

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-508683
(P2024-508683A)

(43)公表日 令和6年2月28日(2024.2.28)

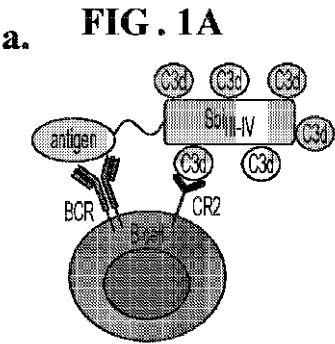
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	4 B 0 6 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	Z N A	4 C 0 8 5
C 0 7 K	14/31 (2006.01)	C 0 7 K	14/31		4 H 0 4 5
C 1 2 N	15/86 (2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全107頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-547793(P2023-547793)		(71)出願人	522424175	
(86)(22)出願日	令和4年3月3日(2022.3.3)			ヘリックス ナノテクノロジーズ, イン	
(85)翻訳文提出日	令和5年8月8日(2023.8.8)			コーポレイテッド	
(86)国際出願番号	PCT/US2022/018610			アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2	
(87)国際公開番号	WO2022/187424			2 1 0, ボストン, チャンネル セン	
(87)国際公開日	令和4年9月9日(2022.9.9)			ター ストリート 5, スイート 6 0 0	
(31)優先権主張番号	63/156,860		(74)代理人	100078282	
(32)優先日	令和3年3月4日(2021.3.4)			弁理士 山本 秀策	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		(74)代理人	100113413	
	米国(US)			弁理士 森下 夏樹	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		(74)代理人	100181674	
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(			弁理士 飯田 貴敏	
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		(74)代理人	100181641	
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR			弁理士 石川 大輔	
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		(74)代理人	230113332	
	最終頁に続く			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 S B I アジュバントを含む組成物及びその使用方法

(57)【要約】

本明細書に開示されるのは、(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原と、(i i) 補体結合ポリペプチドと、を含む融合ポリペプチドである。本開示はまた、それをコードする融合ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)も提供する。本明細書には、本開示の融合ポリペプチド及び融合ポリヌクレオチドを作製及び使用する方法も開示される。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原と、

(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体 C3d 結合ポリペプチドと、を含む、融合ポリペプチド。

【請求項 2】

前記補体 C3d 結合ポリペプチドが、*Staphylococcus aureus* の前記 Sbi のドメイン III 及びドメイン IV の一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、請求項 1 に記載の融合ポリペプチド。

10

【請求項 3】

前記断片抗原が、

(i) 前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と比較して、少なくとも 5 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、または 95 %、

(ii) 前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の 50 % 以下、

(iii) 約 10 ~ 300 アミノ酸残基、または

(iv) それらの組み合わせのアミノ酸配列長を有する、請求項 1 または 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4】

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションと、

20

(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体 C3d 結合ポリペプチドと、を含む、融合ポリペプチド。

【請求項 5】

前記補体 C3d 結合ポリペプチドが、*Staphylococcus aureus* の前記 Sbi のドメイン III 及びドメイン IV の一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、請求項 4 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 6】

(i) 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションのアミノ酸配列長が、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と同一であるか、

30

(ii) 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、前記標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも 1 つの修飾アミノ酸を含むか、

(iii) 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、前記標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも 1 つのアミノ酸変異を含むか、または

(iv) それらの組み合わせである、請求項 4 または 5 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 7】

前記修飾アミノ酸が、N 結合型グリコシル化を含む、請求項 6 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 8】

40

前記変異が、(a) 特定の位置において、前記標的タンパク質抗原中のその位置に存在するアミノ酸とは異なるセリン、スレオニン、アラニン、またはアミノ酸を導入するか、

(b) ジスルフィド結合の形成を防止するか、または (a) 及び (b) の両方である、請求項 6 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 9】

前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体 (MHC) 分子に結合することを特徴とする、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 10】

前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、MHC 分子に結合しないことを特徴とする、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

50

【請求項 1 1】

前記 M H C 分子が、M H C I 分子もしくは M H C I I 分子であるか、または M H C I 分子もしくは M H C I I 分子を含む、請求項 9 または 1 0 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 2】

前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、前記標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの前記断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることを特徴とする、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 3】

前記標的タンパク質抗原が、

(i) ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、もしくはそれらの組み合わせから選択される感染症疾患抗原、または

(i i) がん抗原であるか、またはそれを含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 4】

前記ウイルス抗原が、インフルエンザ抗原、もしくはコロナウイルスポリペプチドであるか、またはインフルエンザ抗原、もしくはコロナウイルスポリペプチドを含む、請求項 1 3 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 5】

前記コロナウイルスポリペプチドが、S A R S - C o V - 2 タンパク質であるか、または S A R S - C o V - 2 タンパク質を含む、請求項 1 4 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 6】

前記 S A R S - C o V - 2 タンパク質が、スパイクタンパク質 (S A R S - C o V - 2 S) もしくはその断片、エンベロープタンパク質 (S A R S - C o V - 2 E) もしくはその断片、膜タンパク質 (S A R S - C o V - 2 M) もしくはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質 (S A R S - C o V - 2 N) もしくはその断片、補助因子ポリペプチドもしくはその断片、またはそれらの任意の組み合わせであるか、またはそれらを含む、請求項 1 5 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 7】

前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号 3、4、5、6、7、8、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6、2 7、2 8、2 9、3 0、または 3 1 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を有する、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 8】

前記補体 C 3 d 結合ポリペプチドが、

(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、または 1 0 0 % の同一性を有する S b i ドメイン I I I、または

(b) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、または 1 0 0 % の同一性を有する S b i ドメイン I V、または

(c) (a) 及び (b) の両方を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 1 9】

前記 S b i ドメイン I I I 及び前記 S b i ドメイン I V が、連続しているか、またはリンカーによって分離されている、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 0】

(a) 及び (b) が、ヌクレオチド配列によってコードされ、同じヌクレオチド配列ま

10

20

30

40

50

たは異なるヌクレオチド配列に配置される、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 1】

(i) (a) が、(b) の N 末端に配置されるか、または

(i i) (a) が、(b) の C 末端に配置され、

(i i i) (a) 及び (b) が連続しているか、もしくはリンカーによって分離されているか、または

(i v) それらの組み合わせである、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 2】

(i) 前記リンカーが、ペプチジルリンカーであり、

(i i) 前記リンカーが、少なくとも 60% のグリシン及び／またはセリンを含むペプチジルリンカーであり、

(i i i) 前記リンカーが、G l y - G l y - G l y - G l y - S e r (G l y 4 - S e r) リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される、請求項 2 1 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 3】

前記リンカーが、配列番号 1 1 の配列を含む、請求項 2 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 4】

前記ポリペプチドが、分泌ペプチドを更に含む、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 5】

前記分泌ペプチドが、配列番号 1 または配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、または 100% の同一性を有するアミノ酸を含む、請求項 2 4 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 6】

前記ポリペプチドが、配列番号 1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、3 2、3 3、3 4、3 5、3 6、3 7、3 8、3 9、4 0、4 1、4 2、4 3、4 4、または 4 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 7】

前記ポリペプチドが、RNA であるかもしくは RNA を含むポリヌクレオチド、または DNA であるかしくは DNA を含むポリヌクレオチドによってコードされる、先行請求項のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 2 8】

請求項 1 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチドをコードする、融合ポリヌクレオチド。

【請求項 2 9】

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原、及び

(i i) S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチド、をコードするヌクレオチド配列を含む、融合ポリヌクレオチド。

【請求項 3 0】

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーション、及び

(i i) S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチド、をコードするヌクレオチド配列を含む、融合ポリヌクレオチド。

【請求項 3 1】

10

20

30

40

50

前記ポリヌクレオチドが、RNAであるかもしくはRNAを含むか、または前記ポリヌクレオチドが、DNAであるかしくはDNAを含む、請求項29または30に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項32】

前記補体C3d結合ポリペプチドが、Staphylococcus aureusの前記SbiのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、請求項31に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項33】

前記ポリヌクレオチドが、前記標的タンパク質抗原と比較して少なくとも1つの修飾アミノ酸を含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする、請求項32に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項34】

前記ポリヌクレオチドが、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体(MHC)分子に結合することを特徴とする断片抗原をコードする、請求項32または33に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項35】

前記ポリヌクレオチドが、インビボで発現されるとき、MHC分子に結合しないことを特徴とする断片抗原をコードする、請求項32または33に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項36】

前記標的タンパク質抗原が、

(i) ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、もしくはそれらの組み合わせから選択される感染症疾患抗原、または

(ii) がん抗原であるか、またはそれを含む、先行請求項のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項37】

前記ウイルス抗原が、インフルエンザ抗原もしくはコロナウイルスポリペプチドであるか、またはインフルエンザ抗原もしくはコロナウイルスポリペプチドを含む、請求項36に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項38】

前記コロナウイルスポリペプチドが、スパイクタンパク質(SARS-CoV-2S)もしくはその断片、エンベロープタンパク質(SARS-CoV-2E)もしくはその断片、膜タンパク質(SARS-CoV-2M)もしくはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質(SARS-CoV-2N)もしくはその断片、補助因子ポリペプチドもしくはその断片、またはそれらの任意の組み合わせから選択されるSARS-CoV-2タンパク質であるか、またはそれを含む、請求項37に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項39】

(a) が、(b) のC末端に配置される、請求項29～38のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項40】

(a) 及び(b) が、連続しているか、またはリンカーをコードするヌクレオチド配列によって分離されている、請求項29～39のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項41】

前記ポリヌクレオチドが、分泌ペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含む、請求項29～40のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

【請求項42】

前記ポリヌクレオチドが、配列番号46、47、48、49、50、51、52、53、または54のうちのいずれか1つのヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85

10

20

30

40

50

%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する、請求項29～41のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオド。

【請求項43】

請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチドを含む、発現ベクター。

【請求項44】

前記発現ベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターまたはRNAベクターから選択されるウイルスベクターを含む、請求項43に記載の発現ベクター。

10

【請求項45】

請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチドまたは請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチドを送達するための組成物。

【請求項46】

請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項43もしくは44に記載の発現ベクターを送達する、薬学的組成物。

【請求項47】

作製方法であって、

標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原をコードする第1のヌクレオチド配列と、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質（Sbi）由来の補体C3d結合ポリペプチドをコードする第2のヌクレオチド配列とを組み換えて結合し、前記第1のヌクレオチド配列及び前記第2のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを形成することを含む、前記方法。

20

【請求項48】

請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項43もしくは44に記載の発現ベクターを含む、細胞。

【請求項49】

請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項43もしくは44に記載の発現ベクター、または請求項46に記載の薬学的組成物、及び使用説明書を含む、キット。

30

【請求項50】

投与を必要とする対象に、少なくとも1回の用量の、請求項46に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【請求項51】

前記少なくとも1回の用量が、

（i）前記対象における前記断片抗原に対する免疫応答を誘導すること、

（ii）T細胞応答の誘導を低減しながら、B細胞を刺激すること、または

（iii）（i）及び（ii）の両方に有効な量で投与される、請求項50に記載の方法。

40

【請求項52】

対象に、

請求項46に記載の薬学的組成物の第1の用量、及び

請求項46に記載の薬学的組成物の第2の用量を投与することを含む、方法。

【請求項53】

前記第1の用量及び前記第2の用量が、同じ量または異なる量である、請求項52に記載の方法。

【請求項54】

投与を必要とする対象が、

50

標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたは前記ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第1の用量、及び

請求項46に記載の薬学的組成物の第2の用量を受けるように、請求項64に記載の薬学的組成物の用量を、前記投与を必要とする対象に投与することを含む、方法。

【請求項55】

投与を必要とする対象が、

請求項64に記載の薬学的組成物の第1の用量、及び

標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたは前記ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第2の用量を受けるように、請求項64に記載の薬学的組成物の用量を、前記投与を必要とする対象に投与することを含む、方法。

【請求項56】

投与を必要とする対象が、

(i) 標的タンパク質抗原と、(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドと、を含む融合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドを送達する、薬学的組成物の第1の用量、及び、

請求項46に記載の薬学的組成物の第2の用量を受けるように、請求項64に記載の薬学的組成物の用量を、前記投与を必要とする対象に投与することを含む、方法。

【請求項57】

前記第1の用量及び前記第2の用量が、少なくとも3日、4日、5日、6日、7日、2週間、3週間、または4週間間隔で投与される、請求項52～56のいずれか1項に記載の方法。

【請求項58】

抗原の免疫原性を増強する方法であって、投与を必要とする対象に、請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、または請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項46に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【請求項59】

抗原に対する免疫応答を刺激する方法であって、投与を必要とする対象に、請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、または請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項46に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【請求項60】

疾患を治療するか、または疾患の症状を改善する方法であって、投与を必要とする対象に、請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、または請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項46に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【請求項61】

請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、または請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項46に記載の薬学的組成物を含む組成物であって、抗原の免疫原性を増強する、抗原に対する免疫応答を刺激する、または疾患を治療する、もしくは疾患の症状を改善することに使用する、前記組成物。

【請求項62】

抗原の免疫原性を増強する、抗原に対する免疫応答を刺激する、または疾患を治療する、もしくは疾患の症状を改善するための薬剤の調製における、請求項1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、または請求項28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または請求項46に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

【請求項 63】

前記融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチドまたは薬学的組成物が、対象に投与される、請求項 61 に記載の使用のための組成物、または請求項 62 に記載の使用。

【請求項 64】

前記対象が哺乳動物である、請求項 52～60 のいずれか 1 項に記載の方法、請求項 63 に記載の使用のための組成物、または請求項 63 に記載の使用。

【請求項 65】

単回用量、または複数回用量の前記融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が、対象に投与される、請求項 52～60 もしくは 64 のいずれか 1 項に記載の方法、請求項 63 に記載の使用のための組成物、または請求項 63 に記載の使用。

10

【請求項 66】

前記融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または薬学的組成物の投与によって、体液性応答がもたらされる、請求項 52～60 もしくは 64～65 のいずれか 1 項に記載の方法、請求項 63 に記載の使用のための組成物、または請求項 63 に記載の使用。

【請求項 67】

Staphylococcus aureus の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチド。

【請求項 68】

Staphylococcus aureus の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む、単離されたポリペプチド。

20

【請求項 69】

請求項 64 に記載のポリヌクレオチド、または請求項 68 に記載のポリペプチドを送達する、薬学的組成物。

【請求項 70】

投与を必要とする対象に、少なくとも 1 回の用量の、請求項 69 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 71】

免疫原性組成物におけるアジュバントとしての *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) の使用。

【請求項 72】

免疫原性組成物におけるアジュバントとして使用するための、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi)。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2021 年 3 月 4 日に提出された米国仮特許出願第 63 / 156, 860 号の優先権を主張し、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

近年、様々な疾患及び状態に対するワクチンの開発が進んでいる。しかしながら、これらの努力は、広範囲にわたる中和ワクチン（無力化ワクチン）を生成することができなかった。

40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0003】

本開示は、抗原に対する免疫応答を刺激するための、及び／または抗原の免疫原性を増強するための組成物を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物は、(2) 補体 C3d 結合領域を含むアジュバントと融合した、(1) 抗原断片または抗原バリエーションを含む免疫原性組成物を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示

50

される免疫原性組成物は、得られる抗体応答の力価を増強し、及び／または測定可能なT細胞応答をもたらすことができる。いくつかの実施形態では、アジュバントは、Staphylococcus aureus（例えば、Sbi III及び／またはSbi IV）由来のSbiタンパク質の補体C3d結合領域であるか、またはそれらを含む。また、抗原に対する免疫応答を刺激するため、及び／または抗原の免疫原性を増強するための、薬学的組成物及び当該薬学的組成物を使用する方法が本明細書に提供される。

【0004】

本開示は、Staphylococcus aureusの免疫グロブリン結合タンパク質（Sbi）由来の補体C3d結合ポリペプチドを含むポリペプチドを提供する。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、（i）標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原と、（ii）Staphylococcus aureusの免疫グロブリン結合タンパク質（Sbi）由来の補体C3d結合ポリペプチドとを含む融合ポリペプチドである。

10

【0005】

いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、Staphylococcus aureusのSbiのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、Staphylococcus aureusのSbiのドメインIII、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、Staphylococcus aureusのSbiのドメインIV、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、Staphylococcus aureusのSbiのドメインIII及びドメインIV、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。

20

【0006】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と比較して、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または95%のアミノ酸配列長を有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の50%以下のアミノ酸配列長を有する。一部の実施形態では、断片抗原は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の40%、30%、20%、10%または5%以下のアミノ酸配列長を有する。

30

【0007】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、約10～300アミノ酸残基の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、少なくとも10アミノ酸残基の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、約300未満アミノ酸残基未満の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、約10～300、10～250、10～200、10～150、10～100、10～90、10～80、10～70、10～60、10～50、10～40、10～30、10～20、20～300、30～300、40～300、50～300、60～300、70～300、80～300、90～100、100～300、150～300、200～300、250～300、20～250、30～200、40～150、50～100、60～90、または70～80アミノ酸残基の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、または300アミノ酸残基の長さを有する。

40

【0008】

本明細書では、（i）標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションと、（ii）Staphylococcus aureusの免疫グロブリン結合タンパク質（Sbi）由来の補体C3d結合ポリペプチドとを含む融合ポリペ

50

プチドも提供される。

【0009】

いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus*のSbiのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、もまたはそれを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus*のSbiのドメインIII、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus*のSbiのドメインIV、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus*のSbiのドメインIII及びドメインIV、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。

10

【0010】

いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションのアミノ酸配列長は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と同一である。

【0011】

いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも1つの修飾アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、修飾アミノ酸は、N結合型グリコシル化を含む。いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と比較して少なくとも1つのアミノ酸変異を含む。いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と比較して、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、または50個のアミノ酸変異を含む。いくつかの実施形態では、変異は、特定の位置において、標的タンパク質抗原中のその位置に存在するアミノ酸とは異なるセリン、スレオニン、アラニン、またはアミノ酸を導入する。いくつかの実施形態では、変異は、ジスルフィド結合の形成を防止する。

20

【0012】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体(MHC)分子に結合することを特徴とする。いくつかの実施形態では、MHC分子は、MHC I分子もしくはMHC II分子であるか、またはMHC I分子もしくはMHC II分子を含む。

30

【0013】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、インビボで発現されるとき、MHC分子に結合しないことを特徴とする。

【0014】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、インビボで発現されるとき、標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることを特徴とする。

【0015】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、第2の標的タンパク質抗原由来のアミノ酸配列を更に含む。

40

【0016】

いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、感染性疾患抗原であるか、またはそれを含む。一部の実施形態では、感染性疾患抗原は、ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、またはそれらの組み合わせであるか、またはそれらを含む。いくつかの実施形態では、ウイルス抗原は、インフルエンザ抗原であるか、またはインフルエンザ抗原を含む。いくつかの実施形態では、ウイルス抗原は、コロナウイルスポリペプチドであるか、コロナウイルスポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、コロナウイルスポリペプチドは、SARS-CoV-2タンパク質であるか、またはSARS-CoV-2タンパク質を含

50

む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2タンパク質は、スパイクタンパク質（SARS-CoV-2S）またはその断片、エンベロープタンパク質（SARS-CoV-2E）またはその断片、膜タンパク質（SARS-CoV-2M）またはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質（SARS-CoV-2N）またはその断片、補助因子ポリペプチドまたはその断片、またはそれらの任意の組み合わせであるか、もしくはそれらを含む。一部の実施形態では、SARS-CoV-2タンパク質は、スパイクタンパク質またはその断片（例えば、RBD）を含む。

【0017】

いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、がん抗原であるか、またはがん抗原を含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【0019】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する。

【0020】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する。

【0021】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号6のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する。

【0022】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号7のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0023】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号20のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0024】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号21のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0025】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号22のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0026】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号23のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0027】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号24のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0028】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号25のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0029】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号26のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

10

【0030】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号27のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0031】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号28のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

20

【0032】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号29のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0033】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号30のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0034】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号31のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

30

【0035】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号8のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、または100%の同一性を有する。

【0036】

いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するS b iドメインI I Iを含む。

40

【0037】

いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するS b iドメインI Vを含む。

【0038】

いくつかの実施形態では、S b iドメインI I I及びS b iドメインI Vは、隣接している。

【0039】

いくつかの実施形態では、S b iドメインI I I及びS b iドメインI Vは、リンカーによって分離されている。

50

【0040】

いくつかの実施形態では、(a) 及び (b) は、ヌクレオチド配列によってコードされ、同じヌクレオチド配列または異なるヌクレオチド配列に配置される。いくつかの実施形態において、(a) は、(b) の N 末端に配置される。いくつかの実施形態において、(a) は、(b) の C 末端に配置される。

【0041】

いくつかの実施形態では、(a) 及び (b) は、連続しているか、またはリンカーによって分離されている。いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチジルリンカーである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも 60% のグリシン及び／またはセリンを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (Gly₄-Ser) リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly₄-Ser リンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly₄-Ser リンカーの 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 の繰返しを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly₄-Ser リンカーの 3 の繰返しを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号 11 の配列を含む。

【0042】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、分泌ペプチドを更に含む。いくつかの実施形態では、分泌ペプチドは、約 10～30 アミノ酸長である。一部の実施形態では、分泌ペプチドは、約 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 アミノ酸長である。いくつかの実施形態では、分泌ペプチドは、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、または 100% の同一性を有するアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、分泌ペプチドは、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、または 100% の同一性を有するアミノ酸を含む。

【0043】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 12 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0044】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 13 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0045】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 14 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0046】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 15 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0047】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 16 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0048】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 17 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0049】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 18 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0050】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 19 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0051】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 32 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

10

【0052】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0053】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 34 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0054】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

20

【0055】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0056】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 37 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

30

【0057】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 38 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0058】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 39 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0059】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 40 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

40

【0060】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 41 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0061】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号 42 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %

50

、 97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0062】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号43のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0063】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号44のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0064】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、配列番号45のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0065】

一部の実施形態では、融合ポリペプチドは、RNAであるか、またはRNAを含むポリヌクレオチドによってコードされる。一部の実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、メッセンジャーRNAであるか、またはメッセンジャーRNAを含む。

【0066】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、DNAであるか、またはDNAを含むポリヌクレオチドによってコードされる。

【0067】

本明細書に開示されるのは、本明細書に開示される融合ポリペプチドのうちのいずれか1つをコードする融合ポリヌクレオチドである。

【0068】

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原と、(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドとをコードするヌクレオチド配列を含む融合ポリヌクレオチドも、本明細書に開示される。

【0069】

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションと、(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドとをコードするヌクレオチド配列を含むポリペプチドも、本明細書に提供される。

【0070】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、RNAであるか、またはRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、メッセンジャーRNAであるか、またはメッセンジャーRNAを含む。

【0071】

一部の実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、DNAであるか、またはDNAを含む。

【0072】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドによってコードされる補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus* のSbiのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドによってコードされる補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus* のSbiのドメインIII、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドによってコードされる補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus* のSbiのドメインIV、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、ポリヌクレオチドによってコードされる補体 C 3 d 結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus* の S b i のドメイン I I I 及びドメイン I V、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。

【0073】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と比較して、少なくとも 5 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、または 95 % のアミノ酸配列長を有する断片抗原をコードする。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の 50 % 以下のアミノ酸配列長を有する断片抗原をコードする。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の 40 %、30 %、20 %、10 % または 5 % 以下のアミノ酸配列長を有する断片抗原をコードする。

10

【0074】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と同一のアミノ酸配列長を有する抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする。

【0075】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、標的タンパク質抗原と比較して少なくとも 1 つの修飾アミノ酸を含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする。

【0076】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、インビボで発現するとき、主要組織適合性複合体 (MHC) 分子に結合することを特徴とする断片抗原をコードする。いくつかの実施形態では、MHC 分子は、MHC I 分子もしくは MHC II 分子であるか、または MHC I 分子もしくは MHC II 分子を含む。

20

【0077】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、インビボで発現されるとき、MHC 分子に結合しないことを特徴とする断片抗原をコードする。

【0078】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、インビボで発現されるとき、標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることを特徴とする、断片抗原をコードする。

30

【0079】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、第 2 の標的タンパク質抗原由来のアミノ酸配列を更に含む断片抗原、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする。

【0080】

いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、感染性疾患抗原であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、感染性疾患抗原は、ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、またはそれらの組み合わせであるか、またはそれらを含む。いくつかの実施形態では、抗原は、ウイルス抗原であるか、またはそれらを含む。いくつかの実施形態では、ウイルス抗原は、インフルエンザ抗原であるか、またはインフルエンザ抗原を含む。いくつかの実施形態では、ウイルス抗原は、コロナウイルスポリペプチドであるか、コロナウイルスポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、コロナウイルスポリペプチドは、SARS-CoV-2 タンパク質であるか、または SARS-CoV-2 タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2 タンパク質は、スパイクタンパク質 (SARS-CoV-2 S) またはその断片、エンベロープタンパク質 (SARS-CoV-2 E) またはその断片、膜タンパク質 (SARS-CoV-2 M) またはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質 (SARS-CoV-2 N) またはその断片、補助因子ポリペプチドまたはその断片、またはそれらの任意の組み合わせであるか、もしくはそれらを含む

40

50

。一部の実施形態では、SARS-CoV-2タンパク質は、スパイクタンパク質またはその断片（例えば、RBD）を含む。

【0081】

いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、がん抗原であるか、またはがん抗原を含む。

【0082】

いくつかの実施形態では、(a)は、(b)のC末端に配置される。いくつかの実施形態では、(a)及び(b)は、連続しているか、またはリンカーをコードするヌクレオチド配列によって分離されている。いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチジルリンカーである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも60%のグリシン及び／またはセリンを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly-Gly-Gly-Ser (Gly4-Ser) リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される。

10

【0083】

いくつかの実施形態において、融合ポリヌクレオチドは、分泌ペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含む。

【0084】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号46のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

20

【0085】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号47のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0086】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号48のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0087】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号49のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

30

【0088】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号50のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0089】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号51のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

40

【0090】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号52のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0091】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号53のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0092】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号54のヌクレオチド配列

50

に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0093】

本明細書に開示されるのは、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドのうちのいずれか 1 つを含む発現ベクターである。

【0094】

いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ウイルスベクターを含む。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、またはレンチウイルスベクターもしくは RNA ベクターを含む。

【0095】

本明細書に開示される融合ポリペプチドのうちのいずれか 1 つを送達するための組成物もまた、本明細書に開示される。

【0096】

本明細書に開示されるのは、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドのうちのいずれか 1 つを送達するための組成物である。

【0097】

本開示は、本明細書に開示される融合ポリペプチド、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを送達する薬学的組成物を提供する。

【0098】

一部の実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、またはそれらの組み合わせを更に含む。

【0099】

本明細書に開示されるのは、標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原をコードする第 1 のヌクレオチド配列と、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体 C3d 結合ポリペプチドをコードする第 2 のヌクレオチド配列とを組み換えて結合し、第 1 のヌクレオチド配列及び第 2 のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを形成することを含む、作製方法である。

【0100】

いくつかの実施形態において、方法は、ポリヌクレオチドを細胞内で発現させて、ポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドを産生することを更に含む。

【0101】

本明細書に開示されるのは、本明細書に開示される融合ポリペプチド、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む細胞である。

【0102】

いくつかの実施形態では、細胞は、融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または発現ベクターと接触される。いくつかの実施形態では、接触はインビボ、インビトロ、またはエクシボで行われる。

【0103】

本明細書に開示されるのは、本明細書に開示される融合ポリペプチド、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクター、及び使用説明書を含むキットである。

【0104】

いくつかの実施形態では、キットは、標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、またはポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を更に含む。

【0105】

本開示は、少なくとも 1 回の用量の、本明細書に開示される融合ポリペプチド、本明細

10

20

30

40

50

書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む薬学的組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。

【0106】

いくつかの実施形態では、少なくとも1回の用量は、対象における断片抗原に対する免疫応答を誘導するための有効量で投与される。

【0107】

一部の実施形態では、免疫応答は、断片抗原に対する中和抗体力価の生成を含む。

【0108】

一部の実施形態では、中和抗体力価は、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドの非存在下で、断片抗原によって誘導される中和抗体力価と比較して、少なくとも50%増加する。

10

【0109】

いくつかの実施形態では、中和抗体力価の生成は、少なくとも0.1 μgの用量を使用してマウスモデルにおいて確立されている。

【0110】

いくつかの実施形態では、少なくとも1回の用量は、T細胞応答の誘導を低減しながらB細胞を刺激するための有効量で投与される。

【0111】

本明細書に開示されるのは、対象に、本明細書に開示される薬学的組成物の第1の用量、及び本明細書に開示される薬学的組成物の第2の用量を投与することを含む方法である。いくつかの実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に開示される融合ポリペプチド、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。

20

【0112】

いくつかの実施形態では、第1の用量及び第2の用量は、少なくとも3日、4日、5日、6日、7日、2週間、3週間、または4週間間隔で投与される。

【0113】

いくつかの実施形態では、第1の用量及び第2の用量は、同じ量である。

30

【0114】

いくつかの実施形態では、第1の用量及び第2の用量は、異なる量である。

【0115】

投与を必要とする対象が、標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第1の用量、及び本明細書に開示される薬学的組成物の第2の用量を受けように、本明細書に開示される薬学的組成物の用量を対象に投与することを含む方法が、本明細書に更に開示される。

【0116】

いくつかの実施形態では、(a) 標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドは、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含み、または (b) ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原は、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドを更に含む。

40

【0117】

いくつかの実施形態では、この方法は、投与ステップの前に、標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第1の用量を対象に投与することを更に含む。

50

【0118】

本開示は、投与を必要とする対象が、本明細書に開示される請求項に記載の薬学的組成物の第1の用量、及び標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第2の用量を受けるように、本明細書に開示される薬学的組成物の用量を対象に投与することを含む方法を提供する。

【0119】

いくつかの実施形態では、(a) 標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドは、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含み、または (b) ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原は、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドを更に含む。

10

【0120】

本明細書に開示されるのは、投与を必要とする対象が、(i) 標的タンパク質抗原及び (ii) *Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチド、またはポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドを含む融合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを送達する薬学的組成物の第1の用量、本明細書に開示される薬学的組成物の第2の用量を受けるように、本明細書に開示される薬学的組成物の用量を対象に投与することを含む方法である。

20

【0121】

いくつかの実施形態では、この方法は、投与ステップの前に、(i) 標的タンパク質抗原と、(ii) *Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチド、またはポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドとを含む融合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを送達する薬学的組成物の第1の用量を対象に投与することを更に含む。

【0122】

いくつかの実施形態では、第1の用量及び第2の用量は、少なくとも3日、4日、5日、6日、7日、2週間、3週間、または4週間間隔で投与される。

30

【0123】

本明細書に開示される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、それを必要とする対象は、標的タンパク質抗原によって誘発される疾患、障害、または状態に罹患しているか、または罹患しやすい対象である。

【0124】

いくつかの実施形態では、対象は哺乳動物対象である。

【0125】

いくつかの実施形態では、対象はヒト対象である。

【0126】

いくつかの実施形態では、投与は、筋肉内投与、皮内投与、静脈内投与、皮下投与、またはそれらの組み合わせによって行うことができる。

40

【0127】

本明細書に開示されるのは、抗原の免疫原性を増強するために使用するための、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を含む組成物である。

【0128】

抗原に対する免疫応答を刺激するのに使用するための、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を含む組成物もまた、本明細書に開示される。

50

【0129】

本明細書に更に開示されるのは、疾患を治療する、または疾患の症状を改善する方法で使用するための、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を含む組成物である。

【0130】

本開示は、抗原の免疫原性を増強するための方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0131】

本開示はまた、抗原に対する免疫応答を刺激するための方法であって、投与を必要とする対象に、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0132】

本明細書に追加的に提供されるのは、疾患を治療するか、または疾患の症状を緩和する方法であり、それを必要とする対象に、本明細書に開示される融合ポリペプチド、もしくは本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を投与することを含む。

【0133】

本開示は、断片抗原の免疫原性を増強するための薬剤の調製における、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む組成物、または本明細書に開示される薬学的組成物の使用を提供する。

【0134】

本開示はまた、抗原に対する免疫応答を刺激するための薬剤の調製における、本明細書に開示される融合ポリペプチドを含む組成物、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物の使用を提供する。

【0135】

本明細書に更に提供されるのは、疾患を治療する、または疾患の症状を改善するための薬剤の調製における、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む組成物、または本明細書に開示される薬学的組成物の使用である。

【0136】

本明細書に提供されるのは、断片抗原の免疫原性を増強するための、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を含む組成物の使用である。

【0137】

本明細書に更に提供されるのは、抗原に対する免疫応答を刺激するための、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を含む組成物の使用である。

【0138】

本開示は、疾患を治療する、または疾患の症状を改善するための、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を含む組成物の使用を提供する。

【0139】

本明細書に開示される方法または使用のうちのいくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物である。

【0140】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

10

20

30

40

50

【0141】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、単回用量の融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が投与される。

【0142】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、複数回用量の融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が投与される。

【0143】

本明細書に開示される方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物は、約 $0.5 \mu\text{g} \sim 10 \mu\text{g}$ の用量で投与される。

10

【0144】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチドまたは薬学的組成物の投与は、体液性応答をもたらす。いくつかの実施形態では、体液性応答は、抗体応答である。

【0145】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または薬学的組成物の投与は、抗体応答の力価の増加をもたらす。いくつかの実施形態では、力価の増加は、約10倍～約500倍の増加である。いくつかの実施形態では、抗体応答の力価の増加は、S b i dメインIII、またはその断片もしくはバリエーション、及びS b i dメインIV、またはその断片もしくはバリエーションを含まない他の方法で類似する融合ポリヌクレオチドの投与と比較される。いくつかの実施形態では、抗体応答の力価の増加は、S b i dメインIII、またはその断片もしくはバリエーション、及びS b i dメインIV、またはその断片もしくはバリエーションを含まない他の方法で類似する融合ポリペプチドの投与と比較される。いくつかの実施形態では、抗体応答の増加した力価は、S b i dメインIII、またはその断片もしくはバリエーション、及びS b i dメインIV、またはその断片もしくはバリエーションをコードするヌクレオチド配列を含まない他の方法で類似する薬学的組成物の投与と比較される。

20

【0146】

本明細書に開示される方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組成物は、筋肉内、静脈内、皮下、髄腔内、皮内、眼、鼻腔内、舌下、または経口の投与経路のうちのいずれか1つを介して投与される。

30

【0147】

本開示は、断片が由来する標的タンパク質抗原における三次元コンホメーションと実質的に同一である三次元コンホメーションに折り畳まれるポリペプチド断片を同定することによって断片抗原を選択する、インビトロ方法を提供する。

【0148】

いくつかの実施形態において、本方法は、細胞表面上に断片抗原候補のライブラリを表示する哺乳動物細胞ディスプレイシステムを提供するステップと、哺乳動物細胞ディスプレイシステムを、断片抗原候補が由来する標的タンパク質抗原に結合する抗体を含む組成物に曝露するステップと、標的タンパク質抗原結合抗体に結合する断片抗原候補を検出するステップであって、標的タンパク質抗原結合抗体のうちの少なくとも1つに結合する断片抗原候補の結合が、標的タンパク質抗原における三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれる可能性を示す、検出するステップとを含む。

40

【0149】

いくつかの実施形態では、方法は、標的タンパク質抗原に結合する抗体を生成するステップを更に含む。

【0150】

いくつかの実施形態では、抗体の生成は、(i)断片抗原候補が由来する標的タンパク質抗原またはそれをコードするポリヌクレオチドで動物を免疫することと、(ii)標的タンパク質抗原に結合する抗体を同定することと、を含む。

50

【0151】

一部の実施形態では、哺乳動物細胞ディスプレイシステムは、HEK293T細胞、HeLa細胞、またはCHO細胞を含む。

【0152】

いくつかの実施形態では、ポリペプチド断片は、血清結合アッセイまたは同様のアッセイにおける抗体に対する結合親和性に基づいて同定される。

【0153】

本明細書では、Staphylococcus aureusの免疫グロブリン結合タンパク質(Sbi)をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチドも提供される。

10

【0154】

いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、Sbi由来の補体C3d結合ポリペプチドをコードする配列を含む。

【0155】

いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、Staphylococcus aureusのSbiのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。

【0156】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドはRNAであるか、またはRNAを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、メッセンジャーRNAであるか、またはメッセンジャーRNAを含む。

20

【0157】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドはDNAであるか、またはDNAを含む。

【0158】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号9のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドをコードする。

【0159】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号10のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドをコードする。

30

【0160】

本開示は、Staphylococcus aureusの免疫グロブリン結合タンパク質(Sbi)を含む単離されたポリペプチドを提供する。

【0161】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、Sbi由来の補体C3d結合ポリペプチドを含む。

【0162】

いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、Staphylococcus aureusのSbiのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。

40

【0163】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0164】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、9

50

7 %、または100 %の同一性を有する。

【0165】

また、本明細書では、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターも提供される。

【0166】

*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む単離されたポリペプチドを送達するための組成物が本明細書で更に提供される。

【0167】

本開示はまた、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチドを送達するための組成物を提供する。

【0168】

*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) またはその断片をコードするヌクレオチド配列、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む単離されたポリペプチド、または*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) またはその断片をコードするヌクレオチド配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む組換えポリヌクレオチドを送達する、薬学的組成物が本明細書に提供される。

【0169】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、またはそれらの組み合わせを更に含む。

【0170】

本開示は、投与を必要とする対象に、少なくとも1回の用量の、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチド、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む単離されたポリペプチド、または*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0171】

投与を必要とする対象に、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチド、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む単離されたポリペプチド、またはそれを含む薬学的組成物を投与することを含む、抗原の免疫原性を増強するための方法が本明細書に更に開示される。

【0172】

本開示はまた、抗原に対する免疫応答を刺激するための方法であって、投与を必要とする対象に、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列またはその断片を含む組換えポリヌクレオチド、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む単離されたポリペプチド、またはそれを含む薬学的組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0173】

本明細書では、免疫原性組成物におけるアジュバントとしての*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) の使用も提供される。

【0174】

本開示は、免疫原性組成物におけるアジュバントとして使用するための、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を提供する。

【0175】

本開示により包含されるこれらの態様及び他の態様は、以下で及び特許請求の範囲においてより詳細に記載される。

【図面の簡単な説明】

【0176】

【図1】 A～Dは、Sbi (III-IV) 融合物を有する単離されたSARS-CoV-2 Sタンパク質ドメインの改善された抗原性を記載する。Aは、Sbi (III-IV) 融合物の起こり得る作用機序を示す概略図である。Sbi (III-IV) はC3dに結合し、CR2に結合することによってB細胞活性化を駆動することができる。C3d駆動B細胞共刺激は、ヘルパーT細胞活性化と直交しており、これは、同族MHCI-ペプチド複合体及びCD40シグナル伝達のTCR認識を通じて正規に発生する。Bは、SARS-CoV-2 Sタンパク質のRBDドメインのSbi (III-IV) への融合が、IM送達mRNAの10 µg投与後の21日目のBALB/cマウスにおけるIgG力価の増加をもたらすことを示すグラフである。Sタンパク質の膜貫通型ドメインに融合したRBDを共送達すること (総mRNA用量10 µgで) は、力価の更なる増加をもたらす。上下の水平線は、力価測定で使用する希釈シリーズの検出限界を示す。その範囲外の力価を有する血清には、希釈シリーズの両端の値が与えられた。値は幾何平均として計算され、エラーバーは幾何標準偏差に対応する。Cは、IFNγ/IL2二重染色コロニーの数のELISPOTカウントを有するグラフである。各条件について、5匹のマウス由来の脾臓をプールし、500,000細胞/ウェルで4ウェルにプレーティングした。それぞれ2つのウェルをN末端またはC末端Sタンパク質ペプチドプール (Peptide SARS-CoV-2 Spike糖タンパク質ミックス) によって刺激した。4つのウェルにわたってコロニー数をプールすることによってレートを計算し、エラーバーをプールされたコロニー数のポアソン誤差として計算した。Dは、Sタンパク質のRBDドメインの融合断片が検出可能な体液性応答をもたらすことができることを示すグラフである。図1Bに記載されるように表示されるデータ。

【0177】

【図2】 A～Bは、ハイスループットタンパク質折り畳みスクリーンを示す。Aは、タンパク質折り畳みのためのスクリーンの概略図である。抗血清は、目的の完全長タンパク質をコードするmRNAワクチンでマウスにワクチン接種することによって生成される。次いで、収集した抗血清を使用して、タンパク質断片のライブラリ中の哺乳動物ディスプレイシステムとの関連で提示される適切に折り畳まれた断片を検出する。Bは、スクリーニング戦略を検証するための陽性対照及び陰性対照を示すグラフである。HEK293T細胞の表面上に提示され、RBDワクチン接種マウスから採取された抗血清で染色されたSARS-CoV-2由来のRBD。

【0178】

【図3】 SARS-CoV-2 Sタンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV) 融合によるウイルス中和の増加を示す。

【0179】

【図4A】 SARS-CoV-2 Sタンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV) 融合によるB細胞の刺激を示す。

【図4B】 SARS-CoV-2 Sタンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV) 融合によるB細胞の刺激を示す。

【0180】

【図5A】 プライミング用量及びブースター用量を含むワクチン接種レジメンの結果を示す。

【図5B】 プライミング用量及びブースター用量を含むワクチン接種レジメンの結果を示す。

す。

【0181】

【図6】プライミング用量及びブースター用量を含むワクチン接種レジメンによって生成された抗体力価を示すグラフである。

【0182】

【図7A】保存されたヘマグルチニンHA1残基を示す。HA1糖タンパク質三量体の構造内のY98、S/K136、W153、H183、及びL/I194受容体接触残基のコンテキストを示す。

【図7B】保存されたヘマグルチニンHA1残基を示す。92年にわたる季節性インフルエンザにまたがる株にわたる受容体接触残基の保存を示す。

10

【発明を実施するための形態】

【0183】

特定の定義

「約」または「およそ」本明細書で使用される場合、「約」及び「およそ」という用語は、本明細書で値を参照して使用される場合、文脈上、参照される値に類似する値を指す。一般に、文脈に精通している当業者は、その文脈において「約」または「およそ」に包含される関連する程度の分散を理解するであろう。例えば、いくつかの実施形態では、「約」または「およそ」という用語は、参照値の25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%以下の値の範囲を包含し得る。

20

【0184】

管理本明細書で使用される場合、「投与すること」または「投与」という用語は、典型的には、組成物であるか、または組成物に含まれる薬剤の送達を達成するために、組成物を対象に投与することを指す。当業者であれば、適切な状況下で、対象、例えばヒトへの投与に利用できる様々な経路を認識している。例えば、いくつかの実施形態では、投与は、眼、経口、非経口、局所などであり得る。いくつかの特定の実施形態では、投与は、気管支（例えば、気管支点滴による）、頬側、真皮（例えば、真皮の局所、皮内、皮間、経皮などのうちの1つ以上であり得るか、またはそれらを含み得る）、経腸、動脈内、皮内、胃内、髄内、筋肉内、鼻腔内、腹腔内、髄腔内、静脈内、脳室内、特定の臓器内（例えば、肝臓内）、粘膜、鼻、経口、直腸、皮下、舌下、局所、気管（例えば、気管内注入による）、腔内、硝子体内などであり得る。いくつかの実施形態では、投与は単回用量のみを含み得る。いくつかの実施形態では、投与は、一定数の用量の適用を含み得る。いくつかの実施形態では、投与は、断続的（例えば、時間的に分離された複数の用量）及び／または周期的（例えば、共通の期間で分離された個々の用量）投薬である投薬を伴い得る。いくつかの実施形態では、投与は、少なくとも選択された期間における連続投薬（例えば、灌流）を含み得る。

30

【0185】

アジュバント本明細書で使用される「アジュバント」という用語は、免疫応答を誘発する薬剤に対する免疫応答を調節及び／または増強する薬剤を指す。いくつかの実施形態では、アジュバントは、免疫応答を誘発する薬剤の投与の前、同時に、または後に投与される。いくつかの実施形態では、アジュバントと、免疫応答を誘発する薬剤とは、1つの組成物中にある。いくつかの実施形態では、アジュバントと、免疫応答を誘発する薬剤とは、異なる組成物中にある。いくつかの実施形態では、アジュバントは、核酸、ポリペプチド、多糖、または小分子であるか、またはそれらを含む。いくつかの実施形態では、アジュバントは、補体結合ドメインであるか、または補体結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、アジュバントは、C3d結合ドメインであるか、またはC3d結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、アジュバントは、Staphylococcus aureusのSbi免疫グロブリン結合タンパク質のドメインIII、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、アジュバントは、Staphylococcus aureusのSbi免疫グロブリン結合タ

40

50

ンパク質のドメインⅠⅤ、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、アジュバントは、*Staphylococcus aureus*のSbiのドメインⅠⅠⅠ及びドメインⅠⅤの両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションを含む。

【0186】

抗原本明細書で使用される場合、「抗原」という用語は、免疫応答を誘発する薬剤、及び／または(i i) T細胞受容体(例えば、MHC分子によって提示される場合)または抗体に結合する薬剤を指す。いくつかの実施形態では、抗原は、体液性応答(例えば、抗原特異的抗体の産生を含む)を誘発し、いくつかの実施形態では、抗原は、細胞性応答(例えば、受容体が抗原と特異的に相互作用するT細胞を含む)を誘発する。いくつかの実施形態では、抗原は、標的タンパク質の少なくとも1つのエピトープを含む。いくつかの実施形態では、エピトープは、線形エピトープであってもよい。いくつかの実施形態では、エピトープは、コンホメーションエピトープであってもよい。いくつかの実施形態では、抗原は、抗体に結合し、生物における特定の生理学的応答を誘導してもしなくてもよい。一般に、抗原は、例えば小分子、核酸、ポリペプチド、炭水化物、脂質、高分子(いくつかの実施形態では、生体高分子以外[例えば、核酸またはアミノ酸高分子以外])などのような任意の化学的実体であるか、またはそれを含んでもよい。いくつかの実施形態では、抗原は、ポリペプチドであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、抗原は、グリカンであるか、またはグリカンを含む。当業者は、一般に、抗原が、単離されたまたは純粋な形態で提供され得るか、代替的に粗製形態で(例えば、他の材料、例えば細胞抽出物または抗原含有供給源の他の比較的粗雑な調製物と一緒に)提供され得ることを理解するであろう。いくつかの実施形態では、本発明に従い利用される抗原は、粗製形態で提供される。いくつかの実施形態では、抗原は、組換え抗原である。

【0187】

抗原バリエーション本明細書で使用される場合、用語「抗原バリエーション」は、標的タンパク質抗原との有意な構造的同一性を示すが、標的タンパク質抗原と比較して1つ以上の化学部分の存在またはレベルで標的タンパク質抗原とは構造的に異なる抗原を指す。いくつかの実施形態では、抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と機能的に異なる。いくつかの実施形態では、抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と機能的に異なるものではない。いくつかの実施形態では、抗原は、標的タンパク質抗原のエピトープを含む。いくつかの実施形態では、抗原バリエーションは、アミノ酸配列の1つ以上の差異、及び／またはポリペプチド骨格に共有結合した化学部分(例えば、炭水化物、脂質など)の1つ以上の差異の結果として、標的タンパク質抗原とは異なる。

【0188】

送達／接触本明細書で互換的に使用される場合、「送達」、「送達すること」、または「接触すること」という用語は、融合ポリヌクレオチド(例えば、本明細書に記載されるように)または融合ポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるように)を標的細胞に導入することを指す。標的細胞は、インビトロまたはエクスピボで培養することができ、または対象(インスピボ)に存在することができる。融合ポリヌクレオチド(例えば、本明細書に記載されるように)または融合ポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるように)を標的細胞に導入する方法は、インビトロ、エクスピボ、またはインスピボの用途によって変化し得る。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチド(例えば、本明細書に記載されるように)または融合ポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるように)は、インビトロトランスフェクションによって、細胞培養物中の標的細胞に導入することができる。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチド(例えば、本明細書に記載されるように)または融合ポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるように)は、送達ビヒクル(例えば、ナノ粒子、リポソーム、及び／または細胞透過性薬剤との複合体)を介して標的細胞に導入することができる。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチド(例えば、本明細書に記載されるように)または融合ポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるように)は、融合ポリヌクレオチド(例えば、本明細書に記載されるように)

または融合ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるように）を対象に投与することによって、対象の標的細胞に導入することができる。

【0189】

機能的本明細書で使用される場合、「機能的」という用語は、特定の特性及び／または活性を示す実体の形態または断片を指すために使用される。

【0190】

断片本明細書に記載される物質または実体の「断片」は、全体の別個の部分を含むが、全体に見られる1つ以上の部分を欠く構造を有する。いくつかの実施形態では、断片は、そのような別個の部分からなる。いくつかの実施形態では、断片は、全体に見出される特徴的な構造要素または部分からなるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、断片は、ポリヌクレオチド断片を含む。いくつかの実施形態では、断片は、ポリペプチド断片を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド断片またはポリペプチド断片は、ポリヌクレオチド全体またはポリペプチド全体に見られる、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500またはそれ以上のモノマー単位（例えば、残基）を含むか、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド断片またはポリペプチド断片は、ポリヌクレオチド全体またはポリペプチド全体に見られるモノマー単位（例えば、残基）の少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上を含むか、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ポリペプチド全体またはポリヌクレオチド全体は、ポリヌクレオチド断片またはポリペプチド断片の「親」と称され得る。

【0191】

断片抗原「断片抗原」は、標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片を指すように本明細書で使用される。いくつかの実施形態では、エピトープは、MHCクラスIによって提示されるエピトープであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、エピトープは、MHCクラスIIによって提示されるエピトープであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、断片抗原は、ポリペプチド断片抗原である。いくつかの実施形態では、断片抗原は、断片抗原をコードするポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの実施形態では、ポリペプチド断片抗原は、標的タンパク質抗原ポリペプチドに見られるように、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、200、250、300またはそれ以上のモノマー単位（例えば、残基）を含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ポリペプチド断片抗原は、標的タンパク質抗原ポリペプチドに見られるモノマー単位（例えば、残基）の少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上を含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ポリペプチド断片抗原は、標的タンパク質抗原ポリペプチドに見られるモノマー単位（例えば、残基）の約50%以下、40%以下、30%以下、20%以下、10%以下、または5%以下を含むか、またはそれらからなる。

【0192】

断片抗原バリエント本明細書で使用される場合、「断片抗原バリエント」という用語は、断片抗原と有意な配列及び／または構造的同一性を示すが、断片抗原と比較して1つ以上の化学部分の存在またはレベルで断片抗原と配列及び／または構造が異なる断片抗原を指す。いくつかの実施形態では、断片抗原バリエントは、断片抗原と機能的に異なる。い

くつかの実施形態では、断片抗原バリエーションは、断片抗原と機能的に異なるものではない。いくつかの実施形態では、断片抗原バリエーションは、アミノ酸配列の1つ以上の差異、及び／またはポリペプチド骨格に共有結合した化学部分（例えば、炭水化物、脂質など）の1つ以上の差異の結果として、断片抗原とは異なる。

【0193】

核酸／オリゴヌクレオチド／ポリヌクレオチド本明細書で使用される場合、「核酸」、「ポリヌクレオチド」、及び「オリゴヌクレオチド」という用語は、交換可能に使用され、3ヌクレオチド以上のポリマーを指す。いくつかの実施形態では、核酸はDNAを含む。いくつかの実施形態では、核酸はRNAを含む。いくつかの実施形態では、核酸はメッセンジャーRNA（mRNA）を含む。いくつかの実施形態では、核酸は一本鎖である。いくつかの実施形態では、核酸は二本鎖である。いくつかの実施形態では、核酸は、一本鎖部分と二本鎖部分の両方を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ以上のホスホジエステル結合を含む骨格を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、ホスホジエステル結合及び非ホスホジエステル結合の両方を含む骨格を含む。例えば、いくつかの実施形態では、核酸は、例えば「ペプチド核酸」のように、1つ以上のホスホロチオエートまたは5'-N-ホスホラミダイト結合及び／または1つ以上のペプチド結合を含む骨格を含み得る。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ以上、または全ての天然残基（例えば、アデニン、シトシン、デオキシアデノシン、デオキシシチジン、デオキシグアノシン、デオキシチミジン、グアニン、チミン、ウラシル）を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ以上、または全ての非天然残基を含む。いくつかの実施形態では、非天然残基は、ヌクレオシド類似体（例えば、2-アミノアデノシン、2-チオチミジン、イノシン、ピロロピリミジン、3-メチルアデノシン、5-メチルシチジン、C-5プロピニルシチジン、C-5プロピニルウリジン、2-アミノアデノシン、C5-プロモウリジン、C5-フルオロウリジン、C5-ヨードウリジン、C5-プロピニルウリジン、C5-プロピニルシチジン、C5-メチルシチジン、2-アミノアデノシン、7-デアザアデノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソアデノシン、8-オキソグアノシン、6-O-メチルグアニン、2-チオシチジン、メチル化塩基、インターカレートされた塩基、及びこれらの組み合わせ）を含む。いくつかの実施形態では、非天然残基は、天然残基と比較して、1つ以上の修飾糖（例えば、2'-フルオロリボース、リボース、2'-デオキシリボース、アラビノース、及びヘキソース）を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、RNAまたはポリペプチドなどの機能的遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列を有する。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ以上のイントロンを含むヌクレオチド配列を有する。いくつかの実施形態において、核酸は、天然源からの単離、酵素合成（例えば、相補的鋳型に基づく重合、例えば、インビボまたはインビトロ、組換え細胞または系における再生、または化学合成によって調製され得る。いくつかの実施形態では、核酸は、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、9500、10000、10500、11000、11500、12000、12500、13000、13500、14000、14500、15000、15500、16000、16500、17000、17500、18000、18500、19000、19500、または20000以上の残基またはヌクレオチド長である。多数のヌクレオチドが、例えば融合ポリヌクレオチドのサイズの指標として使用される場合、ヌクレオチドの特定の数は、例えば、融合ポリヌクレオチドの一本鎖上のヌクレオチドの数を指す。

【0194】

ポリペプチド本明細書で使用される「ポリペプチド」という用語は、一般に、少なくと

も3つ以上のアミノ酸を有するポリマーという当技術分野で認識されている意味を有する。当業者であれば、「ポリペプチド」という用語は、本明細書に列挙される完全な配列を有するポリペプチドだけでなく、そのような完全なポリペプチドの機能的、生物学的に活性な、または特徴的な断片、部分、またはドメイン（例えば、少なくとも1つの活性を保持する断片、部分、またはドメイン）を表すポリペプチドを包含するように十分に一般的であることが意図されていることを理解するであろう。ポリペプチドは、L-アミノ酸、D-アミノ酸、またはその両方を含み得、当該技術分野で知られている様々なアミノ酸修飾または類似体のいずれかを含み得る。有用な修飾としては、例えば、末端アセチル化、アミド化、メチル化などが挙げられる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、天然アミノ酸、非天然アミノ酸、合成アミノ酸、及びそれらの組み合わせを含み得る。

10

【0195】

RNAオリゴヌクレオチド本明細書で使用される場合、「RNAオリゴヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチドのオリゴヌクレオチドを指す。いくつかの実施形態では、RNAオリゴヌクレオチドは一本鎖である。いくつかの実施形態では、RNAオリゴヌクレオチドは二本鎖である。いくつかの実施形態では、RNAオリゴヌクレオチドは、一本鎖部分と二本鎖部分の両方を含む。いくつかの実施形態では、RNAオリゴヌクレオチドは、上記の「核酸／オリゴヌクレオチド」の定義に記載されるような骨格構造を含むことができる。RNAオリゴヌクレオチドは、調節RNA（例えば、siRNA、microRNAなど）、またはメッセンジャーRNA（mRNA）オリゴヌクレオチドであり得る。RNAオリゴヌクレオチドがmRNAオリゴヌクレオチドであるいくつかの実施形態では、RNAオリゴヌクレオチドは、典型的には、その3'末端にポリ（A）領域を含む。RNAオリゴヌクレオチドがmRNAオリゴヌクレオチドであるいくつかの実施形態では、RNAオリゴヌクレオチドは、典型的には、その5'末端に、例えば、mRNAを認識し、リボソームに付着させ、翻訳を開始するための、当該技術分野で認識されているキャップ構造を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド（例えば、融合ポリヌクレオチド）は、RNAオリゴヌクレオチドを含む。多数のリボヌレオチドクが、例えば融合ポリヌクレオチドのサイズの指標として使用される場合、ヌクレオチドの特定の数、例えば、融合ポリヌクレオチドの一本鎖上のリボヌクレオチドの数を指す。

20

【0196】

対象本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、生物、典型的には哺乳動物（例えば、ヒト）を指す。いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害、または状態に罹患している。いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害、または状態に感受性がある。いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害または状態の1つ以上の症状または特性を示す。いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害、または状態のいかなる症状または特性も示さない。いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害、または状態への感受性またはそのリスクに特徴的な1以上の特徴を有する者である。いくつかの実施形態では、対象は患者である。いくつかの実施形態では、対象は、診断及び／または療法が施される及び／または施された個体である。

30

【0197】

バリエーション本明細書で使用される場合、「バリエーション」という用語は、参照実体との有意な構造的同一性を示すが、参照実体と比較して1つ以上の化学部分の存在またはレベルで参照実体と構造的に異なる実体を指す。多数の実施形態では、バリエーションは、その参照実体と機能的にも異なる。一般に、特定の実体が適切に参照実体の「バリエーション」であるとはみなされるかどうかは、参照実体との構造的同一性の程度に基づく。例えば、バリエーションポリペプチドは、アミノ酸配列の1つ以上の差異、及び／またはポリペプチド骨格に共有結合した化学部分（例えば、炭水化物、脂質など）の1つ以上の差異の結果として、参照ポリペプチドとは異なり得る。あるいは、または更に、いくつかの実施形態では、バリエーションポリペプチドは、参照ポリペプチドと少なくとも1つの特徴的な配列要素を共有しない。いくつかの実施形態では、参照ポリペプチドは、1以上の生物学的活性を有する。いくつかの実施形態では、バリエーションポリペプチドは、参照ポリペプチドの生物学的活性

40

50

のうちの1以上を共有する。いくつかの実施形態では、バリエーションポリペプチドは、参照ポリペプチドの生物学的活性のうちの1以上を欠いている。いくつかの実施形態では、バリエーションポリペプチドは、参照ポリペプチドと比較して、1以上の生物学的活性の低下したレベルを示す。

【0198】

標準的な技術を、組換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、例えば、mRNA合成、ならびに組織培養及び形質転換（例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション）に使用してもよい。酵素反応及び精製技術は、製造業者の仕様に従って、または当該技術分野で一般的に達成されるように、または本明細書に記載されるように実施してもよい。前述の技法及び手順は、概して、当該技術分野で周知の従来の方

10

法に従って実行され得、本明細書全体を通して引用及び説明される様々な一般的及びより具体的な参考文献で説明されるように実行され得る。例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989)) を参照されたい。この文献は、任意の目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

【発明を実施するための形態】

【0199】

ミョウバン及びポリI:Cなどの従来のワクチンアジュバントは、典型的には、1つ以上のToll様受容体(TLR)を活性化し、それによって局所組織を抗ウイルス状態にすることによって機能する。対照的に、RNAワクチン、例えば、mRNAワクチンで高レベルの抗原産生を達成するには、局所的な先天性免疫応答が発現レベルを劇的に低下させる可能性があるため、最小限の免疫原性が必要である。本開示は、抗原発現に相殺効果を生じさせることなく、免疫応答の強さの改善をもたらすことができるRNAネイティブアジュバント技術、例えば、mRNAネイティブアジュバント技術を提供する。これは、例えば、タンパク質ベースの融合を使用して、RNAコード抗原、例えば、mRNAコード抗原を、ワクチン自体の免疫原性から分離された方法でより免疫原性にするこ

20

【0200】

とによって達成され得る。一実施形態では、融合タンパク質は、RNA、例えば、mRNAの発現部位における非特異的炎症を最小限に抑えながら、B細胞による取り込みを直接刺激及び／または駆動するであろう。候補融合ドメインの大規模なセットがスクリーニングされ、本明細書に記載されるSbi断片が、抗原発現レベルの範囲にわたって抗体力価を改善したことが観察された。これは、RNAベース、例えば、mRNAベースのワクチンとうまく機能するアジュバントを作製するためのファーストインクラスのソリューションを表す。ウイルス及びDNAワクチンベクターは、同じ免疫原性-抗原発現最適化課題に直面するため、本明細書に記載されるSbi断片、例えば、SbiIII-IVは、他のクラスの核酸ベースのワクチンを改善するために使用され得る。

30

理論に拘束されることを望むことなく、SbiIII-IVの作用機序について知られていることを考えると、本明細書に記載される融合アプローチは、有効な抗原の設計空間を拡張するという追加の利点を有すると考えられている。抗体産生は、1) それらのB細胞受容体(BCR)を介して抗原と結合し、2) 第2のシグナルによって活性化されるB細胞によって駆動される。活性化シグナルは、最も一般的にはヘルパーT細胞によって提供され、これは、有効な抗原がBCRと結合する必要がある、MHC上に効率的に提示され、T細胞受容体(TCR)と結合するペプチドを含有することを意味する。対照的に、SbiIII-IVは、ヘルパーT細胞において強い応答を生成する必要性を回避して、B細胞を直接ライセンス供与することができる補体断片に結合する。これは、例えば、良好なT細胞エピトープを欠く断片の使用を可能にすることによって、有効な抗原の設計空間を拡張することができる。いくつかの実施形態では、SbiIII-IVベースの融合アーキテクチャの用途のうちの1つは、天然に存在するタンパク質の一部のみを含む最小限の抗原を作製することである。一例として、本開示は、抗原性が向上した(実施例1を

40

50

参照されたい) 及び／または生産性体液性免疫応答を刺激する(実施例2～4を参照されたい) S b i 断片(S b i I I I - I V) に融合された例示的な抗原として、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質の一部(例えば、R B D 及び s u b - R B D 部分)を含む、S b i I I I - I V ベースの融合物の組成物及び使用を提供する。

【0201】

本開示は、補体C3d結合領域を含むアジュバントに融合した断片抗原によるワクチン接種が、得られる抗体応答の力価を高めることができ、及び／または測定可能なT細胞応答をもたらすことができることを認識する最初のものである。いくつかの実施形態では、アジュバントは、S t a p h y l o c c o c c u s a u r e u s 由来のS b i タンパク質の補体C3d結合領域であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合領域を含むアジュバントに融合された断片抗原は、合成免疫シナプスとして機能し、自然なウイルス感染を模倣して強力で適切な免疫応答を駆動する。いくつかの実施形態では、補体C3d結合領域を含むアジュバントに融合された断片抗原は、M H C 提示ペプチドを欠く小さな抗原が有意義な体液性応答を誘発することを可能にする。

【0202】

本開示はまた、(全長抗原の代わりに)断片抗原またはバリエーション抗原を用いたワクチン接種が、ウイルス変異に対する耐性が低く、広く中和するワクチンを開発するのに有用であり得ることを認識する。本明細書に記載のワクチン接種アプローチは、ワクチンの幅及び有効性を改善するために、免疫応答を保存された及び／または機能性領域に集中させることができる。理論に拘束されることを望むことなく、いくつかの実施形態では、以下の断片抗原の使用で免疫フォーカシングが起こり得ると考えられている。(1) M H C I 及び／またはM H C I I に提示することができる標的タンパク質抗原のエピトープを最小限に含む、及び／または(2)完全長または天然標的タンパク質抗原の確認と同様の確認を有する、断片抗原である。

【0203】

断片抗原またはバリエーション抗原

本開示は、標的タンパク質抗原のエピトープ及びそれを含む組成物を含む断片抗原またはバリエーション抗原を提供する。いくつかの実施形態では、断片抗原またはバリエーション抗原は、免疫原性組成物で使用するために、アジュバント(例えば、C3d結合ポリペプチド)に融合される。

【0204】

いくつかの実施形態では、断片抗原またはバリエーション抗原は、標的タンパク質抗原のエピトープ(例えば、T細胞エピトープ)を含む。いくつかの実施形態では、断片抗原またはバリエーション抗原は、標的タンパク質抗原のエピトープ(例えば、T細胞エピトープ)の一部を含む。

【0205】

いくつかの実施形態では、断片抗原またはバリエーション抗原は、標的タンパク質抗原のエピトープ、例えば、T細胞エピトープを含まない。

【0206】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と比較して、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または95%のアミノ酸配列長を有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の50%以下のアミノ酸配列長を有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の40%、30%、20%、10%または5%以下のアミノ酸配列長を有する。

【0207】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、約10～300アミノ酸残基の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、少なくとも10アミノ酸残基の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、約300未満アミノ酸残基未満の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、約10～300、10～250、10～200、1

10

20

30

40

50

0～150、10～100、10～90、10～80、10～70、10～60、10～50、10～40、10～30、10～20、20～300、30～300、40～300、50～300、60～300、70～300、80～300、90～100、100～300、150～300、200～300、250～300、20～250、30～200、40～150、50～100、60～90、または70～80アミノ酸残基の長さを有する。いくつかの実施形態では、断片抗原は、約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、または300アミノ酸残基長を有する。

【0208】

いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションのアミノ酸配列長は、標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と同一である。

【0209】

いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも1つの修飾アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、修飾アミノ酸は、N結合型グリコシル化を含む。いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と比較して少なくとも1つのアミノ酸変異を含む。いくつかの実施形態では、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、標的タンパク質抗原と比較して、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、または50個のアミノ酸変異を含む。いくつかの実施形態では、変異は、特定の位置において、標的タンパク質抗原中のその位置に存在するアミノ酸とは異なるセリン、スレオニン、アラニン、またはアミノ酸を導入する。いくつかの実施形態では、変異は、ジスルフィド結合の形成を防止する。

【0210】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体（MHC）分子に結合することを特徴とする。

【0211】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、インビボで発現されるとき、MHC分子に結合しないことを特徴とする。

【0212】

いくつかの実施形態では、MHC分子は、MHC I分子もしくはMHC II分子であるか、またはMHC I分子もしくはMHC II分子を含む。

【0213】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、インビボで発現されるとき、標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることを特徴とする。

【0214】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションは、第2の標的タンパク質抗原由来のアミノ酸配列を更に含む。

【0215】

標的タンパク質抗原

とりわけ、本明細書に提供されるのは、断片抗原を含む融合ポリペプチド、または標的タンパク質抗原のエピトープを含むバリエーション抗原である。断片抗原を含む融合ポリペプチド、または標的タンパク質抗原のエピトープを含むバリエーション抗原をコードする融合ポリヌクレオチドも、本明細書に提供される。

【0216】

いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、感染性疾患抗原であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、感染性疾患抗原は、ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、またはそれらの組み合わせであるか、またはそれらを含む。いくつかの実施形態では、ウイルス抗原は、インフルエンザ抗原であるか、またはインフルエンザ抗原を含む。

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、ウイルス抗原は、コロナウイルスポリペプチドであるか、それを含む。いくつかの実施形態では、コロナウイルスポリペプチドは、例えば、本明細書に記載されるようなSARS-CoV-2タンパク質であるか、またはSARS-CoV-2タンパク質を含む。

【0217】

いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、がん抗原であるか、またはがん抗原を含む。

【0218】

SARS-CoV-2 抗原

本明細書に開示される融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、組成物、方法、または使用のうちのいずれかに含まれ得る例示的な抗原には、1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドが含まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される標的タンパク質抗原は、SARS-CoV-2抗原であるか、またはSARS-CoV-2抗原を含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2抗原は、スパイク糖タンパク質(SARS-CoV-2S)ポリペプチドまたはその抗原性断片、エンベロープタンパク質(SARS-CoV-2E)ポリペプチドまたはその抗原性断片、膜タンパク質(SARS-CoV-2M)ポリペプチドまたはその抗原性断片、ヌクレオカプシドタンパク質(SARS-CoV-2N)ポリペプチドまたはその抗原性断片、補助因子ポリペプチドまたはその抗原性断片、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。

【0219】

いくつかの実施形態では、抗原、例えば、断片抗原またはバリエーション抗原は、SARS-CoV-2ポリペプチドであるか、またはSARS-CoV-2ポリペプチドを含む標的タンパク質抗原由来のエピトープを含む。いくつかの実施形態では、抗原、例えば、断片抗原またはバリエーション抗原は、SARS-CoV-2スパイク糖タンパク質(SARS-CoV-2S)ポリペプチドまたはその断片(例えば、RBD)由来のエピトープを含む。

【0220】

SARS-CoV-2Sポリペプチドは、以下の遺伝子IDによって参照される：43740568及び／またはNCBI RefNC_045512.2。SARS-CoV-2Sポリペプチドのアミノ酸配列は、以下によって提供されている。配列番号58：
M F V F L V L L P L V S S Q C V N L T T R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D
K V F R
S S V L H S T Q D L F L P F F S N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D N P V L
P F N D G V Y F A S T E K S N I I R
G W I F G T T L D S K T Q S L L I V N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F L G
V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y
S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y
F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q
G F S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T L L A L H R S Y L T P G D S S S G W
T A G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L
L K Y N E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K C T L K S F T V E K G I Y Q T S
N F R V Q P T E S I V R F P N I T N
L C P F G E V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N C V A D Y S V L Y N S A S F
S T F K C Y G V S P T K L N D L C F
T N V Y A D S F V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D Y N Y K L P D D F T G C
V I A W N S N N L D S K V G G N Y N
Y L Y R L F R K S N L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C N G V E G F N C Y F
P L Q S Y G F Q P T N G V G Y Q P Y
R V V V L S F E L L H A P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N F N F N G L T G
T G V L T E S N K K F L P F Q Q F G

RDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSN
QVAVLYQDVNCTEVPVAI
HADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGA EHVNNSECDI
PIGAGICASYQTQTNSPR
RARSVASQSI IAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIPTNFTISV
TTEILPVSMKTTSVDCTM
YICGDSTEC SNLL LQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE
VFAQVKQIYKTPPIKDFG
GFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYG
DCLGDIAARDLICAQKFN
GLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAAALQI
PFAMQMAYRFNGIGVTQN
VLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSSTASALGKLQDVVNQ
NAQALNTLVKQLSSNFGA
ISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQL
IRAAEIRASANLAATKMS
ECVLGQSKRVDFCGKG YHLMSPQSA PHGVVFLHV TYVPA
QEKNF TTA PAICH DGKAH
FPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDV
VIGIVNNTVYDPLQPELD
SFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRL
NEVAKNLNESLIDLQELG
KYEQYIKWPWYIWLGFIA GLIAIVMVTIMLCCMTSCCSC L
KGCCSCGSCCKFDEDDSE
PVLKGVKLHYT
【0221】

SARS-CoV-2 Sポリペプチドのポリヌクレオチド配列は、以下によって提供されている。配列番号59：

1 atgttttgttt ttcttgtttt attgccacta gtcctc
tagtc agtggtgtaaa tctttacaacc
61 agaactcaat taccctctgc atacactaat tctt
tcacac gtgggtgttta ttaccctgac
121 aaagtttttca gatcctcagt ttta cattca act
caggact tgtttcttacc tttctttttcc
181 aatgttactt gggttccatgc tatacatgtc tct
gggacca atgggtactaa gaggtttgat
241 aaccctgtcc taccattttaa tgatgggtgtt tat
tttgcctt ccactgagaa gtcataacata
301 ataagaggct ggattttttgg tactacttta gat
tcgaaga cccagtcctt acttattgtt
361 aataacgcta ctaatgttgt tattaaagtc tgt
gaatttc aatttttgtaa tgatccattt
421 ttgggtgttt attaccacaa aaacacacaaa agt
tggaatgg aaagtgaagt cagagtttat
481 tctagtgcga ataattgcac ttttgaatat gtc
tctcagc cttttcttat ggaccttgaa
541 ggaaaacagg gtaattttcaa aaatcttagg gaa
tttgtgt ttaagaatat tgatgggttat
601 ttttaaaatat attctaagca cacgccctatt aat
ttagtgc gtgatctccc tcagggtttt

6 6 1 t c g g c t t t a g a a c c a t t g g t a g a t t t g c c a a t a
g g t a t t a a c a t c a c t a g g t t t c a a a c t
7 2 1 t t a c t t g c t t t a c a t a g a a g t t a t t t g a c t c c t
g g t g a t t c t t c t t c a g g t t g g a c a g c t
7 8 1 g g t g c t g c a g c t t a t t a t g t g g g t t a t c t t c a a
c c t a g g a c t t t t c t a t t a a a a t a t a a t
8 4 1 g a a a a t g g a a c c a t t a c a g a t g c t g t a g a c t g t
g c a c t t g a c c c t c t c t c a g a a a c a a a g
9 0 1 t g t a c g t t g a a a t c c t t c a c t g t a g a a a a g g a
a t c t a t c a a a c t t t c t a a c t t t a g a g t c
9 6 1 c a a c c a a c a g a a t c t a t t g t t a g a t t t c c t a a t
a t t a c a a a c t t g t g c c c t t t t g g t g a a
1 0 2 1 g t t t t t a a c g c c a c c a g a t t t g c a t c t g t t t a
t g c t t g g a a c a g g a a g a g a a t c a g c a a c
1 0 8 1 t g t g t t g c t g a t t a t t c t g t c c t a t a t a a t t c
c g c a t c a t t t t c c a c t t t t a a g t g t t a t
1 1 4 1 g g a g t g t c t c c t a c t a a a t t a a a t g a t c t c t g
c t t t a c t a a t g t c t a t g c a g a t t c a t t t
1 2 0 1 g t a a t t a g a g g t g a t g a a g t c a g a c a a a t c g c
t c c a g g g c a a a c t g g a a a g a t t g c t g a t
1 2 6 1 t a t a a t t a t a a a t t a c c a g a t g a t t t t a c a g g
c t g c g t t a t a g c t t g g a a t t c t a a c a a t
1 3 2 1 c t t g a t t c t a a g g t t g g t g g t a a t t a t a a t t a
c c t g t a t a g a t t g t t t a g g a a g t c t a a t
1 3 8 1 c t c a a a c c t t t t g a g a g a g a t a t t t c a a c t g a
a a t c t a t c a g g c c g g t a g c a c a c c t t g t
1 4 4 1 a a t g g t g t t g a a g g t t t t a a t t g t t a c t t t c c
t t t a c a a t c a t a t g g t t t c c a a c c c a c t
1 5 0 1 a a t g g t g t t g g t t a c c a a c c a t a c a g a g t a g t
a g t a c t t t c t t t t g a a c t t c t a c a t g c a
1 5 6 1 c c a g c a a c t g t t t g t g g a c c t a a a a a g t c t a c
t a a t t t g g t t a a a a a c a a a t g t g t c a a t
1 6 2 1 t t c a a c t t c a a t g g t t t a a c a g g c a c a g g t g t
t c t t a c t g a g t c t a a c a a a a a g t t t c t g
1 6 8 1 c c t t t c c a a c a a t t t g g c a g a g a c a t t g c t g a
c a c t a c t g a t g c t g t c c g t g a t c c a c a g
1 7 4 1 a c a c t t g a g a t t c t t g a c a t t a c a c c a t g t t c
t t t t g g t g g t g t c a g t g t t a t a a c a c c a
1 8 0 1 g g a a c a a a t a c t t c t a a c c a g g t t g c t g t t c t
t t a t c a g g a t g t t a a c t g c a c a g a a g t c
1 8 6 1 c c t g t t g c t a t t c a t g c a g a t c a a c t t a c t c c
t a c t t g g c g t g t t t a t t c t a c a g g t t c t
1 9 2 1 a a t g t t t t t c a a a c a c g t g c a g g c t g t t t a a t
a g g g g c t g a a c a t g t c a a c a a c t c a t a t
1 9 8 1 g a g t g t g a c a t a c c c a t t g g t g c a g g t a t a t g
c g c t a g t t a t c a g a c t c a g a c t a a t t c t
2 0 4 1 c c t c g g c g g g c a c g t a g t g t a g c t a g t c a a t c
c a t c a t t g c c t a c a c t a t g t c a c t t g g t
2 1 0 1 g c a g a a a a t t c a g t t g c t t a c t c t a a t a a c t c
t a t t g c c a t a c c c a c a a a t t t t a c t a t t

10

20

30

40

50

2161 agtgttaccacagaaaattcttaccagtggtctat
gaccaaga catcagtaga ttgtacaaatg
2221 tacattttgtg gtgattcaac tgaatgcagc aa
tctttttgt tgcaaatatgg cagttttttgt
2281 acacaaatttaa accgtgtcttt aactgggaata gc
tgttgaac aagacaaaaa caccacaagaa
2341 gttttttgtcac aagtcacaaaca aattttacaaa ac
accaccaa ttaaaagattt tgggtgggtttt
2401 aatttttttcac aaatattacc agatccatca aa
accaagca agaggtcatt tatttgaagat
2461 ctactttttca acaaaagtgc acttgcatgc gc
tggcttca tcaaaacaaata tgggtgattgc
2521 cttgggtgata ttgctgtctag agaccctcatt tg
tgcacaaaa agttttaacgg ccttactgtt
2581 ttgcccacctt tgcctcacaga tgaaaatgatt gc
tcaatatca cttctgtcact gttagcgggt
2641 acaatcactt ctgggttggac ctttgggtgca gg
tgctgcat tacaaaatacc atttgcataatg
2701 caaatggctt atagggttttaa tgggtatttggga gt
tacacaga atgttctctta tgagaaccaa
2761 aaatttgattg ccaaaccaatt taatagtgtct at
tggcaaaaa ttcaaagactc actttctttcc
2821 acagcaagtgc acttggaaaa acttcaagat gt
gggtcaacc aaaaatgcaca agccttttaaac
2881 acgcttgttta aacaaacttag ctccaattttt gg
tgcaatttt caagtgtttt aaatgatatac
2941 cttttcacgtc ttgacaaaagt tgaggctgaa gt
gcaaattg atagggttgat cacaggcaga
3001 ctttcaaaagt tgcagacata tgttgactcaa ca
attaattta gagctgcaga aatcagagct
3061 tcttgctaatc ttgctgtctac taaaaatgtca ga
gtgtgtac ttggacaaatc aaaaaagagtt
3121 gattttttgtg gaaaagggtcta tcatcttatg tc
cttccctc agtcagcaccc tcatgggtgta
3181 gtccttcttgc atgtgtgactta tgtccctgca ca
agaaaaaga acttcacaaac tgcctccctgcc
3241 atttgtcatg atggaaaaagc acacttttccct cg
tgaagggtg tcttttgtttc aaatggcaca
3301 cactgggtttg taacacaaaag gaattttttat ga
accacaaa tcatctactac agacaaacaca
3361 tttgtgtctg gtaactgtga tgttgtataa gg
aatgtga acaacacagtt ttatgatcct
3421 ttgcaaacctg aattagactc attcaaggag ga
gttagata aatatttttaa gaatcataca
3481 tcaccagatg ttgatttagg tgacatctct gg
cattaatg cttcagttgt aaacattcaa
3541 aaagaaaattg accgccctcaa tgagggttgcc aa
gaattttaa atgaatctct catcgaatctc
3601 caagaacctg gaaaagtatga gcagtataata aa
atggccat ggtacatttg gctagggtttt

10

20

30

40

50

3 6 6 1 a t a g c t g g c t t g a t t g c c a t a g t a a t g g t g a c
a a t t a t g c t t t g c t g t a t g a c c a g t t g c
3 7 2 1 t g t a g t t g t c t c a a g g g c t g t t g t t c t t g t g g
a t c c t g c t g c a a a t t t t g a t g a a g a c g a c
3 7 8 1 t c t g a g c c a g t g c t c a a a g g a g t c a a a t t a c a
t t a c a c a t a a

【0222】

いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、SARS-CoV-2 Sポリペプチドであるか、またはSARS-CoV-2 Sポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、本明細書に記載のSARS-CoV-2 Sポリペプチドまたはその断片のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、標的タンパク質抗原は、配列番号58のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドを含む。

10

【0223】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、SARS-CoV-2 Sポリペプチドのエピトープを含む。いくつかの実施形態では、断片抗原は、本明細書に記載のSARS-CoV-2 Sポリペプチドまたはその断片のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、断片抗原は、配列番号58のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドを含む。

20

【0224】

いくつかの実施形態では、断片抗原は、SARS-CoV-2 Sポリペプチドのエピトープを含む。いくつかの実施形態では、断片抗原は、本明細書に記載のSARS-CoV-2 Sポリペプチドまたはその断片のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、断片抗原は、配列番号59の核酸配列と少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリヌクレオチドを含む。当業者であれば、遺伝コードの縮重により、他のDNA配列（コドン最適化された配列を含む）が、これらのポリペプチドならびに本明細書に開示される他のものをコードし得ることを理解するであろう。

30

【0225】

アジュバント

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるアジュバントは、本明細書に記載の抗原（例えば、断片抗原または抗原バリエーション）によって誘発される免疫応答を誘発及び／または調節するために使用され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるアジュバントは、補体結合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、補体結合ポリペプチドは、補体C3d結合ポリペプチドを含む。例示的なC3d結合ポリペプチドは、Staphylococcus aureusの免疫グロブリン結合タンパク質（Sbi）である。

40

【0226】

本明細書に開示される融合ポリペプチド、融合ヌクレオチド、組成物、方法、または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、本明細書に開示されるアジュバントは、免疫応答を調節及び／または増強するために、単独で、または本明細書に開示される抗原

50

と組み合わせて使用され得る。一実施形態では、本明細書に開示されるアジュバントは、断片抗原またはバリエーション抗原及びアジュバント（例えば、C3d結合ポリペプチド）を含む融合ポリペプチドを含み得る。いくつかの実施形態では、断片抗原またはバリエーション抗原及びアジュバント（例えば、C3d結合ポリペプチド）を含む融合ポリペプチドをコードする融合ポリヌクレオチドも、本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、DNAまたはRNAを含む。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、RNA、例えば、メッセンジャーRNAを含む。いくつかの実施形態では、RNA（例えば、メッセンジャーRNA）を含む融合ポリヌクレオチドは、対象に投与されると、融合ポリヌクレオチドに含まれる抗原に対する免疫原性を低下させることを特徴とする。

10

【0227】

S. aureus Sbi

本明細書に開示されるように、免疫グロブリン（Sbi）の*S. aureus*結合剤は、（Clark et al. (2011) Mol Immunol. 48 (4) : 452-462に記載されるように）補体C3dと結合することができる例示的なポリペプチドである。この文献の内容は参照により本明細書に組み込まれる。Sbiは、2つの免疫グロブリン結合ドメイン（ドメインI及びII）ならびに2つの補体C3d結合ドメイン（ドメインIII及びIV）を含む。SbiドメインIII及びIVは、C3d（天然C3、iC3b及びC3dgにおいて）と結合することができ、代替経路の活性化を介してC3の流体相消費をもたらすことができる（Clark et al. 2011を参照されたい）。Sbiが分泌され得、*S. aureus*免疫回避に関与していることも示されている（Burman et al., 2008 J. Biol. Chem; 283: 17579-17593）。

20

【0228】

理論に拘束されることを望むことなく、いくつかの実施形態では、*S. aureus*のSbi由来の補体C3d結合ポリペプチドをアジュバントとして使用して、本明細書に記載される抗原由来の免疫応答を増強及び／または調節することができると考えられている。いくつかの実施形態では、免疫応答は、本明細書に開示される断片抗原または抗原バリエーションによって誘発される。いくつかの実施形態では、免疫応答は、*S. aureus*のSbiの成分によって誘発される。

30

【0229】

*S. aureus Sbi*は、遺伝子ID: 3919725及びNCBI参照番号: NC_007795.1によって参照される。Sbiのポリヌクレオチド配列は、本明細書では以下のものとして提供されている。配列番号56:

```
1  a t g a a a a t a   a a t a t a t c t c   g a a g t t g c t a   g t t g g
g g c a g   c a a c a a t t a c   g t t a g c t a c a
61  a t g a t t t c a a   a t g g g g a a g c   a a a a g c g a g t   g a a a
a c a c g c   a a c a a a c t t c   a a c t a a g c a c
121  c a a a c a a c t c   a a a a c a a c t a   c g t a a c a g a t   c a a
c a a a a a g   c t t t t t a t c a   a g t a t t a c a t
181  c t a a a a g g t a   t c a c a g a a g a   a c a a c g t a a c   c a a
t a c a t c a   a a a c a t t a c g   c g a a c a c c c a
241  g a a c g t g c a c   a a g a a g t a t t   c t c t g a a t c a   c t t
a a a g a c a   g c a a g a a c c c   a g a c c g a c g t
301  g t t g c a c a a c   a a a a c g c t t t   t t a c a a t g t t   c t t
a a a a a t g   a t a a c t t a a c   t g a a c a a g a a
361  a a a a a t a a t t   a c a t t g c a c a   a a t t a a a g a a   a a c
c c t g a t a   g a a g c c a a c a   a g t t t g g g t a
421  g a a t c a g t a c   a a t c t t c t a a   a g c t a a a g a a   c g t
c a a a a t a   t t g a a a a t g c   g g a t a a a g c a
```

40

50

481 attaaagatt tccaagataa caaagcaccacac
gataaat cagcagcata tgaagctaac
541 tcaaaattac cttaaagattt acgtgataaa aac
aaccgct ttgtagaaaa agtttcaatt
601 gaaaaagcaa tcgttcgtca tgatgagcgt gtg
aaatcag caaatgatgc aatctcaaaaa
661 ttaaatgaaa aagattcaat tgaaaaacaga cgt
ttagcac aacgtgaagt taacaaaagca
721 cctatggatg taaaaagagca tttaacagaaa caa
ttagacg catttagttgc tcaaaaagat
781 gctgaaaaaga aagtggtccgcca aaaaagttgag gct
cctcaaaa ttcaatcaccc acaaattgaa
841 aaacctaag tagaatcaccc aaaaagttgaa gtc
cctcaaaa ttcaatcaccc aaaaagttgag
901 gttcctcaat ctaaattatt aggttactac caa
tcatttaa aagattcatt taactatggt
961 tacaagtatt taacagatac ttataaaaagc tat
aaaagaaa aatatgatcac agcaaaagtac
1021 tactataata cgtactataa atacaaaaggt gc
gatttgatc aaacagttatt aacagtacta
1081 ggtagtggtt ctaaatctta catccaacca tt
gaaaagttg atgataaaaa cggctactta
1141 gctaaatcat atgcacaagt aagaaaactat gt
aaactgagt caatcaatac tggtaaaagta
1201 ttatatactt tctaccaaaa cccaacattta gt
aaaaaacag ctatttaaagc tcaagaaaact
1261 gcatcatcaa tcaaaaatac attaagtaatt tt
attatcat tctggaaata a

【0230】

S b i のポリペプチド配列は、本明細書では以下のものとして提供されている。配列番号57：

MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKH
QTTQNNYVTDQQKAFYQVLHLKGITEEQRNQYIKTLREHP
ERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQE
KNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKA
IKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKVS
EKAIVRHDERVK SANDAISKLNEKDSIENRRLAQREVNKA
PMDVKEHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIE
KPKVESPKVEVPQIQSPKVEVPQSKLLGYYQSLKDSFN
YGYLYTDTYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKYKGAIDQTVLTVL
GSGSKSYIQPLKVDDKNGYLA KS YAQVRNYVTE SINTGKV
LYTFYQNPTLVKTAIKAQETASSIKNTLSNLLSFWK

【0231】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の融合ポリペプチド、融合ヌクレオチド、組成物、方法、または使用のいずれかは、S . aureus のS b i の補体C3d結合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、S b i 補体C3d結合ポリペプチドは、S b i のドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションを含む。

【0232】

いくつかの実施形態では、S b i 補体C3d結合ポリペプチドは、配列番号9のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、S b i 補体 C 3 d 結合ポリペプチドは、配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、S b i 補体 C 3 d 結合ポリペプチドは、配列番号57のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0233】

いくつかの実施形態では、S b i 補体 C 3 d 結合ポリペプチドは、配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するアミノ酸をコードするポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの実施形態では、S b i 補体 C 3 d 結合ポリペプチドは、配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するアミノ酸をコードするポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの実施形態では、S b i 補体 C 3 d 結合ポリペプチドは、配列番号56のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するアミノ酸をコードするポリヌクレオチドによってコードされる。当業者であれば、遺伝コードの縮重により、他のDNA配列（コドン最適化された配列を含む）が、これらのポリペプチドならびに本明細書に開示される他のものをコードし得ることを理解するであろう。

【0234】

融合ポリペプチド

本開示は、(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原または抗原バリエーションと、(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドと、を含む融合ポリペプチドを提供する。本明細書に開示される例示的な融合ポリペプチドを、表1及び2に提供する。

【0235】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションは、配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【0236】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションは、配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する。

【0237】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションは、配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する。

【0238】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションは、配列番号6のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する。

【0239】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションは、

【 0 2 4 0 】

【 0 2 4 1 】

10

【 0 2 4 2 】

【 0 2 4 3 】

【 0 2 4 4 】

20

【 0 2 4 5 】

【 0 2 4 6 】

30

【 0 2 4 7 】

【 0 2 4 8 】

【 0 2 4 9 】

40

【 0 2 5 0 】

【 0 2 5 1 】

50

【0252】

いくつかの実施形態では、断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントは、配列番号31のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する。

【0253】

いくつかの実施形態では、(a)及び(b)は、連続しているか、またはリンカーによって分離されている。いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチジルリンカーである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも60%のグリシン及び／またはセリンを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (Gly4-Ser) リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly4-Ser リンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly4-Ser リンカーの1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10の繰返しを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly4-Ser リンカーの3の繰返しを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号11の配列を含む。

10

【0254】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、分泌ペプチドを更に含む。いくつかの実施形態では、分泌ペプチドは、約10~30アミノ酸長である。いくつかの実施形態では、分泌ペプチドは、約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30アミノ酸長である。いくつかの実施形態では、分泌ペプチドは、配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、または100%の同一性を有するアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、分泌ペプチドは、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、または100%の同一性を有するアミノ酸を含む。

20

【0255】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号12のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0256】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号13のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

30

【0257】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号14のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0258】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号15のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

40

【0259】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号16のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0260】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号17のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0261】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号18のアミノ酸配列に対して少な

50

くとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0262】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 19 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0263】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 32 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

10

【0264】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0265】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 34 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0266】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

20

【0267】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0268】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 37 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

30

【0269】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 38 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0270】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 39 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0271】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 40 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

40

【0272】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 41 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

【0273】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 42 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性を有する。

50

【 0 2 7 4 】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 4 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する。

【 0 2 7 5 】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 4 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する。

【 0 2 7 6 】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 4 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する。

【 0 2 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1 : 本明細書に開示されるポリペプチド融合物の成分の例示的なアミノ酸配列

配列番号	特徴	アミノ酸配列
1	ヒト IL-2 分泌ペプチド	MYRMQLLSICIALSLALVTNS
2	SARS-CoV-2 スパイク残基 1-13 (分泌ペプチド)	MFVFLVLLPLVSS
3	SARS-CoV-2 スパイク残基 331-527 (RBD ドメイン)	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADY SVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFV IRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAW NSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEI YQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYP YRVVLSFELLHAPATVCGP
4	SARS-CoV-2 スパイク残基 410-527 (RBD ドメインの一部)	IAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSK VGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPC NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSF ELLHAPATVCGP
5	SARS-CoV-2 スパイク残基 430-527 (RBD ドメインの一部)	TGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKP FERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTN GVGYPYRVVLSFELLHAPATVCGP
6	SARS-CoV-2 スパイク残基 438-527 (RBD ドメインの一部)	SNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIY QAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPY RVVLSFELLHAPATVCGP
7	SARS-CoV-2 スパイク残基 480-527 (RBD ドメインの一部)	CNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLS FELLHAPATVCGP
8	SARS-CoV-2 スパイク残基 528-537	KKSTNLVKNK
9	S. aureus 株 Mu50 由来の Sbi のドメイン III	IENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLR DKNNRFV

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

10	S. aureus株Mu50由来のSbiのドメインIV	EKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHLQKQLD
11	Gly ₄ Serリンカー	GGGSGGGSGGGGS
20	SARS-CoV-2スパイク残基331-527 (RBDドメイン) - バリエーション1	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYSLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVL SFELLHAPATVCGP
21	SARS-CoV-2スパイク残基331-527 (RBDドメイン) - バリエーション2	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVL SFELLHAPATVCGP
22	SARS-CoV-2スパイク残基331-527 (RBDドメイン) - バリエーション3	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVL SFELLHAPATVCGP
23	SARS-CoV-2スパイク残基331-527 (RBDドメイン) - バリエーション4	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLSSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVL SFELLHAPATVCGP
24	SARS-CoV-2スパイク残基331-527 (RBDドメイン) - バリエーション5	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYSYLRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVL SFELLHAPATVCGP

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

25	SARS-CoV-2 スパイク残基331- 527 (RBDドメイ ン) - バリエント6	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVA DYSLVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDF TGCVIAWNSNNLDSKVGGN ~~Y~~ NYTYRLFRKSNL KPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSY GFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP
26	SARS-CoV-2 スパイク残基331- 527 (RBDドメイ ン) - バリエント7	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVA DYSLVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDF TGCVIAWNSNNLDSKVGGN ~~Y~~ NYLYRLFRKSNL <u>S</u> PFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSY GFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP
27	SARS-CoV-2 スパイク残基331- 527 (RBDドメイ ン) - バリエント8	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVA DYSLVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDF TGCVIAWNSNNLDSKVGGN ~~Y~~ NYLYRLFRKSNL KPFERDISTEIYQAGSTPCNGTEGFNCYFPLQSY GFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP
28	SARS-CoV-2 スパイク残基331- 527 (RBDドメイ ン) - バリエント9	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVA DYSLVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDF TGCVIAWNSNNLDSKVGGN ~~Y~~ NYLYRLFRKSNL KPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNC <u>T</u> FPLQSY GFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP
29	SARS-CoV- 2スパイク残基331 -527 (RBDドメ イン) - バリエント1 0	NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVA DYSLVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDF TGCVIAWNSNNLDSKVGGN ~~Y~~ NYLYRLFRKSNL KPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSY GFQPTNGTGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP
30	SARS-CoV-2 スパイク残基331- 527 (RBDドメイ ン) - バリエント11	NITNLCPF <u>A</u> EVFNATRFASVAAWNAKAISNCV ADYSLVLYNSASFSTFKCYGV <u>A</u> PTKLNAACFTN VYADSFVIRGA <u>E</u> VRQIAPGQTGKIADYNYKLPD DFTGCVIAWNSNNLDSKVGGN ~~Y~~ NYLYRLFRKS NLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQ SYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLA <u>A</u> APATVC GP
31	SARS-CoV-2 スパイク残基331- 527 (RBDドメイ ン) - バリエント12	NITNLCAFGGEVFNAARFASVYAWNRRKRISNCA AAYSAAYN ~~S~~ ASFSAFKCAGV <u>A</u> PTKLNDLCFTA VYADAF <u>A</u> IRAAA <u>V</u> RQA <u>A</u> PA <u>Q</u> AGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGN ~~Y~~ NYLYRLFR KSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFP LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL <u>A</u> FELLHAPAT <u>A</u> CGP

10

20

30

40

【0278】

50

【表 2 - 1】

表 2：本明細書に開示されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド融合物の例示的なアミノ酸配列

配列番号	特徴	アミノ酸配列
1 2	I L 2 (s) s) - R B D	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSK VGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYF PLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL SFELLHAPATVCGPKKSTNLVK NK
1 3	I L 2 (s) s) - R B D - S b i (I I I - I V)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSK VGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYF PLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL SFELLHAPATVCGPKKSTNLVK NKGGGGSGGGGSGGGGSIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEAN SKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLEKDS IENRRLAQREV NKAPMDVKEHLQKQLD
1 4	S (s s) - R B D - S b i (I I I - I V)	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNC VADYSVLVNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYL YRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQ PTNGVGYQPYRVVVL SFELLHAPATVCGPGGGGSGGGGSGGGGSI ENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKVS IEKAIVRHDERVKSANDAISKLEKDSIENRRLAQREV NKAPMDV KEHLQKQLD
1 5	R B D Δ 1 - S b i (I I I - I V)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAAIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGC VIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGST PCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL SFELLHAPAT VCGPKKSTNLVK NKGGGGSGGGGSGGGGSIENADKAIKDFQDNK APHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKAIVRHDERVKS ANDAISKLEKDSIENRRLAQREV NKAPMDVKEHLQKQLD

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

1 6	R B D Δ 2 - S b i (I I I - I V)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSAATGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNY LYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQ PTNGVGYPYRVVVLSEFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKGGGGG GGGGSGGGGSIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLR DKNNRFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLEKDSIENRRLAQ REVNKAPMDVKEHLQKQLD
1 7	R B D Δ 3 - S b i (I I I - I V)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSAASNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSN LKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPY PYRVVVLSEFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKGGGGSGGGGSGGG GSIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVE KVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLEKDSIENRRLAQREVNKAPM DVKEHLQKQLD
1 8	R B D Δ 4 - S b i (I I I - I V)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSAACNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNG VGYPYRVVVLSEFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKGGGGSGGGG SGGGGSIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNN RFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLEKDSIENRRLAQREVN KAPMDVKEHLQKQLD
1 9	R B D Δ 5 - S b i (I I I - I V)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSAATNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQT GKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKS NLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPY QYRVVVLSEFELKKSTNLVKNKGGGGSGGGGSGGGGSIENADKAI KDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKAIVR HDERVKSANDAISKLEKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHLQK QLD
3 2	S (s s) - R B D - 1	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVL YNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYSLPDDFTGCVIAWNSNNL DSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVVLSEFELLHAPATV CGP
3 3	S (s s) - R B D - 2	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVL YNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNL DSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVVLSEFELLHAPATV CGP

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

3 4	S (s s) - R B D - 3	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS <u>NN</u> DSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP YRVVVL SFELLHAPATV CGP
3 5	S (s s) - R B D - 4	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS <u>NN</u> <u>SS</u> KVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP YRVVVL SFELLHAPATV CGP
3 6	S (s s) - R B D - 5	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS <u>NN</u> DSKVGGN <u>Y</u> SYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP YRVVVL SFELLHAPATV CGP
3 7	S (s s) - R B D - 6	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS <u>NN</u> DSKVGGNY <u>NY</u> TYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP YRVVVL SFELLHAPATV CGP
3 8	S (s s) - R B D - 7	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS <u>NN</u> DSKVGGNYNYLYRLFRK <u>SN</u> LSPFERDISTEIQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP YRVVVL SFELLHAPATV CGP
3 9	S (s s) - R B D - 8	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS <u>NN</u> DSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPC <u>NG</u> EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP YRVVVL SFELLHAPATV CGP
4 0	S (s s) - R B D - 9	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKR ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS <u>NN</u> DSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGV EG <u>F</u> NCTFPLQSYGFQPTNGVGYQP YRVVVL SFELLHAPATV GP

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

4 1	S (s s) - R B D - 1 0	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFGGEVFNATRFASVYAWNRRK ISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADS FVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNL DSKVGGN YNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPTNGTGYQPYRVVVL SFELLHAPATVC GP
4 2	S (s s) - R B D - 1 1	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCPFAEVEFNATRFASVA A WNAK AISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVAPT KLNAACFTNVYA DSFVIRGA EVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGN YNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL SFELLAAPA TVCGP
4 3	S (s s) - R B D - 1 2	MFVFLVLLPLVSSAANITNLCAFGGEVFNAA RFASVYAWNRRK RISNCAAA YSAA YNSASFSAFKCAGVAPT KLNDLCFTA VYA DAFAIRA AAVRQAAPAQA GKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS NNLDSKVGGN YNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEYQAGSTPC NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL AFELLHAP ATA CGP
4 4	S (s s) - MERS - C o V スパイク RBD - SA RS - C o V - 2 スパイク ACE 結合 R BD	MFVFLVLLPLVSSAAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFT NCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDSFVIR GDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLD SKVGGN YNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEYQAGSTPCNG VEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL SFELLHAP ATVCPK
4 5	S (s s) - SARS - C o V - 2 スパ イク ACE 結 合 RBD - M ERS - C o V スパイク R BD	MFVFLVLLPLVSSAAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFT NCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDYFSYP LSMKSDL SVSSAGPISQFN YKQSF SNPTCLILATVPHNLTTITK PLKYSYINKCSRFLSDDRTEVPQLVNANQYTPCNGVEGFNC YFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVL SFELLHAPATVCPK

10

20

30

40

【0279】

融合ポリヌクレオチド

とりわけ、本開示は、(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原または抗原バリエーションと、(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体 C3d 結合ポリペプチドと、を含む、融合ポリペプチドをコードする融合ポリヌクレオチドを提供する。例示的な融合ポリヌクレオチド配列を表 3 に提供する。

【0280】

いくつかの実施形態では、(a) 及び (b) は、ヌクレオチド配列によってコードされ、同じヌクレオチド配列または異なるヌクレオチド配列に配置される。いくつかの実施形

50

態では、(a)は、(b)のN末端に配置される。いくつかの実施形態では、(a)は、(b)のC末端に配置される。

【0281】

いくつかの実施形態では、(a)は、(b)のC末端に配置される。いくつかの実施形態では、(a)及び(b)は、連続しているか、またはリンカーをコードするヌクレオチド配列によって分離されている。いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチジルリンカーである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも60%のグリシン及び／またはセリンを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Gly-Gly-Gly-Ser (Gly4-Ser) リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される。

【0282】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、分泌ペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含む。

【0283】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、RNAであるか、またはRNAを含む。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、メッセンジャーRNAであるか、またはメッセンジャーRNAを含む。

【0284】

一部の実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、DNAであるか、またはDNAを含む。

【0285】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、インビボで発現するとき、主要組織適合性複合体(MHC)分子に結合することの特徴とする断片抗原をコードする。いくつかの実施形態では、MHC分子は、MHC I分子もしくはMHC II分子であるか、またはMHC I分子もしくはMHC II分子を含む。

【0286】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、インビボで発現されるとき、MHC分子に結合しないことの特徴とする断片抗原をコードする。

【0287】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、インビボで発現されるとき、標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることの特徴とする、断片抗原をコードする。

【0288】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、第2の標的タンパク質抗原由来のアミノ酸配列を更に含む断片抗原、抗原バリエントまたは断片抗原バリエントをコードする。

【0289】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号46のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0290】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号47のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0291】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号48のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する。

【0292】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号 49 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0293】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号 50 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0294】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号 51 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

10

【0295】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号 52 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0296】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号 53 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

【0297】

いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、配列番号 54 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する。

20

【0298】

30

40

50

【表 3 - 1】

表 3 : 本明細書に開示される例示的なポリヌクレオチド配列

配列番号	特徴	核酸配列
4 6	I L 2 (s) - R B D	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGC CACCAgtatcgcagtcagttgctgtcctgtattgccctgtctcgcattggctactaactctgccgcaa tatcacaatctctgcccttcggggagggtctcaacgcaacccgggtcgcagtcagtgacgctggaatcg caaacggatttctaactgtgtagccgattattctgtgtgtacaacagtgctagttttctacctcaaatgttat ggagtatccccaaccaagcttaacgacgtttgttttacaacgtctacgcagacagctttgtcatcaggggg gacgaagtcgcaaattgtccagggcagacaggtaaaattgcagactataattacaactccagacg acttcacgggtgtgtatcgcttggaaacagtaacaatctgacagcaaggtcggtggcaactataattatct ctatcgactttccgaaaatccaatttgaagcccttgagaggacattcaaccgaaatataccaggctgga tcaactccttgcaatgggtgcgaaggatttaactgttactcccttgagagttacgggttcagccaaccaa tgggggtgggtatcaaccataccgggtcgtgtattgagtttcgaactgttgcagtcctcagcaacagtatgt ggtcccaaaaagagtacaaatctggtgaaaaacaaaTAATGATAGACCAGCCTCAAG AACACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAATACCAACTTACAC TTTACAAAATGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTTCGTATCTGCT CCTAATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT
4 7	I L 2 (s) - R B D - S b i (I I I - I V)	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGC CACCAgtatcgcagtcagttgctgtcctgtattgccctgtctcgcattggctactaactctgccgcaa tatcacaatctctgcccttcggggagggtctcaacgcaacccgggtcgcagtcagtgacgctggaatcg caaacggatttctaactgtgtagccgattattctgtgtgtacaacagtgctagttttctacctcaaatgttat ggagtatccccaaccaagcttaacgacgtttgttttacaacgtctacgcagacagctttgtcatcaggggg gacgaagtcgcaaattgtccagggcagacaggtaaaattgcagactataattacaactccagacg acttcacgggtgtgtatcgcttggaaacagtaacaatctgacagcaaggtcggtggcaactataattatct ctatcgactttccgaaaatccaatttgaagcccttgagaggacattcaaccgaaatataccaggctgga tcaactccttgcaatgggtgcgaaggatttaactgttactcccttgagagttacgggttcagccaaccaa tgggggtgggtatcaaccataccgggtcgtgtattgagtttcgaactgttgcagtcctcagcaacagtatgt ggtcccaaaaagagtacaaatctggtgaaaaacaaagggtgggggtggaagtgtgggggaggctctgg cggaggaggaagcatagagaacgcagataaggccataaaggatttcaggataacaaggccccccacg acaagtccgcccatagcaagcaattccaagttgccaaggatttgcgagacaaaaacaatcgcttga gagaagttcaattgaaaagcaattgaaggcatgacgaacgggtgaagagtgtacgatgcaataa gtaagctgaacgagaagactcaattgagaaccgaagggttggtcaacgcgaggtcaacaaggcacca atggacgtgaaagagcatctgcaaaagcaacttgacTAATGATAGACCAGCCTCAAG AACACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAATACCAACTTACAC TTTACAAAATGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTTCGTATCTGCT CCTAATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

4 8	S (s s) - R B D	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGC CACCAgttctgtattcttggtacttctcccccttgtagttccgcagcaaatatcaccaatctttgccctttcg gagaggtattcaatgcaactcgggttgcaagtgtgtacgcttggaatcgcaagcgcatcagcaattgcgtc gctgattacagtgtgctctataacagtgcacatcttctccactttcaagtgttacgggtgttagtccaactaagctg aacgatctttgtttaccaacgtgtacgtgattcttctgctattcgaggggatgaggtgcgacaaatagcac ctgggcaaaccgggaaaatagcagactataattataagctccagatgacttactgggtgcgtaattgcc tggaatagcaacaatcttgacagtaaagtagggggaattacaactattgtacagattgttcgcaaattcca atttgaagccatttgagcgcgacatctctactgagattatcaggctggcagcactccttgaacgggtgtaga aggctttaactgttattcccccttcaatcttatgggttcagcccaccaatggcggtgggataaccagccttacc gcgtcgttgtagttagtttgaactgcttcatgctccagctacagtgtgcggccccTAATGATAGA CCAGCCTCAAGAACACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAAT ACCAACTTACACTTTACAAAATGTTGTCCCCCAAATGTAGCCA TTCGTATCTGCTCCTAATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT
4 9	S (s s) - R B D - S b i (I I I - I V)	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGC CACCAgttctgtattcttggtacttctcccccttgtagttccgcagcaaatatcaccaatctttgccctttcg gagaggtattcaatgcaactcgggttgcaagtgtgtacgcttggaatcgcaagcgcatcagcaattgcgtc gctgattacagtgtgctctataacagtgcacatcttctccactttcaagtgttacgggtgttagtccaactaagctg aacgatctttgtttaccaacgtgtacgtgattcttctgctattcgaggggatgaggtgcgacaaatagcac ctgggcaaaccgggaaaatagcagactataattataagctccagatgacttactgggtgcgtaattgcc tggaatagcaacaatcttgacagtaaagtagggggaattacaactattgtacagattgttcgcaaattcca atttgaagccatttgagcgcgacatctctactgagattatcaggctggcagcactccttgaacgggtgtaga aggctttaactgttattcccccttcaatcttatgggttcagcccaccaatggcggtgggataaccagccttacc gcgtcgttgtagttagtttgaactgcttcatgctccagctacagtgtgcggccccgggtgggggtggaagtg gtgggggaggctctggcggaggaggaagcatagagaacgcagataaggccataaaggattttcaggat aacaaggccccccacgacaagtccgcccatacgaagcaaattccaagttgccaaaggatttgcgagac aaaaacaatcgctttgtagagaaagttaattgaaaaagcaattgtaaggcatgacgaacgggtgaagag tgctaacgatgcaataagtaagctgaacgagaaagactcaattgagaaccgaaggttggtcaacgcga ggtcaacaaggcaccaatggacgtgaaagagcatctgcaaaagcaacttgacTAATGATAGA CCAGCCTCAAGAACACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAAT ACCAACTTACACTTTACAAAATGTTGTCCCCCAAATGTAGCCA TTCGTATCTGCTCCTAATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

5 0	R B D Δ 1 - S b i (I I I - I V)	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGC CACCatgtatcgcagtcagttgctgtcctgtattgccctgtctctgcattggctactaactctgccgcaat tgctccagggcagacaggtaaaattgcagactataattacaaactcccagacgacttcaccggctgtgttat cgcttggaacagtaacaatcttgacagcaaggctcgggtggcaactataattatctctatcgactttccgaaaa tccaatttgaagcccttgagagggacatttcaaccgaaatataaccaggtggatcaactcctgcaatggt gtcgaaggatttaactgttacttccccttcagagttacgggttcagccaaccaatgggggtgggtatcaa ccataccgggtcgtgtattgagtttcgaactgttgcagtcctcagcaacagtatgtgtcccaaaaagagt acaaatctggtgaaaaacaaagggtgggggtggaagtgggtggggaggctctggcggaggaggaagca tagagaacgcagataaggccataaaggatttccagataacaaggccccccacgacaagtccgccgat acgaagcaaatccaagttgccaaaggatttgcgagacaaaaacaatcgcttttagagaaagtccaattg aaaaagcaattgtaaggcatgacgaacgggtgaagagtgtaacgatgcaataagtaagctgaacgaga aagactcaattgagaaccgaagggttgctcaacgcgaggtcaacaaggcaccatggacgtgaaagag catctgcaaaagcaacttgacTAATGATAGACCAGCCTCAAGAACACCCGA ATGGAGTCTCTAAGCTACATAATACCAACTTACACTTTACAAAA TGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTTCGTATCTGCTCCTAATAAA AAGAAAGTTTCTTCACATTCT
5 1	R B D Δ 2 - S b i (I I I - I V)	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGC CACCatgtatcgcagtcagttgctgtcctgtattgccctgtctctgcattggctactaactctgccgcaac cggctgtgttatcgttggaacagtaacaatcttgacagcaaggctcgggtggcaactataattatctctatcga ctttccgaaaatccaatttgaagcccttgagagggacatttcaaccgaaatataaccaggtggatcaactc cttgcaatggtgtcgaaggatttaactgttacttccccttcagagttacgggttcagccaaccaatgggggt gggtatcaaccataccgggtcgtgtattgagtttcgaactgttgcagtcctcagcaacagtatgtgtccc aaaaagagtacaaatctggtgaaaaacaaagggtgggggtggaagtgggtggggaggctctggcggag gaggaagcatagagaacgcagataaggccataaaggatttccagataacaaggccccccacgacaag tccgccgatacgaagcaaatccaagttgccaaaggatttgcgagacaaaaacaatcgcttttagagaa agtccaattgaaaaagcaattgtaaggcatgacgaacgggtgaagagtgtaacgatgcaataagtaag ctgaacgagaaagactcaattgagaaccgaagggttgctcaacgcgaggtcaacaaggcaccatgga cgtgaaagagcatctgcaaaagcaacttgacTAATGATAGACCAGCCTCAAGAAC ACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAATACCAACTTACACTTT ACAAAATGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTTCGTATCTGCTCCT AATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

5 2	R B D Δ 3 - S b i (I I I - I V)	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCCAC Catgtatcgcatgcagttgctgtctgtattgccctgtctctcgattggctactaactctgccgcaagtaacaatctt gacagcaaggctgggtggcaactataattatctctatcgactttccgaaaatccaattgaagccctttgagaggga catttcaaccgaaatataaccaggctggatcaactccttgcattgggtgcgaaggatttaactgttacttccccttgc gagttacgggtttcagccaaccaatggggtgggtatcaaccataccgggtcgttattgagtttgaactgttgc atgtccagcaacagtatgtgtcccaaaaagagtacaaatctggtgaaaaacaaagggtgggggtggaagtgtg gggggaggctctggcggaggagggaagcatagagaacgcagataaggccataaaggatttcaggataacaag gccccccagacaagtcgcccgcatacgaagcaaatccaagttgccaaggatttgcgagacaaaaacaatc gcttttagagaaaagttaattgaaaaagcaattgtaaggcatgacgaacgggtgaagagtgtacacgatgcaa taagtaagctgaacgagaaaagactcaattgagaaccgaaggttggtcaacgcgaggtcaacaaggcaccaat ggacgtgaaagagcatctgcaaaagcaacttgacTAATGATAGACCAGCCTCAAGAAC ACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAATACCAACTTACACTTTACA AAATGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTTCGTATCTGCTCCTAATAAAA AAGAAAGTTTCTTCACATTCT
5 3	R B D Δ 4 - S b i (I I I - I V)	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCCAC Catgtatcgcatgcagttgctgtctgtattgccctgtctctcgattggctactaactctgccgcatgcaatgggtg cgaaggatttaactgttacttccccttgcagagttacgggttcagccaaccaatggggtgggtatcaaccatac cgggtcgttattgagtttcgaactgttgcattgctccagcaacagtatgtgtcccaaaaagagtacaaatctggt gaaaaacaaagggtgggggtggaagtgtgggggaggctctggtggaggagggaagcatagagaacgcagat aaggccataaaggatttgcaggataacaaggccccccagacaagtcgcccgcatacgaagcaaatccaagtt gccaaggatttgcgagacaaaaacaatcgcttttagagaaaagttaattgaaaaagcaattgtaaggcatgac gaacgggtgaagagtgtacacgatgcaataagtaagctgaacgagaaaagactcaattgagaaccgaaggttgg ctcaacgcgaggtcaacaaggcaccaatggacgtgaaagagcatctgcaaaagcaacttgacTAATGAT AGACCAGCCTCAAGAACACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAAT ACCAACTTACACTTTACAAAATGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTTC GTATCTGCTCCTAATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT
5 4	R B D Δ 5 - S b i (I I I - I V)	CTTGTTCTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCCAC Catgtatcgcatgcagttgctgtctgtattgccctgtctctcgattggctactaactctgccgcaacaaacgtcta cgcagacagctttgtatcaggggggacgaagttcgccaaattgtccaggggcagacaggtaaaaattgcagact ataattacaactcccagacgacttcacggctgtgtatcgcttgaacagtaacaatttgacagcaaggctcgg tggaactataattatctctatcgactttccgaaaatccaattgaagccctttgagaggggacatttcaaccgaaata taccaggctgatcaactccttgcattgggtgcgaaggatttaactgttacttccccttgcagagttacgggttcag ccaaccaatggggtgggtatcaaccataccgggtcgttattgagtttgaactgggtgggggtggaagtgtg gggggaggctctggcggaggagggaagcatagagaacgcagataaggccataaaggatttcaggataacaag gccccccagacaagtcgcccgcatacgaagcaaatccaagttgccaaggatttgcgagacaaaaacaatc gcttttagagaaaagttaattgaaaaagcaattgtaaggcatgacgaacgggtgaagagtgtacacgatgcaa taagtaagctgaacgagaaaagactcaattgagaaccgaaggttggtcaacgcgaggtcaacaaggcaccaat ggacgtgaaagagcatctgcaaaagcaacttgacTAATGATAGACCAGCCTCAAGAAC ACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAATACCAACTTACACTTTACA AAATGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTTCGTATCTGCTCCTAATAAAA AAGAAAGTTTCTTCACATTCT

10

20

30

40

【0299】

ポリペプチドまたはその製剤をコードする mRNA

とりわけ、本明細書に提供されるのは、抗原に対する免疫応答を刺激するために、及び／または抗原の免疫原性を増強するために使用され得るポリペプチド及びポリヌクレオチドである。

【0300】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるポリペプチドは、RNAを含むポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、メッセンジャー RNA を含む。

50

【0301】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含むポリヌクレオチドは、脂質ナノ粒子（LNP）製剤中に製剤化される。

【0302】

いくつかの実施形態では、本開示は、免疫原性組成物において使用するためのRNA、例えば、mRNAを含むポリヌクレオチドを含むLNP製剤を提供する。

【0303】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含むポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、免疫応答を増強及び／または調節するために対象に投与される。いくつかの実施形態では、免疫応答は、ポリヌクレオチドに含まれる抗原によって誘発される。

10

【0304】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含むポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されるとき、それが抗原、例えば、ポリヌクレオチドに含まれる抗原またはポリペプチドに含まれる抗原に対する免疫原性を低下させることを特徴とする。

【0305】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含むポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されると、免疫応答を標的タンパク質抗原のエピトープの保存領域及び／または機能性領域に集中させることを特徴とする。

【0306】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含むポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されると、対象における標的タンパク質抗原に対する免疫応答の幅及び／または有効性が改善されることを特徴とする。

20

【0307】

いくつかの実施形態において、RNA、例えば、mRNAを含むポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されると、体液性応答、例えば、広く中和する体液性応答、及び／またはT細胞媒介応答をもたらすことを特徴とする。

【0308】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示のポリペプチドは、本明細書に記載の融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示のポリヌクレオチドは、本明細書に記載の融合ポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、RNAを含む融合ポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、メッセンジャーRNAを含む。

30

【0309】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含む融合ポリヌクレオチドは、脂質ナノ粒子（LNP）製剤中に製剤化される。

【0310】

いくつかの実施形態では、本開示は、免疫原性組成物で使用するためのRNA、例えば、mRNAを含む融合ポリヌクレオチドを含むLNP製剤を提供する。

【0311】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含む融合ポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、免疫応答を増強及び／または調節するために対象に投与される。いくつかの実施形態では、免疫応答は、融合ポリヌクレオチドに含まれる断片抗原によって誘発される。いくつかの実施形態では、免疫応答は、融合ポリヌクレオチドに含まれるアジュバント（例えば、C3d結合ポリペプチド）によって増強される。

40

【0312】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含む融合ポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されると、抗原、例えば、融合ポリヌクレオチドに含まれる抗原または融合ポリペプチドに含まれる抗原に対する免疫原性を低下させることを特徴とする。

50

【0313】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含む融合ポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されると、免疫応答を標的タンパク質抗原のエピトープの保存領域及び／または機能性領域に集中させることを特徴とする。

【0314】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含む融合ポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されると、対象における標的タンパク質抗原に対する免疫応答の幅及び／または有効性が改善されることを特徴とする。

【0315】

いくつかの実施形態では、RNA、例えば、mRNAを含む融合ポリヌクレオチドを含むLNP製剤は、対象に投与されると、体液性応答、例えば、広く中和する体液性応答、及び／またはT細胞媒介応答をもたらすことを特徴とする。

10

【0316】

組成物

とりわけ、本開示は、組成物を提供する。本明細書に開示される組成物、例えば、本明細書に開示されるポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含む組成物は、抗原の保存領域及び／または機能性領域に免疫応答を集中させることができる。いくつかの実施形態では、この免疫フォーカシングは、抗原に対する免疫応答の幅及び／または有効性を改善することができる。

【0317】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物は、対象に投与されると、抗原、例えば、融合ポリヌクレオチドに含まれる抗原または融合ポリペプチドに含まれる抗原に対する免疫原性を低下させることを特徴とする。

20

【0318】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される組成物は、対象に投与されると、免疫応答を標的タンパク質抗原のエピトープの保存領域及び／または機能性領域に集中させることを特徴とする。

【0319】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される組成物は、対象に投与されると、標的タンパク質抗原に対する対象における免疫応答の幅及び／または有効性を改善することを特徴とする。

30

【0320】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物は、対象に投与されると、体液性応答、例えば、広く中和する体液性応答、及び／またはT細胞媒介応答をもたらすことを特徴とする。

【0321】

いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載されるポリペプチド、例えば、本明細書に記載される融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、ポリヌクレオチド、例えば、本明細書に記載の融合ポリヌクレオチドを含む。

【0322】

いくつかの実施形態では、組成物は、例えば、本明細書に記載されるような薬学的組成物であるか、または薬学的組成物を含む。

40

【0323】

いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に開示されるポリヌクレオチド、例えば、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターであるか、またはそれを含む。

【0324】

いくつかの実施形態では、組成物は、例えば、本明細書に記載されるような免疫原性組成物であるか、または免疫原性組成物を含む。

【0325】

50

免疫原性組成物

本明細書に開示されるのは、(1) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原断片または抗原バリエーション、及び／または(2) 補体C3d結合領域を含むアジュバントを含む免疫原性組成物である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される免疫原性組成物は、得られる抗体応答の力価を増強し、及び／または測定可能なT細胞応答をもたらすことができる。

【0326】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、アジュバントとして使用するための *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む。いくつかの実施形態では、アジュバントとして使用するための Sbi を含む免疫原性組成物は、Sbi ポリペプチドまたはその断片を含む。いくつかの実施形態では、アジュバントとして使用するための Sbi を含む免疫原性組成物は、Sbi ポリペプチドまたはその断片をコードするポリヌクレオチドを含む。

10

【0327】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原断片または抗原バリエーションと、補体C3d結合ポリペプチドを含むアジュバントとを含む。

【0328】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、補体C3d結合ポリペプチドに融合された標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原断片または抗原バリエーションを含む融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus* の Sbi のドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。

20

【0329】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、補体C3d結合ポリペプチドに融合された標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原断片または抗原バリエーションを含む融合ポリヌクレオチドをコードする融合ポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチドは、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) を含むC3d結合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、補体C3d結合ポリペプチドは、*Staphylococcus aureus* の Sbi のドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む。

30

【0330】

いくつかの実施形態では、免疫原性組成物は、本明細書に開示されるポリヌクレオチドまたは融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。

【0331】

薬学的組成物

本開示の薬学的組成物は、本明細書に開示されるポリペプチド (例えば、融合ポリペプチド)、本明細書に開示されるポリヌクレオチド (例えば、融合ポリヌクレオチド)、またはポリヌクレオチド (例えば、融合ポリヌクレオチド) を含む発現ベクターを含み得る。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、またはそれらの組み合わせを含み得る。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、中性緩衝食塩水、リン酸緩衝食塩水などの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロース、またはデキストランなどの炭水化物；マンニトール；タンパク質；グリシンなどのポリペプチドまたはアミノ酸；抗酸化剤；EDTAまたはグルタチオンなどのキレート剤；及び防腐剤を含み得る。

40

【0332】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、本明細書に開示される投与経路のいずれか

50

に従って投与のために製剤化される。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、筋肉内投与、皮内投与、静脈内投与、または皮下投与のために製剤化される。

【0333】

本明細書に開示される組成物を使用する方法

本開示は、とりわけ、本明細書に記載の融合ポリペプチド、本明細書に記載の融合ポリヌクレオチド、またはそれらを含む組成物を使用して、（例えば、ワクチンとしての）抗原に対する免疫応答を刺激するか、または抗原の免疫原性を増強するための方法を提供する。

【0334】

また、本明細書に開示されるのは、疾患を治療する、または疾患、例えば、本明細書に記載される抗原に関連する疾患の症状を緩和するために、本明細書に記載される融合ポリペプチド、本明細書に記載される融合ポリヌクレオチド、またはそれらを含む組成物を使用する方法である。

【0335】

本明細書に開示される組成物、例えば、本明細書に開示される融合ポリペプチドまたは融合ポリヌクレオチドを含む組成物の使用は、免疫応答を抗原の保存領域及び／または機能領域に集中させることができる。いくつかの実施形態では、この免疫フォーカシングは、抗原に対する免疫応答の幅及び／または有効性を改善することができる。

【0336】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物を投与することを含む方法は、抗原、例えば、融合ポリヌクレオチドに含まれる抗原または融合ポリペプチドに含まれる抗原に対する免疫原性の低下をもたらす。

【0337】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物を投与することを含む方法は、免疫応答を標的タンパク質抗原のエピトープの保存領域及び／または機能性領域に集中させることをもたらす。

【0338】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物を投与することを含む方法は、対象において、標的タンパク質抗原に対する免疫応答の幅及び／または有効性の改善をもたらす。

【0339】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物を投与することを含む方法は、体液性応答、例えば、広く中和する体液性応答、及び／またはT細胞媒介応答をもたらす。

【0340】

本開示は、投与を必要とする対象に、少なくとも1回の用量の、本明細書に開示される融合ポリペプチド、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む薬学的組成物を投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、少なくとも1回の用量は、対象における断片抗原に対する免疫応答を誘導するための有効量で投与される。

【0341】

本明細書に開示されるのは、対象に、本明細書に開示される薬学的組成物の第1の用量、及び本明細書に開示される薬学的組成物の第2の用量を投与することを含む方法である。いくつかの実施形態において、薬学的組成物は、本明細書に開示される融合ポリペプチド、本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。

【0342】

いくつかの実施形態では、第1の用量及び第2の用量は、少なくとも3日、4日、5日、6日、7日、2週間、3週間、または4週間間隔で投与される。

【0343】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、第 1 の用量及び第 2 の用量は、同じ量である。いくつかの実施形態では、第 1 の用量及び第 2 の用量は、異なる量である。

【0344】

本開示は、抗原の免疫原性を増強するための方法であって、投与を必要とする対象に、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0345】

本開示はまた、抗原に対する免疫応答を刺激するための方法であって、投与を必要とする対象に、本明細書に開示される融合ポリペプチド、または本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。

10

【0346】

本明細書に追加的に提供されるのは、疾患を治療するか、または疾患の症状を改善する方法であって、投与を必要とする対象に、本明細書に開示される融合ポリペプチド、もしくは本明細書に開示される融合ポリヌクレオチド、または本明細書に開示される薬学的組成物を投与することを含む、方法である。

【0347】

本明細書に開示される方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、投与を必要とする対象は、標的タンパク質抗原によって誘発される疾患、障害、または状態に罹患しているか、または罹患しやすい対象である。いくつかの実施形態では、対象は哺乳動物対象である。いくつかの実施形態では、対象はヒト対象である。

20

【0348】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、単回用量の融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が投与される。本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、複数回用量の融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が投与される。

【0349】

本明細書に開示される方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物は、約 $0.5 \mu\text{g} \sim 10 \mu\text{g}$ の用量で投与される。

30

【0350】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチドまたは薬学的組成物の投与は、体液性応答をもたらす。いくつかの実施形態では、体液性応答は、抗体応答である。

【0351】

本明細書に開示の方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または薬学的組成物の投与は、抗体応答の力価の増加をもたらす。いくつかの実施形態では、力価の増加は、約 10 倍～約 500 倍の増加である。いくつかの実施形態では、抗体応答の力価の増加は、S b i ドメイン I I I、またはその断片もしくはバリエント、及び S b i ドメイン I V、またはその断片もしくはバリエントを含まない他の方法で類似する融合ポリヌクレオチドの投与と比較される。いくつかの実施形態では、抗体応答の力価の増加は、S b i ドメイン I I I、またはその断片もしくはバリエント、及び S b i ドメイン I V、またはその断片もしくはバリエントを含まない他の方法で類似する融合ポリペプチドの投与と比較される。いくつかの実施形態では、抗体応答の増加した力価は、S b i ドメイン I I I、またはその断片もしくはバリエント、及び S b i ドメイン I V、またはその断片もしくはバリエントをコードするヌクレオチド配列を含まない他の方法で類似する薬学的組成物の投与と比較される。

40

【0352】

本明細書に開示される方法または使用のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、組

50

成物は、筋肉内、静脈内、皮下、髄腔内、皮内、眼、鼻腔内、舌下、または経口の投与経路のうちのいずれか1つを介して投与される。

【0353】

断片抗原のスクリーニング方法

断片が由来する標的タンパク質抗原における三次元コンホメーションと実質的に同一である三次元コンホメーションに折り畳まれるポリペプチド断片を同定することによって断片抗原を選択するインビトロ方法も、本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるスクリーニング方法は、有効な抗原の設計空間を拡張する抗原または断片抗原を同定することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるスクリーニング方法は、T細胞エピトープを欠く、またはT細胞エピトープの一部を有する抗原または断片抗原を同定することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるスクリーニング方法は、標的タンパク質抗原のエピトープの一部のみを含有する断片抗原を同定することができる。

10

【0354】

いくつかの実施形態において、本方法は、細胞表面上に断片抗原候補のライブラリを表示する哺乳動物細胞ディスプレイシステムを提供するステップと、哺乳動物細胞ディスプレイシステムを、断片抗原候補が由来する標的タンパク質抗原に結合する抗体を含む組成物に曝露するステップと、標的タンパク質抗原結合抗体に結合する断片抗原候補を検出するステップであって、標的タンパク質抗原結合抗体のうちの少なくとも1つに結合する断片抗原候補の結合が、標的タンパク質抗原における三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれる可能性を示す、検出するステップとを含む。

20

【0355】

いくつかの実施形態では、方法は、標的タンパク質抗原に結合する抗体を生成するステップを更に含む。いくつかの実施形態では、抗体の生成は、(i)断片抗原候補が由来する標的タンパク質抗原またはそれをコードするポリヌクレオチドで動物を免疫することと、(ii)標的タンパク質抗原に結合する抗体を特定することと、を含む。

【0356】

いくつかの実施形態では、哺乳動物細胞ディスプレイシステムは、HEK293T細胞、HeLa細胞、またはCHO細胞を含む。

【0357】

いくつかの実施形態では、ポリペプチド断片は、血清結合アッセイまたは同様のアッセイにおける抗体に対する結合親和性に基づいて同定される。

30

【0358】

本発明の他の特徴は、例示的な実施形態の以下の説明の過程で明らかになるであろうが、これは、本発明の例示のために与えられるものであり、その限定を意図するものではない。

【実施例】

【0359】

実施例1：Sbi(III-IV)融合によるSARS-CoV-2Sタンパク質ドメインの強化された抗原性

40

この実施例は、抗原の特定の領域、例えば、保存された領域及び／または機能的に重要な領域に免疫応答を集中させる断片抗原を含むワクチンの開発を説明する。この方法での免疫フォーカスは、ワクチンの幅及び有効性を改善することができる。とりわけ、タンパク質またはタンパク質サブドメイン(例えば、断片抗原)よりも小さい抗原でワクチン接種するための2つの技術的課題がある。まず、断片抗原は、MHC複合体上に効率的に提示されるペプチドを含む必要がある。第二に、断片抗原は、完全なタンパク質と同じコンホメーションに折り畳まれたエピトープを有していなければならない。

【0360】

BALB/cマウスに、以下をコードする10µgの用量のIM送達mRNAを投与した。(1)SARS-CoV-2Sタンパク質のRBDドメイン(RBD)、(2)Sタ

50

ンパク質の膜貫通型ドメインに融合したRBD (RBD-TM)、(3) SARS-CoV-2 Sタンパク質及びSbi (III-IV) のRBDドメインの融合タンパク質、または(4) SARS-CoV-2 Sタンパク質及びSbi (III-IV) のRBDドメインの融合タンパク質、ならびにSタンパク質の膜貫通ドメインに融合したRBD (RBD-TM)。ワクチン未接種マウス群を対照として使用した。ワクチン接種後21日目に、IgG力価をELISAを使用して血液中で評価した。T細胞応答を評価するために、5匹のマウス由来の脾臓をプールし、500,000細胞/ウェルで4ウェルにプレティングした。それぞれ2つのウェルをN末端またはC末端Sタンパク質ペプチドプール (Peptide Mix SARS-CoV-2 Spike糖タンパク質ミックス) によって刺激した。
【0361】

10

結果は、Staphylococcus aureus由来のSbiタンパク質の補体C3d結合領域に融合した最小の抗原でワクチン接種すること(図1A)が、得られた抗体応答の力価を増強したことを実証した(図1B)。抗原提示アーキテクチャの大規模なセットをスクリーニングすることによって、この戦略は、膜貫通型ドメインに融合された同じ抗原を有するSbi (III-IV) 融合抗原の同時送達によって拡張された(図1B)。体液性応答を誘発することに加えて、これらのmRNAベースのワクチンはまた、IFN γ +IL2+多機能CD4+応答を誘発した(図1C)。長さが25残基のような短いペプチドをSbi (III-IV) に融合させることで、有意義な抗体応答を誘発することが可能になったことも観察された(図1D)。いかなる特定の理論に拘束されることを望むものではないが、C3dは、補体受容体2 (CR2) を介してB細胞を直接活性化することができ、CD4+T細胞シグナル伝達の不在下で免疫応答の誘導を可能にする。したがって、この足場は、合成免疫シナプスとして機能し、自然なウイルス感染を模倣して強力に適切な免疫応答を駆動する。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の融合アーキテクチャは、MHC提示ペプチドを欠く小さい抗原が有意義な体液性応答を誘発することを可能にする。

20

【0362】

構造予測の課題に対処するために、断片抗原が、完全なタンパク質と同じ三次元コンホメーションに折り畳まれるかを決定するために、ハイスループットスクリーニングを行った(図2A)。このスクリーニングには2つのステップがある。まず、完全なタンパク質に対する抗血清を、目的の完全長タンパク質をコードするmRNAワクチンでマウスにワクチン接種することによって生成した。次いで、マウスの血清中のポリクローナル抗体を、哺乳動物表面ディスプレイシステムとの関連で提示される断片に対するプローブとして使用した。一例として、抗原断片のライブラリを発現するHEK293T細胞はこのステップで使用され得る。完全タンパク質によって生成される抗体に結合する断片は、完全タンパク質とコンホメーション状態を共有する可能性が高い。正しく折り畳まれた断片は、血清抗体への結合の増加によって同定される(図2B)。このシステムは、実用的なインビボよりも2桁高いスループットでインビトロで断片のスクリーニングを可能にする。

30

【0363】

実施例2: SARS-CoV-2 Sタンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV) 融合は、ウイルス中和を増加させる。

40

本実施例では、SARS-CoV-2 Sタンパク質のRBDドメインをコードするmRNAをワクチン接種したマウス、またはSARS-CoV-2 Sタンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV) 融合物をコードするmRNAをワクチン接種したマウスから得られた血清のウイルス中和活性を試験した。

【0364】

この実験では、BALB/Cマウスに、実施例6の「動物ワクチン接種」セクションに記載されているようにワクチン接種した。具体的には、BALB/Cマウスに、示されるmRNA構築物の50 μ LのmRNA-LNP製剤(10 μ gのmRNA用量)を右大腿四頭筋に注射した。ワクチン接種後10~21日で、ワクチン接種されたマウスから血清を収集し、SARS-CoV-2ウイルスの存在下で標的細胞と共にインキュベートした

50

。ワクチン接種していないマウス由来の血清を対照として使用した。

【0365】

図3に示されるように、SARS-CoV-2タンパク質のRBDドメインにSbi (III-IV)を融合させることは、SARS-CoV-2タンパク質単独のRBDドメインと比較して、擬似型ウイルスの中和を増加させる。この効果は、両方の血清希釈において観察された。このデータは、SARS-CoV-2タンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV)融合物をコードするmRNAによるワクチン接種が、SARS-CoV-2ウイルス中和特性を有する抗体応答をもたらすことを実証した。

【0366】

実施例3：SARS-CoV-2タンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV)融合によるB細胞の刺激

この実施例は、SARS-CoV-2タンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV)融合物をコードするmRNAの低用量を投与されたマウスにおけるB細胞の刺激について説明する。

【0367】

この実験では、BALB/Cマウスに、実施例6の「動物ワクチン接種」セクションに記載されているようにワクチン接種した。具体的には、マウスに、IL2分泌ペプチド及びSARS-CoV-2タンパク質のRBDドメインのSbi (III-IV)への融合物を有する構築物 (IL2(ss)-RBD-Sbi (III-IV)とも称される)を含む0.5 µg、2.5 µgまたは10 µgのIM用量のmRNAをワクチン接種した。ワクチン接種後10～21日目に、マウスから血液及び脾臓を採取した。力価評価のために、動物由来の血液をELISAアッセイで分析した。T細胞応答の評価のために、IFNγ及び/またはIL-2を検出するELISPOTを使用した。

【0368】

図4Aに示すように、RBD-Sbi (III-IV)投与量をマウス当たり10 µgからマウス当たり0.5 µgに減少させたとき、高い力価が観察された。IL2(ss)-RBD-Sbi (III-IV)の用量を10 µg未満に減少させることは、細胞応答を減少させる (図4B)。このデータは、IL2(ss)-RBD-Sbi (III-IV)によるワクチン接種によって誘発される抗体応答が、B細胞を直接刺激することによってT細胞を迂回することを伴うことを示唆した。

【0369】

実施例4：プライミング、続いてブーストは、SARS-CoV-2タンパク質のRBDドメインへのSbi (III-IV)融合によって誘発される抗体応答を増加させる。

この実施例では、プライミング用量、続いてブースター用量を含むワクチン接種レジメンの効果を評価した。

【0370】

この実験では、BALB/Cマウスに、実施例6の「動物ワクチン接種」セクションに記載されているようにワクチン接種した。具体的には、4群のマウスに、IL2分泌ペプチド及びSARS-CoV-2タンパク質のRBDドメインのSbi (III-IV)への融合物を有する構築物 (IL2(ss)-RBD-Sbi (III-IV)とも称される)を含むmRNAの50 µL mRNA-LNP製剤 (10 µg mRNAプライミング用量)を注射した。マウスの1つの群は、ワクチンの追加投与を受けなかった (ブースト群なし)。他の3群のマウスは、それぞれ3、7、14日目に、50 µLのmRNA-LNP製剤 (10 µgのmRNA用量)のブースター用量を受けた。ワクチン接種後10～21日目に、マウスから血液及び血清を収集した。

【0371】

図5Aは、ブースター用量の投与が、IL2(ss)-RBD-Sbi (III-IV)によって生成された力価を≥776倍 (プライム後3日目に行った場合)、≥588.1倍 (プライム後7日目に行った場合)、及び≥9.2倍 (プライム後14日目に行った場合)増加させたことを示す。図5Bは、増量されたワクチン接種及びプライムのみのワ

10

20

30

40

50

【 0 3 7 2 】

10

【 0 3 7 3 】

【 0 3 7 4 】

20

【 0 3 7 5 】

30

【 0 3 7 6 】

40

【 0 3 7 7 】

50

らなる19.9 μ Lの転写混合物を加えた。転写を50℃で1時間実行した。転写されたRNAを、500 μ gの容量のMonarch RNA Cleanup Kitを使用して精製し、DNase Iで処理し、500 μ gの容量のMonarchカラムを使用して再び精製した。次いで、mRNAを37℃で10分間、Alkaline Phosphatase (Millipore)で処理し、500 μ gのMonarchカラムを使用して精製した。濃度は、NanoDrop分光光度計を使用して決定された。

【0378】

LNP製剤脂質ナノ粒子(mRNA-LNP)中のmRNAの製剤は、NanoAssemblr Igniteマイクロ流体ミキサー(Precision Nanosystems)を用いて調製した。GenVoy-ILM脂質混合物(Precision Nanosystems)を無水エタノール中で12.5mMに希釈し、製造業者推奨の製剤パラメータを使用して、PNI緩衝液(Precision Nanosystems)中のmRNA(0.14mg/mL)の水溶液と組み合わせた。製剤を直ちにリン酸緩衝生理食塩水(pH7.4)で30:1に希釈し、Amicon遠心フィルター(Millipore Sigma UFC901008)を用いて濃縮した。製剤を4℃で保存し、14日以内にインビボ研究に使用した。

【0379】

動物ワクチン接種： 全ての動物実験は、Charles River Accelerator Development Lab (CRADL)によって定められたガイドラインに従って実施され、CRADL Institutional Animal Care and Use委員会によって承認された。雌のBALB/Cマウス(7~9週齢)は、Charles River Laboratoriesから購入し、CRADLに収容した。マウスを、研究の開始前に、少なくとも3日間順応させた。1日目に、マウスに、右大腿四頭筋に、50 μ LのmRNA-LNP製剤を注射した(別段明記されない限り、10 μ gのmRNA用量を使用した)。2回のワクチン接種を伴う実験では、マウスに、ブースター免疫のために50 μ LのmRNA-LNP製剤を左大腿四頭筋に追加で注射した。マウスを(示されるように)10日目~21日目に安楽死させ、その時点で心臓内棒を介して血液を採取し、脾臓を解剖し、処理のために収集した。MiniCollect血清分離管(Greiner Bio-One 450472)中の血清を、4℃、1200×gで10分間遠心分離することによって血液から分離した。新鮮な血清を4℃で保存し、ELISA及び中和アッセイによって免疫原性を評価するために使用し、残りをアリコートし、-80℃で凍結した。

【0380】

スパイク力価ELISAアッセイELISAプロトコルは、Amanat, et al. (Nat Med 26:1033-1036, 2020)によって以前に確立されたものを応用した。簡潔には、96ウェルのImmulon 4 HBXプレート(Thermo Fisher Scientific)は、PBS中のSARS-CoV-2(2019-nCoV) Spike S1+S2 ECD-His組換えタンパク質(Sino Biological #40589-V08B1)の2 μ g/mL溶液1ウェル当たり50 μ Lで一晩4℃でコーティングされた。プレートを、PBS(PBS-T)中0.1%のTween(登録商標)20の300 μ Lで3回洗浄し、次に、PBS-T中3%の無脂肪乳1ウェル当たり100 μ Lで1時間ブロックした。血清及び抗体対照の連続希釈液を、PBS-T中1%の無脂肪乳中で調製し、それぞれ100 μ Lをプレートに室温で2時間添加した。次いで、ウェルを前のようにPBS-Tで3回洗浄した。次いで、ウェルを、1%乳PBS-T室温で100 μ Lの1:3,000希釈のヤギ抗マウスIgG西洋ワサビペルオキシダーゼ結合二次抗体(Sigma)中で1時間インキュベートした。プレートを再びPBS-Tで3回洗浄した。100 μ LのSIGMAFAST OPD(Sigma-Aldrich)溶液を、室温で10分間、各ウェルに添加した。3M塩酸をウェル当たり50 μ L添加することで反応を停止させた。GloMax Discover(Promega)プレートリーダーを使用して、490nmで光学密度を測定した

。終点力価は、シグナルが、同じ希釈で未処理の対照血清からのシグナルの平均を上回る1標準偏差を下回る前に、最後の希釈をとることによって決定した。シグナルがこの閾値を下回らない場合、最後の希釈を力価とした。閾値を超えるシグナルが検出されなかった場合、最小希釈検体の前の希釈系列の値を使用した。SARS-CoV-1及びSARS-CoV-2の両方のRBDに反応性のキメラモノクローナル抗体及びSARS-CoV-1反応性マウスモノクローナル抗体を、それぞれ陽性及び陰性対照として使用した。

【0381】

偽型中和アッセイウイルス形質導入実験に使用したヒトACE 2過剰発現性HEK細胞(Integral Molecular)を、 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ のピューロマイシン、10%熱不活性化ウシ胎児血清、及び $100\text{U}/\text{mL}$ のペニシリン/ストレプトマイシンを補充した高グルコースGlutaMAX含有DMEM(ThermoFisher Scientific 10564)中に維持した。各血清の $4\mu\text{L}$ (1:37.5希釈の場合)または $1\mu\text{L}$ (1:500希釈の場合)を、ピューロマイシンを含まない培地中で第2世代レンチウイルスシステム(Integral Molecular、ロットCG-113A)を使用して構築した $35\mu\text{L}$ のスパイク偽型GFPコードレポーターウイルス粒子と混合して、総体積を $100\mu\text{L}$ にした。ウイルス及び血清を、96ウェルの細胞培養プレート内で、 37°C で1.5時間インキュベートした。次いで、20,000個の新たに採取したHEK細胞を $50\mu\text{L}$ のピューロマイシンを含まない培地中に添加し、形質導入を3日間進めた。Cytation 5 Cell Imaging Multi-Mode Reader及びGen5ソフトウェア(BioTek)を使用して、GFP陽性細胞の数を定量化した。各ウェルの画像を、GFP(469、525)チャンネルの4倍のPLACH対物レンズを使用して、LEDを10.0に設定し、積分時間を100ミリ秒に設定し、ゲインを11.0に設定して撮影した。画像は、プレートの方下 $345\mu\text{m}$ の固定焦点高さで撮影した。ウェルごとに6つの画像を撮影し、ソフトウェアがこれらをつなぎ合わせ可能なように、自動的にオーバーラップさせた。暗い背景、及び直径 $60\mu\text{m}$ のローリングボールでの背景平坦化を使用して画像前処理を適用した。細胞分析のために、一次マスクを、暗い背景及び2000のGFP閾値を有する処理された画像に適用した。最小及び最大オブジェクトサイズをそれぞれ $10\mu\text{m}$ 及び $1000\mu\text{m}$ に設定した。タッチオブジェクトを分割し、マスクの穴を埋め、エッジオブジェクトを含ませ、画像全体の解析はONに設定した。これらのパラメータを使用して、ソフトウェアは、ウェル当たりのGFP陽性細胞の数を得るために細胞数を計算した。

【0382】

ACE 2:RBD阻害アッセイ: ワクチン接種された血清のACE 2:RBD結合を阻害する能力は、SARS-CoV-2代替ウイルス中和試験キット(GenScript)を使用して、本質的に、Nie, et al. (Nat Biotech 15: 3699-3715, 2020)に記載されるように測定された。

【0383】

均等物

当業者は、本明細書に記載される本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識するか、または定型的な実験のみを使用してそれらを確認することができるであろう。本発明は、記載された特許請求の範囲のうちの1つ以上からの1つ以上の限定、要素、条項、記述用語などが、別段の指示がない限り、または矛盾または不一致が生じることが当業者に明らかでない限り、同じ基本特許請求の範囲(または、関連する場合、任意の他の特許請求の範囲)に依存する別の特許請求の範囲に導入される全ての変形、組み合わせ、及び置換を包含することが理解されるべきである。更に、特定の除外が本明細書において記載されているかどうかにかかわらず、本発明の任意の実施形態または態様が特許請求の範囲から明示的に除外され得ることも理解すべきである。本発明の範囲は、上記の発明の詳細な説明に限定されることを意図せず、むしろ以下の特許請求の範囲に記載される通りである。

【0384】

例示的な実施形態

実施形態 1.

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原と、

(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体 C3d 結合ポリペプチドと、を含む、融合ポリペプチド。

【0385】

実施形態 2. 前記補体 C3d 結合ポリペプチドが、*Staphylococcus aureus* の前記 Sbi のドメイン III 及びドメイン IV の一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、実施形態 1 に記載の融合ポリペプチド。

【0386】

実施形態 3. 前記断片抗原が、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と比較して、少なくとも 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または 95% のアミノ酸配列長を有する、実施形態 1 または 2 に記載の融合ポリペプチド。

【0387】

実施形態 4. 前記断片抗原が、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の 50% 以下のアミノ酸配列長を有する、実施形態 1 または 2 に記載の融合ポリペプチド。

【0388】

実施形態 5. 前記断片抗原が、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の 40%、30%、20%、10%、または 5% 以下のアミノ酸配列長を有する、実施形態 4 に記載の融合ポリペプチド。

【0389】

実施形態 6. 前記断片抗原が、約 10~300 アミノ酸残基の長さを有する、実施形態 1~5 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0390】

実施形態 7. 前記断片抗原が、少なくとも 10 アミノ酸残基の長さを有する、実施形態 6 に記載の融合ポリペプチド。

【0391】

実施形態 8. 前記断片抗原が、約 300 未満アミノ酸残基未満の長さを有する、実施形態 6 に記載の融合ポリペプチド。

【0392】

実施形態 9. 前記断片抗原は、約 10~300、10~250、10~200、10~150、10~100、10~90、10~80、10~70、10~60、10~50、10~40、10~30、10~20、20~300、30~300、40~300、50~300、60~300、70~300、80~300、90~100、100~300、150~300、200~300、250~300、20~250、30~200、40~150、50~100、60~90、または 70~80 アミノ酸残基の長さを有する、実施形態 1~5 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0393】

実施形態 10. 前記断片抗原が、約 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、または 300 アミノ酸残基の長さを有する、実施形態 1~5 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0394】

実施形態 11.

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションと、

(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク

10

20

30

40

50

質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドと、を含む、融合ポリペプチド。

【0395】

実施形態 12. 前記補体 C 3 d 結合ポリペプチドが、Staphylococcus aureus の前記 S b i のドメイン I I I 及びドメイン I V の一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、実施形態 11 に記載の融合ポリペプチド。

【0396】

実施形態 13. 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションのアミノ酸配列長が、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と同一である、実施形態 11 または 12 に記載の融合ポリペプチド。

【0397】

実施形態 14. 抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、前記標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも 1 つの修飾アミノ酸を含む、実施形態 11 ~ 13 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0398】

実施形態 15. 前記修飾アミノ酸が、N 結合型グリコシル化を含む、実施形態 14 の融合ポリペプチド。

【0399】

実施形態 16. 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、前記標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも 1 つのアミノ酸変異を含む、実施形態 11 ~ 15 のいずれか 1 つの融合ポリペプチド。

【0400】

実施形態 17. 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、前記標的タンパク質抗原と比較して、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、または 50 個のアミノ酸変異を含む、実施形態 16 に記載の融合ポリペプチド。

【0401】

実施形態 18. 前記変異が、特定の位置において、前記標的タンパク質抗原中のその位置に存在するアミノ酸とは異なるセリン、スレオニン、アラニン、またはアミノ酸を導入する、実施形態 16 または 17 に記載の融合ポリペプチド。

【0402】

実施形態 19. 前記変異が、ジスルフィド結合の形成を防止する、実施形態 16 ~ 18 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0403】

実施形態 20. 前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体 (MHC) 分子に結合することを特徴とする、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0404】

実施形態 21. 前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、MHC 分子に結合しないことを特徴とする、実施形態 1 ~ 19 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0405】

実施形態 22. 前記 MHC 分子が、MHC I 分子もしくは MHC II 分子であるか、または MHC I 分子もしくは MHC II 分子を含む、実施形態 20 または 21 に記載の融合ポリペプチド。

【0406】

実施形態 23. 前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、前記標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの前記断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることを特徴とする、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0407】

実施形態 24. 前記断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションが、第 2 の

10

20

30

40

50

標的タンパク質抗原由来のアミノ酸配列を更に含む、先行する実施形態のいずれか1つの融合ポリペプチド。

【0408】

実施形態25．前記標的タンパク質抗原が、感染症疾患抗原であるか、または感染症疾患抗原を含む、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0409】

実施形態26．前記感染症疾患抗原が、ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、またはそれらの組み合わせであるか、またはそれらを含む、実施形態25に記載の融合ポリペプチド。

【0410】

実施形態27．前記標的タンパク質抗原が、がん抗原であるか、またはがん抗原を含む、実施形態26に記載の融合ポリペプチド。

【0411】

実施形態28．前記抗原が、ウイルス抗原であるか、またはウイルス抗原を含む、実施形態27に記載の融合ポリペプチド。

【0412】

実施形態29．前記ウイルス抗原がインフルエンザ抗原であるか、またはインフルエンザ抗原を含む、実施形態26に記載の融合ポリペプチド。

【0413】

実施形態30．前記ウイルス抗原がコロナウイルスポリペプチドであるか、またはコロナウイルスポリペプチドを含む、実施形態29に記載の融合ポリペプチド。

【0414】

実施形態31．前記コロナウイルスポリペプチドが、SARS-CoV-2タンパク質であるか、またはSARS-CoV-2タンパク質を含む、実施形態30に記載の融合ポリペプチド。

【0415】

実施形態32．前記SARS-CoV-2タンパク質が、スパイクタンパク質(SARS-CoV-2S)もしくはその断片、エンベロープタンパク質(SARS-CoV-2E)もしくはその断片、膜タンパク質(SARS-CoV-2M)もしくはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質(SARS-CoV-2N)もしくはその断片、補助因子ポリペプチドもしくはその断片、またはそれらの任意の組み合わせであるか、もしくはそれらを含む、実施形態31に記載の融合ポリペプチド。

【0416】

実施形態33．前記SARS-CoV-2タンパク質が、スパイクタンパク質またはその断片(例えば、RBD)を含む、実施形態31または32に記載の融合ポリペプチド。

【0417】

実施形態34．前記断片抗原、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0418】

実施形態35．前記断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションが、配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0419】

実施形態36．前記断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションが、配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0420】

実施形態37．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号6のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0421】

実施形態38．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号7のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

10

【0422】

実施形態39．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号20のアミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0423】

実施形態40．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号21のアミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

20

【0424】

実施形態41．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号22のアミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～3のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0425】

実施形態42．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号23のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

30

【0426】

実施形態43．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号24のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0427】

実施形態44．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号25のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

40

【0428】

実施形態45．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号26のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0429】

実施形態46．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号27のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

50

【0430】

実施形態47．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号28のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0431】

実施形態48．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号29のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

10

【0432】

実施形態49．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号30のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0433】

実施形態50．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号31のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

20

【0434】

実施形態51．前記断片抗原、抗原バリエント、または断片抗原バリエントが、配列番号8のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、または100%の同一性を有する、実施形態1～33のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0435】

実施形態52．前記補体C3d結合ポリペプチドが、配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するS b i ドメインIIIを含む、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0436】

実施形態53．前記補体C3d結合ポリペプチドが、配列番号10のアミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有するS b i ドメインIVを含む、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

30

【0437】

実施形態54．前記S b i ドメインIII及びS b i ドメインIVが、連続している、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0438】

実施形態55．前記S b i ドメインIII及びS b i ドメインIVが、リンカーによって分離されている、実施形態2～54のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

40

【0439】

実施形態56．(a)及び(b)が、ヌクレオチド配列によってコードされ、同じヌクレオチド配列または異なるヌクレオチド配列に配置される、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0440】

実施形態57．(a)が、(b)のN末端に配置されている、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0441】

実施形態58．(a)が、(b)のC末端に配置される、実施形態1～56のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

50

【0442】

実施形態59. (a) 及び (b) が連続しているか、もしくはリンカーによって分離されている、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0443】

実施形態60. 前記リンカーが、ペプチジルリンカーである、実施形態59に記載の融合ポリペプチド。

【0444】

実施形態61. 前記ペプチジルリンカーが、少なくとも60%のグリシン及び／またはセリンを含む、実施形態60に記載の融合ポリペプチド。

【0445】

実施形態62. 前記リンカーが、G l y - G l y - G l y - G l y - S e r (G l y 4 - S e r) リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される、実施形態60に記載の融合ポリペプチド。

【0446】

実施形態63. 前記リンカーが、G l y 4 - S e r リンカーである、実施形態62に記載の融合ポリペプチド。

【0447】

実施形態64. 前記リンカーが、G l y 4 - S e r リンカーの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個の反復を含む、実施形態63に記載の融合ポリペプチド。

【0448】

実施形態65. 前記リンカーが、前記G l y 4 - S e r リンカーの3つの反復を含む、実施形態64に記載の融合ポリペプチド。

【0449】

実施形態66. 前記リンカーが、配列番号11の配列を含む、実施形態62～65のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド。

【0450】

実施形態67. 前記ポリペプチドが、分泌ペプチドを更に含む、実施形態1～66のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0451】

実施形態68. 前記分泌ペプチドが、約10～30アミノ酸長である、実施形態67に記載の融合ポリペプチド。

【0452】

実施形態69. 前記分泌ペプチドが、約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30アミノ酸長である、実施形態67または68に記載の融合ポリペプチド。

【0453】

実施形態70. 前記分泌ペプチドが、配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、または100%の同一性を有するアミノ酸を含む、実施形態67～69のいずれか1つの融合ポリペプチド。

【0454】

実施形態71. 前記分泌ペプチドが、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、または100%の同一性を有するアミノ酸を含む、実施形態67～69のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0455】

実施形態72. 前記ポリペプチドが、配列番号12のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の同一性を有する、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリペプチド。

【0456】

10

20

30

40

50

実施形態 73. 前記ポリペプチドが、配列番号 13 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0457】

実施形態 74. 前記ポリペプチドが、配列番号 14 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0458】

実施形態 75. 前記ポリペプチドが、配列番号 15 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0459】

実施形態 76. 前記ポリペプチドが、配列番号 16 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0460】

実施形態 77. 前記ポリペプチドが、配列番号 17 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0461】

実施形態 78. 前記ポリペプチドが、配列番号 18 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0462】

実施形態 79. 前記ポリペプチドが、配列番号 19 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0463】

実施形態 80. 前記ポリペプチドが、配列番号 32 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0464】

実施形態 81. 前記ポリペプチドが、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0465】

実施形態 82. 前記ポリペプチドが、配列番号 34 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0466】

10

20

30

40

50

実施形態 83. 前記ポリペプチドが、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0467】

実施形態 84. 前記ポリペプチドが、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0468】

実施形態 85. 前記ポリペプチドが、配列番号 37 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0469】

実施形態 86. 前記ポリペプチドが、配列番号 38 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0470】

実施形態 87. 前記ポリペプチドが、配列番号 39 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0471】

実施形態 88. 前記ポリペプチドが、配列番号 40 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0472】

実施形態 89. 前記ポリペプチドが、配列番号 41 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0473】

実施形態 90. 前記ポリペプチドが、配列番号 42 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0474】

実施形態 91. 前記ポリペプチドが、配列番号 43 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0475】

実施形態 92. 前記ポリペプチドが、配列番号 44 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1～71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0476】

10

20

30

40

50

実施形態 93. 前記ポリペプチドが、配列番号 45 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有する、実施形態 1~71 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0477】

実施形態 94. 前記ポリペプチドが、RNA であるか、または RNA を含むポリヌクレオチドによってコードされる、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0478】

実施形態 95. 前記ポリヌクレオチドが、メッセンジャー RNA であるか、またはメッセンジャー RNA を含む、実施形態 94 の融合ポリペプチド。

【0479】

実施形態 96. 前記ポリペプチドが、DNA であるか、または DNA を含むポリヌクレオチドによってコードされる、先行する実施形態のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド。

【0480】

実施形態 97. 実施形態 1~96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチドをコードする、融合ポリヌクレオチド。

【0481】

実施形態 98.

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原、及び

(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体 C3d 結合ポリペプチド、をコードするヌクレオチド配列を含む、融合ポリヌクレオチド。

【0482】

実施形態 99.

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーション、及び

(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体 C3d 結合ポリペプチド、をコードするヌクレオチド配列を含む、融合ポリヌクレオチド。

【0483】

実施形態 100. 前記ポリヌクレオチドが、RNA であるか、または RNA を含む、実施形態 98 または 99 に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0484】

実施形態 101. 前記ポリヌクレオチドが、メッセンジャー RNA であるか、またはメッセンジャー RNA を含む、実施形態 100 の融合ポリヌクレオチド。

【0485】

実施形態 102. 前記ポリヌクレオチドが、DNA であるか、または DNA を含む、実施形態 98~101 のいずれか 1 つの融合ポリヌクレオチド。

【0486】

実施形態 103. 前記補体 C3d 結合ポリペプチドが、*Staphylococcus aureus* の前記 Sbi のドメイン III 及びドメイン IV の一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、実施形態 98 に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0487】

実施形態 104. 前記ポリヌクレオチドが、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と比較して、少なくとも 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または 95% のアミノ酸配列長を有する断片抗原をコードする、実施形態 98 または 99 に記載の融合ポリヌクレオチド。

10

20

30

40

50

【0488】

実施形態105. 前記ポリヌクレオチドが、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の50%以下のアミノ酸配列長を有する断片抗原をコードする、実施形態98または99に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0489】

実施形態106. 前記融合ポリヌクレオチドが、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の40%、30%、20%、10%または5%以下のアミノ酸配列長を有する断片抗原をコードする、実施形態105に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0490】

実施形態107. 前記融合ポリヌクレオチドが、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と同一のアミノ酸配列長を有する抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする、実施形態99に記載の融合ポリヌクレオチド。

10

【0491】

実施形態108. 前記ポリヌクレオチドが、前記標的タンパク質抗原と比較して少なくとも1つの修飾アミノ酸を含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする、実施形態99または107に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0492】

実施形態109. 前記ポリヌクレオチドが、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体(MHC)分子に結合することを特徴とする断片抗原をコードする、実施形態98~108のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

20

【0493】

実施形態110. 前記ポリヌクレオチドが、インビボで発現されるとき、MHC分子に結合しないことを特徴とする断片抗原をコードする、実施形態98~109のいずれか1つの融合ポリヌクレオチド。

【0494】

実施形態111. 前記MHC分子が、MHC I分子もしくはMHC II分子であるか、またはMHC I分子もしくはMHC II分子を含む、実施形態109または110に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0495】

実施形態112. 前記ポリヌクレオチドが、インビボで発現されるとき、前記標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの前記断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることを特徴とする断片抗原をコードする、実施形態98~111のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

30

【0496】

実施形態113. 前記融合ポリヌクレオチドが、第2の標的タンパク質抗原由来のアミノ酸配列を更に含む断片抗原、抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする、実施形態98~112のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0497】

実施形態114. 前記標的タンパク質抗原が、感染症疾患抗原であるか、または感染症疾患抗原を含む、先行する実施形態のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

40

【0498】

実施形態115. 前記感染性疾患抗原が、ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、またはそれらの組み合わせであるか、またはそれらを含む、実施形態114の融合ポリヌクレオチド。

【0499】

実施形態116. 前記標的タンパク質抗原が、がん抗原であるか、またはがん抗原を含む、実施形態98~113のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0500】

実施形態117. 前記抗原が、ウイルス抗原であるか、またはウイルス抗原を含む、実施形態114に記載の融合ポリヌクレオチド。

50

【0501】

実施形態118. 前記ウイルス抗原が、インフルエンザ抗原であるか、またはインフルエンザ抗原を含む、実施形態114の融合ポリヌクレオチド。

【0502】

実施形態119. 前記ウイルス抗原が、コロナウイルスポリペプチドであるか、またはコロナウイルスポリペプチドを含む、実施形態114に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0503】

実施形態120. 前記コロナウイルスポリペプチドが、SARS-CoV-2タンパク質であるか、またはSARS-CoV-2タンパク質を含む、実施形態119に記載の融合ポリヌクレオチド。

10

【0504】

実施形態121. 前記SARS-CoV-2タンパク質が、スパイクタンパク質(SARS-CoV-2S)もしくはその断片、エンベロープタンパク質(SARS-CoV-2E)もしくはその断片、膜タンパク質(SARS-CoV-2M)もしくはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質(SARS-CoV-2N)もしくはその断片、補助因子ポリペプチドもしくはその断片、またはそれらの任意の組み合わせであるか、もしくはそれらを含む、実施形態120に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0505】

実施形態122. 前記SARS-CoV-2タンパク質が、スパイクタンパク質またはその断片(例えば、RBD)を含む、実施形態120または121に記載の融合ポリヌクレオチド。

20

【0506】

実施形態123. (a)が、(b)のC末端に配置される、実施形態98~122のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0507】

実施形態124. (a)及び(b)が、連続しているか、またはリンカーをコードするヌクレオチド配列によって分離されている、実施形態98~123のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0508】

実施形態125. 前記リンカーが、ペプチジルリンカーである、実施形態124の融合ポリヌクレオチド。

30

【0509】

実施形態126. 前記ペプチジルリンカーが、少なくとも60%のグリシン及び／またはセリンを含む、実施形態125に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0510】

実施形態127. 前記リンカーが、Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(Gly4-Ser)リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される、実施形態126に記載の融合ポリヌクレオチド。

【0511】

実施形態128. 前記ポリヌクレオチドが、分泌ペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含む、実施形態98~127のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

40

【0512】

実施形態129. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号46のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する、実施形態98~128のいずれか1つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0513】

実施形態130. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号47のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する、実施形態98~128の

50

いずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0514】

実施形態 131. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号 48 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する、実施形態 98 ~ 128 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0515】

実施形態 132. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号 49 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する、実施形態 98 ~ 128 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

10

【0516】

実施形態 133. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号 50 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する、実施形態 98 ~ 128 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0517】

実施形態 134. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号 51 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する、実施形態 98 ~ 128 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

20

【0518】

実施形態 135. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号 52 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する、実施形態 98 ~ 128 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0519】

実施形態 136. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号 53 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する、実施形態 98 ~ 128 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

30

【0520】

実施形態 137. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号 54 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性を有する、実施形態 98 ~ 128 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド。

【0521】

実施形態 138. 実施形態 97 ~ 137 のいずれか 1 つの融合ポリヌクレオチドを含む、発現ベクター。

【0522】

実施形態 139. 前記発現ベクターがウイルスペクターを含む、実施形態 138 に記載の発現ベクター。

40

【0523】

実施形態 140. 前記ウイルスペクターが、レトロウイルスペクター、アデノウイルスペクター、アデノ随伴ウイルスペクター、またはレンチウイルスペクターもしくは RNA ベクターを含む、実施形態 138 または 139 の発現ベクター。

【0524】

実施形態 141. 実施形態 1 ~ 96 のいずれか 1 つの融合ポリペプチドを送達するための組成物。

【0525】

50

実施形態 1 4 2 . 実施形態 9 7 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチドを送達するための組成物。

【 0 5 2 6 】

実施形態 1 4 3 . 実施形態 1 ~ 9 6 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、実施形態 9 7 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 1 3 8 ~ 1 4 0 のいずれか 1 つに記載の発現ベクターを送達する、薬学的組成物。

【 0 5 2 7 】

実施形態 1 4 4 . 薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、またはそれらの組み合わせを更に含む、実施形態 1 4 3 に記載の薬学的組成物。

【 0 5 2 8 】

実施形態 1 4 5 . 作製方法であって、

標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原をコードする第 1 のヌクレオチド配列と、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドをコードする第 2 のヌクレオチド配列とを組み換えて結合し、前記第 1 のヌクレオチド配列及び前記第 2 のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを形成することを含む、前記方法。

【 0 5 2 9 】

実施形態 1 4 6 . 前記ポリヌクレオチドを細胞内で発現させて、前記ポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドを産生することを更に含む、実施形態 1 4 5 に記載の方法。

【 0 5 3 0 】

実施形態 1 4 7 . 実施形態 1 ~ 9 6 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、実施形態 9 7 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 1 3 8 ~ 1 4 0 のいずれか 1 つに記載の発現ベクターを含む、細胞。

【 0 5 3 1 】

実施形態 1 4 8 . 前記細胞が、前記融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または発現ベクターと接触される、実施形態 1 4 7 に記載の細胞。

【 0 5 3 2 】

実施形態 1 4 9 . 前記接触が、インビボ、インビトロ、またはエクスピボで行われる、実施形態 1 4 7 または 1 4 8 に記載の細胞。

【 0 5 3 3 】

実施形態 1 5 0 . 実施形態 1 ~ 9 6 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、実施形態 9 7 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、実施形態 1 3 8 ~ 1 4 0 のいずれか 1 つに記載の発現ベクター、または実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物、及び使用説明書を含むキット。

【 0 5 3 4 】

実施形態 1 5 1 . 標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を更に含む、実施形態 1 5 0 に記載のキット。

【 0 5 3 5 】

実施形態 1 5 2 . 投与を必要とする対象に、少なくとも 1 回の用量の、実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【 0 5 3 6 】

実施形態 1 5 3 . 前記少なくとも 1 回の用量が、前記対象における前記断片抗原に対する免疫応答を誘導するための有効量で投与される、実施形態 1 5 2 に記載の方法。

【 0 5 3 7 】

実施形態 1 5 4 . 前記免疫応答が、前記断片抗原に対する中和抗体力価の生成を含む、実施形態 1 5 3 に記載の方法。

【 0 5 3 8 】

実施形態 1 5 5 . 前記中和抗体力価が、*Staphylococcus aureus*

10

20

30

40

50

の免疫グロブリン結合タンパク質（S b i）由来の前記補体 C 3 d 結合ポリペプチドの非存在下で、断片抗原によって誘導される前記中和抗体力価と比較して、少なくとも 50 % 増加する、実施形態 1 5 4 に記載の方法。

【0 5 3 9】

実施形態 1 5 6 . 中和抗体力価の生成が、少なくとも 0 . 1 μ g の用量を使用してマウスモデルにおいて確立されている、実施形態 1 5 4 または 1 5 5 に記載の方法。

【0 5 4 0】

実施形態 1 5 7 . 少なくとも 1 回の用量は、T 細胞応答の誘導を低減しながら B 細胞を刺激するための有効量で投与される、実施形態 1 5 2 ~ 1 5 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【0 5 4 1】

実施形態 1 5 8 . 対象に、

a) 実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の第 1 の用量、及び

b) 実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の第 2 の用量を投与することを
含む、方法。

【0 5 4 2】

実施形態 1 5 9 . 前記第 1 の用量及び前記第 2 の用量が、少なくとも 3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、2 週間、3 週間、または 4 週間間隔で投与される、実施形態 1 5 8 に記載の方法。

【0 5 4 3】

20

実施形態 1 6 0 . 前記第 1 の用量及び前記第 2 の用量が、同じ量である、実施形態 1 5 8 または 1 5 9 に記載の方法。

【0 5 4 4】

実施形態 1 6 1 . 前記第 1 の用量及び前記第 2 の用量が、異なる量である、実施形態 1 5 8 または 1 5 9 に記載の方法。

【0 5 4 5】

実施形態 1 6 2 .

投与を必要とする対象が、標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第 1 の用量、及び

30

実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の第 2 の用量を受けるように、前記対象に、実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の用量を投与することを
含む、方法。

【0 5 4 6】

実施形態 1 6 3 . 実施形態 1 6 2 に記載の方法であって、

(a) 標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含む前記ポリヌクレオチドが、S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s の免疫グロブリン結合タンパク質（S b i）由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含むか、または

(b) 前記ポリヌクレオチドによってコードされる前記標的タンパク質抗原が、S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s の免疫グロブリン結合タンパク質（S b i）由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドを更に含む、前記方法。

40

【0 5 4 7】

実施形態 1 6 4 . 投与ステップの前に、標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたは前記ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する前記薬学的組成物の第 1 の用量を、前記対象に投与することを更に
含む、実施形態 1 6 2 または 1 6 3 に記載の方法。

【0 5 4 8】

実施形態 1 6 5 .

投与を必要とする対象が、

50

実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の第 1 の用量、及び

標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたは前記ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第 2 の用量を受けるように、実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の用量を前記対象に投与することを含む、方法。

【0 5 4 9】

実施形態 1 6 6 . 実施形態 1 6 5 に記載の方法であって、

(a) 標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含む前記ポリヌクレオチドが、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含むか、または

10

(b) 前記ポリヌクレオチドによってコードされる前記標的タンパク質抗原が、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドを更に含む、前記方法。

【0 5 5 0】

実施形態 1 6 7 .

投与を必要とする対象が、

(i) 標的タンパク質抗原と、(i i) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドと、を含む融合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドを送達する、薬学的組成物の第 1 の用量、及び、

20

実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の第 2 の用量を受けるように、前記対象に、実施形態 1 4 3 または 1 4 4 に記載の薬学的組成物の用量を投与することを含む、方法。

【0 5 5 1】

実施形態 1 6 8 . 投与ステップの前に、(i) 標的タンパク質抗原と、(i i) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチド、または前記ポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドとを含む融合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを送達する薬学的組成物の第 1 の用量を対象に投与することを更に含む、実施形態 1 6 7 に記載の方法。

30

【0 5 5 2】

実施形態 1 6 9 . 前記第 1 の用量及び前記第 2 の用量が、少なくとも 3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、2 週間、3 週間、または 4 週間間隔で投与される、実施形態 1 6 2 ~ 1 6 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0 5 5 3】

実施形態 1 7 0 . 投与を必要とする対象が、標的タンパク質抗原によって誘発される疾患、障害、または状態に罹患しているか、または罹患しやすい対象である、実施形態 1 5 2 ~ 1 5 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

40

【0 5 5 4】

実施形態 1 7 1 . 前記対象が、哺乳動物対象である、実施形態 1 5 2 ~ 1 7 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0 5 5 5】

実施形態 1 7 2 . 前記対象が、ヒト対象である、実施形態 1 7 1 に記載の方法。

【0 5 5 6】

実施形態 1 7 3 . 前記投与が、筋肉内投与、皮内投与、静脈内投与、皮下投与、またはそれらの組み合わせによって行うことができる、実施形態 1 5 2 ~ 1 7 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0 5 5 7】

50

実施形態 174. 抗原の免疫原性を増強するために使用するための、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物。

【0558】

実施形態 175. 抗原に対する免疫応答を刺激するために使用するための、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物。

【0559】

実施形態 176. 疾患を治療する、または疾患の症状を改善する方法で使用するための、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物。

【0560】

実施形態 177. 抗原の免疫原性を増強する方法であって、投与を必要とする対象に、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【0561】

実施形態 178. 抗原に対する免疫応答を刺激する方法であって、投与を必要とする対象に、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【0562】

実施形態 179. 疾患を治療するか、または疾患の症状を緩和する方法であって、投与を必要とする対象に、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、もしくは実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【0563】

実施形態 180. 断片抗原の免疫原性を増強するための薬剤の調製における、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

【0564】

実施形態 181. 抗原に対する免疫応答を刺激するための薬剤の調製における、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

【0565】

実施形態 182. 疾患を治療する、もしくは疾患の症状を改善するための薬剤の調製における、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

【0566】

実施形態 183. 断片抗原の免疫原性を増強するための、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

【0567】

10

20

30

40

50

実施形態 184. 抗原に対する免疫応答を刺激するための、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

【0568】

実施形態 185. 疾患を治療する、もしくは疾患の症状を改善するための、実施形態 1～96 のいずれか 1 つに記載の融合ポリペプチド、または実施形態 97～137 のいずれか 1 つに記載の融合ポリヌクレオチド、または実施形態 143 もしくは 144 に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

【0569】

実施形態 186. 前記対象が哺乳動物である、実施形態 174～176 のいずれか 1 つに記載の使用のための組成物、実施形態 177～179 のいずれか 1 つに記載の方法、または実施形態 180～186 のいずれか 1 つに記載の使用。

【0570】

実施形態 187. 前記対象がヒトである、実施形態 186 に記載の使用のための組成物、方法、または使用。

【0571】

実施形態 188. 単回用量の前記融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が投与される、実施形態 174～176 のいずれか 1 つに記載の使用のための組成物、実施形態 177～179 のいずれか 1 つに記載の方法、または実施形態 180～186 のいずれか 1 つに記載の使用。

【0572】

実施形態 189. 複数回用量の前記融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が投与される、実施形態 174～176 のいずれか 1 つに記載の使用のための組成物、実施形態 177～179 のいずれか 1 つに記載の方法、または実施形態 180～186 のいずれか 1 つに記載の使用。

【0573】

実施形態 190. 前記融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が、約 0.5 μ g～10 μ g の用量で投与される、実施形態 174～176 のいずれか 1 つに記載の使用のための組成物、実施形態 177～179 のいずれか 1 つの方法、または実施形態 180～186 のいずれか 1 つに記載の使用。

【0574】

実施形態 191. 前記融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または薬学的組成物の投与によって、体液性応答がもたらされる、実施形態 174～176 のいずれか 1 つに記載の使用のための組成物、実施形態 177～179 のいずれか 1 つに記載の方法、または実施形態 180～186 のいずれか 1 つに記載の使用。

【0575】

実施形態 192. 前記体液性応答が、抗体応答である、実施形態 190 に記載の使用のための組成物、方法、または使用。

【0576】

実施形態 193. 前記融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または薬学的組成物の投与が、抗体応答の力価の増加をもたらす、実施形態 174～176 のいずれか 1 つに記載の使用のための組成物、実施形態 177～179 のいずれか 1 つに記載の方法、または実施形態 180～186 のいずれか 1 つに記載の使用。

【0577】

実施形態 194. 前記力価の増加は、約 10 倍～約 500 倍の増加である、実施形態 193 に記載の使用のための組成物、方法、または使用。

【0578】

実施形態 195. 前記抗体応答の力価の増加が、S b i ドメイン I I I、またはその断片もしくはバリエント、及び S b i ドメイン I V、またはその断片もしくはバリエントを

10

20

30

40

50

含まない他の方法で類似する融合ポリヌクレオチドの投与と比較される、実施形態 193 または 194 に記載の使用のための組成物、方法、または使用。

【0579】

実施形態 196. 前記抗体応答の力価の増加が、S b i ドメイン I I I、またはその断片もしくはバリエーション、及び S b i ドメイン I V、またはその断片もしくはバリエーションを含まない他の方法で類似する融合ポリペプチドの投与と比較される、実施形態 193 または 194 に記載の使用のための組成物、方法、または使用。

【0580】

実施形態 197. 前記抗体応答の力価の増加が、S b i ドメイン I I I、またはその断片もしくはバリエーション、及び S b i ドメイン I V、またはその断片もしくはバリエーションをコードするヌクレオチド配列を含まない他の方法で類似する薬学的組成物の投与と比較される、実施形態 193 または 194 に記載の使用のための組成物、方法、または使用。

【0581】

実施形態 198. 前記組成物が、筋肉内、静脈内、皮下、髄腔内、皮内、眼、鼻腔内、舌下、または経口の投与経路のうちのいずれか 1 つを介して投与される、実施形態 174 ~ 176 のいずれか 1 つに記載の使用のための組成物、実施形態 177 ~ 179 のいずれか 1 つに記載の方法、または実施形態 180 ~ 186 のいずれか 1 つに記載の使用。

【0582】

実施形態 199. 断片が由来する標的タンパク質抗原における三次元コンホメーションと実質的に同一である三次元コンホメーションに折り畳まれるポリペプチド断片を同定することによって断片抗原を選択する、インビトロ方法。

【0583】

実施形態 200.

細胞表面上に断片抗原候補のライブラリを表示する哺乳動物細胞ディスプレイシステムを提供するステップと、

前記哺乳動物細胞ディスプレイシステムを、前記断片抗原候補が由来する標的タンパク質抗原に結合する抗体を含む組成物に曝露するステップと、

前記標的タンパク質抗原結合抗体に結合する断片抗原候補を検出するステップであって、前記標的タンパク質抗原結合抗体のうちの少なくとも 1 つに結合する断片抗原候補の結合が、前記標的タンパク質抗原における三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれる可能性を示す、前記検出するステップとを含む、実施形態 199 に記載の前記方法。

【0584】

実施形態 201. 前記標的タンパク質抗原に結合する抗体を生成するステップを更に含む、実施形態 198 または 199 に記載の方法。

【0585】

実施形態 202. 前記抗体の生成が、(i) 前記断片抗原候補が由来する前記標的タンパク質抗原またはそれをコードするポリヌクレオチドで動物を免疫することと、(i i) 前記標的タンパク質抗原に結合する抗体を同定することと、を含む、実施形態 201 に記載の方法。

【0586】

実施形態 203. 前記哺乳動物細胞ディスプレイシステムが、H E K 2 9 3 T 細胞、H e L a 細胞、または C H O 細胞を含む、実施形態 200 ~ 202 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0587】

実施形態 204. 前記ポリペプチド断片が、血清結合アッセイまたは類似のアッセイにおける抗体への結合親和性に基づいて同定される、実施形態 200 ~ 203 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0588】

実施形態 205. S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s の免疫グロブリン結合

10

20

30

40

50

タンパク質 (S b i) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチド。

【0589】

実施形態206. 前記ポリヌクレオチドが、S b i由来の補体C3d結合ポリペプチドをコードする配列を含む、実施形態205に記載のポリヌクレオチド。

【0590】

実施形態207. 前記補体C3d結合ポリペプチドが、S t a p h y l o c c o c c u s a u r e u sの前記S b iのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、実施形態206に記載のポリヌクレオチド。

【0591】

実施形態208. 前記ポリヌクレオチドが、RNAであるか、またはRNAを含む、実施形態205～207のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0592】

実施形態209. 前記ポリヌクレオチドが、メッセンジャーRNAであるか、またはメッセンジャーRNAを含む、実施形態205～207のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0593】

実施形態210. 前記ポリヌクレオチドが、DNAであるか、またはDNAを含む、実施形態205～207のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0594】

実施形態211. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号9のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドをコードする、実施形態205～210のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0595】

実施形態212. 前記ポリヌクレオチドが、配列番号10のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドをコードする、実施形態205～210のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド。

【0596】

実施形態213. S t a p h y l o c c o c c u s a u r e u sの免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) を含む、単離されたポリペプチド。

【0597】

実施形態214. S b i由来の補体C3d結合ポリペプチドを含む、実施形態213に記載のポリペプチド。

【0598】

実施形態215. 前記補体C3d結合ポリペプチドが、S t a p h y l o c c o c c u s a u r e u sの前記S b iのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、実施形態214に記載のポリペプチド。

【0599】

実施形態216. 前記ポリペプチドが、配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態214または215に記載のポリペプチド。

【0600】

実施形態217. 前記ポリペプチドが、配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または100%の同一性を有する、実施形態214または215に記載のポリペプチド。

。

10

20

30

40

50

【0601】

実施形態218．実施形態205～212のいずれか1つに記載のポリヌクレオチドを含む、発現ベクター。

【0602】

実施形態219．実施形態213～217のいずれか1つに記載のポリペプチドを送達するための組成物。

【0603】

実施形態220．実施形態205～212のいずれか1つに記載のポリヌクレオチドを送達するための組成物。

【0604】

実施形態221．実施形態205～212のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド、実施形態213～217のいずれか1つに記載のポリペプチド、または実施形態218に記載の発現ベクターを送達する、薬学的組成物。

【0605】

実施形態222．薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、またはそれらの組み合わせを含む、実施形態221に記載の薬学的組成物。

【0606】

実施形態223．投与を必要とする対象に、少なくとも1回の用量の、実施形態221または実施形態222に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【0607】

実施形態224．抗原の免疫原性を増強する方法であって、投与を必要とする対象に、実施形態205～212のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド、実施形態213～217のいずれか1つに記載のポリペプチド、または実施形態221もしくは222に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【0608】

実施形態225．抗原に対する免疫応答を刺激する方法であって、投与を必要とする対象に、実施形態205～212のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド、実施形態213～217のいずれか1つに記載のポリペプチド、または実施形態221もしくは222に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

【0609】

実施形態226．免疫原性組成物におけるアジュバントとしての *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) の使用。

【0610】

実施形態227．免疫原性組成物のアジュバントとして使用するための、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 。

本発明は、例えば以下を提供する。

(項目1)

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原と、

(ii) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) 由来の補体C3d結合ポリペプチドと、を含む、融合ポリペプチド。

(項目2)

前記補体C3d結合ポリペプチドが、*Staphylococcus aureus* の前記SbiのドメインIII及びドメインIVの一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、項目1に記載の融合ポリペプチド。

(項目3)

前記断片抗原が、

(i) 前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と比較して、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または95%、

(ii) 前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長の50%以下、

(iii) 約10～300アミノ酸残基、または

10

20

30

40

50

(i v) それらの組み合わせのアミノ酸配列長を有する、項目 1 または 2 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 4)

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションと、

(i i) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチドと、を含む、融合ポリペプチド。

(項目 5)

前記補体 C 3 d 結合ポリペプチドが、*Staphylococcus aureus* の前記 S b i のドメイン I I I 及びドメイン I V の一方もしくは両方、またはその機能的断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、項目 4 に記載の融合ポリペプチド。

10

(項目 6)

(i) 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションのアミノ酸配列長が、前記標的タンパク質抗原のアミノ酸配列長と同一であるか、

(i i) 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、前記標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも 1 つの修飾アミノ酸を含むか、

(i i i) 前記抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションが、前記標的タンパク質抗原と比較して、少なくとも 1 つのアミノ酸変異を含むか、または

(i v) それらの組み合わせである、項目 4 または 5 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 7)

前記修飾アミノ酸が、N 結合型グリコシル化を含む、項目 6 に記載の融合ポリペプチド。

20

(項目 8)

前記変異が、(a) 特定の位置において、前記標的タンパク質抗原中のその位置に存在するアミノ酸とは異なるセリン、スレオニン、アラニン、またはアミノ酸を導入するか、

(b) ジスルフィド結合の形成を防止するか、または (a) 及び (b) の両方である、項目 6 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 9)

前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体 (M H C) 分子に結合することを特徴とする、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

30

(項目 1 0)

前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、M H C 分子に結合しないことを特徴とする、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 1)

前記 M H C 分子が、M H C I 分子もしくは M H C I I 分子であるか、または M H C I 分子もしくは M H C I I 分子を含む、項目 9 または 1 0 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2)

前記断片抗原が、インビボで発現されるとき、前記標的タンパク質抗原内の天然位置にあるときの前記断片抗原の三次元コンホメーションと実質的に同一の三次元コンホメーションに折り畳まれることを特徴とする、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

40

(項目 1 3)

前記標的タンパク質抗原が、

(i) ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、もしくはそれらの組み合わせから選択される感染症疾患抗原、または

(i i) がん抗原であるか、またはそれを含む、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 4)

前記ウイルス抗原が、インフルエンザ抗原、もしくはコロナウイルスポリペプチドであるか、またはインフルエンザ抗原、もしくはコロナウイルスポリペプチドを含む、項目 1

50

3 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 5)

前記コロナウイルスポリペプチドが、SARS-CoV-2 タンパク質であるか、または SARS-CoV-2 タンパク質を含む、項目 1 4 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 6)

前記 SARS-CoV-2 タンパク質が、スパイクタンパク質 (SARS-CoV-2 S) もしくはその断片、エンベロープタンパク質 (SARS-CoV-2 E) もしくはその断片、膜タンパク質 (SARS-CoV-2 M) もしくはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質 (SARS-CoV-2 N) もしくはその断片、補助因子ポリペプチドもしくはその断片、またはそれらの任意の組み合わせであるか、またはそれらを含む、項目 1 5 に記載の融合ポリペプチド。

10

(項目 1 7)

前記断片抗原、抗原バリエーション、または断片抗原バリエーションが、配列番号 3、4、5、6、7、8、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または 31 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の同一性を有するアミノ酸配列を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8)

前記補体 C3d 結合ポリペプチドが、

20

(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または 100% の同一性を有する S b i ドメイン I I I、または

(b) 配列番号 10 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または 100% の同一性を有する S b i ドメイン I V、または

(c) (a) 及び (b) の両方を含む、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 9)

前記 S b i ドメイン I I I 及び前記 S b i ドメイン I V が、連続しているか、またはリンカーによって分離されている、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

30

(項目 2 0)

(a) 及び (b) が、ヌクレオチド配列によってコードされ、同じヌクレオチド配列または異なるヌクレオチド配列に配置される、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 1)

(i) (a) が、(b) の N 末端に配置されるか、または

(i i) (a) が、(b) の C 末端に配置され、

(i i i) (a) 及び (b) が連続しているか、もしくはリンカーによって分離されているか、または

40

(i v) それらの組み合わせである、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 2)

(i) 前記リンカーが、ペプチジルリンカーであり、

(i i) 前記リンカーが、少なくとも 60% のグリシン及び／またはセリンを含むペプチジルリンカーであり、

(i i i) 前記リンカーが、G l y - G l y - G l y - G l y - S e r (G l y 4 - S e r) リンカー、またはヒスチジンリンカーから選択される、項目 2 1 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 3)

50

前記リンカーが、配列番号 1 1 の配列を含む、項目 2 2 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 4)

前記ポリペプチドが、分泌ペプチドを更に含む、項目 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 5)

前記分泌ペプチドが、配列番号 1 または配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸を含む、項目 2 4 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 6)

前記ポリペプチドが、配列番号 1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、3 2、3 3、3 4、3 5、3 6、3 7、3 8、3 9、4 0、4 1、4 2、4 3、4 4、または 4 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の同一性を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 7)

前記ポリペプチドが、RNA であるかもしくは RNA を含むポリヌクレオチド、または DNA であるかしくは DNA を含むポリヌクレオチドによってコードされる、先行項目のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 2 8)

項目 1 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチドをコードする、融合ポリヌクレオチド。

(項目 2 9)

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原、及び

(i i) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチド、をコードするヌクレオチド配列を含む、融合ポリヌクレオチド。

(項目 3 0)

(i) 標的タンパク質抗原のエピトープを含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーション、及び

(i i) *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (S b i) 由来の補体 C 3 d 結合ポリペプチド、をコードするヌクレオチド配列を含む、融合ポリヌクレオチド。

(項目 3 1)

前記ポリヌクレオチドが、RNA であるかしくは RNA を含むか、または前記ポリヌクレオチドが、DNA であるかしくは DNA を含む、項目 2 9 または 3 0 に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目 3 2)

前記補体 C 3 d 結合ポリペプチドが、*Staphylococcus aureus* の前記 S b i のドメイン I I I 及びドメイン I V の一方もしくは両方、またはその機能性断片もしくはバリエーションであるか、またはそれを含む、項目 3 1 に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目 3 3)

前記ポリヌクレオチドが、前記標的タンパク質抗原と比較して少なくとも 1 つの修飾アミノ酸を含む抗原バリエーションまたは断片抗原バリエーションをコードする、項目 3 2 に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目 3 4)

前記ポリヌクレオチドが、インビボで発現されるとき、主要組織適合性複合体 (M H C) 分子に結合することを特徴とする断片抗原をコードする、項目 3 2 または 3 3 に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目 3 5)

10

20

30

40

50

前記ポリヌクレオチドが、インビボで発現されるとき、MHC分子に結合しないことを特徴とする断片抗原をコードする、項目32または33に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目36)

前記標的タンパク質抗原が、

(i) ウイルス抗原、細菌抗原、真菌抗原、もしくはそれらの組み合わせから選択される感染症疾患抗原、または

(ii) がん抗原であるか、またはそれを含む、先行項目のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目37)

前記ウイルス抗原が、インフルエンザ抗原もしくはコロナウイルスポリペプチドであるか、またはインフルエンザ抗原もしくはコロナウイルスポリペプチドを含む、項目36に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目38)

前記コロナウイルスポリペプチドが、スパイクタンパク質(SARS-CoV-2S)もしくはその断片、エンベロープタンパク質(SARS-CoV-2E)もしくはその断片、膜タンパク質(SARS-CoV-2M)もしくはその断片、ヌクレオカプシドタンパク質(SARS-CoV-2N)もしくはその断片、補助因子ポリペプチドもしくはその断片、またはそれらの任意の組み合わせから選択されるSARS-CoV-2タンパク質であるか、またはそれを含む、項目37に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目39)

(a) が、(b) のC末端に配置される、項目29～38のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目40)

(a) 及び(b) が、連続しているか、またはリンカーをコードするヌクレオチド配列によって分離されている、項目29～39のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目41)

前記ポリヌクレオチドが、分泌ペプチドをコードするヌクレオチド配列を更に含む、項目29～40のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目42)

前記ポリヌクレオチドが、配列番号46、47、48、49、50、51、52、53、または54のうちのいずれか1つのヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する、項目29～41のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド。

(項目43)

項目28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチドを含む、発現ベクター。

(項目44)

前記発現ベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターまたはRNAベクターから選択されるウイルスベクターを含む、項目43に記載の発現ベクター。

(項目45)

項目1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチドまたは項目28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチドを送達するための組成物。

(項目46)

項目1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、項目28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目43もしくは44に記載の発現ベクターを送達する、薬学的組成物。

(項目47)

作製方法であって、

10

20

30

40

50

標的タンパク質抗原のエピトープを含む断片抗原をコードする第1のヌクレオチド配列と、*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質（Sbi）由来の補体C3d結合ポリペプチドをコードする第2のヌクレオチド配列とを組み換えて結合し、前記第1のヌクレオチド配列及び前記第2のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを形成することを含む、前記方法。

（項目48）

項目1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、項目28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目43もしくは44に記載の発現ベクターを含む、細胞。

（項目49）

項目1～27のいずれか1項に記載の融合ポリペプチド、項目28～42のいずれか1項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目43もしくは44に記載の発現ベクター、または項目46に記載の薬学的組成物、及び使用説明書を含む、キット。

（項目50）

投与を必要とする対象に、少なくとも1回の用量の、項目46に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

（項目51）

前記少なくとも1回の用量が、

（i）前記対象における前記断片抗原に対する免疫応答を誘導すること、

（ii）T細胞応答の誘導を低減しながら、B細胞を刺激すること、または

（iii）（i）及び（ii）の両方に有効な量で投与される、項目50に記載の方法

。

（項目52）

対象に、

項目46に記載の薬学的組成物の第1の用量、及び

項目46に記載の薬学的組成物の第2の用量を投与することを含む、方法。

（項目53）

前記第1の用量及び前記第2の用量が、同じ量または異なる量である、項目52に記載の方法。

（項目54）

投与を必要とする対象が、

標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたは前記ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第1の用量、及び

項目46に記載の薬学的組成物の第2の用量を受けるように、項目64に記載の薬学的組成物の用量を、前記投与を必要とする対象に投与することを含む、方法。

（項目55）

投与を必要とする対象が、

項目64に記載の薬学的組成物の第1の用量、及び

標的タンパク質抗原をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドまたは前記ポリヌクレオチドによってコードされる標的タンパク質抗原を送達する薬学的組成物の第2の用量を受けるように、項目64に記載の薬学的組成物の用量を、前記投与を必要とする対象に投与することを含む、方法。

（項目56）

投与を必要とする対象が、

（i）標的タンパク質抗原と、（ii）*Staphylococcus aureus*の免疫グロブリン結合タンパク質（Sbi）由来の補体C3d結合ポリペプチドと、を含む融合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または前記ポリヌクレオチドによってコードされる融合ポリペプチドを送達する、薬学的組成物の第1の用量、及び、

10

20

30

40

50

項目 4 6 に記載の薬学的組成物の第 2 の用量を受けるように、項目 6 4 に記載の薬学的組成物の用量を、前記投与を必要とする対象に投与することを含む、方法。

(項目 5 7)

前記第 1 の用量及び前記第 2 の用量が、少なくとも 3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、2 週間、3 週間、または 4 週間間隔で投与される、項目 5 2 ～ 5 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 8)

抗原の免疫原性を増強する方法であって、投与を必要とする対象に、項目 1 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド、または項目 2 8 ～ 4 2 のいずれか 1 項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目 4 6 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

10

(項目 5 9)

抗原に対する免疫応答を刺激する方法であって、投与を必要とする対象に、項目 1 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド、または項目 2 8 ～ 4 2 のいずれか 1 項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目 4 6 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

(項目 6 0)

疾患を治療するか、または疾患の症状を改善する方法であって、投与を必要とする対象に、項目 1 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド、または項目 2 8 ～ 4 2 のいずれか 1 項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目 4 6 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、前記方法。

20

(項目 6 1)

項目 1 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド、または項目 2 8 ～ 4 2 のいずれか 1 項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目 4 6 に記載の薬学的組成物を含む組成物であって、抗原の免疫原性を増強する、抗原に対する免疫応答を刺激する、または疾患を治療する、もしくは疾患の症状を改善することに使用する、前記組成物。

(項目 6 2)

抗原の免疫原性を増強する、抗原に対する免疫応答を刺激する、または疾患を治療する、もしくは疾患の症状を改善するための薬剤の調製における、項目 1 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド、または項目 2 8 ～ 4 2 のいずれか 1 項に記載の融合ポリヌクレオチド、または項目 4 6 に記載の薬学的組成物を含む組成物の使用。

30

(項目 6 3)

前記融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチドまたは薬学的組成物が、対象に投与される、項目 6 1 に記載の使用のための組成物、または項目 6 2 に記載の使用。

(項目 6 4)

前記対象が哺乳動物である、項目 5 2 ～ 6 0 のいずれか 1 項に記載の方法、項目 6 3 に記載の使用のための組成物、または項目 6 3 に記載の使用。

(項目 6 5)

単回用量、または複数回用量の前記融合ポリペプチド、融合ポリヌクレオチド、または薬学的組成物が、対象に投与される、項目 5 2 ～ 6 0 もしくは 6 4 のいずれか 1 項に記載の方法、項目 6 3 に記載の使用のための組成物、または項目 6 3 に記載の使用。

40

(項目 6 6)

前記融合ポリヌクレオチド、融合ポリペプチド、または薬学的組成物の投与によって、体液性応答がもたらされる、項目 5 2 ～ 6 0 もしくは 6 4 ～ 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法、項目 6 3 に記載の使用のための組成物、または項目 6 3 に記載の使用。

(項目 6 7)

Staphylococcus aureus の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) をコードするヌクレオチド配列、またはその断片を含む組換えポリヌクレオチド。

(項目 6 7)

Staphylococcus aureus の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi)

50

i) を含む、単離されたポリペプチド。

(項目 6 8)

項目 6 4 に記載のポリヌクレオチド、または項目 6 7 に記載のポリペプチドを送達する、薬学的組成物。

(項目 6 9)

投与を必要とする対象に、少なくとも 1 回の用量の、項目 6 8 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

(項目 7 0)

免疫原性組成物におけるアジュバントとしての *Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi) の使用。

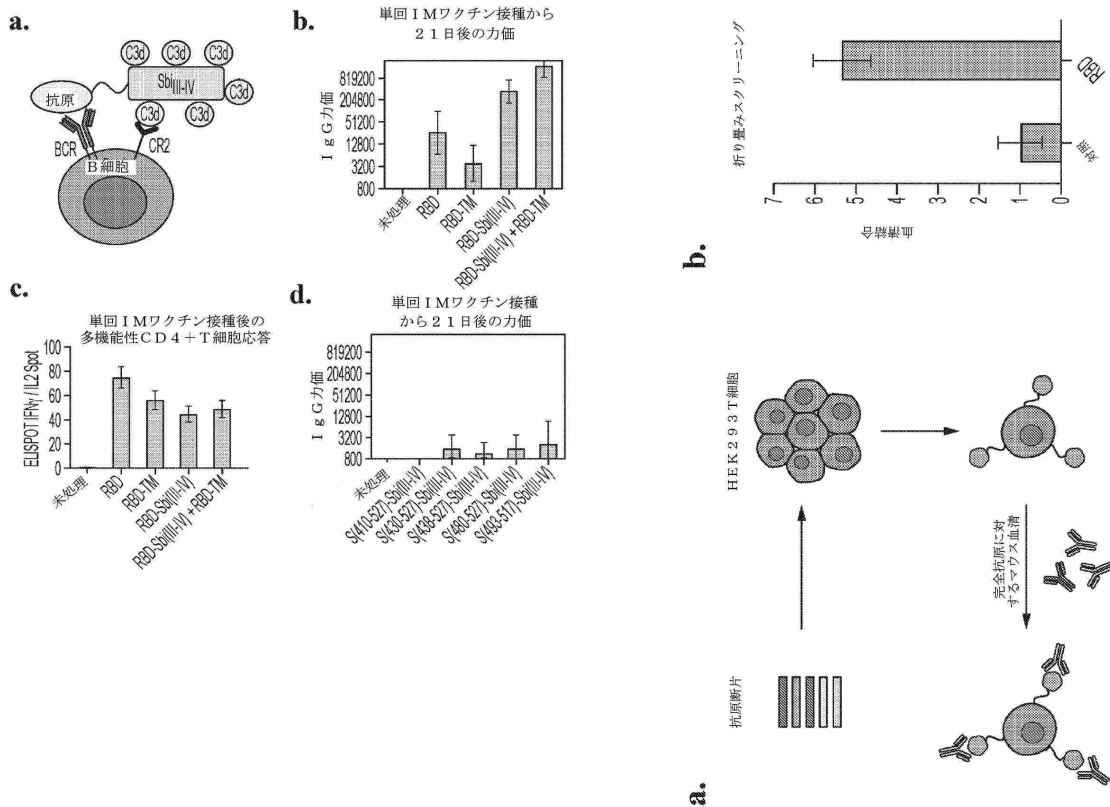
(項目 7 1)

免疫原性組成物におけるアジュバントとして使用するための、*Staphylococcus aureus* の免疫グロブリン結合タンパク質 (Sbi)。

【図面】

【図 1】

【図 2】



10

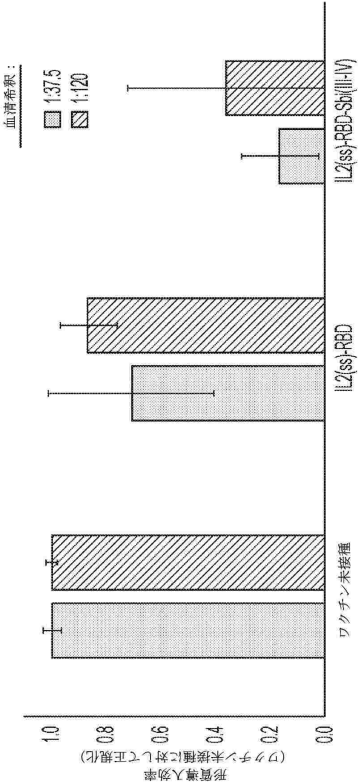
20

30

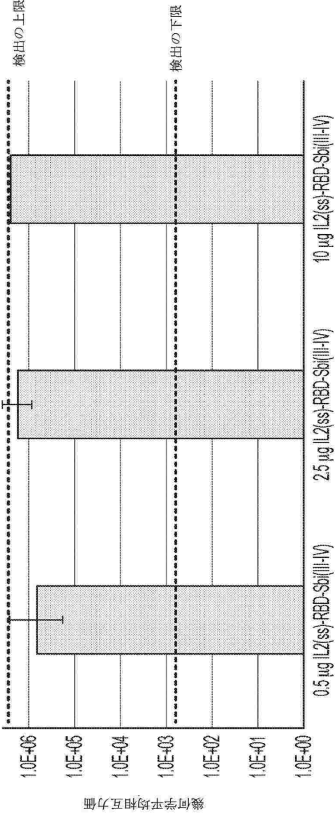
40

50

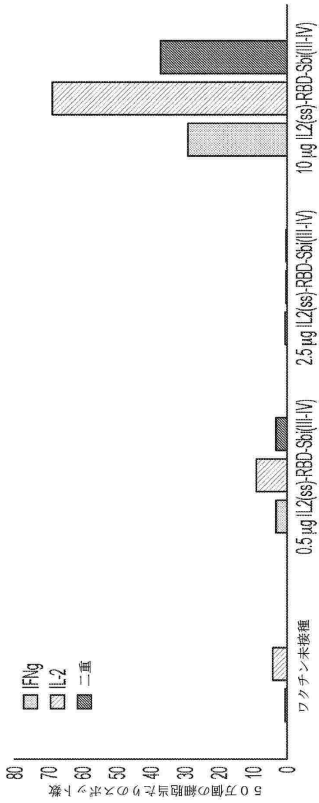
【図 3】



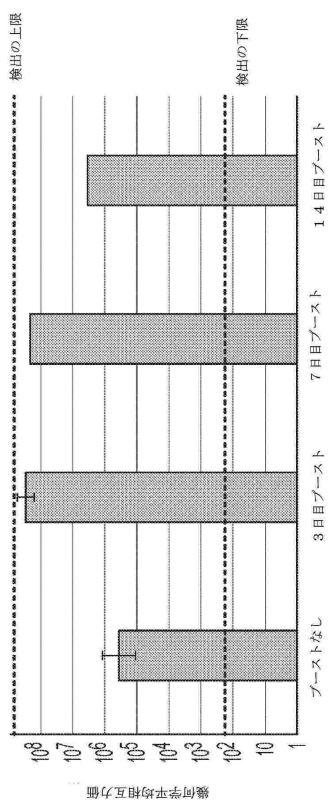
【図 4 A】



【図 4 B】



【図 5 A】



10

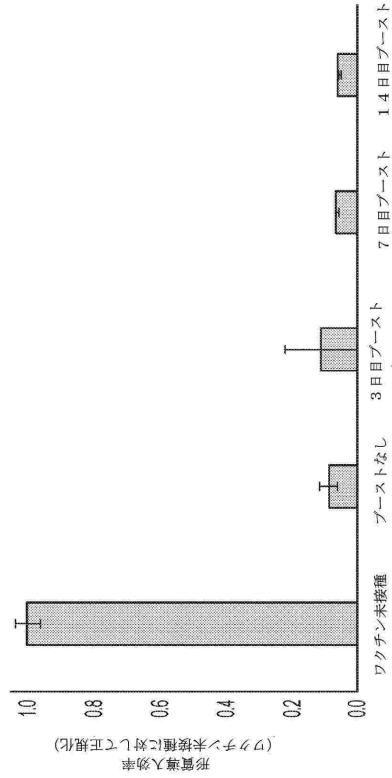
20

30

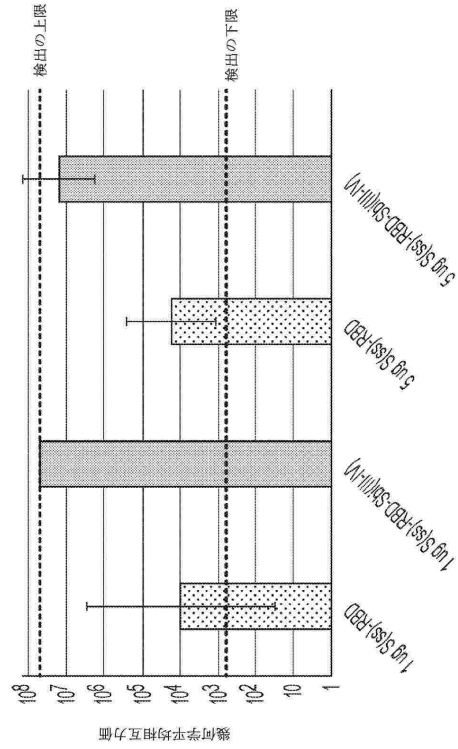
40

50

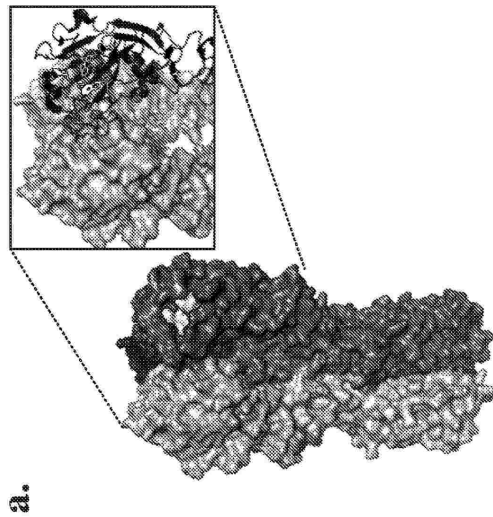
【図 5 B】



【図 6】



【図 7 A】



【図 7 B】

[illegible]

【配列表】

2024508683000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/018610

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/12 A61P31/14 A61K39/385
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 A61P C12N C07K

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, BIOSIS, EMBASE, SCISEARCH, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YANG YI ET AL: "Utilization of Staphylococcal Immune Evasion Protein Sbi as a Novel Vaccine Adjuvant", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 9, 11 January 2019 (2019-01-11), XP055923724, DOI: 10.3389/fimmu.2018.03139 page 8, left-hand column page 13, paragraph 3 figures 5A, 6 abstract ----- -/-	1-6, 12, 13, 18-22, 24, 27-32, 36, 39-41, 45-53, 58-71

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

*** Special categories of cited documents :**

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"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

23 May 2022

Date of mailing of the international search report

03/06/2022

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

Domingues, Helena

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2022/018610

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/096089 A1 (UNIV BATH [GB]) 31 May 2018 (2018-05-31) page 36 page 38 - page 39 page 42, lines 26-31 page 44, lines 1-4 -----	1-6, 12, 13, 18-22, 24, 27-32, 36, 39-41, 45-53, 58-71
Y	YANG JINGYUN ET AL: "A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity", NATURE, vol. 586, no. 7830, 29 July 2020 (2020-07-29), pages 572-577, XP037341143, ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/S41586-020-2599-8 figures 1-3 page 573, left-hand column, paragraph 1 -----	7-11, 14-17, 23, 25, 26, 33-35, 37, 38, 42-44, 54-57
Y	Sun Shihui ET AL: "Recombinant Fc-fusion vaccine of RBD induced protection against SARS-CoV-2 in nonhuman primate and mice", bioRxiv, 30 November 2020 (2020-11-30), XP055835542, DOI: 10.1101/2020.11.29.402339 Retrieved from the Internet: URL: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.11.29.402339v1.full.pdf [retrieved on 2021-08-27] the whole document -----	7-11, 14-17, 23, 25, 26, 33-35, 37, 38, 42-44, 54-57

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/018610

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

International application No.
PCT/US2022/018610

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: **1-65 (partially)**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2022/018610

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1-65(partially)

Due to the extensive lack of clarity and conciseness of the claims (Art. 6 PCT) it was not possible to carry out a comprehensive complete search for claims 1-65

The claims on file comprise 5 independent claims.

Independent claim 1 is directed to a fusion polypeptide comprising: (i) a fragment antigen that comprises an epitope of a target protein antigen; and (ii) a complement C3d-binding polypeptide from an immunoglobulin-binding protein (Sbi) of *Staphylococcus aureus*. Independent claim 4 covers a fusion polypeptide comprising: (i) an antigen variant or a fragment antigen variant that comprises an epitope of a target protein antigen; and (ii) a complement C3d-binding polypeptide from an immunoglobulin-binding protein (Sbi) of *Staphylococcus aureus*.

Independent claim 29 covers a fusion polynucleotide comprising a nucleotide sequence encoding: (i) a fragment antigen that comprises an epitope of a target protein antigen; and (ii) a complement C3d-binding polypeptide from an immunoglobulin-binding protein (Sbi) of *Staphylococcus aureus*.

Independent claim 47 is directed to a method of making a fusion polynucleotide comprising recombinantly joining a first nucleotide sequence that encodes a fragment antigen comprising an epitope of a target protein antigen, and a second nucleotide sequence that encodes a complement C3d-binding polypeptide from an immunoglobulin-binding protein (Sbi) of *Staphylococcus aureus* to form a polynucleotide comprising the first nucleotide sequence and the second nucleotide sequence.

Independent claim 66 is directed to a recombinant polynucleotide comprising a nucleotide sequence encoding an immunoglobulin-binding protein (Sbi) of *Staphylococcus aureus*, or a fragment thereof.

Independent claims 1, 4, 29 and 47 attempt to define the product mentioned therein in terms of unclear functional technical features - e.g. a fragment antigen comprising an epitope of a target protein antigen - in fact any antigen; and also in terms of the result to be achieved - a complement C3d-binding polypeptide from an immunoglobulin-binding protein (Sbi) of *Staphylococcus aureus*. These definitions render the claims unclear and may be avoided by referring to particular antigens and a complement C3d-binding polypeptides defined in terms of their structural features (amino acid sequence). In the present case the lack of clarity of the claims makes it particularly burdensome for a skilled person to establish the subject-matter for which protection is sought. The non-compliance with the substantive provisions of Art. 6 PCT is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search (PCT Guidelines 9.19 and 9.25).

For claims 1-65, the search was based on the subject-matter that, as far as can be understood, represents the core of a possible invention, namely on the concept of using a polypeptide comprising domain III and domain IV of the Sbi of *Staphylococcus aureus*

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022 /018610

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

fused to an antigen of interest to boost the immune response to the antigen. In addition, the search was based on a construct comprising the IL-2 secretion peptide, the receptor binding domain of the S protein (S) of SARS-CoV-2 fused via a linker to domains III and domain IV of the Sbi; and also to the use of such a construct for inducing an immune response, in particular a neutralizing Ab response against the S protein. Therefore, although claims 1-65 have been searched, the search was limited to aspects related to the subject-matter mentioned above. In other words, claims 1-65 have been searched only to the extent that the subject-matter defined therein is supported by the disclosure.

Claim 66

relates to a polynucleotide comprising a nucleotide sequence encoding an immunoglobulin-binding protein (Sbi) of Staphylococcus aureus, or a fragment thereof and has been fully searched. The same applies to claims 67-71.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) PCT declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/018610

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018096089 A1	31-05-2018	CA 3044584 A1	31-05-2018
		CN 110177570 A	27-08-2019
		EP 3544627 A1	02-10-2019
		JP 2020500861 A	16-01-2020
		US 2019282683 A1	19-09-2019
		WO 2018096089 A1	31-05-2018

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	39/385 (2006.01)	A 6 1 K	39/385
A 6 1 K	39/39 (2006.01)	A 6 1 K	39/39
A 6 1 K	39/12 (2006.01)	A 6 1 K	39/12
A 6 1 K	39/145 (2006.01)	A 6 1 K	39/145
A 6 1 K	39/215 (2006.01)	A 6 1 K	39/215
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04
C 0 7 K	14/165 (2006.01)	C 0 7 K	14/165
C 1 2 N	15/50 (2006.01)	C 1 2 N	15/50
C 1 2 N	15/31 (2006.01)	C 1 2 N	15/31
C 1 2 N	15/44 (2006.01)	C 1 2 N	15/44
C 0 7 K	14/11 (2006.01)	C 0 7 K	14/11

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,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,IR,IS,IT,JM,JO,J
P,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,N
A,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,
TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

(72)発明者 バックマン, カイル

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 4, アーリントン, ヒース ロード 2 6, ユニット 8

(72)発明者 ダール, ニクヒル

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 1 4, ボストン, サドベリー ストリート 1 0 0,
1 4 0 3

(72)発明者 エロシェンコ, ニコライ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 1 6, ボストン, マールボロー ストリート 1 3 3,
ナンバー 7

(72)発明者 ギル, テイラー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, サード ストリート 2 8 5,
アパートメント 1 3 2

(72)発明者 ジャメ, ケモ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, ホルムズ ストリート 1 5

(72)発明者 キーブニー, マリアンナ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 0 8 1, ウォルポール, ハイ ストリート 4 8

(72)発明者 クイン, ジャスティン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 8, モールデン, ロッキングハム アベニュー 7 7

(72)発明者 ラジャニエミ, ハンヌ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 8 0 1, ポイント リッチモンド, ワシントン アベニュー
4 1 1

(72)発明者 ウェブスター, エバレット

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 8 4 5, ノース アンドーバー, セーラム ストリート
1 1 8 7

F ターム (参考)

4B065 AA93X AB01 BA02 CA24
4C085 AA02 AA03 AA38 BA13 BA55 BA71 BB11 CC07 CC08 DD62
EE01 FF13 FF19 GG01
4H045 AA11 BA41 CA01 CA11 DA86 EA22 FA74