

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-522395

(P2024-522395A)

(43)公表日 令和6年6月19日(2024.6.19)

| (51)国際特許分類 | F I | テーマコード(参考) |
|------------------------------------|----------------|------------|
| C 0 8 B 37/00 (2006.01) | C 0 8 B 37/00 | 4 C 0 8 5 |
| A 6 1 P 31/04 (2006.01) | A 6 1 P 31/04 | 4 C 0 9 0 |
| A 6 1 K 39/09 (2006.01) | A 6 1 K 39/09 | 4 H 0 4 5 |
| A 6 1 P 37/04 (2006.01) | A 6 1 P 37/04 | |
| C 1 2 N 15/117 (2010.01) | C 1 2 N 15/117 | Z Z N A |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全162頁) 最終頁に続く | | |

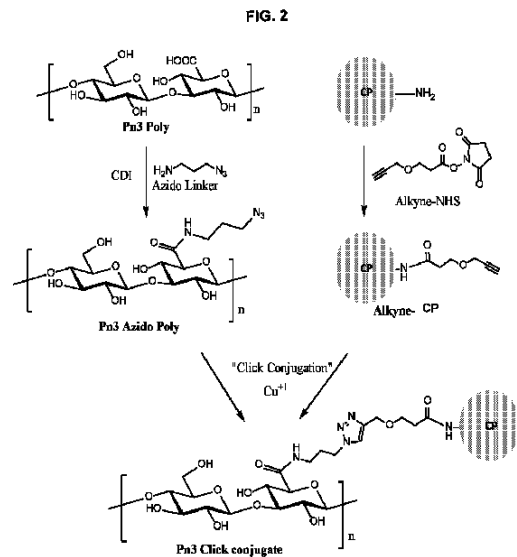
| | | | |
|-------------------|--------------------------------|---------|---|
| (21)出願番号 | 特願2023-572691(P2023-572691) | (71)出願人 | 593141953 ファイザー・インク |
| (86)(22)出願日 | 令和4年5月25日(2022.5.25) | | アメリカ合衆国 1 0 0 0 1 - 2 1 9 2 |
| (85)翻訳文提出日 | 令和6年1月12日(2024.1.12) | | ニューヨーク州 ニューヨーク市 ハドソン・ブルバード・イースト 6 6 |
| (86)国際出願番号 | PCT/IB2022/054914 | (74)代理人 | 100133927 |
| (87)国際公開番号 | WO2022/249106 | | 弁理士 四本 能尚 |
| (87)国際公開日 | 令和4年12月1日(2022.12.1) | (74)代理人 | 100174447 |
| (31)優先権主張番号 | 63/194,641 | | 弁理士 龍田 美幸 |
| (32)優先日 | 令和3年5月28日(2021.5.28) | (74)代理人 | 100185960 |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US) | | 弁理士 池田 理愛 |
| (31)優先権主張番号 | 63/228,763 | (72)発明者 | アナリサ シビル アンダーソン |
| (32)優先日 | 令和3年8月3日(2021.8.3) | | アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード 4 0 1 ファイザー・イ |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US) | | 最終頁に続く |
| (81)指定国・地域 | AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA) | | 最終頁に続く |

(54)【発明の名称】 コンジュゲートさせた莢膜糖抗原を含む免疫原性組成物およびその使用

(57)【要約】

本発明は、新規のコンジュゲートさせた莢膜糖抗原（複合糖質）、前記複合糖質を含む免疫原性組成物、およびその使用に関する。

【図 1】



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 非プロトン溶媒中で、単離した肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 莢膜多糖を炭酸誘導体およびアジドリンカーと反応させて、活性化アジド多糖を生成するステップと、

(b) 担体タンパク質を、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する薬剤と反応させるステップであって、NHS 部分がアミノ基と反応してアミド結合を形成し、それによってアルキン官能化担体タンパク質が得られるステップと、

(c) Cu^{+1} 媒介性アジド-アルキン付加環化反応によって、ステップ (a) の活性化アジド多糖をステップ (b) の活性化アルキン担体タンパク質と反応させて、複合糖質

10

を含む、肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を作製する方法。

【請求項 2】

単離した多糖を活性化ステップ (a) の前にサイジングする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

単離した血清型 3 莢膜多糖を重量平均分子量 100 kDa ~ 200 kDa までサイジングする、請求項 2 に記載の方法。

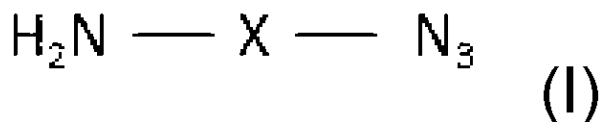
【請求項 4】

前記炭酸誘導体が、1, 1'-カルボニルジイミダゾール (CDI)、1, 1'-カルボニル-ジ-(1, 2, 4-トリアゾール) (CDT)、炭酸ジスクシンイミジル (DSC)、またはクロロギ酸 N-ヒドロキシスクシンイミジルである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記アジドリンカーが式 (I) :

【化 1】



30

[式中、X は、 $CH_2(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 、 $NHCO(CH_2)_n$ 、 $NHCO(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 、 $OCH_2(CH_2)_n$ 、および $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ からなる群から選択され、n は、1 ~ 10 から選択され、m は、1 ~ 4 から選択される] の化合物である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記アジドリンカーが式 (II) :

40

【化 2】



の化合物である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

50

N - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が、N - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分および末端アルキンを有する薬剤である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

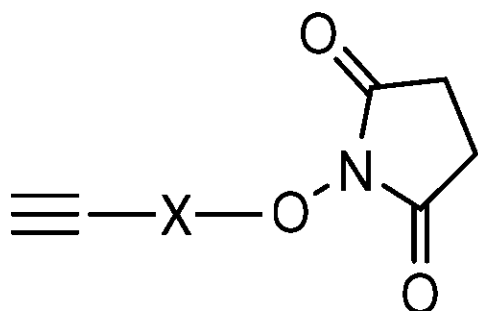
N - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が、N - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびシクロアルキンを有する薬剤である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

N - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が式 (III) :

10

【化 3】



20

(III)

[式中、X は、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ および $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ からなる群から選択され、n は、0 ~ 10 から選択され、m は、0 ~ 4 から選択される]

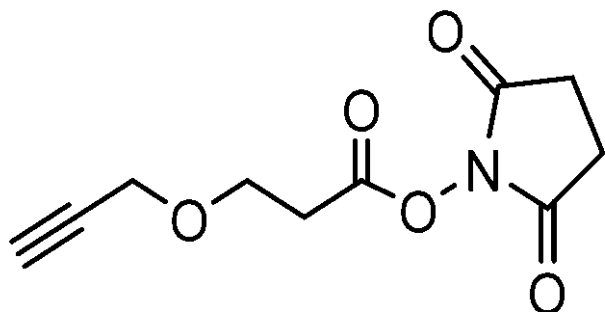
の化合物である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

N - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が式 (IV) :

30

【化 4】



40

(IV)

の化合物である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

ステップ a) が、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

50

ステップ b) が、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0.1 ~ 10 モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

コンジュゲーション反応 c) を、水性緩衝液中、触媒としての銅 (I) の存在下で実施する、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

ステップ c) の後に、コンジュゲート中に残った未反応のアジド基を、アジド基キャッピング剤でキャッピングするステップをさらに含む、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

ステップ c) の後に、コンジュゲート中に残った未反応のアルキン基を、アルキン基キャッピング剤でキャッピングするステップをさらに含む、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

複合糖質が生成された後にそれを精製するステップをさらに含む、請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の方法。

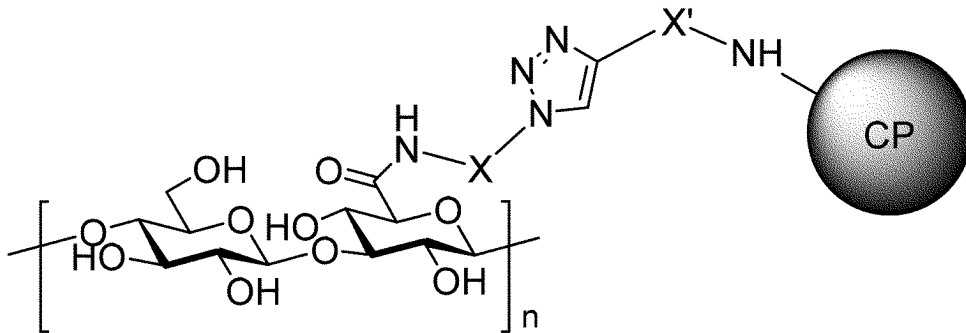
【請求項 17】

請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の方法によって生成した肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質。

【請求項 18】

スペーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) :

【化 5】



(VII)

[式中、X は、 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、および $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ からなる群から選択され、 n' は、1 ~ 10 から選択され、 m は、1 ~ 4 から選択され、

X' は、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ からなる群から選択され、 n'' は、0 ~ 10 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択される]

を有する肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質。

【請求項 19】

スペーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) [式中、X は $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$ であり、 n' は 2 であり、 X' は $\text{CH}_2\text{O}(\text{C}$

10

20

30

40

50

H₂)_n”CH₂C=Oであり、n”は1である]を有する肺炎連鎖球菌(*Streptococcus pneumoniae*)血清型3複合糖質。

【請求項20】

血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が75kDa~200kDaである、請求項17から19のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【請求項21】

1,000kDa~4,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する、請求項17から20のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【請求項22】

前記担体タンパク質がCRM₁₉₇である、請求項17から21のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【請求項23】

前記担体タンパク質がSCPである、請求項17から21のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【請求項24】

請求項17から23のいずれか一項に記載の肺炎連鎖球菌(*Streptococcus pneumoniae*)血清型3複合糖質を含む免疫原性組成物。

【請求項25】

肺炎連鎖球菌(*S. pneumoniae*)の様々な血清型からの1~25個の複合糖質を含む、請求項24に記載の免疫原性組成物。

【請求項26】

肺炎連鎖球菌(*S. pneumoniae*)血清型1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含み、20価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、請求項24に記載の免疫原性組成物。

【請求項27】

肺炎連鎖球菌(*S. pneumoniae*)血清型1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15A、15B、18C、19A、19F、22F、23A、23B、23F、24F、33F、および35Bからの複合糖質をさらに含み、25価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、請求項24に記載の免疫原性組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規のコンジュゲートさせた莢膜糖抗原(複合糖質)、前記複合糖質を含む免疫原性組成物、およびその使用に関する。本発明の免疫原性組成物は、複合糖質を典型的には含み、糖は肺炎連鎖球菌(*Streptococcus pneumoniae*)の血清型に由来する。本発明はまた、前記複合糖質を使用した、肺炎球菌感染症に対するヒト対象、特に乳児および高齢者のワクチン接種にも関する。

【背景技術】

【0002】

免疫原性が乏しい分子の免疫原性を、これらの分子を「担体」分子とコンジュゲートさせることによって増加させる手法は、何十年もの間、首尾よく利用されている(たとえばGoebelら(1939)J. Exp. Med. 69:53を参照)。たとえば、多くの免疫原性組成物が記載されており、この「担体効果」を活用することによって、精製莢膜ポリマーを担体タンパク質とコンジュゲートさせてより有効な免疫原性組成物が作製されている(Schneersonら(1984)Infect. Immun. 45:582~591)。コンジュゲーションはまた、遊離多糖を用いて免疫化した場合に乳児において通常観察される、乏しい抗体応答を迂回することも示されている(Anderson

10

20

30

40

50

ら (1985) J. Pediatr. 107:346、Inselら (1986) J. Exp. Med. 158:294)。

【0003】

コンジュゲートは、ホモ二官能性、ヘテロ二官能性、またはゼロ長架橋結合剤などの様々な架橋結合またはカップリング試薬を使用して、作製が成功している。糖、タンパク質、およびペプチドなどの免疫原性分子をペプチドまたはタンパク質担体とカップリングさせるために、多くの方法が現在利用可能である。ほとんどの方法は、アミン、アミド、ウレタン、イソチオ尿素、もしくはジスルフィド結合、または一部の事例ではチオエーテルを生じる。反応性部位を担体および/または免疫原性分子上の反応性アミノ酸分子の側鎖内に導入する架橋結合またはカップリング試薬の使用の不利の点は、反応性部位が、中和されない場合、*in vitro* (したがって、コンジュゲートの機能性もしくは安定性に、潜在的に有害に影響を与える) または *in vivo* (したがって、調製物で免疫化したヒトもしくは動物において、有害事象の潜在的な危険性をもたらす) のいずれかで、任意の所望しない分子と自由に反応することである。そのような過剰な反応性部位は、これらの部位を不活性化させるために、様々な既知の化学反応を利用して、反応させるまたは「キャッピングする」ことができるが、これらの反応は、それ以外の点ではコンジュゲートの機能性に対して破壊的であり得る。

10

【0004】

したがって、機能性が保存され、コンジュゲートが所望の免疫応答を誘発する能力を保持するように、適切にキャッピングされた新規複合糖質、および前記コンジュゲート (conjugate) を調製する方法の必要性が依然として存在する。

20

【0005】

肺炎球菌多糖、特に莢膜多糖は、細菌の表面上に見つかる重要な免疫原である。これにより、これらは肺炎球菌ワクチンの設計における重要な構成要素となることとなった。これらは、特に担体タンパク質と連結された場合に免疫応答を誘発するのに有用であることが証明されている。

【0006】

一部の血清型、特に肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 は、大きく粘稠な多糖鎖を生じる (たとえば、3 型では 2 ~ 3 百万ダルトンのグルコース/グルクロン酸の鎖)。その粘度により、その取り扱いが困難となっている。

30

【0007】

さらに、血清型 3 多糖に関して、顕著な免疫原性は得ることが困難である。たとえば、11 価の肺炎球菌タンパク質 D 結合ワクチン (11-Pn-PD) の免疫原性および安全性の研究では、3 回用量のワクチン、続いてブースター用量の同じワクチンまたは肺炎球菌多糖ワクチンのいずれかを受けた乳児において、血清型 3 についてプライミング効果は観察されなかった (Nurkka ら (2004) Ped. Inf. Dis. J., 23:1008~1014)。別の研究では、11-Pn-PD の用量を受けた乳児からのオプソニン化貪食作用アッセイ (OPA) 結果は、他の試験した血清型に匹敵するレベルで血清型 3 について抗体応答を示すことができなかった (Gatchalian ら、Eur. Soc. Paed. Inf. Dis. (ESPID) の第 17 回年次総会、ポスター番号 4、PIA ポスターセッション 1、トルコ Istanbul、2001 年 3 月 27 日)。急性中耳炎の防止における 11-Pn-PD の有効性を評価したさらに別の研究では、ワクチンは、血清型 3 によって引き起こされたエピソードに対して保護をもたらさなかった (Prymula ら、The Lancet、第 367 巻: 740~748 (2006 年 3 月 4 日))。

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

したがって、肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血

50

清型 3 に対してより頑強な免疫応答を生じることができる抗原の必要性が存在する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、具体的には、改善された免疫原性を示す肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を提供する。本発明はまた、改善されたコンジュゲーション収率で肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を生じるプロセス (作製する方法) も提供する。

【0010】

発明の要約

一態様では、本発明は、

10

(a) 非プロトン溶媒中で、単離した肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 莢膜多糖を炭酸誘導体およびアジドリナーと反応させて、活性化アジド多糖を生成するステップと、

(b) 担体タンパク質を、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する薬剤と反応させるステップであって、NHS 部分がアミノ基と反応してアミド結合を形成し、それによってアルキン官能化担体タンパク質が得られるステップと、

(c) Cu^{+1} 媒介性アジド-アルキン付加環化反応によって、ステップ (a) の活性化アジド多糖をステップ (b) の活性化アルキン担体タンパク質と反応させて、複合糖質を形成するステップと

を含む、肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を作製する方法に関する。

20

【0011】

特定の態様では、単離した多糖は、活性化ステップ (a) の前に重量平均分子量 100 kDa ~ 200 kDa までサイジングする。

【0012】

一態様では、炭酸誘導体は 1, 1'-カルボニルジイミダゾール (CDI) である。

【0013】

一態様では、本発明は、前記方法に従って生成した肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質に関する。

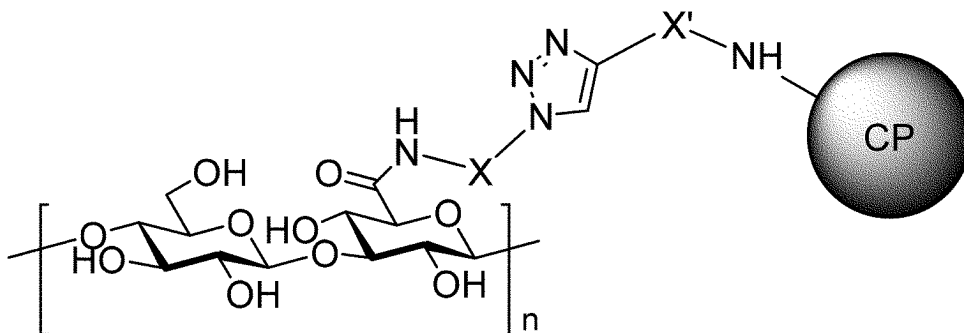
【0014】

30

一態様では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) :

【0015】

【化 1】



40

(VII)

[式中、Xは、 $CH_2(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 、 $NHCO(CH_2)_n$ 、 $NHCO(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 、 $OCH_2(CH_2)_n$ 、および $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ からなる群から選択され、 n' は、1 ~ 10 から選択

50

され、mは、1～4から選択され、

X'は、 $\text{C}_m\text{H}_2\text{O}(\text{C}_m\text{H}_2)_n\text{C}_m\text{H}_2\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}_m\text{H}_2\text{O}(\text{C}_m\text{H}_2\text{C}_m\text{H}_2\text{O})_{m'}(\text{C}_m\text{H}_2)_n\text{C}_m\text{H}_2\text{C}=\text{O}$ からなる群から選択され、n'は、0～10から選択され、m'は、0～4から選択される]

を有する肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質に関する。

【0016】

さらなる態様では、本発明は、前記肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含む免疫原性組成物に関する。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3莢膜多糖の反復多糖構造を示す図である。

【図2】クリックケミストリーを使用して調製した本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質の調製のための一般スキームを示す図である。Pn3ポリ=肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3莢膜多糖、CP=担体タンパク質、CDI=1,1'-カルボニルジイミダゾール。

【図3】様々な大きさの多糖を含むマウスにおける血清型3-CRM₁₉₇コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性 (OPA) 力価を示す図である。RAC/水性またはRAC/DMSOコンジュゲーションのどちらかを使用してCRM₁₉₇とコンジュゲートさせた、サイジングした血清型3多糖 (約25、150、または250kDa) を使用して、マウスにワクチン接種した。

【図4】様々な活性化度合 (DoA) を有するマウスにおける血清型3-CRM₁₉₇コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性 (OPA) 力価を示す図である。RAC/水性またはRAC/DMSOコンジュゲーションのどちらかを使用してCRM₁₉₇とコンジュゲートさせた、サイジングした血清型3多糖を使用して、マウスにワクチン接種した。

【図5】マウスにおけるCRM₁₉₇、SCP、または破傷風トキシイド (TT) との血清型3コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性 (OPA) 力価を示す図である。DMSO中での還元的アミノ化 (RAC/DMSO) を使用した。

【図6】マウスにおける血清型3-CRM₁₉₇コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性 (OPA) 力価を示す図である。様々なケミストリーが使用されている (水性中での還元的アミノ化 (RAC/水性)、DMSO中での還元的アミノ化 (RAC/DMSO)、eTEC連結複合糖質 (eTEC)、またはクリックケミストリー (クリック))。

【図7】血清型3ケミストリー/担体コンジュゲートをワクチン接種したアカゲザル乳児における用量1後のOPA力価を示す図である。様々なケミストリーが使用されている (水性中での還元的アミノ化 (RAC/水性) またはクリックケミストリー (クリック))。オプソニン化貪食作用力価は、様々なコンジュゲーションケミストリー間で用量1の4週間後の時点で収集した血清から測定した。それぞれの点は個々の動物を表し、データは95%の信頼区間を有する相乗平均力価として表す。統計的有意性は一元配置ANOVAに基づいて決定されている。チューキーの多重度調節したp値が報告されている。**** = p < 0.0001、LLOQ - 定量の下限。

【図8】血清型3ケミストリー/担体コンジュゲートをワクチン接種したアカゲザル乳児における用量2後のOPA応答を示す図である。オプソニン化貪食作用力価は、様々なコンジュゲーションケミストリー間で用量2の4週間後に収集した血清から測定した。それぞれの点は個々の動物を表し、データは95%の信頼区間を有する相乗平均力価として表す。統計的有意性は一元配置ANOVAに基づいて決定されている。チューキーの多重度調節したp値が報告されている。LLOQ - 定量の下限

【発明を実施するための形態】

【0018】

1. 本発明の複合糖質

10

20

30

40

50

本発明は、コンジュゲートさせた莢膜糖抗原（複合糖質とも呼ばれる）を部分的に対象としており、糖は肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）の血清型、特に血清型3に由来する。本発明の目的のために、用語「複合糖質」は、担体タンパク質と共有的に連結された莢膜糖を示す。一実施形態では、莢膜糖は、担体タンパク質と直接連結している。第2の実施形態では、細菌糖はスパーサー/リンカーを通じてタンパク質と連結している。

【0019】

1.1 肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの肺炎球菌糖

図1に示すように、血清型3の多糖反復単位は、1個のグルコピラノース（Glc p）および1個のグルクロン酸（Glc p A）を有する直鎖状二糖単位からなる（たとえば *Geno K*（2015）*Clin Microbiol Rev* 第28巻：3、871～899ページを参照）。

10

【0020】

一実施形態では、本発明において使用する莢膜肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3糖は、合成炭水化物である。合成肺炎連鎖球菌（*Streptococcus pneumoniae*）3型莢膜糖の調製は、たとえば、WO2017178664号中に開示されているように実施することができる。

【0021】

しかし、好ましい実施形態では、本発明による細菌多糖の供給源は、肺炎連鎖球菌（*Streptococcus pneumoniae*）血清型3細菌細胞あり得る。肺炎連鎖球菌（*Streptococcus pneumoniae*）血清型3多糖の供給源として使用することができる細菌株は、確立されている培養物保存機関（たとえば *Streptococcal Reference Laboratory*（疾病予防管理センター（Centers for Disease Control and Prevention）、米国ジョージア州Atlanta）などから）または臨床検体から得られ得る。

20

【0022】

血清型3多糖は、当業者に知られている単離手順を使用して、細菌から直接得ることができる（たとえば、US2006/0228380号、US2006/0228381号、US2007/0184071号、US2007/0184072号、US2007/0231340号、およびUS2008/0102498号、ならびにWO2008/118752号中に開示されている方法を参照）。これらはまた、当業者に知られている合成プロトコルを使用して生成することもできる。これらはまた、購入することもできる（たとえばアメリカ培養細胞系統保存機関（ATCC、米国バージニア州Manassas）などから（たとえば参照番号ATCC172-XまたはATCC33-X））。

30

【0023】

血清型3多糖を細菌から直接得る場合、細菌細胞を培地中、好ましくはダイズ系の培地中で成長させることができる。肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3莢膜多糖を産生する細菌細胞の発酵後に、細菌細胞を溶解して細胞溶解液を生成することができる。その後、遠心分離、デブス濾過、沈殿、限外濾過、活性炭（activate carbon）を用いた処理、ダイアフィルトレーション、および/またはカラムクロマトグラフィーの使用を含めた、当分野で知られている精製技法を使用して（たとえば、US2006/0228380号、US2006/0228381号、およびWO2008/118752号を参照）、血清型3多糖を細胞溶解液から単離し得る。その後、精製血清型3莢膜多糖を免疫原性コンジュゲートの調製に使用することができる。

40

【0024】

肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）溶解物からの血清型3多糖の精製、および精製多糖の任意選択のサイジングによって得られた、単離した血清型3莢膜多糖は、たとえば重量平均分子量（Mw）を含めた様々なパラメータによって特徴づけることができる。

50

【 0 0 2 5 】

多糖の分子量は、多角度レーザー光散乱検出器（MALLS）と組み合わせたサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって測定することができる。

【 0 0 2 6 】

好ましい実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖（すなわち、さらなる処理の前に精製したもの）は、重量平均分子量5 kDa ~ 5000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 4000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 3000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 2000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 1500 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 1000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 500 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 400 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 300 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 200 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 100 kDaを有する。

10

【 0 0 2 7 】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 5000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 4000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 3000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 2000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 1500 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 1000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 500 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 400 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 300 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 200 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 100 kDaを有する。

20

30

【 0 0 2 8 】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 5000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 4000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 3000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 2000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 1500 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 1000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 500 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 400 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 300 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量100 kDa ~ 200 kDaを有する。

40

【 0 0 2 9 】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量150 kDa ~ 5000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量150 kDa ~ 4000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量150 kDa ~ 3000 kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型

50

【0034】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量750kDa～5000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量750kDa～4000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量750kDa～3000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量750kDa～2000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量750kDa～1500kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量750kDa～1000kDaを有する。

【0035】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1000kDa～5000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1000kDa～4000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1000kDa～3000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1000kDa～2000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1000kDa～1500kDaを有する。

【0036】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1500kDa～5000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1500kDa～4000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1500kDa～3000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量1500kDa～2000kDaを有する。

【0037】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量2000kDa～5000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量2000kDa～4000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量2000kDa～3000kDaを有する。

【0038】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量2500kDa～5000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量2500kDa～4000kDaを有する。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量2500kDa～3000kDaを有する。

【0039】

上記範囲のうちの任意のものの内の任意の整数が、本開示の一実施形態として企図される。

【0040】

好ましくは、有利な濾過性特徴、免疫原性、および/または収率を有する血清型3コンジュゲートを作製するために、標的分子量範囲への多糖のサイジングを、担体タンパク質とのコンジュゲーションの前に行う。有利には、多糖構造の重大な特徴を保存しつつ、精製血清型3多糖の大きさを低下させる。機械的または化学的サイジングを用い得る。一実施形態では、精製血清型3多糖の大きさは、化学的加水分解によって低下させる。化学的加水分解は、緩酸（たとえば、酢酸、ギ酸、プロパン酸）を使用して実施し得る。一実施形態（embodiment）では、化学的加水分解は、ギ酸を使用して実施する。一実施形態では、化学的加水分解は、プロパン酸を使用して実施する。好ましい一実施形態では、化学的加水分解は、酢酸を使用して実施する。化学的加水分解はまた、希釈強酸（希塩酸、希硫酸、希リン酸、希硝酸、または希過塩素酸など）を使用して実施し得る。一実施形態では、化学的加水分解は、希塩酸を使用して実施する。一実施形態では、化学的加水分解は、希硫酸を使用して実施する。一実施形態では、化学的加水分解は、希リン酸を使用して実施する。一実施形態では、化学的加水分解は、希硝酸を使用して実施する

10

20

30

40

50

。一実施形態では、化学的加水分解は、希過塩素酸を使用して実施する。精製血清型3多糖の大きさはまた、機械的ホモジナイゼーションによって低下させることもできる。一実施形態では、精製血清型3多糖の大きさは、高圧ホモジナイゼーションによって低下させる。高圧ホモジナイゼーションは、プロセス流を、十分に小さな寸法を有する流路を通過してポンピングすることによって、高い剪断速度を達成する。剪断速度は、より大きなホモジナイゼーション加圧を使用することによって増加させ、曝露時間は、供給流をホモジナイザーを通して再循環させることによって、増加させることができる。

【0041】

高圧ホモジナイゼーションプロセスは、多糖の構造的特徴を保存しつつ、精製血清型3多糖の大きさを低下させるために適切な場合がある。

10

【0042】

好ましい実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 100 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 900 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 800 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 700 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 600 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 500 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 450 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 400 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 350 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 300 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 250 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 200 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 150 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 100 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量5 kDa ~ 50 kDaまでサイジングする。

20

30

【0043】

一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 1000 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 900 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 800 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 700 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 600 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 500 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 450 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 400 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 350 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 300 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 250 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 200 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 150 kDaまでサイジングする。一実施形態では、単離した血清型3莢膜多糖は、重量平均分子量50 kDa ~ 100 kDaまでサイジングする。

40

【0044】

50

型 3 莢膜多糖は、重量平均分子量 700 kDa ~ 800 kDa までサイジングする。

【0057】

一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、重量平均分子量 800 kDa ~ 1000 kDa までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、重量平均分子量 800 kDa ~ 900 kDa までサイジングする。

【0058】

一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、重量平均分子量 900 kDa ~ 1000 kDa までサイジングする。

【0059】

一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 5 kDa の重量平均分子量までサイ
 ジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 50 kDa の重量平均分子
 10 重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 100 kDa
 の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、
 約 110 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清
 型 3 莢膜多糖は、約 120 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、
 単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 130 kDa の重量平均分子量までサイジングする。
 一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 140 kDa の重量平均分子量までサイ
 ジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 150 kDa の重量平
 20 均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 160
 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多
 糖は、約 170 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した
 血清型 3 莢膜多糖は、約 180 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態
 では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 190 kDa の重量平均分子量までサイジングす
 る。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 200 kDa の重量平均分子量ま
 30 までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 250 kDa の重
 量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 3
 00 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢
 膜多糖は、約 350 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離
 した血清型 3 莢膜多糖は、約 400 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施
 形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 450 kDa の重量平均分子量までサイジン
 40 グする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 500 kDa の重量平均分子
 重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、
 約 550 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、
 約 600 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、単離した血清型
 3 莢膜多糖は、約 700 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一実施形態では、
 単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 800 kDa の重量平均分子量までサイジングする。一
 実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 900 kDa の重量平均分子量までサイ
 ジングする。一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖は、約 1000 kDa の重量平
 均分子量までサイジングする。

【0060】

一実施形態では、単離した血清型 3 莢膜多糖はサイジングしない。

【0061】

以下にさらに記述するように、上述の単離した血清型 3 莢膜多糖は、これらが反応（た
 とえばリンカーを用いてまたは担体タンパク質と直接）し、その後、複合糖質内に取り込
 まれることを可能にするために、活性化（たとえば化学的に活性化）させ得る。

【0062】

本発明の目的のために、用語「複合糖質」とは、担体タンパク質と共有的に連結された
 糖を示す。一実施形態では、糖は、担体タンパク質と直接連結している。第 2 の実施形態
 では、糖は、スパーサー/リンカーを通じて担体タンパク質と連結している。

【0063】

10

20

30

40

50

一般に、糖の担体との共有的コンジュゲーションは、これらをT非依存性抗原からT依存性抗原へと変換させ、したがって免疫記憶のためのプライミングを可能にするため、糖の免疫原性を増強させる。コンジュゲーションは、小児ワクチンのために特に有用である。

【0064】

1.2 本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質

一部の実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (Mw) が 10 kDa ~ 2,000 kDa である。

10

【0065】

コンジュゲーション前の糖の重量平均分子量 (Mw) とは、多糖の活性化の前 (すなわち、最終的なサイジングステップの後であるが、多糖を活性化剤と反応させる前) の Mw をいう。本発明の状況下では、多糖の Mw は、活性化ステップによって実質的に改変されず、コンジュゲート内に取り込まれた多糖の Mw は、活性化の前に測定した多糖の Mw に類似している。一実施形態では、多糖は、炭酸誘導体 (たとえば CDI または CDT) をアジドリンカーと組み合わせて用いて活性化する (以下のセクション 1.3 を参照)。一実施形態では、多糖は、CDI をアジドリンカーと組み合わせて用いて活性化する (以下のセクション 1.3 を参照)。一実施形態では、多糖は、CDT をアジドリンカーと組み合わせて用いて活性化する (以下のセクション 1.3 を参照)。

20

【0066】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (Mw) が 50 kDa ~ 1,000 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 750 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 700 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 600 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 500 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 400 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 300 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 200 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 150 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 140 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 130 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 120 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、50 kDa ~ 110 kDa である。

30

【0067】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (Mw) が 75 kDa ~ 1,000 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 750 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 700 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 600 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 500 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 400 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 300 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 200 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 150 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 140 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 130 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 120 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、75 kDa ~ 110 kDa である。

40

50

【 0 0 6 8 】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が100kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~600kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~500kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~400kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~300kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~200kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~150kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~140kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~130kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~120kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、100kDa~110kDaである。

10

【 0 0 6 9 】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が125kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~600kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~500kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~400kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~300kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~200kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~150kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~140kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、125kDa~130kDaである。

20

【 0 0 7 0 】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が130kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~600kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~500kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~400kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~300kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~200kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~150kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、130kDa~140kDaである。

30

40

【 0 0 7 1 】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が150kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、150kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、150kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、150kDa~600kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、150kDa~500kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、150kDa~400kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、150kDa~300kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、150kDa~200kDaである。

50

【0072】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が200kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、200kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、200kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、200kDa~600kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、200kDa~500kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、200kDa~400kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、200kDa~300kDaである。

【0073】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が300kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、300kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、300kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、300kDa~600kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、300kDa~500kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、300kDa~400kDaである。

【0074】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が400kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、400kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、400kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、400kDa~600kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、400kDa~500kDaである。

【0075】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が500kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、500kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、500kDa~700kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、500kDa~600kDaである。

【0076】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が600kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、600kDa~750kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、600kDa~700kDaである。

【0077】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が700kDa~1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、700kDa~750kDaである。

【0078】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が750kDa~1,000kDaである。

【0079】

上記範囲のうちの任意のものの内の任意の整数が、本開示の一実施形態として企図される。

【0080】

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、血清型3莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量(Mw)が約1,000kDaである。一実施形態では、重量平均分子量(Mw)は、約750kDaである。一実施形態では、重量平均

10

20

30

40

50

分子量 (Mw) は、約 700 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 600 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 500 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 400 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 300 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 200 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 150 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 140 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 130 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 120 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 110 kDa である。一実施形態では、重量平均分子量 (Mw) は、約 100 kDa である。

10

【0081】

一部のそのような実施形態では、血清型 3 複合糖質は、クリックケミストリーを使用して調製する (セクション 1.3 を参照)。

【0082】

一部の実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 20,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 15,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 10,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。

【0083】

他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 10,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 9,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 8,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 7,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 6,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 5,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 4,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 3,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 2,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 1,500 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 1,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 750 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 600 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 500 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、250 kDa ~ 400 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。

20

30

40

【0084】

他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 10,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 9,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 8,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 7,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 6,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 5,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。さらに他の実施形態では、血清型 3 複合糖質は、500 kDa ~ 4,000 kDa の重量平均分子量 (Mw) を有する。

50

他の実施形態では、血清型3複合糖質は、8,000kDa~10,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。他の実施形態では、血清型3複合糖質は、8,000kDa~9,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。

【0095】

他の実施形態では、血清型3複合糖質は、9,000kDa~10,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。

【0096】

上記範囲のうちの任意のものの中の任意の整数が、本開示の一実施形態として企図される。

【0097】

他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約10,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約9,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約8,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約7,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約6,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約5,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約4,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約3,500kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約3,250kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約3,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約2,500kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約2,250kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約2,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約1,000kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約750kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約600kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約500kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。さらに他の実施形態では、血清型3複合糖質は、約400kDaの重量平均分子量(Mw)を有する。

【0098】

多糖の分子量は、多角度レーザー光散乱検出器(MALLS)と組み合わせたサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)によって測定することができる。

【0099】

本発明の血清型3複合糖質を特徴づけるための別の方法は、担体タンパク質(たとえばCRM₁₉₇またはSCP)中の、糖とコンジュゲートされるリシン残基の数によるものであり、これは、コンジュゲートされたリシンの範囲(コンジュゲーション度合)として特徴づけることができる。多糖との共有結合が原因の、担体タンパク質のリシン修飾の証拠は、当業者に知られているルーチン的方法を使用したアミノ酸分析によって得ることができる。コンジュゲーションは、コンジュゲート材料を作製するために使用した担体タンパク質出発物質と比較して、回収されるリシン残基数の低下をもたらす。好ましい実施形態では、本発明の血清型3複合糖質のコンジュゲーション度合は、2~15である。一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質のコンジュゲーション度合は、2~13である。一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質のコンジュゲーション度合は、2~10である。一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質のコンジュゲーション度合は、2~8である。一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質のコンジュゲーション度合は、2~6である。一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質のコンジュゲーション度合は、2~5である。一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質のコンジュゲーション度合は、2

10

20

30

40

50

～ 4 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、3 ～ 15 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、3 ～ 13 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、3 ～ 10 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、3 ～ 8 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、3 ～ 6 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、3 ～ 5 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、3 ～ 4 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、5 ～ 15 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、5 ～ 10 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、8 ～ 15 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、8 ～ 12 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、10 ～ 15 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、10 ～ 12 である。

10

【 0 1 0 0 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 2 である。

【 0 1 0 1 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 3 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 4 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 5 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 6 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 7 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 8 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 9 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 10、約 11 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 12 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 13 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 14 である。一実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、約 15 である。好ましい実施形態では、本発明の血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合は、4 ～ 7 である。一部のそのような実施形態では、担体タンパク質は CRM 197 である。他のそのような実施形態では、担体タンパク質は SCP である。

20

30

【 0 1 0 2 】

本発明の血清型 3 複合糖質はまた、糖対担体タンパク質の比（重量 / 重量）によっても特徴づけられ得る。一部の実施形態では、複合糖質中の血清型 3 多糖対担体タンパク質の比（w / w）は、0.5 ～ 3.0 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、0.5 ～ 2.0 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、0.5 ～ 1.5 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、0.8 ～ 1.2 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、0.5 ～ 1.0 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、1.0 ～ 1.5 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、1.0 ～ 2.0 である。さらなる実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、0.8 ～ 1.2 である。好ましい実施形態では、コンジュゲート中の血清型 3 莢膜多糖対担体タンパク質の比は、0.9 ～ 1.1 である。

40

【 0 1 0 3 】

一実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、約 0.5 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、約 0.6 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、約 0.7 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比（w / w）は、約 0.8 である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比

50

(w/w)は、約0.9である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.0である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.1である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.2である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.3である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.4である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.5である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.6である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.7である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.8である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約1.9である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約2.0である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約2.1である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約2.2である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約2.5である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約2.8である。他の実施形態では、糖対担体タンパク質の比(w/w)は、約3.0である。一部のそのような実施形態では、担体タンパク質はCRM197である。他のそのような実施形態では、担体タンパク質はSCPである。

【0104】

本発明の血清型3複合糖質はまた、糖の反復単位の関数としての、担体タンパク質と糖との間の共有結合の数によっても特徴づけられ得る。一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、多糖の4個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む。別の実施形態では、担体タンパク質と多糖との間の共有結合は、多糖の10個の糖反復単位毎に少なくとも1回起こる。別の実施形態では、担体タンパク質と多糖との間の共有結合は、多糖の15個の糖反復単位毎に少なくとも1回起こる。さらなる実施形態では、担体タンパク質と多糖との間の共有結合は、多糖の25個の糖反復単位毎に少なくとも1回起こる。さらなる実施形態では、担体タンパク質と多糖との間の共有結合は、多糖の50個の糖反復単位毎に少なくとも1回起こる。さらなる実施形態では、担体タンパク質と多糖との間の共有結合は、多糖の100個の糖反復単位毎に少なくとも1回起こる。

【0105】

他の実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、多糖の5~10個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む。

【0106】

他の実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、多糖の2~7個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む。

【0107】

他の実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、多糖の6~11個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む。

【0108】

他の実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、多糖の9~14個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む。

【0109】

他の実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、多糖の10~20個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む。

【0110】

他の実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、多糖の4~25個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む。

【0111】

頻繁な実施形態では、担体タンパク質はCRM197である。頻繁な実施形態では、担体タンパク質はSCPである。

【0112】

一部の実施形態では、担体タンパク質はCRM₁₉₇であり、CRM₁₉₇と多糖との間の共有結合は、多糖の4、10、15、または25個の糖反復単位毎に少なくとも1回起こる。頻繁な実施形態では、担体タンパク質はSCPであり、SCPと多糖との間の共有結合は、多糖の4、10、15、または25個の糖反復単位毎に少なくとも1回起こる。

【0113】

本発明の血清型3複合糖質および免疫原性組成物は、担体タンパク質と共有的にコンジュゲートされていないが、それでも複合糖質組成物中に存在する、遊離糖を含有し得る。遊離糖は、複合糖質と非共有的に会合（すなわち、それと非共有的に結合、それと吸着、またはそれ中もしくはそれを用いて封入される）してよい。

10

【0114】

好ましい実施形態では、血清型3複合糖質は、血清型3多糖の総量と比較して約50%未満の遊離血清型3多糖を含む。好ましい実施形態では、血清型3複合糖質は、血清型3多糖の総量と比較して約40%未満の遊離血清型3多糖を含む。さらに好ましい実施形態では、血清型3複合糖質は、血清型3多糖の総量と比較して約25%未満の遊離血清型3多糖を含む。さらに好ましい実施形態では、血清型3複合糖質は、血清型3多糖の総量と比較して約20%未満の遊離血清型3多糖を含む。さらに好ましい実施形態では、血清型3複合糖質は、血清型3多糖の総量と比較して約15%未満の遊離血清型3多糖を含む。

【0115】

血清型3複合糖質はまた、その分子の大きさの分布(K_d)によっても特徴づけられ得る。サイズ排除クロマトグラフィー媒体(CL-4B)を使用して、コンジュゲートの相対的な分子の大きさの分布を決定することができる。サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)は、重力供給カラムにおいて、コンジュゲートの分子の大きさの分布をプロファイリングするために使用される。孔から排除された媒体中の大分子は、小分子よりも早く溶出される。画分収集器を使用してカラム溶出液を収集する。画分を糖アッセイによって比色試験する。 K_d の決定には、カラムを校正して、分子が完全に排除される画分(V_0)、($K_d = 0$)、および最大保持を表す画分(V_i)、($K_d = 1$)を確立する。指定した試料の特質に到達する画分(V_e)は、式、 $K_d = (V_e - V_0) / (V_i - V_0)$ によって、 K_d に関連する。

20

【0116】

好ましい実施形態では、血清型3複合糖質の少なくとも30%が、CL-4Bカラム中において0.3以下の K_d を有する。好ましい実施形態では、複合糖質の少なくとも40%が、CL-4Bカラム中において0.3以下の K_d を有する。好ましい実施形態では、血清型3複合糖質の少なくとも45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、または85%が、CL-4Bカラム中において0.3以下の K_d を有する。好ましい実施形態では、血清型3複合糖質の少なくとも60%が、CL-4Bカラム中において0.3以下の K_d を有する。好ましい実施形態では、血清型3複合糖質の50%~80%が、CL-4Bカラム中において0.3以下の K_d を有する。好ましい実施形態では、血清型3複合糖質の65%~80%が、CL-4Bカラム中において0.3以下の K_d を有する。

30

40

【0117】

1.3 クリックケミストリーを使用して調製した本発明の肺炎連鎖球菌(*Streptococcus pneumoniae*)血清型3複合糖質

一実施形態では、本発明の血清型3複合糖質は、クリックケミストリーを使用して調製する。

【0118】

本発明(invention)はまた、本明細書中に開示するように、血清型3複合糖質を作製する方法にも関する。

【0119】

本発明によれば、クリックケミストリーは、3つのステップ、すなわち、(a)非プロ

50

トン溶媒中で、単離した血清型 3 莢膜多糖を炭酸誘導体およびアジドリンカーと反応させて、活性化アジド多糖を生成するステップ（多糖の活性化）と、（b）担体タンパク質を、N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）部分およびアルキン基を有する薬剤と反応させるステップであって、NHS 部分がアミノ基と反応してアミド結合を形成し、それによってアルキン官能化担体タンパク質が得られるステップ（担体タンパク質の活性化）と、（c） Cu^{+1} 媒介性アジド-アルキン付加環化反応によって、ステップ（a）の活性化アジド多糖をステップ（b）の活性化アルキン担体タンパク質と反応させて、複合糖質を形成するステップとを含む。

【0120】

ステップ（a）の後、多糖は活性化されたと言われ、本明細書中で「活性化多糖」または「活性化アジド多糖」と呼ぶ。 10

【0121】

ステップ（b）の後、担体は活性化されたと言われ、「活性化担体」と呼ぶ。

【0122】

上述のように、活性化（a）の前に、標的分子量（MW）範囲への多糖のサイジングを行うことができる。

【0123】

したがって、一実施形態では、単離した多糖は、炭酸誘導体およびアジドリンカーを用いた活性化の前にサイジングする。

【0124】

一実施形態では、単離した多糖は、上記定義した標的分子量（MW）範囲のうちの任意のものにサイジングする。 20

【0125】

一実施形態では、前記炭酸誘導体は、1, 1'-カルボニルジイミダゾール（CDI）、1, 1'-カルボニル-ジ-（1, 2, 4-トリアゾール）（CDT）、炭酸ジスクシンイミジル（DSC）、およびクロロギ酸 N-ヒドロキシスクシンイミジルからなる群から選択される。

【0126】

一実施形態では、前記炭酸誘導体は 1, 1'-カルボニルジイミダゾール（CDI）である。一実施形態では、前記炭酸誘導体は 1, 1'-カルボニル-ジ-（1, 2, 4-トリアゾール）（CDT）である。別の実施形態では、前記炭酸誘導体は炭酸ジスクシンイミジル（DSC）である。さらなる実施形態では、前記炭酸誘導体はクロロギ酸 N-ヒドロキシスクシンイミジルである。 30

【0127】

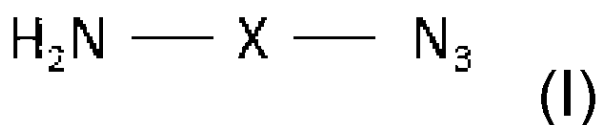
一実施形態では、前記炭酸誘導体は、1, 1'-カルボニルジイミダゾール（CDI）または 1, 1'-カルボニル-ジ-（1, 2, 4-トリアゾール）（CDT）である。好ましくは、前記炭酸誘導体は 1, 1'-カルボニルジイミダゾール（CDI）である。

【0128】

一実施形態では、前記アジドリンカーは式（I）：

【0129】

【化 2】



[式中、Xは、 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、および O (50

【 0 1 3 6 】

一実施形態では、前記アジドリンカーは式 (I I)

【 0 1 3 7 】

【 化 3 】



10

の化合物である。

【 0 1 3 8 】

一実施形態では、前記アジドリンカーは 3 - アジド - プロピルアミンである。

【 0 1 3 9 】

一実施形態では、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤は、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分および末端アルキンを有する薬剤である。

【 0 1 4 0 】

一実施形態では、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤は、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびシクロアルキンを有する薬剤である。

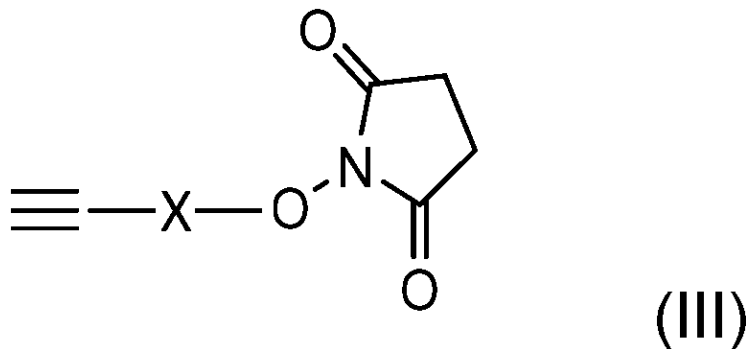
20

【 0 1 4 1 】

一実施形態では、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤は、式 (I I I) :

【 0 1 4 2 】

【 化 4 】



30

[式中、X は、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ および $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ からなる群から選択され、n は、0 ~ 10 から選択され、m は、0 ~ 4 から選択される] の化合物である。

40

【 0 1 4 3 】

一実施形態では、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤は式 (I I I) [式中、X は $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、n は、0 ~ 10 から選択される] の化合物である。一実施形態では、n は、0 ~ 5 から選択される。一実施形態では、n は、0 ~ 4 から選択される。一実施形態では、n は、0 ~ 3 から選択される。一実施形態では、n は、0 ~ 2 から選択される。特定の実施形態では、n は 0 である。特定の実施形態では、n は 1 である。別の実施形態では、n は 2 である。さらに別の実施形態では、n は 3 である。さらなる実施形態では、n は 4 である。さらな

50

る実施形態では、 n は5である。さらなる実施形態では、 n は6である。さらなる実施形態では、 n は7である。さらなる実施形態では、 n は8である。さらなる実施形態では、 n は9である。さらなる実施形態では、 n は10である。

【0144】

一実施形態では、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する前記薬剤は式(III) [式中、 X は $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n は、0~10から選択され、 m は、0~4から選択される]の化合物である。一実施形態では、 n は、0~5から選択される。一実施形態では、 n は、0~4から選択される。一実施形態では、 n は、0~3から選択される。一実施形態では、 n は、0~2から選択される。特定の実施形態では、 n は0である。特定の実施形態では、 n は1である。別の実施形態では、 n は2である。さらに別の実施形態では、 n は3である。さらなる実施形態では、 n は4である。さらなる実施形態では、 n は5である。さらなる実施形態では、 n は6である。さらなる実施形態では、 n は7である。さらなる実施形態では、 n は8である。さらなる実施形態では、 n は9である。さらなる実施形態では、 n は10である。一実施形態では、 m は、0~3から選択される。一実施形態では、 m は、0~2から選択される。特定の実施形態では、 m は1である。特定の実施形態では、 m は1である。別の実施形態では、 m は2である。さらに別の実施形態では、 m は3である。さらなる実施形態では、 m は4である。

10

【0145】

一実施形態では、 n は、0~5から選択され、 m は、0~3から選択される。一実施形態では、 n は、0~5から選択され、 m は、0~2から選択される。

20

【0146】

一実施形態では、 n は、0~4から選択され、 m は、0~3から選択される。一実施形態では、 n は、0~4から選択され、 m は、0~2から選択される。

【0147】

一実施形態では、 n は、0~3から選択され、 m は、0~3から選択される。一実施形態では、 n は、0~3から選択され、 m は、0~2から選択される。

【0148】

一実施形態では、 n は、0~2から選択され、 m は、0~3から選択される。一実施形態では、 n は、0~2から選択され、 m は、0~2から選択される。

30

【0149】

一実施形態では、 n は、0~1から選択され、 m は、0~3から選択される。一実施形態では、 n は、0~1から選択され、 m は、0~2から選択される。

【0150】

一実施形態では、 n は0であり、 m は0である。一実施形態では、 n は1であり、 m は0である。一実施形態では、 n は2であり、 m は0である。一実施形態では、 n は3であり、 m は0である。一実施形態では、 n は4であり、 m は0である。一実施形態では、 n は5であり、 m は0である。一実施形態では、 n は6であり、 m は0である。一実施形態では、 n は7であり、 m は0である。一実施形態では、 n は8であり、 m は0である。一実施形態では、 n は9であり、 m は0である。一実施形態では、 n は10であり、 m は0である。

40

【0151】

一実施形態では、 n は0であり、 m は1である。一実施形態では、 n は1であり、 m は1である。一実施形態では、 n は2であり、 m は1である。一実施形態では、 n は3であり、 m は1である。一実施形態では、 n は4であり、 m は1である。一実施形態では、 n は5であり、 m は1である。一実施形態では、 n は6であり、 m は1である。一実施形態では、 n は7であり、 m は1である。一実施形態では、 n は8であり、 m は1である。一実施形態では、 n は9であり、 m は1である。一実施形態では、 n は10であり、 m は1である。

【0152】

50

一実施形態では、 n は0であり、 m は2である。一実施形態では、 n は1であり、 m は2である。一実施形態では、 n は2であり、 m は2である。一実施形態では、 n は3であり、 m は2である。一実施形態では、 n は4であり、 m は2である。一実施形態では、 n は5であり、 m は2である。一実施形態では、 n は6であり、 m は2である。一実施形態では、 n は7であり、 m は2である。一実施形態では、 n は8であり、 m は2である。一実施形態では、 n は9であり、 m は2である。一実施形態では、 n は10であり、 m は2である。

【0153】

一実施形態では、 n は0であり、 m は3である。一実施形態では、 n は1であり、 m は3である。一実施形態では、 n は2であり、 m は3である。一実施形態では、 n は3であり、 m は3である。一実施形態では、 n は4であり、 m は3である。一実施形態では、 n は5であり、 m は3である。一実施形態では、 n は6であり、 m は3である。一実施形態では、 n は7であり、 m は3である。一実施形態では、 n は8であり、 m は3である。一実施形態では、 n は9であり、 m は3である。一実施形態では、 n は10であり、 m は3である。

10

【0154】

一実施形態では、 n は0であり、 m は4である。一実施形態では、 n は1であり、 m は4である。一実施形態では、 n は2であり、 m は4である。一実施形態では、 n は3であり、 m は4である。一実施形態では、 n は4であり、 m は4である。一実施形態では、 n は5であり、 m は4である。一実施形態では、 n は6であり、 m は4である。一実施形態では、 n は7であり、 m は4である。一実施形態では、 n は8であり、 m は4である。一実施形態では、 n は9であり、 m は4である。一実施形態では、 n は10であり、 m は4である。

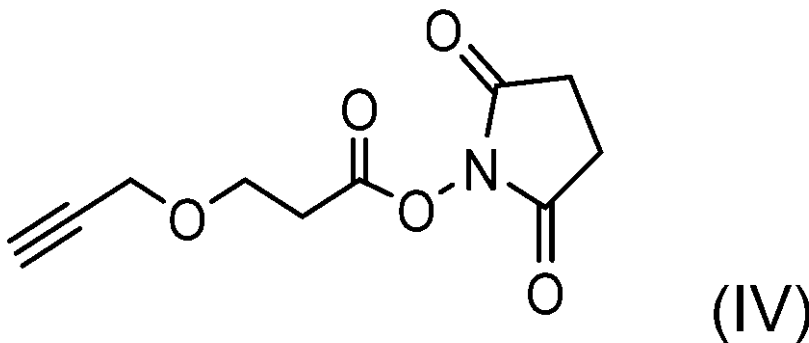
20

【0155】

一実施形態では、 N -ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する前記薬剤は、式(IV)

【0156】

【化5】



30

の化合物である。

【0157】

一実施形態では、ステップa)は、多糖を炭酸誘導体と反応させること、続いて、非プロトン溶媒中で、炭酸誘導体で活性化させた多糖をアジドリンカーと反応させて、活性化アジド多糖を生成することを含む。

【0158】

一実施形態では、ステップa)は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型3莢膜多糖の量に対して0.01~10モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0159】

一実施形態では、ステップa)は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型3莢膜多糖

50

の量に対して 0.05 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0160】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.1 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0161】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.2 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0162】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.3 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

10

【0163】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.4 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0164】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.5 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0165】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.8 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0166】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 1 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

20

【0167】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 2 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0168】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 3 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0169】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 5 ~ 10 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

30

【0170】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.01 ~ 5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0171】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.05 ~ 5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0172】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.1 ~ 5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

40

【0173】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.2 ~ 5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0174】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.3 ~ 5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0175】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.4 ~ 5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0176】

50

の量に対して 0.05 ~ 0.5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0210】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.1 ~ 0.5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0211】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.2 ~ 0.5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0212】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.3 ~ 0.5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

10

【0213】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.4 ~ 0.5 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0214】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0215】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.01 ~ 0.4 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0216】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.05 ~ 0.4 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

20

【0217】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.1 ~ 0.4 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0218】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.2 ~ 0.4 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0219】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.3 ~ 0.4 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

30

【0220】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.01 ~ 0.3 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0221】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.05 ~ 0.3 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0222】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.1 ~ 0.3 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0223】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して 0.2 ~ 0.3 モル当量である炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

40

【0224】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 0.01 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0225】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 0.05 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0226】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖

50

の量に対して約 0.08 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0227】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 0.1 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0228】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 0.2 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0229】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 0.3 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

10

【0230】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 0.4 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0231】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 0.5 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0232】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 1 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0233】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 2 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

20

【0234】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 3 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0235】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 4 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0236】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 5 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

30

【0237】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 8 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0238】

一実施形態では、ステップ a) は、多糖を、反応混合物中に存在する血清型 3 莢膜多糖の量に対して約 10 モル当量の炭酸誘導体の量と反応させることを含む。

【0239】

一実施形態では、ステップ a) で、非プロトン溶媒中で、単離した多糖を炭酸誘導体と反応させる。

40

【0240】

一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルスルホキシド (DMSO) またはジメチルホルムアミド (DMF) から本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルホルムアミド (DMF) から本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルスルホキシド (DMSO) から本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる。

【0241】

一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルアセトアミドから本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、N-メチル-2-ピロリドンから本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖

50

は、ヘキサメチルホスホルアミド（HMPA）から本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる。

【0242】

好ましい実施形態では、単離した多糖は、ジメチルスルホキシド（DMSO）から本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる。

【0243】

一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルスルホキシド（DMSO）またはジメチルホルムアミド（DMF）中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルホルムアミド（DMF）中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルスルホキシド（DMSO）中で、炭酸誘導体と反応させる。

10

【0244】

一実施形態では、単離した多糖は、ジメチルアセトアミド中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、N-メチル-2-ピロリドン中で、炭酸誘導体と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、ヘキサメチルホスホルアミド（HMPA）中で、炭酸誘導体と反応させる。

【0245】

好ましい実施形態では、単離した多糖は、ジメチルスルホキシド（DMSO）中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、無水DMSO中で、CDIと反応させる。

【0246】

驚くべきことに、約0.1%~1%（v/v）の水分レベルを有する環境下で、単離した多糖をCDIと反応させることで、副反応の回避が可能となることを見出された。したがって、一実施形態では、単離した多糖は、0.1%~1%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1%~0.8%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1%~0.5%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1%~0.4%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1%~0.3%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1%~0.2%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。

20

30

【0247】

一実施形態では、単離した多糖は、0.2%~1%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2%~0.8%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2%~0.5%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2%~0.4%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2%~0.3%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。

【0248】

一実施形態では、単離した多糖は、0.3%~0.8%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.3%~0.5%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.3%~0.4%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。

40

【0249】

一実施形態では、単離した多糖は、約0.1%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約0.2%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約0.3%（v/v）の水を含む非プロトン溶媒中で、CDIと反応させる。一実施形態で

50

は、単離した多糖は、約 0.4% (v/v) の水を含む非プロトン溶媒中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.5% (v/v) の水を含む非プロトン溶媒中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.6% (v/v) の水を含む非プロトン溶媒中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.7% (v/v) の水を含む非プロトン溶媒中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.8% (v/v) の水を含む非プロトン溶媒中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.9% (v/v) の水を含む非プロトン溶媒中で、CDI と反応させる。

【0250】

一実施形態では、単離した多糖は、0.1% ~ 1% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1% ~ 0.8% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1% ~ 0.5% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1% ~ 0.4% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1% ~ 0.3% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.1% ~ 0.2% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。

【0251】

一実施形態では、単離した多糖は、0.2% ~ 1% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2% ~ 0.8% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2% ~ 0.5% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2% ~ 0.4% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.2% ~ 0.3% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。

【0252】

一実施形態では、単離した多糖は、0.3% ~ 0.8% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.3% ~ 0.5% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、0.3% ~ 0.4% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。

【0253】

一実施形態では、単離した多糖は、約 0.1% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.2% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.3% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.4% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.5% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.6% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.7% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.8% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。一実施形態では、単離した多糖は、約 0.9% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる。

【0254】

一実施形態では、その後、アジドリンカーを加える前に水を加えることによって、遊離炭酸誘導体をクエンチングする。水は遊離 CDI を不活性化することができる。

【0255】

したがって、一実施形態では、炭酸誘導体の活性化に、水の添加が続く。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1% ~ 約 10% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1.2% ~ 約 8% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1.5% ~ 約 5% (v/v) にする。

実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1.5% ~ 約 3% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1.5% ~ 約 2.5% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1.2% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1.4% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 1.5% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 2% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 2.5% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 3% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 5% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 7% (v/v) にする。一実施形態では、水を加えて、混合物中の全含水量を約 10% (v/v) にする。

10

【0256】

多糖を炭酸誘導体と反応させた後、水を用いた炭酸誘導体の最終的なクエンチングの後、炭酸誘導体で活性化させた多糖をアジドリンカーと反応させる。

【0257】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量 (RU のモル当量) に対して 0.01 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0258】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 8 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

20

【0259】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0260】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 4 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

30

【0261】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 3 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0262】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 2 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0263】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 1 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

40

【0264】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 0.5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0265】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 0.1 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させ

50

ることをさらに含む。

【0266】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~10モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0267】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~8モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0268】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~5モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0269】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~4モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0270】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~3モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0271】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~2モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0272】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~1モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0273】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~0.5モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0274】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~0.1モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0275】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.1~10モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0276】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.1~8モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0277】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.1~5モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0278】

10

20

30

40

50

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.1 ~ 4 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0279】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.1 ~ 3 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0280】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.1 ~ 2 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

10

【0281】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.1 ~ 1 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0282】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.1 ~ 0.5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0283】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.5 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

20

【0284】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.5 ~ 8 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0285】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.5 ~ 5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

30

【0286】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.5 ~ 4 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0287】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.5 ~ 3 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0288】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.5 ~ 2 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

40

【0289】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.5 ~ 1 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0290】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 1 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることを

50

さらに含む。

【0291】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して1～8モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0292】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して1～5モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0293】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して1～4モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0294】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して1～3モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0295】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して1～2モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0296】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して2～10モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0297】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して2～8モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0298】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して2～5モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0299】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して2～4モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0300】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して2～3モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0301】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して3～10モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0302】

一実施形態では、ステップa)は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して3～8モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0303】

10

20

30

40

50

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 3 ~ 5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0304】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 3 ~ 4 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0305】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 4 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

10

【0306】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 4 ~ 8 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0307】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 4 ~ 5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0308】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 5 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

20

【0309】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 5 ~ 8 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0310】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 8 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

30

【0311】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 0.01 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0312】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 0.05 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0313】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 0.1 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

40

【0314】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 0.5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0315】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 1 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさら

50

に含む。

【0316】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 2 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0317】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 3 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0318】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 4 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

10

【0319】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 5 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0320】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 8 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

20

【0321】

一実施形態では、ステップ a) は、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む。

【0322】

上記実施形態では、前記炭酸誘導体は好ましくは C D I である。別の実施形態では、前記炭酸誘導体は C D T である。

【0323】

一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、0.5 ~ 50% である。アジド多糖の活性化度合は、アジドリンカーと連結された反復単位の百分率として定義される。

30

【0324】

一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、1 ~ 30% である。別の実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、2 ~ 25% である。別の実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、3 ~ 20% である。

【0325】

別の実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、3 ~ 15% である。別の実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、4 ~ 15% である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、1 ~ 6% である。

40

【0326】

一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、3 ~ 6% である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、10 ~ 15% である。

【0327】

一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 1% である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 2% である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 3% である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 4% である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 5% である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 6% である。一実施形態では、ステップ a) の後の

50

活性化多糖の活性化度合は、約 7 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 8 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 9 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 10 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 11 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 12 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 13 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 14 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 15 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 16 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 17 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 18 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 19 % である。一実施形態では、ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合は、約 20 % である。

10

【 0 3 2 8 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 1 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 2 9 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 5 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

20

【 0 3 3 0 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 3 1 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 . 5 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 3 2 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 2 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

30

【 0 3 3 3 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 2 . 5 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 3 4 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 3 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

40

【 0 3 3 5 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 5 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 3 6 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 7 . 5 ~ 10 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 3 7 】

50

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 1 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 3 8 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 5 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 3 9 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

10

【 0 3 4 0 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 . 5 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 4 1 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 2 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 4 2 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 2 . 5 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

20

【 0 3 4 3 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 3 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 4 4 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 5 ~ 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

30

【 0 3 4 5 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 1 ~ 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 4 6 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 5 ~ 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 4 7 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 ~ 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

40

【 0 3 4 8 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 . 5 ~ 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 4 9 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 2 ~ 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有す

50

る薬剤の量と反応させることを含む。

【0350】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して2.5～5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0351】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して3～5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0352】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して0.1～3モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

10

【0353】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して0.5～3モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0354】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して1～3モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

20

【0355】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して1.5～3モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0356】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して2～3モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0357】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して2.5～3モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

30

【0358】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して0.1～2.5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0359】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して0.5～2.5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

40

【0360】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して1～2.5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0361】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して1.5～2.5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0362】

50

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 2 ~ 2 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 6 3 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 1 ~ 2 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 6 4 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 5 ~ 2 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

10

【 0 3 6 5 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 ~ 2 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 6 6 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 . 5 ~ 2 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 6 7 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 1 ~ 1 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

20

【 0 3 6 8 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 5 ~ 1 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 6 9 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 1 ~ 1 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

30

【 0 3 7 0 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 1 ~ 1 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 7 1 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 5 ~ 1 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 7 2 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0 . 1 ~ 0 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

40

【 0 3 7 3 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約 1 0 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【 0 3 7 4 】

一実施形態では、ステップ b) は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約 7 . 5 モル当量である、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有

50

する薬剤の量と反応させることを含む。

【0375】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0376】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約3モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0377】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約2.5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0378】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約2モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0379】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約1.5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0380】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約1モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0381】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約0.5モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0382】

一実施形態では、ステップb)は、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して約0.1モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む。

【0383】

一実施形態では、ステップb)の後の活性化担体の活性化度合は、1~50である。活性化担体の活性化度合は、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)部分およびアルキン基を有する薬剤と連結される担体タンパク質中のリシン残基の数として定義される。

【0384】

一実施形態では、担体タンパク質は、39個のリシン残基を含有するCRM₁₉₇である。前記実施形態では、ステップb)の後の活性化担体の活性化度合は、1~30であり得る。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、5~20である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、9~18である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、8~11である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、15~20である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、約5である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、約6である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、約7である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁₉₇)の活性化度合は、約8である。別の実施形態では、ステップb)の後の活性化担体(CRM₁

10

20

30

40

50

である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、7 ~ 25 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、10 ~ 20 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 5 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 7 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 10 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 12 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 15 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 20 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 25 である。別の実施形態では、ステップ b) の後の活性化担体 (TT) の活性化度合は、約 30 である。

10

【0389】

一実施形態では、コンジュゲーション反応 c) は、水性緩衝液中で実施する。一実施形態では、コンジュゲーション反応 c) は、水性緩衝液中、触媒としての銅 (I) の存在下で実施する。一実施形態では、コンジュゲーション反応 c) は、水性緩衝液中、酸化剤および触媒としての銅 (I) の存在下で実施する。好ましい実施形態では、コンジュゲーション反応 c) は、水性緩衝液中、触媒としての銅 (I) および酸化剤としてのアスコルベートの存在下で実施する。一実施形態では、タンパク質を副反応から保護するために、THPTA (トリス (3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル) アミン) およびアミノグアニジン をさらに加え得る。したがって、好ましい実施形態では、コンジュゲーション反応 c) は、水性緩衝液中、触媒としての銅 (I) および酸化剤としてのアスコルベートの存在下で実施し、反応混合物は、THPTA (トリス (3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル) アミン) およびアミノグアニジン をさらに含む。

20

【0390】

一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、0.1 ~ 3 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、0.5 ~ 2 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、0.6 ~ 1.5 である。好ましい実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、0.8 ~ 1 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 0.5 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 0.6 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 0.7 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 0.8 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 0.9 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1.1 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1.2 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1.3 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1.4 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1.5 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1.6 である。一実施形態では、ステップ c) での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比 (重量対重量) は、約 1.

30

40

50

7である。一実施形態では、ステップc)での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比(重量対重量)は、約1.8である。一実施形態では、ステップc)での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比(重量対重量)は、約1.9である。一実施形態では、ステップc)での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比(重量対重量)は、約2である。

【0391】

クリックコンジュゲーション反応の後、コンジュゲート中に未反応のアジド基が残っている場合があり、これらは、適切なアジド基キャッピング剤を使用してキャッピングし得る。したがって、一実施形態では、ステップc)の後、コンジュゲート中の未反応のアジド基を、適切なアジド基キャッピング剤を使用してキャッピングする。一実施形態では、このアジド基キャッピング剤は、アルキン基を有する薬剤である。一実施形態では、このアジド基キャッピング剤は、末端アルキン基を有する薬剤である。一実施形態では、このアジド基キャッピング剤は、シクロアルキン基を有する薬剤である。

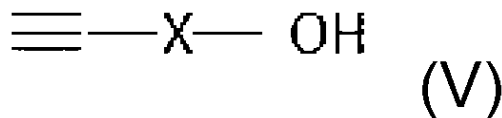
10

【0392】

一実施形態では、前記アジド基キャッピング剤は式(V)：

【0393】

【化6】



20

[式中、Xは(CH₂)_nであり、nは、1~15から選択される]の化合物である。

【0394】

一実施形態では、このアジド基キャッピング剤はプロパルギルアルコールである。

【0395】

したがって、一実施形態では、ステップ(c)の後、プロセスは、コンジュゲート中に残った未反応のアジド基を、アジド基キャッピング剤でキャッピングするステップをさらに含む。

30

【0396】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~20モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0397】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.1~15モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0398】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.5~10モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

40

【0399】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.5~5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0400】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.5~2モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0401】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.5~1モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0402】

50

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して1～2モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0403】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.75～1.5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0404】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約1モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0405】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約1.5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。 10

【0406】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約0.5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0407】

一実施形態では、未反応のアジド基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して約2モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0408】

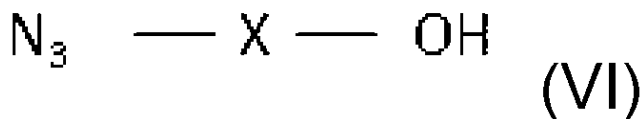
クリックコンジュゲーション反応の後、コンジュゲート中に未反応のアルキン基が残って存在する場合があります。これらは、適切なアルキン基キャッピング剤を使用してキャッピングし得る。一実施形態では、このアルキン基キャッピング剤は、アジド基を有する薬剤である。 20

【0409】

一実施形態では、前記アルキン基キャッピング剤は式(VI)：

【0410】

【化7】



30

[式中、Xは(CH₂)_nであり、nは、1～15から選択される]の化合物である。

【0411】

一実施形態では、このアルキン基キャッピング剤は3-アジド-1-プロパノールである。

【0412】

したがって、一実施形態では、ステップ(c)の後、プロセスは、コンジュゲート中に残った未反応のアルキン基を、アルキン基キャッピング剤でキャッピングするステップをさらに含む。 40

【0413】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05～20モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0414】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.1～15モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0415】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.5～10モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。 50

【0416】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して0.5～5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0417】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して0.5～2モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0418】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して0.5～1モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0419】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して1～5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

10

【0420】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して1～2モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0421】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して1.5～2.5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0422】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して約0.5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

20

【0423】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して約1モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0424】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して約1.5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0425】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して約2モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

30

【0426】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して約2.5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0427】

一実施形態では、未反応のアルキン基のキャッピングは、活性化多糖の多糖反復単位の数に対して約5モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う。

【0428】

担体タンパク質とのコンジュゲーションの後、当業者に知られている様々な技法によって、複合糖質を精製する（糖-タンパク質コンジュゲートの量に関して富化する）ことができる。これらの技法としては、透析、濃縮/ダイアフィルトレーション操作、接線流濾過沈殿/溶出、カラムクロマトグラフィー（DEAEまたは疎水性相互作用クロマトグラフィー）、およびデブス濾過が挙げられる。したがって、一実施形態では、本発明の複合糖質を生成するためのプロセスは、複合糖質が生成された後にそれを精製するステップを含む。

40

【0429】

一態様では、本発明は、本明細書中に開示した方法のうちの任意のものに従って生成した血清型3複合糖質を提供する。

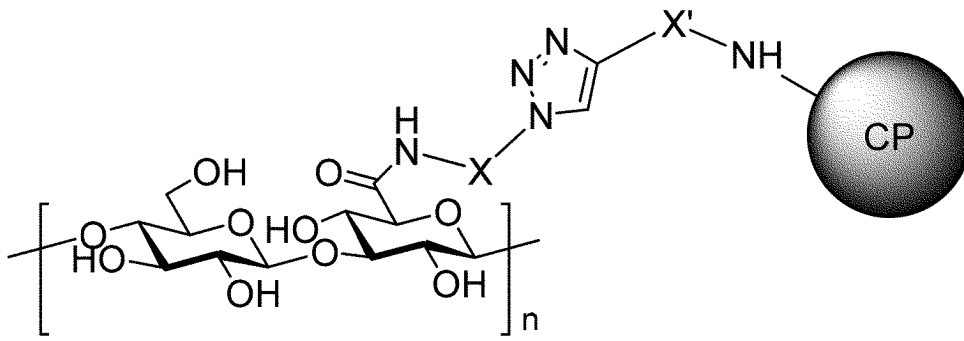
【0430】

一態様では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質（CP）と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式（VII）：

50

【 0 4 3 1 】

【 化 8 】



10

(VII)

[式中、Xは、 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、および $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ からなる群から選択され、 n' は、1~10から選択され、 m は、1~4から選択され、

X' は、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n''\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_n''\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ からなる群から選択され、 n'' は、0~10から選択され、 m' は、0~4から選択される] 20

を有する血清型3複合糖質を提供する。

【 0 4 3 2 】

式(VII)は、本発明の血清型3複合糖質の略図である。連結が糖のすべての反復単位で存在すると理解されるべきではない。むしろ、肺炎連鎖球菌(*S. pneumoniae*)血清型3糖反復単位の大多数は未修飾のままに保たれ、担体タンパク質と糖との間の共有結合は糖反復単位のうちの少数についてである。さらに、単個の担体タンパク質(CP)分子が複数の肺炎連鎖球菌(*S. pneumoniae*)血清型3糖分子と連結してよく、単個の肺炎連鎖球菌(*S. pneumoniae*)血清型3糖分子が単個より多くの担体タンパク質(CP)分子と連結することができる。 30

【 0 4 3 3 】

好ましい実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質(CP)と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式(VII)[式中、Xは $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n'$ であり、 n' は2であり、 X' は $\text{CHO}(\text{CH}_2)_n''\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は1である]を有する血清型3複合糖質を提供する。

【 0 4 3 4 】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質(CP)と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式(VII)[式中、Xは $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n'$ であり、 n' は、1~10から選択され、 X' は $\text{CHO}(\text{CH}_2)_n''\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は、0~10から選択される]を有する血清型3複合糖質を提供する。一実施形態では、 n' は、1~5から選択され、 n'' は、0~10から選択される。一実施形態では、 n' は、1~5から選択され、 n'' は、0~5から選択される。一実施形態では、 n' は、1~3から選択され、 n'' は、0~3から選択される。一実施形態では、 n' は、1~2から選択され、 n'' は、0~2から選択される。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は0である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は1である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は1である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は1である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は1である。さ 50

らなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 1 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 1 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 2 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 2 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 2 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 2 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 2 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 2 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 3 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 3 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 3 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 3 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 3 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 3 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 n' は 2 10 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 4 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 6 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 6 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 6 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 6 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 6 であ20 る。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 6 である。

【0435】

一実施形態では、本発明は、スペーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) [式中、 X は CH_2 (CH_2) $_n$ であり、 n' は、1 ~ 10 から選択され、 X' は C_mHO ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) $_m'$ (CH_2) $_n''\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は、0 ~ 10 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択される] を有する血清型 3 複合糖質を提供する。

【0436】

一実施形態では、 n' は、1 ~ 5 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択され、 n'' は、0 ~ 10 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 5 から選択され、 m' は、0 ~ 4 30 から選択され、 n'' は、0 ~ 5 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 3 から選択され、 m' は、0 ~ 2 から選択され、 n'' は、0 ~ 3 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 2 から選択され、 m' は、0 ~ 2 から選択され、 n'' は、0 ~ 1 から選択される。

【0437】

特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 0 である。

【0438】

別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態で 40 は、 n' は 2 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 0 である。

【0439】

さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 0 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 0 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 0 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 0 である。

【0440】

さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 0 である。さらなる実 50

施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0461】

さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0462】

特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態 10 態では、 n' は 1 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0463】

別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0464】

さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらに別 20 の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0465】

さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0466】

さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらなる実 30 施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0467】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコン 40 ジュゲートされた血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) [式中、 X は $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ であり、 m は、1 ~ 4 から選択され、 X' は $CH_2O(CH_2)_nCH_2C=O$ であり、 n'' は、0 ~ 10 から選択される] を有する血清型 3 複合糖質を提供する。一実施形態では、 m は、1 ~ 3 から選択され、 n'' は、0 ~ 10 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 3 から選択され、 n'' は、0 ~ 5 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 2 から選択され、 n'' は、0 ~ 3 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 2 から選択され、 n'' は、0 ~ 2 から選択される。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n'' は 0 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n'' は 0 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n'' は 0 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n'' は 1 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n'' は 1 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n'' は 1 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n'' は 1 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n'' は 2 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n'' は 2 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n'' は 2 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n'' は 2 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n'' は 3 である。別の実施形態では 50

、 m は2であり、 n'' は3である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は3である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は3である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は4である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は4である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は4である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は5である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は5である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は6である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は6である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は6である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は6である。

10

【0468】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質(CP)と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式(VII) [式中、 X は $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ であり、 m は、1~4から選択され、 X' は $CH_2O(CH_2CH_2O)_m'(CH_2)$ 、 $n''CH_2C=O$ であり、 n'' は、0~10から選択され、 m' は、0~4から選択される]を有する血清型3複合糖質を提供する。

【0469】

一実施形態では、 m は、1~3から選択され、 m' は、0~4から選択され、 n'' は、0~10から選択される。一実施形態では、 m は、1~2から選択され、 m' は、0~4から選択され、 n'' は、0~5から選択される。一実施形態では、 m は、1~2から選択され、 m' は、0~2から選択され、 n'' は、0~3から選択される。一実施形態では、 m は、1~2から選択され、 m' は、0~2から選択され、 n'' は、0~1から選択される。

20

【0470】

特定の実施形態では、 m は1であり、 m' は0であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は1であり、 m' は1であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は1であり、 m' は2であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は1であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

【0471】

別の実施形態では、 m は2であり、 m' は0であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は1であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は2であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

30

【0472】

さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は0であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は1であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は2であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

【0473】

さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は0であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は1であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は2であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

40

【0474】

特定の実施形態では、 m は1であり、 m' は0であり、 n'' は1である。特定の実施形態では、 m は1であり、 m' は1であり、 n'' は1である。特定の実施形態では、 m は1であり、 m' は2であり、 n'' は1である。特定の実施形態では、 m は1であり、 m' は3であり、 n'' は1である。

【0475】

別の実施形態では、 m は2であり、 m' は0であり、 n'' は1である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は1であり、 n'' は1である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は2であり、 n'' は1である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は3であり、 n'' は1である。

50

4 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 3 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 3 である。

【0486】

特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0487】

別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0488】

さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0489】

さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0490】

特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0491】

別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0492】

さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0493】

さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0494】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) [式中、 X は $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ であり、 n' は、1 ~ 10 から選択され、 X' は $\text{C}_2\text{HO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は、0 ~ 10 から選択される] を有する血清型 3 複合糖質を提供する。一実施形態では、 n' は、1 ~ 5 から選択され、 n'' は、0 ~ 10 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 5 から選択され、 n'' は、0 ~ 5 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 3 から選択され、 n'' は、0 ~ 3 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 50

2 から選択され、 n'' は、0 ~ 2 から選択される。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 0 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 0 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 0 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 0 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 0 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 1 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 1 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 1 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 1 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 1 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 1 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 2 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 2 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 2 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 2 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 2 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 2 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 3 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 3 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 3 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 3 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 3 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 3 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 4 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 n'' は 6 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 n'' は 6 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 n'' は 6 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 n'' は 6 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 n'' は 6 である。さらなる実施形態では、 n' は 6 であり、 n'' は 6 である。

【0495】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) [式中、 X は $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ であり、 n' は、1 ~ 10 から選択され、 X' は $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は、0 ~ 10 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択される] を有する血清型 3 複合糖質を提供する。

【0496】

一実施形態では、 n' は、1 ~ 5 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択され、 n'' は、0 ~ 10 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 5 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択され、 n'' は、0 ~ 5 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 3 から選択され、 m' は、0 ~ 2 から選択され、 n'' は、0 ~ 3 から選択される。一実施形態では、 n' は、1 ~ 2 から選択され、 m' は、0 ~ 2 から選択され、 n'' は、0 ~ 1 から選択される。

【0497】

特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 0 である。

【0498】

別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 0 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 0 である。

【0519】

さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は0であり、 n'' は4である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は1であり、 n'' は4である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は2であり、 n'' は4である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は3であり、 n'' は4である。

【0520】

さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は0であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は1であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は2であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は3であり、 n'' は4である。 10

【0521】

さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は0であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は1であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は2であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は3であり、 n'' は4である。

【0522】

特定の実施形態では、 n' は1であり、 m' は0であり、 n'' は5である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 m' は1であり、 n'' は5である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 m' は2であり、 n'' は5である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 m' は3であり、 n'' は5である。 20

【0523】

別の実施形態では、 n' は2であり、 m' は0であり、 n'' は5である。別の実施形態では、 n' は2であり、 m' は1であり、 n'' は5である。別の実施形態では、 n' は2であり、 m' は2であり、 n'' は5である。別の実施形態では、 n' は2であり、 m' は3であり、 n'' は5である。

【0524】

さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は0であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は1であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は2であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 m' は3であり、 n'' は5である。 30

【0525】

さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は0であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は1であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は2であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 m' は3であり、 n'' は5である。

【0526】

さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は0であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は1であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は2であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 m' は3であり、 n'' は5である。 40

【0527】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質(CP)と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式(VII) [式中、XはNHCO(CH₂CH₂O)_mCH₂CH₂であり、mは、1~4から選択され、X'はCH₂O(CH₂)_nCH₂C=Oであり、nは、0~10から選択される]を有する血清型3複合糖質を提供する。一実施形態では、mは、1~3から選択され、nは、0~10から選択される。一実施形態では、mは、1~3から選択され、nは、0~5から選択される。一実施形態では、mは、1~2から選択され、nは、0~3から選択される。一実施形態では、mは、1~2から選択され、nは、0~2から選択される。特定の実施形態では、mは1であり、nは0である。別の実施形態では、mは2であり、nは0である。さら 50

に別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は0である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は1である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は1である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は1である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は1である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は2である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は2である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は2である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は2である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は3である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は3である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は3である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は3である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は4である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は4である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は4である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は5である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は5である。特定の実施形態では、 m は1であり、 n'' は6である。別の実施形態では、 m は2であり、 n'' は6である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 n'' は6である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 n'' は6である。

【0528】

一実施形態では、本発明は、スペーサーを通じて担体タンパク質(CP)と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式(VII)[式中、 X は $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ であり、 m は、1~4から選択され、 X' は $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は、0~10から選択され、 m' は、0~4から選択される]を有する血清型3複合糖質を提供する。

【0529】

一実施形態では、 m は、1~3から選択され、 m' は、0~4から選択され、 n'' は、0~10から選択される。一実施形態では、 m は、1~2から選択され、 m' は、0~4から選択され、 n'' は、0~5から選択される。一実施形態では、 m は、1~2から選択され、 m' は、0~2から選択され、 n'' は、0~3から選択される。一実施形態では、 m は、1~2から選択され、 m' は、0~2から選択され、 n'' は、0~1から選択される。

【0530】

特定の実施形態では、 m は1であり、 m' は0であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は1であり、 m' は1であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は1であり、 m' は2であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は1であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

【0531】

別の実施形態では、 m は2であり、 m' は0であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は1であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は2であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 m は2であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

【0532】

さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は0であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は1であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は2であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

【0533】

さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は0であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は1であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は2であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は3であり、 n'' は0である。

【0534】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質（CP）と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式（VII）[式中、Xは $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ であり、 n' は、1~10から選択され、 X' は $\text{C}_m\text{HO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は、0~10から選択される]を有する血清型3複合糖質を提供する。一実施形態では、 n' は、1~5から選択され、 n'' は、0~10から選択される。一実施形態では、 n' は、1~5から選択され、 n'' は、0~5から選択される。一実施形態では、 n' は、1~3から選択され、 n'' は、0~3から選択される。一実施形態では、 n' は、1~2から選択され、 n'' は、0~2から選択される。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は0である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は0である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は0である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は1である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は1である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は1である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は1である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は1である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は1である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は2である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は2である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は2である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は2である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は2である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は2である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は3である。別の実施形態 20では、 n' は2であり、 n'' は3である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は3である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は3である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は3である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は3である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は4である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は4である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は4である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は4である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は5である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は5である。特定の実施形態では、 n' は1であり、 n'' は6である。別の実施形態では、 n' は2であり、 n'' は6である。さらに別の実施形態では、 n' は3であり、 n'' は6である。さらなる実施形態では、 n' は4であり、 n'' は6である。さらなる実施形態では、 n' は5であり、 n'' は6である。さらなる実施形態では、 n' は6であり、 n'' は6である。

【0555】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質（CP）と共有的にコンジュゲートされた血清型3糖を含み、一般式（VII）[式中、Xは $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ であり、 n' は、1~10から選択され、 X' は $\text{C}_m\text{HO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ であり、 n'' は、0~10から選択され、 m' は、0~4から選択され 40る]を有する血清型3複合糖質を提供する。

【0556】

一実施形態では、 n' は、1~5から選択され、 m' は、0~4から選択され、 n'' は、0~10から選択される。一実施形態では、 n' は、1~5から選択され、 m' は、0~4から選択され、 n'' は、0~5から選択される。一実施形態では、 n' は、1~3から選択され、 m' は、0~2から選択され、 n'' は、0~3から選択される。一実施形態では、 n' は、1~2から選択され、 m' は、0~2から選択され、 n'' は、0~1から選択される。

【0557】

特定の実施形態では、 n' は1であり、 m' は0であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 n' は1であり、 m' は1であり、 n'' は0である。別の実施形態では、 n' は1であ

であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0578】

別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0579】

さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態 10 では、 n' は 3 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0580】

さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0581】

さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 20 n' は 5 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 4 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 4 である。

【0582】

特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。特定の実施形態では、 n' は 1 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0583】

別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。別の実施形態では、 n' は 2 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0584】

さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらに別の実施形態では、 n' は 3 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0585】

さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 40 n' は 4 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 4 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0586】

さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 0 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 1 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 2 であり、 n'' は 5 である。さらなる実施形態では、 n' は 5 であり、 m' は 3 であり、 n'' は 5 である。

【0587】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) [式中、X は O (CH₂CH₂ 50

O) $m \text{CH}_2 \text{CH}_2$ であり、 m は、1 ~ 4 から選択され、 X' は $\text{C}_m \text{H}_2 \text{O} (\text{CH}_2)_n \text{C}_m \text{H}_2 \text{C} = \text{O}$ であり、 n は、0 ~ 10 から選択される] を有する血清型 3 複合糖質を提供する。

【0588】

一実施形態では、 m は、1 ~ 3 から選択され、 n は、0 ~ 10 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 3 から選択され、 n は、0 ~ 5 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 2 から選択され、 n は、0 ~ 3 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 2 から選択され、 n は、0 ~ 2 から選択される。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n は 0 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n は 0 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n は 0 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n は 0 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n は 1 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n は 1 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n は 1 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n は 1 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n は 2 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n は 2 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n は 2 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n は 2 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n は 3 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n は 3 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n は 3 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n は 3 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n は 4 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n は 4 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n は 4 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n は 4 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n は 5 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n は 5 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n は 5 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n は 5 である。特定の実施形態では、 m は 1 であり、 n は 6 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 n は 6 である。さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 n は 6 である。さらなる実施形態では、 m は 4 であり、 n は 6 である。

【0589】

一実施形態では、本発明は、スパーサーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) [式中、 X は $\text{O} (\text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{O})_m \text{CH}_2 \text{CH}_2$ であり、 m は、1 ~ 4 から選択され、 X' は $\text{C}_m \text{H}_2 \text{O} (\text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{O})_{m'} (\text{CH}_2)_n \text{C}_m \text{H}_2 \text{C} = \text{O}$ であり、 n は、0 ~ 10 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択される] を有する血清型 3 複合糖質を提供する。

【0590】

一実施形態では、 m は、1 ~ 3 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択され、 n は、0 ~ 10 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 2 から選択され、 m' は、0 ~ 4 から選択され、 n は、0 ~ 5 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 2 から選択され、 m' は、0 ~ 2 から選択され、 n は、0 ~ 3 から選択される。一実施形態では、 m は、1 ~ 2 から選択され、 m' は、0 ~ 2 から選択され、 n は、0 ~ 1 から選択される。

【0591】

特定の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 0 であり、 n は 0 である。別の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 1 であり、 n は 0 である。別の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 2 であり、 n は 0 である。別の実施形態では、 m は 1 であり、 m' は 3 であり、 n は 0 である。

【0592】

別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 0 であり、 n は 0 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 1 であり、 n は 0 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 2 であり、 n は 0 である。別の実施形態では、 m は 2 であり、 m' は 3 であり、 n は 0 である。

【0593】

さらに別の実施形態では、 m は 3 であり、 m' は 0 であり、 n は 0 である。さらに別の

実施形態では、 m は3であり、 m' は1であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は2であり、 n'' は5である。さらに別の実施形態では、 m は3であり、 m' は3であり、 n'' は5である。

【0614】

さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は0であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は1であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は2であり、 n'' は5である。さらなる実施形態では、 m は4であり、 m' は3であり、 n'' は5である。

【0615】

1.6 本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質の担体タンパク質 10

複合糖質の1つの構成要素は、精製多糖がコンジュゲートされる担体タンパク質である。用語「タンパク質担体」または「担体タンパク質」または「担体」は、本明細書中で互換性があるように使用され得る。担体タンパク質は、標準のコンジュゲーション手順に従順であるべきである。

【0616】

好ましい実施形態では、血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、DT (ジフテリアトキソイド)、TT (破傷風トキソイド)、またはTTの断片C、CRM₁₉₇ (ジフテリア毒素の無毒性であるが抗原的に同一である変異体)、他のDT突然変異体 (たとえば、CRM₁₇₆、CRM₂₂₈、CRM₄₅ (Uchidaら (1973) *J. Biol. Chem.* 218: 3838~3844)、CRM₉、CRM₁₀₂、CRM₁₀₃、またはCRM₁₀₇; ならびにNichollsおよびYoule、*Genetically Engineered Toxins*、Frankel編、Maecel Decker Inc.、(1992) によって記載されている他の突然変異; Glu-148の欠失またはAsp、Gln、もしくはSerへの突然変異および/あるいはAla158の欠失またはGlyへの突然変異ならびに米国特許第4,709,017号および第4,950,740号中に開示されている他の突然変異; 少なくとも1つまたは複数の残基Lys 516、Lys 526、Phe 530、および/またはLys 534の突然変異ならびに米国特許第5,917,017号および第6,455,673号中に開示されている他の突然変異; または米国特許第5,843,711号中に開示されている断片)、何らかの様式で解毒されたply、たとえば、dPLY-GMBS (WO2004/081515号、WO2006/032499号) またはdPLY-ホルモンを含めた肺炎球菌ニューモリシン (ply) (Kuoら (1995) *Infect Immun*、63: 2706~2713)、PhtA、PhtB、PhtD、PhtE (PhtA、PhtB、PhtDまたはPhtEの配列はWO00/37105号およびWO00/39299号中に開示されている) を含めたPhtX、ならびにタンパク質の融合物、たとえば、PhtDE融合物、PhtBE融合物、PhtA~E (WO01/98334号、WO03/054007号、WO2009/000826号)、通常は髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) 血清型Bから抽出されるOMPC (髄膜炎菌外膜タンパク質) (EP0372501号)、PorB (髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) 由来)、PD (インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) タンパク質D、たとえばEP0594610 B号を参照)、またはその免疫学的に機能的な等価物、合成ペプチド (EP0378881号、EP0427347号)、熱ショックタンパク質 (WO93/17712号、WO94/03208号)、百日咳タンパク質 (WO98/58668号、EP0471177号)、サイトカイン、リンホカイン、成長因子、またはホルモン (WO91/01146号)、様々な病原体由来の抗原からの複数のヒトCD4+ T細胞エピトープを含む人工タンパク質 (Falugira (2001) *Eur J Immunol*、31: 3816~3824)、たとえばN19タンパク質 (Baraldoira (2004) *Infect Immun*、72: 4884~4887)、肺炎球菌表面タンパク質PspA (WO02/091998号)、 40 50

鉄取り込みタンパク質 (W O 0 1 / 7 2 3 3 7 号)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*) の毒素 A または B (W O 0 0 / 6 1 7 6 1 号)、トランスフェリン結合タンパク質、肺炎球菌接着タンパク質 (P s a A)、組換え緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 外毒素 A (特にその無毒性突然変異体 (グルタミン酸 5 5 3 での置換 (substitution) を有する外毒素 A など (Douglas ら (1987) *J. Bacteriol.*, 169 (11): 4967 ~ 4971)) からなる群から選択される。卵白アルブミン、キーホールリンペットヘモシアニン (K L H)、ウシ血清アルブミン (B S A)、またはツベルクリンの精製タンパク質誘導体 (P P D) などの他のタンパク質も、担体タンパク質として使用することができる。他の適切な担体タンパク質としては、コレラトキソイド (たとえば W O 2 0 0 4 / 0 8 3 2 5 1 号に記載)、大腸菌 (*Escherichia coli*) L T、大腸菌 (*E. coli*) S T、および緑膿菌 (*P. aeruginosa*) からの外毒素 A などの、不活性化した細菌毒素が挙げられる。別の適切な担体タンパク質は、連鎖球菌属 (*Streptococcus*) からの C 5 a ペプチダーゼ (S C P) である。

【0617】

好ましい実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、T T、D T、D T 突然変異体 (C R M 1 9 7 など)、および連鎖球菌属 (*Streptococcus*) からの C 5 a ペプチダーゼ (S C P) からなる群から選択される。

【0618】

一実施形態では、血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は D T (ジフテリアトキソイド) である。別の実施形態では、血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は T T (破傷風トキソイド) である。

【0619】

別の実施形態では、血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は P D (インフルエンザ菌 (*H. influenzae*) タンパク質 D、たとえば E P 0 5 9 4 6 1 0 B 号を参照) である。

【0620】

好ましい実施形態では、血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、C R M 1 9 7 または連鎖球菌属 (*Streptococcus*) からの C 5 a ペプチダーゼ (S C P) である。

【0621】

好ましい実施形態では、血清型 3 莢膜多糖は、C R M 1 9 7 タンパク質とコンジュゲートしている。C R M 1 9 7 タンパク質は、ジフテリア毒素の無毒性形態であるが、ジフテリア毒素から免疫学的に識別不可能である。C R M 1 9 7 は、毒素産生性コリネファーゼ β のニトロソグアニジン突然変異誘発によって作製された毒素非産生性ファージ 1 9 7 ^{tox-} によって感染したジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) によって産生される (Uchida ら (1971) *Nature New Biology*, 233: 8 ~ 11)。C R M 1 9 7 タンパク質はジフテリア毒素と同じ分子量を有するが、構造遺伝子中の単一塩基変化 (グアニンからアデニン) によって、それとは異なる。この単一塩基変化が成熟タンパク質中におけるアミノ酸置換 (グルタミン酸からグリシン) を引き起こし、ジフテリア毒素の毒性特性を排除する。C R M 1 9 7 タンパク質は、糖のための安全かつ有効な T 細胞依存性担体である。C R M 1 9 7 およびその生成に関するさらなる詳細は、たとえば米国特許第 5, 6 1 4, 3 8 2 号中に見つけることができる。

【0622】

一実施形態では、血清型 3 莢膜多糖は、C R M 1 9 7 タンパク質とコンジュゲートしている。一実施形態では、血清型 3 莢膜多糖は、C R M 1 9 7 タンパク質または C R M 1 9 7 の A 鎖とコンジュゲートしている (C N 1 0 3 4 9 5 1 6 1 号を参照)。一実施形態では、血清型 3 莢膜多糖は、遺伝学子組換え大腸菌 (*E. coli*) による発現を介して得られた C R M 1 9 7 の A 鎖とコンジュゲートしている (C N 1 0 3 4 9 5 1 6 1 号を参照)

10

20

30

40

50

）。

【0623】

他の好ましい実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質はSCP（連鎖球菌C5aペプチダーゼ）である。

【0624】

軽度の咽頭炎および膿痂疹から壊死性筋膜炎（GAS）および新生児敗血症（GBS）などの重篤な浸潤性疾患に及ぶ、様々な重篤なヒト感染症を引き起こす、 β -溶血性連鎖球菌の2つの重要な種、すなわち、化膿性連鎖球菌（*Streptococcus pyogenes*）（A群連鎖球菌属（*Streptococcus*）、GAS）およびストレプトコッカス・アガラクチア（*Streptococcus agalactiae*）（B群連鎖球菌属（*Streptococcus*）、GBS）は、この免疫応答を打ち破る方法を発生している。GASおよびGBSを含めた β -溶血性連鎖球菌のすべてのヒト単離物は、C5aを特異的に不活性化させる、高度に保存された細胞壁タンパク質SCP（連鎖球菌C5aペプチダーゼ）を生じる。GASおよびGBSからのscp遺伝子は、1,134~1,181個のアミノ酸を含有するポリペプチドをコードする（Brownら、PNAS、2005、第102巻、第51号、ページ18391~18396）。最初の31個の残基は輸出シグナルのプレ配列であり、細胞質膜を通過した際に除去される。次の68個の残基はプロ配列として役割を果たし、活性SCPを生じるために除去しなければならない。次の10個の残基は、プロテアーゼ活性の損失なしに除去することができる。他方の末端には、Lys-1034から開始して、4つの連続した17残基のモチーフ、続いて細胞選別および細胞壁附着シグナルが存在する。この組み合わせたシグナルは、LPTTND配列を含有する20残基の親水性配列、17残基の疎水性配列、および短い塩基性カルボキシル末端から構成される。

【0625】

SCPはドメインに分けることができる（Brownら、PNAS、2005、第102巻、第51号、ページ18391~18396の図1Bを参照）。これらのドメインは、プレ/プロドメイン（輸出シグナルのプレ配列（一般的に最初の31個の残基）およびプロ配列（一般的に次の68個の残基）を含む）、プロテアーゼドメイン（2つのパートに分割される（プロテアーゼパート1は一般的に残基89~333/334であり、プロテアーゼドメインパート2は一般的に残基467/468~583/584である）、プロテアーゼ関連ドメイン（PADドメイン）（一般的に残基333/334~467/468）、3つのフィブロネクチンIII型（Fn）ドメイン（Fn1、一般的に残基583/584~712/713、Fn2、一般的に残基712/713~928/929/930、一般的にFn3、残基929/930~1029/1030/1031）、ならびに細胞壁アンカードメイン（一般的にC末端の残基（redissue）1029/1030/1031）である。

【0626】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、GBSからのSCP（SCPB）である。SCPBの例（example）は、WO97/26008号の配列番号3で提供される。WO00/34487号の配列番号3も参照されたい。

【0627】

別の好ましい実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、GASからのSCP（SCPA）である。

【0628】

SCPAの例は、WO97/26008号の配列番号1および配列番号2で見つけることができる。WO00/34487号の配列番号1、2、および23も参照されたい。

【0629】

好ましい実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCPである。

【0630】

10

20

30

40

50

他の好ましい実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、G B S からの酵素的に不活性な S C P (S C P B) である。

【 0 6 3 1 】

別の好ましい実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、G A S からの酵素的に不活性な S C P (S C P A) である。

【 0 6 3 2 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は S C P の断片である。一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は S C P A の断片である。好ましくは、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は S C P B の断片である。

【 0 6 3 3 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン (P A ドメイン)、および 3 つのフィブロネクチン I I I 型 (F n) ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、S C P の断片である。

【 0 6 3 4 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン (P A ドメイン)、および 3 つのフィブロネクチン I I I 型 (F n) ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、S C P の断片である。

【 0 6 3 5 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン (P A ドメイン)、および 3 つのフィブロネクチン I I I 型 (F n) ドメインのうち 2 つを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、S C P の酵素的に不活性な断片である。

【 0 6 3 6 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、S C P の酵素的に不活性な断片である。一実施形態では、前記 S C P の酵素的に不活性な断片は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン (P A ドメイン)、および 3 つのフィブロネクチン I I I 型 (F n) ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない。

【 0 6 3 7 】

一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、S C P A の酵素的に不活性な断片である。一実施形態では、前記 S C P A の酵素的に不活性な断片は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン (P A ドメイン)、および 3 つのフィブロネクチン I I I 型 (F n) ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない。

【 0 6 3 8 】

好ましい実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、S C P B の酵素的に不活性な断片である。好ましくは、前記 S C P B の酵素的に不活性な断片は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン (P A ドメイン)、および 3 つのフィブロネクチン I I I 型 (F n) ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない。

【 0 6 3 9 】

一実施形態では、S C P の酵素活性は、野生型配列の少なくとも 1 つのアミノ酸を置き換えることによって不活性化される。一実施形態では、前記置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、および S 5 1 2 A からなる群から選択される。数字は、W O 0 0 / 3 4 4 8 7 号の配列番号 1 の付番に従った、ペプチダーゼ中のアミノ酸残基位置を示す。

【 0 6 4 0 】

したがって、一実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は

10

20

30

40

50

、酵素的に不活性なSCPであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記置換えはD130Aである。別の実施形態では、前記置換えはH193Aである。別の実施形態では、前記置換えはN295Aである。さらに別の実施形態では、前記置換えはS512Aである。

【0641】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCPAであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記置換えはD130Aである。別の実施形態では、前記置換えはH193Aである。別の実施形態では、前記置換えはN295Aである。さらに別の実施形態では、前記置換えはS512Aである。

【0642】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCPBであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記置換えはD130Aである。別の実施形態では、前記置換えはH193Aである。別の実施形態では、前記置換えはN295Aである。さらに別の実施形態では、前記置換えはS512Aである。

【0643】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記置換えはD130Aである。別の実施形態では、前記置換えはH193Aである。別の実施形態では、前記置換えはN295Aである。さらに別の実施形態では、前記置換えはS512Aである。

【0644】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート

10

20

30

40

50

1 中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記置換えはD 1 3 0 Aである。別の実施形態では、前記置換えはH 1 9 3 Aである。別の実施形態では、前記置換えはN 2 9 5 Aである。さらに別の実施形態では、前記置換えはS 5 1 2 Aである。

【0645】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCP Aの酵素的に不活性化断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記置換えはD 1 3 0 Aである。別の実施形態では、前記置換えはH 1 9 3 Aである。別の実施形態では、前記置換えはN 2 9 5 Aである。さらに別の実施形態では、前記置換えはS 5 1 2 Aである。

【0646】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCP Bの酵素的に不活性化断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記置換えはD 1 3 0 Aである。別の実施形態では、前記置換えはH 1 9 3 Aである。別の実施形態では、前記置換えはN 2 9 5 Aである。さらに別の実施形態では、前記置換えはS 5 1 2 Aである。

【0647】

一実施形態では、SCPの酵素活性は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって不活性化される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 AおよびH 1 9 3 Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 AおよびN 2 9 5 Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 AおよびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H 1 9 3 AおよびN 2 9 5 Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H 1 9 3 AおよびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N 2 9 5 AおよびS 5 1 2 Aである。

【0648】

したがって、一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性化SCPであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのア

ミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびH193Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびN295Aである。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N295AおよびS512Aである。

【0649】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCP Aであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびH193Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびN295Aである。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N295AおよびS512Aである。

【0650】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCP Bであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびH193Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびN295Aである。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N295AおよびS512Aである。

【0651】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態で

は、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびH193Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびN295Aである。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N295AおよびS512Aである。

【0652】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびH193Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびN295Aである。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N295AおよびS512Aである。

【0653】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPAの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびH193Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびN295Aである。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N295AおよびS512Aである。

【0654】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPBの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化

10

20

30

40

50

は、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびH193Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびN295Aである。好ましくは、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、D130AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、H193AおよびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えは、N295AおよびS512Aである。

10

【0655】

一実施形態では、SCPの酵素活性は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって不活性化される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、N295A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、H193A、N295A、およびS512Aである。

20

【0656】

したがって、一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性化SCPであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、N295A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、H193A、N295A、およびS512Aである。

30

【0657】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性化SCPAであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、N295A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換

40

50

えは、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

【0658】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCP Bであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、およびN 2 9 5 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、およびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

10

【0659】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、およびN 2 9 5 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、およびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

20

【0660】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、およびN 2 9 5 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、およびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

30

40

【0661】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞

50

壁アンカードメインを含まない、SCP Aの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、N295A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、H193A、N295A、およびS512Aである。

10

【0662】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCP Bの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも3つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択される。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびN295Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、D130A、N295A、およびS512Aである。一実施形態では、前記少なくとも3つのアミノ酸の置換えは、H193A、N295A、およびS512Aである。

20

30

【0663】

一実施形態では、SCPの酵素活性は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって不活性化される。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aである。

【0664】

したがって、一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCPであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、D130A、H193A、N295A、およびS512Aである。

40

【0665】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCP Aであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、

50

前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

【0666】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、酵素的に不活性なSCP Bであり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

10

【0667】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

20

【0668】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカドメインを含まない、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

30

【0669】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカドメインを含まない、SCP Aの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート1中にある。一実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート2中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、およびS 5 1 2 Aである。

40

【0670】

一実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PADドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカドメインを含まない、SCP Bの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化は、野生型配列の少なくとも4つのアミノ酸を置き換えることによって達成される。好ましくは、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメイン中にある。一実施形態では、前記少なくとも4つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパー

50

ト 1 中にある。一実施形態では、前記少なくとも 4 つのアミノ酸の置換えは、プロテアーゼドメインのパート 2 中にある。一実施形態では、前記少なくとも 4 つのアミノ酸の置換えは、D 1 3 0 A、H 1 9 3 A、N 2 9 5 A、および S 5 1 2 A である。

【 0 6 7 1 】

特定の実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号 4 1 からなる SCP の酵素的に不活性な断片である。

【 0 6 7 2 】

特定の実施形態では、本発明の血清型 3 莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号 4 2 からなる SCP の酵素的に不活性な断片である。

【 0 6 7 3 】

配列番号 4 1 :

```

MAKTADTPATSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKKGAGTVVAV
VIAAGFDKNHEAWRLTDKAKARYQSKEDLEKAKKEHGITY
GEWVNDKVAYYHDYSKD GKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPS
ETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIR
DAINLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGV
SIVTSA GNDSSFGGKTR LPLADHPDYGVVGT PAAADSTLT
VASYS PDKQLTETVTVK TADQQDKEMPVLS TNRFEPNKAY
DYAYANRGTKEDDFKDVKGKIALIERGDI DFKDKIAKAKK
AGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAAFISRKDG LLLK
DNPQKTITFNATPKVLP TASGTKLSRFSSWGLTADGNIKP
DIAAPGQDILSSVAN NKYAKLSGTAMSA PLVAGIMGLLQE
QYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMS SATALYDEDEKAYFSP
RQQGAGAVDAKKASAA TMYVTDKDNTSSKVHLNNVSDKFE
VTVTVHNKSDKPKQELYYQATVQTDKVDGKH FALAPKALYE
TSWQKITIPANSSKQVTVPIDASRF SKDLLAQMKNGYFLE
GFVRFKQDPKKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSK
DGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALT TESNP
WTIIKAVKEGVENIEDIE SSEITETIFAGTF AKQDDDSHY
YIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDYVQFQGTFLRNAKNLVA
EVL DKEGNVVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTL GSTRFEKTR
WDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYPITISSGAK EQHTDFDVIV
DNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQP VYRERIAYT
YMEDDLPTTEYISPNE DGTFTLPEEAETMEGATVPLKMSD
FTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGH SNKPEQ

```

【 0 6 7 4 】

配列番号 4 1 は 9 5 0 個のアミノ酸の長さである。

【 0 6 7 5 】

配列番号 4 2 :

```

AKTADTPATSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKKGAGTVVAV
IAAGFDKNHEAWRLTDKAKARYQSKEDLEKAKKEHGITYG
EWVNDKVAYYHDYSKD GKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSE
TKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIRD
AINLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSS
IVTSA GNDSSFGGKTR LPLADHPDYGVVGT PAAADSTLTV
ASYS PDKQLTETVTVK TADQQDKEMPVLS TNRFEPNKAYD
YAYANRGTKEDDFKDVKGKIALIERGDI DFKDKIAKAKKA
GAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAAFISRKDG LLLKD
NPQKTITFNATPKVLP TASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPD
IAAPGQDILSSVAN NKYAKLSGTAMSA PLVAGIMGLLQEQ

```

10

20

30

40

50

Y E T Q Y P D M T P S E R L D L A K K V L M S S A T A L Y D E D E K A Y F S P R
 Q Q G A G A V D A K K A S A A T M Y V T D K D N T S S K V H L N N V S D K F E V
 T V T V H N K S D K P Q E L Y Y Q A T V Q T D K V D G K H F A L A P K A L Y E T
 S W Q K I T I P A N S S K Q V T V P I D A S R F S K D L L A Q M K N G Y F L E G
 F V R F K Q D P K K E E L M S I P Y I G F R G D F G N L S A L E K P I Y D S K D
 G S S Y Y H E A N S D A K D Q L D G D G L Q F Y A L K N N F T A L T T E S N P W
 T I I K A V K E G V E N I E D I E S S E I T E T I F A G T F A K Q D D D S H Y Y
 I H R H A N G K P Y A A I S P N G D G N R D Y V Q F Q G T F L R N A K N L V A E
 V L D K E G N V V W T S E V T E Q V V K N Y N N D L A S T L G S T R F E K T R W
 D G K D K D G K V V A N G T Y T Y R V R Y T P I S S G A K E Q H T D F D V I V D
 N T T P E V A T S A T F S T E D R R L T L A S K P K T S Q P V Y R E R I A Y T Y
 M D E D L P T T E Y I S P N E D G T F T L P E E A E T M E G A T V P L K M S D F
 T Y V V E D M A G N I T Y T P V T K L L E G H S N K P E Q

10

20

30

40

50

【0676】

配列番号42は949個のアミノ酸の長さである。

【0677】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号41と少なくとも90%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0678】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号41と少なくとも95%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0679】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号41と少なくとも99%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0680】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号41と少なくとも99.5%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0681】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号41と少なくとも99.8%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0682】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号41と少なくとも99.85%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0683】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号42と少なくとも90%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0684】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号42と少なくとも95%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0685】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号42と少なくとも99%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不

活性な断片である。

【0686】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号42と少なくとも99.5%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0687】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号42と少なくとも99.8%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0688】

特定の実施形態では、本発明の血清型3莢膜多糖複合糖質の担体タンパク質は、配列番号42と少なくとも99.85%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である。

【0689】

2 免疫原性組成物

2.1 本発明の複合糖質の組合せ

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含む免疫原性組成物に関する。

【0690】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、1~25個の異なる複合糖質を含む免疫原性組成物に関する。

【0691】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) の様々な血清型からの1~25個の複合糖質 (1~25個の肺炎球菌のコンジュゲート) を含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、本発明は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) の7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25個の異なる血清型からの複合糖質を含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) の16または20個の異なる血清型からの複合糖質を含む。一実施形態では、免疫原性組成物は、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、14、15、16、17、18、または19個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、16個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、19個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、20個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0692】

一実施形態では、免疫原性組成物は、21、22、23、24、または25個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、21個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、22個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、23個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、24個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。一実施形態では、免疫原性組成物は、25個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0693】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型4、6B、9V、14、18C、19F、および23Fからの複合糖質をさら

10

20

30

40

50

に含む免疫原性組成物に関する。

【0694】

一実施形態では、前記免疫原性組成物はさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、5、および 7 F からの複合糖質を含む。

【0695】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものはさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 A、および 19 A からの複合糖質を含む。

【0696】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものはさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 22 F、および 33 F からの複合糖質を含む。

10

【0697】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものはさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 8、10 A、11 A、12 F、および 15 B からの複合糖質を含む。

【0698】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものはさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2 からの複合糖質を含む。

【0699】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものはさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 9 N からの複合糖質を含む。

20

【0700】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものはさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 17 F からの複合糖質を含む。

【0701】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものはさらに、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 20 からの複合糖質を含む。

【0702】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 4、6 B、9 V、14、18 C、19 F、および 23 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、8 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

30

【0703】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 B、7 F、9 V、14、18 C、19 F、および 23 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、11 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0704】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、9 V、14、18 C、19 A、19 F、および 23 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、13 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

40

【0705】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、9 V、14、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、15 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

50

【0706】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、20個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0707】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、2、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 10

【0708】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、9N、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 20

【0709】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、2、4、5、6A、6B、7F、8、9V、9N、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0710】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、2、4、5、6A、6B、7F、8、9V、9N、10A、11A、12F、14、15B、17F、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 30

【0711】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、2、4、5、6A、6B、7F、8、9V、9N、10A、11A、12F、14、15B、17F、18C、19A、19F、20、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、24個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 40

【0712】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15A、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0713】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0714】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

10

【0715】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、24 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

20

【0716】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0717】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

30

【0718】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

40

【0719】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、24 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0720】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus p*

50

neumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0721】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 10

【0722】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、24 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0723】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 20

【0724】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、24 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 30

【0725】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 40

【0726】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、24 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0727】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、24 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。 50

e) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0728】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、24 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

10

【0729】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0730】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、24 F、および 33 F からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

20

【0731】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

30

【0732】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、24 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0733】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、33 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

40

【0734】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、

50

15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、および33 Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0735】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、24 F、33 F、および35 Bからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

10

【0736】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、24 F、33 F、および35 Bからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0737】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、および33 Fからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、24 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

20

【0738】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、33 F、および35 Bからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、24 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

30

【0739】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 F、24 F、33 F、および35 Bからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、24 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0740】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 B、23 F、24 F、33 F、および35 Bからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、24 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

40

【0741】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、6 B、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、33 F、

50

および35Bからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、24個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0742】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15A、15B、18C、19A、19F、22F、23A、23B、23F、24F、33F、および35Bからの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、25個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0743】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および38からの複合糖質からなる群から選択される少なくとも1つの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。

【0744】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および38からの複合糖質からなる群から選択される20個の複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、21個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0745】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および38からの複合糖質からなる群から選択される21個の複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、22個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0746】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および38からの複合糖質からなる群から選択される少なくとも1つの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。

【0747】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および38からの複合糖質からなる群から選択される22個の複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0748】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型3複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*)

10

20

30

40

50

e) 血清型 2、7 C、9 N、10 B、15 A、16 F、17 F、19 A、19 F、20、21、22 A、23 A、23 B、24 B、24 F、27、29、31、33 B、34、35 B、35 F、および 38 からの複合糖質からなる群から選択される 23 個の複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、24 個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0749】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、9 N、15 A、17 F、20、23 A、23 B、24 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、10 個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

10

【0750】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、9 N、15 A、17 F、19 A、19 F、20、23 A、23 B、24 F、および 35 B からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、12 個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

【0751】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7 C、9 N、10 B、15 A、16 F、17 F、20、21、22 A、23 A、23 B、24 B、24 F、27、29、31、33 B、34、35 B、35 F、および 38 からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、23 個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

20

【0752】

一実施形態では、本発明は、本発明の肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7 C、9 N、10 B、15 A、16 F、17 F、19 A、19 F、20、21、22 A、23 A、23 B、24 B、24 F、27、29、31、33 B、34、35 B、35 F、および 38 からの複合糖質をさらに含む免疫原性組成物に関する。一実施形態では、免疫原性組成物は、25 個の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である。

30

【0753】

好ましい実施形態では、糖はそれぞれ、タンパク質担体の異なる分子と個々にコンジュゲートしている (タンパク質担体のそれぞれの分子は、1 種類のみ糖がそれとコンジュゲートしている)。前記実施形態では、莢膜糖は、担体タンパク質と個々にコンジュゲートしていると言われる。好ましくは、上記免疫原性組成物のすべての複合糖質は、担体タンパク質と個々にコンジュゲートしている。

【0754】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 3 からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 3 からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている。

40

【0755】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 22 F からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 33 F からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 15 B からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (*S.*

50

pneumoniae) 血清型 12 F からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 10 A からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 11 A からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 8 からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 4、6 B、9 V、14、18 C、19 F、および 23 F からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 1、5、および 7 F からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 6 A、および 19 A からの複合糖質は、CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0756】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものとの複合糖質は、すべて CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0757】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 3 からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべて CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0758】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものとの肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 B、7 F、9 V、14、および / または 23 F からの複合糖質は、PDと個々にコンジュゲートしている。

【0759】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものとの肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 18 C からの複合糖質は、TTとコンジュゲートしている。

【0760】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものとの肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 19 F からの複合糖質は、DTとコンジュゲートしている。

【0761】

一実施形態では、上記免疫原性組成物のうちの任意のものとの肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 1、4、5、6 B、7 F、9 V、14、および / または 23 F からの複合糖質は、PDと個々にコンジュゲートしており、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 18 C からの複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 19 F からの複合糖質は、DTとコンジュゲートしている。

【0762】

一実施形態では、上記免疫原性組成物は、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) の 8 ~ 20 個の異なる血清型を含む。

【0763】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 3 からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも 1 つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべて CRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0764】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌 (S. pneumoniae) 血清型 3 からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、1 つの

他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0765】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも2つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0766】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、2つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

10

【0767】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも3つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0768】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、3つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

20

【0769】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも4つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0770】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、4つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

30

【0771】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも5つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0772】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、5つの他の複合糖質は、TTとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

40

【0773】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも1つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0774】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、1つの

50

他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0775】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも2つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0776】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、2つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。 10

【0777】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも3つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0778】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、3つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。 20

【0779】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも4つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0780】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、4つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。 30

【0781】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、少なくとも5つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。

【0782】

上記免疫原性組成物のうちの任意のものの一実施形態では、肺炎連鎖球菌（*S. pneumoniae*）血清型3からの複合糖質は、SCPとコンジュゲートしている、5つの他の複合糖質は、SCPとコンジュゲートしており、他の複合糖質は、すべてCRM₁₉₇とコンジュゲートしている。 40

【0783】

本発明の組成物は、少量の遊離担体を含み得る。所定の担体タンパク質が、本発明の組成物中で遊離およびコンジュゲート形態の両方で存在する場合、非コンジュゲート形態は、好ましくは、組成物全体中の担体タンパク質の総量の5%を超えない、より好ましくは2重量%未満で存在する。

【0784】

2.2 本発明の免疫原性組成物の投与量

それぞれの用量中の複合糖質の量は、典型的なワクチン中において、顕著な有害な副作 50

用なしに免疫保護応答を誘導する量として選択される。そのような量は、どの具体的な免疫原が用いられるか、およびそれがどのように提示されるかに応じて変動する。

【0785】

免疫原性組成物中の特定の複合糖質の量は、そのコンジュゲートの全多糖（コンジュゲートしたおよびコンジュゲートしていない）に基づいて計算することができる。たとえば、20%の遊離多糖を有する複合糖質は、100 μ gの多糖用量中、約80 μ gのコンジュゲートした多糖および約20 μ gのコンジュゲートしていない多糖を有する。複合糖質の量は、肺炎球菌の血清型に応じて変動する場合がある。糖濃度はウロン酸アッセイによって決定することができる。

【0786】

免疫原性組成物中の様々な多糖構成要素の「免疫原性量」は分岐する場合があります、それぞれは、約0.5 μ g、約0.75 μ g、約1 μ g、約2 μ g、約3 μ g、約4 μ g、約5 μ g、約6 μ g、約7 μ g、約8 μ g、約9 μ g、約10 μ g、約15 μ g、約20 μ g、約30 μ g、約40 μ g、約50 μ g、約60 μ g、約70 μ g、約80 μ g、約90 μ g、または約100 μ gの任意の特定の多糖抗原を含み得る。

【0787】

一般に、それぞれの用量は、0.1 μ g~100 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、0.1 μ g~100 μ gの血清型3多糖を含む。好ましい実施形態では、それぞれの用量は、0.5 μ g~20 μ gを含む。好ましい実施形態では、それぞれの用量は、1.0 μ g~10 μ gを含む。さらに好ましい実施形態では、それぞれの用量は、2.0 μ g~5.0 μ gの血清型3多糖を含む。上記範囲のうちの任意のものの中の任意の整数が、本開示の一実施形態として企図される。

【0788】

一実施形態では、それぞれの用量は、約0.5 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約0.55 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約0.75 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約1.0 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約1.1 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約1.5 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約2.0 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約2.2 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約2.5 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約3.0 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約3.5 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約4.0 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約4.4 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約5.0 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約5.5 μ gの血清型3多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約6.0 μ gの血清型3多糖を含む。

【0789】

一般に、それぞれの用量は、所定の血清型について0.1 μ g~100 μ gの多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、所定の血清型について0.1 μ g~100 μ gの多糖を含む。好ましい実施形態では、それぞれの用量は、0.5 μ g~20 μ gを含む。好ましい実施形態では、それぞれの用量は、1.0 μ g~10 μ gを含む。さらに好ましい実施形態では、それぞれの用量は、所定の血清型について2.0 μ g~5.0 μ gの多糖を含む。上記範囲のうちの任意のものの中の任意の整数が、本開示の一実施形態として企図される。

【0790】

一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約0.5 μ gの多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約0.55 μ gの多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約0.75 μ gの多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それ

10

20

30

40

50

ぞれの特定の複合糖質について約 1.0 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 1.1 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 1.5 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 2.0 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 2.2 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 2.5 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 3.0 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 3.5 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 4.0 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 4.4 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 5.0 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 5.5 μg の多糖を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、それぞれの特定の複合糖質について約 6.0 μg の多糖を含む。

10

【0791】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、3、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および/または 33F からの複合糖質について、約 1.1 μg 、約 1.2 μg 、約 1.3 μg 、約 1.4 μg 、約 1.5 μg 、約 1.6 μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

20

【0792】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および/または 33F からの複合糖質について、約 1.1 μg 、約 1.2 μg 、約 1.3 μg 、約 1.4 μg 、約 1.5 μg 、約 1.6 μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

30

【0793】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6B からの複合糖質について、約 2.0 μg 、約 2.2 μg 、約 2.4 μg 、約 2.6 μg 、約 2.8 μg 、約 3.0 μg 、約 3.2 μg 、約 3.4 μg 、約 3.6 μg 、約 3.8 μg 、約 4.0 μg 、約 4.2 μg 、約 4.4 μg 、約 4.6 μg 、約 4.8 μg 、約 5.0、約 5.2 μg 、約 5.4 μg 、約 5.6 μg 、約 5.8 μg 、または約 6.0 μg の多糖を含む。

【0794】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、3、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および/または 33F からの複合糖質について、約 0.5 μg 、約 0.55 μg 、約 0.75 μg 、約 1.1 μg 、約 1.2 μg 、約 1.3 μg 、約 1.4 μg 、約 1.5 μg 、約 1.6 μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

40

【0795】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C

50

、19A、19F、22F、23F、および/または33Fからの複合糖質について、約0.5 μg、約0.55 μg、約0.75 μg、約1.1 μg、約1.2 μg、約1.3 μg、約1.4 μg、約1.5 μg、約1.6 μg、約1.7 μg、約1.8 μg、約1.9 μg、約2.0 μg、約2.1 μg、約2.2 μg、約2.3 μg、約2.4 μg、約2.5 μg、約2.6 μg、約2.7 μg、約2.8 μg、約2.9 μg、または約3.0 μgの多糖を含む。

【0796】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6Bからの複合糖質について、約1.0 μg、約1.1 μg、約2.0 μg、約2.2 μg、約2.4 μg、約2.6 μg、約2.8 μg、約3.0 μg、約3.2 μg、約3.4 μg、約3.6 μg、約3.8 μg、約4.0 μg、約4.2 μg、約4.4 μg、約4.6 μg、約4.8 μg、約5.0、約5.2 μg、約5.4 μg、約5.6 μg、約5.8 μg、または約6.0 μgの多糖を含む。

10

【0797】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからのそれぞれの複合糖質について、約0.5 μg ~ 約1.0 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6Bからの複合糖質について、約1.0 μg ~ 約2.0 μgの多糖を含む。

【0798】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからのそれぞれの複合糖質について、約1.5 μg ~ 約3.0 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6Bからの複合糖質について、約3.0 μg ~ 約6.0 μgの多糖を含む。

20

【0799】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからのそれぞれの複合糖質について、約2.0 μg ~ 約2.5 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6Bからの複合糖質について、約4.0 μg ~ 約4.8 μgの多糖を含む。

30

【0800】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6A、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからのそれぞれの複合糖質から、約2.2 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6Bからの複合糖質について、約4.4 μgの多糖を含む。

【0801】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6A、7F、9V、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからのそれぞれの複合糖質について、約0.5 μg ~ 約1.0 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6Bからの複合糖質について、約1.0 μg ~ 約2.0 μgの多糖を含む。

40

【0802】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6A、7F、9V、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および33Fからのそれぞれの複合糖質について、約1.5 μg ~ 約3.0 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6Bからの複合糖質について、約3 μg ~ 約6 μgの多糖を含む。

【0803】

50

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、3、4、5、6 A、7 F、9 V、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質について、約 2.0 μg ~ 約 2.5 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 4.0 μg ~ 約 4.8 μg の多糖を含む。

【0804】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、3、4、5、6 A、7 F、9 V、14、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質から、約 2.0 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 4.0 μg の多糖を含む。

10

【0805】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、3、4、5、6 A、7 F、9 V、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質から、約 2.2 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 4.4 μg の多糖を含む。

【0806】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質について、約 0.5 μg ~ 約 1.0 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 1.0 μg ~ 約 2.0 μg の多糖を含む。

20

【0807】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質について、約 1.5 μg ~ 約 3.0 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 3.0 μg ~ 約 6.0 μg の多糖を含む。

【0808】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質について、約 2.0 μg ~ 約 2.5 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 4.0 μg ~ 約 4.8 μg の多糖を含む。

30

【0809】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質から、約 2.2 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 4.4 μg の多糖を含む。

40

【0810】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、7 F、9 V、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および 33 F からのそれぞれの複合糖質について、約 0.5 μg ~ 約 1.0 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 6 B からの複合糖質について、約 1.0 μg ~ 約 2.0 μg の多糖を含む。

【0811】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6 A、7 F、9 V、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、2

50

3 F、および3 3 Fからのそれぞれの複合糖質について、約1.5 μg ~ 約3.0 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約3.0 μg ~ 約6.0 μg の多糖を含む。

【0812】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、7 F、9 V、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および3 3 Fからのそれぞれの複合糖質について、約2.0 μg ~ 約2.5 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約4.0 μg ~ 約4.8 μg の多糖を含む。

【0813】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、7 F、9 V、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および3 3 Fからのそれぞれの複合糖質から、約2.2 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約4.4 μg の多糖を含む。

【0814】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、33 F、および/または3 5 Bからの複合糖質について、約0.5 μg 、約0.55 μg 、約0.75 μg 、約1.1 μg 、約1.2 μg 、約1.3 μg 、約1.4 μg 、約1.5 μg 、約1.6 μg 、約1.7 μg 、約1.8 μg 、約1.9 μg 、約2.0 μg 、約2.1 μg 、約2.2 μg 、約2.3 μg 、約2.4 μg 、約2.5 μg 、約2.6 μg 、約2.7 μg 、約2.8 μg 、約2.9 μg 、または約3.0 μg の多糖を含む。

【0815】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、33 F、および/または3 5 Bからの複合糖質について、約0.5 μg 、約0.55 μg 、約0.75 μg 、約1.1 μg 、約1.2 μg 、約1.3 μg 、約1.4 μg 、約1.5 μg 、約1.6 μg 、約1.7 μg 、約1.8 μg 、約1.9 μg 、約2.0 μg 、約2.1 μg 、約2.2 μg 、約2.3 μg 、約2.4 μg 、約2.5 μg 、約2.6 μg 、約2.7 μg 、約2.8 μg 、約2.9 μg 、または約3.0 μg の多糖を含む。

【0816】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約1.0 μg 、約1.1 μg 、約2.0 μg 、約2.2 μg 、約2.4 μg 、約2.6 μg 、約2.8 μg 、約3.0 μg 、約3.2 μg 、約3.4 μg 、約3.6 μg 、約3.8 μg 、約4.0 μg 、約4.2 μg 、約4.4 μg 、約4.6 μg 、約4.8 μg 、約5.0、約5.2 μg 、約5.4 μg 、約5.6 μg 、約5.8 μg 、または約6.0 μg の多糖を含む。

【0817】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、33 F、および3 5 Bからのそれぞれの複合糖質について、約1.5 μg ~ 約3.0 μg の多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約3.0 μg ~ 約6.0 μg の多糖を含む。

【0818】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、1

10

20

30

40

50

5 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、33 F、および35 Bからのそれぞれの複合糖質について、約2.0 μg ~ 約2.5 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約4.0 μg ~ 約4.8 μgの多糖を含む。

【0819】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、3、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 A、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 A、23 B、23 F、24 F、33 F、および35 Bからのそれぞれの複合糖質から、約2.2 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約4.4 μgの多糖を含む。

10

【0820】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および33 Fからのそれぞれの複合糖質について、約0.5 μg ~ 約1.0 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約1.0 μg ~ 約2.0 μgの多糖を含む。

【0821】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および33 Fからのそれぞれの複合糖質について、約1.5 μg ~ 約3.0 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約3.0 μg ~ 約6.0 μgの多糖を含む。

20

【0822】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および33 Fからのそれぞれの複合糖質について、約2.0 μg ~ 約2.5 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約4.0 μg ~ 約4.8 μgの多糖を含む。

【0823】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型1、4、5、6 A、7 F、8、9 V、10 A、11 A、12 F、14、15 B、18 C、19 A、19 F、22 F、23 F、および33 Fからのそれぞれの複合糖質から、約2.2 μgの多糖を含み、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型6 Bからの複合糖質について、約4.4 μgの多糖を含む。

30

【0824】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型2、7 C、9 N、10 B、15 A、16 F、17 F、20、21、22 A、23 A、23 B、24 B、24 F、27、29、31、33 B、34、35 B、35 F、および/または38からの複合糖質について、約0.5 μg、約0.55 μg、約0.75 μg、約1.1 μg、約1.2 μg、約1.3 μg、約1.4 μg、約1.5 μg、約1.6 μg、約1.7 μg、約1.8 μg、約1.9 μg、約2.0 μg、約2.1 μg、約2.2 μg、約2.3 μg、約2.4 μg、約2.5 μg、約2.6 μg、約2.7 μg、約2.8 μg、約2.9 μg、または約3.0 μgの多糖を含む。

40

【0825】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型2、3、7 C、9 N、10 B、15 A、16 F、17 F、20、21、22 A、23 A、23 B、24 B、24 F、27、29、31、33 B、34、35 B、35 F、および/または38からの複合糖質について、約0.5 μg、約0.55 μg、約0.75 μg、約1.1 μg、約1.2 μg、約1.3 μg、約1.4 μg、約1.5 μg、約1.6

50

μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

【0826】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および/または 38 からの複合糖質について、約 0.5 μg 、約 0.55 μg 、約 0.75 μg 、約 1.1 μg 、約 1.2 μg 、約 1.3 μg 、約 1.4 μg 、約 1.5 μg 、約 1.6 μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

10

【0827】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からの複合糖質について、約 0.5 μg 、約 0.55 μg 、約 0.75 μg 、約 1.1 μg 、約 1.2 μg 、約 1.3 μg 、約 1.4 μg 、約 1.5 μg 、約 1.6 μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

20

【0828】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からの複合糖質について、約 0.5 μg 、約 0.55 μg 、約 0.75 μg 、約 1.1 μg 、約 1.2 μg 、約 1.3 μg 、約 1.4 μg 、約 1.5 μg 、約 1.6 μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

30

【0829】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からの複合糖質について、約 0.5 μg 、約 0.55 μg 、約 0.75 μg 、約 1.1 μg 、約 1.2 μg 、約 1.3 μg 、約 1.4 μg 、約 1.5 μg 、約 1.6 μg 、約 1.7 μg 、約 1.8 μg 、約 1.9 μg 、約 2.0 μg 、約 2.1 μg 、約 2.2 μg 、約 2.3 μg 、約 2.4 μg 、約 2.5 μg 、約 2.6 μg 、約 2.7 μg 、約 2.8 μg 、約 2.9 μg 、または約 3.0 μg の多糖を含む。

40

【0830】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 0.5 μg ~ 約 1.0 μg の多糖を含む。

【0831】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 1.5 μg ~ 約 3.0 μg の多糖を含む。

【0832】

50

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 2.0 μg ~ 約 2.5 μg の多糖を含む。

【0833】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質から、約 2.0 μg の多糖を含む。

【0834】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質から、約 2.2 μg の多糖を含む。

【0835】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 0.5 μg ~ 約 1.0 μg の多糖を含む。

【0836】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 1.5 μg ~ 約 3.0 μg の多糖を含む。

【0837】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 2.0 μg ~ 約 2.5 μg の多糖を含む。

【0838】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質から、約 2.0 μg の多糖を含む。

【0839】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質から、約 2.2 μg の多糖を含む。

【0840】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 0.5 μg ~ 約 1.0 μg の多糖を含む。

【0841】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 1.5 μg ~ 約 3.0 μg

10

20

30

40

50

の多糖を含む。

【0842】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質について、約 2.0 μ g ~ 約 2.5 μ g の多糖を含む。

【0843】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質から、約 2.0 μ g の多糖を含む。

10

【0844】

一実施形態では、それぞれの用量は、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、3、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からのそれぞれの複合糖質から、約 2.2 μ g の多糖を含む。

【0845】

2.3 担体量

一般に、それぞれの用量は、10 μ g ~ 150 μ g の担体タンパク質、詳細には 15 μ g ~ 100 μ g の担体タンパク質、より詳細には 25 μ g ~ 75 μ g の担体タンパク質、さらにより詳細には 40 μ g ~ 60 μ g の担体タンパク質を含む。一実施形態では、前記担体タンパク質は CRM₁₉₇ である。一実施形態では、前記担体タンパク質は SCP である。

20

【0846】

一実施形態では、それぞれの用量は、約 10 μ g、約 15 μ g、約 20 μ g、約 25 μ g、約 26 μ g、約 27 μ g、約 28 μ g、約 29 μ g、約 30 μ g、約 31 μ g、約 32 μ g、約 33 μ g、約 34 μ g、約 35 μ g、約 36 μ g、約 37 μ g、約 38 μ g、約 39 μ g、約 40 μ g、約 41 μ g、約 42 μ g、約 43 μ g、約 44 μ g、約 45 μ g、約 46 μ g、約 47 μ g、約 48 μ g、約 49 μ g、約 50 μ g、約 51 μ g、約 52 μ g、約 53 μ g、約 54 μ g、約 55 μ g、約 56 μ g、約 57 μ g、約 58 μ g、約 59 μ g、約 60 μ g、約 61 μ g、約 62 μ g、約 63 μ g、約 64 μ g、約 65 μ g、約 66 μ g、約 67 μ g、約 68 μ g、約 69 μ g、約 70 μ g、約 71 μ g、約 72 μ g、約 73 μ g、約 74 μ g、または約 75 μ g の担体タンパク質を含む。

30

【0847】

一実施形態では、それぞれの用量は、約 25 μ g、約 26 μ g、約 27 μ g、約 28 μ g、約 29 μ g、約 30 μ g、約 31 μ g、約 32 μ g、約 33 μ g、約 34 μ g、約 35 μ g、約 36 μ g、約 37 μ g、約 38 μ g、約 39 μ g、約 40 μ g、約 41 μ g、約 42 μ g、約 43 μ g、約 44 μ g、約 45 μ g、約 46 μ g、約 47 μ g、約 48 μ g、約 49 μ g、約 50 μ g、約 51 μ g、約 52 μ g、約 53 μ g、約 54 μ g、約 55 μ g、約 56 μ g、約 57 μ g、約 58 μ g、約 59 μ g、約 60 μ g、約 61 μ g、約 62 μ g、約 63 μ g、約 64 μ g、約 65 μ g、約 66 μ g、約 67 μ g、約 68 μ g、約 69 μ g、約 70 μ g、約 71 μ g、約 72 μ g、約 73 μ g、約 74 μ g、または約 75 μ g の担体タンパク質を含む。

40

【0848】

一実施形態では、それぞれの用量は、約 30 μ g の担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約 31 μ g の担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約 32 μ g の担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約 33 μ g の担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約 34 μ g の担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約 45 μ g の担体タンパク

50

質を含む。

【0849】

一実施形態では、それぞれの用量は、約40 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約41 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約42 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約43 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約44 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約45 μ gの担体タンパク質を含む。

【0850】

一実施形態では、それぞれの用量は、約48 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約49 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約50 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約51 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約52 μ gの担体タンパク質を含む。一実施形態では、それぞれの用量は、約53 μ gの担体タンパク質を含む。

10

【0851】

一実施形態では、前記担体タンパク質はCRM₁₉₇である。

【0852】

一実施形態では、前記担体タンパク質はSCPである。

【0853】

20

2.4 さらになる抗原

本発明の免疫原性組成物は、コンジュゲートした肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 糖抗原 (複合糖質) を含む。これらはまた、他の病原体から、特に細菌および/またはウイルスからの抗原もさらに含み得る。好ましいさらなる抗原は、ジフテリアトキソイド (D)、破傷風トキソイド (T)、百日咳抗原 (P) (典型的には無細胞性 (Pa) である)、B型肝炎ウイルス (HBV) 表面抗原 (HBsAg)、A型肝炎ウイルス (HAV) 抗原、コンジュゲートしたインフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) b型莢膜糖 (Hib)、不活性化ポリオウイルスワクチン (IPV) から選択される。

【0854】

30

一実施形態では、本発明の免疫原性組成物はD-T-Paを含む。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、D-T-Pa-Hib、D-T-Pa-IPV、またはD-T-Pa-HBsAgを含む。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、D-T-Pa-HBsAg-IPVまたはD-T-Pa-HBsAg-Hibを含む。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物はD-T-Pa-HBsAg-IPV-Hibを含む。

【0855】

百日咳抗原：百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) は、百日咳を引き起こす。ワクチン中の百日咳抗原は、細胞性 (不活性化百日咳菌 (*B. pertussis*) 細胞の形態の全細胞) または無細胞性のいずれかである。細胞性百日咳抗原の調製は十分に文書化されている (たとえば、これは百日咳菌 (*B. pertussis*) の第I期培養物の熱不活性化によって得られ得る)。しかし、好ましくは、本発明は無細胞性抗原を使用する。無細胞性抗原を使用する場合は、以下の抗原のうちの1つ、2つ、または (好ましくは) 3つを使用することが好ましい: (1) 解毒百日咳毒素 (百日咳トキソイドまたはPT)、(2) 繊維状赤血球凝集素 (FHA)、(3) ペルタクチン (69キログラムの外膜タンパク質としても知られる)。FHAおよびペルタクチンは、本発明による使用の前にホルムアルデヒドで処理し得る。PTは、好ましくは、ホルムアルデヒドおよび/またはグルタルアルデヒドを用いた処理によって解毒する。無細胞百日咳抗原は、好ましくは、1つまたは複数のアルミニウム塩アジュバント上に吸着されている。代替方法として、これらを未吸着状態で加え得る。ペルタクチンを加える場合、これは、好ましくは、水酸化アルミニウムアジュバント上に既に吸着している。PTおよびFHAは

40

50

、水酸化アルミニウムアジュバントまたはリン酸アルミニウム上に吸着してよい。P T、F H A、およびペルタクチンのすべての、水酸化アルミニウムへの吸着が最も好ましい。

【0856】

不活性化ポリオウイルスワクチン：ポリオウイルスは灰白髄炎を引き起こす。経口ポリオウイルスワクチンを使用するよりも、本発明の好ましい実施形態はIPVを使用する。患者への投与の前に、ポリオウイルスを不活性化させなければならず、これは、ホルムアルデヒドを用いた処理によって達成することができる。灰白髄炎は、3種類のポリオウイルスのうち1種によって引き起こされる場合がある。3つの種類は類似であり、同一の症状を引き起こすが、これらは抗原的に異なっており、1つの種類による感染は、他のものによる感染に対して保護しない。したがって、本発明において3つのポリオウイルス抗原を使用することが好ましい：ポリオウイルス1型（たとえばマホニー（Mahoney）株）、ポリオウイルス2型（たとえばMEF-1株）、およびポリオウイルス3型（たとえばソーケット（Saukett）株）。ウイルスは、好ましくは個々に成長、精製、および不活性化し、その後、一緒に合わせて、本発明で使用するためのバルクの三価混合物が得られる。

10

【0857】

ジフテリアトキソイド：ジフテリア菌（*Corynebacterium diphtheriae*）はジフテリアを引き起こす。ジフテリア毒素は、注射後に特異的抗毒素抗体を誘導する能力を保持しつつ、毒性を除去するために、（たとえばホルマリンまたはホルムアルデヒドを使用して）処理することができる。これらのジフテリアトキソイドは、ジフテリアワクチンにおいて使用される。好ましいジフテリアトキソイドは、ホルムアルデヒド処理によって調製されたものである。ジフテリアトキソイドは、ジフテリア菌（*C. diphtheriae*）を成長培地中で成長させ、続いて、ホルムアルデヒド処理、限外濾過、および沈殿によって、得ることができる。その後、トキソイド化された材料を、滅菌濾過および/または透析を含むプロセスによって処理し得る。ジフテリアトキソイドは、好ましくは水酸化アルミニウムアジュバント上に吸着している。

20

【0858】

破傷風トキソイド：破傷風菌（*Clostridium tetani*）は破傷風を引き起こす。破傷風毒素を処理して、保護的トキソイドを得ることができる。トキソイドは破傷風ワクチンにおいて使用される。好ましい破傷風トキソイドは、ホルムアルデヒド処理によって調製されたものである。破傷風トキソイドは、破傷風菌（*C. tetani*）を成長培地中で成長させ、続いて、ホルムアルデヒド処理、限外濾過、および沈殿によって、得ることができる。その後、材料を、滅菌濾過および/または透析を含むプロセスによって処理し得る。

30

【0859】

A型肝炎ウイルス抗原：A型肝炎ウイルス（HAV）は、ウイルス性肝炎を引き起こす既知の因子のうち1つである。好ましいHAV構成要素は不活性化ウイルスに基づいており、不活性化はホルマリン処理によって達成することができる。

【0860】

B型肝炎ウイルス（HBV）は、ウイルス性肝炎を引き起こす既知の因子のうち1つである。カプシドの主要な構成要素は、HBV表面抗原、またはより一般的にはHBsAgとして知られるタンパク質であり、これは典型的には、約24kDaの分子量を有する226個のアミノ酸のポリペプチドである。すべての既存のB型肝炎ワクチンはHBsAgを含有しており、この抗原を正常なワクチンに投与した際、これは、HBV感染に対して保護する抗HBsAg抗体の産生を刺激する。

40

【0861】

ワクチンの製造には、HBsAgは2つの方法で作製されている：慢性B型肝炎保因者の血漿からの、抗原の粒子状形態での精製、または組換えDNA方法によるタンパク質の発現（たとえば酵母細胞中での組換え発現）。ネイティブHBsAg（すなわち血漿精製

50

した生成物)とは異なり、酵母発現させたHBsAgは一般にグリコシル化されておらず、これが本発明で使用するためのHBsAgの最も好ましい形態である。

【0862】

コンジュゲートしたインフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*)b型抗原：インフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*)b型(Hib)は細菌性髄膜炎を引き起こす。Hibワクチンは、典型的には莢膜糖抗原に基づき、その調製は十分に文書化されている。Hib糖は、その免疫原性を、特に小児において増強させるために、担体タンパク質とコンジュゲートさせることができる。典型的な担体タンパク質は、破傷風トキソイド、ジフテリアトキソイド、CRM197、インフルエンザ菌(*H. influenzae*)タンパク質D、および血清型B髄膜炎菌からの外膜タンパク質複合体である。コンジュゲートの糖部分は、Hib細菌から調製された完全長ポリリボシルリビトールリン酸(PPR)、および/または完全長PPRの断片を含み得る。Hibコンジュゲートは、アルミニウム塩アジュバントに吸着していても、していなくてもよい。

10

【0863】

一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、コンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型Y莢膜糖(MenY)および/またはコンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型C莢膜糖(MenC)をさらに含む。

【0864】

一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、コンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型A莢膜糖(MenA)、コンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型W135莢膜糖(MenW135)、コンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型Y莢膜糖(MenY)、および/またはコンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型C莢膜糖(MenC)をさらに含む。

20

【0865】

一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、コンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型W135莢膜糖(MenW135)、コンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型Y莢膜糖(MenY)、および/またはコンジュゲートした髄膜炎菌(*N. meningitidis*)血清型C莢膜糖(MenC)をさらに含む。

30

【0866】

2.5 アジュバント

一部の実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、少なくとも1つ、2つ、または3つのアジュバントをさらに含み得る。一部の実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、少なくとも1つのアジュバントをさらに含み得る。一部の実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、1つのアジュバントをさらに含み得る。一部の実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、2つのアジュバントをさらに含み得る。用語「アジュバント」とは、抗原に対する免疫応答を増強させる化合物または混合物をいう。抗原は、主に送達系として作用する、主に免疫調節剤として作用する、または両方の強力な特長を有する場合がある。適切なアジュバントとしては、ヒトを含めた哺乳動物における使用に適切なものが挙げられる。

40

【0867】

ヒトにおいて使用することができる、既知の適切な送達系型のアジュバントの例としては、それだけには限定されないが、ミョウバン(たとえば、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウム、または水酸化アルミニウム)、リン酸カルシウム、リポソーム、MF59(4.3%w/vのスクアレン、0.5%w/vのポリソルベート80(Tween 80))、0.5%w/vのトリオレイン酸ソルビタン(Span 85)などの水中油乳濁液、Montanideなどの油中水乳濁液、およびポリ(D,L-ラクチド-コ-グリコリド)(PLG)微粒子またはナノ粒子が挙げられる。

50

【 0 8 6 8 】

一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、アルミニウム塩（ミョウバン）をアジュバントとして含む（たとえば、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウム、または水酸化アルミニウム）。好ましい実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、リン酸アルミニウムまたは水酸化アルミニウムをアジュバントとして含む。好ましい実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、リン酸アルミニウムをアジュバントとして含む。

【 0 8 6 9 】

本明細書中に開示した免疫原性組成物の有効性を増強させるためのさらなる例示的なアジュバントとしては、それだけには限定されないが：（１）水中油乳濁液配合物（ムラミルペプチド（以下を参照）または細菌細胞壁構成要素などの他の特異的免疫賦活剤を含むまたは含まない）、たとえば、（a）サブミクロン乳濁液へと微小流動化したまたは渦攪拌してより大きな粒径の乳濁液を作製したのいずれかの、１０％のスクアレン、０．４％の Tween 80、５％のプルロニック（登録商標）ブロックド（blocked）ポリマー L121、および thr-MDP を含有する SAF、（b）２％のスクアレン、０．２％の Tween 80、ならびに１つまたは複数の細菌細胞壁構成要素、たとえば、モノホスホリルリピド A（MPL）、トレハロースジミコレート（TDM）、および細胞壁骨格（CWS）、好ましくは MPL + CWS（DETOX（商標））を含有する、RIBI（商標）アジュバント系（RAS）（Ribi Immunochem、モンタナ州 Hamilton）、（２）QS21、STIMULON（商標）（Cambridge Bioscience、マサチューセッツ州 Worcester）、ABISCO（登録商標）（スウェーデン Isconova）、もしくは ISCOMATRIX（登録商標）（Commonwealth Serum Laboratories、オーストラリア）などのサポニンアジュバントを使用し得る、または ISCOM（免疫刺激複合体）などのそれらから作製した粒子（ISCOMS は追加の洗剤を欠いている）（たとえば WO00/07621 号）、（３）完全フロイントアジュバント（CFA）および不完全フロイントアジュバント（IFA）、（４）サイトカイン、たとえば、インターロイキン（たとえば、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-12（たとえば WO99/44636 号））、インターフェロン（たとえばガンマイインターフェロン）、マクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）、腫瘍壊死因子（TNF）など、（５）モノホスホリルリピド A（MPL）または 3-O-脱アシル化 MPL（3dMPL）（たとえば GB-2220221 号、EP0689454 号を参照）、任意選択で、肺炎球菌の糖と共に使用した場合はミョウバンの実質的な非存在下で（たとえば WO00/56358 号を参照）、（６）3dMPL と、たとえば QS21 および / または水中油乳濁液との組合せ（たとえば、EP0835318 号、EP0735898 号、EP0761231 号を参照）、（７）ポリオキシエチレンエーテルまたはポリオキシエチレンエステル（たとえば WO99/52549 号を参照）、（８）ポリオキシエチレンソルビタンエステル界面活性剤とオクトキシノールとの組合せ（たとえば WO01/21207 号）、またはポリオキシエチレンアルキルエーテルもしくはエステル界面活性剤と、オクトキシノールなどの少なくとも１つの追加の非イオン性界面活性剤との組合せ（たとえば WO01/21152 号）、（９）サポニンおよび免疫賦活性オリゴヌクレオチド（たとえば CpG オリゴヌクレオチド）（たとえば WO00/62800 号）、（１０）免疫賦活剤および金属塩粒子（たとえば WO00/23105 号を参照）、（１１）サポニンおよび水中油乳濁液（たとえば WO99/11241 号）、（１２）サポニン（たとえば QS21）+ 3dMPL + IM2（任意選択で + ステロール）（たとえば WO98/57659 号）、（１３）組成物の有効性を増強させるための免疫賦活剤として作用する他の物質が挙げられる。ムラミルペプチドとしては、N-アセチル-ムラミル-L-スレオニル-D-イソグルタミン（thr-MDP）、N-25アセチル-ノルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン（nor-MDP）、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン-L-アラニン-2-(1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ 50

- 3 - ヒドロキシホスホリルオキシ) - エチルアミン M T P - P E) などが挙げられる。
【0870】

本発明の一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、C p G オリゴヌクレオチドをアジュバントとして含む。本明細書中で使用するC p G オリゴヌクレオチドとは、免疫賦活性C p G オリゴデオキシヌクレオチド(C p G O D N)をいい、したがって、これらの用語は、別段に指定しない限りは互換性があるように使用される。免疫賦活性C p G オリゴデオキシヌクレオチドは、非メチル化シトシン - グアニンジヌクレオチドである1つまたは複数の免疫賦活性C p G モチーフを含有し、任意選択で特定の好ましい塩基コンテキスト内である。C p G 免疫賦活性モチーフのメチル化状態とは、一般に、ジヌクレオチド中のシトシン残基をいう。少なくとも1つの非メチル化C p G ジヌクレオチドを含有する免疫賦活性オリゴヌクレオチドは、リン酸結合によって3' グアニンに連結された5' 非メチル化シトシンを含有し、ツール様受容体9 (T L R - 9) と結合することを通じて免疫系を活性化する、オリゴヌクレオチドである。別の実施形態では、免疫賦活性オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のメチル化C p G ジヌクレオチドを含有してよく、これは、T L R 9 を通じて免疫系を活性化するが、C p G モチーフが非メチル化である場合ほど強力にはない。C p G 免疫賦活性オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数の回文構造を含有してよく、これらが立ち代ってC p G ジヌクレオチドを包含し得る。C p G オリゴヌクレオチドは、米国特許第6, 194, 388号、第6, 207, 646号、第6, 214, 806号、第6, 218, 371号、第6, 239, 116号、および第6, 339, 068号を含めた、いくつかの発行された特許、公開特許出願、および他の刊行物中に記載されている。

10

20

【0871】

本発明の一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、W O 2 0 1 0 / 1 2 5 4 8 0 号の3ページ、22行目から12ページ、36行目に記載されているC p G オリゴヌクレオチドのうちの任意のものを含む。

【0872】

様々なクラスのC p G 免疫賦活性オリゴヌクレオチドが同定されている。これらはA、B、C、およびPクラスと呼ばれ、W O 2 0 1 0 / 1 2 5 4 8 0 号の3ページ、22行目から12ページ、36行目により詳細に記載されている。本発明の方法は、これらの様々なクラスのC p G 免疫賦活性オリゴヌクレオチドの使用を包含する。

30

【0873】

本発明の一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、AクラスC p G オリゴヌクレオチドを含む。好ましくは、本発明の「Aクラス」C p G オリゴヌクレオチドは以下の核酸配列を有する：5' G G G G A C G A C G T C G T G G G G G G G 3' (配列番号1)。Aクラスオリゴヌクレオチドの一部の非限定的な例としては、5' G* G* G__G__A__C__G__A__C__G__T__C__G__T__G__G* G* G* G* G* G* G 3' (配列番号2) [式中、「*」はホスホロチオエート結合を指し、「__」はリン酸ジエステル結合を指す]が挙げられる。

【0874】

本発明の一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、BクラスC p G オリゴヌクレオチドを含む。一実施形態では、本発明において使用するためのC p G オリゴヌクレオチドは、少なくとも以下の式によって表されるBクラスC p G オリゴヌクレオチドである：

40

5' X₁ X₂ C G X₃ X₄ 3' [式中、X₁、X₂、X₃、およびX₄はヌクレオチドである]。一実施形態では、X₂は、アデニン、グアニン、またはチミンである。別の実施形態では、X₃は、シトシン、アデニン、またはチミンである。

【0875】

本発明のBクラスC p G オリゴヌクレオチド配列は、上記に広く記載したもの、ならびにW O 9 6 / 0 2 5 5 5号、W O 9 8 / 1 8 8 1 0号、ならびに米国特許第6, 194, 388号、第6, 207, 646号、第6, 214, 806号、第6, 218, 371号

50

、第 6 , 2 3 9 , 1 1 6 号、および第 6 , 3 3 9 , 0 6 8 号中に開示されているものである。例示的な配列としては、それだけには限定されないが、これらの後者の出願および特許中に開示されているものが挙げられる。

【 0 8 7 6 】

一実施形態では、本発明の「 B クラス」 C p G オリゴヌクレオチドは以下の核酸配列を有する：

- 5 ' T C G T C G T T T T T C G G T G C T T T T 3 ' (配列番号 3)、または
- 5 ' T C G T C G T T T T T C G G T C G T T T T 3 ' (配列番号 4)、または
- 5 ' T C G T C G T T T T G T C G T T T T G T C G T T 3 ' (配列番号 5)、または
- 5 ' T C G T C G T T T C G T C G T T T T G T C G T T 3 ' (配列番号 6)、または
- 5 ' T C G T C G T T T T G T C G T T T T T T T C G A 3 ' (配列番号 7)。

10

【 0 8 7 7 】

これらの配列のうちの任意のものにおいて、すべての連結は、すべてホスホロチオエート結合であり得る。別の実施形態では、これらの配列のうちの任意のものにおいて、連結のうちの 1 つまたは複数はリン酸ジエステルであってよく、好ましくは C p G モチーフの「 C 」と「 G 」の間であり、セミソフトな C p G オリゴヌクレオチドが作製される。これらの配列のうちの任意のものにおいて、エチルウリジンまたはハロゲンで 5 ' T を置換し得る。ハロゲン置換の例としては、それだけには限定されないが、プロモウリジンまたはヨードウリジン置換が挙げられる。

20

【 0 8 7 8 】

B クラスオリゴヌクレオチドの一部の非限定的な例としては、

- 5 ' T * C * G * T * C * G * T * T * T * T * T * C * G * G * T * G * C * T * T * T * T * 3 ' (配列番号 8)、または
- 5 ' T * C * G * T * C * G * T * T * T * T * T * T * C * G * G * T * C * G * T * T * T * T * 3 ' (配列番号 9)、または
- 5 ' T * C * G * T * C * G * T * T * T * T * T * G * T * C * G * T * T * T * T * T * G * T * C * G * T * T * 3 ' (配列番号 1 0)、または
- 5 ' T * C * G * T * C * G * T * T * T * T * C * G * T * C * G * T * T * T * T * T * G * T * C * G * T * T * 3 ' (配列番号 1 1)、または
- 5 ' T * C * G * T * C * G * T * T * T * T * T * G * T * C * G * T * T * T * T * T * T * T * T * 3 ' (配列番号 1 2)

30

[式中、「 * 」はホスホロチオエート結合を指す] が挙げられる。

【 0 8 7 9 】

本発明の一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、 C クラス C p G オリゴヌクレオチドを含む。一実施形態では、本発明の「 C クラス」 C p G オリゴヌクレオチドは以下の核酸配列を有する：

- 5 ' T C G C G T C G T T C G G C G C G C G C C G 3 ' (配列番号 1 3)、または
- 5 ' T C G T C G A C G T T C G G C G C G C G C C G 3 ' (配列番号 1 4)、または
- 5 ' T C G G A C G T T C G G C G C G C G C C G 3 ' (配列番号 1 5)、または
- 5 ' T C G G A C G T T C G G C G C G C C G 3 ' (配列番号 1 6)、または
- 5 ' T C G C G T C G T T C G G C G C G C C G 3 ' (配列番号 1 7)、または
- 5 ' T C G A C G T T C G G C G C G C C G 3 ' (配列番号 1 8)、または
- 5 ' T C G A C G T T C G G C G C G C C G 3 ' (配列番号 1 9)、または
- 5 ' T C G C G T C G T T C G G C G C C G 3 ' (配列番号 2 0)、または
- 5 ' T C G C G A C G T T C G G C G C G C C G 3 ' (配列番号 2 1)、または
- 5 ' T C G T C G T T T T C G G C G C G C C G 3 ' (配列番号 2 2)、または
- 5 ' T C G T C G T T T T C G G C G G C C G C C G 3 ' (配列番号 2 3)、または
- 5 ' T C G T C G T T T T A C G G C G C C G T G C C G 3 ' (配列番号 2 4)、または
- 5 ' T C G T C G T T T T C G G C G C G C C G T 3 ' (配列番号 2 5)。

40

【 0 8 8 0 】

50

これらの配列のうちの任意のものにおいて、すべての連結は、すべてホスホロチオエート結合であり得る。別の実施形態では、これらの配列のうちの任意のものにおいて、連結のうちの1つまたは複数はリン酸ジエステルであってよく、好ましくは CpGモチーフの「C」と「G」の間であり、セミソフトな CpG オリゴヌクレオチドが作製される。

【0881】

Cクラスオリゴヌクレオチドの一部の非限定的な例としては、

- 5' T* C _ G * C _ G * T * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C _ G * C * G * C * C * G 3' (配列番号26)、または
- 5' T* C _ G * T * C _ G * A * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C _ G * C * G * C * C * G 3' (配列番号27)、または
- 5' T* C _ G * G * A * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C _ G * C * G * C * C * G 3' (配列番号28)、または
- 5' T* C _ G * G * A * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C * G * C * C * G 3' (配列番号29)、または
- 5' T* C _ G * C _ G * T * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C * G * C * C * G 3' (配列番号30)、または
- 5' T* C _ G * A * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C _ G * C * G * C * C * G 3' (配列番号31)、または
- 5' T* C _ G * A * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C * G * C * C * G 3' (配列番号32)、または
- 5' T* C _ G * C _ G * T * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C * C * G 3' (配列番号33)、または
- 5' T* C _ G * C _ G * A * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C _ G * C * G * C * C * G 3' (配列番号34)、または
- 5' T* C * G * T * C * G * T * T * T * T * C * G * G * C * G * C * G * C * G * C * C * G 3' (配列番号35)、または
- 5' T* C * G * T * C * G * T * T * T * T * C * G * G * C * G * G * C * C * G * C * C * G 3' (配列番号36)、または
- 5' T* C * G * T * C _ G * T * T * T * T * A * C _ G * G * C * G * C * C _ G * T * G * C * C * G 3' (配列番号37)、または
- 5' T* C _ G * T * C * G * T * T * T * T * C * G * G * C * G * C * G * C * G * C * C * G * T 3' (配列番号38)

[式中、「*」はホスホロチオエート結合を指し、「_」はリン酸ジエステル結合を指す]が挙げられる。

【0882】

これらの配列のうちの任意のものにおいて、エチルウリジンまたはハロゲンで5' Tを置換し得る。ハロゲン置換の例としては、それだけには限定されないが、プロモウリジンまたはヨードウリジン置換が挙げられる。

【0883】

本発明の一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、PクラスCpGオリゴヌクレオチドを含む。一実施形態では、本発明において使用するためのCpGオリゴヌクレオチドは、5' TLR活性化ドメインと少なくとも2つの回文構造領域とを含有するPクラスCpGオリゴヌクレオチドであり、ここで、1つの回文構造領域は、少なくとも6個のヌクレオチドの長さの5'回文構造領域であり、直接またはスパーサーを通じて少なくとも8個のヌクレオチドの長さの3'回文構造領域と接続されており、オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのYpRジヌクレオチドを含む。一実施形態では、前記オリゴヌクレオチドは、T* C _ G * T * C _ G * A * C _ G * T * T * C _ G * G * C * G * C _ G * C * G * C * C * G (配列番号27)ではない。一実施形態では、PクラスCpGオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの非メチル化CpGジヌクレオチドを含む。別の

10
20
30
40
50

実施形態では、TLR活性化ドメインは、TCG、TTCG、TTTCG、TYpR、TTYpR、TTTTYpR、UCG、UUCG、UUUCG、TTT、またはTTTTである。さらに別の実施形態では、TLR活性化ドメインは5'回文構造領域内である。別の実施形態では、TLR活性化ドメインは、5'回文構造領域のすぐ5'側である。

【0884】

一実施形態では、本発明の「Pクラス」CpGオリゴヌクレオチドは以下の核酸配列を有する：5' TCGTCGACGATCGGCGCGCCG 3' (配列番号39)。

【0885】

前記配列中において、すべての連結は、すべてホスホロチオエート結合であり得る。別の実施形態では、連結のうちの一つまたは複数はリン酸ジエステルであってよく、好ましくは

10

CpGモチーフの「C」と「G」の間であり、セミソフトなCpGオリゴヌクレオチドが作製される。これらの配列のうち任意のものにおいて、エチルウリジンまたはハロゲンで5'Tを置換し得る。ハロゲン置換の例としては、それだけには限定されないが、プロモウリジンまたはヨードウリジン置換が挙げられる。

【0886】

Pクラスオリゴヌクレオチドの非限定的な例としては、

5' T* C__G* T* C__G* A* C__G* A* T* C__G* G* C* G* C__G* C* G* C* G* 3' (配列番号40)

[式中、「*」はホスホロチオエート結合を指し、「__」はリン酸ジエステル結合を指す]が挙げられる。

20

【0887】

一実施形態では、オリゴヌクレオチドは少なくとも一つのホスホロチオエート連結を含む。別の実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオチド間連結はホスホロチオエート連結である。別の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも一つのリン酸ジエステル様連結を含む。別の実施形態では、リン酸ジエステル様連結はリン酸ジエステル連結である。別の実施形態では、親油性基は、オリゴヌクレオチドとコンジュゲートしている。一実施形態では、親油性基はコレステロールである。

【0888】

一実施形態では、本明細書中に開示するCpGオリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオチド間連結は、リン酸ジエステル結合である(WO2007/026190号に記載の「ソフト」なオリゴヌクレオチド)。別の実施形態では、本発明のCpGオリゴヌクレオチドは、分解に対して耐性が与えられている(たとえば安定化されている)。「安定化されたオリゴヌクレオチド」とは、in vivo分解(たとえばエクソ-またはエンド-ヌクレアーゼを介するもの)に対して比較的耐性であるオリゴヌクレオチドをいう。核酸の安定化は、主鎖の修飾を介して達成することができる。ホスホロチオエート連結を有するオリゴヌクレオチドが最大の活性を提供し、オリゴヌクレオチドを細胞内エクソ-およびエンド-ヌクレアーゼによる分解から保護する。

30

【0889】

免疫賦活性オリゴヌクレオチドは、リン酸ジエステルおよびホスホロチオエート連結の組合せを有するキメラ主鎖を有し得る。本発明の目的のために、キメラ主鎖とは、部分的に安定化された主鎖をいい、少なくとも一つのヌクレオチド間連結はリン酸ジエステルまたはリン酸ジエステル様であり、少なくとも一つの他のヌクレオチド間連結は安定化されたヌクレオチド間連結であり、少なくとも一つのリン酸ジエステルまたはリン酸ジエステル様連結と少なくとも一つの安定化された連結とは異なる。リン酸ジエステル連結がCpGモチーフ内に優先的に位置する場合、そのような分子は、WO2007/026190号に記載のように「セミソフト」と呼ばれる。

40

【0890】

他の修飾オリゴヌクレオチドとしては、リン酸ジエステル、ホスホロチオエート、メチルホスホネート、メチルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、および/またはp

50

- エトキシ連結の組合せが挙げられる。

【0891】

混合主鎖修飾ODNは、WO2007/026190号に記載のように合成し得る。

【0892】

CpGオリゴヌクレオチドの大きさ(すなわち、オリゴヌクレオチドの長さに沿ったヌクレオチド残基の数)はまた、オリゴヌクレオチドの刺激性活性にも寄与し得る。細胞内への取り込みを容易にするために、本発明のCpGオリゴヌクレオチドは、好ましくは、6個のヌクレオチド残基の最小長である。より大きなオリゴヌクレオチドは細胞内で分解されるため、十分な免疫賦活性モチーフが存在する場合は、6個ヌクレオチドより大きい任意の大きさ(多数kbの長さでさえ)のオリゴヌクレオチドが、免疫応答を誘導することができる。ある特定の実施形態では、CpGオリゴヌクレオチドは、6~100個のヌクレオチドの長さ、優先的には8~30個のヌクレオチドの長さである。重要な実施形態では、本発明の核酸およびオリゴヌクレオチドはプラスミドまたは発現ベクターではない。

10

【0893】

一実施形態では、本明細書中に開示したCpGオリゴヌクレオチドは、WO2007/026190号の段落134~147に記載されているように、塩基および/または糖など中に置換または修飾を含む。

【0894】

一実施形態では、本発明のCpGオリゴヌクレオチドは化学修飾されている。化学修飾の例は当業者に知られており、たとえば、Uhlmannら(1990)Chem. Rev., 90:543、S. Agrawal編、Humana Press、米国Totowa、1993、Crookeら(1996)Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 36:107~129、およびHunzikerら(1995)Mod. Synth. Methods、7:331~417中に記載されている。本発明によるオリゴヌクレオチドは1つまたは複数の修飾を有してよく、それぞれの修飾は、特定のリン酸ジエステルヌクレオシド間橋、および/または特定の-D-リボース単位、および/または天然のDNAもしくはRNAから構成される同じ配列のオリゴヌクレオチドと比較して特定の天然ヌクレオシド塩基位置に位置する。

20

【0895】

本発明の一部の実施形態では、CpG含有核酸は、当業者に知られている方法に従って、免疫原性担体と単純に混合し得る(たとえばWO03/024480号を参照)。

30

【0896】

本発明の特定の実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物のうちの任意のものは、2μg~100mgのCpGオリゴヌクレオチドを含む。本発明の特定の実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、0.1mg~50mgのCpGオリゴヌクレオチド、好ましくは0.2mg~10mgのCpGオリゴヌクレオチド、より好ましくは0.3mg~5mgのCpGオリゴヌクレオチドを含む。本発明の特定の実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、0.3mg~5mgのCpGオリゴヌクレオチドを含む。さらに好ましくは、本発明の免疫原性組成物は、0.5~2mgのCpGオリゴヌクレオチドを含み得る。最も好ましくは、本発明の免疫原性組成物は、0.75~1.5mgのCpGオリゴヌクレオチドを含み得る。好ましい実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物のうちの任意のものは、約1mgのCpGオリゴヌクレオチドを含み得る。

40

【0897】

3 配合物

本発明の免疫原性組成物は、液体形態(すなわち溶液もしくは懸濁液)または凍結乾燥形態で配合し得る。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は液体形態で配合する。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は凍結乾燥形態で配合する。液体配合物は、そのパッケージングされた形態から直接投与してよく、したがって、そうでなければ本発明の凍結乾燥組成物が必要である、水性媒体中での復元を必要しない注射に理想的である。

50

【 0 8 9 8 】

本開示の免疫原性組成物の配合物は、当分野で理解されている方法を使用して達成することができる。たとえば、個々の多糖および/またはコンジュゲートを、生理的に許容されるビヒクルを用いて配合して、組成物を調製することができる。そのようなビヒクルの例としては、それだけには限定されないが、水、緩衝生理食塩水、ポリオール（たとえば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール）、およびデキストロス溶液が挙げられる。

【 0 8 9 9 】

本開示は、本明細書中に開示した複合糖質と薬学的に許容できる賦形剤、担体、または希釈剤との組合せのうちの任意の物を含む免疫原性組成物を提供する。

10

【 0 9 0 0 】

一実施形態では、本開示の免疫原性組成物は、液体形態、好ましくは水性液体形態である。

【 0 9 0 1 】

本開示の免疫原性組成物は、緩衝液、塩、二価陽イオン、非イオン性洗剤、糖などの凍結保護剤、およびフリーラジカル捕捉剤もしくはキレート化剤などの抗酸化剤、またはその任意の複数の組合せのうちの、1つまたは複数を含み得る。

【 0 9 0 2 】

一実施形態では、本開示の免疫原性組成物は緩衝液を含む。一実施形態では、前記緩衝液は約 3.5 ~ 約 7.5 の pKa を有する。一部の実施形態では、緩衝液は、リン酸、コハク酸、ヒスチジン、またはクエン酸緩衝液である。一部の実施形態では、緩衝液はコハク酸緩衝液である。一部の実施形態では、緩衝液はヒスチジンである。ある特定の実施形態では、緩衝液は、1 mM ~ 10 mM の最終濃度のコハク酸緩衝液である。特定の一実施形態では、コハク酸緩衝液の最終濃度は約 5 mM である。

20

【 0 9 0 3 】

一実施形態では、本開示の免疫原性組成物は塩を含む。一部の実施形態では、塩は、塩化マグネシウム、塩化カリウム、塩化ナトリウム、およびその組合せからなる群から選択される。特定の一定実施形態では、塩は塩化ナトリウムである。特定の一定実施形態では、本発明の免疫原性組成物は塩化ナトリウムを 150 mM で含む。

【 0 9 0 4 】

一実施形態では、本開示の免疫原性組成物は界面活性剤を含む。一実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート 20 (TWEEN (商標) 20)、ポリソルベート 40 (TWEEN (商標) 40)、ポリソルベート 60 (TWEEN (商標) 60)、ポリソルベート 65 (TWEEN (商標) 65)、ポリソルベート 80 (TWEEN (商標) 80)、ポリソルベート 85 (TWEEN (商標) 85)、TRITON (商標) N-101、TRITON (商標) X-100、オクトキシノール 40、ノノキシノール-9、トリエタノールアミン、オレイン酸トリエタノールアミンポリペプチド、ポリオキシエチレン-660 ヒドロキシステアレート (PEG-15, Solutol H15)、ポリオキシエチレン-35-リシノレート (CREMOPHOR (登録商標) EL)、ダイズレシチン、およびポロキサマーからなる群から選択される。特定の一定実施形態では、界面活性剤はポリソルベート 80 である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 80 の最終濃度は、少なくとも 0.0001% ~ 10% のポリソルベート 80 の重量対重量 (w/w) である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 80 の最終濃度は、少なくとも 0.001% ~ 1% のポリソルベート 80 の重量対重量 (w/w) である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 80 の最終濃度は、少なくとも 0.01% ~ 1% のポリソルベート 80 の重量対重量 (w/w) である。他の実施形態では、配合物中のポリソルベート 80 の最終濃度は、0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、または 0.1% のポリソルベート 80 (w/w) である。別の実施形態では、配合物中のポリソルベート 80 の最終濃度は、0.02% のポリソルベート 80 (w/w) である。別の実施形態

30

40

50

特定の一実施形態では、界面活性剤はポリソルベート 65 である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 65 の最終濃度は、少なくとも 0.0001% ~ 10% のポリソルベート 65

重量対重量 (w/w) である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 65 の最終濃度は、少なくとも 0.001% ~ 1% のポリソルベート 65 重量対重量 (w/w) である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 65 の最終濃度は、少なくとも 0.01% ~ 1% のポリソルベート 65

重量対重量 (w/w) である。他の実施形態では、配合物中のポリソルベート 65 の最終濃度は、0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、または 0.1% のポリソルベート 65

10

(w/w) である。別の実施形態では、配合物中のポリソルベート 65 の最終濃度は、1% のポリソルベート 65 (w/w) である。

【0909】

特定の一実施形態では、界面活性剤はポリソルベート 85 である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 85 の最終濃度は、少なくとも 0.0001% ~ 10% のポリソルベート 85

重量対重量 (w/w) である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 85 の最終濃度は、少なくとも 0.001% ~ 1% のポリソルベート 85 重量対重量 (w/w) である。一部の前記実施形態では、配合物中のポリソルベート 85 の最終濃度は、少なくとも 0.01% ~ 1% のポリソルベート 85

20

重量対重量 (w/w) である。他の実施形態では、配合物中のポリソルベート 85 の最終濃度は、0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、または 0.1% のポリソルベート 85

(w/w) である。別の実施形態では、配合物中のポリソルベート 85 の最終濃度は、1% のポリソルベート 85 (w/w) である。

【0910】

ある特定の実施形態では、本開示の免疫原性組成物は、5.5 ~ 7.5 の pH、より好ましくは 5.6 ~ 7.0 pH、さらにより好ましくは 5.8 ~ 6.0 の pH を有する。

【0911】

一実施形態では、本開示は、本明細書中に開示した免疫原性組成物のうちの任意のものを満たした容器を提供する。一実施形態では、容器は、バイアル、シリンジ、フラスコ、発酵槽、バイオリアクター、バッグ、ジャー、アンプル、カートリッジ、および使い捨て

30

のペンからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、容器はシリコン処理されている。

【0912】

一実施形態では、本開示の容器は、ガラス、金属（たとえば、鋼、ステンレス鋼、アルミニウムなど）および/またはポリマー（たとえば、熱可塑性樹脂、エラストマー、熱可塑性エラストマー）から作製される。一実施形態では、本開示の容器はガラスから作製される。

40

【0913】

一実施形態では、本開示は、本明細書中に開示した免疫原性組成物のうちの任意のものを満たしたシリンジを提供する。ある特定の実施形態では、シリンジは、シリコン処理されている、および/またはガラスから作製されている。

【0914】

注射のための本発明の免疫原性組成物の典型的な用量は、0.1 mL ~ 2 mL の体積を有する。一実施形態では、注射用の本発明の免疫原性組成物は、0.2 mL ~ 1 mL の体積、さらにより好ましくは約 0.5 mL の体積を有する。

【0915】

4 本発明の複合糖質および免疫原性組成物の使用

50

本明細書中に開示した複合糖質は、抗原として使用し得る。たとえば、これらはワクチンの一部であり得る。

【0916】

したがって、一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、医薬品として使用するためのものである。

【0917】

一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、ワクチンとして使用するためのものである。

【0918】

したがって、一実施形態では、本明細書中に記載の免疫原性組成物は、対象において免疫応答を生じるさせることに使用するためのものである。一態様では、対象は、ヒト、非ヒト霊長類、ネコ、ヒツジ、ブタ、ウマ、ウシ、またはイヌなどの哺乳動物である。一態様では、対象はヒトである。

10

【0919】

本明細書中に記載の免疫原性組成物は、対象において細菌性の感染症、疾患、または状態を防止する、処置する、または軽快させるための、治療的または予防的方法において使用し得る。特に、本明細書中に記載の免疫原性組成物は、対象において肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3の感染症、疾患、または状態を防止する、処置する、または軽快させるために使用し得る。

【0920】

したがって、一態様では、本開示は、対象において肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3に関連する感染症、疾患、または状態を防止する、処置する、または軽快させる方法であって、対象に、免疫学的に有効な量の本開示の免疫原性組成物を投与することを含む方法を提供する。

20

【0921】

一部のそのような実施形態では、感染症、疾患、または状態は、肺炎、副鼻腔炎、中耳炎、急性中耳炎、髄膜炎、菌血症、敗血症、胸腔蓄膿、結膜炎、骨髄炎、敗血症性関節炎、心内膜炎、腹膜炎、心膜炎、乳様突起炎、蜂窩織炎、軟組織感染症、および脳膿瘍からなる群から選択される。

【0922】

一実施形態では、本開示は、対象において肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3に対する免疫応答を誘導する方法であって、対象に、免疫学的に有効な量の本発明の免疫原性組成物を投与することを含む方法を提供する。一態様では、対象は、ヒト、ネコ、ヒツジ、ブタ、ウマ、ウシ、またはイヌなどの哺乳動物である。一態様では、対象はヒトである。

30

【0923】

一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、ワクチンとして使用するためのものである。そのような実施形態では、本明細書中に記載の免疫原性組成物は、対象において肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3感染症を防止するために使用し得る。したがって、一態様では、本発明は、対象において肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3による感染症を防止する方法であって、対象に、免疫学的に有効な量の本開示の免疫原性組成物を投与することを含む方法を提供する。一部のそのような実施形態では、感染症は、肺炎、副鼻腔炎、中耳炎、急性中耳炎、髄膜炎、菌血症、敗血症、胸腔蓄膿、結膜炎、骨髄炎、敗血症性関節炎、心内膜炎、腹膜炎、心膜炎、乳様突起炎、蜂窩織炎、軟組織感染症、および脳膿瘍からなる群から選択される。一態様では、対象は、ヒト、ネコ、ヒツジ、ブタ、ウマ、ウシ、またはイヌなどの哺乳動物である。一態様では、対象はヒトである。

40

【0924】

本開示の免疫原性組成物は、全身性または粘膜の経路を介して免疫原性組成物を投与することによって、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型3感染症に対して感

50

受性のあるヒトを保護または処置するために使用することができる。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、筋肉内、腹腔内、皮内、または皮下の経路によって投与する。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、筋肉内、腹腔内、皮内、または皮下の注射によって投与する。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は、筋肉内または皮下の注射によって投与する。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は筋肉内注射によって投与する。一実施形態では、本発明の免疫原性組成物は皮下注射によって投与する。

【0925】

5 本発明の免疫原性組成物で処置する対象

本明細書中に開示するように、本明細書中に記載の免疫原性組成物は、対象において細菌性の感染症、疾患、または状態を防止する、処置する、または軽快させるための、様々な治療的または予防的方法において使用し得る。

10

【0926】

好ましい実施形態では、前記対象はヒトである。最も好ましい実施形態では、前記対象は、新生児（すなわち3カ月齢未満）、乳児（すなわち3カ月～1歳）、または幼児（すなわち1歳～4歳）である。

【0927】

一実施形態では、本明細書中に開示した免疫原性組成物は、ワクチンとして使用するためのものである。

【0928】

そのような実施形態では、ワクチン接種する対象は1歳未満であり得る。たとえば、ワクチン接種する対象は、約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、または約12カ月齢あり得る。一実施形態では、ワクチン接種する対象は、約2、約4、または約6カ月齢である。別の実施形態では、ワクチン接種する対象は2歳未満である。たとえば、ワクチン接種する対象は、約12～約15カ月齢あり得る。一部の事例では、1回用量と少ない本発明による免疫原性組成物のみが必要であるが、一部の状況下では、2回目、3回目、または4回目の用量を与え得る（以下のセクション8を参照）。

20

【0929】

本発明の一実施形態では、ワクチン接種する対象は、50歳以上の成人、より好ましくは55歳以上の成人である。一実施形態では、ワクチン接種する対象は、65歳以上、70歳以上、75歳以上、または80歳以上の成人である。

30

【0930】

一実施形態では、ワクチン接種する対象は免疫無防備状態の個体、特にヒトである。免疫無防備状態の個体は、一般に、感染性因子によるチャレンジに対して、正常な液性または細胞性の防御を開始する能力の減弱または低下を示すヒトとして、定義される。

【0931】

本発明の一実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は、免疫系を損なわせ、肺炎球菌疾患に対して保護するまたはそれを処置するためには不十分な抗体応答をもたらす、疾患または状態を患っている。

【0932】

一実施形態では、前記疾患は原発性免疫不全障害である。好ましくは、前記原発性免疫不全障害は、混合TおよびB細胞免疫不全、抗体欠損、明確に定義された症候群、免疫調節不全疾患、食細胞障害、先天性免疫不全、自己炎症性障害、および補体欠損病からなる群から選択される。一実施形態では、前記原発性免疫不全障害は、WO2010/125480号のページ24、11行目からページ25、19行目に開示されているものから選択される。

40

【0933】

本発明の特定の実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は、HIV感染症、後天性免疫不全症候群（AIDS）、癌、慢性心臓または肺障害、鬱血性心不全、真性糖尿病、慢性肝疾患、アルコール依存症、硬変、髄液漏、心筋症、慢性気管支炎、気腫

50

、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、脾臓機能不全（鎌状赤血球病など）、脾臓機能欠如（無脾症）、血液悪性腫瘍、白血病、多発性骨髄腫、ホジキン病、リンパ腫、腎不全、ネフローゼ症候群、および喘息からなる群から選択される疾患を患っている。

【0934】

本発明の一実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は栄養失調を患っている。

【0935】

本発明の特定の実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は、感染症に対する身体の耐性を低下させる薬物または処置を受けている。一実施形態では、前記薬物は、WO2010/125480号の26ページ、33行目から26ページ、4行目に開示されているものから選択される。

10

【0936】

本発明の特定の実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は喫煙者である。

【0937】

本発明の特定の実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は、 5×10^9 個未満の細胞/リットル、または 4×10^9 個未満の細胞/リットル、または 3×10^9 個未満の細胞/リットル、または 2×10^9 個未満の細胞/リットル、または 1×10^9 個未満の細胞/リットル、または 0.5×10^9 個未満の細胞/リットル、または 0.3×10^9 個未満の細胞/リットル、または 0.1×10^9 個未満の細胞/リットルの白血球数（白血球計数）を有する。

20

【0938】

白血球数（白血球計数）：血液中の白血球（WBC）の数。WBCは通常、CBC（全血球数）の一部として測定される。白血球は、血液中の感染と闘う細胞であり、赤血球として知られる赤い（酸素を運ぶ）血液細胞とは明確に異なる。様々な種類の白血球が存在し、好中球（多形核白血球、PMN）、桿状核細胞（わずかに未成熟の好中球）、T型リンパ球（T細胞）、B型リンパ球（B細胞）、単球、好酸球、および好塩基球が含まれる。すべての種類の白血球が白血球数中に反映される。白血球数の正常範囲は、通常は $4,300 \sim 10,800$ 個の細胞/立方ミリメートルの血液である。これは白血球計数とも呼ぶことができ、国際単位で $4.3 \sim 10.8 \times 10^9$ 個の細胞/リットルとして表すことができる。

30

【0939】

本発明の特定の実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は、好中球減少症を患っている。本発明の特定の実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は、 2×10^9 個未満の細胞/リットル、または 1×10^9 個未満の細胞/リットル、または 0.5×10^9 個未満の細胞/リットル、または 0.1×10^9 個未満の細胞/リットル、または 0.05×10^9 個未満の細胞/リットルの好中球計数を有する。

【0940】

低い白血球数または「好中球減少症」は、循環血液中の異常に低いレベルの好中球によって特徴づけられる状態である。好中球は、感染症を防止してそれと闘うのを助ける、特定の種類の白血球である。癌患者が好中球減少症を経験する最も一般的な理由は、化学療法の副作用としてである。化学療法誘導性好中球減少症は患者の感染症のリスクを増加させ、癌の処置を乱す。

40

【0941】

本発明の特定の実施形態では、ワクチン接種する免疫無防備状態の対象は、 $500 / \text{mm}^3$ 未満のCD4+細胞計数、または $300 / \text{mm}^3$ 未満のCD4+細胞計数、または $200 / \text{mm}^3$ 未満のCD4+細胞計数、 $100 / \text{mm}^3$ 未満のCD4+細胞計数、 $75 / \text{mm}^3$ 未満のCD4+細胞計数、または $50 / \text{mm}^3$ 未満のCD4+細胞計数を有する。

【0942】

CD4細胞試験は、通常、細胞の数として mm^3 で報告される。正常なCD4計数は5

50

00~1, 600であり、CD8計数は375~1, 100である。CD4計数は、HIVを有するヒトにおいて劇的に下落する。

【0943】

本発明の一実施形態では、本明細書中に開示する免疫無防備状態の対象のうちの任意のものは、男性のヒトまたは女性のヒトである。

【0944】

6 レジメン

一部の事例では、1回用量と少ない本発明による免疫原性組成物のみが必要であるが、より高い免疫不全の状態などの一部の状況下では、2回目、3回目、または4回目の用量を与え得る。初回ワクチン接種の後、対象は、十分に間隔を空けた1回または数回のブースター免疫化を受けることができる。

10

【0945】

一実施形態では、本発明による免疫原性組成物のワクチン接種のスケジュールは単一用量である。特定の実施形態では、前記単一用量スケジュールは、少なくとも2歳の健康なヒトのためのものである。

【0946】

一実施形態では、本発明による免疫原性組成物のワクチン接種のスケジュールは複数用量スケジュールである。特定の実施形態では、前記複数用量スケジュールは、約1カ月~約2カ月の間隔によって隔てられた2回の一連の用量からなる。特定の実施形態では、前記複数用量スケジュールは、約1カ月の間隔によって隔てられた2回の一連の用量、または2カ月の間隔によって隔てられた2回の一連の用量からなる。

20

【0947】

別の実施形態では、前記複数用量スケジュールは、約1カ月~約2カ月の間隔によって隔てられた3回の一連の用量からなる。別の実施形態では、前記複数用量スケジュールは、約1カ月の間隔によって隔てられた3回の一連の用量、または約2カ月の間隔によって隔てられた3回の一連の用量からなる。

【0948】

別の実施形態では、前記複数用量スケジュールは、約1カ月~約2カ月の間隔によって隔てられた3回の一連の用量、続いて、最初の用量の約10カ月~約13カ月後の4回目の用量からなる。別の実施形態では、前記複数用量スケジュールは、約1カ月の間隔によって隔てられた3回の一連の用量、続いて、最初の用量の約10カ月~約13カ月後の4回目の用量、または約2カ月の間隔によって隔てられた3回の一連の用量、続いて、最初の用量の約10カ月~約13カ月後の4回目の用量からなる。

30

【0949】

一実施形態では、複数用量スケジュールは、1歳までの少なくとも1回の用量（たとえば、1、2、または3回の用量）、続いて少なくとも1回の幼児用量からなる。

【0950】

一実施形態では、複数用量スケジュールは、2カ月齢に開始する、約1カ月~約2カ月の間隔によって隔てられた（たとえば用量間が28~56日の）2回または3回の一連の用量、続いて、12~18カ月齢での幼児用量からなる。一実施形態では、前記複数用量スケジュールは、2カ月齢に開始する、約1カ月~約2カ月の間隔によって隔てられた（たとえば用量間が28~56日の）3回の一連の用量、続いて、12~15カ月齢での幼児用量からなる。別の実施形態では、前記複数用量スケジュールは、2カ月齢に開始する、約2カ月の間隔によって隔てられた2回の一連の用量、続いて、12~18カ月齢での幼児用量からなる。

40

【0951】

一実施形態では、複数用量スケジュールは、2、4、6、および12~15カ月齢でのワクチンの4回の一連の用量からなる。

【0952】

一実施形態では、プライミング用量を0日目に与え、1つまたは複数のブーストを、約

50

2 ~ 約 2 4 週間の範囲の間隔、好ましくは 4 ~ 8 週間の投薬間隔で与える。

【 0 9 5 3 】

一実施形態では、プライミング用量を 0 日目に与え、ブーストを約 3 カ月後に与える。

【 0 9 5 4 】

7 . 本発明はまた、以下の付番した段落 1 ~ 8 4 中に定義する以下の実施形態も提供する
1 .

(a) 非プロトン溶媒中で、単離した肺炎連鎖球菌 (*S t r e p t o c o c c u s p n e u m o n i a e*) 血清型 3 莢膜多糖を炭酸誘導体およびアジドリンカーと反応させて、活性化アジド多糖を生成するステップと、

(b) 担体タンパク質を、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する薬剤と反応させるステップであって、N H S 部分がアミノ基と反応してアミド結合を形成し、それによってアルキン官能化担体タンパク質が得られるステップと、

(c) $C u^{+1}$ 媒介性アジド - アルキン付加環化反応によって、ステップ (a) の活性化アジド多糖をステップ (b) の活性化アルキン担体タンパク質と反応させて、複合糖質を形成するステップと

を含む、肺炎連鎖球菌 (*S t r e p t o c o c c u s p n e u m o n i a e*) 血清型 3 複合糖質を作製する方法。

【 0 9 5 5 】

2 . 単離した多糖を活性化ステップ (a) の前にサイジングする、段落 1 に記載の方法

【 0 9 5 6 】

3 . 単離した血清型 3 莢膜多糖を重量平均分子量 1 0 0 k D a ~ 2 0 0 k D a までサイジングする、段落 2 に記載の方法。

【 0 9 5 7 】

4 . 前記炭酸誘導体が、1 , 1 ' - カルボニルジイミダゾール (C D I) 、 1 , 1 ' - カルボニル - ジ - (1 , 2 , 4 - トリアゾール) (C D T) 、炭酸ジスクシンイミジル (D S C) 、およびクロロギ酸 N - ヒドロキシスクシンイミジルからなる群から選択される、段落 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 9 5 8 】

5 . 前記炭酸誘導体が 1 , 1 ' - カルボニルジイミダゾール (C D I) である、段落 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 9 5 9 】

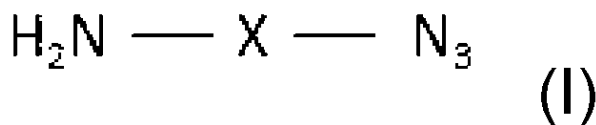
6 . 前記炭酸誘導体が 1 , 1 ' - カルボニル - ジ - (1 , 2 , 4 - トリアゾール) (C D T) である、段落 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 9 6 0 】

7 . 前記アジドリンカーが式 (I) :

【 0 9 6 1 】

【 化 9 】



[式中、X は、 $CH_2(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 、 $NHCO(CH_2)_n$ 、 $NHCO(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 、 $OCH_2(CH_2)_n$ 、および $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ からなる群から選択され、n は、1 ~ 1 0 から選択され、m は、1 ~ 4 から選択される] の化合物である、段落 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 9 6 2 】

8 . 前記アジドリンカーが式 (I I) :

【 0 9 6 3 】

【 化 1 0 】



10

の化合物である、段落 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 9 6 4 】

9 . N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分および末端アルキン基を有する薬剤である、段落 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 9 6 5 】

1 0 . N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびシクロアルキン基を有する薬剤である、段落 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

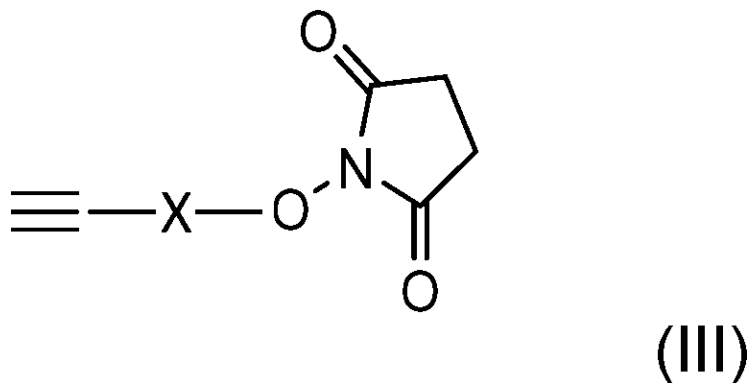
20

【 0 9 6 6 】

1 1 . N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が式 (I I I) :

【 0 9 6 7 】

【 化 1 1 】



30

[式中、X は、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ および $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ からなる群から選択され、n は、0 ~ 1 0 から選択され、m は、0 ~ 4 から選択される] の化合物である、段落 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

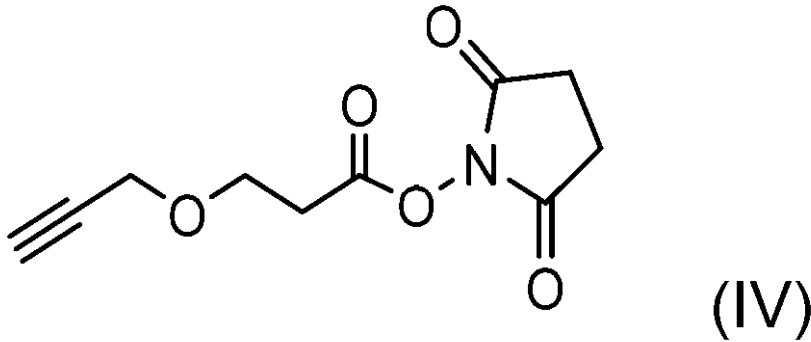
【 0 9 6 8 】

1 2 . N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) 部分およびアルキン基を有する前記薬剤が式 (I V) :

【 0 9 6 9 】

50

【化 1 2】



10

の化合物である、段落 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【0970】

13. ステップ a) が、多糖を炭酸誘導体と反応させること、続いて、非プロトン溶媒中で、炭酸誘導体で活性化させた多糖をアジドリンカーと反応させて、活性化アジド多糖を生成することを含む、段落 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【0971】

14. ステップ a) で、非プロトン溶媒中で、単離した多糖を前記炭酸誘導体と反応させる、段落 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法。

20

【0972】

15. ステップ a) で、単離した多糖を、ジメチルスルホキシド (DMSO) から本質的になる溶液中で、炭酸誘導体と反応させる、段落 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法。

【0973】

16. ステップ a) で、単離した多糖を、0.1% ~ 1% (v/v) の水を含む非プロトン溶媒中で、CDI と反応させる、段落 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

【0974】

17. ステップ a) で、単離した多糖を、0.1% ~ 1% (v/v) の水を含む DMSO 中で、CDI と反応させる、段落 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

30

【0975】

18. ステップ a) で、炭酸誘導体の活性化に、水の添加が続く、段落 1 から 17 のいずれか一項に記載の方法。

【0976】

19. 水を加えて、混合物中の全含水量を約 1% ~ 約 10% (v/v) にする、段落 18 に記載の方法。

【0977】

20. ステップ a) が、炭酸誘導体で活性化させた多糖を、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0.01 ~ 10 モル当量であるアジドリンカーの量と反応させることをさらに含む、段落 1 から 19 のいずれか一項に記載の方法。

40

【0978】

21. ステップ a) の後の活性化多糖の活性化度合が 0.5 ~ 50% である、段落 1 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

【0979】

22. ステップ b) が、担体タンパク質を、担体上のリシンに対して 0.1 ~ 10 モル当量である、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 部分およびアルキン基を有する薬剤の量と反応させることを含む、段落 1 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

【0980】

23. ステップ b) の後の活性化担体の活性化度合が 1 ~ 50 である、段落 1 から 22

50

のいずれか一項に記載の方法。

【0981】

24．コンジュゲーション反応c)を、水性緩衝液中、触媒としての銅(I)の存在下で実施する、段落1から23のいずれか一項に記載の方法。

【0982】

25．コンジュゲーション反応c)を、水性緩衝液中、酸化剤および触媒としての銅(I)の存在下で実施する、段落1から23のいずれか一項に記載の方法。

【0983】

26．コンジュゲーション反応c)を、水性緩衝液中、触媒としての銅(I)および酸化剤としてのアスコルベートの存在下で実施し、反応混合物が、THPTA(トリス(3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル)アミン)およびアミノグアニジンを含み、段落1から23のいずれか一項に記載の方法。

10

【0984】

27．ステップc)での、活性化アジド多糖対活性化アルキン担体の初期インプット比(重量対重量)が0.1~3である、段落1から26のいずれか一項に記載の方法。

【0985】

28．ステップc)の後に、コンジュゲート中に残った未反応のアジド基を、アジド基キャッピング剤でキャッピングするステップをさらに含む、段落1から27のいずれか一項に記載の方法。

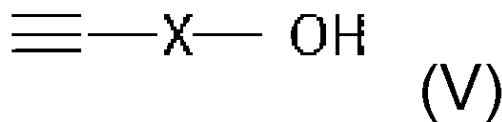
【0986】

29．前記アジド基キャッピング剤が式(V)：

20

【0987】

【化13】



30

[式中、Xは(CH₂)_nであり、nは、1~15から選択される]の化合物である、段落28に記載の方法。

【0988】

30．前記アジド基キャッピング剤がプロパルギルアルコールである、段落28に記載の方法。

【0989】

31．未反応のアジド基のキャッピングを、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して0.05~20モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う、段落28から30のいずれか一項に記載の方法。

【0990】

32．ステップc)の後に、コンジュゲート中に残った未反応のアルキン基を、アルキン基キャッピング剤でキャッピングするステップをさらに含む、段落1から31のいずれか一項に記載の方法。

40

【0991】

33．前記アルキン基キャッピング剤がアジド基を有する薬剤である、段落32に記載の方法。

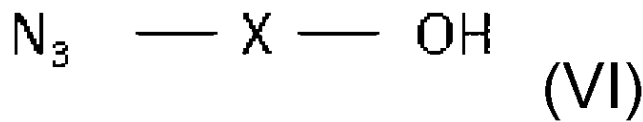
【0992】

34．前記アルキン基キャッピング剤が式(VI)：

【0993】

50

【化 1 4】



[式中、X は $(\text{CH}_2)_n$ であり、n は、1 ~ 15 から選択される] の化合物である、段落 33 に記載の方法。

10

【0994】

35 . 前記アルキン基キャッピング剤が 3 - アジド - 1 - プロパノールである、段落 32 に記載の方法。

【0995】

36 . 未反応のアルキン基のキャッピングを、活性化多糖の多糖反復単位の量に対して 0 . 05 ~ 20 モル当量であるキャッピング剤の量を用いて行う、段落 32 から 35 のいずれか一項に記載の方法。

【0996】

37 . 複合糖質が生成された後にそれを精製するステップをさらに含む、段落 1 から 36 のいずれか一項に記載の方法。

20

【0997】

38 . 段落 1 から 37 のいずれか一項に記載の方法に従って生成した肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質。

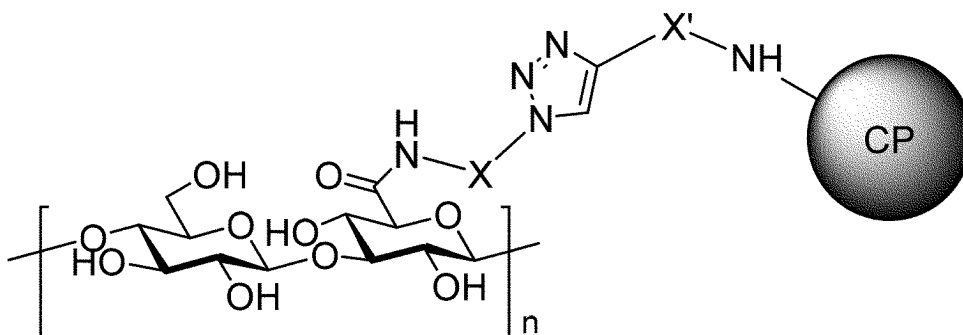
【0998】

39 . スペースーを通じて担体タンパク質 (CP) と共有的にコンジュゲートされた肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 糖を含み、一般式 (VII) :

【0999】

【化 1 5】

30



(VII)

40

[式中、X は、 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ 、 $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ 、および $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ からなる群から選択され、n' は、1 ~ 10 から選択され、m は、1 ~ 4 から選択され、

X' は、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ からなる群から選択され、n'' は、0 ~ 10 から選択され、m' は、0 ~ 4 から選択される]

を有する肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質。

50

【 1 0 0 0 】

40. スペーサーを通じて担体タンパク質 (C P) と共有的にコンジュゲートされた肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 糖を含み、一般式 (V I I) [式中、 X は $C H_2 (C H_2)_n$ であり、 n ' は 2 であり、 X ' は $C H O (C H_2)_n$ " $C H_2 C = O$ であり、 n " は 1 である] を有する肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 1 】

41. 血清型 3 莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (M w) が 1 0 k D a ~ 2 , 0 0 0 k D a である、段落 3 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 2 】

42. 血清型 3 莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (M w) が 5 0 k D a ~ 3 0 0 k D a である、段落 3 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 3 】

43. 血清型 3 莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (M w) が 7 5 k D a ~ 2 0 0 k D a である、段落 3 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 4 】

44. 血清型 3 莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (M w) が 1 0 0 k D a ~ 2 0 0 k D a である、段落 3 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 5 】

45. 血清型 3 莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (M w) が 1 2 5 k D a ~ 2 0 0 k D a である、段落 3 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 6 】

46. 血清型 3 莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (M w) が約 2 0 0 k D a である、段落 3 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 7 】

47. 血清型 3 莢膜多糖を含み、コンジュゲーション前の前記多糖の重量平均分子量 (M w) が約 1 5 0 k D a である、段落 3 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 8 】

48. 2 5 0 k D a ~ 2 0 , 0 0 0 k D a の重量平均分子量 (M w) を有する、段落 3 8 から 4 7 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 0 9 】

49. 5 0 0 k D a ~ 5 , 0 0 0 k D a の重量平均分子量 (M w) を有する、段落 3 8 から 4 7 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 1 0 】

50. 7 5 0 k D a ~ 2 , 0 0 0 k D a の重量平均分子量 (M w) を有する、段落 3 8 から 4 7 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 1 1 】

51. 1 , 0 0 0 k D a ~ 4 , 0 0 0 k D a の重量平均分子量 (M w) を有する、段落 3 8 から 4 7 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 1 2 】

52. 血清型 3 複合糖質のコンジュゲーション度合が 2 ~ 1 5 である、段落 3 8 から 5 1 のいずれか一項に記載の血清型 3 複合糖質。

【 1 0 1 3 】

10

20

30

40

50

53. 複合糖質中の血清型3多糖対担体タンパク質の比(w/w)が0.5~3.0である、段落38から52のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1014】

54. 前記血清型3複合糖質が、多糖の4個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む、段落38から52のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1015】

55. 前記血清型3複合糖質が、多糖の25個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む、段落38から52のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1016】

56. 前記血清型3複合糖質が、多糖の5~10個の糖反復単位毎に、担体タンパク質と多糖との間に少なくとも1つの共有結合を含む、段落38から52のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1017】

57. 前記担体タンパク質がCRM197である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1018】

58. 前記担体タンパク質がSCPである、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1019】

59. 前記担体タンパク質が、酵素的に不活性なSCPである、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1020】

60. 前記担体タンパク質が、GBSからの酵素的に不活性なSCP(SCPB)である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1021】

61. 前記担体タンパク質がSCP Bの断片である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1022】

62. 前記担体タンパク質が、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PAドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPの断片である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1023】

63. 前記担体タンパク質が、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記SCPの酵素的に不活性な断片が、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PAドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1024】

64. 前記担体タンパク質が、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン(PAドメイン)、および3つのフィブロネクチンIII型(Fn)ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化が、野生型配列の少なくとも1つのアミノ酸を置き換えることによって達成され、前記置換えが、D130A、H193A、N295A、およびS512Aからなる群から選択され、数字が、WO00/34487号の配列番号1の付番に従った、ペプチダーゼ中のアミノ酸残基位置を示す、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1025】

10

20

30

40

50

65. 前記担体タンパク質が、プロテアーゼドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン（PAドメイン）、および3つのフィブロネクチンIII型（Fn）ドメインを含むが、輸出シグナルのプレ配列、プロ配列、および細胞壁アンカードメインを含まない、SCPの酵素的に不活性な断片であり、前記不活性化が、野生型配列の少なくとも2つのアミノ酸を置き換えることによって達成され、前記少なくとも2つのアミノ酸の置換えが、D130AおよびS512Aであり、数字が、WO00/34487号の配列番号1の付番に従った、ペプチダーゼ中のアミノ酸残基位置を示す、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1026】

66. 前記担体タンパク質が、配列番号41と少なくとも95%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

10

【1027】

67. 前記担体タンパク質が、配列番号42と少なくとも95%の同一性を有するポリペプチドからなる、SCPの酵素的に不活性な断片である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1028】

68. 前記担体タンパク質が、配列番号41からなるSCPの酵素的に不活性な断片である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

【1029】

69. 前記担体タンパク質が、配列番号42からなるSCPの酵素的に不活性な断片である、段落38から56のいずれか一項に記載の血清型3複合糖質。

20

【1030】

70. 段落38から69のいずれか一項に記載の肺炎連鎖球菌（Streptococcus pneumoniae）血清型3複合糖質を含む免疫原性組成物。

【1031】

71. 肺炎連鎖球菌（S. pneumoniae）の様々な血清型からの1~25個の複合糖質を含む、段落70に記載の免疫原性組成物。

【1032】

72. 肺炎連鎖球菌（S. pneumoniae）の7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25個の異なる血清型からの複合糖質を含む、段落70に記載の免疫原性組成物。

30

【1033】

73. 15価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、段落70に記載の免疫原性組成物。

【1034】

74. 20価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、段落70に記載の免疫原性組成物。

【1035】

75. 肺炎連鎖球菌（S. pneumoniae）血清型4、6B、9V、14、18C、19F、および23Fからの複合糖質を含む、段落70から74のいずれか一項に記載の免疫原性組成物

40

【1036】

76. さらに肺炎連鎖球菌（S. pneumoniae）血清型1、5、および7Fからの複合糖質を含む、段落75に記載の免疫原性組成物。

【1037】

77. さらに肺炎連鎖球菌（S. pneumoniae）血清型6A、および19Aからの複合糖質を含む、段落76に記載の免疫原性組成物。

【1038】

78. さらに肺炎連鎖球菌（S. pneumoniae）血清型22F、および33F

50

からの複合糖質を含む、段落 77 に記載の免疫原性組成物。

【1039】

79. さらに肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 8、10A、11A、12F、および 15B からの複合糖質を含む、段落 78 に記載の免疫原性組成物。

【1040】

80. 肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6A、6B、7F、9V、14、18C、19A、19F、および 23F からの複合糖質をさらに含み、13 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、段落 70 に記載の免疫原性組成物。

【1041】

81. 肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6A、6B、7F、9V、14、18C、19A、19F、22F、23F、および 33F からの複合糖質をさらに含み、15 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、段落 70 に記載の免疫原性組成物。 10

【1042】

82. 肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15B、18C、19A、19F、22F、23F、および 33F からの複合糖質をさらに含み、20 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、段落 70 に記載の免疫原性組成物。

【1043】

83. 肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 1、4、5、6A、6B、7F、8、9V、10A、11A、12F、14、15A、15B、18C、19A、19F、22F、23A、23B、23F、24F、33F、および 35B からの複合糖質をさらに含み、25 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、段落 70 に記載の免疫原性組成物。 20

【1044】

84. 肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 2、7C、9N、10B、15A、16F、17F、19A、19F、20、21、22A、23A、23B、24B、24F、27、29、31、33B、34、35B、35F、および 38 からの複合糖質をさらに含み、25 価の肺炎球菌のコンジュゲート組成物である、段落 70 に記載の免疫原性組成物。 30

【1045】

本明細書中で使用する、用語「約」とは、記述した濃度範囲、タイムフレーム、分子量、温度、または pH などの、統計的に有意な値の範囲内を意味する。そのような範囲は、所定の値または範囲の一桁以内、典型的には 20% 以内、より典型的には 10% 以内、さらにより典型的には 5% 以内、または 1% 以内あり得る。場合によっては、そのような範囲は、所定の値または範囲の測定および/または決定に使用される標準方法に典型的な実験誤差以内あり得る。用語「約」によって包含される許容される変動は、研究下にある特定の系に依存し、当業者によって容易に理解することができる。本出願内で範囲が列挙されている場合はいつでも、その範囲内のすべての数字も、本開示の一実施形態として企図される。 40

【1046】

本明細書中における用語「含むこと (comprising)」、「含む (comprise)」、および「含む (comprises)」は、すべての事例において、それぞれ用語「から本質的になる (consisting essentially of)」、「から本質的になる (consist essentially of)」、「から本質的になる (consists essentially of)」、「からなる (consisting of)」、「からなる (consist of)」、および「からなる (consists of)」で置換されていてもよいことが、本発明者らによって意図される。

【1047】

そのそれぞれが本明細書中で互換性があるように使用される、「免疫原性量」、「免疫学的に有効な量」、「治療上有効な量」、「予防上有効な量」、または「用量」とは、一般に、当業者に知られている標準アッセイによって測定して、細胞性（T細胞）または液性（B細胞もしくは抗体）応答、あるいは両方の免疫応答を誘発するために十分な、抗原または免疫原性組成物の量をいう。

【1048】

本文書の範囲のうちの任意のもの内の任意の整数が、本開示の一実施形態として企図される。

【1049】

本特許明細書内に引用されるすべての参考文献または特許出願が、本明細書中に参考として組み込まれている。

【1050】

本発明を、添付の実施例中に例示する。以下の実施例は、そうでないと詳述しない限りは、当業者に周知かつルーチン的である標準技法を使用して実施する。実施例は例示的であるが、本発明を限定しない。

【実施例】

【1051】

（実施例1）

水性緩衝液中での還元的アミノ化（RAC / 水性）を使用した血清型3複合糖質の調製

1. 加水分解

活性化の前に、ネイティブ多糖を加水分解して分子量を低下させた。計算した体積の2 Mの酢酸を多糖溶液に加えて、 2.0 ± 0.2 g / Lの最終多糖濃度および0.2 Mの最終酢酸濃度を達成した。希釈した多糖溶液を 85 ± 5 まで加熱した。加水分解反応を、標的多糖Mwに応じて一定時間の間維持した。反応の終わりに、混合物を 23 ± 2 まで冷却した。

【1052】

2. 酸化

酸化反応には、1 Mの塩化マグネシウムを反応溶液に、0.10 Mの最終濃度まで加えた。その後、過ヨウ素酸を多糖溶液に加えて酸化反応を開始させた（WFI中に50 mg / mLの溶液として加えた）。過ヨウ素酸の所要のモル当量は、標的酸化度合（DO）に基づいて選択した。DOの標的範囲は 5.0 ± 3.0 であった。酸化反応時間は、 23 ± 2 で 20 ± 4 時間であった。

【1053】

3. 活性化多糖の精製

活性化多糖は、WFIに対する接線流濾過によって精製した。ダイアフィルトレーションは、100 kDaの分子量カットオフ（MWC0）を有するポリエーテルスルホン（PES）フラットシート膜を使用して行った。ダイアフィルトレーションが完了した後、活性化多糖を、（i）比色アッセイによる糖濃度、（ii）比色アッセイによるアルデヒド濃度、（iii）酸化度合、および（iv）SEC-MALLSによる分子量によって特徴づけた。精製した糖のpHを 6.3 ± 0.3 に調節した。その後、タンパク質（CRM197、TT、またはSCP）を事前に決定された比まで加えた。その後、混合物をシェル凍結させ、乾燥するまで凍結乾燥させた。

【1054】

4. コンジュゲーション反応

凍結乾燥させた活性化多糖およびタンパク質を、0.1 Mのリン酸ナトリウム緩衝剤中で復元した。復元が完了した後、1 Nの塩酸または1 Nの水酸化ナトリウムを使用して、pHを 6.5 ± 0.2 の最終pHまでに調節した。コンジュゲーション反応を開始させるために、事前に決定されたモル当量のシアノポロ水素化ナトリウムを反応混合物に加えた。コンジュゲーションは、 100 ± 10 rpmで連続的に混合しながら、 40 ± 4 時間の間、 30 ± 2 で進行させた。

10

20

30

40

50

【 1 0 5 5 】

5 . 希釈およびキャッピング反応

コンジュゲーション反応時間が完了した後、反応溶液を 23 ± 2 まで冷却し、 0.9% の NaCl 緩衝液を用いて反応体積の $0.5 \sim 1.0$ 倍まで希釈し、その後、1モル当量の水素化ホウ素ナトリウムを混合物に加えた。キャッピング反応は、 100 ± 10 rpm で連続的に混合しながら、 $3 \sim 6$ 時間の間、 23 ± 2 で進行させた。

【 1 0 5 6 】

6 . コンジュゲートの精製

希釈したコンジュゲート溶液を $5 \mu\text{m}$ のフィルターに通し、ダイアフィルトレーションは、 5 mM のシトレート / 0.9% の生理食塩水 ($\text{pH } 6.0$) を媒体として使用して行った。ダイアフィルトレーションが完了した後、コンジュゲート濃縮水を、 $0.45 \mu\text{m}$ / $0.22 \mu\text{m}$ のフィルターを通して濾過した。

【 1 0 5 7 】

(実施例 2)

ジメチルスルホキシド中での還元的アミノ化 (RAC / DMSO) を使用した血清型 3 複合糖質の調製

1 . 加水分解および酸化

多糖の加水分解、活性化、およびダイアフィルトレーションは、上記水性に基づくコンジュゲーションについて記載したものと同一様式で行った。過ヨウ素酸ナトリウムの所要のモル当量は、標的 DO に基づいて選択した。DO の標的範囲は 15.0 ± 4.0 である。酸化反応時間は、 23 ± 2 で 20 ± 4 時間である。

【 1 0 5 8 】

2 . 複合化および凍結乾燥

活性化多糖 1 グラムあたり $25 \sim 100$ グラムのスクロースの比、好ましくは活性化多糖 1 グラムあたり $40 \sim 60$ グラムのスクロースの比で、活性化多糖をスクロースと複合化した。その後、複合化した混合物を凍結乾燥させた。計算した量の担体タンパク質 (CRM_{197} 、TT、または SCP) を別々にシェル凍結し、凍結乾燥させた。

【 1 0 5 9 】

3 . コンジュゲート化およびキャッピング

凍結乾燥させた活性化多糖を無水ジメチルスルホキシド (DMSO) 中で復元し、等量の無水 DMSO を使用して担体タンパク質を復元した。

【 1 0 6 0 】

反応器中で復元した活性化多糖を復元した担体タンパク質と合わせ、続いて、しっかりと混合して透明な溶液を得た後、シアノボロ水素化ナトリウムとのコンジュゲーションを開始させた。反応溶液中の最終多糖濃度はおよそ 1 g/L であった。コンジュゲーションは、 $.5 \sim 2. \text{ M}$ 当量のシアノボロ水素化ナトリウムを反応混合物に加え、 23 ± 2 で $20 \sim 48$ 時間インキュベートすることによって、開始させた。コンジュゲーション反応は、未反応のアルデヒドをキャッピングするために 2 M 当量の水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4) を加えることによって、停止させた。このキャッピング反応は 23 ± 2 で 3 ± 1 時間続いた。

【 1 0 6 1 】

4 . 精製

$100 \sim 300 \text{ K}$ の MWCO 膜を使用した接線流濾過による精製に備えて、コンジュゲート溶液を、冷却した 5 mM のシトレート - 0.9% の生理食塩水 ($\text{pH } 6.0$) で $1:10$ に希釈した。その後、 5 mM のシトレート / 0.9% の生理食塩水 ($\text{pH } 6.0$) を媒体として使用して、ダイアフィルトレーションを行った。ダイアフィルトレーションが完了した後、ンジュゲート濃縮水を $0.22 \mu\text{m}$ のフィルターに通した。コンジュゲートを、 5 mM のシトレート / 0.9% の生理食塩水 ($\text{pH } 6$) を用いて、およそ 0.5 mg/mL の標的糖濃度までさらに希釈した。あるいは、コンジュゲートを、 $100 \sim 300 \text{ K}$ の MWCO 膜を使用した接線流濾過によって、 20 mM のヒスチジン - 0.9% の生理

10

20

30

40

50

食塩水 (pH 6.5) を使用して精製した。最終の 0.22 μm の濾過ステップを完了して、免疫原性コンジュゲートが得られた。

【1062】

【表1】

表1は、両方のコンジュゲーション(DMSO または水性緩衝液中での還元的アミノ化)を使用して得られたコンジュゲートの一部からの結果を要約する

| | RAC/DMSO タンパク質: CRM | RAC/DMSO タンパク質: TT | RAC/DMSO タンパク質: SCP | RAC/水性 タンパク質: CRM |
|------------------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|
| ポリ MW (kDa) | 166 | 199 | 199 | 140 |
| 酸化度合(DO) | 14 | 14 | 14 | 5 |
| 糖/タンパク質の比 | 0.9 | 0.9 | 1.0 | 1.0 |
| %遊離糖 | <5% | <5% | <5% | 8.5% |
| SEC-MALLS による コンジュゲート MW、kDa | 2670 | 3962 | 4760 | 1530 |

10

20

【1063】

(実施例3)

血清型3複合糖質における多糖の大きさの効果

様々な大きさの多糖を含むマウスにおける血清型3 - CRM₁₉₇コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性(OPA)力価を、標準条件下で決定した。

30

【1064】

RAC/水性(実施例1を参照)またはRAC/DMSO(実施例2を参照)のいずれかの、CRM₁₉₇とのコンジュゲーションを使用してCRM₁₉₇とコンジュゲートさせた、サイジングした血清型3多糖(約25、150、または250 kDa)を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した(表2の試験したコンジュゲートの特質を参照)。

【1065】

40

50

【表 2】

表 2. 多糖の大きさの効果を評価するための、Pn3 コンジュゲートの特質

| | RAC/ 水性 高い MW | RAC/ 水性 中程度の MW | RAC/ 水性 低い MW | RAC/ DMSO 高い MW | RAC/ DMSO 中程度の MW | RAC/ DMSO 低い MW |
|---------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| 活性化多糖 MW、kDa | 250 | 150 | 25 | 250 | 150 | 25 |
| コンジュゲート MW (kDa) | 2467 | 1278 | 1972 | 3123 | 2670 | 1790 |
| 活性化度合 | 3.9 | 10 | 7 | 14 | 14 | 13 |
| SPR 比 | 0.9 | 0.8 | 1.1 | 1 | 0.94 | 0.9 |
| 遊離糖、% | <5 | 9 | <5 | 4.5 | 7 | 13 |

MW:分子量; SPR:糖対タンパク質の比

10

【1066】

25匹の6~8週齢の雌のスイスウェブスターマウスの群を、0.01 µg/ml、0.1 µg/ml、または1 µg/mlの試験コンジュゲートを用いて、皮下経路を介して0週目に免疫化した(250 µL)。マウスを、同じ用量のコンジュゲートを用いて3週目にブーストし、その後、5週目に出血させた。それぞれのワクチン接種は、100 µg/用量のAlPO₄をアジュバントとして用いて配合した。すべての前臨床免疫原性研究は、25匹のマウス/群を使用して、OPA力価に4~5倍の相違を検出することを動力としていた。2回目のワクチン接種の2週間後(5週目、PD2)に、全血をマウスから収集し、血清を分析のために使用した。血清型特異的OPAを5週目の血清試料に対して行った。

20

【1067】

オプソニン化貪食作用活性(OPA)アッセイを使用して、肺炎連鎖球菌(*S. pneumoniae*)血清型3に特異的なネズミ血清中の機能的抗体を測定する。試験血清は、莢膜多糖特異的免疫グロブリンの、細菌をオプソニン化し、補体堆積を始動し、それによって、食細胞による細胞の貪食および死滅を容易にする能力を測定するアッセイ反応においてセットアップする。OPA力価は、試験血清を有さない対照ウェルに対して細菌計数の50%の低下をもたらす希釈率の逆数として定義される。OPA力価は、この50%の死滅カットオフを包含する2つの希釈率から内挿する。

30

【1068】

OPA手順はHuら(2005) Clin Diagn Lab Immunol、12(2):287~295中に記載の方法に基づいており、以下の改変を用いた。試験血清を2.5倍に連続希釈し、マイクロタイターアッセイプレートに加えた。生きた血清型3標的細菌株をウェルに加え、プレートを25で30分間振盪した。分化したHL-60細胞(食細胞)および仔ウサギ血清(3~4週齢、PEL-FREEZ(登録商標)、12%の最終濃度)をウェルに加え、プレートを37で45分間振盪した。反応を停止させるために、80 µLの0.9%のNaClをすべてのウェルに加え、混合し、10 µLのアリコート、200 µLの水を含有するMULTISCREEN(登録商標) HTS HVフィルタープレート(MILLIPORE(登録商標))のウェルに移した。液体を、真空下でプレートを通して濾過し、150 µLのHYSOY(登録商標)培地をそれぞれのウェルに加え、濾過した。その後、フィルタープレートを37、5%のCO₂で終夜インキュベートし、その後、Destain溶液(Bio-Rad Laboratories, Inc.、カリフォルニア州Hercules)を用いて固定した。その

40

50

後、プレートにクマシーブルーで染色し、1回脱染色した。コロニーをイメージングし、Cellular Technology Limited (CTL) (オハイオ州 Shaker Heights) IMMUNOSPOT (登録商標) 分析器で数えた。生のコロニー計数を使用して、死滅曲線をプロットし、OPA力価を計算した。

【1069】

5週目の様々な用量のOPA力価(95%の信頼区間(CI))を有する相乗平均力価(GMT))を表3に示す。結果を図3に提示する。

【1070】

【表3】

| 表3-CRM ₁₉₇ とコンジュゲートさせた、サイジングした血清型3多糖を用いたワクチン接種後のOPA力価。Rac/水性またはRAC/DMSOのいずれかを使用してCRM ₁₉₇ とコンジュゲートさせた、サイジングした(約25、150、または250 kDa)血清型3を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した。雌のスイス-ウェブスターマウス、6~8週齢、用量:0.01、0.1、および1µg/ml + AIPO ₄ 、ワクチン接種:0および3週目、瀉血5週目、読取り:OPA | | | | |
|--|---------|------|------|------|
| | | 0.01 | 0.1 | 1 |
| 250 kDa (RAC/水性) | 平均 | 49 | 663 | 1909 |
| | マウスの合計数 | 47 | 49 | 49 |
| | 非応答者の数 | 19 | 1 | 0 |
| | 非応答者の% | 40 | 2 | 0 |
| 150 kDa (RAC/水性) | 平均 | 117 | 1286 | 3679 |
| | マウスの合計数 | 44 | 49 | 49 |
| | 非応答者の数 | 6 | 0 | 0 |
| | 非応答者の% | 14 | 0 | 0 |
| 25 kDa (RAC/水性) | 平均 | 158 | 1677 | 5644 |
| | マウスの合計数 | 25 | 25 | 25 |
| | 非応答者の数 | 4 | 0 | 0 |
| | 非応答者の% | 16 | 0 | 0 |
| 250 kDa (RAC/DMSO) | 平均 | 46 | 360 | 3271 |
| | マウスの合計数 | 40 | 39 | 40 |
| | 非応答者の数 | 16 | 3 | 0 |
| | 非応答者の% | 40 | 8 | 0 |
| 150 kDa (RAC/DMSO) | 平均 | 19 | 626 | 1285 |
| | マウスの合計数 | 47 | 40 | 47 |
| | 非応答者の数 | 29 | 1 | 0 |
| | 非応答者の% | 62 | 3 | 0 |
| 25 kDa (RAC/DMSO) | 平均 | 93 | 319 | 3560 |
| | マウスの合計数 | 25 | 25 | 25 |
| | 非応答者の数 | 6 | 3 | 0 |
| | 非応答者の% | 24 | 12 | 0 |

【1071】

表3および図3のデータは、血清型3コンジュゲートが、ネズミ免疫原性モデルにおいて用量依存的なOPA力価を誘発したことを示す。表3に示すように、RAC/水性ケミストリーを用いた血清型3コンジュゲートは、すべての用量において、多糖の大きさが減少するにつれて、より高いOPA GMTを誘導した。RAC/DMSOケミストリーで

10

20

30

40

50

は、小さい多糖の大きさの $0.01 \mu\text{g}$ の用量で、ノンレスポonderがより少なかった。

【1072】

(実施例4)

血清型3複合糖質における多糖の酸化度合(DO)/活性化度合(DoA)の効果

様々な酸化度合を使用して作製したマウスにおける血清型3-CRM₁₉₇コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性(OPA)力価を、標準条件下で決定した。

【1073】

RAC/水性(実施例1を参照)またはRAC/DMSO(実施例2を参照)のいずれかの、CRM₁₉₇とのコンジュゲーションを使用してCRM₁₉₇とコンジュゲートさせた、サイジングした血清型3多糖(約120~170kDa)を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した(表4の試験したコンジュゲートの特質を参照)。

【1074】

【表4】

表4. 酸化度合の評価のための、Pn3 コンジュゲートの特質

| | RAC/DMSO 低いDO | RAC/DMSO 高いDO | RAC/水性 低いDO | RAC/水性 高いDO |
|---------------------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| 活性化多糖 MW、kDa | 156 | 166 | 140 | 123 |
| コンジュゲート MW (kDa) | 1580 | 2670 | 1530 | 1278 |
| 活性化度合 (DoA) | 7 | 14 | 5 | 10 |
| SPR 比 | 1 | 0.94 | 1 | 0.8 |
| 遊離糖、% | <5 | 7 | 8.5 | 9 |

MW:分子量; SPR:糖対タンパク質の比

【1075】

25匹の6~8週齢の雌のスイスウェブスターマウスの群を、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、または $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の試験コンジュゲートを用いて、皮下経路を介して0週目に免疫化した($250 \mu\text{L}$)。マウスを、同じ用量のコンジュゲートを用いて3週目にブーストし、その後、5週目に出血させた。血清型特異的OPAを5週目の血清試料に対して行った。

【1076】

OPAは、実施例3に記載のように実施した。結果を表5および図4に提示する。

【1077】

10

20

30

40

50

【表 5】

| 表 5-CRM とコンジュゲートさせた、可変酸化度合(DO)を有する血清型 3 抗原を用いたワクチン接種後の OPA 力価。CRM とコンジュゲートさせた血清型 3 を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した。雌のスイス-ウェブスターマウス、6~8 週齢、用量:0.01、0.1、および 1 μ g/ml + AlPO ₄ 、ワクチン接種:0 および 3 週目、瀉血 5 週目、読取り:OPA | | | | |
|--|---------|------|------|------|
| | | 0.01 | 0.1 | 1 |
| DO 7 (RAC/DMSO) | 平均 | 14 | 113 | 963 |
| | マウスの合計数 | 19 | 17 | 25 |
| | 非応答者の数 | 12 | 4 | 0 |
| | 非応答者の% | 63 | 24 | 0 |
| DO 14 (RAC/DMSO) | 平均 | 19 | 626 | 1301 |
| | マウスの合計数 | 47 | 40 | 48 |
| | 非応答者の数 | 29 | 1 | 0 |
| | 非応答者の% | 62 | 3 | 0 |
| DO 5 (RAC/水性) | 平均 | 38 | 383 | 1478 |
| | マウスの合計数 | 22 | 21 | 24 |
| | 非応答者の数 | 10 | 1 | 0 |
| | 非応答者の% | 45 | 5 | 0 |
| DO 10 (RAC/水性) | 平均 | 117 | 1286 | 3679 |
| | マウスの合計数 | 44 | 49 | 49 |
| | 非応答者の数 | 6 | 0 | 0 |
| | 非応答者の% | 14 | 0 | 0 |

【1078】

表 5 および図 4 のデータは、血清型 3 コンジュゲートが、ネズミ免疫原性モデルにおいて用量依存的な OPA 力価を誘発したことを示す。表 5 に示すように、RAC / 水性または RAC / DMSO ケミストリーを用いた血清型 3 コンジュゲートは、より高い DO のすべての用量において、より高い OPA GMT を誘導した。

【1079】

(実施例 5)

クリックケミストリーを使用した血清型 3 莢膜多糖のコンジュゲーション (図 2 を参照)

1. アジドリンカーを用いた血清型 3 莢膜多糖の活性化

血清型 3 莢膜多糖をイミダゾール (3 x, w / w) と混合し、1 M の HCl を用いて pH を 3.5 に調節し、その後、凍結し、凍結乾燥させた。

【1080】

3 日間の凍結乾燥の後、凍結乾燥させた多糖を無水 DMSO (4 mg / mL) 中で復元する。その後、反応混合物を 35 まで温め、CDI (0.2 M 当量) を加えた。反応混合物を 35 で 3 時間攪拌した。反応混合物を 23 まで冷却した後、WFI (2% v / v) を加えて遊離 CDI をクエンチングし、その後、30 分間、23 でさらに攪拌した。反応混合物に 3 - アジド - プロピルアミン (2 M 当量) を加える。23 で 20 時間の反応の後、反応混合物を、冷却した (5) 10 mM の NaH₂PO₄ 緩衝液 (5 x, v / v) で希釈した。その後、希釈した反応混合物を、UF / DF によって、10 K の MWCO PES 膜を使用して、WFI (30 x, v / v) に対して精製した。

【1081】

2. アルキン NHS エステルを用いた、CRM₁₉₇ のアルキン - CRM₁₉₇ への活性化

CRM₁₉₇溶液(1000mg)に、57mLのWFIおよび50mLの0.5Mのリン酸ナトリウム緩衝剤(pH8.3)を加えた。8℃まで冷却した後、反応温度を8±3℃に維持して、18mLの3-プロパルギルオキシ-プロパン酸NHSエステル(POPS)(DMSO中に20mg/mL)(CRM₁₉₇上のリシンに対して2.4M当量)を反応混合物に滴下した。反応混合物を2時間、8℃で攪拌した後、UF/DFによって、10KのMWCO PES膜(Millipore Pellicon 2 Mini)を使用して、生理食塩水(pH7.0)中の100mMのリン酸ナトリウム緩衝剤に対して(30×ダイアフィルトレーション体積)精製した。UF/DFの後、23gのスクロース(15%v/v)を加えた。

【1082】

10

3. クリックコンジュゲーション：活性化アジドポリおよびアルキンCRMは、「クリック反応」と呼ばれるCu⁺1媒介性アジド-アルキン付加環化反応によってコンジュゲートされる

5mMの硫酸銅(CuSO₄)(1mL)および25mMのトリス(3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル)アミン(THPTA)(1mL)の混合物を、アジドリンカー(上記ステップ1を参照)およびアルキン-CRM₁₉₇(上記ステップ2を参照)で活性化させた血清型3莢膜多糖の混合物に23℃で加え(生理食塩水中の100mMのリン酸ナトリウム緩衝剤(SPB)中、pH7.0)、続いて、100mMのアミノグアニジン(2mL)および100mMのアスコルビン酸ナトリウム(2mL)を加えた。反応混合物を2時間、23℃で攪拌した後、未反応のアジド基を、プロパルギルアルコール(1M当量)によって2時間、23℃でキャッピングし、最初のキャッピングの後、続いて、未反応のアルキン基を、3-アジド-1-プロパノール(2M当量)によって2時間、23℃でキャッピングした。その後、反応混合物を、UF/DFによって、100KのMWCO PES膜を使用して、生理食塩水(pH7.0)中の10mMのEDTA+10mMのSPB(30×ダイアフィルトレーション体積)、続いて生理食塩水(pH6.0)中の5mMのシトレート(30×ダイアフィルトレーション体積)に対して精製した。

20

【1083】

(実施例6)

血清型3複合糖質における免疫原性に対する担体タンパク質の効果

マウスにおけるCRM₁₉₇、SCP、または破傷風トキソイドとの血清型3コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性(OPA)力価を、標準条件下で決定した。DMSO中での還元的アミノ化(RAC/DMSO)を使用した(実施例2を参照)。

30

【1084】

様々なタンパク質担体とコンジュゲートさせた、サイジングした血清型3多糖(約160~250kDa)を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した(表6の試験したコンジュゲートの特質を参照)。

【1085】

40

50

【表 6】

表 6. ケミストリーの評価(RAC/DMSO)のための、Pn3 コンジュゲートの特質

| | CRM ₁₉₇ | TT | SCP |
|---------------------|--------------------|------|------|
| 活性化多糖 MW、kDa | 166 | 199 | 199 |
| コンジュゲート MW (kDa) | 2670 | 3962 | 4760 |
| 活性化度合 | 14 | 14 | 14 |
| SPR 比 | 0.94 | 0.92 | 1 |
| 遊離糖、% | 7 | <5 | <5 |

MW:分子量; SPR:糖対タンパク質の比

【1086】

25匹の6~8週齢の雌のスイスウェブスターマウスの群を、0.01 μg/ml、0.1 μg/ml、または1 μg/mlの試験コンジュゲートを用いて、皮下経路を介して0週目に免疫化した(250 μL)。マウスを、同じ用量のコンジュゲートを用いて3週目にブーストし、その後、5週目に出血させた。血清型特異的OPAを5週目の血清試料に対して行った。

【1087】

結果を表7および図5に提示する。

【1088】

【表7】

| 表7-CRM ₁₉₇ 、SCP、または破傷風トキソイドとコンジュゲートさせた血清型3抗原のワクチン接種後のOPA力価。コンジュゲートさせた血清型3を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した。雌のスイス-ウェブスターマウス、6~8週齢、用量:0.01、0.1、および1μg/ml + AIPO ₄ 、ワクチン接種:0および3週目、瀉血5週目、読取り:OPA | | | | |
|--|---------|------|------|------|
| | | 0.01 | 0.1 | 1 |
| 破傷風トキソイド (RAC/DMSO) | 平均 | 51 | 383 | 2119 |
| | マウスの合計数 | 40 | 35 | 37 |
| | 非応答者の数 | 9 | 1 | 0 |
| | 非応答者の% | 23 | 3 | 0 |
| SCP (RAC/DMSO) | 平均 | 251 | 1110 | 2106 |
| | マウスの合計数 | 40 | 38 | 40 |
| | 非応答者の数 | 0 | 0 | 0 |
| | 非応答者の% | 0 | 0 | 0 |
| CRM ₁₉₇ (RAC/DMSO) | 平均 | 19 | 626 | 1301 |
| | マウスの合計数 | 47 | 40 | 48 |
| | 非応答者の数 | 28 | 1 | 0 |
| | 非応答者の% | 60 | 3 | 0 |

【1089】

表7および図5のデータは、血清型3コンジュゲートが、ネズミ免疫原性モデルにおいて用量依存的なOPA力価を誘発したことを示す。表7に示すように、SCPとコンジュ

ゲートさせた血清型3は、より高いOPA GMTを誘導し、すべてのマウスが、低い用量においてでさえも、測定可能なOPA力価(titer)(0%のノンレスポナー)で応答した。

【1090】

ここに示すように、SCPのみが、0.01ug/mlの用量でのワクチン接種に応答するマウスの百分率を真に増強させた。TTは、一般にCRM197よりも低い応答を誘発した。

【1091】

(実施例7)

血清型3複合糖質における免疫原性に対するケミストリーの効果

マウスにおけるCRM197との血清型3コンジュゲートのオプソニン化貪食作用活性(OPA)力価を、標準条件下で決定した。様々なケミストリー(水性中での還元的アミノ化(RAC/水性)、実施例1を参照、DMSO中での還元的アミノ化(RAC/DMSO)、実施例2を参照、eTEC連結複合糖質(eTEC)、WO2014/027302号を参照、またはクリックケミストリー(クリック)、実施例5を参照)を使用して、マウスにおけるOPA応答の変化を評価した。

【1092】

様々なケミストリーを使用してCRM197とコンジュゲートさせた、サイジングした血清型3多糖(約160~1100kDa)を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した(表8の試験したコンジュゲートの特質を参照)。

【1093】

【表8】

表8. コンジュゲーションケミストリーの評価のための、Pn3コンジュゲートの特質 (Attribtues)

| | RAC/水性 | RAC/DMSO | eTEC | クリック |
|---------------------|--------|----------|------|------|
| 活性化多糖 MW、kDa | 250 | 234 | 1131 | 470 |
| コンジュゲート MW (kDa) | 2467 | 3123 | 2278 | 598 |
| 活性化度合 | 3.9 | 14 | 19 | 12 |
| SPR 比 | 0.9 | 1 | 1.1 | 0.4 |
| 遊離糖、% | <5 | 4.5 | 3 | 9 |

MW:分子量; SPR:糖対タンパク質の比

【1094】

25匹の6~8週齢の雌のスイスウェブスターマウスの群を、0.01ug/ml、0.1ug/ml、または1ug/mlの試験コンジュゲートを用いて、皮下経路を介して0週目に免疫化した(250uL)。マウスを、同じ用量のコンジュゲートを用いて3週目にブーストし、その後、5週目に出血させた。血清型特異的OPAを5週目の血清試料に対して行った。

【1095】

結果を表9および図6に提示する。

【1096】

【表 9】

| 表 9 様々なケミストリー: RAC/水性、RAC/DMSO、eTEC、またはクリックを使用して CRM ₁₉₇ とコンジュゲートさせた血清型 3 抗原のワクチン接種後の OPA 力価。コンジュゲートさせた血清型 3 を使用して、アジュバントの存在下で動物にワクチン接種した。雌のスイス-ウェブスターマウス、6~8 週齢、用量: 0.01、0.1、および 1 μg/ml + AIPO ₄ 、ワクチン接種: 0 および 3 週目、瀉血 5 週目、読取り: OPA | | 0.01 | 0.1 | 1 |
|---|---------|------|------|------|
| CRM ₁₉₇ (RAC/水性) | 平均 | 38 | 1165 | 2049 |
| | マウスの合計数 | 22 | 24 | 25 |
| | 非応答者の数 | 10 | 0 | 0 |
| | 非応答者の% | 45 | 0 | 0 |
| CRM ₁₉₇ (RAC/DMSO) | 平均 | 60 | 486 | 3766 |
| | マウスの合計数 | 25 | 25 | 25 |
| | 非応答者の数 | 10 | 1 | 0 |
| | 非応答者の% | 40 | 4 | 0 |
| CRM ₁₉₇ (eTEC) | 平均 | 16 | 565 | 2371 |
| | マウスの合計数 | 24 | 25 | 24 |
| | 非応答者の数 | 15 | 2 | 0 |
| | 非応答者の% | 63 | 8 | 0 |
| CRM ₁₉₇ (クリック) | 平均 | 91 | 1308 | 5578 |
| | マウスの合計数 | 20 | 24 | 25 |
| | 非応答者の数 | 7 | 0 | 0 |
| | 非応答者の% | 35 | 0 | 0 |

【1097】

表 9 および図 6 のデータは、すべての血清型 3 コンジュゲートが、ネズミ免疫原性モデルにおいて用量依存的な OPA 力価を誘発したことを示す。表 9 および図 6 に示すように、クリックケミストリーを使用した血清型 3 は、他のケミストリーと比較してすべてのマウスにおいて、測定可能な OPA 応答の指標であるより高い OPA GMT を誘導した。

【1098】

(実施例 8)

クリックケミストリーを使用した、担体タンパク質として CRM₁₉₇ を有する肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質

実施例 5 のものに類似のプロセス (クリックケミストリー) および CRM₁₉₇ を担体として使用して、様々な特質を有するコンジュゲートを作製した (表 10 を参照)。アジドポリ (活性化度合 (DoA) 12%) およびアルキン CRM₁₉₇ (DoA 18%) を用いた Pn3 クリックコンジュゲーションは、コンジュゲート #1 および #2 を作製し、低い収率、低い MW、および低い糖タンパク質比 (SPR) をもたらした。このプロセスは、ジド多糖およびアルキン CRM₁₉₇ の DoA を下げることによって、コンジュゲート収率および標的コンジュゲート SPR 約 1 を増加させるように最適化されている。SPR 1.1 およびより高い収率を有するコンジュゲート #3 を、アジド多糖 (DoA 5%) およびアルキン CRM₁₉₇ (DoA 11%) を用いて生成した。

【1099】

後にこのプロセスを使用し、収率は 76% まで増加した。これらのパラメータのほとんどは、20% 未満の遊離糖のコンジュゲートを生じた。

【1100】

10

20

30

40

50

【表 10】

表 10.

| Pn3-CRM ₁₉₇ クリックコンジュゲート | | | | | |
|------------------------------------|-----|-----|------|------|------|
| コンジュゲート # | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| ポリ Mw (kDa) | 130 | 250 | 134 | 124 | 116 |
| ポリ RU あたりのアジドポリ DoA (%) | 12 | 12 | 5 | 6 | 4 |
| アジドポリ Mw (kDa) | 150 | 470 | 224 | 207 | 226 |
| アルキン-CRM197 Mw (kDa) | 63 | 63 | 59 | 59 | 58 |
| アルキン-CRM197 DoA (AAA)、アルキン /CRM197 | 18 | 18 | 11 | 9 | 10 |
| コンジュゲーション | | | | | |
| コンジュゲート収率(%) | 18 | 20 | 41 | 76 | 70 |
| コンジュゲートアウトプット SPR | 0.4 | 0.4 | 1.1 | 1 | 1.1 |
| 遊離糖(%) | 8 | 9 | 20 | 6 | 7 |
| 遊離タンパク質(%) | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| コンジュゲート Mw (kDa) | 702 | 598 | 1477 | 1757 | 1089 |

10

20

【1101】

(実施例 9)

クリックケミストリーを使用した、SCPを担体タンパク質として有する肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質

30

実施例 5 のものに類似のプロセス (クリックケミストリー) および SCP を担体として使用して、様々な特質を有するコンジュゲートを作製した。アジドポリ (DOA 5%) およびアルキン SCP (DOA 26) を用いたクリックコンジュゲーションは、中等度の収率および SPR を有するコンジュゲート # 1 を生じた。しかし、最適化中、4 および 13% の DOA を有するアジドポリならびに DOA 13、26、および 37 のアルキン SCP は、コンジュゲート # 2 ~ # 7 を生じた。以下の表 (表 11) から示されるように、DOA 26 を有するアルキン SCP は、高い収率、SPR 約 1、およびより高い MW を有するコンジュゲート # 2 および # 3 を生じた。DOA 13 および 37 を有するアルキン SCP を用いて調製したコンジュゲートは、コンジュゲート # 2 および 3 と比較してより低い収率、MW、および SPR でコンジュゲート # 4 ~ # 6 を生じた。

40

【1102】

50

【表 1 1】

表 11.

| クリック Pn3-SCP クリックコンジュゲート | | | | | | | |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| コンジュゲート # | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| ポリ Mw (kDa) | 134 | 116 | 116 | 116 | 116 | 116 | 116 |
| アジドポリ DoA (%) | 5 | 4 | 13 | 4 | 13 | 4 | 13 |
| アジドポリ Mw (kDa) | 224 | 226 | 249 | 226 | 249 | 226 | 249 |
| アルキン-SCP Mw (kDa) | 103 | 103 | 103 | 101 | 101 | 105 | 105 |
| アルキン-SCP DOA (AAA) | 26 | 26 | 26 | 13 | 13 | 37 | 37 |
| コンジュゲーション | | | | | | | |
| コンジュゲート収率 (%) | 51 | 72 | 79 | 29 | 36 | 41 | 63 |
| コンジュゲートアウトプット SPR | 0.7 | 0.91 | 0.9 | 0.57 | 0.52 | 0.64 | 0.72 |
| 遊離糖(%) | 9 | < 5 | < 5 | < 5 | < 5 | < 5 | < 5 |
| 遊離タンパク質(%) | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| コンジュゲート Mw (kDa) | 1075 | 1696 | 3128 | 746 | 877 | 711 | 1778 |

10

20

【 1 1 0 3】

(実施例 1 0)

クリックケミストリーを使用した、TTを担体タンパク質として有する肺炎連鎖球菌 (*S . pneumoniae*) 血清型 3 複合糖質

実施例 5 のものに類似のプロセス (クリックケミストリー) および TT を担体として使用して、様々な特質を有するコンジュゲートを作製した。

【 1 1 0 4】

アジドポリ (DOA 約 5 %) ならびにアルキン TT (DOA 約 1 0 、 1 5 、 および 2 0) を用いたクリックコンジュゲーションは、より高い遊離糖レベルを有するコンジュゲート # 1 ~ 4 を生じた。しかし、プロセスの最適化中、DOA 約 1 0 % を有するアジドポリおよび DOA 約 2 0 を有するアルキン TT は、低い遊離糖を有するコンジュゲート # 5 を生じた (表 1 2 を参照) 。

【 1 1 0 5】

30

40

50

【表 1 2】

表 12.

| Pn3-TT コンジュゲート | | | | | |
|-------------------|------|------|------|------|------|
| コンジュゲート# | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| ポリ Mw (kDa) | 134 | 182 | 182 | 182 | 182 |
| アジドポリ DoA (%) | 約 5 | 約 5 | 約 5 | 約 10 | 約 10 |
| アジドポリ Mw (kDa) | | | | | |
| アルキン-TT Mw (kDa) | 230 | 287 | 259 | 287 | 259 |
| アルキン-TT DOA (AAA) | 約 15 | 約 10 | 約 20 | 約 10 | 約 20 |
| コンジュゲーション | | | | | |
| コンジュゲート収率(%) | 30 | 33 | 36 | 37 | 47 |
| コンジュゲート SPR | 0.59 | 0.56 | 0.51 | 0.53 | 0.54 |
| 遊離糖(%) | 36 | 35 | 25 | 18 | 12 |
| 遊離タンパク質(%) | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| コンジュゲート Mw (kDa) | 1119 | 1773 | 1126 | 1483 | 1186 |

10

20

【 1 1 0 6 】

(実施例 1 1)

様々なケミストリーおよび様々な担体を使用した、肺炎連鎖球菌 (*S . p n e u m o n i a e*) 血清型 3 複合糖質の免疫原性の評価

アカゲザル乳児に、RAC / 水性またはクリックケミストリーのいずれかを使用して 2 つの担体タンパク質のうちのいずれか (CRM₁₉₇ または SCP) とコンジュゲートさせた肺炎連鎖球菌 (*S t r e p t o c o c c u s p n e u m o n i a e*) 血清型 3 をワクチン接種した。

【 1 1 0 7 】

1 . アカゲザル乳児の研究

年齢および性別が一致したアカゲザル乳児 (IRM) (3 ~ 6 カ月齢) を 3 つの群へとランダムに割り当てた (研究設計、表 1 3 を参照) 。

【 1 1 0 8 】

乳児に筋肉内でワクチン接種した (クリック多糖ケミストリー (クリック - SCP、クリック - CRM、すべて約 1 3 0 k D a のポリサイズを有する) または ST3 RAC - 水性 CRM コンジュゲート (約 2 5 0 k D a のポリサイズ) のいずれかを用いて) 。ベースライン ST3 特異的血清力価を評価するための事前出血を、一次ワクチン接種 (D 0) の 1 週間前 (週数 = - 1) に収集した。2 回の繰り返しワクチン接種を、一次ワクチン接種の後の 8 週目および 1 6 週目に投与した。

【 1 1 0 9 】

血清用の全血を、用量 1 (P D 1) の 4 および 8 週間後、P D 2 の 1、4、および 8 週間後、ならびに P D 3 の 1、4、1 6、および 3 6 週間後に収集した。

【 1 1 1 0 】

2 . オブソニン化貪食作用アッセイ

マイクロコロニーオブソニン化貪食作用アッセイ (m c O P A) を行った。

【 1 1 1 1 】

P n 3 m c O P A には、標的細菌細胞および熱不活性化試験血清から構成される反応混合物を、3 0 分間、2 5 ° C、環境振盪器 (e n v i r o n m e n t a l s h a k e r) 中でインキュベートした。その後、分化した HL - 6 0 組織培養細胞 (エフェクター細胞) および仔ウサギ補体を反応混合物に加え、4 5 分間、3 7 ° C、環境振盪器中でインキ

30

40

50

ュベートした。機能的抗肺炎連鎖球菌 (S . p n e u m o n i a e) 抗体価は、試験血清を含有する m c O P A 反応物中における細菌生存を測定することによって、決定する。アッセイ混合物を蒔き、終夜成長させる。

【 1 1 1 2 】

2 日目に、貪食されていない生きた細菌の数を決定する。m c O P A 抗体価は、血清を含有しない細菌 - エフェクター細胞 - 補体対照ウェルと比較した場合に、細菌コロニー数の 5 0 % の低下をもたらす血清希釈率の逆数である。

【 1 1 1 3 】

【 表 1 3 】

表 13.

| Pn3 コンジュゲ ー ト種類 | ケミストリー | 担体 | ポリサイズ(kDa) | 活性化度合 | 抗原用量(μg) | アジュバント | #IRM | 雄/雌 |
|-----------------------|--------|-----|------------|-------|----------|-------------------|------|-----|
| CRM/RAC 水性 | RAC/水性 | CRM | 250 | 3.9 | 2.2 | AlPO ₄ | 13 | 5/8 |
| CRM- クリック | クリック | CRM | 130 | 11 | 2.2 | AlPO ₄ | 9 | 4/5 |
| SCP- クリック | クリック | SCP | 130 | 11 | 2.2 | AlPO ₄ | 11 | 7/4 |

【 1 1 1 4 】

3 . 結果

3 . 1 . クリック - S C P ケミストリーは、用量 1 後のアカゲザル乳児において血清型 3 特異的 O P A 力価を顕著に改善した :

本発明者らは、ニューモ (p n e u m o) 血清型 3 クリックケミストリー (クリック - S C P 、 クリック - C R M) を用いたアカゲザル乳児の一次ワクチン接種後の O P A 応答を、 R A C / 水性 - C R M ケミストリーと比較して評価した。すべての構築体は、記載のように A l P O ₄ を用いてアジュバント化した (表 1 3) 。興味深いことに、クリック - S C P ケミストリー / 担体の組合せは、血清型 3 特異的 O P A (> 8 倍) を、 R A C / 水性 - C R M と比較して有意に改善した (図 7 、 表 1 4) 。

【 1 1 1 5 】

【表 1 4】

表 14. アカゲザル乳児における、用量 1 の 4 週間後の OPA 力価

| Pn3 コンジュゲート種類 | 相乗平均 OPA | 下側 95% CI | 上側 95% CI | N | CRM RAC/水性を超える増加の倍数 | CRM RAC/水性と比較した P 値* |
|---------------|----------|-----------|-----------|----|---------------------|----------------------|
| CRM/RAC 水性 | 33.78 | 13.9 | 81.6 | 13 | | |
| CRM-クリック | 48.78 | 13.0 | 181.9 | 9 | 1.4 | 0.65 |
| SCP-クリック | 283.9 | 190.3 | 423.6 | 11 | 8.4 | 0.0001 |

*チューキーの多重比較検定を用いた一元配置 ANOVA

【 1 1 1 6】

3.2 クリック - SCP ケミストリーは、用量 2 後 (PD 2) のアカゲザル乳児において最も高い OPA 力価を誘導した

本発明者らは、2 カ月目での第 2 の用量 2 が、アカゲザル乳児において OPA 力価の増加を誘導したかどうかをさらに試験した。すべての様々なケミストリーのコンジュゲートを用いたワクチン接種が、対応する PD 1 力価と比較して、より高い PD 2 の OPA 力価を誘導した (図 8)。クリック - SCP ワクチン接種が、RAC / 水性 - CRM ケミストリーよりも約 4.5 倍の最も高い相乗平均力価を誘導した (表 15)。さらに、クリック - SCP で誘導した力価は、より狭い信頼区間を有するものであり、これは、その群のすべてのサルにおいて均一な免疫応答が生じたことを示す (図 8)。クリック - CRM ワクチン接種は、RAC / 水性 - CRM と比較して、それぞれの用量での PD 2 の OPA 力価を改善したが、信頼区間はより広がった (図 8)。

【 1 1 1 7】

【表 1 5】

表 15. アカゲザル乳児における、用量 2 の 4 週間後の OPA 力価

| Pn3 コンジュゲート種類 | 相乗平均 OPA | 下側 95% CI | 上側 95% CI | N | CRM RAC/水性を超える増加の倍数 | CRM RAC/水性と比較した P 値* |
|---------------|----------|-----------|-----------|----|---------------------|----------------------|
| CRM/RAC 水性 | 76.04 | 26.38 | 219.2 | 13 | | |
| CRM-クリック | 134.5 | 35.11 | 514.9 | 9 | 1.7 | 0.65 |
| SCP-クリック | 349 | 229.2 | 531.4 | 11 | 4.5 | 0.06 |

*チューキーの多重比較検定を用いた一元配置 ANOVA

10

20

30

40

50

【 1 1 1 8 】

クリック - S C P コンジュゲートを用いたワクチン接種は、アカゲザル乳児において、単一用量を用いた R A C / 水性 - C R M コンジュゲートと比較して、有意により高い血清型 3 特異的 O P A / I g G 力価を誘導し、より応答は P D 2 に維持されていた。クリック - C R M ワクチン接種は、アカゲザル乳児において R A C / 水性 - C R M コンジュゲートよりも高い平均力価を誘導した。

【 1 1 1 9 】

本明細書中で言及したすべての刊行物および特許出願は、本発明が属する分野の技術者のレベルの指標である。すべての刊行物および特許出願は、それぞれの個々の刊行物または特許出願が具体的および個々に参考として組み込まれているとして示されている場合と同じ程度に、本明細書中に参考として組み込まれている。

10

【 1 1 2 0 】

前述の発明は、理解を明白にする目的で、例示および実施例によってある程度詳細に記載したが、特定の変更および改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内で実施し得る。

【 図 面 】

【 図 1 】

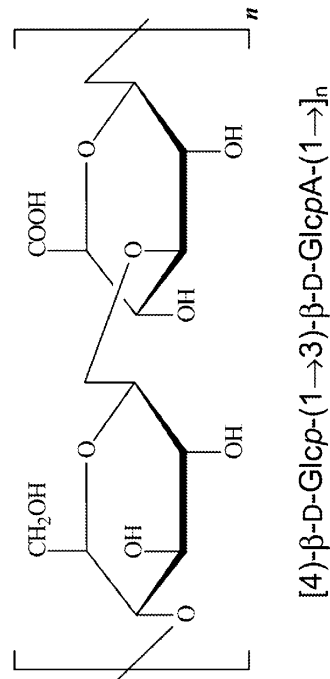


図1

【 図 2 】

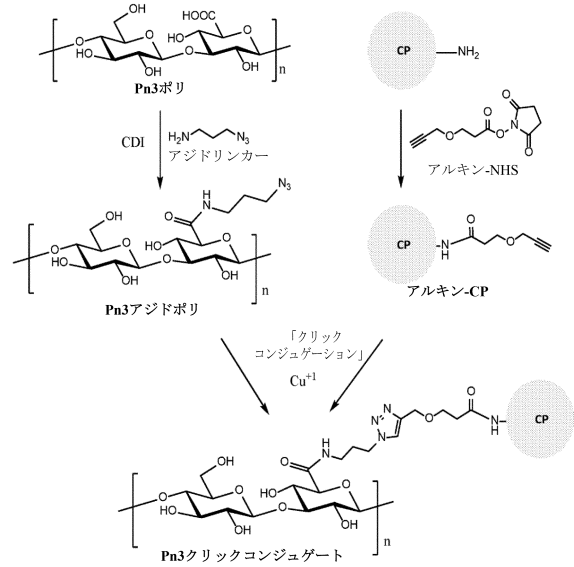


図2

20

30

40

50

【 図 3 】

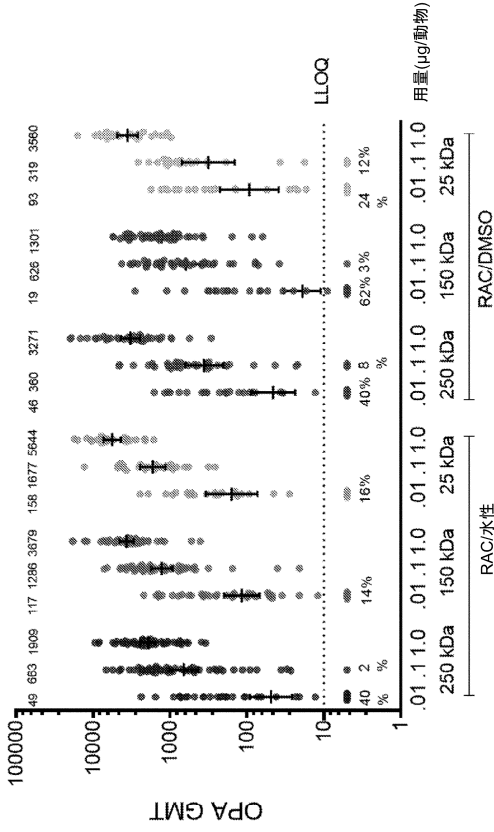


図3

【 図 4 】

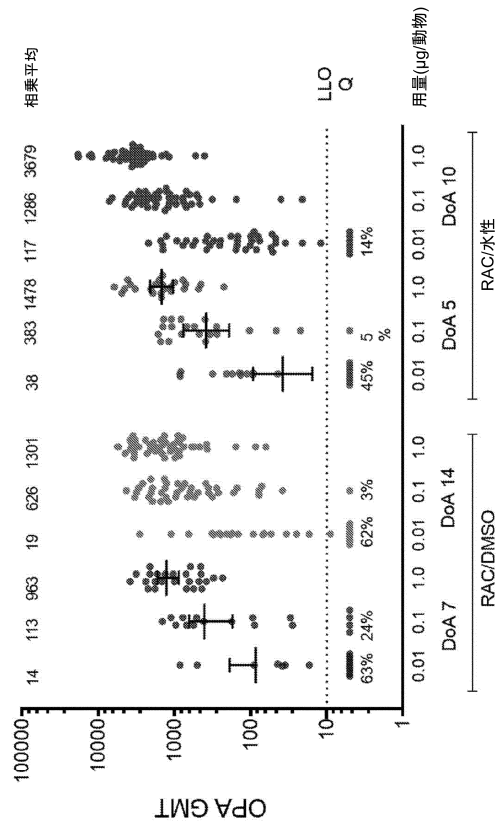


図4

【 図 5 】

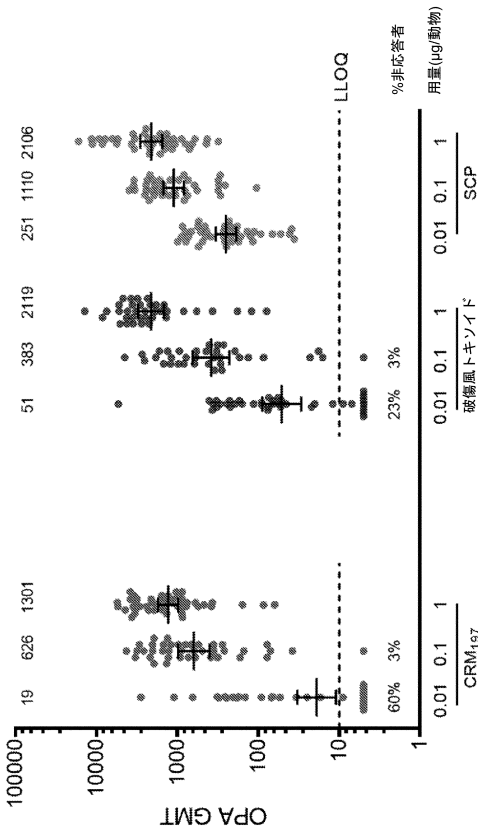


図5

【 図 6 】

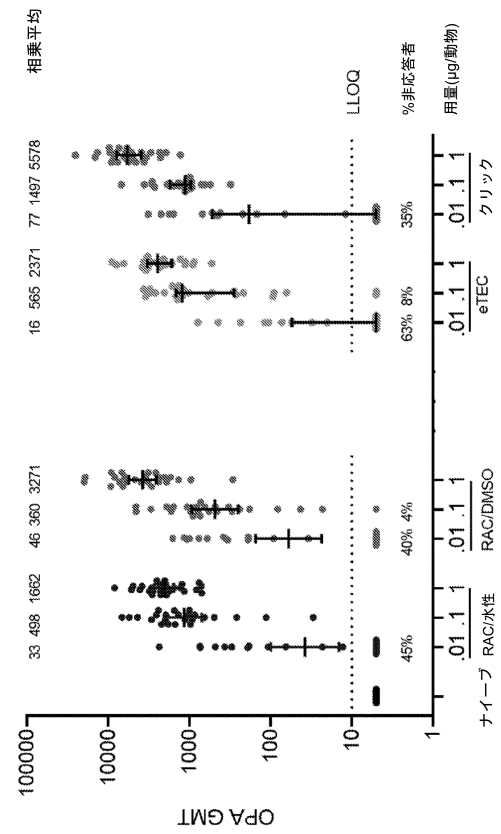


図6

10

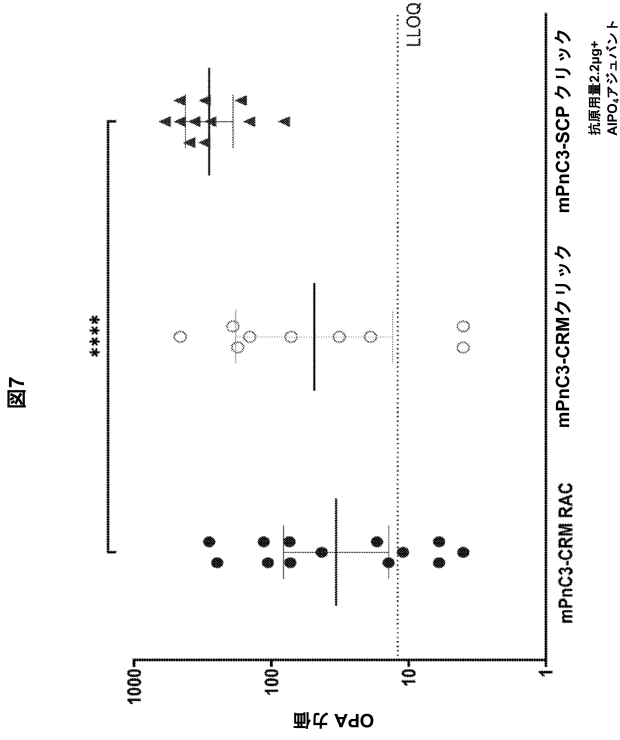
20

30

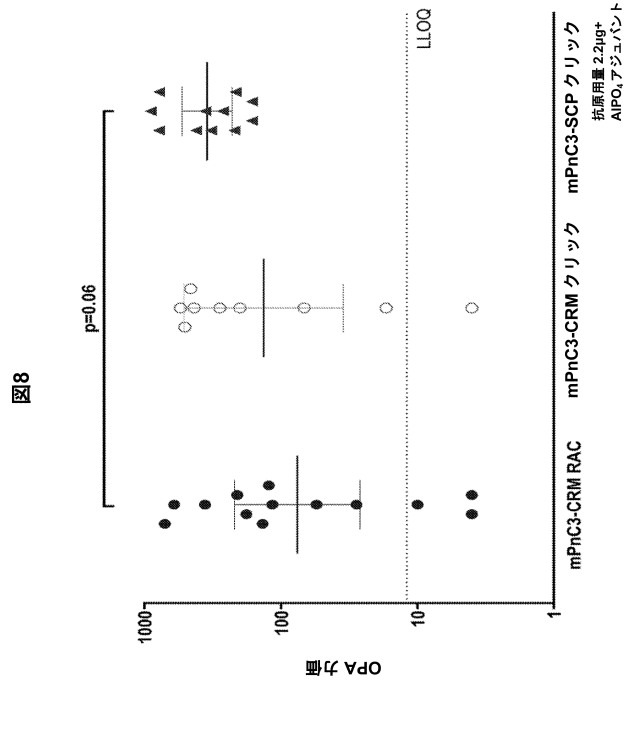
40

50

【 図 7 】



【 図 8 】



【 配列表 】

2024522395000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2022/054914

| | | | | |
|---|--|--|--|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/09 ADD. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | | | |
| B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal | | | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | | |
| A | US 2020/054739 A1 (FAIRMAN JEFFERY C [US] ET AL) 20 February 2020 (2020-02-20) page 10, paragraph 0110 page 10, paragraph 0115 page 13, paragraph 0132 page 23, paragraph 0233 - paragraph 0234 page 33, paragraph 0356 page 35, paragraph 0375 page 39, paragraph 0431 page 40, paragraph 0434; examples 10, 11 <p style="text-align: center;">----- -/--</p> | 1-27 | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. | | | | |
| * Special categories of cited documents : <table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="vertical-align: top;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table> | | | "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family | | | |
| Date of the actual completion of the international search | | Date of mailing of the international search report | | |
| 30 January 2023 | | 09/02/2023 | | |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Authorized officer Marteau, Frédéric | | |

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| |
|---|
| International application No PCT/IB2022/054914 |
|---|

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | <p>STEFANETTI G ET AL: "Click chemistry compared to thiol chemistry for the synthesis of site-selective glycoconjugate vaccines using CRMas carrier protein", GLYCOCONJUGATE JOURNAL, CHAPMAN & HALL, BOSTON, vol. 37, no. 5, 13 June 2020 (2020-06-13), pages 611-622, XP037249264, ISSN: 0282-0080, DOI: 10.1007/s10719-020-09930-2 [retrieved on 2020-06-13] abstract</p> <p>page 612, left-hand column, paragraph 3 page 613, left-hand column, paragraphs 3, 5 page 614, left-hand column, paragraph 3 - right-hand column, paragraph 4 page 615, right-hand column, paragraph 4 - paragraph 3; figures 2, 3; tables 2, 3 page 618, left-hand column, paragraph 2 - page 619, right-hand column, paragraph 1 page 620, left-hand column, paragraph 2</p> <p>-----</p> | 1-27 |
| A | <p>WO 2014/111344 A1 (NOVARTIS AG [CH]) 24 July 2014 (2014-07-24) page 1, line 25 - line 33 page 15, line 8 - line 14 page 17, line 19 - page 18, line 17 page 22, line 3 - page 25, line 13</p> <p>-----</p> | 1-27 |
| A | <p>NICOLE MILLER ET AL: "Synthesis of Neoglycopeptides via Click Chemistry", INTERNATIONAL JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH AND THERAPEUTICS, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 16, no. 3, 9 March 2010 (2010-03-09), pages 125-132, XP019825513, ISSN: 1573-3904 the whole document</p> <p>-----</p> | 1-27 |

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2022/054914

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. forming part of the international application as filed:

in the form of an Annex C/ST.25 text file.

on paper or in the form of an image file.

b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2022/054914

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|-------------------|---------------------------|-------------------|
| US 2020054739 A1 | 20-02-2020 | NONE | |
| ----- | | | |
| WO 2014111344 A1 | 24-07-2014 | BR 112015016817 A2 | 11-07-2017 |
| | | CA 2897348 A1 | 24-07-2014 |
| | | CN 105377282 A | 02-03-2016 |
| | | DK 2945641 T3 | 09-03-2020 |
| | | EP 2945641 A1 | 25-11-2015 |
| | | ES 2774729 T3 | 22-07-2020 |
| | | HR P20200351 T1 | 12-06-2020 |
| | | JP 6719209 B2 | 08-07-2020 |
| | | JP 7036854 B2 | 15-03-2022 |
| | | JP 2016506905 A | 07-03-2016 |
| | | JP 2019073528 A | 16-05-2019 |
| | | JP 2020114839 A | 30-07-2020 |
| | | LT 2945641 T | 25-02-2020 |
| | | PL 2945641 T3 | 15-06-2020 |
| | | PT 2945641 T | 26-03-2020 |
| | | SI 2945641 T1 | 31-03-2020 |
| | | US 2016166704 A1 | 16-06-2016 |
| | | US 2021268116 A1 | 02-09-2021 |
| | | WO 2014111344 A1 | 24-07-2014 |
| ----- | | | |

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 9/50 (2006.01)
C 0 7 K 14/34 (2006.01)

F I

C 1 2 N 9/50
C 0 7 K 14/34

テーマコード (参考)

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

ンク内

(72)発明者 ケイトリン ギャラファー

アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード
4 0 1 ファイザー・インク内

(72)発明者 ジャンシン グウ

アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード
4 0 1 ファイザー・インク内

(72)発明者 イシス カネフスキー

アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード
4 0 1 ファイザー・インク内

(72)発明者 ジン・ヒュワン キム

アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード
4 0 1 ファイザー・インク内

(72)発明者 ジャスティン キース モラン

アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード
4 0 1 ファイザー・インク内

(72)発明者 サダム シン

アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード
4 0 1 ファイザー・インク内

(72)発明者 ナヴィーン サレンドラン

アメリカ合衆国 1 0 9 6 5 ニューヨーク州 パール・リヴァー市 ノース・ミドルトン・ロード
4 0 1 ファイザー・インク内

F ターム (参考) 4C085 AA03 BA14 CC07 CC33 DD51 EE01

4C090 AA04 BB99 BC25 CA35 DA09 DA23

4H045 AA10 AA30 BA10 BA53 CA11 DA83 DA86 EA31 FA74

【要約の続き】

図2

