

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2024-521098  
(P2024-521098A)

(43)公表日 令和6年5月28日(2024.5.28)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード(参考)	
C 0 7 K	14/165 (2006.01)	C 0 7 K	14/165	4 C 0 7 6
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	Z N A 4 C 0 8 4
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14	4 C 0 8 5
A 6 1 K	39/39 (2006.01)	A 6 1 K	39/39	4 H 0 4 5
A 6 1 K	38/10 (2006.01)	A 6 1 K	38/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全106頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-571758(P2023-571758)	(71)出願人	511281899 マヨ ファウンデーション フォー メデ ィカル エデュケーション アンド リサ ーチ MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH アメリカ合衆国 ミネソタ州 55905 ロチェスター ファースト ストリート エス ダブリュー 200
(86)(22)出願日	令和4年5月19日(2022.5.19)	(74)代理人	100120031 弁理士 宮嶋 学
(85)翻訳文提出日	令和5年11月17日(2023.11.17)	(74)代理人	100120617 弁理士 浅野 真理
(86)国際出願番号	PCT/US2022/030068	(74)代理人	100126099
(87)国際公開番号	WO2022/246084		最終頁に続く
(87)国際公開日	令和4年11月24日(2022.11.24)		
(31)優先権主張番号	63/190,964		
(32)優先日	令和3年5月20日(2021.5.20)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	63/341,771		
(32)優先日	令和4年5月13日(2022.5.13)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA) 最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 S A R S - C o V - 2 ポリペプチド

## (57)【要約】

本文書は、選択された重度急性呼吸窮迫コロナウイルス2 (S A R S - C o V - 2) ポリペプチドに関連する方法及び材料を提供する。例えば、本文書は、本明細書に提供される1つ以上の選択されたS A R S - C o V - 2 ポリペプチドを含有し、哺乳動物(例えば、ヒト)内でS A R S - C o V - 2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有するワクチン組成物を提供する。

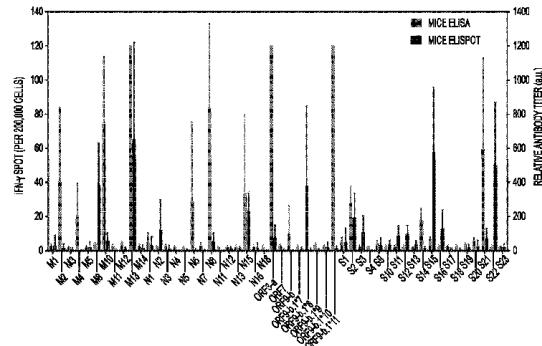


FIG. 12

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

配列番号 1 ~ 8 7 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粹なポリペプチド。

**【請求項 2】**

請求項 1 に記載の実質的に純粹なポリペプチドを含む、組成物。

**【請求項 3】**

少なくとも 2 つのポリペプチドを含む組成物であって、前記少なくとも 2 つのポリペプチドの各々が、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなるポリペプチドである、組成物。

10

**【請求項 4】**

前記組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 0 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

**【請求項 5】**

前記組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

20

**【請求項 6】**

前記組成物が、配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

**【請求項 7】**

前記組成物が、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 3 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

30

**【請求項 8】**

前記組成物が、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

40

**【請求項 9】**

前記組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 0 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 1 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

**【請求項 10】**

50

前記組成物が、配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 5 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 1 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

【請求項 1 1】

前記組成物が、配列番号 6 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 6 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 0 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 8 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

【請求項 1 2】

前記組成物が、配列番号 6 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 6 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 0 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 7 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 8 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、請求項 2 又は 3 に記載の組成物。

【請求項 1 3】

前記組成物が、アジュバント又は免疫刺激分子を含む、請求項 2 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 4】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol 11 様受容体 4 (TLR4) アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、A1T4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG-I)、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLA からなる群から選択される、請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol 11 様受容体 4 (TLR4) アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、A1T4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG-I)、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLA からなる群から選択される、請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

10

20

30

40

50

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAからなる群から選択される、請求項13に記載の組成物。

【請求項17】

前記ポリペプチドが、1つ以上のウイルス様粒子（VLP）に結合している、請求項2～12のいずれか一項に記載の組成物。 10

【請求項18】

前記VLPが、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、請求項17に記載の組成物。

【請求項19】

前記VLPが、Q-ベータバクテリオファージから作製される、請求項17に記載の組成物。

【請求項20】

配列番号1～87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなるポリペプチドをコードする核酸を含む、組成物。 20

【請求項21】

少なくとも2つのポリペプチドをコードする核酸を含む組成物であって、前記少なくとも2つのポリペプチドの各々が、配列番号1～87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなるポリペプチドである、組成物。

【請求項22】

前記組成物が、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号13に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号15に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号40に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項20又は21に記載の組成物。 30

【請求項23】

前記組成物が、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号9に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号18に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号21に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項20又は21に記載の組成物。

【請求項24】

前記組成物が、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号14に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号25に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号27に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号44に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号45に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項20又は21に記載の組成物。 40

【請求項25】

前記組成物が、配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号16に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号19に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号28に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号31に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項20又は21に記載の組成物。

【請求項26】

前記組成物が、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 24 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 39 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 43 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項 20 又は 21 に記載の組成物。

【請求項 27】

前記組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 10 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 14 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項 20 又は 21 に記載の組成物。

10

【請求項 28】

前記組成物が、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 13 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 25 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 38 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 39 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 34 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項 20 又は 21 に記載の組成物。

20

【請求項 29】

前記組成物が、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 72 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 87 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項 20 又は 21 に記載の組成物。

30

【請求項 30】

前記組成物が、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 87 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含む、請求項 20 又は 21 に記載の組成物。

40

【請求項 31】

前記組成物が、アジュバント又は免疫刺激分子を含む、請求項 20 ~ 30 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 32】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4 (TLR4) アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、ALT4、Li

50

T 4 )、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF 59、AS 03、AS 04、AS 03 様、AS 04 様、AS 01 B 様、GM - CSF、Addavax、AddaS 03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG - I)、脂質ナノ粒子 (例えば、LION)、及び GLA からなる群から選択される、請求項 31 に記載の組成物。

【請求項 33】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン (例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpG オリゴヌクレオチドモチーフ、t011 様受容体 4 (TLR 4) アゴニスト (例えば、MIT 4、EMT 4、ALT 4、LIT 4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF 59、AS 03、AS 04、AS 03 様、AS 04 様、AS 01 B 様、GM - CSF、Addavax、AddaS 03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG - I)、脂質ナノ粒子 (例えば、LION)、及び GLA からなる群から選択される、請求項 31 に記載の組成物。

【請求項 34】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン (例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpG オリゴヌクレオチドモチーフ、t011 様受容体 4 (TLR 4) アゴニスト (例えば、MIT 4、EMT 4、ALT 4、LIT 4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF 59、AS 03、AS 04、AS 03 様、AS 04 様、AS 01 B 様、GM - CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG - I)、脂質ナノ粒子 (例えば、LION)、及び GLA からなる群から選択される、請求項 31 に記載の組成物。

【請求項 35】

前記ポリペプチドが、1 つ以上のウイルス様粒子 (VLP) に結合している、請求項 20 ~ 32 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 36】

前記 VLP が、パルボウイルス科、レトロウイルス科、ラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、請求項 35 に記載の組成物。

【請求項 37】

前記 VLP が、Q - ベータバクテリオファージから作製される、請求項 35 に記載の組成物。

【請求項 38】

前記核酸が、非ウイルスベクターの形態である、請求項 20 ~ 32 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 39】

前記非ウイルスベクターが、発現プラスミドである、請求項 38 に記載の組成物。

【請求項 40】

前記核酸が、ウイルスベクターの形態である、請求項 20 ~ 32 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 41】

前記ウイルスベクターが、アデノウイルスに基づくベクター、アデノ随伴ウイルス (ADV) に基づくベクター、レトロウイルスに基づくベクター、レンチウイルスに基づくベクター、麻疹ウイルスに基づくベクター、水痘性口内炎ウイルスに基づくベクター、及びワクシニアウイルスに基づくベクターからなる群から選択される、請求項 40 に記載の組成物。

【請求項 42】

哺乳動物においてコロナウイルスに対する免疫応答を増加させるための方法であって、前記哺乳動物に、配列番号 1 ~ 87 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質

10

20

30

40

50

的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又は前記ポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 4 3】

前記哺乳動物が、ヒトである、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記コロナウイルスが、重度急性呼吸窮迫コロナウイルス 2 ( S A R S - C o V - 2 ) である、請求項 4 2 又は 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記組成物が、アジュバント又は免疫刺激分子を含む、請求項 4 2 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン ( 例えば、M o n t a n i d e 7 2 0 、 M o n t a n i d e 5 1 ) 、完全フロイントアジュバント ( C F A ) 、不完全フロイントアジュバント ( I F A ) 、 C p G オリゴヌクレオチドモチーフ、 t o 1 1 様受容体 4 ( T L R 4 ) アゴニスト ( 例えば、 M i T 4 、 E m T 4 、 A l T 4 、 L i T 4 ) 、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A 、アルミニウムホスフィレート、 M F 5 9 、 A S 0 3 、 A S 0 4 、 A S 0 3 様、 A S 0 4 様、 A S 0 1 B 様、 G M - C S F 、 A d d a v a x 、 A d d a S 0 3 、レチノイン酸誘導性遺伝子 I ( R I G - I ) 、脂質ナノ粒子 ( 例えば、 L I O N ) 、及び G L A からなる群から選択される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

少なくとも 2 回用量の前記組成物が投与される、請求項 4 2 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

2 回用量の前記組成物が投与される、請求項 4 2 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記ポリペプチドが、1 つ以上のウイルス様粒子 ( V L P ) 上に提示される、請求項 4 2 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記 V L P が、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記 V L P が、 Q - ベータバクテリオファージから作製される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 2】

コロナウイルス感染症を発症するリスクがある哺乳動物を治療するための方法であって、前記哺乳動物に、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又は前記ポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 5 3】

前記哺乳動物が、ヒトである、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記コロナウイルス感染症が、 C O V I D - 1 9 である、請求項 5 2 又は 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記組成物がアジュバント又は免疫刺激分子を含む、請求項 5 2 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン ( 例えば、M o n t a n

10

20

30

40

50

ide 720、Montanide 51)、完全フロイントアジュバント(CFA)、不完全フロイントアジュバント(IFN)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、to 11様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、請求項55に記載の方法。

【請求項57】

少なくとも2回用量の前記組成物が投与される、請求項52~55のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項58】

2回用量の前記組成物が投与される、請求項52~55のいずれか一項に記載の方法。

【請求項59】

前記ポリペプチドが、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)上に提示される、請求項52~58のいずれか一項に記載の方法。

【請求項60】

前記VLPが、パルボウイルス科、レトロウイルス科、ラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、請求項59に記載の方法。 20

【請求項61】

前記VLPが、Q-ベータバクテリオファージから作製される、請求項59に記載の方法。

【請求項62】

コロナウイルス感染症を有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記哺乳動物に、配列番号1~87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又は前記ポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を投与することを含む、方法。

【請求項63】

前記哺乳動物が、ヒトである、請求項62に記載の方法。 30

【請求項64】

前記コロナウイルス感染症が、COVID-19である、請求項62又は63に記載の方法。

【請求項65】

前記組成物がアジュバント又は免疫刺激分子を含む、請求項62~64のいずれか一項に記載の方法。

【請求項66】

前記アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、完全フロイントアジュバント(CFA)、不完全フロイントアジュバント(IFN)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、to 11様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、請求項65に記載の方法。 40

【請求項67】

少なくとも2回用量の前記組成物が投与される、請求項62~66のいずれか一項に記載の方法。

【請求項68】

50

2回用量の前記組成物が投与される、請求項62～66のいずれか一項に記載の方法。

【請求項69】

前記ポリペプチドが、1つ以上のウイルス様粒子（VLP）上に提示される、請求項62～68のいずれか一項に記載の方法。

【請求項70】

前記VLPが、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、請求項69に記載の方法。

【請求項71】

前記VLPが、Q-ベータバクテリオファージから作製される、請求項69に記載の方法。 10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照及び配列表の組み込み

本出願は、2021年5月20日に出願された米国仮出願第63/190,964号、及び2022年5月13日に出願された米国仮出願第63/341,771号の利益を主張し、これらの各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。25,054バイト（MS-Windows（登録商標）で測定された）であり、2022年5月19日に作成された「P35125W000\_SLTXT」という名前のファイルに含まれる配列表は、本明細書と共に電子的に提出され、その全体が参照により組み込まれる。 20

【0002】

本文書は、選択された重度急性呼吸窮迫コロナウイルス2（SARS-CoV-2）ポリペプチドに関する方法及び材料を提供する。例えば、本文書は、本明細書に提供される1つ以上の選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドを含有し、哺乳動物（例えば、ヒト）内でSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有するワクチン組成物を提供する。

【背景技術】

【0003】

SARS-CoV-2として知られるコロナウイルスによって引き起こされる感染性COVID-19疾患は、2019年12月31日に中国の世界保健機関（WHO）カントリーオフィスに初めて報告された。2021年4月12日現在、2,930,732人の死亡を含む約135,646,617人のCOVID-19確定症例がWHOに報告されている（covid19.who.int/）。2022年5月13日現在、6,261,708人の死亡を含む約517,648,631人のCOVID-19確定症例がWHOに報告されている。 30

【0004】

2019年に中国で始まった新型コロナウイルスのアウトブレイクは、急速に世界的なパンデミックとなり、前世紀の世界大戦に匹敵する数億人の症例、数百万人の死亡、及び社会的混乱を引き起こしている。この新しいコロナウイルス（SARS-CoV-2）によって引き起こされる疾患（COVID-19）は、ほとんどの患者（約70%）で自己制限的であるが、特に、高齢者、及び糖尿病、心臓若しくは肺疾患、がん、又は免疫系を弱めるような状態を含む基礎となる健康上の問題を抱えている個人では、重度の肺炎、急性呼吸窮迫症候群、その他の重大な合併症、及び死亡のリスクが有意に増加している。更に、若い健康な個人も著しい疾患を発症する可能性がありますます明らかになっている。実際、米国で入院した最初の2,500人のCOVID-19患者の40%は20～54歳の間であった。したがって、安全で効果的なワクチンに対する重要な緊急な必要性がある。 40

【0005】

ペプチドワクチンは、生ウイルス及び不活性化ワクチンに固有の複数の問題を回避する

50

。ペプチドワクチンは安価で、迅速に製造でき、コールドチェーンを必要とせず、（無期限ではないにしても）長期の安定性を有し、使用のための特別な訓練を必要とせず、その使用を禁止する禁忌を有しない。ペプチドワクチンは、若者、高齢者、併存疾患有する者、及び免疫不全者に安全に投与することができる。

#### 【発明の概要】

#### 【0006】

本文書は、選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドに関連する方法及び材料を提供する。例えば、本文書は、表1、表2、及び表3に示される単離されたポリペプチドを提供する。ある場合には、本明細書に提供される選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドは、配列番号1～87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチドであり得る。本文書はまた、哺乳動物（例えば、ヒト）内でコロナウイルス感染症（例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症）に対する免疫応答を増加させるための方法を提供する。例えば、本明細書に提供される1つ以上の選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドを含有する組成物（例えば、ワクチン組成物）は、哺乳動物（例えば、ヒト）に投与されて、哺乳動物内でコロナウイルス感染症（例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症）に対する免疫応答を誘導又は増加させることができる。例えば、本明細書に提供される1つ以上の選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドを含有する組成物（例えば、ワクチン組成物）は、哺乳動物を治療するために、コロナウイルス感染症（例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症）を有するか、又は発症するリスクがある哺乳動物（例えば、ヒト）に投与することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0007】

本明細書に記載のように、選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドは、SARS-CoV-2に対する広範なリコール免疫応答を誘導することができる。ある態様において、本開示は、SARS-CoV-2ポリペプチドに対する広範なリコール免疫応答を誘導することができる選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドを提供する。ある態様において、本開示は、回復期のCOVID-19個体のPBMCからのSARS-CoV-2ポリペプチドに対する広範なリコール免疫応答を誘導することができる選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドを提供する。選択されたSARS-CoV-2ポリペプチドを使用して広範なリコール免疫応答を誘導する能力を有することは、安価であり、素早く產生され得、コールドチェーンをほとんど又はまったく必要とせず、長期の安定性を有し、禁忌に関連しないペプチドベースのワクチンの開発を可能にすることができる。

#### 【0008】

一般に、本開示の一態様は、配列番号1～87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチドを提供する。

#### 【0009】

別の態様において、本開示は、配列番号1～87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチドを含む組成物を提供する。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号13に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号15に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号40に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号9に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号18に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号21に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号14に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号25に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号27に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号44に記載のアミノ酸

配列からなるポリペプチド、及び配列番号 45 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 16 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 28 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 31 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 37 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 24 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 39 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 43 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 10 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 14 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 13 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 25 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 38 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 39 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 34 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 72 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子のうちの 1 つ以上を含むことができる。アジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1 様受容体 4（TLR4）アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、A1T4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I（RIG-I）、脂質ナノ粒子、又は GLA であり得る。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1 様受容体 4（TLR4）アゴニスト（例えば、Mi 10

T 4、E m T 4、A l T 4、L i T 4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、M F 5 9、A S 0 3、A S 0 4、A S 0 3様、A S 0 4様、A S 0 1 B様、G M - C S F、A d d a v a x、A d d a S 0 3、レチノイン酸誘導性遺伝子I (R I G - I)、脂質ナノ粒子(例えば、L I O N)、及びG L Aからなる群から選択される。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、M o n t a n i d e 7 2 0、M o n t a n i d e 5 1)、C p Gオリゴヌクレオチドモチーフ、t o l l様受容体4 (T L R 4)アゴニスト(例えば、M i T 4、E m T 4、A l T 4、L i T 4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、M F 5 9、A S 0 3、A S 0 4、A S 0 3様、A S 0 4様、A S 0 1 B様、G M - C S F、レチノイン酸誘導性遺伝子I (R I G - I)、脂質ナノ粒子(例えば、L I O N)、及びG L Aからなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体 (P L G A) ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子 (V L P) に結合している。ある態様において、V L Pは、バルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される。ある態様において、V L Pは、Q - ベータバクテリオファージから作製される。

#### 【0010】

別の態様において、本開示は、少なくとも2つのポリペプチドを含む組成物であって、少なくとも2つのポリペプチドの各々が、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなるポリペプチドである、組成物を提供する。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号13に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号15に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号40に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号9に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号18に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号21に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号14に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号25に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号27に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号44に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号45に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号16に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号19に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号28に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号31に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号9に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号17に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号24に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号27に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号39に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号43に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号8に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号10に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号11に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号14に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号18に記載のアミノ酸配列からなる

10

20

30

40

50

ポリペプチド、及び配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 13 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 25 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 38 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 39 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 34 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 72 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子を含み得る。組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子のうちの 1 つ以上を含むことができる。アジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpG オリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4 (TLR4) アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、A1T4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG-I)、脂質ナノ粒子、又は GLA であり得る。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpG オリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4 (TLR4) アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、A1T4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG-I)、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及び GLA からなる群から選択される。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpG オリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4 (TLR4) アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、A1T4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子 I (RIG-I)、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及び GLA からなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1 つ以上のウ

10

20

30

40

50

イルス様粒子（VLP）に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子（VLP）に結合している。ある態様において、VLPは、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される。ある態様において、VLPは、Q-ベータバクテリオファージから作製される。

### 【0011】

別の態様において、本開示は、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなるポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を提供する。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号13に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号15に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号40に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号9に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号18に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号21に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号14に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号27に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号44に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号45に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号16に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号19に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号28に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号31に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号9に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号17に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号24に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号27に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号39に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号43に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号8に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号10に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号11に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号14に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号18に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号19に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号13に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号25に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号43に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号53に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号38に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号15に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号39に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号34に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号18に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号68に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号69に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号70に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号71に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号72に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号73に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号74に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号75に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号76に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号77に記載のアミノ酸配列からなるポリペプ

10

20

30

40

50

チド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含み得る。本組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子を含み得る。組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子のうちの 1 つ以上を含むことができる。アジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、完全フロイントアジュバント(CFA)、不完全フロイントアジュバント(IFA)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1 様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子、又はGLA であり得る。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1 様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLA からなる群から選択される。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1 様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLA からなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体(PLGA)ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1 つ以上のウイルス様粒子(VLP)に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1 つ以上のウイルス様粒子(VLP)に結合している。ある態様において、VLP は、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される。ある態様において、VLP は、Q-ベータバクテリオファージから作製される。核酸は、非ウイルスベクターの形態であり得る。非ウイルスベクターは、発現プラスミドであり得る。核酸は、ウイルスベクターの形態であり得る。ウイルスベクターは、アデノウイルスに基づくベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)に基づくベクター、レトロウイルスに基づくベクター、レンチウイルスに基づくベクター、麻疹ウイルスに基づくベクター、水疱性口内炎ウイルスに基づくベクター、及びワクシニアウイルスに基づくベクターであり得る。

#### 【0012】

別の態様において、本開示は、少なくとも 2 つのポリペプチドをコードする核酸であって、少なくとも 2 つのポリペプチドの各々が、配列番号 1 ~ 87 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなるポリペプチドである、核酸を提供する。本組成物は、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 5 に記

10

20

30

40

50



激分子のうちの 1 つ以上を含むことができる。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4（TLR4）アゴニスト（例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I（RIG-I）、脂質ナノ粒子、及び GLA であり得る。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4（TLR4）アゴニスト（例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及び GLA からなる群から選択される。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4（TLR4）アゴニスト（例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子 I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及び GLA からなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体（PLGA）ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1 つ以上のウイルス様粒子（VLP）に結合している。核酸は、非ウイルスベクターの形態であり得る。非ウイルスベクターは、発現プラスミドであり得る。核酸は、ウイルスベクターの形態であり得る。ウイルスベクターは、アデノウイルスに基づくベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）に基づくベクター、レトロウイルスに基づくベクター、レンチウイルスに基づくベクター、麻疹ウイルスに基づくベクター、水疱性口内炎ウイルスに基づくベクター、及びワクシニアウイルスに基づくベクターであり得る。  
。

### 【 0 0 1 3 】

別の態様において、本開示は、哺乳動物においてコロナウイルスに対する免疫応答を増加させるための方法を提供する。本方法は、哺乳動物に、配列番号 1 ~ 87 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又はポリペプチドをコードする核酸、を含む組成物を投与することを含む、又はそれから本質的になることができる。哺乳動物は、ヒトであり得る。コロナウイルスは、SARS-CoV-2 であり得る。本組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子を含み得る。組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子のうちの 1 つ以上を含むことができる。ある態様において、1 つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4（TLR4）アゴニスト（例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子 I（RIG-I）、脂質ナノ粒子、及び GLA からなる群から選択される。ある態様において、アジュバント又は免疫刺激分子

は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、t011様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、t011様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体(PLGA)ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)に結合している。ある態様において、少なくとも2回用量の組成物が投与される。ある態様において、2回用量の組成物が投与される。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)上に提示される。ある態様において、VLPは、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される。ある態様において、VLPは、Q-ベータバクテリオファージから作製される。

#### 【0014】

別の態様において、本開示は、コロナウイルス感染症を発症するリスクがある哺乳動物を治療するための方法を提供する。本方法は、コロナウイルス感染症を発症するリスクのある哺乳動物に、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又はポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を投与することを含む、又はそれから本質的になることができる。哺乳動物は、ヒトであり得る。新型コロナウイルス感染症は、COVID-19であり得る。本組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子を含み得る。組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子のうちの1つ以上を含むことができる。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、完全フロイントアジュバント(CFA)、不完全フロイントアジュバント(IFN)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、t011様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子、及びGLAであり得る。ある態様において、アジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、t011様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MiT4、EmT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、t011様

10

20

30

40

50

受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、M1T4、EMT4、A1T4、L1T4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体(PLGA)ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)に結合している。ある態様において、少なくとも2回用量の組成物が投与される。ある態様において、2回用量の組成物が投与される。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)上に提示される。ある態様において、VLPは、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される。ある態様において、VLPは、Q-ベータバクテリオファージから作製される。

10

【 0 0 1 5 】

別の態様において、本文書は、コロナウイルス感染症を有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、コロナウイルス感染症を有する哺乳動物に、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又はポリペプチドをコードする核酸、を含む組成物を投与することを含む、又はそれから本質的になることができる。哺乳動物は、ヒトであり得る。新型コロナウイルス感染症は、COV1D-19であり得る。本組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子を含み得る。組成物は、アジュバント又は免疫刺激分子のうちの1つ以上を含むことができる。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、AlT4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子、及びGLAであり得る。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、AlT4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、AlT4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体（PLGA）ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子（VLP）に結合している。ある態様において、少なくとも2回用量の組成物が投与される。ある態様において、2回用量の組成物が投与される。ある態様において、ポ

20

30

40

50

リペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子（VLP）上に提示される。ある様において、VLPは、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される。ある様において、VLPは、Q-ベータバクテリオファージから作製される。

【0016】

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が関連する分野の当業者によって通常理解されているものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似又は同等の方法及び材料を使用して本発明を実施することができるが、好適な方法及び材料を以下に記載する。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、それらの全体が参照により組み込まれる。矛盾する場合には、本明細書が、定義を含めて優先される。加えて、材料、方法、及び実施例は、単に例示であり、限定することを意図するものではない。

10

【0017】

本発明の1つ以上の実施形態の詳細は、添付の図面及び以下の説明に明示されている。本発明の他の特徴、目的、及び利点は、説明及び図面、並びに特許請求の範囲から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0018】

本開示の態様は、単なる例として、添付の図面を参照して本明細書に記載されている。ここで、図面を詳細に、具体的に参照すると、示されている詳細は、例としてのものであり、本開示の態様の例示的な論述の目的のためであることが強調される。これに関して、説明及び図面は、単独で、及び一緒に考慮されて、本開示の態様がどのように実践され得るかを当業者に対して明らかにする。

20

【0019】

【図1A-1B】SARS-CoV-2ポリペプチドプール刺激に対するIFN-ELISPOTの応答。

【図2A-2C】個々のSARS-CoV-2ポリペプチドに対するIFN-ELISPOTの応答。

【図3】ペプチドは、動物のハムスターにおいて免疫応答を誘導した。

【図4】ハムスターにおける、異なるアジュバントで製剤化されたペプチドによって誘導される免疫応答。

30

【図5A-5E】IgG ELISAによって測定した、ハムスターにおける異なるペプチドによって誘導される免疫応答。

【図6A-6E】IFN-ELISPOTによって測定した、ハムスターにおける異なるペプチドによって誘導される免疫応答。

【図7】ハムスターにおける異なるペプチドによって誘導される免疫応答の要約。

【図8A-8H】IgG ELISAによって測定した、異なるアジュバントと組み合わせた5つのペプチドによって誘導されるハムスターにおける免疫応答。

40

【図9A-9H】IFN-ELISPOTによって測定した、異なるアジュバントと組み合わせた5つのペプチドによって誘導されるハムスターにおける免疫応答。

【図10A-10I】IgG ELISAによって測定した、CFA/IFA+CpGで製剤化されたペプチドの組み合わせによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図11A-11I】IFN-ELISPOTによって測定した、CFA/IFA+CpGで製剤化されたペプチドの組み合わせによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図12】マウスにおける、異なるペプチドによって誘導される免疫応答の要約。

【図13A-13H】ELISA（図13A、13B、13C、及び13D）、及びIFN-ELISPOT（図13E、13F、13G、及び13H）によって測定した、21日又は28日間隔での2回用量で投与した異なるペプチドによって誘導される、マウスにおける免疫応答。

50

【図14A - 14H】IgG ELISA(図14A、14B、14C、及び14D)、及びIFN-ELISPOT(図14E、14F、14G、及び14H)によって測定した、異なるアジュバントで製剤化された10個のペプチドによって誘導される、マウスにおける免疫応答。

【図15A - 15L】IgG ELISAによって測定した、異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図16A - 16L】IFN-ELISPOTによって測定した、異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図17A - 17B】IgG ELISAによって測定した、異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図18A - 18L】IgG ELISAによって測定した、異なる連続希釈で実施された、異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答の要約。

【図19】中和抗体アッセイ(偽ウイルス微小中和アッセイ)によって測定した、異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図20A - 20D】IgG ELISA(図20A及び20C)及びIFN-ELISPOT(図20B及び20D)によって測定した、ウイルス様粒子(VLP)上に提示される異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図21A - 21D】IgG ELISA(図21A及び21C)及びIFN-ELISPOT(図21B及び21D)によって測定した、ウイルス様粒子(VLP)上に提示される異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図22A - 22D】IgG ELISA(図22A及び22C)及びIFN-ELISPOT(図22B及び22D)によって測定した、ウイルス様粒子(VLP)上に提示される異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図23A - 23D】IgG ELISA(図23A及び23C)及びIFN-ELISPOT(図23B及び23D)によって測定した、ウイルス様粒子(VLP)上に提示される異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図24A - 24D】IgG ELISA(図24A及び24C)及びIFN-ELISPOT(図24B及び24D)によって測定した、ウイルス様粒子(VLP)上に提示される異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図25A - 25D】IgG ELISA(図25A及び25C)及びIFN-ELISPOT(図25B及び25D)によって測定した、ウイルス様粒子(VLP)上に提示される異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図26A - 26D】IgG ELISA(図26A及び26B)及びIFN-ELISPOT(図26C及び26D)によって測定した、ウイルス様粒子(VLP)及び空のVLP上に提示される異なる長鎖ペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図27A - 27H】IgG、ELISA、(図27A、27B、27C、及び27D)及びIFN-ELISPOT(図27E、27F、27G、及び27H)によって測定した、RBDタンパク質あり、なしの、異なるペプチドによって誘導されるマウスにおける免疫応答。

【図28A - 28D】ハムスターにおける、Pfizer mRNAワクチンによって誘導される、ペプチド特異的抗体価(左パネルに示すELISAによって測定)、及びペプチド特異的T細胞応答(右パネルに示すELISPOTによって測定)。

【図29A - 29D】マウスにおける、Pfizer mRNAワクチンによって誘導される、ペプチド特異的抗体価(左パネルに示すELISAによって測定)及びペプチド特異的T細胞応答(右パネルに示すELISPOTによって測定)。

【図30A - 30D】ハムスターにおける、6つの選択された長鎖ペプチドによって誘導される、ペプチド特異的抗体価(左パネルに示すELISAによって測定)、及びペプチド特異的T細胞応答(右パネルに示すELISPOTによって測定)。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

**【 0 0 2 0 】**

この説明は、本開示が実装され得る全ての異なる方法、又は本開示に追加され得る全ての特徴の、詳細な列記であることを意図していない。例えば、一実施形態に関して示される特徴は、他の実施形態に組み込まれ得、特定の実施形態に関して示される特徴は、その実施形態から削除され得る。したがって、本開示は、本開示のいくつかの実施形態において、本明細書に記載の任意の特徴又は特徴の組み合わせを除外又は省略することができる事を企図する。加えて、本明細書に示唆される種々の実施形態に対する多数の変形及び追加は、本開示に照らして当業者には明白であり、本開示から逸脱するものではない。他の例では、不必要に本発明を不明瞭にしないために、周知の構造、インターフェース、及びプロセスは、詳細には示されていない。本明細書のいかなる部分も、本発明の全範囲のいかなる部分の否定ももたらさないと解釈されることを意図している。したがって、以下の説明は、本開示のいくつかの特定の実施形態を示すことを意図しており、その全ての順列、組み合わせ、及び変形を網羅的に指定するものではない。

10

**【 0 0 2 1 】**

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する当該技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書における本開示の説明で使用されている用語は、単に特定の態様又は実施形態を記載する目的のためであり、本開示を制限することを意図していない。

20

**【 0 0 2 2 】**

本明細書で引用されている全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、参照文献が提示されている文及び／又は段落に関する教示について、それらの全体が参照により組み込まれる。本明細書で採用されている技法への言及は、当業者に明らかであろうそれらの技法の変形又は同等の技法の代用を含む、当該技術分野において一般的に理解されている技法を指すことが意図されている。

**【 0 0 2 3 】**

文脈が別途示さない限り、本明細書に記載されている本開示の様々な特徴は、任意の組み合わせで使用することができることが具体的に意図されている。更に、本開示はまた、本開示のいくつかの実施形態では、本明細書に記載の任意の特徴又は特徴の組み合わせを除外又は省略することができることを企図する。

30

**【 0 0 2 4 】**

本明細書に開示されている方法は、記載された方法を達成するための1つ以上のステップ又は実行を含む。方法のステップ及び／又は実行は、本開示の範囲から逸脱することなく互いに交換され得る。言い換えれば、実施形態の適切な動作のために特定の順序のステップ又は実行が必要でない限り、特定のステップ及び／又は実行の順序及び／又は使用は、本開示の範囲から逸脱することなく変更され得る。

**【 0 0 2 5 】**

本開示及び添付の特許請求の範囲の説明で使用される場合、単数形「a」、「a n」、及び「t h e」は、文脈により別途明確に示されない限り、複数形も含むことが意図される。

40

**【 0 0 2 6 】**

本明細書で使用される場合、「及び／又は」は、関連する列挙された項目のうちの1つ以上の任意の及び全ての可能な組み合わせ、並びに代替（「又は」）で解釈される場合の組み合わせの欠如を指し、包含する。

**【 0 0 2 7 】**

本明細書で使用される「約」及び「およそ」という用語は、長さ、頻度、又は持続時間などの測定可能な値を指す場合、指定された量の±20%、±10%、±5%、±1%、±0.5%、又は更には±0.1%の変動を包含することを意味する。

**【 0 0 2 8 】**

本明細書で使用される場合、「XとYとの間」及び「約XとYとの間」などの句は、X及びYを含むと解釈されるべきである。本明細書で使用される場合、「約XとYとの間」

50

などの句は、「約 X と約 Yとの間」を意味し、「約 X から Y」などの句は、「約 X から約 Y」を意味する。

【0029】

本明細書で使用される場合、「例示的な」という用語は、例、事例、又は例示として機能することを意味するために使用される。任意の態様又は「例示的な」として記載された態様は、必ずしも他の態様又は態様よりも好ましい又は有利であると解釈されるべきではなく、当業者に既知の等価な構造及び技術を排除することを意味するものでもない。むしろ、例示的という単語の使用は、概念を具体的な方法で提示することを意図しており、開示される主題は、そのような例によって限定されない。

【0030】

本文書は、選択された SARS-CoV-2 ポリペプチドに関連する方法及び材料を提供する。例えば、本文書は、表 1、表 2、及び表 3 に示される単離されたポリペプチドを提供する。ある場合には、本明細書に提供される選択された SARS-CoV-2 ポリペプチドは、配列番号 1 ~ 87 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチドであり得る。ポリペプチドに関して本明細書で使用される「実質的に純粋な」という用語は、ポリペプチドが、天然に関連する他のポリペプチド、脂質、炭水化物、及び核酸を実質的に含まないことを意味する。このため、実質的に純粋なポリペプチドは、その天然環境から除去され、少なくとも 60 パーセント純粋である任意のポリペプチドである。実質的に純粋なポリペプチドは、少なくとも約 65、70、75、80、85、90、95、又は 99 パーセント純粋であり得る。典型的には、実質的に純粋なポリペプチドは、非還元性ポリアクリルアミドゲル上に单一の主要バンドを生じる。ある場合には、本明細書に提供される実質的に純粋なポリペプチドは、少なくとも約 60、65、70、75、80、85、90、95、又は 99 パーセントの純度を有するように合成されるポリペプチドであり得る。

【0031】

ある場合には、本明細書に提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、HLA クラス I 結合特性を有し得る。

【0032】

ある場合には、本明細書に提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、HLA クラス II 結合特性を有し得る。

【0033】

本明細書に提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、任意の適切な長さであり得る（例えば、任意の数のアミノ酸を含むことができる）。例えば、本明細書に提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、約 7 アミノ酸長 ~ 約 100 アミノ酸（例えば、約 7 ~ 約 80 アミノ酸、約 7 ~ 約 60 アミノ酸、約 7 ~ 約 50 アミノ酸、約 7 ~ 約 40 アミノ酸、約 7 ~ 約 30 アミノ酸、約 7 ~ 約 20 アミノ酸、約 7 ~ 約 15 アミノ酸、約 10 ~ 約 100 アミノ酸、約 20 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 30 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 40 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 50 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 60 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 70 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 80 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 10 ~ 約 80 個のアミノ酸、約 20 ~ 約 70 個のアミノ酸、約 30 ~ 約 60 個のアミノ酸、約 40 ~ 約 50 アミノ酸、約 10 ~ 約 20 アミノ酸、約 20 ~ 約 30 アミノ酸、又は約 30 ~ 約 40 アミノ酸）長であり得る。ある場合には、本明細書に提供される SARS-CoV-2 は、長さが約 8 ~ 約 12 のアミノ酸配列であり得る。例えば、本明細書で提供され、HLA クラス I 結合特性を有する SARS-CoV-2 ポリペプチドは、長さが約 8 ~ 約 12 のアミノ酸配列であり得る。ある場合には、本明細書に提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、長さが約 13 ~ 約 25 のアミノ酸配列であり得る。例えば、本明細書で提供され、HLA クラス II 結合特性を有する SARS-CoV-2 ポリペプチドは、長さが約 13 ~ 約 25 のアミノ酸配列であり得る。

【0034】

ある態様において、本明細書に提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、長さ

10

20

30

40

50

が約35～約45のアミノ酸配列であり得る。ある態様において、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、長さが約38～約42のアミノ酸配列であり得る。ある態様において、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、長さが約39～約41のアミノ酸配列長であり得る。ある態様において、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、長さが約40アミノ酸配列であり得る。

#### 【0035】

本明細書で使用される場合、「長鎖ペプチド」という用語は、30アミノ酸より長いが、50アミノ酸より短いペプチドを指す。理論に拘束されることなく、長鎖ペプチドは、3次元構造のより良い表示を可能にし、より長いペプチド配列内に複数のより小さなエピトープ（B細胞及びT細胞エピトープの両方）を含むことができる。ある態様において、本明細書に提供される長鎖ペプチドは、長さが約35～約45アミノ酸配列であり得る。ある態様において、本明細書に提供される長鎖ペプチドは、長さが約38～約42のアミノ酸配列であり得る。ある態様において、本明細書に提供される長鎖ペプチドは、長さが約39～約41のアミノ酸配列であり得る。ある態様において、本明細書に提供される長鎖ペプチドは、長さが約40個のアミノ酸配列であり得る。

#### 【0036】

本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、任意のSARS-CoV-2ポリペプチドに由来し得る。理論に拘束されることなく、スパイク（S）タンパク質のみに由来するポリペプチドワクチンは、部分的又は全体的に、抗体媒介性免疫を逃れることができる更なるウイルス変異体の開発を可能にし得る。ある場合には、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、構造的SARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、SARS-CoV-2 Sタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）、SARS-CoV-2ヌクレオカプシド（N）タンパク質、及びSARS-CoV-2膜（M）タンパク質などのSARS-CoV-2スパイク（S）タンパク質）に由来し得る。ある場合には、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、非構造的SARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、ORF1abによってコードされるポリペプチド、ORF3aによってコードされるポリペプチド、及びORF9bによってコードされるポリペプチド）に由来し得る。

#### 【0037】

ある場合には、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、表1に記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなることができる。

10

20

30

40

50

## 【表1】

表1. 例示的なSARS-CoV-2ポリペプチド。

配列番号	配列	名称	タンパク質
3 2	S M W S F N P E T	M-1 1	膜
3 4	E S E L V I G A V I L R G H L	M-1 3	膜
1 6	G A V I L R G H L R I A G H H L G R	M-4	膜
2 9	E I T V A T S R T L S Y Y K L	M-8	膜
1 7	T S R T L S Y Y K L G A S Q R V A	M-5	膜
9	R T L S Y Y K L G A S Q R V A	M-1	膜
4 1	S Q R V A G D S G F A A Y S R	M-1 4	膜
1 1	W L L W P V T L A	M-3	膜
3 3	L L W P V T L A C F	M-1 2	膜
1 0	T L A C F V L A A	M-2	膜
3 0	Y R I N W I T G G I A I A M A	M-9	膜
3 1	S Y F I A S F R L F A R T R S	M-1 0	膜
1 5	L S P R W Y F Y Y L G T G P E A G L	N-8	ヌクレオカプシド
1	L G T G P E A G L P Y G A N K D G I I W V A	N-1	ヌクレオカプシド
3 5	T G P E A G L P Y G A N K D	N-1 1	ヌクレオカプシド
2	D Q E L I R Q G T D Y K H W P Q I A Q F A P S	N-2	ヌクレオカプシド
3 9	I R Q G T D Y K H W P Q I A Q F A P S A S A F F G	N-1 5	ヌクレオカプシド
3	S R I G M E V T P S G T W L T	N-3	ヌクレオカプシド
5	M E V T P S G T W L	N-5	ヌクレオカプシド
4 0	V T P S G T W L T Y	N-1 6	ヌクレオカプシド
4	V T P S G T W L T Y T G A I K	N-4	ヌクレオカプシド

10

20

30

40

50

配列番号	配列	名称	タンパク質
6	V T P S G T W L T Y T G A I K L D D K D P N F K	N- 6	ヌクレオカプシド
20	W L T Y T G A I K L	N- 18	ヌクレオカプシド
36	P N F K D Q V I L L	N- 12	ヌクレオカプシド
8	D Q V I L L N K H I D A Y K	N- 7	ヌクレオカプシド
37	L L N K H I D A Y	N- 13	ヌクレオカプシド
38	P Q I Q L A V T R M E N A V G R D	OR F 9 B. 1 * 1 1	ORF 9 B
18	Y F T S D Y Y Q L Y S T Q L S T D T G V	OR F- 3 a	ORF 3
47	V K H V Y Q L R A R S V S P K	OR F 7	ORF 7
7	P K I S E M H P A L R L V D	OR F 9 b	ORF 9 B
21	L V D P Q I Q L	OR F 9 b. 1 * 7	ORF 9 B
22	K L A T T E E L P D E	OR F 9 b. 1 * 8	ORF 9 B
23	T E E L P D E F	OR F 9 b. 1 * 9	ORF 9 B
24	N A V G R D Q N N V G P K V Y P I I L	OR F 9 b. 1 * 1 0	ORF 9 B
28	V V F L H V T Y V	S- 1 2	スパイク

10

20

30

40

50

配列番号	配列	名称	タンパク質
4 6	F I A G L I A I V	S - 1 7	スパイク
4 8	Y S S A N N C T F	S - 1 8	スパイク
4 9	N C T F E Y V S Q P F L M D L	S - 1 9	スパイク
1 2	C T F E Y V S Q P F L M D L E	S - 1	スパイク
5 0	N I T R F Q T L L A L H R S Y	S - 2 0	スパイク
2 7	R F A S V Y A W N R K R I S N	S - 1 1	スパイク
5 1	A S V Y A W N R K R I S N C V A	S - 2 1	スパイク
4 5	K L N D L C F T N V	S - 1 6	スパイク
2 5	F N C Y F P L Q S Y G F Q P T	S - 9	スパイク
4 3	P F F S N V T W F H A I H V S	S - 1 4	スパイク
4 4	S N V T W F H A I H V S G T N	S - 1 5	スパイク
5 2	Q T Q T N S P R R A R S V	S - 2 2	スパイク
1 3	N L L Q Y G S F C T Q L N R	S - 2	スパイク
5 3	R S F I E D L L F N K V T L A	S - 2 3	スパイク
1 9	F I E D L L F N K V	S - 4	スパイク
2 6	L T D E M I A Q Y T S A L L A	S - 1 0	スパイク
1 4	T D E M I A Q Y T S A L L A G	S - 3	スパイク
4 2	V L N D I L S R L	S - 1 3	スパイク

10

20

30

40

## 【 0 0 3 8 】

ある場合には、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、配列識別子の明瞭に表現された配列（例えば、配列番号1）内に0、1、2、又は3個のアミノ酸置換を有し、配列識別子の明瞭に表現された配列（例えば、配列番号1）の前に0、1、2、3、4、又は5個のアミノ酸残基を有し、かつ／又は配列識別子の明瞭に表現された配列（例えば、配列番号1）の後に0、1、2、3、4、又は5個のアミノ酸残基を有する、ポリペプチドであるが、ただし、SARS-CoV-2ポリペプチドは、哺乳動物（例えば、ヒト）内でSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させる

50

能力を有することを条件とする。配列番号 1 ~ 53 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる SARS-CoV-2 ポリペプチドの例を表 2 に示す。

【表 2】

表 2. 例示的な SARS-CoV-2 ポリペプチド。

ポリペプチド配列	配列番号 :
LIEDLLFNKV	54
FVEDLLFNKV	55
FIEDILFNKV	56
FIEDLLFDKV	57
FIEDLLFDRM	58
SKRSFIEDLLFNKV	59
FIEDLLFNKVTLA	60
LLTDEMIAQYTSALLAGTITSG	61
TDGMTAQYASALLAG	62
TDEMIAQYTAALLAG	63
LPPLLTYEMIAQYTSALLSG	64
QGNFGDQE LIRQGTDYKHWPQIAQFAPS	65
DQE LNRQG I NYKHWPQIAQFAPS	66
KDQVFLLNKHVDAYKTFPPPT	67

10

20

30

40

50

【0039】

ある態様において、本明細書で提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、配列番号 1 ~ 87、及びその配列（例えば、配列番号 1）に先行する 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、又は 25 個のアミノ酸残基のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列を含み、先行する配列は、天然に見出される SARS-CoV-2 ペプチド配列に由来し、ただし、SARS-CoV-2 ポリペプチドが、哺乳動物（例えば、ヒト）内で SARS-CoV-2 などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有する。ある態様において、本明細書で提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、配列番号 1 ~ 87、及びその配列（例えば、配列番号 1）に後続する 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、又は 25 個のアミノ酸残基のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列を含み、後続する配列は、天然に見出される SARS-CoV-2 ペプチド配列に由来し、ただし、SARS-CoV-2 ポリペプチドが、哺乳動物（例えば、ヒト）内で SARS-CoV-2 などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有する。ある態様において、本明細書で提供される SARS-CoV-2 ポリペプチドは、天然に見出される SARS-CoV-2 ペプチド配列から、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、又は 25 個のアミノ酸残基によって両端に隣接する配列番号 1 ~ 87 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含み、先行する及び後続するアミノ酸配列は異なる長さを有し、ただし、SARS-CoV-2 ポリペプチドは、哺乳動物（例えば、ヒト）内の SARS-CoV-2 などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有する。

【0040】

クラス I 及びクラス II 分子は、T 細胞媒介性適応免疫にとって重要である。理論に拘束されることなく、HLA クラス I 分子は、長さが約 8 ~ 10 アミノ酸の抗原性ペプチドを認識するが、HLA クラス II 分子は、長さが約 12 ~ 24 アミノ酸の抗原性ペプチドを認識する。本開示のペプチドは、部分的に、約 40 アミノ酸のより長いペプチドが、最

大28アミノ酸の長さのより短いペプチドと同等以上の免疫原性であるという驚くべき結果に基づいている。

【0041】

ある場合には、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドは、表3に記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる。太字で列挙される配列は、より長い配列内に含有される短鎖ペプチド（複数可）に対応する。

【表3】

表3. 例示的なSARS-CoV-2ポリペプチド。

ペプチド名	配列	配列番号:
S-1長	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 <b>L</b> E G K Q G N F K N L R E F V	6 8
S-2長	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	6 9
S-9長	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	7 0
S-14長	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 <b>V</b> S G T N G T K R F D N P V L	7 1
S-15長	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 <b>G</b> T N G T K R F D N P V L P F	7 2
S-21長	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	7 3
ORF9b-1* 11長	I S E M H P A L R L V D P Q I Q L A V T R M E N A V G R D Q N N V G P K V Y P I	7 4
N-8長	K M K D L S P R W Y F Y Y L G T G P E A G L P Y G A N K D G I I W V A T E G A L	7 5
N-15長	N F G D Q E L I R Q G T D Y K H W P Q I A Q F A P S A S A F F G M S R I G M E V	7 6
M-13長	P L H G T I L T R P L L E S E L V I G A V I L R G H L R I A G H H L G R C D I K	7 7
ORF3a長	G V K D C V V L H S Y F T S D Y Y Q L Y S T Q L S T D T G V E H V T F F I Y N K	7 8
M-2長	L Y I I K L I F L W L L W P V T L A C F V L A A V Y R I N W I T G G I A I A M A	7 9
M-8長	H L G R C D I K D L P K E I T V A T S R T L S Y Y K L G A S Q R V A G D S G F A	8 0
M-10長	I A M A C L V G L M W L S Y F I A S F R L F A R T R S M W S F N P E T N I L L N	8 1
N-6長	G M S R I G M E V T P S G T W L T Y T G A I K L D D K D P N F K D Q V I L L N K	8 2
N-13長	I K L D D K D P N F K D Q V I L L N K H I D A Y K T F P P T E P K K D K K K K A	8 3
N重複長	S R I G M E V T P S G T W L T Y T G A I K L D D K D P N F K D Q V I L L N K H I D A Y K	8 4
ORF9b-1* 8長	R K T L N S L E D K A F Q L T P I A V Q M T K L A T T E E L P D E F V V V T V K	8 5
S-22長	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	8 6
S-F長	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	8 7

10

20

30

40

【0042】

本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、配列番号1~87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれか

50

らなる、実質的に純粋なポリペプチド)は、哺乳動物(例えば、ヒト)内でSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有し得る。例えば、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチド)又は本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸(例えば、配列番号1~87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなるポリペプチドをコードする核酸)を哺乳動物(例えば、ヒト)に投与した後、その哺乳動物は、SARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答(例えば、抗体応答及び/又はT細胞応答)を誘導又は増加させることができる。任意の適切な方法を使用して、SARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答の存在を特定することができる。10

#### 【0043】

任意の好適な方法を使用して、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチド)を得ることができる。例えば、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチド)は、目的のSARS-CoV-2ポリペプチドを、SARS-CoV-2ポリペプチドを発現する細胞(例えば、そのSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする外因性核酸から目的のSARS-CoV-2ポリペプチドを発現するように操作された細胞、又はそのウイルスから目的のSARS-CoV-2ポリペプチドを発現するウイルス(例えば、SARS-CoV-2)に感染した細胞)から単離することによって、又は好適なポリペプチド合成技法(例えば、溶液相合成(SPS)、固相ペプチド合成(SPPS)、及び発現タンパク質ライゲーション(EP-L)を使用して、目的のSARS-CoV-2ポリペプチドを合成することによって得ることができる。20

#### 【0044】

ある場合には、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のポリペプチド)を、粒子上に提示することができる。例えば、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のポリペプチド)を、ナノ粒子上に提示することができる。30

#### 【0045】

ある態様において、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のポリペプチド)が、ウイルス様粒子(VLP)上に提示される。理論に拘束されることなく、VLPは、免疫化、治療、及び診断における多様な用途を有する、ウイルスに密接に類似するナノ構造である。VLPは、自己アジュvant特性を有し、その表面上に170を超えるエピトープの非常に反復的な提示を可能にする。増強された抗原提示に加えて、VLPを有するパッキングペプチドは、1回用量当たりに必要なペプチドの量を、パッケージングされていないペプチドの用量の約5%~10%に減少させることができる。VLPはまた、エマルジョンよりも様々な投与経路を介して投与することが容易である。ある態様において、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のポリペプチド)は、限定されないが、パルボウイルス科(例えば、アデノ随伴ウイルス)、レトロウイルス科(例えば、HIV)、フラビウイルス科(例えば、C型肝炎ウイルス)、パラミクソウイルス科(例えば、ニパ)、及びバクテリオファージ(例えば、Q、AP205)を含むウイルスから作製されるウイルス様粒子(VLP)上に提示される。ある40

態様において、本明細書に提供される1つ以上のS A R S - C o V - 2 ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のポリペプチド）は、バクテリオファージQから作製されるウイルス様粒子（V L P）上に提示される。ある態様において、本明細書に提供される1つ以上のS A R S - C o V - 2 ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のポリペプチド）は、乳酸グリコール酸共重合体（P L G A）ナノ粒子上に提示される。ある態様において、V L Pペプチド又はP L G Aペプチドは、1つ以上のアジュバント及び1つ以上の免疫刺激剤とともに製剤化される。V L Pペプチド又はP L G Aペプチドとともに製剤化され得るアジュバント及び1つ以上の免疫刺激分子の例としては、C p Gオリゴヌクレオチドモチーフ、アルミニウム（例えば、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、及びマイクロ流動化アルミニウム塩などのアルミニウム塩）、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、M F 5 9、M F 5 9様、A S 0 3、A S 0 4、A S 0 3様、A S 0 4様、A S 0 1 B様、G M - C S F、及びG L Aが挙げられるが、これらに限定されない。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、M o n t a n i d e 7 2 0、M o n t a n i d e 5 1）、完全フロイントアジュバント（C F A）、不完全フロイントアジュバント（I F A）、C p Gオリゴヌクレオチドモチーフ、t o l 1様受容体4（T L R 4）アゴニスト（例えば、M i T 4、E m T 4、A 1 T 4、L i T 4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、M F 5 9、A S 0 3、A S 0 4、A S 0 3様、A S 0 4様、A S 0 1 B様、G M - C S F、A d d a v a x、A d d a S 0 3、レチノイン酸誘導性遺伝子I（R I G - I）、脂質ナノ粒子、及びG L Aであり得る。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、M o n t a n i d e 7 2 0、M o n t a n i d e 5 1）、C p Gオリゴヌクレオチドモチーフ、t o l 1様受容体4（T L R 4）アゴニスト（例えば、M i T 4、E m T 4、A 1 T 4、L i T 4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、M F 5 9、A S 0 3、A S 0 4、A S 0 3様、A S 0 4様、A S 0 1 B様、G M - C S F、A d d a v a x、A d d a S 0 3、レチノイン酸誘導性遺伝子I（R I G - I）、脂質ナノ粒子（例えば、L I O N）、及びG L Aからなる群から選択される。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、M o n t a n i d e 7 2 0、M o n t a n i d e 5 1）、C p Gオリゴヌクレオチドモチーフ、t o l 1様受容体4（T L R 4）アゴニスト（例えば、M i T 4、E m T 4、A 1 T 4、L i T 4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、M F 5 9、A S 0 3、A S 0 4、A S 0 3様、A S 0 4様、A S 0 1 B様、G M - C S F、レチノイン酸誘導性遺伝子I（R I G - I）、脂質ナノ粒子（例えば、L I O N）、及びG L Aからなる群から選択される。ある態様において、本明細書に開示されるポリペプチドは、乳酸グリコール酸共重合体（P L G A）ナノ粒子に結合している。ある態様において、ポリペプチドは、1つ以上のウイルス様粒子（V L P）に結合している。ある態様において、V L P - ペプチドは、A l u m及びC p Gで製剤化される。ある態様において、V L P - ペプチドは、M o n t a n i d e 5 1及びC p G又はG L Aとともに製剤化される。

#### 【 0 0 4 6 】

本文書はまた、本明細書に提供される1つ以上のS A R S - C o V - 2 ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のポリペプチド）をコードする核酸を提供する。例えば、本文書は、S A R S - C o V - 2 ポリペプチドが細胞内で発現され得るような様式で、本明細書に提供される1つ以上のS A R S - C o V - 2 ポリペプチド（例えば、配列番

10

20

30

40

50

号 1 ~ 8 7 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上のポリペプチド) をコードする核酸を含むベクター( 例えは、プラスミド及びウイルスベクター) を提供する。

#### 【 0 0 4 7 】

本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチドをコードする核酸を含むベクター( 例えは、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上のポリペプチド) が非ウイルスベクターである場合、任意の好適な非ウイルスベクターを使用することができる。ある場合には、非ウイルスベクターは、発現プラスミド( 例えは、c D N A 発現ベクター) であり得る。

10

#### 【 0 0 4 8 】

本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチドをコードする核酸を含むベクター( 例えは、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上のポリペプチド) がウイルスベクターである場合、任意の好適なウイルスベクターを使用することができる。ウイルスベクターは、プラス鎖ウイルス又はマイナス鎖ウイルスに由来し得る。ウイルスベクターは、一本鎖ゲノムを有するウイルス又は二本鎖ゲノムを有するウイルスに由来し得る。ウイルスベクターは、D N A ゲノム又はR N A ゲノムを有するウイルスに由来し得る。ある場合には、ウイルスベクターは、キメラウイルスベクターであり得る。ある場合には、ウイルスベクターは、分裂細胞に感染し得る。ある場合には、ウイルスベクターは、非分裂細胞に感染し得る。本明細書に提供される S A R S - C o V - 2 ポリペプチド( 例えは、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなるポリペプチド) をコードする核酸を含むことができるウイルスベースのベクターの例としては、限定されないが、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス( A A V )、レトロウイルス、レンチウイルス、麻疹ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、及びワクシニアウイルスに基づくウイルスベースベクターが挙げられる。

20

#### 【 0 0 4 9 】

本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド( 例えは、配列番号 1 ~ 8 7 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上のポリペプチド) をコードする核酸に加えて、ベクター( 例えは、プラスミド又はウイルスベクター) は、本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチドをコードする核酸に動作可能に連結された 1 つ以上の調節エレメントを含有し得る。そのような調節エレメントは、プロモーター配列、エンハンサー配列、応答エレメント、シグナルペプチド、内部リボソームエントリー配列、ポリアデニル化シグナル、ターミネーター、及び核酸の発現( 例えは、転写又は翻訳) を調節する誘導エレメントを含むことができる。ベクターに含まれ得る調節エレメントの選択は、非限定的に、誘導性、標的化、及び所望の発現レベルを含む、いくつかの要因に依存する。例えは、本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド( 例えは、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなるポリペプチド) をコードする核酸の転写を促進するために、プロモーターをベクターに含めることができる。プロモーターは、天然に存在するプロモーター又は組換えプロモーターであり得る。プロモーターは、構成的又は誘導性( 例えは、テトラサイクリンの存在下で) であり得、一般的又は細胞 / 組織特異的な様式でポリペプチドをコードする核酸の発現に影響を与えることができる。本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド( 例えは、配列番号 1 ~ 8 7 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなるポリペプチド) の細胞内での発現を駆動するために使用することができるプロモーターの例としては、非限定的に、C M V プロモーター、E F 1 a プロモーター、S V 4 0 プロモーター、P G K 1 プロモーター、U b c プロモーター、T R E プロモーター、及びC A G プロモーターが挙げられる。本明細書で使用される場合、「動作可能に連結された」とは、コードされたポリペプチド

30

40

50

の発現を可能にするか、又は容易にするような方法で、ポリペプチドをコードする核酸に対するベクター内の調節エレメントの位置決めを指す。例えば、ベクターは、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードするプロモーター及び核酸を含有することができる。この場合、プロモーターは、細胞内のSARS-CoV-2ポリペプチドの発現を駆動するように、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸に動作可能に連結される。

#### 【0050】

本文書はまた、1つ以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれ以上）の、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチド、及び／又は1つ以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれ以上）の、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を提供する。例えば、本明細書に提供される組成物は、表1に示されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上（又はそれらのSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）を含み得る。例えば、本明細書に提供される組成物は、表2に示されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上（又はそれらのSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）を含み得る。例えば、本明細書に提供される組成物は、表3に示されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上（又はそれらのSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）を含み得る。

10

20

30

40

50

#### 【0051】

ある場合には、本明細書に提供される組成物は、少なくとも2つ（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれ以上）の本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチド、及び／又は少なくとも2つ（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれ以上）の、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドを含む。例えば、本明細書に提供される組成物は、表1に示されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの少なくとも2つ（又はそれらのSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）を含み得る。例えば、本明細書に提供される組成物は、表2に示されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの少なくとも2つ（又はそれらのSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）を含み得る。例えば、本明細書に提供される組成物は、表3に示されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの少なくとも2つ（又はそれらのSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）を含み得る。ある態様において、本明細書に提供される組成物は、表1、2、及び3に示されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの少なくとも2つを含み得る。本明細書に提供される組成物を作製するために使用することができるポリペプチドの他の特定の組み合わせの例としては、限定することなく、表4に示されるものが挙げられる。

## 【表4】

表4. ポリペプチド（又はそれらのポリペプチドをコードする核酸）の例示的な組み合わせ。

組成物番号	ポリペプチド（又はそれらのポリペプチドをコードする核酸）の組み合わせ
1	配列番号1+配列番号5+配列番号15+配列番号37+配列番号40+配列番号13
2	配列番号1+配列番号9+配列番号12+配列番号18+配列番号21+配列番号46
3	配列番号12+配列番号14+配列番号25+配列番号27+配列番号44+配列番号45
4	配列番号3+配列番号37+配列番号19+配列番号28+配列番号16+配列番号31
5	配列番号9+配列番号17+配列番号2+配列番号39+配列番号24+配列番号27+配列番号43
6	配列番号1+配列番号2+配列番号8+配列番号10+配列番号11+配列番号14+配列番号18+配列番号19
7	配列番号12+配列番号13+配列番号25+配列番号43+配列番号53+配列番号38+配列番号15+配列番号39+配列番号34+配列番号18
8	配列番号68+配列番号69+配列番号70+配列番号71+配列番号72+配列番号73+配列番号74+配列番号75+配列番号76+配列番号77+配列番号78+配列番号79+配列番号80+配列番号81+配列番号82+配列番号83+配列番号84+配列番号85+配列番号86+配列番号87
9	配列番号68+配列番号69+配列番号70+配列番号71+配列番号73+配列番号74+配列番号75+配列番号76+配列番号77+配列番号78
10	配列番号68+配列番号69+配列番号70+配列番号71+配列番号73+配列番号74+配列番号75+配列番号76+配列番号77+配列番号78+配列番号79+配列番号80+配列番号81+配列番号82+配列番号83+配列番号84+配列番号85+配列番号86+配列番号87
20	
30	

## 【0052】

任意の適切な方法を使用して、本明細書に提供される組成物（例えば、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上及び/又は提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上をコードする核酸を含む組成物）を製剤化することができる。例えば、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（及び/又はかかる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）は、薬学的に許容される担体及び/又は薬学的賦形剤と組み合わせることができる。「薬学的に許容される」という用語は、概して、毒性のない、不活性な、及び/又は生理的に適合性のある化合物を指す。「薬学的賦形剤」という用語は、担体、pH調整剤及び緩衝剤、浸透圧調整剤、湿潤剤、着色剤、及び防腐剤などの材料を含む。

## 【0053】

ある場合には、本明細書に提供される組成物（例えば、本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上及び/又は本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上をコードする核酸を含む組成物）は、ワクチン組成物であり得る。例えば、配列番号1~87に示される1つ以上のポリペプチドを含有する組成物は、哺乳動物（例えば、ヒト）に使用するためのポリペプチドベースのワクチ

10

20

30

40

50

ンに製剤化することができる。任意の適切な方法を使用して、他の場所に記載されているようなポリペプチドベースのワクチンを製剤化することができる (Belyakov et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 95: 1709 - 1714 (1998)、Jackson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 101: 15440 - 15445 (2004)、Ruckwardt et al., Lancet Respir Med., S2213 - 2600 (21) 00098 - 9 (2021))。ある場合には、本明細書に提供されるワクチン組成物は、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド）及び/又は本明細書に提供されるSARS-CoV-2ポリペプチドのうちの1つ以上をコードする核酸（例えば、配列番号1～87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）を、1つ以上のアジュバント及び/又は1つ以上の免疫刺激分子と組み合わせて含み得る。本明細書に提供されるワクチン組成物内に含まれ得るアジュバント及び1つ以上の免疫刺激分子の例としては、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、アルミニウム（例えば、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、及びマイクロ流動化アルミニウム塩などのアルミニウム塩）、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、MF59様、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、及びGLAが挙げられるが、これらに限定されない。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、本明細書に提供されるワクチン組成物とともに製剤化することができ、限定はされないが、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、AlT4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAを含む。当業者は、当該技術分野で既知のアジュバント又は免疫刺激分子から好適なアジュバント又は免疫刺激分子を同定することができる。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、モンタニド720、モンタニド51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、AlT4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MiT4、EmT4、AlT4、LiT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAからなる群から選択される。ある態様において、1つ以上のアジュバント又は免疫刺激分子は、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、CpGオリゴヌクレオチ

10

20

30

40

50

ドモチーフ、t o l 1 様受容体 4 ( T L R 4 ) アゴニスト ( 例えば、M i T 4 、E m T 4 、A 1 T 4 、L i T 4 ) 、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A 、アルミニウムホスフィレート、M F 5 9 、A S 0 3 、A S 0 4 、A S 0 3 様、A S 0 4 様、A S 0 1 B 様、G M - C S F 、レチノイン酸誘導性遺伝子 I ( R I G - I ) 、脂質ナノ粒子 ( 例えば、L I O N ) 、及び G L A からなる群から選択される。ある場合には、本明細書に提供されるワクチン組成物内に含まれるアジュバント又は免疫刺激分子は、非天然 ( 例えば、人工 ) のアジュバント又は免疫刺激分子であり得る。ある場合には、本明細書に提供されるワクチン組成物は、本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド ( 例えば、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上のポリペプチド ) 及び / 又は本明細書に提供される S A R S - C o V - 2 ポリペプチドのうちの 1 つ以上をコードする核酸 ( 例えば、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチドをコードする核酸 ) 、1 つ以上のアジュバント及び / 又は 1 つ以上の免疫刺激分子、並びに 1 つ以上の薬学的に許容される担体及び / 又は薬学的賦形剤を含み得る。

10

20

30

40

50

#### 【 0 0 5 4 】

ある場合には、本明細書に提供されるワクチン組成物は、哺乳動物 ( 例えば、ヒト ) 内でコロナウイルスファミリーの複数のメンバーに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有する多価ワクチン組成物であり得る。例えば、本明細書に提供されるワクチン組成物は、S A R S - C o V - 2 、2 2 9 E 、N L 6 3 、O C 4 3 、H K U 1 、中東呼吸器症候群 ( M E R S ) - C o V 、重症急性呼吸器症候群 ( S A R S ) - C o V 、又はそれらの任意の組み合わせに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有し得る。ある場合には、本明細書に提供されるワクチン組成物は、S A R S - C o V - 2 の 1 つ以上の系統、分岐、変異体、又は株に対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有する多価ワクチン組成物として使用することができる。例えば、本明細書に提供されるワクチン組成物は、B . 1 . 1 . 7 、B . 1 . 3 5 1 、P . 1 、P . 2 、B . 1 . 4 2 7 、B . 1 . 4 2 9 、B . 1 . 6 1 7 、B . 1 . 5 2 5 、B . 1 . 5 2 6 、B . 1 . 6 1 7 . 1 、B . 1 . 6 1 7 . 3 、B . 1 . 6 2 1 、B . 1 . 6 2 1 . 1 、B . 1 . 1 . 5 2 9 、B A . 1 、B A . 1 . 1 、B A . 2 、B A . 2 . 1 2 、B A . 2 . 1 2 . 1 、B A . 3 、B A . 4 、B A . 5 、X D 、X E 、X F 、又はそれらの任意の組み合わせに対する免疫応答を誘導又は増加させる能力を有し得る。ある態様において、本開示によって提供されるワクチン組成物は、将来特定されるコロナウイルス変異体、又は既存の変異体の変異体若しくは組換え体に対する免疫応答を誘導又は増加させ得る。

#### 【 0 0 5 5 】

本文書はまた、哺乳動物 ( 例えば、ヒト ) 内でコロナウイルス感染症 ( 例えば、C O V I D - 1 9 などの S A R S - C o V - 2 感染症 ) に対する免疫応答を増加させるための方法を提供する。例えば、本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド ( 例えば、配列番号 1 ~ 8 7 のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド ) 及び / 又は本明細書に提供される S A R S - C o V - 2 ポリペプチドのうちの 1 つ以上をコードする核酸 ( 例えば、配列番号 1 ~ 8 7 のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチドをコードする核酸 ) は、哺乳動物 ( 例えば、ヒト ) に投与されて、哺乳動物内のコロナウイルス感染症 ( 例えば、C O V I D - 1 9 などの S A R S - C o V - 2 感染症 ) に対する免疫応答を誘導又は増加させることができる。例えば、本明細書に提供される 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド ( 例えば、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる 1 つ以上の S A R S - C o V - 2 ポリペプチド ) 及び / 又は本明細書に提供される S A R S - C o V - 2 ポリペプチドのうちの 1 つ以上をコードする核酸 ( 例えば、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれかに記載のアミ

ノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)は、コロナウイルス感染症(例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症)を有するか、又は発症するリスクがある哺乳動物(例えば、ヒト)に投与されて、その哺乳動物を治療することができる。

#### 【0056】

本明細書で使用される場合、「治療する」又は「治療」という用語は、有益又は所望の臨床結果を得るためのアプローチである。ある態様において、「治療する」又は「治療」という用語は、SARS-CoV-2感染症(例えば、COVID-19感染症)の1つ以上の症状、特徴及び原因の部分的又は完全に緩和、改善、軽減、阻害、発症の遅延、重症度の低減、及び/又は発生率の低減を行う、本明細書に開示されるSARS-CoV-2ポリペプチドを投与することを意味する。「治療する」又は「治療」という用語は、SARS-CoV-2感染症の症状、合併症、又は生化学的指標の発症を予防又は遅延させ、症状を緩和するか、又はSARS-CoV-2感染症の更なる発達を阻止又は阻害するために、本明細書に開示されるSARS-CoV-2ポリペプチドを投与することを含む。治療は、予防的(SARS-CoV-2感染症の発症を予防若しくは遅延させるため、又はその臨床的若しくは非臨床的症状の発現を予防するため)、又はSARS-CoV-2感染症の発現後の症状の治療的抑制若しくは緩和であり得る。

#### 【0057】

任意の好適な哺乳動物に、その哺乳動物を治療するために、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド)及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸(例えば、配列番号1~87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を投与することができる。本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を投与することができる哺乳動物の例としては、ヒト、非ヒト霊長類(例えば、サル又は類人猿)、ウマ、イヌ、ネコ、ウシ種、ブタ、ヒツジ、マウス、ラット、ハムスター、コウモリ、キツネ、ヤギ、ミンク、及びシカが挙げられるが、これらに限定されない。ある場合には、コロナウイルス感染症(例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症)を有するか、又は発症するリスクがあると特定されたヒトに、そのヒトを治療するために、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を投与することができる。ある態様において、コロナウイルス感染症(例えば、COVID-19のようなSARS-CoV-2感染症)からの重篤な病気を有するか、又は発症するリスクがあると特定されたヒトは、そのヒトを治療するために、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を投与され得る。ある態様において、免疫不全と同定されたヒトは、そのヒトを治療するために、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を投与され得る。ある態様において、臓器移植レシピエントとして特定されたヒトは、そのヒトを治療するために、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を投与され得る。ある態様において、糖尿病であるヒトは、そのヒトを治療するために、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を投与され得る。

#### 【0058】

ある場合には、本明細書に記載の方法は、コロナウイルス感染症(例えば、COVID-19)

- 19などのSARS-CoV-2感染症)に対する免疫応答の誘導又は増加を必要とする哺乳動物(例えば、ヒト)を特定することを含むことができる。ある態様において、コロナウイルス感染症(例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症)を有するか又は有する疑いのある1人以上のヒトと最近(例えば、1~2週間以内に)接触したと特定されたヒトは、SARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答の誘導又は増加を必要とすると特定され得、本明細書に提供されるワクチン組成物が投与され得る。ある態様において、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)又は急速抗原試験によってSARS-CoV-2感染症が陽性であることが試験されたヒトが、SARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する誘導又は免疫応答の増加を必要とするとして特定され、本明細書に提供されるワクチン組成物が投与され得る。

10

#### 【0059】

ある場合には、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド)及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸(例えば、配列番号1~87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)を使用して、哺乳動物(例えば、ヒト)内でSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導又は増加させることができる。例えば、本明細書に提供されるワクチン組成物は、それを必要とする哺乳動物(例えば、ヒト)(例えば、COVID-19を有するか、又は発症するリスクがある哺乳動物などのコロナウイルス感染症(例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症)に対する免疫応答を誘導又は増加させる必要がある哺乳動物)に、SARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答(例えば、抗体応答及び/又はT細胞応答)を誘導又は増加させるために投与され得る。ある場合には、哺乳動物(例えば、ヒト)内のSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答は、液性抗体応答であり得る。ある場合には、哺乳動物(例えば、ヒト)内のSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答は、細胞免疫応答であり得る。哺乳動物(例えば、ヒト)内でSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答が細胞免疫応答である場合、免疫応答は、Tヘルパー1型(TH1)細胞媒介応答、TH2細胞媒介応答、又はそれらの組み合わせであり得る。哺乳動物(例えば、ヒト)内でSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答が細胞免疫応答である場合、免疫応答は、任意の適切なT細胞(例えば、CD4<sup>+</sup>T細胞及びCD8<sup>+</sup>T細胞)を含むことができる。

20

#### 【0060】

ある態様において、SARS-CoV-2を含むが、これに限定されない、コロナウイルスに対する免疫応答の誘導又は増加(又は減少)は、免疫アッセイによって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)によるIFN- $\gamma$ の定量化によって測定される。例示的なELISAキットは、販売業者、例えば、Thermo Fisher ScientificのImmulation 4 HBXで市販されており、製造業者の指示に従って実施することができる。ある態様において、免疫応答の増加は、ELISPOTアッセイによるサイトカイン産生(例えば、IFN- $\gamma$ )の定量化によって測定される。例示的なELISPOTキットは、ベンダー、例えば、BD Biosciences(BD ELISPOTアッセイ)から市販されており、製造業者の指示に従って実施することができる。ある態様において、免疫応答の増加は、IgGの定量化によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、IgMの定量化によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、総結合抗体又は中和抗体の定量化によって測定される(微小中和アッセイ又はブラーク還元アッセイによって測定される)。ある態様において、免疫応答の増加は、化学発光イムノアッセイ(CLIA)によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、電気化

30

40

50

学発光イムノアッセイ (ECLIA) によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、蛍光マイクロスフィアイムノアッセイ (FIMA) によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、化学発光微粒子免疫測定法 (CMA) によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、酵素結合蛍光アッセイ (ELFA) によって測定される。ある態様において、免疫応答の増加は、既知の陰性対照及び陽性対照と比較して定量化される。いくつかのアッセイは、較正された標準 (例えば、WHO国際標準 - 定義された量のSARS-CoV-2抗体及びSARS-CoV-2に対する定義された中和活性を有するプールされた参考血清) と比較して定量化される。定量化方法の例は、文献、例えば、M. Wadhwa & Robin Thorpe, "Harmonization and standardization of immunogenicity assessment of biotherapeutic products," *Bioanalysis*, 11 (17) : 1593-1604 (2019) に見出すことができる。ある態様において、免疫応答の増加は、ワクチン接種前の患者の免疫状態と比較して定量化される。

#### 【0061】

ある場合には、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド (及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸) を使用して、コロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) を発症するリスクがある哺乳動物内で、コロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) の1つ以上の症状の発症を遅延又は防止することができる。例えば、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド (及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸) は、それを必要とする哺乳動物 (例えば、ヒト) (例えば、新型コロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19を有するか、又は発症するリスクがある哺乳動物など (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) コロナウイルス感染症に対する免疫応答の誘導又は増加を必要とする哺乳動物) に投与でき、哺乳動物におけるコロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) の1つ以上の症状の発症を遅延又は予防することができる。コロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) の症状には、発熱、悪寒、咳、息切れ、呼吸困難、倦怠感、筋肉痛、体の痛み、頭痛、味覚喪失、嗅覚喪失、喉の痛み、鬱血、鼻水、吐き気、嘔吐、下痢、胸部の持続的な痛み又は圧力、動脈性血栓、静脈性血栓、及び呼吸不全が含まれるが、これらに限定されない。例えば、本明細書に記載される材料及び方法を使用して、コロナウイルス感染症を発症するリスクがある哺乳動物 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) 内で、コロナウイルス感染症の1つ以上の症状 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) の発症を、例えば、10、20、30、40、50、60、70、80、90、95、又はそれ以上のパーセントで遅延させることができる。

#### 【0062】

ある場合には、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド (及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸) を使用して、コロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) を有する哺乳動物内に存在するコロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) の1つ以上の症状の持続期間及び/又は重症度を低減することができる。例えば、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド (及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸) を、それを必要としている哺乳動物 (例えば、ヒト) (例えば、COVID-19を有するか、又はそれを発症するリスクがある哺乳動物などの、コロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-2感染症) に対する免疫応答の誘導又は増加を必要としている哺乳動物) に投与して、哺乳動物内でコロナウイルス感染症 (例えば、COVID-19などのSARS-CoV-

10

20

30

40

50

2感染症)の1つ以上の症状(例えば、COV1D-19などのSARS-CoV-2感染症)の持続期間及び/又は重症度を低減することができる。コロナウイルス感染症(例えば、COV1D-19などのSARS-CoV-2感染症)の症状には、発熱、悪寒、咳、息切れ、呼吸困難、倦怠感、筋肉痛、体の痛み、頭痛、味覚喪失、嗅覚喪失、喉の痛み、鬱血、鼻水、吐き気、嘔吐、下痢、胸部の持続的な痛み又は圧力、動脈性血栓、静脈性血栓、及び呼吸不全が含まれるが、これらに限定されない。例えば、本明細書に記載の方法及び材料は、コロナウイルス感染症(例えば、COV1D-19などのSARS-CoV-2感染症)を有する哺乳動物内に存在するコロナウイルス感染症(例えば、COV1D-19などのSARS-CoV-2感染症)の1つ以上の症状の1つ以上の症状の持続期間及び/又は重症度を、例えば、10、20、30、40、50、60、70、80、90、95、又はそれ以上のパーセントで低減するために使用することができる。  
10

#### 【0063】

本明細書に提供される組成物(例えば、ワクチン組成物)を哺乳動物(例えば、ヒト)に投与する場合、任意の適切な投与経路を使用することができる。ある態様において、本明細書に提供される組成物(例えば、ワクチン組成物)は、哺乳動物(例えば、ヒト)に、筋肉内に(例えば、筋肉内注射を介して)、皮下に(例えば、皮下注射を介して)、経口で、鼻腔内に、経皮的に、又は吸入を介して投与することができる。ある場合には、本明細書に提供される組成物(例えば、ワクチン組成物)の経路及び/又は投与様式は、治療される哺乳動物に対して調整することができる。ある態様において、本明細書に提供される組成物(例えば、ワクチン組成物)の異なる用量を、同じ投与経路によって哺乳動物に投与する。ある態様において、本明細書に提供される組成物(例えば、ワクチン組成物)の異なる用量を、異なる投与経路によって哺乳動物に投与する。例えば、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド)の第1の用量は、第2の用量が鼻腔内に投与される間、皮下に投与されてもよい。  
20

#### 【0064】

ある場合には、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド)及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸(例えば、配列番号1~87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)の有効量は、哺乳動物(例えば、ヒト)内で、哺乳動物に対する重大な毒性を生ずることがないSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導する、又は増加させる量であり得る。有効量は、一定のままにすることができるか、又は処置に対する哺乳動物の応答に応じて、変動スケール又は可変用量として調整することができる。理論に拘束されることなく、様々な要因が特定の用途に使用される実際の有効量に影響を与える可能性がある。例えば、そのような感染症を有する哺乳動物を治療するときのSARS-CoV-2ウイルス感染症(例えば、COV1D-19)の重症度、投与経路、哺乳動物の年齢及び全身健康状態、賦形剤の使用、他の薬剤(例えば、レムデシビル(例えば、VEKLUHY(登録商標))、ガリデシビル、及び/又はファビピラビル(例えば、AVIGAN(登録商標))等の抗ウイルス剤の使用、並びに回復期血漿経路及び/又はヒト血漿由来産物療法等の抗体に基づく治療等)の使用などの他の治療的又は予防的治療との併用の可能性、並びに治療医者の判断は、投与される本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(及び/又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸)の実際の有効量の増加又は減少を必要とし得る。  
40

#### 【0065】

ある態様において、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチ

10

20

30

40

50

ド（例えば、配列番号1～87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド）の有効量は、約0.1μg、0.2μg、0.3μg、0.4μg、0.5μg、0.6μg、0.7μg、0.8μg、0.9μg、0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.8mg、0.9mg、1.0mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、又は10mgである。

【0066】

ある場合には、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド）及び／又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸（例えば、配列番号1～87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）の投与の有効頻度は、哺乳動物（例えば、ヒト）内で、重大な毒性を哺乳動物に生じさせない、哺乳動物に対するSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導する、又は増加させる頻度であり得る。例えば、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（及び／又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）の有効な投与頻度は、約1～約3回の投与であり得る。本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（及び／又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）の投与頻度は、処置の期間中、一定のままであり得るか、又は可変であり得る。様々な要因が、特定の用途に使用される実際の有効頻度に影響を与える可能性がある。例えば、そのような感染症を有する哺乳動物を治療するときのSARS-CoV-2ウイルス感染症（例えば、COVID-19）の重症度、投与経路、哺乳動物の年齢及び全身健康状態、賦形剤の使用、他の薬剤の使用等の他の治療的又は予防的治療との併用の可能性（例えば、レムデシビル（例えば、VEKLUKY（登録商標））、ガリデシビル、及び／又はファビピラビル（例えば、AVIGAN（登録商標））等の抗ウイルス剤、並びに回復期ヒト血漿療法及び／又はヒト血漿由来産物療法等の抗体に基づく治療）、並びに治療医者の判断は、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（及び／又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）の投与の実際の有効頻度を増加又は減少させ得る。

【0067】

ある場合には、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド）及び／又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸（例えば、配列番号1～87のうちのいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）の投与の有効期間は、哺乳動物（例えば、ヒト）内で、有害な重大な毒性を生じない、哺乳動物に対するSARS-CoV-2などのコロナウイルスに対する免疫応答を誘導する、又は増加させる期間であり得る。例えば、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（及び／又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）の投与の有効期間は、単一の投与時点から数週間（例えば、2、3、又は4週間）乃至数ヶ月（例えば、2又は3ヶ月）まで変化し得る。複数の要因が、特定の用途に使用される実際の有効期間に影響を与える可能性がある。例えば、そのような感染症を有する哺乳動物を治療するときのSARS-CoV-2ウイルス感染（例えば、COVID-19）の重症度、投与経路、哺乳動物の年齢及び全身健康状態、賦形剤の使用、他の薬剤の使用等の他の治療的又は予防的治療との併用の可能性（例えば、レムデシビル（例えば、VEKLUKY（登録商標））、ガリデシビル、及び／又はファビピラビル（例えば、AVIGAN（登録商標））等の抗ウイルス剤、並び

10

20

30

40

50

に回復期ヒト血漿療法及び／又はヒト血漿由来産物療法等の抗体に基づく治療）、並びに治療医者の判断は、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（及び／又は本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチドをコードする核酸）の投与の実際の有効期間を増加又は減少させ得る。

#### 【0068】

ある場合には、哺乳動物（例えば、ヒト）に第1の用量を投与することができる。次いで、約14日～1年後に、哺乳動物に第2の用量を投与することができる。ある態様において、第2の用量は、第1の用量の約14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日、40日、50日、60日、70日、80日、90日、100日、110日、120日、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、又は12ヶ月後に投与される。ある場合には、これを3回又は4回繰り返すことができる。ある態様においては、哺乳動物に、前回の用量の約14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日、40日、50日、60日、70日、80日、90日、100日、110日、120日、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、又は12ヶ月後に別の用量を投与する。ある態様においては、哺乳動物に、合計2回用量、3回用量、4回用量、5回用量、6回用量、7回用量、8回用量、9回用量、又は10回用量が投与される。ある場合には、このワクチン接種から十分な時間（例えば、8ヶ月、1年、又はそれ以上）が経過し、哺乳動物に誘導される免疫応答が有効よりも少ないと判定された場合、哺乳動物に、同じワクチン組成物、又は異なるポリペプチド若しくはポリペプチドのセット（及び／又は異なるポリペプチド若しくはポリペプチドのセットをコードする核酸）を有するワクチン組成物を用いて、別のラウンドのワクチン接種を投与することができる。ある態様においては、例えば、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、12ヶ月、18ヶ月、又は24ヶ月の固定期間後に、哺乳動物は、以前の用量のワクチン組成物と同じ用量で投与され、又は以前の用量とは異なるポリペプチド、又はポリペプチドのセット（及び／又は異なるポリペプチド又はポリペプチドのセットをコードする核酸）のワクチン組成物で投与される。ある態様において、哺乳動物は、SARS-CoV-2に対する免疫応答が減少したと判定された後、以前の用量と同じワクチン組成物、又は以前の用量とは異なるポリペプチド若しくはポリペプチドのセット（及び／又は異なるポリペプチド若しくはポリペプチドのセットをコードする核酸）を有するワクチン組成物の用量が投与される。

#### 【0069】

ある態様において、哺乳動物（例えば、ヒト）は、哺乳動物がSARS-CoV-2のための異なるワクチンを受けた後、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド）の用量を投与される。ある態様において、哺乳動物（例えば、ヒト）に、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド）の用量が投与され、哺乳動物は、以前にSARS-CoV-2に対する異なるワクチンを受けていない。SARS-CoV-2に対する他のワクチンの例としては、Pfizer-BioNTech COMIRNATY、及びModerna Spikevaxが挙げられるが、これらに限定されない。ある態様において、哺乳動物（例えば、ヒト）は、本明細書に提供される1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド）の用量を、哺乳動物がSARS-CoV-2のための別のワクチンを投与される前に投与される。

10

20

30

40

50

**【 0 0 7 0 】**

本文書はまた、1つ以上の（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれ以上の）本明細書に提供されるS A R S - C o V - 2 ポリペプチド（例えば、配列番号1～87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上の実質的に純粋なポリペプチド）及び／又は本明細書に提供される1つ以上のS A R S - C o V - 2 ポリペプチドをコードする核酸（例えば、配列番号1～87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のS A R S - C o V - 2 ポリペプチドをコードする核酸）を含むキットを提供する。例えば、本明細書に提供されるキットは、表1、2、3、及び4に示されるポリペプチドのうちの1つ以上を含み得る。ある態様において、本明細書に提供されるキットはまた、S A R S - C o V - 2 感染症の診断に使用することができる。ある態様において、本明細書に提供されるキットはまた、本明細書に提供される、又は他のものによって提供されるC O V I D - 1 9 ワクチンに対する免疫応答を監視するために使用され得る。

10

**【 0 0 7 1 】**

本発明について、特許請求の範囲に記載された本発明の範囲を限定しない以下の実施例に更に記載する。

**【 実施例 】****【 0 0 7 2 】**

実施例1：ペプチドベースのS A R S - C o V - 2 ワクチン

20

この実施例は、免疫原性S A R S - C o V - 2 由来のポリペプチドの同定を説明する。

**【 0 0 7 3 】****方法****質量分析によるポリペプチドの同定**

ヒト細胞株（C a c o - 2、A 5 4 9、及びT H P - 1など）は、生のS A R S - C o V - 2 ウイルス（W u h a n / W a s h i n g t o n U S A / W A 1 - F 6 株）に感染する。強力チオノ交換（S C X）クロマトグラフィーを使用して、天然に処理され、H L A が提示されたS A R S - C o V - 2 由来のポリペプチドを同定し、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析（L C - M S / M S）により分析する。

30

**【 0 0 7 4 】**

同定されたペプチド配列は、表1に示されるとおりである。同定されたポリペプチドは、S A R S - C o V - 2 構造（S / R B D、N、及びM、n = 2 2 ポリペプチド）及び非構造ウイルスタンパク質（O R F 1 a b、O R F 3 a、及びO R F 9 b、n = 6 ポリペプチド）の両方を含む。

**【 0 0 7 5 】**

同定されたポリペプチドは、H L A クラスI及びクラスIIの高いポリペプチド結合特性（I C 5 0）を有する。H L A クラスI結合特性を有するポリペプチドは、長さ8～12のアミノ酸配列である。H L A クラスII結合特性を有するポリペプチドは、長さ13～25のアミノ酸配列である。

40

**【 0 0 7 6 】**

免疫情報学的アプローチは、他の場所に記載されるように、S A R S - C o V - 2 プロテオーム中のB細胞及びT細胞エピトープの同定に使用される（例えば、C r o o k e e t a l . , S c i . R e p . , 1 0 ( 1 ) : 1 4 1 7 9 ( 2 0 2 0 ) を参照されたい）。

**【 0 0 7 7 】****S A R S - C o V - 2 T 細胞エピトープの予測**

H L A クラスI及びクラスIIペプチドエピトープの予測は、W u h a n - H u - 1 単離体について報告された10個のタンパク質配列：E（G e n B a n k 受託番号：Q H D 4 3 4 1 8）、M（Q H D 4 3 4 1 9）、N（Q H D 4 3 4 2 3）、S（Q H D 4 3 4 1 6）、O R F 3 a（Q H D 4 3 4 1 7）、O R F 6（Q H D 4 3 4 2 0）、O R F 7 a（

50

QHD43421)、ORF8 (QHD43422)、ORF10 (QHI42199)、ORF1ab (QHD43415)で実行され、他に記されている方法を使用してSARS-CoV-2タンパク質配列の分析に応用された(例えば、Grifoni et al., Cell Host Microbe, 8; 27 (4): 671-680.e2 (2020)、及びSrivastava et al., bioRxiv, 2020.04.01.019299を参照されたい)。

#### 【0078】

##### SARS-CoV-2 B細胞エピトープの予測及び構造モデリング

線形B細胞エピトープ予測を、BepiPred 1.0アルゴリズムを使用して、3つの曝露されたSARS-CoV-2構造タンパク質: S (GenBank受託番号: QHD43416)、M (QHD43419)、及びE (QHD43418)について実施する。エピトープ確率スコアを、0.35の閾値(>0.75の特異性及び0.5未満の感度に対応する)を使用して、各アミノ酸残基について計算し、長さが5アミノ酸残基以上のエピトープのみを更に分析する。SARS-CoV-2 S タンパク質の構造は、タンパク質データバンク (PDB ID: 6VSB) からアクセスされる。S タンパク質構造に対する不連続(すなわち、構造的)B細胞エピトープ予測は、スコア閾値が-7.7より大きい(>0.75の特異性及び0.5未満の感度に対応する)Discotope 1.1を使用して行う。主なタンパク質構造は、PyMOL (Schrodinger, LLC)でモデル化され、BepiPred 1.0及びDiscotope 1.1の両方によって同定された予測B細胞エピトープを球体として強調表示する。

10

20

20

#### 【0079】

##### ヒト対象由来の細胞を用いたIFN-ELISPOTアッセイ

製造業者の説明書に従って、BD (BD Biosciences, San Jose, CA) のヒトIFN-ELISPOTキットを使用して、SARS-CoV-2感染症を有することが以前に確認されている28人のCOVID-19回復期にあるヒトドナーからの末梢血単核細胞 (PBMC) を使用して、抗原特異的IFN-産生細胞を測定した。

30

40

#### 【0080】

ペプチドプールに対するIFN-応答に関する実験については、以下のプロトコルを使用する。凍結したPBMCを、確立された実験室手順に従って解凍し、抗ヒトIFN-抗体でコーティングされた96ウェルBD (商標) ELISPOTプレート中に、 $2 \times 10^5$ 細胞/ウェルで播種する。細胞を次の条件のうちの1つで処理する: 非刺激/陰性対照状態のための5%FBSペニシリン/ストレプトマイシン (CM) を含む RPMI培養培地; プールされたSARS-CoV-2ペプチド(各個々のペプチドの最終濃度 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ )又は全スパイクS1、RBD及びヌクレオカプシドタンパク質(最終濃度 $1.25 \mu\text{g}/\text{mL}$ )。 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ の植物血凝集素 (PHA) を陽性対照として使用する。列挙した各条件で刺激した試料を4連で試験する。細胞を $37^\circ\text{C}$ 、 $5\% \text{CO}_2$ で18~20時間インキュベートする。プレートを現像し、BD (商標) ヒトIFN-ELISPOTキットを使用して免疫応答を定量化する。全てのプレートを、ImmunoSpot (登録商標) 5.1 Professionalソフトウェアを使用して、ImmunoSpot (登録商標) S6 Macro Analyzer (Cellular Technology Ltd., Cleveland, OH, USA) 上の同じ走査及び計数パラメータを使用して、走査及び分析する。ペプチドプールは、(i) 平均スポットカウント [刺激 - 非刺激] > 4.99、(ii) 倍率変化 [非刺激と比較した刺激] > 1.99、及び(iii) t検定 p 値 < 0.05 の全てが満たされている場合、陽性みなす。

40

#### 【0081】

個々のペプチド刺激に対するIFN-応答に関する実験については、以下のプロトコルを使用する。PBMCを、抗ヒトIFN-抗体でコーティングした96ウェルのBD (商標) ELISPOTプレート中に、 $2 \times 10^5$ 細胞/ウェルで播種する。細胞を、以

50

下の条件のうちの 1 つで 4 重に処理する : C M ( 非刺激 / 陰性対照 ) 、又は  $10 \mu g / mL$  の最終濃度の個々の S A R S - C o V - 2 ペプチド。 P H A (  $5 \mu g / mL$  ) を陽性対照として使用する。細胞を 37 、 5 % C O <sub>2</sub> で 18 ~ 20 時間インキュベートする。プレートを現像し、 B D ( 商標 ) H I T I F N - g E L I S P O T キットを使用して免疫応答を定量化する。全てのプレートを、 I mmuno S pot ( 登録商標 ) 5.1 Professional Software を使用して、 I mmuno S pot ( 登録商標 ) S 6 Macro Analyzer ( C ellular T echnology L t d . 、 C leveland , O H , U S A ) 上の同じ走査及び計数パラメータを使用して、走査及び分析する。個々のペプチドは、 ( i ) 平均スポットカウント [ 刺激 - 非刺激 ] > 9.99 、 ( ii ) 倍率変化 [ 非刺激と比較した刺激 ] > 1.99 、及び ( iii ) t 検定 p 値 < 0.05 の全てが満たされている場合、陽性とみなす。 10

#### 【 0082 】

##### 結果

C O V I D - 19 回復期ドナーからの P B M C を使用したペプチドプール刺激に対する I F N - 応答

自然に処理された、及びインシリコで予測された H L A I 及び I I S A R S - C o V - 2 ペプチドは、質量分析及び結合親和性予測アルゴリズムを通して、並びに構造 ( S 、 N 、 M 、 E ) タンパク質から重複する 15 m er のペプチドを生成することによって同定される。合計 397 個のペプチドが最初に同定される。これらの 397 ペプチドは、 95 ペプチドの 3 セット ( セット # 1 、 2 、及び 4 ) 、及び 111 ペプチドの 1 セット ( セット # 3 ) にグループ化される。ペプチドの各セットは、上で記載されたのと同じ I F N - E L I S P O T アッセイプロトコルを使用して更に分析される。 20

#### 【 0083 】

セット # 1 については、 95 個のペプチドを、 5 個の個々のペプチドを各々含有する 19 個のプールに割り当てる。代表的な結果を図 1 A ~ B に示す。図 1 A は、回復期の対象からの血漿に対するペプチドプールの代表的な E L I S P O T 応答を示す。例えば、図 1 B は、対象 30 のプール 1 ~ 19 に対する I F N - E L I S P O T 応答を示し、ペプチドプール 4 及び 15 からの陽性応答を示す。陽性ペプチドプールを、個々のペプチドレベルで更に分析する。応答者の数 ( 少なくとも 2 人の対象における 3 / 3 の基準 ) 、並びに ( T 細胞応答の大きさを反映した ) 200,000 個の P B M C 当たりのスポット形成単位 ( S F U ) に基づいて、セット # 1 からの 6 つのプール ( # 2 、 4 、 8 、 15 、 16 、 19 ) を、更なる個々のペプチド試験のために選択する。同様に、セット # 2 から 16 個のペプチドプール、セット # 3 から 16 個のペプチドプール、及びセット # 4 から 12 個のペプチドプールを選択する。 30

#### 【 0084 】

##### 個々のペプチド刺激に対するヒト I F N - 応答

個々のペプチドを用いた対象の試験を実施する。代表的な結果を図 2 A ~ C に示す。図 2 A ~ C は、それぞれ、対象 17 、 30 、及び 52 からの回復期血漿由来の個々のペプチドに対する代表的な I F N - E L I S P O T 応答を示す。

#### 【 0085 】

セット # 1 からの合計 8 つのペプチド、セット # 2 からの 12 個のペプチド、セット # 3 からの 7 つのペプチド、及びセット # 4 からの 7 つのペプチドが、回復期の C O V I D - 19 患者からの P B M C においてリコール免疫応答を示し、更なる試験のために選択される。選択はまた、最大感度のためのより厳格でない選択基準を採用することによって拡大され、少なくとも 1 人の回復期の対象における陽性応答のための 3 つの基準を満たす全てのペプチドを含む。これにより、 18 個の追加のペプチドが含まれ、ゴールデンシリアルハムスターにおける大規模合成及び更なる試験のために選択される合計 53 個のペプチド ( 表 1 、配列番号 1 ~ 53 ) が得られる。 40

#### 【 0086 】

ゴールデンシリアルハムスター由来の細胞を用いた I F N - E L I S P O T アッセイ 50

6 匹のハムスターを、完全フロイントアジュvant ( C F A ) 及び  $100 \mu\text{g}$  の C p G を含有するエマルジョン中の  $20 \mu\text{g}$  の各ペプチドで免疫化する。4 週間後、各動物は、不完全フロイントアジュvant ( I F A ) 及び  $100 \mu\text{g}$  の C p G を含有するエマルジョン中の  $20 \mu\text{g}$  の各ペプチドによるブースター免疫を受ける。ゴールデンシリアハムスターの採取した脾臓及びリンパ節から単離した細胞 ( $2 \times 10^5$ ) を、第 2 のブースター免疫化の 14 日後 ( すなわち、最初の免疫化の 28 日後 ) に、抗ハムスター I F N - 抗体 ( $0.5 \text{ mg} / \text{ml}$  濃度のモノクローナル抗体 M T H 2 1 、 M a b t e c h , I n c . C i n c i n n a t i , O H ) でコーティングした 96 ウェルのポリフッ化ビニリデン ( P V D F ) 裏打ち E L I S P O T プレート ( M i l l i p o r e ) に播種する。細胞を次の条件のうちの 1 つで処理する :  $10\% \text{ F B S}$  、  $0.1 \text{ mM}$  の非必須アミノ酸、  $0.5 \text{ mM}$  のピルビン酸ナトリウム、  $0.05 \text{ mM}$  の 2 - メルカプトエタノール及びベニシリン / ストレプトマイシン ( 非刺激 / 陰性対照 ) ;  $10 \mu\text{g} / \text{ml}$  の最終濃度の個々の S A R S - C o V - 2 ペプチド、又は  $1.25 \mu\text{g} / \text{ml}$  のスパイク S 1 及びヌクレオカプシドタンパク質を含む R P M I 培地。コンカナバリン A ( C o n A ) ( $2 \mu\text{g} / \text{ml}$ ) 又はフィトヘマグルチン ( P H A ) ( $2 \mu\text{g} / \text{ml}$ ) を陽性対照として使用する。各条件で刺激した試料を 4 連で試験する。細胞を  $37^\circ\text{C}$  、  $5\% \text{ CO}_2$  で  $18 \sim 20$  時間インキュベートする。プレートを現像し、ハムスター I F N - E L I S p o t B A S I C キット ( M a b t e c h , I n c . C i n c i n n a t i , O H ) を使用して免疫応答を定量化する。全てのプレートを、 I m m u n o S p o t ( 登録商標 ) 5 . 1 P r o f e s s i o n a l ソフトウェアを使用して、 I m m u n o S p o t ( 登録商標 ) S 6 M a c r o A n a l y z e r ( C e l l u l a r T e c h n o l o g y L t d . , C l e v e l a n d , O H , U S A ) 上の同じカウントパラメータを使用して、走査及び分析する。ペプチドは、平均スポットカウント [ 刺激 - 非刺激 ]  $> 9.99$  、倍率変化 [ 非刺激と比較した刺激 ]  $> 1.99$  、及び t 検定 p 値  $< 0.05$  の場合、陽性とみなす。結果を図 3 に示す。

#### 【 0 0 8 7 】

#### 実施例 2 : ハムスターでの S A R S - C o V - 2 ワクチン接種

ハムスターは、感染の臨床疾患及び病理学的特徴がヒト C O V I D - 1 9 患者に見られるものと密接に似ているという事実のために、 S A R S - C o V - 2 感染症を研究するために選択された動物モデルである。第一に、ハムスター A C E 2 は S A R S - C o V - 2 と良好に相互作用するため、ハムスター細胞は天然に感染しやすく、動物へのウイルス適応又はヒト A C E 2 のトランスジェニック発現を必要としない。第二に、ハムスターにおける重度の肺損傷は、感染後に生じ、肺の病理学の程度は、ヒトの疾患と同様に、感染用量に関連付けられる。第三に、ハムスターの肺の異常には、ヒトの疾患に見られるものと同様の、重篤な、両側の、多葉性のグランドガラスの不透明度及び肺の強化領域が含まれる。第四に、以前に感染したハムスターは再チャレンジに耐性があり、保護は抗体価と相關する。ヒト C O V I D - 1 9 回復期患者にも同様の保護が存在すると考えられている。第五に、感染時に、ハムスターは、炎症性サイトカインの分泌の増加を示す。最後に、肺外炎症は、腎臓、肝臓、及び心臓で観察される。

#### 【 0 0 8 8 】

S A R S - C o V - 2 に関しては、マウス細胞は天然に感染しにくいため、様々なモデルが開発されている。最も一般的なモデルには、ヒト A C E を発現する遺伝子改変マウス、マウス適応 S A R S - C o V - 2 の使用、アデノウイルス又はアデノ関連ウイルスを使用したマウス気道への h A C E の一時的な形質導入が含まれる。しかしながら、これらのアプローチの各々には限界があり、チャレンジ研究は典型的には重篤な疾患及び死亡をもたらす。

#### 【 0 0 8 9 】

#### アジュvant の選択

初期実験は、シリアンゴールデンハムスターにおける様々なアジュvantをスクリーニングするために実行される。まず、表 5 に示すように、選択された 20 個のペプチド ( O

10

20

30

40

50

R F - 9 b、O R F - 3 a、S 1 - S 4、N 1 - N 8、及びM 1 - M 5) を異なるアジュバントで製剤化する。試験したアジュバントのうち、完全フロイントアジュバント (C F A) とC p Gとの組み合わせは、明らかに、堅牢なペプチド特異的抗体応答を誘導する (図4)。他のアジュバントの組み合わせは、限界抗体応答を誘導するか、又は抗体応答を誘導しない。したがって、このC F A + C p Gの組み合わせは、ペプチドの免疫原性を評価するための更なる実験のために選択される。

【表5】

表5：アジュバントスクリーニングに使用されるアジュバントのリスト

アジュバント	特性
C F A	<ul style="list-style-type: none"> <li>・完全フロイントのアジュバント</li> <li>・非代謝性オイル中の熱殺傷結核菌とトレハロース6, 6'ジミコレート (T D M) とで構成されている</li> <li>・T L R 2、T L R 4、T L R 9のM i n c 1 e リガンド (C型レクチン受容体) を刺激する</li> </ul>
C p G	<ul style="list-style-type: none"> <li>・クラスC C p G合成オリゴヌクレオチド (OD N 2 3 9 5)</li> <li>・ヒト/マウスT L R 9のリガンド</li> <li>・T h 1応答を誘導する</li> </ul>
M i T 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>・懸濁ミセル中のT L R 4アゴニスト</li> <li>・ヒト/マウスT L R 4のリガンド</li> </ul>
E m T 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水中油型エマルジョン中のT L R 4アゴニスト</li> <li>・ヒト/マウスT L R 4のリガンド</li> </ul>
A 1 T 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化アルミニウム (ミョウバン) 粒子に吸着されたT L R 4アゴニスト</li> <li>・T L R 4のリガンド</li> <li>・T h 2応答を誘導する</li> </ul>
L i T 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>・リポソーム中のT L R 4アゴニスト</li> <li>・ヒト/マウスT L R 4のリガンド</li> </ul>
ミョウバン	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化アルミニウムゲル2%</li> <li>・T h 2応答を誘導する</li> </ul>
G M - C S F	<ul style="list-style-type: none"> <li>・顆粒球マクロファージコロニー刺激因子</li> <li>・顆粒球、マクロファージの発達を刺激する</li> <li>・炎症を誘導する</li> </ul>

10

20

30

40

50

【0090】

ハムスター免疫化：

雌のゴールデンシリアルハムスター (C h a r l e s R i v e r L a b o r a t o r i e s, W i l m i n g t o n, M A) は、投与間隔が14日間の2回用量レジメンで免疫化される。2回目の用量から2週間後、ハムスターは安樂死される。ハムスターの血液を心臓穿刺によって採取し、血清を施設内の間接E L I S A法によるペプチド特異的抗体の定量のために調製する。脾臓及び流入領域リンパ節は、I F N - E L I S P O T 及び他のアッセイの細胞源として機能する。別段の記載がない限り、油中水エマルジョンは皮下投与され、他の全てのアジュバント製剤は筋肉内投与される。

【0091】

E L I S Aによって判定される、ハムスターにおけるスクリーニングされたペプチドの免疫原性。

合計52個のペプチドが、免疫原性について試験される。これらのペプチドは、図5A ~ Eに示すように5つの群に分けられ、図4に示すようにC F A及びC p Gを用いて製剤化される。個々のペプチド又はペプチドプールに対するハムスター血清標本における抗体

応答を、ELISAによって定量する。

【0092】

簡潔に述べると、ELISA用のImmulation 4 HBX 96 ウエルプレートは、Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA) から入手する。プレートを、コーティング緩衝液 (50 mMの炭酸ナトリウム、pH 9.6) 中のペプチドプール又は個々のペプチドのいずれかの1 µg / ウエルで4で一晩コーティングする。コーティング緩衝液を除去した後、プレートをPBS中の2% BSAで室温で1時間ブロックし、続いてPBS中の0.5% Tweenで3回洗浄する (PBST)。血清をPBS中で1:200希釈し、各ウェルに添加し、プレートを室温で2時間インキュベートする。インキュベーション後、プレートをPBSTで3回洗浄する。二次抗体をHRPとコンジュゲートし、PBS中に1:10,000希釈でIISを添加する。プレートを室温で1時間インキュベートする。PBSTで3回洗浄した後、TMB E-100ペルオキシダーゼ基質 (Rockland Immunochemicals, Inc., Limerick, PA) を添加し、続いて室温で30分間インキュベーションする。最後に、2MのH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を添加することによって、酵素反応を停止させる。Spectramax (登録商標) ABS Plusマイクロプレートリーダー (Molecular Devices, San Jose, CA) 及びSoftMax (登録商標) 7 Pro Softwareを使用して、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を添加した後15分以内に、450 nm (OD 450) の光学密度を読み取る。

【0093】

各ハムスター中のペプチド特異的抗体を4連ウェルで定量し、平均応答を図5A~Eに示した。破線は、陽性応答を定義するための閾値、すなわち3の信号対雑音比を表す。図5A~Eに示されるように、スクリーニングされたペプチドの多くは、免疫化されたハムスターにおいて様々な大きさのペプチド特異的抗体応答の生成を誘導する。

【0094】

選択されたペプチドのペプチド特異的抗体価 (ELISAによって測定される) 及びT細胞応答 (IFN-ELISpotによって測定される) の概要を図7に示す。

【0095】

IFN-ELISpotによって判定されるスクリーニングされたペプチドの免疫原性合計52個のペプチドが、免疫原性について試験される。これらのペプチドは、図6A~Eに示すように5つの群に分けられ、図4に示すようにCFA及びCPGを用いて製剤化される。個々のペプチド又はペプチドプールに対するハムスター血清標本における抗体応答を、IFN-ELISpotアッセイによって定量する。

【0096】

簡潔に述べると、Mabtech (商標) ハムスター特異的IFN-ELISpotアッセイは、ヒトPBM試験 (実施例1) について上述したものと同様に実施される。PBMの代わりに、単一細胞懸濁液を、免疫化動物の脾臓及び流入領域リンパ節から作製する。コンカナバリンA (ConA) (10 µg / mL) は、ハムスター細胞ベースのアッセイにおいて陽性対照として良好に機能することが示されているため、PHAの代わりに陽性対照 (刺激状態) として使用される。細胞培養培地を、非刺激 ('unstim') 条件として使用する。残りの条件 (細胞 / ウェル、インキュベーション時間、抗原濃度) は、実施例1で上記に報告されたものと同一である。

【0097】

結果を図6A~Eに示し、選択されたペプチドの多くがハムスターにおいて免疫原性であり、様々な大きさのT細胞応答を誘発することを実証する。これらの免疫原性実験に基づいて、更なる試験のために5つの例示的なペプチド (M2、M3、N7、S3、及びRF-3a) を選択する。

【0098】

IgG ELISA及びIFN-ELISpotによって判定される、異なるアジュバントを有する選択されたペプチドの免疫原性の更なる試験

10

20

30

40

50

5つの例示的なペプチドは、異なるアジュバントを有する製剤におけるそれらの免疫原性について試験される（表6）。方法は、この実施例で上記の前の2つのセクションで説明されているとおりである。

【表6】

表6：5つの例示的なペプチドを試験するために使用されるアジュバントのリスト

アジュバント	特性	
Addavax + CpG	<ul style="list-style-type: none"> <li>MF 59に類似した配合物を有するスクワレン系水中油型ナノエマルジョン</li> <li>Th 1及びTh 2の両方の応答を誘導する</li> <li>APCを活性化し、マクロファージ及び顆粒球によるサイトカイン、ケモカイン産生を刺激する</li> <li>Th 1応答を誘導するTLR 9アゴニスト</li> </ul>	10
AddAS03 + CpG	<ul style="list-style-type: none"> <li>アジュバントシステムAS03に類似した製剤を有する水中油型ナノエマルジョン</li> <li>2つの生分解性オイルとポリソルベート80で構成されている</li> <li>NF-kB依存性先天性免疫応答を誘発する</li> <li>Th 1応答を誘導するTLR 9アゴニスト</li> </ul>	
Montanine 51 + CpG	<ul style="list-style-type: none"> <li>水中油エマルジョン</li> <li>マンニドモノオレエート界面活性剤とミネラルオイルで構成されている</li> <li>Th 1応答を誘導する</li> <li>Th 1応答を誘導するTLR 9アゴニスト</li> </ul>	20
Montanine 72 0 + CpG	<ul style="list-style-type: none"> <li>油中水エマルジョン</li> <li>天然の代謝非ミネラルオイルで構成されている</li> <li>Th 1応答を誘導する</li> <li>Th 1応答を誘導するTLR 9アゴニスト</li> </ul>	
RIG-I + ミョウバン	<ul style="list-style-type: none"> <li>レチノイン酸誘導性遺伝子I</li> <li>1型インターフェロン応答を誘導する</li> <li>Th 2応答を誘導する水酸化アルミニウムゲル2%</li> </ul>	30
RIG-1 + LION	<ul style="list-style-type: none"> <li>レチノイン酸誘導性遺伝子I</li> <li>1型インターフェロン応答を誘導する</li> <li>脂質無機ナノ粒子</li> </ul>	
RIG-1 + Addavax	<ul style="list-style-type: none"> <li>1型インターフェロン応答を誘導するレチノイン酸誘導性遺伝子Iアゴニスト</li> <li>MF 59に類似した配合物を有するスクワレン系水中油型ナノエマルジョン</li> <li>Th 1及びTh 2の両方の応答を誘導する</li> <li>APCを活性化し、サイトカイン、ケモカイン産生、マクロファージ及び顆粒球によるケモカイン産生を刺激する</li> </ul>	40
CpG + LION	<ul style="list-style-type: none"> <li>Th 1応答性酸誘導遺伝子Iを誘導するTLR 9アゴニスト</li> <li>脂質無機ナノ粒子</li> </ul>	

## 【0099】

結果は、図8A～H (IgG E LISA) 及び9A～H (IFN-ELISPOT) に示される。図8A～H及び図9A～Hに示すように、試験したアジュバントの組み合わせは、様々なレベルの免疫原性を示し、油中水エマルジョン（例えば、CFA及びMontanine）はより強いアジュバント活性を示し、水中油エマルジョン（例えば、Addavax、AddAS03、及びEMT4）がそれに続いた。TLR及びRLRアゴ

ニスト（例えば、CpG、PolyI : C、T4、RIG-Iアゴニスト）は、可変であったが、概して、観察された免疫応答に正の影響を有した。それにもかかわらず、複数のアジュvantにわたって保持される明確な免疫優位パターンが存在する。いくつかのT細胞エピトープは、堅牢な抗体応答を誘導するように見えるが、他のものは、堅牢なT細胞応答を誘導し、いくつかのペプチドは、抗体及びT細胞応答の両方を誘導する。

#### 【0100】

実施例3：マウスにおけるSARS-CoV-2に対するワクチン接種

方法：

5匹のマウス群の雄C57BL/6Jマウス（Jackson Laboratory、Bar Harbor, ME）を、ワクチン用量間隔が14日、21日又は28日の2回用量レジメンで皮下又は筋肉内免疫化する。各マウスは、単一のペプチド、選択されたペプチドのプール、又は異なるアジュvant及び/又は送達系で製剤化された組換えタンパク質を受け取る。マウスは、2回目の投与の14日後に安樂死させる。マウス血液は、心臓穿刺によって安樂死させたマウスから採取され、血清は、4℃で15分間3000×gで遠心分離することによって調製され、その後、更なる分析のために-80℃で保存される。流入領域リンパ節及び脾臓を採取し、IFN-ELISPOTアッセイのために単一細胞リンパ球懸濁液を調製する。

#### 【0101】

CpG及びCFAと組み合わせたペプチドのプールスクリーニング

CpG及びCFA（IFAは、推奨されるようにブーストワクチン接種のために使用される）をアジュvantした52個のペプチド（M9を除き、表1に列挙される）を用いて、マウスを、直前に詳述された方法セクションに記載されるように免疫化する。以下の表7に要約されるように、52個のペプチドは、5つの6個の群（MA1～MA6）に分けられる。群MA1～MA6は、SARS-CoV-2からのスパイク（S）、ヌクレオカプシド（N）、膜（M）及びオープンリーディングフレーム（ORF）タンパク質からのペプチドを含む、9～10個のペプチドの組み合わせで皮下免疫化される。群MA7、MA8、及びMA9を対照群として指定し、それぞれCpG+CFA/IFAのみ、Sタンパク質（20μg）、及びNタンパク質（20μg）で免疫化する。

10

20

30

40

50

## 【表7】

表7：マウスにおける52の例示的なペプチドのスクリーニング

群	ペプチド (各 100 μg)	アジュバント	経路
MA 1	M1、M2、N1、N2、N3、ORF3a、S1、S2、S3	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 2	M3、M4、N4、N5、N6、ORF7、S4、S9、S10	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 3	M5、N18、N7、N8、N11、ORF9b、S11、S12、S13	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 4	M8、M10、N12、N13、ORF9b. 1*7、ORF9b. 1*8、S14、S15、S16	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 5	M11、M12、ORF9b. 1*11、N15、ORF9b. 1*9、S17、S18、S19	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 6	M13、N16、M14、ORF9b. 1*10、S20、S21、S22、S23	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 7	ペプチドなし	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 8	スパイク (S) タンパク質 (20 μg)	CFA/IFA+ CpG	s. c.
MA 9	ヌクレオカプシド (N) タンパク質 (20 μg)	CFA/IFA+ CpG	s. c.

## 【0102】

マウスにおけるペプチドスクリーニングの結果は、図10A～I (ELISAによって測定される抗体価)、図11A～I (IFN-ELISPOTによって測定されるT細胞応答)に示される。図12に示すように、12個のペプチドがマウスにおいて検出可能な抗体応答を誘発し、7個のペプチドがT細胞応答を誘発した。これらのペプチドのうちの3つは、抗体及びT細胞応答の両方を誘発する。これらのペプチドのうちの12個は、ハムスターにおいても免疫原性である。

## 【0103】

ハムスター及びマウスの両方における免疫応答 (IFN- 及び抗体ELISA応答を組み合わせたもの) の大きさに基づいて、10個のペプチドのセット (S1、S2、S9、S14、S21、ORF9b. 1\*11、N8、N15、M13、ORF3a) を、異なるアジュバントを用いた後続実験及び長鎖化されたペプチド研究のために選択する。

## 【0104】

以下の表8は、マウス及びハムスターにおけるトップ10の免疫原性ペプチドを示す。ペプチドは、IFN-ELISPOT及び抗体ELISAアッセイによってそれぞれ測定した、任意の抗体単位 (a.u.) における応答の大きさ及びスポット形成単位 (SFU / 200,000 細胞) のカウントに基づいてランク付けされる。

10

20

30

40

50

## 【表8】

表8：マウス及びハムスターにおける免疫応答を有するペプチド

マウス		ハムスター	
ELISA	ELISPOT	ELISA	ELISPOT
ORF3a	M13	S1	N15
M13	S15	N7	M8
ORF9b.1 *11	S22	ORF3a	S10
N8	M8	S9	ORF3a
S21	N15	N8	S19
M10	S2	N15	S3
M2	S16	S19	N7
N15	N2	ORF9b.1 *11	S13
S2	S3	M13	ORF9b.1 *11
N6	S12	N6	S23

10

20

## 【0105】

## 実施例4：マウスにおける投与間隔の比較

第1のワクチン用量と第2のワクチン用量との間の間隔を変えることが、マウスにおけるCFA/IFA+CpGと組み合わせたペプチド又はタンパク質に対する免疫応答を増強するかどうかを試験するために実験を行う。

## 【0106】

## 方法：

マウスを5つの4個の群（以下の表9のように、MB1～MB4）に分割する。群MB1は、CpG+CFAと組み合わせた10個の選択されたペプチド（20μg）でプライミングされ、21日後に同じCpG+IFAペプチド製剤でブーストされる。群MB2は、用量間の28日の間隔で同一の製剤で免疫化する。群MB3及び群MB4は、それぞれ21日間隔及び28日間隔で、CFA/IFA+CpGと組み合わせたSARS-CoV-2Sタンパク質でプライムブーストされる。実施例2及び3に記載されるように、IFN-ELISPOT及び抗体ELISAを使用して免疫原性を評価する。

30

## 【表9】

表9. マウスにおける21日用量間隔と28日用量間隔でのペプチドの比較

群	ペプチド（各20μg）	アジュバント	経路	投与間隔
MB1	S1、S2、S9、S14、S21、ORF9b.1*11、N8、N15、M13、ORF3a	CFA/IFA+CpG	s.c.	21日間
MB2	S1、S2、S9、S14、S21、ORF9b.1*11、N8、N15、M13、ORF3a	CFA/IFA+CpG	s.c.	28日間
MB3	スパイク（S）タンパク質	CFA/IFA+CpG	s.c.	21日間
MC4	スパイク（S）タンパク質	CFA/IFA+CpG	s.c.	28日間

40

## 【0107】

50

結果を図13に示す。図13の上部パネルは、ELISAによって測定された抗体価を示し、図13の下部パネルは、21日又は28日の用量間隔で2回与えられた10個のペプチド又はスパイクタンパク質のいずれかによって誘導されたIFN-ELISPOTによって測定されたT細胞応答を示す。結果は、プライム免疫化とブースト免疫化との間の28日間の間隔が、マウスにおけるペプチドに対する有意で堅牢な免疫応答を誘発することを示す。

#### 【0108】

実施例5：マウスにおける異なるアジュバントを有するペプチドの比較

実験は、マウスにおける最強の免疫応答を誘発するペプチド-アジュバントの組み合わせを同定するために行われる。

10

#### 【0109】

方法：

マウスを5つの4個の群(MC1～MC4)に分け、28日間隔で、異なるアジュバント及びTLR4アゴニストGLAと組み合わせた10個のペプチドの配合物(表10)を2回用量で、皮下(s.c.)経路を介して免疫化する。群MC1は、油中水型エマルジョンMontanide51+GLAと組み合わせたペプチドで免疫化され、群MC2は、10個のペプチド+Alum+GLAを投与され、群MC3は、10個のペプチド+EmT4+GLAを受け、群MC4は、10個のペプチド+スクワレン系水中油型エマルジョンAddavax+GLAで免疫化される。第2の用量の14日後にマウスを安樂死させ、実施例2及び3に記載されるように、IFN-ELISPOT及び抗体ELISAを使用して免疫応答を評価する。

20

#### 【表10】

表10：マウスにおける異なるアジュバントの効果の比較

群	ペプチド(各20μg)	アジュバント	経路
MC1	S1、S2、S9、S14、S21、ORF9b. 1*11、N8、N15、M13、ORF3a	Montanide51+TLR4アゴニスト	s.c.
MC2	S1、S2、S9、S14、S21、ORF9b. 1*11、N8、N15、M13、ORF3a	ミョウバン+TLR4アゴニスト	s.c.
MC3	S1、S2、S9、S14、S21、ORF9b. 1*11、N8、N15、M13、ORF3a	EmT4+TLR4アゴニスト	s.c.
MC4	S1、S2、S9、S14、S21、ORF9b. 1*11、N8、N15、M13、ORF3a	Addavax+TLR4アゴニスト	s.c.

30

#### 【0110】

結果を図14に示す。図14の上部パネルは、ELISAによって測定された抗体価を示し、図14の下部パネルは、異なるアジュバントで製剤化された10個のペプチドの組み合わせによって誘導された、IFN-ELISPOTによって測定されたT細胞応答を示す。結果は、アジュバントが免疫原性に可変的な効果を有し、油中水エマルジョンアジュバントが優れた免疫応答を誘導し、水中油エマルジョンがそれに続くことを示す。TLR4アゴニストは、免疫原性を高めていることが示されている。

40

#### 【0111】

実施例6：マウスにおける伸長されたペプチドの免疫原性の試験

実験は、選択された免疫原性ペプチドの伸長がコンフォーメーションエピトープの増強された提示をもたらし、結果として抗体及びT細胞応答の増加をもたらすかどうかを評価するために行われる。SARS-CoV-2 Wu-1 参照配列(NCBI 参照配列：NC\_

50

0 4 5 5 1 2 . 2 ) を使用し、実施例 4 及び 5 に記載される 10 個のペプチドのセットに含まれる各ペプチドは、N 末端及び C 末端の両方にアミノ酸配列を伸長させることによって伸長され、天然の S A R S - C o V - 2 配列を反映した 40 アミノ酸長ペプチドを作製する（表 11）。長鎖ペプチドの各々は、太字で、それぞれの短鎖ペプチドの完全な配列を含む。

【表 11】

表 11：長鎖ペプチドの配列及び命名（40aa）

ペプチド名	配列
S-1長	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
S-2長	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
S-9長	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-14長	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
S-15長	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
S-21長	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
ORF9b. 1* 11長	I S E M H P A L R L V D P Q I Q L A V T R M E N A V G R D Q N N V G P K V Y P I
N-8長	K M K D L S P R W Y F Y Y L G T G P E A G L P Y G A N K D G I I W V A T E G A L
N-15長	N F G D Q E L I R Q G T D Y K H W P Q I A Q F A P S A S A F F G M S R I G M E V
M-13長	P L H G T I L T R P L L E S E L V I G A V I L R G H L R I A G H H L G R C D I K
ORF3a長	G V K D C V V L H S Y F T S D Y Y Q L Y S T Q L S T D T G V E H V T F F I Y N K

10

20

30

40

【0112】

方法：

マウスは、5つの13群に分けられる（表12）。群MD1～MD10を、CpG+CFAで製剤化した単一の長鎖ペプチド（100μg）でプライミングし、28日後にCpG+IFAと組み合わせた同じペプチドでブーストする。群MD11は、その配列内の9つの個々のヌクレオカプシドタンパク質由来ペプチド（N3、N4、N5、N6、N7、N23、N13、N16、N18）の配列を含有する単一のN重複ペプチドで免疫化される。群MD12は、CFA/IFA+CpGで製剤化された全ての10個の長鎖ペプチドのプールで免疫化される。群MD13は、長鎖S14ペプチド（S14及びS15短配列の両方にまたがる）で免疫化される群MD4と比較するために、等モル濃度の短鎖S14及びS15ペプチドで免疫化される。この比較は、隣接アミノ酸配列の違いが免疫原性に影響を与えるかどうかを評価することを可能にする。第2の用量の14日後にマウスを安樂死させ、実施例3に記載されるように、IFN-ELISPOT及び抗体ELISAを使用して免疫応答を評価する。

【0113】

マウスの免疫応答は、IL-4 ELISPOT及び偽ウイルス/rVSV微小中和アッセイでも測定される。簡潔には、IL-4のマウスト細胞産生を測定する。BD（商標）マウス特異的IL-4 ELISPOTアッセイを、マウス特異的IFN-ELI

50

S P O T アッセイと同様の単一細胞懸濁液上で実施する。 I L - 4 検出アッセイにおいて、 P M A / イオノマイシン ( 8 1 n M / 1 . 3 4  $\mu$  M ) は、 P H A 及びコンカナバリン A よりも優れた性能を有するため、陽性対照として使用される。残りの条件 ( 細胞 / ウエル、インキュベーション時間、抗原濃度 ) は、 I F N - E L I S P O T アッセイについて上記で報告されたものと同一である。

#### 【 0 1 1 4 】

マウスの免疫応答も、偽ウイルス / r V S V 微小中和アッセイで測定する。簡潔には、中和抗体応答は、 I m a g e X p r e s s ( 登録商標 ) プラットフォーム / ソフトウェア ( M o l e c u l a r D e v i c e s ) による細胞感染の迅速なイメージング及び定量化を可能にするために施設内で開発された、高スループット、蛍光 / G F P ベースの偽ウイルス / V S V 微小中和アッセイを使用して評価される。アッセイは、天然エンベロープ糖タンパク質の代わりに、 e G F P 及び S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質 ( W u h a n - H u - 1 ) を発現する複製能のある V S V ウイルスに基づいている。 S A R S - C o V - 2 の中和と偽ウイルス / V S V 構築物との間の相関は、  $r = 0 . 9 2 8 5$  (  $p < 0 . 0 0 1$  ) として報告されている。 1 : 1 0 ~ 1 : 5 , 1 2 0 ( 希釈ステップ当たり 4 つの複製ウェル ) の連続 2 倍希釈を行い、 9 6 ウエルマイクロプレート中で、ウェル当たり 3 , 0 0 0 P F U の r V S V - S A R S - C o V - 2 - S ウイルスを含有する、 5 % F C S 及びペニシリン / ストレプトマイシンを含有する等体積の組織培養培地 / D M E M 培地と混合する。中和のための最終的な血清希釈は、 1 : 2 0 ~ 1 : 1 0 , 2 4 0 である。血清及びウイルス混合物を、 3 7 、 5 % C O 2 で 1 時間インキュベートする。ウイルス対照ウェル ( n = 1 6 / プレート ) は、組織培養培地のみでインキュベートする。インキュベーション後、血清 / ウイルス混合物を、単層の V e r o E 6 細胞 ( 2 × 1 0 4 細胞 / ウエル ; A T C C ( 登録商標 ) C R L - 1 5 8 6 ( 商標 ) ) を含有する新しい 9 6 ウエルプレートに移し ( 1 : 1 ) 、 3 7 / 5 % の C O 2 で更に 2 2 時間インキュベートする。 I m a g e X p r e s s ( 商標 ) N a n o プラットフォーム及び M e t a X p r e s s ( 商標 ) ソフトウェア ( M o l e c u l a r D e v i c e s ) を使用して、細胞単層における感染 / 感染減少のイメージング及び定量化を実施する。各試料の W u h a n - H u - 1 スパイク特有 5 0 % エンドポイント力価 ( 中和用量、 N D 5 0 ) は、 K a r b e r の式を使用して計算される。品質管理のために、各試験バッチは、プールされた陽性対照血清、プールされた陰性対照血清、及びヒトモノクローナル中和抗体 ( I g G 1 ; A c t i v e M o t i f 、カタログ番号 9 1 3 6 1 ) を含む。異なる日に実行した反復対照測定に基づくこのアッセイの変動係数 / C V は、 7 . 3 8 % である。

#### 【 0 1 1 5 】

マウス血清の異なる希釈液を使用して、抗体 E L I S A を実施する。群 M D 4 は、 1 : 2 5 0 の希釈で試験される。抗体応答が飽和しなくなるまで、他の全ての群を希釈する。結果として、希釈の拡張された範囲を試験する ( 図 1 8 ) 。

10

20

30

40

50

## 【表12】

表12：各群のペプチド

群	ペプチド (各 100 μg)	アジュバント	経路
MD-1	S1長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-2	S2長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-3	S9長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-4	S14長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-5	S21長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-6	ORF9b. 1*11長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-7	N8長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-8	N15長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-9	M13長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-10	ORF3a長	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-11	N重複ペプチド	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-12	11個の長鎖ペプチドの組み合わせ (N個の重複を除く上記の全て)	CFA/IFA+CpG	s. c.
MD-13	S14、S15	CFA/IFA+CpG	s. c.

## 【0116】

結果は、図15～19に示される。図15は、ELISAによって測定される、個々の長鎖ペプチドによって誘導されるペプチド特異的抗体価を示す。図16は、IFN-ELISPOTによって測定される、個々の長鎖ペプチドによって誘導されるペプチド特異的T細胞応答を示す。これらの応答の要約を図17に示す。図18に示すように、非常に大きな抗体応答が誘導される。例えば、MD7及びMD8由来の試料は、1:20,000の希釈でさえ、依然として飽和している。抗体力価レベルを正確に判定するために、より高い希釈で更なる実験が必要である。いずれにせよ、長鎖ペプチドによって強い抗体応答が誘導されることとは明らかである。

## 【0117】

図19は、偽ウイルス/rVV微量中和アッセイによって測定した、MD実験における個々の長鎖ペプチドによって誘導されるペプチド特異的抗体の中和活性を示す。群MA7のマウス(CFA/IFA+CpGで免疫したが、ペプチドなしのマウス；実施例3、表6)由来の血清を陰性対照として含む。アスタリスク(\*)は、ペプチドワクチン接種マウス及び対照マウスからの血清中の中和活性の有意差を示す。群MD11で観察されたような非特異的バックグラウンドを低減するために、中和抗体アッセイプロトコルを調整するために更なる実験を実施する。

10

20

30

40

50

## 【0118】

結論として、長鎖ペプチドは、免疫原性アッセイにわたって短鎖ペプチドと比較して、概して有意に優れた免疫応答を誘発する。長鎖ペプチドによる免疫は、完全なタンパク質配列を認識することができる結合及び中和抗体の產生を誘発することが示される。強力なT細胞応答の誘導も観察される。

## 【0119】

実施例7：マウスにおけるウイルス様粒子（VLP）で送達されるペプチドの免疫原性の試験

実験は、抗原提示のこのプラットフォームが選択されたペプチドの免疫原性の増加をもたらすかどうかを評価するために、以前に実証された高い免疫原性を有するペプチドのためのアジュバント及び送達システムとしてのウイルス様粒子（VLP）を試験するために実施される。VLPは、免疫化、治療剤、及び診断剤における多様な用途を有するナノ構造である。VLPは自己アジュバント特性を有し、表面上の個々の選択されたペプチド（表13）でそれらを装飾することにより、170を超えるエピトープの非常に反復的な提示を可能にする。増強された抗原提示に加えて、アジュバント／送達システムとしてVLPを使用することは、必要なペプチドの量を減少させ、CpG+CFAと組み合わせて使用されるペプチドの用量の5%～10%のみを必要とする（以下を参照されたい）。更に、VLPは、様々な経路によって投与されるエマルジョンよりも容易である。

10

20

30

40

50

## 【表13】

表13：VLPを使用した試験群

群	ロードされたペプチド	経路	投与間隔
ME 1	S 1 を有するVLP-1	s. c.	28日間
ME 2	S 9 を有するVLP-2	s. c.	28日間
ME 3	M 8 を有するVLP-3	s. c.	28日間
ME 4	N 7 を有するVLP-4	s. c.	28日間
ME 5	N 15 を有するVLP-5	s. c.	28日間
ME 6	ORF3a を有するVLP-6	s. c.	28日間
ME 7	空のVLP	s. c.	28日間
ME 8	プールされた6つのVLP	s. c.	28日間

## 【0120】

方法：

我々の実験で使用されるペプチド-VLP製剤は、我々の研究協力者によって提供されている。VLP1～VLP6と標識された6組のペプチド-VLPの組み合わせを、それぞれS1、S9、M8、N7、N15又はORF3aペプチドで作製する。各VLPは、1つのタイプのペプチドのみで製剤化される。

## 【0121】

2つの追加の群（ME7及びME8）が対照群として含まれ、ME7群のマウスは、空のVLPで皮下免疫され、ME8のマウスは、6つ全てのペプチドがロードされたVLPの混合物で免疫される。各動物は、28日間隔で2回用量レジメンとして、合計100μL（20μgを含有する）のVLP製剤（各脇腹に50μL）を皮下投与される。マウス

は、2回目の投与の14日後に安樂死させる。免疫原性は、IFN-ELISPOT、IL-4 ELISPOT、抗体ELISA及び偽ウイルス/rVSV微小中和アッセイを使用して、実施例4～6に記載されるように評価される。VL P (VL P-ペプチド)及び非VL P製剤 (ペプチド+CFA/IFA+CpG)における選択されたペプチドの免疫原性結果を比較する。

【0122】

結果は、図20～26に示される。結果は、VL P+ペプチドの組み合わせが、CFA/IFA+CpGで製剤化されたペプチドよりも等価又はより強いT細胞及びB細胞応答を誘発し、CFA/IFA+CpGアジュバント製剤と比較した場合、抗原用量の5%～10%を必要とすることを示す(表14)。IL-4 ELISPOT応答は、実験全体でIFN-ELISPOT応答よりもはるかに低い(及びいくつかの群では検出できない)ことが示され、Th1バイアス免疫応答を示唆している。

10

20

30

40

50

【表14】

表14: VLP及びペプチドの免疫原性の比較

VLP	ペプチド	配列	VLP当たりのペプチド数	VLP濃度(mg/ml)	MW VLP (kDa)	VLP ( $\mu$ M)	ペプチド ( $\mu$ M)	$\mu$ gペプチド/20 $\mu$ g VLP
WT -V LP	-	-	0	2. 5	25 42	0. 98	0	0. 0
VLP- 1、 バッ チ1	S 1	P r a - G S C T F E Y V S Q P F L M D L E	5 0	2. 5	27 25	0. 92	4 6	0. 7
VLP- 2、 バッ チ1	S 9	P r a - G S F N C Y F P L Q S Y G F Q P T	1 4 0	2. 5	29 10	0. 86	1 2 0	1. 9
VLP- 3、 バッ チ1	M 8	P r a - G S E I T V A T S R T L S Y Y K L	1 0 0	1. 9	28 21	0. 67	6 7	1. 4
VLP- 4、 バッ チ1	N 7	P r a - G S D Q V I L L N K H I D A Y K	1 7 0	2. 5	29 48	0. 85	1 4 4	2. 3
VLP- 5、 バッ チ1	N 1 5	P r a - G S I R Q G T D Y K H W P Q I A Q F A P S A S A F F G	1 3 0	2. 5	30 21	0. 83	1 0 8	1. 7
VLP- 6、 バッ チ1	O r f 3 a	P r a - G S Y F T S D Y Y Q L Y S T Q L S T D T G V	1 0 0	2. 5	28 82	0. 87	8 7	1. 4
VLP- 1、 バッ チ2	S 1	P r a - G S C T F E Y V S Q P F L M D L E	9 5	2. 5	28 18	0. 89	8 4	1. 4

VLP- 3、 バッ チ2	M 8	P r a - G S E I T V A T S R T L S Y Y K L	1 2 8	2. 5	28 77	0. 87	1 1 1	1. 8
------------------------	-----	--	----------	---------	----------	----------	----------	---------

【0 1 2 3】

10

20

30

40

50

実施例 8：マウスにおける S A R S - C o V - 2 R B D タンパク質断片と組み合わせたペプチドの免疫原性の試験

S A R S - C o V - 2 受容体結合ドメイン ( R B D ) タンパク質断片の包含が、中和抗体の産生の増加及び全体的に優れた体液性及び / 又は細胞性免疫応答をもたらすかどうかを評価するために実験が行われる。

【 0 1 2 4 】

方法：

マウスを 4 つの群 ( M F 1 ~ M F 4 ) に分け、( i ) タンパク質又はペプチドなし、( i i ) 6 つのペプチドのセット ( 各  $20 \mu g$  ) 、( i i i ) 組換え S A R S - C o V - 2 R B D タンパク質 ( $20 \mu g$ ) 、又は ( i v ) S A R S - C o V - 2 R B D タンパク質と組み合わせた 6 つのペプチド ( 各  $20 \mu g$  ) を、28 日間隔での 2 回用量レジメンとして受け ( 表 15 )。第 2 の用量の 14 日後にマウスを安楽死させ、実施例 4 ~ 7 に記載されるように免疫原性アッセイを実施する。

【表 15】

表 15 : R B D とペプチドとの免疫原性の比較

群	タンパク質 / ペプチド ( 各 $20 \mu g$ )	アジュバント	経路	投与間隔
MF - 1	タンパク質 / ペプチドなし	Montanide 51 + TLR 4 アゴニスト	s. c.	28 日間
MF - 2	S 1 、 S 9 、 M 8 、 N 7 、 N 15 、 ORF - 3 a	Montanide 51 + TLR 4 アゴニスト	s. c.	28 日間
MF - 3	R B D タンパク質	Montanide 51 + TLR 4 アゴニスト	s. c.	28 日間
MF - 4	R B D 、 S 1 、 S 9 、 M 8 、 N 7 、 N 15 、 ORF - 3 a	Montanide 51 + TLR 4 アゴニスト	s. c.	28 日間

【 0 1 2 5 】

図 27 に示すように、 S A R S - C o V - 2 R B D 及びペプチドの組み合わせによる免疫化は、 R B D タンパク質に対する強固な抗体応答を誘発する。 S A R S - C o V - 2 R B D 抗原に対する T 細胞応答は、無視できる。

【 0 1 2 6 】

その後、ハムスターは生きた S A R S - C o V - 2 ウイルスにチャレンジする。

【 0 1 2 7 】

実施例 9：マウスにおける長鎖ペプチドの投与間隔の比較

マウスにおいて、 C F A / I F A + C p G と組み合わせたときに、第 1 のワクチン用量と第 2 のワクチン用量との間の間隔を変化させることができ、長鎖ペプチドに対する免疫応答を増強するかどうかを試験するために実験が行われる。

【 0 1 2 8 】

マウスを群に分け、 C p G + C F A と組み合わせた選択された長鎖ペプチド ( 実施例 6 を参照 ) でプライミングし、21 日後に C p G + I F A を用いた同じ長鎖ペプチド製剤でブーストする。マウスの第 2 の群を、用量間の 28 日の間隔で同一の製剤で免疫化する。2 つの対照群を、それぞれ 21 日間隔及び 28 日間隔で、 C F A / I F A + C p G と組み合わせた S A R S - C o V - 2 S タンパク質でプライミング及びブーストする。実施例 2 及び 3 に記載されるように、 I F N - E L I S P O T 及び抗体 E L I S A を使用して免疫原性を評価する。

【 0 1 2 9 】

実施例 10：マウスにおける異なるアジュバントを有する長鎖ペプチドの比較

短鎖ペプチド + C F A / I F A + C p G と比較して、長鎖ペプチド + C F A / I F A +

10

20

30

40

50

CpGの優れた免疫原性のために（実施例6に上に示されるように）、長鎖ペプチドを、より短いペプチドの免疫原性を増強するために以前に示された異なるアジュバントと組み合わせて試験する（実施例5を参照）。長鎖ペプチドを、Montanide 51+TLR4アゴニスト、ミョウバン、ミョウバン+TLR4アゴニスト、EmT4+TLR4アゴニスト、及びAddavax+TLR4アゴニストで試験する。追加のアジュバントも試験される。

#### 【0130】

マウスを群に分け、28日間隔で、異なるアジュバント及びTLR4アゴニストGLAと組み合わせた、異なる長鎖ペプチドの配合物の2回用量で免疫化する。マウスに、油中水型エマルジョンMontanide 51+GLAと組み合わせたペプチドで免疫化し、群MC2に、10個のペプチド+ミョウバン+GLAを投与し、群MC3に、10個のペプチド+EmT4+GLAを投与し、群MC4に、10個のペプチド+スクワレン系水中油エマルジョンAddavax+GLAで免疫化する。マウスを第2の用量の14日後に安樂死させ、IFN-ELISPOT、IL-4 ELISPOT、抗体ELISA及び偽ウイルス/rVSV微小中和アッセイを使用して、実施例7に上述したように免疫応答を評価する。

#### 【0131】

実施例11：マウスにおけるVLPを有する長鎖ペプチドの比較

（実施例6に上に示されるように）短鎖ペプチド+CFA/IFA+CpGと比較して、長鎖ペプチド+CFA/IFA+CpGの優れた免疫原性のために、異なる長鎖ペプチドを、より短いペプチドの免疫原性を増強するために以前に示されたVLPと組み合わせて試験し（実施例5を参照）、この抗原提示のプラットフォームが、選択された長鎖ペプチドの免疫原性の増大をもたらすかどうかを評価する。

#### 【0132】

ペプチド-VLPの組み合わせは、選択された長鎖ペプチドで作製される。各VLPは、1つのタイプのペプチドのみで製剤化される。陰性対照は、空のVLPで免疫されたマウスでも実行される。マウスの群を、ペプチドがロードされたVLPの混合物で免疫化する。各動物は、28日間隔で2回用量レジメンで免疫化される。マウスは、2回目の投与の14日後に安樂死させる。免疫原性は、IFN-ELISPOT、IL-4 ELISPOT、抗体ELISA及び偽ウイルス/rVSV微小中和アッセイを使用して、実施例7に記載されるように評価される。VLP（VLP-ペプチド）及び非VLP製剤（ペプチド+CFA/IFA+CpG）における選択されたペプチドの免疫原性結果。

#### 【0133】

実施例12：ハムスター及びマウスにおけるチャレンジ実験

シリアンゴールデンハムスター及びhACE2トランスジェニックマウスは、前の実施例で詳細に概説されたペプチド及びアジュバントの2回用量レジメン後、生のSARS-CoV-2ウイルスでチャレンジされる。この研究は、ペプチドが、SARS-CoV-2感染症の発症を予防するのに有効であるか、又はSARS-CoV-2感染症の症状の重症度及び/又は持続期間を低減するのに有効である、ハムスター及びマウスマルモデルにおける免疫応答を誘導するかどうかを判定する。

#### 【0134】

遺伝的に近親交配したハムスターをグループ化し、各群は、短鎖ペプチド+CFA/IFA+CpG、長鎖ペプチド+CFA/IFA+CpG、Nタンパク質+CFA/IFA+CpG、Sタンパク質+CFA/IFA+CpG、又はDMSO+CFA/IFA+CpG（陰性対照）のいずれかの2用量レジメンを受ける。ハムスターは、2回目のワクチン投与の14日後に、50,000個のSARS-CoV-2のウイルス粒子を鼻腔内に投与してチャレンジされる。糞便中のウイルス量は、2日目、5日目、及び7日目に定量化される。鼻腔ウイルス量は、鼻腔洗浄によって毎日定量化される。血清をハムスターから採取して、ワクチンの最初の投与前、ワクチンの2回目の投与前、チャレンジ前、及び安樂死時に免疫応答を監視する。免疫応答は、ペプチド抗体ELISAを使用して、中

10

20

30

40

50

和及び Ig G 抗体レベル、S タンパク質結合レベル、RBD 結合レベルを定量することによって測定される。疑似ウイルス中和アッセイも実施する。ハムスターは、感染後 3 又は 7 日後に安樂死させられ、脳及び肺組織が収穫される。組織を均質化し、各組織のウイルス負荷を qRT-PCR によって定量化する一方で、感染性ウイルス粒子の数を組織培養感染用量中央値 (TCID<sub>50</sub>) アッセイによって定量化する。血液及びリンパ節を安樂死時に収集し、IFN-ELISPOT を使用してワクチンペプチドに対する T 細胞応答を試験する。

#### 【0135】

実施例 13：ハムスター及びマウスにおける有効性が実証されたワクチンの比較

上記実施例 1～12 に概説されるペプチド及びアジュバントの様々な組み合わせによって誘発される免疫応答を、実証済みの有効性を有するワクチンに対する免疫応答と比較するために、ハムスターを、21 日間隔で 2 回用量レジメンで 100 μL (6 μg の RNA) の Pfizer / BioNTech の SARS-CoV-2 mRNA ワクチン (BNT162b2) で筋肉内に免疫化する。免疫応答は、第 2 のワクチン投与の 14 日後及び 28 日後に研究される。ハムスターの陰性対照群を生理食塩水希釈液で免疫化する。実験群を表 16 に記載する。結果を図 28 に示す。

#### 【表 16】

表 16：ハムスターにおける Pfizer mRNA ワクチンの免疫原性の評価

群	Pfizer mRNA ワクチン	投与間隔	経路	2 回目の投与から数日後に安樂死
HH-1	各ハムスター 100 μL	21 日間	筋肉内	14 日間
HH-2	各ハムスター 100 μL	21 日間	筋肉内	28 日間
HH-3	対照	—	—	—

#### 【0136】

上記実施例 1～12 に概説されたペプチド及びアジュバントの様々な組み合わせによって誘発される免疫応答を、実証済みの有効性を有するワクチンに対する免疫応答と比較するために、マウスを、21 日間隔で 2 回用量レジメンで 100 μL (6 μg の RNA) の Pfizer / BioNTech の SARS-CoV-2 mRNA ワクチン (BNT162b2) で筋肉内に免疫化する。免疫応答は、第 2 のワクチン投与の 14 日後及び 28 日後に研究される。マウスの陰性対照群を、生理食塩水希釈液で免疫化する。実験群を表 17 に記載する。結果を図 29 に示す。

#### 【表 17】

表 17：マウスにおける Pfizer mRNA ワクチンの免疫原性の評価

群	Pfizer mRNA ワクチン	投与間隔	経路	2 回目の投与から数日後に安樂死
MG-1	対照	—	—	—
MG-2	各マウス 100 μL	21 日間	筋肉内	14 日間
MG-3	各マウス 100 μL	21 日間	筋肉内	28 日間

#### 【0137】

実施例 14：ハムスターにおける選択された 6 つの長鎖ペプチドの免疫原性の評価

10

20

30

40

50

実験は、選択された免疫原性ペプチドの伸長がコンフォメーションエピトープの増強された提示をもたらし、結果として抗体及びT細胞応答の増加をもたらすかどうかを評価するために実施される。SARS-CoV-2 Wu-1 参照配列 (NCB I 参照配列: NC\_045512.2) を使用して、実施例4及び5に記載される6つのペプチドのセットに含まれる各ペプチドは、N末端及びC末端の両方にアミノ酸配列を伸長させて40アミノ酸長のペプチドを作製することによって伸長され、天然のSARS-CoV-2配列を反映する(表11)。長鎖ペプチドの各々は、太字で、それぞれの短鎖ペプチドの完全な配列を含む。実験群を表18に記載する。結果を図30に示す。

## 【表18】

表18: ハムスターにおける選択された6つの長鎖ペプチドの1回用量対2回用量

10

群	ペプチド(各100μg)	アジュバント	経路
HH-1	対照	—	s. c.
HH-2	M13長、N15長、ORF3-a長、ORF9 -b. 1*11長、S15長、S21長	CFA+CpG	s. c.
HH-3	M13長、N15長、ORF3-a長、ORF9 -b. 1*11長、S15長、S21長	CFA/IFA +CpG	s. c.

## 【0138】

20

## 実施例15: SARS-CoV-2の治療

SARS-CoV-2感染症(例えば、COVID-19)に対する免疫応答の誘導又は増加を必要とすると特定されたヒト、例えば、COV-19を有するヒト又はCOVID-19を発症するリスクがあるヒトは、本明細書に記載の、1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド)を投与される。投与されたポリペプチドは、COVID-19の1つ以上の症状の発症を予防することができる。

## 【0139】

30

## 実施例16: SARS-CoV-2の治療

SARS-CoV-2感染症(例えば、COVID-19)に対する免疫応答の誘導又は増加を必要とすると特定されたヒト、例えば、COV-19を有するヒト又はCOVID-19を発症するリスクがあるヒトは、本明細書に記載の、1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド(例えば、配列番号1~87のいずれかに記載のアミノ酸配列を含む、それから本質的になる、又はそれからなる1つ以上のSARS-CoV-2ポリペプチド)を投与される。投与されたポリペプチドは、COVID-19の重症度を低減するか、又はCOVID-19の1つ以上の症状を除去することができる。

## 【0140】

40

## 他の実施形態

本発明は、その詳細な説明と併せて記載されているが、上述の説明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を例示することを意図するものであり、限定するものではないことが理解されるべきである。他の態様、利点、及び変更は、以下の特許請求の範囲内にある。例示的な実施形態のリストが提供される。

## 【0141】

実施形態1. 配列番号1~87のうちのいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなる、実質的に純粋なポリペプチド。

## 【0142】

実施形態2. 実施形態1に記載の実質的に純粋なポリペプチドを含む、組成物。

## 【0143】

50

実施形態3. 少なくとも2つのポリペプチドを含む組成物であって、当該少なくとも2

つのポリペプチドの各々が、配列番号 1 ~ 8 7 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、又はそれからなるポリペプチドである、組成物。

【 0 1 4 4 】

実施形態 4 . 当該組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、配列番号 3 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 0 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 2 又は 3 に記載の組成物。

【 0 1 4 5 】

実施形態 5 . 当該組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 2 又は 3 に記載の組成物。

【 0 1 4 6 】

実施形態 6 . 当該組成物が、配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 2 又は 3 に記載の組成物。

【 0 1 4 7 】

実施形態 7 . 当該組成物が、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 3 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 2 又は 3 に記載の組成物。

【 0 1 4 8 】

実施形態 8 . 当該組成物が、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 7 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 2 又は 3 に記載の組成物。

【 0 1 4 9 】

実施形態 9 . 当該組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 0 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 1 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 2 又は 3 に記載の組成物。

【 0 1 5 0 】

実施形態 1 0 . 当該組成物が、配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 5 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 3 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 1 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 2 又は 3 に記載の組成物。

10

20

30

40

50

## 【0151】

実施形態11.当該組成物が、配列番号68に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号69に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号70に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号71に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号72に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号73に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号74に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号75に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号76に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号77に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号78に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態2又は3に記載の組成物。

10

## 【0152】

実施形態12.当該組成物が、配列番号68に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号69に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号70に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号71に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号73に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号74に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号75に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号76に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号77に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号78に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態2又は3に記載の組成物。

20

## 【0153】

実施形態13.当該組成物が、アジュバント又は免疫刺激分子を含む、実施形態2~12のいずれか1つに記載の組成物。

## 【0154】

実施形態14.当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、完全フロイントアジュバント(CFA)、不完全フロイントアジュバント(IFN)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、実施形態13に記載の組成物。

30

## 【0155】

実施形態15.当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、実施形態13に記載の組成物。

40

## 【0156】

実施形態16.当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol1様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LiT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、

50

レチノイン酸誘導性遺伝子 I ( R I G - I ) 、脂質ナノ粒子 ( 例えは、 L I O N ) 、及び G L A からなる群から選択される、実施形態 13 に記載の組成物。

【 0 1 5 7 】

実施形態 17 . 当該ポリペプチドが、 1 つ以上のウイルス様粒子 ( V L P ) に結合している、実施形態 2 ~ 12 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【 0 1 5 8 】

実施形態 18 . 当該 V L P が、 パルボウイルス科、 レトロウイルス科、 フラビウイルス科、 バラミクソウイルス科、 及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、 実施形態 17 に記載の組成物。

【 0 1 5 9 】

実施形態 19 . 当該 V L P が、 Q - ベータバクテリオファージから作製される、 実施形態 17 に記載の組成物。

【 0 1 6 0 】

実施形態 20 . 配列番号 1 ~ 87 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、 又はそれからなるポリペプチドをコードする核酸を含む、 組成物。

【 0 1 6 1 】

実施形態 21 . 少なくとも 2 つのポリペプチドをコードする核酸を含む組成物であって、 当該少なくとも 2 つのポリペプチドの各々が、 配列番号 1 ~ 87 のうちのいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、 又はそれからなるポリペプチドである、 組成物。

【 0 1 6 2 】

実施形態 22 . 当該組成物が、 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 13 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 15 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 を含む、 配列番号 37 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 及び配列番号 40 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 を含む、 実施形態 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 6 3 】

実施形態 23 . 当該組成物が、 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 21 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 を含む、 実施形態 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 6 4 】

実施形態 24 . 当該組成物が、 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 14 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 25 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 27 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 44 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 及び配列番号 45 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 を含む、 実施形態 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 6 5 】

実施形態 25 . 当該組成物が、 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 16 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 28 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 31 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 及び配列番号 37 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 を含む、 実施形態 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 6 6 】

実施形態 26 . 当該組成物が、 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 17 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、 配列番号 24 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド

10

20

30

40

50

、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 39 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 43 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 6 7 】

実施形態 27 . 当該組成物が、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 10 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 14 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 20 10 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 6 8 】

実施形態 28 . 当該組成物が、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 13 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 25 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 38 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 39 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 34 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 18 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 20 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 6 9 】

実施形態 29 . 当該組成物が、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 72 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 7 0 】

実施形態 30 . 当該組成物が、配列番号 68 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 70 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 74 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 76 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、配列番号 77 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、及び配列番号 78 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、を含む、実施形態 20 又は 21 に記載の組成物。

【 0 1 7 1 】

実施形態 31 . 当該組成物がアジュバント又は免疫刺激分子を含む、実施形態 20 ~ 30 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【 0 1 7 2 】

実施形態 32 . 当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpG オリゴヌクレオチドモチーフ、toll 様受容体 4 (TLR4) アゴニスト（例えば、M1T4、E1T4、A1T4、L1T4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質 A、アルミニウムホスフィレート、M1F59、AS03、AS04、AS03 様、AS04 様、AS01B 様、GM-CSF、A 50

ddavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、実施形態31に記載の組成物。

【0173】

実施形態33.当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、実施形態31に記載の組成物。

【0174】

実施形態34.当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、実施形態31に記載の組成物。

【0175】

実施形態35.当該ポリペプチドが、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)に結合している、実施形態20~32のいずれか1つに記載の組成物。

【0176】

実施形態36.当該VLPが、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、実施形態35に記載の組成物。

【0177】

実施形態37.当該VLPが、Q-ベータバクテリオファージから作製される、実施形態35に記載の組成物。

【0178】

実施形態38.当該核酸が、非ウイルスベクターの形態である、実施形態20~32のいずれか1つに記載の組成物。

【0179】

実施形態39.当該非ウイルスベクターが、発現プラスミドである、実施形態38に記載の組成物。

【0180】

実施形態40.当該核酸が、ウイルスベクターの形態である、実施形態20~32のいずれか1つに記載の組成物。

【0181】

実施形態41.当該ウイルスベクターが、アデノウイルスに基づくベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)に基づくベクター、レトロウイルスに基づくベクター、レンチウイルスに基づくベクター、麻疹ウイルスに基づくベクター、水疱性口内炎ウイルスに基づくベクター、及びワクシニアウイルスに基づくベクターからなる群から選択される、実施形態40に記載の組成物。

【0182】

実施形態42.哺乳動物においてコロナウイルスに対する免疫応答を増加させるための方法であって、当該哺乳動物に、配列番号1~87のうちのいずれか1つに記載のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又は当該ポリペプチドをコードする核酸、を含む組成物を投与する、方法。

【0183】

実施形態43. 当該哺乳動物が、ヒトである、実施形態42に記載の方法。

【0184】

実施形態44. 当該コロナウイルスが、重度急性呼吸窮迫コロナウイルス2(SARS-CoV-2)である、実施形態42又は43に記載の方法。

【0185】

実施形態45. 当該組成物が、アジュバント又は免疫刺激分子を含む、実施形態42～44のいずれか1つに記載の方法。

10

【0186】

実施形態46. 当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン(例えば、Montanide 720、Montanide 51)、完全フロイントアジュバント(CFA)、不完全フロイントアジュバント(IFA)、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、tol11様受容体4(TLR4)アゴニスト(例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4)、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I(RIG-I)、脂質ナノ粒子(例えば、LION)、及びGLAからなる群から選択される、実施形態45に記載の方法。

20

【0187】

実施形態47. 少なくとも2回用量の当該組成物が投与される、実施形態42～46のいずれか1つに記載の方法。

【0188】

実施形態48. 2回用量の当該組成物が投与される、実施形態42～46のいずれか1つに記載の方法。

【0189】

実施形態49. 当該ポリペプチドが、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)上に提示される、実施形態42～48のいずれか1つに記載の方法。

30

【0190】

実施形態50. 当該VLPが、パルボウイルス科、レトロウイルス科、ラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、実施形態49に記載の方法。

【0191】

実施形態51. 当該VLPが、Q-ベータバクテリオファージから作製される、実施形態49に記載の方法。

【0192】

実施形態52. コロナウイルス感染症を発症するリスクがある哺乳動物を治療するための方法であって、当該哺乳動物に、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又は当該ポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を投与することを含む、方法。

40

【0193】

実施形態53. 当該哺乳動物が、ヒトである、実施形態52に記載の方法。

【0194】

実施形態54. 当該コロナウイルス感染症が、COV1D-19である、実施形態52又は53に記載の方法。

【0195】

実施形態55. 当該組成物がアジュバント又は免疫刺激分子を含む、実施形態52～54のいずれか1つに記載の方法。

50

## 【0196】

実施形態56. 当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAからなる群から選択される、実施形態55に記載の方法。

10

## 【0197】

実施形態57. 少なくとも2回用量の当該組成物が投与される、実施形態52～55のいずれか1つに記載の方法。

## 【0198】

実施形態58. 2回用量の当該組成物が投与される、実施形態52～55のいずれか1つに記載の方法。

## 【0199】

実施形態59. 当該ポリペプチドが、1つ以上のウイルス様粒子（VLP）上に提示される、実施形態52～58のいずれか1つに記載の方法。

20

## 【0200】

実施形態60. 当該VLPが、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、実施形態59に記載の方法。

## 【0201】

実施形態61. 当該VLPが、Q-ベータバクテリオファージから作製される、実施形態59に記載の方法。

## 【0202】

実施形態62. コロナウイルス感染症を有する哺乳動物を治療するための方法であって、当該哺乳動物に、配列番号1～87のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から本質的になる、若しくはそれからなるポリペプチド、又は当該ポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を投与することを含む、方法。

30

## 【0203】

実施形態63. 当該哺乳動物が、ヒトである、実施形態62に記載の方法。

## 【0204】

実施形態64. 当該コロナウイルス感染症が、COVID-19である、実施形態62又は63に記載の方法。

## 【0205】

実施形態65. 当該組成物がアジュバント又は免疫刺激分子を含む、実施形態62～64のいずれか1つに記載の方法。

40

## 【0206】

実施形態66. 当該アジュバント又は免疫刺激分子が、油中水型エマルジョン（例えば、Montanide 720、Montanide 51）、完全フロイントアジュバント（CFA）、不完全フロイントアジュバント（IFA）、CpGオリゴヌクレオチドモチーフ、toll様受容体4（TLR4）アゴニスト（例えば、MIT4、EMT4、ALT4、LIT4）、硫酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、モノホスホリル脂質A、アルミニウムホスフィレート、MF59、AS03、AS04、AS03様、AS04様、AS01B様、GM-CSF、Addavax、AddaS03、レチノイン酸誘導性遺伝子I（RIG-I）、脂質ナノ粒子（例えば、LION）、及びGLAからなる群から選択される、実施形態65に記載

50

の方法。

【0207】

実施形態67.少なくとも2回用量の当該組成物が投与される、実施形態62～66のいずれか1つに記載の方法。

【0208】

実施形態68.2回用量の当該組成物が投与される、実施形態62～66のいずれか1つに記載の方法。

【0209】

実施形態69.当該ポリペプチドが、1つ以上のウイルス様粒子(VLP)上に提示される、実施形態62～68のいずれか1つに記載の方法。

10

【0210】

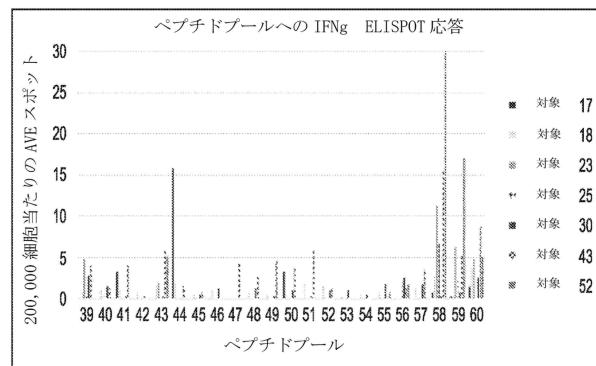
実施形態70.当該VLPが、パルボウイルス科、レトロウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、及びバクテリオファージからなる群から選択されるウイルスから作製される、実施形態69に記載の方法。

【0211】

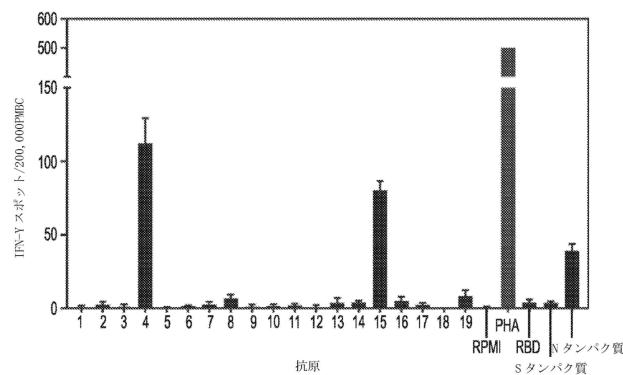
実施形態71.当該VLPが、Q-ベータバクテリオファージから作製される、実施形態69に記載の方法。

【図面】

【図1A】



【図1B】



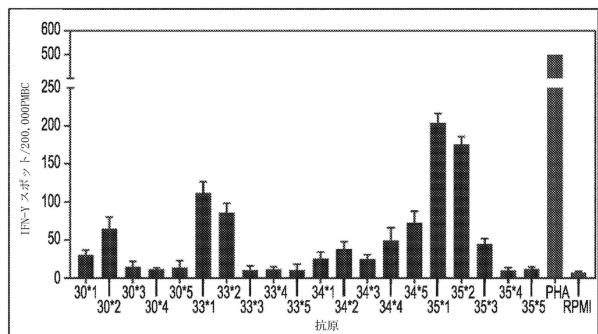
20

30

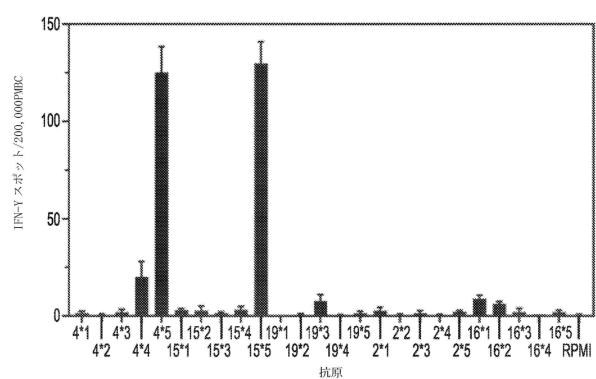
40

50

【図2 A】



【図2 B】



10

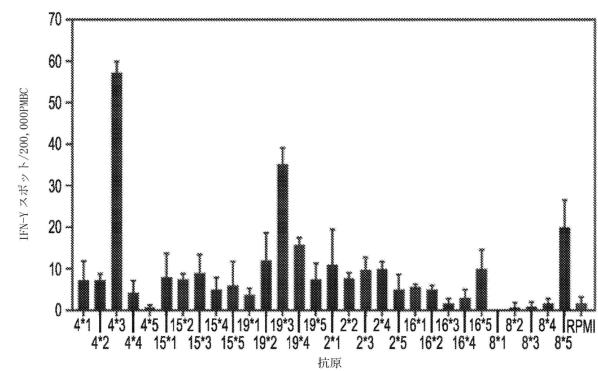
20

30

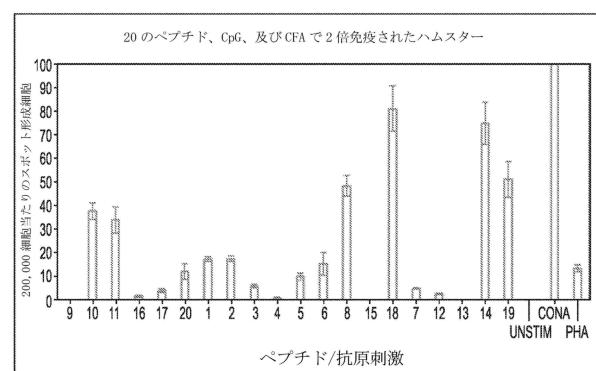
40

50

【図2 C】

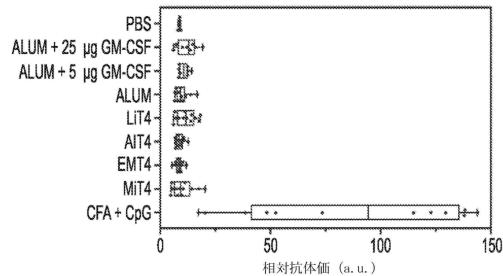


【図3】

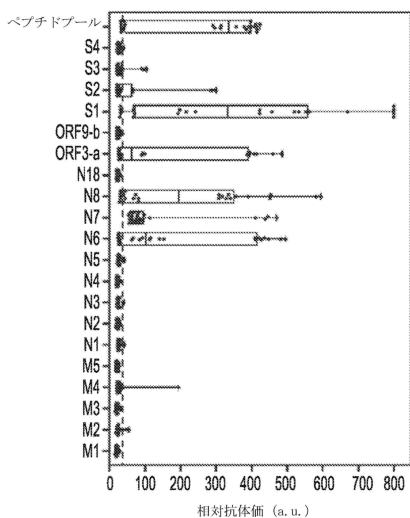


50

【図4】



【図5 A】



10

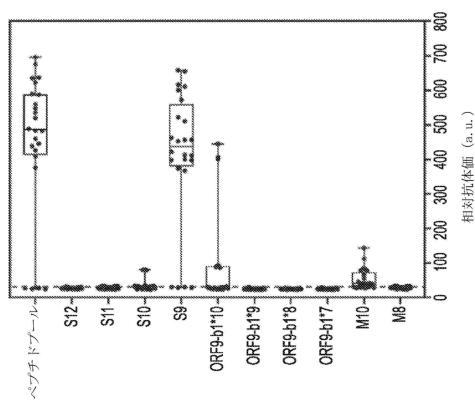
20

30

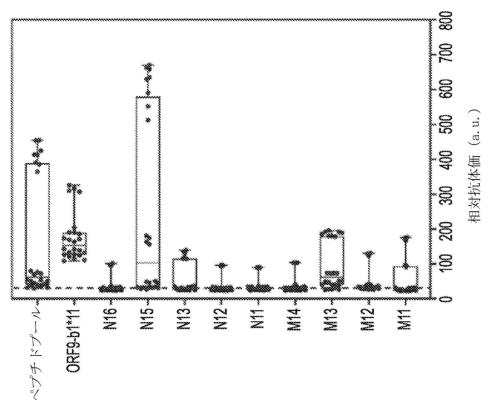
40

50

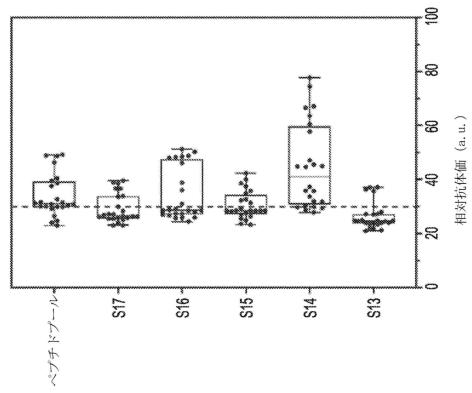
【図5 B】



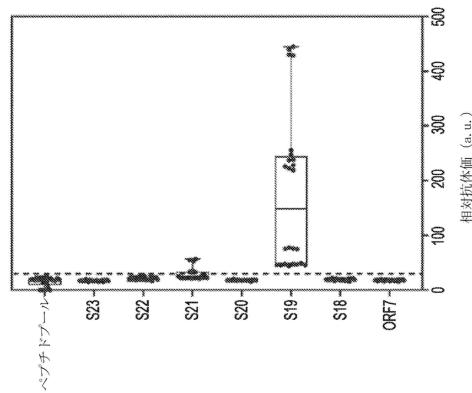
【図5 C】



【図 5 D】



【図 5 E】



10

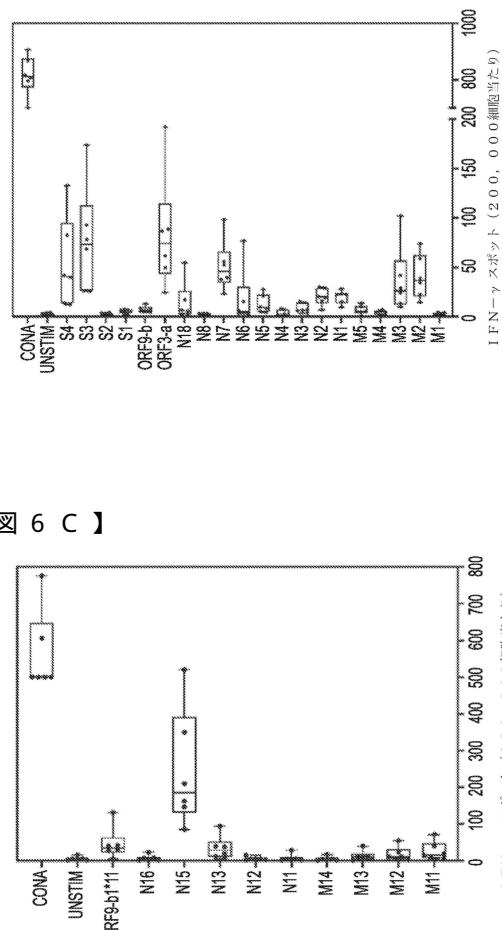
20

30

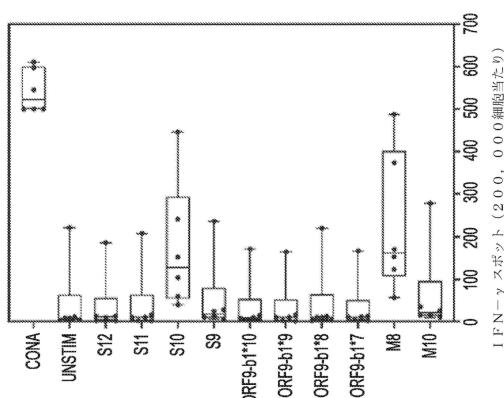
40

50

【図 6 A】



【図 6 B】

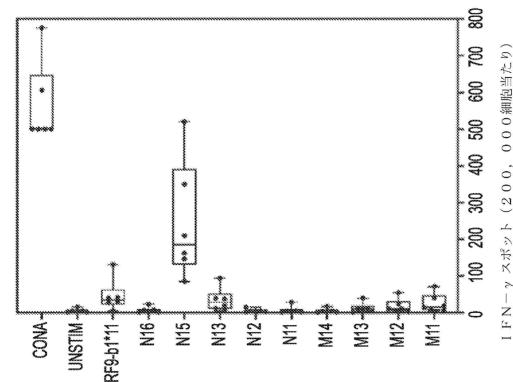


10

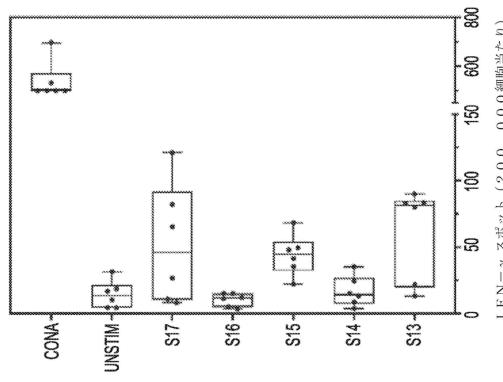
30

50

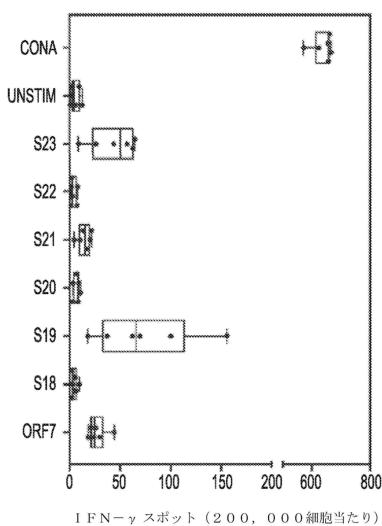
【図 6 C】



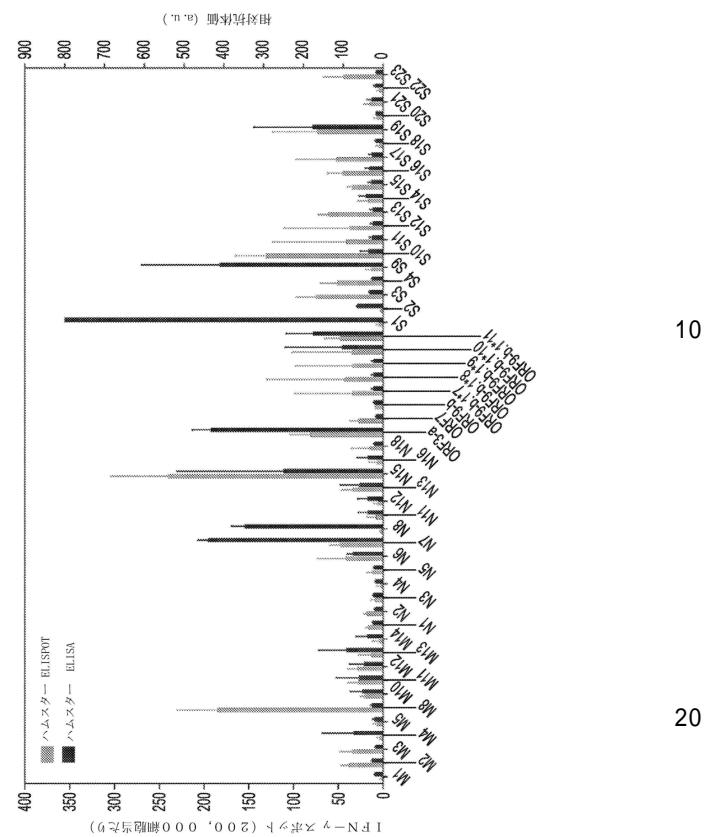
【図 6 D】



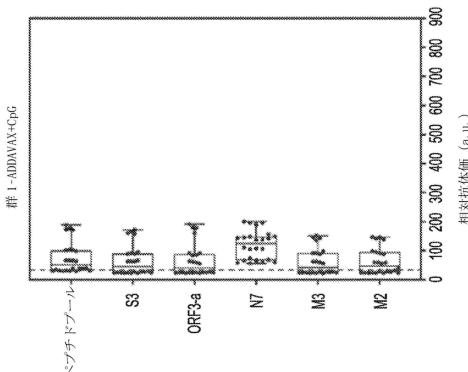
【 図 6 E 】



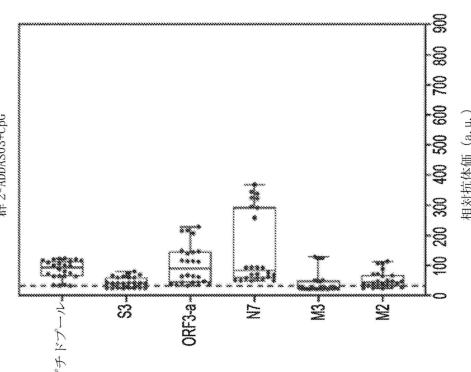
【図7】



【図 8 A】



【 図 8 B 】



10

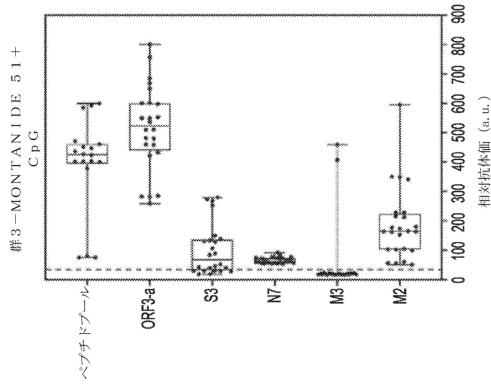
20

30

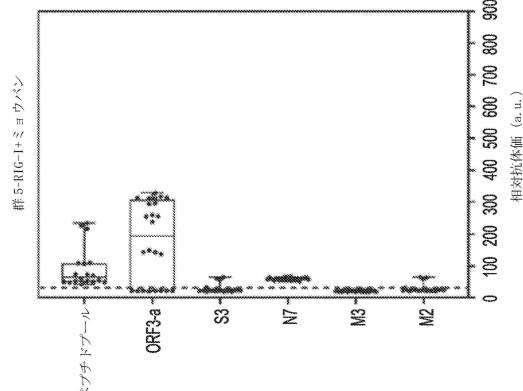
40

50

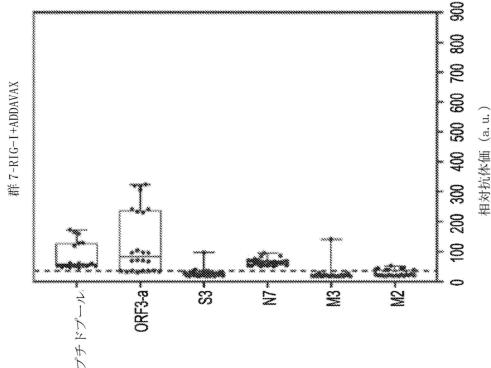
【 図 8 C 】



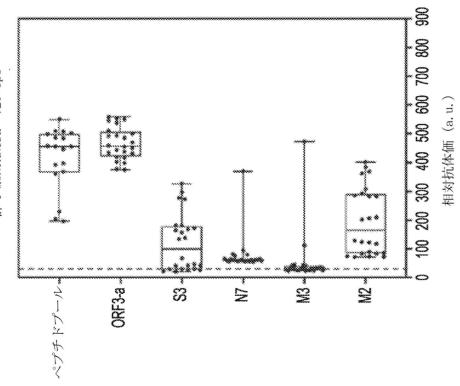
【 図 8 E 】



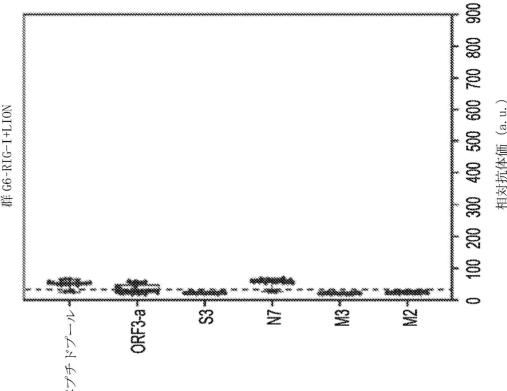
【 図 8 G 】



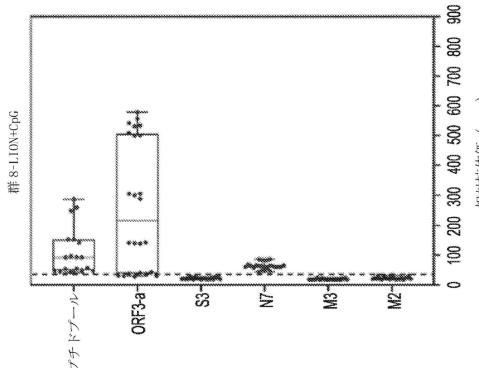
【 図 8 D 】



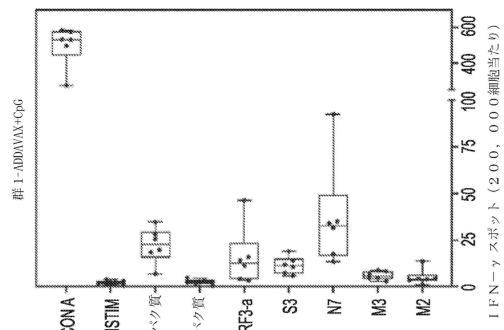
【 図 8 F 】



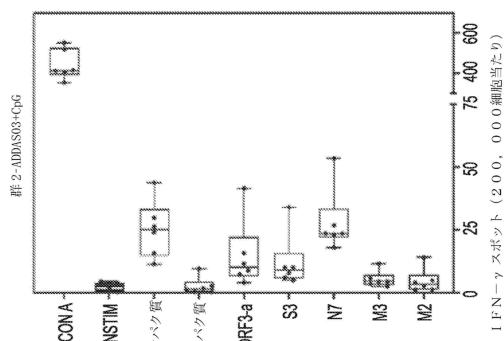
【 図 8 H 】



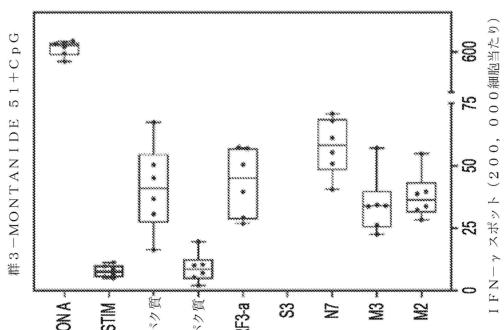
【図 9 A】



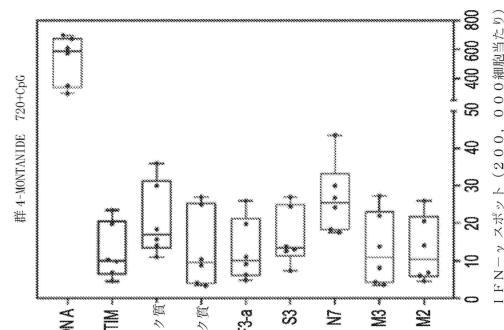
【図 9 B】



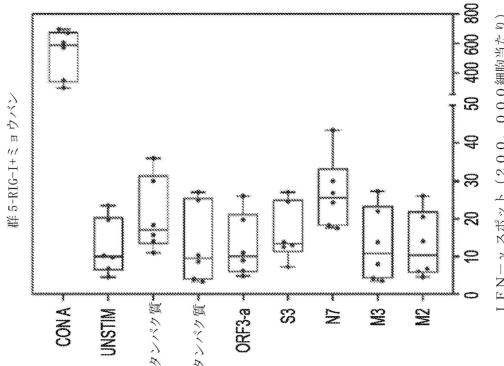
【図 9 C】



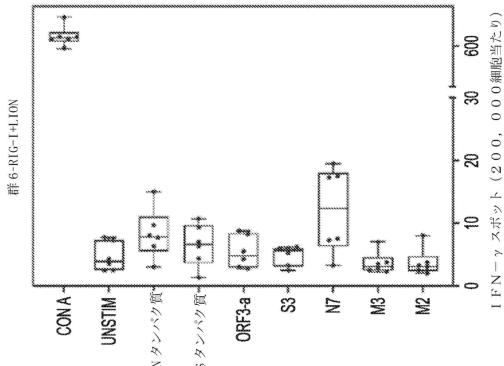
【図 9 D】



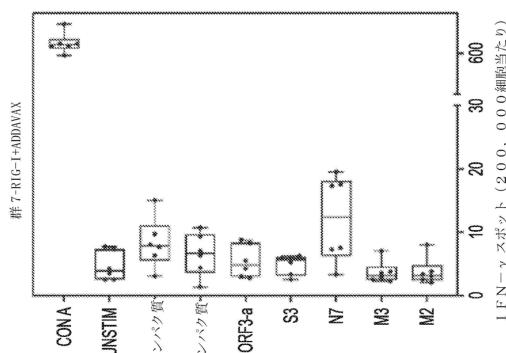
【図 9 E】



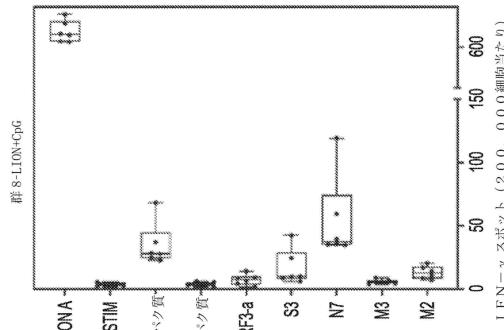
【図 9 F】



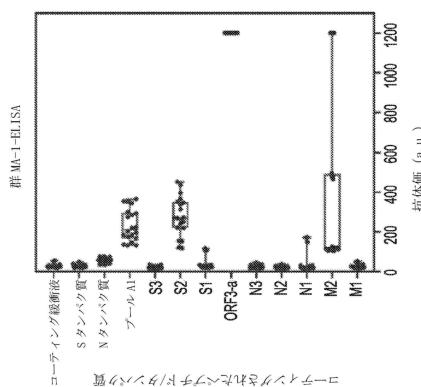
【図 9 G】



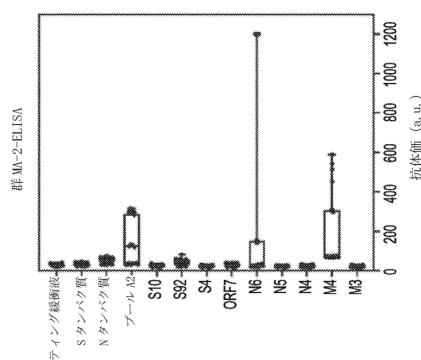
【図 9 H】



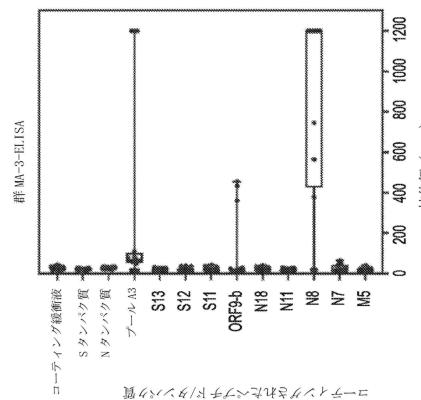
【図 10 A】



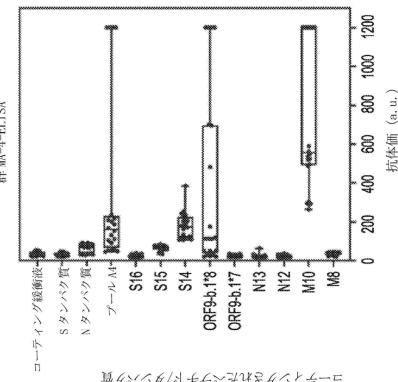
【図 10 B】



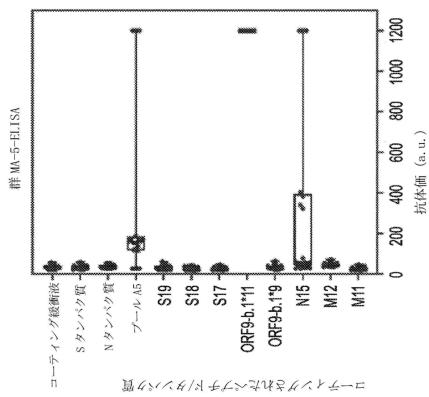
【図 10 C】



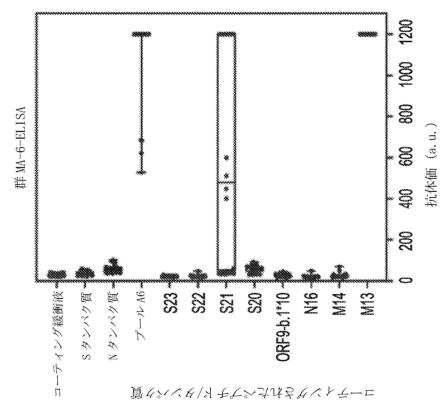
【図 10 D】



【図 10 E】



【図 10 F】



10

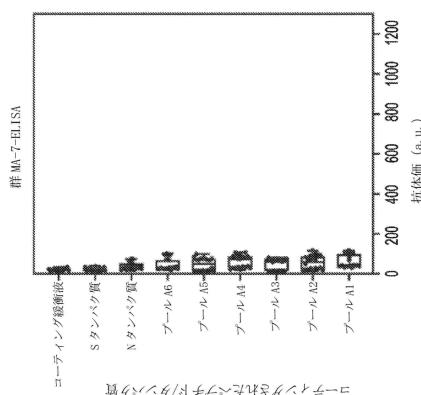
20

30

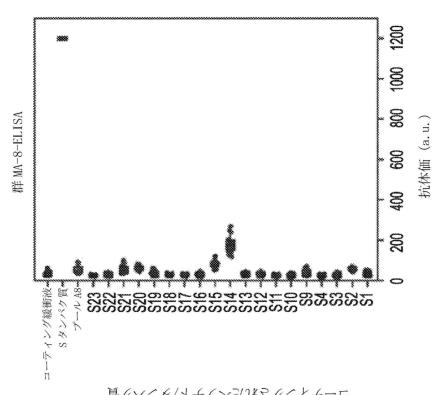
40

50

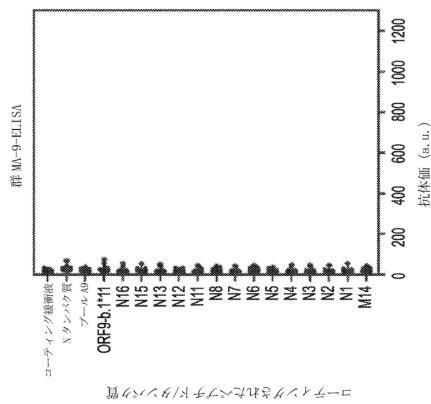
【図 10 G】



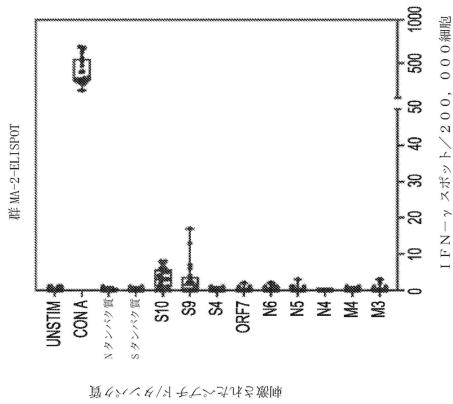
【図 10 H】



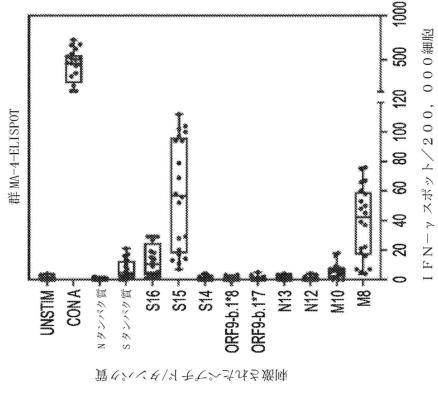
【図 10 I】



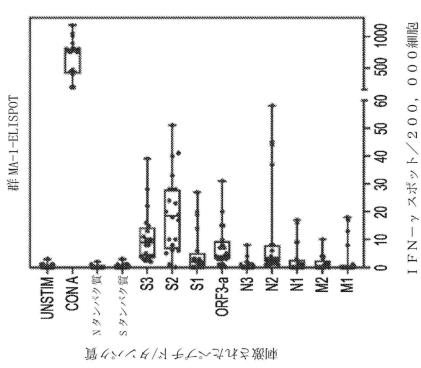
【図 11 B】



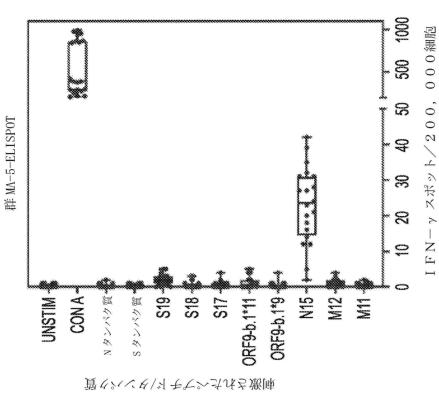
【図 11 D】



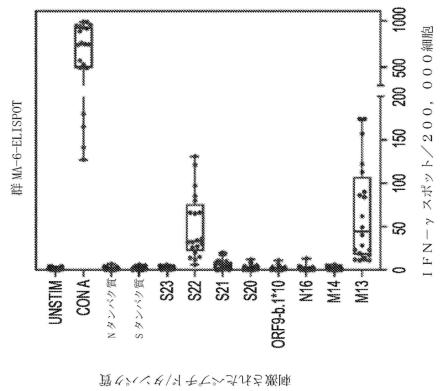
【図 11 A】



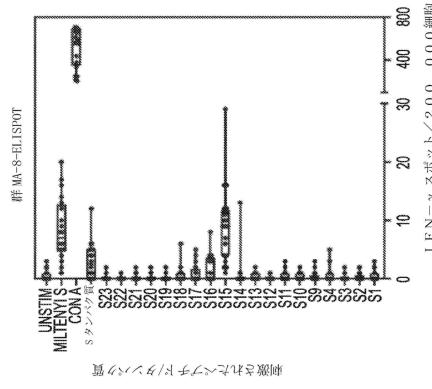
【図 11 E】



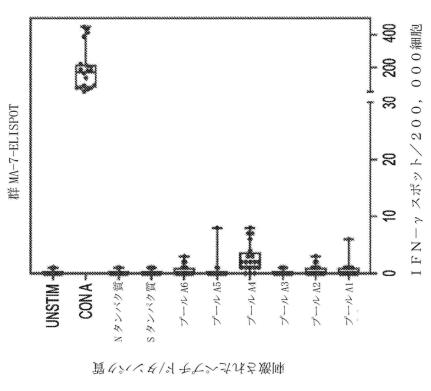
【図 1 1 F】



【図 1 1 H】

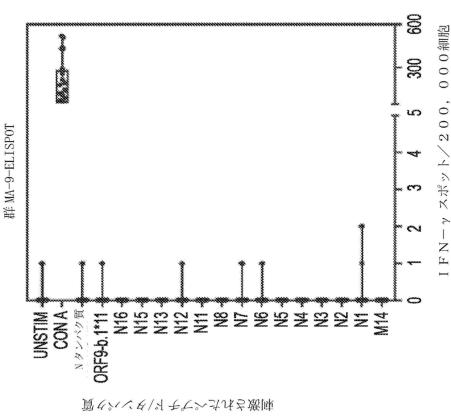


【図 1 1 G】



10

【図 1 1 I】



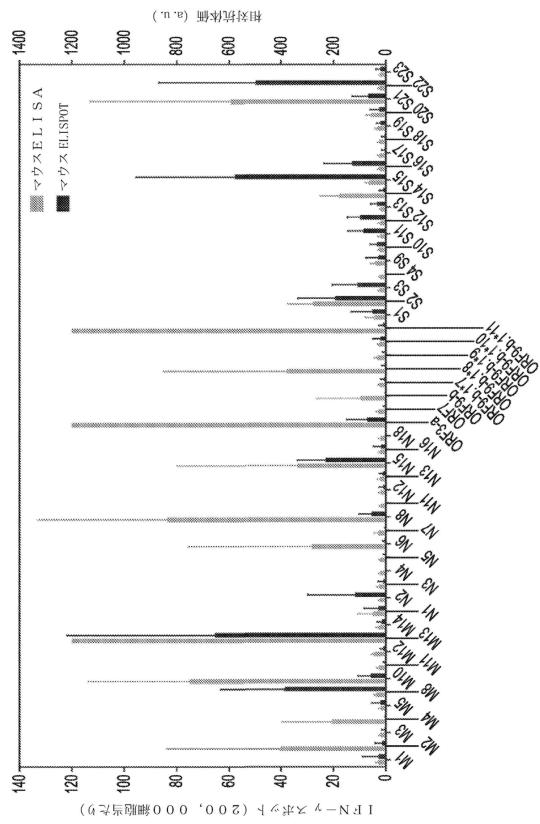
20

30

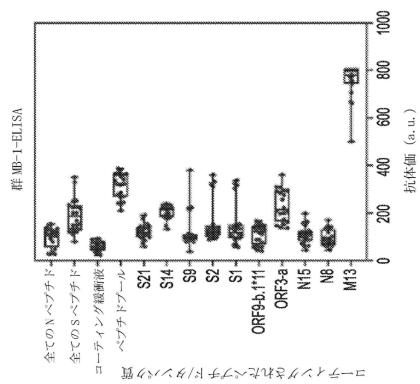
40

50

【 図 1 2 】



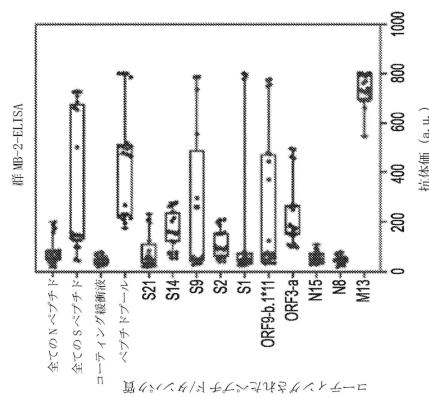
【図13A】



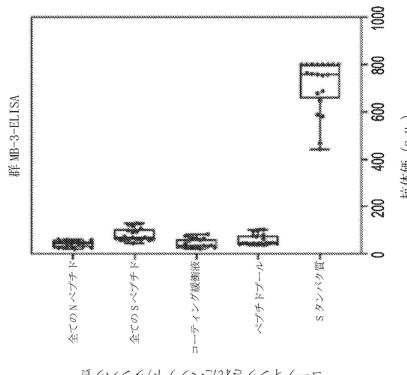
10

20

【図13B】



【図13C】

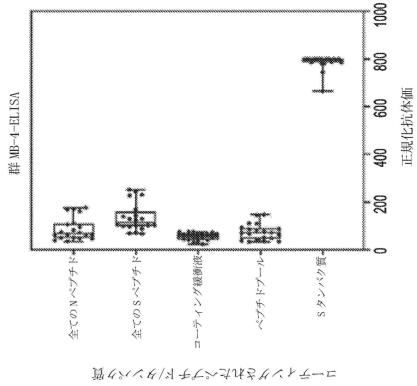


30

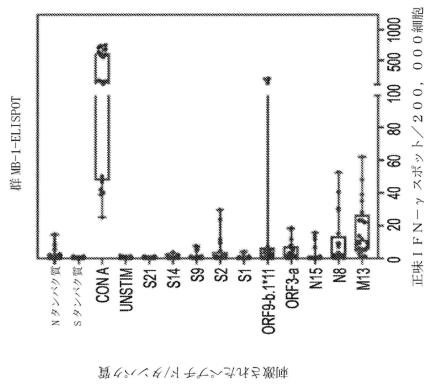
40

50

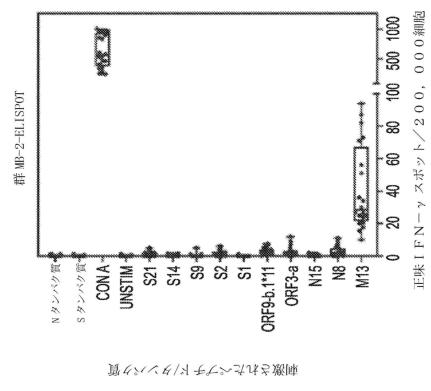
【図 1 3 D】



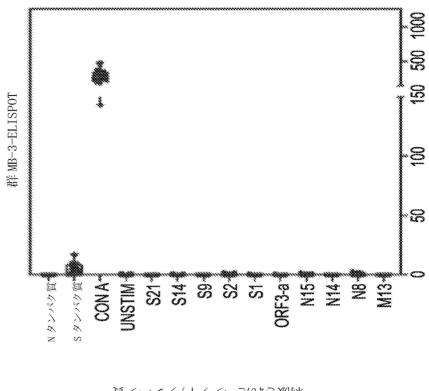
【図 1 3 E】



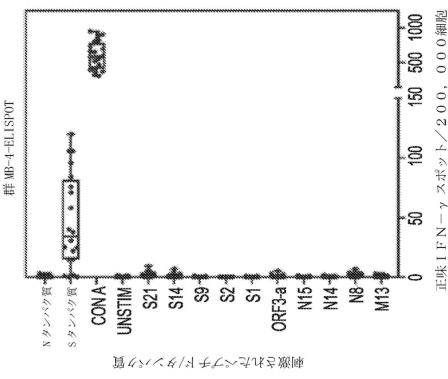
【図 1 3 F】



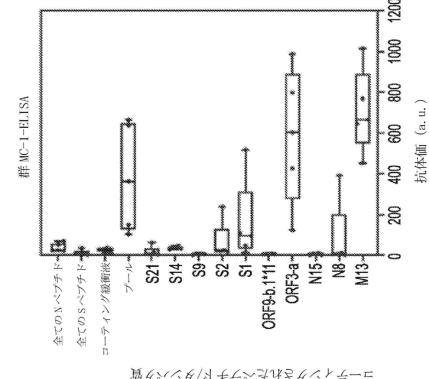
【図 1 3 G】



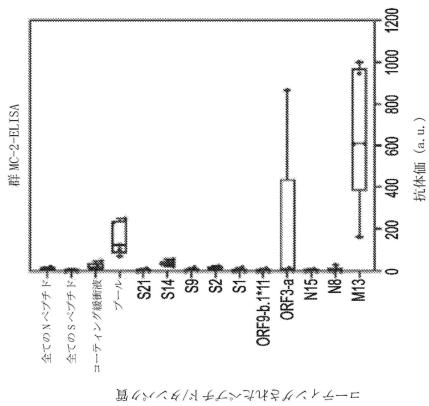
【図 1 3 H】



【図 1 4 A】

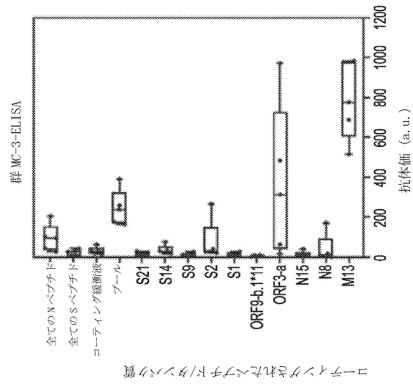


【図 1 4 B】



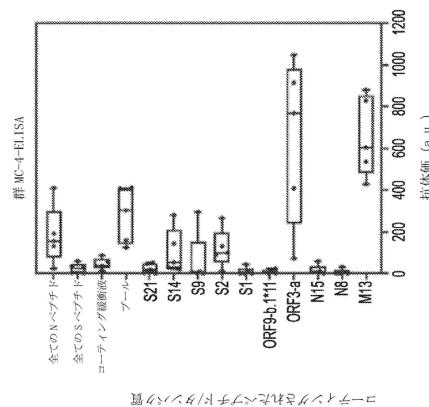
10

【図 1 4 C】



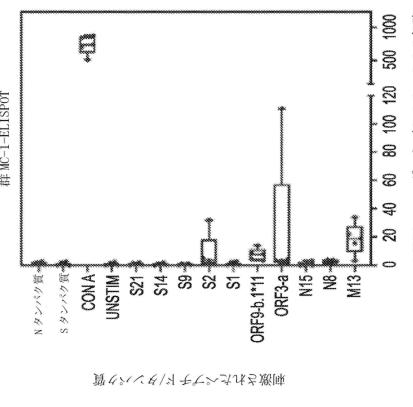
20

【図 1 4 D】



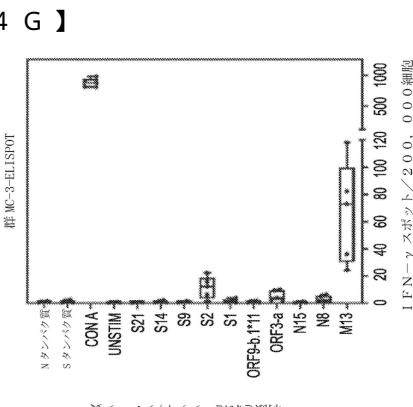
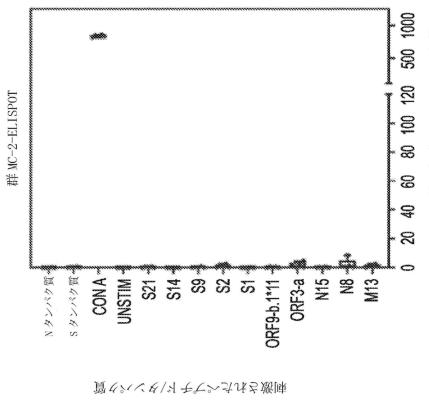
30

【図 1 4 E】



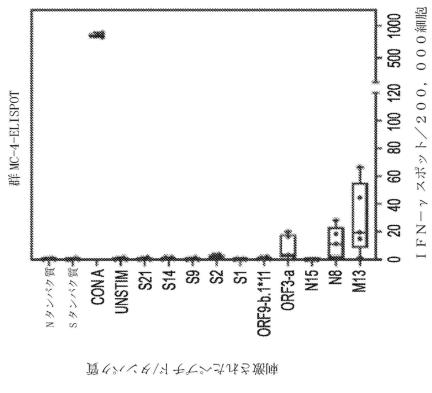
40

【図 1 4 F】

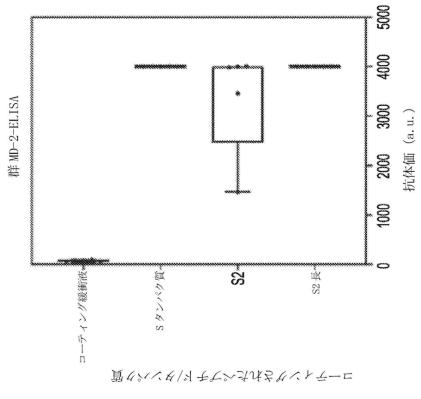


50

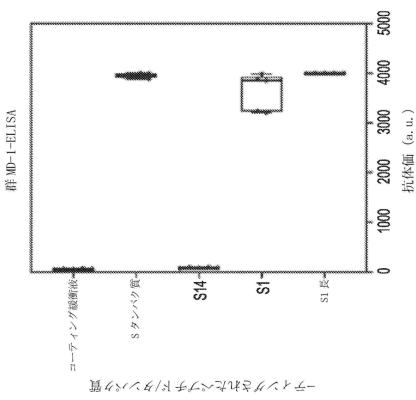
【図 14 H】



【図 15 B】

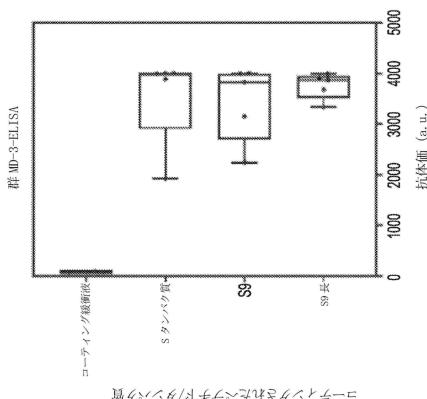


【図 15 A】



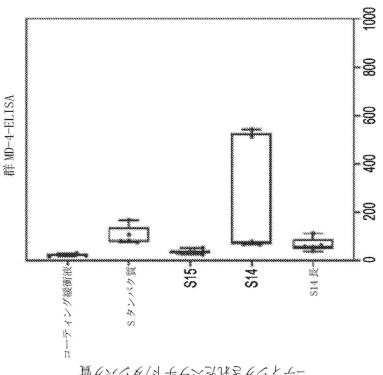
10

【図 15 C】



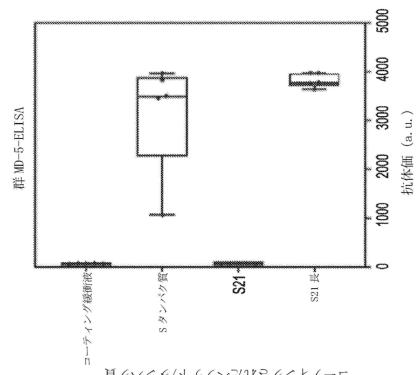
20

【図 15 D】



30

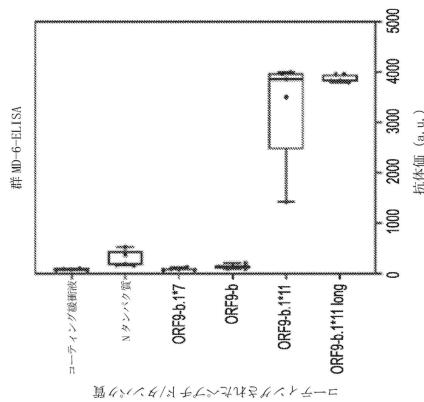
【図 15 E】



40

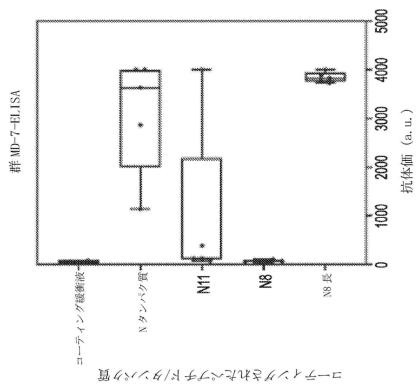
50

【図 15 F】



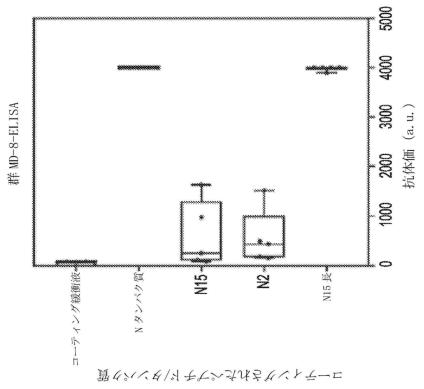
10

【図 15 G】

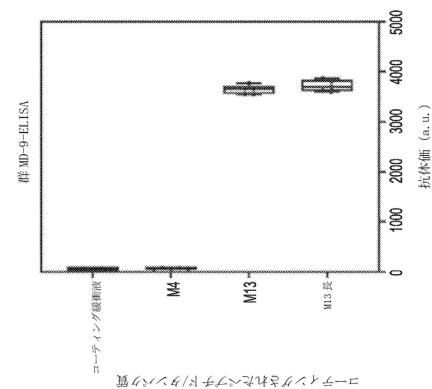


20

【図 15 H】

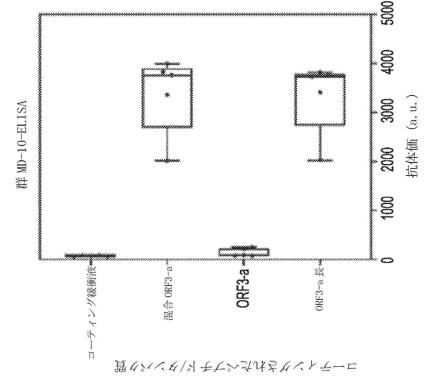


【図 15 I】



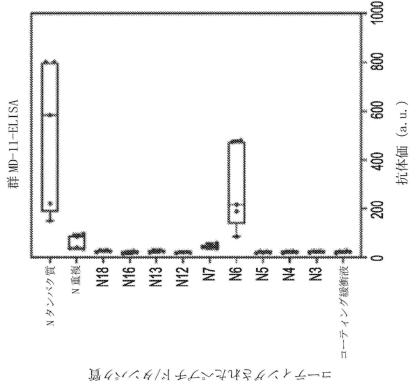
30

【図 15 J】



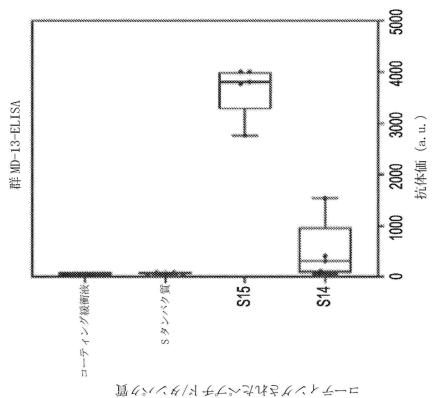
40

【図 15 K】



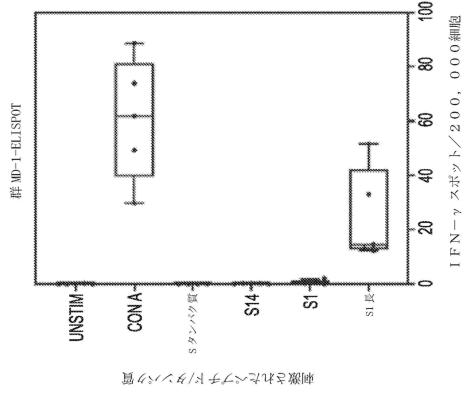
50

【図 15 L】



10

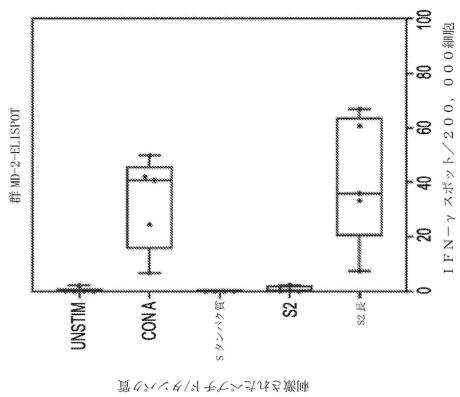
【図 16 A】



IFN-γ spots/200,000細胞

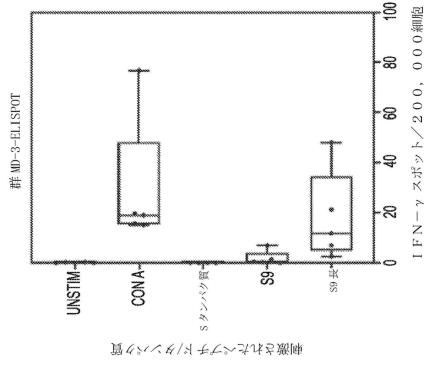
20

【図 16 B】



30

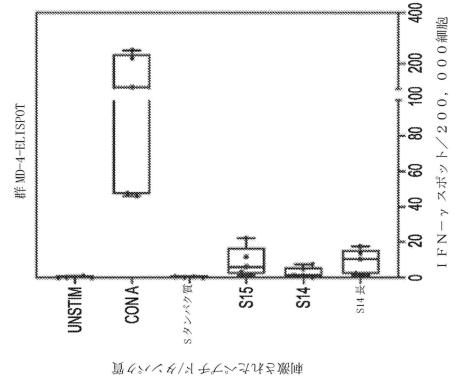
【図 16 C】



IFN-γ spots/200,000細胞

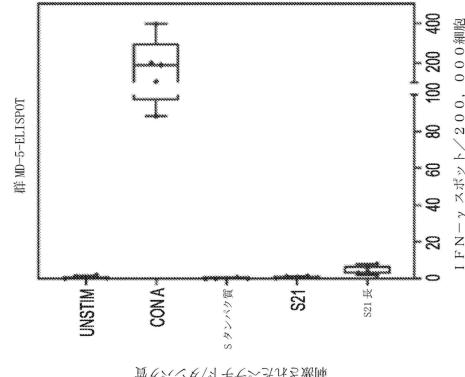
40

【図 16 D】



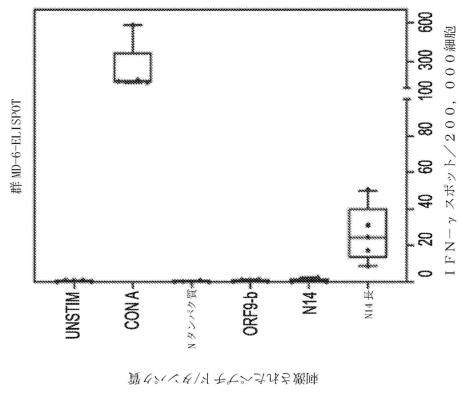
50

【図 16 E】

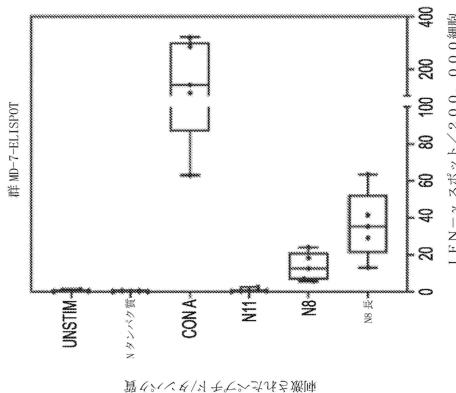


IFN-γ spots/200,000細胞

【図 16 F】



【図 16 G】



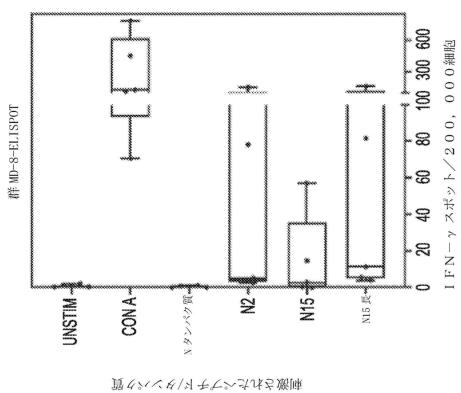
10

20

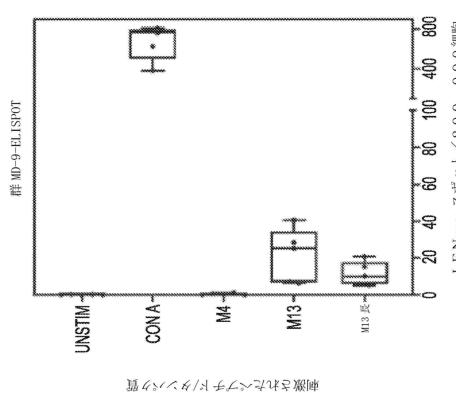
30

40

【図 16 H】



【図 16 I】

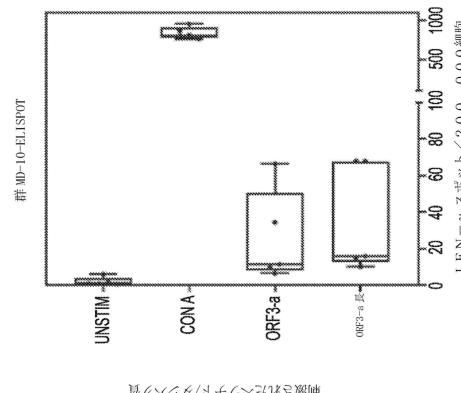


20

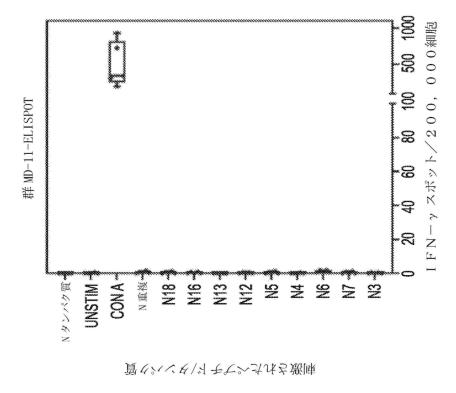
30

50

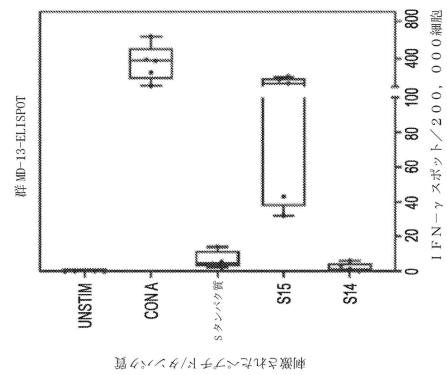
【図 16 J】



【図 16 K】

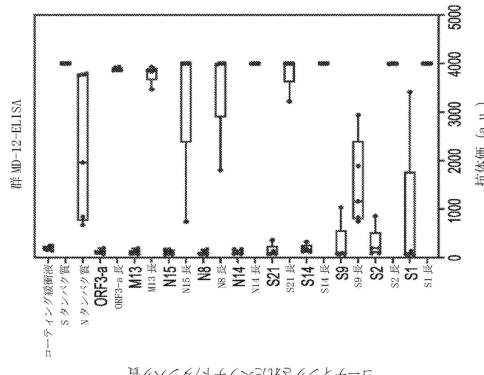


【図 16 L】



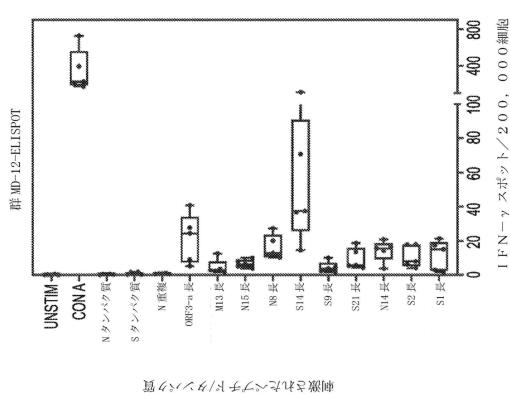
10

【図 17 A】



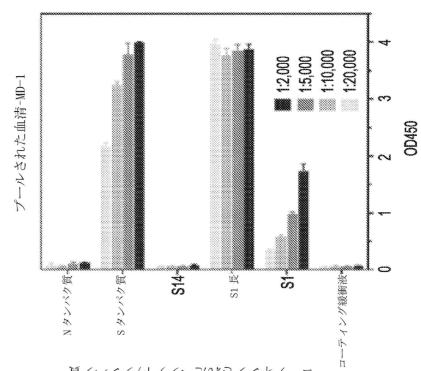
20

【図 17 B】



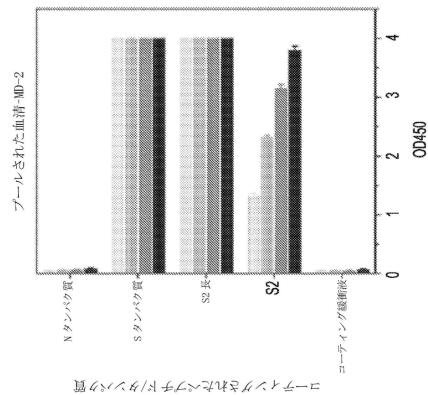
30

【図 18 A】



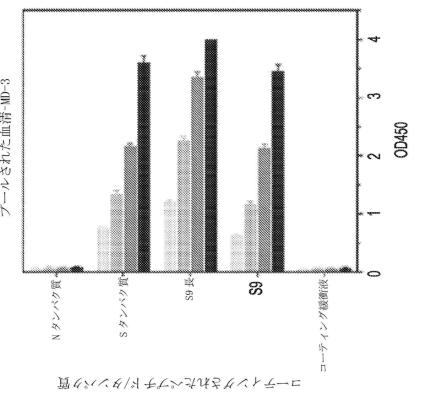
40

【図 18 B】

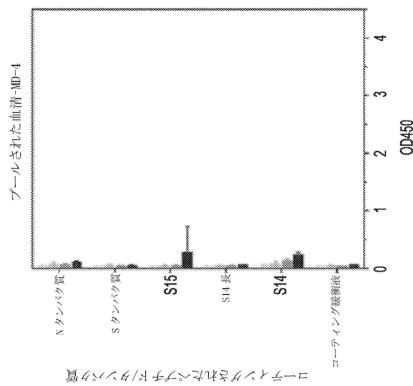


50

【図 18 C】

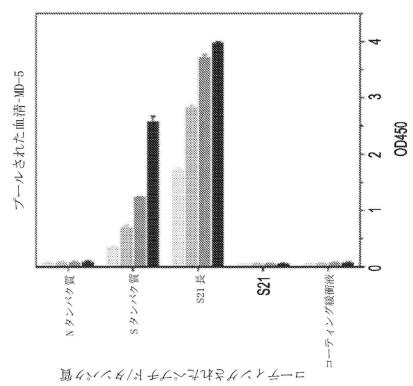


【図 18 D】



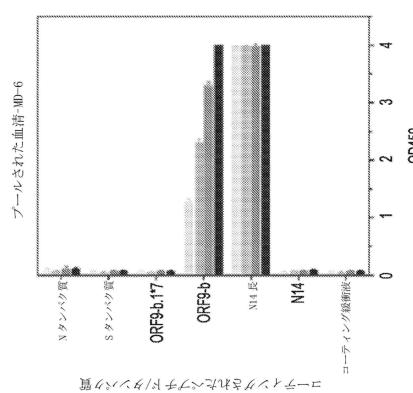
10

【図 18 E】



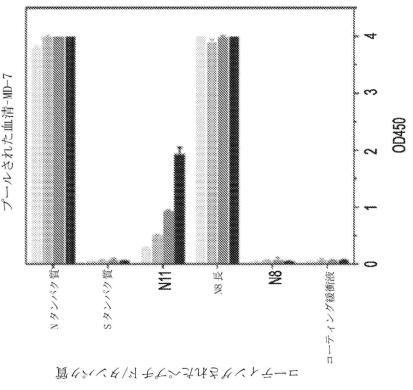
20

【図 18 F】



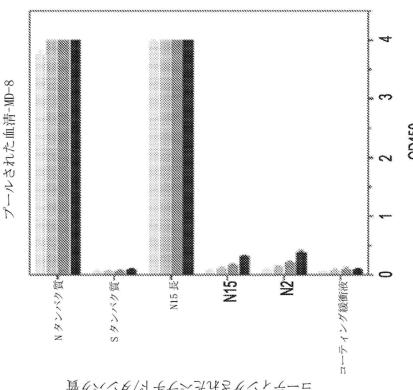
30

【図 18 G】

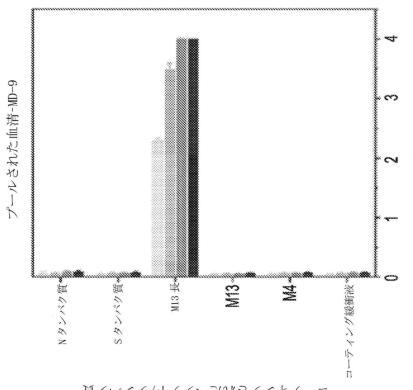


40

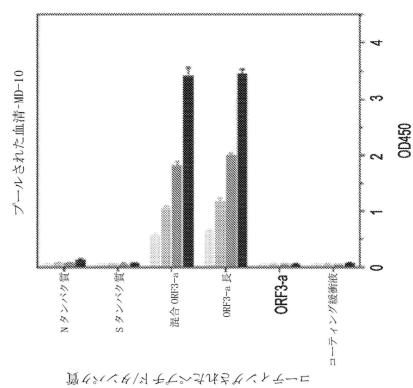
【図 18 H】



50



【図 18 J】



10

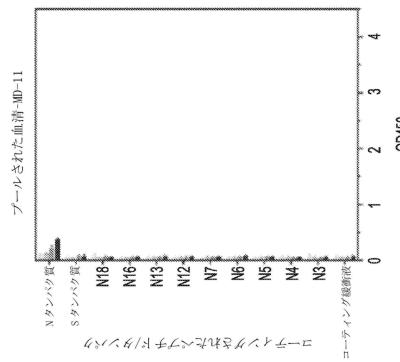
20

30

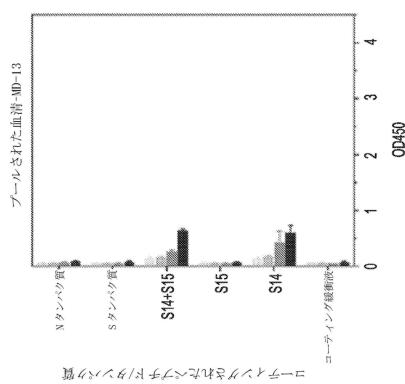
40

50

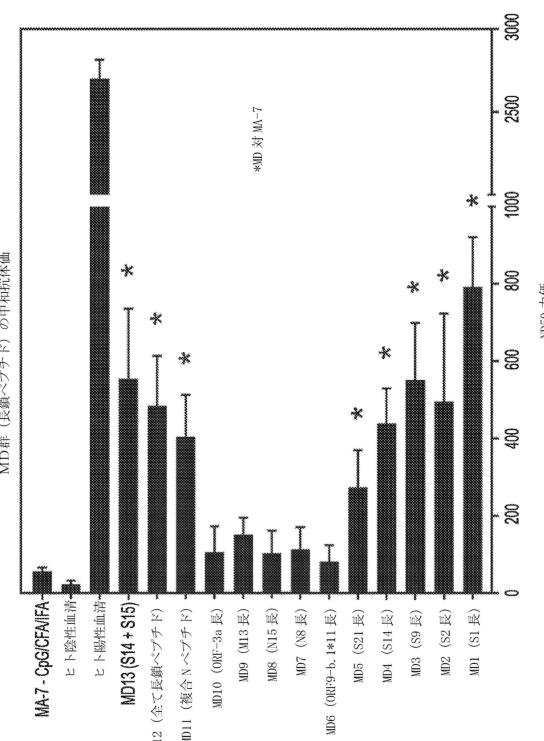
【図 18 K】



【図 18 L】



【図 19】



10

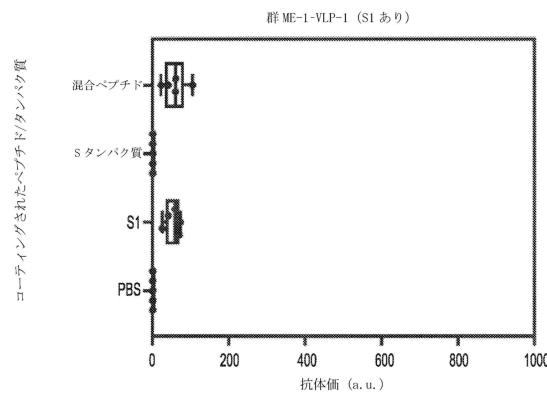
20

30

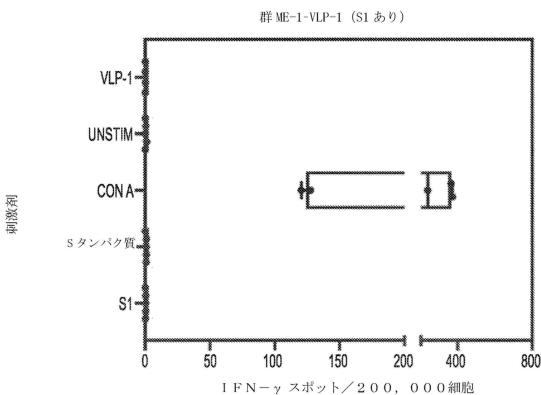
40

50

【図 20 A】



【図 20 B】



10

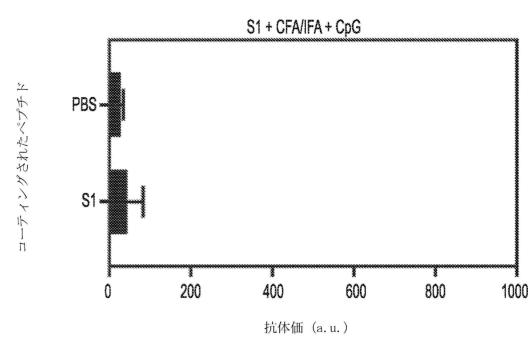
20

30

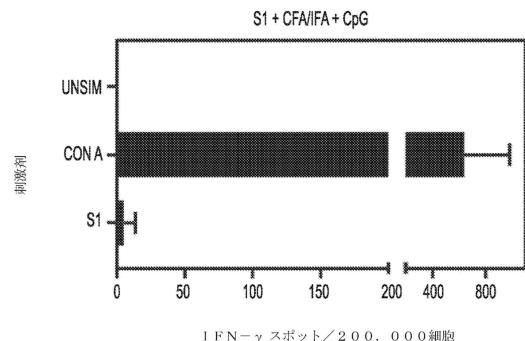
40

50

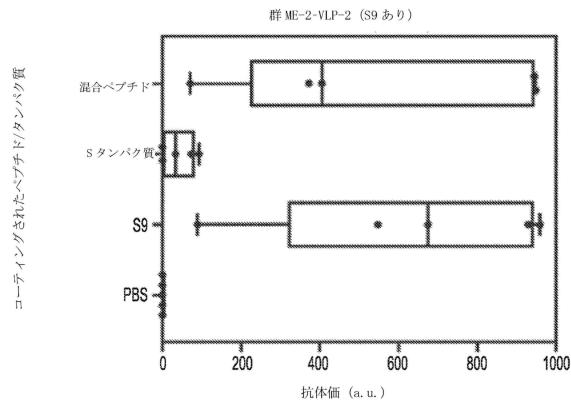
【図 20 C】



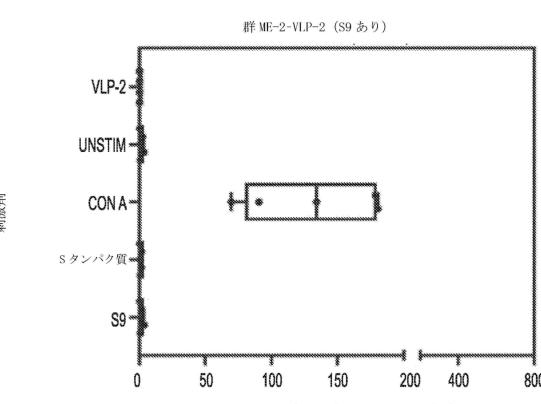
【図 20 D】



【図 21 A】



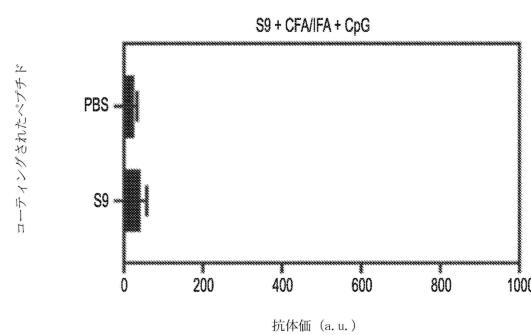
【図 21 B】



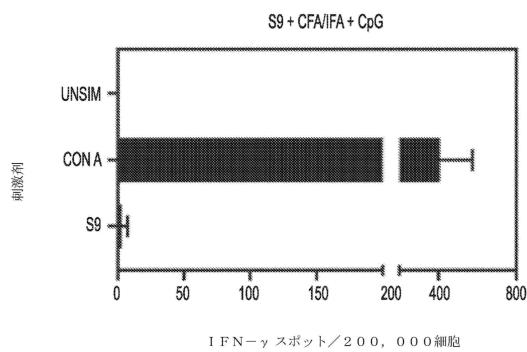
40

50

【図 2 1 C】

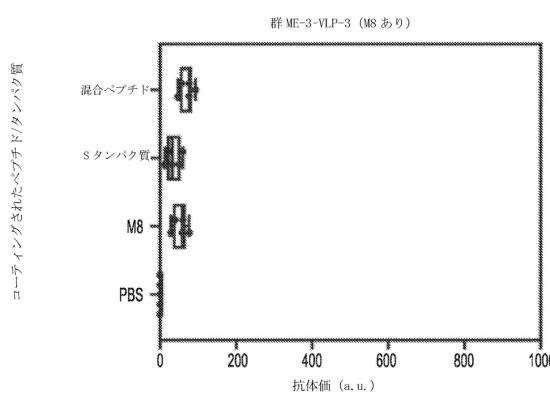


【図 2 1 D】

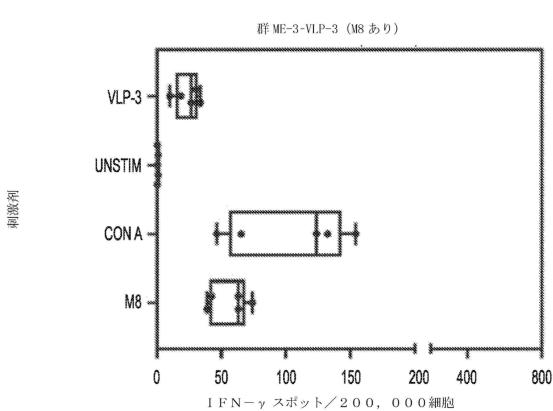


10

【図 2 2 A】

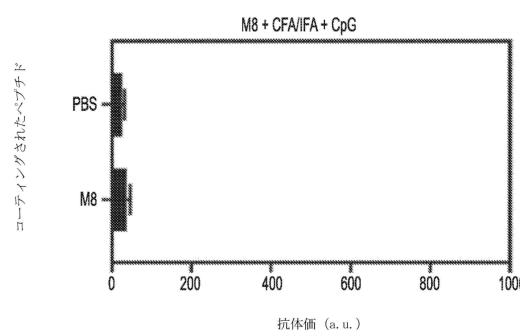


【図 2 2 B】

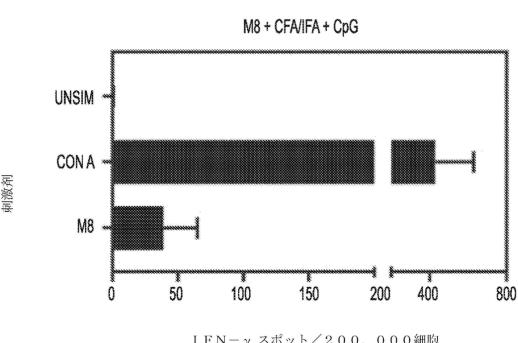


20

【図 2 2 C】



【図 2 2 D】

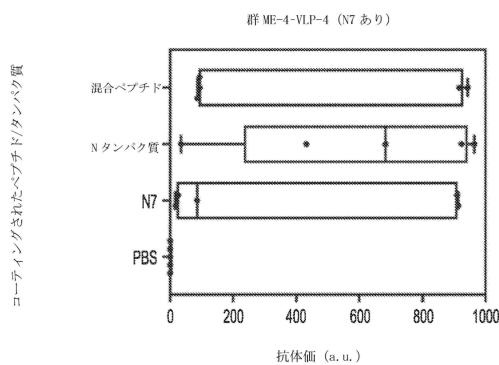


30

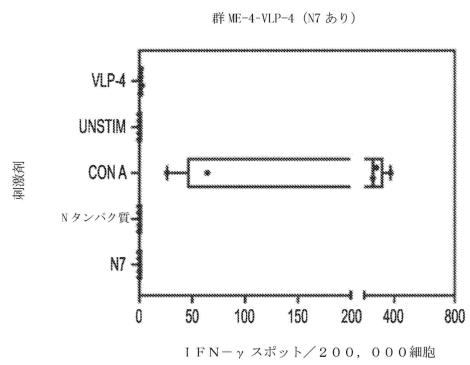
40

50

【図 2 3 A】

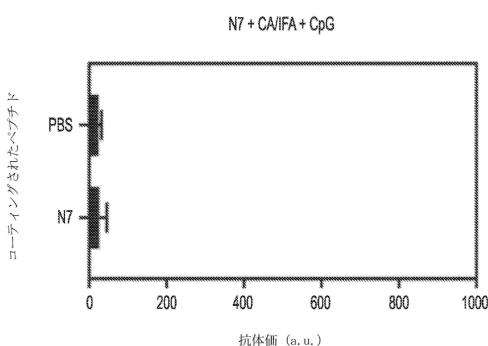


【図 2 3 B】

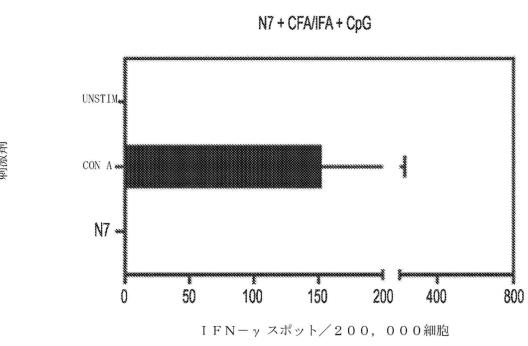


10

【図 2 3 C】

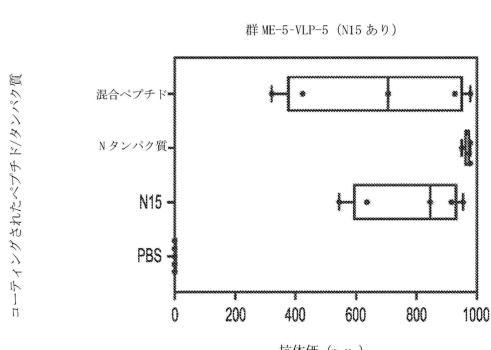


【図 2 3 D】

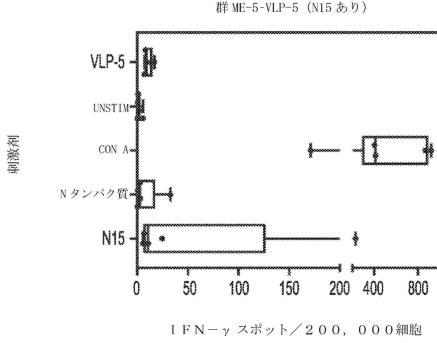


20

【図 2 4 A】



【図 2 4 B】

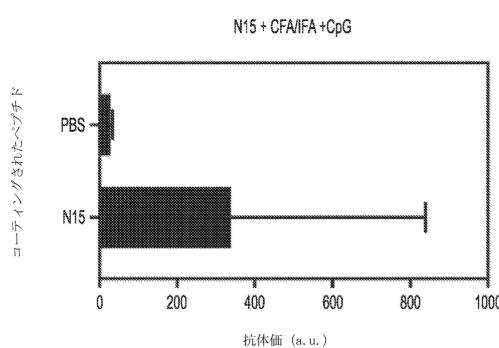


30

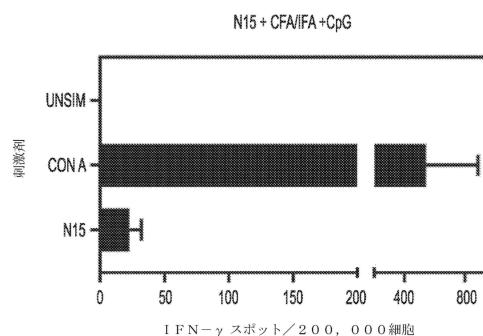
40

50

【図24C】

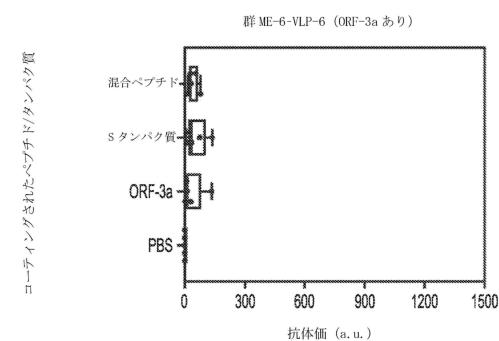


【図24D】

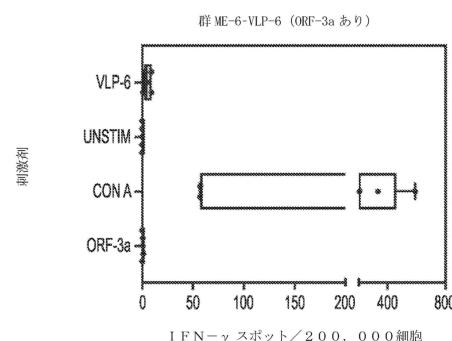


10

【図25A】

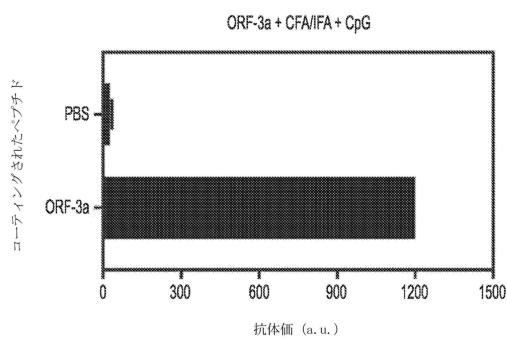


【図25B】

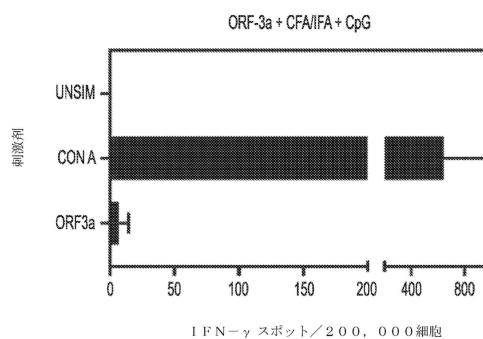


20

【図25C】



【図25D】

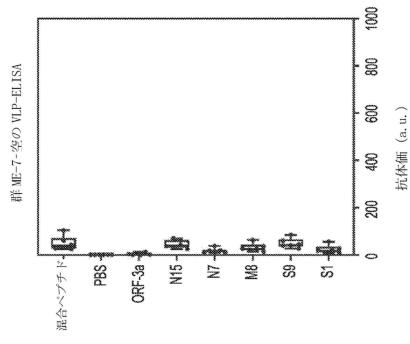


30

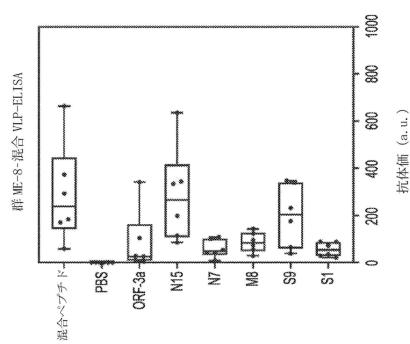
40

50

【図 2 6 A】

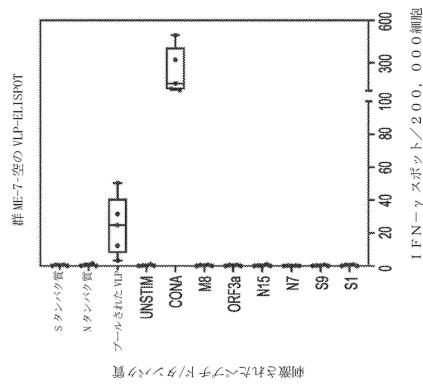


【図 2 6 B】

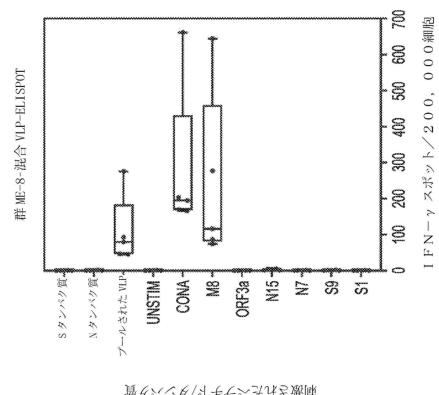


10

【図 2 6 C】



【図 2 6 D】



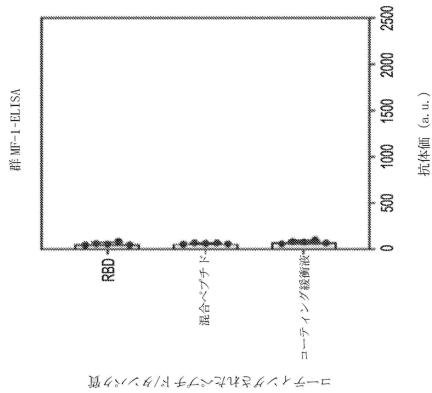
20

30

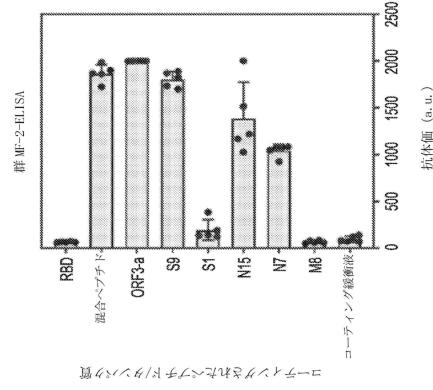
40

50

【図 2 7 A】

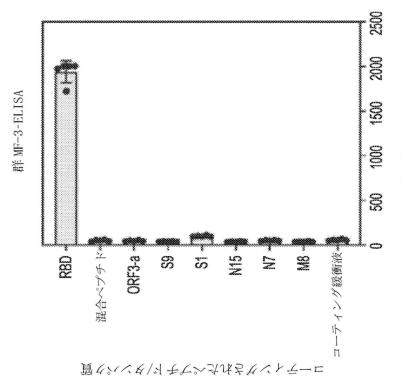


【図 2 7 B】

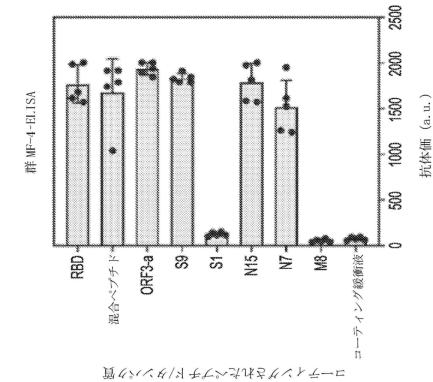


10

【図 2 7 C】

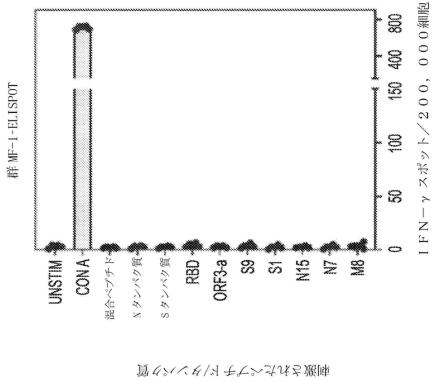


【図 2 7 D】

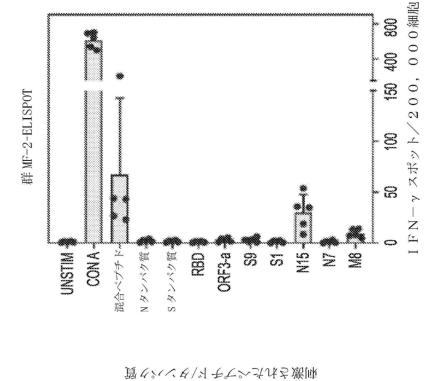


20

【図 2 7 E】



【図 2 7 F】

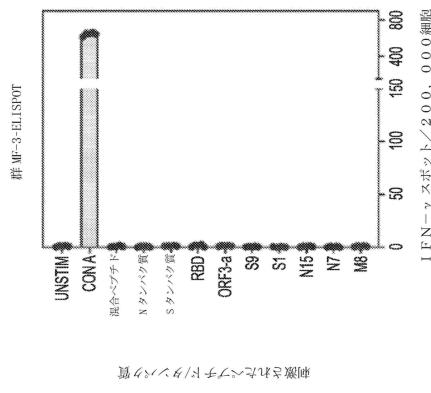


30

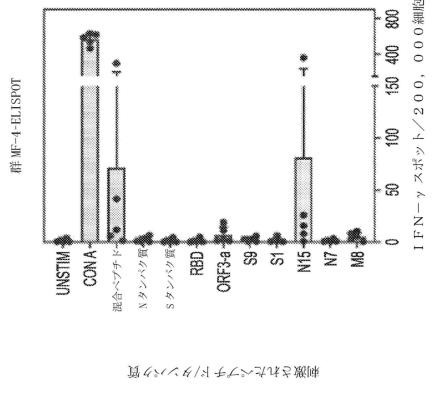
40

50

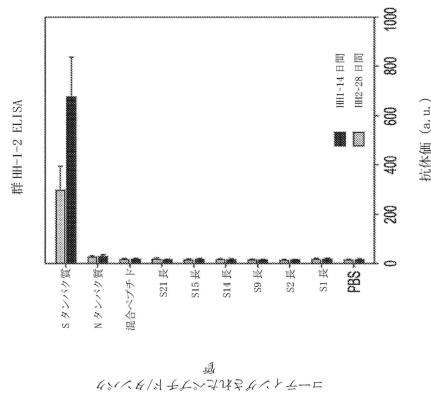
【図 2 7 G】



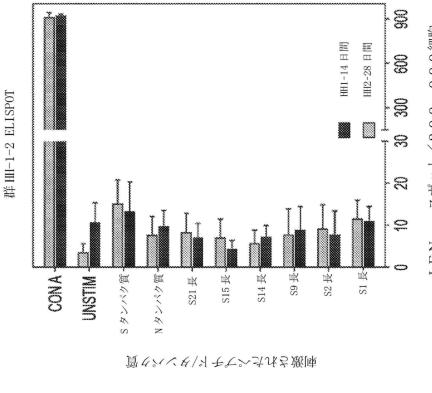
【図 2 7 H】



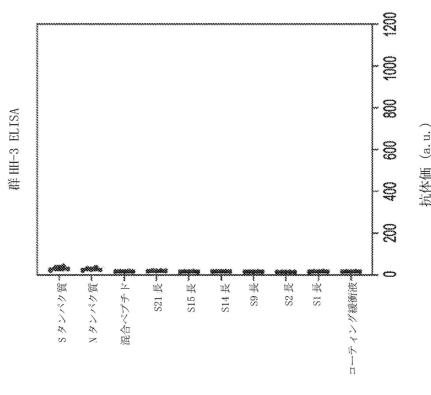
【図 2 8 A】



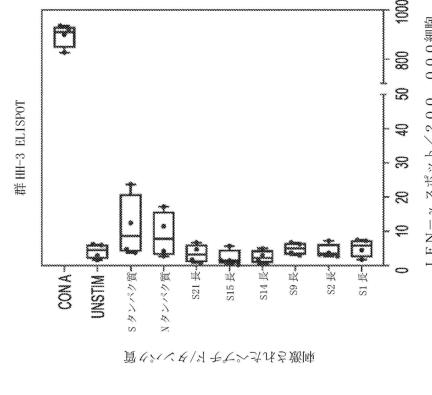
【図 2 8 B】



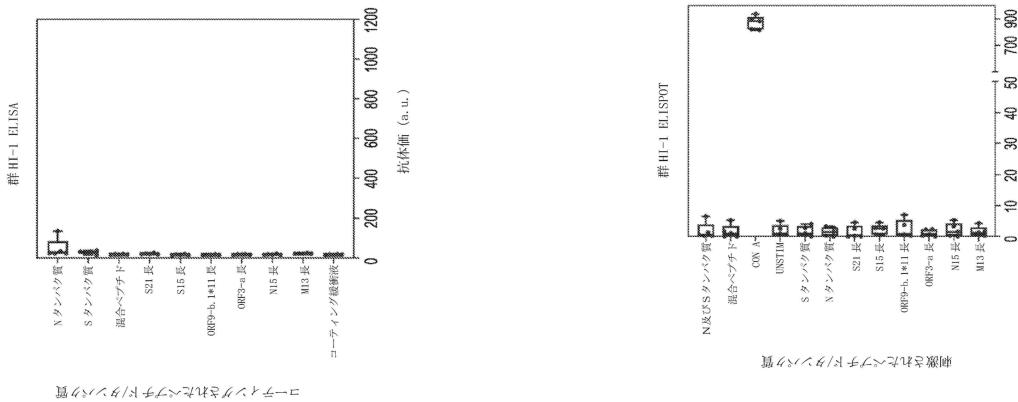
【図 2 8 C】



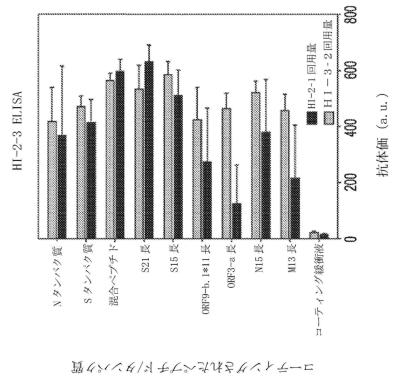
【図 2 8 D】



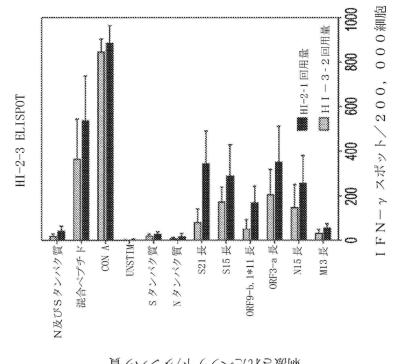
【図29A】



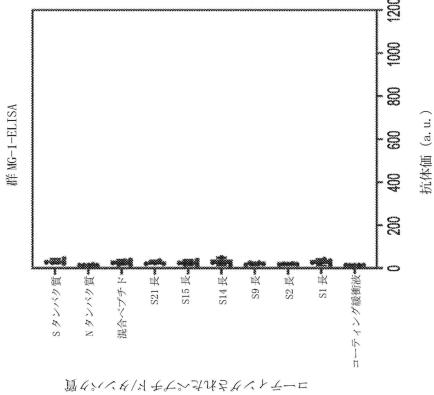
【 図 2 9 C 】



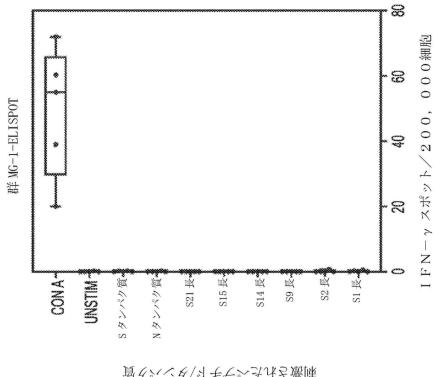
【 図 2 9 D 】



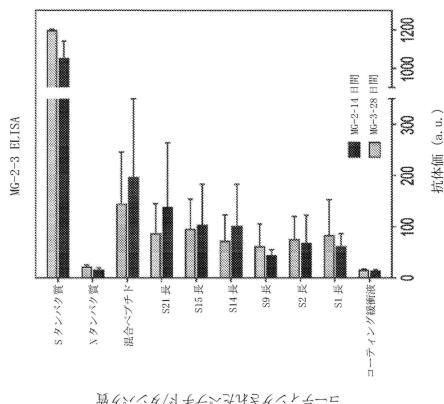
【図30A】



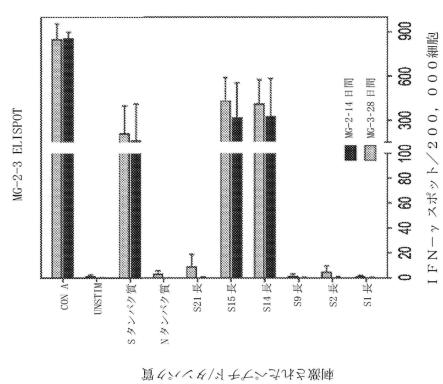
【図30B】



【図30C】



【図30D】



## 【配列表】

2024521098000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/030068

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/215 C07K14/165 A61K39/39 A61P31/14 C12N15/50
ADD.

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

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

**A61K A61P C07K C12N**

10

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**

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<b>X</b>	<p><b>RAMMENSEE HANS-GEORG ET AL: "Designing a SARS-CoV-2 T-Cell-Inducing Vaccine for High-Risk Patient Groups", VACCINES, vol. 9, no. 5, 24 April 2021 (2021-04-24), page 428, XP055949127, DOI: 10.3390/vaccines9050428 tables 1, 2 paragraphs [02.2], [03.2]</b></p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	<b>1-71</b>

20

30

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority, claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

**9 August 2022**

**18/08/2022**

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

**Brouns, Gaby**

**2**

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 3

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/030068

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>-&amp; Rammensee Hans-Georg ET AL: "Designing a SARS-CoV-2 T-Cell-Inducing Vaccine for High-Risk Patient Groups - Supplementary Material", Vaccines, 24 April 2021 (2021-04-24), XP055949877, DOI: 10.3390/vaccines9050428 Retrieved from the Internet: URL:<a href="https://www.mdpi.com/2076-393X/9/5/428">https://www.mdpi.com/2076-393X/9/5/428</a> [retrieved on 2022-08-08]</p> <p>-----</p>	10
X	<p>LEANA RICH DE MESA HERRERA: "Immunoinformatics approach in designing SARS-CoV-2 vaccine from experimentally determined SARS-CoV T-cell epitopes", JOURNAL OF APPLIED PHARMACEUTICAL SCIENCE, 5 March 2021 (2021-03-05), XP055949634, DOI: 10.7324/JAPS.2021.110303 table 4 page 035, last paragraph</p> <p>-----</p>	1-3
X	<p>FOUGEROUX CYRIELLE ET AL: "Capsid-like particles decorated with the SARS-CoV-2 receptor-binding domain elicit strong virus neutralization activity", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 12, no. 1, 12 January 2021 (2021-01-12), XP055938298, DOI: 10.1038/s41467-020-20251-8 Retrieved from the Internet: URL:<a href="http://www.nature.com/articles/s41467-020-20251-8">http://www.nature.com/articles/s41467-020-20251-8</a> figures 1, 4-6</p> <p>-----</p>	20 17-19, 49-51, 59-61, 69-71
A	<p>NELDE ANNIKA ET AL: "SARS-CoV-2-derived peptides define heterologous and COVID-19-induced T cell recognition", NATURE IMMUNOLOGY, vol. 22, no. 1, 30 September 2020 (2020-09-30), pages 74-85, XP055873960, New York ISSN: 1529-2908, DOI: 10.1038/s41590-020-00808-x Retrieved from the Internet: URL:<a href="https://www.nature.com/articles/s41590-020-00808-x.pdf">https://www.nature.com/articles/s41590-020-00808-x.pdf</a> tables 2, 3</p> <p>-----</p> <p>-/-</p>	30 1-71
2		40

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/030068

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<b>A</b>	<b>ABD ALBAGI SAHAR OBI ET AL:</b> "A multiple peptides vaccine against COVID-19 designed from the nucleocapsid phosphoprotein (N) and Spike Glycoprotein (S) via the immunoinformatics approach", INFORMATICS IN MEDICINE UNLOCKED, vol. 21, 10 November 2020 (2020-11-10), page 100476, XP055949639, ISSN: 2352-9148, DOI: 10.1016/j.imu.2020.100476 tables 3-6	1-71
<b>A</b>	RAMMENSEE HANS-GEORG ET AL: "A new synthetic toll-like receptor 1/2 ligand is an efficient adjuvant for peptide vaccination in a human volunteer", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, vol. 7, no. 1, 15 November 2019 (2019-11-15), XP055949867, DOI: 10.1186/s40425-019-0796-5 Retrieved from the Internet: URL: <a href="http://link.springer.com/article/10.1186/s40425-019-0796-5/fulltext.html">http://link.springer.com/article/10.1186/s40425-019-0796-5/fulltext.html</a> page 2, right-hand column, paragraph 1	13-16, 31-34, 45,46, 55,56, 65,66
<b>X,P</b>	WO 2022/023727 A1 (UNIV OXFORD INNOVATION LTD [GB]) 3 February 2022 (2022-02-03) SEQ ID NO:1=S-1, SEQ ID NO:13=S-2, SEQ ID NO:15=S-3, SEQ ID NO:23=N-8, SEQ ID NO:30=M-4, SEQ ID NO:33=M-5, SEQ ID NO:37=Orf3a claim 24 table 1	1-71
<b>X,P</b>	WO 2021/214297 A1 (ISA PHARMACEUTICALS B V [NL]) 28 October 2021 (2021-10-28) tables 1A, 1B, 2A, 2B	1-71
<b>X,P</b>	US 11 191 827 B1 (SAADI RYAN [US]) 7 December 2021 (2021-12-07) claims 1-17 tables 1-5	1-71

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 3 of 3

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/US2022/030068

**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:
- 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.
  - 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.
  - furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
    - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/US2022/030068
---

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 2022023727	A1	03-02-2022	NONE			
WO 2021214297	A1	28-10-2021	NONE			
US 11191827	B1	07-12-2021	US	11191827 B1	07-12-2021	
			US	11207401 B1	28-12-2021	
			US	11219684 B1	11-01-2022	

## フロントページの続き

(51)国際特許分類 F I テーマコード(参考)

A 6 1 K	47/69 (2017.01)	A 6 1 K	47/69	
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	
C 1 2 N	15/861 (2006.01)	C 1 2 N	15/861	Z
C 1 2 N	15/864 (2006.01)	C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z
C 1 2 N	15/867 (2006.01)	C 1 2 N	15/867	Z
C 1 2 N	15/869 (2006.01)	C 1 2 N	15/869	Z
C 1 2 N	15/863 (2006.01)	C 1 2 N	15/863	Z

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D  
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O  
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B  
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD  
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,  
LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,  
RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,Z  
A,ZM,ZW

(特許序注:以下のものは登録商標)

1. T W E E N

弁理士 反町 洋

(72)発明者 グレゴリー、エイ・ポーランド

アメリカ合衆国ミネソタ州、ロチェスター、ファースト、ストリート、サウスウェスト、200、  
ケアオブ、マヨ、ファウンデーション、フォー、メディカル、エデュケーション、アンド、リサー  
チ

(72)発明者 インナ、ジー・オフシャンニコフ

アメリカ合衆国ミネソタ州、ロチェスター、ファースト、ストリート、サウスウェスト、200、  
ケアオブ、マヨ、ファウンデーション、フォー、メディカル、エデュケーション、アンド、リサー  
チ

(72)発明者 リチャード、ビー・ケネディ

アメリカ合衆国ミネソタ州、ロチェスター、ファースト、ストリート、サウスウェスト、200、  
ケアオブ、マヨ、ファウンデーション、フォー、メディカル、エデュケーション、アンド、リサー  
チ

F ターム(参考) 4C076 AA95 BB01 BB15 BB16 CC06 CC35 CC41 EE56 EE59 FF31

FF68

4C084 AA02 AA03 AA07 AA13 BA01 BA08 BA18 BA19 BA23 CA01

CA59 MA52 MA57 MA59 MA63 MA66 NA05 NA14 ZB091 ZB092 ZB331  
ZB332

4C085 AA03 AA38 EE01 EE06 FF01 FF02 FF12 FF20 GG03 GG04

GG08 GG10

4H045 BA15 BA16 BA17 BA50 CA01 DA86 EA29 FA74