

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成24年7月12日(2012.7.12)

【公表番号】特表2011-521976(P2011-521976A)

【公表日】平成23年7月28日(2011.7.28)

【年通号数】公開・登録公報2011-030

【出願番号】特願2011-511892(P2011-511892)

【国際特許分類】

A 6 1 K	39/095	(2006.01)
A 6 1 K	47/26	(2006.01)
A 6 1 K	39/39	(2006.01)
A 6 1 K	9/08	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	39/095
A 6 1 K	47/26
A 6 1 K	39/39
A 6 1 K	9/08
A 6 1 P	31/04

【手続補正書】

【提出日】平成24年5月25日(2012.5.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

広範囲にわたって防御するために遺伝子改変された少なくとも2つの髄膜炎菌株から得た未変性の外膜小胞を含むワクチンであって、前記未変性の外膜小胞が、PorA、LOS、および保存外膜タンパク質に基づいた3つの異なる抗原組を含み、前記遺伝子改変菌株が、lpXL1遺伝子、synX遺伝子、およびlgtA遺伝子の不活性化に基づいて安全性が強化されるように改変されており、前記遺伝子改変菌株のうちの少なくとも1つが、少なくとも2つの異なるPorA亜型タンパク質または亜型エピトープを発現する、ワクチン。

【請求項2】

各菌株によって発現された前記LOSが異なるLOSコア構造を有し、グルコースおよびガラクトースからなる鎖を有する、請求項1に記載のワクチン。

【請求項3】

各菌株がB群分離菌のうちで最も一般的なPorA亜型に基づいて選択される少なくとも2つの異なるPorA亜型タンパク質または亜型エピトープを発現する、請求項1に記載のワクチン。

【請求項4】

殺菌抗体を誘導する能力が証明された異なる保存表面タンパク質が各菌株で過剰発現され、FHP(GNA1870)バリアント1、FHPバリアント2、およびFHPバリアント3、NadA、App、NspA、TbpAおよびTbpBからなる群から選択される、請求項1に記載のワクチン。

【請求項5】

3つの遺伝子改変された抗原性が多様な髄膜炎菌株由来のN O M Vの組み合わせ物であって、少なくとも1つの菌株が、以下：

(1) 以下の遺伝子改変または特徴を有するH 4 4 / 7 6 H O P S - D L :

s y n X 遺伝子、1 p x L 1 遺伝子、およびl g t A 遺伝子の不活性化、

o p a D の代わりの第2のp o r A 遺伝子(亜型P 1 . 7 - 1 , 1 )の挿入、

N a d A 発現の増加、および

O p c およびP o r A の安定化された高発現、

(2) 以下の遺伝子改変または特徴を有する8 5 7 0 H O P S - G A L :

s y n X 遺伝子、1 p x L 1 遺伝子、およびl g t A 遺伝子の不活性化、

o p a D の代わりの第2のp o r A 遺伝子の挿入、

H 因子結合タンパク質バリエント1発現の増加、および

P o r A およびO p c の安定化された高発現、および

(3) 以下の遺伝子改変または特徴を有するB 1 6 B 6 H P S - G 2 A :

s y n X 遺伝子、1 p x L 1 遺伝子、およびl g t A 遺伝子の不活性化、

o p a D の代わりの第2のp o r A 遺伝子の挿入、

H 因子結合タンパク質バリエント2発現の増加、および

P o r A およびO p c の安定化された高発現

から選択される、組み合わせ物。

#### 【請求項6】

菌株H 4 4 / 7 6 H O P S - D L がE T - 5 野生型菌株H 4 4 / 7 6 (B : 1 5 : P 1 . 7 , 1 6 : L , 3 , 7 : P 5 . 5 , C )に由来した、請求項5に記載のワクチン菌株の組み合わせ物。

#### 【請求項7】

菌株8 5 7 0 H O P S - G I L がE T - 5 野生型菌株8 5 7 0 (B : 4 : P 1 . 1 9 , 1 5 : L 3 , 7 v : P 5 . 5 , 1 1 , C )に由来した、請求項5に記載のワクチン菌株の組み合わせ物。

#### 【請求項8】

菌株B 1 6 B 6 H P S - G 2 L がE T - 3 7 野生型菌株B 1 6 B 6 (B : 2 a : P 1 . 5 , 2 : L 2 : P 5 . 1 , 2 , 5 )に由来する、請求項5に記載のワクチン菌株の組み合わせ物。

#### 【請求項9】

前記N O M Vを界面活性剤または変性溶媒へ曝露することなく充填細胞または消費した培養培地から調製する、請求項1に記載のワクチン。

#### 【請求項10】

前記ワクチンを賦形剤としての5%グルコースに懸濁する、請求項1に記載のワクチン。

#### 【請求項11】

前記N O M Vを、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、M F 5 9 、C P G - O D N 、またはM P L A を含む1つまたは複数のアジュバントと組み合わせる、請求項1に記載のワクチン。

#### 【請求項12】

髄膜炎菌性疾患に対する免疫のための組成物であって、請求項1に記載のワクチンを含み、前記組成物は、筋肉内および/または鼻腔内に投与されるものであることを特徴とする、組成物。

#### 【請求項13】

B群髄膜炎菌性疾患に対する免疫のための組成物であって、請求項1に記載のワクチンを含み、前記組成物は、筋肉内および/または鼻腔内に投与されるものであることを特徴とする、組成物。

#### 【請求項14】

髄膜炎菌の1つまたは複数の遺伝子改変菌株由来の未変性の外膜小胞(N O M V)を含む髄膜炎菌性疾患に対するワクチン組成物であって、前記1つまたは複数の遺伝子改変菌株

が、

i . s y n X 遺伝子の不活化、

i i . l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i . ラクト - N - ネオテトラオーステトラサッカリドを欠く短縮されたかまたは切り詰められたリポオリゴサッカリド (L O S) が発現される各菌株中の l g t A 遺伝子の不活化、および

i v . o p a 遺伝子の代わりの少なくとも 1 つの第 2 の抗原性が異なる p o r A 遺伝子の挿入

によって改変された、ワクチン組成物。

【請求項 15】

前記遺伝子改変菌株が少なくとも 1 つの微量保存外膜タンパク質の増加または安定した発現をさらに含む、請求項 14 に記載のワクチン組成物。

【請求項 16】

前記遺伝子改変菌株が少なくとも 1 つの外膜タンパク質の安定化された発現をさらに含み、前記外膜タンパク質が O p c および P o r A を含む群から選択される、請求項 14 から 15 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

【請求項 17】

前記少なくとも 1 つの第 2 の抗原性が異なる p o r A 遺伝子が髄膜炎 B 群分離菌の最も一般的な P o r A 亜型から選択される少なくとも 1 つの P o r A 亜型タンパク質または亜型エピトープを発現する、請求項 14 から 16 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

【請求項 18】

前記少なくとも 1 つの微量保存外膜タンパク質が、F H B P (G N A 1 8 7 0 ) バリアント 1 、F H B P バリアント 2 、F H B P バリアント 3 、N a d A 、A p p 、N s p A 、T b p A 、および B からなる群から選択される、請求項 15 から 17 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

【請求項 19】

菌株 H 4 4 / 7 6 H O P S - D を含む髄膜炎菌亜型 B 菌株からの遺伝子改変されたワクチン菌株。

【請求項 20】

以下：

i ) s y n X 遺伝子の不活化、

i i ) l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i ) l g t A 遺伝子の不活化、

i v ) o p a D 遺伝子の代わりの第 2 の p o r A 遺伝子の挿入、

v ) 未変性菌株と比較して増加した N a d A 発現、および

v i ) O p c タンパク質および P o r A タンパク質発現の安定化された増加

の遺伝子改変を含む菌株 H 4 4 / 7 6 由来の髄膜炎菌亜型 B の遺伝子改変されたワクチン菌株。

【請求項 21】

菌株 H 4 4 / 7 6 H O P S - D L が E T - 5 野生型菌株 H 4 4 / 7 6 (B : 1 5 : P 1 . 7 , 1 6 : L , 3 , 7 : P 5 . 5 , C ) に由来した、請求項 19 または 20 に記載の遺伝子改変菌株。

【請求項 22】

菌株 8 5 7 0 H O S - G 1 を含む髄膜炎菌亜型 B の遺伝子改変されたワクチン菌株。

【請求項 23】

以下：

i ) s y n X 遺伝子の不活化、

i i ) l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i ) l g t A 遺伝子の不活化、

i v ) o p a D の代わりの第 2 の p o r A 遺伝子の挿入、

v ) H 因子結合タンパク質バリアント 1 発現の増加、および  
v i ) P o r A タンパク質およびO p c タンパク質発現の安定化された増加  
の遺伝子改変を含む 8 5 7 0 由来の髄膜炎菌亜型 B 菌株の遺伝子改変されたワクチン菌株。  
。

【請求項 2 4】

前記遺伝子改変菌株が E T - 5 野生型菌株 8 5 7 0 ( B : 4 : P 1 . 1 9 , 1 5 : L 3 , 7 v : P 5 . 5 , 1 1 , C ) に由来した、請求項 2 2 または 2 3 に記載の遺伝子改変菌株。

【請求項 2 5】

菌株 B 1 6 B 6 H P S - G 2 A を含む髄膜炎菌亜型 B の遺伝子改変されたワクチン菌株。  
。

【請求項 2 6】

以下 :

i ) s y n X 遺伝子の不活化、  
i i ) l p x L 1 遺伝子の不活化、  
i i i ) l g t A 遺伝子の不活化、  
i v ) o p a D の代わりの第 2 の p o r A 遺伝子 ( 亜型 P 1 . 2 2 - 1 , 4 ) の挿入、  
v ) H 因子結合タンパク質バリアント 2 発現の増加、および  
v i ) P o r A タンパク質およびO p c タンパク質発現の安定化された増加  
の遺伝子改変を含む B 1 6 B 6 由来の髄膜炎菌亜型 B の遺伝子改変されたワクチン菌株。

【請求項 2 7】

前記遺伝子改変菌株が E T - 3 7 野生型菌株 B 1 6 B 6 ( B : 2 a : P 1 . 5 , 2 : L 2 : P 5 . 1 , 2 , 5 ) に由来する、請求項 2 5 または 2 6 に記載の遺伝子改変菌株。

【請求項 2 8】

前記菌株を鉄欠損培地で生育させる、請求項 1 9 から 2 7 のいずれか 1 項に記載の遺伝子改変菌株。

【請求項 2 9】

s y n X 遺伝子、l p x L 1 遺伝子、または l g t A 遺伝子の不活化が不活化遺伝子配列内の薬物耐性遺伝子の挿入による、請求項 1 9 から 2 8 のいずれか 1 項に記載の遺伝子改変菌株。

【請求項 3 0】

請求項 2 0 から 2 9 のいずれか 1 項に記載の 1 つまたは複数の遺伝子改変菌株由来の N O M V を含むワクチン組成物。

【請求項 3 1】

前記ワクチン組成物が 2 つ以上の遺伝子改変菌株由来の N O M V を含む、請求項 3 0 に記載のワクチン組成物。

【請求項 3 2】

前記ワクチン組成物が 3 つ以上の遺伝子改変菌株由来の N O M V を含む、請求項 3 0 に記載のワクチン組成物。

【請求項 3 3】

前記 N O M V を界面活性剤または変性溶媒へ曝露することなく充填細胞または消費した培養培地から調製する、請求項 1 から 4 および 9 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のワクチン、または請求項 5 から 8 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物、または請求項 1 2 から 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 1 4 から 1 8 および 3 0 から 3 2 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

【請求項 3 4】

前記ワクチン組成物を賦形剤としての 5 % グルコースに懸濁する、請求項 1 4 から 1 8 および 3 0 から 3 2 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物、または請求項 5 から 8 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物、または請求項 1 2 から 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 1 から 4 および 9 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

**【請求項 3 5】**

前記 N O M V を 1 つまたは複数のアジュバントと組み合わせる、請求項 1 4 から 1 8 および 3 0 から 3 2 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物、または請求項 5 から 8 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物、または請求項 1 2 から 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 1 から 4 および 9 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

**【請求項 3 6】**

前記遺伝子改変した菌株を鉄取り込みタンパク質を発現するように変化させる、請求項 1 4 から 1 8 および 3 0 から 3 2 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物、または請求項 5 から 8 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物、または請求項 1 2 から 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 1 から 4 および 9 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

**【請求項 3 7】**

種々の未変性の外膜小胞 (N O M V) を含む髄膜炎菌性疾患に対するワクチンであって、少なくともいくつかのN O M Vがリボオリゴサッカリド (L O S) の発現またはシアル酸化を本質的に含まず、ペンタ - アシリル構造を有する脂質 A を含む L O S を含み、発現レベルの増加した少なくとも 1 つの微量保存外膜タンパク質を含み、前記微量保存外膜タンパク質が殺菌抗体を誘導するタンパク質から選択される、ワクチン。

**【請求項 3 8】**

前記微量保存外膜タンパク質が、N a d A 、H 因子結合タンパク質 (F H B P ) バリアント 1 、および F H B P バリアント 2 からなる群から選択される、請求項 3 7 に記載のワクチン。

**【請求項 3 9】**

前記 N O M V のうちの少なくともいくつかがラクト - N - ネオテトラオース (L N n T ) テトラサッカリドを本質的に含まない短縮されたか、または切り詰められた L O S を含む、請求項 3 7 に記載のワクチン。

**【請求項 4 0】**

前記 N O M V のうちの少なくともいくつかが 2 つ以上の異なる P o r A タンパク質を含む、請求項 3 7 に記載のワクチン。

**【請求項 4 1】**

前記少なくとも 2 つ以上の異なる P o r A タンパク質が、髄膜炎菌 (N . m e n i n g i t i d e s ) 亜群 B 菌株の最も一般的な菌株から選択される、請求項 4 0 に記載のワクチン。

**【請求項 4 2】**

請求項 1 4 から 1 8 および 3 0 から 3 2 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物、または請求項 5 から 8 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物、または請求項 1 2 から 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 1 から 4 および 9 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のワクチンを含む、髄膜炎菌性疾患に対する免疫のために動物またはヒトにおいて髄膜炎菌性疾患に対する免疫応答を誘発するための組成物。

**【請求項 4 3】**

前記ワクチンを B 群髄膜炎菌性疾患に対する免疫のために使用する、請求項 4 2 に記載の組成物。

**【請求項 4 4】**

髄膜炎菌性疾患に対するワクチンで用いる髄膜炎菌の遺伝子改変菌株を調製する方法であって、

- a ) 遺伝子改変することができる髄膜炎菌 B 型菌株を選択する工程、
- b ) s y n X 遺伝子の不活化によって前記菌株を遺伝子改変する工程、
- c ) l p x L 1 遺伝子の不活化によって前記菌株を遺伝子改変する工程、
- d ) l g t A 遺伝子の不活化によって前記菌株を遺伝子改変する工程、および
- e ) 1 つまたは複数の微量保存外膜タンパク質の発現の増加によって前記菌株を遺伝子改変する工程

を含む、方法。

【請求項 4 5】

o p a 遺伝子の読み取り枠への少なくとも 1 つの第 2 の抗原性が異なる p o r A 遺伝子の挿入によって前記菌株を遺伝子改変する工程をさらに含む、請求項 4\_4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

少なくとも 1 つの外膜タンパク質のプロモーターまたは読み取り枠内のポリ - C 配列を G ヌクレオチドおよび C ヌクレオチドを含む配列で置換することによって前記菌株を遺伝子改変して少なくとも 1 つの外膜タンパク質を安定的に発現させるか、または過剰発現させる工程をさらに含む、請求項 4\_4 または 4\_5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

髄膜炎菌性疾患に対するワクチンを調製する方法であって、

a ) 以下：

i . s y n X 遺伝子の不活化、

i i . l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i . I g t A 遺伝子の不活化、

i v . o p a 遺伝子の代わりの少なくとも 1 つの第 2 の抗原性が異なる p o r A 遺伝子の挿入、

v . 少なくとも 1 つの微量保存外膜タンパク質の増加した発現または安定した発現、および

v i . 少なくとも 1 つの外膜タンパク質の安定化させた発現

からなる群から選択される 1 つまたは複数の改変を含む髄膜炎菌の遺伝子改変菌株を培養する工程、

b ) 前記 a ) の培養菌株を使用して発酵槽内の培地に植菌して発酵することによって前記培養物を拡大する工程、

c ) 前記発酵培養物を不活化する工程、

d ) 連続フロー型遠心分離によって髄膜炎菌培養細胞を採取し、そして細胞ペーストを回収する工程、

e ) 前記細胞ペーストから N O M V を単離する工程、および

f ) ワクチン投与に適切な緩衝液またはキャリアに N O M V を再懸濁する工程を含む、方法。

【請求項 4 8】

B 群单離菌のうちで最も一般的な菌株の P o r A 亜型が、それぞれ P 1 . 7 - 1 , 1 、 P 1 . 2 2 , 1 4 および P 1 . 2 2 - 1 , 4 からなる群から選択される、請求項 3 に記載のワクチンまたは請求項 1\_7 に記載のワクチン組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 9】

さらに別の態様では、本発明のテクノロジーは、a ) s y n X 遺伝子の不活化、l p x L 1 遺伝子の不活化、I g t A 遺伝子の不活化、o p a 遺伝子の代わりの少なくとも 1 つの第 2 の抗原性が異なる p o r A 遺伝子の挿入、少なくとも 1 つの微量保存外膜タンパク質の増加または安定した発現、および / または少なくとも 1 つの外膜タンパク質の安定化させた発現からなる群から選択される 1 つまたは複数の改変を含む髄膜炎菌の遺伝子改変菌株を培養する工程、b ) a ) の培養菌株を使用して発酵槽内の培地に植菌して発酵することによって前記培養物を拡大する工程、c ) 発酵培養物を不活化する工程、d ) 連続フロー型遠心分離および細胞ペーストの回収によって髄膜炎菌培養細胞を採取する工程、e ) 細胞ペーストから N O M V を単離する工程、および f ) ワクチン投与に適切な緩衝液またはキャリアに N O M V を再懸濁する工程を含む、髄膜炎菌性疾患に対するワクチンを調

製する方法を提供する。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

広範囲にわたって防御するために遺伝子改変された少なくとも2つの髄膜炎菌株から得た未変性の外膜小胞を含むワクチンであって、前記未変性の外膜小胞が、PorA、LOS、および保存外膜タンパク質に基づいた3つの異なる抗原組を含み、前記遺伝子改変菌株が、*lpxL1*遺伝子、*synX*遺伝子、および*lgtA*遺伝子の不活性化に基づいて安全性が強化されるように改変されている、ワクチン。

(項目2)

各菌株によって発現された前記LOSが異なるLOSコア構造を有し、グルコースおよびガラクトースからなる鎖を有する、項目1に記載のワクチン。

(項目3)

各菌株がB群分離菌のうちで最も一般的なPorA亜型に基づいて選択される少なくとも2つの異なるPorA亜型タンパク質または亜型エピトープを発現する、項目1に記載のワクチン。

(項目4)

殺菌抗体を誘導する能力が証明された異なる保存表面タンパク質が各菌株で過剰発現され、F H B P (GNA1870)バリアント1、F H B Pバリアント2、およびF H B Pバリアント3、NadA、App、NspA、TbpAおよびTbpBからなる群から選択される、項目1に記載のワクチン。

(項目5)

3つの遺伝子改変された抗原性が多様な髄膜炎菌株由来のNOMVの組み合わせであって、少なくとも1つの菌株が、以下：

(1) 以下の遺伝子改変または特徴を有するH44/76 HOPS-DL：

*synX*遺伝子、*lpxL1*遺伝子、および*lgtA*遺伝子の不活性化、*opAD*の代わりの第2の*porA*遺伝子(亜型P1.7-1,1)の挿入、*NadA*発現の増加、および

*Opc*および*PorA*の安定化された高発現、

(2) 以下の遺伝子改変または特徴を有する8570 HOPS-GAL：

*synX*遺伝子、*lpxL1*遺伝子、および*lgtA*遺伝子の不活性化、*opAD*の代わりの第2の*porA*遺伝子の挿入、

H因子結合タンパク質バリアント1発現の増加、および

*PorA*および*Opc*の安定化された高発現、および

(3) 以下の遺伝子改変または特徴を有するB16B6 HPS-G2A：

*synX*遺伝子、*lpxL1*遺伝子、および*lgtA*遺伝子の不活性化、*opAD*の代わりの第2の*porA*遺伝子の挿入、

H因子結合タンパク質バリアント2発現の増加、および

*PorA*および*Opc*の安定化された高発現

から選択される、組み合わせ。

(項目6)

菌株H44/76 HOPS-DLがET-5野生型菌株H44/76(B:15:P1.7,16:L3,7:P5.5,C)に由來した、項目5に記載のワクチン菌株の組み合わせ。

(項目7)

菌株8570 HOPS-GALがET-5野生型菌株8570(B:4:P1.19,15:L3,7v:P5.5,11,C)に由來した、項目5に記載のワクチン菌株の組み合わせ。

(項目8)

菌株B16B6 HPS-G2LがET-37野生型菌株B16B6(B:2a:P1.5,2:L2:P5.1,2,5)に由來する、項目5に記載のワクチン菌株の組み合

わせ。

(項目9)

前記N O M Vを界面活性剤または変性溶媒へ曝露することなく充填細胞または消費した培養培地から調製する、項目1に記載のワクチン。

(項目10)

前記ワクチンを賦形剤としての5%グルコースに懸濁する、項目1に記載のワクチン。

(項目11)

前記N O M Vを、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、M F 5 9、C P G - O D N、またはM P L Aを含む1つまたは複数のアジュバントと組み合わせる、項目1に記載のワクチン。

(項目12)

髄膜炎菌性疾患に対する免疫のために筋肉内および/または鼻腔内に投与する項目1に記載のワクチンの使用方法。

(項目13)

B群髄膜炎菌性疾患に対する免疫のために筋肉内および/または鼻腔内に投与する項目1に記載のワクチンの使用方法。

(項目14)

髄膜炎菌の1つまたは複数の遺伝子改変菌株由来の未変性の外膜小胞(N O M V)を含む髄膜炎菌性疾患に対するワクチン組成物であって、前記1つまたは複数の遺伝子改変菌株が、

i . s y n X 遺伝子の不活化、

i i . l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i . ラクト-N-ネオテトラオーステトラサッカリドを欠く短縮されたかまたは切り詰められたリポオリゴサッカリド(L O S)が発現される各菌株中でのl g t A 遺伝子の不活化、および

i v . o p a 遺伝子の代わりの少なくとも1つの第2の抗原性が異なるp o r A 遺伝子の挿入

によって改変された、ワクチン組成物。

(項目15)

前記遺伝子改変菌株が少なくとも1つの微量保存外膜タンパク質の増加または安定した発現をさらに含む、項目14に記載のワクチン組成物。

(項目16)

前記遺伝子改変菌株が少なくとも1つの外膜タンパク質の安定化された発現をさらに含み、前記外膜タンパク質がO p cおよびP o r Aを含む群から選択される、項目14から15のいずれか1項に記載のワクチン組成物。

(項目17)

前記少なくとも1つの第2の抗原性が異なるp o r A 遺伝子が髄膜炎B群分離菌の最も一般的なP o r A亜型から選択される少なくとも1つのP o r A亜型タンパク質または亜型エピトープを発現する、項目14から16のいずれか1項に記載のワクチン組成物。

(項目18)

前記少なくとも1つの微量保存外膜タンパク質が、F H B P(G N A 1 8 7 0)バリアント1、F H B Pバリアント2、F H B Pバリアント3、N a d A、A p p、N s p A、T b p A、およびBからなる群から選択される、項目15から17に記載のワクチン組成物。

(項目19)

菌株H 4 4 / 7 6 H O P S - D を含む髄膜炎菌亜型B菌株からの遺伝子改変されたワクチン菌株。

(項目20)

以下：

i ) s y n X 遺伝子の不活化、

i i ) l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i ) l g t A 遺伝子の不活化、

i v ) o p a D 遺伝子の代わりの第2のp o r A 遺伝子の挿入、

v ) 未変性菌株 H 4 4 / 7 6 と比較して増加したN a d A 発現、および

v i ) O p c タンパク質およびP o r A タンパク質発現の安定化された増加の遺伝子改変を含む菌株 H 4 4 / 7 6 由来の髄膜炎菌亜型 B からの遺伝子改変されたワクチン菌株。

(項目21)

菌株 H 4 4 / 7 6 H O P S - D L が E T - 5 野生型菌株 H 4 4 / 7 6 ( B : 1 5 : P 1 . 7 , 1 6 : L , 3 , 7 : P 5 . 5 , C ) に由来した、項目19または20に記載の遺伝子改変菌株。

(項目22)

菌株 8 5 7 0 H O S - G 1 を含む髄膜炎菌亜型 B からの遺伝子改変されたワクチン菌株。

。

(項目23)

以下:

i ) s y n X 遺伝子の不活化、

i i ) l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i ) l g t A 遺伝子の不活化、

i v ) o p a D の代わりの第2のp o r A 遺伝子の挿入、

v ) H 因子結合タンパク質バリアント1発現の増加、および

v i ) P o r A タンパク質およびO p c タンパク質発現の安定化された増加の遺伝子改変を含む 8 5 7 0 由来の髄膜炎菌亜型 B 菌株からの遺伝子改変されたワクチン菌株。

(項目24)

前記遺伝子改変菌株が E T - 5 野生型菌株 8 5 7 0 ( B : 4 : P 1 . 1 9 , 1 5 : L 3 , 7 v : P 5 . 5 , 1 1 , C ) に由来した、項目22または23に記載の遺伝子改変菌株。

。

(項目25)

菌株 B 1 6 B 6 H P S - G 2 A を含む髄膜炎菌亜型 B からの遺伝子改変されたワクチン菌株。

(項目26)

以下:

i ) s y n X 遺伝子の不活化、

i i ) l p x L 1 遺伝子の不活化、

i i i ) l g t A 遺伝子の不活化、

i v ) o p a D の代わりの第2のp o r A 遺伝子(亜型 P 1 . 2 2 - 1 , 4 )の挿入、

v ) H 因子結合タンパク質バリアント2発現の増加、および

v i ) P o r A タンパク質およびO p c タンパク質発現の安定化された増加

の遺伝子改変を含む B 1 6 B 6 由来の髄膜炎菌亜型 B からの遺伝子改変されたワクチン菌株。

(項目27)

前記遺伝子改変菌株が E T - 3 7 野生型菌株 B 1 6 B 6 ( B : 2 a : P 1 . 5 , 2 : L 2 : P 5 . 1 , 2 , 5 ) に由来する、項目25または26に記載の遺伝子改変菌株。

(項目28)

前記菌株を鉄欠損培地で生育させる、項目19から27のいずれか1項に記載の遺伝子改変菌株。

(項目29)

s y n X 遺伝子、l p x L 1 遺伝子、またはl g t A 遺伝子の不活化が不活化遺伝子配列内の薬物耐性遺伝子の挿入による、項目19から28のいずれか1項に記載の遺伝子改変

菌株。

(項目30)

項目20から29のいずれか1項に記載の1つまたは複数の遺伝子改変菌株由来のNOMVを含むワクチン組成物。

(項目31)

前記ワクチン組成物が2つ以上の遺伝子改変菌株由来のNOMVを含む、項目30に記載のワクチン組成物。

(項目33)

前記ワクチン組成物が3つ以上の遺伝子改変菌株由来のNOMVを含む、項目30に記載のワクチン組成物。

(項目34)

前記NOMVを界面活性剤または変性溶媒へ曝露することなく充填細胞または消費した培養培地から調製する、項目1から18および30から33のいずれか1項に記載のワクチン組成物。

(項目35)

前記ワクチン組成物を賦形剤としての5%グルコースに懸濁する、項目1から18および30から33のいずれか1項に記載のワクチン組成物。

(項目36)

前記NOMVを1つまたは複数のアジュバントと組み合わせる、項目1から18および30から33のいずれか1項に記載のワクチン組成物。

(項目37)

前記遺伝子改変した菌株を鉄取り込みタンパク質を発現するように変化させる、項目1から18および30から33のいずれか1項に記載のワクチン組成物。

(項目38)

種々の未変性の外膜小胞(NOMV)を含む髄膜炎菌性疾患に対するワクチンであって、少なくともいくつかのNOMVがリポオリゴサッカリド(LOS)の発現またはシアル酸化を本質的に含まず、ペンタ-アシリル構造を有する脂質Aを含むLOSを含み、発現レベルの増加した少なくとも1つの微量保存外膜タンパク質を含み、前記微量保存外膜タンパク質が殺菌抗体を誘導するタンパク質から選択される、ワクチン。

(項目39)

前記微量保存外膜タンパク質が、NadA、H因子結合タンパク質(FHBP)バリエント1、およびFHBPバリエント2からなる群から選択される、項目38に記載のワクチン。

(項目40)

少なくともいくつかのNOMVがラクト-N-ネオテトラオース(LNNT)テトラサッカリドを本質的に含まない短縮されたか、または切り詰められたLOSを含む、項目38に記載のワクチン。

(項目41)

少なくともいくつかのNOMVが2つ以上の異なるPorAタンパク質を含む、項目38に記載のワクチン。

(項目42)

前記少なくとも2つ以上の異なるPorAタンパク質が、髄膜炎菌(N.meningitidis)亜群B菌株の最も一般的な菌株から選択される、項目43に記載のワクチン。

(項目43)

髄膜炎菌性疾患に対する免疫のために項目1から18および30から33のいずれか1項に記載の組成物を動物またはヒトに投与する工程を含む該動物または該ヒトにおいて髄膜炎菌性疾患に対する免疫応答を誘発する方法。

(項目44)

前記ワクチンをB群髄膜炎菌性疾患に対する免疫のために使用する、項目43に記載の方

法。

(項目45)

髄膜炎菌性疾患に対するワクチンで用いる髄膜炎菌の遺伝子改変菌株を調製する方法であって、

- a) 遺伝子改変することができる髄膜炎菌B型菌株を選択する工程、
- b) synX遺伝子の不活性によって前記菌株を遺伝子改変する工程、
- c) lpxL1遺伝子の不活性によって前記菌株を遺伝子改変する工程、
- d) lgtA遺伝子の不活性によって前記菌株を遺伝子改変する工程、および
- e) 1つまたは複数の微量保存外膜タンパク質の発現の増加によって前記菌株を遺伝子改変する工程

を含む、方法。

(項目46)

opa遺伝子の読み取り枠への少なくとも1つの第2の抗原性が異なるporA遺伝子の挿入によって前記菌株を遺伝子改変する工程をさらに含む、項目45に記載の方法。

(項目47)

少なくとも1つの外膜タンパク質のプロモーターまたは読み取り枠内のポリ-C配列をGヌクレオチドおよびCヌクレオチドを含む配列で置換することによって前記菌株を遺伝子改変して少なくとも1つの外膜タンパク質を安定的に発現させるか、または過剰発現させる工程をさらに含む、項目45または46に記載の方法。

(項目48)

髄膜炎菌性疾患に対するワクチンを調製する方法であって、

- a) 以下：

i. synX遺伝子の不活性、

ii. lpxL1遺伝子の不活性、

iii. lgtA遺伝子の不活性、

iv. opa遺伝子の代わりの少なくとも1つの第2の抗原性が異なるporA遺伝子の挿入、

v. 少なくとも1つの微量保存外膜タンパク質の増加した発現または安定した発現、および

vi. 少なくとも1つの外膜タンパク質の安定化させた発現

からなる群から選択される1つまたは複数の改変を含む髄膜炎菌の遺伝子改変菌株を培養する工程、

b) 前記a)の培養菌株を使用して発酵槽内の培地に植菌して発酵することによって前記培養物を拡大する工程、

c) 前記発酵培養物を不活性化する工程、

d) 連続フロー型遠心分離によって髄膜炎菌培養細胞を採取し、そして細胞ペーストを回収する工程、

e) 前記細胞ペーストからNOMVを単離する工程、および

f) ワクチン投与に適切な緩衝液またはキャリアにNOMVを再懸濁する工程を含む、方法。