

【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、P o r A、L O S、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、l p x L 1 遺伝子、s y n X 遺伝子、および l g t A 遺伝子の不活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 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、ワクチン。

【請求項 2】

各菌株によって発現された前記 L O S が異なる L O S 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 P o r A 亜型に基づいて選択される少なくとも 2 つの異なる 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 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、F H B P (G N A 1 8 7 0) バリエーション 1、F H B P バリエーション 2、および F H B P バリエーション 3、N a d A、A p p、N s p A、T b p A および T b p B 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NOMV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H44/76 HOPS-DL：
synX遺伝子、lpXL1遺伝子、およびlgtA遺伝子の不活化、
opaDの代わりに第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-G_AL：
synX遺伝子、lpXL1遺伝子、およびlgtA遺伝子の不活化、
opaDの代わりに第2のporA遺伝子の挿入、
H因子結合タンパク質バリエーション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遺伝子の不活化、
opaDの代わりに第2のporA遺伝子の挿入、
H因子結合タンパク質バリエーション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、組み合わせ物。

【請求項6】

菌株H44/76 HOPS-DLがET-5野生型菌株H44/76（B：15：P1.7, 16：L, 3, 7：P5.5, 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8570 HOPS-G_ILがET-5野生型菌株8570（B：4：P1.19, 15：L3, 7v：P5.5, 11, 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B16B6 HPS-G₂LがET-37野生型菌株B16B6（B：2a：P1.5, 2：L2：P5.1, 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、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NOMVを、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、MF59、CPG-ODN、またはMPLA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（NOMV）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。

【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) バリエーション 1、F H B P バリエーション 2、F H B P バリエーション 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エーション 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 - G₂ 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 の代わりに第 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エーション 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 35】

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 14 から 18 および 30 から 32 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 12 から 13 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 11 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 36】

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 14 から 18 および 30 から 32 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 12 から 13 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 11 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 37】

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 がリポオリゴサッカリド (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 38】

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) バリエーション 1、および F H B P バリエーション 2 からなる群から選択される、請求項 37 に記載のワクチン。

【請求項 39】

前記 N O M V のうちの少なくともいくつかはラクト - 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 37 に記載のワクチン。

【請求項 40】

前記 N O M V のうちの少なくともいくつかは 2 つ以上の異なる P o r A タンパク質を含む、請求項 37 に記載のワクチン。

【請求項 41】

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 40 に記載のワクチン。

【請求項 42】

請求項 14 から 18 および 30 から 32 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 12 から 13 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 11 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 43】

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 42 に記載の組成物。

【請求項 44】

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 遺伝子の代わりにの少なくとも 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 群単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 遺伝子の代わりにの少なくとも 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、P o r A、L O S、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、l p x L 1 遺伝子、s y n X 遺伝子、およびl g t A 遺伝子の不活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L O S が異なるL O S 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P o r A 亜型に基づいて選択される少なくとも2つの異なる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 (G N A 1 8 7 0) 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、N a d A、A p p、N s p A、T b p A およびT b p B 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N O M V 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H 4 4 / 7 6 H O P S - D L : s y n X 遺伝子、l p x L 1 遺伝子、およびl g t A 遺伝子の不活化、o p a D の代わりに第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、l p x L 1 遺伝子、およびl g t A 遺伝子の不活化、o p a D の代わりに第2のp o r A 遺伝子の挿入、H 因子結合タンパク質バリアント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、l p x L 1 遺伝子、およびl g t A 遺伝子の不活化、o p a D の代わりに第2のp o r A 遺伝子の挿入、H 因子結合タンパク質バリアント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。

(項目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、項目5に記載のワクチン菌株の組み合わせ。

(項目7)

菌株8 5 7 0 H O P S - G 1 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、項目5に記載のワクチン菌株の組み合わせ。

(項目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、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 1 0)

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 1 1)

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 1 2)

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 1 3)

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 1 4)

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 遺伝子の代替りの少なくとも 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 1 5)

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 1 4 に記載のワクチン組成物。

(項目 1 6)

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 1 4 から 1 5 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

(項目 1 7)

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 1 4 から 1 6 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

(項目 1 8)

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) バリエーション 1、F H B P バリエーション 2、F H B P バリエーション 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 1 5 から 1 7 に記載のワクチン組成物

。

(項目 1 9)

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 2 0)

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 2 1)

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 1 9 または 2 0 に記載の遺伝子改変菌株。

(項目 2 2)

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 2 3)

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エーション 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 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、項目 2 2 または 2 3 に記載の遺伝子改変菌株
。

(項目 2 5)

菌株 B 1 6 B 6 H P S - G₂ 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 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エーション 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 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、項目 2 5 または 2 6 に記載の遺伝子改変菌株。

(項目 2 8)

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

(項目 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、項目 1 9 から 2 8 のいずれか 1 項に記載の遺伝子改変

菌株。

(項目 3 0)

項目 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。

(項目 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、項目 3 0 に記載のワクチン組成物。

(項目 3 3)

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、項目 3 0 に記載のワクチン組成物。

(項目 3 4)

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 から 1 8 および 3 0 から 3 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

(項目 3 5)

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 1 8 および 3 0 から 3 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

(項目 3 6)

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、項目 1 から 1 8 および 3 0 から 3 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

(項目 3 7)

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 1 8 および 3 0 から 3 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

(項目 3 8)

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。

(項目 3 9)

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) バリエーション 1、および F H B P バリエーション 2 からなる群から選択される、項目 3 8 に記載のワクチン。

(項目 4 0)

少なくともいくつかの N O M V 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、項目 3 8 に記載のワクチン。

(項目 4 1)

少なくともいくつかの N O M V が 2 つ以上の異なる P o r A タンパク質を含む、項目 3 8 に記載のワクチン。

(項目 4 2)

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、項目 4 3 に記載のワクチン。

(項目 4 3)

髄膜炎菌性疾患に対する免疫のために項目 1 から 1 8 および 3 0 から 3 3 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 4 4)

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 4 3 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* 遺伝子の不活化によって前記菌株を遺伝子改変する工程、

c) *lpXL1* 遺伝子の不活化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。

(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* 遺伝子の不活化、

ii. *lpXL1* 遺伝子の不活化、

iii. *IgtA* 遺伝子の不活化、

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。