

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-511756
(P2025-511756A)

(43)公表日 令和7年4月16日(2025.4.16)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/50 (2006.01)	C 1 2 N	15/50	Z N A	4 C 0 7 6
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 5
C 0 7 K	14/165 (2006.01)	C 0 7 K	14/165		4 C 0 8 6
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 8 7
C 1 2 N	15/83 (2006.01)	C 1 2 N	15/83	Z	4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求
				(全155頁)	最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-559211(P2024-559211)	(71)出願人	523459789		
(86)(22)出願日	令和5年4月7日(2023.4.7)		フラッグシップ パイオニアリング イノ		
(85)翻訳文提出日	令和6年10月4日(2024.10.4)		ベーションズ セブン, エルエルシー		
(86)国際出願番号	PCT/US2023/017945		アメリカ合衆国, マサチューセッツ 0		
(87)国際公開番号	WO2023/196634		2 1 4 2 ケンブリッジ, ケンブリッジ		
(87)国際公開日	令和5年10月12日(2023.10.12)		パークウェイ 5 5, スイート 8 0 0		
(31)優先権主張番号	63/362,710		イー		
(32)優先日	令和4年4月8日(2022.4.8)	(74)代理人	100078282		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 山本 秀策		
(31)優先権主張番号	63/476,310	(74)代理人	100113413		
(32)優先日	令和4年12月20日(2022.12.20)		弁理士 森下 夏樹		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100181674		
			弁理士 飯田 貴敏		
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ	(74)代理人	100181641		
	最終頁に続く		弁理士 石川 大輔		
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 ワクチン及び関連する方法

(57)【要約】

本明細書では、アミノ酸置換の少なくとも1つのセットを含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド免疫原（並びにその免疫原性断片及び免疫原性バリエーション））、並びにそれらをコードする核酸分子が提供される。さらに、本明細書では、例えば、SARS-CoV-2感染症の予防、治療、及び／又は寛解における使用のためのそれらを含む組成物（例えば、医薬組成物）及びワクチンが提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子であって、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、表 2 に記載されるアミノ酸置換の少なくとも 1 つのセットを含む、核酸分子。

【請求項 2】

コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質受容体結合ドメイン（RBD）を含むか又はそれからなる、請求項 1 に記載の核酸分子。

【請求項 3】

コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、全長 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質を含むか又はそれからなる、請求項 1 又は 2 に記載の核酸分子。

【請求項 4】

コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、又は 1300 個のアミノ酸を含む、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 5】

コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、約 10～15、10～20、10～30、10～40、10～50、10～60、10～70、10～80、10～90、10～100、10～200、10～300、10～400、10～500、10～600、10～700、10～800、10～900、10～1000、10～1100、10～1200、又は 10～1300 個のアミノ酸を含む、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 6】

表 2 に記載されるアミノ酸置換の少なくとも 1 つのセット以外では、コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、配列番号 1～4 のいずれか 1 つに記載される連続したひと続きの少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、又は 1300 個のアミノ酸と少なくとも 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 7】

表 2 に記載されるアミノ酸置換の少なくとも 1 つのセット以外では、コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、配列番号 1～4 のいずれか 1 つに記載されるアミノ酸配列と少なくとも 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90

10

20

30

40

50

%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である、請求項1～6のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項8】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、表2に記載されるアミノ酸置換の複数のセットを含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項9】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも2、3、4、5、又は6個以上のセットを含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項10】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、表2に記載されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項11】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して、表2に記載されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項12】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））が、融合前状態で安定化される、請求項1～11のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項13】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、融合前状態で前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を安定化する、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも1個のアミノ酸変化を含む、請求項1～12のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項14】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、配列番号4に記載されるアミノ酸位置に対して付番するアミノ酸であるアミノ酸位置986でプロリン及び／又はアミノ酸位置987でプロリンを含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項15】

コードされた前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））が、1個以上の非天然のN-グリコシル化部位を含む、請求項1～14のい

10

20

30

40

50

ずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 16】

コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、配列番号 1～4 のいずれか 1 つに記載されるアミノ酸配列に対して 1 個以上の N-グリコシル化部位の付加を含む、請求項 1～15 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 17】

コードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質が、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）である、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の核酸分子。

10

【請求項 18】

前記核酸分子が、RNA 又は DNA である、請求項 1～17 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 19】

前記 RNA が、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）である、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 20】

前記核酸分子が、少なくとも 1 個の修飾されたヌクレオチドを含む、請求項 1～19 のいずれか一項に記載の核酸分子。

20

【請求項 21】

前記核酸分子が、N1-メチル-シュードウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニンを含む、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 22】

前記核酸分子が、異種 5'-非翻訳領域（UTR）、3'-UTR、又は 5'-UTR 及び 3'-UTR の両方を含む、請求項 1～21 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 23】

前記核酸分子が、ポリ（A）配列を含む、請求項 1～22 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 24】

前記核酸分子が、5' キャップ構造を含む、請求項 1～23 のいずれか一項に記載の核酸分子。

30

【請求項 25】

前記核酸分子のヌクレオチド配列が、コドン最適化されている、請求項 1～24 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 26】

前記核酸分子がさらに、異種ポリペプチド又はタンパク質をコードする、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 27】

前記核酸分子が、シグナルペプチドをコードする、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の核酸分子。

40

【請求項 28】

前記核酸分子が、同種又は異種シグナルペプチドをコードする、請求項 1～27 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 29】

前記核酸分子が、シグナルペプチドをコードしない、請求項 1～28 のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 30】

請求項 1～29 のいずれか一項に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 31】

50

前記ベクターが、非ウイルスベクター（例えば、プラスミド）又はウイルスベクターである、請求項 30 に記載のベクター。

【請求項 32】

異種部分（例えば、異種ポリペプチド又はタンパク質）に作動可能に連結された（例えば、直接的に又は間接的に（例えば、リンカーを介して））請求項 1～29 のいずれか一項に記載の核酸分子を含むコンジュゲート。

【請求項 33】

請求項 1～29 のいずれか一項に記載の核酸分子の少なくとも 1 種を含む組成物。

【請求項 34】

請求項 1～29 のいずれか一項に記載の複数の核酸分子を含み、前記複数の核酸分子の各々によってコードされるコードされた前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の各々のアミノ酸配列が、表 2 に記載されるアミノ酸置換の異なるセットを含む、請求項 33 に記載の組成物。

10

【請求項 35】

前記組成物が、表 2 に記載されるアミノ酸置換のセットを含まないアミノ酸配列を含む SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子を含む、請求項 33 又は 34 に記載の組成物。

【請求項 36】

20

SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））であって、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、表 2 に記載されるアミノ酸置換の少なくとも 1 つのセットを含む、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））。

【請求項 37】

前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）を含むか又はそれからなる、請求項 36 に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））。

30

【請求項 38】

前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、全長 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質を含むか又はそれからなる、請求項 36 又は 37 に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））。

40

【請求項 39】

前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列が、少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は 1200 個のアミノ酸を含む、請求項 36～38 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））。

50

【請求項 40】

前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、約 10～15、10～20、10～30、10～40、10～50、10～60、10～70、10～80、10～90、10～100、10～200、10～300、10～400、10～500、10～600、10～700、10～800、10～900、10～1000、10～1100、10～1200、又は 10～1300 個のアミノ酸を含む、請求項 36～39 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。 10

【請求項 41】

アミノ酸置換の前記少なくとも 1 つのセット以外では、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、配列番号 1～4 のいずれか 1 つに記載される連続したひと続きの少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は 1200 個のアミノ酸と少なくとも 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である、請求項 36～40 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。 20

【請求項 42】

アミノ酸置換の前記少なくとも 1 つのセット以外では、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、配列番号 1～4 のいずれか 1 つに記載されるアミノ酸配列と少なくとも 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である、請求項 36～41 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。 30

【請求項 43】

前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、表 2 に記載される複数のアミノ酸置換を含む、請求項 36～42 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。 40

【請求項 44】

前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、表 2 に記載されるアミノ酸置換の少なくとも 2、3、4、5、又は 6 個以上のセットを含む、請求項 36～43 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。 40

【請求項 45】

前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、表 2 に列挙されない 1 個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7 50

、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む、請求項36～44のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項46】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して、表2に列挙されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む、請求項36～45のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

10

【請求項47】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））が、融合前状態で安定化される、請求項36～46のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

20

【請求項48】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、融合前状態で前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））を安定化する、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも1個のアミノ酸変化を含む、請求項36～47のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

30

【請求項49】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、配列番号4に記載されるアミノ酸位置に対して付番するアミノ酸であるアミノ酸位置986でプロリン及び／又はアミノ酸位置987でプロリンを含む、請求項36～48のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項50】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））が、1個以上の非天然のN-グリコシル化部位を含む、請求項36～49のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

40

【請求項51】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））が、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して1個以上のN-グリコシル化部位の付加を含む、請求項36～50のいずれか一項に記載のSARS-Co

50

V-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項52】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、不活性なフューリン切断部位を含む、請求項36～51のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項53】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））のアミノ酸配列が、前記フューリン切断部位を不活性化する前記フューリン切断部位における少なくとも1個のアミノ酸変化を含む、請求項36～52のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項54】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））がさらに、異種タンパク質を含む、請求項36～53のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項55】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））が、シグナルペプチドを含む、請求項36～54のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項56】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））が、同種又は異種シグナルペプチドを含む、請求項36～55のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項57】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））が、シグナルペプチドを含まない、請求項36～56のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項58】

前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント）である、請求項36～57のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント））。

【請求項59】

請求項36～58のいずれか一項に記載の少なくとも1種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエント）の少なくとも1種）を含む組成物。

【請求項60】

前記組成物が、請求項 36～58 のいずれか一項に記載の複数の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、複数の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含み、前記複数の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、前記 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の各々のアミノ酸配列が、表 2 に記載されるアミノ酸置換の異なるセットを含む、請求項 59 に記載の組成物。

【請求項 61】

前記組成物が、表 2 に記載されるアミノ酸置換のセットを含まないアミノ酸配列を含む少なくとも 1 種の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含む、請求項 59 又は 60 に記載の組成物。

10

【請求項 62】

異種ポリペプチド又はタンパク質に作動可能に連結された（例えば、直接的に又は間接的に（例えば、リンカーを介して））請求項 36～58 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含む融合タンパク質。

【請求項 63】

異種部分に作動可能に連結された（例えば、直接的に又は間接的に（例えば、リンカーを介して））請求項 36～58 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含むコンジュゲート。

20

【請求項 64】

請求項 1～29 のいずれか一項に記載の核酸分子によってコードされる SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））。

【請求項 65】

請求項 36～58 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードする核酸分子。

30

【請求項 66】

請求項 1～29 又は 65 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 30～31 のいずれか一項に記載のベクター、請求項 33～35 又は 59～61 のいずれか一項に記載の組成物、請求項 36～58 又は 64 のいずれか一項に記載の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項 32 又は 63 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 62 に記載の融合タンパク質、請求項 71～77 のいずれか一項に記載のワクチン組成物、又は請求項 78～80 のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む担体。

40

【請求項 67】

前記担体が、脂質ナノ粒子（LNP）、リポソーム、リポプレックス、又はナノリポソームである、請求項 66 に記載の担体。

【請求項 68】

前記担体が、LNP である、請求項 67 に記載の担体。

【請求項 69】

前記 LNP が、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及び／又は PEG 脂質を含む、請求項 67 又は 68 に記載の担体。

【請求項 70】

前記 LNP が、80 nm～160 nm の間の平均粒径を有する、請求項 67～69 のい

50

ずれか一項に記載の担体。

【請求項 7 1】

請求項 1～2 9 又は 6 5 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 3 0～3 1 のいずれか一項に記載のベクター、請求項 3 3～3 5 又は 5 9～6 1 のいずれか一項に記載の組成物、請求項 3 6～5 8 又は 6 4 のいずれか一項に記載の S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項 7 1～7 7 のいずれか一項に記載のワクチン組成物、請求項 3 2 又は 6 3 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 6 2 に記載の融合タンパク質、請求項 6 6～7 0 のいずれか一項に記載の担体、又は請求項 7 8～8 0 のいずれか一項に記載の医薬組成物を含むワクチン組成物。

10

【請求項 7 2】

前記ワクチン組成物が、プライムワクチン組成物である、請求項 7 1 に記載のワクチン組成物。

【請求項 7 3】

前記ワクチン組成物が、ブーストワクチン組成物である、請求項 7 1 又は 7 2 に記載のワクチン組成物。

【請求項 7 4】

前記ワクチン組成物が、プライムワクチン組成物及びブーストワクチン組成物である、請求項 7 1～7 3 のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 7 5】

前記ワクチン組成物が、同種又は異種プライムブーストワクチンレジメンにおいてプライムワクチン組成物及び／又はブースターワクチン組成物として利用され得る、請求項 7 1～7 4 のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

20

【請求項 7 6】

脂質ナノ粒子中で製剤化される、表 2 に記載される少なくとも 1 個のアミノ酸置換を含む S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするメッセンジャーリボ核酸（mRNA）を含むワクチン組成物であって、以下の特徴：

（a）前記 LNP は、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及び PEG 脂質を含み、（b）前記 LNP は、80 nm～160 nm の間の平均粒径を有し、且つ（c）前記 mRNA は、（i）5' - キャップ構造；（i i）5' - UTR；（i i i）N1 - メチル - シュードウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニン；（i v）3' - UTR；並びに（v）ポリ - A 領域を含む

30

を有する、ワクチン組成物。

【請求項 7 7】

前記ワクチン組成物がさらに、アジュバントを含む、請求項 7 1～7 6 のいずれか一項に記載のワクチン組成物。

【請求項 7 8】

請求項 1～2 9 又は 6 5 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 3 0～3 1 のいずれか一項に記載のベクター、請求項 3 3～3 5 又は 5 9～6 1 のいずれか一項に記載の組成物、請求項 3 6～5 8 又は 6 4 のいずれか一項に記載の S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項 7 1～7 7 のいずれか一項に記載のワクチン組成物、請求項 3 2 又は 6 3 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 6 2 に記載の融合タンパク質、請求項 6 6～7 0 のいずれか一項に記載の担体、及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

40

【請求項 7 9】

脂質ナノ粒子中で製剤化される、表 2 に記載される少なくとも 1 個のアミノ酸置換を含む S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、S A R S S - C o V - 2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコード

50

するメッセンジャーリボ核酸（mRNA）を含む医薬組成物であって、以下の特徴：（a）前記LNPは、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及びPEG脂質を含み、（b）前記LNPは、80nm～160nmの間の平均粒径を有し、且つ（c）前記mRNAは、（i）5'-キャップ構造；（ii）5'-UTR；（iii）N1-メチルシユードウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニン；（iv）3'-UTR；並びに（v）ポリ-A領域を含むを有する、医薬組成物。

【請求項80】

前記医薬組成物がさらに、アジュバントを含む、請求項78～79のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項81】

請求項1～29又は65のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項30～31のいずれか一項に記載のベクター、請求項33～35又は59～61のいずれか一項に記載の組成物、請求項36～58又は64のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項71～77のいずれか一項に記載のワクチン組成物、請求項32又は63のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項62に記載の融合タンパク質、請求項66～70のいずれか一項に記載の担体、又は請求項78～80のいずれか一項に記載の医薬組成物を含むキット。

【請求項82】

前記核酸分子、ベクター、タンパク質（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物の使用のための指示書を含む、請求項81に記載のキット。

20

【請求項83】

核酸分子、ベクター、タンパク質（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物を、それを必要とする対象に送達する方法であって、前記対象に請求項1～29又は65のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項30～31のいずれか一項に記載のベクター、請求項36～58又は64のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項32又は63に記載のコンジュゲート、請求項62に記載の融合タンパク質、請求項66～70のいずれか一項に記載の担体、請求項33～35又は59～61のいずれか一項に記載の組成物、請求項71～77のいずれか一項に記載のワクチン組成物、又は請求項78～80のいずれか一項に記載の医薬組成物を投与して、それにより前記核酸分子、前記ベクター、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、前記コンジュゲート、前記融合タンパク質、前記担体、前記組成物、前記ワクチン組成物、又は前記医薬組成物を前記対象に送達することを含む方法。

30

【請求項84】

必要とする対象において免疫応答を誘導するか又は増強する方法であって、前記対象に請求項1～29又は65のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項30～31のいずれか一項に記載のベクター、請求項36～58又は64のいずれか一項に記載のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項32又は63に記載のコンジュゲート、請求項62に記載の融合タンパク質、請求項66～70のいずれか一項に記載の担体、請求項33～35又は59～61のいずれか一項に記載の組成物、請求項71～77のいずれか一項に記載のワクチン組成物、又は請求項78～80のいずれか一項に記載の医薬組成物を投与して、それにより前記対象の免疫応答を誘導するか又は増強することを含む方法。

40

50

【請求項 85】

必要とする対象において S A R S - C o V - 2 感染症を予防するか、寛解させるか、又は治療する方法であって、前記対象に請求項 1 ～ 29 又は 65 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 30 ～ 31 のいずれか一項に記載のベクター、請求項 36 ～ 58 又は 64 のいずれか一項に記載の S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項 32 又は 63 に記載のコンジュゲート、請求項 62 に記載の融合タンパク質、請求項 66 ～ 70 のいずれか一項に記載の担体、請求項 33 ～ 35 又は 59 ～ 61 のいずれか一項に記載の組成物、請求項 71 ～ 77 のいずれか一項に記載のワクチン組成物、又は請求項 78 ～ 80 のいずれか一項に記載の医薬組成物を投与して、それにより前記対象の前記 S A R S - C o V - 2 感染症を予防するか、寛解させるか、又は治療することを含む方法。

10

【請求項 86】

S A R S - C o V - 2 に対して対象にワクチン接種する方法であって、前記対象に請求項 1 ～ 29 又は 65 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 30 ～ 31 のいずれか一項に記載のベクター、請求項 36 ～ 58 又は 64 のいずれか一項に記載の S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、請求項 32 又は 63 に記載のコンジュゲート、請求項 62 に記載の融合タンパク質、請求項 66 ～ 70 のいずれか一項に記載の担体、請求項 33 ～ 35 又は 59 ～ 61 のいずれか一項に記載の組成物、請求項 71 ～ 77 のいずれか一項に記載のワクチン組成物、又は請求項 78 ～ 80 のいずれか一項に記載の医薬組成物を投与して、それにより S A R S - C o V - 2 に対して前記対象にワクチン接種することを含む方法。

20

【請求項 87】

S A R S - C o V - 2 に対して対象にワクチン接種する方法であって、前記対象に（a）請求項 36 ～ 58 又は 64 のいずれか一項に記載の S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はそのコンジュゲート若しくは融合タンパク質）をコードする m R N A 分子（例えば、本明細書に記載される m R N A 分子）、（b）前記 m R N A 分子を含むベクター、（c）前記 m R N A 分子又は前記ベクターを含む担体、（d）前記 m R N A 分子、前記ベクター、又は前記担体を含むワクチン組成物、又は（e）前記 m R N A 分子、前記ベクター、前記担体、又は前記ワクチン組成物を含む医薬組成物を投与して、それにより S A R S - C o V - 2 に対して前記対象にワクチン接種し、それにより S A R S - C o V - 2 に対して前記対象にワクチン接種することを含む方法。

30

【請求項 88】

S A R S - C o V - 2 に対して対象にワクチン接種する方法であって、前記対象に請求項 76 ～ 77 のいずれか一項に記載のワクチン組成物又は請求項 78 ～ 80 のいずれか一項に記載の医薬組成物を投与して、それにより S A R S - C o V - 2 に対して前記対象にワクチン接種することを含む方法。

40

【請求項 89】

前記核酸分子、前記ベクター、前記 S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば、前記 S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、前記コンジュゲート、前記融合タンパク質、前記担体、前記組成物、前記ワクチン組成物、又は前記医薬組成物が、前記対象に少なくとも 2 回投与される、請求項 83 ～ 88 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 90】

前記対象が、ヒトである、請求項 83 ～ 89 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 91】

前記核酸分子、前記ベクター、前記 S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質（例えば

50

、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、前記コンジュゲート、前記融合タンパク質、前記担体、前記組成物、前記ワクチン組成物、又は前記医薬組成物が、同種又は異種のプライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される、請求項83～90のいずれか一項に記載の方法。

【請求項92】

前記核酸分子、前記ベクター、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、前記コンジュゲート、前記融合タンパク質、前記担体、前記組成物、前記ワクチン組成物、又は前記医薬組成物が、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして投与される、請求項83～91のいずれか一項に記載の方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 関連出願

本出願は、各々の全内容が参照により本明細書に組み込まれる2022年4月8日に提出された米国特許出願第63／362,710号及び2022年12月20日に提出された米国特許出願第63／476,310号に対する優先権を主張する。

【0002】

20

2.

本開示は、本明細書に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセットを含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション）並びにそれらをコードする核酸分子に関する。本開示はさらに、それらを含む組成物（例えば、ワクチン組成物、医薬組成物）並びにそれらを作製する方法及び利用する方法に関する。

【背景技術】

【0003】

3.

30

コロナウイルスは、多種多様の哺乳動物及び鳥類の種に感染するエンベロープ型一本鎖プラス鎖RNAウイルスのファミリーである。ウイルスゲノムは、ウイルスヌクレオカプシドタンパク質で構成され且つ脂質エンベロープによって囲まれるカプシドにパッケージ化される。膜タンパク質、エンベロープ小膜タンパク質、ヘマグルチニン-エステラーゼ、及びスパイクタンパク質を含むいくつかのタンパク質が脂質エンベロープに組み込まれている。ヒトコロナウイルスは通常、呼吸器疾患を引き起こし、例えば、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（SARS-CoV-2）、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス1（SARS-CoV-1）、及び中東呼吸器症候群（MERS-CoV）を含む。

【0004】

2019年にヒトにおいて出現したSARS-CoV-2は、急速に広がり、進行中の世界的なパンデミックを引き起こした。SARS-CoV-2は、コロナウイルス疾患2019（COVID-19）の原因である。COVID-19は、継続中の公衆衛生の危機を引き起こし、全世界でCOVID-19に起因する数百万人の死者及び重篤な疾病を伴った。COVID-19に対する防護は、大部分において、SARS-CoV-2ワクチンの主要な標的であるSARS-CoV-2スパイクタンパク質に対して向けられる免疫応答によって媒介される。スパイクタンパク質は、宿主細胞の受容体アンジオテンシン変換酵素2（ACE2）に対する受容体結合ドメイン（RBD）の結合を介して、宿主細胞への結合及び侵入を媒介する。

40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

50

【0005】

4.

本明細書では、とりわけ、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション））、それらをコードする核酸分子、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション））又はそれらをコードする核酸分子を含む組成物（例えば、ワクチン組成物、医薬組成物）、例えば、SARS-CoV-2感染症を予防するか、寛解させるか、又は治療する方法、SARS-CoV-2感染症に対するワクチン接種の方法などを含む、それらを製造する方法、並びにそれらを利用する方法が提供される。

10

【0006】

一態様において、本明細書では、とりわけ、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子が提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセットを含む。

【0007】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質受容体結合ドメイン（RBD）を含むか又はそれからなる。

20

【0008】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質を含むか又はそれからなる。

【0009】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、又は1300個のアミノ酸を含む。

30

【0010】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、約10～15、10～20、10～30、10～40、10～50、10～60、10～70、10～80、10～90、10～100、10～200、10～300、10～400、10～500、10～600、10～700、10～800、10～900、10～1000、10～1100、10～1200、又は10～1300個のアミノ酸を含む。

40

【0011】

いくつかの実施形態では、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセット以外では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載される連続したひと続きの少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、100

50

00、1100、1200、又は1300個のアミノ酸と少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である。

【0012】

いくつかの実施形態では、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセット以外では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列と少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である。

10

【0013】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の複数のセットを含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも2、3、4、5、又は6個以上のセットを含む。

20

【0015】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む。

【0016】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して、表2に記載されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む。

30

【0017】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、融合前状態で安定化される。

40

【0018】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、融合前状態でSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を安定化する、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも1個のアミノ酸変化を含む。

【0019】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例

50

例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）のアミノ酸配列は、配列番号4に記載されるアミノ酸位置に対して付番するアミノ酸であるアミノ酸位置986でプロリン及び／又はアミノ酸位置987でプロリンを含む。

【0020】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、1個以上の非天然のN-グリコシル化部位を含む。

【0021】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して1個以上のN-グリコシル化部位の付加を含む。

10

【0022】

いくつかの実施形態では、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）である。

【0023】

いくつかの実施形態では、核酸分子は、RNA又はDNAである。いくつかの実施形態では、RNAは、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）である。

【0024】

いくつかの実施形態では、核酸分子は、少なくとも1個の修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、核酸分子は、N1-メチル-シュードウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニンを含む。

20

【0025】

いくつかの実施形態では、核酸分子は、異種の5'-非翻訳領域（UTR）、3'-UTR、又は5'-UTR及び3'-UTRの両方を含む。いくつかの実施形態では、核酸分子は、ポリ（A）配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸分子は、5'キャップ構造を含む。いくつかの実施形態では、核酸分子のヌクレオチド配列は、コドン最適化されている。

【0026】

いくつかの実施形態では、核酸分子はさらに、異種ポリペプチド又はタンパク質をコードする。

30

【0027】

いくつかの実施形態では、核酸分子は、シグナルペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、核酸分子は、同種又は異種シグナルペプチドをコードする。

【0028】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される核酸（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子）を含むベクターが提供される。いくつかの実施形態では、ベクターは、非ウイルスベクター（例えば、プラスミド）又はウイルスベクターである。

40

【0029】

一態様において、本明細書では、異種部分（例えば、異種ポリペプチド又はタンパク質）に作動可能に連結された（例えば、直接的に又は間接的に（例えば、リンカーを介して））本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子）を含むコンジュゲートが提供される。

【0030】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される少なくとも1個の核酸分子を含

50

む組成物が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載される複数の核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域をそれぞれが含む複数の核酸分子）を含み、複数の核酸分子の各々によってコードされるコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の各々のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の異なるセットを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、表2に記載されるアミノ酸置換のセットを含まないアミノ酸配列を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子を含む。

10

【0031】

一態様において、本明細書では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））が提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセットを含む。

【0032】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）を含むか又はそれからなる。

20

【0033】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質を含むか又はそれからなる。

【0034】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は1200個のアミノ酸を含む。

30

【0035】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、約10～15、10～20、10～30、10～40、10～50、10～60、10～70、10～80、10～90、10～100、10～200、10～300、10～400、10～500、10～600、10～700、10～800、10～900、10～1000、10～1100、10～1200、又は10～1300個のアミノ酸を含む。

40

【0036】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換の少なくとも1つのセット以外では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載される連続したひと続きの少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は1200個のアミノ酸と少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、

50

87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である。

【0037】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換の少なくとも1つのセット以外では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列と少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である。

10

【0038】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載される複数のアミノ酸置換を含む。

【0039】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも2、3、4、5、又は6個以上のセットを含む。

【0040】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に列挙されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む。

20

【0041】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して、表2に列挙されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個、又はそれ以上）であるが20%未満（例えば、15%未満、12%未満、10%未満、8%未満、5%未満）のアミノ酸変化（例えば、置換、付加、欠失など）を含む。

30

【0042】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、融合前状態で安定化される。

【0043】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、融合前状態でSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を安定化する、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも1個のアミノ酸変化を含む。

40

【0044】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号4に記載されるアミノ酸位置に対して付番するアミノ酸であるアミノ酸位置986でプロリン及び／又はアミノ酸位置987でプロ

50

リンを含む。

【0045】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、1個以上の非天然のN-グリコシル化部位を含む。

【0046】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号1～4のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して1個以上のN-グリコシル化部位の付加を含む。

10

【0047】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、不活性なフューリン切断部位を含む。

【0048】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、フューリン切断部位を不活性化するフューリン切断部位における少なくとも1個のアミノ酸変化を含む。

【0049】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））はさらに、異種タンパク質を含む。

20

【0050】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、同種又は異種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、シグナルペプチドを含まない。

30

【0051】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）である。

【0052】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される少なくとも1種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、少なくとも1種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセットを含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）を含む組成物が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載される複数のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、複数のSARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含み、複数のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の各々のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の異なるセットを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、表2に記載されるアミノ酸置換のセットを含まないアミノ酸配列を含む少なくとも1種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイク

40

50

タンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）を含む。

【0053】

一態様において、本明細書では、異種ポリペプチド又はタンパク質に作動可能に連結された（例えば、直接的に又は間接的に（例えば、リンカーを介して））本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセットを含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）を含む融合タンパク質が提供される。

10

【0054】

一態様において、本明細書では、異種部分に作動可能に連結された（例えば、直接的に又は間接的に（例えば、リンカーを介して））本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つのセットを含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）を含むコンジュゲートが提供される。

20

【0055】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される核酸分子によってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））が提供される。

【0056】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードする核酸分子が提供される。

【0057】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、又は本明細書に記載される医薬組成物を含む担体が提供される。いくつかの実施形態では、担体は、脂質ナノ粒子（LNP）、リポソーム、リポプレックス、又はナノリポソームである。いくつかの実施形態では、担体は、LNPである。いくつかの実施形態では、LNPは、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及び／又はPEG脂質を含む。いくつかの実施形態では、LNPは、80nm～160nmの間の平均粒径を有する。

30

【0058】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される核酸分子を含むワクチン組成物、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、本明細書に記載される担体、又は本明細書に記載される医薬組成物が記載される。

40

【0059】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライムワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、ブーストワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライムワクチン組成物及びブーストワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、同種又は異種プライムブーストワクチンレジメンにおいてプライムワクチン組成物及び／又はブースターワクチン組成物として

50

利用され得る。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物はさらに、アジュバントを含む。

【0060】

一態様において、本明細書では、脂質ナノ粒子中で製剤化される、表2に記載される少なくとも1個のアミノ酸置換を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするメッセンジャーリボ核酸（mRNA）を含むワクチン組成物が提供され、ワクチン組成物は、以下の特徴を有する：（a）LNPは、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及びPEG脂質を含み、（b）LNPは、80nm～160nmの間の平均粒径を有し、且つ（c）mRNAは、（i）5'-キャップ構造；（ii）5'-UTR；（iii）N1-メチル-シュドウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニン；（iv）3'-UTR；並びに（v）ポリ-A領域を含む。

10

【0061】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライムワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、ブーストワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライムワクチン組成物及びブーストワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、同種又は異種プライムブーストワクチンレジメンにおいてプライムワクチン組成物及び／又はブースターワクチン組成物として利用され得る。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物はさらに、アジュバントを含む。

20

【0062】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、本明細書に記載される担体、又は本明細書に記載されるワクチン組成物、及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。いくつかの実施形態では、医薬組成物はさらに、アジュバントを含む。

【0063】

一態様において、本明細書では、脂質ナノ粒子中で製剤化される、表2に記載される少なくとも1個のアミノ酸置換を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするメッセンジャーリボ核酸（mRNA）を含む医薬組成物が提供され、医薬組成物は、以下の特徴を有する：（a）LNPは、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及びPEG脂質を含み、（b）LNPは、80nm～160nmの間の平均粒径を有し、且つ（c）mRNAは、（i）5'-キャップ構造；（ii）5'-UTR；（iii）N1-メチル-シュドウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニン；（iv）3'-UTR；並びに（v）ポリ-A領域を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物はさらに、アジュバントを含む。

30

【0064】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、本明細書に記載される担体、本明細書に記載されるワクチン組成物、又は本明細書に記載される医薬組成物を含むキットが提供される。

40

【0065】

いくつかの実施形態では、キットは、核酸分子、ベクター、タンパク質（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物の使用のための指示書を含む。

50

【0066】

一態様において、本明細書では、核酸分子、ベクター、タンパク質（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物を、それを必要とする対象に送達する方法であって、対象に本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、本明細書に記載される担体、本明細書に記載されるワクチン組成物、又は本明細書に記載される医薬組成物を投与して、それにより核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物を対象に送達することを含む方法が記載される。

10

【0067】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0068】

いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象に少なくとも2回投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種のプライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして投与される。

20

【0069】

一態様において、本明細書では、必要とする対象において免疫応答を誘導するか又は増強する方法であって、対象に本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、本明細書に記載される担体、本明細書に記載されるワクチン組成物、又は本明細書に記載される医薬組成物を投与して、それにより対象の免疫応答を誘導するか又は増強することを含む方法が提供される。

30

【0070】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0071】

いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象に少なくとも2回投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種のプライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタ

40

50

ンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして投与される。

【0072】

一態様において、本明細書では、必要とする対象においてSARS-CoV-2感染症を予防するか、寛解させるか、又は治療する方法であって、対象に本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、本明細書に記載される担体、本明細書に記載されるワクチン組成物、又は本明細書に記載される医薬組成物を投与して、それにより対象のSARS-CoV-2感染症を予防するか、寛解させるか、又は治療することを含む方法が提供される。

10

【0073】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0074】

いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象に少なくとも2回投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種のプライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして投与される。

20

【0075】

一態様において、本明細書では、SARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種する方法であって、対象に本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される組成物、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、本明細書に記載されるワクチン組成物、本明細書に記載されるコンジュゲート、本明細書に記載される融合タンパク質、本明細書に記載される担体、本明細書に記載されるワクチン組成物、又は本明細書に記載される医薬組成物を投与して、それによりSARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種することを含む方法が提供される。

30

【0076】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0077】

いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象に少なくとも2回投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種のプライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、コンジ

40

50

ュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして投与される。

【0078】

一態様において、本明細書では、SARS-CoV-2 に対して対象にワクチン接種する方法であって、対象に (a) 本明細書に記載される SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)) (又はそのコンジュゲート若しくは融合タンパク質) をコードする mRNA 分子 (例えば、本明細書に記載される mRNA 分子)、(b) mRNA 分子を含むベクター、(c) mRNA 分子又はベクターを含む担体、(d) mRNA 分子、ベクター、又は担体を含むワクチン組成物、又は (e) mRNA 分子、ベクター、担体、又はワクチン組成物を含む医薬組成物を投与して、それにより SARS-CoV-2 に対して対象にワクチン接種し、それにより SARS-CoV-2 に対して対象にワクチン接種することを含む方法が提供される。

【0079】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0080】

いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象に少なくとも 2 回投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種のプライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして投与される。

【0081】

一態様において、本明細書では、SARS-CoV-2 に対して対象にワクチン接種する方法であって、対象に本明細書に記載されるワクチン組成物又は本明細書に記載される医薬組成物を投与して、それにより SARS-CoV-2 に対して対象にワクチン接種することを含む方法が提供される。

【0082】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0083】

いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象に少なくとも 2 回投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種のプライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。いくつかの実施形態では、核酸分子、ベクター、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))、コンジュゲート、融合タンパク質、担体、組成物、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして投与される。

【発明を実施するための形態】

【0084】

5.

SARS-CoV-2は、様々なアミノ酸変化、例えば、置換、欠失、付加を含む新規のバリエーションに進化し続けている。その変化の多くは、SARS-CoV-2ウイルスの宿主細胞への侵入に重要であるスパイクタンパク質のRBDにおいて見出される。SARS-CoV-2ワクチン及び既存の抗体療法の大部分は、スパイクタンパク質のRBDを標的化するため、これは、ワクチン誘導性免疫、感染誘導性免疫、又は既存の抗体療法を逃れるSARS-CoV-2バリエーションの進化のための潜在力を生じさせる。本発明者らは、とりわけ、例えば、ワクチン誘導性免疫に対するSARS-CoV-2の抵抗性に対抗し且つ／又は有望なSARS-CoV-2バリエーションである、SARS-CoV-2スパイクタンパク質における（例えば、RBDにおける）配列変化を同定した。したがって、少なくとも1つのそのような配列変化を含む新規のSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション））（又はそのようなSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション））をコードする核酸分子、例えば、mRNA）は、COVID-19に対するバリエーションに影響されない又はバリエーション抵抗性ワクチンのための良好な候補である。このような本開示は、とりわけ、SARS-CoV-2の1種以上のバリエーションに対する所望の免疫応答を誘導するための医薬組成物及びワクチンにおける使用のための、とりわけ、新規のSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原）を提供する。

10

20

【0085】

5.1 定義

本明細書で使用される項目見出しは、単に構成的な目的のためのものであり、記載される主題を限定すると解釈されるべきではない。

【0086】

別途定義されていない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、特許請求される主題が属する技術分野の当業者に一般に理解されている意味と同じ意味を有する。前述の一般的な説明及び以下の詳細な説明が、例示的且つ説明的なものに過ぎないこと、及び特許請求されるいずれかの主題を限定するものではないことを理解されたい。

30

【0087】

本出願において、単数形の使用は、別途具体的に記載されない限り、複数形を含む。例えば、本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用する場合、単数形の「a」、「an」及び「the」は、他に明確な断りがない限り、複数の対象を含む。さらに、用語「含む（including）」並びに「含む（include）」、「含む（includes）」、及び「含まれる（included）」などの他の形の使用は、限定するものではない。

【0088】

態様が「含む」という文言で本明細書に記載されている場合には常に、「からなる」及び「から本質的になる」という用語で記載されている他の類似の態様も提供されることが理解される。

40

【0089】

用語「及び／又は」は、本明細書で使用する場合、他のものを伴うか又は伴わない2つの明記される特徴又は構成要素のそれぞれの具体的な開示とみなされるべきである。したがって、「A及び／又はB」などの語句において使用される場合の用語「及び／又は」は、本明細書では、「A及びB」、「A又はB」、「A」（単独）、並びに「B」（単独）を含むことが意図される。同様に、「A、B、及び／又はC」などの語句において使用される場合の用語「及び／又は」は、以下の態様：A、B、及びC；A、B、又はC；A又

50

は C ; A 又は B ; B 又は C ; A 及び C ; A 及び B ; B 及び C ; A (単独) ; B (単独) ; 並びに C (単独) のそれぞれを包含することが意図される。

【 0 0 9 0 】

本明細書で使用する場合、どの濃度範囲、パーセンテージ範囲、比率範囲又は整数範囲も、別段の指示がない限り、列挙される範囲、及び適切な場合、その部分 (整数の 1 0 分の 1 及び 1 0 0 分の 1) 内の任意の整数の値を含むように理解されるべきである。

【 0 0 9 1 】

用語「約」又は「～から本質的に構成される」は、当業者によって決定されたとおりの特定の値又は組成の許容される誤差範囲内の値又は組成を指し、これは、その値又は組成が測定又は決定される方法、すなわち、測定系の限界に部分的に依存することになる。特定の値又は組成が明細書及び特許請求の範囲で提供されるとき、特に明記しない限り、「約」又は「～から本質的に構成される」の意味は、その特定の値又は組成に関する許容される誤差範囲内にあると仮定されるべきである。

【 0 0 9 2 】

タンパク質及び／又はポリペプチドが本明細書に記載される場合、タンパク質又はポリペプチドをコードする核酸分子 (例えば、RNA (例えば、mRNA) 又は DNA 核酸分子) もまた本明細書で提供されることが理解される。

【 0 0 9 3 】

タンパク質、ポリペプチド、核酸分子、ベクター、担体などが本明細書に記載される場合、タンパク質、ポリペプチド、核酸分子、ベクター、担体などの単離された形態もまた本明細書で提供されることが理解される。

【 0 0 9 4 】

タンパク質、ポリペプチド、核酸分子、ベクター、担体などが本明細書に記載される場合、タンパク質、ポリペプチド、核酸分子、ベクター、担体などの組換え形態もまた本明細書で提供されることが理解される。

【 0 0 9 5 】

ポリペプチド又はポリペプチドのセットが本明細書に記載される場合、それらの三次元構造に折り畳まれたポリペプチド又はポリペプチドのセットを含むタンパク質 (すなわち、三次又は四次構造) もまた本明細書で提供され、逆もまた同じである (すなわち、タンパク質が本明細書に記載される場合、タンパク質のアミノ酸配列を含むポリペプチドもまた本明細書で提供される) 。

【 0 0 9 6 】

本明細書で使用する場合、用語「アジュバント」は、対象に投与されるときに対象の免疫系の刺激を引き起こす物質を指す。

【 0 0 9 7 】

本明細書で使用する場合、用語「投与」は、当業者に知られる様々な方法及び送達系のいずれかを使用する対象への薬剤 (例えば、治療剤、ワクチン) (又は対象の体内で代謝されるか又は修飾されて (例えば、核酸分子の翻訳) インビボで薬剤を生成する薬剤の前駆体) の物理的な導入を指す。投与はまた、例えば、1 回、複数回、及び／又は 1 回以上の長期間にわたって実施され得る。

【 0 0 9 8 】

本明細書で使用する場合、用語「薬剤」は、任意の高分子又は低分子を説明するために一般的に使用される。例示的な部分としては、ポリペプチド、タンパク質、ペプチド、核酸分子 (例えば、DNA、RNA) 、小分子、炭水化物、脂質、合成ポリマー (例えば、PEG のポリマー) が挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 9 9 】

本明細書で使用する場合、核酸分子に関する用語「由来する」は、参照核酸分子 (例えば、天然に存在する核酸分子) 又はその断片と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する核酸分子を指す。ポリペプチド又はタンパク質に関する用語「由来する」は、参照ポリペプチド又はタンパク質 (例えば、天然に存在するポリペプチド又はタンパク質) のアミノ酸

10

20

30

40

50

配列と少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド又はタンパク質を指す。用語「由来する」は、本明細書で使用する場合、核酸分子、ポリペプチド、又はタンパク質を得るための任意の特定のプロセス又は方法を意味しない。例えば、核酸分子、ポリペプチド、又はタンパク質は、組換え生成され得るか又は化学合成され得る。

【0100】

本明細書で使用する場合、用語「疾患」は、生理機能を障害する任意の異常な状態を指す。この用語は、病因の性質にかかわらず生理機能が障害される任意の障害、疾病、異常、病態、不調、状態、又は症候群を包含するように広く使用される。疾患という用語は、感染症（例えば、ウイルス（例えば、SARS-CoV-2感染症）、細菌、真菌、原生動物感染症）を含む。

10

【0101】

用語「DNA」及び「ポリデオキシリボヌクレオチド」は、本明細書で互換的に使用され、ホスホジエステル結合を介して重合される複数のデオキシリボヌクレオチドを含む高分子を指す。デオキシリボヌクレオチドは、糖がデオキシリボースであるヌクレオチドである。

【0102】

本明細書で使用する場合、用語「Fc領域」は、N末端からC末端までCH3領域に作動可能に連結された少なくとも1つのCH2領域を含む免疫グロブリン(Ig)重鎖のC末端領域を指す。いくつかの実施形態では、Fc領域は、CH2領域のN末端に作動可能に連結されたIgヒンジ領域又はIgヒンジ領域の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、参照Fc領域に対して操作される。操作されたFc領域を有するタンパク質の追加の例は、Saunders 2019（全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるK. O. Saunders, “Conceptual Approaches to Modulating Antibody Effector Functions and Circulation Half-Life,” 2019, Frontiers in Immunology, V. 10, Art. 1296, pp. 1-20）において見出され得る。

20

【0103】

本明細書で使用する場合、SARS-CoV-2スパイクタンパク質に関する用語「全長」は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列が、参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、参照の天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質）と実質的に同じ数のアミノ酸を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質を指す。

30

【0104】

本明細書で使用する場合、用語「融合する」及びその文法的同義語は、少なくとも1つの第1のポリペプチド又はタンパク質の第2のポリペプチド又はタンパク質への作動可能な連結を指し、第1及び第2のポリペプチド又はタンパク質は、天然にはともに作動可能に連結されていない。例えば、第1及び第2のポリペプチド又はタンパク質は、異なるタンパク質に由来する。融合するという用語は、ペプチド結合を介する少なくとも2個のポリペプチド又はタンパク質の直接的な連結、及びリンカー（例えば、ペプチドリッカー）を介する間接的な連結の両方を包含する。

40

【0105】

本明細書で使用する場合、用語「融合タンパク質」及びその文法的同義語は、別のポリペプチドに作動可能に連結された少なくとも1つのポリペプチドを含むタンパク質を指し、第1及び第2のポリペプチドは異なり、天然にはともに作動可能に連結されていない。例えば、融合タンパク質の第1及び第2のポリペプチドはそれぞれ、異なるタンパク質に由来する。融合タンパク質の少なくとも2つのポリペプチドは、ペプチド結合を介して直接的に作動可能に連結され得るか；又はリンカー（例えば、ペプチドリッカー）を介して間接的に作動可能に連結され得る。したがって、例えば、融合ポリペプチドという用語は

50

、ポリペプチド A が、ペプチド結合を介してポリペプチド B に直接的に作動可能に連結される実施形態（ポリペプチド A－ポリペプチド B）、及びポリペプチド A が、ペプチドリンカーを介してポリペプチド B に作動可能に連結される実施形態（ポリペプチド A－ペプチドリンカー－ポリペプチド B）を包含する。

【0106】

本明細書で使用する場合、用語「半減期延長部分」は、別の部分（対象部分）（例えば、タンパク質）にコンジュゲートされるか又はそうでなければ作動可能に連結される（例えば、融合される）場合、対象（例えば、ヒト対象）に投与されるときにインビボで対象部分（例えば、タンパク質）の半減期を増加させる部分（例えば、小分子、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、炭水化物、脂質、合成ポリマー（例えば、PEG のポリマー）など）を指す。対象部分（例えば、タンパク質）の薬物動態特性は、当技術分野で知られるインビボモデルを利用して評価され得る。

10

【0107】

本明細書で使用する場合、用語「半減期延長タンパク質」又は「半減期延長ポリペプチド」は、別の部分（対象部分）（例えば、タンパク質）に作動可能に連結される場合、対象（例えば、ヒト対象）に投与されるときにインビボで対象部分（例えば、対象タンパク質）の半減期を増加させるポリペプチド又はタンパク質を指す。タンパク質の薬物動態特性は、当技術分野で知られるインビボモデルを利用して評価され得る。

【0108】

本明細書で使用する場合、用語「異種」は、第2の要素に関して第1の要素を説明するために使用されるとき、第1の要素及び第2の要素が記載されるとおりに配置されて天然に存在しないことを意味する。例えば、「異種部分」を含むポリペプチドは、天然でポリペプチドに結合されない部分（例えば、小分子、ポリペプチド、核酸分子、炭水化物、脂質、合成ポリマー（例えば、PEG のポリマー）など）に結合されているポリペプチドを意味する。

20

【0109】

本明細書で使用する場合、用語「異種シグナルペプチド」は、天然の対象ポリペプチド又はタンパク質に作動可能に連結されていないシグナルペプチドを指す。例えば、ヒト IL-12 に作動可能に連結されたヒト IL-2 由来のシグナルペプチドを含むポリペプチドに対する参照において、ヒト IL-2 シグナルペプチドは、異種シグナルペプチドを構成するであろう。

30

【0110】

本明細書で使用する場合、用語「同種シグナルペプチド」は、天然の対象ポリペプチド又はタンパク質に作動可能に連結されているシグナルペプチドを指す。例えば、ヒト IL-2 に作動可能に連結されたヒト IL-2 由来のシグナルペプチドを含むポリペプチドに対する参照において、ヒト IL-2 シグナルペプチドは、同種シグナルペプチドを構成するであろう。

【0111】

本明細書で使用する場合、用語「プライムブースト」は、少なくとも1つの初期ワクチン用量及び1つ以上のその後のワクチン用量を含むワクチンレジメンを指す。初期ワクチン用量は、プライムワクチン組成物を含み、1つ以上のその後のワクチン用量は、ブースト（又はブースター）ワクチン組成物として参照される。プライムブーストワクチンレジメンは、2つ以上のブースター（例えば、2、3、4、5、6、又はそれ以上など）を含み得る。

40

【0112】

本明細書で使用する場合、用語「同種プライムブースト」は、プライムブーストワクチンレジメンを指し、プライムワクチン組成物及びブースト（又はブースター）ワクチン組成物は、同じである。

【0113】

本明細書で使用する場合、用語「異種プライムブースト」は、プライムブーストワクチ

50

ンレジメンを指し、プライムワクチン組成物及びブースト（又はブースター）ワクチン組成物は、異なる（例えば、免疫原は異なり、免疫原の形態は異なり（例えば、核酸（例えば、mRNA）分子に基づくワクチンに対してタンパク質に基づくワクチン）、免疫原は、異なるベクター（例えば、プラスミド、ウイルスベクター）から発現され、免疫原を対象に送達する方法は、異なるなど）。

【0114】

本明細書で使用する場合、用語「免疫原」は、対象（例えば、ヒト対象）において免疫応答（例えば、適応免疫応答）を誘導することができる物質を指す。

【0115】

本明細書で使用する場合、用語「免疫原性断片」は、免疫原を保持する参照ポリペプチド又はタンパク質の断片を指す。

【0116】

本明細書で使用する場合、用語「免疫原性バリエーション」は、免疫原を保持する参照ポリペプチド又はタンパク質のバリエーションを指す。いくつかの実施形態では、ポリペプチド又はタンパク質は、参照ポリペプチド又はタンパク質のアミノ酸配列と比較して少なくとも1つであるが25%以下（例えば、20%以下、15%以下、12%以下、10%以下、8%以下）のアミノ酸変化（例えば、置換、欠失、付加）を含む。

【0117】

本明細書で使用する場合、用語「～と組み合わせて」は、2種（又は2種以上）の異なる薬剤又は治療が特定の疾患に関する既定の治療レジメンの一部として対象に投与されることを意味する。治療レジメンは、対象に対する別々の薬剤の効果が重複するように各薬剤の投与の用量及び周期性を定義する。いくつかの実施形態では、2種以上の薬剤の送達は、同時又は併用であり、薬剤は合剤にされてもよい。他の実施形態では、2種以上の薬剤は、合剤にされず、処方されたレジメン（例えば、プライム-ブーストワクチンレジメン）の一部として逐次的な様式で投与される。いくつかの実施形態では、組み合わせた2種以上の薬剤又は治療の投与によって、症状の低減、又は疾患に関連する他のパラメータの低減が、1種の薬剤若しくは治療が単独で送達されるか又は他のものが存在しない場合に観察されることになるものより大きくなる。2種の治療の効果は、部分的に相加的であり得るか、全体的に相加的であり得るか、又は相加的より大きくなり得る（例えば、相乗的）。各薬剤の逐次的又は実質的に同時の投与は、経口経路、静脈内経路、筋肉内経路、及び粘膜組織を介する直接的な吸収を含むがこれらに限定されない任意の適切な経路によって行われ得る。薬剤は、同じ経路又は異なる経路によって投与され得る。

【0118】

本明細書で使用する場合、薬剤（例えば、ポリペプチド、タンパク質、又は核酸分子）に関する用語「単離された」は、天然状態で会合している他の細胞構成成分を実質的に含まない薬剤（例えば、ポリペプチド、タンパク質、又は核酸分子）を指す。

【0119】

本明細書で使用する場合、用語「長期COVID」は一般的に、急性COVID-19後に継続するか又は発症する徴候及び症状を指すために使用される。長期COVIDはまた、遷延性Covid後症候群（PPCS）、COVID-19の急性後遺症（PASC）、長期間COVID、及び慢性COVIDとして当技術分野で参照される。長期COVIDという用語は、任意の臨床的に許容される定義を包含する。

【0120】

本明細書で使用する場合、核酸配列に関する用語「修飾」は、化学修飾、例えば、修飾された糖部分、修飾された核酸塩基、及び／又は修飾されたヌクレオチド間結合、又はその任意の組み合わせを含む少なくとも1個のヌクレオチドを含む核酸分子を指す。例示的なヌクレオチド修飾は、本明細書で提供され、例えば、§5.3（例えば、§5.3.2）を参照されたい。本開示のある特定の実施形態では、デオキシヌクレオチド（ヌクレオチドの天然に存在する形態として認められる）の包含は、RNA分子（例えば、mRNA分子）内に存在する場合、修飾されたヌクレオチドを構成するとみなされる。

10

20

30

40

50

【0121】

用語「核酸分子」及び「ポリヌクレオチド」は、本明細書で互換的に使用され、DNA又はRNAのポリマーを指す。核酸分子は、一本鎖又は二本鎖であってもよく；天然、非天然、又は改変されたヌクレオチドを含有してもよく；天然、非天然、又は未修飾核酸分子のヌクレオチド間で見出されるホスホジエステルの代わりに改変されたヌクレオチド間結合、例えば、ホスホロアミダート結合又はホスホロチオエート結合を含有してもよい。核酸分子としては、組換え手段、例えば、通常のクローニング技術及びポリメラーゼ連鎖反応などを使用する組換えライブラリー又は細胞ゲノムからの核酸分子のクローニング、並びに合成的な手段を含むが、これらに限定されない当技術分野で利用可能な任意の手段によって得られる全ての核酸分子が挙げられるが、これらに限定されない。当業者は、別段の記載がある場合を除いて、本明細書に記載される核酸配列が、代表的なDNA配列においてチミジン（T）を列挙することになるが、その配列がRNA（例えば、mRNA）を表す場合、チミジン（T）は、ウラシルに置換されることになることを理解するであろう。したがって、特定の配列識別番号によって特定されるDNAによりコードされるRNA核酸分子のいずれかはまた、DNAによってコードされる対応するRNA（例えば、mRNA）配列を含んでもよく、DNA配列のそれぞれのチミジン（T）は、ウラシル（U）で置換される。

10

【0122】

本明細書で使用する場合、用語「作動可能に連結された」は、機能的な関連性における2つの部分の結合を指す。例えば、ポリペプチドは、両方のポリペプチドが機能的であるように（例えば、本明細書に記載される融合タンパク質）それらがインフレイムで連結される（直接的に又はペプチドリinkerを介して間接的に）ときに別のポリペプチドに作動可能に連結される。又は例えば、転写調節ポリヌクレオチド、例えば、プロモーター、エンハンサー、又は他の発現制御エレメントは、それがタンパク質をコードするポリヌクレオチドの転写に影響を及ぼす場合、タンパク質をコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結される。用語「作動可能に連結される」はまた、部分、例えば、ポリヌクレオチド又はポリペプチドのコンジュゲーション（例えば、PEGポリマーのタンパク質へのコンジュゲーション）を指すことができる。

20

【0123】

本明細書で使用する場合、用語「ペプチド」は、ペプチド結合によって連結された少なくとも2個のアミノ酸のポリマーを指す。用語「ペプチド」は、アミノ酸のポリマー鎖の長さに制約がない。ペプチドとしてアミノ酸の短いポリマー（例えば、およそ2～50個のアミノ酸）を指すこと；及びポリペプチドとしてアミノ酸の長いポリマー（例えば、およそ50個を超えるアミノ酸）を指すことが当技術分野で一般的である。しかしながら、用語「ペプチド」及び「ポリペプチド」は、本明細書で互換的に使用される。

30

【0124】

2つの配列間（例えば、ペプチド又はタンパク質（アミノ酸配列）又は核酸配列）の間の「同一性パーセント」の決定は、数理的アルゴリズムを使用して達成され得る。2つの配列の比較のために利用される数理的アルゴリズムの特定の非限定的な例は、各々が全体として参照により本明細書に組み込まれるKarlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90:5873-5877のように変更されたKarlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87:2264-2268のアルゴリズムである。そのようなアルゴリズムは、全体として参照により本明細書に組み込まれるAltschul SF et al., (1990) J Mol Biol 215:403のNBLAST及びXBLASTプログラムに組み込まれる。BLASTヌクレオチド検索を、NBLASTヌクレオチドプログラムパラメーターセット、例えば、スコア=100、ワード長=12により実施して、本明細書に記載される核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得ることができる。BLASTタンパク質検索を、XBLASTプログラムパラメーターセット、例えば、スコア50、ワード長=3により実施して、本明細書に記載されるタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較

40

50

目的のギャップ付きアラインメントを得るために、ギャップ付きBLASTが、全体として参照により本明細書に組み込まれるAltschul SF et al., (1997) Nuc Acids Res 25:3389-3402に記載されるとおりに利用され得る。或いは、PSI-BLASTを使用して、分子(Id.)間の遠位の関連性を検出する反復検索を実施することができる。BLAST、ギャップ付きBLAST、及びPSI-Blastプログラムを利用するとき、それぞれのプログラム(例えば、XBLAST及びNBLAST)のデフォルトパラメーターが使用され得る(例えば、ワールドワイドウェブ、ncbi.nlm.nih.gov上のNational Center for Biotechnology Information (NCBI)を参照されたい)。配列の比較のために利用される数理的アルゴリズムの別の特定の非限定的な例は、全体として参照により本明細書に組み込まれるMyers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17のアルゴリズムである。そのようなアルゴリズムは、GCG配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム(バージョン2.0)に組み込まれる。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを利用する場合、PAM120重み残基表、12のギャップ長ペナルティー、及び4のギャップペナルティーが使用され得る。2つの配列間の同一性パーセントは、ギャップを許容するか又は許容せずに上記のものと同様の手法を使用して決定され得る。同一性パーセントを計算する際に、典型的には、正確な一致のみが計数される。

10

【0125】

本明細書で使用する場合、用語「医薬組成物」は、動物(例えば、ヒト対象)への投与に好適であり、治療剤及び薬学的に許容される担体又は希釈剤を含む組成物を指す。「薬学的に許容される担体又は希釈剤」は、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症を伴わずに、合理的な治療効果／リスク比に対応したヒト及び／又は非ヒト動物の組織との接触における使用のための物質を意味する。

20

【0126】

本明細書で使用する場合、用語「複数」は、2以上(例えば、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、9以上、又は10以上)を意味する。

【0127】

本明細書で使用する場合、用語「ポリ(A)配列」は、アデノシンヌクレオチド、典型的には直鎖状RNAの3'末端(又は環状RNA)に位置する最大約1000個のアデノシンヌクレオチドの配列を指す。いくつかの実施形態では、ポリ(A)配列は、本質的にホモポリマーであり、例えば、100個のアデノシンヌクレオチドの例えば、ポリ(A)配列は、本質的に、100個のヌクレオチドの長さを有する。他の実施形態では、ポリ(A)配列は、アデノシンヌクレオチドと異なる少なくとも1個のヌクレオチドによって中断され得る、例えば、100個のアデノシンヌクレオチドの例えば、ポリ(A)配列は、100個を超える長さのヌクレオチド(アデノシンヌクレオチドと異なる前記少なくとも1個のヌクレオチド(又は一続きのヌクレオチド)に加えて100個のアデノシンヌクレオチドを含む)を有し得る。本明細書で定義されるとおりの「ポリ(A)配列」は通常、RNAに関連するが、本発明の文脈において、この用語は同様に、DNA分子における対応する配列(例えば、「ポリ(T)配列」)に関連することが理解されなければならない。

30

40

【0128】

本明細書で使用する場合、ワクチンレジメンに関する用語「プライム-ブースト」は、対象への第1の免疫原の第1の投与(ワクチンプライム)及びその後のいずれかの時点でのワクチンブースター(例えば、第2の免疫原)の投与を含むワクチンレジメンを指す。いくつかの実施形態では、ワクチンブースターは、第2の免疫原を含む。本明細書に記載されるとおり、ワクチンプライムの第1の免疫原及びワクチンブースターの第2の免疫原は、同じであってもよいし、異なってもよく、同じ又は異なる経路などを介して投与されてもよい。

【0129】

50

「予防的」治療は、病態を発症するリスクを低減するための、疾患の徴候を示さないか又は早期の徴候のみを示す対象に施される治療である。

【0130】

本明細書で使用する場合、用語「タンパク質」は、その三次元構造に折り畳まれた1つ以上のペプチドを指す。

【0131】

本明細書で使用する場合、SARS-CoV-2スパイクタンパク質に関する用語「受容体結合ドメイン」又は「RBD」は、ACE2に結合するためにSARS-CoV-2スパイクタンパク質に必要な最小のアミノ酸配列を指す。例示的な参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質RBDのアミノ酸配列は、配列番号1に記載される。

10

【0132】

用語「RNA」及び「ポリリボヌクレオチド」は、本明細書で互換的に使用され、ホスホジエステル結合を介して重合される複数のリボヌクレオチドを含む高分子を指す。リボヌクレオチドは、糖がリボースであるヌクレオチドである。RNAは、修飾されたヌクレオチドを含有してもよく；且つ天然、非天然、又は未修飾核酸分子のヌクレオチド間で見出されるホスホジエステルの代わりに改変されたヌクレオチド間結合、例えば、ホスホロアミダート結合又はホスホロチオエート結合を含有してもよい。

【0133】

本明細書で使用する場合、用語「SARS-CoV-2スパイクタンパク質」は、宿主細胞受容体アンジオテンシン変換酵素2（ACE2）に対する結合を媒介するSARS-CoV-2タンパク質を指す。第1の例示的な参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号2に記載される。SARS-CoV-2スパイクタンパク質という用語は、天然に存在するバリエーション及び操作されたバリエーションを含む。本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド）は、その断片及びバリエーション（例えば、その免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション）を含む。

20

【0134】

本明細書で使用する場合、アミノ酸変化（例えば、置換）に関する用語「セット」は、2つ以上のアミノ酸変化（例えば、置換）を必要としない。例えば、本明細書の表2は、アミノ酸置換の「セット」を記載し、いくつかのセットは、1個のアミノ酸置換のみを有し、いくつかのセットは、2個以上のアミノ酸置換を有する。

30

【0135】

本明細書で使用する場合、用語「シグナルペプチド」又は「シグナル配列」は、ある特定のオルガネラ、細胞区画、又は細胞外輸出へのタンパク質の輸送又は局在化を誘導することができる配列（例えば、アミノ酸配列）を指す。この用語は、シグナルペプチド（シグナルペプチドのアミノ酸配列）及びシグナルペプチドをコードする核酸配列の両方を包含する。したがって、核酸分子の文脈におけるシグナルペプチドへの参照は、シグナルペプチドをコードする核酸配列を指す。

【0136】

本明細書で使用する場合、用語「対象」は、ヒト又は他の動物などの任意の動物を含む。実施形態において、対象は、脊椎動物（例えば、哺乳類、鳥類、魚類、爬虫類、又は両生類）である。実施形態において、対象は、ヒトである。実施形態において、方法の対象は、非ヒト哺乳類である。実施形態において、対象は、非ヒト霊長類（例えば、サル、類人猿）、有蹄動物（例えば、ウシ、水牛、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ラクダ、ラマ、アルパカ、シカ、ウマ、ロバ）、肉食動物（例えば、イヌ、ネコ）、齧歯類（例えば、ラット、マウス）、又はウサギ類（例えば、ウサギ）などの非ヒト哺乳類である。実施形態において、対象は、鳥類の分類群のキジ目のメンバー（例えば、ニワトリ、シチメンチョウ、キジ、ウズラ）、ガンカモ目（例えば、アヒル、ガチョウ）、古顎下綱（例えば、ダチョウ、エミュー）、ハト目（例えば、イエバト、ハト）、又はオウム目（例えば、オウム）などのトリである。

40

50

【0137】

薬剤（例えば、治療剤、ワクチン）の「治療有効量」は、単独で又は別の薬剤（例えば、治療剤、ワクチン）と組み合わせて使用されるとき、疾患（例えば、感染症）の発症に対して対象を保護し、疾患（例えば、感染症）の重症度を改善し、且つ／又は疾患（例えば、感染症）症状の重症度の低減、疾患（例えば、感染症）症状がない期間の頻度及び持続時間の増加、又は疾患（例えば、感染症）の苦痛に起因する機能障害若しくは能力障害の予防によって証明される疾患（例えば、感染症）の退行を促進する薬剤（例えば、治療剤、ワクチン）の量を指す。前述のいずれか（又はその任意の組み合わせ）を行うための薬剤（例えば、治療剤、ワクチン）の能力は、例えば、臨床試験中のヒト対象において、ヒトにおける有効性を予測する動物モデル系において、又はインビトロアッセイにおいて薬剤の活性をアッセイすることによって、当業者に知られる様々な方法を使用して評価され得る。

10

【0138】

本明細書で使用する場合、用語「翻訳可能なRNA」は、少なくとも1つのポリペプチド又はタンパク質をコードし且つインビトロで、インビボで、インサイチュで又はエキスピボでコードされたポリペプチド又はタンパク質を生成するために翻訳され得る任意のRNAを指す。翻訳可能なRNAは、ポリペプチド又はタンパク質をコードするmRNA又は環状RNAであり得る。

【0139】

本明細書で使用する場合、用語「治療する」、「治療すること」、「治療」などは、疾患（例えば、感染症）及び／又はそれと関連する症状を低減するか若しくは改善するか又は所望の薬理的及び／又は生理的效果を得ることを指す。排除されるものではないが、疾患（例えば、感染症）を治療することは、疾患（例えば、感染症）、又はそれと関連する症状が完全に除去されることを必要としないことが理解されるであろう。いくつかの実施形態では、その効果は、治療的であり、すなわち、限定されるものではないが、その効果は、疾患（例えば、感染症）及び／又は疾患（例えば、感染症）に起因し得る有害な症状を部分的に又は完全に低減するか、減らすか、抑制するか、軽減するか、緩和するか、その強度を低下させるか、又はそれを治癒させる。いくつかの実施形態では、その効果は、予防的であり、すなわち、その効果は、疾患（例えば、感染症）の発生又は再発を保護するか若しくは予防するか又は重度の疾患（例えば、重度の感染症、感染症に関連する重度の疾患）を予防する。

20

30

【0140】

本明細書で使用する場合、核酸分子に関する用語「変化」又は「バリエント」は、参照核酸分子と比較して少なくとも1個のヌクレオチドの置換、改変、逆位、付加、又は欠失を含む核酸分子を指す。本明細書で使用する場合、ポリペプチド又はタンパク質に関する用語「変化」又は「バリエント」は、参照ポリペプチド又はタンパク質と比較して少なくとも1個のアミノ酸残基の置換、改変、逆位、付加、又は欠失を含むポリペプチド又はタンパク質を指す。

【0141】

本明細書で使用する場合、用語「5' - 非翻訳領域」又は「5' - UTR」は、タンパク質又はポリペプチドに翻訳されないコード配列の5'（すなわち、「上流」）に位置する核酸分子の一部を指す。通常、5' - UTRは、転写開始部位で始まり、コード配列の開始コドンの前で終わる。5' - UTRは、調節エレメントとも呼ばれる遺伝子発現を制御するためのエレメントを含み得る。そのような調節エレメントは、例えば、リボソーム結合部位、miRNA結合部位などであり得る。5' - UTRは、例えば、5' - キャップ構造の酵素的又は転写後付加によって転写後修飾され得る。

40

【0142】

本明細書で使用する場合、用語「3' - 非翻訳領域」又は「3' - UTR」は、タンパク質又はポリペプチドに翻訳されないコード配列の3'（すなわち、「下流」）に位置する核酸分子の一部を指す。3' - UTRは、核酸配列のコード配列と（任意選択の）末端ポ

50

リ（A）配列の間に位置し得る。3' - UTRは、調節エレメントとも呼ばれる遺伝子発現を制御するためのエレメントを含み得る。そのような調節エレメントは、例えば、リボソーム結合部位、miRNA結合部位などであり得る。

【0143】

5.2 SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、免疫原）

SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、宿主細胞へのウイルス侵入を媒介する。スパイクタンパク質は、宿主細胞受容体への結合（S1サブユニット）及びウイルスと細胞膜の融合（S2サブユニット）に關与する2つの機能的サブユニットを含む。SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、融合前立体構造において非共有結合的に会合したままであるS1サブユニットとS2サブユニットの間の境界で切断される。遠位S1サブユニットは、RBDを含み、融合機構を含有する膜に繫留されたS2サブユニットの融合前状態の安定化に寄与する。RBDは、宿主細胞受容体ACE2への結合を媒介する。スパイクタンパク質は、融合ペプチドのすぐ上流に位置するいわゆるS2'部位で宿主プロテアーゼによって切断される。この切断は、広範な不可逆的立体構造変化を介して膜融合のためにタンパク質を活性化することが提案されている。（例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるWalls, Alexandra C et al. "Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein." Cell vol. 181, 2 (2020): 281-292. e6. doi:10.1016/j.cell.2020.02.058を参照されたい）。

10

20

【0144】

例示的な参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号2において提供される。シグナル配列は、枠で囲まれ（配列番号2のアミノ酸1～13）、S1サブユニットは、太字であり（配列番号2のアミノ酸14～682）、S2サブユニットは、イタリック体であり（配列番号2のアミノ酸683～1270）、N末端ドメインは、配列番号2のアミノ酸14～300を含み、膜貫通ドメイン及び細胞質内ドメインは、イタリック体で下線が引かれる（配列番号2のアミノ酸1209～1270）。例示的な参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質（天然のシグナル配列を有しない）の外部ドメインのアミノ酸配列は、配列番号3に記載される。S1サブユニットは、太字であり（配列番号3のアミノ酸1～669）、S2サブユニットは、イタリック体のアミノ酸であり（配列番号3のアミノ酸670～1195）、N末端ドメインは、配列番号3のアミノ酸1～287を含有する。例示的な参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質のRBDのアミノ酸配列は、配列番号1に記載される。未成熟SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1スパイク参照タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号4に記載される。シグナルペプチド（配列番号4のアミノ酸1～13は下線が引かれる）。

30

【0145】

40

50

【表 1 - 1】

表1. 参照SARS-CoV-2 アミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
参照SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の RBD	NITNLCPFDEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADY SVLYNLAPFFTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSF VIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIA WNSNKLD SKVSGNYNYLYRLFRKSNLKPFFERDIST EIIYQAGNKPCNGVAGENCYFPLRSYSFRPTYGVGH QPYRVVVL SFELLHAPATVCGPKKST	1
参照SARS-CoV-2 スパイクタンパク質	MFVFLVLLPLVSSQCVNLTRTQLPPAYTNSFTRG VYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHVISG TNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNIIRGWIFG TTLDSTQSLIVNNATNVVIKVCEQFCNDPFLD HKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFILMDLE GKQGNFKNLREFVFNIDGYFKIYSKHTPIIVEPE RDL PQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSY LTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENG TITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNF RVQPTESIVRFPNITNITNLCPFDEVFNATRFASV YAWNRRKRISNCVADYSVLYNLAPFFTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIAD YNYKLPDDFTGCVIAWNSNKLD SKVSGNYNYLYRL FRKSNLKPFFERDISTEIIYQAGNKPCNGVAGENCYF PLRSYSFRPTYGVGHQPYRVVVL SFELLHAPATV CGPKKSTKNKCVNFNFNGLKGTGVLTESNKKFLPFQ QFGRDIADTTDAVRDPQTL EILDITPCSFGGVSVI TPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTW RVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEYVNNSECDIPIGA GICASYQTQTKSHRRAR.SVASQSIIAYTMSLGAEN SVAYSNNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDC TMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLKRALTGI AVE QDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKYFGGFNFSQILPD PSKPSKRSEFIEDLLFNKVT LADAGFIKQYGDCLGD IAARDLICAQKFGLTVLPPLLTDemiaQYTSALL AGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQ NVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTASALGKL QDVVNHNAAQALNTLVKQLSSKFGAISSVLNDIFSR LDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEI RASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSEFP	2

【0 1 4 6】

【表 1 - 2】

	QSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHGDKAH FPREGVFVSNNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVS GNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKN HTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIV MVTIMLCCMTSCCSCCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEP VLKGVKLHYT	
参照SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 外部ドメイン (天然のシグナル 配列を欠く)	QCVNLTTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVL HSTQDLFLPFFSNVTWTFHVISGTNGTKRFDNPVLP FNDGVYFASIEKSNIIRGWIFGTTLDSTQSLIV NNATNVVIKVECFQFCNDPFLDHKNNKSWMESEFR VYSSANNCTFEYVSQPFLLMDLEGKQGNFKNLREFV FKNIDGYFKIYSKHTPIIVEPERDLPQGFSALEPL VDLPIGINITRFQTLALHRSYLTSGDSSSGWTAG AAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPL SETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPN ITNITNLCPFDEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVA DYSVLYNLAPFFTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYAD SFVIRGDEVROQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCV IAWNSNKLDKSVSGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDI STEIYQAGNKP CNGVAGFNCYFPLRSYSFRPTYGV GHQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTKNKCVNF NFNGLKGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAV RDPQTLIELDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVL YQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTR AGCLIGAEYVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTKSH RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNISIAIPT NFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECNS LLLQYGSFCTQLKRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVK QIYKTPPIKYFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDL LFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFK GLTVLPPLLTDemiaQYTSALLAGTITSGWTFGAG AALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQ FNSAIGKIQDSLSTASALGKLQDVVNHNAQALNT LVKQLSSKFGAISSVLNDFSRLDKVEAEVQIDRL ITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSE CVLGQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVT YVPAQEKNFTTAPAICHGDKAHFPREGVFVSNNGTH WFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISG INASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKY EQYIK	10 20 30
未成熟SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 スパイクタンパク質	MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTTRTQLPPAYTNSFTRG VYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHV SGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWI FGTTLDSTQSLIVNNATNVVIKVECFQFCNDPF	4

【表 1 - 3】

	LGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF LMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPI NLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALH RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYN ENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQT SNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASV YAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP KLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVROIAPGQTGKIAD YNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRL FRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYF PLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVC GPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFL PFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGV SVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLT PTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSECDIP IGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMKT VDCMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGI AVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQI LPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGEIKQYGDC LGDIAARDLICAQKFNGLTVLPLLLTDEMIAQYTS ALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIG VTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSSTASAL GKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDI LSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRA AEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDG KAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNT FVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKY FKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVA KNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLI AIVMVTIMLCCMTSCCCLKGCCSCGSCCKFDEDD SEPVLKGVKLHYT	
--	---	--

10

20

30

【0148】

本明細書では、とりわけ、少なくとも1個の本明細書に記載されるアミノ酸置換（例えば、表2に記載される少なくとも1個のアミノ酸置換）（例えば、本明細書に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1個のセット、例えば、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1個のセット）を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション））並びにそれらをコードする核酸分子が提供される。

40

【0149】

親アミノ酸及び置換されるアミノ酸を指定する例示的なアミノ酸置換が本明細書、例えば、表2で提供される一方で、本開示は、置換されるアミノ酸による任意の親アミノ酸の置換を含むことを理解すべきである。そのため、本明細書（例えば、表2）に記載される置換は、置換されるアミノ酸による任意の親アミノ酸の置換を含む。例えば、表2に記載されるアミノ酸置換I28Yの開示は、アミノ酸位置28のチロシンによる任意の親アミノ酸の置換（アミノ酸付番は配列番号1に対するものである）を含む。

【0150】

親アミノ酸及び置換されるアミノ酸を指定する例示的なアミノ酸置換が本明細書、例え

50

ば、表 2 で提供される一方で、本開示は、表 2 に記載される置換されるアミノ酸による任意の親アミノ酸の置換又は置換されるアミノ酸への生理化学的に類似したアミノ酸の置換を含むことを理解すべきである。当業者は、標準的な方法（例えば、各アミノ酸の生理化学的特性（例えば、電荷、極性など）に基づく）を利用して、どのアミノ酸が表 2 に記載される任意の所与の置換されるアミノ酸と生理化学的に類似するとみなされるかを決定することができる。

【 0 1 5 1 】

表 2 において利用されるアミノ酸付番は、配列番号 1 に記載されるアミノ酸配列に対するものである。当業者であれば、標準的な配列比較（例えば、標準的な配列アラインメントを含む）を通して、いずれかの S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質が表 2 に記載されるアミノ酸置換の 1 つ以上（例えば、置換のセットの 1 つ以上）を含有したかどうかを容易に決定できるであろう。

10

【 0 1 5 2 】

明確さのために、表 2 で利用されるアミノ酸付番が、参照スパイクタンパク質の一部（すなわち、R B D）を含む配列番号 1 に記載されるアミノ酸配列に対するものである一方で、本明細書で提供される S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエント））が、R B D より長いアミノ酸配列を含み得る（例えば、本明細書で提供される S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエント））は、全長 S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質を含み得る）ことは明らかである。

20

【 0 1 5 3 】

【表 2 - 1】

表2. SARS-CoV-2タンパク質及びポリペプチド(例えば、免疫原)のアミノ酸置換

SARS-CoV-2 RBDアミノ酸置換
I28Y
I28W
Y35F
Y39R
Y39A
Y39K
F44Q

30

【 0 1 5 4 】

40

50

【表 2 - 2】

F44S
F44G
F44R
F44K
F44A
F44H
F44D
F44P
F44E
F44T
F45N
F45R
F45G
F45M
F45S
F45A
F45P
F45D
F45E
F45K
F45T
F45Q
F45H
F45Y
F47W
P54W
N87L
N87H
N87M
N87Y
N87I
N87V
S116G
L125W
L125P
V153S
R163K
R163M
R163G
R163A
R163T
R163V
R163Q

10

20

30

40

【 0 1 5 5】

【表 2 - 3】

L188T
L188G
H189D
A190G
P197W
K199A
N1T/F45T
N1P/F45K
N1R/F45A
N1D/L122K
N1R/R163V
I2L/A18P
I2A/I28M
I2F/A33W
I2N/A33F
I2R/Y35L
I2V/V37F
I2G/V37F
I2H/Y39N
I2V/Y39K
I2S/F44S
I2S/F45T
I2P/F45D
I2T/F45A
I2A/F45H
I2P/F45E
I2K/T46H
I2R/I72V
I2L/N87I
I2N/N120E
I2S/L125P
I2T/R163Q
I2R/R163H
I2A/P197A
I2Q/P197L
T3P/A18P
T3S/Y35F
T3D/F45S
T3Q/F45T
T3S/S116E
N4T/P54K
L5P/N24K
L5F/I28Y

10

20

30

40

【 0 1 5 6 】

50

【表 2 - 4】

L5Y/Y35W
L5P/Y35W
L5H/V37F
L5P/V37W
L5A/V37F
L5W/F44S
L5S/F44S
L5M/F44T
L5Y/F45R
L5V/F45S
L5G/F45A
L5R/Q84A
L5P/N87I
L5R/V153S
L5R/P197A
P7T/I28Y
P7R/F44D
P7S/F47V
P7A/L122K
F8W/I28Y
D9N/F45T
D9F/F45A
D9S/F45Y
D9T/F45S
D9E/P197K
D9E/K199V
E10Q/V37F
V11I/F160R
N13S/F45A
A14D/F45A
T15H/I28Y
T15P/L38I
T15S/F45Q
T15P/P197L
R16Q/F44T
R16T/F47L
R16T/N87V
R16T/V153T
R16S/A154T
R16K/R163E
R16E/A190G
R16T/P197T
A18P/N30G

10

20

30

40

【 0 1 5 7 】

50

【表 2 - 5】

A18P/S36R
A18P/Y39V
A18P/L41S
A18S/F44G
A18G/F45G
A18P/Q84S
A18P/L122G
A18P/L122M
A18P/K128R
A18P/L188R
S19P/I28F
A22N/V37S
A22D/F45D
N24K/N40K
N24V/F45S
N24S/T46S
N24R/F47M
N24T/R163A
N24E/T201P
K26R/V37S
K26T/V37K
K26L/V37F
K26V/F44G
K26T/F44K
K26T/F44S
K26I/F45D
K26V/F45P
K26Q/F47M
K26R/T100M
K26V/I104F
K26R/V153K
R27L/V37F
R27I/Y39K
R27H/F44S
R27N/F44S
R27L/F44G
R27S/F44D
R27K/N87R
R27E/N130K
R27T/F134Y
R27Q/V153S
R27I/P197V
I28M/Y35M

10

20

30

40

【 0 1 5 8】

50

【表 2 - 6】

I28F/Y35P
I28Y/Y35N
I28F/S36Q
I28F/S36G
I28L/V37F
I28M/V37L
I28F/V37A
I28M/V37S
I28M/V37R
I28M/Y39H
I28F/Y39W
I28F/N40H
I28F/L41A
I28Y/L41G
I28F/P43S
I28W/F44S
I28L/F44R
I28A/F47I
I28F/Y50F
I28L/P54W
I28Y/P54A
I28F/N58Y
I28F/L60M
I28W/C61Y
I28Y/T63Q
I28Y/V65I
I28F/A67V
I28M/R78H
I28F/R78H
I28Y/Q84S
I28L/N87V
I28Y/Y91N
I28Y/D98E
I28L/A105W
I28F/K110R
I28M/K114T
I28M/K114N
I28L/L122M
I28Y/L122I
I28F/K128M
I28F/K132L
I28M/F134G
I28F/T140L

10

20

30

40

【 0 1 5 9】

50

【表 2 - 7】

I28Y/P149Q
I28F/N151Y
I28F/A154L
I28W/L188K
I28Y/L188H
I28M/A192P
I28F/C195K
I28Y/C195R
I28F/C195F
I28M/S200V
I28W/T201M
S29W/F45S
S29T/P197T
N30R/F45S
V32I/Y39R
V32K/F45A
V32K/L122R
V32T/F134Y
V32R/V173L
A33P/F47M
A33W/N64A
A33W/V173D
Y35F/F44V
Y35L/F44S
Y35I/F45D
Y35L/F47T
Y35F/F62W
Y35F/N64E
Y35W/Y66T
Y35F/K114T
Y35L/L122R
Y35L/L122K
Y35L/N130K
Y35W/V153A
Y35W/E186D
Y35F/A190T
Y35W/P197A
Y35F/K198S
Y35F/K198Y
Y35W/T201L
Y35F/T201S
S36N/F45D
S36N/F47M

10

20

30

40

【 0 1 6 0 】

50

【表 2 - 8】

S36T/Q84A
S36T/R163V
V37W/A42H
V37A/F44S
V37P/F44D
V37T/F44A
V37M/F44D
V37F/F44G
V37L/F45Y
V37N/F45Q
V37Q/F45S
V37A/F45N
V37E/F45A
V37S/F45R
V37W/F47I
V37F/K48R
V37F/V52M
V37N/P54K
V37M/P54K
V37S/P54I
V37F/P54S
V37S/K56E
V37F/D59S
V37F/G83H
V37M/T85R
V37S/N87L
V37S/N87F
V37S/N87T
V37F/D97V
V37F/A105F
V37F/L111Q
V37F/K114E
V37R/L122G
V37L/L125P
V37F/K128P
V37A/N130K
V37K/N130P
V37S/F134Y
V37F/K148T
V37F/K148V
V37F/F156V
V37T/R163M
V37W/R163K

10

20

30

40

【 0 1 6 1】

50

【表 2 - 9】

V37F/T170A
V37L/Y178H
V37F/P191R
V37Y/P197V
V37T/P197L
V37L/K198N
V37F/K198R
V37A/K198N
V37F/T201A
L38V/F44P
L38V/F44K
L38F/F45D
Y39A/F44S
Y39Q/F44Y
Y39M/F44S
Y39R/F45N
Y39Q/F45T
Y39H/F45R
Y39K/F45N
Y39S/F45Q
Y39L/F45S
Y39A/F45T
Y39D/F45D
Y39R/T46H
Y39T/T46S
Y39G/F47V
Y39L/S53Q
Y39R/N58Q
Y39A/D59E
Y39A/T85R
Y39D/N87H
Y39P/N87V
Y39K/T100L
Y39K/K110D
Y39S/L125P
Y39R/S129D
Y39L/R163H
Y39N/H175W
Y39S/L187S
Y39A/L188S
Y39D/P197R
Y39T/P197R
Y39S/P197L

10

20

30

40

【 0 1 6 2 】

50

【表 2 - 1 0】

Y39T/P197S
Y39H/P197I
N40R/F45G
N40L/F45A
N40R/N87L
N40D/R163H
N40S/V173L
N40R/T201L
N40R/T201V
L41T/F45R
L41K/F45A
L41S/T100F
L41V/N130K
L41T/P197L
A42D/F45S
A42G/N58P
A42G/N64E
A42R/N87F
A42Q/L125P
A42G/R163K
P43L/F45D
F44D/F47L
F44K/V52M
F44H/S53H
F44D/P54R
F44Q/P54K
F44Q/T55A
F44D/T55N
F44R/T55S
F44A/T55Q
F44G/K56E
F44G/K56N
F44G/N58S
F44D/N58E
F44H/D59T
F44A/D59S
F44D/N64H
F44D/N64F
F44A/V65I
F44A/R78H
F44G/R78A
F44E/G83F
F44G/Q84A

10

20

30

40

【 0 1 6 3】

50

【表 2 - 1 1】

F44N/N87M
F44S/D90S
F44R/D97M
F44R/T100V
F44G/I104Y
F44Y/A105W
F44E/L111V
F44R/K114R
F44E/V115E
F44R/S129T
F44E/S129E
F44P/N130R
F44T/I138T
F44A/T140R
F44G/K148R
F44S/N151G
F44P/G152R
F44R/V153E
F44A/V153S
F44H/A154S
F44P/R163I
F44S/S166A
F44E/Y178F
F44S/S184W
F44T/H189T
F44Q/H189N
F44G/H189P
F44D/K198Y
F44S/K198N
F44A/T201L
F44G/T201Q
F44H/T201S
F44P/T201D
F44S/T201L
F45S/V52Y
F45G/S53M
F45A/T55K
F45A/L57G
F45S/L57M
F45D/N58P
F45R/N58P
F45R/C61R
F45S/C61Q

10

20

30

40

【 0 1 6 4】

50

【表 2 - 1 2】

F45T/C61T
F45T/C61G
F45T/C61D
F45H/C61Y
F45S/F62L
F45Q/T63S
F45G/N64H
F45N/N64T
F45G/V65I
F45E/I72V
F45T/V77L
F45S/R78S
F45D/G83K
F45T/Q84G
F45Q/T85R
F45S/D90E
F45T/K94R
F45S/L95V
F45S/D97Y
F45S/D97N
F45G/D97H
F45D/D97R
F45S/D98S
F45K/T100K
F45D/T100I
F45S/T100Y
F45Y/A105S
F45G/A105S
F45S/K110S
F45A/K114W
F45A/K114Q
F45M/V115Q
F45D/S116G
F45S/Y119K
F45A/N120A
F45S/L122M
F45P/L122E
F45V/L125S
F45M/F134Y
F45G/I138V
F45D/I138T
F45D/S139A
F45A/S139H

10

20

30

40

【 0 1 6 5】

50

【表 2 - 1 3】

F45T/S139K
F45S/Q144T
F45N/P149A
F45Q/G152A
F45S/G152R
F45V/V153S
F45K/V153D
F45M/V153M
F45S/V153A
F45H/V153A
F45S/A154E
F45Q/A154S
F45R/R163F
F45R/R163L
F45S/V173D
F45D/Y178W
F45R/Y178W
F45S/E186D
F45S/L187Q
F45D/H189L
F45G/H189Y
F45S/A190V
F45S/A190W
F45A/P191N
F45P/P191H
F45T/A192M
F45L/P197A
F45S/P197R
F45A/K198Q
F45E/K199Q
F45R/K199L
F45S/K199H
F45E/K199N
F45N/T201D
F45P/T201K
F45H/T201M
F45S/T201K
T46S/T55S
T46V/S116G
T46S/R163S
F47T/Y66I
F47M/Y66F
F47I/Q84A

10

20

30

40

【 0 1 6 6 】

【表 2 - 1 4】

F47L/N87Y
F47I/T100V
F47L/L122M
F47L/L125S
F47I/P149E
F47M/A154E
F47L/A154T
F47L/F160Y
F47V/T201L
G51N/R163G
V52I/R163A
V52F/R163M
P54R/V65I
P54W/R163K
P54R/K199R
P54K/K199N
T55A/L188T
T55W/L188G
K56E/T100Y
K56R/P197M
C61A/R163A
T63S/L188K
T63S/H189D
V65I/R163A
V77L/N87I
V77L/S116G
V77L/H189D
R78P/R163A
Q84A/D90Q
Q84A/V153H
Q84A/V153R
Q84A/R163G
Q84A/K199I
N87I/L122A
N87I/L122V
N87V/K128P
N87I/K128T
N87L/S129N
N87V/N130R
N87L/N130Q
N87M/N130R
N87H/A154T
N87M/R163K

10

20

30

40

【 0 1 6 7 】

【表 2 - 1 5】

N87T/R163V
N87L/R163V
N87Y/V173R
N87I/V173A
N87T/Y178H
N87F/K199Y
N87F/T201L
N87V/T201A
L95V/P197R
T100L/L122K
T100H/R163A
T100Y/L188G
I104M/R163V
A105S/R163A
A105S/P197A
K114R/N130K
V115P/K198R
S116G/K128S
S116N/V153S
S116D/P197C
S116G/K198G
S116G/T201K
L122Q/N130A
L122K/V173A
L122K/L187V
L122K/A192T
L122K/T201P
Y123S/L188S
L125P/K199S
K128S/L188T
S129E/R163L
S129D/R163Q
N130K/P197A
N130K/T201Q
F134Y/R163L
F134Y/P197W
K148Q/R163V
K148E/R163S
K148E/L188T
P149A/V153S
V153I/R163A
V153S/K198G
A154P/R163T

10

20

30

40

【 0 1 6 8】

50

【表 2 - 1 6】

F156P/R163I
R163M/S164Y
R163Y/V173M
R163V/V173P
R163L/L188S
R163G/H189S
R163Y/A192P
R163I/P197R
R163I/P197S
R163Q/K198T
R163G/S200T
R163H/T201Q
R163A/T201W
S164N/L188S
V173I/H189D
P197A/K198R
P197S/S200K
P197S/T201M
N1P/I28M/L188N
N1G/F44Q/L122K
N1R/F44R/F160H
N1T/F44G/V173K
I2V/N13L/F45H
I2R/A18P/K26T
I2C/K26I/F45G
I2V/I28L/F45T
I2A/A33S/F45A
I2S/Y35W/F45E
I2N/Y35F/L60M
I2A/V37T/F45E
I2P/V37T/R163M
I2S/Y39T/F47C
I2L/F44G/D59S
I2A/F44S/I72V
I2R/F44S/T201G
I2R/F45R/S116T
I2S/F45G/V153M
I2R/F45H/P191T
I2L/D59E/T85R
I2F/L125W/G152N
T3I/I28F/H189N
T3M/F44E/R163Y
T3S/F44D/T201S

10

20

30

40

【 0 1 6 9】

50

【表 2 - 1 7】

T3G/F45S/F134N
T3P/F45S/A192W
T3S/F47I/H189N
N4Q/N87F/N130K
L5G/R16K/F45T
L5Y/K26R/R163T
L5S/F44G/P191T
L5F/T46R/N87M
L5P/F47L/R163T
L5T/T55G/L122K
L5P/N87T/T201W
L5P/L125G/P197S
C6I/N13M/P169C
P7S/R16K/F44A
P7S/I28F/K148R
P7N/Y39N/T46S
P7D/F45H/L111Q
P7R/S53K/R163A
F8L/V65L/K114T
D9R/A18S/F45A
D9L/R27L/F45E
D9G/I28F/V52T
D9A/V37G/F45S
D9E/F44P/K148D
D9W/F45S/I104M
D9G/F45A/Y123H
D9S/F45S/V173R
D9N/V153E/H189G
E10A/F45P/V77L
E10A/N64A/N130K
V11L/F45D/L187G
T15A/I28M/D97E
T15S/F45S/D90R
R16K/S29T/N130A
R16K/V37F/V52L
R16K/V37A/T55D
R16W/F44R/R163A
R16V/L125M/F160R
A18H/N24T/P197I
A18P/I28L/K56Y
A18S/F45E/P197C
A18P/D97K/S129G
A18P/K132A/V173R

10

20

30

40

【 0 1 7 0 】

【表 2 - 1 8】

A18P/A190R/S200Y
N24R/Y39W/R163V
N24S/F44K/L60Y
N24S/F44D/S164R
N24D/F45S/T201K
K26R/N87Y/T201Q
R27L/A33W/C61S
R27Q/V37F/K128A
R27P/Y39L/F45G
R27Q/F44H/D97L
R27K/F45S/N58A
I28F/Y35H/K198T
I28Y/S36R/V52I
I28F/S36Q/Y178V
I28F/V37L/K56D
I28Y/V37K/D59A
I28M/V37S/A190V
I28L/Y39R/F44K
I28F/Y39R/F45L
I28F/Y39V/V173S
I28M/N40R/F47A
I28W/F44S/G174A
I28M/F44Y/E186S
I28L/F45M/S53L
I28L/F45A/T55N
I28F/K48E/R163L
I28F/P54R/T140C
I28F/D59M/R136K
I28Y/C61Y/S184T
I28L/Y66F/N87V
I28M/D97L/N151K
I28F/D97G/T201G
I28M/S129R/A154P
I28Y/N130I/P191T
I28Y/L131V/G152N
I28F/S184T/S200M
S29T/N40H/V115P
S29R/F45Y/P197Q
N30S/A33V/F45G
N30S/S36N/F45E
V32N/Y39L/F45A
V32L/F44A/V173E
V32I/F45V/R163K

10

20

30

40

【 0 1 7 1】

50

【表 2 - 1 9】

V32K/N87I/A154S
V32T/A154P/L188A
A33W/V37K/K128R
A33W/F47M/V173L
A33L/T63K/V153S
A33W/Q84A/T100I
Y35W/F44G/N58K
Y35F/F44A/Q84E
Y35L/F44S/T140L
Y35S/F44N/S184G
Y35P/F45G/N64T
Y35W/T85A/K198A
Y35W/N151M/K198G
S36C/T55L/T201E
S36T/N87F/Y178H
S36R/I138T/T201R
V37W/L38I/I72V
V37K/F44G/T63S
V37L/F44G/F160P
V37A/F45P/T100I
V37F/F45R/H175F
V37T/F45A/A192R
V37K/F45A/T201L
V37L/F47L/R163Q
V37S/F47V/R163S
V37F/G51H/F62W
V37F/T55V/N130V
V37W/L60Y/K148S
V37R/N64E/N87Y
V37Q/V77L/P197L
V37K/R78D/R163M
V37K/N87Y/R163A
V37F/T100L/K198R
V37Y/F134Y/R163A
V37F/G152R/K198A
V37Y/R163T/T201L
V37R/Y178F/L187R
Y39I/F45E/L60A
Y39R/F45S/C61K
Y39A/F45Q/T63S
Y39L/F45A/L122V
Y39E/F45T/K128D
Y39L/F45P/S129D

10

20

30

40

【 0 1 7 2 】

50

【表 2 - 2 0】

Y39E/F47I/R163S
Y39V/N87I/S129K
Y39K/N130K/R136Q
N40T/F47S/P54I
N40S/F134Y/P149N
N40H/A190G/T201L
L41T/S116R/P197L
A42G/P54Q/K199P
A42M/N87Y/N120D
A42P/L111V/P197V
F44P/Q84A/V173S
F44S/Q84G/T201S
F44H/N87S/I138L
F44P/L95I/T201R
F44G/V115P/P197T
F44T/Q144N/R163A
F44W/R163G/L188G
F44S/R163T/S200Q
F44D/V173T/T201V
F45T/Y50W/K128H
F45K/T55S/R78G
F45T/N58R/K198W
F45A/C61S/V115M
F45D/F62V/T201L
F45E/T63Y/T201V
F45G/N64S/T100V
F45A/N64P/T140S
F45N/V77L/D98N
F45M/R78T/R163G
F45A/I80V/A192I
F45H/F99W/A192T
F45S/T100M/I104V
F45H/K114L/L125G
F45V/K128S/V153K
F45T/N130L/A154S
F45A/N130C/T201W
F45C/F134Y/R163V
F45P/S139D/L188C
F45T/N151M/A190S
F45T/F160A/T201W
F45M/R163Y/P191K
F45K/V173M/T201Q
F47C/P54L/Y123K

10

20

30

40

【 0 1 7 3】

50

【表 2 - 2 1】

F47I/K56E/V173L
F47M/Q84M/S200R
F47I/T85R/A192F
F47Q/I104F/A192V
F47M/L187M/T201L
K48T/R163V/S200L
P54I/C61R/L122G
T55A/I104F/L188T
T55D/Y123F/K198A
N58G/L122K/P197K
T63K/L125W/A192T
N64V/Y123K/L188S
T85M/R163V/P197V
N87H/D97A/V173D
N87K/T100K/L122E
N87C/R163V/P197R
N87F/L187R/K199H
L122K/S129A/T201Q
F160M/P197V/T201L
R163V/H175S/P197V
N1T/K26R/F45S/E141T
N1C/I28F/C61E/I104A
N1L/V37A/F45T/L188K
I2Y/F45V/N87Y/R163S
I2N/F45A/D98T/A192P
I2V/Q84A/S166G/K199I
I2H/N87R/F156P/R163M
N4L/A18P/F45S/S69R
N4R/L125A/V173L/H175Y
L5P/F45G/K56S/K199G
C6S/A14S/F45P/V52T
D9H/A18S/F45T/T100V
A14S/L38F/F44E/K148N
T15E/A22N/I28L/P54R
T15E/V37N/F45E/T201Y
T15R/Y39R/L57I/N87I
T15P/F45A/G83F/L187W
R16Q/R27K/T46E/S129G
A18P/F45M/D59S/Q84R
A18Q/F45T/I104L/K148Q
A22V/V37F/F44E/S129R
A22S/Y50I/D112R/Y159R
R27V/F44S/I138N/A192G

10

20

30

40

【 0 1 7 4 】

50

【表 2 - 2 2】

I28F/A42R/N58R/D90E
I28M/F44A/C61W/K199C
I28F/F45R/Y91L/T201W
I28Y/V115T/Y178H/A190T
V32S/F45G/C61F/K198Y
V32T/F45S/P149L/S200F
D34E/V37I/F45A/N120R
V37M/A42G/I72V/R78T
V37R/F45A/D97I/H189P
V37S/K48R/L188S/A190E
V37F/K56S/Y119P/S139R
V37F/A145R/V153M/R163T
Y39L/F45S/C61A/N87H
Y39N/F47V/L111E/R163L
Y39A/P54K/N130P/V153D
Y39A/A105T/S139T/P197W
L41P/F47L/T55S/N87M
F44G/P54W/D59V/V173R
F44H/N58P/A154T/V194A
F44E/C61Q/R163S/L187P
F44H/T85S/K128P/A190T
F44S/R163I/L188N/T201A
F45Y/N64T/L111A/A190G
F45S/N87C/I142V/V153E
F47W/P54W/T85M/P197L
C61N/R78S/S116V/R163V
I2Y/D9S/I28Y/N40R/N58K
N4S/N24T/N87H/L111Q/A192T
N4D/F45S/Y50F/K56N/N64L
L5P/V37Y/L111E/S129K/T201G
L5P/F44D/N151H/V173K/L188H
P7I/A22S/Y39Q/F45E/T55K
D9G/L41S/P43S/F45S/N87K
E10A/A33V/V37T/F45S/P149C
F12S/F17S/Q79V/C158S/R179
T15P/F45S/Y91L/L125G/V153G
A22D/V37F/L95I/K148T/A190G
N24T/S36K/F45P/C61F/A154P
K26R/F45H/S116E/G155R/V173E
Y39N/F45T/T85M/N130P/A190G
Y39P/F45S/S116L/Y123S/T201R
Y39S/T100L/I104F/L122A/F160R
A22Q/N30S/V37S/F45S/V173L/T201V

10

20

30

40

【 0 1 7 5】

50

【表 2 - 2 3】

Y35F/A42T/Y123K/Y178H/S184H/L188P
Y39M/F45E/P54R/Y66T/D97R/F134Y/F160M/L187P
L41S/P43S/F45S/N87K/K110N/S116G/N147S/K148T/A154E/ R163Q/S166G/R168Q/Y171N/H175Y
D9G/L41S/P43S/F45S/N87K/K110N/S116G/N147S/K148T/A 154E/R163Q/S166G/R168Q/Y171N/H175Y
K26R/L41S/P43S/F45S/N87K/K110N/S116G/N147S/K148T/ A154E/R163Q/S166G/R168Q/Y171N/H175Y
D9G/L41S/P43S/F45S/N87K/K110N/S116G/N147S/K148T/A 154E/R163Q/S166G/R168Q/Y171N/H175Y/K199L
L5K
P7N
R16T
R16Q
R16E
R16K
F17W
N24E
N24Q
I28L
A33F
L38I
Y39N
Y39E
Y39H
Y39S
N40R
L41Y
L41H
F44N
F45V
F45C
T46H
T46E
T46Q
F47I
F47V
F47M
P54M
T55E
F62W
V65I
V65M
N87T

10

20

30

40

【 0 1 7 6 】

50

【表 2 - 2 4】

N87F
N87K
A105W
S116D
S116E
L122R
L125S
L125G
K148E
V153T
A154E
F160E
F160H
R163I
R163Y
R163F
R163L
R163S
R163H
S166G
S166A
V173E
V173Q
L187Q
L187N
L187S
L188D
L188K
P197H
K199F
N1T/D9
N1S/I28M
N1D/F44S
N1S/L188T
N1P/H189D
N1S/P197L
I2A/I28L
I2S/I28W
I2M/A33F
I2N/A33W
I2T/V37S
I2L/V37W
I2S/V37A

10

20

30

40

【 0 1 7 7 】

【表 2 - 2 5】

I2A/V37S
I2L/Y39F
I2S/Y39M
I2P/Y39A
I2T/Y39S
I2D/F44S
I2S/F44R
I2Y/F45S
I2Y/F45K
I2L/T46H
I2S/T46M
I2V/F47V
I2V/P54R
I2C/P54A
I2L/D59E
I2V/R78S
I2P/N87V
I2R/L122R
I2G/L125S
I2L/N130R
I2C/R163E
I2C/R163N
I2C/S166G
I2S/P197H
T3S/V11I
T3N/I28W
T3S/Y35L
T3A/Y39R
T3A/F44D
T3P/F45R
T3S/N87H
T3A/P197L
N4T/R16N
N4S/R16H
N4D/I28F
N4R/A33F
N4T/V37F
N4D/F45C
N4R/N87P
N4A/N87I
N4V/R163V
N4R/T201S
L5N/R16T

10

20

30

40

【 0 1 7 8 】

50

【表 2 - 2 6】

L5T/N24R
L5T/I28M
L5P/V37R
L5M/L38I
L5H/Y39L
L5K/Y39G
L5F/F44G
L5N/N87T
L5V/I104F
L5E/L125G
L5Q/L188G
L5V/P197A
C6M/W106
P7H/Y39A
P7A/N87H
F8I/I28F
F8L/F44P
D9H/F44R
D9Q/F44S
D9P/F45H
D9E/N87P
D9A/T201L
E10D/F44Q
E10S/F44S
V11I/Y39T
V11I/R136G
F12L/A18P
N13H/I28M
N13S/I28M
N13R/F45G
N13H/F45S
N13H/T46H
N13Y/P197L
T15P/Y35L
T15R/Y39R
T15V/F45N
T15S/S129
R16N/I28L
R16K/S29H
R16L/F44S
R16A/F45K
R16E/T46R
R16S/F47I

10

20

30

40

【 0 1 7 9】

50

【表 2 - 2 7】

R16K/I72V
R16H/R78D
R16S/N87P
R16S/V173L
R16T/L188S
R16E/K198R
F17W/K110D
F17D/P161T
F17W/S200W
A18P/L38M
A18S/F44S
A18G/F45E
A18P/Q84K
A18P/Y121L
A18S/V153S
A18D/S166F
A18P/L188P
A18P/C195N
V20A/F45S
N24R/Y39L
N24Q/L41R
N24H/A42G
N24K/A42V
N24S/N58P
N24K/L125A
N24Q/K128P
N24R/S129G
N24Q/L188R
N24E/L188R
N24T/L188S
N24T/S200V
R25L/G74
K26T/V37Q
K26V/V37A
K26T/Y39R
K26R/A42G
K26R/F47I
K26R/F47V
K26R/V52I
K26R/T55H
K26V/L125G
K26T/V153Q
K26R/L187S

10

20

30

40

【 0 1 8 0 】

50

【表 2 - 2 8】

K26V/P197S
R27W/V37F
R27Q/L38I
R27Q/N40K
R27A/F45R
R27Q/D59E
R27Y/Y66T
R27K/D98N
R27V/K148T
R27K/A154S
R27L/R163M
R27V/H189G
R27V/A192G
R27V/P197A
R27V/T201W
I28M/Y39C
I28Y/A42E
I28F/C61Y
I28L/C61N
I28M/Y66F
I28M/R78S
I28L/N87T
I28M/D90E
I28M/D90S
I28M/D97R
I28F/D98Y
I28Y/V153W
I28M/S164N
I28L/L188H
I28W/A192L
I28L/K198S
S29H/Y39S
S29P/A42G
S29P/F45Q
S29T/F160H
N30G/F44P
N30K/Y165E
V32A/F45E
V32R/S53D
V32I/N87H
V32T/Y121L
V32T/K198R
V32T/K199W

10

20

30

40

【 0 1 8 1】

50

【表 2 - 2 9】

V32I/T201V
V32I/T201W
A33V/F47I
D34T/F45S
D34S/F45T
Y35W/P43D
Y35S/F44H
Y35F/K56Q
Y35W/L60R
Y35L/F62W
Y35W/N64W
Y35L/V65I
Y35W/D98V
Y35I/L122S
Y35F/L122V
Y35I/N130K
Y35F/E141T
Y35W/Q144M
Y35L/V173T
Y35L/V173R
Y35L/V173D
Y35L/L188Q
Y35L/A192Q
Y35L/T201P
S36G/F45C
S36T/T201R
V37R/A42Q
V37A/F44L
V37Y/F44T
V37R/F44R
V37R/F45L
V37H/F45M
V37Q/F47V
V37F/S53G
V37A/T55Q
V37M/K56Q
V37M/K56A
V37S/N64P
V37S/N87P
V37A/N87R
V37Y/N87M
V37L/N87T
V37F/N109K

10

20

30

40

【 0 1 8 2 】

50

【表 2 - 3 0】

V37M/S116D
V37T/Y119H
V37S/Y119N
V37A/L122Y
V37F/K128W
V37L/N130R
V37W/N130V
V37M/F134Y
V37M/A154T
V37A/F160S
V37T/R163I
V37R/V173T
V37M/V173R
V37F/V173G
V37T/H189S
V37I/A190S
V37W/A192L
V37M/A192N
V37F/K198A
V37H/K198G
V37R/K199S
V37K/S200M
V37M/T201M
V37A/T201R
V37W/T201G
V37R/T201L
L38R/C61I
L38I/N87A
L38Q/N107
L38I/N120G
Y39I/F45T
Y39W/F47Y
Y39M/F47I
Y39S/F47M
Y39K/V52I
Y39Q/T55S
Y39D/T55R
Y39R/T55N
Y39N/N58K
Y39M/V65L
Y39D/N87L
Y39Q/Y91F
Y39R/Y91F

10

20

30

40

【 0 1 8 3 】

50

【表 2 - 3 1】

Y39Q/D97S
Y39W/D98N
Y39L/D98N
Y39A/S116K
Y39Q/Y119N
Y39R/Y119N
Y39V/S129K
Y39S/T140S
Y39S/N151E
Y39L/N151G
Y39Q/V153M
Y39R/V153S
Y39W/A154S
Y39L/F160K
Y39T/S184T
Y39K/L187H
Y39V/L188S
Y39K/A190R
Y39S/A192G
Y39V/P197V
Y39W/K198R
Y39M/K198R
Y39G/S200T
Y39H/T201H
Y39M/T201L
N40R/F45K
N40S/F45A
N40K/T46H
N40K/F47L
N40K/N120K
N40R/L125S
N40R/V153T
N40P/R163G
N40S/H175Y
N40R/H189S
N40H/P197K
N40R/K199W
N40S/T201L
L41V/K48R
L41S/T55Q
L41S/R78P
L41S/N87H
L41A/I104Y

10

20

30

40

【 0 1 8 4】

50

【表 2 - 3 2】

L41R/F160N
L41S/F160K
L41T/R163V
L41A/L188S
L41Y/A192G
L41H/K199M
L41M/T201M
A42S/F45R
A42P/F47V
A42G/D59Q
A42V/N64V
A42G/V115L
A42G/S116R
A42G/L122R
A42G/T140M
A42G/P149M
A42G/P197E
A42G/K198S
A42G/K198T
A42K/T201G
P43R/Q84A
P43Q/N87H
P43R/L122R
P43N/R163V
F44N/P54W
F44N/P54R
F44Y/T55H
F44R/T55N
F44T/K56E
F44E/K56R
F44P/N58R
F44S/D59R
F44M/D59E
F44H/V71I
F44S/T85V
F44L/N87F
F44R/D90N
F44S/T100I
F44E/T100A
F44V/T100F
F44E/I104L
F44N/A105S
F44H/K110M

10

20

30

40

【 0 1 8 5 】

【表 2 - 3 3】

F44H/S129N
F44S/L131V
F44K/S139G
F44T/P149H
F44A/V153L
F44S/A154D
F44M/A154T
F44S/F160G
F44P/V173E
F44D/V180I
F44G/H189V
F44T/H189S
F44H/H189Y
F44S/T201
F44G/T201W
F44T/T201M
F45H/P54D
F45S/L60S
F45D/F62C
F45H/F62N
F45S/N64R
F45K/I72V
F45Y/V77L
F45P/G83M
F45S/N87T
F45Y/D97T
F45S/D98P
F45E/T100Y
F45S/T100S
F45A/T100K
F45K/A105T
F45Q/V115L
F45P/Y119H
F45P/Y119E
F45A/Y119A
F45D/L122H
F45T/K128V
F45D/K128M
F45S/S129Y
F45T/N130M
F45D/N130I
F45M/N151A
F45Y/N151S

10

20

30

40

【 0 1 8 6 】

【表 2 - 3 4】

F45P/V153D
F45S/A154L
F45R/A154V
F45A/G155R
F45A/Y178T
F45V/Y178W
F45G/S184K
F45C/A190T
F45D/P191L
F45P/A192T
F45M/A192K
F45G/K198G
F45Y/K199I
F45N/T201M
F45Y/T201L
T46R/S116N
T46H/N120E
T46S/R163I
T46Y/V173I
T46S/L187R
T46H/H189P
F47I/T55R
F47M/D59K
F47W/L60Y
F47L/N64T
F47T/N87T
F47V/A105T
F47V/V115R
F47V/Y119N
F47I/K148T
F47I/V173R
F47W/A190S
F47I/K198G
F47W/T201M
F47V/T201S
K48N/L125P
K48R/T201S
Y50F/Y178N
V52L/N87Y
V52F/S116G
S53D/S139T
P54A/R78S
P54A/T85S

10

20

30

40

【 0 1 8 7 】

50

【表 2 - 3 5】

P54D/S116G
P54Q/F134Y
P54E/F160Q
P54W/L188V
P54R/A192G
P54M/P197S
P54R/K198P
T55A/T100F
T55H/I104W
T55H/S129E
T55L/R163F
T55S/R163N
T55S/R163T
T55S/P197S
T55F/P197K
T55H/K199G
T55A/T201R
T55S/T201K
K56S/R163H
K56L/R163G
K56V/P197V
N58Q/F160Y
N58S/R163T
N58P/L188G
N58P/H189N
D59S/L122R
D59S/L188S
D59E/H189Q
D59E/T201M
L60H/D98G
L60H/N130K
L60T/R163A
L60S/L187Q
C61Q/R163L
C61L/R163A
F62W/T100I
N64S/V65L
N64T/V153S
N64H/F160R
N64S/P197L
N64T/T201R
V65I/Q84M
V65L/N87F

10

20

30

40

【 0 1 8 8 】

50

【表 2 - 3 6】

V65I/I104W
G74V/A105P
D75S/L122Q
R78S/A105Y
R78A/R163T
A81T/A89R
G83Y/R163A
Q84A/K128S
Q84A/Y178F
Q84A/A192Q
T85Q/L95
T85S/R163K
T85R/T201S
N87H/I104M
N87T/K114T
N87H/L122G
N87L/S129A
N87F/S129T
N87T/Y178F
N87I/Y178I
N87T/H189P
N87I/P197R
N87P/P197R
N87Y/K198R
N87K/T201G
N87V/T201G
N87I/T201R
D97A/L122R
D98N/N130P
D98N/P197A
T100V/L122S
T100L/L125W
T100L/N130R
T100I/N130P
T100I/R163K
T100K/A190G
T100F/S200L
I104Y/I138T
A105Y/S116E
A105T/L122Q
A105S/T201M
L111D/L188S
L111Q/S200A

10

20

30

40

【 0 1 8 9 】

50

【表 2 - 3 7】

K114Q/R163L
K114T/H175Y
K114R/V182G
K114R/A190G
S116G/R163C
S116G/G196S
S116D/T201Y
Y119D/L188Q
Y119N/K198E
N120D/H175Y
N120D/L187G
Y121I/K128
L122M/K128H
L122K/I138K
L122R/I138L
L122S/K148E
L122R/V173R
L122S/E186D
L122S/P191T
L122T/S200W
L122K/T201C
L122S/T201R
Y123F/F134G
Y123F/V153H
Y123K/V173L
Y123F/T201V
L125G/A154L
L125A/Y178F
K128N/A154E
K128V/R163V
K128A/V173E
K128H/A192R
S129R/V173L
N130K/G152R
N130S/L188D
N130T/L188G
N130P/A192Q
N130S/P197T
N130R/T201E
F134S/T201A
F134Y/T201A
P149L/R163V
N151K/H175Y

10

20

30

40

【 0 1 9 0 】

50

【表 2 - 3 8】

N151L/L187G
G152D/A190G
V153T/K198R
F160Y/V173E
F160Y/L187M
F160A/P191G
R163S/V173T
R163H/S184G
R163L/H189T
R163A/H189G
R163K/P191R
R163T/A192V
R163K/K198S
R163Q/K199I
R163L/K199M
R163Y/K199T
R163A/T201Y
R163H/T201P
R163H/T201R
S166A/L188S
V173I/S200L
L187R/P197T
L188K/A192H
H189G/T201P
H189N/T201V
A190G/T201S
A192L/P197L
A192L/P197S
A192H/K199I
A192P/K199Y
A192Y/T201M
A192P/T201W
P197L/T201S
N1K/P7N/A42P
N1R/I28Y/Y123S
N1S/Y39T/S166G
N1V/F45G/A190V
I2T/Y21H/F44G
I2S/V32T/N40R
I2V/Y35T/F45H
I2E/Y39M/K199I
I2Y/N40S/T201N
I2H/F44E/S164T

10

20

30

40

【 0 1 9 1】

50

【表 2 - 3 9】

I2D/F44H/K198D
I2N/F45N/K114M
I2K/F45L/V115K
I2V/F47T/V65I
I2H/F47T/S184H
I2F/T55A/T100L
I2P/N87L/L188R
I2A/N87H/K198M
T3E/V37F/D75Q
T3K/D59S/N130K
N4A/V37S/N87R
N4K/Y39M/K114R
N4S/F44A/P54A
N4A/F44K/D97M
N4R/F47I/K198L
N4T/S53E/T201W
N4G/N130R/R163S
N4V/A145G/P197L
L5S/N24T/V37W
L5R/S29R/R163S
L5P/V32T/N87K
L5S/V32R/T201E
L5R/Y35F/C61V
L5I/V37F/T170G
L5V/V37M/V173I
L5R/F47L/T201M
L5H/Q144A/R163A
L5A/R163S/T201H
L5R/V173K/S200A
P7E/Y35L/F44Y
P7D/T46M/N130K
P7N/L125S/V153F
P7S/R163T/A192C
F8L/I28L/V37W
F8L/Y39V/F44A
D9E/I28W/T46I
D9S/V37L/A154E
D9Y/Y39K/S200M
D9S/F45N/L122S
D9V/L95T/V103
E10K/I28F/S53I
N13Q/I28F/Y35P
N13M/V37F/T201S

10

20

30

40

【 0 1 9 2 】

50

【表 2 - 4 0】

T15E/T46I/R163M
R16T/F47T/P54A
R16D/T55D/I104F
R16E/Y119D/N130R
F17Y/L41M/E141G
A18P/D59Q/R78P
A18S/R78P/N87T
N24D/V37T/F44G
N24R/P54M/S200G
N24T/N87Y/D97E
K26R/Y35L/K198V
K26V/F44Y/T201R
K26R/F45L/P197T
K26R/Q84A/L125S
K26V/S129G/Y178H
R27Y/D34R/D59
R27S/Y35W/T201D
R27K/Y39M/D59Q
R27M/Y39L/P197A
R27K/L41S/S129R
R27K/F44A/T55P
R27K/T46L/T100Y
I28M/N40E/R78H
I28F/P43Q/T63D
I28F/F44V/S116P
I28M/F47T/T63H
I28W/V52F/V65I
I28M/L60V/N151E
I28F/F62L/L131V
I28F/I88V/D97G
I28F/E141L/R163L
S29R/P54W/K198E
Y35F/A42H/K128Q
Y35A/F44S/T170S
Y35M/P54A/K148E
Y35W/T55N/K56L
Y35L/N58K/K132M
Y35F/V173D/L187R
S36T/K128N/R163M
V37F/F44Y/V52A
V37L/T46E/F160E
V37E/N87T/L122G
V37S/V115K/A192Y

10

20

30

40

【 0 1 9 3 】

50

【表 2 - 4 1】

V37I/I138T/R163S
V37T/T170A/Y178F
V37W/L187S/T201K
V37R/A192T/P197A
L38F/F44R/K56S
L38I/N120D/K199L
Y39F/F44R/D98P
Y39R/F45D/G155R
Y39T/T46K/K148L
Y39S/T63Q/N87Y
Y39L/V65L/V173R
Y39T/R78S/F160T
Y39V/Q84A/D97K
Y39T/N92L/G152R
Y39S/T100V/S139T
Y39D/N130T/F160A
Y39L/P169C/F185Y
N40R/L95F/P177I
L41V/F45A/G83L
L41M/K48Q/P197C
L41M/T63S/L122R
L41H/T100L/T201S
L41H/F134Y/A154L
A42D/F44A/T85R
A42G/Q84M/A105S
A42V/L125P/T201V
F44S/S53W/R163M
F44S/T55M/T85A
F44T/N64P/K198D
F44A/F99W/K128R
F44G/Y119N/S129G
F44D/L122S/Q144R
F44E/I142V/T201R
F44R/S184C/K198G
F44K/T193Y/V194G
F45C/P54I/T85S
F45M/P54A/V153D
F45Y/K56R/A105S
F45Q/D59Y/T201A
F45L/L60M/T100F
F45E/T63N/R78L
F45D/N64Y/Y119A
F45S/Q84V/E141M

10

20

30

40

【 0 1 9 4 】

50

【表 2 - 4 2】

F45A/Q84E/V173L
F45K/A105S/K132M
F45S/Y119G/F160P
F45S/T170K/L188S
T46S/Q84M/K198M
T46L/T100F/P197R
F47T/L60M/S116N
F47I/T100L/P191N
K48S/A190P/T201V
S53I/C61S/A81
T55S/N87I/E186N
K56R/R78S/K199A
N58Q/D98N/L188G
D59Q/F160D/K198L
D59G/P197I/T201R
C61V/R78V/G83
F62W/G83F/A190S
F62S/F156P/R163T
V65A/A105W/R163T
E76G/G101A/Q144S
V77L/Y123F/N130V
A81T/G101I/G152F
Q84A/N120F/L188T
Q84S/V153S/S200V
D98N/L187G/T201A
N120D/A190S/K199S
L122K/K128S/P149Q
K132V/V153T/P197W
V153M/F160V/S166G
A154E/S164P/T201L
L188S/A192L/S200H
N1V/R27I/F44E/V77L
I2G/E10T/Y35W/K56N
I2D/I28F/G83N/S116E
I2P/V37R/F44E/K148E
T3P/F45T/V52M/T201R
T3I/F62N/R163M/H189K
N4K/I28W/N58K/K128G
N4P/N40G/F45H/K198S
L5H/F47C/N87T/L122K
L5P/T55D/V65A/N87L
C6N/F17P/Y93V/G174
P7H/F17W/L60Q/L122R

10

20

30

40

【 0 1 9 5 】

50

【表 2 - 4 3】

R16K/V32C/I104F/K199A
R16S/V37F/C61T/S129A
R16G/A42R/F62W/L188S
R16D/F44A/G83Y/I104F
R16Y/F45L/N87Y/I138L
R16N/V77L/R163V/A192T
A18P/Y35P/D59A/V77L
A18R/F45A/N64E/K198V
A18P/F47S/G83N/T140A
A18P/N58P/N64K/T100Y
S19L/D34S/G83S/L95V
S19P/V37F/F44V/R78P
N24D/A42Q/R163G/T201C
K26R/Y35W/A67V/Y119Q
K26R/V37I/P54A/K199T
K26R/Y50W/K148L/L188K
I28L/L122G/A190V/K199M
S29N/F45S/A67L/Y119R
A33V/F44D/F62V/T201C
A33F/F44T/A67L/T201N
Y35W/F47R/Y119H/A145S
Y35L/Q84P/F99S/R163V
S36L/T55L/L188T/P197L
Y39R/K48Q/L122S/P197S
Y39Q/E76Y/N107G/E135
N40K/K132R/V153T/S200Y
L41R/F47V/T100L/L187V
A42S/T55S/N87M/S200G
A42G/T55H/I104M/F160H
A42N/D97R/Y178N/L183W
F45N/V77L/S129G/T201E
F45D/K128H/Q144T/K198N
T46L/F70V/I80S/F99Y
F47S/L125P/V153A/P191G
P54I/N87I/P149R/K199S
T55S/F62V/V153M/R163M
T100A/Y123F/N130K/K199V
T100N/S129N/H189D/K199Y
K128R/P149E/R163G/H189N
N1R/F45G/E186N/T193Y/V194G
I2T/Y39S/T46S/V173T/L188P
N4D/Y35F/F44S/S116Y/K199R
F12L/R27V/Y35V/F45A/N58A

10

20

30

40

【 0 1 9 6 】

50

【表 2 - 4 4】

T15S/L41P/F47S/R163H/T201L
R27E/L38T/C49G/N64H/I80
L41G/T55N/S129T/L187S/T201I
L41K/L125S/V153K/A192K/T201Q
V20L/L57R/G74T/G83V/W106G/R168
L41M/P54L/S69Y/K94C/G117S/C150
F44D/N87W/N120H/T140S/P149E/P197R
N4T/N30T/V37A/V52N/K94Q/D98V/H189Y
R16N
A18P
N24K
N24R
K26R
R27K
I28F
I28M
V32T
A33W
Y35W
V37S
V37W
V37F
Y39L
Y39M
Y39F
Y39Q
Y39W
Y39T
A42G
S53D
S53E
P54R
P54K
Q84A
T85H
I104F
V115P
L122Q
L122K
L122M
L122S
Y123F
N130R

10

20

30

40

【 0 1 9 7 】

50

【表 2 - 4 5】

N130P
N130K
F134Y
F160N
L188S
L188N
L188A
P197S
P197N
P197F
P197I
P197L
P197Y
P197A
P197R
P197M
P197V
P197T
K198N
K199V
Y39L/T201M
N40R/P197A
V11I
R16S
R16H
R27V
S29T
Y35L
V37M
V37T
V37Q
V37K
V37L
V37I
V37A
N40K
N40Q
A42R
A42K
T46S
T55S
T55H
N58P

10

20

30

40

【 0 1 9 8】

【表 2 - 4 6】

D59E
N64A
N64E
R78A
T85R
L122T
L122A
Y123K
S129E
N130A
V153K
V153R
V153E
V153Q
F160R
V173K
V173L
S184T
L187T
H189S
H189N
P197Q
P197K
K198G
K199Y
K199S
K199G
V37T/T201S

10

20

30

【0199】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチドは、免疫原（SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原）である。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチドは、免疫原（SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原）を含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチドは、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の免疫原性断片を含むか又はそれからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチドは、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の免疫原性バリエントを含むか又はそれからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の免疫原性断片を含むか又はそれからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の免疫原性バリエントを含むか又はそれからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原の免疫原性断片を含むか又はそれからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質免疫原の免疫原性バリエントを含むか又はそれからなる。

40

【0200】

50

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸位置のいずれか1つ以上でのアミノ酸置換（例えば、アミノ酸位置N1、I2、T3、N4、L5、C6、P7、F8、D9、E10、V11、F12、N13、A14、T15、R16、F17、A18、S19、V20、Y21、A22、W23、N24、R25、K26、R27、I28、S29、N30、C31、V32、A33、D24、Y25、S36、V37、L38、Y39、N40、L41、A42、P43、F44、F45、T46、F47、K48、C49、Y50、G51、V52、S53、P54、T55、K56、L57、N58、D59、L60、C61、F62、T63、N64、V65、Y66、A67、D68、S69、F70、V71、I72、R73、G74、D75、E76、V77、R78、Q79、I80、A81、P82、G83、Q84、T85、G86、N87、I88、A89、D90、Y91、N92、Y93、K94、L95、P96、D97、D98、F99、T100、G101、C102、V103、I104、A105、W106、N107、S108、N109、K110、L111、D112、S113、K114、V115、S116、G117、N118、Y119、N120、Y121、L122、Y123、R124、L125、F126、R127、K128、S129、N130、L131、K132、P133、F124、E135、R136、D137、I138、S139、T140、E141、I142、Y143、Q144、A145、G146、N147、K148、P149、C150、N151、G152、V153、A154、G155、F156、N157、C158、Y159、F160、P161、L162、R163、S154、Y165、S166、F167、R168、P169、T170、Y171、G172、V173、G174、H175、Q176、P177、Y178、R179、V180、V181、V182、L183、S184、F185、E186、L187、L188、H189、A190、P191、A192、T193、V194、C195、G196、P197、K198、K199、S200、又はT201（配列番号1に対するアミノ酸付番）のいずれか1つ以上でのアミノ酸置換）を含む。

10

20

30

40

50

【0201】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも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、35、40、50個又はそれ以上を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1個であるが、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、又は50個以下を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の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、35、40、50個又はそれ以上を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の約1～50、1～40、1～30、1～20、1～10、1～9、1～8、1～

7、1～6、1～5、1～4、1～3、又は1～2個を含むか又はそれらからなる。

【0202】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも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、35、40、50個又はそれ以上のセットを含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1個であるが、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、又は50個以下のセットを含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換のセットの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、50個又はそれ以上を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換の約1～50、1～40、1～30、1～20、1～10、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、又は1～2個のセットを含むか又はそれらからなる。

【0203】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載されない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、又は50個以上）を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、アミノ酸変化の1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、又は50個以上）の少なくとも1個は、参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質）のアミノ酸に対するものである。いくつかの実施形態では、アミノ酸変化の1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、又は50個以上）の少なくとも1個は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、アミノ酸変化の1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、又は50個以上）の少なくとも1個は、配列番号4に記載されるアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、アミノ酸変化の1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、又は50個以上）の少なくとも1個は、SARS-CoV-2の1個以上の流行中のバリエーションにおいて見出される。いくつかの実施形態では、アミノ酸変化の1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、又は50個以上）の少なくとも1個は、以前に流行していたことが知られるSARS-CoV-2の1個以上のバリエーションにおいて見出される。

【0204】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列の連続したひと続きの少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、2

00、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は1200個のアミノ酸と少なくとも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%、又は100%同一である。いくつかの実施形態では、表2に記載されるいずれかのアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換のいずれかのセット）に含まれるもの以外では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の連続したひと続きの少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は1200個のアミノ酸と少なくとも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%、又は100%同一である。

10

【0205】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列の連続したひと続きの少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は1200個のアミノ酸と少なくとも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%、又は100%同一である。いくつかの実施形態では、表2に記載されるいずれかのアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換のいずれかのセット）に含まれるもの以外では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列の連続したひと続きの少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は1200個のアミノ酸と少なくとも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%、又は100%同一である。

20

30

【0206】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号4に記載されるアミノ酸配列の連続したひと続きの少なくとも10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は1200個のアミノ酸と少なくとも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%、又は100%同一である。いくつかの実施形態では、表2に記載されるいずれかのアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換のいずれかのセット）に含まれるもの以外では、S

40

50

A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号 4 に記載されるアミノ酸配列の連続したひと続きの少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は 1200 個のアミノ酸と少なくとも 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%、又は 100% 同一である。

10

【0207】

いくつかの実施形態では、表 2 に記載されるアミノ酸置換のいずれかのセットに含まれるもの以外では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、天然に存在する S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質の連続したひと続きの少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は 1200 個のアミノ酸と少なくとも 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%、又は 100% 同一である。いくつかの実施形態では、表 2 に記載されるアミノ酸置換のいずれかのセットに含まれるもの以外では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列の連続したひと続きの少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は 1200 個のアミノ酸と少なくとも 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%、又は 100% 同一である。いくつかの実施形態では、表 2 に記載されるアミノ酸置換のいずれかのセットに含まれるもの以外では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、配列番号 4 に記載されるアミノ酸配列の連続したひと続きの少なくとも 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、又は 1200 個のアミノ酸と少なくとも 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%、又は 100% 同一である。

20

30

40

【0208】

いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、少なくとも約 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、又は 1300 個のアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリ

50

ペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、約 10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、又は1300個以下のアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、約10～1300、10～1200、10～1100、10～1000、10～900、10～800、10～700、10～600、10～500、10～400、10～500、10～400、10～300、10～250、10～200、10～100、10～90、10～80、10～70、10～60、10～50、10～40、10～30、10～20、10～1300、20～1300、30～1300、40～1300、50～1300、60～1300、70～1300、80～1300、90～1300、100～1300、10～250、20～250、30～250、40～250、50～250、60～250、70～250、80～250、90～250、又は100～250個のアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、約10～15、10～20、10～30、10～40、10～50、10～60、10～70、10～80、10～90、10～100、10～200、10～300、10～400、10～500、10～600、10～700、10～800、10～900、10～1000、10～1100、10～1200、又は10～1300個のアミノ酸を含む。

10

20

【0209】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、約10～15、10～20、10～30、10～40、10～50、10～60、10～70、10～80、10～90、10～100、10～200、10～300、10～400、10～500、10～600、10～700、10～800、10～900、10～1000、10～1100、10～1200、10～1300、20～30、20～40、20～50、20～60、20～70、20～80、20～90、20～100、20～200、20～300、20～400、20～500、20～600、20～700、20～800、20～900、20～1000、20～1100、20～1200、20～1300、30～40、30～50、30～60、30～70、30～80、30～90、30～100、30～200、30～300、30～400、30～500、30～600、30～700、30～800、30～900、30～1000、30～1100、30～1200、30～1300、40～50、40～60、40～70、40～80、40～90、40～100、40～200、40～300、40～400、40～500、40～600、40～700、40～800、40～900、40～1000、40～1100、40～1200、40～1300、50～60、50～70、50～80、50～90、50～100、50～200、50～300、50～500、50～500、50～600、50～700、50～800、50～900、50～1000、50～1100、50～1200、50～1300、60～70、60～80、60～90、60～100、60～200、60～300、60～400、60～500、60～600、60～700、60～800、60～900、60～1000、60～1100、60～1200、60～1300、70～80、70～90、70～100、70～200、70～300、70～400、70～500、70～600、70～700、70～800、70～900、70～1000、70～1100、70～1200、70～1300、80～90、80～100、80～200、80～300、80～400、80～500、80～600、80～700、80～800、80～900、80～1000、80～1100、80～1200

30

40

50

20

30

40

50

R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、異種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、シグナルペプチドを含有しない。

【0211】

いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、融合前状態で安定化される。いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、融合前状態で S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）を安定化する少なくとも1個のアミノ酸変化（例えば、天然に存在する S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチドに対して、配列番号2に記載されるアミノ酸配列に対して）を含む。いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、アミノ酸位置983でプロリン及び／又はアミノ酸位置984でプロリン（配列番号2に対して付番するアミノ酸付番のアミノ酸）を含む。いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、アミノ酸位置986でプロリン及び／又はアミノ酸位置987でプロリン（配列番号4に対して付番するアミノ酸付番のアミノ酸）を含む。

【0212】

いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、不活性なフューリン切断部位を含む。融合を誘発できるようになるために、S A R S - C o V - 2 のスパイクタンパク質は、S1及びS2サブユニットに切断される必要がある。S A R S - C o V - 2 における切断部位は、多塩基モチーフ（RRAR）（例えば、フューリン様プロテアーゼによって活性化され得る配列番号2のアミノ酸679～682又は配列番号4のアミノ酸682～685）である。フューリン切断部位に対してそれを不活性化する修飾は、当技術分野で知られている。例えば、Amanat F, Strohmeier S, Rathnas inghe R, et al. Introduction of two prolines and removal of the polybasic cleavage site leads to optimal efficacy of a recombinant spike-based SARS-CoV-2 vaccine in the mouse model. Preprint. bioRxiv. 2020; 2020.09.16.300970. 2020年9月17日に公開。doi:10.1101/2020.09.16.300970（RRAR切断部位の単一のアラニンによる置き換えを記載する）；及び国際公開第2022203963号パンフレット（RRAR切断部位のアミノ酸配列QQAQによる置き換えを記載する）（各々の全内容は参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい。いくつかの実施形態では、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）は、フューリン切断部位を不活性化するフューリン切断部位における少なくとも1個のアミノ酸変化（例えば、天然に存在する S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はポリペプチドに対して、配列番号2に記載されるアミノ酸配列に対して）を含む。いくつ

10

20

30

40

50

かの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、RRAR切断部位の単一のアラニンによる置き換えを含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、RRAR切断部位のアミノ酸配列QQAQによる置き換えを含む。

【0213】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、1個以上の天然に存在しないグリコシル化モチーフ（例えば、N-グリコシル化モチーフ）を含む。例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるLin Wei-Shuo et al., Glycan Masking of Epitopes in the NTD and RBD of the Spike Protein Elicits Broadly Neutralizing Antibodies Against SARS-CoV-2 Variants, Frontiers in Immunology, (12) Article 795741, 02 December 2021, DOI=10.3389/fimmu.2021.795741を参照されたい。いくつかの実施形態では、1つ以上のグリコシル化モチーフ（例えば、N-グリコシル化モチーフ）の包含は、免疫原性タンパク質（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション）の免疫優性エピトープのグリカン遮蔽を促進する。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はそのポリペプチド免疫原断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））が対象に投与されるとき、対象は、免疫優性エピトープに特異的に結合する有効量の中和抗体を生成しない。したがって、いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））における1個以上のN-グリコシル化モチーフの包含は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の投与から生成される免疫応答を変化させて、SARS-CoV-2スパイクタンパク質に対するより多くの中和抗体を生成する。グリコシル化モチーフは、当技術分野で知られている。例えば、NX1X2（X1は、プロリンを除く任意のアミノ酸であってもよく、X2は、S、T、又はCであってもよい）は、コンセンサスN-グリコシル化配列として知られる。

【0214】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））は、1個以上の異種ペプチド又はタンパク質要素を含むか、又は本明細書に記載される核酸分子は、少なくとも1個の異種ペプチド又はタンパク質要素をコードする。いくつかの実施形態では、少なくとも1個の異種ペプチド又はタンパク質要素は、追加の機能をSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））に与えて、例えば、コードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の分泌を促進するか若しくは向上させるか（例えば、分泌シグナルペプチドを介して）、細胞膜における本明細書に記載されるコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-Co

○ V-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）の繫留を促進するか若しくは向上させるか（例えば、膜貫通要素を介して）、抗原複合体の形成を促進するか若しくは向上させるか（例えば、多量体形成ドメイン又は抗原クラスター化要素を介して）、又はウイルス様粒子形成（VLP 形成配列）を促進するか若しくは向上させる。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の外部ドメインは、生成されるタンパク質又はポリペプチドの安定性を向上させるように改変される。

【0215】

5.3 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質（例えば、免疫原）をコードする核酸分子

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される（例えば、§ 5.2 を参照のこと）SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子が提供される。いくつかの実施形態では、核酸分子は、RNA（例えば、mRNA 又は環状 RNA）又は DNA である。いくつかの実施形態では、核酸（例えば、RNA）分子は、翻訳可能な RNA である。いくつかの実施形態では、核酸（例えば、RNA）分子は、環状 RNA である。いくつかの実施形態では、核酸（例えば、RNA）分子は、mRNA である。

【0216】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、本明細書に記載される）をコードする核酸分子は、約 30 ～ 約 20000 個のヌクレオチド、約 50 ～ 約 2000 個のヌクレオチド、約 500 ～ 約 10000 個のヌクレオチド、約 1000 ～ 約 10000 個のヌクレオチド、約 1000 ～ 約 5000 個のヌクレオチド、又は約 2000 ～ 約 5000 個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードする核酸分子は、少なくとも 30 個のヌクレオチド、50 個のヌクレオチド、100 個のヌクレオチド、200 個のヌクレオチド、300 個のヌクレオチド、400 個のヌクレオチド、500 個のヌクレオチド、1000 個のヌクレオチド、2000 個のヌクレオチド、3000 個のヌクレオチド、又は 5000 個のヌクレオチドを含む。

【0217】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、本明細書に記載される）をコードする核酸分子の区画は、約 30 ～ 約 20000 個のヌクレオチド、約 50 ～ 約 20000 個のヌクレオチド、約 500 ～ 約 10000 個のヌクレオチド、約 1000 ～ 約 10000 個のヌクレオチド、約 1000 ～ 約 5000 個のヌクレオチド、又は約 2000 ～ 約 5000 個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードする核酸分子の区画は、少なくとも 30 個のヌクレオチド、50 個のヌクレオチド、100 個のヌクレオチド、200 個のヌクレオチド、300 個のヌクレオチド、400 個のヌクレオチド、500 個のヌクレオチド、1000 個のヌクレオチド、2000 個のヌクレオチド、3000 個のヌクレオチド、又は 5000 個のヌクレオチドを含む。

。

【0218】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、核酸分子を、（例えば、参照核酸分子、天然に存在する核酸分子の配列と比較して）改変して、例えば、参照核酸配列と比較した（a）インビボでの分解に対する耐性の向上、（b）インビボでの安定性の向上、（c）二次構造の減少、及び／又は（d）インビボでの翻訳可能性の向上のうちの1つ以上を与える。改変は、限定されないが、例えば、コドン最適化、ヌクレオチド修飾（例えば、本明細書に記載されるものを参照のこと）などを含む。

【0219】

いくつかの実施形態では、核酸分子の配列は、例えば、ヒトにおける発現のためにコドン最適化される。コドン最適化は、いくつかの実施形態において、適正な折り畳みを確認するために標的及び宿主生物においてコドン頻度を合致させ；核酸安定性を増大させるために、グアノシン（G）及び／又はシトシン（C）含量を偏らせ；遺伝子構築又は発現に障害を与え得る縦列反復コドン又は塩基の一続きを最小限にし；転写及び翻訳制御領域を個別調整し；タンパク質輸送配列を挿入若しくは除去し；コードされるタンパク質において翻訳後改変部位（例えば、グリコシル化部位）を除去／付加し；タンパク質ドメインを付加、除去若しくはシャッフルし；制限部位を挿入するか若しくは欠失させ；リボソーム結合部位及びmRNA分解部位を修飾し；タンパク質の様々なドメインを適正に折り畳ませることができるようにするために翻訳速度を調整し；且つ／又は核酸分子内の二次構造（例えば、問題のある二次構造）を減少させるか若しくは除去するために使用され得る。いくつかの実施形態では、コドン最適化された核酸配列は、（参照核酸配列と比較して）上記のうちの1つ以上を示す。いくつかの実施形態では、コドン最適化された核酸配列は、参照核酸配列と比較したインビボでの分解に対する耐性の向上、インビボでの安定性の向上、二次構造の減少、及び／又はインビボでの翻訳可能性の向上のうちの1つ以上を示す。コドン最適化方法、ツール、アルゴリズム、及びサービスが当技術分野で知られており、非限定的な例としては、GeneArt（Life Technologies）からのサービス及びDNA2.0（Menlo Park Calif.）が挙げられる。いくつかの実施形態では、オープンリーディングフレーム（ORF）配列は、最適化アルゴリズム（例えば、当技術分野で知られる最適化アルゴリズム）を使用して最適化される。いくつかの実施形態では、核酸配列は、参照核酸配列と比較して、G及び／又はCヌクレオチドの数を最適化するために改変される。G及びCヌクレオチドの数における増加は、G又はCヌクレオチドを含有するコドンによるアデノシン（A）又はチミジン（T）（又はウラシル（U））ヌクレオチドを含有するコドンの置換によってもたらされ得る。

【0220】

5.3.1 DNA核酸

いくつかの実施形態では、核酸分子は、DNAである。いくつかの実施形態では、DNAは、直鎖コードDNAコンストラクトである。いくつかの実施形態では、DNAは、ベクター（例えば、非ウイルスベクター（例えば、プラスミド）又はウイルスベクター）内に含有される。いくつかの実施形態では、DNAは、非ウイルスベクター（例えば、プラスミド）内に含有される。いくつかの実施形態では、DNAは、ウイルスベクター（例えば、本明細書に記載される）内に含有される。RNA及びDNA核酸の両方に関するベクターのより詳細な説明は、§5.6において提供される。

【0221】

コードDNA分子はまた、コード領域の発現を媒介するために1つ以上の異種核酸エレメントを含み得る。これらは、例えば、プロモーター、エンハンサー、ポリアデニル化シグナル、合成イントロン、転写終結シグナル、ポリアデニル化配列、及び他の転写調節エレメントを含む。当業者は、適宜発現コンストラクト（例えば、直鎖状DNA、プラスミドDNAなど）を最適化することができるコードDNAの発現に必要な転写調節エレメントに精通している。

【0222】

いくつかの実施形態では、プロモーターは、それぞれのコード核酸配列に作動可能に連結される。当業者は、利用され得る様々なプロモーター、例えば、サルウイルス40（S

V40)由来のプロモーター、マウス乳癌ウイルス(MMTV)プロモーター、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)プロモーター、ウシ免疫不全ウイルス(BIV)末端反復配列(LTR)プロモーター、モロニーウイルスプロモーター、トリ白血病ウイルス(ALV)プロモーター、CMV最初期プロモーターなどのサイトメガロウイルス(CMV)プロモーター、エプスタイン・バーウイルス(EBV)プロモーター、又はラウス肉腫ウイルス(RSV)プロモーターを認識している。プロモーターはまた、ヒト遺伝子、例えば、ヒトアクチン、ヒトミオシン、ヒトヘモグロビン、ヒト筋肉クレアチン、又はヒトメタロチオネイン由来のプロモーターであり得る。プロモーターはまた、筋肉又は皮膚特異的プロモーターなどの天然又は合成の組織特異的プロモーターであり得る。そのようなプロモーターの例は、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第20040175727号明細書に記載される。例示的なポリアデニル化シグナルとしては、ウシ成長ホルモン(BGH)ポリアデニル化部位、SV40ポリアデニル化シグナル、及びLTRポリアデニル化シグナルが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0223】

5.3.2 RNA核酸

いくつかの実施形態では、核酸分子は、RNA分子である。いくつかの実施形態では、RNA分子は、翻訳可能なRNA分子である。いくつかの実施形態では、RNA分子は、mRNA、自己複製RNA、環状RNA、ウイルスRNA、又はレプリコンRNAから選択される。いくつかの実施形態では、RNA分子は、環状RNAである。

20

【0224】

いくつかの実施形態では、RNA分子は、mRNAである。mRNA分子の基本的な構成成分は通常、少なくとも1つのコード領域(本明細書における少なくとも1つのペプチド又はタンパク質(例えば、SARS-CoV-2タンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくはバリエーション))をコードするコード領域)(例えば、本明細書に記載される)、5'-非翻訳領域(UTR)、3'-UTR、5'キャップ、及びポリ-Aテールを含む。

【0225】

いくつかの実施形態では、RNA(例えば、mRNA)は、少なくとも1つの異種UTRを含む。UTRは、RNA(例えば、mRNA)ターンオーバー、安定性、局在化、及び／又は作動可能に連結されたコード配列の発現を決定する調節配列エレメントを有し得る。異種UTRは、天然に存在する遺伝子に由来してもよいし、又は合成的に設計されてもよい。いくつかの実施形態では、5'-UTRは、遺伝子発現を制御するためのエレメント、例えば、リボソーム結合部位、miRNA結合部位を含む。5'-UTRは、例えば、5'キャップ構造の酵素的又は転写後付加によって、転写後修飾され得る。いくつかの実施形態では、3'-UTRは、ポリアデニル化シグナルを含む。いくつかの実施形態では、RNA(例えば、mRNA)は、ポリペプチド又はタンパク質(例えば、SARS-CoV-2タンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)))(例えば、本明細書に記載される)をコードする少なくとも1つのコード領域並びに5'-UTR及び／又は3'-UTRを含む。いくつかの実施形態では、RNA(例えば、mRNA)は、少なくとも1つの異種5'-UTR及び少なくとも1つの3'-UTRに作動可能に連結されたポリペプチド又はタンパク質(例えば、SARS-CoV-2タンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)))(例えば、本明細書に記載される)をコードする少なくとも1つのコード配列を含む。

30

40

【0226】

いくつかの実施形態では、RNA(例えば、mRNA)は、ポリ(A)配列を含む。ポリ(A)配列は、約10~500個のアデノシンヌクレオチド、10~200個のアデノシンヌクレオチド、20~200個のアデノシンヌクレオチド、30~200個のアデノシンヌクレオチド、40~200個のアデノシンヌクレオチド、又は50~200個のア

50

デノシンヌクレオチドを含み得る。いくつかの実施形態では、ポリ（Ａ）配列は、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、２００、３００、４００、又は５００個のアデノシンヌクレオチドを含む。ポリ（Ａ）配列は、約１０～５００個のアデノシンヌクレオチド、１０～２００個のアデノシンヌクレオチド、２０～２００個のアデノシンヌクレオチド、３０～２００個のアデノシンヌクレオチド、４０～２００個のアデノシンヌクレオチド、又は５０～２００個のアデノシンヌクレオチドを含んでもよく、前記核酸分子の３'末端ヌクレオチドは、アデノシンである。いくつかの実施形態では、ポリ（Ａ）配列は、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、２００、３００、４００、又は５００個のアデノシンヌクレオチドを含み、前記核酸分子の３'末端ヌクレオチドは、アデノシンである。

10

【０２２７】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）は、５'－キャップ構造を含む。いくつかの実施形態では、５'－キャップ構造は、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）を安定化し、コードされたポリペプチド又はタンパク質（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、本明細書に記載される）の発現を増強し且つ／又は自然免疫系の刺激を低減する（例えば、対象への投与後に）。

【０２２８】

例示的な５'－キャップ構造としては、cap 0（第１の核酸塩基のメチル化、例えば、m7GpppN）、cap 1（m7GpppNの隣接ヌクレオチドのリボースの追加のメチル化）、cap 2（m7GpppNの下流の第２のヌクレオチドのリボースの追加のメチル化）、cap 3（m7GpppNの下流の第３のヌクレオチドのリボースの追加のメチル化）、cap 4（m7GpppNの下流の第４のヌクレオチドのリボースの追加のメチル化）、ARCA（抗リバースキャップアナログ）、修飾されたARCA（例えば、ホスホチオエート修飾されたARCA）、イノシン、N1－メチル－グアノシン、２'－フルオロ－グアノシン、７－デアザ－グアノシン、８－オキソ－グアノシン、２－アミノ－グアノシン、LNA－グアノシン、及び２－アジド－グアノシンが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、５'キャップ構造は、m7G、cap 0、cap 1、cap 2、修飾されたcap 0、又は修飾されたcap 1構造を含む。

20

30

【０２２９】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）は、１個以上の修飾されたヌクレオチド（例えば、ヌクレオチド類似体、骨格修飾、糖修飾、及び／又は塩基修飾）を含む。本開示の文脈における骨格修飾は、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）のヌクレオチドの骨格のリン酸塩が化学修飾されている修飾である。本開示の文脈における糖修飾は、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）のヌクレオチドの糖の化学修飾である。本開示の文脈における塩基修飾は、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）のヌクレオチドの塩基部分の化学修飾である。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）は、少なくとも１個の修飾されたヌクレオチドを含む。例示的なヌクレオチド類似体／修飾としては、２－アミノ－６－クロロプリンリボシド－５'－トリホスフェート、２－アミノプリン－リボシド－５'－トリホスフェート；２－アミノアデノシン－５'－トリホスフェート、２'－アミノ－２'－デオキシシチジン－トリホスフェート、２－チオシチジン－５'－トリホスフェート、２－チオウリジン－５'－トリホスフェート、２'－フルオロチミジン－５'－トリホスフェート、２'－Ｏ－メチル－イノシン－５'－トリホスフェート、４－チオウリジン－５'－トリホスフェート、５－アミノアリルシチジン－５'－トリホスフェート、５－アミノアリルウリジン－５'－トリホスフェート、５－プロモシチジン－５'－トリホスフェート、５－プロモウリジン－５'－トリホスフェート、５－プロモ－２'－デオキシシチジン－５'－トリホスフェート、５－プロモ－２'－デオキシウリジン－５'－トリホスフェート、５－ヨードシチジン－５'－トリホスフェート、５－ヨード－２'－デオキシシチジン－５'、

40

50

ートリホスフェート、5-ヨードウリジン-5'-ートリホスフェート、5-ヨード-2'-
 デオキシウリジン-5'-ートリホスフェート、5-メチルシチジン-5'-ートリホスフェ
 ート、5-メチルウリジン-5'-ートリホスフェート、5-プロピニル-2'-デオキシシチ
 ジン-5'-ートリホスフェート、5-プロピニル-2'-デオキシウリジン-5'-ートリホ
 スフェート、6-アザシチジン-5'-ートリホスフェート、6-アザウリジン-5'-ートリ
 ホスフェート、6-クロロプリンリボシド-5'-ートリホスフェート、7-デアザアデノ
 シン-5'-ートリホスフェート、7-デアザグアノシン-5'-ートリホスフェート、8-ア
 ザアデノシン-5'-ートリホスフェート、8-アジドアデノシン-5'-ートリホスフェート
 、ベンズイミダゾールリボシド-5'-ートリホスフェート、N1-メチルアデノシン-
 5'-ートリホスフェート、N1-メチルグアノシン-5'-ートリホスフェート、N6-メチ 10
 ルアデノシン-5'-ートリホスフェート、O6-メチルグアノシン-5'-ートリホスフェ
 ート、シュードウリジン-5'-ートリホスフェート、又はピューロマイシン-5'-ートリホス
 フェート、キサントシン-5'-ートリホスフェートが挙げられるが、これらに限定されな
 い。5-メチルシチジン-5'-ートリホスフェート、7-デアザグアノシン-5'-ートリホ
 スフェート、5-プロモシチジン-5'-ートリホスフェート、及びシュードウリジン-5'
 -ートリホスフェート、ピリジン-4-オン リボヌクレオシド、5-アザ-ウリジン、2
 -チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオウリジン、4-チオ-シュードウリジン、2-チ
 オ-シュードウリジン、5-ヒドロキシウリジン、3-メチルウリジン、5-カルボキシ
 メチル-ウリジン、1-カルボキシメチル-シュードウリジン、5-プロピニル-ウリジ 20
 ン、1-プロピニル-シュードウリジン、5-タウリノメチルウリジン、1-タウリノメ
 チル-シュードウリジン、5-タウリノメチル-2-チオ-ウリジン、1-タウリノメチ
 ル-4-チオ-ウリジン、5-メチル-ウリジン、1-メチル-シュードウリジン、4-
 チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、1-
 メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュード
 ウリジン、ジヒドロウリジン、ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン
 、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-メトキシウリジン、2-メトキシ-4-チ
 オ-ウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、及び4-メトキシ-2-チオ-シュ
 ードウリジン、5-アザ-シチジン、シュードイソシチジン、3-メチル-シチジン、N4
 -アセチルシチジン、5-ホルミルシチジン、N4-メチルシチジン、5-ヒドロキシメ
 チルシチジン、1-メチル-シュードイソシチジン、ピロロ-シチジン、ピロロ-シュ
 ードイソシチジン、2-チオシチジン、2-チオ-5-メチル-シチジン、4-チオ-シュ
 ードイソシチジン、4-チオ-1-メチル-シュードイソシチジン、4-チオ-1-メチ
 ル-1-デアザ-シュードイソシチジン、1-メチル-1-デアザ-シュードイソシチジ 30
 ン、ゼブラリン、5-アザ-ゼブラリン、5-メチル-ゼブラリン、5-アザ-2-チオ
 -ゼブラリン、2-チオ-ゼブラリン、2-メトキシ-シチジン、2-メトキシ-5-メ
 チル-シチジン、4-メトキシ-シュードイソシチジン、及び4-メトキシ-1-メチル
 -シュードイソシチジン、2-アミノプリン、2、6-ジアミノプリン、7-デアザ-ア
 デニン、7-デアザ-8-アザ-アデニン、7-デアザ-2-アミノプリン、7-デアザ
 -8-アザ-2-アミノプリン、7-デアザ-2、6-ジアミノプリン、7-デアザ-8
 -アザ-2、6-ジアミノプリン、1-メチルアデノシン、N6-メチルアデノシン、N 40
 6-イソペンテニルアデノシン、N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシ
 ン、2-メチルチオ-N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、N6-
 グリシニルカルバモイルアデノシン、N6-スレオニルカルバモイルアデノシン、2-メ
 チルチオ-N6-スレオニルカルバモイルアデノシン、N6、N6-ジメチルアデノシン
 、7-メチルアデニン、2-メチルチオ-アデニン、及び2-メトキシ-アデニン、イノ
 シン、1-メチル-イノシン、ワイオシン、ワイプトシン、7-デアザ-グアノシン、7
 -デアザ-8-アザ-グアノシン、6-チオ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-グア
 ノシン、6-チオ-7-デアザ-8-アザ-グアノシン、7-メチル-グアノシン、6-
 チオ-7-メチル-グアノシン、7-メチルイノシン、6-メトキシ-グアノシン、1-
 メチルグアノシン、N2-メチルグアノシン、N2、N2-ジメチルグアノシン、8-オ 50

キソーグアノシン、7-メチル-8-オキソーグアノシン、1-メチル-6-チオーグアノシン、N2-メチル-6-チオーグアノシン、及びN2, N2-ジメチル-6-チオーグアノシン、5'-O-(1-チオホスフェート)-アデノシン、5'-O-(1-チオホスフェート)-シチジン、5'-O-(1-チオホスフェート)-グアノシン、5'-O-(1-チオホスフェート)-ウリジン、5'-O-(1-チオホスフェート)-シュードウリジン、6-アザ-シチジン、2-チオ-シチジン、アルファ-チオ-シチジン、シュードイソ-シチジン、5-アミノアリル-ウリジン、5-ヨード-ウリジン、N1-メチル-シュードウリジン、5, 6-ジヒドロウリジン、アルファ-チオ-ウリジン、4-チオ-ウリジン、6-アザ-ウリジン、5-ヒドロキシ-ウリジン、デオキシ-チミジン、5-メチル-ウリジン、ピロロ-シチジン、イノシン、アルファ-チオグアノシン、6-メチル-グアノシン、5-メチル-シチジン、8-オキソーグアノシン、7-デアザ-グアノシン、N1-メチル-アデノシン、2-アミノ-6-クロロ-プリン、N6-メチル-2-アミノ-プリン、シュード-イソ-シチジン、6-クロロ-プリン、N6-メチル-アデノシン、アルファ-チオアデノシン、8-アジド-アデノシン、及び7-デアザ-アデノシンからなる塩基修飾されたヌクレオチドの群から選択される塩基修飾に関するヌクレオチドが特に好ましい。

10

【0231】

いくつかの実施形態では、RNA（例えば、mRNA）は、シュードウリジン、N1-メチルシュードウリジン、N1-エチルシュードウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、5-メチルウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、4-チオ-シュードウリジン、5-アザ-ウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メトキシウリジン、及び／又は2'-O-メチルウリジンを含む。

20

【0232】

いくつかの実施形態では、RNA（例えば、mRNA）は、1個以上のシュードウリジン（ ψ ）、N1-メチルシュードウリジン（m1 ψ ）、5-メチルシトシン、及び5-メトキシウリジンを含む。いくつかの実施形態では、RNA（例えば、mRNA）のコード配列におけるウラシルの本質的に全て、例えば、本質的に100%は、化学修飾を有し、好ましくは、化学修飾は、ウラシルの5位に存在する。例えば、シュードウリジン（ ψ ）、N1-メチルシュードウリジン（m1 ψ ）、5-メチルシトシン、及び／又は5-メトキシウリジンなどの修飾されたヌクレオチドのコード配列への組み込みは、望まれない自然免疫応答（コードRNA又はワクチンの投与時）が調整され得るか又は低減され得る（必要に応じて）ため、有利であり得る。

30

【0233】

一実施形態では、RNA（例えば、mRNA）は、(i) 5'-キャップ構造；(ii) 5'-UTR；(iii) N1-メチル-シュードウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニン；(iv) 3'-UTR；並びに(v) ポリ-A領域を含む。

40

【0234】

本明細書に記載されるRNA（例えば、mRNA）は、例えば、インビトロ転写によって作製され得る。インビトロ転写は、RNA（例えば、mRNA）の生成のための当業者によく知られる方法である。一般的に、RNAは、適切なDNA鋳型、例えば、線状化されたプラスミドDNA鋳型又はPCR増幅されたDNA鋳型のDNA依存的なインビトロ転写によって得られる。RNAインビトロ転写を制御するためのプロモーターは、いずれかのDNA依存性RNAポリメラーゼのための任意のプロモーターであり得る。DNA依存性RNAポリメラーゼの例としては、17、T3、SP6、又はSyn5 RNAポリメラーゼが挙げられる。いくつかの例では、DNA鋳型は、それがRNAインビトロ転写にかけられる前に好適な制限酵素で線状化される。RNAインビトロ転写において使用さ

50

れる試薬は通常、バクテリオファージにコードされるRNAポリメラーゼ（T7、T3、SP6、又はSyn5）などのその対応するRNAポリメラーゼに対する高い結合親和性を有するプロモーター配列を有するDNA鋳型（線状化されたプラスミドDNA又はPCR産物）；4個の塩基（アデニン、シトシン、グアニン及びウラシル）のためのリボヌクレオチドトリホスフェート（NTP）；DNA鋳型内のプロモーター配列に結合することができるDNA依存性RNAポリメラーゼ（例えば、T7、T3、SP6、又はSyn5 RNAポリメラーゼ）；任意選択により、任意の潜在的に混入しているRNaseを不活性化するリボヌクレアーゼ（RNase）阻害剤；任意選択により、RNAインビトロ転写を阻害し得る、ピロホスフェートを分解するピロホスファターゼ；ポリメラーゼのための補助因子としてMg²⁺イオンを供給するMgCl₂；抗酸化剤（例えば、DTT）、及び／又は最適な濃度のスペルミジンなどのポリアミンも含有し得る好適なpH値を維持するための緩衝液（TRIS又はHEPES）、例えば、国際公開第2017109161号パンフレットで開示されるとおりのTRIS-クエン酸塩を含む緩衝液系。得られるRNA（例えば、mRNA）産物は、当技術分野で知られる方法に従って精製され得る。例えば、Pure Messenger（登録商標）（CureVac、Tubingen、Germany；国際公開第2008077592号パンフレットによるRP-HPLC）及び／又はタンジェンシャルフロー濾過（国際公開第2016193206号パンフレットに記載されるとおり）及び／又はオリゴdT精製（国際公開第2016180430号パンフレットを参照のこと）を使用すること；又はRP-HPLCを使用すること、例えば、逆相高圧液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）を使用すること（全内容が全ての目的のために参照により本明細書によって組み込まれる）。

10

20

【0235】

5.4 融合及びコンジュゲート

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される（例えば、§5.2を参照のこと）SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））又は本明細書に記載される（例えば、§5.3を参照のこと）SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子は、異種部分（例えば、異種ポリペプチド）に作動可能に連結されて、融合タンパク質又はポリペプチド又はコンジュゲートを形成する。

30

【0236】

いくつかの実施形態では、異種部分は、半減期延長部分である。例示的な半減期延長部分としては、ヒト免疫グロブリン（hIg）、hIgの断片、hIg定常領域、hIg定常領域の断片、hIg Fc領域、ヒトトランスフェリン、ヒト血清アルブミン（HSA）、HSA結合タンパク質、並びにポリエチレングリコール（PEG）（及びそのポリマー）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、半減期延長ポリペプチドである。例示的な半減期延長ポリペプチドとしては、hIg、hIgの断片、1つ以上のhIg重鎖定常領域、hIg定常領域の断片、hIg Fc領域、ヒトトランスフェリン、ヒト血清アルブミン（HSA）、及びHSA結合タンパク質が挙げられるが、これらに限定されない。半減期延長部分（例えば、半減期延長ポリペプチド）に融合されたか又はコンジュゲートされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））又はSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子は、当技術分野で知られる標準的なインビボでの方法を利用してそれらの薬物動態特性について評価され得る。いくつかの実施形態では、異種部分は、検出可能な薬剤（例えば、タンパク質、例えば、蛍光タン

40

50

パク質)である。

【0237】

異種部分(例えば、異種ポリペプチド)は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))又はSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))をコードするコード領域を含む核酸分子に直接的に作動可能に連結され得るか又は間接的に作動可能に連結され得る。

【0238】

いくつかの実施形態では、異種部分は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))又はSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))をコードするコード領域を含む核酸分子に直接的に作動可能に連結される。いくつかの実施形態では、異種部分は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))又はSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))をコードするコード領域を含む核酸分子に間接的に作動可能に連結される。

【0239】

当業者は、特定の異種部分の融合又はコンジュゲーションのための好適なリンカーを評価し、選択することができる。例えば、実施形態において、異種部分は、異種ポリペプチドを含み、ペプチドリンカーが利用され得る。ペプチドリンカーは当技術分野で知られており、例えば、長さ、可動性、強剛性、切断可能性などを含む特定の特性に基づいて選択され得る。一般的に利用されるペプチドリンカーのアミノ酸配列は、グリシンアミノ酸残基、セリンアミノ酸残基、グリシン及びセリンアミノ酸残基、又はグリシン、セリン、及びプロリンアミノ酸残基を含む。

【0240】

異種部分(例えば、異種ポリペプチド)及びSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))又はSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))をコードするコード領域を含む核酸分子は、融合タンパク質又はポリペプチド又はコンジュゲートのそれぞれの機能的な部分とその機能を媒介する能力を維持する限り、向きを変えて配置されてもよい。

【0241】

5.5 ワクチン組成物

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される(例えば、§5.2を参照のこと)SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))(又はその融合物若しくはコンジュゲート(例えば、§5.4を参照のこと))又は本明細書に記載される(例えば、§5.3を参照のこと)SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))(又はその融合物若しくはコンジュゲート(例えば、§5.4を参照のこと))をコードするコード領域を含む核酸分子は、ワクチン組成物(例えば、プライムワクチン

ン組成物、プライムブースト組成物、ワクチンプライム及びブースター組成物）のための基盤を形成する。したがって、一態様において、本明細書では、本明細書に記載される（例えば、§ 5. 2を参照のこと）少なくとも1種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート（例えば、§ 5. 4を参照のこと））又は本明細書に記載される（例えば、§ 5. 3を参照のこと）SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート（例えば、§ 5. 4を参照のこと））をコードするコード領域を含む核酸分子を含むワクチン組成物（例えば、プライムワクチン組成物、プライムブースト組成物、ワクチンプライム及びブースター組成物）が提供される。

10

【0242】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム-ブーストワクチンレジメンのプライムワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム-ブーストワクチンレジメンのプライムブースト組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム-ブーストワクチンレジメンのワクチンプライム及びブースター組成物である。いくつかの実施形態では、プライムブースト組成物は、プライム及び／又はブースター（例えば、本明細書に記載されるとおり）として利用され得る。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、ブースターを必要としない単一用量のワクチンを形成する。

20

【0243】

5. 5. 1 ペプチド及びタンパク質に基づくワクチン

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される（例えば、§ 5. 2を参照のこと）SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート（例えば、§ 5. 4を参照のこと））は、ワクチン組成物（例えば、プライムワクチン組成物、プライムブースト組成物、ワクチンプライム及びブースター組成物）のための基盤を形成する。したがって、一態様において、本明細書では、本明細書に記載される（例えば、§ 5. 2を参照のこと）少なくとも1種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート（例えば、§ 5. 4を参照のこと））を含むワクチン組成物（例えば、プライムワクチン組成物、プライムブースト組成物、ワクチンプライム及びブースター組成物）が提供される。

30

【0244】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム-ブーストワクチンレジメンのプライムワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム-ブーストワクチンレジメンのプライムブースト組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム-ブーストワクチンレジメンのワクチンプライム及びブースター組成物である。いくつかの実施形態では、プライムブースト組成物は、プライム及び／又はブースター（例えば、本明細書に記載されるとおり）として利用され得る。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、ブースターを必要としない単一用量のワクチンを形成する。

40

【0245】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、複数のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含む。

【0246】

50

いくつかの実施形態では、複数は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80、90、100種又はそれ以上のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、複数は、約2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～20、2～10、2～5、5～100、5～90、5～80、5～70、5～60、5～50、5～40、5～30、5～20、5～10、10～100、10～90、10～80、10～70、10～60、10～50、10～40、10～30、10～20、20～100、20～90、20～80、20～70、20～60、20～50、20～40、20～30、30～100、30～90、30～80、30～70、30～60、30～50、30～40、40～100、40～90、40～80、40～70、40～60、40～50、50～100、50～90、50～80、50～70、50～60、60～100、60～90、60～80、60～70、70～100、70～90、70～80、80～100、80～90、又は90～100種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、複数は、少なくとも2種であるが、100、90、80、70、60、50、40、30、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3種以下のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含む。

10

20

【0247】

いくつかの実施形態では、複数のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の各々のアミノ酸配列は、異なる。

【0248】

いくつかの実施形態では、複数のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも1つのアミノ酸配列は、SARS-CoV-2の流行中の株に由来する。

【0249】

いくつかの実施形態では、複数のうちの第1のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載される少なくとも第1のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換のセット）を含み；複数のうちの第2のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載される少なくとも第2のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換のセット）を含み、表2に記載される第1及び第2のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の第1及び第2のセット）は、異なる。いくつかの実施形態では、複数のうちのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも2個（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10個、又はそれ以上）のアミノ酸配列は、表2に記載される少なくとも1個のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の少なくとも1つのセット）を含有する。いくつかの実施形態では、複数のうちのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも2個（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10個、又はそれ以上）は、表2に記載される少なくとも1個のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の少なくとも1つのセット）を含有し、各アミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の各セット）は、異なる。

30

40

【0250】

50

いくつかの実施形態では、複数のうちのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも1個（例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、又は50個以上）のアミノ酸配列は、表2に記載されていない1個以上のアミノ酸変化を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質）のアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、配列番号4に記載されるアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、1個以上の変化は、SARS-CoV-2の1種以上の流行中のバリエーションにおいて見出される。いくつかの実施形態では、1個以上の変化は、以前に流行していたことが知られるSARS-CoV-2の1種以上のバリエーションにおいて見出される。

10

【0251】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物はさらに、非SARS-CoV-2ウイルス、例えば、インフルエンザウイルス（例えば、インフルエンザA、インフルエンザB）、呼吸器多核体ウイルス（RSV）、ライノウイルス、パルボウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス由来の少なくとも1種の免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）を含む。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、インフルエンザウイルス（例えば、インフルエンザA、インフルエンザB）、呼吸器多核体ウイルス（RSV）、ライノウイルス、パルボウイルス、パラインフルエンザウイルス、及び／若しくはアデノウイルス（又はその任意の組み合わせ）由来の1種以上の免疫原（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション）を含む。

20

【0252】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチドの外部ドメイン）は、下記のと通りの宿主細胞（例えば、昆虫細胞、哺乳動物細胞、卵）においてタンパク質の発現を向上させるために改変される。

30

【0253】

本明細書に記載されるポリペプチド及びタンパク質（例えば、免疫原）、例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション））は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードする核酸発現ベクター（例えば、プラスミド、ウイルスベクター（例えば、バキュロウイルス発現ベクター））でトランスフェクトされたか又は形質導入された宿主細胞（例えば、昆虫細胞、哺乳動物細胞、細菌）において組換え技術によって生成され得る。そのような一般的な方法は、当技術分野における共通の知識である。発現ベクターは通常、プロモーター、エンハンサー、ポリアダニル化シグナルなどのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードする核酸分子の発現を引き起こすことができる核酸配列を含む発現カセットを含有する。当業者は、様々なプロモーター及びエンハンサーエレメントが、宿主細胞において核酸分子の発現を得るために使用され得ることを認識している。例えば、プロモーターは、構成的又は調節的であり得るし、様々な供給源（例えば、ウイルス、原核生物、若しくは真核生物の供給源）から入手され得るか、又は人為的に設計され得る。トランスフェクション又は形質導入の後、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードする発現ベクターを含有する宿主細胞は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその

40

50

免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)をコードする核酸分子の発現に資する条件下で培養される。培養培地は、様々なベンダーから入手可能であり、好適な培地は、目的のポリペプチド又はタンパク質、本明細書のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))を発現する宿主細胞のために慣例的に選択され得る。宿主細胞は、粘着性培養物又は懸濁培養物であってもよく、当業者は、選択された特定の宿主細胞のための培養方法を最適化し得る。例えば、懸濁細胞は、例えば、バイオリアクター、例えば、バッチプロセス又はフェドバッチプロセスにおいて培養され得る。生成された免疫原性ペプチド又はタンパク質は、例えば、フローフロースルー又は結合-及び-溶出モードのいずれかのカラムクロマトグラフィーによって、細胞培養物から単離され得る。例としては、レンチルレクチンセファロースなどのイオン交換レジン及び親和性レジン、並びに混合モードカチオン交換-疎水性相互作用カラム(CEX-HIC)が挙げられるが、これらに限定されない。ペプチド又はタンパク質は、濃縮され、限外濾過によって緩衝液交換され得るし、限外濾過からの残余分は、適切なフィルター、例えば、0.22 µmフィルターを通して濾過され得る。例えば、McPherson et al., "Development of a SARS Coronavirus Vaccine from Recombinant Spike Protein Plus Delta Inulin Adjuvant," Chapter 4, in Sunil Thomas (ed.), Vaccine Design: Methods and Protocols: Volume 1: Vaccines for Human Diseases, Methods in Molecular Biology, Springer, New York, 2016を参照されたい。また、米国特許第5,762,939号明細書(各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

10

20

【0254】

本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド(例えば、免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))はまた、合成的に生成され得る。本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド(例えば、免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))は、卵に基づく製造方法を使用することによって生成され得る。

30

【0255】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物のSARS-CoV-2スパイクタンパク質及びポリペプチド(例えば、免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))は、1種以上の担体(例えば、本明細書に記載される担体(例えば、§5.7を参照のこと))において製剤化される。

【0256】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、医薬組成物(例えば、本明細書に記載される、例えば、§5.8を参照のこと)である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、アジュバント(例えば、本明細書に記載される、例えば、§5.9を参照のこと)を含む。

【0257】

40

5.5.2 核酸に基づくワクチン

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される(例えば、§5.3を参照のこと)SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))(又はその融合物若しくはコンジュゲート(例えば、§5.4を参照のこと))をコードするコード領域を含む核酸分子は、ワクチン組成物(例えば、プライムワクチン組成物、プライムブースト組成物、ワクチンプライム及びブースター組成物)のための基盤を形成する。したがって、一態様において、本明細書では、少なくとも1つの本明細書に記載される(例えば、§5.3を参照のこと)SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又

50

はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）（又はその融合物若しくはコンジュゲート（例えば、§ 5.4を参照のこと））をコードするコード領域を含む核酸分子を含むワクチン組成物（例えば、プライムワクチン組成物、プライムブースト組成物、ワクチンプライム及びブースター組成物）が提供される。

【0258】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム－ブーストワクチンレジメンのプライムワクチン組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム－ブーストワクチンレジメンのプライムブースト組成物である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、プライム－ブーストワクチンレジメンのワクチンプライム及びブースター組成物である。いくつかの実施形態では、プライムブースト組成物は、プライム及び／又はブースター（例えば、本明細書に記載されるとおり）として利用され得る。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、ブースターを必要としない単一用量のワクチンを形成する。

10

【0259】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、各々が少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、本明細書に記載される）をコードするコード領域を含む複数の核酸分子（nucleic acids）を含む。

【0260】

20

いくつかの実施形態では、複数の核酸分子の各々は、同じ大きい核酸分子の一部である。いくつかの実施形態では、複数の核酸分子の各々は、別々の（すなわち、連結されていない）核酸分子である。いくつかの実施形態では、複数の核酸分子の少なくとも2個は、同じ大きい核酸分子の一部である。いくつかの実施形態では、複数の核酸分子の少なくとも2個は、別々の（すなわち、連結されていない）核酸分子である。いくつかの実施形態では、複数の核酸分子の少なくとも2個は、同じ大きい核酸分子の一部であり；複数の核酸分子の少なくとも1個（例えば、少なくとも2、3、4、5個など）は、別々の（すなわち、連結されていない）核酸分子である。

【0261】

いくつかの実施形態では、複数の核酸分子は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80、90、100個又はそれ以上の核酸分子を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、複数の核酸分子は、約2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～20、2～10、2～5、5～100、5～90、5～80、5～70、5～60、5～50、5～40、5～30、5～20、5～10、10～100、10～90、10～80、10～70、10～60、10～50、10～40、10～30、10～20、20～100、20～90、20～80、20～70、20～60、20～50、20～40、20～30、30～100、30～90、30～80、30～70、30～60、30～50、30～40、40～100、40～90、40～80、40～70、40～60、40～50、50～100、50～90、50～80、50～70、50～60、60～100、60～90、60～80、60～70、70～100、70～90、70～80、80～100、80～90、又は90～100個の核酸分子を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、複数の核酸分子は、少なくとも2個であるが、100、90、80、70、60、50、40、30、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3個以下の核酸分子を含む。

30

40

【0262】

いくつかの実施形態では、複数のコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の各々のアミノ酸配列は、異なる。

50

【0263】

いくつかの実施形態では、複数のコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも1つのアミノ酸配列は、SARS-CoV-2の流行中の株に由来する。

【0264】

いくつかの実施形態では、複数のうちの第1のコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載される少なくとも第1のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の第1のセット）を含み；複数のうちの第2のコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））のアミノ酸配列は、表2に記載される少なくとも第2のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の第2のセット）を含み、表2に記載される第1及び第2のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の第1及び第2のセット）は、異なる。いくつかの実施形態では、複数のうちのコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも2個（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10個、又はそれ以上）のアミノ酸配列は、表2に記載される少なくとも1個のアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の少なくとも1つのセット）を含有する。いくつかの実施形態では、複数のうちのコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも2個（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10個、又はそれ以上）のアミノ酸配列は、表2に記載されるアミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換のセット）を含有し、各アミノ酸置換（例えば、アミノ酸置換の各セット）は、異なる。

【0265】

いくつかの実施形態では、複数のうちのコードされたSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション））の少なくとも1個（例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個、又はそれ以上）のアミノ酸配列は、表2に記載されていない1個以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、若しくは50個、又はそれ以上）のアミノ酸変化を含むか又はそれらからなる。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、参照SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質）のアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、配列番号4に記載されるアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、SARS-CoV-2の1種以上の流行中のバリエーションにおいて見出される。いくつかの実施形態では、1個以上のアミノ酸変化は、以前に流行していたことが知られる1種以上のSARS-CoV-2株において見出される。

【0266】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物はさらに、非SARS-CoV-2ウイルス、例えば、インフルエンザウイルス（例えば、インフルエンザA、インフルエンザB）、呼吸器多核体ウイルス（RSV）、ライノウイルス、パルボウイルス、パラインフルエンザウイルス、又はアデノウイルス由来の1種以上の免疫原（例えば、1種以上の免疫原性ペプチド又はタンパク質）をコードする1種以上の核酸分子を含む。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、インフルエンザウイルス（例えば、インフルエンザA、インフルエンザB）、呼吸器多核体ウイルス（RSV）、ライノウイルス、パルボウイルス、パラインフルエンザウイルス、及び／又はアデノウイルス（又はその任意の組み合わせ）由

来の１種以上の免疫原（例えば、１種以上の免疫原性ペプチド又はタンパク質）をコードする１種以上の核酸分子を含む。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、核酸分子は、１種以上のベクター（例えば、本明細書に記載されるベクター）（例えば、§ ５．６を参照のこと）内に含まれる。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物の核酸分子又はベクターは、１種以上の担体（例えば、本明細書に記載される担体）（例えば、§ ５．７を参照のこと）中で製剤化される。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、医薬組成物（例えば、本明細書に記載される、例えば、§ ５．８を参照のこと）である。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、アジュバント（例えば、本明細書に記載される、例えば、§ ５．９を参照のこと）を含む。

【０２６９】

核酸分子は、当技術分野で知られ、§ ５．３において上で記載される一般的な方法を使用して作製され得る。

【０２７０】

５．６ ベクター

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される核酸分子（例えば、DNA分子、RNA分子（例えば、mRNA分子））（例えば、§ ５．３を参照のこと）（又はその融合物若しくはコンジュゲート（例えば、§ ５．４を参照のこと））は、ベクター（例えば、非ウイルスベクター、ウイルスベクター）に含有される。したがって、一態様において、本明細書では、本明細書に記載される１種以上の核酸（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）をコードする核酸分子）を含むベクター（例えば、ウイルスベクター、非ウイルスベクター（例えば、プラスミド、ミニサークル））も提供される。そのようなベクターは、当業者によく知られる方法によって容易に操作され得る。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、ベクターは、非ウイルスベクター（例えば、プラスミド、ミニサークル）である。いくつかの実施形態では、ベクターは、プラスミドである。当業者は、目的のDNAの発現のための好適なプラスミドを認識している。例えば、好適なプラスミドDNAは、例えば、国際公開第2009150222A2号パンフレットに記載され且つPCT請求項1～33で定義されるとおりの（本開示は、国際公開第2009150222A2号パンフレットの請求項1～33に関連し、その全内容は、全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）ベクターを使用して、細胞株、例えば、昆虫細胞株においてコードされたペプチド又はタンパク質（例えば、SARS-CoV-2タンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原））の効率的な産生を可能にするように作製され得る。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。ウイルスベクターは、RNAに基づくベクター及びDNAに基づくベクターの両方を含む。ベクターは、様々な仕様を満たすために設計され得る。例えば、ウイルスベクターは、原核及び／又は真核細胞において複製が可能であるように又は不可能であるように操作され得る。いくつかの実施形態では、ベクターは、複製欠損である。いくつかの実施形態では、ベクターは、複製能力がある。ウイルスベクターは、宿主細胞のゲノムに全体的に又は部分的に組み込まれ（又は組み込まれず）、その結果（又は（例えば、エピソーム発現））、それらのゲノム中で所望の核酸を含む好適な宿主細胞がもたらされることになるように操作され得るか又は選択され得る。

【０２７３】

例示的なウイルスベクターとしては、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベ

10

20

30

40

50

クター、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、ポックスウイルスベクター、パラポックスウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、鶏痘ウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、アルファウイルスベクター、レンチウイルスベクター、ラブドウイルスベクター、麻疹ウイルス、ニューカッスル病ウイルスベクター、ピコルナウイルスベクター、又はリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスベクターが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、又はレンチウイルスベクターである。

【0274】

いくつかの実施形態では、ベクターは、アデノウイルスベクター（例えば、ヒトアデノウイルスベクター、例えば、HAdV又はAdHu）である。いくつかの実施形態では、アデノウイルスベクターは、E1領域が欠失され、ヒト細胞において複製欠損をもたらす。E3及びE4などのアデノウイルスの他の領域もまた、欠失され得る。例示的なアデノウイルスベクターとしては、例えば、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2005071093号パンフレット又は国際公開第2006048215号パンフレットに記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、使用されるアデノウイルス系ベクターは、サルアデノウイルスであり、それにより、AdHu5などの一般的なヒト実体に対する既存の抗体によるワクチン接種の後の免疫応答の抑制を回避する。例示的なサルアデノウイルスベクターとしては、AdCh63（例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2005071093号パンフレットを参照のこと）又はAdCh68が挙げられる。

【0275】

ウイルスベクターは、当業者に知られる標準的な方法を使用してパッケージング／プロデューサー細胞株（例えば、哺乳動物細胞株）の使用を介して作製され得る。一般的に、目的のペプチド又はタンパク質（例えば、本明細書に記載されるペプチド又はタンパク質（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2ペプチド又はタンパク質（例えば、SARS-CoV-2免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（追加のエレメント、例えば、プロモーター、導入遺伝子に隣接する逆位末端配列（ITR）を伴う）をコードする核酸コンストラクト（例えば、プラスミド）、例えば、ウイルス複製及び構造タンパク質をコードするプラスミド（1種以上のヘルパープラスミドを伴う）、宿主細胞（例えば、宿主細胞株）は、宿主細胞株（すなわち、パッキング／プロデューサー細胞株）にトランスフェクトされる。いくつかの例では、ウイルスベクターに応じて、別のウイルス由来のヘルパー遺伝子（例えば、アデノ随伴ウイルスベクターの例における）を含むヘルパープラスミドもまた必要とされ得る。真核生物発現プラスミドは、様々な供給業者から商業的に入手可能であり、例えば、プラスミドシリーズ：pCDNA（商標）、pCR3.1（商標）、pCMV（商標）、pFRT（商標）、pVAX1（商標）、pCI（商標）、Nanoplasmid（商標）、及びPcaggsである。当業者は、多数のトランスフェクション方法を認識しており、トランスフェクションの任意の好適な方法が利用され得る（例えば、担体としての生化学的物質（例えば、リポフェクタミン）を使用して、機械的手段によって、エレクトロポレーションによって）。細胞は、プラスミド発現に好適な条件下及び十分な時間で培養される。ウイルス粒子は、当業者に知られる標準的な方法を使用して細胞培養培地から精製され得る。例えば、遠心分離に続く、例えば、クロマトグラフィー及び／又は限外濾過。

【0276】

5.7 担体

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート）、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタ

ンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート）をコードするコード領域を含む核酸分子、又は本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子を含むベクターは、1種以上の担体内で製剤化される。したがって、本明細書では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含む担体、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子、又は本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子を含むベクターがさらに提供される。

10

【0277】

タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及びベクターは、担体内に封入されてもよく、担体に化学的にコンジュゲートされてもよく、且つ／又は担体と会合されてもよい。この文脈において、用語「会合される」は、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、又は担体（例えば、脂質系担体、例えば、脂質ナノ粒子（LNP）、リボソーム、リボプレックス、及び／又はナノリボソームの1つ以上の脂質）の1つ以上の分子を有するベクターの共有結合によらないより大きな複合体又は集合体への本質的に安定な組み合わせを指す。この文脈において、用語「封入」は、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、又はベクターの担体（例えば、脂質系担体、例えば、LNP、リボソーム、リボプレックス、及び／又はナノリボソーム）への組み込みを指し、タンパク質、ペプチド、核酸分子、例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、又はベクターは、担体（例えば、脂質系担体、例えば、LNP、リボソーム、リボプレックス、及び／又はナノリボソーム）の内部空間内に全体的に含有される。

20

30

【0278】

例示的な担体としては、脂質系担体（例えば、LNP、リボソーム、リボプレックス、及びナノリボソーム）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、担体は、脂質系担体である。いくつかの実施形態では、担体は、LNPである。いくつかの実施形態では、LNPは、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及び／又はPEG脂質を含む。脂質系担体はさらに、§5.7.1において下で記載される。

【0279】

5.7.1 脂質系担体

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子、及び／又は本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子を含むベクターは、1種以上の脂質（例えば、カチオン性脂質、及び／又は中性脂質）で封入されるか又はそれらと会合され、それにより、LNP、リボソーム、リボプレックス、又はナノリボソームなどの脂質系担体を形成する。

40

50

【0280】

いくつかの実施形態では、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターは、1種以上の脂質（例えば、カチオン性脂質及び／又は中性脂質）中に封入され、それによりLNP、リポソーム、リポプレックス、又はナノリポソームなどの脂質系担体を形成する。いくつかの実施形態では、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターは、1種以上の脂質（例えば、カチオン性脂質及び／又は中性脂質）と会合され、それによりLNP、リポソーム、リポプレックス、又はナノリポソームなどの脂質系担体を形成する。

【0281】

いくつかの実施形態では、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターは、LNP（例えば、本明細書に記載されるとおりの）中に封入される。いくつかの実施形態では、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターは、LNP（例えば、本明細書に記載されるとおりの）と会合される。LNPは、§5.7.1.1においてさらに詳細に記載される。mRNA送達のためのLNPの使用は、例えば、Hou X et al. *Lipid nanoparticles for mRNA delivery*. *Nat Rev Mater*. 2021; 6 (12): 1078–1094. doi: 10.1038/s41578-021-00358-0. Epub 2021 Aug 10. PMID: 34394960; PMCID: PMC8353930（全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）においてさらに詳述される。

【0282】

タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターは、脂質層／膜内のLNP、リポソーム、リポプレックス、及び／又はナノリポソームの内部空間中に完全に又は部分的に配置されるか、又は脂質層／膜の外部空間と会合される。タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターをLNP、リポソーム、リポプレックス、及び／又はナノリポソームに組み込む1つの目的は、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターの迅速な排出をもたらすタンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、並びに／又はベクター及び／若しくは系若しくは受容体を分解する酵素又は化学物質又は条件を含有し得る環境からタンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターから保護することである。さらに、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターをLNP、リポソーム、リポプレックス、及び／又はナノリポソームに組み込むことによって、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターの取り込みを促進し得るし、したがって、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクターの治療効果を増強し得る。したがって、タンパク質、ペプチド、核酸分子（例えば、RNA（例えば、mRNA）、DNA）、及び／又はベクター（例えば、本明細書に記載される）をLNP、リポソーム、リポプレックス、及び／又はナノリポソームに組み込むことは、本明細書に記載される医薬組成物に、例えば、筋肉内及び／又は皮内投与に特に好適であり得る。

【0283】

LNP、リポソーム、リポプレックス、及び／又はナノリポソームは、直径が数百ナノメートルであり、狭い水性区画によって隔てられた一連の同心円状の二層を含有し得る多重層ベシクル（MLV）、直径が50nm未満であり得る小型単細胞ベシクル（SUV）、及び直径が50nm～500nmの間であり得る大型単層ベシクル（LUV）などであるが、これらに限定されない異なるサイズのものであり得る。いくつかの実施形態では、

LNP、リポソーム、リポプレックス、及び／又はナノリポソームは、約10～500nm、10～400nm、10～300nm、10～200nm、10～100nm、又は10～50nmの直径を有する。いくつかの実施形態では、LNP、リポソーム、リポプレックス、及び／又はナノリポソームは、少なくとも約10nm、20nm、30nm、40nm、50nm、60nm、70nm、80nm、90nm、100nm、150nm、200nm、250nm、300nm、350nm、400nm、450nm、又は500nmの直径を有する。

【0284】

5.7.1.1 脂質ナノ粒子 (LNP)

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子、又は本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子を含むベクターが、LNP中に含まれる。いくつかの実施形態では、LNPとしては、非カチオン性脂質（例えば、中性又はアニオン性、又は双性イオン性脂質）などの1種以上のイオン性脂質；1種以上のコンジュゲートされた脂質（PEGにコンジュゲートされた脂質又は全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2019217941号パンフレットの表5に記載されるポリマーにコンジュゲートされる脂質など）；1種以上のステロール（例えば、コレステロール）が挙げられる。実施形態において、LNP調製物は、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及びPEG脂質を含み、50～200nm、例えば、80nm～160nmの間の平均粒径を有する。

【0285】

ナノ粒子形成において使用され得る脂質（例えば、LNP）としては、例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2019217941号パンフレットの表4に記載されるものが挙げられ、例えば、脂質含有ナノ粒子としては、国際公開第2019217941号パンフレットの表4における脂質の1種以上が挙げられ得る。LNPは、ポリマー、例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2019217941号パンフレットの表5に記載されるポリマーなどの追加の要素を含み得る。

【0286】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートされた脂質は、存在する場合、PEG-ジアシルグリセロール(DAG)（1-(モノメトキシポリエチレングリコール)-2,3-ジミリストイルグリセロール(PEG-DMG)など）、PEG-ジアルキルオキシプロピル(DAA)、PEG-リン脂質、PEG-セラミド(Cer)、PEG化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)、PEGサクシネートジアシルグリセロール(PEGs-DAG)（4-0-(2',3'-ジ(テトラデカノイルオキシ)プロピル)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンナトリウム塩、及び国際公開第2019051289号パンフレット（全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）の表2に記載されるもののうちの1種以上、並びに前述の組み合わせを含み得る。

【0287】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子中に組み込まれ得るステロールとしては、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2009/127

10

20

30

40

50

060号パンフレット又は米国特許出願公開第2010/0130588号明細書におけるものなどのコレステロール又はコレステロール誘導体のうちの1種以上が挙げられる。追加の例示的なステロールとしては、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるEygert et al. (2020), dx.doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c01386に記載されるものを含むフィトステロールが挙げられる。

【0288】

いくつかの実施形態では、脂質粒子としては、イオン化可能な脂質、非カチオン性脂質、粒子の凝集を阻害するコンジュゲートされた脂質、及びステロールが挙げられる。これらの構成成分の量は、独立して且つ所望の特性を達成するために変動してもよい。例えば、いくつかの実施形態では、脂質粒子は、総脂質の約20mol%～約90mol%の量のイオン化可能な脂質（他の実施形態では、それは、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の20～70%（mol）、30～60%（mol）又は40～50%（mol）；約50mol%～約90mol%であり得る）、総脂質の約5mol%～約30mol%の量の非カチオン性脂質、総脂質の約0.5mol%～約20mol%の量のコンジュゲートされた脂質、及び総脂質の約20mol%～約50mol%の量のステロールを含む。総脂質と核酸の比は、所望であれば変動してもよい。例えば、総脂質と核酸（質量又は重量）の比は、約10：1～約30：1であり得る。

【0289】

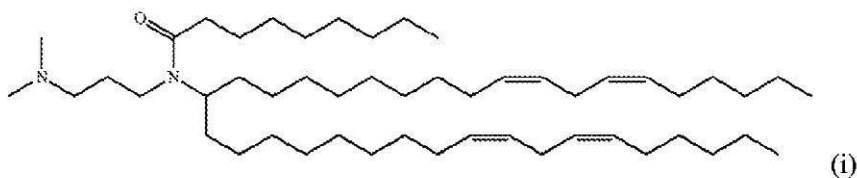
いくつかの実施形態では、脂質と核酸の比（質量／質量比；w/w比）は、約1：1～約25：1、約10：1～約14：1、約3：1～約15：1、約4：1～約10：1、約5：1～約9：1、又は約6：1～約9：1の範囲であり得る。脂質及び核酸の量は、所望のN/P比、例えば、3、4、5、6、7、8、9、10以上のN/P比を提供するために調整され得る。一般的に、脂質ナノ粒子製剤の全体的な脂質含量は、約5mg/mL～約30mg/mLの範囲であり得る。

【0290】

本明細書に記載される組成物、例えば、本明細書に記載される核酸（例えば、RNA（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド））の送達のための脂質ナノ粒子を形成するために使用され得る（例えば、他の脂質構成成分と組み合わせる）脂質化合物のいくつかの非限定的な例としては、以下が挙げられる。

【0291】

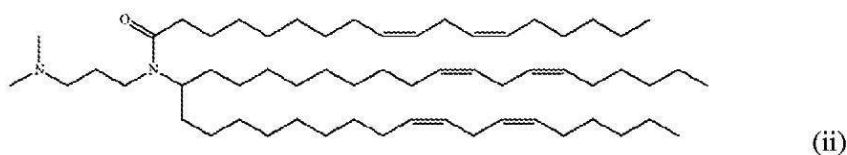
【化1】



いくつかの実施形態では、式(i)を含むLNPは、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0292】

【化2】

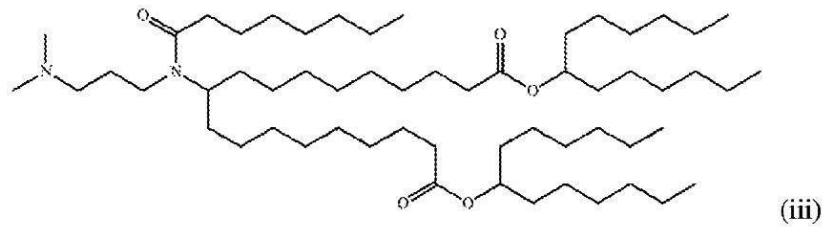


いくつかの実施形態では、式(ii)を含むLNPは、本明細書に記載されるポリリボヌ

クレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0293】

【化3】

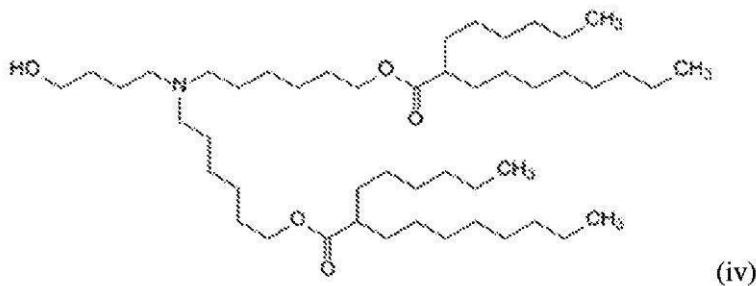


10

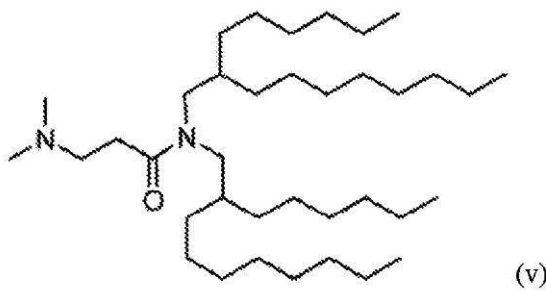
いくつかの実施形態では、式（iii）を含むLNPは、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0294】

【化4】



20

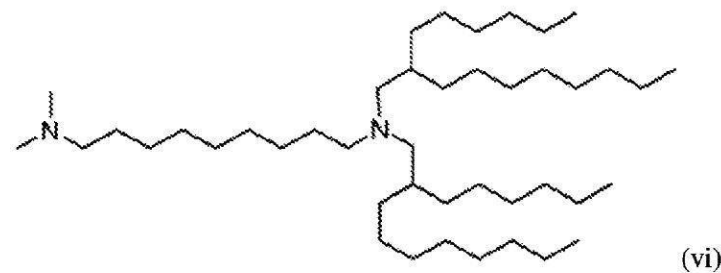


30

いくつかの実施形態では、式（v）を含むLNPは、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0295】

【化5】



40

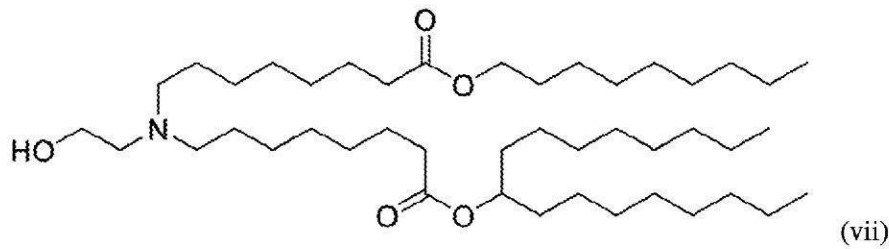
いくつかの実施形態では、式（vi）を含むLNPは、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

50

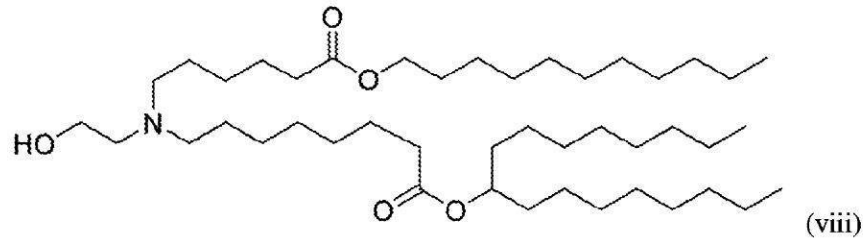
を細胞に送達するために使用される。

【0296】

【化6】



10

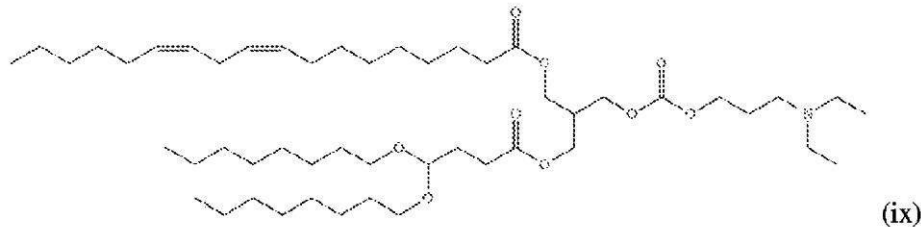


いくつかの実施形態では、式 (viii) を含む LNP は、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

20

【0297】

【化7】

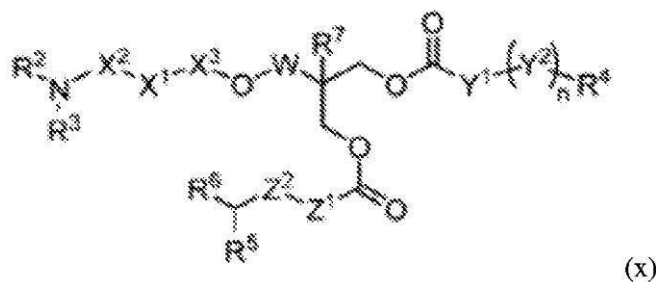


30

いくつかの実施形態では、式 (ix) を含む LNP は、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0298】

【化8】



40

（式中、

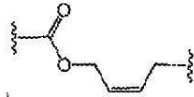
X^1 は、O、 NR^1 、又は直接的な結合であり、 X^2 は、C2～5アルキレンであり、 X^3 は、C(=O) 又は直接的な結合であり、 R^1 は、H又はMeであり、 R^3 は、C1～3アルキルであり、 R^2 は、C1～3アルキルであるか、若しくは R^2 をそれが結合される窒素原子及び X^2 の1～3個の炭素原子と合わせて、4、5、又は6員環を形成するか

50

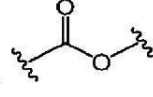
、又は X^1 は、 NR^1 であり、 R^1 及び R^2 を、それらが結合される窒素原子と合わせて、5又は6員環を形成するか、若しくは R^2 を R^3 及びそれらが結合される窒素原子と合わせて、5、6、又は7員環を形成し、 Y^1 は、C2～12アルキレンであり、 Y^2 は、
【化9】



(いずれかの方向)



(いずれかの方向)



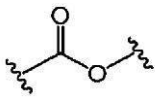
(いずれかの方向)

から選択され、

n は、0～3であり、 R^4 は、C1～C15アルキルであり、 Z^1 は、C1～6アルキレン又は直接的な結合であり、

Z^2 は、

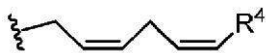
【化10】



(いずれかの方向) であるか又は存在しないが、ただし、 Z^1 が直接的な結合である場合、 Z^2 は存在しないものとし；

R^5 は、C5～9アルキル又はC6～C10アルコキシであり、 R^6 は、C5～9アルキル又はC6～C10アルコキシであり、 W は、メチレン又は直接的な結合であり、且つ R^7 は、H又はMeである）、又はその塩であって、ただし、 R^3 及び R^2 がC2アルキルであり、 X^1 が、Oであり、 X^2 が、直鎖状C3アルキレンであり、 X^3 が、C(=O)であり、 Y^1 が、直鎖状Ceアルキレンであり、 $(Y^2)_n - R^4$ が、

【化11】



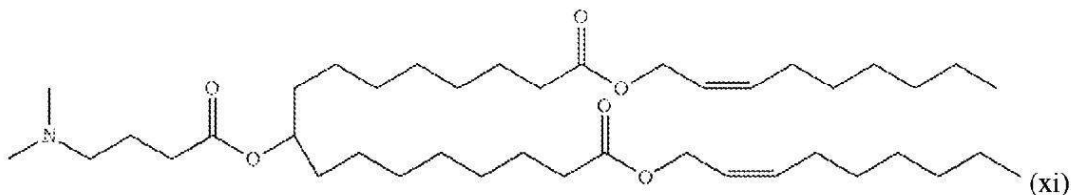
であり、 R^4 が、直鎖状C5アルキルであり、 Z^1 が、C2アルキレンであり、 Z^2 が、存在せず、 W が、メチレンであり、且つ R^7 が、Hである場合、 R^5 及び R^6 は、Cxアルコキシではない。

【0299】

いくつかの実施形態では、式(xii)を含むLNPは、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0300】

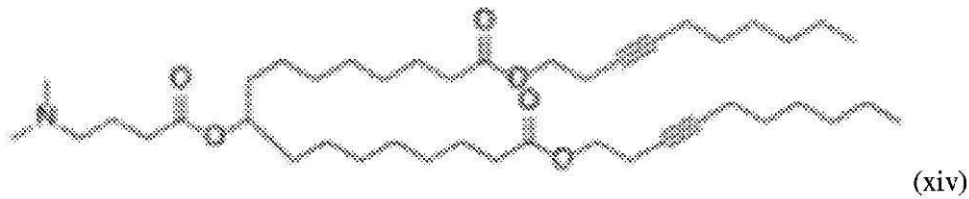
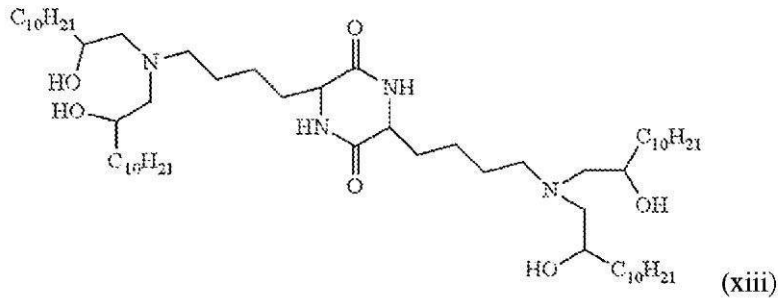
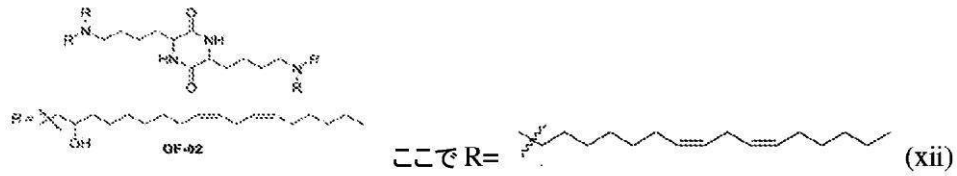
【化12】



いくつかの実施形態では、式(xii)を含むLNPは、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0301】

【化 1 3】

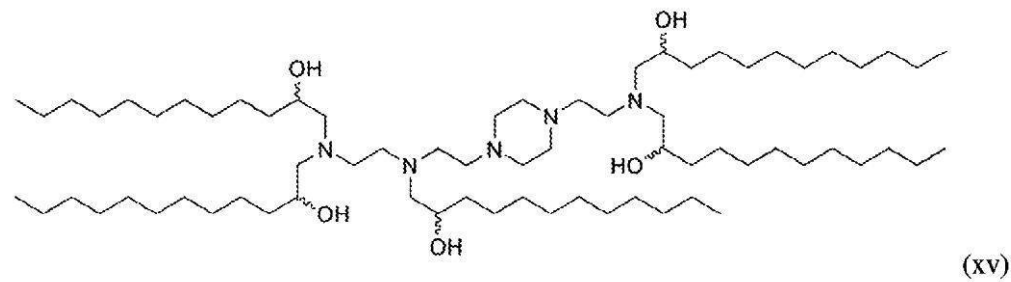


【 0 3 0 2】

いくつかの実施形態では、LNPは、式 (x i i i) の化合物及び式 (x i v) の化合物を含む。

【 0 3 0 3】

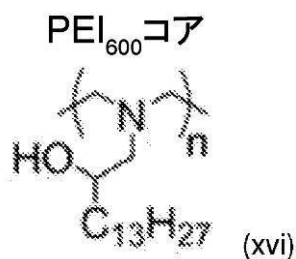
【化 1 4】



いくつかの実施形態では、式 (x v) を含む LNP は、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【 0 3 0 4】

【化 1 5】



10

20

30

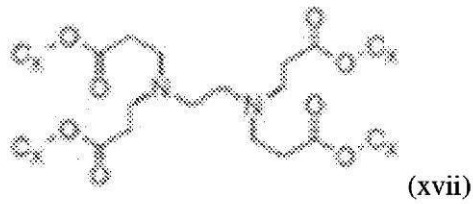
40

50

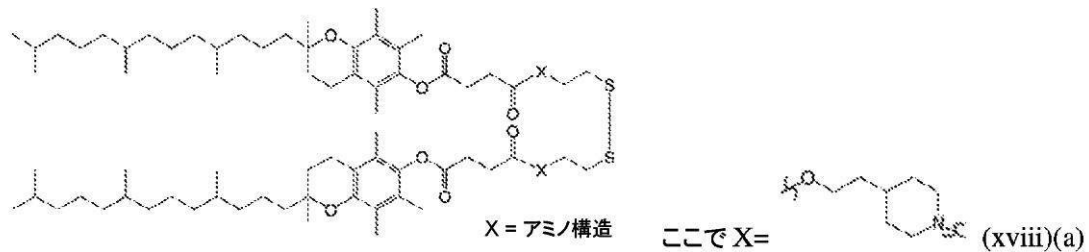
いくつかの実施形態では、式 (xvi) の製剤を含む LNP は、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。

【0305】

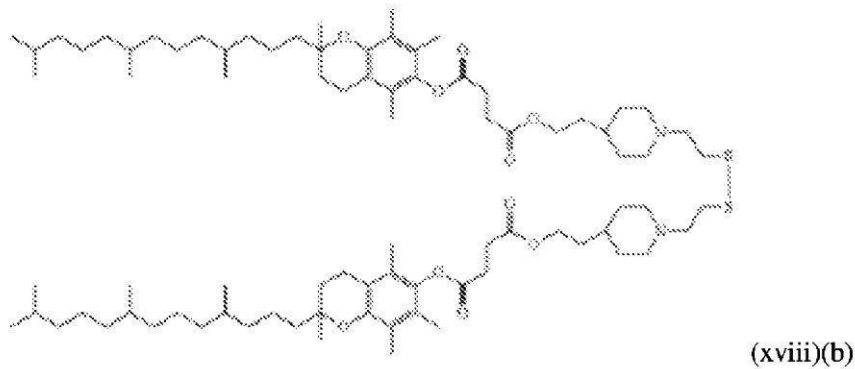
【化16】



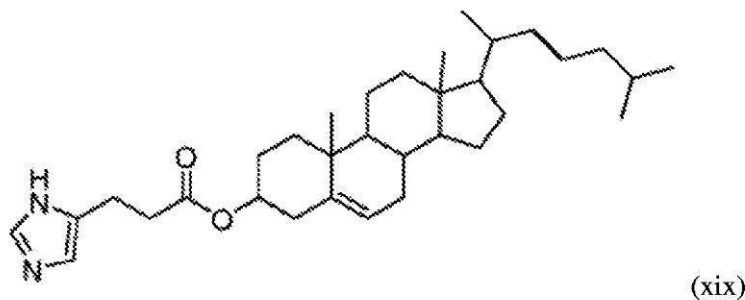
10



20



30



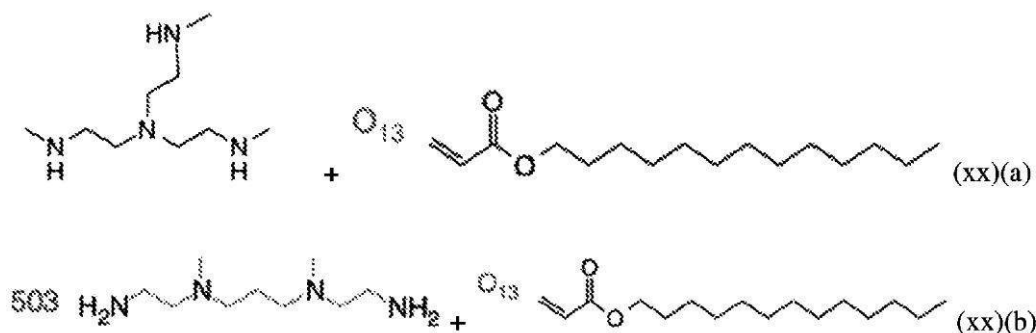
【0306】

いくつかの実施形態では、脂質化合物は、本明細書に記載される組成物の送達のための脂質ナノ粒子を形成するために使用され、例えば、本明細書に記載される核酸（例えば、RNA（例えば、環状ポリヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド））は、以下の反応の1つによって作製される：

40

50

【化 1 7】



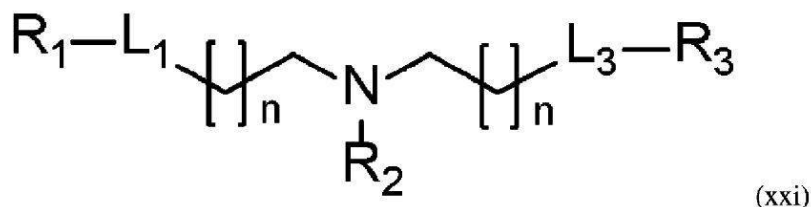
10

【0307】

いくつかの実施形態では、式 (xxi) を含む LNP は、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。いくつかの実施形態では、式 (xxi) の LNP は、国際公開第 2021113777 号パンフレットによって記載される LNP（例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第 2021113777 号パンフレットの表 1 の脂質などの式 (1) の脂質）である。

20

【化 1 8】



式中、

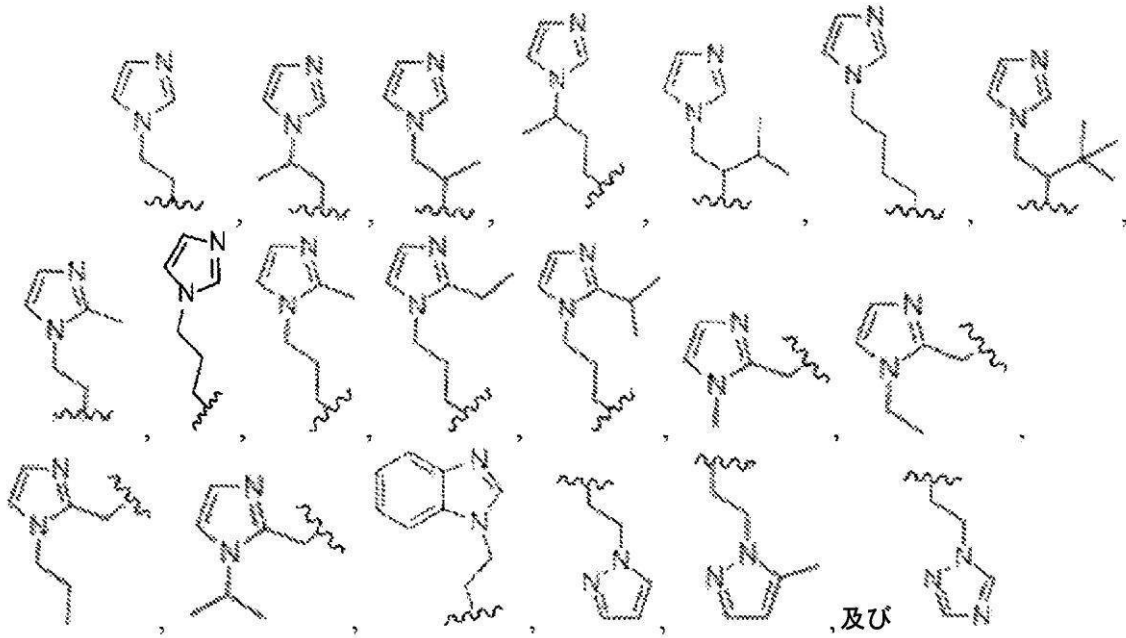
各 n は、独立して、2～15 の整数であり； L_1 及び L_3 は、それぞれ独立して、 $-OC(O)-*$ 又は $-C(O)O-*$ であり、「*」は、 R_1 又は R_3 への結合点を示し； R_1 及び R_3 は、それぞれ独立して、オキソ、ハロ、ヒドロキシ、シアノ、アルキル、アルケニル、アルデヒド、ヘテロシクリルアルキル、ヒドロキシアルキル、ジヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、（ヘテロシクリル）（アルキル）アミノアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、アルキルヘテロアリール、アルケニル、アルコキシ、アミノ、ジアルキルアミノ、アミノアルキルカルボニルアミノ、アミノカルボニルアルキルアミノ、（アミノカルボニルアルキル）（アルキル）アミノ、アルケニルカルボニルアミノ、ヒドロキシカルボニル、アルキルオキシカルボニル、アミノカルボニル、アミノアルキルアミノカルボニル、アルキルアミノアルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノアルキルアミノカルボニル、ヘテロシクリルアルキルアミノカルボニル、（アルキルアミノアルキル）（アルキル）アミノカルボニル、アルキルアミノアルキルカルボニル、ジアルキルアミノアルキルカルボニル、ヘテロシクリルカルボニル、アルケニルカルボニル、アルケニルカルボニル、アルキルスルホキシド、アルキルスルホキシドアルキル、アルキルスルホニル、及びアルキルスルホンアルキルからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって任意選択により置換される、直鎖若しくは分岐鎖 $C_9 \sim C_{20}$ アルキル又は $C_9 \sim C_{20}$ アルケニルであり；且つ R_2 は、

30

40

50

【化 1 9】



10

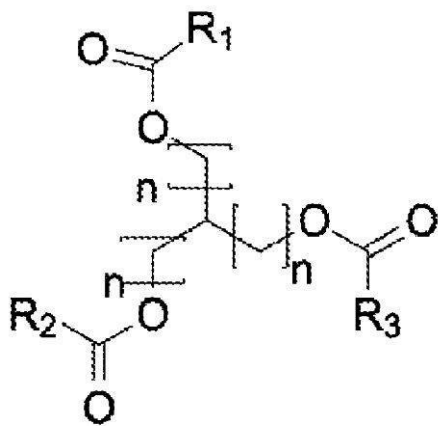
20

からなる群から選択される。

【0308】

いくつかの実施形態では、式 (xxii) を含む LNP は、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。いくつかの実施形態では、式 (xxii) の LNP は、国際公開第 2021113777 号パンフレットによって記載される LNP（例えば、国際公開第 2021113777 号パンフレットの表 2 の脂質などの式 (2) の脂質）である。

【化 2 0】



(xxii)

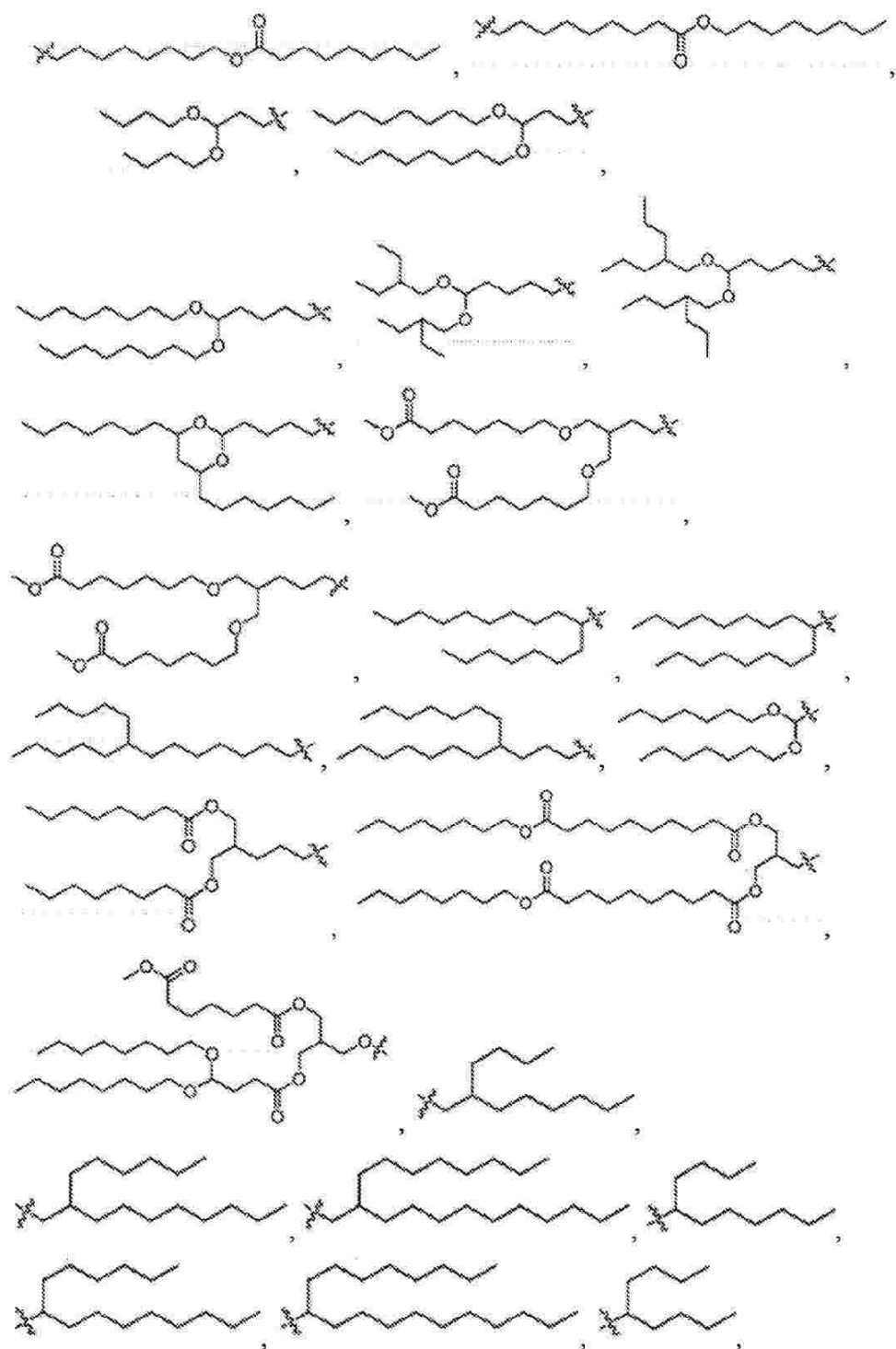
30

40

式中、
各 n は、独立して、1～15の整数であり；
 R_1 及び R_2 は、それぞれ独立して、

50

【化 2 1】



からなる群から選択され、
 R_3 は、

10

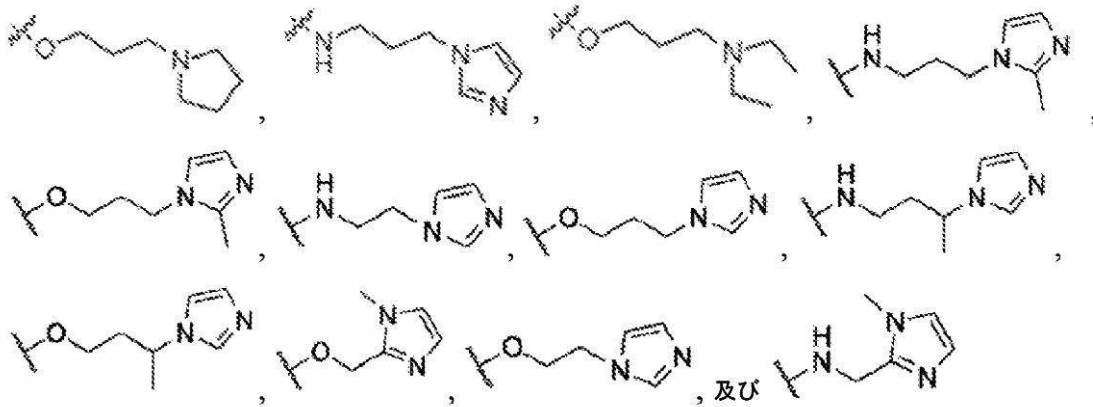
20

30

40

50

【化 2 2】



10

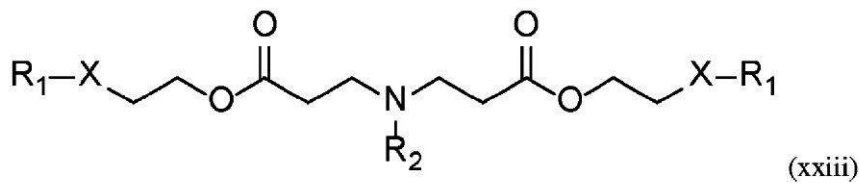
からなる群から選択される。

【0309】

いくつかの実施形態では、式 (xxiii) を含む LNP は、本明細書に記載されるポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）組成物を細胞に送達するために使用される。いくつかの実施形態では、式 (xxiii) の LNP は、国際公開第 2021113777 号パンフレットによって記載される LNP（例えば、国際公開第 2021113777 号パンフレットの表 3 の脂質などの式 (3)

20

【化 2 3】



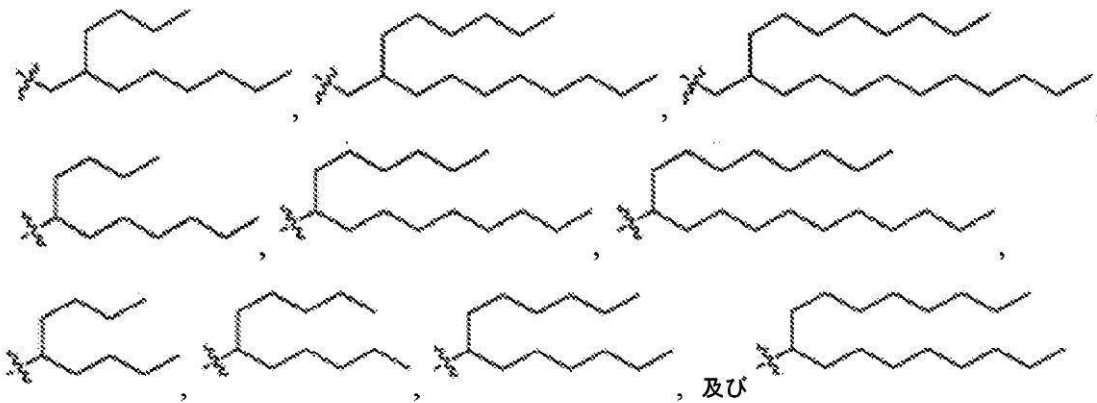
式中、

X は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、又は $-OC(O)-*$ から選択され、* は、 R_1 への結合点を示し；

30

R_1 は、

【化 2 4】

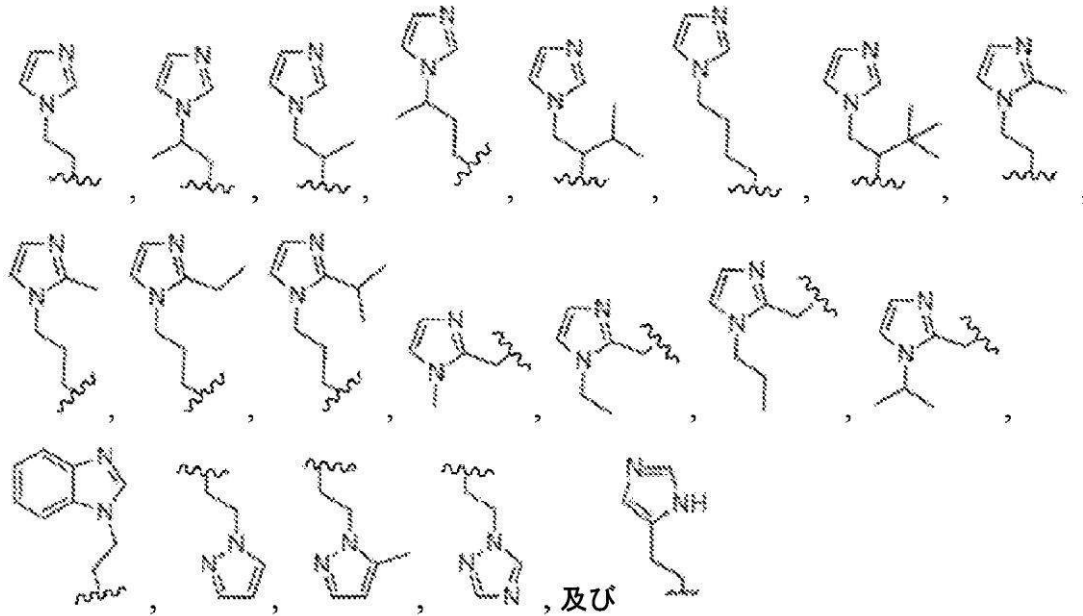


40

からなる群から選択され、且つ R_2 は、

50

【化 25】



10

からなる群から選択される。

【0310】

20

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物（例えば、核酸（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）又はタンパク質）は、イオン化可能な脂質を含むLNP中で提供される。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、米国特許第9,867,888号明細書（全体として参照により本明細書に組み込まれる）の実施例1に記載されるとおりの8-（（2-ヒドロキシエチル）（6-オキソ-6-（ウンデシルオキシ）ヘキシル）アミノ）オクタン酸ヘプタデカン-9-イル（SM-102）である。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、国際公開第2015/095340号パンフレット（全体として参照により本明細書に組み込まれる）の実施例13において合成されるとおりのオクタデカ-9,12-ジエン酸9Z,12Z)-3-（（4,4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（（3-（ジエチルアミノ）プロポキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル（LP01）である。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、米国特許出願公開第2012/0027803号明細書（全体として参照により本明細書に組み込まれる）の実施例7、8、又は9において合成されるとおりの9-（（4-ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカンジエン酸ジ（（Z）-ノン-2-エン-1-イル）（L319）である。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、国際公開第2010/053572号パンフレット（全体として参照により本明細書に組み込まれる）の実施例14及び16において合成されるとおりの1,1'-（（2-（4-（2-（（2-（ビス（2-ヒドロキシドデシル）アミノ）エチル）（2-ヒドロキシドデシル）アミノ）エチル）ピペラジン-1-イル）エチル）アザネジイル）ビス（ドデカン-2-オール）（C12-200）である。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、イミダゾールコレステロールエステル（ICE）脂質3-（1H-イミダゾール-4-イル）プロパン酸（3S,10R,13R,17R）-10,13-ジメチル-17-（（R）-6-メチルヘプタン-2-イル）-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-テトラデカヒドロ-1H-シクロペンタ[a]フェナントレン-3-イル、例えば、国際公開第2020/106946号パンフレット（全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）由来の構造（I）である。

30

40

【0311】

いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、イオン化可能なカチオン性脂質であ

50

るカチオン性脂質、例えば、 pH に依存して正に荷電した又は中性の形態で存在し得るカチオン性脂質、又は容易にプロトン化され得るアミン含有脂質であり得る。いくつかの実施形態では、カチオン性脂質は、例えば、生理条件下で正に荷電することができる脂質である。例示的なカチオン性脂質としては、正電荷を有する１種以上のアミン基が挙げられる。いくつかの実施形態では、脂質粒子は、中性脂質、イオン化可能なアミン含有脂質、生分解性のアルキン脂質、ステロイド、多価不飽和脂質を含むリン脂質、構造脂質（例えば、ステロール）、 PEG 、コレステロール、及びポリマーにコンジュゲートされた脂質のうちの１種以上とともに製剤においてカチオン性脂質を含む。いくつかの実施形態では、カチオン性脂質は、イオン化可能なカチオン性脂質であり得る。本明細書で開示される
 10
 とおりの例示的なカチオン性脂質は、 6.0 を超える実効 pK_a を有し得る。実施形態において、脂質ナノ粒子は、第１のカチオン性脂質と異なる実効 pK_a （例えば、第１の実効 pK_a より大きい）を有する第２のカチオン性脂質を含み得る。脂質ナノ粒子は、脂質ナノ粒子内に封入されたか又はそれと会合された、 $40 \sim 60$ mol パーセントの間のカチオン性脂質、中性脂質、ステロイド、ポリマーでコンジュゲートされた脂質、及び治療剤、例えば、本明細書に記載される核酸（例えば、 RNA （例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド））を含み得る。いくつかの実施形態では、核酸は、カチオン性脂質と合剤にされる。核酸は、 LNP 、例えば、カチオン性脂質を含む LNP の表面に吸着され得る。いくつかの実施形態では、核酸は、 LNP 、例えば、カチオン性脂質を含む LNP 中に封入され得る。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、標的化部分を含み得る、例えば、標的化薬剤でコーティングされ得る。実施形態において、
 20
 LNP 製剤は、生分解性である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される１種以上の脂質、例えば、式（ i ）、（ ii ）、（ iii ）、（ vii ）及び／又は（ ix ）を含む脂質ナノ粒子は、 RNA 分子の少なくとも１％、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９８％又は１００％を封入する。

【 0312 】

脂質ナノ粒子製剤において使用され得る例示的なイオン化可能な脂質としては、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第 2019051289 号パンフレットの表１に列挙されるものが挙げられるが、これらに限定されない。追加
 30
 の例示的な脂質としては、以下の式の１つ以上が挙げられるが、これらに限定されない：米国特許出願公開第 $2016/0311759$ 号明細書の X ；米国特許出願公開第 20150376115 号明細書の又は米国特許出願公開第 $2016/0376224$ 号明細書における I ；米国特許出願公開第 20160151284 号明細書の I 、 II 又は III ；米国特許出願公開第 20170210967 号明細書の I 、 IA 、 II 、又は IIA ；米国特許出願公開第 20150140070 号明細書の $I-c$ ；米国特許出願公開第 $2013/0178541$ 号明細書の A ；米国特許出願公開第 $2013/0303587$ 号明細書又は米国特許出願公開第 $2013/0123338$ 号明細書の I ；米国特許出願公開第 $2015/0141678$ 号明細書の I ；米国特許出願公開第 $2015/0239926$ 号明細書の II 、 III 、 IV 、又は V ；米国特許出願公開第 $2017/0119904$ 号明細書の I ；国際公開第 $2017/117528$ 号パンフレットの I 又は II ；米国特許出願公開第 $2012/0149894$ 号明細書の A ；米国特許出願公開第 $2015/0057373$ 号明細書の A ；国際公開第 $2013/116126$ 号パンフレットの A ；米国特許出願公開第 $2013/0090372$ 号明細書の A ；米国特許出願公開第 $2013/0274523$ 号明細書の A ；米国特許出願公開第 $2013/0274504$ 号明細書の A ；米国特許出願公開第 $2013/0053572$ 号明細書の A ；国際公開第 $2013/016058$ 号パンフレットの A ；国際公開第 $2012/162210$ 号パンフレットの A ；米国特許出願公開第 $2008/042973$ 号明細書の I ；米国特許出願公開第 $2012/01287670$ 号明細書の I 、 II 、 III 、又は IV ；米国特許出願公開第 $2014/0200257$ 号明細書の I 又は II ；米国特許出願公開第 $2015/02$
 40
 50

03446号明細書のI、II、又はIII；米国特許出願公開第2015/0005363号明細書のI又はIII；米国特許出願公開第2014/0308304号明細書のI、IA、IB、IC、ID、II、IIA、IIB、IIC、IID、又はIII-XIV；米国特許出願公開第2013/0338210号明細書のI、IA、IB、IC、ID、II、IIA、IIB、IIC、IID、又はIII-XXIV；国際公開第2009/132131号パンフレットのI、II、III、又はIV；米国特許出願公開第2012/01011478号明細書のA；米国特許出願公開第2012/0027796号明細書のI又はXXXV；米国特許出願公開第2012/0058144号明細書のXIV又はXVII；米国特許出願公開第2013/0323269号明細書のXIV又はXVII；米国特許出願公開第2011/0117125号明細書のI；米国特許出願公開第2011/0256175号明細書のI、II、又はIII；米国特許出願公開第2012/0202871号明細書のI、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X、XI、XII；米国特許出願公開第2011/0076335号明細書のI、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、X、XI、XII、XIII、XIV、XV、又はXVI；米国特許出願公開第2006/008378号明細書のI又はII；米国特許出願公開第2013/0123338号明細書のI；米国特許出願公開第2015/0064242号明細書のI又はX-A-Y-Z；米国特許出願公開第2013/0022649号明細書のXVI、XVII、又はXVIII；米国特許出願公開第2013/0116307号明細書のI、II、又はIII；米国特許出願公開第2013/0116307号明細書のI、II、又はIII；米国特許出願公開第2010/0062967号明細書のI又はII；米国特許出願公開第2013/0189351号明細書のI-X；米国特許出願公開第2014/0039032号明細書のI；米国特許出願公開第2018/0028664号明細書のV；米国特許出願公開第2016/0317458号明細書のI；米国特許出願公開第2013/0195920号明細書のI；米国特許第10,221,127号明細書の5、6、又は10；国際公開第2018/081480号パンフレットのIII-3；国際公開第2020/081938号パンフレットのI-5又はI-8；米国特許第9,867,888号明細書の18又は25；米国特許出願公開第2019/0136231号明細書のA；国際公開第2020/219876号パンフレットのII；米国特許出願公開第2012/0027803号明細書の1；米国特許出願公開第2019/0240349号明細書のOF-02；米国特許第10,086,013号明細書の23；Miao et al (2020) のcKK-E12/A6；国際公開第2010/053572号パンフレットのC12-200；Dahlman et al (2017) の7C1；Whitehead et alの304-O13又は503-O13；米国特許第9,708,628号明細書のTS-P4C2；国際公開第2020/106946号パンフレットのI；国際公開第2020/106946号パンフレットのI；及び国際公開第2021/113777号パンフレットの(1)、(2)、(3)、又は(4)。例示的な脂質はさらに、国際公開第2021/113777号パンフレットの表1~16のいずれか1つの脂質を含む。各参考文献の全内容は、全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0313】

いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、国際公開第2019051289A9号パンフレット（全体として参照により本明細書に組み込まれる）の実施例9に記載されるとおりのMC3ブタン酸（6Z, 9Z, 28Z, 31Z）-ヘプタトリアコンター6, 9, 28, 31-テトラエン-19-イル-4-（ジメチルアミノ）（DLin-MC3-DMA又はMC3）である。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、国際公開第2019051289A9号パンフレット（全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）の実施例10に記載されるとおりの脂質ATX-002である。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、国際公開第2019051289A9号パンフレット（全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）の実施例11に記載されるとおりの（13Z, 16Z）-A,

A-ジメチル-3-ノニルドコサール3, 16-ジェン-1-アミン（化合物32）である。いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、例えば、国際公開第2019051289A9号パンフレット（全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）の実施例12に記載されるとおりの化合物6又は化合物22である。

【0314】

例示的な非カチオン性脂質としては、ジステアロイル-sn-グリセロールホスホエタノールアミン、ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）、ジオレオイルホスファチジルコリン（DOPC）、ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）、ジオレオイルホスファチジルグリセロール（DOPG）、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール（DPPG）、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン（DOPE）、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（POPC）、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン（POPE）、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサン-1-カルボキシラート（DOPE-mal）、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（DPPE）、ジミリストイルホスホエタノールアミン（DMPE）、ジステアロイル-ホスファチジル-エタノールアミン（DSPE）、モノメチル-ホスファチジルエタノールアミン（16-O-モノメチルPEなど）、ジメチル-ホスファチジルエタノールアミン（16-O-ジメチルPEなど）、18-l-transPE、1-ステアロイル-2-オレオイル-ホスファチジルエタノールアミン（SOPE）、水素化されたダイズホスファチジルコリン（HSPC）、卵ホスファチジルコリン（EPC）、ジオレオイルホスファチジルセリン（DOPS）、スフィンゴミエリン（SM）、ジミリストイルホスファチジルコリン（DMPC）、ジミリストイルホスファチジルグリセロール（DMPG）、ジステアロイルホスファチジルグリセロール（DSPG）、ジェルコイルホスファチジルコリン（DEPC）、パルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロール（POPG）、ジェラドイル-ホスファチジルエタノールアミン（DEPE）、レシチン、ホスファチジルエタノールアミン、リゾレシチン、リゾホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン、卵スフィンゴミエリン（ESM）、セファリン、カルジオリピン、ホスファチジン酸、セレブロシド、ジセチルホスフェート、リゾホスファチジルコリン、ジリノレオイルホスファチジルコリン、又はその混合物が挙げられるが、これらに限定されない。他のジアシルホスファチジルコリン及びジアシルホスファチジルエタノールアミンリン脂質もまた使用され得ることが理解される。これらの脂質におけるアシル基は、好ましくは、C10~C24炭素鎖を有する脂肪酸に由来するアシル基、例えば、ラウロイル、ミリストイル、パイミトイル、ステアロイル、又はオレオイルである。追加の例示的な脂質としては、ある特定の実施形態では、参照により本明細書に組み込まれるKim et al. (2020) dx.doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c01386に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。そのような脂質としては、いくつかの実施形態では、mRNAによる肝臓トランスフェクションを向上させることが見出された植物脂質（例えば、DGT S）が挙げられる。

【0315】

脂質ナノ粒子における使用に好適な非カチオン性脂質の他の例としては、例えば、ステアリルアミン、ドデシルアミン（dodecylamine）、ヘキサデシルアミン、パルミチン酸アセチル、リシノール酸グリセロール、ヘキサデシルステリエート（stereate）、ミリスチン酸イソプロピル、両性アクリルポリマー、トリエタノールアミン-ラウリル硫酸塩、アルキル-アリール硫酸塩ポリエチルオキシ化（polyethyloxylated）脂肪酸アミド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムブロミド、セラミド、スフィンゴミエリンなどの非リン脂質が挙げられるが、これらに限定されない。他の非カチオン性脂質は、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2017/099823号パンフレット又は米国特許出願公開第2018/0028664号明細書に記載される。

【0316】

いくつかの実施形態では、非カチオン性脂質は、オレイン酸又は全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2018/0028664号明細書の式I、II、又はIVの化合物である。非カチオン性脂質は、例えば、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の0～30% (mol) を含み得る。いくつかの実施形態では、非カチオン性脂質含量は、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の5～20% (mol) 又は10～15% (mol) である。実施形態において、イオン化可能な脂質と中性脂質のモル比は、約2：1～約8：1（例えば、約2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、又は8：1）の範囲である。

【0317】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、いずれのリン脂質も含まない。

【0318】

いくつかの態様では、脂質ナノ粒子はさらに、ステロールなどの構成成分を含んで、膜統合性をもたらすことができる。脂質ナノ粒子において使用され得る1つの例示的なステロールは、コレステロール及びその誘導体である。コレステロール誘導体の非限定的な例としては、5 α -コレスタノール、5 β -コプロスタノール、コレステリル-(2'-ヒドロキシ)-エチルエーテル、コレステリル-(4'-ヒドロキシ)-ブチルエーテル、及び6-ケトコレスタノールなどの極性類似体；5 α -コレスタン、コレステノン、5 α -コレスタノン、5 β -コレスタノン、及びデカン酸コレステリルなどの非極性類似体；並びにその混合物が挙げられる。いくつかの実施形態では、コレステロール誘導体は、極性類似体、例えば、コレステリル-(4'-ヒドロキシ)-ブチルエーテルである。例示的なコレステロール誘導体は、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるPCT公開国際公開第2009/127060号パンフレット及びUS特許公開米国特許出願公開第2010/0130588号明細書に記載される。

【0319】

いくつかの実施形態では、ステロールなどの膜統合性をもたらす構成成分は、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の0～50% (mol)（例えば、0～10%、10～20%、20～30%、30～40%、又は40～50%）を含み得る。いくつかの実施形態では、そのような構成成分は、脂質ナノ粒子の総脂質含量の20～50% (mol)、30～40% (mol) である。

【0320】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、ポリエチレングリコール(PEG)又はコンジュゲートされた脂質分子を含み得る。一般的に、これらは、脂質ナノ粒子の凝集を阻害し且つ／又は立体的な安定化をもたらすために使用される。例示的なコンジュゲートされた脂質としては、PEG-脂質コンジュゲート、ポリオキサゾリン(POZ)-脂質コンジュゲート、ポリアミド-脂質コンジュゲート(ATA-脂質コンジュゲートなど)、カチオン性-ポリマー脂質(CPL)コンジュゲート、及びその混合物が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、コンジュゲートされた脂質分子は、PEG-脂質コンジュゲート、例えば、(メトキシポリエチレングリコール)-コンジュゲートされた脂質である。

【0321】

例示的なPEG-脂質コンジュゲートとしては、PEG-ジアシルグリセロ(DAG)(1-(モノメトキシ-ポリエチレングリコール)-2,3-ジミリストイルグリセロール(PEG-DMG)など)、PEG-ジアルキルオキシプロピル(DAA)、PEG-リン脂質、PEG-セラミド(Cer)、ペグ化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)、PEGコハク酸ジアシルグリセロール(PEG-S-DAG)(4-O-(2',3'-ジ(テトラデカノイルオキシ)プロピル)-1-O-(w-メトキシ(ポリエトキシ)エチル)ブタンジオエート(PEG-S-DMG)など)、PEGジアルコキシプロピルカルバム、N-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール2000)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンナトリウム塩、又はそ

10

20

30

40

50

の混合物が挙げられるが、これらに限定されない。追加の例示的なPEG-脂質コンジュゲートは、例えば、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,885,613号明細書、米国特許第6,287,591号明細書、米国特許出願公開第2003/0077829号明細書、米国特許出願公開第2003/0077829号明細書、米国特許出願公開第2005/0175682号明細書、米国特許出願公開第2008/0020058号明細書、米国特許出願公開第2011/0117125号明細書、米国特許出願公開第2010/0130588号明細書、米国特許出願公開第2016/0376224号明細書、米国特許出願公開第2017/0119904号明細書、及び米国特許第/099823号明細書に記載される。いくつかの実施形態では、PEG-脂質は、内容が全体として参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2018/0028664号明細書の式III、III-a-I、III-a-2、III-b-1、III-b-2、又はVの化合物である。いくつかの実施形態では、PEG-脂質は、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第20150376115号明細書又は米国特許出願公開第2016/0376224号明細書の式IIのものである。いくつかの実施形態では、PEG-DA Aコンジュゲートは、例えば、PEG-ジラウリルオキシプロピル、PEG-ジミリスチルオキシプロピル、PEG-ジパルミトイルオキシプロピル、又はPEG-ジステアリルオキシプロピルであり得る。PEG-脂質は、PEG-DMG、PEG-ジラウリルグリセロール、PEG-ジパルミトイルグリセロール、PEG-ジステリルグリセロール、PEG-ジラウリルグリカミド、PEG-ジミリスチルグリカミド、PEG-ジパルミトイルグリカミド、PEG-ジステリルグリカミド、PEG-コレステロール（1-[8'-（コレスト-5-エン-3[ベータ]-オキシ）カルボキサミド-3',6'-ジオキサオクタニル]カルバモイル-[オメガ]-メチル-ポリ（エチレングリコール）、PEG-DMB（3,4-ジテトラデコキシルベンジル-[オメガ]-メチル-ポリ（エチレングリコール）エーテル）、及び1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ（ポリエチレングリコール）-2000]のうちの1種以上であり得る。いくつかの実施形態では、PEG-脂質は、PEG-DMG、1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ（ポリエチレングリコール）-2000]を含む。いくつかの実施形態では、PEG-脂質は、

10

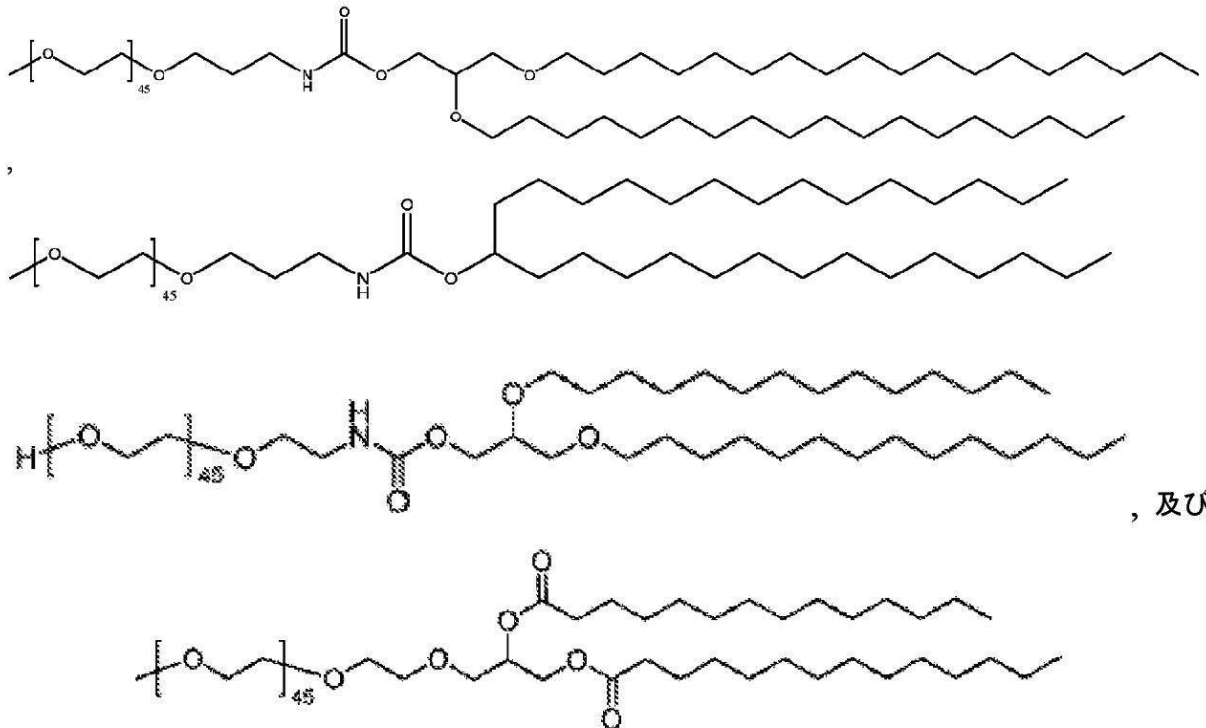
20

30

40

50

【化 2 6】



10

20

から選択される構造を含む。

【0322】

いくつかの実施形態では、PEG以外の分子とコンジュゲートされた脂質もまた、PEG-脂質の代わりに使用され得る。例えば、ポリオキサゾリン（POZ）-脂質コンジュゲート、ポリアミド-脂質コンジュゲート（ATTA-脂質コンジュゲートなど）、及びカチオン性-ポリマー脂質（GPL）コンジュゲートが、PEG-脂質の代わりに又はそれに加えて使用され得る。

【0323】

例示的なコンジュゲートされた脂質、すなわち、PEG-脂質、（POZ）-脂質コンジュゲート、ATTA-脂質コンジュゲート及びカチオン性ポリマー-脂質は、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2019051289A9号パンフレットの表2に列挙されるPCT及びLIS特許出願に記載される。

【0324】

いくつかの実施形態では、PEG又はコンジュゲートされた脂質は、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の0～20%（mol）を含み得る。いくつかの実施形態では、PEG又はコンジュゲートされた脂質含量は、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の0.5～10%又は2～5%（mol）である。イオン化可能な脂質、非カチオン性脂質、ステロール、及びPEG/コンジュゲートされた脂質のモル比は、必要に応じて変動し得る。例えば、脂質粒子は、組成物のモル又は総重量の30～70%のイオン化可能な脂質、組成物のモル又は総重量の0～60%のコレステロール、組成物のモル又は総重量の0～30%の非カチオン性脂質及び組成物のモル又は総重量の1～10%のコンジュゲートされた脂質を含み得る。好ましくは、組成物は、組成物のモル又は総重量の30～40%のイオン化可能な脂質、組成物のモル又は総重量の40～50%のコレステロール、及び組成物のモル又は総重量の10～20%の非カチオン性脂質を含む。いくつかの他の実施形態では、組成物は、組成物のモル又は総重量の50～75%のイオン化可能な脂質、組成物のモル又は総重量の20～40%のコレステロール、並びに組成物のモル又は総重量の5～10%の非カチオン性脂質及び組成物のモル又は総重量の1～10%のコンジュゲートされた脂質である。組成物は、組成物のモル又は総重量の60～70%のイオン化可能な脂質、組

30

40

50

成物のモル又は総重量の 25～35% のコレステロール、並びに組成物のモル又は総重量の 5～10% の非カチオン性脂質を含有し得る。組成物はまた、組成物のモル又は総重量の最大 90% のイオン化可能な脂質及び組成物のモル又は総重量の 2～15% の非カチオン性脂質を含有し得る。製剤はまた、例えば、組成物のモル又は総重量の 8～30% のイオン化可能な脂質、組成物のモル又は総重量の 5～30% の非カチオン性脂質、及び組成物のモル又は総重量の 0～20% のコレステロール；組成物のモル又は総重量の 4～25% のイオン化可能な脂質、組成物のモル又は総重量の 4～25% の非カチオン性脂質、組成物のモル又は総重量の 2～25% のコレステロール、組成物のモル又は総重量の 10～35% のコンジュゲート脂質、及び組成物のモル又は総重量の 5% のコレステロール；又は組成物のモル又は総重量の 2～30% のイオン化可能な脂質、組成物のモル又は総重量の 2～30% の非カチオン性脂質、組成物のモル又は総重量の 1～15% のコレステロール、組成物のモル又は総重量の 2～35% のコンジュゲート脂質、及び組成物のモル又は総重量の 1～20% のコレステロール；或いは組成物のモル又は総重量の最大 90% のイオン化可能な脂質及び組成物のモル又は総重量の 2～10% の非カチオン性脂質、或いは組成物のモル又は総重量の 100% のカチオン性脂質を含む脂質ナノ粒子製剤であり得る。いくつかの実施形態では、脂質粒子製剤は、50：10：38.5：1.5 のモル比でイオン化可能な脂質、リン脂質、コレステロール及び PEG 化脂質を含む。いくつかの他の実施形態では、脂質粒子製剤は、60：38.5：1.5 のモル比でイオン化可能な脂質、コレステロール及び PEG 化脂質を含む。

10

20

【0325】

いくつかの実施形態では、脂質粒子は、イオン化可能な脂質、非カチオン性脂質（例えば、リン脂質）、ステロール（例えば、コレステロール）及び PEG 化脂質を含み、脂質のモル比は、イオン化可能な脂質に関して 20～70 モルパーセントの範囲であり、目標は 40～60 であり、非カチオン性脂質のモルパーセントは、0～30 の範囲であり、目標は 0～15 であり、ステロールのモルパーセントは、20～70 の範囲であり、目標は 30～50 であり、PEG 化脂質のモルパーセントは、1～6 の範囲であり、目標は、2～5 である。

【0326】

いくつかの実施形態では、脂質粒子は、50：10：38.5：1.5 のモル比でイオン化可能な脂質／非カチオン性脂質／ステロール／コンジュゲートされた脂質を含む。

30

【0327】

ある態様では、本開示は、リン脂質、レシチン、ホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンを含む脂質ナノ粒子製剤を提供する。

【0328】

いくつかの実施形態では、1 種以上の追加の化合物もまた含まれ得る。それらの化合物は、別々に投与され得るか、又は追加の化合物は、本発明の脂質ナノ粒子に含まれ得る。言い換えると、脂質ナノ粒子は、核酸に加えて他の化合物又は 1 つ目のものと異なる少なくとも 1 種の 2 つ目の核酸を含有し得る。限定されないが、他の追加の化合物は、小さいか又は大きい有機又は無機分子、単糖、二糖、三糖、オリゴ糖、多糖、ペプチド、タンパク質、ペプチド類似体及びその誘導体、ペプチド模倣体、核酸、核酸類似体及び誘導体、生体材料から作製された抽出物、又はその任意の組み合わせからなる群から選択され得る。

40

【0329】

いくつかの実施形態では、LNP は、生分解性のイオン化可能な脂質を含む。いくつかの実施形態では、LNP は、(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン酸 3 - ((4, 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((3 - (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) メチル) プロピルとも呼ばれるオクタデカ - 9, 12 - ジエン酸 (9Z, 12Z) - 3 - ((4, 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((3 - (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) メチル) プロピル又は別のイオン化可能な脂質を含む。例えば、各々の全内容が全ての

50

目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2019/067992号パンフレット、国際公開第2017/173054号パンフレット、国際公開第2015/095340号パンフレット、及び国際公開第2014/136086号パンフレット、並びにそれらで提供される参考文献の脂質を参照されたい。いくつかの実施形態では、LNP脂質の文脈におけるカチオン性及びイオン化可能という用語は、互換的であり、例えば、イオン化可能な脂質は、pHに依存してカチオン性である。

【0330】

いくつかの実施形態では、LNP製剤の平均LNP直径は、例えば、動的光散乱(DLS)によって測定される10sのnm~100sのnmの間であり得る。いくつかの実施形態では、LNP製剤の平均LNP直径は、約40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm、又は150nmなどの約40nm~約150nmであり得る。いくつかの実施形態では、LNP製剤の平均LNP直径は、約50nm~約100nm、約50nm~約90nm、約50nm~約80nm、約50nm~約70nm、約50nm~約60nm、約60nm~約100nm、約60nm~約90nm、約60nm~約80nm、約60nm~約70nm、約70nm~約100nm、約70nm~約90nm、約70nm~約80nm、約80nm~約100nm、約80nm~約90nm、又は約90nm~約100nmであり得る。いくつかの実施形態では、LNP製剤の平均LNP直径は、約70nm~約100nmであり得る。特定の実施形態では、LNP製剤の平均LNP直径は、約80nmであり得る。いくつかの実施形態では、LNP製剤の平均LNP直径は、約100nmであり得る。いくつかの実施形態では、LNP製剤の平均LNP直径は、約1mm~約500mm、約5mm~約200mm、約10mm~約100mm、約20mm~約80mm、約25mm~約60mm、約30mm~約55mm、約35mm~約50mm、又は約38mm~約42mmの範囲である。

【0331】

LNPは、いくつかの例では、相対的に同種であり得る。多分散指数は、LNPの均一性、例えば、脂質ナノ粒子の粒径分布を示すために使用され得る。小さい(例えば、0.3未満)多分散指数は一般に、狭い粒径分布を示す。LNPは、約0~約0.25、例えば、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、又は0.25などの多分散指数を有し得る。いくつかの実施形態では、LNPの多分散指数は、約0.10~約0.20であり得る。

【0332】

LNPのゼータ電位は、組成物の電気運動ポテンシャルを示すために使用され得る。いくつかの実施形態では、ゼータ電位は、LNPの表面電荷を説明し得る。相対的に低い正又は負電荷を有する脂質ナノが一般に望ましく、なぜなら、高い電荷を有する種ほど、細胞、組織、及び体内の他の要素と不要に相互作用し得るためである。いくつかの実施形態では、LNPのゼータ電位は、約-10mV~約+20mV、約-10mV~約+15mV、約10mV~約+10mV、約-10mV~約+5mV、約-10mV~約0mV、約-10mV~約-5mV、約-5mV~約+20mV、約-5mV~約+15mV、約-5mV~約+10mV、約-5mV~約+5mV、約-5mV~約0mV、約0mV~約+20mV、約0mV~約+15mV、約0mV~約+10mV、約0mV~約+5mV、約+5mV~約+20mV、約+5mV~約+15mV、又は約+5mV~約+10mVであり得る。

【0333】

タンパク質及び/又は核酸の封入の効率は、提供される初期の量に対する、調製後のLNPで封入されるか又はそうでなければ会合されるタンパク質及び/又は核酸の量を説明している。封入効率は、望ましくは高い(例えば、100%近い)。封入効率は、例えば

、脂質ナノ粒子の崩壊の前後の脂質ナノ粒子を含有する溶液中のタンパク質又は核酸の量を1種以上の有機溶媒又は界面活性剤を比較することによって、測定され得る。アニオン交換レジンが、溶液中の遊離タンパク質又は核酸（例えば、RNA）の量を測定するために使用され得る。蛍光が、溶液中の遊離タンパク質及び／又は核酸（例えば、RNA）の量を測定するために使用され得る。本明細書に記載される脂質ナノ粒子に関して、タンパク質及び／又は核酸の封入効率は、少なくとも50%、例えば、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%であり得る。いくつかの実施形態では、封入効率は、少なくとも80%であり得る。いくつかの実施形態では、封入効率は、少なくとも90%であり得る。いくつかの実施形態では、封入効率は、少なくとも95%であり得る。

10

【0334】

LNPは、任意選択により、1つ以上のコーティングを含み得る。いくつかの実施形態では、LNPは、コーティングを有するカプセル、フィルム、又は錠剤で製剤化され得る。本明細書に記載される組成物を含むカプセル、フィルム、又は錠剤は、任意の有用なサイズ、引っ張り強さ、硬度、又は密度を有し得る。

【0335】

追加の例示的な脂質、製剤、方法、及びLNPの特徴付けは、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2020/061457号パンフレット及び国際公開第2021/113777号パンフレットによって教示される。さらなる例示的な脂質、製剤、方法、及びLNPの特徴付けは、全体として参照により本明細書に組み込まれるHou et al. Lipid nanoparticles for mRNA delivery. Nat Rev Mater (2021). org/10.1038/s41578-021-00358-0によって教示され（例えば、Hou et al. の図2の例示的な脂質及び脂質誘導体を参照のこと）、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0336】

いくつかの実施形態では、インビトロ又はエクスビボ細胞リポフェクションは、Lipofectamine MessengerMax (Thermo Fisher) 又は TransIT-mRNA トランスフェクション試薬 (Mirus Bio) を使用して実施される。ある特定の実施形態では、LNPは、GenVoy__ILMイオン化可能な脂質混合物 (Precision NanoSystems) を使用して製剤化される。ある特定の実施形態では、LNPは、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるJayaraman et al. Angew Chem Int Ed Engl 51(34):8529-8533 (2012) で教示される2, 2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1, 3]-ジオキソラン (DLin-KC2-DMA) 又はジリノレイルメチル-4-ジメチルアミノ酪酸塩 (DLin-MC3-DMA 又はMC3)、製剤及びインビボでの使用を使用して製剤化される。

30

【0337】

CRISPR-Cas システム、例えば、Cas9-gRNA RNP、gRNA、Cas9 mRNA の送達に最適化されたLNP製剤は、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2019067992号パンフレット及び国際公開第2019067910号パンフレットに記載され、本明細書に記載される環状ポリリボヌクレオチド及び直鎖状ポリリボヌクレオチドの送達に有用である。

40

【0338】

核酸（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）の送達に有用な追加の特定のLNP製剤は、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる米国特許第8158601号明細書及び米国特許第8168775号明細書に記載され、パティシランにおいて使用される製剤を含み、ONPATIRO の名称で販売されている。

50

【0339】

ポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）LNPの例示的な投与は、約0.1、0.25、0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、又は100mg/kg（RNA）を含み得る。ポリリボヌクレオチド（例えば、環状ポリリボヌクレオチド、直鎖状ポリリボヌクレオチド）を含むAAVの例示的な投与は、約 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 、及び 10^{14} vg/kgのMOIを含み得る。

【0340】

5.8 医薬組成物

一態様において、本明細書では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート）、本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート）をコードするコード領域を含む核酸分子）、本明細書に記載されるベクター（例えば、本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子）を含むベクター）、本明細書に記載される担体（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含む担体）又は本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子）、並びに／又は本明細書に記載される組成物（例えば、ワクチン組成物）、及び薬学的に許容される賦形剤（例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるRemington's Pharmaceutical Sciences（1990）Mack Publishing Co., Easton, PA）を含む医薬組成物が提供される。

【0341】

一態様において、本明細書ではまた、本明細書に記載される医薬組成物を作製する方法であって、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくはバリエーション））、本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくはバリエーション））をコードするコード領域を含む本明細書に記載される核酸分子）、本明細書に記載されるベクター（例えば、本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくはバリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子）を含むベクター）、本明細書に記載される担体（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（又はポリペプチド、例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくはバリエーション））又は本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくはバリエーション））をコードする核酸分子）を含む担体）及び／又は本明細書に記載される組成物（例えば、ワクチン組成物）を提供すること、及びそれを1種以上の薬学的に許容される賦形剤の添加によって薬学的に許容される組成物中に製

剤化することを含む方法が提供される。

【0342】

許容される賦形剤（例えば、担体及び安定剤）は、好ましくは、利用される投与量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、又は他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸又はメチオニンを含む抗酸化剤；保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；又はm-クレゾールなど）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、又はデキストリンを含む単糖、二糖、又は他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；及び／又はTWEEN（登録商標）、PLURONICS（登録商標）又はポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤を含む。

10

【0343】

医薬組成物は、対象への任意の投与経路のために製剤化され得る。当業者は、医薬組成物中の免疫原及び／又は抗原に対する免疫応答を誘導するために、本明細書に記載される医薬組成物を投与する様々な可能性を知っている。非限定的な実施形態としては、筋肉内、皮内、皮下、経皮、又は粘膜投与、例えば、吸入、鼻腔内、経口などの非経口投与が挙げられる。一実施形態では、医薬組成物は、筋肉内、皮内、又は皮下注射による投与のために製剤化される。一実施形態では、医薬組成物は、筋肉内注射による投与のために製剤化される。一実施形態では、医薬組成物は、皮内注射による投与のために製剤化される。一実施形態では、医薬組成物は、皮下注射による投与のために製剤化される。注射剤は、液体溶液又は懸濁液のいずれかとして、従来の形態で調製され得る。注射剤は、1種以上の賦形剤を含有し得る。例示的な賦形剤としては、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール又はエタノールが挙げられる。加えて、必要があれば、投与されることになる医薬組成物はまた、微量の湿潤剤若しくは乳化剤などの非毒性補助物質、pH緩衝剤、安定剤、溶解度増強剤、又は例えば、酢酸ナトリウム、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン若しくはシクロデキストリンなどの他のそのような薬剤を含有し得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、単一用量で製剤化される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、複数用量として製剤化される。

20

30

【0344】

本明細書に記載される非経口調製物において使用される薬学的に許容される賦形剤としては、例えば、水性媒体、非水性媒体、抗菌剤、等張剤、緩衝液、抗酸化剤、局所麻酔剤、懸濁剤及び分散剤、乳化剤、捕捉剤若しくはキレート剤又は他の薬学的に許容される物質が挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る水性媒体の例としては、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張性デキストロース注射液、滅菌水注射液、デキストロース又は乳酸リンゲル注射液が挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る非水性非経口媒体としては、野菜起源の不揮発性油、綿実油、トウモロコシ油、ゴマ油又はピーナッツ油が挙げられる。静菌性又は静真菌性濃縮物中の抗菌剤が、本明細書に記載される非経口調製物に添加され、複数用量容器に包装され得るが、これらは、フェノール又はクレゾール、水銀剤、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチル及びプロピルp-ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサル、塩化ベンザルコニウム又は塩化ベンゼトニウムを含む。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る等張剤としては、塩化ナトリウム又はデキストロースが挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る緩衝液としては、リン酸塩又はクエン酸塩が挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上にお

40

50

いて組み込まれ得る抗酸化剤としては、硫酸水素ナトリウムが挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る局所麻酔剤としては、プロカイン塩酸塩が挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る懸濁剤及び分散剤としては、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース又はポリビニルピロリドンが挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る乳化剤としては、ポリソルベート80（TWEEN（登録商標）80）が挙げられる。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る金属イオンの懸濁剤又はキレート剤は、EDTAである。本明細書に記載される製剤の1つ以上において組み込まれ得る医薬担体としてはまた、水混和性媒体のためのエチルアルコール、ポリエチレングリコール又はプロピレングリコール；又はpH調整のための水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸又は乳酸が挙げられる。

10

【0345】

医薬組成物中で利用されることになる正確な用量はまた、投与経路、及びそれによって引き起こされる状態の重篤度に依存することになり、医師の判断及びそれぞれの対象の状況に従って決定されるべきである。例えば、有効用量はまた、投与の手段、標的部位、対象の生理的状态（年齢、体重、及び健康状態を含む）、投与される他の薬物療法、又は療法が予防的である又は治療的であるかに応じて変動し得る。治療薬の投与量は、好ましくは、安全性及び有効性を最適化するために用量設定される。

【0346】

5.9 アジュバント

20

前述のいずれか、例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート）、本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート）をコードするコード領域を含む核酸分子）、本明細書に記載されるベクター（例えば、本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子）を含むベクター）、本明細書に記載される担体（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））を含む担体）又は本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））をコードするコード領域を含む核酸分子）、本明細書に記載される組成物（例えば、ワクチン組成物）、並びに／又は本明細書に記載される医薬組成物は、アジュバントとともに合剤にされ且つ／又はアジュバントと組み合わせて投与され得る。

30

40

【0347】

アジュバントは、免疫応答（例えば、免疫原に対する）をさらに増大させることが当技術分野で知られる。アジュバントの一般的な分類としては、無機アジュバント、小分子アジュバント、水中油エマルション、脂質、ポリマー、ペプチド、ペプチドグリカン、炭水化物、多糖、RNA系アジュバント、DNA系アジュバント、ウイルス粒子、細菌アジュバント、ナノ粒子（例えば、無機ナノ粒子）、及び多成分アジュバントが挙げられるが、これらに限定されない。アジュバントの例としては、水酸化アルミニウム及び／又はリン酸アルミニウムなどのアルミニウム塩；MF59（例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第90／14837号パンフレットを参照のこと）、MF59、AS03、及びMontanideなどのスクアレンー水エマルショ

50

ンを含む油－エマルション組成物（又は水中油組成物）；例えば、Q S 2 1 及び免疫刺激複合体（I S C O M S）（例えば、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる米国特許第 5, 0 5 7, 5 4 0 号明細書；国際公開第 9 0 / 0 3 1 8 4 号パンフレット、国際公開第 9 6 / 1 1 7 1 1 号パンフレット、国際公開第 2 0 0 4 / 0 0 4 7 6 2 号パンフレット、国際公開第 2 0 0 5 / 0 0 2 6 2 0 号パンフレットを参照のこと）などのサポニン製剤；プロタミン又はプロタミン塩（例えば、硫酸プロタミン）；カルシウム塩；細菌又は微生物誘導体（その例としては、モノホスホリルリピド A（M P L）、3－O－デアシル化 M P L（3 d M P L）、C p G－モチーフ含有オリゴヌクレオチド、A D P－リボシル化細菌毒素又はその変異体が挙げられる、例えば、E．コリ（E．c o l i）熱不安定性エンテロトキシン L T、コレラ毒素 C T など）；真核生物タンパク質（例えば、その抗体又は断片（例えば、抗原自体又は C D 1 a、C D 3、C D 7、C D 8 0 に対して向けられる）及び受容体に対するリガンド（例えば、C D 4 0 L、G M C S F、G C S F など）が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0348】

例示的な RNA 系アジュバントとしては、ポリ I C、ポリ I C：L C、ヘアピン RNA（例えば、5' P P P 含有配列、ウイルス配列、ポリ U 含有配列を有する）、d s RNA、天然又は合成免疫刺激性 RNA 配列、核酸類似体、環状ジ－G M P 及び免疫刺激性塩基類似体、例えば、C 8 置換又は N 7, C 8－二置換グアニリボヌクレオチドなどの任意選択により環状の G M P－A M P 又は環状ジヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。例示的な DNA 系アジュバントとしては、C p G、d s DNA、又は天然若しくは合成免疫刺激性 DNA 配列が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な細菌系アジュバントとしては、フラゲリンである細菌アジュバント、L P S、又は細菌毒素、例えば、エンテロトキシン、熱不安定性毒素、及びコレラ毒素が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な炭水化物又は多糖アジュバントとしては、デキストラン（分岐状細菌多糖）、デキストラン－硫酸塩、レンチナン、ザイモサン、ベータグルカン、デルチン、マンナン、及びキチンが挙げられるが、これらに限定されない。例示的な小分子アジュバントとしては、イミキモド、レシキモド、及びガーディキモドが挙げられるが、これらに限定されない。例示的な脂質又はポリマーアジュバントとしては、ポリマーナノ粒子（例えば、P L G A、P L G、P L A、P G A、又は P H B）、リポソーム（例えば、ピロソーム及び C A F 0 1）、L N P 又はその構成成分、リポ多糖（L P S）（例えば、モノホスホリルリピド A（M P L A）又はグルコピラノシルリピド A（G L A））、リポペプチド（例えば、P a m 2（P a m 2 C S K 4）又は P a m 3（P a m 3 C S K 4））、及び糖脂質（例えば、トレハロースジミコレート）が挙げられるが、これらに限定されない。例示的なペプチド又はペプチドグリカンとしては、N－アセチル－ムラミル－L－アラニル－D－イソグルタミン（M D P）、フラゲリン－融合タンパク質、マンノース結合レクチン（M B L）、サイトカイン、及びケモカインが挙げられるが、これらに限定されない。例示的な無機ナノ粒子アジュバントとしては、金ナノロッド、シリカ系ナノ粒子（例えば、メソポーラスシリカナノ粒子（M S N））が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な多成分アジュバントとしては、A S 0 1、A S 0 3、A S 0 4、フロイント完全アジュバント、及び C A F 0 1 が挙げられるが、これらに限定されない。

【0349】

5. 1 0 使用の方法

本明細書では、本明細書に記載される S A R S－C o V－2 スパイクタンパク質及びポリペプチド（例えば、免疫原（並びにその免疫原性断片及び／又は免疫原性バリエーション）（又はその融合物若しくはコンジュゲート）、本明細書に記載される核酸分子（例えば、S A R S－C o V－2 スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、S A R S－C o V－2 スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）（又はその融合物若しくはコンジュゲート）をコードするコード領域を含む核酸分子）、本明細書に記載されるベクター（例えば、本明細書に記載される核酸分子（例えば、S A R S－C o V－2 スパイクタンパク質、例えば、免疫原（又は

その免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)をコードするコード領域を含む核酸分子)を含むベクター)、本明細書に記載される担体(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)又は本明細書に記載される核酸分子(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)をコードすることを含む核酸分子)を含む担体)、ワクチン組成物(例えば、前述のいずれかを含むワクチン組成物)、並びに／又は本明細書に記載される医薬組成物(例えば、前述のいずれかを含む医薬組成物)を利用する様々な方法が提供される。

10

【0350】

以下の態様のいくつかにおいて、方法は、前述(例えば、タンパク質(又はその融合物若しくはコンジュゲート)、ポリペプチド(又はその融合物若しくはコンジュゲート)、免疫原(又はその融合物若しくはコンジュゲート)、核酸分子(又はその融合物若しくはコンジュゲート)、ベクター、担体、ワクチン組成物、医薬組成物)の1つ以上を対象に投与することを含む。例示的な対象としては、哺乳動物、例えば、ヒト、非ヒト哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類を含む。いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0351】

いくつかの実施形態では、対象は、高齢者、妊婦、新生児、免疫無防備状態、又は免疫抑制性である。いくつかの実施形態では、対象は、以下の癌、心疾患、肥満、糖尿病、喘息、慢性肺疾患、及び／又は鎌状赤血球症の1つ以上を有する。いくつかの実施形態では、対象は、弱められた免疫系又は弱められた免疫応答(例えば、ワクチンに対する弱められた免疫応答)を有する。いくつかの実施形態では、対象は、免疫無防備状態又は免疫抑制性である。いくつかの実施形態では、対象は、感染症に対して臨床的に脆弱である。いくつかの実施形態では、対象は、癌を有するか、自己免疫疾患を有するか、免疫不全を有するか、骨髄又は臓器移植を受けているか、免疫細胞を枯渇させる療法を経験しているか、化学療法を経験しているか、慢性ウイルス感染症、ウイルス感染後症候群又はウイルス感染後疲労症候群(例えば、HIV感染症又はAIDS;長期Covid又は遷延性Covid後症候群)を有するか、免疫抑制性薬物療法を使用しているか若しくはその長期の使用を有しているか、現在喫煙中であるか若しくは喫煙の履歴を有するか、又は少なくとも50(例えば、少なくとも55、60、65、70、75、80、85、90、又は100)歳である。いくつかの実施形態では、対象は、少なくとも50、60、65、70、又は75歳である。いくつかの実施形態では、対象は、少なくとも50、55、60、65、70、75、80、85、90、100、110、又は120歳である。いくつかの実施形態では、対象は、約50~120、50~110、50~100、50~90、50~80、50~70、50~60、60~120、60~110、60~100、60~90、60~80、60~70、70~120、70~110、70~100、70~90、70~80、80~120、80~110、80~100、80~90、90~120、90~110、又は90~100歳である。

20

30

【0352】

対象に投与されることになる前述(例えば、タンパク質、ポリペプチド、免疫原、核酸分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、医薬組成物)の1つ以上の投与量は、使用されるアジュバントの種類(もしあれば)、投与経路、並びに対象の年齢及び体重を含む、当業者によく知られる標準的な技術に従って決定され得る。いくつかの実施形態では、前述のいずれか1つの単一用量が、それを必要とする対象に投与される。いくつかの実施形態では、前述のいずれか1つの一連の用量は、それを必要とする対象に投与される(例えば、ある範囲の設定された間隔(例えば、2週、3週)又はある範囲内(例えば、2~6週間隔)で与えられる2つの用量)。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫

40

50

原性バリエーション)、本明細書に記載される核酸分子、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される担体、本明細書に記載されるワクチン組成物、又は医薬組成物(例えば、前述のいずれか1つ)は、治療有効量で投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))(例えば、それを含むワクチン又は医薬組成物)をコードするmRNA分子の用量は、30~200mcg、例えば、30mcg、50mcg、75mcg、100mcg、150mcg、又は200mcgである。

【0353】

5.10.1 送達の方法

一態様において、本明細書では、(a)本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))(又はその融合物若しくはコンジュゲート)、(b)本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))(又はその融合物若しくはコンジュゲート)をコードするコード領域を含む本明細書に記載される核酸分子(例えば、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、(c)本明細書に記載されるベクター(例えば、本明細書に記載される核酸分子(例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))をコードするコード領域を含む核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)を含むベクター)、(d)本明細書に記載される担体(例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))又は本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))をコードするコード領域を含む本明細書に記載される核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)(例えば、核酸分子(例えば、RNA分子)を含む担体)、(e)本明細書に記載されるワクチン組成物(例えば、前述のいずれかを含むワクチン組成物)、又は(f)本明細書に記載される医薬組成物(例えば、前述のいずれかを含む医薬組成物)を、それを必要とする対象に送達する方法であって、(a)SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))、(b)核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、(c)ベクター、(d)担体、(e)ワクチン組成物、又は(f)医薬組成物を対象に投与して、それによりSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物を対象に送達することを含む方法が提供される。

【0354】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))、核酸分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び/若しくは免疫原性バリエーション))、核酸分子(例えば、RNA分

10

20

30

40

50

子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物を対象に送達するのに十分な量及び時間で対象に投与される。

【0355】

5.10.2 免疫応答を誘導するか又は増強する方法

一態様において、本明細書では、必要とする対象において免疫応答を誘導し且つ／又は増強する方法であって、対象に (a) 本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド (例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション) (又はその融合物若しくはコンジュゲート)、 (b) 本明細書に記載される核酸分子 (例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質 (例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション) (又はその融合物若しくはコンジュゲート) をコードするコード領域を含む核酸分子 (例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子))、 (c) 本明細書に記載されるベクター (例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質 (例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション) をコードするコード領域を含む本明細書に記載される核酸分子 (例えば、核酸分子 (例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子) を含むベクター)、 (d) 本明細書に記載される担体 (例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド (例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)) 又は本明細書に記載される核酸分子 (例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子) (例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド (例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション) をコードするコード領域を含む核酸分子 (例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子) を含む担体)、 (e) 本明細書に記載されるワクチン組成物 (例えば、前述のいずれかを含むワクチン組成物)、又は (f) 本明細書に記載される医薬組成物 (例えば、前述のいずれかを含む医薬組成物) を投与して、それにより対象において免疫応答を誘導し且つ／又は増強することを含む方法が提供される。

【0356】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド (例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原 (又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション))、核酸分子 (例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象の免疫応答を誘導し且つ／又は増強するのに十分な量及び時間で対象に投与される。

【0357】

対象における免疫応答は、当業者に知られる一般的な方法によって測定され得る。例えば、血清学的アッセイが、投与後の抗抗原 (例えば、抗SARS-CoV-2スパイクタンパク質、抗SARS-CoV-2スパイクタンパク質RBD) IgG抗体の力価を測定することによってホルモン応答を検出するために利用され得る。例えば、酵素結合免疫吸着測定 (ELISA) は、当業者によく知られる抗体を検出し、定量化するための標準的な臨床検査である。一般的に、血液が、同意している対象から回収され、遠心分離され、血清が標準的な手法に従って単離される。組換え標的抗原 (例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質RBD) は、マイクロプレートウェル中に固定化される。マイクロプレートは、無関係な抗原 (例えば、ウシ血清アルブミン) とのインキュベーションを介することによってブロッキングされる。対象からの血清試料が調製され、ブロッキングされたウェルに加えられて、固定化された抗原に対する抗原特異的抗体の結合が可能になる。結合された抗体は、以前に結合した抗体 (例えば、抗ヒトIgG抗体) に結合するタグ付きの二次抗体を使用して検出される。例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるFront. Imm

unol., Forgacs David et al., SARS-CoV-2 mRNA Vaccines Elicit Different Responses in Immunologically Naïve and Pre-Immune Humans; Vol 12 (27 September 2021) <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.728021>を参照されたい。

【0358】

細胞に基づくアッセイもまた、細胞に基づく免疫応答（例えば、T細胞免疫応答）を検出するために利用され得る。例えば、抗原特異的T細胞（例えば、CD4+又はCD8+ T細胞）は、酵素結合イムノスポット（ELISpot）、細胞内サイトカイン染色（ICS）アッセイ、又は活性化誘導マーカーアッセイ（AIM）を使用して測定され得る。これらのアッセイの各々が、ワクチンに対する細胞に基づく（例えば、T細胞）免疫応答を検出するために一般的に使用され、当業者によく知られている。例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるBowyer, Georgina et al. “Activation-induced Markers Detect Vaccine-Specific CD4⁺ T Cell Responses Not Measured by Assays Conventionally Used in Clinical Trials.” *Vaccines* vol. 6, 3 50. 31 Jul. 2018, doi:10.3390/vaccines6030050を参照されたい。

【0359】

5.10.3 SARS-CoV-2感染症を予防し、寛解させ、且つ／又は治療する方法一態様において、本明細書では、必要とする対象においてSARS-CoV-2感染症を予防し、寛解させ、且つ／又は治療する方法であって、対象に（a）本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）（又はその融合物若しくはコンジュゲート）、（b）本明細書に記載される核酸分子（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）（又はその融合物若しくはコンジュゲート）をコードするコード領域を含む核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子））、（c）本明細書に記載されるベクター（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）をコードするコード領域を含む本明細書に記載される核酸分子（例えば、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）を含むベクター）、（d）本明細書に記載される担体（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）又は本明細書に記載される核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）をコードするコード領域を含む核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）を含む担体）、（e）本明細書に記載されるワクチン組成物（例えば、前述のいずれかを含むワクチン組成物）、又は（f）本明細書に記載される医薬組成物（例えば、前述のいずれかを含む医薬組成物）を投与して、それにより対象においてSARS-CoV-2感染症を予防し、寛解させ、且つ／又は治療することを含む方法が提供される。

【0360】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド

(例えば、SARS-CoV-2タンパク質又はペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象のSARS-CoV-2感染症を予防し、寛解させ、且つ／又は治療するのに十分な量及び時間で対象に投与される。

【0361】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、又は医薬組成物は、予防的治療として対象に投与される。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2タンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2感染症又はSARS-CoV-2感染症関連疾患の少なくとも1つの症状の発症後に治療として投与される。

10

【0362】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象がSARS-CoV-2感染症を有するか又は有しないことの決定後に対象に投与される。

20

【0363】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2による感染症を予防し、SARS-CoV-2による感染症の可能性を減少させ、SARS-CoV-2による負荷後の確立された感染症を発症する可能性を減少させ、SARS-CoV-2感染症の期間を減少させ、COVID-19の1つ以上の症状の発症を予防するか若しくは遅延させ、COVID-19の1つ以上の症状の頻度及び／又は重症度を減少させ、且つ／又はCOVID-19と関連する入院若しくは死亡のリスクを減少させるか、又はその任意の組み合わせである。

30

【0364】

例示的なCOVID-19の症状としては、息切れ、呼吸困難、1分当たり20回以上の呼吸数、異常なSpO₂、下気道疾患の臨床的又は放射線学的証拠、深部静脈血栓症の放射線学的証拠、呼吸不全、ショックの証拠、重大な腎臓、肝臓、及び神経機能障害が挙げられるが、これらに限定されない。

【0365】

本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、免疫原(又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、及び医薬組成物は、同種又は異種プライム-ブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与され得る。

40

【0366】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種プライム-ブーストレジメンにおいてプライムとして対象に投与される。

50

【0367】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして対象に投与される。

【0368】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種プライムブーストレジメンにおいてワクチンプライム及びワクチンブーストとして対象に投与される。

10

【0369】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてプライムとして対象に投与される。レジメンにおけるブーストワクチン組成物は、mRNA、DNA、ウイルスベクター（例えば、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、小胞口内炎ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、又は麻疹ウイルスベクター）、ペプチド又はタンパク質、ウイルス様粒子（VLP）、カプシド様粒子（CLP）、弱毒生ウイルス、不活性化ウイルス（死滅したワクチン）などに基づくワクチンであり得る。いくつかの実施形態では、プライムワクチン組成物は、ブースターワクチンと同じ免疫原を含有する。いくつかの実施形態では、一次ワクチンは、ブースターワクチンと異なる免疫原を含有する。

20

【0370】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、及び医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして対象に投与される。レジメンにおけるプライムワクチン組成物は、mRNA、DNA、ウイルスベクター（例えば、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、小胞口内炎ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、又は麻疹ウイルスベクター）、ペプチド又はタンパク質、ウイルス様粒子（VLP）、カプシド様粒子（CLP）、弱毒生ウイルス、不活性化ウイルス（死滅したワクチン）などに基づくワクチンであり得る。いくつかの実施形態では、プライムワクチン組成物は、ブースターワクチンと同じ免疫原を含有する。いくつかの実施形態では、一次ワクチンは、ブースターワクチンと異なる免疫原を含有する。

30

40

【0371】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の単一用量が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の一連の用量が、対象に投与される（例えば、ある範囲の設定された間隔（例

50

えば、2週、3週間隔）又はある範囲内（例えば、2～6週間隔）で与えられる2つの用量）。

【0372】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、治療有効量で対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、それを含むワクチン又は医薬組成物）をコードするmRNA分子は、対象に投与され、mRNA分子は、約30～200mcg（例えば、30mcg、50mcg、75mcg、100mcg、150mcg、又は200mcg）の用量で投与される。

10

【0373】

5.10.4 SARS-CoV-2に対するワクチン接種の方法

本明細書では、とりわけ、SARS-CoV-2に対して対象（例えば、ヒト対象）にワクチン接種する様々な方法が提供される。そのため、§§5.10.4.1及び5.10.4.2において、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、免疫原（又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、及び医薬組成物の1つ以上を利用して対象にワクチン接種する様々な方法が下で提供される。

20

【0374】

5.10.4.1 SARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種する方法

一態様において、本明細書では、SARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種する方法であって、対象に（a）本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）（又はその融合物若しくはコンジュゲート）、（b）本明細書に記載される核酸分子（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）（又はその融合物若しくはコンジュゲート）をコードするコード領域を含む核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子））、（c）本明細書に記載されるベクター（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）をコードするコード領域を含む本明細書に記載される核酸分子（例えば、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）を含むベクター）、（d）本明細書に記載される担体（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）又は本明細書に記載される核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）をコードするコード領域を含む核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）を含む担体）、（e）本明細書に記載されるワクチン組成物（例えば、前述のいずれかを含むワクチン組成物）、又は（f）本明細書に記載される医薬組成物（例えば、前述のいずれかを含む医薬組成物）を投与して、それによりSARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種することを含む方法が提供される。

30

40

【0375】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド

50

(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種するのに十分な量及び時間で対象に投与される。

【0376】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、免疫原(又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、及び医薬組成物は、同種又は異種プライムブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。

10

【0377】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種プライムブーストレジメンにおいてプライムとして対象に投与される。

【0378】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして対象に投与される。

20

【0379】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種プライムブーストレジメンにおいてワクチンプライム及びワクチンブーストとして対象に投与される。

30

【0380】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原(又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてプライムとして対象に投与される。レジメンにおけるブーストワクチン組成物は、mRNA、DNA、ウイルスベクター(例えば、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、小胞口内炎ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、又は麻疹ウイルスベクター)、ペプチド又はタンパク質、ウイルス様粒子(VLP)、カプシド様粒子(CLP)、弱毒生ウイルス、不活性化ウイルス(死滅したワクチン)などに基づくワクチンであり得る。いくつかの実施形態では、プライムワクチン組成物は、ブースターワクチンと同じ免疫原を含有する。いくつかの実施形態では、一次ワクチンは、ブースターワクチンと異なる免疫原を含有する。

40

【0381】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(例えば、免疫原(又はその免疫原性断片若しくは免疫原性バリエーション)、核酸分子(例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子)、ベクター、担体、ワクチン組成物、及び医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして対象に投与される。レジメンにおけるプライムワクチン組成物は、mRNA、DNA、ウイルスベク

50

ター（例えば、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、小胞口内炎ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、又は麻疹ウイルスベクター）、ペプチド又はタンパク質、ウイルス様粒子（VLP）、カプシド様粒子（CLP）、弱毒生ウイルス、不活性化ウイルス（死滅したワクチン）などに基づくワクチンであり得る。いくつかの実施形態では、プライムワクチン組成物は、ブースターワクチンと同じ免疫原を含有する。いくつかの実施形態では、一次ワクチンは、ブースターワクチンと異なる免疫原を含有する。

【0382】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の単一用量が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の一連の用量が、対象に投与される（例えば、ある範囲の設定された間隔（例えば、2週、3週間隔）又はある範囲内（例えば、2～6週間隔）で与えられる2つの用量）。

【0383】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、治療有効量で対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（例えば、それを含むワクチン又は医薬組成物）をコードするmRNA分子は、30～200mcg（例えば、30mcg、50mcg、75mcg、100mcg、150mcg、又は200mcg）の用量で投与される。

【0384】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、又は医薬組成物は、予防的治療として対象に投与される。いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2タンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2感染症又はSARS-CoV-2感染症関連疾患の少なくとも1つの症状の発症後に治療として投与される。

【0385】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象がSARS-CoV-2感染症を有するか又は有しないという決定後に対象に投与される。

【0386】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその

10

20

30

40

50

免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション）、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2による感染症を予防し、SARS-CoV-2による感染症の可能性を減少させ、SARS-CoV-2による負荷後の確立された感染症を発症する可能性を減少させ、SARS-CoV-2感染症の期間を減少させ、COVID-19の1つ以上の症状の発症を予防するか若しくは遅延させ、COVID-19の1つ以上の症状の頻度及び／又は重症度を減少させ、且つ／又はCOVID-19と関連する入院若しくは死亡のリスクを減少させるか、又はその任意の組み合わせである。

【0387】

例示的なCOVID-19の症状としては、息切れ、呼吸困難、1分当たり20回以上の呼吸数、異常なSpO₂、下気道疾患の臨床的又は放射線学的証拠、深部静脈血栓症の放射線学的証拠、呼吸不全、ショックの証拠、重大な腎臓、肝臓、及び神経機能障害が挙げられるが、これらに限定されない。

【0388】

5.10.4.2 SARS-CoV-2 mRNAワクチンを利用して対象にワクチン接種する方法

一態様において、本明細書では、SARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種する方法であって、対象に（a）本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））（又はその融合物若しくはコンジュゲート）をコードするmRNA分子（例えば、本明細書に記載されるmRNA分子）、（b）mRNA分子を含むベクター、（c）mRNA分子又はベクターを含む担体、（d）mRNA分子、ベクター、又は担体を含むワクチン組成物、又は（e）mRNA分子、ベクター、担体、又はワクチン組成物を含む医薬組成物を投与して、それによりSARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種することを含む方法が提供される。

【0389】

いくつかの実施形態では、mRNA分子は、脂質ナノ粒子中で製剤化され、ワクチン組成物は、以下の特徴を有する：（a）LNPは、カチオン性脂質、中性脂質、コレステロール、及びPEG脂質を含み、（b）LNPは、80nm～160nmの間の平均粒径を有し、且つ（c）mRNAは、（i）5'-キャップ構造；（ii）5'-UTR；（iii）N1-メチル-シュドウリジン、シトシン、アデニン、及びグアニン；（iv）3'-UTR；並びに（v）ポリ-A領域を含む。

【0390】

いくつかの実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、mRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2に対して対象にワクチン接種するのに十分な量及び時間で対象に投与される。

【0391】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるmRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、及び医薬組成物は、同種又は異種プライム-ブーストレジメンにおいてプライム及び／又はブーストとして投与される。

【0392】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるmRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種プライム-ブーストレジメンにおいてプライムとして対象に投与される。

【0393】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるmRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種又は異種プライム-ブーストレジメンにおいてブーストとして対象に投与される。

10

20

30

40

50

【0394】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるmRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、同種プライムブーストレジメンにおいてワクチンプライム及びワクチンブーストとして対象に投与される。

【0395】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるmRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてプライムとして対象に投与される。レジメンにおけるブーストワクチン組成物は、mRNA、DNA、ウイルスベクター（例えば、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、小胞口内炎ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、又は麻疹ウイルスベクター）、ペプチド又はタンパク質、ウイルス様粒子（VLP）、カプシド様粒子（CLP）、弱毒生ウイルス、不活性化ウイルス（死滅したワクチン）などに基づくワクチンであり得る。いくつかの実施形態では、プライムワクチン組成物は、ブースターワクチンと同じ免疫原を含有する。いくつかの実施形態では、一次ワクチンは、ブースターワクチンと異なる免疫原を含有する。

【0396】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるmRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、及び医薬組成物は、異種プライムブーストレジメンにおいてブーストとして対象に投与される。レジメンにおけるプライムワクチン組成物は、mRNA、DNA、ウイルスベクター（例えば、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、小胞口内炎ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、又は麻疹ウイルスベクター）、ペプチド又はタンパク質、ウイルス様粒子（VLP）、カプシド様粒子（CLP）、弱毒生ウイルス、不活性化ウイルス（死滅したワクチン）などに基づくワクチンであり得る。いくつかの実施形態では、プライムワクチン組成物は、ブースターワクチンと同じ免疫原を含有する。いくつかの実施形態では、一次ワクチンは、ブースターワクチンと異なる免疫原を含有する。

【0397】

いくつかの実施形態では、mRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の単一用量が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、mRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の一連の用量が、対象に投与される（例えば、ある範囲の設定された間隔（例えば、2週、3週間隔）又はある範囲内（例えば、2～6週間隔）で与えられる2つの用量）。

【0398】

いくつかの実施形態では、mRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、治療有効量で対象に投与される。いくつかの実施形態では、mRNA分子は、約30～200mcg（例えば、30mcg、50mcg、75mcg、100mcg、150mcg、又は200mcg）の用量で投与される。

【0399】

いくつかの実施形態では、mRNA分子、ベクター、担体、又は医薬組成物は、予防的治療として対象に投与される。いくつかの実施形態では、mRNA分子、ベクター、担体、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2感染症又はSARS-CoV-2感染症関連疾患の少なくとも1つの症状の発症後に治療として投与される。

【0400】

いくつかの実施形態では、mRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、対象がSARS-CoV-2感染症を有するか又は有しないという決定後に対象に投与される。

【0401】

いくつかの実施形態では、mRNA分子、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、SARS-CoV-2による感染症を予防し、SARS-CoV-2による感染症の可能性を減少させ、SARS-CoV-2による負荷後の確立された感染症を発症

10

20

30

40

50

する可能性を減少させ、SARS-CoV-2感染症の期間を減少させ、COVID-19の1つ以上の症状の発症を予防するか若しくは遅延させ、COVID-19の1つ以上の症状の頻度及び／又は重症度を減少させ、且つ／又はCOVID-19と関連する入院若しくは死亡のリスクを減少させるか、又はその任意の組み合わせである。

【0402】

例示的なCOVID-19の症状としては、息切れ、呼吸困難、1分当たり20回以上の呼吸数、異常なSpO₂、下気道疾患の臨床的又は放射線学的証拠、深部静脈血栓症の放射線学的証拠、呼吸不全、ショックの証拠、重大な腎臓、肝臓、及び神経機能障害が挙げられるが、これらに限定されない。

【0403】

10

5.11 キット

一態様において、本明細書では、本明細書に記載される少なくとも1種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、本明細書に記載される核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載される担体、本明細書に記載されるワクチン組成物、及び／又は本明細書に記載される医薬組成物を含むキットが提供される。加えて、キットは、前述のいずれか1つを可溶化するか又は希釈するための液体媒体、及び／又は技術的指示書を含み得る。キットの技術的指示書は、投与及び投与量及び対象（例えば、対象群）についての情報を含み得る。

20

【0404】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、キットの別々の部分において提供され、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物は、任意選択により、凍結乾燥されるか、噴霧乾燥されるか、又は噴霧凍結乾燥される。キットはさらに、一部として乾燥されたか又は凍結乾燥された医薬組成物を安定化するための媒体（例えば、緩衝溶液）を含み得る。

30

【0405】

いくつかの実施形態では、キットは、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の単一用量容器を含む。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、若しくは医薬組成物の投与のための複数用量容器並びに／又は投与デバイス（例えば、皮内注射のための注射器又は筋肉内注射のためのシリンジ）を含む。

40

【0406】

いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物の別々の容器中にアジュバントを含む。キットはさらに、投与前又

50

は同時投与のために本明細書に記載されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はポリペプチド免疫原（又はその免疫原性断片及び／若しくは免疫原性バリエーション））、核酸分子（例えば、RNA分子、例えば、mRNA分子）、ベクター、担体、ワクチン組成物、又は医薬組成物並びにアジュバントを混合するための技術的指示書を含むし得る。

【0407】

本明細書に記載されるキットのいずれかは、本明細書に記載される、例えば、§5.10における方法のいずれかにおいて使用され得る。本明細書に記載されるキットのいずれかが、本明細書で定義されるとおりの治療又は予防（例えば、SARS-CoV-2感染症の治療、寛解、及び／又は予防のための）において使用され得る。

10

【実施例】

【0408】

6.

6.1 実施例1. SARS-CoV-2 RNAワクチン。

以下の実施例は、本明細書で特定される免疫原（例えば、表2に記載されるアミノ酸置換を含む免疫原）のいずれか1つ又は複数をコードするmRNAを含むmRNAワクチンを調製する例示的な方法を提供する。

【0409】

6.1.1 DNA調製

表2に記載されるアミノ酸置換の少なくとも1つを含むSARS-CoV-2タンパク質（例えば、免疫原）を含むDNAコンストラクトが調製され、その後のRNAインビトロ転写のために使用される。DNAコード配列の調製は、最適化されたG/C含量を有するDNAコード配列（本明細書で論じられるとおの）を作製するための特定のコドンを導入することによる安定化及び発現のためのコドン最適化を含み得る。最適化されたコード配列が、3'-UTR、5'-UTR、及びポリアデニル化配列を含むDNAプラスミドに導入される。得られたDNAプラスミドが形質転換され、当技術分野で知られる一般的なプロトコルを使用して細菌中で増殖される。その後、DNAプラスミドが抽出され、精製され、RNAインビトロ転写のために使用される。

20

【0410】

6.1.2 RNAインビトロ転写

DNAプラスミドは、好適な緩衝液条件下にてヌクレオチド混合物（ATP/GTP/CTP/UTP）及び5'キャップ（又は類似体）の存在下でT7 RNAポリメラーゼを使用するDNA依存性RNAインビトロ転写のために使用される制限酵素を使用して酵素的に線状化される。得られたRNAコンストラクトは、当技術分野で知られる好適な方法、例えば、RP-HPLCを使用して精製される。RNAインビトロ転写は、UTPの代わりにRNAにおける組み込みのための修飾されたヌクレオチド、例えば、シュドウリジン又はN1-メチルシュドウリジン（m1ψ）の存在下で実施される。いくつかの例では、5'キャップは、当技術分野で一般的に知られるとおりのキャップ付加酵素を使用してインビトロ転写後にRNAに酵素的に付加される。

30

【0411】

6.1.3 LNP及び封入されたRNAの調製

LNPは、例えば、カチオン性脂質、構造脂質、PEG-脂質、及びコレステロールを使用して当技術分野で知られる一般的な手順に従って調製され、例えば、各々の全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2015199952号パンフレット、国際公開第2017004143号パンフレット及び国際公開第2017075531号パンフレットを参照されたい。脂質溶液（エタノール中の）は、LNP中にmRNAを封入するために小さいT-ピースにおいて（水溶液中で）RNAと混合され、例えば、全内容が全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれるReichmuth, Andreas M et al. "mRNA vaccine delivery using lipid nanoparticles." Therapeutic

40

50

delivery vol. 7, 5 (2016): 319-34. doi: 10.4155/tde-2016-0006を参照されたい。LNPで製剤化されたmRNAは、透析を介して必要に応じて再緩衝され、超遠心分離を使用して標的濃度まで濃縮される。

【0412】

本発明は、本明細書に記載される特定の実施形態により範囲が限定されるべきではない。実際に、記載されるものに加えて本発明の様々な変更形態が、上記及び添付の図面から当業者に明らかになるであろう。そのような変更形態は、添付の特許請求の範囲内にあることが意図される。

【0413】

本明細書で引用される全ての参考文献（例えば、刊行物又は特許又は特許出願）は、個々の参照（例えば、刊行物又は特許又は特許出願）の各々が、全ての目的のために全体として参照により具体的且つ個別に組み込まれることが示されるのと同程度に全体として及び全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

【0414】

他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内にある。

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/017945

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. **A61K39/12 A61P31/14 C07K14/005**
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P C07K C12N

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

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

EPO-Internal, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LEE CHERYL YI-PIN ET AL: "Human neutralising antibodies elicited by SARS-CoV-2 non-D614G variants offer cross-protection against the SARS-CoV-2 D614G variant", CLINICAL & TRANSLATIONAL IMMUNOLOGY, vol. 10, no. 2, 1 January 2021 (2021-01-01), XP093018887, GB ISSN: 2050-0068, DOI: 10.1002/cti2.1241 Retrieved from the Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cti2.1241 *** abstract *** ----- -/--	1-92

☒ 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

9 August 2023

Date of mailing of the international search report

17/10/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Heder, Andreas

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/017945

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DATABASE EMBL [Online] 9 February 2022 (2022-02-09), "Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 partial surface glycoprotein", XP002809863, retrieved from EBI Database accession no. UJR88270 sequence -----	1-92
A	WO 2021/243122 A2 (UNIV TEXAS [US]; DARTMOUTH COLLEGE [US]) 2 December 2021 (2021-12-02) -----	1-92
A	CHAUDHARY NAMIT ET AL: "mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation", NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 20, no. 11, 25 August 2021 (2021-08-25), pages 817-838, XP037602785, ISSN: 1474-1776, DOI: 10.1038/S41573-021-00283-5 [retrieved on 2021-08-25] *** Table 2, Figures 1, 2, Refs. 25, 54 ***; lines 1-92 -----	1-92

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/017945

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.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/017945**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-92 (partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2023 /017945

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-92 (partially)

Nucleic acid coding for SARS-CoV-2 Spike protein variant, SARS-CoV-2 Spike protein variant, conjugate, carrier, vaccine and pharmaceutical compositions, and kit comprising the same, medical use thereof, wherein said variant has the first-mentioned substitution, I28Y, according to Table 2

2-1927. claims: 1-92 (partially)

Like invention 1, but wherein said variant having the 2nd-1927th substitution according to Table 2

1928. claims: 1-92 (partially)

Group of inventions, like invention 1, wherein said variant has a substitution not mentioned Table 2

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/017945

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021243122 A2	02-12-2021	AU 2021279079 A1	15-12-2022
		BR 112022023591 A2	27-12-2022
		CA 3180554 A1	02-12-2021
		CN 116802193 A	22-09-2023
		EP 4157345 A2	05-04-2023
		IL 298131 A	01-01-2023
		JP 2023527556 A	29-06-2023
		KR 20230018394 A	07-02-2023
		US 2023242594 A1	03-08-2023
		WO 2021243122 A2	02-12-2021

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	39/215 (2006.01)	A 6 1 K	39/215
A 6 1 K	39/39 (2006.01)	A 6 1 K	39/39
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105
A 6 1 K	31/711 (2006.01)	A 6 1 K	31/711
A 6 1 K	31/7115(2006.01)	A 6 1 K	31/7115
A 6 1 K	9/1271(2025.01)	A 6 1 K	9/1271
A 6 1 K	9/127(2025.01)	A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	47/28 (2006.01)	A 6 1 K	47/28
A 6 1 K	47/44 (2017.01)	A 6 1 K	47/44
A 6 1 K	47/62 (2017.01)	A 6 1 K	47/62
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76

,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,D
E,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,S
M,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,
AZ,BA,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,L
A,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,P
H,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,
UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人

230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者

アッカー, ダニエル ウィリアム メノン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, スイート 800イー, フラッグシップ パイオニアリング 気付

(72)発明者

ホランド, ジョン エドワード

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, スイート 800イー, フラッグシップ パイオニアリング 気付

(72)発明者

ダン, ウィリアム オーガスティン ザ サード

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, スイート 800イー, フラッグシップ パイオニアリング 気付

(72)発明者

ディンゲンス, アダム スピアー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, スイート 800イー, フラッグシップ パイオニアリング 気付

(72)発明者

シャルトーヴ, ジュリア アンナ カルター

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, スイート 800イー, フラッグシップ パイオニアリング 気付

(72)発明者

ゴールドスミス, アレクサンダー パトリック

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, スイート 800イー, フラッグシップ パイオニアリング 気付

(72)発明者

アフゼリウス, エレン ロヴィーサ ラースドッター

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, スイート 800イー, フラッグシップ パイオニアリング 気付

F ターム (参考)

4C076 AA19 BB11 CC06 CC35 CC41 DD70H EE59 FF70

4C085 AA03 AA38 EE01 EE05 EE06

4C086 AA01 AA02 AA03 MA01 MA02 MA03 MA04 MA05 MA24 MA43
NA14 ZB33

4C087 AA01 AA02 AA03 BC83 CA09 CA12 MA05 MA24 MA43 NA14
ZB33

4H045 AA11 BA09 BA41 CA01 DA86 FA74