG-변형된 디알킬글리세롤 및 이의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, PEG-변형된 지질은 DMG-PEG, PEG-c-DOMG (또한 PEG-DOMG로서 지칭되는), PEG-DSG 및/또는 PEG-DPG이다.

[0199] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 스테롤은 콜레스테롤, 페코스테롤, 시토스테롤, 에르고스테롤, 캄포스테롤, 스티그마스테롤, 브라시카스테롤, 토마티딘, 우르솔산, 알파-토코페롤, 및 이들의 혼합물을 포함한다.

[0200] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 화합물 1의 이온화 가능한 아미노 지질을 포함하고, 여기서, 상기 비-양이온성 지질은 DSPC이고, 상기 구조적 지질은 콜레스테롤이고, PEG 지질은 DMG-PEG이다.

[0201] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 45 - 55 몰 퍼센트의 이온화 가능한 아미노 지질을 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 또는 55 몰 퍼센트의 이온화 가능한 아미노 지질을 포함할 수 있다.

[0202] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 5 - 15 몰 퍼센트의 DSPC를 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15 몰 퍼센트의 DSPC를 포함할 수 있다.

[0203] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 35 - 40 몰 퍼센트의 콜레스테롤을 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 35, 36, 37, 38, 39, 또는 40 몰 퍼센트의 콜레스테롤을 포함할 수 있다.

[0204] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 1 - 2 몰 퍼센트의 DMG-PEG를 포함한다. 예를 들어, 지질 나노입자는 1, 1.5 또는 2 몰 퍼센트의 DMG-PEG를 포함할 수 있다.

[0205] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 50 몰 퍼센트의 이온화 가능한 아미노 지질, 10 몰 퍼센트의 DSPC, 38.5 몰 퍼센트의 콜레스테롤, 및 1.5 몰 퍼센트의 DMG-PEG를 포함한다.

[0206] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 2:1 내지 약 30:1의 N:P 비율을 포함한다.

[0207] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 6:1의 N:P 비율을 포함한다.

[0208] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 3:1의 N:P 비율을 포함한다.

[0209] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 10:1 내지 약 100:1의 이온화 가능한 아미노 지질 성분 대 RNA의 wt/wt 비율을 포함한다.

[0210] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 20:1의 이온화 가능한 아미노 지질 성분 대 RNA의 wt/wt 비율을 포함한다.

- [0211] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 10:1의 이온화 가능한 아미노 지질 성분 대 RNA의 wt/wt 비율을 포함한다.
- [0212] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 50 nm 내지 약 150 nm의 평균 직경을 갖는다.
- [0213] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 LNP는 약 70 nm 내지 약 120 nm의 평균 직경을 갖는다.
- [0214] **다가 백신**
- [0215] 본원에 제공된 바와 같은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 동일하거나 상이한 hCMV 종의 2개 이상의 항원을 암호화하는 mRNA 또는 다중 mRNA를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 2개 이상의 항원을 암호화하는 RNA 또는 다중 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 mRNA는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개 이상의 항원을 암호화할 수 있다.
- [0216] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 hCMV gH, hCMV gL, hCMV UL128, hCMV UL130, hCMV UL131A, 및 hCMV gB를 암호화하는 적어도 하나의 RNA를 포함한다.
- [0217] 일부 구현예에서, 항원을 암호화하는 2개 이상의 상이한 RNA(예를 들어, mRNA)는 동일한 지질 나노입자로 제형화될 수 있다. 다른 구현예에서, 항원을 암호화하는 2개 이상의 상이한 RNA는 별도의 지질 나노입자로 제형화될 수 있다(예를 들어, 각각의 RNA는 단일 지질 나노입자로 제형화됨). 이어서, 지질 나노입자를 조합하여 단일 백신 조성물(예를 들어, 다중 항원을 암호화하는 다중 RNA를 포함하는)로 투여하거나 별도로 투여할 수 있다.
- [0218] **약제학적 제형**
- [0219] 예를 들어, 사람 및 다른 포유류에서 hCMV의 예방 또는 치료를 위한 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물), 방법, 키트 및 시약이 본원에 제공되고, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 치료제 또는 예방제로서 사용될 수 있다. 이들은 감염성 질환을 예방하고/하거나 치료하기 위한 의약에 사용될 수 있다.
- [0220] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 mRNA를 함유하는 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 대상체(예를 들어, 포유동물 대상체, 예를 들어, 사람 대상체)에게 투여될 수 있고, RNA 폴리뉴클레오타이드는 생체내에서 해독되어 항원성 폴리펩타이드(항원)를 생성한다.
- [0221] hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 "유효량"은 표적 조직, 표적 세포 유형, 투여 수단, RNA의 물리적 특징(예를 들어, 길이, 뉴클레오타이드 조성, 및/또는 변형된 뉴클레오사이드의 정도), 백신의 다른 구성 요소, 대상체의 연령, 체중, 키, 성별 및 일반 건강과 같은 기타 결정 요인을 기반으로 하거나 적어도 부분적으로 기반으로 한다. 전형적으로, 유효량의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 대상체의 세포에서 항원 생산의 함수로서 유도되거나 부스팅된 면역 반응을 제공한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 화학적 변형을 갖는 RNA 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 유효량의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 동일한 항원 또는 펩타이드 항원을 암호화하는 상응하는 변형되지 않은 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 조성물보다 더 효율적이다. 증가된 항원 생성은 증가된 세포 형질감염(RNA 백신으로 형질감염된 세포의 퍼센트), 폴리뉴클레오타이드로부터의 증가된 단백질 해독 및/또는 발현, 감소된 핵산 분해(예를 들어, 변형된 폴리뉴클레오타이드로부터의 증가된 단백질 해독 기간에 의해 입증됨), 또는 숙주 세포의 변경된 항원 특이적 면역 반응에 의해 입증될 수 있다.
- [0222] 용어 "약제학적 조성물"은 조성물을 생체내 또는 생체외에서 진단 또는 치료 용도에 특히 적합하게 하는 활성 제제와 불활성 또는 활성 담체의 조합을 지칭한다. 대상체에 투여된 후 또는 투여 즉시 "약제학적으로 허용되는 담체"는 바람직하지 못한 생리학적 효과를 유발하지 않는다. 약제학적 조성물 내의 담체는 활성 성분과 상용성이고 이를 안정화시킬 수 있다는 의미에서 "허용되는"이어야 한다. 하나 이상의 가용화제가 활성제의 전달을 위한 약제학적 담체로서 사용될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체의 예는 생체적합성 비히클, 보조제, 첨가제 및 투여 형태로 사용 가능한 조성물을 달성하기 위한 희석제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 다른 담체의 예는 콜로이드성 이산화규소, 마그네슘 스테아레이트, 셀룰로스, 나트륨 라우릴 설페이트를 포함한다. 추가의 적합한 약제학적 담체 및 희석제, 및 이들의 사용을 위한 약제학적 필요성은 문헌(참조: Remington's Pharmaceutical Sciences)에 기재되어 있다.
- [0223] 일부 구현예에서, 본원 개시내용에 따른 면역학적 조성물(예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 및 이들의 암호화된 폴리펩타이드를 포함하는 RNA 백신)은 hCMV 감염의 치료 또는 예방을 위해 사용될 수 있다. hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 능동 면역화 계획의 일부로서 또는 항온처리 단계 동안 또는 증상의 개시 후 능동

감염 동안에 예방학적으로 또는 치료학적으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포, 조직 또는 대상체에게 제공된 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 양은 면역 예방을 위해 효과적인 양일 수 있다.

- [0224] hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 다른 예방학적 또는 치료학적 화합물과 함께 투여될 수 있다. 비제한적인 예로서, 예방학적 또는 치료학적 화합물은 보조제 또는 부스터일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 백신과 같은 예방학적 조성물을 지칭하는 경우, 용어 "부스터"는 예방학적(백신) 조성물의 추가 투여를 지칭한다. 부스터 (또는 부스터 백신)는 예방학적 조성물의 보다 조기의 투여 후 투여될 수 있다. 예방학적 조성물의 초기 투여와 부스터 사이의 투여 시간은 1분, 2분, 3분, 4분, 5분, 6분, 7분, 8분, 9분, 10분, 15분, 20분, 35분, 40분, 45분, 50분, 55분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 11시간, 12시간, 13시간, 14시간, 15시간, 16시간, 17시간, 18시간, 19시간, 20시간, 21시간, 22시간, 23시간, 1일, 36시간, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 10일, 2주, 3주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 1년, 18개월, 2년, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년, 11년, 12년, 13년, 14년, 15년, 16년, 17년, 18년, 19년, 20년, 25년, 30년, 35년, 40년, 45년, 50년, 55년, 60년, 65년, 70년, 75년, 80년, 85년, 90년, 95년 또는 99년 이상일 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 예시적인 구현예에서, 예방학적 조성물의 초기 투여와 부스터 사이의 투여 시간은 1주, 2주, 3주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월 또는 1년일 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3회 이상)의 부스터가 투여된다. 일부 구현예에서, 2개의 부스터는 초기 투여 후 투여된다(예를 들어, 2개월 개시 즈음에 1회 및 6개월 개시 즈음에 1회).
- [0225] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 당업계에서 공지된 불활성화 백신의 투여와 유사하게 근육내(예를 들어, 삼각근에), 비강내 또는 피내로 투여될 수 있다.
- [0226] hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 감염의 유발률 또는 충족되지 않은 의학적 필요성의 정도 또는 수준에 따라 다양한 세팅에서 사용될 수 있다. 비제한적인 예로서, RNA 백신은 다양한 감염성 질환을 치료하고/하거나 예방하기 위해 사용될 수 있다. RNA 백신은 이들이 훨씬 보다 큰 항체 역가, 보다 양호한 중화 면역, 보다 지속적인 면역 반응을 생성하고/하거나 상업적으로 가용한 백신보다 더 초기 반응을 생성한다는 점에서 우수한 성질을 갖고 있다.
- [0227] 임의로 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 조합된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신) 및/또는 복합체를 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.
- [0228] hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 단독으로 또는 하나 이상의 다른 성분과 함께 제형화되거나 투여될 수 있다. 예를 들어, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 보조제를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 성분을 포함할 수 있다.
- [0229] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 보조제를 포함하지 않는다(이들은 보조제가 없다). 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 보조제를 포함한다. 백신에 사용하기 위해 적합한 임의의 공지된 보조제가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 MF59 보조제 시스템을 포함한다(예를 들어, 문헌(참조: O' Hagan 등, Expert Rev Vaccines. 2007 Oct;6(5):699-710, 본원에 참조로 인용됨)에 기재된 바와 같이).
- [0230] hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 제형화되거나 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 백신 조성물은 적어도 하나의 추가 활성 물질, 예를 들어 치료학적 활성 물질, 예방학적 활성 물질 또는 이들의 조합을 포함한다. 백신 조성물은 멸균성, 발열원 부재 또는 멸균성 및 발열원 부재 둘 다일 수 있다. 백신 조성물과 같은 약제학적 제제의 제형화 및/또는 제조에서 일반적인 고려 사항은 예를 들어, 문헌(참조: Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005 (이의 전문이 본원에 참조로 인용됨))에서 찾을 수 있다.
- [0231] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 사람 환자 또는 대상체와 같은 사람에게 투여된다. 본원 개시내용의 목적을 위해, "활성 성분"이라는 어구는 일반적으로 RNA 백신 또는 그 안에 함유된 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 항원을 암호화하는 RNA 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, mRNA 폴리뉴클레오타이드)를 지칭한다.
- [0232] 본원에 기재된 백신 조성물의 제형은 제약 분야에서 공지되거나 이후 개발된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 이러한 제조 방법은 활성 성분(예를 들어, mRNA 폴리뉴클레오타이드)을 부형제 및/또는 하나

이상의 다른 보조 성분과 회합시키는 단계, 및 이어서 필요 및/또는 바람직하다면 분할, 성형 및/또는 제품을 목적하는 단일 또는 다중 용량 단위로 패키징하는 단계를 포함한다.

[0233] 활성 성분, 약제학적으로 허용되는 부형제, 및/또는 본원의 개시내용에 따른 약제학적 조성물 내의 임의의 추가 성분의 상대적인 양은 치료받는 대상체의 정제, 크기 및/또는 조건에 따라 및 추가로 조성물이 투여되어야 할 경로에 의존하여 다양할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 0.1% 내지 100%, 예를 들어, 0.5% 내지 50%, 1 내지 30%, 5 내지 80%, 적어도 80% (w/w)의 활성 성분을 포함할 수 있다.

[0234] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 하기를 위해 하나 이상의 부형제를 사용하여 제형화한다: (1) 안정성을 증가시키는 것; (2) 세포 형질감염을 증가시키는 것; (3) 지속적이거나 지연된 방출(예를 들어, 데포 제형으로부터)을 가능하게 하기 위해; (4) 생분포를 변경하는 것(예를 들어, 특이적 조직 또는 세포 유형에 표적화하는 것); (5) 생체내 암호화된 단백질의 해독을 증가시키는 것; 및/또는 (6) 생체내 암호화된 단백질(항원)의 방출 프로필을 변경하는 것. 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 희석제 또는 기타 액체 비히클, 분산 또는 현탁 보조제, 표면 활성제, 등장성 제제, 증점제 또는 유화제, 방부제와 같은 통상적인 부형제 이외에, 부형제는 리피도이드, 리포솜, 지질 나노입자, 중합체, 리포플렉스, 코어-셸 나노입자, 펩타이드, 단백질, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)로 형질감염된 세포(예를 들어, 대상체에 이식시키기 위한 것), 히알루로니다제, 나노입자 모방체 및 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0235] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 LNP 제형으로 제형화되고 동결 건조된다. 동결건조된 조성물은 투여용으로 적당한 용액으로 재구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 동결건조된 조성물은 0.9% 염화나트륨을 함유하는 용액으로 재구성된다. 일부 구현예에서, 재구성된 조성물은 이어서 트리스 슈크로스 희석제 SD-0724를 사용하여 적당한 용적(예를 들어, 0.5 mL) 중에서 적당한 용량 수준의 전달을 위한 농도로 희석한다.

[0236] **용량/투여**

[0237] 사람 및 다른 포유류에서 hCMV 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물), 방법, 키트 및 시약이 본원에 제공된다. hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 치료학적 또는 예방학적 제제로서 사용될 수 있다. 일부 양상에서, 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 hCMV로부터 예방학적 보호를 제공하기 위해 사용된다. 일부 양상에서, 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 hCMV 감염을 치료하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 예를 들어 생체 외에서 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 활성화하기 위해 면역 이펙터 세포의 프라이밍에 사용되며, 이후 상기 세포는 대상체에 주입(재-주입)된다.

[0238] 대상체는 비-사람 영장류 및 사람 대상체를 포함하는 임의의 포유류일 수 있다. 전형적으로, 대상체는 사람 대상체이다.

[0239] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 항원-특이적 면역 반응을 유도하기 위한 유효량으로 대상체(예를 들어, 사람 대상체와 같은 포유동물 대상체)에게 투여된다. hCMV 항원을 암호화하는 RNA는 생체내 발현되고 해독되어 항원을 생성하고 이는 이어서 대상체에서 면역 반응을 자극한다. 대상체는 hCMV mRNA 백신을 투여 받기 전에 hCMV 혈청양성(예를 들어, 이전에 천연 hCMV 감염을 가짐) 또는 hCMV 혈청음성(예를 들어 이전에 천연 hCMV 감염을 갖지 않음)일 수 있다.

[0240] hCMV로부터의 예방학적 보호는 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 투여 후에 달성될 수 있다. 백신은 1회, 2회, 3회, 4회 또는 그 이상 투여될 수 있지만, 백신을 1회 투여하는 것으로 충분할 가능성이 높다(선택적으로 이후 1회 이상의 추가 부스터). 덜 바람직하지만 치료학적 반응을 달성하기 위해 감염된 개체에게 백신을 투여하는 것이 가능하다. 용량은 이에 따라 조정될 필요가 있을 수 있다.

[0241] hCMV에 대한 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법이 본 개시내용의 양상에서 제공된다. 상기 방법은 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서 hCMV 항원(예를 들어, hCMV gH, gL, UL128, UL130, UL131A 및/또는 gB)에 특이적인 면역 반응을 유도한다. 일부 구현예에서, 면역 반응은 hCMV 항원(예를 들어, hCMV gH, gL, UL128, UL130, UL131A 및/또는 gB)에 대한 중화 항체의 유도이다. 일부 구현예에서, 대상체의 항-항원 항체 역가는 hCMV에 대한 통상적인 백신의 예방학적 유효 용량으로 백신접종된 대상체에서의 항-항원 항체 역가에 비해 백신접종 후에 증가된다. "항-항원 항체"는 항원에 특이적으로 결합하는 혈청 항체이다.

[0242] 일부 구현예에서, 예방학적 유효 용량은 임상적으로 허용되는 수준에서 바이러스 감염을 예방하는 유효 용량이

다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 백신에 대한 패키지 삽입체에 열거된 용량이다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)을 투여받은 대상체의 혈청에서 투여 후 1-72시간 (예를 들어, 1-72시간, 1-60시간, 1-45시간, 1-30시간, 1-15시간, 15-72시간, 15-60시간, 15-45시간, 15-30시간, 30-72시간, 30-60시간, 30-45시간, 45-72시간, 45-60시간 또는 60-72시간)에 측정시 검출 가능한 수준의 hCMV 항원(예를 들어, gH, gL, UL128, UL130, UL131A 및/또는 gB 폴리펩타이드)을 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)을 투여받은 대상체의 혈청에서 투여 후 1-72시간 (예를 들어, 1-72시간, 1-60시간, 1-45시간, 1-30시간, 1-15시간, 15-72시간, 15-60시간, 15-45시간, 15-30시간, 30-72시간, 30-60시간, 30-45시간, 45-72시간, 45-60시간 또는 60-72시간)에 측정시 hCMV 항원(예를 들어, gH, gL, UL128, UL130, UL131A 및/또는 gB 폴리펩타이드)에 대한 중화 항체에 의해 생성된 중화 역가를 생성하기에 충분하다.

[0243] 본원에서 사용되는 통상적인 백신은 본원 개시내용의 mRNA 백신 이외의 백신을 지칭한다. 예를 들어, 통상적인 백신은 생 미생물 백신, 사멸된 미생물 백신, 서브유닛 백신, 단백질 항원 백신, DNA 백신, 바이러스 유사 입자 (VLP) 백신 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 예시적인 구현예에서, 통상적인 백신은 규제 승인을 획득하고/하거나 국가 약물 규제 기관, 예를 들어 미국의 식품의약국(FDA) 또는 유럽 의약품청(EMA)에 의해 등록된 백신이다.

[0244] 일부 구현예에서, 대상체에서 항-항원 항체 역가는 hCMV 또는 백신접종되지 않은 대상체에 대한 통상적인 백신의 예방학적 유효 용량으로 백신접종된 대상체에서의 항-항원 항체 역가에 비해 백신접종 후에 1 log 내지 10 log로 증가된다. 일부 구현예에서, 대상체에서 항-항원 항체 역가는 hCMV 또는 백신접종되지 않은 대상체에 대한 통상적인 백신의 예방학적 유효 용량으로 백신접종된 대상체에서의 항-항원 항체 역가에 비해 백신접종 후에 1 log, 2 log, 3 log, 4 log, 5 log 또는 10 log로 증가된다.

[0245] hCMV에 대한 대상체에서 면역 반응을 유발하는 방법은 본원 개시내용의 다른 양상에서 제공된다. 상기 방법은 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)을 대상체에게 투여함으로써 상기 대상체에서 hCMV 항원에 특이적인 면역 반응을 유도하는 것을 포함하고, 여기서 대상체에서의 면역 반응은 RNA 백신에 비해 용량 수준의 2배 내지 100배에서 hCMV에 대한 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서의 면역 반응과 동등하다.

[0246] 일부 구현예에서, 대상체에서의 면역 반응은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에 비해 투여량 수준의 2배인 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서의 면역 반응과 동등하다. 일부 구현예에서, 대상체에서의 면역 반응은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에 비해 투여량 수준의 3배인 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서의 면역 반응과 동등하다. 일부 구현예에서, 대상체에서의 면역 반응은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에 비해 투여량 수준의 4배, 5배, 10배, 50배 또는 100배인 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서의 면역 반응과 동등하다. 일부 구현예에서, 대상체에서의 면역 반응은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에 비해 투여량 수준의 10배 내지 1000배인 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서의 면역 반응과 동등하다. 일부 구현예에서, 대상체에서의 면역 반응은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에 비해 투여량 수준의 100배 내지 1000배인 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서의 면역 반응과 동등하다.

[0247] 다른 구현예에서, 면역 반응은 대상체에서 [단백질] 항체 역가를 결정함에 의해 평가된다. 다른 구현예에서, 면역화된 대상체로부터의 혈청 또는 항체의 능력은 바이러스 흡수를 중화하거나 사람 B 림프구의 hCMV 형질전환을 감소시키는 능력에 대해 시험된다. 다른 구현예에서, 왕성한 T 세포 반응(들)을 촉진하는 능력은 당업계에서 인지된 기술을 사용하여 측정된다.

[0248] 다른 양상에서, 본원 개시내용은 적어도 하나의 hCMV 항원을 암호화하는 개방 관독 프레임을 갖는 적어도 하나의 RNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 hCMV mRNA 백신을 대상체에게 투여함으로써 상기 대상체에서 hCMV 항원에 특이적인 면역 반응을 유도하는 방법을 제공하고, 여기서 상기 대상체에서 면역 반응은 hCMV에 대한 예방학적 유효량의 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서 유도된 면역 반응에 비해 2일 내지 10주 더 조기에 유도된다. 일부 구현예에서, 대상체에서 면역 반응은 RNA 백신에 비해 용량 수준의 2배 내지 100배인 통상적인 백신의 예방학적 유효 용량으로 백신접종된 대상체에서 유도된다.

[0249] 일부 구현예에서, 상기 대상체에서의 면역 반응은 예방학적 유효 용량의 통상적인 백신으로 백신접종된 대상체에서 유도된 면역 반응에 비해 2일, 3일, 1주, 2주, 3주, 5주 또는 10주 보다 조기에 유도된다.

[0250] hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 치료학적으로 효과적인 결과를 초래하는 임의의 경로에 의해 투

여될 수 있다. 이들은 피내, 근육내, 비강내 및/또는 피하 투여를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본원 개시 내용은 이를 필요로 하는 대상체에게 RNA 백신을 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 요구되는 정확한 양은 대상체의 종, 연령 및 일반적인 상태, 질환의 중증도, 특정 조성, 투여 방식, 활성 방식 등에 따라 대상체마다 다양할 것이다. hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 전형적으로 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제형화된다. 그러나, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 총 하루 사용량은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 주치의에 의해 결정될 수 있음을 이해할 것이다. 임의의 특정 환자에 대한 특정 치료학적으로 효과적이거나, 예방학적으로 효과적이거나 적절한 이미지화 용량 수준은 치료되는 장애 및 장애의 중증; 사용된 특정 화합물의 활성; 사용된 특정 조성물; 환자의 연령, 체중, 일반 건강, 성별 및 식이; 사용된 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로 및 배설 속도; 치료 기간; 사용된 특정 화합물과 함께 또는 동시에 사용되는 약물; 및 의학 분야에서 잘 알려진 유사 인자를 포함하는 다양한 요인에 따라 달라질 것이다.

[0251] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 1 µg, 2 µg, 3 µg, 4 µg, 5 µg, 6 µg, 7 µg, 8 µg, 9 µg, 10 µg, 11 µg, 12 µg, 13 µg, 14 µg, 15 µg, 16 µg, 17 µg, 18 µg, 19 µg, 20 µg, 21 µg, 22 µg, 23 µg, 24 µg, 25 µg, 26 µg, 27 µg, 28 µg, 29 µg, 30 µg, 31 µg, 32 µg, 33 µg, 34 µg, 35 µg, 36 µg, 37 µg, 38 µg, 39 µg, 40 µg, 41 µg, 42 µg, 43 µg, 44 µg, 45 µg, 46 µg, 47 µg, 48 µg, 49 µg, 50 µg, 51 µg, 52 µg, 53 µg, 54 µg, 55 µg, 56 µg, 57 µg, 58 µg, 59 µg, 60 µg, 61 µg, 62 µg, 63 µg, 64 µg, 65 µg, 66 µg, 67 µg, 68 µg, 69 µg, 70 µg, 71 µg, 72 µg, 73 µg, 74 µg, 75 µg, 76 µg, 77 µg, 78 µg, 79 µg, 80 µg, 81 µg, 82 µg, 83 µg, 84 µg, 85 µg, 86 µg, 87 µg, 88 µg, 89 µg, 90 µg, 95 µg, 100 µg, 110 µg, 120 µg, 130 µg, 140 µg, 150 µg, 160 µg, 170 µg, 180 µg, 190 µg, 200 µg, 250 µg, 300 µg, 350 µg, 400 µg, 450 µg, 또는 500 µg, 이들 사이의 모든 값을 포함하는 용량으로 투여된다.

[0252] 본원에서 사용되는 바와 같이, 본원 개시내용의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 용량은 지질 나노입자의 제형에서 총 µg mRNA를 지칭한다. 본원에서 사용된 바와 같이 "총 µg mRNA"는 RNA 불순물, 분해된 mRNA 및 기타 비활성 mRNA가 여전히 총량으로 계수된다는 이해 하에 단일 투여에 대한 총 용량 또는 공칭 용량을 지칭한다. 지질 성분의 중량은 본원 개시내용에서 용량을 언급할 때 포함되지 않는다.

[0253] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 약 50-150 µg의 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 단 1회 용량이 투여되는 반면, 다른 구현예에서는 다중 용량(예를 들어, 1회, 2회 또는 3회 용량)이 투여된다. 다중 용량이 투여되는 구현예에서, 제1 용량과 후속 용량 사이의 용량은 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 바와 같은 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, gH/gL/UL128/UL130/UL131A/gB를 암호화하는 mRNA를 포함하는 mRNA 백신)의 유효량은 예를 들어 단일 용량으로서 투여되는 150 µg 만큼 낮을 수 있다.

[0254] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50-150 µg의 단일 용량이다. 예를 들어, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 µg, 51 µg, 52 µg, 53 µg, 54 µg, 55 µg, 56 µg, 57 µg, 58 µg, 59 µg, 60 µg, 61 µg, 62 µg, 63 µg, 64 µg, 65 µg, 66 µg, 67 µg, 68 µg, 69 µg, 70 µg, 71 µg, 72 µg, 73 µg, 74 µg, 75 µg, 76 µg, 77 µg, 78 µg, 79 µg, 80 µg, 81 µg, 82 µg, 83 µg, 84 µg, 85 µg, 86 µg, 87 µg, 88 µg, 89 µg, 90 µg, 95 µg, 100 µg, 110 µg, 120 µg, 130 µg, 140 µg, 또는 150 µg, 이들 사이의 모든 값을 포함하는 단일 용량일 수 있다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 µg의 단일 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 100 µg의 단일 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 150 µg의 단일 용량이다.

[0255] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 µg, 100 µg 또는 150 µg이다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 1차 면역화에 이어 동일한 유효 용량의 단일 부스트로서 투여된다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 1차 면역화에 이어 동일한 유효 용량의 2회 순차적 부스터 면역화로서 투여된다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 50 µg의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)이고 50 µg의 1차 면역화에 이어 50 µg의 2회 순차적 부스터 면역화로서 투여된다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 100 µg의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)이고 100 µg의 1차 면역화에 이어 100 µg의 2회 순차적 부스터 면역화로서 투여된다. 일부 구현예에서, 유효 용량은 150 µg의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)이고 150 µg의 1차 면역화에 이어 150 µg의 2회 순차적 부스터 면역화로서 투여된다. 일부 구현예에서, 부스터 면역화는 적어도 2주 간격이어야 한다.

- [0256] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50-150 μg 의 2회 용량이다. 예를 들어, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 μg , 51 μg , 52 μg , 53 μg , 54 μg , 55 μg , 56 μg , 57 μg , 58 μg , 59 μg , 60 μg , 61 μg , 62 μg , 63 μg , 64 μg , 65 μg , 66 μg , 67 μg , 68 μg , 69 μg , 70 μg , 71 μg , 72 μg , 73 μg , 74 μg , 75 μg , 76 μg , 77 μg , 78 μg , 79 μg , 80 μg , 81 μg , 82 μg , 83 μg , 84 μg , 85 μg , 86 μg , 87 μg , 88 μg , 89 μg , 90 μg , 95 μg , 100 μg , 110 μg , 120 μg , 130 μg , 140 μg , 또는 150 μg , 이들 사이의 모든 값을 포함하는 2회 용량일 수 있다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 100 μg 의 2회 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 150 μg 의 2회 용량이다.
- [0257] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50-150 μg 의 3회 용량이다. 예를 들어, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 μg , 51 μg , 52 μg , 53 μg , 54 μg , 55 μg , 56 μg , 57 μg , 58 μg , 59 μg , 60 μg , 61 μg , 62 μg , 63 μg , 64 μg , 65 μg , 66 μg , 67 μg , 68 μg , 69 μg , 70 μg , 71 μg , 72 μg , 73 μg , 74 μg , 75 μg , 76 μg , 77 μg , 78 μg , 79 μg , 80 μg , 81 μg , 82 μg , 83 μg , 84 μg , 85 μg , 86 μg , 87 μg , 88 μg , 89 μg , 90 μg , 95 μg , 100 μg , 110 μg , 120 μg , 130 μg , 140 μg , 또는 150 μg , 이들 사이의 모든 값을 포함하는 3회 용량일 수 있다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 μg 의 3회 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 100 μg 의 3회 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 150 μg 의 3회 용량이다.
- [0258] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 μg - 150 μg 의 3회 초과(예를 들어, 4, 5 또는 그 이상)이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 50 μg 의 3회 초과(예를 들어, 4, 5 또는 그 이상)이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 100 μg 의 3회 초과(예를 들어, 4, 5 또는 그 이상)의 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 150 μg 의 3회 초과(예를 들어, 4, 5 또는 그 이상)이다.
- [0259] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 조성물 중에 통합 mRNA의 양에 관한 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이 "통합 mRNA"는 hCMV 항원을 생성할 수 있고/있거나 대상체에서 항원에 대한 면역 반응을 유도할 수 있는 온전한 mRNA 전사체를 지칭한다. hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에서 통합 mRNA의 양은 면역원성 조성물이 생산되는 기간, 분해 속도 및 시간과 관련이 있다. 유효량이 임상 결과로부터 결정될 때, 그 용량은 존재하는 총 mRNA(즉, 총 용량)의 측면에서 또는 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)에 존재하는 통합 mRNA의 측면에서 언급될 수 있다.
- [0260] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5-35 pmol(예를 들어, 5-35, 5-30, 5-25, 5-20, 5-15, 5-10, 10-35, 10-30, 10-25, 10-20, 10-15, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-35, 20-30, 20-25, 25-35, 25-30, 또는 30-35 pmol) 오량체 성분 및 4-50 pmol(예를 들어, 4-50, 10-50, 10-40, 10-30, 10-20, 20-50, 20-40, 20-30, 30-50, 30-40, 또는 40-50 pmol) gB mRNA의 단일 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 10-30 pmol(예를 들어, 10-30, 10-20, 또는 20-30 pmol) 오량체 성분 및 15-45 pmol(예를 들어, 15-45, 15-30, 또는 30-45 pmol) gB mRNA의 단일 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 pmol(사이의 모든 값 포함) 오량체 성분 및 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 pmol(사이의 모든 값 포함) gB mRNA의 단일 용량이다.
- [0261] 특정 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량 또는 용량은 각 성분의 pmol이 동일할 것을 요구하지 않는다. 예를 들어, gH 및 gB와 같은 성분을 포함하는 통합 막관통 도메인을 암호화하는 mRNA의 더 큰 피코몰 용량은 이들 성분이 제한적이지 않도록 하기 위해 필요할 수 있다. 추가로, 일부 구현예에서 각각의 6 mRNA의 피코몰 용량은 안정성 또는 다른 생화학적 또는 생물리학적 요건 때문에 개별적으로 결정될 수 있다.
- [0262] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5-35 pmol(예를 들어, 5-35, 5-30, 5-25, 5-20, 5-15, 5-10, 10-35, 10-30, 10-25, 10-20, 10-15, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-35, 20-30, 20-25, 25-35, 25-30, 또는 30-35 pmol) 오량체 성분 및 4-50 pmol(예를 들어, 4-50, 10-50, 10-40, 10-30,

10-20, 20-50, 20-40, 20-30, 30-50, 30-40, 또는 40-50 pmol) gB mRNA의 2회 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 10-30 pmol(예를 들어, 10-30, 10-20, 또는 20-30 pmol) 오량체 성분 및 15-45 pmol(예를 들어, 15-45, 15-30, 또는 30-45 pmol) 통합 gB mRNA의 2회 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 pmol(사이의 모든 값 포함) 오량체 성분 및 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 pmol(사이의 모든 값 포함) gB mRNA의 2회 용량이다.

[0263] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5-35 pmol(예를 들어, 5-35, 5-30, 5-25, 5-20, 5-15, 5-10, 10-35, 10-30, 10-25, 10-20, 10-15, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-35, 20-30, 20-25, 25-35, 25-30, 또는 30-35 pmol) 오량체 성분 및 4-50 pmol(예를 들어, 4-50, 10-50, 10-40, 10-30, 10-20, 20-50, 20-40, 20-30, 30-50, 30-40, 또는 40-50 pmol) 통합 gB mRNA의 3회 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 10-30 pmol(예를 들어, 10-30, 10-20, 또는 20-30 pmol) 오량체 성분 및 15-45 pmol(예를 들어, 15-45, 15-30, 또는 30-45 pmol) 통합 gB mRNA의 3회 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 pmol(사이의 모든 값 포함) 오량체 성분 및 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 pmol(사이의 모든 값 포함) 통합 gB mRNA의 3회 용량이다.

[0264] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5-35 pmol(예를 들어, 5-35, 5-30, 5-25, 5-20, 5-15, 5-10, 10-35, 10-30, 10-25, 10-20, 10-15, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-35, 20-30, 20-25, 25-35, 25-30, 또는 30-35 pmol) 오량체 성분 및 4-50 pmol(예를 들어, 4-50, 10-50, 10-40, 10-30, 10-20, 20-50, 20-40, 20-30, 30-50, 30-40, 또는 40-50 pmol) 통합 gB mRNA의 3회 초과(예를 들어, 4, 5 또는 그 이상)의 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 10-30 pmol(예를 들어, 10-30, 10-20, 또는 20-30 pmol) 오량체 성분 및 15-45 pmol(예를 들어, 15-45, 15-30, 또는 30-45 pmol) 통합 gB mRNA의 3회 초과(예를 들어, 4, 5, 또는 그 이상)의 용량이다. 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 pmol(사이의 모든 값 포함) 오량체 성분 및 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 pmol(사이의 모든 값 포함) 통합 gB mRNA의 3회 초과(예를 들어, 4, 5 또는 그 이상)의 용량이다.

[0265] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 특정 통합 mRNA 용량에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)은 2:2:1:1:1:1의 gB:gH:gL:UL128:UL130:UL131A 몰비로 mRNA를 포함한다.

[0266] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 1회, 2회, 3회 또는 3회 초과 용량(본원에 기재된 임의의 용량 중)이 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 1회, 2회, 3회의 용량(본원에 기재된 임의의 용량 중)이 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 용량은 1일, 2개월의 개시 즈음(예를 들어, 29일) 및 6개월의 개시 즈음(예를 들어, 169일)에 투여된다.

[0267] 일부 구현예에서, hCMV 번역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 용량은 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일, 22일, 23일, 24일, 25일, 26일, 27일, 28일, 29일, 30일, 31일, 32일, 33일, 34일, 35일, 36일, 37일, 38일, 39일, 40일, 41일, 42일, 43일, 44일, 45일, 46일, 47일, 48일, 49일, 50일, 51일, 52일, 53일, 54일, 55일, 56일, 57일, 58일, 59일, 60일, 61일, 62일, 63일, 64일, 65일, 66일, 67일, 68일, 69일, 70일, 71일, 72일, 73일, 74일, 75일, 76일, 77일, 78일, 79일, 80일, 81일, 82일, 83일, 84일, 85일, 86일, 87일, 88일, 89일, 90일, 91일, 92일, 93일, 94일, 95일, 96일, 97일, 98일, 99일, 100일, 101일, 102일, 103일, 104일, 105일, 106일, 107일, 108일, 109일, 110일, 111일, 112일, 113일, 114일, 115일, 116일, 117일, 118일, 119일, 120일, 121일, 122일, 123일, 124일, 125일, 126일, 127일, 128일, 129일, 130일, 131일, 132일, 133일, 134일, 135일, 136일, 137일, 138일, 139일, 140일, 141일, 142일, 143일, 144일, 145일, 146일, 147일, 148일, 149일, 150일, 151일, 152일, 153일, 154일, 155일, 156일, 157일, 158일, 159일, 160일, 161일, 162일, 163일, 164일, 165일, 166일, 167일, 168일, 169일, 170일, 171일, 172일, 173일, 174일, 175일, 176일, 177일, 178일,

179일, 180일, 181일, 182일, 183일, 184일, 185일, 186일, 187일, 188일, 189일, 190일, 191일, 192일, 193일, 194일, 195일, 196일, 197일, 198일, 199일째에 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 양은 199일 후 대상체에게 투여된다.

[0268] 본원에 기재된 hCMV mRNA 백신은 비강내, 기관내, 또는 주사 가능한(예를 들어, 정맥내, 안구내, 유리체내, 근육내, 피내, 심장내, 복강내 및 피하) 주사제와 같은 본원에 기재되거나 당업계에 공지된 투여 형태로 제형화될 수 있다.

[0269] **백신 효능**

[0270] 본원 개시내용의 일부 양상은 hCMV mRNA 백신의 제형을 제공하고, 여기서 hCMV mRNA 백신은 대상체에서 항원 특이적 면역 반응을 생성(예를 들어, 항-hCMV 항원에 특이적인 항체의 생성)하기 위한 유효량으로 제형화된다. "유효량"은 항원 특이적 면역 반응을 생성하는 데 효과적인 hCMV mRNA 백신의 용량이다. 또한 본원에서는 대상체에서 항원 특이적 면역 반응을 유도하는 방법이 제공된다.

[0271] 본원에 사용된 바와 같이, 본원 개시내용의 백신 또는 LNP에 대한 면역 반응은 대상체에서 백신에 존재하는(하나 이상의) hCMV 단백질(들)에 대한 체액성 및/또는 세포성 면역 반응의 발생이다. 본원 개시내용의 목적상, "체액성" 면역 반응은 예를 들어, 분비(IgA) 또는 IgG 분자를 포함하는 항체 분자에 의해 매개되는 면역 반응을 지칭하는 반면, "세포성" 면역 반응은 T-림프구(예를 들어, CD4+ 헬퍼 및/또는 CD8+ T 세포(예를 들어, CTL) 및/또는 기타 백혈구)에 의해 매개되는 면역 반응이다. 세포성 면역의 한 가지 중요한 양상은 세포용해성 T 세포(CTL)에 의한 항원 특이적 반응을 포함한다. CTL은 주요 조직 적합성 복합체(MHC)에 의해 암호화되고 세포 표면에서 발현되는 단백질과 결합되어 제공되는 펩타이드 항원에 대한 특이성을 갖는다. CTL은 세포내 미생물의 파괴 또는 이러한 미생물에 감염된 세포의 용해를 유도하고 촉진시키는 것을 도와준다. 세포성 면역의 또 다른 양상은 헬퍼 T-세포에 의한 항원 특이적 반응을 포함한다. 헬퍼 T-세포는 기능을 자극하는 데 도움을 주고 표면에 MHC 분자와 관련된 펩타이드 항원을 제시하는 세포에 대해 비특이적 이펙터 세포의 활동에 집중한다. 세포 면역 반응은 또한 사이토킨, 케모킨 및 활성화된 T 세포 및/또는 CD4+ 및 CD8+ T 세포로부터 유래된 것을 포함하는 기타 백혈구에 의해 생성되는 기타 이러한 분자의 생성을 유도한다.

[0272] 일부 구현예에서, 항원 특이적 면역 반응은 본원에 제공된 바와 같은 hCMV mRNA 백신을 투여받은 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가를 측정하는 것을 특징으로 한다. 항체 역가는 대상체 내 항체, 예를 들어, 특정 항원(예를 들어, 항-hCMV 항원) 또는 항원의 에피토프에 특이적인 항체 양의 측정치이다. 항체 역가는 전형적으로 양성 결과를 제공하는 최대 희석의 역수로 표현된다. 효소 결합된 면역흡착 검정(ELISA)은 예를 들어, 항체 역가를 결정하기 위한 통상의 검정이다.

[0273] 일부 구현예에서, 항체 역가는 대상체가 감염되었는지 여부를 평가하거나 면역화가 필요한지 여부를 결정하는데 사용된다. 일부 구현예에서, 항체 역가는 자가면역 반응의 강도를 결정하고, 부스터가 필요한지 여부를 결정하고, 이전 백신이 효과적인지의 여부를 결정하고, 임의의 최근 또는 이전 감염을 확인하는 데 사용된다. 본원 개시내용에 따라, 항체 역가는 hCMV mRNA 백신에 의해 대상체에서 유도된 면역 반응의 강도를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0274] 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 1 log 증가된다. 예를 들어, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 1.5, 적어도 2, 적어도 2.5, 적어도 3 log, 적어도 4 log 또는 적어도 5 log 또는 그 이상 증가될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 또는 5 log 증가된다. 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 1-5 log 증가된다. 예를 들어, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 1-1.5, 1-2, 1-2.5, 1-3, 1-4, 1-5, 1.5-2, 1.5-2.5, 1.5-3, 1.5-4, 1.5-5, 2-2.5, 2-3, 2-4, 2-5, 2.5-3, 2.5-4, 2.5-5, 3-4, 3-5, 또는 4-5 log까지 증가된다.

[0275] 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 2배 증가된다. 예를 들어, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 또는 적어도 10배 증가될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10배 증가된다. 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 2-10배 증가된다. 예를 들어, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 2-10, 2-9, 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4, 2-3, 3-10, 3-9, 3-8, 3-7, 3-6, 3-5, 3-4, 4-10, 4-9, 4-8, 4-7, 4-6, 4-5, 5-10, 5-9, 5-8, 5-7, 5-6, 6-10, 6-9, 6-8, 6-7,

7-10, 7-9, 7-8, 8-10, 8-9, 또는 9-10배 증가될 수 있다.

- [0276] 일부 구현예에서, 항원-특이적 면역 반응은 hCMV에 대한 혈청 중화 항체 역가의 기하 평균 비(GMR)로 지칭되는 기하 평균 역가(GMT)의 비로서 측정된다. 기하 평균 역가(GMT)는 모든 값을 곱하고 숫자의 n제곱근을 취하여 계산된 대상체 그룹에 대한 평균 항체 역가이고, 여기서, n은 사용 가능한 데이터가 있는 대상체의 수이다.
- [0277] 일부 구현예에서, 유효량의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 투여는 hCMV에 대한 혈청 중화 항체 역가를 유도한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, 본원에 기재된 임의의 용량) 또는 다중 용량의 투여는 hCMV에 대한 혈청 중화 항체 역가를 유도한다.
- [0278] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 면역화 후 1일, 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 상피 세포 hCMV 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체의 기하 평균 역가(GMT) 및 기준선 후/기준선 역가의 관련 GMR를 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 유효량은 면역화 후 1일, 29일, 56일, 84일, 168일 또는 196일에 섬유아세포 hCMV 감염에 대한 혈청 중화 항체 역가 및 기준선 후/기준선 역가의 GMR을 생성하기에 충분하다.
- [0279] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)이 투여된 대상체에서 hCMV에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 적어도 2배(예를 들어, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배) 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 단일 용량, 예를 들어, 50 μg , 100 μg , 또는 150 μg)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 2개의 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 2개의 용량, 예를 들어, 50 μg , 100 μg , 또는 150 μg)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 3회 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 3회 용량, 예를 들어, 50 μg , 100 μg , 또는 150 μg)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다.
- [0280] 일부 구현예에서, 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 (nAb) GMT는 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 시점에서 기준선 GMT 보다 적어도 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 11배, 12배, 13배, 14배, 15배, 16배, 17배, 18배, 19배, 20배, 21배, 22배, 23배, 24배, 25배, 26배, 27배, 28배, 29배, 30배, 31배, 32배, 33배, 34배, 35배, 36배, 37배, 38배, 39배, 40배, 41배, 42배, 43배, 44배, 45배, 46배, 47배, 48배, 49배, 50배, 또는 51배 증가된다. 일부 구현예에서, 시점은 면역원성 조성물의 2회 용량의 투여 후이다. 일부 구현예에서, 시점은 면역원성 조성물의 3회 용량의 투여 후이다.
- [0281] 일부 구현예에서, 상피 세포 감염에 대한 기준선 보다 nAb가 ≥ 2 배, ≥ 3 배, ≥ 4 배, ≥ 5 배, ≥ 6 배, ≥ 7 배, ≥ 8 배, ≥ 9 배, ≥ 10 배, ≥ 11 배, ≥ 12 배, 또는 ≥ 13 배 증가된 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%이다.
- [0282] 일부 구현예에서, 유효량의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 투여는 hCMV gB 단백질에 대한 혈청 중화 항체 역가를 유도한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, 본원에 기재된 임의의 용량) 또는 다중 용량의 투여는 hCMV gB 단백질에 대한 혈청 중화 항체 역가를 유도한다.
- [0283] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)이 투여된 대상체에서 hCMV gB 단백질에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 적어도 2배(예를 들어, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배) 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV gB 단백질에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 단일 용량, 예를 들어, 50 μg , 100 μg , 또는 150 μg)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV gB 단백질에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 2개의 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 2개의 용량, 예를 들어, 50 μg , 100 μg , 또는 150 μg)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV gB 단백질에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 3회 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 3회 용량, 예를 들어, 50 μg , 100 μg , 또는 150 μg)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다.
- [0284] 일부 구현예에서, 섬유아세포 감염에 대한 기준선 보다 nAb에 있어서 ≥ 2 배 증가한 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%이다.

- [0285] 일부 구현예에서, 유효량의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 투여는 hCMV에 대한 항원 특이적 T 세포 반응을 유도한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, 본원에 기재된 임의의 용량) 또는 다중 용량의 투여는 hCMV에 대한 항원 특이적 T 세포 반응을 유도한다. 일부 구현예에서, 유효량의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 투여는 hCMV gB 단백질에 대한 항원 특이적 T 세포 반응을 유도한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, 본원에 기재된 임의의 용량)의 투여는 hCMV gB 단백질에 대한 항원 특이적 T 세포 반응을 유도한다. 일부 구현예에서, 유효량의 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 투여는 hCMV 오량체에 대한 항원 특이적 T 세포 반응을 유도한다. 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, 본원에 기재된 임의의 용량) 또는 다중 용량의 투여는 hCMV 오량체에 대한 항원 특이적 T 세포 반응을 유도한다. 일부 구현예에서, T-세포 반응(예를 들어, hCMV, hCMV gB 단백질, 또는 hCMV 오량체에 대한)은 인터페론- γ (IFN- γ) 분비를 포함한다.
- [0286] 일부 구현예에서 대조군/기준선은 hCMV mRNA 백신을 투여받지 않은 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가이다. 일부 구현예에서, 대조군/기준선은 천연 hCMV 감염을 갖는 대상체, 즉 hCMV mRNA 백신을 투여받기 전에 hCMV 혈청양성인 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가이다. 일부 구현예에서, 대조군/기준선은 hCMV mRNA 백신을 투여받기 전에 hCMV 혈청음성인 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가이다. 일부 구현예에서, hCMV에 대한 혈청 중화 항체의 GMT는 용량 의존성 방식으로 증가한다.
- [0287] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)이 투여된 대상체에서 hCMV 오량체에 대한 결합 항체 반응의 GMT(항-오량체 항체 역가)는 기준선에 비해 적어도 2배(예를 들어, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배) 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV 오량체에 대한 결합 혈청 반응의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 단일 용량, 예를 들어, $50 \mu\text{g}$, $100 \mu\text{g}$, 또는 $150 \mu\text{g}$)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV 오량체에 대한 결합 항체 반응의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 2개의 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 2개의 용량, 예를 들어, $50 \mu\text{g}$, $100 \mu\text{g}$, 또는 $150 \mu\text{g}$)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, hCMV에 대한 결합 항체 반응의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 3회 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 3회 용량, 예를 들어, $50 \mu\text{g}$, $100 \mu\text{g}$, 또는 $150 \mu\text{g}$)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다.
- [0288] 일부 구현예에서, 항-오량체 결합 항체 (bAb) GMT는 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 시점에서 기준선 GMT 보다 적어도 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 또는 10배 증가된다. 일부 구현예에서, 시점은 면역원성 조성물의 2회 용량의 투여 후이다. 일부 구현예에서, 시점은 면역원성 조성물의 3회 용량의 투여 후이다.
- [0289] 일부 구현예에서, 기준선 보다 항-오량체 결합 항체(bAb가 ≥ 2 배, ≥ 3 배, ≥ 4 배, ≥ 5 배, ≥ 6 배, ≥ 7 배, ≥ 8 배, ≥ 9 배, 또는 ≥ 10 배 증가된 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%이다.
- [0290] 일부 구현예에서, hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)이 투여된 대상체에서 gB에 대한 결합 항체 반응의 GMT는 기준선에 비해 적어도 2배(예를 들어, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배)까지 증가한다. 일부 구현예에서, 항-gB에 대한 결합 혈청 반응의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 단일 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 단일 용량, 예를 들어, $50 \mu\text{g}$, $100 \mu\text{g}$, 또는 $150 \mu\text{g}$)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, 항-gB에 대한 결합 항체 반응의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 2개의 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 2개의 용량, 예를 들어, $50 \mu\text{g}$, $100 \mu\text{g}$, 또는 $150 \mu\text{g}$)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다. 일부 구현예에서, 항-gB에 대한 결합 항체 반응의 GMT는 기준선에 비해 hCMV 면역원성 조성물(예를 들어, mRNA 백신)의 3회 용량(예를 들어, $\geq 50 \mu\text{g}$ 의 3회 용량, 예를 들어, $50 \mu\text{g}$, $100 \mu\text{g}$, 또는 $150 \mu\text{g}$)을 투여한 후 2배 내지 10배까지 대상체에서 증가한다.
- [0291] 일부 구현예에서, 항-gB 결합 항체(Ab) GMT는 hCMV 면역원성 조성물의 투여 후 시점에서 기준선 GMT 보다 적어도 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 또는 10배 증가된다. 일부 구현예에서, 시점은 면역원성 조성물의 단일 용량의 투여 후이다. 일부 구현예에서, 시점은 면역원성 조성물의 2회 용량의 투여 후이다. 일부 구현예에서, 시점은 면역원성 조성물의 3회 용량의 투여 후이다. 일부 구현예에서, GMT 반응은 용량이 투여된 후 약 10일 내지 2주 내에 최대치에 도달한다.
- [0292] 일부 구현예에서, 기준선 보다 항-gB 결합 항체(Ab)가 ≥ 2 배 증가한 사람 대상체의 비율은 hCMV 면역원성 조성

물의 투여 후 하나의 시점에서 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%이다.

[0293] 일부 구현예에서, hCMV mRNA 백신이 효과적인지의 능력은 무린 모델에서 측정된다. 예를 들어, hCMV mRNA 백신은 무린 모델에 투여될 수 있고 무린 모델은 중화 항체 역가의 유도에 대해 측정된다. 바이러스 챌린지 연구는 또한 본원 개시내용의 백신의 효능을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, hCMV mRNA 백신은 무린 모델, hCMV로 챌린지된 무린 모델, 및 생존 및/또는 면역 반응(예를 들어, 중화 항체 반응, T 세포 반응(예를 들어, 사이토킨 반응)에 대해 측정된 무린 모델)에 투여될 수 있다.

[0294] 일부 구현예에서, hCMV mRNA 백신의 유효량은 재조합 hCMV 단백질 백신의 표준 관리 용량과 비교하여 감소된 용량이다. 본원에서 제공되는 "관리 기준"은 의학적 또는 심리학적으로 치료 지침을 언급하고, 일반적으로거나 구체적인 치료 지침을 지정한다. 특정 유형의 환자, 질병 또는 임상 상황에 대해 의사/임상의가 따라야 하는 진단 및 치료 과정이다. 본원에서 제공된 바와 같은 "관리 표준 용량"은 재조합 또는 정제된 hCMV 단백질 백신, 약독화 또는 불활성화 hCMV mRNA 생백신 또는 hCMV VLP 백신의 용량을 지칭하고, 이는 의사/임상의 또는 기타 의료 전문가가 hCMV 또는 hCMV 관련 병태를 치료 또는 예방하기 위한 관리 기준 가이드라인을 따르면서 hCMV 또는 hCMV 관련 병태를 치료 또는 예방하기 위해 대상체에게 투여할 것이다.

[0295] 일부 구현예에서, 유효량의 hCMV mRNA 백신이 투여된 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 재조합 또는 정제된 hCMV 단백질 백신, 또는 약독화 또는 불활성화된 hCMV mRNA 생백신, 또는 hCMV VLP 백신의 관리 기준 용량이 투여된 대조군 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가와 동등하다.

[0296] 백신 효능은 표준 분석을 사용하여 평가될 수 있다(참조: 예를 들어, Weinberg 등, J Infect Dis. 2010 Jun 1;201(11):1607-10). 예를 들어, 백신 효능은 이중 맹검 무작위화 임상적 제어 시험에 의해 측정될 수 있다. 백신 효능은 백신 접종되지 않은 (ARU) 것과 백신 접종된 (ARV) 연구 코호트 간의 질환 공격률 (AR)에서 비례 감소로서 표현될 수 있고, 하기의 수학적식을 사용하여 백신 접종된 그룹 중에 질환의 상대적 위험(RR)로부터 계산될 수 있다:

[0297] $효능 = (ARU - ARV) / ARU \times 100$; 및

[0298] $효능 = (1 - RR) \times 100$.

[0299] 또한, 백신 효과는 표준 분석을 사용하여 평가될 수 있다(참조: 예를 들어, Weinberg 등, J Infect Dis. 2010 Jun 1;201(11):1607-10). 백신 효과는 백신(높은 백신 효능을 갖는 것으로 이미 입증될 수 있었던)이 집단 내 질환을 어떻게 감소시키는지의 평가이다. 상기 측정은 제어된 임상 시험에서 보다는 차라리 자연 현장 조건하에서 백신 자체가 아닌, 백신 접종 프로그램의 이득과 부작용의 네트(net) 균형을 평가할 수 있다. 백신 효과는 백신 효능(역가)에 비례하지만 집단 내 표적 그룹이 얼마나 잘 면역화되는지 뿐만 아니라 입원, 외래 방문의 '실제' 결과 또는 비용에 영향을 미치는 기타 백신과 관련되지 않은 요인에 의해서도 영향을 받는다. 예를 들어, 일련의 감염된 사례와 적절한 대조군 사이의 백신 접종률을 비교하는 후향적 사례 대조군 분석이 사용될 수 있다. 백신 효과는 백신 접종에도 불구하고 감염 발생에 대한 교차비(OR)를 사용하여 속도 차이로 표현할 수 있다.

[0300] $효과 = (1 - OR) \times 100$.

[0301] 일부 구현예에서, hCMV mRNA 백신의 효능은 백신접종되지 않은 대조군 대상체에 비해 적어도 60%이다. 예를 들어, hCMV mRNA 백신의 효능은 백신 접종되지 않은 대조군에 비해 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 100%일 수 있다.

[0302] **평균 면역.** 평균 면역은 숙주로의 효과적인 병원체 감염을 예방하는 특유의 면역 상태를 지칭한다. 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 hCMV mRNA 백신의 유효량은 대상체에서 적어도 1년 동안 평균 면역을 제공하기에 충분하다. 예를 들어, 본원 개시내용의 hCMV mRNA 백신의 유효량은 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년 동안 대상체에서 평균 면역을 제공하기에 충분할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 hCMV mRNA 백신의 유효량은 대조군에 비해 적어도 5배 적은 용량에서 대상체에서 평균 면역을 제공하기에 충분하다. 예를 들어, 유효량은 대조군에 비해 적어도 10배, 15배, 또는 20배 더 낮은 용량으로 대상체에게 평균 면역을 제공하기에 충분할 수 있다.

[0303] **검출 가능한 항원.** 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 hCMV mRNA 백신의 유효량은 투여 후 1-72시간에 대상체의 혈청에서 측정된 바와 같이 검출 가능한 수준의 hCMV 항원을 생성하기에 충분하다.

- [0304] **역가.** 항체 역가는 예를 들어 특정 항원(예를 들어, 항-hCMV 항원)에 특이적인 항체와 같은 대상체 내의 항체 양의 측정치이다. 항체 역가는 전형적으로 양성 결과를 제공하는 최대 희석의 역수로 표현된다. 효소 결합된 면역흡착 검정(ELISA)은 예를 들어, 항체 역가를 결정하기 위한 통상의 검정이다.
- [0305] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 hCMV mRNA 백신의 유효량은 투여 후 1-72시간에 대상체의 혈청에서 측정된 바와 같이 hCMV 항원에 대한 중화 항체에 의해 생성된 1,000-10,000 중화 항체 역가를 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 유효량은 투여 후 1-72시간에 대상체의 혈청에서 측정된 바와 같이 hCMV 항원에 대한 중화 항체에 의해 생성된 1,000-5,000 중화 항체 역가를 생성하기에 충분하다. 일부 구현예에서, 유효량은 투여 후 1-72시간에 대상체의 혈청에서 측정된 바와 같이 hCMV 항원에 대한 중화 항체에 의해 생성된 5,000-10,000 중화 항체 역가를 생성하기에 충분하다.
- [0306] 일부 구현예에서, 중화 항체 역가는 적어도 100 NT₅₀이다. 예를 들어, 중화 항체 역가는 적어도 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 NT₅₀일 수 있다. 일부 구현예에서, 중화 항체 역가는 적어도 10,000 NT₅₀이다.
- [0307] 일부 구현예에서, 중화 항체 역가는 밀리리터당 적어도 100 중화 유닛(NU/mL)이다. 예를 들어, 중화 항체 역가는 적어도 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 NU/ mL 일 수 있다. 일부 구현예에서, 중화 항체 역가는 적어도 10,000 NU/ mL 이다.
- [0308] 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 1 log까지 증가된다. 예를 들어, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 log까지 증가될 수 있다.
- [0309] 일부 구현예에서, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 2배 증가된다. 예를 들어, 대상체에서 생성된 항-hCMV 항원 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10배까지 증가된다.
- [0310] 일부 구현예에서, n개의 수 곱의 n제곱근인 기하 평균은 일반적으로 비례 성장을 기재하는 데 사용된다. 일부 구현예에서 기하 평균은 대상체에서 생성된 항체 역가를 특정 분석하기 위해 사용된다.
- [0311] **실시예**
- [0312] 본 출원에 기재된 발명이 보다 완전하게 이해될 수 있도록, 하기 실시예가 제시된다. 본 출원에서 기재된 예는 본 출원에서 제공되는 시스템 및 방법을 설명하기 위해 제공되며 어떤 식으로든 그 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0313] **실시예 1: hCMV mRNA 면역원성 조성물에서 mRNA 작제물의 최적 비율을 선택하면 유통 기한 전체에 걸쳐 최대 효능을 허용한다.**
- [0314] hCMV 오랑체(gH, gL, UL128, UL130, 및 UL131A) 및 gB(도 1a 및 1b)의 모든 성분을 동일한 질량비로 암호화하는 mRNA를 함유하는 hCMV mRNA 백신은 단계 I 임상 시험 연구에서 hCMV에 대한 중화 항체를 유도하는 데 효과적인 것으로 밝혀졌다. 그러나 개별 mRNA 작제물의 분자량이 다르기 때문에 동일한 질량비를 사용하면 개별 mRNA 성분의 몰 용량이 매우 달라지며 일부는 과도하게 존재하고 다른 일부는 불충분하다. 특히, gB 및 gH에 상응하는 가장 큰 mRNA 작제물은 동일한 질량비 제형에서 몰 기준으로 불충분하다.
- [0315] 몰 화학양론과 일치하는 비율로 개별 mRNA 작제물을 제공하면 환자에게 투여된 mRNA의 질량당 최대 단백질 발현이 가능한 것으로 추정되었다. 또한 gB 및 gH에 상응하는 보다 큰 mRNA 작제물은 보다 작은 mRNA 작제물보다 더 신속하게 분해될 수 있고, 이러한 분해는 mRNA 기반 백신의 전반적인 안정성을 제한할 수 있는 것으로 추정되었다. 따라서, 저장 동안 mRNA 분해의 예측된 상대적 비율에 기초하여 mRNA 성분의 몰비를 추가로 조정하는 것이 약물 제품 유통기한 동안 최적의 기능적 성능을 허용할 수 있는지의 여부를 조사하였다.
- [0316] 동일한 몰량의 UL128, gL, UL130 및 UL131A, 및 2X 몰량의 gB 및 gH를 포함하는 제형을 조사하고 시험관내 및 생체내 연구에서 이전에 사용된 동일한 질량비와 비교하였다. 놀랍게도, 주어진 총 용량에 대해 hCMV mRNA 백신 성분의 제안된 몰비에 기초하여 mRNA 성분을 제형화하면 보다 큰 당단백질 항원(gB 및 오랑체) 둘 다의 단백질 발현이 증가된다는 것이 밝혀졌다. gB 및 오랑체의 증가된 발현은 시험관내 세포 배양 실험에서 측정되었고, 동일한 질량비를 사용하는 것과 비교하여 마우스에 투여했을 때 항-gB 및 항-오랑체 IgG 둘 다의 항체 반응이 개선되었다.

- [0317] 임의의 이론에 구애됨이 없이, 동일한 몰량의 gL, UL128, UL130 및 UL131A, 및 2X 몰량의 gB 및 gH를 포함하는 제형은 오량체 단백질 화학양론 및 차등적 mRNA 분해 속도를 보상한다. 도 2a를 참조한다. 몰 기준으로 개별 성분의 용량을 계산하는 것에 추가로, gL, UL128, UL130, 및 UL131A와 같은 gH와 복합체를 형성하는 단백질을 암호화하는 1X 동물량의 mRNA에 비해 2X 몰량의 gH 및 gB를 동시에 첨가하여 추가의 개선을 수득하였다. 이러한 방식으로 제형화된 백신은 다른 저분자량 mRNA 성분에 비해 이러한 고분자량 mRNA 성분의 몰 용량을 상승시킨다. 상기 디자인은 mRNA 성분이 동일한 몰비를 기준으로 제형화되는 경우와 대조적이었다 (도 2b). 도 3에서, 동일한 질량 제형과 비교하여 오량체 발현이 2X gH를 사용한 몰 화학양론에 기초한 제형에 대해 증가된 2개의 별도의 실시예에서 나타난 시험관내 발현 데이터. 상기 증가된 발현은 증가된 E_{max}에 의해 관찰되었다. 놀랍게도, 상기 기재된 몰비에 기초한 hCMV mRNA 면역원성 조성물은 동일한 질량을 기초로 한 hCMV mRNA 면역원성 조성물보다 보다 낮은 총 용량을 사용하여 마우스에서 동등하거나 약간 더 높은 항체 반응을 성취하였다(도 4).
- [0318] 과량의 추가된 작제물을 생성하기 위해 각각의 mRNA 작제물이 그 몰비를 2X로 증가시켜 시험되고, 다른 mRNA 성분이 동일한 몰비로 존재하는 경우, 과량의 gH는 마우스에서 항-오량체 IgG 반응을 증가시키는데 가장 큰 효과를 갖는 것으로 밝혀졌다(도 5). 유의적으로, mRNA 성분이 본원에 기재된 몰비를 기준으로 제형화된 경우 동일한 질량비에 기초하여 제형화되는 것에 비해 마우스에서 증가된 항-gB 및 항-오량체 항체 반응을 입증하기 위해 hCMV mRNA 면역원성 조성물의 보다 낮은 용량이 요구된다는 것이 밝혀졌다(도 6a-6d).
- [0319] 계산된 이론적 불활성화율에 기초하여, 본원에 기재된 hCMV mRNA 면역원성 조성물에서 mRNA 성분의 제안된 몰비는 보다 긴 mRNA 작제물의 분해를 적절하게 보상하고 이들 성분을 함유하는 약물 제품에 대한 예측된 유통 기간에 상응하는, 적어도 36개월 동안 과량의 gH 및 gB를 유지하는 것으로 밝혀졌다(도 7). 과량의 보다 긴 gH 및 gB 작제물은 최대로 강력한 생성물을 유지하면서 시간에 따른 불활성화를 보상하였다(도 7).
- [0320] 본원에 기재된 hCMV mRNA 백신에서 제안된 mRNA의 몰비는 백신의 유통기간 전체에 걸쳐 효능을 최대화한다. 구체적으로, 과량의 보다 긴 mRNA 작제물(gH 및 gB)을 갖는 보다 작은 mRNA(gL, UL130, UL128 및 UL131)의 동일한 몰농도를 기반으로 하는 조성물은 표적 단백질 복합체의 구조적 화학양론을 이용하고, 동일한 질량 제형 보다 gB 함량을 증가시키고 mRNA 불활성화의 공지된 기전을 보상한다. 상기 접근법은 또한 mRNA가 적은 강력한 용량 정의에 대한 가능성을 제공하여 이는 제품 비용을 낮추고 내약성을 향상시킬 수 있다. 추가로, gL, UL128, UL130 및 UL131은 모두 막 고정된 gH와 결합하고 오량체로 공지된 보다 큰 당단백질 복합체로 어셈블리되기 때문에 오량체의 다른 보다 작은 구성원에 비해 공급을 제한하는 데 gH를 갖지 않는 것이 유리하다. gH가 오량체의 기본 구조를 형성하고 다른 보다 작은 단백질이 성숙한 오량체 복합체를 형성하기 위해 그 위에 어셈블리되어야 하기 때문에 기본 성분이 부족하면 성숙한 오량체도 부족할 것이다.
- [0321] **실시예 2: 단계 II 용량 선택 임상 시험**
- [0322] 오량체 성분 및 gB를 동일한 질량비로 포함하는 hCMV mRNA 백신을 사용하여 단계 I 임상 시험을 수행하였다. 단계 I 임상 시험 데이터는 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 역가(성공적인 오량체 발현 및 면역 반응으로부터 유래된)가 일반적으로 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 역가(성공적인 gB 발현 및 면역 반응으로부터 유래된)를 초과하는 것으로 나타났다. 따라서 통합 gB 중화 면역 반응을 최대화하는 것은 단계 I 데이터와 자연적으로 감염된 혈청 양성 환자의 데이터를 평가하여 후속 임상 시험을 위한 용량을 디자인할 때 구동 인자였다. hCMV 단계 I 임상 시험 데이터는 몰 기반 X축으로 그래프화하여 단계 I(동일 질량) 데이터와 제안된 단계 II(몰 기반) 데이터를 비교할 수 있도록 하여, 단계 I 및 단계 II 백신에 사용된 mRNA 성분 농도에서 차이에도 불구하고 하나의 연속된 x축상에 그래프로 나타내었다. 동일한 연속 x축에 단계 I 및 단계 II 데이터를 그래프로 표시하면 후속 임상 시험을 위한 용량 선택에 사용할 수 있는 포괄적인 용량 반응 곡선을 가능하게 한다. 도 8a 및 도 8b의 x-축은 각각 통합 오량체 mRNA의 피코몰 및 통합 gB mRNA의 피코몰을 도시한다. 이들 값은 총 용량(μ g), 약물 제품 내 mRNA의 비율, 약물 제품의 실제 순도 및 각 mRNA의 분자량을 기준으로 각 단계 I 용량에 대해 계산되었다(도 8a-8b).
- [0323] 도 8a 및 도 8b에 제공된 그래프는 섬유아세포(gB) 및 상피 세포(오량체) 감염에 대한 중화 항체 역가(nAb)를 보여준다. 그래프 둘 다에서, 혈청 양성 벤치마크 수준은 적색 수평선에 의해 나타난다. gB 및 오량체에 대한 혈청양성 벤치마크 수준은 이들 항원에 특이적인 항체 역가이며 이전에 hCMV에 감염되었다가 회복된 백신 접종되지 않은 환자에서 발견된다. 벤치마크 혈청 양성 오량체 역가는 벤치마크 gB 역가보다 훨씬 높다점에 유의한다. 단계 I 용량-상승 단계 A&B 및 B 및 단계 I 용량 선택 단계 B(30, 90, 180 μ g)로부터의 데이터는 개별 대상으로서 그래프로 나타낸다. 단계 I, 300 μ g 용량 코호트 C의 투여 후 데이터 포인트 1(PD1) 및 투여 후 데이

터 포인트 2(PD2) 데이터로부터의 데이터는 GMT \pm 95% 신뢰 구간으로 그래프로 나타낸다. X축 아래의 텍스트 박스에서 화살표는 물을 사용하여 계산되었지만 LNP에서 총 mRNA의 중량(50, 100, 150 μ g)으로 표현된 제안된 단계 II(P202) 용량을 나타낸다.

- [0324] 도 8a에서, 지시된 제안된 용량에 기초한 II상(P202) 데이터는 통합 오량체 mRNA의 9-29 피코몰 사이일 것으로 예상되며, 이는 일반적으로 단계 I 시험에서 혈청 양성 벤치마크에서 또는 그 이상에서 이전에 2회 또는 3회 투여 후 중화 항체를 유도하는 것으로 나타난 용량 반응 곡선의 일부에 상응한다. 단계 I 비율은 3회 투여 후 5 피코몰에서 혈청 양성 벤치마크를 용이하게 달성하였고(투여 3 후, 도 8a 참조) 많은 대상체가 12피코몰에서 2회 투여 후에도 벤치마크 혈청 양성 수준에 도달하였다(PD 2, 도 8a 및 도 8b 참조). 상피 세포 감염에 대한 오량체에 대해 유도된 강한 중화 항체 반응으로 인해, 오량체 mRNA 성분의 보다 높은 피코몰 용량까지 용량 수준을 확장하도록 단계 II 제형을 디자인할 필요가 없었다. 사실, 단계 II 제형은 투여당 약간 보다 낮은 총 질량에서 9-29 피코몰의 통합 오량체 mRNA 성분을 달성할 것이다. 그러나 용량의 물 기반 디자인을 통해 이러한 벤치마크 수준에 도달하고 적어도 26개월의 제품 안정성을 갖는 용량을 선택할 수 있었다. 예를 들어, 단계 I 단계 C 300 μ g 용량은 단계 II 150 μ g 용량보다 훨씬 보다 많은 통합 오량체를 전달한다. 도 8a를 참조한다.
- [0325] 대조적으로, 도 8b에서, gB에 대한 섬유아세포 nAb 데이터는 혈청양성 벤치마크의 성취가 오량체에 비해 감소된 면역원성으로 인해 gB 항원에 대해 보다 도전과제를 보여준다. 통합 gB의 20-25 피코몰까지, 모든 환자는 PD2 또는 PD3 후 혈청양성 nAb 수준을 달성하지 못하였다. 따라서, 실시예 1에 기재된 단계 II mRNA 몰비는 총 질량 용량당 보다 많은 gB mRNA를 전달하도록 디자인되어, 이에 따라 보다 높은 피코몰 용량의 gB mRNA까지 용량 곡선을 확장하였다. 사실, 단계 II 몰비 기반 제형은 보다 낮은 총 질량 용량에서 16-47 피코몰의 통합 gB mRNA를 전달한다. 이 경우에 P101C 300 μ g 용량은 P202 150 μ g 용량보다 적은 통합 gB를 전달한다.
- [0326] 다음으로, 도 9a 및 b에 나타낸 바와 같이, 이러한 용량 반응 곡선을 사용하여 본원에 기재된 단계 II 임상 시험을 위한 예상된 용량을 시각화하고 수득된 데이터와 함께, 도 9a 및 9b에 나타낸 시각화 기술은 단계 III 임상시험을 위한 최적의 용량을 선택하기 위해 사용된다. 오량체 면역원성이 gB 면역원성에 비해 상당히 크기 때문에, 섬유아세포 nAb 역가를 gB로 최대화하면 필요한 최소 용량이 결정될 것으로 예상되며, 제안된 몰비 디자인을 따르는 경우 오량체에 대한 상관관계의 상피 nAb 역가는 적절한 것 보다 높다.
- [0327] LNP 기능, 기타 품질 속성, 세포 기능, 면역 반응 및 mRNA 및 단백질의 서열 특이적 측면을 고려하는 것 없이, 본원에 제공된 용량 선택 전략은 mRNA 함량 및 순도를 암호화하는 통합 막관통 단백질을 중화 항체 반응과 연관시킨다. 상기 연구를 기반으로 용량 반응 곡선을 사용하여 향후 임상 연구를 위한 용량을 한정할 수 있다.
- [0328] 만료 기간까지 모든 바이알의 최소 필요 용량 예측에는 농도(예를 들어, 공정 중 제어(IPC) 검정 및 회석) 및 순도(예를 들어, 분해)와 같이 용량 강도에 영향을 미칠 것으로 예상되는 모든 요소들을 모델링함을 포함한다. IPC 검정은 총 mRNA 함량을 측정한다. 단계 III 임상 시험 대상체 및 시판되는 백신 환자는 일정 범위의 용량 강도를 투여받는다. mRNA(μ g)를 암호화하는 통합 막관통 단백질의 총 용량은 500 μ L mRNA 농도(g/L) x 순도(%)로 계산되었다.
- [0329] 만기 바이알이 효과적임을 보장하기 위해 공칭 용량을 선택하였다(도 9a-9b). 예를 들어, 150 μ g 공칭 용량(분포와 함께 표적 용량)은 단계 III 및 시판되는 공급물에 대해 2년의 5°C 유통기한을 가능하게 한다. 만료 시 바이알은 100 μ g 공칭 용량 범위의 용량 강도를 제공한다. 도 10은 5°C에서 분해 모델링을 제공한다. 효능에 대한 만료 시 50% gB 순도의 요구 사항은 마우스 연구에서 동일한 질량 비율 hCMV mRNA 백신 항체 반응이 gB 순도가 50%로 감소할 때 약간의 감소를 보였고 분해율의 모델링이 50% gB가 5°C에서 ~2년을 나타냄을 예측하기 때문에 결정되었다(도 11). 마우스 검정에서 26개월 후 gB 순도가 49% 미만으로 저하될 때까지 면역원성 표적이 유지된다는 점을 유의한다. 사람 반응의 변화를 예측하기 위해 무린 면역원성의 변화를 연관시키는 것은 용량 반응 곡선 민감도에 의존한다. 마우스에서 시험된 용량(0.5 및 2 μ g)은 용량 반응 곡선의 가장 경사진 부분에 있다. 사람 용량 선택은 포화 nAb 수준을 표적화한다(민감성 대 순도가 적을 것으로 예상된다). 현재 모델링을 기반으로, 150 μ g 용량이 면역원성적으로 강력하고 매우 관용성인 것으로 예상된다.
- [0330] **실시예 3. 건강한 성인에서 hCMV mRNA 백신의 안전성과 면역원성을 평가하기 위한 단계 II, 무작위, 관찰자 맹검, 위약 대조, 용량 검색 시험**
- [0331] 단계 II 연구의 목적은 등록 시 CMV-혈청음성 또는 CMV-혈청양성인 건강한 성인(18세 내지 40세 연령)에서 hCMV mRNA 면역원성 조성물의 안전성 및 면역원성을 평가하는 것이었다. hCMV mRNA 백신은 비임상적 안전성과 면역원성을 입증했으며 CMV 양성 개체의 사람 1차 CMV 감염 및 CMV 재감염/재활성화를 예방하기 위한 잠재력을 보유하고

고 있다.

[0332] **연구 백신의 기재**

[0333] CMV 감염에 대해 이 연구에서 평가된 hCMV mRNA 백신은 지질 나노입자(LNP) 제형에서 사람 CMV 감염에 대한 nAb 반응의 6개 바이러스 단백질 표적을 암호화하는 6개의 별개의 mRNA 서열(전장 CMV gB 및 오랑체 gH/gL/UL128/UL130/UL131A 당단백질 복합체[오랑체])로 이루어진다. 6개의 mRNA는 대략 1:1:1:1:2:2의 gL:UL128:UL130:UL131A:gH:gB 몰비로 hCMV mRNA 백신에 존재한다.

[0334] LNP 제형은 4개 지질 부형제를 포함한다: 헵타데칸-9-일 8-((2-하이드록시에틸)(6-옥소-6(운데실록시)헥실)아미노)옥타노에이트, 양이온성 이온화 가능한 아미노 지질, 및 상업적으로 시판되는 지질 콜레스테롤, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 및 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤, 메톡시폴리에틸렌글리콜 (PEG2000 DMG) (참조: Mui 등 2013).

[0335] hCMV mRNA 백신 주사는 단일 사용 유리 바이알에서 520 µg의 동결건조된 제품으로서 제공되었고 사용 때까지 -25°C 내지 -15°C(-13°F 내지 5°F)에서 저장하였다. 적절한 용량 제조 후, hCMV mRNA 백신 주사를 0.5mL의 용적으로 삼각근에 근육내 투여하였다.

[0336] 동결건조된 백신을 0.6mL의 0.9% 염화나트륨 주사액(USP)으로 재구성한 다음 트리스 슈크로스 희석제 SD-0724로 희석하여 0.5mL 용적의 특정 용량 수준을 전달하는 농도가 되게 하였다. 0.9% 염화나트륨 주사(USP) (생리식염수) 위약은 0.5 mL 용적으로 투여하였다.

[0337] **연구 디자인**

[0338] 상기 단계 II 연구를 위해 제안된 디자인 및 용량 수준은 진행 중인 단계 I 연구에서 측정된 안전성 및 면역원성 데이터를 기반으로 하였다. 단계 I 연구를 위한 30 µg, 90 µg 및 180 µg 용량 수준 코호트에 대한 안전성 및 면역원성 데이터의 중간 분석에서 hCMV mRNA 백신이 일반적으로 CMV 혈청음성 및 CMV 혈청양성 둘 다 성인에서 관용성이 우수함을 보여주었다. CMV 혈청 음성 참가자에서 상피 세포 및 섬유아세포 감염 둘 다에 대한 중화 항체(nAbs)는 hCMV mRNA 백신의 2회 투여(0, 2개월에 투여) 후 모든 용량 수준에서 관찰되었고 면역 반응은 두 번째 투여 1개월 후에 측정되었다. 또한, 상피 세포 및 섬유아세포 진입에 필요한 바이러스 단백질에 대한 항체 수준은 동일한 백신 접종 일정에 따라 모든 용량 수준에서 CMV 혈청 양성 참가자에서 부스팅하였다.

[0339] 본원에 기재된 단계 II 연구는 용량 상승, 순차적 등록 디자인을 사용하여 18세 내지 40세 연령의 CMV-혈청 음성 및 CMV-혈청 양성 성인에서 안전성 및 면역원성에 대해 hCMV mRNA 면역원성 조성물의 3가지 용량 수준을 평가하고 추가의 개발을 위한 단일 용량의 선택을 가능하도록 의도되었다.

[0340] 연구 디자인의 도식은 도 12에 제공된다. 이 연구에는 동시에 등록된 CMV 혈청 음성 그룹과 CMV 혈청 양성 그룹의 2개 치료 그룹이 포함된다. 무작위화는 상호작용 반응 기술(Interactive Response Technology)(IRT)를 통해 CMV 혈청상태에 따라 순차적 방식으로 3가지 상이한 용량 수준으로 계층화되었다. 각 용량 수준에서 대상체는 3회-백신 접종(0, 2, 6개월) 일정으로 투여되는 hCMV mRNA 백신 또는 위약을 받도록 3:1 비율로 무작위 배정된다.

[0341] **치료 아암**

[0342] **CMV-혈청음성 그룹**

[0343] CMV-혈청음성 그룹의 각 용량 수준에서 60명의 대상체가 있었다. 용량 수준은 50 µg, 100 µg 또는 150 µg이었다. 각 용량 수준에서 대상체는 3회-백신 접종(0, 2, 6개월) 일정으로 투여되는 hCMV mRNA 백신 또는 위약을 받도록 3:1 비율로 무작위 배정된다.

[0344] **CMV-혈청양성 그룹**

[0345] CMV-혈청양성 그룹의 각 용량 수준에서 24명의 대상체가 있었다. 용량 수준은 50 µg, 100 µg 또는 150 µg이었다. 각 용량 수준에서 대상체는 3회-백신 접종(0, 2, 6개월) 일정으로 투여되는 hCMV mRNA 백신 또는 위약을 받도록 3:1 비율로 무작위 배정된다.

[0346] **스크리닝 기간**

[0347] 임상에서 첫 번째 방문 동안에 각각의 대상체의 스크리닝을 수행하였다. 스크리닝은 1일차 방문 전에 최대 28일까지 수행할 수 있다. 스크리닝 방문은 2개의 별도의 임상 방문에 걸쳐 수행될 수 있었다.

- [0348] 치료 기간
- [0349] 모든 대상체는 1일, 56일 및 168일 방문에서 3개 용량을 투여받는다.
- [0350] 평가된 연구 지속기간
- [0351] 연구 지속기간은 각각의 대상체에 대해 대략 18개월이다.
- [0352] 샘플 크기
- [0353] 대략 72명의 CMV 혈청양성 대상체와 대략 180명의 CMV 혈청 음성 대상체를 포함하여 대략 252명의 대상체가 등록되었다. 제안된 대상체의 수는 다양한 용량 수준의 hCMV mRNA 백신의 안전성 및 면역원성에 대한 설명 요약물 제공하기에 충분한 것으로 간주되었다. 총 189명의 대상체들은 hCMV mRNA 백신을 투여받았다.
- [0354] **목적 및 평가변수**
- [0355] 1차 목적
- [0356] 연구의 1차 목적은 다음과 같다:
- [0357] 1. 3회-백신 접종 (0, 2, 6-개월) 일정으로 투여된 hCMV mRNA 백신의 상이한 용량 수준의 안전성을 평가하기 위한 것.
- [0358] 2. 3회-백신 접종 (0, 2, 6-개월) 일정으로 투여된 상이한 용량 수준에서 hCMV mRNA 백신을 사용한 백신 접종 후 섬유아세포 및 상피 세포 감염에 대한 중화 항-CMV 항체 반응을 평가하는 것.
- [0359] 2차 목적
- [0360] 상기 연구의 2차 목적은 다음과 같다:
- [0361] 1. 3회 백신 접종 일정에서 상이한 용량 수준의 hCMV mRNA 백신을 사용한 백신 접종 후 항원 특이적 항체 반응을 평가하는 것.
- [0362] 2. 등록에서 CMV 혈청 상태에 의한 hCMV mRNA 백신의 면역원성을 평가하는 것.
- [0363] 탐색 목적
- [0364] 연구의 탐색 목적은 다음과 같다:
- [0365] 1. 상이한 용량 수준에서 hCMV mRNA 백신을 사용한 백신 접종 후 세포 매개된 면역 반응을 평가하는 것.
- [0366] 2. CMV-혈청양성 대상체에서, 위약과 비교하여 hCMV mRNA 백신을 사용한 백신 접종 후 면역학적 반응의 가능한 효과를 평가하는 것.
- [0367] 1차 평가변수
- [0368] 1. 각 백신 접종 후 7일 동안 호소하는 국소 및 전신 AR.
- [0369] 2. 각각의 백신접종 후 28일 동안 호소하지 않은 AE.
- [0370] 3. 마지막 백신 접종 후 6개월까지 의료 참석 부작용(MAAE) 및 전체 연구 기간 동안 중증의 부작용(SAE).
- [0371] 4. 상피 세포 감염 및 섬유아세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체의 기하 평균 역가(GMT), 및 각각의 시점에서 기준선 후/기준선 역가의 연관된 기하 평균 비율(GMR).
- [0372] 5. 각 시점에서 상피 세포 감염 및 섬유아세포 감염에 대해 기준선보다 nAb가 \geq 2배, 3배 및 4배 증가한 대상체의 비율.
- [0373] 2차 평가변수
- [0374] 1. 효소 결합된 면역흡착 검정(enzyme-linked immunosorbent assay)(ELISA)에 의해 측정된 항-gB 특이적 IgG 및 항-오량체 IgG의 GMT, 및 각각의 시점에서 기준선 후/기준선 역가의 관련 GMR.
- [0375] 2. CMV-혈청양성 그룹에서 및 CMV-혈청음성 그룹에서 각각의 시점에서 상피 세포 감염 및 섬유아세포 감염에 대한 혈청 nAb의 기준선보다 \geq 2배, 3배, 및 4배 증가한 대상체의 GMT, GMR 및 비율, 및 각각의 시점에서 항원-특이적 IgG (ELISA)의 GMT 및 GMR.

- [0376] 탐색 평가변수
- [0377] 1. 효소 결합된 면역스팟(ELISpot) 검정에 의한 측정 시 gB- 및 오량체-특이적 인터페론(IFN)- γ -분비 T-세포.
- [0378] 2. 항-CMV 면역학적 반응 또는 1차 CMV 감염을 평가하기 위한 탐색 검정은 스폰서의 재량에 따라 수행될 수 있다.
- [0379] **분석**
- [0380] 하기의 분석을 수행한다.
- [0381] 1. 방문 1일부터 84일(3개월)까지 수거된 안전성 및 면역원성 데이터의 3개월 중간 분석을 각 용량 수준에 대해 수행할 수 있다. 196일까지(7개월) 가용한 안전성 또는 면역원성 데이터는 또한 이들 중간 분석의 일부로서 요약될 수 있다. 상기 분석은 후속 시험을 위한 hCMV mRNA 백신 용량 수준 선택을 위한 기초로서 작용한다.
- [0382] 2. 방문 1일부터 196일(7개월)까지 수거된 안전성 및 면역원성 데이터의 7개월 중간 분석을 각 용량 수준에 대해 수행할 수 있다. 336일까지(12개월) 가용한 안전성 또는 면역원성 데이터는 또한 이들 중간 분석의 일부로서 요약될 수 있다.
- [0383] 3. 안전성 및 면역원성 데이터의 최종 비맹검 분석은 시험 종료시까지 방문 1일부터 수거하였다.
- [0384] 면역원성 평가
- [0385] 1일, 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일 및 504일의 상피 세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가 및 기준선 후/기준선 역가의 GMR.
- [0386] 1일, 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일 및 504일의 섬유아세포 감염에 대한 혈청 중화 항-CMV 항체 역가 및 기준선 후/기준선 역가의 GMR.
- [0387] 1일과 비교하여 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일, 504일에 상피 세포 감염에 대해 nAb가 \geq 2배, 3배, 4배 증가한 대상체의 비율.
- [0388] 1일과 비교하여 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일, 504일에 섬유아세포 감염에 대해 nAb가 \geq 2배, 3배, 4배 증가한 대상체의 비율.
- [0389] 1일, 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일 및 504일에 자연 CMV 감염과 관련된 nAb 역가 이상의 상피 세포 감염에 대한 nAb를 가진 대상체의 비율.
- [0390] 1일, 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일 및 504일에 자연 CMV 감염과 관련된 nAb 역가 이상의 섬유아세포 감염에 대한 nAb를 가진 대상체의 비율.
- [0391] 1일, 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일 및 504일에 ELISA에 의한 측정시 항-gB IgG의 GMT 및 기준선 후/기준선 역가의 GMR.
- [0392] 1일, 29일, 56일, 84일, 168일, 196일, 336일 및 504일에 ELISA에 의한 측정시 항-오량체 IgG의 GMT, 및 기준선 후/기준선 역가의 GMR.
- [0393] **실시예 4: 단계 II 공정의 면역원성, 시험관내 발현 및 분석물 특징 분석의 평가**
- [0394] 면역원성, hCMV 항원의 시험관내 발현 및 단계 II 공정의 분석 특징분석은 물비를 기준으로 동결건조된 hCMV RNA 백신을 사용하여 0.4g 및 1g 스케일로 평가하고, 0.03 g 스케일 액체 제형과 비교하였다. 생리식염수(6.3의 측정된 pH를 가짐)를 사용하여 상이한 용량으로 동결건조된 제형을 제조하였다. 희석된 제형 중에 pH 전환은 도 13에 나타난다.
- [0395] hCMV 오량체 및 hCMV gB의 시험관 내 발현 수준은 mRNA 성분의 물비를 기반으로 하는 2개의 동결건조된 제형(0.4 g 및 1 g 스케일) 및 동등한 질량비(0.03 g 스케일)를 기반으로 하는 액체 제형에 대해 평가하였다. 0.4 g 또는 1 g 스케일의 동결건조된 제형은 0.03 g 스케일의 액체 제형과 비교하여 오량체 단백질의 보다 높은 시험관내 발현을 유도하였다(도 14a-14c).
- [0396] 면역화 21일 또는 36일 후 항-오량체 IgG 역가는 도 15a에 나타나고, 면역화 21일 또는 36일 후 항-gB IgG 역가는 도 15b에 나타난다. 0.4 g 및 1 g 스케일의 동결건조된 제형은 0.5 μ g 용량의 0.03 g 스케일에서 동일 질량 액체 제형과 비교하여 오량체 특이적 및 gB 특이적 IgG의 보다 높은 역가를 유도하였다(15-20배). 1 g 스케일을

투여받은 그룹으로부터의 면역 반응은 0.4g 스케일로부터의 반응에 상응하였다.

- [0397] 큰 스케일(1g) 동결건조 제형과 작은 스케일(0.03 g) 액체 제형을 비교하여 CMV 중화 역가를 수행하였다. CMV 바이러스에 대한 중화 역가는 동일 질량 비율 액체 제형과 비교하여 물비를 기준으로 동결건조된 제형을 사용하여 26배 더 높았다(도 16a 및 16b).
- [0398] **실시예 5: 단계 II 연구에서 2차 백신 접종 1개월 후 면역원성의 평가**
- [0399] 본 실시예는 hCMV mRNA 백신의 면역원성의 3개월(2차 백신접종 후 1개월) 중간 분석 결과를 기재한다.
- [0400] CMV-혈청 음성 및 CMV-혈청 양성 참가자의 면역원성은 상피 세포 감염에 대한 중화 항체(nAb) 반응(오량체 항원에 대한 면역 반응의 측정) 및 섬유아세포 감염에 대한 nAb 반응(gB 항원에 대한 면역 반응의 측정)으로 측정되었다. 결과는 기준선에 대한 평균, 중앙값, 최소값, 최대값, 기하 평균 역가(GMT), 기하 평균 비율(GMR) 및 GMT 및 GMR에 대한 상응하는 95% 신뢰 구간으로 요약되었다.
- [0401] CMV 분리체 VR1814 및 ARPE-19 세포를 활용한 상피 세포 감염에 대한 nAb 측정을 위한 미세중화 검정. CMV 분리체 AD169 및 HEL299 세포를 활용한 섬유아세포 감염에 대한 nAb 측정을 위한 미세중화 검정.
- [0402] 기준선 중화 항체
- [0403] CMV 혈청음성 참가자에서, 기준선(첫 번째 백신 접종 전)에서 상피 세포 감염 및 섬유아세포 감염에 대한 nAb GMT는 모든 치료 그룹에서 정량 하한치(LLOQ)(8로 보고됨, 0.5 x LLOQ를 나타냄) 미만이었다. 이것은 면역화 전에 CMV 감염이 없음을 나타낸다.
- [0404] CMV 혈청 양성 참가자(n=46)에서 세포 감염에 대한 nAb의 기준선 GMT는 3,924(95% CI: 2,249, 6,845)였고 섬유아세포 감염에 대한 nAb의 기준선 GMT는 3,955(95% CI: 2,197, 7,119)였다. 이들 값은 상기 프로토콜별 세트에 대한 천연 획득 면역의 nAb GMT와 CMV 혈청음성 그룹의 면역 반응이 비교되는 벤치마크를 나타낸다.
- [0405] 중화 항체 (nAb) 반응
- [0406] CMV 혈청 음성 참가자에서 상피 세포 감염에 대한 중화 항체(도 17)는 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 1차 백신 접종 후 용량 관련 방식으로 1개월째(1차 백신접종 후 1개월) 955(95% CI 503, 1,814); 2,100(95% CI 1,074, 4,110); 3,109(95% CI 2,116, 4,568)의 GMT로 증가하였다(표 1). 각각의 mRNA 치료 그룹 내에서, 상피 세포 감염에 대한 nAb는 모든 치료 그룹에서 2차 백신 접종 후 추가로 혈청양성 벤치마크 GMT를 초과하는 GMT로 증가하였고, 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 3개월 (2차 백신접종 후 1개월)에 GMT는 57,028(95%CI 36,725, 88,554); 49,302(95%CI 32,141, 75,627); 및 49,706(95%CI 35,792, 69,029)이다(표 1).
- [0407] CMV 혈청 음성 참가자에서 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체(도 18)는 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 1차 백신 접종 후 1개월째(1차 백신접종 후 1개월) 73(95% CI 35, 151); 175(95% CI 86, 356); 136(95% CI 68, 272)의 GMT로 증가하였다(표 1). 각각의 mRNA 치료 그룹 내에서, 섬유아세포 감염에 대한 nAb는 모든 치료 그룹에서 2차 백신 접종 후 추가로 혈청양성 벤치마크 GMT에 근접하거나 이를 초과하는 GMT로 증가하였고, 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 3개월(2차 백신접종 후 1개월)에 GMT는 3,856(95% CI 2,726, 5,455); 3,242(95%CI 2,009, 5,233); 및 4,638(95% CI 3,417, 6,296)이다(표 1).

[0408] [표 1] CMV 혈청음성 참가자에서 중화 항체 반응

| | CMV-혈청음성 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 (P202 혈청양성 코호트 기준선 GMT = 3,924) | | | | |
|--------------------------|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 위약 N=29 | 50 µg N=30 | 100 µg N=23 | 150 µg N=32 | 총 mRNA N=85 |
| GMT 기준선 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| n=29 | n=29 | n=32 | n=23 | n=32 | n=85 |
| GMT 1 개월 | 9.7 | 955 | 2,100 | 3,109 | 1,821 |
| n=28 | n=28 | n=30 | n=23 | n=30 | n=83 |
| 95%CI | --- | 503; 1,814 | 1,074; 4,110 | 2,116; 4,568 | 1350; 2540 |
| GMT 2 개월 | 8 | 1,115 | 1,076 | 1,773 | 1,321 |
| n=29 | n=29 | n=29 | n=22 | n=32 | n=83 |
| 95%CI | --- | 503; 1,814 | 1,074; 4,110 | 2,116; 4,568 | 8; 32,736 |
| GMT 3 개월 | 8 | 57,028 | 49,302 | 49,706 | 52,095 |
| n=29 | n=29 | n=30 | n=22 | n=32 | n=84 |
| 95%CI | --- | 36,725; 88,554 | 32,141; 75,627 | 35,792; 69,029 | 41,773; 64,967 |
| GMT/CMV-혈청양성 기준선 3 개월 | --- | 15.7 | 13.4 | 12.7 | 13.3 |
| | CMV-혈청음성 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 (P202 혈청양성 코호트 기준선 GMT = 3,955) | | | | |
| | 위약 N=29 | 50 µg N=30 | 100 µg N=23 | 150 µg N=32 | 총 mRNA N=85 |
| GMT 기준선 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| n=29 | n=29 | n=30 | n=23 | n=32 | n=85 |
| GMT 1 개월 | 8 | 73 | 175 | 136 | 116 |
| n=28 | n=28 | n=30 | n=23 | n=30 | n=83 |
| 95%CI | --- | 35, 151 | 86, 356 | 68, 272 | 78; 174 |
| GMT 2 개월 | 8 | 37 | 71 | 83 | 60 |
| n=29 | n=29 | n=29 | n=22 | n=32 | n=83 |
| 95%CI | --- | 19; 71 | 31; 166 | 50; 137 | 42; 86 |
| GMT 3 개월 | 8 | 3,856 | 3,242 | 4,638 | 3,953 |
| n=29 | n=29 | n=30 | n=22 | n=32 | n=84 |
| 95%CI | --- | 2,726; 5,455 | 2,009; 5,233 | 3,417; 6,296 | 3223; 4849 |
| GMT/CMV-혈청양성 기준선 3 개월 | --- | 1.0 | 0.8 | 1.2 | 1.0 |

N=치료 그룹에서 대상체의 수; n = 상응하는 시점에서 누락되지 않은 데이터와 함께 대상체의 수; GMT= 기하 평균 역가; GMR = 기하 평균 비율 (기준선 후/기준선 역가); CI = 신뢰 구간.

[0409]

[0410]

CMV 혈청양성 참가자에서 상피 세포 감염에 대한 중화 항체(도 17)는 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 1차 백신 접종 후 용량 관련 방식으로 1개월째(1차 백신접종 후 1개월) 27,062(95% CI 7,392, 99,073); 52,989(95% CI 24,882, 112,847); 116,899(95% CI 60,899, 224,392)의 GMT로 부스팅하였다(표 2). 각각의 mRNA 치료 그룹 내, 상피 세포 감염에 대한 nAb는 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 2차 백신접종 후 추가로 3개월(2차 백신접종 후 1개월)에 102,850 (95% CI 64,178, 164,826); 81,111(95% CI 40,570, 162,167); 및 126,075 (95% CI 73,077, 217,509)의 GMT로 부스팅하였고, 상응하는 GMR은 51.4, 13.7, 및 16.9이다(표 2).

[0411]

CMV 혈청양성 참가자에서 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체(도 18)는 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 1차 백신 접종 후 용량 관련 방식으로 1개월째(1차 백신접종 후 1개월) 5,686(95% CI 1,680, 19,252); 14,251(95% CI 5,790, 35,077); 21,341(95% CI 13,468, 33,817)의 GMT로 부스팅하였다(표 2). 각각의 mRNA 치료 그룹 내, 섬유아세포 감염에 대한 nAb는 각각 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서, 2차 백신 접종 후 추가로 3개월 (2차 백신접종 후 1개월)에 9,970 (95% CI 6,487, 15,325); 11,652 (95% CI 6,323, 21,475); 및 13,208 (95% CI 8,875, 19,657)의 GMT로 부스팅하였고, 상응하는 GMR은 4.4, 1.8, 및 1.9이다(표 2).

[0412] [표 2] CMV-혈청양성 참가자에서 중화 항체 반응

| | | CMV-혈청양성 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 (P202 혈청양성 코호트 기준선 GMT = 3,924) | | | | |
|---------|------|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 위약 | 50 µg | 100 µg | 150 µg | 총 mRNA |
| GMT 기준선 | N=10 | 2,938 | 2,250 | 5,935 | 7,480 | 4,252 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 589; 14,664 | 589; 8,591 | 3,159; 11,150 | 3,600; 15,542 | 2,325; 7,778 |
| | | | | | | |
| GMT 1개월 | n=9 | 9,157 | 27,062 | 52,989 | 116,889 | 51,002 |
| | n=9 | | | | | |
| 95%CI | | 3,157; 26,560 | 7,392; 99,073 | 24,882; 112,847 | 60,889; 224,392 | 27,998; 92,906 |
| | | | | | | |
| GMT 2개월 | n=10 | 7,677 | 30,228 | 51,008 | 88,939 | 48,545 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 4,204; 14,019 | 7,730; 118,211 | 22,109; 117,682 | 50,343; 157,126 | 26,247; 89,785 |
| | | | | | | |
| GMT 3개월 | n=10 | 7,245 | 102,850 | 81,111 | 126,075 | 102,455 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 4,121; 12,736 | 64,178; 164,826 | 40,570; 162,167 | 73,077; 217,509 | 76,439; 137,325 |
| | | | | | | |
| GMR 1개월 | n=10 | 3.3 | 12.0 | 8.9 | 15.6 | 12.0 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 0.7, 16.4 | 7.3, 19.8 | 4.8, 16.7 | 6.0, 41.1 | 8.3, 17.3 |
| | | | | | | |
| GMR 2개월 | n=10 | 2.6 | 13.4 | 8.7 | 11.9 | 11.6 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 0.7, 10.3 | 7.6, 23.9 | 3.7, 20.2 | 6.1, 23.3 | 8.1, 16.5 |
| | | | | | | |
| GMR 3개월 | n=10 | 2.5 | 51.4 | 13.7 | 16.9 | 24.8 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 0.6; 10.2 | 13.3; 198.9 | 6.6; 28.3 | 9.2; 31.0 | 13.7; 44.9 |
| | | | | | | |

| | | CMV-혈청양성 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 (P202 혈청양성 코호트 기준선 GMT = 3,955) | | | | |
|---------|------|---|---------------|---------------|----------------|---------------|
| | | 위약 | 50 µg | 100 µg | 150 µg | 총 mRNA |
| GMT 기준선 | N=10 | 2,545 | 2,507 | 6,377 | 7,117 | 4,470 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 440; 14,733 | 651; 9,655 | 2,484; 16,371 | 3,368; 15,039 | 2,391; 8,356 |
| | | | | | | |
| GMT 1개월 | n=9 | 6,452 | 5,686 | 14,251 | 21,341 | 10,994 |
| | n=9 | | | | | |
| 95%CI | | 3,276; 12,705 | 1,680; 19,252 | 5,790; 35,077 | 13,468; 33,817 | 6,225; 19,417 |
| | | | | | | |
| GMT 2개월 | n=10 | 5,710 | 5,449 | 14,735 | 11,983 | 9,015 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 3,301; 9,879 | 1,548; 19,182 | 5,913; 36,716 | 7,109; 20,199 | 5,054; 16,081 |
| | | | | | | |
| GMT 3개월 | n=10 | 8,138 | 9,970 | 11,652 | 13,208 | 11,388 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 5,610; 11,808 | 6,487; 15,325 | 6,323; 21,475 | 8,875; 19,657 | 3,223; 4,849 |
| | | | | | | |
| GMR 1개월 | n=10 | 3.1 | 2.3 | 2.2 | 3.0 | 2.5 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 0.6, 14.9 | 1.4, 3.7 | 1.3, 3.9 | 1.7, 5.4 | 1.9, 3.3 |
| | | | | | | |
| GMR 2개월 | n=10 | 2.2 | 2.2 | 2.1 | 1.7 | 2.0 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 0.6, 8.8 | 1.4, 3.3 | 1.3, 3.4 | 1.0, 2.7 | 1.6, 2.5 |
| | | | | | | |
| GMR 3개월 | n=10 | 3.2 | 4.4 | 1.8 | 1.9 | 2.6 |
| | n=10 | | | | | |
| 95%CI | | 0.7; 14.5 | 1.3; 14.9 | 1.1; 3.1 | 1.1; 3.1 | 1.6; 4.4 |
| | | | | | | |

N=치료 그룹에서 대상체의 수; n= 상응하는 시점에서 누락되지 않은 데이터와 함께 대상체의 수; GMT = 기하 평균 역가; GMR = 기하 평균 비율 (기준선 후/기준선 역가); CI = 신뢰 구간.

[0413]

[0414] **면역원성 결론**

[0415] CMV-혈청음성 참가자

[0416] (a) 상피 세포 감염 (온전한 CMV 오량체 항원에 대한 면역 반응의 측정)에 대한 중화 항체는 1차 백신접종 (1개월) 후 일반적으로 용량 관련 방식으로 증가하였다. 2차 백신접종(3개월) 후, 상피 세포 감염에 대한 nAb GMT는 CMV 혈청양성 참가자의 기준선 GMT(이전의 천연적으로 획득된 CMV 감염의 측정) 보다 적어도 12배로 부스팅하였다. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 상피 세포 감염에 대한 3개월 nAb GMT는 일반적으로 수치적으로 유사하였다.

[0417] (b) 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 (CMV gB 항원에 대한 면역 반응의 측정)는 1차 백신 접종 (1개월) 후 인지 가능한 증가를 보여주지 않았다. 2차 백신접종(3개월) 후, 섬유아세포 감염에 대한 nAb는 CMV 혈청양성 참가자의 기준선 GMT(이전의 천연적으로 획득된 CMV 감염의 측정)와 일반적으로 균등한 GMT로 부스팅하였다. 50 µg, 100 µg, 및 150 µg 치료 그룹에서 3개월 GMT는 일반적으로 수치적으로 유사하였다.

[0418] CMV-혈청양성 참가자

[0419] (a) 상피 세포 감염에 대한 기준선 nAb GMT는 치료 그룹에 걸쳐 다양하였고, GMT는 일반적으로 기준선과 3개월 간의 위약 치료 그룹에서 증가하였다. 각 hCMV mRNA 백신 처리 그룹 내에서, 상피 세포 감염에 대한 nAb GMT는 1차 백신 접종(1개월) 후 각각의 기준선 GMT보다 적어도 8배 수준으로 부스팅하였고, GMT는 2차 백신 접종(3개월) 후 각각의 기준선 GMT 보다 적어도 13배에서 51배 초과로 증가하였다. 1차 또는 2차 백신 접종 후 용량 관

련 GMR 반응은 분명하지 않았다.

[0420] (b) 섬아유세포 감염에 대한 기준선 nAb GMT는 치료 그룹에 걸쳐 다양하였고, GMT는 일반적으로 기준선과 3개월 간의 위약 치료 그룹에서 증가하였다. 각각의 hCMV mRNA 백신 치료 그룹 내, 섬아유세포 감염에 대한 nAb GMT는 1차 및 2차 백신 접종 (1개월 및 3개월) 후 각각의 기준선 GMT 보다 적어도 2배의 수준으로 부스팅하였고, 위약 치료 그룹에서 증가하는 nAb GMT로 인해, 백신 접종 후 위약과 비교하여 GMR에서 어떠한 지지할만한 증가가 없었다. 위약 치료 그룹과 비교하여 mRNA 치료 그룹에 걸쳐 용량 관련 GMR 반응은 분명하지 않았다.

[0421] 호소하는 안전성

[0422] 1차 백신 접종 후 호소하는 부작용(AR)이 기록되었다(표 3). 주사 부위 통증은 가장 흔하게 보고된 호소하는 국소 부작용이었다. 가장 흔하게 호소하는 전신 AR은 CMV 혈청음성 및 CMV 혈청양성 치료 그룹 둘 다에서 두통, 피로 및 근육통이었다. 어떠한 중증의 부작용(SAE)이 보고되지 않았다. 연구 중단으로 이어지는 어떠한 자발적 이벤트는 발생하지 않았다.

[0423] [표 3] 1차 백신 접종 후 호소하는 부작용 (AR)

| | | 기준선에서 CMV 혈청상태 | | | | | | | |
|--------------------------------------|-----------|----------------|---------------|----------------|----------------|------------|---------------|----------------|----------------|
| | | CMV-혈청음성 | | | | CMV-혈청양성 | | | |
| | | 위약 N=30 | 50 µg N=31 | 100 µg N=24 | 150 µg N=32 | 위약 N=12 | 50 µg N=15 | 100 µg N=10 | 150 µg N=11 |
| 국 소 A R | 통증 | 4/30(13%) | 26/ 31(84%) | 23/ 24(96%) | 29/32(91%) | 3/12(25) | 12/ 15(80%) | 8/ 10(80%) | 7/11(64%) |
| | 발적 | - | 1/31(3) | - | 3/32(9) | - | - | - | 1/11(9) |
| | 종창(주사 부위) | - | 1/31(3) | - | 2/32(6) | - | - | - | 1/11(9) |
| | 종창(겨드랑이) | - | 1/31(3) | 8/24(33) | 4/32(13) | 2/12(17) | 1/15(7) | - | 3/11(27) |
| 가 장 흔 한 전 신 A R | 열 | - | - | - | 1/32(3) | - | - | - | 3/11(27) |
| | 두통 | 10/30(33) | 7/31(23) | 10/24(42) | 10/32(31) | 4/12(33) | 7/15(47) | 4/10(40) | 6/11(55) |
| | 피로 | 9/30(30) | 9/31(29) | 8/24(33) | 14/32(44) | 3/12(25) | 11/15(73) | 4/10(40) | 4/11(27) |
| | 근육통 | 4/30(13) | 2/31(7) | 6/24(25) | 11/32(34) | 1/12(8) | 8/15(53) | 5/10(50) | 6/11(55) |
| | 관절통 | 2/30(7) | - | 3/24(13) | 5/32(16) | 1/12(8) | 7/15(47) | 4/10(40) | 2/11(18) |
| | 구역질 | 3/30(10) | 2/31(7) | 1/24(4) | 2/32(6) | - | 4/15(27) | 1/10(10) | 1/11(9) |
| | 오한 | 3/30(10) | 3/31(10) | 4/24(7) | 5/32(6) | - | 6/15(40) | 2/10(20) | 4/11(26) |
| | 발진 | 2/30(7) | 2/31(7) | 3/24(13) | 1/32(3) | 3/12(25) | 2/15(13) | - | 1/11(9) |

값은 n (%) 참가자를 나타내고 각각 AR을 보고하고, 볼드체=3등급 AR

[0424]

[0425] 2차 백신 접종 후 호소하는 부작용은 기록되었다(표 4). 2차 백신 접종 후, CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 치료 그룹에서 호소하는 AR의 비율 및 중증도 분포는 일반적으로 유사하였다.

[0426] [표 4] 2차 백신 접종 후 호소하는 부작용 (AR)

| | | 기준선에서 CMV 혈청상태 | | | | | | | |
|--------------------------------------|-----------|----------------|---------------|----------------|----------------|------------|---------------|----------------|----------------|
| | | CMV-혈청음성 | | | | CMV-혈청양성 | | | |
| | | 위약 N=30 | 50 µg N=31 | 100 µg N=24 | 150 µg N=32 | 위약 N=12 | 50 µg N=15 | 100 µg N=10 | 150 µg N=11 |
| 국 소 A R | 통증 | 5/30(17%) | 28/31(90%) | 23/24(96%) | 30/32(94%) | - | 13/15(87%) | 7/10(70%) | 8/11(73%) |
| | 발적 | - | - | 2/24(8) | 5/32(16) | - | - | - | 2/11(18) |
| | 종창(주사 부위) | - | - | 1/24(4) | 5/32(16) | - | 2/15(13) | - | 1/11(9) |
| | 종창(겨드랑이) | 1 (3) | 4/31(13) | 7/24(29) | 6/32(19) | - | 3/15(20) | 2/10(20) | 2/11(18) |
| 가 장 흔 한 전 신 A R | 열 | - | 1 (3) | - | 3/32(9) | - | - | - | 2/11(18) |
| | 두통 | 11/30(37) | 14/31(45) | 13/24(54) | 17/32(53) | 6/12(50) | 9/15(60) | 5/10(50) | 4/11(36) |
| | 피로 | 7/30(23) | 14/31(45) | 9/24(38) | 17/32(53) | 2/12(17) | 11/15(73) | 3/10(30) | 7/11(63) |
| | 근육통 | 1/30(3) | 16/31(52) | 12/24(50) | 15/32(47) | 1/12(8) | 11/15(73) | 6/10(60) | 6/11(55) |
| | 관절통 | 2/30(7) | 12/31(39) | 10/24(42) | 11/32(34) | 1/12(8) | 6/15(40) | 5/10(50) | 4/11(36) |
| | 구역질 | - | 6/31(19) | 3/24(13) | 7/32(22) | 1/12(8) | 4/15(27) | 2/10(20) | 2/11(18) |
| | 오한 | 1/30(3) | 8/31(26) | 9/24(38) | 16/32(50) | - | 6/15(40) | 3/10(30) | 6/11(55) |
| | 발진 | - | - | 2/24(8) | 6/32(19) | 1/12(8) | 1/15(7) | 1/10(10) | - |

값은 n (%) 참가자를 나타내고 각각 AR을 보고하고, 볼드체=3등급 AR

[0427]

[0428] 안전성 결론

- [0429] (a) 백신은 혈청 상태와는 관계 없이 모든 용량에 걸쳐 일반적으로 매우 관용성이었다.
- [0430] (b) SAE도 보고되지 않았다.
- [0431] (c) 연구 중단으로 이어지는 자발적 이벤트는 없었다.
- [0432] (d) 일반적으로 치료 그룹에서 CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 참가자의 유사한 비율은 1차 백신 접종 후 및 2차 백신 접종 후 적어도 하나의 호소하는 AR을 보고하였다.
- [0433] (e) 전반적으로, CMV-혈청음성 또는 CMV-혈청양성 치료 그룹에서 1차 또는 2차 백신 접종 후 호소하는 AR을 보고한 참가자의 비율에는 용량 관련 패턴이 없는 것으로 나타났다.
- [0434] (f) 전반적으로, 가장 흔한 호소하는 국소 AR은 주사 부위 통증이었다. 가장 흔하게 호소하는 전신 AR은 CMV 혈청음성 및 CMV 혈청양성 치료 그룹 둘 다에서 두통, 피로 및 근육통이었다.
- [0435] (g) 1차 백신접종 후, 호소하는 전신 AR의 비율은 일반적으로 CMV 혈청음성 참가자에서 수치적으로 보다 낮았다. 3등급 호소하는 전신 AR의 보고는 낮았고 CMV 혈청양성 치료 그룹으로 제한되었다. 호소하는 AR 비율의 용량 관련 패턴은 CMV-혈청음성 또는 CMV-혈청양성 치료 그룹에서 분명하지 않았다.
- [0436] (h) 2차 백신접종 후, CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 치료군에서 호소하는 AR의 비율 및 중증도 분포는 일반적으로 유사하였다.
- [0437] (i) 전체 호소하지 않은 AE 및 3등급 호소하지 않은 AE를 보고한 참가자의 비율은 일반적으로 치료 그룹의 CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 참가자에서 수치적으로 유사하였다. 치료 관련 호소하지 않은 AE를 보고하는 CMV 혈청음성 참가자의 비율은 CMV-혈청양성 참가자에서 수치적으로 보다 높았다. 보고된 호소하지 않은 AE의 어떠한 명백한 용량 관련 또는 CMV 혈청상태 관련 보고된 패턴이 없었다.
- [0438] **실시예 6: 단계 II 연구에서 3차 백신접종 1개월 후 면역원성의 평가**
- [0439] 본 실시예는 hCMV mRNA 백신의 면역원성의 7개월(3차 백신접종 후 1개월) 중간 분석 결과를 기재한다.
- [0440] CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 참가자의 면역원성은 상피 세포 감염에 대한 중화 항체(nAb) 반응(오량체 항원에 대한 면역 반응의 측정); 섬유아세포 감염에 대한 nAb 반응(gB 항원에 대한 면역 반응의 측정); 항-오량체 결합 항체 역가; 및 항-gB 결합 항체 역가로서 측정되었다. 결과는 기준선에 대한 평균, 중앙값, 최소값, 최대값, 기하 평균 역가(GMT), 기하 평균 비율(GMR) 및 GMT 및 GMR에 대한 상응하는 95% 신뢰 구간으로 요약되었다.
- [0441] CMV 분리체 VR1814 및 ARPE-19 세포를 활용한 상피 세포 감염에 대한 nAb 측정을 위한 미세중화 검정. CMV 분리체 AD169 및 HEL299 세포를 활용한 섬유아세포 감염에 대한 nAb 측정을 위한 미세중화 검정. 오량체의 측정을 위한 결합 ELISA 검정은 VR1814 분리물로부터 유래된 전장 UL75(gH), UL115(gL), UL128, UL130 및 UL131A로 이루어진 재조합 사람 CMV 오량체 단백질 복합체를 활용하였다. gB의 측정을 위한 결합 ELISA 검정은 세포질 도메인에 연결된 세포의 도메인을 암호화하는 재조합 사람 CMV gB를 활용하였다.
- [0442] 기준선 중화 항체
- [0443] CMV 혈청음성 참가자(n=127)에서, 기준선(첫 번째 백신 접종 전)에서 상피 세포 감염 및 섬유아세포 감염에 대한 nAb GMT는 모든 치료 그룹에서 LLOQ(8로 보고됨, 0.5× LLOQ를 나타냄) 미만이었다. 이것은 면역화 전에 CMV 감염이 없음을 나타낸다.
- [0444] CMV 혈청양성 참가자(n=62)에서 상피 세포 감염에 대한 nAb의 기준선 GMT는 4,732(95% CI: 3,059, 7,321)였고 섬유아세포 감염에 대한 nAb의 기준선 GMT는 4,045(95% CI: 2,566, 6,374)였다. 이들 값은 상기 PP 면역원성 세트에 대한 천연 획득 면역의 nAb GMT와 CMV 혈청음성 그룹의 중화 항체 반응이 비교될 수 있는 벤치마크를 나타낸다.
- [0445] 중화 항체 (nAb) 반응
- [0446] CMV-혈청음성 참가자에서, 상피 세포 감염에 대한 중화 항체는 1차 백신 접종 후 용량 관련 방식으로 증가하였다(도 19, 표 5). 각각의 mRNA 치료 그룹에서, 상피 세포 감염에 대한 nAb는 2차 백신접종 후 추가로 증가하였고, 모든 치료 그룹에서 혈청양성 벤치마크 GMT를 초과하는 GMT에 대한 3차 백신접종 후 다시 20배 초과로 증가하였다(도 20).
- [0447] 각 mRNA 치료 그룹 내에서, 섬유아세포 감염에 대한 nAb는 모든 치료 그룹에서 혈청양성 벤치마크 GMT에 근접하

거나 초과하는 GMT에 대한 2차 백신접종 후 증가하였다. 3차 백신접종 후, 100 µg 및 150 µg 치료 그룹에서 GMT는 2차 백신 접종 후 GMT에 상응하였다(도 20).

[0448]

[표 5] CMV-혈청양성 참가자에서 중화 항체 반응

| | CMV-혈청양성 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 | | | | |
|-------------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | 위약 N=43 | 50 µg N=44 | 100 µg N=39 | 150 µg N=44 | 총 mRNA N=127 |
| GMT 기준선 | 8 n=43 | 8 n=44 | 8 n=39 | 8 n=44 | 8 n=127 |
| 1 차 투여 후 GMT 1 개월 | 9.1 n=41 | 1,121 n=44 | 2,592 n=39 | 3,802 n=38 | 2,155 n=121 |
| 95%CI | 7;12 | 684; 1,836 | 1,702; 3,948 | 2,713; 5,328 | 1,663; 2,793 |
| 2 차 투여 후 GMT 3 개월 | 8 n=35 | 61,759 n=27 | 45,696 n=30 | 49,581 n=36 | 51,473 n=93 |
| 95%CI | --- | 39,400; 96,807 | 32,940; 63,394 | 36,690; 67,001 | 42,231; 62,736 |
| 3 차 투여 후 GMT 7 개월 | 8 n=29 | 117,022 n=27 | 112,325 n=18 | 101,114 n=27 | 109,654 n=72 |
| 95%CI | --- | 71,909; 190,439 | 75,155; 167,878 | 75,957; 134,602 | 87,666; 137,1157 |
| | CMV-혈청양성 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 | | | | |
| | 위약 N=43 | 50 µg N=44 | 100 µg N=39 | 150 µg N=44 | 총 mRNA N=127 |
| GMT 기준선 | 8 n=43 | 8 n=44 | 8 n=39 | 8 n=44 | 8 n=127 |
| 1 차 투여 후 GMT 1 개월 | 8 n=41 | 66 n=44 | 171 n=39 | 156 n=38 | 118 n=121 |
| 95%CI | --- | 38; 116 | 104; 282 | 89; 274 | 86; 161 |
| 2 차 투여 후 GMT 3 개월 | 8 n=35 | 4,395 n=27 | 3,915 n=30 | 4,597 n=36 | 4,308 n=93 |
| 95%CI | --- | 3,195; 6,047 | 2,703; 5,672 | 3,438; 6,146 | 3,592; 5,168 |
| 3 차 투여 후 GMT 7 개월 | 8 n=29 | 2,758 n=27 | 3,965 n=18 | 3,761 n=27 | 3,393 n=72 |
| 95%CI | --- | 1,958; 3,886 | 2,742; 5,735 | 2,849; 4,965 | 2,822; 4,079 |

기준선 = 4.732 (95% CI: 3.059; 7.321)에서 상피 세포 감염에 대한 nAb의 CMV-혈청양성 그룹 GMT
 기준선 = 4.045 (95% CI: 2.566; 6.374)에서 섬유아세포 감염에 대한 nAb의 CMV-혈청양성 그룹 GMT
 CI = 신뢰 구간; CMV = 시토크갈로바이러스; GMT = 기하 평균 역가; GMR = 기하 평균 비율(기준선 후/기준선 역가); N = 치료 그룹의 참가자 수; n = 상응하는 시점에 누락되지 않은 데이터가 있는 참가자 수.

[0449]

[0450]

CMV-혈청양성 참가자에서, 상피 세포 감염에 대한 중화 항체는 1차 백신 접종 후 용량 관련 방식으로 증가하였다(도 19, 표 6). 각각의 mRNA 치료 그룹 내에서 3차 백신접종 후 상피세포 감염에 대한 nAb는 100 및 150 µg 그룹에서 2차 백신접종 후 GMT에 상응하였다(도 19).

[0451]

각각의 mRNA 치료 그룹 내에서 3차 백신접종 후 섬유아세포 감염에 대한 nAb는 2차 백신접종 후 GMT에 상응하였다(도 20).

[0452]

기준선 GMT는 상피 세포 감염에 대한 nAb 및 섬유아세포 감염에 대한 nAb 둘 다에 대해 치료 그룹에 걸쳐 다양하다는 점에 유의해야 한다. 특히, 50 µg 치료 그룹의 기준선 GMT는 100 µg 및 150 µg 치료 그룹에 비해 수치적으로 낮았고, 이는 50 µg 치료 그룹에서 상대적으로 보다 높은 GMR에 기여했을 수 있다. 또한, 위약 치료 그룹 내 기준선 후 GMT는 각각의 기준선 GMT에 비해 보다 높았다.

[0453] [표 6] CMV-혈청양성 참가자에서 중화 항체 반응

| | CMV-혈청양성 상피 세포 감염에 대한 중화 항체 | | | | |
|--------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | 위약 N=16 | 50 µg N=15 | 100 µg N=16 | 150 µg N=15 | 총 mRNA N=46 |
| GMT 기준선 | 4,244 n=16 | 2,250 n=15 | 7,059 n=16 | 7,296 n=15 | 4,915 n=46 |
| 95%CI | 1,534; 11,747 | 589; 8,591 | 4,183; 11,914 | 4,109; 12,953 | 2,996; 8,063 |
| 1 차 투여 후 GMT 1 개월 | 7,966 n=14 | 27,062 n=15 | 60,667 n=16 | 102,921 n=13 | 53,858 n=44 |
| 95%CI | 3,967; 15,995 | 7,392; 99,073 | 36,408; 101,091 | 55,937; 189,371 | 32,712; 88,675 |
| 2 차 투여 후 GMT 3 개월 | 8,491 n=13 | 104,606 n=15 | 81,198 n=12 | 115,517 n=13 | 100,128 n=40 |
| 95%CI | 5,117; 14,092 | 67,546; 161,999 | 46,508; 141,762 | 72,280; 184,620 | 77,414; 129,508 |
| 3 차 투여 후 GMT 7 개월 | 8,551 n=12 | 79,508 n=12 | 75,875 n=10 | 105,862 n=11 | 86,238 n=33 |
| 95%CI | 5,745; 12,729 | 44,701; 141,419 | 32,204; 178,764 | 57,020; 196,541 | 60,784; 122,352 |
| GMR 1 개월 | 2.1 95%CI 0.8; 5.8 | 12.0 7.3; 19.8 | 8.6 4.8; 15.5 | 12.8 5.2; 31.4 | 10.9 7.6; 15.4 |
| GMR 3 개월 | 2.2 95%CI 0.8; 6.4 | 46.5 13.1; 165.5 | 14.0 7.8; 25.2 | 17.1 9.6; 30.4 | 23.4 13.8; 39.6 |
| GMR 7 개월 | 2.1 95%CI 0.6; 7.3 | 23 6.4; 82.6 | 12.4 4.6; 33.5 | 12.9 7.4; 22.5 | 15.7 9.3; 26.7 |

| | CMV-혈청양성 섬유아세포 감염에 대한 중화 항체 | | | | |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 위약 N=16 | 50 µg N=15 | 100 µg N=16 | 150 µg N=15 | 총 mRNA N=46 |
| GMT 기준선 | 2,970 n=16 | 2,507 n=15 | 5,642 n=16 | 6,359 n=15 | 4,503 n=46 |
| 95%CI | 993; 8,884 | 651; 9,655 | 2,832; 11,242 | 3,264; 11,158 | 2,717; 7,464 |
| 1 차 투여 후 GMT 1 개월 | 5,698 n=14 | 5,686 n=15 | 12,294 n=16 | 20,365 n=13 | 10,972 n=44 |
| 95%CI | 3,277; 9,908 | 1,680; 19,252 | 6,958; 21,722 | 13,679; 30,319 | 6,872; 17,520 |
| 2 차 투여 후 GMT 3 개월 | 8,804 n=13 | 10,410 n=15 | 11,282 n=12 | 12,868 n=13 | 11,425 n=40 |
| 95%CI | 6,403; 12,107 | 6,923; 15,654 | 6,776; 18,786 | 9,234; 17,933 | 9,160; 14,250 |
| 3 차 투여 후 GMT 7 개월 | 4,936 n=11 | 10,604 n=12 | 10,972 n=10 | 13,123 n=11 | 11,503 n=33 |
| 95%CI | 2,796; 8,714 | 6,997; 16,072 | 6,194; 19,435 | 9,168; 18,784 | 9,129; 14,495 |
| GMR 1 개월 | 2.4 95%CI 0.9; 6.5 | 2.3 1.4; 3.7 | 2.2 1.5; 3.3 | 2.9 1.8; 4.7 | 2.4 1.9; 3.1 |
| GMR 3 개월 | 3.3 95%CI 1.1; 10.3 | 4.2 1.3; 12.9 | 2.1 1.2; 3.5 | 2.1 1.3; 3.3 | 2.7 1.7; 4.2 |
| GMR 7 개월 | 2.3 95%CI 0.6; 8.9 | 3.1 0.8; 11.8 | 1.9 0.9; 4.1 | 2.0 1.1; 3.8 | 2.3 1.4; 3.9 |

CI = 신뢰 구간; CMV = 시토크갈로바이러스; GMR = 기하 평균 비율 (기준선 후/기준선 역가); GMT = 기하 평균 역가; N=치료 그룹에서 참가자의 수; n = 상응하는 시저에서 누락되지 않은 데이터와 함께 참가자의 수.

[0454]

[0455] 결합 항체 (nAb) 반응

[0456]

CMV 혈청음성 참가자에서 항-오량체 bAb는 1차 백신접종 후 약간 증가하였고(도 21, 표 7), 이어서 2차 백신접종 후 명백한 용량 관계가 없는 기준선에서 CMV 혈청양성 그룹의 10배 이상의 GMT로 증가하였다. 모든 mRNA 치료 그룹 내에서 3차 백신접종 후 GMT는 2차 백신접종과 상응하였다(도 21).

[0457]

각각의 mRNA 치료 그룹 내에서 항-gB는 1차 백신접종 후 인지할 정도로 증가하지 않았고, 2차 백신접종 후 증가하였고 3차 백신접종 후 추가로 증가하였다(도 22, 표 7). 3차 백신접종 후 GMT는 기준선에서 CMV 혈청양성 그룹의 GMT보다 낮았다. 치료 그룹에 걸쳐 어떠한 명백한 용량 관계가 없었다.

[0458] [표 7] CMV 혈청음성 참가자에서 결합 항체 반응

| | CMV-혈청음성 항-오량체 결합 항체 | | | | |
|-------------------|--------------------------------------|--|---|--|--|
| | 위약 N=43 | 50 µg N=44 | 100 µg N=39 | 150 µg N=44 | 총 mRNA N=127 |
| GMT 기준선 95% CI | 12.77 n=43 12.23, 13.32 | 12.5 n=44 | 12.5 n=39 | 12.5 n=44 | 12.5 n=127 |
| GMT 1개월 95% CI | 13.04 n=41 11.97, 14.21 | 161.60 n=44 108.21, 241.34 | 242.00 n=39 166.47, 351.81 | 518.75 n=38 381.33, 705.69 | 265.49 n=121 212.17, 332.20 |
| GMT 3개월 95% CI | 12.5 n=35 | 5749.97 n=27 4006.68, 8251.77 | 6656.96 n=30 4704.85, 9419.05 | 5841.76 n=36 4481.87, 7614.26 | 6065.24 n=93 5077.14, 7245.63 |
| GMT 7개월 95% CI | 12.5 n=29 | 5572.61 n=27 3871.16, 8021.88 | 6892.01 n=18 4587.91, 10353.25 | 6512.61 n=27 4542.74, 9336.67 | 6230.41 n=72 5060.98, 7670.06 |

| | CMV-혈청음성 항-gB 결합 항체 | | | | |
|-------------------|------------------------|---|---|--|---|
| | 위약 N=43 | 50 µg N=44 | 100 µg N=39 | 150 µg N=44 | 총 mRNA N=127 |
| GMT 기준선 95% CI | 12.5 n=43 | 12.5 n=44 | 12.5 n=39 | 12.5 n=44 | 12.5 n=127 |
| GMT 1개월 95% CI | 12.5 n=41 | 14.03 n=44 12.53, 15.70 | 15.77 n=39 13.09, 19.02 | 15.70 n=38 13.51, 18.25 | 15.09 n=121 13.87, 16.43 |
| GMT 3개월 95% CI | 12.5 n=35 | 339.83 n=27 234.71, 492.04 | 436.76 n=30 290.16, 657.43 | 347.45 n=36 268.76, 449.18 | 371.66 n=93 307.14, 449.74 |
| GMT 7개월 95% CI | 12.50 n=29 | 1154.82 n=27 848.30, 1572.11 | 1074.30 n=18 763.56, 1511.51 | 937.17 n=27 686.85, 1278.70 | 1048.71 n=72 878.23, 1252.29 |

기준선 = 395 (95% CI: 281; 554)에서 항-오량체 결합 Ab의 CMV-혈청양성 그룹 GMT 기준선 = 2,190 (95% CI: 1,469; 3,263)에서 항-gB 결합 Ab의 CMV-혈청양성 그룹 GMT CI = 신뢰 구간; CMV = 시토크갈로바이러스; GMR = 기하 평균 비율 (기준선 후/기준선 역가); GMT = 기하 평균 역가; N=치료 그룹에서 참가자의 수; n = 상응하는 시점에서 누락되지 않은 데이터와 함께 참가자의 수.

[0459]

[0460] 혈청양성 참가자에서, 항-오량체 bAb는 모든 mRNA 치료 그룹에서 1차 백신접종 후 부스팅되었고(도 21, 표 8) 2차 백신접종 후 명백한 용량 관계 없이 추가로 증가하였다. 3차 백신접종 후 항-오량체 bAb는 모든 mRNA 치료 그룹에 대해 2차 백신접종에 반응하였다(도 22). mRNA 치료 그룹에 걸쳐 GMR은 1차 백신접종 후 적어도 6.2, 2차 백신접종 후 적어도 10.2, 및 3차 백신접종 후 적어도 6.8이었다.

[0461] 항-gB bAb는 모든 mRNA 치료 그룹에서 1차 백신접종 후 부스팅되었고, 2차 및 3차 백신접종 후에 증가하였다. mRNA 치료 그룹에 걸쳐, GMR은 3개의 백신접종 각각 후 적어도 1.8이었다(도 22, 표 8).

[0462] [표 8] CMV-혈청양성 참가자에서 결합 항체 반응

| | | CMV-혈청양성 | | | | |
|------------------|-------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | 상피 세포 감염에 대한 항-오량체 결합 항체 | | | | |
| | | 위약 | 50 µg | 100 µg | 150 µg | 총 mRNA |
| | | N=16 | N=15 | N=16 | N=15 | N=46 |
| GMT 기준선 | | 356.26 | 306.79 | 446.89 | 496.35 | 409.07 |
| | 95%CI | n=16 173.21, 732.76 | n=15 119.73, 786.10 | n=16 232.93, 857.42 | n=15 273.08, 902.18 | n=46 274.59, 609.41 |
| GMT 1 개월 | | 397.38 | 1905.20 | 4513.40 | 4655.22 | 3394.54 |
| | 95%CI | n=14 221.15, 714.03 | n=15 836.52, 4339.16 | n=16 2623.60, 7764.44 | n=13 3036.52, 7136.80 | n=44 2369.82, 4862.36 |
| GMT 3 개월 | | 513.54 | 3378.10 | 4994.21 | 4556.10 | 4186.35 |
| | 95%CI | n=13 280.84, 939.06 | n=15 2377.28, 4800.27 | n=12 2534.23, 9842.07 | n=13 3063.50, 6775.93 | n=40 3248.83, 5394.40 |
| GMT 7 개월 | | 439.53 | 3431.76 | 3333.40 | 3239.10 | 3336.77 |
| | 95%CI | n=12 226.15, 854.23 | n=12 1964.00, 5996.43 | n=10 1763.50, 6300.85 | n=11 2121.37, 4945.75 | n=33 2528.09, 4404.11 |
| GMR 1 개월 (95%CI) | | 1.25 (0.78, 2.01) | 6.21 (3.67, 10.50) | 10.09 (5.28, 19.29) | 8.01 (4.18, 15.34) | 7.99 (5.75, 11.10) |
| GMR 3 개월 (95%CI) | | 1.39 (0.81, 2.38) | 11.01 (4.11, 29.43) | 10.51 (6.01, 18.37) | 10.20 (5.09, 20.46) | 10.59 (6.93, 16.19) |
| GMR 7 개월 (95%CI) | | 1.07 (0.64, 1.77) | 7.57 (2.42, 23.65) | 7.29 (4.13, 12.86) | 6.84 (3.65, 12.79) | 7.23 (4.65, 11.26) |

| | | CMV-혈청양성 | | | | |
|-----------------|-------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | | 섬유아세포 감염에 대한 항-gB 결합 항체 | | | | |
| | | 위약 | 50 µg | 100 µg | 150 µg | 총 mRNA |
| | | N=16 | N=15 | N=16 | N=15 | N=46 |
| GMT 기준선 | | 2366.38 | 1096.31 | 2902.20 | 2981.12 | 2131.37 |
| | 95%CI | n=16 1062.33, 5271.21 | n=15 333.05, 3608.80 | n=16 1442.33, 5839.72 | n=15 1649.35, 5388.25 | n=46 1321.83, 3436.71 |
| GMT 1 개월 | | 3073.70 | 2028.11 | 5496.22 | 6754.86 | 4158.32 |
| | 95%CI | n=14 2110.13, 4477.28 | n=15 581.02, 7079.33 | n=16 3159.27, 9561.84 | n=13 3799.57, 12008.74 | n=44 2554.47, 6769.17 |
| GMT 3 개월 | | 3557.07 | 3699.02 | 4595.97 | 8112.05 | 5095.81 |
| | 95%CI | n=13 2480.93, 5099.99 | n=15 2149.36, 6365.94 | n=12 2349.99, 8988.51 | n=13 5108.43, 12881.71 | n=40 3728.42, 6964.67 |
| GMT 7 개월 | | 3404.68 | 4667.54 | 5054.78 | 10115.96 | 6188.00 |
| | 95%CI | n=12 2317.28, 5002.36 | n=12 2859.43, 7618.98 | n=10 2636.93, 9689.59 | n=11 5983.30, 17103.06 | n=33 4548.34, 8418.75 |
| GMR 1 개월, 95%CI | | 1.43 (0.69, 2.99) | 1.85 (1.28, 2.66) | 1.89 (1.46, 2.44) | 2.12 (1.52, 2.96) | 1.94 (1.64, 2.30) |
| GMR 3 개월, 95%CI | | 1.52 (0.68, 3.38) | 3.37 (1.53, 7.42) | 1.84 (1.27, 2.66) | 2.86 (1.87, 4.36) | 2.67 (1.92, 3.69) |
| GMR 7 개월, 95%CI | | 1.42 (0.55, 3.68) | 3.48 (1.19, 10.17) | 1.83 (1.15, 2.92) | 3.46 (1.74, 6.86) | 2.86 (1.85, 4.42) |

CI = 신뢰 구간; GMR = 기하 평균 비율 (기준선 후/기준선 역가); GMT = 기하 평균 역가; N=치료 그룹에서 참가자의 수; n = 상응하는 시점에서 누락되지 않은 데이터와 함께 참가자의 수.

[0463]

[0464] **면역원성 결론**

[0465] **CMV-혈청음성 참가자**

[0466] (a) **중화 항체 반응.** 상피 세포 감염에 대한 중화 Ab GMT는 모든 CMV 혈청음성 mRNA 치료 그룹에서 2차 백신접종 후에 비해 3차 백신접종 후 증가했으며, GMT는 CMV 혈청양성 그룹의 기준선 GMT를 20배 이상 초과하였다. 2차 백신접종 후 섬유아세포 감염에 대한 nAb GMT는 모든 mRNA 치료 그룹에서 CMV 혈청양성 그룹의 기준선 GMT에 근접하거나 이를 초과하였다. 3차 백신접종 후, 100 µg 및 150 µg 치료 그룹에서 nAb GMT는 2차 백신접종 후 GMT에 상응하였다

[0467] (b) **결합 항체 반응.** 항-오량체 결합 Ab GMT는 2차 백신접종 후 CMV 혈청양성 그룹의 기준선 GMT를 10배 이상 초과하는 수준으로 증가하였고, 2차 백신접종과 비교하여 3차 백신접종 후 유사한 GMT가 있고 명백한 용량 관계가 없다. 항-gB 결합 Ab GMT는 명백한 전체 용량 관계 없이 mRNA 치료 그룹 내에서 2차 백신접종과 비교하여 3차 백신접종 후 수치적으로 보다 높았고, CMV-혈청양성 그룹의 기준선 GMT보다 수치적으로 보다 낮았다.

[0468] **CMV-혈청양성 참가자**

[0469] (a) **중화 항체 반응.** mRNA 치료 그룹에서 상피 세포 감염에 대한 nAb GMR은 1차 백신접종 후 적어도 8.6, 2차 백신접종 후 적어도 14.0, 3차 백신접종 후 적어도 12.4로 부스팅되었고, 명백한 전체 용량 관계는 없었다. 섬유아세포 감염에 대한 중화 Ab GMR은 1차 백신접종 후 적어도 2.2, 2차 백신접종 후 적어도 2.1, 및 3차 백신접종 후 적어도 1.9로 부스팅되었고, 명백한 전체 용량 관계는 없었다.

[0470] (b) **결합 항체 반응.** mRNA 치료 그룹에서 항-오량체 bAb GMT는 1차 백신접종 후 적어도 6.2, 2차 백신접종 후 적어도 10.2, 및 3차 백신접종 후 적어도 6.8의 GMR로 부스팅되었고, 명백한 전체 용량 관계는 없었다. 각각의

mRNA 치료 그룹 내에서, 항-gB 결합 Ab GMT는 mRNA 치료 그룹에 걸쳐 1차 백신접종 후 적어도 1.8의 GMR로 부스팅되었고, GMR은 일반적으로 2차 및 3차 백신접종 후 상승하였고, 명백한 용량 관계는 없었다.

[0471] 호소하는 안전성

[0472] 가장 흔하게 호소하는 전신 AR은 CMV 혈청양성 및 CMV 혈청음성 총 mRNA 그룹 둘 다에서 두통, 피로, 근육통, 관절통 및 오한이었다. CMV 혈청음성 총 mRNA 그룹에서 1차 백신접종 후 두통, 피로, 근육통, 관절통 및 오한을 보고한 참가자의 비율은 각각 27%, 33%, 21%, 10% 및 13%였으며 수치상으로 2차 백신접종 후 각각 47%, 42%, 44%, 33% 및 35%, 및 3차 백신접종 후 각각 49%, 52%, 47%, 34% 및 31%로 증가하였다. CMV 혈청양성 총 mRNA 그룹에서 1차 백신접종 후 두통, 피로, 근육통, 관절통 및 오한을 보고한 참가자의 비율(각각 52%, 54%, 59%, 43%, 및 37%)은 일반적으로 수치상으로 2차 백신접종 (각각 51%, 61%, 70%, 44%, 및 47%), 및 3차 백신접종(각각 56%, 62%, 46%, 41%, 및 51%)과 비교하여 상승하였다. CMV 혈청음성 위약 그룹에서 두통, 피로, 근육통, 관절통 및 오한의 비율은 1차 백신접종 후 각각 37%, 33%, 16%, 7% 및 10%, 2차 백신접종 후 각각 38%, 25%, 5%, 5%, 및 2.5%, 및 3차 백신접종 후 각각 22%, 8%, 0%, 0% 및 3%였다. CMV 혈청양성 위약 그룹에서 두통, 피로, 근육통, 관절통 및 오한의 비율은 1차 백신접종 후 각각 35%, 25%, 10%, 5% 및 0%, 2차 백신접종 후 각각 43%, 14%, 7%, 7%, 및 0%, 및 3차 백신접종 후 각각 20%, 7%, 0%, 0% 및 0%였다(표 9 및 표 10).

[0473] [표 9] CMV-혈청음성 참가자에서 호소하는 전신 부작용의 개요

| | 1차 백신접종 | | 2차 백신접종 | | 3차 백신접종 | |
|-------------------|-----------|----------------|-----------|----------------|-----------|----------------|
| | 위약 (N=43) | 총 mRNA (N=135) | 위약 (N=40) | 총 mRNA (N=117) | 위약 (N=36) | 총 mRNA (N=102) |
| | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) |
| 호소하는 전신 AR | | | | | | |
| 열 | 0 | 1 (0.7) | 0 | 8 (6.8) | 0 | 14 (13.7) |
| 3 등급 | 0 | 0 | 0 | 2 (1.7) | 0 | 1 (1.0) |
| 두통 | 16 (37.2) | 36 (26.7) | 15 (37.5) | 55 (47.0) | 8 (22.2) | 50 (49.0) |
| 3 등급 | 2 (4.7) | 0 | 0 | 8 (6.8) | 0 | 4 (3.9) |
| 피로 | 14 (32.6) | 45 (33.3) | 10 (25.0) | 49 (41.9) | 3 (8.3) | 53 (52.0) |
| 3 등급 | 1 (2.3) | 0 | 0 | 4 (3.4) | 0 | 2 (2.0) |
| 근육통 | 7 (16.3) | 28 (20.7) | 2 (5.0) | 51 (43.6) | 0 | 48 (47.1) |
| 3 등급 | 2 (4.7) | 1 (0.7) | 0 | 7 (6.0) | 0 | 6 (5.9) |
| 관절통 | 3 (7.0) | 14 (10.4) | 2 (5.0) | 38 (32.5) | 0 | 35 (34.3) |
| 3 등급 | 2 (4.7) | 0 | 0 | 3 (2.6) | 0 | 4 (3.9) |
| 메스꺼움/구토 | 3 (7.0) | 9 (6.7) | 0 | 22 (18.8) | 3 (8.3) | 18 (17.6) |
| 3 등급 | 2 (4.7) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 오한 | 4 (9.3) | 18 (13.3) | 1 (2.5) | 41 (35.0) | 1 (2.8) | 32 (31.4) |
| 3 등급 | 1 (2.3) | 0 | 0 | 3 (2.6) | 0 | 0 |
| 발진 | 3 (7.0) | 9 (6.7) | 0 | 9 (7.7) | 1 (2.8) | 5 (4.9) |

AR = 부작용; CMV = 시토크갈로바이러스; n = 치료 그룹에서 참가자의 수; 총 mRNA = 조합된 모든 mRNA 치료 그룹.

[0474]

[0475] [표 10] CMV 혈청양성 참가자에서 호소하는 전신 부작용의 개요

| 호소하는 전신 AR | 1차 백신접종 | | 2차 백신접종 | | 3차 백신접종 | |
|------------|-----------|---------------|-----------|---------------|-----------|---------------|
| | 위약 (N=20) | 총 mRNA (N=54) | 위약 (N=14) | 총 mRNA (N=43) | 위약 (N=15) | 총 mRNA (N=39) |
| | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) |
| 열 | 0 | 5 (9.3) | 0 | 5 (11.6) | 0 | 8 (20.5) |
| 3 등급 | 0 | 1 (1.9) | 0 | 2 (4.7) | 0 | 1 (2.6) |
| 두통 | 7 (35.0) | 28 (51.9) | 6 (42.9) | 22 (51.2) | 3 (20.0) | 22 (56.4) |
| 3 등급 | 0 | 0 | 2 (14.3) | 1 (2.3) | 0 | 1 (2.6) |
| 피로 | 5 (25.0) | 29 (53.7) | 2 (14.3) | 26 (60.5) | 1 (6.7) | 24 (61.5) |
| 3 등급 | 0 | 2 (3.7) | 0 | 4 (9.3) | 0 | 3 (7.7) |
| 근육통 | 2 (10.0) | 32 (59.3) | 1 (7.1) | 30 (69.8) | 0 | 18 (46.2) |
| 3 등급 | 0 | 4 (7.4) | 0 | 6 (14.0) | 0 | 6 (15.4) |
| 관절통 | 1 (5.0) | 23 (42.6) | 1 (7.1) | 19 (44.2) | 0 | 16 (41.0) |
| 3 등급 | 0 | 1 (1.9) | 0 | 3 (7.0) | 0 | 2 (5.1) |
| 메스꺼움/구토 | 2 (10.0) | 13 (24.1) | 1 (7.1) | 9 (20.9) | 1 (6.7) | 8 (20.5) |
| 3 등급 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 오한 | 0 | 20 (37.0) | 0 | 20 (46.5) | 0 | 20 (51.3) |
| 3 등급 | 0 | 0 | 0 | 2 (4.7) | 0 | 1 (2.6) |
| 발진 | 4 (20.0) | 5 (9.3) | 1 (7.1) | 3 (7.0) | 1 (6.7) | 2 (5.1) |

AR = 부작용; CMV = 시토크갈로바이러스; n = 치료 그룹에서 참가자의 수; 총 mRNA = 조합된 모든 mRNA 치료 그룹.

[0476]

[0477] **안전성 결론**

[0478] (a) 백신은 혈청 상태와는 관계 없이 모든 용량에 걸쳐 일반적으로 매우 관용성이었다. 지금까지 연구에서 프로토콜 한정 일시 중지 규칙이 충족되지 않았다.

[0479] (b) 치료와 관련이 없는 백신을 접종받은 참가자에게서 단일 SAE(여포성 갑상선암)가 보고되었다.

[0480] (c) 연구 중단으로 이어지는 어떠한 호소하지 않은 이벤트는 없었다. 연구 백신의 중단으로 이어지는 TEAE는 드물게 발생하였다.

[0481] (d) 일반적으로 백신 치료 그룹에서 CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 참가자의 상응하는 비율은 1차, 2차 및 3차 백신접종 후 적어도 하나의 호소하는 AR을 보고하였다.

[0482] (e) CMV-혈청음성 또는 CMV-혈청양성 치료 그룹에서 1차, 2차 또는 3차 백신 접종 후 호소하는 AR을 보고한 참가자의 비율에는 용량 관련 패턴이 없는 것으로 나타났다.

[0483] (f) CMV 혈청음성 및 CMV 혈청양성 백신 치료 그룹 둘 다에서 가장 흔하게 호소하는 국소 AR은 주사 부위 통증이었다. 3차 접종 후 전체 빈도는 일반적으로 백신 치료 그룹에서 2차 백신접종 후 빈도에 상응하였다. 3등급 중증도 주사 부위 통증의 전체 빈도는 CMV-혈청음성 mRNA 치료 그룹 둘 다에서 2차 및 3차 백신접종 사이에 유사하였고 CMV-혈청 양성 mRNA 치료 그룹에서 2차 백신접종과 비교하여 3차 백신접종 후 수치적으로 보다 낮았다.

[0484] (g) CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 백신 치료 그룹에서, 가장 흔한 호소하는 전신 Ar은 두통, 피로, 근육통, 관절통 및 오한이었다. 호소하는 전신 AR을 보고하는 참가자의 비율은 일반적으로 1차 백신 접종에 비해 2차 백신

접종 후 수치적으로 보다 높았고 2차 백신 접종과 비교하여 3차 백신 접종 후 수치적으로 상응하였다. 3차 백신 접종 후 열의 빈도는 2차 백신접종과 비교하여 수치적으로 보다 높았지만 3등급 열의 비율은 상응하였다(경구 온도 39.0°C-40.0°C/102.1-104.0°F로 한정됨).

[0485] (h) CMV-혈청음성 및 CMV-혈청양성 그룹에서 일반적으로 상응하는 비율을 갖는 호소하지 않은 AE 또는 MAAE의 분포에서 어떠한 명백한 패턴 또는 차이가 없었다.

[0486] (i) 연구 결과의 분석은 어떠한 안전성 문제를 밝히지 못했다.

[0487] **실시예 7: 16 내지 40세 연령의 건강한 대상체에서 hCMV mRNA 시토메갈로바이러스(CMV) 백신의 효능, 안전성 및 면역원성을 평가하기 위한 단계 III, 무작위, 관찰자 맹검, 위약 대조군 연구**

[0488] 상기 단계 III 연구의 목적은 가입시 CMV-혈청음성 또는 CMV-혈청양성인 16세에서 40세 연령사이의 건강한 여성에서 1차 시토메갈로바이러스(CMV) 감염에 대한 hCMV mRNA 백신에 대한 백신 안전성, 효능 및 면역원성을 평가하는 것이다.

[0489] 연구 백신의 기재

[0490] 상기된 바와 같이, hCMV mRNA 백신은 지질 나노입자 (LNP) 체형에서 사람 CMV 감염에 대한 중화 항체(nAb) 반응의 중요한 표적을 암호화하는 6개의 별개의 mRNA 서열로 이루어진다(전장 CMV 당단백질 B[gB] 및 오랑체 gH/gL/UL128/UL130/UL131A 당단백질 복합체 [오랑체]).

[0491] LNP 체형은 4개 지질 부형제를 포함한다: 헵타데칸-9-일 8-((2-하이드록시에틸)(6-옥소-6(운데실록시)헥실)아미노)옥타노에이트, 점유 이온화 가능한 아미노 지질, 및 상업적으로 시판되는 지질 콜레스테롤, 및 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DSPC), 및 1,2-디미리스토일-rac-글리세롤, 메톡시폴리에틸렌글리콜 (PEG2000-DMG).

[0492] hCMV mRNA 백신 주사액은 사용할 때까지 2°C 내지 8°C에서 저장한다. 적절한 용량 제조 후, hCMV mRNA 백신 주사를 0.5mL의 용적으로 삼각근에, 바람직하게 비우성 아암에서 근육내 투여한다.

[0493] hCMV mRNA 백신의 단계 III 체형은 151 µg/마이알의 총 mRNA 함량으로 2R I형 유리 바이알에 채워지고 동결건조시킨다. 사용하기 전에, 동결건조된 약물 제품을 0.9% 염화나트륨 주사액 0.7mL로 재구성하여 투여를 위한 0.2mg/mL 농도의 균일한 LNP 분산액을 형성한다.

[0494] 0.9% 염화나트륨 주사액 (생리식염수) 위약은 0.5mL의 용적으로 삼각근에, 바람직하게 비우성 아암에서 근육내 투여한다.

[0495] 연구 디자인

[0496] 1차 효능 목적은 가입시 CMV 혈청음성인 여성 대상체에서 1차 시토메갈로바이러스(CMV) 감염에 대한 hCMV mRNA 백신의 백신 효과를 입증하는 것이다. 1차 CMV 감염은 세 번째 주사 후 28일부터 개시하여 평가된 hCMV mRNA 백신(pp150, pp28, pp52, pp38)에 의해 암호화되지 않은 4개의 재조합 CMV 항원 중 적어도 1개를 기반으로 하는 플랫폼 기반 자동 면역검정으로 측정시 CMV에 대한 혈청 면역글로빈 G(IgG)의 음성 결과(기준선/1일)에서 양성 결과로 혈청 전환으로 정의된다. 기준선에서 CMV 혈청양성인 여성 대상체와 남성 대상체는 1차 효능 분석에 포함되지 않는다.

[0497] 대략 8,100명의 총 대상체는 상기 연구에 입회된다: CMV-혈청음성 코호트: 5,500명 여성 대상체 및 600명 남성 대상체 및 CMV-혈청양성 코호트: 1,400명의 여성 대상체 및 600명의 남성 대상체.

[0498] 대상체는 무작위로 1:1 비율로 할당하여 100 µg의 hCMV mRNA 백신 또는 위약을 투여받는다. 무작위화는 미리 생성된 무작위화 일정에 따라 1일차 방문에서 중앙 집중식 상호작용 반응 기술을 사용하여 맹검 방식으로 수행된다. 각 혈청상태 코호트(CMV-혈청음성, CMV-혈청양성)에 대해 무작위화는 성별(여성, 남성) 및 연령(≥ 16 내지 < 18세, ≥ 18 내지 < 20세, 및 ≥ 20 내지 ≤ 40세)에 따라 치료 할당의 균형을 맞추기 위해 계층화된다. 적어도 400명의 입회된 CMV 혈청음성 여성 대상체는 ≥ 16 내지 < 18 연령 그룹으로 있다. 각각의 참가자는 단계 2에 참여한다: 백신 접종 단계(1일 내지 7개월[197일; 세 번째 주사 후 28일]) 및 후속 단계(7개월 후[198일])부터 30개월(887일; 세 번째 주사 후 대략 24개월). 백신 접종 단계를 완료하면 대상체는 안전성 및 연구 평가를 위해 후속 단계 동안 대략 3개월마다 계획된 연구 방문을 갖는다.

[0499] 모든 대상체는 1일차에 첫 번째 주사를 받고 2개월차(57일차)에 두 번째 주사와 6개월차(169일차)에 세 번째 주

사에 대해 동일한 치료를 받는다. 대상체는 연구 과정 동안 대략 14회 연구 방문과 대략 18회의 안전성 전화 통화/전자 다이어리(eDiary) 안전성 및 감시 프롬프트를 받게 된다. 백신 접종 단계 동안, e다이어리를 사용하여 각 주사 후 7일 동안 국소 및 전신의 호소하는 부작용(AR)이 수거된다. 7일 이후 계속되는 임의의 호소하는 AR은 더 이상 보고되지 않을 때까지 기록되며 28일을 초과하지 않는다. 호소하지 않은 부작용(AE)은 각 주사 일자에 개시하여 각 주사 후 28일까지 수거된다. 의학적 관여 AE(MAAE)는 1일째부터 개시하여 마지막 주사 후 6개월까지 수거된다. 중증의 부작용(SAE)은 동의 시점부터 연구 종료(EOS)까지 수거된다. 추가 주사 또는 연구 참여 중단으로 이어지는 사망, AESI 및 AE는 EOS를 통해 수거된다. 임신 안전성 및 일반적인 결과 데이터는 호소하지 않은 및 자원 종료 및 선천적 이상을 포함하여 연구 1일부터 EOS까지 연구 동안에 임신하게 된 모든 대상체에서 수거된다. 임신 안전성 및 일반 결과 데이터는 EOS (즉, EOS 방문 이후에도 지속되는 임신기간 동안)이후에도 수거될 수 있다.

[0500] 대상체는 적격성, 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환(CMV-혈청음성 코호트), 백신 유도 항체 반응 및 항체 지속성을 평가하기 위해 연구 과정 동안 예정된 혈액 샘플링을 갖는다. 절차 및 방문에 대한 보다 자세한 개요는 평가 일정(SOA)(표 11 및 표 12)에서 찾을 수 있다.

[0501] [표 11] 평가 일정 - 백신 접종 단계 (스크리닝 - 197일/7개월)

| 방문 횟수 | 0 | 1 | | 2 | 3 | | 4 | 5, 6 | 7 | | 8 |
|--|--------------|-------------|-----|-----|------|-----|-----|--------------|-------|------|------|
| 시점 (1개월 = 28일) | | D1 | | M1 | M2 | | M3 | M4, 5 | M6 | | M7 |
| 방문 유형 | S | S | N/A | SC | S | N/A | S | SC | S | N/A | S |
| 연구 방문일 | 0일 (스크리닝) | 1일 (기분진) | 8일 | 29일 | 57일 | 64일 | 85일 | 113일 141일 | 169일 | 176일 | 197일 |
| 윈도우 허용 (경과일) | -28 | 0 | +3 | +/- | +/- | +3 | +/- | +/- | +/- | +3 | +/- |
| 가장 최근 주사 방문 이후 경과일 (D1 으로부터 계산되어야 하는 M6/D169 를 제외하고) | - | 0 | 7 | 28 | 56/0 | 7 | 28 | 56, 84 | 168/0 | 7 | 28 |
| ICF, 인구 통계, 병용 약물, 임신 이력을 포함한 의료 이력 | X | | | | | | | | | | |
| 적격성에 대한 CMV IgG/IgM 에 대한 혈청 | X | | | | | | | | | | |
| 포함/제외 기준의 확인 | X | X | | | | | | | | | |
| 신체 검사 및 높이 및 체중 ^a | X | X | | | X | | X | | X | | X |
| 활력 징후 ^b | X | X | | | X | | X | | X | | X |
| 소변 임신 시험 ^c | X | X | | | X | | X | | X | | X |
| 무작위 배정 | | X | | | | | | | | | |
| 항체 매개 면역원성에 대한 혈청 | | X | | | | | X | | | | X |
| CMV-혈청음성 코호트 단독: CMV 1 차 주사(IgG)에 대한 혈청 ^d | | X | | | X | | X | | X | | X |
| CMV-혈청양성 단독: CMV 배출을 위한 소변 ^e | | X | | | X | | X | | X | | X |
| 연구 주사(백신 접종) | | X | | | X | | | | X | | |
| 호소하는 AR(7일) 동안 e 다이어리 활성화 및 주사 후 30-분 호소하는 AR 평가, 활력 징후 및 e 다이어리 진입 검토 ^f | | X | | | X | | | | X | | |
| 호소하는 AR e 다이어리의 검토 ^g | | | X | | X | | | | | X | |
| 후속 안전성 전화 콜 ^h | | | | X | | | | X | | | |
| 호소하지 않는 AE의 기록 ⁱ | | X | X | X | X | X | X | | X | X | X |
| MAAE의 기록 | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| SAE의 기록 | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 병용 약물 및 비연구 백신접종의 기록 ^j | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| CMV-혈청음성 코호트 단독: 가능한 1 차 CMV 감염의 증상이 기록된 경우 CMV 질병 평가 ^k | | | | | | | X | → | | | |

[0502]

| | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|---|---|--|--|--|
| CMV-혈청음성 코호트 단독: 1 차 CMV 감염으로 인한 혈청전환이 보고된 경우 혈청전환 방문 ^l | | | | | | | X | → | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|---|---|--|--|--|

약어: AE = 부작용; AR = 반응; CMV = 시토메갈로바이러스; D = 일; e다이어리 = 전자 다이어리; ePRO = 전자 환자-보고된 결과; EQ-5D-5L = EuroQol-5 차원 5 수준; ICF = 서면 동의서 형태; HRPQ = 건강-관련 생산성 설문지; IgG = 면역글로불린 G; IgM = 면역글로불린 M; M = 개월; MAAE = 의료 관련 부작용; min = 분; N/A = 적용될 수 없음; PCR = 폴리머라제 연쇄 반응; SAE = 중증 부작용; S = 연구 장소 방문; SC = 안전성(전화) 콜.

[0503]

- [0507] 이 연구는 연구 백신 제조, 관리 및/또는 책임을 담당하는 맹검되지 않은 위임된 연구 인력만이 연구 치료 할당에 접근할 수 있는 관찰자 맹검이다. 참가자나 참가자의 부모(들)/법적으로 허용되는 대리인(들)(LAR[들]), 조사자 또는 연구 평가/안전성을 담당하는 연구 현장 직원은 연구 수행 중에 치료 할당에 접근할 수 없다. 조사자는 비상 시 맹검을 해제할 수 있다.
- [0508] 대상체는 예정되지 않은 방문을 필요로 하는 AE를 경험할 수 있고; 이러한 AE는 MAAE로 기록된다. AE 보고 후 조사자가 참가자에게 예정되지 않은 방문을 위해 돌아올 것을 요청하는 상황도 있을 수 있다. 연구 기간 동안 대상체의 안전성과 복지를 보장하기 위해 필요에 따라 이들 방문 시 추가 검사를 수행할 수 있다. 예정되지 않은 각 방문에 대해 전자 사례 보고서 양식을 작성완료해야 한다.
- [0509] 모든 대상체는 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환(CMV 혈청음성 코호트), CMV 배출(CMV 혈청양성 코호트), 임신 결과 및 SAE에 이어서 마지막 주사 후 6개월 동안의 EOS 및 MAAE에 대해 안전성에 대해 추적될 수 있다(표 12).
- [0510] 첫 번째 또는 두 번째 백신 접종 후 추가 백신 접종을 중단했지만 동의를 철회하지 않은 대상체는 상기 주지된 바와 같이 안전성을 위해 추적될 것이며 1차 CMV 감염(CMV 혈청음성 코호트) 및 CMV 배출(CMV 혈청양성 코호트)로 인한 면역원성 및 혈청전환에 혈액 샘플을 제공한다(표 12).
- [0511] 시토크갈로바이러스-혈청음성 코호트:
- [0512] 시토크갈로바이러스-혈청음성 코호트 대상체는 다음 연구 방문 시 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환 평가를 위한 혈액 샘플과 임신 시험을 위한 소변 샘플을 제공한다: 1일, 2개월(57일), 3개월(85일), 6개월(169일), 7개월(197일), 10개월(287일), 12개월(347일), 15개월(437일), 18개월(527일), 21개월(617일), 24개월(707일), 27개월(797일), 및 30개월(887일, EOS). (표 11 및 표 12)
- [0513] 3개월부터 EOS까지 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환의 1차 평가변수를 충족하는 대상체는 CMV 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 대한 혈액, 소변 및 침샘 샘플링을 포함한 임상 평가를 위해 예정되지 않은 연구 방문(혈청전환 방문)을 위해 불 수 있도록 접촉될 것이고, 이후에는 계획된 방문 일정으로 복귀한다. 혈청전환 방문 후, EOS를 통한 모든 후속 예정된 연구 방문에서 CMV PCR을 위해 소변을 수집할 것이다. 참가자가 1차 CMV 감염으로 인한 혈청 전환 기준을 충족하면 후속 방문 시 1차 CMV 감염 검사를 위한 혈청 수거가 완료되지 않는다.
- [0514] CMV 혈청음성 코호트에서, 1차 CMV 감염으로 인한 대부분의 혈청전환은 무증상일 것으로 예상되며 예정된 연구 방문에서 계획된 혈청학적 감시 시험에 의해 검출될 것이다. 대상체는 3개월부터 개시하는 예정된 연구 방문, 안전성 전화 콜 및 e다이어리 안전성 감시 프롬프트(8개월부터 개시)를 통해 프로토콜 정의 기준에 따라 가능한 증상이 있는 1차 CMV 감염에 대한 기준을 충족하는 증상에 대해 평가된다. 예정된 연구 방문 사이, 안전 전화 콜 동안 또는 후속 단계 동안 e다이어리를 통해 가능한 증상성 1차 CMV 감염에 대한 프로토콜 정의 기준을 충족하는 대상체는 CMV 질병 평가 방문(예정되지 않은 방문)을 위해 연구 장소로 복귀하도록 지시받을 것이다. CMV 질병 평가 방문에는 신체 검사가 포함된다: 혈액학, 화학, 원발성 CMV 감염으로 인한 혈청전환 및 엡스타인-바르 바이러스(EBV) 패널을 위한 혈액 샘플 수거; 및 CMV PCR을 위한 소변 샘플. 조사자의 재량에 따라 HIV 항체, HIV 바이러스 부하 및 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2)에 대한 시험을 수행할 수 있다. 또한 프로토콜 정의 기준에 따라 가능한 증상이 있는 1차 CMV 감염에 대한 증상을 보고하는 대상체는 참가자가 보고한 건강 상태 및 건강 관련 생산성 정보를 수거하기 위해 전자 환자 보고 결과(ePRO) 설문지를 받을 수도 있다. 설문지는 EuroQoL 5차원 5 수준(EQ 5D 5L) 및 건강 관련 생산성 설문지(Health-Related Productivity Questionnaire(HRPQ))를 포함할 수 있고, 이는 CMV 질병 평가 방문 또는 안전성 e다이어리를 통해 보고된 증상에 기반하고 가용성 및 ePRO 설문지의 수행 일정을 기반으로 촉발될 수 있다.
- [0515] 시토크갈로바이러스-혈청양성 코호트:
- [0516] 시토크갈로바이러스-혈청양성 코호트 대상체는 하기의 연구 방문에서 CMV 배출 및 소변 임신 시험을 위한 소변 샘플 채취를 받는다: 1일, 2개월(57일), 3개월(85일), 6개월(169일), 7개월(197일), 10개월(287일), 12개월(347일), 15개월(437일), 18개월(527일), 21개월(617일), 24개월(707일), 27개월(797일), 및 30개월(887일, EOS). (표 11 및 표 12).
- [0517] 연구 지속기간:
- [0518] 연구 지속기간은 각각의 참가자에 대해 대략 30개월이다.
- [0519] 샘플 크기:

- [0520] CMV-혈청양성 대상체의 샘플 크기는 안전성에 의해 구동된다. 대략 2,000 CMV 혈청양성 여성 및 남성 대상체는 무작위로 1:1 비율로 hCMV 백신 및 위약에 할당된다. hCMV 백신에 노출된 1,000명의 CMV 혈청 양성 대상체를 대상으로 하는 이 연구는 실제 0.25% AE 비율로 AE를 갖는 적어도 1명의 CMV 혈청 양성 참가자를 관찰할 확률이 적어도 90%다.
- [0521] CMV 혈청음성 남성 대상체의 샘플 크기는 안전성에 의해 구동된다. 대략 600 CMV 혈청음성 남성 대상체는 무작위로 1:1 비율로 hCMV 백신 및 위약으로 할당된다. hCMV 백신에 노출된 300명의 CMV 혈청음성 남성 대상체를 대상으로 하는 이 연구는 실제 1% AE 비율로 AE를 갖는 적어도 1명의 CMV 혈청 양성 남성 참가자를 관찰할 확률이 적어도 95%이다.
- [0522] 목적 및 평가변수
- [0523] 1차 목적:
- [0524] 본 연구의 1차 목적은 다음과 같다:
- [0525] 1) CMV 혈청음성 여성 대상체에서 1차 CMV 감염을 예방하기 위해 hCMV mRNA 백신의 효능을 입증하는 것.
- [0526] 2) 모든 대상체에서 3회 용량 주사 일정으로 투여될 때 hCMV mRNA 백신의 안전성 및 반응원성을 평가하는 것.
- [0527] 2차 목적:
- [0528] 본 연구의 2차 목적은 다음과 같다:
- [0529] 1) 모든 대상체에서 3회 용량 주사 일정으로 투여될 때 hCMV mRNA 백신에 대한 면역원성을 평가하는 것.
- [0530] 2) 모든 대상체에서 3차 주사 후 24개월까지 hCMV mRNA 백신에 대한 면역원성의 지속성을 평가하는 것.
- [0531] 탐색 목적:
- [0532] 본 연구의 탐색 목적은 다음과 같다:
- [0533] 1) 혈액, 소변 및 침샘에서 CMV PCR에 의해 측정된 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환 평가변수를 충족하는 CMV 혈청 음성 대상체에서 CMV 감염 동역학에 대한 hCMV mRNA 백신의 효과를 평가하는 것.
- [0534] 2) CMV 혈청 양성 대상체에서 소변 CMV 배출의 빈도 및 수준에 대한 hCMV mRNA 백신의 효과를 평가하는 것.
- [0535] 3) hCMV mRNA 백신을 접종받은 CMV 혈청음성 여성 대상체에서, 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환 평가변수를 충족하는 대상체와 1차 CMV 감염으로 인해 혈청전환 평가변수를 충족하지 못하는 대상체에서 항원 특이적 nAb 및 결합 항체의 수준을 평가하는 것.
- [0536] 4) CMV 혈청 음성 대상체에서 증상이 있는 1차 CMV 감염 발생률에 대한 hCMV mRNA 백신의 효과를 평가하는 것.
- [0537] 5) CMV-혈청음성 대상체에서 1차 CMV 감염 위험의 상관관계로서 hCMV mRNA 백신 접종 후 면역 마커를 평가하는 것.
- [0538] 6) 3회 투여 용법 중 2회 투여를 받은 CMV 혈청음성 대상체에서 1차 CMV 감염을 예방하기 위한 hCMV mRNA 백신의 효과를 기재하는 것.
- [0539] 7) 참가자가 보고한 건강 상태 및 CMV 혈청음성 대상체에서 건강 관련 생산성에 대한 증상이 있는 1차 CMV 감염의 영향을 평가하는 것.
- [0540] 8) CMV 혈청음성 남성 피험자에서, 1차 CMV 감염 발생률에 대한 hCMV mRNA 백신의 효과를 평가하는 것.
- [0541] 1차 평가변수:
- [0542] 본 연구의 1차 평가변수는 다음과 같다:
- [0543] 세 번째 주사 후 28일부터 개시하여 평가된 hCMV mRNA 백신(pp150, pp28, pp52, pp38)에 의해 암호화되지 않은 4개의 재조합 CMV 항원 중 적어도 1개를 기반으로 하는 플랫폼 기반 자동 면역검정으로 측정시 혈청 IgG에 대한 양성 결과에 음성으로부터 혈청전환으로서 정의되는 1차 CMV 감염에서 양성 결과로 혈청 전환으로 정의됨.
- [0544] 2) 각 주사 후 7일까지 호소하는 AR, 각 주사 후 28일까지 호소하지 않은 AE, 마지막 주사 후 1일부터 6개월까지의 MAAE, 1일부터 EOS까지의 AESI, 동의 시점부터 EOS까지의 SAE.

- [0545] 2차 평가변수:
- [0546] 본 연구의 2차 평가변수는 다음과 같다:
- [0547] 1) 1일, 3개월, 7개월 및 12개월의 항원 특이적 nAb 및 결합 항체 GMT.
- [0548] 2) 18개월, 24개월 및 30개월의 항원 특이적 nAb 및 결합 항체 GMT.
- [0549] 분석
- [0550] *면역원성 평가*
- [0551] 본 연구에 대한 면역원성은 다음과 같이 평가한다:
- [0552] 1) 상피 세포 감염에 대한 nAb 역가 및 섬유아세포 감염에 대한 nAb 역가에 의해 측정된 백신 항원에 대한 혈청 기능적 항체 수준.
- [0553] 2) gB 및 오랑체 단백질에 특이적인 효소 결합 면역흡착 검정에 의한 측정시 백신 항원에 대한 혈청 결합 항체 역가.
- [0554] *안전성 평가*
- [0555] 안전성 평가는 각각의 대상체에 대한 하기의 모니터링 및 기록을 포함한다:
- [0556] 1) 각 주사 후 7일 동안(즉, 주사 당일 및 후속 6일) 발생하는 호소하는 국소 및 전신 AR. 7일 이후 계속되는 임의의 호소하는 AR은 더 이상 보고되지 않을 때까지 기록되며 28일을 초과하지 않는다. 호소하는 AR은 e다이어리를 사용하여 매일 기록된다.
- [0557] a) 호소하는 국소 AR은 주사 부위 통증, 주사 부위 홍반[적색], 주사 부위 종창/경화[경도], 백신접종 아암의 동측에 국소화된 보조 종창 또는 압통을 포함한다.
- [0558] b) 호소하는 전신 AR은 두통, 피로, 근육통(전신 근육통), 관절통(여러 관절의 통증), 메스꺼움, 발열 및 오한을 포함한다.
- [0559] 2) 8개월부터 개시하여, 대상체는 평가 일정에 지정된 시점에 안전성 e다이어리 프롬프트를 받게된다. 안전성 e다이어리는 참가자에게 관련 안전성 이벤트 발생을 보고하라는 메시지를 표시한다. e다이어리 프롬프트가 관련 안전성 이벤트의 확인을 유도하면 훈련된 연구 현장 담당자는 영업일 기준 1일 이내 또는 참가자가 e다이어리를 완료하지 않은 경우 e다이어리 완료 윈도우가 닫힌 후 영업일 기준 2일 이내에 참가자에게 전화를 걸어 MAAE(마지막 주사 후 최대 6개월), 금단으로 이어지는 AE, SAE 및 이러한 이벤트와 관련된 병용 약물에 대한 정보 정보를 수거한다. CMV 혈청음성 코호트의 경우에만 안전성 e다이어리가 참가자에게 증상이 있는 CMV와 일치할 수 있는 증상을 보고하도록 안내한다. 1차 CMV 감염으로 인해 혈청 전환되지 않은 CMV 혈청음성 대상체의 경우 현장 직원이 안전성 e다이어리에 보고된 증상을 검토하고 CMV 질병 평가 방문이 필요한지의 여부를 결정한다.
- [0560] 3) 1일째부터 개시하여 각각의 주사 후 28일 동안(즉, 각각의 주사의 첫째 날 및 후속 27일) 관찰되거나 보고된 호소하지 않은 AE.
- [0561] 4) 1일부터 30개월(887일)까지 투약 중단 및/또는 연구 참여 또는 연구 철회로 이어지는 AE.
- [0562] 5) 1일째부터 마지막 주사 또는 연구 중단 후 6개월까지의 MAAE.
- [0563] 6) 1일부터 30개월(887일)까지 또는 연구 중단까지의 AESI.
- [0564] 7) 동의 시점부터 30개월(887일) 또는 연구 중단까지의 SAE.
- [0565] 8) 활력 징후 측정.
- [0566] 9) 신체 검사 소견.
- [0567] 10) 각각의 연구 방문시 임신 시험. 1일차부터 EOS까지의 연구 동안 임신하게 된 대상체의 경우, 임신 안전성 및 결과 데이터가 수거되고; EOS 방문 후에도 지속되는 임신에 대해서는 EOS 이후에도 데이터가 수거될 수 있다.
- [0568] **실시예 8: 단계 III에 참여하는 동안 임신하게 된 대상체에서 영아 결과에 대한 서브연구**
- [0569] 서브연구의 목적은 실시예 7에 기재된 hCMV mRNA 백신 주요 단계 III 연구 과정 동안 임신하게 된 여성 대상체

의 정상 출산에서 시톰에갈로바이러스(CMV) 관련 결과를 평가하는 것이다. 상기 서브연구에서 모든 목적과 평가 변수는 탐색을 위한 것이다.

[0570] hCMV mRNA 백신 주요 연구는 CMV 감염 및 영아 어린이에 대한 밀접 노출의 등록 요건으로 인한 재감염 위험이 있는 여성 집단을 등록하는 것이다. hCMV mRNA 백신 개발의 궁극적인 목표는 예비 산모의 CMV에 대한 선천적 면역을 확립하거나 증진시킴에 의해 선천성 CMV 감염을 예방하는 것이므로, 상기 서브연구는 CMV 감염 또는 재감염이 증가된 위험에서 산모 집단에서 유아 결과에 대한 정보를 수거하는 독특한 기회를 제공한다. 이러한 hCMV mRNA 백신 서브연구의 목적은 CMV 배출에 대해 등록된 모든 신생아를 평가하고, 임상 기록을 기반으로 선천성 CMV(cCMV) 진단을 평가하고, 한 쌍의 모체/유아 혈액 샘플에서 백신 유도 항체의 태반 전이를 평가하는 것이다.

[0571] hCMV mRNA 백신 주요 단계 III 연구에서 6,900명(CMV 혈청음성 5,500명 및 CMV 혈청양성 1,400명)의 여성이 등록된 것을 고려하고, CMV 혈청음성 임신부의 연간 임신 발생률, 정상 출산, 1차 CMV 감염률, CMV 혈청 음성 및 CMV 혈청 양성 임신부의 cCMV 감염률을 기반으로 하여, hCMV mRNA 백신 주요 단계 III 연구에 참여하는 동안 최대 대략 1,200명의 출생이 발생할 수 있는 것으로 추정되고 cCMV 감염 신생아의 수는 매우 낮은 것으로 예상된다(도 24).

[0572] 서브연구 디자인

[0573] 상기 서브연구는 hCMV mRNA 백신 주요 단계 III 연구에서 적어도 1개 연구 백신 접종을 받고 연구 참여 중 어느 시점에서든 임신을 하여 만삭까지 임신할 계획을 가진 모든 대상체를 등록할 수 있다. 임신은 hCMV mRNA 백신 주요 단계 III 연구에 참여하는 과정에서 얻은 양성 소변 임신 시험으로 정의된다. hCMV mRNA 백신 주요 단계 III 연구에 참여하는 동안 임신하게 된 모든 대상체는 임의의 추가 연구 주사를 받지 않지만 안전성, 임신 결과, 면역원성, 1차 CMV 감염(CMV 혈청 음성 대상체), CMV 배출(CMV 혈청 양성 대상체)로 인한 혈청전환에 대한 주요 프로토콜에 따라 계속 수행될 것이고, hCMV mRNA 백신 서브연구에서 제공된다. 또한 hCMV mRNA 백신의 주요 단계 III 연구의 일환으로 임신한 CMV 혈청음성 대상체는 1차 CMV 감염으로 인한 혈청전환에 대한 혈액 검사를 받기 위해 더 자주(매월) 연구 장소로 복귀할 선택사항을 갖는다.

[0574] 본 서브연구에서 무작위화 과정이 없다. 모든 연구 현장 직원, CRO 맹검 팀 및 후원자는 개별 치료 할당에 대해 맹검 상태를 유지한다.

[0575] 참여 지속기간은 hCMV mRNA 백신 대상체가 임신의 정의를 충족하고 동의를 제공하고 hCMV mRNA 백신 서브연구에 참여할 자격이 있다고 결정되는 시점부터 분만 후 6주까지 시작할 수 있다. 상기 서브연구에 대한 참여는 전달 날짜가 EOS 방문 후 6주 미만이거나 EOS 방문 이후에 발생하는 경우 hCMV mRNA 백신(모 연구)에 대한 EOS 방문을 넘어 확장될 수 있다.

[0576] 최대 대략 1,200명의 대상체와 이들의 유아는 상기 서브연구에 참여할 자격이 있을 것으로 예상된다. 대상체는 자신과 유아를 위한 각 서브연구 절차 각각에 대해 개별 동의를 제공한다.

[0577] 서브연구 과정은 하기를 포함할 수 있다:

[0578] 1. 분만 후 3주 이내에 1회 신생아의 소변 및 침샘 샘플링.

[0579] 2. 대상체 및/또는 유아 의료 기록을 요청하고 검토한다.

[0580] 3. 대상체 연구 현장의 운영 용량 내에 있는 경우, 분만 ≤72시간에서 얻은 산모 정맥혈과 분만 ≤ 72시간 동안 얻은 신생아 제대혈 또는 신생아 정맥혈(허용되는 경우)의 쌍을 이룬 샘플 1세트의 수거.

[0581] * 산모 샘플과 신생아 샘플은 모두 분만 후 ≤ 72시간 이내에 채취하는 한 동시에 채취할 필요가 없다.

[0582] 상기 서브연구는 프로토콜, GCP 및 모든 적용 가능한 조절 요건에 따라 수행된다.

[0583] 목적 및 평가변수

[0584] 탐색 목적

[0585] 1. hCMV mRNA 백신 단계 III 주요 연구 동안 임신하게 된 모든 대상체의 신생아에서 치료 그룹별로 CMV 배출의 발생률을 평가하는 것.

[0586] 2. 다음 기준 중 하나를 충족하는 영아에서 a) cCMV 감염의 임상적 진단의 존재 및 b) cCMV 질환의 임상적 진단의 존재 및 중증도를 평가하는 것:

- [0587] i) hCMV mRNA 백신 주요 연구 임신 보고서 양식에 보고된 이상을 가짐;
- [0588] ii) 양성 CMV PCR 결과에 대한 목적 1 하에 탐색 평가변수를 충족함;
- [0589] iii) 임신 전 또는 임신 중에 1^oCMV 감염으로 인해 혈청전환의 1차 평가변수를 충족하는 CMV 혈청음성 피험자에게서 출생함.
- [0590] 3. 등록 시 CMV-혈청음성인 대상체의 출생에서 백신 유도 오량체 특이적 및 gB 특이적 IgG의 태반을 통한 전달의 효율성을 측정하는 것.
- [0591] 탐색 평가변수
- [0592] 1. 신생아 침샘 및 소변의 양성 CMV PCR 또는 생후 3주 이내에 채취한 신생아 소변의 양성 CMV PCR.
- [0593] 2. cCMV 감염에 대해 공개된 기준을 충족하는 확인된 시험 결과를 문서화하는 유아 및/또는 대상체 의료 기록의 검토를 기반으로 cCMV 감염의 임상 진단.
- [0594] 임상적으로 진단된 cCMV 감염 기준을 충족하는 유아에서, 유아 의료 기록 검토를 기반으로 cCMV 질환 및 cCMV 질병 중증도의 임상 진단에 대한 평가.
- [0595] 3. 분만 ≤ 72시간에 얻은 산모 혈액과 분만 ≤ 72시간에 얻은 신생아 체대혈 또는 정맥혈의 한 쌍의 샘플에서 오량체 특이적 및 gB 특이적 결합 항체 역가 및 nAb 역가의 신생아:산모 비율.
- [0596] **분석**
- [0597] 연구 평가 및 과정
- [0598] 하기의 연구 평가 및 과정은 서브연구에서 대상체에 대해 완료될 수 있다:
- [0599] 1. 소변 임신 시험(주요 hCMV mRNA 백신 주요 연구 또는 기타 의료 기록 내에서 양성 소변 임신 시험이 문서화되지 않은 경우).
- [0600] 2. 분만 후 3주 이내에 1회 CMV PCR을 위한 신생아 소변 또는 침샘 +/- 소변 샘플링. 이들 샘플은 적절한 경우 출산 시설 또는 연구 클리닉에서 수거할 수 있다(도 24). PCR에 의해 CMV에 양성 반응을 보이는 침샘 샘플은 CMV PCR 시험을 위해 후속 소변 샘플링을 갖는다. 신생아 소변 샘플은 연구 클리닉에서 수행되는 경우 소변 주머니를 사용하여 수거된다. 침샘 샘플은 구강 면봉을 사용하여 마지막 모유 수유 후 적어도 90분 후에 수거된다. 주요 조사자는 즉시 대상체와 그녀의 유아를 대상체의 소아과 의사에게 의뢰하고 대상체의 산부인과 의사에게 유아 소변 또는 침샘 샘플이 양성 CMV PCR 결과를 반환한다고 알린다.
- [0601] cCMV 감염 및 질환의 임상적 진단은 유아 ± 대상체 의료 기록에 문서화된 임상 평가 및 진단을 기반으로 한다.
- [0602] 3. 다음 중 하나라도 발생하거나 보고된 경우 대상체 및/또는 유아 의료 기록을 요청하고 검토한다:
- [0603] a. 분만 후 3주 이내에 채취한 샘플(위와 같음)로부터 양성 소변 또는 침샘 CMV PCR 결과를 갖는 유아;
- [0604] b. hCMV mRNA 백신 주요 연구의 일부로 작성된 임신 보고서 양식에 보고된 선천적 기형 또는 유아 기형;
- [0605] c. 임신 전 또는 임신 중에 1차 CMV 감염으로 인해 혈청 전환의 1차 평가변수를 충족하는 CMV 혈청 음성 대상체에게서 출생한 유아.
- [0606] 의료 기록은 cCMV 감염 및 질환의 진단을 지원하는 기준에 대해 검토된다.
- [0607] 4. 대상체 연구 현장의 운영 용량 내에 있는 경우, 분만 ≤72시간에서 얻은 산모 정맥혈과 분만 ≤ 72시간 동안 얻은 신생아 체대혈 또는 신생아 정맥혈의 쌍을 이룬 샘플 1세트의 수거. 이들 샘플의 면역원성 평가는 다음을 포함할 수 있다:
- [0608] a. 효소 결합 면역흡착 검정에 의한 측정시 오량체 및 gB 백신 항원에 대한 혈청 결합 항체 수준.
- [0609] b. 상피 세포 감염에 대한 nAb 역가 및 섬유아세포 감염에 대한 nAb 역가에 의한 측정시 오량체 및 gB 백신 항원에 대한 혈청 기능적 항체 수준.
- [0610] 면역원성 평가
- [0611] 이 연구에서는 임상 효능 평가를 수행하지 않는다. 본 서브연구에서 모든 목적은 탐색적이다.

- [0612] 안전성 평가
- [0613] hCMV mRNA 백신 주요 단계 III 연구(실시예 7)에 기재된 바와 같이 안전성을 평가할 것이다.
- [0614] **서열**
- [0615] 본원에 기재된 임의의 mRNA 서열은 5' UTR 및/또는 3' UTR을 포함할 수 있는 것으로 이해되어야만 한다. UTR 서열은 다음 서열에서 선택하거나 다른 알려진 UTR 서열을 사용할 수 있다. 또한 본원에 기재된 임의의 mRNA 작제물은 추가로 폴리A 테일 및/또는 캡(예를 들어, 7mG(5')ppp(5')N1mpNp)을 추가로 포함할 수 있는 것으로 이해되어야만 한다. 또한, 본원에 기재된 많은 mRNA 및 암호화된 항원 서열이 신호 펩타이드 및/또는 펩타이드 태그(예를 들어, C-말단 His 태그)를 포함하지만, 지시된 신호 펩타이드 및/또는 펩타이드 태그가 상이한 신호 펩타이드 및/또는 펩타이드 태그에 대해 치환될 수 있거나 신호 펩타이드 및/또는 펩타이드 태그는 생략될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0616] 5' UTR: GGGAAAUAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUAUAAGAGCCACC (서열번호 13)
- [0617] 3' UTR:
UGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCAGCCCCUCCUCCCCUCCUGCACCCGUACCCCGUGGUCUUUGAAUA
AAGUCUGAGUGGGCGGC (서열번호 14)

[0618] [표 13] hCMV mRNA 및 항원 서열

hCMV mRNA 및 항원 서열

| hCMV gB mRNA | | 서열번호 |
|---|---|------|
| 서열번호 1 은 5' 말단에서 3' 말단으로 5' UTR 서열번호 13, mRNA ORF 서열번호 7, 및 3' UTR 서열번호 14 로 이루어진다. | | 1 |
| 화학 | 1-메틸슈도우리딘 | |
| 캡 | 7mG(5')ppp(5')NmpNp | |
| 5' UTR | GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC | 13 |
| mRNA 작제물의 ORF (정지 코돈 배제) | AUGGAAUCCAGGAUCUGGUGCCUGGUAGUCUGCGUUAACUUGUGUAUCGUCUGUCUGGGUGCUGCGGUUCCUCAUCUUCACUCGUGGAACUUCUGCUACUCACAGUCACCAUUCUCUCAUACGACGUCUGCUGCUCACUCUCGAUCCGGUUCAGUCUCUAACGCGUAACUUCUCCAAACGGUCAGCCAUUGUGUUAACGAGACCAUCUACAACACUACCCUCAAGUACGGAGUUGGGGGGUCAAUACCACCAAGUACCCCUAUCGCGUGUUCUAUGGCCAGGGUACGGAUUUUAUUCGCUUUGAACGUAUAUCGUCUGCACCUCGAUGAAGCCCAUCAUGAAGACCUGGACGAGGGCAUCAUGGUGGUCUACAAACGCAACUACGUCGACACCUUUAAGGUACGAGUCUACAGAAAGGUUUUAGCGUUCGUCGUAUCGCUUACAUCACACCACUUAUCUGCUGGGCAGCAACACGGAAUACGUGCGCCUCCUAUGUGGGAGAUUCAUAUACAACAGCCACAGUCAGUGCUACAGUUCUACAGCCGCGUUAUAGCAGGCACGGUUUCGUGGCUUAUCAUAGGGACAGCUAUGAAAACAAAACCAUGCAAUUAUGCCCGACGAUUAUCCAACACCACAGUACCCGUUACGUGACGGUCAAGGAUCAUUGGCACAGCCGCGGCAGCACCGUCUUAUCGUGAGACCUGUAAUCUGAAUUGUAUGGUGACCAUCACUACUGCGCGUCCAAUAUCCUUAUCAUUUUUUCGCCACUCCACGGGUGACGUGGUUGACAUUUCUCCUUUCUACACCGGAACCAUUCGCAAU GCCAGCUACUUUGGAGAAAACGCCGACAAGUUUUUCAUUUUCCGAACUACACUACUGUCUCCGACUUUGGAAGACCGAAUUCUGCGUUAGAGACCCACAGGUUGGUGGCUUUUCUUGAACGUGCGGACUCGGUGAUCUCUGGGAUUAACAGGACGAAAAGAAUGUCACUUGUCAACUCACUUUCUGGGAAGCCUCGGAACGCACCAUUCGUUCCGAAGCCGAGGACUCGUUAACUUUCUUCUGCCAAAAGACCGCCACUUUCUUAUCUAAGAAGCAAGAGGUGAAACUAGUCGACUCUGCGCUGGACUGCGUACGUGAUGAGGCUAUAUAAGUUACAGCAGAUUUCAAUACUUAACAUAACAUAUGAAAAUAUGGA AACGUGUCCGUCUUUGAAACCAUCUGGUGGUUUGGUAGUGUUCUGGCAAGGUUAUCAAGCAAAAUCUCUGGUGGAACUCGAACGUUUGGCCAACCGUCCAGUCUGAAUCUUAUCUAUAUAGAACCAAAAGAGUACAGAUUGGCAACAUAUGCAACUCAUUUAUCCAACUUGGAAUCGGUGCACAUCUGGUCUACGCCAGCUGCAGUUCACCUAUGACACGUUGCGCGGUUAUCAACCGGGCGCUGGGCAAAUCGCAGAAGCCUGGUGUGUGGAUCAACGGCGCACCCUAGAGGUCUUAAGGAACUCAGCAAGAUCAACCUGCAGCAUUCUCUGGCAUUUAACAACCGAUUGCCGCGCGUUUCAUGGGUGAUGUCUUGGGCCUGGCCAGCUGCGUGACCAUACCAACAGCGUCAAGGUGCUGCGUAUAUGAACGUAAGGAGUCGCCAGGACGCUGCUACUCACGACCCGUGGUCAUCUUAAUUUCGCCAACAGCUCGUACGUGCAGUACGGUCAACUGGGCGAGGACAACGAAAUCUGUUGGGCAACCACCGCACUGAGGAAUGUCAGCUUCCAGCCUCAAGAUCUUAUCGCCGGGAACUCGGCCUACGAGUACGUGGACUACCUUCAACGCAUGAUUGA | 7 |

[0619]

| | | |
|---|---|-------------|
| | CCUCAGCAGUAUCUCCACCGUCGACAGCAUGAUCGCCUG GAUAUCGACCCGCGUGAAAAUACCGACUUCAGGGUACUG GAACUUUACUCGCAGAAAGAGCUGCGUUCAGCAACGUU UUUGACCUCGAAGAGAUCAUGCGCGAAUUAACUCGUAC AAGCAGCGGGUAAAAGUACGUGGAGGACAAGGUAGUCGAC CCGCUACCGCCUACCUCAAGGGUCUGGACGACCUC AUGA GCGGCCUGGGCGCCGCGGGAAAGGCCGUUGGCUGGCCA UUGGGGCCGUGGGUGGCGCGGUGGCCUCCGUGGUGAAG GCGUUGCCACCUUCCUAAAAACCCUUCGAGCGUUCAC CAUCAUCCUCGUGGCCAUAGCUGUAGUCAUUUAUCUUUA UUUGAUCUAUACUCGACAGCGGCGUUUGUGCACGCGACCC GCUGCAGAACCUCUUUCCUUAUCUGGUGUCCGCCGACGG GACCACCGUGACGUCGGGCAGCACC AAAAGACACGUCGUU ACAGGCUCGCGCUUCCUACGAGGAAAGUGUUUAUAUUC UGGUCGCAAAGGACCGGGACCACCGUCGUCUGAUGCAUC CACGGCGCUCGCCUUACACCAACGAGCAGGCUUACCAG AUGCUUCUGGCCUUGGCCGUCUGGACGCAGAGCAGCGA GCGCAGCAGAACGGUACAGAUUCUUUGGACGGACGGACU GGCACGACGACAAGGGACAGAAGCCCAACCUACUAGAC CGACUGCGACAUCGCAAAAACGGCUACCGACACUUGAAA GACUCUGACGAAGAAGAGAACGUC | |
| 3' UTR | UGAUAUAGGCGUGGAGCCUCGGUGGCC AUGCUUCUUGCC CCUUGGGCCUCCCCAGCCCCUCCUCCUUCUGCACC CGUACCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGG C | 14 |
| 상응하는 아미노산 서열 | MESRIWCLVVCNLCIVCLGAAVSSSTRGTSATHSHSSHT SAAHSRSGVSQRVTSSQTVSHGVNEIYNTLKYGDVVGVN TTKYPYRVCSMAQGTDLIRFERNIVCTSMKPINEDLDEGIMVV YKRNIVAHTFKVRVYQKVLTFRRSYAYIHITTYLLGSNTEYVA PPMWEIHHINSHSQCYSSYSRVIAGTVFVAYHRDSYENKTMQ LMPDDYSNTHSTRYVTVKDQWHSRGSTWLYRETCLNLCMV TIT TARSKYPHYFFATSTGDVVDISPFYNGTNRNASYFGENAD KFFIFPNYTI VSD FGRPN SALETHRLVAFLE RADSVISWDIQDE KNVTCQLTFWEASERTIRSEAEDSYHFSSAKMTATFLSKKQEV NMSDSALDCVRDEAINKLQIFNTSYNQTYEKYGNVSVFETT GGLVVFWQGIKQKSLVELERLANRSSLNLTHNRTKRSTDGNN ATHLSNMESVHNLVY AQLQFTYD TLRGYN RALAQIAEAWC VDQRR TLEVFKELSKINPSAILS AIYNKPIA ARFMGDV LGLASC VTINQTSVKVLRDMNVKESPGRCYSRPVVFIFANSSYVQYG QLGEDNEILLGNHRTTEECQLPSLKIFIAGNSAYEYVDYLFKRM DLSSISTVDSMIALDIDPLENTDFRVLELYSQKELRSSNVFDLE EIMREFNSYKQRVKYVEDKVDPLPPYLKGLDDLMSGLGAA GKAVGVAIGAVGGAVASVVEGVATFLKNPFGAFTIILVAIAV VIITYLIYTRQRLCTQPLQNLFPYLV SADGTTVTS GSTKDTSL QAPPSYEESVYNSGRKGP GPPSSDASTA APPYTNEQAYQMLL ALARLDAEQRAQQNGTDSL DGRGTGTDKGQKPNLLDRLRHR KNGYRHLKDSDEEENV | 15 |
| 폴리 A 테일 | 100 nt | |
| hCMV UL128 | | 서열번호 |
| 서열번호 2 는 5' 말단에서 3' 말단으로 5' UTR 서열번호 13, mRNA ORF 서열번호 8, 및 3' UTR 서열번호 14 로 이루어진다. | | 2 |
| 화학 | 1-메틸슈도우리딘 | |
| 캡 | 7mG(5')ppp(5')NmpNp | |
| 5' UTR | GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUA AGAGCCACC | 13 |
| mRNA 작제물의 ORF (정지 코돈 배제) | AUGAGUCCCAAAGAU CUGACGCCGUUCU GACGCGUUG UGGCUGCUAUUGGUCACAGCCGCGUGCCGCGGGUGCGC GCAGAAGAAUGUUGCGAAUUC AUA AACGUCAACCACCCG CCGGAACGCGUUAACGAUUUCAA A AUGUGCAAUCGCUUC ACCGUCGCGUCGCGGUC CGGACGGCGAAGUCUGCUAC AGUCCCGAGAAAACGGCUGAGAUUCGCGGGAUCGUCACC | 8 |

[0620]

| | | |
|--|--|-------------|
| | ACCAUGACCCAUUC AUUGACACGCCAGGUCGUACACAAC AAACUGACGAGCUGCAACUACAAUCCGUUAUACCUCGAA GCUGACGGGCGAAUACGCUGCGGCAAAGUAAACGACAAG GCGCAGUACCUGCUGGGCGCCGUGGCAGCGUCCCUAUC GAUGGAUCAAUUCUGGAAUACGACAAGAUAACCCGGAUCG UGGGCCUGGAUCAGUACCUGGAGAGCGUUAAGAAACACA AACGGCUGGAUGUGGCCGCGCUAAAUGGGCUAUUAGC UGCAG | |
| 3' UTR | UGAUAUUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCC CCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGG C | 14 |
| 상응하는 아미노산 서열 | MSPKDLTPFLTALWLLGHRSRVPVRAEECCFEFVNHPPERC YDFKMCNRFVALRCPDGEVCYSPEKTAEIRGIVTTMTHSLTR QVVHNLKLTSCNYNPLYLEADGRIRC GKVNDKAQYLLGAAGS VPYRWINLEYDKITRIVGLDQYLESVKKHKRLDVCRAKMGY MLQ | 16 |
| 폴리 A 테일 | 100 nt | |
| hCMV UL130 | | 서열번호 |
| 서열번호 3 은 5' 말단에서 3' 말단으로 5' UTR 서열번호 13, mRNA ORF 서열번호 9, 및 3' UTR 서열번호 14 로 이루어진다. | | 3 |
| 화학 | 1-메틸슈도우리딘 | |
| 캡 | 7mG(5')ppp(5')NmpNp | |
| 5' UTR | GGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUAUA AGAGCCACC | 13 |
| mRNA 작제물의 ORF (정지 코돈 배제) | AUGCUGCGGCUUCGUCUUCGUCACCACUUCACUGCCUGC UUCUGUGCGCGGUUUGGGCAACGCCUGUCUGGCUGUC CGUGGUCGACGCUAACAGCAAACAGAAUCCGUCGCCGCC AUGGUCUAAACUGACGUAUCCAAACCGCAUGACGCGGC GACGUUUUACUGUCCUUUCUUAUCCUCGCCCCACGA UCCCCUUGCAAUUCUGGGGUUCCAGCGGGUAUCAACG GUUCCGAGUGUCGCAACGAGACCCUGUAUCUGCUGUAC AACCGGGAAGGCCAGACCUUGGUGGAGAGAAGCUCACC UGGGUGAAAAGGUGAUUCUGGUACCUGAGCGGUCGGAAC CAAACCAUCCUCCAACGGAUGCCCCAACGGCUUCGAAAC CGAGCGACGGAAACGUGCAGAUACAGCGUGGAAGACGCCA AGAUUUUUGGAGCGCAUUGGUGCCAAGCAGACCAAGC UGCACGCUUCGUCGUAACGAUGGCACAGUUAUCAGA UGUGUGUGAUGAAGCUGGAGAGCUGGGUCACGUCUUC GGGACUACAGCGUGUCUUUCAGGUGCGAUUGACGUUCA CCGAGGCCAAUAACCAGACUUAACCUUCUGCACCCAUCC CAAUCUCAUCGUU | 9 |
| 3' UTR | UGAUAUUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCC CCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGG C | 14 |
| 상응하는 아미노산 서열 | MLRLLLRHHFHCLLLCAVWATPCLASPWSTLTANQNPSPPWS KLTYSKPHDAATFYCPFLYSPPRSPLQFSGFQRVSTGPECRNE TLYLLYNREGQTLVERSSTWVKVIWYLSGRNQTLQRMPT ASKPSDGNVQISVEDAKIFGAHMVPKQTKLLRFVNDGTRYQ MCVMKLESWAHVFRDYSVSFQVRLTFTEANNQTYTFCTHPN LIV | 17 |
| 폴리 A 테일 | 100 nt | |
| hCMV UL131 | | 서열번호 |
| 서열번호 4 는 5' 말단에서 3' 말단으로 5' UTR 서열번호 13, mRNA ORF 서열번호 10, 및 3' UTR 서열번호 14 로 이루어진다. | | 4 |
| 화학 | 1-메틸슈도우리딘 | |

[0621]

| | | |
|--|--|-------------|
| 캡 | 7mG(5')ppp(5')NmpNp | |
| 5' UTR | GGGAAAUAAGAGAGAAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC | 13 |
| mRNA 작제물의 ORF (정지 코돈 배제) | AUGCGGCUGUGUCGGGUGUGGCUGUCUGUUUGUCUGUCGCCGUGGUCUGGGUCAGUCCAGCGGGAAACCGCGGAA AAGAACGAUUUUUACCGAGUACCGCAUUACUGGGACGCG UGUCUCGCGCGCUGCCCCACCAAACCCGUUACAAGUAUG UGGAACAGCUCUGGACCUCACGUUGAACUACCACUACG AUGCGAGCCACGGCUUGGACAACUUUGACGUGCUAAGA GAAUCAACGUGACCGAGGUGUCGUUGCUCUACAGCGACU UAGACGUCAGAACCUGCGCGCGGCAACAACAAAAGGA CCACGUUCAACGCCCGCCGUUCGUCUGGCGCCACACGCCG GAGCCUCGAGUUCAGCGUGCGGCUCUUUGCCAAC | 10 |
| 3' UTR | UGAUAUUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCC CCUUGGGCCUCCCCAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGG C | 14 |
| 상응하는 아미노산 서열 | MRLCRVWLSVCLCAVVLGQCQRETAEKNDYYRVPHYWDAC SRALPDQTRYKYVEQLVDLTLNYHYDASHGLDNFDVLRIN VTEVSLNISDFRRQNRGGINKRTTFNAAGSLAPHARSLEFSV RLFAN | 18 |
| 폴리 A 테일 | 100 nt | |
| hCMV gH | | 서열번호 |
| 서열번호 5 는 5' 말단에서 3' 말단으로 5' UTR 서열번호 13, mRNA ORF 서열번호 11, 및 3' UTR 서열번호 14 로 이루어진다. | | 5 |
| 화학 | 1-메틸슈도우리딘 | |
| 캡 | 7mG(5')ppp(5')NmpNp | |
| 5' UTR | GGGAAAUAAGAGAGAAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC | 13 |
| mRNA 작제물의 ORF (정지 코돈 배제) | AUGCGGCCAGGCCUCCCCUCCUACCUCAUCAUCCUCGCGG UCUGUCUCUUCAGCCACCUACUUUCGUCACGAUAUGGCG CAGAAGCCGUAUCCGAACCGUGGACAAAGCGUUUCACC UACUGCUAACACCUACGGGAGACCAUCCGCUUCCUGCG UGAAAAUACCACCCAGUGUACCUACAACAGCAGCCUCCG UAACAGCACGGUCGUCAGGAAAACGCCAUCAGUUUCAA CUUCUCCAAAGCUAAAUCAAUACUAUGUAUCCAUAU GCCUCGAUGUCUCUUUGCGGGUCCUCUGGCGGAGCAGUU UCUGAACAGGUAGAUUCUGACCGAAACCCUGGAAAGAU CCAACAGAGACUUAACACUUACGCGCUGGUAUCCAAAGA CCUGGCCAGCUACCGAUUUUCGCGCAGCAGCUAAAGGC ACAAGACAGCCUAGGUGAACAGCCACCACUGGCCACCG CCCAUUGACCUGUCAAUACCUACGUUUGGAUGGCCACCGC AAACCACUCCACCGGCUUGACAGAAUCACAUACCACCU AGGACUACACCGACCACACUUUAAACCAGACCGUAUCCUC UUGAUGGACACGAUCUACUUCAGCACCUGCACACCU UGUUUGCACCAAGGCUUUUACCUCAUCGACGAACUACGU UACGUAAAAUAAACUACGACCGAGGACUUCUUCGUAGUU ACGGUGUCCAUAGACGACGACACCCAUUGCUGCUUUC UUCGGCCAUCUUCACGCGUACUUUCAAAAGCGCCCUAUC AACGCGACAACUUUAUCUACGACAAACUGAGAAACAG AGCUCUUGGUGCUAGUUAAAGAAAGAUCAACUGAACCGUC ACUCUUUUCUCAAAGACCCGACUUUCUUGACGCGCAC UUGACUUAACUACCUAGACCUCAGCGCACUACUACGUA ACAGCUUACCCGUUACGCCUGGAUGUACUCAAGAGCG GUCGAUGUCAGAUGCUGGACCGCCGACGGUAGAAAUGG CCUUCGCCUACGCAUAGCACUGUUCGCGCAGCCGACA AGAAGAGGCCGCGCCAAAGUCUCCGUCCACGGGCCUA GACCGCAGGCCGACUCUUAACAUAACAAGAAUUUAUG AUCACCUGCCUCACAAACACCACCACGACCCACCGUUGC | 11 |

[0622]

| | | |
|--|--|-------------|
| | UGCUGUAUCCACGGCCGUGGACCUGGCCAAACGAGCCU UUGGACACCGAAUCAGAUCACCGACAUCACCAGCCUCGU ACGCCUGGUCUACAUACUCUCUAAAACAGAAUCAGCAACA UCUCAUCCCCCAAUGGGCACUACGACAGAUCGCCGACUUU GCCUAAAACUACACAAAACGCACCUGGCCUCUUUCUU UCAGCCUUCGCACGCCAAGAACUCUACCUCUUGGGCAGCC UCGUCCACUCCAUGCUGGUACAUCGACGGAGAGACGCG AAAUCUUCAUUCGUAAGAAACGGGCCUCUGUUCAUUGGCCG AGCUAUCACACUUACGCAGUUGUUAGCUAUCCACACC ACGAAUACCUCAGCGACCUGUACACACCCUGUUCAGUA GCGGGCGACGCGAUCACUCGUCGAACGCCUCACGCGUCU CUUCCCCGAUGCCACCGUCCCCGCUACCGUCCCCGCGCC CUCUCCAUCCUUAUCUACCAUGCAACCAAGCAGCUGGAAA CCUCCCCGACCUGUUUUGCUUGCCGUCGGCGAAUCCUU CUCGCGCUGACCUCUCCGAACACGUCAGUUUAUUCGU AACAAACCAGUACCUGAUCAAAGGUAUCUCCUACCCUGU CUCACCACCGUCGUAGGCCAGAGCCUCAUCAUCACCCAG ACGGACAGUCAAAACUAAAUGCGAACUGACGCGCAACAUG CAUACCACACAGCAUCACAGUGGGCGUCAACAUUUCGC UAGAAAACUGCGCCUUUUGCCAAAGCGCCUGCUAGAUA ACGACGACACGCAAGGCGUCAACAUCAUGUACAUGC ACGACUCGGACGACGUCUUUUCGCCUGGAUCCUACAA CGAAGUGGUGGUCUCAUCUCCGCGAACUCACUACCUCU GCUUUUGAAGAACGGUACGGUACUAGAAGUAACUGACGU CGUCGUGGACGCCACCGACAGUCGUCUCCUCAUGAUGCC GUCUACGCGCUAUCGGCCAUCAUCGGCAUCUAUCUGCUC UACCGCAUGCUCUAAAGACAUGC | |
| 3' UTR | UGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCC CCUUGGGCCUCCCCAGCCCCUCCUCCUCCUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGG C | 14 |
| 상응하는 아미노산 서열 | MRPGLPSYLIIILAVCLFSLHLLSSRYGAEAVSEPLDKAFHLLNT YGRPIRFLRENTTQCTYNSSLRNSTVRENAINFFQSYNQY YVFHMPRCLFAGPLAEQFLNQVDLTETLERYQQRNLNTYALVS KDLASYSRFSQQLKAQDSLGEQPTTVPPIIDLSPHVWMPPT TPHGWTESHTTSGLHRPHFNQTCILFDGHDLLFSTVTPCLHQ FYLIDELRYVKITLTEDFFVVTVSIDDDTPMLLIFGHLPRVLFK APYQRDNFILRQTEKHELLVLVKKDQLNRHSYLDKDPFLDAA LDFNYLDLSALLRNSFHRYAVDVLKSGRCQMLDRRTVEMAF AYALALFAAARQEEAGAQVSVPRALDRQAALLQIQEFMITCL SQTPPRTLLLYPTAVDLAKRALWTPNQITDITSLVRLVYLK QNQHLIPQWALRQIADFALKLHKTHLASFLSAFARQELYLM GSLVHSMVLVHTTEREIFIVETGLCSLAELSHFTQLLAHPHHEY LSDLYTPCSSSRRDHSLERLTRLPDATVPATVPAALSILSTM QPSTLETFPDLFCLPLGESFSALTVSEHVSIVTNQYLIKISYP VSTTVVGQSLIITQIDSQTKCELTRNMHTHSITVALNISENC AFCQSALLEYDDTQGVINIMYMHSDDDVLFALDPYNEVVSS PRTHYMLLLKNGTVLEVTDVVVDATDSRLLMMSVYALSAIIG IYLLYRMLKTC | 19 |
| 폴리 A 테일 | 100 nt | |
| hCMV gL | | 서열번호 |
| 서열번호 6 은 5' 말단에서 3' 말단으로 5' UTR 서열번호 13, mRNA ORF 서열번호 12, 및 3' UTR 서열번호 14 로 이루어진다. | | 6 |
| 화학 | 1-메틸슈도우리딘 | |
| 캡 | 7mG(5')ppp(5')NmpNp | |
| 5' UTR | GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUA AGAGCCACC | 13 |
| mRNA 작제물의 ORF (정지 코돈 배제) | AUGUGCCGCCGCCCGGAUUGCGGCUUCUCUUUCUACCCUG GACCGGUGAUACUGCUGUGGUGUUGCCUUCUGCUGCCCA UUGUUUCCUCAGCCGCCGUCAGCGUCGCUCCUACCGCCGC | 12 |

[0623]

| | | |
|-----------------|---|----|
| | CGAGAAAGUCCCGCGGAGUGCCCGAACUAACGCGCCGA UGCUUGUUGGGUGAGGUGUUUGAGGGUGACAAGUAUGAA AGUUGGCUUGCGCCCGUUGGUGAAUGUUACCGGGCGCAU GGCCCGCUAUCGCAACUUAUCCGUUACCGUCCGUUACGC CGGAGGCCGCAACUCCGUGUGUUGGACGAGGCUUCC UGGACACUCUGGCCUGCUGUACAACAUCCGGAUCAAU UGCGGGCCUGCUGACGUGUUGAGCUCGGACACAGCGC CGCGCUGGAUGACGGUGAUGCGCGGCUACAGCGAGUGCG CGAUGGCUCGCGCGCCGUGUACACGUGCGUGGACGACC UGUGCCGCGGCUACGACCUCACGCGACUGUCAUACGGGC GCAGCAUCUUCACGGAACACGUGUUAGGCUUCGAGCUGG UGCCACCGUCUCUCUUUAACGUGGUGGUGGCAUACGCA ACGAAGCCACGCGUACCAACCGCGCCGUGCGUCGCCGU GAGCACCGCUGCCGCGCCGAGGGCAUCACGUCUUUUAC GGCCUGUACAACGCAGUGAAGGAAUUCUGCCUGCGUCAC CAGCUGGACCCGCGCUGCUACGCCACCUAGAUAAAUCU ACGCCGACUGCCGCGGAGCUGAAGCAGACGCGCGUCA CCUGCCGGCUCACUCGCGCUAUGGCCUCAAGCAGUGGAU GCUCGC | |
| 3' UTR | UGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCC CCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGG C | 14 |
| 상응하는 아미노산 서열 | MCRRPDCGFSFSPGPVILLWCLLLPIVSSAAVSVAPTA AEKV PAEPEL TRRCLLGEVFE GDKYESWLRPLVNV TGRDGPLSQLI RYRPV TPEAANSVLLDEAFDLT LALLYNPDQLRALLTLSSD TAPRWM TVMRGYSECGDGSPAVYTCVDDL CRGYDLTRLSYG RSIFTEHVLGFELVPPSLFNVVVAIRNEATRINRAVRLPVSTAA APEGITLFYGLYN AVKEFCLRHQLDP LLRHLDKYYAGLPPEL KQTRVNLPAHSRYGPQAVDAR | 20 |
| 폴리 A 테일 | 100 nt | |

[0624]

[0625]

등가물

[0626]

본원에 기재된 모든 참조문헌, 특허 및 특허 출원은 각각 인용하고 일부 경우에 문헌의 전체를 포괄할 수 있는 주요 요지와 관련하여 본원에 참조로 인용된다. 본 출원은 하기의 명세서의 모든 도면 및 모든 부분 포함하는 (서열목록 또는 아미노산/폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는) 전체 내용이 참조로 인용된다: 2016년 10월 21일자로 출원되고 "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE" 표제의 PCT 공개 공보 번호 W02017/070613, 2017년 10월 20일자로 출원되고, "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE" 표제의 PCT 공개 공보 W02018/075980, 2020년 9월 11일자로 출원되고 "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE" 표제의 PCT 공개 공보 W02021/050864, 2018년 9월 4일자로 승인되고 "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS RNA VACCINES" 표제의 US 특허 제10,064,935호, 2019년 8월 20일자로 승인되고 "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS RNA VACCINES" 표제의 US 특허 제10,383,937호, 2020년 7월 21일자로 승인되고, "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS RNA VACCINES" 표제의 US 특허 제10,716,846호 및 2020년 6월 30일자로 승인되고 "HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE" 표제의 US 특허 제10,695,419호.

[0627]

본 명세서 및 청구범위에서 사용된 부정관사 "a" 및 "an"은 명백히 달리 나타내지 않는 한 "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 또한 명백히 반대로 나타내지 않는 한, 하나 이상의 단계 또는 작용을 포함하는 본원에 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 작용의 순서는 반드시 방법의 단계 또는 작용이 언급되는 단계 또는 동작의 순서로 제한되지 않는다는 것을 이해해야 한다.

[0628]

청구범위 및 상기 명세서에서 "포함하는", "포함하는", "운반하는", "가지고 있는", "함유하는", "관련된", "보유하는", "구성된", 등은 제한 없이 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 미국 특허청 특허 심사 절차 매뉴얼 섹션 2111.03에 명시된 바와 같이 "로 이루어진" 및 "필수적으로 이루어진"은 전환 문구만 각각 폐쇄형 또는 반폐쇄형 전환 문구이다.

[0629]

수치 앞의 "약" 및 "실질적으로"라는 용어는 인용된 수치의 ±10%를 의미한다.

[0630]

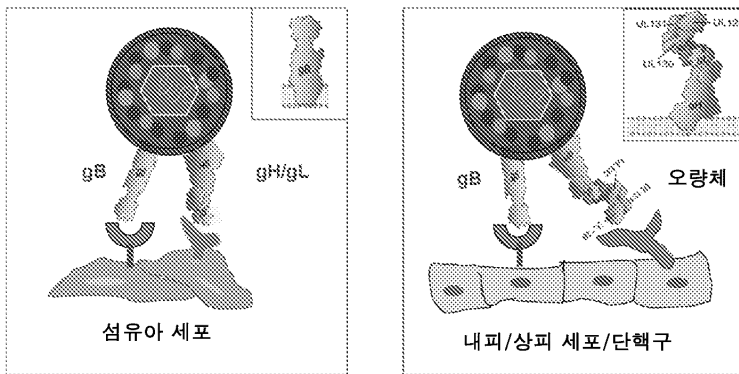
값의 범위가 제공되는 경우, 범위의 상단과 하단 사이의 각 값이 여기에서 구체적으로 고려되고 기재된다.

[0631]

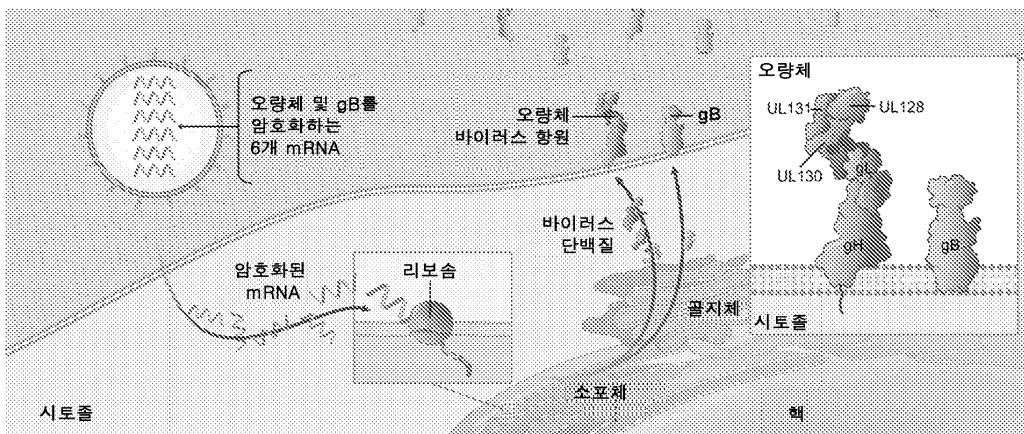
당업자는 단지 일상적인 실험을 사용하여 본원에 기재된 본 발명의 특정 구현예에 대한 많은 등가물을 인지하거나 확인할 수 있을 것이다. 상기 등가물은 하기의 청구항에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1a

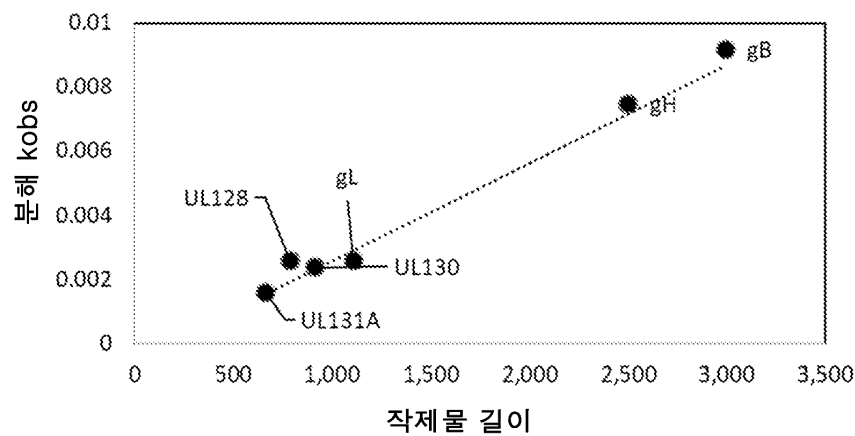


도면1b

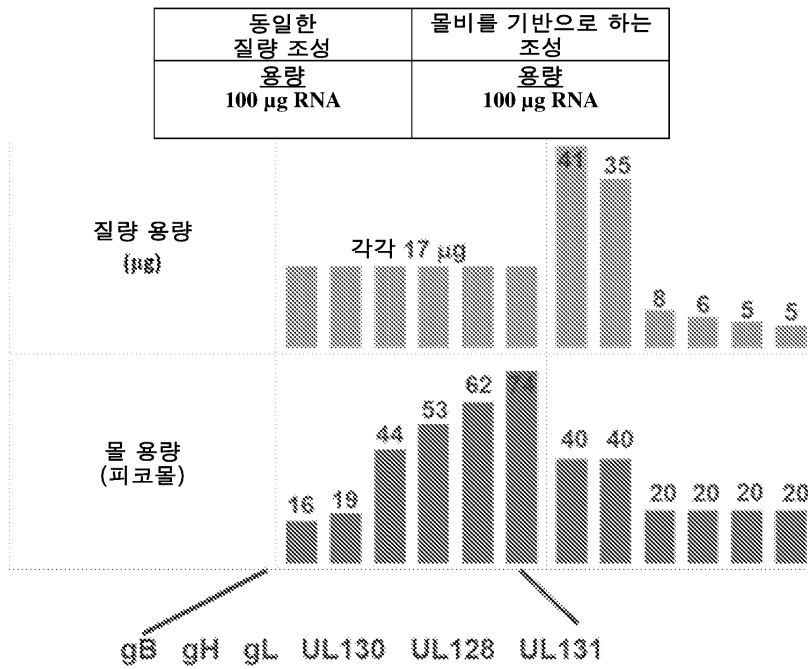


도면2a

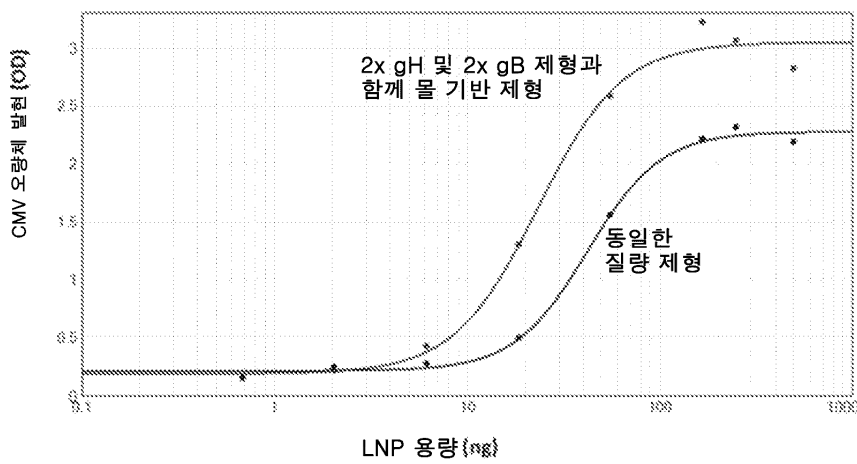
분해율 kobs
CMV, 80°C에서 약물 물질



도면2b

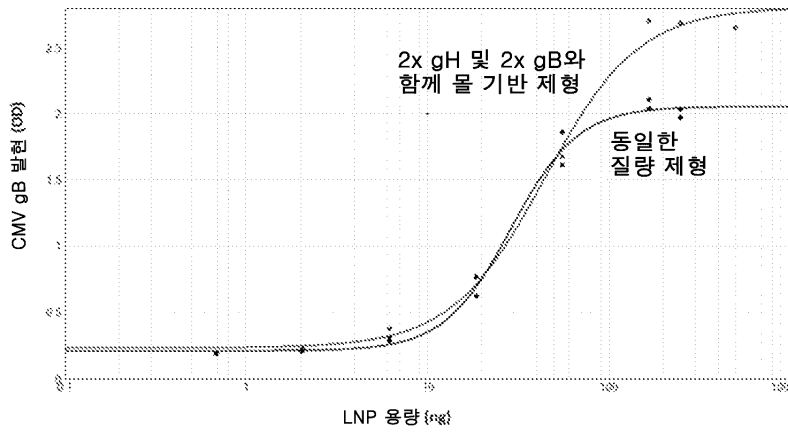


도면3a



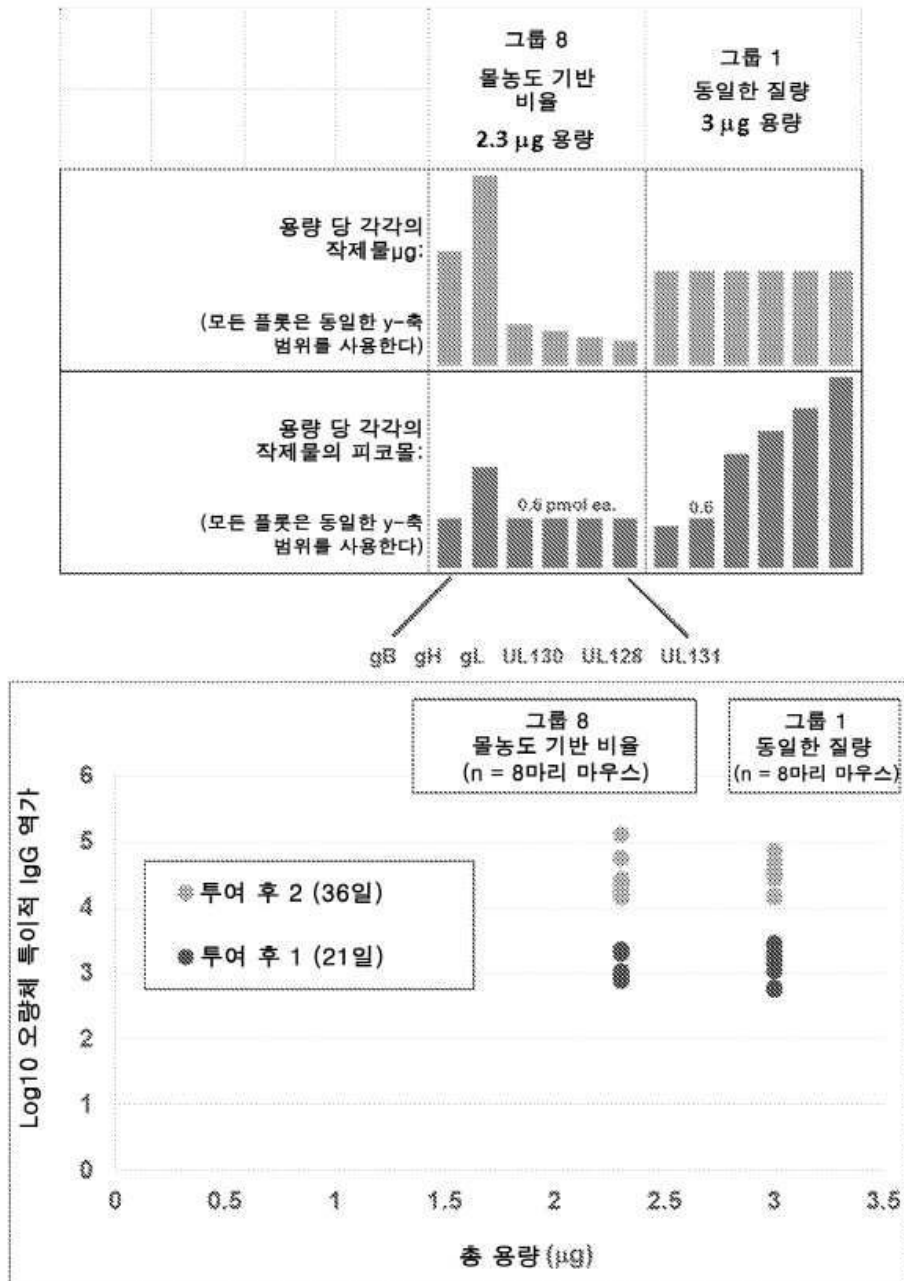
| 오량체 | | |
|------------------------------|------|-----------------|
| | Emax | 상대적 효능 % 오량체 |
| 동일한 질량 제형 | 2.27 | 29% |
| 2X gH 및 2X gB와 함께 물 기반 제형 | 3.05 | 100% |

도면3b

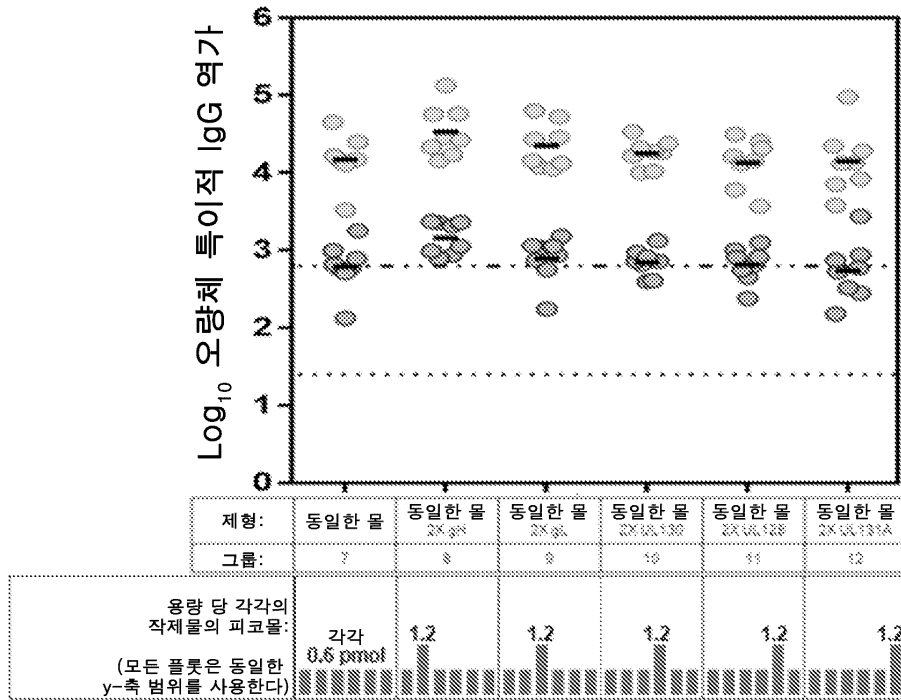


| gB | | |
|---------------------------|------------------|----------------|
| | E _{max} | 상대적 효능 % gB |
| 동일한 질량 제형 | 2.05 | 74% |
| 2X gH 및 2X gB와 함께 물 기반 제형 | 2.8 | 100% |

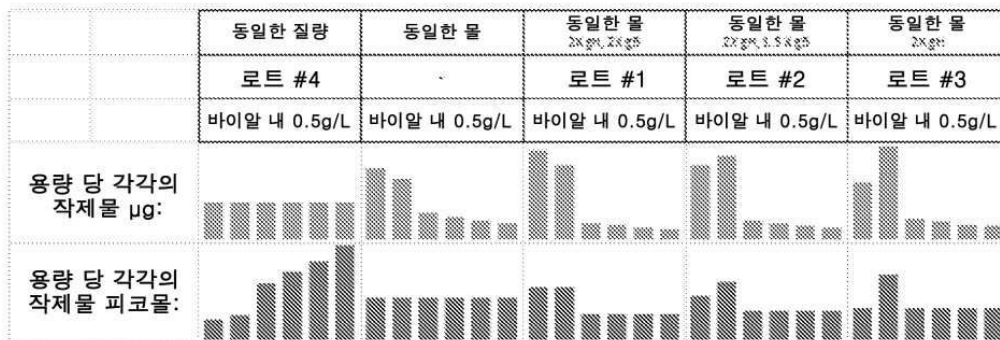
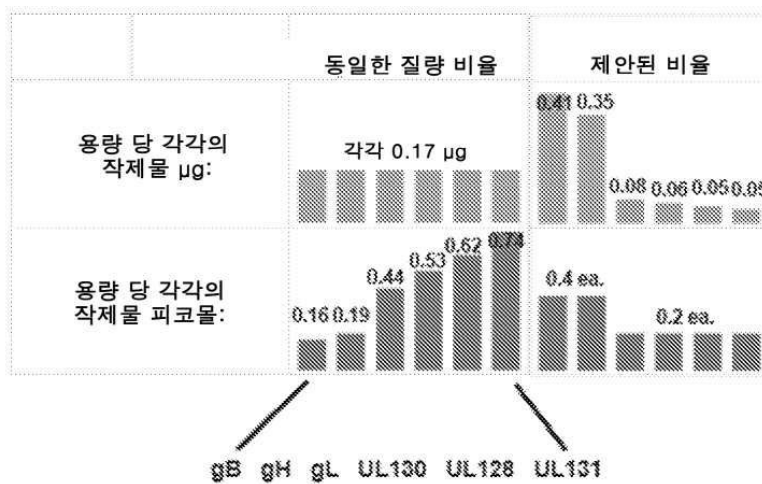
도면4



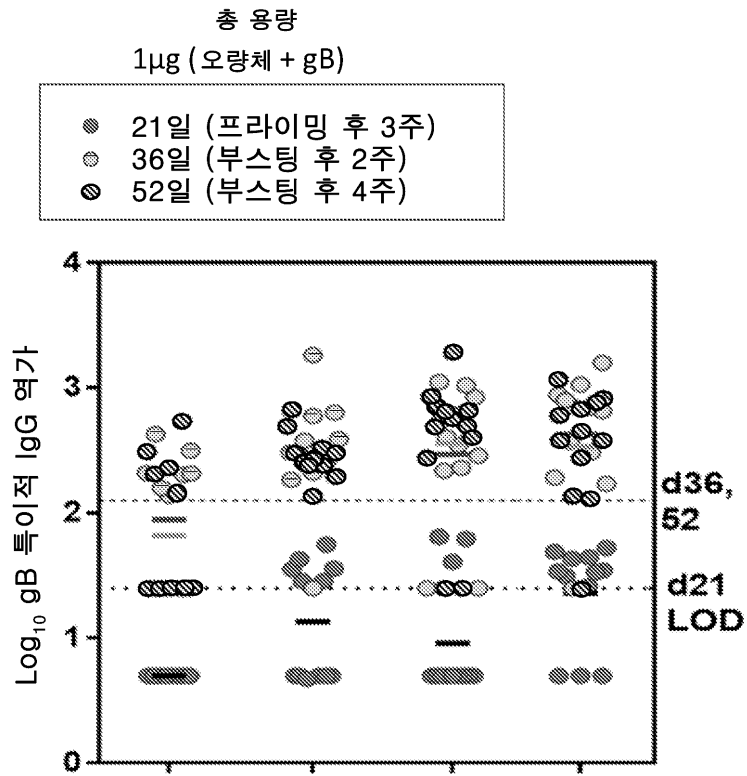
도면5



도면6a

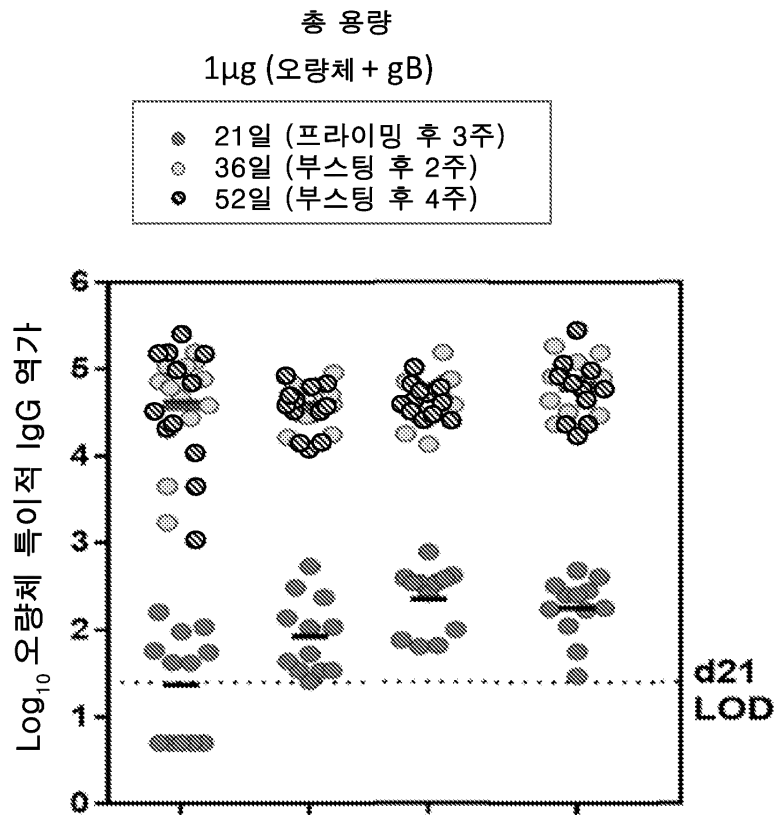


도면6b



| 로트 # | 4 | 3 | 2 | 1 |
|------------|-----|----------------------|------------------------|----------------------|
| gB 용량(ng): | 167 | 261 | 347 | 414 |
| 동일한 질량 | | 물비 1X gB 2X gH | 물비 1.5X gB 2X gH | 물비 2X gB 2X gH |

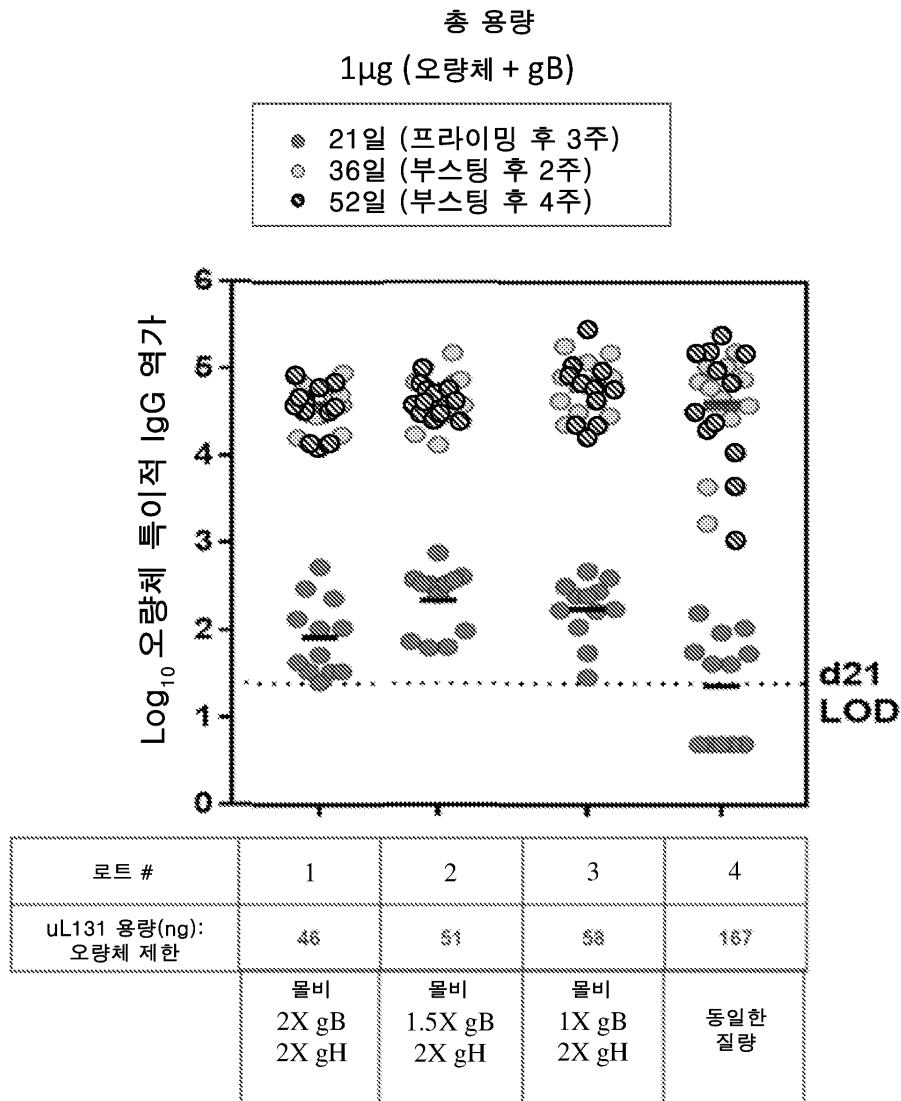
도면6c



| 로트 # | 4 | 1 | 2 | 3 |
|------------|-----------|----------------------|------------------------|----------------------|
| gH 용량(ng): | 187 | 346 | 386 | 436 |
| | 동일한 질량 | 물비 2X gB 2X gH | 물비 1.5X gB 2X gH | 물비 1X gB 2X gH |

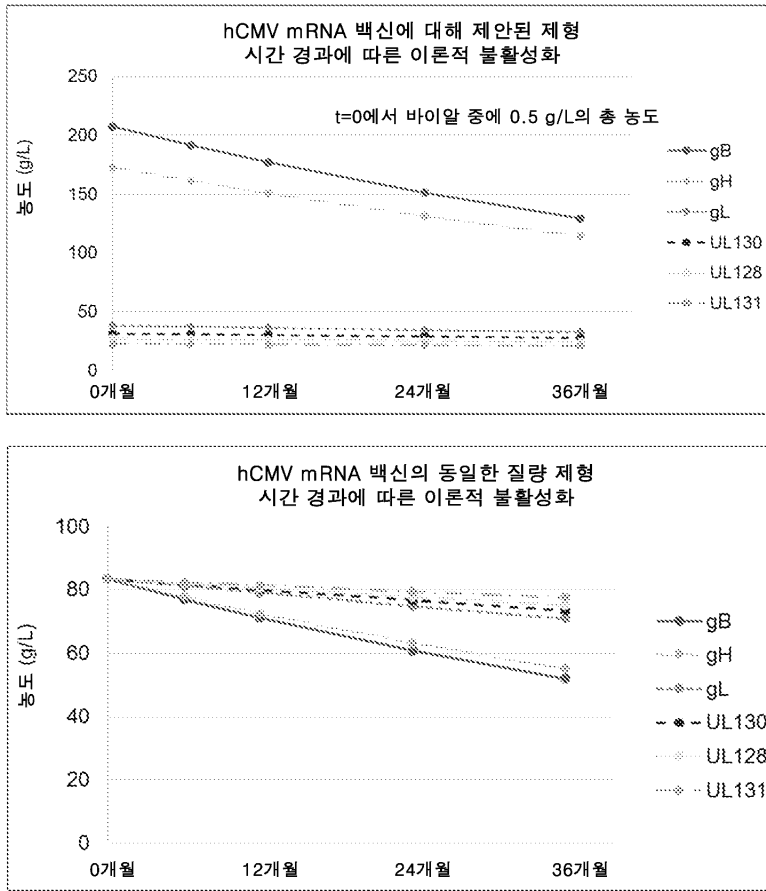
*모든 6개 성분들의 동일한 물은 279ng의 gH 용량을 갖는다

도면6d

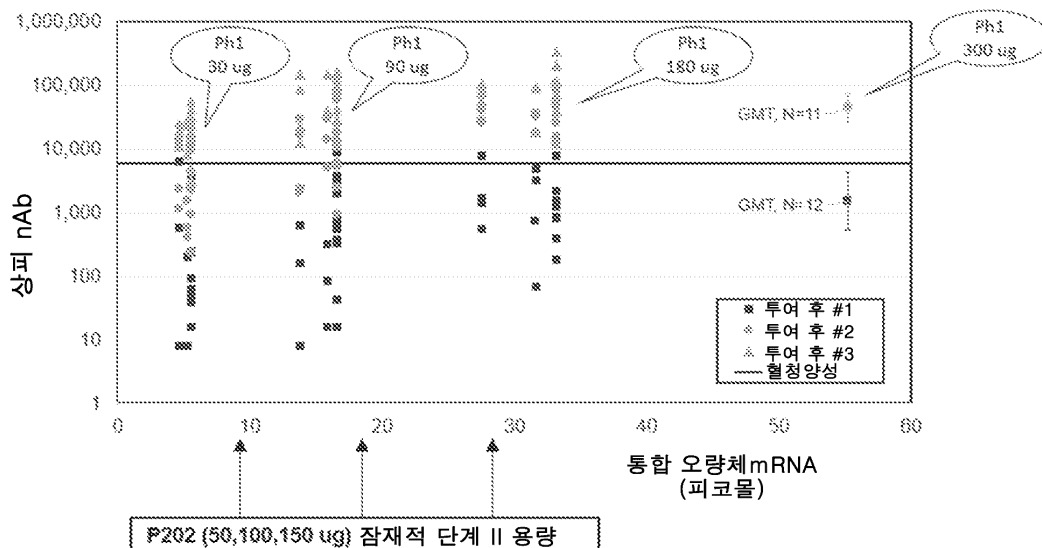


주지사항: 모든 6개 성분들의 동일한 몰은 74ng의 UL131A 용량을 갖는다

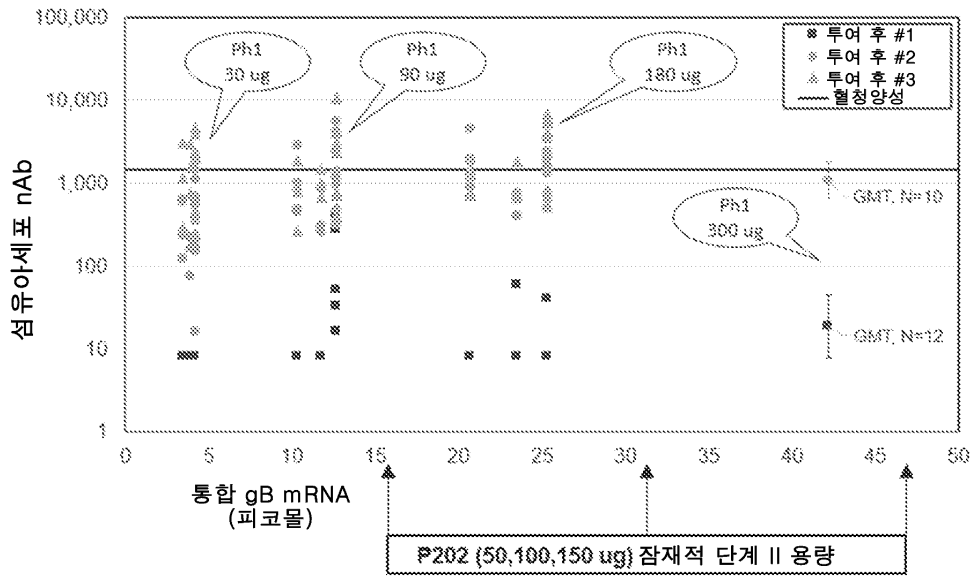
도면7



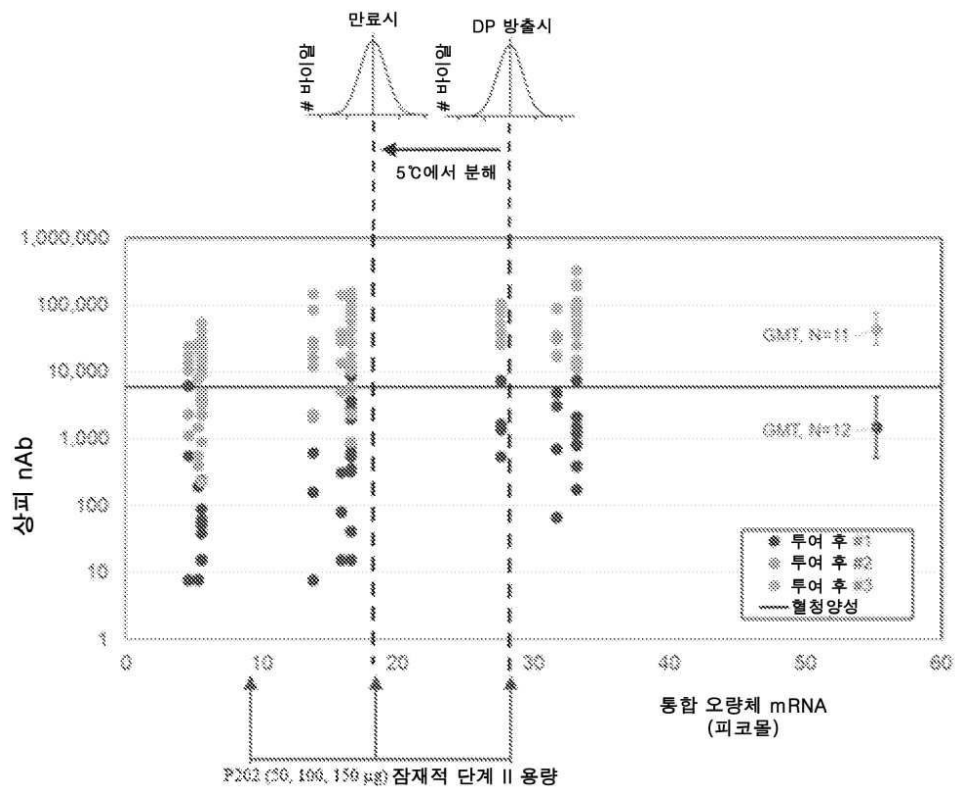
도면8a



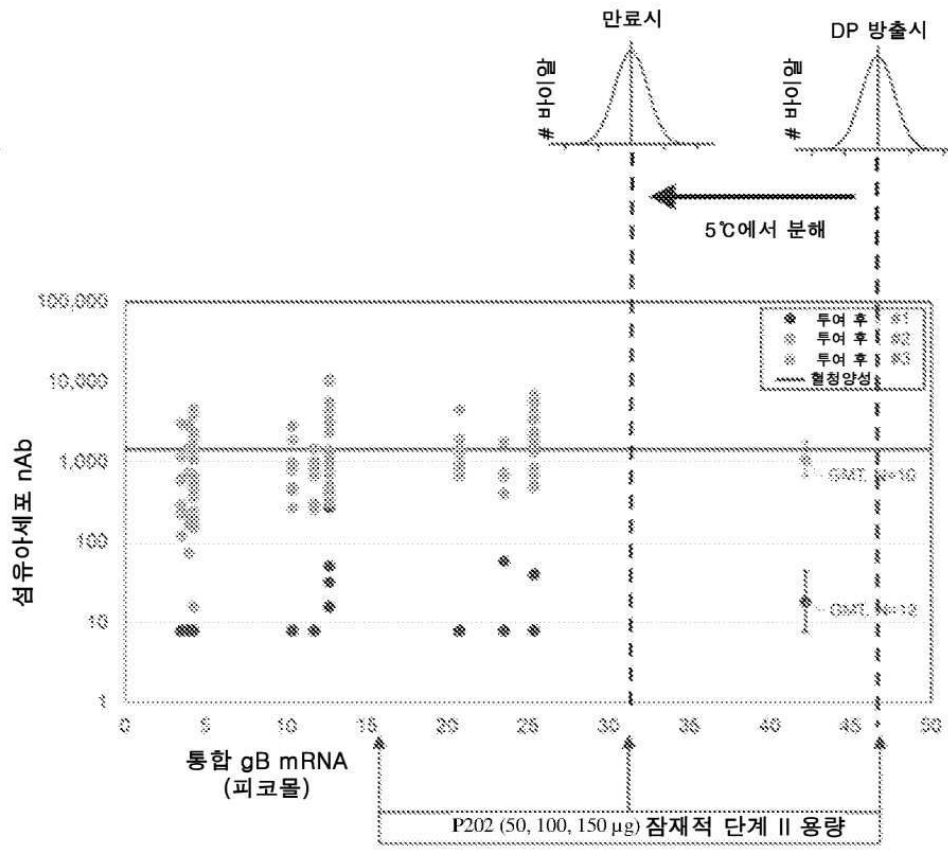
도면8b



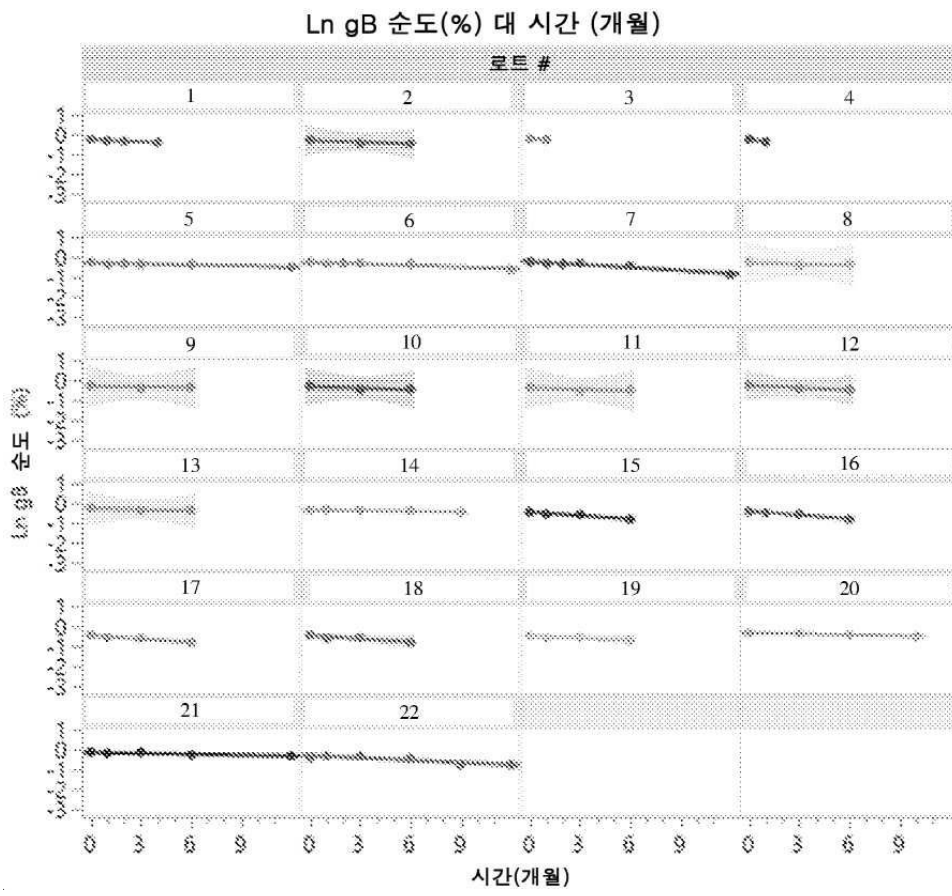
도면9a



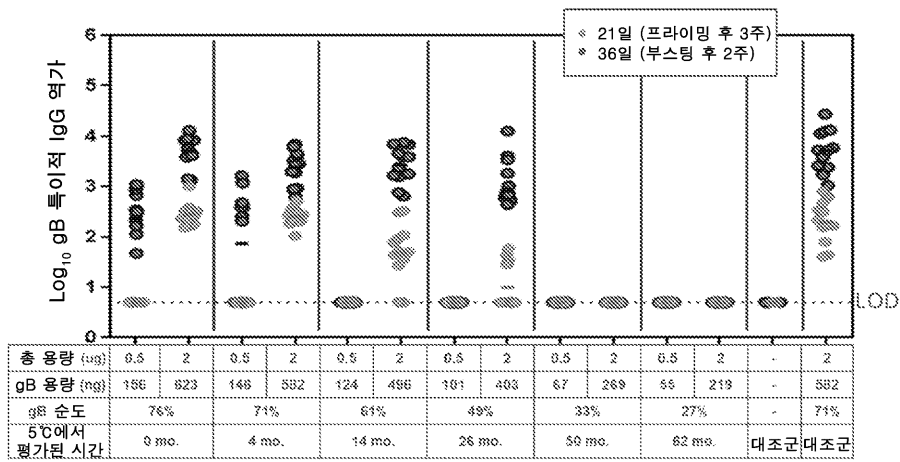
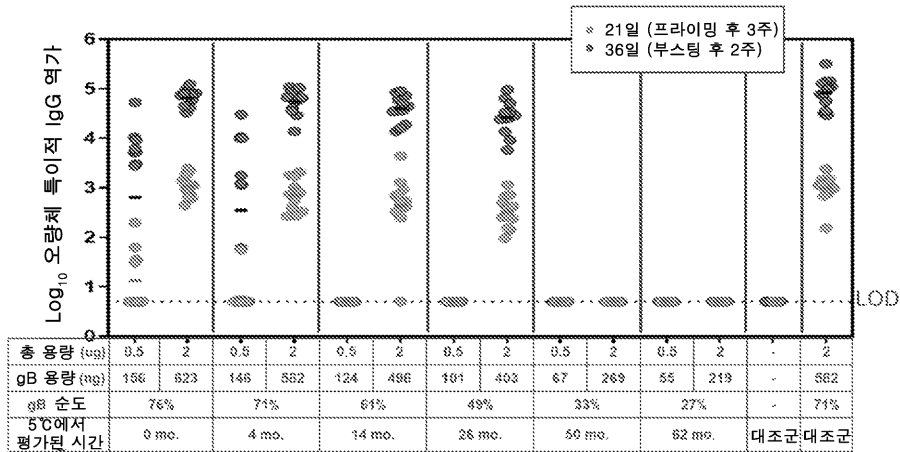
도면9b



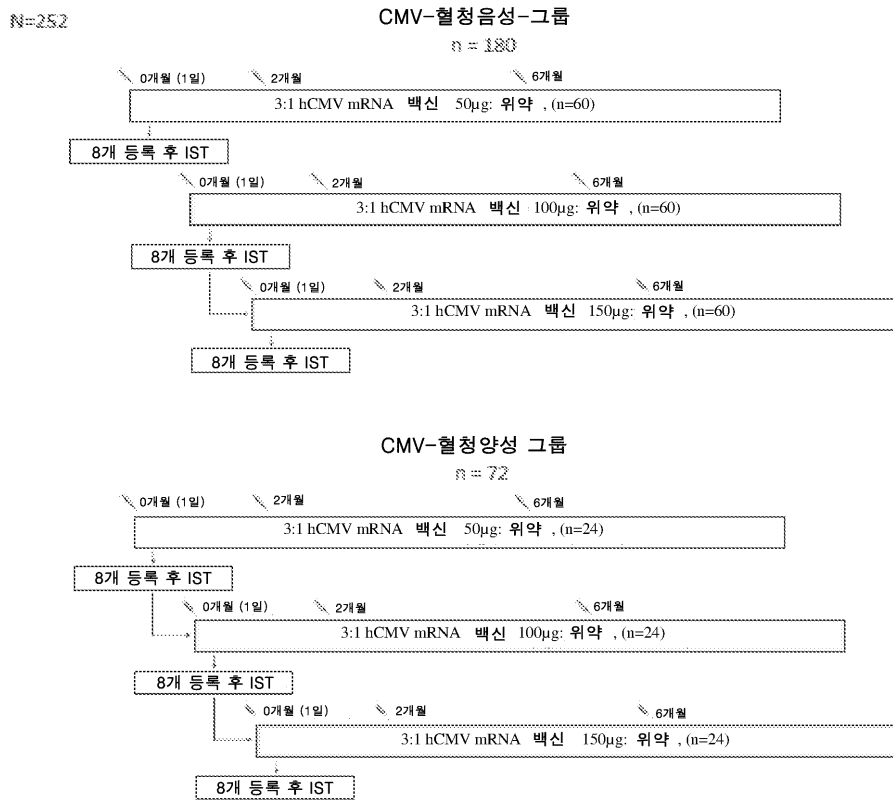
도면10



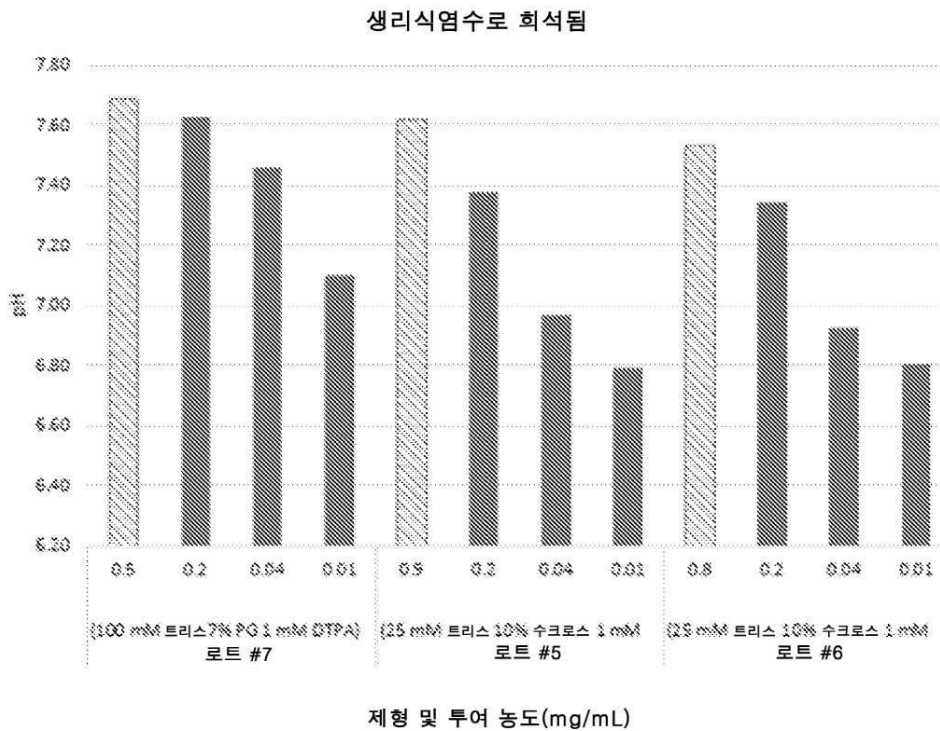
도면11



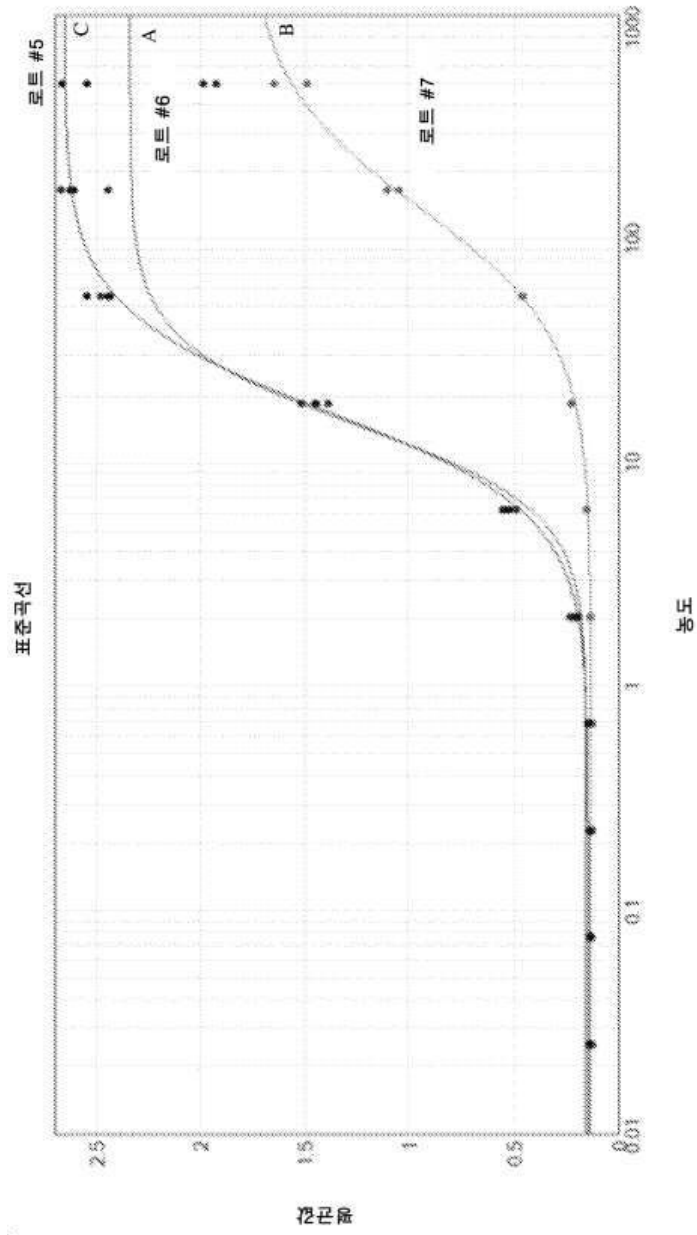
도면12



도면13

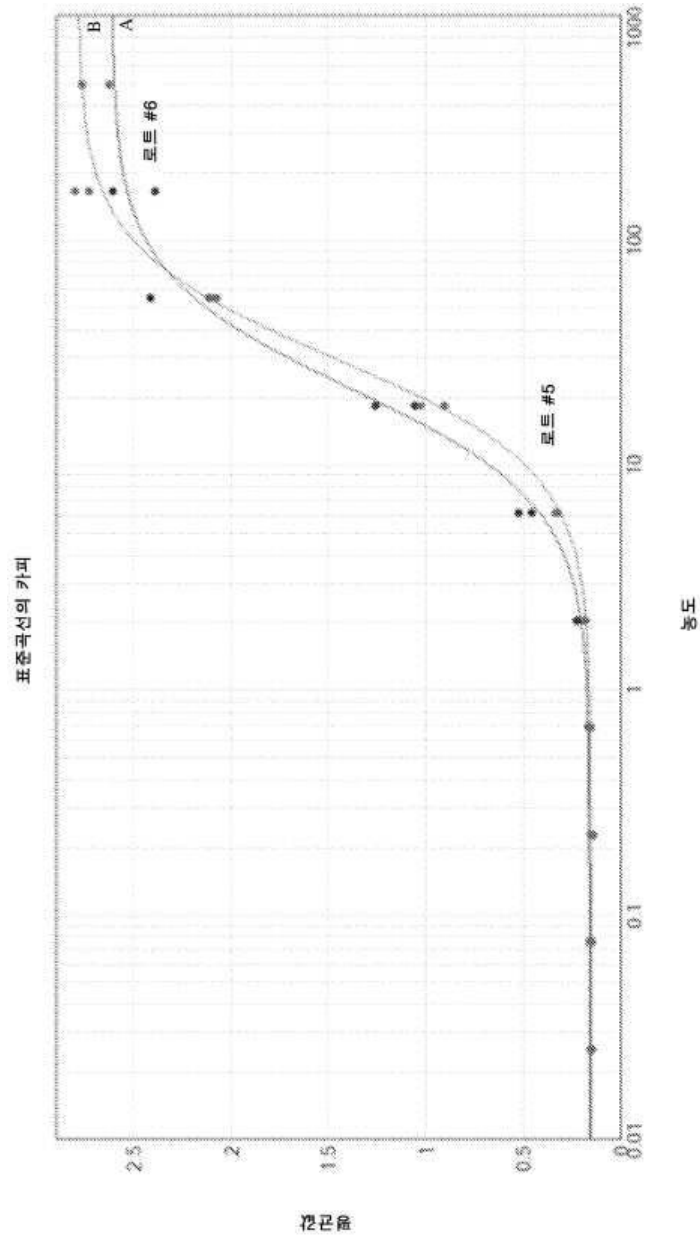


도면14a



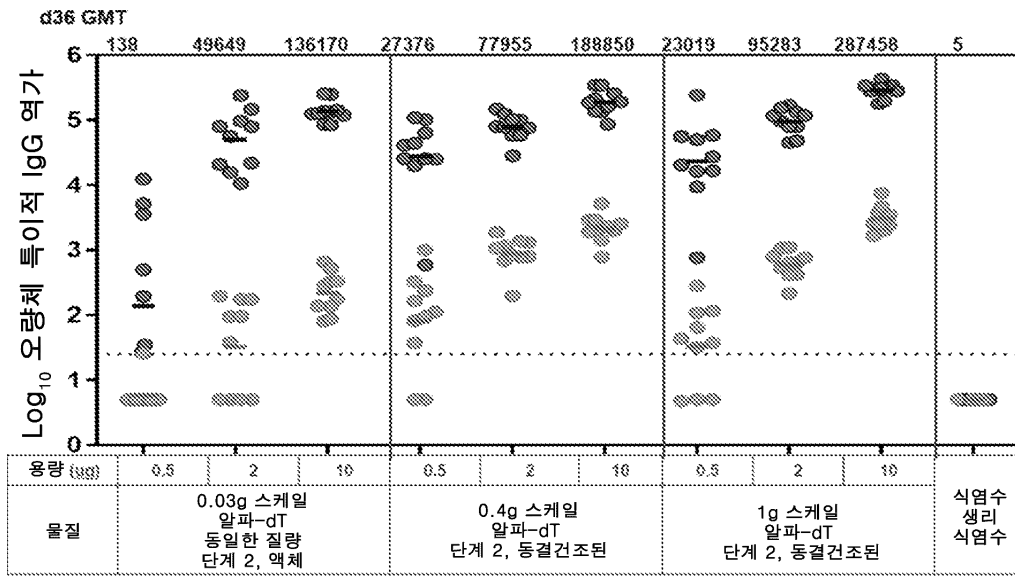
- A ● Std (로트 #6 (동결 전): 값 대 농도) 가중치: 고정됨
- B ● 플롯1 (로트 #7: 값 대 농도) 가중치: 고정됨
- C ● 플롯2 (로트 #6 (동결): 값 대 농도) 가중치: 고정됨

도면14b

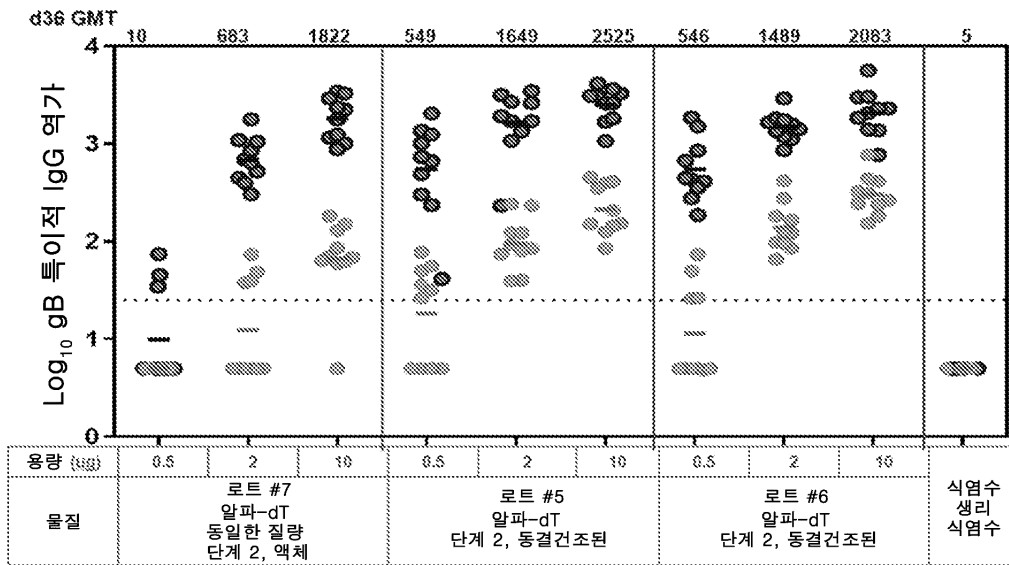


A ● 스탠 (로트 #6 (동결 전): 값 대 농도) 가중치: 고정됨
 B ○ 플롯 (로트 #5(동결): 값 대 농도) 가중치: 고정됨

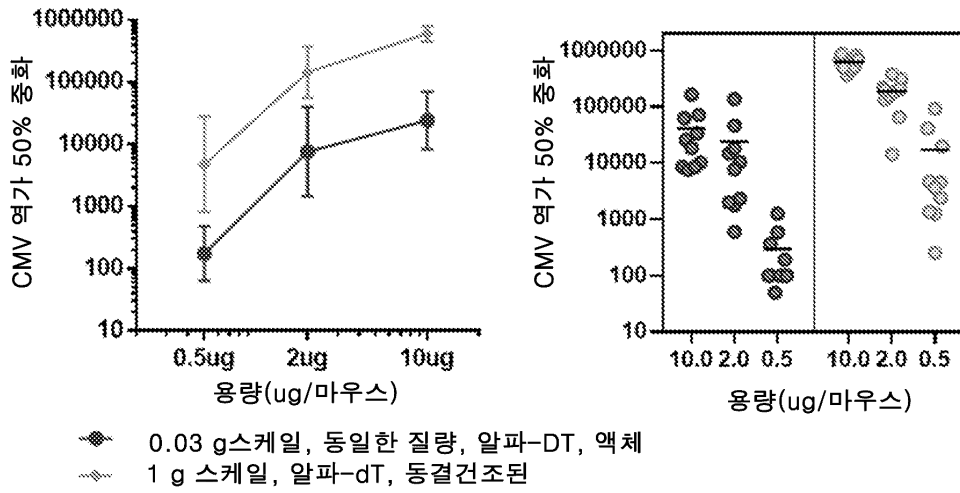
도면15a



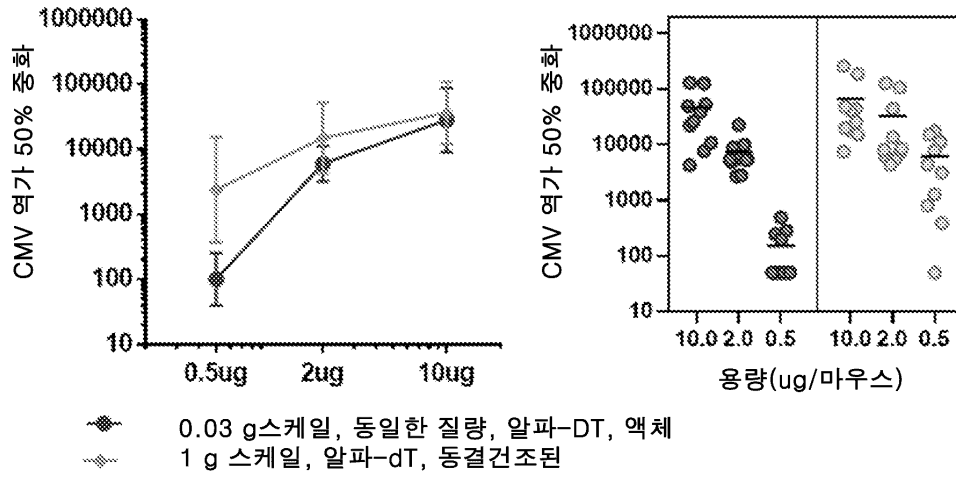
도면15b



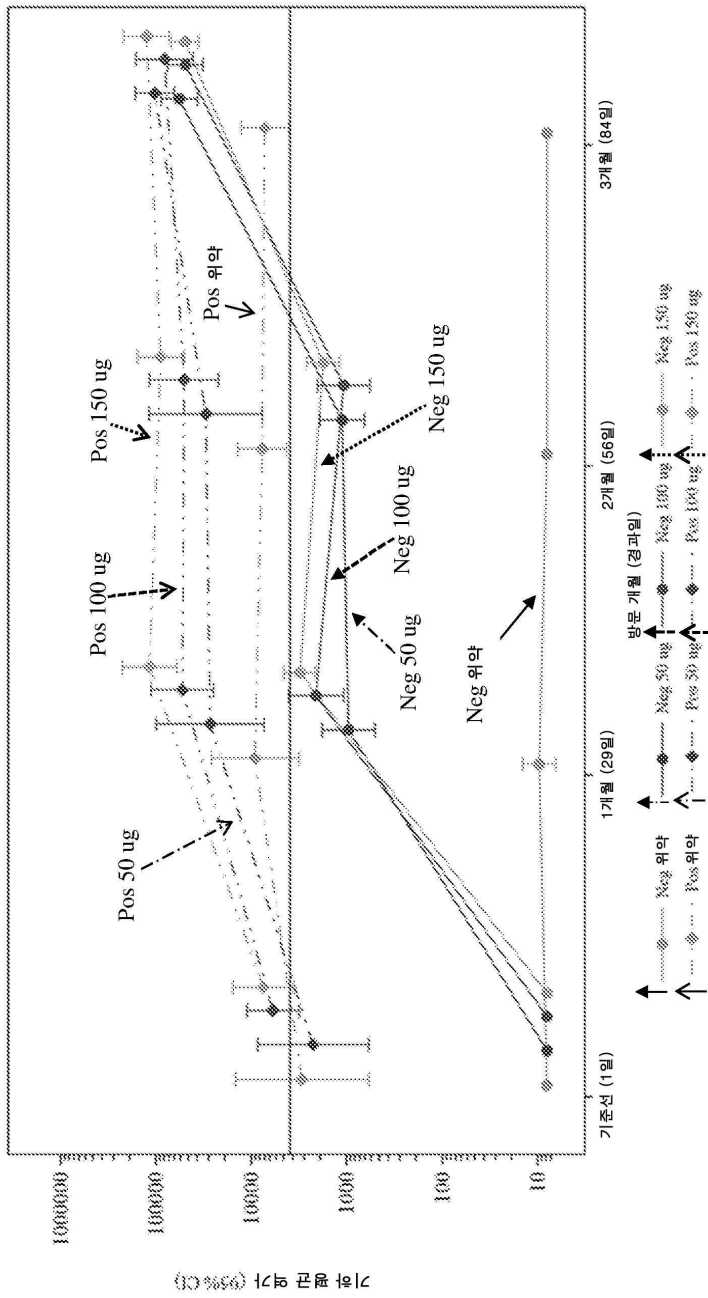
도면16a



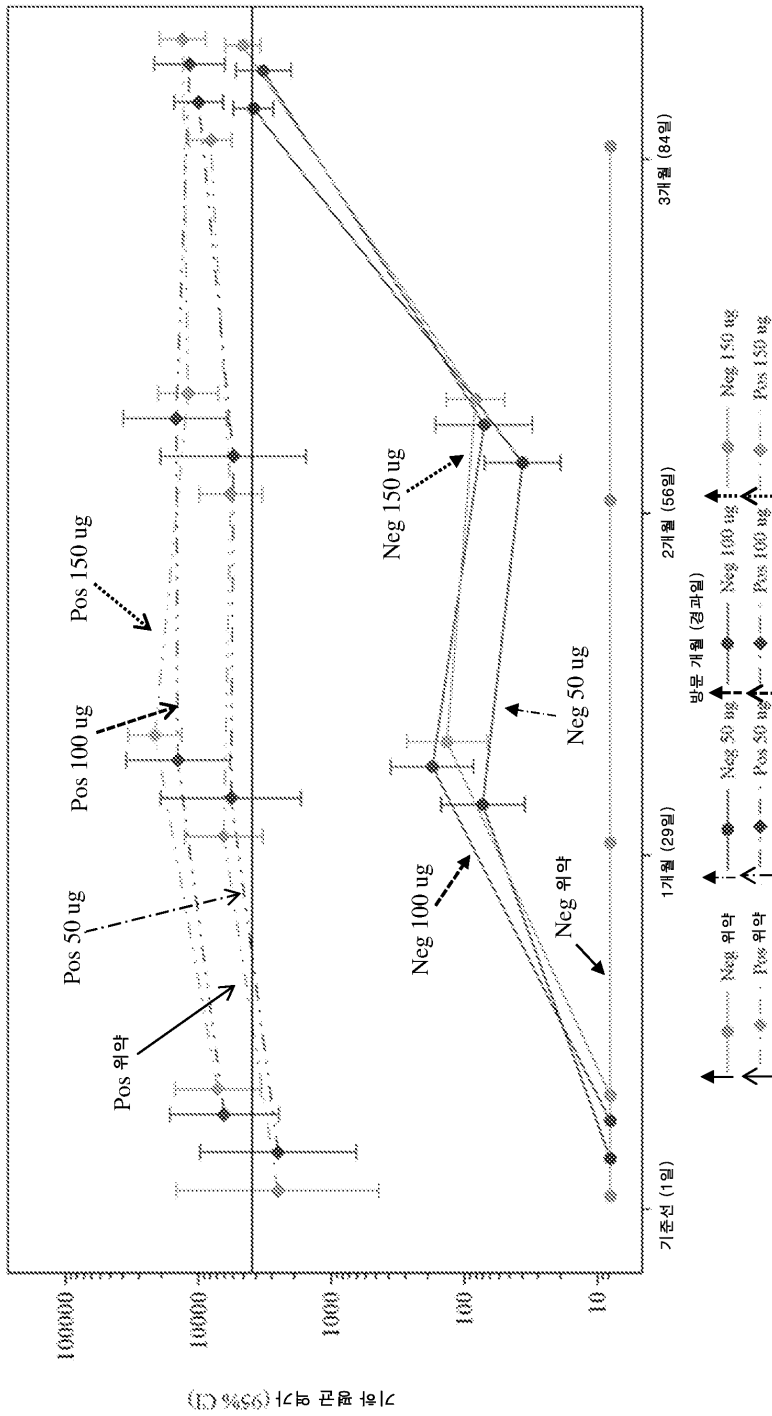
도면16b



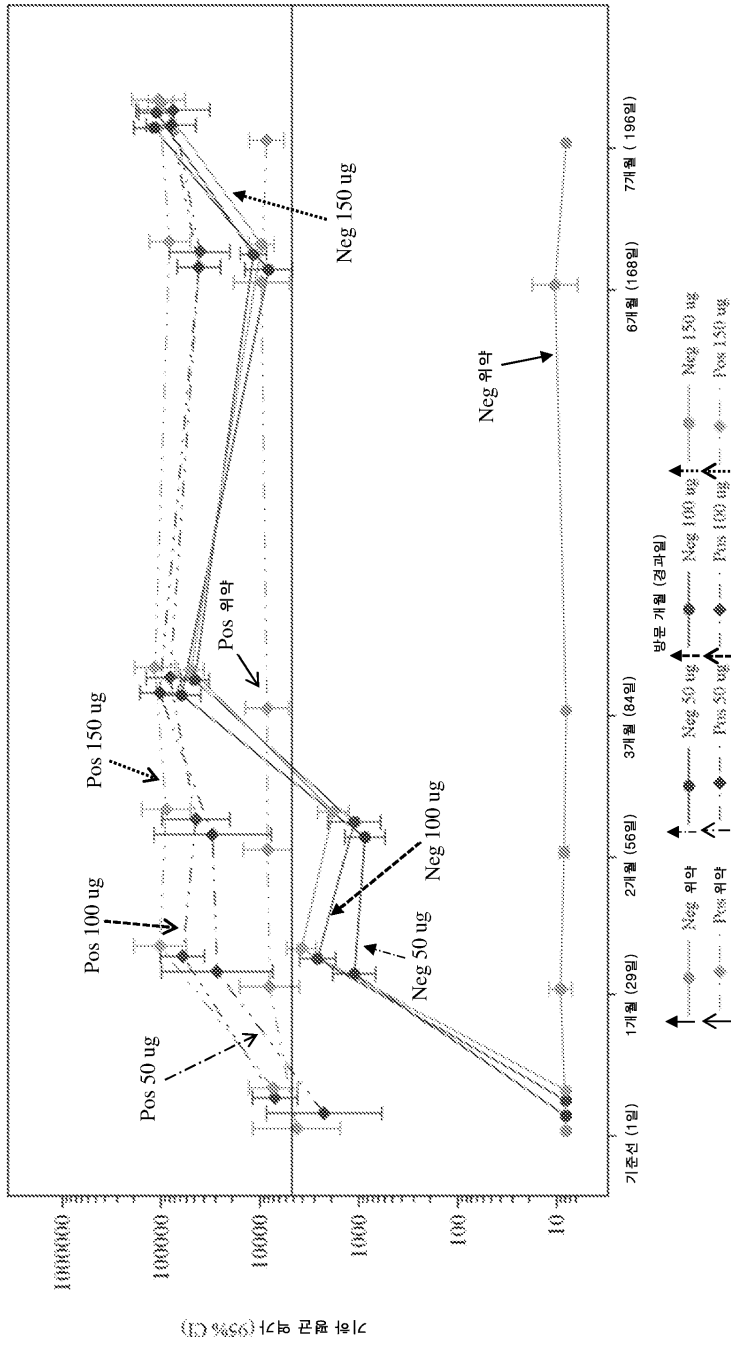
도면17



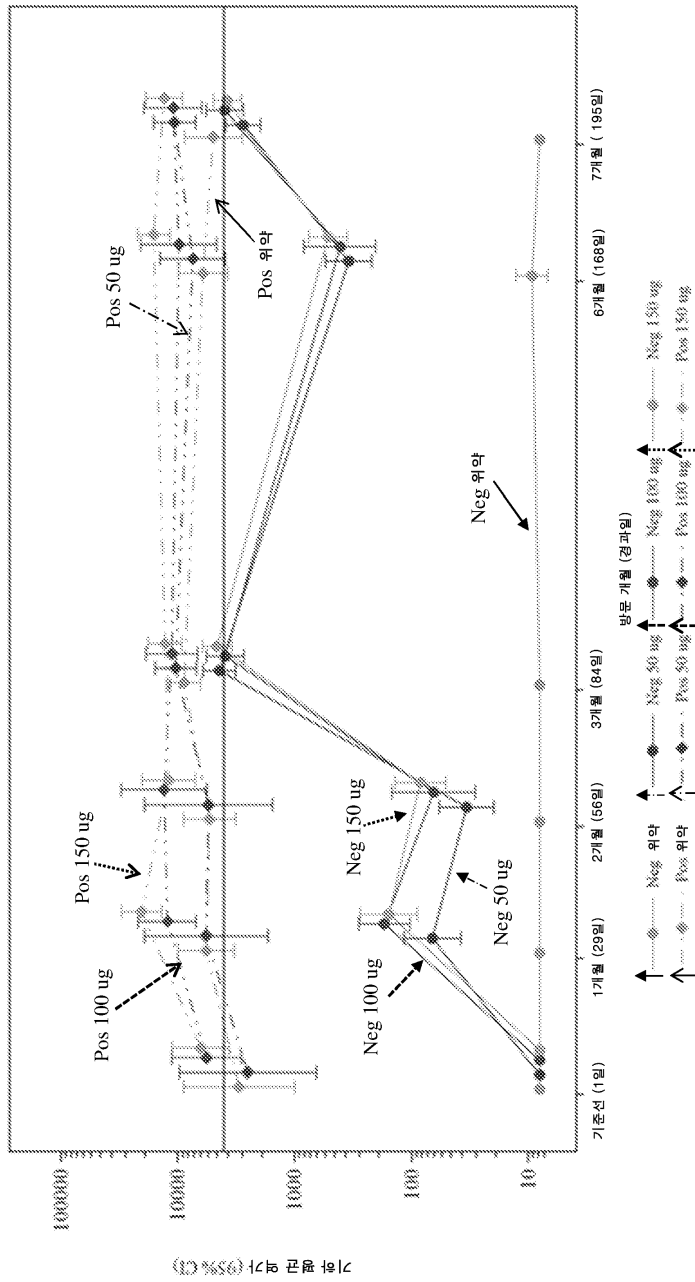
도면18



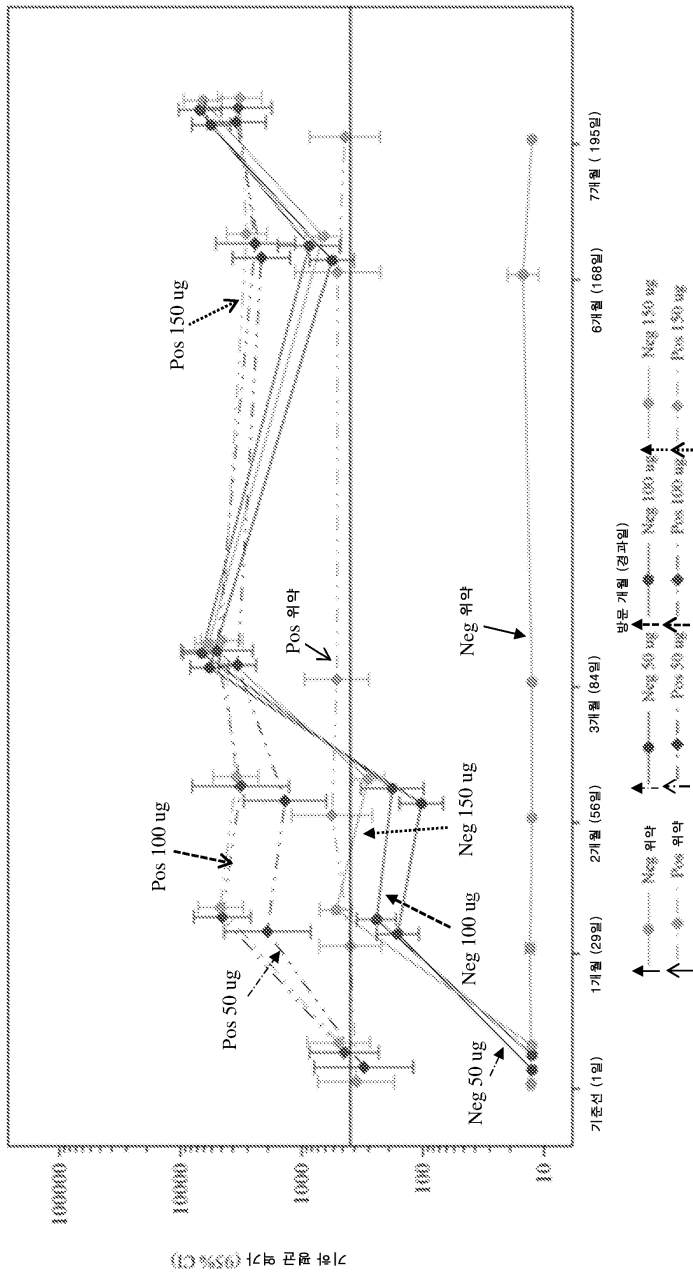
도면19



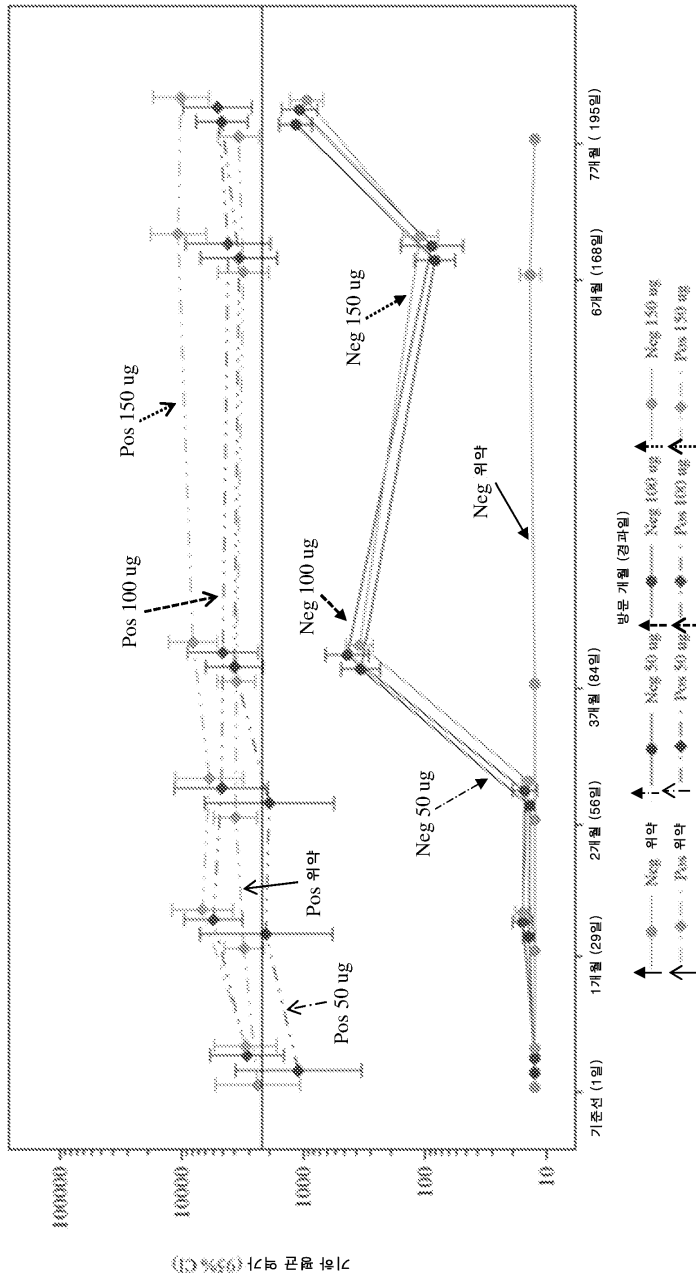
도면20



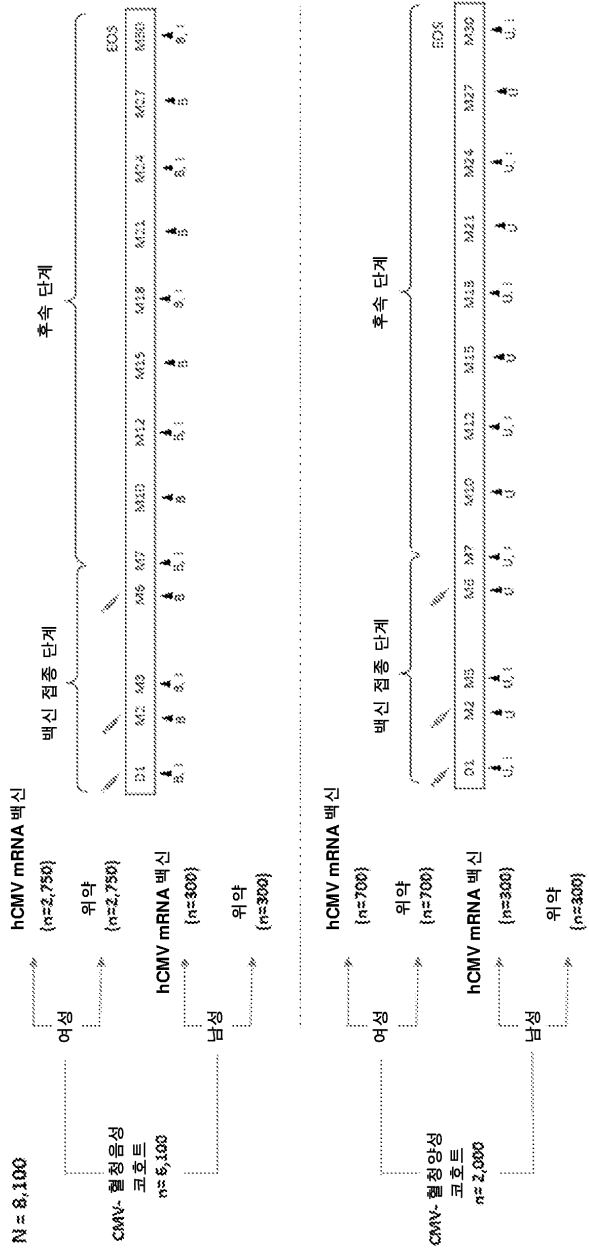
도면21



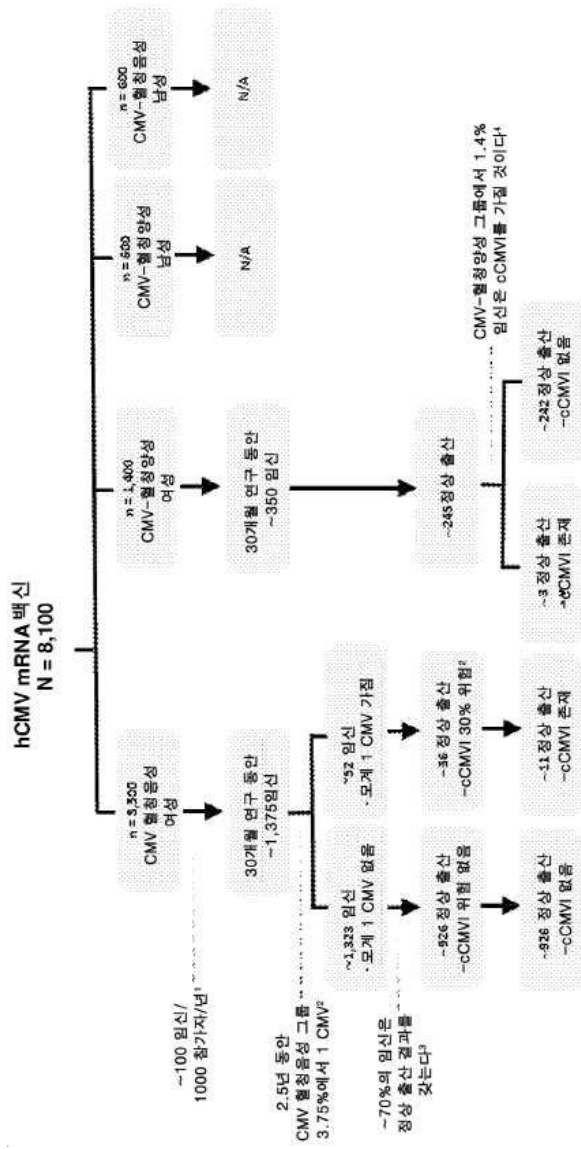
도면22



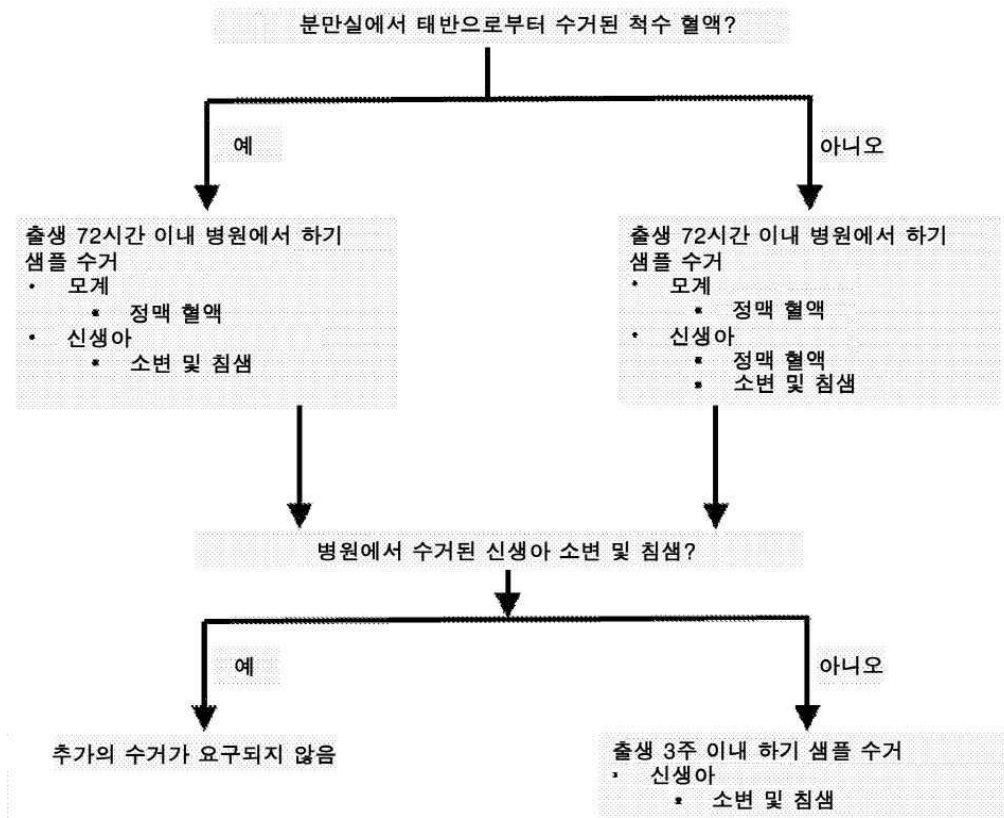
도면23



도면24



도면25



주지사항: 침샘 수거는 마지막 모유 수유 후 적어도 90분에 수행되어야 한다

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ModernaTX, Inc.

<120> HUMAN CYTOMEGALOVIRUS VACCINE

<130> M1378.70132W000

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 63/136,117

<151> 2021-01-11

<150> US 63/079,421

<151> 2020-09-16

<150> US 63/070,134

<151> 2020-08-25

<160> 30

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2887

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

gggaaaauag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaaag agccaccaug gaauccagga 60

ucuggugccu gguagucugc guuaacuugu guaucgucug ucugggugcu gcgguuuccu 120

caucuucuaac ucguggaacu ucugcuacuc acagucacca uuccucucau acgacgucug 180

cugcucacuc ucgauccggu ucagucucuc aacgcguaac uucuuccaa acggucagcc 240

augguuuuaa cgagaccauc uacaacacua ccucaagua cggagaugug guggggguca 300

auaccaccaa guacccuau cgcguguguu cuauggccca ggguacggau cuuauucgu 360

uugaacguua uaucgucugc accucgauga agcccauca ugaagaccug gacgaggga 420

ucaugguggu cuacaaacgc aacaucgucg cgcacaccuu uaagguacga gucuaccaga 480

agguuuugac guuucgucgu agcuacguu acauccacac cacuuauucug cugggcagca 540

acacggaaua cguggcgccu ccuauguggg agauucauca uaucaacagc cacagucagu 600

gcuacaguuc cuacagccg guuauagcag gcacgguuuu cguggcuuau cauagggaca 660

gcuaugaaaa caaaccaug cauuuauuc cgcacgauua uuccaacacc cacaguaccc 720

guuacgugac ggucaaggau caauggcaca gccgcggcag caccuggcuc uaucgugaga 780

ccuguaauuc gaauguaug gugaccuca cuacugcgcg cuccaaauau ccuuaucauu 840

uuuucgccac uuccacgggu gacgugguug acuuuucucc uuucuaaac ggaaccaauc 900

gcaaugccag cuacuuugga gaaaacgccg acaaguuuuu cauuuuucg aacuacacua 960

ucgucuccga cuuuggaaga ccgaaucug cguuagagac ccacagguug guggcuuuuc 1020

uugaacgucg ggacucggug aucuccuggg auauacagga cgaaaagaau gucacuuguc 1080

aacucacuuu cugggaagcc ucggaacgca ccuucguuc cgaagccgag gacucguauc 1140

acuuuucuu ucgcaaaaug accgccacu ucuuaucaaa gaagcaagag gugaacaugu 1200

ccgacucugc gcuggacugc guacgugaug aggcuaauaaa uaaguuacag cagauuuuca 1260

auacuucua caaucaaa uaugaaaaau auggaaacgu guccgucuuu gaaaccacug 1320

gugguuuggu aguguucugg caagguauc agcaaaauc ucugguggaa cucgaacguu 1380

uggccaaccg cuccagucug aaucuuacuc auuuuagaac caaaagaagu acagauggca 1440

acaaugcaac ucauuuaucc aacauggaau cggugcaca ucuggucua gcccagcugc 1500

aguucaccua ugacacguug cgcgguuaca ucaaccgggc gcuggcgcaa aucgcagaag 1560

| | |
|---|------|
| ccuggugugu ggaucaacgg cgcacccuag aggucuuca ggaacucagc aagaucaacc | 1620 |
| cgucagccau ucucucggcc auuuacaaca aaccgauugc cgcgcuuuc augggugaug | 1680 |
| ucuugggccu ggccagcugc gugaccauca accaaaccag cgucaaggug cugcgugaua | 1740 |
| ugaacuguaa ggagucgcca ggacgcugcu acucacgacc cgugguac uuuuuuucg | 1800 |
| ccaacagcuc guacgucgag uacggucaac ugggcgagga caacgaaauc cuguugggca | 1860 |
| accaccgcac ugaggaaugu cagcuuccca gccucaagau cuucaucgcc gggaacucgg | 1920 |
| ccuacagua cguggacuac cucuucaaac gcaugauuga ccucagcagu aucuccaccg | 1980 |
| ucgacagcau gaucgccug gauaucgacc cgcuggaaaa uaccgacuuc agggucacug | 2040 |
| aacuuuacuc gcagaaagag cugcguucca gcaacguuuu ugaccucgaa gagaucaugc | 2100 |
| gcgaaaucaa cucguacaag cagcggguua aguacgugga ggacaaggua gucgacccgc | 2160 |
| uaccgccua ccucaagggu cuggacgacc ucaugagcgg ccugggcgcc gcgggaaagg | 2220 |
| ccguuggcgu agccauuggg gccguggug gcgcguggc cuccguguc gaaggcuug | 2280 |
| ccaccuuccu caaaaacccc uucggagcgu ucaccaucau ccucgugcc auagcuguag | 2340 |
| ucauuuacac uuuuuugauc uauacucgac agcggcguuu gugcacgcag ccgucgaga | 2400 |
| accucuucc cuaucuggug uccgccgacg ggaccaccgu gacgucgggc agcaccaaag | 2460 |
| acacgucguu acaggcuccg ccuuccuacg aggaaagugu uuuaauucu ggucgcaaag | 2520 |
| gaccgggacc accgucgucu gaugcaucca cggcggcucc gccuuacacc aacgagcagg | 2580 |
| cuuaccagau gcuucuggcc cuggcccugc uggacgcaga gcagcgagcg cagcagaacg | 2640 |
| guacagauuc uuuggacgga cggacuggca cgcaggacia gggacagaag cccaaccuac | 2700 |
| uagaccgacu gcgacaucgc aaaaacggcu accgacacuu gaaagacucu gacgaagaag | 2760 |
| agaacgucug auaaauaggcu ggagccucgg uggccaugcu ucuugcccu ugggccuccc | 2820 |
| cccagecccu ccucccuc cugcacccgu acccccugg ucuuugaaua aagucugagu | 2880 |
| gggcggc | 2887 |
| <210> 2 | |
| <211> 679 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> Synthetic | |
| <400> 2 | |
| gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaaag agccaccaug agucccaaag | 60 |
| aucugacgcc guuuugacg gcguuguggc ugcuuuggg ucacagccgc gugcccgagg | 120 |

ugcgcgcaga agaauugu gcgcauuaa acgucaacca cccgccggaa cgcuguuacg 180
 auuucaaaa gugcaaucg uucaccgucg cgcugcggug uccggacggc gaagucugcu 240
 acaguccga gaaaacggcu gagauucgcg ggauugucac caccaugacc cauucauuga 300
 cacgccaggu cguacacaac aaacugacga gcugcaacua caauccguua uaccucgaag 360
 cugacgggcg aaauacgucg ggcaaaguaa acgacaaggc gcaguaccug cugggcgccc 420

 cuggcagcgu ucccuauca uggaucuauc uggaauacga caagauaacc cggaucgugg 480
 gccuggauca guaccuggag agcguuaaga aacacaaacg gcuggaugug ugccgcgcu 540
 aaaugggcu uaucugcag ugauauagg cuggagccuc gguggccaug cuucuugccc 600
 cuugggccuc cccccagccc cuccucccu uccugcacc guacccccgu ggucuuugaa 660
 uaaagucuga gugggcggc 679

 <210> 3
 <211> 808
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 3
 gggaaaauag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccaccaug cugcggcuuc 60

 ugcuuugcu ccacuuucac ugccugcuuc ugugcgcggu uugggcaacg cccugucugg 120
 cgucuccgug gucgacgcu acagcaaacc agaauccguc cccgccaug ucuaaacuga 180
 cguauuccaa accgcaugac gcggcgacgu uuuaucugucc uuucucua cccucgcccc 240
 cacgaucucc cuugcaauuc ucgggguucc agcggguauc aacgggucc gagugucgca 300
 acgagaccu guaucugcug uacaaccggg aaggccagac cuugguggag agaagcucca 360
 ccugggguaa aaaggugauc ugguaccuga gcggucggaa ccaaaccauc cuccaacgga 420
 ugccccgaac ggcucgaaa ccgagcgacg gaaacugca gaucagcug gaagacgcca 480

 agauuuuugg agcgcacaug gugcccaagc agaccaagcu gcuacgcuuc gucgucaacg 540
 auggcacacg uuaucaaug ugugugauga agcuggagag cugggcucac gucuuccggg 600
 acuacagcgu gucuuuucag gugcgauga cguuaccga ggccaauaac cagacuuaca 660
 ccuucugc ccaucccau cucaucguuu gauauaggc uggagccuc guggccaugc 720
 uucuugcccc uugggccucc ccccagcccc uccucccuu ccugcaccg uacccccgug 780
 gucuuugaau aaagucugag ugggcggc 808

 <210> 4
 <211> 553

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 4

gggaaaauag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccaccaug cggcuguguc 60
 ggguguggcu gucuguuugu cugugcgccg uggugcuggg ucagugccag cgggaaaccg 120
 cggaaaagaa cgauuuuac cgaguaccgc auuacuggga cgcgugcucu gcgcgcugc 180
 ccgaccaaac ccguuacaag uauguggaac agcucgugga ccucacguug aacuaccacu 240
 acgaugcgag ccacggcuug gacaacuuug acgugcucua gagaaauaac gugaccgagg 300
 ugucguugcu caucagcgac uuuagacguc agaaccgucg cggcggcacc acaaaaagga 360
 ccacguucaa cgccgccggu ucgcuggcgc cacacgcccg gagccucgag uucagecugc 420

 ggcucuugc caacugauaa uaggcuggag ccucgguggc caugcuucu gccccuuggg 480
 ccucceccca gcccuccuc ccuuccugc acccguaacc cgguggucu ugaauaaagu 540
 cugagugggc ggc 553

<210> 5

<211> 2392

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 5

gggaaaauag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccaccaug cggccaggcc 60
 uccccuccua ccucaucauc cugcggucu gucucuucag ccaccuacu ucgucacgau 120
 auggcgcaga agccguaacc gaaccgcugg acaaagcguu ucaccuacug cucaacaccu 180

 acgggagacc cauccgcuuc cugcuguaaa auaccacca guguaccuac aacagcagcc 240
 uccguaacag cacggucguc agggaaaacg ccaucaguuu caacuucuuc caaagcuaua 300
 aucaauacia uguauuccau augccucgau gucucuugc ggguccucug gcggagcagu 360
 uucugaacca gguagaucug accgaaacc uggaagaua ccaacagaga cuuaacacu 420
 acgcgcuggu auccaaagac cuggccagcu accgaucuuu cugcagcag cuaaaggcac 480
 aagacagccu aggugaacag cccaccacug ugccaccgcc cauugaccug ucaauaccuc 540
 acguuuggau gccaccgcaa accacuccac acggcuggac agaauacau accaccucag 600

 gacuacaccg accacacuuu aaccagaccu guauccucu ugauggacac gaucuacuau 660

ucagcaccgu cacaccuugu uugcaccaag gcuuuuaccu caucgacgaa cuacguuacg 720
 uuaaaaaaac acugaccgag gacuucuucg uaguuuacggu guccauagac gacgacacac 780
 ccaugcugcu uaucuucggc caucuuccac gcguacuuuu caaagcgccc uaucaacgcg 840
 acaacuuuau acuacgacaa acugagaaac acgagcuccu ggugcuaguu aagaaagauc 900
 aacugaaccg ucacucuauu cucaaagacc cggacuuiuuc ugacgccgca cuugacuua 960
 acuaccuaga ccucagcgca cuacuacgua acagcuuuca ccguuacgcc guggauguac 1020

ucaagagcgg ucgaugucag augcuggacc gccgcacggu agaaauggcc uucgccuacg 1080
 cauuagcacu guucgcagca gcccgacaag aagaggcgg cgccaaguc uccguccac 1140
 gggcccuaga ccgccaggcc gcacucuuc aaauacaaga auuuauauc accugccucu 1200
 cacaacacc accacgcacc acguugcugc uguauccac ggccguggac cuggccaaac 1260
 gagcccuug gacaccgaau cagaucaccg acaucaccag ccucguacgc cuggucuaca 1320
 uacucucuaa acagaucag caaacucua uccccaaug ggacacuacga cagaucgccg 1380
 acuuugcccu aaaacuacac aaaacgcacc uggccucuuu ucuuucagcc uucgcacgcc 1440

aagaacucua ccucauggg agccucgucc acuccaugcu gguacauacg acggagagac 1500
 gcgaaaucuu caucguagaa acgggccucu guucauuggc cgagcuauca cacuuuacgc 1560
 aguuguuagc ucauccacac cacgaauacc ucagcgaccu guacacacc uguuccagua 1620
 gcgggcgacg cgauacucg cucgaacgcc ucacgcgucu cuccccgau gccaccgucc 1680
 ccgcuaccgu ucccgccgcc cucuccauc uaucuaccu gcaaccaagc acgcuggaaa 1740
 ccuucccgca ccuguuuugc uugccgcugc gcgaaucuu cuccgcgug accgucuccg 1800
 aacacgucag uuauaucgua acaaaccagu accugauca agguaucucc uaccugucu 1860

ccaccaccgu cguaggccag agccucaua ucaccagac ggacagucua acuaaaugcg 1920
 aacugacgcg caaauagcau accacacaca gcaucacagu ggcgcucaac auuucguag 1980
 aaaacugcgc cuuuugccaa agcgccucg uagaauacga cgacacgcaa ggcgucua 2040
 acaucaugua caugcagcag ucggacgacg uccuuuucg ccuggaucce uacaacgaag 2100
 ugguggucuc aucuccgca acucacuacc ucaugcuuuu gaagaacggu acgguacuag 2160
 aaguaacuga cgucgucgug gacgccaccg acagucgucu ccucaugaug uccgucucg 2220
 cgcuauccg caucaucggc aucaucugc ucuaccgcau gcucaagaca ugcugauuu 2280

aggcuggagc cucgguggcc augcuucuug ccccuugggc cccccccag cccuccucc 2340
 ccuuccgca cccguacccc cguggucuuu gaauaaaguc ugaguggcg gc 2392

<210> 6

<211> 1000

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 6

```

gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaaag agccaccaug ugccgccgcc      60
cggauugcgg cuucucuuuc ucaccuggac cggugauacu gcuguggugu ugccuucugc      120
ugcccuuugu uuccucagcc gccgucagcg ucgcucacuac cgccgccgag aaaguccccg      180
cggagugccc cgaacuaacg cgccgaugcu uguuggguga gguguuugag ggugacaagu      240

augaaaguug gcugcgcccg uuggugaaug uuaccgggcg cgauggcccg cuaucgcaac      300
uuauccguua ccgucuccuu acgccggagg ccgccaacuc cgugcuguug gacgaggcuu      360
uccuggacac ucuggcccgug cuguacaaca auccggauca auugcgggcc cugcugacgc      420
uguugagcuc ggacacagcg ccgcgugga ugacggugau gcgcggcuac agcgagugcg      480
gcgauggcuc gccggccgug uacacgugcg uggacgaccu gugccgcggc uacgaccuca      540
cgcgacuguc auacgggagc agcaucuua cggaacacgu guuaggcuuc gacguggugc      600
caccgucucu cuuaaacgug gugguggcca uacgcaacga agccacgcgu accaaccgag      660

ccgugcgucu gcccugagc accgucgccc cgcccagggg caucacgcuc uuuuacggcc      720
uguacaacgc agugaaggaa uucugccugc gucaccagcu ggacccgccg cugcuacgcc      780
accuagauaa auacuagccc ggacugcccg ccgagcugaa gcagacgcgc gucaaccugc      840
cggcucacuc gcgcuauggc ccucaagcag uggauugcug cugauaaauag gcuggagccu      900
cgguggccau gcuucuuggc ccuugggccc cccccagcc ccuccucucc uuccugcacc      960
cguacccccg uggucuuga auaagucug agugggcggc      1000

```

<210> 7

<211> 2721

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

```

auggaaucca ggauucggug ccugguaguc ugcguuaacu uguguaucgu cugucugggu      60
gcugcgguuu ccucaucuuc uacucgugga acuucugcua cucacaguca ccuauccucu      120
cauacgacgu cugcugcua cucucgauc gguucagucu cucaacgcgu aacuucucc      180
caaacgguca gccauuggugu uaacgagacc aucaacaaca cuaccucuaa guacggagau      240
gugguggggg ucaauaccac caaguacccc uaucgcgugu guucuauggc ccaggguacg      300

```

gaucuuuuuc gcuuugaacg uaauaucguc ugcaccucga ugaagcccau caaugaagac 360
 cuggacgagg gcaucauggu ggucuacaaa cgcaacaucg ucgcgcacac cuuuuaggua 420

 cgagucuacc agaagguuuu gacguuucgu cguagcuacg cuuacaucca caccacuauu 480
 cugcugggca gcaacacgga auacguggcg ccuccuaugu gggagauuca ucuaucacac 540
 agccacaguc agugcuacag uuccuacagc cgcguuuuag caggcacggu uuucguggcu 600
 uaucuaggg acagcuauga aaacaaaacc augcauuuaa ugcccgcgca uuauccaac 660
 acccacagua cccguuacgu gacggucaag gaucaauggc acagccgcgg cagcaccugg 720
 cucuauugug agaccguuaa ucugaauugu auggugacca ucacuacugc gcgcuccaaa 780
 uauccuuuac auuuuuucgc cacuuccacg ggugacgugg uugacauuuc uccuuucac 840

 aacggaacca aucgcaaugc cagcuacuuu ggagaaaacg cgcacaaguu uuucuuuuu 900
 ccgaacuaca cuaucgucuc cgacuuugga agaccgaauu cugcguuaga gaccacagg 960
 uugguggcuu uucugaacg ugcggacucg gugaucuccu gggauauaca ggacgaaaag 1020
 aaugucacuu gucaacucac uuucugggaa gccucggaac gcaccuuucg uuccgaagcc 1080
 gaggacucgu aucacuuuuc uucgccaaa augaccgcca cuuucuuuac uaagaagcaa 1140
 gagguagaaca uguccgacuc ugcgcuggac ugcguacgug augaggcuau aaauaaguua 1200
 cagcagauuu ucaauacuuc auacaaucaa acauaugaaa aaauaggaaa cguguccguc 1260

 uuugaaacca cugguguuu gguaguguuc ugcaaggua ucaagcaaaa aucucuggug 1320
 gaacucgaac guuugccaa cgcguccagu cugaaucuua cucauauuag aaccaaaga 1380
 aguacagaug gcaacaaugc aacucauuua uccaacaugg aaucggugca caaucugguc 1440
 uacgcccagc ugcaguucac cuaugacacg uugcgcgguu acaucaaccg ggcgucggcg 1500
 caaaucgagc aagccuggug uguggaucua cggcgacacc uagaggucuu caaggaacuc 1560
 agcaagauca acccgucagc cauucucucg gccauuuaca acaaaccgau ugccgcgcu 1620
 uucaugggug augucuuggg ccuggccagc ugcgugacca ucaaccaaac cagcgucaag 1680

 gugcugcgug auaugaacgu gaaggagucg ccaggacgcu gcuacucacg acccgugguc 1740
 aucuuuuuu ucgccaacag cucguacgug caguacgguc aacugggcga ggacaacgaa 1800
 auccguugg gcaaccaccg cacugaggaa ugucagcuuc ccagccuaa gaucuuacuc 1860
 gccgggaacu cggccuacga guacguggac uaccucuua aacgcaugau ugaccucagc 1920
 aguauccca ccgucgacag caugaucgcc cuggauaucg acccgugga aaauaccgac 1980
 uucaggguac uggaacuuua cucgcagaaa gagcugcguu ccagcaacgu uuugaccuc 2040

gaagagauca ugcgcgaauu caacucguac aagcagcggg uaaaguacgu ggaggacaag 2100

guagucgacc cgcuaaccgcc cuaccucaag ggucuggacg accucaugag cggccugggc 2160

gccgcgggaa aggccguugg cguagccauu ggggccgugg guggcgcggu ggccuccgug 2220

gucgaaggcg uugccacuu ccucaaaaac cccuucggag cguucaccu cauccucgug 2280

gccauagcug uagucauuu cacuuuuuug aucuauacuc gacagcggcg uuugucacg 2340

cagccgcugc agaaccuuu ucccuaucug guguccgccg acgggaccac cgugacgucg 2400

ggcagcacca aagacacguc guuacaggcu ccgccuuccu acgaggaaag uguuuauau 2460

ucuggucgca aaggaccggg accaccgucg ucugaugcau ccacggcggc uccgccuuac 2520

accaacgagc aggcuuacca gaugcuucug gccucggccc gucuggacgc agagcagcga 2580

gcgcagcaga acgguacaga uucuuuggac ggacggacug gcacgcagga caagggacag 2640

aagcccaacc uacuagaccg acugcgacau cgcaaaaacg gcuaccgaca cuugaaagac 2700

ucugacgaag aagagaacgu c 2721

<210> 8

<211> 513

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

augagucca aagaucugac gccguucuug acggcguugu ggcugcuauu gggucacagc 60

cgcgugccgc gggugcgcgc agaagaauu ugcgaauuca uaaacgucaa ccacccgccg 120

gaacgcuguu acgauuucaa aaugugcaau cgcuuaccg ucgcgcugcg guguccggac 180

ggcgaagucu gcuacagucc cgagaaaacg gcugagauuc gcgggaucgu caccaccaug 240

acccauuc auuacacgca ggucguacac acaaacuga cgagcugcaa cuacaauccg 300

uuauaccucg aagcugacgg gcgaauacgc ugcggcaaag uaaacgacaa ggcgcaguac 360

cugcugggcg ccgucggcag cguuccuau cgauggauca aucuggaaua cgacaagaua 420

acccggaucg ugggccugga ucaguaccug gagagcguua agaaacacaa acggcuggau 480

gugugccgcg cuaaauggg cuauaugcug cag 513

<210> 9

<211> 642

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

augcugcggc uucugcuucg ucaccacuuu cacugccugc uucugugcgc gguuugggca 60
 acgcccuguc uggcgucucc guggucgacg cuaacagcaa accagaaucg guccccgcca 120
 uggucuaaac ugacguauuc caaacgcgau gacgcggcga cguuuuacug uccuuuucuc 180
 uaucccugc ccccacgauc ccccuugcaa uucucggggu uccagcgggu aucaacgggu 240
 cccgaguguc gcaacgagac ccuguauucg cuguacaacc ggaagggcca gaccuuggug 300
 gagagaagcu ccaccugggu gaaaaggug aucugguacc ugagcggucg gaaccaaacc 360

auccuccaac ggaugccccg aacggcuucg aaaccgagcg acggaaacgu gcagaucagc 420
 guggaagacg ccaagauuuu uggagcgac auggugcca agcagaccaa gcugcuacgc 480
 uucgucguca acgauggcac acguuauucg auguguguga ugaagcugga gacugggcu 540
 cacgucucc gggacuacag cgugucuuu caggugcgau ugacguuac cgaggccaau 600
 aaccagacu acaccuucg cacccaucc aaucucaucg uu 642

<210> 10

<211> 387

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

augcggcugu gucgggugug gcugucuguu ugucugugcg ccguggugcu gggucagugc 60
 cagcgggaaa ccgcggaaaa gaacgauuau uaccgaguac cgcauuacug ggacgcgugc 120
 ucucgcgcgc ugcccgacca aaccgguuac aaguauggg aacagcucgu ggaccucacg 180
 uugaacuacc acuacgaugc gagccacggc uuggacaacu uugacgugcu caagagaauc 240
 aacgugaccg aggugucguu gcucaucagc gacuuuagac gucagaaccg ucgcggcggc 300
 accaacaataa ggaccacguu caacgccgc gguucgucgg cgccacacgc cggagaccuc 360
 gaguucagcg ugcggcucuu ugccaac 387

<210> 11

<211> 2226

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 11

augcgccag gccuccuc cuaccucauc auccucgccg ucugucucu cagccaccua 60
 cuuucgucac gauauggcg agaagccgua uccgaaccgc uggacaaagc guuucaccua 120
 cugcucaaca ccuacgggag acccauccgc uuccugcgug aaaaauaccac ccaguguacc 180
 uacaacagca gccuccguaa cagcacgguc gucagggaaa acgccaucag uuuaacuuc 240
 uucaaagcu auaaucaua cuauguauuc cauaugccuc gaugucucu ugcgggucuu 300
 cuggcggagc aguuucugaa ccagguagau cugaccgaaa ccuggaaag auaccaacag 360
 agacuuaaca cuuacgcgcu gguaucmeta gaccuggcca gcuaccgauc uuucucgag 420

 cagcuaaagg cacaagacag ccuaggugaa cagcccacca cugugccacc gcccauugac 480
 cugucaauac cucacguuug gaugeccaccg caaaccacuc cacacggcug gacagaauc 540
 cauaccaccu caggacuaca ccgaccacac uuuaaccaga ccuguaucuu cuuugaugga 600
 cagcaucac uauucagcac cgucacaccu uguuugcacc aaggcuuuu ccuacucgac 660
 gaacuacguu acguaaaaa aacacugacc gaggacuuc ucguaguua gguguccaua 720
 gacgacgaca caccaugcu gcuuauuc ggccaucuu cacgcguacu uuucaaagcg 780
 ccuaucaac gcgacaacuu uauacuacga caaacugaga aacacgagcu ccuggugua 840

 guuaagaaag aucaacugaa ccgucacucu uaucucaaag acccggacuu ucuugacgcc 900
 gcacuugacu ucaacuaccu agaccucagc gcacuacuac gaaacagcu ucaccguuac 960
 gccguggaug uacucaagag cggucgaugu cagaugcugg accgccgcac gguagaaug 1020
 gccuucgcu acgcauuagc acuguucgca gcagcccgc aagaagagc cggcgccca 1080
 gucuccgucc cacgggccc agaccgccag gccgcacucu uacaaauaca agaauuuug 1140
 aucaccugcc ucucacaaac accaccagc accacguugc ugcuguaucc cacggccgug 1200
 gaccuggcca aacgagccu uuggacaccg aaucagauca ccgacaucac cagccucua 1260

 cgccuggucu acauacuc uaaacagaau cagcaaacu ucaucccca augggacua 1320
 cgacagauc cgcacuugc ccuaaaacua caaaaacgc accuggccuc uuuuuuua 1380
 gccuucgac gccagaacu cuaccucaug ggcagccucg uccacuccau gcugguacu 1440
 acgacggaga gacgcgaaau cuuacucgua gaaacgggcc ucuguuauu ggccgagcu 1500
 ucacacuuu cgcaguugu agcuauca caccacgaa accucagcga ccuguacaca 1560
 ccuguuua guagcggcg acgcgauc ucgucgaac gccucagcg ucucuuccc 1620
 gaugccaccg uccccguac cguueccgc gccucucca uccuauuc caugcaacca 1680

 agcacgcug aaaccuucc cgaccuuuu ugcuugccgc ucggcgauc cuucuccgcg 1740
 cugaccguc ccgaacagc caguuaaua gaaacaaacc aguaccugau caaagguauc 1800
 uccuaccug ucuccaccac cgucguaggc cagagccua ucaucacca gacggacagu 1860

caaacuaau gcgaacugac gcgcaacaug cauaccacac acagcaucac aguggcguc 1920
 aacauuucg uagaaaacug cgccuuuugc caaagcgccc ugcuaagaaua cgacgacacg 1980
 caaggcguca ucaacaucan guacaugcac gacucggacg acguccuuuu cgcccuggau 2040
 ccuacaacg aagugguggu cucaucuccg cgaacucacu accucaugcu uuugaagaac 2100

 gguacgguac uagaaguaac ugacugcugc guggacgcca ccgacagucg ucuccucaug 2160
 augucgguu acgcgcuauc ggccaucauc ggcaucuauc ugcucuaccg caugcucaag 2220
 acaugc 2226
 <210> 12
 <211> 834
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 12
 augugccgc gcccgauug cggcuucucu uucucaccug gaccggugau acugcugugg 60
 uguugccuuc ugcugccau uguuuucca gccgccguca gcgucguc uaccgccgc 120
 gagaaagucc ccgcgagug ccccgaacua acgcccgau gcuuguuggg ugagguguu 180

 gagggugaca aguauaaa uuggcugcgc ccguugguga auguuaccgg gcgcgauggc 240
 ccgcuauvc aacuuauccg uuaccgucc guuacgccgg aggccgcaa cuccgugcug 300
 uuggacgagg cuuuccugga cacucuggcc cugcuguaca acauaccgga ucaauvcgg 360
 gccucguga cgcuguugag cucggacaca gcgccgcgu ggauvcggu gaugcvcggc 420
 uacagcgagu gcggcgaugg cucgccgcc guguacacgu gcguggacga ccugvcgc 480
 ggcuacgacc ucacvcgacu gucauvcggg cgcagcauc ucacggaaca cguguuvcg 540
 uucgagvcg ugccaccguc ucucuuaac gugguggugg ccuvcgcaa cgaagccacg 600

 cguaccaacc gcgccgvcg ucugcccgug agcaccvcg ccgccccga gggcaucacg 660
 cucuuuvcg gccguacaa cgcagugaag gaauvcgccc ugcgucacca gcuggaccvcg 720
 ccgvcgucac gccaccuaga uaaauvcuac gccggacvcg cccccgvcg gaagcagvcg 780
 cgcgucaacc ugccggcuca cucvcgcuau ggcccuaag caguggauc vcg 834
 <210> 13
 <211> 47
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 13
 gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccacc 47

<210> 14
 <211> 119
 <
 212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 14
 ugauaaauagg cuggagccuc gguggccaug cuucuugccc cuugggccuc cccccagccc 60
 cuccucccu uccugcacc guacccccgu ggucuuugaa uaaagucuga gugggcggc 119

<210> 15
 <211> 907
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 15
 Met Glu Ser Arg Ile Trp Cys Leu Val Val Cys Val Asn Leu Cys Ile
 1 5 10 15
 Val Cys Leu Gly Ala Ala Val Ser Ser Ser Ser Thr Arg Gly Thr Ser
 20 25 30
 Ala Thr His Ser His His Ser Ser His Thr Thr Ser Ala Ala His Ser
 35 40 45
 Arg Ser Gly Ser Val Ser Gln Arg Val Thr Ser Ser Gln Thr Val Ser
 50 55 60
 His Gly Val Asn Glu Thr Ile Tyr Asn Thr Thr Leu Lys Tyr Gly Asp
 65 70 75 80
 Val Val Gly Val Asn Thr Thr Lys Tyr Pro Tyr Arg Val Cys Ser Met
 85 90 95
 Ala Gln Gly Thr Asp Leu Ile Arg Phe Glu Arg Asn Ile Val Cys Thr
 100 105 110
 Ser Met Lys Pro Ile Asn Glu Asp Leu Asp Glu Gly Ile Met Val Val
 115 120 125

Tyr Lys Arg Asn Ile Val Ala His Thr Phe Lys Val Arg Val Tyr Gln
 130 135 140
 Lys Val Leu Thr Phe Arg Arg Ser Tyr Ala Tyr Ile His Thr Thr Tyr
 145 150 155 160
 Leu Leu Gly Ser Asn Thr Glu Tyr Val Ala Pro Pro Met Trp Glu Ile
 165 170 175
 His His Ile Asn Ser His Ser Gln Cys Tyr Ser Ser Tyr Ser Arg Val
 180 185 190
 Ile Ala Gly Thr Val Phe Val Ala Tyr His Arg Asp Ser Tyr Glu Asn
 195 200 205
 Lys Thr Met Gln Leu Met Pro Asp Asp Tyr Ser Asn Thr His Ser Thr
 210 215 220
 Arg Tyr Val Thr Val Lys Asp Gln Trp His Ser Arg Gly Ser Thr Trp
 225 230 235 240
 Leu Tyr Arg Glu Thr Cys Asn Leu Asn Cys Met Val Thr Ile Thr Thr
 245 250 255
 Ala Arg Ser Lys Tyr Pro Tyr His Phe Phe Ala Thr Ser Thr Gly Asp
 260 265 270
 Val Val Asp Ile Ser Pro Phe Tyr Asn Gly Thr Asn Arg Asn Ala Ser
 275 280 285
 Tyr Phe Gly Glu Asn Ala Asp Lys Phe Phe Ile Phe Pro Asn Tyr Thr
 290 295 300
 Ile Val Ser Asp Phe Gly Arg Pro Asn Ser Ala Leu Glu Thr His Arg
 305 310 315 320
 Leu Val Ala Phe Leu Glu Arg Ala Asp Ser Val Ile Ser Trp Asp Ile
 325 330 335
 Gln Asp Glu Lys Asn Val Thr Cys Gln Leu Thr Phe Trp Glu Ala Ser
 340 345 350
 Glu Arg Thr Ile Arg Ser Glu Ala Glu Asp Ser Tyr His Phe Ser Ser
 355 360 365
 Ala Lys Met Thr Ala Thr Phe Leu Ser Lys Lys Gln Glu Val Asn Met

165 170

<210> 17
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 17

Met Leu Arg Leu Leu Leu Arg His His Phe His Cys Leu Leu Leu Cys

1 5 10 15
 Ala Val Trp Ala Thr Pro Cys Leu Ala Ser Pro Trp Ser Thr Leu Thr

20 25 30
 Ala Asn Gln Asn Pro Ser Pro Pro Trp Ser Lys Leu Thr Tyr Ser Lys

35 40 45
 Pro His Asp Ala Ala Thr Phe Tyr Cys Pro Phe Leu Tyr Pro Ser Pro

50 55 60
 Pro Arg Ser Pro Leu Gln Phe Ser Gly Phe Gln Arg Val Ser Thr Gly

65 70 75 80
 Pro Glu Cys Arg Asn Glu Thr Leu Tyr Leu Leu Tyr Asn Arg Glu Gly

85 90 95
 Gln Thr Leu Val Glu Arg Ser Ser Thr Trp Val Lys Lys Val Ile Trp

100 105 110
 Tyr Leu Ser Gly Arg Asn Gln Thr Ile Leu Gln Arg Met Pro Arg Thr

115 120 125
 Ala Ser Lys Pro Ser Asp Gly Asn Val Gln Ile Ser Val Glu Asp Ala

130 135 140
 Lys Ile Phe Gly Ala His Met Val Pro Lys Gln Thr Lys Leu Leu Arg

145 150 155 160
 Phe Val Val Asn Asp Gly Thr Arg Tyr Gln Met Cys Val Met Lys Leu

165 170 175
 Glu Ser Trp Ala His Val Phe Arg Asp Tyr Ser Val Ser Phe Gln Val

180 185 190

Arg Leu Thr Phe Thr Glu Ala Asn Asn Gln Thr Tyr Thr Phe Cys Thr

195 200 205

His Pro Asn Leu Ile Val

210

<210> 18

<211> 129

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

Met Arg Leu Cys Arg Val Trp Leu Ser Val Cys Leu Cys Ala Val Val

1 5 10 15

Leu Gly Gln Cys Gln Arg Glu Thr Ala Glu Lys Asn Asp Tyr Tyr Arg

20 25 30

Val Pro His Tyr Trp Asp Ala Cys Ser Arg Ala Leu Pro Asp Gln Thr

35 40 45

Arg Tyr Lys Tyr Val Glu Gln Leu Val Asp Leu Thr Leu Asn Tyr His

50 55 60

Tyr Asp Ala Ser His Gly Leu Asp Asn Phe Asp Val Leu Lys Arg Ile

65 70 75 80

Asn Val Thr Glu Val Ser Leu Leu Ile Ser Asp Phe Arg Arg Gln Asn

85 90 95

Arg Arg Gly Gly Thr Asn Lys Arg Thr Thr Phe Asn Ala Ala Gly Ser

100 105 110

Leu Ala Pro His Ala Arg Ser Leu Glu Phe Ser Val Arg Leu Phe Ala

115 120 125

Asn

<210> 19

<211> 742

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

Met Arg Pro Gly Leu Pro Ser Tyr Leu Ile Ile Leu Ala Val Cys Leu

1 5 10 15

Phe Ser His Leu Leu Ser Ser Arg Tyr Gly Ala Glu Ala Val Ser Glu

20 25 30

Pro Leu Asp Lys Ala Phe His Leu Leu Leu Asn Thr Tyr Gly Arg Pro

35 40 45

Ile Arg Phe Leu Arg Glu Asn Thr Thr Gln Cys Thr Tyr Asn Ser Ser

50 55 60

Leu Arg Asn Ser Thr Val Val Arg Glu Asn Ala Ile Ser Phe Asn Phe

65 70 75 80

Phe Gln Ser Tyr Asn Gln Tyr Tyr Val Phe His Met Pro Arg Cys Leu

85 90 95

Phe Ala Gly Pro Leu Ala Glu Gln Phe Leu Asn Gln Val Asp Leu Thr

100 105 110

Glu Thr Leu Glu Arg Tyr Gln Gln Arg Leu Asn Thr Tyr Ala Leu Val

115 120 125

Ser Lys Asp Leu Ala Ser Tyr Arg Ser Phe Ser Gln Gln Leu Lys Ala

130 135 140

Gln Asp Ser Leu Gly Glu Gln Pro Thr Thr Val Pro Pro Pro Ile Asp

145 150 155 160

Leu Ser Ile Pro His Val Trp Met Pro Pro Gln Thr Thr Pro His Gly

165 170 175

Trp Thr Glu Ser His Thr Thr Ser Gly Leu His Arg Pro His Phe Asn

180 185 190

Gln Thr Cys Ile Leu Phe Asp Gly His Asp Leu Leu Phe Ser Thr Val

195 200 205

Thr Pro Cys Leu His Gln Gly Phe Tyr Leu Ile Asp Glu Leu Arg Tyr

210 215 220

Val Lys Ile Thr Leu Thr Glu Asp Phe Phe Val Val Thr Val Ser Ile

225 230 235 240
 Asp Asp Asp Thr Pro Met Leu Leu Ile Phe Gly His Leu Pro Arg Val
 245 250 255
 Leu Phe Lys Ala Pro Tyr Gln Arg Asp Asn Phe Ile Leu Arg Gln Thr
 260 265 270
 Glu Lys His Glu Leu Leu Val Leu Val Lys Lys Asp Gln Leu Asn Arg

 275 280 285
 His Ser Tyr Leu Lys Asp Pro Asp Phe Leu Asp Ala Ala Leu Asp Phe
 290 295 300
 Asn Tyr Leu Asp Leu Ser Ala Leu Leu Arg Asn Ser Phe His Arg Tyr
 305 310 315 320
 Ala Val Asp Val Leu Lys Ser Gly Arg Cys Gln Met Leu Asp Arg Arg
 325 330 335
 Thr Val Glu Met Ala Phe Ala Tyr Ala Leu Ala Leu Phe Ala Ala Ala

 340 345 350
 Arg Gln Glu Glu Ala Gly Ala Gln Val Ser Val Pro Arg Ala Leu Asp
 355 360 365
 Arg Gln Ala Ala Leu Leu Gln Ile Gln Glu Phe Met Ile Thr Cys Leu
 370 375 380
 Ser Gln Thr Pro Pro Arg Thr Thr Leu Leu Leu Tyr Pro Thr Ala Val
 385 390 395 400
 Asp Leu Ala Lys Arg Ala Leu Trp Thr Pro Asn Gln Ile Thr Asp Ile

 405 410 415
 Thr Ser Leu Val Arg Leu Val Tyr Ile Leu Ser Lys Gln Asn Gln Gln
 420 425 430
 His Leu Ile Pro Gln Trp Ala Leu Arg Gln Ile Ala Asp Phe Ala Leu
 435 440 445
 Lys Leu His Lys Thr His Leu Ala Ser Phe Leu Ser Ala Phe Ala Arg
 450 455 460
 Gln Glu Leu Tyr Leu Met Gly Ser Leu Val His Ser Met Leu Val His

 465 470 475 480

Thr Thr Glu Arg Arg Glu Ile Phe Ile Val Glu Thr Gly Leu Cys Ser
 485 490 495
 Leu Ala Glu Leu Ser His Phe Thr Gln Leu Leu Ala His Pro His His
 500 505 510
 Glu Tyr Leu Ser Asp Leu Tyr Thr Pro Cys Ser Ser Ser Gly Arg Arg
 515 520 525
 Asp His Ser Leu Glu Arg Leu Thr Arg Leu Phe Pro Asp Ala Thr Val
 530 535 540
 Pro Ala Thr Val Pro Ala Ala Leu Ser Ile Leu Ser Thr Met Gln Pro
 545 550 555 560
 Ser Thr Leu Glu Thr Phe Pro Asp Leu Phe Cys Leu Pro Leu Gly Glu
 565 570 575
 Ser Phe Ser Ala Leu Thr Val Ser Glu His Val Ser Tyr Ile Val Thr
 580 585 590
 Asn Gln Tyr Leu Ile Lys Gly Ile Ser Tyr Pro Val Ser Thr Thr Val
 595 600 605
 Val Gly Gln Ser Leu Ile Ile Thr Gln Thr Asp Ser Gln Thr Lys Cys
 610 615 620
 Glu Leu Thr Arg Asn Met His Thr Thr His Ser Ile Thr Val Ala Leu
 625 630 635 640
 Asn Ile Ser Leu Glu Asn Cys Ala Phe Cys Gln Ser Ala Leu Leu Glu
 645 650 655
 Tyr Asp Asp Thr Gln Gly Val Ile Asn Ile Met Tyr Met His Asp Ser
 660 665 670
 Asp Asp Val Leu Phe Ala Leu Asp Pro Tyr Asn Glu Val Val Val Ser
 675 680 685
 Ser Pro Arg Thr His Tyr Leu Met Leu Leu Lys Asn Gly Thr Val Leu
 690 695 700
 Glu Val Thr Asp Val Val Val Asp Ala Thr Asp Ser Arg Leu Leu Met
 705 710 715 720
 Met Ser Val Tyr Ala Leu Ser Ala Ile Ile Gly Ile Tyr Leu Leu Tyr

<210> 23

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

gggauccuac c

11

<210> 24

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly

20

<210> 25

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

Met Asp Ser Lys Gly Ser Ser Gln Lys Gly Ser Arg Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Val Val Ser Asn Leu Leu Leu Pro Gln Gly Val Val Gly

20

25

30

<210> 26

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val

1 5 10 15

His Ser

<210> 27

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

Met Leu Gly Ser Asn Ser Gly Gln Arg Val Val Phe Thr Ile Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Val Ala Pro Ala Tyr Ser

20

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

Met Lys Cys Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Leu Phe Ile Gly Val Asn Cys

1 5 10 15

Ala

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

Met Trp Leu Val Ser Leu Ala Ile Val Thr Ala Cys Ala Gly Ala

1 5 10 15

<210> 30

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

ccrccaugg

9