

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-522156

(P2023-522156A)

(43)公表日 令和5年5月29日(2023.5.29)

(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		4 B 0 6 5	
C 0 7 K	14/165 (2006.01)	C 0 7 K	14/165	Z N A	4 C 0 8 4	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 5	
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 H 0 4 5	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19			
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全262頁)	最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-560285(P2022-560285)	(71)出願人	522387319	ディオシンボックス リミテッド イギリス国 シービー 2 8ピーエヌ ケ ンブリッジシャー, ケンブリッジ, セ ドレー テイラー ロード 2 5 (71)出願人 516378426 ザ、チャンセラー、マスターズ、アンド 、スカラーズ、オブ、ザ、ユニバーシテ ィー、オブ、ケンブリッジ THE CHANCELLOR, MAS TERS AND SCHOLARS OF THE UNIVERSITY OF C AMBRIDGE イギリス国ケンブリッジシャー、ケンブ リッジ、トリニティ、レーン、ジ、オー		
(86)(22)出願日	令和3年4月1日(2021.4.1)					
(85)翻訳文提出日	令和4年11月29日(2022.11.29)					
(86)国際出願番号	PCT/GB2021/050830					
(87)国際公開番号	WO2021/198706					
(87)国際公開日	令和3年10月7日(2021.10.7)					
(31)優先権主張番号	2010672.0					
(32)優先日	令和2年7月10日(2020.7.10)					
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)					
(31)優先権主張番号	2015775.6					
(32)優先日	令和2年10月5日(2020.10.5)					
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)					
(31)優先権主張番号	2101824.7					
		最終頁に続く				

(54)【発明の名称】 コロナウイルスワクチン

(57)【要約】

設計されたコロナウイルスポリペプチド配列、及びコロナウイルスファミリーのウイルスに対するワクチンとしてのそれらの使用が記載されている。設計された配列は、設計されたSタンパク質受容体結合ドメイン(RBD)配列、配列番号17、設計された切断型Sタンパク質配列、配列番号15、及び設計された完全長Sタンパク質配列、配列番号13を含む、設計されたコロナウイルススパイク(S)タンパク質及びその断片を含む。設計されたコロナウイルスエンベロープ(E)、膜(M)、及びヌクレオキャプシド(N)タンパク質配列も記載されており、ワクチンとしてのそれらの使用も記載されている。ポリペプチドをコードする核酸分子、ベクター、融合タンパク質、医薬組成物、細胞、及びコロナウイルスファミリーのウイルスに対するワクチンとしてのそれらの使用も記載される。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 2】

配列番号 15 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 15 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

10

【請求項 3】

配列番号 13 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 13 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 4】

下記の表に示されるように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

20

30

40

50

【表 201】

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
21	D
22	K
38	T
42	D
48	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y
137	S
138	H
141	T
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

40

【請求項 5】

前記表に示されるように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、少なくとも 5、少なくとも 10、少なくとも 15、少なくとも 20、少なくとも 25、少なくとも 30、少なくとも 35、又は少なくとも 40 のアミノ酸残基を含む、請求項 4 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 6】

下記の表に示されるように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

50

【表 202】

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
21	D
22	K
38	T
42	D
48	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y
137	S
138	H
141	T
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

40

【請求項 7】

以下の表に示されるように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 6 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 203-1】

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
8	V
21	D
22	K
30	P
36	E
38	T
39	K
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S
138	H

10

20

30

40

50

【表 203-2】

(上記表の続き)

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
163	T
164	P
165	P
166	A
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
206	N
216	L
219	Q

10

20

30

【請求項 8】

以下の表に示されるように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 6 に記載の単離されたポリペプチド。

40

50

【表 204-1】

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
5	T
6	Q
7	E
21	D
22	K
28	R
38	T
42	D
48	T
55	S
66	P
67	S
70	I
75	T
76	S
81	T
83	L
84	I
85	R
86	C
87	S
88	E
92	V
112	T
116	I
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y

10

20

30

40

50

【表 204-2】

(上記表の続き)

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
137	S
138	H
140	K
141	T
144	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
168	N
169	G
170	V
171	R
172	G
173	F
177	F
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
186	P
187	N
188	V
189	P
190	V
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

【請求項 9】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルスSタンパク質RBDドメインを含む、単離されたポリペプチド。

40

50

【表 205】

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
21	D
22	K
38	T
42	D
48	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y
137	S
138	H
141	T
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

40

【請求項 10】

前記表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも5、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、又は少なくとも40を含む、請求項9に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 11】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルスSタンパク質RBDドメインを含む、単離されたポリペプチド。

50

【表 2 0 6 - 1】

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
8	V
21	D
22	K
30	P
36	E
38	T
39	K
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S
138	H

10

20

30

40

50

【表 206-2】

(上記表の続き)

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
163	T
164	P
165	P
166	A
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
206	N
216	L
219	Q

10

20

30

【請求項 12】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルスSタンパク質RBDドメインを含む、単離されたポリペプチド。

40

50

【表 2 0 7 - 1】

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
5	T
6	Q
7	E
21	D
22	K
28	R
38	T
42	D
48	T
55	S
66	P
67	S
70	I
75	T
76	S
81	T
83	L
84	I
85	R
86	C
87	S
88	E
92	V
112	T
116	I
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y

10

20

30

40

50

【表 207-2】

(上記表の続き)

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
137	S
138	H
140	K
141	T
144	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
168	N
169	G
170	V
171	R
172	G
173	F
177	F
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
186	P
187	N
188	V
189	P
190	V
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

【請求項 13】

配列番号 27 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__13)、又は前記配列番号 27 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 14】

以下の表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 13 に記載のポリペプチド。

40

50

【表 208】

SARS2 RBD残基位置 (CoV_T2_6; 配列番号11)	残基
3	<u>A</u>
6	<u>K</u>
7	<u>E</u>
8	<u>V</u>
30	<u>P</u>
36	<u>E</u>
54	<u>T</u>
120	<u>T</u>
126	<u>T</u>
127	<u>T</u>
152	<u>S</u>
153	<u>D</u>
163	<u>S</u>
201	<u>N</u>
211	<u>L</u>
214	<u>D</u>

10

【請求項 15】

前記表に示されるように、配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも5、少なくとも10、又は少なくとも15を含む、請求項14に記載のポリペプチド。

20

【請求項 16】

以下の表に示されるように、配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む、請求項13～15のいずれか一項に20記載のポリペプチド。

【表 209】

SARS2 RBD残基位置 (CoV_T2_6; 配列番号11)	残基
99	V
137	S
138	L
142	K
156	S
157	P
159	G
160	K
172	Y
175	R
180	F

30

【請求項 17】

配列番号28のアミノ酸配列(COV_S_T2_14)、又は前記配列番号28のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

40

【請求項 18】

以下の表に示されるように、配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む、請求項17に記載のポリペプチド。

50

【表 2 1 0】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6; 配列番号11)	残基
3	A
6	K
7	E
8	V
30	P
36	E
54	T
120	T
126	T
127	T
152	S
153	D
163	S
201	N
211	L
214	D

10

【請求項 1 9】

前記表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 1 8 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 2 0】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 1 7 ～ 1 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【表 2 1 1】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6; 配列番号11)	残基
99	V
137	S
138	L
142	K
156	S
157	P
159	G
160	K
172	Y
175	R
180	F

30

【請求項 2 1】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 1 7 ～ 2 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【表 2 1 2】

SARS2 RBD(CoV__T2__6; 配列番号11)残基位置	残基
28	K
39	K
123	I

50

【請求項 22】

配列番号 29 のアミノ酸配列 (C O V _ S _ T 2 _ 1 5)、又は前記配列番号 29 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 23】

以下の表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 22 に記載のポリペプチド。

【表 213】

SARS2 RBD残基位置 (CoV_T2_6; 配列番号 11)	残基
3	A
6	K
7	E
8	V
30	P
36	E
54	T
120	T
126	T
127	T
152	S
153	D
163	S
201	N
211	L
214	D

10

20

【請求項 24】

前記表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 10、又は少なくとも 15 を含む、請求項 23 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 25】

以下の表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 22～24 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【表 214】

SARS2 RBD残基位置 (CoV_T2_6; 配列番号 11)	残基
99	V
137	S
138	L
142	K
156	S
157	P
159	G
160	K
172	Y
175	R
180	F

40

【請求項 26】

以下の表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 22～25 のいずれか一項に

50

記載のポリペプチド。

【表 2 1 5】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6; 配列番号11)	残基
55	F
75	S
112	M

【請求項 2 7】

配列番号 3 0 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__16)、又は前記配列番号 3 0 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

10

【請求項 2 8】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 2 7 に記載のポリペプチド。

【表 2 1 6】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6; 配列番号11)	残基
3	<u>A</u>
6	<u>K</u>
7	<u>E</u>
8	<u>V</u>
30	<u>P</u>
36	<u>E</u>
54	<u>T</u>
120	<u>T</u>
126	<u>T</u>
127	<u>T</u>
152	<u>S</u>
153	<u>D</u>
163	<u>S</u>
201	<u>N</u>
211	<u>L</u>
214	<u>D</u>

20

30

【請求項 2 9】

前記表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 2 8 に記載のポリペプチド。

【請求項 3 0】

配列番号 3 1 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__17)、又は前記配列番号 3 1 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

40

【請求項 3 1】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 3 0 に記載のポリペプチド。

50

【表 2 1 7】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6; 配列番号11)	残基
3	A
6	K
7	E
8	V
30	P
36	E
54	T
120	T
126	T
127	T
152	S
153	D
163	S
201	N
211	L
214	D

10

【請求項 3 2】

前記表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 10、又は少なくとも 15 を含む、請求項 3 1 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 3 3】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 3 0 ～ 3 2 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【表 2 1 8】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6; 配列番号11)	残基
99	V
137	S
138	L
142	K
156	S
157	P
159	G
160	K
172	Y
175	R
180	F

30

【請求項 3 4】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 3 0 ～ 3 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【表 2 1 9】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6; 配列番号11)	残基
28	K
39	K
123	I

50

【請求項 35】

以下の表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 30～34 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【表 220】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6;配列番号11)	設計残基
185	T

【請求項 36】

10

配列番号 32 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__18)、又は前記配列番号 32 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 37】

以下の表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 36 に記載のポリペプチド。

【表 221】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6;配列番号11)	残基
3	<u>A</u>
6	<u>K</u>
7	<u>E</u>
8	<u>V</u>
30	<u>P</u>
36	<u>E</u>
54	<u>T</u>
120	<u>T</u>
126	<u>T</u>
127	<u>T</u>
152	<u>S</u>
153	<u>D</u>
163	<u>S</u>
201	<u>N</u>
211	<u>L</u>
214	<u>D</u>

20

30

【請求項 38】

前記表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 10、又は少なくとも 15 を含む、請求項 37 に記載のポリペプチド。

【請求項 39】

40

以下の表に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 36～38 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

50

【表 2 2 2】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6;配列番号11)	残基
99	V
137	S
138	L
142	K
156	S
157	P
159	G
160	K
172	Y
175	R
180	F

10

【請求項 4 0】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 3 6 ～ 3 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【表 2 2 3】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6;配列番号11)	残基
55	F
75	S
112	M

20

【請求項 4 1】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 3 6 ～ 4 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【表 2 2 4】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6;配列番号11)	残基
185	T

30

【請求項 4 2】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1、少なくとも 5、少なくとも 1 0、少なくとも 1 5、又は全てを有するコロナウイルス S タンパク質 R B D ドメインを含む、単離されたポリペプチド。

40

50

【表 2 2 5】

SARS2 RBD残基位置 (CoV_T2_6; 配列番号11)	残基
3	A
6	K
7	E
8	V
30	P
36	E
54	T
120	T
126	T
127	T
152	S
153	D
163	S
201	N
211	L
214	D

10

【請求項 4 3】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 4 2 に記載の単離されたポリペプチド。

20

【表 2 2 6】

SARS2 RBD残基位置 (CoV_T2_6; 配列番号11)	残基
99	V
137	S
138	L
142	K
156	S
157	P
159	G
160	K
172	Y
175	R
180	F

30

【請求項 4 4】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 4 2 又は 4 3 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 2 2 7】

SARS2 RBD(CoV_T2_6; 配列番号11)残基位置	残基
28	K
39	K
123	I

40

【請求項 4 5】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 4 2 ～ 4 4 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

50

【表 2 2 8】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6;配列番号11)	残基
55	F
75	S
112	M

【請求項 4 6】

以下の表に示されるように、配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 4 2 ～ 4 5 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

10

【表 2 2 9】

SARS2 RBD残基位置 (CoV__T2__6;配列番号11)	残基
185	T

【請求項 4 7】

配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 4 8】

SARS2 RBD 配列の最後の 1 0 アミノ酸内、好ましくは残基位置 2 0 3 に位置するグリコシル化部位を有する SARS2 RBD のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

20

【請求項 4 9】

配列番号 3 4 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 3 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 5 0】

配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、1 3 Q、2 5 Q、5 4 T のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 4 9 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 5 1】

配列番号 1 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に以下のアミノ酸残基、1 3 Q、2 5 Q、5 4 T、2 0 3 N のうちの少なくとも 1 つを有するコロナウイルス S タンパク質 R B D ドメインを含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 5 2】

配列番号 3 5 のアミノ酸配列 (M 9)、又は前記配列番号 3 5 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 7 0 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 5 3】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 5 2 に記載のポリペプチド。

40

【表 2 3 0 - 1】

SARS2 RBD(配列番号11) 残基位置	M9残基(配列番号35)
3	S
6	Q
7	E
8	V
21	D
22	D
30	P
36	E
38	T
39	T
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S
138	H

10

20

30

40

50

【表 2 3 0 - 2】

(上記表の続き)

SARS2 RBD(配列番号11) 残基位置	M9残基(配列番号35)
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
*	T
*	P
*	P
*	A
*	F
166	R
173	T
175	S
176	T
178	D
180	N
182	N
183	V
184	P
186	E
189	A
190	T
201	N
203	N
211	L
214	Q

10

20

30

* 配列番号11のアミノ酸残基位置162と163との間の挿入のための残基。

【請求項54】

前記表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも5、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、少なくとも40、少なくとも45、少なくとも50、少なくとも55、少なくとも60、又は少なくとも65を含む、請求項53に記載のポリペプチド。

40

【請求項55】

配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、54T、203Nのうちの少なくとも1つ、又は両方を含む、請求項52～54のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項56】

配列番号36のアミノ酸配列(M10)、又は前記配列番号36のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも69%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項57】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうち

50

の少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 5 6 に記載のポリペプチド。

【表 2 3 1 - 1】

SARS2 RBD(配列番号11) 残基位置	M10残基(配列番号36)
3	S
6	Q
7	E
8	V
13	Q
21	K
22	K
25	Q
30	P
36	E
38	K
39	K
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S

10

20

30

40

50

【表 2 3 1 - 2】

(上記表の続き)

SARS2 RBD(配列番号11) 残基位置	M10残基(配列番号36)
138	H
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
*	T
*	P
*	P
*	A
*	F
166	R
173	T
175	S
176	T
178	D
180	N
182	N
183	V
184	P
186	E
189	A
190	T
201	N
211	L
214	Q

10

20

30

* 配列番号11のアミノ酸残基位置162と163との間の挿入のための残基。

【請求項58】

前記表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも5、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、少なくとも40、少なくとも45、少なくとも50、少なくとも55、少なくとも60、又は少なくとも65を含む、請求項57に記載のポリペプチド。

40

【請求項59】

配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、13Q、25Q、54Tのうちの少なくとも1つ、又は全てを含む、請求項56～58のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項60】

前記受容体結合ドメイン(RBD)のアミノ酸配列内に少なくとも1つのグリコシル化部位を含む、請求項1～59のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項61】

前記RBDのアミノ酸配列の最後の10アミノ酸内、好ましくは前記RBD配列の残基位置203に対応する残基位置に位置するグリコシル化部位を含む、請求項1～60のい

50

ずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 6 2】

配列番号 2 2 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 2 2 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 6 3】

以下の表に示されるように、配列番号 2 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 6 2 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 2 3 2】

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV__E__T2__1アミノ酸残基
36	A
55	T

10

【請求項 6 4】

以下の表に示されるように、配列番号 2 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 6 3 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 2 3 3】

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV__E__T2__1アミノ酸残基
36	A
55	T
69	Q
70	G

20

【請求項 6 5】

配列番号 2 3 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 2 3 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 6 6】

以下の表に示されるように、配列番号 2 3 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 6 5 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 2 3 4】

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV__E__T2__2アミノ酸残基
36	A
55	T

30

【請求項 6 7】

配列番号 4 2 のアミノ酸配列（COV__E__T2__3）、又は前記配列番号 4 2 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 6 8】

配列番号 4 1 のアミノ酸残基位置 1 5 に対応する位置に、アミノ酸残基 A を含む、請求項 6 7 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 9】

配列番号 4 3 のアミノ酸配列（COV__E__T2__4）、又は前記配列番号 4 3 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 7 0】

配列番号 4 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、1 5 A、5 5 T、6 9 Q、7 0 G のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 6 9 に記載のポリペプチド。

50

【請求項 7 1】

配列番号 4 4 のアミノ酸配列（C O V _ _ E _ _ T 2 _ _ 5）、又は前記配列番号 4 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 7 2】

配列番号 4 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、1 5 A、5 5 T のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 7 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 3】

配列番号 4 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に以下のアミノ酸残基、1 5 A、5 5 T、6 9 Q、7 0 G のうちの少なくとも 1 つを有するコロナウイルス E タンパク質を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 7 4】

配列番号 4 1 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、1 5 A、5 5 T のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 7 3 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 7 5】

配列番号 2 4 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 2 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 7 6】

以下の表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 7 5 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 2 3 5】

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV _ _ M _ _ T2 _ _ 1アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
197	N

【請求項 7 7】

以下の表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 7 5 に記載の単離されたポリペプチド。

10

20

30

40

50

【表 2 3 6】

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV_M_T2_1アミノ酸残基
4	－(欠失)
15	Q
30	A
33	M
40	S
52	V
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
145	I
151	M
155	S
188	G
189	T
197	N
211	A
212	G
214	N

10

20

【請求項 7 8】

配列番号 2 5 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 2 5 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %若しくは 9 9 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 7 9】

以下の表に示されるように、配列番号 2 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 7 8 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 2 3 7】

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV_M_T2_2アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
197	N

30

【請求項 8 0】

以下の表に示されるように、配列番号 2 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む、請求項 7 8 に記載の単離されたポリペプチド。

40

50

【表 238】

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV_M_T2_2アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
127	S
134	M
151	M
155	S
189	S
195	V
197	N

10

【請求項 81】

配列番号 48 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 48 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

20

【請求項 82】

配列番号 26 の位置 20～75 に対応する位置に、アミノ酸残基の欠失を含む、請求項 81 に記載のポリペプチド。

【請求項 83】

配列番号 26 のアミノ酸残基位置 204 に対応する位置に、アミノ酸残基 G を含む、請求項 81 又は 82 に記載のポリペプチド。

【請求項 84】

配列番号 49 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 49 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

30

【請求項 85】

配列番号 26 の位置 20～75 に対応する位置に、アミノ酸残基の欠失を含む、請求項 84 に記載のポリペプチド。

【請求項 86】

以下の表に示されるように、配列番号 26 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 84 又は 85 に記載のポリペプチド。

40

50

【表 2 3 9】

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	アミノ酸残基
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
189	T
197	N
204	G

10

【請求項 8 7】

前記表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む、請求項 8 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 8】

以下の表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 8 4 又は 8 5 に記載のポリペプチド。

20

【表 2 4 0】

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV_M_T2_4アミノ酸残基 (配列番号49)
4	欠失
15	Q
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
145	I
151	M
155	S
188	G
189	T
197	N
204	G
211	A
212	G
214	N

30

【請求項 8 9】

前記表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 10、又は少なくとも 15 を含む、請求項 8 8 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 9 0】

配列番号 5 0 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 5 0 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 6 9 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

50

【請求項 9 1】

配列番号 26 の位置 20～75 に対応する位置に、アミノ酸残基の欠失を含む、請求項 9 0 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 2】

以下の表に示されるように、配列番号 26 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 9 0 又は 9 1 に記載のポリペプチド。

【表 2 4 1】

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	アミノ酸残基
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
189	T
197	N
204	G

10

20

【請求項 9 3】

前記表に示されるように、配列番号 26 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む、請求項 9 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 4】

以下の表に示されるように、配列番号 26 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 9 0 又は 9 1 に記載のポリペプチド。

【表 2 4 2】

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV_M_T2_5アミノ酸残基 (配列番号50)
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
127	S
129	I
134	M
151	M
155	S
189	S
195	V
197	N
204	G

30

40

【請求項 9 5】

前記表に示されるように、配列番号 26 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 10 を含む、請求項 9 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 6】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルス M タンパク質を含む、単離されたポリペプチド

50

。

【表 2 4 3】

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	アミノ酸残基
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
189	T
197	N
204	G

10

【請求項 9 7】

前記表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む、請求項 9 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 8】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルス M タンパク質を含む、単離されたポリペプチド

20

。

【表 2 4 4】

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV_M_T2_4アミノ酸残基 (配列番号49)
4	欠失
15	Q
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
145	I
151	M
155	S
188	G
189	T
197	N
204	G
211	A
212	G
214	N

30

40

【請求項 9 9】

前記表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 9 8 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 0】

以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルス M タンパク質を含む、単離されたポリペプチド

。

50

【表 2 4 5】

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV__M__T2__5アミノ酸残基 (配列番号50)
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
127	S
129	I
134	M
151	M
155	S
189	S
195	V
197	N
204	G

10

【請求項 1 0 1】

前記表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 0 0 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 1 0 2】

配列番号 4 6 のアミノ酸配列 (COV__N__T2__1)、又は前記配列番号 4 6 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 1 0 3】

上記の表 1 2 . 2 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 1 0 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 4】

前記表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 1 0 3 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 1 0 5】

上記の表 1 2 . 3 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 1 0 2 ～ 1 0 4 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 6】

前記表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 0 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 7】

配列番号 4 7 のアミノ酸配列 (COV__N__T2__2)、又は前記配列番号 4 7 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

40

【請求項 1 0 8】

上記の表 1 2 . 2 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 1 0 7 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0 9】

前記表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 1 0 8 に記載のポリ

50

ペプチド。

【請求項 1 1 0】

上記の表 1 2 . 4 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む、請求項 1 0 7 ~ 1 0 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1 1】

前記表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 1 1 0 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1 2】

上記の表 1 2 . 2 に示されるように、配列番号 4 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 1 1 3】

上記の表 1 2 . 2 に示されるように、配列番号 4 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 1 1 2 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 1 4】

上記の表 1 2 . 3 に示されるように、配列番号 4 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 1 1 2 又は 1 1 3 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 1 5】

上記の表 1 2 . 3 に示されるように、配列番号 4 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 1 4 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 1 6】

上記の表 1 2 . 4 に示されるように、配列番号 4 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 1 1 4 又は 1 1 5 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 1 7】

上記の表 1 2 . 4 に示されるように、配列番号 4 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5、少なくとも 1 0、又は少なくとも 1 5 を含む、請求項 1 1 6 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 1 8】

配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 1 1 9】

配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 1 2 0】

配列番号 5 3 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 5 3 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 1 2 1】

以下の表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 1 2 0 に記載の単離されたポリペプチド。

10

20

30

40

50

【表 4 6】

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV_S_T2_29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	－(欠失)
70	－(欠失)
144	－(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H
986	P
987	P

10

【請求項 1 2 2】

前記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 2 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 3】

下記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する、位置 9 8 6 のアミノ酸残基 P 及び位置 9 8 7 のアミノ酸残基 P、並びに配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ又は全てを含む、請求項 1 2 0 ～ 1 2 2 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

20

【表 2 4 7】

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV_S_T2_29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	－(欠失)
70	－(欠失)
144	－(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H

30

【請求項 1 2 4】

前記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 2 3 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 1 2 5】

以下の表に示すように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス S タンパク質を含む、単離されたポリペプチド。

50

【表 2 4 8】

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV__S__T2__29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	－(欠失)
70	－(欠失)
144	－(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H
986	P
987	P

10

【請求項 1 2 6】

前記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 2 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 7】

下記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する、位置 9 8 6 のアミノ酸残基 P 及び位置 9 8 7 のアミノ酸残基 P、並びに配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ又は全てを含む、請求項 1 2 5 又は 1 2 6 に記載の単離されたポリペプチド。

20

【表 2 4 9】

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV__S__T2__29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	－(欠失)
70	－(欠失)
144	－(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H

30

【請求項 1 2 8】

前記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 2 7 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 1 2 9】

前記コロナウイルス S タンパク質が、前記配列番号 5 2 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 2 5 ～ 1 2 8 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 3 0】

配列番号 5 4 のアミノ酸配列、又は前記配列番号 5 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

50

【請求項 1 3 1】

以下の表に示すように、配列番号 5 2 の位置 4 1 3 及び 9 8 7 に対応する位置に、システインアミノ酸残基、並びに配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む、請求項 1 3 0 に記載の単離されたポリペプチド。

【表 2 5 0】

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号 52)	配列番号 54
18	F
20	N
26	S
69	－(欠失)
70	－(欠失)
144	－(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H

10

【請求項 1 3 2】

前記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 3 1 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 1 3 3】

配列番号 5 2 の位置 9 8 6 に対応する位置に、アミノ酸残基 P を含む、請求項 1 3 0 ～ 1 3 2 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 3 4】

以下の表に示されるように、配列番号 5 2 の位置 4 1 3 及び 9 8 7 に対応する位置に、システインアミノ酸残基、並びに配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含むコロナウイルス S タンパク質を含む、単離されたポリペプチド。

30

【表 2 5 1】

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号 52)	配列番号 54
18	F
20	N
26	S
69	－(欠失)
70	－(欠失)
144	－(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H

40

【請求項 1 3 5】

前記表に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つ又は少なくとも 1 0 を含む、請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 3 6】

配列番号 5 2 の位置 9 8 6 に対応する位置に、アミノ酸残基残基 P を含む、請求項 1 3 4 又は 1 3 5 に記載の単離されたポリペプチド。

50

【請求項 137】

前記コロナウイルスタンパク質が、前記配列番号 52 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 134 ~ 136 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 138】

配列番号 52 の以下のアミノ酸残基位置、G 446、L 452、S 477、及び Q 498 に対応する 1 つ又は複数（又は全て）の位置に、アミノ酸変化を含む、請求項 1 ~ 61 又は 118 ~ 137 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

10

【請求項 139】

配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、446 R、477 N、及び 498 R のうちの 1 つ又は複数（又は全て）を含む、請求項 138 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 140】

配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、498 R 及び 501 Y を含む、請求項 138 又は 139 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 141】

以下の不連続アミノ酸配列、

(i) N I T N L C P F G E V F N A T K（配列番号 57）、

(ii) K K I S N（配列番号 58）、

(iii) N I（配列番号 59）、

を含む、請求項 17 ~ 21 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

20

【請求項 142】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 28 の、(i) 残基 13 ~ 28、(ii) 残基 38 ~ 42、及び (iii) 残基 122 ~ 123 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 141 に記載のポリペプチド。

【請求項 143】

以下の不連続アミノ酸配列、

(i) Y N S T F F S T F K C Y G V S P T K L N D L C F S（配列番号 60）、

(ii) D D F M（配列番号 61）、

(iii) F E L L N（配列番号 62）、

を含む、請求項 22 ~ 26 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

30

【請求項 144】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 29 の、(i) 残基 51 ~ 75、(ii) 残基 109 ~ 112、及び (iii) 残基 197 ~ 201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 143 に記載のポリペプチド。

【請求項 145】

以下の不連続アミノ酸配列、

(i) R G D E V R Q（配列番号 63）、

(ii) T G K I A D Y（配列番号 64）、

(iii) Y R L F R K S N（配列番号 65）、

(iv) Y Q A G S T（配列番号 66）、

(v) F N C Y F P L Q S Y G F Q P T N G V G Y（配列番号 67）、

を含む、請求項 27 ~ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【請求項 146】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、(iii)、(iv)、及び (v) が、それぞれ配列番号 30 の、(i) 残基 85 ~ 91、(ii) 残基 97 ~ 103、(iii) 残基 135 ~ 142、(iv) 残基 155 ~ 160、及び (v) 残基 168 ~ 187 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 145 に記載のポリペプチド。

50

【請求項 1 4 7】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) N I T N L C P F G E V F N A T K (配列番号 5 7)、
- (i i) K K I S N (配列番号 5 8)、
- (i i i) N I (配列番号 5 9)、

を含む、請求項 3 0～3 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 8】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、及び (i i i) が、それぞれ配列番号 3 1 の、(i) 残基 1 3～2 8、(i i) 残基 3 8～4 2、及び (i i i) 残基 1 2 2～1 2 3 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 1 4 7 に記載のポリペプチド。

10

【請求項 1 4 9】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) Y N S T F F S T F K C Y G V S P T K L N D L C F S (配列番号 6 0)、
- (i i) D D F M (配列番号 6 1)、
- (i i i) F E L L N (配列番号 6 2)、

を含む、請求項 3 6～4 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 0】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、及び (i i i) が、それぞれ配列番号 3 2 の、(i) 残基 5 1～7 5、(i i) 残基 1 0 9～1 1 2、及び (i i i) 残基 1 9 7～2 0 1 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 1 4 9 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 1 5 1】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) N I T N L C P F G E V F N A T R (配列番号 6 8)、
- (i i) K R I S N (配列番号 6 9)、
- (i i i) N L (配列番号 7 0)、

を含む、請求項 2 2～2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 2】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、及び (i i i) が、それぞれ配列番号 2 9 の、(i) 残基 1 3～2 8、(i i) 残基 3 8～4 2、及び (i i i) 残基 1 2 2～1 2 3 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 1 5 1 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 1 5 3】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) N I T N L C P F G E V F N A T R (配列番号 6 8)、
- (i i) K R I S N (配列番号 6 9)、
- (i i i) N L (配列番号 7 0)、

を含む、請求項 2 7～2 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 4】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、及び (i i i) が、それぞれ配列番号 3 0 の、(i) 残基 1 3～2 8、(i i) 残基 3 8～4 2、及び (i i i) 残基 1 2 2～1 2 3 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 1 5 3 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 1 5 5】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) N I T N L C P F G E V F N A T R (配列番号 6 8)、
- (i i) K R I S N (配列番号 6 9)、
- (i i i) N L (配列番号 7 0)、

を含む、請求項 3 6～4 1 のいずれか一項に記載の単離物。

【請求項 1 5 6】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、及び (i i i) が、それぞれ配列番号 3 2 の、(i) 残基 1 3～2 8、(i i) 残基 3 8～4 2、及び (i i i) 残基 1 2 2～1 2 3 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 1 5 5 に記載のポリペプチド。

50

【請求項 157】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) YNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFT (配列番号 71)、
- (ii) DDFT (配列番号 72)、
- (iii) FEL LN (配列番号 62)、

を含む、請求項 17～21 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 158】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 28 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 157 に記載のポリペプチド。

10

【請求項 159】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) YNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFT (配列番号 71)、
- (ii) DDFT (配列番号 72)、
- (iii) FEL LN (配列番号 62)、

を含む、請求項 27～29 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 160】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 30 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 159 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 161】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) YNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFT (配列番号 71)、
- (ii) DDFT (配列番号 72)、
- (iii) FEL LN (配列番号 62)、

を含む、請求項 30～35 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 162】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 31 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 161 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 163】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) RGDEV RQ (配列番号 63)、
- (ii) TGV IADY (配列番号 73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号 74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号 75)、
- (v) FNCYYPLRSYGF FPTNGVGY (配列番号 76)、

を含む、請求項 17～21 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 164】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 28 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 163 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 165】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) RGDEV RQ (配列番号 63)、
- (ii) TGV IADY (配列番号 73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号 74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号 75)、
- (v) FNCYYPLRSYGF FPTNGVGY (配列番号 76)、

を含む、請求項 22～26 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

50

【請求項 166】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 29 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 165 に記載のポリペプチド。

【請求項 167】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) RGDEVQRQ (配列番号 63)、
- (ii) TGVIAADY (配列番号 73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号 74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号 75)、
- (v) FNCYYP LRSYGF FPTNGTGY (配列番号 77)、

を含む、請求項 30～35 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

10

【請求項 168】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 31 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 167 に記載のポリペプチド。

【請求項 169】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) RGDEVQRQ (配列番号 63)、
- (ii) TGVIAADY (配列番号 73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号 74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号 75)、
- (v) FNCYYP LRSYGF FPTNGTGY (配列番号 77)、

を含む、請求項 36～41 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

20

【請求項 170】

前記不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) が、それぞれ配列番号 32 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある、請求項 169 に記載のポリペプチド。

【請求項 171】

以下の不連続アミノ酸配列、

- i) NITNLC PFGEVF NATK (配列番号 57)、
- ii) KKISN (配列番号 58)、
- iii) NI (配列番号 59)、

を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

30

【請求項 172】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) YNSTFFSTFKCYGVSP TKLN DL CFS (配列番号 60)、
- (ii) DDFM (配列番号 61)、
- (iii) FEL LN (配列番号 62)、

を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

40

【請求項 173】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) RGDEVQRQ (配列番号 63)、
- (ii) TGKIAADY (配列番号 64)、
- (iii) YRLFRKSN (配列番号 65)、
- (iv) YQAGST (配列番号 66)、
- (v) FNCYFPLQSYGFQPTNGVGY (配列番号 67)、

を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 174】

以下の不連続アミノ酸配列、

50

- (i) N I T N L C P F G E V F N A T R (配列番号 68)、
- (ii) K R I S N (配列番号 69)、
- (iii) N L (配列番号 70)、

を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 175】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) Y N S T S F S T F K C Y G V S P T K L N D L C F T (配列番号 71)、
- (ii) D D F T (配列番号 72)、
- (iii) F E L L N (配列番号 62)、

を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

10

【請求項 176】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) R G D E V R Q (配列番号 63)、
- (ii) T G V I A D Y (配列番号 73)、
- (iii) Y R S L R K S K (配列番号 74)、
- (iv) Y S P G G K (配列番号 75)、
- (v) F N C Y Y P L R S Y G F F P T N G V G Y (配列番号 76)、

を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 177】

以下の不連続アミノ酸配列、

- (i) R G D E V R Q (配列番号 63)、
- (ii) T G V I A D Y (配列番号 73)、
- (iii) Y R S L R K S K (配列番号 74)、
- (iv) Y S P G G K (配列番号 75)、
- (v) F N C Y Y P L R S Y G F F P T N G T G Y (配列番号 77)、

を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

20

【請求項 178】

前記不連続アミノ酸配列が、列挙された順序で存在する、請求項 141～177のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 179】

各不連続アミノ酸配列が、隣接する不連続アミノ酸配列から少なくとも3つのアミノ酸残基分離されている、請求項 141～178のいずれか一項に記載のポリペプチド。

30

【請求項 180】

各不連続アミノ酸配列が、隣接する不連続アミノ酸配列から最大100のアミノ酸残基分離されている、請求項 141～179のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 181】

長さが最大250、500、750、1,000、1,250、又は1,500アミノ酸残基である、請求項 141～180のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 182】

請求項 1～181のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする、単離された核酸分子、又はその相補体。

40

【請求項 183】

配列番号 18、16若しくは14のヌクレオチド配列、又は配列番号 18、16若しくは14のヌクレオチド配列とその全長にわたって少なくとも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%若しくは99%同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項 182に記載の単離された核酸分子、又はその相補体。

【請求項 184】

配列番号 37、38、39、又は40のヌクレオチド配列を含む、請求項 182に記載

50

の単離された核酸分子、又はその相補体。

【請求項 185】

配列番号 9 (C o V _ T 2 _ 3) のアミノ酸配列の S A R S 2 切断 S タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子、又はその相補体。

【請求項 186】

配列番号 10 のヌクレオチド配列を含む、請求項 185 に記載の核酸分子、又はその相補体。

【請求項 187】

配列番号 11 (C o V _ T 2 _ 6) のアミノ酸配列の S A R S 2 S タンパク質 R B D をコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子、又はその相補体。

10

【請求項 188】

配列番号 12 のヌクレオチド配列を含む、請求項 187 に記載の核酸分子、又はその相補体。

【請求項 189】

請求項 182 ～ 188 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 190】

請求項 1 ～ 61、又は 118 ～ 181 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項 189 に記載のベクター。

【請求項 191】

請求項 62 ～ 74 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項 189 又は 190 に記載のベクター。

20

【請求項 192】

請求項 75 ～ 101 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項 189 ～ 191 のいずれか一項に記載のベクター。

【請求項 193】

請求項 102 ～ 117 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項 189 ～ 192 のいずれか一項に記載のベクター。

【請求項 194】

前記核酸に作動可能に連結されたプロモータを更に含む、請求項 189 に記載のベクター。

30

【請求項 195】

ポリペプチドをコードする前記ベクターの各核酸分子に対して、その核酸分子に作動可能に連結された別個のプロモータを更に含む、請求項 190 ～ 194 のいずれか一項に記載のベクター。

【請求項 196】

前記プロモータが、哺乳動物細胞において前記核酸によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである、請求項 194 に記載のベクター。

【請求項 197】

前記プロモータ、又は各プロモータが、哺乳動物細胞における前記核酸分子によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである、請求項 195 に記載のベクター。

40

【請求項 198】

前記プロモータが、酵母又は昆虫細胞において前記核酸によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである、請求項 194 に記載のベクター。

【請求項 199】

前記プロモータ、又は各プロモータが、酵母又は昆虫細胞において前記核酸分子によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである、請求項 195 に記載のベクター。

【請求項 200】

ワクチンベクターである、請求項 189 ～ 199 のいずれか一項に記載のベクター。

【請求項 201】

50

ウイルスワクチンベクター、細菌ワクチンベクター、RNAワクチンベクター、又はDNAワクチンベクターである、請求項200に記載のベクター。

【請求項202】

請求項189～201のいずれか一項に記載のベクターを含む、単離された細胞。

【請求項203】

請求項1～181のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、融合タンパク質。

【請求項204】

請求項1～181のいずれか一項に記載のポリペプチドと、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤と、を含む、医薬組成物。

【請求項205】

請求項1～61、又は118～181のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、請求項204に記載の医薬組成物。

【請求項206】

請求項62～74のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、請求項204又は205に記載の医薬組成物。

【請求項207】

請求項75～101のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、請求項204～206のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項208】

請求項102～117のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、請求項204～207のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項209】

請求項182～188のいずれか一項に記載の核酸と、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤と、を含む、医薬組成物。

【請求項210】

請求項1～61、又は118～181のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項209に記載の医薬組成物。

【請求項211】

請求項62～74のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項209又は210に記載の医薬組成物。

【請求項212】

請求項75～101のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項209～211のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項213】

請求項102～117のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸分子を含む、請求項209～212のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項214】

請求項189～201のいずれか一項に記載のベクターと、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤と、を含む、医薬組成物。

【請求項215】

前記組成物の、前記ポリペプチド又は前記核酸によってコードされるポリペプチドに対する対象における免疫応答を増強するためのアジュバントを更に含む、請求項204～214のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項216】

請求項1～181のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、偽型ウイルス。

【請求項217】

対象におけるコロナウイルスに対する免疫応答を誘導する方法であって、有効量の請求項1～181のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項182～188のいずれか一項に記載の核酸、請求項189～201のいずれか一項に記載のベクター、又は請求項204～215のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、対象

10

20

30

40

50

におけるコロナウイルスに対する免疫応答を誘導する方法。

【請求項 218】

コロナウイルスに対して対象を免疫化する方法であって、前記対象に、有効量の請求項 1～181 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 182～188 のいずれか一項に記載の核酸、請求項 189～201 のいずれか一項に記載のベクター、又は請求項 204～215 のいずれか一項に記載の医薬組成物を投与することを含む、コロナウイルスに対して対象を免疫する方法。

【請求項 219】

医薬品として使用するための、請求項 1～181 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 182～188 のいずれか一項に記載の核酸、請求項 189～201 のいずれか一項に記載のベクター、又は請求項 204～215 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 220】

コロナウイルス感染症の予防、治療又は改善に使用するための、請求項 1～181 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 182～188 のいずれか一項に記載の核酸、請求項 189～201 のいずれか一項に記載のベクター、又は請求項 204～215 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 221】

コロナウイルス感染症の予防、治療又は改善のための医薬品の製造における、請求項 1～181 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 182～188 のいずれか一項に記載の核酸、請求項 189～201 のいずれか一項に記載のベクター、又は請求項 204～215 のいずれか一項に記載の医薬組成物の使用。

20

【請求項 222】

前記コロナウイルスが β -コロナウイルスである、請求項 217 若しくは 218 に記載の方法、請求項 219 若しくは 220 に記載の使用のためのポリペプチド、核酸、ベクター、若しくは医薬組成物、又は請求項 221 に記載の方法。

【請求項 223】

前記 β -コロナウイルスが B 型又は C 型 β -コロナウイルスである、請求項 222 記載の、使用のための方法、若しくはポリペプチド、核酸、ベクター、若しくは医薬組成物、又は使用。

【請求項 224】

前記 β -コロナウイルスが B 型 β -コロナウイルスである、請求項 222 記載の、使用のための方法、若しくはポリペプチド、核酸、ベクター、若しくは医薬組成物、又は使用。

30

【請求項 225】

前記 B 型 β -コロナウイルスが、SARS-CoV 又は SARS-CoV-2 である、請求項 223 又は 224 に記載の、使用のための方法、若しくはポリペプチド、核酸、ベクター、若しくは医薬組成物、又は使用。

【請求項 226】

前記 C 型 β -コロナウイルスが MERS-CoV である、請求項 223 に記載の、使用のための方法、若しくはポリペプチド、核酸、ベクター、若しくは医薬組成物、又は使用。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、核酸分子、ポリペプチド、ベクター、細胞、融合タンパク質、医薬組成物、及びコロナウイルスファミリーのウイルスに対するワクチンとしてのそれらの使用に関する。

【背景技術】

【0002】

コロナウイルス (CoV) は、多種多様な動物及びヒト疾患を引き起こす。CoV によ

50

って引き起こされる注目すべきヒト疾患は、重度急性呼吸器症候群（SARS）及び中東呼吸器症候群（MERS）等の人獣共通感染症である。このファミリー内のウイルスは、概して、免疫能力のあるヒトにおいて軽度の自己制御性呼吸器感染症を引き起こすが、発熱の発症、極端な疲労、呼吸困難、無酸素症、及び肺炎を特徴とする重度の致死性疾患を引き起こす可能性もある。CoVは、感染した対象の呼吸器液滴を介して密接な接触を通して、各株内の様々な程度の感染性で伝染する。

【0003】

CoVは、コロナウイルス科ウイルスのファミリーに属し、全てにエンベロープがある。CoVは、一本鎖正方向RNAゲノムを含み、長さは、25～31キロボースであり（Siddell S. G. 1995, The Coronaviridae）、最大ゲノムは、これまでのところRNAウイルスに見出される。コロナウイルス科のファミリーは、系統的クラスタリングに基づいて、4つの属：α、β、γ、及びδコロナウイルスにサブタイプ化され、各属は、ウイルスの株に応じてクラスターに再び細分化される。例えば、属β-CoV（群2CoV）、4系統（a、b、c、及びd）は一般に認識されている。

・A型（エンベコウイルス亜属）は、HCoV-OC43及びHCoV-HKU1（様々な種）を含む。

・B型（サルベコウイルス亜属）は、SARSr-CoV（SARS-CoV、SARS-CoV-2、及びBat SL-CoV-WIV1等の全ての株を含む）を含む。

・C型（メルベコウイルス亜属）は、TylonycterisコウモリコロナウイルスHKU4（BatCoV-HKU4）、PipistrellusコウモリコロナウイルスHKU5（BatCoV-HKU5）、及びMERS-CoV（様々な種）を含む。

・D型（ノベコウイルス亜属）は、RousettusコウモリコロナウイルスHKU9（BatCoV-HKU9）を含む。

【0004】

CoVビリオンは、ビリオンの表面から発する特徴的なクラブ形状スパイク突起を有する球形である。ビリオンは、4つの主要な構造タンパク質：スパイク（S）；膜（M）；エンベロープ（E）；及びヌクレオキャプシド（N）タンパク質を含有し、それらの全ては、ウイルスゲノムによってコードされる。β-CoVのいくつかのサブセットは、第5の構造タンパク質、ヘマグルチニンエステラーゼ（HE）を含み、これは、そのアセチルエステラーゼ活性を介して、粘膜を介したSタンパク質媒介性細胞侵入及びウイルスの拡散を増強する。S糖タンパク質のホモ三量体は、ウイルスの表面上の特有のスパイク構造を構成する。これらの三量体は、Sタンパク質及びその受容体の相互作用によって宿主受容体へのウイルス結合を媒介するクラスI融合タンパク質である。ほとんどのCoVでは、Sは、宿主細胞プロテアーゼによって2つの別個のポリペプチド-S1及びS2に切断される。S1はSタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）を含有し（RBDの正確な位置決めは、ウイルス株に応じて異なる）、S2はスパイク分子のステムを形成する。

【0005】

図1は、SARS S-タンパク質アーキテクチャを示す。N末端配列は、細胞外シグナルを細胞内に中継することに関与する。研究は、Sタンパク質のN末端領域が、高度に保存されているC末端領域よりもはるかに多様であることを示す（Dong et al, Genomic and protein structure modelling analysis depicts the origin and infectivity of 2019-nCoV, a new coronavirus which caused a pneumonia outbreak in Wuhan, China. 2020）。図は、それぞれ受容体結合及び細胞膜融合に関与するS1及びS2ドメインを含むSドメインを示す。

【0006】

RNAウイルスは、概して、ウイルスRNAポリメラーゼがDNAポリメラーゼの修正能力を欠いているため、DNAウイルスと比較して非常に高い変異率を有する。これは、ウイルスがその天然の宿主リザーバから他の種に、及びヒトからヒトに伝染できる理由で

10

20

30

40

50

あり、RNAウイルスによって引き起こされる疾患を予防するために効果的なワクチンを作製することが困難である理由である。ほとんどの場合、RNAウイルスに対する現在のワクチン候補は、ワクチン挿入物として使用されるウイルス株によって制限され、これは、通知設計ではなく野生型株の利用可能性に基づいて選択されることが多い。エンベロープRNAウイルスのワクチンを開発するための技術的課題には、i) 野生型フィールド分離株糖タンパク質 (GP) のウイルス変動により、ワクチン抗原としての制限された幅の保護が提供されることと、ii) ワクチン挿入によって発現されるワクチン抗原の選択は、非常に実験的であり、免疫原選択は、遅い、試行錯誤プロセスであることと、iii) 進化した又は予想されないウイルスのエピデミックにおいて、新しいワクチン候補を開発することは時間がかかり、ワクチンの開発を遅延させる可能性があることと、が含まれる。

10

【0007】

2002年の前に、CoVは、軽度の呼吸器の問題を引き起こすのみ考えられており、ヒト集団に限られるエンデミックとなり、毎年15～30%の気道感染を引き起こした。1960年代の最初の発見以来、CoVファミリーは大規模に拡大しており、ヒトと動物の両方において多くの大流行を引き起こした。中国の広東省で2002～2003年に発生したSARS流行は、当時知られている任意のコロナウイルスによって引き起こされる最も重度の疾患であった。その期間中、約8098症例が774人の死亡を伴い発生した（死亡率は全体的に約9.6%）。死亡率は、90歳を超える個人において約50%であった。SARS-CoVとして特定されるウイルスは、2b族β-CoVであり、コウモリに起因する。コウモリからの2つの新規ウイルス分離株は、当時までに特定された他のウイルスのいずれよりもヒトSARS-CoVとより類似し、ヒト由来SARS-CoV-アンジオテンシン変換酵素2 (ACE2) と同じ細胞受容体に結合する。

20

【0008】

SARS-CoVのエピデミックは2003年に制御され、新規のヒトCoVは、2012年の中東における2c β-CoV族であった。MERSは、中東において一連の高度な病原性気道感染症の原因となる因子であり、初期の死亡率は50%である。MERSによって引き起こされる2,494症例及び858人の死亡の推定値は、その出現以来、34.4%の世界保健機関 (WHO) による総推定致死率で報告されている。SARS-CoVと共に、この新規CoVは、コウモリに起因し、ヒトコブラクダ等の中間宿主が大流行の広がりにも寄与する可能性が高かった。このウイルスは、別のペプチダーゼ受容体であるジペプチジルペプチダーゼ (DPP4) をその受容体として利用する。酵素活性がない場合であっても進入が生じるため、CoVがそれらの結合受容体として宿主ペプチダーゼを利用する理由は現在不明である。

30

【0009】

2020の始めに、別の新規CoVである重度急性呼吸器症候群コロナウイルス2 (SARS-CoV-2) が出現した。大流行が、2019年後半に、中国の武漢で始まった。ウイルスがその出現の1ヶ月以内に25ヶ国を超えて広がったので、2020年1月30日にWHOは、世界的な公衆衛生上の緊急事態を宣言した。これを書いている時点で、SARS-CoV-2感染の数は世界中の多くの国にわたって指数関数的に増加し、800,000症例の感染に近づき、40,000名を超える確認された死亡総数を引き起こした。

40

【0010】

コロナウイルスによって引き起こされる出血熱のヒト症例又は大流行は、散発的かつ不規則に発生する。大流行の発生は、容易に予測することができない。わずかな例外を除いて、CoV感染に対する治療法又は確立された薬物治療はない。ワクチンは、一部のCoVについてのみ承認されているが、これらのワクチンは、非常に効果的であるわけではなく、又は場合によっては広がっている株の組換えによる新規病原性CoVの選択を促進することが報告されているため、常に使用されているわけではない。2020年4月に、SARS-CoVのためにいくつかの潜在的なワクチンが開発されてきたが、使用が承認

50

されていない。後に、いくつかの新規ワクチンは規制承認され、集団ワクチン接種プログラムは進行中である。第1の集団ワクチン接種プログラムは、2020年12月初めに開始され、2021年2月15日の時点で、WHOは、1億7530万個のワクチン用量が投与されていると推定する。少なくとも7つの異なるワクチンが世界中で使用されている。WHOは、2020年12月31日にPfizer-BioNTech COVID-19ワクチン(BNT162b2)の緊急使用リスト(EUL)を発行した。WHOは、2021年2月15日に、AstraZeneca/Oxford COVID-19ワクチン(AZD1222)の2つのバージョンに対してEULを発行した。2021年2月18日の時点で、UK(英国)は、Pfizer-BioNTech又はAstraZeneca/Oxfordワクチンのいずれかの最初の用量を1200万人の人々に投与した。Pfizer及びAstraZenecaワクチンの両方は、Sタンパク質をコードするmRNAプラットフォームを使用する。Pfizerは、核酸送達のためのナノ粒子ベクターを使用するが、AstraZenecaは、アデノウイルスベクターを使用する。

10

【0011】

CoVの有効ワクチンの開発で打開するために多くのハードルが存在する。第1に、免疫は、それが自然であるか人工であるかにかかわらず、必ずしもその後の感染を予防するわけではない(Fehr et al. Methods Mol Biol. 2015, 1282:1-23)。第2に、ウイルスの組換えやすさは、ウイルスの遺伝的多様性を増加させることによってワクチンを無益にすることにより問題をもたらす得る。更に、ウイルスSタンパク質によるワクチン接種は、FIPV(ネコ伝染性腹膜炎ウイルス)、高病原性株のネコCoVの場合に増強された疾患をもたらすことが示されている。この疾患の病原性の増強は、抗体依存性増強(ADE)と呼ばれるプロセスにおける宿主細胞へのウイルス侵入を促進する非中和抗体によって引き起こされる。1つのウイルス株の一次感染後、中和抗体は、ウイルスの同じ株に対して産生される。しかし、異なる株が第2の感染で宿主に感染した場合、第1の感染中に産生された二次感染性非中和抗体は、ウイルスを中和せず、代わりにウイルスに結合し、次いで免疫細胞上のIgGFc受容体に結合し、これらの細胞へのウイルス侵入を媒介する(Wan et al. Journal of Virology. 2020, 94(5):1-13)。

20

ADEが可能な(又はADE様炎症誘発性応答を誘発する)ウイルスに対するワクチンを開発する場合、非中和抗体を誘発することに関与するエピトープが特定されることと、これらのエピトープが修飾によってマスクされることか、又はワクチンから除去されることかのいずれかが重要である。Sタンパク質上のこれらの非中和エピトープはまた、免疫転換をもたらす得、非中和エピトープは、抗体への結合のために中和エピトープを排除する。中和エピトープは、抗原を中和することができない免疫系に無視される。組換えRBDワクチンの場合、非中和免疫優勢エピトープを含む以前に埋め込まれた表面は、新たに曝露され得、免疫系による中和に関与するエピトープを排除する。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0012】

40

【非特許文献1】Dong et al, Genomic and protein structure modelling analysis depicts the origin and infectivity of 2019-nCoV, a new coronavirus which caused a pneumonia outbreak in Wuhan, China. 2020

【非特許文献2】Fehr et al. Methods Mol Biol. 2015, 1282:1-23

【非特許文献3】Wan et al. Journal of Virology. 2020, 94(5):1-13

【発明の概要】

50

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

したがって、C o V、特にβ-C o V、例えばS A R S-C o V及び最近のS A R S-C o V-2によって引き起こされる出現及び再出現疾患から保護するために、広域中和免疫応答を誘導する有効なワクチンを提供する必要がある。特に、A D E（又はA D E様炎症誘発性応答）によるウイルス免疫回避及び疾患進行をもたらし得る非中和エピトープを欠くワクチンを提供する必要がある。

【課題を解決するための手段】

【0014】

D e s i g n e d C o r o n a W i v e S p i k e (S) タンパク質配列（完全長、切断、及び受容体結合ドメイン、R B D）

図2は、S A R S-C o V分離株（S A R S-C o V-1）と、4つのS A R S-C o V-2分離株を有する密接に関連するコウモリβコロナウイルス（R a T G 1 3）分離株とを比較するS-タンパク質（切断部位1の周囲の領域）の複数配列アラインメントを示す。S A R S-C o V S-タンパク質（1269アミノ酸残基）は、S A R S-C o V-2 S-タンパク質（1273アミノ酸残基）と高い配列同一性（約73%）を共有する。切断部位1の増殖（図中の囲まれている領域として示される）は、これまでのところ全てのS A R S-C o V-2株で観察されている。挿入／置換の大部分は、S A R S-C o V-1と比較して、サブユニットS2における最小限の置換を伴い、サブユニット1において観察される。C末端は、非中和抗体を誘発し、抗体依存性増強に関与するエピトープを含有する。

【0015】

本出願人は、C o V__T2__1と呼ばれるSタンパク質の新規アミノ酸配列を生成し（以下W u h a n-N o d e-1とも呼ばれる）、これは、免疫原性が改善した（タンパク質及びその誘導体が広域中和免疫応答を誘発することを可能にする）。

【0016】

完全長Sタンパク質（配列番号13）のアミノ酸配列（C o V__T2__1、W u h a n-N o d e-1）、切断Sタンパク質（t r、S2配列のC末端部分を欠いている）（配列番号15）（C o V__T2__4；W u h a n__N o d e1__t r）、及び受容体結合ドメイン（R B D）（配列番号17）（C o V__T2__7；W u h a n__N o d e1__R B D）（及びそれらのそれぞれのコード核酸配列、配列番号14、16、18）は、以下の実施例に提供される。

【0017】

本発明によれば、配列番号17のアミノ酸配列、又は配列番号17のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも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%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

【0018】

配列番号17は、本出願人によって設計された新規S-タンパク質R B Dのアミノ酸配列である。

【0019】

本発明によれば、配列番号15のアミノ酸配列、又は配列番号15のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0020】

本発明によれば、配列番号13のアミノ酸配列、又は配列番号13のアミノ酸配列と全

10

20

30

40

50

長にわたって少なくとも 83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0021】

以下の実施例 6 及び 7 は、それぞれ、新規 S タンパク質 RBD アミノ酸配列 Wuhan__Node1__RBD (CoV__T2__7) (配列番号 17)) と、SARS-TOR2 分離株 AY274119 (AY274119__RBD (CoV__T2__5) (配列番号 5))、及び SARS__CoV__2 分離株 hCoV-19/Wuhan/LVDC-HB-01/2019 (EPI__ISL__402119) (EPI__ISL__402119__RBD (CoV__T2__6) (配列番号 11)) の RBD アミノ酸配列とのアミノ酸配列アラインメントを提供する。

10

【0022】

以下の実施例 9 で説明するように、図 4 は、アミノ酸残基の差異が AY 274119__RBD (CoV__T2__5) (配列番号 5) 及び EPI__ISL__402119__RBD (CoV__T2__6) (配列番号 11) アミノ酸配列 (それぞれ実施例 6 及び 7) とのそれぞれのアラインメントから太字及び下線で強調表示された、Wuhan__Node1__RBD (CoV__T2__7) アミノ酸配列 (配列番号 17) を示す。2 つのアラインメントとアミノ酸残基との差異を以下の表に列挙する (残基位置の番号付けは、Wuhan__Node1__RBD (CoV__T2__7) (配列番号 17) アミノ酸配列の位置に対応する。2 つのアラインメントとの共通の差異は、アミノ酸残基: 3、6、7、21、22、38、42、48、67、70、76、81、83、86、87、92、121、122、123、125、126、128、134、137、138、141、150、152、153、154、155、167、171、178、180、181、183、185、187、188、189、191、194、195、219 にある (図 4 及び以下の表に灰色の強調表示で示す)。

20

【0023】

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1

Wuhan_Node1_RBD (CoV_T2_7)残基位置	アミノ酸残基の差異、 対AY274119_RBD	アミノ酸残基の差異、 対EPI_ISL_402119_RBD
3	S	S
5	T	—
6	Q	Q
7	E	E
8	—	V
21	D	D
22	K	K
28	R	—
30	—	P
36	—	E
38	T	T
39	—	K
42	D	D
48	T	T
54	—	T
55	S	—
66	P	—
67	S	S
70	I	I
75	T	—
76	S	S
81	T	T
83	L	L
84	I	—
85	R	—
86	C	C
87	S	S
88	E	—
92	V	V
99	—	V
112	T	—
116	I	—
120	—	T
121	A	A
122	K	K
123	Q	Q
125	T	T
126	G	G
127	—	S
128	S	S
134	Y	Y
137	S	S
138	H	H

10

20

30

40

【0024】

【表 1 - 2】

(表 1 の続き)

Wuhan_Node1_RBD (CoV_T2_7)残基位置	アミノ酸残基の差異、 対AY274119_RBD	アミノ酸残基の差異、 対EPI_ISL_402119_RBD
140	K	—
141	T	T
142	—	K
144	K	—
150	L	L
152	S	S
153	D	D
154	E	E
155	C	C
156	—	S
157	—	P
158	—	D
159	—	G
160	—	K
163	—	T
164	—	P
165	—	P
166	—	A
167	F	F
168	N	—
169	G	—
170	V	—
171	R	R
172	G	—
173	F	—
177	F	—
178	T	T
180	S	S
181	T	T
183	D	D
185	N	N
186	P	—
187	N	N
188	V	V
189	P	P
190	V	—
191	E	E
194	A	A
195	T	T
206	—	N
216	—	L
219	Q	Q

10

20

30

40

【0025】

アミノ酸挿入は、167～172 (AY274119_RBDと比較) 及び163～167 (EPI_ISL_402119_RBDと比較) の位置にある (図4に囲んで示す)。

【0026】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表2に示されるように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つを含む。

【0027】

50

【表 2】

表 2

Wuhan_Node1_RBD (CoV_T2_7) 残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
21	D
22	K
38	T
42	D
48	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y
137	S
138	H
141	T
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

40

【0028】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 2 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む。

【0029】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 2 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 10 を含む。

【0030】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 2 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 15 を含む。

50

【0031】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表2に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも20を含む。

【0032】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表2に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも25を含む。

【0033】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表2に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも30を含む。

【0034】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表2に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも35を含む。

【0035】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表2に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも40を含む。

【0036】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表2に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

【0037】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表3に示されるように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つを含む。

【0038】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 3

Wuhan_Node1__RBD (CoV_T2_7) 残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
8	V
21	D
22	K
30	P
36	E
38	T
39	K
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S
138	H

10

20

30

【 0 0 3 9 】

40

50

【表 3 - 2】

(表 3 の続き)

Wuhan_Node1__RBD (CoV_T2_7) 残基位置	アミノ酸残基
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
163	T
164	P
165	P
166	A
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
206	N
216	L
219	Q

10

20

30

【0040】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 3 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む。

【0041】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 3 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 10 を含む。

【0042】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 3 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 15 を含む。

40

【0043】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 3 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 20 を含む。

【0044】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 3 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 25 を含む。

【0045】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 3 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 30 を含む。

50

【0046】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表3に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも35を含む。

【0047】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表3に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも40を含む。

【0048】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表3に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも45を含む。

【0049】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表3に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも50を含む。

【0050】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表3に示されるように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、少なくとも55のアミノ酸残基を含む。

【0051】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表3に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも60を含む。

【0052】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表3に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

【0053】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表4に示されるように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つを含む。

【0054】

10

20

30

40

50

【表 4－1】

表 4

Wuhan_Node1_RBD (CoV_T2_7) 残基位置	アミノ酸残基
3	S
5	T
6	Q
7	E
21	D
22	K
28	R
38	T
42	D
48	T
55	S
66	P
67	S
70	I
75	T
76	S
81	T
83	L
84	I
85	R
86	C
87	S
88	E
92	V
112	T
116	I
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y

【 0 0 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

(表 4 の続き)

Wuhan_Node1__RBD (CoV_T2_7) 残基位置	アミノ酸残基
137	S
138	H
140	K
141	T
144	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
168	N
169	G
170	V
171	R
172	G
173	F
177	F
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
186	P
187	N
188	V
189	P
190	V
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

【0056】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 4 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む。

【0057】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 4 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 10 を含む。

【0058】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 4 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 15 を含む。

40

【0059】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 4 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 20 を含む。

【0060】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 4 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 25 を含む。

【0061】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表 4 に示すように、配列番号 17 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 30 を含む。

50

【0062】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表4に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも35を含む。

【0063】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表4に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも40つを含む。

【0064】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表4に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも45を含む。

【0065】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表4に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも50を含む。

【0066】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表4に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも55を含む。

【0067】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表4に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも60を含む。

【0068】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、表4に示すように、配列番号17のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

【0069】

本発明によれば、以下の表5に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルスSタンパク質RBDドメインを含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0070】

10

20

30

40

50

【表 5】

表 5

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
21	D
22	K
38	T
42	D
48	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y
137	S
138	H
141	T
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

40

【0071】

本発明によれば、以下の表 6 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルス S タンパク質 R B D ドメインを含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0072】

【表 6 - 1】

表 6

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
6	Q
7	E
8	V
21	D
22	K
30	P
36	E
38	T
39	K
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S
138	H

10

20

30

40

50

【 0 0 7 3 】

【表 6 - 2】

(表 6 の続き)

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
163	T
164	P
165	P
166	A
167	F
171	R
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
187	N
188	V
189	P
191	E
194	A
195	T
206	N
216	L
219	Q

10

20

30

【0074】

本発明によれば、以下の表 7 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか又は全てを有するコロナウイルス S タンパク質 R B D ドメインを含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0075】

40

50

【表 7 - 1】

表 7

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
3	S
5	T
6	Q
7	E
21	D
22	K
28	R
38	T
42	D
48	T
55	S
66	P
67	S
70	I
75	T
76	S
81	T
83	L
84	I
85	R
86	C
87	S
88	E
92	V
112	T
116	I
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
128	S
134	Y

10

20

30

【 0 0 7 6 】

40

50

【表 7 - 2】

(表 7 の続き)

Sタンパク質RBD残基位置	アミノ酸残基
137	S
138	H
140	K
141	T
144	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
167	F
168	N
169	G
170	V
171	R
172	G
173	F
177	F
178	T
180	S
181	T
183	D
185	N
186	P
187	N
188	V
189	P
190	V
191	E
194	A
195	T
219	Q

10

20

30

【0077】

任意選択で、コロナウイルスSタンパク質RBDドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号5のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0078】

任意選択で、コロナウイルスSタンパク質RBDドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号11のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

40

【0079】

更に新規Sタンパク質RBD配列は、本明細書ではCoV__S__T2__13-Cov__S__T2__18（それぞれ配列番号27～32）と称される。CoV__S__T2__13は、本発明者等の設計アルゴリズムの直接出力であり、CoV__S__T2__14-Cov__S__T2__18は、CoV__S__T2__13のエピトープ富化バージョンである。これらの設計された配列のアミノ酸配列は、以下、及び実施例12で提供される。

>CoV__S__T2__13（配列番号27）

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

50

CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
 D FTGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
 FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
 TNGVGYQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

>COV__S__T2__14 (配列番号28)

RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATKFP SVYAW E
 RKKI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSP TKLN DL
 CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
 D FTGCVIAWNT NNIDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
 FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
 TNGVGYQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

10

>COV__S__T2__15 (配列番号29)

RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATRFP SVYAW E
 RKRI SNCVADYSVL YNSTFFSTFK CYGVSP TKLN DL
 CFSNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
 D FMGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
 FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
 TNGVGYQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

>COV__S__T2__16 (配列番号30)

RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATRFP SVYAW E
 RKRI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSP TKLN DL
 CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGKI ADYNYKL PD
 D FTGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRLFRK SNLKP
 FERDI SSDIYQAGST PCSGVEGFNC YFPLQSYGFQ P
 TNGVGYQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

20

>COV__S__T2__17 (配列番号31)

RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATKFP SVYAW E
 RKKI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSP TKLN DL
 CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
 D FTGCVIAWNT NNIDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
 FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
 TNGTG YQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

30

>COV__S__T2__18 (配列番号32)

RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATRFP SVYAW E
 RKRI SNCVADYSVL YNSTFFSTFK CYGVSP TKLN DL
 CFSNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
 D FMGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
 FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
 TNGTG YQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

これらの配列とSARS2参照配列(EPI__ISL__402119__RBD(CoV__T2__6)(配列番号11))とのアライメントを以下の実施例12に示す。

40

【0080】

SARS2参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表8.1に示す(参照配列との差異は太字で強調表示され、全ての設計された配列に共通の差異には下線を引いた)。

【0081】

【表 8】

表 8. 1

SARS2 RBD (CoV_T2_6; 配列番号11) 残基位置	参照残基	T2_13 残基(配列 番号27)	T2_14 残基(配列 番号28)	T2_15 残基(配列 番号29)	T2_16 残基(配列 番号30)	T2_17 残基(配列 番号31)	T2_18 残基(配列 番号32)
3	Q	<u>A</u>	<u>A</u>	<u>A</u>	<u>A</u>	<u>A</u>	<u>A</u>
6	E	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>
7	S	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>
8	I	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>V</u>
28	R	<u>R</u>	<u>K</u>	<u>R</u>	<u>R</u>	<u>K</u>	<u>R</u>
30	A	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>P</u>
36	N	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>	<u>E</u>
39	R	<u>R</u>	<u>K</u>	<u>R</u>	<u>R</u>	<u>K</u>	<u>R</u>
54	A	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>
55	S	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>F</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>F</u>
75	T	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>S</u>
99	K	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>K</u>	<u>V</u>	<u>V</u>
112	T	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>M</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>M</u>
120	S	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>
123	L	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>L</u>
126	K	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>
127	V	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>T</u>
137	L	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>L</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
138	F	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>F</u>	<u>L</u>	<u>L</u>
142	N	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>N</u>	<u>K</u>	<u>K</u>
152	T	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
153	E	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>
156	Q	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>Q</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
157	A	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>P</u>	<u>A</u>	<u>P</u>	<u>P</u>
159	S	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>S</u>	<u>G</u>	<u>G</u>
160	T	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>T</u>	<u>K</u>	<u>K</u>
163	N	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
172	F	<u>Y</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>	<u>F</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>
175	Q	<u>R</u>	<u>R</u>	<u>R</u>	<u>Q</u>	<u>R</u>	<u>R</u>
180	Q	<u>F</u>	<u>F</u>	<u>F</u>	<u>Q</u>	<u>F</u>	<u>F</u>
185	V	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>V</u>	<u>T</u>	<u>T</u>
201	H	<u>N</u>	<u>N</u>	<u>N</u>	<u>N</u>	<u>N</u>	<u>N</u>
211	K	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>L</u>
214	N	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>	<u>D</u>
参照との差異の 総数	—	27	30	30	16	31	31
参照との同一性 パーセンテージ	—	87. 38	85. 98	85. 98	92. 52	85. 51	85. 51

【0082】

設計された配列の全てに共通のアミノ酸変化を、以下の表 8. 2 に要約する。

【0083】

10

20

30

40

50

【表 9】

表 8. 2

SARS2 RBD(CoV_T2_6; 配列番号11)残基位置	参照残基	設計残基
3	Q	A
6	E	K
7	S	E
8	I	V
30	A	P
36	N	E
54	A	T
120	S	T
126	K	T
127	V	T
152	T	S
153	E	D
163	N	S
201	H	N
211	K	L
214	N	D

10

【0084】

任意選択での追加の変化を以下の表 8. 3 に要約する。

20

【0085】

【表 10】

表 8. 3

SARS2 RBD(CoV_T2_6; 配列番号11)残基位置	参照残基	設計残基
99	K	V
137	L	S
138	F	L
142	N	K
156	Q	S
157	A	P
159	S	G
160	T	K
172	F	Y
175	Q	R
180	Q	F

30

【0086】

表 8. 3 に列挙された追加の変化は、配列番号 27～29、31、及び 32 に見出される。

【0087】

以下の表 8. 4～8. 6 に更なる任意選択での追加の変化を要約する。

40

【0088】

【表 11】

表 8. 4

SARS2 RBD(CoV_T2_6; 配列番号11)残基位置	参照残基	設計残基	見出される配列番号
28	R	K	28、31
39	R	K	28、31
123	L	I	28、31

【0089】

50

【表 1 2】

表 8. 5

SARS2 RBD(CoV__T2__6; 配列番号11)残基位置	参照残基	設計残基	見出される配列番号
55	S	F	29、32
75	T	S	29、32
112	T	M	29、32

【0 0 9 0】

【表 1 3】

表 8. 6

SARS2 RBD(CoV__T2__6; 配列番号11)残基位置	参照残基	設計残基	見出される配列番号
185	V	T	31、32

10

【0 0 9 1】

本発明によれば、配列番号 27～32 のいずれかによるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

【0 0 9 2】

本発明によれば、配列番号 27 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__13)、又は、配列番号 27 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

20

【0 0 9 3】

本発明によれば、配列番号 28 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__14)、又は、配列番号 28 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 0 9 4】

本発明によれば、配列番号 29 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__15)、又は、配列番号 29 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

30

【0 0 9 5】

本発明によれば、配列番号 30 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__16)、又は配列番号 30 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 0 9 6】

本発明によれば、配列番号 31 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__17)、又は、配列番号 31 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

40

【0 0 9 7】

本発明によれば、配列番号 32 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__18)、又は、配列番号 32 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提

50

供される。

【0098】

任意選択で、配列番号27のアミノ酸配列（COV__S__T2__13）又は、配列番号27のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表8.2に示されるように、配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

【0099】

任意選択で、配列番号28のアミノ酸配列（COV__S__T2__14）又は、配列番号28のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表8.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

10

【0100】

任意選択で、配列番号29のアミノ酸配列（COV__S__T2__15）又は、配列番号29のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを含む本発明のポリペプチドは、上記の表8.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

20

【0101】

任意選択で、配列番号30のアミノ酸配列（COV__S__T2__16）又は、配列番号30のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表8.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

【0102】

任意選択で、配列番号31のアミノ酸配列（COV__S__T2__17）又は、配列番号31のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表8.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

30

【0103】

任意選択で、配列番号32のアミノ酸配列（COV__S__T2__18）又は、配列番号32のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表8.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

40

【0104】

任意選択で、配列番号27のアミノ酸配列（COV__S__T2__13）又は、配列番号27のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表8.3に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを更に含む。

【0105】

50

任意選択で、配列番号 28 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__14) 又は、配列番号 28 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8.3 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

【0106】

任意選択で、配列番号 29 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__15) 又は、配列番号 29 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8.3 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

10

【0107】

任意選択で、配列番号 31 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__17) 又は、配列番号 31 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8.3 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

20

【0108】

任意選択で、配列番号 32 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__18)、又は配列番号 32 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8.3 に示されるアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを更に含む。任意選択で、配列番号 28 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__14)、又は配列番号 28 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8.4 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

30

【0109】

任意選択で、配列番号 29 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__15) 又は、配列番号 29 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8.5 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

【0110】

任意選択で、配列番号 31 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__17) 又は、配列番号 31 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8.4 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

40

【0111】

任意選択で、配列番号 31 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__17) 又は、配列番号 31 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99%

50

%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8 . 6 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

【0112】

任意選択で、配列番号 32 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__18) 又は、配列番号 32 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8 . 5 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

10

【0113】

任意選択で、配列番号 32 のアミノ酸配列 (COV__S__T2__18) 又は、配列番号 32 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、上記の表 8 . 6 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

【0114】

本発明によれば、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つを有するコロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む、単離されたポリペプチドも提供される。

20

【0115】

任意選択で、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を有するコロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 5 つのアミノ酸残基を含む。

【0116】

任意選択で、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を有するコロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 10 のアミノ酸残基を含む。

30

【0117】

任意選択で、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を有するコロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 15 のアミノ酸残基を含む。

【0118】

任意選択で、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を有するコロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 8 . 2 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

40

【0119】

任意選択で上記の表 8 . 2 に示すように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1、5、10、15、又は全てを有するコロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む、本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 8 . 3 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

50

【0120】

任意選択で上記の表 8. 2 に示すように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1、5、10、15、又は全てを有するコロナウイルス S タンパク質 RBD ドメイン、及び上記の表 8. 3 に示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 8. 4～8. 6 のいずれかに示されるように、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

【0121】

任意選択で、コロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号 5 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0122】

任意選択で、コロナウイルス S タンパク質 RBD ドメインを含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号 11 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0123】

設計された S タンパク質 RBD 配列 COV__S__T2__14-18 (配列番号 28～32) の不連続エピトープ配列

以下の配列アラインメントは、設計された S タンパク質 RBD 配列 COV__S__T2__13-18 がアラインメントされたことを示す。色付けされた囲みは、異なる色で示される配列 COV__S__T2__14-18 に存在する不連続エピトープの残基を示す。より広域の又はより強力な免疫応答を誘発する不連続エピトープを提供するために、COV__S__T2__13 配列に対して作製された変化は、囲まれた領域によって示される。

【0124】

【表 14】

COV_S_T2_13	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
COV_S_T2_14	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
COV_S_T2_15	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
COV_S_T2_16	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
COV_S_T2_17	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
COV_S_T2_18	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
COV_S_T2_13	VSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVROIPAGQTGVIAADYNYKLPDDFTGCVIAWNTNNDST	126
COV_S_T2_14	VSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVROIPAGQTGVIAADYNYKLPDDFTGCVIAWNTNNDST	126
COV_S_T2_15	VSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVROIPAGQTGVIAADYNYKLPDDFTGCVIAWNTNNDST	126
COV_S_T2_16	VSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVROIPAGQTGVIAADYNYKLPDDFTGCVIAWNTNNDST	126
COV_S_T2_17	VSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVROIPAGQTGVIAADYNYKLPDDFTGCVIAWNTNNDST	126
COV_S_T2_18	VSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVROIPAGQTGVIAADYNYKLPDDFTGCVIAWNTNNDST	126
COV_S_T2_13	TGGNYNYLYRSRLKSKLKPFFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYIPLRSYGFFPTNGVGYQP	189
COV_S_T2_14	TGGNYNYLYRSRLKSKLKPFFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYIPLRSYGFFPTNGVGYQP	189
COV_S_T2_15	TGGNYNYLYRSRLKSKLKPFFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYIPLRSYGFFPTNGVGYQP	189
COV_S_T2_16	TGGNYNYLYRSRLKSKLKPFFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYIPLRSYGFFPTNGVGYQP	189
COV_S_T2_17	TGGNYNYLYRSRLKSKLKPFFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYIPLRSYGFFPTNGVGYQP	189
COV_S_T2_18	TGGNYNYLYRSRLKSKLKPFFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYIPLRSYGFFPTNGVGYQP	189
COV_S_T2_13	YRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD	214
COV_S_T2_14	YRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD	214
COV_S_T2_15	YRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD	214
COV_S_T2_16	YRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD	214
COV_S_T2_17	YRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD	214
COV_S_T2_18	YRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD	214

【0125】

COV__S__T2__14 及び COV__S__T2__17 に存在する不連続エピトープの残基 (黒色でマーク) は、以下の通りである。

- i) NITNLCPFGEVFNATK (配列番号 57) - 残基 13-28、
- ii) KKISN (配列番号 58) - 残基 38-42、
- iii) NI (配列番号 59) - 残基 122-123

10

20

30

40

50

【0126】

COV__S__T2__15及びCOV__S__T2__18に存在する不連続エピトープの残基（紫色でマーク）は、以下の通りである。

i) YNSTFFSTFKCYGVSP TKLNDLCFS（配列番号60）－残基51－75；

ii) DDFM（配列番号61）－残基109－112

iii) FELLN（配列番号62）－残基197－201

【0127】

COV__S__T2__16（橙色でマークされた）に存在する不連続エピトープの残基は、以下の通りである。

i) RGDEVVRQ（配列番号63）－残基85－91、

ii) TGK IADY（配列番号64）－残基97－103、

iii) YRLFRKSN（配列番号65）－残基135－142、

iv) YQAGST（配列番号66）－残基155－160

v) FNCYFPLQSYGFQPTNGVGY（配列番号67）－残基168－187

【0128】

COV__S__T2__13、COV__S__T2__15、COV__S__T2__16、及びCOV__S__T2__18（黒色でマークされたエピトープに垂直に隣接する）に存在する不連続エピトープの残基は、以下の通りである。

(i) NITNLC PFGEVFNATR（配列番号68）－残基13－28、

(ii) KRISN（配列番号69）－残基38－42、

(iii) NL（配列番号70）－残基122～123

【0129】

COV__S__T2__13、COV__S__T2__14、COV__S__T2__16、及びCOV__S__T2__17（紫色でマークされたエピトープに垂直に隣接する）に存在する不連続エピトープの残基は、以下の通りである。

(i) YNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFT（配列番号71）－残基51～75、

(ii) DDFT（配列番号72）－残基109－112

(iii) FELLN（配列番号62）－残基197－201

【0130】

COV__S__T2__13、COV__S__T2__14、及びCOV__S__T2__15（橙色でマークされたエピトープに垂直に隣接する）に存在する不連続エピトープの残基は、以下の通りである。

i) RGDEVVRQ（配列番号63）－残基85－91、

(ii) TGVIADY（配列番号73）－残基97－103、

(iii) YRSLRKSK（配列番号74）－残基135－142、

(iv) YSPGGK（配列番号75）－残基155～160

(v) FNCYYPLRSYGF FPTNGVGY（配列番号76）－残基168～187

【0131】

COV__S__T2__17及びCOV__S__T2__18（橙色でマークされたエピトープに垂直に隣接する）に存在する不連続エピトープの残基は、以下の通りである。

i) RGDEVVRQ（配列番号63）－残基85－91、

(ii) TGVIADY（配列番号73）－残基97－103、

(iii) YRSLRKSK（配列番号74）－残基135－142、

(iv) YSPGGK（配列番号75）－残基155～160

(v) FNCYYPLRSYGF FPTNGTGY（配列番号77）－残基168～187

10

20

30

40

50

【0132】

本発明によれば、以下の不連続アミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

- i) N I T N L C P F G E V F N A T K (配列番号57)、
- i i) K K I S N (配列番号58)、
- i i i) N I (配列番号59)。

【0133】

本発明によれば、以下の不連続アミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

- i) Y N S T F F S T F K C Y G V S P T K L N D L C F S (配列番号60)、
- i i) D D F M (配列番号61)、
- i i i) F E L L N (配列番号62)。

10

【0134】

本発明によれば、以下の不連続アミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

- i) R G D E V R Q (配列番号63)、
- i i) T G K I A D Y (配列番号64)、
- i i i) Y R L F R K S N (配列番号65)、
- i v) Y Q A G S T (配列番号66)、
- v) F N C Y F P L Q S Y G F Q P T N G V G Y (配列番号67)。

20

【0135】

任意選択で、配列番号63～67の不連続アミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドにおける配列番号63～67のアミノ酸残基のうちの1つ以上の残基は、(例えば、置換又は欠失によって)変化して、グリコシル化部位を提供し得る。

【0136】

本発明によれば、以下の不連続アミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

- (i) N I T N L C P F G E V F N A T R (配列番号68)、
- (i i) K R I S N (配列番号69)、
- (i i i) N L (配列番号70)

30

【0137】

本発明によれば、以下の不連続アミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

- (i) Y N S T S F S T F K C Y G V S P T K L N D L C F T (配列番号71)、
- (i i) D D F T (配列番号72)
- (i i i) F E L L N (配列番号62)

【0138】

本発明によれば、以下の不連続アミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

- (i) R G D E V R Q (配列番号63)、
- (i i) T G V I A D Y (配列番号73)、
- (i i i) Y R S L R K S K (配列番号74)、
- (i v) Y S P G G K (配列番号75)
- (v) F N C Y Y P L R S Y G F F P T N G V G Y (配列番号76)

40

【0139】

本発明によれば、以下の不連続アミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

- (i) R G D E V R Q (配列番号63)、
- (i i) T G V I A D Y (配列番号73)、
- (i i i) Y R S L R K S K (配列番号74)、

50

(i v) Y S P G G K (配列番号 7 5)

(v) F N C Y Y P L R S Y G F F P T N G T G Y (配列番号 7 7)

【 0 1 4 0 】

任意選択で、本発明の各ポリペプチドの不連続アミノ酸配列は、列挙された順序で存在する。

【 0 1 4 1 】

任意選択で、各不連続アミノ酸配列は、隣接する不連続アミノ酸配列から少なくとも 3 つのアミノ酸残基分離される。

【 0 1 4 2 】

任意選択で、各不連続アミノ酸配列は、隣接する不連続アミノ酸配列から最大 1 0 0 のアミノ酸残基分離される。

【 0 1 4 3 】

任意選択で、列挙された不連続アミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、長さが最大 2 5 0、5 0 0、7 5 0、1, 0 0 0、1, 2 5 0、又は 1, 5 0 0 アミノ酸残基である。

【 0 1 4 4 】

任意選択で、配列番号 2 8 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

i) N I T N L C P F G E V F N A T K (配列番号 5 7)、

i i) K K I S N (配列番号 5 8)、

i i i) N I (配列番号 5 9)。

【 0 1 4 5 】

任意選択で、不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、及び (i i i) は、それぞれ配列番号 2 8 の、(i) 残基 1 3 ~ 2 8、(i i) 残基 3 8 - 4 2、及び (i i i) 残基 1 2 2 ~ 1 2 3 に対応するアミノ酸残基位置にある。

【 0 1 4 6 】

任意選択で、配列番号 2 9 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

i) Y N S T F F S T F K C Y G V S P T K L N D L C F S (配列番号 6 0)、

i i) D D F M (配列番号 6 1)、

i i i) F E L L N (配列番号 6 2)。

【 0 1 4 7 】

任意選択で、不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、及び (i i i) は、それぞれ配列番号 2 9 の、(i) 残基 5 1 ~ 7 5、(i i) 残基 1 0 9 ~ 1 1 2、及び (i i i) 残基 1 9 7 ~ 2 0 1 に対応するアミノ酸残基位置にある。

【 0 1 4 8 】

任意選択で、配列番号 3 0 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

i) R G D E V R Q (配列番号 6 3)、

i i) T G K I A D Y (配列番号 6 4)、

i i i) Y R L F R K S N (配列番号 6 5)、

i v) Y Q A G S T (配列番号 6 6)、

v) F N C Y F P L Q S Y G F Q P T N G V G Y (配列番号 6 7)。

【 0 1 4 9 】

任意選択で、不連続アミノ酸配列 (i)、(i i)、(i i i)、(i v)、及び (v

10

20

30

40

50

)は、それぞれ配列番号30の、(i)残基85～91、(ii)残基97～103、(iii)残基135～142、(iv)残基155～160、及び(v)残基168～187に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0150】

任意選択で、配列番号31のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

i) NITNLC PFG E VFNATK (配列番号57)、

ii) KKISN (配列番号58)、

iii) NI (配列番号59)。

10

【0151】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号31の、(i)残基13～28、(ii)残基38～42、及び(iii)残基122～123に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0152】

任意選択で、配列番号32のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

20

i) YNSTFFSTFKCYGVSP TKLNDLCFS (配列番号60)、

ii) DDFM (配列番号61)、

iii) FELLN (配列番号62)。

【0153】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号32の、(i)残基51～75、(ii)残基109～112、及び(iii)残基197～201に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0154】

任意選択で、配列番号29のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

30

(i) NITNLC PFG E VFNATR (配列番号68)、

(ii) KRISN (配列番号69)、

(iii) NL (配列番号70)

【0155】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号29の、(i)残基13～28、(ii)残基38～42、及び(iii)残基122～123に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0156】

任意選択で、配列番号30のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

40

(i) NITNLC PFG E VFNATR (配列番号68)、

(ii) KRISN (配列番号69)、

(iii) NL (配列番号70)

【0157】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号30の、(i)残基13～28、(ii)残基38～42、及び(iii)残基122～123に対応するアミノ酸残基位置にある。

50

【0158】

任意選択で、配列番号32のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

(i) NITNLCPFGEVFNATR (配列番号68)、

(ii) KRISN (配列番号69)、

(iii) NL (配列番号70)

【0159】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号32の、(i)残基13~28、(ii)残基38-42、及び(iii)残基122~123に対応するアミノ酸残基位置にある。

10

【0160】

任意選択で、配列番号28のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

(i) YNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFT (配列番号71)、

(ii) DDFT (配列番号72)

(iii) FEL LN (配列番号62)

20

【0161】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号28の、(i)残基51~75、(ii)残基109~112、及び(iii)残基197~201に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0162】

任意選択で、配列番号30のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

(i) YNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFT (配列番号71)、

(ii) DDFT (配列番号72)

(iii) FEL LN (配列番号62)

30

【0163】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号30の、(i)残基51~75、(ii)残基109~112、及び(iii)残基197~201に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0164】

任意選択で、配列番号31のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

40

(i) YNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFT (配列番号71)、

(ii) DDFT (配列番号72)

(iii) FEL LN (配列番号62)

【0165】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号31の、(i)残基51~75、(ii)残基109~112、及び(iii)残基197~201に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0166】

任意選択で、配列番号28のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

50

97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

- (i) RGDEVVRQ (配列番号63)、
- (ii) TGV IADY (配列番号73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号75)
- (v) FNCYYP LRSYGFFPTNGVGY (配列番号76)

【0167】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号28の、(i)残基51～75、(ii)残基109～112、及び(iii)残基197～201に対応するアミノ酸残基位置にある。

10

【0168】

任意選択で、配列番号29のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

- (i) RGDEVVRQ (配列番号63)、
- (ii) TGV IADY (配列番号73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号75)
- (v) FNCYYP LRSYGFFPTNGVGY (配列番号76)

20

【0169】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号29の、(i)残基51～75、(ii)残基109～112、及び(iii)残基197～201に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0170】

任意選択で、配列番号31のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

30

- (i) RGDEVVRQ (配列番号63)、
- (ii) TGV IADY (配列番号73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号75)
- (v) FNCYYP LRSYGFFPTNGTGY (配列番号77)

【0171】

任意選択で、不連続アミノ酸配列(i)、(ii)、及び(iii)は、それぞれ配列番号31の、(i)残基51～75、(ii)残基109～112、及び(iii)残基197～201に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0172】

任意選択で、配列番号32のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の不連続アミノ酸配列を含む。

40

- (i) RGDEVVRQ (配列番号63)、
- (ii) TGV IADY (配列番号73)、
- (iii) YRSLRKSK (配列番号74)、
- (iv) YSPGGK (配列番号75)
- (v) FNCYYP LRSYGFFPTNGTGY (配列番号77)

【0173】

50

任意選択で、不連続アミノ酸配列 (i)、(ii)、及び (iii) は、それぞれ配列番号 32 の、(i) 残基 51～75、(ii) 残基 109～112、及び (iii) 残基 197～201 に対応するアミノ酸残基位置にある。

【0174】

グリコシル化部位の変更を伴う設計されたコロナウイルス S タンパク質 RBD 配列

エピトープのマスキング／脱マスキングは、非中和エピトープをマスキングすることによって、又は MERS 中の重要なエピトープを脱マスキングすることによって、免疫応答を変更することが示されている (Dull et al., Nat. Comm, volume 7, Article number: 13473 (2016))。本発明者らは、本発明者らが SARS2 RBD 配列のグリコシル化部位を欠失したか、又は SARS2 RBD 配列にグリコシル化部位を導入した、追加の設計された S タンパク質 RBD 配列 (SARS2 RBD 設計 M7、M8、M9、及び M10) を調製した。作製された変化は、図 13 に示され、以下の実施例 14 で論じられる。設計 M7 及び M9 は、図 13 の丸で囲まれた数 4 (残基位置 203) で示される位置に導入されたグリコシル化部位を含む。設計 M8 及び M10 は、図 13 の丸で囲まれた数 1 及び 2 (それぞれ、残基位置 13 及び 25) によって示される各位置に欠失したグリコシル化部位を含む。M8 設計はまた、丸で囲まれた数 3 (残基位置 54) によって示される位置に導入されたグリコシル化部位を含む。

10

【0175】

SARS2 RBD 設計 M7、M8、M9、及び M10 のアミノ酸配列を以下及び実施例 14 に示す。

20

>M7 (配列番号 33)

RVQPTESIVR FPNITNLCPP GEVFNATRFA SVYAWN
RKRI SNCVADYSVL YNSASFSTFK CYGVSPSTKLN DL
CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGKI ADYNYKLDP
D FTGCVIAWNS NNLD SKVGGN YNYLYRLFRK SNLKP
FERDI STEIYQAGST PCNGVEGFNC YFPLQSYGFQ P
TNGVGYQPY RVVVL SFELL HANATVCGPK KSTN

>M8 (配列番号 34)

RVQPTESIVR FPQITNLCPP GEVFAQATRFA SVYAWN
RKRI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSPSTKLN DL
CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGKI ADYNYKLDP
D FTGCVIAWNS NNLD SKVGGN YNYLYRLFRK SNLKP
FERDI STEIYQAGST PCNGVEGFNC YFPLQSYGFQ P
TNGVGYQPY RVVVL SFELL HAPATVCGPK KSTN

30

>M9 (配列番号 35)

RVSPQTQEVVR FPNITNLCPP DKVFNATRFPSVYAWE
RTKI SDCVADYTVL YNSTSFSTFK CYGVSPSKLI DL
CFTSVYAD TFLIRCSEVR QVAPGQTGVI ADYNYKLDP
D FTGCVIAWNT AKQDTGSSGN YNYYYRSHRK TKLKP
FERDL SSDECSPDGK PCTPPAFNGV RGFNCYFTLS T
YDFNPNVPV EYQATR VVVL SFELLNANAT VCGPKLSTQ

40

>M10 (配列番号 36)

RVSPQTQEVVR FPQITNLCPP DKVFAQATRFPSVYAWE
RTKI SDCVADYTVL YNSTSFSTFK CYGVSPSKLI DL
CFTSVYAD TFLIRCSEVR QVAPGQTGVI ADYNYKLDP
D FTGCVIAWNT AKQDTGSSGN YNYYYRSHRK TKLKP
FERDL SSDECSPDGK PCTPPAFNGV RGFNCYFTLS T
YDFNPNVPV EYQATR VVVL SFELLNAPAT VCGPKLSTQ

これらの配列と SARS2 参照配列 (EPI_ISL_402119_RBD (CoV

50

__ T 2 __ 6) (配列番号 1 1)) とのアライメントを以下の実施例 1 4 に示す。

【 0 1 7 6 】

SARS2 参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表 9 に示す (太字で強調表示された参照配列との差異を有する) 。

【 0 1 7 7 】

【表 1 5 - 1 】

表 9

図13の丸で 囲まれた数	SARS2 RBD (配列番号11) 残基位置	参照残基	M7残基(配 列番号33)	M8残基(配 列番号34)	M9残基(配 列番号35)	M10残基(配 列番号36)
	3	Q			S	S
	6	E			Q	Q
	7	S			E	E
	8	I			V	V
1	13	N		Q		Q
	21	G			D	K
	22	E			D	K
2	25	N		Q		Q
	30	A			P	P
	36	N			E	E
	38	K			T	K
	39	R			T	K
	42	N			D	D
	48	S			T	T
3	54	A		T	T	T
	67	T			S	S
	70	N			I	I
	76	N			S	S
	81	S			T	T
	83	V			L	L
	86	G			C	C
	87	D			S	S
	92	I			V	V
	99	K			V	V
	120	S			T	T
	121	N			A	A
	122	N			K	K
	123	L			Q	Q
	125	S			T	T
	126	K			G	G
	127	V			S	S
	128	G			S	S
	134	L			Y	Y
	137	L			S	S
	138	F			H	H

【 0 1 7 8 】

10

20

30

40

50

【表 15-2】

(表 9 の続き)

図13の丸で 囲まれた数	SARS2 RBD (配列番号11) 残基位置	参照残基	M7残基(配 列番号33)	M8残基(配 列番号34)	M9残基(配 列番号35)	M10残基(配 列番号36)
	141	S			T	T
	142	N			K	K
	150	I			L	L
	152	T			S	S
	153	E			D	D
	154	I			E	E
	155	Y			C	C
	156	Q			S	S
	157	A			P	P
	158	G			D	D
	159	S			G	G
	160	T			K	K
	*	—			T	T
	*	—			P	P
	*	—			P	P
	*	—			A	A
	*	—			F	F
	166	E			R	R
	173	P			T	T
	175	Q			S	S
	176	S			T	T
	178	G			D	D
	180	Q			N	N
	182	T			N	N
	183	N			V	V
	184	G			P	P
	186	E			E	E
	189	P			A	A
	190	Y			T	T
	201	H			N	N
4	203	P	N		N	—
	211	K			L	L
	214	Q			Q	Q
参照との差 異の総数			1	3	66	67
参照との同 一性パーセ ンテージ			99.53%	98.60%	69.12%	68.69%

配列番号11のアミノ酸残基位置162と163との間に挿入された残基。

【0179】

本発明によれば、配列番号33、34、35、又は36によるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

【0180】

本発明によれば、配列番号34のアミノ酸配列(M8)、又は配列番号34のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0181】

任意選択で、配列番号34のアミノ酸配列(M8)又は配列番号34のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、13Q、25Q、54Tのうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

【0182】

10

20

30

40

50

本発明によれば、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に以下のアミノ酸残基、13Q、25Q、54T、203Nのうちの少なくとも1つを有するコロナウイルス Sタンパク質 RBDドメインを含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0183】

本発明によれば、配列番号 35 のアミノ酸配列 (M9)、又は配列番号 35 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 70% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0184】

任意選択で、配列番号 35 のアミノ酸配列 (M9) 又は配列番号 35 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 70% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表 9.1 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

10

【0185】

【表 16-1】

表 9.1

SARS2 RBD(配列番号11)残基位置	M9残基(配列番号35)
3	S
6	Q
7	E
8	V
21	D
22	D
30	P
36	E
38	T
39	T
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S
138	H

20

30

40

【0186】

50

【表 16-2】

(表 9. 1 の続き)

SARS2 RBD(配列番号11)残基位置	M9残基(配列番号35)
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
*	T
*	P
*	P
*	A
*	F
166	R
173	T
175	S
176	T
178	D
180	N
182	N
183	V
184	P
186	E
189	A
190	T
201	N
203	N
211	L
214	Q

10

20

30

* 配列番号11のアミノ酸残基位置162と163との間の挿入のための残基。

【0187】

任意選択で、配列番号35のアミノ酸配列(M9)又は配列番号35のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも70%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、54T、203Nのうちの少なくとも1つ、又は両方を含む。

【0188】

本発明によれば、配列番号36のアミノ酸配列(M10)、又は配列番号36のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも69%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

40

【0189】

任意選択で、配列番号36のアミノ酸配列(M10)又は配列番号36のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも69%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表9.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

【0190】

50

【表 17-1】

表 9. 2

SARS2 RBD(配列番号11)残基位置	M10残基(配列番号36)
3	S
6	Q
7	E
8	V
13	Q
21	K
22	K
25	Q
30	P
36	E
38	K
39	K
42	D
48	T
54	T
67	S
70	I
76	S
81	T
83	L
86	C
87	S
92	V
99	V
120	T
121	A
122	K
123	Q
125	T
126	G
127	S
128	S
134	Y
137	S

10

20

30

【0191】

40

50

【表 17-2】

(表 9. 2 の続き)

SARS2 RBD(配列番号11)残基位置	M10残基(配列番号36)
138	H
141	T
142	K
150	L
152	S
153	D
154	E
155	C
156	S
157	P
158	D
159	G
160	K
*	T
*	P
*	P
*	A
*	F
166	R
173	T
175	S
176	T
178	D
180	N
182	N
183	V
184	P
186	E
189	A
190	T
201	N
211	L
214	Q

10

20

30

* 配列番号 11 のアミノ酸残基位置 162 と 163 との間の挿入のための残基。

【0192】

任意選択で、配列番号 36 のアミノ酸配列 (M10) 又は配列番号 36 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 69% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号 11 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、13Q、25Q、54T のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む。

【0193】

RBD タンパク質のグリコシル化の効果は重要であると考えられる。本発明者らは、M7 及び野生型 SARS2 RBD DNA (グリコシル化 RBD タンパク質の発現をもたらすと考えられる) が、SARS2 に対する中和応答を誘導する際に、組換え SARS2 RBD タンパク質 (非グリコシル化、又は低密度グリコシル化) よりも優れていることを見出した。以下の実施例 28 は、組換え SARS-CoV-2 RBD タンパク質と比較して、SARS-CoV-2 RBD 配列をコードする pEVAC プラスミドでトランスフェクトされた HEK 細胞に由来する上清中の SARS-CoV-2 (SARS2) RBD タンパク質のグリコシル化を試験するために得られた質量分析データを記載する (図 21 及び 22 を参照)。精製 (組換え) タンパク質と比較して、上清から得られたタンパク質の 2 つの主要なグリコシル化形態が存在することが、結果から結論付けられた。精製されたタンパク質は、非グリコシル化又は低密度グリコシル化される。グリコシル化のこの差異は、グリコシル化部位がエピトープ領域を取り囲み、ほとんどのサルベコウイルスで保存

40

50

されているため、重要であると考えられる。これらのグリコシル化部位はまた、抗体のいくつかとの相互作用にとって重要である。

【0194】

任意選択で、設計されたコロナウイルススパイク（S）タンパク質のアミノ酸配列（完全長、切断、又はRBD）を含む本発明のポリペプチドは、RBD配列中に少なくとも1つのグリコシル化部位を含む。

【0195】

任意選択で、設計されたコロナウイルススパイク（S）タンパク質のアミノ酸配列（完全長、切断、又はRBD）を含む本発明のポリペプチドは、RBD配列中に少なくとも2つのグリコシル化部位を含む。

【0196】

任意選択で、設計されたコロナウイルススパイク（S）タンパク質のアミノ酸配列（完全長、切断、又はRBD）を含む本発明のポリペプチドは、RBD配列中に少なくとも3つのグリコシル化部位を含む。

【0197】

任意選択で、設計されたコロナウイルススパイク（S）タンパク質のアミノ酸配列（完全長、切断、又はRBD）を含む本発明のポリペプチドは、RBD配列の最後の10アミノ酸内に、好ましくはRBD配列の残基203に対応する残基位置に位置するグリコシル化部位を含む。

【0198】

本発明によれば、SARS2 RBD配列の最後の10アミノ酸内に位置するグリコシル化部位を有するSARS2 RBDのアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供され、好ましくはRBD配列の残基203に対応する残基位置にある。

【0199】

本発明者らはまた、野生型SARS1 Sタンパク質、又はRBDタンパク質、又は野生型SARS2 Sタンパク質、又はRBDタンパク質によるマウスの免疫化は、SARS2 RBDに結合する抗体を誘導することを見出した。

【0200】

本発明によれば、配列番号5のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0201】

本発明によれば、配列番号11のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0202】

交差反応性抗原を生成するための従来の方法は、天然の多様性に基づいてコンセンサス配列を生成することである。本明細書に記載の本発明の核酸配列によってコードされる抗原配列は、部位間のサンプリングの偏り及び共進化を考慮する。成果は、ある範囲のウイルスに対する免疫応答を誘導する現実的な分子である。更なる改良として、本発明者らは、既知のエピトープ及び予測されるエピトープの抗原配列を富化する。本発明者らは、ある範囲の標的ウイルスに対する集団保護を最大化するエピトープの組合わせを選択するためのアルゴリズムを開発した。このアルゴリズムは、冗長性を維持しながら保存されたエピトープを識別し、選択されたエピトープがある範囲の共通のMHC対立遺伝子によって結合されることを確実にする。

【0203】

疾患増強を回避するために、本発明者らは抗原を修飾し、多くの場合抗体依存性増強（ADE）及び／又は補体誘発又はウイルス誘発炎症誘発応答と呼ばれる免疫病理学に関連する領域を欠失させる。これらの修飾を検証するために、本発明者らは、このようなADE様効果をスクリーニングするためのアッセイを開発した。Yip et al. (Yip et al., 「Antibody-dependent infection of human macrophages by severe acute respir

10

20

30

40

50

atory syndrome coronavirus」, Virol J. 2014 ;11:82; Jaume et al. 「Anti-Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Antibodies Trigger Infection of Human Immune Cells via a pH-and Cysteine Protease-Independent FcγR Pathway」 Journal Of Virology, Oct. 2011, p. 10582-10597) からの修飾されたアッセイを使用して SARS-CoV-1 が、FcγRII を担持する免疫細胞を発現する非 ACE2 に入ることを可能にする S タンパク質の非 RBD 部位に対する非中和抗体を同定することができる。

10

【0204】

抗原を設計した後、それらをコードする DNA 配列は、哺乳動物細胞における発現のために最適化される。この DNA 形態では、標的抗原の複数の合成遺伝子を DNA プラスミドベクター（例えば、pEVAC、図 3 を参照）に挿入し、これはインビトロ及びインビボ免疫スクリーニングの両方に使用される。

【0205】

COVID-19 バリエントから保護するための設計されたコロナウイルス完全長 S タンパク質配列

複数の SARS-CoV-2 バリエントが、世界的に広がっている。最も注目すべきことには、2020 年の秋にはいくつかの新しいバリエントが現れた。

20

【0206】

英国 (UK) では、SARS-CoV-2 (20I/501Y.V1、VOC202012/01、又は B.1.1.7 として知られている) の新しいバリエントが多数の変異を伴って出現した。このバリエントは以後、米国 (US) を含む世界中の多数の国で検出された。2021 年 1 月に、UK は、他のバリエントと比較して死亡リスクの増加に関連し得る、B.1.1.7 バリエントを示唆する証拠を報告したが、この発見を確認するためにより多くの試験が必要とされた。このバリエントは、2020 年 12 月の末に米国で報告された。

【0207】

南アフリカでは、SARS-CoV-2 の別のバリエント (20H/501Y.V2 又は B.1.351 として知られる) が、B.1.1.7 とは独立して出現した。このバリエントは、B.1.1.7 といくつかの変異を共有する。このバリエントに起因する症例は、南アフリカ外の複数の国で検出されている。このバリエントは、2021 年 1 月の終わりに US で報告された。

30

【0208】

ブラジルでは、SARS-CoV-2 (P-1 として知られる) のバリエントが出現し、日本の東京の外側の羽田空港での日常的なスクリーニング中に試験されたブラジルからの 4 名の旅行者において初めて同定された。このバリエントは、スパイクタンパク質の受容体結合ドメインにおける 3 つを含む 17 個の固有の変異を有する。このバリエントは、2021 年 1 月の終わりに US で検出された。

40

【0209】

科学者らは、これらのバリエントがどの程度容易に伝染する可能性があるか、及びそれらに対する現在認可されているワクチンの有効性をよりよく理解するために、これらのバリエントについて更に学習しようと努力している。これらのバリエントのウイルス学的、疫学的、及び臨床特性に関する新しい情報は、急速に出現している。

【0210】

以下の実施例 30 でより詳細に説明されるように、本発明者らは、バリエント B.1.1.7、P.1、及び B.1.351 に対する保護のために、COVID-19 ワクチンインサートとして使用するための新しい完全長 S タンパク質配列 (「VOC キメラ」、又は COV__S__T2__29) を設計した。設計された完全長 S タンパク質配列のアミノ酸

50

配列を以下、及び実施例 30 に示す。

>COV__S__T2__29 (VOCキメラ) (配列番号 53)

【0211】

【表 18】

MFVFLVLLPL	VSSQCVNFTN	RTQLPSAYTN	SFTRGVYYPD	KVFRSSVLHS	TQDLFLPFFS	60
NVTWFHAISG	TNGTKRFDNP	VLPFNDGVYF	ASTEKSNIIR	GWIFGTTLDS	KTQSLIIVNN	120
ATNVVIKVCE	FQFCNDPFLG	VYHKNNKSWM	ESEFRVYSSA	NNCTFEYVSQ	PFLMDLEGKQ	180
GNFKNLREFV	FKNIDGYFKI	YSKHTPINLV	RDLPQGFSAL	EPLVDLPIGI	NITRFQTLA	240
LHRSYLTPGD	SSSGWTAGAA	AYYVGYLQPR	TFLLYKNENG	TITDAVDCAL	DPLSETKCTL	300
KSFTVEKGIY	QTSNFRVQPT	ESIVRFPNIT	NLCPFGEVFN	ATRFASVYAW	NRKRISNCVA	360
DYSVLYNSAS	FSTFKCYGVS	PTKLNDLCFT	NVYADSFVIR	GDEVQRQIAPG	QTGNIADYNY	420
KLPDDFTGCV	IAWNSNNLDS	KVGGNYNYLY	RLFRKSNLKP	FERDISTEYI	QAGSTPCNGV	480
KGFCYFPLQ	SYGFQPTYGV	GYQPYRVVVL	SFELLHAPAT	VCGPKKSTNL	VKNKCVNFNF	540
NGLTGTGVL	ESNKKFLPFQ	QFGRDIADTT	DAVRDPQTLE	ILDITPCSFG	GVSVITPGTN	600
TSNQVAVLYQ	GVNCTEVPVA	IHADQLTPTW	RVYSTGSNVF	QTRAGCLIGA	EHVNNSYECD	660
IPIGAGICAS	YQTQTNSHRR	ARSVASQSII	AYTMSLGAEN	SVAYSNNNSIA	IPTNFTISVT	720
TEILPVSMTK	TSVDCTMYIC	GDSTECNLL	LQYGSFCTQL	NRALTGIAVE	QDKNTQEVFA	780
QVKQIYKTPP	IKDFGGFNFS	QILPDPSKPS	KRSFIEDLLF	NKVTLDAGF	IKQYGDCLGD	840
IAARDLICAQ	KFNGLTVLPP	LLTDEMIAQY	TSALLAGTIT	SGWTFGAGAA	LQIPFAMQMA	900
YRFNGIGVTQ	NVLYENQKLI	ANQFNSAIGK	IQDSLSTAS	ALGKLQDVVN	QNAQALNTLV	960
KQLSSNFAGI	SSVLNDILSR	LDPPEAEVQI	DRLITGRLQS	LQTYVTQQLI	RAAEIRASAN	1020
LAATKMSECV	LGQSKRVDFC	GKGYHLMSFP	QSAPHGVVFL	HVTYVPAQEK	NFTTAPAICH	1080
DGKAHFPREG	VFVSNGTHWF	VTQRNFYEPQ	IITTDNTFVS	GNCDVVIGIV	NNTVYDPLQP	1140
ELDSFKEELD	KYFKNHTSPD	VDLGDISGIN	ASVUNIQKEI	DRLNEVAKNL	NESLIDLQEL	1200
GKYEQYIKWP	WYIWLGFIAI	LIAIVMVTIM	LCCMTSCCSC	LKGCCSCGSC	CKFDEDDSEP	1260
VLKGVKLHYT						1270

10

20

【0212】

この配列の SARS2 参照配列とのアラインメント (EPI__ISL__402130 (Wuhan株) (配列番号 52)) は、以下の実施例 30 に示される。

【0213】

SARS2 参照配列 (配列番号 52) と設計された配列 COV__S2__29 (配列番号 53) とのアミノ酸の差異を、以下の表 9.3 に示す。

【0214】

【表 19】

表 9.3

SARS2 スタンパク質残基位置 (配列番号 52)	SARS2 参照アミノ酸残基 (配列番号 52)	COV__S2__29 アミノ酸残基 (配列番号 53)
18	L	F
20	T	N
26	P	S
69	H	— (欠失)
70	V	— (欠失)
144	Y	— (欠失)
417	K	N
484	E	K
501	N	Y
614	D	G
681	P	H
986	K	P
987	V	P

30

40

【0215】

本発明によれば、配列番号 53 のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

【0216】

本発明によれば、配列番号 53 のアミノ酸配列、又は配列番号 53 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離

50

されたポリペプチドも提供される。

【0217】

任意選択で、配列番号53のアミノ酸配列、又は配列番号53のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、以下の表9.4に示されるように、配列番号52のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

【0218】

【表20】

表9.4

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV__S__T2__29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	-(欠失)
70	-(欠失)
144	-(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H
986	P
987	P

10

20

【0219】

任意選択で、配列番号53のアミノ酸配列、又は配列番号53のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、表9.4に示されるように、配列番号52のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも5つを含む。

【0220】

任意選択で、配列番号53のアミノ酸配列、又は配列番号53のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、表9.4に示されるように、配列番号52のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも10を含む。

30

【0221】

任意選択で、配列番号53のアミノ酸配列、又は配列番号53のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、以下の表9.5に示されるように、配列番号52のアミノ酸残基位置に対応する位置に、986位のアミノ酸残基P、及び987位にアミノ酸残基P、並びに配列番号52のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

【0222】

40

50

【表 2 1】

表 9. 5

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV_S_T2_29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	－(欠失)
70	－(欠失)
144	－(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H

10

【0 2 2 3】

本発明によれば、上記の表 9. 4 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基又は欠失の少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス S タンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 2 2 4】

上記の表 9. 4 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 9. 4 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つを含む。

20

【0 2 2 5】

上記の表 9. 4 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 9. 4 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 0 を含む。

【0 2 2 6】

任意選択で、コロナウイルス S タンパク質は、配列番号 5 2 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

【0 2 2 7】

任意選択で、上記表 9. 4 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つを含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 9. 5 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応して、位置 9 8 6 にアミノ酸残基 P、及び位置 9 8 7 にアミノ酸残基 P、並びに配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ又は全てを含む。

40

【0 2 2 8】

COVID-19 バリエントに対して保護し、将来のバリエントを予測するための閉鎖状態の設計されたコロナウイルス S タンパク質配列

使用中又は先行臨床開発中の SARS-CoV-2 ワクチンの大部分は、それらの免疫原としてのウイルススパイクタンパク質 (S) に基づいている。S は、受容体結合ドメイン (RBD) が確率的に開放又は閉鎖される融合前三量体としてビリオン上に存在する。開放及び閉鎖高次構造の両方に対して作用する中和抗体が記載されている。ワクチン接種戦略の長期的成功は、他のコロナウイルスワクチンで観察された抗体依存性増強のリスクを回避しながら、進化して広がる SARS-CoV-2 株に対して長期持続的な広域免疫を提供する抗体を誘導することに依存する。

50

【0229】

Carnell et al. (「SARS-CoV-2 spike protein arrested in the closed state induces potent neutralizing responses」; <https://doi.org/10.1101/2021.01.14.426695>, posted 14 January 2021) は、受容体結合部位の曝露、したがって受容体との相互作用を防止するために閉鎖状態で停止されるSタンパク質三量体を使用したマウスモデルにおける免疫化の結果を評価した。著者らは、これを、現在のワクチンで使用される代表例を含む、ある範囲の他の修飾されたSタンパク質構築物と比較した。著者らは、全ての三量体Sタンパク質が長寿命で強い中和抗体応答、並びにT細胞応答を誘導することを見出した。注目すべきことには、閉鎖スパイクによって誘導される血清のタンパク質結合特性は、標準的なSタンパク質構築物によって誘導されたものとは異なった。閉鎖Sタンパク質は、RBDとACE2との間の相互作用を阻害する程度に基づく予想よりも強力な中和応答を誘導した。著者らは、これらの所見は、閉じたスパイクが開いたスパイクとは異なるが同等に強力なウイルス阻害免疫応答を動員すること、及びこれが閉鎖高次構造に存在する高次構造エピトープに対する中和抗体を含む可能性が高いことを示唆すると結論付ける。

10

【0230】

本発明者らは、本明細書に開示される設計されたSタンパク質配列のアミノ酸変化（特に、実施例30に記載の配列番号53）が、任意選択で、閉鎖状態で停止され、それによって設計された配列の抗体応答を更に改善する設計されたSタンパク質中に存在し得ることを理解した。特に、そのような構造的制約の使用は、重要な領域に対する免疫優勢を減少させ、他の、又はより低い免疫優勢の部位に集中するように抗体応答を広げることがある。

20

【0231】

以下の実施例31は、設計されたSタンパク質配列に作製されて、それが閉鎖構造を形成することを可能にする任意選択での追加のアミノ酸変化を記載する。

【0232】

任意選択で、本発明の設計されたSタンパク質配列は、完全長Sタンパク質配列の413位及び987位に対応する位置にシステイン残基を含み得る。例えば、G413C及びV987Cである。

30

【0233】

例えば、本発明の設計されたSタンパク質配列は、以下のアミノ酸配列（配列番号54）（配列番号52のそれぞれ413及び987位に対応する410位及び984位にシステイン残基を有する）を含み得る。

【0234】

40

50

【表 2 2】

MFVFLVLLPL	VSSQCVNFTN	RTQLPSAYTN	SFTRGVYYPD	KVFRSSVLHS	TQDLFLPFFS	60
NVTWFHAISG	TNGTKRFDNP	VLPFNDGVYF	ASTEKSNIIR	GWIFGTTLDS	KTQSLIVNN	120
ATNVVIKVE	FQFCNDPFLG	VYHKNNKSWM	ESEFRVYSSA	NNCTFEYVSQ	PFLMDLEGKQ	180
GNFKNLREFV	FKNIDGYFKI	YSKHTPINLV	RDLPQGFSAL	EPLVDLPIGI	NITRFQTLA	240
LHRSYLTPGD	SSSGWTAGAA	AYYVGYLQPR	TFLLYKNENG	TITDAVDCAL	DPLSETKCTL	300
KSFTVEKGIY	QTSNFRVQPT	ESIVRFPNIT	NLCPFGVEFN	ATRFASVYAW	NRKRISNCVA	360
DYSVLYNSAS	FSTFKCYGVS	PTKLNDLCFT	NVYADSFVIR	GDEVQRQIAPC	QTGNIADYNY	420
KLPDDFTGCV	IAWNSNNLDS	KVGGNYNYLY	RLFRKSNLKP	FERDISTEY	QAGSTPCNGV	480
KGFNCYFPLQ	SYGFQPTYGV	GYQPYRVVVL	SFELLHAPAT	VCGPKKSTNL	VKNKCVNFNF	540
NGLTGTGVLT	ESNKKFLPFQ	QFGRDIADTT	DAVRDPQTLE	ILDITPCSFG	GVSVITPGTN	600
TSNQVAVLYQ	GVNCTEVPVA	IHADQLTPTW	RVYSTGSNVF	QTRAGCLIGA	EHVNSYECD	660
IPIGAGICAS	YQTQTNSHRR	ARSVASQSII	AYTMSLGAEN	SVAYSNNNSIA	IPTNFTISVT	720
TEILPVSMTK	TSVDCTMYIC	GDSTECSNLL	LQYGSFCTQL	NRALTGIAVE	QDKNTQEVFA	780
QVKQIYKTPP	IKDFGGFNFS	QILPDPSKPS	KRSFIEDLLF	NKVTLDAGF	IKQYGDCLGD	840
IAARDLICAQ	KFNGLTVLPP	LLTDEMIAQY	TSALLAGTIT	SGWTFGAGAA	LQIPFAMQMA	900
YRFNGIGVTQ	NVLYENQKLI	ANQFNSAIGK	IQDSLSTAS	ALGKLQDVVN	QNAQALNTLV	960
KQLSSNFAGI	SSVLNDILSR	LDPCEAEVQI	DRLITGRLQS	LQTYVTQQLI	RAAEIRASAN	1020
LAATKMSECV	LGQSKRVDFC	GKGYHLMSFP	QSAPHGVVFL	HVTYVPAQEK	NFTTAPAICH	1080
DGKAHFPREG	VFVSNGTHWF	VTQRNFYEPQ	IITTDNTFVS	GNCDDVIGIV	NNTVYDPLQP	1140
ELDSFKEELD	KYFKNHTSPD	VDLGDISGIN	ASVVNIQKEI	DRLNEVAKNL	NESLIDLQEL	1200
GKYEQYIKWP	WYIWLGFIAI	LIAIVMVTIM	LCCMTSCCSC	LKGCCSCGSC	CKFDEDDSEP	1260
VLKGVKLHYT						1270

10

【0 2 3 5】

20

本発明によれば、配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

【0 2 3 6】

本発明によれば、配列番号 5 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 5 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 2 3 7】

任意選択で、配列番号 5 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 5 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、以下の表 9 . 4 に示されるように、配列番号 5 2 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む。

30

【0 2 3 8】

【表 2 3】

表 9 . 4

SARS2 スタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV_S_T2_29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	-(欠失)
70	-(欠失)
144	-(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H
986	P
987	P

40

【0 2 3 9】

任意選択で、配列番号 5 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 5 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポ

50

リペプチドは、表 9. 4 に示されるように、配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つを含む。

【0240】

任意選択で、配列番号 54 のアミノ酸配列、又は配列番号 54 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、表 9. 4 に示されるように、配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 10 を含む。

【0241】

任意選択で、配列番号 54 のアミノ酸配列、又は配列番号 54 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、以下の表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む。

【0242】

任意選択で、配列番号 54 のアミノ酸配列、又は配列番号 54 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、以下の表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、986 位のアミノ酸残基 P、及び配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含む。

【0243】

【表 24】

表 9. 5

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	COV_S_T2_29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	—(欠失)
70	—(欠失)
144	—(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H

【0244】

本発明によれば、表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 の位置 413 及び 987 に対応する位置にシステインアミノ酸残基、並びに配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを含むコロナウイルス S タンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0245】

任意選択で、上記の表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 の位置 413 及び 987 に対応する位置にシステインアミノ酸残基、及び配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つを含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 5 つを含む。

【0246】

任意選択で、上記の表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 の位置 413 及び 987 に対応する位置にシステインアミノ酸残基、及び配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つを含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 10 を含む。

【0247】

任意選択で、上記の表 9. 5 に示されるように、配列番号 52 の位置 413 及び 987 に対応する位置にシステインアミノ酸残基、及び配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基又は欠失のうちの少なくとも 1 つを含む本発明の単離されたポリペプチドは、986 位にアミノ酸残基 P を含む。

【0248】

本発明者らはまた、Carnell et al. (前出) に従って、任意の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質が、閉鎖状態で停止したスパイクタンパク質を形成することを可能にするために、配列番号 52 の 413 及び 987 に対応する位置にシステイン残基を含むように改変され得、それにより、対応する未改変タンパク質と比較してより強力な中和応答を誘発し得ることを理解した。例えば、Jeong et al. (<https://virological.org/t/assemblies-of-putative-sars-cov2-spike-encoding-mrna-sequences-for-vaccines-bnt-162b2-and-mrna-1273/663-version-0.2Beta-03/30/21>) は、初期のモデルナ (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32756549/>) 及び Pfizer/BioNTech (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33301246/>) COVID-19 ワクチンの RNA 構成要素に対する実験的配列情報を最近報告し、前者の作業組み立て及び後者の RNA の以前に報告された配列情報の確認が可能である (文書の図 1 及び図 2 に提供される配列を参照)。そのような配列によってコードされるスパイクタンパク質は、配列番号 52 の 413 位及び 987 位に対応する位置にシステイン残基を含むように修飾され得る。

【0249】

本発明によれば、配列番号 52 の位置 413 及び 987 に対応する位置にシステインアミノ酸残基を含むコロナウイルス S タンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0250】

任意選択で、コロナウイルス S タンパク質は、配列番号 52 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0251】

SARS-CoV-2 は継続的に進化し、より感染性の変異が急速に広がっている。Zahradek et al., 2021 (「SARS-CoV-2 RBD in vitro evolution follows contagious mutation spread, yet generates an able infection inhibitor」; doi:<https://doi.org/10.1101/2021.01.06.425392>, 2021 年 1 月 29 日に掲載) は最近、スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン (RBD) を ACE2 に対して親和性成熟させるインビトロで進化を使用して、結果としてより感染性の変異、S477N、E484K、及び N501Y が最初に選択されることを報告し、「欧州」(20E-EU1)、「英国」(501.V1)、「南アフリカ」(501.V2)、及び「ブラジル」バリエーション (501.V3) の集中的進化を説明する。著者らは、インビトロで 600 倍の結合を増強する進化は、更に高い感染性を有する潜在的に新しい進化した変異に対するガイドラインを提供すると報告する。例えば、Q498R は N501Y にエピスタティックである。

【0252】

本発明者らは、本明細書に開示される (及び特に上記のセクションのタイトル「COVID-19 バリエーションから保護するための設計されたコロナウイルス完全長 S タンパク質配列」、及び「COVID-19 バリエーションに対して保護し、将来のバリエーションを予測するために、閉鎖状態の設計されたコロナウイルス S タンパク質配列」及び下記の実施例 3

0 及び 31) 設計された S タンパク質配列 (RBD、切断、又は完全長) は、任意選択で、ワクチンエスケープ応答により将来 COVID-19 バリエーションが変異すると予測される 1 つ又は複数の残基位置、例えば位置 446、452、477、及び 498 (例えば、G 446 R、S 477 N、Q 498 R、特に Q 498 R) の 1 つ又は複数 (又は全て) にアミノ酸置換も含み得ることを理解した。

【0253】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、(配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する) 以下の位置、446、452、477、及び 498 のうちの 1 つ以上 (又は全て) におけるアミノ酸変化を含む (例えば、G 446 R、S 477 N、Q 498 R、特に Q 498 R)。

【0254】

任意選択で、本発明の単離されたポリペプチドは、(配列番号 52 のアミノ酸残基位置に対応する) 位置におけるアミノ酸変化、Q 498 R 及び N 501 Y を含む。

【0255】

設計されたコロナウイルスエンベロープ (E) タンパク質配列

本発明者らは、コロナウイルスエンベロープ (E) タンパク質の新規アミノ酸配列も生成した。図 6 は、SARS エンベロープ (E) タンパク質 (配列番号 21) のアミノ酸配列を示し、配列の重要な特徴を示す。以下の実施例 10 に記載されるように、図 7 は、NL63 及び 229E (α -コロナウイルス)、及び HKU1、MERS、SARS、及び SARS2 (β -コロナウイルス) の分離株の配列を比較するコロナウイルス E タンパク質配列の複数配列アラインメントを示す。アラインメントは、SARS2 及び SARS 配列 (サルベコ亜属の β -コロナウイルス) に対する E タンパク質の C 末端が、他の配列と比較して欠失を含むこと、並びに SARS2 E タンパク質配列が、SARS 配列と比較して欠失及びアルギニン (正に荷電した) アミノ酸残基を含むことを示す。

【0256】

コロナウイルス E タンパク質の新規アミノ酸配列は、COV__E__T2__1 (設計されたサルベコウイルス配列) (配列番号 22) 及び COV__E__T2__2 (設計された SARS2 配列) (配列番号 23) と呼ばれる。

>COV__E__T2__1

MYSFVSEETG T L I V N S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P T F Y V Y S R V K N L N S S Q G V P
D L L V (配列番号: 22)

>COV__E__T2__2

MYSFVSEETG T L I V N S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P T F Y V Y S R V K N L N S S R - V P D
L L V (配列番号: 23)

【0257】

これらの設計された配列による図 7 の SARS2 参照 E タンパク質配列のアラインメントは、SARS2 参照 E タンパク質配列と COV__E__T2__1 設計配列 (配列番号 22) との間に 4 つのアミノ酸の差異があり、SARS2 参照 E タンパク質配列と COV__E__T2__2 設計配列 (配列番号 23) との間に 2 つのアミノ酸の差異があることを強調する。

【0258】

【表 25】

SARS2	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTLRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRVKNL	65
COV_E_T2_1	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTLRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRVKNL	65
COV_E_T2_2	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTLRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRVKNL	65
SARS2	NSSR-VPDLLV	75
COV_E_T2_1	NSSQGVDPDLLV	76
COV_E_T2_2	NSSR-VPDLLV	75

【0259】

10

20

30

40

50

COV__E__T2__2 配列の C 末端配列は、SARS2 参照配列と同一である。E タンパク質の C 末端は、E タンパク質の特定されたエピトープのうちの 1 つであるため、アミノ酸欠失及び SARS2 参照配列に存在するアルギニン残基による置換（図 6 の SARS 参照配列と比較して）は、COV__E__T2__2 設計配列に保持されている。他の位置におけるアミノ酸の差異は、全てのサルベコウイルスを認識する免疫応答の誘導を最大化するために最適化されている。

【0260】

アミノ酸の差異を以下の表に要約する。

【0261】

【表 26】

表 10. 1

SARS2 Eタンパク質残基位置	SARS2参照アミノ酸残基	COV__E__T2__1 アミノ酸残基	COV__E__T2__2 アミノ酸残基
36	V	A	A
55	S	T	T
69	R	Q	R
70	—	G	—

【0262】

本発明によれば、配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも 95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0263】

任意選択で、配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号 22 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの一方又は両方を含む。

【0264】

【表 27】

表 10. 2

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV__E__T2__1アミノ酸残基
36	A
55	T

【0265】

任意選択で、配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号 22 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちのいずれか、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、又は全てを含む。

【0266】

【表 28】

表 10. 3

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV__E__T2__1アミノ酸残基
36	A
55	T
69	Q
70	G

【0267】

本発明によれば、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0268】

任意選択で、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号 23 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうち的一方又は両方を含む。

【0269】

【表 29】

表 10. 4

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV__E__T2__2アミノ酸残基
36	A
55	T

10

【0270】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうち的一方又は両方を有するコロナウイルス E タンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0271】

【表 30】

表 10. 5

Eタンパク質残基位置	アミノ酸残基
36	A
55	T

20

【0272】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、又は全てを有するコロナウイルス E タンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0273】

【表 31】

表 10. 6

Eタンパク質残基位置	アミノ酸残基
36	A
55	T
69	Q
70	G

30

【0274】

任意選択で、コロナウイルス E タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号 21 のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0275】

SARS2 参照配列の残基 36 の上方のアラインメントは、V として示されるが、実際には A（図 7 及び配列番号 21 に正しく示されるように）である。配列番号 21 と設計配列とのアラインメントは、代替 SARS2 参照 E タンパク質配列と COV__E__T2__1 設計配列（配列番号 22）との間に 3 つのアミノ酸の差異があり、SARS2 参照 E タンパク質配列と COV__E__T2__2 設計配列（配列番号 23）との間に 1 つのアミノ酸の

40

50

差異があることを強調する。

【0276】

【表32】

SARS2	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVS LVKP	S	FYVYSRVKNL	65
COV_E_T2_1	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVS LVKP	T	FYVYSRVKNL	65
COV_E_T2_2	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVS LVKP	T	FYVYSRVKNL	65
SARS2	NSSR-VPDLLV			75
COV_E_T2_1	NSSQGVDPDLLV			76
COV_E_T2_2	NSSR-VPDLLV			75

【0277】

アミノ酸の差異を以下の表に要約する。

【0278】

【表33】

表10. 7

SARS2 Eタンパク質残基位置	SARS2参照アミノ酸残基	COV_E_T2_1 アミノ酸残基	COV_E_T2_2 アミノ酸残基
55	S	T	T
69	R	Q	R
70	—	G	—

【0279】

本発明によれば、配列番号22のアミノ酸配列（COV_E_T2_1）、又は配列番号22のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0280】

任意選択で、配列番号22のアミノ酸配列、又は配列番号22のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号22のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む。

【0281】

【表34】

表10. 8

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV_E_T2_1アミノ酸残基
55	T

【0282】

任意選択で、配列番号22のアミノ酸配列、又は配列番号22のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号22のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちのいずれか、少なくとも2つ、又は全てを含む。

【0283】

【表35】

表10. 9

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV_E_T2_1アミノ酸残基
55	T
69	Q
70	G

【0284】

本発明によれば、配列番号23のアミノ酸配列、又は配列番号23のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離され

10

20

30

40

50

たポリペプチドも提供される。

【0285】

任意選択で、配列番号23のアミノ酸配列、又は配列番号23のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号23のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む。

【0286】

【表36】

表10. 10

SARS2 Eタンパク質残基位置	COV_E_T2_2アミノ酸残基
55	T

10

【0287】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基を有するコロナウイルスEタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0288】

【表37】

表10. 11

Eタンパク質残基位置	アミノ酸残基
55	T

20

【0289】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、少なくとも2つ、又は全てを有するコロナウイルスEタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0290】

【表38】

表10. 12

Eタンパク質残基位置	アミノ酸残基
55	T
69	Q
70	G

30

【0291】

任意選択で、コロナウイルスEタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号21のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0292】

SARS-CoVエンベロープ(E)遺伝子は、ウイルス-宿主相互作用における重要な機能であるイオンチャネル(IC)活性を有する76-アミノ酸膜貫通タンパク質をコードする。Eタンパク質IC活性を欠く又は示すウイルスを有するマウスの感染により、インフラマソーム経路の活性化が明らかになり、SARS-CoVによって誘導される悪化した炎症応答は、イオンチャネル欠損ウイルスによる感染症で減少した(Nieto-Torres et al., 2014, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Ion Channel Activity Promotes Virus Fitness and Pathogenesis. PLoS Pathog 10(5): e1004077)

40

50

【0293】

本発明者らは、それぞれ、SARS2参照（配列番号41）、CoV_E_T2_1（配列番号22）、及びCoV_E_T2_2（配列番号23）（実施例10を参照）の新しい設計に対応する、新しいEタンパク質設計CoV_E_T2_3、CoV_E_T2_4及びCoV_E_T2_5を作製した。これらの新しい設計は、イオンチャネル活性を抑制する点変異N15Aを有するが、構造の安定性に影響を与えない。Nieto-Torres et al., 前出は、この変異、並びに宿主細胞に対するSARS Eの毒性及び炎症作用を論じている。

【0294】

SARS2エンベロープタンパク質参照（配列番号41）のアミノ酸配列は、以下の通りである。

MYSFVSEETG T L I V N S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P S F Y V Y S R V K N L N S S R V P D
L L V（配列番号：41）

【0295】

新しいEタンパク質設計のアミノ酸配列を以下及び実施例25に示す。

>CoV_E_T2_3（SARS2__変異体）（配列番号42）

MYSFVSEETG T L I V A S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P S F Y V Y S R V K N L N S S R - V P D
L L V

>CoV_E_T2_4（Env1__変異体）（配列番号43）

MYSFVSEETG T L I V A S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P T F Y V Y S R V K N L N S S Q G V P
D L L V

>CoV_E_T2_5（Env2__変異体）（配列番号44）

MYSFVSEETG T L I V A S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P T F Y V Y S R V K N L N S S R - V P D
L L V

【0296】

SARS2 Eタンパク質参照配列によるEタンパク質設計のアラインメントを以下に示す。

【0297】

【表39】

SARS2	1	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPSFYVYSRV	62
CoV_E_T2_1	1	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV	62
CoV_E_T2_2	1	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV	62
CoV_E_T2_3	1	MYSFVSEETGTLIVASVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPSFYVYSRV	62
CoV_E_T2_4	1	MYSFVSEETGTLIVASVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV	62
CoV_E_T2_5	1	MYSFVSEETGTLIVASVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV	62
SARS2	63	KNLNSSR-VPDLLV	75
CoV_E_T2_1	63	KNLNSSQGVDPDLLV	76
CoV_E_T2_2	63	KNLNSSR-VPDLLV	75
CoV_E_T2_3	63	KNLNSSR-VPDLLV	75
CoV_E_T2_4	63	KNLNSSQGVDPDLLV	76
CoV_E_T2_5	63	KNLNSSR-VPDLLV	75

【0298】

SARS2参照配列（配列番号41）と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表に示す（太字で強調表示された参照配列との差異を有する）。

【0299】

10

20

30

40

50

【表 40】

表 10. 13

SARS2 Eタンパク質 (配列番号41) 残基位置	SARS2参照アミノ酸残基 (配列番号41)	COV_E_T2_1 アミノ酸残基 (配列番号22)	COV_E_T2_2 アミノ酸残基 (配列番号23)	COV_E_T2_3 アミノ酸残基 (配列番号42)	COV_E_T2_4 アミノ酸残基 (配列番号43)	COV_E_T2_5 アミノ酸残基 (配列番号44)
15	N	N	N	A	A	A
55	S	T	T	S	T	T
69	R	Q	R	R	Q	R
70	—	G	—	—	G	—
参照との差異の総数	—	3	1	1	4	2
参照との同一性パーセン テージ	—	96	98.67	98.67	94.67	97.33

【0300】

本発明によれば、配列番号36～38のいずれかによるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

10

【0301】

本発明によれば、配列番号42のアミノ酸配列(COV_E_T2_3)、又は、配列番号42のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0302】

任意選択で、配列番号42のアミノ酸配列(COV_E_T2_3)又は配列番号42のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、配列番号41のアミノ酸残基位置15に対応する位置に、アミノ酸残基Aを含む。

20

【0303】

本発明によれば、配列番号43のアミノ酸配列(COV_E_T2_4)、又は、配列番号43のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0304】

任意選択で、配列番号43のアミノ酸配列(COV_E_T2_4)、又は配列番号43のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドは、配列番号41のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、15A、55T、69Q、70Gのうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

30

【0305】

本発明によれば、配列番号44のアミノ酸配列(COV_E_T2_5)、又は、配列番号44のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0306】

任意選択で、配列番号44のアミノ酸配列(COV_E_T2_5)、又は配列番号44のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配を含む本発明のポリペプチドは、配列番号41のアミノ酸残基位置に対応する位置に、以下のアミノ酸残基、15A、55Tのうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

40

【0307】

本発明によれば、配列番号41のアミノ酸残基位置に対応する位置に以下のアミノ酸残基、15A、55T、69Q、70Gのうちの少なくとも1つを有するコロナウイルスEタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0308】

任意選択で、コロナウイルスEタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号41のアミノ酸残基位置に対応する位置に以下のアミノ酸残基、15A、55Tを含む。

【0309】

50

任意選択で、コロナウイルスEタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号21のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0310】

設計されたコロナウイルス膜(M)タンパク質配列

本出願人はまた、コロナウイルス膜(M)タンパク質の新規アミノ酸配列を生成した。

・COV__M__T2__1サルベコウイルスルート祖先(Sarbecovirus root ancestor) (配列番号24)、

・COV__M__T2__2 エピトープは、SARS2クレード祖先Node88bのバージョンを最適化し(D4を除去)、開始及び終了からのB細胞エピトープに相当するSARS2が追加され、次いで、共進化部位の制約を観察しながらT細胞エピトープが追加された(配列番号25)。

【0311】

これらの設計された配列のアミノ酸配列は以下の通りである。

>COV__M__T2__1/1-221Sarbeco__M__root:

MADNGTITVE ELKQLLEQWN LVIGFLFLAW IMLLQF
AYSN RNRFLYIIKL VFLWLLWPVT LACFVLAAYY RI
NWVTGGIA IAMACIVGLM WLSYFVASFR LFARTRSMW
S FNPETNILLN VPLRGITLTR PLMESELVIG AVIIR
GHLRM AGHSLGRCDI KDLPKEITVA TSRTLSTYK L G
ASQRVGTDS GFAAYNRYRI GNYKLNTDHA GSNDNIAL
LV Q (配列番号24)

>COV__M__T2__2/1-222Sarbeco__M__Node88b__epitope__optimised:

MADSNGTITV EELKKLLEQW NLVIGFLFLT WICLLQ
FAYS NNRNRFLYIIK LI FLWLLWPV TLACFVLAAY YR
INWVTGGI AIAMACIVGL MWLSYFVASF RLFARTRSM
W SFNPETNILL NVPLRGSIIT RPLMESELVI GAVIL
RGHLR MAGHSLGRCD IKDLPKEITV ATSRSTSTYK L
GASQRVASD SGFAVYNRYR IGNYKLNTDH SSSSDNIA
LL VQ (配列番号25)

【0312】

以下の実施例11に記載されるように、図8は、設計された配列によるSARS2参照Mタンパク質配列(配列番号26)のアラインメントを示す。図8に示すアラインメントは、以下の表に示されるように、SARS2参照Mタンパク質配列とCOV__M__T2__1及びCOV__M__T2__2設計配列との間のアミノ酸の差異を強調する。

【0313】

10

20

30

40

50

【表 4 1】

表 1 1. 1

SARS2 M参照タンパク質 残基位置(配列番号:26)	SARS2参照アミノ酸 残基(配列番号:26)	COV_M_T2_1アミノ 酸残基(配列番号:24)	COV_M_T2_2アミノ 酸残基(配列番号:25)
4	S	—	S
15	K	Q	K
30	T	A	T
33	C	M	C
40	A	S	S
52	I	V	I
76	I	V	V
87	L	I	I
97	I	V	V
125	H	R	R
127	T	T	S
134	L	M	M
145	L	I	L
151	I	M	M
155	H	S	S
188	A	G	A
189	G	T	S
195	A	A	V
197	S	N	N
211	S	A	S
212	S	G	S
214	S	N	S

10

20

【0314】

本発明によれば、配列番号24のアミノ酸配列、又は配列番号24のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0315】

任意選択で、配列番号24のアミノ酸配列、又は配列番号24のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号26のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基を含む。

30

【0316】

【表 4 2】

表 1 1. 2

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV_M_T2_1アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
197	N

40

【0317】

任意選択で、配列番号24のアミノ酸配列、又は配列番号24のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離された

50

ポリペプチドは、表 1 1 . 2 に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む。

【 0 3 1 8 】

任意選択で、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 1 1 . 2 に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

【 0 3 1 9 】

任意選択で、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つを含む。

【 0 3 2 0 】

【表 4 3】

表 1 1 . 3

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV__M__T2__1アミノ酸残基
4	— (欠失)
15	Q
30	A
33	M
40	S
52	V
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
145	I
151	M
155	S
188	G
189	T
197	N
211	A
212	G
214	N

【 0 3 2 1 】

任意選択で、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 1 1 . 3 に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む。

【 0 3 2 2 】

任意選択で、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 1 1 . 3 に示されるように、配列番号 2 6 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 0 を含む。

【 0 3 2 3 】

任意選択で、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9

8 %、若しくは99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表11.3に示されるように、配列番号26のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも15を含む。

【0324】

任意選択で、配列番号24のアミノ酸配列、又は配列番号24のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表11.3に示されるように、配列番号26のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

【0325】

本発明によれば、配列番号25のアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0326】

任意選択で、配列番号25のアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号25のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも少なくとも1つを含む。

【0327】

【表44】

表11.4

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV_M_T2_2アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
197	N

【0328】

任意選択で、配列番号25のアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表11.4に示されるように、配列番号25のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも5つを含む。

【0329】

任意選択で、配列番号25のアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表11.4に示されるように、配列番号25のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

【0330】

任意選択で、配列番号25のアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号25のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも少なくとも1つを含む。

【 0 3 3 1 】

【表 4 5】

表 1 1 . 5

SARS2 Mタンパク質残基位置	COV__M__T2__2アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
127	S
134	M
151	M
155	S
189	S
195	V
197	N

10

【 0 3 3 2 】

任意選択で、配列番号 2 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 5 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 1 1 . 5 に示されるように、配列番号 2 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む。

20

【 0 3 3 3 】

任意選択で、配列番号 2 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 5 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 1 1 . 5 に示されるように、配列番号 2 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 0 を含む。

【 0 3 3 4 】

任意選択で、配列番号 2 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 2 5 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、表 1 1 . 5 に示されるように、配列番号 2 5 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基の全てを含む。

30

【 0 3 3 5 】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、又は全てを有するコロナウイルス M タンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【 0 3 3 6 】

【表 4 6】

表 1 1 . 6

Mタンパク質残基位置	アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
197	N

40

50

【 0 3 3 7 】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、又は全てを有するコロナウイルスMタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【 0 3 3 8 】

【表 4 7】

表 1 1 . 7

Mタンパク質残基位置	アミノ酸残基
4	— (欠失)
15	Q
30	A
33	M
40	S
52	V
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
145	I
151	M
155	S
188	G
189	T
197	N
211	A
212	G
214	N

10

20

【 0 3 3 9 】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、又は全てを有するコロナウイルスMタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

30

【 0 3 4 0 】

【表 4 8】

表 1 1 . 8

Mタンパク質残基位置	アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
197	N

40

【 0 3 4 1 】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、又は全てを有するコロナウイルスMタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【 0 3 4 2 】

50

【表 49】

表 11. 9

Mタンパク質残基位置	アミノ酸残基
40	S
76	V
87	I
97	V
125	R
127	S
134	M
151	M
155	S
189	S
195	V
197	N

10

【0343】

任意選択で、コロナウイルスMタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号26のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

【0344】

本発明者らは、更に新しいMタンパク質設計を作製した（COV__M__T2__3、COV__M__T2__4、COV__M__T2__5）。これらの設計では、本発明者らは、膜タンパク質の第1及び第2の膜貫通領域を削除して、Sタンパク質との相互作用を抑制した。

・S、M及びEを有する紐状構築物は、より高次の凝集体を示していた。

・SとMとの間の相互作用の抑制は、凝集を減少させることができる。

・Sとの相互作用を抑制するように設計されたM-de l構築物（C o v __ M __ T 2 __（3-5））。

【0345】

図20は、Mタンパク質の図を示す。M、E、及びNタンパク質間の相互作用は、ウイルス組み立てにとって重要である。Mタンパク質はまた、ヌクレオキャプシドに結合し、この相互作用は、ビリオン組み立ての完成を促進する。これらの相互作用は、Mタンパク質のエンドドメインのC末端、及びNタンパク質のC末端ドメインにマッピングされている。図20において、*は、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルスの膜タンパク質上の免疫優勢エピトープの同定を示し、**は、スパイクタンパク質との相互作用に参与するコロナウイルス膜タンパク質ドメインのマッピングを示す。

30

【0346】

新しいMタンパク質設計のアミノ酸配列を以下に示す。

>COV__M__T2__3（配列番号48）

MADSNGTITV EELKKLLEQI TGGIAIAMAC LVGLMW
LSYF IASFRLFART RSMWSFNPET NILNVPLHG TI
LTRPLLES ELVIGAVILR GHLRIAGHHL GRCDIKDLP
K EITVATSRTL SYYKLGASQR VAGDSGFAAY SRYRI
GNGKL NTDHSSSSDN IALLVQ

40

>COV__M__T2__4（配列番号49）

MADNGTITVE ELKQLLEQVT GGIAIAMACI VGLMWL
SYFV ASFRLFARTR SMWSFNPETN ILLNVPLRGT IL
TRPLMESE LVIGAVIIRG HLRMAGHSLG RCDIKDLPK
E ITVATSRTLS YYKLGASQRV GTDSGFAAYN RYRIG
NGKLN TDHAGSNDNI ALLVQ

50

> COV_M_T2_5 (配列番号 50)

MADSNGTITV EELKKLLEQV TGGIAIAMAC IVGLMW
LSYF VASFRLFART RSMWSFNPET NILLNVPLRG SI
ITRPLMES ELVIGAVILR GHLRMAGHSL GRCDIKDLP
K EITVATSRTL SYYKLGASQR VASDSGFAVY NRYRI
GNGKL NTDHSSSSDN IALLVQ

【0347】

新しいMタンパク質設計 (COV_M_T2_3、COV_M_T2_4、COV_M_T2_5) と以前のMタンパク質設計 (COV_M_T1_1、COV_M_T2_1、COV_M_T2_2) との配列アラインメントを以下に示す。

【0348】

【表 50】

COV_M_T1_1	MADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFLTWICLLQFAYANRRNFLYI I KLI FLWLLWPVTLA	63
COV_M_T2_3	MADSNGTITVEELKKLLEQ-----	19
COV_M_T2_1	MAD-NGTITVEELKQLEQWNLVIGFLFLAWIMLLQFAYSNNRNFYI I KLV FLWLLWPVTLA	62
COV_M_T2_4	MAD-NGTITVEELKQLEQ-----	18
COV_M_T2_2	MADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFLTWICLLQFAYSNNRNFYI I KLI FLWLLWPVTLA	63
COV_M_T2_5	MADSNGTITVEELKKLLEQ-----	19
COV_M_T1_1	CFVLAAYRINWITGGIAIAMACLVGLMWLSYFIASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLHG	126
COV_M_T2_3	-----ITGGIAIAMACLVGLMWLSYFIASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLHG	70
COV_M_T2_1	CFVLAAYRINWVTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	125
COV_M_T2_4	-----VTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	69
COV_M_T2_2	CFVLAAYRINWVTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	126
COV_M_T2_5	-----VTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	70
COV_M_T1_1	TILTRPILLESELVIGAVILRGHLRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVAG	189
COV_M_T2_3	TILTRPILLESELVIGAVILRGHLRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVAG	133
COV_M_T2_1	TILTRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVGT	188
COV_M_T2_4	TILTRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVGT	132
COV_M_T2_2	SIITRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVAS	189
COV_M_T2_5	SIITRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVAS	133
COV_M_T1_1	DSGFAAYSRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ	222
COV_M_T2_3	DSGFAAYSRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ	166
COV_M_T2_1	DSGFAAYNRYRIGNYKLNTDHAGSNDNIALLVQ	221
COV_M_T2_4	DSGFAAYNRYRIGNYKLNTDHAGSNDNIALLVQ	165
COV_M_T2_2	DSGFAVYNRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ	222
COV_M_T2_5	DSGFAVYNRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ	166

【0349】

SARS2 Mタンパク質参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表に示す (太字で強調表示された参照配列との差異を有する)。

【0350】

10

20

30

40

50

【表 5 1】

表 11. 10

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	SARS2参照アミノ酸残基 (COV_M_T1_1) (配列番号26)	COV_M_T2_1 アミノ酸残基 (配列番号:24)	COV_M_T2_2 アミノ酸残基 (配列番号:25)	COV_M_T2_3 アミノ酸残基 (配列番号48)	COV_M_T2_4 アミノ酸残基 (配列番号49)	COV_M_T2_5 アミノ酸残基 (配列番号50)
4	S	欠失	S	S	欠失	S
15	K	Q	K	K	Q	K
20~75				欠失	欠失	欠失
30	T	A	T			
33	C	M	C			
40	A	S	S			
52	I	V	I			
76	I	V	V	I	V	V
87	L	I	I	L	I	I
97	I	V	V	I	V	V
125	H	R	R	H	R	R
127	T	T	S	T	T	S
129	L	L	I	L	L	I
134	L	M	M	L	M	M
145	L	I	L	L	I	L
151	I	M	M	I	M	M
155	H	S	S	H	S	S
188	A	G	A	A	G	A
189	G	T	S	G	T	S
195	A	A	V	A	A	V
197	S	N	N	S	N	N
204	Y	Y	Y	G	G	G
211	S	A	S	S	A	S
212	S	G	S	S	G	S
214	S	N	S	S	N	S
参照との差異の総数	—	20	13	57	73	69
参照との同一性パーセンテージ	—	90. 99%	94. 14%	74. 32%	67. 12%	68. 92%

10

【0351】

20

本発明によれば、配列番号48のアミノ酸配列、又は配列番号48のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0352】

任意選択で、配列番号48のアミノ酸配列、又は配列番号48のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号26の20~75位に対応する位置に、アミノ酸残基の欠失を含む。

30

【0353】

任意選択で、配列番号48のアミノ酸配列、又は配列番号48のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号26のアミノ酸残基位置204に対応する位置に、アミノ酸残基Gを含む。

【0354】

40

本発明によれば、配列番号49のアミノ酸配列、又は配列番号49のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0355】

任意選択で、配列番号49のアミノ酸配列、又は配列番号49のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、8

50

5 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号26の20～75位に対応する位置に、アミノ酸残基の欠失を含む。

【0356】

任意選択で、配列番号49のアミノ酸配列、又は配列番号49のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号26のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

10

【0357】

【表52】

表11. 11

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	アミノ酸残基
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
189	T
197	N
204	G

20

【0358】

任意選択で、配列番号49のアミノ酸配列、又は配列番号49のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号26のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

30

【0359】

40

50

【表 5 3】

表 1 1 . 1 2

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV_M_T2_4アミノ酸残基 (配列番号49)
4	欠失
15	Q
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
145	I
151	M
155	S
188	G
189	T
197	N
204	G
211	A
212	G
214	N

10

20

【0 3 6 0】

本発明によれば、配列番号50のアミノ酸配列、又は配列番号50のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 3 6 1】

任意選択で、配列番号50のアミノ酸配列、又は配列番号50のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号26の20～75位に対応する位置に、アミノ酸残基の欠失を含む。

30

【0 3 6 2】

任意選択で、配列番号50のアミノ酸配列、又は配列番号50のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号26のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

40

【0 3 6 3】

50

【表 5 4】

表 1 1 . 1 1

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	アミノ酸残基
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
189	T
197	N
204	G

10

【0 3 6 4】

任意選択で、配列番号50のアミノ酸配列、又は配列番号50のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドは、以下の表に示されるように、配列番号26のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを含む。

20

【0 3 6 5】

【表 5 5】

表 1 1 . 1 3

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV_M_T2_5アミノ酸残基 (配列番号50)
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
127	S
129	I
134	M
151	M
155	S
189	S
195	V
197	N
204	G

30

40

【0 3 6 6】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、又は全てを有するコロナウイルスMタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 3 6 7】

50

【表 5 6】

表 1 1 . 1 1

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	アミノ酸残基
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
151	M
155	S
189	T
197	N
204	G

10

【0 3 6 8】

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、又は全てを有するコロナウイルスMタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 3 6 9】

【表 5 7】

20

表 1 1 . 1 2

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV_M_T2_4アミノ酸残基 (配列番号49)
4	欠失
15	Q
20～75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
134	M
145	I
151	M
155	S
188	G
189	T
197	N
204	G
211	A
212	G
214	N

30

【0 3 7 0】

40

本発明によれば、以下の表に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちのいずれか、又は全てを有するコロナウイルスMタンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0 3 7 1】

50

【表 58】

表 11. 13

SARS2 Mタンパク質残基位置 (配列番号26)	COV_M_T2_5アミノ酸残基 (配列番号50)
20~75	欠失
76	V
87	I
97	V
125	R
127	S
129	I
134	M
151	M
155	S
189	S
195	V
197	N
204	G

10

【0372】

任意選択で、コロナウイルスMタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号26のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

【0373】

設計されたコロナウイルス核タンパク質(N)配列

本発明者らは、新しいNタンパク質設計、COV_N_T2_1(配列番号46)及びCOV_N_T2_2(配列番号47)を作製した。これらの設計のアミノ酸配列を以下及び実施例15に示す。配列COV_N_T2_2は、サルベコウイルスにわたる保存に基づいて(冗長性を最小限に抑えながら)、エピトープが予測エピトープの質によって制限されるMHC対立遺伝子の頻度及び数、並びに少数のユーザ指定の重み付けを含むように予測エピトープを選択する方法論及びアルゴリズムを使用して設計された。

30

>YP_009724397.2/1-419ヌクレオキャプシドホスホタンパク質[SARS-CoV-2](参照配列)(配列番号45)

MSDNGPQ-NQ RNAPRITFGG PSDSTGSNQN GERSGA
RSKQ RRPQGGLPNNT ASWFTALTQH GKEDLKFP RG QG
VPINTNSS PDDQIGYYRR ATRRIRGGDG KMKDLSRW
Y FYYLGTGPEA GLPYGANKDG IIWVATEGAL NTPKD
HIGTR NPANNA AIVL QLPQGTTLPK GFYAEGSRGG S
QASSRSSSR SRNSSRNSTP GSSRGTS PAR MAGNGGDA
AL ALLLLDRLNQ LESKMSGKGQ QQQGQTVTKK SAAE
ASKKPR QKRTATKAYN VTQAFGRRGP EQTQGNFGDQ
ELIRQGTDYK HWPQIAQFAP SASAFFGMSR IGM EVTP
SGT WLTYTGAIKL DDKDPNFKDQ VILLNKHIDA YKT
FPPTPEPK KDKKKKKADET QALPQRQKKQ QTVTLLPAAD
LDDFSKQLQQ SMSSA--DST QA

40

>COV_N_T2_1/1-418 Node1b 321-323 deleted (配列番号46)

MSDNGPQ-NQ RSAPRITFGG PSDSTDNNQN GERSGA
RPKQ RRPQGGLPNNT ASWFTALTQH GKEDLRFPRG QG
VPINTNSG KDDQIGYYRR ATRRVIRGGDG KMKELSRW
Y FYYLGTGPEA ALPYGANKEG I VWVATEGAL NTPKD

50

HIGTR NPNNNAAIVL QLPQGTTLPK GFYAEGSRGG S
 QASSRSSSR SRGNSRNSTP GSSRGTS PAR MASGGGDT
 AL ALLLLDRLNQ LESKVS GKGQ QQQGQTVTKK SAAE
 ASKKPR QKRTATKQYN VTQAFGRRGP EQTQGNFGDQ
 ELIRQGTDYK HWPQIAQFAP SASAFFGMSR ---EVTP
 SGT WLTYHGA IKL DDKDPQFKDN VILLNKHIDA YKT
 FPPTPEPK KDKKKK ADEA QPLPQRQKKQ PTVTLLPAAD
 LDDFSKQLQN SMSGASADST QA

>COV_N_T2_2/1-417 epitope optimised 321
 -323 deleted (配列番号47)

MTDNGQQ-GP RNAPRITF-G VSDNFDNNQD GGRSGA
 RPKQ RRPQGLPNNT ASWFTALTQH GKEDLRFPRG QG
 VPINTNSS PDDQIGYYRR ATRRIRGGDG KMKDLS PRW
 Y FYYLGTGPEA ALPYGANKEG IVWVATEGAL NTPKD
 HIGTR NPNNNAAIVL QLPQGTTLPK GFYAEGSRGG S
 QASSRSSSR SRNSSRNSTP GSSRGTS PAR NLQAGGDT
 AL ALLLLDRLNQ LESKMSGKGQ QQQGQTVTKK SAAE
 ASKKPR QKRTATKQYN VTQAFGRRGP EQTQGNFGDQ
 ELIRQGTDYK QWPQIAQFAP SASAFFGMSR ---EVTP
 SGT WLTYTGAIKL DDKDPQFKDN VILLNKHIDA YKT
 FPPTPEPK KDKKKK ADEA QPLPQRQKKQ QTVTLLPAAD
 LDDFSRQLQN SMSGASADST QA

【0374】

SARS2 Nタンパク質参照配列によるNタンパク質設計のアラインメントを以下に示す。

【0375】

【表59】

YP_008724397	MSDNQFQNRNAPRITFGSPSDSTGSDNGSRSGAPSKRRPQGLPNNTASWFTALTQH GKEDLRFPRGQGVPIINTNSSPDDQIGYYRRATRIRRGSGGKMKDLS PRW 109	
COV_N_T2_1	MSDNQFQNRNAPRITFGSPSDSTGSDNGSRSGAPSKRRPQGLPNNTASWFTALTQH GKEDLRFPRGQGVPIINTNSSPDDQIGYYRRATRIRRGSGGKMKDLS PRW 109	
COV_N_T2_2	MTDNGQQGPPNAPRITF-GVSDNFDNNQDGGRRPKQRRPQGLPNNTASWFTALTQH GKEDLRFPRGQGVPIINTNSSPDDQIGYYRRATRIRRGSGGKMKDLS PRW 107	
YP_008724397	YFYYLGTGPEAGLPYGANKDGIIWVATEGALNTPKDHIGTRNPNNNAAIVLQLPQGTTLPK-GFYAEGSRGGSGASSRSSSRNSSRNSTPGSSRGTS PARMAAGNGG 215	
COV_N_T2_1	YFYYLGTGPEAALPYGANKEGIIWVATEGALNTPKDHIGTRNPNNNAAIVLQLPQGTTLPK-GFYAEGSRGGSGASSRSSSRNSSRNSTPGSSRGTS PARMAAGNGG 215	
COV_N_T2_2	YFYYLGTGPEAALPYGANKEGIIWVATEGALNTPKDHIGTRNPNNNAAIVLQLPQGTTLPK-GFYAEGSRGGSGASSRSSSRNSSRNSTPGSSRGTS PARNLQAGG 214	
YP_008724397	DAALALLLLDRLNQLESKMSGKGQGGGGQTVTKKSAEASKKPPQKRTATKQYNYTQAFGRRGP EQTQGNFGDQELIRQGTDYKHWPQIACFAPSASAFFGMSRIGME 323	
COV_N_T2_1	DTALALLLLDRLNQLESKMSGKGQGGGGQTVTKKSAEASKKPPQKRTATKQYNYTQAFGRRGP EQTQGNFGDQELIRQGTDYKHWPQIACFAPSASAFFGMSR---E 320	
COV_N_T2_2	DTALALLLLDRLNQLESKMSGKGQGGGGQTVTKKSAEASKKPPQKRTATKQYNYTQAFGRRGP EQTQGNFGDQELIRQGTDYKHWPQIACFAPSASAFFGMSR---E 319	
YP_008724397	VTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPQFKDNVILLNKHIDAYKTFPPTPEPKKDKKKK ADEAQPLPQRQKKQPTVTLPAAD-LDDFSKQLQNSMSGASADSTQA 419	
COV_N_T2_1	VTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPQFKDNVILLNKHIDAYKTFPPTPEPKKDKKKK ADEAQPLPQRQKKQPTVTLPAAD-LDDFSKQLQNSMSGASADSTQA 418	
COV_N_T2_2	VTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPQFKDNVILLNKHIDAYKTFPPTPEPKKDKKKK ADEAQPLPQRQKKQPTVTLPAAD-LDDFSRQLQNSMSGASADSTQA 417	

【0376】

SARS2 参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表12.1に示す (参照配列との差異は太字で強調表示され、全ての設計された配列に共通の差異には下線を引いた)。

【0377】

10

20

30

40

50

【表 6 0】

表 1 2 . 1

SARS2 Nタンパク質参照 (配列番号45) 残基位置	SARS2参照アミノ酸残基	N_T2_1アミノ酸残基 (配列番号46)	N_T2_2アミノ酸残基 (配列番号47)
2	S	S	T
6	P	P	Q
8	N	N	G
9	Q	Q	P
11	N	S	N
18	G	G	—
20	P	P	V
23	S	S	N
24	T	T	F
25	G	D	D
26	S	N	N
29	N	N	D
31	E	E	G
37	S	P	P
65	K	R	R
79	S	G	S
80	P	K	P
94	I	V	I
103	D	E	D
120	G	A	A
128	D	E	E
131	I	V	V
152	A	N	N
192	N	G	N
193	S	N	S
211	A	A	L
212	G	S	Q
213	N	G	A
217	A	T	T
234	M	V	M
267	A	Q	Q
300	H	H	Q
320	I	—	—
321	G	—	—
322	M	—	—
334	T	H	T
345	N	Q	Q
349	Q	N	N
379	T	A	A
390	Q	P	Q
406	K	K	R
409	Q	N	N
413	S	G	G
415	—	S	S
416	—	A	A
参照との差異の総数	—	31	35
参照との同一性パーセンテージ	—	92.60	91.65

【0378】

SARS2 Nタンパク質参照残基位置カラムの位置415及び416は、参照配列の残基ではないが、N_T2_1及びN_T2_2配列における挿入を含むため、イタリック体である。

【0379】

設計された配列の両方に共通のアミノ酸変化を以下の表に要約する。

【0380】

10

20

30

40

50

【表 6 1】

表 1 2 . 2

SARS2 Nタンパク質 (配列番号45)残基位置	設計された配列のアミノ酸残基 (配列番号46、47)
26	N
37	P
65	R
120	A
128	E
131	V
152	N
217	T
267	Q
345	Q
349	N
379	A
409	N
413	G
415	S(挿入)
416	A(挿入)

10

【0381】

任意選択での追加の変化を以下の表に要約する。

20

【0382】

【表 6 2】

表 1 2 . 3

SARS2 Nタンパク質 (配列番号45)残基位置	設計された配列のアミノ酸残基 (配列番号46)
11	S
79	G
80	K
94	V
103	E
192	G
193	N
212	S
213	G
234	V
320	—
321	—
322	—
334	H
390	P

30

【0383】

代替の任意選択での追加の変化を以下の表に要約する。

40

【0384】

50

【表 6 3】

表 1 2 . 4

SARS2 Nタンパク質 (配列番号45)残基位置	アミノ酸残基 (配列番号47)
2	T
6	Q
8	G
9	P
18	—
20	V
23	N
24	F
25	D
29	D
31	G
211	L
212	Q
213	A
300	Q
320	—
321	—
322	—
406	R

10

20

【0385】

本発明によれば、配列番号46のアミノ酸配列（COV__N__T2__1）、又は配列番号46のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドが提供される。

【0386】

任意選択で、配列番号46のアミノ酸配列又は、配列番号46のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを含む本発明のポリペプチドは、上記の表12.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを更に含む。

30

【0387】

任意選択で、配列番号46のアミノ酸配列又は、配列番号46のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを含む本発明のポリペプチドは、上記の表12.3に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを更に含む。

【0388】

本発明によれば、配列番号47のアミノ酸配列（COV__N__T2__2）、又は配列番号47のアミノ酸配列と全長にわたって少なくとも92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

40

【0389】

任意選択で、配列番号47のアミノ酸配列又は、配列番号47のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを含む本発明のポリペプチドは、上記の表12.2に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも1つ、又は全てを更に含む。

【0390】

50

任意選択で、配列番号 47 のアミノ酸配列又は、配列番号 47 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを含む本発明のポリペプチドは、上記の表 12. 4 に示されるように、アミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ、又は全てを更に含む。

【0391】

本発明によれば、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基の少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む、単離されたポリペプチドも提供される。

【0392】

任意選択で、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 5 つのアミノ酸残基を含む。

【0393】

任意選択で、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 10 のアミノ酸残基を含む。

【0394】

任意選択で、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置に少なくとも 15 のアミノ酸残基を含む。

【0395】

任意選択で、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 12. 3 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを含む。

【0396】

任意選択で、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 12. 3 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 5 つを含む。

【0397】

任意選択で、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 12. 3 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも 10 を含む。

【0398】

任意選択で、上記の表 12. 2 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも 1 つ又は全てを有するコロナウイルス N タンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表 12. 4 に示されるように、配列番号 45 のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくと

10

20

30

40

50

も1つ又は全てを含む。

【0399】

任意選択で、上記の表12.2に示されるように、配列番号45のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも1つ又は全てを有するコロナウイルスNタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表12.4に示されるように、配列番号45のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも5つを含む。

【0400】

任意選択で、上記の表12.2に示されるように、配列番号45のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも1つ又は全てを有するコロナウイルスNタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表12.4に示されるように、配列番号45のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも10を含む。

10

【0401】

任意選択で、上記の表12.2に示されるように、配列番号45のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基のうちの少なくとも1つ又は全てを有するコロナウイルスNタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、上記の表12.4に示されるように、配列番号45のアミノ酸残基位置に対応する位置に、アミノ酸残基のうちの少なくとも15を含む。

【0402】

任意選択で、コロナウイルスNタンパク質を含む本発明の単離されたポリペプチドは、配列番号45のアミノ酸配列とその全長にわたって、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

【0403】

本発明のポリペプチドは、いくつかの異なる種類のコロナウイルス、特にいくつかの異なる種類のβ-コロナウイルスに対する広域中和免疫応答を誘発することができるため、特に有利である。配列番号15（又は配列番号15のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列）又は配列番号17（又は配列番号17のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも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%、又は99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列）のアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドはまた、ウイルス免疫回避及びADEによる疾患進行（又はADE様炎症促進性応答）をもたらし得る非中和エпитープを欠くため有利である。

30

【0404】

同様に、新規に設計されたコロナウイルスEタンパク質のアミノ酸配列（例えば、配列番号22のアミノ酸配列、又は配列番号22のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列、又は、配列番号23のアミノ酸配列、又は配列番号23のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列）、又はコロナウイルスMタンパク質のアミノ酸配列（例えば、配列番号24のアミノ酸配列、又は配列番号24のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列）を含む本発明のポリペプチドは、ウイルス免疫回避

40

50

及び A D E による疾患進行（又は A D E 様炎症促進性応答）をもたらし得る非中和エピートープを欠くため有利である。

【0405】

本発明のポリペプチドは、1つ以上の保存的アミノ酸置換を含み得る。保存的アミノ酸置換は、作製された場合、元のポリペプチドの特性をほとんど妨害しない置換であり、すなわち、タンパク質の構造及び特に機能は保存されており、そのような置換によってはあまり変化しない。保存的置換の例を以下に示す。

【0406】

【表 6 4】

元の残基	保存的置換
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
His	Asn; Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile; Val
Lys	Arg; Gln;
Met	Leu; Ile
Phe	Met; Leu; Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp; Phe
Val	Ile; Leu

10

20

【0407】

保存的置換は、概して、（a）置換領域におけるポリペプチド骨格の構造、例えば、シート若しくはらせん高次構造、（b）標的部位の分子の電荷若しくは疎水性、又は（c）側鎖のバルクを維持する。

30

【0408】

概してタンパク質特性の最大変化を生成することが予想される置換は、非保存的であり、例えば、（a）親水性残基、例えば、セリン又はトレオニンが、疎水性残基、例えば、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、バリン、又はアラニンに置換されている場合（又はそれらによって置換されている場合）、（b）システイン又はプロリンが、任意の他の残基に置換されている場合（又はそれらによって置換されている場合）、（c）電氣的に正の側鎖、例えば、リジン、アルギニン、又はヒスチジンを有する残基が、電氣的に負の残基、例えば、グルタマート又はアスパルタートに置換されている場合（又はそれらによって置換されている場合）、又は（d）かさ高い側鎖、例えばフェニルアラニンを有する残基が、側鎖を有していないもの、例えば、グリシンに置換されている場合（又はそれらによって置換されている場合）の変化である。

40

【0409】

「広域中和免疫応答」という用語は、コロナウイルスファミリー内のウイルスの感染症、及び又は感染の進行を阻害（すなわち、低減）、中和、又は予防するのに十分な対象において誘発される免疫応答を意味するために本明細書で使用される。任意選択で、広域中和免疫応答は、2つ以上のタイプのβ-コロナウイルス（例えば、SARS-CoV、及びSARS-CoV-2）の感染症及び／又は感染症の進行の阻害、中和、又は予防するのに十分である。任意選択で、広域中和免疫応答は、同じβ-コロナウイルス系列（例えば、SARS-CoV、SARS-CoV-2及びBatSL-CoV-WIV1等の亜属サルベコウイルス内の2種類以上のβ-コロナウイルス）内の2つ以上のタイプのβ-コ

50

コロナウイルスの感染及び／又は感染の進行を阻害、中和又は予防するのに十分である。任意選択で、広域中和免疫応答は、異なるβ-コロナウイルス系列、例えばB型（例えば、SARS-CoV、及びSARS-CoV-2）及びC型（例えば、MERS-CoV）のコロナウイルスの感染及び／又は感染の進行を阻害、中和又は予防するのに十分である。任意選択で、広域中和免疫応答は、ほとんど又は全ての異なるβ-コロナウイルスの感染及び／又は感染の進行を阻害、中和又は予防するのに十分である。任意選択で、広域中和免疫応答は、コロナウイルスファミリーのほとんど又は全ての異なるウイルスの感染症、及び／又は感染の進行を阻害、中和、又は予防するのに十分である。

【0410】

免疫応答は、体液性及び／又は細胞免疫応答であり得る。細胞免疫応答は、B細胞、T細胞、マクロファージ、又は多形核細胞等の免疫系の細胞の、抗原又はワクチン等の刺激への応答である。免疫応答は、例えば、インターフェロン又はサイトカインを分泌する上皮細胞を含む、宿主防御応答に参与する身体の任意の細胞を含むことができる。免疫応答には、自然免疫応答又は炎症が挙げられるが、これらに限定されない。

【0411】

任意選択で、本発明のポリペプチドは、保護免疫応答を誘導する。保護免疫応答は、感染又は疾患から対象を保護する（すなわち、感染を予防するか、又は感染に関連する疾患の発症を予防する）免疫応答を指す。免疫応答を測定する方法は、当該技術分野で周知であり、これには例えば、リンパ球（B若しくはT細胞等）の増殖及び／又は活性、サイトカイン若しくはケモカインの分泌、炎症、又は抗体産生を測定することが挙げられる。

【0412】

任意選択で、本発明のポリペプチドは、ポリペプチドが投与されたヒト又は非ヒト動物における抗体及び／又はT細胞応答の生成を誘導することができる（ポリペプチドとして、又は例えば、投与された核酸発現ベクターから発現されるかのいずれか）。

【0413】

任意選択で、本発明のポリペプチドは、グリコシル化ポリペプチドである。

【0414】

核酸分子

本発明によれば、本発明のポリペプチドをコードする、単離された核酸分子、又はその相補体も提供される。

【0415】

本発明によれば、本発明のポリペプチドをコードする本発明の核酸分子とその全長にわたって少なくとも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%又は99%同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子、又はその相補体も提供される。

【0416】

任意選択で、本発明の単離された核酸分子は、配列番号18、16若しくは14のヌクレオチド配列、又は配列番号18、16若しくは14のヌクレオチド配列とその全長にわたって少なくとも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%若しくは99%同一であるヌクレオチド配列、又はその相補体を含む。

【0417】

本発明によれば、配列番号33、34、35、又は36のアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子も提供される。

【0418】

任意選択で、配列番号33、34、35、又は36のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ、配列番号37、38、39、又は40のヌ

10

20

30

40

50

クレオチド配列を含む。

【0419】

本発明によれば、配列番号34のアミノ酸配列（M8）、又は配列番号34のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明の単離されたポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子も提供される。

【0420】

本発明によれば、配列番号11のアミノ酸残基位置に対応する位置に以下のアミノ酸残基、13Q、25Q、54T、203Nのうちの少なくとも1つを有するコロナウイルスSタンパク質RBDドメインを含む単離されたポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子も提供される。

10

【0421】

本発明によれば、配列番号35のアミノ酸配列（M9）、又は配列番号35のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも70%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子も提供される。

【0422】

本発明によれば、配列番号36のアミノ酸配列（M10）、又は配列番号36のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも69%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子も提供される。

20

【0423】

本発明者らは、SARS2切断Sタンパク質をコードする核酸（特にDNA）によるマウスの免疫化は、SARS2スパイクタンパク質に結合することができる抗体の生成を誘導することを見出した（実施例17、図10を参照）。

【0424】

本発明によれば、配列番号9のアミノ酸配列のSARS2切断Sタンパク質（CoV__T2__3）をコードする、単離された核酸分子が提供される。

【0425】

任意選択で、配列番号9のアミノ酸配列のSARS2切断Sタンパク質（CoV__T2__3）をコードする単離された核酸分子は、配列番号10のヌクレオチド配列を含む。

30

【0426】

本発明者らは、SARS2 Sタンパク質RBDをコードする核酸（特にDNA）によるマウスの免疫化は、SARS2偽型ウイルスを中和することができる抗体の生成を誘導することも見出した（実施例18、図11を参照）。

【0427】

本発明者らは、M7及び野生型SARS2 RBD DNA（グリコシル化RBDタンパク質の発現をもたらすと考えられる）は、SARS2に対する中和応答を誘導する際に、組換えSARS2 RBDタンパク質（非グリコシル化、又は低密度グリコシル化）よりも優れていることも見出した。

40

【0428】

本発明によれば、配列番号11のアミノ酸配列のSARS2Sタンパク質RBD（CoV__T2__6）をコードする、単離された核酸分子が提供される。

【0429】

任意選択で、配列番号11のアミノ酸配列のSARS2Sタンパク質RBD（CoV__T2__6）をコードする単離された核酸分子は、配列番号12のヌクレオチド配列を含む。

【0430】

本発明者らは、設計されたM7 SARS2 Sタンパク質RBDをコードする核酸（特にDNA）が特に有利な効果を有することも見出した。特に、本発明者らは、以下を見出した。

50

・M7 SARS2 RBD（配列番号33）をコードする核酸を含むDNAワクチンによるマウスの免疫化は、野生型SARS2 RBDよりもSARS2 RBDへのより強力な結合を伴う免疫応答を誘導した（実施例20-及び図-14を参照）。

・M7 SARS2 RBD（配列番号33）をコードするDNAワクチンによるマウスの免疫化は、野生型SARS2 RBDをコードするDNAワクチンよりも急速に中和免疫応答を誘発する（実施例21-及び図-15を参照）。

・M7 SARS2 RBD（配列番号33）をコードするDNAワクチンによるマウスの免疫化は、1週目及び2週目の採血から回収された血清中の野生型SARS2 RBDをコードするDNAワクチンよりも高い中和応答を誘導し（実施例22、及び図16、17を参照）、

・M7 SARS2 RBDを含む上清は、ACE2細胞進入に対して3つのACE2結合ウイルスと効果的に競合し（実施例23-及び図-18を参照）、

・T細胞応答は、RBDペプチドプールのペプチドに対して反応性であるが完全長RBD又は培地に対しては反応しないM7 SARS2 RBD（配列番号33）をコードするDNAワクチンによって誘導された（実施例24、及び図19を参照されたい）。

【0431】

本発明によれば、配列番号37のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子も提供される。

【0432】

配列同一性

アミノ酸配列又は核酸配列間の類似性は、配列間の類似性に関して表され、そうでなければ配列同一性と称される。配列同一性は、同一性のパーセンテージ（又は類似性若しくは相同性）に関して頻繁に測定され、パーセンテージが高いほど、2つの配列がより類似している。所与の遺伝子又はタンパク質のホモログ又はバリエーションは、標準的な方法を使用してアライメントしたときに比較的高い程度の配列同一性を有する。比較のための配列のアライメント方法は、当該技術分野において周知である。様々なプログラム及びアライメントアルゴリズムが、Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482, 1981; Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970; Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 85:2444, 1988; Higgins and Sharp, Gene 73:237-244, 1988; Higgins and Sharp, CABIOS 5:151-153, 1989; Corpet et al., Nucleic Acids Research 16:10881-10890, 1988; and Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 85:2444, 1988. Altschul et al., Nature Genet. 6:119-129, 1994に記載されている。NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST™) (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990)は、配列分析プログラムblastp、blastn、blastx、tblastn及びtblastxに関連して使用するために、国立生物工学情報センター（NCBI, Bethesda, MD）及びインターネットを含むいくつかの情報源から入手可能である。

【0433】

核酸配列間又はアミノ酸配列間の配列同一性は、配列のアライメントを比較することによって決定することができる。比較配列の同等の位置が同じヌクレオチド又はアミノ酸によって占められる場合、分子はその位置で同一である。同一性のパーセンテージとしてアライメントをスコアリングすることは、比較配列によって共有される位置における同一のヌクレオチド又はアミノ酸の数の関数である。配列を比較すると、最適なアラインメントは、配列における可能性のある挿入及び欠失を考慮に入れるために、配列のうちの1つ以上に導入されるギャップを必要とし得る。配列比較方法は、比較される配列中の同じ数の

10

20

30

40

50

同一分子について、2つの比較される配列間のより高い関連性を反映する可能な限り少ないギャップを有する配列アライメントが、多くのギャップを有するものよりも高いスコアを達成するように、ギャップペナルティを使用し得る。最大パーセントの同一性の計算は、ギャップペナルティを考慮して、最適なアライメントの生成を伴う。

【0434】

配列比較を実行するための好適なコンピュータプログラムは、商業的及び公衆のセクターで広く入手可能である。例としては、MatGat (Campanella et al., 2003, BMC Bioinformatics 4:29; <http://bitincka.com/ledion/matgat>から入手可能なプログラム)、Gap (Needleman & Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443-453), FASTA (Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410; <http://www.ebi.ac.uk/fasta>から入手可能なプログラム)、Clustal W2.0 and X2.0 (Larkin et al., 2007, Bioinformatics 23:2947-2948; <http://www.ebi.ac.uk/tools/clustalw2>から入手可能なプログラム) and EMBOSS Pairwise Alignment Algorithms (Needleman & Wunsch, 1970, supra; Kruskal, 1983, In: Time warps, string edits and macromolecules: the theory and practice of sequence comparison, Sankoff & Kruskal (eds), pp 1-44, Addison Wesley; <http://www.ebi.ac.uk/tools/emboss/align>から入手可能なプログラム)が挙げられる。全てのプログラムは、デフォルトのパラメータを使用して実行することができる。

【0435】

例えば、配列比較は、それらの全長にわたって考慮される場合、同一性スコアのパーセンテージを提供する、2つの配列の最適なアライメント（ギャップを含む）を決定する Emboss Pairwise アライメントアルゴリズムの「ニードル (needle)」方法を使用して行われ得る。アミノ酸配列比較のデフォルトパラメータ（「タンパク質分子」オプション）は、ギャップ延長ペナルティ (Gap Extend penalty) : 0.5、ギャップ開放ペナルティ (Gap Open penalty) : 10.0、マトリックス: Blosum62であり得る。

【0436】

配列比較は、参照配列の全長にわたって実行され得る。

【0437】

対応する位置

本明細書に記載の配列は、別の配列のアミノ酸残基位置に対応する位置にアミノ酸残基を含むアミノ酸配列への言及を含む。そのような対応する位置は、例えば、本明細書に記載の配列アライメント法を使用する配列のアライメント、又は当業者に既知の別の配列アライメント方法から特定され得る。

【0438】

ベクター

本発明によれば、本発明の核酸分子を含む、ベクターも提供される。

【0439】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号17のアミノ酸配列、又は配列番号17のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも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%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0440】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号15のアミノ酸配列、又は配列番号15のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0441】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号13のアミノ酸配列、又は配列番号13のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

10

【0442】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号27のアミノ酸配列（COV__S__T2__13）、又は配列番号27のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0443】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号28のアミノ酸配列（COV__S__T2__14）、又は配列番号28のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

20

【0444】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号29のアミノ酸配列（COV__S__T2__15）、又は配列番号29のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

30

【0445】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号30のアミノ酸配列（COV__S__T2__16）、又は配列番号30のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0446】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号31のアミノ酸配列（COV__S__T2__17）、又は配列番号31のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

40

【0447】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号32のアミノ酸配列（COV__S__T2__18）、又は配列番号32のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0448】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号33のアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

50

【0449】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号34のアミノ酸配列、又は配列番号34のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0450】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号22のアミノ酸配列、又は配列番号22のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0451】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号23のアミノ酸配列、又は配列番号23のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0452】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号42のアミノ酸配列（COV__S__T2__3）、又は配列番号42のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0453】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号43のアミノ酸配列（COV__S__T2__4）、又は配列番号43のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0454】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号44のアミノ酸配列（COV__E__T2__5）、又は配列番号44のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0455】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号24のアミノ酸配列、又は配列番号24のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0456】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号25のアミノ酸配列、又は配列番号25のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0457】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号46のアミノ酸配列（COV__N__T2__1）、又は配列番号46のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0458】

任意選択で、本発明のベクターは、配列番号47のアミノ酸配列（COV__N__T2__2）、又は配列番号47のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を含む。

【0459】

任意選択で、本発明のベクターは、核酸に作動可能に連結されたプロモータを更に含む

10

20

30

40

50

。

【0460】

任意選択で、プロモータは、哺乳動物細胞において核酸によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである。

【0461】

任意選択で、プロモータは、酵母又は昆虫細胞において核酸によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである。

【0462】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の異なるポリペプチドをコードする2つ以上の核酸分子を含む。有利には、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードする本発明の核酸分子、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

10

【0463】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の異なるポリペプチドをコードする2つ以上の核酸分子を含む。有利には、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードする本発明の核酸分子、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

20

【0464】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0465】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

30

【0466】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0467】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0468】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

40

【0469】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子及び本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0470】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコ

50

コロナウイルス E タンパク質をコードする本発明の核酸分子及び本発明の設計されたコロナウイルス N タンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0471】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質をコードする本発明の核酸分子及び本発明の設計されたコロナウイルス N タンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0472】

任意選択で、本発明のベクターは、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質（完全長、切断、又は RBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルス N タンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

10

【0473】

任意選択で、本発明のベクターは、

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

20

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、を含む。

【0474】

任意選択で、本発明のベクターは、

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

30

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸配列と、を含む。

40

【0475】

任意選択で、本発明のベクターは、

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

50

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸配列と、を含む。

【0476】

任意選択で、本発明のベクターは、

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

10

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

20

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸配列と、を含む。

【0477】

任意選択で、ポリペプチドをコードするベクターの各核酸分子について、その核酸分子に作動可能に連結された別個のプロモータを更に含む、本発明のベクター。

30

【0478】

任意選択で、プロモータ、又は各プロモータは、哺乳動物細胞内の核酸分子によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである。

【0479】

任意選択で、プロモータ、又は各プロモータは、酵母又は昆虫細胞において核酸分子によってコードされるポリペプチドの発現のためのものである。

【0480】

任意選択で、ベクターは、ワクチンベクターである。

【0481】

任意選択で、ベクターは、ウイルスワクチンベクター、細菌ワクチンベクター、RNA ワクチンベクター、又は DNA ワクチンベクターである。

40

【0482】

本発明の核酸分子は、DNA 又は RNA 分子を含み得る。核酸分子が RNA 分子を含む実施形態では、分子は、配列番号 18、16、又は 14 のいずれかと少なくとも 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 %、又は 99 % 同一であるか、又は同一であり、各「T」ヌクレオチドは、「U」又はその相補体で置き換えられている、RNA 配列を含み得ると理解される。

50

【0483】

例えば、本発明の核酸を含むRNAワクチンベクターが提供される場合、本発明の核酸の核酸配列はRNA配列であるので、例えば、配列番号18、16、又は14のいずれかと少なくとも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%、又は99%同一であるか、又は同一であり、各「T」ヌクレオチドは、「U」又はその相補体で置き換えられている、RNA配列を含み得ると理解される。

【0484】

ウイルスワクチンベクターは、生きているウイルスを使用して、核酸（例えば、DNA又はRNA）をヒト又は非ヒト動物細胞に送達する。ウイルスに含まれる核酸は、1つ又は複数の抗原をコードし、感染したヒト又は非ヒト動物細胞で発現すると、免疫応答を誘発する。体液性及び細胞媒介性免疫応答の両方は、ウイルスワクチンベクターによって誘導され得る。ウイルスワクチンベクターは、核酸ワクチンの正の品質の多くを、生弱毒ワクチンのものと組み合わせる。核酸ワクチンと同様に、ウイルスワクチンベクターは、抗体、Tヘルパー細胞（CD4+T細胞）、及び細胞傷害性Tリンパ球（CTL、CD8+T細胞）媒介免疫を含む、ある範囲の免疫応答を刺激するように調整され得る抗原性タンパク質の産生のために、核酸を宿主細胞に運ぶ。ウイルスワクチンベクターは、核酸ワクチンとは異なり、生弱毒ワクチンのように宿主細胞に能動的に侵入し、複製し、免疫系をアジュバントとよく似て更に活性化する能力も有する。したがって、ウイルスワクチンベクターは、概して、無関係な生物からタンパク質抗原をコードする核酸（例えば、DNA又はRNA）を運ぶように遺伝子操作された生きている弱毒化ウイルスを含む。ウイルスワクチンベクターは、概して、核酸ワクチンよりも強い免疫応答を生成することができるが、いくつかの疾患では、ウイルスベクターは、異種プライムブーストと呼ばれる戦略において他のワクチン技術と組み合わせて使用される。このシステムでは、1つのワクチンがプライミングステップとして与えられ、続いて、ブースターとして代替ワクチンを使用してワクチン接種される。異種プライムブースト戦略は、より強い全体的な免疫応答を提供することを目的としている。ウイルスワクチンベクターは、この戦略の一部として、プライムワクチン及びブーストワクチンの両方として使用され得る。ウイルスワクチンベクターは、Ura et al., 2014 (Vaccines 2014, 2, 624-641) and Choi and Chang, 2013 (Clinical and Experimental Vaccine Research 2013; 2: 97-105) によって概説されている。

【0485】

任意選択で、ウイルスワクチンベクターは、ウイルス送達ベクター、例えば、Poxivirus（例えば、Modified Vaccinia Ankara (MVA)、NYVAC、AVIPOX）、ヘルペスウイルス（例えば、任意の宿主種のHSV、CMV、アデノウイルス）、モルビリウイルス（例えば、麻疹）、αウイルス（例えば、SFV、Sendai）、フラビウイルス（例えば、黄熱病）、又はラブドウイルス（例えば、VSV）ベースのウイルス送達ベクター、細菌送達ベクター（例えば、サルモネラ、E. coli）、RNA発現ベクター、又はDNA発現ベクターに基づいている。

【0486】

任意選択で、核酸発現ベクターは、核酸発現ベクター、及びウイルス偽型ベクターである。

【0487】

任意選択で、核酸発現ベクターは、ワクチンベクターである。

【0488】

任意選択で、核酸発現ベクターは、5'から3'の方向に、プロモータと、スプライスドナー部位（SD）と、スプライスアクセプター部位（SA）と、ターミネーターシグナルと、を含み、複数クローニング部位が、スプライスアクセプター部位とターミネーターシ

グナルとの間に位置する。

【0489】

任意選択で、プロモータは、CMV最初期1エンハンサ／プロモータ（CMV－IEE／P）を含み、及び／又はターミネーターシグナルは、KpnI制限エンドヌクレアーゼ部位を欠くウシ成長ホルモン遺伝子（Tbgh）のターミネーターシグナルを含む。

【0490】

任意選択で、核酸発現ベクターは、複製起点、及び抗生物質に対する耐性をコードする核酸を更に含む。任意選択で、複製起点はpUC－プラスミド複製起点を含み、及び／又は核酸はカナマイシンに対する耐性をコードする。

【0491】

任意選択で、ベクターは、pEVACベースの発現ベクターである。

【0492】

任意選択で、核酸発現ベクターは、配列番号20（pEVAC）の核酸配列を含む。pEVACベクターは、ウイルスの偽型を生成するための、並びに動物及びヒトの直接DNAワクチン接種のための、非常に汎用性の高い発現ベクターであることが証明されている。pEVAC発現ベクターは、以下の実施例8でより詳細に説明される。図3は、pEVACのプラスミドマップを示す。

【0493】

本発明によれば、本発明のベクターを含むか又はそれでトランスフェクトされた、単離された細胞も提供される。

【0494】

本発明によれば、本発明のポリペプチドを含む、融合タンパク質も提供される。

【0495】

医薬組成物

本発明によれば、本発明のポリペプチドと、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤と、を含む、医薬組成物も提供される。

【0496】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の2つ以上の異なるポリペプチドを含む。

【0497】

有利には、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質を含む。

【0498】

有利には、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質及び／又は本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質を含む。

【0499】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）、及び本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質を含む。

【0500】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）、及び本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質を含む。

【0501】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質（完全長、切断、又はRBD）、及び本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質を含む。

【0502】

10

20

30

40

50

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質及び本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質を含む。

【0503】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質及び本発明の設計されたコロナウイルス N タンパク質を含む。

【0504】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質（完全長、切断、又は R B D）及び本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質及び本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質を含む。

【0505】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質（完全長、切断、又は R B D）及び本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質及び本発明の設計されたコロナウイルス N タンパク質を含む。

【0506】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質及び本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質及び本発明の設計されたコロナウイルス N タンパク質を含む。

【0507】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチド、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、を含む。

【0508】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチド、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、を含む。

【0509】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチド、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって

10

20

30

40

50

少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチド、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、を含む。

【0510】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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% 若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、

10

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチド、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチド、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95%、96%、97%、98%、若しくは 99% のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドと、を含む。

20

【0511】

本発明によれば、本発明の核酸と、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤と、を含む、医薬組成物も提供される。

【0512】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の異なるポリペプチドをコードする本発明の 2 つ以上の核酸分子を含む。

【0513】

有利には、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質（完全長、切断、又は RBD）をコードする本発明の核酸分子、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質をコードする本発明の核酸分子及び／又は本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

30

【0514】

有利には、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質（完全長、切断、又は RBD）をコードする本発明の核酸分子、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び／又は本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質をコードする本発明の核酸分子及び／又は本発明の設計されたコロナウイルス N タンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

40

【0515】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質（完全長、切断、又は RBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルス E タンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0516】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質（完全長、切断、又は RBD）をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルス M タンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0517】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルス S タンパク質

50

(完全長、切断、又はRBD)をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0518】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0519】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

10

【0520】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質(完全長、切断、又はRBD)をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子及び本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0521】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスSタンパク質(完全長、切断、又はRBD)をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子及び本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

20

【0522】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、本発明の設計されたコロナウイルスEタンパク質をコードする本発明の核酸分子、及び本発明の設計されたコロナウイルスMタンパク質をコードする本発明の核酸分子及び本発明の設計されたコロナウイルスNタンパク質をコードする本発明の核酸分子を含む。

【0523】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号17のアミノ酸配列、又は配列番号17のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも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%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

30

配列番号22のアミノ酸配列、又は配列番号22のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号23のアミノ酸配列、又は配列番号23のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、を含む。

【0524】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号17のアミノ酸配列、又は配列番号17のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも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%若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

40

配列番号24のアミノ酸配列、又は配列番号24のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードす

50

る核酸分子、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸配列と、を含む。

【0525】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

10

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸配列と、を含む。

【0526】

20

任意選択で、本発明の医薬組成物は、

配列番号 17 のアミノ酸配列、又は配列番号 17 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 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 % 若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

配列番号 22 のアミノ酸配列、又は配列番号 22 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 23 のアミノ酸配列、又は配列番号 23 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子と、

30

配列番号 24 のアミノ酸配列、又は配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子、又は、配列番号 25 のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸配列と、を含む。

40

【0527】

本発明によれば、本発明のベクターと、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤と、を含む、医薬組成物も提供される。

【0528】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、組成物の、ポリペプチドに対する対象における免疫応答を増強するためのアジュバント、又は核酸によってコードされるポリペプチドを更に含む。

【0529】

任意選択で、本発明の医薬組成物は、組成物の、ポリペプチドに対する対象における免疫応答を増強するためのアジュバント、又は核酸によってコードされるポリペプチドを更

50

に含む。

【0530】

本発明によれば、本発明のポリペプチドを含む、偽型ウイルスも提供される。

【0531】

治療及び使用方法

本発明によれば、対象におけるコロナウイルスに対する免疫応答を誘導する方法も提供され、方法は、対象に、有効量の本発明のポリペプチド、本発明の核酸、本発明のベクター、又は本発明の医薬組成物を投与することを含む。

【0532】

本発明によれば、コロナウイルスに対して対象を免疫化する方法も提供され、方法は、対象に、有効量の本発明のポリペプチド、本発明の核酸、本発明のベクター、又は本発明の医薬組成物を投与することを含む。

【0533】

本発明によれば、医薬品として使用するための、本発明のポリペプチド、本発明の核酸、本発明のベクター、又は医薬組成物が更に提供される。

【0534】

本発明によれば、コロナウイルス感染の予防、治療、又は改善に使用するための、本発明のポリペプチド、本発明の核酸、本発明のベクター、又は医薬組成物が更に提供される。

【0535】

本発明によれば、コロナウイルス感染症の予防、治療、又は改善のための医薬品の製造における、本発明のポリペプチド、本発明の核酸、本発明のベクター、又は医薬組成物の使用も提供される。

【0536】

任意選択で、コロナウイルスは、β-コロナウイルスである。

【0537】

任意選択でβ-コロナウイルスは、B型又はC型β-コロナウイルスである。

【0538】

任意選択でβ-コロナウイルスは、B型β-コロナウイルスである。

【0539】

任意選択で、B型β-コロナウイルスは、SARS-CoV又はSARS-CoV-2である。

【0540】

任意選択で、C型β-コロナウイルスはMERS-CoVである。

【0541】

投与

任意の好適な投与経路を使用することができる。投与方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、非経口、静脈内、皮下、膺、直腸、鼻腔内、吸入、又は経口が挙げられるが、これらに限定されない。皮下投与、静脈内投与、又は筋肉内投与等の非経口投与は、概して注射によって達成される。注射剤は、液体溶液又は懸濁液、注射前の液体の溶液又は懸濁液に好適な固体形態、又はエマルジョンとしてのいずれかで、従来形態で調製することができる。注射溶液及び懸濁液は、前述の種類の滅菌粉末、顆粒、及び錠剤から調製することができる。投与は全身又は局所であり得る。

【0542】

組成物は、薬学的に許容される担体等の任意の好適な様式で投与され得る。薬学的に許容される担体は、投与される特定の組成物によって、並びに組成物を投与するために使用される特定の方法によって部分的に決定される。非経口投与のための調製物には、滅菌水溶液又は非水溶液、懸濁液、及びエマルジョンが含まれる。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油等の植物油、及びオレイン酸エチル等の注射可能な有機エステルである。水性担体としては、水、アルコール／水溶液、エマ

10

20

30

40

50

ルジョン又は懸濁液が挙げられ、生理食塩水及び緩衝媒体を含む。非経口ビヒクルには、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース、及び塩化ナトリウム、乳酸リンゲル、又は固定油が含まれる。静脈内ビヒクルには、流体及び栄養素補充剤、電解質補充剤（リンゲルデキストロースに基づくもの等）等が含まれる。例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート剤、及び不活性ガス等の防腐剤及び他の添加剤も存在し得る。

【0543】

組成物のいくつかは、塩酸、臭化水素酸、過塩素酸、硝酸、チオシアン酸、硫酸、及びリン酸等の無機酸、並びにギ酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、乳酸、ピルビン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、及びフマル酸等の有機酸との反応によって形成されるか、又は水酸化ナトリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カリウム等の無機塩基、並びにモノー、ジー、トリアルキル及びアリアルアミン及び置換エタノールアミン等の有機塩基との反応によって形成される、薬学的に許容される酸又は塩基付加塩として投与されることがある。

10

【0544】

投与は、単回又は複数回用量によって達成することができる。本開示の文脈において対象に投与される用量は、経時的に対象において有益な治療応答を誘導するか、又は感染を阻害若しくは予防するのに十分であるべきである。必要な用量は、対象の種、年齢、体重、及び全般的な状態、治療されている感染症の重症度、使用されている特定の組成物、並びにその投与様式に応じて、対象によって異なる。適切な用量は、日常的な実験のみを使用して、当業者によって決定することができる。

20

【0545】

薬学的に許容される担体

薬学的に許容される担体としては、生理食塩水、緩衝生理食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、及びそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。担体及び組成物は、無菌であり得、製剤は、投与様式に好適である。組成物はまた、少量の湿潤剤又は乳化剤、又はpH緩衝剤を含有することができる。組成物は、液体溶液、懸濁液、エマルジョン、錠剤、丸剤、カプセル剤、持続放出製剤、又は粉末であり得る。組成物は、従来の結合剤及びトリグリセリド等の担体を用いて坐剤として製剤化することができる。経口製剤は、薬学的グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、及び炭酸マグネシウム等の標準的な担体を含むことができる。滅菌生理食塩水溶液又はゴマ油等の一般的な薬学的担体のいずれかを使用することができる。媒体はまた、例えば、浸透圧、緩衝剤、防腐剤等を調整するための薬学的に許容される塩等の従来の薬学的補助材料を含有することができる。本明細書で提供される組成物及び方法で使用する他の媒体は、通常の生理食塩水及びゴマ油である。

30

【0546】

いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される担体及び／又はアジュバントを含む。例えば、アジュバントは、ミョウバン、フロイント完全アジュバント、生物学的アジュバント又は免疫刺激オリゴヌクレオチド（CpGオリゴヌクレオチド等）であり得る。

40

【0547】

本開示において有用な薬学的に許容される担体（ビヒクル）は、従来のものである。Remington's Pharmaceutical Sciences, by E. W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA, 15th Edition (1975) は、1つ以上のインフルエンザワクチン、並びに追加の薬剤等の1つ以上の治療用組成物の薬学的送達に好適な組成物及び製剤を記載している。

【0548】

概ね、担体の性質は、用いられる特定の投与様式に依存する。例えば、非経口製剤は通常、ビヒクルとしての、水、生理食塩水、平衡塩類溶液、水性デキストロース、グリセロ

50

ール等の薬学的及び生理学的に許容される流体を含む注射可能な流体を含む。固体組成物（例えば、粉末、丸剤、錠剤、又はカプセル形態）について、従来の非毒性固体担体は、例えば、薬学的グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、又はステアリン酸マグネシウムを含むことができる。生物学的に中性の担体に加えて、投与される医薬組成物は、湿潤剤若しくは乳化剤、防腐剤、及びpH緩衝剤等、例えば酢酸ナトリウム又はモノラウリン酸ナトリウム等の少量の非毒性補助物質を含有することができる。

【0549】

任意選択で、本発明のポリペプチド、核酸、又は組成物は、筋肉内投与される。

【0550】

任意選択で、本発明のポリペプチド、核酸又は組成物は、針又は遺伝子銃又はエレクトロポレーションによって筋肉内、皮内、皮下、投与されてもよい。

【0551】

本発明の実施形態は、添付の図面を参照して、単なる例として、ここで説明される。

【図面の簡単な説明】

【0552】

【図1】SARS S-タンパク質アーキテクチャを示す。

【図2】SARS-CoV-1分離株及び密接に関係するコウモリβコロナウイルス分離株を、4つのSARS-CoV-2分離株と比較するS-タンパク質（S1切断部位の周りの領域）の複数配列アラインメントを示す。

【図3】pEVAC DNAベクターのプラスミドマップを示す。

【図4】アミノ酸残基の差異がAY 274119_RBD (CoV_T2_5) (配列番号5) 及びEPI_ISL_402119_RBD (CoV_T2_6) (配列番号11) アミノ酸配列とのそれぞれのアラインメントから太字及び下線で強調表示された、Wuhan_Node1_RBD (CoV_T2_7) アミノ酸配列 (配列番号17) を示す。2つのアラインメントとの共通の差異は、灰色で強調表示されている。アミノ酸挿入が囲まれて示されている。

【図5】HEK293T細胞上で発現されるSARS-CoV-1又はSARS-CoV-2の完全長スパイクタンパク質に結合する抗体の用量応答曲線を示す。フローサイトメトリーベースの細胞ディスプレイアッセイは、MFI（蛍光強度中央値）で報告した。左側の図では、上から下の曲線は、SARS-CoV-1、DIOS-panSCoV、SARS-CoV2であり、右側の図では、上から下の曲線は、DIOS-panSCoV、SARS-CoV-1、SARS-CoV2である。

【図6】コロナウイルスSARSエンベロープタンパク質配列、及びその重要要素を示す。

【図7-1】NL63、229E、HKU1、MERS、SARS、及びSARS2の分離株の配列を比較するコロナウイルスエンベロープタンパク質配列の複数配列アラインメントを示す。

【図7-2】NL63、229E、HKU1、MERS、SARS、及びSARS2の分離株の配列を比較するコロナウイルスエンベロープタンパク質配列の複数配列アラインメントを示す。

【図7-3】NL63、229E、HKU1、MERS、SARS、及びSARS2の分離株の配列を比較するコロナウイルスエンベロープタンパク質配列の複数配列アラインメントを示す。

【図8】コロナウイルス膜(M)タンパク質配列の複数配列アラインメントを示し、CoV_M_T2_1 (Sarbeco_M_root) 及びCoV_M_T2_2 (Sarbeco_M_Node88b_epitope_optimised) に対して、SARS2参照配列 (分離株NC_045512.2) を比較する。

【図9】異なる完全長Sタンパク質遺伝子を有するマウスの免疫化後に回収されたマウス血清のSARS2 RBDへの (ELISAによる) 結合を示す。

【図10】SARS1スパイクタンパク質及びSARS2スパイクタンパク質に対する、

10

20

30

40

50

異なるDNAワクチンによるマウスの免疫化後に回収されたマウス血清のFACSによる結合を示す。

【図11-1】野生型SARS1又はSARS2スパイクタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードするDNAワクチンがSARS1及びSARS2偽型に対する中和応答を誘導する能力を示し、SARS2偽型中和抗体を誘導する唯一のSARS2免疫原は、SARS2 RBDをコードするDNAである。

【図11-2】野生型SARS1又はSARS2スパイクタンパク質（完全長、切断、又はRBD）をコードするDNAワクチンがSARS1及びSARS2偽型に対する中和応答を誘導する能力を示し、SARS2偽型中和抗体を誘導する唯一のSARS2免疫原は、SARS2 RBDをコードするDNAである。

【図12】SARS1及びSARS2 RBDタンパク質ワクチンがSARS2 RBDに対する抗体を誘導する能力を示す図である。

【図13】新しいRBD抗原設計を示す。

【図14】異なるSタンパク質RBD DNAワクチンの、SARS2 RBD-M7 DNAワクチンに対する抗体を誘導する能力が、野生型SARS2 RBD DNAワクチンよりもSARS2 RBDにより強い結合応答を誘導することを示す（図の左側の末端からの最上曲線はSARS__2 RBD__mut1（M7）についてであり、次の下の曲線はSARS__2 RBDについてである）。

【図15】M7及び野生型SARS2 RBD DNAワクチンによる免疫化後に回収された血清によるRBD-ACE2相互作用の阻害についての競合アッセイの結果を示し、その結果は、M7 RBD DNAワクチンが野生型RBD DNAワクチンよりも速い中和応答を誘発することを示す。

【図16-1】M7及び野生型SARS2 RBD DNAワクチンによって誘導されるSARS2偽型中和応答を示し、図16a）は免疫化マウスから2週目に採血し、図16b）は免疫化マウスから3週目に採血し、図16c）は免疫化マウスから4週目に採血し、M7は初期段階でより中和されている（図16a）、b）、c）の左端から一番上の曲線は、SARS2 RBD__mut1（M7）に対するものであり、下の次の曲線は、SARS__2 RBDに対するものである）。

【図16-2】M7及び野生型SARS2 RBD DNAワクチンによって誘導されるSARS2偽型中和応答を示し、図16a）は免疫化マウスから2週目に採血し、図16b）は免疫化マウスから3週目に採血し、図16c）は免疫化マウスから4週目に採血し、M7は初期段階でより中和されている（図16a）、b）、c）の左端から一番上の曲線は、SARS2 RBD__mut1（M7）に対するものであり、下の次の曲線は、SARS__2 RBDに対するものである）。

【図17】野生型SARS2 RBD DNAワクチン及びM7 SARS2 RBD DNAワクチンで免疫化したマウスから回収した血清のSARS2偽型中和IC₅₀値を示す。図17におけるドットは、個々のマウスについてのIC₅₀値を示し、水平クロスバーは、95%信頼区間で全てのマウスに基づく推定値を示す。

【図18】M7を発現する細胞の上清が、ACE2細胞侵入について他のACE2結合ウイルスと競合することを示す。

【図19】M7 SARS2 RBD DNAワクチンに対するT細胞応答を示すELISPOTアッセイの結果を示す。

【図20】Mタンパク質及びその重要要素の図を示す。

【図21】Sタンパク質RBD配列をコードするpEVACプラスミドでトランスフェクトされたHEK細胞に由来する上清のスペクトル重複（MALDI MS）を示す。

【図22】組換えRBDタンパク質のスペクトルを示す。

【図23】Sタンパク質のグリコシル化についての参照を提供する。

【図24】コロナウイルスワクチンpan-サルベコウイルスワクチンカバレッジを示す。Pan-サルベコウイルス保護：ヒトへの漏れ込みの恐れがあるBatSARScovを使用した、SARS-CoV-2（SARS2）、-1（SARS1）__及び多く

10

20

30

40

50

のACE2受容体を含むβ-コロナウイルス。ユニバーサルサルベコウイルスB細胞及びT細胞抗原標的によって達成された抗原性カバレッジ：パート1。SARS1及びSARS2クレードを有するサルベコウイルスは、ヒト又はコウモリ宿主種と共に強調表示されている。パート2。インサート内の予測されるエピトープの機械学習予測MHCクラスII結合（高くなると結合が強くなる）。より明るい灰色は、SARS2内に保存されたエピトープについて、より暗い灰色は、SARS1等の他のサルベコウイルスからグラフト化されたエピトープである。

【図25】異なるSARS-CoV-2バリエーションのマッピングを示す。全ての重要なバリエーションの含有リスト：ピンク色＝曝露変異；黒色＝挿入、黄色＝部分的に埋め込まれているか、又は完全に埋め込まれている、紫色＝細胞質尾部、青色＝RBD、小麦色＝NTD、

10

【図26】SARS-CoV-2の免疫優勢及び中和線形エピトープを示す。

【表65】

エピトープ	バリエーション	免疫優勢*
16～30	日本	はい
92～106		
139～153	英国、日本	
243～257		
406～420	日本、南アフリカ	
439～454		
455～499	日本、南アフリカ	はい
556～570	英国	はい
675～689	英国	
721～733		はい

20

試験は中国集団に限定される。VSVとしての発現ペプチド。

* G614に対するバリエーション

【図27】関心対象のバリエーション（UK、南アフリカ、及びブラジル）の変異、並びに免疫優勢エピトープの色付けされたテール及び赤色で示される変異を有する構造図を記載する表を含む。RBD－青色、NTD－小麦色。

【図28】本発明の実施形態によるスーパースパイクタンパク質のキメラ設計を説明する。

30

【図29】スパイクタンパク質の構造画像上の変異の位置を示す。

【図30-1】文献から取得されたデータを示し、最大の現在のバリエーションがRBM領域に変異を有し、RBDの他のエピトープが保存され、抗体がそれらに対し交差反応すること示す。囲みはRBMである。図D-上部はエントロピーの分布である。示されたサルベコウイルスでは、拡散が低下し、より良好に保存されている。この領域を標的とする全ての抗体は、交差中和を示す（白色の囲み）。黒色又は灰色の囲みは中和を示さない。

【図30-2】文献から取得されたデータを示し、最大の現在のバリエーションがRBM領域に変異を有し、RBDの他のエピトープが保存され、抗体がそれらに対し交差反応すること示す。囲みはRBMである。図D-上部はエントロピーの分布である。示されたサルベコウイルスでは、拡散が低下し、より良好に保存されている。この領域を標的とする全ての抗体は、交差中和を示す（白色の囲み）。黒色又は灰色の囲みは中和を示さない。

40

【図31-1】エピトープを特定するための、本発明のSタンパク質の設計にこれを含めるための、及びグリコシル化によって免疫応答を迂回させるための、構造情報の使用を示す。

【図31-2】エピトープを特定するための、本発明のSタンパク質の設計にこれを含めるための、及びグリコシル化によって免疫応答を迂回させるための、構造情報の使用を示す。

【図32】エピトープを特定するための、本発明のSタンパク質の設計にこれを含めるための、及びグリコシル化によって免疫応答を迂回させるための、構造情報の使用を示す。

50

図 3 2 において、N 1 - 系統学的最適化設計 (C o V _ S _ T 2 _ 1 3)。

【図 3 3】本発明の実施形態による設計を要約する。

【図 3 4 - 1】本発明の実施形態による設計について得られたデータを要約する。

【図 3 4 - 2】本発明の実施形態による設計について得られたデータを要約する。

【図 3 4 - 3】本発明の実施形態による設計について得られたデータを要約する。

【図 3 5 - 1】本発明の実施形態によるワクチンのイン・シリコ設計である。A. スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン (RBD) のタンパク質配列を使用して、サルベコウイルスについて生成された系統樹である。系統樹は、I Q - T r e e を使用して生成された。ヒトウイルスは緑色、パームシベットウイルスはピンク色、及びコウモリウイルスは暗灰色で表される。B. 抗体-RBD複合体の構造モデルである。抗体は、イラストとして表され、緑色及び橙色に色付けされ、RBDは、イラスト及び表面の両方及び色付けされたピンク色として表される。異なるエピトープ領域をA、B、及びCとしてラベル付けする。

10

【図 3 5 - 2】本発明の実施形態によるワクチンのイン・シリコ設計である。C. S A R S - 1 と S A R S - 2 の配列アラインメントである。非保存アミノ酸のみが示されている。エピトープCは黒色で囲まれている。

【図 3 6】A) 実施例 3 2 のワクチン設計 (C O V _ S _ T 2 _ 1 3 - 2 0) で免疫化されたマウスからの血清のウエスタンブロットを示す。B) 細胞表面発現採血 2 の抗体結合応答を示す。

【図 3 7 - 1】中和データである。A. ワクチン設計の配列アライメント (C O V _ S _ T 2 _ 1 3 - 1 8) である。エピトープは、色付きブロックとして強調表示される。設計間の異なるアミノ酸残基は、黒色で囲まれている。B. S A R S 1 偽型 (上部パネル) 及び S A R S 2 偽型 (下部パネル) に対するワクチン設計、S A R S - 1 RBD、及び S A R S - 2 RBD の中和曲線である。X 軸は、血清の希釈を表し、Y 軸は、観察された中和のパーセンテージを表す。プロットの各曲線は、個々のマウスを表す。

20

【図 3 7 - 2】中和データである。A. ワクチン設計の配列アライメント (C O V _ S _ T 2 _ 1 3 - 1 8) である。エピトープは、色付きブロックとして強調表示される。設計間の異なるアミノ酸残基は、黒色で囲まれている。B. S A R S 1 偽型 (上部パネル) 及び S A R S 2 偽型 (下部パネル) に対するワクチン設計、S A R S - 1 RBD、及び S A R S - 2 RBD の中和曲線である。X 軸は、血清の希釈を表し、Y 軸は、観察された中和のパーセンテージを表す。プロットの各曲線は、個々のマウスを表す。

30

【図 3 8】C O V _ S _ T 2 _ 1 7 (配列番号 3 1) の用量設定試験の試験プロトコルを示す。

【図 3 9 - 1】S A R S - C o V - 2 及び S A R S の RBD に対する抗体のレベルを決定するための E L I S A の結果を示す。パネル A (左) S A R S - C o V - 2 RBD でコーティングされたプレート。パネル B (右) S A R S RBD でコーティングされたプレート。

【図 3 9 - 2】S A R S - C o V - 2 及び S A R S の RBD に対する抗体のレベルを決定するための E L I S A の結果を示す。パネル A (左) S A R S - C o V - 2 RBD でコーティングされたプレート。パネル B (右) S A R S RBD でコーティングされたプレート。

40

【図 4 0 - 1】1 回の免疫化後の 2 8 日目のウイルス中和を示す (偽型微小中和又は p M N アッセイ)。パネル A (左) 1 回の用量の 2 8 日後の S A R S - C o V - 2 の抗体中和。パネル B (右) 1 回の用量の 2 8 日後の S A R S の抗体中和。

【図 4 0 - 2】1 回の免疫化後の 2 8 日目のウイルス中和を示す (偽型微小中和又は p M N アッセイ)。パネル A (左) 1 回の用量の 2 8 日後の S A R S - C o V - 2 の抗体中和。パネル B (右) 1 回の用量の 2 8 日後の S A R S の抗体中和。

【図 4 1 - 1】1 回目から 2 回目の免疫化後のウイルス中和応答の (群 1、2、及び 3 について) 比較を示す。パネル A (左 S A R S - C o V - 2) 2 回目の免疫化 (ブースト) の採血 2 (前) と 3 (後) との比較。パネル B (右 S A R S) 2 回目の免疫化 (ブースト)

50

）の採血 2（前）と 3（後）との比較。

【図 4 1－2】1 回目から 2 回目の免疫化後のウイルス中和応答の（群 1、2、及び 3 について）比較を示す。パネル A（左 SARS-CoV-2）2 回目の免疫化（ブースト）の採血 2（前）と 3（後）との比較。パネル B（右 SARS）2 回目の免疫化（ブースト）の採血 2（前）と 3（後）との比較。

【図 4 2－1】1 回目から 2 回目の免疫化後のウイルス中和応答の（群 4、5 及び 6 についての）比較を示す。パネル A（左 SARS-CoV-2）2 回目の免疫化（ブースト）の採血 2（前）と 3（後）との比較。パネル B（右 SARS）2 回目の免疫化（ブースト）の採血 2（前）と 3（後）との比較。

【図 4 2－2】1 回目から 2 回目の免疫化後のウイルス中和応答の（群 4、5 及び 6 についての）比較を示す。パネル A（左 SARS-CoV-2）2 回目の免疫化（ブースト）の採血 2（前）と 3（後）との比較。パネル B（右 SARS）2 回目の免疫化（ブースト）の採血 2（前）と 3（後）との比較。

【図 4 3】関心対象のバリエーションの中和を示す（B1.351（SA）及び B1.248（P1 BZ）は、T2_17 vs T2_8 で優れている）。

【発明を実施するための形態】

【0553】

本発明者らは、人獣共通リザーバからの将来の大流行を引き起こす可能性がある SARS-CoV-2 及び SARS-CoV-1 等のコロナウイルスに対して、保護するワクチンを開発した。本発明者らは、サルベコウイルス（すなわち、β-コロナウイルス、B 型）に対する免疫応答を誘導するための抗原を設計して、関連するコロナウイルスの現在のパンデミック及び将来の大流行に対して保護する。

【0554】

コロナウイルスワクチンの主要な懸念事項は、疾患の増強である（Tseng et al. (2012) 「Immunization with SARS Coronavirus Vaccines Leads to Pulmonary Immunopathology on Challenge with the SARS Virus」. PLoS ONE 7 (4) : e35421）。本発明者らは、抗体依存性増強（ADE）（又は ADE 様炎症誘発性応答）及び補体経路の過剰活性化を回避するために、本発明者等の抗原を修飾した。

【0555】

抗原をコードする DNA 配列は、pEVAC 等の DNA プラスミド発現ベクターに挿入する前に、哺乳動物細胞における発現のために最適化される。pEVAC ベクターは、柔軟性のあるワクチンプラットフォームであり、抗原の任意の組み合わせを挿入して、異なるワクチンを生成することができる。以前のバージョンを SARS-1 臨床試験で使用した（Martin et al, Vaccine 2008 25:633）。このプラットフォームは臨床的に証明され、GMP に準拠し迅速なスケールアップを可能にする。DNA ワクチンは、無痛のニードレス技術を使用して投与されて、患者の細胞に抗原を産生させることができ、これは免疫系によって認識されて、SARS-CoV-2 及び関連するコロナウイルスの将来の大流行に対する永続的な保護を誘導する。

【0556】

高親和性モノクローナル抗体は、SARS ウイルス感染症から動物を防御することができる（Traggiai, et al. 「An efficient method to make human monoclonal antibodies from memory B cells: potent neutralization of SARS coronavirus」. Nat Med 10, 871-875 (2004)），a robust antibody response in early infection in humans is associated with COVID-19 disease progression (Zhao et al, medRxiv: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02>

10

20

30

40

50

．20030189）。重要なことに、SARSによる霊長類の感染及び再燃からの回復後、肺病理は、ウイルスの限定された複製にもかかわらず、二次曝露するとより重症になった（Clay et al, 「Primary Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection Limits Replication but Not Lung Inflammation upon Homologous Rechallenge」, J Virol . 2012 Apr; 86 (8) : 4234-4244）。ワクチン接種後の感染に起因するワクチン誘導性抗体依存性増強（ADE）の有害作用の証拠が数を増している（Peoples, Avoiding pitfalls in the pursuit of a COVID-19 vaccine, PNAS April 14, 2020 117 (15) 8218-8221）。S-タンパク質に対する非中和抗体は、Fc受容体媒介取込みを介した代替感染経路を可能にし得る（Wan et al. Journal of Virology. 2020, 94 (5) : 1-13）。これら及び他の報告は、保護抗ウイルス効果を誘導するウイルス抗原構造と炎症誘発性応答を引き起こすものとを区別することの重要性を強調する。したがって、肺病理を増強することなく、ワクチン抗原の注意深い選択及び修飾、並びに保護抗ウイルス効果を誘導するワクチンベクターのタイプは、重要である。

10

【0557】

本明細書に記載のワクチン配列は、ADE（又はADE様炎症誘発性応答）からの安全性を提供し、また、将来のパンデミックの脅威となる、SARS-CoV-2、SARS、及び関連するコウモリサルベコウイルスコロナウイルスに拡張され得る免疫応答の幅を増加させる。

20

【0558】

本明細書に記載のワクチン配列によってコードされる抗原は、精密免疫原性を有し、ADE部位がなく、多用途であり、多数のワクチンベクター技術と適合性がある。DNA分子は、他のウイルス及び癌のための先行臨床試験において、又はエレクトロポレーション若しくは直接注射等の他のDNA送達によって免疫原性を実証した、PharmaJetのニードレス送達デバイスによって送達され得る。あるいは、ワクチンインサートは、他のウイルスベクター又はRNA送達プラットフォームに都合よく交換され得、これは、より大きな能力での生産のために、又は異なる特徴で免疫応答を誘導するために容易に規模拡大され得る。

30

【0559】

本発明者らは、ウイルスによって誘導される有害な免疫応答を回避するだけでなく、SARS-CoV-2、SARS-1、及び他の人獣共通サルベココロナウイルスについてのより広域の保護を提供する、非常に特異的な免疫応答を誘導するコロナウイルス抗原を設計した。複数の抗原のライブラリを使用することにより、本発明者らは、各クラス（例えば、RBD、E、及びMタンパク質）の最適な抗原構造の選択肢を狭めることができ、最良のクラスを組み合わせ、複数の標的に対するB-及びT細胞応答を動員することによって、コロナウイルスからの保護の幅を最大化することができる。

40

【0560】

50

【表 6 6 - 1】

配列番号の表

配列番号	説明	
1	AY274119(CoV_T1_1):完全長S-タンパク質	
2	配列番号1のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
3	AY274119_tr(CoV_T2_2):切断S-タンパク質	
4	配列番号3のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
5	AY274119_RBD(CoV_T2_5):RBD	
6	配列番号5のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
7	EPI_ISL_402119(CoV_T1_2):完全長S-タンパク質	
8	配列番号7のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
9	EPI_ISL_402119_tr(CoV_T2_3):切断S-タンパク質	10
10	配列番号9のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
11	EPI_ISL_402119_RBD(CoV_T2_6):RBD	
12	配列番号11のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
13	Wuhan_Node1(CoV_T2_1):完全長S-タンパク質	
14	配列番号13のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
15	Wuhan_Node1_tr(CoV_T2_4):切断S-タンパク質	
16	配列番号15のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
17	Wuhan_Node1_RBD(CoV_T2_7):RBD	
18	配列番号17のアミノ酸配列をコードする核酸配列	
19	pEVACマルチクローニングサイト(MCS)の配列	
20	pEVACの配列全体	
21	SARSエンベロープタンパク質のアミノ酸配列	
22	CoV_E_T2_1(設計されたサルベコウイルス配列)	20
23	CoV_E_T2_2(設計されたSARS2配列)	
24	CoV_M_T2_1/1-221 Sarbeco_M_root-Sarbecovirus root ancestor	
25	CoV_M_T2_2/1-222 Sarbeco_M_Node88b_epitope_optimised	
26	CoV_M_T1_1/1-222 NC_045512.2 SARS2参照配列	
27	CoV_S_T2_13(設計されたSタンパク質RBD配列)	
28	CoV_S_T2_14(設計されたSタンパク質RBD配列)	
29	CoV_S_T2_15(設計されたSタンパク質RBD配列)	
30	CoV_S_T2_16(設計されたSタンパク質RBD配列)	
31	CoV_S_T2_17(設計されたSタンパク質RBD配列)	
32	CoV_S_T2_18(設計されたSタンパク質RBD配列)	
33	設計されたSタンパク質RBD配列M7	
34	設計されたSタンパク質RBD配列M8	
35	設計されたSタンパク質RBD配列M9	
36	設計されたSタンパク質RBD配列M10	30
37	設計されたSタンパク質RBD配列M7をコードする核酸配列	
38	設計されたSタンパク質RBD配列M8をコードする核酸配列	
39	設計されたSタンパク質RBD配列M9をコードする核酸配列	

【0 5 6 1】

【表 6 6 - 2】

(上記表の続き)

配列番号	説明	
40	設計されたSタンパク質RBD配列M10をコードする核酸配列	
41	SARS2参照Eタンパク質配列	
42	COV__E__T2__3(SARS2__変異体)	
43	COV__E__T2__4(Env1__変異体)	
44	COV__E__T2__5(Env2__変異体)	
45	YP__009724397.2/1-419ヌクレオキャプシドホスホタンパク質[SARS-CoV-2](参照配列)	
46	COV__N__T2__1/1-418 Node1b 321-323 deleted	
47	COV__N__T2__2/1-417 epitope optimised 321-323 deleted	10
48	COV__M__T2__3	
49	COV__M__T2__4	
50	COV__M__T2__5	
51	「RalfRBDタンパク質」のアミノ酸配列(リーダー-RBD-タグ)	
52	株EPI_ISL_402130_Wuhanの完全長Sタンパク質のアミノ酸配列	
53	設計された完全長Sタンパク質COV__S__T2__29(「VOCキメラ」又は「Super__spike」)のアミノ酸配列	
54	それぞれ配列番号52の413及び987位に対応する410位及び984位(すなわち、G410C及びP984C)にシステイン残基を有する、設計された完全長Sタンパク質COV__S__T2__29のアミノ酸配列	
55	COV__S__T2__19(設計されたSタンパク質RBD配列)	
56	COV__S__T2__20(設計されたSタンパク質RBD配列)	
57	COV__S__T2__14及びCOV__S__T2__17に存在する不連続エピトープの残基(i): NITNLCPFGEVFNATK、	20
58	COV__S__T2__14及びCOV__S__T2__17に存在する不連続エピトープの残基(ii): KKISN、	
59	COV__S__T2__14及びCOV__S__T2__17に存在する不連続エピトープの残基(iii): NI、	
60	COV__S__T2__15及びCOV__S__T2__18に存在する不連続エピトープの残基(i): YNSTFFSTFKCYGVSPTKLNDLCFS、	
61	COV__S__T2__15及びCOV__S__T2__18に存在する不連続エピトープの残基(ii): DDFM、	
62	COV__S__T2__15及びCOV__S__T2__18に存在する不連続エピトープの残基(iii): FELLN、	
63	COV__S__T2__16に存在する不連続エピトープの残基(i): RGDEVQR、	
64	COV__S__T2__16に存在する不連続エピトープの残基(ii): TGKIADY、	
65	COV__S__T2__16に存在する不連続エピトープの残基(iii): YRLFRKSN、	
66	COV__S__T2__16に存在する不連続エピトープの残基(iv): YQAGST、	
67	COV__S__T2__16に存在する不連続エピトープの残基(v): FNCYFPLQSYGFQPTNGVGY	
68	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(i): NITNLCPFGEVFNATR	
69	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(ii): KRISN、	30
70	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(iii): NL、	
71	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(i): YNSTSFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT、	
72	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(ii): DDFT、	
73	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(ii): TGVIADY、	
74	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(iii): YRSLRKSK、	
75	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(iv): YSPGGK、	
76	COV__S__T2__13に存在する不連続エピトープの残基(v): FNCYYPLRSYGFFPTNGVGY	
77	COV__S__T2__17, 18に存在する不連続エピトープの残基(v): FNCYYPLRSYGFFPTNGTGY	
78-85	COV__S__T2__13-20をコードする核酸	

【実施例】

【0562】

実施例1-ワクチン配列

C o V S-タンパク質は、宿主細胞へのウイルス粒子の侵入に不可欠な三量体膜貫通糖タンパク質である。S-タンパク質は、2つのドメインを含み、S1ドメインは、ACE-2受容体結合に関与し、S2ドメインは、ウイルス膜及び細胞膜の融合に関与する。S-タンパク質は、免疫化の主な標的である。しかしながら、証拠は、特にSタンパク質のSARS-CoV感染の抗体依存性増強(ADE)を示し、感染及び免疫回避の増強、及び/又は結果として生じる炎症誘発性応答をもたらす。S-タンパク質は、抗体によって結合される非中和エピトープを含有する。この免疫転換は、免疫系が病原体を中和することができないため、疾患の進行の増強をもたらす。ADEはまた、宿主細胞への病原体

10

20

30

40

50

の感染性を増加させることがある。SARS-CoVの初期感染後に産生された中和抗体は、異なるSARS-CoV株による第2の感染に非中和性であり得る。

【0563】

SARS-CoVとSARS-CoV-2との間の高い遺伝的類似性は、S1及びS2ドメインの境界、並びにRBDを新規の設計足場にマッピングすることが可能であることを意味する。本出願人は、CoV__T2__1と呼ばれる(Wuhan__Node-1とも呼ばれる)Sタンパク質の新規配列を生成し、これはその免疫原性を改善するための修飾を含むものであり、また本出願人は、ADE(又はADE様炎症誘発性応答)に関与するエピトープを除去又はマスクした。

【0564】

この実施例は、完全長Sタンパク質、切断S-タンパク質(tr、S2 配列のC末端部分を欠く)、及び受容体結合ドメイン(RBD)のアミノ酸配列及び核酸配列を以下について提供する。

- ・SARS-TOR2分離株AY274119、
- ・SARS__CoV__2分離株-hCoV-19/Wuhan /LVDC-HB-01 /2019(EPI__ISL__402119)、及び
- ・「CoV__T2__1」と呼ばれる本発明の実施形態(又は「Wuhan__Node1」)。

【0565】

CoV__T2__1(Wuhan__Node1)配列は、CoV、特にβ-CoV、例えばSARS-CoV及びSARS-CoV-2によって引き起こされる疾患から保護するために広域中和免疫応答を誘導する有効なワクチンを提供するための修飾を含む。ワクチンはまた、ADE(又はADE様炎症誘発性応答)によってウイルス免疫回避及び疾患進行をもたらし得る非中和エピトープを欠いている。

【0566】

以下のアミノ酸及び核酸配列が、この実施例で提供される。

SARS-TOR2分離株AY274119:

>AY274119(CoV__T1__1):

完全長S-タンパク質(配列番号1)及び完全長S-タンパク質をコードする核酸(配列番号2)

>AY274119__tr(CoV__T2__2):

切断S-タンパク質(配列番号3)及び切断S-タンパク質をコードする核酸(配列番号4)

>AY274119__RBD(CoV__T2__5):

RBD(配列番号5)及びRBDをコードする核酸(配列番号6)

SARS__CoV__2分離株-hCoV-19/Wuhan /LVDC-HB-01 /2019(EPI__ISL__402119):

>EPI__ISL__402119(CoV__T1__2):

完全長S-タンパク質(配列番号7)及び完全長S-タンパク質をコードする核酸(配列番号8)

>EPI__ISL__402119__tr(CoV__T2__3):

切断S-タンパク質(配列番号9)及び切断S-タンパク質をコードする核酸(配列番号10)

>EPI__ISL__402119__RBD(CoV__T2__6):

RBD(配列番号11)及びRBDをコードする核酸(配列番号12)

本発明の実施形態による配列:CoV__T2__1(Wuhan__Node1)、CoV__T2__4(Wuhan__Node1__tr)、又はCoV__T2__7(Wuhan__Node1__RBD):

>Wuhan__Node1(CoV__T2__1):

完全長S-タンパク質(配列番号13)及び完全長S-タンパク質をコードする核酸(

10

20

30

40

50

配列番号 14)

>Wuhan__Node1__tr (CoV__T2__4) :

切断S-タンパク質 (配列番号 15) 及び切断S-タンパク質をコードする核酸 (配列番号 16)

>Wuhan__Node1__RBD (CoV__T2__7) :

RBD (配列番号 17) 及びRBDをコードする核酸 (配列番号 18)

>AY274119 (CoV__T1__1) (配列番号 1)

アミノ酸配列:

```

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

```

>AY274119 (CoV__T1__1) (配列番号 2)

核酸配列:

```

a t g t t t a t c t t t c t g c t g t t t c t g a c c c t g a c c a g c g g c
a g c g a c c t g g a t a g a t g c a c c a c c t t c g a c g a t g t g c a g g
c c c c t a a c t a c a c c c a g c a c a c c a g c t c t a t g c g g g g c g t
g t a c t a c c c c g a c g a g a t t t t c a g a a g c g a c a c c c t g t a t
c t g a c c c a g g a c c t g t t c c t g c c t t t c t a c a g c a a c g t g a
c c g g c t t c c a c a c c a t c a a c c a c a c c t t c g g c a a c c c t g t
g a t c c c c t t c a a g g a c g g c a t c t a c t t t g c c g c c a c c g a g
a a g t c c a a c g t c g t c a g a g g a t g g g t g t t c g g c a g c a c c a

```

t g a a c a a c a a g a g c c a g a g c g t g a t c a t c a t c a a c a a c a g
c a c c a a c g t g g t c a t c c g g g c c t g c a a c t t c g a g c t g t g c
g a c a a c c c a t t c t t c g c c g t g t c c a a g c c t a t g g g c a c c c
a g a c a c a c a c c a t g a t c t t c g a c a a c g c c t t c a a c t g c a c
c t t c g a g t a c a t c a g c g a c g c c t t c a g c c t g g a c g t g t c c
g a a a a g a g c g g c a a c t t c a a g c a c c t g a g g g a a t t c g t g t
t c a a g a a c a a g g a t g g c t t c c t g t a c g t g t a c a a g g g c t a
c c a g c c t a t c g a c g t c g t g c g g g a t c t g c c c a g c g g c t t c
a a t a c c c t g a a g c c t a t c t t c a a g c t g c c c c t g g g c a t c a
a c a t c a c c a a c t t c a g a g c c a t c c t g a c c g c t t t c a g c c c
c g c t c a g g a t a t c t g g g g a a c a a g c g c c g c t g c c t a c t t c
g t g g g c t a c c t g a a g c c a a c c a c c t t c a t g c t g a a g t a c g
a c g a g a a c g g c a c c a t c a c c g a c g c c g t g g a c t g t a g c c a
a a a t c c t c t g g c c g a g c t g a a g t g c a g c g t g a a g t c c t t c
g a g a t c g a c a a g g g c a t c t a c c a g a c c a g c a a t t t c a g a g
t g g t g c c c t c c g g g g a t g t c g t g c g g t t c c c c a a c a t c a c
a a a t c t g t g c c c c t t c g g c g a g g t g t t c a a c g c c a c c a a g
t t t c c c t c t g t g t a c g c c t g g g a g c g c a a a a a g a t c a g c a
a c t g c g t g g c c g a c t a c a g c g t g c t g t a c a a c t c c a c c t t
c t t c a g c a c c t t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c g c c a c a a a g
c t g a a c g a c c t g t g c t t c t c c a a c g t g t a c g c c g a c a g c t
t c g t g g t c a a a g g c g a c g a c g t t c g g c a g a t t g c c c c t g g
a c a a a c a g g c g t g a t c g c c g a t t a c a a c t a c a a g c t g c c t
g a c g a c t t c a t g g g c t g c g t g c t g g c c t g g a a c a c c a g a a
a c a t c g a t g c c a c c t c c a c c g g c a a c t a c a a t t a c a a g t a
c a g a t a c c t g c g g c a c g g c a a g c t g c g g c c t t t c g a g a g g
g a t a t c a g c a a t g t g c c t t t t a g c c c c g a c g g c a a g c c c t
g c a c a c c t c c t g c t c t g a a t t g c t a c t g g c c c c t g a a c g a
c t a c g g c t t t t a c a c c a c c a c a c a g g c a t c g g c t a t c a g c c c
t a t a g a g t g g t g g t c c t g t c c t t t g a g c t g c t g a a t g c c c
c t g c c a c a g t g t g c g g a c c t a a g c t g t c t a c c g a c c t g a t
c a a g a a c c a g t g c g t g a a c t t c a a c t t c a a c g g c c t g a c c
g g c a c c g g c g t g c t g a c a c c a a g c a g c a a g a g a t t c c a g c
c t t t c c a g c a g t t c g g c c g g g a t g t g t c c g a c t t c a c a g a
c a g c g t c a g a g a t c c c a a g a c c a g c g a g a t c c t g g a c a t c
a g c c c t t g t g c c t t t g g c g g a g t g t c c g t g a t c a c c c c t g
g c a c a a a t g c c t c t a g c g a a g t g g c c g t g c t g t a t c a g g a
c g t g a a c t g c a c c g a t g t g t c c a c c g c c a t t c a c g c c g a t
c a g c t g a c t c c c g c t t g g c g g a t c t a t a g c a c a g g c a a c a
a c g t g t t c c a g a c a c a a g c c g g c t g t c t g a t c g g a g c c g a
g c a t g t g g a t a c c a g c t a c g a g t g c g a c a t c c c t a t c g g c
g c t g g c a t c t g t g c c t c t t a c c a c a c c g t g t c t c t g c t g c
g g a g c a c c a g c c a g a a a t c c a t c g t g g c c t a c a c c a t g a g
c c t g g g c g c c g a t t c t t c t a t c g c c t a c t c c a a c a a c a c a
a t c g c t a t c c c c a c c a a t t t c a g c a t c t c c a t c a c c a c c g
a a g t g a t g c c c g t g t c c a t g g c c a a g a c c t c c g t g g a t t g
c a a c a t g t a c a t c t g c g g c g a c a g c a c c g a g t g c g c c a a t
c t g c t g c t c c a g t a c g g c a g c t t c t g c a c c c a g c t g a a t a
g a g c c c t g t c t g g a a t t g c c g c c g a g c a g g a c a g a a a c a c
c a g a g a a g t g t t c g c c c a a g t g a a g c a g a t g t a t a a g a c c

10

20

30

40

50

c c g a c a c t c a a g t a c t t c g g c g g g t t c a a c t t c t c c c a g a
t c c t g c c t g a t c c t c t g a a g c c c a c c a a g c g g a g c t t c a t
c g a g g a c c t g c t g t t c a a c a a a g t g a c c c t g g c c g a c g c c
g g c t t t a t g a a g c a g t a t g g c g a g t g c c t g g g c g a c a t c a
a c g c c a g g g a t c t g a t t t g c g c c c a g a a g t t t a a c g g a c t
g a c c g t g c t g c c t c c t c t g c t g a c c g a t g a t a t g a t c g c c
g c c t a c a c a g c c g c t c t g g t g t c t g g t a c a g c t a c c g c c g
g a t g g a c a t t t g g a g c t g g c g c c g c t c t c c a g a t t c c a t t
c g c t a t g c a g a t g g c c t a c c g g t t c a a c g g c a t c g g a g t g
a c c c a g a a t g t g c t g t a c g a g a a t c a g a a g c a g a t c g c c a
a t c a g t t c a a c a a g g c c a t c a g c c a g a t c c a a g a g a g c c t
g a c c a c c a c a a g c a c a g c c c t g g g a a a g c t c c a g g a c g t g
g t c a a c c a g a a t g c t c a g g c c c t g a a c a c c c t g g t c a a g c
a g c t g a g c a g c a a c t t c g g c g c c a t c a g c t c c g t g c t g a a
t g a c a t c c t g a g c c g g c t g g a c a a g g t g g a a g c a g a g g t g
c a g a t c g a c c g g c t g a t c a c a g g c a g a c t c c a g a g c c t c c
a g a c c t a c g t g a c a c a g c a g c t g a t c a g a g c c g c c g a g a t
t a g a g c c t c t g c c a a t c t g g c c g c c a c c a a a a t g a g c g a g
t g t g t c c t g g g c c a g a g c a a g a g a g t g g a c t t t t g c g g c a
a g g g c t a t c a c c t g a t g a g c t t c c c a c a g g c c g c t c c t c a
t g g c g t g g t c t t t c t g c a c g t g a c a t a c g t g c c c a g c c a a
g a g a g a a a c t t c a c c a c c g c t c c a g c c a t c t g c c a c g a g g
g c a a a g c c t a c t t t c c c a g a g a a g g c g t g t t c g t g t t t a a
c g g c a c c t c c t g g t t t a t c a c c c a g c g g a a t t t c t t c a g c
c c g c a a a t c a t c a c c a c a g a c a a c a c c t t c g t g t c c g g c a
a c t g t g a c g t c g t g a t c g g c a t c a t t a a c a a t a c c g t g t a
c g a c c c t c t c c a g c c t g a g c t g g a c a g c t t c a a a g a g g a a
c t g g a t a a g t a c t t c a a g a a t c a c a c g a g c c c c g a t g t g g
a c c t g g g c g a t a t c t c t g g c a t c a a t g c c a g c g t c g t g a a
c a t c c a g a a a g a g a t t g a c a g g c t g a a c g a g g t g g c c a a g
a a c c t g a a c g a g t c c c t g a t c g a c c t g c a a g a g c t g g g g a
a g t a c g a g c a g t a c a t c a a g t g g c c t t g g t a c g t g t g g c t
g g g c t t t a t c g c c g g a c t g a t c g c c a t c g t g a t g g t c a c c
a t c c t g c t g t g c t g c a t g a c c a g c t g t t g c a g c t g t c t g a
a g g g c g c c t g t a g c t g t g g c t c c t g c t g c a a g t t c g a t g a
g g a c g a c t c t g a g c c a g t g c t g a a a g g c g t g a a g c t g c a c
t a c a c c

> AY274119 __tr (CoV __T2 __2) (配列番号3)

アミノ酸配列:

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

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

10

> AY274119__tr (CoV__T2__2) (配列番号4)

核酸配列：

20

a t g t t t a t c t t t c t g c t g t t t c t g a c c c t g a c c a g c g g c
a g c g a c c t g g a t a g a t g c a c c a c c t t c g a c g a t g t g c a g g
c c c c t a a c t a c a c c c a g c a c a c c a g c t c t a t g c g g g g c g t
g t a c t a c c c c g a c g a g a t t t t c a g a a g c g a c a c c c t g t a t
c t g a c c c a g g a c c t g t t c c t g c c t t t c t a c a g c a a c g t g a
c c g g c t t c c a c a c c a t c a a c c a c a c c t t c g g c a a c c c t g t
g a t c c c c t t c a a g g a c g g c a t c t a c t t t g c c g c c a c c g a g
a a g t c c a a c g t c g t c a g a g g a t g g g t g t t c g g c a g c a c c a
t g a a c a a c a a g a g c c a g a g c g t g a t c a t c a t c a a c a a c a g
c a c c a a c g t g g t c a t c c g g g c c t g c a a c t t c g a g c t g t g c
g a c a a c c c a t t c t t c g c c g t g t c c a a g c c t a t g g g c a c c c
a g a c a c a c a c c a t g a t c t t c g a c a a c g c c t t c a a c t g c a c
c t t c g a g t a c a t c a g c g a c g c c t t c a g c c t g g a c g t g t c c
g a a a a g a g c g g c a a c t t c a a g c a c c t g a g g g a a t t c g t g t
t c a a g a a c a a g g a t g g c t t c c t g t a c g t g t a c a a g g g c t a
c c a g c c t a t c g a c g t c g t g c g g g a t c t g c c c a g c g g c t t c
a a t a c c c t g a a g c c t a t c t t c a a g c t g c c c c t g g g c a t c a
a c a t c a c c a a c t t c a g a g c c a t c c t g a c c g c t t t c a g c c c
c g c t c a g g a t a t c t g g g g a a c a a g c g c c g c t g c c t a c t t c
g t g g g c t a c c t g a a g c c a a c c a c c t t c a t g c t g a a g t a c g
a c g a g a a c g g c a c c a t c a c c g a c g c c g t g g a c t g t a g c c a
a a a t c c t c t g g c c g a g c t g a a g t g c a g c g t g a a g t c c t t c
g a g a t c g a c a a g g g c a t c t a c c a g a c c a g c a a t t t c a g a g
t g g t g c c c t c c g g g g a t g t c g t g c g g t t c c c c a a c a t c a c
a a a t c t g t g c c c c t t c g g c g a g g t g t t c a a c g c c a c c a a g
t t t c c c t c t g t g t a c g c c t g g g a g c g c a a a a a g a t c a g c a
a c t g c g t g g c c g a c t a c a g c g t g c t g t a c a a c t c c a c c t t
c t t c a g c a c c t t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c g c c a c a a a g
c t g a a c g a c c t g t g c t t c t c c a a c g t g t a c g c c g a c a g c t
t c g t g g t c a a a g g c g a c g a c g t t c g g c a g a t t g c c c c t g g

30

40

50

a c a a a c a g g c g t g a t c g c c g a t t a c a a c t a c a a g c t g c c t
g a c g a c t t c a t g g g c t g c g t g c t g g c c t g g a a c a c c a g a a
a c a t c g a t g c c a c c t c c a c c g g c a a c t a c a a t t a c a a g t a
c a g a t a c c t g c g g c a c g g c a a g c t g c g g c c t t t c g a g a g g
g a t a t c a g c a a t g t g c c t t t t a g c c c c g a c g g c a a g c c c t
g c a c a c c t c c t g c t c t g a a t t g c t a c t g g c c c c t g a a c g a
c t a c g g c t t t t a c a c c a c c a c a g g c a t c g g c t a t c a g c c c
t a t a g a g t g g t g g t c c t g t c c t t t g a g c t g c t g a a t g c c c
c t g c c a c a g t g t g c g g a c c t a a g c t g t c t a c c g a c c t g a t
c a a g a a c c a g t g c g t g a a c t t c a a c t t c a a c g g c c t g a c c
g g c a c c g g c g t g c t g a c a c c a a g c a g c a a g a g a t t c c a g c
c t t t c c a g c a g t t c g g c c g g g a t g t g t c c g a c t t c a c a g a
c a g c g t c a g a g a t c c c a a g a c c a g c g a g a t c c t g g a c a t c
a g c c c t t g t g c c t t t g g c g g a g t g t c c g t g a t c a c c c c t g
g c a c a a a t g c c t c t a g c g a a g t g g c c g t g c t g t a t c a g g a
c g t g a a c t g c a c c g a t g t g t c c a c c g c c a t t c a c g c c g a t
c a g c t g a c t c c c g c t t g g c g g a t c t a t a g c a c a g g c a a c a
a c g t g t t c c a g a c a c a a g c c g g c t g t c t g a t c g g a g c c g a
g c a t g t g g a t a c c a g c t a c g a g t g c g a c a t c c c t a t c g g c
g c t g g c a t c t g t g c c t c t t a c c a c a c c g t g t c t c t g c t g c
g g a g c a c c a g c c a g a a a t c c a t c g t g g c c t a c a c c a t g a g
c c t g g g c g c c g a t t c t t c t a t c g c c t a c t c c a a c a a c a c a
a t c g c t a t c c c c a c c a a t t t c a g c a t c t c c a t c a c c a c c g
a a g t g a t g c c c g t g t c c a t g g c c a a g a c c t c c g t g g a t t g
c a a c a t g t a c a t c t g c g g c g a c a g c a c c g a g t g c g c c a a t
c t g c t g c t c c a g t a c g g c a g c t t c t g c a c c c a g c t g a a t a
g a g c c c t g t c t g g a a t t g c c g c c g a g c a g g a c a g a a a c a c
c a g a g a a g t g t t c g c c c a a g t g a a g c a g a t g t a t a a g a c c
c c g a c a c t c a a g t a c t t c g g c g g g t t c a a c t t c t c c c a g a
t c c t g c c t g a t c c t c t g a a g c c c a c c a a g c g g a g c t t c a t
c g a g g a c c t g c t g t t c a a c a a a g t g a c c c t g g c c g a c g c c
g g c t t t a t g a a g c a g t a t g g c g a g t g c c t g g g c g a c a t c a
a c g c c a g g g a t c t g a t t t g c g c c c a g a a g t t t a a c g g a c t
g a c c g t g c t g c c t c c t c t g c t g a c c g a t g a t a t g a t c g c c
g c c t a c a c a g c c g c t c t g g t g t c t g g t a c a g c t a c c g c c g
g a t g g a c a t t t g g a g c t g g c g c c g c t c t c c a g a t t c c a t t
c g c t a t g c a g a t g g c c t a c c g g t t c a a c g g c a t c g g a g t g
a c c c a g a a t g t g c t g t a c g a g a a t c a g a a g c a g a t c g c c a
a t c a g t t c a a c a a g g c c a t c a g c c a g a t c c a a g a g a g c c t
g a c c a c c a c a a g c a c a g c c c t g g g a a a g c t c c a g g a c g t g
g t c a a c c a g a a t g c t c a g g c c c t g a a c a c c c t g g t c a a g c
a g c t g a g c a g c a a c t t c g g c g c c a t c a g c t c c g t g c t g a a
t g a c a t c c t g a g c c g g c t g g a c a a g g t g g a a g c a g a g g t g
c a g a t c g a c c g g c t g a t c a c a g g c a g a c t c c a g a g c c t c c
a g a c c t a c g t g a c a c a g c a g c t g a t c a g a g c c g c c g a g a t
t a g a g c c t c t g c c a a t c t g g c c g c c a c c a a a a t g a g c g a g
t g t g t c c t g g g c c a g a g c a a g a g a g t g g a c t t t t g c g g c a
a g g g c t a t c a c c t g a t g a g c t t c c c a c a g g c c g c t c c t c a
t g g c g t g g t c t t t c t g c a c g t g a c a t a c g t g c c c a g c c a a
g a g a g a a a c t t c a c c a c c g c t c c a g c c a t c t g c c a c g a g g

10

20

30

40

50

g c a a a g c c t a c t t t c c c a g a g a a g g c g t g t t c g t g t t t a a
 c g g c a c c t c c t g g t t t a t c a c c c a g c g g a a t t t c t t c a g c
 c c g c a a a t c a t c a c c a c a g a c a a c a c c t t c g t g t c c g g c a
 a c t g t g a c g t c g t g a t c g g c a t c a t t a a c a a t a c c g t g t a
 c g a c c c t c t c c a g c c t g a g c t g g a c a g c t t c a a a g a g g a a
 c t g g a t a a g t a c t t c a a g a a t c a c a c g a g c c c c g a t g t g g
 a c c t g g g c g a t a t c t c t

> A Y 2 7 4 1 1 9 _ R B D (C o V _ T 2 _ 5) (配 列 番 号 5)

アミノ酸配列：

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

10

> A Y 2 7 4 1 1 9 _ R B D (C o V _ T 2 _ 5) (配 列 番 号 6)

核酸配列：

a g a g t g g t g c c c t c c g g g g a t g t c g t g c g g t t c c c c a a c
 a t c a c a a a t c t g t g c c c c t t c g g c g a g g t g t t c a a c g c c a
 c c a a g t t t c c c t c t g t g t a c g c c t g g g a g c g c a a a a a g a t
 c a g c a a c t g c g t g g c c g a c t a c a g c g t g c t g t a c a a c t c c
 a c c t t c t t c a g c a c c t t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c g c c a
 c a a a g c t g a a c g a c c t g t g c t t c t c c a a c g t g t a c g c c g a
 c a g c t t c g t g g t c a a a g g c g a c g a c g t t c g g c a g a t t g c c
 c c t g g a c a a a c a g g c g t g a t c g c c g a t t a c a a c t a c a a g c
 t g c c t g a c g a c t t c a t g g g c t g c g t g c t g g c c t g g a a c a c
 c a g a a a c a t c g a t g c c a c c t c c a c c g g c a a c t a c a a t t a c
 a a g t a c a g a t a c c t g c g g c a c g g c a a g c t g c g g c c t t t c g
 a g a g g g a t a t c a g c a a t g t g c c t t t t a g c c c c g a c g g c a a
 g c c c t g c a c a c c t c c t g c t c t g a a t t g c t a c t g g c c c c t g
 a a c g a c t a c g g c t t t t a c a c c a c c a c a g g c a t c g g c t a t c
 a g c c c t a t a g a g t g g t g g t c c t g t c c t t t g a g c t g c t g a a
 t g c c c c t g c c a c a g t g t g c g g a c c t a a g c t g t c t a c c g a c

20

30

A Y 2 7 4 1 1 9 (完全長Sタンパク質アミノ酸配列、太字で示されているRBD残基、及び下線で示されている切断Sタンパク質には存在しない残基を有する)

【 0 5 6 7 】

40

50

【表 6 7】

MFIFLLFLTL	TSGSDLDRCT	TFDDVQAPNY	TQHTSSMRGV	YYPDEIFRSD	TLYLTQDLFL	60
PFYSNVTGFH	TINHTFGNPV	IPFKDGIYFA	ATEKSNVVRG	WVFGSTMNNK	SQSVIIINNS	120
TNVVIRACNF	ELCDNPFFAV	SKPMGTQHT	MIFDNAFNCT	FEYISDAFSL	DVSEKSGNFK	180
HLREFVFNK	DGFLYVYKGY	QPIDVVRDLP	SGFNLTLPKF	KLPLGINITN	FRAILTAFSP	240
AQDIWGTSA	AYFVGYLKPT	TFMLKYDENG	TITDAVDCSQ	NPLAELKCSV	KSFEIDKGIY	300
QTSNFRVVP	GDVVRFPNIT	NLCPFGEVFN	ATKFPVYAW	ERKKISNCVA	DYSVLYNSTF	360
FSTFKCYGVS	ATKLNLCFS	NVYADSFVVK	GDDVRQIAPG	QTGVIADYNY	KLPDDFMGCV	420
LAWNTRNIDA	TSTGNYNYKY	RYLRHGKLRP	FERDISNVFF	SPDGKPCPPP	ALNCYWPLND	480
YGFYTTTGIG	YQPYRVVLS	FELNAPATV	CGPKLSTDLI	KNQCVNFNFN	GLTGTGVLTTP	540
SSKRFQPFQ	FGRDVSDFTD	SVRDPKTSEI	LDISPCAFGG	VSVITPGTNA	SSEVAVLYQD	600
VNCTDVSTAI	HADQLTPAWR	IYSTGNNVFQ	TQAGCLIGAE	HVDTSYECDI	PIGAGICASY	660
HTVSLLRSTS	QKSIVAYTMS	LGADSSIAYS	NNTIAIPTNF	SISITTEVMP	VMAKTSVDC	720
NMYICGDSTE	CANLLQYGS	FCTQLNRALS	GIAAEQDRNT	REVFAQVKQM	YKTPTLKYFG	780
GFNFSQLPD	PLKPTKRSFI	EDLLFNKVTL	ADAGFMKQYG	ECLGDINARD	LICAQKFNGL	840
TVLPPLLTDD	MIAAYTAALV	SGTATAGWTF	GAGAALQIPF	AMQMAYRFNG	IGVTQNVLYE	900
NQKQIANQFN	KAISQIQESL	TTTSTALGKL	QDVVNQNAQA	LNTLVKQLSS	NFGAIVSSVLN	960
DILSRDLKVE	AEVQIDRLIT	GRLQSLQTYV	TQQLIRAAEI	RASANLAATK	MSECVLGQSK	1020
RVDFCGKGYH	LMSFPQAAPH	GVVFLHVTYV	PSQERNFTTA	PAICHEGKAY	FPREGVFVFN	1080
GTSWFITQRN	FFSPQIITTD	NTFVSGNCDV	VIGIINNTVY	DPLQPELDSF	KEELDKYFKN	1140
HTSPDVLGD	ISGINASVVN	IQKEIDRLNE	VAKNLNESLI	DLQELGKYEQ	YIKWPWYVWL	1200
GFIAGLIAIV	MVTILLCCMT	SCCSCLKGAC	SCGSCCKFDE	DDSEPVLKGV	KLHYT	1255

10

> EPI __ ISL __ 402119 (CoV __ T1 __ 2) (配列番号 7)

20

アミノ酸配列：

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYP
 DKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFAIHVSGTNGTKRF
 DNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIIRGWIFGTTLDSTKQSLLI
 VNNATNVVIKVFCEFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRV
 YSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDG
 YFKIYSKHTPINLVRLDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQ
 TLLALHRSYLTTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKY
 NENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFR
 VQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNA TRFASVYAWNKRIS
 NCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNLCFTNVYADS
 FVIRGDEVVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN
 NLDISKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIIYQAGSTP
 CNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSEFLLH
 APATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKF
 LPFQQFGRDIAADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVIT
 PGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTG
 SNVFQTRAGCLIGAEHVNNSEYECDIPIGAGICASYQTQTN
 SPRRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNNSIAIPTNFT
 ISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSSTEC SNLLQYGSF
 CTQLNRLALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGG
 FNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGD
 CLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPLPLLTDEMIAQYTSALLA
 GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN
 QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSSTASALGKLQDVVNQNAQAL
 NTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITG
 RLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKR
 VDFCGKGYHLMSPQSA PHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAP
 AICHHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDN
 T FVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNH

30

40

50

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

> EPI __ ISL __ 402119 (CoV __ T1 __ 2) (配列番号 8)

核酸配列：

```

a t g t t c g t g t t t c t g g t g c t g c t g c c t c t g g t g t c c a g c
c a g t g t g t g a a c c t g a c c a c c a g a a c a c a g c t g c c t c c a g
c c t a c a c c a a c a g c t t t a c c a g a g g c g t g t a c t a c c c c g a
c a a g g t g t t c a g a t c c a g c g t g c t g c a c t c t a c c c a g g a c
c t g t t c c t g c c t t t c t t c a g c a a c g t g a c c t g g t t c c a c g
c c a t c c a c g t g t c c g g c a c c a a t g g c a c c a a g a g a t t c g a
c a a c c c c g t g c t g c c c t t c a a c g a c g g g g t g t a c t t t g c c
a g c a c c g a g a a g t c c a a c a t c a t c a g a g g c t g g a t c t t c g
g c a c c a c a c t g g a c a g c a a g a c c c a g a g c c t g c t g a t c g t
g a a c a a c g c c a c c a a c g t g g t c a t c a a a g t g t g c g a g t t c
c a g t t c t g c a a c g a c c c c t t c c t g g g c g t c t a c t a c c a c a
a g a a c a a c a a g a g c t g g a t g g a a a g c g a g t t c c g g g t g t a
c a g c a g c g c c a a c a a c t g c a c c t t c g a g t a c g t g t c c c a g
c c t t t c c t g a t g g a c c t g g a a g g c a a g c a g g g c a a c t t c a
a g a a c c t g c g c g a g t t c g t g t t c a a g a a c a t c g a c g g c t a
c t t c a a a a t c t a c a g c a a g c a c a c c c c t a t c a a c c t c g t g
c g g g a t c t g c c t c a g g g c t t c t c t g c t c t g g a a c c c c t g g
t g g a t c t g c c c a t c g g c a t c a a c a t c a c c c g g t t t c a g a c
a c t g c t g g c c c t g c a c a g a a g c t a c c t g a c a c c t g g c g a t
a g c a g c a g c g g a t g g a c a g c t g g t g c c g c c g c t t a c t a c g
t g g g a t a c c t c c a g c c a a g a a c c t t c c t g c t g a a g t a c a a
c g a g a a c g g c a c c a t c a c c g a c g c c g t g g a t t g t g c t c t g
g a c c c t c t g a g c g a g a c a a a g t g c a c c c t g a a g t c c t t c a
c c g t g g a a a a g g g c a t c t a c c a g a c c a g c a a c t t c c g g g t
g c a g c c c a c c g a a t c c a t c g t g c g g t t c c c c a a t a t c a c c
a a t c t g t g c c c c t t c g g c g a g g t g t t c a a t g c c a c c a g a t
t c g c c t c t g t g t a c g c c t g g a a c c g g a a g c g g a t c a g c a a
t t g c g t g g c c g a c t a c t c c g t g c t g t a c a a c t c c g c c a g c
t t c a g c a c c t t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c c c t a c c a a g c
t g a a c g a c c t g t g c t t c a c a a a c g t g t a c g c c g a c a g c t t
c g t g a t c c g g g g a g a t g a a g t g c g g c a g a t t g c c c c t g g a
c a g a c a g g c a a g a t c g c c g a c t a c a a c t a c a a g c t g c c c g
a c g a c t t c a c c g g c t g t g t g a t t g c c t g g a a c a g c a a c a a
c c t g g a c t c c a a a g t c g g c g g c a a c t a c a a t t a c c t g t a c
c g g c t g t t c c g g a a g t c c a a t c t g a a g c c c t t c g a g c g g g
a c a t c a g c a c c g a a a t c t a t c a g g c c g g c a g c a c c c c t t g
c a a c g g c g t g g a a g g c t t c a a c t g c t a c t t c c c a c t g c a a
a g c t a c g g c t t t c a g c c c a c a a a t g g c g t g g g c t a c c a g c
c t t a c a g a g t g g t g g t g c t g a g c t t c g a g c t g c t g c a t g c
t c c t g c c a c a g t g t g c g g c c c t a a g a a a t c c a c c a a t c t c
g t g a a g a a c a a a t g c g t g a a c t t c a a c t t c a a c g g c c t g a
c c g g c a c c g g c g t g c t g a c a g a g a g c a a c a a g a a g t t c c t
g c c a t t c c a g c a g t t c g g c c g g g a t a t c g c c g a t a c c a c a
g a t g c c g t c a g a g a t c c c c a g a c a c t g g a a a t c c t g g a c a
t c a c c c c a t g c a g c t t c g g c g g a g t g t c t g t g a t c a c c c c

```

10

20

30

40

50

t g g c a c c a a c a c c a g c a a t c a g g t g g c a g t g c t g t a c c a g
g a c g t g a a c t g t a c c g a a g t g c c c g t g g c c a t t c a c g c c g
a t c a g c t g a c a c c t a c a t g g c g g g t g t a c t c c a c c g g c a g
c a a t g t g t t t c a g a c c a g a g c c g g c t g t c t g a t c g g a g c c
g a g c a c g t g a a c a a t a g c t a c g a g t g c g a c a t c c c c a t c g
g c g c t g g c a t c t g c g c c t c t t a c c a g a c a c a g a c a a a c a g
c c c c a g a c g g g c t a g a a g c g t g g c c a g c c a g a g c a t c a t t
g c c t a c a c a a t g t c t c t g g g c g c c g a g a a c a g c g t g g c c t
a c t c c a a c a a c t c t a t c g c t a t c c c c a c c a a c t t c a c c a t
c a g c g t g a c c a c c g a g a t c c t g c c t g t g t c c a t g a c c a a g
a c c a g c g t g g a c t g c a c c a t g t a c a t c t g c g g c g a t t c c a
c c g a g t g c t c c a a c c t g c t g c t c c a g t a c g g c a g c t t c t g
c a c c c a g c t g a a t a g a g c c c t g a c a g g g a t c g c c g t g g a a
c a g g a c a a g a a c a c c c a a g a g g t g t t c g c c c a a g t g a a g c
a a a t c t a c a a g a c c c c t c c t a t c a a g g a c t t c g g c g g c t t
c a a t t t c a g c c a g a t t c t g c c c g a t c c t a g c a a g c c c a g c
a a g c g g a g c t t c a t c g a g g a c c t g c t g t t c a a c a a a g t g a
c a c t g g c c g a c g c c g g c t t c a t c a a g c a g t a c g g c g a t t g
t c t g g g c g a c a t t g c c g c c a g g g a t c t g a t t t g c g c c c a g
a a g t t t a a c g g a c t g a c a g t g c t g c c t c c t c t g c t g a c c g
a t g a g a t g a t c g c c c a g t a c a c a t c t g c c c t g c t g g c c g g
c a c a a t c a c a a g c g g c t g g a c a t t t g g a g c t g g c g c c g c t
c t c c a g a t t c c a t t c g c t a t g c a g a t g g c c t a c c g g t t c a
a c g g c a t c g g a g t g a c c c a g a a t g t g c t g t a c g a g a a c c a
g a a g c t g a t c g c c a a c c a g t t c a a c a g c g c c a t c g g c a a g
a t c c a g g a c a g c c t g a g c a g c a c a g c a a g c g c c c t g g g a a
a g c t c c a g g a c g t c g t g a a c c a g a a t g c c c a g g c a c t g a a
c a c c c t g g t c a a g c a g c t g t c c t c c a a c t t c g g c g c c a t c
a g c t c t g t g c t g a a c g a t a t c c t g a g c a g a c t g g a c a a g g
t g g a a g c c g a g g t g c a g a t c g a c a g a c t g a t c a c c g g c a g
a c t c c a g t c t c t c c a g a c c t a c g t g a c c c a g c a g c t g a t c
a g a g c c g c c g a g a t t a g a g c c t c t g c c a a t c t g g c c g c c a
c c a a g a t g t c t g a g t g t g t g c t g g g c c a g a g c a a g a g a g t
g g a c t t t t g c g g c a a g g g c t a c c a c c c t g a t g a g c t t c c c t
c a g t c t g c c c c t c a c g g c g t g g t g t t t c t g c a c g t g a c a t
a c g t g c c c g c t c a a g a g a a g a a t t t c a c c a c c g c t c c a g c
c a t c t g c c a c g a c g g c a a a g c c c a c t t t c c t a g a g a a g g c
g t g t t c g t g t c c a a c g g c a c c c a t t g g t t c g t g a c a c a g c
g g a a c t t c t a c g a g c c c c a g a t c a t c a c c a c c g a c a a c a c
c t t c g t g t c t g g c a a c t g c g a c g t t g t g a t c g g c a t t g t g
a a c a a t a c c g t g t a c g a c c c t c t c c a g c c t g a a c t g g a c t
c c t t c a a a g a g g a a c t c g a c a a g t a c t t t a a g a a c c a c a c
a a g c c c c g a c g t g g a c c t g g g c g a t a t c a g c g g a a t c a a t
g c c a g c g t g g t c a a c a t c c a g a a a g a g a t c g a c c g g c t g a
a c g a g g t g g c c a a g a a t c t g a a c g a g a g c c t g a t c g a c c t
g c a a g a a c t g g g g a a g t a c g a g c a g t a c a t c a a g t g g c c c
t g g t a c a t c t g g c t g g g c t t t a t c g c c g g a c t g a t t g c c a
t c g t g a t g g t c a c a a t c a t g c t g t g t t g c a t g a c c a g c t g
c t g t a g c t g c c t g a a g g g c t g t t g t a g c t g t g g c t c c t g c
t g c a a g t t c g a c g a g g a c g a t t c t g a g c c c g t g c t g a a g g

10

20

30

40

50

g c g t g a a a c t g c a c t a c a c c

>EPI__ISL__402119__tr (CoV__T2__3) (配列番号9)

アミノ酸配列：

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

10

20

30

>EPI__ISL__402119__tr (CoV__T2__3) (配列番号10)

核酸配列：

a t g t t c g t g t t t c t g g t g c t g c t g c c t c t g g t g t c c a g c
c a g t g t g t g a a c c t g a c c a c c a g a a c a c a g c t g c c t c c a g
c c t a c a c c a a c a g c t t t a c c a g a g g c g t g t a c t a c c c c g a
c a a g g t g t t c a g a t c c a g c g t g c t g c a c t c t a c c c a g g a c
c t g t t c c t g c c t t t c t t c a g c a a c g t g a c c t g g t t c c a c g
c c a t c c a c g t g t c c g g c a c c a a t g g c a c c a a g a g a t t c g a
c a a c c c c g t g c t g c c c t t c a a c g a c g g g g t g t a c t t t g c c
a g c a c c g a g a a g t c c a a c a t c a t c a g a g g c t g g a t c t t c g
g c a c c a c a c t g g a c a g c a a g a c c c a g a g c c t g c t g a t c g t
g a a c a a c g c c a c c a a c g t g g t c a t c a a a g t g t g c g a g t t c
c a g t t c t g c a a c g a c c c c t t c c t g g g c g t c t a c t a c c a c a
a g a a c a a c a a g a g c t g g a t g g a a a g c g a g t t c c g g g t g t a
c a g c a g c g c c a a c a a c t g c a c c t t c g a g t a c g t g t c c c a g
c c t t t c c t g a t g g a c c t g g a a g g c a a g c a g g g c a a c t t c a
a g a a c c t g c g c g a g t t c g t g t t c a a g a a c a t c g a c g g c t a

40

50

c t t c a a a a t c t a c a g c a a g c a c a c c c c t a t c a a c c t c g t g
c g g g a t c t g c c t c a g g g c t t c t c t g c t c t g g a a c c c c t g g
t g g a t c t g c c c a t c g g c a t c a a c a t c a c c c g g t t t c a g a c
a c t g c t g g c c c t g c a c a g a a g c t a c c t g a c a c c t g g c g a t
a g c a g c a g c g g a t g g a c a g c t g g t g c c g c c g c t t a c t a c g
t g g g a t a c c t c c a g c c a a g a a c c t t c c t g c t g a a g t a c a a
c g a g a a c g g c a c c a t c a c c g a c g c c g t g g a t t g t g c t c t g
g a c c c t c t g a g c g a g a c a a a g t g c a c c c t g a a g t c c t t c a
c c g t g g a a a a g g g c a t c t a c c a g a c c a g c a a c t t c c g g g t
g c a g c c c a c c g a a t c c a t c g t g c g g t t c c c c a a t a t c a c c
a a t c t g t g c c c c t t c g g c g a g g t g t t c a a t g c c a c c a g a t
t c g c c t c t g t g t a c g c c t g g a a c c g g a a g c g g a t c a g c a a
t t g c g t g g c c g a c t a c t c c g t g c t g t a c a a c t c c g c c a g c
t t c a g c a c c t t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c c c t a c c a a g c
t g a a c g a c c t g t g c t t c a c a a a c g t g t a c g c c g a c a g c t t
c g t g a t c c g g g g a g a t g a a g t g c g g c a g a t t g c c c c t g g a
c a g a c a g g c a a g a t c g c c g a c t a c a a c t a c a a g c t g c c c g
a c g a c t t c a c c g g c t g t g t g a t t g c c t g g a a c a g c a a c a a
c c t g g a c t c c a a a g t c g g c g g c a a c t a c a a t t a c c t g t a c
c g g c t g t t c c g g a a g t c c a a t c t g a a g c c c t t c g a g c g g g
a c a t c a g c a c c g a a a t c t a t c a g g c c g g c a g c a c c c c t t g
c a a c g g c g t g g a a g g c t t c a a c t g c t a c t t c c c a c t g c a a
a g c t a c g g c t t t c a g c c c a c a a a t g g c g t g g g c t a c c a g c
c t t a c a g a g t g g t g g t g c t g a g c t t c g a g c t g c t g c a t g c
t c c t g c c a c a g t g t g c g g c c c t a a g a a a t c c a c c a a t c t c
g t g a a g a a c a a a t g c g t g a a c t t c a a c t t c a a c g g c c t g a
c c g g c a c c g g c g t g c t g a c a g a g a g c a a c a a g a a g t t c c t
g c c a t t c c a g c a g t t c g g c c g g g a t a t c g c c g a t a c c a c a
g a t g c c g t c a g a g a t c c c c a g a c a c t g g a a a t c c t g g a c a
t c a c c c c a t g c a g c t t c g g c g g a g t g t c t g t g a t c a c c c c
t g g c a c c a a c a c c a g c a a t c a g g t g g c a g t g c t g t a c c a g
g a c g t g a a c t g t a c c g a a g t g c c c g t g g c c a t t c a c g c c g
a t c a g c t g a c a c c t a c a t g g c g g g t g t a c t c c a c c g g c a g
c a a t g t g t t t c a g a c c a g a g c c g g c t g t c t g a t c g g a g c c
g a g c a c g t g a a c a a t a g c t a c g a g t g c g a c a t c c c c a t c g
g c g c t g g c a t c t g c g c c t c t t a c c a g a c a c a g a c a a a c a g
c c c c a g a c g g g c t a g a a g c g t g g c c a g c c a g a g c a t c a t t
g c c t a c a c a a t g t c t c t g g g c g c c g a g a a c a g c g t g g c c t
a c t c c a a c a a c t c t a t c g c t a t c c c c a c c a a c t t c a c c a t
c a g c g t g a c c a c c g a g a t c c t g c c t g t g t c c a t g a c c a a g
a c c a g c g t g g a c t g c a c c a t g t a c a t c t g c g g c g a t t c c a
c c g a g t g c t c c a a c c t g c t g c t c c a g t a c g g c a g c t t c t g
c a c c c a g c t g a a t a g a g c c c t g a c a g g g a t c g c c g t g g a a
c a g g a c a a g a a c a c c c a a g a g g t g t t c g c c c a a g t g a a g c
a a a t c t a c a a g a c c c c t c c t a t c a a g g a c t t c g g c g g c t t
c a a t t t c a g c c a g a t t c t g c c c g a t c c t a g c a a g c c c a g c
a a g c g g a g c t t c a t c g a g g a c c t g c t g t t c a a c a a a g t g a
c a c t g g c c g a c g c c g g c t t c a t c a a g c a g t a c g g c g a t t g
t c t g g g c g a c a t t g c c g c c a g g g a t c t g a t t t g c g c c c a g
a a g t t t a a c g g a c t g a c a g t g c t g c c t c c t c t g c t g a c c g

10

20

30

40

50

a t g a g a t g a t c g c c c a g t a c a c a t c t g c c c t g c t g g c c g g
 c a c a a t c a c a a g c g g c t g g a c a t t t g g a g c t g g c g c c g c t
 c t c c a g a t t c c a t t c g c t a t g c a g a t g g c c t a c c g g t t c a
 a c g g c a t c g g a g t g a c c c a g a a t g t g c t g t a c g a g a a c c a
 g a a g c t g a t c g c c a a c c a g t t c a a c a g c g c c a t c g g c a a g
 a t c c a g g a c a g c c t g a g c a g c a c a g c a a g c g c c c t g g g a a
 a g c t c c a g g a c g t c g t g a a c c a g a a t g c c c a g g c a c t g a a
 c a c c c t g g t c a a g c a g c t g t c c t c c a a c t t c g g c g c c a t c
 a g c t c t g t g c t g a a c g a t a t c c t g a g c a g a c t g g a c a a g g
 t g g a a g c c g a g g t g c a g a t c g a c a g a c t g a t c a c c g g c a g
 a c t c c a g t c t c t c c a g a c c t a c g t g a c c c a g c a g c t g a t c
 a g a g c c g c c g a g a t t a g a g c c t c t g c c a a t c t g g c c g c c a
 c c a a g a t g t c t g a g t g t g t g c t g g g c c a g a g c a a g a g a g t
 g g a c t t t t g c g g c a a g g g c t a c c a c c t g a t g a g c t t c c c t
 c a g t c t g c c c c t c a c g g c g t g g t g t t t c t g c a c g t g a c a t
 a c g t g c c c g c t c a a g a g a a g a a t t t c a c c a c c g c t c c a g c
 c a t c t g c c a c g a c g g c a a a g c c c a c t t t c c t a g a g a a g g c
 g t g t t c g t g t c c a a c g g c a c c c a t t g g t t c g t g a c a c a g c
 g g a a c t t c t a c g a g c c c c a g a t c a t c a c c a c c g a c a a c a c
 c t t c g t g t c t g g c a a c t g c g a c g t t g t g a t c g g c a t t g t g
 a a c a a t a c c g t g t a c g a c c c t c t c c a g c c t g a a c t g g a c t
 c c t t c a a a g a g g a a c t c g a c a a g t a c t t t a a g a a c c a c a c
 a a g c c c g a c g t g g a c c t g g g c g a t a t c a g t

>EPI__ISL__402119__RBD (CoV__T2__6) (配列番号 11)

アミノ酸配列：

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

>EPI__ISL__402119__RBD (CoV__T2__6) (配列番号 12)

核酸配列：

c g g g t g c a g c c c a c c g a a t c c a t c g t g c g g t t c c c c a a t
 a t c a c c a a t c t g t g c c c c t t c g g c g a g g t g t t c a a t g c c a
 c c a g a t t c g c c t c t g t g t a c g c c t g g a a c c g g a a g c g g a t
 c a g c a a t t g c g t g g c c g a c t a c t c c g t g c t g t a c a a c t c c
 g c c a g c t t c a g c a c c t t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c c c t a
 c c a a g c t g a a c g a c c t g t g c t t c a c a a a c g t g t a c g c c g a
 c a g c t t c g t g a t c c g g g g a g a t g a a g t g c g g c a g a t t g c c
 c c t g g a c a g a c a g g c a a g a t c g c c g a c t a c a a c t a c a a g c
 t g c c c g a c g a c t t c a c c g g c t g t g t g a t t g c c t g g a a c a g
 c a a c a a c c t g g a c t c c a a a g t c g g c g g c a a c t a c a a t t a c
 c t g t a c c g g c t g t t c c g g a a g t c c a a t c t g a a g c c c t t c g
 a g c g g g a c a t c a g c a c c g a a a t c t a t c a g g c c g g c a g c a c
 c c c t t g c a a c g g c g t g g a a g g c t t c a a c t g c t a c t t c c c a
 c t g c a a a g c t a c g g c t t t c a g c c c a c a a a t g g c g t g g g c t
 a c c a g c c t t a c a g a g t g g t g g t g c t g a g c t t c g a g c t g c t
 g c a t g c t c c t g c c a c a g t g t g c g g c c c t a a g a a a t c c a c c
 a a t

EPI __ ISL __ 402119 (完全長Sタンパク質アミノ酸配列、太字で示されているRBD残基、及び下線で示されている切断Sタンパク質には存在しない残基を有する)
【0568】

【表68】

MFVFLVLLPL	VSSQCVNLTT	RTQLPPAYTN	SFTRGVYYPD	KVFRSSVLHS	TQDLFLPFFS	60	
NVTWFHAIHV	SGTNGTKRFD	NPVLPFNDGV	YFASTEKSN	IRGWIFGTTL	DSKTQSLILV	120	
NNATNVVIKV	CEFQFCNDPF	LGVIYHKNNK	SWMESEFRVY	SSANNCTFEY	VSQPFLMDLE	180	
GKQGNFKNLR	EFVFKNIDGY	FKIYSKHTPI	NLVRDLPQGF	SALEPLVDLP	IGINITRFQT	240	
LLALHRSYLT	PGDSSSGWTA	GAAAYYVGYL	QPRTFLLKYN	ENGTITDAVD	CALDPLSETK	300	
CTLKSFTVEK	GIYQTSNFRV	OPTESIVRFP	NITNLCPFGE	VFNATRFASV	YAWNKRKRISN	360	
CVADYSVLYN	SASFSTFKCY	GVSPTKLNLD	CFTNVYADSF	VIRGDEVROI	APGQTGKIAD	420	
YNYKLDDFT	GCVIAWNSNN	LDSKVGGNYN	YLRLFRKSN	LKPFERDIST	EIYQAGSTPC	480	10
NGVEGFNCYF	PLQSYGFQPT	NGVGYQPYRV	VVLSFELLHA	PATVCGPKKS	TNLVKNKCVN	540	
FNFNGLTGTG	VLTESNKKFL	PFQQFGRDIA	DTTDAVRDPQ	TLEILDITPC	SFGGVSVITP	600	
GTNTSNQVAV	LYQDVNCTEV	PVAIHADQLT	PTWRVYSTGS	NVFQTRAGCL	IGAHEVNNSY	660	
ECDIPIGAGI	CASYQTQTN	PRRARSVASQ	SIIAYTMSLG	AENSVAYSNN	SIAIPTNFTI	720	
SVTTEILPVS	MTKTSVDCTM	YICGDSTEC	NLLQYGSFC	TQLNRALTGI	AVEQDKNTQE	780	
VFAQVKQIYK	TPPIKDFGGF	NFSQILPDPS	KPSKRSFIED	LLFNKVTLAD	AGFIKQYGDC	840	
LGDIARDLI	CAQKFNGLTV	LPPLLTDEMI	AQYTSALLAG	TITSGWTFGA	GAALQIPFAM	900	
QMAYRFNGIG	VTQNVLYENQ	KLIANQFNSA	IGKIQDSLSS	TASALGKLQD	VVNQNAQALN	960	
TLVKQLSSNF	GAISSVLNDI	LSRLDKVEAE	VQIDRLITGR	LQSLQTYVTQ	QLIRAAEIRA	1020	
SANLAATKMS	ECVLGQSKRV	DFCGKGYHLM	SFPQSAPHGV	VFLHVTYVPA	QEKNTTAPA	1080	
ICHGKAHFP	REGVFVSNGT	HWFVTQRNFY	EPQIITDNT	FVSGNCDVVI	GIVNNTVYDP	1140	
LQPELDSFKE	ELDKYFKNHT	SPDVDLGDIS	<u>GINASVVNIQ</u>	<u>KEIDRLNEVA</u>	<u>KNLNESLIDL</u>	1200	20
<u>QELGKYEQYI</u>	<u>KWPWYIWLGF</u>	<u>IAGLIAIVMV</u>	<u>TIMLCMTSC</u>	<u>CSCLKGCCSC</u>	<u>GSCCKFDEDD</u>	1260	
SEPVLLKGVKL	HYT					1273	

>Wuhan __ Node 1 (CoV __ T2 __ 1) (配列番号13)

アミノ酸配列:

MFLFLFIIIFAFFLLSAKANERC GIFT SKPQP KLAQVSS
SRRGVYYPDDIFRSDVLHLTQDYFLPFDSNVTRYFSLNAN
GPDRIVYFDNPIIPFKDGVYFAATEKSNVIRGWIFGSTLD
NTSQSVIIVNNSTNVIIIRVCNFDLCNDPFFT VSRPTDKHI
KTWSIREFAVYQSAFNCTFEYVSKSFLLDVAEKPGNFKHL
REFVFKNVDGFLNVYSTYKPINVVSGLP TGFSVLKPI LKL
PLGINITSFRVL LTMFRGDPTPGHTTANWLTAAAAYYVGY
LKPTTFMLKY NENG TITDAVDCSQNPLAELKCTLK NFNVD
KGIYQTSNFRVSP TQE VVRFPNITNLCPFDKVFNATRFPS
VYAWERTKISDCVADYTVLYNSTSFSTFKCYGVSPSKLID
LCFTSVYADTFLIRCSEVRQVAPGQTGV IADYNYKLPDDF
TGCVIAWNTAKQDTGSSGNYNYYRSHRKT KLPFERDLS
SDECSPDGKPC TPPAFNGVRGFNCYFTLSTYDFNPVPVE
YQATR VVLSFELLNAPATVCGPKLSTQLVKNQC VN FN FN
GLKGTGVL TASSKR FQS FQ FGRDASDFTDSVRDPQTLEI
LDISPCSF GGVS VITPGTNTSSEVAVLYQDVNCTDVPTAI
HADQLTPAWRVYSTGVNVFQTQAGCLIGA EHVNASYECDI
PIGAGICASYHTASNSPRI LRSTGQKSIVAYTMSLG AENS
IAYANNSIAIPTNF SIVTTEVM PVSM AKTSVDCTMYICG
DSLECSNLL LQYGSFCTQLNRALTGIAIEQDKNTQE VFAQ
VKQMYKTPAIKDFGGFNFSQILPDPSKPTKR SFIEDLLFN
KVTLADAGFMKQYGECLGDISARDL ICAQKFNGLTVLPPL
LTDEMI AAYTAALVSGTATAGWTFGAGAAALQIPFAMQMAY
RFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQIQESLTTTSTA
LGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNF GAISSVLNDILSRL
DKVEAEVQIDRLITGR LQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANL

AATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQAAPHGVVFLH
VTYVPSQERNFTTAPAIICHEGKAYFPREGVFVSNGTSWFI
TQRNFYSPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIINNNTVYDPLQPE
LDSFKEELDKEYFKNHTSPDVDLDGDISGINASVVNIQKEID
RLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYVWLGFIAGL
IAIVMATILLCMTSCCSCCLKGACSCGSCCKFDEDDSEPVL
LKGVKLHYT

>Wuhan__Node1 (CoV__T2__1) (配列番号14)

核酸配列：

a t g t t t c t g t t c c t c t t c a t t a t t a t c t t c g c a t t c t t c	10
c t g c t g a g c g c c a a g g c c a a c g a g a g a t g c g g c a t c t t c a	
c c a g c a a g c c c c a g c c t a a g c t g g c c c a g g t g t c c a g t t c	
t a g a c g g g g c g t g t a c t a c c c c g a c g a c a t c t t c a g a t c c	
g a c g t g c t g c a t c t g a c c c a g g a c t a c t t c c t g c c t t t c g	
a c a g c a a c g t g a c c c g g t a c t t c a g c c t g a a c g c c a a c g g	
a c c c g a c c g g a t c g t g t a c t t c g a c a a c c c t a t c a t c c c c	
t t c a a g g a c g g g g t g t a c t t t g c c g c c a c c g a g a a g t c c a	
a c g t g a t c a g a g g c t g g a t c t t c g g c a g c a c c c t g g a c a a	
t a c c a g c c a g a g c g t g a t c a t c g t g a a c a a c a g c a c c a a c	
g t c a t c a t c c g c g t g t g c a a c t t c g a c c t g t g c a a c g a c c	20
c a t t c t t c a c c g t g t c c a g a c c a a c c g a c a a g c a c a t c a a	
g a c c t g g t c c a t c c g c g a g t t c g c c g t g t a c c a g a g c g c c	
t t c a a t t g c a c c t t c g a g t a c g t g t c c a a g a g c t t t c t g c	
t g g a c g t g g c c g a g a a g c c c g g c a a c t t t a a g c a c c t g a g	
a g a a t t c g t g t t c a a g a a c g t g g a c g g c t t c c t g a a c g t g	
t a c a g c a c c t a c a a g c c c a t c a a c g t g g t g t c c g g c c t g c	
c t a c a g g a t t c a g c g t g c t g a a g c c c a t c c t g a a g c t g c c	
c c t g g g c a t c a a c a t c a c c a g c t t c a g a g t g c t g c t g a c c	
a t g t t c a g a g g c g a c c c t a c a c c t g g c c a c a c c a c c g c t a	
a t t g g c t g a c a g c c g c c g c t g c c t a c t a c g t g g g a t a c c t	30
g a a g c c t a c c a c c t t c a t g c t c a a g t a c a a c g a g a a c g g c	
a c c a t c a c c g a c g c c g t g g a c t g t a g c c a a a a t c c t c t g g	
c c g a g c t g a a g t g c a c c c t g a a g a a c t t c a a c g t g g a c a a	
g g g c a t c t a c c a g a c c a g c a a c t t c c g g g t g t c c c c t a c a	
c a a g a g g t c g t g c g g t t c c c c a a t a t c a c c a a t c t g t g c c	
c c t t c g a c a a g g t g t t c a a c g c c a c c a g a t t t c c c a g c g t	
g t a c g c c t g g g a g c g c a c c a a g a t t t c c g a t t g c g t g g c c	
g a c t a c a c c g t g c t g t a t a a c t c c a c c t c c t t c a g c a c c t	
t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c c c a a g c a a g c t g a t c g a t c t	
g t g c t t c a c c t c t g t g t a c g c c g a c a c c t t c c t g a t c c g g	40
t g t a g c g a a g t g c g a c a g g t g g c a c c t g g a c a g a c a g g c g	
t g a t c g c c g a t t a c a a c t a c a a g c t g c c c g a c g a c t t c a c	
c g g c t g t g t g a t c g c c t g g a a t a c c g c c a a g c a g g a t a c a	
g g c a g c a g c g g c a a c t a c a a c t a c t a c t a c a g a a g c c a c c	
g c a a g a c c a a g c t g a a g c c t t t c g a g a g g g a c c t g a g c a g	
c g a c g a g t g t a g c c c t g a t g g c a a g c c t t g t a c a c c t c c t	
g c c t t c a a t g g c g t g c g g g g c t t c a a c t g c t a c t t c a c c c	
t g a g c a c c t a c g a c t t c a a c c c c a a c g t g c c c g t g g a a t a	
c c a g g c c a c a a g a g t g g t g g t g c t g a g c t t c g a g c t g c t g	
a a t g c c c c t g c c a c a g t g t g t g g c c c t a a g c t g t c t a c c c	50

a g c t g g t c a a g a a c c a g t g c g t g a a c t t c a a t t t c a a c g g
c c t g a a a g g c a c c g g c g t g c t g a c c g c c a g c a g c a a g a g a
t t c c a g a g c t t c c a g c a g t t c g g c a g g g a c g c c a g c g a t t
t c a c a g a t a g c g t c a g a g a t c c c c a g a c a c t g g a a a t c c t
g g a c a t c a g c c c t t g c a g c t t c g g c g g a g t g t c t g t g a t c
a c c c c t g g c a c c a a t a c c t c t a g c g a g g t g g c a g t g c t g t
a c c a g g a c g t g a a c t g c a c c g a t g t g c c t a c a g c c a t c c a
c g c c g a t c a g c t g a c a c c a g c t t g g a g a g t g t a c t c t a c c
g g t g t c a a c g t g t t c c a g a c a c a a g c c g g c t g t c t g a t t g
g a g c c g a a c a c g t g a a c g c c a g c t a c g a g t g c g a c a t c c c
t a t c g g a g c c g g c a t c t g t g c c t c t t a c c a c a c c g c c t c t
a a c a g c c c c a g a a t c c t g a g a a g c a c c g g c c a g a a a t c c a
t c g t g g c c t a c a c a a a t g t c t c t g g g c g c c g a g a a c t c t a t
c g c c t a c g c c a a c a a a c t c c a t t g c t a t c c c c a c c a a c t t c
a g c a t c t c c g t g a c c a c c g a a g t g a t g c c t g t g t c c a t g g
c c a a g a c c a g c g t g g a c t g c a c a a t g t a c a t c t g c g g c g a
c a g c c t g g a a t g c a g c a a c c t g c t g c t c c a g t a c g g c a g c
t t c t g c a c c c a g c t g a a t a g a g c c c t g a c c g g a a t c g c c a
t c g a g c a g g a c a a g a a c a c c c a a g a g g t g t t c g c c c a a g t
g a a g c a g a t g t a t a a g a c c c c t g c c a t c a a g g a c t t c g g c
g g c t t t a a c t t c a g c c a g a t c c t g c c t g a t c c t a g c a a g c
c c a c c a a g c g g a g c t t c a t c g a g g a c c t g c t g t t c a a c a a
a g t g a c c c t g g c c g a c g c c g g c t t t a t g a a g c a g t a t g g c
g a g t g c c t g g g c g a c a t c t c t g c c a g g g a t c t g a t t t g c g
c c c a g a a g t t c a a c g g a c t g a c c g t g c t g c c t c c t c t g c t
g a c c g a t g a g a t g a t c g c c g c c t a t a c a g c c g c t c t g g t g
t c t g g c a c a g c t a c c g c c g g a t g g a c a t t t g g a g c t g g c g
c c g c t c t c c a g a t t c c a t t c g c t a t g c a g a t g g c c t a c c g
c t t c a a c g g c a t c g g c g t g a c c c a g a a c g t g c t g t a c g a g
a a c c a g a a g c a g a t c g c c a a c c a g t t c a a c a a g g c c a t c a
g t c a g a t c c a a g a g a g c c t g a c c a c a a c c a g c a c a g c c c t
g g g a a a g c t c c a g g a c g t c g t g a a c c a g a a t g c c c a g g c t
c t g a a c a c c c t g g t c a a g c a g c t g a g c a g c a a t t t c g g c g
c c a t c a g c t c c g t g c t g a a c g a c a t c c t g a g c c g g c t g g a
t a a g g t g g a a g c c g a g g t g c a g a t c g a c c g g c t g a t t a c a
g g c a g a c t c c a g t c t c t c c a g a c c t a c g t g a c a c a g c a g c
t g a t c a g a g c c g c c g a g a t t a g a g c c t c t g c c a a t c t g g c
c g c c a c c a a g a t g t c t g a g t g t g t g c t g g g c c a g t c t a a g
a g a g t g g a c t t c t g c g g c a a g g g c t a c c a c c t g a t g a g c t
t c c c t c a g g c t g c t c c t c a c g g c g t g g t g t t t c t g c a c g t
g a c a t a c g t g c c c a g c c a a g a g c g g a a c t t c a c a a c t g c c
c c a g c c a t c t g c c a c g a g g g c a a a g c c t a c t t t c c c a g a g
a a g g c g t g t t c g t g t c c a a c g g c a c c t c c t g g t t c a t c a c
c c a g a g a a a c t t c t a c a g c c c t c a g a t c a t c a c c a c c g a c
a a c a c c t t c g t g t c c g g c a a c t g c g a c g t g g t c a t c g g c a
t c a t c a a c a a t a c c g t g t a c g a c c c t c t c c a g c c a g a a c t
g g a t a g c t t c a a a g a g g a a c t c g a c a a g t a c t t c a a g a a t
c a c a c a a g c c c c g a c g t g g a c c t g g g c g a t a t c a g c g g a a
t c a a t g c c a g c g t g g t c a a c a t c c a g a a a g a g a t c g a c a g
a c t g a a c g a g g t g g c c a a g a a c c t g a a c g a g t c c c t g a t c

10

20

30

40

50

g a c c t g c a a g a g c t g g g g a a g t a c g a g c a g t a c a t c a a g t
 g g c c t t g g t a c g t g t g g c t g g g c t t t a t c g c c g g a c t g a t
 c g c c a t t g t g a t g g c c a c c a t c c t g c t g t g c t g c a t g a c a
 a g c t g c t g t a g c t g c c t g a a g g g c g c c t g t a g c t g t g g c a
 g c t g c t g c a a g t t c g a c g a g g a c g a t t c t g a g c c t g t g c t
 g a a a g g c g t g a a g c t g c a c t a c a c c

>Wuhan__Node1__tr (CoV__T2__4) (配列番号15)

アミノ酸配列：

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

>Wuhan__Node1__tr (CoV__T2__4) (配列番号16)

核酸配列：

a t g t t t c t g t t c c t c t t c a t t a t t a t c t t c g c a t t c t t c
 c t g c t g a g c g c c a a g g c c a a c g a g a g a t g c g g c a t c t t c a
 c c a g c a a g c c c c a g c c t a a g c t g g c c c a g g t g t c c a g t t c
 t a g a c g g g g c g t g t a c t a c c c c g a c g a c a t c t t c a g a t c c
 g a c g t g c t g c a t c t g a c c c a g g a c t a c t t c c t g c c t t t c g
 a c a g c a a c g t g a c c c g g t a c t t c a g c c t g a a c g c c a a c g g
 a c c c g a c c g g a t c g t g t a c t t c g a c a a c c c t a t c a t c c c c
 t t c a a g g a c g g g g t g t a c t t t g c c g c c a c c g a g a a g t c c a
 a c g t g a t c a g a g g c t g g a t c t t c g g c a g c a c c c t g g a c a a
 t a c c a g c c a g a g c g t g a t c a t c g t g a a c a a c a g c a c c a a c

g t c a t c a t c c g c g t g t g c a a c t t c g a c c t g t g c a a c g a c c
c a t t c t t c a c c g t g t c c a g a c c a a c c g a c a a g c a c a t c a a
g a c c t g g t c c a t c c g c g a g t t c g c c g t g t a c c a g a g c g c c
t t c a a t t g c a c c t t c g a g t a c g t g t c c a a g a g c t t t c t g c
t g g a c g t g g c c g a g a a g c c c g g c a a c t t t a a g c a c c t g a g
a g a a t t c g t g t t c a a g a a c g t g g a c g g c t t c c t g a a c g t g
t a c a g c a c c t a c a a g c c c a t c a a c g t g g t g t c c g g c c t g c
c t a c a g g a t t c a g c g t g c t g a a g c c c a t c c t g a a g c t g c c
c c t g g g c a t c a a c a t c a c c a g c t t c a g a g t g c t g c t g a c c
a t g t t c a g a g g c g a c c c t a c a c c t g g c c a c a c c a c c g c t a
a t t g g c t g a c a g c c g c c g c t g c c t a c t a c g t g g g a t a c c t
g a a g c c t a c c a c c t t c a t g c t c a a g t a c a a c g a g a a c g g c
a c c a t c a c c g a c g c c g t g g a c t g t a g c c a a a a t c c t c t g g
c c g a g c t g a a g t g c a c c c t g a a g a a c t t c a a c g t g g a c a a
g g g c a t c t a c c a g a c c a g c a a c t t c c g g g t g t c c c c t a c a
c a a g a g g t c g t g c g g t t c c c c a a t a t c a c c a a t c t g t g c c
c c t t c g a c a a g g t g t t c a a c g c c a c c a g a t t t c c c a g c g t
g t a c g c c t g g g a g c g c a c c a a g a t t t c c g a t t g c g t g g c c
g a c t a c a c c g t g c t g t a t a a c t c c a c c t c c t t c a g c a c c t
t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c c c a a g c a a g c t g a t c g a t c t
g t g c t t c a c c t c t g t g t a c g c c g a c a c c t t c c t g a t c c g g
t g t a g c g a a g t g c g a c a g g t g g c a c c t g g a c a g a c a g g c g
t g a t c g c c g a t t a c a a c t a c a a g c t g c c c g a c g a c t t c a c
c g g c t g t g t g a t c g c c t g g a a t a c c g c c a a g c a g g a t a c a
g g c a g c a g c g g c a a c t a c a a c t a c t a c t a c a g a a g c c a c c
g c a a g a c c a a g c t g a a g c c t t t c g a g a g g g a c c t g a g c a g
c g a c g a g t g t a g c c c t g a t g g c a a g c c t t g t a c a c c t c c t
g c c t t c a a t g g c g t g c g g g g c t t c a a c t g c t a c t t c a c c c
t g a g c a c c t a c g a c t t c a a c c c c a a c g t g c c c g t g g a a t a
c c a g g c c a c a a g a g t g g t g g t g c t g a g c t t c g a g c t g c t g
a a t g c c c c t g c c a c a g t g t g t g g c c c t a a g c t g t c t a c c c
a g c t g g t c a a g a a c c a g t g c g t g a a c t t c a a t t t c a a c g g
c c t g a a a g g c a c c g g c g t g c t g a c c g c c a g c a g c a a g a g a
t t c c a g a g c t t c c a g c a g t t c g g c a g g g a c g c c a g c g a t t
t c a c a g a t a g c g t c a g a g a t c c c c a g a c a c t g g a a a t c c t
g g a c a t c a g c c c t t g c a g c t t c g g c g g a g t g t c t g t g a t c
a c c c c t g g c a c c a a t a c c t c t a g c g a g g t g g c a g t g c t g t
a c c a g g a c g t g a a c t g c a c c g a t g t g c c t a c a g c c a t c c a
c g c c g a t c a g c t g a c a c c a g c t t g g a g a g t g t a c t c t a c c
g g t g t c a a c g t g t t c c a g a c a c a a g c c g g c t g t c t g a t t g
g a g c c g a a c a c g t g a a c g c c a g c t a c g a g t g c g a c a t c c c
t a t c g g a g c c g g c a t c t g t g c c t c t t a c c a c a c c g c c t c t
a a c a g c c c c a g a a t c c t g a g a a g c a c c g g c c a g a a a t c c a
t c g t g g c c t a c a c a a t g t c t c t g g g c g c c g a g a a c t c t a t
c g c c t a c g c c a a c a a c t c c a t t g c t a t c c c c a c c a a c t t c
a g c a t c t c c g t g a c c a c c g a a g t g a t g c c t g t g t c c a t g g
c c a a g a c c a g c g t g g a c t g c a c a a t g t a c a t c t g c g g c g a
c a g c c t g g a a t g c a g c a a c c t g c t g c t c c a g t a c g g c a g c
t t c t g c a c c c a g c t g a a t a g a g c c c t g a c c g g a a t c g c c a
t c g a g c a g g a c a a g a a c a c c c a a g a g g t g t t c g c c c a a g t

10

20

30

40

50

g a a g c a g a t g t a t a a g a c c c c t g c c a t c a a g g a c t t c g g c
g g c t t t a a c t t c a g c c a g a t c c t g c c t g a t c c t a g c a a g c
c c a c c a a g c g g a g c t t c a t c g a g g a c c t g c t g t t c a a c a a
a g t g a c c c t g g c c g a c g c c g g c t t t a t g a a g c a g t a t g g c
g a g t g c c t g g g c g a c a t c t c t g c c a g g g a t c t g a t t t g c g
c c c a g a a g t t c a a c g g a c t g a c c g t g c t g c c t c c t c t g c t
g a c c g a t g a g a t g a t c g c c g c c t a t a c a g c c g c t c t g g t g
t c t g g c a c a g c t a c c g c c g g a t g g a c a t t t g g a g c t g g c g
c c g c t c t c c a g a t t c c a t t c g c t a t g c a g a t g g c c t a c c g
c t t c a a c g g c a t c g g c g t g a c c c a g a a c g t g c t g t a c g a g
a a c c a g a a g c a g a t c g c c a a c c a g t t c a a c a a g g c c a t c a
g t c a g a t c c a a g a g a g c c t g a c c a c a a c c a g c a c a g c c c t
g g g a a a g c t c c a g g a c g t c g t g a a c c a g a a t g c c c a g g c t
c t g a a c a c c c t g g t c a a g c a g c t g a g c a g c a a t t t c g g c g
c c a t c a g c t c c g t g c t g a a c g a c a t c c t g a g c c g g c t g g a
t a a g g t g g a a g c c g a g g t g c a g a t c g a c c g g c t g a t t a c a
g g c a g a c t c c a g t c t c t c c a g a c c t a c g t g a c a c a g c a g c
t g a t c a g a g c c g c c g a g a t t a g a g c c t c t g c c a a t c t g g c
c g c c a c c a a g a t g t c t g a g t g t g t g c t g g g c c a g t c t a a g
a g a g t g g a c t t c t g c g g c a a g g g c t a c c a c c t g a t g a g c t
t c c c t c a g g c t g c t c c t c a c g g c g t g g t g t t t c t g c a c g t
g a c a t a c g t g c c c a g c c a a g a g c g g a a c t t c a c a a c t g c c
c c a g c c a t c t g c c a c g a g g g c a a a g c c t a c t t t c c c a g a g
a a g g c g t g t t c g t g t c c a a c g g c a c c t c c t g g t t c a t c a c
c c a g a g a a a c t t c t a c a g c c c t c a g a t c a t c a c c a c c g a c
a a c a c c t t c g t g t c c g g c a a c t g c g a c g t g g t c a t c g g c a
t c a t c a a c a a t a c c g t g t a c g a c c c t c t c c a g c c a g a a c t
g g a t a g c t t c a a a g a g g a a c t c g a c a a g t a c t t c a a g a a t
c a c a c a a g c c c c g a c g t g g a c c t g g g c g a t a t c a g t

>Wu h a n __ N o d e 1 __ R B D (C o V __ T 2 __ 7) (配 列 番 号 1 7)

アミノ酸配列：

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

>Wu h a n __ N o d e 1 __ R B D (C o V __ T 2 __ 7) (配 列 番 号 1 8)

核酸配列：

c g g g t g t c c c c t a c a c a a g a g g t c g t g c g g t t c c c c a a t
a t c a c c a a t c t g t g c c c c t t c g a c a a g g t g t t c a a c g c c a
c c a g a t t t c c c a g c g t g t a c g c c t g g g a g c g c a c c a a g a t
t t c c g a t t g c g t g g c c g a c t a c a c c g t g c t g t a t a a c t c c
a c c t c c t t c a g c a c c t t c a a g t g c t a c g g c g t g t c c c c a a
g c a a g c t g a t c g a t c t g t g c t t c a c c t c t g t g t a c g c c g a
c a c c t t c c t g a t c c g g t g t a g c g a a g t g c g a c a g g t g g c a
c c t g g a c a g a c a g g c g t g a t c g c c g a t t a c a a c t a c a a g c
t g c c c g a c g a c t t c a c c g g c t g t g t g a t c g c c t g g a a t a c
c g c c a a g c a g g a t a c a g g c a g c a g c g g c a a c t a c a a c t a c
t a c t a c a g a a g c c a c c g c a a g a c c a a g c t g a a g c c t t t c g

a g a g g g a c c t g a g c a g c g a c g a g t g t a g c c c t g a t g g c a a
g c c t t g t a c a c c t c c t g c c t t c a a t g g c g t g c g g g g c t t c
a a c t g c t a c t t c a c c c t g a g c a c c t a c g a c t t c a a c c c c a
a c g t g c c c g t g g a a t a c c a g g c c a c a a g a g t g g t g g t g c t
g a g c t t c g a g c t g c t g a a t g c c c c t g c c a c a g t g t g t g g c
c c t a a g c t g t c t a c c c a g

W u h a n _ _ N o d e 1 (C o V _ _ T 2 _ _ 1) (完 全 長 S タ ン パ ク 質 ア ミ ノ 酸 配 列 、 太
字で示されているRBD残基、及び下線で示されている切断Sタンパク質には存在しない
残基を有する)

【 0 5 6 9 】

【 表 6 9 】

MFLFLFIIF	AFFLLSAKAN	ERCGIFTSKP	QPKLAQVSSS	RRGVYYPDDI	FRSDVLHLTQ	60
DYFLPFDSNV	TRYFSLNANG	PDRIVYFDNP	IIPFKDGVYF	AATEKSNVIR	GWIFGSTLDN	120
TSQSVIIVNN	STNVIIRVCN	FDLCNDPFFT	VSRPTDKHIK	TWSIREFAVY	QSAFNCTFEY	180
VSKSFLLDVA	EKPGNFKHLR	EFVFNVDGF	LNVESTYKPI	NVVSGLPTGF	SVLKPILKLP	240
LGINITSRV	LLTMFRGDPT	PGHTTANWLT	AAAAYVGYL	KPTTFMLKYN	ENGTITDAVD	300
CSQNPLAELK	CTLKNFNVDK	GIYQTSNFRV	SPTQEVVRF	NITNLCPFDK	VFNATREPSV	360
YAWERTKISD	CVADYTVLYN	STSFSTFKCY	GVSPSKLIDL	CFTSVYADTF	LIRCSEVRQV	420
APGQTGVIAD	YNYKLDDFT	GCVIAWNTAK	QDTGSSGNYN	YYRSHRKT	LKPFERDLSS	480
DECSPDGKPC	TPPAFNGVRG	FNCYFTLSTY	DFNPVNPVEY	QATRVVVLSE	ELLNAPATVC	540
GPKLSTQLVK	NQCVNFNFNG	LKGTGVLTA	SKRFQSFQQF	GRDASDFDTS	VRDPQTLLEIL	600
DISPCSFGGV	SVITPGTNTS	SEVAVLYQDV	NCTDVPTAIH	ADQLTPAWRV	YSTGVNVFQT	660
QAGCLIGAHE	VNASYEC DIP	IGAGICASYH	TASNSPRILR	STGQKSIVAY	TMSLGAENSI	720
AYANNSIAIP	TNFSISVTE	VMPVSMKTS	VDCTMYICGD	SLECSNLLQ	YGSFCTQLNR	780
ALTGIAIEQD	KNTQEVFAQV	KQMYKTPAIK	DFGGFNFSQI	LPDPSKPTKR	SFIEDLLFNK	840
VTLDAGFMK	QYGECLGDIS	ARDLICAQKF	NGLTVLPPLL	TDEMIAAYTA	ALVSGTATAG	900
WTFGAGAAQ	IPFAMQ MAYR	FNGIGVTQNV	LYENQKQIAN	QFNKAISQIQ	ESLTTTSTAL	960
GKLQDVVNQN	AQALNTLVKQ	LSSNFGAISS	VLNDILSRDL	KVEAEVQIDR	LITGRLQSLQ	1020
TYVTQQLIRA	AEIRASANLA	ATKMSECVLG	QSKRVDFCGK	GYHLSFPQA	APHGVVFLHV	1080
TYVPSQERNF	TTAPAICHEG	KAYFPREGVF	VSNGTSWFIT	QRNFYSPQII	TTDNFTVSGN	1140
CDVVIGIINN	TVYDPLQPEL	DSFKEELDKY	FKNHTSPDVD	LGDISGINAS	VVNIQKEIDR	1200
<u>LNEVAKNLNE</u>	<u>SLIDLQELGK</u>	<u>YEQYIKWPWY</u>	<u>VWLGFIAGLI</u>	<u>AIVMATILLC</u>	<u>CMTSCCCLK</u>	1260
<u>GACSCGSCCK</u>	<u>FDEDDSEPV</u>	<u>KGVKLHYT</u>				1288

【 0 5 7 0 】

実施例 2

C o V _ _ T 2 _ _ 1 の 完 全 長 S - タ ン パ ク 質 ア ミ ノ 酸 配 列 (W u h a n _ _ N o d e 1) と
A Y 2 7 4 1 1 9 と の ア ラ イ ン メ ン ト

スコア = 5 5 0 6 0 . 0

アライメントの長さ = 1 2 8 4

配列 W u h a n _ _ N o d e 1 / 5 - 1 2 8 8 (配 列 長 = 1 2 8 8)

配列 A Y 2 7 4 1 1 9 / 1 - 1 2 5 5 (配 列 長 = 1 2 5 5)

【 0 5 7 1 】

10

20

30

40

50

【表 7 0】

Wuhan_Node1/5-1288 LFIIIFAFFLLSAKANERCGIFTSKPQPKLAQVSSSRGVIYPDDIFRSDVLH
 .||... . | |. .|| | |. .| .|| |||||.|||| |

AY274119/1-1255 MFIFLLFLTTLTSGSDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLY

Wuhan_Node1/5-1288 LTQDYFLPFDSNVTRYFSLNANGPDRIVYFDNPIIPFKDGVYFAATEKSNVIR
 |||| |||| |||| . ..| . .|||.|||||.|||||||.||

AY274119/1-1255 LTQDLFLPFYSNVTGFHTIN-----HT--FGNPVIFPKDGIYFAATEKSNVVR

10

Wuhan_Node1/5-1288 GWIFGSTLDNTSQSVIIIVNNSTNVIIIRVCNFDLCNDPFFTVSRRPTDKHIKTWS
 ||.||||..| |||||.|||||.|| |||.||..|||.|||. . .| .

AY274119/1-1255 GWVFGSTMNKSQSVIIINNSTNVVIRACNFELCDNPFFAVSKPMG--TQHT

Wuhan_Node1/5-1288 IREFAVYQSAFNCTFEYVSKSFLLDVAEKPGNFKHLREFVFKNVGDGFLNVYST
|||||||.| .| |||.||.|||||||.|||| ||

AY274119/1-1255 ----MIFDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVFKNKDGFYVYKG

20

Wuhan_Node1/5-1288 YKPINVVSGLPTGFSVLKPIKLPLGINITSFRVLLTMFRGDPTPGHTTANWL
 |.||.|| .||.||. ||||.|||||||.|| .|| | .|.. |

AY274119/1-1255 YQPIDVVRDLPSGFNTLKPPIFKLPLGINITNFRAILTAF----SPAQDI--WG

Wuhan_Node1/5-1288 TAAAYYVGYLKPTTFMLKYNGTITDAVDCSQNPLAELKCTLKNFNVDKGI
 |.||||.|||||||.|||||.|||||||.|||||||.||..|.||..|||

AY274119/1-1255 TSAAAYFVGYLKPTTFMLKYDNGTITDAVDCSQNPLAELKCSVKSFEIDKGI

30

Wuhan_Node1/5-1288 YQTSNFRVSPTQEVVRFPNITNLCPFDDKVFNATRFPSVYAWERTKISDCVADY
 ||||| |. .|||||||.|||. |||||.||||||| |||.||||

AY274119/1-1255 YQTSNFRVPSGDVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFPVYAWERKKISNCVADY

Wuhan_Node1/5-1288 TVLYNSTSFSTFKCYGVSPSKLIDLCTSVYADTFILRCSEVRQVAPGQTGVI
 .||||| |||||.||..|| ||||..|||.||.. .|||.|||||||

AY274119/1-1255 SVLYNSTFFSTFKCYGVSATKLNLCFSNVYADSFVVKGDVVRQIAPGQTGVI

40

【0 5 7 2】

【表 7 1】

Wuhan_Node1/5-1288	ADYNYKLPDDFTGCVIAWNTAKQDTGSSGNYNYYRSHRKTCLKPFERDLSSD AY274119/1-1255	ADYNYKLPDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNKYRYLRHGKLRPFERDISNV
Wuhan_Node1/5-1288	ECSPDGKPCTPPAFNGVRGFNCYFTLSTYDFNPNVPVEYQATRNVVLSFELLN AY274119/1-1255	PFSPDGKPCTPPA-----LNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLN
Wuhan_Node1/5-1288	APATVCGPKLSTQLVKNCVNFNFNGLKGTGVLTAASSKRFQSFQQFGRDASDF . . . AY274119/1-1255	APATVCGPKLSTDLIKNCVNFNFNGLTGTGVLTPSSKRFQPFQQFGRDVSDF
Wuhan_Node1/5-1288	TDSVRDPQTLEILDISPCSFGGVSVITPGTNTSSEVAVLYQDVNCTDVPTAIH . . . AY274119/1-1255	TDSVRDPKTSEILDISPCAFGGVSVITPGTNASSEVAVLYQDVNCTDVSTAIH
Wuhan_Node1/5-1288	ADQLTPAWRVYSTGVNVFQTQAGCLIGAEHVNASYECDIPIGAGICASYHTAS . . AY274119/1-1255	ADQLTPAWRIYSTGNNVFQTQAGCLIGAEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTVS
Wuhan_Node1/5-1288	NSPRILRSTGQKSIVAYTMSLGAENSIAYANNSIAIPTNFSISVTEVMPVSM AY274119/1-1255	----LLRSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNNTIAIPTNFSISITEVMPVSM
Wuhan_Node1/5-1288	AKTSVDCTMYICGDSLECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAIEQDKNTQEVFAQ AY274119/1-1255	AKTSVDCNMYICGDSTECANLLLQYGSFCTQLNRALSGIAAEQDRNTREVFAQ
Wuhan_Node1/5-1288	VKQMYKTPAIKDFGGFNFSQILPDPSKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQY . . AY274119/1-1255	VKQMYKTPTLKYFGGFNFSQILPDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQY
Wuhan_Node1/5-1288	GECLGDISARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAAYTAALVSGTATAGWTFGA . . AY274119/1-1255	GECLGDISARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAAYTAALVSGTATAGWTFGA

10

20

30

40

【0 5 7 3】

50

AY274119/1-1255 GECLGDINARDLICAQKFENGLTVLPPLLTDDMIAAYTAALVSGTATAGWTFGA

10

AY274119/1-1255 GAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQIQESLTTTST

10

AY274119/1-1255 ALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRL

20

AY274119/1-1255 ITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL

20

AY274119/1-1255 MSFPQAAPHGVVFLHVTYVPSQERNFTTAPAIICHEGKAYFPREGVVFVNGTSW

30

AY274119/1-1255 FITQRNFFSPQIITDNTFVSGNCDVVIGIINNTVYDPLQPELDSFKEELDKY

30

AY274119/1-1255 FKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ

AY274119/1-1255 YIKWPWYVWLGFIAGLIAIVMTILLCCMTSCCSCCLKGACSCGSCCKFDEDDDS

40

AY274119/1-1255 EPVLKGVKLHYT

【 0 5 7 4 】

C o V __ T 2 __ 1 の完全長 S - タンパク質アミノ酸配列 (W u h a n __ N o d e 1) と
E P I I S L 4 0 2 1 1 9 とのアラインメント

アライメントの長さ = 1280

配列 W u h a n N o d e 1 / 9 - 1 2 8 8 (配列長 = 1 2 8 8)

50

【表 7 3】

Wuhan_Node1/9-1288 IFAFFLLSAKANERCGIFTSKPQPKLAQVSSSRGVYYPDDIFRSDVLHL
 . | | . . | . . | . | . | | | | | . | | | | |

EPI_ISL_402119/1-1273 MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRRSSVLHS

Wuhan_Node1/9-1288 TQDYFLPFDSNVTRYFSLNANGPDRIYFDNPIIPFKDGVYFAATEKSNV
||| ||| ||||..| . ||||..|.|||||.||||.

EPI_ISL_402119/1-1273 TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNI

Wuhan_Node1/9-1288 IRGWIFGSTLDNTSQSVIIVNNSTNVIIIRVCNFDLCNDPFFTVSRPTDKH
|||||.|||. .|.|. |||. |||. |..|..|..|..|..|..|..

EPI_ISL_402119/1-1273 IRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVY--YHKN

Wuhan_Node1/9-1288 IKTWSIREFAVYQSAFNCTFEYVSKSFLLDVAEKPGNFKHLREFVFKNVD
|. | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |

EPI_ISL_402119/1-1273 NKSWMSEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNID

Wuhan_Node1/9-1288 GFLNVYSTYKPINVSVGLPTGFSLVKPILKLPLGINITSFRVLLTMFRGD
|...|||.|.||||.|..|.||||.|.|..|.

EPI_ISL_402119/1-1273 GYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSY

Wuhan_Node1/9-1288 PTPGHTTANWLTA AAAAYVGYLKP TTFMLKYNENGTITDAVDCSQNPLAE
|||. . . | ..|||||||. |||.|||||||.....|. .|||.

EPI_ISL_402119/1-1273 LTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSE

【 0 5 7 6 】

【表 7 4】

Wuhan_Node1/9-1288	LKCTLKNFNVDKGIYQTSNFRVSPTQEVVRFPNITNLCPFDPKVFNATRFP
	
EPI_ISL_402119/1-1273	TKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFA
Wuhan_Node1/9-1288	SVYAWERTKISDCVADYTVLYNSTSFSTFKCYGVSPSKLIDLCTSVYAD
	
EPI_ISL_402119/1-1273	SVYAWNKRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCTNVYAD
Wuhan_Node1/9-1288	TFLIRCSEVRQVAPGQTGVIADYNYKLPDDFTGCVIAWNTAKQDTGSSGN
	
EPI_ISL_402119/1-1273	SFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGN
Wuhan_Node1/9-1288	YNYYSRSHRKTCLKPFERDLSSDECSPDGKPCPPAFNGVRGFNCYFTLS
	
EPI_ISL_402119/1-1273	YNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPC-----NGVEGFNCYFPLQ
Wuhan_Node1/9-1288	TYDFNPVNPVEYQATRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTQLVKNQCVNFNF
	
EPI_ISL_402119/1-1273	SYGFQPTNGVGYPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNF
Wuhan_Node1/9-1288	NGLKGTGVLTAASSKRFQSFQFGRDASDFTDSVRDPQTLEILDISPCSF
	
EPI_ISL_402119/1-1273	NGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSF
Wuhan_Node1/9-1288	GVSVITPGTNTSSEVAVLYQDVNCTDVPTAIHADQLTPAWRVYSTGVNVF
	
EPI_ISL_402119/1-1273	GVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVF
Wuhan_Node1/9-1288	QTQAGCLIGAHEVNASYECDIPGAGICASYHTASNSPRILRSTGQKSIV
	
EPI_ISL_402119/1-1273	QTRAGCLIGAHEVNNSYECDIPGAGICASYQTQTNPPRRARSVASQSII
Wuhan_Node1/9-1288	AYTMSLGAENSIAYANNSIAIPTNFSISVTTEVMPVSMAKTSVDCTMYIC
	

10

20

30

40

【0 5 7 7】

50

EPI_ISL_402119/1-1273 AYTMSLGAENSVAYSNNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYIC

EPI_ISL_402119/1-1273 GDSTEC SNLL LQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPP

| | | | | | | | | | | | | . | | | | | | | | | | | | | | | . | | | | . | | |

EPI_ISL_402119/1-1273 IKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGD

[illegible]

EPI_ISL_402119/1-1273 IAARDLICAQKFNGLTVLPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA

|||||

EPI_ISL_402119/1-1273 LQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTAS

| |

EPI_ISL_402119/1-1273 ALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQI

| |

EPI_ISL_402119/1-1273 DRLITGRLQSLQTYVTQQILIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFC

A horizontal number line with vertical tick marks every 1 unit. The line is labeled from 0 to 100. Dots are placed at the following positions: 15, 45, 55, and 85.

EPI_ISL_402119/1-1273 GKG YH LMSFPQSAPHG VVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICH DGKAHFPREG

EPI_ISL_402119/1-1273 VFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQP

【表 7 6】

Wuhan_Node1/9-1288 ELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL
 |||||
 EPI_ISL_402119/1-1273 ELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL

Wuhan_Node1/9-1288 NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYVWLGFIAGLIAIVMATILLCCMTSCCSC
 |||||
 EPI_ISL_402119/1-1273 NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSC

Wuhan_Node1/9-1288 LKGACSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
 |||
 EPI_ISL_402119/1-1273 LKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT

I D パーセンテージ = 7 8 . 9 8

【0 5 7 9】

実施例 4

C o V _ T 2 _ 4 の切断 S - タンパク質アミノ酸配列 (W u h a n _ N o d e 1 _ t r) と A Y 2 7 4 1 1 9 とのアラインメント

スコア = 4 9 4 8 0 . 0

アライメントの長さ = 1 1 8 1

配列 W u h a n _ N o d e 1 _ t r / 5 - 1 1 8 5 (配列長 = 1 1 8 5)

配列 A Y 2 7 4 1 1 9 _ t r (C o V _ T 2 _ 2) / 1 - 1 1 5 2 (配列長 = 1 1 5 2)

【0 5 8 0】

【表 7 7】

Wuhan_Node1_tr/5-1185 LFIIIFAFFLLSAKANERCGIFTSKPQPKLAQVSSRRGVYYP
 .||... . | | . .|| | | . .| .|| |||||
 AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152 MFIFLLFLTLTSGSDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYP

Wuhan_Node1_tr/5-1185 DDIFRSDVLHLTQDYFLPFDSNVTRYFSLNANGPDRIVYFDNP
 |.|||| | ||| ||| ||| . ..| . |.||
 AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152 DEIFRSDTLYLTLQDLFLPFYSNVTGFHTIN-----HT--FGNP

Wuhan_Node1_tr/5-1185 IIPFKDGVYFAATEKSNVIRGWIFGSTLDNTSQSVIIVNNSTN
 .|||||.|||||.||||.||||..| |||||.|||||
 AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152 VIPFKDGIYFAATEKSNVVRGWVFGSTMNKSQSVIINNSTN

Wuhan_Node1_tr/5-1185 VIIRVCNFDLCNDPFFFTVSRPTDKHIKTWSIREFAVYQSAFNC
 |.|| |||.||..|||.|||. . .||||

【0 5 8 1】

10

20

30

40

50

【表 7 8】

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 VVIRACNFELCDNPFFAVSKPMG--TQTHT----MIFDNAFNC

Wuhan_Node1_tr/5-1185 TFEYVSKSFLLDVAEKPGNFKHLREFVFKNVDGFLNVYSTYKP

||||. | .| |||.|||.||||||||||||| |||| || |. |

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 TFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVFKNKDGFLYVYKGYQP

Wuhan_Node1_tr/5-1185 INVVSGLPTGFSVLKPILKLPLGINITSFRVLLTMFRGDPTPG

|. || .|||. |. |||||.|||||||||. || .|| | .|. |

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 IDVVRDLPSGFNTLKP IFKLPLGINITNFRAILTAF----SPA

Wuhan_Node1_tr/5-1185 HTTANWLTA AAAAYVGYLKPTTFMLKYNENGTITDAVDCSQNP

. | |. |||||.|||||||||||||. |||||||||||||||

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 QDI--WGTSAAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGITITDAVDCSQNP

Wuhan_Node1_tr/5-1185 LAELKCTLKNFNVDKGIYQTSNFRVSPTQEVVRFPNITNLCPF

|||||. |||. |. ||. ||||||||||| |. . |||||||||||

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 LAELKCSVKSF EIDKGIYQTSNFRVVP SGDVVRFPNITNLCPF

Wuhan_Node1_tr/5-1185 DKVFNATRFPSVYAWERTKISDCVADYTVLYNSTSFSTFKCYG

. |||||. ||||||| |||. |||||. ||||| |||||||

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 GEVFNATKFP SVYAWERKKISNCVADYSVLYNSTFFSTFKCYG

Wuhan_Node1_tr/5-1185 VSPSKLIDL CFTSVYADTFLIRCSEVRQVAPGQTGVIADYNYK

||. || |||||. |||||. |. |||. |||||||||||

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 VSATKLNDLCF SNVYADSFVVGDDVRQIAPGQTGVIADYNYK

Wuhan_Node1_tr/5-1185 LPDDFTGCVIAWNTAKQDTGSSGNYNYYYRSHRKTCLKPFERD

|||| | |||. |||| . |. |. |||| | | | ||. ||||

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 LPDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNKYRYLRHGKLRPFERD

Wuhan_Node1_tr/5-1185 LSSDECSPDGKPC TPPAFNGVRGFNCYFTLSTYDFNPNVPVEY

. |. ||||||||| . ||| |. |. | . |

AY274119_tr (CoV_T2_2) / 1-1152 ISNVPFSPDGKPC TPPA-----LNCYWPLNDYGFYTTTGIGY

10

20

30

40

【0 5 8 2】

【表 7 9】

Wuhan_Node1_tr/5-1185	QATRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTQLVKNQCVNFNFNGLKG .	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	QPYRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTDLIKQCVNFNFNGLTG	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	TGVLTAASSKRFQSFQQFGRDASDFTDSVRDPQTLEILDISPCS . .	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	TGVLTPSSKRFQPFQQFGRDVSDFTDSVRDPKTSEILDISPCA	10
Wuhan_Node1_tr/5-1185	FGGVSVITPGTNTSSEVAVLYQDVNCTDVPTAIHADQLTPAWR 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	FGGVSVITPGTNASSEVAVLYQDVNCTDVSTAIHADQLTPAWR	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	VYSTGVNVFQTQAGCLIGAHEVNASYECDIPIGAGICASYHTA .	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	IYSTGNNVFQTQAGCLIGAHEVDTSYECDIPIGAGICASYHTV	20
Wuhan_Node1_tr/5-1185	SNSPRILRSTGQKSIVAYTMSLGAENSIAYANNSIAIPTNFSI .	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	S---LLRSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNNTIAIPTNFSI	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	SVTTEVMPVSMAKTSVDCTMYICGDSLECSNLLLQYGSFCTQL .	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	SITTEVMPVSMAKTSVDCNMYICGDSTECANLLLQYGSFCTQL	30
Wuhan_Node1_tr/5-1185	NRALTGIAIEQDKNTQEVFAQVKQMYKTPAIKDFGGFNFSQIL .	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	NRALSGIAAEQDRNTREVFAQVKQMYKTPTLKYFGGFNFSQIL	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	PDPSKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQYGECLGDISARDL 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	PDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQYGECLGDINARDL	40

【0 5 8 3】

【表 80】

Wuhan_Node1_tr/5-1185	ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAAYTAALVSGTATAGWTFGAGA 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	ICAQKFNGLTVLPPLLTDDMIAAYTAALVSGTATAGWTFGAGA 	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	ALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQIQ 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	ALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQIQ 	10
Wuhan_Node1_tr/5-1185	ESLTTTSTALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLN 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	ESLTTTSTALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLN 	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	DILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRAS 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	DILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRAS 	20
Wuhan_Node1_tr/5-1185	ANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQAAPHGVVFLH 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	ANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQAAPHGVVFLH 	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	VTYVPSQERNFTTAPAICHEGKAYFPREGVFSNGTSWFITQR 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	VTYVPSQERNFTTAPAICHEGKAYFPREGVFSNGTSWFITQR 	30
Wuhan_Node1_tr/5-1185	NFYSPQIIITDNTFVSGNCDVVIGIINNTVYDPLQPELDSFKE .	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	NFFSPQIIITDNTFVSGNCDVVIGIINNTVYDPLQPELDSFKE .	
Wuhan_Node1_tr/5-1185	ELDKYFKNHTSPDVDLGDIS 	
AY274119_tr(CoV_T2_2)/1-1152	ELDKYFKNHTSPDVDLGDIS 	40

IDパーセンテージ = 80.86

【0584】

実施例 5

CoV_T2_4の切断S-タンパク質アミノ酸配列(Wuhan_Node1_tr)とEPI_ISL_402119とのアラインメント

スコア = 48450.0

アラインメントの長さ = 1177

配列Wuhan_Node1_tr/9-1185 (配列長 = 1185)

配列EPI_ISL_402119_tr/1-1170 (配列長 = 1170)

【表 8 1】

Wuhan_Node1_tr/9-1185 IFAFFLLSAKANERCGIFTSKPQPKLAQVSSSSRRGVYYPDDIFRSDV
 . | |..| . . . | .|.. | | . | ||||| | .||| |

EPI_ISL_402119_tr/1-1170 MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSV

Wuhan_Node1_tr/9-1185 LHLTQDYFLPFDSNVTRYFSLNANGPDRIVYFDNPIIPFKDGVYFAA
|| ||| |||| ||||..| . ||||..||.|||||.

EPI_ISL_402119_tr/1-1170 LHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFAS

Wuhan_Node1_tr/9-1185 TEKSNVIRGWIFGSTLDNTSQSVIIIVNNSTNVIIIRVCNFDLCNDPFF
|||||.|||||.|||. .||..||||.|||||.|||.||..|||||.

EPI_ISL_402119_tr/1-1170 TEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFL

Wuhan_Node1_tr/9-1185 TVSRPTDKHIKTWSIREFAVYQSAFNCTFEYVSKSFLLDVAEKPGNF

EPI_ISL_402119_tr/1-1170 G V Y -- Y H K N N K S W M E S E F R V Y S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E G K Q G N F

Wuhan_Node1_tr/9-1185 KHLREFVFKNVDGFLNVYSTYKPINVVSGGLPTGFSLKPILKLPLGI
|.|||||||.||....| | |||. | .|| ||| | |.. ||.|

EPI_ISL_402119_tr/1-1170 KNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGI

Wuhan_Node1_tr/9-1185 NITSEFVLLTMFERGDPTPGHTTANWLTA AAAAYVGYLKPTTFMLKYN
||| |. ||.. |. |||.... | ..| ||||| |||. | ||. |||

EPI_ISL_402119_tr/1-1170 NITRFQTLLALHRSYLT PGDSSSGW TAGAAAYVGYLQPRTFLLKYN

Wuhan_Node1_tr/9-1185 ENGTTDAVDCSQNPLAELKCTLKNFNVDKGIIYQTSNFRVSPTQEVR
|||||||. .|||. |||||. |. ||||| ||||| ||. .

EPI_ISL_402119_tr/1-1170 ENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIV

【 0 5 8 6 】

【表 8 2】

Wuhan_Node1_tr/9-1185	RFPNITNLCPFDKVFNATRFPSVYAWERTKISDCVADYTVLYNSTSF	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	RFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASF	
Wuhan_Node1_tr/9-1185	STFKCYGVSPSKLIDLCTSVYADTFLIRCSEVRQVAPGQTGVIADY	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	STFKCYGVSPTKLNDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADY	
Wuhan_Node1_tr/9-1185	NYKLPDDFTGCVIAWNTAKQDTGSSGNYNYYYRSHRKTCLKPFERDL	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	NYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDI	
Wuhan_Node1_tr/9-1185	SSDECSPDGKPCTPPAFNGVRGFNCYFTLSTYDFNPNVPVEYQATRV	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	STEIYQAGSTPC-----NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRV	
Wuhan_Node1_tr/9-1185	VVLSFELLNAPATVCGPKLSTQLVKNQCVNFNFNGLKGTGVLTASSK	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	VVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNK	
Wuhan_Node1_tr/9-1185	RFQSFQQFGRDASDFTDSVRDPQTLEILDISPCSFGGVSVITPGTNT	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	KFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNT	
Wuhan_Node1_tr/9-1185	SSEVAVLYQDVNCTDVPTAIHADQLTPAWRVYSTGVNVFQTQAGCLI	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	SNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLI	
Wuhan_Node1_tr/9-1185	GAEHVNASYECDIPIGAGICASYHTASNSPRILRSTGQKSIVAYTMS	
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	GAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMS	

【 0 5 8 7 】

【表 8 3】

Wuhan_Node1_tr/9-1185	LGAENSIAYANNNSIAIPTNFSISVTEVMPVSMAKTSVDCTMYICGD
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	LGAENSVAYSNNNSIAIPTNFTISVTEILPVSMKTSVDCTMYICGD
Wuhan_Node1_tr/9-1185	SLECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAIEQDKNTQEVFAQVKQMYKTP .
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTP
Wuhan_Node1_tr/9-1185	AIKDFGGFNFSQILPDPSKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQYGE . . .
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	PIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGD
Wuhan_Node1_tr/9-1185	CLGDISARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAAYTAALVSGTATAGW .
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	CLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGW
Wuhan_Node1_tr/9-1185	TFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQ
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	TFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGK
Wuhan_Node1_tr/9-1185	IQESLTTTSTALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDI . . .
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	IQDSLSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDI
Wuhan_Node1_tr/9-1185	LSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAAT
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	LSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAAT
Wuhan_Node1_tr/9-1185	KMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQAAPHGVVFLHVTYVPSQERN
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	KMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKN
Wuhan_Node1_tr/9-1185	FTTAPAICHEGKAYFPREGVFVSNGTSWFITQRNFYSPQIITTDNTF .
EPI_ISL_402119_tr/1-1170	FTTAPAICHGDKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTF

10

20

30

40

【0 5 8 8】

50

【表 8 4】

Wuhan_Node1_tr/9-1185 VSGNCDVVIGIINNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGD
 |||||
 EPI_ISL_402119_tr/1-1170 VSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGD

Wuhan_Node1_tr/9-1185 IS
 ||
 EPI_ISL_402119_tr/1-1170 IS

10

I D パーセンテージ = 7 7 . 4 9

【0 5 8 9】

実施例 6

C o V __ T 2 __ 7 の S - タンパク質 R B D アミノ酸配列 (W u h a n __ N o d e 1 __ R B D) と A Y 2 7 4 1 1 9 とのアラインメント

スコア = 8 1 7 0 . 0

アライメントの長さ = 2 1 9

配列 W u h a n __ N o d e 1 __ R B D / 1 - 2 1 9 (配列長 = 2 1 9)

配列 A Y 2 7 4 1 1 9 __ R B D / 1 - 2 1 3 (配列長 = 2 1 3)

20

【0 5 9 0】

【表 8 5】

Wuhan_Node1_RBD/1-219 RVSPTEQEVVRFPNITNLCPFDKVFNATRFPSVYAWERTKISDCVADYTVL
 || | . . ||||| . ||||| . ||||| || | . ||||| . ||
 AY274119_RBD/1-213 RVVPSGDVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFPVYAWERKKISNCVADYSVL

Wuhan_Node1_RBD/1-219 YNSTSFSTFKCYGVSPSKLIDLCTSVYADTFLIRCSEVRQVAPGQTGVI
 |||| ||||| . . || |||| . |||| |||| . |||||
 AY274119_RBD/1-213 YNSTFFSTFKCYGVSATKLNLDLCSNVYADSFVVGDDVRQIAPGQTGVI

30

Wuhan_Node1_RBD/1-219 ADYNYKLPDDFTGCVIAWNTAKQDTGSSGNYNYYYRSHRKTCLKPFERDL
 ||||| ||||| ||| . |||| . | . | . |||| || | || . ||||| .
 AY274119_RBD/1-213 ADYNYKLPDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNKYRYLRHGKLRPFERDI

Wuhan_Node1_RBD/1-219 SSDECSPDGKPCPTPPAFNGVIRGFNCYFTLSTYDFNPNVPVEYQATRNVVL
 | . ||||| . |||| | . | . | . || . |||||
 AY274119_RBD/1-213 SNVPFSPDGKPCPTPPA-----LNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVVL

40

【0 5 9 1】

【表 8 6】

Wuhan_Node1_RBD/1-219 SFELLNAPATVCGPKLSTQ
 |||||
 AY274119_RBD/1-213 SFELLNAPATVCGPKLSTD

50

【表 8 8】

PstI KpnI SalI
 pEVAC 1301 ACAGACTGTT CCTTTCCATG GGTCTTTTCT GCAGTCACCG TCGGTACCGT
 BclI XbaI BamHI NotI BglII
 pEVAC 1351 CGACACGTGT GATCATCTAG AGGATCCGCG GCCGCAGATC T

【0 5 9 7】

p E V A C の配列全体（配列番号 2 0）：

【0 5 9 8】

【表 8 9】

10

CMV-IE-E/P:	248	—	989	CMV 最初期 1 エンハンサ / プロモータ
KanR:	3445	—	4098	カナマイシン耐性
SD:	990	—	1220	スプライス供与体
SA:	1221	—	1343	スプライス受容体
Tbgh:	1392	—	1942	ウシ成長ホルモンからのターミネーターシグナル
pUC-ori:	2096	—	2769	pUC-プラスミド複製起点

【0 5 9 9】

【表 9 0】

20

30

40

```

1 TCGCGCGTTT CGGTGATGAC GGTGAAAACC TCTGACACAT GCAGCTCCCG
51 GAGACGGTCA CAGCTTGTCT GTAAGCGGAT GCCGGGAGCA GACAAGCCCG
101 TCAGGGCGCG TCAGCGGGTG TTGGCGGGTG TCGGGGCTGG CTTAACTATG
151 CGGCATCAGA GCAGATTGTA CTGAGAGTGC ACCATATGCG GTGTGAAATA
201 CCGCACAGAT GCGTAAGGAG AAAATACCGC ATCAGATTGG CTATTGGCCA
251 TTGCATACGT TGTATCCATA TCATAATATG TACATTTATA TTGGCTCATG
301 TCCAACATTA CCGCCATGTT GACATTGATT ATTGACTAGT TATTAATAGT
351 AATCAATTAC GGGGTCATTA GTTCATAGCC CATATATGGA GTTCCGCGTT
401 ACATAACTTA CGGTAAATGG CCCGCCTGGC TGACCGCCCA ACGACCCCG
451 CCCATTGACG TCAATAATGA CGTATGTTCC CATAGTAACG CCAATAGGGA
501 CTTTCCATTG ACGTCAATGG GTGGAGTATT TACGGTAAAC TGCCCACTTG
551 GCAGTACATC AAGTGTATCA TATGCCAAGT ACGCCCCCTA TTGACGTCAA
601 TGACGGTAAA TGGCCCGCCT GGCATTATGC CCAGTACATG ACCTTATGGG
651 ACTTTCCTAC TTGGCAGTAC ATCTACGTAT TAGTCATCGC TATTACCATG
701 GTGATGCGGT TTTGGCAGTA CATCAATGGG CGTGGATAGC GGTTTGACTC
751 ACGGGGATTT CCAAGTCTCC ACCCCATTGA CGTCAATGGG AGTTTGTITT
801 GGCACCAAAA TCAACGGGAC TTTCCAAAAT GTCGTAACAA CTCCGCCCCA
851 TTGACGCAAA TGGGCGGGTAG GCGTGTACGG TGGGAGGTCT ATATAAGCAG
901 AGCTCGTTTA GTGAACCGTC AGATCGCCTG GAGACGCCAT CCACGCTGTT
951 TTGACCTCCA TAGAAGACAC CGGGACCGAT CCAGCCTCCA TCGGCTCGCA
1001 TCTCTCCTTC ACGCGCCCGC CGCCCTACCT GAGGCCGCCA TCCACGCCGG
1051 TTGAGTCGCG TTCTGCCGCC TCCCGCCTGT GGTGCCTCCT GAACTGCGTC
1101 CGCCGTCTAG GTAAGTTTAA AGCTCAGGTC GAGACCGGGC CTTTGTCCGG
1151 CGCTCCCTTG GAGCCTACCT AGACTCAGCC GGCTCTCCAC GCTTTGCGTG
1201 ACCCTGCTTG CTCAACTCTA GTTAACGGTG GAGGGCAGTG TAGTCTGAGC
1251 AGTACTCGTT GCTGCCGCGC GCGCCACCAG ACATAATAGC TGACAGACTA
1301 ACAGACTGTT CCTTTCCATG GGTCTTTTCT GCAGTCACCG TCGGTACCGT
1351 CGACACGTGT GATCATCTAG AGGATCCGCG GCCGCAGATC TGCTGTGCCT
1401 TCTAGTTGCC AGCCATCTGT TGTTTGCCCC TCCCCGTCG CTTCTTGAC
1451 CCTGGAAGGT GCCACTCCCA CTGTCCTTTC CTAATAAAAT GAGGAAATTG
  
```

【0 6 0 0】

50

【表 9 1】

1501	CATCGCATTG	TCTGAGTAGG	TGTCATTCTA	TTCTGGGGGG	TGGGGTGGGG
1551	CAGGACAGCA	AGGGGGAGGA	TTGGGAAGAC	AATAGCAGGC	ATGCTGGGGA
1601	TGCGGTGGGC	TCTATGGCTA	CCCAGGTGCT	GAAGAATTGA	CCCGGTTCTT
1651	CCTGGGCCAG	AAAGAAGCAG	GCACATCCCC	TTCTCTGTGA	CACACCCITGT
1701	CCAGGCCCTT	GGTTCTTAGT	TCCAGCCCCA	CTCATAGGAC	ACTCATAGCT
1751	CAGGAGGGCT	CCGCCTTCAA	TCCCACCCGC	TAAAGTACTT	GGAGCGGTCT
1801	CTCCCTCCCT	CATCAGCCCA	CCAAACCAAA	CCTAGCCTCC	AAGAGTGGGA
1851	AGAAATTAAT	GCAAGATAGG	CTATTAAGTG	CAGAGGGAGA	GAAATGCCTT
1901	CCAACATGTG	AGGAAGTAAT	GAGAGAAATC	ATAGAATTTT	AAGGCCATGA
1951	TTTAAGGCCA	TCATGGCCTT	AATCTTCCGC	TTCTCGCTC	ACTGACTCGC
2001	TGCGCTCGGT	CGTTCGGCTG	CGGCGAGCGG	TATCAGCTCA	CTCAAAGGCG
2051	GTAATACGGT	TATCCACAGA	ATCAGGGGAT	AACGCAGGAA	AGAACATGTG
2101	AGCAAAAGGC	CAGCAAAAGG	CCAGGAACCG	TAAAAAGGCC	GCGTTGCTGG
2151	CGTTTTTCCA	TAGGCTCCGC	CCCCCTGACG	AGCATCACAA	AAATCGACGC
2201	TCAAGTCAGA	GGTGGCGAAA	CCCGACAGGA	CTATAAGAT	ACCAGGCGTT
2251	TCCCCCTGGA	AGCTCCCTCG	TGCGCTCTCC	TGTTCCGACC	CTGCCGCTTA
2301	CCGATACCTT	GTCCGCCTTT	CTCCCTTCGG	GAAGCGTGGC	GCTTTCTCAT
2351	AGCTCACGCT	GTAGGTATCT	CAGTTCGGTG	TAGGTCGTTT	GCTCCAAGCT
2401	GGGCTGTGTG	CACGAACCCC	CCGTTTCAGCC	CGACCGCTGC	GCCTTATCCG
2451	GTAAGTATCG	TCTTGAGTCC	AACCCGGTAA	GACACGACTT	ATCGCCACTG
2501	GCAGCAGCCA	CTGGTAACAG	GATTAGCAGA	GCGAGGTATG	TAGGCGGTGC
2551	TACAGAGTTC	TTGAAGTGGT	GGCCTAACTA	CGGCTACACT	AGAAGAACAG
2601	TATTTGGTAT	CTGCGCTCTG	CTGAAGCCAG	TTACCTTCGG	AAAAAGAGTT
2651	GGTAGCTCTT	GATCCGGCAA	ACAAACCACC	GCTGGTAGCG	GTGGTTTTTT
2701	TGTTTGCAAG	CAGCAGATTA	CGCGCAGAAA	AAAAGGATCT	CAAGAAGATC
2751	CTTTGATCTT	TTCTACGGGG	TCTGACGCTC	AGTGGAAACG	AAACTCACGT
2801	TAAGGGATTT	TGGTCATGAG	ATTATCAAAA	AGGATCTTCA	CCTAGATCCT
2851	TTTAAATTA	AAATGAAGTT	TTAAATCAAT	CTAAAGTATA	TATGAGTAAA
2901	CTTGGTCTGA	CAGTTACCAA	TGCTTAATCA	GTGAGGCACC	TATCTCAGCG
2951	ATCTGTCTAT	TTCGTTTCATC	CATAGTTGCC	TGACTCGGGG	GGGGGGGGCG
3001	CTGAGGTCTG	CCTCGTGAAG	AAGGTGTTGC	TGACTCATAC	CAGGCCTGAA
3051	TCGCCCCATC	ATCCAGCCAG	AAAGTGAGGG	AGCCACGGTT	GATGAGAGCT
3101	TTGTTGTAGG	TGGACCAAGT	GGTGATTTTG	AACCTTTGCT	TTGCCACGGA
3151	ACGGTCTGCG	TTGTCGGGAA	GATGCGTGAT	CTGATCCTTC	AACTCAGCAA
3201	AAGTTCGATT	TATTCACCAA	AGCCGCCGTC	CCGTCAAGTC	AGCGTAATGC
3251	TCTGCCAGTG	TTACAACCAA	TTAACCAATT	CTGATTAGAA	AAACTCATCG
3301	AGCATCAAA	GAAACTGCAA	TTTATTCATA	TCAGGATTAT	CAATACCATA
3351	TTTTTGAAAA	AGCCGTTTCT	GTAATGAAGG	AGAAAACCTA	CCGAGGCAGT
3401	TCCATAGGAT	GGCAAGATCC	TGGTATCGGT	CTGCGATTCC	GACTCGTCCA
3451	ACATCAATAC	AACCTATTAA	TTTCCCTCG	TCAAAAATAA	GGTTATCAAG
3501	TGAGAAATCA	CCATGAGTGA	CGACTGAATC	CGGTGAGAAT	GGCAAAAGCT
3551	TATGCATTTT	TTTCCAGACT	TGTTCAACAG	GCCAGCCATT	ACGCTCGTCA
3601	TCAAAATCAC	TGCGATCAAC	CAAACCGTTA	TTCATTCTGT	ATTGCGCCTG
3651	AGCGAGACGA	AATACGCGAT	CGCTGTTAAA	AGGACAATTA	CAAAACAGGAA
3701	TCGAATGCAA	CCGGCGCAGG	AACACTGCCA	GCGCATCAAC	AATATTTTCA
3751	CCTGAATCAG	GATATTCTTC	TAATACCTGG	AATGCTGTTT	TCCCGGGGAT
3801	CGCAGTGGTG	AGTAACCATG	CATCATCAGG	AGTACGGATA	AAATGCTTGA
3851	TGGTCGGAAG	AGGCATAAAT	TCCGTCAGCC	AGTTTAGTCT	GACCATCTCA
3901	TCTGTAACAT	CATTGGCAAC	GCTACCTTTG	CCATGTTTCA	GAACAACTC
3951	TGGCGCATCG	GGCTTCCCAT	ACAATCGATA	GATTGTGCGA	CCTGATTGCC
4001	CGACATTATC	GCGAGCCCAT	TTATACCCAT	ATAAATCAGC	ATCCATGTTG
4051	GAATTTAATC	GCGGCCTCGA	GCAAGACGTT	TCCCGTTGAA	TATGGCTCAT
4101	AACACCCCTT	GTATTACTGT	TTATGTAAGC	AGACAGTTTT	ATTGTTTCATG
4151	ATGATATATT	TTTATCTTGT	GCAATGTAAC	ATCAGAGATT	TTGAGACACA
4201	ACGTGGCTTT	CCCCCCCCCT	CCATTATTGA	AGCATTATAT	AGGGTTATTG
4251	TCTCATGAGC	GGATACATAT	TTGAATGTAT	TTAGAAAAAT	AAACAAATAG
4301	GGGTTCCGCG	CACATTTCCC	CGAAAAGTGC	CACCTGACGT	CTAAGAAACC
4351	ATTATTATCA	TGACATTAAAC	CTATAAAAAAT	AGGCGTATCA	CGAGGCCCTT
4401	TCGTC				

10

20

30

40

【0601】

実施例 9

Wuhan__Node1__RBD (CoV__T2__7) アミノ酸配列 (配列番号 17) と、AY274119__RBD (CoV__T2__5) (配列番号 5) 及び EPI__ISL__402119__RBD (CoV__T2__6) (配列番号 11) アミノ酸配列との共通のアミノ酸の差異

図 4 は、アミノ酸残基の差異が AY 274119__RBD (CoV__T2__5) (配列番号 5) 及び EPI__ISL__402119__RBD (CoV__T2__6) (配列番号 11) アミノ酸配列 (それぞれ実施例 6 及び 7) とのそれぞれのアラインメントから太字

50

及び下線で強調表示された、W u h a n _ _ N o d e 1 _ _ R B D (C o V _ _ T 2 _ _ 7) アミノ酸配列（配列番号 1 7）を示す。

【 0 6 0 2 】

2つのアラインメントからのアミノ酸残基の差異を以下の表に列挙する（残基位置の番号付けは、W u h a n _ _ N o d e 1 _ _ R B D (C o V _ _ T 2 _ _ 7)（配列番号 1 7）アミノ酸配列の位置に対応する。2つのアラインメントとの共通の差異は、アミノ酸残基：3、6、7、21、22、38、42、48、67、70、76、81、83、86、87、92、121、122、123、125、126、128、134、137、138、141、150、152、153、154、155、167、171、178、180、181、183、185、187、188、189、191、194、195、219にある（図 4 及び以下の表に灰色の強調表示で示す）。

10

【 0 6 0 3 】

20

30

40

50

【表 9 2 - 1】

Wuhan__Node1__RBD (CoV__T2__7) 残基位置	アミノ酸残基の差異、対 AY274119__RBD	アミノ酸残基の差異、対 EPI__ISL__402119__RBD
3	S	S
5	T	—
6	Q	Q
7	E	E
8	—	V
21	D	D
22	K	K
28	R	—
30	—	P
36	—	E
38	T	T
39	—	K
42	D	D
48	T	T
54	—	T
55	S	—
66	P	—
67	S	S
70	I	I
75	T	—
76	S	S
81	T	T
83	L	L
84	I	—
85	R	—
86	C	C
87	S	S
88	E	—
92	V	V
99	—	V
112	T	—
116	I	—
120	—	T
121	A	A
122	K	K
123	Q	Q
125	T	T
126	G	G
127	—	S
128	S	S
134	Y	Y
137	S	S
138	H	H

【 0 6 0 4 】

10

20

30

40

50

【表 9 2 - 2】

(上記表の続き)

Wuhan__Node1__RBD (CoV__T2__7)残基位置	アミノ酸残基の差異、対 AY274119__RBD	アミノ酸残基の差異、対 EPI__ISL__402119__RBD
140	K	—
141	T	T
142	—	K
144	K	—
150	L	L
152	S	S
153	D	D
154	E	E
155	C	C
156	—	S
157	—	P
158	—	D
159	—	G
160	—	K
163	—	T
164	—	P
165	—	P
166	—	A
167	F	F
168	N	—
169	G	—
170	V	—
171	R	R
172	G	—
173	F	—
177	F	—
178	T	T
180	S	S
181	T	T
183	D	D
185	N	N
186	P	—
187	N	N
188	V	V
189	P	P
190	V	—
191	E	E
194	A	A
195	T	T
206	—	N
216	—	L
219	Q	Q

10

20

30

40

【0605】

アミノ酸挿入は、167～172 (AY274119__RBDと比較) 及び163～167 (EPI__ISL__402119__RBDと比較) の位置にある (図4に囲んで示す)。

【0606】

実施例9

「panS」抗原をコードするDNAワクチンによって誘導される免疫応答

マウス (n=6) を、本発明の一実施形態による「panS」抗原をコードするDNA (Wuhan__Node1 (CoV__T2__1)、配列番号14のアミノ酸の完全長Sタンパク質をコードする配列番号13の核酸、SARS-CoV-1由来の完全長S遺伝子

50

、又はSARS-CoV-2由来の完全長S遺伝子で免疫化した。

【0607】

マウスから得られた血清中の抗体を、FACSを介して野生型抗原に結合するそれらの能力について比較した。

【0608】

図5は、HEK293T細胞上で発現されたSARS-CoV-1 (A) 又はSARS-CoV-2 (B) 完全長スパイクタンパク質に結合する抗体の用量応答曲線を示す。フローサイトメトリーベースの細胞ディスプレイアッセイは、MFI (蛍光強度中央値) で報告した。

【0609】

野生型S遺伝子のいずれかで免疫化されたマウスからの血清は、異種タンパク質への弱い結合を示す。対照的に、「panS」抗原で免疫化されたマウスからの血清は、SARS-CoV-1 及びSARS-CoV-2 スパイクタンパク質の両方に結合する。

【0610】

「panS」抗原は、野生型抗原よりも交差反応性が高い免疫応答を誘導し、天然に存在する抗原を使用することによっては得られない将来のサルベコウイルスの大流行に対する保護を示すと結論付けられた。

【0611】

実施例10

エンベロープ (E) タンパク質ワクチン配列

図6は、SARSエンベロープタンパク質 (配列番号21) のアミノ酸配列を示し、配列の重要な特徴を示す。

MYSFVSEETG TLI VNSVLLF LAFVVFLLV T LA ILTA
LRLC AYCCNIVNVS LVKPTVYVYS RVKNLNSSEG VP
DLLV (配列番号: 21)

【0612】

図7は、NL63 及び229E (α-コロナウイルス)、並びにHKU1、MERS、SARS、及びSARS2 (β-コロナウイルス) の分離株の配列を比較するコロナウイルスエンベロープ (E) タンパク質配列の複数配列アラインメントを示す。アラインメントは、SARS2 及びSARS 配列 (サルベコウイルスのβ-コロナウイルス) に対するEタンパク質のC末端が、他の配列と比較して欠失を含むこと、並びにSARS2 Eタンパク質配列が、SARS 配列と比較して欠失及びアルギニン (正に荷電した) アミノ酸残基を含むことを示す。

【0613】

本発明者らは、COV__E__T2__1 (設計されたサルベコウイルス配列) (配列番号22) 及びCOV__E__T2__2 (設計されたSARS2 配列) (配列番号23) と呼ばれるエンベロープ (E) タンパク質の新規配列を生成した。

>COV__E__T2__1

MYSFVSEETG TLI VNSVLLF LAFVVFLLV T LA ILTA
LRLC AYCCNIVNVS LVKPTFYVYS RVKNLNSSSQG VP
DLLV (配列番号: 22)

>COV__E__T2__2

MYSFVSEETG TLI VNSVLLF LAFVVFLLV T LA ILTA
LRLC AYCCNIVNVS LVKPTFYVYS RVKNLNSSR-VPD
LLV (配列番号: 23)

【0614】

これらの設計された配列による図7のSARS2 参照Eタンパク質配列のアラインメントは、SARS2 参照Eタンパク質配列とCOV__E__T2__1 設計配列 (配列番号22) との間に4つのアミノ酸の差異があり、SARS2 参照Eタンパク質配列とCOV__E__T2__2 設計配列 (配列番号23) との間に2つのアミノ酸の差異があることを強調す

10

20

30

40

50

る（以下のアミノ酸配列アラインメントの囲んだアミノ酸残基を参照）。

【0615】

【表93】

	10	20	30	40	50	60
	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILT	VLRLCAYCCNIVNVSLVKP	SFYVYSRVKNLNS			
	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILT	VLRLCAYCCNIVNVSLVKP	TFYVYSRVKNLNS			
	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILT	VLRLCAYCCNIVNVSLVKP	TFYVYSRVKNLNS			
70						
	SRLMPDLLV					
	SQGVDPDLLV					
	SRLMPDLLV					

10

【0616】

COV__E__T2__2配列のC末端配列は、SARS2参照配列と同一である。Eタンパク質のC末端は、Eタンパク質の特定されたエピトープのうちの1つであるため、アミノ酸欠失及びSARS2参照配列に存在するアルギニン残基による置換（図6のSARS参照配列と比較して）は、COV__E__T2__2設計配列に保持されている。他の位置におけるアミノ酸の差異は、全てのサルベコウイルスを認識する免疫応答の誘導を最大化するために最適化されている。

【0617】

アミノ酸の差異を以下の表に要約する。

【0618】

【表94】

SARS2 Eタンパク質残基位置	SARS2参照アミノ酸残基	COV__E__T2__1 アミノ酸残基	COV__E__T2__2 アミノ酸残基
36	V	A	A
55	S	T	T
69	R	Q	R
70	—	G	—

20

【0619】

上記のアラインメントで、SARS2参照配列の残基36は、Vとして示されるが、実際にはA（図7及び配列番号21に正しく示されるように）である。配列番号21と設計配列とのアラインメントは、代替SARS2参照Eタンパク質配列とCOV__E__T2__1設計配列（配列番号22）との間に3つのアミノ酸の差異があり、SARS2参照Eタンパク質配列とCOV__E__T2__2設計配列（配列番号23）との間に1つのアミノ酸の差異があることを強調する。

30

【0620】

【表95】

SARS2	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKP	SFYVYSRVKNL	65
COV_E_T2_1	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKP	TFYVYSRVKNL	65
COV_E_T2_2	MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKP	TFYVYSRVKNL	65
SARS2	NSSR-VPDLLV		75
COV_E_T2_1	NSSQGVDPDLLV		76
COV_E_T2_2	NSSR-VPDLLV		75

40

【0621】

アミノ酸の差異を以下の表に要約する。

【0622】

【表96】

SARS2 Eタンパク質残基位置	SARS2参照アミノ酸残基	COV__E__T2__1 アミノ酸残基	COV__E__T2__2 アミノ酸残基
55	S	T	T
69	R	Q	R
70	—	G	—

50

【0623】

実施例11

膜(M)タンパク質ワクチン配列

本発明者らは、コロナウイルス膜(M)タンパク質の新規配列を生成した。

・COV__M__T2__1 Sarbecovirus root ancestor (サルベコウイルスルート祖先) (配列番号24)、

・COV__M__T2__2 エピトープは、SARS 2クレード祖先ノード88bのバージョンを最適化し(D 4を除去)、開始及び終了からのB細胞エピトープに相当するSARS 2が追加され、次いで、共進化部位の制約を観察しながらT細胞エピトープが追加された(配列番号25)。

10

【0624】

これらの設計された配列のアミノ酸配列は以下の通りである。

>COV__M__T2__1/1-221Sarbeco__M__root:

MADNGTITVE ELKQLLEQWN LVIGFLFLAW IMLLQF
AYSN RNRFLYIIKL VFLWLLWPVT LACFVLAAYV RI
NWVTGGIA IAMACIVGLM WLSYFVASFR LFARTRSMW
S FNPETNILLN VPLRGITILTR PLMESELVIG AVIIR
GHLRM AGHSLGRCDI KDLPKEITVA TSRTLSSYYKL G
ASQRVGTDS GFAAYNRYRI GNYKLNTDHA GSNDNIAL
LV Q (配列番号24)

20

>COV__M__T2__2/1-222Sarbeco__M__Node88b__epitope__optimised:

MADSNGTITV EELKKLLEQW NLVIGFLFLT WICLLQ
FAYS NRNRFLYIIK LIFLWLLWPV TLACFVLAAY YR
INWVTGGI AIAMACIVGL MWLSYFVASF RLFARTRSM
W SFNPETNILL NVPLRGSIIT RPLMESELVI GAVIL
RGHLR MAGHSLGRCD IKDLPKEITV ATSRTLSSYYK L
GASQRVASD SGFAVYNRYR IGNYKLNTDH SSSSDNIA
LL VQ (配列番号25)

30

【0625】

設計された配列による以下のSARS 2参照Mタンパク質配列(配列番号26)のアラインメントを図8に示す。参照Mタンパク質配列は、以下の通りである。

>COV__M__T1__1/1-222NC__045512.2 SARS 2参照配列

MADSNGTITV EELKKLLEQW NLVIGFLFLT WICLLQ
FAYA NRNRFLYIIK LIFLWLLWPV TLACFVLAAY YR
INWITGGI AIAMACLVGL MWLSYFIASF RLFARTRSM
W SFNPETNILL NVPLHGTILT RPLLESELVI GAVIL
RGHLR IAGHHLGRCD IKDLPKEITV ATSRTLSSYYK L
GASQRVAGD SGFAAYSRYR IGNYKLNTDH SSSSDNIA
LL VQ (配列番号26)

40

【0626】

図8に示すアラインメントは、以下の表に示されるように、SARS 2参照Mタンパク質配列とCOV__M__T2__1及びCOV__M__T2__2設計配列との間のアミノ酸の差異を強調する。

【0627】

50

【表 9 7】

SARS2 Mタンパク質残基位置	SARS2参照アミノ酸残基	COV_M_T2_1 アミノ酸残基	COV_M_T2_2 アミノ酸残基
4	S	—	S
15	K	Q	K
30	T	A	T
33	C	M	C
40	A	S	S
52	I	V	I
76	I	V	V
87	L	I	I
97	I	V	V
125	H	R	R
127	T	T	S
134	L	M	M
145	L	I	L
151	I	M	M
155	H	S	S
188	A	G	A
189	G	T	S
195	A	A	V
197	S	N	N
211	S	A	S
212	S	G	S
214	S	N	S

10

20

【0 6 2 8】

実施例 1 2

臨床試験設計

この試験は、安全性及び免疫原性を実証するために、この試験に登録された30人のSARS-CoV-2 PCR、抗体及びT細胞陰性の健康なヒトボランティアで構成され、その者らは、3回の免疫化中に自己隔離され折り返し報告することに同意する。

【0 6 2 9】

3つの試験群のうちの第1の試験群は以下からなる。

- ・群1、n=6用量漸増、
- ・群2、ニードレスPharmaJet送達による12名の健康なヒトボランティア、
- ・群3、Martin et al (Vaccine, 2008) による結果をベンチマークするためにDNAの直接筋肉内 (IM) 投与を受けた12人の健康なヒトボランティア。

30

【0 6 3 0】

試験のPharmaJetアームは、ワクチンを服用する人々に対する障壁を最小限に抑える用量共有ニードレス送達システムを使用する。電力計算は、SARS臨床試験からELISAデータを使用して、 $0.27 \log_{10}$ 単位の推定標準偏差に基づいている (Martin et al, Vaccine, 2008)。

【0 6 3 1】

パンデミックの緊急性により、最後の患者が1次免疫化後3ヶ月を完了したときに一次エンドポイント及び二次エンドポイントを分析する (28日間の完全な安全性データ、及び3ヶ月までの免疫原性プライマリー及び重要なセカンダリーエンドポイント)。

40

【0 6 3 2】

ワクチンの免疫原性を評価するための二次目的／エンドポイント：

3ヶ月目に分析及び報告される重要な免疫原性キーエンドポイント：血清学 (t=0、14日、28日、2ヶ月、3ヶ月)。抗原特異的IgM及びIgG ELISAに加えて、ADE及びADCCアッセイが全ての時点で行われる。定義された時点において免疫化前及び後に回収された血清中のワクチン抗原特異的抗体の中和能力を測定するための標準化されたマイクロ中和アッセイ。

50

【0633】

抗原特異的T細胞免疫応答は、 $t = 0$ 、14日、28日、2ヶ月、3ヶ月で測定される。抗原特異的T細胞免疫応答は、陽性応答者の予備スクリーニングとして、増殖アッセイ（CFSE）及びIFNガンマELISPOTによってワクチンから凍結保存されたPBMcで評価される。フローサイトメトリーによって実施されるワクチン誘導性T細胞応答の詳細な表現型分析が続いて、異なるサイトカイン（IFNガンマ、TNF- α 、IL-17、IL-2、及びIL-10）についての細胞内染色によってT細胞の機能的分析に結合したワクチン候補〔中枢記憶T細胞（TCM）、エフェクターメモリーT細胞（TEM）及び制御性T細胞（Treg）〕によって誘導される亜集団を決定する。CD3、CD4、CD8、CD45RA/RO、CD62L、CCR7、CD127、CD25及び核FoxP3の発現について試験したエクスピボnCov特異的CD8+及びCD4+T細胞サブセットが、蛍光色素標識デキストラマーを用いたマルチパラメトリックフローサイトメトリーによって同定される。必要に応じて、デキストラマー分析を、Spike（S）タンパク質にまたがるワクチン特異的合成ペプチド（20アミノ酸が12アミノ酸と重複）による12～15日間のインビトロ再刺激に組み合わせる。更に、二次培養物の上清はまた、T細胞分極を正確に定義するためにサイトカイン（IFN-ガンマIL-4、IL-5、IL-2、IL-10、IL-13、IL-17、IL-21、及びTNF- α ）の大きなパネルについて評価され、Bio-Plex Pro（商標）ヒトサイトカインプレックスアッセイ（Biorad）を使用することにより、Tヘルパーサブセット及びポリ官能性の同定を可能にする。

【0634】

実施例13

更に設計されたSタンパク質RBD配列。

本発明者らは、以前の入力アライメントを本発明者らの設計アルゴリズムに修正することによって、更に新規のSタンパク質RBD配列を生成した。Cov__S__T2__13-Cov__S__T2__18。Cov__S__T2__13は、設計アルゴリズムの直接出力であり、Cov__S__T2__14-Cov__S__T2__18は、Cov__S__T2__13のエピトープ富化バージョンである。

【0635】

これらの設計された配列のアミノ酸配列は以下の通りである。

>COV__S__T2__13（配列番号27）

RVAPTKEVVR FPNITNLC PF GEVFNATRFP SVYAWE
RKRI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSP TKLN DL
CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
D FTGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
TNGVG YQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

>COV__S__T2__14（配列番号28）

RVAPTKEVVR FPNITNLC PF GEVFNATKFP SVYAWE
RKKI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSP TKLN DL
CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
D FTGCVIAWNT NNIDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
TNGVG YQPY RVVVL SFELL NAPATVCGPK LSTD

>COV__S__T2__15（配列番号29）

RVAPTKEVVR FPNITNLC PF GEVFNATRFP SVYAWE
RKRI SNCVADYSVL YNSTFFSTFK CYGVSP TKLN DL
CFSNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKL PD
D FMGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P

TNGVGYQPY RVVVLSEFELL NAPATVCGPK LSTD
 >COV__S__T2__16 (配列番号30)
 RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATRFP SVYAWER
 RKRI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSPSTKLN DL
 CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGKI ADYNYKLDP
 D FTGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRLFRK SNLKP
 FERDI SSDIYQAGST PCSGVEGFNC YFPLQSYGFQ P
 TNGVGYQPY RVVVLSEFELL NAPATVCGPK LSTD

>COV__S__T2__17 (配列番号31)

RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATKFP SVYAWER
 RKKI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSPSTKLN DL
 CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKLDP
 D FTGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
 FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
 TNGTGYYQPY RVVVLSEFELL NAPATVCGPK LSTD

>COV__S__T2__18 (配列番号32)

RVAPTKEVVR FPNITNLCPF GEVFNATRFP SVYAWER
 RKRI SNCVADYSVL YNSTFFSTFK CYGVSPSTKLN DL
 CFSNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGVI ADYNYKLDP
 D FMGCVIAWNT NNLDSTTGGN YNYLYRSLRK SKLKP
 FERDI SSDIYSPGGK PCSGVEGFNC YYPLRSYGFF P
 TNGTGYYQPY RVVVLSEFELL NAPATVCGPK LSTD

これらの配列とSARS2参照配列とのアライメント (EPI__ISL__402119__RBD (CoV__T2__6) (配列番号11)) を以下に示す (囲まれた領域はアライメントの配列差異を強調表示する)。

【0636】

【表98】

SARS2	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFP	SVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
CoV_S_72_13	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFP	SVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
CoV_S_72_14	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFP	SVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
CoV_S_72_15	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFP	SVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
CoV_S_72_16	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFP	SVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
CoV_S_72_17	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFP	SVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63
CoV_S_72_18	RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFP	SVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYG	63

SARS2	VSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLDPDFTGCVIAWNTNNLDST	126
CoV_S_72_13	VSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGVIADYNYKLDPDFTGCVIAWNTNNLDST	126
CoV_S_72_14	VSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGVIADYNYKLDPDFTGCVIAWNTNNLDST	126
CoV_S_72_15	VSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGVIADYNYKLDPDFTGCVIAWNTNNLDST	126
CoV_S_72_16	VSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGVIADYNYKLDPDFTGCVIAWNTNNLDST	126
CoV_S_72_17	VSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGVIADYNYKLDPDFTGCVIAWNTNNLDST	126
CoV_S_72_18	VSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGVIADYNYKLDPDFTGCVIAWNTNNLDST	126

SARS2	TGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISSDIYQAGSTPCSGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP	189
CoV_S_72_13	TGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISSDIYQAGSTPCSGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP	189
CoV_S_72_14	TGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISSDIYQAGSTPCSGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP	189
CoV_S_72_15	TGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISSDIYQAGSTPCSGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP	189
CoV_S_72_16	TGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISSDIYQAGSTPCSGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP	189
CoV_S_72_17	TGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISSDIYQAGSTPCSGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP	189
CoV_S_72_18	TGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISSDIYQAGSTPCSGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQP	189

SARS2	YRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTD	214
CoV_S_72_13	YRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTD	214
CoV_S_72_14	YRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTD	214
CoV_S_72_15	YRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTD	214
CoV_S_72_16	YRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTD	214
CoV_S_72_17	YRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTD	214
CoV_S_72_18	YRVVVLSEFELLNAPATVCGPKLSTD	214

【0637】

実施例14

更に設計されたSタンパク質RBD配列 (グリコシル化部位が変更された)

エピトープのマスキング/脱マスキングは、非中和エピトープをマスキングすることに

10

20

30

40

50

よって、又はMERS中の重要なエピトープを脱マスクングすることによって、免疫応答を変更することが示されている（Dule et. al., Nat. Comm, (2016)）。

【0638】

本発明者らは、本発明者らがSARS2 RBD配列にグリコシル化部位を削除したか、又はグリコシル化部位を導入した、追加の設計されたSタンパク質RBD配列を調製した。作製された変化を図13に示す。図は、RBD領域のアミノ酸配列を示す。丸で囲まれた数字は、グリコシル化部位が削除又は導入された位置を示す。明るい灰色の丸で囲まれた数字は、グリコシル化部位の削除（欠失）を表す。暗灰色の丸で囲まれた数字は、グリコシル化部位の導入を表す。丸で囲まれた数3でマークされた位置では、グリコシル化部位がSARS野生型配列に存在するが、SARS-2野生型配列には存在しない。これは、非中和エピトープマスクングにとって重要であり得る。導入されたグリコシル化部位は、M8設計にのみ存在する。

10

【0639】

RBDの修飾：

- ・設計M7及びM9は、丸で囲まれた数4（残基位置203）で示される位置に導入されたグリコシル化部位を含み、

- ・設計M8及びM10は、丸で囲まれた数1及び2（それぞれ、残基位置13及び25）によって示される各位置に欠失したグリコシル化部位を含む。M8設計はまた、丸で囲まれた数3（残基位置54）によって示される位置に導入されたグリコシル化部位を含む。

20

【0640】

SARS2 RBD設計M7、M8、M9、及びM10のアミノ酸配列を以下に示す。

>M7（配列番号33）

RVQPTESIVR FPNITNLCPF GEVFNATRFA SVYAWN
RKRI SNCVADYSVL YNSASFSTFK CYGVSP TKLN DL
CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGKI ADYNYKL PD
D FTGCVIAWNS NNLD SKVGGN YNYLYRLFRK SNLKP
FERDI STEIYQAGST PCNGVEGFNC YFPLQSYGFQ P
TNGVG YQPY RVVVL SFELL HANATVCGPK KSTN

30

>M8（配列番号34）

RVQPTESIVR FPQITNLCPF GEVFQATRFA SVYAWN
RKRI SNCVADYSVL YNSTSFSTFK CYGVSP TKLN DL
CFTNVYAD SFVIRGDEV R QIAPGQTGKI ADYNYKL PD
D FTGCVIAWNS NNLD SKVGGN YNYLYRLFRK SNLKP
FERDI STEIYQAGST PCNGVEGFNC YFPLQSYGFQ P
TNGVG YQPY RVVVL SFELL HAPATVCGPK KSTN

>M9（配列番号35）

RVSP TQEVVR FPNITNLCPF DKVFNATRF P SVYAW E
RTKI SDCVADYTVL YNSTSFSTFK CYGVSP SKLI DL
CFTSVYAD TFLIRCSEVR QVAPGQTGVI ADYNYKL PD
D FTGCVIAWNT AKQDTGSSGN YNYYYRSHRK TKLKP
FERDL SSDECSPDGK PCTPPAFNGV RGFNCYFTLS T
YDFNP NVPV EYQATRVVVL SFELLNANAT VCGPKLSTQ

40

>M10（配列番号36）

RVSP TQEVVR FPQITNLCPF DKVFQATRFP SVYAW E
RTKI SDCVADYTVL YNSTSFSTFK CYGVSP SKLI DL
CFTSVYAD TFLIRCSEVR QVAPGQTGVI ADYNYKL PD
D FTGCVIAWNT AKQDTGSSGN YNYYYRSHRK TKLKP
FERDL SSDECSPDGK PCTPPAFNGV RGFNCYFTLS T

50

YDFNPVPV EYQATRVVL SFELLNAPAT VCGPKLSTQ
【0641】

これらの配列とSARS2参照配列（EPI_ISL_402119_RBD（CoV-T2-6）（配列番号11））とのアライメントを以下に示す（ドットは参照配列とアミノ酸残基とに差異がないことを表し、ダッシュは、アミノ酸残基がM9及びM10配列に挿入された位置を表す）。

【0642】

【表99】

SARS2_RBD	RVQPTESIVRFPNITNLCPPGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYGVLYNSASFSTFKCYGV	64
M7	Q.....Q.....T.....	64
M8	Q.....Q.....T.....	64
M9	..S..QEV.....DK..P.....E.TK..D.....T.....T.....	64
M10	..S..QEV.....Q.....DK..Q.....P.....E.TK..D.....T.....T.....	64
SARS2_RBD	SPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVG	128
M7		128
M8		128
M9	..S..I.....S.....T..L..CS.....V.....V.....TAKQ.TGSS	128
M10	..S..I.....S.....T..L..CS.....V.....V.....TAKQ.TGSS	128
SARS2_RBD	GNVNYLYRLFRKSNLKPFFERDISTEIQAGSTPC-----NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGY	187
M7		187
M8		187
M9	Y..SH..TK.....L.SDECSPDGK..TPPAF...R.....T..ST..D..N..NVP..E..	192
M10	Y..SH..TK.....L.SDECSPDGK..TPPAF...R.....T..ST..D..N..NVP..E..	192
SARS2_RBD	QPYRVVYLSFELLHAPATVCGPKKSTN	214
M7	N.....	214
M8	N.....	214
M9	..AT.....N..N.....L..Q	219
M10	..AT.....N.....L..Q	219

SARS2参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表に要約する（太字で強調表示された参照配列との差異を有する）。

【0643】

10

20

30

40

50

【表 100-1】

図13の丸で 囲まれた数	SARS2 RBD残基位置	参照残基	M7残基	M8残基	M9残基	M10残基
	3	Q			S	S
	6	E			Q	Q
	7	S			E	E
	8	I			V	V
1	13	N		Q		Q
	21	G			D	K
	22	E			D	K
2	25	N		Q		Q
	30	A			P	P
	36	N			E	E
	38	K			T	K
	39	R			T	K
	42	N			D	D
	48	S			T	T
3	54	A		T	T	T
	67	T			S	S
	70	N			I	I
	76	N			S	S
	81	S			T	T
	83	V			L	L
	86	G			C	C
	87	D			S	S
	92	I			V	V
	99	K			V	V
	120	S			T	T
	121	N			A	A
	122	N			K	K
	123	L			Q	Q
	125	S			T	T
	126	K			G	G
	127	V			S	S
	128	G			S	S
	134	L			Y	Y
	137	L			S	S

10

20

30

【0644】

40

50

【表 100-2】

図13の丸で 囲まれた数	SARS2 RBD残基位置	参照残基	M7残基	M8残基	M9残基	M10残基
	138	F			H	H
	141	S			T	T
	142	N			K	K
	150	I			L	L
	152	T			S	S
	153	E			D	D
	154	I			E	E
	155	Y			C	C
	156	Q			S	S
	157	A			P	P
	158	G			D	D
	159	S			G	G
	160	T			K	K
		—			T	T
		—			P	P
		—			P	P
		—			A	A
		—			F	F
	166	E			R	R
	173	P			T	T
	175	Q			S	S
	176	S			T	T
	178	G			D	D
	180	Q			N	N
	182	T			N	N
	183	N			V	V
	184	G			P	P
	186	E			E	E
	189	P			A	A
	190	Y			T	T
	201	H			N	N
4	203	P	N		N	—
	211	K			L	L
	214	Q			Q	Q

【0645】

実施例15

更に設計されたSタンパク質RBD配列のヌクレオチド配列

実施例14で論じられたM7、M8、M9、及びM10 SARS2 RBD設計をコードするヌクレオチド配列を以下に示す。

【0646】

10

20

30

40

50

【表 101】

>M7 (配列番号37)

cggtgagc	ccaccgaatc	catcgtgcgg	ttcccccaata	tcaccaatct	gtgcccccttc	60
ggcgaggtgt	tcaatgccac	cagatttcgcc	tctgtgtacg	cctggaaccg	gaagcggatc	120
agcaattgcg	tggccgacta	ctccgtgctg	tacaactccg	ccagcttcag	caccttcaag	180
tgtacaggcg	tgtcccttac	caagctgaac	gacctgtgct	tcacaaacgt	gtacgccgac	240
agcttcgtga	tccggggaga	tgaagtgcgg	cagattgccc	ctggacagac	aggcaagatc	300
gccgactaca	actacaagct	gcccgcacgac	ttcacccggt	gtgtgattgc	ctggaacagc	360
aacaacctgg	actccaaagt	cggcggcaac	tacaattacc	tgtaccggct	gttccggaag	420
tccaatctga	agcccttcga	gcgggacatc	agcaccgaaa	tctatcaggc	cggcagcacc	480
ccttgcaacg	gcgtggaagg	cttcaactgc	tacttcccac	tgcaaaagcta	cggctttcag	540
ccacaaaatg	gcgtgggcta	ccagccttac	agagtgggtg	tgtgagctt	cgagctgctg	600
catgctaacg	ccacagtgtg	cggccctaag	aatccacca	at		642

10

>M8 (配列番号38)

cggtgagc	ccaccgaatc	catcgtgcgg	ttcccccaaga	tcaccaatct	gtgcccccttc	60
ggcgaggtgt	tccaggccac	cagatttcgcc	tctgtgtacg	cctggaaccg	gaagcggatc	120
agcaattgcg	tggccgacta	ctccgtgctg	tacaactcca	ccagcttcag	caccttcaag	180
tgtacaggcg	tgtcccttac	caagctgaac	gacctgtgct	tcacaaacgt	gtacgccgac	240
agcttcgtga	tccggggaga	tgaagtgcgg	cagattgccc	ctggacagac	aggcaagatc	300
gccgactaca	actacaagct	gcccgcacgac	ttcacccggt	gtgtgattgc	ctggaacagc	360
aacaacctgg	actccaaagt	cggcggcaac	tacaattacc	tgtaccggct	gttccggaag	420
tccaatctga	agcccttcga	gcgggacatc	agcaccgaaa	tctatcaggc	cggcagcacc	480
ccttgcaacg	gcgtggaagg	cttcaactgc	tacttcccac	tgcaaaagcta	cggctttcag	540
ccacaaaatg	gcgtgggcta	ccagccttac	agagtgggtg	tgtgagctt	cgagctgctg	600
catgctcctg	ccacagtgtg	cggccctaag	aatccacca	at		642

20

>M9 (配列番号39)

cggtgtccc	ctacacaaga	ggtcgtgcgg	ttcccccaata	tcaccaatct	gtgcccccttc	60
gacaaggtgt	tcaacgccac	cagatttccc	agcgtgtacg	cctgggagcg	caccaagatt	120
tccgattgcg	tggccgacta	caccgtgctg	tataactcca	cctccttcag	caccttcaag	180
tgtacaggcg	tgtccccaag	caagctgac	gatctgtgct	tcacctctgt	gtacgccgac	240
accttcctga	tccggtgtag	cgaagtgcga	caggtggcac	ctggacagac	aggcgtgatc	300
gccgattaca	actacaagct	gcccgcacgac	ttcacccggt	gtgtgatcgc	ctggaatacc	360
gccaagcagg	atacaggcag	cagcggcaac	tacaactact	actacagaag	ccaccgcaag	420
accaagctga	agcctttcga	gagggacctg	agcagcgacg	agtgtagccc	tgatggcaag	480
ccttgtaac	ctcctgcctt	caatggcgtg	cggggcttca	actgctactt	cacctgagc	540
acctacgact	tcaaccccaa	cgtgcccgtg	gaataccagg	ccacaagagt	ggtggtgctg	600
agcttcgagc	tgtggaatgc	caacgccaca	gtgtgtggcc	ctaagctgtc	taccag	657

30

>M10 (配列番号40)

cggtgtccc	ctacacaaga	ggtcgtgcgg	ttcccccaaga	tcaccaatct	gtgcccccttc	60
gacaaggtgt	tccaggccac	cagatttccc	agcgtgtacg	cctgggagcg	caccaagatt	120
tccgattgcg	tggccgacta	caccgtgctg	tataactcca	cctccttcag	caccttcaag	180
tgtacaggcg	tgtccccaag	caagctgac	gatctgtgct	tcacctctgt	gtacgccgac	240
accttcctga	tccggtgtag	cgaagtgcga	caggtggcac	ctggacagac	aggcgtgatc	300
gccgattaca	actacaagct	gcccgcacgac	ttcacccggt	gtgtgatcgc	ctggaatacc	360
gccaagcagg	atacaggcag	cagcggcaac	tacaactact	actacagaag	ccaccgcaag	420
accaagctga	agcctttcga	gagggacctg	agcagcgacg	agtgtagccc	tgatggcaag	480
ccttgtaac	ctcctgcctt	caatggcgtg	cggggcttca	actgctactt	cacctgagc	540
acctacgact	tcaaccccaa	cgtgcccgtg	gaataccagg	ccacaagagt	ggtggtgctg	600
agcttcgagc	tgtggaatgc	ccctgccaca	gtgtgtggcc	ctaagctgtc	taccag	657

40

【0647】

これらの配列間の差異は、以下のアライメントで強調表示される（ドットは、ヌクレオチド残基が対応する M7 ヌクレオチド残基と同じであることを示す）。

【0648】

【表 102】

M7	CGGGTGCAGCCCACCGAATCCATCGTGCGGTTCCCCAATATCACCAATCTGTGCCCTTCGGCGAGGT	68
M8	C.G.....	68
M9	TCC..T..AC..GAGG.....A.A.....	68
M10	TCC..T..AC..GAGG.....C.G.....A.A.....	68
M7	GTTCAATGCCACCAGATTGCGCTCTGTGTACGCCTGGAACCGGAAGCGGATCAGCAATTGCGTGGCCG	136
M8	C.G.....	136
M9	C.....TC..AGC.....G.G..C.CCAA..TTC.G.....	136
M10	C.G.....TC..AGC.....G.G..C.CCAA..TTC.G.....	136
M7	ACTACTCCGTGCTGTACAACCTCCGCCAGCTTCAGCACCTTCAAGTGCTACGGCGTGTCCCCTACCAAG	204
M8	A.....A.....	204
M9	A.....T.....A..TC.....A.G.....	204
M10	A.....T.....A..TC.....A.G.....	204
M7	CTGAACGACCTGTGCTTCACAAACGTGTACGCCGACAGCTTCGTGATCCGGGGAGATGAAGTGCGGCA	272
M8	T..T.....CTCT.....C..C.....T.TAGC.....A.....	272
M9	T..T.....CTCT.....C..C.....T.TAGC.....A.....	272
M10	T..T.....CTCT.....C..C.....T.TAGC.....A.....	272
M7	GATTGCCCTGGACAGACAGGCAAGATCGCCGACTACAACCTACAAGCTGCCCCGACGACTTCACCGGCT	340
M8	G.G..A.....GT.....T.....	340
M9	G.G..A.....GT.....T.....	340
M10	G.G..A.....GT.....T.....	340
M7	GTGTGATTGCCTGGAACAGCAACAACCTGGACTCCAAAGTCGGCGGCAACTACAATTACCTGTACCGG	408
M8	C.....T.C.GC..G.A..TA.AGGCAG.A.....C..TAC..A.A.....	408
M9	C.....T.C.GC..G.A..TA.AGGCAG.A.....C..TAC..A.A.....	408
M10	C.....T.C.GC..G.A..TA.AGGCAG.A.....C..TAC..A.A.....	408
M7	CTGTTCCGGAAGTCCAATCTGAAGCCCTTCGAGCGGGACATCAGCACCGAAATCTATCAGGCCGGCAG	476
M8	AGCCA..C..A..G.....T.....A.....C.G..G..CGAG.G.AGCC.T.ATG.....	476
M9	AGCCA..C..A..G.....T.....A.....C.G..G..CGAG.G.AGCC.T.ATG.....	476
M10	AGCCA..C..A..G.....T.....A.....C.G..G..CGAG.G.AGCC.T.ATG.....	476
M7	CACCCCTTGC-----AACGGCGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTTCCCACTGCAAAGCT	529
M8	AG.....TACACCTCCTGCCTTC..T.....CGG.....A.C..AGC.C..	529
M9	AG.....TACACCTCCTGCCTTC..T.....CGG.....A.C..AGC.C..	544
M10	AG.....TACACCTCCTGCCTTC..T.....CGG.....A.C..AGC.C..	544
M7	ACGGCTTTTCAGCCCACAAATGGCGTGGGCTACCAGCCTTACAGAGTGGTGGTGTGAGCTTCGAGCTG	597
M8	A.....CA.C.....ACGTGCC.....AA.....G.CACA.....	597
M9	A.....CA.C.....ACGTGCC.....AA.....G.CACA.....	612
M10	A.....CA.C.....ACGTGCC.....AA.....G.CACA.....	612
M7	CTGCATGCTAACGCCACAGTGTGCGGCCCTAAGAAATCCACCAAT	642
M8	CCT.....	642
M9	A.....C.....T.....CTG..T..C.G.....	657
M10	A.....CCT.....T.....CTG..T..C.G.....	657

10

20

30

【0649】

実施例 16

SARS2 RBDに抗体を誘導するための異なる完全長Sタンパク質遺伝子の能力
マウスを異なる完全長コロナウイルスSタンパク質遺伝子（SARS-1及びSARS-2に由来）で免疫化し、血清を回収し、SARS2 RBDへの結合について異なる希釈で試験した。血清は、ELISAにおける非特異的相互作用を確認するために、熱不活性化（HI）された。

【0650】

結果を図9に示す。

【0651】

ELISAを使用して、血清とSARS-2 RBDとの結合を試験した。ELISAプロトコルは以下の通りである。

【0652】

材料及び試薬：

- F96 Nunc Maxisorp平底プレート（カタログ番号：44-2404-21、Thermo Scientific）
- プレートシーラー（カタログ番号：676001、Greiner Bio-one）
- シェーカー（カタログ番号：544-11200-00、Heidolph Instruments Titramax100）
- 50mL及び100mLのリザーバ（カタログ番号：4870 Corning及び

40

50

B 3 1 1 0 - 1 0 0 A r g o s)

● U 底希釈プレート (カタログ番号 : 6 5 0 2 0 1、G r e i n e r b i o - o n e)

● 1 X P B S (- C a / - M g) :

1 L の m i l l i Q 水に 2 個の P B S 錠剤 (カタログ番号 : 1 8 9 1 2 - 0 1 4、G i b c o) を添加する

● 1 X P B S (- C a / - M g) 0 . 1 % T W e e n - 2 0 (P B S T) :

4 個の P B S 錠剤 (カタログ番号 : 1 8 9 1 2 - 0 1 4、G i b c o) 及び 2 m L の T w e e n - 2 0 (カタログ番号 : P 1 3 7 9 - 5 0 0 M L、S i g m a A l d r i c h) を 2 L m i l l i Q 水に添加する

● 1 x P B S T 中の 3 % (w / v) の非脂肪乳 (ブロッキング溶液) :

5 0 m L の P B S T 中 1 . 5 g の半脱脂乳粉末 (カタログ番号 : 7 0 1 6 6 - 5 0 0 G、S i g m a A l d r i c h) を添加する

● 1 x P B S T (血清希釈溶液) 中の 1 % (w / v) の非脂肪乳 :

5 0 m L の P B S T 中の 0 . 5 g の乳粉末 (カタログ番号 : 7 0 1 6 6 - 5 0 0 G、S i g m a A l d r i c h)

● H R P 共役二次抗体 :

○ 抗マウス I g G - 西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) 共役二次抗体 (カタログ番号 : 7 1 5 - 0 3 5 - 1 5 0、J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h)

○ 抗ヒト I g G / I g M / I g A - 西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) 共役二次抗体 (カタログ番号 : 1 0 9 - 0 3 5 - 0 6 4、J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h)

● 1 - S t e p (商標) U l t r a T M B (カタログ番号 3 4 0 2 9、T h e r m o S c i e n t i f i c)

● H₂ S O₄ の停止溶液 (4 7 2 m L の m i l l i Q 水に 2 8 m L の 1 . 8 4 k g / L の H₂ S O₄ を添加する)

● 血清試料 (約 4 u l は、1 0 倍段階希釈で 1 : 5 0 の希釈で開始して、2 回実行する必要がある、約 5 . 5 u l は、2 倍段階希釈で 1 : 5 0 の希釈で開始して、2 回実行する必要がある)

● ヒト陽性対照 : C o v i d - 1 9 患者の強い抗体陽性血漿 (カタログ番号 2 0 / 1 3 0、N I B S C)

● ヒト陰性対照 : W H O 参照抗 E B O V 陰性ヒト血漿 (カタログ番号 : 1 5 / 2 8 8、N i b s c)

[0 6 5 3]

方法 :

0 日目

1 . P B S - / - で希釈した 1 μ g / m L のタンパク質 5 0 μ l (ウェルあたり) で 9 6 ウェルの N U n c M a x i s o r p プレートをコーティングする。プレートをカウンターに対して穏やかにタップして、液体がプレートの底部を完全にコーティングすることを確実にする。

2 . プレートシーラーでプレートをしっかりと密封する。プレートを - 4 ° C の冷蔵庫に一晩、最大 4 日間保存する。使用時に液体が蒸発していないことを確認する。

3 . 3 % 及び 1 % の非脂肪乳を調製し、ボルテックスし、室温で 1 3 5 0 r p m でシェーカーにて溶解させる。少なくとも 1 時間溶解させる。- 4 ° C の冷蔵庫で一晩保存する。

[0 6 5 4]

1 日目

4 . 陰性対照及び陽性対照を調製する

○ マウス陰性対照 : P B S T 中の 1 % 非脂肪乳中 1 : 5 0 の最終希釈で、対応する採血からの P B S 免疫化群 (通常は群 1) からの 6 匹の全てのマウスのプールを調製する

○ マウス陽性対照 : P B S T 中の 1 % 非脂肪乳中、既知の強い陽性の 1 : 5 0 0 希釈を調製する

10

20

30

40

50

○ヒト陰性対照：P B S T中の1%非脂肪乳中、必要量の抗E B O V血漿の1：50希釈を調製する

○ヒト陽性対照：P B S T中の1%非脂肪乳中、必要量の20／130の1：500希釈を調製する

5. 96ウェルプレートからタンパク質をデカントし、ウェル当たり100μlの3%非脂肪乳を添加する。200～400rpmでシェーカー上で室温において1時間インキュベートする。

6. ブロッキングステップ中、U底希釈プレートを使用して、P B S T中の1%非脂肪乳中、血清の段階希釈物を調製する。

○1：50から始まる2倍段階希釈の場合、130μlの1%脱脂乳を2.6μlの血清（2連）と共に第1列に添加する。65μlの1%非脂肪乳を残りの列に添加する。段階希釈のために65μlを移す。

○1：50から始まる10倍段階希釈の場合、75μlの1%脱脂乳を1.5μlの血清（2連）と共に第1列に添加する。63μlの1%非脂肪乳を残りの列に添加する。段階希釈のために7μlを移す。

7. 1時間のブロッキング後、ブロッキング溶液をデカントし、50μlの段階希釈物に対応するプレートに添加する。シェーカー上で200～400rpmで2時間、室温でインキュベートする。

8. インキュベート中、HRP共役抗マウスIgG二次抗体1：3000をP B S Tで希釈する。96ウェルプレートあたり5mLの希釈二次溶液を構成する。

9. 2時間の一次抗体インキュベーション後、プレートを200μl（ウェルあたり）のP B S Tで3回洗浄する。最後の洗浄後にタップ乾燥する。次いで、希釈した二次抗体50μl（ウェルあたり）を添加する。シェーカー上で200～400rpmで室温で1時間インキュベートする。

10. 二次抗体を添加した後、適切な体積のTMBを取り、それをカウンターに残して室温にする。96ウェルプレートあたり5mLのTMBを取得する。

11. 1時間の二次抗体インキュベーション後、プレートを200μl（ウェルあたり）のP B S Tで3回洗浄する。最後の洗浄後にタップ乾燥する。

12. 室温TMB50μl（ウェルあたり）を添加する。プレートを穏やかに攪拌する。約2～3分間放置する。色の変化が飽和していないことを確認するために、プレートを監視する。TMBを最大5プレートに一度に添加する。

13. 室温の停止溶液50μl（ウェルあたり）を添加する。プレートを穏やかに攪拌する。直ちに読み取る。

14. 450nmでエンドポイント光学密度を読み取る。

【0655】

以下のDNAワクチンを使用した。

熱不活性化（HI）

- ・SARS-1（完全長SARS-1 Sタンパク質をコードするDNA）
- ・SARS-2（完全長SARS-2 Sタンパク質をコードするDNA）
- ・DIOS-祖先（Wuhan Node 1完全長）

【0656】

HIではない

- ・SARS-1
- ・SARS-2
- ・DIOS-祖先

【0657】

SARS-2及び抗SARS1スパイクモノクローナル抗体に対するヒト血清を陽性対照として使用し、抗MERSヒト血清を陰性対照として使用した。

【0658】

図は、試験された完全長Sタンパク質遺伝子の全てが、SARS2 RBDに対する比

10

20

30

40

50

較的低い又は無視できる結合応答を誘導したことを示す。

【0659】

実施例 17

SARS1 及び SARS2 切断スパイク (S) タンパク質及び RBD をコードする DNA ワクチンの能力により、SARS1 及び SARS2 S タンパク質に対する抗体を誘導する

マウスを異なる DNA ワクチンで免疫化し、マウスから採取した血清を使用して、SARS1 及び SARS2 スパイクタンパク質への結合を FACS によって試験した。

【0660】

1-試薬及び消耗品

●HEK293T / 17 細胞

●10% FBS 及び 1% Pen / strep を含む DMEM

●OptiMEM

●1×PBS

●FuGENE-HD

○pEVAC 発現プラスミド

【0661】

2-プロトコル

1日目-播種細胞

1. 翌日のトランスフェクションのためにウェルあたり約 150,000 個の細胞を 6 ウェルプレートに播種する (1つの96ウェルプレートには2つの6ウェルプレートで十分である)

2. 37°C、5% CO₂ で一晩インキュベートする。

【0662】

2日目-細胞トランスフェクション

1. 産生細胞プラスミドDNAを解凍し、DMEM及びOptiMEMを37°Cに予熱する。

2. 標識された1.5mlチューブ内で、600µlのOptiMEM (プレートあたりの量、表1を参照されたい) でDNA混合物を調製する。

3. DNA混合物を室温で5分間インキュベートする

4. トランスフェクション複合体中の3µgのDNAあたり9µlのFuGENE-HDトランスフェクション試薬を添加する (以下の表を参照)。

5. 室温で20分間インキュベートし、チューブを穏やかに混ぜることによって混合する。

6. インキュベート中、6ウェルプレートの各ウェルから枯渇培地を除去し、ウェルあたり2mlのDMEMで置き換える。

7. インキュベーション後、トランスフェクション複合体を滴下様式で細胞に添加し、均一な分布を確保するために渦を巻かせる。

8. 細胞を組織培養インキュベーターに戻す (37°C、5% CO₂)

【0663】

【表103】

トランスフェクション複合体	糖タンパク質プラスミド (ng)	OptiMEM (µl)	FuGENE HD (µl)
pEVAC SARS1	3000	600	9.0
pEVAC SARS2	3000	600	9.0

【0664】

3日目-抗体/血清希釈

1. 冷PBS 1% FBS (例えば、300µlの緩衝液中6µlの血清、2連の一定分量150µl) 中で血清又は抗体の1:2段階希釈を実施する。(6ウェルUプレートが好ましい)

2. ヒト血清又はIgGアイソタイプ対照を実験計画に含める必要がある

【0665】

4日目ーフローサイトメトリー

3. 培地を取り出し、ファルコン中の細胞を回収する

4. 300×gで5'を遠心分離する

5. 細胞ペレットを10mlのPBS（プレートあたり）に再懸濁する

6. P100マルチチャネル及びリザーバを使用して、96ウェルプレートV底にウェルあたり100μlの細胞懸濁液を分注する。

7. プレート2'を300×g（227のR2ロータ）で遠心分離する

8. シンク内でプレートをはじく

9. マルチチャネルを使用することにより、希釈プレートから75μlの希釈血清又は抗体をFACSプレートに移し、細胞を再懸濁する。

10. RT40'をインキュベートする

11. 100μlのPBSを添加することによってプレートを洗浄する

12. 300×gでプレート2'を遠心分離する

13. シンク内でプレートをはじく

14. 180μlのPBSを添加することによってプレートを洗浄し、細胞ペレットを再懸濁する

15. プレートをはじく

16. 60μl／ウェルの二次抗体（20μl／ml）を添加し、細胞を再懸濁する

17. RT40'をインキュベートする

18. 100μlのPBSを添加することによってプレートを洗浄する

19. 300×gでプレート2'を遠心分離する

20. シンク内でプレートをはじく

21. 180μlのPBSを添加することによってプレートを洗浄し、細胞を再懸濁する

22. プレートをはじく

23. 細胞を200μlのPBSに再懸濁する

【0666】

使用したDNAワクチンは以下であった。

【0667】

【表104】

COV_S_T2_2	AY274119_tr(CoV_T2_2):切断S-タンパク質をコードする核酸(配列番号4)
COV_S_T2_3	EPI_ISL_402119_tr(CoV_T2_3):切断S-タンパク質をコードする核酸(配列番号10)
COV_S_T2_5	AY274119_RBD(CoV_T2_5):RBDをコードする核酸(配列番号6)
COV_S_T2_6	EPI_ISL_402119_RBD(CoV_T2_6):RBDをコードする核酸(配列番号12)
COV_S_T2_7	Wuhan_Node1_RBD(CoV_T2_7):RBDをコードする核酸(配列番号18)
COV_S_T2_8	「SARS_2_RBD_mut1」(M7構築物、配列番号37)
COV_S_T2_10	「SARS_an_RBD_mut1」(M9構築物、配列番号39)

【0668】

異なる希釈での、免疫化後に得られた血清の、SARS1スパイクタンパク質及びSARS2スパイクタンパク質への結合を、FACSによって評価した。結果を図10に示す。

【0669】

結果は、切断スパイクタンパク質及びRBDドメインをコードするDNAで免疫化後に回収された血清がそれぞれのSARSタンパク質に結合することを示す。M7構築物は、対応する野生型SARS2 RBDよりも良好な結合で血清を誘導した。

【0670】

10

20

30

40

50

実施例 18

野生型 S A R S 1 又は S A R S 2 スパイクタンパク質をコードする D N A ワクチンの（完全長、切断、又は R B D）、S A R S 1 及び S A R S 2 偽型に対する中和応答を誘導する能力

マウスを、野生型完全長 S A R S 1 又は S A R S 2 スパイクタンパク質をコードする D N A ワクチン、野生型切断 S A R S 1 又は S A R S 2 スパイクタンパク質をコードする D N A ワクチン、野生型 S A R S 1 又は S A R S 2 スパイク R B D タンパク質をコードする D N A ワクチン、又は、野生型 S A R S 1 又は S A R S 2 R B D タンパク質で免疫化した。免疫化マウスから回収した血清を、S A R S 1 又は S A R S 2 偽型を中和するそれらの能力について異なる希釈で試験した。

10

【0671】

使用したワクチンは以下であった。

- ・完全長 S A R S 1 又は S A R S 2 スパイクタンパク質をコードする D N A ；
- ・切断 S A R S 1 又は S A R S 2 スパイクタンパク質をコードする D N A ；
- ・ S A R S 1 又は S A R S 2 スパイク R B D をコードする D N A ；及び
- ・ S A R S 1 又は S A R S 2 R B D タンパク質。

【0672】

P B S を陰性対照として使用し、20／130（国立生物学的製剤研究所（N a t i o n a l I n s t i t u t e f o r B i o l o g i c a l S t a n d a r d s a n d C o n t r o l : N I B S C）標準）及び患者4名からの血清（強く中和抗体を有する C O V I D - 19 患者）を陽性対照として使用した。

20

【0673】

結果を図11に示す。

【0674】

結果は、S A R S 1 免疫原（D N A 又はタンパク質）で免疫化したマウスが、S A R S 1 偽型を中和する抗体を誘導することを示す。しかしながら、S A R S 2 偽型中和抗体を誘導する唯一の S A R S 2 免疫原は、S A R S 2 R B D をコードする D N A である。

【0675】

実施例 19

S A R S 1 及び S A R S 2 R B D タンパク質ワクチンが S A R S 2 R B D に対する抗体を誘導する能力

30

マウスを異なるタンパク質ワクチンで免疫化した。血清を回収し、異なる希釈で S A R S 2 R B D への結合について試験した。

【0676】

使用したワクチンは以下であった。

- ・ P - R B D - C o V 1 （野生型 S A R 1 R B D タンパク質）
- ・ P - R B D - C o V 2 （野生型 S A R 2 R B D タンパク質）
- ・ P - S _ _ S t a b _ _ C o V _ _ 2 （2つのプロリン変異及び膜貫通領域の除去によって安定化された完全長スパイクタンパク質）

【0677】

結果を図12に示す。

40

【0678】

結果は、S A R S 1 R B D （P - R B D - C o V 1）を含む試験したタンパク質ワクチンの全てが、S A R S 2 R B D 結合抗体を誘導したことを示す。

【0679】

実施例 20

異なる S タンパク質 R B D D N A ワクチンの、S A R S 2 R B D に抗体を誘導する能力

マウスを異なる S タンパク質（切断又は R B D）D N A ワクチンで免疫化し、次いで血清を収集し、E L I S A によって S A R S 2 R B D への結合について試験した（実施例

50

16に記載のプロトコルを使用)。

【0680】

使用したワクチンは以下であった。

- ・祖先RBD
- ・Conv373 (陽性対照-COVID陽性患者からの血清、データは示されていない)

- ・ヒト__s (陰性対照、Sigma製のCovid前血清)
- ・SARS__1 RBD
- ・SARS__1 trunc
- ・SARS__2 RBD
- ・SARS__2 RBD__mut1 (M7)
- ・SARS__2 trunc
- ・SARS__anc RBD__mut1 (M9)

【0681】

結果を図14に示す。

【0682】

結果は、M7 SARS2 RBD DNAワクチンが、初期採血における野生型SARS2 RBD DNAよりもSARS2 RBDへのより強い結合で免疫応答を誘導したことを示す。

【0683】

実施例21

M7及び野生型SARS2 RBD DNAワクチンを用いた免疫化後に回収された血清によるRBD-ACE2相互作用の阻害

競合アッセイを使用して、M7及び野生型RBD DNAワクチンでマウスを免疫化した後、免疫化の2及び8週間後に回収した血清を使用して、どの程度までマウス血清がACE2受容体へのSARS2偽型の結合を妨げるかを示した。

【0684】

使用したDNAワクチンは以下であった。

- ・D-RBD-CoV2 (野生型SARS2 RBDをコードするDNA)；
- ・D-RBD-M7__CoV2 (M7 SARS2 RBDをコードするDNA)
- ・D-RBD-TM__CoV2 (膜貫通ドメインを有する野生型RBDをコードするDNAであり、その結果、他のRBD構築物のように可溶性タンパク質として放出されるのではなく、細胞膜につながれたままである)

【0685】

結果を図15に示す。

【0686】

左側の図a) (2週目)に示される結果は、野生型RBD及び繋ぎ止められた野生型RBDをコードするDNAによる免疫化の2週間後に回収された血清が、ACE2受容体へのSARS2偽型の結合に影響を及ぼさないが、M7 RBDをコードするDNAによる免疫化の2週間後に収集された血清は、ACE2受容体へのSARS2偽型の結合を阻害することを示す。

【0687】

右側の図b)に示される結果(8週目)は、野生型RBD及びM7 RBDをコードするDNAによる免疫化の8週間後に収集された血清が両方とも強い中和を示すことを示す。

【0688】

野生型RBD及びM7 RBDをコードするDNAワクチンが免疫化後8週間で中和免疫応答を誘発するが、M7 SARS2 RBDをコードするDNAワクチンは、野生型SARS2 RBDをコードするDNAワクチンよりも急速に中和免疫応答を誘発することが、これらの結果から結論付けられた。

10

20

30

40

50

【0689】

方法：

競合アッセイは、製造業者のプロトコルに従って、GenScript SARS-CoV-2 Surrogate ウイルス中和試験 (sVNT) キットを使用して行った。キットは、ウイルススパイク糖タンパク質 (RBD) の受容体結合ドメインと ACE2 細胞表面受容体との間の相互作用をブロックする SARS-CoV-2 に対する循環中和抗体を検出することができる。アッセイは、RBD-ACE2 相互作用を中和する血清及び血漿中の任意の抗体を検出する。試験は、種及びアイソタイプの両方が独立している。

【0690】

10

最初に、試料及び対照を HRP-RBD とプレインキュベートして、循環中和抗体の HRP-RBD への結合を可能にする。次いで、混合物を、hACE2 タンパク質でプレコートされた捕捉プレートに添加する。非中和抗体に結合した非結合 HRP-RBD 及び任意の HRP-RBD をプレート上に捕捉するが、循環中和抗体-HRP-RBD 複合体は上清中に残り、洗浄中に除去される。洗浄ステップ後、TMB 溶液を添加し、色を青色にする。停止溶液を添加することにより、反応がクエンチされ、色が黄色になる。この最終溶液は、マイクロタイタープレートリーダーで 450 nm で読み取ることができる。試料の吸光度は、抗 SARS-CoV-2 中和抗体の力価に逆依存する。

【0691】

実施例 22

20

M7 及び野生型 SARS2 RBD DNA ワクチンによって誘導された SARS2 偽型の中和

以下に列挙される異なる RBD DNA ワクチンでマウスを免疫化し、次いで血清を収集し、SARS2 偽型中和について試験した。2つの試験を行った (COV002.1 及び COV002.2)。

【0692】

使用した DNA ワクチンは以下であった。

- ・祖先 RBD (祖先 RBD をコードする DNA) ；
- ・SARS__1 RBD (野生型 SARS1 RBD をコードする DNA) 、
- ・SARS__1 trunc (野生型 SARS1 切断 S タンパク質をコードする DNA) 、
- ・SARS__2 RBD (野生型 SARS2 RBD をコードする DNA)
- ・SARS__2 RBD__mut1 (M7) (M7 SARS2 RBD をコードする DNA)
- ・SARS__2 trunc (野生型 SARS2 切断 S タンパク質をコードする DNA) 、
- ・SARS__anc RBD__mut1 (M9) (M9 SARS 祖先 RBD をコードする DNA)

30

【0693】

結果を図 16 及び図 17 に示す。

40

【0694】

試験 COV002.1 及び COV002.2 からの結果を図 16 a) (免疫化マウスから 2 週目の採血) に示し、試験 COV002.1 及び COV002.2 からの結果を図 16 b) (免疫化マウスから 3 週目の採血) 及び 16 c) (免疫化マウスから 4 週目の採血) に示す。

【0695】

図 17 は、野生型 SARS2 RBD DNA ワクチン及び M7 SARS2 RBD DNA ワクチンで免疫化したマウスから回収した血清の SARS2 偽型中和 IC₅₀ 値を示す。図 17 のドットは、個々のマウスについての IC₅₀ 値を示し、水平クロスバーは、95% 信頼区間 D で全てのマウスに基づく推定値を示す。図 17 a) に示される結果は

50

、試験COV002.1及びCOV002.2からのものである。図17b)に示される結果は、試験COV002.2からのものである。

【0696】

図16及び図17の結果は、M7 SARS2 RBD DNAワクチンが、1週目及び2週目の採血から収集された血清中の野生型SARS2 RBD DNAワクチンよりも多くの中和応答を誘導することを示すが、その後の採血までに、2つのワクチン間に差異がほとんどないように思われる。

【0697】

実施例23

M7 SARS2 RBDを発現する細胞の上清は、ACE2細胞侵入に関して他のACE2結合ウイルスと競合する

細胞の上清を使用して、ACE2受容体の3つのコロナウイルス偽型(NL63、SARS1、SARS2)のうちの1つと競合させた。上清は、M7を発現する細胞、又は空のpEVACでトランスフェクトされた細胞のいずれかからのものであった。結果を図18に示す。

【0698】

結果は、M7上清が3つのACE2結合ウイルスと効果的に競合することを示しているが、場合によりSARS1との競合の程度はより低い。

【0699】

実施例24

M7 SARS2 RBD DNAワクチンは、T細胞応答を誘導する

RBDペプチドプールに対する酵素結合免疫スポット(ELISPOT)アッセイを使用して、M7 SARS2 RBD DNAワクチンによって誘導されるT細胞応答を決定した(陰性対照としてのPBSと比較して)。結果を図19に示す。結果は、T細胞応答がRBDペプチドプールのペプチドに対して反応性であるM7 DNAワクチンによって誘導されたことを示す。培地を陰性対照として使用する。

【0700】

ELISPOTアッセイは、単細胞レベルでサイトカイン分泌細胞(この場合は、IFN- γ を分泌するマウスT細胞)の頻度を測定する高感度免疫アッセイである。このアッセイでは、細胞を、刺激の存在下又は不在下で、特定の捕捉抗体でコーティングされた表面上で培養する。細胞によって分泌されるサイトカイン等のタンパク質は、表面上の特定の抗体によって捕捉される。適切なインキュベーション時間の後、細胞を除去し、分泌された分子を、酵素結合免疫測定(ELISA)によって用いられるものと同様の手順で検出抗体を使用して検出する。検出抗体はビオチン化され、続いてストレプトアビジン-酵素共役体であるか、又は抗体が酵素に直接共役している。可溶性生成物ではなく沈殿物と基質とを使用することにより、最終結果は表面上の可視スポットである。各スポットは、個々のサイトカイン分泌細胞に対応する。

【0701】

ELISPOTアッセイは、以下に繰り返される製造業者のプロトコル(Cellular Technology Limited, CTL)に従って実施した。

【0702】

マウスIFN- γ 単色酵素的ELISPOTアッセイ:

手順(プレコートされたプレートを使用している場合、1日目に開始)

0日目-滅菌条件

・マウスIFN- γ 捕捉溶液を調製する(溶液を参照のこと)。

・80 μ l/ウェルマウスIFN- γ 捕捉溶液をピペットで入れる。プレートをパラフィルムで密封し、4 $^{\circ}$ Cで一晩インキュベートする。(エタノールによるプレートの前湿潤は要件ではないが、大きな応答が予想されるいくつかの例では、アッセイは、アンダーレインを除去し、15 μ lの70%エタノール/ウェルを1分未満で添加し、150 μ lのPBS/ウェルで3回洗浄し、アンダーレインを交換し、すぐに[プレートが乾燥す

10

20

30

40

50

る前に] 捕捉溶液を添加することから利益を得ることができる。ストリッププレートを使用する場合、予備湿潤前に除去するためのアンダードレインはない。代替として、CTLプレコートされたプレートを購入することができる。) 注: エタノールによる膜の活性化は瞬間的であり、膜の灰色化として視覚的に見ることができる。エタノールは、活性化後、可能な限り迅速に洗浄されるべきである。

【0703】

1日目－滅菌条件

- ・CTL-Test (商標) 培地を調製する (溶液を参照)。
- ・CTL-Test (商標) 培地中の2倍の最終濃度で抗原/マイトジェン溶液を調製する。
- ・0日目からの捕捉溶液を含むプレートをデカントし、150 μ lのPBSで1回洗浄する。

10

- ・プレート抗原/マイトジェン溶液、100 μ l/ウェル。細胞をプレーティングする前に、抗原を含有するプレートを37℃のインキュベーターに10～20分間入れることによって、pH及び温度が細胞にとって理想的であることを確実にする。

- ・細胞をCTL-Test (商標) 培地中所望の濃度、例えば、30万細胞/ウェルに相当する300万/mlに調整する (細胞数は、100,000～800,000細胞/ウェルが線形結果を提供するので、予想されるスポット数に従って調整することができる)。細胞を処理している間及びプレーティングするまで、細胞を加湿インキュベーター中37℃、9%CO₂に保つ。

20

- ・大きなオリフィス先端を使用して細胞を100 μ l/ウェルでプレートする。完成してから、プレートの側面を穏やかにタップし、直ちに37℃の加湿インキュベーター、9%CO₂に入れる。

- ・24時間インキュベートする。プレートをスタックしない。インキュベーターの扉を慎重に開閉することによってプレートの揺れを避ける。

【0704】

インキュベーション中にプレートに接触しない。

【0705】

2日目

- ・緩衝液: PBS、蒸留水及びTween (登録商標) - PBSを調製する (洗浄緩衝液を参照)。

30

- ・抗マウスIFN- γ 検出溶液を調製する (溶液を参照)。

- ・プレートをPBSで2回、次いで0.05% Tween (登録商標) - PBSで2回、毎回200 μ l/ウェルで洗浄する。

- ・80 μ l/ウェルの抗マウスIFN- γ 検出溶液を添加する。室温で2時間インキュベートする。

- ・三次溶液を調製する (溶液を参照)。

- ・プレートを0.05% Tween (登録商標) - PBS、200 μ l/ウェルで3回洗浄する。

- ・80 μ l/ウェルの三次溶液を添加する。室温で、30分インキュベートする。

40

- ・インキュベーション中、青色発色剤溶液を調製する (溶液を参照)。

- ・プレートを0.05% Tween (登録商標) - PBSで2回、次いで蒸留水で2回、毎回200 μ l/ウェルで洗浄する。

- ・青色発色剤溶液を、80 μ l/ウェルで添加する。室温で、15分インキュベートする。

- ・膜を水道水で穏やかにすすぐことによって反応を停止させ、デカントし、3回繰り返す。

- ・プレートから保護アンダードレインを除去し、プレートを水道水ですすぐ。

- ・層流フードを作動させながら2時間、又はベンチトップのペーパータオルの上で24時間、面を下にして風乾した。

50

・プレートをスキャン及びカウントする。(CTLは、利用可能なスキャン及び分析サービスを受け、任意のキットの購入によりImmunoSpot (登録商標) ソフトウェアのトライアルバージョンを提供する。(更なる情報については、Eメール: kitsscanningservices@immunospot.com)

【0706】

溶液

全ての溶液は、使用前に新たに作製されるべきである。含有量を確保するために使用前にバイアルを迅速にスピンすることが重要である。

・70%エタノール (プレウェッティングする場合 - 含まない) : 190~200 µl プーフエタノールを希釈する。10 ml の場合、7 ml のエタノールを3 ml の蒸留水に添加する。

・CTL-Test (商標) 培地: 1%の新鮮なL-グルタミンを添加することによって培地を調製する。必要とされる培地の量は、細胞収量及び試験される試料の数等の変数に依存するが、一つの完全なプレートに対して20 ml 以上である。

・捕捉溶液: 希釈剤AでマウスIFN-γ 捕捉抗体を希釈する。1つのプレートについて、60 µl のマウスIFN-γ 捕捉抗体を10 ml の希釈剤Aに添加する。

・検出溶液: 希釈剤Bで抗マウスIFN-γ (ビオチン) 検出抗体を希釈する。1つのプレートについて、10 µl の抗マウスIFN-γ (ビオチン) 検出抗体を10 ml の希釈剤Bに添加する。

・三次溶液: 希釈剤C中、1:1000でStrept-AP溶液を希釈する。1つのプレートについて、10 µl のStrept-APを10 ml の希釈剤Cに添加する。

・青色発色剤溶液: 順次工程で基質溶液を10 ml の希釈剤ブルーに添加する。

【0707】

1つのプレートの場合:

ステップ1 - 160 µl のS1 ~ 10 ml の希釈剤ブルーを添加する。よく混ぜる!

ステップ2 - 160 µl のS2を添加する。よく混ぜる!

ステップ3 - 92 µl のS3を添加する。よく混ぜる!

【0708】

使用10分以内に青色発色剤溶液を作製し、それを直接光から保護し続けることが推奨される。

【0709】

洗浄緩衝液 (含まない)

【0710】

各プレートについて、以下を準備する。

・0.05% Tween (登録商標) - PBS: 200 ml のPBS中の100 µl のTween (登録商標) - 20

・PBS、滅菌、100 ml

・蒸留水、100 ml

【0711】

マウス脾細胞の凍結保存

これは、以下に繰り返される、CELLULAR TECHNOLOGY LIMITEDのプロトコルに従って実行した。

【0712】

細胞透過性、試薬毒性、及び冷却速度は、凍結時に各細胞型について考慮されなければならない。DMSOによって生じる浸透圧 (DMSOの固有毒性よりも大きい) は、脾細胞の凍結及び解凍の成功を制御する必要がある主要な要因の1つである。細胞の代謝活性及びそれらの膜脂質流動性を維持するために (それにより、それらは浸透圧を補うことができる)、全ての試薬は室温 (好ましくは37°Cで) であるべきである。

【0713】

調製:

10

20

30

40

50

1. CTL-Cryo (商標) BをCTL-Cryo (商標) Aにゆっくりと添加することによって、CTL-Cryo (商標) AのCTL-Cryo (商標) Bに対する比を80%~20%(v/v)の比(4+1)として混合する。

(CTL-Cryo (商標) Bは、DMSOを成分として含有する。含まれるMSDSを参照されたい。)

2. 得られたCTL-Cryo (商標) A-B混合物及びCTL-Cryo (商標) Cを37℃CO₂インキュベーター内で加温する。(細胞を計数しながらこのステップから開始することが推奨される)。

3. 各クライオチューブは、約 10×10^6 個の細胞(1,000万~1,500万個)を含むべきである。チューブあたりより多くの細胞を凍結すると、細胞損失が生じる可能性がある。

【0714】

洗浄後:

1. 計数後、細胞懸濁液を室温にて330gで10分間、急速加速及び高速時中断で遠心分離する。

2. 上清をデカントし、指でチューブをタップすることによって細胞を穏やかに混合する。ピペットを使用せず、泡の形成を避ける!

3. 約2分の期間にわたって、等量の温かいCTL-Cryo (商標) A-B混合物を、脾細胞を含むCTL-Cryo (商標) Cに添加する。(2つの溶液の完全な混合を確実にするために、チューブを穏やかに回しながらCTL-Cryo (商標) A-B混合物を滴下する。

4. 脾細胞を含む得られたCTL-Cryo (商標) A-B-C懸濁液を、各バイアルに1mlずつ、予め標識した1.8mlクライオバイアルに分注する。

剪断力を最小限に抑えるために、穏やかにゆっくりとピペットで入れる。ピペットによる追加の混合を試みない。細胞は、生存率又は機能を損なうことなく、完成したCTL-Cryo (商標) A-B-C培地に10~20分間留まることができる。

5. クライオバイアルを、プロパノールを充填した室温のNalgene (登録商標) 低温凍結容器(Mr. Frosty (商標))に入れ、最低12時間で、-80℃の冷凍庫に移す。この期間中、冷凍庫を開けない。冷凍庫の扉の開閉によるサンプルの揺れ及び冷凍庫の温度の変動を防ぐために、専用の-80℃の冷凍庫を使用する。

6. 最低12時間及び48時間以下の後、クライオバイアルを貯蔵のために蒸気/液体窒素タンクに移す。

【0715】

実施例25

更に設計されたEタンパク質配列(抑制されたイオンチャネル活性を有する)

SARS-CoVエンベロープ(E)遺伝子は、ウイルス-宿主相互作用における重要な機能であるイオンチャネル(IC)活性を有する76-アミノ酸膜貫通タンパク質をコードする。Eタンパク質IC活性を欠く又は示すウイルスによるマウスの感染により、インフラマソーム経路の活性化が明らかになり、SARS-CoVによって誘導される悪化した炎症応答は、イオンチャネル欠損ウイルスによる感染症で減少した(Nieto-Torres et al., 2014, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Ion Channel Activity Promotes Virus Fitness and Pathogenesis. PLoS Pathog 10(5): e1004077)

【0716】

本発明者らは、それぞれ、SARS2、CoV_E_T2_1及びCoV_E_T2_2(実施例10を参照)に対応する、新しいEタンパク質設計CoV_E_T2_3、CoV_E_T2_4及びCoV_E_T2_5を作製した。新しい設計は、イオンチャネル活性を抑制する点変異N15Aを有するが、構造の安定性に影響を与えない。Niet

10

20

30

40

50

o-Torres et al. 前出は、この変異、並びに宿主細胞に対するSARS Eの毒性及び炎症作用を論じている。

【0717】

新しいEタンパク質設計のアミノ酸配列を以下に示す。

>COV__E__T2__3 (SARS2__変異体) (配列番号42)

MYSFVSEETG T L I V A S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P S F Y V Y S R V K N L N S S R - V P D
L L V

>COV__E__T2__4 (EnV1__変異体) (配列番号43)

MYSFVSEETG T L I V A S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P T F Y V Y S R V K N L N S S Q G V P
D L L V

>COV__E__T2__5 (EnV2__変異体) (配列番号44)

MYSFVSEETG T L I V A S V L L F L A F V V F L L V T L A I L T A
L R L C A Y C C N I V N V S L V K P T F Y V Y S R V K N L N S S R - V P D
L L V

【0718】

SARS2 Eタンパク質参照配列とEタンパク質設計とのアラインメントを以下に示す。

【0719】

【表105】

```

SARS2      1 MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPSEFYVYSRV 62
COV_E_T2_1 1 MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV 62
COV_E_T2_2 1 MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV 62
COV_E_T2_3 1 MYSFVSEETGTLIVASVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPSEFYVYSRV 62
COV_E_T2_4 1 MYSFVSEETGTLIVASVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV 62
COV_E_T2_5 1 MYSFVSEETGTLIVASVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVKPTFYVYSRV 62

SARS2      63 KNLSNR-VPDLLV 75
COV_E_T2_1 63 KNLSNQGVDPDLLV 76
COV_E_T2_2 63 KNLSNR-VPDLLV 75
COV_E_T2_3 63 KNLSNR-VPDLLV 75
COV_E_T2_4 63 KNLSNQGVDPDLLV 76
COV_E_T2_5 63 KNLSNR-VPDLLV 75

```

【0720】

SARS2 参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表に示す（太字で強調表示された参照配列との差異を有する）。

【0721】

【表106】

SARS2 Eタンパク質残基位置	SARS2参照アミノ酸残基	COV__E__T2__1 アミノ酸残基	COV__E__T2__2 アミノ酸残基	COV__E__T2__3 アミノ酸残基	COV__E__T2__4 アミノ酸残基	COV__E__T2__5 アミノ酸残基
15	N	N	N	A	A	A
55	S	T	T	S	T	T
69	R	Q	R	R	Q	R
70	—	G	—	—	G	—

【0722】

実施例26

核タンパク質 (N) タンパク質ワクチン配列

本発明者らは、新しいNタンパク質設計、COV__N__T2__1及びCOV__N__T2__2を作製した。これらの設計のアミノ酸配列を以下に示す。配列COV__N__T2__2は、サルベコウイルスにわたる保存に基づいて（冗長性を最小限に抑えながら）、エピトープが予測エピトープの質によって制限されるMHC対立遺伝子の頻度及び数、並びに少数のユーザ指定の重み付けを含むように予測エピトープを選択する方法論及びアルゴリズムを使用して設計された。

>YP__009724397.2/1-419ヌクレオキャプシドホスホタンパク質 [

SARS-CoV-2] (参照配列) (配列番号45)

MSDNGPQ-NQ RNAPRITFGG PSDSTGSNQNGERSGA
RSKQ RRPQGLPNNT ASWFTALTQH GKEDLKFPARG QG
VPINTNSS PDDQIGYYRR ATRRIRGGDG KMKDLSRW
Y FYYLGTGPEA GLPYGANKDG IIWVATEGAL NTPKD
HIGTR NPANNAIAIVL QLPQGTTLPK GFYAEGSRGG S
QASSRSSSR SRNSSRNSTP GSSRGTSPPAR MAGNGGDA
AL ALLLLDRLNQ LESKMSGKKGQ QQQGQTVTKK SAAE
ASKKPR QKRTATKAYN VTQAFGRRGP EQTQGNFGDQ
ELIRQGTDYK HWPQIAQFAP SASAFFGMSR IGMEVTP
SGT WLTYTGAIKL DDKDPNFKDQ VILLNKHIDA YKT
FPPTPEPK KDKKKKKADET QALPQRQKKQ QTVTLLPAAD
LDDFSKQLQQ SMSSA--DST QA

>COV_N_T2_1/1-418 Node1b 321-323 deleted (配列番号46)

MSDNGPQ-NQ RSAPRITFGG PSDSTDNNQN GERSGA
RPKQ RRPQGLPNNT ASWFTALTQH GKEDLRFPRG QG
VPINTNSG KDDQIGYYRR ATRRVIRGGDG KMKELSPRW
Y FYYLGTGPEA ALPYGANKEG IVWVATEGAL NTPKD
HIGTR NPNNNAIAIVL QLPQGTTLPK GFYAEGSRGG S
QASSRSSSR SRGNSRNSTP GSSRGTSPPAR MASGGGDT
AL ALLLLDRLNQ LESKVSGKKGQ QQQGQTVTKK SAAE
ASKKPR QKRTATKQYN VTQAFGRRGP EQTQGNFGDQ
ELIRQGTDYK HWPQIAQFAP SASAFFGMSR ---EVTP
SGT WLTYHGAIKL DDKDPQFKDN VILLNKHIDA YKT
FPPTPEPK KDKKKKKADEA QPLPQRQKKQ PTVTLLPAAD
LDDFSKQLQN SMSGASADST QA

>COV_N_T2_2/1-417 epitope optimised 321-323 deleted (配列番号47)

MTDNGQQ-GP RNAPRITF-G VSDNFDNNQD GGRSGA
RPKQ RRPQGLPNNT ASWFTALTQH GKEDLRFPRG QG
VPINTNSS PDDQIGYYRR ATRRIRGGDG KMKDLSRW
Y FYYLGTGPEA ALPYGANKEG IVWVATEGAL NTPKD
HIGTR NPNNNAIAIVL QLPQGTTLPK GFYAEGSRGG S
QASSRSSSR SRNSSRNSTP GSSRGTSPPAR NLQAGGDT
AL ALLLLDRLNQ LESKMSGKKGQ QQQGQTVTKK SAAE
ASKKPR QKRTATKQYN VTQAFGRRGP EQTQGNFGDQ
ELIRQGTDYK QWPQIAQFAP SASAFFGMSR ---EVTP
SGT WLTYTGAIKL DDKDPQFKDN VILLNKHIDA YKT
FPPTPEPK KDKKKKKADEA QPLPQRQKKQ QTVTLLPAAD
LDDFSRQLQN SMSGASADST QA

[0723]

SARS2 Nタンパク質参照配列とNタンパク質設計とのアラインメントを以下に示す。

[0724]

10

20

30

40

【表 107】

YP_00724397 MSUNGPNQRNAPRIITFGGPGDSIDNNQNGERSGAPSKQRRPQGLPNNTASWFTALTQHGKEDLRFPRGGVPIINTNSSPDDQIGYYPRATRIRGGGKMKDLSPRW 109
 CCV_N_T2_1 MSUNGPNQRNAPRIITFGGPGDSIDNNQNGERSGAPSKQRRPQGLPNNTASWFTALTQHGKEDLRFPRGGVPIINTNSSGKDDQIGYYKRAIRRYRGGGKMKDLSPRW 109
 CCV_N_T2_2 MTDNQGGGPRNAPRIITF-GVSDNFDNNQDGGGSGARPKQRRPQGLPNNTASWFTALTQHGKEDLRFPRGGVPIINTNSSPDDQIGYYRATRIRGGGKMKDLSPRW 107

YP_00724397 YFYYLGTGPEAGLPYGANKDGIWVATEGALNTPKDHIGTRNPANNAIIVLQLPQGTTLPK-GFYAEGSRGGSCASSRSGSSRNSRNSTPGSSRGTSPARMAGNGG 215
 CCV_N_T2_1 YFYYLGTGPEAALPYGANKGIVWVATEGALNTPKDHIGTRNPANNAIIVLQLPQGTTLPK-GFYAEGSRGGSCASSRSGSSRNSRNSTPGSSRGTSPARMAGNGG 215
 CCV_N_T2_2 YFYYLGTGPEAALPYGANKGIVWVATEGALNTPKDHIGTRNPANNAIIVLQLPQGTTLPK-GFYAEGSRGGSCASSRSGSSRNSRNSTPGSSRGTSPARNLQAGG 214

YP_00724397 DAALALLLLDRLNQLESKMSGKGQGGGGQTVTKKSAAEASKKPPQKRTATKQYNYTQAFGRGPEQTQGNFGDCELIHQGTQYKHWPQIAQFAPSASAFFGMSRIGME 323
 CCV_N_T2_1 DTALALLLLDRLNQLESKYSGKGQGGGGQTVTKKSAAEASKKPPQKRTATKQYNYTQAFGRGPEQTQGNFGDCELIHQGTQYKHWPQIAQFAPSASAFFGMSR---E 320
 CCV_N_T2_2 DTALALLLLDRLNQLESKMSGKGQGGGGQTVTKKSAAEASKKPPQKRTATKQYNYTQAFGRGPEQTQGNFGDCELIHQGTQYKHWPQIAQFAPSASAFFGMSR---E 319

YP_00724397 VTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPQFKNQYILLNKHIDAYKTFPPTPEPKKDKKKKADEAGPLPQRQKKQFTVTLLPAAD-LDDFSKQLQNSMSASADSTQA 419
 CCV_N_T2_1 VTPSGTWLTYHGAIKLDDKDPQFKNQYILLNKHIDAYKTFPPTPEPKKDKKKKADEAGPLPQRQKKQFTVTLLPAAD-LDDFSKQLQNSMSASADSTQA 418
 CCV_N_T2_2 VTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPQFKNQYILLNKHIDAYKTFPPTPEPKKDKKKKADEAGPLPQRQKKQFTVTLLPAAD-LDDFSRQLQNSMSASADSTQA 417

【0725】

10

SARS2 参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表に示す（参照配列との差異は太字で強調表示され、全ての設計された配列に共通の差異には下線を引いた）。

【0726】

20

30

40

50

【表 108】

SARS2 Nタンパク質残基 位置(配列番号45)	SARS2参照アミノ酸残基 (配列番号45)	N__T2__1アミノ酸残基 (配列番号46)	N__T2__2アミノ酸残基 (配列番号47)
2	S	S	T
6	P	P	Q
8	N	N	G
9	Q	Q	P
11	N	S	N
18	G	G	—
20	P	P	V
23	S	S	N
24	T	T	F
25	G	D	D
26	S	N	N
29	N	N	D
31	E	E	G
37	S	P	P
65	K	R	R
79	S	G	S
80	P	K	P
94	I	V	I
103	D	E	D
120	G	A	A
128	D	E	E
131	I	V	V
152	A	N	N
192	N	G	N
193	S	N	S
211	A	A	L
212	G	S	Q
213	N	G	A
217	A	T	T
234	M	V	M
267	A	Q	Q
300	H	H	Q
320	I	—	—
321	G	—	—
322	M	—	—
334	T	H	T
345	N	Q	Q
349	Q	N	N
379	T	A	A
390	Q	P	Q
406	K	K	R
409	Q	N	N
413	S	G	G
415	—	S	S
416	—	A	A

10

20

30

40

【0727】

位置415及び416は、参照配列の残基ではないがN__T2__1及びN__T2__2配列への挿入を含むのでイタリック体である。

【0728】

実施例27

膜(M)タンパク質ワクチン配列

本発明者らは、更に新しいMタンパク質設計を作製した。これらの設計では、本発明者らは、膜タンパク質の第1及び第2の膜貫通領域を削除して、Sタンパク質との相互作用を抑制した。

50

- ・ S、M及びEを有する紐状構築物は、より高次の凝集体を示していた。
- ・ SとMとの間の相互作用の抑制は、凝集を減少させることができる。
- ・ Sとの相互作用を抑制するように設計されたM－d e l構築物（C o v _ M _ T 2 _（3－5））。

【0729】

図20は、Mタンパク質の図を示す。M、E、及びNタンパク質間の相互作用は、ウイルス組み立てにとって重要である。Mタンパク質はまた、ヌクレオキャプシドに結合し、この相互作用は、ビリオン組み立ての完成を促進する。これらの相互作用は、Mタンパク質のエンドドメインのC末端、及びNタンパク質のC末端ドメインにマッピングされている。図20において、*は、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルスの膜タンパク質上の免疫優勢エピトープの同定を示し、**は、スパイクタンパク質との相互作用に關与するコロナウイルス膜タンパク質ドメインのマッピングを示す。

10

【0730】

新しいMタンパク質設計のアミノ酸配列を以下に示す。

>COV_M_T2_3（配列番号48）

MADSNGTITV EELKKLLEQI TGGIAIAMAC LVGLMW
LSYF IASFRLFART RSMWSFNPET NILNVPLHG TI
LTRPLLES ELVIGAVILR GHLRIAGHHL GRCDIKDLP
K EITVATSRTL SYYKLGASQR VAGDSGFAAY SRYRI
GNGKL NTDHSSSSDN IALLVQ

20

>COV_M_T2_4（配列番号49）

MADNGTITVE ELKQLLEQVT GGIAIAMACI VGLMWL
SYFV ASFRLFARTR SMWSFNPETN ILLNVPLRG TIL
TRPLMESE LVIGAVIIRG HLRMAGHSLG RCDIKDLPK
E ITVATSRTLS YYKLGASQRV GTDSGFAAYN RYRIG
NGKLN TDHAGSNDNI ALLVQ

>COV_M_T2_5（配列番号50）

MADSNGTITV EELKKLLEQV TGGIAIAMAC IVGLMW
LSYF VASFRLFART RSMWSFNPET NILNVPLRG SI
ITRPLMES ELVIGAVILR GHLRMAGHSL GRCDIKDLP
K EITVATSRTL SYYKLGASQR VASDSGFAVY NRYRI
GNGKL NTDHSSSSDN IALLVQ

30

【0731】

新しいMタンパク質設計（COV_M_T2_3、COV_M_T2_4、COV_M_T2_5）と以前のMタンパク質設計（COV_M_T1_1、COV_M_T2_1、COV_M_T2_2）との配列アラインメントを以下に示す。

【0732】

40

50

【表 109】

COV_M_T1_1	MADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFTWICLLQFAYANRRNRLYI I K L I F L W L L W P V T L A	63
COV_M_T2_3	MADSNGTITVEELKKLLEQ.....	19
COV_M_T2_1	MAD-NGTITVEELKQLLEQWNLVIGFLFLAWIMLLQFAYSNNRRLYI I K L V F L W L L W P V T L A	62
COV_M_T2_4	MAD-NGTITVEELKQLLEQ.....	18
COV_M_T2_2	MADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFTWICLLQFAYSNNRRLYI I K L I F L W L L W P V T L A	63
COV_M_T2_5	MADSNGTITVEELKKLLEQ.....	19
COV_M_T1_1	CFVLAAYVRINWVTGGIAIAMACLVGLMWLSYFIFASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLHG	126
COV_M_T2_3	ITGGIAIAMACLVGLMWLSYFIFASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLHG	70
COV_M_T2_1	CFVLAAYVRINWVTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	125
COV_M_T2_4	VTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	69
COV_M_T2_2	CFVLAAYVRINWVTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	126
COV_M_T2_5	VTGGIAIAMACIVGLMWLSYFVASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLRG	70
COV_M_T1_1	TILTRPLLESELVIGAVILRGHLRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSTYYKLGASQRVAG	189
COV_M_T2_3	TILTRPLLESELVIGAVILRGHLRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSTYYKLGASQRVAG	133
COV_M_T2_1	TILTRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSTYYKLGASQRVGT	188
COV_M_T2_4	TILTRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSTYYKLGASQRVGT	132
COV_M_T2_2	SIITRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSTYYKLGASQRVAS	189
COV_M_T2_5	SIITRPLMESELVIGAVILRGHLRMAGHSLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSTYYKLGASQRVAS	133
COV_M_T1_1	DSGFAAYSRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ	222
COV_M_T2_3	DSGFAAYSRYRIGNGKLNTDHSSSSDNIALLVQ	166
COV_M_T2_1	DSGFAAYNRYRIGNYKLNTDHAGSNDNIALLVQ	221
COV_M_T2_4	DSGFAAYNRYRIGNGKLNTDHAGSNDNIALLVQ	165
COV_M_T2_2	DSGFAVYNRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ	222
COV_M_T2_5	DSGFAVYNRYRIGNGKLNTDHSSSSDNIALLVQ	166

10

【0733】

SARS2 Mタンパク質参照配列と設計された配列とのアミノ酸の差異を以下の表に示す（太字で強調表示された参照配列との差異を有する）。

20

【0734】

【表 110】

SARS2 Mタンパク質残基位置	SARS2参照アミノ酸残基 (COV_M_T1_1)	COV_M_T2_1 アミノ酸残基	COV_M_T2_2 アミノ酸残基	COV_M_T2_3 アミノ酸残基	COV_M_T2_4 アミノ酸残基	COV_M_T2_5 アミノ酸残基
4	S	欠失	S	S	欠失	S
15	K	Q	K	K	Q	K
20~75				欠失	欠失	欠失
30	T	A	T			
33	C	M	C			
40	A	S	S			
52	I	V	I			
76	I	V	V	I	V	V
87	L	I	I	L	I	I
97	I	V	V	I	V	V
125	H	R	R	H	R	R
127	T	T	S	T	T	S
129	L	L	I	L	L	I
134	L	M	M	L	M	M
145	L	I	L	L	I	L
151	I	M	M	I	M	M
155	H	S	S	H	S	S
188	A	G	A	A	G	A
189	G	T	S	G	T	S
195	A	A	V	A	A	V
197	S	N	N	S	N	N
204	Y	Y	Y	G	G	G
211	S	A	S	S	A	S
212	S	G	S	S	G	S
214	S	N	S	S	N	S

30

【0735】

40

実施例 28

Sタンパク質RBDタンパク質のグリコシル化

図21は、以下のSタンパク質RBD配列をコードするpEVACプラスミドでトランスフェクトされたHEK細胞に由来する上清のスペクトル重複（MALDI MS）を示す。

- COV__S__T2__5（野生型SARS1 RBD）
- COV__S__T2__6（野生型SARS2 RBD）
- COV__S__T2__13
- COV__S__T2__14
- COV__S__T2__15

50

- ・COV__S__T2__16
- ・COV__S__T2__17
- ・COV__S__T2__18
- ・COV__S__T2__19
- ・COV__S__T2__20
- ・M7 RBD
- ・TM RBD

【0736】

結果は、RBDが25～26KDaでピークに達しており、第2のピークが29KDaに現れることを示している。

10

【0737】

図22は、組換えRBDタンパク質の以下の実施例のスペクトルを示す。

- ・RBD（「LMB」とラベル付けされた1つの試料）、
- ・Hisタグ付きRBD、
- ・「Ralph」とラベル付けされた別のRBDタンパク質試料。

【0738】

COV__S__T2__19のアミノ酸配列は、以下である。

>COV__S__T2__19（配列番号55）

RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFPSVYAWERKR
ISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYA
DSFVIRGDEVQRQIAPGQTGV IADYNYKLPDDFTGCVIAWN
TNNLDSTTTGGNYNYLYRSLRKS KLPFERDISSDIYSPGG
KPCSGVEGFNCYYPLRSYGFFPTNGVGYQPYRVVVL SFEL
LNAPATVCGPKLSTDGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSKSSIA
SFFFIIGLIIGLFLVLRVGIHLCIKLKHTKKRQIYTDIEM
NRLGK

20

【0739】

COV__S__T2__20のアミノ酸配列は、以下の通りである。

>COV__S__T2__20（配列番号56）

RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFP SVYAWERKK
ISNCVADYSVLYNSTSFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYA
DSFVIRGDEVQRQIAPGQTGV IADYNYKLPDDFTGCVIAWN
TNNIDSTTTGGNYNYLYRSLRKS KLPFERDISSDIYSPGG
KPCSGVEGFNCYYPLRSYGFFPTNGTG YQPYRVVVL SFEL
LNAPATVCGPKLSTDGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSKSSIA
SFFFIIGLIIGLFLVLRVGIHLCIKLKHTKKRQIYTDIEM
NRLGK

30

【0740】

COV__S__T2__19は、膜貫通ドメインを有する本質的にCOV__S__T2__13であり、COV__S__T2__20は、膜貫通ドメインを有するCOV__S__T2__17である。

40

【0741】

RBDタンパク質のアミノ酸配列（リーダー-RBD-タグ）は以下の通りである。

【0742】

【表 1 1 1】

MKRGLCCVLLLCGAVFVSPSAARVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRI
 SNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIAD
 YNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN
 GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNGGSGLNIDIF
 EAQKIEWHEGSHHHHHH (SEQ ID NO:51)

【0 7 4 3】

図 2 2 は、L M B 及び H i s タグ付き R B D タンパク質ピークが約 2 6 K D a (L M B が図中のより高いピーク) であり、R a l p h R B D 試料ピークが約 3 1 ~ 3 2 K D a でピークであることを示す。ピークはまた、「L M B」については約 5 2 K D a でも見られ、「h i s R B D」(L M B は、より高いピークである)、R a l p h R B D サンプルについては約 6 2 ~ 6 4 K D a である。

10

【0 7 4 4】

精製 (組換え) タンパク質と比較して、上清から得られたタンパク質の 2 つの主要なグリコシル化形態が存在することが、これらの結果から結論付けられた。精製されたタンパク質は、非グリコシル化又は低密度グリコシル化されている。グリコシル化のこの差異は、グリコシル化部位がエピトープ領域を取り囲み、ほとんどのサルベコウイルスで保存されているため、重要であると考えられる。これらのグリコシル化部位はまた、抗体のいく

20

【0 7 4 5】

図 2 3 は、「S」スパイクタンパク質のグリコシル化のための参照を提供する。スペクトルから分かるように、スパイクタンパク質のグリコシル化パターンが混合される。平均して、各グリカンの質量は約 2 k D a である。S タンパク質 R B D 設計のうちの 4 つ (C O V _ T 2 _ 1 3、C O V _ T 2 _ 1 4、C O V _ T 2 _ 1 5、及び C O V _ T 2 _ 1 6) 及び野生型 S A R S 1 R B D には 3 つのグリコシル化部位があり、野生型 S A R S 2 R B D には 2 つがあり、S タンパク質 R B D 設計 C O V _ T 2 _ 1 7、C O V _ T 2 _ 1 8 には 4 つがある。

【0 7 4 6】

「R a l f R B D タンパク質」の質量は、2 9 . 2 k D a である。設計された R B D タンパク質及び野生型 R B D の質量は、約 2 4 k D a である。

30

【0 7 4 7】

実施例 2 9

P a n - サルベコウイルスワクチンカバレッジ

P a n - サルベコウイルス保護：ヒトへの漏れ込みの恐れがある S A R S - C o V - 2 (S A R S 2)、- 1 (S A R S 1) 及び多くの B a t S A R S r - C o V (A C E 2 受容体を使用) を含む β - コロナウイルス。

【0 7 4 8】

図 2 4 は、ユニバーサルサルベコウイルス B 細胞及び T 細胞抗原標的によって達成された抗原性カバレッジを示す。パート 1 は、S A R S 1 及び S A R S 2 クレイドを有するサルベコウイルスが、ヒト又はコウモリ宿主種と共に強調表示されていることを示す。パート 2 は、インサート内の予測されるエピトープの機械学習予測 M H C クラス I I 結合 (高くなると結合が強くなる) を示す。より明るい灰色は、S A R S 2 内に保存されたエピトープについてであり、より暗い灰色は、S A R S 1 等の他のサルベコウイルスからグラフト化されたエピトープである。

40

【0 7 4 9】

実施例 3 0

C O V I D - 1 9 バリエントから保護するための設計された S タンパク質配列

複数の S A R S - C o V - 2 バリエントが、世界的に広がっている。最も注目すべきこ

50

とには、2020年の秋にいくつかの新しいバリエーションが現れた。

【0750】

英国（UK）では、SARS-CoV-2（20I/501Y.V1、VOC 202012/01、又はB.1.1.7として知られている）の新しいバリエーションが多数の変異を伴って出現した。このバリエーションは以後、米国（US）を含む世界中の多数の国で検出された。2021年1月に、UKは、他のバリエーションと比較して死亡リスクの増加に関連し得る、B.1.1.7バリエーションを示唆する証拠を報告したが、この発見を確認するためにより多くの試験が必要とされた。このバリエーションは、2020年12月の末に米国で報告された。

【0751】

南アフリカでは、SARS-CoV-2の別のバリエーション（20H/501Y.V2又はB.1.351として知られる）が、B.1.1.7とは独立して出現した。このバリエーションは、B.1.1.7といくつかの変異を共有する。このバリエーションに起因する症例は、南アフリカ外の複数の国で検出されている。このバリエーションは、2021年1月の終わりにUSで報告された。

【0752】

ブラジルでは、SARS-CoV-2（P-1として知られる）のバリエーションが出現し、日本の東京の外側の羽田空港での日常的なスクリーニング中に試験されたブラジルからの4名の旅行者において初めて同定された。このバリエーションは、スパイクタンパク質の受容体結合ドメインにおける3つを含む17個の固有の変異を有する。このバリエーションは、2021年1月の終わりにUSで検出された。

【0753】

科学者らは、これらのバリエーションがどの程度容易に伝染する可能性があるか、及びそれらに対する現在認可されているワクチンの有効性をよりよく理解するために、これらのバリエーションについて更に学習しようと努力している。これらのバリエーションのウイルス学的、疫学的、及び臨床特性に関する新しい情報は、急速に出現している。

【0754】

B.1.1.7系統（別名20I/501Y.V1 関心対象のバリエーション（VOC）202012/01）

このバリエーションは、501位のスパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）における変異を有し、アミノ酸アスパラギン（N）は、チロシン（Y）で置き換えられている。この変異の略語はN501Yである。このバリエーションはまた、以下を含むいくつかの他の変異を有する。

- ・69/70欠失：多くの時間に自発的に発生し、スパイクタンパク質の高次構造変化につながる可能性が高い

- ・P681H：S1/S2フルリン切断部位の近く、コロナウイルスに高い変動性を有する部位。この変異はまた、複数回自発的に出現している。

【0755】

このバリエーションは、2020年9月中に英国で最初に出現したと推定される。

【0756】

2020年12月20日以来、米国を含むいくつかの国は、B.1.1.7系統の症例を報告している。

【0757】

このバリエーションは、伝染性の増加（すなわち、より効率的かつ急速な伝染）に関連している。

【0758】

2021年1月に、英国からの科学者は証拠（Horby P, Huntley C, Davies N, et al. NERVTAG note on B.1.1.7 severity. SAGE meeting report. 2021年1月21日）を報告し、これは、B.1.1.7バリエーションが他のバリエーションと比較して死亡のリスクの

10

20

30

40

50

増加に関連し得ることを示唆している。

【0759】

初期の報告では、バリエーションが疾患の重症度又はワクチン有効性に何らかの影響を及ぼすことを示唆する証拠は見出されなかった (Wu K, Werner AP, Molliva JI, et al. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. bioRxiv. Posted January 25, 2021; Xie X, Zou J, Fontes-Garfias CR, et al. Neutralization of N501Y mutant SARS-CoV-2 by BNT162b2 vaccine-elicited sera. bioRxiv. Posted January 7, 2021; Greaney AJ, Loes AN, Crawford KHD, et al. Comprehensive mapping of mutations to the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human serum antibodies. bioRxiv. [Preprint posted online January 4, 2021]; Weisblum Y, Schmidt F, Zhang F, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. eLife 2020; 9:e61312.)

10

20

【0760】

B. 1. 351系統 (別名 20H / 501Y. V2)

このバリエーションは、K417N、E484K、N501Yを含む、スパイクタンパク質に複数の変異を有する。英国で検出されたB. 1. 1. 7系統とは異なり、このバリエーションは、69 / 70に欠失を含まない。

【0761】

このバリエーションは、2020年10月初めに遡る試料で、南アフリカのNelson Mandela Bayで最初に同定され、以来米国を含む南アフリカ以外で症例が検出されている。

【0762】

バリエーションは、2020年12月下旬にザンビアでも同定され、その時点では、国内で優勢なバリエーションであるように思われた。

30

【0763】

現在、このバリエーションが疾患の重症度に影響を与えることを示唆する証拠はない。

【0764】

スパイクタンパク質変異、E484Kのうちの1つが、いくつかのポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体による中和に影響を与える可能性があることを示すいくつかの証拠がある (Weisblum Y, Schmidt F, Zhang F, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. eLife 2020; 9:e61312; Resende PC, Bezerra JF, de Vasconcelos RHT, et al. Spike E484K mutation in the first SARS-CoV-2 reinfection case confirmed in Brazil, 2020. [Posted on www.virological.org on January 10, 2021]).

40

【0765】

P. 1系統 (別名 20J / 501Y. V3)

P. 1バリエーションは、B. 1. 1. 28系統の分岐であり、東京の外側の羽田空港での日常的なスクリーニング中にサンプリングされたブラジルからの4名の旅行者において国立感染症研究所 (NIID) によって日本で最初に報告された。

50

【0766】

P. 1系統は、スパイクタンパク質受容体結合ドメインにおける3つの変異：K417T、E484K、及びN501Yを含む。

【0767】

P. 1バリエーションにおける変異のいくつかがその伝染性及び抗原プロファイルに影響を及ぼし得ることを示唆する証拠があり、これは、以前の自然感染又はワクチン接種を通じて生成された抗体がウイルスを認識し、中和する能力に影響を及ぼし得る。—最近の研究は、アマゾン地域の最大都市であるマナウスにおける症例のクラスターについて報告された。マナウスでは、12月後半から配列決定された標本の42%においてP. 1バリエーションが同定された (Resende PC, Bezerra JF, de Vasconcelos RHT, et al. Spike E484K mutation in the first SARS-CoV-2 reinfection case confirmed in Brazil, 2020. [Posted on www.virological.org on January 10, 2021]) この領域では、集団の約75%が2020年10月の時点でSARS-CoV-2に感染していたと推定される。しかし、12月半ば以降、この地域では症例が急増している。このバリエーションの出現は、個体のSARS-CoV-2の伝染性又は再感染の傾向の潜在的な増加の懸念を引き起こす。

【0768】

このバリエーションは、2021年1月末に米国で同定された。

【0769】

D614Gと呼ばれる1つの特定の変異は、これら3つのバリエーションによって共有される。非査読の予稿論文に記載されているように、優勢ウイルスよりもより迅速に広がる能力をバリエーションに与える (Bin Zhou, Tran Thi Nhu Thao, Donata Hoffmann, et al. SARS-CoV-2 spike D614G variant confers enhanced replication and transmissibility *bioRxiv* 2020.10.27 doi:<https://doi.org/10.1101/2020.10.27.357558>; Volz E, Hill V, McCrone J, et al. Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on Transmissibility and Pathogenicity. *Cell* 2021;184(64-75). doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.020>)。また、この特定の変異を有するバリエーションが変異を有していないウイルスよりも迅速に拡散するという疫学的証拠がある (Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell* 2021;182(812-7). doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>)。この変異は、欧州で最初に広がった後、パンデミックの初期段階において米国で最初に記録された変異の1つであった (Yurkovetskiy L, Wang X, Pascal KE, et al. Structural and Functional Analysis of the D614G SARS-CoV-2 Spike Protein Variant. *Cell* 2020;183(3):739-1. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.032>)。

【0770】

バリエーションを以下の表に要約する (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>) :

【 0 7 7 1 】

【 表 1 1 2 】

名称	名称 (Nextstrain)	最初に検出	国 報告 症例	主要変異	伝染性 率
B. 1. 1. 7	20I/501Y. V1	英国	70	・69/70欠失 ・144Y欠失 ・N501Y ・A570D ・D614G ・P681H	約50%の増加
P. 1	20J/501Y. V3	日本/ ブラジル	>4	・E484K ・K417N/T ・N501Y ・D614G	未決定
B. 1. 351	20H/501. V2	南アフリカ	>30	・K417N ・E484K ・N501Y ・D614G	未決定

10

【 0 7 7 2 】

本発明者らは、バリエーション B. 1. 1. 7、P. 1、及び B. 1. 351 に対する保護のために、COVID-19 ワクチンインサートとして使用するための新しい完全長 S タンパク質配列（「VOCキメラ」、又は COV__S__T2__29 と呼ばれる）を設計した。

20

【 0 7 7 3 】

SARS__CoV__2 分離株 EPI__ISL__402130（参照配列）の完全長 S タンパク質アミノ酸配列を以下に示す。

【 0 7 7 4 】

【 表 1 1 3 】

>EPI__ISL__402130 (Wuhan株) (配列番号52)

```

MFVFLVLLPL VSSQCVNLTT RTQLPPAYTN SFTRGVYYPD KVRSSSVLHS TQDLFLPFFS      60
NVTWFHAIHV SGTNGTKRFD NPVLFPNDGV YFASTEKSN I RGWIFGTTL DSKTQSLIIV      120
NNATNVVIKV CEFQFCNDPF LGVYYHKNNK SWMESEFRVY SSANNCTFEY VSQPFLMDLE      180
GKQGNFKNLR EFVFKNIDGY FKIYSKHTPI NLVRDLPQGF SALEPLVDLP IGINITRFQT      240
LLALHRSYLT PGDSSSGWTA GAAAYYVGYL QPRTFLLKYN ENGTITDAVD CALDPLSETK      300
CTLKSFTVEK GIYQTSNFRV QPTESIVRFP NITNLCPFGE VFNATRFASV YAWNRKRISN      360
CVADYSVLYN SASFSTFKCY GVSPTKLNDL CFTNVYADSF VIRGDEVROI APGQTGKIAD      420
YNYKLPPDFT GCVIAWNSNN LDSKVGNYN YLYRLFRRSN LKPFERDIST EIIYQAGSTPC      480
NGVEGFNCYF PLQSYGFQPT NGVGYQPYRV VVLSFELLHA PATVCGPKKS TNLVKNKCVN      540
FNFNGLTGTG VLTESNKKFL PFQQFGRDIA DTTDAVRDPQ TLEILDITPC SFGGVSVITP      600
GTNTSNQVAV LYQDVNCTEV PVAIHADQLT PTWRVYSTGS NVFQTRAGCL IGAHVNNNSY      660
ECDIPIGAGI CASYQTQTN PRRARSVASQ SIIAYTMSLG AENSVAYSNN SIAIPTNFTI      720
SVTTEILPVS MTKTSVDCTM YICGDSSTCS NLLQYGSFC TQLNRALTGI AVEQDKNTQE      780
VFAQVKQIYK TPPIKDFGGF NFSQILPDPS KPSKRSFIED LFNKVTLD AGFIKQYGDC      840
LGDIAARDLI CAQKFNGLTV LPPLLTDEMI AQYTSALLAG TITSGWTFGA GAALQIPFAM      900
QMAYRFNGIG VTQNVLYENQ KLIANQFNSA IGKIQDSLSS TASALGKLQD VVNQNAQALN      960
TLVKQLSSNF GAISSVLNDI LSRLDKVEAE VQIDRLITGR LQSLQTYVTQ QLIRAAEIRA     1020
SANLAATKMS ECVLGQSKRV DFCGKGYHLM SFPQSAPHGV VFLHVTYVPA QEKNFTTAPA     1080
ICHDKGAHFP REGVFVSNGT HWFVTQRNFY EPQIITDNT FVSGNCDVVI GIVNNTVYDP     1140
LQPELDSFKE ELDKYFKNHT SPDVDLGDIS GINASVNIQ KEIDRLNEVA KNLNESLIDL     1200
QELGKYEQYI KWPWYIWLGF IAGLIAIVMV TIMLCMTSC CSCLKGCCSC GSCCKFDEDD     1260
SEPVLLKGVKL HYT                                     1273

```

30

40

【 0 7 7 5 】

設計された完全長 S タンパク質配列のアミノ酸配列を以下に示す。

【 0 7 7 6 】

50

【表 1 1 4】

>COV__S__T2__29 (VOCキメラ) (配列番号53)

```

MFVFLVLLPL VSSQCVNFTN RTQLPSAYTN SFTRGVYYPD KVFRSSVLHS TQDLFLPFFS      60
NVTWFHAISC TNGTKRFDNP VLPFNDGVYF ASTEKSNIIR GWIFGTTLDS KTQSLLIVNN      120
ATNVVIKVCE FQFCNDPFLG VYHKNNKSWM ESEFRVYSSA NNCTFEYVSQ PFLMDLEGKQ      180
GNFKNLREFV FKNIDGYFKI YSKHTPINLV RDLPPQGSAL EPLVDLPIGI NITRFQTLA      240
LHRSYLTPGD SSSGWTAGAA AYYVGYLQPR TFLLYNENG TITDAVDCAL DPLSETKCTL      300
KSFTVEKGIY QTSNFRVQPT ESIVRFPNIT NLCPFGEVFN ATRFASVYAW NRKRISNCVA      360
DYSVLYNSAS FSTFKCYGVS PTKLNDLCFT NVYADSFVIR GDEVQRQIAPG QTGNIADYNY      420
KLPDDFTGCV IAWNSNNLDS KVGGNYNLYL RLFKSNLKP FERDISTEYI QAGSTPCNGV      480
KGFNCYFPLQ SYGFQPTYGV GYQPYRVVVL SFELLHAPAT VCGPKKSTNL VKNKCVNFNF      540
NGLTGTGVL TSNKKFLPFQ QFGRDIADTT DAVRDPQTLE ILDTPCSFSG GVSVITPGTN      600
TSNQVAVLYQ GVNCTEVPVA IHADQLTPTW RVYSTGSNVF QTRAGCLIGA EHVNNSEYCD      660
IPIGAGICAS YQTQTNSHRR ARSVASQSII AYTMSLGAEN SVAYSNNNSIA IPTNFTISVT      720
TEILPVSMTK TSVDCCTMYIC GDSTECNLL LQYGSFCTQL NRALTGIAVE QDKNTQEVFA      780
QVKQIYKTPP IKDFGGFNFS QILPDPSKPS KRSFIEDLLF NKVTLADAGF IKQYGDCLGD      840
IAARDLICAQ KFNGLTVLPP LLTDEMIAQY TSALLAGTIT SGWTFGAGAA LQIPFAMQMA      900
YRFNGIGVTQ NVLYENQKLI ANQFNSAIGK IQDSLSTAS ALGKLQDVVN QNAQALNTLV      960
KQLSSNFGAI SSVLNDILSR LDPPEAEVQI DRLITGRLQS LQTYVTQQLI RAAEIRASAN     1020
LAATKMSECV LGQSKRVDFC GKGYHLSFP QSAPHGVVFL HVTYVPAQEK NFFTAPAICH     1080
DGKAHFPREG VFVSNNGTHWF VTQRNFYEPQ IITTDNTFVS GNCDVVIGIV NNTVYDPLQP     1140
ELDSFKEELD KYFKNHTSPD VDLGDISGIN ASVVNIQKEI DRLNEVAKNL NESLIDLQEL     1200
GKYEQYIKWP WYIWLGFIAI LIAIVMVTIM LCCMTSCCSC LKGCCSCGSC CKFDEDDSEP     1260
VLKGVKLHYT                                     1270

```

10

20

【0 7 7 7】

これら2つの配列のアラインメントを以下に示す。配列間のアミノ酸の相違を囲みで示し、構造安定性を提供するために作製された2つのアミノ酸変化を影付き囲みで示している。

【0 7 7 8】

設計された配列COV__S__T2__29とSARS2 Sタンパク質参照配列(EPI__ISL__402130__Wuhan株)とのアミノ酸の差異を以下の表に要約する。

【0 7 7 9】

【表 1 1 5】

SARS2 Sタンパク質残基位置 (配列番号52)	SARS2参照アミノ酸残基 (配列番号52)	COV__S__T2__29アミノ酸残基 (配列番号53)
18	L	F
20	T	N
26	P	S
69	H	欠失
70	V	欠失
144	Y	欠失
417	K	N
484	E	K
501	N	Y
614	D	G
681	P	H
986	K	P
987	V	P

30

40

【0 7 8 0】

50

【表 116】

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 1 MFVFLVLLPLVSSGCVNITRTQLPFAAYNSFTROVYYPDKVFRSSVLSHTQDLPLFFFSNVTWFAHISGTNGTKRFDAPVLPFNDGYYFASTEKSNIRGWI FGTTLDKSTQSLIYNNATNVV
1 MFVFLVLLPLVSSGCVNITRTQLPFAAYNSFTROVYYPDKVFRSSVLSHTQDLPLFFFSNVTWFAHISGTNGTKRFDAPVLPFNDGYYFASTEKSNIRGWI FGTTLDKSTQSLIYNNATNVV

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 129 KYCFQFQNDPFLGVYHKNHSMMESEFRVYSSANNGTCEYYSQPF LMDLEGGKDNFKNLREFYFNKIQBYFKIYKHPTINLVRLDPGGFSALEFLVDLP IGINITRFQTLALHRSYLTPOGSSS
127 KYCFQFQNDPFLGVYHKNHSMMESEFRVYSSANNGTCEYYSQPF LMDLEGGKDNFKNLREFYFNKIQBYFKIYKHPTINLVRLDPGGFSALEFLVDLP IGINITRFQTLALHRSYLTPOGSSS

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 257 QNTAGAAAYYGVLPRTFLLYNENGTITDAVDCALDPLSEKTKLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIYRFPNIITNLGPFQEVFNATRFASVYAMNRIRISNGVADYSVLNBSASFSTFKCYGVSP
254 QNTAGAAAYYGVLPRTFLLYNENGTITDAVDCALDPLSEKTKLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIYRFPNIITNLGPFQEVFNATRFASVYAMNRIRISNGVADYSVLNBSASFSTFKCYGVSP

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 385 TFLMDLCTFNYYAFSFIYRGDEVRIAPGGTQFIADYNYKLPDQFTGCVIAMSNHLSDFVSGVNYLYRLFKSNLKFPERDISTE IYQAGSTPCNOYVGFNCFYFPLDSYGFQFTIYBYQPYRVVY
382 TKLNDLCTFNYYAFSFIYRGDEVRIAPGGTQFIADYNYKLPDQFTGCVIAMSNHLSDFVSGVNYLYRLFKSNLKFPERDISTE IYQAGSTPCNOYVGFNCFYFPLDSYGFQFTIYBYQPYRVVY

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 513 LSFELLHAPATYCGPKKSINLVKHKCVNFNFNIDLTGTQVLTESNKKFLPFQGFQFQDIADITDAVRDPQTLI LDITPCSFQGVSVITPBTINISNGVAVLYGVNCTEVPVAIHADQLTPMRYVSTSS
510 LSFELLHAPATYCGPKKSINLVKHKCVNFNFNIDLTGTQVLTESNKKFLPFQGFQFQDIADITDAVRDPQTLI LDITPCSFQGVSVITPBTINISNGVAVLYGVNCTEVPVAIHADQLTPMRYVSTSS

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 641 NYFQTRAGCLIGAEHYNNSEYEDPIIGAGICASYQTGTNSPPKARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNISIAIPTNFTISVYTEILPVSNMTKTSVQCTMYICGDSSTECNLLLGYSFCTGLNPAIT
638 NYFQTRAGCLIGAEHYNNSEYEDPIIGAGICASYQTGTNSPPKARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNISIAIPTNFTISVYTEILPVSNMTKTSVQCTMYICGDSSTECNLLLGYSFCTGLNPAIT

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 768 GIAYEQDKNTQEVFAGYKQIYKTPPIKDFGGSFNFSQILPDPSPKSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKYQDGLQDI AARDLICAGFNGLTVLPFLLTDEMIAGYTSALLAGITISGWTFGAGALGI
765 GIAYEQDKNTQEVFAGYKQIYKTPPIKDFGGSFNFSQILPDPSPKSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKYQDGLQDI AARDLICAGFNGLTVLPFLLTDEMIAGYTSALLAGITISGWTFGAGALGI

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 897 PFAMQMAYPFNGIYGTQNVLYENQKLIANDFNBAIGKIGDLSSTASALGKLDGVYNGNAQALNTLVKLSNFGA ISSLVNDILSRLDIAEYQIDRLITGRLSLQTYVTQGLIRAAEIRASANL
894 PFAMQMAYPFNGIYGTQNVLYENQKLIANDFNBAIGKIGDLSSTASALGKLDGVYNGNAQALNTLVKLSNFGA ISSLVNDILSRLDIAEYQIDRLITGRLSLQTYVTQGLIRAAEIRASANL

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 1025 AATKMSCEVLGGSKRVDFCGKGYHLSMFQSPAFHGVVFLHVTYVPAQEKNFITAPAI CHDQKAHFPREGVYFVSNGTHNFYTORNFYEPQIITTONTFYVSNGDVYIGIYNNITYVDPLOPELDSFKEEL
1022 AATKMSCEVLGGSKRVDFCGKGYHLSMFQSPAFHGVVFLHVTYVPAQEKNFITAPAI CHDQKAHFPREGVYFVSNGTHNFYTORNFYEPQIITTONTFYVSNGDVYIGIYNNITYVDPLOPELDSFKEEL

EPI_ISL_402130_Wuhan_COV_S_72_29 1153 DKYFKNHTSPVDLQDLSGIANSVYNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKMPWYIYLGFIAGLIAIYMYTIMLCMTSCCSCLKGCCSCSCCKFDEDDSEFVLKGVFLHYT
1150 DKYFKNHTSPVDLQDLSGIANSVYNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKMPWYIYLGFIAGLIAIYMYTIMLCMTSCCSCLKGCCSCSCCKFDEDDSEFVLKGVFLHYT

【0781】

実施例 31

既知の COVID-19 バリエーションに対して保護し、将来のバリエーションを予測するための閉鎖状態の設計された S タンパク質配列

使用中又は先行臨床開発中の SARS-CoV-2 ワクチンの大部分は、それらの免疫原としてのウイルススパイクタンパク質 (S) に基づいている。S は、受容体結合ドメイン (RBD) が確率的に開放又は閉鎖される融合前三量体としてビリオン上に存在する。開放及び閉鎖高次構造の両方に対して作用する中和抗体が記載されている。ワクチン接種戦略の長期的成功は、他のコロナウイルスワクチンで観察された抗体依存性増強のリスクを回避しながら、進化して広がる SARS-CoV-2 株に対して長期持続的な広域免疫を提供する抗体を誘導することに依存する。

【0782】

Carnell et al. (「閉鎖状態で停止した SARS-CoV-2 スパイクタンパク質は強力な中和応答を誘導する」、<https://doi.org/10.1101/2021.01.14.426695>, posted 14 January 2021) は、受容体結合部位の曝露、したがって受容体との相互作用を防止するために閉鎖状態で停止される S タンパク質三量体を使用したマウスモデルにおける免疫化の結果を評価した。著者らは、これを、現在のワクチンで使用される代表例を含む、ある範囲の他の修飾された S タンパク質構築物と比較した。著者らは、全ての三量体 S タンパク質が長寿命で強い中和抗体応答、並びに T 細胞応答を誘導することを見出した。注目すべきことには、閉鎖スパイクによって誘導される血清のタンパク質結合特性は、標準的な S タンパク質構築物によって誘導されたものとは異なった。閉鎖 S タンパク質は、RBD と ACE2 との間の相互作用を阻害する程度に基づいて予想よりも強力な中和応答を誘導した。著者らは、これらの所見は、閉じたスパイクが開いたスパイクとは異なるが同等に強力なウイルス阻害免疫応答を動員すること、及びこれが閉鎖高次構造に存在する高次構造エピトープに対する中和抗体を含む可能性が高いことを示唆すると結論付ける。

【0783】

本発明者らは、本明細書に開示される設計された S タンパク質配列のアミノ酸変化 (特に、上記の実施例 30 において) が、任意選択で、閉鎖状態で停止され、それによって設計された配列の抗体応答を更に改善する設計された S タンパク質中に存在し得ることを理解した。特に、そのような構造的制約の使用は、重要な領域に対する免疫優勢を減少させ、他の、又はより低い免疫優勢の低い部位に集中するように抗体応答を広げることがある。

【0784】

SARS-CoV-2 は継続的に進化し、より感染性の変異が急速に広がっている。Zahradi et al., 2021 (「SARS-CoV-2 RBD in

10

20

30

40

50

`vitro evolution follows contagious mutation spread, yet generates an able infection inhibitor`; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.01.06.425392>, 2021年1月29日に掲載)は最近、スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン(RBD)をACE2に対して親和性成熟させるインビトロで進化を使用して、結果としてより感染性の変異、S477N、E484K、及びN501Yが最初に選択されることを報告し、「欧州」(20E-EU1)、「英国」(501.V1)、「南アフリカ」(501.V2)、及び「ブラジル」バリエント(501.V3)の集中的進化を説明する。著者らは、インビトロで600倍の結合を増強する進化は、更に高い感染性を有する潜在的に新しい進化した変異に対するガイドラインを提供すると報告する。例えば、Q498RはN501Yにエピスタティックである。

10

【0785】

本発明者らはまた、本明細書(及び特に上記の実施例30)に開示される設計されたSタンパク質配列(RBD、切断型又は完全長)が、ワクチンエスケープ応答を伴う将来のCOVID-19のバリエントにおいて変異すると予測される残基位置におけるアミノ酸置換も任意選択で含み得ることを理解した。

【0786】

以下のアミノ酸配列アラインメントは、SARS-CoV-2分離株EPI_ISL_402130の完全長Sタンパク質アミノ酸配列を示し(参照配列;配列番号52)、上記の実施例30に記載の設計されたSタンパク質配列に対して作製されたアミノ酸変化を伴い(「VOC Chimera」、又はCOV_S_T2_29;配列番号53)、「Super_spike」と呼ばれる行において)単離配列の下に示される。この設計された(「Super_spike」)Sタンパク質配列はまた、任意選択で、ワクチンのエスケープ応答を伴う将来のCOVID-19バリエントにおいて変異すると予測される残基位置のうちの1つ以上に1つ以上のアミノ酸変化(置換又は欠失)も含み得る。

20

【0787】

「Super_spike」配列アラインメントの下線は、ジスルフィド架橋の形成を可能にして「閉じたSタンパク質」を形成するためにシステイン残基に置換され得る残基を示す。これらのシステイン置換は、「Super_spike」配列(COV_S_T2_29;配列番号53)の設計されたSタンパク質配列に作製されたアミノ酸変化のうちの1つ又は複数(又は全て)と組み合わせられ得、任意選択で、ワクチンエスケープ応答(特に、例えばQ498Rを含む)で将来のCOVID-19バリエントで変異すると予測される残基位置に、1つ以上の(又は全て)アミノ酸変化を伴う。

30

【0788】

アラインメントの下表は、アミノ酸変化を要約している。

【0789】

位置合わせ(及び表)の影付き残基は、以下の通りである。

- ・灰色-「Super_spike」設計で変化しているアミノ酸残基;
- ・暗灰色-「閉じたSタンパク質」の形成を可能にするためにシステイン残基に置換され得るアミノ酸残基;
- ・明るい灰色-将来のCOVID-19バリエントで変異し、ワクチンのエスケープ応答を潜在的に生成すると予測されたアミノ酸残基。

40

【0790】

【表 1 1 7】

	10L	20T	30N	40D	50S	60S
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	MFFVFLVLLPLVSSQCVN	TTTQTQLP	AYTNGFTRGVYYPDKVFRSSVCHSTQSLFLPFFSRVTV			
	70V	80D	90V	100I	110L	120V
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	FHA	SSGNGTKRFDNPLPFNDQVYFASTEKSN	IRQWI	FGTTLDSKTSLLIVNNATRVYI		
	130V	140P	150K	160Y	170Y	180R
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	KVCEPQFCNDPFLGV	YHKNNKSWMESEFRVYESANNCTFEYVSQPFMDLEGKQGNFKNLREF				
	200Y	210I	220F	230P	240T	250T
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	VFKNIIDGYFKSYSKHTF	NLYRDLPOGFSALEFLVDLP	IGIN	TRFQTLIALHRSYETPGDSSS		
	260A	270L	280K	290D	300K	310K
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	GWTAGAAAYVGYEQPHF	FLKYNGT	ITDAVDCALDPLSE	KCTLKSFTEKGIYQFSKFRV		
	330P	340R	350V	360N	370N	380Y
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	QPTESIVRFPNITNLCPPGEVFNATRFASVYAWNKR	ISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP				
	390L	400F	410I	420D	430T	440N
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	TKLRDLCTFNYYADSFV	RGDEVHQIAPGQTG	ADYNYKLPDDFTGCVI	AWNSNNLDSKV	GN	
	450N	460N	470T	480C	490F	500T
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	YNY	YRLFRKSNLKFFERD	STEIYQAG	FCNGV	GFNCYFPLQSYGF	PGVGVQPYRVVV
	520A	530S	540N	550G	560L	570A
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	LSFELLHAPATVCGPKKSTNLYKKNKCVNF	NFNGLTGTOVLTESNKKFLPFGQFGRD	ADTTEAV			
	580Q	590C	600P	610V	620V	630T
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	RDPTLE	ILDITFCSGFGVSVIT	FGTKTSNQVAVLYG	VNCTEVPVAI	HAQQLTPTWRVYSTGS	
	650L	660Y	670I	680S	690Q	700G
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	NVFQTRAGCL	SGAEHVNNSECDPI	GAGICASYQT	NSNRARSVAQS	IAYTMSIGAENS	
	710N	720I	730S	740M	750S	760C
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	VAYSNNISIAIPTNFT	SVTTEILFVSNTKTTSVQCTMY	ICGDSYECGNNLLQYGSFCTQLNKA	LT		
	770I	780R	790K	800P	810S	820D
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	GAVEQDKNTQVYFAQVKY	YKTPPIKQFGGFNF	SQILPDPSKFSKR	SFI	EDLLFNKYTLA	BAG
	840C	850I	860V	870I	880G	890A
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	F	KQYGDCLGDI	AARDL	CAQKFNGLT	VLPPELTQSM	IAQYTSALLAGT
	900M	910G	920Q	930A	940S	950D
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	FFAMGMAYR	FNGIGVTQNYLYENQKL	ANGFNSA	ISKIGDSLSSTASALGK	IGDYVNNQNAQALN	
	970F	980I	990R	1000R	1010Q	1020A
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	TLVKQLSSNFSA	ISSVLRD	LSRLDKVEAEVQ	IDRLITGR	LQSLQTYVTQQL	IRAAEIRASANE
	1030S	1040V	1050M	1060V	1070A	1080A
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	AATXMS	ECVLGSSKRVQFCGKGYHLM	SPQSA	PNGVVFLHVTYVPAQ	EKNFTTAPA	ICDQGAH
	1090P	1100T	1110Y	1120T	1130I	1140P
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	FPREGV	FVSGTHWYV	TQRNFYEPQ	ISTIGNTFYSGNCDVY	IGIWNNTWYQPLQPE	LDSEKERE
	1160T	1170S	1180Q	1190A	1200L	1210I
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	DKYFKNHT	SFDVDELGDI	SGINA			
	1220F	1230V	1240C	1250C	1260D	1270L
EPI_ISL_402130 Super_spike X2	WLGFI	AGLIA	IVMYTI	MLCCMTSSCCSLXGCCSC	GFDDSS	EPYLKGVKLHYT

10

20

30

40

50

【表 1 1 8】

SARS2 Sタンパク質残基位置(配列番号52)	SARS2参照アミノ酸残基(配列番号52)	COV_S_T2_29アミノ酸残基(配列番号53)	変異がワクチンエスケープ応答を生じると予測された残基	システイン置換を作製して閉鎖スパイクタンパク質を形成することができる残基
18	L	F		
20	T	N		
26	P	S		
69	H	欠失		
70	V	欠失		
144	Y	欠失		
413	G			C
417	K	N		
446	G		*	
452	L		*	
477	S		*	
484	E	K		
498	Q		*(例えば、Q498R)	
501	N	Y		
614	D	G		
681	P	H		
986	K	P		
987	V	P		C

10

20

【0792】

任意選択で、G413C及びV987Cは、以下の表に列挙されるアミノ酸変化の1つ又は複数(又は全て)と組み合わせられる。

【0793】

【表 1 1 9】

SARS2 Sタンパク質残基位置(配列番号52)	COV_S_T2_29アミノ酸残基(配列番号53)
18	F
20	N
26	S
69	-(欠失)
70	-(欠失)
144	-(欠失)
417	N
484	K
501	Y
614	G
681	H

30

【0794】

任意選択で含まれ得る更なるアミノ酸変化は、K986Pである。

40

【0795】

実施例32

サルベコウイルスのエピトープ最適化された広域カバレッジワクチン設計

概要

本発明者らの受容体結合ドメイン(RBD)ベースのワクチン設計のカバレッジをβ-コロナウイルスの全ての現存サルベコウイルス亜属に増加させるために、系統的に最適化されたワクチン設計が構築される。この設計は、最適化されたエピトープ及び免疫の再集中設計の両方を設計するためのバックボーンとして更に使用される。エピトープ情報は、スパイクタンパク質-抗体複合体の既知の高解像度構造データから主に導出される。これらのエピトープのほとんどは、SARS-1及びSARS-2を交差保護することが報

50

告されておらず、ワクチン設計のカバレッジを増加させるために設計に含められた。エピトープの配列分散の更なる分析において、エピトープのうちの1つは、RBDの他の領域／エピトープと比較して、サルベコウイルス間の最大分散を示すことが観察された。より良好な保存エピトープに対する免疫応答を増強するために、翻訳後修飾－グリコシル化をこのエピトープで導入した。

【0796】

結果

・広域カバレッジワクチン抗原の設計

サルベコウイルスに対するより広域の応答を達成するために、本発明者らは、最初に、RBDのアミノ酸配列が図35Aに表される全ての現存配列に対して最適化された系統学的最適化設計（COV__S__T2__13）（配列番号27）を生成した。そのような設計は、現存種からの個々の抗原と比較して、より広域の抗体応答を生成することが予想される。抗体応答に対する各エピトープの寄与を更に理解するために、本発明者らは、SARS-1及びSARS-2からのエピトープ配列と一致するように、COV__S__T2__13のエピトープ配列を修飾した。3つの高次構造エピトープ（本明細書では「不連続エピトープ」とも呼ばれる）は、RBD抗体複合体の構造分析によって特定される（図35B）。これらのエピトープのうちの2つ（以降A及びBと呼ばれる）は、SARS-1及びSARS-2の両方を中和する抗体に結合することが報告されている。COV__S__T2__13設計上のこれらのエピトープは、SARS-1エピトープ配列（COV__S__T2__14（配列番号28）及びCOV__S__T2__15（配列番号29））と一致するように修飾されて、SARS-1及びSARS-2の両方に対する中和抗体応答を生成するためのこれらのエピトープの寄与が理解される。第3のエピトープ（以後、Cと呼ばれる）は、受容体結合領域内及びその周囲にある。このエピトープは最大分散を示し（図35C）、ウイルス特異的抗体応答を生成すると予想される。中和抗体応答を生成する際のこのエピトープのアミノ酸組成の重要性を理解するために、このエピトープは、SARS-2からのエピトープ（COV__S__T2__16）（配列番号30）に一致するように修飾される。更に、SARS-1及びSARS-2の両方に対する抗体応答を広域化するために、COV__S__T2__14及びCOV__S__T2__15の両方の第3のエピトープにグリコシル化部位が導入される（それぞれ、COV__S__T2__17（配列番号31）及びCOV__S__T2__18（配列番号32））。可溶性又は膜結合形態で中和抗体応答を生成する際の有効性を比較するために、COV__S__T2__13及びCOV__S__T2__17（それぞれ、COV__S__T2__19（配列番号55）及びCOV__S__T2__20（配列番号56）の膜結合形態を設計する。全ての設計を以下の表にまとめる。全てのワクチン設計の配列アライメントを図37Aに示す。ワクチン設計間で異なる残基は、黒色で囲まれている。

【0797】

【表120】

表 | 本試験で使用されるワクチン設計の説明。

設計	説明
COV__S__T2__13	系統学的に最適化
COV__S__T2__14	SARS-1からのエピトープA及びエピトープBを有するCOV__S__T2__13
COV__S__T2__15	
COV__S__T2__16	SARS-2からのエピトープCを有するCOV__S__T2__13
COV__S__T2__17	エピトープCにおけるグリコシル化部位を有するCOV__S__T2__13
COV__S__T2__18	
COV__S__T2__19	COV__S__T2__13の膜結合バージョン
COV__S__T2__20	COV__S__T2__17の膜結合バージョン

【0798】

図36A)は、ワクチン設計で免疫化されたマウスからの血清のウェスタンブロットを示す。

【0799】

図36B)は、細胞表面発現採血2の抗体結合応答を示す。

【0800】

・中和データ

ワクチン設計(COV__S__T2-13-20)、SARS-1 RBD及びSARS-2 RBDを注射したマウスからの血清を、SARS-1及びSARS-2偽型の中和についてチェックする。陽性対照として、感染した個体からのヒト血清が使用される。中和曲線を図37Bに示す。系統学的最適化された設計(COV__S__T2__13)は、SARS-2に対する中和抗体を生成することができたが、SARS-1に対してはできなかった。COV__S__T2__13の配列をSARS-1及びSARS-2と比較すると、系統樹で表された他のサルベコウイルスと比較して、エピトープCがSARS-2からのアミノ酸で富化されたことが観察される(図35A)。COV__S__T2__14、COV__S__T2__15、及びCOV__S__T2__16でワクチン接種されたマウスからの血清は、SARS-1のCOV__S__T2__13のようなデータを示し、エピトープCが免疫優勢エピトープであり、エピトープA及びBが免疫サブ優勢エピトープであることを強く示唆していた。COV__S__T2__13と比較したCOV__S__T2__16によるSARS-2のより良好な中和は、エピトープCの変異がSARS-2のより低い中和につながる可能性があることを示唆している。COV__S__T2__15で作製された置換は、SARS-2に対する免疫原性応答を増強する。免疫原性応答の差異は、かさ高いフェニルアラニン基による小アミノ酸セリンの置換によるものであり得る。

10

20

【0801】

COV__T2__S__17及びCOV__T2__S__18設計からの血清は、SARS-1及びSARS-2の両方を中和することができ、エピトープCにおけるグリコシル化の導入が、エピトープA及びエピトープBに対する免疫応答を首尾よく集中させることを示唆していた。したがって、本発明者らの設計戦略を実証する。COV__T2__S__13及びCOV__T2__S__17の中和データと、COV__S__T2__19及びCOV__S__T2__20との比較はそれぞれ、結合した可溶性の膜が、マウスにおいて同様の免疫原性応答を形成することを示唆している。

【0802】

コウモリウイルス(図示せず)の中和データは、より広域のカバレッジを示す。これは、更なる設計のための鋳型としての系統学的最適化配列の使用を合理化する。

30

【0803】

競合データ(図示せず)は、全ての設計が受容体結合をブロックする抗体を生成することを示す。

【0804】

考察

多様なサルベコウイルスに対する抗体応答を生じさせることができるワクチン設計が望ましい。これを達成するために、本発明者らは、最初に、全ての既知の現存サルベコウイルスの配列情報を使用することによって、スパイクタンパク質の受容体結合ドメインのための新規なタンパク質配列(COV__S__T2__13)を生成した。配列中の各アミノ酸位置は、入力配列の系統学的関連性に基づいて選択される。新規配列は、SARS-2に対する中和応答を生じたが、SARS-1に対する中和応答はあまり生じなかった。COV__S__T2__13及びSARS-1及びSARS-2におけるエピトープの比較では、SARS-1と比較して、エピトープがSARS-2に向かってより偏っていることが観察された。SARS-1に対する反応性を拡大するために、2つのエピトープ(SARS-1とSARS-2との間でも保存された)を変異させて、SARS-1からの配列と一致させ(COV__S__T2__14及びCOV__S__T2__15)、第3のエピトープを、SARS-2に一致させるように変異させた(COV__S__T2__16)。これらの設計からの中和の比較は、2つの保存されたエピトープが第3のエピトープと比較して本質的にサブ優勢であることを示唆した。また、COV__S__T2__16とCOV__S__T2__

40

50

13との比較は、第3のエピトープの保存的変異が免疫エスケープを引き起こす可能性があることを示唆した。保存されたエピトープに対する免疫応答を集中させるために、より多様な第3のエピトープ（COV__S__T2__17及びCOV__S__T2__18）でグリコシル化部位を導入した。グリコシル化部位の導入は実際に、SARS-1及びSARS-2の両方に対する免疫応答を広域化し、両方の設計について交差中和が観察された。本明細書に提示されるデータは、より多くの分岐したエピトープに修飾を導入することによって、免疫応答をより良好な保存エピトープに再集中することによって、ワクチン設計のカバレッジを広域化する設計戦略を強く支持する。

【0805】

方法論

・系統学的解析

スパイクタンパク質のタンパク質配列を、全ての既知のサルベコウイルスのNCBIウイルスデータベースからダウンロードした。MUSCLEアルゴリズムを使用して複数配列アラインメント(MSA)を生成した。得られたMSAをRBD領域に切り取り、系統樹再構築のための入力として使用した。最良のAICスコアを有するタンパク質モデルを使用してIQTREEアルゴリズムを使用して系統樹を作成した。得られた系統樹を、FASTMLアルゴリズムを使用して系統学的に最適化された設計の生成に使用した。

【0806】

・エピトープ同定

SARS-1及びSARS-2のスパイクタンパク質-抗体複合体の利用可能な構造データを、タンパク質データバンク(PDB)からダウンロードした。これらの構造データは、エピトープ領域がRBDにある抗原-抗体複合体について更に切り取られた。抗体のアミノ酸の少なくとも1つの原子の5 Å半径内に少なくとも1つの原子を有する抗原のアミノ酸残基をエピトープ残基と定義する。エピトープ領域は、少なくとも5アミノ酸の連続した延伸として定義される。

【0807】

・分子モデリング

構造モデルを、MODELLERアルゴリズムを使用してCOV__S__T2__13について生成した。DOPEスコアが最も高い構造モデルを、更なる分子モデリングのための作業モデルとして選択した。SCWRLライブラリを使用してモデルの側鎖を更に最適化し、GROMACSパッケージを使用してエネルギーを最小化した。COV__S__T2__14-COV__S__T2__18設計の構造安定性は、COV__S__T2__13の最適化された構造モデルを使用して、FOLDXアルゴリズムのPOSSCAN及びBUILDモジュールを使用してチェックした。

【0808】

実施例33

無針皮内投与によって送達されるPan-サルベココロナウイルスワクチンDNA候補であるCOV__S__T2__17(配列番号31)の用量設定試験

簡潔な試験プロトコル(図38)：

DNAの最適用量を決定するために、成熟Hartleyモルモットにおいて前臨床ワクチン試験を行った。動物を8匹の動物の6つの群に無作為化し、予備採血して、抗SARS-CoV-2抗体の不在を判定した。

【0809】

PharmaJet Tropisデバイスによって、400ugのCOV__S__T2__8の同じ対照DNAを皮内(ID)投与された群2と比較して、群1(対照)の群には、400ug(2mg/ml)の修飾SARS-CoV-2 RBD COV__S__T2__8 DNAの高用量を皮下投与した。残りの4つの群は、0日目及び28日目に、100ug(0.5mg/ml)、200ug(1mg/ml)(2つの群、一方は2回投与、他方は3回投与)又は400ug(400ug/ml)のPan-サルベコワクチン候補COV__S__T2__17を皮内投与された。14、28、42、56、及び70日目に動

10

20

30

40

50

物を採血した。

【0810】

SARS-CoV-2、及びSARSのRBDに対する抗体のレベルを決定するためのELISA（図39）：

SARS-CoV-2 RBDでコーティングされたパネルA（左）プレート。

【0811】

最初の免疫化の28日後、ELISAアッセイを実施して、1回のDNA免疫化の28日後に誘導された抗SARS-CoV-2 RBD、又は抗SARS RBD抗体の力価を決定した。左上のパネル（400ug scのT2__8）は、8匹の動物のうち7匹がSARS-CoV-2 RBDに強く応答する右下のパネル（Tropis PharmaJetによってID投与された400ugのDNAのT2__8）と比較して、8匹の動物のうち5匹のSARS-CoV-2に対する抗体応答を実証している。PharmaJet送達によってCOV__S__T2__17 IDを受けた4つの残りの群は、最大用量で投与されたSARS-CoV-2 RBD DNAの400ugに対する同様の抗SARS-CoV-2 応答を示した。

10

【0812】

SARS RBDでコーティングされたパネルB（右）プレート。

【0813】

段階希釈における同じ28日血清試料をSARS RBDへの結合について試験した。

【0814】

左上のパネル（400ug scのT2__8）は、低力価抗体を示し、8匹の動物のうち2匹のみが0.5のODに達した。PharmaJetデバイスによって与えられる同じ用量のSARS-CoV-2 RBDワクチン（右下のパネル）は、SARS-CoV-2 RBDに対するそのホモタイプ応答（パネルA、左）とは対照的に、SARS RBDに対するわずかに改善されたが弱い交差反応性応答を示す。対照的に、全てのpan-Sarbeco T2__17群は、用量依存的にSARS RBDに強く応答し、高用量（400ug）群（パネルBの左下）及び中用量（200ug）群（中段パネルB）の全ての動物は強く応答し、最低用量（100ug）T2__17群の8匹全ての動物では、より可変であるが明確な応答があった（右上、パネルB）。

20

【0815】

1回の免疫化後の28日目のウイルス中和（偽型微小中和又はpMNアッセイ）（図40）：

1回の用量の28日後のSARS-CoV-2のパネルA（左）抗体中和。

【0816】

RBD抗体応答と同様に、SARS-CoV-2に対する中和抗体を特定した。全ての群において、最初の免疫化から28日後である。左上のパネル（400ug scのT2__8）は、Tropis PharmaJetデバイスによってID投与された、全ての群の中で最も強かった同じワクチン候補（400ugのDNAのT2__8）と比較して低レベルの応答を有した。PharmaJet送達によるT2__17 IDは、SARS-CoV-2に対するより低いが顕著な応答を示した。

30

40

【0817】

1回の用量の28日後のSARSのパネルB（右）抗体中和。

【0818】

段階希釈における同じ28日血清試料を、SARS偽型ウイルスへの中和について試験した。この時点で、1回の投与後、応答は、T2__8群（パネルB（右）の左上及び右下）に存在しなかった。

【0819】

pan-Sarbeco T2__17群は、ワクチンの1回の投与後に低い可変レベルで応答し、これも最高用量群（400ug）で最良であるが弱い応答を示す（パネルBの下段左）。

50

【0820】

群1～3、1回目～2回目の免疫化後のウイルス中和応答の比較（図41）：

パネルA（左SARS-CoV-2）2回目の免疫化（ブースト）の採血2（前）と3（後）との比較。

【0821】

皮下投与された群1（400ugのT2__8）の全ての動物ではないが、全ての群でSARS-CoV-2に対する中和応答の増加を伴う顕著なブースト効果があった。パネルAの中央列及び下の列である群2及び3は、より均一であり、SARS-CoV-2に対する中和力価を比較的高めた。

【0822】

パネルB（右SARS）2回目の免疫化（ブースト）の採血2（前）と3（後）との比較。

【0823】

群1のSARSに対して8匹の動物のうち5匹で弱い可変ブースト効果があった（400ugでT2__8）。群2及び3、中央及び下部列のパネルAは、均一であり、SARSへの顕著な中和力価で比較的高くブーストされた。

【0824】

群4、5及び6、1回目から2回目の免疫化後のウイルス中和応答の比較（図42）：

パネルA（左SARS-CoV-2）2回目の免疫化（ブースト）の採血2（前）と3（後）との比較。

【0825】

群4、5及び6の左側の列を比較すると、群4の200ugのT__17 Tropis、群5の400ugのT__17 Tropis、及び同じくTropisによって送達されたSARS-CoV-2に特異的な400ugのT2__8では、SARS-CoV-2に対する中和応答の増加を伴う顕著なブースト効果があった。

【0826】

パネルB（右SARS）2回目の免疫化（ブースト）の採血2（前）と3（後）との比較。

【0827】

群4、5及び6の左側の列を右側の列と比較すると、3つ全ての群において、SARSに対する中和応答の増加を伴う明確なブースト効果があったが、200ug（上段パネルB）及び400ugのT2__17（中段パネルB）を受けた2つのT2__17免疫化群（4、5、右上のグラフ）において最も顕著であり、400ug用量において場合により用量効果があった。対照的に、400ugのT2__8群は、はるかに低く可変的な効果にブーストされた。

【0828】

関心対象のバリエーションの中和（図43）：

T2__8モルモット群及びT2__17モルモット群から選択される高中和抗体応答者、中中和抗体応答者及び低中和抗体応答者を、元のWuhan株（対照）、同様にまた、関心対象のバリエーション（VOC）系統B1.248（ブラジルP1系統）及びB1.351（南アフリカ）の偽型に基づくウイルス中和について試験した。これらのVOCの両方は、使用中の現在のワクチン（AstraZeneca、Pfizer、Moderna）に対する耐性を付与するE484K変異を含有する。高応答T2__8モルモット（8-及び-11）抗血清はVOCを中和しないが、T2__17群（31-及び-34）からの高応答者は依然として強く中和する。

【0829】

実施例34

COV__S__T2__13-20をコードする核酸配列

>COV__S__T2__13をコードする核酸（配列番号78）

AGAGTGGCCCCCTACCAAGAAGTCGTGCGGTTCCTCCCAAC

A T C A C C A A T C T G T G C C C T T T C G G C G A G G T G T T C A A C G C C A
C C A G A T T T C C C T C T G T G T A C G C C T G G G A G A G A A A G C G G A T
C A G C A A C T G C G T G G C C G A C T A C A G C G T G C T G T A C A A C A G C
A C C A G C T T C A G C A C C T T C A A G T G C T A C G G C G T G T C A C C C A
C C A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C A C C A A C G T G T A C G C C G A
C A G C T T C G T G A T C A G A G G C G A C G A A G T G C G G C A G A T T G C C
C C T G G A C A A A C A G G C G T G A T C G C C G A T T A C A A C T A C A A G C
T G C C C G A C G A C T T C A C C G G C T G T G T G A T C G C C T G G A A C A C
C A A C A A C C T G G A C A G C A C C A C C G G C G G C A A C T A C A A C T A C
C T G T A C A G A A G C C T G C G G A A G T C T A A G C T G A A G C C C T T C G
A G C G G G A C A T C A G C A G C G A C A T C T A T A G C C C T G G C G G C A A
G C C T T G T T C T G G C G T G G A A G G C T T C A A C T G C T A C T A C C C T
C T G C G G A G C T A C G G C T T C T T C C C C A C A A A T G G C G T G G G C T
A C C A G C C T T A C A G A G T G G T G G T C C T G A G C T T C G A G C T G C T
G A A T G C C C C T G C C A C A G T G T G T G G C C C T A A G C T G T C T A C C
G A C

10

>COV__S__T2__14をコードする核酸（配列番号79）

A G A G T G G C C C C T A C C A A A G A A G T C G T G C G G T T C C C C A A C
A T C A C C A A T C T G T G C C C T T T C G G C G A G G T G T T C A A C G C C A
C C A A G T T T C C C T C T G T G T A C G C C T G G G A G C G C A A A A A G A T
C A G C A A C T G C G T G G C C G A C T A C A G C G T G C T G T A C A A C A G C
A C C A G C T T C A G C A C C T T C A A G T G C T A C G G C G T G T C A C C C A
C C A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C A C C A A C G T G T A C G C C G A
C A G C T T C G T G A T C A G A G G C G A C G A A G T G C G G C A G A T T G C C
C C T G G A C A A A C A G G C G T G A T C G C C G A T T A C A A C T A C A A G C
T G C C C G A C G A C T T C A C C G G C T G T G T G A T C G C C T G G A A C A C
C A A C A A C A T C G A C A G C A C C A C C G G C G G C A A C T A C A A C T A C
C T G T A C A G A A G C C T G C G G A A G T C T A A G C T G A A G C C C T T C G
A G C G G G A C A T C A G C A G C G A C A T C T A T A G C C C T G G C G G C A A
G C C T T G T T C T G G C G T G G A A G G C T T C A A C T G C T A C T A C C C T
C T G C G G A G C T A C G G C T T C T T C C C C A C A A A T G G C G T G G G C T
A C C A G C C T T A C A G A G T G G T G G T C C T G A G C T T C G A G C T G C T
G A A T G C C C C T G C C A C A G T G T G T G G C C C T A A G C T G T C T A C C
G A C

20

30

>COV__S__T2__15をコードする核酸（配列番号80）

A G A G T G G C C C C T A C C A A A G A A G T C G T G C G G T T C C C C A A C
A T C A C C A A T C T G T G C C C T T T C G G C G A G G T G T T C A A C G C C A
C C A G A T T T C C C T C T G T G T A C G C C T G G G A G A G A A A G C G G A T
C A G C A A C T G C G T G G C C G A C T A C A G C G T G C T G T A C A A C A G C
A C C T T C T T C A G C A C C T T T A A G T G C T A C G G C G T G T C A C C C A
C C A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C A G C A A C G T G T A C G C C G A
C A G C T T C G T G A T C A G A G G C G A C G A A G T G C G G C A G A T T G C C
C C T G G A C A A A C A G G C G T G A T C G C C G A T T A C A A C T A C A A G C
T G C C C G A C G A C T T C A T G G G C T G T G T G A T C G C C T G G A A C A C
C A A C A A C C T G G A C A G C A C C A C C G G C G G C A A C T A C A A C T A C
C T G T A C A G A A G C C T G C G G A A G T C T A A G C T G A A G C C C T T C G
A G C G G G A C A T C A G C A G C G A C A T C T A T A G C C C T G G C G G C A A
G C C T T G T T C T G G C G T G G A A G G C T T C A A C T G C T A C T A C C C T
C T G C G G A G C T A C G G C T T C T T C C C C A C A A A T G G C G T G G G C T
A C C A G C C T T A C A G A G T G G T G G T C C T G A G C T T C G A G C T G C T

40

50

G A A T G C C C C T G C C A C A G T G T G T G G C C C T A A G C T G T C T A C C
G A C

>COV__S__T2__16をコードする核酸（配列番号81）

A G A G T G G C C C C T A C C A A A G A A G T C G T G C G G T T C C C C A A C
A T C A C C A A T C T G T G C C C T T T C G G C G A G G T G T T C A A C G C C A
C C A G A T T T C C C T C T G T G T A C G C C T G G G A G A G A A A G C G G A T
C A G C A A C T G C G T G G C C G A C T A C A G C G T G C T G T A C A A C A G C
A C C A G C T T C A G C A C C T T C A A G T G C T A C G G C G T G T C A C C C A
C C A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C A C C A A C G T G T A C G C C G A
C A G C T T C G T G A T C A G A G G C G A C G A A G T G C G G C A G A T T G C C
C C T G G A C A G A C A G G C A A G A T C G C C G A T T A C A A C T A C A A G C
T G C C C G A C G A C T T C A C C G G C T G T G T G A T C G C C T G G A A C A C
C A A C A A C C T G G A C A G C A C C A C C G G C G G C A A C T A C A A C T A C
C T G T A C C G G C T G T T C C G G A A G T C C A A C C T G A A G C C T T T C G
A G C G G G A C A T C A G C A G C G A C A T C T A T C A G G C C G G C A G C A C
A C C T T G T T C T G G C G T G G A A G G C T T C A A C T G C T A C T T C C C A
C T G C A A A G C T A C G G C T T C C A G C C T A C C A A C G G C G T G G G C T
A C C A G C C T T A T A G A G T G G T G G T C C T G A G C T T C G A G C T G C T
G A A T G C C C C T G C C A C A G T G T G T G G C C C T A A G C T G T C T A C C
G A C

10

20

>COV__S__T2__17をコードする核酸（配列番号82）

A G A G T G G C C C C T A C C A A A G A A G T C G T G C G G T T C C C C A A C
A T C A C C A A T C T G T G C C C T T T C G G C G A G G T G T T C A A C G C C A
C C A A G T T T C C C T C T G T G T A C G C C T G G G A G C G C A A A A A G A T
C A G C A A C T G C G T G G C C G A C T A C A G C G T G C T G T A C A A C A G C
A C C A G C T T C A G C A C C T T C A A G T G C T A C G G C G T G T C A C C C A
C C A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C A C C A A C G T G T A C G C C G A
C A G C T T C G T G A T C A G A G G C G A C G A A G T G C G G C A G A T T G C C
C C T G G A C A A A C A G G C G T G A T C G C C G A T T A C A A C T A C A A G C
T G C C C G A C G A C T T C A C C G G C T G T G T G A T C G C C T G G A A C A C
C A A C A A C A T C G A C A G C A C C A C C G G C G G C A A C T A C A A C T A C
C T G T A C A G A A G C C T G C G G A A G T C T A A G C T G A A G C C C T T C G
A G C G G G A C A T C A G C A G C G A C A T C T A T A G C C C T G G C G G C A A
G C C T T G T T C T G G C G T G G A A G G C T T C A A C T G C T A C T A C C C T
C T G C G G A G C T A C G G C T T C T T C C C C A C A A A T G G C A C A G G C T
A C C A G C C T T A C A G A G T G G T G G T C C T G A G C T T C G A G C T G C T
G A A T G C C C C T G C C A C A G T G T G T G G C C C T A A G C T G T C T A C C
G A C

30

>COV__S__T2__18をコードする核酸（配列番号83）

A G A G T G G C C C C T A C C A A A G A A G T C G T G C G G T T C C C C A A C
A T C A C C A A T C T G T G C C C T T T C G G C G A G G T G T T C A A C G C C A
C C A G A T T T C C C T C T G T G T A C G C C T G G G A G A G A A A G C G G A T
C A G C A A C T G C G T G G C C G A C T A C A G C G T G C T G T A C A A C A G C
A C C T T C T T C A G C A C C T T T A A G T G C T A C G G C G T G T C A C C C A
C C A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C A G C A A C G T G T A C G C C G A
C A G C T T C G T G A T C A G A G G C G A C G A A G T G C G G C A G A T T G C C
C C T G G A C A A A C A G G C G T G A T C G C C G A T T A C A A C T A C A A G C
T G C C C G A C G A C T T C A T G G G C T G T G T G A T C G C C T G G A A C A C
C A A C A A C C T G G A C A G C A C C A C C G G C G G C A A C T A C A A C T A C
C T G T A C A G A A G C C T G C G G A A G T C T A A G C T G A A G C C C T T C G

40

50

AGCGGGACATCAGCAGCGACATCTATAGCCCTGGCGGGCAA
GCCTTGTTCTGGCGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTACCCCT
CTGCGGAGCTACGGCTTCTTCCCCACAAATGGCACAGGCT
ACCAGCCTTACAGAGTGGTGGTCCTGAGCTTTCGAGCTGCT
GAATGCCCCCTGCCACAGTGTTGTGGCCCTAAGCTGTCTACC
GAC

>COV__S__T2__19をコードする核酸（配列番号84）

AGAGTGGCCCCCTACCAAAGAAGTCTGTGCGGTTTCCCCAAC
ATCACCAATCTGTGCCCTTTCGGCGAGGTTGTTCAACGCCA
CCAGATTTTCCCTCTGTGTACGCCCTGGGAGAGAAAGCGGAT
CAGCAACTGCGTGGCCGACTACAGCGTGTGTACAACAGC
ACCAGCTTTCAGCACCTTCAAGTGTCTACGGCGTGTCACCCA
CCAAGCTGAACGACCTGTGTCTTCAACCAACGTGTACGCCGA
CAGCTTTCGTGATCAGAGGCGACGAAGTGCGGCAGATTGCC
CCTGGACAAACAGGCGTGTATCGCCGATTACAACCTACAAGC
TGCCCGACGACTTCAACCGGCTGTGTGTATCGCCTGGGAACAC
CAACAACCTGGACAGCACCCACCGGCGGCAACTACAACCTAC
CTGTACAGAAGCCTGCGGAAGTCTAAGCTGAAGCCCTTTCG
AGCGGGACATCAGCAGCGACATCTATAGCCCTGGCGGGCAA
GCCTTGTTCTGGCGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTACCCCT
CTGCGGAGCTACGGCTTCTTCCCCACAAATGGCGTGGGCT
ACCAGCCTTACAGAGTGGTGGTCCTGAGCTTTCGAGCTGCT
GAATGCCCCCTGCCACAGTGTTGTGGCCCTAAGCTGTCTACA
GATGGCGGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTTGGAAGCGGAGGCG
GAGGAAGCGGTGGCGGCGGATCTAAATCTTCTATCGCCAG
CTTCTTCTTCAATCATCGGCCTGATTATCGGCCTGTTCTCTG
GTGCTGAGAGTGGGCATCCACCTGTGTGATCAAGCTGAAAC
ACACCAAGAAGCGGCAAAATCTACACCGACATCGAGATGAA
CCGGGCTGGGGCAAA

>COV__S__T2__20をコードする核酸（配列番号85）

AGAGTGGCCCCCTACCAAAGAAGTCTGTGCGGTTTCCCCAAC
ATCACCAATCTGTGCCCTTTCGGCGAGGTTGTTCAACGCCA
CCAAGTTTCCCTCTGTGTACGCCCTGGGAGCGCAAAAAGAT
CAGCAACTGCGTGGCCGACTACAGCGTGTGTACAACAGC
ACCAGCTTTCAGCACCTTCAAGTGTCTACGGCGTGTCACCCA
CCAAGCTGAACGACCTGTGTCTTCAACCAACGTGTACGCCGA
CAGCTTTCGTGATCAGAGGCGACGAAGTGCGGCAGATTGCC
CCTGGACAAACAGGCGTGTATCGCCGATTACAACCTACAAGC
TGCCCGACGACTTCAACCGGCTGTGTGTATCGCCTGGGAACAC
CAACAACATCGACAGCACCCACCGGCGGCAACTACAACCTAC
CTGTACAGAAGCCTGCGGAAGTCTAAGCTGAAGCCCTTTCG
AGCGGGACATCAGCAGCGACATCTATAGCCCTGGCGGGCAA
GCCTTGTTCTGGCGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTACCCCT
CTGCGGAGCTACGGCTTCTTCCCCACAAATGGCACAGGCT
ACCAGCCTTACAGAGTGGTGGTCCTGAGCTTTCGAGCTGCT
GAATGCCCCCTGCCACAGTGTTGTGGCCCTAAGCTGTCTACA
GATGGCGGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTTGGAAGCGGAGGCG
GAGGAAGCGGTGGCGGCGGATCTAAATCTTCTATCGCCAG
CTTCTTCTTCAATCATCGGCCTGATTATCGGCCTGTTCTCTG
GTGCTGAGAGTGGGCATCCACCTGTGTGATCAAGCTGAAAC

10

20

30

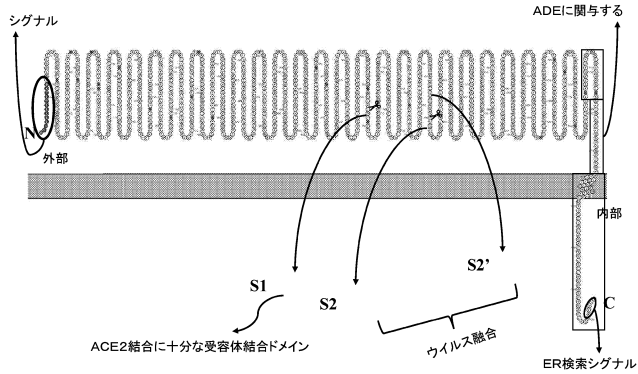
40

50

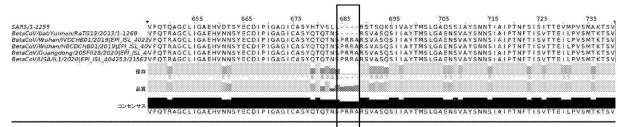
A C A C C A A G A A G C G G C A A A T C T A C A C C G A C A T C G A G A T G A A
C C G G C T G G G C A A A

【図面】

【図 1】

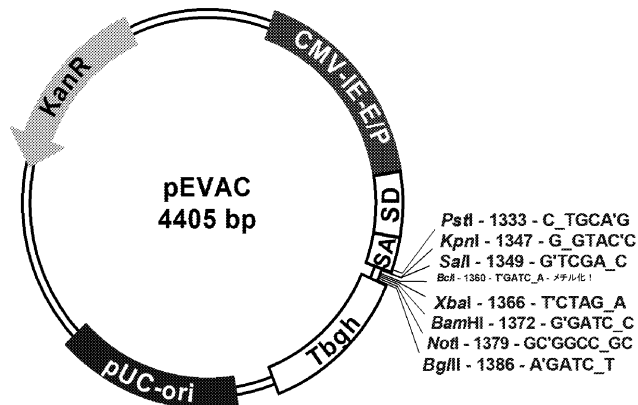


【圖 2】



10

【図 3】



【図 4】

Wuhan_Nodel_RBD(A274119_RBDとの類似から)	RV ET PS GV VR FNNITL GC F DN VNA TF P SVIAME TF SI SDVAD Y VL 50
Wuhan_Nodel_RBD(EPI_ISL_402119_RBDとの類似から)	RV ET PS GV VR FNNITL GC F DN VNA TF P SVIAME TF SI SDVAD Y VL 50
Wuhan_Nodel_RBD(A274119_RBDとの類似から)	YNS TF ST EF K CYGV S PS KL SI DL CF TS Y AD ET FL IR SE VR VAF Q GT VI 100
Wuhan_Nodel_RBD(EPI_ISL_402119_RBDとの類似から)	YNS TF ST EF K CYGV S PS KL SI DL CF TS Y AD ET FL IR SE VR VAF Q GT VI 100
Wuhan_Nodel_RBD(A274119_RBDとの類似から)	ADV NY KL ED FT QC VIAM T AKQ Y TS S GN YNY Y PS HK L TK KL PF ER D 150
Wuhan_Nodel_RBD(EPI_ISL_402119_RBDとの類似から)	ADV NY KL ED FT QC VIAM T AKQ Y TS S GN YNY Y PS HK L TK KL PF ER D 150
Wuhan_Nodel_RBD(A274119_RBDとの類似から)	S BDK C PD QK P CT PP AV Y GV Y RD Y NC Y TF E T Q D HN VP V E Y Q AT RV VL 200
Wuhan_Nodel_RBD(EPI_ISL_402119_RBDとの類似から)	S BDK C PD QK P CT PP AV Y GV Y RD Y NC Y TF E T Q D HN VP V E Y Q AT RV VL 200
Wuhan_Nodel_RBD(A274119_RBDとの類似から)	S FE LIN A PA T VCG PK L TS 219
Wuhan_Nodel_RBD(EPI_ISL_402119_RBDとの類似から)	S FE LIN A PA T VCG PK L TS 219

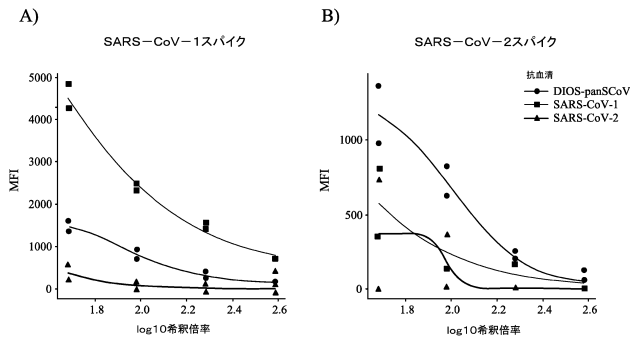
20

30

40

50

【図 5】

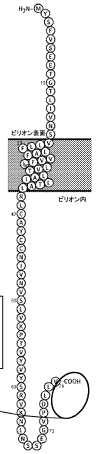


【図 6】

エンベロープタンパク質

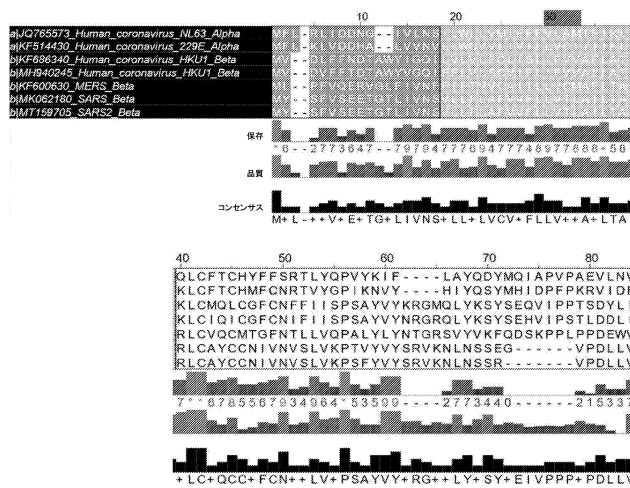
- ウイルスの形態形成及び組み立てにおいて重要である。
- イオン輸送を可能にする五量体ピロポリン。
- 病因にとって重要である。
- 宿主NLRP3インフラマソームを活性化し、IL-1 β 過剰産生をもたらす。
- ヒトMPP5のPDZドメインと相互作用し、ヒトMPP5とヒトCRB3との間の相互作用を阻害し、遅延した密着結合形成及び不完全な細胞極性を引き起こす

ヒトMPP5とPDZドメインとの相互作用



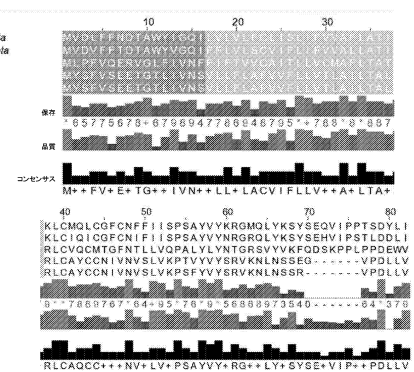
10

【図 7 - 1】



【図 7 - 2】

(続き)



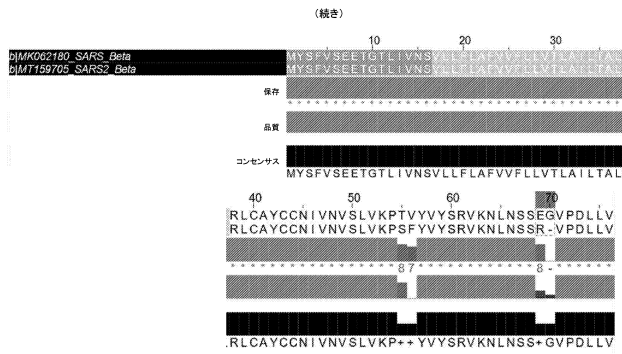
20

30

40

50

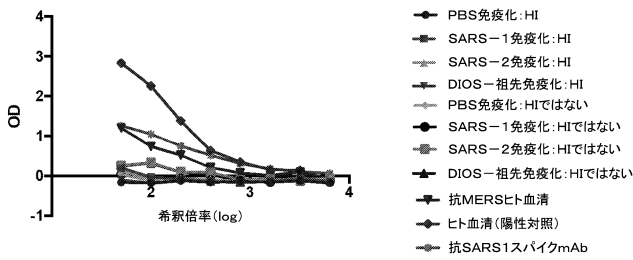
【図 7 - 3】



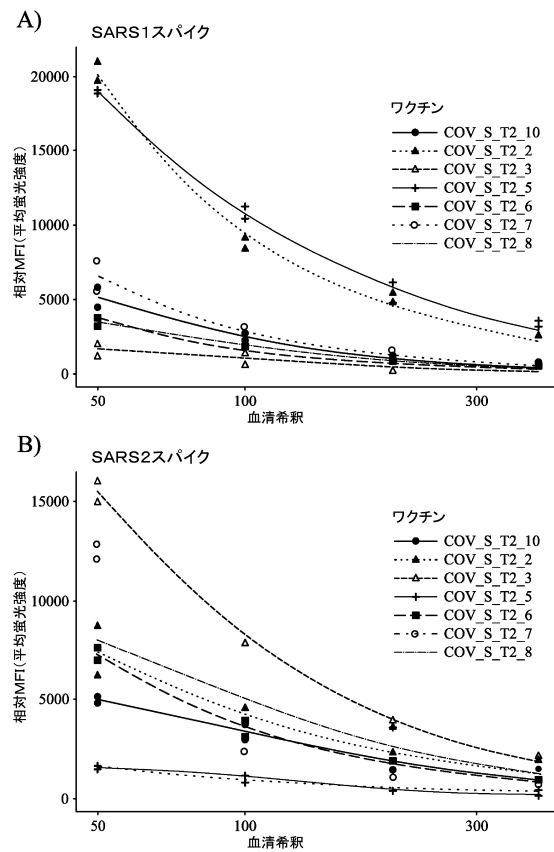
【図 8】

>COV_M_T1:1:MADSGNTTV ELKKLEQW NLVIGFLFT WICLLQFAY NNRFLYIK LIFELMLFV TIACFVLA VYRHWITGI AIAMACVGL MGLSYFIASF
>COV_M_T2:1:MADSGNTTV ELKKLEQW NLVIGFLFT WICLLQFAY NNRFLYIK LIFELMLFV TIACFVLA VYRHWITGI AIAMACVGL MGLSYFIASF
>COV_M_T2:2:MADSGNTTV ELKKLEQW NLVIGFLFT WICLLQFAY NNRFLYIK LIFELMLFV TIACFVLA VYRHWITGI AIAMACVGL MGLSYFIASF
>COV_M_T1:1:RLFARTSMN SPNPNITLL NVFLNGTILT PFLSESLVI GAVILRHLR IAGHLGRCD IKDLKEITV ATSTLTSTYK LGASQRVAGD SGFAVSYR
>COV_M_T2:1:RLFARTSMN SPNPNITLL NVFLNGTILT PFLSESLVI GAVILRHLR IAGHLGRCD IKDLKEITV ATSTLTSTYK LGASQRVAGD SGFAVSYR
>COV_M_T2:2:RLFARTSMN SPNPNITLL NVFLNGTILT PFLSESLVI GAVILRHLR IAGHLGRCD IKDLKEITV ATSTLTSTYK LGASQRVAGD SGFAVSYR
>COV_M_T1:1:IGNYKINTD SSSNNIAL VQ 1>COV_M_T1_1 (1-222 NC_040818.2 SARS-CoV-2 (GenBank: NC_040818.2))
>COV_M_T2:1:IGNYKINTD SSSNNIAL VQ 2>COV_M_T2_1 (1-222 SARS-CoV-2 (GenBank: NC_040818.2))
>COV_M_T2:2:IGNYKINTD SSSNNIAL VQ 3>COV_M_T2_2 (1-222 SARS-CoV-2 (GenBank: NC_040818.2))

【図 9】



【図 10】



10

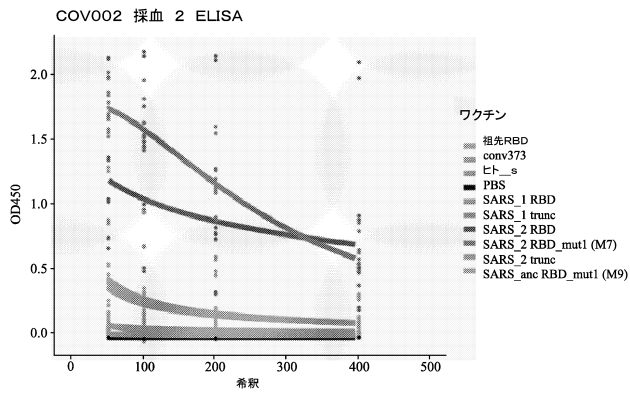
20

30

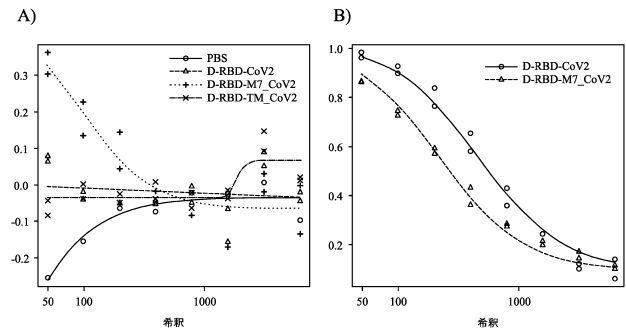
40

50

【図 14】

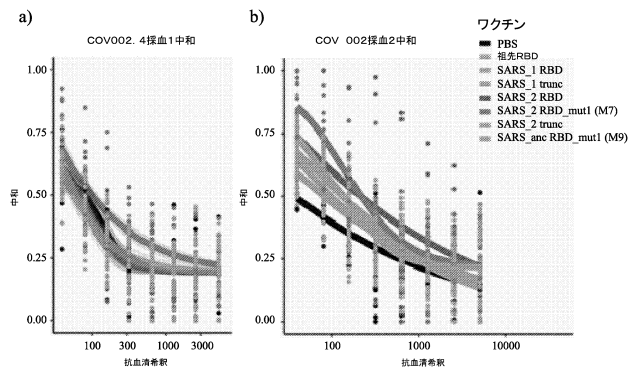


【図 15】

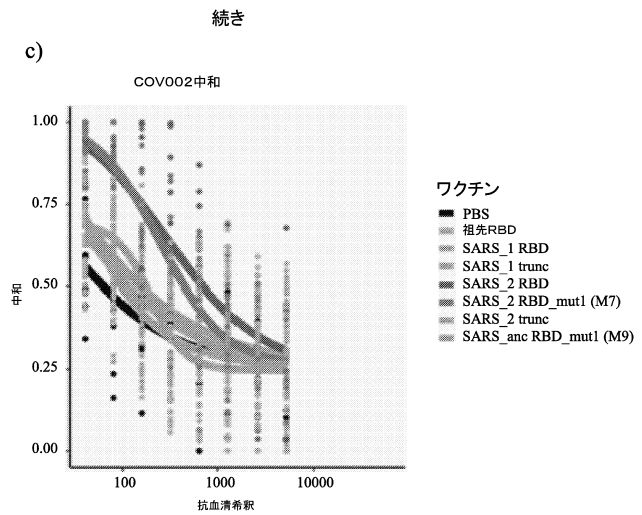


10

【図 16 - 1】



【図 16 - 2】



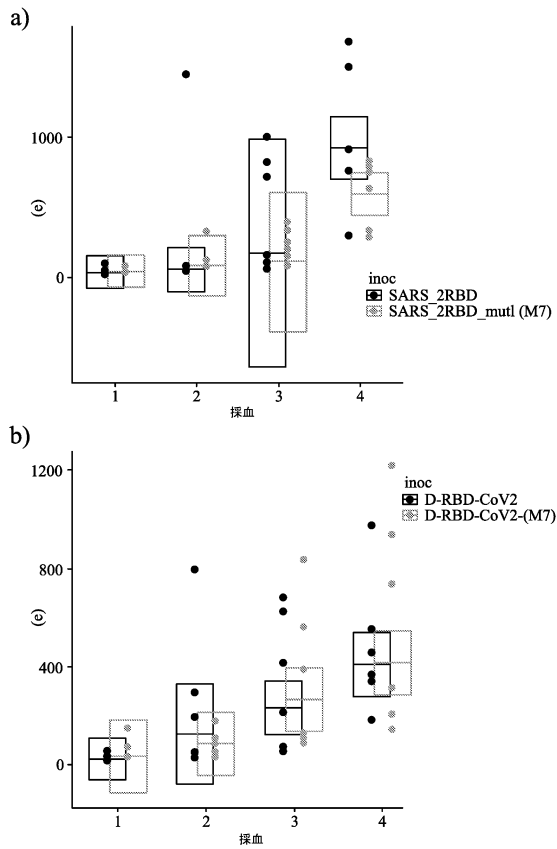
20

30

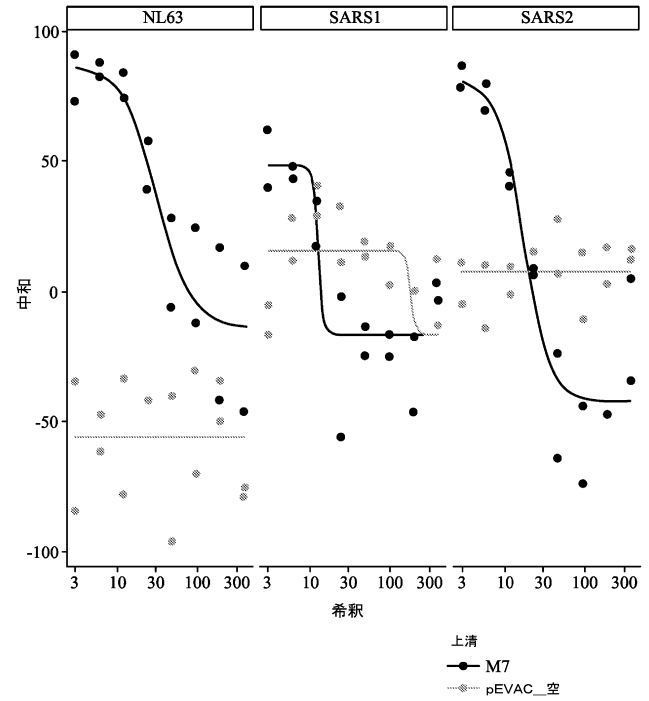
40

50

【図 17】



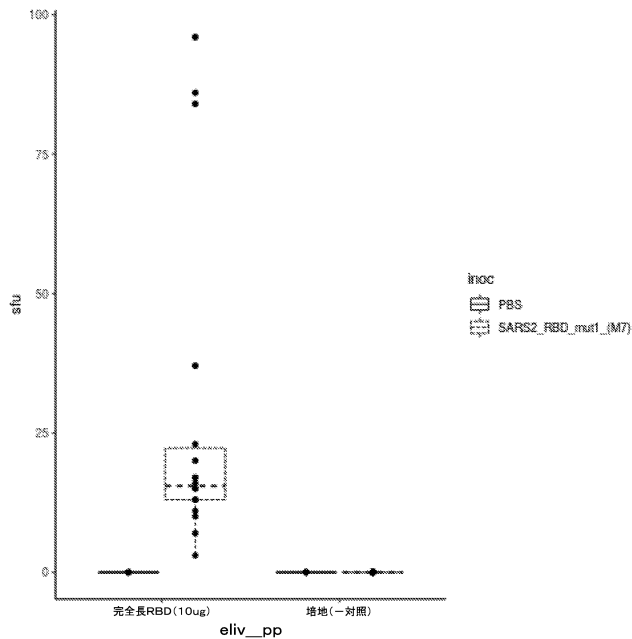
【図 18】



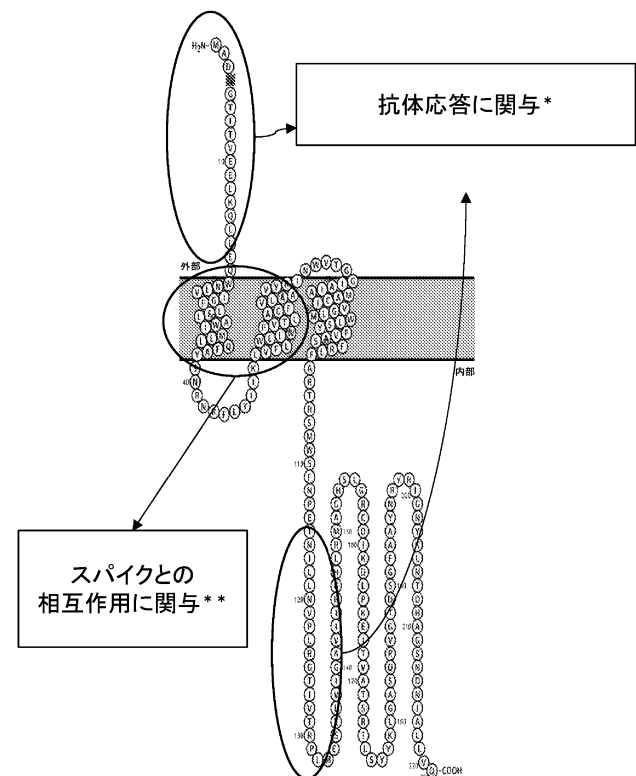
10

20

【図 19】



【図 20】

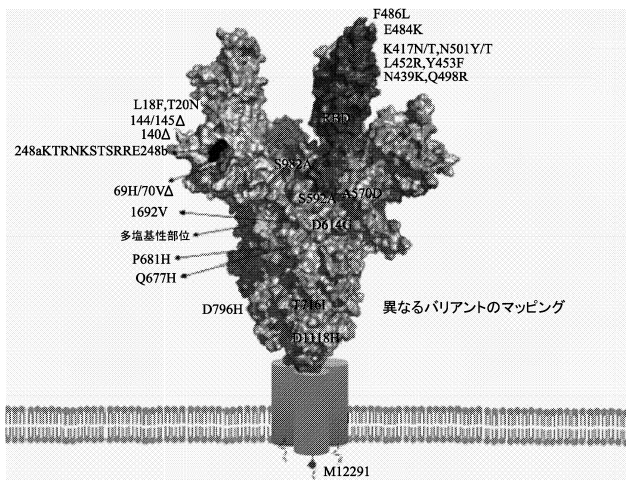


30

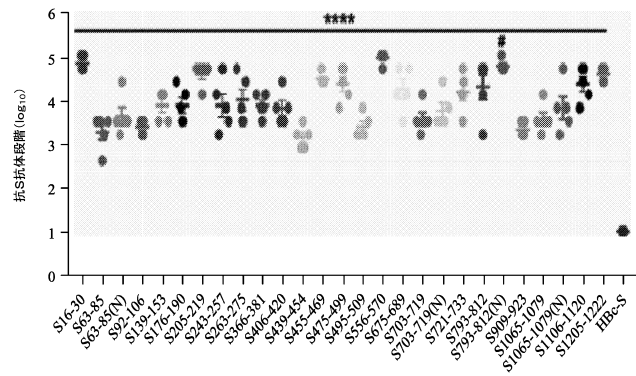
40

50

【図 25】



【圖 26】

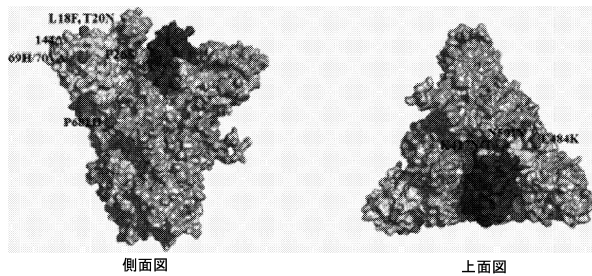


10

【圖 27】

関心対象のバリエーション—英国、南アフリカ、及びブラジル

バリエーション	変異
英国	69Δ, 70Δ, 144Δ, N501Y, A570D (B), D614G, P681H, T761I, S982A, D1118H
南アフリカ	K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V
日本	L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, D614G, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I



側面図

上面圖

【圖 28】

キメラ設計—スーパーS

- ▶ エピトープは、構造ドメイン内の個々の独立した部分として処理することができる。
- ▶ 免疫優勢領域にあり、免疫回避をもたらし得るバリエーションから変異を選択する。

バリエーション	製品
英国	<u>69A, 70A, 144A, N501Y, A570D(B), D614G, P681H, T761I, S982A, D1118H</u>
南アフリカ	<u>K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V</u>
日本	<u>L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, D614G, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I</u>

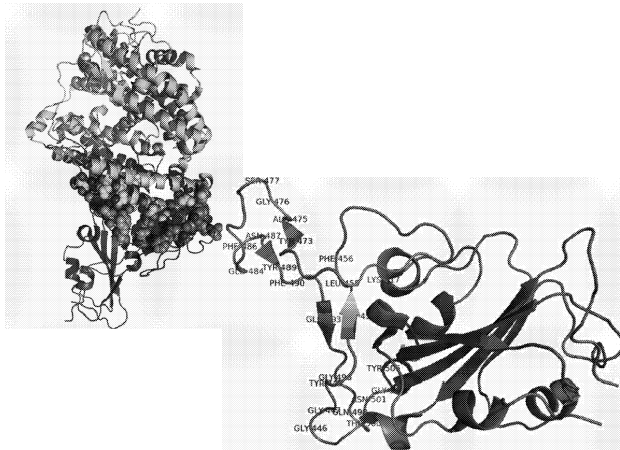
20

30

40

50

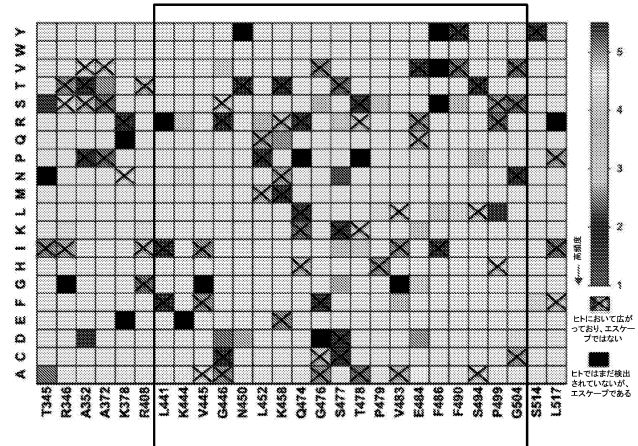
【図 29】



【図 30-1】

サルベコウイルスの広範なカバレッジ

- ▷ 免疫優勢領域は、ウイルス特異的であることが多く、関連ウイルスに対する抗体応答を生成することは稀である。
- ▷ バリエーションは、サブドメイン領域と比較して、免疫優勢領域に変異を有することが多い。(インフルエンザHA-通常の例)。

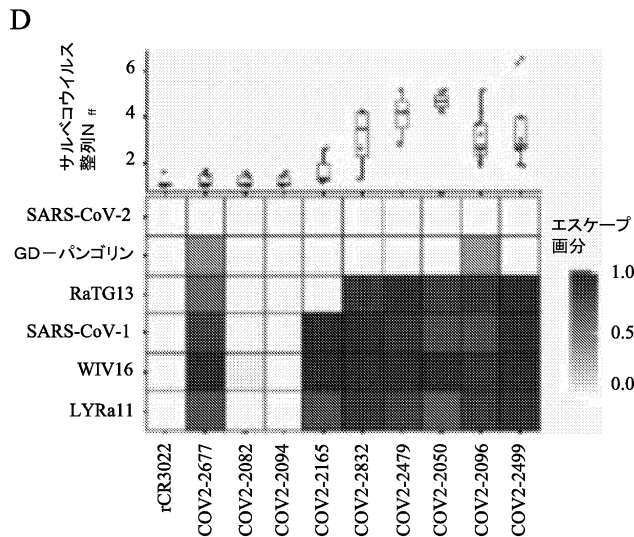


10

20

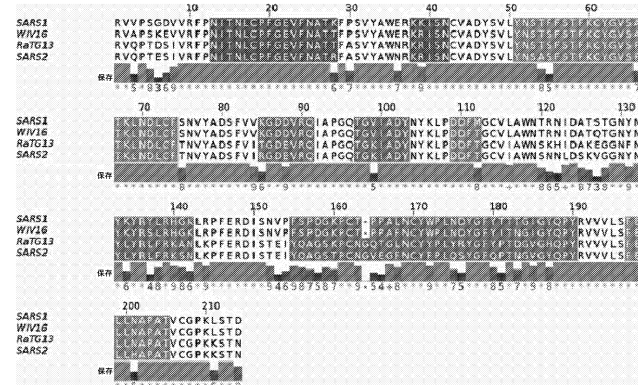
【図 30-2】

続き



【図 31-1】

サルベコウイルスの広域カバレッジ



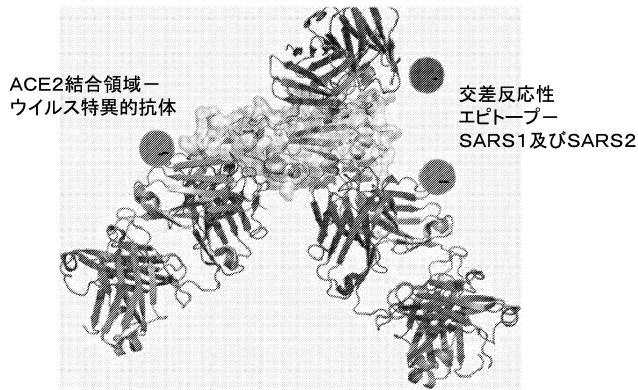
30

40

50

【図 3 1 - 2】

続き



【図 3 2】

サルペコウイルスの広域カバレッジ

N1	1	R	V	A	P	T	K	E	V	R	F	P	N	I	N	L	C	P	F	G	E	V	F	N	A	T	R	F	P	S	V	Y	A	W	E	R	K	R	I	S	N	C	V	A	D	S	V	L	Y	S	T	S	F	S	T	F	K	C	Y	G	V	64																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
SARS2	1	Q	E	S	I	...	Y	T	H	C	P	F	G	E	V	F	N	A	T	R	F	P	S	V	Y	A	W	E	R	K	R	I	S	N	C	V	A	D	S	V	L	Y	S	T	S	F	S	T	F	K	C	Y	G	V	64																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
SARS1	1	V	S	G	D	...	Y	T	H	C	P	F	G	E	V	F	N	A	T	R	F	P	S	V	Y	A	W	E	R	K	R	I	S	N	C	V	A	D	S	V	L	Y	S	T	S	F	S	T	F	K	C	Y	G	V	64																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													

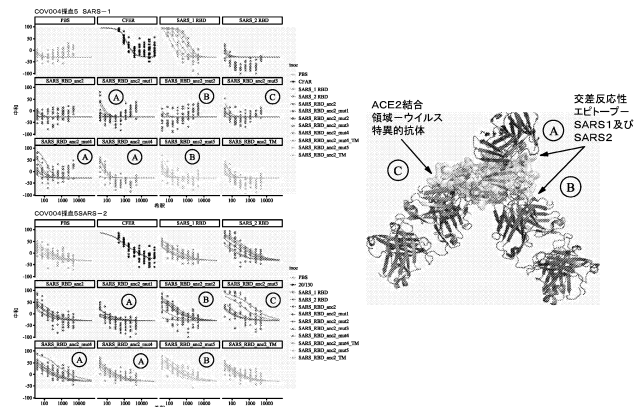
免疫集中点へのRBSでの
グリコシル化部位の導入

【図 3 3】

設計の概要

COV_S_T2_13	SARS_RBD_anc2	新たなアラインメントによる再設計された祖先
COV_S_T2_14	SARS_RBD_anc2_mut1	共通エピートープAを有するAnc2
COV_S_T2_15	SARS_RBD_anc2_mut2	共通エピートープBを有するAnc2
COV_S_T2_16	SARS_RBD_anc2_mut3	SARS2由来のエピートープを有するAnc2
COV_S_T2_17	SARS_RBD_anc2_mut4	共通エピートープAを有するAnc2、RBS変異体
COV_S_T2_18	SARS_RBD_anc2_mut5	共通エピートープBを有するAnc2、RBS変異体
COV_S_T2_19	SARS_RBD_anc2_TM	TMDメインとの新たなアラインメントによる再設計された祖先
COV_S_T2_20	SARS_RBD_anc2_mut4_TM	共通エピートープBを有するAnc2、 TMDメインを有するRBS変異体

【図 3 4 - 1】



10

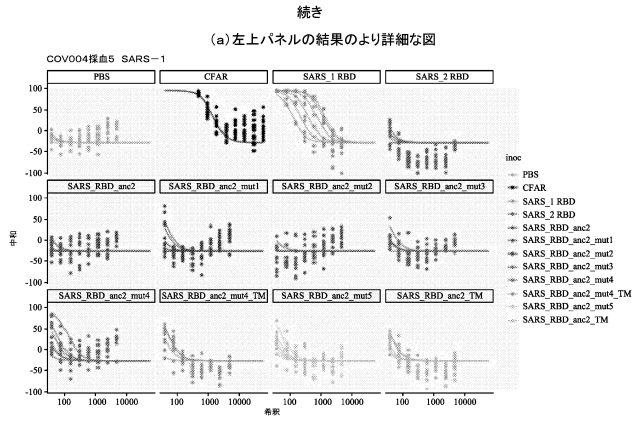
20

30

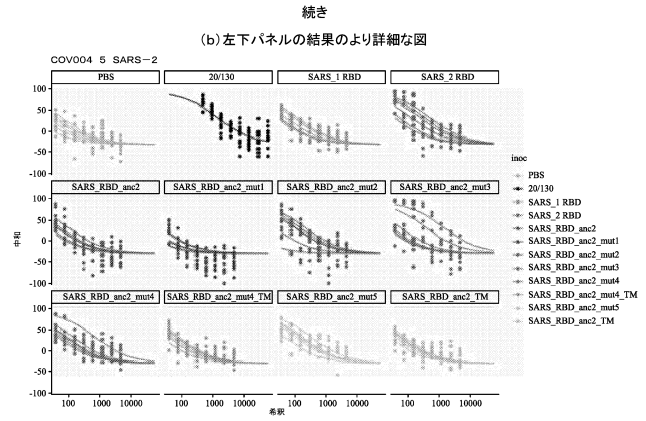
40

50

【図 3 4 - 2】

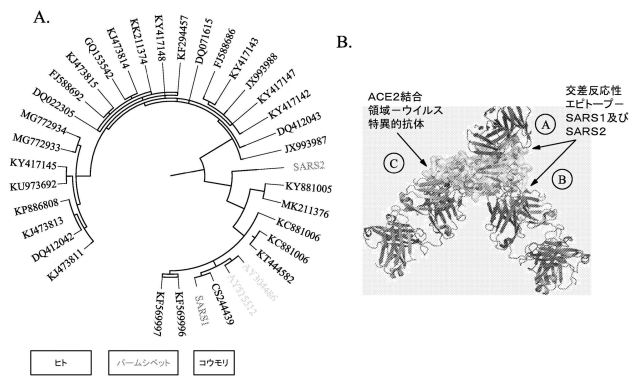


【図 3 4 - 3】

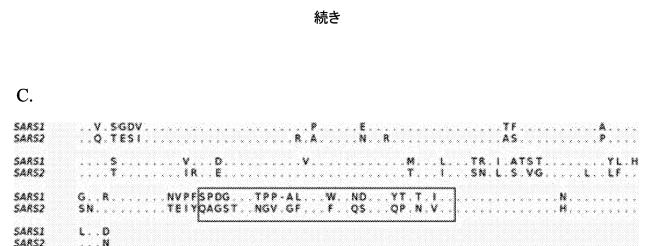


10

【図 3 5 - 1】



【図 3 5 - 2】



20

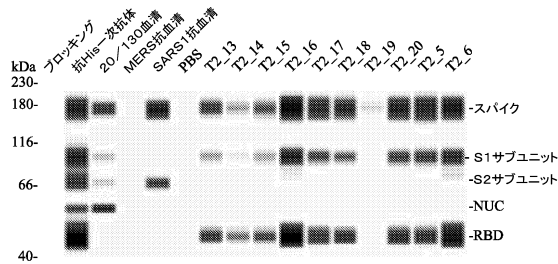
30

40

50

【図 3 6】

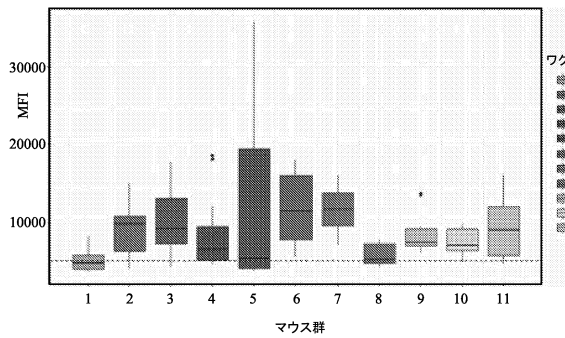
A) 免疫化マウスからの血清のウェスタンブロット



3回目の採血のマウスからの血清

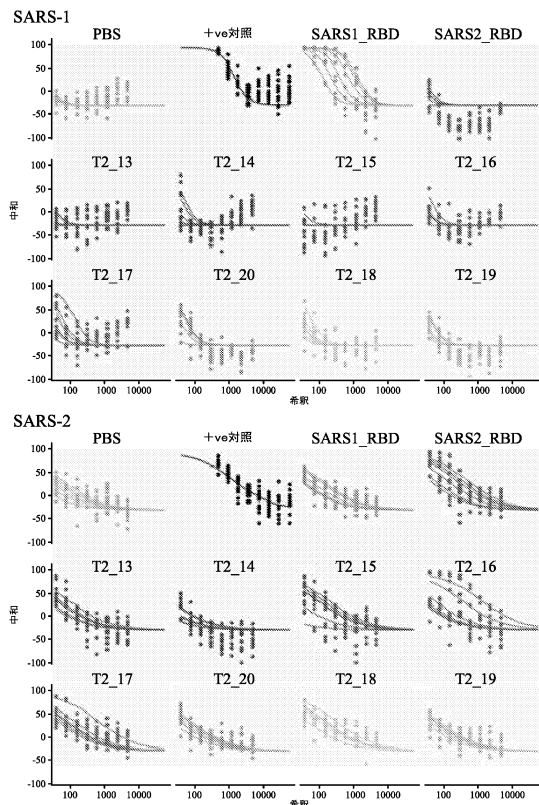
B) 細胞表面発現採血2の抗体結合応答。

COV004採血2



【図 3 7 - 2】

続き



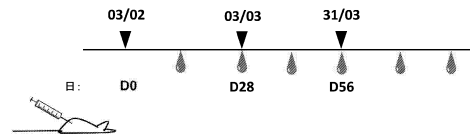
【図 3 7 - 1】

```

COV_5_T2_13  RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGVEFNATRFPSVYAWERKRI|SNCVADYSVLVNSTSFSTFKCYG 63
COV_5_T2_14  RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGVEFNATRFPSVYAWERKRI|SNCVADYSVLVNSTSFSTFKCYG 63
COV_5_T2_15  RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGVEFNATRFPSVYAWERKRI|SNCVADYSVLVNSTSFSTFKCYG 63
COV_5_T2_16  RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGVEFNATRFPSVYAWERKRI|SNCVADYSVLVNSTSFSTFKCYG 63
COV_5_T2_17  RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGVEFNATRFPSVYAWERKRI|SNCVADYSVLVNSTSFSTFKCYG 63
COV_5_T2_18  RVAPTKEVVRFPNITNLCPFGVEFNATRFPSVYAWERKRI|SNCVADYSVLVNSTSFSTFKCYG 63
COV_5_T2_13  VSPTKLNLCFTNIVYADSFVIRGDEVQIAPGQTGVIADYNYKLDDFTGCVIAWNTNNLDST 126
COV_5_T2_14  VSPTKLNLCFTNIVYADSFVIRGDEVQIAPGQTGVIADYNYKLDDFTGCVIAWNTNNLDST 126
COV_5_T2_15  VSPTKLNLCFTNIVYADSFVIRGDEVQIAPGQTGVIADYNYKLDDFTGCVIAWNTNNLDST 126
COV_5_T2_16  VSPTKLNLCFTNIVYADSFVIRGDEVQIAPGQTGVIADYNYKLDDFTGCVIAWNTNNLDST 126
COV_5_T2_17  VSPTKLNLCFTNIVYADSFVIRGDEVQIAPGQTGVIADYNYKLDDFTGCVIAWNTNNLDST 126
COV_5_T2_18  VSPTKLNLCFTNIVYADSFVIRGDEVQIAPGQTGVIADYNYKLDDFTGCVIAWNTNNLDST 126
COV_5_T2_13  TGGNYNYLRSLRKSKLKPFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYPLRSYGFPTNGVGYP 189
COV_5_T2_14  TGGNYNYLRSLRKSKLKPFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYPLRSYGFPTNGVGYP 189
COV_5_T2_15  TGGNYNYLRSLRKSKLKPFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYPLRSYGFPTNGVGYP 189
COV_5_T2_16  TGGNYNYLRSLRKSKLKPFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYPLRSYGFPTNGVGYP 189
COV_5_T2_17  TGGNYNYLRSLRKSKLKPFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYPLRSYGFPTNGVGYP 189
COV_5_T2_18  TGGNYNYLRSLRKSKLKPFERDISSDIYSPGGKPCSGVEGFNCYPLRSYGFPTNGVGYP 189
COV_5_T2_13  YRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD 214
COV_5_T2_14  YRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD 214
COV_5_T2_15  YRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD 214
COV_5_T2_16  YRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD 214
COV_5_T2_17  YRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD 214
COV_5_T2_18  YRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD 214

```

【図 3 8】

CoVモルモット001 n=8/群、6免疫群；
28日間の2回又は3回の免疫化パート

群	ワクチン	経路	免疫化1 (D0)	免疫化2 (D28)	免疫化3 (D56)	採血1	採血2	採血3	採血4	採血5
1	CoV_5_T2_8	400 µg s.c. (2mg/mL)								
2	CoV_5_T2_17	100 µg i.p. (0.5mg/mL)								
3	CoV_5_T2_17	100 µg i.p. (0.5mg/mL)								
4	CoV_5_T2_17	200 µg i.p. (1mg/mL)								
5	CoV_5_T2_17	400 µg i.p. (2mg/mL)								
6	CoV_5_T2_8	400 µg i.p. (2mg/mL)								

10

20

30

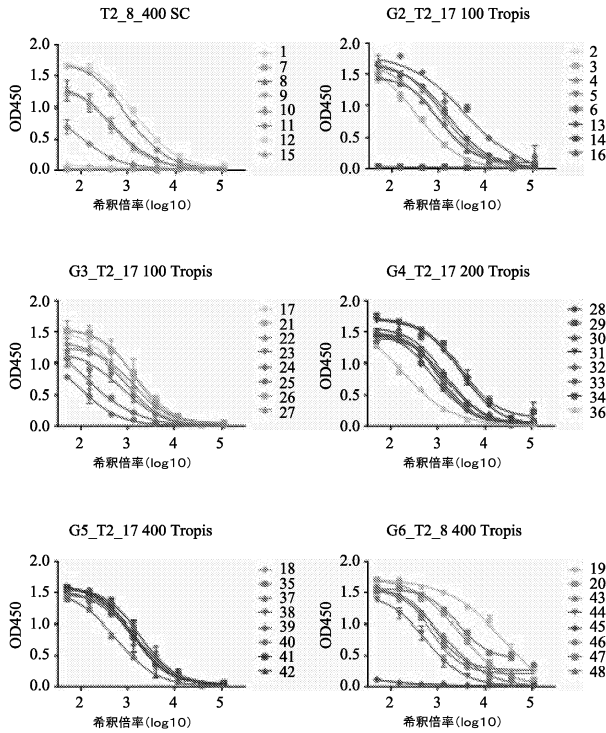
40

50

【図 39 - 1】

RBD ELISA採血2対SARS1及びSARS-CoV-2

SARS2 RBD ELISAモルモットの採血2

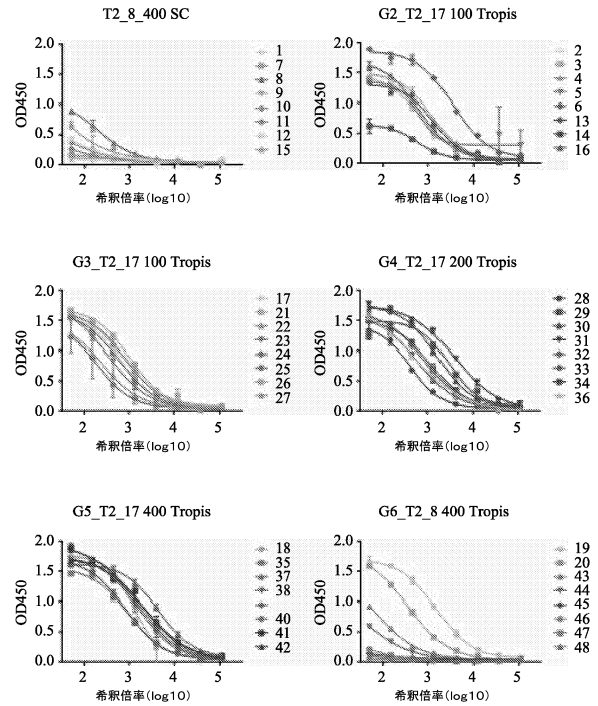


【図 39 - 2】

図39の続き

RBD ELISA採血2対SARS1及びSARS-CoV-2

モルモット採血2対SARS1 RBD ELISA



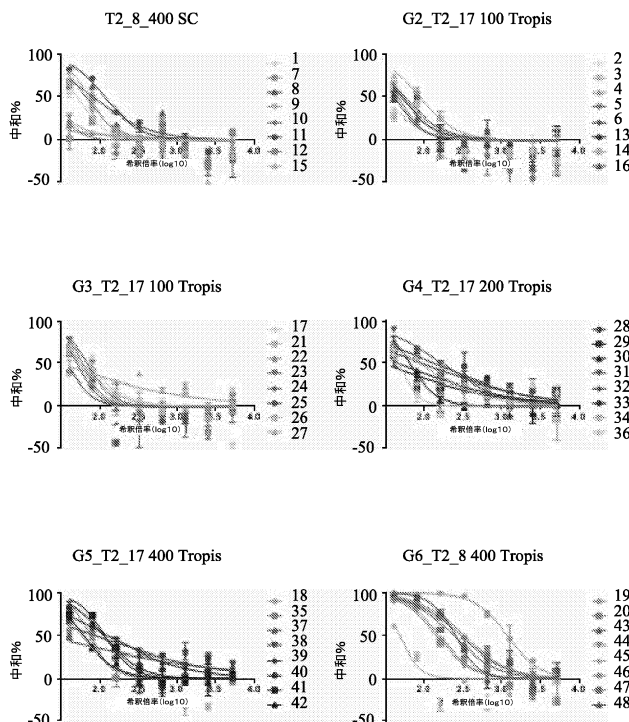
10

20

【図 40 - 1】

pNM採血2による中和 対SARS1及びSARS-CoV-2 RBD

モルモットの採血2対SARS-2 PV pMN

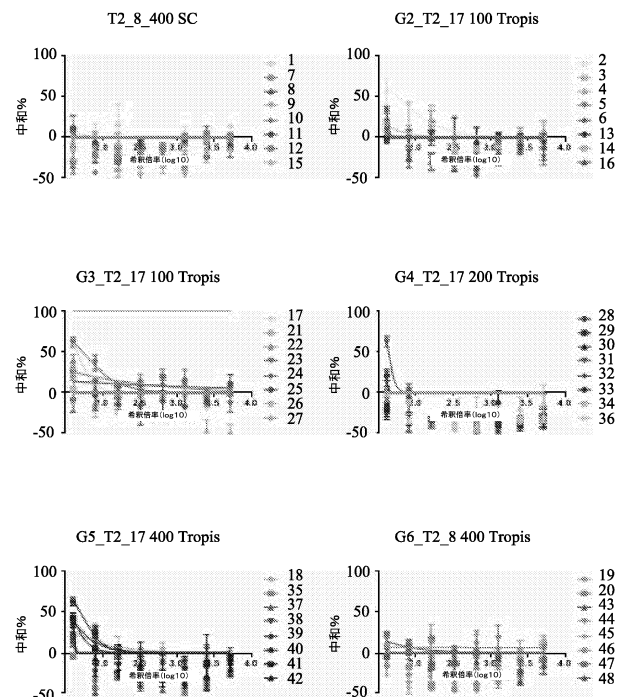


【図 40 - 2】

続き

pNM採血2による中和対SARS1及びSARS-CoV-2 RBD

モルモット採血2対SARS-1 PV pMN



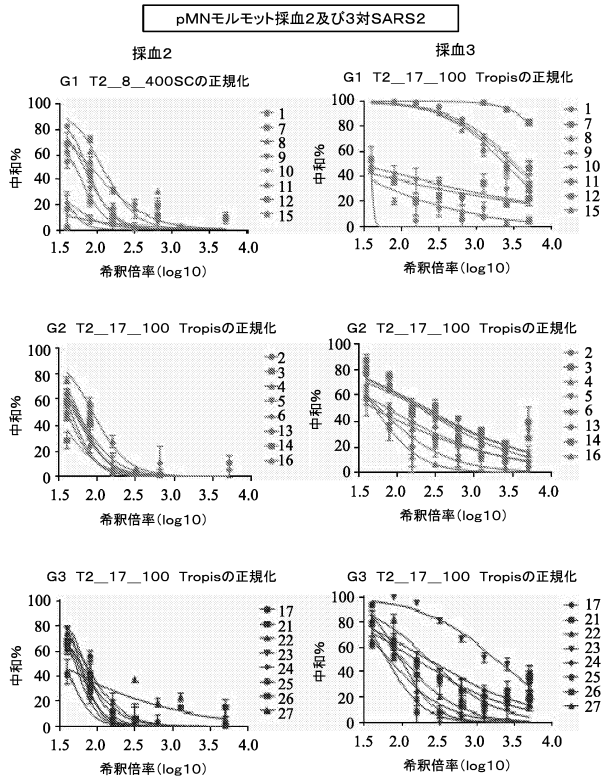
30

40

50

【図 4 1 - 1】

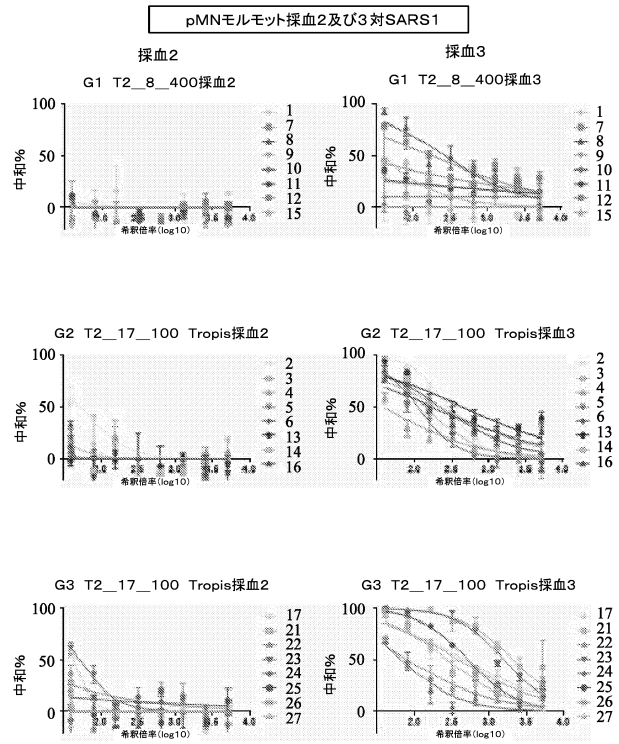
群1、2&3、pMN採血2対3による中和SARS1及び
SARS-CoV-2対SARS1及びSARS-CoV-2RBD



【図 4 1 - 2】

続き

群1、2&3、pMN採血2対3による中和SARS1及び
SARS-CoV-2対SARS1及びSARS-CoV-2RBD

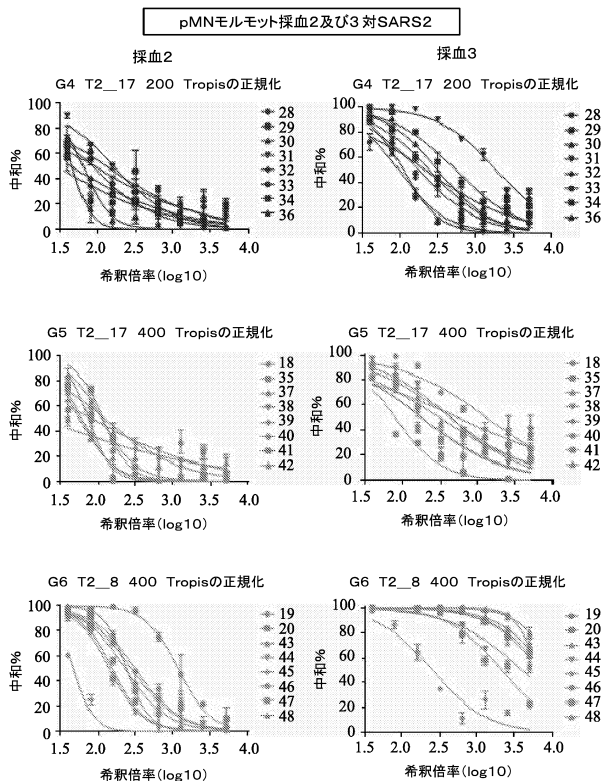


10

20

【図 4 2 - 1】

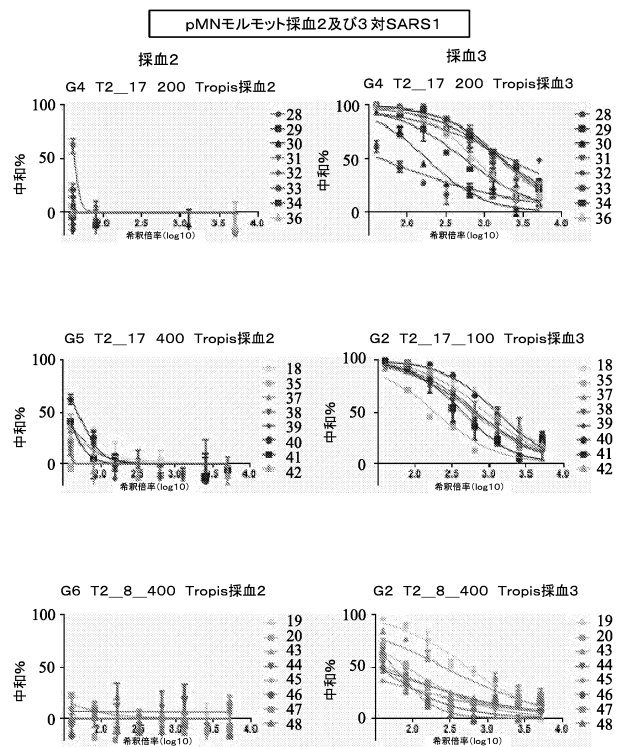
群4、5&6、pMN採血2対3による中和SARS1及び
SARS-CoV-2対SARS1及びSARS-CoV-2RBD



【図 4 2 - 2】

続き

群4、5&6、pMN採血2対3による中和SARS1及び
SARS-CoV-2対SARS1及びSARS-CoV-2RBD



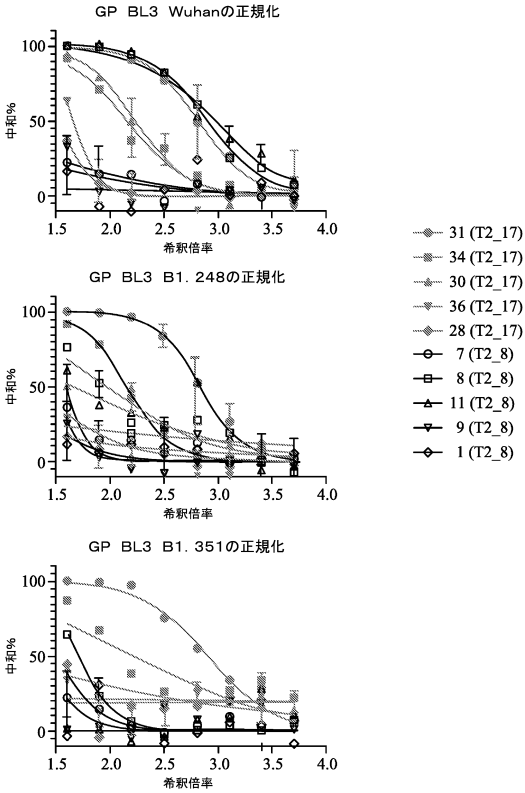
30

40

50

【図 4 3】

関心対象のバリエーションB1. 351(SA)及びB1. 248(p1 BZ)の
中和はT2_17でT2_8に対して優れている



10

20

【配列表】

202352215600001.app

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2021/050830

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/215

ADD. A61K39/12 C07K14/165

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

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

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

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102 690 336 A (WUHAN INST VIROLOGY CAS) 26 September 2012 (2012-09-26) The query sequence SEQ ID NO:17 has 84.47 % identity (86.30 % similarity) over 219 positions in a common overlap (range (q:s): 1-219:31-225) with subject GSP:BAJ66419 (length: 225) from CN102690336-A published on 2012-09-26. ----- -/--	1,4-8, 60,61, 182-184, 189,190, 194-226

☒ 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

16 September 2021

Date of mailing of the international search report

27/09/2021

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

Seranski, Peter

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2021/050830

Continuation. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/143335 A1 (UNIV NORTH CAROLINA [US]) 24 September 2015 (2015-09-24) The query sequence SEQ ID NO:17 has 85.39 % identity (87.67 % similarity) over 219 positions in a common overlap (range (q:s): 1-219:310-505) with subject GSP:BCE72752 (length: 1242) from W02015143335-A1 published on 2015-09-24. -----	1,4-8, 60,61, 182-184, 189,190, 194-226
A	DU LANYING ET AL: "A 219-mer CHO-Expressing Receptor-Binding Domain of SARS-CoV S Protein Induces Potent Immune Responses and Protective Immunity", VIRAL IMMUNOLOGY, vol. 23, no. 2, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 211-219, XP055784512, US ISSN: 0882-8245, DOI: 10.1089/vim.2009.0090 Retrieved from the Internet: URL:https://www.liebertpub.com/doi/pdfplus/10.1089/vim.2009.0090> the whole document -----	1,4-8, 60,61, 182-184, 189,190, 194-226

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/GB2021/050830

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: 10
- a. ☐ forming part of the international application as filed:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished. 20
3. Additional comments:

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2021/050830

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:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/GB2021/050830

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box 11.2

Claims Nos.: 2, 3, 9-59, 62-181, 185-188, 191-193(completely); 4, 5, 60, 61, 182-184, 189, 190, 194-226(partially)

Concerning the objections made for clarity, Art. 6 PCT requires amongst other things that the claims, which define the matter for which protection is sought. This has to be interpreted as meaning not only that a claim from the technical point of view must be comprehensible, but that it must define clearly the object of the invention, that is to say indicate all the essential technical features, which are necessary to obtain the desired effect or, differently expressed, which are necessary to solve the technical problem with which the application is concerned without undue experimentation.

The present application lacks clarity as required by Art. 6 PCT. The claims as a whole are not clear and concise and thus do not fulfil the requirements of Art 6 PCT.

In the present case, what the applicant considers to be the invention has been set out in at least 58 independent claims of different, although to a greater or lesser degree overlapping scope. This presentation makes it difficult, if at all possible, to determine the matter for which protection is sought and places an undue burden on others seeking to establish the extent of the protection.

The independent claims have been identified as follows:

- 1: Polypeptide with Seq-ID-N°17
- 2: Polypeptide with Seq-ID-N°15
- 3: Polypeptide with Seq-ID-N°13
- 9: Coronavirus S protein RBD domain
- 11: Coronavirus S protein RBD domain
- 12: Coronavirus S protein RBD domain
- 13: polypeptide with Seq-ID-N°27
- 17: Isolated polypeptide with Seq-ID-N°28
- 22: Isolated polypeptide with Seq-ID-N°29
- 27: isolated polypeptide with Seq-ID-N°27
- 30: Isolated polypeptide with Seq-ID-N°31
36. isolated polypeptide with Seq-ID-N°32
- 42: Isolated polypeptide variants based on Seq-ID-N°11
- 47: isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°33
- 48: Isolated polypeptide comprising an amino acid sequence of SARS2 RBD
- 49: Isolated polypeptide comprising an amino acid sequence with Seq-ID-N°34
- 51: Isolated polypeptide variant based on

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/ GB2021/ 050830

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Seq-ID-N°11
 52: Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°35
 56:
 Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°36
 69: Isolated polypeptide
 comprising Seq-ID-N°43
 71: Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°44
 73: Isolated polypeptide comprising a coronavirus E-protein variant
 75:
 Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°24
 78: Isolated polypeptide
 comprising Seq-ID-N°25
 81: Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°48
 84: Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°49
 90: Isolated polypeptide
 comprising Seq-ID-N°50
 96: Isolated polypeptide comprising a coronavirus
 M-protein variant
 98: Isolated polypeptide comprising a coronavirus
 M-protein variant
 100: Isolated polypeptide comprising a coronavirus
 M-protein variant
 102: Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°46
 107:
 Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°47
 112: Isolated polypeptide
 comprising a coronavirus N-protein variant
 118: Isolated polypeptide
 comprising Seq-ID-N°5
 119: Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°11
 120: Isolated polypeptide comprising Seq-ID-N°53
 125: Isolated
 polypeptide comprising a coronavirus S-protein variant
 130: Isolated
 polypeptide comprising Seq-ID-N°54
 134: Isolated polypeptide comprising
 a coronavirus S-protein variant
 171-177: Isolated polypeptide comprising
 various polypeptide fragments
 182: Isolated nucleic acid molecule
 185:
 isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence encoding
 a SARS2 truncated S protein
 187: isolated nucleic acid molecule
 comprising a nucleotide sequence encoding a SARS2 S protein RBD of amino
 acid sequence
 202: An isolated cell comprising a vector
 203: A fusion
 protein
 204: pharmaceutical composition
 216: pseudotyped virus
 217: A
 method of inducing an immune response
 218: A method of immunising a

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/ GB2021/ 050830

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

subject

219: polypeptide for use

220: polypeptide for use

The claimed subject matter further lacks unity (Rule 13.1 PCT) a priori. The claims are directed to variants of coronavirus S-, N-, E- and M-variants. This is are neither liked by any structural and or functional feature. Features, that allegedly might be interpreted as unifying structural and/or functional features such as common motifs in Seq-ID-N°s 13, 15 and 17 are claimed and also not derivable from the very generalized sequences down to 71% sequence identity.

In the absence of any sufficiently reasoned response, the search will cover the subject matter as independently claimed in claim 1 (Seq-ID-N°17) and interrelated and dependent claims related to the subject matter of claim 1.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) PCT declaration be overcome.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2021/050830

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN 102690336	A	26-09-2012	NONE	

WO 2015143335	A1	24-09-2015	US 2017096455 A1	06-04-2017
			WO 2015143335 A1	24-09-2015

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)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 1 2 N 15/85 (2006.01)	C 1 2 N 15/85	Z
A 6 1 K 39/215 (2006.01)	A 6 1 K 39/215	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
(32)優先日 令和3年2月10日(2021.2.10)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)		
(31)優先権主張番号 2103214.9		
(32)優先日 令和3年3月8日(2021.3.8)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)		
(31)優先権主張番号 2004826.0		
(32)優先日 令和2年4月1日(2020.4.1)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)		
(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,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,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),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,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,T,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW		
ルド、スクールズ		
(74)代理人 100107489		
弁理士 大塩 竹志		
(72)発明者 ヒーニー, ジョナサン ルーク		
イギリス国 シービー3 0イーエス ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, マディングリー ロード, ユニバーシティ オブ ケンブリッジ, デパートメント オブ ベテリナリー メディシン, ラボラトリー オブ バイラル ズーノティクス		
(72)発明者 ビシュワナス, スネハ		
イギリス国 シービー3 0イーエス ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, マディングリー ロード, ユニバーシティ オブ ケンブリッジ, デパートメント オブ ベテリナリー メディシン, ラボラトリー オブ バイラル ズーノティクス		
(72)発明者 カーネル, ジョージ		
イギリス国 シービー3 0イーエス ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, マディングリー ロード, ユニバーシティ オブ ケンブリッジ, デパートメント オブ ベテリナリー メディシン, ラボラトリー オブ バイラル ズーノティクス		
(72)発明者 ウェルズ, デイビッド		
イギリス国 シービー2 8ピーエヌ ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, セドレー テイラー ロード 25, ディオシンバックス リミテッド		
(72)発明者 フェラーリ, マッテオ		
イギリス国 シービー2 8ピーエヌ ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, セドレー テイラー ロード 25, ディオシンバックス リミテッド		

F ターム (参考)	4B065	AA90X AA97Y AB01 BA02 CA45
	4C084	AA02 AA07 AA13 BA02 BA35 CA01 NA14 ZB09 ZB33
	4C085	AA03 BA71 BB11 EE01 FF24
	4H045	AA10 BA09 CA01 EA31 FA74