

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-519599

(P2021-519599A)

(43) 公表日 令和3年8月12日 (2021.8.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/31 (2006.01)	C 1 2 N 15/31	4 C 0 7 6
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	Z N A 4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/62 (2017.01)	A 6 1 K 47/62	4 C 0 8 5
A 6 1 K 38/54 (2006.01)	A 6 1 K 38/54	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/7105 (2006.01)	A 6 1 K 31/7105	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 101 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2020-554527 (P2020-554527)
 (86) (22) 出願日 平成31年4月2日 (2019.4.2)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年11月20日 (2020.11.20)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/025367
 (87) 国際公開番号 W02019/195276
 (87) 国際公開日 令和1年10月10日 (2019.10.10)
 (31) 優先権主張番号 62/652, 210
 (32) 優先日 平成30年4月3日 (2018.4.3)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 504456798
 サノファイ
 S A N O F I
 フランス国、エフ - 7 5 0 0 8 ・ パリ、リ
 ュ・ラ・ボエティ・54
 54 rue La Boeétie,
 F-75008 Paris, France
 (74) 代理人 100127926
 弁理士 結田 純次
 (74) 代理人 100140132
 弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗原性 O S P A ポリペプチド

(57) 【要約】

本開示は、抗原性 O s p A ポリペプチド、および O s p A に対する抗体を誘発するためのその使用に関する。同様に、O s p A ポリペプチドおよびフェリチンタンパク質を含む抗原性ポリペプチドも開示する。

【選択図】 図 1 D

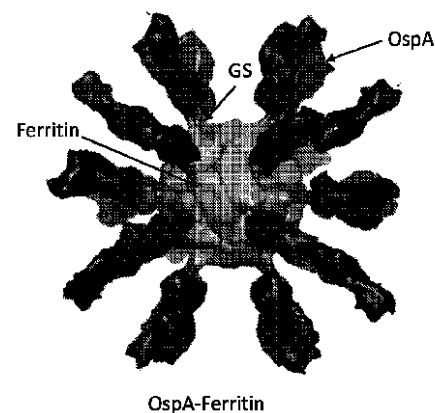


Fig. 1D

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ボレリア (*Borrelia*) の O s p A 血清型 1 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチドであって、配列番号 77 の配列を含まない前記抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 2】

膜貫通ドメインまたは膜貫通ドメインの一部を欠如する、請求項 1 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 3】

脂質付加されていない、請求項 1 または 2 のいずれかに記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。 10

【請求項 4】

配列番号 77 の配列と比較して少なくとも 1 つのアミノ酸置換が存在し、該置換が、配列番号 78 との同一性を低減させるか、または非保存的で配列番号 78 とのより高い同一性をもたらさない、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 5】

置換が、配列番号 78 との同一性を低減させる、請求項 4 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 6】

配列番号 77 のアミノ酸の 1 つまたはそれ以上が、非血清型 1 O s p A の対応するアミノ酸に置き換えられている、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。 20

【請求項 7】

非血清型 1 O s p A が血清型 2、3、4、5、6、または 7 O s p A である、請求項 6 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 8】

配列番号 77 のアミノ酸の各々が、血清型 2、3、4、5、6、または 7 O s p A の対応するアミノ酸に置き換えられている、請求項 6 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 9】

グリコシル化を低減または除去する改変をさらに含む、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。 30

【請求項 10】

改変が、少なくとも 1 つのアスパラギンの置換を含む、請求項 9 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 11】

少なくとも 1 つのアスパラギンが、O s p A 血清型 1 の N71、N190、N202、および N251 の任意の 1 つ、2 つ、3 つ、またはそれより多くを含む、請求項 10 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 12】

少なくとも 1 つのアスパラギンが、O s p A 血清型 1 の N71、N190、N202、および N251 を含む、請求項 11 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。 40

【請求項 13】

1 つまたはそれ以上のアスパラギンがグルタミンで置換されている、請求項 10 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 14】

N-グリコシル化部位を欠如する、請求項 10 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 15】

O s p A が、ボレリア・ブルグドルフェリ (*Borrelia burgdorferi*) 50

i)、ボレリア・マヨニイ (*Borrelia mayonii*)、ボレリア・アフゼリ (*Borrelia afzelii*)、ボレリア・ガリニ (*Borrelia garinii*)、またはボレリア・ババリエンス (*Borrelia bavarientis*) に由来する、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 16】

配列番号 1、3、4、または 53 のいずれか 1 つの配列と少なくとも 85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.5%、または 100% の同一性を有する配列を含む、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 17】

配列番号 1～10 または 12～76 のいずれか 1 つの配列を含む、請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 18】

O s p A エクトドメインを含む、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 19】

配列番号 94～102 のいずれか 1 つの配列と少なくとも 85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.5%、または 100% の同一性を有する配列を含む、請求項 1～18 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 20】

フェリチンタンパク質をさらに含む、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 21】

フェリチンが、表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異を含む、請求項 20 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 22】

O s p A ポリペプチドおよびフェリチンを含む抗原性 O s p A ポリペプチドであって、該フェリチンが、表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異を含む、前記抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 23】

フェリチンが、H. ピロリフェリチンの E12C、S26C、S72C、A75C、K79C、S100C、および S111C 変異の 1 つもしくはそれ以上、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非 H. ピロリフェリチンにおける 1 つもしくはそれ以上の対応する変異を含む、請求項 20～22 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 24】

表面に露出したアミノ酸を介してフェリチンに連結された 1 つまたはそれ以上の免疫刺激性部分を含み、場合により表面に露出した該アミノ酸が、変異によりもたらされるシステインである、請求項 20～23 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 25】

フェリチンが、表面に露出したアスパラギンを非アスパラギンアミノ酸に置き換える変異を含み、場合により該アスパラギンが、H. ピロリフェリチンの 19 位にあるか、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非 H. ピロリフェリチンにおける類似の位置にある、請求項 20～24 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 26】

フェリチンが、内部システインを非システインアミノ酸に置き換える変異を含み、場合により該内部システインが、H. ピロリフェリチンの 31 位にあるか、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非 H. ピロリフェリチンの 31 位に対応する位置にある、請求項 20～25 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド

10

20

30

40

50

。

【請求項 27】

フェリチン粒子であって、請求項 20～26 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドを含む前記フェリチン粒子。

【請求項 28】

ルマジンシンターゼタンパク質をさらに含む、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド。

【請求項 29】

ルマジンシンターゼ粒子であって、請求項 28 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドを含む前記ルマジンシンターゼ粒子。

10

【請求項 30】

組成物であって、請求項 1～29 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド、フェリチン粒子、またはルマジンシンターゼ粒子を含み、薬学的に許容される担体をさらに含む前記組成物。

【請求項 31】

アジュバントをさらに含み、場合により該アジュバントが A F 0 3 である、請求項 30 に記載の組成物。

【請求項 32】

第 1 および第 2 の抗原性 O s p A ポリペプチドを含み、該第 1 および第 2 の抗原性 O s p A ポリペプチドが、異なる血清型の O s p A ポリペプチドを含む、請求項 30 または 31 に記載の組成物。

20

【請求項 33】

O s p A 血清型 1 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 2 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 3 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 4 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 5 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 6 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 7 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド

から選択される 1、2、3、4、5、6、または 7 つの抗原性 O s p A ポリペプチドを含む、請求項 32 に記載の組成物。

30

【請求項 34】

O s p A 血清型 1 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 2 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 3 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 4 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 5 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 6 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド；

O s p A 血清型 7 ポリペプチドを含む抗原性 O s p A ポリペプチド

を含む、請求項 33 に記載の組成物。

40

【請求項 35】

ボレリアに対する免疫応答を誘発する方法またはライム病に対する対象の保護において使用するための、請求項 1～34 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、または組成物。

【請求項 36】

ボレリアに対する免疫応答を誘発する、またはライム病に対して対象を保護する方法であって、請求項 1～34 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、または組成物の任意の 1 つまたはそれ以上を対象に投与する工程を含む前記方法。

【請求項 37】

50

対象がヒトである、請求項 35 または 36 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、組成物、または方法。

【請求項 38】

場合により核酸が m R N A である、請求項 1 ～ 26 のいずれか 1 項に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドをコードする核酸。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、その全内容が参照によって本明細書に組み入れられる、2018 年 4 月 3 日に提出された米国仮特許出願第 62/652,210 号の優先権の利益を主張する。

10

【0002】

本出願は、配列表を含有し、それらは A S C I I フォーマットで電子提出されており、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。前記 A S C I I コピーは、2019 年 3 月 18 日に作成され、名称は 2019-03-18_01121-0033-00PCT_S L . t x t であり、サイズは 370,862 バイトである。

【背景技術】

【0003】

ワクチン学の分野での多くの成功にも関わらず、生命を脅かす多くの感染疾患からヒトを保護するために、新規打開策が必要である。現在認可されている多くのワクチンは、何十年も前の技術に依存して生弱毒化または不活化死菌ワクチンを産生しているが、これらは固有の安全性の懸念を有し、多くの場合、ごく短命な弱い免疫応答を刺激するに過ぎず、複数回用量の投与を必要とする。遺伝子工学および生化学工学の進歩により、難題である疾患標的に対する治療薬を開発することが可能となっているが、ワクチン学の分野へのこれらの応用は、まだ十分に実現されていない。組換えタンパク質技術により、現在では最適な抗原の設計が可能となっている。加えて、ナノ粒子は、最適な抗原提示および標的化薬物送達に関する潜在性をますます証明している。複数の抗原が結合したナノ粒子は、その分子積み荷を多価で呈示することによって与えられる結合アビディティの増加、およびその微視的サイズにより生物学的障壁をより効率的に通過する能力を有することが示されている。インフルエンザウイルス血液凝集素 (H A) タンパク質に融合したヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori* (H. pylori)) フェリチンナノ粒子は、マウスインフルエンザモデルにおいて抗原安定性の改善および免疫原性の増加を可能にした (非特許文献 1 を参照されたい)。この融合タンパク質は、8 面体の対称性ナノ粒子へと自己集合して 8 個の 3 量体 H A スパイク構造を提示し、アジュバントと共に使用する場合、様々な前臨床モデルにおいて強力な免疫応答を与える。

20

30

【0004】

ライムボレリア症は、ボレリア (*Borreli a*) 属の一部の細菌種によって引き起こされる人獣共通疾患であり、感染したマダニ (*Ixodes*) 種のダニに噛まれることによってヒトおよびイヌに伝播する。ライム病は、世界全体の公衆衛生問題であり、症例は、ヨーロッパ、北米、およびアジアに及ぶ温暖な気候で報告されている。ボレリアの外部表面タンパク質 A (O s p A) は、免疫応答を誘発する主要な抗原である。世界中でボレリアにおいて見出される O s p A の少なくとも 7 つの異なる血清型 (アイソタイプ 1 ～ 7) が存在する。ボレリアの異なる遺伝子種は世界中に存在し、そのため、1 つの遺伝子種に対する免疫は、同様にライムボレリア症を引き起こし得る他の細菌に対する免疫を付与しない。さらに、ボレリアを有するダニの範囲が地域に限定されることは、1 つの地理的地域における患者のライム病に関連する O s p A 血清型が、別の地理的地域における患者のライム病には関連しないことを意味する。

40

【0005】

本明細書において、O s p A ポリペプチドを伴う 1 組の新規ポリペプチド、ナノ粒子、組成物、方法、および使用を提示する。改変 O s p A ポリペプチドは、自己免疫反応を刺激するリスクが低減された、ボレリアによる感染症からの保護を提供するために開発され

50

た。さらに、アジュバントのような免疫刺激性部分が抗原性ポリペプチドに直接化学結合しているO s p Aポリペプチドおよびフェリチンを含む自己アジュバント性抗原性ポリペプチドを開発した。直接免疫刺激性部分を、抗原性ポリペプチドと直接コンジュゲートすると、免疫刺激性部分とO s p Aポリペプチドとを単一の高分子実体として標的化同時送達することが可能となり、これによって抗原およびアジュバントのような免疫刺激性部分を個別の分子として含む従来のワクチンに関して懸念される全身毒性の可能性を大きく減少させることができる。免疫刺激性部分をO s p Aポリペプチドと共に高分子実体として同時送達すること、およびそれが多価で提示されることもまた、保護を誘発するのに必要な全体的な用量を低減させ、製造負荷およびコストを低減させることができる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】K a n e k i y oら、N a t u r e 499:102~106頁(2013)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本開示の目的は、上記の利点の1つまたはそれ以上を提供することができる、または有用な選択を公共に少なくとも提供する組成物、キット、方法、および使用を提供することである。したがって、以下の実施形態が本明細書において提供される。

【課題を解決するための手段】

【0008】

実施形態1は、ボレリアのO s p A血清型1ポリペプチドを含む抗原性O s p Aポリペプチドであって、配列番号77の配列を含まない、抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0009】

実施形態2は、膜貫通ドメインまたは膜貫通ドメインの一部を欠如する、実施形態1に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0010】

実施形態3は、脂質付加されていない、実施形態1または2のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0011】

実施形態4は、配列番号77の配列と比較して少なくとも1つのアミノ酸置換が存在し、置換が配列番号78との同一性を低減させるか、または非保存的で配列番号78とのより高い同一性をもたらさない、実施形態1~3のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0012】

実施形態5は、置換が配列番号78との同一性を低減させる、実施形態4に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0013】

実施形態6は、配列番号77のアミノ酸の1つまたはそれ以上が、非血清型1 O s p Aの対応するアミノ酸に置き換えられている、実施形態1~5のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0014】

実施形態7は、非血清型1 O s p Aが、血清型2、3、4、5、6、または7 O s p Aである、実施形態6に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0015】

実施形態8は、配列番号77のアミノ酸の各々が、血清型2、3、4、5、6、または7 O s p Aの対応するアミノ酸に置き換えられている、実施形態6に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0016】

10

20

30

40

50

実施形態 9 は、グリコシル化を低減または除去する改変をさらに含む、実施形態 1 ～ 8 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0017】

実施形態 10 は、改変が、少なくとも 1 つのアスパラギンの置換を含む、実施形態 9 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0018】

実施形態 11 は、少なくとも 1 つのアスパラギンが、O s p A 血清型 1 の N 7 1、N 1 9 0、N 2 0 2、および N 2 5 1 のいずれか 1 つ、2 つ、3 つ、またはそれより多くを含む、実施形態 10 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0019】

実施形態 12 は、少なくとも 1 つのアスパラギンが、O s p A 血清型 1 の N 7 1、N 1 9 0、N 2 0 2、および N 2 5 1 を含む、実施形態 11 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0020】

実施形態 13 は、1 つまたはそれ以上のアスパラギンがグルタミンで置換される、実施形態 10 ～ 12 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0021】

実施形態 14 は、N-グリコシル化部位を欠如する、実施形態 10 ～ 13 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0022】

実施形態 15 は、O s p A がボレリア・ブルグドルフェリ (*Borrelia burgdorferi*)、ボレリア・マヨニイ (*Borrelia mayonii*)、ボレリア・アフゼリ (*Borrelia afzelii*)、ボレリア・ガリニ (*Borrelia garinii*)、またはボレリア・ババリエンシス (*Borrelia bavariensis*) に由来する、実施形態 1 ～ 14 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0023】

実施形態 16 は、配列番号 1、3、4、または 53 のいずれか 1 つの配列と少なくとも 85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.5%、または 100% の同一性を有する配列を含む、実施形態 1 ～ 15 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0024】

実施形態 17 は、配列番号 1 ～ 10 または 12 ～ 76 のいずれか 1 つの配列を含む、実施形態 1 ～ 16 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0025】

実施形態 18 は、O s p A エクトドメインを含む、実施形態 1 ～ 17 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0026】

実施形態 19 は、配列番号 94 ～ 102 のいずれか 1 つに記載の配列と少なくとも 85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.5%、または 100% の同一性を有する配列を含む、実施形態 1 ～ 18 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0027】

実施形態 20 は、フェリチンタンパク質をさらに含む、実施形態 1 ～ 19 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0028】

実施形態 21 は、フェリチンが表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異を含む、実施形態 20 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0029】

実施形態 22 は、O s p A ポリペプチドおよびフェリチンを含む抗原性 O s p A ポリペ

10

20

30

40

50

プチドであって、フェリチンが表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異を含む、抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0030】

実施形態23は、フェリチンが、H. ピロリフェリチンのE12C、S26C、S72C、A75C、K79C、S100C、およびS111C変異の1つもしくはそれ以上、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける1つもしくはそれ以上の対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0031】

実施形態24は、フェリチンが、H. ピロリフェリチンのE12C変異、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0032】

実施形態25は、フェリチンがH. ピロリフェリチンのS26C変異、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0033】

実施形態26は、フェリチンが、H. ピロリフェリチンのS72C変異、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0034】

実施形態27は、フェリチンが、H. ピロリフェリチンのA75C変異、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0035】

実施形態28は、フェリチンが、H. ピロリフェリチンのK79C変異、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0036】

実施形態29は、フェリチンが、H. ピロリフェリチンのS100C変異、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0037】

実施形態30は、フェリチンが、H. ピロリフェリチンのS111C変異、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非H. ピロリフェリチンにおける対応する変異を含む、実施形態20～22のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0038】

実施形態31は、表面に露出したアミノ酸を介してフェリチンに連結された1つまたはそれ以上の免疫刺激性部分を含み、場合により表面に露出したアミノ酸が、変異によりもたらされるシステインである、実施形態20～30のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0039】

実施形態31aは、免疫刺激性部分が、TLR2のアゴニストであり、場合によりアゴ

10

20

30

40

50

ニストが P A M 2 C S K 4、F S L-1、または P A M 3 C S K 4 である、抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0040】

実施形態 3 1 b は、免疫刺激性部分が T L R 7 / 8 のアゴニストであり、場合によりアゴニストが一本鎖 R N A、イミダゾキノリン、ヌクレオシドアナログ、3 M-0 1 2、または S M 7 / 8 a である、実施形態 3 1 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0041】

実施形態 3 1 c は、免疫刺激性部分が T L R 9 のアゴニストであり、場合によりアゴニストが、C p H オリゴデオキシヌクレオチド (O D N)、5' プリン (P u) - ピリミジン (P y) - C - G - P y - P u 3' を含む 1 つまたはそれ以上の 6 量体 C p G モチーフを含む O D N、配列番号 2 1 0 の配列を含む O D N、または I S S - 1 0 1 8 である、実施形態 3 1 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

10

【0042】

実施形態 3 1 d は、T L R 9 のアゴニストが、ホスホロチオエート結合を含む骨格を含む、実施形態 3 1 c に記載のフェリチンタンパク質である。

【0043】

実施形態 3 1 e は、免疫刺激性部分が S T I N G のアゴニストであり、場合によりアゴニストが、環状ジヌクレオチド (C D N)、c d A、c d G、c A M P - c G M P、および 2' - 5', 3' - 5' c G A M P、または D M X A A である、実施形態 3 1 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

20

【0044】

実施形態 3 2 は、フェリチンが表面に露出したアスパラギンを非アスパラギンアミノ酸に置き換える変異を含み、アスパラギンが H. ピロリフェリチンの 1 9 位、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、非 H. ピロリフェリチンの類似の位置にある、実施形態 2 0 ~ 3 1 e のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0045】

実施形態 3 3 は、フェリチンが、内部システインを非システインアミノ酸に置き換える変異を含み、場合により内部システインが、H. ピロリフェリチンの 3 1 位、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、H. ピロリフェリチンの 3 1 位に対応する位置にある、実施形態 2 0 ~ 3 2 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

30

【0046】

実施形態 3 4 は、O s p A ポリペプチドおよびフェリチンの間にペプチドリinkerを含む、実施形態 2 0 ~ 3 3 のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0047】

実施形態 3 5 は、ペプチドリinkerがフェリチンの N 末端側である、実施形態 3 4 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0048】

実施形態 3 5 a は、ペプチドリinkerがフェリチンの C 末端側である、実施形態 3 4 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

40

【0049】

実施形態 3 6 は、フェリチンが配列番号 2 0 1 ~ 2 0 7 または 2 1 1 ~ 2 1 5 のいずれか 1 つと 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 1 ~ 3 5 a のいずれか 1 つに記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

【0050】

実施形態 3 6 a は、配列番号 2 0 1 と 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 3 6 に記載の抗原性 O s p A ポリペプチドである。

50

【0051】

実施形態36bは、配列番号202と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0052】

実施形態36cは、配列番号203と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0053】

実施形態36dは、配列番号215と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

10

【0054】

実施形態36eは、配列番号204と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0055】

実施形態36fは、配列番号205と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

20

【0056】

実施形態36gは、配列番号206と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0057】

実施形態36hは、配列番号207と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0058】

実施形態36iは、配列番号211と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

30

【0059】

実施形態36jは、配列番号212と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0060】

実施形態36kは、配列番号213と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

40

【0061】

実施形態36lは、配列番号214と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態36に記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

【0062】

実施形態37は、実施形態20～36lのいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドを含むフェリチン粒子である。

【0063】

実施形態38は、ルマジシンターゼタンパク質をさらに含む、実施形態1～19のいずれか1つに記載の抗原性O s p Aポリペプチドである。

50

【0064】

実施形態39は、実施形態38に記載の抗原性OspAポリペプチドを含むルマジンシンターゼ粒子である。

【0065】

実施形態40は、抗原性OspAポリペプチド、フェリチン粒子、または実施形態1～39のいずれか1つに記載のルマジンシンターゼ粒子を含み、薬学的に許容される担体をさらに含む組成物である。

【0066】

実施形態41は、アジュバントをさらに含み、場合によりアジュバントがAF03である、実施形態40に記載の組成物である。

【0067】

実施形態42は、第1および第2の抗原性OspAポリペプチドを含み、第1および第2の抗原性OspAポリペプチドが、異なる血清型のOspAポリペプチドを含む、実施形態40または41に記載の組成物である。

【0068】

実施形態43は、OspA血清型1ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型2ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型3ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型4ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型5ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型6ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型7ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチドから選択される1、2、3、4、5、6、または7つの抗原性OspAポリペプチドを含む、実施形態42に記載の組成物である。

【0069】

実施形態44は、OspA血清型1ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型2ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型3ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型4ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型5ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型6ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチド；OspA血清型7ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチドを含む、実施形態43に記載の組成物である。

【0070】

実施形態45は、ボレリアに対する免疫応答を誘発する方法またはライム病に対する対象の保護において使用するための、実施形態1～44のいずれか1つに記載の抗原性OspAポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、または組成物である。

【0071】

実施形態46は、ボレリアに対する免疫応答を誘発する、またはライム病に対して対象を保護する方法であって、実施形態1～44のいずれか1つに記載の抗原性OspAポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、または組成物のいずれか1つまたはそれ以上を対象に投与する工程を含む方法である。

【0072】

実施形態47は、対象がヒトである、実施形態45～46のいずれか1つに記載の抗原性OspAポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、組成物、または方法である。

【0073】

実施形態47aは、対象が哺乳動物であり、場合により哺乳動物が霊長類または家畜哺乳動物であり、さらに場合により霊長類が非ヒト霊長類、サル、マカク、アカゲザル、またはカニクイザル、もしくは類人猿であり、または家畜哺乳動物がイヌ、ウサギ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ウシ、ヤギ、ラクダ、またはロバである、実施形態45～46のいずれか1つに記載の抗原性OspAポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、

10

20

30

40

50

組成物、または方法である。

【0074】

実施形態48は、実施形態1～44に記載の抗原性OspAポリペプチド、フェリチン粒子、ルマジンシンターゼ粒子、および組成物を含み、場合によりライム病に対して対象を免疫するために使用するための説明書を含むキットである。

【0075】

実施形態49は、場合により核酸がRNAである、実施形態1～361のいずれか1つに記載の抗原性OspAポリペプチドをコードする核酸である。

【0076】

追加の目的および利点は、以下の説明に部分的に記載され、部分的に説明から明白であり、または実践により学ぶことができるであろう。目的および利点は、添付の特許請求の範囲に特に指摘された要素および組合せによって実現および達成される。

【0077】

前述の一般的説明および以下の詳細な説明は、単なる例示および説明であり、特許請求の範囲を制限するものではない。

【0078】

本明細書に組み入れられ、本明細書の一部を構成する以下の図面は、いくつかの実施形態を例証し、説明と共に本明細書に記載する原理を説明するために役立つ。

【図面の簡単な説明】

【0079】

【図1A】OspA-フェリチンナノ粒子の例示的な設計を示す図である。図1A. フェリチンに遺伝的に融合したOspAは、融合タンパク質を形成する。OspAおよびフェリチン配列は、グリシン-セリンリンカー（-GS-）によって分離される。

【図1B】OspA-フェリチンナノ粒子の例示的な設計を示す図である。図1B. OspAのエクトドメインの構造を示す。OspAがフェリチンに結合しているC末端をアスタリスクで示す。

【図1C】OspA-フェリチンナノ粒子の例示的な設計を示す図である。図1C. H. ピロリフェリチンの24モノマーで構成される例示的なフェリチンナノ粒子。

【図1D】OspA-フェリチンナノ粒子の例示的な設計を示す図である。図1D. 例示的なOspA-フェリチン融合タンパク質ナノ粒子。フェリチン（薄灰色）、グリシン-セリンリンカー（GS）の位置、OspA（濃灰色および黒色）を示す（n：サブユニット数）。

【図2-1】図2A-2Dは、例示的なOspA-フェリチンの発現および精製を示す図である。図2A. Superose 6カラム上で精製された例示的なOspA-フェリチンナノ粒子のサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）プロファイル。図2B. Exp 293細胞由来の精製された例示的なOspA-フェリチンのSDS-PAGEゲル。図2C. 例示的なOspA-フェリチンナノ粒子の動的光散乱（DLS）プロファイル。半径は13nmであり、Pd%（標準化された多分散性の尺度）は7.4であり、質量は100%である。図2D. 67,000倍で318個の粒子の透過電子顕微鏡写真のクラス平均から構成された例示的なOspA-フェリチンの複合画像。フェリチンナノ粒子は、中空中心を有する強い円形密度として透過型電子顕微鏡上に現れる。各ナノ粒子は、環状またはわずかに長円形に見えるOspAに対応する多数の短い形状に囲まれている。

【図2-2】図2-1の続き。

【図2-3】図2-2の続き。

【図3A】大腸菌における代替血清型OspAナノ粒子の生成を示す図である。図3A. サイズ排除クロマトグラフィーにより精製したOspA-フェリチン血清型1～5および7のSDS-PAGEによる生化学分析。

【図3B】大腸菌における代替血清型OspAナノ粒子の生成を示す図である。図3B. OspA-フェリチン血清型1～5および7（98,000倍）の透過型電子顕微鏡検査。

10

20

30

40

50

【図 4】例示的な血清型 1 の O s p A-フェリチンナノ粒子の R E C O M B I T E K（登録商標）ライム（ボレリア・ブルグドルフェリ（*Borrelia burgdorferi*）の精製された外表面タンパク質 A（O s p A）の液体懸濁液）との免疫原性および期間の比較を示す図である。C 3 H マウス（ $n = 5$ ）に $1 \mu\text{g}$ の O s p A-フェリチン + R i b i アジュバント（S i g m a アジュバントシステム、カタログ番号 S 6 3 2 2 - 1 v l）または R E C O M B I T E K（登録商標）ライムを第 0 週および第 4 週に筋肉内に免疫した。抗体応答は、各組成物を用いて 2 回目の免疫（6 週目）の 2 週間後および 2 回目の免疫（25 週目）の 21 週間後に、E L I S A を介してエンドポイント力価を測定することにより評価された。

【図 5-1】図 5 A-5 C は、例示的な O s p A-フェリチンに関する情報を提供する図である。O s p A ポリペプチドは、ヒト白血球機能関連抗原-1（h L F A-1）の配列の断片と同一性を有する O s p A 血清型 1 のエピトープで修飾される。図 5 A. O s p A エクトドメイン内の L F A-1 相同部位（配列番号 83 のアミノ酸 165~173）の位置を示す構造。図 5 B. 配列番号 83（B. ブルドルフェリ血清型 1 の O s p A）の O s p A アミノ酸 165~173 と、h L F A-1 および他のボレリア属（*Borrelia*）種および血清型の対応する配列との関係を示す樹状図。図 5 C. 配列番号 83 のアミノ酸 165~173 における 9 アミノ酸セグメント（ノナペプチド）（「O s p A」と標識）を、血清型 2 および血清型 3 の O s p A 由来の対応するノナペプチド（それぞれ「S 2」（配列番号 79）および「S 3」（配列番号 80））、合理的に設計された置換ノナペプチド（「R D 2」、配列番号 81）、および h L F A-1 由来の対応するノナペプチド（配列番号 78）と比較する。図 5 C は、配列番号 77、79~81、および 78 を、それぞれ、外観順に開示する。図 5 D は、C 3 H マウス（ $n = 5$ ）に、 $1 \mu\text{g}$ 用量の O s p A 血清型 1-フェリチンナノ粒子を A d d a V a x（商標）アジュバント（スクアレネベース水中油ナノエマルジョン、I n v i v o G e n、カタログ番号 v a c - a d x - 10 から入手可能）で 0 週および 4 週に筋肉内（I M）に免疫した図である。O s p A 配列は、野生型 h L F A-1 相同部位（すなわち、配列番号 83 のアミノ酸 165~173、「S e r o 1」）または配列番号 81（「R D」）、配列番号 80（「S e r o 3 置き換え」）、配列番号 79（「S e r o 2 置き換え」）のような置換配列を含んでいた。抗体応答は、示された構築物の 2 回目の免疫の 2 週間後に E L I S A により測定したエンドポイント力価を介して評価された。

【図 5-2】図 5-1 の続き。

【図 5-3】図 5-2 の続き。

【図 6 A】例示的な免疫刺激性部分：T L R 7 / 8 アゴニスト（3 M-0 1 2）にコンジュゲートされた例示的な O s p A-フェリチンナノ粒子に関する情報を提示する図である。図 6 A. 3 M-0 1 2 をフェリチンに結合させるために、2 ステップクリックケミストリー戦略を使用した。D B C O-PE G 4-マレイミドリンカーをフェリチン上の表面露出システインに最初に付着させた。過剰のリンカーを除去した後、アジド-3 M-0 1 2 を添加した。

【図 6 B】例示的な免疫刺激性部分：T L R 7 / 8 アゴニスト（3 M-0 1 2）にコンジュゲートされた例示的な O s p A-フェリチンナノ粒子に関する情報を提示する図である。図 6 B. C 3 H マウス（ $n = 5$ ）に、0 および 4 週目に示された組成物 $1 \mu\text{g}$ を筋肉内に免疫し、2 週間後に分析した。「コンジュゲート」は、O s p A-フェリチン-3 M-0 1 2 コンジュゲートナノ粒子を示す。「混合」は、29 ng または 20 μg の 3 M-0 1 2 またはミョウバンとともに投与された同じ O s p A-フェリチンの非コンジュゲート混合物を示す。O s p A-フェリチンと 3 M-0 1 2 の 29 ng 「混合」混合物は、コンジュゲートナノ粒子上の 3 M-0 1 2 のモル当量を表す。

【図 7-1】図 7 A-7 C は、例示的な免疫刺激性部分：I S S-1 0 1 8 C p G（配列番号 210）にコンジュゲートされた例示的な O s p A-フェリチンナノ粒子に関する情報を提供する図である。図 7 A. 2 ステップクリックケミストリー戦略を用いて、C P G をフェリチンに結合させた。D B C O-PE G 4-マレイミドリンカーを、フェリチン

上の表面露出システインに最初に付着させた。過剰のリンカーを除去した後、アジド-CpGを添加した。図7Aは、配列番号228を開示する。図7B、SDS-PAGEゲルによるCpGコンジュゲーションの生化学的分析は、CpGにコンジュゲートされたOspA-フェリチンの92%とのCpGへのコンジュゲーション後の分子量のシフトを明らかにする。図7C、C3Hマウス(n=5)は、指示された組成物の1μgで0週目と4週目に筋肉内に免疫され、2週間後に分析された。「コンジュゲート」は、OspA-フェリチン-CpGコンジュゲートナノ粒子を示す。「混合」は、339ngもしくは50μgのCpGまたはミョウバンとともに投与された同じOspA-フェリチンの非コンジュゲート混合物を示す。OspA-フェリチンとCpGの339ng「混合」混合物は、コンジュゲートナノ粒子上のCpGのモル当量を表す。

10

【図7-2】図7-1の続き。

【図8-1】図8A-8Fは、ミョウバンアジュバントを含む一価血清型適合OspA-フェリチン(1μg/用量)、「一価」、または血清型1のOspA-フェリチン、血清型2のOspA-フェリチン、血清型3のOspA-フェリチン、血清型4のOspA-フェリチン、血清型5のOspA-フェリチン、および血清型7のOspA-フェリチンの各々(各1μg/用量)をミョウバンアジュバントとともに含む六価組成物(「六価」)を投与した後、血清型1(図8A)、血清型2(図8B)、血清型3(図8C)、血清型4(図8D)、血清型5(図8E)、および血清型7(図8F)に対する抗体応答を比較する図である。抗体応答は、C3Hマウス(n=5)を第0週および第4週に筋肉内に免疫し、2週間後にELISAにより測定したエンドポイント力価を介して評価された。

20

【図8-2】図8-1の続き。

【図8-3】図8-2の続き。

【図9-1】図9A-9Gは、コンジュゲートされたおよびコンジュゲートされていない六価OspA-フェリチンナノ粒子組成物の投与後にマウスで観察された血清型1(図9A)、血清型2(図9B)、血清型3(図9C)、血清型4(図9D)、血清型5(図9E)、血清型6(図9F)、および血清型7(図9G)に対するマウスにおける抗体応答を示す図である。「六価-CpG」および「六価-3M-012」が、ナノ粒子がCpGおよび3M-012に化学的にコンジュゲートされていることを示す以外は、六価組成物は、図8A-Fに記載されるように、血清型1のOspA-フェリチン、血清型2のOspA-フェリチン、血清型3のOspA-フェリチン、血清型4のOspA-フェリチン、血清型5のOspA-フェリチン、および血清型7のOspA-フェリチンの各々を含む(図7Aおよび6A、ならびに添付の記載を参照されたい)。抗体応答は、2週間後にELISAにより測定されたエンドポイント力価を介して評価された。ELISAプレートをOspAの特定の血清型で被覆した。

30

【図9-2】図9-1の続き。

【図9-3】図9-2の続き。

【図9-4】図9-3の続き。

【図10-1】図10A-10Gは、六価OspA-フェリチンナノ粒子組成物に対する、アカゲサル(n=3匹/群)における血清型1~7に対する抗体応答をそれぞれ示す図である。これは、用量が総60μg(各血清型10μg)であり、コンジュゲートされていないAF03アジュバントを含有すること以外は、図9A~Gについて記載したものであった。サルは、第0週および第6週に筋肉内に免疫された。抗体応答は、免疫後2週間で、ELISAにより測定したエンドポイント力価を介して分析された。RECOMBITEK(登録商標)ライムを比較対照として10μg用量で使用した。全ての実験について、ELISAプレートを各パネルに示されたOspA血清型で被覆した。図10H-10Nは、六価OspA-フェリチンナノ粒子組成物に対する、アカゲサル(n=3匹/群)における血清型1~7に対する抗体応答をそれぞれ示す図である。これは、AF03アジュバントを使用せず、代わりにナノ粒子を3M-012またはCpGにコンジュゲートさせたこと以外は、図10A~10Gについて記載したものであった(図6Aおよび7A

40

50

、ならびに添付の記載を参照されたい)。用量は、総60 μ g(各血清型10 μ g)であった。サルは、第0週および第6週に筋肉内に免疫された。抗体応答は、免疫後2週間で、ELISAにより測定したエンドポイント力価を介して分析された。全ての実験について、ELISAプレートを各パネルに示されたOspA血清型で被覆した。

【図10-2】図10-1の続き。

【図10-3】図10-2の続き。

【図10-4】図10-3の続き。

【図10-5】図10-4の続き。

【図11】3M-012結合OspA-フェリチン組成物のダニ負荷試験の結果を示す図である。マウスは、第0週および第4週に、示された組成物の1 μ g用量で免疫された。一価組成物は、3M-012にコンジュゲートされたOspA-フェリチン血清型1の1 μ gを含有した。「六価-3M-012」組成物は、図9A~Gについて記載された通りであった。対照粒子は、OspAポリペプチドを欠いていた。マウスは、ボレリア・ブルグドルフェリN40株(血清型1)に感染した5~6匹のダニを、2回目の免疫後、2週間で5日間負荷させ、2週間後に屠殺した。心臓、足首および耳からの組織試料を、B.ブルグドルフェリに対する抗生物質を添加したBSK培地中で6週間培養した。陰性試料は、PCR法によりB.ブルグドルフェリの存在について試験された。陽性試料は、培養またはPCR法のいずれかで陽性であった。

【図12】質量分析によるOspA-フェリチンナノ粒子のTLR7/8アゴニスト3M-012へのコンジュゲーションの確認を示す図である。上のパネルは、コンジュゲートされていない構築物を示し、下のパネルはコンジュゲートされた構築物を示す。データは、3M-012の添加と一致して、586.69ダルトンの質量シフトを示した。

【図13】示される希釈系列にわたってELISAにより測定されたグリコシル化対応物(RD)と比較した、非グリコシル化変異体OspA-フェリチン(NG-RD)に対するマウスにおける抗体応答を示す図である。RD=配列番号52。NG-RD=配列番号53。マウスに第0週および第4週に1 μ g用量をワクチン接種した。

【図14】OspA-フェリチン(配列番号52)に対するマウスにおける抗体応答を示す図である。OspA-フェリチングリコシル化変異体N>Q(配列番号53)、およびグリコシル化変異体S/T>A(配列番号63)は、示される希釈系列にわたってELISAにより測定された、RECOMBITEK(登録商標)ライム対照および陰性(Pre免疫)対照と比較された。

【図15-1】図15A-15Eは、異なるリンカー(GS、Gly-Serリンカー、GS1、Gly-Gly-Gly-Serリンカー(配列番号226)、GS2、配列番号91リンカー、GS5、配列番号92リンカー、構築物配列は、それぞれ、配列番号53および60~62)を含むOspA構築物の精製および特徴付けを示す。図15A.示されるリンカーを含む精製OspA構築物のクーマシー染色。図15Aは、外観順に、配列番号226および91~92をそれぞれ開示する。図15B. GS1(配列番号60)を含むOspA-フェリチンナノ粒子の動的光散乱(DLS)。図15C. GS2(配列番号61)を含むOspA-フェリチンナノ粒子のDLS。図15D. GS5(配列番号62)を含むOspA-フェリチンナノ粒子の電子顕微鏡写真(EM)。図15E. GS

【図15-2】図15-1の続き。

【図15-3】図15-2の続き。

【図16】示される希釈系列にわたるELISAにより測定したRECOMBITEK(登録商標)ライムおよび陰性(Pre免疫)対照と比較した、異なるリンカーを(リンカー1×GGGS(配列番号226)構築物、配列番号60、リンカー2×GGGS(配列番号91)構築物、配列番号61、リンカー5×GGGS(配列番号92)構築物、配列番号62)含むOspA-フェリチン構築物に対するマウスの抗体応答を示す図である。

【図17-1】図17A-17Cは、ルマジシンターゼOspA血清型4構築物(配列番号18)の特徴付けを示す図である。図17A. DLSデータ。図17B. サイズ排除

クロマトグラフィー（SEC）トレースの示された画分22～64のクーマシーゲル。図17C．EMデータ。

【図17-2】図17-1の続き。

【図18】ミョウバンを伴うまたは伴わない、OspA血清型4-フェリチン構築物（配列番号4）およびOspA血清型4-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号18）に対するマウスにおける抗体応答を示す図である。

【図19-1】図19A-19Cは、OspA血清型1-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号12）の特徴付けを示す図である。図19A．EMデータ。図19B．SECトレースの示された画分20～40のクーマシーゲル。図19C．DLSデータ。

【図19-2】図19-1の続き。

【図20-1】図20A-20Cは、OspA血清型2-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号16）の特徴付けを示す図である。図20A．EMデータ。図20B．SECトレースの示された画分27～56のクーマシーゲル。図20C．DLSデータ。

【図20-2】図20-1の続き。

【図21A】OspA血清型3-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号17）の特徴付けを示す図である。図21A．SECトレースの示された画分23～39のクーマシーゲル。

【図21B】OspA血清型3-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号17）の特徴付けを示す図である。図21B．DLSデータ。

【図22A】OspA血清型5-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号19）の特徴付けを示す図である。図22A．EMデータ。

【図22B】OspA血清型5-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号19）の特徴付けを示す図である。図22B．SECトレースの示された画分22～38のクーマシーゲル。

【図22C】OspA血清型5-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号19）の特徴付けを示す図である。図22C．DLSデータ。

【図23A】OspA血清型7-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号21）の特徴付けを示す。図23A．EMデータ。

【図23B】OspA血清型7-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号21）の特徴付けを示す。図23B．SECトレースの示された画分20～38のクーマシーゲル。

【図23C】OspA血清型7-ルマジンシンターゼ構築物（配列番号21）の特徴付けを示す。図23C．DLSデータ。

【図24-1】図24A-24Gは、C3Hマウス（n=5匹/群）において、ミョウバンまたはAF03のいずれかでアジュバント化したOspA血清型1～7（全部で7μg）に対応する各1μgのOspA-フェリチンナノ粒子の七価OspA-フェリチンナノ粒子組成物、またはRECOMBITEK（登録商標）ライムに対する血清型1～7に対する抗体応答をそれぞれ示す図である。全ての実験において、ELISAプレートは、各パネルに「S X」（Xは血清型番号である）として示されるOspA血清型で被覆された。

【図24-2】図24-1の続き。

【図24-3】図24-2の続き。

【図24-4】図24-3の続き。

【図25】アカゲザルにおけるエンドポイント抗体価の時間経過を示す図である。0週目および6週目に、六価OspA-フェリチンワクチン（別々のナノ粒子中に血清型1、2、3、4、5、および7のOspAを含む）をAF03アジュバントまたはRECOMBITEK（登録商標）でサルに筋肉内接種した。ELISAプレートをOspA血清型1でコーティングした。

【発明を実施するための形態】

【0080】

本明細書において、ライム病に対するワクチン接種のための新規抗原を提供する。ライ

10

20

30

40

50

ム病は、ボレリア・ブルグドルフェリセンスラト (*Borrelia burgdorferi sensu lato*) (s. l.) 複合体 (本明細書では「ボレリア」と呼ぶ) に属する細菌によって引き起こされる。本明細書に記載される抗原は、ライム病に対して対象をワクチン接種するために、単独でまたは非コンジュゲートアジュバントと共に使用することができる、抗原性ポリペプチド、融合タンパク質、ナノ粒子、および組成物を含む。融合タンパク質は、フェリチンに融合した抗原性ポリペプチドを含み得る。フェリチンは、野生型であり得るか、または1つもしくはそれ以上の変異、例えば表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異を含んでもよく、それによって免疫刺激性部分を、操作された表面に露出したシステインに直接コンジュゲートすることができる。そのような変異に起因するシステインは、個別に投与されたアジュバントの必要性を除去または低減させ、同様に抗原に対する免疫応答を誘発するために必要なアジュバント／免疫刺激性部分の量を低減させる可能性がある。本明細書に記載される抗原性ポリペプチドをコードする核酸もまた提供される。

10

【0081】

A. 定義

「アジュバント」は、本明細書で使用される場合、抗原に対する免疫応答を非特異的に増強する物質またはビヒクルを指す。アジュバントには、抗原を吸着させた無機質 (例えば、ミョウバン、水酸化アルミニウム、またはリン酸塩) の懸濁液、抗原溶液を鉱油または水中で乳化させた油中水型または水中油型乳剤 (例えば、フロイント不完全アジュバント) を挙げることができるがこれらに限定されない。時に、抗原性をさらに増強するために死菌マイコバクテリア (例えば、フロイント完全アジュバント) を含める。免疫刺激性オリゴヌクレオチド (例えば、CpGモチーフ) もまた、アジュバントとして使用することができる (例えば、米国特許第6, 194, 388号; 第6, 207, 646号; 第6, 214, 806号; 第6, 218, 371号; 第6, 239, 116号; 第6, 339, 068号; 第6, 406, 705号; および第6, 429, 199号を参照されたい)。アジュバントはまた、Toll-Like受容体 (TLR) アゴニストおよび共刺激分子のような生物学的分子も含み得る。アジュバントは、組成物中の個別の分子として、またはフェリチンもしくは抗原性フェリチンポリペプチドに共有結合 (コンジュゲート) して投与してもよい。

20

【0082】

本明細書で使用される場合、「抗原」は、生物に曝露または投与した場合に、免疫応答を誘発する作用物質、および／またはT細胞受容体 (例えば、MHC分子によって提示される場合) が結合する、もしくは抗体 (例えば、B細胞によって産生される) に結合する作用物質を指す。一部の実施形態では、抗原は、生物において液性応答 (例えば、抗原特異的抗体の産生を含む) を誘発する。あるいはまたは加えて、一部の実施形態では、抗原は、生物において細胞性応答 (例えば、その受容体が抗原と特異的に相互作用するT細胞を含む) を誘発する。特定の抗原は、標的生物 (例えば、マウス、ウサギ、霊長類、ヒト) の1つまたは幾つかのメンバーにおいて免疫応答を誘発し得るが、標的生物種の全てのメンバーにおいて誘発するわけではない。一部の実施形態では、抗原は、標的生物種のメンバーの少なくとも約25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%において免疫応答を誘発する。一部の実施形態では、抗原は、抗体および／またはT細胞受容体に結合するが、生物において特定の生理的応答を誘導しても誘導しなくてもよい。一部の実施形態では、例えば、抗原は、*in vivo*でそのような相互作用が起こるか否かによらず、*in vitro*で抗体および／またはT細胞受容体に結合し得る。一部の実施形態では、抗原は、異種免疫原によって誘導される産物を含む、特異的液性免疫または細胞性免疫の産物と反応する。抗原は、本明細書に記載されるフェリチン (例えば、1つまたはそれ以上の変異を含む) および非フェリチンポリペプチドを含む抗原性フェリチンタンパク質を含む。

30

40

【0083】

50

「フェリチン」または「フェリチンタンパク質」は、本明細書で使用される場合、H. ピロリフェリチン（配列番号208または209）、またはP. フリオス（P. furiosus）フェリチン、イラクサギンウワバ（Trichoplusia ni）フェリチン、もしくはヒトフェリチンのような本明細書で考察される別のフェリチンと検出可能な配列同一性を有し、鉄を例えば細胞内もしくは組織内で貯蔵する、または鉄を血流に運ぶ役目を果たすタンパク質を指す。重鎖および軽鎖（例えば、イラクサギンウワバおよびヒトフェリチン）として知られる2つのポリペプチド鎖として存在するフェリチンを含むそのような例示的なフェリチンを、以下で詳細に考察する。一部の実施形態では、フェリチンは、本明細書に、例えば表1（配列表）に開示されるフェリチン配列と少なくとも15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、または99.5%の同一性を有する配列を含む。フェリチンは、完全長の天然に存在する配列の断片であり得る。「野生型フェリチン」は、本明細書で使用される場合、その配列が天然に存在する配列からなるフェリチンを指す。フェリチンはまた、完全長のフェリチン、または野生型フェリチンとはそのアミノ酸配列において1つまたはそれ以上の差を有するフェリチンの断片も含む。

10

【0084】

本明細書で使用される場合、「フェリチン単量体」は、他のフェリチン分子と集合していない単一のフェリチン分子（例えば、該当する場合、単一のフェリチン重鎖または軽鎖）を指す。「フェリチン多量体」は、複数の会合したフェリチン単量体を含む。「フェリチンタンパク質」は、単量体フェリチンおよび多量体フェリチンを含む。

20

【0085】

本明細書で使用される場合、「フェリチン粒子」は、球状形態に自己集合したフェリチンを指す。フェリチン粒子は時に、「フェリチンナノ粒子」または単に「ナノ粒子」と呼ばれる。一部の実施形態では、フェリチン粒子は、24個のフェリチン単量体（または該当する場合、全体で24個の重鎖および軽鎖）を含む。

【0086】

「ハイブリッドフェリチン」は、本明細書で使用される場合、ウシガエルフェリチンのアミノ末端伸長部を有するH. ピロリフェリチンを含むフェリチンを指す。ウシガエルフェリチンのアミノ末端伸長部として使用される例示的な配列を、配列番号217として示す。ハイブリッドフェリチンでは、免疫刺激性部分の結合部位がフェリチン粒子表面上に均一に分布するように、ウシガエルフェリチンのアミノ末端伸長部をH. ピロリフェリチンに融合することができる。「ウシガエルリンカー」は、本明細書で使用される場合、配列番号217の配列を含むリンカーである。ハイブリッドフェリチンはまた、時に「bfpFerr」または「bfpフェリチン」と呼ばれる。ウシガエル配列を含むいずれの構築物も、ウシガエル配列がなくとも、例えばリンカーまたは代替リンカーがなくとも提供することができる。例示的なウシガエルリンカー配列を、表1に提供する。表1はウシガエルリンカーを示すが、リンカーまたは代替リンカーを有しない同じ構築物を作製してもよい。

30

【0087】

「グリコシル化」は、本明細書で使用される場合、タンパク質への糖質単位の付加を指す。

40

【0088】

「免疫応答」は、本明細書で使用される場合、抗原またはワクチンのような刺激に対する、B細胞、T細胞、樹状細胞、マクロファージ、または多形核細胞のような免疫系の細胞の応答を指す。免疫応答は、例えばインターフェロンまたはサイトカインを分泌する上皮細胞を含む、宿主防御応答に関係する体の任意の細胞を含み得る。免疫応答は、生得のおよび／または適応免疫応答を含むがこれらに限定されない。本明細書で使用される場合、「保護的免疫応答」は、対象を感染から保護する（例えば、感染を防止する、または感染に関連する疾患の発生を防止する）免疫応答を指す。免疫応答を測定する方法は、当技術分野で周知であり、例えばリンパ球（例えば、BまたはT細胞）の増殖および／または

50

活性、サイトカインまたはケモカインの分泌、炎症、抗体産生等を測定することを含む。
「抗体応答」は、抗体が産生される免疫応答である。

【0089】

「免疫刺激性部分」は、本明細書で使用される場合、免疫系の構成要素を活性化することができる（単独で、またはフェリチンもしくは抗原性フェリチンポリペプチドに結合した場合）フェリチンまたは抗原性フェリチンポリペプチドに共有結合した部分を指す。例示的な免疫刺激性部分は、*tol l l - l i k e* 受容体（TLR）のアゴニスト、例えば、TLR 4、7、8、または9を含む。一部の実施形態では、免疫刺激性部分はアジュバントである。

【0090】

本明細書で使用される場合、用語「キット」は、1つまたはそれ以上の化合物または組成物のような関連する構成要素、および溶媒、溶液、緩衝液、説明書、または乾燥剤のような1つまたはそれ以上の関連する材料の包装された組を指す。

【0091】

「N-グリカン」は、本明細書で使用される場合、タンパク質のN（アスパラギン）残基のアミド窒素でタンパク質に結合する糖質鎖を指す。そのため、N-グリカンは、N-グリコシル化プロセスによって形成される。このグリカンは多糖類であり得る。

【0092】

「O s p A エクトドメイン」は、本明細書で使用される場合、B. ブルグドルフェリ（B. *burgdorferi*）O s p A（UniProt 受託番号 P0CL66）のアミノ酸残基約27～273、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって同定される、そのホモログの対応する位置を指す。O s p A エクトドメインのさらなる例は、配列番号83～89のいずれかの27～X位を含み、ここでXは関連する配列のC末端位置であり、場合によりC末端Lysは含まれていない。一部の実施形態では、エクトドメインは、そのN末端に、対応する完全長の野生型配列の26番目の残基または25番目および26番目の残基をさらに含み；配列番号83～89では、25番目および26番目の残基はAspおよびGluである。O s p A エクトドメインのなおさらなる例は、配列番号94～102のいずれかを含み、場合によりN末端の1、2、または3つの残基（Met-Asp-Glu）が含まれておらず、さらに場合によりC末端Lysが含まれていない。

【0093】

「O s p A 膜貫通ドメイン」は、本明細書で使用される場合、B. ブルグドルフェリ O s p A（UniProt 受託番号 P0CL66）のアミノ酸残基約2～24、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって同定される、そのホモログの対応する位置を指す。

【0094】

「自己アジュバント性」は、本明細書で使用される場合、フェリチンおよび免疫刺激性部分が同じ分子実体中にあるように、フェリチンおよびフェリチンに直接コンジュゲートされた免疫刺激性部分を含む組成物またはポリペプチドを指す。非フェリチンポリペプチドを含む抗原性フェリチンポリペプチドを、免疫刺激性部分にコンジュゲートして、自己アジュバント性ポリペプチドを生成してもよい。

【0095】

「抗原性O s p A ポリペプチド」は、本明細書で使用される場合、ポリペプチドがO s p A に関して抗原性であるのに十分な長さのO s p A の全てまたは一部を含むポリペプチドを指す。完全長のO s p A は、以下に定義するように、膜貫通ドメインおよびエクトドメインを含む。抗原性は、フェリチンまたはルマジンシンターゼタンパク質のような異種配列をさらに含む構築物の一部としてのO s p A 配列の機能であり得る。すなわち、O s p A が異種配列をさらに含む構築物の一部である場合、構築物は、異種配列を有しないO s p A 配列がそうすることができるか否かによらず、抗O s p A 抗体を生成する抗原としての役目を果たすことができれば十分である。

【0096】

10

20

30

40

50

「抗原性フェリチンポリペプチド」および「抗原性フェリチンタンパク質」は、本明細書において互換的に使用され、分子が非フェリチンポリペプチドに関して抗原性であるのに十分な長さのフェリチンおよびOspAのような非フェリチンポリペプチドを含むポリペプチドを指す。抗原性フェリチンポリペプチドはさらに、免疫刺激性部分を含み得る。抗原性は、より大きい構築物の一部としての非フェリチン配列の機能であり得る。すなわち、構築物は、フェリチンを有しない非フェリチンポリペプチド（および該当する場合、免疫刺激性部分）がそうすることができるか否かによらず、非フェリチンポリペプチドに対する抗原としての役目を果たすことができれば十分である。一部の実施形態では、非フェリチンポリペプチドは、OspAポリペプチドであり、この場合抗原性フェリチンポリペプチドもまた「抗原性OspAポリペプチド」である。しかし、明白にするために、抗原性OspAポリペプチドは、フェリチンを含む必要はない。「抗原性ポリペプチド」は、本明細書において使用される場合、抗原性フェリチンポリペプチド、および抗原性OspAポリペプチドのいずれかまたは両方であるポリペプチドを指す。本開示は、所定の核酸配列またはアミノ酸配列（参照配列）に対してそれぞれ、ある特定の程度の同一性を有する核酸配列およびアミノ酸配列を記載する。

10

【0097】

2つの核酸配列間の「配列同一性」は、配列間で同定されたヌクレオチドのパーセンテージを示す。2つのアミノ酸配列間の「配列同一性」は、配列間で同一であるアミノ酸のパーセンテージを示す。

【0098】

用語「同一%」、「同一性%」、または類似の用語は、特に比較される配列間の最適なアライメントにおいて同一であるヌクレオチドまたはアミノ酸のパーセンテージを指すと意図される。前記パーセンテージは、純粋に統計学的であり、2つの配列間の差は、比較される配列の全長にわたって分布していてもよいが、必ずしもランダムに分布している必要はない。2つの配列の比較は通常、対応する配列の局所領域を同定するために、最適なアライメント後に前記配列を、セグメントまたは「比較ウィンドウ」に関して比較することによって実行される。比較のための最適なアライメントは、手動で、またはSmith and Waterman, 1981, *Adv. App. Math.* 2, 482頁によるローカルホモロジーアルゴリズムの助けを借りて、Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48, 443頁のローカルホモロジーアルゴリズムの助けを借りて、Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 2444頁の類似性検索アルゴリズムの助けを借りて、または前記アルゴリズムを使用するコンピュータプログラムの助けを借りて（GAP、BESTFIT、FASTA、BLAST P、BLAST N、およびTFASTA、in *Wisconsin Genetics Software Package*, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.）実行してもよい。

20

30

【0099】

パーセンテージ同一性は、比較される配列が対応する同一の位置の数を決定する工程、この数を比較される位置の数（例えば、参照配列における位置の数）で除算する工程、およびこの結果に100を乗算する工程によって得られる。

40

【0100】

一部の実施形態では、同一性の程度は、参照配列の全長の少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または約100%である領域に関して与えられる。例えば、参照核酸配列が200ヌクレオチドからなる場合、同一性の程度は、少なくとも約100、少なくとも約120、少なくとも約140、少なくとも約160、少なくとも約180、または約200ヌクレオチド、一部の実施形態では、連続ヌクレオチドに関して与えられる。一部の実施形態では、同一性の程度は、参照配列の全長にわたって与えられる。

【0101】

50

所定の核酸配列またはアミノ酸配列に対してそれぞれ、特定の同一性の程度を有する核酸配列またはアミノ酸配列は、前記所定の配列の少なくとも1つの機能的特性を有することができ、例えば、一部の例では前記所定の配列と機能的に等価である。1つの重要な特性は、特に、対象に投与した場合にサイトカインとして作用する能力を含む。一部の実施形態では、所定の核酸配列またはアミノ酸配列に対して特定の同一性の程度を有する核酸配列またはアミノ酸配列は、前記所定の配列と機能的に等価である。

【0102】

本明細書で使用される場合、「対象」は、動物界の任意のメンバーを指す。一部の実施形態では、「対象」はヒトを指す。一部の実施形態では、「対象」は非ヒト動物を指す。一部の実施形態では、対象は、哺乳動物、鳥類、は虫類、両生類、魚類、昆虫、および／または虫を含むがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、非ヒト対象は、哺乳動物（例えば、齧歯類、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウシ、霊長類、および／またはブタ）である。一部の実施形態では、対象は、トランスジェニック動物、遺伝子操作された動物、および／またはクローンであり得る。本発明のある特定の実施形態では、対象は成体、青年期、または幼体である。一部の実施形態では、用語「個体」または「患者」は、「対象」と互換的に使用され、互換的であると意図される。

【0103】

「表面に露出したアミノ酸」は、本明細書で使用される場合、該当する場合に、多量体形成後、タンパク質がその本来の三次元コンフォメーションにある場合に溶媒分子が接触することができる側鎖を有するタンパク質（例えば、フェリチン）中のアミノ酸残基を指す。このように、例えば24量体を形成するフェリチンの場合、表面に露出したアミノ酸残基は、フェリチンが24量体として、例えばフェリチン多量体またはフェリチン粒子として集合する場合に、その側鎖に溶媒が接触することができる残基である。

【0104】

本明細書で使用される場合、用語「ワクチン接種」または「ワクチン接種する」は、例えば病原体に対して免疫応答を生成することが意図される組成物の投与を指す。ワクチン接種は、病原体に対する曝露および／または1つもしくはそれ以上の症状の発生の前、間、および／または後に投与することができ、一部の実施形態では、病原体に対する曝露の前、間、および／または直後に投与することができる。一部の実施形態では、ワクチン接種は、ワクチン接種組成物の適切な間隔を空けた複数回の投与を含む。

【0105】

B. O s p A ポリペプチド

単独で、個別の分子としてアジュバントと共に、および／またはナノ粒子（例えば、フェリチン粒子またはルマジンシンターゼ粒子）の一部として投与した場合に抗原性であり得て、自己アジュバント性であり得るO s p Aポリペプチドを提供する。一部の実施形態では、O s p Aポリペプチドは、ボレリアの改変外部表面タンパク質A（O s p A）を含む。O s p Aは、O s p Aの異なるエピトープに対するモノクローナル抗体とのその反応性によって定義される複数の血清型で存在する（W i l s k e ら、J C l i n M i c r o b i o 31（2）：340～350頁（1993）を参照されたい）。これらの血清型は、ボレリア細菌の異なる遺伝子種と相関する。一部の実施形態では、O s p Aは、血清型1～7のいずれか1つである。一部の実施形態では、O s p Aは、ボレリア・ブルグドルフェリ、ボレリア・マヨニイ、ボレリア・アフゼリ、ボレリア・ガリニ、またはボレリア・ババリエンシスに由来する。一部の実施形態では、O s p Aは、ボレリア・ブルグドルフェリO s p Aである。一部の実施形態では、ボレリアは、マダニ属のダニが運ぶことができる。一部の実施形態では、ボレリアは、ボレリア・ブルグドルフェリ、ボレリア・マヨニイ、ボレリア・アフゼリ、ボレリア・ガリニ、またはボレリア・ババリエンシスである。

【0106】

一部の実施形態では、O s p Aポリペプチドは、O s p A血清型1エクトドメインのよ
うなO s p A血清型1ポリペプチドである。文献により、配列番号83のアミノ酸165

～173でのOspA血清型1のエピトープは、ヒト白血球機能関連抗原-1 (hLFA-1) -すなわち配列番号78 (Gross, D. M. ら、Science 281 (5377) : 703～6頁 (1998) を参照されたい) の配列の断片と同一性を有することが報告されている。配列番号83のアミノ酸165～173は、配列番号77における単離されたノナペプチドとして示され、hLFA-1 同一性部位と呼ばれる。配列番号83は、例示的な野生型血清型1 OspA配列であり、これはOspAにおけるアミノ酸位置の考察のための参照配列として本明細書において使用される。この同一性部位は、抗生物質耐性ライム関節炎を含むライム関節炎の発症において役割を果たし得る。本明細書において、改変OspAが配列番号77の配列を含まない、ボレリアの改変OspA血清型1ポリペプチドを含む抗原性OspAポリペプチドを記載する。そのようなポリペプチドは、抗体を誘発するために使用する場合、改善された安全性、例えば自己免疫応答を誘発するリスクの低減を有し得る。一部の実施形態では、OspA血清型1ポリペプチドは、hLFA-1との同一性を低減させる1つまたはそれ以上の改変を有する。配列番号78との同一性を低減させる、配列番号78との同一性を低減させる、または配列番号78と比較して1つもしくはそれ以上の非保存的置換を導入する任意の改変が包含される。一部の実施形態では、配列番号77の配列を含まない、ボレリアのOspA血清型1ポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドを提供する。一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、OspA血清型1のエクトドメインを含み、エクトドメインは、配列番号77の配列を含まない。一部の実施形態では、抗原性OspA血清型1ポリペプチドは、配列番号94～102のいずれか1つの配列と少なくとも85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.5%、または100%の同一性を有する配列を含む。

10

20

【0107】

「同一性を低減させる」は、配列同一性を低減させることおよび／または配列類似性を低減させることを包含し、以下の表において保存的置換として記載された1組のアミノ酸の各メンバーは、記載された当初の残基およびその組の他のメンバーに対して類似であると考えられ；例えば表の1列目は、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンが互いに類似であることを示し、8列目は、アラニンおよびグリシンが互いに類似であることを示している。類似性は、推移的ではなく、そのため例えばイソロイシンおよびグリシンは類似ではないと考えられる。一部の実施形態では、改変OspAは、野生型OspA血清型と比較してhLFA-1に対して低減された同一性を有するOspA血清型1タンパク質を含む。一部の実施形態では、改変OspAは、配列番号77のアミノ酸の任意の1つまたはそれ以上に対する改変を含むOspA血清型1を含む。一部の実施形態では、配列番号77に対する改変は、非保存的アミノ酸置換である。非保存的置換は、以下の表に示す保存的置換とは異なる置換である。

30

【0108】

【表 1】

表 3: 保存的アミノ酸置換

当初の残基	保存的置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン

【0109】

一部の実施形態では、配列番号 77 の 1 つまたはそれ以上のアミノ酸は、血清型 2、3、4、5、6、または 7 O s p A のような非血清型 1 O s p A の対応するアミノ酸に置き換えられている。一部の実施形態では、配列番号 77 のアミノ酸の各々は、血清型 2、3、4、5、6、または 7 O s p A の対応するアミノ酸に置き換えられている。一部の
 40 実施形態では、配列番号 77 のアミノ酸は、血清型 2 (S 2、配列番号 79) または血清型 3 (S 3、配列番号 80) の対応するアミノ酸に置き換えられている。

【0110】

一部の実施形態では、改変 O s p A は、配列番号 81 を含む。一部の実施形態では、O s p A ポリペプチドは、配列番号 82 を含む。配列番号 81 および 82 は、配列番号 77 を置き換えると意図され、それによって配列番号 78 に対する相同性を低減させる。

【0111】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、完全長の O s p A (例えば、本明細書に記載される h L F A - 1 に対する相同性を低減させる改変を含んでもよくまたは含まなくてもよい膜貫通ドメインおよびエクトドメインを含む) である。

10

20

30

40

50

【0112】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、膜貫通ドメインを欠如する。一部の実施形態では、ポリペプチドは、膜貫通ドメインの一部、例えば野生型OspA配列のN末端の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24アミノ酸を欠如する。一部の実施形態では、ポリペプチドは、OspA血清型1のアミノ酸17、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって同定される、そのホモログの対応する位置を含むセグメントを欠如する。一部の実施形態では、ポリペプチドは、ペアワイズもしくは構造アライメントによって同定されたOspA血清型1のようなOspAのアミノ酸少なくとも1～17またはそのホモログにおける対応するアミノ酸を欠如する。一部の実施形態では、OspAポリペプチドは、ペアワイズもしくは構造アライメントによって同定されたOspA血清型1のようなOspAの少なくともN末端の18、19、20、21、22、23、もしくは24アミノ酸、またはそのホモログにおける対応するアミノ酸を欠如する。一部の実施形態では、OspAポリペプチドは、ペアワイズもしくは構造アライメントによって同定されたOspA血清型1のようなOspAのアミノ酸1～25またはそのホモログにおける対応するアミノ酸を欠如する。一部の実施形態では、OspAポリペプチドは、ペアワイズもしくは構造アライメントによって同定されたOspA血清型1のアミノ酸1～26またはそのホモログにおける対応するアミノ酸を欠如する。誤解を避けるために、膜貫通ドメインを欠如することは、ポリペプチドがN末端メチオニンを欠如することを必要としない；例えば第1の残基がメチオニンで第2の残基が野生型OspAの残基26に対応し、その後27番目、28番目等の野生型OspA残基に対応する残基が続くポリペプチドは、膜貫通ドメインを欠如すると考えられる。一部の実施形態では、OspAを含むポリペプチドは、野生型OspA血清型1の膜貫通ドメイン内に含有される脂質付加部位のような脂質付加部位を欠如する。一部の実施形態では、ポリペプチドは、OspA血清型1のシステイン17を欠如する。一部の実施形態では、ポリペプチドは、野生型OspA、例えば配列番号83～89のいずれかの1～25位のいずれかに対応するシステインを含まない。一部の実施形態では、ポリペプチドは、OspA血清型1のシステイン17を欠如するか、またはシステイン17で置換を有する。一部の実施形態では、ポリペプチドは、脂質付加部位を欠如するように、野生型OspA膜貫通ドメインの少なくとも一部を欠如する。一部の実施形態では、ポリペプチドは、OspA血清型1のアミノ酸1～17と整列するアミノ酸を欠如する。

【0113】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、パルミトイル基を含まない。一部の実施形態では、ポリペプチドは、ジアシルグリセロール基を含まない。一部の実施形態では、ポリペプチドは、脂質付加されていない。一部の実施形態では、ポリペプチドは、脂質付加部位を欠如する。一部の実施形態では、この脂質付加部位は、膜貫通ドメイン内に含有される。一部の実施形態では、除去される脂質付加部位は、OspA血清型1のシステイン17である。一部の実施形態では、ポリペプチドは、OspA血清型1のシステイン17を欠如するかまたはシステイン17で置換を有する。

【0114】

一部の実施形態では、OspA脂質付加部位および／もしくは膜貫通ドメインもしくはその一部の除去、ならびに／またはパルミトイルおよび／もしくはジアシルグリセロール基の欠如は、例えばタンパク質の溶解度を改善することによって、および／またはタンパク質を、イオン交換および他の形態のクロマトグラフィーのような技術による精製をより受けやすくすることによって、より容易なタンパク質精製を可能にする。

【0115】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、哺乳動物リーダー配列（シグナル配列としても知られる）を含む。一部の実施形態では、哺乳動物リーダー配列は、哺乳動物細胞において発現された場合に、ポリペプチドの分泌をもたらす。

【0116】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、グリコシル化部位を欠如する。グリコシル化部位を除去する改変を、本明細書において詳細に記載する。本開示に従うO s p Aポリペプチドは、h L F A-1 相同性部位に対する改変、および／または膜貫通ドメインの一部もしくは全ての欠失を含む、本明細書に記載される任意の他の改変と組み合わせることができる任意のそのような改変を含み得る。一部の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号77（例えば、h L F A-1 a に対して低減された相同性を有する）を含まず、およびグリコシル化を低減させる変異を有し、および／または膜貫通ドメインを欠如する。

【0117】

1. グリコシル化の改変

N結合グリコシル化は、タンパク質のアスパラギン（A s n；N）残基のアミド窒素に対するグリカンの結合である。結合プロセスは、グリコシル化タンパク質をもたらす。グリコシル化は、タンパク質の翻訳後にグリコシル化酵素により接近可能であり、認識されるタンパク質中の任意のアスパラギン残基で起こり得て、N X S／T X 部位の一部である接近可能なアスパラギンで最も一般的であり、アスパラギンの後に続く第2のアミノ酸残基は、セリンまたはトレオニンである。非ヒトグリコシル化パターンは、抗体を誘発するために使用する場合、ポリペプチドを望ましくない反応原性に行うことができる。加えて、通常グリコシル化されないポリペプチドのグリコシル化は、その免疫原性を変化させることができる。例えば、グリコシル化は、タンパク質内の重要な免疫原性エピトープを隠すことができる。このように、グリコシル化を低減または除去するために、アスパラギン残基またはセリン／トレオニン残基のいずれかを、例えば別のアミノ酸への置換によって改変することができる。

【0118】

一部の実施形態では、O s p Aを含むポリペプチドは、グリコシル化を低減または除去するように改変される。一部の実施形態では、O s p Aにおける1つまたはそれ以上のN-グリコシル化部位が除去される。一部の実施形態では、Nグリコシル化部位の除去は、O s p Aのグリコシル化を減少させる。一部の実施形態では、ポリペプチドは、野生型血清型1 O s p Aのような野生型O s p Aと比較して減少したグリコシル化を有する。一部の実施形態では、N-グリコシル化部位の除去は、O s p Aのグリコシル化を除去する。

【0119】

一部の実施形態では、O s p Aにおける1つまたはそれ以上のアスパラギンは、非アスパラギンアミノ酸に置き換えられている。一部の実施形態では、O s p Aにおける各アスパラギンは、非アスパラギンアミノ酸に置き換えられている。タンパク質において見出される任意の天然または非天然アミノ酸、例えばグルタミンを使用して、アスパラギンを交換してもよい。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去するための改変は、N X S／T X グリコシル化部位を改変する（Nの後の第2の残基はSまたはTである）。一部の実施形態では、N X S／T X 部位における第1のXおよび／またはN X S／T X 部位における第2のXは、プロリンではない。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、NからQへの置換である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、S／TのAへの置換である。

【0120】

グリコシル化を低減または除去するように改変することができる位置の詳細な考察を以下に述べる。位置の番号は、配列番号83～89として提供される完全長のO s p A配列における位置を指す。位置の番号は、部分的および改変O s p A配列に関して適切に調節すべきであると理解される（例えば、N末端欠失によって25アミノ酸残基の真の短縮がもたらされる場合、位置の番号を25減少すべきである）。

【0121】

一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型1（配列番号83）のN20、N71、N190、N202、およびN251の任意の1つまたはそれ以上の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A血清型1のN71、

N 1 9 0、N 2 0 2、およびN 2 5 1の各々で改変を含む。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型1のN 2 0 Q、N 7 1 Q、N 1 9 0 Q、N 2 0 2 Q、またはN 2 5 1 Qの1つまたはそれ以上を含む。対応するアミノ酸は、ペアワイズアライメントによって異なる血清型のO s p Aにおいて見出すことができる。このように、一部の実施形態では、血清型2～7のO s p Aにおいて置き換えられたアスパラギン残基は、O s p A血清型1のN 2 0、N 7 1、N 1 9 0、N 2 0 2、およびN 2 5 1と整列するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型1の2 2、7 3、1 9 2、2 0 4、および2 5 3位でS e rまたはT h rの任意の1つまたはそれ以上の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A血清型1の2 2、7 3、1 9 2、2 0 4、および2 5 3位で1つまたはそれ以上のS e rまたはT h r残基のアラニンとの置換を含む。 10

【0 1 2 2】

一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型2（配列番号8 4）のN 2 0、N 7 1、N 1 4 1、N 1 6 4、N 2 0 2、およびN 2 0 5の任意の1つまたはそれ以上の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A血清型2のN 2 0、N 7 1、N 1 4 1、N 1 6 4、N 2 0 2、およびN 2 0 5の各々で改変を含む。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型2のN 2 0 Q、N 7 1 Q、N 1 4 1 Q、N 1 6 4 Q、N 2 0 2 Q、またはN 2 0 5 Qの1つまたはそれ以上を含む。類似のアミノ酸を、ペアワイズアライメントによって異なる血清型のO s p Aにおいて見出すことができる。このように、一部の実施形態では、血清型1または3～7のO s p Aにおいて置き換えられたアスパラギン残基は、O s p A血清型2のN 2 0、N 7 1、N 1 4 1、N 1 6 4、N 2 0 2、およびN 2 0 5と整列するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型2の2 2、7 3、1 4 3、1 6 6、2 0 4、および2 0 7位で任意の1つまたはそれ以上のS e rまたはT h r残基の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A血清型2の2 2、7 3、1 4 3、1 6 6、2 0 4、および2 0 7位で1つまたはそれ以上のS e rまたはT h r残基のアラニンとの置換を含む。 20

【0 1 2 3】

一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型3（配列番号8 5）のN 2 0、N 7 1、N 9 5、N 1 4 1、N 1 9 1、およびN 2 0 3の任意の1つまたはそれ以上の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A血清型3のN 2 0、N 7 1、N 9 5、N 1 4 1、N 1 9 1、およびN 2 0 3の各々で改変を含む。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型3のN 2 0 Q、N 7 1 Q、N 9 5 Q、N 1 4 1 Q、N 1 9 1 Q、またはN 2 0 3 Qの1つまたはそれ以上を含む。類似のアミノ酸を、ペアワイズアライメントによって異なる血清型のO s p Aにおいて見出すことができる。このように、一部の実施形態では、血清型1～2、または4～7のO s p Aにおいて置き換えられたアスパラギン残基は、O s p A血清型3のN 2 0、N 7 1、N 9 5、N 1 4 1、N 1 9 1、およびN 2 0 3と整列するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型3の2 2、7 3、9 7、1 4 3、1 9 3、および2 0 5位で任意の1つまたはそれ以上のS e rまたはT h r残基の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A血清型3の2 2、7 3、9 7、1 4 3、1 9 3、および2 0 5位で1つまたはそれ以上のS e rまたはT h r残基のアラニンとの置換を含む。 30 40

【0 1 2 4】

一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型4（配列番号8 6）のN 2 0、N 7 1、N 1 4 1、N 2 0 2、N 2 0 5、およびN 2 1 9の任意の1つまたはそれ以上の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A血清型4のN 2 0、N 7 1、N 1 4 1、N 2 0 2、N 2 0 5、およびN 2 1 9の各々で改変を含む。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A血清型4のN 2 0 Q、N 7 1 Q、N 1 4 1 Q、N 2 0 2 Q、N 2 0 5 Q、またはN 2 1 9 Qの1つま 50

たはそれ以上を含む。類似のアミノ酸を、ペアワイズアライメントによって異なる血清型の O s p A において見出すことができる。このように、一部の実施形態では、血清型 1 ～ 3、または 5 ～ 7 の O s p A において置き換えられたアスパラギン残基は、O s p A 血清型 4 の N 2 0、N 7 1、N 1 4 1、N 2 0 2、N 2 0 5、および N 2 1 9 と整列するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 4 の 2 2、7 3、1 4 3、2 0 4、2 0 7、および 2 2 1 位で任意の 1 つまたはそれ以上の S e r または T h r 残基の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A 血清型 4 の 2 2、7 3、1 4 3、2 0 4、2 0 7、および 2 2 1 位で 1 つまたはそれ以上の S e r または T h r 残基のアラニンとの置換を含む。

【0125】

一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 5 の N 2 0、N 7 1、および N 1 4 1 の任意の 1 つまたはそれ以上の置換を含む（血清型 5 ～ 7 を含むある特定の血清型は、血清型 1 のようなある特定の他の O s p A 配列より少ないグリコシル化部位を含有する）。一部の実施形態では、改変は、O s p A 血清型 5（配列番号 8 7）の N 2 0、N 7 1、および N 1 4 1 の各々で改変を含む。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 5 の N 2 0 Q、N 7 1 Q、または N 1 4 1 Q の 1 つまたはそれ以上を含む。類似のアミノ酸を、ペアワイズアライメントによって、異なる血清型の O s p A において見出すことができる。このように、一部の実施形態では、血清型 1 ～ 4、または 6 ～ 7 の O s p A において置き換えられたアスパラギン残基は、O s p A 血清型 5 の N 2 0、N 7 1、および N 1 4 1 と整列するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 5 の 2 2、7 3、および 1 4 3 位で任意の 1 つまたはそれ以上の S e r または T h r 残基の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A 血清型 5 の 2 2、7 3、および 1 4 3 位で 1 つまたはそれ以上の S e r または T h r 残基のアラニンとの置換を含む。

【0126】

一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 6（配列番号 8 8）の N 2 0、N 7 1、および N 1 4 1 の任意の 1 つまたはそれ以上の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A 血清型 6 の N 2 0、N 7 1、および N 1 4 1 の各々で改変を含む。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 6 の N 2 0 Q、N 7 1 Q、または N 1 4 1 Q の 1 つまたはそれ以上を含む。類似のアミノ酸を、ペアワイズアライメントによって異なる血清型の O s p A において見出すことができる。このように、一部の実施形態では、血清型 1 ～ 5、または 7 の O s p A において置き換えられたアスパラギン残基は、O s p A 血清型 6 の N 2 0、N 7 1、および N 1 4 1 と整列するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 6 の 2 2、7 3、および 1 4 3 位で任意の 1 つまたはそれ以上の S e r または T h r 残基の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A 血清型 6 の 2 2、7 3、および 1 4 3 位で 1 つまたはそれ以上の S e r または T h r 残基のアラニンとの置換を含む。

【0127】

一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 7（配列番号 8 9）の N 2 0、N 7 1、N 1 4 1、および N 1 9 1 の任意の 1 つまたはそれ以上の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、O s p A 血清型 7 の N 2 0、N 7 1、N 1 4 1、および N 1 9 1 の各々で改変を含む。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 7 の N 2 0 Q、N 7 1 Q、N 1 4 1 Q、または N 1 9 1 Q の 1 つまたはそれ以上を含む。類似のアミノ酸を、ペアワイズアライメントによって異なる血清型の O s p A において見出すことができる。このように、一部の実施形態では、血清型 1 ～ 6 の O s p A において置き換えられたアスパラギン残基は、O s p A 血清型 7 の N 2 0、N 7 1、N 1 4 1、および N 1 9 1 と整列するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、グリコシル化を低減または除去する改変は、O s p A 血清型 7 の 2 2

、73、143、および193位で任意の1つまたはそれ以上のSerまたはThr残基の置換を含む。一部の実施形態では、改変は、OspA血清型7の22、73、143、および193位で1つまたはそれ以上のSerまたはThr残基のアラニンとの置換を含む。

【0128】

C. OspAポリペプチドおよびフェリチンまたはルマジンシンターゼを含む抗原性OspAポリペプチド

一部の実施形態では、OspAポリペプチドおよびフェリチンまたはルマジンシンターゼを含む抗原性ポリペプチドが提供される。本明細書に開示されるそのような抗原性OspAポリペプチドは、OspA構成要素に関して抗原性であり、例えばそれらを、抗OspA抗体の産生を誘発するためにヒトのような哺乳動物に投与することができる。抗原性ポリペプチドのフェリチン構成要素は、いずれも本明細書に記載される、任意の種の野生型フェリチン、または1つもしくはそれ以上の変異を含む任意の種のフェリチンであり得る。一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、配列番号1～76のいずれか1つのアミノ酸を含む。一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、配列番号1～76のいずれか1つの配列と少なくとも85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.5%、または100%の同一性を有する配列を含む。抗原性ポリペプチドのルマジンシンターゼ構成要素は、任意の種のルマジンシンターゼであり得る。

10

【0129】

一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、哺乳動物リーダー配列（シグナル配列としても知られる）を含む。一部の実施形態では、哺乳動物リーダー配列は、哺乳動物において発現させた場合、抗原性ポリペプチドの分泌をもたらす。

20

【0130】

1. OspAポリペプチド構成要素

抗原性OspAポリペプチドは、本明細書に記載される任意の改変OspAポリペプチドを含み得る。

【0131】

例えば、一部の実施形態では、抗原性OspAポリペプチドのOspA構成要素は、OspAのエクトドメインを含む。一部の実施形態では、OspAのエクトドメインは、血清型1、2、3、4、5、6、または7のいずれか1つに由来する。例示的な野生型OspA配列は、配列番号83～89として提供される。そのN末端の25アミノ酸は、例えば脂質付加部位を除去するために除去することができる。例示的なOspA配列の受託番号もまた、実施例に提供する。一部の実施形態では、エクトドメインは、ボレリア・ブルグドルフェリ、ボレリア・マヨニイ、ボレリア・アフゼリ、ボレリア・ガリニ、またはボレリア・ババリエンシスに由来する。一部の実施形態では、エクトドメインはボレリア・ブルグドルフェリである。

30

【0132】

一部の実施形態では、エクトドメインは、野生型エクトドメインである。

【0133】

一部の実施形態では、エクトドメインは、改変エクトドメイン、例えばグリコシル化を低減するように改変されたエクトドメインである。導入としてのグリコシル化の考察は前の節に提供され、簡潔にするためにここでは繰り返さない。抗原性OspAポリペプチドのOspA構成要素は、例えば本明細書において詳細に考察されるアミノ酸置換によってエクトドメインにおける1つまたはそれ以上のNグリコシル化部位の除去を含むがこれらに限定されない、グリコシル化を低減または除去するための本明細書に記載される任意の改変を含み得る。

40

【0134】

一部の実施形態では、OspAエクトドメインは、例えば膜貫通ドメインの一部または全てを含む、抗原性ポリペプチドにおけるより大きいOspA配列の一部として存在する。一部の実施形態では、OspAエクトドメインは、抗原性ポリペプチド内の完全長Osp

50

p A 配列に存在する。一部の実施形態では、完全長の O s p A 配列は、野生型の完全長 O s p A 配列である。一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、膜貫通ドメインを含まない。

【0135】

上記で考察した改変のいずれも、抗原性ポリペプチドにおいて組み合わせることができる。一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、グリコシル化を低減させる少なくとも1つの改変および本明細書に記載される少なくとも1つのさらなる改変を含む。

【0136】

一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドの O s p A エクトドメインは、上記の節 B で記載した改変 O s p A エクトドメインのいずれか1つである。

10

【0137】

本明細書で記載される O s p A エクトドメイン（または完全長の O s p A のような O s p A エクトドメインを含む配列のいずれかを、抗原性ポリペプチドにおいて以下に記載されるフェリチンのいずれかと共に組み合わせることができる。

【0138】

2. フェリチン構成要素

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性 O s p A ポリペプチドおよびフェリチンを含む融合タンパク質が包含される。抗原性ポリペプチド中のフェリチンは、野生型であり得るか、または1つもしくはそれ以上の変異（以下の節を参照されたい）を含み得る。一部の実施形態では、フェリチンは、細菌、昆虫、真菌、鳥類、または哺乳動物である。一部の実施形態では、フェリチンはヒトである。一部の実施形態では、フェリチンは細菌である。一部の実施形態では、フェリチンは、イラクサギンウワバフェリチン（P D B : 1 Z 6 O _ X、配列番号 2 1 1 および 2 1 2）である。

20

【0139】

一部の実施形態では、フェリチンは、軽鎖および／または重鎖フェリチンである。一部の実施形態では、フェリチンは、ヒト重鎖フェリチン（F T H 1、G E N E I D 番号：2 4 9 5）、またはヒト軽鎖フェリチン（F T L、G E N E I D 番号：2 5 1 2）である。一部の実施形態では、フェリチンは、重鎖フェリチンおよび軽鎖フェリチンの全体で 2 4 個のサブユニットを含む、「フェリチン粒子」、または「フェリチンナノ粒子」として本明細書で呼ばれる多量体タンパク質である。

30

【0140】

一部の実施形態では、抗原性 O s p A ポリペプチドは、軽鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、重鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、軽鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドは、非フェリチンポリペプチドに連結していない重鎖フェリチンと集合することができる。一部の実施形態では、重鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドは、非フェリチンポリペプチドに連結していない軽鎖フェリチンと集合することができる。非フェリチンポリペプチドに連結していないフェリチンを、「裸のフェリチン」と呼ぶことがある。

【0141】

一部の実施形態では、重鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドは、軽鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドと集合して、単一のフェリチン粒子上で同じまたは異なる抗原の2つの発現を可能にすることができる。一部の実施形態では、2つの異なる抗原は、単一の感染作用物質によってコードされる。一部の実施形態では、2つの異なる抗原は、2つの異なる感染作用物質、例えば異なる血清型または種のボレリアによってコードされる。

40

【0142】

一部の実施形態では、重鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドは、軽鎖フェリチンおよび O s p A ポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドと集合して、二価組成物を産生することができる。一部の実施形態では、フェリチンは、H. ピ

50

ロリフェリチン（そのN末端にウシガエルフェリチンからの8アミノ酸伸長部を含む例示的な野生型H₁ピロリフェリチン配列に関しては、配列番号90を参照されたい）である。一部の実施形態では、H₁ピロリフェリチン（または他の細菌フェリチン）とヒトフェリチンとの間の配列相同性がより低いことにより、抗原性ポリペプチドを構築するためのワクチンプラットフォームとして使用した場合に自己免疫の可能性を減少させ得る（Kaneakiyoら、Cell 162, 1090～1100頁（2015）を参照されたい）。

【0143】

一部の実施形態では、フェリチンは、場合により本明細書に記載される1つまたはそれ以上の変異を有するピュロコックスフリオスス（*Pyrococcus furiosus*）フェリチン（NCBI seq WP_011011871.1）である。

10

【0144】

一部の実施形態では、フェリチンは、野生型フェリチンと70%より高い、75%より高い、80%より高い、85%より高い、90%より高い、95%より高い、97%より高い、98%より高い、または99%より高い同一性を有する配列を含む。

【0145】

一部の実施形態では、フェリチンは昆虫フェリチンである。一部の実施形態では、フェリチンは、場合により本明細書に記載される1つまたはそれ以上の変異を有するイラクサギンウワバフェリチン（PDB: 1Z6O_X、配列番号211および212）である。

【0146】

20

a) フェリチン変異

一部の実施形態では、1つまたはそれ以上の変異を含むフェリチンを本明細書に開示する。一部の実施形態では、1つまたはそれ以上の変異は、例えば野生型フェリチンのアミノ酸配列の変化、および／またはNもしくはC末端での挿入を含む。一部の実施形態では、1、2、3、4、5、またはそれより多くの異なるアミノ酸が、野生型フェリチンと比較してフェリチンにおいて変異している（一部の実施形態では、任意のN末端挿入に加えて）。1つまたはそれ以上の変異は、例えば以下で詳細に考察するように、フェリチンの機能的特性を変化させることができる。一般的に、変異は単に、対応する野生型フェリチンと比較した配列の差（置換された、付加された、または欠失されたアミノ酸残基または複数の残基のような）を指す。

30

【0147】

1. コンジュゲーションのためのシステイン

一部の実施形態では、フェリチンを、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチドのコンジュゲーションのための化学ハンドルを提供するように変異させる。これは、表面に露出した非システインアミノ酸をシステインに置き換える変異によって達成することができる。誤解を避けるため、「表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える」のような表現は、野生型または変異前配列における表面に露出したアミノ酸がシステインではないことを必然的に暗示している。免疫刺激性部分または非フェリチンポリペプチドのコンジュゲーションのための化学ハンドルを提供する別のアプローチは、リンカーのようなアミノ酸のセグメントをフェリチンのNまたはC末端に含めることであり、アミノ酸のセグメントはシステインを含む。一部の実施形態では、このシステイン（表面に露出したアミノ酸を置き換えるか、またはNもしくはC末端リンカーにある）は不対であり、このことは、これがジスルフィド結合を形成するために適切なパートナーシステインを有していないことを意味する。一部の実施形態では、このシステインは、フェリチンの二次構造を変化させない。一部の実施形態では、このシステインは、フェリチンの三次構造を変化させない。

40

【0148】

一部の実施形態では、このシステインを使用して、免疫刺激性部分のような作用物質をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、このシステインは、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン上のこの

50

システインにコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン粒子の表面上で露出する。一部の実施形態では、このシステインは、投与後にフェリチン粒子が集合する間、対象の分子および細胞と相互作用することができる。

【0149】

一部の実施形態では、このシステインの存在により、1つまたはそれ以上の免疫刺激性部分、例えばアジュバントのコンジュゲーションが可能となる。一部の実施形態では、免疫刺激性部分のコンジュゲーションは、このシステインの非存在下では起こらない。

【0150】

一部の実施形態では、システインに置き換えられる非システインアミノ酸は、H. ピロリフェリチンのE12、S72、A75、K79、S100、およびS111から選択される。このように、一部の実施形態では、システインのために置き換えられる表面に露出したアミノ酸は、H. ピロリフェリチンのE12、S26、S72、A75、K79、S100、またはS111に対応するアミノ酸残基である。類似のアミノ酸を、ペアワイズまたは構造アライメントによって、非H. ピロリフェリチンにおいて見出すことができる。一部の実施形態では、システインに置き換えられる非システインアミノ酸は、ヒト軽鎖フェリチンのS3、S19、S33、I82、A86、A102、およびA120に対応するアミノ酸から選択することができる。一部の実施形態では、システインに置き換えられる表面に露出したアミノ酸は、本来のアミノ酸がシステインに置き換えられた場合、これは集合したフェリチン多量体もしくは粒子において反応性である、および／またはこのシステインはフェリチン多量体もしくは粒子の安定性を妨害しない、および／またはこのシステインがフェリチンの発現レベルの低減をもたらさないという理解に基づいて選択される。

【0151】

一部の実施形態では、フェリチンはE12C変異を含む。一部の実施形態では、E12C残基を使用して、作用物質（例えば、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、E12C残基は、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン単量体上のE12C残基にコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン多量体または粒子の表面上で発現される。一部の実施形態では、24個のE12C残基（各単量体から1つ）が、フェリチン多量体または粒子の表面上に存在する。

【0152】

一部の実施形態では、フェリチンは、S26C変異を含む。一部の実施形態では、S26C残基を使用して、作用物質（例えば、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、S26C残基は、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン単量体上のS26C残基にコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン多量体または粒子の表面上で発現される。一部の実施形態では、24個のS26C残基（各単量体から1つ）が、フェリチン多量体または粒子の表面上に存在する。

【0153】

一部の実施形態では、フェリチンは、S72C変異を含む。一部の実施形態では、S72C残基を使用して、作用物質（例えば、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、S72C残基は、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン単量体上のS72C残基にコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン多量体または粒子の表面上で発現される。一部の実施形態では、24個のS72C残基（各単量体から1つ）が、フェリチン多量体または粒子の表面上に存在する。

【0154】

一部の実施形態では、フェリチンは、A75C変異を含む。一部の実施形態では、A75C残基を使用して、作用物質（例えば、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、A

75C残基は、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン単量体上のA75C残基にコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン多量体または粒子の表面上で発現される。一部の実施形態では、24個のA75C残基（各単量体から1つ）が、フェリチン多量体または粒子の表面上に存在する。

【0155】

一部の実施形態では、フェリチンは、K79C変異を含む。一部の実施形態では、K79C残基を使用して、作用物質（例えば、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、K79C残基は、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン単量体上のK79C残基にコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン多量体または粒子の表面上で発現される。一部の実施形態では、24個のK79C残基（各単量体から1つ）が、フェリチン多量体または粒子の表面上に存在する。

10

【0156】

一部の実施形態では、フェリチンは、S100C変異を含む。一部の実施形態では、S100C残基を使用して、作用物質（例えば、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、S100C残基は、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン単量体上のS100C残基にコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン多量体または粒子の表面上で発現される。一部の実施形態では、24個のS100C残基（各単量体から1つ）が、フェリチン多量体または粒子の表面上に存在する。

20

【0157】

一部の実施形態では、フェリチンは、S111C変異を含む。一部の実施形態では、S111C残基を使用して、作用物質（例えば、免疫刺激性部分および／または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、S111C残基は、反応性である遊離のチオール基を提供する。一部の実施形態では、フェリチン単量体上のS111C残基にコンジュゲートされた作用物質は、集合したフェリチン多量体または粒子の表面上で発現される。一部の実施形態では、24個のS111C残基（各単量体から1つ）が、フェリチン多量体または粒子の表面上に存在する。

【0158】

2. 内部システインの除去

30

一部の実施形態では、フェリチンは、内部システインを非システインアミノ酸に置き換える変異を含む。本来の内部システイン残基を除去することによって、フェリチン単量体あたり1つのみの不對システインが存在することを確実にし、ジスルフィド形成のような望ましくない反応を回避することができ、より安定かつ効率的な結果（例えば、アジュバントの提示）をもたらす。一部の実施形態では、H. ピロリフェリチンのC31が非システインアミノ酸に置き換えられる。一部の実施形態では、H. ピロリフェリチンのC31がセリンに置き換えられる（C31S）が、任意の非システイン残基、例えばアラニン、グリシン、トレオニン、またはアスパラギンを使用してもよい。類似のアミノ酸を、ペアワイズまたは構造アライメントによって、非H. ピロリフェリチンにおいて見出すことができる。このように、一部の実施形態では、非システインのために置き換えられる内部システインは、H. ピロリフェリチンのC31と整列するアミノ酸残基である。C31S変異を示す例示的なフェリチン配列を、配列番号201～207に示す。一部の実施形態では、1つより多くの内部システインがフェリチンに存在する場合、2つまたはそれより多く（例えば、各々の）内部システインは、セリン、またはセリン、アラニン、グリシン、トレオニン、もしくはアスパラギンから選択されるアミノ酸のような非システインアミノ酸に置き換えられる。

40

【0159】

3. グリコシル化

ヒト適合性のグリコシル化は、組換え薬物製品における安全性および効能に関与し得る。規制当局の承認は、極めて重要な品質属性として適切なグリコシル化を証明することを

50

条件とし得る（Zhangら、Drug Discovery Today 21（5）：740～765頁（2016）を参照されたい）。N-グリカンは、アスパラギン側鎖のグリコシル化に起因することができ、ヒトと、細菌および酵母のような他の生物との間で構造が異なり得る。このように、本開示に従うフェリチンにおいて、非ヒトグリコシル化および／またはNグリカン形成を低減または除去することが望ましいであろう。一部の実施形態では、フェリチンのグリコシル化を制御することにより、特にヒトワクチン接種に使用する場合、組成物の効能および／または安全性が改善される。

【0160】

一部の実施形態では、フェリチンを、N-グリカンの形成を阻害するように変異させる。一部の実施形態では、変異したフェリチンは、その対応する野生型フェリチンと比較して低減されたグリコシル化を有する。

10

【0161】

一部の実施形態では、フェリチンは、表面に露出したアスパラギンを非アスパラギンアミノ酸に置き換える変異を含む。一部の実施形態では、表面に露出したアスパラギンは、H. ピロリフェリチンのN19、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって決定される、H. ピロリフェリチンの31位に対応する位置である。一部の実施形態では、そのようなアスパラギン、例えばH. ピロリフェリチンのN19を変異させることは、フェリチンのグリコシル化を減少させる。一部の実施形態では、変異は、アスパラギンをグルタミンに置き換える。一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異を含むH. ピロリフェリチンである。配列番号201～207は、N19Q変異を含む例示的なフェリチン配列である。

20

【0162】

細菌または酵母において産生されたグリコシル化タンパク質に曝露された哺乳動物は、細菌または酵母における所定のタンパク質のグリコシル化パターンが、哺乳動物における同じタンパク質のグリコシル化パターンとは異なり得ることから、グリコシル化タンパク質に対する免疫応答を生じ得る。このように、いくつかのグリコシル化治療タンパク質は、細菌または酵母における産生にとって適切ではないことがあり得る。

【0163】

一部の実施形態では、アミノ酸変異によるフェリチンのグリコシル化の減少は、細菌または酵母におけるタンパク質の産生を促進する。一部の実施形態では、フェリチンのグリコシル化の減少は、細菌または酵母において発現された変異フェリチンの投与時の哺乳動物における副作用の可能性を低減させる。一部の実施形態では、細菌または酵母において産生された変異フェリチンのヒト対象における反応原性は、グリコシル化が減少していることから低い。一部の実施形態では、ヒト対象における過敏応答の発生率は、野生型フェリチンと比較して低減されたグリコシル化を有する変異フェリチンによる処置後では低い。

30

【0164】

一部の実施形態では、低減されたグリコシル化を有する変異フェリチンを含む組成物の対象における分解は、野生型フェリチンを含む組成物、または野生型グリコシル化を有する対応するフェリチンを含む組成物と比較して遅い。一部の実施形態では、低減されたグリコシル化を有する変異フェリチンを含む組成物は、野生型フェリチン、または野生型グリコシル化を有する対応するフェリチンを含む組成物と比較して、対象において低減されたクリアランスを有する。一部の実施形態では、低減されたグリコシル化を有する変異フェリチンを含む組成物は、野生型フェリチン、または野生型グリコシル化を有する対応するフェリチンを含む組成物と比較してより長い血清中半減期を有する。

40

【0165】

4. 変異の組合せ

一部の実施形態では、フェリチンは、本明細書に記載される変異の1つより多くのタイプを含む。一部の実施形態では、フェリチンは、グリコシル化を減少させる変異、内部システインを除去する変異、および表面に露出したシステインを生成する変異から独立して

50

選択される1つまたはそれ以上の変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、グリコシル化を減少させる変異、内部システインを除去する変異、および表面に露出したシステインを生成する変異を含む。

【0166】

一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異、C31S変異、および表面に露出したシステインを生成する変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異、C31S変異、およびE12C変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異、C31S変異、およびS72C変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異、C31S変異、およびA75C変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異、C31S変異、およびK79C変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異、C31S変異、およびS100C変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、N19Q変異、C31S変異、およびS111C変異を含む。一部の実施形態では、フェリチンは、前述の変異の組のいずれかに対応する変異を含み、対応する変異は、フェリチンアミノ酸配列とH. ピロリフェリチンアミノ酸配列（配列番号208または209）とのペアワイズアライメントによって決定した位置で、NをQに、CをSに、および非システインの表面に露出したアミノ酸をシステインに変化させる。

【0167】

1つより多くのタイプの変異を含む例示的なフェリチンを、配列番号201～207に提供する。

【0168】

5. 構造アライメント

本明細書で考察したように、所与のポリペプチド（例えば、H. ピロリフェリチン）に関して記載した変異に対応する変異の位置は、ペアワイズまたは構造アライメントによって同定することができる。構造アライメントは、タンパク質がかなりの配列変動にも関わらず類似の構造を共有し、ファミリーの多くのメンバーが構造的に特徴付けされている、フェリチンのような大きいタンパク質ファミリーにとって適切であり、これもまた、ボレリアポリペプチド（例えば、OspA）のような、本明細書に記載される他のポリペプチドの異なる形態における対応する位置を同定するために使用することができる。タンパク質データベース（PDB）は、その受託番号と共に以下に列挙するフェリチンを含む、多くのフェリチンに関する3D構造を含む。

【0169】

2jd6, 2jd7-PfFR-ピュロコックスフリオス。2jd8-PfFR+Zn。3a68-遺伝子SferH4由来のsoFR-ダイズ。3a9q-遺伝子SferH4（変異体）由来のsoFR。3egm, 3bv f, 3bv i, 3bv k, 3bv l-HpFR-ヘリコバクターピロリ。5c6f-HpFR（変異体）+Fe。1z4a, 1vlg-FR-テルモトガマリティマ（Thermotoga maritima）。1s3q, 1sq3, 3kx9-FR-アルカエオグロブスフルギダス（Archaeoglobus fulgidus）。1krq-FR-カンピロバクタージェジュニ（Campylobacter jejuni）。1eum-EcFR-大腸菌（Escherichia coli）。4reu-EcFR+Fe。4xgs-EcFR（変異体）+Fe2O2。4ztt-EcFR（変異体）+Fe2O+Fe2+Fe+O2。1qgh-LiFR-リステリアイノキュア（Listeria innocua）。3qz3-VcFR-ビブリオコレラ（Vibrio cholerae）。3vnx-FR-アシアオサ（Ulva pertusa）。4ism, 4isp, 4itt, 4itw, 4iwj, 4iwk, 4ixk, 3e6s-PnmFR-プセウドニッチア（Pseudonitschia multiseries）。4zkh, 4zkw, 4z kx, 4z l5, 4z l6, 4z lw, 4zmc-PnmFR（変異体）+Fe。1z6o-FR-イラクサギンウワバ。4cmy-FR+Fe-緑色硫黄細菌（Chlorobaculum tepidum）。フェリチン軽鎖（FTL）。1lb3, 1h96-mFTL-マウ

ス。1 r c c, 1 r c d, 1 r c i - b F T L + タルトレート + M g。1 r c e, 1 r c g - b F T L + タルトレート + M n。3 n o z, 3 n p 0, 3 n p 2, 3 o 7 r - h o F T L (変異体) - ウマ。3 o 7 s, 3 u 9 0 - h o F T L。4 v l w - h o F T L - c r y o E M。3 r a v, 3 r d 0 - h o F T L + バルビツレート。フェリチン軽鎖 + 重鎖 : 5 g n 8 - h F T H + C a。

【0170】

構造アライメントは、(i) 第2の配列の公知の構造を使用して第1の配列の構造をモデリングする工程、または(ii) 両方が公知である第1および第2の配列の構造を比較する工程、ならびに第2の配列における目的の残基に最も類似に位置する第1の配列中の残基を同定する工程によって、2つ(またはそれより多く)のポリペプチド配列を超えて対応する残基を同定する工程を伴う。対応する残基は、重ねた構造におけるアルファ炭素の距離の最小化(例えば、どの組のアルファ炭素対がアライメントに関する最小平均二乗偏差を提供するか)に基づいて一部のアルゴリズムにおいて同定される。H. ピロリフェリチンに関して記載された位置に対応する非H. ピロリフェリチンにおける位置を同定する場合、H. ピロリフェリチンは、「第2の」配列であり得る。目的の非H. ピロリフェリチンが利用可能な公知の構造を有しないが、公知の構造を有する別の非H. ピロリフェリチンに、H. ピロリフェリチンより密接に関連する場合、密接に関連する非H. ピロリフェリチンの公知の構造を使用して目的の非H. ピロリフェリチンをモデリングし、次にそのモデルをH. ピロリフェリチン構造と比較して、目的のフェリチンにおける所望の対応する残基を同定することが最も有効であり得る。構造モデリングおよびアライメントに関して広範囲の文献が存在し、代表的な開示には、米国特許第6859736号; 米国特許第8738343号; およびAslamら、Electronic Journal of Biotechnology 20(2016)9~13頁において引用される開示が挙げられる。公知の関連する構造または複数の構造に基づく構造のモデリングの考察に関して、例えば、Bordolira、Nature Protocols 4(2009)1~13頁、およびその中で引用されている参考文献を参照されたい。

【0171】

4. ルマジシンターゼ

一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、ルマジシンターゼタンパク質(Raら、Clin Exp Vaccine Res 3:227~234頁(2014)を参照されたい)を含む。一部の実施形態では、このタンパク質は、ルマジシンターゼ血清型1、2、3、4、5、6、または7である。例示的なルマジシンターゼ配列を、配列番号216および219に提供する。一部の実施形態では、ルマジシンターゼは、配列番号216または219と80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有する配列を含む。ルマジシンターゼは、高次構造、例えば60サブユニットのルマジシンターゼ粒子を形成することができる。例示的なルマジシンターゼは、アクイフェクス・アエオリクス(Aquifex aeolicus)ルマジシンターゼおよび大腸菌(E. coli)ルマジシンターゼである。ルマジシンターゼは、OspA(例えば、完全長のOspAのようなOspAエクドメインを含む配列)のC末端に位置することができ、本明細書に記載されるリンカーによってOspAから分離することができる。ルマジシンターゼタンパク質を含む例示的な抗原性ポリペプチドは、配列番号12~21である。一部の実施形態では、抗原性ポリペプチドは、配列番号12~21のいずれか1つと80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有する配列を含む。

【0172】

5. リンカー

一部の実施形態では、フェリチンまたはルマジシンターゼは、リンカーを介してOspA(例えば、完全長のOspAのようなOspAエクドメインを含む配列)に結合(例えば、融合)される。

【0173】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、リンカーは、非フェリチンポリペプチド（例えば、O s p A）のアミノ酸配列をフェリチンのアミノ酸配列から分離する。任意のリンカーを使用してもよい。一部の実施形態では、リンカーは、融合タンパク質としての抗原性フェリチンポリペプチドの発現を容易にすることができるペプチドリinkerである（例えば、単一のオープンリーディングフレーム由来）。一部の実施形態では、リンカーは、グリシン-セリンリンカーである。一部の実施形態では、グリシン-セリンリンカーは、G S、G G G S（配列番号 2 2 6）、2 X G G G S（配列番号 9 1）（すなわち、G G G S G G G S（配列番号 9 1））、または 5 X G G G S（配列番号 9 2）である。リンカーは、フェリチンに対して N または C 末端である。

【0174】

一部の実施形態では、リンカーは、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、約 2 ~ 4、2 ~ 6、2 ~ 8、2 ~ 10、2 ~ 12、または 2 ~ 14 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、少なくとも 15 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、少なくとも 25 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、少なくとも 30 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、少なくとも 35 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、少なくとも 40 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、60 アミノ酸長未満またはそれに等しい。一部の実施形態では、リンカーは、50 アミノ酸長未満またはそれに等しい。一部の実施形態では、リンカーは、約 16、28、40、46、または 47 アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、フレキシブルである。一部の実施形態では、リンカーは、例えば免疫刺激性部分（例えば、アジュバント）のコンジュゲーション部位として使用するためのシステインを含む；システインを含む例示的なリンカーを、配列番号 2 2 5 として提供する。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号 2 2 5 と少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、または 95 % の同一性を有する配列を含み、配列番号 2 2 5 中のシステインに対応するシステインをさらに含む。一部の実施形態では、リンカーは、少なくとも 25 アミノ酸（例えば、25 ~ 60 アミノ酸）を含み、システインは、N 末端から 8 番目のアミノ酸から C 末端から 8 番目のアミノ酸までの範囲の位置、または中央残基の 10 アミノ酸以内の位置、またはリンカーの結合位置に位置する。

【0175】

一部の実施形態では、リンカーは、グリシン（G）および／またはセリン（S）アミノ酸を含む。一部の実施形態では、リンカーは、グリシン（G）、セリン（S）、アスパラギン（N）、および／またはアラニン（A）アミノ酸、ならびに場合により上記のようなシステインを含むか、またはそれからなる。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号 2 2 2 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、リンカーは、G G G G S G G G G S G G G G S G（配列番号 2 2 0）、G G S G S G S N S S A S S G A S S G G A S G G S G G S G（配列番号 2 2 1）、G G S G S A S S G A S A S G S S N G S G S G S G S N S S A S S G A S S G G A S G G S G G S G（配列番号 2 2 2）、または G S である。一部の実施形態では、リンカーは、F R 1（配列番号 2 2 3）または F R 2（配列番号 2 2 4）である。

【0176】

一部の実施形態では、フェリチンは、ウシガエルフェリチンのアミノ末端伸長部を有する H₂ ピロリフェリチン（ハイブリッドフェリチンと呼ぶ）を含む。一部の実施形態では、このハイブリッドフェリチンは、表面上に均一に分布した非フェリチンポリペプチド結合部位を有する多量体を形成する（K a n e k i y o 2015 を参照されたい）。一部の実施形態では、ハイブリッドフェリチンとの N 末端融合タンパク質は、フェリチンナノ粒子表面上の非フェリチンポリペプチドの提示を可能にする。一部の実施形態では、非フェリチンポリペプチドは、ウイルスまたは細菌ポリペプチドである。一部の実施形態では、フェリチンは、配列番号 2 0 8（このグルタメートを含むハイブリッドフェリチン）の

13位、または配列番号209（6位がイソロイシンである野生型H. ピロリフェリチン）の6位に対応する位置でグルタメートを含む。ウシガエルリンカーと組み合わせて、このグルタメートは、ヒトおよびウシガエルフェリチンにおいて見出される保存された塩架橋を保存すると考えられる（ヒト軽鎖およびウシガエル下部サブユニットフェリチンの両方における6Rおよび14E）。Kanekiyoら、Cell 162, 1090~1100頁（2015）を参照されたい。

【0177】

一部の実施形態では、抗原性OspAポリペプチドは、システイン-トロンビン-ヒスチジンリンカーを介してフェリチンに連結される。一部の実施形態では、このリンカーを使用して、クリックケミストリーを介してある部分（例えば、免疫刺激性部分または非フェリチンポリペプチド）をフェリチンに直接コンジュゲートする。システイン-トロンビン-ヒスチジンリンカーを含む例示的な配列は、配列番号218である。システイン-トロンビン-ヒスチジンリンカーを伴うコンジュゲーション反応にとって適したクリックケミストリーは上記で考察されている。

【0178】

一部の実施形態では、アジュバントのような免疫刺激性部分のためのコンジュゲーション部位としてシステインを含むリンカーは、表面に露出した不対システインを欠如するフェリチン分子を含む構築物において、または表面に露出した不対システインを含むフェリチン分子を含む構築物において使用される。

【0179】

一部の実施形態では、構築物はリンカーを含まない。一部の実施形態では、構築物は、1つのリンカーを含む。一部の実施形態では、構築物は、2つまたは2つより多くのリンカーを含む。

【0180】

6. 免疫刺激性部分；アジュバント；コンジュゲートポリペプチド

一部の実施形態では、非フェリチンポリペプチド（例えば、OspAポリペプチド）および／またはアジュバントのような免疫刺激性部分は、フェリチンまたはリンカーの表面に露出したアミノ酸に結合する。一部の実施形態では、表面に露出したアミノ酸は、例えば上記で考察した変異に起因するシステインである。一部の実施形態では、表面に露出したアミノ酸は、リシン、アスパルテート、またはグルタメートである。グルタルアルデヒド（リシンをアミノ担持リンカーまたは部分にコンジュゲートするため）またはカルボジイミド（例えば、アスパルテートもしくはグルタメートをアミノ担持リンカーもしくは部分にコンジュゲートするための、またはリシンをカルボキシル担持リンカーもしくは部分にコンジュゲートするための、1-シクロヘキシル-3-（2-モルフォリン-4-イル-エチル）カルボジイミド、または1-エチル-3-（3-ジメチル-アミノプロピル）カルボジイミド（EDC；EDAC））を使用するコンジュゲーション手順は、例えばワールドワイドウェブspringer.comから入手可能な、Chapter 4 of Holtzhauer, M., Basic Methods for the Biochemical Lab, Springer 2006, ISBN 978-3-540-32785-1に記載されている。

【0181】

一部の実施形態では、アジュバントのような免疫刺激性部分は、フェリチンの表面に露出したアミノ酸に結合する。一部の実施形態では、アジュバントのような1つより多くの免疫刺激性部分が、フェリチンの表面に露出したアミノ酸に結合する。一部の実施形態では、24個の免疫刺激性部分が、フェリチン多量体または粒子（例えば、H. ピロリフェリチン粒子における各々の単量体の1つの部分）に結合する。複数の免疫刺激性部分がフェリチンナノ粒子に結合した一部の実施形態では、免疫刺激性部分は全て同一である。複数の免疫刺激性部分がフェリチンナノ粒子に結合した一部の実施形態では、免疫刺激性部分は全て同一ではない。

【0182】

a) 免疫刺激性部分のタイプ；アジュバント

表面に露出したアミノ酸（例えば、システイン）に結合することができる免疫刺激性部分を、本開示に従ってフェリチン（またはリンカー）において使用することができる。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、B細胞アゴニストである。

【0183】

一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、疎水性ではない。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は親水性である。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、極性である。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、水素結合またはイオン結合することが可能であり、例えば水素結合ドナー、水素結合アクセプター、カチオン性部分またはアニオン性部分を含む。部分が、pH 6、7、7.4、または8のような生理的に関連するpHで、水溶液中でイオン化される場合、部分はカチオン性またはアニオン性であると考えられる。

10

【0184】

一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、アジュバントである。一部の実施形態では、アジュバントは、病原体関連分子パターン（PAMP）を含む。一部の実施形態では、アジュバントは、*tollike* 受容体（TLR）アゴニストまたはインターフェロン遺伝子（STING）アゴニストの刺激剤である。一部の実施形態では、アジュバントはBおよび／またはT細胞におけるTLRシグナル伝達を活性化する。一部の実施形態では、アジュバントは、適応免疫応答を調節する。

【0185】

(1) TLR2アゴニスト

一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR2アゴニストである。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR2シグナル伝達を刺激する。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR2の合成低分子リガンドである。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR2シグナル伝達の合成低分子アゴニストである。

20

【0186】

一部の実施形態では、TLR2アゴニストは、PAM2CSK4、FSL-1、またはPAM3CSK4である。

【0187】

(2) TLR7／8アゴニスト

一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR7および／またはTLR8アゴニスト（すなわち、TLR7およびTLR8の少なくとも1つのアゴニスト）である。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR7および／またはTLR8シグナル伝達を刺激する。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR7および／またはTLR8の合成低分子リガンドである。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR7および／またはTLR8シグナル伝達の合成低分子アゴニストである。

30

【0188】

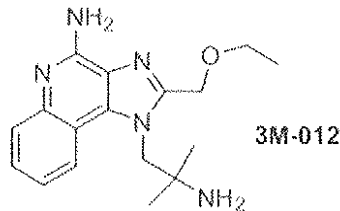
一部の実施形態では、TLR7および／またはTLR8アゴニストは、一本鎖（ssRNA）である。一部の実施形態では、TLR7および／またはTLR8アゴニストは、イミダゾキノリンである。一部の実施形態では、TLR7および／またはTLR8アゴニストは、ヌクレオシドアナログである。

40

【0189】

一部の実施形態では、TLR7および／またはTLR8アゴニストは、3M-012（3M Pharmaceuticals）のようなイミダゾキノリンアミン*Tollike* 受容体（TLR）アゴニストである。遊離の3M-012の構造は：

【化 1】

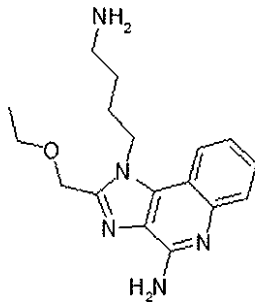


である。3M-012または本明細書で考察する任意の部分のような免疫刺激性部分は、この部分の適切な末端原子（例えば、水素）を、例えば表面に露出したシステインの硫黄での本明細書に記載されるフェリチンとの結合に置換することによって、またはそのような硫黄に結合するリンカーによってフェリチンにコンジュゲートすることができると理解される。このように、フェリチンにコンジュゲートする場合、免疫刺激性部分の構造は、遊離の分子の構造とはわずかに異なる。

【0190】

一部の実施形態では、TLR7および／またはTLR8アゴニストは、SM7／8aである。遊離のSM7／8aの構造は：

【化 2】



である。

【0191】

例えば、Lynnら、Nat Biotechnol. 2015 Nov; 33(11): 1201~10頁. doi: 10.1038/nbt.3371を参照されたい。

【0192】

(3) TLR9アゴニスト

一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR9アゴニストである。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR9シグナル伝達を刺激する。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR9の合成低分子リガンドである。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、TLR9シグナル伝達の合成低分子アゴニストである。

【0193】

一部の実施形態では、TLR9アゴニストは、CpGオリゴデオキシヌクレオチド (ODN) である。一部の実施形態では、TLR9アゴニストは、非メチル化CpG ODN である。一部の実施形態では、CpG ODNは、通常のDNAにおいて見出される天然のホスホジエステル (PO) 骨格の代わりに、部分的または完全なホスホロチオエート (PS) 骨格を含む。

【0194】

一部の実施形態では、CpG ODNは、クラスB ODNであり、これは5' プリン (Pu) -ピリミジン (Py) -C-G-Py-Pu 3' を含む1つまたはそれ以上の6量体CpGモチーフを含み；十分にホスホロチオエート化された（すなわち、PS改変された）骨格を有し；18~28ヌクレオチド長を有する。一部の実施形態では、CpG ODNは、配列番号210の配列を含み、場合により、骨格にホスホロチオエート結合を含む。

【0195】

一部の実施形態では、TLR9アゴニストは、免疫刺激性配列（ISS）を含む。一部の実施形態では、TLR9アゴニストは、ISS-1018（Dynavax）（配列番号210）である。

【0196】

(4) STINGアゴニスト

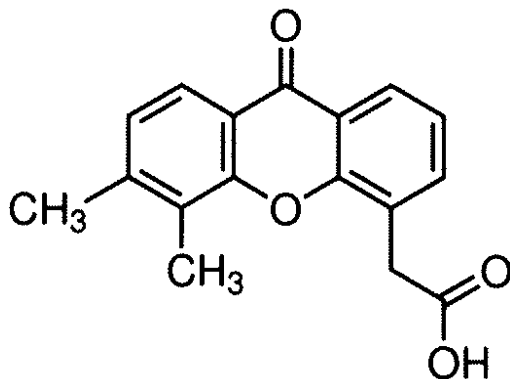
一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、STING（インターフェロン遺伝子タンパク質刺激因子、小胞体IFN刺激因子とも呼ばれる）アゴニストである。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、STINGシグナル伝達を刺激する。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、STINGの合成低分子リガンドである。一部の実施形態では、免疫刺激性部分は、STINGシグナル伝達の合成低分子アゴニストである。

10

【0197】

一部の実施形態では、STINGアゴニストは、環状ジヌクレオチド（CDN）である。例えば、Danielchankaら、Cell 154:962~970頁（2013）を参照されたい。例示的なCDNは、cdA、cdG、cAMP-cGMP、および2'-5', 3'-5' cGAMPを含む（構造に関しては、Danielchankaらを参照されたい）。STINGアゴニストはまた、DMXAAのような合成アゴニストも含む。

【化3】



20

【0198】

b) コンジュゲートした非フェリチンポリペプチド

一部の実施形態では、抗原性OspAポリペプチドは、フェリチンの表面に露出したアミノ酸にコンジュゲートされる。一部の実施形態では、抗原性OspAポリペプチドは、単独で抗原性であるが、一部の実施形態では、抗原性OspAポリペプチドは、フェリチンとのその会合のために抗原性である。

【0199】

7. コンジュゲーション

一部の実施形態では、表面に露出したシステインを使用して、アジュバントのような免疫刺激性部分または抗原性OspAポリペプチドをフェリチンにコンジュゲートする。一部の実施形態では、表面に露出したシステインを使用して、リンカーをフェリチンにコンジュゲートし、リンカーを次に、アジュバントのような免疫刺激性部分、または抗原性OspAポリペプチドにコンジュゲートすることができる。一部の実施形態では、表面に露出したシステインは、アジュバント、リンカー、または抗原性OspAポリペプチドを結合させるコンジュゲーション反応のための化学ハンドルを作製する。

40

【0200】

一部の実施形態では、バイオコンジュゲートが産生され、アジュバントのような免疫刺激性部分、または抗原性OspAポリペプチドが、フェリチンの表面に露出した不對システインの還元後にフェリチンに連結される。表面に露出した不對システインは、ジスルフィド結合を形成するためのパートナーシステインを適切な位置に欠如するシステインであ

50

る。一部の実施形態では、不對システインは、遊離のチオール側鎖を含む。

【0201】

a) コンジュゲーションケミストリーのタイプ

任意のタイプのケミストリーを使用して、例えばシステインまたはLys、Glu、もしくはAspのような別のアミノ酸のような表面に露出したアミノ酸の反応を介して、アジュバントのような免疫刺激性部分または抗原性OspAポリペプチドをフェリチンにコンジュゲートすることができる。

【0202】

一部の実施形態では、コンジュゲーションは、クリックケミストリーを使用して実施される。本明細書で使用される場合、「クリックケミストリー」は、互いに急速かつ選択的に反応する（すなわち、「クリックする」）1対の官能基間での反応を指す。一部の実施形態では、クリックケミストリーは、緩和な水性条件下で実施することができる。一部の実施形態では、クリックケミストリー反応は、表面に露出したアミノ酸の変異に起因するシステインのようなフェリチンの表面上のシステインを利用し、システインと反応することができる官能基を使用してクリックケミストリーを実施する。

【0203】

クリックケミストリーの基準を満たす多様な反応が、当技術分野で公知であり、当業者は、複数の公表された方法論のいずれかを使用することができる（例えば、Heinら、Pharm Res 25(10):2216~2230頁(2008)を参照されたい）。クリックケミストリーに関してSigma Aldrich、Jena Bioscience、またはLumiprobeの試薬のような広範囲の市販の試薬を使用することができる。一部の実施形態では、コンジュゲーションは、以下の実施例に記載されるようにクリックケミストリーを使用して実施される。

【0204】

一部の実施形態では、クリックケミストリーは、フェリチンの還元後に起こる。

【0205】

一部の実施形態では、クリックケミストリーは、1ステップクリック反応であり得る。一部の実施形態では、クリックケミストリーは、2ステップクリック反応であり得る。

【0206】

一部の実施形態では、反応は、金属フリーのクリックケミストリーを含む。一部の実施形態では、反応は、チオールマレイミドおよび／またはジスルフィド交換を含む。

【0207】

金属フリークリックケミストリー

金属フリークリックケミストリーは、タンパク質の起こり得る酸化を回避するためにコンジュゲーション反応に関して使用することができる。金属フリークリックケミストリーは、抗体コンジュゲートを形成するために使用されている(van Geelら、Bioconjugate Chem. 2015, 26, 2233~2242頁を参照されたい)。

【0208】

一部の実施形態では、金属フリークリックケミストリーは、アジュバントをフェリチンに結合させる反応において使用される。一部の実施形態では、アジュバントをフェリチンに結合させる反応において銅フリーコンジュゲーションを使用する。一部の実施形態では、金属フリークリックケミストリーは、ビスクロ[6.1.0]ノニン(BCN)を使用する。一部の実施形態では、金属フリークリックケミストリーは、ジベンゾアザシクロオクチン(DBCO)を使用する。一部の実施形態では、BCNまたはDBCOは、アジド基と反応する。

【0209】

DBCOは、触媒の非存在下での歪み促進型クリック反応を介してアジド基に対して高い特異性を有し、高収率の安定なトリアゾールをもたらす。一部の実施形態では、DBCOは、銅触媒の非存在下でアジドと反応する。

10

20

30

40

50

【0210】

一部の実施形態では、金属フリークリックケミストリーは、1ステップクリック反応において使用される。一部の実施形態では、金属フリークリックケミストリーは、2ステップクリック反応において使用される。

【0211】

チオール-マレイミドおよびジスルフィド交換

本明細書で使用されるフェリチンは、スルフヒドリルとしても知られるチオールを含むシステインを含むことができ、これはスルフヒドリル反応性化学基との反応に関して利用可能である（または還元を通して利用可能となり得る）。このように、システインは、アジュバントのような免疫刺激性部分をフェリチンに付加するための化学選択的改変を可能にする。塩基性条件下では、システインは、脱プロトン化されて、チオレート求核試薬を生成し、これはマレイミドおよびヨードアセトアミドのような弱い求電子試薬と反応することができる。システインとマレイミドまたはヨードアセトアミドとの反応は、炭素-硫黄結合をもたらす。

10

【0212】

一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基は、表面に露出したシステインまたはフェリチンのリンカー中のシステインと反応する。一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基は、ハロアセチル、マレイミド、アジリジン、アクリロイル、アリアル化剤、ビニルスルホン、ピリジルジスルフィド、またはTNB-チオールである。

20

【0213】

一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基は、アルキル化によってシステインのスルフヒドリルにコンジュゲートする（すなわち、チオエーテル結合の形成）。一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基は、ジスルフィド交換によってシステインのスルフヒドリルにコンジュゲートする（すなわち、ジスルフィド結合の形成）。

【0214】

一部の実施形態では、アジュバントのような免疫刺激性部分をフェリチンにコンジュゲートする反応は、チオール-マレイミド反応である。

【0215】

一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基は、マレイミドである。一部の実施形態では、マレイミドとシステインとの反応は、例えば可逆的ではない安定なチオエステル結合の形成をもたらす。一部の実施形態では、マレイミドは、フェリチン中のチロシン、ヒスチジン、またはメチオニンとは反応しない。一部の実施形態では、非反応マレイミドは、遊離のチオールを例えば過剰に添加することによって、反応終了時にクエンチされる。

30

【0216】

一部の実施形態では、アジュバントのような免疫刺激性部分をフェリチンにコンジュゲートする反応は、ジスルフィド相互交換としても知られるチオール-ジスルフィド交換である。一部の実施形態では、反応は、当初のジスルフィドの一部を含む混合ジスルフィドの形成を伴う。一部の実施形態では、当初のジスルフィドは、表面に露出したアミノ酸の変異またはN末端リンカーの付加によってフェリチンに導入されたシステインである。

40

【0217】

一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基は、ピリジルジチオールである。一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基は、TNB-チオール基である。

【0218】

b) リンカー

一部の実施形態では、アジュバントのような免疫刺激性部分、または抗原性O s p Aポリペプチドは、システインのような表面に露出したアミノ酸に共有結合したリンカーを介してフェリチンに結合する。一部の実施形態では、リンカーは、ポリエチレングリコール、例えば、PEGリンカーを含む。一部の実施形態では、ポリエチレングリコール（例えば、PEG）リンカーは、アジュバントのような免疫刺激性部分に連結したフェリチンの

50

水溶性およびライゲーショ効率を増加させる。PEGリンカーは、2～18 PEG長の間、例えば、PEG 4、PEG 5、PEG 6、PEG 7、PEG 8、PEG 9、PEG 10、PEG 11、PEG 12、PEG 13、PEG 14、PEG 15、PEG 16、PEG 17、およびPEG 18である。

【0219】

一部の実施形態では、リンカーは、マレイミドを含む。一部の実施形態では、リンカーは、免疫刺激性部分 (ISM) -リンカー-マレイミドの構成要素を含む。一部の実施形態では、ISM-リンカー-マレイミドは、マレイミドとフェリチンのシステインとの反応によって1ステップクリックケミストリーにおいてフェリチンにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、アジュバント-リンカー-マレイミドのISMは、SM7/8aである。一部の実施形態では、ISM-リンカー-マレイミドのリンカーはPEG 4である。一部の実施形態では、ISM-リンカー-マレイミドは、SM7/8a-PEG 4-マレイミドである。

10

【0220】

一部の実施形態では、2ステップクリックケミストリープロトコルを、1つの末端でスルフヒドリル反応性化学基および他方の末端でアミン反応基を含むリンカーと共に使用する。そのような2ステップクリックケミストリープロトコルでは、スルフヒドリル反応性化学基は、フェリチンのシステインと反応するが、アミン反応基はISMに結合した試薬と反応する。このようにして、ISMは、1組の2クリックケミストリー試薬の組を介してフェリチンにコンジュゲートされる。

20

【0221】

2ステップクリックケミストリープロトコルの一部の実施形態では、スルフヒドリル反応性化学基はマレイミドである。2ステップクリックケミストリープロトコルの一部の実施形態では、マレイミドは、表面に露出したアミノ酸の変異またはN末端リンカーの付加によってフェリチンに導入されたシステインと反応する。

【0222】

2ステップクリックケミストリープロトコルの一部の実施形態では、アミン反応基はDBCOである。2ステップクリックケミストリープロトコルの一部の実施形態では、DBCOは、ISMに結合したアジド基と反応する。

【0223】

一部の実施形態では、マレイミド-リンカー-DBCOを使用する。一部の実施形態では、マレイミド-リンカー-DBCOは、フェリチンの還元後、フェリチンにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、マレイミド-リンカー-試薬は、第1のステップでマレイミドとフェリチンのシステインとの反応によってフェリチンにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、DBCOを使用してアジドに結合したISMに連結する。一部の実施形態では、アジドに連結したISMは、ISS-1018である。一部の実施形態では、アジドにカップリングしたアジュバントは、3M-012またはCPGである。

30

【0224】

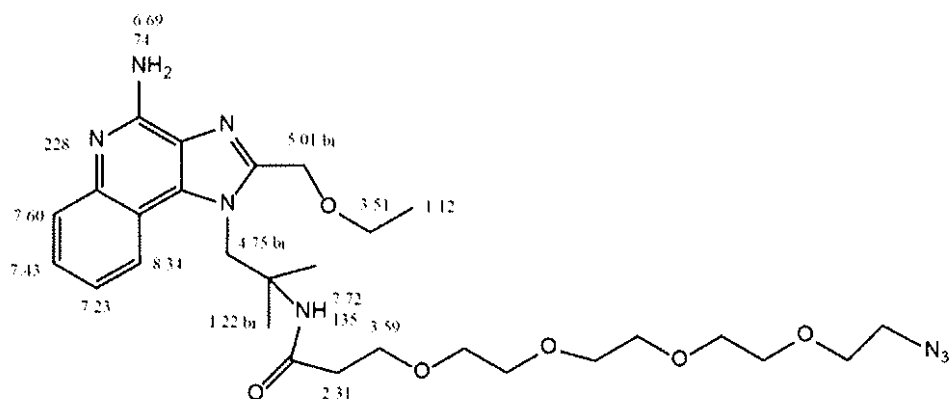
一部の実施形態では、反応基を有するリンカーをISMに付加する。一部の実施形態では、リンカーは、PEG 4-アジドリンカー、またはPEG 4-マレイミドリンカーである。

40

【0225】

一部の実施形態では、PEG 4-アジドリンカーは、3M-012にコンジュゲートされる。PEG 4-アジドリンカーにコンジュゲートされた3M-012の例示的な構造は：

【化 4】



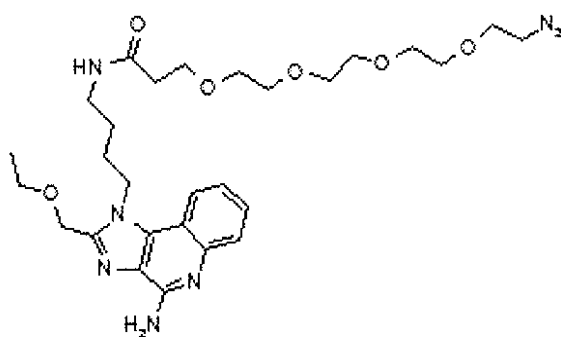
10

である。

【 0 2 2 6】

一部の実施形態では、PEG 4-アジドリンカーは、SM 7 / 8 a にコンジュゲートされる。PEG 4-アジドリンカーにコンジュゲートされた SM 7 / 8 a の例示的な構造は：

【化 5】



20

SM7/8a -PEG4- アジド

30

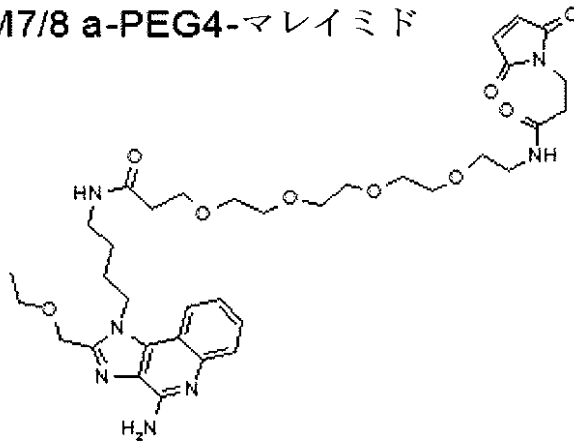
である。

【 0 2 2 7】

一部の実施形態では、PEG 4-マレイミドリンカーは、SM 7 / 8 a にコンジュゲートされる。PEG 4-マレイミドリンカーにコンジュゲートされた SM 7 / 8 a の例示的な構造は：

【化 6】

SM7/8 a-PEG4-マレイミド



10

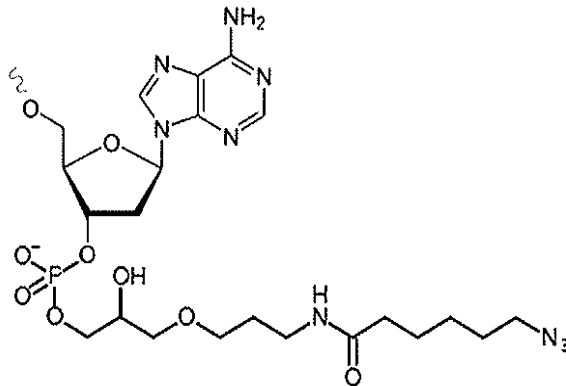
である。

【0228】

一部の実施形態では、アジド基は、ISS-1018にコンジュゲートされる。NHSEステル-アジドリinkerにコンジュゲートされたISS-1018の例示的な構造は：

【化 7】

20



30

である。

【0229】

D. 例示的な組成物、キット、核酸、使用、および方法

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドおよび薬学的に許容される媒剤、アジュバント、賦形剤のうちのいずれか1つもしくはそれ以上を含む組成物が提供される。

【0230】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドまたは組成物は、ボレリアによって引き起こされる感染症、例えばライム病に対して免疫するために、ヒトのような対象に投与される。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドは、ボレリアによる将来の感染に対する保護的免疫応答を産生するために、ヒトのような対象に投与される。一部の実施形態では、本明細書に記載される改変OspA血清型1ポリペプチドを含むポリペプチドが投与される。一部の実施形態では、本明細書に記載されるOspAおよびフェリチンを含む抗原性ポリペプチドが投与される。

40

【0231】

一部の実施形態では、保護的免疫応答は、入院の発生率を減少させる。一部の実施形態では、組成物がボレリアポリペプチドを含む場合、保護的免疫応答は、関節の炎症、神経学的症状、認知障害、または心リズム不規則を含む急性または慢性ライム病の発生率を減少させる。

50

【0232】

一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 1 ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 2 ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 3 ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 4 ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 5 ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 6 ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 7 ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、1 つのみの O s p A ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 1、2、3、4、5、6、および 7 の 1 つまたはそれ以上を含む。

【0233】

一部の実施形態では、組成物は、例えば 1 つより多くの O s p A 血清型に由来する 1 つより多くの O s p A ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、そのような組成物は、ボレリアの複数のタイプ、例えば血清型 1～7 の 1、2、3、4、5、6、または 7 に対するワクチン接種を可能にする。O s p A の血清型は、ボレリアの遺伝子種に関連することから (W i l s k e 1993 を参照されたい)、複数の血清型の O s p A を含むそのような組成物によるワクチン接種は、ライム病を引き起こし得る広範囲の細菌に対する免疫を産生し得る。

【0234】

一部の実施形態では、複数の血清型の O s p A を含む組成物は、異なる O s p A 血清型を発現するボレリアに対する免疫を産生する。例えば、実施例に考察されているように、血清型 1～5 および 7 の O s p A ポリペプチドを含む組成物が、O s p A 血清型 6 を認識する抗体を誘発することができることが観察されている。一部の実施形態では、そのような組成物は、ボレリアの複数の遺伝子種に対する免疫を生じる。

【0235】

一部の実施形態では、組成物は、2 つの異なる O s p A 血清型を含む。一部の実施形態では、多価組成物は、3 つの異なる O s p A 血清型を含む。一部の実施形態では、多価組成物は、4 つの異なる O s p A 血清型を含む。一部の実施形態では、多価組成物は、5 つの異なる O s p A 血清型を含む。一部の実施形態では、多価組成物は、6 つの異なる O s p A 血清型を含む。一部の実施形態では、多価組成物は、7 つの異なる O s p A 血清型を含む。

【0236】

一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 1 および O s p A 血清型 2～7 の任意の 1 つまたはそれ以上を含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 2、ならびに O s p A 血清型 1 および 3～7 の任意の 1 つまたはそれ以上を含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 3、ならびに O s p A 血清型 1～2 および 4～7 の任意の 1 つまたはそれ以上を含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 4、ならびに O s p A 血清型 1～3 および 5～7 の任意の 1 つまたはそれ以上を含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 5、ならびに O s p A 血清型 1～4 および 6～7 の任意の 1 つまたはそれ以上を含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 6、ならびに O s p A 血清型 1～5 および 7 の任意の 1 つまたはそれ以上を含む。一部の実施形態では、組成物は、O s p A 血清型 7、ならびに O s p A 血清型 1～6 の任意の 1 つまたはそれ以上を含む。一部の実施形態では、組成物は、血清型 1～5 および 7 の O s p A ポリペプチドの少なくとも 2、3、4、5、または 6 つを含む。

【0237】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドまたは組成物の任意の 1 つまたはそれ以上は、ボレリアによって引き起こされる感染症、例えばライム病に対する免疫に使用するために提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドまたは組成物の任意の 1 つまたはそれ以上は、ボレリアによる将来の感染症に対する保護的免疫応答の産生に使用するために提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドまたは組成物の任意の 1 つまたはそれ以上は、霊長

10

20

30

40

50

類（例えば、サル（例えば、アカゲザルまたはカニクイザルのようなマカク）または類人猿のような非ヒト霊長類）、齧歯類（例えば、マウスまたはラット）、または家畜哺乳動物（例えば、イヌ、ウサギ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ウシ、ヤギ、ラクダ、またはロバ）のような哺乳動物において使用するためである。

【0238】

1. アジュバント

アジュバントは、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドと共に対象に投与してもよく、そのような投与は、アジュバントなしでのO s p Aの投与と比較して、対象においてO s p Aに対するより高力価の抗体を生じる。アジュバントは、抗原性ポリペプチドに対するより早期の、より強力な、またはより持続性の免疫応答を促進し得る。

10

【0239】

一部の実施形態では、組成物は、1つのアジュバントを含む。一部の実施形態では、組成物は1つより多くのアジュバントを含む。一部の実施形態では、組成物は、アジュバントを含まない。

【0240】

一部の実施形態では、アジュバントはアルミニウムを含む。一部の実施形態では、アジュバントは、リン酸アルミニウムである。一部の実施形態では、アジュバントはミョウバン（A l y h y d r o g e l ' 8 5 2 % ; B r e n n t a g - カタログ番号21645-51-2）である。

【0241】

一部の実施形態では、アジュバントは有機アジュバントである。一部の実施形態では、アジュバントは油基剤のアジュバントである。一部の実施形態では、アジュバントは水中油型ナノ乳剤を含む。

20

【0242】

一部の実施形態では、アジュバントはスクワレンを含む。一部の実施形態では、スクワレンを含むアジュバントは、R i b i（S i g m aアジュバントシステムカタログ番号S6322-1v1）、A d d a v a x（商標）（スクワレン基剤の水中油型ナノ乳剤）、M F 5 9、A S 0 3、またはA F 0 3（米国特許第9703095号を参照されたい）である。一部の実施形態では、スクワレンを含むアジュバントは、ナノ乳剤である。

【0243】

一部の実施形態では、アジュバントは、ポリアクリル酸ポリマー（P A A）を含む。一部の実施形態では、P A Aを含むアジュバントはS P A 0 9である（W O 2 0 1 7 2 1 8 8 1 9を参照されたい）。

30

【0244】

一部の実施形態では、アジュバントは非代謝性油を含む。一部の実施形態では、アジュバントは、フロイント不完全アジュバント（I F A）を含む。

【0245】

一部の実施形態では、アジュバントは、非代謝性油および結核死菌（M y c o b a c t e r i u m t u b e r c u l o s i s）を含む。一部の実施形態では、アジュバントはフロイント完全アジュバント（C F A）である。

40

【0246】

一部の実施形態では、アジュバントは、リポ多糖類である。一部の実施形態では、アジュバントは、モノホスホリルA（M P LまたはM P L A）である。

【0247】

2. 対象

一部の実施形態では、対象は哺乳動物である。一部の実施形態では、対象はヒトである。

【0248】

一部の実施形態では、対象は成人（年齢18歳より上または18歳に等しい）である。一部の実施形態では、対象は小児または青年（年齢18歳未満）である。一部の実施形態

50

では、対象は高齢者（年齢60歳より上）である。一部の実施形態では、対象は、非高齢成人（年齢18歳より上またはそれに等しく、年齢60歳未満またはそれに等しい）である。

【0249】

一部の実施形態では、組成物の1回より多くの投与を対象に投与する。一部の実施形態では、ブースター投与は免疫応答を改善する。

【0250】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドまたは組成物の1つまたはそれ以上は、霊長類（例えば、サル（例えば、アカゲザルまたはカニクイザルのようなマカク）または類人猿のような非ヒト霊長類）、齧歯類（例えば、マウスまたはラット）

10

【0251】

一部の実施形態では、組成物は、意図される投与経路のために適切に製剤化される。適した投与経路の例は、筋肉内、経皮、皮下、鼻腔内、経口、または経皮を含む。

【0252】

一部の実施形態では、組成物の1回より多くの投与を対象に投与する。一部の実施形態では、ブースター投与は免疫応答を改善する。

【0253】

3. 医薬組成物

20

様々な実施形態では、本明細書に記載される抗原性フェリチンポリペプチドおよび／または関連する実体を含む医薬組成物を提供する。一部の実施形態では、医薬組成物は、ボレリアに対して保護的免疫応答のような免疫応答を誘発することが可能な免疫原性組成物（例えば、ワクチン）である。

【0254】

例えば、一部の実施形態では、医薬組成物は、以下の1つまたはそれ以上を含み得る：
（1）（i）表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異、および（ii）抗原性OspAポリペプチドを含む抗原性フェリチンタンパク質；（2）（i）表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異、およびシステインに連結した免疫刺激性部分；ならびに（ii）抗原性OspAポリペプチドを含む抗原性フェリチンタンパク質；
（3）（i）表面に露出したシステイン、（ii）フェリチンタンパク質に対してN末端のペプチドリンカー；および（iii）ペプチドリンカーに対してN末端の抗原性OspAポリペプチドを含む抗原性フェリチンタンパク質；（4）（i）表面に露出したアミノ酸をシステインに置き換える変異、およびシステインに連結した免疫刺激性部分、（ii）H₂ピロリフェリチンの31位の内部システイン、またはペアワイズもしくは構造アライメントによって同定される、非H₂ピロリフェリチンの31位と類似の位置の内部システインを非システインアミノ酸に置き換える変異；（iii）表面に露出したアスパラギンを非アスパラギンアミノ酸に置き換える変異、ならびに（iv）抗原性OspAポリペプチドを含む抗原性フェリチンタンパク質；または（5）前述のフェリチンタンパク質を含むフェリチン粒子。

30

40

【0255】

一部の実施形態では、本発明は、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドに関連する抗体または他の作用物質を含む医薬組成物を提供する。一実施形態では、医薬組成物は、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドに結合するおよび／またはそれと競合する抗体を含む。あるいは、抗体は、本明細書に記載される抗原性ポリペプチドの非フェリチンポリペプチド構成要素を含むウイルス粒子または細菌を認識し得る。

【0256】

一部の実施形態では、本明細書に記載される医薬組成物は、単独で、または免疫応答を増強するための1つもしくはそれ以上の作用物質、例えば本明細書に記載されるアジュバントと組み合わせて投与される。一部の実施形態では、医薬組成物は、上記のアジュバ

50

トをさらに含む。

【0257】

一部の実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容される担体または賦形剤をさらに含む。本明細書で使用される場合、用語「担体」は、それと共に医薬組成物が投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤、またはビヒクルを指す。例示的な実施形態では、担体は、滅菌液体、例えば水、および石油、動物、植物、または合成起源の油を含む油、例えば落花生油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油等を含み得る。一部の実施形態では、担体は、1つまたはそれ以上の固体構成要素であるか、またはそれらを含む。薬学的に許容される担体はまた、食塩水、緩衝食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール、およびその組合せを含み得るがこれらに限定されない。本明細書で使用される場合、賦形剤は、例えば所望のコンシステンシーまたは安定化効果を提供するまたはそれに関与するように医薬組成物に含めることができる任意の非治療剤である。適した薬学的賦形剤は、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノール等を含むがこれらに限定されない。様々な実施形態では、医薬組成物は無菌的である。

10

【0258】

一部の実施形態では、医薬組成物は、微量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含有する。一部の実施形態では、医薬組成物は、安定化剤、緩衝剤、または保存剤のような任意の多様な添加剤を含み得る。加えて、補助剤、安定化剤、濃化剤、潤滑剤、および着色剤を含めることができる。

20

【0259】

様々な実施形態では、医薬組成物は、任意の所望の投与様式に適合するように製剤化することができる。例えば、医薬組成物は、液剤、懸濁剤、乳剤、滴剤、錠剤、丸剤、ペレット、カプセル剤、液体を含有するカプセル、ゼラチンカプセル、散剤、徐放性製剤、坐剤、乳剤、エアロゾル、噴霧剤、懸濁剤、凍結乾燥粉末、凍結懸濁液、乾燥粉末の形態、または使用するために適した他の任意の形態をとることができる。薬剤の製剤化および製造における一般的検討は、例えば参照によって本明細書に組み入れられる、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995に見出すことができる。

30

【0260】

医薬組成物は、任意の投与経路を介して投与することができる。投与経路は、例えば経口、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、粘膜、硬膜外、舌下、鼻腔内、脳内、膈内、経皮、直腸内、気管内点滴、気管支点滴、吸入、または局所投与経路を含む。投与は局所または全身であり得る。一部の実施形態では、投与は経口で実施される。別の実施形態では、投与は非経口注射による。一部の例では、投与は、本明細書に記載される抗原性フェリチンポリペプチドの血流への放出をもたらす。投与様式は、医師の裁量に委ねることができる。

【0261】

一部の実施形態では、医薬組成物は、非経口投与（例えば、静脈内、筋肉内、腹腔内、および皮下）にとって適している。そのような組成物は、例えば、液剤、懸濁剤、分散剤、乳剤等として製剤化することができる。それらは、使用直前に滅菌注射可能媒体に溶解または懸濁することができる滅菌固体組成物（例えば、凍結乾燥組成物）の形態で製造してもよい。例えば、非経口投与は注射によって達成することができる。そのような実施形態では、注射剤は、通常の状態、すなわち液体溶液または懸濁液、注射前に液体中の溶液または懸濁液にとって適した固体形態、または乳剤として調製される。一部の実施形態では、注射溶液および懸濁液は、滅菌粉末、凍結乾燥粉末、または顆粒から調製される。

40

【0262】

さらなる実施形態では、医薬組成物は、吸入（例えば、肺および呼吸器への直接送達）

50

による送達のために製剤化される。例えば、組成物は、点鼻用噴霧剤または他の任意の公知のエアロゾル製剤の形態をとり得る。一部の実施形態では、吸入用またはエアロゾル送達のための調製物は、複数の粒子を含む。一部の実施形態では、そのような調製物は、約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、または約 13 ミクロンの平均粒子サイズを有し得る。一部の実施形態では、吸入またはエアロゾル送達のための調製物は、乾燥粉末として製剤化される。一部の実施形態では、吸入またはエアロゾル送達のための調製物は、例えば湿潤剤を含めることを通して湿潤粉末として製剤化される。一部の実施形態では、湿潤剤は、水、食塩水、または生理的 pH の他の液体からなる群から選択される。

【0263】

10

一部の実施形態では、本発明に従う医薬組成物は、鼻または口腔への滴剤として投与される。一部の実施形態では、用量は、複数の液滴（例えば、1～100、1～50、1～20、1～10、1～5 滴等）を含み得る。

【0264】

本発明の医薬組成物は、所望の転帰を達成するために適切な任意の用量で投与することができる。一部の実施形態では、所望の転帰は、組成物に存在する抗原性フェリチンポリペプチドに存在する非フェリチンポリペプチドの起源のような病原体に対する長期間持続する適応免疫応答の誘導である。一部の実施形態では、所望の転帰は、感染症の 1 つまたはそれ以上の症状の強度、重症度、頻度の低減、および／または発生の遅延である。一部の実施形態では、所望の転帰は、感染症の阻害または予防である。必要な用量は、対象の種、年齢、体重、および全身状態、予防または処置される感染の重症度、使用される特定の組成物、およびその投与様式に応じて対象毎に変化する。

20

【0265】

一部の実施形態では、本発明に従う医薬組成物は、単回または複数回用量で投与される。一部の実施形態では、医薬組成物は、異なる日に投与される複数回用量で投与される（例えば、プライムブーストワクチン接種戦略）一部の実施形態では、医薬組成物は、ブースターレジメンの一部として投与される。

【0266】

様々な実施形態では、医薬組成物は、1 つまたはそれ以上の追加の治療剤と同時投与される。同時投与は、それらの投与時期が、追加の治療剤および医薬組成物中の活性成分の薬理活性が時間的に重複し、それによって組み合わせた治療効果を発揮する場合には、治療剤を同時に投与する必要はない。一般的に、各々の作用物質は、その作用物質に関して決定された用量および時間スケジュールで投与される。

30

【0267】

4. 核酸／RNA

同様に、本明細書に記載される抗原性 O s p A ポリペプチドをコードする核酸も提供される。一部の実施形態では、核酸は mRNA である。ポリペプチドをもたらず翻訳を受けることが可能な任意の核酸は、本開示の目的に関して mRNA であると考えられる。

【0268】

5. キット

40

同様に本明細書において、本明細書に記載される 1 つまたはそれ以上の抗原性ポリペプチド、核酸、抗原性フェリチン粒子、抗原性ルマジンシンターゼ粒子、組成物、または医薬組成物を含むキットも提供される。一部の実施形態では、キットは、溶媒、溶液、緩衝剤、説明書、または乾燥剤の 1 つまたはそれ以上をさらに含む。

【0269】

本説明および例示的な実施形態は、制限すると解釈すべきではない。本明細書および添付の特許請求の目的に関して、特に示していない限り、量、パーセンテージ、または割合を表記する全ての数値、ならびに本明細書および特許請求の範囲で使用される他の数値は、全ての例において、既にそのように修飾されていない程度に、用語「約」によって修飾されると理解される。「約」は、記載される主題の特性に実質的に影響を及ぼさない変動

50

の程度、例えば10%、5%、2%、または1%以内の変動を示す。したがって、逆を示していない限り、以下の明細書および添付の特許請求の範囲で記載される数値パラメータは、得ることが求められる所望の特性に応じて変化し得る近似値である。少なくとも、および特許請求の範囲と均等論の適用を制限する試みとしてではなく、各々の数値パラメータは、報告された有効数字を検討する、および通常の四捨五入技術を適用することによって少なくとも解釈すべきである。

【0270】

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その」、ならびに他の用語の任意の単数形での使用は、1つの指示対象に明白かつ明確に限定されていない限り、複数の指示対象を含むことに注意されたい。本明細書に使用される場合、用語「含む」およびその文法的変形形態は、非制限的であると意図され、リストにおける項目の引用は、列挙される項目に置換または追加することができる他の類似の項目の除外ではない。用語「または」は、包括的な意味で使用され、すなわち本文がそれ以外であることを示していない限り、「および／または」と等価である。

【0271】

【表 2】

表1(配列表):配列の説明

説明	配列	配列番号
(「フェリチン」は、特に示してはいない限り、場合により1つまたはそれ以上の変異を有するH.ピロリフェリチンを指す)	配列 1～102に関する略語一覧: ・ <u>リーダー配列</u> を、時に下線で示す ・ <u>改変 LFA-1 部位</u> を、 <u>イタリック体</u> および <u>下線</u> で示す(存在する場合) ・ <u>改変 LFA-1 部位以外の変異</u> を、 <u>太字</u> および <u>波線</u> で示す ・ <u>リンカー</u> を、 <u>二重下線</u> で示す ・ <u>ウシガエル配列</u> を、 <u>イタリック体</u> および <u>波線</u> で示す(存在する場合) ・ <u>ヒト重鎖フェリチン配列</u> を、 <u>太字</u> で示す(存在する場合) ・ <u>膜貫通ドメイン</u> を、 <u>イタリック体</u> で示す(存在する場合) ・ <u>脂質付加部位</u> を、 <u>太字</u> 、 <u>イタリック体</u> 、および <u>下線</u> で示す(存在する場合)	
血清型1 RD2 OspA-フェリチン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTS ~~DKNN~~ SGVLEGVKA ~~DKSKVK~~ LTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKS ~~TEEF~~ NEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLVVKEGTV TLSKNISKS ~~GEVS~~ VELNDTDSSAATKKTA ~~AWNS~~ GTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSE ~~SQVRQQ~~ FSKDIEKLLNEQVNKEM ~~QSSN~~ LYMS ~~SSW~~ SYTHSLDGAGLFLFDHAAE ~~EYEHAK~~ KLIIIFLNENNV PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNE NHGLYLADQYVKGIASRKS	1
血清型1 RD1 OspA-フェリチン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTS ~~DKNN~~ SGVLEGVKA ~~DKSKVK~~ LTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKS ~~TEEF~~ NEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYDLKGELSSEKTTLVVKEGTV TLSKNISKS ~~GEVS~~ VELNDTDSSAATKKTA ~~AWNS~~ GTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSE ~~SQVRQQ~~ FSKDIEKLLNEQVNKEM ~~QSSN~~ LYMS ~~SSW~~ SYTHSLDGAGLFLFDHAAE ~~EYEHAK~~ KLIIIFLNENNV PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNE NHGLYLADQYVKGIASRKS	2
血清型1 OspA-フェリチン; LF A-1置き換え 血清型2	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTS ~~DKNN~~ SGVLEGVKA ~~DKSKVK~~ LTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKS ~~TEEF~~ NEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGKVANEKTTLVVKEGTV TLSKNISKS ~~GEVS~~ VELNDTDSSAATKKTA ~~AWNS~~ GTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSE ~~SQVRQQ~~ FSKDIEKLLNEQVNKEM ~~QSSN~~ LYMS ~~SSW~~ SYTHSLDGAGLFLFDHAAE ~~EYEHAK~~ KLIIIFLNENNV PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNE NHGLYLADQYVKGIASRKS	3

10

20

30

40

【表 3】

血清型1 OspA- フェリチン;LF A-1置き換え 血清型3	MDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLMATVDKLELKGTSKDNNGSGVLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSSTEKEKNEKEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDSGKAKEVLKGFALGTLTDEKTTLLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTSSAATKTAWNSTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSNGTKLEGSVEITKLD EIKNALKGSESQVRQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENN PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKKDHAATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNE NHGLYLADQYVKGIAKSRKS	4
血清型2 OspA- フェリチン	MDEKNSASVDLPGEKVLVSKEKDKGKYSLKATVDKIELKGTSKDNNGSGVLEGTKDDKSKAKLTIADDSKTTTFELFKE DGKTLVSRKVSCKDKTSTDEMENEKGEKLSAKTMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNTFTLEGKVANDKVTLEVKEGTV TLSKEIAKSGETVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD ELKNALKGSESQVRQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENN PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKKDHAATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNE NHGLYLADQYVKGIAKSRKS	5
血清型3 OspA- フェリチン	MDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLMATVEKLELKGTSKDNNGSGVLEGEKADKSKAKLTISQDLNQTTFEIFKE DGKTLVSRKVNKSKDKSSTEKEKFNKDKGLSEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTTEGT VTLKNIKSGETITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKENTITVQYNSRAGNALEGSPAIEKDL AELKAALKGSESQVRQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENN VPVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKKDHAATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGN ENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	6
血清型4 OspA- フェリチン	MDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLMATVDKLELKGTSKDNNGSGTLEGEKSKAKLTISEDLSKTTTFEIFKE DGKTLVSKKVNKSKDKSSEKFNKAGELSEKTIILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLLKVTEGT VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLD ELKNALKGSESQVRQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENN PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKKDHAATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNE NHGLYLADQYVKGIAKSRKS	7
血清型5 OspA- フェリチン	MDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLMATVEKLELKGTSKDNNGSGTLEGEKTDKSKVKLTIAEDLSKTTTFEIFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEKEKNEKEISEKTIIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTEGTLAADGKTTLLKVTEGT VVLKNIILKSGETITVALDDSTTQATKKTGWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGKAVEITTL EKLKDALKGSESQVRQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENN VPVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKKDHAATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGN	8

10

20

30

40

【表 4】

	ENHGLYLADQYVVKGIASRKS	
血清型6 Ospa- フェリチン	MDEKNSVVDLPGGMTVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGTLEGEKTDKSKVKSTIADDLQTKFEIFKE DGKTLVSKKVTLDKDSSTEEKFNKGGETSEKTIIVRANGTRLEYTDIKSDSGKAKEVLKDFLTLEGTAAADGKTTLKVTEGT VVLKSNILKSGETAALDDSDTTATKKTGKWDSTSTLTISVNSQTKNLVFTTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL KELKNALKGSESQVRQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENN VPVQLTISISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGN ENHGLYLADQYVVKGIASRKS	9
血清型7 Ospa- フェリチン	MDEKNSVVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAASKAKLTIADDLQTKFEIFKE DGKTLVSKKVTLDKDSSTEEKFNKGKLSKVVVTRANGTRLEYTEIQNDGSGKAKEVLKSLTLEGTLTADGETKLTVEAGT VTLKSNISESEGITVELKDTETTPADKKSGTWDSKTSTLTISKNSQTKQLVFTTKENTITVQKYNTAGTKLEGSPAEEKDL EALKAALKGSESQVRQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENN VPVQLTISISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGN ENHGLYLADQYVVKGIASRKS	10
血清型4 Ospa- シスデイン-ト ロンピン-His	MDEKNSVVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGTLEGEKSDSKAKLTISEDLKTTFEIFKE DGKTLVSKKVTLDKDSSTEEKFNKAGELSEKTIILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTAAADKTTTLKVTEGT VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSKTKNIVFTTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLD ELKNALKCLVPRCSLEHHHHH	11
血清型1 Ospa- ルマジンシン ターゼ; LFA-1 置き換え RD 2	MDEKNSVVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISSDDLQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTLDKDSSTEEKFNKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGKSDSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTTLVVKEGT VTLKSNISKSGEVSVELNDTSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTTKENTITVQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGGGSMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKE DIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPIITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALSAIEMANLFFK SLR	12
血清型1 Ospa- ルマジンシン ターゼ; LFA-1 置き換え RD 1	MDEKNSVVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISSDDLQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTLDKDSSTEEKFNKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGKSDSGKAKEVLKGYDLKSELSEKTTTLVVKEGT VTLKSNISKSGEVSVELNDTSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTTKENTITVQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGGGSMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKE DIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPIITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALSAIEMANLFFK	13

10

20

30

40

【表 5】

(55)

JP 2021-519599 A 2021.8.12

SLR		
血清型1 OspA- ルマジンシン ターゼ; LFA-1 置き換え Ser 02	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSSTEEFNEKEGVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDSGKAKEVLKGF ~~LE~~ GKVANEKTTLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQYQDSNGTKLEGS ~~AVE~~ ITKLD EIKNALK ~~GGG~~ SMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAAGELARKE DIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALS ~~AI~~ EMANLFFK SLR	14
血清型1 OspA- ルマジンシン ターゼ; LFA-1 置き換え Ser 03	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSSTEEFNEKEGVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDSGKAKEVLKGF ~~ALEG~~ TLTDEKTTLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQYQDSNGTKLEGS ~~AVE~~ ITKLD EIKNALK ~~GGG~~ SMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAAGELARKE DIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALS ~~AI~~ EMANLFFK SLR	15
血清型2 OspA- ルマジンシン ターゼ	MDEKNSASVDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSIKATVDKIELKGTSKNNNGSGVLEGTKDDKSKAKLTIAD ~~DL~~ SKTTFELFKE DGKTLVSRKVS ~~SKDK~~ STDEMFNEKEGELSAKTMTRNGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLVVEGTV TLSKEIAKSGETVALNDTNTTQATKKTGAWDSTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTA ~~VEI~~ KTLD ELKNALK ~~GGG~~ SMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAAGELARKE DIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALS ~~AI~~ EMANLFFK SLR	16
血清型3 OspA- ルマジンシン ターゼ	MDEKNSVSDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSIMATVEKLELKGTSKNNNGSGVLEGKEKADKSKAKLTISQDLNQTTFE ~~I~~ FK DGKTLVSRKVN ~~SKDK~~ SSTEEFNDKGLSEKVVT ~~ANG~~ TRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGF ~~ALEG~~ TLTDGGETKLT ~~V~~ TEGT VTL ~~SKN~~ ISKSGETVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKENTITVQYNNRAGNALEGS ~~PAE~~ IKDL AELKAALK ~~GGG~~ SMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAAGELARK EDIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALS ~~AI~~ EMANLFF KSLR	17
血清型4 OspA- ルマジンシン ターゼ	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSIMATVDKLELKGTSKNNNGSGVTEGEKSDKSKAKLTISEDL ~~SKT~~ TFE ~~I~~ FK DGKTLVSKKVN ~~SKDK~~ SSIEEFNAKGELSEKTIIRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDF ~~ALEG~~ TLAADKTTLVVTEGTV VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNA ~~VEI~~ KTLD	18

10

20

30

40

【表 6】

	ELKNALKGGGSMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKE DIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALSAIEMANLFFK SLR	19
血清型5 OspA- ルマジンシン ターゼ	MDEKNSVSDLPGGMKVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGTLEGEKTDKSKVKLTIADDSQTKFEIFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEEFNKGGEISEKTIIVRANGTRLEYTDIKSDSGKAKEVLKDFTEGTLAADGKTTLLKVTEGT VVLKSNILKSGETITVALDDSDTTQATKKTGWDSKTSTLTISVNSQKTKNLFTTKEDTITVQKYDSAGTNLEGKAVEITTL EKLKDALKGGGSMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKE EDIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALSAIEMANLFF KSLR	20
血清型6 OspA- ルマジンシン ターゼ	MDEKNSVSDLPGGMTVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGTLEGEKTDKSKVKSTIADDSQTKFEIFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEEFNKGGEISEKTIIVRANGTRLEYTDIKSDSGKAKEVLKDFTEGTLAADGKTTLLKVTEGT VVLKSNILKSGETITAALDDSDTTTRATKKTGWDSKTSTLTISVNSQKTKNLFTTKEDTITVQKYDSAGTNLEGKAVEITTL KELKNALKGGGSMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKE EDIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALSAIEMANLFF KSLR	21
血清型7 OspA- ルマジンシン ターゼ	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAAKSKAKLTIADDSQTKFEIFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEEFNKGGEISEKTIIVRANGTRLEYTDIKSDSGKAKEVLKSLTEGTLTADGETKLTVEAGT VTLKSNISESGEITVELKDTETTPADKKSGTWDSTSTLTISKNSQKTQKLVFTKENTITVQKYNTAGTKLEGSPAIEKDL EALKAALKGGGSMQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKE EDIDAVIAIGVLIRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALSAIEMANLFF KSLR	22
血清型1 OspA; LFA-1置き換え RD2-ヒト重 鎖フェリチン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKDKGKYDILATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKADKSKVKLTIISDDLQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEEFNKGGEISEKTIITRANGTRLEYTDIKSDSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSELNDTDSAAATKTAANSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQKYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASVYLSMSYYFDRDDVALKNFAKYLHQSHEREHAEKLMK LQNRGGRIIFLDIKKPCDDWESGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKAIKELGDHV TNLRKMGAPESGLAEYLFDKHTLGDSDNES	

10

20

30

40

【表 7】

OspA 血清型 1; LFA-1 置き換え RD1-ヒト重 鎖フェリチン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSSTEEFNEKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDSGKAKEVLKGYDLKGELSSSEKTTLLVVKEGTV TLKSNISKSGEVSELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHSEEREHAEKLMK LQNRGGRIIFLQDIKKPDCDDWE SGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKAIKELGDHV TNLRKMGAPE SGLAEYLFDKHTLGLGSDNES	23
OspA 血清型 1; LFA-1 置き換え 血清型 2-ヒ ト重鎖フェリ チン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSSTEEFNEKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDSGKAKEVLKGFTEGKVANEKTTLLVVKEGTV TLKSNISKSGEVSELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHSEEREHAEKLMK LQNRGGRIIFLQDIKKPDCDDWE SGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKAIKELGDHV TNLRKMGAPE SGLAEYLFDKHTLGLGSDNES	24
OspA 血清型 1; LFA-1 置き換え 血清型 3-ヒ ト重鎖フェリ チン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSSTEEFNEKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDSGKAKEVLKGFALGTLTDEKTTLLVVKEGTV TLKSNISKSGEVSELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHSEEREHAEKLMK LQNRGGRIIFLQDIKKPDCDDWE SGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKAIKELGDHV TNLRKMGAPE SGLAEYLFDKHTLGLGSDNES	25
OspA 血清型 2- ヒト重鎖フェ リチン	MDEKNSASVDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSLSKATVDKIELKGTSCKNNNGSGVLEGTKDDKSKAKLTIADDLSKTTFFELFKE DGKTLVSRKVS SKDKTSTDEMFEKNGELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVEGTV TLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKSTLITVNSKKTTLQVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEITKLD EIKNALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHSEEREHAEKLMK LQNRGGRIIFLQDIKKPDCDDWE SGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKAIKELGDHV TNLRKMGAPE SGLAEYLFDKHTLGLGSDNES	26

10

20

30

40

【表 8】

OspA 血清型 3- ヒト重鎖 F エ リチン	MDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSLSMATVEKLELKGTSKNSGSGVLEGEKADKSKAKLTI SQDLNQTTFFEIFKE DGKTLVSRKVNKDKSSTEEFKFNKGLSEKLVVVRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVEGT VTLSKNISKSGETITVALNDTETTPADKKTGKWDSTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDL AELKAALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHHEERHA EKLM KLQNRGGRIFLQDIKKPDCDDWESGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKA IKELGDH VTNLRKMGAPESGLAEYLFDKHTLGDSDNES	27
OspA 血清型 4- ヒト重鎖 F エ リチン	MDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSLSMATVVKLELKGTSKNSGSGTLEGEKSDKSKAKLTISEDLSKTTFFEIFKE DGKTLVSKKVNKDKSSIEEFKFNKAGELSEKTI LRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLLKVTEGT VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLD ELKNALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHHEERHA EKLM LQNRGGRIFLQDIKKPDCDDWESGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKA IKELGDH VTNLRKMGAPESGLAEYLFDKHTLGDSDNES	28
OspA 血清型 5- ヒト重鎖 F エ リチン	MDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSLSMATVEKLELKGTSKNSGSGTLEGEKTDKSKVKLTIAEDLSKTTFFEIFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEEFKFNKGEISEKTI VRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTEGLAADGKTTLLKVTEGT VVLKSNILKSGETITVALDSDTTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGKAVEITTL EKLKDALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHHEERHA EKLM KLQNRGGRIFLQDIKKPDCDDWESGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKA IKELGDH VTNLRKMGAPESGLAEYLFDKHTLGDSDNES	29
OspA 血清型 6- ヒト重鎖 F エ リチン	MDEKNSVSVDLPGGMTVLVSKEKDKDGKYSLEATVVKLELKGTSKNSGSGTLEGEKTDKSKVKSTIADDL SQTKFEIFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEEFKFNKGETSEKTI VRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTEGLAADGKTTLLKVTEGT VVLKSNILKSGETITVALDSDTTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL KELKNALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHHEERHA EKLM KLQNRGGRIFLQDIKKPDCDDWESGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKA IKELGDH VTNLRKMGAPESGLAEYLFDKHTLGDSDNES	30
OspA 血清型 7- ヒト重鎖 F エ リチン	MDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSLEATVVKLELKGTSKNSGSGVLEGVKA AKSKAKLTIADDL SQTKFEIFKE DGKTLVSKKVTLLKDKSSTEEFKFNKGLSEKLVVVRANGTRLEYTEIQNDGSGKAKEVLKSLTLEGLTADGETKLTVEAGT VTLSKNISESGETITVELKDTEITPADKKS GTWDSKTSTLTISKNSQKTKQLVFTKENTITVQKYNTAGTKLEGSPAIEIKDL EALKAALKGSMTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYFFDRDDVALKNFAKYFLHQSHHEERHA EKLM KLQNRGGRIFLQDIKKPDCDDWESGLNAMECALHLEKNVNQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKA IKELGDH	31

【表 9】

VTNLRKMGAPESGLAEYLFDKHHTLIGSDSDNES		
OspA 血清型 1; LFA-1 置き換え RD2-ピュロ コックス・フリ オススアフェリ チン	MDEKNSVSDLP GEMKVLVSKEKNKDGKYDLIA TVDKLELKGTS DKNNGSGVLEGV KADKSKVKLTIS DDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVT SKDKSSTEKEFNE KGEVSEKIIITRA DGTRELYTGIKS DGSQKAKEVLK GYTLEGQLSDE KTTLLVKEGT V TLSKNISKS GEVSVELNDT DSSAATKKTAA WNSGTSTLTIT VNSKTKDLVFT KENTITVQQY DSNGTKLEGS AVEITKLD EIKNALKG SMLSERMLK ALNDQNLN RELYSAYLY FAMAAYFED LGLEGFANW MKAQAE EIGHALRFY NYIYDRNG RVELDE IPKPPKEW ESPLKA FEAAAYE HEKFIS KSIYELA ALAE EKKDYSTR AFLEWFI NEQVE EEASV KKILD KLKFAK DPSQILFM LDKEL SARAPKLP GLLMQGGE	32
OspA 血清型 1; LFA-1 置き換え RD1-ピュロ コックス・フリ オススアフェリ チン	MDEKNSVSDLP GEMKVLVSKEKNKDGKYDLIA TVDKLELKGTS DKNNGSGVLEGV KADKSKVKLTIS DDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVT SKDKSSTEKEFNE KGEVSEKIIITRA DGTRELYTGIKS DGSQKAKEVLK GYDLKGEL SSEKTTLLVKEGT V TLSKNISKS GEVSVELNDT DSSAATKKTAA WNSGTSTLTIT VNSKTKDLVFT KENTITVQQY DSNGTKLEGS AVEITKLD EIKNALKG SMLSERMLK ALNDQNLN RELYSAYLY FAMAAYFED LGLEGFANW MKAQAE EIGHALRFY NYIYDRNG RVELDE IPKPPKEW ESPLKA FEAAAYE HEKFIS KSIYELA ALAE EKKDYSTR AFLEWFI NEQVE EEASV KKILD KLKFAK DPSQILFM LDKEL SARAPKLP GLLMQGGE	33
OspA 血清型 1; LFA-1 置き換え 血清型 2-ピ ュロコックス・ フリオススフ エリチン	MDEKNSVSDLP GEMKVLVSKEKNKDGKYDLIA TVDKLELKGTS DKNNGSGVLEGV KADKSKVKLTIS DDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVT SKDKSSTEKEFNE KGEVSEKIIITRA DGTRELYTGIKS DGSQKAKEVLK GFTLEGK VANEKTTLLVKEGT V TLSKNISKS GEVSVELNDT DSSAATKKTAA WNSGTSTLTIT VNSKTKDLVFT KENTITVQQY DSNGTKLEGS AVEITKLD EIKNALKG SMLSERMLK ALNDQNLN RELYSAYLY FAMAAYFED LGLEGFANW MKAQAE EIGHALRFY NYIYDRNG RVELDE IPKPPKEW ESPLKA FEAAAYE HEKFIS KSIYELA ALAE EKKDYSTR AFLEWFI NEQVE EEASV KKILD KLKFAK DPSQILFM LDKEL SARAPKLP GLLMQGGE	34
OspA 血清型 1; LFA-1 置き換え 血清型 3-ピ ュロコックス・ フリオススフ エリチン	MDEKNSVSDLP GEMKVLVSKEKNKDGKYDLIA TVDKLELKGTS DKNNGSGVLEGV KADKSKVKLTIS DDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVT SKDKSSTEKEFNE KGEVSEKIIITRA DGTRELYTGIKS DGSQKAKEVLK GFALEGT LTDEKTTLLVKEGT V TLSKNISKS GEVSVELNDT DSSAATKKTAA WNSGTSTLTIT VNSKTKDLVFT KENTITVQQY DSNGTKLEGS AVEITKLD EIKNALKG SMLSERMLK ALNDQNLN RELYSAYLY FAMAAYFED LGLEGFANW MKAQAE EIGHALRFY NYIYDRNG RVELDE IPKPPKEW ESPLKA FEAAAYE HEKFIS KSIYELA ALAE EKKDYSTR AFLEWFI NEQVE EEASV KKILD KLKFAK DPSQILFM LDKEL SARAPKLP GLLMQGGE	35

10

20

30

40

【表 1 0】

OspA 血清型2- ピュロコックス・フリオスス フェリチン	MDEKNSASVDLP ~~G~~ GMKVLSKEKDKGKYS ~~L~~ KATVDKIELKGTSDKNGSGVLEGTCKD ~~S~~ SKAKLTIAD ~~D~~ LSKTTFFELFKE DGKTLVSRKVSSKDKTSTDEMFKNGELSAKTMRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGVANDKVTLEVKEGTV TLSKEIAKSGETVALNDNTNTTQATKKTGAWDSTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD ELKNALKG ~~S~~ MLSERMLKALNDQNLRELAYSALYFAMAAYFEDLGLEGFANWMAQA ~~E~~ EEIGHALRFYNYIYDRNGRVELDE IPKPPKEWESPLKAFAEAA ~~E~~ HEHEKFISKSIYELAA ~~E~~ EEKDYSTRAFL ~~E~~ WFINEQVEE ~~E~~ ASVKKILDKLFKAKDSPQILFM LDKELSARAPKLPGLLMQGGGE	36
OspA 血清型3- ピュロコックス・フリオスス フェリチン	MDEKNSVSVDLP ~~G~~ GMKVLSKEKDKGKYS ~~L~~ MATVEKLELKGTS ~~D~~ KSNGSGVLEGEKADKSKAKLTISQDLNQTTFEIFKE DGKTLVSRKVNSKDKSSTE ~~E~~ KFN ~~D~~ KGKLS ~~E~~ KVTVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFAL ~~E~~ GTLTDDGGETKLTVTTEGT VTL ~~S~~ KNISKSGEITVALNDTETTPADKKGTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQNYN ~~R~~ AGNALEGSPA ~~E~~ IKDL AELKAALK ~~G~~ SM ~~S~~ ERMLKALNDQNLRELAYSALYFAMAAYFEDLGLEGFANWMAQA ~~E~~ EEIGHALRFYNYIYDRNGRVELD EIPKPPKEWESPLKAFAEAA ~~E~~ HEHEKFISKSIYELAA ~~E~~ EEKDYSTRAFL ~~E~~ WFINEQVEE ~~E~~ ASVKKILDKLFKAKDSPQILF MLDKELSARAPKLPGLLMQGGGE	37
OspA 血清型4- ピュロコックス・フリオスス フェリチン	MDEKNSVSVDLP ~~G~~ GMKVLSKEKDKGKYS ~~L~~ MATVDKLELKGTS ~~D~~ KSNGSGTLEGEKSDKSKAKLTISEDLSKTTFFEIFKE DGKTLVSKKVNSKDKSSIEEFNAKGEISEKTI ~~R~~ ANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFAL ~~E~~ GT ~~L~~ LAADKTTLKVTTEGT VLSKHIPNSGEITVELNDSNTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGN ~~A~~ VEIKTLD ELKNALKG ~~S~~ MLSERMLKALNDQNLRELAYSALYFAMAAYFEDLGLEGFANWMAQA ~~E~~ EEIGHALRFYNYIYDRNGRVELDE IPKPPKEWESPLKAFAEAA ~~E~~ HEHEKFISKSIYELAA ~~E~~ EEKDYSTRAFL ~~E~~ WFINEQVEE ~~E~~ ASVKKILDKLFKAKDSPQILFM LDKELSARAPKLPGLLMQGGGE	38
OspA 血清型5- ピュロコックス・フリオスス フェリチン	MDEKNSVSVDLP ~~G~~ GMKVLSKEKDKGKYS ~~L~~ MATVEKLELKGTS ~~D~~ KNNGSGTLEGEKTDKSKVKLTIAEDLSKTTFFEIFKE DGKTLVSKKVTLKDKSSTE ~~E~~ KFN ~~E~~ KGEISEKTI ~~V~~ RANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDF ~~L~~ EGTLAADGKTTLKVTTEGT VVL ~~S~~ KNILKSGEITVALDDSDTTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGKAVEITTL EKLKDALK ~~G~~ SM ~~S~~ ERMLKALNDQNLRELAYSALYFAMAAYFEDLGLEGFANWMAQA ~~E~~ EEIGHALRFYNYIYDRNGRVELD EIPKPPKEWESPLKAFAEAA ~~E~~ HEHEKFISKSIYELAA ~~E~~ EEKDYSTRAFL ~~E~~ WFINEQVEE ~~E~~ ASVKKILDKLFKAKDSPQILF MLDKELSARAPKLPGLLMQGGGE	39
OspA 血清型6- ピュロコックス・フリオスス フェリチン	MDEKNSVSVDLP ~~G~~ GMKVLSKEKDKGKYS ~~L~~ EATVDKLELKGTS ~~D~~ KNNGSGTLEGEKTDKSKVKSTIAD ~~D~~ LSQTKFFEIFKE DGKTLVSKKVTLKDKSSTE ~~E~~ KFN ~~G~~ KGETSEKTI ~~V~~ RANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDF ~~L~~ EGTLAADGKTTLKVTTEGT VVL ~~S~~ KNILKSGEITAAALDDSDTTTRATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL KELKNALKG ~~S~~ MLSERMLKALNDQNLRELAYSALYFAMAAYFEDLGLEGFANWMAQA ~~E~~ EEIGHALRFYNYIYDRNGRVELD EIPKPPKEWESPLKAFAEAA ~~E~~ HEHEKFISKSIYELAA ~~E~~ EEKDYSTRAFL ~~E~~ WFINEQVEE ~~E~~ ASVKKILDKLFKAKDSPQILF MLDKELSARAPKLPGLLMQGGGE	40

10

20

30

40

【表 1 1】

OspA血清型7- ピュロコックス・ フリオス フェリチン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAASKAKLTIADDLQSQTKEIFKE DGKTLVSKKVTSLKDKSSTEEKFNKDKGLSEKVVTRANGTRLEYTEIQNDGSGKAKEVLKSLTLEGLTADGETKLTVEAGT VTLSKNISESGEITVELKDTETTPADKKSGTWDSTSTLTISKNSQKTQLVFTKENTITVQKYNTAGTKLEGSPAIEIKDL EALKAALKGSMLEMLKALNDQNLRELAYSAYLYFAMAAYFEDLGLLEGFANWMAQAEEIEIGHALFYNYIYDRNGRVELD EIPKPPKEWESPLKAFEAAEYHEKEFISKSIYELAAEEEEKDYSTRAFLWFINEQVEEEASVKKILDKLFAKDSPOILF MLDKEL SARAPKLPGLMQGGE	41
OspA血清型1; LFA-1置き換え RD2-イラク サギンウワバ フェリチン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSLKDKSSTEEKFNKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSDNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSTQCQNVNVPQIPKDWITMHRSCRNSMRQIQMEVGASLQYLAMGAHFSKDVVNRPGFAQLFFDAASEEREHAM KLIEYLLMRGELTNDVSSLLQVRPPTRSSWKGGEALAEHALSMESDVTKSIRNVIKACEDDSEFNHYHLVDYLTGDFLEEQ YKGQRDLAGKASTLKKLMRHEALGEFIFDKKLLGIDV	42
OspA血清型1; LFA-1置き換え RD1-イラク サギンウワバ フェリチン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSLKDKSSTEEKFNKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYDLKGELSSSEKTTLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSDNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSTQCQNVNVPQIPKDWITMHRSCRNSMRQIQMEVGASLQYLAMGAHFSKDVVNRPGFAQLFFDAASEEREHAM KLIEYLLMRGELTNDVSSLLQVRPPTRSSWKGGEALAEHALSMESDVTKSIRNVIKACEDDSEFNHYHLVDYLTGDFLEEQ YKGQRDLAGKASTLKKLMRHEALGEFIFDKKLLGIDV	43
OspA血清型1; LFA-1置き換え 血清型2-イ ラクサギンウ ワバフェリチ ン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSLKDKSSTEEKFNKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGKVANEKTTLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSDNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSTQCQNVNVPQIPKDWITMHRSCRNSMRQIQMEVGASLQYLAMGAHFSKDVVNRPGFAQLFFDAASEEREHAM KLIEYLLMRGELTNDVSSLLQVRPPTRSSWKGGEALAEHALSMESDVTKSIRNVIKACEDDSEFNHYHLVDYLTGDFLEEQ YKGQRDLAGKASTLKKLMRHEALGEFIFDKKLLGIDV	44
OspA血清型1; LFA-1置き換え 血清型3-イ ラクサギンウ ワバフェリチ ン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSLKDKSSTEEKFNKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGKVANEKTTLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQYDSDNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALKGSTQCQNVNVPQIPKDWITMHRSCRNSMRQIQMEVGASLQYLAMGAHFSKDVVNRPGFAQLFFDAASEEREHAM KLIEYLLMRGELTNDVSSLLQVRPPTRSSWKGGEALAEHALSMESDVTKSIRNVIKACEDDSEFNHYHLVDYLTGDFLEEQ YKGQRDLAGKASTLKKLMRHEALGEFIFDKKLLGIDV	45

【表 1 2】

OspA 血清型2- イラクサギン ウワバフエリ チン	MDEKNSASVDLP GEMKVLVSKEKDKGKYS LKATVDKIELKGTSDKNGSGV LEGTKDDKSKAKLTIAD DLSKTTFFEFKE 46 DGKTLVSRKVS SKDKTSTDEMFENEK GELSAKMTMTRENGTK LEYTEMKSDGTGKAKE VLKNFTLEGKVANDK VTLVEKGT VTLT SKEIAKS GEVTV ALNDTNT TQATKKT GAWDSKT STLTIS VNSKKT TQLVFT KQDTIT VQKYD SAGT NLEG TAVE IKTLD ELKNAL KGSTQ CQNVN PVQIP KDWIT MHRSC RNSMR QQIQ MEVG ASLQ YLAM GAH FSK DV VNR P GFA QLFF DAA SE ERE HAM KLIEY LLMR GELT NDV SSLL QVR PPT R SSW KGG VEA LE HAL SMES DV TKS IR NV I KAC EDD SE FN DY H LV D Y L T G D F L E E Q YKQ RDL AG KAST LKK LMD RHE ALGE FIFD KKLL GIDV
OspA 血清型3- イラクサギン ウワバフエリ チン	MDEKNSVSVDLP GGMKVLVSKEKDKGKYS LMAATVEKLELKGTS DKSNGSGVLEGEKAD KSKAKLTISQDLNQT TFFEFKE 47 DGKTLVSRKVN SKDKSTE EKFNDK GKSEK VVTR ANGT RLEY TEIK NDG SGKA KEVL KGF ALE GT LTD GG ET KLT VT TEGT VTL SKN ISKS GEIT VAL NDTE TTP ADK KT G EWK SD ST LT IS KNS QK PK QL VFT KENT IT VQ NY N RAG NA LEG SP AE IKDL AEL KAAL KGST QC NVN PVQ IPK DWIT MHR SCR NSMR QQIQ MEV GAS LQ YL AM GAH FSK DV VNR P GFA QLFF DAA SE ERE HA MKL IEY LLMR GELT NDV SSLL QVR PPT R SSW KGG VEA LE HAL SMES DV TKS IR NV I KAC EDD SE FN DY H LV D Y L T G D F L E E Q YKQ RDL AG KAST LKK LMD RHE ALGE FIFD KKLL GIDV
OspA 血清型4- イラクサギン ウワバフエリ チン	MDEKNSVSVDLP GGMKVLVSKEKDKGKYS LMAATVEKLELKGTS DKSNGSGTLEGEKSD KSKAKLTISEDL SKTTFFEFKE 48 DGKTLVSKKVN SKDKSS IEEFN AKGEL SEKTI L RANG TR LEY TEIK SDG TGKA KEVL KDF ALE GT L A ADK TTL KVT EGT VLS KHI PNS GEIT V ELND SNST QAT KKT G KWD SNT STLT IS VNS KKT KN I VFT KED TIT VQ KYD SAGT NLEG NAVE IKTLD ELKNAL KGST QC NVN PVQ IPK DWIT MHR SCR NSMR QQIQ MEV GAS LQ YL AM GAH FSK DV VNR P GFA QLFF DAA SE ERE HAM KLIEY LLMR GELT NDV SSLL QVR PPT R SSW KGG VEA LE HAL SMES DV TKS IR NV I KAC EDD SE FN DY H LV D Y L T G D F L E E Q YKQ RDL AG KAST LKK LMD RHE ALGE FIFD KKLL GIDV
OspA 血清型5- イラクサギン ウワバフエリ チン	MDEKNSVSVDLP GGMKVLVSKEKDKGKYS LMAATVEKLELKGTS DKNNGSGTLEGEKTD KSKVKLTIAEDL SKTTFFEFKE 49 DGKTLVSKKV TLDKKS STE EFNE KGEI SEKTI V RANG TR LEY TDIK SDG SGKA KEVL KDF TLEG TLA ADG KTT LKV TEGT VVL SKN ILKS GEIT V ALDD SDT TQAT KKT G KWD SKT STLT IS VNS QKT KN L VFT KED TIT VQ KYD SAGT NLEG KAVE ITTL EKL DAL KGST QC NVN PVQ IPK DWIT MHR SCR NSMR QQIQ MEV GAS LQ YL AM GAH FSK DV VNR P GFA QLFF DAA SE ERE HA MKL IEY LLMR GELT NDV SSLL QVR PPT R SSW KGG VEA LE HAL SMES DV TKS IR NV I KAC EDD SE FN DY H LV D Y L T G D F L E E Q YKQ RDL AG KAST LKK LMD RHE ALGE FIFD KKLL GIDV
OspA 血清型6- イラクサギン ウワバフエリ チン	MDEKNSVSVDLP GGMTVLVSKEKDKGKYS LEATVDKLELKGTS DKNNGSGTLEGEKTD KSKVKSTIADDL SQTKFEIFKE 50 DGKTLVSKKV TLDKKS STE EFNG KGET SEKTI V RANG TR LEY TDIK SDG SGKA KEVL KDF TLEG TLA ADG KTT LKV TEGT VVL SKN ILKS GEIT A ALDD SDT TTRAT KKT G KWD SKT STLT IS VNS QKT KN L VFT KED TIT VQ RYD SAGT NLEG KAVE ITTL KEL KNAL KGST QC NVN PVQ IPK DWIT MHR SCR NSMR QQIQ MEV GAS LQ YL AM GAH FSK DV VNR P GFA QLFF DAA SE ERE HA MKL IEY LLMR GELT NDV SSLL QVR PPT R SSW KGG VEA LE HAL SMES DV TKS IR NV I KAC EDD SE FN DY H LV D Y L T G D F L E E Q YKQ RDL AG KAST LKK LMD RHE ALGE FIFD KKLL GIDV

10

20

30

40

【表 1 3】

OspA血清型7- イラクサギン ウワバフエリ チン	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSLEATVDKLELKGTSKNNNGSGVLEGVKAASKAKLTIADDLAQKFEIFKE DGKTLVSKKVTLKDKSSSTEEKFNKGLSEKVVTRANGTRLEYTEIQNDGSGKAKEVLKSLTLEGTLTADGETKLTVEAGT VTLKSNISESEGITVELKDTETTPADKKSGTWDSTSTLTISKNSQTKQLVFTKENTITVQKYNATAGTKLEGSPAEIKDL EALKAALKGSGTQCNVNPVQIPKDWITMHRSCRNSMRQQIQMEVGASLQYLAAMGAHFSKDVVNRPGFAQLFFDAASEEREHA MKLIEYLLMRGELTNDVSSLLQVRPPTRRSSWKGGVEALEHALSMESDVTKSIRNVIKACEDDSEFNDYHLVDYLTGDFLEE QYKGQDLGAKASTLKKLMDRHEALGEFIFDKKLLGIDV	51
血清型1 LFA-1 置き換え RD 2 OspA-フエリ チン	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDGLIATVDKLELKGTSKNNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLQQTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLVVKEGTVTLKSNISKSGEVSVELNDTDSSAATKTAWNSTSTLTITVNSKKTCDLV FTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLDEIKNALKGSQVRQFQSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKLIIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	52
血清型1 非グ リコシル化 L FA-1置き換え RD2 OspA- フエリチン	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDGLIATVDKLELKGTSKNNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLQQTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLVVKEGTVTLKSNISKSGEVSVELNDTDSSAATKTAWNSTSTLTITVNSKKTCDLV FTKENTITVQQYDSQGTCKLEGSAVEITKLDEIKNALKGSQVRQFQSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKLIIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	53
LFA-1部位が血 清型2に置き換 えられたOspA- フエリチン血 清型1	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDGLIATVDKLELKGTSKNNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLQQTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGFTEGKVANEKTTLVVKEGTVTLKSNISKSGEVSVELNDTDSSAATKTAWNSTSTLTITVNSKKTCDLV FTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLDEIKNALKGSQVRQFQSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKLIIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	54
LFA-1部位が血 清型2に置き換 えられた非グ リコシル化Osp A-フエリチン 血清型1	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDGLIATVDKLELKGTSKNNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLQQTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGFTEGKVANEKTTLVVKEGTVTLKSNISKSGEVSVELNDTDSSAATKTAWNSTSTLTITVNSKKTCDLV FTKENTITVQQYDSQGTCKLEGSAVEITKLDEIKNALKGSQVRQFQSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKLIIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	55

10

20

30

40

【表 1 4】

LFA-1部位が血 清型3に置き換 えられたOspA- フェリチン血 清型1	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTS DKNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKEGDKTLVSKKVT SKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGFALEGTLTDEKTTLVVKEGTVTLTKNISKSGEVSVELQDSSAAKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLV FTKENTITVQQYDSNGTKLEGS AVEITKLDIEIKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	56
LFA-1部位が血 清型3に置き換 えられた非グ リコシル化Osp A-フェリチン 血清型1	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTS DKNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKEGDKTLVSKKVT SKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGFALEGTLTDEKTTLVVKEGTVTLTKNISKSGEVSVELQDSSAAKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLV FTKENTITVQQYDSNGTKLEGS AVEITKLDIEIKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	57
LFA-1部位がR D1に置き換え られたOspA-フ ェリチン血清 型1	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTS DKNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKEGDKTLVSKKVT SKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGFDLKGELSSSEKTTLVVKEGTVTLTKNISKSGEVSVELQDSSAAKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLV FTKENTITVQQYDSNGTKLEGS AVEITKLDIEIKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	58
LFA-1部位がR D1に置き換え られた非グリ コシル化OspA- フェリチン血 清型1	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTS DKNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKEGDKTLVSKKVT SKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGFDLKGELSSSEKTTLVVKEGTVTLTKNISKSGEVSVELQDSSAAKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLV FTKENTITVQQYDSNGTKLEGS AVEITKLDIEIKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	59
非グリコシル 化、OspA-フェ リチン血清型1 、LFA-1置き換 え RD2、1×G GGSリンカー(配 列番号226)	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTS DKNNGSG VLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKEGDKTLVSKKVT SKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGS GKAKEVLKGFDLKGELSSSEKTTLVVKEGTVTLTKNISKSGEVSVELQDSSAAKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLV FTKENTITVQQYDSNGTKLEGS AVEITKLDIEIKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTISAPCHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	60

10

20

30

40

【表 1 5】

非グリコシル化、OspA-フェリチン血清型1、LFA-1置き換え RD2、2×G GGSリンカー(配列番号91)	MDSKGSSQKGSRLLLLLLVSNLLLLPQGVAMDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTSKDNQSGGVLEGVKADKSKVKLTISDDLQGTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEKEFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLVVKEGTVTLSKQISKSGEVSVELQDTSAAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTCDLVFTKENTITVQYDSQGTKLEGS AVEITKLDEIKNALKGGSGGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVQVLTISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	61
非グリコシル化、OspA-フェリチン血清型1、LFA-1置き換え RD2、5×G GGSリンカー(配列番号92)	MDSKGSSQKGSRLLLLLLVSNLLLLPQGVAMDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTSKDNQSGGVLEGVKADKSKVKLTISDDLQGTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEKEFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLVVKEGTVTLSKQISKSGEVSVELQDTSAAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTCDLVFTKENTITVQYDSQGTKLEGS AVEITKLDEIKNALKGGSGGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVQVLTISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	62
非グリコシル化(アラニン)、OspA-フェリチン、LFA-1置き換え RD2、血清型1	MDSKGSSQKGSRLLLLLLVSNLLLLPQGVAMDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTSKDNQSGGVLEGVKADKSKVKLTISDDLQGTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEKEFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLVVKEGTVTLSKNIAKSGEVSVELNDADSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTCDLVFTKENTITVQYDSNGAKLEGS AVEITKLDEIKNALKGGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVQVLTISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	63
OspA-フェリチン血清型1	MDSKGSSQKGSRLLLLLLVSNLLLLPQGVAMDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKNKDGYDLIATVDKLELKGTSKDNQSGGVLEGVKADKSKVKLTISDDLQGTTLVEFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEKEFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYVLEGTLTAEKTTLVVKEGTVTLSKNISKSGEVSVELNDTSAAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTCDLVFTKENTITVQYDSNGTKLEGS AVEITKLDEIKNALKGGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVQVLTISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	64
血清型2 OspA-フェリチン	MDSKGSSQKGSRLLLLLLVSNLLLLPQGVAMDEKNSASVDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSLKATVDKIELKGTSKDNQSGGVLEGTKDDKSKAKLTIADDLKTTTFFELFKEDGKTLVSRKVSSKDKTSTDEMFEKNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTITVNSKKTCDLVFTKQDITVQYDSAGTNLEGTAVEIKTLDKELNALKGGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVQVLTISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	65

10

20

30

40

【表 1 6】

非グリコシル 化OspA-フェリ チン血清型2	66	MDSKSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSASVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLKATVDKIELKGTSDKDKQSGSG VLEGTDKDKSKAKLTIAADDLSKTTTFFELFKEDGKTLVSRKVSSKDKTSTDEMENEKGEISAKTMTREQGTGKLEYTEMKSDGT GKAKEVLKQFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALQDTQTQATKKTGAWDSTSTLTISVNSKKTQLV FTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTDELKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAHKKLIIFLNENNVPVQLTISISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS
血清型3 OspA- フェリチン	67	MDSKSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKGKYSLMATVEKLELKGTSKSDKSNNGSG VLEGEKADKSKAKLTISQDLNQTTTFFEIFKEDGKTLVSRKVNSKDKSSTEEFKFNKGLSEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGS GKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTGEGTVTLSKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQL VFTKENTITVQYNNRAGNALEGSPAIEKDLAELKAALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHAHKKLIIFLNENNVPVQLTISISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS
非グリコシル 化OspA-フェリ チン血清型3	68	MDSKSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKGKYSLMATVEKLELKGTSKSDKSNNGSG VLEGEKADKSKAKLTISQDLNQTTTFFEIFKEDGKTLVSRKVNSKDKSSTEEFKFNKGLSEKVVTRAQGTRELEYTEIKNDGS GKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTGEGTVTLSKQISKSGEITVALQDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQL VFTKENTITVQYNNRAGNALEGSPAIEKDLAELKAALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHAHKKLIIFLNENNVPVQLTISISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS
血清型4 OspA- フェリチン	69	MDSKSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLMATVDKLELKGTSKSDKSNNGSG TLEGEKSDKSKAKLTISEDLSKTTTFFEIFKEDGKTLVSKVNSKDKSSIEEFNAKGEISEKTILRANGTRLEYTEIKSDGT GKAKEVLKDFALGTLAADKTTLVTEGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGWDSNTSTLTISVNSKKTKNIV FTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTDELKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAHKKLIIFLNENNVPVQLTISISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS
非グリコシル 化OspA-フェリ チン血清型4	70	MDSKSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLMATVDKLELKGTSKSDKSNNGSG TLEGEKSDKSKAKLTISEDLSKTTTFFEIFKEDGKTLVSKVNSKDKSSIEEFNAKGEISEKTILRAQGTRELEYTEIKSDGT GKAKEVLKDFALGTLAADKTTLVTEGTVVLSKHIPNSGEITVELQDSQSTQATKKTGWDSQSTSTLTISVNSKKTKNIV FTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTDELKNALKGSESQVRQQFSKDIEKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSL DGAGLFLFDHAAEEYEHAHKKLIIFLNENNVPVQLTISISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIAKCKDHATF NFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS

【表 17】

OspA-フェリチン血清型5	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGGMKVLSKEKDKDGKYSLEATVVKLELKGTSDDKNNNGSG TLEGEKTDKSKVKLTIAEDLSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLLKDKSSTEKEFNKGEISEKTIIVRANGTRLEYTDIKSDGS GKAKEVLKDFTEGTLAAGDKTTLKVTEGTVLSKNILKSGETVVALDDSDTTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNL VFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGKAVEITTLKLDALKGSESQVRQFQSKDIEKLLNEQVKNEMQSSNLYMSMSSWSYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKKLIIFLNENNVVQVLTISAPAHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	71
血清型5 非グ リコシル化Osp A-フェリチン	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGGMKVLSKEKDKDGKYSLEATVVKLELKGTSDDKNNNGSG TLEGEKTDKSKVKLTIAEDLSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLLKDKSSTEKEFNKGEISEKTIIVRAQGRTRLEYTDIKSDGS GKAKEVLKDFTEGTLAAGDKTTLKVTEGTVLSKNILKSGETVVALDDSDTTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNL VFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGKAVEITTLKLDALKGSESQVRQFQSKDIEKLLNEQVKNEMQSSNLYMSMSSWSYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKKLIIFLNENNVVQVLTISAPAHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	72
血清型6 非グ リコシル化Osp A-フェリチン	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGGMTVLVSKEKDKDGKYSLEATVVKLELKGTSDDKNNNGSG TLEGEKTDKSKVKSTIADDSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLLKDKSSTEKEFNKGETSEKTIIVRAQGRTRLEYTDIKSDGS GKAKEVLKDFTEGTLAAGDKTTLKVTEGTVLSKNILKSGETVVALDDSDTTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNL VFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELNALKGSESQVRQFQSKDIEKLLNEQVKNEMQSSNLYMSMSSWSYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKKLIIFLNENNVVQVLTISAPAHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	73
血清型6 OspA- フェリチン	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGGMTVLVSKEKDKDGKYSLEATVVKLELKGTSDDKNNNGSG TLEGEKTDKSKVKSTIADDSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLLKDKSSTEKEFNKGETSEKTIIVRANGTRLEYTDIKSDGS GKAKEVLKDFTEGTLAAGDKTTLKVTEGTVLSKNILKSGETVVALDDSDTTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSQKTKNL VFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELNALKGSESQVRQFQSKDIEKLLNEQVKNEMQSSNLYMSMSSWSYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKKLIIFLNENNVVQVLTISAPAHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	74
OspA-フェリチン血清型7	MDSKGSSQKGSRLLLLVVSNLLLPQGVLAMDEKNSVSVDLPGGMKVLSKEKDKDGKYSLEATVVKLELKGTSDDKNNNGSG VLEGVKAASKAKLTIAEDLSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLLKDKSSTEKEFNKGEISEKTIIVRANGTRLEYTEIQNDGS GKAKEVLKSLTLEGTLADGETKLTVEAGTVLSKNISESEITVELKDTETTPADKKSGTWDSTSTLTISKNQKTQKL VFTKEDTITVQKYNTAGTKLEGSPAIEKDLAALKAALKGSESQVRQFQSKDIEKLLNEQVKNEMQSSNLYMSMSSWSYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKKLIIFLNENNVVQVLTISAPAHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKCKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAKSRKS	75

10

20

30

40

【表 1 8】

血清型7 非グ リコシル化Osp A-フエリチン	MDSKGSSQKGSRRLLLLLVVSNNLLLPQGVILAMDEKNSVSVLPGEMKVLVSKEKDKGKYSLEATVDKLELKGTS ~~Q~~ SDKN ~~Q~~ CGSG VLEGVKAASKAKLTIADDDLSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLLKDKSSTEKFN ~~Q~~ DKGLSEKVVTRA ~~Q~~ QGRRLYEY ~~Q~~ TEIQNDGS GKAKEVLKSLTLEGTLTADGETKLTVEAGTVTL ~~Q~~ SK ~~Q~~ ISESGEITVELKDTETTPADKKSGTWD ~~Q~~ SKTSTLLTISKNSQKT ~~Q~~ L VFTKENTITVQKYNTAGTKLEGSPA ~~Q~~ EIKDLEALKAAL ~~Q~~ KGSE ~~Q~~ VR ~~Q~~ QFSK ~~Q~~ DI ~~Q~~ EKL ~~Q~~ LN ~~Q~~ EVN ~~Q~~ KEM ~~Q~~ SSNLYMSMSSW ~~Q~~ SYTHS LDGAGLFLFDHAAEEYEHA ~~Q~~ KKLIIIFLNENNV ~~Q~~ VLTSISAP ~~Q~~ EHKFEGLTQIFQKAYEHE ~~Q~~ HISESINNIVD ~~Q~~ HAIK ~~Q~~ CKDHAT FNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVVKGIASRKS	76
OspA血清型1 のアミノ酸165 ～173	YVLEGT ~~Q~~ LT ~~Q~~ A	77
OspA血清型1 のアミノ酸165 ～173と相同性 を有するhLFA- 1の配列	YVIEGTSK ~~Q~~	78
OspA血清型2 由来のS2配列	FTLEGK ~~Q~~ VAN	79
OspA血清型3 由来のS3配列	FALEGTL ~~Q~~ TD	80
RD2	YTLEGQLSD	81
RD1	YDLKGELSS	82
例示的なOspA 血清型1(株WP _010890378.1)	MKKYLLGIGL ILALIA ~~Q~~ CKQ ~~Q~~ N VSSLDEKNSV SVDLP ~~Q~~ GEMKV LVSKEKNKDG KYDLIATVDK LELKGTS ~~Q~~ DKN NGSGV LEGVK ADKSKVKLTI SDDLQQTLE VF ~~Q~~ KEDGKTLV SKKVTSKDKS STEEKFN ~~Q~~ EG EVSEKIITRA DGTRLEYTGI KSDGSGKAKE VLKGYVLEGT LTA ~~Q~~ EKTTLVV KEGTVTL ~~Q~~ SKN ISKSGEVSV ~~Q~~ E LNDT ~~Q~~ SSAAT KKTAAWNSGT STLT ITVNSK KTKDLVFTKE NTITVQ ~~Q~~ YDS NGTKLEGS ~~Q~~ AV EITKLDEIKN ALK	83
例示的なOspA 血清型2(株WP _011703777.1)	MKKYLLGIGL ILALIA ~~Q~~ CKQ ~~Q~~ N VSSLDEKNSA SVDLP ~~Q~~ GEMKV LVSKEKDKDG KYS ~~Q~~ LKATVDK IELKGTS ~~Q~~ DKD NGSGV LEGTK DDKSKAKLTI ADDLSKTTFE LF ~~Q~~ KEDGKTLV SRKVSSKDKT STDEMFNEKG ELSAKTMTRE NGTKLEYTEM KSDGTGKAKE VLKNETLEGK VANDKV ~~Q~~ TLEV KEGTVTL ~~Q~~ SKE IAKSGEVTVA LNDTNTTQAT KKTGAWDSKT STLT ISVNSK KTTQLVFTKQ DTITVQ ~~Q~~ KYDS AGTNLEG ~~Q~~ TAV EIKTLDELKN ALK	84

10

20

30

40

【表 19】

例示的なOspA 血清型3(株CA A56549.1)	MKKYLLGIGL ILALIA ~~C~~ KQN VSSLDEKNSV SVDLPGGMKV LVSKEKDKDG KYSILMATVEK LELKGTSDKS NGSGV LEGEK ADKSKAKLTI SQDLNQTFE IFKEDGKTLV SRKVNSKDKS STEEFNDKG KLSEKVVTRA NGTRLEYTEI KNDGSGKAKE VLKGFALGET LTDGGETKLT VTEGTVLSK NISKSGEITV ALNDTETTPA DKKTGEWKSD TSTL TISKNS QKPKQLVFTK ENTITVQNYN RAGNALEGSP AEIKDLAELK AALK	85
例示的なOspA 血清型4(株WP _011187157.1)	MKKYLLGIGL ILALIA ~~C~~ KQN VSSLDEKNSV SVDLPGGMKV LVSKEKDKDG KYSILMATVDK LELKGTSDKS NGSGT LEGEK SDKSKAKLTI SEDLSKTFE IFKEDGKTLV SKKVNSKDKS SIEEFNAKG ELSEKTILRA NGTRLEYTEI KSDGTGKAKE VLKDFALGET LAADKTTIKV TEGTVLSKH IPNSGEITVE LNDSNSTQAT KKTGKWDSENT STLT ISVNSK KTKNIVFTKE DTITVQKYDS AGTNLEGNV EIKTLDELKN ALK	86
例示的なOspA 血清型5(株CA A59727.1)	MKKYLLGIGL ILALIA ~~C~~ KQN VSSLDEKNSV SVDLPGGMKV LVSKEKDKDG KYSILMATVEK LELKGTSDKN NGSGT LEGEK TDKSKVKLTI AEDLSKTFE IFKEDGKTLV SKKVTLKDKS STEEFNEKG EISEKTIVRA NGTRLEYTDI KSDGSGKAKE VLKDFTLGET LAADGKTTIK VTEGTVLSK NILKSGEITV ALDDSDTTQA TKKTGKWDSK TSTL TISVNS QKTKNLVFTK EDTITVQKYD SAGTNLEGKA VEITTLKELK DALK	87
例示的なOspA 血清型6(株CA A45010.1)	MKKYLLGIGL ILALIA ~~C~~ KQN VSSLDEKNSV SVDLPGGMTV LVSKEKDKDG KYSLEATVDK LELKGTSDKN NGSGT LEGEK TDKSKVKSTI ADDLSQTKFE IFKEDGKTLV SKKVTLKDKS STEEFNGKG ETSEKTIVRA NGTRLEYTDI KSDGSGKAKE VLKDFTLGET LAADGKTTIK VTEGTVLSK NILKSGEITA ALDDSDTTTRA TKKTGKWDSK TSTL TISVNS QKTKNLVFTK EDTITVQRYD SAGTNLEGKA VEITTLKELK NALK	88
例示的なOspA 血清型7(株CA A56547.1)	MKKYLLGIGL ILALIA ~~C~~ KQN VSSLDEKNSV SVDLPGGMKV LVSKEKDKDG KYSLEATVDK LELKGTSDKN NGSGV LEGVK AAKSKAKLTI ADDLSQTKFE IFKEDGKTLV SKKVTLKDKS STEEFNDKG KLSEKVVTRA NGTRLEYTEI QNDGSGKAKE VLKSLTLEGT LTADGETKLT ENTITVQKYN TAGTKLEGSP AEIKDLEALK AALK	89
N末端で8アミ ノ酸のウシガ エル配列を有 するH.ピロリ フェリチン	ESQVRQQFSKDIKLLNEQVNKEMQSSNNLYMSMSSWSSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAHAKLLIFLNENNVPVQLTSISA PEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKCKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDIKDILKIELIGNENHGLYLADQ YVKGIASRKS	90

10

20

30

40

【表 20】

GS2リンカー	GGSGGGGS	91
GS5リンカー	GGSGGGSGGGSGGGSGGGGS	92
例示的なルマジンシリンターゼ	MQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKEDIDAVIAIGVL IRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPIITFGVITADTLEQAIERAGTKHGNKGWEAALSIAIEMANLFKSLR	93
血清型1 RD2 OspA	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNPGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALK	94
血清型1 RD1 OspA	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYDLKGELSSEKTTLLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNPGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALK	95
血清型1 OspA; LFA-1置き換え 血清型2	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGKVAANEKTTLLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNPGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALK	96
血清型1 OspA; LFA-1置き換え 血清型3	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGKVAANEKTTLLVVKEGTV TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNPGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLD EIKNALK	97
血清型1 非グ リコシル化 FA-1置き換え RD2 OspA	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGQLSDEKTTLLVVKEGTV TLSKQISKSGEVSVELQDDTDSSAATKKTAAWNPGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSQGTCKLEGSAVEITKLD EIKNALK	98
LFA部位が血 清型2に置き換 えられた非グ リコシル化Osp A血清型1	MDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSCKNNNGSGVLEGVKAADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKKVTSKDKSSTEEKFNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYTLEGKVAANEKTTLLVVKEGTV TLSKQISKSGEVSVELQDDTDSSAATKKTAAWNPGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSQGTCKLEGSAVEITKLD EIKNALK	99

10

20

30

40

【表 2 1】

LFA 部位が血 清型3に置き換 えられた非グ リコシル化Osp A血清型1	MDEKNSVVDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTS ~~Q~~ DKN ~~Q~~ SGVLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSS ~~Q~~ TEEFNEKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGF ~~Q~~ ALEGTLTDEKTTLLVVKEGTV TLSK ~~Q~~ ISKS ~~Q~~ GEVSV ~~Q~~ VEL ~~Q~~ QDTDSSAATKKTA ~~Q~~ AWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQYDS ~~Q~~ QGT ~~Q~~ KLEGS ~~Q~~ AVEITKLD EIKNALK	100
LFA 部位がRD1 に置き換えら れた非グリコ シル化OspA血 清型1	MDEKNSVVDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTS ~~Q~~ DKN ~~Q~~ SGVLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSS ~~Q~~ TEEFNEKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGF ~~Q~~ DLKGELSS ~~Q~~ EKTTLLVVKEGTV TLSK ~~Q~~ ISKS ~~Q~~ GEVSV ~~Q~~ VEL ~~Q~~ QDTDSSAATKKTA ~~Q~~ AWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQYDS ~~Q~~ QGT ~~Q~~ KLEGS ~~Q~~ AVEITKLD EIKNALK	101
改変血清型1 O spA(Xは、任意 のAミノ酸で あり;XXXXXX XXは、配列番 号77ではなく、 Z=NまたはQで ある)	MDEKNSVVDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTS ~~Q~~ DKN ~~Q~~ SGVLEGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVFKE DGKTLVSKKVTSKDKSS ~~Q~~ TEEFNEKEGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGF ~~Q~~ XXXXXX ~~Q~~ EKTTLLVVKEGTV TLSKZISKS ~~Q~~ GEVSV ~~Q~~ VEL ~~Q~~ 2D ~~Q~~ TSSAATKKTA ~~Q~~ AWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQYDS ~~Q~~ 2G ~~Q~~ TLEGS ~~Q~~ AVEITKLD EIKNALK	102
	使用していない	103- 200
bfpフェリチン- N19Q/C31S/S26 C	~~ESQVRQQFSK~~ DKDIEKLLNEQV ~~Q~~ NKEMQSSNLYMCMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYE ~~Q~~ HAKKLIIFLNENNV ~~Q~~ VPQ ~~Q~~ LT ~~Q~~ TSISA PEHKFEGLTQIFQKAYE ~~Q~~ HEQHISESINNIVDHA ~~Q~~ IKSKDHATFNFLQWYVAE ~~Q~~ HEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLY ~~Q~~ LADQ YVKGIAKSRKS	201
bfpフェリチン- N19Q/C31S/S72 C	~~ESQVRQQFSK~~ DKDIEKLLNEQV ~~Q~~ NKEMQSSNLYMCMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYE ~~Q~~ HAKKLIIFLNENNV ~~Q~~ VPQ ~~Q~~ LT ~~Q~~ TSISA PEHKFEGLTQIFQKAYE ~~Q~~ HEQHISESINNIVDHA ~~Q~~ IKSKDHATFNFLQWYVAE ~~Q~~ HEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLY ~~Q~~ LADQ YVKGIAKSRKS	202
bfpフェリチン- N19Q/C31S/A7 5C	~~ESQVRQQFSK~~ DKDIEKLLNEQV ~~Q~~ NKEMQSSNLYMCMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYE ~~Q~~ HAKKLIIFLNENNV ~~Q~~ VPQ ~~Q~~ LT ~~Q~~ TSISA PEHKFEGLTQIFQKAYE ~~Q~~ HEQHISESINNIVDHA ~~Q~~ IKSKDHATFNFLQWYVAE ~~Q~~ HEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLY ~~Q~~ LADQ YVKGIAKSRKS	203
bfpフェリチン- N19Q/C31S/K7 9C	~~ESQVRQQFSK~~ DKDIEKLLNEQV ~~Q~~ NKEMQSSNLYMCMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYE ~~Q~~ HAKKLIIFLNENNV ~~Q~~ VPQ ~~Q~~ LT ~~Q~~ TSISA PEHKFEGLTQIFQKAYE ~~Q~~ HEQHISESINNIVDHA ~~Q~~ IKSKDHATFNFLQWYVAE ~~Q~~ HEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLY ~~Q~~ LADQ YVKGIAKSRKS	204
bfpフェリチン- N19Q/C31S/S10 0C	~~ESQVRQQFSK~~ DKDIEKLLNEQV ~~Q~~ NKEMQSSNLYMCMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYE ~~Q~~ HAKKLIIFLNENNV ~~Q~~ VPQ ~~Q~~ LT ~~Q~~ TSISA PEHKFEGLTQIFQKAYE ~~Q~~ HEQHISESINNIVDHA ~~Q~~ IKSKDHATFNFLQWYVAE ~~Q~~ HEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLY ~~Q~~ LADQ YVKGIAKSRKS	205

10

20

30

40

【表 2 2】

bfpフェリチン- N19Q/C31S/S11 IC	ESQVRQQESKDIKLLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTSISA PEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKDKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQ YVKGIAKSRKS	206
bfpフェリチン- N19Q/C31S/E12 C	ESQVRQQESKDIKLLNCQVNKEMQSSNLYMSMSSWSYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTSISA PEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKDKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQ YVKGIAKSRKS	207
ウシガエルリ ンカーを有す る例示的なH. ピロリフェリ チン	ESQVRQQESKDIKLLNEQVNKEMNSSLNLYMSMSSWCYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTSISA PEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKDKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQ YVKGIAKSRKS	208
例示的な野生 型H.ピロリフ ェリチン(Genb ank受託番号A AD06160.1)(ウ シガエルリン カーまたはN末 端Metを有しな い)	LSKDIKLLNEQVNKEMNSSLNLYMSMSSWCYTHSLDGAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVVPVQLTSISAPEHKFEG LTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAICKDKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIAK SRKS	209
CpG (ISS-1018)	TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA	210
イラクサギン ウワバ重鎖フ ェリチン	TQCNVNPVQIPKDWITMHRSCRNMRQQIQMEVGASLQYLAMGAHFSKDVVNRPGFAQLFFDAASEEREHAMKLIIEYLLMR GELTNDVSSLLQVRPPTRSSWKGVEALEHALSMESDVTKSIRNVIKACEDDSEFNHYHLVDYLTGDFLEEQYKGQRDLA KASTLKKLMDRHEALGEF IFDKKLLGIDV	211
イラクサギン ウワバ軽鎖フ ェリチン	ADTCYNDVALDCGITSNSLALPRCNAVYGEYSGHGNVATELQAYAKHLERSYDYLLSAAAYFNNYQTNRAGFSKLFKKLSD EAWSKTIDIKHVTKRQDKMNFQDQHSMTKTERKNYTAENHELEALAKALDTQKELAEAFYIHREATRNSQHLHDPEIAQY LEEEFIEDHAEKIRTLAGHTSDLKKFITANNGHDLSLALYVFDEYLQKTV	212
ピュロコック ス・フリオス フェリチン	MLSERMLKALNDQNLRELYSAYLYFAMAAYFEDLGLLEGFANWMKAQAEIEIGHALRFYNY IYDRNGRVELDEIPKPPKEWESPLKAFEAAYEHEKFISKSIYELAALAEKDYSTRAFL EWFINEQVEEASVKIKLDKLFKAKDSPQILFMLDKELSARAPKLPGLLMQGGG	213

10

20

30

40

【表 2 3】

ヒト重鎖ア リチン	MTTASTSQVRQNYHQDSEAAINRQINLELYASYVYLSMSYYFDRDDVALKNFAKYFLHQSHREHAEKLMKLQNRGGRI FLQDIKKPDCDDWESGLNAMECALHLEKNVQQSLLELHKLATDKNDPHLCDFIETHYLNQVKAIKELGDHVTNLRKMGAP ESGLAEYLFDKHTLGDSQES	214
ヒト軽鎖ア リチン(シグナ ルペプチドを 下線で示す)	MDSKSSQKGSRLLLLVSNLLLPQGLASSQIRQNYSTDVAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFF RELAEEKREGYERLLKMQNQGRGALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETH FLDEEVKLIKMMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD	215
アキアフェク ス・アエオリク ス由来のルマ ジンシンター ゼ	MQIYEGKLTAEGLRFGIVASRFNHALVDRLVEGAIDCIVRHGGREEDITLVRVPGSWEIPVAAGELARKEDIDAVIAIGVL IRGATPHFDYIASEVSKGLANLSLELRKPITFGVITADTLEQAIAERAGTKHGNKGWEAALSIAIEMANLFKSLR	216
ウシガエルリ ンカー	<u>ESQVRQQF</u>	217
システイン-ト ロンビン-Hisリ ンカー	<u>CLV</u> PRGSLEHHHHH	218
大腸菌6,7-ジメ チル-8-リビチ ルルマジンシン ターゼ	MNIIEANVATPDARVAITTIARFNFNINDSLLLEGALDALKRIGQVKDENITVWVPGAYELPLAAGALAKTGKYDAVIALGT VIRGGTAHFEYVAGGASNGLAHVAQDSEIPVAFGVLTTESTIEQAIAERAGTKAGNKGAEAAALTALEMINVLKAICA	219
16アミノ酸リ ンカー	GGGGSGGGSGGGSGG	220
28アミノ酸リ ンカー	GGSGGSNSASSGASGGSGGGSG	221
46アミノ酸リ ンカー	GGSGASSGASASGSSNGSGSGSGSNSSASSGASGGSGGGSG	222
FR1	GGSGSASAEAAAKEAAAKAGGGSGG	223
FR2	GGSGSASAEAAAKEAAAKEAAKASGGSGG	224
コリンジェー ションのため のCを含む47ア ミノ酸リシン ター	SGGGSGSASSGASASGSSCSGSGSGSSASSGASGGSGGGSGG	225

【実施例】

10

20

30

40

50

【0272】

以下の実施例は開示した特定の実施形態を説明するために提供され、本開示の範囲を限定するものとは決して解釈すべきでない。

【0273】

1. OspA-フェリチン抗原性ポリペプチドの調製

OspAおよびフェリチンを含む抗原性ポリペプチドを産生した。

【0274】

OspAは、下の配列：ボレリア・ブルグドルフェリ (*Borrelia burgdorferi*) 株B31 (血清型1) NCBI配列ID WP_010890378.1、ボレリア・アフゼリ (*Borrelia afzelii*) 株PKO (血清型2) NCBI配列：WP_011703777.1、ボレリア・ガリニ (*Borrelia garinii*) 株PBr (血清型3) GenBank: CAA56549.1、ボレリア・ババリエンス (*Borrelia bavariensis*) (血清型4) NCBI配列WP_011187157.1、ボレリア・ガリニ (*Borrelia garinii*) (血清型5) GenBank CAA59727.1、ボレリア・ガリニ (*Borrelia garinii*) (血清型6) GenBank: CAA45010.1、およびボレリア・ガリニ (*Borrelia garinii*) (血清型7) GenBank CAA56547.1からGenescriptによって合成した。N末端ウシガエルフェリチン配列を挿入したH. ピロリ (*H. pylori*) フェリチンはGenescriptによって合成した。その中でウシガエルフェリチン配列は以前の研究のものと同様である (Kanekiyo, M. ら、Cell 162 (5): 1090~100頁 (2015) を参照)。大腸菌 (*E. coli*) 中でHisタグ付けOspAおよびOspA-フェリチンのナノ粒子を発現させるために、pet21aベクターを用いた。Exp1293細胞中で発現させるために、以前用いたものと同様の哺乳動物発現ベクターを用いた (Xu, L. ら、Science 358 (6359): 85~90頁 (2017) を参照)。

【0275】

OspA-フェリチンナノ粒子は、OspAのエクトドメインをフェリチンのアミノ末端に遺伝子的に融合させて抗原性ポリペプチドを産生させることによって創成した (図1A)。OspAは、ただ1つのカルボキシ末端 α ヘリックスを有する21個の連続したアンチパラレル β ストランドから作られた、延長された β シート構造を有する31kDaのリポタンパク質である (図1B) (Kitahara, R. ら、Biophys J 102 (4): 916~26頁 (2012) を参照)。OspAのカルボキシ末端はまた、著しく大きな空洞 (約200 Å) を有し、これがグリシン-セリン配列を用いるフェリチンへの連結に適合する部位に相当する (図1B)。フェリチンの24個のサブユニットは自発的に集合して、中空の球状ナノ粒子を形成する (図1C)。本研究で用いたフェリチンはヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori*) のフェリチンに融合したウシガエルフェリチンのアミノ末端配列を含み、ヒトフェリチンとの関連が最小のキメラを創成している (Kanekiyo, 2015を参照)。アミノ末端ウシガエルフェリチン配列はナノ粒子のコアから半径方向に突出しており (Triksa, J. ら、J Mol Biol 248 (5): 949~67頁 (1995) を参照)、ナノ粒子の表面上におけるOspAの均一な提示を容易にしている。

【0276】

フェリチンの機能性を改善するために、フェリチンの構造に3つの追加的な変更、すなわちN19Q、C31S、およびS111Cを行った。N19Qの置換によってアミノ末端のグリコシル化の可能性のある部位を除去した。S111Cの置換によって、フェリチンの表面に露出したシステインが導入され、これは例えばクリックケミストリーによってアジュバントをコンジュゲートするために用いることができる。最後に、コンジュゲーションによってただ1つのシステインが修飾されるように、システイン31をセリンに改変した。ナノ粒子の表面上のOspAの呈示は、24量体の抗原性ナノ粒子を提供する (図

1 D)。

【0277】

大腸菌からの精製のため、BL21 Star (DE3) (Invitrogen社、Cat # C601003)を用いた。100 μ MのIPTGと終夜、16 $^{\circ}$ Cでタンパク質を誘起した。Tris緩衝液、pH8、50mM NaCl中での超音波処理を用いて、細胞ペレットを溶解した。濾過滅菌した上清をアニオン交換カラム (HiTrap Q HP、GE社)でフローズルーからOspA-フェリチンを採取することによって精製した。次いで1% Triton X114抽出を6回繰り返すことによって、エンドトキシンを除去した。次いでAmicon 100MWカットオフフィルター (Millipore社、Cat # UFC910096)を用いて水相を濃縮し、次いでSuperose 6調製用SECカラム 120mlにて4 $^{\circ}$ Cでナノ粒子をさらに精製した。哺乳動物細胞の培養からの精製については、FectoPROトランスフェクション試薬 (Polypplus社、Cat # 116-100)を用い、メーカーの指示書に従ってExp293細胞にプラスミドDNAをトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を5日目に培養し、上清を採取して濾過した。エンドトキシンフリーの試薬およびガラス器具を用い、エンドトキシンフリーのプロトコルに従った。50mMのTris、pH7、50mMのNaClを用いてQセファロースファストフロービーズ (GE社、Cat # 17-0510-01)を調製し、濾過滅菌した上清に重力流で添加した。フローズルーを採取し、Amicon 100MWカットオフフィルターを用いて4mlに濃縮した。次いでSuperose 6調製用SECカラム 120mlにて室温でナノ粒子をさらに精製した。

10

20

【0278】

His₆タグ付けした (配列番号227) OspAの精製のため、血清型1、4、5、および7のOspAを大腸菌BL21 (DE3) (Invitrogen社、Cat # C600003)から精製し、血清型2および3をExp293細胞から精製した。これらの構築物は膜貫通ドメインを欠き、C末端His₆タグ (配列番号227)を含み、それ以外は野生型であった。大腸菌の精製については、500 μ MのIPTGで5時間、タンパク質を誘起し、細胞をペレット化して-20 $^{\circ}$ Cで凍結した。Complete Protease Inhibitor (Sigma-Aldrich社、Cat # 11697498001)を含むTBS緩衝液中1% Tritonにペレットを再懸濁し、超音波処理によって細胞を溶解した。上清を濾過滅菌した。哺乳動物細胞の培養については、トランスフェクションの5日後に上清を採取し、濾過滅菌した。上清を、AKTA Pure FPLCに取り付けたGE社のHiTrap HP 5mlカラム (Cat # 17-5248-02)に流した。TBS中20mMのイミダゾールでカラムを洗浄し、負荷し、再び洗浄した。TBS中250mMのイミダゾールで最終のタンパク質を溶出させた。

30

【0279】

OspA血清型1は、トランスフォームされたヒト腎上皮細胞株Exp293中のフェリチンに融合したB. ブルグドルフェリ株B31から発現した (図2A~図2D、配列番号52)。ナノ粒子の形成およびタンパク質の純度は、サイズ排除カラムクロマトグラフィー (SEC) およびSDS-PAGE (それぞれ図2Aおよび図2B)によって確認した。SEC解析により、予想された保持時間における単一で対称的なピークが明らかになった (図2A)。

40

【0280】

動的光散乱 (DLS) 解析も実施した。精製したナノ粒子を、透明な底を有する黒色の384ウェルのプレート (Corning社、Cat # 3540)に濃度約0.4 μ g/mlで負荷した。サンプルを制御温度25 $^{\circ}$ Cで、DynaProプレートリーダーII (Wyatt社)で読み取った。DLSにより、純粋で凝集物のない、低い多分散性 (7.4%)の粒径13nmが記録された (図2C)。脂質化部位を含むOspAの膜貫通ドメイン (アミノ酸1~25)を除去することにより、精製の容易さが改善された。OspAの配列はアミノ連結グリコシル化の可能性のある4つの部位を含んでおり、哺乳動物細胞

50

から精製されたOspA-フェリチンはグリカンの付加に符合する高い分子量で泳動した(図2B)。

【0281】

OspA-フェリチンナノ粒子について透過型電子顕微鏡陰性染色イメージングおよび2Dクラス平均解析を実施した(図2D)。OspA-フェリチンナノ粒子のサンプルを1×TBSで300倍に希釈し、400メッシュの銅グリッド上のニトロセルロースによって支持された連続炭素層の上でイメージングした。グリッドは、清浄したグリッドの上にサンプル懸濁液3μlを塗布し、濾紙で吸い取り、直ちにギ酸ウラニルで染色することによって調製した。電子顕微鏡観察は、FEI Eagle 4k×4K CCDカメラを取り付けたFEI Tecnai T12電子顕微鏡を用いて実施した。高拡大画像は67,000倍(0.16mm/ピクセル)で取得した。画像は-1.9μm~-0.8μmの公称アンダーフォーカスおよび約30e⁻/Å²の電子量で取得した。自動摘取プロトコル(Lander, G. C. ら、J Struct Biol, 166(1):95~102頁(2009)を参照)を用いて、67,000倍高拡大画像中の個別の粒子を選択した。XMIPP処理パッケージに基づく参照なし整列戦略を用いた(Sorzano, C. O. ら、J Struct Biol 148(2):194~204頁(2004)を参照)。このパッケージにおけるアルゴリズムは選択した粒子を整列させ、これらを自己相似群またはクラスに分類する。

【0282】

フェリチンナノ粒子は、中央部に中空の中心を有する円形の高密度として現れた(図2D)。それぞれのナノ粒子は、やや楕円形状に見えるOspAの多くの短く均一なスパイクに取り囲まれていた。粒子は約194~220Åの範囲の全体の直径を有し、フェリチンコアの直径は125Åであった。スパイクは粒子の表面から長さ45Åまでで、均一な大きさ、形状、および配向をもって延在していた。OspAスパイクの幅は約30Åで、フェリチンのグリシン-セリンリンカーにおいて最小の密度に細くなっていた。

【0283】

LYMERIX(商標)ワクチンが2002年に中止された際に、このワクチンがヒト白血球機能関連抗原-1(hLFA-1、Gross, D. M. ら、Science 281(5377):703~6頁(1998)参照)のノナペプチドセグメント(配列番号78)にホモロジーを有するエピトープ(配列番号83のアミノ酸165~173)を含んでいるという懸念が生じていた(図5A)。配列番号83のアミノ酸165~173をhLFA-1ホモロジー部位と称する。OspA血清型1は、この配列ホモロジーを含む唯一の血清型である(図5B)。この配列に関する潜在的な懸念があればこれを避けるため、hLFA-1ホモロジー部位を、対応するOspA血清型2(配列番号79)または血清型3(配列番号80)のノナペプチド配列に交換し、あるいはhLFA-1に対する類似性を低減させる点置換を導入し、hLFA-1に結合する抗体の産生を防止することを意図した(RD2、配列番号81)(図5C)。点置換については、βシート構造の不安定化を避けまたは最小化しつつ、hLFA-1への類似性を低減させるために表面に露出したアミノ酸を置換した。

【0284】

hLFA-1へのホモロジー部位を改変したhLFA-1ナノ粒子の免疫原性をマウスで試験し、そのような改変を行っていないOspA-フェリチンナノ粒子に対して免疫応答を比較した(図5D)。hLFA-1ホモロジー部位を改変したナノ粒子によって誘発された抗体力価は強力であり、改変していないhLFA-1ホモロジー部位を有するナノ粒子との間に有意な差はなかった。

【0285】

2. OspA-フェリチンナノ粒子の免疫原性の特徴解析

OspA-フェリチンナノ粒子の免疫原性を評価するため、Ribiaアジュバントの存在下の血清型1OspA-フェリチンナノ粒子、または血清型1で脂質化された完全長の組換えOspAを含むイヌワクチンであるRECOMBITEK(登録商標)Lyme(

10

20

30

40

50

B. ブルグドルフェリの精製された外表面プロテインA (OspA) の脂質懸濁液) で2回、C3Hマウスを免疫した(図4)。C3H/HeNマウスは、0週および4週で筋肉内ワクチン接種した。2回目の投与の2週間後から血清についてELISAを行った。Rib (Sigma社アジュバントシステムCat # S6322-1v1) をPBS 1 ml中に再懸濁して1分ボルテックスし、免疫に先立って等体積で抗原に添加した。

【0286】

抗体応答は、組換えOspAに対する酵素連結免疫吸着アッセイ(ELISA)を用いて決定した。簡単には、PBSで希釈した $1\mu\text{g}/\text{ml}$ のOspA-Hisで96ウェルプレートのコートし、4℃で終夜インキュベートした。OspA-Hisを除去し、PBSTに溶解した5%のスkimミルクでプレートをブロックした。ブロッキング試薬を除去した後、一次血清サンプルをPBSTで連続的に希釈して加えた。最終的に50%のブロッキング溶液濃度になるよう、一次サンプルをブロッキング溶液に等体積で加えた。1時間インキュベートした後、PBSTでプレートを洗浄し、HRP連結ヤギ抗マウスIgG二次抗体(ブロッキング溶液中5,000倍希釈)と室温で1時間インキュベートした。二次抗体を吸引除去し、洗浄して、プレートをSure Blue TMBペルオキシダーゼ基質(KPL社、Gaithersburg, MD)とインキュベートし、続いて等体積の停止溶液(0.5N硫酸)を加えた。450nmで吸光度を測定した。

【0287】

OspA-フェリチンによる免疫は6週でRECOMBITEK(登録商標)Lymeより4.4倍高いエンドポイント力価を誘起した($p < 0.001$)。25週における抗体力価も、RECOMBITEK(登録商標)Lymeより有意に高かった($p < 0.005$)(図4)。

【0288】

3. グリコシル化変異体; 有効性の評価

このOspA-フェリチンの保護有効性を評価するため、B. ブルグドルフェリを持つダニを免疫マウスまたは対照マウスに感染させるチャレンジモデルを用いた(Rosa, P. A. ら、Nat Rev Microbiol 3(2):129~43頁(2005)参照)。

【0289】

C3H/HeNマウスに筋肉内で、AddaVax(商標)と1:1で混合したOspA-フェリチンナノ粒子 $1\mu\text{g}$ 、またはフェリチンナノ粒子 $1\mu\text{g}$ をワクチン接種した。マウスは0週および4週でワクチン接種した。マウスを免疫するために、hLFA-1ホモロジー部位に対する合理的に設計した改変および全ての潜在的なN-グリコシル部位を除去する改変を加えた血清型1OspA-フェリチンナノ粒子(配列番号53)を用いた。それは、天然に細菌で発現されたOspAはこれらの部位でグリコシル化されないからである。グリコシル化を防止するため、配列は下記:N71Q、N190Q、N202Q、およびN251QのN>Q置換を含んでいた。その免疫原性はグリコシル化ナノ粒子と同様であった(図13)。

【0290】

グリコシル化部位セリン/トレオニンがアラニンに変異した場合(配列番号63)、OspA-フェリチンのグリコシル化変異体も試験した。この構築物および上で論じたN>Q構築物のいずれも、野生型のグリコシル化部位を有するOspA-フェリチン(配列番号52)と比較して強い免疫応答を生じ、RECOMBITEK(登録商標)Lyme対照より優れていた(図14)。

【0291】

ダニチャレンジモデルにおいてOspA-フェリチンナノ粒子の保護有効性を評価するさらなる実験では、National Tick Research and Education Center, Oklahoma State University(Stillwater, OK)からイクソデス・スカプラリス(Ixodes scapularis)ダニ幼虫(larvae)を入手した。B. ブルグドルフェリに感染した幼虫(ニ

10

20

30

40

50

ンフ、nymphs) は、未感染の幼虫に B. ブルグドルフェリ株 N 4 0 に感染させた S C I D マウスを飽食するまで吸血させることによって産生した。充血した幼虫を採取し、室温および高相対湿度で 4～6 週、脱皮させてニンフとした。吸血した幼虫における B. ブルグドルフェリ感染率は、各バッチから回収したダニの一部を培養することによって決定した。

【0292】

O s p A-フェリチン（配列番号 53）および A d d a V a x（商標）アジュバント、または対照のフェリチンの 1 μ g 用量で 0 週と 4 週の 2 回、マウスを免疫し、並行して比較群を R E C O M B I T E K（登録商標）L y m e で免疫した。6 週目（すなわち 2 回目のワクチン投与の 2 週後）に 5～6 匹の B. ブルグドルフェリ感染ダニニンフを飽食するまで吸血させることによってマウスをチャレンジした。吸血したニンフを採取し、B S K 培地中で培養することによって B. ブルグドルフェリ感染をアッセイした。チャレンジの 2 週後にマウスを屠殺し、耳、足首、および心臓の培養によって B. ブルグドルフェリ感染をアッセイした。B. ブルグドルフェリの存在は、暗視野顕微鏡によって培養液を観察することによって決定した。暗視野顕微鏡によって 1 つまたはそれ以上の臓器培養が陽性となった場合に、マウスは B. ブルグドルフェリに感染していると定義した。陰性培養も B. ブルグドルフェリに特異的な P C R によって試験した。

【0293】

2 週後にマウスを屠殺した。心臓、足首、および耳からの組織サンプルを B S K 培地中、B. ブルグドルフェリに対する抗生剤の存在下に 6 週培養した。陰性サンプルは P C R によって B. ブルグドルフェリの存在について試験した。また、陰性培養液は全て P C R 陰性であった。保護は感染しなかったマウスの百分率として計算した。

【0294】

O s p A-フェリチンおよび A d d a V a x（商標）アジュバントを含む組成物は感染を示さず（0/4）、5 匹中 4 匹の動物が感染した陰性対照フェリチンと対照的であった（表 2、 $p < 0.01$ ）。

【0295】

【表 3】

表2:OspA-フェリチンナノ粒子の保護有効性

抗原	マウス数/群	感染マウス数	感染率%
対照粒子	5	4	80
OspA-フェリチン+AddaVax(商標)	4	0	0
RECOMBITEK(登録商標)Lyme	4	0	0

【0296】

4. 免疫刺激性部分にコンジュゲートした O s p A-フェリチンの有効性の評価

クリックケミストリーによって T L R アゴニスト（図 6 A）または C p G（配列番号 210；I S S-1018、図 7 A）等の免疫刺激性部分の直接コンジュゲーションを可能にする、フェリチンナノ粒子の表面上のシステインの操作（S11C）によって、自己アジュバント性構築物を産生した。直接コンジュゲーションの手順は下記の通りであった。哺乳動物から生成された材料を 50 mM の T r i s、p H 8.5 中の 10 mM の T C E P（A m r e s c o 社、K 831-10G）で 1 時間還元してシステイン化を解除した。次

いでタンパク質を100mMのTris、pH8、50mMのNaCl中に透析してTEPを除去した。大腸菌から生成した材料は還元する必要はない。DBCO-PEG4-マレイミドリンカー (Sigma-Aldrich社cat #760676、5mg) をDMSO中で5mg/mlに再懸濁した。リンカー2.5mgを体積10mlでタンパク質3mgに加えた(最終DMSO濃度は5%であった)。リンカーを還元タンパク質と室温で30分インキュベートした。Ambicon社の100MWカットオフフィルター濃縮器を用いて緩衝液交換により過剰なリンカーを除去した(Millipore社Cat #UFC910096)。アジド-PEG4-3M-012(社内で合成)およびアジド-CPG(ISS-1018、IDT社によりカスタム合成)を最終のクリックケミストリーステップに用いた。最終のコンジュゲーションステップとしてアジュバント0.5mgをタンパク質0.5mgに加え、37℃で6時間、次いで4℃で終夜インキュベートした。Ambicon社の100MWカットオフフィルター濃縮器を用いて緩衝液交換により過剰なアジュバントを除去した。コンジュゲーションの効率は、3M-012についてはマスペクトロメトリーで、CPGについてはSDS-PAGE解析で確認した。

【0297】

HIVのGagタンパク質に直接コンジュゲートした場合に抗体応答を増大させることが以前に示されたTLR7/8アゴニスト3M-012(Wille-Reece, U.ら、Proc Natl Acad Sci USA 102(42);15190~4頁(2005)参照)を用いた。2ステップクリックケミストリーアプローチを用いて3M-012を配列番号53のナノ粒子に結合させた。最初にDBCO-PEG4-マレイミドリンカーをシステインに連結し、次いで修飾した3M-012をPEG4-アジドリンカーとともに銅を含まないアジド-アルキン環化付加によって付加した(図6A)。マスペクトロメトリーによって99%超のコンジュゲーション効率が確認され、マシフトは587ダルトンであった(図12)。アジド-3M-012に加えて、アジド-CPGの付加にも成功した(図7A)。これについては、ゲルシフトによってコンジュゲーションが確認できた(図7B)。

【0298】

フェリチンのほぼ完全なコンジュゲーションが観察され、大部分のナノ粒子が24分子のアゴニストを持っていることが示唆された。次いでコンジュゲートしたOspA-フェリチンナノ粒子の免疫原性をマウスで評価した。C3H/HeNマウスを0週と4週に筋肉内でワクチン接種した。2回目の投与の2週間後から血清についてELISAを行った。免疫に先立ってアラム(Alyhydrogel'85, 2%、Brenntag社、Cat #21645-51-2)を等体積で抗原に添加した。Rib i(Sigma社アジュバントシステムCat #S6322-1v1)をPBS 1ml中に再懸濁して1分ボルテックスし、免疫に先立って等体積で抗原に添加した。

【0299】

3M-012をコンジュゲートした粒子で免疫したマウスは、コンジュゲートしていない材料より4.5倍高いOspA抗体応答を生成した(図6B、 $p < 0.05$)。3M-012をコンジュゲートした粒子によって誘発された抗体応答は、等モル量の3M-012(29ng)と混合した粒子よりも大きく、1000倍高い用量(20μg)の3M-012または標準のアラム(Alyhydrogel'85、2%、Brenntag社-Cat #21645-51-2)アジュバントと混合した粒子と同程度であった。

【0300】

同様の抗体生成の増強がCPGをコンジュゲートしたOspA-フェリチンナノ粒子(配列番号53)で観察され、コンジュゲートしていない粒子と比較して免疫応答が6.3倍増大し、ナノ粒子と混合した等量のコンジュゲートしていないCPGに対して4.7倍増大した(図7C)。

【0301】

したがって、OspA-フェリチンナノ粒子にコンジュゲートしたアジュバントの標的送達により、効果的かつ特異的な抗体応答を刺激しつつ、アジュバントの量を実質的に低

10

20

30

40

50

減させることが可能になる。

【0302】

5. 様々な血清型を含むOspA-フェリチンナノ粒子の免疫原性の評価

血清型1OspA株B.ブルグドルフェリは米国で疾患を引き起こす一方、B.アフゼリ（血清型2）、B.ガリニ（血清型3、5、6、7）、およびB.ババリエンシス（血清型4）は欧州、アジア、およびその他の地域で疾患を引き起こす。幅広く交差保護する組成物を産生するため、血清型1、2、3、4、5、および7（配列番号1、5、6、7、8、および10）についてOspA-フェリチンナノ粒子を設計した。これらの粒子を発現させ、大腸菌からアニオン交換およびサイズ排除クロマトグラフィーを用いて精製した（図3A）。全てのOspA-フェリチン抗原性ポリペプチドは予想された分子量である47kDaを有し、DLS解析および透過型電子顕微鏡によっても6種のOspAナノ粒子全ての形成が確認された（図3B）。

10

【0303】

血清型1～5および7のOspA-フェリチンのそれぞれを等モルの割合で組み合わせることによって、6成分の組成物を産生した。

【0304】

アラムを添加したこの6成分の組成物（すなわち六価）の免疫原性を、同じアジュバントを添加した単一血清型の粒子（すなわち一価）とマウスで比較した（図8A～図8F）。各血清型について一価の組成物は1μg用量で、六価の組成物は1μgで投与した（総量6μg用量）。免疫に先立ってアラム（Alyhydrogel'85、2%、Brenntag社-Cat#21645-51-2）を等体積で抗原に添加した。6成分の組成物はOspA血清型1～5および7の6種全てに対して強力な抗体応答を誘起した。さらに、単一血清型の対照に対する応答は混合物と同様であり、6種の血清型の組合せの中で干渉がないことが示された。血清型4に対し、六価の組成物において単一成分の組成物と比較して改善された免疫応答が見られた（図8D、血清型4を参照）。

20

【0305】

六価の組成物が免疫原性であること、およびいくつかの例では一価の組成物より優れていることが確立されたので、6種のOspA-フェリチンナノ粒子のそれぞれと3M-012およびCpGとのコンジュゲートを調製した。3M-012にコンジュゲートした6種のOspA-フェリチンナノ粒子を組み合わせ、別にCpGにコンジュゲートした6種のOspA-フェリチンナノ粒子を組み合わせることによって、2種の6成分をコンジュゲートした組成物を創成した。CpGコンジュゲートした六価の組成物および3M-012コンジュゲートした六価の組成物は、世界的に見出されるOspAの7種の血清型全てについて、コンジュゲートしていない六価の組成物と比較して抗体応答の顕著な増大をマウスで示し（図9A～図9G）、OspA血清型6ポリペプチドが組成物中に存在していないにも関わらず、六価の処方も血清型6に対する保護を付与していることが示された。

30

【0306】

非ヒト霊長類（NHP、アカゲザル）で試験すると、AF03アジュバントを添加した六価のナノ粒子組成物（非コンジュゲート）は、RECOMBITEK（登録商標）Lyme対照より性能が優れており、循環するボレリア血清型7種全てに対して11倍～200倍高いAb力価を示した（図10A～図10G）。マウスと同様に、六価の組成物はアジュバントの存在下で高い力価の抗体応答を誘発した。3M-012およびCpGとコンジュゲートした組成物はNHPにおいてRECOMBITEK（登録商標）Lyme対照と同様の応答を誘起した（図10A～図10Gをそれぞれ図10H～図10Nと比較）。NHPにおける六価のワクチンの抗体力価はブースト投与の19週後も強力であり、RECOMBITEK（登録商標）Lyme対照に対する優位性を保持していた（図25）。

40

【0307】

コンジュゲートした組成物をダニチャレンジモデルでも試験した。マウスを0週および4週に1μgの用量の抗原でワクチン接種した。一価の組成物は3M-012にコンジュゲートしたOspA-フェリチン血清型1 1μgを含んでいた。六価の組成物はそれぞ

50

れ 3 M-012 にコンジュゲートした血清型 1、2、3、4、5、および 7 の O s p A 1 μ g を含んでいた。2 回目の免疫の 2 週後にボレリア・ブルグドルフェリ N 40 株（血清型 1）に感染させた 5～6 匹のダニを 5 日間、マウスにチャレンジし、2 週後に屠殺した。心臓、足首、および耳からの組織サンプルを、B. ブルグドルフェリに対する抗生剤を添加した B S K 培地中で 6 週培養した。陰性サンプルを P C R により B. ブルグドルフェリの存在について試験した。陽性サンプルは培養または P C R のいずれかについて陽性であった（図 11）。

【0308】

さらに、7 種の血清型全てを含む七価のワクチンをマウスで試験した。アラムもしくは A F 03 をアジュバントとして添加した O s p A 血清型 1～7 に対応する O s p A-フェリチンナノ粒子それぞれ 1 μ g（総量 7 μ g）の七価 O s p A-フェリチンナノ粒子組成物、または R E C O M B I T E K（登録商標）L y m e（1 μ g 用量）で、マウスを 0 週および 4 週に筋肉内で免疫した。免疫の 2 週後に E L I S A によって測定したエンドポイント力価で抗体応答を解析した。R E C O M B I T E K（登録商標）と比較して強力な免疫応答が実証された（図 24A～図 24G）。

【0309】

このように、O s p A-フェリチンナノ粒子は、7 種の主要な血清型に対して高い力価の抗体応答を誘発した。さらに、7 成分のライムワクチン候補は、ライム病の世界的な蔓延を制御する可能性を提示している。

【0310】

6. 様々な可撓性のリンカーを有する O s p A-フェリチン構築物の特徴解析

O s p A とフェリチンとの間に可撓性を提供するためにいくつかの異なったリンカーを試験した。構築物は 1 個から 5 個の -G G G S-（配列番号 226）配列の範囲であった。種々のリンカー構築物を精製し、均一な大きさのナノ粒子を形成した。

【0311】

G S 1（G G G S）（配列番号 226）、G S 2（配列番号 91）、または G S 5（配列番号 92）のリンカーを含む O s p A-リンカー-フェリチン構築物は全て発現することができ（図 15A）、矛盾のない D L S（図 15B、図 15C、および図 15E）および E M（図 15D）のプロファイルを示した。

【0312】

さらに、様々な -G G G S-（配列番号 226）-リンカー構築物（リンカー 1 $\times$ G G G S（配列番号 226）[配列番号 60]、リンカー 2 $\times$ G G G S（配列番号 91）[配列番号 61]、およびリンカー 5 $\times$ G G G S（配列番号 92）[配列番号 62]）は全て C 3 H マウスにおいて強い免疫応答を示した（図 16）。

【0313】

7. ルマジシンターゼ O s p A ナノ粒子の特徴解析

もう 1 つのナノ粒子であるアキフェックス・エオリクス（A q u i f e x a e o l i c u s）由来のルマジシンターゼについて、O s p A の抗原呈示を検討した。様々な血清型を含む O s p A-ルマジシンターゼ粒子は、大腸菌細胞からアニオン交換クロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーによって容易に精製された。O s p A 血清型 1（配列番号 12、図 19A～図 19C）、O s p A 血清型 2（配列番号 16、図 20A～図 20C）、O s p A 血清型 3（配列番号 17、図 21A～図 21B）、O s p A 血清型 4（配列番号 18、図 17A～図 17C）、O s p A 血清型 5（配列番号 19、図 22A～図 22C）、および O s p A 血清型 7（配列番号 21、図 23A～図 23C）からなる構築物を産生し特徴解析した。O s p A-ルマジシンターゼ粒子は E M で 15 . 8 n m の粒子を形成しており、D L S で大きさは均一であった。

【0314】

O s p A 血清型 4 ルマジシンターゼ粒子（配列番号 18）をマウスで免疫原性について試験した（図 18）。アラムを添加しまたは添加していない O s p A ルマジシンターゼ粒子は、同様の O s p A 血清型 4 フェリチンナノ粒子（配列番号 7）の免疫応答と少な

10

20

30

40

50

くとも同じく強力と思われる強い免疫応答を生じた。

【0315】

したがって、ルマジンシンターゼおよびO s p Aポリペプチドを含む抗原性ポリペプチドも、抗O s p A抗体応答を誘発させるために用いることができる。

【図1A】



Fig. 1A

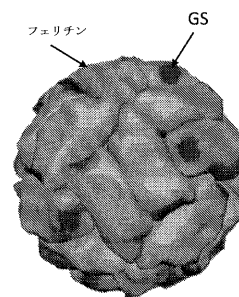
【図1B】



OspA

Fig. 1B

【図1C】



フェリチン
 $n = 24$

Fig. 1C

【図 1 D】

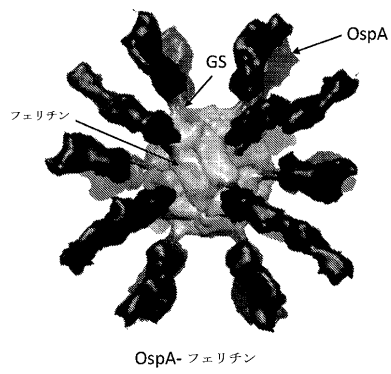


Fig. 1D

【図 2 - 1】

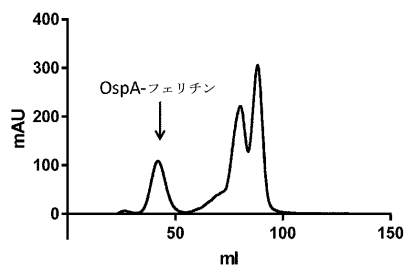


Fig. 2A

【図 2 - 3】

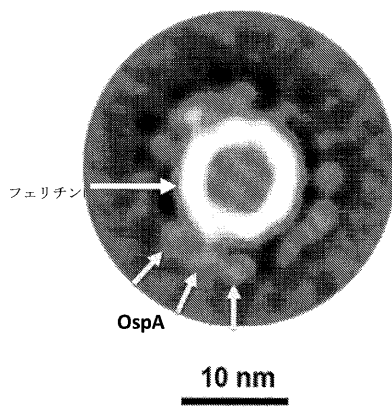


Fig. 2D

【図 2 - 2】

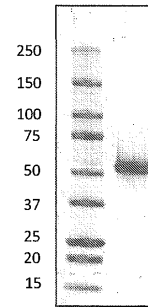


Fig. 2B

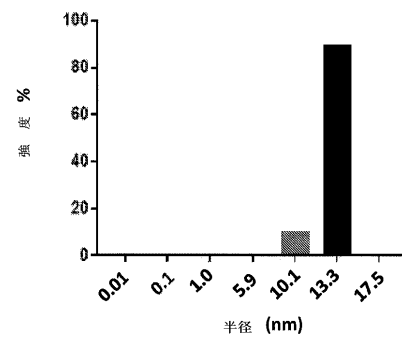


Fig. 2C

【図 3 A】

血清型	株
1	ボレリア・ブルグドルフェリ (<i>Borrelia burgdorferi</i>) B31
2	ボレリア・アフゼリ (<i>Borrelia afzelii</i>) Pko
3	ボレリア・ガリニ (<i>Borrelia garinii</i>) PBr
4	ボレリア・ババリエンス (<i>Borrelia bavariensis</i>) Pbi
5	ボレリア・ガリニ (<i>Borrelia garinii</i>) Phei
7	ボレリア・ガリニ (<i>Borrelia garinii</i>) T25

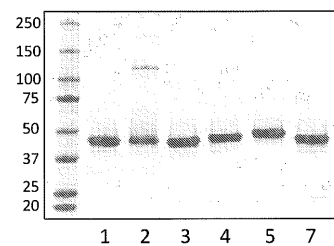


Fig. 3A

【図 3 B】

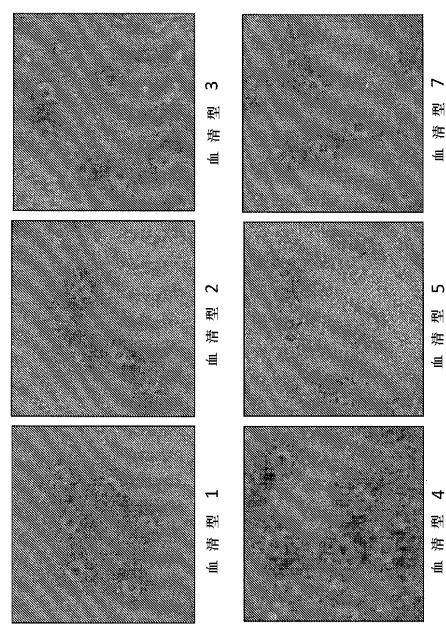


Fig. 3B

【図 4】

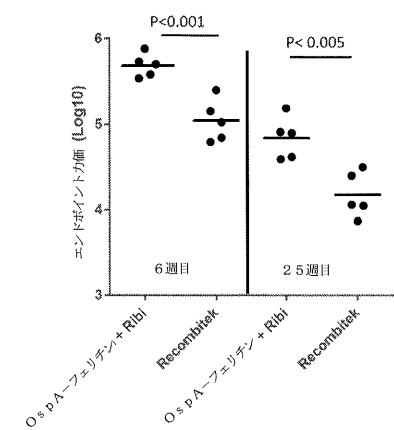


Fig. 4

【図 5 - 1】

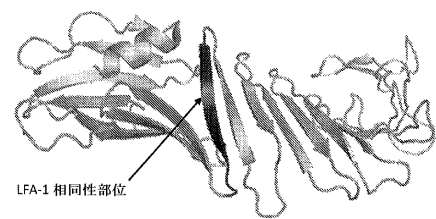


Fig. 5A

【図 5 - 2】

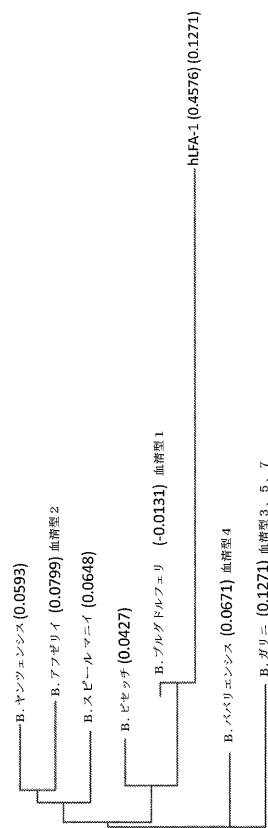


Fig. 5B

【図 5 - 3】

OspA: YVLEGLTA
S2 : FTLEGGVAN
S3 : FALEGLTLD
RD2 : YTLEGGQSLSD
Lfa1: YVIEGTSKQ

Fig. 5C

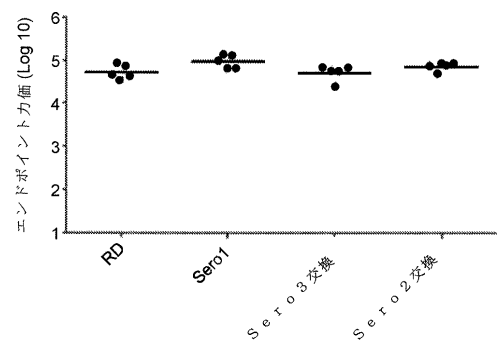


Fig. 5D

【図 6 A】

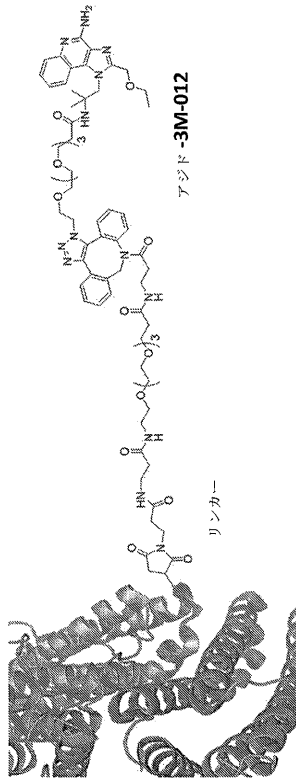


Fig. 6A

【図 6 B】

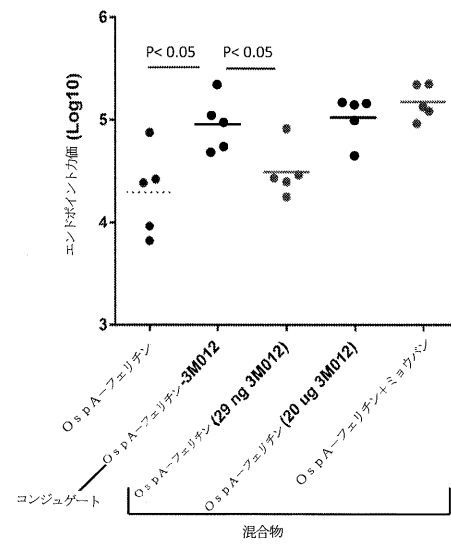


Fig. 6B

【図 7 - 1】

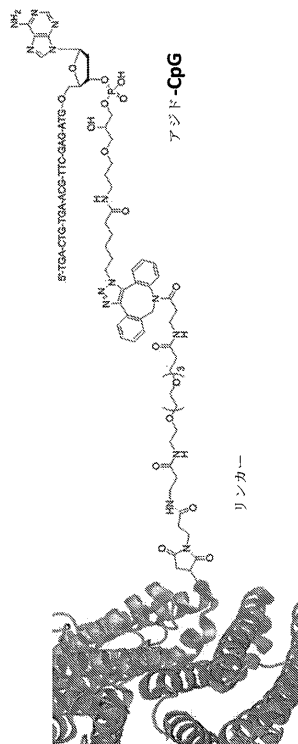


Fig. 7A

【図 7 - 2】

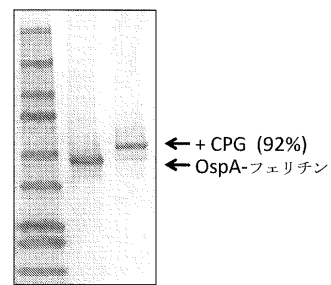


Fig. 7B

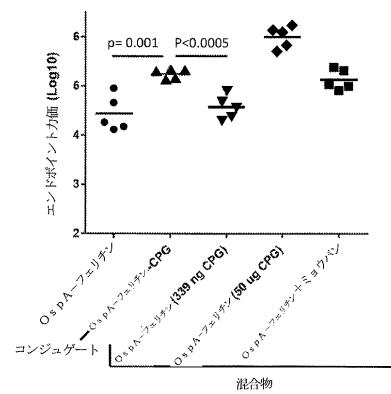


Fig. 7C

【図 8 - 1】

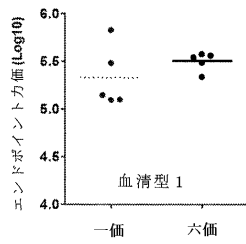


Fig. 8A

【図 8 - 2】

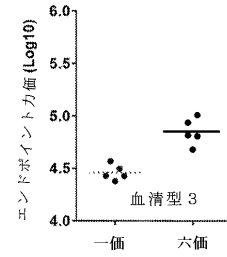


Fig. 8C

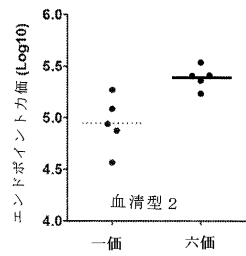


Fig. 8B

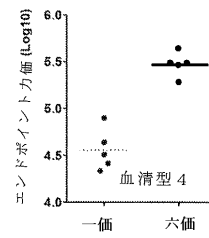


Fig. 8D

【図 8 - 3】

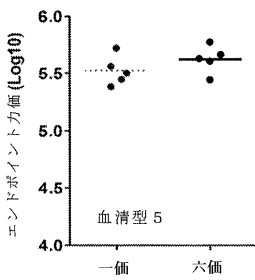


Fig. 8E

【図 9 - 1】

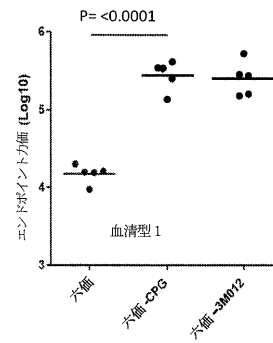


Fig. 9A

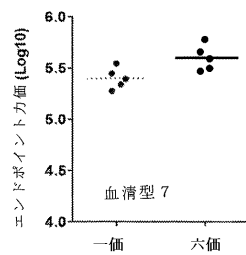


Fig. 8F

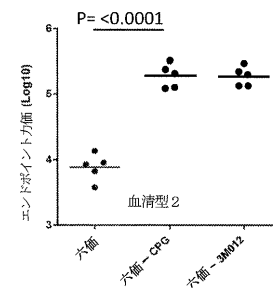


Fig. 9B

【図 9 - 2】

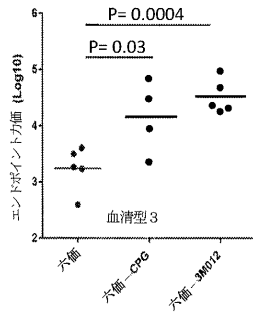


Fig. 9C

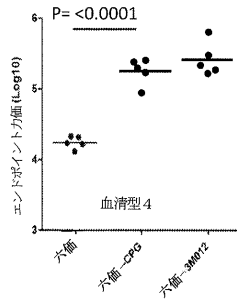


Fig. 9D

【図 9 - 3】

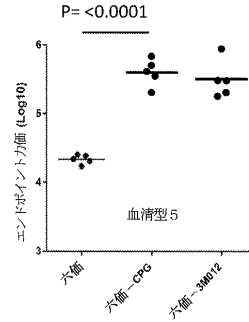


Fig. 9E

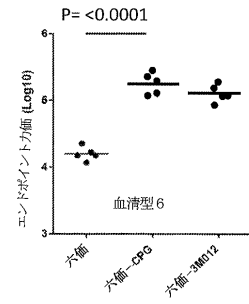


Fig. 9F

【図 9 - 4】

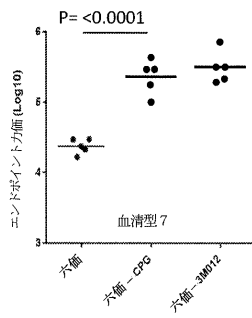


Fig. 9G

【図 10 - 1】

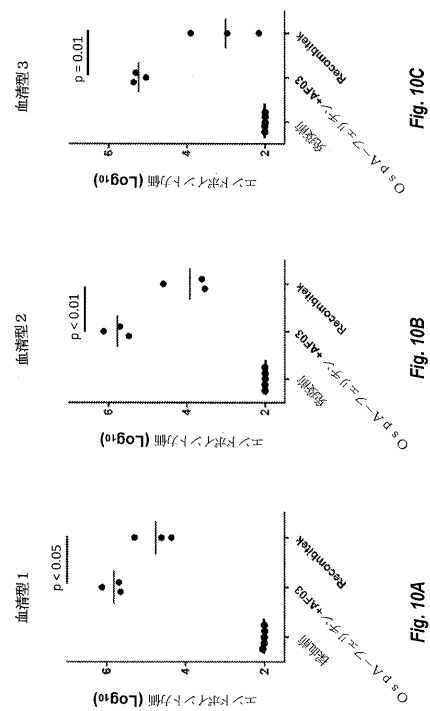
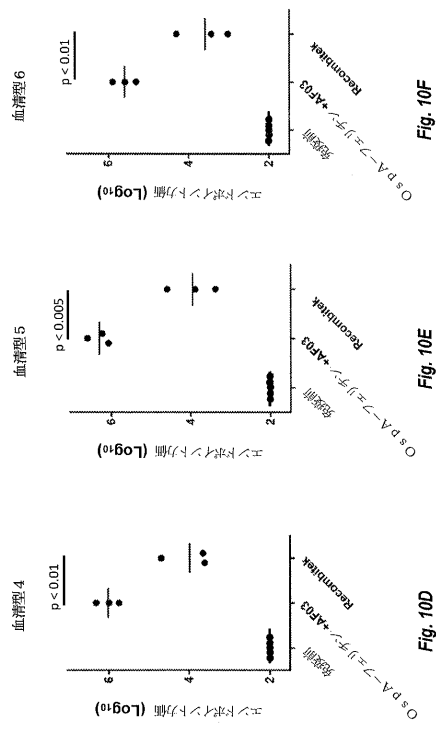


Fig. 10A

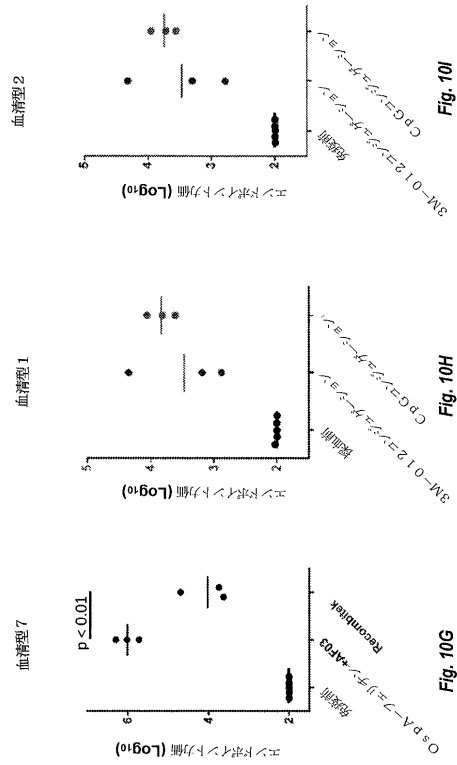
Fig. 10B

Fig. 10C

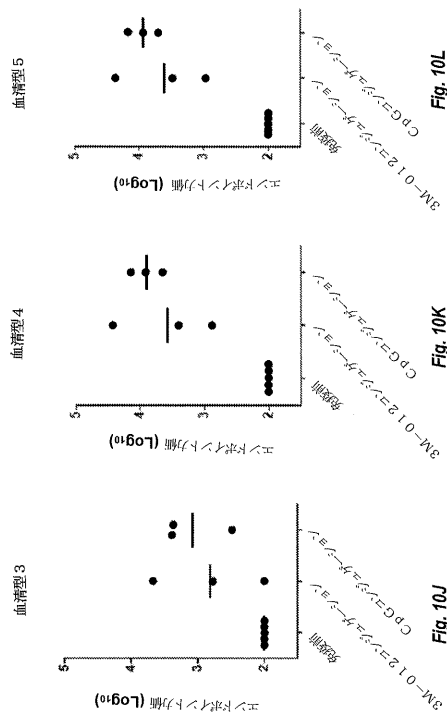
【図 10-2】



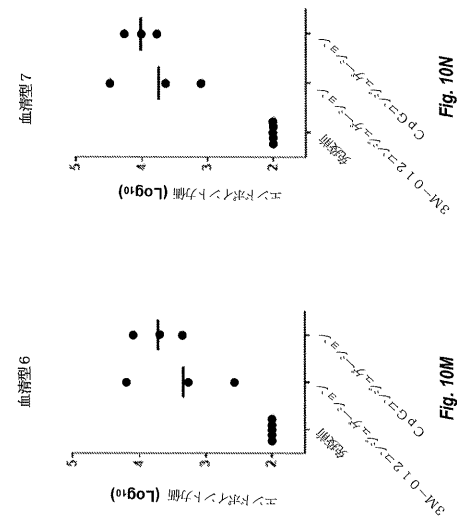
【図 10-3】



【図 10-4】



【図 10-5】



【図 1 1】

抗原	マウス/群	# 培養陽性マウスの数	# 感染マウス数 (培養および PCR)	感染%	P 値
一 価 -3M-012	8	0	0	0	P<0.0005
六 価 -3M-012	8	0	1	12.5	P<0.005
対照粒子	9	6	7	77.8	

Fig. 11

【図 1 2】

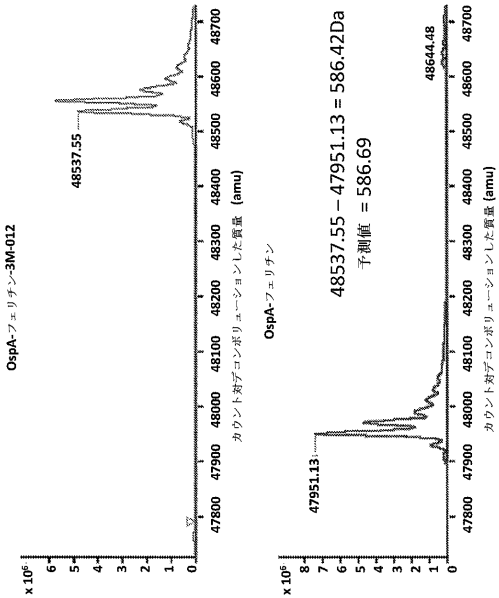


Fig. 12

【図 1 3】

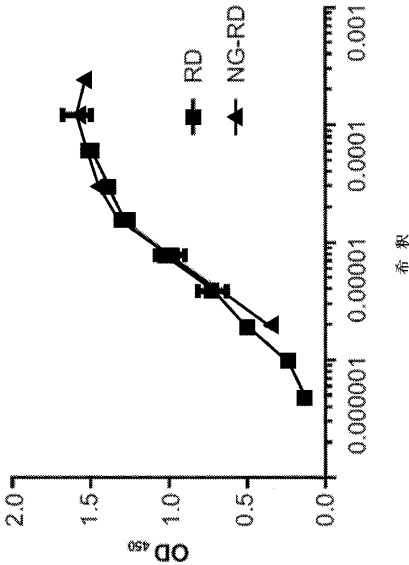


Fig. 13

【図 1 4】

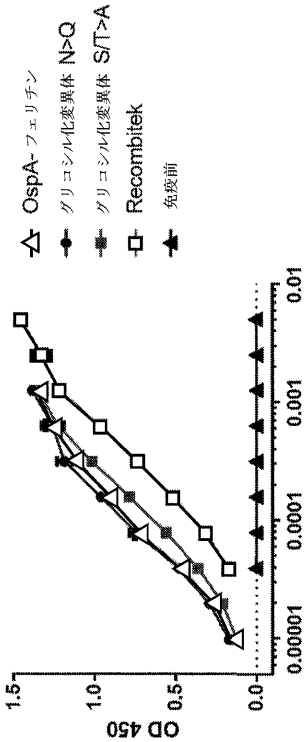
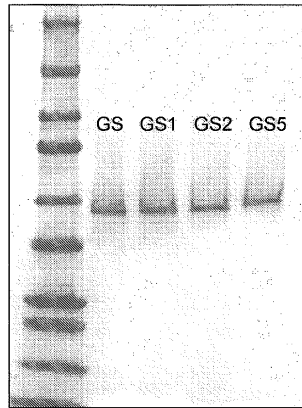


Fig. 14

【図 15 - 1】



GS OspA-GS- フェリチン
 GS1 OspA- GGGS- フェリチン
 GS2 OspA- GGGS GGGS- フェリチン
 GS5 OspA- GGGS GGGS GGGS GGGS GGGS- フェリチン

Fig. 15A

【図 15 - 2】

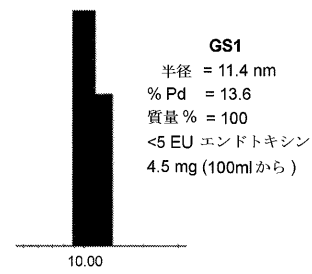


Fig. 15B

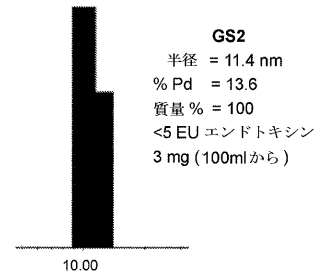


Fig. 15C

【図 15 - 3】

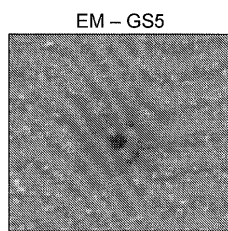


Fig. 15D

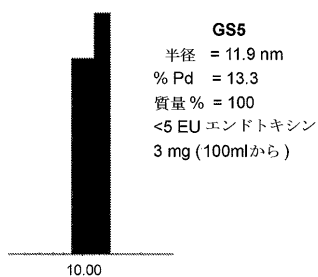


Fig. 15E

【図 16】

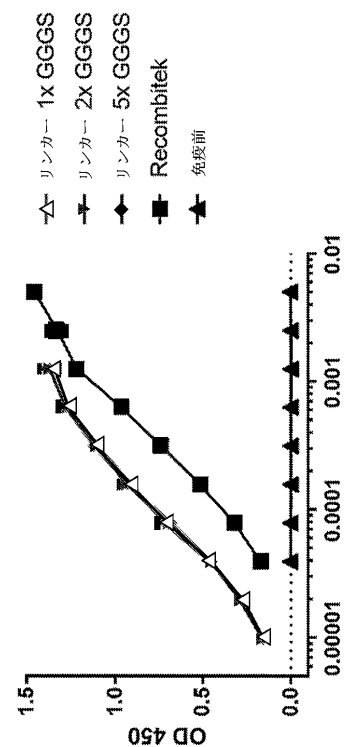
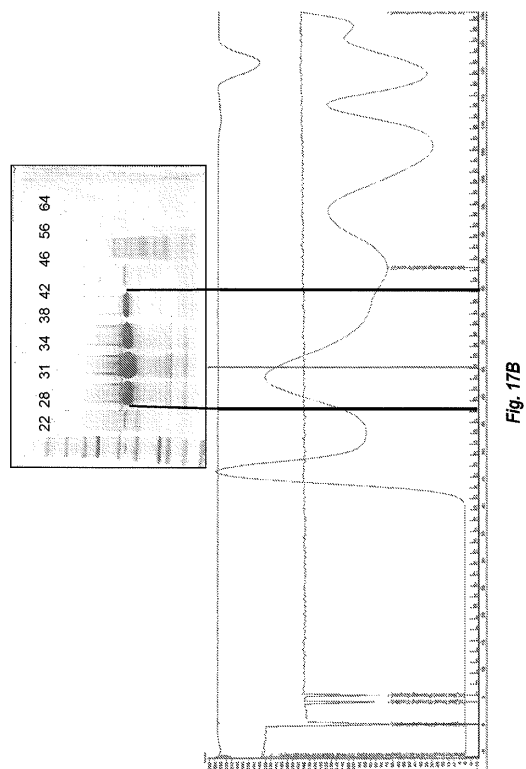
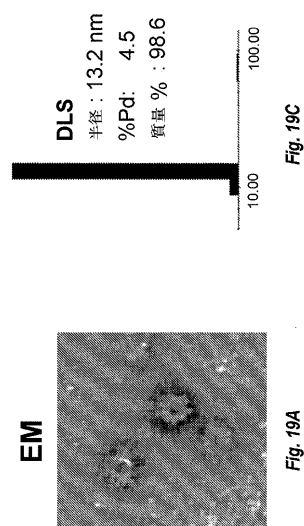


Fig. 16

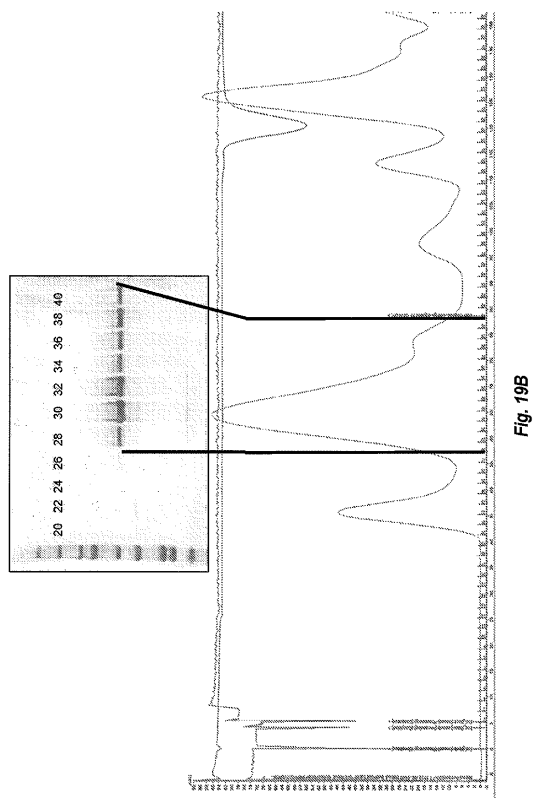
【图 17-2】



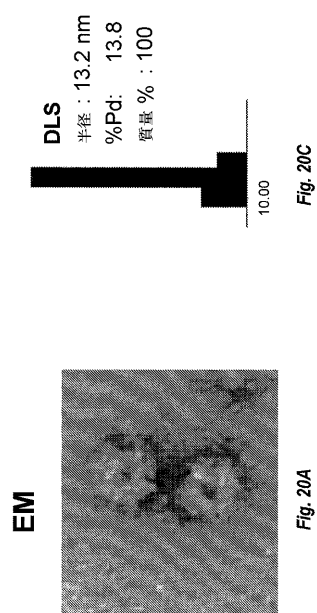
【図 19-1】



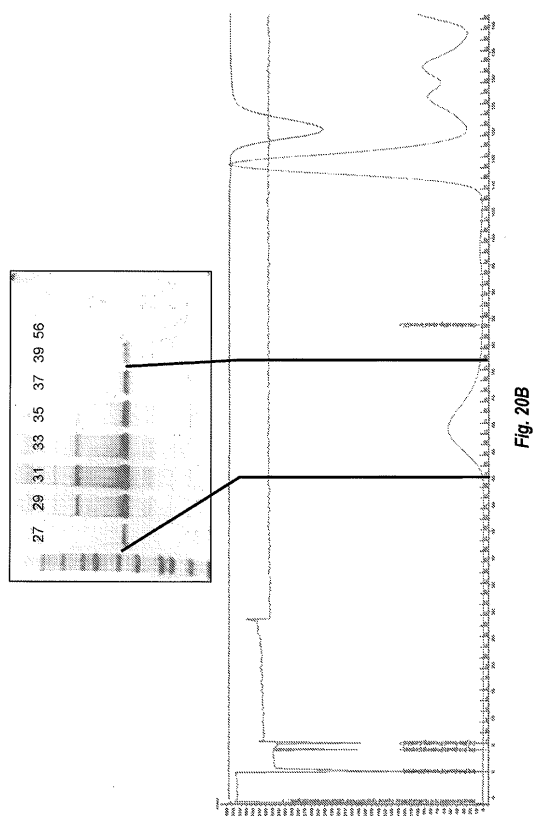
【図 19-2】



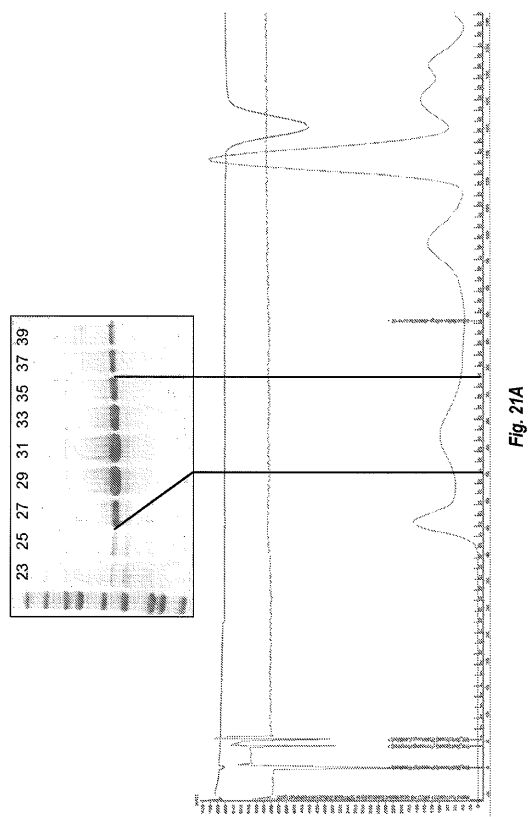
【図 20-1】



【図 20-2】



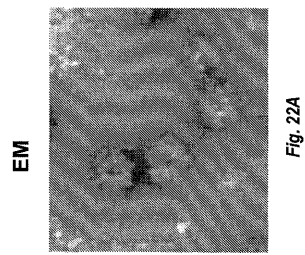
【図 21 A】



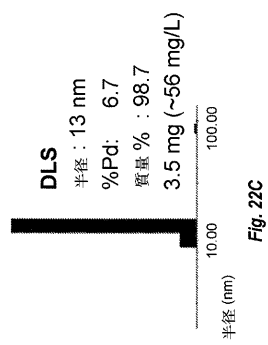
【図 2 1 B】



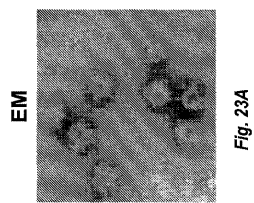
【図 2 2 A】



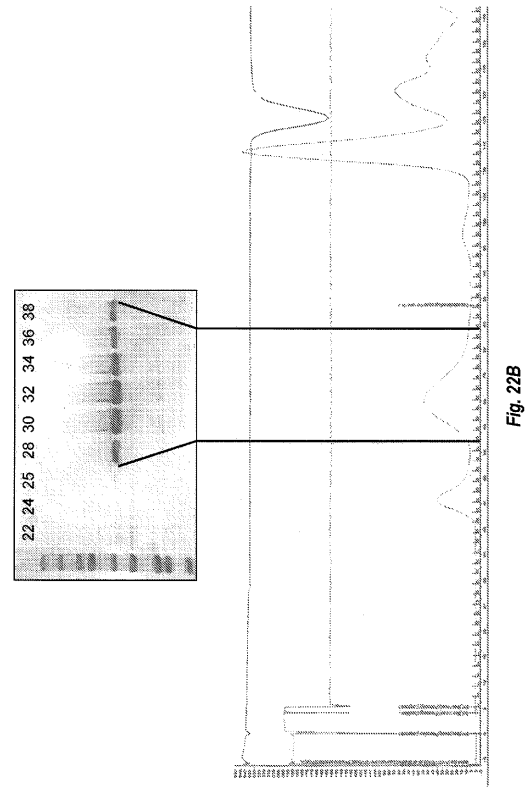
【図 2 2 C】



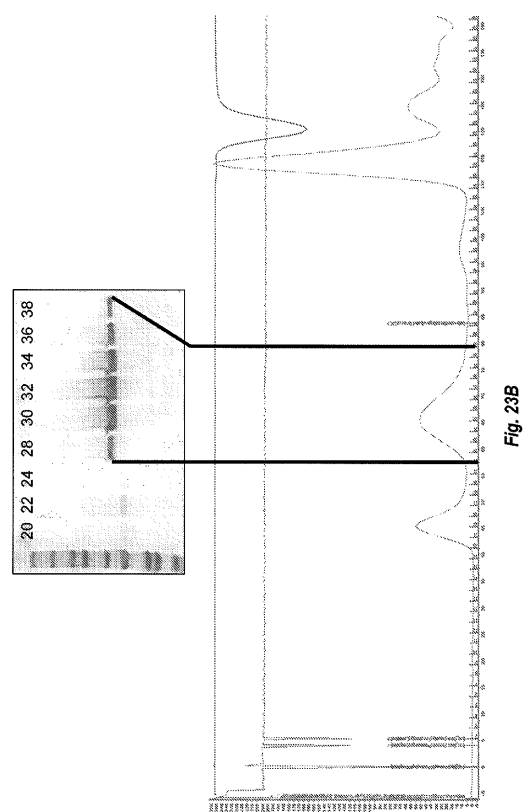
【図 2 3 A】



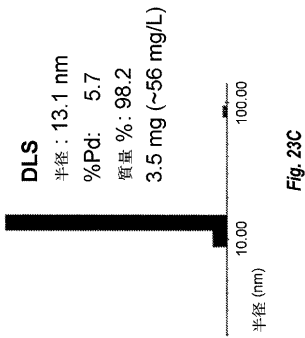
【図 2 2 B】



【図 2 3 B】



【 図 2 3 C 】



【 図 2 4 - 1 】

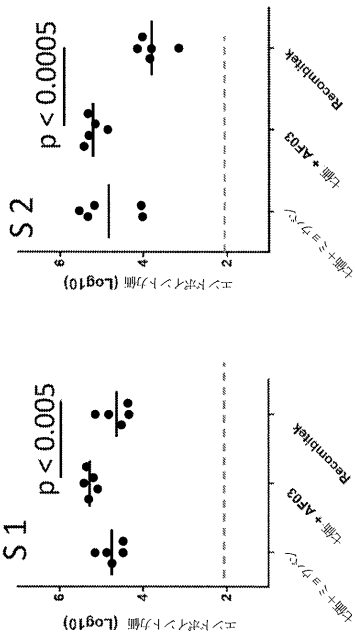


Fig. 24B

Fig. 24A

【 図 2 4 - 2 】

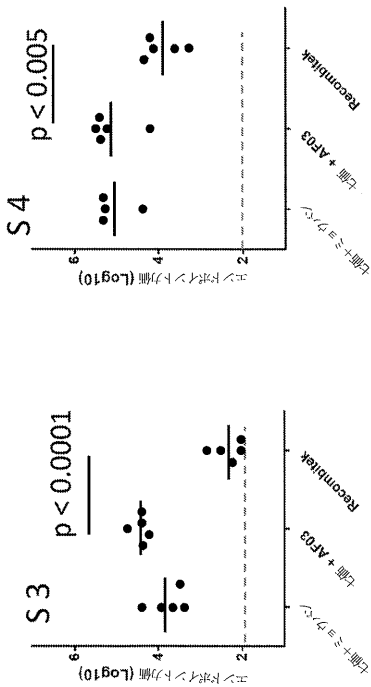


Fig. 24D

Fig. 24C

【 図 2 4 - 3 】

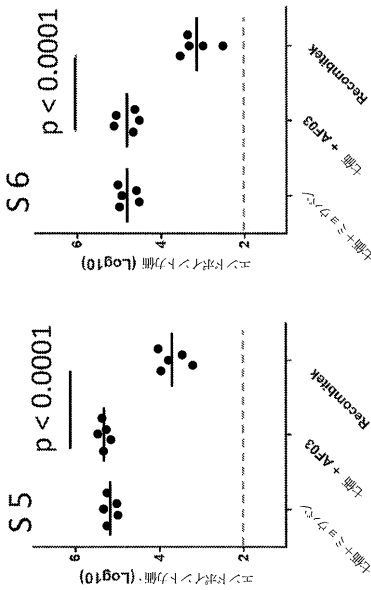


Fig. 24E

Fig. 24F

【図 2 4 - 4】

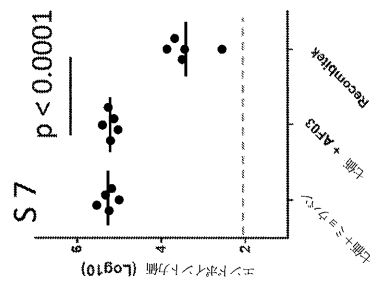


Fig. 24G

【図 2 5】

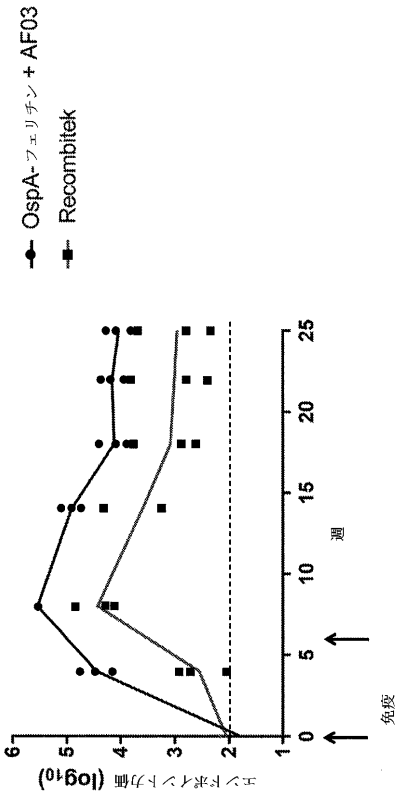


Fig. 25

【配列表】

2021519599000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/025367

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K39/02	A61K39/145
	A61P31/14	A61P31/16
		C07K14/205
ADD.	A61K39/12	A61P31/04
		A61P31/20
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
A61K C12N A61P C12R C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/143623 A1 (BAXTER INT [US]; BAXTER HEALTHCARE SA [CH] ET AL.)	1-19,38
Y	17 November 2011 (2011-11-17) examples, claims, paragraph [0273], Seq ID No. 24	20-37
	----- -/--	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
28 June 2019		09/07/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Bernhardt, Wiebke

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2019/025367

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIVEY IAN ET AL: "A New Approach to a Lyme Disease Vaccine", CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS, CHICAGO, IL, US vol. 52, no. Supplement 3 1 February 2011 (2011-02-01), pages S266-S270, XP008139263, ISSN: 1058-4838, DOI: 10.1093/CID/CIQ118 Retrieved from the Internet: URL:http://www.journals.uchicago.edu/CID/home.html	1-19,38
Y	abstract, pages S266-S269	20-37
X	----- WO 2015/169271 A1 (VYZK USTAV VET LEKARSTVI [CZ] ET AL.) 12 November 2015 (2015-11-12)	1-19,38
Y	examples, claims	20-37
X	----- WO 02/16421 A2 (UNIV NEW YORK STATE RES FOUND [US] ET AL.) 28 February 2002 (2002-02-28)	1-19,38
Y	examples, Seq ID NO. 12, 114	20-37
Y	----- JACINTO LOPEZ-SAGASETA ET AL: "Self-assembling protein nanoparticles in the design of vaccines", COMPUTATIONAL AND STRUCTURAL BIOTECHNOLOGY JOURNAL, vol. 14, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 58-68, XP055329959, Sweden ISSN: 2001-0370, DOI: 10.1016/j.csbj.2015.11.001 abstract, page 64, table 2	20-38
Y	----- WO 2015/183969 A1 (USA AS REPRESENTED BY THE SECRETARY DEPT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES) 3 December 2015 (2015-12-03) examples, page 59	20-38
Y	----- WO 2016/138160 A1 (US HEALTH [US]) 1 September 2016 (2016-09-01) pages 77-79, 82, examples	20-38
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2019/025367

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HU QI-YING ET AL: "Towards the next generation of biomedicines by site-selective conjugation", CHEMICAL SOCIETY REVIEWS,, vol. 45, no. 6, 21 March 2016 (2016-03-21) , pages 1691-1719, XP002772944, DOI: 10.1039/C4CS00388H page 1695, left-hand col. -----	20-38
Y	YOUNGGYU KIM ET AL: "Efficient Site-Specific Labeling of Proteins via Cysteines", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 19, no. 3, 1 March 2008 (2008-03-01), pages 786-791, XP055008636, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/bc7002499 abstract -----	20-38
Y	TOM Y.-H. WU: "Strategies for designing synthetic immune agonists", IMMUNOLOGY, vol. 148, no. 4, 11 July 2016 (2016-07-11) , pages 315-325, XP055594767, GB ISSN: 0019-2805, DOI: 10.1111/imm.12622 abstract, pages 319-320 -----	24-38
Y	WRESSNIGG N ET AL: "A Novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis is safe and immunogenic in an adult population previously infected with Borrelia burgdorferi sensu lato", CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, vol. 21, no. 11, 1 November 2014 (2014-11-01), pages 1490-1499, XP002742552, ISSN: 1556-679X, DOI: 10.1128/CVI.00406-14 [retrieved on 2014-09-03] abstract -----	22-38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/025367

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011143623 A1	17-11-2011	AU 2011252844 A1	29-11-2012
		AU 2011252850 A1	29-11-2012
		BR 112012027315 A2	16-11-2016
		CA 2798331 A1	17-11-2011
		CA 2799181 A1	17-11-2011
		CN 103108652 A	15-05-2013
		CN 103118701 A	22-05-2013
		CN 107641151 A	30-01-2018
		EP 2569008 A1	20-03-2013
		EP 2569009 A1	20-03-2013
		JP 6030052 B2	24-11-2016
		JP 6227407 B2	08-11-2017
		JP 2013529077 A	18-07-2013
		JP 2013529078 A	18-07-2013
		JP 2016168057 A	23-09-2016
		JP 2016171816 A	29-09-2016
		JP 2018150386 A	27-09-2018
		KR 20130062954 A	13-06-2013
		KR 20130133120 A	06-12-2013
		KR 20180031814 A	28-03-2018
		KR 20180082633 A	18-07-2018
		KR 20190027955 A	15-03-2019
		MX 340739 B	22-07-2016
		MX 348113 B	29-05-2017
		RU 2012153752 A	20-06-2014
		RU 2012153972 A	20-06-2014
		RU 2017138652 A	11-02-2019
		US 2011293652 A1	01-12-2011
		US 2012020973 A1	26-01-2012
		US 2014141029 A1	22-05-2014
		US 2014141030 A1	22-05-2014
		US 2016235830 A1	18-08-2016
		US 2018296656 A1	18-10-2018
		WO 2011143617 A1	17-11-2011
		WO 2011143623 A1	17-11-2011
WO 2015169271 A1	12-11-2015	EP 3139951 A1	15-03-2017
		WO 2015169271 A1	12-11-2015
WO 0216421 A2	28-02-2002	AT 381575 T	15-01-2008
		AU 8504901 A	04-03-2002
		DE 60131982 T2	11-12-2008
		DK 1311540 T3	28-04-2008
		EP 1311540 A2	21-05-2003
		ES 2298249 T3	16-05-2008
		PT 1311540 E	20-03-2008
		US 2004023325 A1	05-02-2004
		US 2009326200 A1	31-12-2009
		US 2014030285 A1	30-01-2014
		WO 0216421 A2	28-02-2002
WO 2015183969 A1	03-12-2015	CA 2950085 A1	03-12-2015
		CN 106715474 A	24-05-2017
		EP 3148578 A1	05-04-2017
		US 2017202946 A1	20-07-2017
		WO 2015183969 A1	03-12-2015
WO 2016138160 A1	01-09-2016	EP 3261665 A1	03-01-2018

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

Information on patent family members

PCT/US2019/025367

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		KR 20170140180 A	20-12-2017
		US 2018244756 A1	30-08-2018
		WO 2016138160 A1	01-09-2016

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 K	39/02	(2006.01)	A 6 1 K	39/02
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04
C 0 7 K	14/20	(2006.01)	C 0 7 K	14/20
C 1 2 N	15/54	(2006.01)	C 1 2 N	15/54
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62 Z

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

- (72)発明者 デイリー・ジェイ・ナーベル
アメリカ合衆国ニュージャージー州08807.ブリッジウォーター.メイル・コード55エー
505エー.コーポレートドライブ55
- (72)発明者 チェーゲン・ウェイ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08807.ブリッジウォーター.メイル・コード55エー
505エー.コーポレートドライブ55
- (72)発明者 ヘザー・カンブ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08807.ブリッジウォーター.メイル・コード55エー
505エー.コーポレートドライブ55
- (72)発明者 ロニー・ウェイ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08807.ブリッジウォーター.メイル・コード55エー
505エー.コーポレートドライブ55
- (72)発明者 カート・スワンソン
アメリカ合衆国ニュージャージー州08807.ブリッジウォーター.メイル・コード55エー
505エー.コーポレートドライブ55

Fターム(参考) 4C076 EE41 EE59

4C084 AA01 AA02 BA01 BA08 BA22 BA24 BA41 BA44 CA04 DC50
MA02 NA14 ZB35
4C085 AA03 BA15 BB11
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB35
4H045 AA10 BA10 BA41 CA11 DA86 DA89 EA20 FA74