(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年4月25日(25.04.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/085143 A1

(51) 国際特許分類:
C12N 15/50 (2006.01)　*A61P 43/00* (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)　*C07K 14/165* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)　*C07K 14/74* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)　*C07K 19/00* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)　*C12N 15/63* (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)　*C12Q 1/04* (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2023/037529

(22) 国際出願日：　2023年10月17日(17.10.2023)

(25) 国際出願の言語：　日本語

(26) 国際公開の言語：　日本語

(30) 優先権データ：
特願 2022-166518　2022年10月17日(17.10.2022) JP

(71) 出願人: 国立大学法人 熊本大学 (**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION KUMAMOTO UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒8608555 熊本県熊本市中央区黒髪二丁目３９番１号 Kumamoto (JP). 国立大学法人富山大学 (**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION UNIVERSITY OF TOYAMA**) [JP/JP]; 〒9308555 富山県富山市五福３１９０ Toyama (JP).

(72) 発明者: 本園 千尋 (**MOTOZONO Chihiro**); 〒8608555 熊本県熊本市中央区黒髪二丁目３９番１号 国立大学法人 熊本大学内 Kumamoto (JP). 上野 貴将 (**UENO Takamasa**); 〒8608555 熊本県熊本市中央区黒髪二丁目３９番１号 国立大学法人 熊本大学内 Kumamoto (JP). 後藤 由比古 (**GOTO Yoshihiko**); 〒8608555 熊本県熊本市中央区黒髪二丁目３９番１号 国立大学法人 熊本大学内 Kumamoto (JP). 岸 裕幸 (**KISHI Hiroyuki**); 〒9300194 富山県富山市杉谷２６３０ 国立大学法人富山大学杉谷キャンパス内 Toyama (JP). 浜名 洋 (**HAMANA Hiroshi**); 〒9300194 富山県富山市杉谷２６３０ 国立大学法人富山大学杉谷キャンパス内 Toyama (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人レクシード・テック (**IP Law Firm Lexceed Tech**); 〒1006213 東京都千代田区丸の内１丁目１１番１号パシフィックセンチュリープレイス丸の内１３Ｆ Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,

(54) **Title:** NUCLEOCAPSID-DERIVED ANTIGEN PEPTIDE, NUCLEIC ACID, VECTOR, PHARMACEUTICAL COMPOSITION, HLA/ANTIGEN PEPTIDE COMPLEX, AND METHOD FOR DETECTING T CELL

(54) 発明の名称：ヌクレオカプシド由来抗原ペプチド、核酸、ベクター、医薬組成物、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体、およびＴ細胞の検出方法

(57) **Abstract:** The purpose of the present invention is to provide a novel peptide that could be used to induce an immune response to SARS-CoV-2. A nucleocapsid-derived antigen peptide according to the present disclosure includes the following polypeptide (P1), (P2) or (P3): (P1) a polypeptide comprising an amino acid sequence represented by SEQ ID NO: 1 (KAYNVTQAF); (P2) a polypeptide comprising an amino acid sequence obtained by deleting, inserting, substituting, or adding 1-6 amino acids in the amino acid sequence represented by SEQ ID NO: 1; and (P3) a polypeptide comprising an amino acid sequence having at least 80% identity to the amino acid sequence represented by SEQ ID NO: 1.

(57) 要約：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫応答の誘導に使用しうる、新たなペプチドの提供を目的とする。本開示のヌクレオカプシド由来抗原ペプチドは、下記（Ｐ１）、（Ｐ２）、または（Ｐ３）のポリペプチドを含む：（Ｐ１）配列番号１（KAYNVTQAF）のアミノ酸配列からなるポリペプチド；（Ｐ２）配列番号１のアミノ酸配列において、１～６個のアミノ酸が欠失、挿入、置換、または付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチド；（Ｐ３）配列番号１のアミノ酸配列に対して、８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド。

WO 2024/085143 A1

［続葉有］

SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

明　細　書

発明の名称 ：

ヌクレオカプシド由来抗原ペプチド、核酸、ベクター、医薬組成物、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体、およびＴ細胞の検出方法

技術分野

[0001]　本開示は、ヌクレオカプシド由来抗原ペプチド、核酸、ベクター、医薬組成物、予防方法、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体、およびＴ細胞の検出方法に関する。

背景技術

[0002]　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2）は、２０１９年１１月に、中国の武漢市付近で発生が確認された後、世界的に流行し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する治療薬およびワクチンの開発が進められている。現在、主流に使用されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質のｍＲＮＡワクチンは、ウイルスに直接結合して阻害する中和抗体の誘導を目的としたワクチンである。

[0003]　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２等のウイルスへの免疫応答には、中和抗体等による液性免疫およびＴ細胞応答等を引き起こす細胞性免疫の双方が重要である。しかしながら、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する細胞性免疫の解析は技術的に困難であり、細胞性免疫によるワクチンの開発は遅れている。

[0004]　また、スパイクタンパク質は突然変異等が起こりやすく、オミクロン型のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、オリジナルのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に比べ、３０以上の変異を有する。ウイルスは変異を有することで、中和抗体からの免疫逃避が可能となる。このため、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質のｍＲＮＡワクチンは、感染予防効果および重症化率抑制等の有効性の低下が懸念されている（非特許文献１～３）。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Cele, Sandile et al. “Omicron extensively but incompletely escapes Pfizer BNT162b2 neutralization.” Nature vol. 602,7898 (2022): 654-656. doi:10.1038/s41586-021-04387-1

非特許文献2：Cao, Yunlong et al. “Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies.” Nature vol. 602,7898 (2022): 657-663. doi:10.1038/s41586-021-04385-3

非特許文献3：Planas, Delphine et al. “Considerable escape of SARS-CoV-2 Omicron to antibody neutralization.” Nature vol. 602,7898 (2022): 671-675. doi:10.1038/s41586-021-04389-z

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] そこで、本開示は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫応答の誘導に使用しうる、新たなペプチドの提供を目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 前記目的を達成するために、本開示のヌクレオカプシド由来抗原ペプチドは、下記（Ｐ１）、（Ｐ２）、または（Ｐ３）のポリペプチドを含む：

（Ｐ１）配列番号１（KAYNVTQAF）のアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ２）配列番号１のアミノ酸配列において、１もしくは数個のアミノ酸が欠失、挿入、置換、または付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ３）配列番号１のアミノ酸配列に対して、８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド。

[0008] 本開示の核酸は、本開示のペプチドをコードする。

[0009] 本開示のベクターは、本開示の核酸を含む。

[0010] 本開示の細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤は、本開示のペプチド、核酸、および／またはベクターを含む。

[0011] 本開示の医薬組成物は、本開示のペプチド、核酸、ベクター、および／または細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤と、薬学的に許容される担体とを含む。

[0012] 本開示の予防方法は、本開示のペプチド、核酸、ベクター、および／または細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤を使用する。

[0013] 本開示のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体は、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）と抗原ペプチドとの複合体を含み、

前記抗原ペプチドは、本開示のヌクレオカプシド由来抗原ペプチドを含む。

[0014] 本開示のＴ細胞の検出方法（以下、「検出方法」ともいう）は、生体試料と、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体とを接触させることにより、前記生体試料における前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体に結合するＴ細胞を検出する検出工程を含み、

前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体は、本開示のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体である。

発明の効果

[0015] 本開示の抗原ペプチドによれば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫応答の誘導に使用しうる、新たなペプチドを提供できる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]図１は、実施例１における、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓから、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来の抗原に特異的なＴ細胞を検出する方法の模式図である。

[図2]図２は、実施例１における、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓにオーバーラップペプチドを添加し、細胞表面にＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現する細胞を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。

[図3]図３は、実施例１における、フローサイトメトリーの結果からＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現するＴ細胞の割合を数値化したグラフである。

[図4]図４は、実施例１における、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓのＴ細胞を、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスで活性化した後に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来の抗原に特異的なＴ細胞を検出する方法の模式図である。

[図5]図５は、実施例１における、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスで活性化したＰＢＭＣｓにオーバーラップペプチドを添加し、フローサイトメトリーの結果からＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現するＴ細胞の割合を数値化したグラフである。

[図6]図６は、実施例１における、Ｂリンパ球細胞にオーバーラップペプチドを添加し、細胞表面におけるＩＦＮ－γおよびＣＤ８の発現を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。

[図7]図７は、実施例１における、迅速ＴＣＲ再構成法の模式図である。

[図8]図８は、実施例１における、抗原ペプチドに対するＴＣＲの認識をルシフェラーゼの蛍光強度で表したグラフである。

[図9]図９は、実施例１における、ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓに抗原ペプチドを添加し、細胞表面にＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現する細胞を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。

[図10]図１０は、実施例１における、ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取し、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスで活性化したＰＢＭＣｓにペプチドを添加し、細胞表面にＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現する細胞を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。

[図11]図１１は、実施例１における、エリスポット法の結果を示すグラフである。

[図12]図１２は、実施例１における、ＡＩＭアッセイの結果を示すグラフである。

[図13]図１３は、実施例１における、ＭＨＣテトラマーアッセイの結果を示すグラフである。

[図14]図１４は、実施例２における、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの変異株・亜種に対する、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２アレルを保有するＳＡＲＳ－Ｃｏ

Ｖ－２に感染し回復した患者由来のＫＦ９／Ｃ１２特異的Ｔ細胞またはＱＩ９／Ａ２４特異的Ｔ細胞の抗ウイルス活性の結果を示すグラフである。

[図15]図１５は、実施例２における、エリスポット法の結果を示すグラフである。

[図16]図１６は、実施例２における、テトラマーアッセイの結果を示すドットプロットおよびグラフである。

[図17]図１７は、実施例２における、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染した患者から採取したＰＢＭＣｓにＫＦ９テトラマーを添加し、細胞表面にＣＣＲ７およびＣＤ４５ＲＡを発現する細胞を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。

[図18]図１８は、実施例２における、健常者由来のＰＢＭＣｓにペプチドを添加した場合の、ＫＦ９特異的Ｔ細胞の増加およびフェノタイプを評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。

[図19]図１９は、実施例２における、ＡＩＭアッセイの結果を示すグラフである。

[図20]図２０は、実施例２における、Ｂリンパ球細胞にＫＦ９ペプチドを添加し、細胞表面におけるＩＦＮ－γおよびＣＤ８の発現を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0017] 以下、本開示について、例をあげて説明する。以下の説明において、各発明の説明は、特に言及がない限り、互いに援用可能である。

[0018] ＜定義＞

本明細書において、「ペプチド」は、未修飾アミノ酸（天然のアミノ酸）、修飾アミノ酸、および／または人工アミノ酸から構成され、２個以上のアミノ酸がペプチド結合により縮合してできる化合物を意味する。

[0019] 本明細書において、「重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２」は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2）を意味する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による感染症は、COVID-19とも呼ばれる。

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、ベータコロナウイルス属に分類されるウイルスである。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、ゲノムとして、一本鎖のプラス鎖ＲＮＡを有するウイルスである。

[0020] 本明細書において、「ヌクレオカプシドタンパク質」（ＮＰ）は、ウイルスのエンベロープ内のウイルスゲノムの転写および複製を担うウイルスの構造タンパク質を意味する。前記ＮＰは、スパイクタンパク質（Ｓ）、膜タンパク質（Ｍ）、エンベロープタンパク質（Ｅ）と共にウイルス粒子を形成するタンパク質であり、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ-2のカプシド（殻）を形成している。前記ＮＰタンパク質は、例えば、Genbankにアクセッション番号：43740575で登録されたアミノ酸配列からなるタンパク質（配列番号４）があげられる。

[0021] ＮＰタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４）

MSDNGPQNQRNAPRITFGGPSDSTGSNQNGERSGARSKQRRPQGLPNNTASWFTALTQHGKEDLKFPRG
QGVPINTNSSPDDQIGYYRRATRRIRGGDGKMKDLSPRWYFYYLGTGPEAGLPYGANKDGIIWVATEGA
LNTPKDHIGTRNPANNAAIVLQLPQGTTLPKGFYAEGSRGGSQASSRSSSRSRNSSRNSTPGSSRGTSP
ARMAGNGGDAALALLLLDRLNQLESKMSGKGQQQQGQTVTKKSAAEASKKPRQKRTATKAYNVTQAFGR
RGPEQTQGNFGDQELIRQGTDYKHWPQIAQFAPSASAFFGMSRIGMEVTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPN
FKDQVILLNKHIDAYKTFPPTEPKKDKKKKADETQALPQRQKKQQTVTLLPAADLDDFSKQLQQSMSSA
DSTQA

[0022] ＮＰタンパク質をコードする塩基配列（配列番号５、終止コドン含む）

5’-ATGTCTGATAATGGACCCCAAAATCAGCGAAATGCACCCCGCATTACGTTTGGTGGACCCTCAGAT
TCAACTGGCAGTAACCAGAATGGAGAACGCAGTGGGGCGCGATCAAAACAACGTCGGCCCCAAGGTTTA
CCCAATAATACTGCGTCTTGGTTCACCGCTCTCACTCAACATGGCAAGGAAGACCTTAAATTCCCTCGA
GGACAAGGCGTTCCAATTAACACCAATAGCAGTCCAGATGACCAAATTGGCTACTACCGAAGAGCTACC
AGACGAATTCGTGGTGGTGACGGTAAAATGAAAGATCTCAGTCCAAGATGGTATTTCTACTACCTAGGA
ACTGGGCCAGAAGCTGGACTTCCCTATGGTGCTAACAAAGACGGCATCATATGGGTTGCAACTGAGGGA
GCCTTGAATACACCAAAAGATCACATTGGCACCCGCAATCCTGCTAACAATGCTGCAATCGTGCTACAA
CTTCCTCAAGGAACAACATTGCCAAAAGGCTTCTACGCAGAAGGGAGCAGAGGCGGCAGTCAAGCCTCT

TCTCGTTCCTCATCACGTAGTCGCAACAGTTCAAGAAATTCAACTCCAGGCAGCAGTAGGGGAACTTCT
CCTGCTAGAATGGCTGGCAATGGCGGTGATGCTGCTCTTGCTTTGCTGCTGCTTGACAGATTGAACCAG
CTTGAGAGCAAAATGTCTGGTAAAGGCCAACAACAACAAGGCCAAACTGTCACTAAGAAATCTGCTGCT
GAGGCTTCTAAGAAGCCTCGGCAAAAACGTACTGCCACTAAAGCATACAATGTAACACAAGCTTTCGGC
AGACGTGGTCCAGAACAAACCCAAGGAAATTTTGGGGACCAGGAACTAATCAGACAAGGAACTGATTAC
AAACATTGGCCGCAAATTGCACAATTTGCCCCCAGCGCTTCAGCGTTCTTCGGAATGTCGCGCATTGGC
ATGGAAGTCACACCTTCGGGAACGTGGTTGACCTACACAGGTGCCATCAAATTGGATGACAAAGATCCA
AATTTCAAAGATCAAGTCATTTTGCTGAATAAGCATATTGACGCATACAAAACATTCCCACCAACAGAG
CCTAAAAAAGGACAAAAAGAAGAAGGCTGATGAAACTCAAGCCTTACCGCAGAGACAGAAGAAACAGCAA
ACTGTGACTCTTCTTCCTGCTGCAGATTTGGATGATTTCTCCAAACAATTGCAACAATCCATGAGCAGT
GCTGACTCAACTCAGGCCTAA-3’

[0023] 本明細書において、「免疫応答」は、ヒト等の脊椎動物が示す、感染病原体または疾患に対する抗体または細胞により媒介される反応であって、感染の予防もしくは改善、または前記感染に起因する疾患症状の少なくとも１つを軽減する反応を意味する。前記抗体による反応の場合、前記免疫応答は、例えば、抗体による、感染病原体（例えば、免疫原、以下、同様。）の中和；感染病原体の細胞への侵入の阻止、阻害、防止、または抑止；感染病原体の複製の阻止；および／または宿主細胞への感染および宿主細胞の破壊から保護する抗体の産生を刺激；のいずれか少なくとも１つを意味する。また、前記細胞による反応の場合、前記免疫応答は、例えば、感染病原体または疾患に対するＴ細胞および／または他の白血球細胞により媒介される免疫応答を意味する。具体的に、前記免疫応答は、例えば、細胞による、感染または疾患の予防もしくは改善、または前記感染に起因する疾患症状の少なくとも１つの症状の軽減を意味する。前記免疫応答は、例えば、「防御応答」または「防御免疫応答」ということもできる。

[0024] 本明細書において、「Ｔ細胞」は、白血球の一種であり、リンパ球に分類される、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ：T cell receptor）を発現する細胞を意味する。前記Ｔ細胞は、例えば、ＣＤ４陽性（＋）であるヘルパーＴ細胞および

ＣＤ８＋である細胞傷害性Ｔ細胞等が知られている。

[0025] 本明細書において、「細胞傷害性Ｔ細胞（Cytotoxic T Lymphocyte：ＣＴＬ）」は、ＣＤ８＋のＴ細胞である。前記細胞傷害性Ｔ細胞は、ウイルス、細菌等が感染した細胞、およびがん細胞等の異物を攻撃および殺傷する機能を有することが知られている。前記細胞傷害性Ｔ細胞は、ナイーブなＣＤ８＋Ｔ細胞から分化し、具体的には、ナイーブＣＤ８＋Ｔ細胞が、抗原提示細胞のクラスＩ主要組織適合性複合体（ＭＨＣクラスＩ、ＨＬＡクラスＩ）によって提示されたウイルス等の特異的抗原ペプチドを認識すると活性化し、ＣＴＬに分化する。前記ＣＴＬは、感染した細胞やがん細胞のアポトーシスの誘導を引き起こすことが知られている。

[0026] 本明細書において、「陽性（＋）」は、抗原抗体反応を利用して検出されるフローサイトメトリー等の解析方法により、前記抗原を発現しない陰性対照細胞または前記抗原と反応しない抗体を用いる陰性対照反応と比較して、高いシグナルが検出されることを意味する。また、本明細書において、「陰性（－）」は、前記抗原を発現しない陰性対照細胞または前記抗原と反応しない抗体を用いる陰性対照反応と比較して、同等またはそれ以下のシグナルが検出されることを意味する。

[0027] 本明細書において、「Ｔ細胞受容体の活性化」は、Ｔ細胞の細胞表面に発現するＴ細胞受容体（ＴＣＲ）に、抗原が結合することによって、細胞内シグナル伝達経路が活性化すること、または、活性化した状態に変化することを意味する。前記細胞内シグナル伝達経路が活性化することによって、Ｔ細胞の活性化が誘導される。

[0028] 本明細書において、「ヒト白血球抗原」（human leukocyte antigen：ＨＬＡ）は、ヒトのＭＨＣ（major histocompatibility、主要組織適合性複合体）を意味する。前記ＨＬＡは、抗原をＴ細胞に提示する機能を有する。前記ＨＬＡは、クラスＩ抗原とクラスＩＩ抗原の２群に大別される。前記クラスＩ抗原は、ＨＬＡ－Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ、Ｆ、およびＧ等のサブタイプが知られている。前記クラスＩ抗原は、ヒトβ２ミクログロブリンタンパク質と

複合体を形成し、例えば、抗原ペプチド等のペプチドを提示している。前記クラスＩＩ抗原は、ＨＬＡ－ＤＲ、ＤＱ、およびＤＰ等のサブタイプが知られている。前記ＨＬＡの各サブタイプは、対立遺伝子（アレル）が知られている。また、前記対立遺伝子の組合せは、何千種類以上存在することが知られている。

[0029] 本明細書において、「核酸」は、デオキシリボヌクレオチド（ＤＮＡ）、リボヌクレオチド（ＲＮＡ）、および／または、改変ヌクレオチドのポリマーを意味する。本明細書において、「核酸」が特定のタンパク質と組合せて用いられる場合、前記「核酸」は、タンパク質のアミノ酸配列をコードするヌクレオチドのポリマーを意味する。前記核酸は、例えば、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ等があげられる。前記核酸は、例えば、一本鎖または二本鎖等であってもよい。前記核酸は、「ポリヌクレオチド」または「オリゴヌクレオチド」と互いに読み替え可能である。

[0030] 本明細書において、「ベクター」（発現ベクター）は、ｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏにおいて、宿主細胞に送達される核酸を含む組換えプラスミドまたはウイルスを意味する。

[0031] 本明細書において、「薬学的に許容される担体」は、医薬組成物の製剤技術において通常使用し得る溶媒および／または添加剤を意味する。前記薬学的に許容される担体は、生体に対して有害性が略ない、または全くないものであることが好ましい。

[0032] 本明細書において、「アジュバント」は、製剤または組成物において、特定の免疫原（抗原）と組み合わせて使用されるとき、得られる免疫応答を増強、改変、または修飾する化合物を意味する。前記免疫応答の増強、改変、または修飾は、例えば、抗体応答および細胞性免疫応答の少なくとも一方の特異性の強化、増加、または増強を意味する。前記免疫応答の増強、改変、または修飾は、特定の抗原特異的免疫応答の低下、低減、または抑制を意味してもよい。

[0033] 本明細書において、「ワクチン」は、例えば、弱毒化もしくは不活化（死

滅）した感染病原体、または前記感染病原体からの抗原決定基（エピトープ、例えば、ペプチド、糖鎖、脂質等）の調製物または組成物であり、前記病原体に対する体液性免疫（抗体産生）または細胞性免疫を誘導するために使用される調製物を意味する。本明細書において、前記ワクチンは、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２によって引き起こされるＣＯＶＩＤ－１９に対する防御を提供するために投与される調製物または組成物を意味してもよい。前記「ワクチン」は、例えば、対象に投与されることで免疫応答、すなわち、感染に起因する疾患を予防、または疾患の重症度を軽減する免疫をもたらす免疫原の懸濁液または溶液も意味してもよい。前記ワクチンは、例えば、「ワクチン組成物」または「ワクチン製剤」ということもできる。

[0034] 本明細書において、「有効用量」は、例えば、免疫応答を誘導することにより、感染を予防および／または改善するのに十分な免疫原の量を意味する。また、前記「有効用量」は、感染または感染に起因する疾患の少なくとも１つの症状を軽減するのに十分な免疫原の量を意味してもよい。前記「有効用量」は、感染もしくは疾患の発症を遅延または最小限に低下、低減、もしくは抑制するのに十分な免疫原の量を意味してもよい。前記「有効用量」は、感染または疾患の治療もしくは管理において治療利益を提供するのに十分な免疫原の量を意味してもよい。前記「有効用量」は、単独または他の療法との併用で、感染または疾患の治療もしくは管理において治療利益を提供するのに十分な免疫原の量を意味してもよい。前記「有効用量」は、後のＳＡＲＳ２－ＣｏＶ－２またはＳＡＲＳ２－ＣｏＶ－２に起因する疾患への曝露に対する対象（例えば、ヒト）の自己免疫応答を亢進させるのに十分な免疫原の量であってもよい。前記「有効用量」は、ＳＡＲＳ２－ＣｏＶ－２を予防および／またはＳＡＲＳ２－ＣｏＶ－２に起因する症状の重症度を軽減する用量であってもよい。前記「有効用量」は、例えば、「有効量」または「治療有効量」ということもできる。

[0035] 本明細書において、「対象」は、動物または動物由来の細胞、組織もしく

は器官を意味する。前記対象は、特に、ヒトを含む意味で用いられる。前記動物は、ヒトおよび非ヒト動物を意味する。前記非ヒト動物は、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、サル、イルカ、アシカ等の哺乳類動物があげられる。

[0036] 本明細書において、「予防」は、疾患もしくは病態の発症の可能性の低下、疾患もしくは病態の発症の抑制、遅延、もしくは停止、病態の進行の抑制、軽減、遅延もしくは停止、または重症化の抑制、低減、遅延もしくは、停止を意味する。前記「予防」は、例えば、対象疾患を発病する対象（患者）に対する治療でもよいし、対象疾患のモデル動物の治療でもよい。

[0037] 本明細書において、「重症化」は、疾患または病態の程度（重症度）が増悪することを意味する。

[0038] 本明細書において、「単離された」は、同定され、かつ分離された状態、および／または自然状態での成分から回収された状態を意味する。前記「単離」は、例えば、少なくとも１つの精製工程を得ることにより実施できる。

[0039] 以下、本開示について例をあげて説明するが、本開示は以下の例等に限定されるものではなく、任意に変更して実施できる。また、本開示における各説明は、特に言及がない限り、互いに援用可能である。なお、本明細書において、「～」という表現を用いた場合、その前後の数値または物理値を含む意味で用いる。また、本明細書において、「Ａおよび／またはＢ」という表現には、「Ａのみ」、「Ｂのみ」、「ＡおよびＢの双方」が含まれる。

[0040] ＜抗原ペプチド＞

ある態様において、本開示は、ワクチンに重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）のヌクレオカプシド由来抗原ペプチドを開示する。本開示の抗原ペプチドは、下記（Ｐ１）、（Ｐ２）、または（Ｐ３）のポリペプチドを含む：

（Ｐ１）配列番号１（KAYNVTQAF）のアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ２）配列番号１のアミノ酸配列において、１もしくは数個のアミノ酸が欠失、挿入、置換、または付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ３）配列番号１のアミノ酸配列に対して、８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド。

[0041] 本発明者らは、鋭意研究の結果、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の回復者の末梢血単核球のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原への反応性から、ヌクレオカプシドタンパク質に由来する抗原ペプチドを用いることでＴ細胞応答を誘導できるのではないかとの着想を得た。そして、本発明者らは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来の特定の抗原ペプチドをワクチンの有効成分として使用することにより、Ｔ細胞の細胞免疫応答を誘導できることを見出し、本開示を確立するに至った。このため、本開示の抗原ペプチドによれば、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する細胞免疫応答を誘導可能である。また、ヌクレオカプシドタンパク質は、スパイクタンパク質に比べて変異が起こりづらいことが知られている。このため、本開示の抗原ペプチドによれば、既存のスパイクタンパク質のｍＲＮＡワクチンと比べて、重症化率抑制等の有効性が維持されると期待される。

[0042] 本開示の抗原ペプチドは、例えば、単離された抗原ペプチドでもよいし、他の物質（例えば、ペプチドまたはタンパク質）と混在した抗原ペプチドでもよい。

[0043] 本開示の抗原ペプチドは、免疫応答誘導活性を有することが好ましく、ＣＴＬ誘導活性を有することがより好ましい。前記ＣＴＬ誘導活性は、例えば、後述の実施例１（２）を参照して、ＣＤ３＋ＣＤ８＋細胞におけるＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋細胞（ＣＴＬ細胞）の割合に基づき評価できる。本開示の抗原ペプチドは、ＣＤ３＋ＣＤ８＋細胞におけるＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋細胞（ＣＴＬ細胞）の割合が、例えば、１０％以上、１５％以上、２０％以上、２５％以上、３０％以上、３５％以上、４０％以上、４５％以上、５０％以上、５５％以上、６０％以上、６５％以上、７０％以上、７５％以上、８０％以上、８５％以上、９０％以上、または９５％以上である。

[0044] 前記（Ｐ２）の抗原ペプチドにおいて、「１もしくは数個」は、例えば、前記（Ｐ２）が、免疫応答誘導活性を有する抗原ペプチドとして機能するペ

プチドである範囲であればよい。前記（Ｐ２）の「１もしくは数個」は、前記（Ｐ１）のアミノ酸配列において、例えば、１～６個、１～５個、１～４個、１～３個、１または２個である。本開示において、個数の数値範囲は、例えば、その範囲に属する正の整数を全て開示するものである。

[0045] 前記（Ｐ２）の抗原ペプチドにおいて、置換は、保存的置換であることが好ましい。前記保存的置換は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基への置換を意味する。前記保存的置換は、例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン等の塩基性側鎖を有するアミノ酸残基間の置換；アスパラギン酸、グルタミン酸等の酸性側鎖を有するアミノ酸残基間の置換；グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン等の非帯電性極性側鎖を有するアミノ酸残基間の置換；アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン等の非極性側鎖を有するアミノ酸残基間の置換；スレオニン、バリン、イソロイシン等のβ－分枝側鎖を有するアミノ酸残基間の置換；チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン等の芳香族側鎖を有するアミノ酸残基間の置換；等があげられる。

[0046] 前記（Ｐ３）の抗原ペプチドにおいて、「同一性」は、例えば、前記（Ｐ３）が、免疫応答誘導活性を有する抗原ペプチドとして機能するペプチドである範囲であればよい。前記（Ｐ３）の「同一性」は、前記（Ｐ１）のアミノ酸配列に対して、例えば、７０％、７５％、８０％以上、８５％以上、９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、９９％以上である。前記「同一性」の算出は、例えば、全米バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）の相同性アルゴリズムＢＬＡＳＴ（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/）において、デフォルトのパラメーターを用いることによって算出できる（以下、同様）。

[0047] 本開示の抗原ペプチドは、例えば、配列番号１のアミノ酸配列のＣ末端およびＮ末端の少なくとも一方に、１もしくは数個のアミノ酸が付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチドであってもよい。前記１もしくは数個は、

本開示の抗原ペプチドが、例えば、免疫応答誘導活性を有する抗原ペプチドとして機能するペプチドである範囲である。前記１もしくは数個は、例えば、１～６個、１～５個、１～４個、１～３個、１～２個、または１個である。

[0048] 本開示の抗原ペプチドにおいて、前記（Ｐ２）または（Ｐ３）のペプチドは、例えば、配列番号２または３のアミノ酸配列からなるポリペプチドであってもよい。

配列番号２：KRTATKAYNVTQAFG

配列番号３：TKAYNVTQAFGRRGP

[0049] 本開示の抗原ペプチドは、Ｔ細胞受容体の活性化試験において、ＴＣＲの活性化活性を有することが好ましい。前記ＴＣＲは、例えば、ＴＣＲ－０１、ＴＣＲ－０８、またはＴＣＲ－２２である。前記ＴＣＲ－０１は、例えば、下記配列番号６のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、下記配列番号７のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含むＴＣＲである。前記ＴＣＲ－０８は、例えば、下記配列番号８のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、下記配列番号９のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含むＴＣＲである。前記ＴＣＲ－２２は、例えば、下記配列番号１０のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、下記配列番号１１のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含むＴＣＲである。下記配列番号６～１１のアミノ酸配列おいて、下線で示すアミノ酸配列が、Ｎ末端側から、それぞれ、ＣＤＲ１～ＣＤＲ３に対応する。

[0050] ＴＣＲ－０１のα鎖可変ドメイン：TRAV29/DV5*01, TRAJ48*01（配列番号６）

MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPAEG
PTFLISISSIKDKNEDGRFTVFLNKSAKHLSLHIVPSQPGDSAVYFCAASARIFGNEKLTFGTGTRLTI
IPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSN
KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLLVIVLRILLLKVAGFNLLMTL
RLWSS

[0051] ＴＣＲ－０１のβ鎖可変ドメイン：TRBV6-5*01, TRBJ1-6*01, TRBD1*01（配列番号７）

MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSYFTPILGAKDNSPLHFGNGTRLTVTEDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDFGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

[0052] ＴＣＲ－０８のα鎖可変ドメイン：TRAV27*01, TRAJ40*01（配列番号８）

MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVTGGEVKKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGPGTYKYIFGTGTRLKVLANIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLLVIVLRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS

[0053] ＴＣＲ－０８のβ鎖可変ドメイン：TRBV13*01, TRBJ2-1*01, TRBD2*02（配列番号９）

MLSPDLPDSAWNTRLLCRVMLCLLGAGSVAAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPIPRHDTVYWYQQGPGQDPQFLISFYEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYFCASSLGLAGDFSYNEQFFGPGTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDFGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

[0054] ＴＣＲ－２２のα鎖可変ドメイン：TRAV5*01, TRAJ29*01（配列番号１０）

MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGEDVEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSSTYLYWYKQEPGAGLQLLTYIFSNMDMKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADTQTGDSAIYFCAEKEGNTPLVFGKGTRLSVIANIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLLVIVLRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS

[0055] ＴＣＲ－２２のβ鎖可変ドメイン：TRBV12-4*01, TRBJ1-1*01, TRBD2*02（配列番号１１）

MGSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYRQTMMRGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSPGGSPGGAFFGQGTRLTVVEDLNK

VFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRY
CLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVL
SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDFGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

[0056] ＴＣＲ－０１のα鎖可変ドメインをコードする塩基配列（配列番号１２、終止コドンを含む）

5’-ATGGCCATGCTCCTGGGGGCATCAGTGCTGATTCTGTGGCTTCAGCCAGACTGGGTAAACAGTCAA
CAGAAGAATGATGACCAGCAAGTTAAGCAAAATTCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAGGAAGAATTTCT
ATTCTGAACTGTGACTATACTAACAGCATGTTTGATTATTTCCTATGGTACAAAAAATACCCTGCTGAA
GGTCCTACATTCCTGATATCTATAAGTTCCATTAAGGATAAAAATGAAGATGGAAGATTCACTGTCTTC
TTAAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTCTCTGCACATTGTGCCCTCCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGTAC
TTCTGTGCAGCAAGCGCGCGGATCTTTGGAAATGAGAAATTAACCTTTGGGACTGGAACAAGACTCACC
ATCATACCCAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAG
TCTGTCTGCCTATTCACCGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGAGCCAGAGCAAGGACAGCGACGTGTAC
ATCACCGACAAGTGCGTGCTGGACATGAGAAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGAGC
AACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCC
AGCCCCGAGAGCAGCTGCGACGTGAAGCTGGTGGAGAAGAGCTTCGAGACCGACACCAACCTGAACTTC
CAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGAGAATCCTGCTGCTGAAGGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACC
CTGAGACTGTGGAGCAGCTGA-3’

[0057] ＴＣＲ－０１のβ鎖可変ドメインをコードする塩基配列（配列番号１３）

5’-ATGAGCATCGGCCTCCTGTGCTGTGCAGCCTTGTCTCTCCTGTGGGCAGGTCCAGTGAATGCTGGT
GTCACTCAGACCCCAAAATTCCAGGTCCTGAAGACAGGACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCCAGGAT
ATGAACCATGAATACATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATTCATTACTCA
GTTGGTGCTGGTATCACTGACCAAGGAGAAGTCCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAG
GATTTCCCGCTCAGGCTGCTGTCGGCTGCTCCCTCCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTAC
TTTACCCCTATATTGGGGGCGAAGGACAATTCACCCCTCCACTTTGGGAATGGGACCAGGCTCACTGTG
ACAGAGGACCTGAACAAGGTGTTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCC
CACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGG
TGGGTGAACGGCAAGGAGGTGCACAGCGGCGTGTGCACCGACCCCCAGCCCCTGAAGGAGCAGCCCGCC

CTGAACGACAGCAGATACTGCCTGAGCAGCAGACTGAGAGTGAGCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCAGA
AACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTCTACGGCCTGAGCGAGAACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCC
AAGCCCGTGACCCAGATCGTGAGCGCCGAGGCCTGGGGCAGAGCCGACTGCGGCTTCACCAGCGTGAGC
TACCAGCAGGGCGTGCTGAGCGCCACCATCCTGTACGAGATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCC
GTGCTGGTGAGCGCCCTGGTGCTGATGGCCATGGTGAAGAGAAAGGACTTCGGAAGCGGAGCTACTAAC
TTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCT-3’

[0058] ＴＣＲ－０８のα鎖可変ドメインをコードする塩基配列（配列番号１４、終止コドンを含む）

5’-ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAGTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTG
GAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGT
GTTTTTTCCAGCTTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACAGTAGTT
ACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCT
CTCCACATCACTGCGGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGCCCTGGAACCTACAAA
TACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCAAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTAC
CAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGACTTCGACAGCCAGACCAAC
GTGAGCCAGAGCAAGGACAGCGACGTGTACATCACCGACAAGTGCGTGCTGGACATGAGAAGCATGGAC
TTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGAGCAACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAAC
AGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCCCCGAGAGCAGCTGCGACGTGAAGCTGGTGGAGAAG
AGCTTCGAGACCGACACCAACCTGAACTTCCAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGAGAATCCTGCTGCTG
AAGGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGAGACTGTGGAGCAGCTGA-3’

[0059] ＴＣＲ－０８のβ鎖可変ドメインをコードする塩基配列（配列番号１５）

5’-ATGCTTAGTCCTGACCTGCCTGACTCTGCCTGGAACACCAGGCTCCTCTGCCGTGTCATGCTTTGT
CTCCTGGGAGCAGGTTCAGTGGCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGAGG
GAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACACTGTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCA
GGTCAGGACCCCCAGTTCCTCATTTCGTTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGAT
CGATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGAACATGAGCTCCTTGGAGCTGGGGGAC
TCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAGCTTAGGACTAGCGGGAGATTTCTCCTACAATGAGCAGTTCTTC
GGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTT

GAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTC
CCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAACGGCAAGGAGGTGCACAGCGGCGTGTGCACCGACCCC
CAGCCCCTGAAGGAGCAGCCCGCCCTGAACGACAGCAGATACTGCCTGAGCAGCAGACTGAGAGTGAGC
GCCACCTTCTGGCAGAACCCCAGAAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTCTACGGCCTGAGCGAGAAC
GACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACCCAGATCGTGAGCGCCGAGGCCTGGGGCAGAGCC
GACTGCGGCTTCACCAGCGTGAGCTACCAGCAGGGCGTGCTGAGCGCCACCATCCTGTACGAGATCCTG
CTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGAGCGCCCTGGTGCTGATGGCCATGGTGAAGAGAAAG
GACTTCGGAAGCGGAGCTACTAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGA
CCT-3’

[0060] ＴＣＲ－２２のα鎖可変ドメインをコードする塩基配列（配列番号１６、終止コドンを含む）

5’-ATGAAGACATTTGCTGGATTTTCGTTCCTGTTTTTGTGGCTGCAGCTGGACTGTATGAGTAGAGGA
GAGGATGTGGAGCAGAGTCTTTTCCTGAGTGTCCGAGAGGGAGACAGCTCCGTTATAAACTGCACTTAC
ACAGACAGCTCCTCCACCTACTTATACTGGTATAAGCAAGAACCTGGAGCAGGTCTCCAGTTGCTGACG
TATATTTTTTCAAATATGGACATGAAACAAGACCAAAGACTCACTGTTCTATTGAATAAAAAGGATAAA
CATCTGTCTCTGCGCATTGCAGACACCCAGACTGGGGACTCAGCTATCTACTTCTGTGCAGAGAAGGAG
GGAAACACACCTCTTGTCTTTGGAAAGGGCACAAGACTTTCTGTGATTGCAAATATCCAGAACCCTGAC
CCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGACTTCGAC
AGCCAGACCAACGTGAGCCAGAGCAAGGACAGCGACGTGTACATCACCGACAAGTGCGTGCTGGACATG
AGAAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGAGCAACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAAC
GCCTTCAACAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCCCCGAGAGCAGCTGCGACGTGAAG
CTGGTGGAGAAGAGCTTCGAGACCGACACCAACCTGAACTTCCAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGAGA
ATCCTGCTGCTGAAGGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGAGACTGTGGAGCAGCTGA-3’

[0061] ＴＣＲ－２２のβ鎖可変ドメインをコードする塩基配列（配列番号１７）

5’-ATGGGCTCCTGGACCTTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTAGCAAAGCACACAGATGCTGGA
GTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT
TCAGGACATGACTACCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACTTT
AACAACAACGTTCCGATAGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGATTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCA

TCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGACTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGC
CCAGGAGGCTCCCCCGGAGGAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGAGGACCTGAAC
AAGGTGTTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAACGGCAAG
GAGGTGCACAGCGGCGTGTGCACCGACCCCCAGCCCCTGAAGGAGCAGCCCGCCCTGAACGACAGCAGA
TACTGCCTGAGCAGCAGACTGAGAGTGAGCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCAGAAACCACTTCAGATGC
CAGGTGCAGTTCTACGGCCTGAGCGAGAACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACCCAG
ATCGTGAGCGCCGAGGCCTGGGGCAGAGCCGACTGCGGCTTCACCAGCGTGAGCTACCAGCAGGGCGTG
CTGAGCGCCACCATCCTGTACGAGATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGAGCGCC
CTGGTGCTGATGGCCATGGTGAAGAGAAAGGACTTCGGAAGCGGAGCTACTAACTTCAGCCTGCTGAAG
CAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCT-3’

[0062] 前記Ｔ細胞受容体の活性化試験は、例えば、フローサイトメトリー法、エリスポット法（ELISPOT assay）、Ｔ細胞増殖アッセイ、Ｔ細胞傷害性アッセイ、Ｔ細胞活性化アッセイ、およびテトラマーアッセイ等があげられる。前記Ｔ細胞活性化アッセイは、例えば、ＴＣＲが抗原を認識し細胞内シグナル伝達経路が活性化すると、人為的に導入していたルシフェラーゼ遺伝子が発現することで実施でき、後述の実施例１（５）のルシフェラーゼアッセイを参照できる。前記Ｔ細胞受容体の活性化試験において、前記フローサイトメトリー法を用いる場合、活性化Ｔ細胞において発現するマーカー（受容体、受容体リガンド等）、サイトカイン等に対し、蛍光色素標識抗体等でラベリングを行い、フローサイトメーターを用いてＴ細胞受容体の活性化を検討することが可能である。

[0063] 本開示の抗原ペプチドは、例えば、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）への結合性を有することが好ましい。前記ＨＬＡは、例えば、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２および／またはＨＬＡ－Ｃ＊１４０２であることが好ましい。この場合、本開示の抗原ペプチドは、前記ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２および／またはＨＬＡ－Ｃ＊１４０２と、ヒトβ２ミクログロブリンタンパク質との複合体に対して結合性を有するということもできる。前記ＨＬＡの結合性は、例えば、前記Ｈ

ＬＡとヒトβ２ミクログロブリンタンパク質とを発現させた細胞と、本開示の抗原ペプチドとを共存させた後、ＨＬＡ／β２ミクログロブリンから前記抗原ペプチドが回収できるかを指標に評価できる。前記ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２は、例えば、下記配列番号１８のアミノ酸配列からなるタンパク質である。前記ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２は、例えば、下記配列番号３５のアミノ酸配列からなるタンパク質である。また、前記ヒトβ２ミクログロブリンタンパク質は、例えば、下記配列番号１９のアミノ酸配列からなるタンパク質である。

[0064] ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアミノ酸配列（配列番号１８）

MRVMAPRTLILLLSGALALTETWACSHSMRYFYTAVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRG
EPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSEAGSHTLQRMYGCDLGPDGRLLRGYD
QSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQWRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAE
HPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSG
EEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEPSSQPTIPIVGIVAGLAVLAVLAVLGAVMAVVMCRRKSSGGKGGSC
SQAASSNSAQGSDESLIACKA

[0065] ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２のアミノ酸配列（配列番号３５）

MRVMAPRTLILLLSGALALTETWACSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRG
EPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGYYNQSEAGSHTLQWMFGCDLGPDGRLLRGYD
QSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAE
HPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSG
EEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEPSSQPTIPIVGIVAGLAVLAVLAVLGAVVAVVMCRRKSSGGKGGSC
SQAASSNSAQGSDESLITCKA

[0066] ヒトβ２ミクログロブリンタンパク質のアミノ酸配列（配列番号１９）

MSRSVALAVLALLSLSGLEAMIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEK
VEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM

[0067] ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２をコードする塩基配列（配列番号２０、終止コドンを含む）

5’-ATGCGGGTCATGGCGCCCCGAACCCTCATCCTGCTGCTCTCGGGAGCCCTGGCCCTGACCGAGACC

TGGGCCTGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTACACCGCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGAGAGCCCCGC
TTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCGCGAGTCCAAGA
GGGGAGCCGCGGGCGCCGTGGGTGGAGCAGGAGGGGCCGGAGTATTGGGACCGGGAGACACAGAAGTAC
AAGCGCCAGGCACAGGCTGACCGAGTGAGCCTGCGGAACCTGCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGGCC
GGGTCTCACACCCTCCAGAGGATGTACGGCTGCGACCTGGGGCCCGACGGGCGCCTCCTCCGCGGGTAT
GACCAGTCCGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCCTGGACCGCTGCG
GACACGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGAGGCGGAGCAGTGGAGAGCCTAC
CTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCGCG
GAACACCCAAAGACACACGTGACCCACCATCCCGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCC
CTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGCGAGGACCAAACTCAGGACACC
GAGCTTGTGGAGACCAGGCCAGCAGGAGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTGCCTTCT
GGAGAAGAGCAGAGATACACGTGCCATGTGCAGCACGAGGGGCTGCCAGAGCCCCTCACCCTGAGATGG
GAGCCATCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATCGTTGCTGGCCTGGCTGTCCTGGCTGTCCTA
GCTGTCCTAGGAGCTGTGATGGCTGTTGTGATGTGTAGGAGGAAGAGCTCAGGTGGAAAAGGAGGGAGC
TGCTCTCAGGCTGCGTCCAGCAACAGTGCCCAGGGCTCTGATGAGTCTCTCATCGCTTGTAAAGCCTGA
-3’

[0068] ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２をコードする塩基配列（配列番号３６、終止コドンを含む）

5’-ATGCGGGTCATGGCGCCCCGAACCCTCATCCTGCTGCTCTCGGGAGCCCTGGCCCTGACCGAGACC
TGGGCCTGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTCCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGC
TTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCGCGAGTCCGAGA
GGGGAGCCGCGGGCGCCGTGGGTGGAGCAGGAGGGGCCGGAGTATTGGGACCGGGAGACACAGAAGTAC
AAGCGCCAGGCACAGACTGACCGAGTGAGCCTGCGGAACCTGCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGGCC
GGGTCTCACACCCTCCAGTGGATGTTTGGCTGCGACCTGGGGCCCGACGGGCGCCTCCTCCGCGGGTAT
GACCAGTCCGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGATCTGCGCTCCTGGACCGCCGCG
GACACGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGAGGCGGAGCAGCGGAGAGCCTAC
CTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCGCG
GAACACCCAAAGACACACGTGACCCACCATCCCGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCC

CTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGTGGGATGGGGAGGACCAAACTCAGGACACC
GAGCTTGTGGAGACCAGGCCAGCAGGAGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTGCCTTCT
GGAGAAGAGCAGAGATACACGTGCCATGTGCAGCACGAGGGGCTGCCGGAGCCCCTCACCCTGAGATGG
GAGCCGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATCGTTGCTGGCCTGGCTGTCCTGGCTGTCCTA
GCTGTCCTAGGAGCTGTGGTGGCTGTTGTGATGTGTAGGAGGAAGAGCTCAGGTGGAAAAGGAGGGAGC
TGCTCTCAGGCTGCGTCCAGCAACAGTGCCCAGGGCTCTGATGAGTCTCTCATCACTTGTAAAGCCTGA
-3’

[0069] ヒトβ２ミクログロブリンタンパク質をコードする塩基配列（配列番号２１、終止コドンを含む）

5’-ATGTCTCGCTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATGATT
CAAAGAACTCCAAAAATTCAGGTTTACTCACGTCATCCAGCAGAGAATGGAAAGTCAAATTTCCTGAAT
TGCTATGTGTCTGGGTTTCATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTGAAGAATGGAGAGAGAATTGAA
AAAGTGGAGCATTCAGACTTGTCTTTCAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGTACTACACTGAATTC
ACCCCCACTGAAAAAGATGAGTATGCCTGCCGTGTGAACCATGTGACTTTGTCACAGCCCAAGATAGTT
AAGTGGGATCGAGACATGTAA-3’

[0070] ＜核酸＞

別の態様において、本開示は、前記抗原ペプチドをコードする核酸を提供する。本開示の核酸は、本開示の抗原ペプチドをコードする。

[0071] 前記核酸は、デオキシヌクレオチド残基から構成されてもよいし、リボヌクレオチド残基から構成されてもよいし、両者から構成されてもよい。また、前記核酸は、天然の核酸残基から構成されてもよいし、非天然の核酸残基から構成されてもよいし、両者から構成されてもよい。具体例として、前記核酸は、例えば、天然および／または非天然の核酸残基から構成されるＤＮＡ、ＲＮＡ、および／またはＤＮＡ／ＲＮＡを含む。前記非天然の核酸残基は、例えば、ヌクレオチド残基において、塩基、糖残基、もしくは糖リン酸骨格が修飾された修飾ヌクレオチド残基または修飾リボヌクレオチド残基があげられる。前記糖残基が修飾されている場合、前記非天然の核酸残基は、例えば、cEt(constrained ethyl bicyclic nucleic acid、Ionis Pharmaceut

icals社製）、ＬＮＡ（商標、Locked Nucleic Acid）、ＥＮＡ（登録商標、2’-O,4’-C-Ethylenebridged Nucleic Acid）等があげられる。前記核酸は、例えば、５’末端に５’キャップを有してもよい。

[0072] 前記核酸は、一本鎖の核酸分子でもよいし、二本鎖の核酸分子でもよい。

[0073] 本開示の核酸は、前記本開示の抗原ペプチドのアミノ酸配列に基づいて、対応するコドンに置き換えることで設計可能である。前記本開示の核酸の塩基配列は、例えば、コドン最適化されていてもよい。

[0074] 本開示において、各種核酸および抗原ペプチドは、例えば、遺伝子工学的手法または有機合成的手法によって合成でき、ｃＤＮＡ等の合成ＤＮＡ、合成ＲＮＡということもできる。

[0075] 本開示の核酸は、前記抗原ペプチドをコードするため、前記抗原ペプチドの合成に好適に使用できる。また、本開示の核酸は、前記抗原ペプチドをコードするため、ワクチンの有効成分として用いた際に、前記抗原ペプチドに対する細胞性免疫の誘導に使用できる。

[0076] ＜発現ベクター＞

別の態様において、本開示は、抗原ペプチドの合成または発現に使用可能な発現ベクターを提供する。本開示の発現ベクターは、前記本開示の核酸を含む。本開示の発現ベクターによれば、遺伝子工学的手法により、前記本開示の抗原ペプチドを好適に製造できる。また、本開示の発現ベクターによれば、例えば、ｉｎ　ｖｉｖｏで、本開示のペプチドを発現させることができる。

[0077] 前記本開示の発現ベクターは、例えば、前記本開示の核酸が、発現ベクターに挿入されている。前記発現ベクターは、例えば、前記核酸が機能的に連結されているということもできる。前記発現ベクターは、例えば、挿入された遺伝子を細胞等の標的内に輸送できる核酸分子を意味する。

[0078] 前記発現ベクターは、例えば、前記本開示の核酸のポリヌクレオチドがコードする抗原ペプチドを発現可能なように、抗原ペプチドをコードするポリヌクレオチドを含んでいればよく、その構成は、特に制限されない。

[0079] 前記発現ベクターは、例えば、骨格となるベクター（以下、「基本ベクター」ともいう）に、抗原ペプチドをコードするポリヌクレオチド、すなわち、前記本開示の核酸を挿入することで作製できる。前記発現ベクターの種類は、特に制限されず、例えば、前記宿主の種類に応じて、適宜決定できる。具体的には、前記発現ベクターを遺伝子工学的手法により合成する場合、まず、前記発現ベクターの合成は、例えば、前記抗原ペプチドをコードする核酸を設計して合成する。前記設計および合成は、例えば、前記抗原ペプチドをコードする核酸を含むベクター等を鋳型とし、所望の核酸領域を合成し得るように設計したプライマーを用いて、ＰＣＲ法により行うことができる。そして、得られた核酸を適当なベクターに連結することによってタンパク質発現用組換えベクター（発現ベクター）を得て、この組換えベクターを目的遺伝子が発現し得るように宿主中に導入することによって形質転換体を得ることができる（Sambrook J.et al.,Molecular Cloning,A Laboratory Manual (4th edition)(Cold Spring Harbor Laboratory Press(2012)）。

[0080] 形質転換に使用する宿主としては、目的の遺伝子を発現できるものであれば、特に制限されず、例えば、微生物、動物細胞、昆虫細胞、または、これらの培養細胞等の非ヒト宿主、単離したヒト細胞またはその培養細胞、哺乳類細胞等があげられる。前記原核生物は、例えば、大腸菌（Escherichia coli）等のエッシェリヒア属、シュードモナス・プチダ（Pseudomonas putida）等のシュードモナス属等の細菌があげられる。前記真核生物は、例えば、サッカロミセス・セレビシエ（Saccharomyces cerevisiae）等の酵母等があげられる。前記動物細胞は、例えば、ＣＯＳ細胞、ＣＨＯ細胞等があげられ、前記昆虫細胞は、例えば、Ｓｆ９、Ｓｆ２１等があげられる。

[0081] 前記発現ベクターは、ウイルスベクターおよび非ウイルスベクターがあげられる。前記導入方法としてヒートショック法により宿主の形質転換を行う場合、前記発現ベクターは、例えば、バイナリーベクター等があげられる。前記発現ベクターは、例えば、pETDuet-1、pQE-80L、pUCP26Km等があげられる。大腸菌等の細菌に形質転換を行う場合、前記発現ベクターは、例えば、p

ETDuet-1ベクター（ノバジェン社）、pQE-80L（QIAGEN社）、pBR322、pB325、pAT153、pUC8等があげられる。前記酵母に形質転換を行なう場合、前記発現ベクターは、例えば、pYepSec1、pMFa、pYES2等があげられる。前記昆虫細胞に形質転換を行なう場合、前記発現ベクターは、例えば、pAc、pVL等があげられる。前記哺乳類細胞に形質転換を行なう場合、前記発現ベクターは、例えば、pCDM8、pMT2PC等があげられる。

[0082] 前記発現ベクターは、例えば、前記抗原ペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現および前記抗原ペプチドのポリヌクレオチドがコードする前記本開示の抗原ペプチドの発現を調節する、調節配列を有することが好ましい。前記調節配列は、例えば、プロモーター、ターミネーター、エンハンサー、ポリアデニル化シグナル配列、複製起点配列（ｏｒｉ）等があげられる。前記発現ベクターにおいて、前記調節配列の配置は、特に制限されない。前記発現ベクターにおいて、前記調節配列は、例えば、前記抗原ペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現およびこれがコードする抗原ペプチドの発現を、機能的に調節できるように配置されていればよく、公知の方法に基づいて配置できる。前記調節配列は、例えば、前記発現ベクターが予め備える配列を利用してもよいし、前記発現ベクターに、さらに、前記調節配列を挿入してもよいし、前記基本ベクターが備える調節配列を、他の調節配列に置き換えてもよい。

[0083] 前記発現ベクターの宿主への導入方法は、特に制限されず、公知の方法により行うことができる。前記導入方法は、例えば、前記宿主の種類に応じて、適宜設定できる。前記導入方法は、例えば、パーティクルガン等の遺伝子銃による導入法、リン酸カルシウム法、ポリエチレングリコール法、リポソームを用いるリポフェクション法、エレクトロポレーション法、超音波核酸導入法、ＤＥＡＥ－デキストラン法、微小ガラス管等を用いた直接注入法、ハイドロダイナミック法、カチオニックリポソーム法、導入補助剤を用いる方法、アグロバクテリウムを介する方法、プロトプラスト法等があげられる。前記リポソームは、例えば、リポフェクタミンおよびカチオニックリポソ

ーム等があげられ、前記導入補助剤は、例えば、アテロコラーゲン、ナノ粒子およびポリマー等があげられる。前記宿主が、微生物の場合、例えば、中でも、Ｅ．ｃｏｌｉまたはＰｓ．ｐｕｔｉｄａ等を介する方法が好ましい。前記本開示の抗原ペプチドのポリヌクレオチドは、例えば、前記本開示の発現ベクターにより前記宿主に導入してもよい。

[0084] そして、本開示の作製方法は、例えば、前記形質転換体を培養し、その培養物から抗原ペプチドを採取する。前記培養物は、培養上清でもよいし、培養細胞もしくは培養菌体等の形質転換体、またはその処理物もしくは破砕物のいずれでもよい。

[0085] 前記培養後、前記抗原ペプチドが宿主内に生産される場合、本開示の作製方法は、例えば、前記宿主を破砕することにより抗原ペプチドを抽出する。また、前記抗原ペプチドが前記宿主外に生産または分泌される場合、本開示の作製方法は、例えば、培養液をそのまま使用するか、遠心分離等により宿主を除去する。その後、本開示の作製方法は、例えば、タンパク質の単離精製に用いられる一般的な生化学的方法、具体的には、限外ろ過膜による濃縮；硫酸アンモニウム沈殿等の塩析；ゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等の各種カラムを用いたクロマトグラフィー；等を単独で、または適宜組み合わせて用いることにより、前記抗原ペプチドを単離または精製することができる。

＜ＣＴＬの誘導・活性化剤＞

[0086] 別の態様において、本開示は、ＣＴＬの誘導および／または活性化剤を提供する。前記ＣＴＬの誘導および／または活性化剤は、前記本開示の抗原ペプチド、核酸、および／またはベクターを含むことを特徴とする。本開示のＣＴＬの誘導および／または活性化剤は、有効成分として、抗原ペプチド、核酸、および／またはベクターを含むことが特徴であり、その他の構成および条件は、特に制限されない。本開示のＣＴＬの誘導および／または活性化剤は、有効成分として、抗原ペプチド、核酸、および／またはベクターを含むため、ナイーブＴ細胞が活性化され、細胞傷害性Ｔ細胞への分化誘導およ

び活性化を示しうる。

[0087] 前記ＣＴＬの誘導および／または活性化は、例えば、前述のＴ細胞受容体の活性化試験によって確認できる。

＜医薬組成物＞

[0088] 別の態様において、本開示は、ワクチンとして使用しうる、医薬組成物を提供する。前記医薬組成物は、前記本開示の抗原ペプチド、核酸、ベクター、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤と、薬学的に許容される担体とを含むことを特徴とする。本開示の医薬組成物は、有効成分として、抗原ペプチド、核酸、ベクター、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤（以下、あわせて「有効成分」ともいう）を含むことが特徴であり、その他の構成および条件は、特に制限されない。本開示の医薬組成物は、有効成分として、抗原ペプチド、核酸、ベクター、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤を含むため、ワクチンの有効成分として用いた際に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する細胞性免疫の誘導を示しうる。また、ヌクレオカプシドはスパイクタンパク質に比べて変異が起こりづらいため、本開示の医薬組成物は、有効成分として、抗原ペプチド、核酸、ベクター、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤を含むため、ワクチンの有効成分として用いた際に、重症化率の抑制等の有効性が維持されると期待される。

[0089] 本開示の医薬組成物は、例えば、投与対象に投与することにより、抗原ペプチド、またはこれをコードする核酸に対する細胞性免疫を誘導できる。このため、本開示の医薬組成物は、ワクチン、ワクチン組成物、またはワクチン製剤ということもできる。

[0090] 本開示の医薬組成物は、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化に対する予防に用いるためのワクチンである。

[0091] 本開示の医薬組成物は、さらに、薬学的に許容される担体を含んでもよい。前記担体は、前記有効成分を投与するための懸濁剤、溶解補助剤、安定化剤、等張化剤、保存剤、吸着防止剤、界面活性剤、希釈剤、媒体、ｐＨ調整

剤、無痛化剤、緩衝剤、含硫還元剤、酸化防止剤等があげられ、本開示の効果を妨げない範囲で適切に添加することができる。

[0092] 前記懸濁剤は、特に制限されず、例えば、メチルセルロース、ポリソルベート８０、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴム、トラガント末、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート等があげられる。

[0093] 前記溶液補助剤は、特に制限されず、例えば、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリソルベート８０、ニコチン酸アミド、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、マクロゴール、ヒマシ油脂肪酸エチルエステル等があげられる。

[0094] 前記安定化剤は、特に制限されず、例えば、デキストラン４０、メチルセルロース、ゼラチン、亜硫酸ナトリウム、メタ硫酸ナトリウム等があげられる。

[0095] 前記等張化剤は、特に制限されず、例えば、Ｄ－マンニトール、ソルビトール等があげられる。

[0096] 前記保存剤は、特に制限されず、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、ソルビン酸、フェノール、クレゾール、クロロクレゾール等があげられる。

[0097] 前記吸着防止剤は、特に制限されず、例えば、ヒト血清アルブミン、レシチン、デキストラン、エチレンオキシドプロピレンオキシド共重合体、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、硬化ヒマシ油、ポリエチレングリコール等があげられる。

[0098] 前記含硫還元剤は、特に制限されず、例えば、Ｎ－アセチルシステイン、Ｎ－アセチルホモシステイン、チオキト酸、チオジグリコール、チオエタノールアミン、チオグリセロール、チオソルビトール、チオグリコール酸およびその塩、チオ硫酸ナトリウム、グルタチオン、炭素原子数１～７のチオアルカン酸等のスルホヒドリル基を有するもの等があげられる。

[0099] 前記酸化防止剤は、特に制限されず、例えば、エリソルビン酸、ジブチル

ヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、α－トコフェロール、酢酸トコフェロール、Ｌ－アスコルビン酸およびその塩、Ｌ－アスコルビン酸パルミテート、Ｌ－アスコルビン酸ステアレート、亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、没食子酸トリアミル、没食子酸プロピルまたはエチレンジアミン４酢酸ナトリウム（ＥＤＴＡ）、ピロリン酸ナトリウム、メタリン酸ナトリウム等のキレート剤等があげられる。

[0100] 本開示の医薬組成物は、さらに、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、炭酸水素ナトリウム等の無機塩；クエン酸ナトリウム、クエン酸カリウム、酢酸ナトリウム等の有機塩；グルコース等の糖類；等の一般的に添加される成分を適宜添加していてもよい。

[0101] 本開示の医薬組成物は、さらに、アジュバント（免疫賦活化剤）等を含んでもよい。前記アジュバントは、例えば、ＣｐＧオリゴヌクレオチド（ＣｐＧ　ＯＤＮ）、リポ多糖（Lipopolysaccharide：ＬＰＳ）等のＴｏｌｌ様受容体刺激剤；水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、塩化アルミニウム等のアルミニウム塩；インターフェロン（ＩＦＮ－γ）等のインターフェロン：ＴＮＦ－α等の炎症性サイトカイン；ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３等のインターロイキン；顆粒球マクロファージ（ＧＭ）コロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）等の成長因子；Ｆｌｔ３リガンド；Ｂ７－１；Ｂ７－２；等のサイトカイン；ケモカイン；スクワランもしくはスクワレン等のスクワレン含有アジュバント；完全もしくは不完全フロイントアジュバント；またはこれらの混合物；があげられる。前記ＬＰＳとしては、例えば、MPL（Monophosphoryl lipid A）があげられる。前記スクワレン含有アジュバントとしては、例えば、スクワレンの水中油滴型エマルションであるAddaVax（商標）、ＭＦ－５９（登録商標）があげられる。

[0102] 本開示の医薬組成物は、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで用いてもよいし、ｉｎ　ｖｉｖｏで用いてもよい。本開示の医薬組成物は、例えば、研究用試薬

として使用することもでき、医薬品として使用することもできる。前者の場合、本開示の医薬組成物は、試験試薬または試験キットということもできる。

[0103] 本開示の医薬組成物の投与対象は、特に制限されない。本開示の医薬組成物をｉｎ　ｖｉｖｏで使用する場合、前記対象（投与対象）は、例えば、前述の例示を援用できる。前記本開示の医薬組成物をｉｎ　ｖｉｔｒｏで使用する場合、前記投与対象は、例えば、細胞、組織、器官等があげられ、前記細胞は、例えば、生体から採取した細胞、培養細胞等があげられ、前記組織または器官は、例えば、生体から採取した組織（生体組織）または器官等があげられる。前記細胞は、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、樹状細胞等の免疫細胞等があげられる。

[0104] 本開示の医薬組成物をｉｎ　ｖｉｖｏで使用する場合、前記投与対象は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染していない健常者でもよいし、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染している可能性がある者でもよいし、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染している患者でもよいが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２への感染予防または重症化の予防が望まれる対象が好ましい。また、本開示の有効成分は、ＨＬＡへの結合性、特にＨＬＡ－Ｃ＊１２０２および／またはＨＬＡ－Ｃ＊１４０２への結合性を有することから、前記投与対象は、ＭＨＣ（ＨＬＡ）クラスＩ分子としてのＨＬＡ－Ｃ＊１２０２抗原遺伝子またはＨＬＡ－Ｃ＊１４０２をホモ接合型で、またはＭＨＣ（ＨＬＡ）クラスＩ分子としてのＨＬＡ－Ｃ＊１２０２抗原遺伝子およびＨＬＡ－Ｃ＊１４０２の少なくとも一方をヘテロ接合型で保有することが好ましい。

[0105] 本開示の医薬組成物の使用条件（投与条件）は、特に制限されず、例えば、前記医薬組成物における前記有効成分の種類、投与対象の種類等に応じて、投与形態、投与時期、投与量等を適宜設定できる。

[0106] 本開示の医薬組成物の投与方法は、例えば、脳内投与、髄腔内投与、筋肉内投与、皮下投与、静脈内投与等が例示されるが、例えば、投与者の技術によらず、安全におよび安定的に投与できることから、注射や点滴によって、

筋肉内投与または皮下投与することが好ましい。

[0107] 本開示の医薬組成物の投与量は、投与対象に対して、免疫応答、特に、細胞性免疫を誘導ができる量、すなわち、有効用量である。前記投与量は、例えば、投与対象の年齢、体重、症状等によって適宜決定することができる。

[0108] 本開示の医薬組成物の投与回数は、１または複数回である。前記複数回は、例えば、２回、３回、４回、５回またはそれ以上である。前記投与回数は、投与対象の予防効果を確認しながら、適宜決定されてもよい。前記複数回投与する場合、投与間隔は、投与対象の予防効果を確認しながら、適宜決定でき、例えば、１日１回、１週１回、２週１回、１ヶ月１回、３ヶ月１回、６か月１回等があげられる。

[0109] 本開示の医薬組成物は、投与対象におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染に起因する、少なくとも１つの症状を予防または軽減しうる。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の症状は、例えば、鼻漏、咽頭痛、頭痛、嗄声、咳、喀痰、発熱、ラ音、喘鳴音、呼吸困難、肺炎等があげられる。本開示の医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染に関連する少なくとも１つの症状を予防または軽減しうる。前記症状の軽減は、例えば、主観的または客観的に評価でき、具体例として、前記投与対象による自己評価；医師の評価；ＱＯＬ（Quality of Life）評価；ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染もしくはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の症状の進行遅延、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の症状の重症度の軽減の評価等があげられる。前記客観的な評価は、動物による評価でもよいし、ヒトによる評価でもよい。

[0110] ＜予防方法＞

別の態様において、本開示は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化に対する予防方法を提供する。本開示のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化に対する予防方法は、対象に、前記本開示の抗原ペプチド、核酸、ベクター、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤を使用することが特徴であり、その他の構成および条件は、特に制限されない。本開示の予防方法は、有効成分として、前記本開示の

抗原ペプチド、またはこれをコードする核酸を含むため、対象に対して処置した際に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する細胞性免疫を誘導できうる。また、ヌクレオカプシドはスパイクタンパク質に比べて変異が起こりづらいため、本開示の予防方法は、有効成分として、前記本開示の抗原ペプチド、またはこれをコードする核酸を含むため、ワクチンの有効成分として用いた際に、重症化率の抑制等の有効性が維持されると期待される。

[0111] 本開示の予防方法は、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する細胞性免疫を誘導しうることから、例えば、ＳＡＲＳ２－Ｃｏｖ－２に対するワクチン接種方法、防御免疫の誘導方法、免疫応答の刺激方法、または免疫応答の誘導方法ということもできる。

[0112] 本開示の予防方法において、前記有効成分は、対象に投与され、前記対象における細胞性免疫を誘導することにより、ＳＡＲＳ２－Ｃｏｖ－２に対する免疫を前記対象に付与しうる。このため、本開示の予防方法は、例えば、前記対象に、前記有効成分を投与する工程を含む。これにより、本開示の予防方法では、例えば、前記対象において、抗原ペプチドに対する細胞性免疫が誘導され、抗原ペプチドに対するＳＡＲＳ２－Ｃｏｖ－２に対するＴ細胞等による細胞性免疫応答が生じる。

[0113] 本開示の予防方法において、前記投与工程は、１回または複数回実施する。前記投与工程における投与条件は、前記本開示の医薬組成物の説明を援用できる。

[0114] ＜ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体＞

別の態様において、本開示は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染に応答しうるＴ細胞の検出に使用可能なＨＬＡ／抗原ペプチド複合体を開示する。本開示のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体は、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）と抗原ペプチドとの複合体を含み、前記抗原ペプチドは、本開示のヌクレオカプシド由来抗原ペプチドを含む。本開示のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体によれば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に応答しうるＴ細胞を検出できる。

[0115] 前記ＨＬＡは、好ましくは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２および／またはＨＬＡ

－Ｃ＊１４０２である。前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体において、前記ＨＬＡは、ＨＬＡのα鎖（Ｈ鎖）とβ２ミクログロブリンとの複合体である。

[0116] 前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体は、モノマーであってもよいし、２以上の前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体が集合したオリゴマーを形成してもよい。前記オリゴマーは、例えば、ダイマー、トリマー、テトラマー等があげられる。前記オリゴマーは、例えば、一般的な手法により調製でき、例えば、Ｃ末端がビオチン化されたα鎖とβ２ミクログロブリンと、アビジンとを用いて調製できる。

[0117] ＜Ｔ細胞の検出方法＞

別の態様において、本開示は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染に応答しうるＴ細胞を検出する方法を開示する。本開示のＴ細胞の検出方法は、生体試料と、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体とを接触させることにより、前記生体試料における前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体に結合するＴ細胞を検出する検出工程を含み、前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体は、本開示のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体である。本開示の検出方法によれば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染に応答しうるＴ細胞を検出できる。

[0118] 前記生体は、例えば、ヒトまたは非ヒト動物（例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、マウス、ラット、ウサギ、ウマ、サル等）の生体である。前記生体試料は、例えば、体液、細胞、組織、臓器等があげられる。前記サンプルは、例えば、液体でもよいし、固体でもよい。前記サンプルが固体の場合、本開示の検出方法は、前記検出工程に先立ち、前記固体サンプルを液体と混合し、液体サンプルを調製することが好ましい。

[0119] 前記検出工程は、例えば、前記生体試料と、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体（第１の複合体）とを接触させることにより、前記第１の複合体と、前記生体試料における前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体を認識するＴ細胞上のＴＣＲとの第２の複合体を形成する複合体形成工程と、前記第２の複合体の形成を検出する複合体検出工程を含む。

[0120] 前記複合体形成工程において、前記生体試料と前記第１の複合体との接触

方法は、特に制限されず、例えば、液体中で行なわれることが好ましい。前記接触は、例えば、前記生体試料と、前記第１の複合体とを混合することにより実施されてもよい。前記液体は、例えば、水、生理的食塩水、緩衝液等があげられる。前記複合体形成工程における接触時の条件は、例えば、ＴＣＲとペプチド／ＭＨＣ（ＨＬＡ）複合体との結合が生じる一般的な条件として設定できる。

[0121] 前記複合体検出工程では、前記第１の複合体とＴＣＲとの結合の有無を検出することによって、例えば、前記生体試料中の前記第１の複合体に特異的なＴ細胞の有無を分析（定性）することができ、また、前記両者の結合の程度（結合量）を検出することによって、例えば、前記生体試料中の前記第１の複合体に特異的なＴ細胞の量を分析（定量）できる。

[0122] そして、前記第１の複合体と前記ＴＣＲ（Ｔ細胞）との結合が検出できなかった場合は、前記生体試料中に前記第１の複合体に特異的なＴ細胞は存在しないと判断でき、前記結合が検出された場合は、前記生体試料中に前記第１の複合体に特異的なＴ細胞が存在すると判断できる。また、予め、前記第１の複合体に特異的なＴ細胞の存在量と、結合量との相関関係を求めておき、前記相関関係に基づいて、前記結合量から、前記生体試料中の前記第１の複合体に特異的なＴ細胞の数を分析することもできる。このため、本開示の検出方法は、例えば、分析方法ということもできる。

[0123] 前記第１の複合体と前記ＴＣＲとの結合の検出方法は、特に制限されない。前記方法は、例えば、蛍光標識等の標識を有する第１の複合体等を用いて、物質間または物質－細胞間の結合を検出する従来公知の方法が採用できる。

[0124] ＜使用＞

別の態様において、本開示は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化に対する予防方法に使用するため、本開示の抗原ペプチド、核酸、ベクター、医薬組成物、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤の使用である。本開示は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染また

は感染症の重症化の抑制に用いるためのワクチンの製造に用いるための、本開示の抗原ペプチド、核酸、ベクター、医薬組成物、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤の使用である。本開示の抗原ペプチド、核酸、ベクター、医薬組成物、および／または、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤の使用は、例えば、前記本開示の抗原ペプチド、核酸、ベクター、ＣＴＬの誘導および／または活性化剤、医薬組成物、および予防方法の説明を援用できる。

実施例

[0125] 以下、実施例を用いて本開示を詳細に説明するが、本開示は実施例に記載された態様に限定されるものではない。なお、特に示さない限り、市販の試薬およびキット等は、そのプロトコルに従い使用した。

[0126] ［実施例１］

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来の抗原ペプチドが、Ｔ細胞の活性化を誘導できることを確認した。

[0127] （１）ＰＢＭＣｓの調製

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し、回復した患者であって、かつＨＬＡ－Ｃ＊１２０２を有する患者から、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣｓ）を取得した。前記ＰＢＭＣｓは、末梢血およびFicoll-Paque（商標） Plus (GE Healthcare Life Sciences社製、Cat No : 17-1440-03) を用いて、密度勾配遠心分離を行なうことにより取得した。前記遠心分離後、前記ＰＢＭＣｓは、使用まで、液体窒素中で保管を行った。

[0128] （２）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来の抗原に特異的なＴ細胞の検出

つぎに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来の抗原に特異的なＴ細胞の検出を行った。前記検出方法は、図１に示すように行った。図１の方法では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来のスパイクタンパク質またはヌクレオカプシドタンパク質（以下、「ヌクレオカプシド」ともいう。）のオーバーラップペプチドを添加する。前記添加後、１０～１４日培養を行い、前記培養後、ＳＡＲＳ－Ｃｏ

Ｖ－２由来の抗原に特異的なＴ細胞の検出を行う。具体的には、前記実施例１（１）で調製した前記ＰＢＭＣｓに、１００ｎｍｏｌ／ｌに調整したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来のオーバーラップペプチドを添加し、パルスした。前記オーバーラップペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシドタンパク質（配列番号４）およびスパイクタンパク質（配列番号２２）のアミノ酸配列に基づき、１５アミノ酸からなるペプチドを、１１アミノ酸ずつオーバーラップするように、Ｎ末端側からＣ末端側に向かって、４アミノ酸ずつずらして設計し、設計された各ペプチドを合成後、各ペプチドが等モルとなるように混合することで調製した（PepTivator SARS-CoV-2 Prot_S Complete、research grade Miltenyi biotec社製、Cat No：130-127-951、6 nmol）。なお、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のアミノ酸配列は、ＮＣＢＩ　Ｇｅｎｅのアクセッション番号：43740568に登録されているアミノ酸配列を参照した。前記パルス後、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）および３０Ｕ／ｍｌ　recombinant human IL-2（Peprotec社製、Cat No：200-02）を含むＲＰＭＩ１６４０培地（Thermo Fisher Scientific社製、Cat No：11875101）を用いて、１４日間培養した。前記培養後、表面分子の抗体染色を行った。前記抗体には、CD3抗体 FITC（UCHT1、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD8抗体 APCcy7（RPA-T8、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD14抗体-PerCP/Cy5.5（HCD14、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD19抗体-PerCP/Cy5.5（HIB19、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD25抗体-PEcy7（M-A251、５０倍希釈、Biolegend社製）、およびCD137抗体-APC（4B4-1、５０倍希釈、Biolegend社製）を使用した。また、死細胞の染色のために、7-aminoactinomycin D（7-AAD、Biolegend社製、Cat No：420404）を併せて添加した。前記添加後、２０分間、氷上下でインキュベーションした。前記インキュベーション後、前記ＰＢＭＣｓを１％パラフォルムアルデヒド（ナカライテスク社製、Cat No：09154-85）を用いて固定した。前記固定後、FACS Canto II （BD Biosciences社製）を用いて、フローサイトメトリーによって表面分子の発現レベルを測定した。前記フローサイトメトリーで取得したデータを、FACS Diva v9.0（BD Bioscien

ces社製）およびFlowJo software v10（Tree Star社製）を用いて解析した。ネガティブコントロールは、オーバーラップペプチドを添加していない以外は、同様の方法で行った。これらの結果を、図２および図３に示す。

[0129] スパイクタンパク質のアミノ酸配列（配列番号２２）

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIH
VSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCND
PFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKH
TPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFL
LKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNAT
RFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQ
TGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV
EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVL
TESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVP
VAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQ
SIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSF
CTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTL
ADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIP
FAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQL
SSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLG
QSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV
TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGIN
ASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCS
CLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT

[0130] スパイクタンパク質をコードする塩基配列（配列番号２３、終止コドンを含む）

5’-ATGTTTGTTTTTCTTGTTTTATTGCCACTAGTCTCTAGTCAGTGTGTTAATCTTACAACCAGAACT
CAATTACCCCCTGCATACACTAATTCTTTCACACGTGGTGTTTATTACCCTGACAAAGTTTTCAGATCC
TCAGTTTTACATTCAACTCAGGACTTGTTCTTACCTTTCTTTTCCAATGTTACTTGGTTCCATGCTATA

CATGTCTCTGGGACCAATGGTACTAAGAGGTTTGATAACCCTGTCCTACCATTTAATGATGGTGTTTAT
TTTGCTTCCACTGAGAAGTCTAACATAATAAGAGGCTGGATTTTTGGTACTACTTTAGATTCGAAGACC
CAGTCCCTACTTATTGTTAATAACGCTACTAATGTTGTTATTAAAGTCTGTGAATTTCAATTTTGTAAT
GATCCATTTTTGGGTGTTTATTACCACAAAAACAACAAAAGTTGGATGGAAAGTGAGTTCAGAGTTTAT
TCTAGTGCGAATAATTGCACTTTTGAATATGTCTCTCAGCCTTTTCTTATGGACCTTGAAGGAAAACAG
GGTAATTTCAAAAATCTTAGGGAATTTGTGTTTAAGAATATTGATGGTTATTTTAAAATATATTCTAAG
CACACGCCTATTAATTTAGTGCGTGATCTCCCTCAGGGTTTTTCGGCTTTAGAACCATTGGTAGATTTG
CCAATAGGTATTAACATCACTAGGTTTCAAACTTTACTTGCTTTACATAGAAGTTATTTGACTCCTGGT
GATTCTTCTTCAGGTTGGACAGCTGGTGCTGCAGCTTATTATGTGGGTTATCTTCAACCTAGGACTTTT
CTATTAAAATATAATGAAAATGGAACCATTACAGATGCTGTAGACTGTGCACTTGACCCTCTCTCAGAA
ACAAAGTGTACGTTGAAATCCTTCACTGTAGAAAAAGGAATCTATCAAACTTCTAACTTTAGAGTCCAA
CCAACAGAATCTATTGTTAGATTTCCTAATATTACAAACTTGTGCCCTTTTGGTGAAGTTTTTAACGCC
ACCAGATTTGCATCTGTTTATGCTTGGAACAGGAAGAGAATCAGCAACTGTGTTGCTGATTATTCTGTC
CTATATAATTCCGCATCATTTTCCACTTTTAAGTGTTATGGAGTGTCTCCTACTAAATTAAATGATCTC
TGCTTTACTAATGTCTATGCAGATTCATTTGTAATTAGAGGTGATGAAGTCAGACAAATCGCTCCAGGG
CAAACTGGAAAGATTGCTGATTATAATTATAAATTACCAGATGATTTTACAGGCTGCGTTATAGCTTGG
AATTCTAACAATCTTGATTCTAAGGTTGGTGGTAATTATAATTACCTGTATAGATTGTTTAGGAAGTCT
AATCTCAAACCTTTTGAGAGAGATATTTCAACTGAAATCTATCAGGCCGGTAGCACACCTTGTAATGGT
GTTGAAGGTTTTAATTGTTACTTTCCTTTACAATCATATGGTTTCCAACCCACTAATGGTGTTGGTTAC
CAACCATACAGAGTAGTAGTACTTTCTTTTGAACTTCTACATGCACCAGCAACTGTTTGTGGACCTAAA
AAGTCTACTAATTTGGTTAAAAACAAATGTGTCAATTTCAACTTCAATGGTTTAACAGGCACAGGTGTT
CTTACTGAGTCTAACAAAAAGTTTCTGCCTTTCCAACAATTTGGCAGAGACATTGCTGACACTACTGAT
GCTGTCCGTGATCCACAGACACTTGAGATTCTTGACATTACACCATGTTCTTTTGGTGGTGTCAGTGTT
ATAACACCAGGAACAAATACTTCTAACCAGGTTGCTGTTCTTTATCAGGATGTTAACTGCACAGAAGTC
CCTGTTGCTATTCATGCAGATCAACTTACTCCTACTTGGCGTGTTTATTCTACAGGTTCTAATGTTTTT
CAAACACGTGCAGGCTGTTTAATAGGGGCTGAACATGTCAACAACTCATATGAGTGTGACATACCCATT
GGTGCAGGTATATGCGCTAGTTATCAGACTCAGACTAATTCTCCTCGGCGGGCACGTAGTGTAGCTAGT
CAATCCATCATTGCCTACACTATGTCACTTGGTGCAGAAAATTCAGTTGCTTACTCTAATAACTCTATT

GCCATACCCACAAATTTTACTATTAGTGTTACCACAGAAATTCTACCAGTGTCTATGACCAAGACATCA
GTAGATTGTACAATGTACATTTGTGGTGATTCAACTGAATGCAGCAATCTTTTGTTGCAATATGGCAGT
TTTTGTACACAATTAAACCGTGCTTTAACTGGAATAGCTGTTGAACAAGACAAAAACACCCAAGAAGTT
TTTGCACAAGTCAAACAAATTTACAAAACACCACCAATTAAAGATTTTGGTGGTTTTAATTTTTCACAA
ATATTACCAGATCCATCAAAACCAAGCAAGAGGTCATTTATTGAAGATCTACTTTTCAACAAAGTGACA
CTTGCAGATGCTGGCTTCATCAAACAATATGGTGATTGCCTTGGTGATATTGCTGCTAGAGACCTCATT
TGTGCACAAAAGTTTAACGGCCTTACTGTTTTGCCACCTTTGCTCACAGATGAAATGATTGCTCAATAC
ACTTCTGCACTGTTAGCGGGTACAATCACTTCTGGTTGGACCTTTGGTGCAGGTGCTGCATTACAAATA
CCATTTGCTATGCAAATGGCTTATAGGTTTAATGGTATTGGAGTTACACAGAATGTTCTCTATGAGAAC
CAAAAATTGATTGCCAACCAATTTAATAGTGCTATTGGCAAAATTCAAGACTCACTTTCTTCCACAGCA
AGTGCACTTGGAAAACTTCAAGATGTGGTCAACCAAAATGCACAAGCTTTAAACACGCTTGTTAAACAA
CTTAGCTCCAATTTTGGTGCAATTTCAAGTGTTTTAAATGATATCCTTTCACGTCTTGACAAAGTTGAG
GCTGAAGTGCAAATTGATAGGTTGATCACAGGCAGACTTCAAAGTTTGCAGACATATGTGACTCAACAA
TTAATTAGAGCTGCAGAAATCAGAGCTTCTGCTAATCTTGCTGCTACTAAAATGTCAGAGTGTGTACTT
GGACAATCAAAAAGAGTTGATTTTTGTGGAAAGGGCTATCATCTTATGTCCTTCCCTCAGTCAGCACCT
CATGGTGTAGTCTTCTTGCATGTGACTTATGTCCCTGCACAAGAAAAGAACTTCACAACTGCTCCTGCC
ATTTGTCATGATGGAAAAGCACACTTTCCTCGTGAAGGTGTCTTTGTTTCAAATGGCACACACTGGTTT
GTAACACAAAGGAATTTTTATGAACCACAAATCATTACTACAGACAACACATTTGTGTCTGGTAACTGT
GATGTTGTAATAGGAATTGTCAACAACACAGTTTATGATCCTTTGCAACCTGAATTAGACTCATTCAAG
GAGGAGTTAGATAAATATTTTAAGAATCATACATCACCAGATGTTGATTTAGGTGACATCTCTGGCATT
AATGCTTCAGTTGTAAACATTCAAAAAGAAATTGACCGCCTCAATGAGGTTGCCAAGAATTTAAATGAA
TCTCTCATCGATCTCCAAGAACTTGGAAAGTATGAGCAGTATATAAAATGGCCATGGTACATTTGGCTA
GGTTTTATAGCTGGCTTGATTGCCATAGTAATGGTGACAATTATGCTTTGCTGTATGACCAGTTGCTGT
AGTTGTCTCAAGGGCTGTTGTTCTTGTGGATCCTGCTGCAAATTTGATGAAGACGACTCTGAGCCAGTG
CTCAAAGGAGTCAAATTACATTACACATAA-3’

[0131] 図２は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓにオーバーラップペプチドを添加し、細胞表面にＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現する細胞を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフで

ある。図２において、横軸は、ＣＤ３＋でゲーティングした後のＣＤ２５の発現レベルを示し、縦軸は、ＣＤ３＋でゲーティングした後のＣＤ１３７の発現レベルを示す。図２において、左のグラフは、オーバーラップペプチドを添加しなかった場合の結果を示し、右のグラフは、オーバーラップペプチドを添加した場合の結果を示す。図２に示すように、オーバーラップペプチドを添加しなかった場合に比べ、オーバーラップペプチドを添加した場合では、Ｔ細胞の活性が上がっていることがわかった。

[0132] 図３は、フローサイトメトリーの結果からＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現するＴ細胞の割合を数値化したグラフである。図３において、横軸は、オーバーラップペプチドの由来タンパク質の種類を示し、縦軸は、ＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋　Ｔ細胞の割合（％）を示す。図３において、左のグラフは、ＣＤ３＋ＣＤ８＋でゲーティングした後のＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋　Ｔ細胞の割合（％）を示し、右のグラフは、ＣＤ３＋ＣＤ４＋でゲーティングした後のＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋　Ｔ細胞の割合（％）を示す。図３に示すように、スパイクタンパク質由来のオーバーラップペプチドに比べ、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドでは、細胞傷害性Ｔ細胞およびヘルパーＴ細胞の双方の割合が高いことがわかった。以上のことから、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドは、Ｔ細胞の活性化を誘導するのに有効であることがわかった。

[0133] （３）不活化ウイルスを用いたＴ細胞活性化の誘導の検討

つぎに、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスでＴ細胞を活性化した後に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来の抗原ペプチドを添加した場合に、Ｔ細胞の活性化が誘導されるのかを検討した。前記検討は、図４に示すように行った。図４の方法では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓに、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス（参考文献１）を感染させ、１２～１４日培養する。前記培養後、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来のスパイクタンパク質、膜タンパク質（配列番号２４）、またはヌクレオカプシドのオーバーラップペプチドを添加し、再刺激を行った。前記膜タ

ンパク質のオーバーラップペプチドは、前記ヌクレオチドカプシドのオーバーラップペプチドと同様に設計および調製した。

参考文献１：Jureka AS, Silvas JA, Basler CF. Propagation, Inactivation, and Safety Testing of SARS-CoV-2. Viruses. 2020 Jun 6;12(6):622. doi: 10.3390/v12060622. PMID: 32517266; PMCID: PMC7354523.

[0134] 膜タンパク質のアミノ酸配列（配列番号２４）

MADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFLTWICLLQFAYANRNRFLYIIKLIFLWLLWPVTLACFVLAAVYRINWITGGIAIAMACLVGLMWLSYFIASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLHGTILTRPLLESELVIGAVILRGHLRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVAGDSGFAAYSRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ

[0135] 膜タンパク質をコードする塩基配列（配列番号２５、終止コドンを含む）

5’-ATGGCAGATTCCAACGGTACTATTACCGTTGAAGAGCTTAAAAAGCTCCTTGAACAATGGAACCTAGTAATAGGTTTCCTATTCCTTACATGGATTTGTCTTCTACAATTTGCCTATGCCAACAGGAATAGGTTTTTGTATATAATTAAGTTAATTTTCCTCTGGCTGTTATGGCCAGTAACTTTAGCTTGTTTTGTGCTTGCTGCTGTTTACAGAATAAATTGGATCACCGGTGGAATTGCTATCGCAATGGCTTGTCTTGTAGGCTTGATGTGGCTCAGCTACTTCATTGCTTCTTTCAGACTGTTTGCGCGTACGCGTTCCATGTGGTCATTCAATCCAGAAACTAACATTCTTCTCAACGTGCCACTCCATGGCACTATTCTGACCAGACCGCTTCTAGAAAGTGAACTCGTAATCGGAGCTGTGATCCTTCGTGGACATCTTCGTATTGCTGGACACCATCTAGGACGCTGTGACATCAAGGACCTGCCTAAAGAAATCACTGTTGCTACATCACGAACGCTTTCTTATTACAAATTGGGAGCTTCGCAGCGTGTAGCAGGTGACTCAGGTTTTGCTGCATACAGTCGCTACAGGATTGGCAACTATAAATTAAACACAGACCATTCCAGTAGCAGTGACAATATTGCTTTGCTTGTACAGTAA-3’

[0136] 前記再刺激の後、２４時間の培養を行い、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来の抗原に特異的なＴ細胞の検出を行った。具体的には、前記実施例１（１）で調製した前記ＰＢＭＣｓに、不活化ウイルスを６×１０^2 ＰＦＵ／ｗｅｌｌで添加した。前記添加後、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）および３０Ｕ／ｍｌ recombinant human IL-2 (Peprotec社製、Cat No：200-02) を含むＲＰＭＩ１６４０培地 (Thermo Fisher Scientific社製、Cat No : 11875101) を用いて、１４日間培養した。前記培養後、１００ｎｍｏｌ／ｌに調整したＳＡ

ＲＳ－ＣｏＶ－２由来のスパイクタンパク質、膜タンパク質、または前記ヌクレオカプシドのオーバーラップペプチドを添加し、パルスした。前記パルス後、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）および３０Ｕ／ｍｌ recombinant human IL-2（Peprotec社製、Cat No：200-02）を含むＲＰＭＩ１６４０培地（Thermo Fisher Scientific社製、Cat No：11875101）を用いて、２４時間培養した。前記培養後、表面分子の抗体染色を行った。前記抗体には、前記CD3抗体-FITC、前記CD8抗体-APCcy7、前記CD14抗体-PerCP/Cy5.5、前記CD19抗体-PerCP/Cy5.5、前記CD25抗体-PEcy7、およびCD137抗体-APCを使用した。また、死細胞の染色のために、7-AADを併せて添加した。前記添加後、２０分間、氷上下でインキュベーションした。前記インキュベーション後、前記ＰＢＭＣｓを、１％パラフォルムアルデヒドを用いて固定した。前記固定後、FACS Canto IIを用いて、フローサイトメトリーによって表面分子の発現レベルを測定した。前記フローサイトメトリーで取得したデータを、FACS Diva v9.0およびFlowJo software v10を用いて解析した。ネガティブコントロールは、オーバーラップペプチドを添加していない以外は、同様の方法で行った。これらの結果を、図５に示す。

[0137] 図５は、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスで活性化したＰＢＭＣｓにオーバーラップペプチドを添加し、フローサイトメトリーの結果からＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現するＴ細胞の割合（％）を数値化したグラフである。図５において、横軸は、オーバーラップペプチドの由来の種類を示し、縦軸は、ＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋　Ｔ細胞の割合（％）を示す。図５において、左のグラフは、ＣＤ３＋ＣＤ８＋でゲーティングした後のＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋　Ｔ細胞の割合（％）を示し、右のグラフは、ＣＤ３＋ＣＤ４＋でゲーティングした後のＣＤ２５＋ＣＤ１３７＋　Ｔ細胞の割合（％）を示す。図５に示すように、スパイクタンパク質または膜タンパク質由来のオーバーラップペプチドに比べ、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドでは、細胞傷害性Ｔ細胞およびヘルパーＴ細胞の双方の割合が高いことがわかった。以上のことから、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペ

プチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後においても、Ｔ細胞の活性化を誘導するのに有効であることがわかった。

[0138] （４）ＨＬＡアレルの特定

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドが、Ｔ細胞の活性化を誘導することがわかったため、どのＨＬＡアレルに対して抗原が提示されているのか検討した。具体的には、Ｂリンパ球細胞（Ｃ１Ｒ細胞、熊本大学から分譲）、ＨＬＡ－Ａ＊２４０２を発現したＣ１Ｒ細胞であるＣ１Ｒ－Ａ２４０２細胞、ＨＬＡ－Ｂ＊５２０１を発現したＣ１Ｒ細胞であるＣ１Ｒ－Ｂ５２０１細胞、およびＨＬＡ－Ｃ＊１２０２を発現したＣ１Ｒ細胞であるＣ１Ｒ－Ｃ１２０２細胞（全て国立大学法人熊本大学　滝口雅文博士から分譲）に、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドを作用させて、Ｔ細胞の活性化を検討した。各細胞は、Ｃ１Ｒ細胞に対して、ＨＬＡ－Ａ＊２４０２、ＨＬＡ－Ｂ＊５２０１、またはＨＬＡ－Ｃ＊１２０２をコードする核酸（下記配列参照）を含む発現ベクターと、ヒトβ２ミクログロブリンタンパク質（配列番号１９）をコードする核酸を含む発現ベクターを、ウイルスベクターにより導入することにより調製した。

[0139] ＨＬＡ－Ａ＊２４０２のアミノ酸配列（配列番号２６）

MAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRM
EPRAPWIEQEGPEYWDEETGKVKAHSQTDRENLRIALRYYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGSDGRFLRGYH
QYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQQRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTD
PPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSG
EEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSSQPTVPIVGIIAGLVLLGAVITGAVVAAVMWRRNSSDRKGGSYS
QAASSDSAQGSDVSLTACKV

[0140] ＨＬＡ－Ａ＊２４０２をコードする塩基配列（配列番号２７、終止コドンを含む）

5’-ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCGTCCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACC
TGGGCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTCCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGC
TTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGG

ATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGGAGTATTGGGACGAGGAGACAGGGAAAGTG
AAGGCCCACTCACAGACTGACCGAGAGAACCTGCGGATCGCGCTCCGCTACTACAACCAGAGCGAGGCC
GGTTCTCACACCCTCCAGATGATGTTTGGCTGCGACGTGGGGTCGGACGGGCGCTTCCTCCGCGGGTAC
CACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGCGGCG
GACATGGCGGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAGCAGCAGAGAGCCTAC
CTGGAGGGCACGTGCGTGGACGGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACG
GACCCCCCCAAGACACATATGACCCACCACCCCATCTCTGACCATGAGGCCACTCTGAGATGCTGGGCC
CTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACG
GAGCTTGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTACCTTCT
GGAGAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCCAAGCCCCTCACCCTGAGATGG
GAGCCATCTTCCCAGCCCACCGTCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGAGCTGTG
ATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGGAACAGCTCAGATAGAAAAGGAGGGAGCTAC
TCTCAGGCTGCAAGCAGTGACAGTGCCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAAGTGTGA-3’

[0141] ＨＬＡ－Ｂ＊５２０１のアミノ酸配列（配列番号２８）

MLVTAPRTVLLLLWGAVALTETWAGSHSMRYFYTAMSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRT
EPRAPWIEQEGPEYWDRETQISKTNTQTYRENLRIALRYYNQSEAGSHTWQTMYGCDVGPDGRLLRGHN
QYAYDGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGLCVEWLRRHLENGKETLQRAD
PPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWAAVVVPSG
EEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSSQSTIPIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYS
QAASSDSAQGSDVSLTA

[0142] ＨＬＡ－Ｂ＊５２０１をコードする塩基配列（配列番号２９、終止コドンを含む）

5’-ATGCTGGTCACGGCGCCCCGAACCGTCCTCCTGCTGCTCTGGGGGGCAGTGGCCCTGACCGAGACC
TGGGCCGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTACACCGCCATGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGC
TTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACCCAGTTCGTGAGGTTCGACAGCGACGCCGCGAGTCCGAGG
ACGGAGCCCCGGGCGCCATGGATAGAGCAGGAGGGGCCGGAGTATTGGGACCGGGAGACACAGATCTCC
AAGACCAACACACAGACTTACCGAGAGAACCTGCGGATCGCGCTCCGCTACTACAACCAGAGCGAGGCC
GGGTCTCACACTTGGCAGACGATGTATGGCTGCGACGTGGGGCCGGACGGGCGCCTCCTCCGCGGGCAT

AACCAGTACGCCTACGACGGCAAAGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGAGCTCCTGGACCGCGGCG
GACACCGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGAGGCGGAGCAGCTGAGAGCCTAC
CTGGAGGGCCTGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGACACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCGCG
GACCCCCCAAAGACACACGTGACCCACCACCCCGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCC
CTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGCGAGGACCAAACTCAGGACACT
GAGCTTGTGGAGACCAGACCAGCAGGAGATAGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTGCCTTCT
GGAGAAGAGCAGAGATACACATGCCATGTACAGCATGAGGGGCTGCCGAAGCCCCTCACCCTGAGATGG
GAGCCATCTTCCCAGTCCACCATCCCCATCGTGGGCATTGTTGCTGGCCTGGCTGTCCTAGCAGTTGTG
GTCATCGGAGCTGTGGTCGCTACTGTGATGTGTAGGAGGAAGAGCTCAGGTGGAAAAGGAGGGAGCTAC
TCTCAGGCTGCGTCCAGCGACAGTGCCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGA-3’

[0143] ＣＩＲ細胞、ＣＩＲ－Ａ２４０２細胞、ＣＩＲ－Ｂ５２０２細胞、またはＣＩＲ－Ｃ１２０２細胞に、１００ｎｍｏｌ／ｌに調整したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来のヌクレオカプシドのオーバーラップペプチドを添加し、パルスした。前記パルス後、１０％ＦＢＳ含有ＲＰＭＩ１６４０培地（Thermo Fisher Scientific社製、Cat No：11875101）を用いて、前記実施例１（１）のＰＢＭＣｓと２４時間培養した。前記培養後、表面分子の抗体染色を行った。前記抗体には、前記CD3抗体-FITC、前記CD8抗体-APCcy7、前記CD14抗体-PerCP/Cy5.5、前記CD19抗体-PerCP/Cy5.5、前記CD25抗体-PEcy7、およびCD137抗体-APCを使用した。また、死細胞の染色のために、7-AADを併せて添加した。前記添加後、２０分間、氷上下でインキュベーションした。前記インキュベーション後、前記実施例１（１）のＰＢＭＣｓを、１％パラフォルムアルデヒドを用いて固定した。前記固定後、膜透過試薬（a Cytofix/Cytoperm Fixation/Permeabilization solution kit、BD Biosciences社製、Cat No：554714）を用いて膜透過処理を行った後、PE標識抗IFNγ抗体（4S.B3、BD Biosciences社製、１００倍希釈）を用いて染色した。前記染色後、FACS Canto IIを用いて、フローサイトメトリーによって表面分子の発現レベルを測定した。前記フローサイトメトリーで取得したデータを、FACS Diva v9.0およびFlowJo software v10を用いて解析した。ネガティブコントロールは、オーバー

ラップペプチドを添加していない以外は、同様の方法で行った。これらの結果を、図６に示す。

[0144] 図６は、Ｂリンパ球細胞（Ｃ１Ｒ細胞）にオーバーラップペプチドを添加し、Ｔ細胞におけるＩＦＮ－γおよびＣＤ８の発現を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。図６（Ａ）において、横軸は、ＣＤ８の発現レベルを示し、縦軸は、ＩＦＮ－γの発現レベルを示すドットプロットである。図６（Ｂ）において、横軸は、細胞の種類を示し、縦軸は、ＩＦＮ－γ＋ＣＤ８＋　Ｔ細胞の割合（％）を示す。図６（Ａ）および（Ｂ）に示すように、Ｃ１Ｒ細胞、Ｃ１Ｒ－Ａ２４０２細胞、およびＣ１Ｒ－Ｂ５２０２細胞に比べ、Ｃ１Ｒ－Ｃ１２０２細胞においてＩＦＮ－γ＋Ｔ細胞の割合が上昇しており、Ｔ細胞が活性化していることがわかった。以上のことから、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２に提示され、これを認識するＴ細胞の活性化が誘導されることがわかった。

[0145] （５）抗原エピトープの同定

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドが、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２に提示され、Ｔ細胞の活性化が誘導されることがわかったため、オーバーラップペプチドのうち、どのペプチドに対してＴ細胞の活性化が誘導されるのか検討した。ペプチド同定方法には、図７に示すＴＣＲが再構成されたＴ細胞培養株を用いた。図７の方法では、ＨＬＡのｃＤＮＡを発現させるプラスミドと、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のｃＤＮＡを発現させるプラスミドまたは抗原ペプチドとを標的細胞にトランスフェクションし、標的細胞のＨＬＡに抗原が提示されるように構築する。また、ＴＣＲαのｃＤＮＡおよびＴＣＲβのｃＤＮＡを、ルシフェラーゼ遺伝子発現ＴＣＲ欠損Ｊｕｒｋａｔ細胞にエレクトロポレーションを行い導入し、ＴＣＲ再構成を行う。標的細胞のＨＬＡに提示された抗原を、ＴＣＲ再構成によって発現したＴＣＲが認識し、細胞内シグナル伝達経路の活性化が誘導されるとルシフェラーゼが発現する。このため、ルシフェラーゼを検出することによって

、抗原をＴＣＲが認識したか否かを判断することができる。具体的には、ネガティブコントロールとして、安定してヒトＡＣＥ２およびＨＬＡ－Ｃ＊１２０２－ＩＲＥＳ（internal ribosome entry site）－ＮＧＦＲを発現した肺ＩＩ型肺胞上皮細胞（Ａ５４９細胞）である、Ａ５４９－ＡＣＥ２／Ｃ１２０２細胞を、レトロウイルスのトランスダクションによって作製した。また、各抗原ペプチドおよびＨＬＡ－Ｃ＊１２０２－ＩＲＥＳ（internal ribosome entry site）－ＮＧＦＲを発現したＡ５４９細胞（ＫＦ９、ＦＦ９、ＳＩ９、ＬＬ９、ＦＭ９、またはＮＬ９－Ａ５４９／Ｃ１２０２細胞）を、レトロウイルスのトランスダクションによって作製した。並行して、PiggyBac vector（SBI社製、Cat No：PB530A-2）を用いて、TCRβ-P2A-TCRα-P2A-BlaRプラスミドをルシフェラーゼ遺伝子発現ＴＣＲ欠損Ｊｕｒｋａｔ細胞（ＪｕｒｋａｔΔ－Ｌｕｃ細胞）に、エレクトロポレーションによって導入した。前記エレクトロポレーションは、１２００ｖ、５ｍｓ、５パルスの条件下で、Neon（登録商標） Transfection System（Thermo Fisher Scientific社製）を用いて行った。前記導入の４８時間後、安定してＴＣＲを発現しているＪｕｒｋａｔΔ－Ｌｕｃ細胞を、１０μｇ／ｍｌのブラストサイジンを含むＲＰＭＩ培地を用いて１０～１４日間かけてセレクションを行った。前記セレクション後、ＴＣＲ発現ＪｕｒｋａｔΔ－Ｌｕｃ細胞に、前記Ａ５４９－ＡＣＥ２／Ｃ１２０２細胞、またはＫＦ９、ＦＦ９、ＳＩ９、ＬＬ９、ＦＭ９、またはＮＬ９－Ａ５４９／Ｃ１２０２細胞を２：１の比率で添加し、一緒に培養を行った。前記培養は、１０％ＦＢＳ含有ＲＰＭＩ１６４０培地（Thermo Fisher Scientific社製、Cat No：11875101）を用いて、３７℃、６時間の条件下で行った。前記培養後、luminescent substrate（Promega社製、Cat No：E2510）を用いてルシフェラーゼ産生物の測定を行った。前記測定は、CentroXS3 plate reader（Berthold Technologies社製）を用いて測定を行った。これらの結果を、図８に示す。

[0146] ＫＦ９：KAYNVTQAF（配列番号１）

ＦＦ９：FAPSASAFF（配列番号３０）

ＳＩ９：SAFFGMSRI（配列番号３１）

ＬＬ９：LTYTGAIKL（配列番号３２）

ＦＭ９：FSKQLQQSM（配列番号３３）

ＮＬ９：NTASWFTAL（配列番号３４）

[0147] 図８は、抗原ペプチドに対するＴＣＲの認識をルシフェラーゼの蛍光強度で表したグラフである。図８において、横軸は抗原ペプチドの種類を示し、縦軸は、ＴＣＲの抗原ペプチドへの感受性を示す。図８に示すように、抗原ペプチドを添加していない、またはＦＦ９、ＳＩ９、ＬＬ９、ＦＭ９、またはＮＬ９の抗原ペプチドを添加した場合に比べ、ＫＦ９の抗原ペプチドを添加した場合にはＴＣＲの抗原ペプチドへの感受性が著しく高いことがわかった。また、ＫＦ９の抗原ペプチドは、ＴＣＲ－０１、ＴＣＲ－０８、およびＴＣＲ－２２に対し高い感受性を示したが、ＴＣＲ－０１に対し、特に高い感受性を示した。以上のことから、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９（KAYNVTQAF）は、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２に提示され、それを認識するＴ細胞の活性化が誘導されることが示唆された。

[0148] （６）ＫＦ９によるＴ細胞活性化の誘導

つぎに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９が、Ｔ細胞の活性化を誘導するか検討した。具体的には、ＰＢＭＣｓを、ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取して、前記実施例１（１）と同様の方法でＰＢＭＣｓを得た。つぎに、抗原として、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質、ヌクレオカプシド、または膜タンパク質由来のオーバーラップペプチド、またはＫＦ９を用いた以外は、前記実施例１（２）と同様の方法により、活性化したＴ細胞の割合を測定した。これらの結果を図９に示す。

[0149] 図９は、ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取したＰＢＭＣｓに抗原ペプチドを添加し、細胞表面にＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現する細胞

を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。図９において、横軸は、ＣＤ２５の発現レベルを示し、縦軸は、ＣＤ１３７の発現レベルを示す。図９において、上段は、左から右に、抗原ペプチドを添加していない場合、スパイクタンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドを添加した場合、および膜タンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合の結果を示す。図９において、下段は、ＫＦ９を添加した場合の結果を示す。図９に示すように、抗原ペプチドを添加しなかった場合、スパイクタンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合、および膜タンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合に比べ、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドを添加した場合では、Ｔ細胞の活性が上がっていることがわかった。さらに、ＫＦ９を添加した場合、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドを添加した場合と同様にＴ細胞の活性化が誘導されていることがわかった。以上の結果から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の回復者のＰＢＭＣｓには、ヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９と、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２との複合体を特異的に認識するＴ細胞が存在すること、すなわち、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染排除にＫＦ９を認識するＴ細胞が寄与していることが示唆された。

[0150] （７）不活化ウイルスを用いたＫＦ９によるＴ細胞活性化の誘導

つぎに、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスでＴ細胞を活性化した後に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９を添加した場合に、Ｔ細胞の活性化が誘導されるのか検討した。具体的には、ＰＢＭＣｓを、ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取して、前記実施例１（１）と同様の方法でＰＢＭＣｓを得た。つぎに、抗原として、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質、ヌクレオカプシド、または膜タンパク質由来のオーバーラップペプチド、またはＫＦ９を用いた以外は、前記実施例１（３）と同様の方法で行った。これらの結果を図１０に示す。

[0151] 図１０は、ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取し、不活化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスで活性化したＰＢＭＣｓにペプチドを添加し、細胞表面にＣＤ２５およびＣＤ１３７を発現する細胞を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。図１０において、横軸は、ＣＤ２５の発現レベルを示し、縦軸は、ＣＤ１３７の発現レベルを示す。図１０において、上段は、左から右に、スパイクタンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドを添加した場合、および膜タンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合の結果を示す。図１０において、下段は、ＫＦ９を添加した場合の結果を示す。図１０に示すように、スパイクタンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合、および膜タンパク質由来のオーバーラップペプチドを添加した場合に比べ、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドを添加した場合では、Ｔ細胞の活性化が誘導されていることがわかった。さらに、ＫＦ９を添加した場合、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドを添加した場合と同様にＴ細胞の活性化が誘導されていることがわかった。以上の結果から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後においても、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２に提示され、Ｔ細胞の活性化を誘導するのに有効であることがわかった。

[0152] （８）ヌクレオカプシド由来のペプチドによる細胞性免疫応答の検討

つぎに、ヌクレオカプシド由来のペプチドによってＴ細胞活性が誘導され、細胞性免疫応答が誘導されるか検討した。具体的には、エリスポット法を用いた。１５μｌの３５％エタノール（新たに調製）をエリスポットプレートに添加し、３０秒（１分以下）静置した。前記静置後、１００μｌの滅菌ＭＱ水で３回洗浄した。前記洗浄後、２０μｌのanti-human IFN-γ mAB 1-D1K（１ｍｇ／ｍｌ、MABTECH社製、Cat No：3420-3-250）を１０ｍｌの滅菌ＰＢＳによって５００倍に希釈した。前記希釈後、ボルテックスを行った。前

記ボルテックス後、前記エリスポットプレートの各ウェルに１００μｌずつ添加した。前記添加後、アルミ箔でラップし、４℃、一晩から数週間、保存した。前記保存後、前記エリスポットプレートを２００μｌの１％ＦＢＳ含有ＰＢＳを用いて洗浄し、前記洗浄は計６回行った。その後、４０μｌの１０％ＣＭ（Complete medium）を添加し、室温（約２５℃。以下同様。）で、３０分以上の条件下でインキュベーションした。前記ＣＭは、８７ｍｌのＲＰＭＩ、１０ｍｌのＦＢＳ、１ｍｌのMEM Non-Essential Amino Acids Solution（Gibco社製、Cat No：11140-50）、１ｍｌのSodium Pyruvate（Gibco社製、Cat No：11360-70）、および１ｍｌのPenicillin-Streptomycin Solution（富士フィルム和光純薬社製、Cat No：168-23191）を混合したものを使用した。前記インキュベーション後、１０μｌの各ヌクレオカプシドタンパク質のオーバーラップペプチドを各ウェルに添加した。つぎに、細胞の調製を行った。ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者から採取して、実施例（１）と同様の方法でＰＢＭＣｓを得た。３ｍｌの１０％ＣＭを用いてＰＢＭＣｓを懸濁し、３．６×１０^{6}個のＰＢＭＣｓを１．８ｍｌの１０％ＣＭに懸濁し、２×１０^{6}細胞／ｍｌの濃度に調整した。９６Ｕの１列（８ウェル）に２１０μｌのＰＢＭＣｓを分注した。前記分注後、９６Ｕからエリスポットプレート（１ドナーあたり４列）に５０μｌ（１×１０^{5}細胞）を移し、一晩中（２０時間以上）インキュベーションを行った。前記インキュベーション後、前記エリスポットプレートを２００μｌの０．０５％Ｔｗｅｅｎ（商標）－２０含有ＰＢＳを用いて洗浄し、前記洗浄は計６回行った。前記洗浄後、anti-human IFN-γ mAb 7-B6-1, biotinylated（MABTECH社製、Cat No：3420-6-250）を５μｌのmAb stockを含む１０ｍｌのＰＢＳおよび５０μｌのＦＢＳ（０．５％ＦＢＳ／ＰＢＳ）を用いて希釈し（２０００倍希釈）、各ウェルに１００μｌずつ分注した。前記分注後、室温で、１～２時間の条件下で、インキュベーションを行った。前記インキュベーション後、前記エリスポットプレートを２００μｌの０．０５％Ｔｗｅｅｎ（商標）－２０含有ＰＢＳを

用いて洗浄し、前記洗浄は計６回行った。前記洗浄後、streptavidin-ALPを５μｌのmAb stockを含む１０ｍｌのＰＢＳおよび５０μｌのＦＢＳ（０．５％ＦＢＳ／ＰＢＳ）を用いて希釈し（２０００倍希釈）、各ウェルに１００μｌずつ分注した。前記分注後、室温で、１時間の条件下で、インキュベーションを行った。前記インキュベーション後、前記エリスポットプレートを２００μｌの０．０５％Ｔｗｅｅｎ（商標）－２０含有ＰＢＳを用いて洗浄し、前記洗浄は計６回行った。前記洗浄後、substrate bufferを２５倍に希釈し（４００μｌのsubstrate bufferに９．６ｍｌのＭＱ水を添加）、１００μｌのsubstrate Aおよび１００μｌのsubstrate Bを添加した。前記添加後、１００μｌの溶液を各ウェルに添加した。前記添加後、遮光下、室温で、２０～４０分間の条件下で、インキュベーションを行った。前記インキュベーション後、substrateを添加し、水でメンブレンの両面を洗い、反応を止めた。その後、全てのウェルに水を満たし、遮光下で、１０分間以上静置した。前記静置後、ウェル内から水を除き、水で数回リンスした。前記リンス後、水分が残らないように、勢いよく両面を裏返し、遮光下で、一晩中乾燥させた。前記乾燥後、ImmunoSpot（CTL社製）を用いて解析を行った。これらの結果を図１１に示す。

[0153] 図１１は、エリスポット法の結果を示すグラフである。図１１において、横軸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドの種類（１５アミノ酸残基のＮ末端側の位置）を示し、縦軸は、スポット形成ユニット（Spot Forming Unit：ＳＦＵ）を示す。図１１に示すように、ＫＦ９（KAYNVTQAF）のアミノ酸配列が含まれる６５－６６および６７－６８において、スポット形成ユニットが高いことがわかった。以上の結果から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９（KAYNVTQAF）のアミノ酸配列を含むペプチドは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２に提示され、Ｔ細胞の活性化を誘導し、ＩＦＮ－γが産生されることがわかった。また、ＩＦＮ－γが産生されたことから、細胞性免疫応答が誘導されていることが示唆された。

[0154] （９）ヌクレオカプシド由来のペプチドによるＨＬＡ－Ｃ＊１２０２への提

示およびＴ細胞活性化の検討

つぎに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者であって、かつＨＬＡ－Ｃ＊１２０２が陽性である患者において、ヌクレオカプシド由来のペプチドによってＴ細胞活性が誘導されるか検討した。具体的には、ＡＩＭ（Activation-Induced Marker）アッセイを行った。前記実施例１（１）と同様の方法で得たＰＢＭＣｓに、１００ｎｍｏｌ／ｌのＫＦ９ペプチドを添加し、パルスした。前記ＰＢＭＣｓは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陽性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２回復者および、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陰性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２回復者から採取した。前記パルス後、３０Ｕ／ｍｌ recombinant human IL-2（Peprotec社製、Cat No：200-02）および１０％ＦＢＳ含有ＲＰＭＩ１６４０培地（Thermo Fisher Scientific社製、Cat No：200-02）を用いて、１４日間培養を行った。前記培養後、ｉｎ ｖｉｔｒｏで膨張させたＣＤ８＋ Ｔ細胞を、ペプチドの存在下、または非存在下で、再刺激を行った。その後、３７℃、２４時間の条件下で、培養を行い、前記ＰＢＭＣｓを洗浄し、抗体を用いて表面を染色した。前記抗体は、CD3 FITC（UCHT1、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD8 APCcy7（RPA-T8、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD14 PerCP/Cy5.5（HCD14、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD19 PerCP/Cy5.5（HIB19、１０倍希釈、Biolegend社製）、CD25 PEcy7（M-A251、５０倍希釈、Biolegend社製）、およびCD137 APC（4B4-1、５０倍希釈、Biolegend社製）を用いた。また、死細胞の染色のために、7-aminoactinomycin D（7-AAD、Biolegend社製、Cat No：420404）を併せて添加した。前記添加後、２０分間、氷上下でインキュベーションした。前記インキュベーション後、前記ＰＢＭＣｓを１％パラフォルムアルデヒド（ナカライテスク株式会社製、Cat No：09154-85）を用いて固定した。前記固定後、FACS Canto II（BD Biosciences社製）を用いて、フローサイトメトリーによって表面分子の発現レベルを測定した。前記フローサイトメトリーで取得したデータを、FACS Diva v9.0（BD Biosciences社製）およびFlowJo software v10（Tree Star社製）を用いて解析した。ネガティブコントロールは、オーバーラップペプチドを添加してい

ないこと以外は、同様の方法で行った。これらの結果を図１２に示す。

[0155] 図１２は、ＡＩＭアッセイの結果を示すグラフである。図１２において、横軸は、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２の陽性または陰性、およびペプチドＫＦ９（KAYNVTQAF）の添加の有無を示し、縦軸は、ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＣＤ２５＋およびＣＤ１３７＋の割合を示す。図１２に示すように、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陽性およびＫＦ９（KAYNVTQAF）を添加した場合において、ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＣＤ２５＋およびＣＤ１３７＋の割合が高いことがわかった。以上の結果から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９（KAYNVTQAF）は、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２に提示され、Ｔ細胞の活性化を誘導することがわかった。

[0156] （１０）ヌクレオカプシド由来のペプチドのＨＬＡ－Ｃ＊１２０２への提示およびＴ細胞活性化の検討

つぎに、ヌクレオカプシド由来のペプチドがＨＬＡ－Ｃ＊１２０２に提示され、およびＴ細胞活性が誘導されるか検討した。具体的には、ＭＨＣテトラマーアッセイを行った。ＭＨＣテトラマーは、ＫＦ９ペプチドをＭＨＣクラスＩ（ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２およびβ２ミクログロブリンタンパク質）にロードしたものを使用した。実施例１（１）と同様の方法でＰＢＭＣｓを取得した。前記ＰＢＭＣｓは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陽性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２回復者、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陰性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２回復者、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陽性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２陰性者、およびＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陰性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２陰性者から採取した。その後、前記ＰＢＭＣｓに０．１μｇのテトラマーを添加し、室温で、３０分間の条件下でインキュベーションを行った。前記インキュベーション後、２％ＦＣＳ含有ＰＢＳを用いて洗浄を行った。前記洗浄後、抗体を用いて表面を染色した。前記抗体は、CD8 APCcy7（RPA-T8、１００倍希釈、Biolegend社製）を用いた。また、死細胞の染色のために、7-aminoactinomycin D（7-AAD、Biolegend社製、Cat No：420404）を併せて添加した。前記添加後、２０分間、氷上下でインキュベーションした。前記インキュベーション後、２％ＦＣＳ含有ＰＢＳを用

いて２回洗浄を行った。前記洗浄後、前記ＰＢＭＣｓを１％パラフォルムアルデヒド（ナカライテスク株式会社製、Cat No：09154-85）を用いて固定した。前記固定後、FACS Canto II （BD Biosciences社製）を用いて、フローサイトメトリーによって表面分子の発現レベルを測定した。前記フローサイトメトリーで取得したデータを、FACS Diva v9.0（BD Biosciences社製）およびFlowJo software v10（Tree Star社製）を用いて解析した。これらの結果を図１３に示す。

[0157] 図１３は、ＭＨＣテトラマーアッセイの結果を示すグラフである。図１３において、横軸は、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２の陽性または陰性、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の回復者または陰性者を示し、縦軸は、ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＫＦ９テトラマーの割合（％）を示す。図１３に示すように、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２の陽性であり、かつＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の回復者において、ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＫＦ９テトラマーの割合が高いことがわかった。以上の結果から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９（KAYNVTQAF）によって、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２陽性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２回復者の末梢血において高頻度に認められるＴ細胞を誘導できることがわかった。

[0158] ［実施例２］

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来の抗原ペプチドが、Ｔ細胞の活性化を誘導できることを確認した。

[0159] （１）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの変異株・亜種に対するＫＦ９特異的Ｔ細胞の抗ウイルス活性の検討

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスには、様々な変異株が報告されており、前記変異株としてオミクロン株等があげられる。前記オミクロン株は、さらに、変異の違いによりいくつかの亜種に分類される。前記亜種は、例えば、BA.1、BA.2、BA.3、BA.4、BA.5等があげられる。そこで、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの変異株・亜種に対するＫＦ９特異的Ｔ細胞の抗ウイルス活性を検討した。具体的には、１×１０^{4}細胞のヒトＡＣＥ２／ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２

またはヒトＡＣＥ２／ＨＬＡ－Ａ＊２４０２を発現するＡ５４９細胞に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス（武漢株、prototype）、もしくはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス変異体であるオミクロン株BA.1、BA.2、またはBA.5を、ＭＯＩ＝０．１、３７℃、１２０分の条件下で、感染させた。前記感染後、前記Ａ５４９細胞を洗浄した。

[0160] ＰＢＭＣｓを、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者（２名、ＤＣ６およびＧＶ６９）から採取して、前記実施例１（１）と同様の方法でＰＢＭＣｓを得た。つぎに、抗原として、ＫＦ９の抗原ペプチドまたはＱＩ９の抗原ペプチド（QYIKWPWYI（配列番号３７））を用いた以外は、前記実施例１（２）と同様に、抗原ペプチドで誘導したＴ細胞について、１１０ＧｙでＸ線照射したＨＬＡ－Ｃ＊１２０２またはＨＬＡ－Ａ＊２４０２を発現するＣ１Ｒ細胞、および抗原ペプチドを添加した。前記添加後、２週間培養し、ＫＦ９／ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２（ＫＦ９／Ｃ１２）特異的Ｔ細胞およびＱＩ９／ＨＬＡ－Ａ＊２４０２（ＱＩ９／Ａ２４）特異的Ｔ細胞を得た。なお、前記ＱＩ９の抗原ペプチドは、スパイクタンパク質由来の抗原ペプチドである。

[0161] つぎに、前記ＫＦ９／Ｃ１２特異的Ｔ細胞または前記ＱＩ９／Ａ２４特異的Ｔ細胞（Ｅ：Effector Cell）と前記Ａ５４９細胞（Ｔ：Target Cell）について、Ｅ：Ｔ比が２：１、１：１、または０：１（None）になるように共培養した。前記培養開始７２時間後、培養上清を回収し、ウイルスのＲＮＡの量をリアルタイムＲＴ－ＰＣＲによって測定した。５μｌの培養上清を、２％　Ｔｒｉｔｏｎ（商標）　Ｘ－１００、５０ｍｍｏｌ／ｌ　ＫＣｌ、１００ｍｍｏｌ／ｌ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）、４０％グリセロール、および０．４Ｕ／μｌリコンビナントＲＮａｓｅ阻害剤（Promega社製、Cat No：N2615）を含むバッファーに溶解した。前記溶解後、室温、１０分の条件下で、インキュベーションを行った。前記インキュベーション後、９０μｌのRNase-free water（ナカライテスク社製、Cat No：06442-95）を添加し、そのうち３μｌを鋳型として使用した。ＰＣＲ試薬には、One-Step PrimeS

cript（商標） III RT-qPCR Mix（タカラバイオ社製、Cat No：RR600B）を用い、ＰＣＲ装置にはLightCycler（登録商標） 96 System（Roche Diagnostics社製）を用いた。前記リアルタイムＲＴ－ＰＣＲにおいて、プライマーには、下記新型コロナウイルス検出用プライマー・プローブセット（Primer/Probe N2（2019-nCoV）（タカラバイオ社製、Cat No：XD0008））を用いた。ウイルスＲＮＡのコピー数は、Positive Control RNA Mix（2019-nCoV）（タカラバイオ社製、Cat No：XA0142）を用いて、標準化を行った。相対的ウイルスコピー数は、Ｔ細胞と共培養しなかったＡ５４９細胞で得られたウイルスＲＮＡコピー数を１に正規化して算出した。これらの結果を、図１４に示す。

[0162] 新型コロナウイルス検出用プライマー・プローブセット

NIID_2019-nCOV_N_ forward（配列番号３８）

5’-AAATTTTGGGGACCAGGAAC-3’

NIID_2019-nCOV_N_ reverse（配列番号３９）

5’-TGGCAGCTGTGTAGGTCAAC-3’

NIID_2019-nCoV_N_ probe（配列番号４０）

5’-FAM-ATGTCGCGCATTGGCATGGA-BHQ-3’

[0163] 図１４は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの変異株・亜種に対する、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２アレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者由来のＫＦ９／Ｃ１２特異的Ｔ細胞またはＱＩ９／Ａ２４特異的Ｔ細胞の抗ウイルス活性の結果を示すグラフである。図１４（Ａ）において、横軸は、Ｅ：Ｔ比を示し、縦軸は、相対的なウイルスのコピー数を示す。図１４（Ｂ）において、横軸は、Ｔ細胞の種類を示し、縦軸は、相対的なウイルスのコピー数を示す。なお、図１４（Ｂ）は、Ｅ：Ｔ比＝１：１の場合の結果を示す。図１４（Ａ）に示すように、患者ＤＣ６およびＧＶ６９由来のＫＦ９／Ｃ１２特異的Ｔ細胞およびＱＩ９／Ａ２４特異的Ｔ細胞は、プロトタイプであるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス、ならびに変異体であるオミクロン株BA.1、BA.2、およびBA.5の全ての複製を抑制した。図１４（Ｂ）に示すように、Ｅ：Ｔ比＝１：１の場合では、ＫＦ９／Ｃ１２特異的Ｔ細胞は、ＱＩ

９／Ａ２４特異的Ｔ細胞と比べて、ウイルスの複製をより抑制できることがわかった。これらの結果から、ヌクレオカプシド由来のＫＦ９抗原ペプチド特異的Ｔ細胞は、スパイクタンパク質由来のＱＩ９抗原ペプチド特異的Ｔ細胞と比べて、高いウイルス複製抑制能を有することがわかった。

[0164] （２）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後におけるＫＦ９特異的Ｔ細胞の細胞性免疫応答の検討

つぎに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後におけるＫＦ９特異的Ｔ細胞の細胞性免疫応答について検討した。まず、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後におけるヌクレオカプシド由来のペプチドによってＴ細胞活性が誘導され、細胞性免疫応答が誘導されるか検討した。具体的には、ＨＬＡ－Ａ２４０２／Ｂ５２０２／Ｃ１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染後６ヵ月後の患者由来のＰＢＭＣｓを用いたこと以外、前記実施例１（８）と同様の方法でエリスポット法を行った。これらの結果を、図１５に示す。

[0165] 図１５は、エリスポット法の結果を示すグラフである。図１５において、上段は、スポット形成ユニットの結果を示し、中段は、７人の被験者において１０スポット以上応答した割合（responders）（％）の結果を示し、下段は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの模式図を示す。前記模式図において、ＮＴＤはＮ末端領域を示し、ＣＴＤはＣ末端領域を示す。図１５に示すように、ＫＦ９のアミノ酸配列が含まれる６５－６６において、respondersは高いことがわかった。これらの結果から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染の６か月後においても、ＫＦ９／Ｃ１２特異的Ｔ細胞が検出されることがわかった。

[0166] （３）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後におけるＫＦ９特異的Ｔ細胞の応答の維持の検討

つぎに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後におけるＫＦ９特異的Ｔ細胞の応答が、維持されるか検討した。具体的には、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染した患者由来のＰＢＭＣｓを

用いたこと以外、実施例１（１０）と同様の方法でテトラマーアッセイを行った。なお、ネガティブコントロールには、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアレルを保有しないＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染した患者由来のＰＢＭＣｓを用いた。これらの結果を図１６に示す。

[0167] 図１６は、テトラマーアッセイの結果を示すドットプロットおよびグラフである。図１６（Ａ）において、横軸は、ＣＤ８の平均蛍光強度を示し、縦軸は、テトラマーの平均蛍光強度を示す。図１６（Ｂ）において、横軸は、感染後の経過月数を示し、縦軸は、ＫＦ９テトラマー＋かつＣＤ８＋　Ｔ細胞の割合（％）を示す。図１６に示すように、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者由来では、ＫＦ９テトラマー＋かつＣＤ８＋　Ｔ細胞の割合は、１か月後（１ｍｏ）、２～３か月後（２－３ｍｏ）、６か月後（６ｍｏ）にかけて、経時的に減少するものの、６ヵ月後においても維持されていることがわかった。

[0168] （４）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後におけるＫＦ９特異的Ｔ細胞の経時的なフェノタイプの検討

ウイルス感染後、一部のＴ細胞は、再感染時に迅速な免疫応答が可能なメモリーＴ細胞に分化する。具体的には、ウイルス感染後、ナイーブＴ細胞（CCR7+CD45RA+）は、抗原刺激によって活性化され、エフェクターＴ細胞、活性化Ｔ細胞、およびメモリーＴ細胞へと分化する。前記メモリーＴ細胞は、メモリーステムセルＴ細胞、セントラルメモリーＴ細胞（ＴＣＭ、CCR7+CD45RA-）、エフェクターメモリーＴ細胞（ＴＥＭ、CCR7-CD45RA-）、および最終分化エフェクターメモリーＴ細胞（ＴＥＭＲＡ、CCR7-CD45RA+）に細分化される。そこで、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染後におけるＫＦ９特異的Ｔ細胞の経時的なフェノタイプを検討した。具体的には、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染した患者由来のＰＢＭＣｓを得た。つぎに、抗原として、ＫＦ９を用いたこと、抗体として、ccr7-bv510抗体（Biolegend社製、２５倍希釈、Cat No：353232）、CD45RA-APC抗体（Biolegend社製、１００倍希釈、Cat No：304112）を用いたこと以外は、前

記実施例１（２）と同様の方法により、表面抗原の染色により、Ｔ細胞のフェノタイプを観測した。これらの結果を図１７に示す。

[0169] 図１７は、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２のアレルを保有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染した患者から採取したＰＢＭＣｓにＫＦ９テトラマーを添加し、細胞表面にＣＣＲ７およびＣＤ４５ＲＡを発現する細胞を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。図１７（Ａ）において、横軸は、ＣＣＲ７の発現レベルを示し、縦軸は、ＣＤ４５ＲＡの発現レベルを示す。図１７（Ｂ）において、横軸は、感染後の経過月数を示し、縦軸は、発現割合（％）を示す。図１７に示すように、感染６か月後では、感染１か月後と比べて、ＴＥＭ（エフェクターメモリＴ細胞）の割合が減少し、ＴＥＭＲＡ（最終分化Ｔ細胞）の割合が増加傾向であることがわかった。

[0170] （５）ＫＦ９特異的Ｔ細胞の増殖およびフェノタイプの検討

つぎに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドまたはＫＦ９を添加した場合に、ＫＦ９特異的Ｔ細胞が増殖するか、および増殖した場合のＫＦ９特異的Ｔ細胞のフェノタイプについて検討した。具体的には、ＣＴＶ（Cell trace violet）アッセイを行い、ＰＢＭＣｓをＣＴＶ色素でラベリングし、細胞分裂に応じたＣＴＶ色素の濃度の低下をフローサイトメリーで検出することによって、細胞増殖およびフェノタイプを評価した。前記ＣＴＶアッセイには、Cell Trace（商標） Violet Cell Proliferation Kit（Invitrogen社製、Cat No：C34557）を用いた。Cell Trace Violets染色液含有ＤＭＳＯをＰＢＳで５倍希釈し、１ｍｍｏｌ／μｌに調製した。並行して、前記実施例１（１）と同様の方法で健常者からＰＢＭＣｓを得た。前記ＰＢＭＣｓは、１×１０^{6}細胞／ｍｌに調整した。１０ｍｌの前記ＰＢＭＣｓに、１０μｌの調製したCell Trace Violets染色液を添加した。前記添加後、２００μｌの１０％ＦＢＳ含有ＲＰＭＩ１６４０培地（Thermo Fisher Scientific社製、Cat No：200-02）に前記ＰＢＭＣｓを懸濁した。１００ｎｍｏｌ／ｌのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチドまたはＫＦ９を添加して懸濁した。前記懸濁後、３７

℃、７日間の条件下で、培養を行った。前記培養後、前記ＰＢＭＣｓを洗浄し、ＫＦ９テトラマーで染色後、抗体を用いて表面を染色した。前記抗体には、増殖試験の場合、CD3 FITC（UCHT1、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD8 APCcy7（RPA-T8、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD14 PerCP/Cy5.5（HCD14、１００倍希釈、Biolegend社製）、CD19 PerCP/Cy5.5（HIB19、１０倍希釈、Biolegend社製）を使用し、フェノタイプの試験の場合、ccr7-bv510抗体（Biolegend社製、２５倍希釈、Cat No：353232）、CD45RA-APC抗体（Biolegend社製、１００倍希釈、Cat No：304112）を使用した。また、死細胞の染色のために、7-aminoactinomycin D（7-AAD、Biolegend社製、Cat No：420404）を併せて添加した。前記添加後、２０分間、氷上下でインキュベーションした。前記インキュベーション後、前記ＰＢＭＣｓを１％パラフォルムアルデヒド（ナカライテスク株式会社製、Cat No：09154-85）を用いて固定した。前記固定後、Cytek Notrhern Lights（サイテックジャパン社製）を用いて、フローサイトメトリーによって表面分子の発現レベルを測定した。前記フローサイトメトリーで取得したデータを、FlowJo software v10（Tree Star社製）を用いて解析した。ネガティブコントロール（No peptide）は、ペプチドを添加していない以外は、同様の方法で行った。これらの結果を、図１８に示す。

[0171] 図１８は、健常者由来のＰＢＭＣｓにペプチドを添加した場合の、ＫＦ９特異的Ｔ細胞の増加およびフェノタイプを評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。図１８（Ａ）において、横軸は、ＣＴＶの平均蛍光強度を示し、縦軸は、テトラマーの平均蛍光強度を示す。図１８（Ｂ）において、横軸は、ペプチドの種類を示し、縦軸は、ＣＴＶの蛍光強度が低くＫＦ９テトラマー陽性のＣＤ８＋　Ｔ細胞の割合（％）を示す。図１８（Ｃ）において、横軸は、ＣＣＲ７の発現レベルを示し、縦軸は、ＣＤ４５ＲＡの発現レベルを示す。図１８（Ｄ）において、横軸は、Ｔ細胞の種類を示し、縦軸は、ＣＤ８＋　Ｔ細胞におけるＫＦ９テトラマー陽性細胞の割合（％）を示す。図１８に示すように、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペ

プチド（Ｎｕｃ　ＯＬＰ）またはＫＦ９を添加した場合、ＫＦ９特異的Ｔ細胞の増殖がみられた。また、ヌクレオカプシド由来のオーバーラップペプチド（Ｎｕｃ　ＯＬＰ）またはＫＦ９を添加した場合のＴ細胞の種類を分析したところ、大半のＴ細胞が、エフェクターメモリーＴ細胞（ＴＥＭ）に分化していることがわかった。

[0172] （９）ヌクレオカプシド由来のＫＦ９ペプチドによるＨＬＡ－Ｃ＊１４０２への提示およびＴ細胞活性化の検討

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染し回復した患者であって、かつＨＬＡ－Ｃ＊１４０２が陽性である患者において、ヌクレオカプシド由来のＫＦ９ペプチドによってＴ細胞活性が誘導されるか検討した。具体的には、ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２陽性ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２回復者由来のＰＢＭＣｓを使用したこと以外、実施例１（９）と同様の方法で行った。ネガティブコントロールは、ＫＦ９ペプチドを添加していないこと、およびＨＬＡ－Ｃ＊１４０２が陰性である患者のＰＢＭＣｓを使用したこと以外は、同様の方法で行った。これらの結果を図１９に示す。

[0173] 図１９は、ＡＩＭアッセイの結果を示すグラフである。図１９において、横軸は、ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２の陽性または陰性、およびペプチドＫＦ９の添加の有無を示し、縦軸は、ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＣＤ２５＋およびＣＤ１３７＋陽性細胞の割合（％）を示す。図１９に示すように、ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２陽性およびＫＦ９を添加した場合において、ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＣＤ２５＋およびＣＤ１３７＋陽性細胞の割合が高いことがわかった。以上の結果から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９は、ＨＬＡ－Ｃ＊１４：０２に提示され、Ｔ細胞の活性化を誘導することがわかった。

[0174] （１０）ヌクレオカプシド由来のＫＦ９ペプチドによるＨＬＡ－Ｃ＊１４０２への提示およびＴ細胞活性化の検討

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９が、ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２に提示され、Ｔ細胞の活性化を誘導することについて、細胞

を用いて確認した。具体的には、細胞に、ＨＬＡ－Ｂ＊５１０１を発現したＣ１Ｒ細胞であるＣ１Ｒ－Ｂ５１０１細胞およびＨＬＡ－Ｃ＊１４０２を発現したＣ１Ｒ細胞であるＣ１Ｒ－Ｃ１４０２細胞、ならびに抗原にヌクレオカプシド由来のＫＦ９ペプチド（1nmol/l、10nmol/l、100nmol/l、1000nmol/l）を用いたこと以外、実施例１（４）と同様の方法で表面分子の発現レベルを測定した。ネガティブコントロールは、ＫＦ９ペプチドを添加していないこと以外は、同様の方法で行った。これらの結果を、図２０に示す。

[0175] 図２０は、Ｂリンパ球細胞（Ｃ１Ｒ細胞）にＫＦ９ペプチドを添加し、Ｔ細胞におけるＩＦＮ－γおよびＣＤ８の発現を評価したフローサイトメトリーの結果を示すグラフである。図２０において、横軸は、ＣＤ８の発現レベルを示し、縦軸は、ＩＦＮ－γの発現レベルを示すドットプロットである。図２０に示すように、Ｃ１Ｒ－Ｂ５１０１細胞に比べ、Ｃ１Ｒ－Ｃ１４０２細胞においてＩＦＮ－γ＋Ｔ細胞の割合が上昇しており、Ｔ細胞が活性化していることがわかった。以上のことから、ヌクレオカプシド由来のペプチドＫＦ９は、ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２に提示され、これを認識するＴ細胞の活性化が誘導されることがわかった。

[0176] 以上、実施形態を参照して本開示を説明したが、本開示は、上記実施形態に限定されるものではない。本開示の構成や詳細には、本開示のスコープ内で当業者が理解しうる様々な変更をすることができる。

[0177] 本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用される。

[0178] この出願は、２０２２年１０月１７日に出願された日本出願特願２０２２－１６６５１８を基礎とする優先権を主張し、その開示のすべてをここに取り込む。

[0179] ＜付記＞

上記の実施形態および実施例の一部または全部は、以下の付記のように記載されうるが、以下には限られない。

＜ヌクレオカプシド由来抗原ペプチド＞

（付記１）

下記（Ｐ１）、（Ｐ２）、または（Ｐ３）のポリペプチドを含む、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）のヌクレオカプシド由来抗原ペプチド：

（Ｐ１）配列番号１（KAYNVTQAF）のアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ２）配列番号１のアミノ酸配列において、１～６個のアミノ酸が欠失、挿入、置換、または付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ３）配列番号１のアミノ酸配列に対して、８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド。

（付記２）

免疫応答誘導活性を有する、付記１に記載のペプチド。

（付記３）

Ｔ細胞受容体の活性化試験において、ＴＣＲ－０１、ＴＣＲ－０８、またはＴＣＲ－２２の活性化活性を有し、

前記ＴＣＲ－０１は、配列番号６のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、配列番号７のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含み、

前記ＴＣＲ－０８は、配列番号８のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、配列番号９のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含み、

前記ＴＣＲ－２２は、配列番号１０のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、配列番号１１のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含む、付記１または２に記載のペプチド。

（付記４）

前記（Ｐ２）は、配列番号１のアミノ酸配列のＣ末端およびＮ末端の少なくとも一方に、１または２アミノ酸が付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチドである、付記１から３のいずれかに記載のペプチド。

（付記５）

配列番号２または３のアミノ酸配列からなるポリペプチドである、付記１か

ら４のいずれかに記載のペプチド。

（付記６）

前記ペプチドは、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）への結合性を有する、付記１から５のいずれかに記載のペプチド。

（付記７）

前記ＨＬＡは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２および／またはＨＬＡ－Ｃ＊１４０２である、付記６に記載のペプチド。

＜核酸＞

（付記８）

付記１から７のいずれかに記載のペプチドをコードする、核酸。

＜ベクター＞

（付記９）

付記８に記載の核酸を含む、ベクター。

＜ＣＴＬの誘導・活性化剤＞

（付記１０）

付記１から７のいずれかに記載のペプチド、付記８に記載の核酸、および／または付記９に記載のベクターを含む、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤。

＜ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体＞

（付記１１）

ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）と抗原ペプチドとの複合体を含み、

前記抗原ペプチドは、付記１から７のいずれかに記載のペプチドを含む、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体。

（付記１２）

前記ＨＬＡは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２および／またはＨＬＡ－Ｃ＊１４０２である、付記１１に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体。

＜医薬組成物＞

（付記１３）

付記１から７のいずれかに記載のペプチド、付記８に記載の核酸、付記９に記載のベクター、付記１０に細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤、および／または、付記１１または１２に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

（付記１４）

さらに、アジュバントを含む、付記１３に記載の医薬組成物。

（付記１５）

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化の予防に用いるためのワクチンである、付記１３または１４に記載の医薬組成物。

＜予防方法＞

（付記１６）

付記１から７のいずれかに記載のペプチド、付記８に記載の核酸、付記９に記載のベクター、付記１０に記載の細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤、および／または、付記１１または１２に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体を使用する、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化に対する予防方法。

（付記１７）

対象に、前記ペプチド、前記核酸、前記ベクター、前記細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤、および／または、付記１１または１２に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体を投与する投与工程を含む、付記１６に記載の方法。

＜使用＞

（付記１８）

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化に対する予防方法に使用するための、付記１から７のいずれかに記載のペプチド、付記８に記載の核酸、付記９に記載のベクター、付記１０に記載の細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤、および／または、付記１１または１２に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体。

＜Ｔ細胞の検出方法＞

（付記１９）

生体試料と、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体とを接触させることにより、前記生体試料における前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体に結合するＴ細胞を検出する検出工程を含み、

前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体は、付記１１または１２に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体である、Ｔ細胞の検出方法。

（付記２０）

前記生体試料は、血液、末梢血単核球からなる群から選択される、付記１９に記載の検出方法。

産業上の利用可能性

[0180] 以上のように、本開示の抗原ペプチドによれば、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する細胞性免疫応答を誘導可能である。したがって、本開示の抗原ペプチドによれば、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染の予防および重症化の予防ができる。このため、本開示は、例えば、医薬分野等において極めて有用である。

請求の範囲

[請求項1] 下記（Ｐ１）、（Ｐ２）、または（Ｐ３）のポリペプチドを含む、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）のヌクレオカプシド由来抗原ペプチド：

（Ｐ１）配列番号１のアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ２）配列番号１のアミノ酸配列において、１～６個のアミノ酸が欠失、挿入、置換、または付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチド；

（Ｐ３）配列番号１のアミノ酸配列に対して、８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド。

[請求項2] 免疫応答誘導活性を有する、請求項１に記載のペプチド。

[請求項3] Ｔ細胞受容体の活性化試験において、ＴＣＲ－０１、ＴＣＲ－０８、またはＴＣＲ－２２の活性化活性を有し、

前記ＴＣＲ－０１は、配列番号６のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、配列番号７のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含み、

前記ＴＣＲ－０８は、配列番号８のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、配列番号９のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含み、

前記ＴＣＲ－２２は、配列番号１０のアミノ酸配列を含むα鎖可変ドメインと、配列番号１１のアミノ酸配列を含むβ鎖可変ドメインとを含む、請求項１または２に記載のペプチド。

[請求項4] 前記（Ｐ２）は、配列番号１のアミノ酸配列のＣ末端およびＮ末端の少なくとも一方に、１、２、または３アミノ酸が付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチドである、請求項１または２に記載のペプチド。

[請求項5] 配列番号２または３のアミノ酸配列からなるポリペプチドである、請求項１または２に記載のペプチド。

[請求項6] 前記ペプチドは、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）への結合性を有する、請求項１または２に記載のペプチド。

[請求項7] 前記ＨＬＡは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２、および／または、ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２である、請求項６に記載のペプチド。

[請求項8] 請求項１または２に記載のペプチドをコードする、核酸。

[請求項9] 請求項８に記載の核酸を含む、ベクター。

[請求項10] 請求項１または２に記載のペプチドを含む、細胞傷害性Ｔ細胞の誘導および／または活性化剤。

[請求項11] ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）と抗原ペプチドとの複合体を含み、
前記抗原ペプチドは、請求項１または２に記載のヌクレオカプシド由来抗原ペプチドを含む、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体。

[請求項12] 前記ＨＬＡは、ＨＬＡ－Ｃ＊１２０２、および／または、ＨＬＡ－Ｃ＊１４０２である、請求項１１に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体。

[請求項13] 請求項１または２に記載の抗原ペプチドと、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

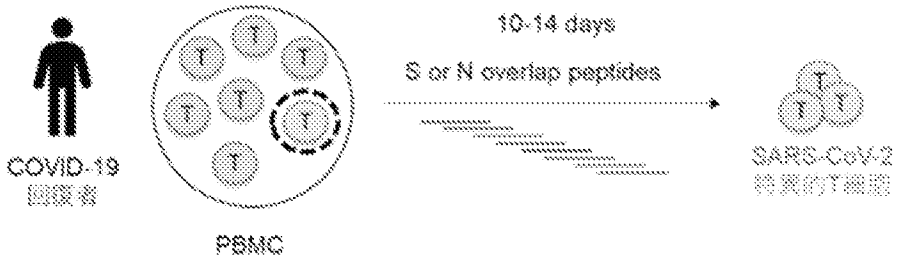
[請求項14] さらに、アジュバントを含む、請求項１３に記載の医薬組成物。

[請求項15] ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染または感染症の重症化の予防に用いるためのワクチンである、請求項１３に記載の医薬組成物。

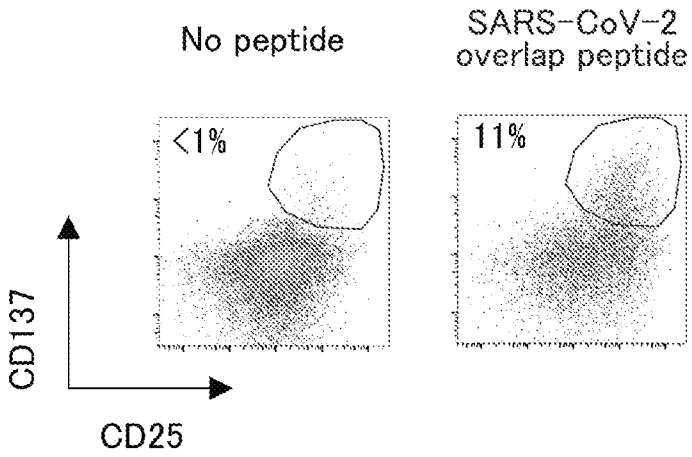
[請求項16] 生体試料と、ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体とを接触させることにより、前記生体試料における前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体に結合するＴ細胞を検出する検出工程を含み、
前記ＨＬＡ／抗原ペプチド複合体は、請求項１１に記載のＨＬＡ／抗原ペプチド複合体である、Ｔ細胞の検出方法。

[請求項17] 前記生体試料は、血液および末梢血単核球からなる群から選択される、請求項１６に記載の検出方法。

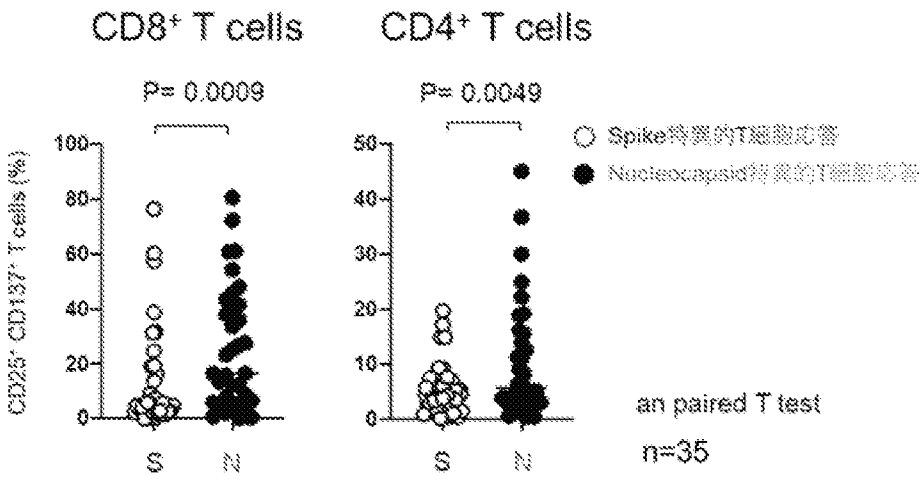
[図1]


10-14 days
S or N overlap peptides
COVID-19
PBMC
SARS-CoV-2

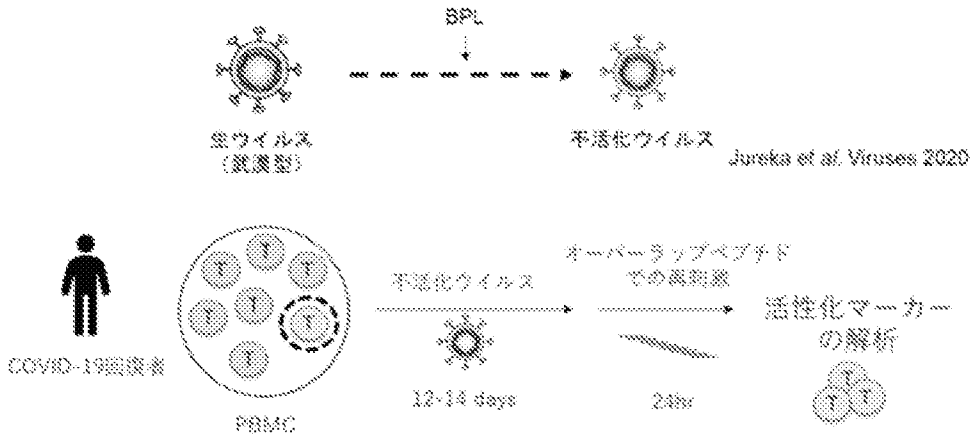
[図2]


No peptide
SARS-CoV-2
overlap peptide
<1%
11%
CD137
CD25

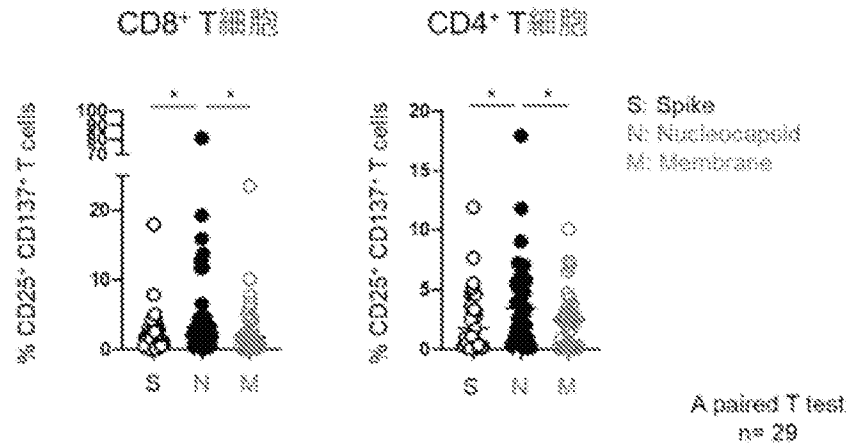
[図3]


CD8+ T cells
CD4+ T cells
P= 0.0009
P= 0.0049
CD25+ CD137+ T cells (%)
S
N
an paired T test
n=35

[図4]

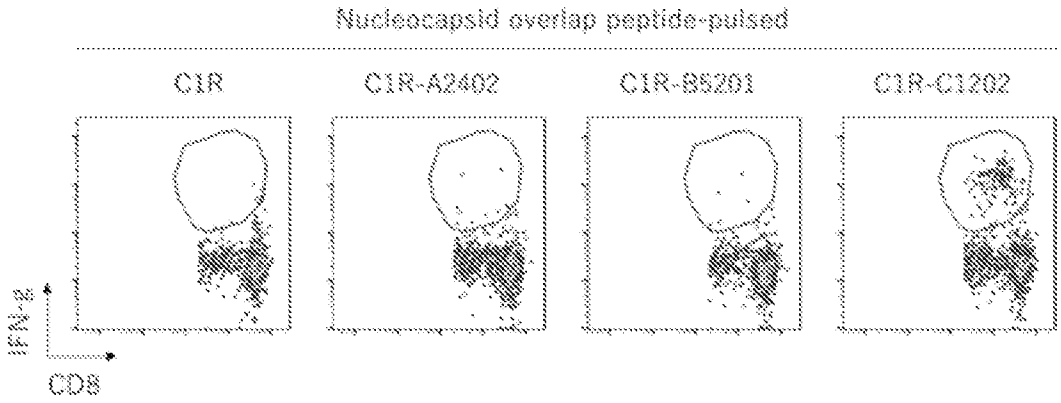

BPL
生ウイルス
（感染型）
不活化ウイルス
Jureka et al. Viruses 2020
COVID-19回復者
PBMC
不活化ウイルス
12-14 days
オーバーラップペプチド
での再刺激
24hr
活性化マーカー
の解析

[図5]

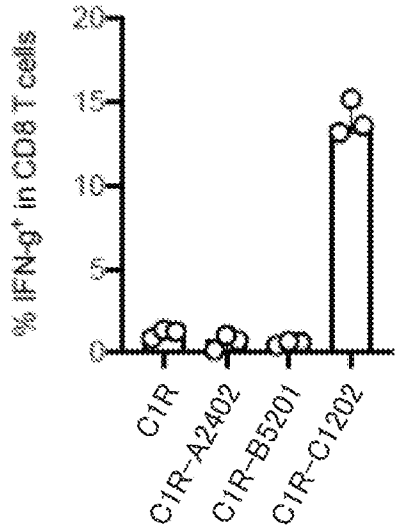

CD8+ T細胞
CD4+ T細胞
% CD25+ CD137+ T cells
S
N
M
S: Spike
N: Nucleocapsid
M: Membrane
A paired T test
n= 29

[図6]

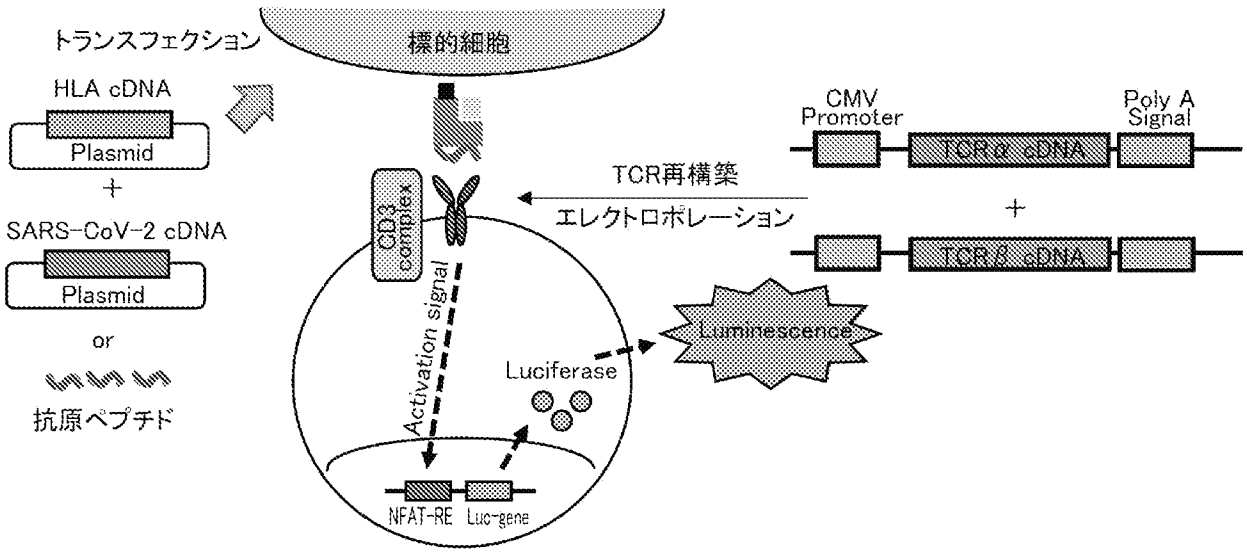
(A)


Nucleocapsid overlap peptide-pulsed
C1R
C1R-A2402
C1R-B5201
C1R-C1202
IFN-γ
CD8

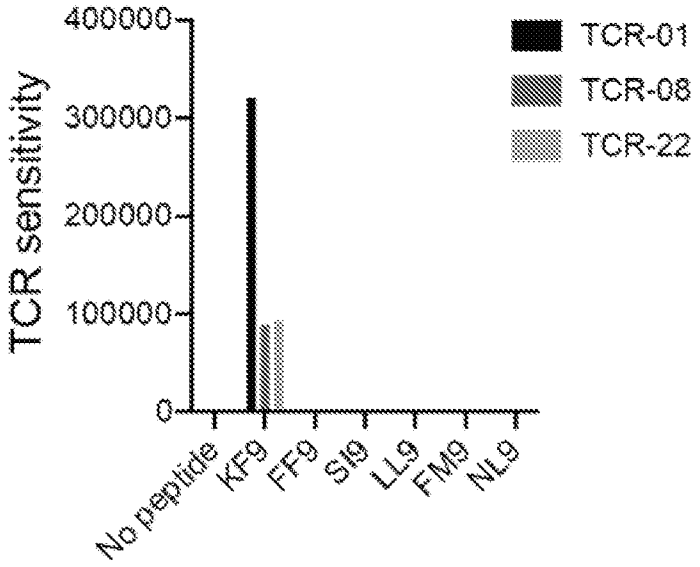
(B)


% IFN-γ+ in CD8 T cells
20
15
10
5
0
C1R
C1R-A2402
C1R-B5201
C1R-C1202

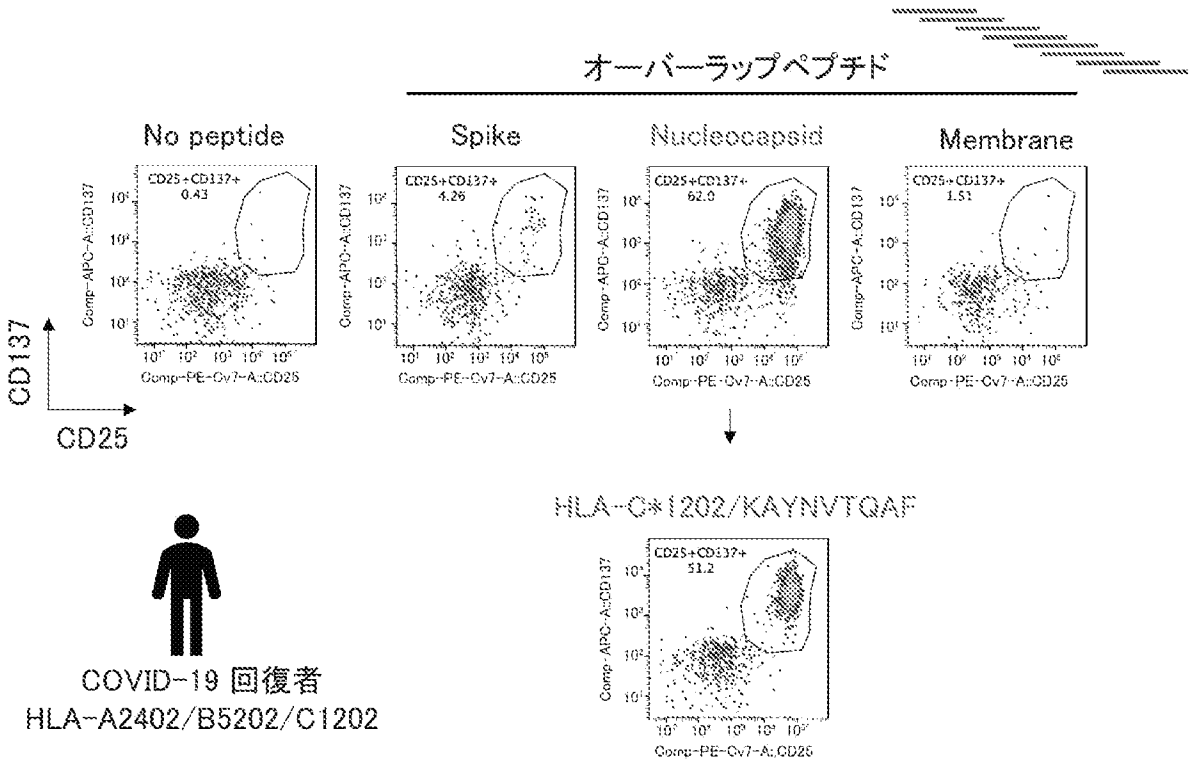
[図7]


トランスフェクション
標的細胞
HLA cDNA
Plasmid
+
SARS-CoV-2 cDNA
Plasmid
or
抗原ペプチド
CD3 complex
TCR再構築
エレクトロポレーション
CMV Promoter
Poly A Signal
TCRα cDNA
+
TCRβ cDNA
Luminescence
Luciferase
Activation signal
NFAT-RE
Luc-gene

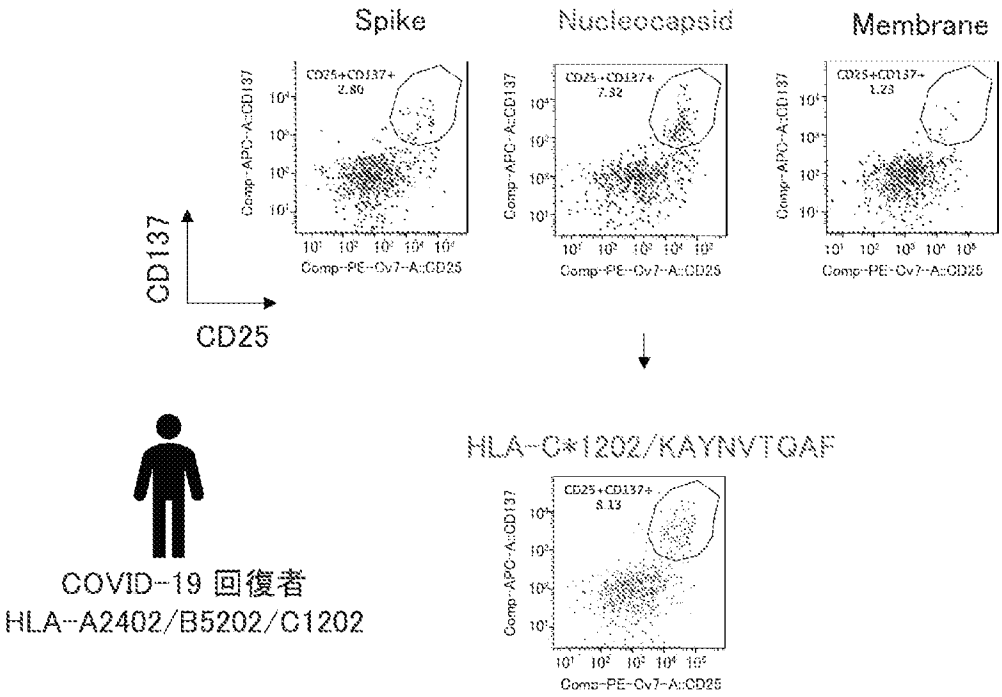
[図8]


TCR sensitivity
400000
300000
200000
100000
0
TCR-01
TCR-08
TCR-22
No peptide
KF9
FF9
SI9
LL9
FM9
NL9

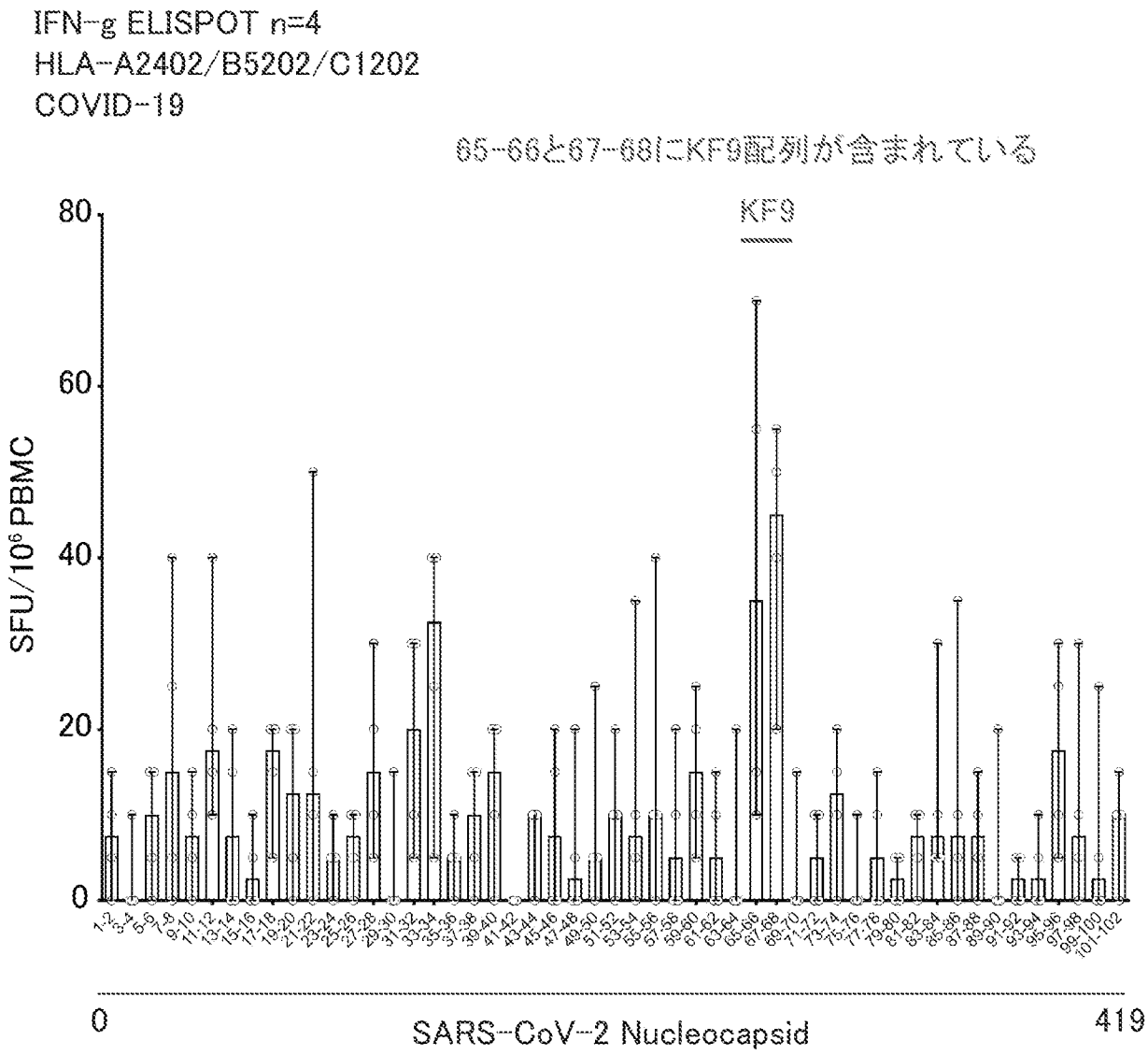
[図9]


オーバーラップペプチド
No peptide
Spike
Nucleocapsid
Membrane
CD25+CD137+
0.43
4.26
62.0
1.51
Comp-APC-A::CD137
Comp-PE-Cy7-A::CD25
CD137
CD25
COVID-19 回復者
HLA-A2402/B5202/C1202
HLA-C*1202/KAYNVTQAF
51.2

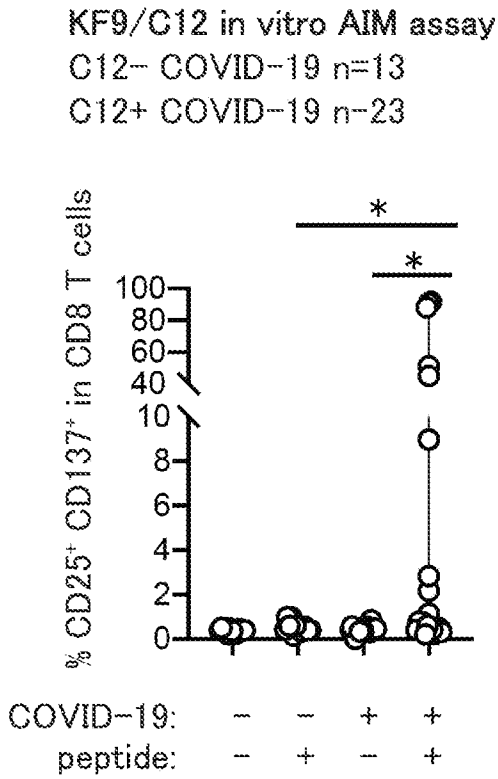
[図10]


Spike
Nucleocapsid
Membrane
CD137
CD25
COVID-19 回復者
HLA-A2402/B5202/C1202
HLA-C*1202/KAYNVTQAF

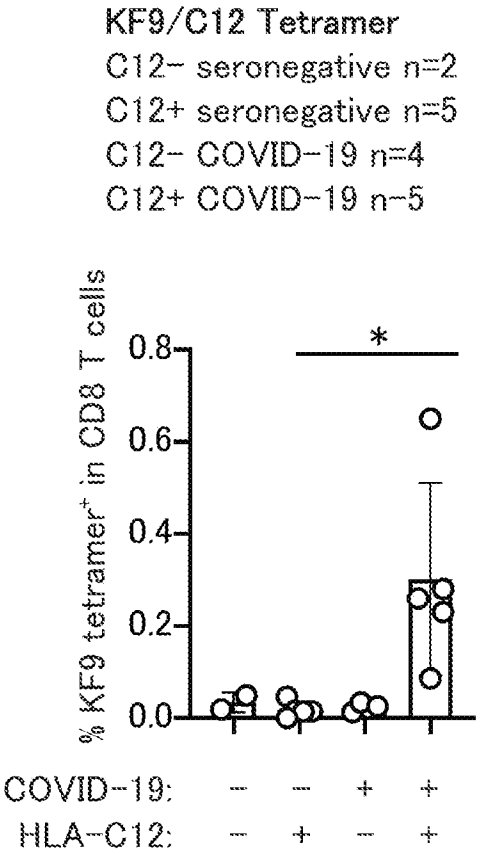
[図11]


IFN-g ELISPOT n=4
HLA-A2402/B5202/C1202
COVID-19
65-66と67-68にKF9配列が含まれている
KF9
SFU/10^6 PBMC
80
60
40
20
0
1-2
3-4
5-6
7-8
9-10
11-12
13-14
15-16
17-18
19-20
21-22
23-24
25-26
27-28
29-30
31-32
33-34
35-36
37-38
39-40
41-42
43-44
45-46
47-48
49-50
51-52
53-54
55-56
57-58
59-60
61-62
63-64
65-66
67-68
69-70
71-72
73-74
75-76
77-78
79-80
81-82
83-84
85-86
87-88
89-90
91-92
93-94
95-96
97-98
99-100
101-102
0
SARS-CoV-2 Nucleocapsid
419

[図12]

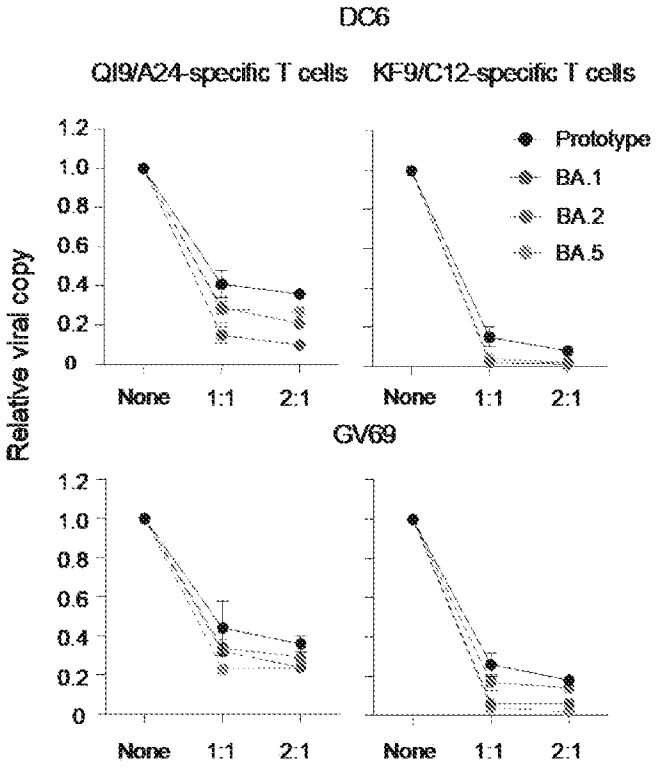

KF9/C12 in vitro AIM assay
C12− COVID−19 n=13
C12+ COVID−19 n−23
% CD25+ CD137+ in CD8 T cells
100
80
60
40
10
8
6
4
2
0
*
*
COVID−19: − − + +
peptide: − + − +

[図13]

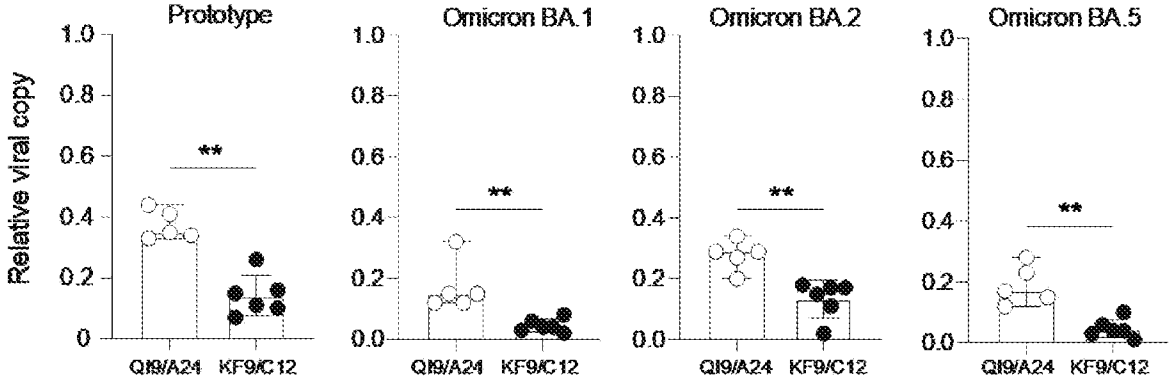

KF9/C12 Tetramer
C12− seronegative n=2
C12+ seronegative n=5
C12− COVID−19 n=4
C12+ COVID−19 n−5
% KF9 tetramer+ in CD8 T cells
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
COVID−19: − − + +
HLA−C12: − + − +

[図14]

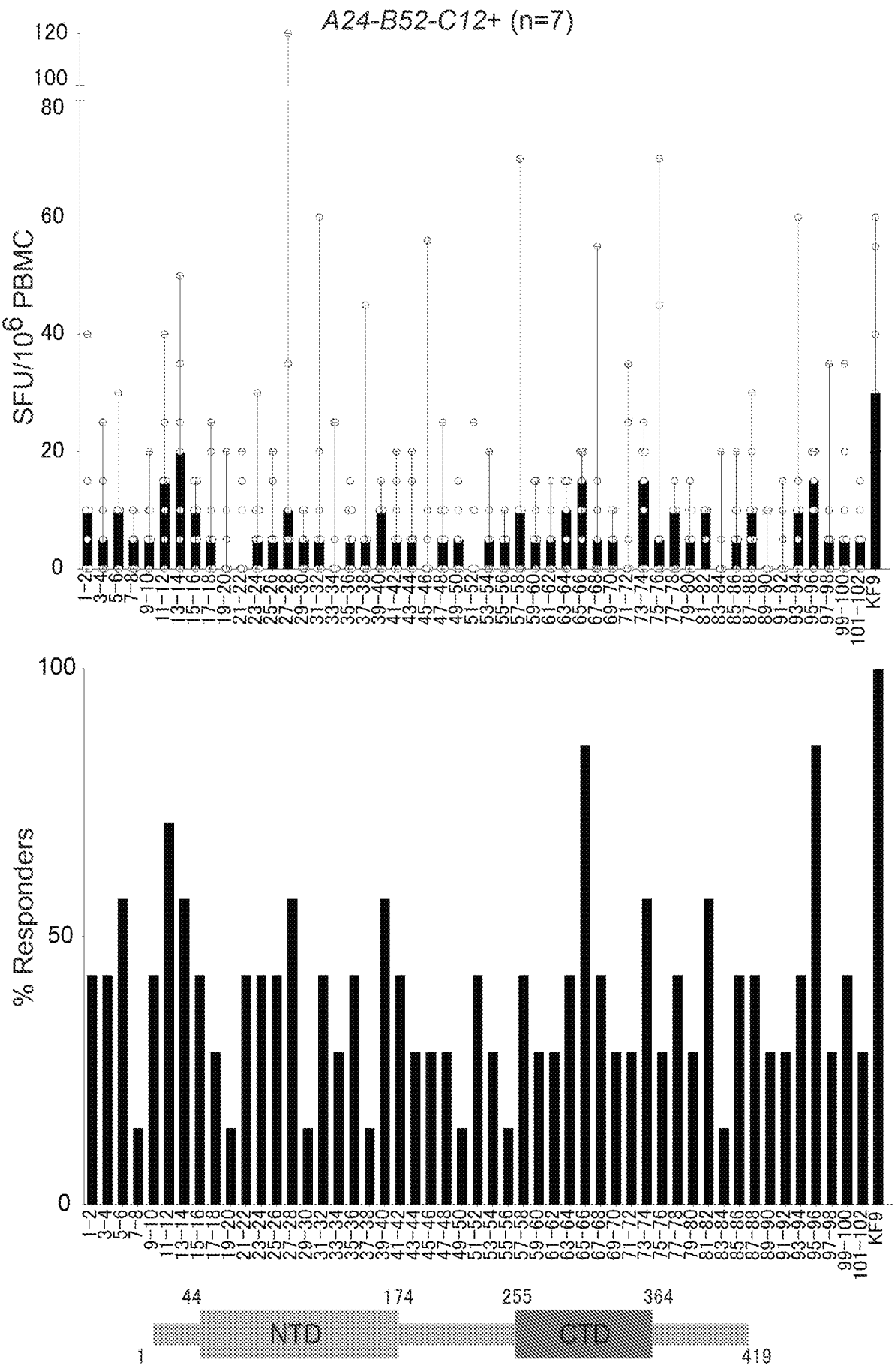
(A)


DC6
QI9/A24-specific T cells
KF9/C12-specific T cells
Relative viral copy
Prototype
BA.1
BA.2
BA.5
None
1:1
2:1
GV69

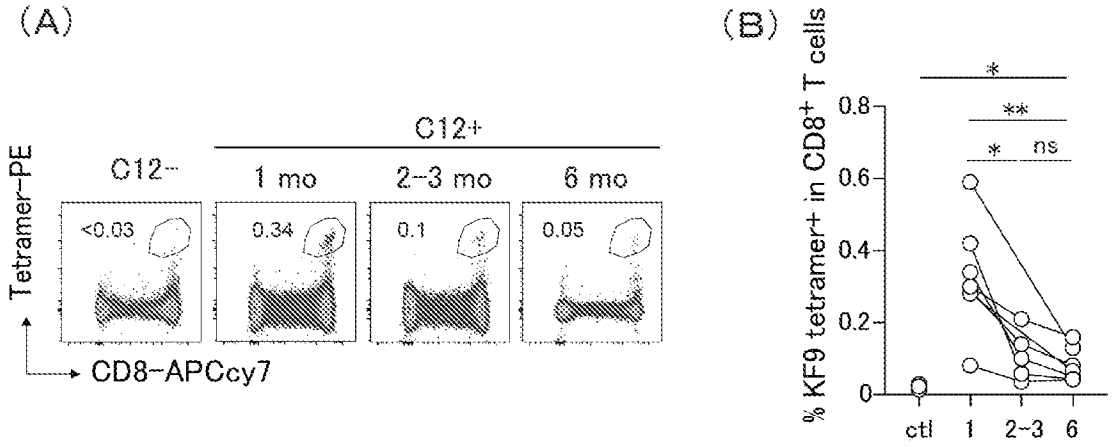
(B)


Prototype
Omicron BA.1
Omicron BA.2
Omicron BA.5
Relative viral copy
**
QI9/A24
KF9/C12

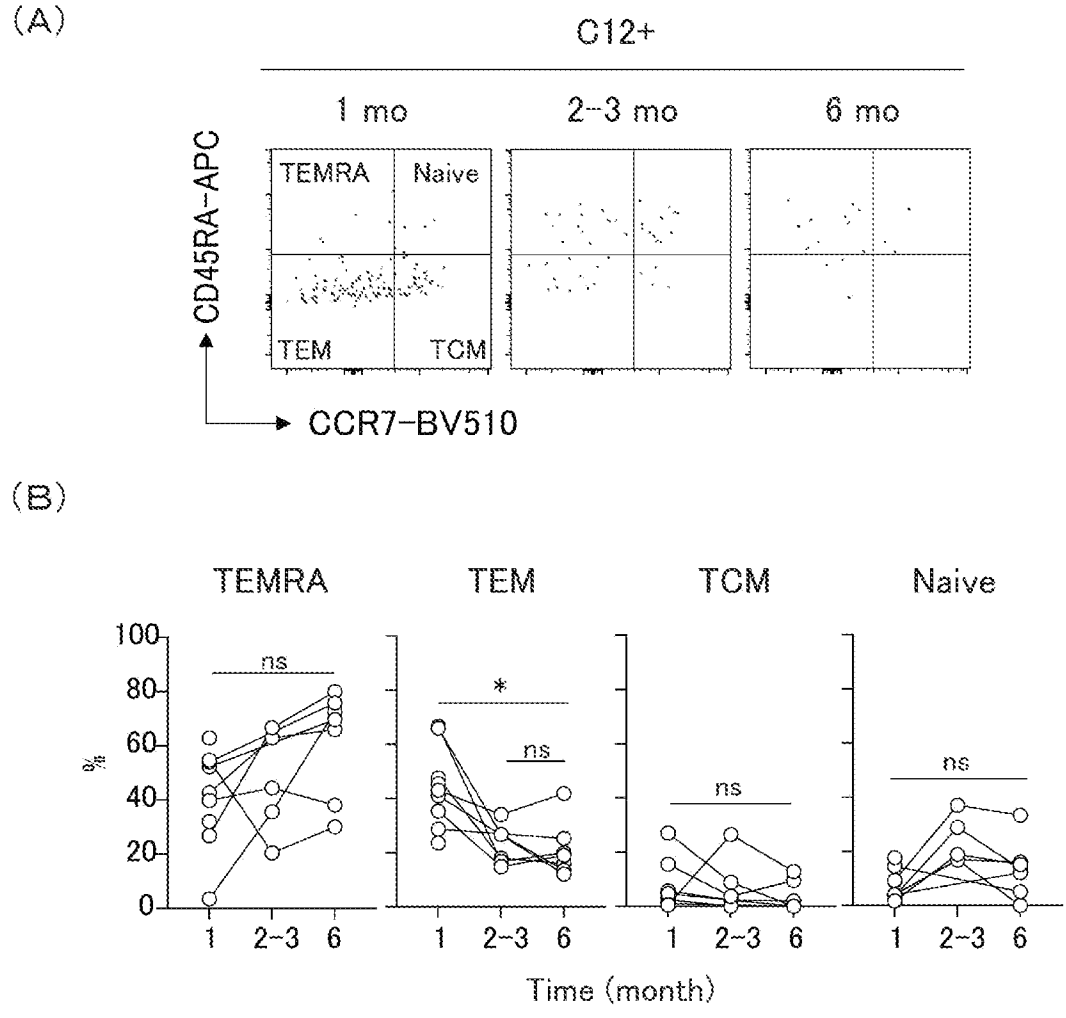
[図15]


A24-B52-C12+ (n=7)
SFU/10^6 PBMC
% Responders
1–2
3–4
5–6
7–8
9–10
11–12
13–14
15–16
17–18
19–20
21–22
23–24
25–26
27–28
29–30
31–32
33–34
35–36
37–38
39–40
41–42
43–44
45–46
47–48
49–50
51–52
53–54
55–56
57–58
59–60
61–62
63–64
65–66
67–68
69–70
71–72
73–74
75–76
77–78
79–80
81–82
83–84
85–86
87–88
89–90
91–92
93–94
95–96
97–98
99–100
101–102
KF9
44
174
255
364
NTD
CTD
1
419

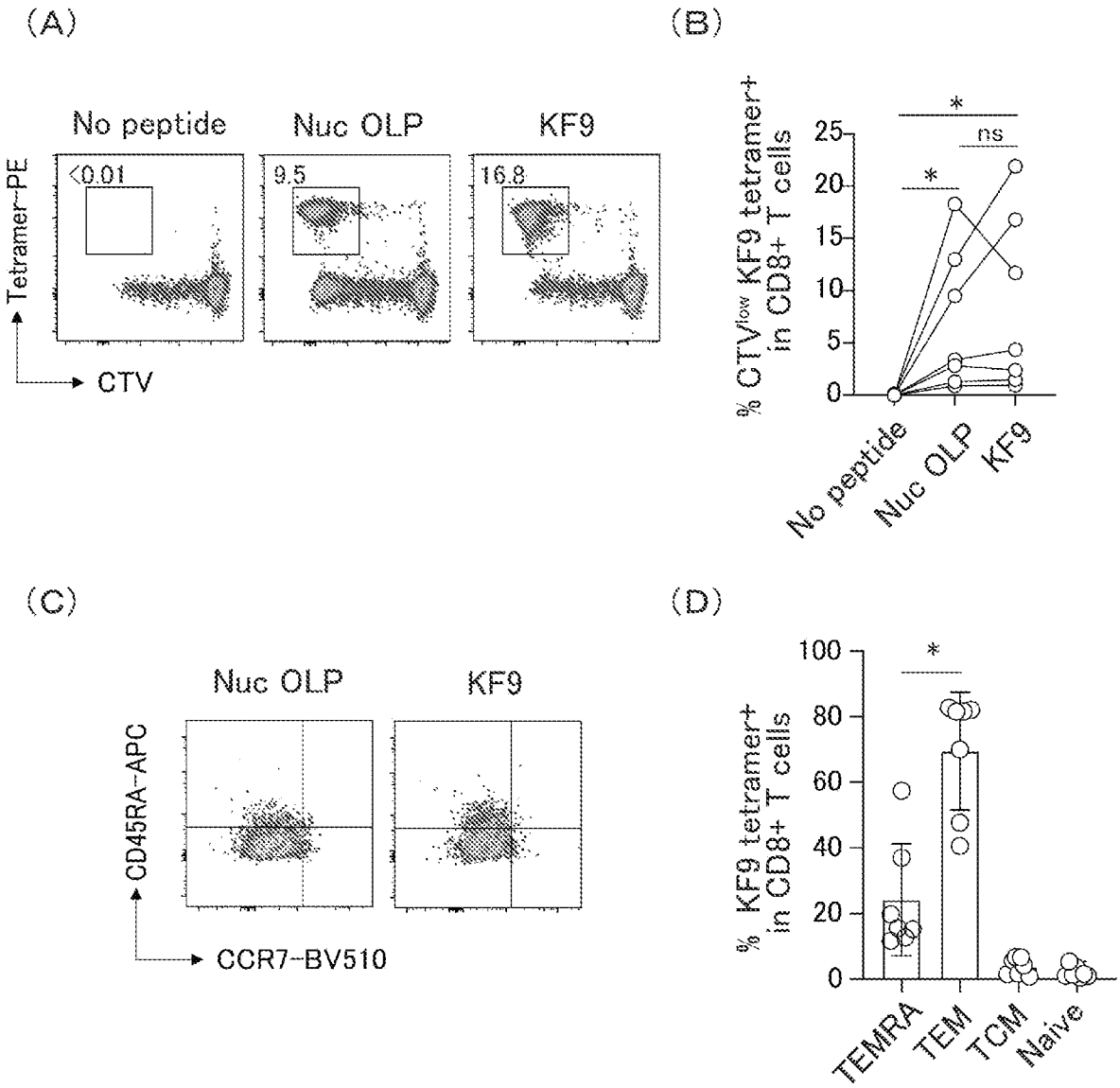
[図16]


(A)
C12+
C12−
1 mo
2-3 mo
6 mo
Tetramer-PE
<0.03
0.34
0.1
0.05
CD8-APCcy7
(B)
% KF9 tetramer+ in CD8+ T cells
0.8
0.6
0.4
0.2
0
ctl
1
2-3
6
*
**
*
ns

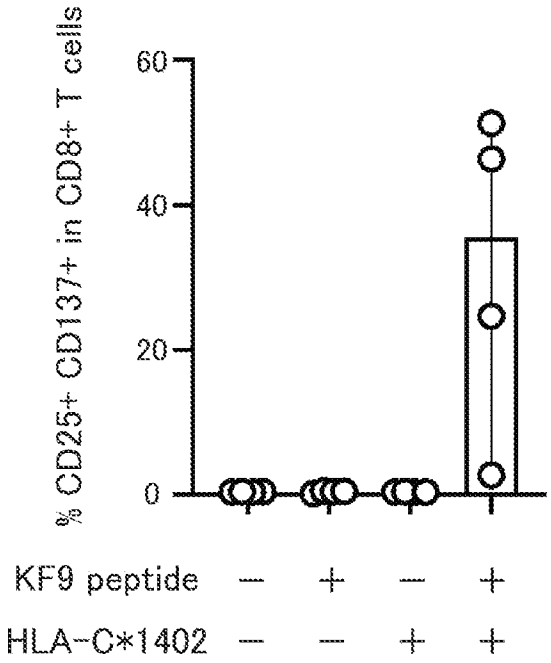
[図17]


(A)
C12+
1 mo
2-3 mo
6 mo
CD45RA-APC
TEMRA
Naive
TEM
TCM
CCR7-BV510
(B)
TEMRA
TEM
TCM
Naive
%
100
80
60
40
20
0
ns
*
ns
ns
ns
1
2-3
6
Time (month)

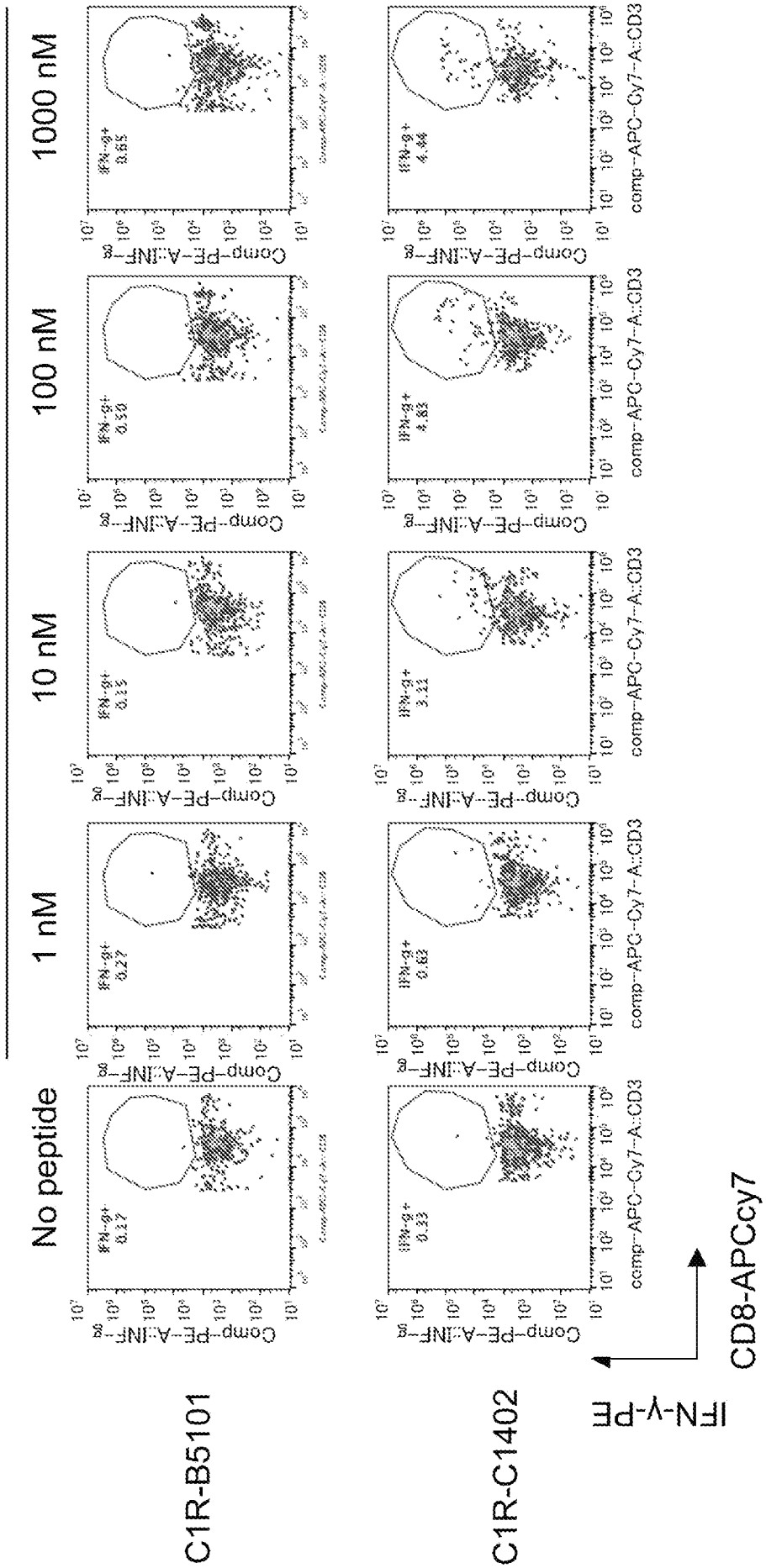
[図18]


(A)
No peptide
Nuc OLP
KF9
<0.01
9.5
16.8
Tetramer-PE
CTV
(B)
% CTV^low KF9 tetramer+ in CD8+ T cells
*
ns
*
No peptide
Nuc OLP
KF9
(C)
Nuc OLP
KF9
CD45RA-APC
CCR7-BV510
(D)
% KF9 tetramer+ in CD8+ T cells
*
TEMRA
TEM
TCM
Naive

[図19]


% CD25+ CD137+ in CD8+ T cells
KF9 peptide
HLA-C*1402

[図20]


KF9 peptide
No peptide
1 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
C1R-B5101
C1R-C1402
IFN-γ-PE
CD8-APCcy7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/037529

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 15/50(2006.01)i; ***A61K 38/16***(2006.01)i; ***A61K 39/00***(2006.01)i; ***A61K 39/395***(2006.01)i; ***A61P 31/14***(2006.01)i; ***A61P 37/04***(2006.01)i; ***A61P 43/00***(2006.01)i; ***C07K 14/165***(2006.01)i; ***C07K 14/74***(2006.01)i; ***C07K 19/00***(2006.01)i; ***C12N 15/63***(2006.01)i; ***C12Q 1/04***(2006.01)i

FI: C12N15/50 ZNA; C12N15/63 Z; C07K14/165; C07K14/74; C07K19/00; C12Q1/04; A61P37/04; A61K38/16; A61P43/00 107; A61K39/395 D; A61K39/395 N; A61P31/14; A61K39/00 H; A61K39/395 S

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)

C12N15/50; A61K38/16; A61K39/00; A61K39/395; A61P31/14; A61P37/04; A61P43/00; C07K14/165; C07K14/74; C07K19/00; C12N15/63; C12Q1/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/163371 A1 (LA JOLLA INSTITUTE FOR IMMUNOLOGY) 19 August 2021 (2021-08-19) claims, p. 66, table 3, p. 77, table 5	1-17
X	WO 2022/148455 A1 (THE HONG KONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 14 July 2022 (2022-07-14) claims, paragraph [0195], table 14, no. 6	1-3, 6-17
X	WO 2021/195108 A1 (CUE BIOPHARMA, INC.) 30 September 2021 (2021-09-30) claims, paragraph [0075], SEQ ID NO: 124	1-3, 6-17
X	AGARWAL A. et al., Predicting Epitope Candidates for SARS-CoV-2, Viruses, 21 August 2022, vol. 14, no. 8, 1837, DOI 10.3390/v14081837 Abstract, 1.Introduction, table 2, 4. Discussion	1-17

☑ 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	Date of mailing of the international search report
14 November 2023	**28 November 2023**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/037529

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GRIFONI, A. et al., A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2, Cell Host & Microbe, 2020, vol. 27, no. 4, p. 671-680.e2, DOI 10.1016/j.chom.2020.03.002 summary, table 5	1-17
X	FAST, E. et al., Potential T-cell and B-cell Epitopes of 2019-nCoV, bioRxiv, 2020, vol. 1-13, DOI 10.1101/2020.02.19.955484 abstract, tables 2, 3.5	1-4, 6-17
A	WO 2022/149549 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.) 14 July 2022 (2022-07-14) claims, examples 1-5	1-17
A	JP 2022-17865 A (SAITAMA MEDICAL UNIVERSITY) 26 January 2022 (2022-01-26) claims, test examples 1-6	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/037529

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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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:

"In the form of an Annex C/ST.25 text file" above should be understood as "in ST. 26 format".

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/037529

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2021/163371 A1	19 August 2021	(Family: none)	
WO 2022/148455 A1	14 July 2022	(Family: none)	
WO 2021/195108 A1	30 September 2021	(Family: none)	
WO 2022/149549 A1	14 July 2022	TW 202229310 A	
JP 2022-17865 A	26 January 2022	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/037529

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N 15/50(2006.01)i; A61K 38/16(2006.01)i; A61K 39/00(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i; A61P 37/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C07K 14/165(2006.01)i; C07K 14/74(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i; C12Q 1/04(2006.01)i
FI: C12N15/50 ZNA; C12N15/63 Z; C07K14/165; C07K14/74; C07K19/00; C12Q1/04; A61P37/04; A61K38/16; A61P43/00 107; A61K39/395 D; A61K39/395 N; A61P31/14; A61K39/00 H; A61K39/395 S

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N15/50; A61K38/16; A61K39/00; A61K39/395; A61P31/14; A61P37/04; A61P43/00; C07K14/165; C07K14/74; C07K19/00; C12N15/63; C12Q1/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２３年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２３年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２３年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	WO 2021/163371 A1 (LA JOLLA INSTITUTE FOR IMMUNOLOGY) 19.08.2021 (2021-08-19) CLAIMS, p.66, Table 3, p.77 Table 5	１－１７
X	WO 2022/148455 A1 (THE HONG KONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 14.07.2022 (2022-07-14) CLAIMS, [0195], Table 14. no.6	１－３，６－１７
X	WO 2021/195108 A1 (CUE BIOPHARMA, INC.) 30.09.2021 (2021-09-30) CLAIMS, [0075], SEQ ID NO:124	１－３，６－１７
X	AGARWAL A. et al., Predicting Epitope Candidates for SARS-CoV-2, Viruses, 2022.08.21, Vol.14, No.8, 1837, DOI 10.3390/v14081837 Abstract, 1.Introduction, Table 2, 4. Discussion	１－１７

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
14.11.2023	28.11.2023

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
上條　のぶよ 4B 9454
電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	GRIFONI A. et al., A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2, Cell Host & Microbe, 2020, Vol.27, No.4, p.671-680.e2, DOI 10.1016/j.chom.2020.03.002 Summary, Table 5	１－１７
X	FAST E. et al., Potential T-cell and B-cell Epitopes of 2019-nCoV, bioRxiv, 2020, Vol.1-13, DOI 10.1101/2020.02.19.955484 Abstract, Table 2, 3.5	１－４，６－１７
A	WO 2022/149549 A1（オンコセラピー・サイエンス株式会社）14.07.2022（2022-07-14） 特許請求の範囲、実施例１～５	１－１７
A	JP 2022-17865 A（学校法人 埼玉医科大学）26.01.2022（2022-01-26） 特許請求の範囲、試験例１～６	１－１７

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/037529

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
　☑ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式

b. ☐ 国際出願とともに、ＰＣＴ規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表

c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
　☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(ＰＣＴ規則13の3.1(a))
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式（ＰＣＴ規則13の3.1(b)及びＰＣＴ実施細則第713号）

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

上記「附属書 C/ST.25 テキストファイル形式」は「ST.26 形式」と読み替える。

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2023/037529

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2021/163371 A1	19.08.2021	（ファミリーなし）	
WO 2022/148455 A1	14.07.2022	（ファミリーなし）	
WO 2021/195108 A1	30.09.2021	（ファミリーなし）	
WO 2022/149549 A1	14.07.2022	TW 202229310 A	
JP 2022-17865 A	26.01.2022	（ファミリーなし）	