

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年12月19日(19.12.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/257764 A1

(51) 国際特許分類:

G01N 33/68 (2006.01) C12N 15/50 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)
C12N 15/44 (2006.01) G01N 33/569 (2006.01)

灘区六甲台町1-1 国立大学法人神戸大学内
Hyogo (JP). 松谷 隆治(MATSUTANI, Takaji);
〒6008815 京都府京都市下京区中堂寺栗田町9
3番地 マルホ株式会社内 Kyoto (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/021195

(22) 国際出願日: 2024年6月11日(11.06.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2023-096200 2023年6月12日(12.06.2023) JP

(71) 出願人: 国立大学法人神戸大学(NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION KOBE UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6578501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1 Hyogo (JP).

(72) 発明者: 船越 洋平(FUNAKOSHI, Yohei); 〒6578501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1 国立大学法人神戸大学内 Hyogo (JP). 薬師神公和(YAKUSHIJIN, Kimikazu); 〒6578501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1 国立大学法人神戸大学内 Hyogo (JP). 大路 剛(OHJI, Goh); 〒6578501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1 国立大学法人神戸大学内 Hyogo (JP). 南 博信(MINAMI, Hironobu); 〒6578501 兵庫県神戸市

(74) 代理人: 田中 順也, 外(TANAKA, Junya et al.); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島6-2-40 中之島インテス2 1階 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS,

(54) Title: IMMUNE REACTION EVALUATION METHOD

(54) 発明の名称: 免疫反応の評価方法

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a method for selectively identifying an immune reaction to a specific antigen, at the level of antibody sequences, from repertoire data for immune cell receptors. An immune reaction to a specific antigen can be selectively identified, at the level of antibody sequences, by this immune reaction evaluation method, the method including: a step A for preparing repertoire data of sequences for antigen recognition sites in immune cell receptors, wherein the repertoire data is acquired from a sample collected from a subject; and a step B for collating database of a sequence for an antigen recognition site against a specific antigen with the repertoire data to identify a sequence which is identical to the sequence included in the database or a sequence of which a portion excluding two or less amino acid residues is identical to the sequence included in the database at the level of amino acid sequences.

(57) 要約: 本発明の目的は、免疫細胞レセプターのレパートアデータから、特定の抗原に対する免疫反応を抗体配列のレベルで選択的に特定する方法を提供することにある。被験者の検体から取得した、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列のレパートアデータを用意する工程Aと、特定の抗原に対する抗原認識部位の配列のデータベースと、前記レパートアデータとを照合し、前記データベース中に含まれる前記配列と、アミノ酸配列レベルで同一又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列を特定する工程Bとを含む、免疫反応の評価方法により、特定の抗原に対する免疫反応を抗体配列のレベルで選択的に特定することができる。



WO 2024/257764 A1

IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称：免疫反応の評価方法

技術分野

[0001] 本発明は、免疫反応の評価方法に関する。

背景技術

[0002] 重症急性呼吸器症候群コロナウイルス-2 (SARS-CoV-2) による新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、血液悪性腫瘍患者の生命を脅かすため、一般的に血液内科医によりmRNA SARS-CoV-2のワクチン接種が推奨されている (非特許文献1, 2)。しかし、造血幹細胞移植 (HSCT) を受けた患者やB細胞枯渇療法を受けた患者など、血液悪性腫瘍患者の中には、ワクチン接種後に十分な体液性反応が得られない場合があることが報告されている (非特許文献3-6)。病原性が低いとされるSARS-CoV-2のオミクロン変種の発生後も (非特許文献7)、免疫不全患者の入院や死亡率は依然として高く、特にワクチン接種による反応が悪い患者で高いという報告がある (非特許文献8, 9)。

[0003] このような患者に対して、米国食品医薬品局 (FDA) は、2021年12月に、チキサゲビマブ/シルガビマブの緊急使用認可を出した。本剤は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の受容体結合ドメインの異なるエピトープに対する中和モノクローナル抗体を含み、曝露前予防薬として使用される。PROVENT試験の結果に基づき、チキサゲビマブ/シルガビマブは免疫不全患者に対して、重症化予防や入院期間の短縮に有効と考えられている (非特許文献10, 11)。しかし、ある研究グループでは、血液悪性腫瘍患者、特にB細胞枯渇療法や造血幹細胞移植を受けている患者はチキサゲビマブ/シルガビマブを使用してもブレークスルー感染のリスクがあることを報告している (非特許文献12)。最新の情報では、チキサゲビマブ/シルガビマブが、BQ.1やXBBなどの特定のオミクロン亜種に対する活性が低いことが示されている (非特許文献13, 14)。オミクロン亜種の出現前に開発されたチキサゲビマブ/シルガ

ビマブは、特定の国における現在の優勢株に対する活性が低下している（非特許文献13, 14）。

[0004] したがって、FDAは、チキサゲビマブ／シルガビマブはワクチン接種に代わるものではなく、チキサゲビマブ／シルガビマブを投与された患者であっても、定期接種を受けるよう推奨すべきことを強調している。血液専門医は、これらの患者が感染予防行動、ワクチン接種、抗ウイルス抗体薬などの多面的な予防を維持することを提案している（非特許文献1）。ある研究では、高度にワクチン接種を受けた造血幹細胞移植患者のコホートにおいて、以前の株と同様にオミクロン変異体によるCOVID-19の良好な転帰を報告している（非特許文献15）。

[0005] SARS-CoV-2ワクチン接種後の免疫原性、特に液性免疫は、一般に抗SARS-CoV-2スパイクIgG抗体を用いた酵素結合免疫吸着法（ELISA）により評価される（非特許文献16）。これまで、ワクチン接種の反応性は、健常人およびがん患者など様々な免疫状態を有する患者において、接種後の抗体価の測定により評価されてきた（非特許文献17, 18）。

先行技術文献

非特許文献

[0006] 非特許文献1: Vijenthira A, Gong IY, Fox TA, et al. Outcomes of patients with hematologic malignancies and COVID-19: a systematic review and meta-analysis of 3377 patients. *Blood*. 2020;136(25):2881-2892.

非特許文献2: Xhaard A, Xhaard C, D'Aveni M, et al. Risk factors for a severe form of COVID-19 after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: a Societe Francophone de Greffe de Moelle et de Therapie cellulaire (SFGM-TC) multicentre cohort study. *Br J Haematol*. 2021;192(5):e121-e124.

非特許文献3: Dhakal B, Abedin S, Fenske T, et al. Response to SARS-CoV-2 vaccination in patients after hematopoietic cell transplantation and CAR T-cell therapy. *Blood*. 2021;138(14):1278-1281.

非特許文献4 : Watanabe M, Yakushijin K, Funakoshi Y, et al. The Safety and Immunogenicity of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in Japanese Patients after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(2).

非特許文献5 : Funakoshi Y, Yakushijin K, Ohji G, et al. Limited increase in antibody titers following mRNA SARS-CoV-2 vaccination for more than 3 years after final dose of anti-CD20 antibody. *Int J Hematol*. 2022;115(1):7-10.

非特許文献6 : Einarsdottir S, Martner A, Nicklasson M, et al. Reduced immunogenicity of a third COVID-19 vaccination among recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2022;107(6):1479-1482.

非特許文献7 : Malahe SRK, Hoek RAS, Dalm V, et al. Clinical Characteristics and Outcomes of Immunocompromised Patients With Coronavirus Disease 2019 Caused by the Omicron Variant: A Prospective, Observational Study. *Clin Infect Dis*. 2023;76(3):e172-e178.

非特許文献8 : Taenaka R, Obara T, Kohno K, Aoki K, Ogawa R. Infections with the SARS-CoV-2 Omicron variant show a similar outcome as infections with the previous variants in patients with hematologic malignancies. *Ann Hematol*. 2022;101(8):1877-1878.

非特許文献9 : Bahremand T, Yao JA, Mill C, Piszczek J, Grant JM, Smolina K. COVID-19 hospitalisations in immunocompromised individuals in the Omicron era: a population-based observational study using surveillance data in British Columbia, Canada. *Lancet Reg Health Am*. 2023;20:100461.

非特許文献10 : Levin MJ, Ustianowski A, De Wit S, et al. Intramuscular AZD7442 (Tixagevimab-Cilgavimab) for Prevention of Covid-19. *N Engl J Med*. 2022;386(23):2188-2200.

非特許文献11 : Jondreville L, D'Aveni M, Labussiere-Wallet H, et al. Pre-exposure prophylaxis with tixagevimab/cilgavimab (AZD7442) prevents severe SARS-CoV-2 infection in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation during the Omicron wave: a multicentric retrospective study of SFGM-TC. *J Hematol Oncol.* 2022;15(1):169.

非特許文献12 : Davis JA, Granger K, Roubal K, et al. Efficacy of tixagevimab-cilgavimab in preventing SARS-CoV-2 for patients with B-cell malignancies. *Blood.* 2023;141(2):200-203.

非特許文献13 : Imai M, Ito M, Kiso M, et al. Efficacy of Antiviral Agents against Omicron Subvariants BQ.1.1 and XBB. *N Engl J Med.* 2023;388(1):89-91.

非特許文献14 : Stuver R, Shah GL, Korde NS, et al. Activity of AZD7442 (tixagevimab-cilgavimab) against Omicron SARS-CoV-2 in patients with hematologic malignancies. *Cancer Cell.* 2022;40(6):590-591.

非特許文献15 : Tan JY, Wee LE, Tan YH, et al. Favorable outcomes of COVID-19 in vaccinated hematopoietic stem cell transplant recipients: A single-center experience. *Transpl Infect Dis.* 2023:e14024.

非特許文献16 : Jung K, Shin S, Nam M, et al. Performance evaluation of three automated quantitative immunoassays and their correlation with a surrogate virus neutralization test in coronavirus disease 19 patients and pre-pandemic controls. *J Clin Lab Anal.* 2021;35(9):e23921.

非特許文献17 : Massarweh A, Eliakim-Raz N, Stemmer A, et al. Evaluation of Seropositivity Following BNT162b2 Messenger RNA Vaccination for SARS-CoV-2 in Patients Undergoing Treatment for Cancer. *JAMA Oncol.* 2021;7(8):1133-1140.

非特許文献18 : Funakoshi Y, Yakushijin K, Ohji G, et al. Safety and immunogenicity of the COVID-19 vaccine BNT162b2 in patients undergoing chemotherapy for solid cancer. *J Infect Chemother.* 2022;28(4):516-520

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 重要なことに、チキサゲビマブ／シルガビマブは、それ自体が抗スパイクIgG抗体であるため、チキサゲビマブ／シルガビマブの投与を受けたすべての患者において、長期間にわたってELISA法による抗体価がかなり高いレベルで保持される。したがって、チキサゲビマブ／シルガビマブの投与は、ワクチン接種後の抗スパイク抗体の発現をマスキングすることになる。つまり、ワクチン接種が推奨されているにもかかわらず、これらの患者のワクチン接種に対する反応を評価することができない問題がある。このように狙った免疫反応のみを選択的に評価できない問題は、チキサゲビマブ／シルガビマブの投与後の状況下における特有のものではなく、カシリビマブ／イムデビマブ及びソトロビマブ、並びに今後臨床承認され得る他の抗体医薬品など、SARS-CoV-2に対するすべての抗体医薬品の投与後の状況下でも共通する。また、この問題は、抗体薬投与後のみならず、直前のワクチン接種又は感染などによって抗体価が高いレベルで保持される状況下でも同様に生じる。さらに、この問題は、SARS-CoV-2に対するワクチンに限らず、あらゆるワクチン、ひいてはあらゆる抗原に対する反応（例えば、感染、がん免疫反応、自己免疫反応等）の評価に通じる普遍的な問題である。しかしながら、現在用いられているいかなる技術も、狙った免疫反応のみを選択的に評価することが出来ない。このような状況から、免疫反応を、従来のELISAでの抗体価測定のような蛋白質発現のレベルではなく、mRNA発現のレベルで評価できる新たな解析方法が必要である。

[0008] 上記の如くmRNAレベルでワクチン接種後の反応を評価出来る方法が必要である。昨今、次世代シーケンサーを利用することで、免疫細胞レセプター（抗原受容体）の抗原認識部位の遺伝子配列を一度に大量に決定するレパトア解析が可能となっていることに鑑み、本発明者は、上記の方法にレパトア解析が利用可能と考えた。しかしながら、免疫細胞レセプターは膨大な多様性

を持つため、単独で特定の抗原に対する免疫反応評価することは極めて困難であった。その困難性は、免疫介入後に、免疫細胞レセプターのうちどれが拡大したことの確認を行うことすら不能であるほどに顕著であり、特に、免疫介入がワクチンのように比較的緩やかな免疫反応を生じさせる場合にあっては、上記の確認を行うことは事実上不可能であった。このように、mRNAレベルでワクチン接種後の反応を評価するためにレパトア解析が単純に適用できないのは、レパトア解析が、免疫多様性の程度や変化を評価することを本質とする手段であり、当然に、特定の抗原に対する免疫反応を抗体配列のレベルで選択的に特定するものとして想定されていないところにある。

[0009] 本発明の目的は、免疫細胞レセプターのレパトアデータから、特定の抗原に対する免疫反応をmRNAレベルで選択的に特定する方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明者は、昨今のCOVID-19パンデミックを背景に、SARS-CoV-2抗体の配列などの膨大な情報が蓄積しデータベース化されていることに着眼し、このデータベースを、免疫細胞レセプターのレパトアデータに照会するクエリ情報として利用することで、免疫細胞レセプターのレパトアデータから、特定の抗原に対する免疫反応を抗体配列のレベルで選択的に特定するという斬新な着想に至った。つまり、本発明者は、免疫細胞レセプターのレパトアデータと、特定の抗原に対する抗原認識部位の配列のデータベースとを照合することで、特定の抗原に対する免疫反応を抗体配列のレベルで選択的に特定できることを見出した。本発明は、この知見に基づいて更に検討を重ねることにより完成したものである。

[0011] 即ち、本発明は、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項1. 被験者の検体から取得した、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むレパトアデータを用意する工程Aと、

特定の抗原に対する免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むデータベースと、前記レパトアデータとを照合し、前記レパトアデータの中

から、前記データベースに含まれる前記配列とアミノ酸配列レベルで同一又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列を検出する工程Bと、を含む、免疫反応の評価方法。

これにより、前記検体の採取時期において前記被験者の生体内で免疫学的に反応した配列を特定できる。

項2. 前記工程Bにより検出される配列の、前記レポータデータにおける数及び／又は頻度を導出する工程Cをさらに含む、項1に記載の方法。

項3. 前記数及び／又は頻度の経時変化を確認する工程Dをさらに含む、項2に記載の方法。

項4. 前記工程Dにおいて、前記経時変化として増大が認められた時期が、前記特定の抗原による刺激後11～20日及び3～10日のいずれに該当するかを確認する、項3に記載の方法。

項5. 前記被験者が、前記特定の抗原の暴露を受けた被験者である、項1～4のいずれかに記載の方法。

項6. 前記特定の抗原の暴露がワクチンの接種である、項5に記載の方法。

項7. 前記ワクチンが核酸ワクチンである、項6に記載の方法。

項8. 前記ワクチンがコロナウイルスワクチン又はインフルエンザワクチンである、項6に記載の方法。

項9. 前記数及び／又は頻度の経時変化として増大が確認された前記配列について、前記データベースに収載された付加情報を確認することで、前記核酸ワクチンの科学的妥当性を評価する工程Eをさらに含み、

前記付加情報が、[1] 抗原に対する中和活性の有無の情報、[2] 抗原の種又は株の情報、及び[3] エピトープの情報からなる群より選択され、

前記科学的妥当性の評価が、[1] 前記中和活性が有ることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが中和活性を持つ抗体を産生する臨床的有効性を持つと評価すること、[2] 前記種又は前記株が、前記核酸ワクチンの設計上の標的抗原の種又は株と同じであることを確認した場合に、前記核酸ワクチ

ンが前記標的抗原に適合していると評価すること、及び〔3〕前記エピトープが、前記核酸ワクチンの設計上の標的エピトープと同じであることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが前記標的エピトープに適合していると評価すること、からなる群より選択される、項7又は8に記載の方法。

項10. 前記数及び／又は頻度の経時変化として増大が確認された前記配列が、前記データベースに含まれる前記配列とアミノ酸配列レベルで同一である場合に、前記核酸ワクチンの科学的妥当性として、感染による獲得免疫による抗体と抗原認識部位が完全一致する抗体の産生能を有すると評価する工程E'をさらに含む、項7～9のいずれかに記載の方法。

項11. 前記特定の抗原の暴露が感染である、項5に記載の方法。

項12. 前記特定の抗原がコロナウイルス又はインフルエンザウイルスである、項11に記載の方法。

項13. 前記被験者が、抗体薬を投与された、ワクチンを接種された、並びに／若しくは、感染を受けた被験者であり、

前記抗体薬、前記ワクチン、及び前記感染の病原体が、前記特定の抗原の暴露により生じる抗体とは異なる他の抗体を前記被験者の体内に保有させる、項5～12のいずれかに記載の方法。

項14. 前記特定の抗原がワクチンであり、

前記数及び／又は頻度が経時的に増大する場合に、前記ワクチンが機能すると判断する工程Fをさらに含む、項13に記載の方法。

項15. 前記検体が、前記特定の抗原に対する免疫細胞レセプターのmRNAの活性化時期に採取されたものである、項5～14のいずれかに記載の方法。

項16. 前記活性化時期が、前記暴露後11～20日又は3～10日である、項15に記載の方法。

項17. 前記被験者ががん免疫療法を受けた被験者である、項1～3のいずれかに記載の方法。

項18. 前記検体が、前記特定の抗原に対する免疫細胞レセプターのmRNA

の活性化時期に採取されたものである、項 16 に記載の方法。

項 19. 前記活性化時期が、前記がん免疫療法後 11～20 日又は 3～10 日である、項 17 に記載の方法。

項 20. 前記被験者が、免疫抑制処置を受けた被験者である、項 1～16 のいずれかに記載の方法。

項 21. 前記免疫抑制処置が、造血幹細胞移植又は B 細胞枯渇療法の投与である、項 20 に記載の方法。

項 22. 前記免疫抑制処置が、造血幹細胞移植又は B 細胞枯渇療法であり、前記数及び／又は頻度の経時変化が増大したか否かに基づいて、免疫機能の回復の有無を判定する工程 G をさらに含む、項 21 に記載の方法。

項 23. 前記被験者が自己免疫疾患患者である、項 1～16 のいずれかに記載の方法。

項 24. 前記レパトアデータが、過去に出現したウイルス株 S T 1 に対するワクチンの接種を受けた被験者の検体から取得したものであり、

前記特定の抗原が、前記ワクチンによる有効性が未知であるウイルス株 S T 2 であり、

前記検出される配列が存在する場合に、前記ワクチンが前記ウイルス株 S T 2 にも有効と評価する工程 H をさらに含む、項 1 又は 2 に記載の方法。

項 25. 前記データベースが、前記特定の抗原による免疫反応が起きた調査対象からなる集団から収集した、前記特定の抗原に対する前記免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列を含み、以下の工程により得られるものである、請求項 1～24 のいずれかに記載の方法：

前記調査対象それぞれの検体から、前記免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むレパトアデータであって、前記特定の抗原に対する免疫細胞レセプターの mRNA の活性化時期 T_{ex} 、前記活性化時期の前 T_{bf} 、及び前記活性化時期の後 T_{af} におけるレパトアデータを時系列で取得する工程、及び

前記活性化時期 T_{ex} において増殖が認められる免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列を、前記データベースに収集すべき情報として選定する工程

。

項 2 6. 活性化時期 T_{ex} が、前記特定の抗原による刺激後 11 ~ 20 日又は 3 ~ 10 日である、項 2 5 に記載の方法。

項 2 7. 前記免疫細胞が、T 細胞又は B 細胞である、項 1 ~ 2 6 のいずれかに記載の方法。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、免疫細胞レセプターのレパトアデータから、特定の抗原に対する免疫反応を mRNA レベルで選択的に特定する方法が提供される。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]本発明の免疫反応の評価方法の例の概要を示す。

[図2]本発明の免疫反応の評価方法に適用されるデータベースを作成する例の概念図を示す。

[図3]本発明の免疫反応の評価方法に、大規模データセット群を網羅的バイオセンサとして適用する例の概念図を示す。

[図4]本発明の免疫反応の評価方法により評価できる、ワクチンの科学的妥当性の例（抗原の感染により患者が獲得する抗体と完全に一致する抗体を、ワクチン接種により健常者である被験者の体内で産生できること）の概念図を示す。

[図5]抗スパイク抗体価の変遷。チキサゲビマブ/シルガビマブ投与前後の抗スパイク抗体価を、17名の患者を対象に3種類の全自動市販イムノアッセイで測定した： A) Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant、B) Roche Elecsys anti-SARS-CoV-2 S、C) Atellica IM SARS CoV-2 IgG。

[図6A]研究デザインおよびサンプルの詳細。CoV-AbDabデータベースの配列は、OAS公開データベース、健常者 (n = 12)、COVID-19患者 (n = 3)、ワクチン接種した健常者ボランティア (n = 2)、チキサゲビマブ/シルガビマブで治療したワクチン接種造血幹細胞移植患者 (n = 2) で SARS-CoV-2 特有の配列が検索された。数字は使用した配列の数を示す。

[図6B]COVID-19に感染した3人の患者におけるSARS-CoV-2に特異的な配列の数

および頻度の経時変化。SARS-CoV-2感染後に経時的に採取したPBMCに対してNGS解析を実施した。CoV-AbDab配列と同一のVおよびJ遺伝子を有し、CDR3アミノ酸配列のレーベンシュタイン距離が0（左）、1（中央）または2（右）のSARS-CoV-2特異的配列のクローン番号（上）および頻度（下）を示す。下円のプロットはSARS-CoV-2特異的配列のクラスター・プロットを示す。最大1000個のSARS-CoV-2特異的配列のigraphによるネットワークを示す。各ノードは、同一のIGHV、IGHJおよび相補性決定領域3（CDR3）アミノ酸配列を有する単一のユニークリードを示す。ノードは、CDR3アミノ酸配列の1未満のレーベンシュタイン距離で定義されるエッジによって接続されていた。ノードのサイズは、各ユニークリードのパーセント頻度であった。

[図7A]初回およびブースターワクチン接種後のSARS-CoV-2特異的配列の数、頻度およびクラスターの経時変化。健康ボランティア1は、mRNA SARS-CoV-2ワクチン（1価BNT162b2）の初回接種を受け、21日後に2回目の接種を受けた。

[図7B]図7Aの後、2価のBNT162b2ワクチンの5回目を接種した。これらのワクチン接種後、BCRレパトアデータからSARS-CoV-2特異的な配列を検索した。

[図7C]初回およびブースターワクチン接種後のSARS-CoV-2特異的配列の数、頻度およびクラスターの経時変化。健康ボランティア2では、4回目に1価のmRNA-1273を投与し、その後、ブースターワクチン接種の2、6、9日後にSARS-CoV-2特異的な配列を測定した。

[図8A]チキサゲビマブ/シルガビマブを投与された造血幹細胞移植レシピエントにおけるmRNAワクチン接種後のSARS-CoV-2特異的配列の数、頻度、クラスターの経時変化。臍帯血移植後338日目のレシピエント（T/C患者1）にチキサゲビマブ/シルガビマブ（T/C）を投与し、その後mRNAワクチン（Vaccinationの矢印が指す時点）を投与した。ヘルパーT細胞（CD3+CD4+）、クラススイッチB細胞（CD19+CD27+IgD-）、プラズマブラスト（CD19+CD27+CD38+）の免疫細胞再構成はワクチン接種時のFACS解析により確認された。抗SARS-CoV-2抗体価は、Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant kit (Abbott) およびRoche Ele

csys anti-SARS-CoV-2 S kit (Roche) を用いて測定した。SARS-CoV-2特異的配列は、ワクチン接種前および接種後4、9、11日目に測定した。三角ドットのグラフはクローン数 (CDR3 AA Distance ≤ 1) を示す。T/C: チキサゲビマブ/シルガビマブ。

[図8B]チキサゲビマブ/シルガビマブを投与された造血幹細胞移植レシピエントにおけるmRNAワクチン接種後のSARS-CoV-2特異的配列の数、頻度、クラスターの経時変化。T/C患者2では、非血縁者骨髄移植後212日目にレシピエントにチキサゲビマブ/シルガビマブを投与し、その後mRNAワクチン (Vaccinationの矢印が指す時点) を接種した。SARS-CoV-2特異的配列をワクチン接種前と接種後3、6、15日目に測定した。三角ドットのグラフはクローン数 (CDR3 AA Distance ≤ 1) を示す。T/C: チキサゲビマブ/シルガビマブ。

[図9A]COVID-19感染またはワクチン接種によって誘導されたSARS-CoV-2特異的配列の特徴。健常者、COVID-19患者、ワクチン接種した健常者ボランティアで検出されたSARS-CoV-2特異的配列の中和機能および非中和機能。健常者 (HI1~HI12)、COVID-19患者 (Pt1、Pt2、Pt3)、ワクチン接種した健常者ボランティア (HV1)、ブースター接種した健常者ボランティア (HV1、HV2)、チキサゲビマブ/シルガビマブを接種した造血幹細胞移植患者 (TC1、TC2) の接種で検出した、中和活性あり (Neut+) またはなし (Neut-) SARS-CoV-2 固有の配列の周波数を示す。CDR3アミノ酸距離の異なるSARS-CoV-2特異的配列 (それぞれLV=0、1、2) の頻度を示す。

[図9B]CDR3アミノ酸距離の異なるSARS-CoV-2特異的配列のローカルサンプルにおける頻度。各ドットは、ワクチン接種した健康なボランティア (n = 2)、COVID-19患者 (n = 3)、ブースターワクチン接種ボランティア (n = 2)、ワクチン接種した移植レシピエント (n = 2) の各サンプルで検出されたSARS-CoV-2特異的配列を示す。***: $p < 0.001$, NS: 有意ではない, Kruskal-WallisテストとDunn-Bonferroniポストホックテストによる。

[図9C]CDR3アミノ酸距離の異なるSARS-CoV-2特異的配列のCDR3アミノ酸長の分布。本研究で検出されたCDR3長さの異なるSARS-CoV-2特異的配列の頻度パ

ーセントを示す。

[図9D]異なるCDR3アミノ酸距離を有するSARS-CoV-2特異的配列のVJ使用頻度。本研究で検出されたSARS-CoV-2特異的配列のVJ使用頻度のパーセントをバブルチャートで示す。X軸はIGHV遺伝子、Y軸はIGHJ遺伝子を示し、バブルの大きさは使用頻度を示している。

[図10A]SARS-CoV-2感染またはワクチン接種により誘導されるSARS-CoV-2特異的な配列の特徴。感染者とワクチン接種者のSARS-CoV-2特異的配列のアライメント。感染者およびワクチン接種者に頻出するIGHV4-59、IGHV3-33、IGHV3-53、IGHV3-66、IGHV3-9とのCDR3アミノ酸配列（表3 A及び表3 B、感染者とワクチン接種者のSARS-CoV-2特異的配列（完全一致）。）をClustalOmegaでアラインし、配列ロゴはggseq logoパッケージで描画した。

[図10B]SARS-CoV-2感染またはワクチン接種により誘導されるSARS-CoV-2特異的な配列の特徴。生成確率(pGen)の値を比較した。CoV-AbDabデータベースの8,977個のSARS-CoV-2特異的配列と、感染者およびワクチン接種者から検出された完全に一致した86個のSARS-CoV-2特異的配列(FoundCoV)に対するpGen値のヒストグラムを示す。pGen値は、各配列のCDR3アミノ酸配列からOLGAパッケージを用いて算出した。pGen値が高い配列は発生確率が高く、pGen値が低い配列は稀に発生する配列である。

[図11]ワクチン接種した健康なボランティアにおける支配的な個々のクローンおよび上位10個のクローンの占有頻度。ワクチン接種した健康なボランティアにおいて、占有頻度が0.1%を超える個々のクローンをドットで示す。上位10個のクローンの占有頻度の合計は折れ線で示されている。

[図12]SARS-CoV-2抗体を投与された造血幹細胞移植レシピエントにおけるmRNAワクチン接種後のSARS-CoV-2特異的配列の数および頻度の経時変化。SARS-CoV-2特異的配列のクローン数（上）およびパーセント頻度（下）をワクチン接種後の時間（日）に対してプロットしている。

[図13]OASデータベースにおけるSARS-CoV-2特異的な配列の頻度。2011年から2020年にかけて報告されたOASデータベースのIGHG配列のうち、CoV-AbDabのS

ARS-CoV-2特異的配列と同じVおよびJ遺伝子を持ち、CDR3のアミノ酸配列編集距離が0 (LV0)、1 (LV1) または2 (LV2) と異なっている個々のサンプルにおける頻度割合を示した。各ドットは、OASデータベースで検出された各SARS-CoV-2特異的な配列を示す。*** $p < 0.001$, NS: 有意ではない、Kruskal-WallisテストとDunn-Bonferroniポストホックテストによる。

[図14]OASデータベースのSARS-CoV-2特異的配列のVJ使用率。CDR3アミノ酸編集距離が異なるSARS-CoV-2特異的配列のパーセンテージ頻度を異なるバブルチャートで表示した。X軸はIGHV遺伝子、Y軸はIGHJ遺伝子を示し、バブルの大きさは使用頻度のパーセンテージを示す。

[図15A]SARS-CoV-2特異的な配列の特徴。OASデータベースにおけるCDR3アミノ酸距離の異なるSARS-CoV-2特異的配列のCDR3アミノ酸長さの分布。2011年から2020年にかけてOASデータベースで報告されたCDR3アミノ酸の長さが異なるSARS-CoV-2特異的配列の割合頻度 (read abundancy) を示す。CDR3の編集距離が異なる (LV0、LV1、LV2) SARS-CoV-2特異的配列を別々の棒グラフで示した。

[図15B]SARS-CoV-2特異的配列とIGHV4-59、8アミノ酸のCDR3配列のアライメント。配列ロゴはggseqlogoパッケージで生成した。

[図16]SARS-CoV-2特異的配列の生成確率(pGen)値の比較。CoV-Abデータベース (CoV-AbDab) の8,977個のSARS-CoV-2特異的配列とOASデータベース (FoundCoV (OAS)) で検出された完全一致した372個のSARS-CoV-2特異的配列のpGen値をヒストグラムで示す。X軸は密度を、Y軸はpGenの対数值 (\log_{10}) を示している。

[図17A]SARS-CoV-2に対するmRNAワクチンの接種により、同一被験被験者の体内で様々な株 (変異株、オミクロン株のバリエーション) に結合する抗体配列が増加していることを確認した。

[図17B]SARS-CoV-2に対するmRNAワクチンの接種により、同一被験被験者の体内で様々な株 (変異株、オミクロン株のバリエーション) に結合する抗体配列が増加していることを確認した。

[図17C]SARS-CoV-2に対するmRNAワクチンの接種により、同一被験被験者の体内で様々な株（変異株、オミクロン株のバリエーション）に結合する抗体配列が増加していることを確認した。

[図18]同一被験者に、標的株が異なる設計のSARS-CoV-2のmRNAワクチンを接種することで、ワクチンに応じて異なる株に結合する抗体配列が増加していることを確認した。

[図19]標的エピトープが異なる設計のSARS-CoV-2のmRNAワクチンを接種することで、ワクチンに応じて異なるエピトープに結合する抗体配列が増加していることを確認した。

[図20A]感染又はワクチン初回接種後において、BCRレパートア中のデータベースと一致する配列（CDR3のアミノ酸差が0のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列、及び1以下のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列）が2週間程度で増大した。

[図20B]ブースター接種後において、BCRレパートア中のデータベースと一致する配列（CDR3のアミノ酸差が0のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列、及び1以下のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列）が1週間程度で増大した。

[図21A]B細胞のサブセット分類の説明を示す。

[図21B]がん免疫療法（追加免疫）後において、活性化B細胞が1週間程度で増大した。

[図21C]がん免疫療法（追加免疫）後において、活性化B細胞が1週間程度で増大した。

[図21D]がん免疫療法（追加免疫）後において、活性化B細胞が1週間程度で増大し、さらにirAEを発症した症例(patient1, 2, 6, 10, 11)で、より大きな増加を認めた。

[図22A]造血幹細胞移植後1回目の抗原刺激（ワクチン接種）により、当該1回目の抗原刺激から2週間で、BCRレパートア中のデータベースと一致する配列（CDR3のアミノ酸差が0のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列、及び1以

下のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列)が増大した。

[図22B]造血幹細胞移植後2回目以降の抗原刺激(ワクチン接種)により、当該2回目以降の抗原刺激から1週間で、BCRレパトア中のデータベースと一致する配列(CDR3のアミノ酸差が0のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列、及び1以下のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列)が増大した。

[図23A]インフルエンザ不活化ワクチン接種後において、BCRレパトア中のデータベース(論文からの引用で独自に集めた約1300配列を収載)と一致する配列が1週間程度で増大した。

[図23B]図23Aで用いたデータベースの拡充のための配列収集に係るin vitro実験を示す。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明の免疫反応の評価方法は、特定の抗原に対する免疫反応を、抗原受容体レパトア解析を用いて評価する方法である。以下において、本発明の免疫反応の評価方法を、“Quantification of Antigen-specific Antibody Sequence(QASAS)法”と記載する場合がある。本発明の免疫反応の評価方法の例の概要を、図1に示す。

[0015] 本発明の免疫反応の評価方法は、被験者の検体〔図1(i)に相当〕から取得した、免疫細胞レセプター(抗原受容体)の抗原認識部位の配列の群を含むレパトアデータ〔図1(ii)に相当〕を用意する工程Aと、特定の抗原に対する免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むデータベース〔図1(iii)に相当〕と、前記レパトアデータ〔図1(ii)に相当〕とを照合し、前記レパトアデータ〔図1(ii)に相当〕の中から、前記データベース〔図1(iii)に相当〕に含まれる前記配列とアミノ酸配列レベルで同一又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列〔図1の「データベースと一致する配列」に相当；以下において、アミノ酸配列レベルで同一の配列(つまり完全同一の配列)又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列(1個又は2個のミスマッチを含む類似配列)を、単に「一致する配列」とも記載する。〕を検出する工程Bと、を含む。これにより、前記

レパトアデータ(ii)に含まれる数多くの配列から、前記検体の採取時期において前記被験者の生体内で免疫学的に反応した（つまり図1の「抗原刺激」に対して反応した）配列〔図1の「データベースと一致する配列」に相当〕を特定できる。このように、本発明の方法は、レパトアデータ(ii)およびデータベース(iii)に数多く収載されている配列の中から、免疫学的に妥当な反応を示す配列、つまり真に抗原に反応可能な配列を特定することができるため、免疫反応を、従来のELISAでの抗体価測定のような蛋白質発現のレベルではなく、mRNA発現のレベルで評価できる。

[0016] 本発明の免疫反応の評価方法は、さらに、前記工程Bにより検出される配列の、前記レパトアデータにおける数〔図1の「一致する配列の数（クローン）」に相当〕及び／又は頻度〔図1の「一致する配列の割合」に相当〕を導出する工程Cを含むことができる。これにより、免疫反応の程度を判定できる。

[0017] また、本発明の免疫反応の評価方法は、さらに、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の経時変化〔つまり、図1の「Day」軸に対する「一致する配列の数（クローン）」又は「一致する配列の割合」の推移に相当〕を確認する工程Dを含むことができる。これにより、前記検体の採取時期ごとの免疫反応の推移を調査できる。なお、抗体タンパク質は、免疫反応から検出可能なレベルに達するまで時間がかかり、且つ、半減期も長いため体内に長期間残存する一方、mRNAは、免疫反応後速やかに検出可能なレベルに達し、且つ、半減期も短いため体内に長期間残存しない。このため、図1の「一致する配列の数（クローン）」又は「一致する配列の割合」の推移に示される通り、免疫反応をmRNAレベルに基づき俊敏に検出でき、液性免疫活性をリアルタイムに把握できる。

[0018] 本発明の方法の適用目的に応じた形態としては、以下が挙げられる。

形態 [a] ワクチンの科学的妥当性の評価

事例 a 1 : 中和活性を持つ抗体の産生能

事例 a 2 : 標的抗原の株（変異株、バリエーション）の種類

事例 a 3 : 標的エピトープの種類

事例 a 4 : 獲得免疫による抗体と抗原認識部位が完全一致する
抗体の産生能

形態 [b] ワクチンの免疫反応の評価

事例 b 1 : 抗体薬投与による抗体保有中のワクチンの免疫反応
の評価

事例 b 2 : 他のワクチン接種による抗体保有中のワクチンの免
疫反応の評価

事例 b 3 : 感染による抗体保有中のワクチンの免疫反応の評価

事例 b 4 : 免疫抑制処理後のワクチン接種による免疫反応の回
復評価

形態 [c] 感染症の診断

事例 c 1 : 病原体の特定

事例 c 2 : 新たな病原体に適合する既存ワクチンの適合性判定

形態 [d] がん免疫の評価

事例 d 1 : がん免疫療法の奏功性の判断

事例 d 2 : 真のネオアンチゲンの同定

形態 [e] 自己抗原に対する反応評価

事例 e 1 : 自己免疫疾患の発症診断

事例 e 2 : 自己免疫疾患の病勢診断

事例 e 3 : 投薬後の副作用評価

形態 [f] 網羅的バイオセンサとしての利用

[0019] 以下、本発明の免疫反応の評価方法を詳述する。

[0020] 1. 工程 A

工程 A では、被験者の検体から取得した、免疫細胞レセプターの抗原認識
部位の配列のレパトアデータ [図 1 (i) に相当] を用意する。

[0021] 1-1. レパトアデータ

レパトアは、被験者が有している経時変化性の獲得免疫受容体の総体 (免

疫レパトア)である。

- [0022] レパトアデータ源となる生体試料としては、免疫細胞が含まれる試料であれば特に限定されず、血液、リンパ液等の体液試料、及び組織のホモジェネート液等が挙げられ、好ましくは体液試料が挙げられ、より好ましくは血液（さらに好ましくは末梢血単核球）が挙げられる。
- [0023] レパトアデータには、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列が含まれる。免疫細胞としては、B細胞又はT細胞を選択することができる。免疫細胞としてB細胞を選択する場合の好ましい例として、形態 [a] ~ [c] , [e] , [f] が挙げられる。免疫細胞としてT細胞を選択する場合の好ましい例として、形態 [d] , [f] が挙げられる。
- [0024] 本発明で用いられるレパトアデータにおいて、抗原認識部位の配列に由来元となる免疫細胞は、特定の抗原に対して特異的な免疫細胞を含むが、特定の抗原に対して特異的でない免疫細胞も無作為に含み、それらの区別はなされていない。つまり、本発明で用いられるレパトアデータにおいて、抗原認識部位の配列に由来元となる免疫細胞は、上記の生体試料から得られるすべての免疫細胞から、特定の抗原に対して特異的な免疫細胞が絞り込まれたものではなく、典型的には、上記の生体試料から特定可能なすべての免疫細胞（例えば、末梢血単核球から特定できるすべてのB細胞又は全てのT細胞）を含むことができる。
- [0025] レパトアデータには、被験者1人から取得された情報が含まれていてもよいし、被験者属性が共通した複数の被験者から取得された情報が含まれていてもよい。
- [0026] 免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列は、免疫細胞のクロナタイプを決定する遺伝子配列を含む。当該遺伝子配列としては、再編成により相補性決定領域を形成する配列であればよい。具体的には、当該遺伝子配列としては、TCR α 鎖、TCR γ 鎖、免疫グロブリンL鎖のVセグメント及びJセグメントの配列、並びに、TCR β 鎖、TCR δ 鎖、免疫グロブリンH鎖の、Vセグメント、Dセグメント、及びJセグメントの配列が挙げられる。ま

た、当該相補性決定領域としては、CDR 1、CDR 2、CDR 3のうち少なくともいずれかであればよいが、好ましくは、少なくともCDR 3を含む。

[0027] レパトアデータは、レパトア解析方法により取得されたものであってよい。レパトア解析方法は公知であり、被験者の生体試料から、次世代シーケンシングにより、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列（遺伝子配列）を決定する。典型的には、被験者の生体試料から全RNAを抽出してcDNAを合成し、免疫細胞受容体の遺伝子配列を核酸増幅し、次世代シーケンシングにより大規模に配列決定し、抗原認識部位の配列（遺伝子配列）領域のアサインメントを行うことにより取得することができる。核酸増幅においては、免疫細胞受容体の遺伝子配列を、バイアスをかけることなく均一に増幅する（非バイアス遺伝子増幅）ことが好ましく、このような非バイアス遺伝子増幅のためのマルチプレックスプライマーパネルの設計も、公知技術に基づいて選択することができる。

[0028] レパトアデータに含まれる配列の数については特に限定されず、使用した次世代シーケンシングの1回の解析規模及びレパトアデータを提供した被験者の数等に応じて決定すればよい。具体的には、レパトアデータに含まれる配列の数としては、免疫細胞受容体の数で、例えば10万～1000万、30万～500万、又は50万～300万となる数が挙げられる。

[0029] なお、本発明において適用できるレパトア解析方法には、免疫細胞の遺伝子発現を細胞集団レベルで解析するバルク解析だけでなく、免疫細胞の遺伝子発現を個別の細胞単位で解析するシングルセル解析も包含される。

[0030] 1-2. 被験者

被験者としては、免疫反応の評価を要する被験者であれば特に限定されず、本発明の方法の適用目的に応じて設定することができる。被験者の具体例としては、特定の抗原の暴露を受けた被験者、がん免疫療法を受けた被験者、及び自己免疫疾患に罹患した被験者等が挙げられる。また、被験者の生物種としては、ヒト及び非ヒト動物（特に限定されないが、例えば、マウス、

ラット、ゼブラフィッシュ等)が挙げられる。

[0031] 1-2-1. 特定の抗原の暴露を受けた被験者

特定の抗原の暴露としては、免疫反応の活性化をもたらすイベントであれば特に限定されず、例えば、ワクチンの接種及び感染が挙げられる。

[0032] 1-2-1-1. 特定の抗原としてワクチンの接種を受けた被験者

特定の抗原の暴露を受けた被験者として、特定の抗原としてワクチンの接種を受けた被験者を選択することができる。この場合、ワクチンの免疫反応の評価としては、検体の採取時期において被験者の生体内でワクチンに対して免疫反応した配列を特定することにより、当該ワクチンに対する免疫反応性を確認するだけでなく、当該ワクチンの科学的妥当性（例えば、当該ワクチンが、その設計に適った所定の機能を発揮しているか等）を評価（予測を含む）することも挙げられる。当該被験者が選択される場合の例として、形態 [a]、形態 [b]、形態 [f] が挙げられる。

[0033] ワクチンによる免疫反応は感染と比べて緩やかであるため、従来のレパトア解析を用いても、特定の抗原に対する免疫反応を確認できない。本発明の方法は、レパトアデータから特定の抗原に対する免疫反応を選択的に特定できるため、ワクチンによる免疫反応であっても、効果的に、特定の抗原に対する免疫反応を特定できる点で、有用性が高い。

[0034] ワクチンの種類としては特に限定されず、具体的には、核酸ワクチン（mRNAワクチン、DNAワクチン）、ウイルスベクターワクチン、組み換えタンパク質ワクチン、不活化ワクチン、及び生ワクチンが挙げられる。また、ワクチンとしては、好ましくは、後述の病原体に対して設計されたワクチンが挙げられ、好ましくは後述のウイルス、より好ましくはコロナウイルス又はインフルエンザウイルスに対して設計されたワクチン（コロナウイルスワクチン又はインフルエンザウイルスワクチン）が挙げられる。

[0035] 本発明の方法は、特定の抗原に対する免疫反応を、抗体の相補性決定領域の配列のレベルで特定することが可能であるとともに、抗体の相補性決定領域の配列情報から、株（変異株、バリエーション）の種類、若しくはエピトープ

(抗体結合部位)などの抗原情報を特定することも可能である。このため、特に核酸ワクチンのように、特定の抗原の設計図(遺伝情報)を有効成分とするワクチンにより産生される抗体が、どのような株(変異株、バリエーション)の種類、エピトープを認識できる性能を持つものかを、データベース中の相補性決定領域の配列に紐付けられたエピトープ等の抗原情報から確認することができる。このような観点から、ワクチンの種類の好適な例として、核酸ワクチン(mRNAワクチン、DNAワクチン)が挙げられ、より好ましくはRNAワクチン(mRNAワクチン)が挙げられる。

[0036] 1-2-1-2. 特定の抗原の感染を受けた被験者

特定の抗原の暴露を受けた被験者として、特定の抗原の感染を受けた被験者を選択することができる。この場合、特定の感染症における免疫反応を評価できる。当該被験者が選択される場合の例として、形態 [c]、形態 [f] が挙げられる。

[0037] 感染としては、特定の抗原を病原体とする感染であれば、特に限定されず、具体的には、ウイルス、細菌、真菌等の抗原生物を病原体とする感染が挙げられる。

[0038] ウイルスとしては特に限定されず、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、サイトメガロウイルス、ロタウイルス、ヘルペスウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、デングウイルス、等が挙げられる。コロナウイルスには、風邪コロナウイルス(HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1)、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)、中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)等が挙げられる。インフルエンザウイルスとしては、A型(16種のヘマグルチニン(HA)H1~H16と9種のノイラミニダーゼ(NA)N1~N9との任意の組み合わせのものを含む)、B型、C型が挙げられる。

[0039] 細菌としては特に限定されず、緑膿菌、レジオネラ菌、エルシニア菌、大腸菌、ビブリオ菌、インフルエンザ菌、グラム陰性桿菌、結核菌等が挙げられる。

[0040] 真菌としては特に限定されず、カンジダ菌、アスペルギルス菌等が挙げられる。

[0041] なお、本発明において、病原体（病原体微生物を指す。）となる特定の抗原としては、現在、感染が確認され、種及び株が特定されている抗原のみならず、今後新たに発生する変異株等の病原体も包含される。当該被験者が選択される場合の本発明の方法によれば、レパトアデータに係る配列情報から、既存のデータベースを介して抗原情報を特定できるため、感染症の診断において、どのような病原体による感染症であるかの特定だけでなく、新たな発生病原体に対して、既存のワクチンが適用できるか否かの判定もできる。

[0042] 1-2-1-3. 他の抗体を高いレベルで保有する被験者

特定の抗原の暴露を受けた被験者（上記項目「1-2-1-1」及び上記項目「1-2-1-2」に記載の被験者）は、検体採取時に、さらに、他の抗体を高いレベルで保持してもよい。他の抗体とは、当該特定の抗原の暴露により生じる抗体とは異なる抗体をいう。当該被験者が選択される場合の例として、形態[a]～形態[c]、形態[f]が挙げられる。

[0043] 他の抗体を高いレベルで保有する被験者としては、抗体薬を投与された、ワクチンを接種され、及び／又は感染を受けた被験者が挙げられる。以下において、抗体薬を投与された被験者を「被験者(S1)」とも記載し、ワクチンを接種された被験者を「被験者(S2)」とも記載し、感染を受けた被験者を「被験者(S3)」とも記載する。

[0044] 被験者(S1)としては特に限定されないが、具体例として、免疫抑制処置を受けた被験者、又は自己免疫疾患に罹患した患者が挙げられる。免疫抑制処置としては、後述項目1-2-3に述べる処置が挙げられる。自己免疫疾患としては、後述項目1-2-4に述べる疾患が挙げられる。抗体薬としては特に限定されず、あらゆる抗体医薬品を使用することができる。抗体薬の一例としては、免疫抑制処置を受けた被験者において、例えば特定の抗原による暴露への対抗のために投与される抗体医薬品が挙げられる。例えば、特定の抗原が新型コロナウイルスである場合の抗体医薬品としては、チキサ

ゲビマブ／シルガビマブ、カシリビマブ／イムデビマブ、ソトロビマブ等が挙げられる。抗体薬の他の例としては、自己免疫疾患の治療に用いられる抗体医薬品等が挙げられる。この抗体医薬品は、自己免疫疾患の種類に応じて当業者が適宜選択できる。

[0045] 被験者（S2）に接種されるワクチンとしては特に限定されない。但し、上記項目「1-2-1-1」の被験者がさらに被験者（S2）となる場合にあっては、被験者（S2）の条件となるワクチンは、上記項目「1-2-1-1」の被験者の条件となるワクチンとは異なる他のワクチンである。当該他のワクチンの具体例としては、上記項目「1-2-1-1」の被験者の条件となるワクチン（すなわち特定の抗原）が産生する抗体と異なる抗体を産生するワクチン、他の抗原（特定の抗原以外の抗原）を標的として設計されたワクチン等が挙げられる。

[0046] 被験者（S3）における病原体としては特に限定されない。但し、上記項目「1-2-1-2」の被験者がさらに被験者（S3）となる場合にあっては、被験者（S3）の条件となる病原体は、上記項目「1-2-1-2」の被験者の条件となる病原体（すなわち特定の抗原）と異なる（少なくとも株（Strain）の階級レベルで異なる）他の病原体である。他の病原体は、具体的には、上記項目「1-2-1-2」に挙げた病原体から適宜選択できる。

[0047] 抗体薬の投与、ワクチンの接種、又は感染により、被験者（S1）～被験者（S3）の体内では、他の抗体（具体的には、抗体薬に係る抗体、ワクチンに対する免疫反応で産生される抗体、又は病原体に対する免疫反応で産生される抗体）が高いレベルで存在する。さらに、抗体タンパク質の半減期が長いことから、被験者（S1）～被験者（S3）の体内では、これらの他の抗体が高いレベルのまま保持される。この状態で、別途並行し、特定の抗原に対する免疫反応で抗体が生じて、そのような抗体は、共存する大量の他の抗体によりマスキングされるため、従来のレパトア解析やELISAなどの免疫学的測定法では確認できない。本発明の方法は、体内の抗体タンパク質の量に影響を受けることなく、レパトアデータから特定の抗原に対する免

疫反応を選択的に特定できるため、他の抗体を高いレベルで保有する被験者であっても、特定の抗原に対する免疫反応が生じていれば当該免疫反応を特定できる。

[0048] また、抗体薬の投与時期と抗原暴露の時期との関係性については、抗体薬に係る抗体が体内で保持されている間にレパトアデータに係る生体試料が取得されることを限度として特に限定されない。従って、抗体薬の投与時期は、上記限度において、抗原暴露の前、抗原暴露と同時、及び抗原暴露の後のいずれであってもよく、好ましくは、抗原暴露の前である。

[0049] 1-2-2. がん免疫療法を受けた被験者

がん免疫療法（本来身体に備わっているがんに対する免疫の反応を強化する治療法）を受けた被験者の体内では、それまで寛容であったがん抗原に対して免疫細胞の再認識が行われる。このがん抗原（ネオアンチゲン）に対する免疫細胞の再認識は、原理的に、抗原暴露と同様の免疫環境の変化（免疫反応の活性化）を伴う。上記のとおり、本発明の方法は、抗原の暴露により活性化した免疫反応を評価できるため、がん免疫療法により活性化した免疫反応も同様の機序で評価することができる。従って、被験者として、がん免疫療法を受けた被験者を選択できる。当該被験者が選択される場合の例として、形態 [d]、形態 [f] が挙げられる。特定の抗原としては、がん抗原を選択できる。

[0050] がん免疫療法としては、がんによる免疫のブレーキを外す治療法が挙げられ、具体的には、免疫抑制のシグナル伝達を阻害することでがん免疫を活性化させる、免疫チェックポイント阻害剤の投与などが挙げられる。免疫チェックポイント阻害剤としては、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体等が挙げられる。

[0051] がん免疫療法を受けた被験者について免疫反応を評価することで、がん免疫療法の所定の機能が発揮されているか否か（つまり、がん免疫療法の奏功性）の判断ができる。また、当該被験者が選択される場合の本発明の方法によれば、がん免疫療法後に採取した検体のT細胞受容体レパトアデータに係

る配列情報から、T細胞受容体データベースに一致する抗原を臨床的に意義のあるT細胞受容体配列として特定できるため、当該T細胞受容体配列に結合する抗原（典型的にはペプチド）を真のネオアンチゲンとして同定できる。

[0052] 1-2-3. 免疫抑制処置を受けた被験者

被験者として、免疫抑制処置を受けた被験者を選択できる。当該被験者が選択される場合の例として、形態 [b] の事例 b 4、形態 [f] が挙げられる。特定の抗原としては、ワクチンを選択できる。

[0053] 免疫抑制処置としては、特に限定されないが、造血幹細胞移植、B細胞枯渇療法等の投与（化学療法）等が挙げられる。免疫抑制処置を受けた被験者の免疫反応の評価に使用される場合、例えば、免疫抑制処置後の抗原刺激（ワクチン接種等）による、免疫抑制処置で低下した免疫反応の回復の有無の判断ができる。

[0054] なお、当該被験者が選択される場合、被験者は、免疫抑制処理の後に特定の抗原による抗原刺激を受ければよく、免疫抑制処理の前に、抗原（この抗原は、特定の抗原と同じ抗原であってもよいし、特定の抗原とは異なる抗原であってもよい。）の刺激を受けていてもよいし、受けていなくてもよい。なお、免疫抑制処理の前に、特定の抗原と同じ抗原の刺激を受けていたとしても、免疫抑制処理により免疫がリセットされる。このため、本発明の方法においては、免疫抑制処理の前に、特定の抗原と同じ抗原の刺激を受けていたとしても、免疫抑制処理の後に受ける特定の抗原の刺激による反応を、免疫反応の一次反応と位置付ける（図 2 2 A 参照）。

[0055] 1-2-4. 自己免疫疾患に罹患した被験者

被験者として、自己免疫疾患に罹患した被験者を選択できる。当該被験者が選択される場合の例として、形態 [e]、形態 [f] が挙げられる。特定の抗原としては、自己抗原を選択できる。

[0056] 自己免疫疾患としては特に限定されず、例えば、重症筋無力症（自己抗原：アセチルコリンレセプター）、免疫性血小板減少症（ITP）（自己抗原：血

小板)、1型糖尿病(自己抗原: β 細胞)等が挙げられる。

[0057] 当該被験者が選択される場合の本発明の方法によれば、当該被験被験者から取得した免疫細胞受容体レパトアデータに係る配列情報から、自己免疫疾患の原因となる自己抗原に対する免疫細胞レセプターに関するデータベースと一致する配列を特定することで、自己免疫疾患の発症又は病勢の評価ができる。

[0058] また、当該被験者が選択される場合の本発明の方法によれば、薬剤投与後の副作用の評価を行うこともできる。この場合、自己抗原に対するデータベース群を構築しておき、薬剤投与により、当該薬剤の設計上の標的とは異なる標的についてのデータベースで一致する配列が増加することを確認することで、当該薬剤のオフターゲット効果を評価できる。例えば、たとえばSARS-CoV-2ワクチンを投与した場合、レパトア解析によって、データベース群を構成する無数のデータベースのうち、SARS-CoV-2についてのデータベースの配列でなく、心筋のデータベースについて一致する配列の増加が認められた場合、副作用として心筋炎が起こると評価できる。これにより、新薬に対して、予期せぬ副作用(自己抗原に反応する抗体)の出現を予測するスクリーニングが可能となるため、より安全性の高い新薬の開発が可能になる。

[0059] 1-3. レパトアデータの取得時期

被験者のレパトアデータの取得時期(つまり、レパトアデータ源となる生体試料の採取時期)については特に限定されず、免疫反応の評価を要する任意の時期から選択できる。好ましくは、特定の抗原に対する免疫細胞レセプターのmRNAの活性化時期(つまり、レパトアにおいて特定の抗原に反応した免疫細胞のクローン性増殖の時期)と合致する時期が選択される。具体的なmRNAの活性化時期としては、特定の抗原の種類に依存せず、例えば、特定の抗原による免疫刺激後4~18日が挙げられる。より具体的には、免疫反応のうち一次反応を評価する場合(例えば、感染、ワクチンの初回接種、又はがん免疫療法の免疫を評価する場合)で、一次反応のための抗原刺激後例えば11~20日又は11~18日、好ましくは12~16日、より好ましくは

13～15日が挙げられ、二次反応、三次反応、・・・、又はn次反応（nは免疫反応の回数を表す整数である。これら二次以降の反応をまとめて「二次以降反応」とも記載する。）を評価する場合（例えば、ワクチンのブースター接種、又はがん免疫療法を評価する場合）で、それぞれ、二次反応、三次反応、・・・、又はn次反応のための抗原刺激後、例えば3～10日、又は4～10日、好ましくは5～9日、より好ましくは6～8日が挙げられる。

[0060] 2. 工程B

工程Bでは、特定の抗原に対する抗原認識部位の配列のデータベース〔図1 (iii) に相当〕と、前記レパトアデータ〔図1 (ii) に相当〕とを照合し、前記レパトアデータの中から、前記データベースに含まれる前記配列と、アミノ酸配列レベルで同一又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列〔図1の「データベースと一致する配列」に相当〕を検出する。

[0061] 2-1. データベース

データベースには、特定の抗原に対する抗原認識部位の配列が収載されている。特定の抗原については、上記「1-2. 被験者」において述べた特定の抗原と同じである。抗原認識部位の配列については、上記「1-1. レパトアデータ」において抗原認識部位の配列として説明した通りである。

[0062] データベースには、特定の抗原に対する抗原認識部位の配列の情報に加え、特定の抗原に対する抗体配列・ナノボディ配列・可変領域配列、当該抗体の中和活性の有無、特定の抗原におけるエピトープ領域、抗原生物の種・株（変異株、バリエーション）、等の付加的情報（以下において、単に「付加的情報」とも記載する。）が含まれていてもよい。

[0063] 2-1-1. 公共データベース

このようなデータベースの例としては、公開されているものとして、CoV-A bDab（オックスフォード大学統計学部のオックスフォード・プロテイン・インフォマティクスグループにより管理されるデータベース）が挙げられる。CoV-A bDabは、SARS-CoV-2、SARS-CoV-1、MERS-

C o Vなどのβコロナウイルスに関する情報が記載されており、各βコロナウイルスに結合可能な抗体の配列・ナノボディ配列・可変領域配列、当該抗体の中和活性の有無、エピトープ領域、各βコロナウイルスの種・株（変異株、バリエーション）、等の情報が含まれる。

[0064] 2-1-2. 独自に作成されたデータベース

本発明において、データベースとしては、上記の情報が含まれていれば、公開されているもの、あるいは非公開のものを用いてもよいし、特定の抗原ごとに、独自にデータ収集して作成されたものであってもよい。データベースに収集すべき特定の抗原に対する抗原認識部位の配列は公知の方法を用いて適宜取得することができる。データ収集の方法としては、以下の〔1〕～〔3〕に示す方法が挙げられる。データベースの収集のために、これら〔1〕～〔3〕に示す方法のうちいずれかの方法を用いてもよいし、2以上の方法を組み合わせて用いてもよい。

〔1〕 既存の文献及び／又は公共データベースからの収集

〔2〕 in vitro実験による配列収集

〔3〕 in silicoによる配列収集

[0065] 上記〔1〕の方法では、既存の文献及び／又は公共データベースから、特定の抗原に対する公知の抗原認識部位の配列を取捨選択し、必要に応じて更に公知の付加的情報を関連付けることにより、データベースに収集する情報を編集できる。

[0066] 上記〔2〕の方法は、例えば、抗原配列から合成したタンパク質に標識を付した標識タンパク質を用意する工程と、免疫細胞集団のうち当該標識タンパク質に結合する細胞をソーティングする工程と、ソートした細胞の配列を、データベースに収集すべき情報として取得する工程とを含む。

[0067] 上記〔3〕の方法では、機械学習を用いた抗原/抗原受容体の結合予測を利用して、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列を収集できる。当該結合予測としては、タンパク質言語モデル（例えば、Bioinformatics, Volume 37, Issue Supplement_1, July 2021, Pages i237-i244、及びBioinformatics,

Volume 39, Issue 1, January 2023, btac820) を利用した抗原/エピトープ結合解析、ディフュージョンモデル (例えば、Nature, 2024 May 8, doi: 10.1038/s41586-024-07487-w) を利用した蛋白構造解析及びそれらの結合解析等が知られている。

[0068] また、上記〔2〕及び〔3〕を組み合わせた方法では、前記特定の抗原による免疫反応が起きた調査対象からなる集団から、特定の抗原に結合可能な免疫細胞を取得し、レパトア解析にて、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列を収集できる。上記〔2〕及び〔3〕を組み合わせた方法は、好ましくは以下の工程を含む。

- ・前記調査対象それぞれの検体から、前記免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むレパトアデータであって、前記特定の抗原に対する免疫細胞レセプターのmRNAの活性化時期 T_{ex} 、前記活性化時期の前 T_{bf} 、及び前記活性化時期の後 T_{af} におけるレパトアデータを時系列で取得する工程、及び
- ・前記活性化時期 T_{ex} において増殖が認められる免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列を、前記データベースに収集すべき情報として選定する工程。

[0069] 当該方法でデータベースを作成する例の概念図を、図2に示す。上記「1-3. レパトアデータの取得時期」で述べた通り、特定の抗原による刺激後の所定の期間に、免疫細胞レセプターのmRNAの活性化時期 (つまり、レパトアにおいて特定の抗原に反応した免疫細胞のクローン性増殖の時期) が到来することが見出されている。従って、上記「1-3. レパトアデータの取得時期」で述べた、抗原刺激後の所定の期間 (クローン性増殖期) を基準に、当該活性化の前 (T_{bf} : クローン性増殖前)、当該活性化時期 (T_{ex} : クローン性増殖期)、及び当該活性化後 (T_{af} : クローン性増殖後: 増殖したクローンの縮小) を含む時系列の免疫細胞レセプターのレパトアデータを取得できる。バルクでのレパトア解析では、各検体から莫大なデータ (例えば20万リード程度ずつ) が得られる。これら時系列データにおけるリード数の増減又は類似配列のクラスター解析などを、機械学習を含めた情報科学的手法を用いて解析することで、特定の抗原に対する抗原認識部位の配列群を選定で

きる。

[0070] 2-1-3. 網羅的データベース

上述の公共データベース及び独自に作成されたデータベースを、あらゆる免疫反応（感染、がん免疫療法、自己免疫反応等）に係る抗原に対する抗原認識部位の配列の情報及び付加的情報を網羅するように収集することで、図3に模式的に示すような大規模なデータセット群を構築できる。このような大規模データセット群を準備しておくことで、抗原受容体レパトアをバイオセンサとして使用することで、生体内で起きている、あらゆる免疫反応（感染、がん免疫療法、自己免疫反応等）を網羅的に、少量の検体でとらえることが可能となる。当該大規模データセット群を使用する例として、形態 [f] が挙げられる。

[0071] 2-2. アミノ酸配列レベルで同一又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列（一致する配列）

特定の抗原に対する抗原認識部位の配列のデータベース [図1 (iii) に相当] と、前記レパトアデータ [図1 (ii) に相当] との照合により、データベースに含まれる配列と、アミノ酸配列レベルで同一又は2個以下（好ましくは1以下）のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列 [図1の「データベースと一致する配列」に相当] を、レパトアデータから検出する。データベースに含まれる配列と、アミノ酸配列レベルで同一又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列とは、言い換えれば、データベース中の配列に対し、完全同一のアミノ酸配列又はミスマッチが1~2残基（好ましくは1残基）であるアミノ酸配列（類似配列）に該当する配列である。

[0072] 一致する配列の検出には、アミノ酸配列同士の比較が可能な任意の方法を用いることができる。このような方法の具体例としては、レーベンシュタイン距離法が挙げられる。レーベンシュタイン距離法では、レーベンシュタイン距離（編集距離、つまり、一方の文字列をもう一方の文字列に一致させるために必要な一文字の置換、挿入、削除の最小回数）が0~2（好ましくは0~1）となるアミノ酸配列を検出することができる。従って、一致する配

列のうち、完全同一の配列のレーベンシュタイン距離は0、類似配列のレーベンシュタイン距離は1～2（好ましくは1）である。

[0073] 3. 工程C

工程Cでは、工程Bにより特定される配列の、前記レパトアデータにおける数〔図1の「一致する配列の数（クローン）」に相当〕及び／又は頻度〔図1の「一致する配列の割合」に相当〕を導出する。本発明において、工程Cは、本発明の方法の適用の目的に依存せず任意で含むことができる。

[0074] つまり、工程Cでは、データベース中の配列と同一又は類似の配列として検出された配列（一致する配列）が、レパトアデータにどの程度の数含まれているか、及び／又はどの程度の頻度で出現するかを導出する。当該数及び／又は頻度の導出は、公知の方法に基づいて適宜行うことができる。データベース中の配列と同一又は類似の配列として特定された配列（一致する配列）が、レパトアデータにおいて多数及び／又は高頻度であるほど、特定の抗原に対する免疫反応が強く及び／又は高頻度で生じているといえる。

[0075] 当該一致する配列について、特定の抗原による免疫反応が生じていない場合の数及び／又は頻度が、技術常識により、又はデータベースの収載情報から既知である場合は、当該免疫反応が起こっているか否かを判断できる。つまりこの場合、1個のデータポイントのみでも免疫反応の評価ができる。このような場合の好ましい例としては、形態〔b〕、形態〔c〕、形態〔e〕の事例e1、形態〔f〕等が挙げられる。

[0076] 4. 工程D

工程Dでは、工程Cで得られた、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の経時変化を確認する。本発明が工程Dを含む場合の例として、形態〔a〕、形態〔b〕、形態〔d〕、形態〔e〕の事例e2及び事例e3、形態〔f〕が挙げられる。本発明の方法が形態〔c〕又は形態〔e〕の事例e1に適用される場合は、工程Dは要しない。

[0077] 特定の抗原の暴露を受けた被験者のレパトアデータについて免疫反応を評価する場合（例えば形態〔a〕、形態〔b〕、形態〔f〕等）、工程Cで得

られた数及び／又は頻度のレベルが、抗原の暴露の前における当該数及び／又は頻度のレベルよりも増大したか否かを確認する。がん免疫療法を受けた被験者のレパトアデータについて免疫反応を評価する場合（例えば形態 [d]、形態 [f] 等）、工程Cで得られた数及び／又は頻度のレベルが、がん免疫療法前における当該数及び／又は頻度のレベルよりも増大したか否かを確認する。また、免疫抑制処置を受けた被験者のレパトアデータについてワクチン接種による免疫反応を評価する場合（例えば形態 [b] の事例 b 4、形態 [f] 等）、工程Cで得られた数及び／又は頻度のレベルが、免疫抑制処置の前における当該数及び／又は頻度のレベルよりも増大又は減少したか否かを確認する。自己免疫疾患に罹患した被験者のレパトアデータについて免疫反応を評価する場合（例えば形態 [e] の事例 e 1、事例 e 2、形態 [f] 等）、工程Cで得られた数及び／又は頻度のレベルが、同一被験者の別のタイミングで採取した検体における当該数及び／又は頻度のレベルよりも増大したか否かを確認する。

[0078] 上記「1-3. レパトアデータの取得時期」で述べた通り、特定の抗原による刺激後の所定の期間に、免疫細胞レセプターのmRNAの活性化時期（つまり、レパトアにおいて特定の抗原に反応した免疫細胞のクローン性増殖の時期）が到来することが見出されている。具体的には、一次反応のための抗原刺激後の活性化時期は、例えば11～20日又は11～18日、好ましくは12～16日、より好ましくは13～15日であり、二次以降反応のための抗原刺激後の活性化時期は、例えば3～10日、又は4～10日、好ましくは5～9日、より好ましくは6～8日である。このため、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の増大が認められた時期が、一次反応のための抗原刺激後の活性化時期と二次以降反応のための抗原刺激後の活性化時期とのいずれかに該当するかを確認することで、特定の抗原による刺激が一次反応及び二次事項反応のいずれを生じさせたものかを判断できる。具体的には、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の増大が、特定の抗原による刺激後11～20日又は11～18日（好ましくは12～16日、よ

り好ましくは13～15日)に認められた場合、当該刺激による免疫反応は一次反応であると判断できる。データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の増大が、特定の抗原による刺激後3～10日(好ましくは5～9日、より好ましくは6～8日)に認められた場合、当該刺激による免疫反応は二次以降反応と判断できる。

[0079] 5. 工程E、工程E'、工程F、工程G

本発明の方法は、上記工程A～工程Dを含む場合、さらに、本発明の効果を損なわない限り、他の工程を含むことができる。他の工程は、本発明の方法の適用目的に応じて決定することができる。

[0080] 5-1. 工程E及び工程E'

核酸ワクチンの接種を受けた被験者のレポータデータについて免疫反応を評価する場合、本発明の方法は、さらに工程E及び／又は工程E'を含むことができる。当該工程Eを含む場合の例として、形態[a]の事例a1～事例a3、形態[f]が挙げられる。工程E'を含む場合の例として、形態[a]の事例a4、形態[f]が挙げられる。

[0081] 工程Eでは、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の経時変化として増大が確認された配列について、前記データベースに収載された情報を確認することで、前記核酸ワクチンの科学的妥当性を評価する。データベースに収載された情報は、[1]抗原に対する中和活性の有無の情報、[2]抗原の種又は株の情報、及び[3]エピトープの情報からなる群より選択される。また、科学的妥当性の評価は、[1]前記中和活性が有ることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが中和活性を持つ抗体を産生する臨床的有効性を持つと評価すること、[2]前記種又は前記株が、前記核酸ワクチンの設計上の標的抗原の種又は株と同じであることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが前記標的抗原に適合していると評価すること、及び[3]前記エピトープが、前記核酸ワクチンの設計上の標的エピトープと同じであることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが前記標的エピトープに適合していると評価すること、からなる群より選択される。上記[1]の場合は、形態

[a] の事例 a 1 に該当し、上記 [2] の場合は、形態 [a] の事例 a 2 に該当し、上記 [3] の場合は、形態 [a] の事例 a 3 に該当する。

[0082] 工程 E によって、特定の抗原の設計図（遺伝情報）を有効成分とする核酸ワクチンについて、生体内で、中和活性を持つ抗体を産生できる、設計通りの標的抗原（種又は株）を認識できる抗体を産生できる、又は、設計通りの標的エピトープを認識できる抗体を産生できるという科学的妥当性を確認できる。

[0083] 工程 E' では、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の経時変化として増大が確認された前記配列が、前記データベースに含まれる前記配列とアミノ酸配列レベルで同一（つまり完全一致）である場合に、前記核酸ワクチンの科学的妥当性として、感染による獲得免疫による抗体と抗原認識部位が完全一致する抗体の産生能を有すると評価する。本発明によれば、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列が完全一致する配列を数多く検出できる。抗原認識部位の配列のアミノ酸配列を例えば 10 アミノ酸からなる配列とした場合、アミノ酸が 20 種類あるため、完全一致配列を見出すためには理論上 20 の 10 乗種類の配列が必要であることに鑑みると、本発明により完全一致配列を多数検出できることは驚くべき効率であると認められる。

[0084] 工程 E' によって、図 4 に示すように、健常者である被験者が接種された核酸ワクチンについて、ウイルスなどの抗原の感染により患者が獲得する抗体（データベースに含まれる配列を持つ）と完全に一致する抗体を、ワクチン接種により健常者である被験者の体内で産生できるという科学的妥当性を確認できる。

[0085] 5-2. 工程 F

ワクチン（すなわち特定の抗原）の接種を受けた被験者であって、且つ検体採取時に他の抗体（すなわち特定の抗原としてのワクチンの接種により産生される抗体とは異なる抗体）を体内に高いレベルで保有する被験者のレポートデータについて免疫反応を評価する場合、本発明の方法は、さらに工程 F を含むことができる。工程 F を含む場合の例として、形態 [b] の事例 b

1～事例b3、形態[f]が挙げられる。

[0086] この場合の被験者は、上記「1-2-1-3. 他の抗体を高いレベルで保有する被験者」で述べた被験者(S1)～被験者(S3)から選択でき、具体的には、特定の抗原としてワクチンを接種された被験者であって、抗体薬を投与された、他のワクチンを接種された、並びに／若しくは、感染を受けた被験者が挙げられる。

[0087] 工程Fでは、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度が経時的に増大する場合に、前記ワクチンが機能すると判断する。ここで、上記「1-2-1-3. 他の抗体を高いレベルで保有する被験者」で述べたのと同様、抗体薬の投与、他のワクチンの接種、又は感染により、被験者(S1)～被験者(S3)の体内では、他の抗体(具体的には、抗体薬に係る抗体、他のワクチンに対する免疫反応で産生される抗体、又は病原体に対する免疫反応で産生される抗体)が高いレベルで存在する。さらに、抗体タンパク質の半減期が長いことから、被験者(S1)～被験者(S3)の体内では、これらの他の抗体が高いレベルのまま保持される。この状態で、別途並行し、特定の抗原としてのワクチンに対する免疫反応で抗体が生じても、そのような抗体は、共存する大量の他の抗体によりマスキングされるため、従来のレパトア解析やELISAなどの免疫学的測定法では確認できない。本発明の方法は、体内の抗体タンパク質の量に影響を受けることなく、レパトアデータから特定の抗原に対する免疫反応を選択的に特定できるため、他の抗体を高いレベルで保有する被験者であっても、特定の抗原としてのワクチンに対する免疫反応が生じていれば、当該免疫反応を選択的に特定できる。

[0088] 5-3. 工程G

造血幹細胞移植又はB細胞枯渇療法等の免疫抑制処理を受けた被験者のレパトアデータについて免疫反応を評価する場合、本発明の方法は、さらに工程Gを含むことができる。工程Gを含む場合の例として、形態[b]の事例b4、形態[f]が挙げられる。

[0089] 工程Fでは、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の経時変化

が増大したか否かに基づいて、免疫機能の回復の有無を判定する工程Gをさらに含むことができる。例えば、免疫抑制処置を受けた後に特定の抗原としてワクチンの接種を受けた被験者のレパトアデータについて、データベースと一致する配列の数及び／又は頻度の増大を認めた場合、免疫抑制処理により低下していた免疫機能の回復を確認できる。

[0090] 6. 工程H

工程Aで用意するレパトアデータが、過去に出現したウイルス株ST1に対するワクチン（既存のワクチン）の接種を受けた被験者の検体から取得したものであり、工程Bで照合に用いるデータベースが、当該ワクチン（既存のワクチン）による有効性が未知であるウイルス株ST2（例えば、ウイルス株ST1の変異株等）に対する免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むものである場合、本発明は、工程Bにより検出される配列が存在する場合に、当該ワクチン（既存のワクチン）がウイルス株ST2にも有効と評価する工程Hをさらに含むことができる。この場合、新たに出現したウイルス株に対して、既存のワクチンを有効利用するという判断が可能になる。反対に、工程Bにより配列が検出されなかった場合は、新たなワクチンの開発が必要であることを判断することが可能になる。

実施例

[0091] 以下に実施例を示して本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0092] [試験例1]

[材料及び方法]

患者

SARS-CoV-2感染後の免疫反応を評価するため、2020年8月から2020年12月にかけて神戸大学医学部附属病院にてCOVID-19患者3名から末梢血サンプルを時系列的に採取した。すべての患者は軽症と分類され、免疫抑制剤は投与されていなかった。COVID-19は、SARS-CoV-2の定量的逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応アッセイ（rtPCR）により確認された。

[0093] mRNA SARS-CoV-2ワクチン接種後の免疫反応を評価するため、2021年5月から2022年12月の間に健康なボランティアを登録した。すべての参加者に使用されたSARS-CoV-2 mRNAワクチンは、一価のBNT162b2 [B.1.1.529]、二価のBNT162b2 [WT/OMI BA.4-5]、または一価のmRNA-1273である。これらの参加者がSARS-CoV-2の未感染者であることは、ワクチン接種前に抗SARS-CoV-2ヌcleoカプシド蛋白IgG抗体を測定することにより確認した。血液サンプルは、ワクチン接種の前後で時系列に採取した。

[0094] COVID-19予防のための中和抗体薬チキサゲビマブ／シルガビマブ投与後の血清サンプルにおける抗SARS-CoV-2スパイク抗体価を調べるため、チキサゲビマブ／シルガビマブが適応となる血液悪性腫瘍患者19名（図1の17名と図4A、図4BでBCRレパトアが解析されている造血幹細胞移植患者2名）を登録した。血液サンプルは、チキサゲビマブ／シルガビマブ投与前と投与後に時系列的に採取した。

[0095] サンプル採取及び処理

末梢血サンプルは、ヘパリン含有チューブを用いて採取した。末梢血単核細胞 (PBMC) は、Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) およびSepMate-50チューブ (STEMCELL Technologies, Vancouver, Canada) を用いて密度勾配遠心分離により血液から製造者のプロトコル (STEMCELL Technologies) に従って分離された。PBMCサンプルは、CELLBANKER (ZENOGEN PHARMA、福島、日本) を用いて、分析まで-80°Cで保存した。Total RNAは、TRIzol LS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) で抽出し、RNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて製造者のプロトコルに従って精製した。RNA量及び純度は、Agilent 2200 TapeStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) を用いて測定した。血清サンプルは、血液サンプルを室温で1000×gで10分間遠心分離し、直ちに-80°Cに保たれたフリーザーに移すことによって得た。

[0096] SARS-CoV-2特異的免疫グロブリン抗体アッセイ

3種類の完全自動化された市販のイムノアッセイを使用した。Abbott SARS-

CoV-2 IgG II Quant (Abbott Laboratories, Sligo, Ireland) は、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質のS1サブユニットの受容体結合ドメイン (RBD) に対するIgG抗体の定量測定のためにデザインされた化学発光微粒子免疫測定法 (CMIA) である。検査はAbbott Architect i2000SR system (Abbott Laboratories)で行われた。Roche Elecsys anti-SARS-CoV-2 S (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) は、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質のRBDに対する総IgG抗体を定量的に測定するための電気化学発光免疫測定法 (ECLIA) である。検査はRoche Cobas e601システム (Roche Diagnostics社製) で実施した。Atellica IM SARS CoV-2 IgG (Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Germany) は、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質のS1サブユニットのRBDに対するIgG抗体を定量的に測定するために設計された化学発光免疫測定法 (CLIA) である。検査はAtellica IM自動分析装置 (Siemens Healthcare Diagnostics)で行われた。

[0097] ヌクレオカプシド蛋白質に対する抗体価に関しては、QuaResearch COVID-19 Human IgM IgG ELISA Kit (nucleocapsid protein) (Cellspect, Inc., RC OEL961-N, Iwate, Japan)により測定された。本キットは、間接法 ELISA 法に基づき抗体価を検出するもので、異なる抗原性タンパク質を固定化したものが付属している。ELISAキット (ヌクレオカプシド蛋白) のプレートには、大腸菌で発現させたSARS-CoV-2の組換えヌクレオカプシド蛋白 (全長) が固定化されている。血清サンプル中のヌクレオカプシドタンパク質は、メーカーの測定プロトコルにしたがって測定した。

[0098] フローサイトメトリー解析

PBMCを、T細胞系については以下の抗ヒト抗体、すなわちCD3 APC、CD4 BV510およびCD8 BV711 (all BD Biosciences, San Diego, CA, USA)、B細胞系についてはCD19 BV510、CD27 BV421, IgD BV711およびCD38 BV510 (all Biologend, San Diego, CA, USA) を使って4°Cで20分間染色した。アイソタイプマッチ抗体をコントロールとして使用した。フローサイトメトリー解析は、BD FACSAria III装置 (BD Biosciences) を用いて行った。CD3+CD4+細胞はへ

ルパーT細胞として定義した。CD19+CD27+IgD-はクラススイッチB細胞として定義した。CD19+CD27+CD38+はプラズマブラストと定義した。

[0099] B細胞受容体レパトア解析

BCR レパトア解析は、Repertoire Genesis 株式会社が開発した非バイアス次世代シーケンサーを用いて行った。要すれば、polyT18プライマー (BSL-18E) と Superscript III 逆転写酵素 (Invitrogen、カリフォルニア、米国) を用いて全RNAからcDNAを合成した。二本鎖 (ds) -cDNAを合成した後、P10EA/P20EA dsDNAアダプターをライゲーションし、NotI制限酵素で切断した。KAPA HiFi DNA Polymerase (Kapa Biosystems, Woburn, MA, USA) を用いて、IgG定常領域特異的プライマー (CG1およびCG2) およびP20EAを用いてネステッドPCRを実施した。P22EA-ST1およびCG-ST1-Rを用いて第2PCR産物を増幅することにより、アンプリコンライブラリーを調製した。インデックス (バーコード) 配列は、Nextera XT Index Kit v2 Set A (Illumina, San Diego, CA, USA) を用いた増幅により追加した。配列決定は、Illumina MiSeqペアエンドプラットフォーム (2×300 bp) を用いて実施した。BCR配列は、Repertoire Genesis 株式会社 (大阪、日本) が独自に開発したレパトア解析ソフトウェアを用いて、国際ImmunoGenetics information system^(R) (IMGT) データベース (<http://www.imgt.org>) の参照配列との同一性に基づいて割り当てられた。

[0100] 指標の算出とネットワーク分析

データ解析とグラフ化は、Rソフトウェア (バージョン4.0.2) に実装されているパッケージを使用した。レーベンシュタイン距離 (編集距離) はstringdist 0.9.10パッケージを用いて算出した。ネットワーク解析は、Rに実装されたigraph 1.2.6 (<https://igraph.org/r/>)を用いて行った。1,000番目に頻度の高いBCRクローンタイプ (ノード) は、CDR3の1アミノ酸配列以下または1アミノ酸配列以下のLevenshtein距離で定義されるエッジで接続された。ネットワークはFruchtermanとReingoldによるforce-directed layoutアルゴリズムを用いて作成した。グラフィックスはggplot2バージョン3.3.2を用いて描

画した。ヒトIGH配列の生成確率 (pGen) 値は、OLGAパッケージを使用して計算された (Sethna Z, Elhanati Y, Callan CG, Walczak AM, Mora T. OLGA: fast computation of generation probabilities of B- and T-cell receptor amino acid sequences and motifs. *Bioinformatics*. 2019;35(17):2974-2981.)。

[0101] データベースとCOVID-19に特異的な配列の検索

COVID-19に特異的な抗体配列は、CoV-AbDab (<http://opig.stats.ox.ac.uk/webapps/covabdab/>) からダウンロードした。12,004件のエントリーを含む2022年12月20日に更新されたデータを参照として使用した。2011年から2021年に報告された対にならない抗体配列は、「重鎖」と「IGHG」属性に基づいて The Observed Antibody Spaceデータベース (OAS、<http://opig.stats.ox.ac.uk/webapps/oas/>) からダウンロードされた。合計260,856,092の配列が本方法の検証に使用された。COVID-19パンデミック前の健康なボランティア12人からの合計1,259,140個のIgG抗体配列はすでに報告されている (Kitaura K, Yamashita H, Ayabe H, Shini T, Matsutani T, Suzuki R. Different Somatic Hypermutation Levels among Antibody Subclasses Disclosed by a New Next-Generation Sequencing-Based Antibody Repertoire Analysis. *Front Immunol*. 2017;8:389.)。クエリー配列と同一のVおよびJ遺伝子名で、CDR3のアミノ酸配列の違い (レーベンシュタイン距離、「CDR3AA Distance」) が0~2の配列 (一致する配列) をデータベースから取得した。CoV-AbDabのうち、SARS-CoV2の「Binds to」または「Neutralizing Vs」属性を持つ配列は、変異体に関わらずSARS-CoV-2特異的な配列とした。また、SARS-CoV2の「Neutralizing Vs」属性を持つ配列を中和抗体 (Neut+) とし、「Neutralising Vs」属性にSARS-CoV-2を含まず、「Not Neutralising Vs」属性にSARS-CoV-2含む配列を非中和抗体 (Neut-) と分類した。

[0102] [結果]

ELISA法による抗SARS-CoV-2スパイクIgG抗体測定におけるチキサゲビマブ/シルガビマブ投与による影響

抗SARS-CoV-2スパイク抗体測定に対するチキサゲビマブ/シルガビマブの影響を検討するため、異なるELISA法を用いた代表的な自動定量抗SARS-CoV-2スパイク免疫測定器3種類（Abbott Laboratories、Roche Diagnostics、Siemens Healthcare Diagnostics）により投与前後の時系列で抗体測定が行われた。チキサゲビマブ/シルガビマブの適応となる血液悪性腫瘍患者17名（B細胞枯渇療法n=8、造血幹細胞移植n=6、化学療法n=3）が登録された。予想通り、投与後の抗体価は全例で極めて高く、長期にわたって高い値が維持された（図1）。

[0103] CoV-AbDabを用いたOAS公開データベースの解析

COVID-19パンデミック前後の既報のレパトアデータを用いて、CoV-AbDabの有用性を検証した。得られた12,004個のCoV-AbDabデータから、8,977個の同一のVおよびJ遺伝子名とヒト配列のCDR3アミノ酸を持つ参照テーブルを用い、公開データベースと上記患者のコホートのデータからSARS-CoV-2特異的配列を検索した（図2A）。まず、OAS公開データベースから2011年から2021年の間に公開された合計260,856,092個の配列をCoV-AbDabを用いて解析した。V及びJ遺伝子名、CDR3アミノ酸配列の完全な配列一致は、パンデミック前のデータでは2019年以前の67,856,692配列中わずか132配列（0.00019%）とほとんど検出されなかった一方、2020年以降はより多くの配列（0.022%, 8,441,259配列中の1,817配列）が検出された（表1、OASデータベースにおけるSARS-CoV-2特異的配列の出現頻度（%）、括弧内の数字は、Disease属性がSARS-CoV-2に分類されたサンプルのデータを示す。）。SARS-CoV-2特異的配列に類似した配列を検出するため、CDR3のアミノ酸差が1または2のレーベンシュタイン（LV）距離を持つ抗体配列を検索した。LV距離が1の類似配列は2019年以前に4,641個（0.0068%）、2020年以降に12,251個（0.15%）検出された。LV距離が2の類似配列は、2019年以前は59,356個（0.087%）、2020年以降は27,484個（0.33%）検出された。2019年以前に対する2020年以降の検出率をS/N比とすると、最も良いS/N比は完全に一致した配列（LV0）で110.6、LV1で21.2、LV2で3.7であった。CDR3配列の距離によって、感度やS/N比は変化する。これ

らの結果から、抗体レパトアデータからSARS-CoV-2特異的な抗体配列を検出するためには、CoV-AbDab参照配列を用いた計算機的アプローチが有効であることが示された。

[0104] [表1]

Year	Entry	Unique sequence	%Frequency		
			CDR3 levenshtein distance		
			0	1	2
2011	3	37856	0.0000	0.0000	0.0687
2012	3	26242	0.0000	0.0000	0.0152
2013	44	502900	0.0000	0.0074	0.0871
2014	79	725327	0.0000	0.0043	0.0545
2015	299	3847328	0.0001	0.0058	0.0705
2016	437	6408509	0.0002	0.0045	0.0542
2017	132	1666985	0.0000	0.0022	0.0377
2018	97	993132	0.0001	0.0072	0.0769
2019	579	53648413	0.0002	0.0074	0.0949
2020	326	6234720	0.0196	0.1126	0.2812
	(155)	(3857508)	(0.0314)	(0.1793)	(0.4286)
2021	119	2206539	0.0270	0.2370	0.4510
	(99)	(1968418)	(0.0169)	(0.1011)	(0.1944)

[0105] 次に、COVID-19パンデミック前の健常者のデータも独自に解析した。健常者12名（年齢：37±11.7 [平均±SD]、性別：11：1 [男性：女性]）の合計125万9140個のインフレーム配列をCoV-AbDabを用いて解析した。各サンプルにおけるこれらの配列の割合頻度は、0.000075 ± 0.00026% (LV = 0)、0.00043 ± 0.00076% (LV = 1) および 0.0065 ± 0.0032% (LV = 2) でした。これらの結果から、SARS-CoV-2特異的な配列は、未感染の健常者ではほとんど検出されず、検出されたとしても頻度はかなり低いと考えられる（表2、パンデミック前の健常者におけるSARS-CoV-2特異的な配列の頻度（%）。）。

[0106]

[表2]

Donor	In-frame total	In-frame unique	%Frequency		
			CDR3 levenshtein distance		
			0	1	2
HI01	145453	21211	0	0	0.0069
HI02	93493	17939	0	0	0.0075
HI03	110929	23798	0	0	0.013
HI04	136325	13267	0	0.00073	0.0059
HI05	110450	11253	0.00091	0	0.0018
HI06	99787	18114	0	0.0020	0.0060
HI07	67445	10554	0	0.0015	0.0089
HI08	39117	9130	0	0	0.0077
HI09	129626	13390	0	0	0.0015
HI10	122188	15617	0	0	0.0049
HI11	93366	14410	0	0	0.0096
HI12	110961	23306	0	0.00090	0.0045

[0107] CoV-AbDabを用いたCOVID-19患者のBCRレパトアデータの解析

SARS-CoV-2感染後の免疫応答が、CoV-AbDabを用いたBCRレパトア解析で検査できるかどうかを試みた。原発性COVID-19患者3名から採取した17の血液サンプルについて、BCRレパトアの解析を行った。合計4,768,753個の配列が得られ、そのうちVおよびJ遺伝子とCDR3のアミノ酸割り当てを持つ2,858,278個のインフレーム配列が使用された。次に、CDR3配列の中にCoV-AbDabのCDR3配列と同一のものがあるかどうかを解析した（図2B）。予想通り、患者のサンプルからは、CoV-AbDabのCDR3配列と一致する配列がいくつか検出された。発症直後は一致する配列は検出されなかったが、発症後徐々に増加し、2週間前後でピークに達した（図2B）。

[0108] また、SARS-CoV-2特異的BCRクローン型が形成するネットワークについても解析を行った。類似したSARS-CoV-2特異的な配列は互いに結合し、クラスターを形成していた。また、BCRクラスターは急速に形成、成長し、症状発現後2週間程度で最大サイズに達した。その後、クラスターは急速に消失した（図2B）。

[0109] CoV-AbDabを用いたmRNA SARS-CoV-2 ワクチン接種を受けた健康なボランティアのBCRレパトアデータの解析

CoV-AbDabを用いたBCRレパトア解析によりワクチン接種後の免疫応答が検出できるかどうかを検証するため、mRNA SARS-CoV-2ワクチン（一価BNT162b2

[B.1.1.529], Pfizer) を1回目と2回目に接種した健康ボランティアの血液サンプルについてBCRレパトアを解析した。

[0110] まず、CoV-AbDabを使用しないBCRレパトアデータによりドミナントクローンタイプに着目したものの、ワクチン接種前後で大きな変化は検出されなかった(図7)。

[0111] 次に、CoV-AbDabを用いたBCRレパトア解析において、マッチした配列の数と割合頻度を解析した。その結果、1回目のワクチン接種から2週間後にマッチした配列数が増加し、すぐに減少することがわかった(図3A)。一方、2回目のワクチン接種後、一致する配列数はより急速に(1週間)増加した(図3A)。また、他のmRNAワクチン接種(2価のBNT162b2 [WT/OMI BA.4-5、ファイザー] および1価のmRNA-1273 [モデルナ])のブースターショットについても同様の結果が観察された(図3Bおよび図3C)。このように、CoV-AbDabを用いたBCRレパトア解析によって、COVID-19患者と同様に、ワクチン接種後の健康なボランティアでワクチン接種後の免疫応答が検出された。

[0112] チキサゲビマブ/シルガビマブ投与後の患者におけるmRNA SARS-CoV-2ワクチン接種に対する反応性

同種造血幹細胞移植を受けた血液悪性腫瘍患者2名を対象に、チキサゲビマブ/シルガビマブ(T/C)投与後のmRNA SARS-CoV-2ワクチン接種に対する反応性を、CoV-AbDabによるBCRレパトア解析により評価した。

[0113] 症例1(T/C患者1)：骨髄異形成関連変化を伴う急性骨髄性白血病を発症した63歳女性が、臍帯血移植(CBT)を受けた。CBT後338日目にチキサゲビマブ/シルガビマブを投与し、CBT後348日目に4回目(CBT後2回目)のmRNAワクチン(2価のBNT162b2)を接種した。

症例2(T/C患者2)：B細胞性急性リンパ芽球性白血病を発症した40歳男性が、非血縁者間骨髄移植(u-BMT)を受けた。u-BMTから212日後にチキサゲビマブ/シルガビマブを投与し、u-BMTから218日後に最初のmRNAワクチン(1価のBNT162b2)を接種した。

[0114] 造血幹細胞移植後のワクチン接種反応は、T細胞およびB細胞の再構成に依

存する。ワクチン接種時に、フローサイトメトリー解析を行い、T細胞およびB細胞の再構成を評価した。ヘルパーT細胞 (CD3+CD4+)、クラススイッチB細胞 (CD19+CD27+IgD-)、プラズマブラスト (CD19+CD27+CD38+) の存在を確認した (図4A、図4B)。CoV-AbDabを用いたBCRレパトア解析により、チキサゲビマブ/シルガビマブ投与後もmRNA SARS-CoV-2ワクチン接種に対する反応が明確に検出された (図4A、図4B、図8)。

[0115] 感染者とワクチン接種者におけるSARS-CoV-2特異的配列の特徴

最後に、SARS-CoV-2特異的配列の特徴を明らかにした。まず、参照配列の属性から、中和能または非中和能を決定した (図5A)。誘導された抗体の中和能はグループ間で異なり、ワクチン接種者では中和抗体が多く誘導され、少数の感染者では非中和抗体が多く誘導された。各サンプルに含まれる個々のSARS-CoV-2特異的配列の頻度を調べたところ、完全に一致した配列の頻度割合は、1~2個のアミノ酸が不一致の配列よりも有意に高かった (平均±SD : 0. LV0では 0.29 ± 0.088 、LV1では 0.0079 ± 0.034 、LV2では 0.0074 ± 0.041 、Kruskal-WallisテストとDunn-Bonferroniポストホックテスト、LV0 vs. LV1: $p < 0.0001$ 、LV0 vs. LV2: $p < 0.0001$ 、LV2 vs. LV3: not significant) (図5B)。さらに、一致した抗体配列のCDR3長とVとJの組み合わせの使用率を調べた (図5C、図5D)。最も完全一致した配列はIGHV4-59/IGHJ4で、次いでIGHV3-33/IGHJ4であった。1アミノ酸のミスマッチがある配列は、IGHV1-8/IGHJ4、IGHV3-30-3/IGHJ4またはIGHJ6、IGHV3-9/IGHJ4またはIGHV3-33/IGHJ4を高い頻度で持っていた。これらのSARS-CoV-2特異的な配列は、複数の個体で検出され、公的な抗体特性を示していた (表3A及び表3B、感染者とワクチン接種者のSARS-CoV-2特異的配列 (完全一致))。SARS-CoV-2特異的な配列として検出されたのは86配列種のみであった。完全に一致した配列の大半は、8アミノ酸の短いCDR3とIGHV4-59/IGHJ4配列であることが判明した (図6A)。既知のSARS-CoV-2特異的配列のうち、生成確率 (pGen) が高いものは、感染者やワクチン接種者に多く見られた (図6B)。これらのパターンは、OASデータベースの検索結果と類似していたことから、本実施例の方法の妥当性が

証明された (図9~図12)。

[0116] [表3A]

IGHV	IGHJ	CDR3	CDR3 Length	Read	Number of individuals detected
IGHV4-59	IGHJ4	CARGFDYW	8	3264	5
IGHV3-33	IGHJ4	CAREGIVGATTGFDYW	16	643	3
IGHV4-59	IGHJ2	CARGFDLW	8	499	3
IGHV4-59	IGHJ5	CARGFDPW	8	262	3
IGHV3-9	IGHJ4	CAKDIGYSSGLFDYW	15	218	2
IGHV3-53	IGHJ6	CARDLVDYGMVW	13	191	1
IGHV4-59	IGHJ4	CARGDFW	8	165	2
IGHV3-66	IGHJ4	CARDYGDFYFDYW	13	150	3
IGHV3-33	IGHJ4	CARGSGSGDYW	11	142	2
IGHV3-53	IGHJ4	CARDYGDFYFDYW	13	130	3
IGHV1-58	IGHJ3	CAAPYCSGGSCSDAFDIW	18	112	1
IGHV3-20	IGHJ4	CARGSGSLDYW	11	104	1
IGHV3-53	IGHJ6	CARDLYYYGMDVW	13	69	3
IGHV3-20	IGHJ4	CARGSGSSDYW	11	66	2
IGHV3-15	IGHJ4	CTTHSTPDYW	10	64	2
IGHV3-15	IGHJ4	CTTHSSPDYW	10	57	1
IGHV3-30-3	IGHJ6	CARARGGNYYYGMDVW	16	54	3
IGHV3-66	IGHJ3	CARETYAFDIW	11	50	1
IGHV4-59	IGHJ4	CARGFDSW	8	48	2
IGHV3-53	IGHJ6	CARDLVVYGMDVW	13	43	2
IGHV3-53	IGHJ6	CARDLGPYGMDVW	13	41	1
IGHV1-2	IGHJ6	CARYSNYYYYYGMDVW	16	35	2
IGHV4-59	IGHJ5	CARGFDSW	8	32	1
IGHV4-59	IGHJ5	CARGFDYW	8	30	2
IGHV3-20	IGHJ4	CARGSGGLDYW	11	28	1
IGHV3-33	IGHJ4	CAREGQVGATTGLDYW	16	24	1
IGHV3-7	IGHJ4	CARLGGSSWHFDYW	14	23	2
IGHV4-59	IGHJ3	CARGFDIW	8	22	2
IGHV1-18	IGHJ4	CALVGATDYW	10	20	1
IGHV3-33	IGHJ4	CAREGAVGATTGFDYW	16	19	1
IGHV3-66	IGHJ4	CARDYGDYYFDYW	13	18	2
IGHV3-53	IGHJ6	CARDLIDYGMVW	13	17	1
IGHV4-59	IGHJ4	CVRGFDYW	8	16	3
IGHV3-33	IGHJ4	CAREGQVGATTGFDYW	16	14	1
IGHV4-34	IGHJ6	CARVGGYYYYYMDVW	15	13	1
IGHV3-20	IGHJ4	CARGTGSLDYW	11	12	1
IGHV3-30	IGHJ6	CARARGGSYYYGMDVW	16	12	2
IGHV3-33	IGHJ4	CARGSGSSDYW	11	12	1
IGHV1-18	IGHJ5	CARDGELLGWFPW	14	11	1
IGHV3-30-3	IGHJ4	CARDGGGYFDYW	12	11	1
IGHV3-9	IGHJ6	CAKDGGVNWGNDYGMVW	18	11	1
IGHV3-30-3	IGHJ4	CARLGGNYYYFDYW	15	10	1
IGHV3-66	IGHJ4	CARGYGDYYFDYW	13	10	1

[0117] [表3B]

IGHV	IGHJ	CDR3	CDR3 Length	Read	Number of individuals detected
IGHV1-58	IGHJ3	CAAPYCSGGSCYDGFDIW	18	9	1
IGHV1-58	IGHJ3	CAAPYCSGGTCNDGFDIW	18	9	1
IGHV3-13	IGHJ4	CARGDSSGYFFDYW	16	9	1
IGHV3-30-3	IGHJ4	CARGRGNLYTYFDYW	15	9	1
IGHV3-66	IGHJ4	CARDLGGYFDYW	12	9	1
IGHV3-30	IGHJ6	CARARGGNYYYGMDVW	16	8	3
IGHV3-53	IGHJ4	CARGYGDYFFDYW	13	8	1
IGHV3-33	IGHJ4	CAREGQVGATTGIDYW	16	6	1
IGHV3-53	IGHJ4	CAREGWDLPFDYW	14	6	1
IGHV3-53	IGHJ6	CARGGGHYGMDVW	14	6	1
IGHV3-7	IGHJ4	CARVGSSSWYFDYW	14	6	3
IGHV1-46	IGHJ6	CARGGSHGMDVW	12	5	1
IGHV3-30-3	IGHJ4	CARGLGGNYFFDFW	15	5	1
IGHV3-30-3	IGHJ6	CARARGGGYYYGMDVW	16	5	1
IGHV3-66	IGHJ4	CARSYGDYFFDYW	13	5	1
IGHV3-66	IGHJ6	CARDLVDYGMDVW	13	5	1
IGHV1-69	IGHJ2	CARERGSYGASWYFDLW	19	3	1
IGHV3-20	IGHJ6	CARGGGGMDVW	11	3	1
IGHV3-30-3	IGHJ3	CARNYYDSSDAFDIW	15	3	1
IGHV3-53	IGHJ3	CARVVSDAFDIW	12	3	2
IGHV3-20	IGHJ4	CARGVGALDYW	11	2	1
IGHV3-30-3	IGHJ3	CARARGGSYSDAFDIW	16	2	1
IGHV3-30-3	IGHJ3	CARPRGGNYFDFDIW	16	2	1
IGHV3-30-3	IGHJ6	CARATRGSSYYYGMDVW	16	2	1
IGHV3-30-3	IGHJ6	CARAYGGNYYYYGMDVW	16	2	1
IGHV3-53	IGHJ4	CARDYGDYFFDYW	13	2	1
IGHV3-53	IGHJ6	CARESYGMDVW	11	2	1
IGHV4-59	IGHJ5	CARGFESW	8	2	2
IGHV1-58	IGHJ3	CAAPNCSSGGTCYDGFDIW	18	1	1
IGHV3-30	IGHJ4	CAREDYDSSGSFDYW	16	1	1
IGHV3-30	IGHJ4	CARGLSGNYYYFDYW	15	1	1
IGHV3-30	IGHJ5	CARDLGSGWYFPW	12	1	1
IGHV3-30	IGHJ6	CAKARGGSYYYGMDVW	16	1	1
IGHV3-30	IGHJ6	CARSRGGGYYYYGMDVW	16	1	1
IGHV3-30-3	IGHJ4	CAREDYDSSGSLDYW	16	1	1
IGHV3-30-3	IGHJ4	CARPHSGSYRGRFDYW	16	1	1
IGHV3-30-3	IGHJ4	CARSHSGSYFSYFDYW	16	1	1
IGHV3-53	IGHJ3	CARSYDILTGYRDAFDIW	18	1	1
IGHV3-53	IGHJ6	CARDLGPSGMDVW	13	1	1
IGHV3-53	IGHJ6	CARDLVSYGMDVW	13	1	1
IGHV3-66	IGHJ4	CARDYGDFYDFW	13	1	1
IGHV3-66	IGHJ6	CARDLVAYGMDVW	13	1	1
IGHV4-59	IGHJ4	CTRGFYDW	8	1	1

[0118] [本発明の効果について]

今回、「BCRレパトアデータ」と「標的抗原に結合するBCR配列のデータベース」を用いて、タンパク質発現ではなくmRNA発現のレベルでmRNA SARS-CoV-2ワクチン反応を評価した。実際には、この抗原特異的抗体配列の定量化方法により、チキサゲビマブ/シルガビマブ投与後にもmRNA SARS-CoV-2ワクチン接種に対する反応があることが明確に示された（図4A及び図4B）。循環型バリエーションは、個々の地域で経時的に変化する。米国では現在循環している亜種の90%以上に対してチキサゲビマブ/シルガビマブが無効であることが確認されたため、FDAは2023年1月にチキサゲビマブ/シルガビマブの緊急使用認可を改訂している。現在、チキサゲビマブ/シルガビマブ以外のオミクロン株を含む新型亜種に対する様々な抗SARS-CoV-2モノクローナル抗体が開発中である。各国で適応となる抗体製剤の種類はウイルス変異により異なるが、どのタイプの抗SARS-CoV-2抗体投与後にも本実施例の方法は適用可能であると類推できる。

[0119] 抗体投与後のワクチン反応を検出する方法が確立されたことは、臨床的意義が大きい。また、mRNAワクチンで開発された抗原には、多量の抗体が占める可能性があるため、既存の抗体の存在によってワクチン接種に対する反応が阻害される懸念を示す専門家もいます。しかしながら、本実施例の方法によれば、チキサゲビマブ/シルガビマブ投与後にもワクチン反応があることが明確に確認できた（図4A及び図4B）。

[0120] 以前、本発明者は、COVID-19患者において、発症2週間後に複数のBCRクローンタイプのmRNA発現が急増し、1週間以内に減少したことを報告した（Funakoshi Y, Ohji G, Yakushijin K, et al. Massive surge of mRNA expression of clonal B-cell receptor in patients with COVID-19. *Heliyon*. 2021;7(8):e07748.）。この報告では、BCRレパトア解析法を用いて液性免疫の活動全体を測定するには、SARS-CoV-2感染後すぐに解析することが重要であるとの考えを示していた。しかし、本実施例の方法により、SARS-CoV-2特異的配列に関しては、発症後2週間前後の頻度はわずか0.1~2%であることが判明した（図2B）。つまり、この結果は、従来のレパトア解析によってBCR総レパトア

のデータからSARS-CoV-2に対する特異的な免疫反応を判断することが事実上不可能であることを証明している。

[0121] 感染者における総レパトアの初期変化の大部分は、感染に伴う炎症、あるいは二次的な免疫応答の結果である可能性がある。一方、ワクチン接種を受けたボランティアでは、総BCRレパトアデータに基づく有意な変化は観察されない（図7）。しかしながら、本実施例の方法によれば、第一に、一次あるいは二次免疫反応における液性免疫の活性化時期（抗原曝露後数日～2週間）に着目し、短期間に複数の血液サンプルを採取したこと、及び、第二に、「標的抗原に結合するBCR配列のデータベース」を用いて「BCRレパトアデータ」の解析を行ったことにより、BCRレパトアによるワクチン接種の反応を、固体別に明らかにすることに初めて成功した。

[0122] また、SARS-CoV-2特異的な配列の特徴を、本実施例による結果および公開データベースから調査した。SARS-CoV-2特異的な配列には、IGHV4-59及び短いCDR3アミノ酸が頻繁に含まれていた。これらの配列は、本実施例の結果でも、複数の個人とパンデミック後のサンプルで最も頻繁に検出されたが、一部は、はるかに低い頻度ではあるが、2019年パンデミック前のサンプルでも検出された。IGHV4-59の配列はIGKV3-20/IGKJ1の軽鎖とペアを形成し、中和活性は報告されていない。また、パブリックIGHV4-59/IGKV3抗体がS2ドメインに結合してSARS-CoV-1と交差反応すると論じた報告もある。この配列には幅広いコロナウイルス株と反応する可能性を持っている。既知のSARS-CoV-2特異的な配列は、CDR3配列が短く、pGen値が高いことが特徴である。感染やワクチン接種後に既知のSARS-CoV-2特異的な配列の中でpGen値の高い配列が大きく増加することから、未知のCOVID-19抗原に曝露した際の初期免疫応答は、より豊富な共通のSARS-CoV-2特異的な配列によってなされることが多いと考えられる。本実施例の方法によれば、あらゆる個体における豊富な高pGen値の既知のSARS-CoV-2特異的な配列を利用して、初期感染免疫応答を確実に検出することができる。

[0123] ワクチン反応をELISAによる抗体価の測定により評価する従来の方法と比較

すると、本実施例の方法には次の利点がある。

- [0124] まず、従来の方法で測定対象となる抗体は半減期が長いため、産生されてから数ヶ月間、血中に留まる。一方、本発明の測定対象となるmRNAの活性は短命であるため、SARS-CoV-2のワクチン接種、感染、抗体治療などの影響を受けず、都度活性をモニターすることが可能である。
- [0125] また、従来の方法では、体液性免疫としてB細胞が活性化し、抗体が血清中に検出可能なレベルまで増加するまでにタイムラグがあるが、本実施例の方法では、体液性免疫反応におけるB細胞の活性をリアルタイムで直接見ることができる。これらの特徴により、本実施例の方法は、一次および二次応答を含む体液性免疫を正確に評価することができる。本実施例によれば、一次免疫反応として、初回ワクチン接種または感染による初回曝露から約2週間後にB細胞が活性化された。さらに、二次免疫反応として、ブースターワクチン接種後1週間程度でB細胞が活性化された。
- [0126] また、従来法の血清学的検査では、感染後に誘導される個々の特異的な抗体を評価することができないことに対し、本実施例の方法は、個々の抗体に関する有用な情報を提供することができる。例えば、本実施例の方法によれば、中和/非中和活性を持つ複数の抗体の特徴について有用な情報を得ることができる。中和抗体配列の出現頻度は検体によって異なり、感染者の免疫防御の指標となることが期待される。また、非中和活性を有する抗体の出現が感染症患者の感染症の重症度と関連していることから、非中和抗体の検出も注目すべき指標である。近年、感染後やワクチンのB細胞応答を評価する方法として、R-848とIL-2で刺激したヒトIgG分泌B細胞をin vitroで測定するELISpotアッセイが開発されているが、このようなELISpotアッセイはリアルタイムでの免疫応答の報告や付加情報を提供することができない。
- [0127] 本実施例の方法の有用性は、抗体医薬投与後のワクチン反応の確認に限定されるものではなく、例えば、造血幹細胞移植後の免疫再構築の程度を推定するために有用であることが推認できる。造血幹細胞移植後の免疫再構築は、総リンパ球数、リンパ球サブセット解析、サイトカインプロファイル解析

によって評価されているが、これらのアッセイは正確なバイオマーカーではない。一般に、ほぼ全ての造血幹細胞移植患者は、移植後3-6ヶ月でmRNA SARS-CoV-2ワクチン接種を受ける。本実施例の方法は、先行感染、ワクチン接種、抗体治療の影響を受けずに、ワクチン接種のタイミングで液性免疫の再構成を評価することが可能である。また、本実施例の方法は、B細胞枯渇療法後の体液性免疫の再構成を評価するために使用することができる。

[0128] 以上、SARS-CoV-2ワクチン接種に対する反応を評価するために、CoV-AbDabを用いたBCRレパトア解析により抗原特異的抗体配列を定量化できることが証明された。本実施例によれば、チキサゲビマブ/シルガビマブ投与後もmRNA SARS-CoV-2ワクチン接種に対する反応性があることが明らかになった。本実施例の方法は、抗原抗体反応分野における疾患メカニズムの解明や治療薬の開発に応用できる。

[0129] [試験例2]

CoV-AbDab内のBCR/抗体配列には、株（変異株及びバリエーション）に関する情報が紐づけられている。健常ボランティア1～3のBCRレパトアについて、SARS-CoV-2に対するmRNAワクチンの接種直前及び接種後7日、14日でのデータベースと一致する配列（CDR3のアミノ酸差が0のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列、及び1以下のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列）について試験例1と同様にして解析を行い、ワクチンにより産生される抗体が結合する株（変異株及びオミクロン株のバリエーション）を特定した。結果を図17A～図17Cに示す。

[0130] 図17A～図17Cに示すように、ワクチンにより産生される抗体が結合する株（変異株及びオミクロン株のバリエーション）を特定が可能であった。本試験例で用いられたワクチンに代えて、新たな変異株又はバリエーションを標的として設計開発した新たなワクチンを用いて同様に解析すれば、当該新たなワクチンが公知の変異株又はバリエーションに結合するか否かの機能評価にも用いることができる。

[0131] [試験例3]

同一被験者にSARS-CoV-2に対するmRNAワクチンを複数回接種した。1回目、2回目は起源株ワクチンを、5回目は起源株及びBA.4/5の2価ワクチンを、6回目にオミクロンXBBワクチンを接種した。1回目接種直前、1回目接種後7日、14日、2回目接種直前（1回目接種後21日）、2回目接種後3日、7日（1回目接種後24日、28日）、5回目接種直前、5回目接種後3日、7日、6回目接種直前、及び6回目接種後7日、12日でのBCRレパトアにおいて、データベースと一致する配列について試験例1と同様にして解析を行い、ワクチンにより産生される抗体が結合する株（変異株及びオミクロン株のバリエーション）を特定した。結果を図18に示す。

[0132] 図18に示すように、それぞれのワクチン接種後に、一致する配列の増大が認められた。結合可能な変異株毎に解析を行うと、オミクロンXBBワクチン（6回目）接種後に、オミクロン株に結合可能な抗体配列の数が増大（図中、「Strains」における実線矢印で示される増大）し、且つ、オミクロン株のXBBバリエーションに結合可能な抗体配列の数が増大（図中、「Omicron sublineages」における実線矢印で示される増大）していることが明らかになった。これにより、接種したオミクロンXBBワクチンの科学的妥当性（標的抗原の株（具体的には、変異株・バリエーション）の種類に対する妥当性）が確認できた。

[0133] また、図18に示すように、起源株ワクチンの接種によっても、その後に出現するオミクロン株に結合可能な抗体配列の数が増大（図中、「Strains」における点線矢印で示される増大）し、且つ、オミクロン株のXBBバリエーションに結合可能な抗体配列の数が増大（図中、「Omicron sublineages」における点線矢印で示される増大）していたことも明らかになった。これにより、過去に接種したワクチンが、その後に出現する株（変異株又はバリエーション）に結合可能な抗体も産生できていたことを確認できた。つまり、過去のワクチンの有効性が、その後初めて出現する変異株にもある程度当てはまることの確認ができた。さらに、起源株ワクチンを接種した場合よりも、オミクロンXBBワクチンを接種した場合の方が、オミクロン株XBBバリエーションについて一致する配列の数が多いことから、オミクロンXBBワクチンの方がオミクロン

株XBBバリエーションに対する有効性が高いことも確認できた。

[0134] [試験例 4]

ワクチンの標的であるスパイク蛋白はS1及びS2部分から構成されており、感染にはS1内のRBD領域が重要であることが知られている。BNT-162b2(ファイザー)、mRNA-1273(モデルナ)は、SARS-CoV-2のS1及びS2のスパイク蛋白全体を標的にするmRNAワクチンである一方、2024年日本で承認されたMAFB-7256a(第一三共ワクチン)は、RBDに対するmRNAワクチンである。CoV-AbDab内のBCR/抗体配列にはエピトープに関する情報が紐づけられている。ワクチン接種直前及びワクチン接種後7日、14日でのBCRレパトアについて、データベースと一致する配列について試験例1と同様に解析し、エピトープの特定を行った。結果を図19に示す。図19中、実線矢印は、エピトープがRBD(BNT-162b2、MAFB-7256aの標的)である配列を示し、点線矢印はエピトープがS2(BNT-162b2の標的)である配列を示し、破線矢印はエピトープが他の部位(RBDの可能性もある部位)である配列を示す。

[0135] 図19に示す通り、BNT162b2の接種後7日目に増大した一致する配列は、S1、RBD、S2等の、スパイク蛋白の様々な領域に対するものであった一方、MAFB-7256aの接種後7日目に増大した配列は、RBDに対するものであった。従って、mRNAワクチンの科学的妥当性(標的エピトープの種類に対する妥当性)が確認できた。

[0136] [試験例 5]

[1] 感染、ワクチン初回接種、又はワクチンブースター接種による免疫細胞のクローン性増殖の時期

感染による特定の抗原(SARS-CoV-2)の暴露、ワクチンの初回接種による特定の抗原(SARS-CoV-2に対するワクチン)の暴露、及びワクチンの2回目以降の接種(ブースター接種)による特定の抗原(SARS-CoV-2に対する様々なワクチン)の暴露それぞれについて、BCRレパトア中のデータベースと一致する配列(CDR3のアミノ酸差が0のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列、及び1以下のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列)を、時系列で、試験例

1と同様に解析した。結果を図20A（感染又は初回接種による一次反応）及び図20B（ブースター接種による二次以降反応）に示す。

[0137] [2] がん免疫療法による免疫細胞のクローン性増殖の時期

B細胞のサブセット分類を行い、抗体産生に繋がる活性化B細胞(CD21^{low}B細胞、クラススイッチB細胞、プラズマブラスト、形質細胞)が、同様のタイミングで増加していることの確認を行った。

[0138] 図21A（B細胞のサブセット分類の説明）に示す通り、抗体産生に繋がる活性化B細胞(CD21^{low}B細胞、クラススイッチB細胞、プラズマブラスト、形質細胞)を解析した。図21B及び図21Cに示す通り、がん免疫療法（追加免疫）後、7日で活性化B細胞が増加することを確認した。図21Dに示す通り、がん免疫療法（追加免疫）後、7日で活性化B細胞が増加し、さらにirAE（副作用：免疫チェックポイント阻害剤投与後の自己免疫疾患）を発症した症例（具体的には、patient1,2,6,10,11）で、より大きな増加を認めた。

[0139] [3] 結果

図20Aに示すように、感染又はワクチン初回接種後においては、BCRレパートア中のデータベースと一致する配列は2週間程度で増大し、図20Bに示すように、ブースター接種後においては、BCRレパートア中のデータベースと一致する配列は1週間程度で増大した。また、図21B、図21Dに示すように、がん免疫療法（追加免疫）後においても、活性化B細胞は1週間程度で増大した。つまり、免疫細胞のクローン性増殖の時期は、共通して、免疫反応の一次反応の場合には抗原刺激後2週間程度、免疫反応の二次反応の場合には抗原刺激後1週間程度であることが確認できた。

[0140] [試験例6]

造血幹細胞移植後の患者1～3へのワクチン接種による免疫反応を評価した。図22A及び図22Bに、患者1～3の背景及び解析結果を示す。

[0141] 患者1は、SARS-CoV-2の1度の感染後に造血幹細胞移植を受け、その後、SARS-CoV-2に対するワクチン（特定の抗原）を接種した。患者2は、SARS-CoV-2の2度の感染後に造血幹細胞移植を受け、その後、SARS-CoV-2に対するワ

クチン（特定の抗原）を接種した。患者3は、SARS-CoV-2の2度の感染後に造血幹細胞移植を受け、その後、SARS-CoV-2の3度の感染を経て、SARS-CoV-2に対するワクチン（特定の抗原）を接種した。図22A及び図22B中の「*」の時点で採取した検体から得られたBCRレパトアにおいて、データベースと一致する配列（CDR3のアミノ酸差が0のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列、及び1以下のレーベンシュタイン距離を持つ抗体配列）を、試験例1と同様に解析した。

[0142] 図22Aに示すように、造血幹細胞移植前の抗原刺激及びその回数に関わらず、造血幹細胞移植後1回目の抗原刺激（ワクチン接種）により、当該1回目の抗原刺激から2週間で、一致する配列が増大した。また、図22Bに示すように、造血幹細胞移植前の抗原刺激に関わらず、造血幹細胞移植後2回目以降の抗原刺激（ワクチン接種）により、当該2回目以降の抗原刺激から1週間で、一致する配列が増大した。つまり、造血幹細胞移植前の抗原刺激により獲得した免疫が、造血幹細胞移植によりリセットされていることも確認できた。このため、造血幹細胞移植後の抗原刺激による免疫細胞のクローン性増殖（一致する配列の増大）のタイミングにより、解析対象の免疫反応が、造血幹細胞移植後の1回目の抗原刺激及び2回目以降の抗原刺激のいずれによるものかの判断もできる。つまり、当該タイミングが造血幹細胞移植後の抗原刺激から約2週間後であれば、解析対象の免疫反応が、造血幹細胞移植後の1回目の抗原刺激によるものと判断でき、当該タイミングが造血幹細胞移植後の抗原刺激から約1週間後であれば、解析対象の免疫反応が、造血幹細胞移植後の2回目以降の抗原刺激によるものと判断できる。

[0143] [試験例7]

論文からの引用により、インフルエンザHA抗原に結合可能なB細胞レセプターの抗原認識部位の約1300配列を独自に収集し、データベースを作成した。このデータベースを用い、インフルエンザ不活化ワクチン接種後における免疫反応（被験者はインフルエンザに既感染であるため、当該ワクチン接種による免疫反応は二次以降反応である。）BCRレパトアの解析を行った結果、

図23Aに示す通り、一致する配列が接種1週間後に増大（インフルエンザHA抗原の刺激による免疫反応）を確認できた。さらに、図23Bに示すin vitro実験により配列を収集し、このデータベースをさらに拡充した。配列収集を継続することによりさらに拡充されるデータベースは、同様に、当該免疫反応の評価に用いることができる。

請求の範囲

- [請求項1] 被験者の検体から取得した、免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むレパトアデータを用意する工程Aと、
特定の抗原に対する免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むデータベースと、前記レパトアデータとを照合し、前記レパトアデータの中から、前記データベースに含まれる前記配列とアミノ酸配列レベルで同一又は2個以下のアミノ酸残基以外の部分で同一である配列を検出する工程Bと、を含む、免疫反応の評価方法。
- [請求項2] 前記工程Bにより検出される配列の、前記レパトアデータにおける数及び／又は頻度を導出する工程Cをさらに含む、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記数及び／又は頻度の経時変化を確認する工程Dをさらに含む、請求項2に記載の方法。
- [請求項4] 前記工程Dにおいて、前記経時変化として増大が認められた時期が、前記特定の抗原による刺激後11～20日及び3～10日のいずれに該当するかを確認する、請求項3に記載の方法。
- [請求項5] 前記被験者が、前記特定の抗原の暴露を受けた被験者である、請求項1～4のいずれかに記載の方法。
- [請求項6] 前記特定の抗原の暴露がワクチンの接種である、請求項5に記載の方法。
- [請求項7] 前記ワクチンが核酸ワクチンである、請求項6に記載の方法。
- [請求項8] 前記ワクチンがコロナウイルスワクチン又はインフルエンザワクチンである、請求項6に記載の方法。
- [請求項9] 前記数及び／又は頻度の経時変化として増大が確認された前記配列について、前記データベースに収載された付加情報を確認することで、前記核酸ワクチンの科学的妥当性を評価する工程Eをさらに含み、前記付加情報が、[1] 抗原に対する中和活性の有無の情報、[2] 抗原の種又は株の情報、及び[3] エピトープの情報からなる群よ

り選択され、

前記科学的妥当性の評価が、〔1〕前記中和活性が有ることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが中和活性を持つ抗体を産生する臨床的有効性を持つと評価すること、〔2〕前記種又は前記株が、前記核酸ワクチンの設計上の標的抗原の種又は株と同じであることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが前記標的抗原に適合していると評価すること、及び〔3〕前記エピトープが、前記核酸ワクチンの設計上の標的エピトープと同じであることを確認した場合に、前記核酸ワクチンが前記標的エピトープに適合していると評価すること、からなる群より選択される、請求項7に記載の方法。

[請求項10] 前記数及び／又は頻度の経時変化として増大が確認された前記配列が、前記データベースに含まれる前記配列とアミノ酸配列レベルで同一である場合に、前記核酸ワクチンの科学的妥当性として、感染による獲得免疫による抗体と抗原認識部位が完全一致する抗体の産生能を有すると評価する工程E'をさらに含む、請求項7に記載の方法。

[請求項11] 前記特定の抗原の暴露が感染である、請求項5に記載の方法。

[請求項12] 前記特定の抗原がコロナウイルス又はインフルエンザウイルスである、請求項11に記載の方法。

[請求項13] 前記被験者が、抗体薬を投与された、ワクチンを接種された、並びに／若しくは、感染を受けた被験者であり、

前記抗体薬、前記ワクチン、及び前記感染の病原体が、前記特定の抗原の暴露により生じる抗体とは異なる他の抗体を前記被験者の体内に保有させる、請求項5に記載の方法。

[請求項14] 前記特定の抗原がワクチンであり、
前記数及び／又は頻度が経時的に増大する場合に、前記ワクチンが機能すると判断する工程Fをさらに含む、請求項13に記載の方法。

[請求項15] 前記検体が、前記特定の抗原に対する免疫細胞レセプターのmRNAの活性化時期に採取されたものである、請求項5に記載の方法。

- [請求項16] 前記活性化時期が、前記暴露後 11～20日又は3～10日である、請求項15に記載の方法。
- [請求項17] 前記被験者ががん免疫療法を受けた被験者である、請求項1～3のいずれかに記載の方法。
- [請求項18] 前記検体が、前記特定の抗原に対する免疫細胞レセプターのmRNAの活性化時期に採取されたものである、請求項16に記載の方法。
- [請求項19] 前記活性化時期が、前記がん免疫療法後 11～20日又は3～10日である、請求項17に記載の方法。
- [請求項20] 前記被験者が、免疫抑制処置を受けた被験者である、請求項1～4のいずれかに記載の方法。
- [請求項21] 前記免疫抑制処置が、造血幹細胞移植又はB細胞枯渇療法の投与である、請求項20に記載の方法。
- [請求項22] 前記免疫抑制処置が、造血幹細胞移植又はB細胞枯渇療法であり、前記数及び／又は頻度の経時変化が増大したか否かに基づいて、免疫機能の回復の有無を判定する工程Gをさらに含む、請求項21に記載の方法。
- [請求項23] 前記被験者が自己免疫疾患患者である、請求項1～4のいずれかに記載の方法。
- [請求項24] 前記レパトアデータが、過去に出現したウイルス株ST1に対するワクチンの接種を受けた被験者の検体から取得したものであり、
前記特定の抗原が、前記ワクチンによる有効性が未知であるウイルス株ST2であり、
前記検出される配列が存在する場合に、前記ワクチンが前記ウイルス株ST2にも有効と評価する工程Hをさらに含む、請求項1に記載の方法。
- [請求項25] 前記データベースが、前記特定の抗原による免疫反応が起きた調査対象からなる集団から収集した、前記特定の抗原に対する前記免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列を含み、以下の工程により得られ

るものである、請求項 1 に記載の方法：

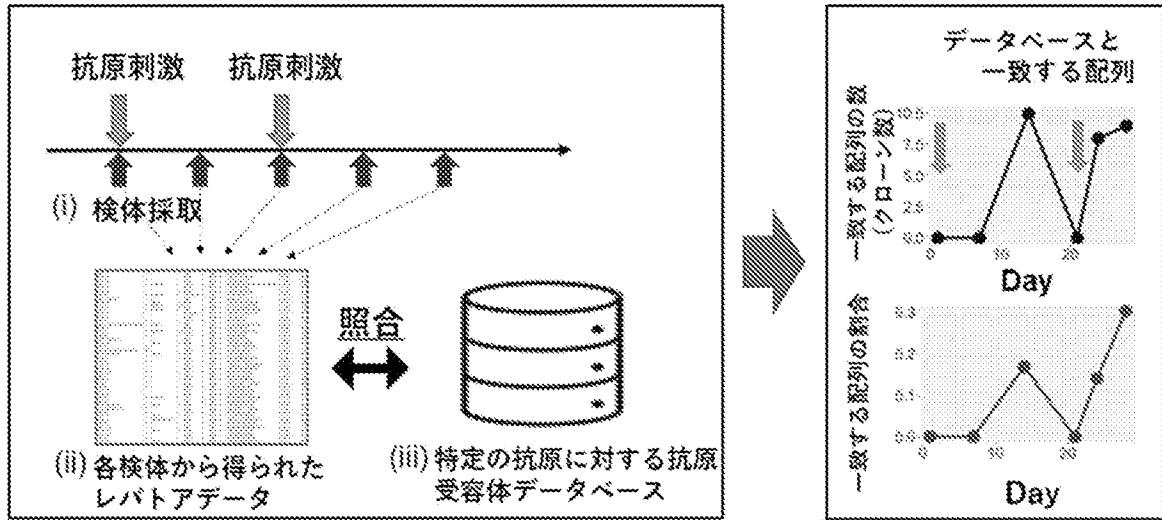
前記調査対象それぞれの検体から、前記免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列の群を含むレパトアデータであって、前記特定の抗原に対する免疫細胞レセプターの mRNA の活性化時期 T_{ex} 、前記活性化時期の前 T_{bf} 、及び前記活性化時期の後 T_{af} におけるレパトアデータを時系列で取得する工程、及び

前記活性化時期 T_{ex} において増殖が認められる免疫細胞レセプターの抗原認識部位の配列を、前記データベースに収集すべき情報として選定する工程。

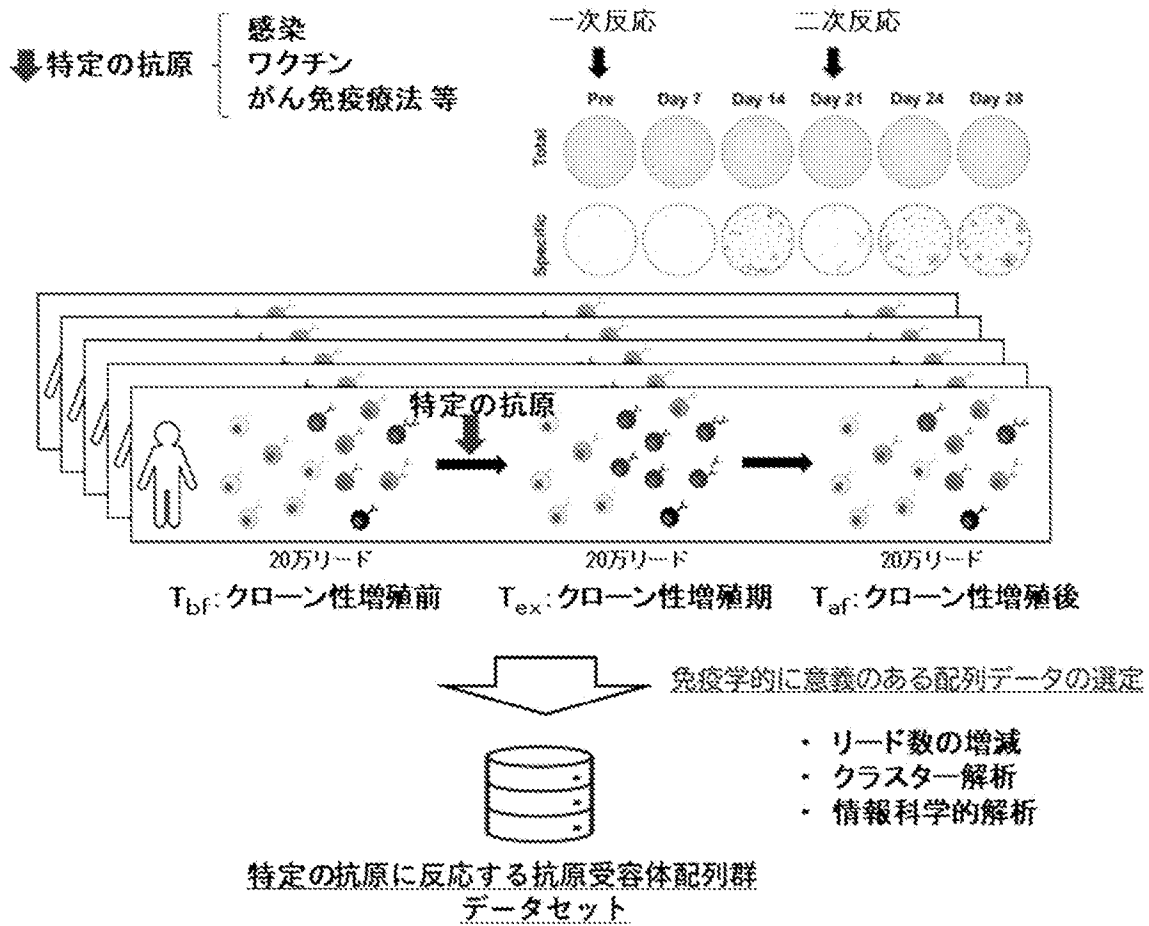
[請求項 26] 活性化時期 T_{ex} が、前記特定の抗原による刺激後 11～20 日又は 3～10 日である、請求項 25 に記載の方法。

[請求項 27] 前記免疫細胞が、T 細胞又は B 細胞である、請求項 1 に記載の方法。

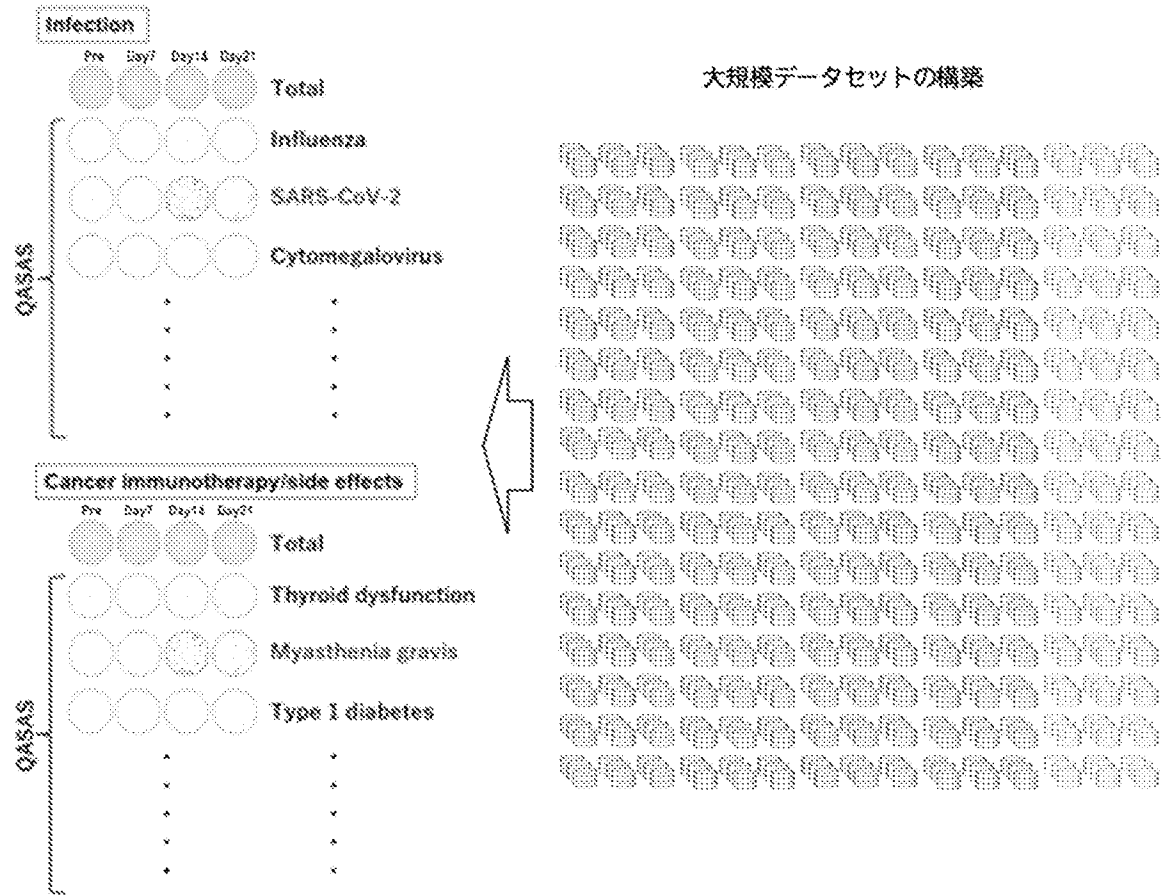
[図1]



[図2]

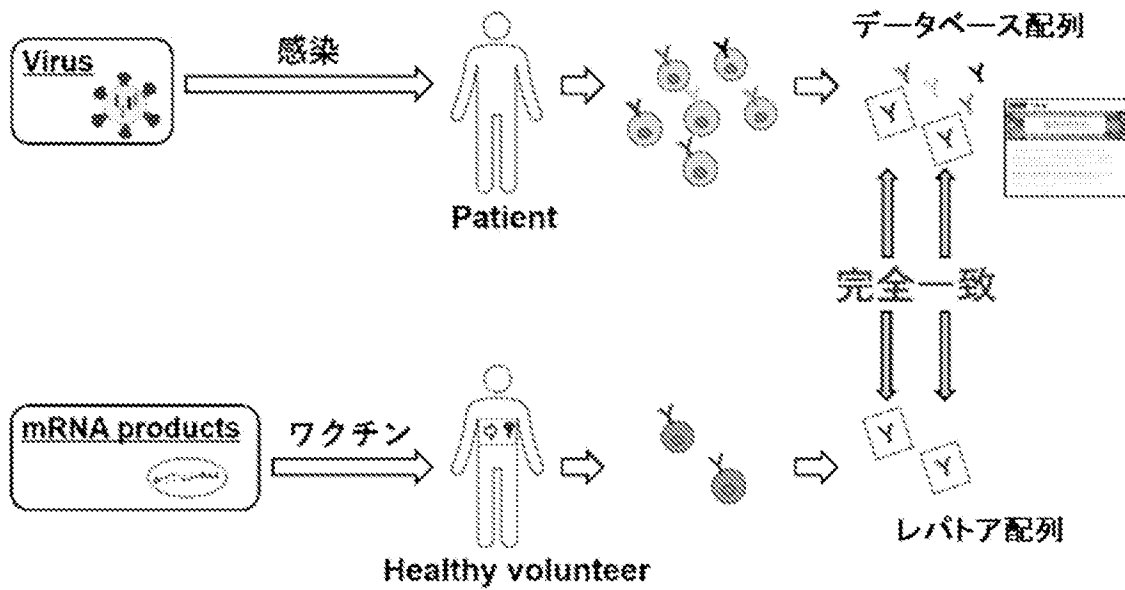


[図3]

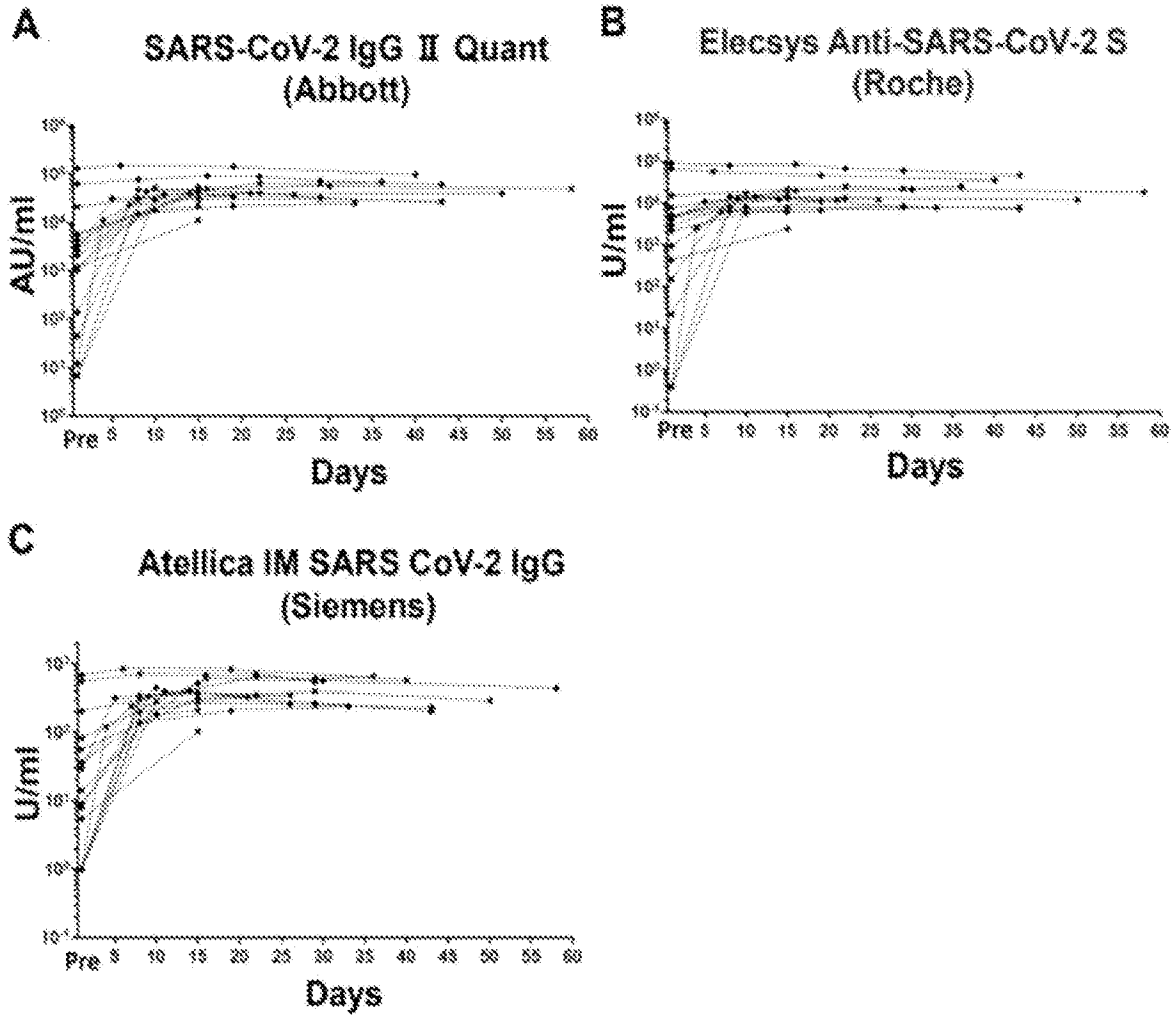


生体で起きているあらゆる免疫反応(感染/がん免疫/自己免疫反応等)をとらえることができる。

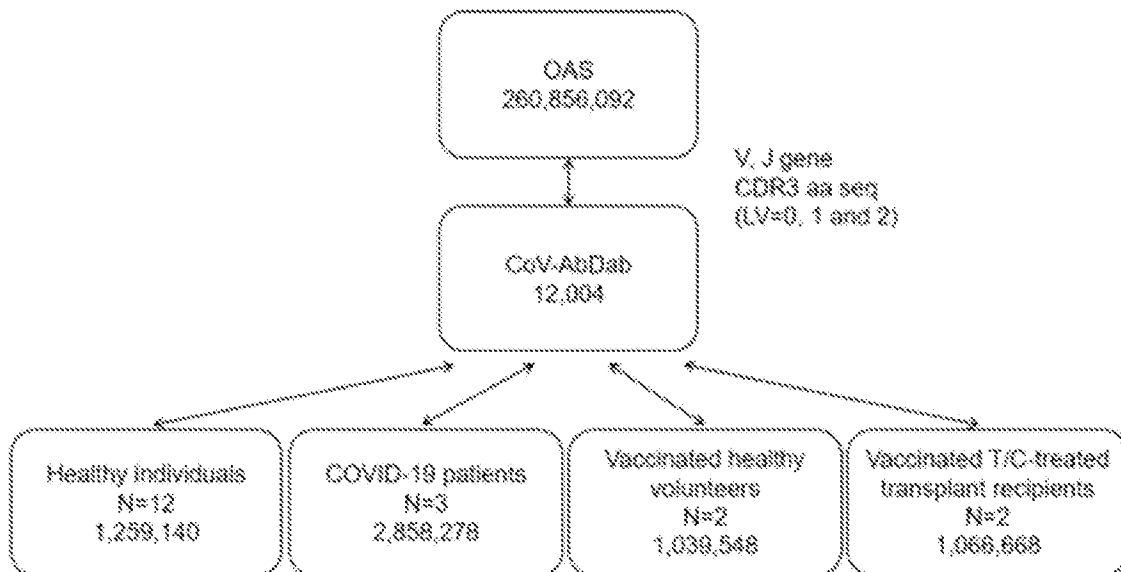
[図4]



[5]

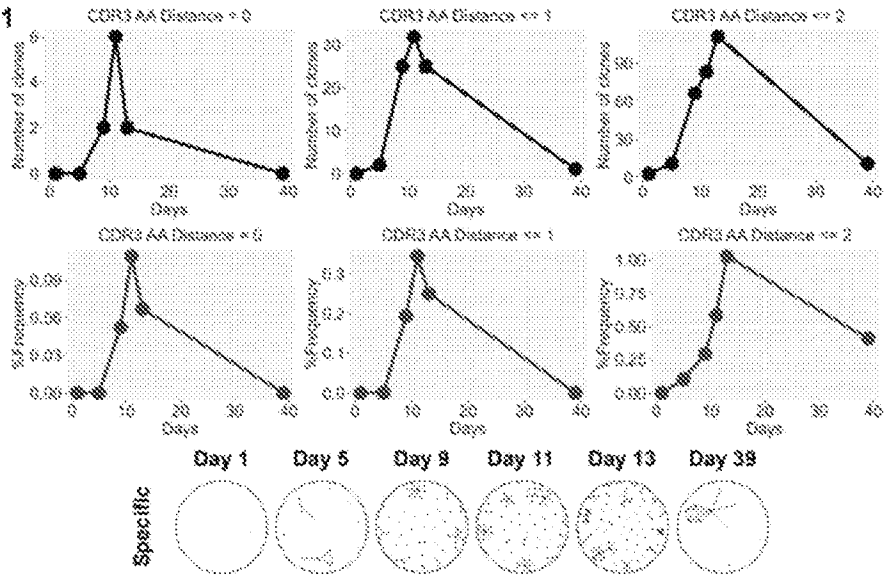


[6A]

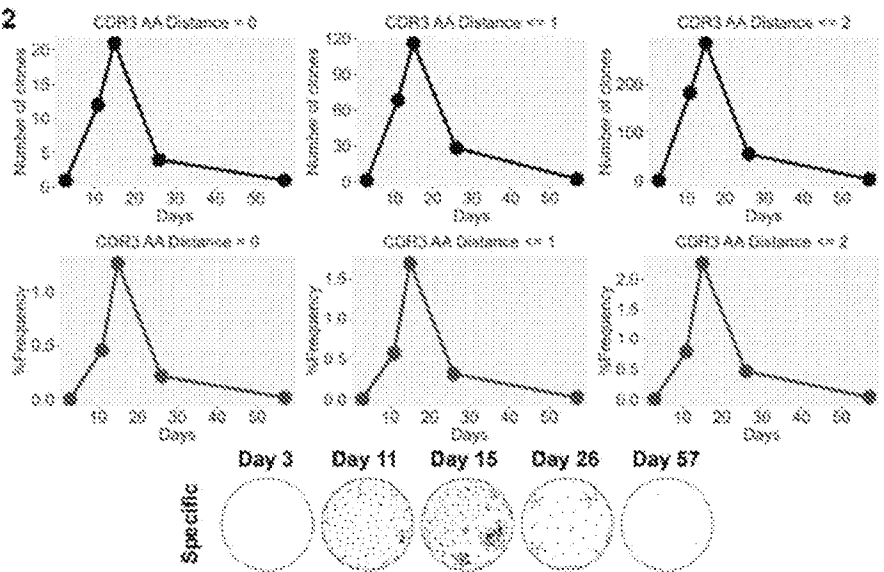


[6B]

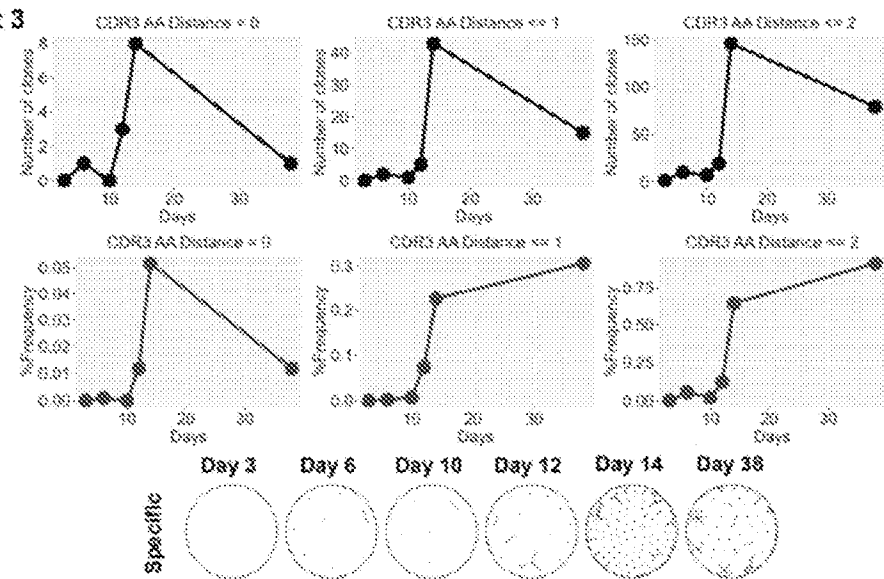
COVID-19 Patient 1



COVID-19 Patient 2

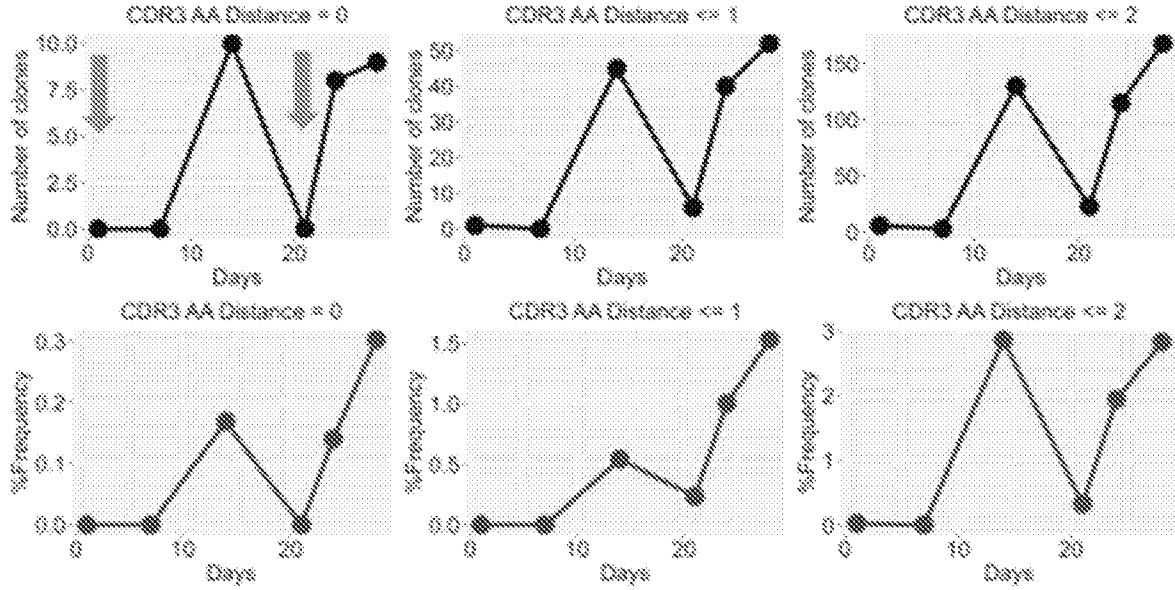


COVID-19 Patient 3



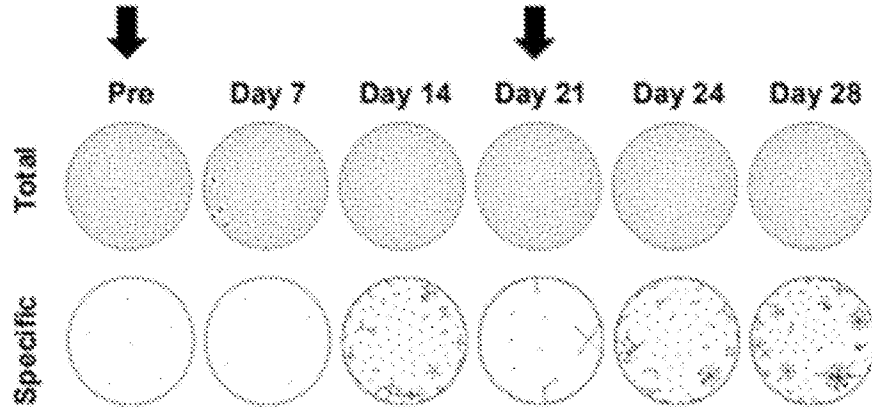
[7A]

Healthy volunteer 1 (monovalent BNT162b2)



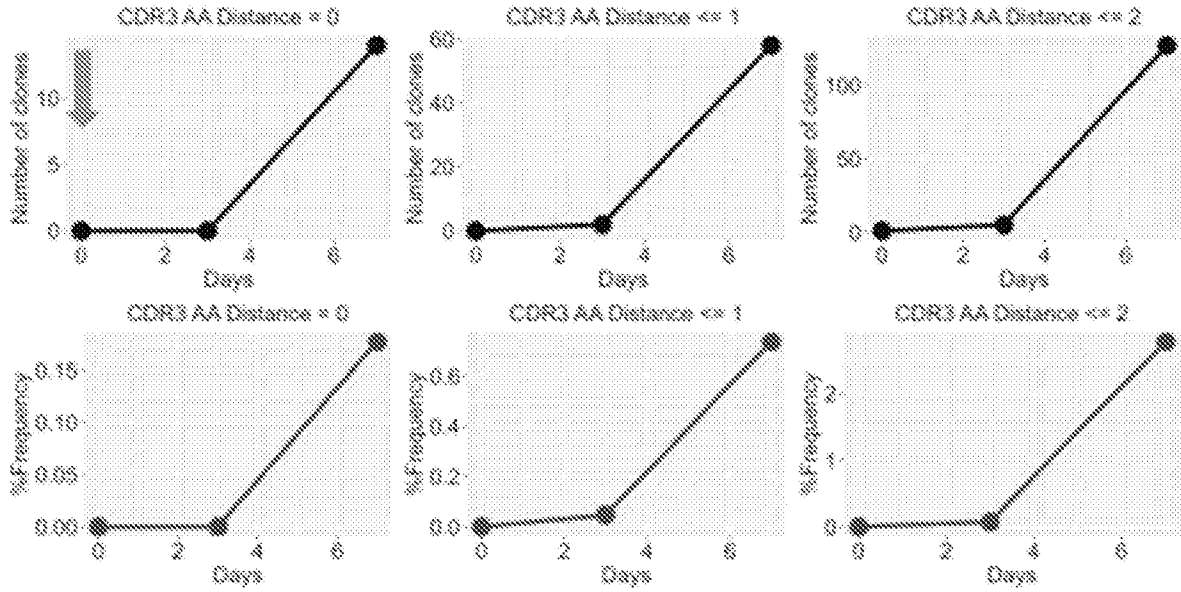
1st vaccination

2nd vaccination

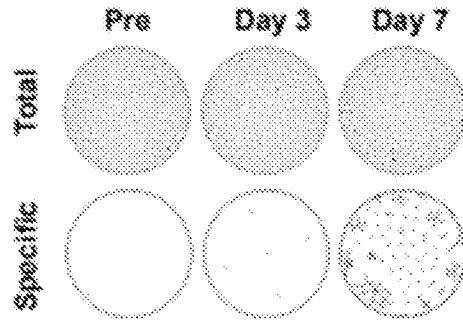


[7B]

Healthy volunteer 1 (bivalent BNT162b2)

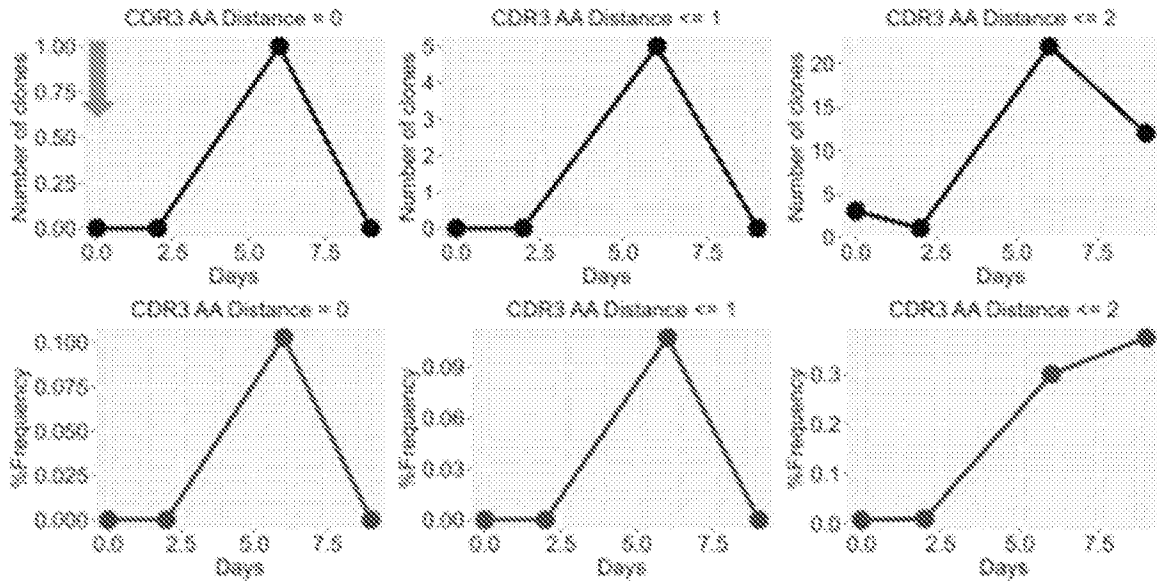


5th vaccination

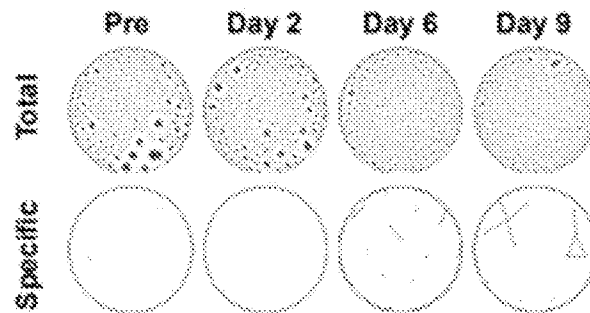


[7C]

Healthy volunteer 2 (monovalent mRNA-1273)

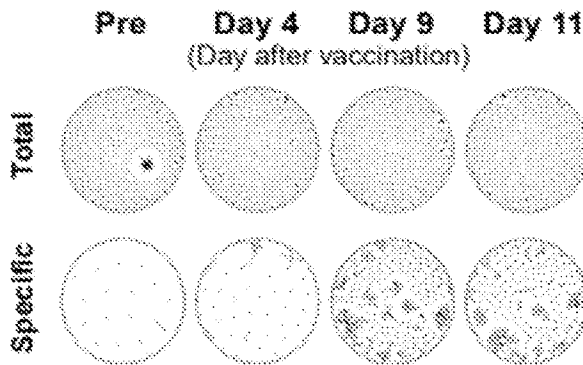
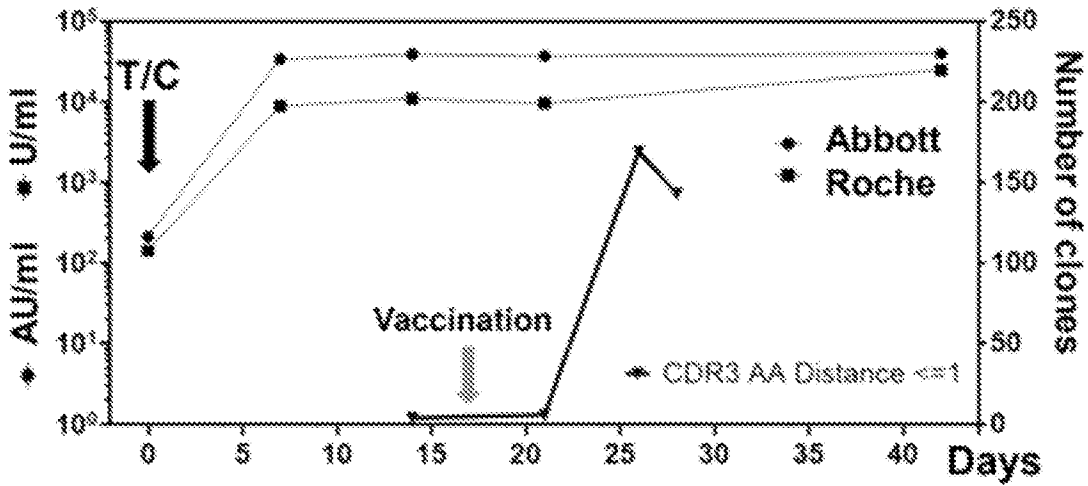
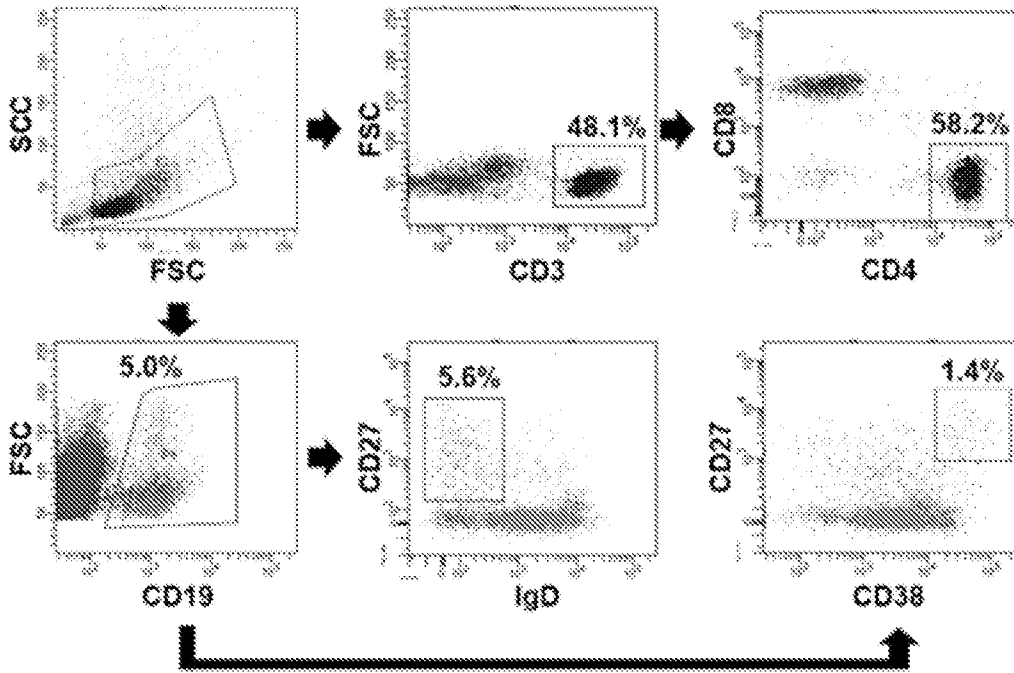


4th vaccination



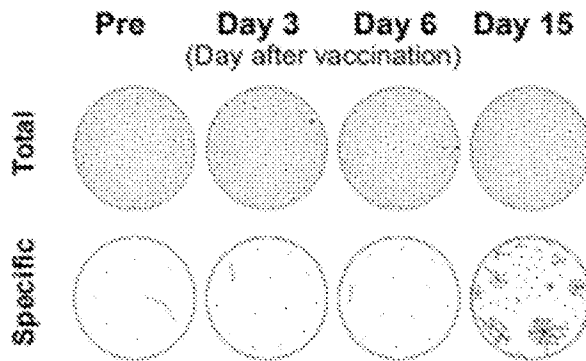
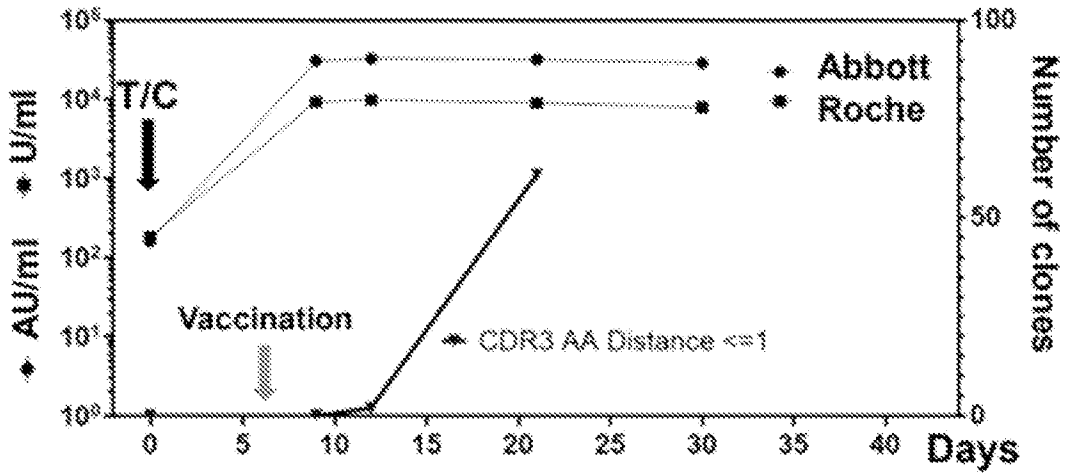
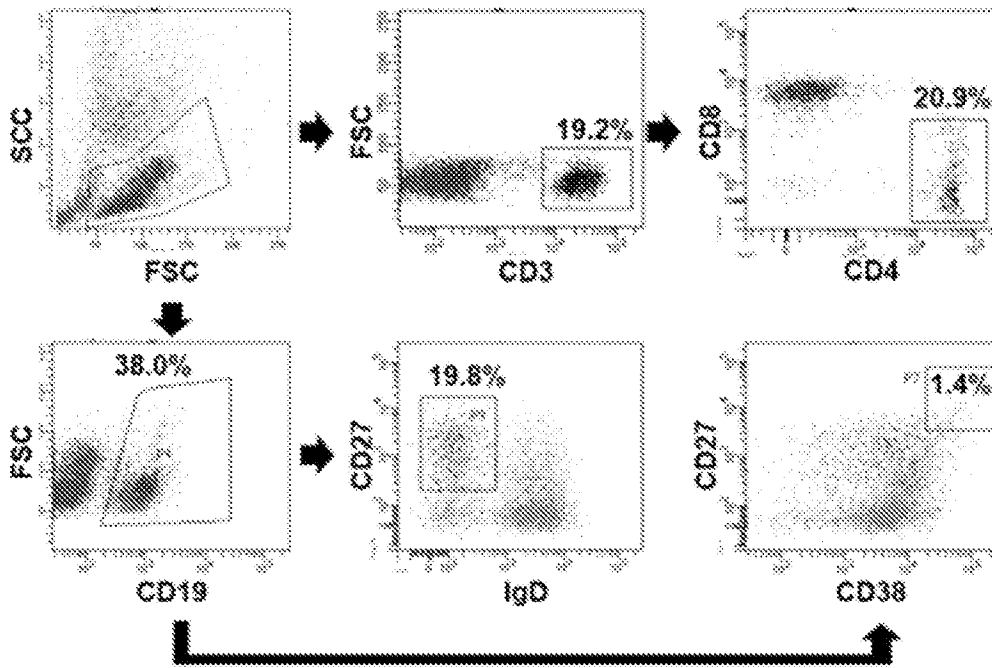
[8A]

T/C Patient 1

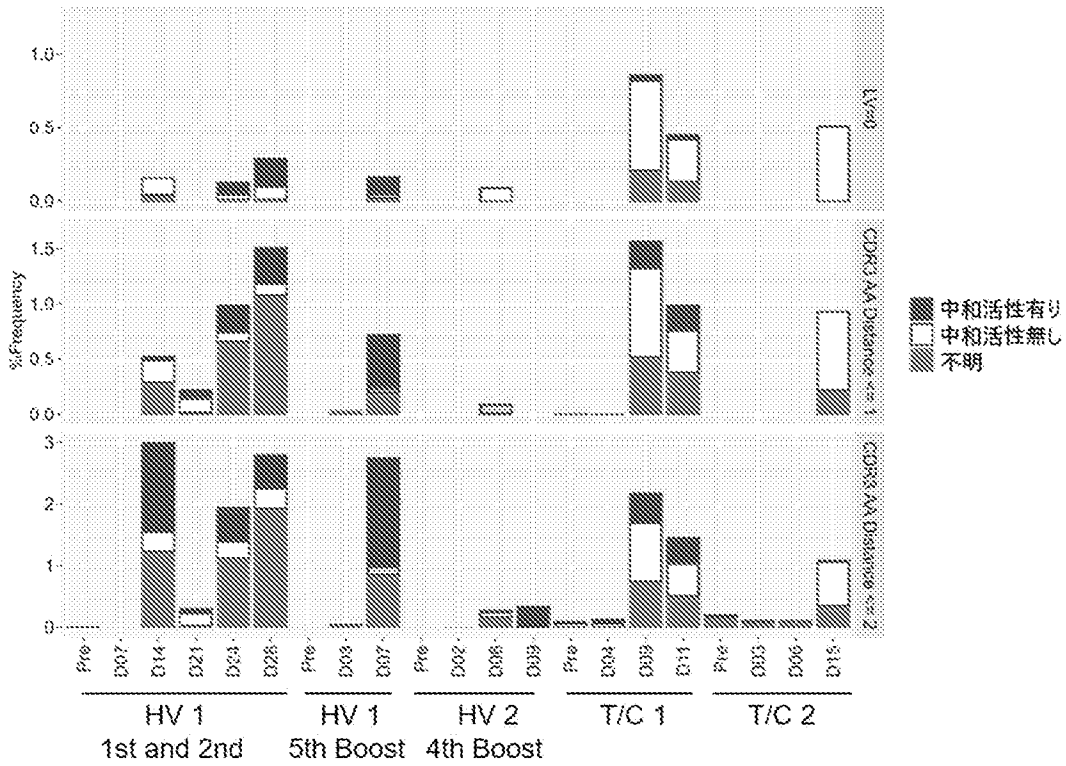
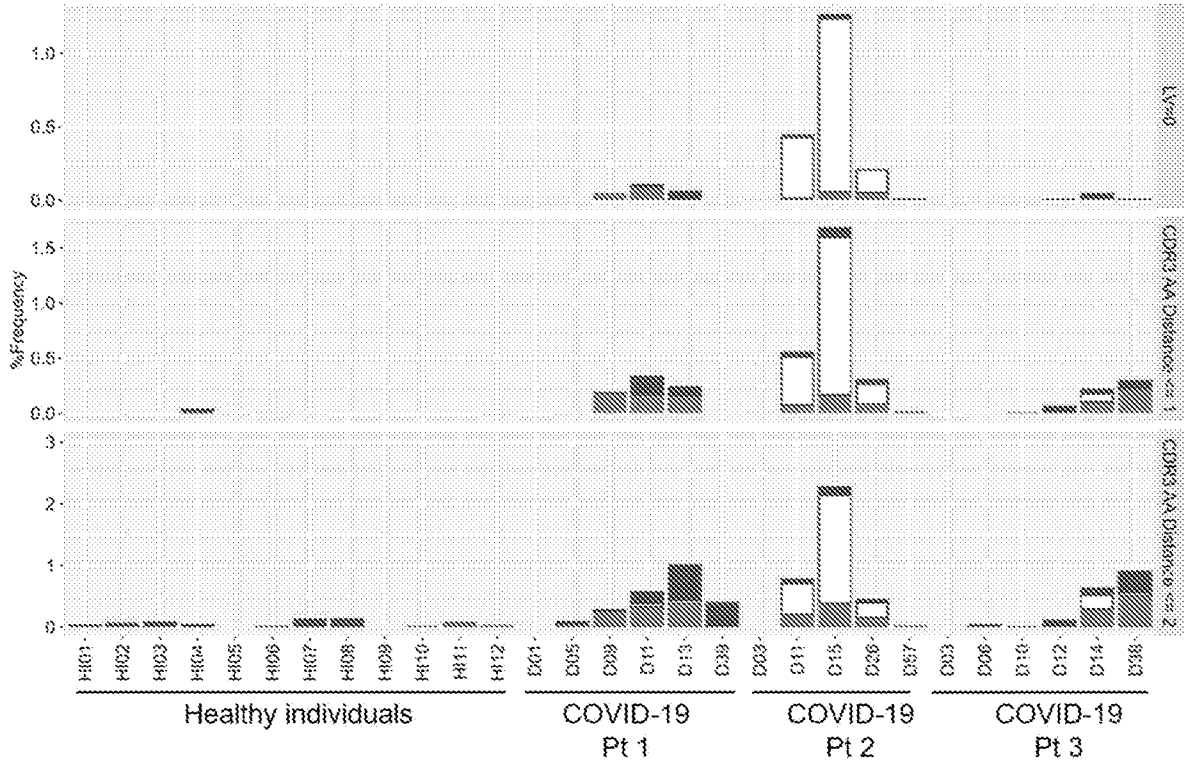


[8B]

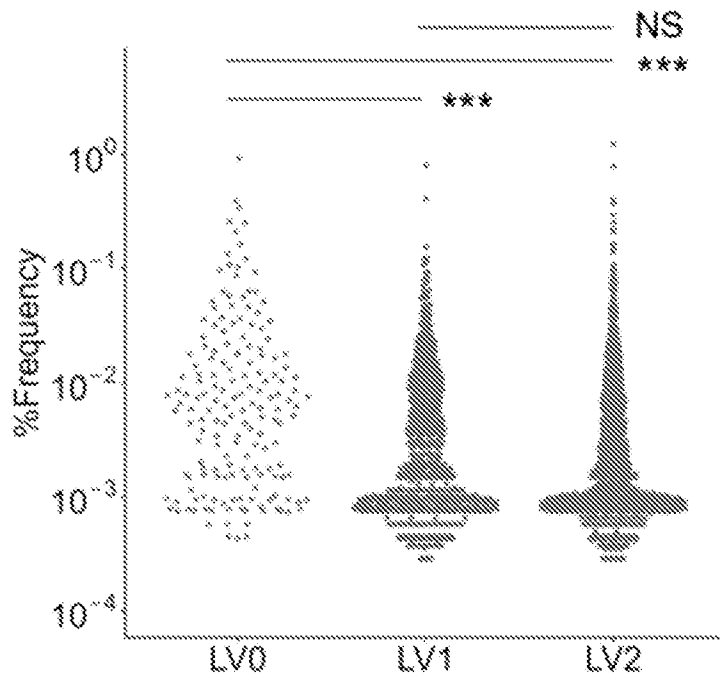
T/C Patient 2



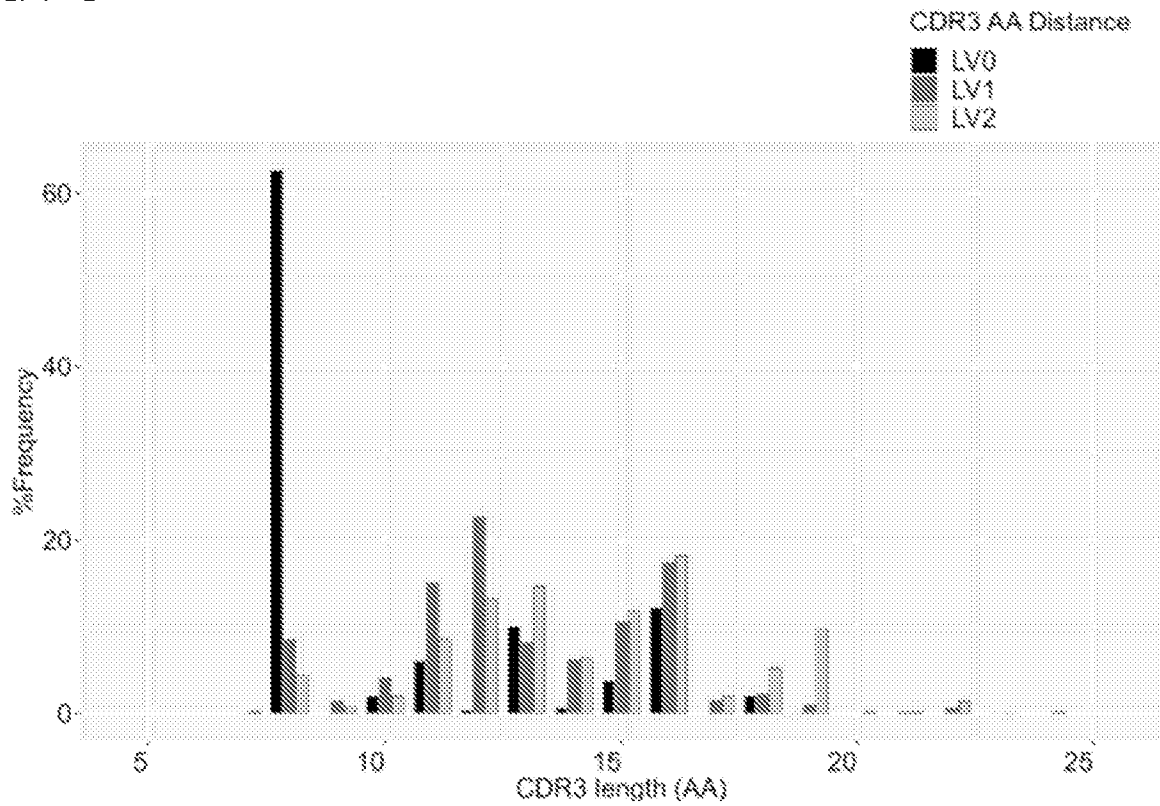
[図9A]



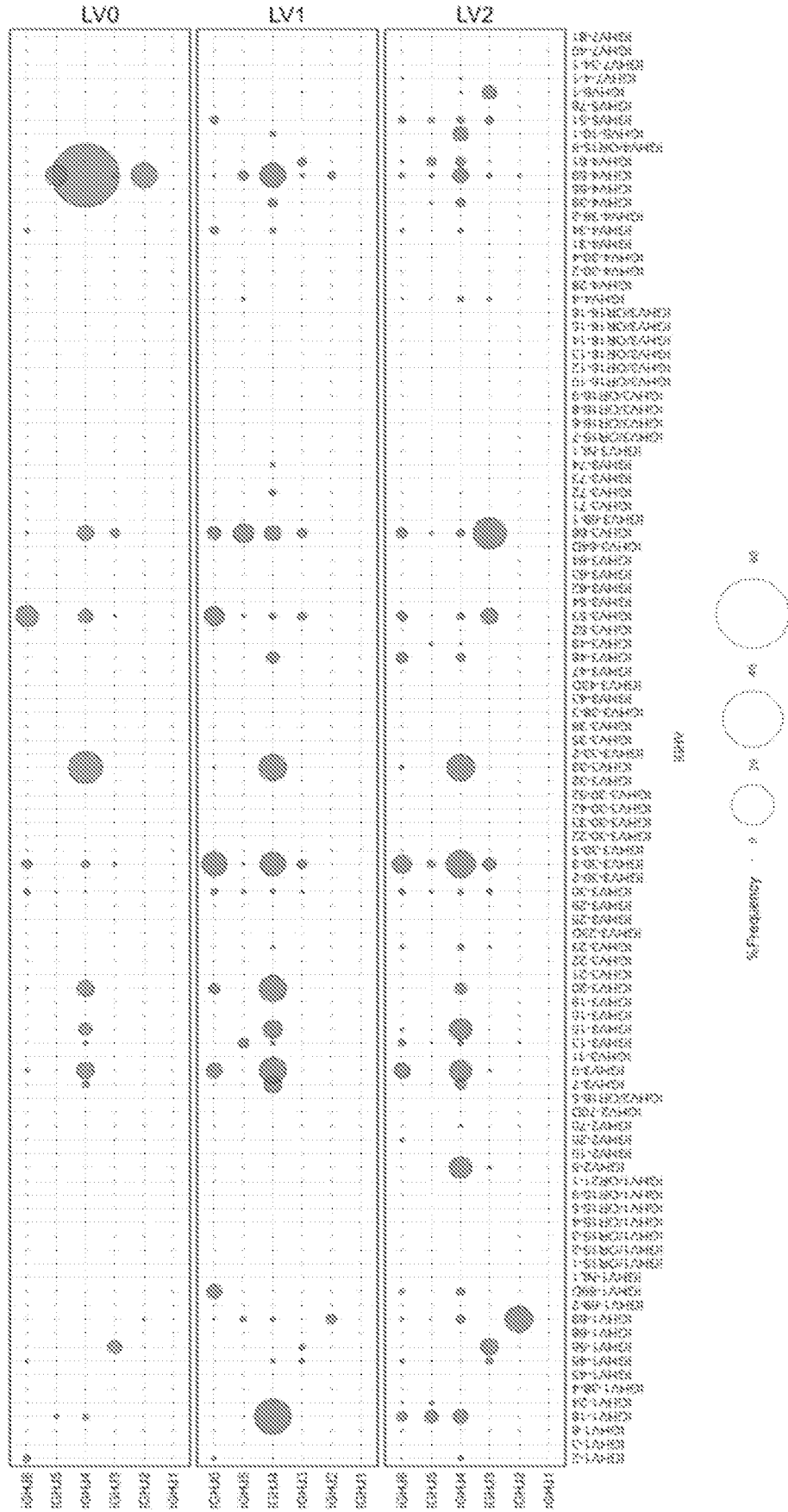
[9B]



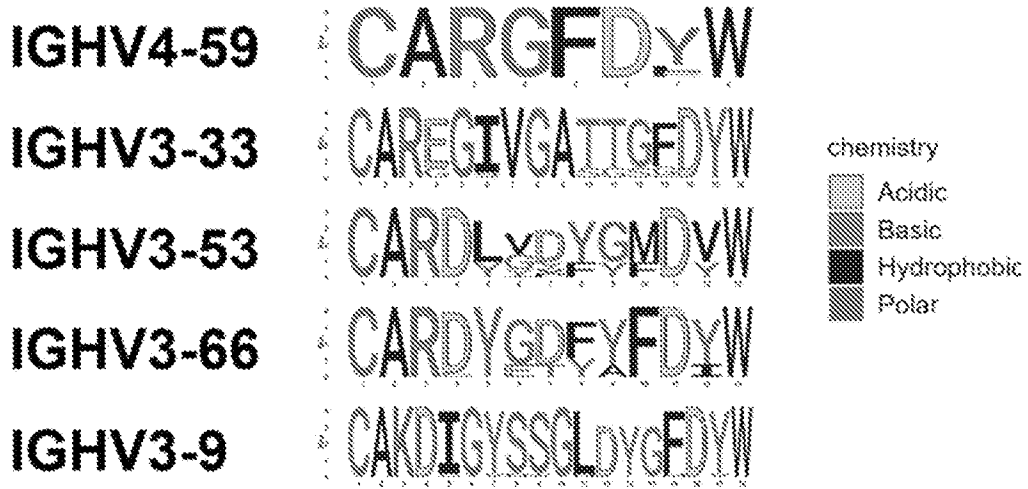
[9C]



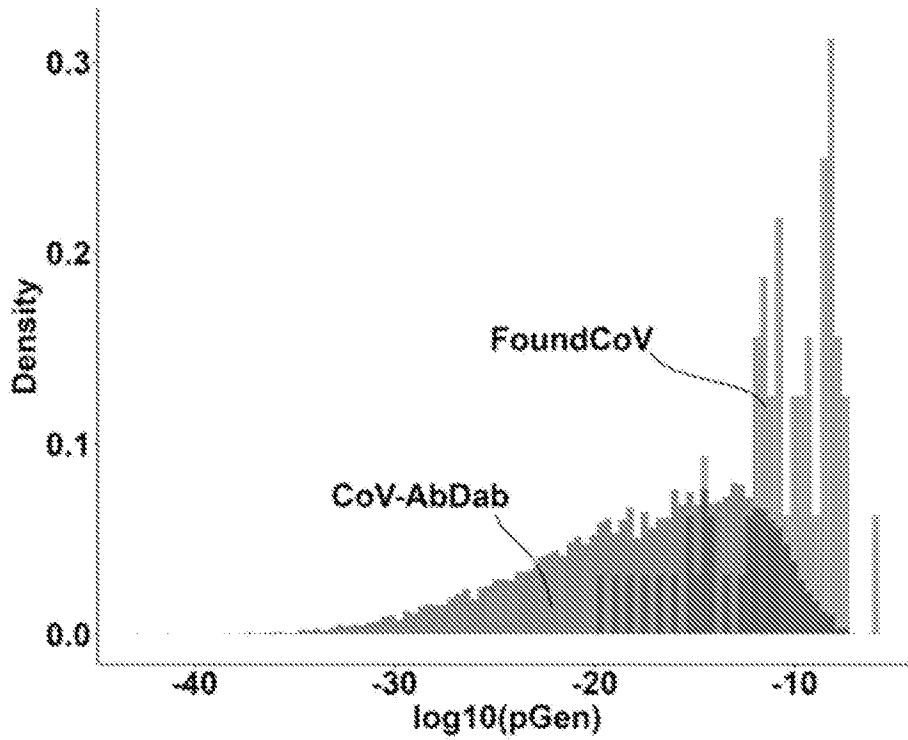
[9D]



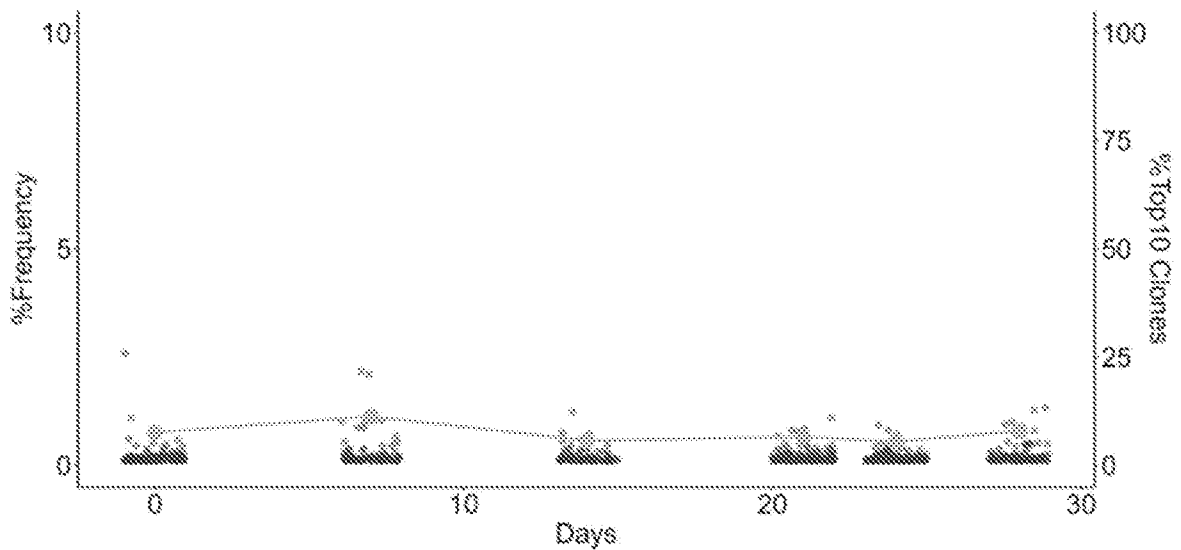
[10A]



[10B]

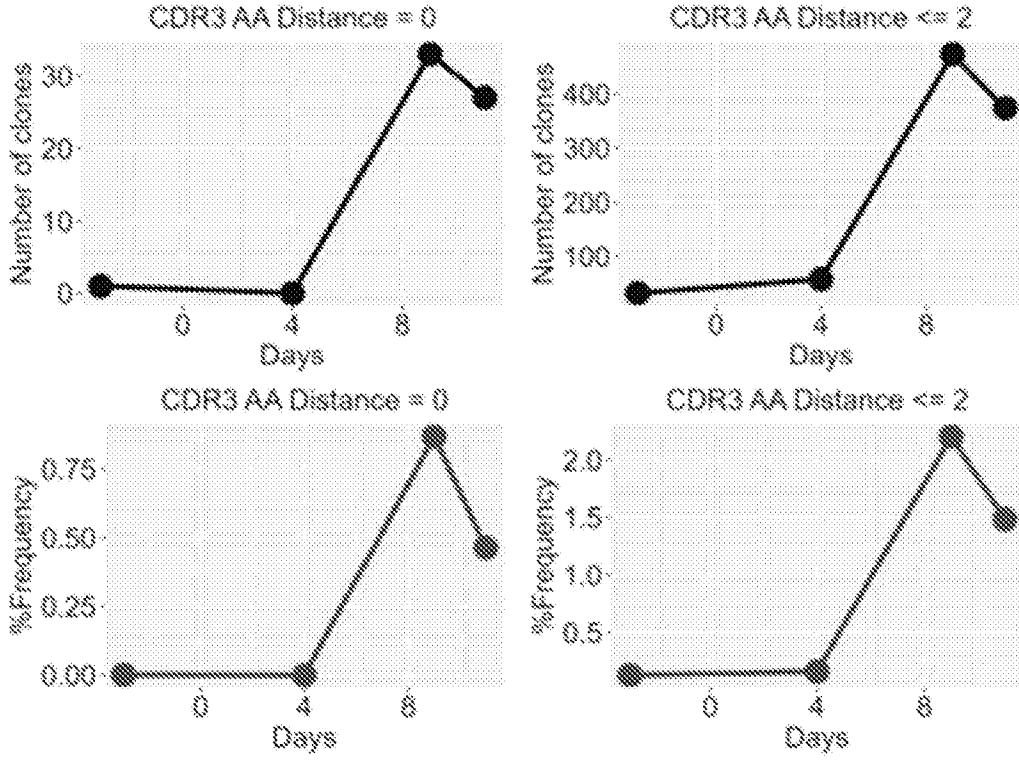


[11]

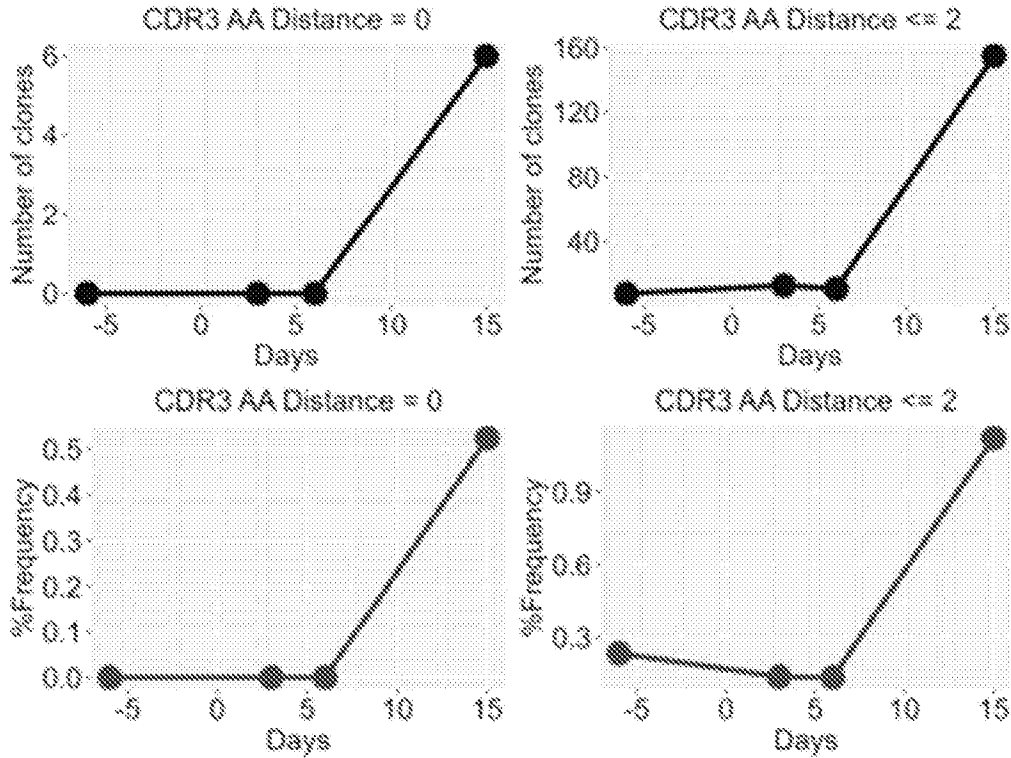


[圖12]

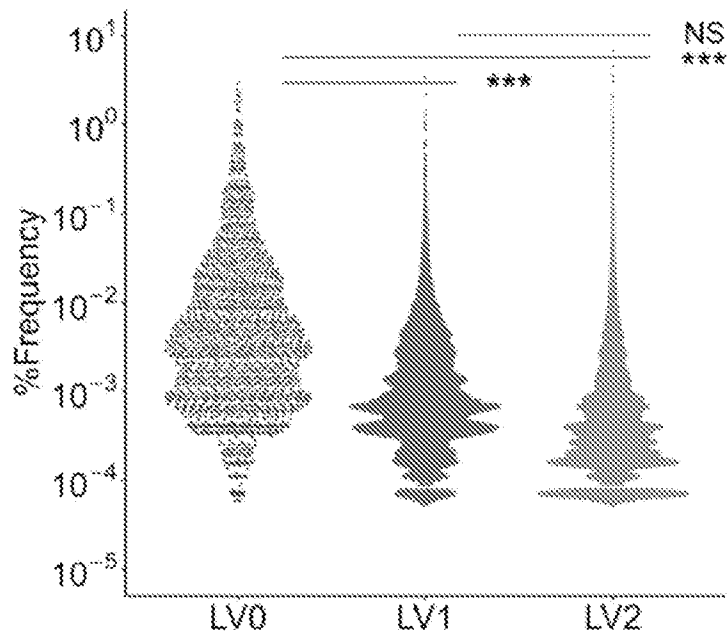
T/C Patient 1



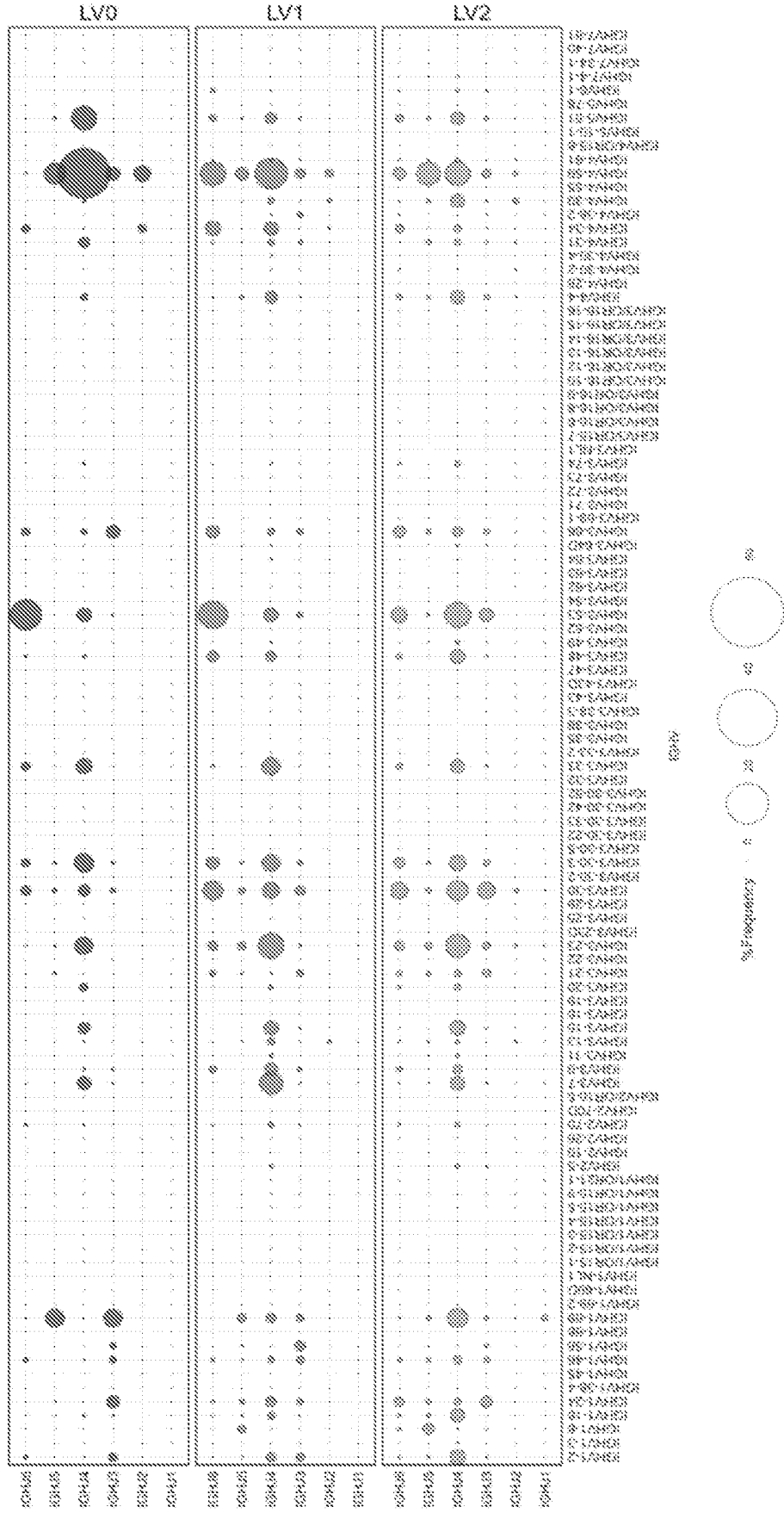
T/C Patient 2



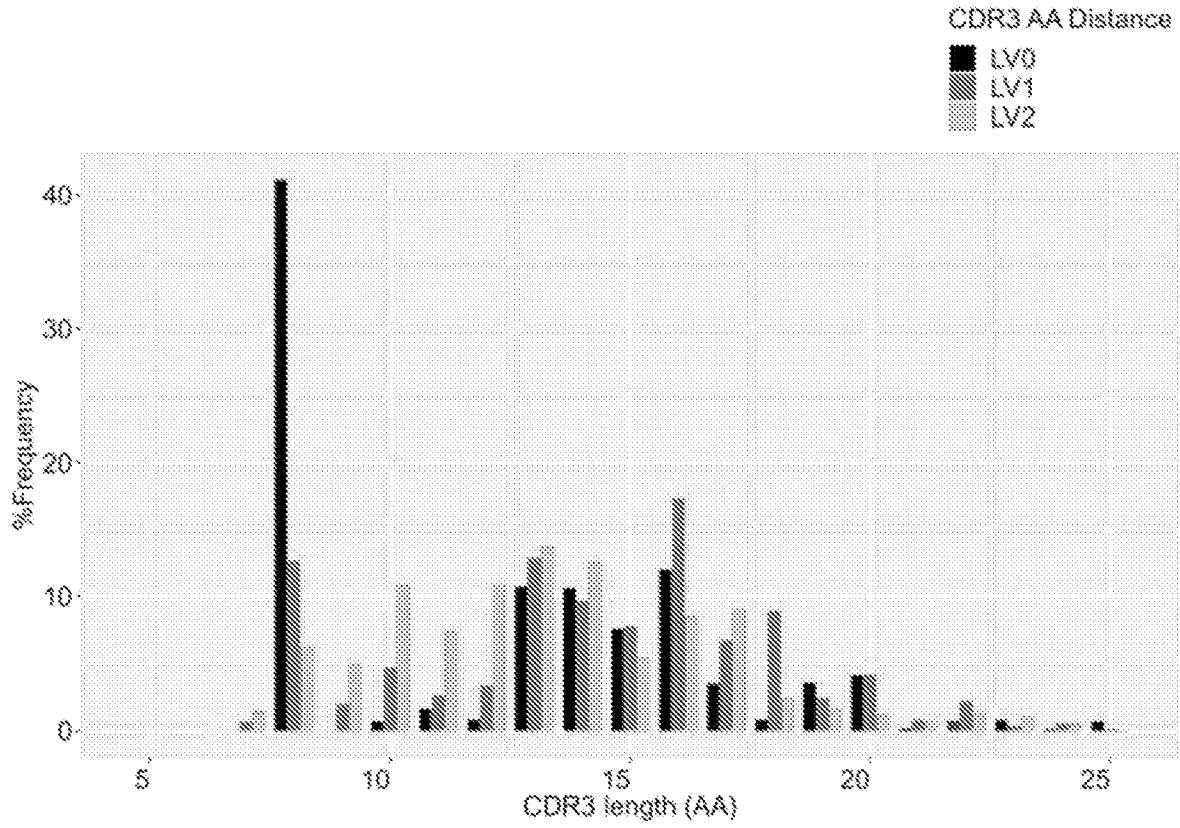
[]13



[図14]



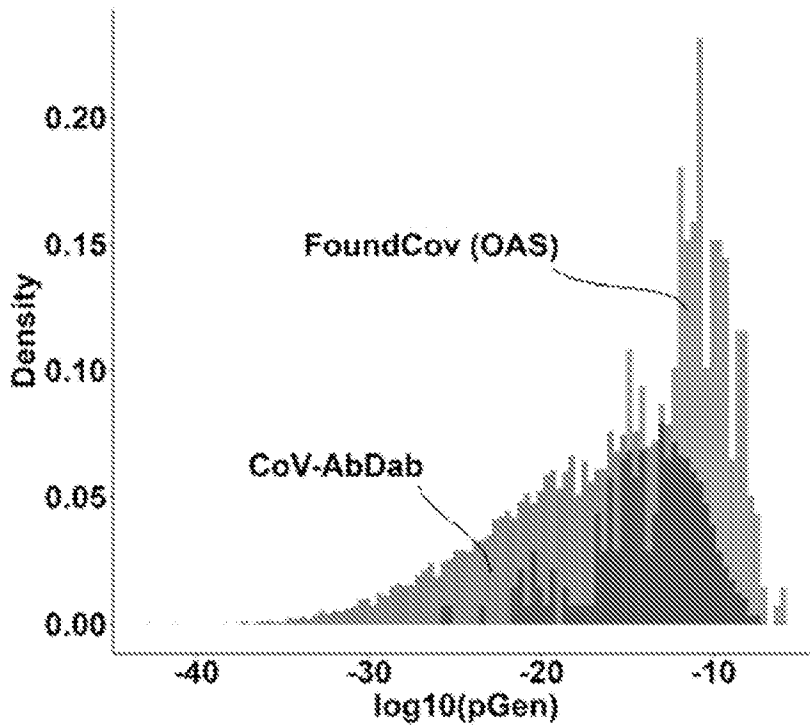
[15A]



[15B]

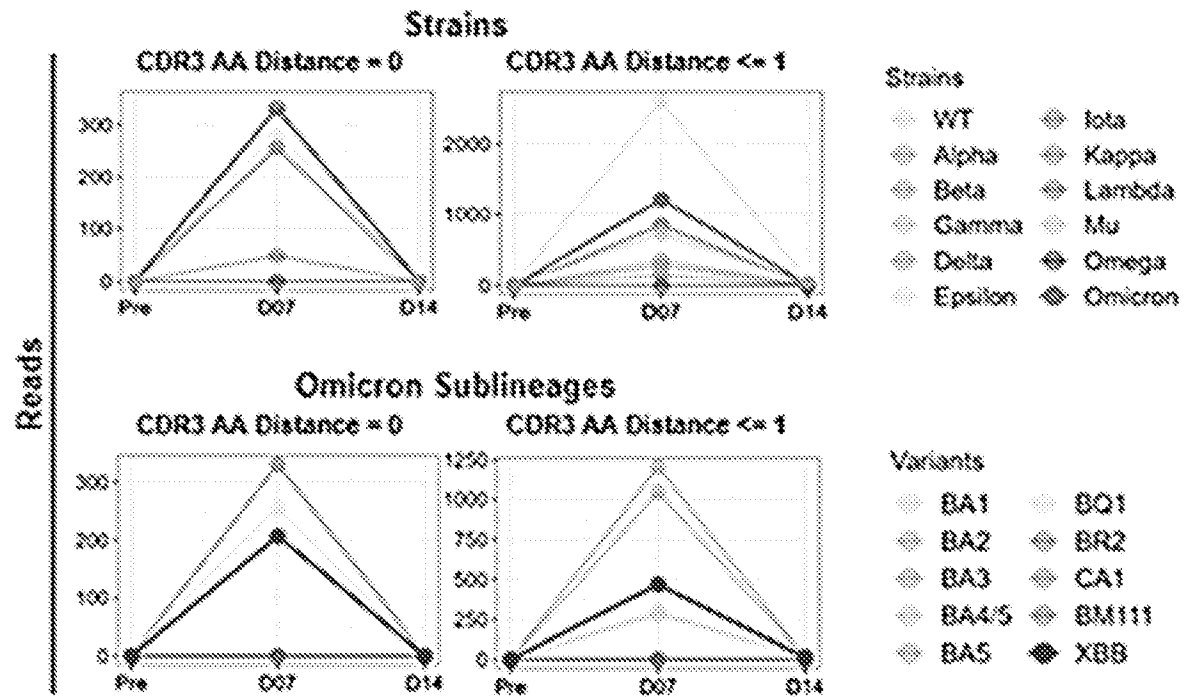
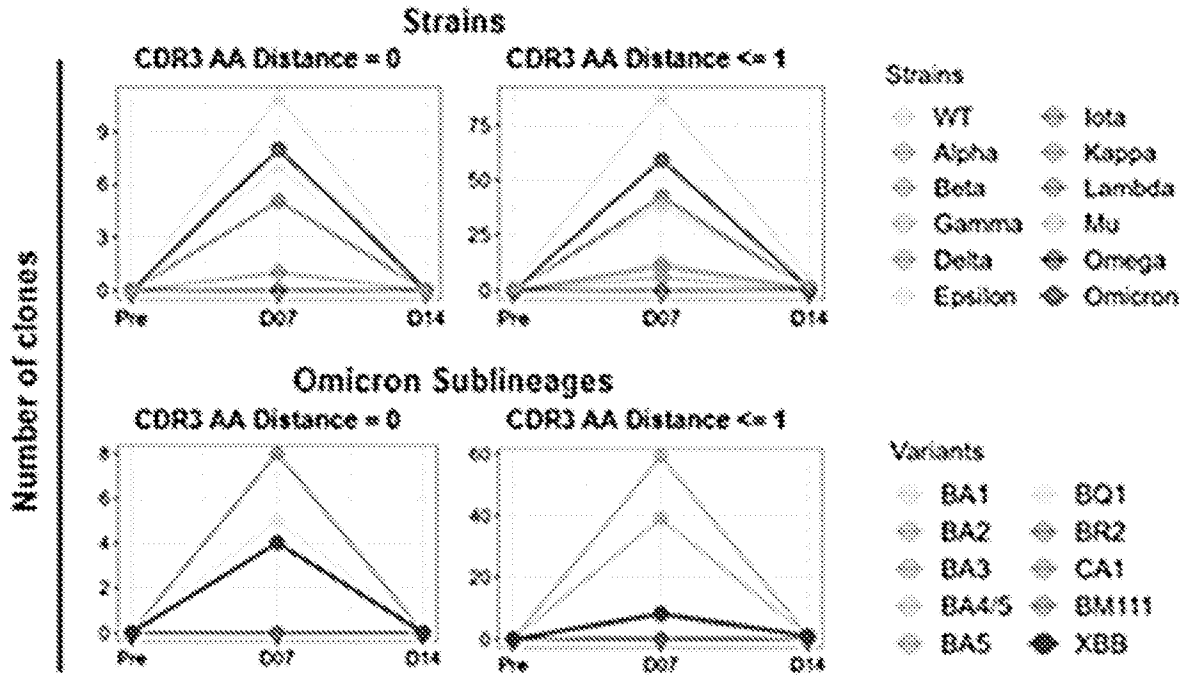


[16]



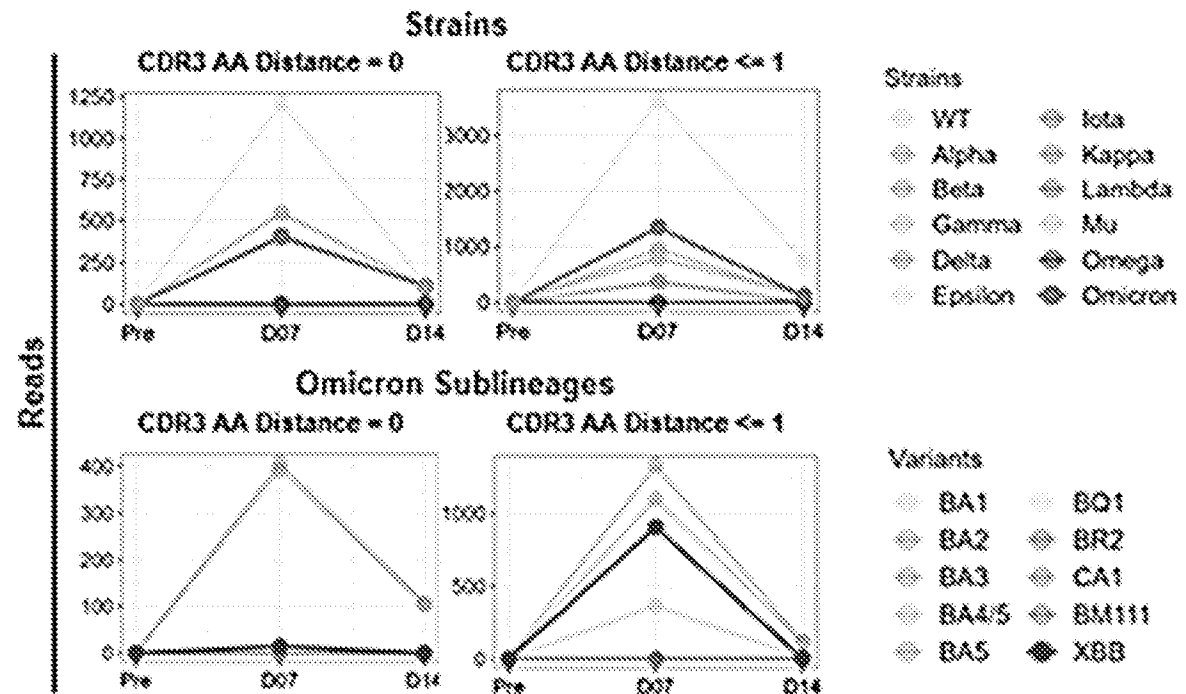
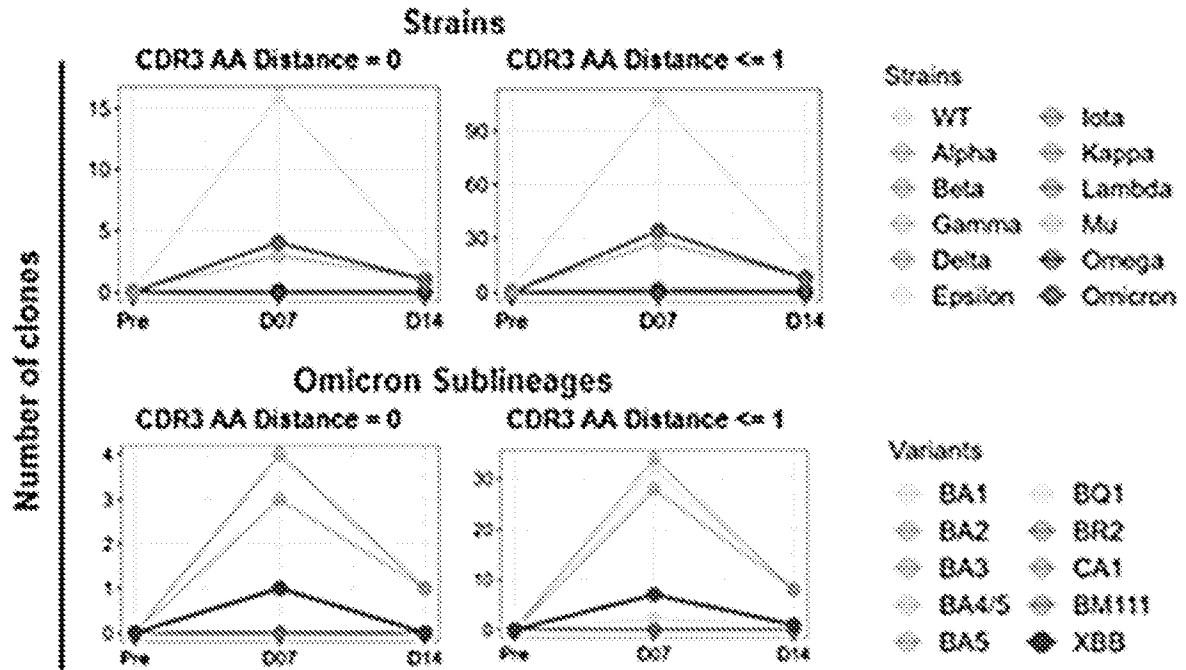
[17A]

Healthy volunteer 1



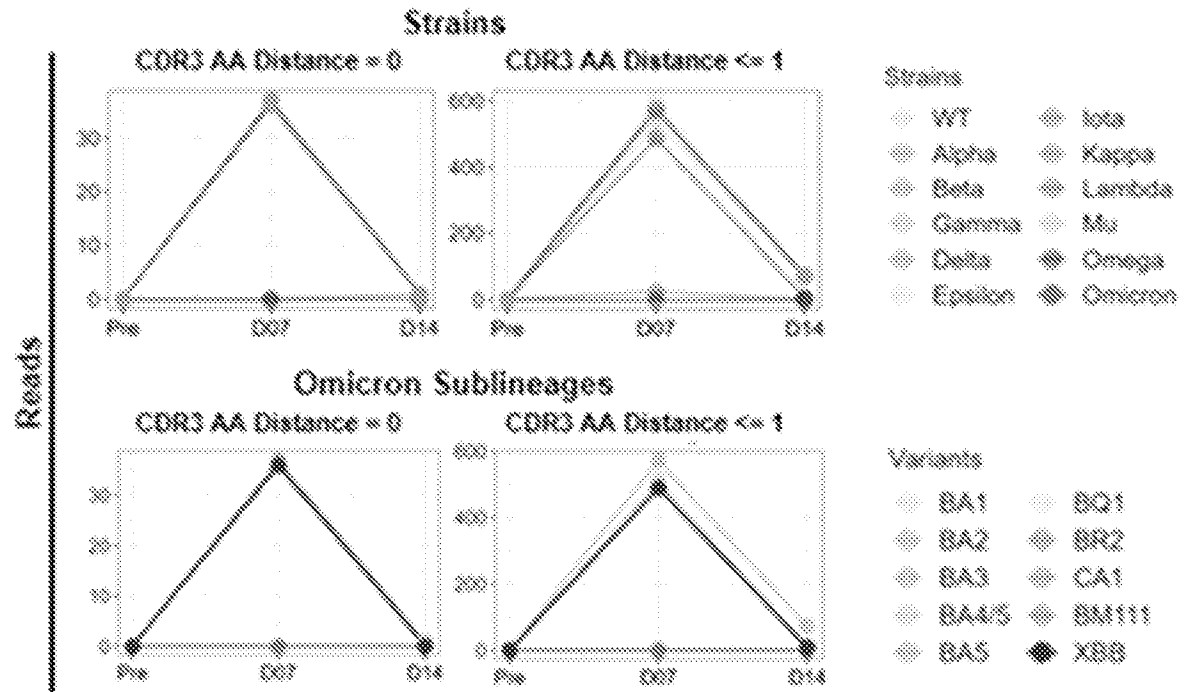
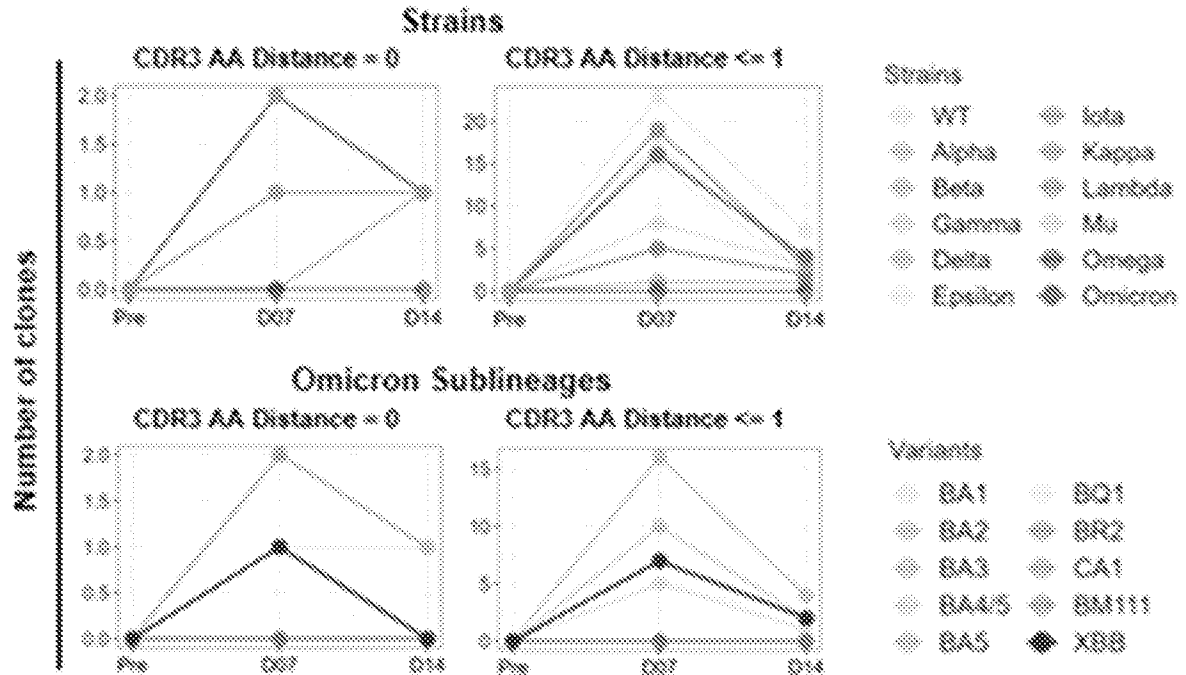
[17B]

Healthy volunteer 2

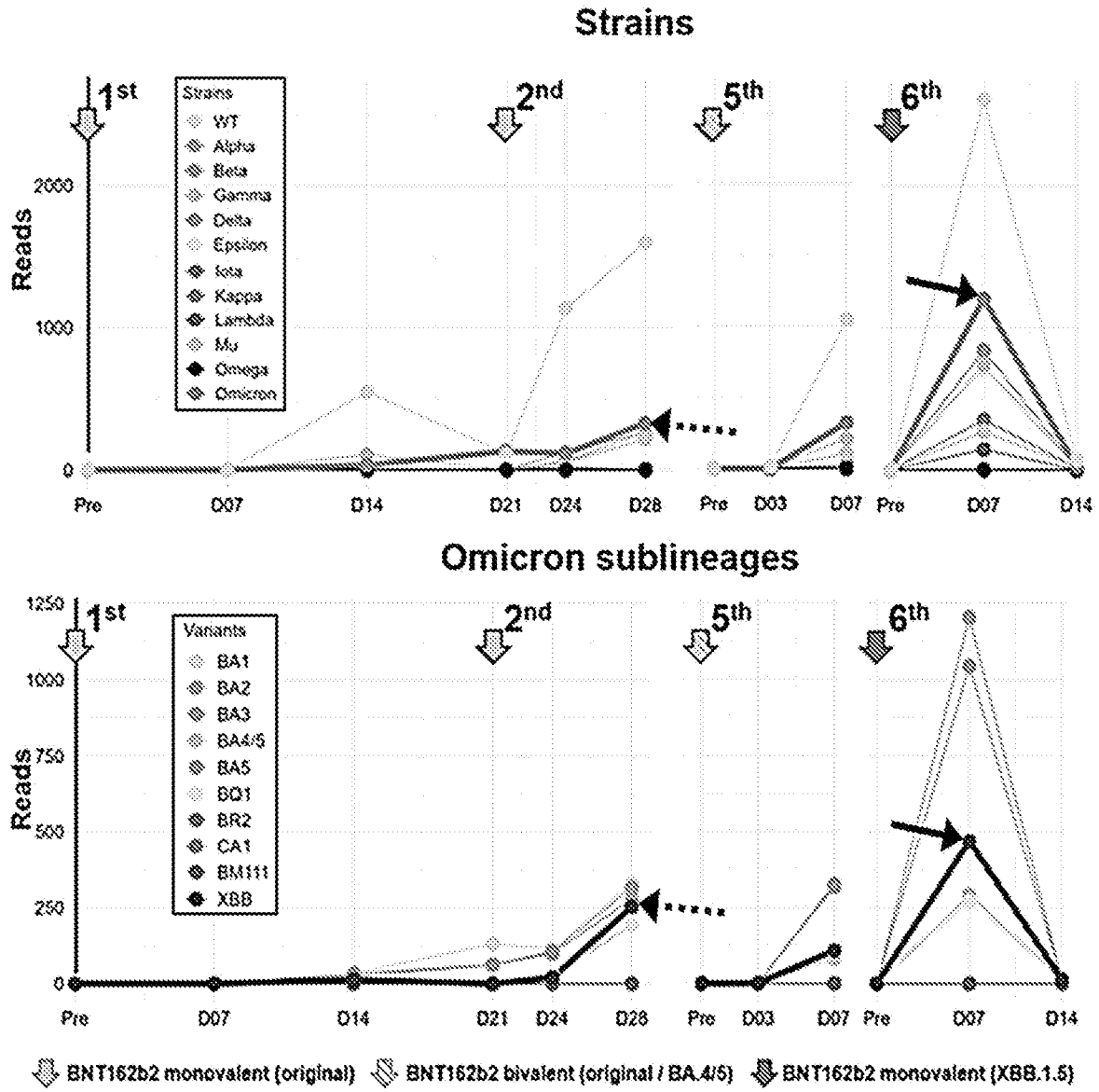


[17C]

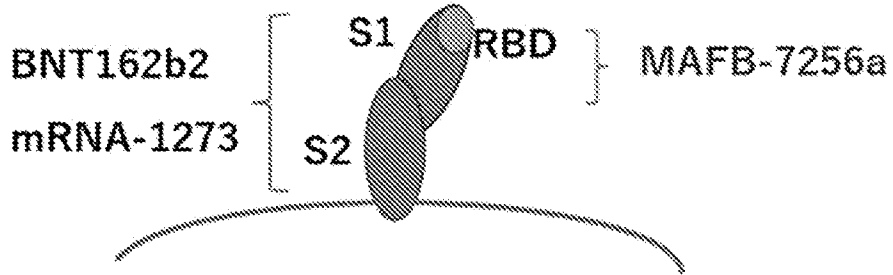
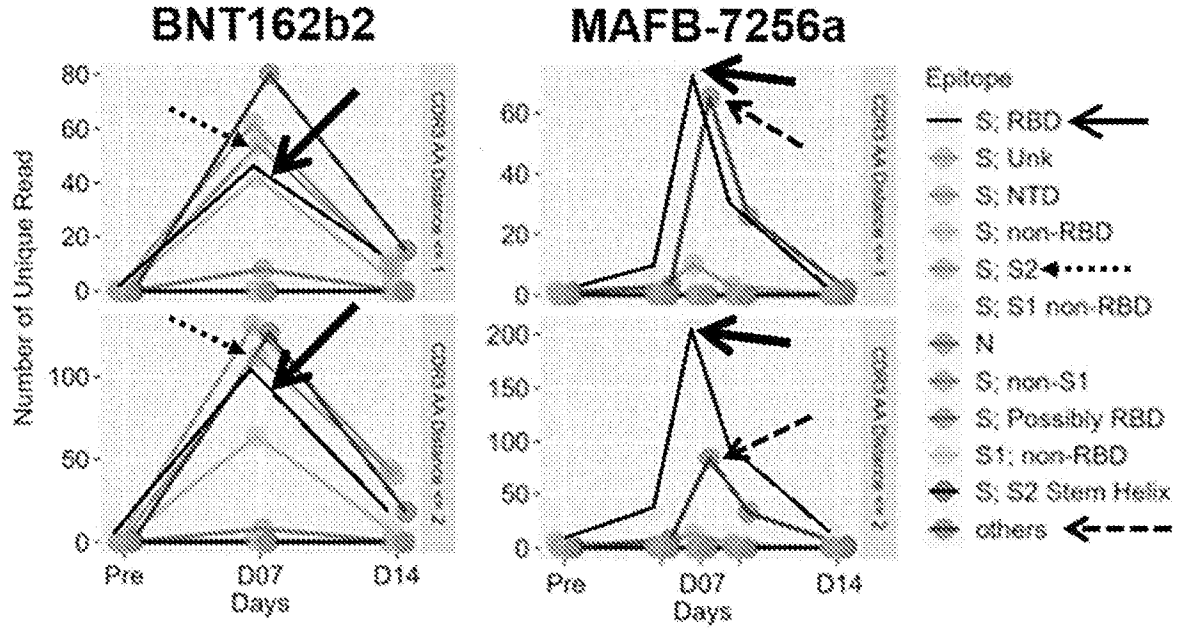
Healthy volunteer 3



[18]

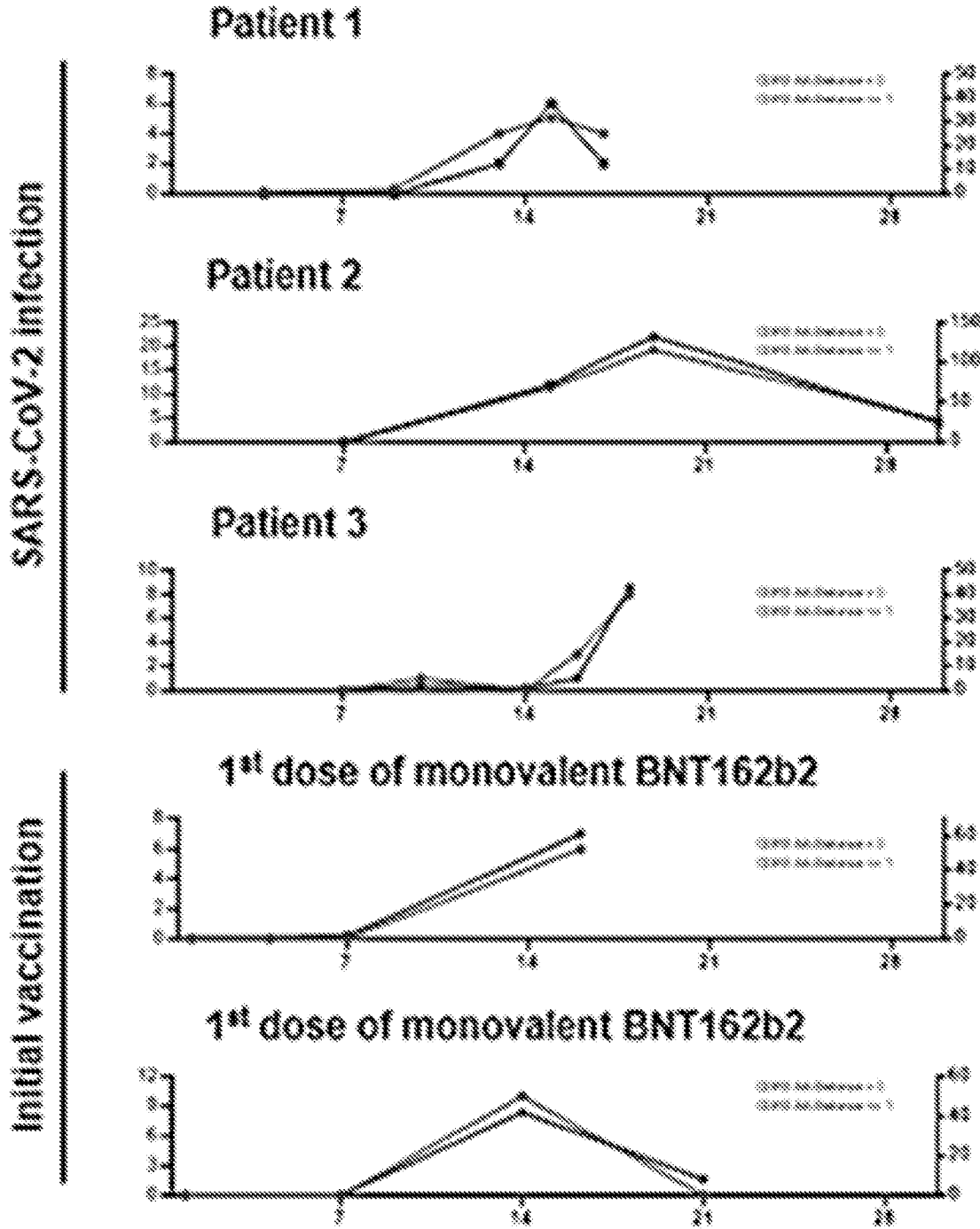


[19]



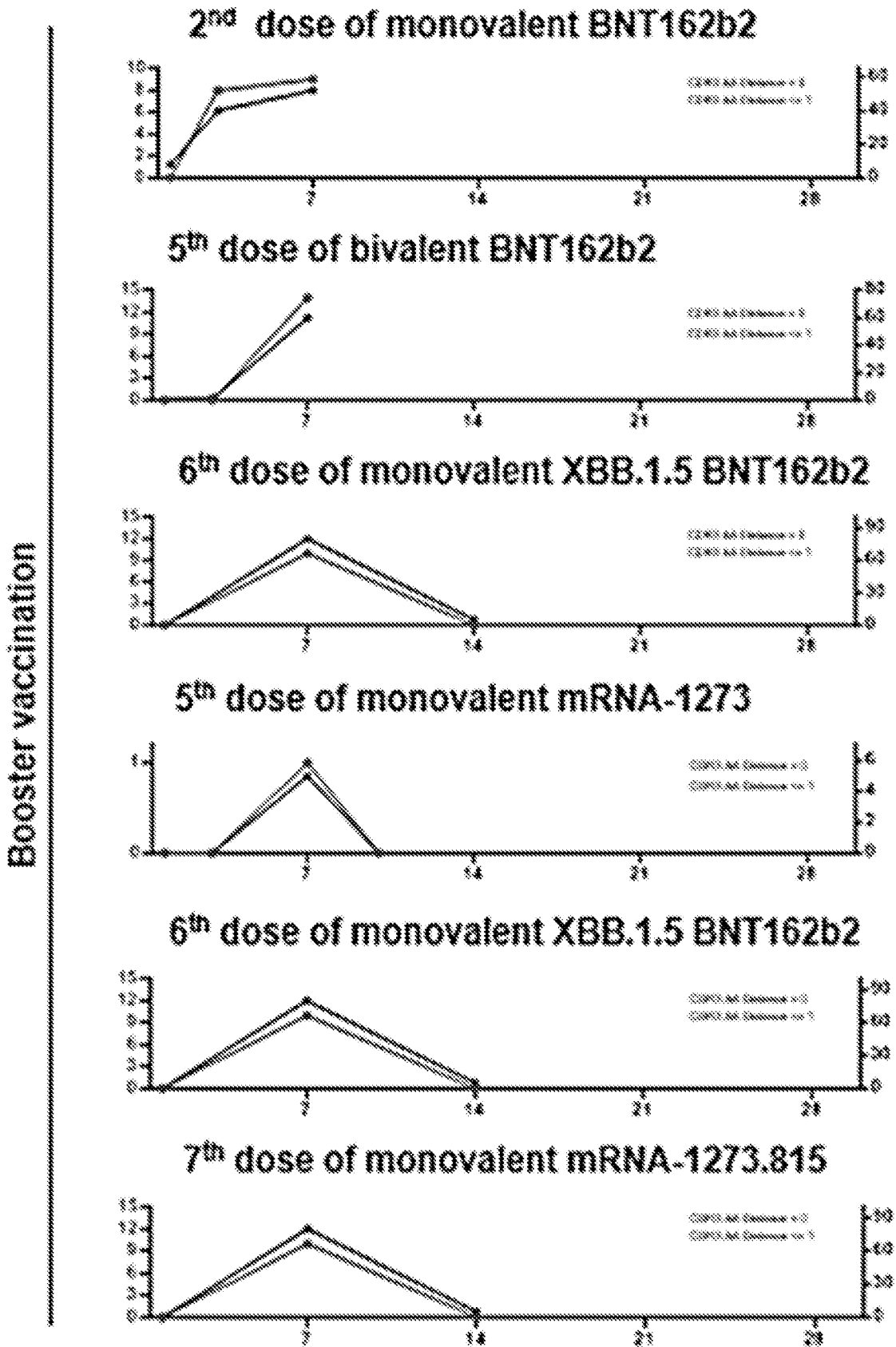
[20A]

Response to Initial expose



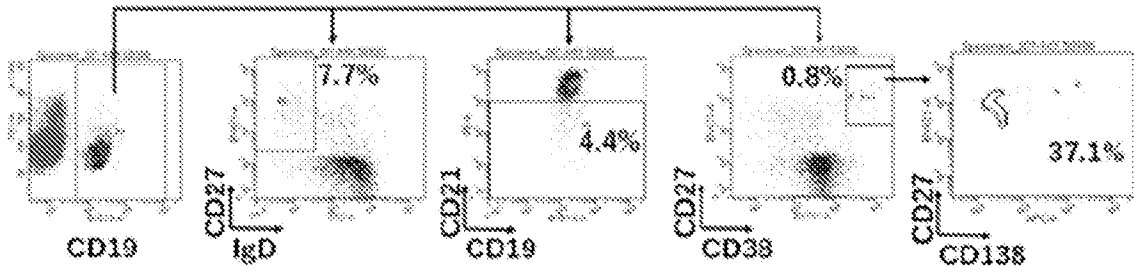
[圖20B]

Response to booster expose



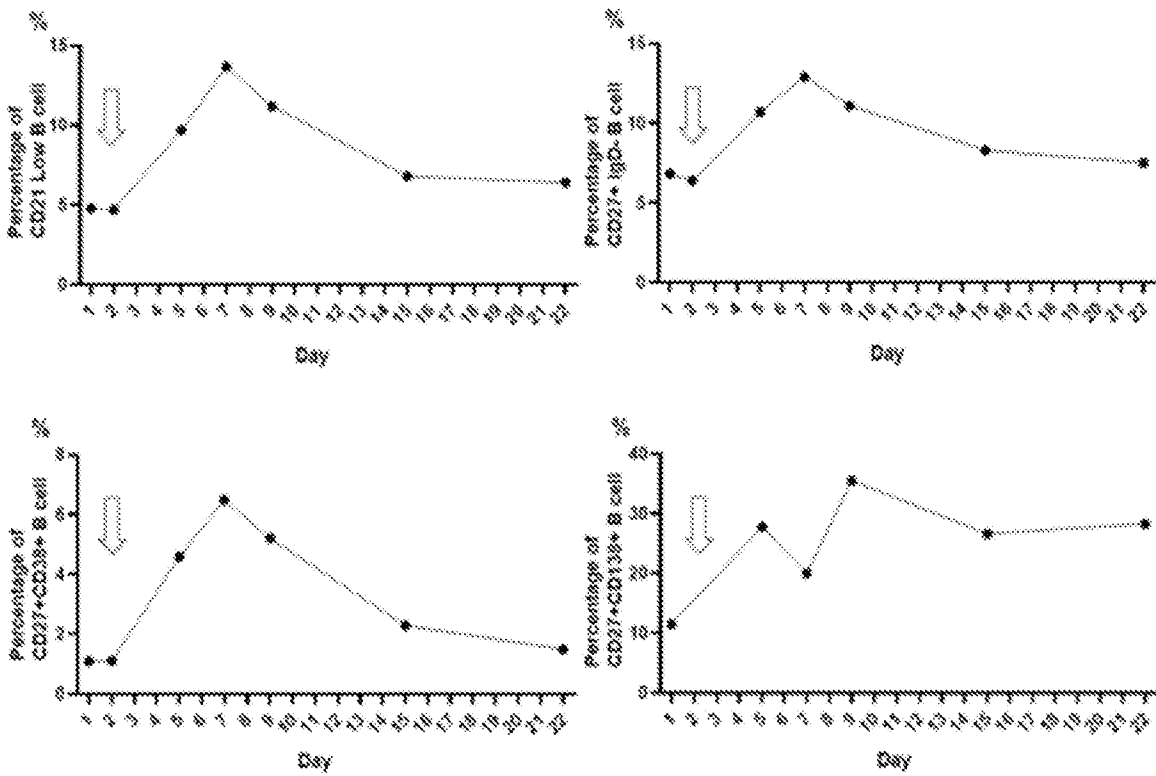
[21A]

A

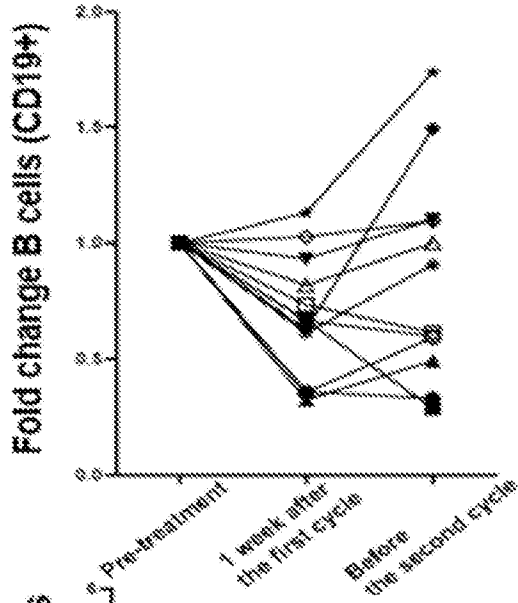


[21B]

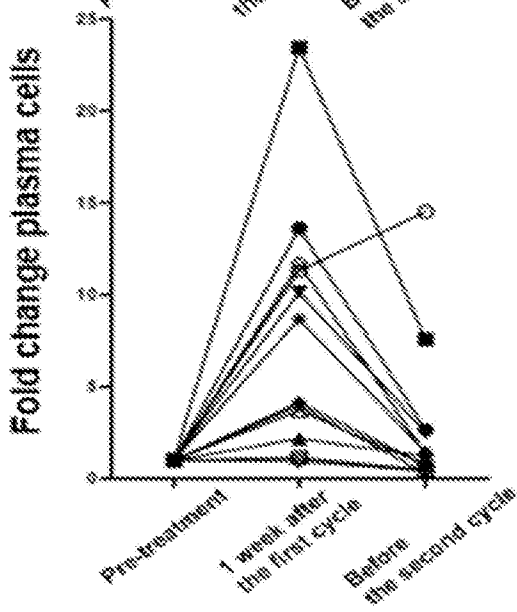
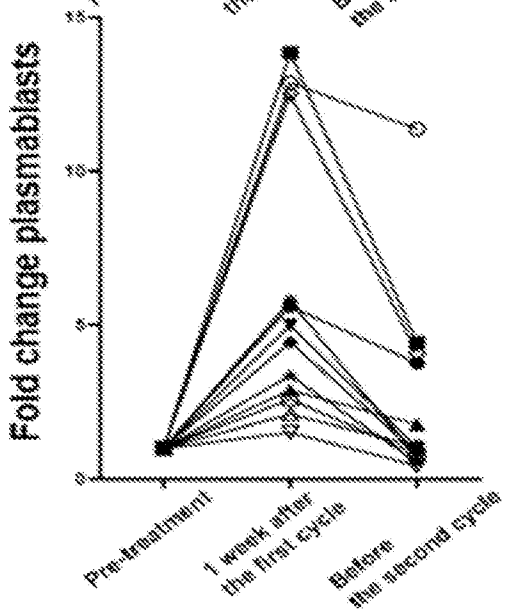
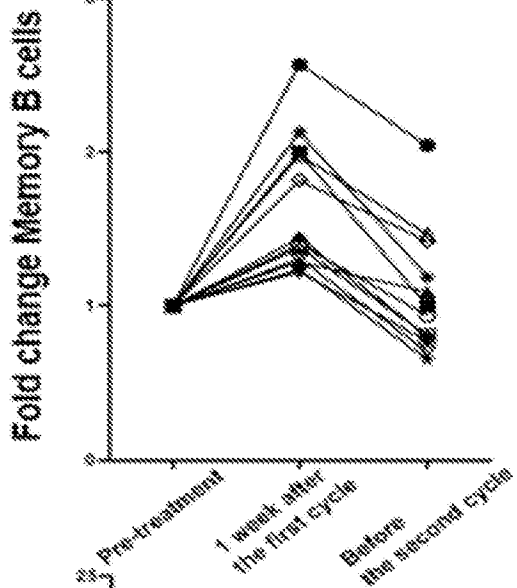
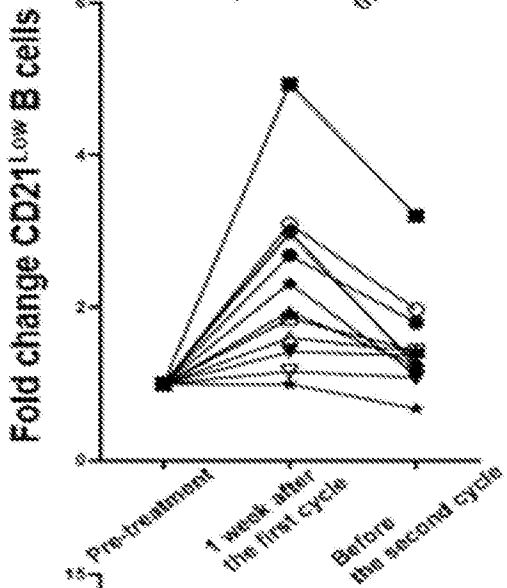
B



[21D]



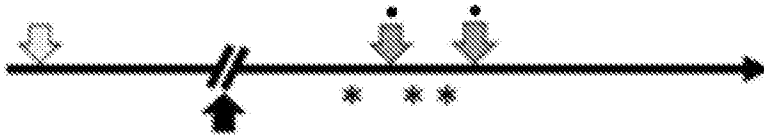
- Patient 1
- Patient 2
- Patient 3
- Patient 4
- Patient 5
- Patient 6
- Patient 7
- Patient 8
- Patient 9
- Patient 10
- Patient 11
- Patient 12



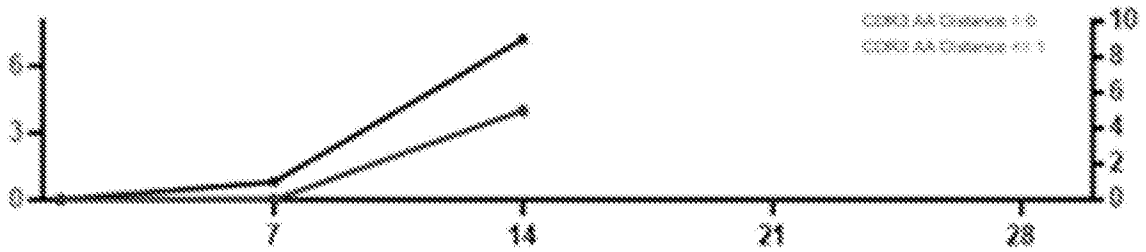
[図22A]

First vaccination after transplant in patients with a history of previous exposure

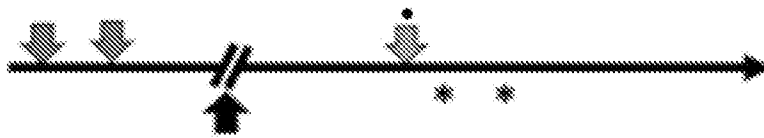
Patient 1



- ↓ SARS-CoV-2 infection
- ↓ BNT162b2 monovalent (XBB.1.5)
- ↑ Cord blood transplantation
- * QASAS data analysis



Patient 2



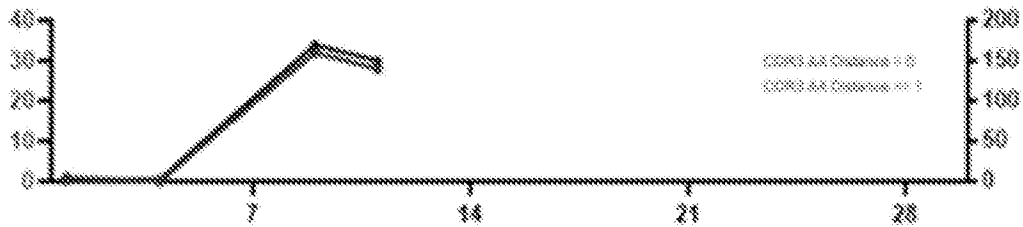
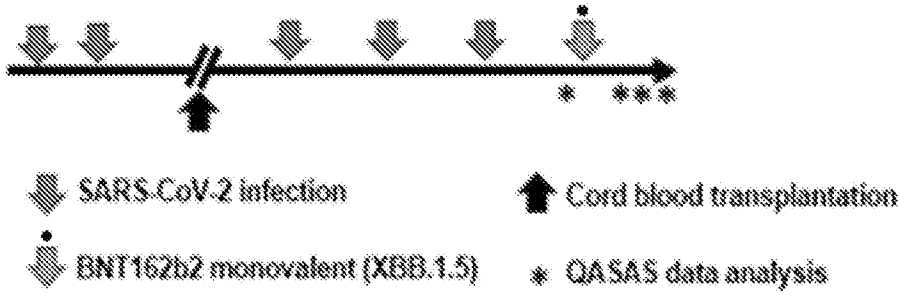
- ↓ SARS-CoV-2 infection
- ↓ BNT162b2 monovalent (XBB.1.5)
- ↑ Cord blood transplantation
- * QASAS data analysis



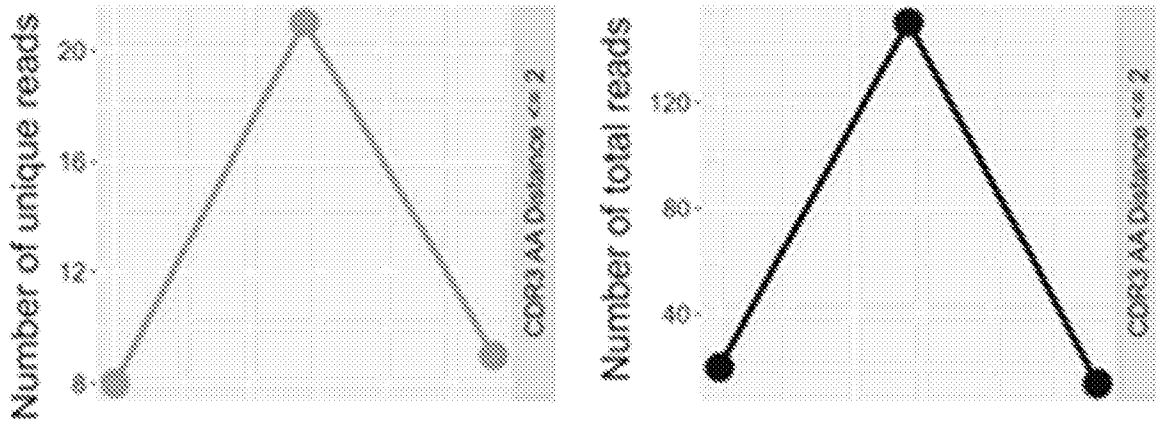
[Figure 22B]

Booster vaccination after transplant in patients with a history of previous exposure

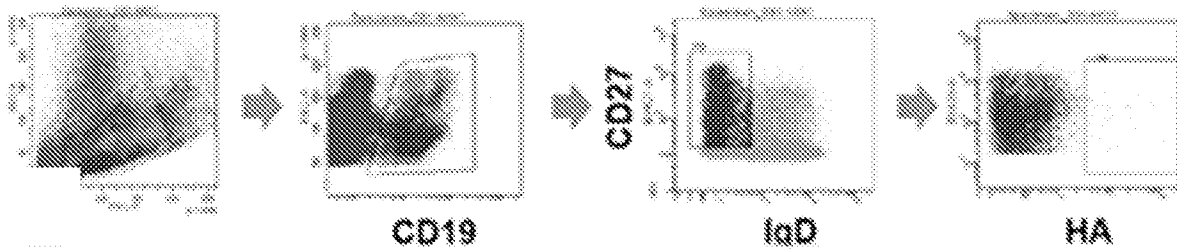
Patient 2



[Figure 23A]



[Figure 23B]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/021195

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 33/68</i> (2006.01)i; <i>C07K 14/705</i> (2006.01)i; <i>C12N 15/44</i> (2006.01)i; <i>C12N 15/50</i> (2006.01)i; <i>G01N 33/53</i> (2006.01)i; <i>G01N 33/569</i> (2006.01)i FI: G01N33/68 ZNA; G01N33/53 D; G01N33/569 L; C12N15/50; C12N15/44; C07K14/705		
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) G01N33/68; C07K14/705; C12N15/44; C12N15/50; G01N33/53; G01N33/569		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024 Registered utility model specifications of Japan 1996-2024 Published registered utility model applications of Japan 1994-2024		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII),CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2013-524848 A (SEQUENTA INC.) 20 June 2013 (2013-06-20) entire text, all drawings, particularly, see claims, paragraphs [0016]-[0022], [0089]-[0116], [0139]-[0141], [0157]-[0162], [0228]-[0230], [0238]-[0242], [0475], examples, etc.	1-3, 5-6, 11, 13, 17, 19-23, 27
Y		4, 7-10, 12, 14- 16, 18, 25-26
A		24
X	WO 2022/270631 A1 (REPERTOIRE GENESIS INC.) 29 December 2022 (2022-12-29) entire text, all drawings, particularly, see claims, paragraphs [0011], [0017], [0021]-[0032], [0055], [0059]-[0061], [0063]-[0100], [0123]-[0187], [0244], examples, etc.	1, 5, 11, 13, 23, 27
Y		3-4, 6-10, 12, 14-16, 25-26
A		17-22, 24
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 21 August 2024		Date of mailing of the international search report 03 September 2024
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/021195

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	FUNAKOSHI, Yohei et al. Massive surge of mRNA expression of clonal B-cell receptor in patients with COVID-19. <i>Heliyon</i> . 2021, vol. 7, no. 8, e07748, DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07748, PMID: 34395931 entire text, particularly, see abstract, material and methods, results, etc.	3-4, 6-10, 12, 14-16, 18, 25-26
Y	KOTAGIRI, Prasanti et al. B cell receptor repertoire kinetics after SARS-CoV-2 infection and vaccination. <i>Cell Rep</i> . 2022, vol. 38, no. 7, DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110393, PMID: 35143756 entire text, particularly, see summary, p. 6, right column to p. 8, left column, etc.	3-4, 6-10, 12, 14-16, 18, 25-26
A	SATO, Kayoko et al. Evaluation of immune responses induced by influenza vaccines using anti body repertoire analysis. 日本免疫学会総会・学術集会記録, 2021, 2-C-WS14-13-P, (Proceedings of the Japanese Society for Immunology) entire text, see abstract	1-27
P, X	FUNAKOSHI, Yohei et al. Response to mRNA SARS-CoV-2 vaccination evaluated by B-cell receptor repertoire after tixagevimab/cilgavimab administration. <i>British Journal of Haematology</i> . 2023, vol. 202, issue 3, pp. 504-516, https://doi.org/10.1111/bjh.18932 entire text, particularly, see summary, materials and methods, etc.	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2024/021195

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2013-524848	A	20 June 2013	US 2011/0207134 A1 entire text, all drawings, particularly, see claims, paragraphs [0016]-[0022], [0102]-[0129], [0153]-[0155], [0171]-[0175], [0242]-[0244], [0252]-[0256], [0477], examples, etc.	
				WO 2011/139371 A1	
				EP 2567226 A1	
WO	2022/270631	A1	29 December 2022	EP 4361267 A1 entire text, all drawings, particularly, see claims, paragraphs [0105], [0111], [0115]-[0126], [0150], [0154]-[0156], [0158]-[0195], [0219]-[0283], [0340], examples, etc.	
				CN 117999350 A	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>G01N 33/68(2006.01)i; C07K 14/705(2006.01)i; C12N 15/44(2006.01)i; C12N 15/50(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i; G01N 33/569(2006.01)i FI: G01N33/68 ZNA; G01N33/53 D; G01N33/569 L; C12N15/50; C12N15/44; C07K14/705</p>														
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>G01N33/68; C07K14/705; C12N15/44; C12N15/50; G01N33/53; G01N33/569</p> <p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2024年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2024年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2024年</td> </tr> </table> <p>国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2024年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2024年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2024年				
日本国実用新案公報	1922 - 1996年													
日本国公開実用新案公報	1971 - 2024年													
日本国実用新案登録公報	1996 - 2024年													
日本国登録実用新案公報	1994 - 2024年													
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>JP 2013-524848 A (シーケンタ インコーポレイテッド) 20.06.2013 (2013-06-20) 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]、段落 [0016] - [0022]、 [0089] - [0116]、[0139] - [0141]、[0157] - [0162]、[0228] - [0230]、[0238] - [0242]、 [0475]、実施例等参照</td> <td>1-3, 5-6, 11, 13, 17, 19-23, 27</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>4, 7-10, 12, 14- 16, 18, 25-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td></td> <td>24</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X	JP 2013-524848 A (シーケンタ インコーポレイテッド) 20.06.2013 (2013-06-20) 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]、段落 [0016] - [0022]、 [0089] - [0116]、[0139] - [0141]、[0157] - [0162]、[0228] - [0230]、[0238] - [0242]、 [0475]、実施例等参照	1-3, 5-6, 11, 13, 17, 19-23, 27	Y		4, 7-10, 12, 14- 16, 18, 25-26	A		24
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
X	JP 2013-524848 A (シーケンタ インコーポレイテッド) 20.06.2013 (2013-06-20) 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]、段落 [0016] - [0022]、 [0089] - [0116]、[0139] - [0141]、[0157] - [0162]、[0228] - [0230]、[0238] - [0242]、 [0475]、実施例等参照	1-3, 5-6, 11, 13, 17, 19-23, 27												
Y		4, 7-10, 12, 14- 16, 18, 25-26												
A		24												
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>														
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献</p> <p>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</p> <p>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p>														
<p>国際調査を完了した日</p> <p>21.08.2024</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>03.09.2024</p>													
<p>名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁 (ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>草川 貴史 2J 4075</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3252</p>													

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y A	WO 2022/270631 A1 (Repertoire Genesis株式会社) 29.12.2022 (2022 - 12 - 29) 全文・全図、特に、請求の範囲、段落 [0011]、[0017]、[0021] - [0032]、[0055]、[0059] - [0061]、[0063] - [0100]、[0123] - [0187]、[0244]、実施例等参照	1,5,11,13,23,27 3-4,6-10,12,14-16,25-26 17-22,24
Y	FUNAKOSHI Yohei、他12名、Massive surge of mRNA expression of clonal B-cell receptor in patients with COVID-19, Heliyon, 2021, Vol.7, No.8, e07748, DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07748, PMID: 34395931 全文、特に、ABSTRACT、Material and methods、Results等参照	3-4,6-10,12,14-16,18,25-26
Y	KOTAGIRI Prasanti、他19名、B cell receptor repertoire kinetics after SARS-CoV-2 infection and vaccination, Cell Rep, 2022, Vol.38, No.7, DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110393, PMID: 35143756 全文、特にSUMMARY、第6頁右欄 - 第8頁左欄等参照	3-4,6-10,12,14-16,18,25-26
A	SATO Kayoko、他2名、Evaluation of immune responses induced by influenza vaccines using anti body repertoire analysis, 日本免疫学会総会・学術集会記録, 2021, 2-C-WS14-13-P 全文、Abstract参照	1-27
P, X	FUNAKOSHI Yohei、他18名、Response to mRNA SARS-CoV-2 vaccination evaluated by B-cell receptor repertoire after tixagevimab/cilgavimab administration, British Journal of Haematology, 2023, Volume 202, Issue3, Pages 504-516, https://doi.org/10.1111/bjh.18932 全文、特に、Summary, MATERIALS AND METHODS等参照	1-27

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/021195

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2013-524848 A	20.06.2013	US 2011/0207134 A1 全文・全図，特に，請求の 範囲，段落 [0016] - [0022]， [010 2] - [0129]， [0 153] - [0155]， [0171] - [017 5]， [0242] - [0 244]， [0252] - [0256]， [047 7]， 実施例等参照 WO 2011/139371 A1 EP 2567226 A1	
WO 2022/270631 A1	29.12.2022	EP 4361267 A1 全文・全図，特に，請求の 範囲，段落 [0105]， [0111]， [011 5] - [0126]， [0 150]， [0154] - [0156]， [015 8] - [0195]， [0 219] - [0283]， [0340]， 実施例等参 照 CN 117999350 A	