



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0002757
(43) 공개일자 2021년01월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/095 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01) A61K 39/13 (2006.01)
A61K 39/295 (2006.01) A61K 39/39 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/095 (2013.01)
A61K 39/0016 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7037786(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2014년08월27일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2019-7024365
원출원일자(국제) 2014년08월27일
심사청구일자 2019년09월19일
- (85) 번역문제출일자 2020년12월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2014/064091
- (87) 국제공개번호 WO 2015/033251
국제공개일자 2015년03월12일
- (30) 우선권주장
61/875,068 2013년09월08일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
화이자 인코포레이티드
미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235
- (72) 발명자
앤더슨 아날리사 사이빌
미국 뉴저지주 07458 어퍼 새들 리버 힐크레스트 드라이브 49
- 아루무감 라사파 가운데
미국 펜실베이니아주 19446 랜스데일 워너 로드 2284
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
제일특허법인(유)

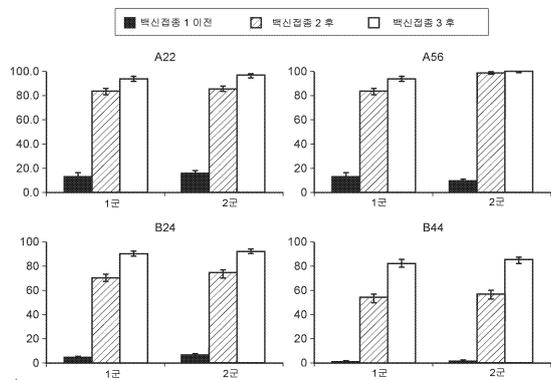
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 나이세리아 메닌지티디스 조성물 및 그의 방법

(57) 요약

한 양태에서, 본 발명은 서열번호 1에 나타난 서열을 갖는 제 1 폴리펩티드 및 서열번호 2에 나타난 서열을 갖는 제 2 폴리펩티드를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 한 태양에서, 상기 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 폴리펩티드 약 120 µg/ml, 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 폴리펩티드 120 µg/ml, 제 1 폴리펩티드에 대해 약 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 제 2 폴리펩티드에 대해 약 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 알루미늄 약 0.5 mg/ml, 약 10 mM 히스티딘, 및 약 150 mM 염화나트륨을 포함한다. 한 태양에서, 조성물의 용량은 총 부피로 약 0.5 ml이다. 한 태양에서, 상기 조성물의 2-용량은 인간에서 다양한 이종 서브패밀리 A 및 서브패밀리 B 균주에 대한 살균 역가를 유도한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/12 (2013.01)
A61K 39/13 (2013.01)
A61K 39/295 (2020.05)
A61K 39/39 (2013.01)
C12N 7/00 (2013.01)
A61K 2039/5252 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
A61K 2039/55505 (2013.01)
C12N 2710/20034 (2013.01)

(72) 발명자

팔리 존 어윈

미국 노스캐롤라이나주 27516 채플 힐 마이클즈 웨이 101

플레처 레아 다이앤

미국 뉴욕주 14454 제네시오 2번가 37

해리스 샤넌

미국 뉴욕주 10954 나누엣 웨스트 프로스펙트 스트리트 142

젠슨 카트린 우데

미국 뉴욕주 10065 뉴욕 이스트 65번가 160 아파트먼트 11씨

존스 토마스 리차드

미국 뉴욕주 10956 뉴 시티 필드크레스트 드라이브 4

칸드케 렉슈미

미국 뉴욕주 10954 나누엣 이스트 엘리슨 애비뉴 120

론 본튼

미국 조지아주 30607 에텐즈 윌튼 크릭 로드 145

페레즈 존 램스

미국 펜실베이니아주 18902 도일스타운 코리건 로드 59-33

즈로트닉 개리 워렌

미국 뉴욕주 12553 뉴 윈저 롤링 리지 1033

(30) 우선권주장

61/926,717 2014년01월13일 미국(US)
61/989,432 2014년05월06일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 서열번호 1에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드; 및
- b) 서열번호 2에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드
- 를 포함하는, 인간에서 *나이세리아 매닌지티디스*에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 액체 조성물로서, 융합 단백질을 포함하지 않고 폴리솔베이트-80을 추가로 포함하는 액체 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
알루미늄, 히스티딘 및 염화나트륨을 추가로 포함하는 액체 조성물.

청구항 3

제 2 항에 있어서,
120 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 제 1 폴리펩티드, 120 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 제 2 폴리펩티드, 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 0.5 mg/ml 의 알루미늄, 10 mM 의 히스티딘 및 150 mM 의 염화나트륨을 포함하는 액체 조성물.

청구항 4

제 2 항에 있어서,
0.5 ml 용량당 60 μg 의 제 1 폴리펩티드, 60 μg 의 제 2 폴리펩티드, 18 μg 의 폴리솔베이트-80, 250 μg 의 알루미늄, 780 μg 의 히스티딘 및 4380 μg 의 염화나트륨을 포함하는 액체 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,
서열번호 1에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는 액체 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,
제 1 폴리펩티드가 총 258개 아미노산을 갖는, 액체 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,
제 1 폴리펩티드가 제 1 폴리펩티드의 N-말단에 서열번호 3에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는, 액체 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서,
서열번호 2에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는 액체 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서,
제 2 폴리펩티드가 총 261개 아미노산을 갖는, 액체 조성물.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

제 2 폴리펩티드가 제 2 폴리펩티드의 N-말단에 서열번호 3에 나타난 아미노산 서열을 포함하는, 액체 조성물.

청구항 11

제 1 항에 있어서,

2개 이하의 지질화 폴리펩티드를 포함하는 액체 조성물.

청구항 12

제 1 항에 있어서,

제 1 폴리펩티드가 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열로 구성되는, 액체 조성물.

청구항 13

제 1 항에 있어서,

제 2 폴리펩티드가 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열로 구성되는, 액체 조성물.

청구항 14

- a) 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드; 및
 - b) 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드
- 를 포함하는, 인간에서 *나이세리아 메닝지티디스*에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 액체 조성물로서, 하이브리드 단백질을 포함하지 않고 폴리솔베이트-80을 추가로 포함하는 액체 조성물.

청구항 15

- a) 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드; 및
 - b) 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드
- 를 포함하는, 인간에서 *나이세리아 메닝지티디스*에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 액체 조성물로서, 키메라 단백질을 포함하지 않고 폴리솔베이트-80을 추가로 포함하는 액체 조성물.

청구항 16

제 1 항에 있어서,

동결건조되지 않는 액체 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 *나이세리아 메닝지티디스*(*Neisseria meningitidis*) 조성물 및 그의 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 본 출원은 2013년 9월 8일자로 출원된 미국 가출원 제 61/875,068 호, 2014년 1월 13일자로 출원된 미국 가출원 제 61/926,717 호, 및 2014년 5월 6일자로 출원된 미국 가출원 제 61/989,432 호를 우선권 주장하며, 상기 출원들은 각각 그 전체로 본원에 참고로 인용된다.

[0003] *나이세리아 메닝지티디스*는 패혈증, 수막염 및 사망을 야기할 수 있는 그람-음성 피낭성(encapsulated) 세균이다. *나이세리아 메닝지티디스*는 화학적 및 항원적으로 독특한 폴리사카라이드 캡슐에 근거하여 12개 이상의 혈청군(혈청군 A, B, C, 29E, H, I, K, L, W-135, X, Y 및 Z 포함)으로 분류될 수 있다. 상기 혈청군 중 5개(A,

B, C, Y 및 W135)를 갖는 균주가 대부분의 질환에 원인이 된다.

[0004] 수막구균성 수막염은 항생물질의 유효성에도 불구하고 수시간내에 아동 및 청소년을 사망시킬 수 있는 치명적인 질환이다. 수막구균 혈청군 A, B, C, Y 및 W135 및/또는 X에 대한 개선된 면역원성 조성물이 요구된다.

[0005] 현재, 광범위한 MnB 분리균에 대해 효과적인 교차-보호 백신 또는 조성물은 아직 상업적으로 입수가능하지 않다. 예를 들면, 혈청군 B 질환에 대한 보호를 위한 허가된 다성분 조성물에 관해 지금까지 발표된 결과는, 적어도 청소년기에, 이중 LP2086(fHBP) 변이체를 발현하는 다중 균주에 대한 직접적인 살균 면역 반응을 입증하지 못하였다. 기껏해야, 혈청군 B 질환에 대한 보호를 위한 다성분 조성물에 관해 지금까지 발표된 결과는, 다성분 조성물중 LP2086(fHBP) 변이체에 이중인 LP2086(fHBP) 변이체에 대해 면역원성을 나타내는 것으로 보인다. 따라서, 일련의 다양하거나 이중인 수막구균 균주(예를 들면, 상이한 지리학적인 영역을 나타내는)에 대해 실제적인 백신 커버리지(vaccine coverage)를 산정하고 있는 바와 같이 다양한 MnB 분리균에 대해 효과적인 교차-보호 백신 또는 조성물이 요구된다.

발명의 내용

[0006] 상기 및 기타 요구를 충족시키기 위해, 본 발명은 *나이세리아 메닌지티디스* 조성물 및 그의 방법에 관한 것이다.

[0007] 한 양태에서, 본 발명은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 약 120 µg/ml, 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 120 µg/ml, 제 1 폴리펩티드에 대해 약 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 제 2 폴리펩티드에 대해 약 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 알루미늄 약 0.5 mg/ml, 약 10 mM 히스티딘, 및 약 150 mM 염화나트륨을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 한 태양에서, 1차 용량은 총 부피로 약 0.5 ml이다. 한 태양에서, 상기 조성물은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B에 대해 살균 면역 반응을 유도한다. 한 태양에서, 상기 조성물은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 A, C, 29E, H, I, K, L, W-135, X, Y 또는 Z에 대해 살균 면역 반응을 유도한다. 한 태양에서, 상기 조성물은 서열번호 1에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 한 태양에서, 상기 조성물은 서열번호 2에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 한 태양에서, 상기 제 1 폴리펩티드는 총 258개의 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 총 261개의 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 상기 조성물은 1차 용량을 투여받기 전 인간에서 혈청 면역글로불린의 살균 역가보다 1차 용량을 투여받은 후의 인간에서 2배 이상 더 높은 혈청 면역글로불린의 살균 역가를 유도하며, 이때 살균 역가에서의 증가는 인간 보체를 사용하는 혈청 살균 분석에서 동일한 조건하에서 측정된다. 한 태양에서, 제 1 지질화 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열들로 이루어진다. 한 태양에서, 제 2 지질화 폴리펩티드는 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열들로 이루어진다.

[0008] 또 다른 양태에서, 본 발명은 인간에서 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역 반응을 유도하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은, 인간에게 효과량의 조성물의 1차 용량 및 2차 용량을 투여하는 것을 포함하며, 상기 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 120 µg/ml, 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 120 µg/ml, 제 1 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 제 2 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 알루미늄 0.5 mg/ml, 10 mM 히스티딘, 및 150 mM 염화나트륨을 포함한다. 한 태양에서, 상기 조성물의 용량은 0.5 ml의 총 부피를 갖는다. 한 태양에서, 인간은 조성물의 2개 이하의 용량을 투여받는다. 한 태양에서, 인간은 조성물의 추가 용량을 추가로 투여받지 않는다. 한 태양에서, 인간은 조성물의 3차 용량을 투여받는다. 한 태양에서, 인간은 3차 용량후에 조성물의 추가 용량을 추가로 투여받지 않는다. 한 태양에서, 인간은 조성물의 4차 용량을 추가로 투여받지 않는다. 한 태양에서, 3차 용량은 1차 용량후 약 6개월의 기간 내에 인간에게 투여된다. 한 태양에서, 2차 용량은 1차 용량후 30일 이상 후에 투여된다. 한 태양에서, 상기 방법은 조성물의 3차 용량을 투여하는 것을 추가로 포함하며, 이때 상기 3차 용량은 2차 용량후 90일 이상 후에 투여된다. 한 태양에서, 조성물은, 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석에서 동일한 조건하에 측정시, 1차 용량을 투여받기 전 인간에서 혈청 면역글로불린의 살균 역가보다 1차 용량을 투여받은 후 인간에서 2배 이상 더 높은 혈청 면역글로불린의 살균 역가를 유도한다. 한 태양에서, 상기 면역 반응은 A05를 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이중인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 면역 반응은 B01을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이중인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771에 이중인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1127에 이중인 *나이세리아*

메닌지티디스 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 바람직한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1573에 이중인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 총 258개 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 총 261개 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 제 1 지질화 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열들로 이루어진다. 한 태양에서, 제 2 지질화 폴리펩티드는 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열들로 이루어진다.

[0009] 또 다른 양태에서, 본 발명은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 60 µg/ml, 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 60 µg/ml, 제 1 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 제 2 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 알루미늄 0.5 mg/ml, 10 mM 히스티딘, 및 150 mM 염화나트륨을 포함하는 조성물에 관한 것으로, 이때 상기 조성물은 약 0.5 ml의 총 부피를 갖는다. 한 태양에서, 상기 조성물은 A05를 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이중인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대한 살균 면역 반응을 유도한다. 한 태양에서, 상기 조성물은 B01을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이중인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대한 살균 면역 반응을 유도한다. 한 태양에서, 상기 조성물은, 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석에서 동일한 조건하에서 측정시, 1차 용량을 투여받기 전 인간에서 혈청 면역글로불린의 살균 역가보다 1차 용량을 투여받은 후 인간에서 2배 이상 더 높은 혈청 면역글로불린의 살균 역가를 유도한다. 한 태양에서, 상기 조성물은 서열번호 1에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 한 태양에서, 상기 조성물은 서열번호 2에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 한 태양에서, 상기 제 1 폴리펩티드는 총 258개의 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 총 261개의 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 제 1 지질화 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열들로 이루어진다. 한 태양에서, 제 2 지질화 폴리펩티드는 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열들로 이루어진다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 ≥LLOQ의 hSBA 역가를 달성하는 대상자의 비율을 나타낸 것이다. hSBA는 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석이고; LLOQ는 정량화 하한치이다.

도 2는 rLP2086으로 면역화후 개개 인간 대상자의 프린스턴 대학(Princeton University) 발생 균주 및 UCSB 발생 균주에 대한 hSBA 역가에서 4배 증가를 달성하는 대상자의 퍼센트를 나타낸 것이다(연구 B1971012 - 실시예 5, 실시예 6에 기술됨). 임상 연구 B1971012에서 2가 rLP2086으로 면역화된 9명의 인간 대상자로부터의 혈청 샘플을 프린스턴 대학으로부터 및 UCSB로부터 획득된 MnB 발생 균주를 사용하여 연구 hSBA에서 평가하였다.

서열 식별

서열번호 1은 제조합 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A05 폴리펩티드 항원에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 2는 제조합 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B01 폴리펩티드 항원에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 3은 서열번호 1 및 서열번호 2의 위치 1 내지 4에서의 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 4는 제조합 *나이세리아 서브패밀리 A LP2086* 폴리펩티드 (rLP2086) (A05) 폴리펩티드 항원의 N-말단의 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 5는 *나이세리아 서브패밀리 A LP2086 M98250771* 폴리펩티드 (A05) 폴리펩티드 항원의 N-말단의 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 6은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B153에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 7은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A04에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 8은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A05에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 9는 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A12에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 10은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A22에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 11은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B02에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

서열번호 12는 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B03에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 13은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B09에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 14는 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B22에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 15는 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B24에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 16은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B44에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 17은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B16에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 18은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A07에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 19는 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A19에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 20은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A06에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 21은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A15에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 22는 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 A29에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.
 서열번호 23은 *나이세리아 메닌지티디스*, 혈청군 B, 2086 변이체 B15에 대한 아미노산 서열을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0011] 본 발명자들은 놀랍게도 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 및 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 발견하였다. 상기 조성물은 인간에서 허용되는 안전성 프로필을 가지며, 상기 조성물은 놀랍게도 2가지 이상 더 많은 다양한 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 대해 인간에서 광범위하게 교차-반응성 살균 면역 반응을 유도한다.
- [0012] 본 발명자들은 또한, 2-용량 투여 스케줄 및 3-용량 투여 스케줄이 놀랍게도, 높은 비율의 인간 대상자들에서 백신 이종 LP2086(인자 H 결합 단백질(fHBP)) 서브패밀리 A 및 B와 함께 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B로부터의 시험 균주들에 대해 ≥ 8 의 hSBA 역가를 제공하였음을 밝혀내었다. 3-용량 투여 스케줄은 2-용량 투여 스케줄과 비교시 다양한 MnB 임상 균주에 대해 인간에서 가장 광범위한 보호를 제공할 수 있다.
- [0013] 본 발명자들은 또한 놀랍게도, rLP2086 조성물 및 인유두종 바이러스에 대한 4가 면역원성 조성물(HPV4)의 동시 투여후에 인유두종 바이러스 및 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B에 대한 강한 면역 반응이 일어났음을 밝혀내었다. 예를 들면, rLP2086 조성물 및 HPV4 조성물의 동시 투여는, 적어도 rLP2086 조성물내 상기 fHBP에 이종인 fHBP를 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 시험 균주에 대해 면역 반응을 야기하였다. 상기 이종 시험 균주로는, 각각 rLP2086 조성물내 fHBP에 이종인 A22 fHBP, A56 fHBP, B24 fHBP 또는 B44 fHBP를 발현하는 야생형 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 균주가 포함된다. 특히 A22 fHBP, A56 fHBP, B24 fHBP 및 B44 fHBP를 포함하여 변이 fHBP 단백질을 기술하고 있는 WO/2012/032489 호, WO/2013/132452 호, 미국 특허 공개공보 US20120093852 호 및 미국 특허 공개공보 US20130243807 호를 참조하시오. 상기 참조문헌들은 각각 전체로 참고로 인용된다. 동시 투여는 또한 놀랍게도 적어도 HPV 제 6, 11, 16 및/또는 18 형에 대해 면역 반응을 야기하였다. rLP 2086 조성물과 HPV4 조성물의 동시 투여후 HPV 유형들에 대한 면역 반응은, rLP2086 조성물의 부재하에 HPV4 조성물의 투여에 의해 야기된 면역 반응과 비교할 때 열등하지 않았다.
- [0014] 또한, 본 발명자들은 놀랍게도, rLP2086 조성물, 및 디프테리아, 파상풍, 백일해 및 소아마비에 대한 면역원성 조성물의 동시 투여후에 디프테리아, 파상풍, 백일해 및 소아마비 및 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B에 대한 강한 면역 반응이 야기되었음을 밝혀내었다. 예를 들면, rLP2086 조성물 및 REPEVAX 조성물의 동시 투여는, 적어도 rLP2086 조성물내 상기 fHBP에 이종인 fHBP를 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 시험 균주에 대해 면역 반응을 야기하였다. 동시 투여는 또한 놀랍게도 적어도 REPEVAX 내 9개 항원: 디프테리아, 파상풍, 백일해 독소이드, 백일해 섬유상 헤마글루티닌, 백일해 퍼타틴(pertactin), 백일해 펄브리아 응집원 2 + 3 형, 제 1 형 소아마비 바이러스, 제 2 형 소아마비 바이러스, 제 3 형 소아마비 바이러스에 대해 면역 반응을 야기하였다. rLP2086 조성물 및 REPEVAX 조성물의 동시 투여후 REPEVAX 항원에 대한 면역 반응은, rLP2086 조성물의 부재하에 REPEVAX 조성물의 투여에 의해 야기된 면역 반응과 비교할 때 열등하지 않았다.
- [0015] 또한, 본 발명자들은 놀랍게도 rLP2086 조성물이 fHBP B153 변이체를 발현하는 ST409 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 대해 살균 면역 반응을 유도하는 것을 밝혀내었다. 예를 들면, fHBP B153 변이체를 발현하는 균주는,

인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)에서, 인간 2가 rLP2086 조성물 면역 혈청과 접촉시 사멸에 민감한 것으로 밝혀졌다.

[0016] **조성물 및 백신**

[0017] 한 양태에서, 본 발명은 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 갖는 제 1 지질화 폴리펩티드 및 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 갖는 제 2 지질화 폴리펩티드를 포함한다.

[0018] 본 발명자들은 놀랍게도 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B의 다중 균주들에 대해 효과적인 광범위 보호 면역 반응을 유도하는 단일 *나이세리아 메닌지티디스* 폴리펩티드 성분을 발견하였다. 따라서, 한 태양에서, 상기 조성물은 융합 단백질을 포함하지 않는다. 한 태양에서, 상기 조성물은 키메라 단백질을 포함하지 않는다. 한 태양에서, 상기 조성물은 하이브리드 단백질을 포함하지 않는다. 한 태양에서, 상기 조성물은 펩티드 단편을 추가로 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 상기 조성물은 fHBP가 아닌 *나이세리아* 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 예를 들면, 한 태양에서, 조성물은 PorA 단백질을 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 조성물은 NadA 단백질을 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 조성물은 *나이세리아* 헤파린 결합 항원(NHBA)을 추가로 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 조성물은 *나이세리아* 외막 소포체(OMV)를 추가로 포함하지 않는다. 바람직한 태양에서, 조성물은 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드 이외의 다른 항원을 추가로 포함하지 않는다.

[0019] 또 다른 양태에서, 본 발명자들은 놀랍게도 2가지 이하의 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 균주로부터 유래된 폴리펩티드 항원이 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B의 다중 균주에 대해 효과적인 광범위 보호 면역 반응을 유도함을 밝혀내었다. 따라서, 한 태양에서, 상기 조성물은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A M98250771 균주 및/또는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B CDC1573 균주로부터 유래되지 않은 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다.

[0020] 한 태양에서, 조성물은 서열번호 1에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 조성물은 서열번호 2에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 예를 들면, 조성물은 서열번호 1 및/또는 서열번호 2의 전장에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다.

[0021] 한 태양에서, 조성물은 또한 폴리솔베이트-80, 알루미늄, 히스티딘 및 염화나트륨을 포함한다. 한 태양에서, 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 약 60 µg/ml, 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 약 60 µg/ml, 각각의 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 알루미늄 0.5 mg/ml, 10 mM 히스티딘, 및 150 mM 염화나트륨을 포함하며, 이때 상기 조성물은 바람직하게는 약 0.5 ml의 총 부피를 갖는다.

[0022] 또 다른 양태에서, 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 약 120 µg/ml, 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 약 120 µg/ml, 각각의 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 알루미늄 포스페이트로서 0.5 mg 알루미늄/ml, 10 mM 히스티딘, 및 150 mM 염화나트륨을 포함한다.

[0023] 또 다른 양태에서, 조성물은 a) 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 60 µg; b) 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 60 µg; c) 18 µg 폴리솔베이트-80; d) 250 µg 알루미늄; e) 780 µg 히스티딘, 및 f) 4380 µg 염화나트륨을 포함한다.

[0024] 예시적 태양에서, 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열로 이루어지는 제 1 지질화 폴리펩티드 약 60 µg, 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열로 이루어지는 제 2 지질화 폴리펩티드 약 60 µg, 제 1 지질화 폴리펩티드에 대해서 및 제 2 지질화 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 알루미늄 포스페이트 0.5 mg/ml, 10 mM 히스티딘, 및 150 mM 염화나트륨을 포함하며, 이때 상기 조성물은 약 0.5 ml의 총 부피를 갖는다. 예시적 태양에서, 조성물은 멸균 등장성 완충된 액체 현탁액이다. 예시적 태양에서, 조성물은 pH 6.0을 갖는다. 예시적 태양에서, 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드는 알루미늄에 흡착된다.

[0025] 한 태양에서, 조성물은 약 0.5 ml의 총 부피를 갖는다. 한 태양에서, 조성물의 1차 용량은 약 0.5 ml의 총 부피를 갖는다. "1차 용량"은 제 0 일에 투여되는 조성물의 용량을 말한다. "2차 용량" 또는 "3차 용량"은 1차 용량에 이어서 투여되는 조성물의 용량을 말하며, 1차 용량과 동일한 양일 수 있거나 아닐 수 있다.

[0026] 조성물은 인간에게 1차 용량의 투여후에 면역원성이다. 한 태양에서, 1차 용량은 총 부피로 약 0.5 ml이다.

- [0027] 조성물은, 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)에서 동일한 조건하에서 측정시, 1차 용량을 투여받기 전 인간에서의 혈청 면역글로불린의 살균 역가보다 1차 용량을 투여받은 후 인간에서 1배 이상보다 더 높거나, 바람직하게는 2배 이상 더 높은 혈청 면역글로불린의 살균 역가를 유도한다.
- [0028] 살균 역가 또는 살균 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B에 대한 것이다. 바람직한 태양에서, 살균 역가 또는 살균 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주 및 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대한 것이다. 가장 바람직하게, 살균 역가 또는 살균 면역 반응은 적어도 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B, 서브패밀리 B, B01 균주에 대한 것이다.
- [0029] 한 태양에서, 상기 조성물은, 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석에서 동일한 조건하에서 측정시, 한 용량의 조성물을 투여받기 전 인간에서의 혈청 면역글로불린의 살균 역가보다 상기 용량의 조성물을 투여받은 후 인간에서 1배 이상 더 큰, 예를 들면, 1.01배, 1.1배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 11배, 12배, 13배, 14배, 15배 또는 16배 이상 더 높은 혈청 면역글로불린의 살균 역가를 유도한다.
- [0030] 한 태양에서, 조성물은 면역원성 조성물이다. 한 태양에서, 조성물은 인간에 대한 면역원성 조성물이다. 또 다른 태양에서, 조성물은 백신이다. "백신"은, 항원에 특이적인 면역 반응을 유도하는 1개 이상의 에피토프를 함유하는, 상기 항원을 포함하는 조성물을 말한다. 백신은 피하, 경구, 구비강 또는 비강내 투여 경로에 의해 대상자에게 직접 투여될 수 있다. 한 태양에서, 조성물은 인간 백신이다. 한 태양에서, 조성물은 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물이다.
- [0031] 한 태양에서, 조성물은 액체 조성물이다. 바람직한 태양에서, 조성물은 액체 현탁액 조성물이다. 또 다른 바람직한 태양에서, 조성물은 동결건조되지 않는다.
- [0032] **제 1 폴리펩티드**
- [0033] 한 태양에서, 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 갖는 제 1 폴리펩티드를 포함한다. 한 바람직한 태양에서, 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 폴리펩티드 약 60 μg 을 포함하며, 이때 상기 조성물은 바람직하게는 0.5 ml의 총 부피를 갖는다. 또 다른 태양에서, 조성물은 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 1 폴리펩티드 약 120 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 포함한다. 상기 폴리펩티드는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771로부터의 변형된 인자 H 결합 단백질(fHBP)이다. fHBP에 대한 설명은, 각각 전체로 참고로 인용된 WO2012032489 호 및 미국 특허 공개공보 US 2012/0093852 호에 개시되어 있다. 폴리펩티드는, 상기 폴리펩티드의 3개 위치에 공유 결합된 3개의 우세한 지방산 C16:0, C16:1 및 C18:1로 N-말단에 지질화된다. 제 1 폴리펩티드는 총 258개의 아미노산을 포함한다.
- [0034] 제 1 폴리펩티드는, *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771로부터의 상응하는 야생형 서열에 비해, 폴리펩티드의 N-말단 영역에 도입된 2개의 변형을 포함한다. 제 2 위치에서의 글리신은 클로닝 부위를 도입한 결과로서 추가된다. 제 2 변형은 4개 아미노산의 결실을 포함한다. 따라서, 한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 N-말단에 C-G-S-S 서열(서열번호 3)을 포함한다. 서열번호 1, 처음 4개 아미노산 참조.
- [0035] 제 1 폴리펩티드 서열과 야생형 *나이세리아* 서열 사이의 N-말단 차이는 하기에 나타나 있다. 따라서, 한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열의 적어도 처음 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13개 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직하게, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1의, 적어도 처음 4개, 보다 바람직하게는 적어도 처음 6개, 및 가장 바람직하게는 적어도 처음 8개 아미노산 잔기를 포함한다.
- [0036] 제조합 및 *나이세리아* 서브패밀리 A LP2086 폴리펩티드의 예측 N-말단 서열의 비교
- [0037] rLP2086 M98250771 CGSS----GGGGVAAD (서열번호 4)
- [0038] *나이세리아* LP2086 M98250771 C-SSGS-GSGGGVAAD (서열번호 5)
- [0039] >A05 (서열번호 1)
- [0040] CGSSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKLKSLTLEDSISQNGTLTLSAQGAETFKVGDKDNSLNTGKLNKDKISRFDVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQDHSVAVALQIEKINPNPKIDSLINQRSFLVSLGGEHTAFNQLPSGKAIEYHGKAFSSDDAGGKLTYYIDFAAQKHGKIEHLKTPQNVELASAEKAD EKKSHAVILGDTRYGSEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ
- [0041] 한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열을 포함한다. 한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 총 258개의 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아

미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 아미노산 서열 KDN을 포함한다. 예를 들면, 서열번호 1의 아미노산 잔기 73 내지 75를 참조하시오. 또 다른 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 폴리펩티드의 N-말단에 서열번호 3에 나타난 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 폴리펩티드의 N-말단에 서열번호 4에 나타난 아미노산 서열을 포함한다.

[0042] 바람직한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 당해 분야에 공지된 표준 기술을 이용하여 재조합 숙주 세포에서 용이하게 발현된다. 또 다른 바람직한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1의 N- 및/또는 C-도메인 상에 살균 에피토프를 포함한다. 한 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열의, 적어도 처음 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100개 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직하게, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1의, 적어도 처음 2개, 보다 바람직하게는 적어도 처음 4개 및 가장 바람직하게는 적어도 처음 8개 아미노산 잔기를 포함한다.

[0043] 또 다른 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 1에 나타난 아미노산 서열의, 적어도 마지막 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100개 아미노산 잔기를 포함한다.

[0044] **제 2 폴리펩티드**

[0045] 한 태양에서, 조성물은 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 갖는 제 2 폴리펩티드를 포함한다. 한 바람직한 태양에서, 조성물은 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 폴리펩티드 약 60 μg을 포함하며, 이때 상기 조성물은 바람직하게는 0.5 ml의 총 부피를 갖는다. 또 다른 태양에서, 조성물은 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 폴리펩티드 약 120 μg/ml를 포함한다. 상기 폴리펩티드는 *나이세리아 메니지티 디스* 균주 CDC1573으로부터의 인자 H 결합 단백질(fHBP)이다. fHBP에 대한 설명은, 각각 전체로 참고로 인용된 W02012032489 호 및 미국 특허 공개공보 US 2012/0093852 호에 개시되어 있다. 폴리펩티드는, 폴리펩티드의 3개 위치에 공유 결합된 3개의 우세한 지방산 C16:0, C16:1 및 C18:1로 N-말단에 지질화된다. 제 2 폴리펩티드는 총 261개의 아미노산을 포함한다. 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 N-말단에 C-G-S-S 서열(서열번호 3)을 포함한다. 서열번호 2의 처음 4개 아미노산 참조.

[0046] >B01 (서열번호 2)

[0047] CGSSGGGGGGGGVTADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSISQNGTLTLSAQGAEKTYGNGDSLNTGKLNKDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQEQDPEHSEKMKVAKRRFRIGDIAGEHTSFDKLPKDVMTYRGTAFGSDDAGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVDLAVAYIKPDEKHHAVISGSVLYNQDEKGSYSYSLGIFGEKAQEVAGSAEVETANGIHGGLAAKQ

[0048] 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함한다. 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 총 261개의 아미노산을 갖는다. 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 서열번호 2에 대해 100% 미만의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함하지 않는다. 바람직한 태양에서, 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드는 각각의 폴리펩티드의 N-말단에 C-G-S-S(서열번호 3) 서열을 포함한다.

[0049] 바람직한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 당해 분야에 공지된 표준 기술을 이용하여 재조합 숙주 세포에서 용이하게 발현된다. 또 다른 바람직한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 서열번호 2의 N- 및/또는 C-도메인 상에 살균 에피토프를 포함한다. 한 태양에서, 제 2 폴리펩티드는 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열의, 적어도 처음 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100개 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직하게, 제 2 폴리펩티드는 서열번호 2의 적어도 처음 2개, 보다 바람직하게는 적어도 처음 4개, 가장 바람직하게는 적어도 처음 8개 아미노산 잔기를 포함한다.

[0050] 또 다른 태양에서, 제 1 폴리펩티드는 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열의, 적어도 마지막 4, 5, 6, 7, 8, 9,

10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100개 아미노산 잔기를 포함한다.

[0051] **폴리솔베이트-80**

[0052] 폴리솔베이트 80(PS-80)은 비-이온성 계면활성제이다. 시험관내 단클론성 항체 기반 효능 분석법을 이용한 촉진된 안정성 연구는, 최종 제형에서 PS-80 대 MnB rLP2086 단백질의 보다 높은 몰비에서 서브패밀리 B 단백질의 불안정성을 입증하였다. 다양한 비의 PS-80을 사용한 또 다른 실험은 효능을 유지하기 위해 PS-80 대 MnB rLP2086 단백질의 최적 몰비가 2.8 ± 1.4 임을 입증하였다.

[0053] 조성물중 PS-80의 농도는 PS-80 대 폴리펩티드의 몰비에 따라 달라진다. 한 태양에서, 조성물은 제 1 폴리펩티드에 대해서 및 제 2 폴리펩티드에 대해 2.8 ± 1.4 몰비의 PS-80을 포함한다. 한 태양에서, 조성물은 제 1 폴리펩티드에 대해서 및 제 2 폴리펩티드에 대해 2.8 ± 1.1 몰비의 PS-80을 포함한다. 한 태양에서, 조성물은 폴리펩티드에 대해 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2 또는 3.3 이상의 몰비의 PS-80을 포함한다. 바람직하게, 조성물은 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 PS-80을 포함한다.

[0054] PS-80 대 폴리펩티드 몰비는 PS-80의 측정된 농도 및 측정된 총 폴리펩티드 농도로부터 산출하여 결정되며, 이때 상기 두 값은 모두 몰로 나타낸다. 예를 들면, PS-80 대 단백질 몰비는 최종 약물 물질중 PS-80의 측정된 농도(예를 들면, 역상 고압 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해) 대 측정된 총 단백질 농도(예를 들면, 이온 교환-고압 액체 크로마토그래피(IEX-HPLC)에 의해)를 산출하여 결정되며, 이때 상기 두 값 모두 몰로 나타낸다.

[0055] RP-HPLC를 사용하여 백신 제형중 폴리솔베이트 80의 농도를 정량화한다. 계면활성제의 농도는 지방산 잔기의 비누화에 의해 측정된다: 폴리솔베이트 80은 40 °C에서 알칼리성 가수분해에 의해 유리 올레산으로 전환된다. 샘플은 C18 컬럼을 사용하여 RP-HPLC에 의해 분리되고, 200 nm의 파장에서 UV 검출기를 사용하여 정량화된다.

[0056] 제 1 및 제 2 폴리펩티드는 음이온-교환 HPLC에 의해 분해된다. rLP2086 (fHBP) 서브패밀리 A 및 B 단백질은 별개의 체류 시간에 용출되며, 각각의 rLP2086 단백질 기준 물질에 대해 작성된 표준 곡선을 이용하여 정량화된다.

[0057] 용어 "몰비" 및 fHBP 및 PS-80을 포함하는 면역원성 조성물에 대한 설명은, 각각 그 전체로 참고로 인용된 WO2012025873 호 및 미국 특허 공개공보 US 2013/0171194 호에 더 개시되어 있다.

[0058] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "몰비"는 조성물중 2개의 상이한 요소들의 몰 수의 비를 말한다. 일부 태양에서, 몰비는 계면활성제의 몰 대 폴리펩티드의 몰의 비이다. 일부 태양에서, 몰비는 PS-80의 몰 대 단백질의 몰의 비이다. 한 태양에서, 단백질 및 폴리솔베이트 80 농도를 기준으로, 몰비는 하기 식을 사용하여 산출할 수 있다:

[0059] $\text{몰비} = \%PS-80/\text{mg/ml} \text{ 단백질} \times 216$

[0060] 한 태양에서, 조성물은 약 0.0015, 0.0017, 0.0019, 0.0021, 0.0023, 0.0025, 0.0027, 0.0029, 0.0031, 0.0033, 0.0035, 0.0037, 0.0039, 0.0041, 0.0043, 0.0045, 0.0047, 0.0049, 0.0051 mg/ml의 PS-80을 포함한다. 바람직하게, 조성물은 약 0.0035 mg/ml의 PS-80을 포함한다.

[0061] 또 다른 태양에서, 조성물은 약 10 μg , 11 μg , 12 μg , 13 μg , 14 μg , 15 μg , 16 μg , 17 μg , 18 μg , 19 μg , 20 μg , 21 μg , 22 μg , 23 μg , 24 μg 또는 25 μg PS-80을 포함한다. 바람직한 태양에서, 조성물은 18 μg PS-80을 포함한다.

[0062] 또 다른 태양에서, 조성물은 0.0005% 내지 1% 범위의 PS-80 농도를 포함한다. 예를 들면, 조성물중 PS-80 농도는 0.0005%, 0.005%, 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09%, 0.10%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1% 또는 1.1% 이상의 PS-80일 수 있다. 바람직한 태양에서, 조성물은 약 0.07% PS-80을 포함한다.

[0063] 범위를 정의하기 위해 임의의 최소값이 본원에 기술된 임의의 최대값과 조합될 수 있다.

[0064] **알루미늄**

[0065] 조성물은 바람직하게는 약 0.5 mg/ml 알루미늄 포스페이트를 포함한다. 한 태양에서, 조성물은 알루미늄 포스

페이트로서 약 0.5 mg 알루미늄/ml를 포함한다. 0.50 mg/ml에서 $AlPO_4$ 가 증대된 제조성 및 안정성을 제공하기 위해 안정화제로 첨가된다. 상기 농도는 알루미늄에 대한 서브패밀리 A 및 B 단백질의 결합(90% 이상의 결합)을 유지한다.

[0066] 알루미늄 포스페이트를 제조하기 위한 방법은 전체로 참고로 인용된 미국 특허 공개공보 US 2009/0016946 호에 기술되어 있다.

[0067] 한 태양에서, 조성물은 알루미늄 이외의 다른 다가 양이온을 추가로 포함하지 않는다. 한 태양에서, 조성물은 $Al(OH)_3$ 또는 $Al(SO_4)_3$ 를 추가로 포함하지 않는다.

[0068] **부형제**

[0069] 한 태양에서, 조성물은 히스티딘을 포함한다. 한 태양에서, 조성물은 염화나트륨을 포함한다. 조성물은 바람직하게는 약 10 mM 히스티딘 및 약 150 mM 염화나트륨을 포함한다. 한 태양에서, 조성물은 10 mM 히스티딘 및 150 mM 염화나트륨을 포함한다.

[0070] 또 다른 태양에서, 조성물은 약 650 μ g, 660 μ g, 670 μ g, 680 μ g, 690 μ g, 700 μ g, 710 μ g, 720 μ g, 730 μ g, 740 μ g, 750 μ g, 760 μ g, 770 μ g, 780 μ g, 790 μ g, 800 μ g, 810 μ g, 820 μ g, 830 μ g, 840 μ g 또는 850 μ g의 히스티딘을 포함한다. 바람직하게, 조성물은 약 780 μ g 히스티딘을 포함한다. 범위를 정의하기 위해 임의의 최소값이 본원에 기술된 임의의 최대값과 조합될 수 있다.

[0071] 한 태양에서, 조성물은 트리스, 포스페이트 또는 숙시네이트 완충제를 포함한다. 바람직한 태양에서, 조성물은 트리스 완충제를 포함하지 않는다. 바람직한 태양에서, 조성물은 포스페이트 완충제를 포함하지 않는다. 한 바람직한 태양에서, 조성물은 숙시네이트 완충제를 포함하지 않는다. 바람직한 태양에서, 조성물은 히스티딘 완충제를 포함한다.

[0072] 바람직한 태양에서, 조성물의 pH는 6.0 내지 7.0, 가장 바람직하게는 pH 6.0이다. 한 태양에서, 조성물의 pH는 최대한 6.1이다.

[0073] **살균 활성**

[0074] 조성물을 인간에게 투여하여 유도된 면역 반응은 4개의 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B(MnB) 균주에 대한 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)을 이용하여 측정된다. hSBA에 사용된 4개의 MnB 균주는 균주 풀로부터 선택하였다. 균주 풀은 미국 및 유럽으로부터 체계적으로 수집된 임상적으로 관련된 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 균주의 컬렉션을 대표하였다. SBA를 위한 4개 균주 중 2개는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B LP2086(fHBP) 서브패밀리 A로부터 유래된 것이고, 4개 균주 중 또 다른 2개는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B LP2086(fHBP) 서브패밀리 B로부터 유래된 것이다.

[0075] 모든 시험 균주, 특히 제 1 폴리펩티드에 이중인 서열을 갖는 지단백질 2086 변이체를 발현하는 균주에 대한 높은 비율의 hSBA 반응은, 조성물이 광범위 보호 백신이며 2개 용량이 적어도 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 높은 혈청보호율(seroprotection)을 제공하기에 충분함을 시사한다.

[0076] 모든 시험 균주, 특히 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드 둘 다에 이중인 서열을 갖는 지단백질 2086 변이체를 발현하는 균주에 대한 높은 비율의 hSBA 반응은, 조성물이 광범위 보호 백신이며 약 6개월 기간 이내에 3개 이하의 용량이 rLP2086(fHBP) 서브패밀리 A 및/또는 서브패밀리 B를 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 균주에 대해 높은 혈청보호율을 제공하기에 충분함을 시사한다.

[0077] 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) 서브패밀리 A 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 A05를 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이중인 지단백질 2086 변이체를 발현하는 LP2086(fHBP) 서브패밀리 A 균주이다. 예를 들면, 한 태양에서, hSBA 균주는 균주 M98250771에 이중인 지단백질 2086 변이체를 발현하는 LP2086(fHBP) 서브패밀리 A 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) A22 균주이다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) A56 균주이다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) A22 및 LP2086(fHBP) A56 균주이다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A04 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A05 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A12 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A22 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A12 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A04 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A19 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 A07 균주이다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 A22, A12, A19, A05 및 A07, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 한 태양에서, hSBA 균주는 A06,

A15 및 A29, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0078] 한 태양에서, 면역 반응은 A05를 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이종인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B A22 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B A56 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B A06 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B A15 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B A29 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B A62 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771에 이종인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 면역 반응은 제 1 폴리펩티드에 대해 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 또 다른 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 바람직한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 80% 이상, 보다 바람직하게는 84% 이상의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다.

[0079] 또 다른 태양에서, 면역 반응은 제 1 폴리펩티드에 대해 많아야 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 또 다른 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 많아야 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 바람직한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 M98250771에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 85% 이하, 보다 바람직하게는 99% 이하의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 살균성이다. 범위를 정의하기 위해 임의의 최소값이 본원에 기술된 임의의 최대값과 조합될 수 있다.

[0080] 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) 서브패밀리 B 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 B01을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이종인 지단백질 2086 변이체를 발현하는 LP2086(fHBP) 서브패밀리 B 균주이다. 예를 들면, 한 태양에서, hSBA 균주는 균주 CDC1127에 이종인 지단백질 2086 변이체를 발현하는 LP2086(fHBP) 서브패밀리 B 균주이다. 바람직한 태양에서, hSBA 균주는 균주 CDC1573에 이종인 지단백질 2086 변이체를 발현하는 LP2086(fHBP) 서브패밀리 B 균주이다.

[0081] 한 태양에서, 면역 반응은 B01을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 균주에 이종인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B B24 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B B44 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B B16 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B B03 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B B09 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B B15 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B B153 균주에 대한 것이다. 한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1573에 이종인 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 면역 반응은 제 2 폴리펩티드에 대해 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 또 다른 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1573에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 바

람직한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1573에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 80% 이상의 동일성, 보다 바람직하게는 87% 이상의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 또 다른 바람직한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1573에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다.

[0082] 또 다른 태양에서, 면역 반응은 제 2 폴리펩티드에 대해 많아야 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 또 다른 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1573에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 많아야 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 바람직한 태양에서, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 균주 CDC1573에 의해 발현된 인자 H 결합 단백질에 대해 88% 이하의 동일성, 보다 바람직하게는 99% 이하의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인자 H 결합 단백질을 발현하는 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다. 범위를 정의하기 위해 임의의 최소값이 본원에 기술된 임의의 최대값과 조합될 수 있다.

[0083] 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) B24 균주이다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) B44 균주이다. 다른 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) B24 및 LP2086(fHBP) B44 균주를 포함한다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086(fHBP) A22, LP2086(fHBP) A56, LP2086(fHBP) B24 및 LP2086(fHBP) B44 균주를 포함한다. 한 태양에서, hSBA 균주는 B15를 포함한다. 한 태양에서, hSBA 균주는 B153을 포함한다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 B16 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 B03 균주이다. 한 태양에서, hSBA 균주는 LP2086 B09 균주이다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 B24, B16, B44, B03 및 B09, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 B24, B16, B44, A22, B03, A12, A19, A05 및 A07, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 또 다른 태양에서, hSBA 균주는 A06, A07, A12, A15, A19, A29, B03, B09, B15 및 B16, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0084] 한 태양에서, 상기 방법은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주 및 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대한 면역 반응을 유도한다. 바람직하게, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주 및 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 살균성이다.

[0085] 한 태양에서, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대한 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대한 면역 반응보다 크다. 예를 들면, 한 태양에서, 면역원성 조성물은, 동일한 조건하에서 시험시, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해서보다 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 더 높은 살균 역가를 유도한다. 한 태양에서, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 더 높은 살균 역가는 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물의 2차 용량후 30일 이내에 일어난다. 한 태양에서, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해 더 높은 살균 역가는 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물의 3차 용량의 부재하에서 일어난다.

[0086] 또 다른 태양에서, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대한 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대한 면역 반응보다 더 크다. 예를 들면, 한 태양에서, 면역원성 조성물은, 동일한 조건하에서 시험시, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 A 균주에 대해서보다 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 더 높은 살균 역가를 유도한다. 한 태양에서, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 더 높은 살균 역가는 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물의 2차 용량후 30일 이내에 일어난다. 한 태양에서, *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B 서브패밀리 B 균주에 대해 더 높은 살균 역가는 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물의 3차 용량의 부재하에서 일어난다.

[0087] **역가**

[0088] 한 태양에서, 조성물은, hSBA에서 동일한 조건하에서 측정시, 한 용량의 조성물 투여 전 인간에서의 살균 역가에 비해, 인간에서의 살균 역가의 증가를 유도한다. 한 태양에서, hSBA에서 동일한 조건하에서 측정시, 조성물

의 1차 용량 투여 전 인간에서의 살균 역가에 비해, 살균 역가의 증가는 조성물의 1차 용량의 투여전 인간에서의 살균 역가와 비교된다. 한 태양에서, hSBA에서 동일한 조건하에서 측정시, 조성물의 2차 용량 투여 전 인간에서의 살균 역가에 비해, 역가의 증가는, 조성물의 2차 용량 후에 관찰된다. 또 다른 태양에서, hSBA에서 동일한 조건하에서 측정시, 조성물의 3차 용량 투여 전 인간에서의 살균 역가에 비해, 살균 역가의 증가는, 조성물의 3차 용량 후에 관찰된다.

[0089] 한 태양에서, 조성물은 용량 투여후 인간에서 살균 역가를 유도하며, 이때 상기 살균 역가는, hSBA에서 동일한 조건하에서 측정시, 상기 용량 투여 전 인간에서의 살균 역가보다 1배 이상 더 높다. 예를 들면, 살균 역가는, hSBA에서 동일한 조건하에서 측정시, 용량 투여 전 인간에서의 살균 역가에 비해, 조성물 용량을 투여받은 후 인간에서 1.01배, 1.1배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 11배, 12배, 13배, 14배, 15배 또는 16배 이상 더 높을 수 있다.

[0090] 한 태양에서, "반응자"는 인간을 말하며, 이때 조성물은 용량 투여후 인간에서 살균 역가를 유도하며, 이때 상기 살균 역가는 용량 투여전 인간에서의 살균 역가보다 1배 이상 더 높다. 바람직한 태양에서, 반응자는, 용량 투여전 인간에서의 살균 역가에 비해, hSBA 역가에서 ≥ 4 배 이상의 증가를 달성한다. 상기 반응자는 보호 역가를 갖는 것으로 지칭될 수 있다.

[0091] 한 태양에서, hSBA 역가는 측정가능한 효과를 제공하는 혈청 샘플의 최고 희석률의 역수이다. 예를 들면, 한 태양에서, hSBA 역가는 T30 CFU 값(즉, 시험 혈청을 제외하고 모든 분석 성분들을 함유하는 분석 웰에서 배양후 생존하는 세균의 수; 100% 세균 생존율)에 비해 MnB 세균의 50% 이상의 감소(50% 세균 생존율)를 야기하는 시험 혈청의 최고 2배 희석률의 역수이다.

[0092] 한 태양에서, 조성물은, hSBA에서 동일한 조건하에서 측정시, 1차 용량을 투여받기 전 인간에서의 살균 역가보다 2배 이상 더 높은(예를 들면, 1차 용량의 부재하에 인간에서의 살균 역가보다 높은), 1차 용량을 투여받은 후 인간에서의 살균 역가를 유도한다. 한 태양에서, 조성물은 인간 보체를 사용하는 인간 혈청 살균 분석(hSBA)에서 동일한 조건하에서 측정시, 1차 용량을 투여받기 전 인간에서의 살균 역가보다 4배 이상 더 높은, 인간에서의 살균 역가를 유도한다. 한 태양에서, 조성물은 인간 보체를 사용하는 인간 혈청 살균 분석(hSBA)에서 동일한 조건하에서 측정시, 1차 용량을 투여받기 전 인간에서의 살균 역가보다 8배 이상 더 높은, 인간에서의 살균 역가를 유도한다.

[0093] 바람직한 태양에서, 인간 혈청 보체는 해당 SBA 시험 균주에 대해 낮은 고유 살균 활성을 갖는 인간으로부터 유래된다. 낮은 고유 살균 활성은, 예를 들면, 해당 SBA 시험 균주에 대해 1:4 이상의 희석률보다 낮은 살균 역가를 말한다. 한 태양에서, 인간 보체는 해당 SBA 시험 균주에 대해, 적어도 1:4 미만, 예를 들면, 1:2 희석률인 hSBA 역가를 갖는 인간으로부터 유래되며, 이때 조성물은 인간에게 투여되지 않았다.

[0094] 인간은 조성물, 예를 들면, 2가 rLP2086 조성물의 투여전에 1:4 미만의 hSBA 역가를 나타낼 수 있거나, 인간은 조성물의 투여전에 $\geq 1:4$ 의 hSBA 역가를 나타낼 수 있다. 따라서, 바람직한 태양 및 실시예에서, 인간에게 1개 이상의 용량의 조성물의 투여는, 예를 들면, $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가, $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가, 및 $\geq 1:32$ 의 hSBA 역가와 같은, 1:4 이상의 큰 hSBA 역가를 제공한다. 본원에 기술된 각각의 실시예는 $\geq 1:8$ 및/또는 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 갖는 인간 대상자의 비율 평가를 포함하며, 이때 2가 rLP2086 조성물이 인간에게 투여되었다. 1:4보다 큰 hSBA 역가의 상기 바람직한 평가는, 보호, 즉 인간에서 유도된 살균 면역 반응이 조성물과 관련됨을 보여준다.

[0095] 한 태양에서, 인간은 조성물의 1차 용량 투여후 hSBA의 정량화 하한치(LLOQ)와 같거나 그보다 큰 hSBA 역가를 갖는다. 또 다른 태양에서, 인간은 조성물 2차 용량 투여후 hSBA의 LLOQ와 같거나 그보다 큰 hSBA 역가를 갖는다. 또 다른 태양에서, 인간은 조성물의 3차 용량 투여후 hSBA의 LLOQ와 같거나 그보다 큰 hSBA 역가를 갖는다.

[0096] **또 다른 면역원성 조성물**

[0097] 본 발명자들은 놀랍게도 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물이 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 살균 반응에 불리하게 영향을 미치지 않으면서 인유두종 바이러스(HPV)에 대한 면역원성 조성물과 함께 투여될 수 있음을 밝혀내었다. 실시예 7 및 실시예 8에 설명된 바와 같이, *나이세리아 메닌지티디스* 시험 균주에 대한 실질적인 hSBA 반응이 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물 및 GARDASIL을 투여받은 인간중에서 및 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물 및 식염수를 투여받은 인간에서 관찰되었다. hSBA 반응에서의 추가의 증가가 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물의 3차 용량 약 1개월 후에 관찰되었다.

[0098] 또한, 본 발명자들은 놀랍게도, 조성물의 투여전 인간에서의 면역 반응에 비해, *나이세리아 메닌지티디스* 및

HPV 둘 다에 대한 강한 면역 반응이 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물 및 HPV에 대한 면역원성 조성물 둘 다를 투여한 후 인간에서 일어났음을 밝혀내었다. 실시예 7 및 실시예 8에 설명된 바와 같이, 면역원성 조성물의 투여전 인간에서의 역가에 비해, *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물 및 GARDASIL의 투여후 인간에서 HPV에 대한 역가가 증가하였다. HPV에 대한 역가의 증가는 1배 이상 더 크거나, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상 또는 그 이상이었다.

[0099] 따라서, 한 태양에서, 본 발명의 방법은 인간에서 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 포함하며, 이때 상기 방법은 인유두종 바이러스에 대한 면역원성 조성물을 인간에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 바람직하게, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스*에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 상기 방법은 HPV에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 추가로 포함한다. 바람직한 태양에서, 상기 방법은 인유두종 바이러스 제 6, 11, 16 및 18 형 중 임의의 하나, 또는 그의 임의의 조합에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 포함한다. 한 태양에서, HPV에 대한 면역원성 조성물은 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 상기 조성물을 투여한지 24 시간 이내에 인간에게 투여된다.

[0100] 한 태양에서, 본 발명의 방법은 인간에서 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 포함하며, 이때 상기 방법은 HPV에 대한 면역원성 조성물을 인간에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 바람직하게, 면역 반응은 *나이세리아 메닌지티디스*에 대해 살균성이다. 한 태양에서, 상기 방법은 HPV에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 추가로 포함한다. 바람직한 태양에서, 상기 방법은 인유두종 바이러스 제 6, 11, 16 및 18 형 중 임의의 하나, 또는 그의 임의의 조합에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 추가로 포함한다. 한 태양에서, 인유두종 바이러스에 대한 면역원성 조성물은 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 상기 조성물을 투여한지 24 시간 이내에 인간에게 투여된다.

[0101] 또 다른 양태에서, 본 발명자들은 놀랍게도 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물이 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 살균 반응에 불리하게 영향을 미치지 않으면서 디프테리아, 파상풍, 무세포성 백일해 및 불활성화 소아마비 바이러스(dTaP)에 대한 면역원성 조성물과 함께 투여될 수 있음을 밝혀내었다. 실시예 4에 설명된 바와 같이, *나이세리아 메닌지티디스* 시험 균주에 대한 실질적인 hSBA 반응이 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물 및 REPEVAX를 투여받은 인간에서 관찰되었다. *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물의 3차 용량 약 1개월후에 hSBA 반응에 추가의 증가가 관찰되었다.

[0102] 또한, 본 발명자들은 놀랍게도, 조성물의 투여전 인간에서의 면역 반응에 비해, *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물 및 dTaP에 대한 면역원성 조성물 둘 다를 투여한 후 인간에서 *나이세리아 메닌지티디스* 및 dTaP 둘 다에 대한 강한 면역 반응이 야기되었음을 밝혀내었다. 실시예 4에 설명된 바와 같이, 면역원성 조성물의 투여전 인간에서의 역가에 비해, *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역원성 조성물 및 REPEVAX의 투여후 인간에서 dTaP에 대한 역가가 증가하였다. dTaP에 대한 역가의 증가는 1배 이상 더 크거나, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 또는 그 이상이었다.

[0103] **방법 및 투여**

[0104] 한 양태에서, 본 발명은 인간에서 *나이세리아 메닌지티디스*에 대한 면역 반응을 유도하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 인간을 백신접종하는 방법에 관한 것이다. 한 태양에서, 상기 방법은 전술한 조성물의 1개 이상의 용량을 인간에게 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 태양에서, 상기 방법은 전술한 조성물의 적어도 1차 용량 및 2차 용량을 투여하는 것을 포함한다.

[0105] 놀랍게도, 본 발명자들은 조성물의 2-용량 스케줄이 인간에서 다양한 이종 서브패밀리 A 및 다양한 이종 서브패밀리 B 균주에 대해 살균 역가를 유도하였음을 밝혀내었다. 예를 들면, $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 인간의 비율은 전술한 조성물의 2-용량 스케줄후 LP20869(fHBP) A22 또는 LP2086(fHBP) A56을 발현하는 SBA 시험 균주에 대해 90% 이상이었다(실시예 1 참조).

[0106] 한 태양에서, 2차 용량은 1차 용량후 적어도 20, 30, 50, 60, 100, 120, 160, 170 또는 180일 후에, 및 1차 용량후 길어야 250, 210, 200 또는 190일 후에 투여된다. 범위를 정의하기 위해 임의의 최소값이 본원에 기술된 임의의 최대값과 조합될 수 있다.

[0107] 또 다른 태양에서, 2차 용량은 1차 용량 약 30일후에 투여된다. 또 다른 태양에서, 2차 용량은, 예를 들면, 0, 2 개월 면역화 스케줄에서와 같이, 1차 용량후 약 60일후에 투여된다. 또 다른 태양에서, 2차 용량은, 예를 들면, 0, 6 개월 면역화 스케줄에서와 같이, 1차 용량후 약 180일 후에 투여된다. 또 다른 태양에서, 2차 용량은, 예를 들면, 2, 6 개월 면역화 스케줄에서와 같이, 1차 용량후 약 120일 후에 투여된다.

- [0108] 한 태양에서, 본 발명의 방법은 인간에서 조성물의 2개 용량 및 2개 이하의 용량을 투여하는 것을 포함한다. 한 태양에서, 2개 용량은 1차 용량후 약 6개월의 기간 이내에 투여된다. 한 태양에서, 상기 방법은 인간에게 추가접종의 투여를 추가로 포함하지 않는다. 본원에서 사용된 바와 같은 "추가접종"은 인간에게 조성물의 추가 투여를 말한다. 2개 이하의 용량의 조성물을 인간에게 투여하는 것은 유리할 수 있다. 상기 이점으로는, 예를 들면, 인간이 전체 투여 스케줄에 순응하는 것을 촉진하는 것 및 스케줄의 비용-효과를 촉진하는 것을 포함한다.
- [0109] 한 태양에서, 1차 용량 및 2차 용량은 1차 용량후 약 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 또는 200 일, 및 길어야 400, 390, 380, 370, 365, 350, 340, 330, 320, 310, 300, 290, 280, 270, 260, 250, 240, 230, 220, 210 또는 200 일의 기간동안 인간에게 투여된다. 범위를 정의 하기 위해 임의의 최소값이 본원에 기술된 임의의 최대값과 조합될 수 있다.
- [0110] 한 태양에서, 1차 용량 및 2차 용량은 약 30 일의 기간동안 인간에게 투여된다. 또 다른 태양에서, 1차 용량 및 2차 용량은 약 60 일의 기간동안 인간에게 투여된다. 또 다른 태양에서, 1차 용량 및 2차 용량은 약 180 일의 기간동안 인간에게 투여된다.
- [0111] **3개 용량**
- [0112] 본 발명자들은 또한 놀랍게도 조성물의 3-용량 스케줄이 2-용량 스케줄보다 더 많은 비율의 인간에서 이중 LP2086(fHBP) 서브패밀리 B 균주를 발현하는 균주에 대해 더 광범위한 살균 역가를 유도하였음을 밝혀내었다. 예를 들면, $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 인간의 비율은 전술한 조성물의 2-용량 스케줄 후에 SBA 시험 균주 LP20869(fHBP) B24 및 LP2086(fHBP) B44에 대해 65% 이상이었다. $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 인간의 비율은 전술한 조성물의 3-용량 스케줄 후에 SBA 시험 균주 B24 및 B44에 대해 86% 이상이었다(실시예 1 참조).
- [0113] 따라서, 한 태양에서, 조성물의 3-용량 스케줄은 2-용량 스케줄보다 더 많은 비율의 인간에서 제 1 및/또는 제 2 폴리펩티드에 이중인 LP2086(fHBP)을 발현하는 다중 균주에 대해 살균 역가를 유도한다.
- [0114] 한 태양에서, 상기 방법은 인간에게 3개 용량의 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 태양에서, 상기 방법은 3개 이하의 용량의 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 한 태양에서, 3개 용량은 1차 용량후 약 6개월의 기간 이내에 투여된다. 한 태양에서, 상기 방법은 3차 용량후에 인간에게 추가 용량의 투여를 포함한다. 또 다른 태양에서, 상기 방법은 3차 용량후 인간에게 추가 용량의 투여를 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 상기 방법은 인간에게 4차 또는 추가 용량의 조성물을 투여하는 것을 추가로 포함하지 않는다. 또 다른 태양에서, 약 6개월의 기간내에 3개 이하의 용량이 인간에게 투여된다.
- [0115] 예시적인 태양에서, 2차 용량은 1차 용량 약 30일 후에 투여되고, 3차 용량은, 예를 들면, 0, 1, 6 개월 면역화 스케줄에서와 같이, 2차 용량 약 150일 후에 투여된다. 또 다른 예시적인 태양에서, 2차 용량은 1차 용량 약 60일 후에 투여되고, 3차 용량은, 예를 들면, 0, 2, 6 개월 면역화 스케줄에서와 같이, 2차 용량 약 120일 후에 투여된다.
- [0116] 한 태양에서, 1차 용량, 2차 용량 및 3차 용량은 약 150, 160, 170 또는 180 일, 및 길어야 240, 210, 200 또는 190 일의 기간동안 인간에게 투여된다. 범위를 정의하기 위해 임의의 최소값이 본원에 기술된 임의의 최대 값과 조합될 수 있다. 바람직하게, 1차 용량, 2차 용량 및 3차 용량은 약 180 일 또는 6개월의 기간동안 인간에게 투여된다. 예를 들면, 2차 용량은 1차 용량 약 60일 후에 인간에게 투여될 수 있고, 3차 용량은 2차 용량 약 120일 후에 인간에게 투여될 수 있다. 따라서, 예시적인 투여 스케줄은 약 0, 2 및 6 개월에 인간에게 용량을 투여하는 것을 포함한다.
- [0117] 전술한 바와 같이, 다중 용량의 면역원성 조성물이 인간에게 투여될 수 있으며, 각 용량 사이의 일 수는 달라질 수 있다. 상기 방법의 이점으로는, 예를 들면, 인간이 투여 스케줄에 순응하기 위한 유연성이 포함된다.
- [0118] **실시예**
- [0119] 하기 실시예는 본 발명의 태양들을 예시한다. 본원에서 달리 언급되지 않는 한, 하기 실시예에서는 0.5 ml 용량당 서열번호 1에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 제 1 지질화 폴리펩티드 60 μg , 0.5 ml 용량당 서열번호 2에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 60 μg , 제 1 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 제 2 폴리펩티드에 대해 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 0.5 mg Al^{3+} /조성물 ml, 10 mM 히스티딘, 및 150 mM 염화나트륨을 포함하는 조성물의 바람직한 예시적 태양인 연구용 2가 재조합 백신(rLP2086)이 언급된다. 보다 특히, 상기 연구용 2가 재조합 rLP2086 백신은 (a) 서열번호 1에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는

제 1 지질화 폴리펩티드 60 μg ; (b) 서열번호 2에 나타난 아미노산 서열을 포함하는 제 2 지질화 폴리펩티드 60 μg ; (c) 18 μg 폴리솔베이트-80; (d) 250 μg 알루미늄; (e) 780 μg 히스티딘, 및 (f) 4380 μg 염화나트륨을 포함한다. 각각의 용량은 0.5 mL이었다.

- [0120] 실시예 1: 11 내지 18세의 건강한 대상자에서 2 또는 3개 용량 요법으로 투여시 건강한 청소년에서 연구용 수막구균 혈청군 B 2가(MnB) rLP2086 백신의 안전성, 내약성 및 면역원성
- [0121] 배경: 연구용 2가, 제조합 백신(rLP2086)의 안전성, 내약성 및 면역원성을 2 또는 3회 백신접종을 포함하는 5가지 용량 요법을 이용하여 11 내지 18세의 건강한 청소년에서 연구하였다.
- [0122] 백신은 60 μg 의 각각의 정제된 서브패밀리 A 및 정제된 서브패밀리 B rLP2086 단백질, 2.8 몰비 폴리솔베이트-80 및 AlPO_4 로서 Al^{3+} 0.25 mg, 10 mM 히스티딘-완충 식염수(pH 6.0)를 함유하도록 제형화된 0.5 ml-용량이었다.
- [0123] 활성 대조군으로 작용할 수 있는, 알려진 입증된 안전하고 면역원성이며 효과적인 MnB에 대한 백신이 없기 때문에 식염수를 위약으로 사용하였다. 표준 식염수 용액은 0.5 ml 용량에 0.9% 염화나트륨을 포함한다.
- [0124] 방법: 2상, 무작위, 위약-통제, 단일-맹검 연구에서 모든 대상자들은 0, 1, 2 및 6 개월에 백신접종 방문에 참석하였다. 맹검연구를 위해, 백신이 예정되지 않았을 때 식염수 대조군을 제공하였다. 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)은 LP2086(fHBP) fHBP 변이체 A22, A56, B24 및 B44를 발현하는 4개 MnB 시험 균주(즉, 1차 평가항목(primary endpoint) 분석에서 4개의 "주요 hSBA 시험 균주")를 사용하여 수행하였으며, 상기 균주들은 모두 백신내 변이체와 상이하였다. 원하지 않는 부작용(AE), 요구된 국소 및 전신 반응, 및 해열 용도를 평가하였다.
- [0125] 양측 95% 신뢰 구간(CI) 하에 각각의 채혈 시점에서 각각의 주요 균주에 대해 기하 평균 hSBA 역가를 산출하였다. 기하 평균 배수 증가는 95% CI 하에 산출하였다.
- [0126] 반응자는 hSBA 분석의 정량화 하한치(LLOQ)와 같거나 그보다 높은 hSBA 역가를 갖는 대상자로 정의하였다. 1차 평가항목 분석에서 4개의 hSBA 시험 균주 각각에 대한 LLOQ는 1:8과 같은 hSBA 역가이었다. 각 주요 시험 균주에 대한 검출 한계(LOD)는 1:4와 같은 역가이었다(수막구균 질환에 대한 보호의 상관지표로서 광범위하게 간주됨).
- [0127] 결과: 마지막 백신 용량 1개월 후에, 대상자의 86 내지 99%(3개 용량 후; $P < 0.001$) 및 대상자의 69 내지 100%(2개 용량 후)가 각각의 MnB 시험 균주에 대해 ≥ 8 의 hSBA 역가를 나타내었다. 연구 용량 1 후에, rLP2086 수용자의 19 내지 27%(1.1 내지 4.3% 심각) 및 23 내지 27%(0.0 내지 1.0% 심각)가 각각, 군 별로, 발적 및 종창을 경험하였다. 주사 부위 통증이 연구 용량 1 후에 가장 공통적인 국소 반응이었다(7.6 내지 13.1% 심각). 2가 rLP2086 백신의 1차 연구 용량후 $\geq 38^\circ\text{C}$ 의 발열이, 식염수 수용자의 2.1%에 비해 군 별로 3.3 내지 6.5%에서 경험되었다. 국소 및 전신 반응은 일반적으로 후속 용량들 이후보다 용량 1 이후에 더 빈번하였다. 1712명 대상자중 43명(2.5%)이 51가지의 심한 AE를 보고하였으며; 2개의 사례가 관련된 것으로 간주되었다(어지러움, 오한 및 두통의 1개 사례 및 발열 및 구토의 1개 사례). 사망은 보고되지 않았다.
- [0128] [표 1]
- [0129] 2가 rLP2086의 마지막 용량 1개월후 각각의 주요 균주에 대해 $\geq 8^*$ 의 hSBA 역가를 달성하는 평가가능한 연구 대상자 비율에 대한 통계 분석 - 평가가능한 면역원성 집단

군주 [변이 체]	군 1 (0, 1, 6 개월)		군 2 (0, 2, 6 개월)		군 3 (0, 6 개월)		군 4 (0, 2 개월)		군 5 (2, 6 개월)	
	n [†] /N [‡]	% [§] (95%CI) [¶]	n [†] /N [‡]	% [§] (95%CI) [¶]	n [†] /N [‡]	% [§] (95%CI) [¶]	n [†] /N [‡]	% [§] (95%CI) [¶]	n [†] /N [‡]	% [§] (95%CI) [¶]
	PMB80 [A22]	330/ 360	91.7 (88.3, 94.3)	339/ 357	95.0 (92.1, 97.0)	345/ 369	93.5 (90.5, 95.8)	216/ 238	90.8 (86.3, 94.1)	102/ 111
PMB2001 [A56]	360/ 362	99.4 (98.0, 99.9)	355/ 359	98.9 (97.2, 99.7)	364/ 370	98.4 (96.5, 99.4)	240/ 240	100.0 (98.5, 100.0)	112/ 113	99.1 (95.2, 100.0)
PMB2948 [B24]	315/ 354	89.0 (85.2, 92.0)	313/ 354	88.4 (84.6, 91.6)	291/ 359	81.1 (76.6, 85.0)	173/ 237	73.0 (66.9, 78.5)	76/ 110	69.1 (59.6, 77.6)
PMB2707 [B44]	315/ 356	88.5 (84.7, 91.6)	303/ 352	86.1 (82.0, 89.5)	276/ 356	77.5 (72.2, 82.3)	164/ 234	70.1 (63.8, 75.9)	81/ 111	73.0 (63.7, 81.0)

* 모든 군주에 대한 정량화 하한치 = 8.
† ≥8의 hSBA 역가를 갖는 대상자 수.
‡ 유효한 hSBA 역가를 갖는 대상자 수.
§ 2항 분포에 기초한 단측 정확 검정을 이용하여 P<0.001; P<0.125의 값이 유의적인 것으로 간주됨.
¶ 관찰된 대상자 비율에 기초한 정확 양측 신뢰 구간(클로퍼(Clopper) 및 피어슨(Pearson)).

[0130]

[0131]

결론: 2가 rLP2086은 허용가능한 안전성 프로필을 나타내었다. 5가지 투약 요법 모두 높은 비율의 대상자들에게서 4개 시험 군주 모두에 대해 ≥8의 hSBA 역가를 제공하였다. 2개 용량에 비해 3개 용량 후 일부 시험 군주에 대해 더 높은 비율은 3개 용량이 다양한 MnB 임상 군주에 대해 가장 광범위한 보호를 제공할 수 있음을 시사한다. 세계적인 3상 임상 시험이 2가 rLP2086 백신을 사용하여 진행 중이다.

[0132]

본 연구의 목적 중 하나는, LP2086 서브패밀리 A 및 B 단백질을 발현하는 MnB 군주를 사용하여 수행된 hSBA에 의해 측정시, 1군 대상자(무작위배정된 대로 0-, 1- 및 6-개월 스케줄) 중에서 및 2군 대상자(무작위배정된 대로 0-, 2- 및 6-개월 스케줄) 중에서, 2가 rLP2086으로 3차 백신접종한 1개월 후에, 면역 반응을 평가하는 것이었다. 면역원성 분석을 위한 평가항목은 4개 주요 MnB 시험 군주(A22, A56, B24 및 B44) 각각에 대해 7개월에(또는 2가 rLP2086의 3차 용량 1개월 후에) ≥LLOQ의 hSBA를 달성하는 1군 및 2군내 대상자 비율이었다. LLOQ는 4개 주요 MnB 시험 군주에 대해 1:8이었다.

[0133]

평가가능한 면역원성 집단의 경우, 2가 rLP2086의 3개 용량후 ≥1:8의 hSBA 역가를 달성하는 1군내 대상자 비율은 A22에 대해 91.7%, A56에 대해 99.4%, B24에 대해 89% 및 B44에 대해 88.5%이었다(상기 표 1 참조). 97.5% CI의 하한치는 모든 군주에 대해 >50%이었으므로(군주 A22, A56, B24 및 B44에 대해, 각각 87.8%, <0.001; 97.8%, p<0.001; 84.7%, p<0.001; 및 84.1%, p<0.001), 연구 목적은 1군내 대상자들에 대해 충족되었다.

[0134]

2군의 경우, 2가 rLP2086의 3개 용량후 ≥1:8의 hSBA 역가를 달성하는 대상자 비율은 A22에 대해 95.0%, A56에 대해 98.9%, B24에 대해 88.4% 및 B44에 대해 86.1%이었다(상기 표 1 참조). 1군에서 나타난 바와 유사하게, 97.5% CI의 하한치는 모든 군주에 대해 >50%이었으므로(군주 A22, A56, B24 및 B44에 대해, 각각 91.7%, p<0.001; 96.9%, p<0.001; 84.1%, p<0.001; 및 81.4%, p<0.001), 상기 목적이 2군내 대상에 대해 또한 충족되었음이 입증되었다.

[0135]

두번째 목적은, LP2086 서브패밀리 A 및 B 단백질을 발현하는 MnB 군주를 사용하여 수행된 hSBA에 의해 측정시, 3군 대상자들(무작위배정된 대로 0- 및 6-개월 스케줄) 중에서, 2가 rLP2086의 2차 용량 1개월 후에 면역 반응을 평가하는 것이었다. 상기 두번째 목적은 4개 주요 MnB 시험 군주 각각에 대해 7개월에(또는 2가 rLP2086의 2차 용량 1개월 후에) ≥LLOQ(1:8)의 hSBA 역가를 달성하는 3군내 대상자 비율이었다.

[0136]

2가 rLP2086의 2개 용량후 ≥1:8의 hSBA 역가를 달성하는 3군내 대상자 비율이 모든 군주에 대해 >50%의 97.5% CI의 하한치(군주 A22, A56, B24 및 B44에 대해, 각각 90.0%, p<0.001; 96.2%, p<0.001; 76.0%, p<0.001; 및 72.2%, p<0.001, 상기 표 1 참조) 하에, 주요 MnB 시험 군주들에 대해 93.5%, 98.4%, 81.1% 및 77.5%이었으므로, 상기 두번째 목적은 또한 충족되었다.

[0137]

또 다른 두번째 목적은 1군 내지 5군내 대상자들에 대해 각 채혈 시점에서 4개의 주요 MnB 시험 군주들 각각에 대해 ≥LLOQ의 hSBA를 갖는 대상자 비율이었다. 4개 주요 hSBA 시험 군주들 각각에 대한 LLOQ는 1:8의 역가이었다. 평가가능한 면역원성 집단에서 연구 시간까지 ≥1:8의 hSBA 역가를 갖는 대상들의 비율은 상기 표 1에 나타내었다.

[0138] 2가 rLP 2086의 1개 용량 후 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 대상자들의 비율(주사 3 1개월 후 5군[2- 및 6-개월 스케줄])은 A22에 대해 55.9%, A56에 대해 67.6%, B24에 대해 56.9% 및 B44에 대해 23.8%이었다.

[0139] 2가 rLP2086의 2개 용량 1개월 후 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 갖는 대상자들의 비율은 서브패밀리 A 군주의 경우 74.6 내지 100% 범위였고, 서브패밀리 B 군주의 경우 54.0 내지 81.1%의 범위였다. 3개 용량후, 상기 비율은 증가되었으며, 서브패밀리 A 및 B 군주에 대해 각각 91.7 내지 99.4% 및 86.1 내지 89.0%의 범위였다.

[0140] **실시예 2: 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)**

[0141] 인간 혈류로부터 MnB 제거는 주로 보체-매개 용균에 의해 달성되고, 미손상(intact) 보체 시스템은 MnB에 의해 야기된 감염에 대한 내성에 중요하다. MnB의 생체내 보체-매개 용균은, 수막구균 질환에 대한 보호를 대신하는 것으로 밝혀진 기능성 혈청학 분석법인, 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)에 의해 시험관내에서 모방된다. 즉, 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)에서 세균 사멸의 입증은 수막구균 질환에 대한 보호와 상관된다. 백신에 의해 유도된 면역은 4개 MnB 군주(fHBP 변이체 A22, A56, B24 및 B44)에 대한 hSBA를 이용하여 측정된다.

[0142] 4개의 주요 MnB 시험 군주들은 평가항목 측정을 위해 실시예에 기술된 hSBA에 사용되었다. 즉, hSBA 면역원성 평가항목을 이용하여 백신 효능을 평가하기 위해 상기 군주들을 사용하였다. 상기 시험 군주들은 미국 및 유럽에서 순환되는 질환 분리군의 >90%를 차지하는 6개 fHBP 계통발생적 혈청군들 중 4개를 대표한다.

변이체	매칭된 fHBP 서브패밀리 백신 성분에 대한 동일성	fHBP 혈청군	CC	PorA	리포올리고사카라이드 시알레이트화 수준 (몰%)
A56	98.1%	N1C2	CC213	P1.22,14	55%
B44	91.6%	N4/N5	CC269	P1.19-1, 10-4	23%
A22	88.9%	N2C2	CC41/44	P1.21,16	84%
B24	86.2%	N6	CC32	P1.12-1, 13-1	22%

[0143]

[0144] 침습성 질환 분리군으로부터 4개의 주요 MnB 시험 군주를 선별하는데 있어서, 시험관내 LP2086 표면 발현의 집단 분포를 고려해 넣는 접근방법을 이용하였다. 또한, hSBA 시험 군주는, 수막구균 질환에 대한 위험이 있는 집단이 대부분의 군주에 대해 존재하지 않거나 낮은 기준선 살균 활성을 특징으로 하기 때문에, 낮은 기준선 hSBA 양성을 나타내어야 하였다. 또한, 4개 주요 MnB 시험 군주들 각각은 백신내 LP2086 변이체와 상이한 LP2086 변이체를 발현하므로, 집단에서 순환하는 침습성 수막구균 질환(IMD) 군주에 대한 기능적 면역원성 및 효능의 객관적 평가를 가능하게 한다.

[0145] hSBA는 보체-매개 살균 활성을 개시할 수 있는 혈청내 항-수막구균 혈청군 B(MnB) 항체의 양을 측정한다. 간략하게, 시험 혈청은 2배 단계로 연속-희석되고 96-웰 분석 플레이트에 첨가된다. MnB SBA 시험 군주 및 인간 혈청 보체를 첨가하여, 살균 반응을 개시한다. 37 °C에서 30 내지 60 분동안(SBA 시험 군주에 따라 다름; T30으로 지칭됨) 분석 플레이트를 배양한 후에, 상기 배양에서 생존하는 세균을 함유하는 반응 혼합물을 희석시키고 마이크로필터 플레이트로 옮긴다. 밤새 배양한 후에, 콜로니-형성 단위(CFU)로 나타낸 생존 세균을 이뮤노스팟 어널라이저(Immunospot Analyzer)를 사용하여 증폭시킨다. 미가공(raw) CFU 데이터는 컴퓨터로 기록되고 hSBA 역가를 산출하는 데이터 분석 응용프로그램으로 전달된다. hSBA 역가는, T30 CFU 값(즉, 시험 혈청을 제외하고 모든 분석 성분들을 함유하는 분석 웰에서 배양후 생존하는 세균의 수; 100% 세균 생존율)에 비해 MnB 세균의 50% 이상의 감소(50% 세균 생존율)를 야기하는 시험 혈청의 최고 2배 희석률의 역수이다. 역가는 단계 역가로서, 즉 1:4, 1:8, 1:16 등으로 기록될 수 있다. 혈청 샘플들은 동일 분석법으로 2개의 개별적인 반복 측정에 의해 시험된다. 반복 측정치가 동일하지 않은 샘플들에 대해 기록된 최종 역가는, 시스템 적합성 및 샘플 적합성 기준(예를 들면, 반복 역가가 1개의 2배 희석률 내에서 일치해야 한다)이 충족될 때 2개의 반복 측정치 중 더 낮은 값이다.

[0146] hSBA 분석은 돌베코(Dulbecco)의 포스페이트-완충 식염수에 시험 혈청을 연속 희석한 후에 수행하였다. 세균(통상적으로 2000 콜로니-형성 단위) 및 인간 혈청 보체(20 중량% 최종 농도)를 96-웰 플레이트내 연속 희석된 혈청에 첨가하고, 37 °C에서 소형-반경 회전 교반기에서 700 rpm으로 30 내지 40 분동안(hSBA 시험 군주에 따라 달라짐) 배양하였다. 배양 후에, 반응 혼합물 일부를 마이크로필터 플레이트로 옮겼다. 밤새 배양한 후, 생존 세균을 이뮤노스팟 어널라이저(셀룰러 테크놀로지 리미티드(Cellular Technology Limited); 셰이커 하이츠(Shaker Heights), 미국 오하이오)로 계수하고, hSBA 역가를 SAS(버전 9.2)로 분석하였다. hSBA 역가는 시험 혈청에 적용되지 않은 대조군(즉, hSBA 반응 마지막에 생존하는 세균)에 비해 세균의 50% 감소를 야기한 연구

시험 혈청 희석률의 역수로서 산출되었다. 프로토콜 당, 실시예 1의 표 1에 열거된 균주들을 사용한 분석의 정량화시 설정된 바와 같은 hSBA 분석의 정량화 하한치 이상이었던 hSBA 역가를 기준으로 hSBA를 수행하였다.

[0147] 인간 혈청은 SBA의 보체 공급원이다. 그러나, hSBA 역가는 사용되는 인간 보체에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 인간 보체는 바람직하게는 hSBA에서 일관된 성능을 보장하도록 철저한 검사 및 정성분석을 통해 제어된다. hSBA를 위해, 인간 혈청 보체는 다수의 정상적인 건강한 성인 인간으로부터 수집되거나 개개 공여자로부터 사용될 수 있다(즉, 수집되지 않음).

[0148] **실시예 3: 폴리솔베이트-80**

[0149] 약물 제품 제형화를 위해 3개 파라미터를 최적화하였다: pH, 알루미늄 농도 및 폴리솔베이트 80(PS-80) 대 단백질 몰비. 0.5 ml의 총 부피를 갖는 조성물의 용량 내에서, 알루미늄에 대한 최적 단백질 결합은 약 6.0의 pH 및 알루미늄 포스페이트(AIPO₄)로서 알루미늄의 0.5 mg/ml 농도(용량당 0.25 mg 알루미늄에 등가임)에서 달성된다. PS-80 대 단백질 몰비는 시험관내 효능에 대해 제형을 안정화시키기 위해 2.8 ± 1.4이다. 폴리솔베이트 80(PS-80)은 2.8의 목표 PS-80 대 단백질 몰비를 달성하도록 약물 물질에 첨가된다. 그러므로, PS-80은 바람직하게는 약물 제품 제형화 시에는 첨가되지 않는다.

[0150] **실시예 4**

[0151] **건강한 청소년에서 2가 rLP2086 백신과 동시 투여된 REPEVAX(등록상표)의 면역원성 및 안전성에 대한 무작위, 위약-통제된 2상 연구**

[0152] **배경/목적:** 청소년에서 *나이세리아 매니지티디스* 혈청군 B(MnB) 질환을 예방하기 위해 개발되고 있는, 연구용 2가 rLP2086 백신을, 상기 집단에서 현재 사용되는 dTaP-불활성화 소아마비 백신(미국 특허 제 7479283 호, WO1990/013313 호, 및 EP1666057 B1 호, 및 영국 마케팅 허가증 PL06745/0121)인 REPEVAX(등록상표)의 동시 투여로 평가하였다.

[0153] **방법:** REPEVAX + rLP2086 또는 REPEVAX + 식염수에 1:1로 무작위배정된 청소년을 0, 2 및 6 개월에 백신접종하였다. 초기 백신접종 30 일후에 9개 REPEVAX 항원에 대해 사전명시된 항체 수준을 달성하는 대상자의 비율을 측정하였다. 4개의 MnB 시험 균주에 대한 면역 반응(hSBA)을 백신접종 2 및 3 30일후에 측정하였다. 부작용 및 국소/전신 반응을 평가하였다.

[0154] REPEVAX(사노피 파스퇴르(Sanofi Pasteur) MSD 리미티드)는, 0.5 ml 용량 당 알루미늄 포스페이트(1.5 mg(0.33 mg 알루미늄)) 상에 흡착된, 디프테리아 독소이드(2 IU 이상), 파상풍 독소이드(20 IU 이상), 백일해 항원(백일해 독소이드(2.5 µg)), 섬유상 헤마글루티닌(5 µg), 퍼탁티(3 µg), 및 펄브리아 제 2 및 3 형(5 µg), 제 1 형 소아마비 바이러스(불활성화)(40 D 항원 단위), 제 2 형 소아마비 바이러스(불활성화)(8 D 항원 단위), 제 3 형 소아마비 바이러스(불활성화)(32 D 항원 단위)를 함유하는 복합 저-용량 디프테리아, 파상풍, 무세포성 백일해 및 불활성화 소아마비 바이러스 백신이다.

[0155] REPEVAX의 디프테리아, 파상풍 및 백일해 성분들(디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 백일해 독소이드, 퍼탁틴, 펄브리아 제 2 및 3형 및 섬유상 헤마글루티닌)에 대한 면역 반응은 다중 루미넥스(LUMINEX) 분석법을 사용하여 평가하였다. 제 1, 2 및 3 형 소아마비 바이러스에 대한 면역 반응은 바이러스 중화 분석법으로 측정하였다. 두 군 모두에서 모든 대상자들로부터 수득된 혈청을 상기 분석법들에 사용하였다.

[0156] 2가 rLP2086에 대한 면역 반응의 평가를 위해, 기능성 항체를 기술된 4개의 주요 MnB 시험 균주를 사용한 hSBA에서 분석하였다. 4개의 주요 MnB hSBA 시험 균주(A22, A56, B44 및 B24), 즉 LP2086 서브패밀리 A를 발현하는 2개, 및 LP2086 서브패밀리 B 변이체를 발현하는 다른 2개를 선택하였다. 이들 4개의 주요 hSBA 시험 균주(6개 fHBP 계통발생적 혈청군 중 4개로부터, 및 미국 및 유럽에서 순환되는 질환 분리군의 >90%를 대표하는)를 상기 연구에서 1차 면역원성 평가항목의 측정을 위해 사용하였다. 또한, A22, B24 및 B44 변이체는 유럽에서 유행병학적으로 관련되는 변이체인 반면, 미국에서는 A22 및 B24가 질환 야기 MnB 균주 상에서 발현된 가장 우세하게 발견되는 변이체이다. MnB hSBA는 1차 및 2차 분석에 사용된 샘플의 시험 전에 승인되었다.

[0157] 두 군 모두에서 무작위로 선택된 대상자들의 50%로부터의 혈청 샘플은 A22 및 B24를 사용하여 수행된 hSBA를 가졌으며, 다른 50%는 A56 및 B44를 사용하여 시험되었다. 상기 시험들은 백신접종 1 전에, 백신접종 2 후에, 및 백신접종 3 후에 수집된 혈액 샘플에 수행되었다.

[0158] REPEVAX의 면역원성은, REPEVAX에 대한 면역인가의 기준을 구성한 청소년에서의 핵심 3상 임상 시험에서 정의된

각 항원에 대한 사전명시된 기준을 이용하여 평가한다. REPEVAX 수반 항원은 디프테리아, 파상풍, 백일해 특소이드, 백일해 섬유상 헤마글루티닌, 백일해 퍼타틴, 백일해 펄브리아 응집원 제 2 + 3 형, 제 1 형 소아마비 바이러스, 제 2 형 소아마비 바이러스, 제 3 형 소아마비 바이러스를 포함한다. REPEVAX의 면허인가에 사용된 분석에서 ≥ 5 EU/ml의 역가를 한정한 백일해 펄브리아 응집원(FIM) 제 2 + 3 형은 예외이다. 상기 연구에서, 백일해 FIM 제 2 + 3 형 분석의 정량화 하한치(LLOQ)는 ≥ 10.6 EU/ml이었으며, 이것은 REPEVAX의 허가 기준보다 더 높으므로 더 엄격하다.

- [0159] 수반 항원에 대한 LLOQ는 디프테리아 특소이드에 대해 0.037 IU/ml; 파상풍 특소이드에 대해 0.05 IU/ml; 백일해 특소이드에 대해 0.9 EU/ml; 백일해 섬유상 헤마글루티닌에 대해 2.9 EU/ml; 백일해 퍼타틴에 대해 3.0 EU/ml; 백일해 펄브리아 응집원 제 2 + 3 형에 대해 10.6 EU/ml; 제 1 형 소아마비 바이러스, 제 2 형 소아마비 바이러스, 제 3 형 소아마비 바이러스에 대해 1:8이었다.
- [0160] 주 목적에 대한 또 다른 기술적 평가항목은 백신접종 1 이후에(방문 2) 기하 평균 역가(GMT) 또는 기하 평균 농도(GMC)로서 측정된 항체 대 수반 백신 항원이었다.
- [0161] 또 다른 평가항목은 4개 주요 MnB 시험 군주 각각에 대해 백신접종 3 이후(방문 6) \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자의 비율이었다.
- [0162] **수반 백신 항원.** 디프테리아, 파상풍 및 무세포성 백일해(dTaP)-IPV(REPEVAX)의 백신접종 1개월후 수반 백신 항원에 대한 사전명시된 기준을 달성하는 대상자들의 비율은, 1군 및 2군에 대해 양측 95% 정확검정(또는 클로퍼-피어슨 신뢰 한계) 하에 산출하였다. 비율의 차이(2가 rLP2086/dTaP-IPV - dTaP-IPV, 또는 1군 - 2군)도 또한 상기 차이에 대한 양측 95% 정확검정 CI 하에 산출하였다. 차이에 대한 양측 95% CI의 하한치가 dTaP-IPV 백신내 9개 항원 모두에 대해 -0.10(-10%)보다 큰 경우에 비열등성이 확정되었다.
- [0163] **주요 시험 군주를 사용한 hSBA.** 각각의 주요 MnB hSBA 시험 군주에 대해, 각 채혈 시점에서 \geq LLOQ, $\geq 1:4$, $\geq 1:8$, $\geq 1:16$ 및 $\geq 1:128$ 의 hSBA 역가를 달성하는 대상자들의 수 및 비율을 상기 비율에 대한 정확검정 양측 95% CI(또는 클로퍼-피어슨 신뢰 한계)와 함께 기술적으로 요약하였다.
- [0164] **결과:** 무작위배정된 749명의 대상자들 중에서 685명(91.5%)이 평가가능한 면역원성 집단을 포함하였다. REPEVAX + rLP2086 또는 REPEVAX + 식염수 투여후 면역 반응은 모든 9개 REPEVAX 항원에 비해 열등하지 않았다. 2가 rLP2086 백신에 대한 면역 반응은 2개 용량 후에 실질적이었으며, 3개 용량 후에 더 증대되었다(표 2). 약-내지-중간정도 주사 부위 통증이 가장 공통적인 국소 반응이었으며; 두통 및 피로가 가장 공통적인 전신 반응이었다. 백신접종후 30일 이내에 AE를 보고한 대상자들의 비율은 유사하였다(REPEVAX + rLP2086 및 REPEVAX + 식염수에 대해 각각 8.8% 및 11.4%).
- [0165] 수반 백신 평가가능한 면역원성 집단의 경우, REPEVAX 용량 1개월후 수반 백신 항원에 대한 항체의 사전명시된 수준(반응에 대한 임계치)을 달성하는 대상자들의 비율은 수반 백신 항원에 대해 2가 rLP2086 + REPEVAX 군과 REPEVAX 단독 군 사이에서 유사하였다: 디프테리아 특소이드(각 군에서 99.4%), 파상풍 특소이드(각 군에서 100%), 백일해 특소이드(각각 94.7% 및 96.0%), 백일해 섬유상 헤마글루티닌(각 군에서 100%), 백일해 퍼타틴(각 군에서 100%), 백일해 펄브리아 응집원 제 2 + 3 형(각각 97.6% 및 98.9%), 제 1 형 소아마비 바이러스(각 군에서 100%), 소아마비 바이러스 제 2 형(각 군에서 100%), 제 3 형 소아마비 바이러스(각 군에서 100%).
- [0166] REPEVAX 용량 1개월후 2가 rLP2086 + REPEVAX 군(1군)과 REPEVAX 단독 군(2군) 사이에서 반응자들의 비율의 차이에 대한 양측 95% CI의 하한계가 REPEVAX내 9개 항원에 대해 -0.10(-10%)보다 컸기 때문에(즉, 비율 차이에 대한 95% CI의 최저 하한계는 -4.7%이었다(백일해 특소이드)) 비열등성이 달성되었다. 따라서, 2가 rLP2086과 함께 제공된 REPEVAX에 의해 유도된 면역 반응은 REPEVAX 단독에 의해 유도된 면역 반응보다 열등하지 않았다.
- [0167] 백신접종 3 이후 평가가능한 면역원성 집단에 대해 4개 주요 MnB 시험 군주 각각에 대한 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자의 비율을 평가하였다. A22에 대한 LLOQ는 1:16과 같은 hSBA 역가인 반면, 나머지 MnB 시험 군주 모두에 대한 LLOQ는 1:8과 같은 hSBA 역가였다.
- [0168] 1군의 경우, 기준선에서(백신접종 1 이전) \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 주요 MnB 군주 A22에 대해 14.4%, A56에 대해 18.2%, B24에 대해 12.7%, 및 B44에 대해 6.2%이었다. 2군의 경우, 기준선에서(백신접종 1 이전) \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 주요 MnB 군주 A22에 대해 23.0%, A56에 대해 21.8%, B24에 대해 12.9%, 및 B44에 대해 6.3%이었다.
- [0169] 실질적인 hSBA 반응은, 3개 용량후 백신접종 3 1개월후에 관찰된 추가 증가와 함께, 2가 rLP2086의 용량 2 후에

1군 대상자 중에서 관찰되었다. 1군(2가 rLP2086 + REPEVAX)의 경우, 백신접종 2 1개월후 및 백신접종 3 1개월 후에 \geq LLOQ의 hSBA를 달성하는 대상자 비율은 A22에 대해 81.1% 및 95.6%, A56에 대해 97.3% 및 100%, B24에 대해 81.0% 및 96.8%, 및 B44에 대해 55.5% 및 81.5%이었다. 실질적인 hSBA 반응은 2개의 2가 rLP2086 용량 후에만 달성되었지만, 3개 용량(백신접종 3 1개월 후)에 비해 2개 용량후(백신접종 2 1개월후)에 \geq LLOQ의 hSBA를 갖는 대상자 비율의 증가는 3개 용량후 면역 반응의 증대를 예시한다. 대조군 군(2군)에서, 백신접종 2 1개월후 및 백신접종 3 1개월후 4개 주요 MnB 시험 균주 각각에 대해 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자들의 비율은 각 MnB 시험 균주에 대한 기준선 hSBA 결과(백신접종 1 이전)와 유사하였다.

[0170] 4개 주요 MnB 시험 균주의 경우, 정의된 hSBA 역가를 나타내는 1군내 대상자의 비율은 2개 용량후보다 3개 용량후에 더 컸다. \geq 1:16의 hSBA 역가를 달성한 대상자들을 기술하였는데, 그 이유는 상기 역가가 1:4 역가로부터 4배 증가이기 때문이다(\geq 1:4의 역가는 광범위하게 IMD에 대한 보호의 상관지표로서 인식된다). 1군의 경우, 백신접종 2 1개월후 1:16의 hSBA 역가를 갖는 대상자의 비율은 A22에 대해 81.8%, A56에 대해 97.3%, B24에 대해 68.0% 및 B44에 대해 53.4%이었다. 백신접종 3 1개월후, 1:16의 hSBA 역가를 갖는 대상자의 비율은 A22에 대해 95.6%, A56에 대해 100%, B24에 대해 87.3% 및 B44에 대해 79.5%이었다.

[0171] 대조군 군(2군)에서, 백신접종 2 1개월후 및 백신접종 3 1개월후에 4개 주요 MnB 시험 균주 각각에 대해 정의된 hSBA 역가를 나타내는 대상자의 비율은 기준선에서(백신접종 1 이전) 정의된 hSBA 역가를 갖는 대상자의 비율과 유사하였다.

[0172] 1군의 경우, 2가 rLP2086의 3개 용량후 1:16의 hSBA 역가를 갖는 대상자의 비율은 상기 백신이 2가 rLP2086의 3개 용량을 투여했을 때 강한 면역 반응을 유도함을 입증하였다.

[0173] **hSBA 기하 평균 역가(GMT).** 일반적으로, 기준선에서의 GMT는 두 군 모두의 경우에 hSBA LLOQ 미만이었다. 1군의 경우, 백신접종 2 1개월후 hSBA GMT는 A22에 대해 35.5, A56에 대해 91.1, B24에 대해 15.9 및 B44에 대해 14.6이었다. 백신접종 3 1개월후 hSBA GMT는 A22에 대해 63.4, A56에 대해 151.5, B24에 대해 28.3 및 B44에 대해 36.5이었다.

[0174] 1군의 경우, 서브패밀리 A 균주에 대해 2개 용량후 및 서브패밀리 B 균주에 대해 3개 용량후 관찰된 GMT는 강한 면역 반응을 시사하였다.

[0175] A22, A56, B24 및 B44에 대한 hSBA 역가의 분포를 나타내는 보존 누적 분포 곡선(RCDC)을 평가하였다. 1군에서의 RCDC로부터의 결과는 실질적인 면역 반응이 2가 rLP2086의 백신접종 2 후에 1군 대상자 중에서 관찰되었음을 보여주었으나; 도면들은 또한 대상자의 더 많은 비율이 4개 MnB 시험 균주에 대해 더 높은 역가를 달성하였기 때문에 2가 rLP2086의 3차 용량의 이점을 나타내었다. 상기 효과는 균주 B44에서 가장 현저하였다.

[0176] **결론:** 2가 rLP2086과 함께 제공될 때, REPEVAX는 REPEVAX 단독에 의해 유도된 면역 반응에 열등하지 않은 면역 반응을 유도하였다. 2가 rLP2086 백신은 4개의 다양한 MnB 시험 균주에 대해, 특히 서브패밀리 B를 대표하는 균주들에 대해 강한 살균 반응을 유도하였으며, 상기 반응은 2개 용량보다 3개 용량후에 더 컸다. 동시 투여는 일반적으로 안전하고 잘 허용되었다.

[0177]

[표 2]

2가 rLP2086의 용량 2 및 3 후에 4개 이종 MnB 시험 균주에 대한 면역 반응

균주 [fHBP 변이체]	rLP2086 + Repevax				식염수 + Repevax			
	N ^a	hSBA GMT (95%CI) ^c	n (%) ^b	(95% CI) ^d	N ^a	hSBA GMT (95%CI) ^c	n (%) ^b	(95% CI) ^d
PMB80 [A22]	154	35.5 (30.27, 41.61)	126 (81.8)	(74.8, 87.6)	166	11.2 (10.02, 12.46)	36 (21.7)	(15.7, 28.7)
용량 2	158	63.4 (55.29, 72.79)	151 (95.6)	(91.1, 98.2)	166	11.0 (9.92, 12.27)	33 (19.9)	(14.1, 26.8)
PMB2001 [A56]	149	91.1 (78.00, 106.51)	145 (97.3)	(93.3, 99.3)	151	8.3 (6.76, 10.29)	39 (25.8)	(19.1, 33.6)
용량 2	148	151.5 (131.47, 174.59)	148 (100.0)	(97.5, 100.0)	152	8.5 (6.90, 10.54)	40 (26.3)	(19.5, 34.1)
PMB2948 [B24]	133	15.9 (13.55, 18.55)	124 (93.0)	(73.9, 86.9)	167	4.8 (4.41, 5.19)	20 (12.0)	(7.5, 17.9)
용량 2	157	28.3 (24.49, 32.66)	152 (96.8)	(92.7, 99.0)	170	4.8 (4.41, 5.15)	22 (12.9)	(8.3, 18.9)
PMB2707 [B44]	146	14.6 (11.6, 18.43)	81 (55.5)	(47.0, 63.7)	159	4.7 (4.24, 5.12)	12 (7.5)	(4.0, 12.8)
용량 2	146	36.5 (28.93, 46.18)	119 (81.5)	(74.2, 87.4)	159	4.7 (4.29, 5.24)	13 (8.2)	(4.4, 13.6)

^a GMT= 기하 평균 역가; hSBA= 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석; L100= 정량화 하한치(PMB80 [A22]에 대한 역가 1:16 및 다른 MnB 시험 균주들에 대한 역가 1:8); rLP2086= 재조합 지단백질 2086.
^b 해당 균주에 대해 유효한 hSBA 역가를 갖는 대상자 수.
^c 특정 시험에서 해당 균주에 대해 \geq L100의 hSBA 역가를 갖는 대상자 수.
^d 신뢰 구간은 hSBA 역가의 평균 대수에 대한 스튜던트 t 분포에 기초한 신뢰 구간의 역 변환이다.
^e 분포 및 피어슨 방법을 사용하여 관찰된 대상자 비율에 기초한 정황검정 양측 신뢰 구간.

[0178]

[0179]

[0180]

[0181]

[0182]

[0183]

실시예 5

건강한 청소년에서 연구용 수막구균 혈청군 B 2가 rLP2086 백신의 면역원성

배경 및 목적: 나이세리아 매닌지티디스 혈청군 B(MnB)는 유아, 청소년 및 성인에서 침습성 질환을 야기한다. 전환된, 표면-노출된 지단백질인 LP2086(인자 H 결합 단백질[fHBP])은 유망한 MnB 백신 표적이다. 연구용 2가 재조합 백신(rLP2086)의 안전성 및 면역원성을 건강한 청소년(11 내지 18세)에서 연구하였다.

방법: 상기 위약-통제, 단일-맹검 연구에서의 대상자들을 2개의 3-용량 스케줄 및 3개의 2-용량 스케줄에 무작위배정하였다. 각각의 120 μ g 용량은 2개의 rLP2086 항원, 곧 LP2086 서브패밀리(A 및 B)로부터 각각 1개씩을 함유하였다. 백신이 예정되지 않았을 때 식염수를 제공하였다. 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)은 4개 MnB 시험 균주(백신 fHBP에 이종)를 사용하여 수행하였다.

결과: 1713명의 대상자(평균 연령 14.4세)를 무작위배정하였다. 백신의 3개 용량 1개월후, 서브패밀리 A 및 B

균주에 대해 ≥ 8 의 hSBA 역가가 각각 대상자들의 95 내지 99% 및 86 내지 89%에서 관찰되었으며; 2개 용량후에, 상기 숫자는 각각 91 내지 100% 및 69 내지 77%의 범위였다. 2-용량 스케줄에서, 0 및 6 개월 스케줄이 최고 항체 반응을 유도하였다(실시에 5의 표 3). 2개 용량후 hSBA GMT는 6.2 내지 125.6의 범위였고 3개 용량후에는 4개 MnB 이중 시험 균주 전체에 걸쳐 25.6 내지 155.6의 범위였다. 약-내지-중간정도 주사 부위 통증이 가장 공통적인 국소 반응이었다. 용량 1 후에, rLP2086 및 식염수 수용자의 각각 3.3 내지 6.5% 및 2.1%에서 ≥ 38 °C의 발열이 경험되었다.

[0184] [표 3]

[0185] 2가 rLP2086의 마지막 용량 1개월후 $\geq 8^*$ 의 hSBA 역가를 달성하는 대상자 비율

균주 [HBP 변이체]	1군 (0, 1, 6개월) n=354-362	2군 (0, 2, 6개월) n=352-359	3군 (0, 6개월) n=356-370	4군 (0, 2개월) n=234-240	5군 (2, 6개월) n=110-113
	% (95% CI) [†]	% (95% CI) [†]	% (95% CI) [†]	% (95% CI) [†]	% (95% CI) [†]
PMB80[A22]	91.7 [‡] (88.3, 94.3)	95.0 [‡] (92.1, 97.0)	93.5 [‡] (90.5, 95.8)	90.8 (86.3, 94.1)	91.9 (85.2, 96.2)
PMB2001[A56]	99.4 [‡] (98.0, 99.9)	96.9 [‡] (97.2, 99.7)	98.4 [‡] (96.5, 99.4)	100.0 (98.5, 100.0)	99.1 (95.2, 100.0)
PMB2948[B24]	89.0 [‡] (85.2, 92.0)	88.4 [‡] (84.6, 91.6)	81.1 [‡] (76.6, 85.0)	73.0 (66.9, 78.5)	69.1 (59.6, 77.6)
PMB2707[B44]	89.5 [‡] (84.7, 91.6)	86.1 [‡] (82.0, 89.5)	77.5 [‡] (72.2, 82.3)	70.1 (63.8, 75.9)	73.0 (63.7, 81.0)

hSBA = 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석.
 * 모든 균주에 대한 정량화 하한치 = 8.
 † 관찰된 대상자 비율에 기초한 정확성 양측 신뢰 구간(클로퍼 및 피어슨).
 ‡ P<0.001; <0.0125의 값이 유효한 것으로 간주됨. P는 1, 2 및 3군에만 적용됨.

[0186]

[0187] [표 4]

[0188] 2가 rLP2086의 마지막 용량 1개월후 각 균주에 대한 hSBA GMT

균주 [HBP 변이체]	1군 (0, 1, 6개월) n=354-362	2군 (0, 2, 6개월) n=352-359	3군 (0, 6개월) n=356-370	4군 (0, 2개월) n=234-240	5군 (2, 6개월) n=110-113
	GMT [*] (95% CI) [†]				
PMB80[A22]	55.1(40.87, 62.07)	56.3(50.91, 62.27)	48.4(43.45, 53.86)	14.2(12.08, 16.73)	39.0(32.31, 48.46)
PMB2001[A56]	152.9(137.23, 170.47)	155.6(140.39, 172.38)	125.6(112.59, 140.17)	26.5(22.24, 31.58)	111.8(92.73, 134.90)
PMB2948[B24]	29.1(25.88, 32.66)	25.6(23.03, 28.45)	20.0(18.38, 23.18)	8.0(7.01, 9.24)	14.7(12.01, 18.10)
PMB2707[B44]	40.3(35.16, 46.11)	35.0(30.53, 39.91)	22.5(19.60, 25.72)	6.2(5.52, 7.07)	17.8(14.12, 22.42)

GMT = 기하 평균 역가; hSBA = 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석.
 * GMT는 해당 시점에서 유효하고 확실한 hSBA 역가를 갖는 모든 대상자를 이용하여 산출하였음.
 † CI는 hSBA 역가의 평균 대수에 대한 스튜던트 t 분포에 기초한 신뢰 구간의 역변환임.

[0189]

[0190] 결론: rLP2086은 잘 허용되었다. 모든 투약 요법들은 3개 용량후에 가장 현저한 강한 살균 반응을 제공하였다.

[0191] 실시예 5의 표 3은 전술한 실시예 1의 표 1과 동일하다. 표 4는 평가가능한 면역원성 집단에 대해 연구 시간까지 hSBA GMT 및 상응하는 CI를 요약한 것이다. GMT는 기준선(주사 1 이전)으로부터 증가하여 2가 rLP2086의 각 후속 용량에 따라 계속 증가하였다.

[0192] 4개 주요 MnB 균주에 대해, GMT는 2개 용량(3, 4 및 5군)후 보다 2가 rLP2086의 3개 용량 후에 더 컸다. GMT는 2개의 3-용량 군 사이에서 유사하였으며, 이들은 3개의 2-용량 군 중에서 유사하였다.

[0193] 주사 1 전에(기준선), 1, 2, 3, 4 및 5군에 대한 hSBA GMT는 다음과 같았다: A22에 대해 각각 7.1, 6.3, 6.4, 6.4 및 6.8; A56에 대해 각각 6.8, 6.1, 6.7, 6.3 및 6.2; B24에 대해 각각 5.3, 5.1, 5.0, 4.9 및 5.1; 및, B44에 대해 각각 4.4, 4.5, 4.5, 4.6 및 4.4.

[0194] 1군(0-, 1- 및 6-개월)의 경우, 모든 4개 주요 MnB 균주에 대해 용량 2 1개월 후에 주목된 GMT의 실질적인 증가가 있었다(A22, A56, B24 및 B44에 대해 각각 24.4, 77.3, 13.8 및 13.1). GMT는 4개 주요 MnB 시험 균주에 대해 1군 대상자에서 2가 rLP2086의 3개 용량 후에 더 증가하였다: 55.1(A22); 152.96(A56); 29.1(B24); 및

40.3(B44).

- [0195] 2군의 경우, 2가 rLP2086의 2 및 3개 용량 후에 GMT에 유사한 증가가 주목되었다. 2가 rLP2086의 2개 용량후 2군 대상자에 대한 GMT는 A22에 대해 32.9; A56에 대해 94.6; B24에 대해 14.9; 및 B44에 대해 15.5이었다. 3개 용량 후에, GMT는 A22에 대해 56.3; A56에 대해 155.6; B24에 대해 25.6; 및 B44에 대해 35.0으로 증가하였다.
- [0196] 1 및 2군의 경우, 서브패밀리 A 군주에 대해 2개 용량 후 및 서브패밀리 B 군주에 대해 3개 용량 후 관찰된 GMT는 강한 면역 반응을 시사한다.
- [0197] 3군의 경우, 2가 rLP2086의 1개 용량 후 GMT에 다음과 같이 약간의 증가가 주목되었다: A22에 대해 12.0; A56에 대해 18.5; B24에 대해 9.2; 및 B44에 대해 5.7. 2개 용량 후에 GMT는 A22에 대해 48.4; A56에 대해 125.6; B24에 대해 20.6; 및 B44에 대해 22.5로 증가되었다.
- [0198] 4군의 경우, GMT는 2가 rLP2086의 1개 용량 후에 A22에 대해 13.3; A56에 대해 17.7; B24에 대해 9.8; 및 B44에 대해 5.9이었다. 2가 rLP2086의 2개 용량 후에, GMT는 A22에 대해 37.1; A56에 대해 104.9; B24에 대해 17.7; 및 B44에 대해 19.1이었다.
- [0199] 5군의 경우, 2가 rLP2086의 1개 용량 후에 GMT는 A22에 대해 16.0; A56에 대해 26.8; B24에 대해 12.6; 및 B44에 대해 6.8이었다. 2가 rLP2086의 2개 용량 후에, GMT는 A22에 대해 39.6; A56에 대해 111.8; B24에 대해 14.7; 및 B44에 대해 17.8로 증가하였다.
- [0200] 총괄하여, 3, 4 및 5군의 경우, 관찰된 GMT는 2가 rLP2086의 2개 용량 후에 서브패밀리 A 및 B 군주에 대한 면역 반응을 시사한다.
- [0201] 요약하면, 2가 rLP2086의 3개 용량은 4개 주요 MnB 시험 군주에 대한 hSBA 역가에 근거하여 강하고 가장 광범위한 면역 반응을 제공하였다. 2개 용량에 비해, 3개 용량의 2가 rLP2086을 투여받은 대상자의 더 높은 비율이 4개 주요 MnB 시험 군주에 대해 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 달성하였다.
- [0202] 0-, 1- 및 6-개월 투약 스케줄(1군) 후의 결과는 0-, 2- 및 6-개월 투약 스케줄(2군) 후의 결과와 유사하였다. 1 및 2군의 경우, 달성된 용량 3-후 GMT 값은 용량 2-후 GMT 값보다 더 높았다. 1 및 2군의 경우, 용량 2-후 GMT 값은 서브패밀리 A 군주의 경우 24.4 내지 94.6, 및 서브패밀리 B 군주의 경우 13.1 내지 15.5의 범위였다. 용량 3-후 GMT 값은 서브패밀리 A 군주의 경우 55.1 내지 155.6, 및 서브패밀리 B 군주의 경우 25.6 내지 40.3의 범위였다. 1 및 2군의 경우, 2가 rLP2086의 2개 용량 후 4개 주요 MnB 시험 군주에 대해 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자 비율과 비교시, 보다 높은 비율의 대상자가 2가 rLP2086의 3개 용량 후에 4개 주요 MnB 시험 군주에 대해 $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 달성하였다.
- [0203] $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자도 또한 평가하였다. 1군의 경우, 2가 rLP2086의 2개 용량 1개월후 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자의 비율은 A22에 대해 73.5%; A56에 대해 96.3%; B24에 대해 57.6%; 및 B44에 대해 47.2%이었다. 2가 rLP2086의 3개 용량 후에, $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 1군의 대상자 비율은 A22에 대해 91.4%; A56에 대해 99.2%; B24에 대해 82.8%; 및 B44에 대해 84.8%이었다.
- [0204] 2군의 경우, 2가 rLP2086의 2개 용량 1개월후 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자의 비율은 A22에 대해 88.1%; A56에 대해 97.9%; B24에 대해 63.5%; 및 B44에 대해 58.6%이었다. 2가 rLP2086의 3개 용량 후에, $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 2군의 대상자 비율은 A22에 대해 95.0%; A56에 대해 98.9%; B24에 대해 83.6%; 및 B44에 대해 83.8%이었다.
- [0205] 1 및 2군의 경우, 2가 rLP2086의 3개 용량 후에 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자 비율은 백신이 강한 면역 반응을 유도함을 입증하였다.
- [0206] 3군의 경우, 2가 rLP2086의 2개 용량 후 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자의 비율은 A22에 대해 93.2%; A56에 대해 98.4%; B24에 대해 73.8%; 및 B44에 대해 70.8%이었다.
- [0207] 4군의 경우, 2가 rLP2086의 2개 용량 1개월후 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자의 비율은 A22에 대해 90.8%; A56에 대해 99.2%; B24에 대해 67.1%; 및 B44에 대해 64.5%이었다.
- [0208] 5군의 경우, 2가 rLP2086의 2개 용량 후 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자의 비율은 A22에 대해 91.0%; A56에 대해 99.1%; B24에 대해 64.5%; 및 B44에 대해 66.7%이었다.

- [0209] 3, 4 및 5군의 경우, $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자의 비율은 백신이 2개 용량 후에만 서브패밀리 A 균주에 대한 강한 면역 반응을 유도함을 입증하였다. 그러나, 3개 용량은 서브패밀리 B 균주에 대한 반응의 견고성을 증가시킨다.
- [0210] 2가 rLP2086의 3개 용량 후 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자의 비율은, 백신이 백신 성분과 상이한 LP2086 변이체를 발현하는 MnB 균주에 대해 강하고 광범위한 면역 반응을 유도함을 보여준다.
- [0211] 군 별로 각 균주에 대한 평가가능한 면역원성 집단에 대해, 연구 시간까지 hSBA 역가의 분포를 보여주는 보존 누적 분포 곡선(RCDC)도 또한 평가하였다. RCDC는 2가 rLP2086 서브패밀리 A 균주의 2개 용량 후 강한 면역 반응을 나타낸다. 2가 rLP2086의 3차 용량 후, 반응 곡선하 면적은 4개 MnB 시험 균주 모두에 대해 증가함으로써, 2가 rLP2086의 3개 용량후 면역 반응의 증대를 입증한다.
- [0212] 1차 및 2차 면역원성 평가항목 분석으로부터 수득된 결과는, 백신이 MnB의 이중 서브패밀리 A 및 서브패밀리 B 변이체에 대한 유의적 hSBA 활성을 갖는 항체를 생성할 수 있음을 보여준다. $\geq 1:8$ 의 hSBA 역가를 달성하는 대상자 비율이 2가 rLP2086의 2 또는 3개 용량 후에 더 높았던 반면, 더 많은 비율의 대상자가 2가 rLP2086의 1개 용량 1개월 후에 $\geq 1:8$ 의 hSBA를 달성하였다(예를 들면, 5군 참조).
- [0213] 4개 주요 MnB 시험 균주에 대해, GMT는 2개 용량(3, 4 및 5군) 후보다 2가 rLP2086의 3개 용량(1 및 2군) 후에 더 컸다. GMT는 2개의 3-용량 군에서 유사하였다. GMT는 또한 3개의 2-용량 군들 중에서 유사하였다. 이들 데이터는 또한 $\geq 1:16$ 의 hSBA를 달성하는 대상자 비율에 근거하여 2가 rLP2086의 3개 용량 후에 강한 hSBA 반응을 보여준다.
- [0214] 이들 데이터는 2가 rLP2086의 최종 제형이 강한 면역 반응을 야기하고 2 또는 3개 용량으로 제공시 안전하고 잘 허용됨을 입증한다. 심지어 2가 rLP2086의 1개 용량은 기준선보다 높은 실질적인 면역 반응을 제공하며 또한 안전하고 잘 허용된다. 전체적으로, 2가 rLP2086의 2 또는 3개 용량 후 안전성 프로필에 임상적으로 의미있는 차이는 없었다.
- [0215] **실시예 6**
- [0216] **3개의 2 상 무작위 통제 연구에서 11 내지 18세의 건강한 청소년에서 수막구균 혈청군 B 2가 rLP2086의 안전성, 내약성 및 면역원성**
- [0217] **배경:** *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B(MnB)는 청소년에서 침습성 수막구균성 질환의 주 원인이다. 전환된, 표면-노출된 지단백질인 LP2086(인자 H 결합 단백질[fHBP])은 MnB에 의해 야기된 침습성 질환에 대해 보호하기 위한 유망한 MnB 백신 표적이다. 연구용 2가 재조합 MnB 백신(서열번호 1 및 서열번호 2, 2.8 몰비 폴리솔베이트-80, 0.5 mg/ml 알루미늄, 10 mM 히스티딘 및 150 mM 염화나트륨 포함, 본원에서 실시예 전체에 걸쳐 "2가 rLP2086"으로 지칭됨)의 안전성, 내약성 및 면역원성을 11 내지 18세 연령의 건강한 청소년에서 3개의 2 상 무작위 통제 연구에서 시험하였다.
- [0218] **방법:** 연구 1012는 2가 rLP2086의 5가지 백신 요법을 시험한 반면, 연구 1010 및 1011은 각각 Tdap-IPV 및 HPV-백신과 함께 제공된 2가 rLP2086 백신의 3-용량 스케줄을 평가하였다. 2가 rLP2086의 각 용량은 60 μ g의 rLP2086 서브패밀리 A 변이체 A05 및 60 μ g의 rLP2086 서브패밀리 B 변이체 B01을 함유하였다. 3개 연구 각각에서 2가 rLP2086의 면역원성을 시험하기 위해, 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)을 이중 fHBP 변이체 A22, A56, B24 및 B44를 발현하는 4개의 MnB 시험 균주를 사용하여 수행하였으며, 상기 균주들은 fHBP 가변성의 관련된 다양성을 나타내기 위해서 뿐 아니라, 유행병학적으로 우세한 fHBP 변이체를 발현하는 균주에 대한 백신-유도된 면역 반응의 범위에 대한 조망을 제공하기 위해 선택되었다. 부작용 및 요구된 국소 및 전신 반응을 평가하였다.
- [0219] **결과:** 3개 연구 모두에서 대상자의 82 내지 100%가 3개 용량 1개월후 4개 MnB 시험 균주 각각에 대해 정량화 가능한 한치(LLQ)보다 높은 hSBA를 달성하였다(표 5). 3개 연구 전체에 걸쳐, 전신 반응 및 국소 반응의 대부분이 중증도에 있어서 약함 내지 중간정도였으며; 부작용은 일반적으로 심각하지 않았거나 연구 백신과 관련되었다.
- [0220] **결론:** 1:4보다 높은 혈청 살균 항체 역가는 침습성 수막구균성 질환에 대해 보호한다. 상기 청소년 2 상 연구 각각에서, 각각 백신 항원에 이중인 4개 MnB 시험 균주에 대해 \geq LLQ의 hSBA 역가의 입증은, 2가 rLP2086 백신이 다양한 MnB 질환-관련 균주에 대해 광범위하게 활성일 수 있는 기능성 항체 반응을 제공하였음을 시사한다. 2가 rLP2086의 백신접종은 일반적으로 잘 허용되었다.

[0221] [표 5]

[0222] 2가 rLP2086 백신의 마지막 용량 1개월후 각각의 시험 균주에 의해 발현된 각각의 fHBP 변이체에 대해 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 달성하는 대상자 비율

hSBA 시험 균주에 의해 발현된 fHBP 변이체	대상자 %			
	A22	A56	B24	B44
연구 1012(투약 요법)				
1군(0, 1, 6 개월); n=354-360	91.4	99.4	89.0	88.5
2군(0, 2, 6 개월); n=352-359	95.0	98.9	88.4	86.1
3군(0, 6 개월); n=356-370	93.2	98.4	81.1	77.5
4군(0, 2 개월); n=234-240	90.8	100.0	73.0	70.1
5군(0, 4 개월); n=110-113	91.0	99.1	69.1	73.0
연구 1010(투약 요법: 0, 2, 6 개월)				
rLP2086+TdaP-IPV 백신; n=146-158	95.6	100.0	96.8	81.5
연구 1011(투약 요법: 0, 2, 6 개월)				
rLP2086+HPV 백신; n=833-849	94.0	98.9	90.5	82.7
rLP2086+식염수; n=847-848	96.3	99.4	92.6	85.7
LLOQ = 정량화 하한치; fHBP = 인자 H 결합 단백질; hSBA = 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석; TdaP-IPV 백신 = 파상풍, 디프테리아, 백일해, 소아마비 백신 LLOQ = 정량적으로 측정될 수 있는 샘플내 분석물의 최저량. $\leq 1:4$ 의 hSBA 역가는 침습성 수막구균성 질환에 대한 보호의 상관지표이다. \geq LLOQ의 hSBA 역가는 최소 상관지표보다 높다. LLOQ는 A22에 대해 1:16; 및 A56, B24 및 B44에 대해 1:8이었다.				

[0223]

[0224] 실시예 7

[0225] **인유두종 바이러스 백신과 함께 투여시 11 내지 18세의 건강한 청소년에서 수막구균 혈청군 B 2가 rLP2086 백신의 면역원성**

[0226] **배경:** 상기 2 상 무작위, 관찰자-맹검, 통제된 연구는, ≥ 11 내지 <18세 연령의 건강한 청소년에서, 인유두종 바이러스에 대한 4가 백신(HPV4)인 GARDASIL(등록상표)(미국 특허 제 5,820,870 호에도 기술됨)과 동시투여되거나 되지 않은 2가 rLP2086의 면역원성을 평가하였다. GARDASIL은 HPV 제 6, 11, 16 및 18 형(즉, HPV-6, HPV-11, HPV-16 및 HPV-18) L1 단백질의 재조합 항원을 함유한다. 평가항목은 각각의 적용가능한 채혈 시점에서 4개의 주요 MnB 시험 균주 각각에 대한 hSBA GMT이었다.

[0227] **방법:** 대상자들은 0, 2 및 6 개월에 2가 rLP2086(서열번호 1 및 서열번호 2, 2.8 몰비의 폴리솔베이트-80, 0.5 mg/ml 알루미늄, 10 mM 히스티딘 및 150 mM 염화나트륨 포함) + HPV4 (1군), 2가 rLP2086 + 식염수 (2군), 또는 HPV4 + 식염수 (3군)를 투여받았다. 백신접종 1 이전, 및 백신접종 2 및 3 1개월후에 1 및 2군의 대상자들로부터의 혈청을 4개nB 시험 균주를 사용하여 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)에 의해 검사하였으며, 상기 균주들은 각각 백신 성분에서 이종이며 fHBP 다양성의 범위 및 유행병학적으로 우세함을 나타내는, fHBP(A22, A56, B24 및 B44)를 발현한다. 평가된 평가항목은 \geq 정량화 하한치(LLOQ; 1:16[A22] 또는 1:8[A56, B44, B24])의 hSBA 역가 및 hSBA 기하 평균 역가(GMT)를 갖는 대상자들의 비율을 포함하였다.

[0228] GARDASIL 단독에 비해 GARDASIL + 2가 rLP2086을 투여하는 것의 비열등성을 입증하기 위해, 2가지 hSBA, 곧 서브패밀리 A 변이체(A22)를 대표하는 1개의 주요 시험 균주 및 서브패밀리 B 변이체(B24)를 대표하는 1개의 주요 시험 균주를 사용하여 면역원성 평가를 수행하였다. 그러나, 추가의 2가 rLP2086 면역원성/효능 연구 평가항목의 측정을 위해서는 4개의 주요 MnB 시험 균주를 모두 사용하였다.

[0229] 2가 rLP2086에 대한 면역 반응의 평가를 위해, 실시예 2에서 기술된 바와 같이, 화이자(Pfizer)의 대표적인 MnB SBA 균주 풀로부터 무작위로 선택된 수막구균 혈청군 B 균주를 사용하여 hSBA에서 기능성 항체를 분석하였다. hSBA는 보체- 의존성 방식으로 표적 수막구균성 균주를 사멸시키는 인간 혈청내 기능성 항체를 측정하였다.

[0230] **결과:** 814명 및 812명의 대상자들은 각각 1군 및 2군의 평가가능한 면역원성 집단을 포함하였다. 백신접종 1 이전에 비해, 4개 시험 균주 모두에 대해 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 백신접종 2(55 내지 99%) 및 3(83 내지 99%; 도 1) 후에 더 높았다. 실시예 7의 표 6은 4개의 주요 MnB 균주 각각에 대한 hSBA GMT 및 평가가능한 면역원성 집단에 대한 샘플링 시점까지의 상응하는 CI를 나타낸 것이다. 기준선에서의 GMT는 두 군 모두에 대해 hSBA LLOQ 미만이었다. GMT는 1군 및 2군에서 각각, 백신접종 1 후에 11.1 내지 70.6 및 11.9 내지 76.3, 및 백신접종 2 후에 25.8 내지 117.2 및 28.0 내지 128.2였다(하기 표 6).

[0231] 평가가능한 면역원성 집단의 경우, 1군 및 2군의 경우 백신접종 3 2가 rLP20861 용량 1개월 후에 2개 주요 MnB 균주에 대한 hSBA GMT는 다음과 같았다: A22에 대해 각각 53.3 및 57.8, 및 B24에 대해 각각 25.8 및 28.0.

[0232] 2군(2가 rLP2086 + 식염수)의 경우, 백신접종 2 1개월후 hSBA GMT는 A22에 대해 33.7, A56에 대해 76.3, B24에 대해 16.3 및 B44에 대해 11.9이었다. 백신접종 3 1개월후에 hSBA GMT는 A22에 대해 57.8, A56에 대해 128.2, B24에 대해 28.0 및 B44에 대해 31.9이었다.

[0233] 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL)의 경우, 백신접종 2 1개월후 hSBA GMT는 A22에 대해 31.9, A56에 대해 70.6, B24에 대해 15.0 및 B44에 대해 11.1이었다. 백신접종 3 1개월후에 hSBA GMT는 A22에 대해 53.3, A56에 대해 117.2, B24에 대해 25.8 및 B44에 대해 27.2이었다.

[0234] 평가가능한 면역원성 집단의 경우 모든 샘플링 시점에서 1군 및 2군에 대해, A22, A56, B24 및 B44에 대한 hSBA 역가의 분포를 나타내는 보존 누적 분포 곡선(RCDC)을 평가하였다. RCDC는 대상자들의 대부분이 백신접종 2 후에 반응하였으며 백신접종 3 후에 4개의 주요 MnB 시험 군주에 대한 역가에 추가의 증가를 가짐을 보여주었다. 항원에 대한 면역 반응은 1군 및 2군에 대해 유사하였다.

[0235] **결론:** 2가 rLP2086은 hSBA 혈청반응 또는 GMT에 의해 평가된 살균 반응에 영향을 미치지 않으면서 HPV4와 함께 투여될 수 있다. $\geq 1:4$ 의 hSBA 역가는 수막구균성 질환에 대한 보호와 상관되기 때문에, 상기 데이터는 HPV 백신의 동시 투여 환경에서 2가 rLP2086의 투여후에 광범위한 MnB 군주에 대해 청소년의 보호 가능성을 시사한다.

[0236] [표 6]

[0237] hSBA GMT - 평가가능한 면역원성 집단

군주 [변이체] 샘플링 시점	1군 rLP2086 + HPV4		2군 rLP2086 + 식염수	
	n ^a	GMT ^b (95% CI) ^c	n ^a	GMT ^b (95% CI) ^c
PMB80 [A22]				
백신접종 1 이전	794	9.6 (9.3, 10.0)	799	9.9 (9.5, 10.3)
백신접종 2 1개월후	794	31.9 (29.96, 33.94)	801	33.7 (31.69, 35.85)
백신접종 3 1개월후	803	53.3 (50.22, 56.66)	801	57.8 (54.44, 61.44)
PMB2001 [A56]				
백신접종 1 이전	757	5.0 (4.78, 5.32)	740	5.0 (4.75, 5.28)
백신접종 2 1개월후	790	70.6 (66.17, 75.34)	795	76.3 (71.93, 80.99)
백신접종 3 1개월후	796	117.2 (110.14, 124.76)	802	128.2 (120.65, 136.27)
PMB2948 [B24]				
백신접종 1 이전	801	4.3 (4.23, 4.46)	793	4.5 (4.35, 4.65)
백신접종 2 1개월후	770	15.0 (13.88, 16.15)	770	16.3 (15.15, 17.62)
백신접종 3 1개월후	788	25.8 (24.14, 27.56)	793	28.0 (26.24, 29.87)
PMB2702 [B44]				
백신접종 1 이전	806	4.1 (4.04, 4.15)	805	4.2 (4.10, 4.31)
백신접종 2 1개월후	783	11.1 (10.21, 12.01)	776	11.9 (10.94, 12.96)
백신접종 3 1개월후	799	27.2 (24.99, 29.68)	795	31.9 (29.25, 34.82)
GMT = 기하 평균 역가; HPV4 = 4가 인유두종 바이러스 백신; hSBA = 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석. ^a n = 해당 군주에 대해 유효하고 확실한 hSBA 역가를 갖는 대상자 수. ^b 기하 평균 역가는 해당 시점에서 유효하고 확실한 hSBA 역가를 갖는 모든 대상자를 이용하여 산출하였다. ^c 신뢰 구간은 hSBA 역가의 평균 대수에 대한 스튜던트 t 분포에 기초한 신뢰 구간의 역 변환이다.				

[0238]

[0239] 실시예 8

[0240] 건강한 청소년에서 수막구균 혈청군 B에 대한 2가 rLP2086 백신과 동시투여된 인유두종 백신의 면역원성

[0241] **배경:** 상기 2 상 무작위 연구는, ≥ 11 내지 <18세 연령의 건강한 청소년에서, *나이세리아 매닌지티디스* 혈청군 B(MnB)에 의해 야기된 침습성 질환에 대한 연구용 백신인 2가 rLP2086과 함께, 인유두종 바이러스에 대한 4가 백신(HPV4)의 동시투여를 평가하였다.

[0242] **방법:** 대상자들은 0, 2 및 6 개월에 HPV4 + 2가 rLP2086(1군), 2가 rLP2086 + 식염수(2군), 또는 식염수 + HPV4(3군)를 투여받았다. 혈청은 모든 군에서 기준선에서 및 용량 2 및 3 후에 수집하였다. HPV4 항원(HPV-6,

11, 16 및 18)에 대한 면역 반응은 경쟁성 루미넥스(LUMINEX) 면역분석법(cLIA)에 의해 측정하였다. 2가 rLP2086 면역원성은 이중 fHBP 변이체(A22 및 B24)를 발현하는 2개의 MnB 시험 균주를 사용하여 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)에 의해 측정하였다. 면역원성 평가항목은 모두 용량 3 후에 다음을 포함하였다: 1군 및 3군에서 HPV 항원에 대한 기하 평균 역가(GMT); 1군 및 2군에서 변이체 A22 및 B24를 발현하는 균주에 대한 hSBA GMT; 및 1군 및 3군에서 기준선 혈청음성 대상자에서 HPV 항원에 대한 혈청전환율. HPV4 또는 식염수와의 동시 투여 후에 2가 rLP2086의 안전성도 또한 평가하였다.

[0243] GARDASIL(제 6, 11, 16 및 18 형 HPV L1 단백질)에 대한 면역 반응의 평가는 형광으로 표지된 미소구-기반 플랫폼(루미넥스)을 기반으로 한 cLIA를 이용하여 평가하였다. GARDASIL(방문 1)로 1차 백신접종 전에 및 GARDASIL(방문 5)로 3차 백신접종 후에 1군 및 3군에서 모든 대상자들로부터 획득된 혈청을 상기 분석들에 사용하였다.

[0244] 1군 및 3군에서 4개 HPV 항원에 대한 GMT와, 1군 대 3군의 그의 상응하는 GMT 비(GMR) 및 상기 비의 양측 95% CI와의 비교를 본 실시예의 하기 표 7에 나타내었다. 비열등성 한계에 대한 기준은, GMR의 양측 95% CI의 하한치에 대한 0.67의 값에 상응하는 1.5배였다. 0.67의 1.5배 기준은 모든 MnB 시험 균주, 및 0.62의 하한계 95% 신뢰 구간(CI)을 나타낸 HPV-18을 제외한 HPV 항원들에 대해 충족되었다. 별도의 분석에서, 대상자의 $\geq 99\%$ 가 식염수 + HPV4 및 rLP2086 + HPV4군 둘 다에서 4개 HPV 항원 모두로 혈청전환되었다.

[0245] 상기 연구의 또 다른 목적은, 두 군 모두에서 GARDASIL(방문 5)의 백신접종 3 용량후 HPV 면역원성 분석에서 혈청전환에 의해 측정시, 2가 rLP2086 + GARDASIL(1군) 및 식염수 + GARDASIL(3군)에 의해 유도된 면역 반응을 설명하는 것이었다.

[0246] 1군 및 3군에서 기준선에서 HPV-혈청음성이었던 대상자의 경우 GARDASIL의 마지막 용량 1개월 후에 4개 HPV 항원 각각에 대한 혈청전환율은, HPV-6에 대해 ≥ 20 mMU/ml, HPV-11에 대해 ≥ 16 mMU/ml, HPV-16에 대해 ≥ 20 mMU/ml 및 HPV-18에 대해 ≥ 24 mMU/ml의 항-HPV 혈청 cLIA 수준을 갖는 대상자 비율로서 산출하였다.

[0247] 각 군에서 상응하는 95% CI 하에 4개 HPV 항원에 대해 혈청전환에 대한 사전명시된 기준을 달성하는 기준선 HPV-혈청음성 대상자들의 수 및 비율, 상기 비율에서의 퍼센트 차이(1군 - 3군), 및 상기 차이의 95% CI를 기준선 HPV-혈청음성 평가가능한 면역원성 집단에 대해 실시예 8의 표 8에 나타내었다.

[0248] **결과:** 1.5배(GMR에 대해 95% CI의 0.67 하한치)로 정해진 사전명시된 비열등성 기준은 4개 HPV 항원들 중 3개(HPV-18 제외) 및 2개의 MnB 시험 균주 둘 다에 대해 충족되었다(표 7). 1군 및 3군에서의 혈청전환율은 HPV 항원 모두에 대해 $\geq 99\%$ 이었다(표 8). 그러나 식염수에 비해 rLP2086 후에 야기된 보다 큰 국소 반응원성은 나중의 용량들에 따라 증가하지 않았으며; 주사 부위 통증이 가장 공통적인 국소 반응이었다. 3개 군 모두에서의 전신 반응은 일반적으로 중증도에 있어서 약함 및 중간정도였다.

[0249] 평가가능한 면역원성 집단의 경우, 1군 및 3군에 대해 백신접종 3에서 GARDASIL 용량 1개월후에 4개 HPV 항원에 대한 항체의 GMT는 다음과 같았다: 각각 451.8 및 550.3(HPV-6); 각각 892.9 및 1084.3(HPV-11); 각각 3695.4 및 4763.4(HPV-16); 및 각각 744.0 및 1047.4(HPV-18). 백신접종 3에서 GARDASIL 용량 1개월후에 1군 대 3군의 GMR은 HPV-6에 대해 0.82(95% CI: 0.72, 0.94), HPV-11에 대해 0.82(95% CI: 0.74, 0.91), HPV-16에 대해 0.78(95% CI: 0.68, 0.88), 및 HPV-18에 대해 0.71(95% CI: 0.62, 0.81)이었다. 그러므로, 3군에 비해 1군에 대한 항-HPV GMR에 대한 양측 95% CI의 하한치는 HPV-6에 대해 0.72, HPV-11에 대해 0.74, HPV-16에 대해 0.68, 및 HPV-18에 대해 0.62이었다. 0.67(GMR의 양측 95% CI의 하한치)의 1.5배 기준은 0.62의 95% CI의 하한계를 가진 HPV-18을 제외하고 모든 HPV 항원들에 대해 충족되었다.

[0250] 백신접종 3 2가 rLP2086 용량 1개월 후에 2가 rLP2086 + GARDASIL 군 대 2가 rLP2086 + 식염수 군의 GMR은 A22에 대해 0.92(95% CI: 0.85, 1.00), 및 B24에 대해 0.92(95% CI: 0.84, 1.01)이었다. 2군에 비해 1군에 대한 hSBA GMT에 대한 양측 95% CI의 하한치는 A22에 대해 0.85 및 B24에 대해 0.84였으며, 이것은 둘 다 0.67보다 더 컸으므로 1.5배의 비열등성 한계를 충족시켰다.

[0251] 백신접종 3 1개월 후에 2개의 주요 MnB 균주(A22 및 B24)에 대한 hSBA 역가 4배 반응물을 분석함으로써, 2가 rLP2086 + GARDASIL (1군) 투여로부터의 데이터를 2가 rLP2086 + 식염수 (2군) 투여로부터의 데이터와 비교하였다. 2개 주요 MnB 균주에 대해 백신접종 3 1개월 후에 기준선으로부터 hSBA 역가에서 ≥ 4 배 증가를 달성하는 대상자 비율을, 2가 rLP2086 + GARDASIL을 투여받은 1군 대상자 및 2가 rLP2086 + 식염수를 투여받은 2군 대상자 둘 다에 대해 측정하였다. 1군 대상자들 중에서, 85.3%가 B24에 대한 hSBA 역가에서 ≥ 4 배 증가를 나타내었다. 2군의 대상자들 중에서, 86.4%가 A22에 대한 hSBA 역가에서 ≥ 4 배 증가를 나타내었으며, 84.8%가 B24에 대

한 hSBA 역가에서 ≥ 4 배 증가를 나타내었다.

- [0252] 백신접종 3 1개월 후에 1군과 2군 사이에 반응자 비율의 차이는 A22에 대해 -1.1%(95% CI: -4.6, 2.3) 및 B24에 대해 -1.4%(95% CI: -5.1, 2.3)이었다. 4배 반응률의 차이는 모두 1% 값 부근이었으며, 비율 차이의 95% CI의 하한계는 A22에 대해 -4.6% 및 B24에 대해 -5.1%이었다.
- [0253] 식염수 + GARDASIL에 비해, 또는 2가 rLP2086 + 식염수에 비해 2가 rLP2086 + GARDASIL의 비열등성 기준은, 4개 HPV 항원(HPV-6, HPV-11, HPV-16 및 HPV-18) 모두에 있어 HPV에 대한 항체에 대한 GMR에 대해서 및 백신접종 3 1개월후 2개의 주요 MnB 시험 군주(A22 및 B24)를 사용한 hSBA 역가에 대해 양측 95% CI의 하한치가 0.67보다 커야하는 것을 요구하였다. 상기 사전명시된 기준은 2개 MnB 시험 군주 둘 다 및 4개 HPV 항원중 3개 이상에 대해 충족되었다. HPV-18의 경우, GMR에 대한 양측 CI의 하한치는 0.62로, 0.67의 사전명시된 임계치보다 약간 낮았다.
- [0254] 2개의 주요 MnB 시험 군주(A22 및 B24)에 대한 4배 증가 반응은 2가 rLP2086 + GARDASIL을 투여받은 군과 2가 rLP2086 + 식염수를 투여받은 군 사이에서 유사하였다(83.4 내지 86.4%의 범위).
- [0255] $\geq 1:4$ 의 백신접종전(즉, 백신접종 1 이전) hSBA 역가를 갖는 1군 및 2군내 대상자 비율은 군주 A22에 대해 각각 15.2% 및 18.8%; 군주 A56에 대해 각각 10.4% 및 10.5%; 군주 B24에 대해 각각 6.1% 및 8.4%; 및 군주 B44에 대해 각각 1.7% 및 3.2%이었다. 또한, $\geq 1:16$ 의 백신접종전 hSBA 역가를 갖는 2군 및 1군내 대상자 비율은 군주 A22에 대해 각각 13.7% 및 16.4%; 군주 A56에 대해 각각 9.0% 및 9.1%; 군주 B24에 대해 각각 4.1% 및 5.4%; 및 군주 B44에 대해 각각 1.2% 및 2.1%이었다.
- [0256] 2군(2가 rLP2086 + 식염수)에서, 백신접종 2 1개월후 ≥ 1.4 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 86.3%, A56에 대해 98.7%, B24에 대해 77.1% 및 B44에 대해 60.1%이었다. 백신접종 3 1개월 후, ≥ 1.4 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 96.4%, A56에 대해 99.4%, B24에 대해 92.8% 및 B44에 대해 86.5%이었다. 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL)에서, 백신접종 2 1개월후 ≥ 1.4 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 83.8%, A56에 대해 97.8%, B24에 대해 71.9% 및 B44에 대해 57.7%이었다. 백신접종 3 1개월 후, ≥ 1.4 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 94.3%, A56에 대해 99.1%, B24에 대해 91.1% 및 B44에 대해 84.4%이었다.
- [0257] 2군(2가 rLP2086 + 식염수)에서, 백신접종 2 1개월후 ≥ 1.16 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 85.8%, A56에 대해 98.4%, B24에 대해 68.8% 및 B44에 대해 49.9%이었다. 백신접종 3 1개월 후, ≥ 1.16 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 96.3%, A56에 대해 99.4%, B24에 대해 89.2% 및 B44에 대해 82.4%이었다. 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL)에서, 백신접종 2 1개월후 ≥ 1.16 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 83.0%, A56에 대해 97.2%, B24에 대해 65.2% 및 B44에 대해 46.4%이었다. 백신접종 3 1개월 후, ≥ 1.16 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 94.0%, A56에 대해 98.9%, B24에 대해 86.3% 및 B44에 대해 78.0%이었다.
- [0258] 1군 및 2군 둘 다에 있어서, 높은 비율의 대상자가 2가 rLP2086의 2 또는 3개 용량 후에 $\geq 1:16$ 이상의 hSBA 역가를 달성한 반면, 대상자의 대부분이 백신접종전 방문 1에서 임의의 주요 MnB 시험 군주에 대해 측정가능한 hSBA 역가를 나타내지 않았다.
- [0259] 기준선 HPV-혈청음성 평가가능한 면역원성 집단의 경우, 2가 rLP2086 + GARDASIL 군(1군) 및 식염수 + GARDASIL 군(3군)의 경우 백신접종 3에서 GARDASIL 용량 1개월후에 HPV 항원에 대한 HPV 혈청전환에 대한 사전 명시된 기준을 달성하는 대상자 비율은 다음과 같았다: HPV-6(각각 99.4% 및 99.3%), HPV-11(각각 99.6% 및 99.5%), HPV-16(각각 99.6% 및 99.5%), 및 HPV-18(각각 99.5% 및 99.0%).
- [0260] GARDASIL 용량 1개월 후에 2가 rLP2086 + GARDASIL 군(1군) 및 식염수 + GARDASIL 군(3군) 사이의 반응자 비율의 차이는 HPV-6에 대해 0.1%(95% CI: -0.9, 1.5), HPV-11에 대해 0.1%(95% CI: -0.7, 1.3), HPV-16에 대해 0.1%(95% CI: -0.7, 1.3), 및 HPV-18에 대해 0.5%(95% CI: -0.6, 1.9)이었다.
- [0261] 2가 rLP2086 + GARDASIL 군(1군) 및 식염수 + GARDASIL 군(3군)의 경우, 혈청전환율 차이는 4개 HPV 항원 모두에 걸쳐 0.1% 및 0.5% 이내였으며, 상기 혈청전환율은, 99%보다 많은 대상자가 4개 HPV 항원 모두에 대해 혈청 전환되면서, 군 전체에 걸쳐 매우 유사하였다.
- [0262] 추가의 평가로서, 백신접종 3 1개월 후에 2개의 주요 MnB 군주(A22 및 B24)에 대한 hSBA 역가 4배 반응률을 분석함으로써, 2가 rLP2086 + GARDASIL 군(1군)을 2가 rLP2086 + 식염수(2군)과 비교하였다. 2개 주요 MnB 군주

에 대해 백신접종 3개월 후에 기준선으로부터 ≥ 4 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성하는 대상자 비율은 다음과 같았다: 1군의 대상자 중에서 85.3%가 시험 균주 A22에 대한 hSBA 역가에 ≥ 4 배 증가를 나타내었고, 83.4%가 시험 균주 B24에 대한 hSBA 역가에 ≥ 4 배 증가를 나타내었다. 2군의 대상자 중에서 86.4%가 시험 균주 A22에 대한 hSBA 역가에 ≥ 4 배 증가를 나타내었고, 84.8%가 시험 균주 B24에 대한 hSBA 역가에 ≥ 4 배 증가를 나타내었다.

- [0263] 백신접종 3개월 후에 1군과 2군 사이의 반응자 비율의 차이는 A22에 대해 -1.1%(95% CI: -4.6, 2.3) 및 B24에 대해 -1.4%(95% CI: -5.1, 2.3)이었다. 4배 반응률의 차이는 모두 1%의 값 부근이었으며, 이때 비율 차이의 95% CI의 하한계는 -4.6%(A22) 및 -5.1%(B24)이었다.
- [0264] **2가 rLP2086에 대한 면역 반응.** 상기 연구의 또 다른 목적은, 2가 rLP2086으로 2차 방문(방문 3) 및 3차(방문 5) 백신접종 1개월 후에 측정된, 4개의 주요 MnB 시험 균주, 곧 LP2086 서브패밀리 A 단백질을 발현하는 2개(A22 및 A56) 및 LP2086 서브패밀리 B 단백질을 발현하는 2개(B24 및 B44)를 사용하여 수행된 hSBA에 의해 측정된 바와 같은 면역 반응을 설명하는 것이었다.
- [0265] 상기 목적을 위한 평가항목 중 하나는, 4개 주요 MnB 시험 균주 각각에 대해 백신접종 2(방문 3) 1개월 후 및 백신접종 3(방문 5) 1개월 후 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율이었다. 평가가능한 면역원성 집단에 대한 4개의 주요 MnB 시험 균주 각각에 대해 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자의 비율을 평가하였다. A22에 대한 LLOQ는 1:16과 같은 hSBA 역가였던 반면, 다른 MnB 시험 균주들 모두에 대한 LLOQ는 1:8과 같은 hSBA 역가였다.
- [0266] 2군(2가 rLP2086 + 식염수)의 경우, 기준선(백신접종 1 이전)에서 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 16.4%, A56에 대해 9.3%, B24에 대해 6.9% 및 B44에 대해 2.5%이었다. 2군의 경우, 백신접종 2 1개월 후 및 백신접종 3 1개월 후 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 달성하는 대상자 비율은 A22에 대해 각각 85.8% 및 96.3%; A56에 대해 각각 98.5% 및 99.4%; B24에 대해 각각 74.2% 및 92.6%; 및 B44에 대해 각각 57.1% 및 85.7%이었다.
- [0267] 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL)의 경우, 기준선(백신접종 1 이전)에서 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 A22에 대해 13.7%, A56에 대해 9.2%, B24에 대해 5.1% 및 B44에 대해 1.4%이었다. 1군의 경우, 백신접종 2 1개월 후 및 백신접종 3 1개월 후 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 달성하는 대상자 비율은 A22에 대해 각각 83.0% 및 94.0%; A56에 대해 각각 97.5% 및 98.9%; B24에 대해 각각 70.6% 및 90.5%; 및 B44에 대해 각각 54.5% 및 82.7%이었다.
- [0268] 4개 주요 MnB 시험 균주에 대한 실질적인 hSBA 반응은 백신접종 2 1개월 후에 1군 및 2군 대상자 둘 다에서 관찰되었으며, 백신접종 3 1개월 후에 추가의 증가가 관찰되었다.
- [0269] 4개 주요 MnB 시험 균주 각각에 대해 ≥ 4 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성하는 대상자 비율 및 평가가능한 면역원성 집단에 대한 복합 반응을 달성하는 대상자 비율을 평가하였다. 기준선(백신접종 1 이전)에서 조합된 4개 MnB 균주 모두에 대해 관찰된 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율은 1군(0.3%)과 2군(0.7%) 사이에서 유사하였다.
- [0270] 2군(2가 rLP2086 + 식염수)의 경우, 백신접종 3 1개월 후까지 기준선으로부터 ≥ 4 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성한 대상자 비율은 A22에 대해 86.4%, A56에 대해 95.3%, B24에 대해 84.8% 및 B44에 대해 80.7%이었으며, 대상자의 83.9%가 복합 hSBA 반응(조합된 4개 균주 모두에 대해 hSBA \geq LLOQ)을 달성하였다. 백신접종 2 1개월 후에, 기준선으로부터 ≥ 4 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성한 대상자 비율은 A22에 대해 74.2%, A56에 대해 92.6%, B24에 대해 63.4% 및 B44에 대해 47.4%이었으며, 대상자의 51.9%가 복합 hSBA 반응을 달성하였다.
- [0271] 1군(2가 rLP2086 + 식염수)의 경우, 백신접종 3 1개월 후까지 기준선으로부터 ≥ 4 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성한 대상자 비율은 A22에 대해 86.4%, A56에 대해 95.3%, B24에 대해 84.8% 및 B44에 대해 80.7%이었으며, 대상자의 83.9%가 복합 hSBA 반응(조합된 4개 균주 모두에 대해 hSBA \geq LLOQ)을 달성하였다. 백신접종 2 1개월 후에, 기준선으로부터 ≥ 4 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성한 대상자 비율은 A22에 대해 74.2%, A56에 대해 92.6%, B24에 대해 63.4% 및 B44에 대해 47.4%이었으며, 대상자의 51.9%가 복합 hSBA 반응을 달성하였다.
- [0272] **추가적 hSBA 배수 반응.** 다른 평가항목은 4개 주요 MnB 균주 각각에 대해 각각의 백신접종 전 체혈 방문까지 기준선으로부터 적어도 2배 및 3배 hSBA 역가 증가를 달성하는 대상자 비율이었다. A22에 대한 LLOQ는 1:16과 같은 hSBA 역가인 반면, 나머지 MnB 시험 균주 모두에 대한 LLOQ는 1:8과 같은 hSBA 역가였음을 주지한다.
- [0273] MnB 균주에 대해 1군 및 2군에 있어서 백신접종 2 1개월 후까지 기준선으로부터 hSBA 역가에 ≥ 2 배 증가를 달성

하는 대상자 비율은 A22에 대해 각각 77.3% 및 81.1%; A56에 대해 각각 94.4% 및 95.3%; B24에 대해 각각 63.0% 및 66.0%; 및 B44에 대해 각각 46.1% 및 48.6%이었다. MnB 균주에 대해 1군 및 2군에 있어서 백신접종 3개월 후까지 기준선으로부터 ≥ 2 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성하는 대상자 비율은 A22에 대해 각각 90.2% 및 92.8%; A56에 대해 각각 97.2% 및 97.9%; B24에 대해 각각 84.6% 및 87.2%; 및 B44에 대해 각각 77.7% 및 81.7%이었다.

[0274] MnB 균주에 대해 1군 및 2군에 있어서 백신접종 2개월 후까지 기준선으로부터 ≥ 3 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성하는 대상자 비율은 A22에 대해 각각 73.1% 및 74.2%; A56에 대해 각각 92.5% 및 92.6%; B24에 대해 각각 61.3% 및 63.4%; 및 B44에 대해 각각 45.7% 및 47.4%이었다. MnB 균주에 대해 1군 및 2군에 있어서 백신접종 3개월 후까지 기준선으로부터 ≥ 3 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성하는 대상자 비율은 A22에 대해 각각 85.3% 및 86.4%; A56에 대해 각각 95.0% 및 95.3%; B24에 대해 각각 83.4% 및 84.8%; 및 B44에 대해 각각 77.0% 및 80.7%이었다.

[0275] 상기 목적하의 기술적 평가항목을 요약하면, 대상자들의 대부분이 4개의 주요 MnB 시험 균주 모두에 대해 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL) 및 2군(2가 rLP2086 + 식염수) 둘 다에 있어서 \geq LLOQ의 hSBA 역가를 달성한 반면, 매우 작은 비율의 대상자만이 기준선에서(백신접종전 방문 1) \geq LLOQ의 측정가능한 hSBA 역가를 달성하였다. 4개 MnB 균주들에 의한 실질적인 면역 반응은 백신접종 2개월 후에 관찰되었으며, 1군 및 2군 대상자 둘 다에서 백신접종 3개월 후에 추가의 증가가 관찰되었다. 이러한 결론은, 3개 용량후 $\geq 1:16$ 의 hSBA 역가를 갖는 대상자 비율, 두 군 모두에서 2개 용량후 및 3개 용량후 달성된 관찰 GMT, 및 4개 주요 MnB 시험 균주에 대한 RCDC에 의해 확인되었다.

[0276] 1군 및 2군 둘 다에서, 높은 비율의 대상자가 주요 MnB 시험 균주 각각에 대해 ≥ 4 의 hSBA 역가 배수 증가 및 3차 연구 백신접종후 4개 주요 MnB 시험 균주 모두에 대해 \geq LLOQ의 복합 hSBA 반응을 달성하였다.

[0277] 또한, 대상자들의 대부분이 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL) 및 2군(2가 rLP2086 + 식염수) 둘 다에서 모든 샘플링 시점에서 4개 주요 MnB 균주에 대해 ≥ 3 의 hSBA 역가 배수 증가 및 ≥ 2 의 hSBA 역가 배수 증가를 달성하였다. 상기 기준을 충족시키는 결과를 갖는 대상자 비율은 2회 백신접종에 비해 3회 백신접종후에 더 높았다.

[0278] 상기 결과들은 HPV 백신, GARDASIL과 동시투여시 2가 rLP2086에 대한 면역 반응이 2가 rLP2086 + 식염수에 대한 면역 반응에 필적하는 강한 면역 반응을 제공한다는 증거를 뒷받침한다.

[0279] **HPV GMT.** 실시예 8의 표 8은 평가가능한 면역원성 집단에서 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL) 및 3군(식염수 + GARDASIL)에 있어 백신접종 3개월 후에 4개 HPV 항원 각각에 대한 GMT 및 상응하는 CI를 나타낸 것이다.

[0280] 3군의 경우, 기준선에서(백신접종 1 이전) 및 백신접종 3개월 후 HPV GMT는 HPV-6에 대해 각각 6.0 및 550.3; HPV-11에 대해 각각 4.3 및 1084.3; HPV-16에 대해 각각 6.1 및 4763.4; 및 HPV-18에 대해 각각 5.3 및 1047.4이다. 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL)의 경우, 기준선에서(백신접종 1 이전) 및 백신접종 3개월 후 HPV GMT는 HPV-6에 대해 각각 5.8 및 451.8; HPV-11에 대해 각각 4.2 및 892.9; HPV-16에 대해 각각 5.8 및 3695.4; 및 HPV-18에 대해 각각 5.2 및 744.0이다. 전체적으로, GMT는 수치적으로 1군에 비해 3군의 경우에 더 높았다. HPV-6, HPV-11, HPV-16 및 HPV-18에 대한 역가 분포를 보여주는 보존 누적 분포 곡선(RCDC)을 평가가능한 면역원성 집단에 대해 모든 샘플링 시점에서 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL) 및 3군(식염수 + GARDASIL)에서 평가하였다. RCDC는 1군 및 3군 둘 다에서 백신접종 3 후의 대상자들중에서 강한 면역 반응을 나타내었다.

[0281] **GARDASIL에 대한 면역 반응의 요약.** HPV 항원에 대한 GMT는 수치적으로 1군(2가 rLP2086 + GARDASIL)에 비해 3군(식염수 + GARDASIL)에서 더 높았으며, 백신접종 3 후에 관찰된 HPV GMT는 두 군 모두에서 강한 면역 반응을 시사하였다. RCDC도 또한 1군 및 3군 둘 다에서 백신접종 3 후의 강한 면역 반응을 뒷받침하였다. 이것은 또한 두 군 모두에서 백신접종 3개월 후에 $>99\%$ 였던, 4개 HPV 항원에 대해 혈청양성 상태를 갖는 대상자들의 비율에 의해서도 뒷받침되었다. 더 어린 연령의 하위군은 더 높은 연령 하위군보다 3군(식염수 + GARDASIL)에서 더 높은 HPV GMT를 나타내었다. 상기 차이는 GARDASIL이 2가 rLP2086과 동시에 제공되었을 때 유지되었다.

[0282] **면역원성 결론.** 식염수 + GARDASIL에 비해 또는 2가 rLP2086 + 식염수에 비해 2가 rLP2086 + GARDASIL의 비열등성 기준은, 4개 HPV 항원(HPV-6, HPV-11, HPV-16 및 HPV-18) 모두에 대해 HPV에 대한 항체에 대한 기하 평균 역가 비(GMR)에 대해서 및 백신접종 3개월 후에 2개의 주요 MnB 시험 균주(A22 및 B24)를 이용한 hSBA 역가에 대해 양측 95% CI의 하한치가 0.67보다 커야할 것을 요구하였다. 상기 사전명시된 임계치는 2개 MnB 균주 둘 다 및 4개 HPV 항원중 3개에 대해 충족되었다. HPV-18의 경우, GMR에 대한 양측 95% CI의 하한치는 0.62로,

0.67의 사전명시된 임계치보다 약간 낮았다.

[0283] 4개 HPV 항원 모두에 대한 혈청전환은 2가 rLP2086과 또는 식염수와 동시에 GARDASIL을 투여받은 군에서 99% 이상의 대상자에 의해 달성되었다. 4개 HPV 항원 모두에 대한 RCDC는 대상자들의 대부분이 백신접종 3개월 후에 혈청전환 임계치보다 높은 반응을 달성하였음을 보여준다. 기준선에 비해 강한 GMT는 GARDASIL을 투여받은 2개의 군 모두에서 관찰되었다.

[0284] 2개의 주요 MnB 시험 균주(A22 및 B24)에 대한 4배 증가 반응은 rLP2086 + GARDASIL을 투여받은 군(각각 85.3% 및 83.4%) 및 2가 rLP2086 + 식염수(각각 86.4% 및 84.8%) 사이에서 유사하였다(83.4 내지 86.4%의 범위).

[0285] 2가 rLP2086에 대한 반응의 추가의 기술적 분석을 4개의 주요 MnB 시험 균주(A22, A56, B24 및 B44)를 사용하여 수행하였다. 높은 비율의 대상자들이, 백신접종 2 또는 3개월 후에, GARDASIL(2가 rLP2086 + GARDASIL)과 함께든지 또는 식염수(2가 rLP2086 + 식염수)와 함께든지, 2가 rLP2086을 투여받은 2개 군 모두에서 평가가능한 면역원성 집단에 대해 ≥4의 hSBA 역가 배수 증가 및 복합 반응(3상 임상 프로그램에서 사용된 바와 같은 모든 4개 주요 MnB 시험 균주 및 동일한 면역원성/효능 평가항목 정의)을 달성하였다. 상기 반응들은 혈청군 B 질환을 포함한 수막구균성 질환에 대한 보호와 상관되는 것으로 입증된 ≥1:4의 hSBA 역가보다 실질적으로 더 높았다. 상기 결과들은 또한 식염수와 함께 투여되든지 또는 GARDASIL과 함께 투여되든지 2가 rLP2086에 대한 강한 면역 반응의 증거를 시사하고 뒷받침한다.

[0286] **결론:** 데이터는 2개 백신 모두에 대한 강한 면역 반응이 rLP2086 + HPV4의 동시 투여후에 야기되었음을 시사한다. 사전명시된 비열등성 기준은 6개 항원중 5개에 대해 충족되었다. HPV-18에 대한 GMR이 비열등성 기준을 아슬아슬하게 놓쳤지만, 반응자의 높은 비율(≥99%)은 임상 효과가 동시 투여후에도 유지될 것으로 예상됨을 시사한다. 2가 rLP2086은 잘 허용되었으며 백신내 균주와 이중인 fHBP를 발현하는 시험 균주에 대해 강한 면역 반응을 유도하였다.

[0287] [표 7]

[0288] 백신접종 3개월후에 기하 평균 역가의 비교(평가가능한 면역원성 집단)

균주 [면역체]	1군 rLP2086 + HPV4		2군 rLP2086 + 식염수		3군 식염수 + HPV4		비 ^d (95% CI) ^c
	n ^a	GMT ^b (95% CI) ^c	n ^a	GMT ^b (95% CI) ^c	n ^a	GMT ^b (95% CI) ^c	
<i>HPV 항원(1군 대 3군)</i>							
HPV-6	813	451.8 (417.5, 489.0)	NA		423	550.3 (490.4, 617.6)	0.82 (0.72, 0.94)
HPV-11	813	892.9 (839.5, 949.6)			423	1084.3 (997.3, 1179.0)	0.82 (0.74, 0.91)
HPV-16	813	3695.4 (3426.3, 3985.7)			423	4763.4 (4285.9, 5294.2)	0.78 (0.68, 0.88)
HPV-18	813	744.0 (687.7, 805.0)			423	1047.4 (939.0, 1168.3)	0.71 (0.62, 0.81)
<i>hSBA 균주(1군 대 2군)</i>							
PMB80 [A22]	803	53.3 (50.2, 56.7)	801	57.8 (54.4, 61.4)	NA		0.92 (0.85, 1.00)
PMB2948 [B24]	788	25.8 (24.1, 27.6)	793	28.0 (26.2, 29.9)			0.92 (0.84, 1.01)
CI=신뢰 구간; GMT=기하 평균 역가; HPV=인유두종 바이러스; hSBA=인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석; LLOQ=정량화 하한치; NA=적용할 수 없음. 주: LLOQ= HPV-6에 대해 11 mMU/ml, HPV-11에 대해 8 mMU/ml; HPV-16에 대해 11 mMU/ml; 및 HPV-18에 대해 10 mMU/ml. LLOQ= A22에 대해 1:16; A56, B24 및 B44에 대해 1:8. LLOQ 미만의 결과는 분석을 위해 0.5*LLOQ로 설정되었다. a. n= 해당 항원 또는 균주에 대해 유효하고 확실한 분석 결과를 갖는 대상자 수. b. 기하 평균 역가(GMT)는 백신접종 3개월후에 유효하고 확실한 분석 결과를 갖는 모든 대상자를 이용하여 산출하였다. c. 신뢰 구간(CI)은 분석 결과의 평균 대수에 대한 스튜던트 t 분포에 기초한 신뢰 수준의 역 변환이다. d. GMT 비(HPV 항원 역가에 대해 1군/3군 및 hSBA 균주 역가에 대해 1군/2군). e. 상기 비에 대한 신뢰 구간(CI)은 측정치의 대수의 평균 차이에 대한 스튜던트 t 분포에 기초한 신뢰 구간의 역 변환이다(HPV 역가에 대해 1군 - 3군 및 hSBA 균주 역가에 대해 1군 - 2군).							

[0289]

[0290] [표 8]

[0291] 백신접종 3 1개월 후 HPV 혈청전환을 달성하는 대상자 - 기준선 HPB 혈청음성 평가가능한 면역원성 집단의 비교

항원	혈청양성 기준	1군 rLP2086 + HPV4			3군 식염수 + HPV4			차이	
		N ^a	n ^b (%)	(95% CI) ^c	N ^a	n ^b (%)	(95% CI) ^c	(%) ^d	(95% CI) ^e
HPV-6	≥ 20 mIU/mL	802	797 (99.4)	(98.6, 99.8)	414	411 (99.3)	(97.9, 99.9)	0.1	(-0.9, 1.5)
HPV-11	≥ 16 mIU/mL	801	798 (99.6)	(98.9, 99.9)	417	415 (99.5)	(98.3, 99.9)	0.1	(-0.7, 1.3)
HPV-16	≥ 20 mIU/mL	800	797 (99.6)	(98.9, 99.9)	413	411 (99.5)	(98.3, 99.9)	0.1	(-0.7, 1.3)
HPV-18	≥ 24 mIU/mL	805	801 (99.5)	(98.7, 99.9)	418	414 (99.0)	(97.6, 99.7)	0.5	(-0.6, 1.9)

CI=신뢰 구간; HPV=인유두종 바이러스.
a. N= 해당 항원에 대한 기준선 HPV 혈청음성 상태를 갖는 대상자 수.
b. n= 해당 항원에 대해 백신접종 3 1개월후에 혈청전환(사전명시된 기준)을 달성하는 대상자 수.
c. 관찰된 대상자 비율에 근거한 정확검정 양측 신뢰 구간(클로퍼 및 피어슨).
d. 퍼센트로 나타낸 비율의 차이.
e. 퍼센트로 나타낸, 비율의 차이에 대한 정확검정 양측 신뢰 구간(찬 앤 장에 기초).

[0292]

[0293] 실시예 9: 2가 rLP2086 백신 효능

[0294] 침습성 *나이세리아 메닌지티디스* 혈청군 B(MnB) 균주에 대한 혈청 살균 항체 반응의 효능 및 입증을 대신하는 것으로서 hSBA 반응을 이용하여 2가 rLP2086의 효능을 추정하였다.

[0295] 침습성 수막구균성 질환(IMD) 야기 균주를 대표하는 4개의 MnB 균주를 평가에 사용하였다. 각각의 MnB 시험 균주는 백신 성분(A05 및 B01)과 이중인(상이한) fHBP 단백질 변이체(A22, A56, B24 또는 B44)를 발현한다.

[0296] 2가 rLP2086의 효능은 미국 및 유럽에서 11 내지 18세 연령의 4,459명 청소년에서 수행된 3가지 무작위 통제 2상 연구에서 평가하였다(또한 실시예 6 참조). 0-, 2- 및 6-개월 백신접종 스케줄을 이용하여 총 2,293 명이 1개 이상의 용량의 2가 rLP2086 120 µg을 투여받았다. 2가 rLP2086으로 백신접종된 대상자들에서 hSBA 면역 반응을 평가함으로써 효능을 평가하였다.

[0297] 효능은 5가지 동반-일차(co-primary) 면역원성 평가항목을 이용하여 추정하였다. 5가지 동반-일차 평가항목중 4가지에 있어서, 사전명시된 비율의 대상자들은 2가 rLP2086 3개 용량 후에 4개 MnB 시험 균주 각각에 대한 hSBA 역가에 4배 증가를 달성해야 하였다. 5번째 동반-일차 평가항목은 사전명시된 높은 비율의 대상자들이 각각 2가 rLP2086의 3개 용량 후에 주요 MnB 시험 균주를 사용한 4개 hSBA 모두에서 반응할 것을 요구하는 복합 평가항목이었다. 면역 반응을 또한 백신의 3차 용량 1개월 후에 ≥정량화 하한치(LLOQ)의 hSBA 역가를 달성한 대상자 비율에 근거하여 평가하였다. LLOQ는 측정될 수 있는 샘플중 항체의 최저량으로 정의된다.

[0298] 연구 1(실시에 7 및 실시예 8에 기술됨)은 2 상, 무작위, 능동-통제, 관찰자-맹검 다기관 시험으로, 여기에서는 11 내지 17세 연령의 2,499명의 미국 대상자들이 3개 군 중 하나에 무작위로 배정되었다(2:2:1 비): 1군은 2가 rLP2086 + HPV4를 투여받고, 2군은 2가 rLP2086 + 식염수를 투여받고, 3군은 식염수 + HPV4를 투여받았다. 모든 백신접종은 0-, 2- 및 6-개월 스케줄로 투여되었다.

[0299] 연구 2(실시에 4에 기술됨)는 2 상, 무작위 위약-통제, 단일-맹검 시험으로 여기에서는 11 내지 18세 연령의 753명의 유럽 대상자들이 다음 2개 군에 1:1 비로 무작위 배정되었다: 1군은 0-, 2- 및 6-개월에 2가 rLP2086, 및 0 개월에 dTaP-IPV(디프테리아, 파상풍, 무세포성 백일해-불활성화 소아마비 바이러스)를 투여받았다. 2군은 0-, 2- 및 6-개월에 식염수, 및 0 개월에 dTaP-IPV를 투여받았다.

[0300] 연구 3(실시에 5에 기술됨)은 2 상, 무작위 위약-통제, 단일-맹검, 다기관 시험으로, 여기에서는 11 내지 18세 연령의 1,713명 유럽 대상자들이 5개 군에 3:3:3:2:1 비로 무작위 배정되었다. 대상자들은 0-, 1- 및 6-개월 스케줄(1군); 0-, 2- 및 6-개월 스케줄(2군); 0- 및 6-개월 스케줄(3군); 0- 및 2-개월 스케줄(4군); 또는 0- 및 4-개월 스케줄(5군)로 투여된 2가 rLP2086의 2 또는 3개 용량을 투여받았다. 식염수 주사(군에 따라 1 또는 2개 용량)를 맹검 시험을 유지하기 위해 각 군에 투여하였다.

[0301] 0-, 2- 및 6-개월에 2가 rLP2086의 3-용량 시리즈를 투여받은 대상자들 중에서 연구 1, 2 및 3의 결과를 각각의 실시예 4 내지 8에서 전술하였다. 4배 및 복합 반응률의 평가는 모든 연구에서 연구 평가항목이었다. 4배 반응률은 4개 평가항목 모두에 대한 95% 신뢰 구간(CI)의 하한계가 3개 연구중에서 유사하였으며 3 상 평가항목에 대한 임계치를 일관되게 충족시켰음을 보여주었다. ≥LLOQ의 hSBA 역가를 달성한 대상자 비율은 3개 연구 전체

에 걸쳐 유사하였다.

- [0302] 1 또는 2개월 떨어져 제공된 백신의 2회 투여 후에 획득된 hSBA 데이터에 근거하여, 상기 간격들에 걸쳐 투여된 백신 2개 용량은 수막구균 혈청군 B 질환의 사례에 잠재적 노출로 인해, 증가된 위험에서 개개인에 대한 보호를 제공할 수 있다. 1 또는 2개월 떨어져 전달된 2회 백신 투여 후 관찰된 반응은 일부의 대상자가 4개 주요 시험 군주 각각에 대해 LLOQ 값 이상의 hSBA 수준을 나타내었음을 보여주었다(1군 및 2군의 경우 연구 1 결과 참조; 1군의 경우 연구 2 결과 참조; 2군의 경우 연구 3 결과 참조). 6개월에 투여된 백신의 3차 용량은 백신-매개 보호를 달성할 수 있다.
- [0303] **수반 백신 투여.** 연구 1(실시에 7 및 8에 기술됨)은 미국 청소년에서 2가 rLP2086 및 HPV4의 동시 사용을 평가하였다. 연구 평가항목은 3차 백신접종 1개월후에, 4개 HPV4 항원(기하 평균 역가[GMT]에 근거) 및 2가 rLP2086(2개의 MnB 시험 군주[변이체 A22 및 B24]를 사용한 hSBA에 근거)에 대한 면역 반응의 비열등성 평가를 포함하였다. HPV4 면역 반응은 또한 4개 HPV 항원 각각에 대한 혈청전환에 의해 평가하였다.
- [0304] 연구 1은 1군(2가 rLP2086 + HPV4) 및 3군(식염수 + HPV4)에서 HPV 항원에 대한 항체의 기하 평균 역가(GMT)와 1군과 3군 사이의 그의 상응하는 GMT 비(GMR) 및 상기 비의 양측 95% CI와의 비교를 보여준다. 연구 1은 또한 1군 및 2군에서 2개 주요 MnB 시험 군주에 대한 hSBA GMT와 1군과 2군 사이의 그의 상응하는 GMR 및 상기 비의 양측 95% CI와의 비교를 제공한다. 비열등성 한계에 대한 기준은 1.5배로서, 이것은 GMR의 양측 95% CI의 하한치에 대한 0.67의 값에 상응한다. 0.67의 1.5배 기준은 모든 MnB 시험 군주, 및 0.62의 95% 신뢰 구간(CI)의 하한계를 가진 HPV-18을 제외한 HPV 항원에 대해 충족되었다. HPV-18에 대한 반응이 사전명시된 비열등성 기준을 충족시키진 않았지만, 차이는 미미하였다. 별도의 분석에서, 대상자의 99%가 식염수 + HPV4 및 2가 rLP2086 + HPV4군 둘 다에서 4개 HPV 항원 모두로 혈청전환되었다.
- [0305] **실시에 10**
- [0306] **2가 rLP2086은 우세하고 발생-관련 fHBP 변이체를 발현하는 MnB 군주에 대해 광범위한 커버리지를 제공하는 개인에서 항체를 유도한다**
- [0307] 인간 보체를 사용한 혈청 살균 분석(hSBA)에서 측정된 살균성 항체는 수막구균성 질환으로부터의 보호와 상관되었으며, hSBA 반응은 통상적으로 백신 효능을 대신하는 것으로서 사용되었다. fHBP 다양성에 대한 세계적인 유행병학 연구는 수막구균성 질환의 약 80%가 10개의 우세한 fHBP 변이체 중 하나를 발현하는 군주에 의해 야기됨을 밝혔다.
- [0308] **방법:** 2가 rLP2086으로 면역화된 개별적인 인간 대상자들에서 미국 및 유럽에서 가장 우세한 10개의 fHBP 변이체(B24, B16, B44, A22, B03, B09, A12, A19, A05 및 A07)를 발현하는 *나이세리아 매닝지티디스* 혈청군 B(MnB)에 대한 hSBA 반응을 평가하였다. 상기 10개의 가장 우세한 변이체를 발현하는 MnB 군주는, MnB SBA 군주 풀, 및 MnB SBA 군주 풀의 US 부집합 각각에서 군주(부분군별)의 >98% 및 97%를 대표하는 6개 주요 fHBP 부분군 중 5개를 포함하여 fHBP 다양성의 범위를 나타낸다. 2000년과 2006년 사이에 미국 및 유럽에서 체계적으로 수집된 군주를 대표하는 화이자의 MnB SBA 군주 풀(N=1263)로부터 23개 MnB 시험 군주를 획득하였다. 또한, 최근의 MnB 질환 발생으로부터 획득된 분리군이 분석에 포함되었다. 매칭된 백신접종전 및 백신접종후 혈청(용량 2 후 및 용량 3 후)은 임상 연구 B1971005, B1971012 또는 B1971003에 참가한 청소년 및 젊은이들로부터 무작위로 획득하였다.
- [0309] 2가 rLP2086으로 백신접종에 의해 획득된 잠재적 커버리지를 뒷받침하는 추가의 정보를 제공하기 위해, 실시에 5 및 실시에 6에 기술된, 2가 rLP2086(임상 연구 B1971012)으로 면역화된 9명의 대상자들로부터의 발생 군주 및 혈청 샘플을 사용하여 hSBA를 수행하였다. 대상자들(11 내지 <19세 연령)은 0, 2 및 6 개월에 2가 rLP2086의 3개 용량을 투여받았다. 보존적 hSBA 평가를 보장하기 위해, 주요 MnB 시험 군주에 대해 기준선 hSBA 활성을 갖지 않는 대상자들의 집단으로부터 비-편향 방식으로 9명의 대상자를 선택하였다. 클론성 프린스턴 대학 발생 군주 중 2개(PMB5021 및 PMB5025) 및 UCSB 발생 군주 중 2개(2개 유전자 클러스터, PMB4478 및 PMB4479 각각으로부터 하나)를 시험하였다.
- [0310] 클론성 프린스턴 대학 MnB 발생 군주의 유전자 특성화는 다음과 같다: 데이터는 프린스턴 대학 발생 군주가 클론성임을 시사한다. 군주들 각각은 CC41/44(ST 409)로서 분류되었으며 fHBP 변이체 B153(서열번호 6)을 발현하였다. 상기 군주는 NHBA(2), porA(아형 P1.5-1, 2-2) 및 porB(3-82)에 대한 동일 대립유전자 배정을 가졌으며, 모두 nadA가 존재하지 않았고, 모두 동일한 펄스장 겔 전기영동(PFGE) 프로파일(429)을 가졌다.
- [0311] 2013개 UCSB(University of California Santa Barbara) 발생 군주의 유전자 특성화는 다음과 같다: UCSB 군주

는 CC32(ET5; ST32)로 분류되었고, fHBP 변이체 B24를 발현하였으며, 1993년 이래로 고유형성 혈청군 B 질환과 연관된 오레곤(Oregon) 클론과 관련된다. 프린스턴 발생 균주 군과 달리, UCSB 균주는 그의 PFGE 프로파일(468 또는 467) 및 porB 유형(3-461 또는 3-24)에 의해 구별되는 2개의 별개의 클러스터로 유전자적으로 구분된다. 상기 균주들은 NadA(1), NHBA(5), porA(아형 P1.7, 16-20)에 대해 동일한 대립유전자 배정을 가졌다.

[0312] 모든 대상자 및 모든 발생 균주에 대해 기준선에서의 hSBA 역가는 <4이어서, 대상자가 2가 rLP2086으로 면역화 전에 어떤 발생 균주에 대한 보호 항체도 갖지 않음을 시사하였다.

[0313] **결과:** 23개 MnB 균주 모두 2가 rLP2086으로 면역화된 개개 대상자들로부터의 혈청을 사용한 hSBA에서 민감하였다. 10개의 우세한 fHBP 변이체 모두를 대표하는 균주들 및 추가의 균주들 모두 hSBA에 의해 사멸되었다. 기준선 hSBA 혈청보호율($\geq 1:4$ 의 hSBA 역가를 달성한 대상자 비율)은 일반적으로 낮았다. 2가 rLP2086으로 면역화 전에 대상자에서 관찰된 더 낮은 혈청보호율은 MnB 질환에 대한 백신접종되지 않은 청소년 또는 젊은이 집단의 취약성을 예시한다. 그러나, 백신접종후 혈청을 갖는 청소년 및 젊은이들에서는 강한 혈청보호율이 관찰되었다: >70%의 혈청보호율이 시험된 MnB 균주 및 집단에 따라 상기 균주들의 83%에 대해 관찰되었다. 가장 우세한 서브패밀리 A 및 B fHBP 변이체, B24 및 A22를 발현하는 균주에 대한 백신접종후 혈청보호율은 81.0 내지 100%의 범위였으며, fHBP 변이체 B24 및 B153을 발현하는 최근의 발생 균주에 대해서는 77.8 내지 100%의 범위였다. 또한, hSBA에 사용된 발생 균주에 따라 56 내지 89%의 범위의, 모든 발생 균주에 대한 강한 용량 2 후 반응(기준선 대비)이 상기 대상자들에서 관찰되었다. 대조적으로, 백신접종전 혈청보호율은 최근 미국 발생 균주의 경우 낮거나 검출가능하지 않았다. 프린스턴 대학 및 UCSB 발생 균주에 대한 hSBA 반응은 도 2에 나타내었다.

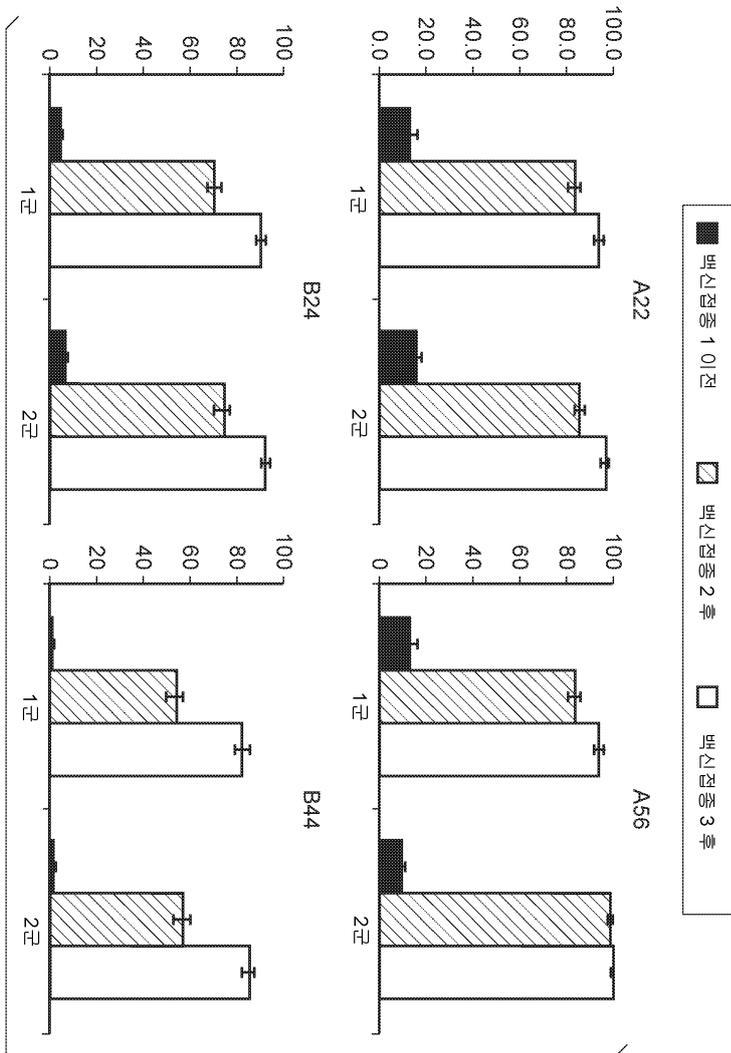
[0314] **결론:** 2가 rLP2086은 미국 및 유럽에서 우세한 fHBP, 뿐 아니라 새로 출현하는 변이체(B153)(서열번호 6)를 발현하는 다양한 침습성 MnB 균주에 대해 개인에서 강한 혈청보호 hSBA 반응을 유도한다. 2가 rLP2086으로 면역화후 혈청보호 반응을 나타낸 대상자 비율은 기준선에서 혈청보호된 대상자 비율을 크게 초과하였다. 상기 데이터는 2가 rLP2086이 최근 발생 질환으로부터의 질환을 포함하여 침습성 수막구균 혈청군 B 질환으로부터 청소년 및 젊은이들의 광범위한 보호를 제공할 잠재력을 가짐을 뒷받침한다.

[0315] > B153 (서열번호 6)

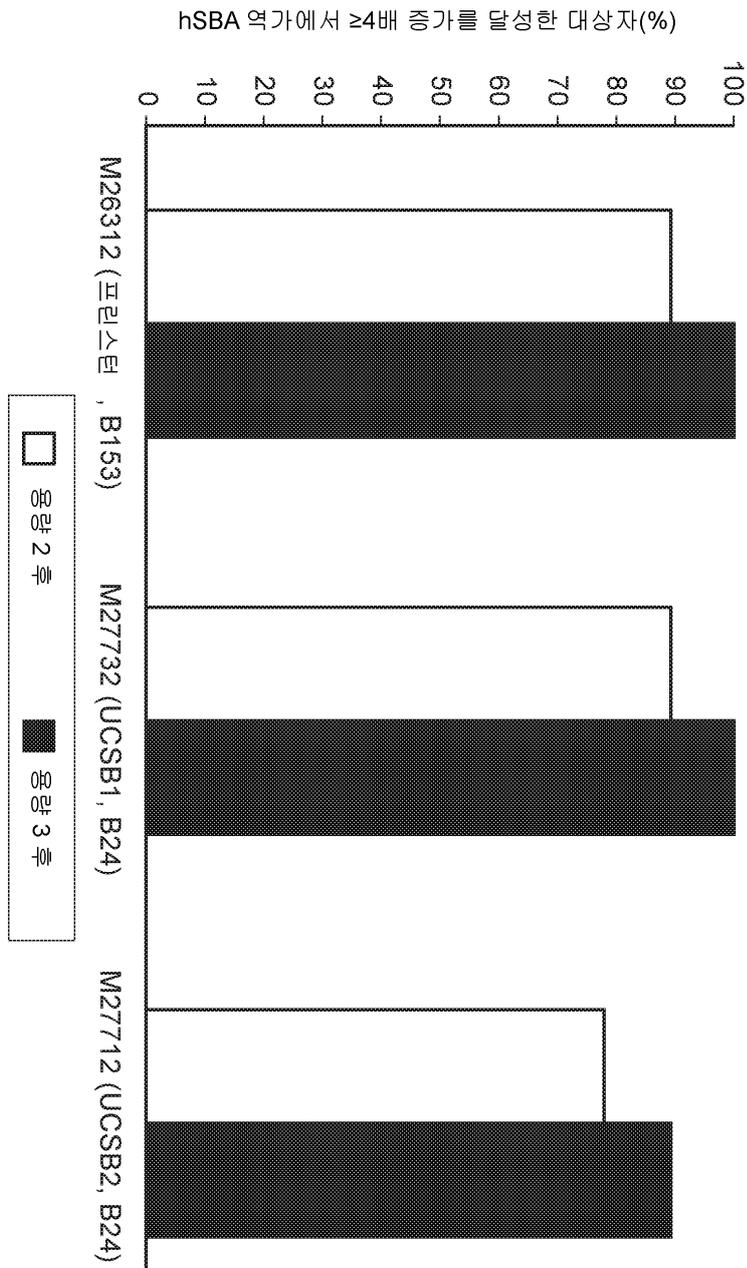
[0316] CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQAEKTYGNGDSLNTGKLNKDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQS
 HSALTALQTEVQVQDSEDSGKMKVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLYTITDFAAQGHGKIEHLKSPELNVDLAAAYIKPDEKH
 HAVISGSVLNQEKGYSYSLGIFGGKAEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

도면

도면1



도면2



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Pfizer Inc.

<120> NEISSERIA MENINGITIDIS COMPOSITIONS AND METHODS THEREOF

<130> PC072198

<140> PCT/IB2014/064091

<141> 2014-08-27

<150> US 61/875,068

<151> 2013-09-08
 <150> US 61/926,717
 <151> 2014-01-13
 <150> US 61/989,432
 <151> 2014-05-06
 <160> 23
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 258
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic amino acid sequence
 <400> 1
 Cys Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly

 1 5 10 15
 Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu

 20 25 30
 Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Ser Gln Asn Gly Thr Leu Thr

 35 40 45
 Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Val Gly Asp Lys Asp

 50 55 60
 Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe

 65 70 75 80
 Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala

 85 90 95
 Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala

 100 105 110
 Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile

 115 120 125
 Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala

 130 135 140
 Phe Asn Gln Leu Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe

145 150 155 160
 Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
 165 170 175
 Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln
 180 185 190
 Asn Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His

 195 200 205
 Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr
 210 215 220
 Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser
 225 230 235 240
 Ala Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly
 245 250 255
 Lys Gln

<210> 2

<211> 261

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic amino acid sequence

<400> 2

Cys Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Thr Ala
 1 5 10 15
 Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His
 20 25 30
 Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Ser Gln
 35 40 45
 Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly

 50 55 60
 Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser
 65 70 75 80
 Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic amino acid sequence

<400> 4

Cys Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp

1 5 10

<210> 5

<211> 15

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic amino acid sequence

<400> 5

Cys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp

1 5 10 15

<210> 6

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic amino acid sequence

<400> 6

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu

1 5 10 15

Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln

20 25 30

Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu

35 40 45

Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn

50 55 60

Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg

65 70 75 80

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

85 90 95
 Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu Gln Thr Glu
 100 105 110
 Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln
 115 120 125
 Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Gly Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp

 145 150 155 160
 Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
 165 170 175
 Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp
 180 185 190
 Leu Ala Ala Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His Ala Val Ile
 195 200 205
 Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu

 210 215 220
 Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Glu Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
 225 230 235 240
 Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
 245 250 255
 <210> 7
 <211> 259
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis (group B)
 <400> 7
 Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr
 1 5 10 15

 Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly
 20 25 30
 Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu
 35 40 45

Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys
 50 55 60
 Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg
 65 70 75 80

 Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu
 85 90 95
 Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val
 100 105 110
 Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu
 115 120 125
 Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr
 130 135 140

 Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Asp Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala
 145 150 155 160
 Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe
 165 170 175
 Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu
 180 185 190
 Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser
 195 200 205

 His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly
 210 215 220
 Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly
 225 230 235 240
 Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala
 245 250 255

 Gly Lys Gln

<210> 8

<211> 261

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 8

Cys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile
 1 5 10 15
 Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp
 20 25 30
 Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Ser Gln Asn Gly
 35 40 45
 Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Val Gly
 50 55 60

 Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile
 85 90 95
 Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala
 100 105 110
 Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp
 115 120 125

 Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu
 130 135 140
 His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly
 145 150 155 160
 Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile
 165 170 175
 Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr
 180 185 190

 Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu
 195 200 205
 Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu
 210 215 220
 Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile
 225 230 235 240

Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly
 245 250 255

Ile Ala Gly Lys Gln
 260

<210> 9

<211> 254

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis* (group B)

<400> 9

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15

Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
 20 25 30

Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45

Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn
 50 55 60

Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80

Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe
 85 90 95

Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu
 100 105 110

Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
 115 120 125

Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu
 130 135 140

Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
 145 150 155 160

Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly
 165 170 175

Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
 180 185 190
 Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
 195 200 205
 Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
 210 215 220
 Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
 225 230 235 240

Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245 250

<210> 10

<211> 254

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 10

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15
 Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
 20 25 30
 Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45
 Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn
 50 55 60
 Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80
 Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe
 85 90 95
 Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu
 100 105 110
 Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
 115 120 125
 Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu

130 135 140
 Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
 145 150 155 160
 Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly

 165 170 175
 His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
 180 185 190
 Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
 195 200 205
 Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
 210 215 220
 Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys

 225 230 235 240
 Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245 250

 <210> 11
 <211> 263
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis (group B)
 <400> 11
 Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp
 1 5 10 15
 Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys
 20 25 30

 Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Ser Gln Asn
 35 40 45
 Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Arg Thr Phe Lys Ala
 50 55 60
 Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu

85 90 95

Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser
 100 105 110

Ala Leu Thr Ala Leu Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser
 115 120 125

Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Val Gly
 130 135 140

Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Lys Asp Val Met Ala Thr Tyr
 145 150 155 160

Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr
 165 170 175

Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu
 180 185 190

Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro
 195 200 205

Asp Glu Lys His His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln
 210 215 220

Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln
 225 230 235 240

Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His
 245 250 255

Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
 260

<210> 12

<211> 255

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 12

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15

Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln

<213> *Neisseria meningitidis* (group B)

<400> 13

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu

1 5 10 15
Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln

 20 25 30
Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu

 35 40 45
Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn

 50 55 60
Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg

65 70 75 80
Gln Ile Glu Val Asp Gly Lys Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe

 85 90 95
Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu Gln Thr Glu

 100 105 110
Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln

 115 120 125
Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu

 130 135 140
Pro Lys Gly Gly Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp

145 150 155 160
Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln

 165 170 175
Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Glu

 180 185 190
Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys Arg His Ala Val Ile

 195 200 205
Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu

 210 215 220
Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val

225 230 235 240
 Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
 245 250 255
 <210> 14
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis (group B)

 <400> 14
 Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Val Leu
 1 5 10 15
 Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
 20 25 30
 Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45
 Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn
 50 55 60

 Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80
 Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe
 85 90 95
 Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu Gln Thr Glu
 100 105 110
 Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln
 115 120 125

 Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu
 130 135 140
 Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp
 145 150 155 160
 Asp Ala Ser Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
 165 170 175
 Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp

130 135 140
 Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp
 145 150 155 160
 Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
 165 170 175
 Gly Asn Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp

 180 185 190
 Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile
 195 200 205
 Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
 210 215 220
 Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
 225 230 235 240
 Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln

 245 250 255

<210> 16
 <211> 263
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis (group B)
 <400> 16

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp
 1 5 10 15
 Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys
 20 25 30
 Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Ser Gln Asn
 35 40 45

 Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Arg Thr Phe Lys Ala
 50 55 60
 Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu
 85 90 95

Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser
 100 105 110

Ala Leu Thr Ala Leu Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser
 115 120 125

Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Val Gly
 130 135 140

Glu His Thr Ser Phe Gly Lys Leu Pro Lys Asp Val Met Ala Thr Tyr
 145 150 155 160

Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr
 165 170 175

Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu
 180 185 190

Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro
 195 200 205

Asp Glu Lys His His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln
 210 215 220

Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln
 225 230 235 240

Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His
 245 250 255

Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
 260

<210> 17

<211> 255

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 17

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15

Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
 20 25 30

Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45
 Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn
 50 55 60
 Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80
 Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe
 85 90 95

 Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu Gln Thr Glu
 100 105 110
 Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln
 115 120 125
 Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu
 130 135 140
 Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp
 145 150 155 160

 Asp Ala Ser Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
 165 170 175
 Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp
 180 185 190
 Leu Ala Ala Ser Asp Ile Lys Pro Asp Lys Lys Arg His Ala Val Ile
 195 200 205
 Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
 210 215 220

 Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
 225 230 235 240
 Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
 245 250 255

<210> 18

<211> 254

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 18

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15
 Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
 20 25 30
 Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45
 Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn
 50 55 60
 Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80
 Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe
 85 90 95
 Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu
 100 105 110
 Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
 115 120 125
 Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu
 130 135 140
 Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
 145 150 155 160
 Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly
 165 170 175
 Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
 180 185 190
 Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
 195 200 205
 Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
 210 215 220
 Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
 225 230 235 240

Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln

245 250

<210> 19

<211> 254

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 19

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu

1 5 10 15

Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln

20 25 30

Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu

35 40 45

Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn

50 55 60

Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu

100 105 110

Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser

115 120 125

Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu

130 135 140

Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp

145 150 155 160

Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly

165 170 175

His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu

180 185 190

Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu

145 150 155 160
 Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
 165 170 175
 Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
 180 185 190
 Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala

 195 200 205
 Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
 210 215 220
 His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
 225 230 235 240
 Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Ser Ile Ala Gly Lys
 245 250 255
 Gln

<210> 21

<211> 254

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 21

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15
 Ala Asp Ala Leu Thr Thr Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
 20 25 30
 Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45
 Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn

 50 55 60
 Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80
 Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe
 85 90 95

Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu
 100 105 110
 Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
 115 120 125
 Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu
 130 135 140
 Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
 145 150 155 160
 Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly
 165 170 175
 Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
 180 185 190
 Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
 195 200 205
 Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
 210 215 220
 Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
 225 230 235 240
 Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245 250

<210> 22

<211> 262

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis* (group B)

<400> 22

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp
 1 5 10 15
 Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys
 20 25 30
 Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn
 35 40 45

Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala
 50 55 60
 Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr
 85 90 95
 Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser
 100 105 110

Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile
 115 120 125
 Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly
 130 135 140
 Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Asp Lys Ala Glu Tyr His
 145 150 155 160
 Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Thr
 165 170 175

Ile Asp Phe Thr Asn Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys
 180 185 190
 Thr Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp
 195 200 205
 Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu
 210 215 220
 Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu
 225 230 235 240

Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile
 245 250 255
 Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 260

<210> 23

<211> 255

<212> PRT

<213> Neisseria meningitidis (group B)

<400> 23

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15

Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln
 20 25 30

Ser Leu Ile Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45

Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn
 50 55 60

Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80

Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe
 85 90 95

Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu Gln Thr Glu
 100 105 110

Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln
 115 120 125

Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu
 130 135 140

Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Ser Ser Asp
 145 150 155 160

Asp Ala Gly Gly Lys Leu Ile Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
 165 170 175

Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp
 180 185 190

Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His Ala Val Ile
 195 200 205

Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
 210 215 220

Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
 225 230 235 240

Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
245 250 255