(19)日本国特許庁(JP)　　(12)公表特許公報(A)　　(11)公表番号
特表2024-516309
(P2024-516309A)
(43)公表日　令和6年4月12日(2024.4.12)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/215 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/215	４Ｂ０６５
Ａ６１Ｋ	*39/145 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/145	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*39/39 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/39	４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*31/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/16	
Ａ６１Ｐ	*31/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/14	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全140頁）　最終頁に続く

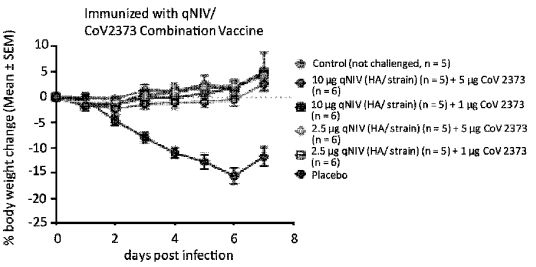
(21)出願番号　特願2023-568063(P2023-568063)
(86)(22)出願日　令和4年5月3日(2022.5.3)
(85)翻訳文提出日　令和5年12月25日(2023.12.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/027465
(87)国際公開番号　WO2022/235663
(87)国際公開日　令和4年11月10日(2022.11.10)
(31)優先権主張番号　63/184,727
(32)優先日　令和3年5月5日(2021.5.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/193,356
(32)優先日　令和3年5月26日(2021.5.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/255,685
最終頁に続く

(71)出願人　507301246
ノババックス，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国，メリーランド州　２０８７８，ゲイザースバーグ，ファースト フィールド ロード　２１
(74)代理人　100079108
弁理士　稲葉 良幸
(74)代理人　100109346
弁理士　大貫 敏史
(74)代理人　100117189
弁理士　江口 昭彦
(74)代理人　100134120
弁理士　内藤 和彦
(72)発明者　パーテル，ニタ
アメリカ合衆国，メリーランド州　２０
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　コロナウイルス組成物及びインフルエンザ組成物ならびにそれらの使用方法

(57)【要約】
本明細書では、インフルエンザウイルス及びコロナウイルスの双方に対して免疫応答を誘発するための組成物及び方法を開示する。本明細書では、組成物及びその使用方法が提供され、組成物は、（ａ）洗剤－コアナノ粒子の形態のコロナウイルスＳ（ＣｏＶ　Ｓ）糖タンパク質（洗剤は非イオン性洗剤である）と；（ｂ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（それぞれのＨＡ糖タンパク質が異なるインフルエンザ株由来である）と；（ｃ）薬学的に許容される緩衝液と、を含む。
【選択図】図１３Ｂ

Fig. 13B



【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ａ）免疫原性組成物であって、
（ａ）洗剤－コアナノ粒子の形態のコロナウイルスＳ（ＣｏＶ　Ｓ）糖タンパク質（前記洗剤は非イオン性洗剤である）と、
（ｂ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（それぞれのＨＡ糖タンパク質が、異なるインフルエンザ株由来である）と、
（ｃ）薬学的に許容される緩衝液と、
を含む、前記免疫原性組成物。
【請求項２】
前記少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質が、
（ａ）ヘマグルチニン（ＨＡ）を含む洗剤－コアナノ粒子；
（ｂ）ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）；
（ｃ）不活化された全インフルエンザウイルス；
（ｄ）インフルエンザウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物（任意選択でインフルエンザスプリットビリオン組成物またはサブユニットインフルエンザ組成物である）；及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される形態である、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項３】
少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質が、ＨＡを含む洗剤－コアナノ粒子の形態であり、少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質が、ＨａＳＭａＮの形態である、請求項２に記載の免疫原性組成物。
【請求項４】
前記洗剤－コアナノ粒子のヘマグルチニン糖タンパク質が、Ｂ型インフルエンザ株由来である、請求項３に記載の免疫原性組成物。
【請求項５】
前記洗剤－コアナノ粒子のヘマグルチニン糖タンパク質が、Ａ型インフルエンザ株由来である、請求項３に記載の免疫原性組成物。
【請求項６】
前記洗剤－コアナノ粒子が、トリプシン耐性ナノ粒子である、請求項３に記載の免疫原性組成物。
【請求項７】
前記ＨａＳＭａＮが、トリプシン耐性ナノ粒子である、請求項３に記載の免疫原性組成物。
【請求項８】
それぞれのＨＡ糖タンパク質が、異なるインフルエンザ株由来である、請求項１～７のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項９】
最大４種、最大５種、最大６種、最大７種、最大８種、最大９種、または最大１０種のＨＡ糖タンパク質を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項１０】
それぞれのＨＡ糖タンパク質がナノ粒子の形態である、請求項１～９のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項１１】
それぞれのナノ粒子が、単一インフルエンザ株由来のＨＡ糖タンパク質を含む、請求項１０に記載の免疫原性組成物。
【請求項１２】
それぞれのナノ粒子が、洗剤－コアナノ粒子またはＨａＳＭａＮである、請求項１１に記載の免疫原性組成物。
【請求項１３】

アジュバントを含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項１４】
前記アジュバントがサポニンアジュバントである、請求項１３に記載の免疫原性組成物。
【請求項１５】
前記アジュバントが、少なくとも２つのＩＳＣＯＭ粒子を含み、
前記第１のＩＳＣＯＭ粒子が、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ画分Ａを含み、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ画分Ｃを含まず；
前記第２のＩＳＣＯＭ粒子が、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ画分Ｃを含み、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ画分Ａを含まない；請求項１４に記載の免疫原性組成物。
【請求項１６】
Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａが、前記アジュバント中の、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａ、及びＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃのそれぞれ合計の重量の、５０～９６重量％を占め、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃが残部を占める、請求項１５に記載の免疫原性組成物。
【請求項１７】
Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分ＡとＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃが、前記アジュバント中の、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａ、及びＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃの合計の重量の、それぞれ約８５重量％と約１５重量％を占める、請求項１５に記載の免疫原性組成物。
【請求項１８】
約５０μｇまたは約７５μｇのサポニンアジュバントを含む、請求項１３～１７のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項１９】
前記洗剤が、ＰＳ８０である、請求項１～１８のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項２０】
前記インフルエンザ株が、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１０、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１４、Ｈ１５、Ｈ１６、Ｈ１７、及びＨ１８からなる群から選択されるサブタイプのものである、請求項１～１９のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項２１】
前記薬学的に許容される緩衝液が、（ｉ）約２５ｍＭのリン酸ナトリウム；（ｉｉ）約１５０ｍＭの塩化ナトリウム；（ｉｉｉ）約１００ｍＭのアルギニン塩酸塩；（ｉｖ）約５％のトレハロースを含み、前記組成物のｐＨが約７．５である、請求項１～２０のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項２２】
前記ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質が、
（ｉ）不活性化されたフューリン切断部位を有するＳ１サブユニット（前記Ｓ１サブユニットは、Ｎ末端ドメイン（ＮＴＤ）、受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）、サブドメイン１及び２（ＳＤ１／２）を含み、前記不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する）
（前記ＮＴＤは、任意選択で：
（ａ）アミノ酸５６、５７、１３１、１３２、１４４、１４５、２２８、２２９、２３０、２３１、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２３９、２４０及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の欠失；
（ｂ）アミノ酸１３２の後に１、２、３、または４個のアミノ酸の挿入；

（ｃ）アミノ酸５、６、７、１３、５１、５３、５６、５７、６２、６３、６７、８２、１２５、１２９、１３１、１３２、１３３、１３９、１４３、１４４、１４５、１７７、２００、２０１、２０２、２０９、２２９、２３３、２４０、２４５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異、
からなる群から選択される１つ以上の改変を含み、
前記ＲＢＤは、任意選択で、アミノ酸３３３、４０４、４１９、４２６、４３９、４４０、４６４、４６５、４７１、４７７、４８１、４８８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異を含み、
前記ＳＤ１／２ドメインは、任意選択で、５５７、６００、６０１、６４２、６６４、６６８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異を含む）と、
（ｉｉ）Ｓ２サブユニット（アミノ酸９７３及び９７４がプロリンである）、
（前記Ｓ２サブユニットは、任意選択で：
（ａ）６７６～６８５、６７６～７０２、７０２～７１１、７７５～７９３、８０６～８１５、及びそれらの組み合わせからの１個以上のアミノ酸の欠失；
（ｂ）６８８、７０３、８４６、８７５、９３７、９６９、１０１４、１０５８、１１０５、及び１１６３、ならびにそれらの組み合わせからの１個以上のアミノ酸の変異；
（ｃ）ＴＭＣＴからの１個以上のアミノ酸の欠失；
を含む）と、を含み、前記ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質のアミノ酸が、配列番号２の配列を有するポリペプチドに対してナンバリングされる、請求項１～２１のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。

【請求項２３】

前記ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質が、配列番号８６～８９、１０５、１０６、１１２～１１５、及び１６４～１６８のいずれか１つに対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項２２に記載の免疫原性組成物。

【請求項２４】

前記ＣｏＶ　Ｓ糖たんぱく質が、配列番号８７と少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一である配列を含む、請求項２３に記載の免疫原性組成物。

【請求項２５】

１株あたり約１μｇ～約５０μｇのＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質及び約５μｇ～約６０μｇのヘマグルチニンを含む、請求項１～２４のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。

【請求項２６】

１株あたり約２０μｇ～約５０μｇのＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質及び約２４μｇ～約４０μｇのヘマグルチニンを含む、請求項２５に記載の免疫原性組成物。

【請求項２７】

約３μｇ、約５μｇ、約２５μｇ、約２２．５μｇ、約７．５μｇ、または約２．５μｇのコロナウイルスＳ糖タンパク質を含む、請求項１～２６のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。

【請求項２８】

１株あたり約５μｇ、約１０μｇ、約２４μｇ、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９μｇ、約３０μｇ、約３１μｇ、約３２μｇ、約３３μｇ、約３４μｇ、約３５μｇ、約３６μｇ、約３７μｇ、約３８μｇ、約３９μｇ、約４０μｇ、または約６０μｇのヘマグルチニンを含む、請求項１～２６のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。

【請求項２９】

対象におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、インフルエンザウイルス、またはそれらの組み合わせに対する免疫応答を刺激する方法であって、請求項１～２８のいずれか１項に記載の免疫原性組成物を投与することを含む、前記方法。

【請求項３０】

前記対象に、０日目に初回用量を投与し、５６日目に追加用量を投与する、請求項２９に記載の方法。

【請求項３１】

前記免疫原性組成物が、筋肉内に投与される、請求項２９または３０に記載の方法。

【請求項３２】

前記免疫原性組成物の単回投与が投与される、請求項２９～３１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３３】

前記不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株が、Ｃａｌ．２０Ｃ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｐ．１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．３５１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．１．７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｂ．１．６１７．２株、Ｂ．１．５２５株、、Ｂ．１．５２６株、Ｂ．１．６１７．１株、Ｃ．３７株、Ｂ．１．６２１株、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロン株からなる群から選択される、請求項３０に記載の方法。

【請求項３４】

コロナウイルス疾患１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を予防するための前記免疫原性組成物の有効性が、前記免疫原性組成物の投与後、最大約２か月、最大約２．５か月、最大約３か月、最大約３．５か月、最大約４か月、最大約４．５か月、最大約５か月、最大約５．５か月、最大約６か月、最大約６．５か月、最大約７か月、最大約７．５か月、最大約８か月、最大約８．５か月、最大約９か月、最大約９．５か月、最大約１０か月、最大約１０．５か月、最大約１１か月、最大約１１．５か月、または最大約１２か月の間で、少なくとも５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、もしくは少なくとも約９９％、または約１００％である、請求項２９～３３のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３５】

コロナウイルス疾患１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を予防するための前記免疫原性組成物の有効性が、
免疫原性組成物の投与後、最大約２か月、最大約２．５か月、最大約３か月、最大約３．５か月、最大約４か月、最大約４．５か月、最大約５か月、最大約５．５か月、最大約６か月、最大約６．５か月、最大約７か月、最大約７．５か月、最大約８か月、最大約８．５か月、最大約９か月、最大約９．５か月、最大約１０か月、最大約１０．５か月、最大約１１か月、最大約１１．５か月、または最大約１２か月の間で、約５０％～約９９％、約５０％～約９５％、約５０％～約９０％、約５０％～約８５％、約５０％～約８０％、約６０％～約９９％、約６０％～約９５％、約６０％～約９０％、約６０％～約８５％、約６０％～約８０％、約４０％～約９９％、約４０％～約９５％、約４０％～約９０％、約４０％～約８５％、約４０％～約８０％、約４０％～約７５％、約４０％～約７０％、約４０％～約６５％、約４０％～約５５％、または約４０％～約５０％である、請求項２９～３３のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３６】

請求項１～２８のいずれか１項に記載の免疫原性組成物を含む、充填済みシリンジ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本出願は、２０２１年５月５日に出願された米国特許出願第６３／１８４，７２７号、２０２１年５月２６日に出願された米国特許出願第６３／１９３，３５６号、２０２１年１０月１４日に出願された米国特許出願第６３／２５５，６８５号、及び２０２２年４月１９日に出願された米国特許出願第６３／３３２，５３７号に対する優先権を主張する。先述の特許文書のそれぞれは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０００２】

電子提出されたテキストファイルの説明

本明細書と共に電子提出されたテキストファイルの内容は参照によってその全体が本明細書に組み込まれる：配列表のコンピュータ可読形式のコピー（ファイル名：ＮＯＶＶ＿０９３＿０１ＷＯ＿ＳｅｑＬｉｓｔ＿ＳＴ２５．ｔｘｔ、記録日：２０２２年４月２２日、ファイルサイズ：９７６キロバイト）。

【０００３】

本開示は、インフルエンザウイルス及びコロナウイルスの双方に対して免疫応答を誘発するための組成物及び方法に関する。

【背景技術】

【０００４】

インフルエンザ及びコロナウイルス疾患２０１９年（ＣＯＶＩＤ－１９）は、それぞれインフルエンザウイルス及び急性呼吸器コロナウイルス２型（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）ウイルスによって引き起こされる生命を脅かす疾患である。インフルエンザと診断された患者の致死率は約０．１％であり、ＣＯＶＩＤ－１９と診断された患者の致死率は０．２％～７．７％である。

【０００５】

これらの生命を脅かす感染症を予防または軽減するワクチンの開発が望まれている。しかしながら、ヒトワクチンの開発は、病原体の高度に洗練された回避メカニズムと、ワクチンの安定化が困難であるため、依然として困難である。最適には、ワクチンは、双方とも感染性因子を遮断または中和する抗体を誘導するものでなければならず、冷蔵が可能でない環境を含む様々な環境において安定なままでなければならない。単一のワクチン組成物中の２種の病原体からの２種の抗原の組み合わせは、抗原が互いに相互作用して、いずれかの病原体に対する十分な免疫応答を妨げる場合があるため、特に困難である。

【発明の概要】

【０００６】

本開示は、インフルエンザウイルス及びコロナウイルスの双方に対して免疫応答を誘発するための組成物及び方法を提供する。

【０００７】

本明細書において、（ａ）洗剤－コアナノ粒子の形態のコロナウイルスＳ（ＣｏＶ　Ｓ）糖タンパク質（洗剤は非イオン性洗剤である）と；（ｂ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（それぞれのＨＡ糖タンパク質が異なるインフルエンザ株由来である）と；（ｃ）薬学的に許容される緩衝液と、を含む、免疫原性組成物が提供される。実施形態では、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質は、（ａ）ヘマグルチニン（ＨＡ）を含む洗剤－コアナノ粒子、（ｂ）ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）、（ｃ）不活性化全インフルエンザウイルス、（ｄ）インフルエンザウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物、任意選択のインフルエンザスプリットビリオン組成物またはサブユニットインフルエンザ組成物、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される形態である。実施形態では、少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質は、ＨＡを含む洗剤－コアナノ粒子の形態であり、少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質は、ＨａＳＭａＮの形態である。実施形態では、洗剤－コアナノ粒子のヘマグルチニン糖タンパク質は、Ｂ型インフルエンザ株由来である。実施形態では、洗剤－コアナノ粒子のヘマグルチニン糖タンパク質は、Ａ型インフルエンザ株由来である。実施形態では、洗剤－コアナノ粒子は、トリプシン耐性ナノ粒子である。実施形態では、ＨａＳＭａＮは、トリプシン耐

性ナノ粒子である。実施形態では、それぞれのＨＡ糖タンパク質は、異なるインフルエンザ株由来のものである。実施形態では、免疫原性組成物は、最大４種、最大５種、最大６種、最大７種、最大８種、最大９種、または最大１０種のＨＡ糖タンパク質を含む。実施形態では、それぞれのＨＡ糖タンパク質はナノ粒子の形態である。実施形態では、それぞれのナノ粒子は、単一インフルエンザ株由来のＨＡ糖タンパク質を含む。実施形態では、それぞれのナノ粒子は、洗剤－コアナノ粒子またはＨａＳＭａＮである。実施形態では、免疫原性組成物は、アジュバントを含む。実施形態では、アジュバントは、サポニンアジュバントである。実施形態では、サポニンアジュバントは、少なくとも２種のＩＳＣＯＭ粒子を含み、第１のｉｓｃｏｍ粒子は、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａを含み、かつＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃを含まず、第２のＩＳＣＯＭ粒子は、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃを含み、かつＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａを含まない。実施形態では、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａは、アジュバント中の、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａ、及びＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃのそれぞれ合計の重量の、５０～９６重量％を占め、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃは、残部を占める。実施形態では、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分ＡとＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃは、アジュバント中の、Ｑｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａ、及びＱｕｉｌｌａｊａ Ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃの合計の重量の、それぞれ約８５重量％と約１５重量％を占める。実施形態では、免疫原性組成物は、約５０μｇまたは約７５μｇのサポニンアジュバントを含む。実施形態では、洗剤は、ＰＳ８０である。実施形態では、インフルエンザ株は、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１０、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１４、Ｈ１５、Ｈ１６、Ｈ１７、及びＨ１８からなる群から選択されるサブタイプのものである。実施形態では、薬学的に許容される緩衝液は、（ｉ）約２５ｍＭのリン酸ナトリウム；（ｉｉ）約１５０ｍＭの塩化ナトリウム；（ｉｉｉ）約１００ｍＭのアルギニン塩酸塩；（ｉｖ）約５％のトレハロースを含み、ここで、組成物のｐＨは、約７．５である。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質は、（ｉ）不活性化されたフューリン切断部位を有するＳ１サブユニット（Ｓ１サブユニットは、Ｎ末端ドメイン（ＮＴＤ）、受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）、サブドメイン１及び２（ＳＤ１／２）を含み、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有し、ＮＴＤは、任意選択で：（ａ）アミノ酸５６、５７、１３１、１３２、１４４、１４５、２２８、２２９、２３０、２３１、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２３９、２４０、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の欠失、（ｂ）アミノ酸１３２以降の１、２、３、または４つのアミノ酸の挿入、ならびに（ｃ）アミノ酸５、６、７、１３、５１、５３、５６、５７、６２、６３、６７、８２、１２５、１２９、１３１、１３２、１３３、１３９、１４３、１４４、１４５、１７７、２００、２０１、２０２、２０９、２２９、２３３、２４０、２４５、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異、からなる群から選択される１つ以上の改変を含み；ここで、ＲＢＤは任意選択で、アミノ酸３３３、４０４、４１９、４２６、４３９、４４０、４６４、４６５、４７１，４８１，４８８及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ以上のアミノ酸の変異を含み、ここで、ＳＤ１／２ドメインは任意選択で、５５７、６００、６０１、６４２、６６４、６６８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異を含む）と、（ｉｉ）Ｓ２サブユニット（アミノ酸９７３及び９７４がプロリンであり、Ｓ２サブユニットは任意選択で：（ａ）６７６－６８５、６７６－７０２、７０２－７１１、７７５－７９３、８０６－８１５、及びそれらの組み合わせからの１個以上のアミノ酸の欠失、（ｂ）６８８、７０３、８４６、８７５、９３７、９６９、１０１４、１０５８、１１０５、及び１１６３、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異、（ｃ）ＴＭＣＴからの１個以上のアミノ

酸の欠失からなる群から選択される１つ以上の改変を含む）と、を含み、ＣｏＶ　Ｓ糖たんぱく質のアミノ酸は、配列番号２の配列を有するポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓ糖たんぱく質は、配列番号８６～８９、１０５、１０６、１１２～１１５、及び１６４～１６８のいずれか１つに対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓ糖たんぱく質は、配列番号８７と少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一である配列を含む。実施形態では、免疫原性組成物は、１株あたり約１μｇ　～約５０μｇのＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質及び約５μｇ～約６０μｇのヘマグルチニンを含む。実施形態では、免疫原性組成物は、１株あたり約２０μｇ～約５０μｇのＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質及び約２４μｇ～約４０μｇのヘマグルチニンを含む。実施形態では、免疫原性組成物は、約３μｇ、約５μｇ、約２５μｇ、約２２．５μｇ、約７．５μｇ、または約２．５μｇのコロナウイルスＳ糖タンパク質を含む。実施形態では、免疫原性組成物は、１株あたり約５μｇ、約１０μｇ、約２４μｇ、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９μｇ、約３０μｇ、約３１μｇ、約３２μｇ、約３３μｇ、約３４μｇ、約３５μｇ、約３６μｇ、約３７μｇ、約３８μｇ、約３９μｇ、約４０μｇ、または約６０μｇのヘマグルチニンを含む。

【０００８】

実施形態では、本明細書において、対象におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、インフルエンザウイルス、またはそれらの組み合わせに対する免疫応答を刺激する方法であって、本明細書に記載の任意の免疫原性組成物を投与することを含む、方法が提供される。実施形態では、対象には、０日目に初回用量で、５６日目に追加用量で、投与される。実施形態では、免疫原性組成物は、筋肉内に投与される。実施形態では、免疫原性組成物の単回投与が投与される。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、Ｃａｌ．２０Ｃ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｐ．１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．３５１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．１．７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｂ．１．６１７．２株、Ｂ．１．５２５株、、Ｂ．１．５２６株、Ｂ．１．６１７．１株、Ｃ．３７株、Ｂ．１．６２１株、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロン株からなる群から選択される。実施形態では、コロナウイルス疾患１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を予防するための免疫原性組成物の有効性は、免疫原性組成物の投与後、最大約２か月、最大約２．５か月、最大約３か月、最大約３．５か月、最大約４か月、最大約４．５か月、最大約５か月、最大約５．５か月、最大約６か月、最大約６．５か月、最大約７か月、最大約７．５か月、最大約８か月、最大約８．５か月、最大約９か月、最大約９．５か月、最大約１０か月、最大約１０．５か月、最大約１１か月、最大約１１．５か月、または最大約１２か月の間で、少なくとも５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、もしくは少なくとも約９９％、または約１００％である。実施形態では、コロナウイルス疾患１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を予防するための免疫原性組成物の有効性は、免疫原性組成物の投与後、最大約２か月、最大約２．５か月、最大約３か月、最大約３．５か月、最大約４か月、最大約４．５か月、最大約５か月、最大約５．５か月、最大約６か月、最大約６．５か月、最大約７か月、最大約７．５か月、最大約８か月、最大約８．５か月、最大約９か月、最大約９．５か月、最大約１０か月、最大約１０．５か月、最大約１１か月、最大約１１．５か月、または最大約１２か月の間で、約５０％～約９９％、約５０％～約９５％、約５０％～約９０％、約５０％～約８５％、約５０％～約８０％、約６０％～約９９％、約６０％～

約９５％、約６０％～約９０％、約６０％～約８５％、約６０％～約８０％、約４０％～約９９％、約４０％～約９５％、約４０％～約９０％、約４０％～約８５％、約４０％～約８０％、約４０％～約７５％、約４０％～約７０％、約４０％～約６５％、約４０％～約５５％、または約４０％～約５０％である。実施形態では、本明細書に記載の任意の免疫原性組成物を含む充填済みシリンジが提供される。

【図面の簡単な説明】

【０００９】

【図１】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質の野生型アミノ酸配列（配列番号１）の概略を示す。フューリン切断部位ＲＲＡＲ（配列番号６）は、太字で強調表示されており、シグナルペプチドには下線が付されている。

【図２】、ＣｏＶ　Ｓポリペプチド$BV2364$、$BV2365$、$BV2366$、$BV2367$、$BV2368$、$BV2369$、$BV2373$、$BV2374$、及び$BV2375$の精製を示す。このデータから、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する不活性なフューリン切断部位を有する$BV2365$（配列番号４）及び$BV2373$（配列番号８７）が一本鎖（Ｓ０）として発現していることが明らかになった。対照的に、切断生成物Ｓ２の存在によって明らかなように、インタクトなフューリン切断部位（例えば、$BV2364$、$BV2366$、及び$BV2374$）を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは切断される。

【図３】$BV2373$　ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの一次構造、ならびにフューリン切断部位に対する改変、Ｋ９８６Ｐ及びＶ９８７Ｐを示す。

【図４】野生型ＣｏＶ　ＳポリペプチドならびにＣｏＶ　Ｓポリペプチド$BV2365$及び$BV2373$の精製を示す。

【図５】コロナウイルススパイク（Ｓ）タンパク質（配列番号８６）（$BV2373$）の概略図を示す。フューリン切断部位ＱＱＡＱ（配列番号７）には１重下線が引かれ、Ｋ９８６Ｐ及びＶ９８７Ｐ変異には２重下線が引かれる。

【図６】Ａは配列番号１に対してナンバリングされたシグナルペプチドを含む野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドの一次構造を示す。Ｂは配列番号２に対してナンバリングされたシグナルペプチドを含まない野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓポリペプチドの一次構造を示す。

【図７】インフルエンザＨＡ洗剤コアナノ粒子単独（左）、サポニンアジュバント単独（中央）（すなわち、８５％画分ＡＩＳＣＯＭマトリクス及び１５％画分ＣＩＳＣＯＭマトリクス）、及びヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子（ＨａＳＭａＮ）を形成するＨＡナノ粒子とサポニンアジュバントとの組み合わせ（右）の透過電子顕微鏡（ＴＥＭ）画像の例を示す。

【図８Ａ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したフェレットにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質及びインフルエンザヘマグルチニンに対する免疫応答を示す。オス及びメスのフェレット群（ｎ＝６／群）を、株１つあたり１５μｇまたは６０μｇのヘマグルチニン（ＨＡ）と５μｇのＣｏＶ２３７３とを、５０μｇのサポニンアジュバントと組み合わせて免疫した。比較基準を、株１つあたり１５μｇもしくは６０μｇのＨＡまたは５μｇのＣｏＶ２２３７３と、５０μｇのサポニンアジュバントを組み合わせて免疫した。すべての群を、２１日間間隔を置いて２回投与した。赤色の三角形は血清採取日を示す。

【図８Ｂ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したフェレットにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質及びインフルエンザヘマグルチニンに対する免疫応答を示す。ヒトアンジオテンシン変換酵素－２（ｈＡＣＥ２）受容体ブロッキング抗体価。ヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価は、１回投与の２１日後及び追加免疫の１４日後に測定される（研究３５日目）。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図８Ｃ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したフェレットにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質及びインフルエンザヘマグルチニンに対す

る免疫応答を示す。Ａ／Ｋａｎｓａｓ／１４／２０１７。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。
【図８Ｄ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したフェレットにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質及びインフルエンザヘマグルチニンに対する免疫応答を示す。Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／２０１８。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。
【図８Ｅ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したフェレットにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質及びインフルエンザヘマグルチニンに対する免疫応答を示す。Ｂ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７０／２０１３。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。
【図８Ｆ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したフェレットにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質及びインフルエンザヘマグルチニンに対する免疫応答を示す。Ｂ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／２０１６。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。
【図９Ａ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質に対する免疫応答及び受容体ブロッキング抗体を示す図である。オス及びメスのハムスターの群（群ごとにｎ＝５～６）を、１５μｇのサポニンアジュバントを含む１または５μｇのＣｏＶ２３７３を含む２．５または１０μｇのヘマグルチニン（ＨＡ）／株の組み合わせで免疫した。比較基準を、１５μｇのサポニンアジュバントを含む、２．５または１０μｇのＨＡ／株または１または５μｇのＣｏＶ２３７３で免疫した。動物を、１４日間間隔を置いて２回の投与で筋肉内経路（ＩＭ）により免疫した。プラセボ群は、製剤緩衝液を受け取った。血清は、赤色の三角形によって示されているときに分析のために収集された。免疫した及びプラセボ動物を、２回目の免疫後２１日目に２．０×10^4ｐｆｕのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の鼻腔内（ＩＮ）経路により感染させた。経口スワブを、感染後２、４、及び７日目に収集した（ｄｐｉ、青色の三角形）。気管支肺胞洗浄液及び肺試料７ｄｐｉ（黒色の三角）で採取した。
【図９Ｂ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質に対する免疫応答及び受容体ブロッキング抗体を示す図である。１回目の投与の１４日後の抗スパイクＩｇＧの力価。棒グラフは群幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間（９５％　ＣＩ）を示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。水平の黒色の破線は、検出限界（ＬＯＤ）を示す。
【図９Ｃ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質に対する免疫応答及び受容体ブロッキング抗体を示す図である。追加免疫の１４日後（研究２８日目）の抗スパイクＩｇＧの力価。棒グラフは群幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間（９５％　ＣＩ）を示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。水平の黒色の破線は、検出限界（ＬＯＤ）を示す。
【図９Ｄ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質に対する免疫応答及び受容体ブロッキング抗体を示す図である。１回目の投与の１４日後のヒトＡＣＥ－２（ｈＡＣＥ２）受容体ブロッキング抗体の力価。棒グラフは群幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間（９５％　ＣＩ）を示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。水平の黒色の破線は、検出限界（ＬＯＤ）を示す。
【図９Ｅ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質に対する免疫応答及び受容体ブロッキング抗体を示す図である。追加免疫の１４日後（研究２８日目）のヒトＡＣＥ－２（ｈＡＣＥ２）受容体ブロッキング抗体の力価。棒グラフは群幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間（９５％　ＣＩ）を示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。水平の黒色の破線は、検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１０Ａ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザＨＡに対する免疫応答を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、１回投与の１４日後にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ａ／Ｋａｎｓａｓ／１４／２０１７。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１０Ｂ】ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、追加免疫の１４日後（研究２８日目）にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ａ／Ｋａｎｓａｓ／１４／２０１７。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１０Ｃ】ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、１回投与の１４日後にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／２０１８。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１０Ｄ】ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、追加免疫の１４日後（研究２８日目）にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／２０１８。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１０Ｅ】ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、１回投与の１４日後にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ｂ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７０／２０１３。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１０Ｆ】ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、追加免疫の１４日後（研究２８日目）にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ｂ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７０／２０１３。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１０Ｇ】ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、１回投与の１４日後にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ｂ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／２０１６。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１０Ｈ】ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。血清を、追加免疫の１４日後（研究２８日目）にヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）の力価について分析した。Ｂ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／２０１６。棒グラフは幾何平均力価を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。

【図１１Ａ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。１回投与の１４日後にＡ／Ｋａｎｓａｓ／１４／２０１７に応答するウイルス中和力価を決定した。

【図１１Ｂ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。追加免疫の１４日後（研究２８日目）にＡ／Ｋａｎｓａｓ／１４／２０１７に応答するウイルス中和力価を決定した。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。水平の破線は検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１１Ｃ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７

３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。１回投与の１４日後にＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ．／０２／２０１８に応答するウイルス中和力価を決定した。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。水平の破線は検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１１Ｄ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。追加免疫の１４日後（研究２８日目）にＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ．／０２／２０１８に応答するウイルス中和力価を決定した。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。水平の破線は検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１１Ｅ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。１回投与の１４日後にＢ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７３／２０１３に応答するウイルス中和力価を決定した。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。水平の破線は検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１１Ｆ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。追加免疫の１４日後（研究２８日目）にＢ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７３／２０１３に応答するウイルス中和力価を決定した。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。水平の破線は検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１１Ｇ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。１回投与の１４日後にＢ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／２０１６に応答するウイルス中和力価を決定した。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。水平の破線は検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１１Ｈ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるインフルエンザウイルス中和抗体を示す。ハムスターの群を、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせか、または図８Ａに示される成分ワクチンで免疫した。追加免疫の１４日後（研究２８日目）にＢ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／２０１６に応答するウイルス中和力価を決定した。棒グラフは幾何平均力価（ＧＭＴ）を示し、エラーバーは９５％の信頼区間を示す。水平の破線は検出限界（ＬＯＤ）を示す。

【図１２Ａ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせが、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって決定されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）中の高度に保存された潜在性エピトープに結合する抗体を誘発することを示している。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせまたは一価のＣｏＶ２３７３によって誘発される抗体の特異性は、ＢＬＩによる受容体部位特異的中和モノクローナル抗体と免疫血清との競合的抗体結合によって決定した。水平のバーは群幾何平均を示し、エラーバーは９５％信頼区間を示す。着色された記号は、個々の動物の値を示す。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＵＳ－ＷＡ　ＲＢＤに対する抗体を示す。

【図１２Ｂ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせが、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって決定されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）中の高度に保存された潜在性エピトープに結合する抗体を誘発することを示している。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせまたは一価のＣｏＶ２３７３によって誘発される抗体の特異性は、ＢＬＩによる受容体部位特異的中和モノクローナル抗体と免疫血清との競合的抗体結合によって決定した。水平のバーは群幾何平均を示し、エラーバーは９５％信頼区間を示す。着色された記号は、個々の動物の値を示す。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＵＳ－ＷＡ　ＲＢＤに対する抗体を示す。

【図１２Ｃ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせが、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって決定されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）中の高度に保存された潜在性エピトープに結合する抗体を誘発することを示している。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせまたは一価のＣｏＶ２３７３によって誘発される抗体の特異性は、ＢＬＩによる受容体部位特異的中和モノクローナル抗体と免疫血清との競合的抗体結合によって決定した。水平のバーは群幾何平均を示し、エラーバーは９５％信頼区間を示す。着色された記号は、個々の動物の値を示す。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＵＳ－ＷＡ　ＲＢＤに対する抗体を示す。

【図１２Ｄ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせが、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって決定されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）中の高度に保存された潜在性エピトープに結合する抗体を誘発することを示している。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせまたは一価のＣｏＶ２３７３によって誘発される抗体の特異性は、ＢＬＩによる受容体部位特異的中和モノクローナル抗体と免疫血清との競合的抗体結合によって決定した。水平のバーは群幾何平均を示し、エラーバーは９５％信頼区間を示す。着色された記号は、個々の動物の値を示す。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｂ．１．３５１　Ｓｏｕｔｈ　Ａｆｒｉｃａ　ＲＢＤに対する抗体を示す。

【図１２Ｅ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせが、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって決定されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）中の高度に保存された潜在性エピトープに結合する抗体を誘発することを示している。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせまたは一価のＣｏＶ２３７３によって誘発される抗体の特異性は、ＢＬＩによる受容体部位特異的中和モノクローナル抗体と免疫血清との競合的抗体結合によって決定した。水平のバーは群幾何平均を示し、エラーバーは９５％信頼区間を示す。着色された記号は、個々の動物の値を示す。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｂ．１．３５１　Ｓｏｕｔｈ　Ａｆｒｉｃａ　ＲＢＤに対する抗体を示す。

【図１３Ａ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による上気道及び下気道感染に対する体重変化及び保護を示す。オス及びメスのハムスターの群（ｎ＝５～６個／群）を、１４日間間隔を置いて、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の一次／追加レジメンまたは成分ワクチンで免疫した。２回目の免疫の３週間後（研究３５日目）、動物は２．０×１０^{4}ｐｆｕの鼻腔内経路によって接種された。感染後７日間（ｄｐｉ）までの体重の変化（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２接種後のパーセント変化）を示す。データは、ワクチン接種、プラセボ、及びシャム群の平均±ＳＥＭである。

【図１３Ｂ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による上気道及び下気道感染に対する体重変化及び保護を示す。オス及びメスのハムスターの群（ｎ＝５～６個／群）を、１４日間間隔を置いて、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の一次／追加レジメンまたは成分ワクチンで免疫した。２回目の免疫の３週間後（研究３５日目）、動物は２．０×１０^{4}ｐｆｕの鼻腔内経路によって接種された。感染後７日間（ｄｐｉ）までの体重の変化（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２接種後のパーセント変化）を示す。データは、ワクチン接種、プラセボ、及びシャム群の平均±ＳＥＭである。

【図１３Ｃ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による上気道及び下気道感染に対する体重変化及び保護を示す。オス及びメスのハムスターの群（ｎ＝５～６個／群）を、１４日間間隔を置いて、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の一次／追加レジメンまたは成分ワクチンで免疫した。２回目の免疫の３週間後（研究３５日目）、動物は２．０×１０^{4}ｐｆｕの鼻腔内経路によって接種された。頬粘膜スワブ中のサブゲノム（ｓｇ）ＲＮＡを、感染後２、４及び７日目（ｄｐｉ）に採取したことを示す。ｓｇＲＮＡをｑＲＴ－ＰＣＲによって分析した。箱ひげ図のプロットでは、中央値が水平線によって示され、箱の上部と底部とが、四分位範囲を示し、ひげ面は、それぞれの実験群（ｎ＝５～６／群）について最小値と最大値とを示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。破線は、アッセイのための検出限

界（ＬＯＤ）を示す。スチューデントのｔ検定（ペア、２本の尾部）を使用して、プラセボで処理した動物と免疫した動物との２、４及び７ｄｐｉでのウイルスｓｇＲＮＡレベルの有意差を求めた。有意でない（ｎｓ）、＊＊＊ｐ≦０．００１、＊＊＊＊ｐ≦０．０００１。

【図１３Ｄ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による上気道及び下気道感染に対する体重変化及び保護を示す。オス及びメスのハムスターの群（ｎ＝５～６個／群）を、１４日間間隔を置いて、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の一次／追加レジメンまたは成分ワクチンで免疫した。２回目の免疫の３週間後（研究３５日目）、動物は２．０×１０^{4}ｐｆｕの鼻腔内経路によって接種された。類粘膜スワブ中のサブゲノム（ｓｇ）ＲＮＡを、感染後２、４及び７日目（ｄｐｉ）に採取したことを示す。ｓｇＲＮＡをｑＲＴ－ＰＣＲによって分析した。箱ひげ図のプロットでは、中央値が水平線によって示され、箱の上部と底部とが、四分位範囲を示し、ひげ面は、それぞれの実験群（ｎ＝５～６／群）について最小値と最大値とを示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。破線は、アッセイのための検出限界（ＬＯＤ）を示す。スチューデントのｔ検定（ペア、２本の尾部）を使用して、プラセボで処理した動物と免疫した動物との２、４及び７ｄｐｉでのウイルスｓｇＲＮＡレベルの有意差を求めた。有意でない（ｎｓ）、＊＊＊ｐ≦０．００１、＊＊＊＊ｐ≦０．０００１。

【図１３Ｅ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による上気道及び下気道感染に対する体重変化及び保護を示す。オス及びメスのハムスターの群（ｎ＝５～６個／群）を、１４日間間隔を置いて、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の一次／追加レジメンまたは成分ワクチンで免疫した。２回目の免疫の３週間後（研究３５日目）、動物は２．０×１０^{4}ｐｆｕの鼻腔内経路によって接種された。感染後７日間（ｄｐｉ）に収集された気管支肺胞洗浄液中のｓｇＲＮＡウイルスの負荷を示す。箱ひげ図のプロットでは、中央値が水平線によって示され、箱の上部と底部とが、四分位範囲を示し、ひげ面は、それぞれの実験群（ｎ＝５～６／群）について最小値と最大値とを示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。破線は、アッセイのための検出限界（ＬＯＤ）を示す。スチューデントのｔ検定（ペア、２本の尾部）を使用して、プラセボで処理した動物と免疫した動物との２、４及び７ｄｐｉでのウイルスｓｇＲＮＡレベルの有意差を求めた。有意でない（ｎｓ）、＊＊＊ｐ≦０．００１、＊＊＊＊ｐ≦０．０００１。

【図１３Ｆ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫されたハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による上気道及び下気道感染に対する体重変化及び保護を示す。オス及びメスのハムスターの群（ｎ＝５～６個／群）を、１４日間間隔を置いて、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の一次／追加レジメンまたは成分ワクチンで免疫した。２回目の免疫の３週間後（研究３５日目）、動物は２．０×１０^{4}ｐｆｕの鼻腔内経路によって接種された。７ｄｐｉで収集された肺ホモジネートにおけるｓｇＲＮＡウイルス量を示す。箱ひげ図のプロットでは、中央値が水平線によって示され、箱の上部と底部とが、四分位範囲を示し、ひげ面は、それぞれの実験群（ｎ＝５～６／群）について最小値と最大値とを示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。破線は、アッセイのための検出限界（ＬＯＤ）を示す。スチューデントのｔ検定（ペア、２本の尾部）を使用して、プラセボで処理した動物と免疫した動物との２、４及び７ｄｐｉでのウイルスｓｇＲＮＡレベルの有意差を求めた。有意でない（ｎｓ）、＊＊＊ｐ≦０．００１、＊＊＊＊ｐ≦０．０００１。

【図１３Ｇ】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫したハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による上気道及び下気道感染に対する体重変化及び保護を示す。オス及びメスのハムスターの群（ｎ＝５～６個／群）を、１４日間間隔を置いて、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の一次／追加レジメンまたは成分ワクチンで免疫した。２回目の免疫の３週間後（研究３５日目）、動物は２．０×１０^{4}ｐｆｕの鼻腔内経路によって接種された。ワクチン接種、プラセボ処理、未処理のシャム動物から７ｄｐｉで収集された肺の

重量を示す。バーは平均を示し、エラーバーは±標準偏差（ＳＤ）を示す。個々の動物の値は、着色された記号によって示されている。示されたペアの群間の肺重量の有意差を決定するために、スチューデントのｔ検定（ペア、２つの尾部）を使用した。
【図１４】ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を接種したハムスターの肺の病理組織学的変化を示す。オス及びメスのハムスターの群を、サポニンアジュバントをアジュバントとした１μｇまたは５μｇのＣｏＶ２３７３と組み合わせた、１株あたり２．５μｇまたは１０μｇのヘマグルチニン（ＨＡ）を用いたｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合せで免疫した。比較基準を、１５μｇのサポニンアジュバントをアジュバントとして、２．５μｇもしくは１０μｇのＨＡ／株または１または５μｇのＣｏＶ２３７３組換えスパイクを用いて免疫した。すべての群を、１４日間間隔を置いて２回投与して免疫化した。プラセボ群は、製剤緩衝液を受け取った。２回目の免疫化（研究３５日目）の３週間後に、すべての動物に２．０×10^4ｐｆｕのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を鼻腔内に接種し、肺を７ｄｐｉで回収した。組織学的画像をヘマトキシリン及びエオシン（Ｈ＆Ｅ）で染色した。Ａは、正常な肺を示すシャム対照画像である。Ｂは、プラセボで処理した動物の肺における顕微鏡所見を示し、混合肺胞炎症を伴う気管支肺胞過形成（矢印）によって気道の合併を示した。単核炎症細胞は、周囲の組織（矢じり）を広げる浮腫を伴って、血管（矢じり）を取り囲む。Ｃ～Ｄは、ｑＮＩＶで免疫した動物の肺における顕微鏡所見を示し、血管周囲の炎症を伴う混合歯槽炎及び拡張した血管壁（矢印）を伴う広範な気管支肺胞過形成（矢印）を含むプラセボ群と同様の組織学的変化を示す。Ｅ～Ｆは、一価のＣｏＶ２３７３で免疫した動物からの肺の画像は、顕著な顕微鏡所見を示さない。１４Ｇ～Ｊは、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンで免疫した動物の肺の画像であり、顕著な顕微鏡所見を示さない。倍率は１０倍である。
【図１５】、実施例５による免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶＳポリペプチドの用量の関数として抗スパイクＩｇＧ抗体の力価を示す。
【図１６】実施例５による免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶＳポリペプチドの用量の関数としてのＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ　Ｈ１Ｎ１に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。
【図１７】実施例５による免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶＳポリペプチドの用量の関数としてのＡ／Ｋａｎｓａｓ　Ｈ３Ｎ２に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。
【図１８】実施例５による免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶＳポリペプチドの用量の関数としてのＢ／Ｍａｒｙｌａｎｄ（Ｖｉｃ）に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。
【図１９】実施例５による免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶＳポリペプチドの用量の関数としてのＢ／Ｐｈｕｋｅｔ（Ｙａｍ）に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。
【発明を実施するための形態】
【００１０】
定義
本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は、その内容について別段の明確な指示がない限り、複数の指示対象を包含する。したがって、例えば、「タンパク質（ａ　ｐｒｏｔｅｉｎ）」への言及は、１種のタンパク質またはそのようなタンパク質の混合物を指すことができ、「方法（ｔｈｅ　ｍｅｔｈｏｄ）」への言及は、当業者に知られている同等のステップ及び／または方法への言及などを含む。
【００１１】
本明細書で使用される場合、「アジュバント」という用語は、免疫原と組み合わせて使用されるときに、免疫原に対して誘導される免疫応答を増強するか、さもなければ変更または改変する化合物を指す。免疫応答の修飾には、抗体と細胞性免疫応答のいずれかまたは両方の特異性を増強または拡大することが含まれ得る。

【００１２】
本明細書で使用される場合、数値に先行する場合の「約」または「およそ」という用語は、値に１０％の範囲をプラスまたはマイナスしたことを示す。例えば、「約１００」は９０及び１１０を包含する。
【００１３】
本明細書で使用される場合、「免疫原」、「抗原」、及び「エピトープ」という用語は、糖タンパク質を含むタンパク質及び免疫応答を誘発することができるペプチドなどの物質を指す。
【００１４】
本明細書で使用される場合、「免疫原性組成物」は、抗原を含む組成物であり、この組成物の対象への投与により、抗原に対する液性免疫応答及び／または細胞性免疫応答の対象における発生がもたらされる。
【００１５】
本明細書で使用される場合、「サブユニット」組成物、例えばワクチンは、１つ以上の選択された抗原を含むが、病原体由来のすべての抗原は含まない。このような組成物は、インタクトなウイルスまたはこのような細胞または粒子の溶解物を実質的に含まず、典型的には、病原体から少なくとも部分的に精製され、しばしば実質的に精製された免疫原性ポリペプチドから調製される。本明細書に開示されたサブユニット組成物中の抗原は、典型的には、しばしばバキュロウイルス系を使用して組換え的に調製される。
【００１６】
本明細書で使用される場合、「実質的に」とは、物質（例えば、化合物、ポリヌクレオチド、またはポリペプチド）が、その物質が含まれる試料の大部分を占める、物質の単離を指す。例えば、試料において、実質的に精製された成分は、試料の８５％、好ましくは、８５％～９０％、より好ましくは、少なくとも９５％～９９．５％、最も好ましくは、少なくとも９９％を構成する。成分が実質的に置き換えられている場合、試料中に残っている量は、約０．５％～約１０％以下、好ましくは、約０．５％～約１．０％未満である。
【００１７】
本明細書で使用されるとき、「治療する」、「治療」または「治療すること」という用語は、有益なまたは所望の結果、例えば、臨床結果を得るためのアプローチを指す。本開示の目的として、有益または所望の結果は、感染もしくは疾患の開始もしくは進行の阻害もしくは抑制、感染もしくは疾患の症状の改善もしくは発現の低下、またはそれらの組み合わせを含み得る。
【００１８】
本明細書で使用される場合、「予防（Ｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ）」は、「予防（ｐｒｏｐｈｙｌａｘｉｓ）」と交換可能に使用され、感染もしくは疾患の完全な予防、またはその感染もしくは疾患の症状の発症の予防、感染もしくは疾患もしくは症状の発症の遅延、またはその後に発生する感染もしくは疾患もしくはその症状の重症度の低下を意味し得る。
【００１９】
本明細書で使用される場合、「有効量（ｅｆｆｅｃｔｉｖｅ　ｄｏｓｅ）」または「有効量（ｅｆｆｅｃｔｉｖｅ　ａｍｏｕｎｔ）」とは、病原体感染の少なくとも１つの症状を軽減する免疫応答を誘発するのに十分な免疫原の量を指す。有効量または有効量は、例えば、中和分泌抗体及び／または血清抗体の量を、例えば、プラーク中和、補体固定、酵素結合免疫吸着剤（ＥＬＩＳＡ）、またはマイクロ中和アッセイにより測定することができる。
【００２０】
本明細書で使用される場合、「ワクチン」という用語は、病原体に対する免疫応答を誘発するために使用される、病原体由来の免疫原などの免疫原性組成物を指す。免疫応答は、抗体の形成及び／または細胞媒介応答を含み得る。文脈に応じて、「ワクチン」という用語は、免疫応答を生じさせるために対象に投与される免疫原の懸濁液または溶液を指す

こともある。好ましくは、ワクチンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、そのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアント、インフルエンザ、またはそれらの組み合わせからの感染を防ぐのに有効な免疫応答を誘発する。

【００２１】

本明細書で使用される場合、「患者」または「対象」という用語にはヒト及び他の動物が含まれる。典型的には、対象はヒトである。例えば、対象は、成人、１０代、子供（２歳～１４歳）、幼児（誕生時～２歳）、または新生児（２ヶ月まで）であり得る。特定の態様では、対象は、最大４月齢であり、または最大６月齢である。態様では、成人は、約６５歳以上または約６０歳以上の高齢者である。態様では、対象は、妊婦、または妊娠を意図する女性である。別の態様では、対象はヒトではなく、例えば非ヒト霊長類であり、例えばヒヒ、チンパンジー、ゴリラ、またはマカクである。特定の態様では、対象は、イヌまたはネコなどのペットであってよい。

【００２２】

態様では、対象は免疫無防備状態である。実施形態では、免疫無防備状態の対象に、免疫抑制を引き起こす薬物が投与される。免疫抑制を引き起こす薬物の非限定的な例としては、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾン）、アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド）、代謝拮抗剤（例えば、アザチオプリンまたは６－メルカプトプリン）、移植関連の免疫抑制薬（例えば、シクロスポリン、タクロリムス、シロリムス、またはミコフェノール酸モフェチル）、ミトキサントロン、化学療法剤、メトトレキサート、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）ブロッキング剤（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ）が挙げられる。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、ウイルス（例えば、ヒト免疫不全ウイルスまたはエプスタイン－バーウイルス）に感染している。実施形態では、ウイルスは、呼吸器合胞体ウイルス、インフルエンザ、パラインフルエンザ、アデノウイルス、またはピコルナウイルスなどの呼吸器ウイルスである。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、後天性免疫不全症候群（ＡＩＤＳ）を有する。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）を有して生存しているヒトである。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、炎症を防止または移植片の拒絶を防止するように設計された治療レジメンにより免疫無防備状態になる。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、移植片を受けた対象である。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、放射線療法または脾臓摘出を受けている。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、がん、自己免疫疾患、結核、物質使用障害（例えば、アルコール、オピオイド、またはコカインの使用障害）、脳卒中または脳血管疾患、固形臓器または血液幹細胞移植、鎌状赤血球疾患、サラセミア、自己免疫リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性多腺症候群１型（ＡＰＳ－１）、ＮＦ－κＢ及びＴ細胞アネルギー疾患によるＢ細胞拡大（ＢＥＮＴＡ）、カスパーゼ－８欠損状態（ＣＥＤＳ）、慢性肉芽腫症ＣＧＤ）、共通可変免疫不全症（ＣＶＩＤ）、先天性好中球減少症、細胞傷害性Ｔリンパ球関連抗原４（ＣＴＬＡ－４）の欠損、ＤＯＣＫ８欠損症、ＧＡＴＡ２欠損症、免疫不全を伴う糖鎖形成障害、高免疫グロブリンＥ症候群（ＨＩＥＳ）、高免疫グロブリンＭ症候群、糖尿病、１型糖尿病、２型糖尿病、インターフェロンγ欠損症、インターロイキン１２欠損症、インターロイキン２３欠損症、白血球接着不全症、リポ多糖類応答性ベージュ様アンカー（ＬＲＢＡ）欠損症、ＰＩ３キナーゼ疾患、ＰＬＣＧ２関連抗体欠損症及び免疫調節異常（ＰＬＡＩＤ）、重症複合免疫不全症（ＳＣＩＤ）、ＳＴＡＴ３ドミナントネガティブ疾患、ＳＴＡＴ３機能獲得型疾患、いぼ、低ガンマグロブリン血症、感染症、及び骨髄性細胞貯留（ＷＨＩＭ）症候群、ウィスコット・アルドリッチ症候群（ＷＡＳ）、Ｘ連鎖無ガンマグロブリン血症（ＸＬＡ）、Ｘ連鎖リンパ増殖性疾患（ＸＬＰ）、尿毒症、栄養失調、またはＸＭＥＮ疾患と診断されている。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、現在または以前のタバコ喫煙者である。実施形態では、免疫無防備状態の対象は、Ｂ細胞欠損症、Ｔ細胞欠損症、マクロファージ欠損症、サイトカイン欠損症、食細胞欠損症、食細胞機能不全、補体欠損症、またはこれらの組み合わせを有する。

【００２３】

いくつかの実施形態では、対象は過体重または肥満である。実施形態では、過体重の対象は、２５ｋｇ／ｍ^{2}以上かつ３０ｋｇ／ｍ^{2}未満の体格指数（ＢＭＩ）を有する。実施形態では、肥満の対象は、３０ｋｇ／ｍ^{2}以上であるＢＭＩを有する。実施形態では、対象は、精神的健康状態を有する。実施形態では、精神健康状態は、抑うつ、統合失調症、または不安である。

【００２４】

本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容される」という用語は、米国連邦政府または州政府の規制当局によって承認されること、または哺乳動物、特にヒトにおいて使用するために米国薬局方、欧州薬局方、またはその他の一般に認められた薬局方に記載されることを意味する。これらの組成物は、脊椎動物において防御免疫応答を誘導するためのワクチン及び／または抗原組成物として有用であり得る。

【００２５】

本明細書で使用される場合、「約」という用語は、指示された数値の±１０％を意味する。

【００２６】

本明細書で使用される場合、「ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３」という用語は、ＢＶ２３７３スパイク糖タンパク質（配列番号８７）と、画分Ａ及び画分ＣのＩＳＣＯＭマトリクス（例えば、マトリクス－Ｍ（商標））とを含むワクチン組成物を指す。

【００２７】

本明細書で使用される場合、「Ｑｕａｄ－ＮＩＶ」、「ＱｕａｄＮＩＶ」または「４価ナノ粒子インフルエンザワクチン」、または「ｑＮＩＶ」とは、４つのインフルエンザウイルス株由来の抗原を含むインフルエンザワクチン製剤を指す。

【００２８】

本明細書で使用される場合、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを指すときの「改変」という用語は、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの１個以上のアミノ酸の変異、欠失、または付加を指す。ＣｏＶ　Ｓポリペプチド内での改変の位置は、ポリペプチドの配列を、配列番号１（シグナルペプチドを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチド）または配列番号２（シグナルペプチドを含まない成熟ＣｏＶ　Ｓポリペプチド）にアラインメントすることにより決定され得る。

【００２９】

「不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株」と交換可能に使用されるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアントという用語は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドと比較するとき、少なくとも約２個、少なくとも約３個、少なくとも約４個、少なくとも約５個、少なくとも約６個、少なくとも約７個、少なくとも約８個、少なくとも約９個、少なくとも約１０個、少なくとも約１１個、少なくとも約１２個、少なくとも約１３個、少なくとも約１４個、少なくとも約１５個、少なくとも約１６個、少なくとも約１７個、少なくとも約１８個、少なくとも約１９個、少なくとも約２０個、少なくとも約２１個、少なくとも約２２個、少なくとも約２３個、少なくとも約２４個、少なくとも約２５個、少なくとも約２６個、少なくとも約２７個、少なくとも約２８個、少なくとも約２９個、少なくとも約３０個、少なくとも約３１個、少なくとも約３２個、少なくとも約３３個、少なくとも約３４個、または少なくとも約３５個の改変、約２～約３５個の改変、約５～約１０個の改変、約５～約２０個の改変、約１０～約２０個の改変、約１５～約２５個の改変、約２０～３０個の改変、約２０～約４０個の改変、約２５～４５個の改変を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、約７０％～約９９．９％

の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、約７０％～約９９．５％の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、約９０％～約９９．９％の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、約９０％～約９９．８％の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、約９５％～約９９．９％の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、約９５％～約９９．８％の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。実施形態では、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株は、配列番号１または配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対して、約９５％～約９９％の同一性を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスである。

【００３０】

「Ｂ．１．１．７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株」（「アルファ」株とも呼ばれる）という用語は、アミノ酸６９、７０、及び１４４の欠失、ならびにＮ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｈ、またはＰ６８１Ｒ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、及びＤ１１１８Ｈの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。Ｂ．１．１．７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、任意選択で、アミノ酸１４５の欠失、Ｅ４８４Ｋ、Ｌ４３２Ｒ、もしくはＳ４９４Ｐの変異、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。

【００３１】

「Ｂ．１．３５１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株」（「ベータ」株とも呼ばれる）という用語は、Ｄ８０Ａ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。Ｂ．１．６１７．２　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、任意選択で、以下の変異：Ｄ２１５Ｇ；Ｌ２４２Ｈ；Ｒ２４６Ｉ；または２４１～２４３のうちの１、２、もしくは３個のアミノ酸の欠失のうちの１つ以上を含んでもよく、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。実施形態では、ベータ株のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２Ｈ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖの変異を含み、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。実施形態では、ベータ株のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇの変異、アミン酸２４１～２４３のうちの１、２、または３個のアミノ酸の欠失、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖを含み、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。実施形態では、ベータ株は、Ｄ８０Ａ、Ｌ２４２Ｈ、Ｒ２４６Ｉ、Ｎ５０１Ｙ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、及びＡ７０１Ｖの変異を含み、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－Ｃｏ

Ｖ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。
【００３２】
「Ｐ．１ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株」（「ガンマ」株とも呼ばれる）という用語は、変異Ｌ１８Ｆ、Ｔ２０Ｎ、Ｐ２６Ｓ、Ｄ１３８Ｙ、Ｒ１９０Ｓ、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、Ｈ６５５Ｙ、Ｔ１０２７Ｉ、及びＶ１１７６Ｆを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。
【００３３】
「Ｃａｌ．２０Ｃ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株」という用語は、変異Ｓ１３Ｉ、Ｗ１５２Ｃ、及びＬ４５２Ｒを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。
【００３４】
「Ｂ．１．６１７．２株」（「デルタ」株とも呼ばれる）という用語は、アミノ酸１５７及び１５８の欠失、ならびにＴ１９Ｒ、Ｅ１５６Ｇ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ　ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。Ｂ．１．６１７．２　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、任意選択で、以下の変異：Ｇ１４２Ｄ、Ｗ６４Ｈ、Ｈ６６Ｗ、Ｖ７０Ｆ、Ｔ９５Ｉ、Ｙ１４５Ｈ、Ｄ２１３Ｖ、Ｌ２１４Ｒ、Ａ２２２Ｖ、Ｗ２５８ＩまたはＷ２５８Ｌ；Ｋ４１７Ｎ；Ｎ４３９Ｋ；Ｅ４８４ＫまたはＥ４８４Ｑ；Ｎ５０１Ｙ；及びＱ６１３Ｈのうち１つ以上を含んでもよく、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。実施形態では、デルタ株は、アミノ酸１５７及び１５８の欠失、ならびにＴ１９Ｒ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６Ｇ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、デルタ株は、アミノ酸１５７及び１５８の欠失、ならびにＴ１９Ｒ、Ｔ９５Ｉ、Ｇ１４２Ｄ、Ｙ１４５Ｈ、Ｅ１５６Ｇ、Ａ２２２Ｖ、Ｋ４１７Ｎ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチド含み、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。実施形態では、デルタ株は、アミノ酸１５７及び１５８の欠失、ならびにＴ１９Ｒ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６Ｇ、Ｗ２５８Ｉ、Ｋ４１７Ｎ、Ｎ４３９Ｋ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチド含み、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。実施形態では、デルタ株は、アミノ酸１５７及び１５８の欠失、ならびにＴ１９Ｒ、Ｗ６４Ｈ、Ｈ６６Ｗ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６Ｇ、Ｄ２１３Ｖ、Ｌ２１４Ｒ、Ｗ２５８Ｉ、Ｋ４１７Ｎ、Ｎ４３９Ｋ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチド含み、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。実施形態では、デルタ株は、アミノ酸１５７及び１５８の欠失、ならびにＴ１９Ｒ、Ｇ１４２Ｄ、Ｅ１５６Ｇ、Ｋ４１７Ｎ、Ｌ４５２Ｒ、Ｔ４７８Ｋ、Ｅ４８４Ｑ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｒ、及びＤ９５０Ｎの変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチド含み、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。
【００３５】
「Ｂ．１．５２５株」（「イータ」株とも呼ばれる）という用語は、変異Ｑ５２Ｒ；Ａ

６７Ｖ；Ｅ４８４Ｋ；Ｄ６１４Ｇ；Ｑ６７７Ｈ；Ｆ８８８Ｌ；及びアミノ酸６９、７０、１４４、１４５のうちの１、２、３または４個の欠失を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。

【００３６】

「Ｂ．１．５２６株」（「イオタ」株とも呼ばれる）という用語は、変異Ｌ５Ｆ；Ｔ９５Ｉ；Ｄ２５３Ｇ；Ｅ４８４Ｋ；Ｄ６１４Ｇ；及びＡ７０１Ｖを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。

【００３７】

「Ｂ．１．６１７．１株」（「カッパ」株とも呼ばれる）という用語は、変異Ｌ４５２Ｒ；Ｅ４８４Ｑ；Ｄ６１４Ｇ；Ｐ６８１Ｒ；及びＱ１０７１Ｈを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。

【００３８】

「Ｃ．３７株」（「ラムダ」株とも呼ばれる）という用語は、変異Ｇ７５Ｖ；Ｔ７６Ｉ；Ｒ２４６Ｎ；Ｌ４５２Ｑ；Ｆ４９０Ｓ；Ｄ６１４Ｇ；Ｔ８５９Ｎ；及びアミノ酸２４７～２５３のうちの１、２、３、４、５、または６個の欠失を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。

【００３９】

「Ｂ．１．６２１株」（「ミュー」株とも呼ばれる）という用語は、変異Ｔ９５Ｉ；Ｙ１４４Ｓ；Ｙ１４５Ｎ；Ｒ３４６Ｋ；Ｅ４８４Ｋ；Ｎ５０１Ｙ；Ｄ６１４Ｇ；Ｐ６８１Ｈ；及びＤ９５０Ｎを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。

【００４０】

「オミクロン」バリアントと交換可能に使用される「Ｂ．１．１．５２９株」という用語は、変異Ｇ１４２Ｄ；Ｇ３３９Ｄ；Ｓ３７３Ｐ；Ｓ３７５Ｆ；Ｋ４１７Ｎ；Ｎ４４０Ｋ；Ｔ４７８Ｋ；Ｅ４８４ＡまたはＥ４８４Ｋ；Ｑ４９３ＫまたはＱ４９３Ｒ；Ｑ４９８Ｒ；Ｎ５０１Ｙ；Ｙ５０５Ｈ；Ｄ６１４Ｇ；Ｈ６５５Ｙ；Ｎ６７９Ｋ；Ｐ６８１Ｈ；Ｎ７６４Ｋ；Ｄ７９６Ｙ；Ｑ９５４Ｈ及びＮ９６９Ｋを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有する不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株を指し、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。Ｂ．１．１．５２９ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、任意選択で、以下の変異：　Ｔ１９Ｉ、Ｌ２４Ｓ、Ａ６７Ｖ、Ｔ９５Ｉ、Ｎ２１１Ｉ、Ｌ２１２ＩまたはＬ２１２Ｖ、Ｖ２１３ＰまたはＶ２１３Ｇ；Ｒ２１４Ｅ；Ｓ３７１Ｌ；Ｔ３７６Ａ；Ｄ４０５Ｎ；Ｒ４０８Ｓ；Ｇ４４６Ｓ；Ｓ４７７Ｎ；Ｇ４９６Ｓ；Ｔ５４７Ｋ；Ｎ８５６Ｋ；Ｌ９８１Ｆ；Ｇ４９６Ｓ；アミノ酸２５の後にアミノ酸ＰＰＡの挿入；アミノ酸２１４もしくは２１５の後にアミノ酸ＥＰＥの挿入；またはアミノ酸２５、２６、２７、６９、７０、１４３、１４４、１４５、２１１、２１２のうちの１つ以上の欠失、のうちの１つ以上を含んでもよく、ここでＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされている。任意選択で、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓオミクロンバリアントは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳオミクロンＢＡ．１バリアントである。この株は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドにおいて以下の変異：Ａ６７Ｖ；アミノ酸６９～７０の欠失；Ｔ９５Ｉ；

Ｇ１４２Ｄ；アミノ酸１４３～１４５の欠失；Ｎ２１１Ｉ；アミノ酸２１２の欠失、アミノ酸２１４の後にアミノ酸ＥＰＥの挿入；Ｇ３３９Ｄ；Ｓ３７１Ｌ；Ｓ３７３Ｐ；Ｓ３７５Ｆ；Ｋ４１７Ｎ；Ｎ４４０Ｋ；Ｇ４４６Ｓ；Ｓ４７７Ｎ；Ｔ４７８Ｋ；Ｅ４８４Ａ；Ｑ４９３Ｒ；Ｇ４９６Ｓ；Ｑ４９８Ｒ；Ｎ５０１Ｙ；Ｙ５０５Ｈ；Ｔ５４７Ｋ；Ｄ６１４Ｇ；Ｈ６５５Ｙ；Ｎ６７９Ｋ；Ｐ６８１Ｈ；Ｎ７６４Ｋ；Ｄ７９６Ｙ；Ｎ８５６Ｋ；Ｑ９５４Ｈ；Ｎ９６９Ｋ；及びＬ９８１Ｆを含み、ここでポリペプチドは配列番号１に対してナンバリングされている。任意選択で、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓオミクロンバリアントは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳオミクロンＢＡ．２バリアントである。この株は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドにおいて以下の変異：Ｔ１９Ｉ；Ｌ２４Ｓ；アミノ酸２５～２７における欠失；Ｇ１４２Ｄ；Ｖ２１３Ｇ；Ｇ３３９Ｄ；Ｓ３７１Ｆ；Ｓ３７３Ｐ；Ｓ３７５Ｆ；Ｔ３７６Ａ；Ｄ４０５Ｎ；Ｒ４０８Ｓ；Ｋ４１７Ｎ；Ｎ４４０Ｋ；Ｓ４７７Ｎ；Ｔ４７８Ｋ；Ｅ４８４Ａ；Ｑ４９３Ｒ；Ｑ４９８Ｒ；Ｎ５０１Ｙ；Ｙ５０５Ｈ；Ｄ６１４Ｇ；Ｈ６５５Ｙ；Ｎ６７９Ｋ；Ｐ６８１Ｈ；Ｎ７６４Ｋ；Ｄ７９６Ｙ；Ｑ９５４Ｈ；及びＮ９６９Ｋを含み、ここでポリペプチドは配列番号１に対してナンバリングされている。

【００４１】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントに関して「陽性」である対象　は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントに関して陽性のＰＣＲ試験または血清学的試験を有する。陽性ＰＣＲ試験は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントから遺伝物質を検出する。陽性血清学的検査は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質、典型的にはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントからのヌクレオカプシドタンパク質に対する抗体の存在を示す。

【００４２】

「無症候性」という用語は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントに対して陽性であるが、ＣＯＶＩＤ－１９の症状をまったく経験しない対象を指す。

【００４３】

ＣＯＶＩＤ－１９に関する「軽度」という用語は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントに対する陽性のＰＣＲ試験または血清学的試験を有し、かつ、以下の症状：（ｉ）発熱、（ｉｉ）新たな発症の咳、（ｉｉｉ）または息切れもしくは呼吸困難の新たな発症もしくは悪化、倦怠感、全身の筋肉または体の疼痛、頭痛、味覚もしくは嗅覚の喪失；咽頭炎、鼻づまり、鼻水；もしくは吐き気、嘔吐、下痢から選択される２つの追加のＣＯＶＩＤ－１９の症状、のうちの１つ以上の症状を有する対象を指す。

【００４４】

ＣＯＶＩＤ－１９に関する「中程度」という用語は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントに対する陽性のＰＣＲ試験または血清学的試験を有し、かつ以下の症状：（ｉ）３８．４℃以上の３日間以上の高熱、（ｉｉ）顕著な下気道感染（ＬＲＴＩ）の証拠のうちの１つ以上を有する対象を指し、ここで証拠は：（ａ）運動の有無にかかわらず息切れ；（ｂ）頻呼吸（安静時、１分間に２４～２９回の呼吸）；（ｃ）９４％～９５％のＳｐＯ２；（ｄ）肺炎またはＬＲＴＩと一致する胸部Ｘ線またはコンピュータ断層撮影（ＣＴ）の異常、または（ｅ）肺の聴診における不定音（例えば、パチパチ音／ラ音、喘鳴、水泡音、胸膜摩擦音、吸気性喘鳴）から選択される。

【００４５】

ＣＯＶＩＤ－１９に関する「重症」という用語は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントに関する陽性のＰＣＲ試験または血清学的試験を有し、かつ以下の症状：（ｉ）安静時に毎分３０呼吸以上の頻呼吸、（ｉｉ）毎分１２５拍以上の安静時の心拍数；（ｉｉｉ）９３％以下のＳｐＯ２または３００ｍｍＨｇ未満のＰａＯ２／ＦｉＯ２；（ｉｖ）高流量酸素療法または非侵襲的換気、非侵襲的陽圧換気（例えば、持続的気道陽圧（ＣＰＡＰ）または二段階気道陽圧（ＢｉＰＡＰ））への要求性；（ｖ）機械換気または体外膜型人工肺（ＥＣＭＯ）への要求性；（ｖｉ）（ａ）急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）；（

ｂ）急性腎不全；（ｃ）急性肝不全；（ｄ）急性右心不全または左心不全；（ｅ）敗血症性ショックまたは心原性ショック（収縮期血圧（ＳＢＰ）が９０ｍｍＨｇ未満、または拡張期血圧（ＤＢＰ）が６０ｍｍＨｇ未満として定義されるショックを伴う）；（ｆ）急性脳卒中（虚血性または出血性）；（ｇ）急性心筋梗塞（ＡＭＩ）、深部静脈血栓症（ＤＶＴ）、肺塞栓症（ＰＥ）などの急性血栓性イベント；（ｈ）昇圧剤、全身性コルチコステロイド、または血液透析への要求性から選択される１つ以上の主要な臓器系の機能障害または不全；（ｖｉｉ）集中治療室への入院；または（ｖｉｉｉ）死亡のうちの１つ以上を有する対象を指す。

【００４６】

本明細書で使用される場合、「ベッドサイド混合」、「ベッドサイド製剤」、「ベッドサイドワクチン組成物」、「ベッドサイドバイアル」、「ベッドサイドバイアル製剤」という用語は、投与直前に調製されるワクチン製剤を指す。そのようなワクチン製剤は、異なる容器に別々に保存されて対象に投与されるウイルス抗原及びアジュバントを含む（例えば、２回の連続注射を投与するか、または投与前に抗原とアジュバントを１回の注射に組み合わせる）。

【００４７】

本明細書で使用される場合、「共製剤混合」、「共製剤」、「共製剤ワクチン組成物」、「充填済みシリンジ」、「プレミックス」という用語は、対象への投与前に短時間から長期の保存のために調製されるワクチン製剤を指す。そのようなワクチン製剤は、抗原とアジュバントの組み合わせを同じ容器内に含み、投与の前に調製される。実施形態では、製剤は、ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）を形成するヘマグルチニンとアジュバント（例えば、サポニンアジュバント）を含む。

【００４８】

本明細書に記載される免疫原性組成物またはワクチン組成物の「有効性」という用語は、免疫原性組成物を投与されていない群と比較した、免疫原性組成物を投与された群における疾患（例えば、ＣＯＶＩＤ－１９）のパーセンテージの減少を指す。実施形態では、有効性（Ｅ）は、以下の方程式：　Ｅ（％）＝（１－ＲＲ）×１００（式中、ＲＲ＝免疫原性組成物を投与された群と免疫原性組成物を投与されていない群との間の発症率の相対的リスク）を用いて計算される。実施形態では、本明細書に記載の免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスまたは不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対して、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、約５０％～約９９％、約５０％～約９８％、約６０％～約９９％、約６０％～約９８％、約７０％～約９８％、約７０％～約９５％、約７０％～約９９％、約８０％～約９９％、約８０％～約９８％、約８０％～約９５％、約８５％～約９９％、約８５％～約９８％、約８５％～約９５％、約９０％～約９５％、約９０％～９８％、または約９０％～約９９％の有効性を有する。

【００４９】

本明細書で使用される場合、「スプリットビリオン」という用語は、界面活性剤で破壊されているウイルス膜を有するウイルス（例えば、インフルエンザウイルスまたはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス）を指す。界面活性剤の例は、本開示を通して記載されている。スプリットビリオンはさらなる精製を受けないため、それらは典型的には複数のウイルスタンパク質を含む。

【００５０】

本明細書で使用される場合、「組み換え」という用語は、細胞に導入される核酸の転写及び翻訳によって細胞内で産生されるタンパク質（例えば、ヘマグルチニン）を指す。核酸は、ベクターまたは核酸をコードするウイルスを介して導入され得る。

【００５１】

本明細書で使用される場合、「全インフルエンザウイルス」という用語は、そのエンベロープ、ウイルス膜、ヌクレオカプシド、及び遺伝物質をすべて含むウイルスを指す。実施形態では、全インフルエンザウイルスは不活化されている。

【００５２】

本明細書で使用される場合、「不活化ウイルス」という用語は、野性型ウイルスと比較してその病原性を実質的に減少または排除する処理を受けたウイルスを指す。

コロナウイルス及びインフルエンザウイルスに対する免疫原性組成物

【００５３】

本明細書において、（ｉ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質が異なるインフルエンザ株由来である）と；（ｉｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態のＣｏＶ　Ｓポリペプチド（洗剤は非イオン性洗剤である）と；（ｉｉｉ）薬学的に許容される緩衝液と、を含む、免疫原性組成物及びワクチン組成物が提供される。実施形態では、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質は、（ａ）ヘマグルチニン（ＨＡ）を含む洗剤－コアナノ粒子、（ｂ）ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）、（ｃ）不活性化全インフルエンザウイルス、（ｄ）インフルエンザウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物、任意選択のインフルエンザスプリットビリオン組成物またはサブユニットインフルエンザ組成物、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される形態である。実施形態では、本明細書において、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、またはそれらの組み合わせに対する免疫応答を刺激するために前述の免疫原性組成物及びワクチン組成物を使用する方法が提供される。

【００５４】

また本明細書において、前記ナノ粒子及び免疫原性組成物を製造する方法も提供される。有利なことに、本方法は、昆虫細胞でのタンパク質の組換え発現に関連するタンパク質などの他のタンパク質による汚染を実質的に有しないナノ粒子を提供する。実施形態では、発現はバキュロウイルス／Ｓｆ９系で起こる。

【００５５】

（ｉ）天然に存在しないＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはナノ粒子

本開示の免疫原性組成物は、天然に存在しないＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはそれを含むナノ粒子を含む。ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、ＭＥＲＳ　ＣｏＶ、及びＳＡＲＳ　ＣｏＶを含むがこれらに限定されないコロナウイルスに由来し得る。

【００５６】

実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアントは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＶＵＩ　２０２０１２／０１、Ｂ．１．１．７（「５０１Ｙ．Ｖ１」及び「アルファ」とも呼ばれる）、Ｂ．１．３５１（「５０１Ｙ．Ｖ２」及び「ベータ」とも呼ばれる）、Ｂ．１．６１７．２（「デルタ」とも呼ばれる）、Ｃａｌ．２０Ｃ（「イプシロン」とも呼ばれる）、またはＰ．１（「ガンマ」とも呼ばれる）である。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアントは、世界保健機関（ＷＨＯ）標識（例えばアルファ、ベータ、ガンマ、デルタなど）によって、そのＰｈｙｌｏｇｅｎｅｔｉｃ　Ａｓｓｉｇｎｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｎａｍｅｄ　Ｇｌｏｂａｌ　Ｏｕｔｂｒｅａｋ（ＰＡＮＧＯ）系統によって、そのＧＩＳＡＩＤクレードによって、またはそのＮｅｘｔｓｔｒａｉｎクレードによって指定されている。

【００５７】

【表１－１】

以下の表は、バリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株のリストを示す：

WHO標識ラベル	Ｐａｎｇｏ系統＊	ＧＩＳＡＩＤクレード	Ｎｅｘｔｓｔｒａｉｎクレード	配列番号１と比較した改変	配列番号１と比較した任意選択での改変
アルファ	Ｂ．１．１．７	ＧＲＹ	２０Ｉ（Ｖ１）	アミノ酸６９及び７０の欠失；アミノ酸１４４の欠失；Ｎ５０１Ｙ；Ａ５７０Ｄ；Ｄ６１４Ｇ；Ｐ６８１HまたはＰ６８１Ｒ；Ｔ７１６Ｉ；Ｓ９８２Ａ；及びＤ１１１８Ｈ	アミノ酸１４５；Ｅ４８４Ｋ；Ｌ４３２Ｒ；Ｓ４９４Ｐの欠失
ベータ	Ｂ．１．３５１	ＧＨ／５０１Ｙ．Ｖ２	２０Ｈ（Ｖ２）	Ｄ８０Ａ；Ｋ４１７Ｎ；Ｅ４８４Ｋ；Ｎ５０１Ｙ；Ｄ６１４Ｇ；Ａ７０１Ｖ；	Ｄ２１５Ｇ；Ｌ２４２Ｈ；Ｒ２４６Ｉ；２４１～２４３のうちの１、２、または３個のアミノ酸の欠失

【表１－２】

WHO標識ラベル	Ｐａｎｇｏ系統＊	ＧＩＳＡＩＤクレード	Ｎｅｘｔｓｔｒａｉｎクレード	配列番号１と比較した改変	配列番号１と比較した任意選択での改変
ガンマ	Ｐ．１	ＧＲ／５０１Ｙ．Ｖ３	２０Ｊ（Ｖ３）	Ｌ１８Ｆ；Ｔ２０Ｎ；Ｐ２６Ｓ；Ｄ１３８Ｙ；Ｒ１９０Ｓ；Ｋ４１７Ｔ；Ｅ４８４Ｋ；Ｎ５０１Ｙ；Ｄ６１４Ｇ；Ｈ６５５Ｙ；Ｔ１０２７Ｉ；及びＶ１１７６Ｆ	
デルタ	Ｂ．１．６１７．２	Ｇ／４７８Ｋ．Ｖ１	２１Ａ，、２１Ｉ、２１Ｊ	Ｔ１９Ｒ；Ｅ１５６Ｇ；アミノ酸１５７及び１５８の欠失；Ｌ４５２Ｒ；Ｔ４７８Ｋ；Ｄ６１４Ｇ；Ｐ６８１Ｒ；Ｄ９５０Ｎ	Ｇ１４２Ｄ；Ｗ６４Ｈ；Ｈ６６Ｗ；Ｖ７０Ｆ；Ｔ９５Ｉ；Ｙ１４５Ｈ；Ｄ２１３Ｖ；Ｌ２１４Ｒ；Ａ２２２Ｖ；Ｗ２５８ＩまたはＷ２５８Ｌ；Ｋ４１７Ｎ；Ｎ４３９Ｋ；Ｅ４８４ＫまたはＥ４８４Ｑ；Ｎ５０１Ｙ；Ｑ６１３Ｈ

【表１－３】

WHO標識ラベル	Ｐａｎｇｏ系統＊	ＧＩＳＡＩＤクレード	Ｎｅｘｔｓｔｒａｉｎクレード	配列番号１と比較した改変	配列番号１と比較した任意選択での改変
イータ	Ｂ．１．５２５			Ｑ５２Ｒ；Ａ６７Ｖ；アミノ酸６９～７０の欠失；アミノ酸１４４～１４５の欠失；Ｅ４８４Ｋ；Ｄ６１４Ｇ；Ｑ６７７Ｈ；Ｆ８８８Ｌ	
イオタ	Ｂ．１．５２６			Ｌ５Ｆ、Ｔ９５Ｉ、Ｄ２５３Ｇ；Ｅ４８４Ｋ；Ｄ６１４Ｇ；Ａ７０１Ｖ	
カッパ	Ｂ．１．６１７．１			Ｌ４５２Ｒ；Ｅ４８４Ｑ；Ｄ６１４Ｇ；Ｐ６８１Ｒ；Ｑ１０７１Ｈ	
ラムダ	Ｃ．３７			Ｇ７５Ｖ、Ｔ７６Ｉ、Ｒ２４６Ｎ、２４７～２５３のうちの１、２、３、４、５、または６個のアミノ酸の欠失；Ｌ４５２Ｑ；Ｆ４９０Ｓ；Ｄ６１４Ｇ；Ｔ８５９Ｎ	

【表１－４】

WHO標識ラベル	Ｐａｎｇｏ系統＊	ＧＩＳＡＩＤクレード	Ｎｅｘｔｓｔｒａｉｎクレード	配列番号１と比較した改変	配列番号１と比較した任意選択での改変
ミュー	Ｂ．１．６２１			Ｔ９５Ｉ；Ｙ１４４Ｓ；Ｙ１４５Ｎ；Ｒ３４６Ｋ；Ｅ４８４Ｋ；Ｎ５０１Ｙ；Ｄ６１４Ｇ；Ｐ６８１Ｈ；Ｄ９５０Ｎ	

【００５８】

実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスは、配列番号１のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを有し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアントは、配列番号１と比較して、少なくとも約１個、少なくとも約２個、少なくとも約３個、少なくとも約４個、少なくとも約５個、少なくとも約６個、少なくとも約７個、少なくとも約８個、少なくとも約９個、少なくとも約１０個、少なくとも約１１個、少なくとも約１２個、少なくとも約１３個、少なくとも約１４個、少なくとも約１５個、少なくとも約１６個、少なくとも約１７個、少なくとも約１８個、少なくとも約１９個、少なくとも約２０個、少なくとも約２１個、少なくとも約２２個、少なくとも約２３個、少なくとも約２４個、少なくとも約２５個、少なくとも約２６個、少なくとも約２７個、少なくとも約２８個、少なくとも約２９個、少なくとも約３０個、少なくとも約３１個、少なくとも約３２個、少なくとも約３３個、少なくとも約３４個、少なくとも約３５個、少なくとも約３６個、少なくとも約３７個、少なくとも約３８個、少なくとも約３９個、少なくとも約４０個、少なくとも約４１個、少なくとも約４２個、少なくとも約４３個、少なくとも約４４個、少なくとも約４５個、少なくとも約４６個、少なくとも約４７個、少なくとも約４８個、少なくとも約４９個、少なくとも約５０個、少なくとも約５１個、少なくとも約５２個、少なくとも約５３個、少なくとも約５４個、少なくとも約５５個、少なくとも約５６個、少なくとも約５７個、少なくとも約５８個、少なくとも約５９個、少なくとも約６０個、少なくとも約６１個、少なくとも約６２個、少なくとも約６３個、少なくとも約６４個、少なくとも約６５個、少なくとも約６６個、少なくとも約６７個、少なくとも約６８個、少なくとも約６９個、または少なくとも約７０個の改変を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。

【００５９】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－Ｓタンパク質とは対照的に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質は、Ｓ１／Ｓ２切断部位に４個のアミノ酸挿入を有し、多塩基性ＲＲＡＲフューリン様の切断モチーフをもたらす。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質は不活性前駆体（Ｓ０）として合成され、これはフューリン切断部位でタンパク質分解的切断されてＳ１とＳ２のサブユニットに分解され、これらは非共有結合で残り、融合前３量体を形成する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２ドメインは、融合ペプチド（ＦＰ）、２つの７アミノ酸繰り返し（ＨＲ１及びＨＲ２）、膜貫通（ＴＭ）ドメイン、及び細胞質尾部（ＣＴ）を含む。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ１ドメインは、４つの別個のドメイン

、すなわち、受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）と２つのサブドメインＳＤ１及びＳＤ２とを含むＮ末端ドメイン（ＮＴＤ）及びＣ末端ドメインに折り畳まれる。融合前ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質トリマーは、Ｓ－タンパク質受容体の結合及び切断時に融合前から融合後立体配座への構造的な転位を受ける。

【００６０】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、翻訳後グリコシル化のために、糖タンパク質である。糖タンパク質は、シグナルペプチド、Ｓ１サブユニット、Ｓ２サブユニット、ＮＴＤ、ａ、ＲＢＤ、２つのサブドメイン（図６Ａ～６ＢにＳＤ１／２と標識され、本明細書で「ＳＤ１／２」と呼ばれるＳＤ１及びＳＤ２）インタクトなまたは修飾された融合ペプチド、ＨＲ１ドメイン、ＨＲ２ドメイン　、ＴＭ、及びＣＤのうちの１つ以上を含む。実施形態では、それぞれのドメインについてのアミノ酸は、図６Ａ（配列番号１に従って示される）及び図６Ｂ（配列番号２に従って示される）に示される。実施形態では、それぞれのドメインは、配列番号１または配列番号２におけるそれぞれのドメインの配列に対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有し得る。それぞれのドメインは、配列番号１または配列番号２に示される配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約２０個まで、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入または変異を有し得る。それぞれのドメインは、配列番号１または配列番号２に示される配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～２７個のアミノ酸、約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入または変異を有し得る。図２及び図３は、成熟ペプチドに存在しない１３アミノ酸のＮ末端シグナルペプチドを示すことに留意されたい。ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドに対する免疫応答を刺激するために使用され得る。

【００６１】

実施形態では、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）を改変し、天然に存在しないＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドを得る。

【００６２】

実施形態では、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）を改変し、天然に存在しないＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドを得る（図１）。実施形態では、ＣｏＶスパイク（Ｓ）糖タンパク質は、Ｓ１サブユニット及びＳ２サブユニットを含み、Ｓ１サブユニットは、ＮＴＤ、ＲＢＤ、ＳＤ１／２、及び不活性フューリン切断部位（アミノ酸６６９～６７２）を含み、Ｓ２サブユニットは、アミノ酸９７３及び９７４の変異を含み；

ＮＴＤ（アミノ酸１～３１８）は、任意選択で：

（ａ）アミノ酸５６、５７、１３１、１３２、１４４、１４５、２２８、２２９、２３０、２３１、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２３９、２４０及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の欠失；

（ｂ）アミノ酸１３２の後に１、２、３、または４個のアミノ酸の挿入；

（ｃ）アミノ酸５、６、７、１３、３９、５１、５３、５４、５６、５７、６２、６３、６７、８２、１２５、１２９、１３１、１３２、１３３、１３９、１４３、１４４、１４５、１７７、２００、２０１、２０２、２０９、２２９、２３３、２４０、２４５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異、

からなる群から選択される１つ以上の改変を含み、

ＲＢＤは、任意選択で、アミノ酸３３３、４０４、４１９、４２６、４３９、４４０、４６４、４６５、４７１、４７７、４８１、４８８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異を含み、

ＳＤ１／２ドメインは、任意選択で、５５７、６００、６０１、６４２、６６４、６６８

、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異を含み、
Ｓ２サブユニットは、任意選択で：
（ａ）６７６～６８５、６７６～７０２、７０２～７１１、７７５～７９３、８０６～８１５、及びそれらの組み合わせからの１個以上のアミノ酸の欠失；
（ｂ）６８８、７０３、８４６、８７５、９３７、９６９、９７３、９７４、１０１４、１０５８、１１０５、及び１１６３、ならびにそれらの組み合わせからの１個以上のアミノ酸の変異；
（ｃ）膜貫通及び細胞質ドメイン（ＴＭＣＴ）（アミノ酸１２０１～１２６０）からの１個以上のアミノ酸の欠失、
からなる群から選択される１つ以上の改変を含み、
ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質のアミノ酸は、配列番号２に対してナンバリングされている。

【００６３】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、融合前立体配座で存在する。実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、フレキシブルＨＲ２ドメインを有する。特に断らない限り、ドメインのフレキシビリティは、遷移電子顕微鏡（ＴＥＭ）及び２Ｄクラスの平均化によって決定される。電子密度の減少は、フレキシブルドメインに相当する。

【００６４】

Ｓ１サブユニットに対する改変

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１２１のアミノ酸配列を有するＳ１サブユニットに対する１つ以上の改変を含む。

【００６５】

Ｓ１サブユニットのアミノ酸配列（配列番号１２１）を以下に示す。

ＱＣＶＮＬＴＴＲＴＱＬＰＰＡＹＴＮＳＦＴＲＧＶＹＹＰＤＫＶＦＲＳＳＶＬＨＳＴＱＤ
ＬＦＬＰＦＦＳＮＶＴＷＦＨＡＩＨＶＳＧＴＮＧＴＫＲＦＤＮＰＶＬＰＦＮＤＧＶＹＦＡ
ＳＴＥＫＳＮＩＩＲＧＷＩＦＧＴＴＬＤＳＫＴＱＳＬＬＩＶＮＮＡＴＮＶＶＩＫＶＣＥＦ
ＱＦＣＮＤＰＦＬＧＶＹＹＨＫＮＮＫＳＷＭＥＳＥＦＲＶＹＳＳＡＮＮＣＴＦＥＹＶＳＱ
ＰＦＬＭＤＬＥＧＫＱＧＮＦＫＮＬＲＥＦＶＦＫＮＩＤＧＹＦＫＩＹＳＫＨＴＰＩＮＬＶ
ＲＤＬＰＱＧＦＳＡＬＥＰＬＶＤＬＰＩＧＩＮＩＴＲＦＱＴＬＬＡＬＨＲＳＹＬＴＰＧＤ
ＳＳＳＧＷＴＡＧＡＡＡＹＹＶＧＹＬＱＰＲＴＦＬＬＫＹＮＥＮＧＴＩＴＤＡＶＤＣＡＬ
ＤＰＬＳＥＴＫＣＴＬＫＳＦＴＶＥＫＧＩＹＱＴＳＮＦＲＶＱＰＴＥＳＩＶＲＦＰＮＩＴ
ＮＬＣＰＦＧＥＶＦＮＡＴＲＦＡＳＶＹＡＷＮＲＫＲＩＳＮＣＶＡＤＹＳＶＬＹＮＳＡＳ
ＦＳＴＦＫＣＹＧＶＳＰＴＫＬＮＤＬＣＦＴＮＶＹＡＤＳＦＶＩＲＧＤＥＶＲＱＩＡＰＧ
ＱＴＧＫＩＡＤＹＮＹＫＬＰＤＤＦＴＧＣＶＩＡＷＮＳＮＮＬＤＳＫＶＧＧＮＹＮＹＬＹ
ＲＬＦＲＫＳＮＬＫＰＦＥＲＤＩＳＴＥＩＹＱＡＧＳＴＰＣＮＧＶＥＧＦＮＣＹＦＰＬＱ
ＳＹＧＦＱＰＴＮＧＶＧＹＱＰＹＲＶＶＶＬＳＦＥＬＬＨＡＰＡＴＶＣＧＰＫＫＳＴＮＬ
ＶＫＮＫＣＶＮＦＮＦＮＧＬＴＧＴＧＶＬＴＥＳＮＫＫＦＬＰＦＱＱＦＧＲＤＩＡＤＴＴ
ＤＡＶＲＤＰＱＴＬＥＩＬＤＩＴＰＣＳＦＧＧＶＳＶＩＴＰＧＴＮＴＳＮＱＶＡＶＬＹＱ
ＤＶＮＣＴＥＶＰＶＡＩＨＡＤＱＬＴＰＴＷＲＶＹＳＴＧＳＮＶＦＱＴＲＡＧＣＬＩＧＡ
ＥＨＶＮＮＳＹＥＣＤＩＰＩＧＡＧＩＣＡＳＹＱＴＱＴＮＳＰＲＲＡＲ

【００６６】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＳ１サブユニットに対して少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の　同一性を有するＳ１サブユニットを含む。Ｓ１サブユニットは、配列番号１または配列番号２のＳ１サブユニットと比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個まで、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入または変異を有し得る。Ｓ１サブユニットは、配列番号１または配列番号２のＳ１サブユニットと比較して、約１個まで、約２個まで、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、

約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入または変異を有し得る。

【００６７】

実施形態では、Ｓ１サブユニットは、表１Ａに示す改変の任意の組み合わせを含み得る。

【表２－１】

表１Ａ

Ｓ１（配列番号１２１）に対する改変 ＊配列番号１のアミノ酸１４～６８５及び配列番号２のアミノ酸１～６７２			
配列番号１内の位置	配列番号２内の位置	配列番号１２１内の位置	可能性のある改変
１４～３０５	１～２９２	１～２９２	・　約１、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０、２６０、２７０、２８０、２９０、または２９２個までのアミノ酸の欠失
１８	５	５	・　フェニルアラニンへの変異 ・　チロシンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
１９	６	６	・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
２０	７	７	・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異
２６	１３	１３	・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異
５２	３９	３９	・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
６４	５１	５１	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異
６６	５３	５３	・　トリプトファンへの変異 ・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異
６７	５４	５４	・　バリンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　ロイシンへの変異

【表２－２】

６９	５６	５６	・　アミノ酸の欠失
７０	５７	５７	・　アミノ酸の欠失 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　チロシンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
７５	６２	６２	・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　イソロイシンへの変異
７６	６３	６３	・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異
８０	６７	６７	・　アラニンへの変異 ・　グリシンへの変異
９５	８２	８２	・　β分枝アミノ酸への変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異
１３８	１２５	１２５	・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
１４２	１２９	１２９	・　アスパラギン酸への変異 ・　グルタミン酸への変異
１４４	１３１	１３１	・　アミノ酸の欠失 ・　セリンへの変異
１４５	１３２	１３２	・　アミノ酸の欠失 ・　ヒスチジンへの変異 ・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　アミノ酸１３２（例えば、アスパラギン）の後に１、２、３または４個のアミノ酸の挿入
１４６	１３３	１３３	・　芳香族アミノ酸への変異 ・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
１５２	１３９	１３９	・　システインへの変異 ・　メチオニンへの変異 ・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異

【表２－３】

１５６	１４３	１４３	・　グリシンへの変異 ・　アラニンへの変異
１５７	１４４	１４４	・　アミノ酸の欠失
１５８	１４５	１４５	・　アミノ酸の欠失
１９０	１７７	１７７	・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異 ・　システインへの変異
２１３	２００	２００	・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　β分枝アミノ酸への変異
２１４	２０１	２０１	・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
２１５	２０２	２０２	・　グリシンへの変異 ・　アラニンへの変異
２２２	２０９	２０９	・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　イソロイシンへの変異
２４１～２４４	２２８～２３１	２２８～２３１	・　１、２、３または４個のアミノ酸の欠失 ・
２４２	２２９	２２９	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異
２４６	２３３	２３３	・　β分枝アミノ酸への変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　トレオニンへの変異 ・　アスパラギンへの変異
２４７	２３４	２３４	・　アミノ酸の欠失
２４８	２３５	２３５	・　アミノ酸の欠失

【表２－４】

２４９	２３６	２３６	・　アミノ酸の欠失
２５０	２３７	２３７	・　アミノ酸の欠失
２５１	２３８	２３８	・　アミノ酸の欠失
２５２	２３９	２３９	・　アミノ酸の欠失
２５３	２４０	２４０	・　グリシンへの変異 ・　アミノ酸の欠失
２５８	２４５	２４５	・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　β分枝アミノ酸への変異
３４６	３３３	３３３	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
４１７	４０４	４０４	・　アスパラギンへの変異 ・　トレオニンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　セリンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　β分枝アミノ酸への変異
４３２	４１９	４１９	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
４３９	４２６	４２６	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異 ・
４５２	４３９	４３９	・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　アスパラギンへの変異
４５３	４４０	４４０	・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異

【表２－５】

４７７	４６４	４６４	・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異
４７８	４６５	４６５	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
４８４	４７１	４７１	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　アスパラギンへの変異
４９０	４７７	４７７	・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異
４９４	４８１	４８１	・　プロリンへの変異
５０１	４８８	４８８	・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
５７０	５５７	５５７	・　アスパラギン酸への変異 ・　グルタミン酸への変異
６１３	６００	６００	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異
６１４	６０１	６０１	・　グリシンへの変異 ・　アラニンへの変異
６５５	６４２	６４２	・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
６７７	６６４	６６４	・　ヒスチジンへの変異
６８１	６６８	６６８	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異
６８２～６８５	６６９～６７２	６６９～６７２	・　不活性なフューリン切断部位（表１Ｅを参照されたい）

【００６８】

Ｓ１サブユニット－ＮＴＤに対する改変

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＮＴＤに対する１つ以上の改変を含む。実施形態では、ＮＴＤは、配列番号１のアミノ酸１４～３０５または配列番号２のアミノ酸１～２９２に相当する配列番号１１８のアミノ酸配列を有する。

【００６９】

ＮＴＤのアミノ酸配列（配列番号１１８）を以下に示す。

【化１】

QCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGT
NGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEF
QFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLRE
FVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGD
SSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS

【００７０】
配列番号１１８で下線が引かれた領域は、ＮＴＤ内の改変され得るアミノ酸を表す。
【００７１】
実施形態では、ＮＴＤは、配列番号４５のアミノ酸配列を有し、これは、配列番号１のアミノ酸１４～３３１または配列番号２のアミノ酸１～３１８に相当する。ＮＴＤのアミノ酸配列（配列番号４５）を以下に示す。
【００７２】
【化２】

QCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFH
AIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNV
VIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQG
NFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHR
SYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS
FTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPN

【００７３】
実施形態では、ＮＴＤとＲＢＤは、約１個までのアミノ酸、約５個までのアミノ酸、約１０個までのアミノ酸、または約２０個までのアミノ酸と重複している。
【００７４】
実施形態では、本明細書で提供されるＮＴＤは、Ｃ末端で、アミノ酸を５個まで、１０個まで、１５個まで、２０個まで、２５個まで、または３０個まで拡張することができる。
【００７５】
実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＮＴＤに対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＮＴＤを含む。ＮＴＤは、配列番号１または配列番号２のＮＴＤのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＮＴＤは、配列番号１または配列番号２のＮＴＤのアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。
【００７６】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｎ末端ドメイン（ＮＴＤ）（配列番号２のアミノ酸１～２９２に相当）からの１個以上のアミノ酸の欠失を含む。実施形態では、ＣｏＶポリペプチドは、ＮＴＤの約１０個、２０個、３０個、４０個、５０個、６０個、７０個、８０個、９０個、１００個、１１０個、１２０個、１３０個、１４０個、１５０個、１６０個、１７０個、１８０個、１９０個、２００個、２１０個、２２０個、２３０個、２４０個、２５０個、２６０個、２７０個、２８０個、２９０個、または２９２個までのアミノ酸の欠失を含む。

【００７７】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＮＴＤ（配列番号２のアミノ酸１～３１８に相当）からの１個以上のアミノ酸の欠失を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号２のＮＴＤのアミノ酸１～３１８の欠失を含む。実施形態では、ＮＴＤの欠失は、ＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドのタンパク質発現を増強する。実施形態では、ＮＴＤ欠失を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号４６、４８、４９、５１、５２、及び５４で表されるアミノ酸配列を有する。実施形態では、ＮＴＤ欠失を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号４７、配列番号５０、及び配列番号５３からなる群から選択される単離された核酸配列によってコードされる。

【００７８】

実施形態では、ＮＴＤは、表１Ｂに示す改変の任意の組み合わせを含み得る。これらの改変は、参照のために配列番号２の成熟Ｓポリペプチド配列に対して示される。

【表３－１】

表１Ｂ

ＮＴＤ（配列番号１１８）に対する改変 ＊配列番号１のアミノ酸１４～３０５及び配列番号２のアミノ酸１～２９　２			
配列番号１内の位置	配列番号２残基	配列番号１２１または配列番号４５残基	改変
１８	５	５	・　フェニルアラニンへの変異 ・　チロシンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
１９	６	６	・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
２０	７	７	・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異
２６	１３	１３	・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異
６４	５１	５１	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異
６６	５３	５３	・　トリプトファンへの変異 ・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異
６９	５６	５６	・　アミノ酸の欠失
７０	５７	５７	・　アミノ酸の欠失 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　チロシンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
７５	６２	６２	・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　イソロイシンへの変異
７６	６３	６３	・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異
８０	６７	６７	・　アラニンへの変異 ・　グリシンへの変異

【表３－２】

９５	８２	８２	・　β分枝アミノ酸への変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異
１３８	１２５	１２５	・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
１４２	１２９	１２９	・　アスパラギン酸への変異 ・　グルタミン酸への変異
１４４	１３１	１３１	・　アミノ酸の欠失 ・　セリンへの変異
１４５	１３２	１３２	・　アミノ酸の欠失 ・　ヒスチジンへの変異 ・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　この位置の後に１、２、３または４個のアミノ酸の挿入
１４６	１３３	１３３	・　芳香族アミノ酸への変異 ・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
１５２	１３９	１３９	・　システインへの変異 ・　メチオニンへの変異 ・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異 ・　アルギニンへの変異
１５６	１４３	１４３	・　グリシンへの変異 ・　アラニンへの変異
１５７	１４４	１４４	・　アミノ酸の欠失
１５８	１４５	１４５	・　アミノ酸の欠失
１９０	１７７	１７７	・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異 ・　システインへの変異
２１３	２００	２００	・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　β分枝アミノ酸への変異
２１４	２０１	２０１	・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異

【表３－３】

２１５	２０２	２０２	・　グリシンへの変異 ・　アラニンへの変異
２２２	２０９	２０９	・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　イソロイシンへの変異
２４２	２２９	２２９	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異
２４１～２４４	２２８～２３１	２２８～２３１	・　１、２、３または４個のアミノ酸の欠失
２４６	２３３	２３３	・　β分枝アミノ酸への変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　トレオニンへの変異 ・　アスパラギンへの変異
２４７	２３４	２３４	・　アミノ酸の欠失
２４８	２３５	２３５	・　アミノ酸の欠失
２４９	２３６	２３６	・　アミノ酸の欠失
２５０	２３７	２３７	・　アミノ酸の欠失
２５１	２３８	２３８	・　アミノ酸の欠失
２５２	２３９	２３９	・　アミノ酸の欠失
２５３	２４０	２４０	・　グリシンへの変異 ・　アミノ酸の欠失
２５８	２４５	２４５	・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　ロイシンへの変異 ・　β分枝アミノ酸への変異

【００７９】
　Ｓ１サブユニット－ＲＢＤに対する改変
　実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＲＢＤに対する１つ以上の改変を含む。
【００８０】
　実施形態では、ＲＢＤは、配列番号１のアミノ酸３３１～５２７または配列番号２のアミノ酸３１８～５１４に対応する配列番号１２６のアミノ酸配列を有する。
【００８１】
　ＲＢＤのアミノ酸配列（配列番号１２６）を以下に示す。

【化３】

NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLND
LCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGN
YNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPY
RVVVLSFELLHAPATVCGP

【００８２】

配列番号１２６で下線が引かれた領域は、ＲＢＤサブユニット内の改変され得るアミノ酸を表す。

【００８３】

実施形態では、ＲＢＤは、配列番号１のアミノ酸３３５～５３０または配列番号２のアミノ酸３２２～５１７に対応する配列番号１１６のアミノ酸配列を有する。

【００８４】

ＲＢＤのアミノ酸配列（配列番号１１６）を以下に示す。

LCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLC
FTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGN
YNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGY
QPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKS

【００８５】

実施形態では、本明細書で提供されるＲＢＤは、Ｎ末端またはＣ末端で、１個のアミノ酸まで、５個のアミノ酸まで、１０個のアミノ酸まで、１５個のアミノ酸まで、２０個のアミノ酸まで、２５個のアミノ酸まで、または３０個のアミノ酸まで拡張することができる。

【００８６】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＲＢＤに対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＲＢＤを含む。ＲＢＤは、配列番号１または配列番号２のＲＢＤのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＲＢＤは、配列番号１または配列番号２のＲＢＤのアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。

【００８７】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＲＢＤにおいて、少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、または少なくとも２０個の変異を有する。実施形態では、ＲＢＤは、表１Ｃに示す改変の任意の組み合わせを含み得る。

【表４－１】

表１Ｃ

ＲＢＤ（配列番号１２６）に対する改変 ＊配列番号１のアミノ酸３３１～５２７及び配列番号２のアミノ酸３１８～５１４			
配列番号１内の位置	配列番号２内の位置	配列番号１２６内の位置	可能性のある改変
３４６	３３３	１６	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
４１７	４０４	８７	・　アスパラギンへの変異 ・　トレオニンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　セリンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　β分枝アミノ酸への変異
４３２	４１９	１０２	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
４３９	４２６	１０９	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異
４５２	４３９	１２２	・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　アスパラギンへの変異
４５３	４４０	１２３	・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
４７７	４６４	１４７	・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異
４７８	４６５	１４８	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異

【表４－２】

４８４	４７１	１５４	・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　ヒスチジンへの変異 ・　グルタミンへの変異 ・　アスパラギンへの変異
４９０	４７７	１６０	・　セリンへの変異 ・　トレオニンへの変異
４９４	４８１	１６４	・　プロリンへの変異
５０１	４８８	１７１	・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異

【００８８】
ＳＤ１／２に対する改変
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸５４２～６８１または配列番号２のアミノ酸５２９～６６８に相当する配列番号１２２のアミノ酸配列を有するＳＤ１／２に対する１つ以上の改変を含む。
【００８９】
ＳＤ１／２のアミノ酸配列（配列番号１２２）を以下に示す。
ＮＦＮＧＬＴＧＴＧＶＬＴＥＳＮＫＫＦＬＰＦＱＱＦＧＲＤＩＡＤＴＴＤＡＶＲＤＰＱＴＬＥＩＬＤＩＴＰＣＳＦＧＧＶＳＶＩＴＰＧＴＮＴＳＮＱＶＡＶＬＹＱＤＶＮＣＴＥＶＰＶＡＩＨＡＤＱＬＴＰＴＷＲＶＹＳＴＧＳＮＶＦＱＴＲＡＧＣＬＩＧＡＥＨＶＮＮＳＹＥＣＤＩＰＩＧＡＧＩＣＡＳＹＱＴＱＴＮＳＰ
【００９０】
実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＳＤ１／２に対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＳＤ１／２を含む。ＳＤ１／２は、配列番号１または配列番号２のＳＤ１／２のアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＳＤ１／２は、配列番号１または配列番号２のＳＤ１／２のアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。
【００９１】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＤ１／２において、少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、または少なくとも２０個の変異を有する。実施形態では、ＳＤ１／２は、表１Ｄに示す改変の任意の組み合わせを含み得る。

【表５】

表１Ｄ

ＳＤ１／２（配列番号１２２）に対する改変 ＊配列番号１のアミノ酸５４２～６８１または配列番号２のアミノ酸５２９～６６８。			
配列番号１内の位置	配列番号２内の位置	配列番号１２２内の位置	可能性のある改変
５７０	５５７	２９	・　アスパラギン酸への変異 ・　グルタミン酸への変異
６１３	６００	６００	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異
６１４	６０１	７３	・　グリシンへの変異 ・　アラニンへの変異
６５５	６４２	１１４	・　チロシンへの変異 ・　フェニルアラニンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
６７７	６６４	６６４	・　ヒスチジンへの変異
６８１	６６８	１４０	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異

【００９２】

フューリン切断部位に対する改変

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、１つ以上の変異によって不活性化される、配列番号１のアミノ酸６８２～６８５または配列番号２のアミノ酸６６９～６７２に対応するフューリン部位（ＲＲＡＲ）を含む。フューリン切断部位の不活性化は、フューリンがＣｏＶ　Ｓポリペプチドを切断することを防ぐ。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位を含む、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、一本鎖として表される。

【００９３】

実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成する１個以上のアミノ酸は、任意の天然アミノ酸に変異している。実施形態では、アミノ酸はＬ－アミノ酸である。アミノ酸の非限定的な例としては、アラニン、アルギニン、グリシン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、セリン、トレオニン、ヒスチジン、リジン、メチオニン、プロリン、バリン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、トリプトファン、及びフェニルアラニンが挙げられる。

【００９４】

実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成する１個以上のアミノ酸は、グルタミンに変異している。実施形態では、１、２、３または４個のアミノ酸は、グルタミンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの１つは、グルタミンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの２つは、グルタミンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの３つは、グルタミンに変異している。

【００９５】
実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成する１個以上のアミノ酸は、アラニンに変異している。実施形態では、１、２、３、または４個のアミノ酸は、アラニンに変異され得る。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの１つは、アラニンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの２つは、アラニンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの３つは、アラニンに変異している。
【００９６】
実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成する１個以上のアミノ酸は、グリシンに変異している。実施形態では、１、２、３または４個のアミノ酸は、グリシンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位のアルギニンのうちの１つは、グリシンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの２つは、グリシンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの３つは、グリシンに変異している。
【００９７】
実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成する１個以上のアミノ酸は、アスパラギンに変異している。例えば、１、２、３または４個のアミノ酸は、アスパラギンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの１つは、アスパラギンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの２つは、アスパラギンに変異している。実施形態では、天然のフューリン切断部位を構成するアルギニンのうちの３つは、アスパラギンに変異している。
【００９８】
ＣｏＶ　Ｓポリペプチド内に含まれる不活性化されたフューリン部位のアミノ酸配列の非限定的な例は、表１Ｅに見られる。

【表６】

表１Ｅ

フューリン切断部位のアミノ酸配列	活性または不活性なフューリン切断部位
ＲＲＡＲ（配列番号６）	活性
ＱＱＡＱ（配列番号７）	不活性
ＱＲＡＲ（配列番号８）	不活性
ＲＱＡＲ（配列番号９）	不活性
ＲＲＡＱ（配列番号１０）	不活性
ＱＱＡＲ（配列番号１１）	不活性
ＲＱＡＱ（配列番号１２）	不活性
ＱＲＡＱ（配列番号１３）	不活性
ＮＮＡＮ（配列番号１４）	不活性
ＮＲＡＲ（配列番号１５）	不活性
ＲＮＡＲ（配列番号１６）	不活性
ＲＲＡＮ（配列番号１７）	不活性
ＮＮＡＲ（配列番号１８）	不活性
ＲＮＡＮ（配列番号１９）	不活性
ＮＲＡＮ（配列番号２０）	不活性
ＡＡＡＡ（配列番号２１）	不活性
ＡＲＡＲ（配列番号２２）	不活性
ＲＡＡＲ（配列番号２３）	不活性
ＲＲＡＡ（配列番号２４）	不活性
ＡＡＡＲ（配列番号２５）	不活性
ＲＡＡＡ（配列番号２６）	不活性
ＡＲＡＡ（配列番号２７）	不活性
ＧＧＡＧ（配列番号２８）	不活性
ＧＲＡＲ（配列番号２９）	不活性
ＲＧＡＲ（配列番号３０）	不活性
ＲＲＡＧ（配列番号３１）	不活性
ＧＧＡＲ（配列番号３２）	不活性
ＲＧＡＧ（配列番号３３）	不活性
ＧＲＡＧ（配列番号３４）	不活性
ＧＳＡＳ（配列番号９７）	不活性
ＧＳＧＡ（配列番号１１１）	不活性

【００９９】

実施形態では、活性なフューリン切断部位（配列番号６）の代わりに、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位のアミノ酸配列は、配列番号７～３４または配列番号９７のいずれか１つによって表される。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位のアミノ酸配列は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位のアミノ酸配列は、ＧＳＡＳ（配列番号９７）である。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位のアミノ酸配列は、ＧＳＧＡ（配列番号１１１）である。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位のアミノ酸配列は、ＧＧ、ＧＧ

Ｇ（配列番号１２７）、ＧＧＧＧ（配列番号１２８）、またはＧＧＧＧＧ（配列番号１２９）である。

【０１００】

Ｓ２サブユニットに対する改変

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸６８６～１２７３または配列番号２のアミノ酸６７３～１２６０に対応する配列番号１２０のアミノ酸配列を有するＳ２サブユニットに対する１つ以上の改変を含む。

【０１０１】

Ｓ２サブユニットのアミノ酸配列（配列番号１２０）を以下に示す。

ＳＶＡＳＱＳＩＩＡＹＴＭＳＬＧＡＥＮＳＶＡＹＳＮＮＳＩＡＩＰＴＮＦＴＩＳＶＴＴＥ
ＩＬＰＶＳＭＴＫＴＳＶＤＣＴＭＹＩＣＧＤＳＴＥＣＳＮＬＬＬＱＹＧＳＦＣＴＱＬＮＲ
ＡＬＴＧＩＡＶＥＱＤＫＮＴＱＥＶＦＡＱＶＫＱＩＹＫＴＰＰＩＫＤＦＧＧＦＮＦＳＱＩ
ＬＰＤＰＳＫＰＳＫＲＳＦＩＥＤＬＬＦＮＫＶＴＬＡＤＡＧＦＩＫＱＹＧＤＣＬＧＤＩＡ
ＡＲＤＬＩＣＡＱＫＦＮＧＬＴＶＬＰＰＬＬＴＤＥＭＩＡＱＹＴＳＡＬＬＡＧＴＩＴＳＧ
ＷＴＦＧＡＧＡＡＬＱＩＰＦＡＭＱＭＡＹＲＦＮＧＩＧＶＴＱＮＶＬＹＥＮＱＫＬＩＡＮ
ＱＦＮＳＡＩＧＫＩＱＤＳＬＳＳＴＡＳＡＬＧＫＬＱＤＶＶＮＱＮＡＱＡＬＮＴＬＶＫＱ
ＬＳＳＮＦＧＡＩＳＳＶＬＮＤＩＬＳＲＬＤＫＶＥＡＥＶＱＩＤＲＬＩＴＧＲＬＱＳＬＱ
ＴＹＶＴＱＱＬＩＲＡＡＥＩＲＡＳＡＮＬＡＡＴＫＭＳＥＣＶＬＧＱＳＫＲＶＤＦＣＧＫ
ＧＹＨＬＭＳＦＰＱＳＡＰＨＧＶＶＦＬＨＶＴＹＶＰＡＱＥＫＮＦＴＴＡＰＡＩＣＨＤＧ
ＫＡＨＦＰＲＥＧＶＦＶＳＮＧＴＨＷＦＶＴＱＲＮＦＹＥＰＱＩＩＴＴＤＮＴＦＶＳＧＮ
ＣＤＶＶＩＧＩＶＮＮＴＶＹＤＰＬＱＰＥＬＤＳＦＫＥＥＬＤＫＹＦＫＮＨＴＳＰＤＶＤ
ＬＧＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ
ＹＥＱＹＩＫＷＰＷＹＩＷＬＧＦＩＡＧＬＩＡＩＶＭＶＴＩＭＬＣＣＭＴＳＣＣＳＣＬＫ
ＧＣＣＳＣＧＳＣＣＫＦＤＥＤＤＳＥＰＶＬＫＧＶＫＬＨＹＴ

【０１０２】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＳ２サブユニットに対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＳ２サブユニットを含む。Ｓ２サブユニットは、配列番号１または配列番号２のＳ２サブユニットのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。Ｓ２サブユニットは、配列番号１または配列番号２のＳ２サブユニットのアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。

【０１０３】

実施形態では、Ｓ２サブユニットは、表１Ｆに示す改変の任意の組み合わせを含み得る。

【表７－１】

表１Ｆ

Ｓ２（配列番号１２０）に対する改変 ＊配列番号１のアミノ酸６８６～１２７３及び配列番号２のアミノ酸６７３～１２６０			
配列番号１内の位置	配列番号２内の位置	配列番号１２０内の位置	可能性のある改変
６８９～６９８	６７６～６８５	４～１３	・　約１個までの、約２個までの、約３個までの、約４個までの、約５個までの、約６個までの、約７個までの、約８個までの、約９個までの、または約１０個までのアミノ酸の欠失
７０１	６８８	１６	・　β分枝アミノ酸への変異 ・　バリンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　トレオニンへの変異
７１５～７２４	７０２～７１１	３０～３９	・　約１個までの、約２個までの、約３個までの、約４個までの、約５個までの、約６個までの、約７個までの、約８個までの、約９個までの、または約１０個までのアミノ酸の欠失
７１６	７０３	３１	・　β分枝アミノ酸への変異 ・　バリンへの変異 ・　イソロイシンへの変異
７８８～８０６	７７５～７９３	１０３～１２１	・　約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約６個まで、約７個まで、約８個まで、約９個まで、約１０個まで、約１１個まで、約１２個まで、約１３個まで、約１４個まで、約１５個まで、約１６個まで、約１７個まで、約１８個まで、または約１９個までのアミノ酸の欠失
８１９～８２８	８０６～８１５	１３４～１４３	・　約１個までの、約２個までの、約３個までの、約４個までの、約５個までの、約６個までの、約７個までの、約８個までの、約９個までの、または約１０個までのアミノ酸の欠失
８５９	８４６	１７４	・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異
８８８	８７５	２０３	・　ロイシンへの変異 ・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異

【表７－２】

Ｓ２（配列番号１２０）に対する改変 ＊配列番号１のアミノ酸６８６～１２７３及び配列番号２のアミノ酸６７３～１２６０			
配列番号１内の位置	配列番号２内の位置	配列番号１２０内の位置	可能性のある改変
９５０	９３７	２６５	・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異
９８２	９６９	２９７	・　アラニンへの変異 ・　グリシンへの変異 ・　トレオニンへの変異
９８６	９７３	３０１	・　プロリンへの変異 ・　グリシンへの変異
９８７	９７４	３０２	・　プロリンへの変異 ・　グリシンへの変異
１０２７	１０１４	３４２	・　イソロイシンへの変異 ・　バリンへの変異 ・　セリンへの変異
１０７１	１０５８	３８６	・　ヒスチジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　リジンへの変異
１１１８	１１０５	４３３	・　ヒスチジンへの変異 ・　リジンへの変異 ・　アルギニンへの変異 ・　アスパラギンへの変異 ・　グルタミンへの変異
１１７６	１１６３	４９１	・　フェニルアラニンへの変異 ・　チロシンへの変異 ・　トリプトファンへの変異
１２１４～１２３７	１２０１～１２２４	１～２４	・　膜貫通ドメイン（ＴＭ）の１個以上のアミノ酸の欠失
１２３８～１２７３	１２２５～１２６０	１～３６	・　細胞質ドメイン（ＣＴ）の１個以上のアミノ酸の欠失

【０１０４】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸６７６～６８５内の１つ以上の欠失に相当する欠失を含む。実施形態では、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸６７６～６８５のうちの１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個のアミノ酸が欠失している。実施形態では、アミノ酸６７６～６８５内のアミノ酸の欠失は、連続しており、例えば、アミノ酸６７６と６７７が欠失しているか、またはアミノ酸６８０と６８１が欠失している。実施形態では、アミノ酸６７６～６８５内のアミノ酸の欠失は、非連続であり、例えば、アミノ酸６７６と６８０が欠失しているか、またはアミノ酸６７７と６８

２が欠失している。実施形態では、アミノ酸６７６～６８５内の１つ以上の欠失に対応する欠失を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号６２及び配列番号６３からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。

【０１０５】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸７０２～７１１内の１つ以上の欠失に相当する欠失を含む。実施形態では、天然のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸７０２～７１１のうちの１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個のアミノ酸が欠失している。実施形態では、アミノ酸７０２～７１１内のアミノ酸の１個以上の欠失は、連続しており、例えば、アミノ酸７０２と７０３が欠失しているか、またはアミノ酸７０８と７０９が欠失している。実施形態では、アミノ酸７０２～７１１内のアミノ酸の欠失は、非連続であり、例えば、アミノ酸７０２と７０４が欠失しているか、またはアミノ酸７０７と７１０が欠失している。実施形態では、アミノ酸７０２～７１１内の１つ以上の欠失に対応する欠失を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号６４及び配列番号６５からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。

【０１０６】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸７７５～７９３内の１つ以上の欠失に相当する欠失を含む。実施形態では、天然のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸７７５～７９３のうちの約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、または１９個までのアミノ酸が欠失している。実施形態では、アミノ酸７７５～７９３内のアミノ酸の１個以上の欠失は、連続しており、例えば、アミノ酸７７６と７７７が欠失しているか、またはアミノ酸７８０と７８１が欠失している。実施形態では、アミノ酸７７５～７９３内のアミノ酸の欠失は、非連続であり、例えば、アミノ酸７７５と７９０が欠失しているか、またはアミノ酸７７７と７８１が欠失している。

【０１０７】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸８０６～８１５に対応する融合ペプチド（配列番号１０４）の欠失を含む。実施形態では、ＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）の融合ペプチドの１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個のアミノ酸が欠失している。実施形態では、融合ペプチド内のアミノ酸の欠失は、連続しており、例えば、アミノ酸８０６と８０７が欠失しているか、またはアミノ酸８０９と８１０が欠失している。実施形態では、融合ペプチド内のアミノ酸の欠失は、非連続であり、例えば、アミノ酸８０６と８０８が欠失しているか、またはアミノ酸８１０と８１３が欠失している。実施形態では、融合ペプチドの１個以上のアミノ酸に対応する欠失を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号６６、７７、及び１０５～１０８から選択されるアミノ酸配列を有する。

【０１０８】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のＬｙｓ－９７３の変異を含む。実施形態では、Ｌｙｓ－９７３は、任意の天然アミノ酸に変異している。実施形態では、Ｌｙｓ－９７３は、プロリンに変異している。実施形態では、Ｌｙｓ－９７３は、グリシンに変異している。実施形態では、アミノ酸９７３に変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号８４～８９、１０５～１０６、及び１０９～１１０からなる群から選択される。

【０１０９】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のＶａｌ－９７４の変異を含む。実施形態では、Ｖａｌ－９７４は、任意の天然アミノ酸に変異している。実施形態では、Ｖａｌ－９７４は、プロリンに変異している。実施形態では、Ｖａｌ－９７４は、グリシンに変異している。実施形態では、アミノ酸９７４に変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号８４～８９、１０５～１０

６、及び１０９～１１０からなる群から選択される。

【０１１０】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のＬｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異を含む。実施形態では、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４は、任意の天然アミノ酸に変異している。実施形態では、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４は、プロリンに変異している。実施形態では、アミノ酸９７３と９７４に変異を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号８４～８９、１０５～１０６、及び１０９～１１０から選択される。

Ｓ２サブユニットＨＲ１ドメインに対する改変

【０１１１】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸９１２～９８４または配列番号２のアミノ酸８８９～９７１に対応する配列番号１１９のアミノ酸配列を有するＨＲ１ドメインに対する１つ以上の改変を含む。

【０１１２】

ＨＲ１ドメインのアミノ酸配列（配列番号１１９）を以下に示す。

ＭＡＹＲＦＮＧＩＧＶＴＱＮＶＬＹＥＮＱＫＬＩＡＮＱＦＮＳＡＩＧＫＩＱＤＳＬＳＳＴＡＳＡＬＧＫＬＱＤＶＶＮＱＮＡＱＡＬＮＴＬＶＫＱＬＳＳＮＦＧＡＩＳＳＶＬＮＤＩＬＳＲＬ

【０１１３】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＨＲ１ドメインに対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＨＲ１ドメインを含む。ＨＲ１ドメインは、配列番号１または配列番号２のＨＲ１ドメインのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＨＲ１ドメインは、配列番号１または配列番号２のＨＲ１ドメインのアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。

【０１１４】

実施形態では、ＨＲ１ドメインは、表１Ｇに示す改変の任意の組み合わせを含み得る。

【表８】

表１Ｇ

ＨＲ１（配列番号１１９）に対する改変 ＊配列番号１のアミノ酸９１２～９８４及び配列番号２のアミノ酸８８９～９７１			
配列番号１内の位置	配列番号２内の位置	配列番号１１９内の位置	可能性のある改変
９８２	９６９	８１	・　アラニンへの変異 ・　グリシンへの変異 ・　トレオニンへの変異

【０１１５】

Ｓ２サブユニットＨＲ２ドメインに対する改変

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸１１６３～１２１３または配列番号２のアミノ酸１１５０～１２００に対応する配列番号１２５のアミノ酸配列を有するＨＲ２ドメインに対する１つ以上の改変を含む。

【０１１６】

ＨＲ２ドメインのアミノ酸配列（配列番号１２５）を以下に示す。

ＤＶＤＬＧＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫＹＥＱＹＩＫＷＰ

【０１１７】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＨＲ２ドメインに対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＨＲ２ドメインを含む。ＨＲ２ドメインは、配列番号１または配列番号２のＨＲ２ドメインのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＨＲ２ドメインは、配列番号１または配列番号２のＨＲ２ドメインのアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。

【０１１８】

ＴＭドメインに対する改変

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸１２１４～１２３７または配列番号２のアミノ酸１２０１～１２２４に対応する配列番号１２３のアミノ酸配列を有するＴＭドメインに対する１つ以上の改変を含む。

【０１１９】

ＴＭドメインのアミノ酸配列（配列番号１２３）を以下に示す。

ＷＹＩＷＬＧＦＩＡＧＬＩＡＩＶＭＶＴＩＭＬＣＣＭ

【０１２０】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＴＭドメインに対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＴＭドメインを含む。ＴＭドメインは、配列番号１または配列番号２のＴＭドメインのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＴＭドメインは、配列番号１または配列番号２のＴＭドメインのアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。

【０１２１】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、全ＴＭドメインを欠いている。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＴＭドメインを含む。

【０１２２】

ＣＴに対する改変

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸１２３８～１２７３または配列番号２のアミノ酸１２２５～１２６０に対応する配列番号１２４のアミノ酸配列を有するＣＴに対する１つ以上の改変を含む。

【０１２３】

ＣＴのアミノ酸配列（配列番号１２４）を以下に示す。
ＴＳＣＣＳＣＬＫＧＣＣＳＣＧＳＣＣＫＦＤＥＤＤＳＥＰＶＬＫＧＶＫＬＨＹＴ
【０１２４】
実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１または配列番号２のＣＴに対して、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するＣＴを含む。ＣＴは、配列番号１または配列番号２のＣＴのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個、または約３０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＣＴは、配列番号１または配列番号２のＣＴのアミノ酸配列と比較して、約１～約５個のアミノ酸、約３～約１０個のアミノ酸、約５～１０個のアミノ酸、約８～１２個のアミノ酸、約１０～１５個のアミノ酸、約１２～１７個のアミノ酸、約１５～２０個のアミノ酸、約１８～２３個のアミノ酸、約２０～２５個のアミノ酸、約２２～約２７個のアミノ酸、または約２５～３０個のアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。
【０１２５】
実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＣＴを欠いている。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＣＴを含む。
【０１２６】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＴＭとＣＴを含む。実施形態では、ＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドは、膜貫通及び細胞質尾部（ＴＭＣＴ）（アミノ酸１２０１～１２６０に対応）からの１個以上のアミノ酸の欠失を含む。ＴＭＣＴのアミノ酸配列は、配列番号３９で表される。実施形態では、ＴＭＣＴの１個以上の残基の欠失を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、増強されたタンパク質発現を有する。実施形態では、ＴＭＣＴからの１つ以上の欠失を有するＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドは、配列番号４０、４１、４２、５２、５４、５９、６１、８８、及び８９からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。実施形態では、ＴＭ－ＣＤからの１つ以上の欠失を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号３９、４３、５３、及び６０からなる群から選択される単離された核酸配列によってコードされる。
例示的な天然に存在しないＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはナノ粒子
【０１２７】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５６及び５７の欠失を含む。
【０１２８】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸１３１と１３２の欠失を含む。
【０１２９】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５６と１３１の欠失を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５７と１３１の欠失を含む。
【０１３０】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５６、５７、及び１３１の欠失を含む。
【０１３１】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５６と１３２の欠失を含む。
【０１３２】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５７と１３２の欠失を含む。
【０１３３】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５６、５７、及び１３２の欠失を含む。

【０１３４】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）のアミノ酸５６、５７、１３１、及び１３２の欠失を含む。

【０１３５】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの融合前立体配座を安定化する変異を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、融合前立体配座を安定化するプロリン置換またはグリシン置換を含む。この戦略は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる以下の文献に記載されているように融合前安定化されたＭＥＲＳ－ＣｏＶ　Ｓタンパク質を開発するために利用された：Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ．２０１７　Ａｕｇ　２９；１１４（３５）：Ｅ７３４８－Ｅ７３５７；Ｓｃｉ　Ｒｅｐ．２０１８　Ｏｃｔ　２４；８（１）：１５７０１；米国特許出願公開第２０２０／００６１１８５号；ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０５８３７０。

【０１３６】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異、及び不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する、プロリンへのＬｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異及び不活性化されたフューリン切断部位を含む。Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異と、不活性化されたフューリン切断部位を含む例示的なＣｏＶ　Ｓポリペプチドを図３に示す。実施形態では、プロリンへのＬｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異と、不活性化されたフューリン切断部位を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号８６または８７のアミノ酸配列と配列番号９６の核酸配列を有する。

【０１３７】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異と、不活性化されたフューリン切断部位、及び融合ペプチドの１個以上のアミノ酸の欠失を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、プロリンへのＬｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異、ＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、及び融合ペプチドの１個以上のアミノ酸の欠失を含む。実施形態では、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４の変異と、不活性化されたフューリン切断部位、及び融合ペプチドの１個以上のアミノ酸の欠失を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１０５または１０６を有する。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、Ｌｅｕ－５のフェニルアラニンへの変異、Ｔｈｒ－７のアスパラギンへの変異、Ｐｒｏ－１３のセリンへの変異、Ａｓｐ－１２５のチロシンへの変異、Ａｒｇ－１７７のセリンへの変異、Ｌｙｓ－４０４のトレオニンへの変異、Ｇｌｕ－４７１のリジンへの変異、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ｈｉｓ－６４２のチロシンへの変異、Ｔｈｒ－１０１４のイソロイシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。

【０１３８】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、Ｔｒｐ－１３９のシステインへの変異、Ｌｅｕ－４３９のアルギニンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号１）と比較して、Ｔｒｐ－１５２のシステインへの変異、Ｌｅｕ－４５２のアルギニンへの変異、Ｓｅｒ－１３のイソロイシンへの変異、Ｌｙｓ－９８６とＶａｌ－９８７のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配

列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。
【０１３９】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、Ｌｙｓ－４０４のトレオニンまたはアスパラギンへの変異、Ｇｌｕ－４７１のリジンへの変異、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ｌｅｕ－５のフェニルアラニンへの変異、Ａｓｐ－６７のアラニンへの変異、Ａｓｐ－２０２のグリシンへの変異、アミノ酸２２９～２３１のうちの１個以上の欠失、Ａｒｇ－２３３のイソロイシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。
【０１４０】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１１２のアミノ酸配列を含む。
【０１４１】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列を含む。
【０１４２】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、アミノ酸５６、５７、及び１３１の欠失、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｌａ－５５７のアスパラギン酸への変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｐｒｏ－６６８のヒスチジンへの変異、Ｔｈｒ－７０３のイソロイシンへの変異、Ｓｅｒ－９６９のアラニンへの変異、Ａｓｐ－１１０５のヒスチジンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）、ＧＳＡＳ（配列番号９６）、またはＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、アミノ酸５６、５７、及び１３１の欠失、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｌａ－５５７のアスパラギン酸への変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｐｒｏ－６６８のヒスチジンへの変異、Ｔｈｒ－７０３のイソロイシンへの変異、Ｓｅｒ－９６９のアラニンへの変異、Ａｓｐ－１１０５のヒスチジンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列を含む。実施形態では、アミノ酸５６、５７、及び１３１の欠失、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｌａ－５５７のアスパラギン酸への変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｐｒｏ－６６８のヒスチジンへの変異、Ｔｈｒ－７０３のイソロイシンへの変異、Ｓｅｒ－９６９のアラニンへの変異、Ａｓｐ－１１０５のヒスチジンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）またはＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１３６のアミノ酸配列を含む。実施形態では、アミノ酸５６

、５７、及び１３１の欠失、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｌａ－５５７のアスパラギン酸への変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｐｒｏ－６６８のヒスチジンへの変異、Ｔｈｒ－７０３のイソロイシンへの変異、Ｓｅｒ－９６９のアラニンへの変異、Ａｓｐ－１１０５のヒスチジンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１３７または配列番号１３８を含む。いくつかの実施形態では、配列番号１１４または配列番号１３６のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１３５の核酸配列を有する核酸によってコードされる。いくつかの実施形態では、配列番号１３７または配列番号１３８のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１３９の配列を有する核酸によってコードされる。

【０１４３】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、アミノ酸５６、５７、及び１３２の欠失、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｌａ－５５７のアスパラギン酸への変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｐｒｏ－６６８のヒスチジンへの変異、Ｔｈｒ－７０３のイソロイシンへの変異、Ｓｅｒ－９６９のアラニンへの変異、Ａｓｐ－１１０５のヒスチジンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、アミノ酸５６、５７、及び１３２の欠失、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｌａ－５５７のアスパラギン酸への変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｐｒｏ－６６８のヒスチジンへの変異、Ｔｈｒ－７０３のイソロイシンへの変異、Ｓｅｒ－９６９のアラニンへの変異、Ａｓｐ－１１０５のヒスチジンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列を含む。

【０１４４】

実施形態では、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号２）と比較して、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｓｐ－６７のアラニンへの変異、Ｌｅｕ－２２９のヒスチジンへの変異、Ａｓｐ－２０２からグリシンへの変異、Ｌｙｓ－４０４のアスパラギンへの変異、Ｇｌｕ－４７１のリジンへの変異、Ａｌａ－６８８のバリンへの変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を含む。実施形態では、Ａｓｎ－４８８のチロシンへの変異、Ａｓｐ－６７のアラニンへの変異、Ｌｅｕ－２２９のヒスチジンへの変異、Ａｓｐ－２０２からグリシンへの変異、Ｌｙｓ－４０４のアスパラギンへの変異、Ｇｌｕ－４７１のリジンへの変異、Ａｌａ－６８８のバリンへの変異、Ａｓｐ－６０１のグリシンへの変異、Ｌｙｓ－９７３とＶａｌ－９７４のプロリンへの変異、及びＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＳＡＳ（配列番号９６）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１１５のアミノ酸配列を含む。

【０１４５】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、アミノ酸５６の欠失、アミノ酸５７の欠失、アミノ酸１３１の欠失、Ｎ４８８Ｙ、Ａ５５７Ｄ、Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｈ、Ｔ７０３Ｉ、Ｓ９６９Ａ、及びＤ１１０５Ｈから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位は、ＧＧのアミノ酸配列を有する。

【０１４６】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化された

フューリン切断部位、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｌ２２９Ｈ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位は、ＧＧのアミノ酸配列を有する。

【０１４７】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０１４８】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を有し、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１４４のアミノ酸配列を含む。実施形態では、配列番号１４４のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１４５の配列を有する核酸によってコードされる。

【０１４９】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、ＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、ＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を有し、アミノ酸が配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１４４のアミノ酸配列を含む。実施形態では、配列番号１４４のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１４５の配列を有する核酸によってコードされる。

【０１５０】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｌ５Ｆ、Ｔ７Ｎ、Ｐ１３Ｓ、Ｄ１２５Ｙ、Ｒ１７７Ｓ、Ｋ４０４Ｔ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、Ｈ６４２Ｙ、Ｔ１０１４Ｉ、及びＶ１１６３Ｆから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｌ５Ｆ、Ｔ７Ｎ、Ｐ１３Ｓ、Ｄ１２５Ｙ、Ｒ１７７Ｓ、Ｋ４０４Ｔ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、Ｈ６４２Ｙ、Ｔ１０１４Ｉ、及びＶ１１６３Ｆから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１５１のアミノ酸配列を有する。実施形態では、配列番号１５１のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１５０の配列を有する核

酸によってコードされる。

【０１５１】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｌ２２９Ｈ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０１５２】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｌ２２９Ｈ、Ｄ６０１Ｇ、Ａ６８８Ｖ、及びアミノ酸２２９～２３１の欠失から選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する。実施形態では、不活性化されたフューリン切断部位は、ＧＧのアミノ酸配列を有する。

【０１５３】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、及びＮ４８８Ｋから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、及びＮ４８８Ｋから選択される１つ以上の改変を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、及びＮ４８８Ｋから選択される１つ以上の改変を有し、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　ＳポリペプチドのＲＢＤである。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、及びＮ４８８Ｋから選択される１つ以上の改変を有し、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　ＳポリペプチドのＲＢＤである。

【０１５４】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、ＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、Ｄ６０１Ｇ、Ｅ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、及びＮ４８８Ｙから選択される１つ以上の改変を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、ＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、及びＤ６０１Ｇ変異から選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、ＧＧのアミノ酸配列を有する不活性化されたフューリン切断部位、及びＤ６０１Ｇ変異から選択される改変を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１３３のアミノ酸配列を有する。

【０１５５】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＧである）、Ｋ４０４Ｎ，Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｋ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｌ２２９Ｈ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）またはＧＧである）、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｋ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｌ２２９Ｈ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含むＣｏＶ　Ｓポリ

ペプチドは、配列番号１３２または配列番号１４１のアミノ酸配列を有する。実施形態では、配列番号１３２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１３１の配列を有する核酸によってコードされる。実施形態では、配列番号１３２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１４２の配列を有する核酸によってコードされる。

【０１５６】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｗ１３９Ｃ、及びＬ４３９Ｒから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｗ１３９Ｃ、及びＬ４３９Ｒの改変を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１１７または配列番号５のアミノ酸配列を有するシグナルペプチドを伴って発現する。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｄ６０１Ｇ、Ｗ１３９Ｃ、及びＬ４３９Ｒから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｄ６０１Ｇ、Ｗ１３９Ｃ、及びＬ４３９Ｒの改変を含み、配列番号１１７または配列番号５のアミノ酸配列を有するシグナルペプチドを伴って発現する。

【０１５７】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位、Ｄ６０１Ｇ、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｒ２３３Ｉ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２の配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０１５８】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｗ１３９Ｃ、Ｓ４８１Ｐ、Ｄ６０１Ｇ、及びＬ４３９Ｒから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｗ１３９Ｃ、Ｄ６０１Ｇ、及びＬ４３９Ｒから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドにたいしてナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｗ１３９Ｃ、Ｓ４８１Ｐ、及びＤ６０１Ｇから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位はＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｗ１３９Ｃ、Ｓ４８１Ｐ、Ｄ６０１Ｇ、及びＬ４３９Ｒから選択される１つ以上の改変を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１５３のアミノ酸配列を有する。実施形態では、配列番号１５３のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１１７のアミノ酸配列を有するシグナルペプチドを含む。実施形態では、配列番号１５３のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を有するシグナルペプチドを含む。

【０１５９】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配

列番号７）である）、Ｔ８２Ｉ、Ｄ２４０Ｇ、Ｅ４７１Ｋ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｔ８２Ｉ、Ｄ２４０Ｇ、Ｅ４７１Ｋ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１５６のアミノ酸配列を有する。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位はＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｔ８２Ｉ、Ｄ２４０Ｇ、Ｅ４７１Ｋ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１５４または配列番号５のアミノ酸配列を有するシグナルペプチドを含む。

【０１６０】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｔ８２Ｉ、Ｄ２４０Ｇ、Ｓ４６４Ｎ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｔ８２Ｉ、Ｄ２４０Ｇ、Ｓ４６４Ｎ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１５８のアミノ酸配列を有する。実施形態では、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｔ８２Ｉ、Ｄ２４０Ｇ、Ｓ４６４Ｎ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含み、アミノ酸が配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１５４のアミノ酸配列を有する。

【０１６１】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、アミノ酸５６の欠失、アミノ酸５７の欠失、アミノ酸１３１の欠失、Ｎ４８８Ｙ変異、Ａ５５７Ｄ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｐ６６８Ｈ変異、Ｔ７０３Ｉ変異、Ｓ９６９Ａ変異、及びＤ１１０５Ｈ変異から選択される１つ以上の改変を含み、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、アミノ酸５６の欠失、アミノ酸５７の欠失、アミノ酸１３２の欠失、Ｎ４８８Ｙ変異、Ａ５５７Ｄ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｐ６６８Ｈ変異、Ｔ７０３Ｉ変異、Ｓ９６９Ａ変異、及びＤ１１０５Ｈ変異から選択される１つ以上の改変を含み、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０１６２】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位はＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｄ６７Ａ変異、Ｌ２２９Ｈ変異、Ｒ２３３Ｉ変異、Ａ６８８Ｖ変異、Ｎ４８８Ｙ変異、Ｋ４０４Ｎ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、及びＤ６０１Ｇ変異から選択される１つ以上の改変を含み、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列を有する

野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０１６３】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｌ５Ｆ変異、Ｔ７Ｎ変異、Ｐ１３Ｓ変異、Ｄ１２５Ｙ変異、Ｒ１７７Ｓ変異、Ｋ４０４Ｔ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｎ４８８Ｙ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｈ６４２Ｙ変異、Ｔ１０１４Ｉ変異、及びＴ１１６３Ｆ変異から選択される１つ以上の改変を含み、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０１６４】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９８６Ｐ、Ｖ９８７Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｓ１３Ｉ変異、Ｗ１５２Ｃ変異、及びＬ４５２Ｒ変異から選択される１つ以上の改変を含み、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓに対してナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｋ９８６Ｐ、Ｖ９８７Ｐ、不活性化されたフューリン切断部位（任意選択で、不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）である）、Ｓ１３Ｉ変異、Ｗ１５２Ｃ変異、及びＬ４５２Ｒ変異から選択される１つ以上の改変を含み、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは配列番号１のアミノ酸配列を有する野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓに対してナンバリングされ、Ｎ末端シグナルペプチドを欠く。

【０１６５】

実施形態では、ＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドはポリペプチドリンカーを含む。実施形態では、ポリペプチドリンカーはグリシン及びセリンを含む。実施形態では、リンカーは、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、または約１００％のグリシンを有する。

【０１６６】

実施形態では、ポリペプチドリンカーは、$(SGGG)_n$（配列番号９１）の繰り返しを有し、ｎは１～５０の整数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、または５０）である。実施形態では、ポリペプチドリンカーは、配列番号９０に対応するアミノ酸配列を有する。

【０１６７】

実施形態では、ポリペプチドリンカーは、$(GGGGS)_n$（配列番号９３の繰り返しを有し、ｎは１～５０の整数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、または５０）である。

【０１６８】

実施形態では、ポリペプチドリンカーは、$(GGGS)_n$（配列番号９２の繰り返しを有し、ｎは１～５０の整数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、または５０）である。

【０１６９】

いくつかの態様では、ポリペプチドリンカーはポリ－（Ｇｌｙ）ｎリンカーであり、ｎは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、１６、１７、１８、１９、または

２０である。他の実施形態では、リンカーは、ジペプチド、トリペプチド、及びクアドリペプチドからなる群から選択される。実施形態では、リンカーは、アラニン－セリン（ＡＳ）、ロイシン－グルタミン酸（ＬＥ）、及びセリン－アルギニン（ＳＲ）からなる群から選択されるジペプチドである。

【０１７０】

実施形態では、ポリペプチドリンカーは、天然に存在するＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたは本明細書に開示されるＣｏＶ　Ｓポリペプチドの１～１００個の連続するアミノ酸を含む。実施形態では、ポリペプチドリンカーは、配列番号９４に対応するアミノ酸配列を有する。

【０１７１】

実施形態では、ＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドはフォルドンを含む。実施形態では、ＴＭＣＴがフォルドンに置き換えられる。実施形態では、フォルドンによりＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドがトリマー化する。実施形態では、フォルドンは、当該技術分野において公知のアミノ酸配列である。実施形態では、フォルドンは、配列番号６８のアミノ酸配列を有する。実施形態では、フォルドンは、Ｔ４フィブリチン三量化モチーフである。実施形態では、Ｔ４フィブリチン三量化ドメインは、配列番号１０３のアミノ酸配列を有する。実施形態では、ポリペプチドリンカーによってＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドからアミノ酸配列においてフォルドンが分けられる。ポリペプチドリンカーの非限定的な例は、本開示全体を通して見出される。

【０１７２】

実施形態では、本開示は、コロナウイルスＳタンパク質の断片を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチド及びナノ粒子、ならびにそれらを含むワクチンを提供する。実施形態では、コロナウイルスＳタンパク質の断片は、約１０～約１５００アミノ酸の長さ（例えば、約１０、約２０、約３０、約４０、約５０、約６０、約７０、約８０、約９０、約１００、約１５０、約２００、約２５０、約３００、約３５０、約４００、約４５０、約５００、約５５０、約６００、約６５０、約７００、約７５０、約８００、約８５０、約９００、約９５０、約１０００、約１０５０、約１１００、約１１５０、約１２００、約１２５０、約１３００、約１３５０、約１４００、約１４５０、または約１５００アミノ酸の長さ）である。実施形態では、コロナウイルスＳタンパク質の断片は、受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）、サブドメイン１、サブドメイン２、上らせん、融合ペプチド、結合領域、アミノ酸繰り返し１、中央らせん、アミノ酸繰り返し２、ＮＴＤ、及びＴＭＣＴからなる群から選択される。

【０１７３】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＲＢＤ及びサブドメイン１を含む。実施形態では、ＲＢＤ及びサブドメイン１を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸３１９～５９１である。

【０１７４】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、コロナウイルスＳタンパク質の断片を含み、コロナウイルスＳタンパク質の断片はＲＢＤである。ＲＢＤの非限定的な例としては、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＲＢＤ（アミノ酸配列＝配列番号６９）、ＳＡＲＳのＲＢＤ（アミノ酸配列＝配列番号７０）、及びＭＥＲＳのＲＢＤ（アミノ酸配列＝配列番号７１）が挙げられる。

【０１７５】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ポリペプチドリンカーにより接続された２つ以上のＲＢＤを含む。実施形態では、ポリペプチドリンカーは、配列番号９０または配列番号９４のアミノ酸配列を有する。

【０１７６】

いくつかの実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０のＲＢＤを含む。

【０１７７】
いくつかの実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ポリペプチドリンカーにより接続された２つ以上のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤを含む。実施形態では、２つ以上のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤを含む抗原は、配列番号７２～７５のうちの１つに対応するアミノ酸配列を有する。
【０１７８】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ及びＳＡＲＳ　ＲＢＤを含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ及びＳＡＲＳ　ＲＢＤを含み、それぞれのＲＢＤは、ポリペプチドリンカーによって分けられている。実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ及びＳＡＲＳ　ＲＢＤを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号７６～７９からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。
【０１７９】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ及びＭＥＲＳ　ＲＢＤを含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ及びＭＥＲＳ　ＲＢＤを含み、それぞれのＲＢＤは、ポリペプチドリンカーによって分けられている。
【０１８０】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ　ＲＢＤ及びＭＥＲＳ　ＲＢＤを含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ　ＲＢＤ及びＭＥＲＳ　ＲＢＤを含み、それぞれのＲＢＤは、ポリペプチドリンカーによって分けられている。
【０１８１】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ、ＳＡＲＳ　ＲＢＤ、及びＭＥＲＳ　ＲＢＤを含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ、ＳＡＲＳ　ＲＢＤ、及びＭＥＲＳ　ＲＢＤを含み、それぞれのＲＢＤは、ポリペプチドリンカーによって分けられている。実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＲＢＤ、ＳＡＲＳ　ＲＢＤ、及びＳＡＲＳ　ＲＢＤを含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号８０～８３からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。
【０１８２】
実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｎ末端シグナルペプチドを伴って発現する。実施形態では、Ｎ末端シグナルペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列（ＭＦＶＦＬＶＬＬＰＬＶＳＳ）を有する。実施形態では、Ｎ末端シグナルペプチドは、配列番号１１７のアミノ酸配列（ＭＦＶＦＬＶＬＬＰＬＶＳＩ）を有する。実施形態では、Ｎ末端シグナルペプチドは、配列番号１５４のアミノ酸配列（ＭＦＶＦＦＶＬＬＰＬＶＳＳ）を有する。実施形態では、シグナルペプチドは、ＣｏＶＳタンパク質の発現を可能にする任意のシグナルペプチドで置き換えられ得る。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓタンパク質シグナルペプチドアミノ酸の１つ以上は、欠失または変異していてもよい。開始メチオニン残基は、発現を開始するために維持される。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号３５、配列番号３７、配列番号９５、配列番号４３、配列番号４７、配列番号５０、配列番号５３、配列番号５５、配列番号５７、配列番号９６、配列番号６０、配列番号１３１、配列番号１３５、配列番号１４２、配列番号１４５、配列番号１４８、及び配列番号１５０からなる群から選択される核酸配列によってコードされる。実施形態では、ＣｏＶ　ＳポリペプチドのＮ末端シグナルペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）シグナルポリペプチド（配列番号５）と比較してＳｅｒ－１３で変異を含む。実施形態では、Ｓｅｒ－１３は、任意の天然アミノ酸に変異している。実施形態では、Ｓｅｒ－１３は、アラニン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、トレオニンまたはバリンに変異している。実施形態では、Ｓｅｒ－１３はイソロイシンに変異している。
【０１８３】
宿主細胞でのＣｏＶ　Ｓタンパク質の発現後に、Ｎ末端シグナルペプチドを切断して、成熟ＣｏＶタンパク質配列（配列番号２、４、３８、４１、４４、４８、５１、５４、５

８、６１、６３、６５、６７、７３、７５、７８、７９、８２、８３、８５、８７、８９、１０６、１１０、１３２、１３３、１１４、１３８、１４１、１４４、１４７、１５１、１５３、１５６、及び１５８）を提供する。実施形態では、シグナルペプチドは、宿主細胞プロテアーゼによって切断される。態様では、全長タンパク質は宿主細胞から単離され得、その後にシグナルペプチドが切断される。

【０１８４】

発現及び精製の間に、配列番号１、３、３６、４０、４２、４６、４９、５２、５６、５９、６２、６４、６６、７２、７４、７６、７７、８０、８１、８４、８６、８７、１０５、１０７、８８、１０９、１３０、１３４、１３６、１３７、１４０、１４３、１４６、１４９、１５２、１５５、１５７、１５９～１６３に対応するアミノ酸配列を有するＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドからのシグナルペプチドの切断後、配列番号２、４、３８、４１、４４、４８、５１、５４、５８、６１、６３、６５、６７、７３、７５、７８、７９、８２、８３、８５、１０６、１０８、８９、及び１１０、１１２－１１５、１３２、１３３、１１４、１３８、１４１、１４４、１４７、１５１、１５３、１５６、１５８、１６４～１６８からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する成熟ポリペプチドが得られ、ＣｏＶ　Ｓナノ粒子ワクチンまたはＣｏＶ　Ｓナノ粒子を製造するのに使用される。

【０１８５】

有利なことに、開示されるＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のＣｏＶスパイク（Ｓ）タンパク質に対して増強されたタンパク質発現及び安定性を有し得る。

【０１８６】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、天然のコロナウイルスＳタンパク質（配列番号２）からのさらなる改変を含む。実施形態では、本明細書に記載のコロナウイルスＳタンパク質は、天然のコロナウイルスＳタンパク質に対して少なくとも８０％、または少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９７％、または少なくとも９９％の同一性を示す。当業者は、組換えコロナウイルスＳタンパク質の天然のタンパク質または本明細書に記載の任意のＣｏＶポリペプチドに対する同一性パーセントを計算するために公知の技術を使用する。例えば、同一性パーセントは、オンラインで利用可能なツールＣＬＵＳＴＡＬＷ２または基本局所アラインメント検索ツール（ＢＬＡＳＴ）を使用して計算することができる。ＣＬＵＳＴＡＬＷ２ペアワイズアラインメントのために、以下のデフォルトパラメータを使用することができる：タンパク質重みマトリクス＝Ｇｏｎｎｅｔ；ギャップ開放＝１０；ギャップ拡大＝０．１。

【０１８７】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号８７のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドと少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．５％同一であるか、または１００％同一である。ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号８７のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、約１個まで、約２個まで、約３個まで、約４個まで、約５個まで、約１０個まで、約１５個まで、約２０個まで、約２５個まで、約３０個まで、約３５個まで、約４０個まで、約４５個まで、または５０個までのアミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号８７のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドと比較して、約１～約５アミノ酸、約３～約１０アミノ酸、約５～１０アミノ酸、約８～１２アミノ酸、約１０～１５アミノ酸、約１２～１７アミノ酸、約１５～２０アミノ酸、約１８～２３アミノ酸、約２０～２５アミノ酸、約２２～約２７アミノ酸、約２５～３０アミノ酸、約３０～３５アミノ酸、約３５～４０アミノ酸、約４０～４５アミノ酸、または約４５～５０アミノ酸の欠失、挿入、または変異を有し得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、コロナウイルスＳタンパク質（配列番号８７）と比較して、約１、約２、約３、約４、約５、約６、約７、約８、約９、約１０、約１１、約１２、約１３、約１４、約

１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、約２３、約２４、または約２５の置換を含む。

【０１８８】

実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、配列番号２、４、３８、４１、４４、４８、５１、５４、５８、６１、６３、６５、６７、７３、７５、７８、７９、８２、８３、８５、１０６、１０８、８９、及び１１０、１１２～１１５、１３２、１３３、１１４、１３８、１４１、１４４、１４７、１５１、１５３、１５６、及び１５８、１６４～１６８のいずれか１つから選択されるアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドと、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．５％同一である。

【０１８９】

実施形態では、コロナウイルスＳポリペプチドは、Ｎ末端、Ｃ末端、またはＮ末端とＣ末端の両方で伸長されている。態様では、伸長は、精製または検出などの機能のために有用なタグである。態様では、タグはエピトープを含む。例えば、タグは、ポリグルタメートタグ、ＦＬＡＧタグ、ＨＡタグ、ポリＨｉｓタグ（約５～１０個のヒスチジンを有する）（配列番号１０１）、ヘキサヒスチジンタグ（配列番号１００）、８×Ｈｉｓタグ（８個のヒスチジンを有する）（配列番号１０２）、Ｍｙｃタグ、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼタグ、緑色蛍光タンパク質タグ、マルトース結合タンパク質タグ、チオレドキシンタグ、またはＦｃタグであってよい。他の態様では、この伸長は、発現を増強するためにタンパク質に融合されたＮ末端シグナルペプチドであってもよい。こうしたシグナルペプチドは細胞内での発現中に切断されることが多いが、一部のナノ粒子は、シグナルペプチドをインタクトに有する抗原を含み得る。したがって、ナノ粒子が抗原を含む場合には、抗原は伸長を含んでいてよく、したがってナノ粒子に組み込まれる場合には融合タンパク質であり得る。配列に対する同一性を計算するためには、伸長は含まれない。実施形態では、タグは、プロテアーゼ切断部位である。プロテアーゼ切断部位の非限定的な例としては、ＨＲＶ３Ｃプロテアーゼ切断部位、キモトリプシン、トリプシン、エラスターゼ、エンドペプチダーゼ、カスパーゼ－１、カスパーゼ－２、カスパーゼ－３、カスパーゼ－４、カスパーゼ－５、カスパーゼ－６、カスパーゼ－７、カスパーゼ－８、カスパーゼ－９、カスパーゼ－１０、エンテロキナーゼ、第Ｘａ因子、グランザイムＢ、ＴＥＶプロテアーゼ、及びトロンビンが挙げられる。実施形態では、プロテアーゼ切断部位は、ＨＲＶ３Ｃプロテアーゼ切断部位である。実施形態では、プロテアーゼ切断部位は、配列番号９８のアミノ酸配列を含む。

【０１９０】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質は融合タンパク質を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質はＮ末端融合タンパク質を含む。実施形態では、Ｃｏｖ　Ｓ糖タンパク質はＣ末端融合タンパク質を含む。実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質の発現、精製、または検出に有用なタグを包含する。実施形態では、タグは、ポリＨｉｓタグ（約５～１０個のヒスチジンを有する）、Ｍｙｃタグ、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼタグ、緑色蛍光タンパク質タグ、マルトース結合タンパク質タグ、チオレドキシンタグ、Ｓｔｒｅｐタグ、ツインＳｔｒｅｐタグ、またはＦｃタグである。実施形態では、タグは、Ｆｃタグである。実施形態では、Ｆｃタグは、モノマー、ダイマー、またはトリマーである。実施形態では、タグは、ヘキサヒスチジンタグ、例えば６個のヒスチジンを含むポリＨｉｓタグ（配列番号１００）である。実施形態では、タグは、配列番号９９のアミノ酸配列を有するツインＳｔｒｅｐタグである。

【０１９１】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、別のコロナウイルスタンパク質を含む融合タンパク質である。実施形態では、他のコロナウイルスタンパク質は同じコロナウイルスに由来する。実施形態では、他のコロナウイルスタンパク質は別のコロナウイルスに由来する。

【０１９２】

態様では、ＣｏＶ　Ｓタンパク質は切り詰められていてもよい。例えば、Ｎ末端は、約１０個のアミノ酸、約３０個のアミノ酸、約５０個のアミノ酸、約７５個のアミノ酸、約１００個のアミノ酸、または約２００個のアミノ酸で切り詰められていてもよい。Ｃ末端は、Ｎ末端の代わりに、またはそれに加えて、切り詰められていてもよい。例えば、Ｃ末端は、約１０個のアミノ酸、約３０個のアミノ酸、約５０個のアミノ酸、約７５個のアミノ酸、約１００個のアミノ酸、または約２００個のアミノ酸で切り詰められていてもよい。切り詰めを有するタンパク質に対する同一性を計算するために、タンパク質の残りの部分について同一性が測定される。

【０１９３】

ＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドを含む洗剤－コアナノ粒子

実施形態では、本明細書に開示される組成物は、洗剤コアと会合するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む洗剤－コアナノ粒子を含む。

【０１９４】

実施形態では、本開示のナノ粒子は、成熟ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、本開示のナノ粒子は、洗剤コアと会合するＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。洗剤の存在　は、抗原を組織化して提示するコアを形成することにより、ナノ粒子の形成を容易にする。実施形態では、ナノ粒子は、頭部領域が外向き及び疎水性領域に突出し、ＰＳ８０洗剤が糖タンパク質により囲まれた中央コアを形成するマルチオリゴマー糖タンパク質－洗剤（例えばＰＳ８０）ナノ粒子に組み込まれたＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含み得る。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、洗剤コアへのタンパク質の会合を促進するために、本質的に膜貫通ドメインを含むか、または膜貫通ドメインを含むように適合されている。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは頭部ドメインを含む。主にＣｏＶ　Ｓポリペプチドトリマーの膜貫通ドメインは洗剤と会合するが、ポリペプチドの他の部分も相互作用し得る。有利なことに、ナノ粒子は、環境ストレスに対する耐性を向上させ、それにより、洗剤周囲でのタンパク質の複数のコピーの組織化に起因して、増強された安定性及び／または免疫系に対する改善された提示がもたらされる。

【０１９５】

実施形態では、洗剤コアは、非イオン性洗剤コアである。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、非イオン性洗剤コアと会合している。実施形態では、洗剤は、ポリソルベート－２０（ＰＳ２０）、ポリソルベート－４０（ＰＳ４０）、ポリソルベート－６０（ＰＳ６０）、ポリソルベート－６５（ＰＳ６５）、及びポリソルベート－８０（ＰＳ８０）からなる群から選択される。実施形態では、洗剤は、ＰＳ８０である。

【０１９６】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドはトリマーを形成する。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドナノ粒子は、非イオン性洗剤コアを取り囲む複数のポリペプチドトリマーから構成されている。実施形態では、ナノ粒子は、少なくとも約１個のトリマーまたはそれ以上を含む。実施形態では、ナノ粒子は、スパイクタンパク質の少なくとも約５個のトリマー～約３０個のトリマーを含む。実施形態では、それぞれのナノ粒子は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、または１５、２０、２５、または３０個のトリマー（これらの間のすべての値と範囲を含む）を含み得る。本明細書に開示される組成物は、異なる数のトリマーを有するナノ粒子を含んでもよい。例えば、組成物は、トリマーの数が２～９の範囲にあるナノ粒子を含み得、実施形態では、組成物中のナノ粒子は、２～６個のトリマーを含み得る。実施形態では、組成物は、ナノ粒子１個あたり２～６個のトリマー、またはナノ粒子１個あたり２～９個のトリマーを有するナノ粒子の不均一集団を含む。実施形態では、組成物は、実質的に均一なナノ粒子の集団を含み得る。例えば、この集団は、５個のトリマーを有するナノ粒子を約９５％含むことができる。

【０１９７】

本明細書に開示されるナノ粒子は、粒径の範囲にある。実施形態では、本明細書に開示されるナノ粒子は、Ｚ－ａｖｅサイズから粒経において、約２０ｎｍ～約６０ｎｍ、約２０ｎｍ～約５０ｎｍ、約２０ｎｍ～約４５ｎｍ、約２０ｎｍ～約３５ｎｍ、約２０ｎｍ～

約３０ｎｍ、約２５ｎｍ～約３５ｎｍ、または約２５ｎｍ～約４５ｎｍの範囲にある。粒径（Ｚ－ａｖｅ）は、別段の定めがない限り、Ｚｅｔａｓｉｚｅｒ　ＮａｎｏＺＳ（Ｍａｌｖｅｒｎ，ＵＫ）を使用する動的光散乱（ＤＬＳ）により測定する。

【０１９８】

実施形態では、本明細書に開示されるＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子は、野生型ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子と比べて減少した粒径を有する。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは粒径が少なくとも約４０％小さく、例えば粒径が少なくとも約４０％、少なくとも約４５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、または少なくとも約８５％小さい。

【０１９９】

本明細書に開示されるＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子は、野生型ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子よりもサイズ、形状、及び重量が均一である。不均質性の尺度である多分散指数（ＰＤＩ）は、別段の定めがない限り、マルバーンのセッサイザーを使用して動的光散乱によって測定される。実施形態では、本明細書において測定される粒子は、約０．２～約０．４５、例えば、約０．２、約０．２５、約０．２９、約０．３、約０．３５、約０．４０、または約０．４５のＰＤＩを有する。実施形態では、本明細書で測定されるナノ粒子は、野生型ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子のＰＤＩより少なくとも約２５％小さい、例えば、少なくとも約２５％、少なくとも約３０％、少なくとも約３５％、少なくとも約４０％、少なくとも約４５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、または少なくとも約６０％小さい、ＰＤＩを有する。

【０２００】

ＣｏＶ　Ｓポリペプチド及びそれを含むナノ粒子は、野生型ＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはそのナノ粒子と比較して改善された熱安定性を有する。ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの熱安定性は、別段の定めがない限り、示差走査熱量測定（ＤＳＣ）を使用して測定される。遷移エンタルピー（ΔＨｃａｌ）は、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを展開するのに必要なエネルギーである。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、野生型ＣｏＶ　Ｓポリペプチドと比較して増加したΔＨｃａｌを有する。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドのの増加したΔＨｃａｌは、野生型ＣｏＶ　Ｓポリペプチドのの増加したΔＨｃａｌよりも約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約７倍、約８倍、約９倍または約１０倍大きい。

【０２０１】

いくつかのナノ粒子の種類が、本明細書に開示されるワクチン組成物に含まれ得る。態様では、ナノ粒子の種類は異方性ロッドの形態であり、異方性ロッドは、ダイマーであってもモノマーであってもよい。他の態様では、ナノ粒子の種類は、球状オリゴマーである。さらに別の態様ではナノ粒子を、最初の２つの種類の間で中間的な沈降特性を有する中間ナノ粒子として記載することができる。ナノ粒子の種類の形成は、製造プロセス中に洗剤及びタンパク質濃度を制御することによって制御することができる。ナノ粒子の種類は、沈降係数を測定することによって決定され得る。

【０２０２】

（ｉｉ）少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質

実施形態では、本開示の免疫原性組成物は、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質または少なくとも４種のＨＡ糖タンパク質を含む。実施形態では、本開示の免疫原性組成物は、３種または４種のＨＡ糖タンパク質を含む。実施形態では、ＨＡ糖タンパク質のそれぞれは、異なるインフルエンザ株由来である。実施形態では、３種のＨＡ糖タンパク質は、Ａ型インフルエンザ株由来であり、１種のＨＡ糖タンパク質は、Ｂ型インフルエンザ株由来である。実施形態では、２種のＨＡ糖タンパク質は、Ａ型インフルエンザ株由来であり、２種のＨＡ糖タンパク質は、Ｂ型インフルエンザ株由来である。実施形態では、２種のＨＡ糖タンパク質は、Ａ型インフルエンザ株由来であり、１種のＨＡ糖タンパク質は、Ｂ型インフルエンザ株由来である。

【０２０３】

実施形態では、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質のそれぞれは、卵ベースの製造プロセスを使用して別個に単離される。実施形態では、卵ベースの製造プロセスは、（ａ）卵中にインフルエンザウイルスを増殖させることと、（ｂ）インフルエンザウイルスを採取することと、を含む。

【０２０４】

実施形態では、インフルエンザウイルスは生ウイルスである。実施形態では、インフルエンザウイルスは、弱化または「弱毒化」されたウイルスである。実施形態では、インフルエンザウイルスは卵内での増殖に最適化されている。実施形態では、最適化されたインフルエンザウイルスは、ヘマグルチニンの多塩基切断部位を欠く。以下の論文では、最適化されたインフルエンザウイルス（「候補ワクチンウイルス」と称される）の開発について詳細に説明しており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる： Ｂｅｌｓｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｖｉｒｏｌｏｇｙ．２０１７ Ｎｏｖ；５１１：１３５－１４１。

【０２０５】

実施形態では、卵は鶏卵である。実施形態では、鶏卵は、孵化鶏卵である。実施形態では、卵は、無病原体卵である。実施形態では、インフルエンザウイルスは、孵化鶏卵の尿膜腔内に接種することにより増殖される。以下の論文には例示的な接種方法が記載されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：Ｂｒａｕｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｖｉｓ Ｅｘｐ．２０１５；（９７）：５２４２１

【０２０６】

実施形態では、卵ベースの製造プロセスは、インフルエンザウイルスを精製することを含む。実施形態では、インフルエンザウイルスは、以下の技術：遠心分離、クロマトグラフィー、沈殿、またはナノ濾過のうちのいずれかを用いて精製される。実施形態では、遠心分離技術は超遠心分離である。実施形態では、ウイルスは、ゾーン型遠心分離を使用して精製される。実施形態では、ゾーン型遠心分離は、連続フロー式ゾーン型遠心分離である。

【０２０７】

実施形態では、卵ベースの製造プロセスは、インフルエンザウイルスを不活性化すること（本明細書では「殺傷」とも呼ばれる）を含む。実施形態では、インフルエンザウイルスは、低いｐＨ（例えば、約３．５～５．５のｐＨ）、熱、エタノール、紫外光、洗剤（例えば、オクチルフェノール）への曝露、または化学物質（例えば、２－プロパノール、エタノール、ヨードポビドン）への曝露を用いて不活性化される。実施形態では、精製ウイルスは、紫外光、ベタプロピオラクトン、デオキシコール酸ナトリウム、ホルムアルデヒド、またはそれらの任意の組み合わせによって不活性化される。

【０２０８】

実施形態では、卵ベースの製造プロセスは、インフルエンザウイルスを界面活性剤に曝露することを含む。界面活性剤は、タウロデオキシコール酸ナトリウム、オクチルフェノールエトキシレート（Ｔｒｉｔｏｎ（登録商標）－Ｘ１００）、または臭化セチルトリメチルアンモニウムであり得る。インフルエンザウイルスを界面活性剤に曝露すると、インフルエンザスプリットビリオンが形成される。実施形態では、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質は、インフルエンザスプリットビリオンの形態である。

【０２０９】

実施形態では、卵ベースの製造プロセスは、ウイルスからインフルエンザ抗原（例えばヘマグルチニン）を精製することを含む。

【０２１０】

卵ベースの製造プロセスを使用して、以下の食品医薬品局（ＦＤＡ）承認のインフルエンザワクチンを製造する：ＡＦＬＵＲＩＡ（登録商標）４価、ＦＬＵＡＲＩＸ（登録商標）４価、ＦＬＵＬＡＶＡＬ４価、ＦＬＵＺＯＮＥ（登録商標）４価、ＦＬＵＺＯＮＥ（登録商標）高用量４価、ＦＬＵＭＩＳＴ（登録商標）４価、ＦＬＵＡＤ（登録商標）、及びＦＬＵＡＤ（登録商標）４価。

【０２１１】

実施形態では、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質のそれぞれは、細胞培養ベースのプロセスを使用して単離される。実施形態では、細胞培養ベースのプロセスは、（ｉ）細胞中でインフルエンザウイルスを増殖させることと、（ｉｉ）細胞からウイルスを採取することと、を含む。実施形態では、細胞培養ベースのプロセスは、（ｉ）ヘマグルチニンを含むベクターで細胞をトランスフェクトすることと、（ｉｉ）細胞からヘマグルチニンを採取することと、を含む。実施形態では、細胞培養ベースのプロセスは、（ｉ）ヘマグルチニンを含むウイルスで細胞を形質導入することと、（ｉｉ）細胞からヘマグルチニンを採取することと、を含む。実施形態では、採取されたヘマグルチニンは、組み換えヘマグルチニンである。

【０２１２】

実施形態では、細胞は、動物細胞、細菌細胞、昆虫細胞、または真菌細胞である。実施形態では、動物は、ヒト、鳥（例えば、ニワトリ）、イヌ、爬虫類、ヤギ、ブタ、マウス、ウサギ、またはラットである。

【０２１３】

実施形態では、ヘマグルチニンをコードするウイルスは、バキュロウイルス、レンチウイルス、またはアデノ随伴ウイルスである。

【０２１４】

実施形態では、細胞培養ベースのプロセスを使用して生産されたインフルエンザウイルスが精製される。卵ベースの製造プロセスを使用して生産されたインフルエンザウイルスを精製するために記載された精製技術のいずれも、細胞培養ベースのプロセスを使用して生産されたインフルエンザウイルスを精製するために使用することができる。

【０２１５】

実施形態では、細胞培養ベースのプロセスを使用して製造されたヘマグルチニンが精製される。精製技術としては、クロマトグラフィー、遠心分離、沈殿、及びナノ濾過が挙げられる。

【０２１６】

食品医薬品局（ＦＤＡ）承認インフルエンザワクチンＦＬＵＣＥＬＶＡＸ（登録商標）４価は、細胞培養ベースのプロセスを使用して製造されている。

【０２１７】

実施形態では、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質のそれぞれは、組み換えヘマグルチニンである。食品医薬品局（ＦＤＡ）承認インフルエンザワクチンＦＬＵＢＬＯＫ（登録商標）４価は、組み換えヘマグルチニンである。

【０２１８】

実施形態では、少なくとも３種のヘマグルチニンは、組み換えヘマグルチニンの形態である。組み換えヘマグルチニンは、ヘマグルチニンを産生する細胞から単離される。実施形態では、ヘマグルチニンを産生する細胞は、ヘマグルチニンをコードするベクターでトランスフェクトされている。実施形態では、ヘマグルチニンを産生する細胞は、ヘマグルチニンをコードするウイルスで形質導入トされている。

【０２１９】

（ｉｉａ）ヘマグルチニンを含む少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質－洗剤－コアナノ粒子

実施形態では、本明細書に開示される組成物は、インフルエンザウイルスからのヘマグルチニンを含む洗剤－コアナノ粒子を含む。前述の洗剤－コアナノ粒子は、米国特許第１０，４２６，８２９号に詳細に記載されており、これはすべての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２０】

洗剤－コアナノ粒子は、インフルエンザウイルス由来のヘマグルチニンを含み、これは洗剤コアと会合している。実施形態では、ヘマグルチニンはトリマーである。それぞれのナノ粒子は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のトリマーを含み得る。実施形態では、ナノ粒子は、約２～約９個、約２～約

６個、または約５個のヘマグルチニントリマーを含む。ヘマグルチニンは、ナノ粒子のコアを含む非イオン性洗剤と会合する。実施形態では、洗剤は、ポリソルベート－２０（ＰＳ２０）、ポリソルベート－４０（ＰＳ４０）、ポリソルベート－６０（ＰＳ６０）、ポリソルベート－６５（ＰＳ６５）、及びポリソルベート－８０（ＰＳ８０）から選択される。洗剤の存在は、抗原を組織化して提示するコアを形成することにより、ナノ粒子の形成を容易にする。実施形態では、ナノ粒子は、頭部領域が外向き及び疎水性領域に突出し、ＰＳ８０洗剤が抗原により囲まれた中央コアを形成するマルチオリゴマー糖タンパク質－ＰＳ８０タンパク質－洗剤ナノ粒子に組み込まれた抗原を含み得る。

【０２２１】

本明細書に開示されているナノ粒子は、Ｚ－ａｖｅサイズにおいて、約２０ｎｍ～約６０ｎｍ、約２０ｎｍ～約５０ｎｍ、約２０ｎｍ～約４５ｎｍ、または約２５ｎｍ～約４５ｎｍの範囲にある。

【０２２２】

実施形態では、バキュロウイルス発現系を使用してＨＡタンパク質を発現させ、かつＨＡタンパク質を洗剤で抽出することにより、昆虫細胞中に洗剤－コアナノ粒子が生成される。精製中、第１の洗剤は、第２の洗剤、典型的には非イオン性洗剤と交換されて、ＨＡタンパク質の膜貫通ドメインがトリマーの形態で埋め込まれている非イオン性洗剤コアを有するナノ粒子が得られる。図７（左パネル）には、電子顕微鏡で観察したこれらの構造が示されている。

【０２２３】

洗剤－コアナノ粒子または本明細書に記載のＨａＳＭａＮに含まれるヘマグルチニンは、任意のインフルエンザウイルス株に由来し得る。ヒトインフルエンザＡ型ウイルス及びＢ型ウイルスは、米国ではほとんど毎冬に疾患の季節的な流行を引き起こす。

【０２２４】

ＨＡタンパク質は、サブタイプＨ１、Ｈ２、Ｈ３、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１０、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１４、Ｈ１５、Ｈ１６、Ｈ１７、及びＨ１８から選択され得る。系統学的には、インフルエンザは群に分けられる。ＨＡの場合、群１はＨ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、及びＨ１８を含み、群２はＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４、及びＨ１５を含む。

【０２２５】

実施形態では、洗剤－コアナノ粒子またはＨａＳＭａＮは、中性ｐＨ精製を使用して製造されるトリプシン耐性ナノ粒子である。トリプシン耐性は、ＨＡナノ粒子の精製及び調製中に約６．９～８．５の中性ｐＨ範囲により達成される。トリプシン耐性インフルエンザ糖タンパク質及びトリプシン耐性インフルエンザナノ粒子；及びそれらの製造方法は、米国特許第１０，４２６，８２９号に詳細に記載されている。

【０２２６】

実施形態では、本明細書に記載の洗剤－コアナノ粒子またはＨａＳＭａＮのヘマグルチニンは、全長の野生型ヘマグルチニンアミノ酸配列を含む。実施形態では、ヘマグルチニンは、ヘマグルチニンバリアントである。実施形態では、ヘマグルチニンは、野生型ヘマグルチニンタンパク質に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を示す。同一性パーセンテージは、ｗｗｗ．ｅｂｉ．ａｃ．ｕｋ／Ｔｏｏｌｓ／ｍｓａ／ｃｌｕｓｔａｌｗ２／で入手可能なアラインメントプログラムＣｌｕｓｔａｌＷ２を使用して算出することができる。次のデフォルトパラメータは、ペアワイズアラインメントに使用できる：タンパク質重量マトリクス＝Ｇｏｎｎｅｔ；ギャップオープン＝１０；ギャップ拡張＝０．１。

【０２２７】

ＨＡは、それぞれのモノマーが約５５０個のアミノ酸残基からなるホモトリマーである。ＨＡのそれぞれのモノマーは、概念的には３つのドメインに分けられている：約５１５の残基のエクトドメインは、分子のウイルス外部分を構成し、２７残基の単一の伸長は、

膜貫通（ＴＭ）ドメインを定義し、約１０の残基は、細胞質尾部（ＣＴ）を構成する。ヘマグルチニンに若干の変更を加えてもよいが、洗剤コアナノ粒子とＨａＳＭａＮとの双方の形成は、インタクトな膜貫通ドメイン（ＴＭ）を必要とする。したがって、特定の実施例では、改変されたＨＡタンパク質配列は、残りのエクトドメイン部分においていくらかの柔軟性を有する野生型ＴＭ及びＣＴドメインに対して１００％の同一性を含み、ここで同一性は、少なくとも９０％または少なくとも９５％であってよい。ドメインは、Ｍｅｌｉｋｙａｎ ｅｔ ａｌ．（Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ Ｃｅｌｌ．１９９９ Ｊｕｎ；１０（６）：１８２１－１８３６）の図１に示されたＪａｐａｎ／３０５／５７ ＨＡのＴＭドメイン及びＣＴのアミノ酸配列に対する相同性によって同定されてよいが、エクトドメイン、ＴＭ、及びＣＴドメインの境界は、ＨＡタンパク質からＨＡタンパク質まで３個までのアミノ酸で変化し得ることに留意すべきである。

（ｉｉｂ）インフルエンザワクチン－ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）

【０２２８】

実施形態では、本明細書に記載の免疫原性組成物及びワクチン組成物は、ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）を含む。図７（右パネル）は、電子顕微鏡で観察されたＨａＳＭａＮ構造を示す。ＨＡ糖タンパク質は、マトリクスケージ様構造を装飾する。ＨａＳＭａＮ構造は、インフルエンザウイルスからヘマグルチニンを含む洗剤－コレナン粒子を調製し、次いでこれらをＩＳＣＯＭマトリクスアジュバント粒子と一定時間インキュベートすることによって形成される。ＩＳＣＯＭマトリクス粒子は、図７の中央パネルに示されている。特に、ＨａＳＭａＮは、Ａ型インフルエンザＨＡタンパク質と容易に形成されるが、Ｂ型インフルエンザＨＡタンパク質とは容易に形成されない。

【０２２９】

本明細書に開示されるＨａＳＭａＮは、洗剤－コアナノ粒子を、サポニン画分、コレステロール，及びリン脂質を含むＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントとインキュベートすることによって製造される。実施形態では、ＨａＳＭａＮは、洗剤－コアナノ粒子とＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントとを約２４時間～約４８時間インキュベートすることによって形成される。例えば、洗剤－コアナノ粒子は、ＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントと、約２４時間、約２５時間、約２６時間、約２７時間、約２８時間、約２９時間、約３０時間、約３１時間、約３２時間、約３３時間、約３４時間、約３５時間、約３６時間、約３７時間、約３８時間、約３９時間、約４０時間、約４１時間、約４２時間、約４３時間、約４４時間、約４５時間、約４６時間、約４７時間、約４８時間、またはそれ以上にわたってインキュベートすることができる。いくつかの実施形態では、ＨａＳＭａＮは、洗剤－コアナノ粒子をＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントと、少なくとも約２４時間、少なくとも約２５時間、少なくとも約２６時間、少なくとも約２７時間、少なくとも約２８時間、少なくとも約２９時間、少なくとも約３０時間、少なくとも約３１時間、少なくとも約３２時間、少なくとも約３３時間、少なくとも約３４時間、少なくとも約３５時間、少なくとも約３６時間、少なくとも約３７時間、少なくとも約３８時間、少なくとも約３９時間、少なくとも約４０時間、少なくとも約４１時間、少なくとも約４２時間、少なくとも約４３時間、少なくとも約４４時間、少なくとも約４５時間、少なくとも約４６時間、少なくとも約４７時間、または少なくとも約４８時間にわたってインキュベートすることによって形成される。実施形態では、ＨａＳＭａＮは、洗剤－コアナノ粒子をＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントと約４℃～約２５℃の温度でインキュベートすることによって形成される。例えばＨａＳＭａＮは、ＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントと、約４℃、約５℃、約６℃、約７℃、約８℃、約９℃、約１０℃、約１１℃、約１２℃、約１３℃、約１４℃、約１５℃、約１６℃、約１７℃、約１８℃、約１９℃、約２０℃、約２１℃、約２２℃、約２３℃、約２４℃、約２５℃、またはそれ以上の温度でインキュベートすることによって形成され得る。実施形態では、ＨａＳＭａＮは、洗剤－コアナノ粒子をＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントと少なくとも約４℃、少なくとも約５℃、少なくとも約６℃、少なくとも約７℃、少なくとも約８℃、少なくとも約９℃、少なくとも約１０℃、少なくと

も約１１℃、少なくとも約１２℃、少なくとも約１３℃、少なくとも約１４℃、少なくとも約１５℃、少なくとも約１６℃、少なくとも約１７℃、少なくとも約１８℃、少なくとも約１９℃、少なくとも約２０℃、少なくとも約２１℃、少なくとも約２２℃、少なくとも約２３℃、少なくとも約２４℃、少なくとも約２５℃の温度でインキュベートすることによって形成される。典型的には、形成のために４℃または２５℃での約２４～４８時間のインキュベーションが必要である。ＨａＳＭａＮの形成は、より高い温度によって促進される。実施形態では、ＨａＳＭａＮの形成は、洗剤－コアナノ粒子をＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントと約２５℃で少なくとも２４時間インキュベートすることにより生じる。洗剤コアナノ粒子をＩＳＣＯＭマトリクスアジュバントと対象に投与する直前に混合する、すなわちベッドサイドミックスは、ＨａＳＭａＮを生成しない。より長いインキュベーション期間は、ＨａＳＭａＮの形成に悪影響を及ぼさない。

【０２３０】

洗剤－コアナノ粒子の製造

本開示のナノ粒子は、天然に存在しない生成物であり、その成分は、自然では一緒には存在しない。実施形態では、本明細書に開示された方法は、洗剤交換アプローチを使用し、この洗剤交換アプローチでは、第１の洗剤を使用してタンパク質を単離し、次いでこの第１の洗剤を第２の洗剤と交換してナノ粒子を形成する。

【０２３１】

ナノ粒子に含まれる抗原は、典型的には、宿主細胞における組換え発現によって産生される。標準的な組換え技術を使用することができる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、バキュロウイルス系を用いて昆虫宿主細胞で発現される。実施形態では、バキュロウイルスは、カテプシン－Ｌノックアウトバキュロウイルス、キチナーゼノックアウトバキュロウイルスである。任意選択で、バキュロウイルスは、カテプシンＬとキチナーゼの両方に対するダブルノックアウトである。高レベルの発現は、昆虫細胞発現系において得ることができる。昆虫細胞の非限定的な例は、Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ（Ｓｆ）細胞、例えばＳｆ９、Ｓｆ２１、Ｔｒｉｃｈｏｐｌｕｓｉａｎｉ細胞、例えばＨｉｇｈ　Ｆｉｖｅ細胞、及びショウジョウバエＳ２細胞である。実施形態では、本明細書に記載のＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはヘマグルチニンは、任意の適切な宿主細胞で産生される。実施形態では、宿主細胞は、昆虫細胞である。実施形態では、昆虫細胞は、Ｓｆ９細胞である。

【０２３２】

典型的なトランスフェクション及び細胞増殖の方法を、細胞の培養に使用することができる。ベクター、例えば、融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含むベクターは、当該技術分野で周知の方法に従って宿主細胞にトランスフェクションされ得る。例えば、真核細胞への核酸の導入は、リン酸カルシウム共沈、電気穿孔、マイクロインジェクション、リポフェクション、及びポリアミントランスフェクション試薬を用いたトランスフェクションによって達成され得る。一実施形態では、ベクターは、組換えバキュロウイルスである。

【０２３３】

宿主細胞を増殖させる方法としては、バッチ式、流加培養、連続式、及び灌流式細胞培養技術が挙げられるが、これらに限定されない。細胞培養とは、精製及び単離のために細胞が増殖してタンパク質（例えば組換えタンパク質）を発現するバイオリアクター（発酵チャンバ）内での細胞の増殖及び増殖を意味する。典型的には、細胞培養は、バイオリアクター内で滅菌され、制御された温度及び大気条件下で行われる。バイオリアクターは、温度、雰囲気、撹拌及び／またはｐＨなどの環境条件をモニタリングすることができる細胞を培養するために使用されるチャンバである。一実施形態では、バイオリアクターは、ステンレス鋼チャンバである。別の実施形態では、バイオリアクタは、予め滅菌されたプラスチックバッグ（例えば、Ｃｅｌｂａｇ（登録商標），Ｗａｖｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｂｒｉｄｇｅｗａｔｅｒ，Ｎ．Ｊ．）である。他の実施形態では、予め滅菌されたプラスチックバッグは、約５０Ｌ～３５００Ｌのバッグである。

【０２３４】
ナノ粒子の抽出及び精製
宿主細胞の増殖後に、タンパク質またはナノ粒子を、洗剤及び精製プロトコールを使用して宿主細胞から回収することができる。宿主細胞が４８～９６時間増殖したら、細胞を培地から単離し、洗剤含有溶液を加えて細胞膜を可溶化させ、タンパク質を洗剤抽出物に放出する。ＮＰ－９としても知られているＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００及びＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）ノニルフェノールエトキシレートは、それぞれ抽出のための好ましい洗浄剤である。洗剤は、約０．１％～約１．０％の最終濃度に添加されてもよい。例えば、濃度は、約０．１％、約０．２％、約０．３％、約０．５％、約０．７％、約０．８％、または約１．０％であってもよい。この範囲を、約０．１％～約０．３％とすることができる。実施形態では、濃度は約０．５％である。
【０２３５】
実施形態の態様では、種々の第１の洗剤を使用して、宿主細胞からタンパク質を単離することができる。例えば、第１の洗剤は、ビス（ポリエチレングリコールビス［イミダゾイルカルボニル］）、ノノノキシノール－９、ビス（ポリエチレングリコールビス［イミダゾイルカルボニル］）、ＢＲＩＪ（登録商標）ポリエチレングリコールドデシルエーテル３５、ＢＲＩＪ（登録商標）ポリエチレングリコール（３）セチルエーテル５６、ＢＲＩＪ（登録商標）アルコールエトキシレート７２、ＢＲＩＪ（登録商標）ポリオキシル２ステアリルエーテル７６、ＢＲＩＪ（登録商標）ポリエチレングリコールモノオリルエーテル９２Ｖ、ＢＲＩＪ（登録商標）ポリオキシエチレン（１０）オレイルエーテル９７、ＢＲＩＪ（登録商標）ポリエチレングリコールヘキサデシルエーテル５８Ｐ、ＣＲＥＭＯＰＨＯＲ（登録商標）ＥＬマクロゴグリセリンリシノレイン酸、デカエチレングリコールモノドデシルエーテル、Ｎ－デカノイル－Ｎ－メチルグルカミン、ｎ－デシルアルファ－ジグルコピラノシド、デシルベータ－Ｄ－マルトピラノシド、ｎ－ドデカノイル－Ｎ－メチルグルカミド、ｎドデシルアルファ－Ｄ－マルトシド、ｎドデシルベータ－Ｄ－マルトシド、ｎドデシルベータ－Ｄ－マルトシド、ヘプタエチレングリコールモノデシルエーテル、ヘプタエチレングリコールモノテトラデシルエーテル、ｎ－ヘキサデシルベータ－Ｄ－マルトシド、ヘキサエチレングリコールモノドデシルエーテル、ヘキサエチレングリコールモノヘキサデシルエーテル、ヘキサエチレングリコールモノオクタデシルエーテル、ヘキサエチレングリコールモノテトラデシルエーテル、Ｉｇｅｐａｌ　ＣＡ－６３０、Ｉｇｅｐａｌ　ＣＡ－６３０、メチル－６－０－（Ｎ－ヘプチルカルバモイル）－アルファ－Ｄ－グルコノピラノシド、ノナエチレンモノドデシルエーテル、Ｎ－ノナノイル－Ｎ－メチルグルカミン、Ｎ－ノナノイルＮ－メチルグルカミン、オクタエチレングリコールモノデシルエーテル、オクタエチレングリコールモノドデシルエーテル、オクタエチレングリコールモノヘキサデシルエーテル、オクタエチレングリコールモノオクタデシルエーテル、オクタエチレングリコールモノテトラデシルエーテル、オクチル－ベータ－Ｄグルコピラノシド、ペンタエチレングリコールモノデシルエーテル、ペンタエチレングリコールモノドデシルエーテル、ペンタエチレングリコールモノヘキサデシルエーテル、ペンタエチレングリコールモノヘキシルエーテル、ペンタエチレングリコールモノオクタデシルエーテル、ペンタエチレングリコールモノオクチルエーテル、ペンタエチレングリコールジグリシジルエーテル、ポリエチレングリコールエーテルＷ－１、ポリオキシエチレン１０トリデシルエーテル、ポリオキシエチレン１００ステアレート、ポリオキシエチレン２０イソヘキサデシルエーテル、ポリオキシエチレン２０オレイルエーテル、ポリオキシエチレン４０ステアレート、ポリオキシエチレン５０ステアレート、ポリオキシエチレン８ステアレート、ポリオキシエチレンビス（イミダゾリルカルボニル）、ポリオキシエチレン２５プロピレングリコールステアレート、キラヤ樹皮由来のサポニン、ＳＰＡＮ（登録商標）２０ソルビタンラウレート、ＳＰＡＮ（登録商標）４０モノパルミチン酸ソルビタン、ＳＰＡＮ（登録商標）６０ソルビタンステアレート、ＳＰＡＮ（登録商標）６５ソルビタントリステアレート、ＳＰＡＮ（登録商標）８０ソルビタンモノオレート、ＳＰＡＮ（登録商標）８５ソルビタントリオレート、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）第二級アルコー

ルエトキシレートタイプ１５－Ｓ－１２、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）第二級アルコールエトキシレートタイプ１５－Ｓ－３０、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）第二級アルコールエトキシレートタイプ１５－Ｓ－５、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）第二級アルコールエトキシレートタイプ１５－Ｓ－７、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）第二級アルコールエトキシレートタイプ１５－Ｓ－９、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）ノニルフェノールエトキシレートタイプＮＰ－１０、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）ノニルフェノールエトキシレートタイプＮＰ－４、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）ノニルフェノールエトキシレートタイプＮＰ－４０、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）ノニルフェノールエトキシレートタイプＮＰ－７、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）ノニルフェノールエトキシレートタイプＮＰ－９、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）分岐第二級アルコールエトキシレートタイプＴＭＮ－１０、ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）分岐第二級アルコールエトキシレートタイプＴＭＮ－６、ＴＲＩＴＯＮ（商標）Ｘ－１００ポリエチレングリコールｔｅｒｔ－オクチルフェニルエーテル、またはそれらの組み合わせであってよい。

【０２３６】

次いで、ナノ粒子を、遠心分離を使用して細胞残屑から単離することができる。実施形態では、塩化セシウム、スクロース、及びヨウ化メタノールを使用するような勾配遠心分離が使用され得る。他の技術、例えば、イオン交換、アフィニティ、及びゲル濾過クロマトグラフィーを含む標準的な精製技術などの他の技術を、代替技術としてまたはこれらに加えて使用されてもよい。

【０２３７】

例えば、第１のカラムは、イオン交換クロマトグラフィー樹脂、例えばＦＲＡＣＴＯＧＥＬ（登録商標）ＥＭＤメタクリレート系ポリマービーズＴＭＡＥ（ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）であってよく、第２のカラムはレンチル（Ｌｅｎｓ ｃｕｌｉｎａｒｉｓ）レクチンアフィニティ樹脂であってよく、第３のカラムはカチオン交換カラム、例えばＦＲＡＣＴＯＧＥＬ（登録商標）ＥＭＤメタクリレート系ポリマービーズＳＯ３（ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）樹脂であってよい。他の態様では、カチオン交換カラムは、ＭＭＣカラムまたはＮｕｖｉａ Ｃ Ｐｒｉｍｅカラム（Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ）であってよい。好ましくは、本明細書に開示された方法は、洗剤抽出カラム、例えば疎水性相互作用カラムを使用しない。このようなカラムは、精製の間に洗剤を除去するためにしばしば使用されるが、本明細書に開示されている方法に悪影響を及ぼす可能性がある。

【０２３８】

実施形態では、宿主細胞からタンパク質を抽出するために使用される第１の洗剤は、実質的に第２の洗剤に置き換えられてナノ粒子構造を達成する。実施形態では、第１の洗剤は、ＮＰ－９である。典型的に、ナノ粒子は、ＨＰＬＣにより測定した場合、検出可能なＮＰ－９を含まない。第２の洗剤は、典型的には、ＰＳ２０、ＰＳ４０、ＰＳ６０、ＰＳ６５、及びＰＳ８０からなる群から選択される。実施形態では、第２の洗剤は、ＰＳ８０である。

【０２３９】

実施形態では、洗剤交換は、それらの炭水化物部分を介して糖タンパク質を結合させるためのアフィニティクロマトグラフィーを使用して実施される。例えば、アフィニティクロマトグラフィーは、マメ科レクチンカラムを使用することができる。マメ科レクチンは、植物で最初に同定されたタンパク質であり、炭水化物残基と特異的かつ可逆的に相互作用することが判明している。例えば、Ｓｈａｒｏｎ ａｎｄ Ｌｉｓ，“Ｌｅｇｕｍｅ ｌｅｃｔｉｎｓ－－ａ ｌａｒｇｅ ｆａｍｉｌｙ ｏｆ ｈｏｍｏｌｏｇｏｕｓ ｐｒｏｔｅｉｎｓ，” ＦＡＳＥＢ Ｊ．１９９０ Ｎｏｖ；４（１４）：３１９８－２０８；Ｌｉｅｎｅｒ，“Ｔｈｅ Ｌｅｃｔｉｎｓ：Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｆｕｎｃｔｉｏｎｓ，ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｉｎ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，” Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，２０１２．を参照されたい。適切なレクチンとしては、コンカナバリンＡ（ｃｏｎ Ａ）、エンドウレクチン、サインフォインレクト、及びレンチ

ルレクチンが挙げられる。レンチルレクチンは、その結合特性のために洗剤交換のための好ましいカラムである。レクチンカラムは市販されており、例えばＣａｐｔｏ　Ｌｅｎｔｉｌ　ＬｅｃｔｉｎはＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅから入手可能である。特定の態様では、レンチルレクチンカラムは組換えレクチンを使用することができる。分子レベルでは、炭水化物部分がレンチルレクチンに結合し、タンパク質のアミノ酸を遊離させて洗剤周囲に合体させ、抗原の複数のコピーを有するナノ粒子、例えば洗剤中に固定されたダイマー、トリマー、またはテトラマーであり得る糖タンパク質オリゴマーを提供する洗剤コアを形成すると考えられる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチド及び／またはヘマグルチニンはトリマーを形成する。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドトリマー及び／またはヘマグルチニンは、洗剤に固定されている。実施形態では、それぞれのナノ粒子は、非イオン性コアと会合した少なくとも１つのトリマーを含む。

【０２４０】

洗剤は、ナノ粒子を形成するために洗剤交換の間にタンパク質と一緒にインキュベートされると、早期精製ステップ中に約０．１％（ｗ／ｖ）まで存在し得て、最適な安定性を有する最終ナノ粒子を達成するためにこの量が低下される。例えば、非イオン性洗剤（例えば、ＰＳ８０）は、約０．００５％（ｖ／ｖ）～約０．１％（ｖ／ｖ）、例えば、約０．００５％（ｖ／ｖ）、約０．００６％（ｖ／ｖ）、約０．００７％（ｖ／ｖ）、約０．００８％（ｖ／ｖ）、約０．００９％（ｖ／ｖ）、約０．０１％（ｖ／ｖ）、約０．０１５％（ｖ／ｖ）、約０．０２％（ｖ／ｖ）、約０．０２５％（ｖ／ｖ）、約０．０３％（ｖ／ｖ）、約０．０３５％（ｖ／ｖ）、約０．０４％（ｖ／ｖ）、約０．０４５％（ｖ／ｖ）、約０．０５％（ｖ／ｖ）、約０．０５５％（ｖ／ｖ）、約０．０６％（ｖ／ｖ）、約０．０６５％（ｖ／ｖ）、約０．０．７％（ｖ／ｖ）、約０．０７５％（ｖ／ｖ）、約０．０８％（ｖ／ｖ）、約０．０８５％（ｖ／ｖ）、約０．０９％（ｖ／ｖ）、約０．０９５％（ｖ／ｖ）、または約０．１％（ｖ／ｖ）のＰＳ８０であってよい。実施形態では、ナノ粒子は、約０．０３％～約０．０５％のＰＳ８０を含む。実施形態では、ナノ粒子は、約０．０１％（ｖ／ｖ）のＰＳ８０を含む。

【０２４１】

実施形態では、精製されたＣｏＶ　Ｓポリペプチド及び／またはヘマグルチニンは透析される。実施形態では、透析は、精製後に行われる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチド及び／またはヘマグルチニンは、リン酸ナトリウム、ＮａＣｌ、及びＰＳ８０を含む溶液中で透析される。実施形態では、リン酸ナトリウムを含む透析溶液は、約５ｍＭ～約１００ｍＭのリン酸ナトリウム、例えば約５ｍＭ、約１０ｍＭ、約１５ｍＭ、約２０ｍＭ、約２５ｍＭ、約３０ｍＭ、約３５ｍＭ、約４０ｍＭ、約４５ｍＭ、約５０ｍＭ、約５５ｍＭ、約６０ｍＭ、約６５ｍＭ、約７０ｍＭ、約７５ｍＭ、約８０ｍＭ、約８５ｍＭ、約９０ｍＭ、約９５ｍＭ、または約１００ｍＭのリン酸ナトリウムを含む。実施形態では、リン酸ナトリウムを含む溶液のｐＨは、約６．５、約６．６、約６．７、約６．８、約６．９、約７．０、約７．１、約７．２、約７．３、約７．４または約７．５である。実施形態では塩化ナトリウムを含む透析溶液は、約５０ｍＭ～約５００ｍＭのＮａＣｌ、例えば、約５０ｍＭ、約６０ｍＭ、約７０ｍＭ、約８０ｍＭ、約９０ｍＭ、約１００ｍＭ、約１１０ｍＭ、約１２０ｍＭ、約１３０ｍＭ、約１４０ｍＭ、約１５０ｍＭ、約１６０ｍＭ、約１７０ｍＭ、約１８０ｍＭ、約１９０ｍＭ、約２００ｍＭ、約２１０ｍＭ、約２２０ｍＭ、約２３０ｍＭ、約２４０ｍＭ、約２５０ｍＭ、約２６０ｍＭ、約２７０ｍＭ、約２８０ｍＭ、約２９０ｍＭ、約３００ｍＭ、約３１０ｍＭ、約３２０ｍＭ、約３３０ｍＭ、約３４０ｍＭ、約３５０ｍＭ、約３６０ｍＭ、約３７０ｍＭ、約３８０ｍＭ、約３９０ｍＭ、約４００ｍＭ、約４１０ｍＭ、約４２０ｍＭ、約４３０ｍＭ、約４４０ｍＭ、約４５０ｍＭ、約４６０ｍＭ、約４７０ｍＭ、約４８０ｍＭ、約４９０ｍＭ、または約５００ｍＭのＮａＣｌを含む。実施形態では、ＰＳ８０を含む透析溶液は、約０．００５％（ｖ／ｖ）、約０．００６％（ｖ／ｖ）、約０．００７％（ｖ／ｖ）、約０．００８％（ｖ／ｖ）、約０．００９％（ｖ／ｖ）、約０．０１％（ｖ／ｖ）、約０．０１５％（ｖ／ｖ）、約０．０２％（ｖ／ｖ）、約０．０２５％（ｖ／ｖ）、約０．０３％（ｖ／ｖ）、約０．

０３５％（ｖ／ｖ）、約０．０４％（ｖ／ｖ）、約０．０４５％（ｖ／ｖ）、約０．０５％（ｖ／ｖ）、約０．０５５％（ｖ／ｖ）、約０．０６％（ｖ／ｖ）、約０．０６５％（ｖ／ｖ）、約０．０７％（ｖ／ｖ）、約０．０７５％（ｖ／ｖ）、約０．０８％（ｖ／ｖ）、約０．０８５％（ｖ／ｖ）、約０．０９％（ｖ／ｖ）、約０．０９５％（ｖ／ｖ）、または約０．１％（ｖ／ｖ）のＰＳ８０を含む。実施形態では、透析溶液は、約２５ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．２）、約３００ｍＭのＮａＣｌ、及び約０．０１％（ｖ／ｖ）ＰＳ８０を含む。

【０２４２】

洗剤交換は、上記のように精製し、及び精製し、保存のために凍結し、次いで洗剤交換のために解凍したタンパク質を用いて実施することができる。

【０２４３】

本明細書に開示された組成物の安定性は、様々な方法で測定することができる。１つのアプローチでは、過酷な保存条件を模倣することによってナノ粒子にストレスを与えるように設計された様々な処理後に抗原タンパク質の完全性を決定するために、ペプチドマップを作成することができる。したがって、安定性の尺度は、対照試料と比較して、ストレスを受けた試料中の抗原ペプチドの相対的存在度である。例えば、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子の安定性は、ナノ粒子を、種々のｐＨ、プロテアーゼ、塩、過酸化水素を含むがこれらに限定されない酸化剤、種々の温度、凍結／融解のサイクル、及び撹拌に曝露することによって評価することができる。

【０２４４】

（ｉｉｃ）少なくとも３種のヘマグルチニン：不活化された全インフルエンザウイルス

実施形態では、少なくとも３種のヘマグルチニンは、全インフルエンザウイルスの形態である。全インフルエンザウイルスは、そのエンベロープ、ウイルス膜、ヌクレオカプシド、及び遺伝物質のすべてを含む。実施形態では、全インフルエンザウイルスは、本開示全体を通して記載されているように不活性化される。

【０２４５】

（ｉｉｄ）少なくとも３種のヘマグルチニン：インフルエンザウイルスから抽出されるヘマグルチニン組成物

実施形態では、少なくとも３種のヘマグルチニンは、インフルエンザウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物の形態である。実施形態では、インフルエンザウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物は、インフルエンザスプリットビリオン組成物またはサブユニットインフルエンザ組成物である。

【０２４６】

インフルエンザスプリットビリオンとは、インフルエンザウイルス膜が界面活性剤によって破壊されているインフルエンザウイルスである。実施形態では、界面活性剤は、本明細書に記載される任意の界面活性剤である。実施形態では、界面活性剤は、タウロデオキシコール酸ナトリウム、オクチルフェノールエトキシレート（Ｔｒｉｔｏｎ（登録商標）－Ｘ１００）、または臭化セチルトリメチルアンモニウムである。実施形態では、インフルエンザスプリットビリオンは、卵ベースまたは細胞培養ベースの製造方法を使用して製造される。実施形態では、インフルエンザウイルスをメイディンダービーイヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ）細胞中で増殖させ、β－プロピオラクトンでウイルスを不活性化し、洗剤である臭化セチルトリメチルアンモニウムにウイルスを曝露させ、ビリオンを精製することによってスプリットビリオンを生成する。

【０２４７】

インフルエンザスプリットビリオンと同様に、インフルエンザウイルス膜を界面活性剤で破壊することによってサブユニットインフルエンザ組成物が生成される。しかしながら、インフルエンザスプリットビリオンとは異なり、サブユニットインフルエンザ組成物は、追加的な精製に供される。実施形態では、サブユニットインフルエンザ組成物は、内部のサブウイルスコアを除去するために異なる沈殿によって精製される。実施形態では、サブユニットインフルエンザ組成物は、遠心分離、クロマトグラフィー、沈殿、またはナノ

濾過によって精製される。界面活性剤は、本明細書に記載される任意の界面活性剤であり得る。実施形態では、界面活性剤は、タウロデオキシコール酸ナトリウム、オクチルフェノールエトキシレート（Ｔｒｉｔｏｎ（登録商標）－Ｘ１００）、または臭化セチルトリメチルアンモニウムである。実施形態では、サブユニットインフルエンザワクチンは、卵ベースまたは細胞培養ベースの製造方法を使用して製造される。

【０２４８】

実施形態では、ウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物は、ヘマグルチニンを含み、ウイルスリボ核タンパク質（ｖＲＮＰ）、マトリクスタンパク質Ｍ１、及びウイルスエンベロープを含まない。

【０２４９】

実施形態では、ウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物は、（ｉ）卵ベースの製造方法を用いて全インフルエンザウイルスを生産すること、（ｉｉ）遠心分離及び濾過により全インフルエンザウイルスを採取及び精製すること、（ｉｉｉ）ホルムアルデヒドによりインフルエンザウイルスを不活性化すること、（ｉｖ）ゾーン型遠心分離により不活性化インフルエンザウイルスを濃縮及び精製すること、及び（ｖ）不活性化インフルエンザウイルスを臭化セチルトリメチルアンモニウムの存在下で遠心分離することによって得られる。

【０２５０】

免疫原性組成物製剤

本開示は、（ｉ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（３種のＨＡ糖タンパク質が異なるインフルエンザ株由来である）と；（ｉｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態のＣｏＶ　Ｓポリペプチド（洗剤は非イオン性洗剤である）と；（ｉｉｉ）薬学的に許容される緩衝液と、を含む、免疫原性組成物を提供する。実施形態では、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質は、（ａ）ヘマグルチニン（ＨＡ）を含む洗浄剤コアナノ粒子、（ｂ）ＨａＳＭａＮｓ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）、（ｃ）インフルエンザスプリットビリオン、（ｄ）全インフルエンザウイルス、（ｅ）組換えヘマグルチニン、及び（ｆ）ウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物からなる群から選択される。実施形態では、免疫原性組成物は、同じ種のウイルスからの２つ以上のウイルス株由来の抗原を有するナノ粒子を含んでよい。

【０２５１】

実施形態では、免疫原性組成物は、（ｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態のＣｏＶ　Ｓポリペプチド（洗剤は非イオン性洗剤である）と、（ｉｉ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質は異なるインフルエンザ株由来であり、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質はＨＡ糖タンパク質を含む洗剤－コアナノ粒子の形態及びＨａＳＭａＮの形態である）と、を含む。実施形態では、免疫原性組成物は、（ｉ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質は異なるインフルエンザ株由来であり、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質はインフルエンザスプリットビリオンの形態である）と、（ｉｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態であるＣｏＶ　Ｓポリペプチド（洗剤は非イオン性洗剤である）と、を含む。実施形態では、免疫原性組成物は、（ｉ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質は異なるインフルエンザ株由来であり、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質はウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物の形態である）と、（ｉｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態であるＣｏＶ　Ｓポリペプチド（洗剤は非イオン性洗剤である）と、を含む。

【０２５２】

実施形態では、組成物は、ヘマグルチニンとＨａＳＭａＮを含む、約１～約１０種の洗剤－コアナノ粒子、例えば、約１、約２、約３、約４、約５、約６、約７、約８、約９、または約１０種の総ナノ粒子を含む。実施形態では、それぞれの洗剤－コアナノ粒子及びＨａＳＭａＮは、異なるインフルエンザ菌株由来のヘマグルチニンを含む。実施形態では、ＨａＳＭａＮのそれぞれは、Ａ型インフルエンザ株由来のヘマグルチニンを含む。実施

形態では、洗剤－コアナノ粒子のそれぞれからのヘマグルチニンは、Ｂ型インフルエンザ株由来である。実施形態では、ＨａＳＭａＮのそれぞれは、Ｂ型インフルエンザ株由来のヘマグルチニンを含む。実施形態では、洗剤－コアナノ粒子のそれぞれからのヘマグルチニンは、Ａ型インフルエンザ株由来である。実施形態では、洗剤－コアナノ粒子のそれぞれからのヘマグルチニンは、Ｂ型インフルエンザ株由来であり、ＨａＳＭａＮのそれぞれからのヘマグルチニンは、Ａ型インフルエンザ株由来である。実施形態では、組成物は、合計４種のヘマグルチニンとＨａＳＭａＮを含む洗剤－コアナノ粒子を含む。実施形態では、組成物は、合計３種のヘマグルチニンとＨａＳＭａＮを含む洗剤－コアナノ粒子を含む。

【０２５３】

別の実施形態では、本開示は、免疫原性組成物の成分の１つ以上を充填した１つ以上の容器を備える、医薬パックまたはキットを提供する。

【０２５４】

本明細書に開示される組成物は、予防的または治療的に使用され得るが、典型的には予防的である。したがって、本開示は、感染を治療または予防するための方法を含む。この方法は、本開示の免疫原性組成物の治療量または予防量を対象に投与することを含む。実施形態では、医薬組成物は、保護効果をもたらすワクチン組成物である。実施形態では、保護効果は、曝露された集団のパーセンテージでの感染に関連する症状の改善を含む。例えば、組成物は、未処置の対象と比較して、発熱疲労、筋肉痛、頭痛、咽喉の痛み、嘔吐、下痢、発疹、腎機能障害及び肝機能低下の症状、内出血及び外部出血から選択される１つ以上のウイルス性疾患の症状を予防または低減することができる。

【０２５５】

これらのナノ粒子は、種々の賦形剤、緩衝液などの存在下で、ワクチンとして投与するために製剤化されてよい。例えば、ワクチン組成物は、リン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、及び／またはヒスチジンを含み得る。リン酸ナトリウムは、約１０ｍＭ～約５０ｍＭ、約１５ｍＭ～約２５ｍＭ、または約２５ｍＭで存在し得て、特に、約２２ｍＭのリン酸ナトリウムが存在する。ヒスチジンは、約０．１％（ｗ／ｖ）、約０．５％（ｗ／ｖ）、約０．７％（ｗ／ｖ）、約１％（ｗ／ｖ）、約１．５％（ｗ／ｖ）、約２％（ｗ／ｖ）、または約２．５％（ｗ／ｖ）存在し得る。塩化ナトリウムは、存在する場合、約１５０ｍＭであり得る。特定の組成物では、塩化ナトリウムは、より高い濃度、例えば、約２００ｍＭ～約５００ｍＭで存在し得る。実施形態では、塩化ナトリウムは、約２００ｍＭ、約２５０ｍＭ、約３００ｍＭ、約３５０ｍＭ、約４００ｍＭ、約４５０ｍＭ、または約５００ｍＭを含むがこれらに限定されない高濃度で存在する。

【０２５６】

実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子は、特定のｐＨレベルで改善された安定性を有する。実施形態では、ナノ粒子は、わずかに酸性のｐＨレベルで安定である。例えば、ナノ粒子は、わずかに酸性のｐＨで、例えばｐＨ５．８～ｐＨ７．０で安定である。実施形態では、ナノ粒子及びナノ粒子を含む組成物は、約ｐＨ５．８～約ｐＨ７．０（約ｐＨ５．９～約ｐＨ６．８、約ｐＨ６．０～約ｐＨ６．５、約ｐＨ６．１～約ｐＨ６．４、約ｐＨ６．１～約ｐＨ６．３、または約ｐＨ６．２を含む）の範囲のｐＨで安定であり得る。実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子及び組成物は、約ｐＨ７．０～約ｐＨ７．４を含む中性ｐＨで安定である。実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子及び組成物は、わずかにアルカリ性のｐＨ、例えば、約ｐＨ７．０～約ｐＨ８．５、約ｐＨ７．０～約ｐＨ８．０、または約ｐＨ７．０～約ｐＨ７．５（これらの間のすべての値及び範囲を含む）で安定である。

アジュバント

【０２５７】

特定の実施形態では、本明細書に開示される組成物は、免疫応答を増強するために１種以上のアジュバントと組み合わせることができる。実施形態では、組成物は、アジュバントを用いずに製造され、したがって、アジュバントを含まない組成物として投与すること

ができる。有利なことに、本明細書に開示されるアジュバントを含まない組成物は、単回投与で投与された場合に防御免疫応答をもたらし得る。堅牢な免疫応答を誘導するミョウバンを含まない組成物は、約６０歳以上の成人で特に有用である。実施形態では、アジュバントは、クエン酸緩衝液中の、ポリソルベート８０及びソルビタントリオレエートという界面活性剤で安定化された、油相としてスクアレンから構成される水中油型エマルションである。

アルミニウムベースのアジュバント

【０２５８】

実施形態では、アジュバントは、ミョウバン（例えば、ＡｌＰＯ$_4$またはＡｌ（ＯＨ）$_3$）とすることができる。典型的には、ナノ粒子は実質的にミョウバンに結合している。例えば、ナノ粒子は、ミョウバンに、少なくとも８０％結合、少なくとも８５％結合、少なくとも９０％結合、または少なくとも９５％結合していてもよい。しばしば、ナノ粒子は、組成物中でミョウバンに９２％～９７％結合している。１回の用量あたりに存在するミョウバンの量は、典型的には約４００μｇ～約１２５０μｇの間の範囲である。例えば、ミョウバンは、１回の用量あたり約３００μｇ～約９００μｇ、約４００μｇ～約８００μｇ、約５００μｇ～約７００μｇ、約４００μｇ～約６００μｇ、または約４００μｇ～約５００μｇで存在し得る。典型的には、ミョウバンは、タンパク質ナノ粒子の１２０μｇの用量に対して約４００μｇで存在する。

【０２５９】

サポニンアジュバント

サポニンを含むアジュバントも、本明細書に開示された免疫原と組み合わせることができる。サポニンは、Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ樹木の樹皮から誘導されるグリコシドである。典型的には、サポニンは、多段階の精製プロセスを使用して調製され、複数の画分をもたらす。本明細書で使用される場合、「Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ由来のサポニン画分」という用語は、Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａの半精製または定義されたサポニン画分またはその実質的に純粋な画分を一般的に記載するために使用される。

サポニン画分

【０２６０】

サポニン画分を製造するためのいくつかのアプローチが適している。画分Ａ、Ｂ、及びＣは、米国特許第６，３５２，６９７号明細書に記載されており、以下のように調製され得る。粗製の水性Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ抽出物であるＱｕｉｌ Ａからの親油性画分をクロマトグラフィーにより分離し、水中７０％アセトニトリルで溶出して親油性画分を回収する。次いで、この親油性画分を、酸性水中２５％～６０％のアセトニトリルの勾配を用いて溶出しながら半分取ＨＰＬＣで分離する。本明細書で「画分Ａ」または「ＱＨ－Ａ」と呼ばれる画分は、約３９％のアセトニトリルで溶出される画分であるか、またはそれに相当する。本明細書で「画分Ｂ」または「ＱＨ－Ｂ」と呼ばれる画分は、約４７％のアセトニトリルで溶出される画分であるか、またはそれに相当する。本明細書で「画分Ｃ」または「ＱＨ－Ｃ」と呼ばれる画分は、約４９％のアセトニトリルで溶出される画分であるか、またはそれに相当する。画分の精製に関する付加的な情報は、米国特許第５，０５７，５４０号に見られる。本明細書に記載されるように調製された場合、Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａの画分Ａ、Ｂ、及びＣは、それぞれ、定義できる特性を有する化学的に密接に関連する分子の群またはファミリーを表す。それらが得られたクロマトグラフィー条件は、溶出プロフィールと生物活性の点でバッチ対バッチの再現性が高く一致した条件である。

【０２６１】

他のサポニン画分が記載されている。画分Ｂ３、Ｂ４、及びＢ４ｂは、ＥＰ０４３６６２０に記載されている。画分ＱＡ１～ＱＡ２２は、ＥＰ０３６３２２７９ Ｂ２、Ｑ－ＶＡＣ（Ｎｏｒ－Ｆｅｅｄ，ＡＳＤｅｎｍａｒｋ），Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ Ｓｐｉｋｏｓｉｄｅ（ｌｓｃｏｎｏｖａ ＡＢ，Ｕｌｔｕｎａａｌｌ

ｅｎ　２Ｂ，７５６　５１　Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）に記載されている。ＥＰ０　３６３２　２７９　Ｂ２の画分ＱＡ－１、ＱＡ－２、ＱＡ－３、ＱＡ－４、ＱＡ－５、ＱＡ－６、ＱＡ－７、ＱＡ－８、ＱＡ－９、ＱＡ－１０、ＱＡ－１１、ＱＡ－１２、ＱＡ－１３、ＱＡ－１４、ＱＡ－１５、ＱＡ－１６、ＱＡ－１７、ＱＡ－１８、ＱＡ－１９、ＱＡ－２０、ＱＡ－２１、及びＱＡ－２２、特にＱＡ－７、ＱＡ－１７、ＱＡ－１８、及びＱＡ－２１が使用され得る。これらは、特に第６頁、ならびに第８頁及び第９頁の実施例１においてＥＰ　０　３６３２　２７９　Ｂ２に記載されているように得られる。

【０２６２】

本明細書に記載され、アジュバントの形成に使用されるサポニン画分は、しばしば実質的に純粋な画分であり、すなわち、この画分は、他の材料からの汚染の存在を実質的に有しない。特定の態様では、実質的に純粋なサポニン画分は、４０重量％まで、３０重量％まで、２５重量％まで、２０重量％まで、１５重量％まで、１０重量％まで、７重量％まで、５重量％まで、２重量％まで、１重量％まで、０．５重量％まで、または０．１重量％までの他の化合物、例えば他のサポニンまたは他のアジュバント物質を含み得る。

【０２６３】

ＩＳＣＯＭ構造

サポニン画分は、ＩＳＣＯＭ（Ｉｍｍｕｎｅ　Ｓｔｉｍｕｌａｔｉｎｇ　ＣＯＭｐｌｅｘ）と呼ばれるケージ様粒子の形態で投与され得る。ＩＳＣＯＭは、ＥＰ０１０９９４２Ｂ１、ＥＰ０２４２３８０Ｂ１、及びＥＰ０１８０５４６　Ｂ１に記載の通りに製造することができる。特定の実施形態では、ＥＰ　９６００６４７－３（ＰＣＴ／ＳＥ９７／００２８９）に記載されているように、輸送抗原及び／またはパッセンジャー抗原を使用することができる。

【０２６４】

マトリクスアジュバント

実施形態では、ＩＳＣＯＭは、ＩＳＣＯＭマトリクス複合体である。ＩＳＣＯＭマトリクス複合体は少なくとも１つのサポニン画分及び脂質を含む。脂質は、コレステロールなどの少なくとも１種のステロールである。特定の態様では、ＩＳＣＯＭマトリクス複合体はリン脂質も含む。ＩＳＣＯＭマトリクス複合体はまた、必ずしもグリコシドではない１つ以上の他の免疫調節性（アジュバント活性）物質を含有してもよく、ＥＰ０４３６６２０Ｂ１に記載されているように製造されてもよく、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２６５】

他の態様では、ＩＳＣＯＭはＩＳＣＯＭ複合体である。ＩＳＣＯＭ複合体は、少なくとも１つのサポニン、少なくとも１つの脂質、少なくとも１種の抗原またはエピトープを含む。ＩＳＣＯＭ複合体は、抗原の一部が粒子に一体化するように洗剤処理によって会合した抗原を含む。対照的に、ＩＳＣＯＭマトリクスは、抗原との混和材料として調製されており、ＩＳＣＯＭマトリクス粒子と抗原との会合は、静電及び／または疎水性相互作用によって媒介される。

【０２６６】

一実施形態によれば、ＩＳＣＯＭマトリクス複合体またはＩＳＣＯＭ複合体に組み込まれたサポニン画分、またはＩＳＣＯＭもしくはＩＳＣＯＭマトリクス複合体にもまた組み込まれるかまたは混合される少なくとも１つの追加のアジュバントは、Ｑｕｉｌｌａｊａ　ｓａｐｏｎａｒｉａの画分Ａ、画分Ｂ、または画分Ｃ、Ｑｕｉｌｌａｊａ　ｓａｐｏｎａｒｉａの半精製調製物、Ｑｕｉｌｌａｊａ　ｓａｐｏｎａｒｉａの精製調製物、または任意の精製副画分、例えば、ＱＡ　１－２１から選択される。

【０２６７】

特定の態様では、それぞれのＩＳＣＯＭ粒子は、少なくとも２つのサポニン画分を含み得る。異なるサポニン画分の任意の組み合わせを使用することができる。任意の２つの画分の重量％の任意の組み合わせを使用することができる。例えば、この粒子は、任意の重量％の画分Ａ及び任意の重量％の別のサポニン画分、例えばそれぞれ粗サポニン画分また

は画分Ｃを含み得る。したがって、特定の態様では、それぞれのＩＳＣＯＭマトリクス粒子またはそれぞれのＩＳＣＯＭ複合体粒子は、０．１～９９．９重量％、５～９５重量％、１０～９０重量％、１５～８５重量％、２０～８０重量％、２５～７５重量％、３０～７０重量％、３５～６５重量％、４０～６０重量％、４５～５５重量％、４０～６０重量％、または５０重量％の１つのサポニン画分、例えば画分Ａと、別のサポニン、例えばあらゆる粗分画分またはあらゆる他の画分、例えば画分Ｃのそれぞれ場合で１００％までの残部と、を含み得る。その重量は、サポニン画分の全重量として計算される。ＩＳＣＯＭマトリクス複合体及びＩＳＣＯＭ複合体アジュバントの例は、米国特許出願公開第２０１３／０１２９７７０号明細書に開示されており、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２６８】

特定の実施形態では、ＩＳＣＯＭマトリクスまたはＩＳＣＯＭ複合体は、５～９９重量％の１つの画分、例えば画分Ａと、１００％までの残部の別の画分、例えば粗サポニン画分または画分Ｃと、を含む。その重量は、サポニン画分の全重量として計算される。

【０２６９】

別の実施形態では、ＩＳＣＯＭマトリクスまたはＩＳＣＯＭ複合体は、４０重量％～９９重量％の１つの画分、例えば画分Ａと、１重量％～６０重量％までの別の画分、例えば粗サポニン画分または画分Ｃと、を含む。その重量は、サポニン画分の全重量として計算される。

【０２７０】

さらに別の実施形態では、ＩＳＣＯＭマトリクスまたはＩＳＣＯＭ複合体は、７０重量％～９５重量％の１つの画分、例えば画分Ａと、３０重量％～５重量％までの別の画分、例えば粗サポニン画分または画分Ｃと、を含む。その重量は、サポニン画分の全重量として計算される。他の実施形態では、Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａ由来のサポニン画分は、ＱＡ１～２１のいずれか１つから選択される。

【０２７１】

サポニン画分の混合物を含む粒子に加えて、ＩＳＣＯＭマトリクス粒子及びＩＳＣＯＭ複合体粒子はそれぞれ１つのサポニン画分のみを使用して形成され得る。本明細書に開示される組成物は、複数の粒子を含むことができ、それぞれの粒子は１つのサポニン画分のみを含む。すなわち、特定の組成物は、１種以上の異なる種類のＩＳＣＯＭマトリクス複合体粒子及び／または１種以上の異なる種類のＩＳＣＯＭ複合体粒子を含み得、それぞれの粒子は、Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａからの１つのサポニン画分を含み、１つの複合体中のサポニン画分は、他の複合体粒子中のサポニン画分とは異なる。

【０２７２】

特定の態様では、１つの種類のサポニン画分または粗サポニン画分が１つのＩＳＣＯＭマトリクス複合体または粒子に組み込まれ得て、別の種類の実質的に純粋なサポニン画分または粗サポニン画分が別のＩＳＣＯＭマトリクス複合体または粒子に組み込まれ得る。組成物またはワクチンは、少なくとも２種類の複合体または粒子を含み得、それぞれの種類の複合体または粒子が物理的に異なる粒子に組み込まれた１種類のサポニンを有する。

【０２７３】

組成物においては、一つのサポニン画分Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａと別のサポニン画分Ｑｕｉｌｌａｊａ ｓａｐｏｎａｒｉａ Ｍｏｌｉｎａとを別々に異なるＩＳＣＯＭマトリクス複合体粒子及び／またはＩＳＣＯＭ複合体粒子に組み込んだＩＳＣＯＭマトリクス複合体粒子及び／またはＩＳＣＯＭ複合体粒子の混合物を用いてもよい。

【０２７４】

それぞれが１つのサポニン画分を有するＩＳＣＯＭマトリクスまたはＩＳＣＯＭ複合体粒子は、重量％の任意の組み合わせで組成物中に存在し得る。特定の態様では、組成物は、０．１重量％～９９．９重量％、５重量％～９５重量％、１０重量％～９０重量％、１

５重量％～８５重量％、２０重量％～８０重量％、２５重量％～７５重量％、３０重量％～７０重量％、３５重量％～６５重量％、４０重量％～６０重量％、４５重量％～５５重量％、４０重量％～６０重量％、または５０重量％のＩＳＣＯＭマトリクスまたは第１のサポニン画分を含み、残部は異なるサポニン画分を含むＩＳＣＯＭマトリクスまたは複合体で構成される。複数の態様では、残部は、１つ以上のＩＳＣＯＭマトリクスまたは錯体であり、それぞれのマトリクスまたは複合体粒子は、１つのサポニン画分のみを含む。他の態様では、ＩＳＣＯＭマトリクスまたは複合体粒子は、２つ以上のサポニン画分を含み得る。

【０２７５】

特定の組成物では、第１のＩＳＣＯＭマトリクスまたはＩＳＣＯＭ複合体粒子中の唯一のサポニン画分は画分Ａであり、第２のＩＳＣＯＭマトリクスまたはＩＳＣＯＭ複合体粒子中の唯一のサポニン画分は画分Ｃである。

【０２７６】

好ましい組成物は、画分Ａを含む第１のＩＳＣＯＭマトリクスと、画分Ｃを含む第２のＩＳＣＯＭマトリクスとを含み、画分ＡのＩＳＣＯＭマトリクスは、全サポニンアジュバントの約７０重量％を構成し、画分ＣのＩＳＣＯＭマトリクスは、全サポニンアジュバントの約３０重量％を構成する。別の好ましい組成物では、画分ＡのＩＳＣＯＭマトリクスは、全サポニンアジュバントの約８５重量％を構成し、画分ＣのＩＳＣＯＭマトリクスは、全サポニンアジュバントの約１５重量％を構成する。したがって、特定の組成物では、画分ＡのＩＳＣＯＭマトリクスは、組成物中のサポニンアジュバントの全重量の約７０％～約８５％の範囲内で存在し、画分ＣのＩＳＣＯＭマトリクスは、組成物中のサポニンアジュバントの全重の約１５％～約３０％の範囲内で存在する。実施形態では、画分ＡのＩＳＣＯＭマトリクスは、アジュバント中の画分ＡのＩＳＣＯＭマトリクス及び画分ＣのＩＳＣＯＭマトリクスのそれぞれ合計の重量の５０～９６重量％を占め、画分ＣのＩＳＣＯＭ行列は、残部を占める。本明細書においてＭＡＴＲＩＸ－Ｍ（商標）と呼ばれる特に好ましい組成物では、画分ＡのＩＳＣＯＭマトリクスが、組成物中のサポニンアジュバントの全重量の約８５％で存在し、画分Ｃ型ＩＳＣＯＭマトリクスは、組成物中のサポニンアジュバントの全重量の約１５％で存在する。ＭＡＴＲＩＸ－Ｍ（商標）は、交換可能にＭＡＴＲＩＸ－Ｍ１と呼ばれる場合がある。

【０２７７】

例示的なＱＳ－７及びＱＳ－２１の画分、それらの製造及びそれらの使用は、米国特許第５，０５７，５４０号、同第６，２３１，８５９号、同第６，３５２，６９７号、同第６，５２４，５８４号、同第６，８４６，４８９号、同第７，７７６，３４３号、同第８，１７３，１４１号に記載され、それらの内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２７８】

実施形態では、他のアジュバントが、付加的にまたは代替的に使用されてよい。あらゆる目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれるＶｏｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，“Ａ Ｃｏｍｐｅｎｄｉｕｍ ｏｆ Ｖａｃｃｉｎｅ Ａｄｊｕｖａｎｔｓ ａｎｄ Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔｓ（２ｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ）”に記載された任意のアジュバントの包含が、本開示の範囲内に想定される。他のアジュバントとしては、フロイント完全アジュバント（死滅したＭｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓを含む免疫応答の非特異的刺激剤）、不完全なフロイントアジュバント、及び水酸化アルミニウムアジュバントが挙げられる。他のアジュバントとしては、ＧＭＣＳＰ、ＢＣＧ、ＭＤＰ化合物、例えばｔｈｕｒ－ＭＤＰ及びｎｏｒ－ＭＤＰ、ＣＧＰ（ＭＴＰ－ＰＥ）、リピドＡ及びモノホスホリルリピドＡ（ＭＰＬ）、ＭＦ－５９、ＲＩＢＩが挙げられ、これらは２％スクアレン／ＴＷＥＥＮ（登録商標）ポリソルベート８０エマルション中の細菌、ＭＰＬ、トレハロースジコラート（ＴＤＭ）、及び細胞壁骨格（ＣＷＳ）から抽出される３成分を含む。実施形態では、アジュバントは、少層（ｐａｕｃｉｌａｍｅｌｌａｒ）膜脂質小胞、例えば、ＮＯＶＡＳＯＭＥＳ（登録商標）であってもよい。ＮＯＶＡＳＯＭＥＳ（登録商標）は、約１００ｎｍ～約５００ｎｍの範囲の少層膜非リン脂質小胞である。それらは

、ＢＲＩＪ（登録商標）アルコールエトキシレート７２、コレステロール、オレイン酸、及びスクアレンを含む。ＮＯＶＡＳＯＭＥＳ（登録商標）が効果的なアジュバントであることが示されている（例えば、米国特許第５，６２９，０２１号、同第６，３８７，３７３号、及び同第４，９１１，９２８号を参照されたい）。

【０２７９】

投与及び投与量

実施形態では、本開示は、１つ以上のコロナウイルス及び／またはインフルエンザウイルスに対して免疫応答を誘発するための方法を提供する。実施形態では、応答は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス、ＭＥＲＳ、及びＳＡＲＳのうちの１つ以上に対する。実施形態では、応答は、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対するものである。不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株の非限定的な例としては、Ｃａｌ．２０Ｃ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｐ．１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．３５１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、及びＢ．１．１．７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株が挙げられる。この方法は、本明細書に記載の免疫原性組成物の免疫学的有効量を対象に投与することを含む。有利には、本明細書に開示されるタンパク質は、特に有用な抗コロナウイルス応答及び／または抗インフルエンザ応答のうちの１つ以上を誘導する。

【０２８０】

実施形態では、本明細書に記載の組成物は、アジュバントとともに投与される。実施形態では、本明細書に記載の組成物は、アジュバントを伴わずに投与される。複数の態様では、アジュバントは、例えば非共有相互作用によってナノ粒子に結合され得る。他の態様では、アジュバントはナノ粒子と共投与されるが、アジュバントとナノ粒子とは実質的に相互作用しない。

【０２８１】

実施形態では、組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株感染、ＳＡＲＳ感染、ＭＥＲＳ感染、及びインフルエンザ感染、またはそれらの組み合わせのうちの１つ以上の予防及び／または治療に使用することができる。したがって、本開示は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス、ＭＥＲＳ、ＳＡＲＳ、及びインフルエンザウイルスのうちの１つ以上に対する免疫応答を誘発する方法を提供する。この方法は、本明細書に記載の組成物の免疫学的有効量を対象に投与することを含む。有利には、本明細書に開示される組成物は、特に有用な抗コロナウイルス応答及び／または抗インフルエンザ応答を誘導する。

【０２８２】

実施形態では、本明細書に記載の組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスまたは不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対して約５０％～約９９％、約８０％～約９９％、約７５％～約９９％、約８０％～約９５％、約９０％～約９８％、約７５％～約９５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の有効性を有する。実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子またはＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｃａｌ．２０Ｃ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対して約５０％～約９９％、約８０％～約９９％、約７５％～約９９％、約８０％～約９５％、約９０％～約９８％、約７５％～約９５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の有効性を有する。実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子またはＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｐ．１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対して約５０％～約９９％、約８０％～約９９％、約７５％～約９９％、約８０％～約９５％、約９０％～約９８％

、約７５％～約９５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の有効性を有する。実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子またはＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｂ．１．３５１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対して約５０％～約９９％、約８０％～約９９％、約７５％～約９９％、約８０％～約９５％、約９０％～約９８％、約７５％～約９５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の有効性を有する。実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子またはＣｏＶ　Ｓポリペプチドは、Ｂ．１．１．７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対して約５０％～約９９％、約８０％～約９９％、約７５％～約９９％、約８０％～約９５％、約９０％～約９８％、約７５％～約９５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の有効性を有する。

【０２８３】

実施形態では、インフルエンザウイルスに対する本明細書に記載の組成物の免疫原性は、ＨＡＩアッセイを使用するか、または中和抗体を測定することによって決定される。ＨＡＩアッセイを実施するための方法は、以下の論文に記載されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：Ｃｏｗｌｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．Ｃｌｉｎ　Ｉｎｆｅｃｔ　Ｄｉｓ．２０１９；６８（１０）：１７１３－１７１７。実施形態では、ナノ粒子インフルエンザワクチンの免疫原性を、市販のインフルエンザワクチン組成物と比較することができる。本明細書で使用される場合、「市販のインフルエンザワクチン組成物」は、医療用途に利用可能な任意のインフルエンザワクチン組成物であり得る。例えば、市販のインフルエンザワクチン組成物は、三価または四価注射のために調製され得る。実施形態では、注射製剤は、ウイルスの不活性化形態を含むことができる。実施形態では、市販のインフルエンザワクチン組成物は、鼻腔スプレー用に調製され得る。実施形態では、鼻腔スプレー用の製剤は、ウイルスの弱毒化または弱化形態を含んでよい。実施形態では、本明細書に開示される組成物は、同じ亜型インフルエンザ内のウイルスに使用されている配列に対してドリフトした（すなわち、わずかな変異を受けた）インフルエンザ株に結合する中和抗体を誘導する。実施形態では、組成物で使用される株のうちの１つ、２つ、３つ、４つまたはすべてによって、１つドリフトした株に対する中和抗体、２つドリフトした株に対する中和抗体、３つドリフトした株に対する中和抗体、４つドリフトした株に対する中和抗体、または５つドリフトした株に対する中和抗体が誘導される。

【０２８４】

本明細書に開示される組成物は、全身経路もしくは粘膜経路または経皮経路を介してまたは特定の組織に直接投与することができる。本明細書で使用される場合、「全身投与」という用語には、非経口経路による投与が含まれる。特に、非経口投与には、皮下、腹腔内、静脈内、動脈内、筋肉内、胸骨内の注射、経皮、静脈内または腎臓透析注入技術が含まれる。典型的には、全身的非経口投与は、筋肉内注射である。本明細書で使用される場合、「粘膜投与」という用語は、経口投与、鼻腔内投与、膣内投与、直腸内投与、気管内投与、腸内投与、及び眼科投与を含む。好ましくは、投与は筋肉内投与である。

【０２８５】

組成物は、単回投与スケジュールまたは複数回投与スケジュールで投与することができ

る。複数回投与を、一次免疫スケジュールまたは追加免疫スケジュールにおいて使用することができる。複数回投与スケジュールでは、様々な用量を、同じまたは異なる経路、例えば、非経口の一次及び粘膜の追加、粘膜の一次及び非経口の追加などによって与えることができる。態様では、追加的な追加の用量は、先行の投与の約２週間後、約３週間後、約４週間後、約５週間後、または約６週間後に投与される。実施形態では、追加的な追加の用量は、その前の用量の投与の３週間後に投与される。実施形態によれば、第１の用量は、０日目に投与され、追加用量は、２１日目に投与される。実施形態によれば、第１の用量は、０日目に投与され、追加用量は、２８日目に投与される。

【０２８６】

実施形態では、用量は、μｇで測定して、溶質を含む用量の総重量であってもよいし、ナノ粒子の重量であってもよいし、ナノ粒子中のタンパク質の重量（例えば、ヘマグルチニンまたはＣｏＶ　Ｓポリペプチドの重量）であってもよい。用量は、Ａ２８０またはＥＬＩＳＡのいずれかによるタンパク質濃度アッセイを用いて測定される。

【０２８７】

小児への投与を含めた、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量は、約１μｇ～約２５μｇ、約３μｇ～約２５μｇ、約５μｇ～約２５μｇ、約５μｇ～約５０μｇ、約１μｇ～約３００μｇ、約９０μｇ～約２７０μｇ、約１００μｇ～約１６０μｇ、約１１０μｇ～約１５０μｇ、約１２０μｇ～約１４０μｇ、または約１４０μｇ～約１６０μｇの範囲であってよい。実施形態では、用量は、ミョウバンとともに投与される約１２０μｇである。態様では、用量は、約１μｇ～約９０μｇの範囲である。実施形態では、ＣｏＶスパイク（Ｓ）ポリペプチドの用量は、約１μｇ、約２μｇ、約３μｇ、約４μｇ、約５μｇ、約６μｇ、約７μｇ、約８μｇ、約９μｇ、約１０μｇ、約１１μｇ、約１２μｇ、約１３μｇ、約１４μｇ、約１５μｇ、約１６μｇ、約１７μｇ、約１８μｇ、約１９μｇ、約２０μｇ、約２１、約２２、約２３、約２４、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９μｇ、約３０μｇ、約４０μｇ、約５０、約６０、約７０、約８０、約９０、約１００μｇ、約１１０μｇ、約１２０μｇ、約１３０μｇ、約１４０μｇ、約１５０μｇ、約１６０μｇ、約１７０μｇ、約１８０μｇ、約１９０μｇ、約２００μｇ、約２１０μｇ、約２２０μｇ、約２３０μｇ、約２４０μｇ、約２５０μｇ、約２６０μｇ、約２７０μｇ、約２８０μｇ、約２９０μｇ、または約３００μｇであり、それらの間のすべての値及び範囲を含む。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量は約３μｇである。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量は約５μｇである。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量は約２５μｇである。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量は約２０μｇである。

【０２８８】

免疫原性組成物中のヘマグルチニンの総量は、約２５μｇ～約２００μｇ、約３０μｇ～約１５０μｇ、約５０μｇ～約１００μｇ、約４５μｇ～約１８０μｇ、約６０μｇ～約１９０μｇ、または約１００μｇ～約２００μｇの範囲であり得る。特定の実施形態では、免疫原性組成物中のインフルエンザＨＡタンパク質の量は、１株あたり約５μｇ～１株あたり約８０μｇ、１株あたり約１０μｇ～１株あたり約７５μｇ、１株あたり約１５μｇ～１株あたり約７０μｇ、１株あたり約２０μｇ～１株あたり約６５μｇ、１株あたり約２５μｇ～１株あたり約６０μｇ、１株あたり約３０μｇ～１株あたり約５５μｇ、１株あたり約３５μｇ～１株あたり約５０μｇ、１株あたり約１５μｇ～１株あたり約６０μｇの範囲であり得る。１株あたりの用量、例えば１株あたり１０μｇとは、インフルエンザの特定の株からのヘマグルチニンの用量を指す。実施形態では、対象には、１株あたり約５μｇ～約１００μｇのヘマグルチニンを含む免疫原性組成物が投与される。例えば、実施形態では、組成物は、１株あたり、約５μｇ、約６μｇ、約７μｇ、約７．５μｇ、約８μｇ、約９μｇ、約１０μｇ、約１１μｇ、約１２μｇ、約１３μｇ、約１４μｇ、約１５μｇ、約１６μｇ、約１７μｇ、約１８μｇ、約１９μｇ、約２０μｇ、約２１、約２２、約２３、約２４、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９μｇ、約３０μｇ、約３１μｇ、約３２μｇ、約３３μｇ、約３４μｇ、約３５μｇ、

約３６μｇ、約３７μｇ、約３８μｇ、約３９μｇ、約４０μｇ、約４１μｇ、約４２μｇ、約４３μｇ、約４４μｇ、約４５μｇ、約４６μｇ、約４７μｇ、約４８μｇ、約４９μｇ、約５０μｇ、約５１μｇ、約５２μｇ、約５３μｇ、約５４μｇ、約５５μｇ、約５６μｇ、約５７μｇ、約５８μｇ、約５９μｇ、約６０μｇ、約６１μｇ、約６２μｇ、約６３μｇ、約６４μｇ、約６５μｇ、約６６μｇ、約６７μｇ、約６８μｇ、約６９μｇ、約７０μｇ、約７１μｇ、約７２μｇ、約７３μｇ、約７４μｇ、約７５μｇ、約７６μｇ、約７７μｇ、約７８μｇ、約７９μｇ、約８０μｇ、約８１μｇ、約８２μｇ、約８３μｇ、約８４μｇ、約８５μｇ、約８６μｇ、約８７μｇ、約８８μｇ、約８９μｇ、約９０μｇ、約９１μｇ、約９２μｇ、約９３μｇ、約９４μｇ、約９５μｇ、約９６μｇ、約９７μｇ、約９８μｇ、約９９μｇ、または約１００μｇのヘマグルチニンを含む。実施形態では、組成物は、１株あたり２４μｇ～４０μｇのヘマグルチニンを含む。

【０２８９】

実施形態では、患者に、１株あたり約５～６０μｇのヘマグルチニン及び約２．５～２２．５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む免疫原性組成物を投与する。実施形態では、組成物は、１株あたり約２４μｇ～４０μｇのヘマグルチニン及び５μｇ～約２５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、免疫原性組成物は、１株あたり５μｇ、１０μｇ、３５μｇ、または６０μｇのヘマグルチニンを含む。実施形態では、免疫原性組成物は、２．５μｇ、７．５μｇ、または２２．５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、免疫原性組成物は、３つまたは４つのインフルエンザ菌株からのヘマグルチニンを含む。実施形態では、免疫原性組成物は、約４０μｇのサポニンアジュバント、例えばＭＡＴＲＩＸ－Ｍ（商標）を含む。実施形態では、免疫原性組成物は、約５０μｇのサポニンアジュバント、例えばＭＡＴＲＩＸ－Ｍ（商標）を含む。実施形態では、１株あたりのヘマグルチニンの用量及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量は、表１Ｈに見出される。

【０２９０】

実施形態では、患者には、免疫原性組成物の最初の投与後４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、または６１日目に免疫原性組成物の追加用量が投与される。実施形態では、患者には、免疫原性組成物の最初の投与後５６日目に免疫原性組成物の追加用量が投与される。実施形態では、患者には、免疫原性組成物の最初の投与後５６日目（＋５日）に免疫原性組成物の追加用量が投与される。実施形態では、追加用量は、初回用量と同じ量の、１株あたりのヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、追加用量は、初回用量とは異なる量の、１株あたりのヘマグルチニン、ＣｏＶ　Ｓポリペプチド、またはそれらの組み合わせを含む。実施形態では、免疫原性組成物の追加用量における１株あたりのヘマグルチニンの量及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの量は、表１Ｈから選択される。

【表９】

表１Ｈ

選択肢	１株あたりのヘマグルチニン（μｇ）	ＣｏＶ　Ｓポリペプチド（μｇ）
Ａ	６０	２２．５
Ｂ	１０	２．５
Ｃ	６０	２２．５
Ｄ	１０	７．５
Ｅ	１０	２２．５
Ｆ	３５	７．５
Ｇ	５	２２．５
Ｈ	６０	２．５
Ｉ	５	７．５
Ｊ	５	２．５
Ｋ	３５	２２．５
Ｌ	３５	２．５
Ｍ	６０	７．５
Ｎ	６０	２．５
Ｏ	２４	２５
Ｐ	２５	２５
Ｑ	２６	２５
Ｒ	２７	２５
Ｓ	２８	２５
Ｔ	２９	２５
Ｕ	３０	２５
Ｖ	３１	２５
Ｗ	３２	２５
Ｘ	３３	２５
Ｙ	３４	２５
Ｚ	３５	２５
ＡＡ	３６	２５
ＡＢ	３７	２５
ＡＣ	３８	２５
ＡＤ	３９	２５
ＡＥ	４０	２５

【０２９１】

実施形態では、患者に、１株あたり約５～６０μｇのヘマグルチニンを含む第１の免疫原性組成物と約２．５～約２２．５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む第２の免疫原性組成物とを投与する。実施形態では、第１の免疫原性組成物は、１株あたり約５μｇ、約１０μｇ、約３５μｇ、または約６０μｇのヘマグルチニンを含む。実施形態では、第２の免疫原性組成物は、約２．５μｇ、約７．５μｇ、約２２．５μｇ、または約２５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、第１の免疫原性組成物は、３つまたは４つのインフルエンザ菌株からのヘマグルチニンを含む。実施形態では、第１の免疫原性組成物中の１株あたりのヘマグルチニンの量及び第２の免疫原性組成物中のＣｏＶ　Ｓポ

リペプチドの量は、表１Ｈに記載されている。実施形態では、第１の免疫原性組成物、第２の免疫原性組成物、またはその両方は、約５０μｇのサポニンアジュバント、例えば、ＭＡＴＲＩＸ－Ｍ（商標）を含む。実施形態では、患者には、第１の免疫原性組成物、第２の免疫原性組成物またはその両方の初回投与の、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０または６１日後に、第１の免疫原性組成物、第２の免疫原性組成物、またはその両方の追加用量が投与される。実施形態では、患者には、第１の免疫原性組成物、第２の免疫原性組成物、またはその両方の最初の投与後５６日目に免疫原性組成物の追加用量が投与される。実施形態では、患者には、第１の免疫原性組成物、第２の免疫原性組成物、またはその両方の最初の投与後５６日目（＋５日）に免疫原性組成物の追加用量が投与される。実施形態では、追加用量は、初回用量と同じ量の、１株あたりのヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、追加用量は、初回用量とは異なる量の、１株あたりのヘマグルチニン、ＣｏＶ　Ｓポリペプチド、またはそれらの組み合わせを含む。実施形態では、第１または第２の免疫原性組成物の追加用量における１株あたりのヘマグルチニンの量及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの量は、表１Ｈから選択される。特定の集団は、アジュバントを用いてまたは用いずに投与されてよい。特定の態様では、組成物は追加のアジュバントを含まなくてもよい。このような状況では、用量を約１０％増加させることができる。

【０２９２】

実施形態では、患者には、１株あたり約２４μｇ～約４０μｇのヘマグルチニン及び約２０μｇを超えるＣｏＶ　Ｓポリペプチド用量が投与される。実施形態では、患者には、１株あたり２４～４０μｇのヘマグルチニン及び約２５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチド用量が投与される。

【０２９３】

実施形態では、アジュバントの用量は、約１μｇ～約１００μｇ、例えば、約１μｇ、約２μｇ、約３μｇ、約４μｇ、約５μｇ、約６μｇ、約７μｇ、約８μｇ、約９μｇ、約１０μｇ、約１１μｇ、約１２μｇ、約１３μｇ、約１４μｇ、約１５μｇ、約１６μｇ、約１７μｇ、約１８μｇ、約１９μｇ、約２０μｇ、約２１、約２２、約２３、約２４、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９μｇ、約３０μｇ、約３１μｇ、約３２μｇ、約３３μｇ、約３４μｇ、約３５μｇ、約３６μｇ、約３７μｇ、約３８μｇ、約３９μｇ、約４０μｇ、約４１μｇ、約４２μｇ、約４３μｇ、約４４μｇ、約４５μｇ、約４６μｇ、約４７μｇ、約４８μｇ、約４９μｇ、約５０μｇ、約５１μｇ、約５２μｇ、約５３μｇ、約５４μｇ、約５５μｇ、約５６μｇ、約５７μｇ、約５８μｇ、約５９μｇ、約６０μｇ、約６１μｇ、約６２μｇ、約６３μｇ、約６４μｇ、約６５μｇ、約６６μｇ、約６７μｇ、約６８μｇ、約６９μｇ、約７０μｇ、約７１μｇ、約７２μｇ、約７３μｇ、約７４μｇ、約７５μｇ、約７６μｇ、約７７μｇ、約７８μｇ、約７９μｇ、約８０μｇ、約８１μｇ、約８２μｇ、約８３μｇ、約８４μｇ、約８５μｇ、約８６μｇ、約８７μｇ、約８８μｇ、約８９μｇ、約９０μｇ、約９１μｇ、約９２μｇ、約９３μｇ、約９４μｇ、約９５μｇ、約９６μｇ、約９７μｇ、約９８μｇ、約９９μｇ、または約１００μｇのアジュバントである。実施形態では、アジュバントの用量は、約５０μｇである。実施形態では、アジュバントは、サポニンアジュバント、例えば、ＭＡＴＲＩＸ－Ｍ（商標）である。

【０２９４】

実施形態では、用量は、約０．１ｍＬ～約１．５ｍＬ、例えば、約０．１ｍＬ、約０．２ｍＬ、約０．２５ｍＬ、約０．３ｍＬ、約０．４ｍＬ、約０．５ｍＬ、約０．６ｍＬ、約０．７ｍＬ、約０．８ｍＬ、約０．９ｍＬ、約１．０ｍＬ、約１．１ｍＬ、約１．２ｍＬ、約１．３ｍＬ、約１．４ｍＬ、または約１．５ｍＬの容量で投与される。実施形態では、用量は、０．２５ｍＬの容量で投与される。実施形態では、用量は、０．５ｍＬの容量で投与される。実施形態では、用量は、０．６ｍＬの容量で投与される。

【０２９５】

実施形態では、用量は、約１μｇ／ｍＬ～約５０μｇ／ｍＬ、１０μｇ／ｍＬ～約１０

０μｇ／ｍＬ、約１０μｇ／ｍＬ～約５０μｇ／ｍＬ、約１７５μｇ／ｍＬ～約３２５μｇ／ｍＬ、約２００μｇ／ｍＬ～約３００μｇ／ｍＬ、約２２０μｇ／ｍＬ～約２８０μｇ／ｍＬ、または約２４０μｇ／ｍＬ～約２６０μｇ／ｍＬのＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはヘマグルチニンの濃度を有し得る。

【０２９６】

実施形態では、本明細書に記載の免疫原性組成物は、追加の免疫原性組成物と組み合わせて投与される。実施形態では、追加の免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫応答を誘発する。実施形態では、追加の免疫原性組成物は、開示された免疫原性組成物の約１分以内、約５分以内、約１０分以内、約２０分以内、約３０分以内、約４０分以内、約５０分以内、約１時間以内、約２時間以内、約３時間以内、約４時間以内、約５時間以内、約６時間以内、約７時間以内、約８時間以内、約９時間以内、約１０時間以内、約１１時間以内、約１２時間以内、約１３時間以内、約１４時間以内、約１５時間以内、約１６時間以内、約１７時間以内、約１８時間以内、約１９時間以内、約２０時間以内、約２１時間以内、約２２時間以内、約２３時間以内、約１日以内、約２日以内、約３日以内、約４日以内、約５日以内、約６日以内、約７日以内、約８日以内、約９日以内、約１０日以内、約１１日以内、約１２日以内、約１３日以内、約１４日以内、約１５日以内、約１６日以内、約１７日以内、約１８日以内、約１９日以内、約２０日以内、約２１日以内、約２２日以内、約２３日以内、約２４日以内、約２５日以内、約２６日以内、約２７日以内、約２８日以内、約２９日以内、約３０日以内、または約３１日以内に投与される。実施形態では、追加の組成物は、本明細書に記載される組成物の第１の用量で投与される。実施形態では、追加の組成物は、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物の追加用量で投与される。実施形態では、追加の組成物は、（ａ）（ｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態のＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質（洗剤は、非イオン性洗剤である）と、（ｉｉ）薬学的に許容可能な緩衝液と、を含む第１の免疫原性組成物、及び（ｂ）（ｉ）少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質（それぞれのＨＡ糖タンパク質が異なるインフルエンザ株由来である）と、（ｉｉ）薬学的に許容可能な緩衝液と、を含む第２の免疫原性組成物とともに投与される。実施形態では、追加の組成物は、第１の免疫原性組成物及び／または第２の免疫原性組成物の初回用量で投与される。実施形態では、追加の組成物は、第１の免疫原性組成物及び／または第２の免疫原性組成物の追加用量で投与される。

【０２９７】

実施形態では、本明細書において、本明細書に記載の免疫原性組成物を投与することを含む、１つ以上のコロナウイルス及び／またはインフルエンザウイルスに対する免疫応答を誘発するための方法が提供される。実施形態では、本明細書において、１つ以上のコロナウイルス及び／またはインフルエンザウイルスに対する免疫応答を誘発する方法であって、（ａ）（ｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態のＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質（洗剤は、非イオン性洗剤である）と、（ｉｉ）薬学的に許容可能な緩衝液と、を含む第１の免疫原性組成物を投与することと、及び（ｂ）（ｉ）少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質（それぞれのＨＡ糖タンパク質が異なるインフルエンザ株由来である）と、（ｉｉ）薬学的に許容可能な緩衝液と、を含む第２の免疫原性組成物を投与することと、を含む、方法が提供される。実施形態では、第１の免疫原性組成物は、第２の免疫原性組成物の前に、約２０分間、約３０分間、約４０分間、約５０分間、約１時間、約２時間、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、約７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、約１日間投与される。実施形態では、第１の免疫原性組成物は、第２の免疫原性組成物の後に、約２０分間、約３０分間、約４０分間、約５０分間、約１時間、約２時間、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、約７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、約１日間投与される。典型的には、第

１の免疫原性組成物及び第２の免疫原性組成物は、同時に（すなわち、互いに１５分以内に）投与される。実施形態では、第１の免疫原性組成物は、筋肉内に投与される。実施形態では、第２の免疫原性組成物は、筋肉内に投与される。実施形態では、第２の免疫原性組成物は、鼻腔内に投与される。実施形態では、第１の免疫原性組成物は、筋肉内投与され、第２の免疫原性組成物は、筋肉内投与される。実施形態では、第１の免疫原性組成物は、筋肉内投与され、第２の免疫原性組成物は、鼻腔内投与される。実施形態では、第１の免疫原性組成物と第２の免疫原性組成物は、同じ腕に筋肉内に投与される。実施形態では、第１の免疫原性組成物と第２の免疫原性組成物は、異なる腕に筋肉内に投与される。

【０２９８】

実施形態では、追加の免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイク糖タンパク質をコードするｍＲＮＡ、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイク糖タンパク質をコードするプラスミドＤＮＡ、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイク糖タンパク質をコードするウイルスベクター、または不活性化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスを含む。

【０２９９】

実施形態では、追加の免疫原性組成物は、ＣｏＶ　ＳポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含む。実施形態では、ｍＲＮＡは、配列番号１の９８６及び９８７の位置でプロリン置換を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードする。実施形態では、ｍＲＮＡは、インタクトなフューリン切断部位を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードする。実施形態では、ｍＲＮＡは、配列番号１の９８６及び９８７の位置にプロリン置換を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドと、インタクトなフューリン切断部位とをコードする。実施形態では、ｍＲＮＡは、配列番号１の９８６及び９８７の位置にプロリン置換を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドと、不活性なフューリン切断部位とをコードする。実施形態では、ｍＲＮＡは、配列番号８７のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードする。実施形態では、ＣｏＶ　ＳポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、脂質ナノ粒子に封入されている。ＣｏＶ　ＳポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含む例示的な免疫原性組成物は、Ｊａｃｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎ．Ｅｎｇ．Ｊ．Ｍｅｄ．２０２０、Ａｎ　ｍＲＮＡ　Ｖａｃｃｉｎｅ　ａｇａｉｎｓｔ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－　ｐｒｅｌｉｍｉｎａｒｙ　ｒｅｐｏｒｔに記載され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。実施形態では、ＣｏＶ　ＳポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含む組成物は、２５μｇ、１００μｇ、または２５０μｇの用量で投与される。

【０３００】

実施形態では、追加の免疫原性組成物は、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードするアデノウイルスベクターを含む。実施形態では、ＡＡＶベクターは、野生型ＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードする。実施形態では、ＡＡＶベクターは、配列番号１の９８６及び９８７の位置にプロリン置換を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドと、インタクトなフューリン切断部位とをコードする。実施形態では、ＡＡＶベクターは、配列番号１の９８６及び９８７の位置にプロリン置換を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドと、不活性なフューリン切断部位とをコードする。実施形態では、ＡＡＶベクターは、配列番号８７のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードする。以下の刊行物には、ＣｏＶ　Ｓ　ポリペプチドをコードするアデノウイルスベクターを含む免疫原性組成物が記載されており、それらのそれぞれのは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる：ｖａｎ　Ｄｏｒｅｍａｌｅｎ　Ｎ．ｅｔ　ａｌ．　Ａ　ｓｉｎｇｌｅ　ｄｏｓｅ　ｏｆ　ＣｈＡｄＯｘ１　ＭＥＲＳ　ｐｒｏｖｉｄｅｓ　ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ　ｉｍｍｕｎｉｔｙ　ｉｎ　ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅｓ．　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ａｄｖａｎｃｅｓ，２０２０；ｖａｎ　Ｄｏｒｅｍａｌｅｎ　Ｎ．ｅｔ　ａｌ．ＣｈＡｄＯｘ１　ｎＣｏＶ－１９　ｖａｃｃｉｎａｔｉｏｎ　ｐｒｅｖｅｎｔｓ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ｐｎｅｕｍｏｎｉａ　ｉｎ　ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅｓ．ｂｉｏＲｘｉｖ，（２０２０）。

【０３０１】

実施形態では、追加の免疫原性組成物は、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）を含む。実施形態では、追加の免疫原性組成物は、プラスミドＤＮＡを含む。実施形態では、プラスミド

ＤＮＡは、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードする。実施形態では、ＤＮＡは、配列番号１の９８６及び９８７の位置にプロリン置換を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドと、インタクトなフューリン切断部位とをコードする。実施形態では、ＤＮＡは、配列番号１の９８６及び９８７の位置にプロリン置換を含むＣｏＶ　Ｓポリペプチドと、不活性なフューリン切断部位とをコードする。実施形態では、ＤＮＡは、配列番号８７のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドをコードする。

【０３０２】

実施形態では、追加の免疫原性組成物は、不活性化ウイルスワクチンを含む。

【０３０３】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、及びＨａＳＭａＮを含む免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２または不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株により引き起こされることが確認された感染を有するか、または以前に有していた患者に投与される。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２または不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株による感染は、核酸増幅試験（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応）または血清学的試験（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス抗原に対する抗体の試験）によって確認され得る。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮまたはそれらの組み合わせを含む組成物は、患者がＣＯＶＩＤ－１９と診断されてから少なくとも約３日、少なくとも約１週間、少なくとも約２週間、少なくとも約３週間、少なくとも約４週間後に患者に投与される。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、ＣＯＶＩＤ－１９による患者の診断の後１週間から１年間の間に、例えば、約１週間、約２週間、約３週間、約４週間、約５週間、約６週間、約１か月間、約２か月間、約３か月間、約４か月間、約５か月間、約６か月間、約７か月間、約８か月間、約９か月間、約１０か月間、約１１か月間、または約１年間の間、患者に投与される。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、ＣＯＶＩＤ－１９による患者の診断の後１週間から２０年間の間に、例えば、約１週間、約２週間、約３週間、約４週間、約５週間、約６週間、約１か月間、約２か月間、約３か月間、約４か月間、約５か月間、約６か月間、約７か月間、約８か月間、約９か月間、約１０か月間、約１１か月間、約１年間、約２年間、約３年間、約４年間、約５年間、約６年間、約７年間、約８年間、約９年間、約１０年間、約１１年間、約１２年間、約１３年間、約１４年間、約１５年間、約１６年間、約１７年間、約１８年間、約１９年間、または約２０年間の間、患者に投与される。

【０３０４】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、患者に第１の免疫原性組成物を投与した後に投与される。第１の免疫原性組成物の非限定的な例としては、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク糖タンパク質、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイク糖タンパク質をコードするｍＲＮＡ、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイク糖タンパク質をコードするプラスミドＤＮＡ、ＳＡＲＳ－Ｃｏｖ－２スパイク糖タンパク質をコードするウイルスベクター、または不活性化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスが含まれる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはそれらを含むナノ粒子は、第１の免疫原性組成物の投与後、約１週間～約１年間、約１週間～１か月間、約３週間～４週間、約１週間～５年間、約１年間～約５年間、約１年間～約３年間、約３年間～約５年間、約５年間～約１０年間、約１年間～約１０年間、または約１年間～約２年間の間投与される。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドまたはそれを含むナノ粒子は、第１の免疫原性組成物の投与後約１週間～約１年間の間、例えば第１の免疫原性組成物の投与後、約１週間、約２週間、約３週間、約４週間、約５週間、約６週間、約７週間、約８週間、約９週間、約１０週間、約１か月、約２か月、約３か月、約４か月、約５か月、約６か月、約７か月、約８か月、約９か月、約１０か月、約１１か月、または約１年間の間、投与される。

【０３０５】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはコア　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、ＭＥＲＳ、ＳＡＲＳ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、及び不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株の１種以上に免疫または実質的な免疫を付与する免疫応答を刺激するための免疫原性組成物を調製するのに有用である。粘膜免疫及び細胞免疫のどちらも、感染及び疾患に対する免疫に寄与しうる。上気道で局所的に分泌される抗体は、自然感染に対する抵抗性の大きな因子である。分泌型免疫グロブリンＡ（ｓＩｇＡ）は、上気道の保護に関与しており、血清ＩｇＧは下気道の保護に関与している。感染によって誘発される免疫応答は、同じウイルスまたは抗原的に類似のウイルス株による再感染から保護される。本明細書に開示されたナノ粒子による免疫後に宿主中で産生された抗体は、他の人に投与することもでき、それによって、対象における受動的投与が提供される。

【０３０６】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、以下から選択される１つ以上の改変を有するＳタンパク質を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する交差中和抗体を誘導する：

（ａ）ＮＴＤの１つ以上のアミノ酸の欠失（１つ以上のアミノ酸は、アミノ酸５６、５７、１３１、１３２、１４４、１４５、２２８、２２９、２３０、２３１、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２３９、２４０、またはそれらの組み合わせからなる群から選択される）；

（ｂ）ＮＴＤの１個以上のアミノ酸の変異（１個以上の変異はアミノ酸５、６、７、１３、３９、５１、５３、５４、５６、５７、６２、６３、６７、８２、１２５、１２９、１３１、１３２、１３３、１３９、１４３、１４４、１４５、１７７、２００、２０１、２０２、２０９、２２９、２３３、２４０、２４５、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される）；

（ｃ）ＲＢＤの１個以上のアミノ酸の変異（１個以上のアミノ酸の変異は、アミノ酸３３３、４０４、４１９、４２６、４３９、４４０、４６４、４６５、４７１、４７７、４８１、４８８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される）；

（ｄ）ＳＤ１／２の１個以上のアミノ酸の変異（１個以上のアミノ酸は、５５７、６００、６０１、６４２、６６４、６６８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される）；

（ｅ）不活性なフューリン切断部位（アミノ酸６６９～６７２の１つ以上の変異に対応する）；

（ｆ）Ｓ２サブユニットの１個以上のアミノ酸の欠失（アミノ酸は、６７６～６８５、６７６～７０２、７０２～７１１、７７５～７９３、８０６～８１５及びそれらの組み合わせからなる群から選択される）；

（ｇ）Ｓ２サブユニットの１個以上のアミノ酸の変異（アミノ酸は、６８８、７０３、８４６、８７５、９３７、９６９、９７３、９７４、１０１４、１０５８、１１０５、及び１１６３、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される）；

（ｈ）ＴＭＣＴ（アミノ酸１２０１－１２６０）からの１個以上のアミノ酸の欠失；

（ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質のアミノ酸は、配列番号２に対してナンバリングされる）。

【０３０７】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはコア　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮまたはそれらの組み合わせを含む組成物は、アミノ酸５６の欠失、アミノ酸５７の欠失、アミノ酸１３１の欠失、Ｎ４８８Ｙ、Ａ５５７Ｄ，Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｈ、Ｔ７０３Ｉ、Ｓ９６９Ａ、Ｄ１１０５Ｈ、Ｎ４２６Ｋ、及びＹ４４０Ｆから選択される１つ以上の改変を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対して交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０３０８】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮまたはそれらの組み合わせを含む組成物は、アミノ酸５６の欠失、アミノ酸５７の欠失、アミノ酸１３１の欠失、Ｎ４８８Ｙ、Ａ５５７Ｄ，Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｈ、Ｔ７０３Ｉ、Ｓ９６９Ａ、及びＤ１１０５Ｈから選択される１つ以上の改変を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対して交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０３０９】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、以下から選択される１つ以上の改変を有するＳタンパク質を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する交差中和抗体を誘導する：Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｌ２２９Ｈ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖ（アミノ酸は配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる）。

【０３１０】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮまたはそれらの組み合わせを含む組成物は、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含むＳＡＲＳ－ＣｏＣｏＶ－２ウイルスに対して交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０３１１】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮまたはそれらの組み合わせを含む組成物は、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を含むＳＡＲＳ－ＣｏＣｏＶ－２ウイルスに対して交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０３１２】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、以下から選択される１つ以上の改変を有するＳタンパク質を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する交差中和抗体を誘導する：Ｌ５Ｆ、Ｔ７Ｎ、Ｐ１３Ｓ、Ｄ１２５Ｙ、Ｒ１７７Ｓ、Ｋ４０４Ｔ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、Ｈ６４２Ｙ、Ｔ１０１４Ｉ、及びＶ１１６３Ｆ（アミノ酸は配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる）。

【０３１３】

実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、Ｗ１３９Ｃ及びＬ４３９Ｒから選択される１つ以上の改変を含むＳタンパク質によりＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｗ１３９Ｃ及びＬ４３９Ｒの改変を含むＣｏＶ　Ｓタンパク質は、配列番号１１７または配列番号５のアミノ酸配列を有するシグナルペプチドを伴って発現する。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓタンパク質またはＣｏＶ　Ｓタンパク質を含むナノ粒子は、Ｄ６０１Ｇ、Ｗ１３９Ｃ、及びＬ４３９Ｒから選択される１つ以上の改変を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対して交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、Ｄ６０１Ｇ、Ｗ１３９Ｃ、及びＬ４３９Ｒの改変を含むＣｏＶ　Ｓタンパク質またはナノ粒子は、配列番号１１７または配列番号５のアミノ酸配列を有するシグナルペプチドを伴って発現する。

【０３１４】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、Ｄ６０１Ｇ、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、アミノ酸２２９～２３１、Ｒ２３３Ｉ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む組成物は、Ｌ５Ｆ、Ｄ６７Ａ、Ｄ２０２Ｇ、アミノ酸２２９～２３１の欠失、Ｒ２３３Ｉ、Ｋ４０４Ｎ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、及びＡ６８８Ｖから選択される１つ以上の改変を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する交差中和抗体を誘導し、アミノ酸は、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓポリペプチドに対してナンバリングされる。

【０３１５】
実施形態では、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくは ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはこれらの組み合わせを含む組成物は、本明細書に記載のナノ粒子またはＣｏＶ　Ｓポリペプチドの最後の用量の投与後、約１か月間まで、約２か月間まで、約２．５か月間まで、約３か月間まで、約３．５か月間まで、約４か月間まで、約４．５か月間まで、約５か月間まで、約５．５か月間まで、約６か月間まで、約６．５か月間まで、約７か月間まで、約７．５か月間まで、約８か月間まで、約８．５か月間まで、約９か月間まで、約９．５か月間まで、約１０か月間まで、約１０．５か月間まで、約１１か月間まで、約１１．５か月間まで、約１２か月間まで、約１２．５か月間まで、約１３か月間まで、約１３．５か月間まで、約１４か月間まで、約１４．５か月間まで、約１５か月間まで、約１５．５か月間まで、約１６か月間まで、約１６．５か月間まで、約１７か月間まで、約１７．５か月間まで、約１８か月間まで、約１８．５か月間まで、約１９か月間まで、約１９．５か月間まで、約２０か月間まで、約２０．５か月間まで、約２１か月間まで、約２１．５か月間まで、約２２か月間まで、約２２．５か月間まで、約２３か月間まで、約２３．５か月間まで、約２４か月間まで、約２．１年間まで、約２．２年間まで、約２．３年間まで、約２．４年間まで、約２．５年間まで、約２．６年間まで、約２．７年間まで、約２．８年間まで、約２．９年間まで、約３年間まで、またはそれ以上の期間まで、約５０％～約９９％、約８０％～約９９％、約７５％～約９９％、約８０％～約９５％、約９０％～約９８％、約７５％～約９５％、約８０％～約９０％、約８５％～約９５％、約８０％～約９５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスまたは不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株（例えば、Ｂ．１．１．７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．３５１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｐ．１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．６１７．２　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．５２５　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．５２６　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．６１７．１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｃ．３７　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．６２１　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．１．５２９　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、またはＣａｌ．２０Ｃ　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株）からコロナウイルス疾患１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を予防する有効性を有する。実施形態では、ＣＯＶＩＤ－１９は軽度ＣＯＶＩＤ－１９である。実施形態では、ＣＯＶＩＤ－１９は中程度ＣＯＶＩＤ－１９である。実施形態では、ＣＯＶＩＤ－１９は重症ＣＯＶＩＤ－１９である。実施形態では、ＣＯＶＩＤ－１９は、無症候性ＣＯＶＩＤ－１９である。

【０３１６】
実施形態では、本開示は、高親和性の抗ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、抗Ｓ

ＡＲＳ－ＣｏＶ－２、または抗インフルエンザウイルス抗体のうちの１つ以上を産生する方法を提供する。ＣｏＶ　Ｓポリペプチドもしくはナノ粒子、洗剤－コアナノ粒子、ＨａＳＭａＮ、またはそれらの組み合わせを含む免疫原性組成物を動物に投与し、動物から血清及び／または血漿を採取し、血清及び／または血漿から抗体を精製することにより、本明細書に開示されるナノ粒子で免疫することで産生される高親和性抗体を得る。一実施形態では、動物はヒトである。実施形態では、動物は、ニワトリ、マウス、モルモット、ラット、ウサギ、ヤギ、ヒト、ウマ、ヒツジ、またはウシである。一実施形態では、動物はウシまたはウマである。別の実施形態では、ウシまたはウマ動物は、トランスジェニックである。さらなる実施形態では、トランスジェニックウシまたはウマ動物は、ヒト抗体を産生する。いくつかの実施形態では、動物は、モノクローナル抗体を産生する。いくつかの実施形態では、動物は、ポリクローナル抗体を産生する。一実施形態では、この方法は、アジュバントまたは免疫刺激化合物の投与をさらに含む。さらなる実施形態では、精製された高親和性抗体は、ヒト対象に投与される。一実施形態では、ヒト対象は、ＭＥＲＳ、ＳＡＲＳ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、及びインフルエンザウイルスのうちの１つ以上による感染の危険性がある。

【０３１７】

いくつかの実施形態では、本開示は、ナノ粒子を含む免疫原性組成物のための共製剤（すなわち、充填済みシリンジまたはプレミックス）戦略を提供する。現在利用されている典型的なワクチン投与戦略は、ベッドサイドミックス製剤である。すなわち、ワクチン組成物及びアジュバントは、別々に保存され、投与前に混合される。ワクチンのためのプレミックス、共製剤または充填済みシリンジの戦略は、抗原（例えば、ヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチド）の安定性及びその後の免疫原性能力への懸念のため、あまり一般的ではない。本開示は、プレミックスして、予め保存することができる免疫原性組成物を提供する。開示されたワクチン接種の戦略及び製剤は、ワクチン接種の効率を改善することができ、全体的な安全性及び免疫原性を維持しながらベッドサイドでの混合エラーのリスクを低減することができる。

【０３１８】

プレミックス製剤を保存及び輸送するために、様々な容器を使用することができ、これには単回投与のためのシリンジ及びプラスチックアンプルが含まれる。場合によっては、プラスチックアンプルは、ブローフィルシール製造技術または方法を用いて製造することができる。一般的に、ブローフィルシール（ＢＦＳ）製造方法は、プラスチック材料（例えば、樹脂）を押出成形してパリソンを形成し、次いで、これを金型に配置し、寸法に切断することを含む。次いで、充填針またはマンドレルを使用してプラスチックを膨張させ、転じて、その結果、実質的に成形型の形状に適合する中空アンプルが得られる。一旦膨張すると、所望の体積の液体をアンプルに注入することができ、充填ニードルまたはマンドレルを取り外すことができ、アンプルを封止することができる。したがってＢＦＳは、人間が直接介入することなく無菌環境で実施することができる自動化されたプロセスであり得る。

【０３１９】

場合によっては、所望の液体を含む無菌アンプルを無菌的に製造できることにより、ＢＦＳで製造されたアンプルは、製薬産業に特に非常に適したものとなり得る。しかしながら、ＢＦＳ技術は、すべての薬液、製品などと適合していない。例えば、一部の公知のＢＦＳ製造法は、プラスチックがまだ比較的高温の間に、液体または製品をアンプルに供給することを含み、これは、ワクチン、生物製剤などの温度感受性液体及び／または製品に悪影響を及ぼす可能性がある。しかしながら、低温ＢＦＳ技術の進歩により適切な製品や液体などの種類が増加し、一部のワクチン、生物製剤及び／または他の温度感受性医薬品をＢＦＳアンプルに含めることが可能になった。

【０３２０】

場合によっては、ＢＦＳアンプルは、アンプルが収容するように構成された所望の使用及び／または所望の薬液もしくは投与量に少なくとも部分的に基づくサイズ、形状及び／

または構成を有することができる。例えば、いくつかの公知のＢＦＳアンプルは、突き刺しトップ、ねじり切りトップ、オスまたはメスのルアーを含むトップ及び／またはこれらに類するものを含み得る。いくつかの既知のＢＦＳアンプルは、その中に配置されるように構成された液体または投与量の体積に基づくサイズ及び／または形状を有することができる。加えて、いくつかの公知のＢＦＳアンプルは、一時的に接続された複数のアンプルのストリップにおいて製造することができ、これは、製造、包装、及び／または保存効率及び／またはこれに類するものを増大させることができる。

【０３２１】

実施形態では、本明細書に記載の免疫原性組成物は、充填済みシリンジで提供される。免疫原性組成物を充填済みシリンジ内で調製する際に、抗原とアジュバントは投与の前に組み合わされる。実施形態では、充填済みシリンジは、ヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含む。実施形態では、充填済みシリンジは、ヘマグルチニンを含み、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含まない。実施形態では、充填済みシリンジは、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含み、ヘマグルチニンを含まない。

【０３２２】

実施形態では、対象は、充填済みシリンジから免疫原性組成物を投与される。実施形態では、対象には、単一の充填済みシリンジ内にヘマグルチニンとＣｏＶ　Ｓポリペプチドの両方を含む免疫原性組成物が投与される。実施形態では、対象には、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むが、ヘマグルチニンを含まない充填済みシリンジから免疫原性組成物が投与される。実施形態では、対象には、ヘマグルチニンを含むが、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含まない充填済みシリンジから免疫原性組成物が投与される。

【０３２３】

本開示で引用されるすべての特許、特許出願、参考文献、及び論文は、あらゆる目的のためにそれらの全体が参照により明示的に組み込まれる。

【実施例】

【０３２４】

実施例１

コロナウイルススパイク（Ｓ）ポリペプチドナノ粒子の発現及び精製

天然のコロナウイルススパイク（Ｓ）ポリペプチド（配列番号１及び配列番号２）ならびに配列番号３、４、３８、４１、４４、４８、５１、５４、５８、６１、６３、６５、６７、７３、７５、７８、７９、８２、８３、８５、８７、１０６、１０８、８９、１１２～１１５、１３２、１３３、１１４、１３８、１４１、１４４、１４７、１５１、１５３、１５６及び１５８に対応するアミノ酸配列を有するＣｏＶスパイクポリペプチドは、バキュロウイルス発現系で発現させ、コロナウイルススパイク（Ｓ）ポリペプチドを発現する組換えプラークを採取し、確認した。いずれの場合も、シグナルペプチドは、配列番号５である。図２及び図４は、ＣｏＶスパイクポリペプチドＢＶ２３６４、ＢＶ２３６５、ＢＶ２３６６、ＢＶ２３６７、ＢＶ２３６８、ＢＶ２３６９、ＢＶ２３７３、ＢＶ２３７４、及びＢＶ２３７５の精製の成功を示している表２は、前述のＣｏＶスパイクポリペプチドの配列特性を示す。

【表１０－１】

表２：選択されたＣｏＶスパイクポリペプチド

ＣｏＶ　Ｓポリペプチド	改変	配列番号
ＢＶ２３６４	削除されたＮ末端ドメイン	４８
ＢＶ２３６５	不活性なフューリン切断部位	４
ＢＶ２３６１／ＢＶ２３６６	野生型	２
ＢＶ２３６７	アミノ酸６７６～６８５の欠失、不活性なフューリン切断部位	６３
ＢＶ２３６８	アミノ酸７０２～７１１の欠失、不活性なフューリン切断部位	６５
ＢＶ２３６９	アミノ酸８０６～８１５の欠失、不活性なフューリン切断部位	６７
本明細書において「ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３」と呼ばれる組成物に製剤化されたＢＶ２３７３	不活性なフューリン切断部位、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異	８７
ＢＶ２３７４	Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異	８５
ＢＶ２３７４	不活性なフューリン切断部位及びＨｉｓタグ	５８
ＢＶ２３８４	不活性なフューリン切断部位（ＧＳＡＳ）、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ変異	１１０
ＢＶ２４２５	不活性なフューリン切断部位、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ変異、アミノ酸５６の欠失、アミノ酸５７の欠失、アミノ酸１３１の欠失、Ｎ４８８Ｙ変異、Ａ５５７Ｄ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｐ６６８Ｈ変異、Ｔ７０３Ｉ変異、Ｓ９６９Ａ変異、及び１１０５Ｈ変異	１１４

【表１０－２】

ＣｏＶ　Ｓポリペプチド	改変	配列番号
ＢＶ２４２６	不活性なフューリン切断部位、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｄ６７Ａ変異、Ｄ２０２Ｇ変異、Ｌ２２９Ｈ変異、Ｋ４０４Ｎ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｎ４８８Ｙ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、及びＡ６８８Ｖ変異	１１５
ＢＶ２４３８	不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：　配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｋ４０４Ｎ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｎ４８８Ｋ変異、Ｄ６７Ａ変異、Ｄ２０２Ｇ変異、Ｌ２２９Ｈ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ａ６８８Ｖ変異	１３２
ＢＶ２４２３	不活性なフューリン切断部位（ＧＧ）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｄ６０１Ｇ変異	１３３
ＢＶ２４２５	不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、アミノ酸５６、５７、及び１３１の欠失、Ｎ４８８Ｙ変異、Ａ５５７Ｄ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｐ６６８Ｈ変異、Ｔ７０３Ｉ変異、Ｓ９６９Ａ変異、Ｄ１１０５Ｈ変異	１１４
ＢＶ２４２５－２	不活性なフューリン切断部位（ＧＧ）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、アミノ酸５６、５７、及び１３１の欠失、Ｎ４８８Ｙ変異、Ａ５５７Ｄ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｐ６６８Ｈ変異、Ｔ７０３Ｉ変異、Ｓ９６９Ａ変異、Ｄ１１０５Ｈ変異	１３８

【表１０－３】

ＣｏＶ　Ｓポリペプチド	改変	配列番号
ＢＶ２４３９	不活性なフューリン切断部位（ＧＧ）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｋ４０４Ｎ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｎ４８８Ｋ変異、Ｄ６７Ａ変異、Ｄ２０２Ｇ変異、Ｌ２２９Ｈ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ａ６８８Ｖ変異	１４１
ＢＶ２４４１	不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：　配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｋ４０４Ｎ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｎ４８８Ｙ変異、Ｄ６７Ａ変異、Ｄ２０２Ｇ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ａ６８８Ｖ変異、アミノ酸２２９～２３１の欠失	１４４
ＢＶ２４４２	不活性なフューリン切断部位（ＧＧ）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｋ４０４Ｎ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｎ４８８Ｙ変異、Ｄ６７Ａ変異、Ｄ２０２Ｇ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ａ６８８Ｖ変異、アミノ酸２２９～２３１の欠失	１４７
ＢＶ２４４３	不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｔ７Ｎ変異、Ｐ１３Ｓ変異、Ｄ１２５Ｙ変異、Ｒ１７７Ｓ変異、Ｋ４０４Ｔ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｎ４８８Ｙ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｈ６４２Ｙ変異、Ｔ１０１４Ｙ変異、Ｖ１１６３Ｆ変異	１５１

【表１０－４】

ＣｏＶ　Ｓポリペプチド	改変	配列番号
ＢＶ２４４８	不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｗ１３９Ｃ変異、Ｓ４８１Ｐ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ｌ４３９Ｒ変異	１５３
ＢＶ１．５２６ＮＹ－１	不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｔ８２Ｉ変異、Ｄ２４０Ｇ変異、Ｅ４７１Ｋ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ａ６８８Ｖ変異	１５６
ＢＶ１．５２６ＮＹ－２	不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：　配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異、Ｔ８２Ｉ変異、Ｄ２４０Ｇ変異、Ｅ４６４Ｋ変異、Ｄ６０１Ｇ変異、Ａ６８８Ｖ変異	１５８
ＢＶ２４６５	変異：Ｔ６Ｒ、Ｇ１２９Ｄ、Ｒ１４５Ｇ、Ｌ４３９Ｒ、Ｔ４６５Ｋ、Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｒ、Ｄ９３７Ｇ、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：配列番号７） 欠失：１４３、１４４	１６４
ＢＶ２４５７	Ｔ８２Ｉ、Ｇ１２９Ｄ、Ｅ１４１Ｋ、Ｌ４３９Ｒ、Ｔ４７１Ｑ、Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｒ、Ｑ１０５８Ｈ、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：配列番号７）	１６５

【表１０－５】

ＣｏＶ　Ｓポリペプチド	改変	配列番号
ＢＶ２４７２	変異：Ｔ６Ｒ、Ｇ１２９Ｄ、Ｒ１４５Ｇ、Ｋ４０４Ｎ、Ｌ４３９Ｒ、Ｔ４６５Ｋ、Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｒ、Ｄ９３７Ｇ、Ｗ２４５Ｉ、Ｋ９７３Ｐ、Ｖ９７４Ｐ、不活性なフューリン切断部位（ＱＱＡＱ：配列番号７） 欠失：１４３、１４４	１６６
ＢＶ２４８０	Ｔ８２Ｉ、Ｙ１３１Ｓ、Ｙ１３２Ｎ、Ｒ３３３Ｋ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｈ、Ｄ９３７Ｎ、不活性なフューリン切断部位（ＱＡＱ：配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異	１６７
ＢＶ２４８１	Ｔ８２Ｉ、Ｙ１３１Ｔ、Ｙ１３２Ｓ、Ｒ３３３Ｋ、Ｅ４７１Ｋ、Ｎ４８８Ｙ、Ｄ６０１Ｇ、Ｐ６６８Ｈ、Ｄ９３７Ｎ、不活性なフューリン切断部位（ＱＡＱ：配列番号７）、Ｋ９７３Ｐ変異、Ｖ９７４Ｐ変異 アミノ酸１３２の後のアスパラギンの挿入	１６８

【０３２５】

野生型ＢＶ２３６１タンパク質（配列番号２）は、ヒトアンジオテンシン変換酵素２前駆体（ｈＡＣＥ２）に結合する。ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの結合を評価するために、バイオレイヤー干渉法及びＥＬＩＳＡを行った。

【０３２６】

タンパク質及びナノ粒子の産生

組換えウイルスは、Ｓｆ９昆虫細胞の感染によって増幅される。昆虫細胞の培養物を、バキュロウイルスを含む約３ＭＯＩ（感染の多重度＝ウイルスｆｆｕまたはｐｆｕ／細胞）で感染させた。培養物及び上清を、感染後４８～７２時間に採取する。約３０ｍＬの粗製細胞の採取物を、約８００×ｇで１５分間遠心分離することにより、浄化する。コロナウイルススパイク（Ｓ）タンパク質を含む得られた粗細胞採取物を以下のようにナノ粒子として精製する。

【０３２７】

ナノ粒子を製造するために、非イオン性界面活性剤ＴＥＲＧＩＴＯＬ（登録商標）ノニルフェノールエトキシレートＮＰ－９が、膜タンパク質抽出プロトコールに使用されてい

る。粗抽出物は、アニオン交換クロマトグラフィー、レンチルレクチンアフィニティ／ＨＩＣ及びカチオン交換クロマトグラフィーを通過させることによりさらに精製される。洗浄した細胞を洗剤処理によって溶解し、次いで低ｐＨ処理に供すると、ＢＶ及びＳｆ９宿主細胞のＤＮＡ及びタンパク質が沈殿する。中和された低ｑＨ処理溶解物を浄化し、さらに第２の低ｑＨ処理を行う前に、アニオン交換及びアフィニティクロマトグラフィーで精製する。

【０３２８】

アフィニティクロマトグラフィーを使用して、Ｓｆ９／ＢＶタンパク質、ＤＮＡ及びＮＰ－９を除去するとともに、コロナウイルススパイク（Ｓ）タンパク質を濃縮する。簡潔に述べると、レンチルレクチンは、多糖類とグルコースまたはマンノースを含む糖化タンパク質とを可逆的に結合する、カルシウム及びマンガンを含む金属タンパク質である。コロナウイルススパイク（Ｓ）タンパク質含有陰イオン交換フロースルー画分は、レンチルレクチンアフィニティクロマトグラフィー樹脂（Ｃａｐｔｏ　Ｌｅｎｔｉｌ　Ｌｅｃｔｉｎ，　ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）上に充填される。グリコシル化コロナウイルススパイク（Ｓ）タンパク質は、樹脂に選択的に結合するが、非グリコシル化タンパク質及びＤＮＡは、カラムフロースルー中で除去される。弱く結合した糖タンパク質は、メチルアルファ－Ｄ－マンノピラノシド（ＭＭＰ）の高い塩及び低いモル濃度を含む緩衝液によって除去される。

【０３２９】

また、カラム洗浄物は、ＮＰ－９洗剤をポリソルベート８０（ＰＳ８０）界面活性剤と洗剤交換するためにも使用される。高濃度のＭＭＰで、レンチルレクチンカラムからコロナウイルスパイク（Ｓ）ポリペプチドがナノ粒子構造で溶出する。溶出後、コロナウイルススパイク（Ｓ）タンパク質トリマーを、洗剤コア中に含まれるコロナウイルススパイク（Ｓ）タンパク質トリマーとＰＳ８０から構成されるナノ粒子に組み立てる。この実施例に記載されたプロセスは、本明細書に記載された任意のＣｏＶ　Ｓポリペプチドナノ粒子を発現及び精製するために使用される。

【０３３０】

実施例２

インフルエンザ洗剤－コアナノ粒子の発現及び精製

単一の株由来のＨＡタンパク質を、バキュロウイルス感染によりＳｆ９細胞に発現させ、採取前に４８～９６時間増殖させた。次いで、ＨＡタンパク質を洗剤抽出により採取し、精製中に洗剤コアナノ粒子にした。簡潔に述べると、ＴＭＡＥカラムを、２５ｍＭのＴｒｉｓ（ｐＨ８．０）、１．５Ｍの塩化ナトリウム、０．０２％のＮＰ９から構成される緩衝液で予め平衡化させた。試料を９０ｃｍ／時（２４分の滞留時間）以下で充填し、次いでＥＱ緩衝液（２５ｍＭのＴｒｉｓ、ｐＨ８．０、５０ｍＭまたは８１ｍＭの塩化ナトリウム（それぞれＡ株及びＢ株の場合）、０．０２％のＮＰ－９）で洗浄した。次いで、精製試料を１．５ＣＶのＥＱ緩衝液を用いて溶出した。

【０３３１】

Ａ株については、ＴＭＡＥカラムからの生成物についてナノ濾過を行い、続いて、３ＣＶ（流速：１５０ｃｍ／時）の２５ｍＭのＴｒｉｓ、５０ｍＭ及び１０７ｍＭの塩化ナトリウム（それぞれＡ株及びＢ株の場合）、０．０２％（ｗ／ｖ）のＮＰ－９、ｐＨ８．０で構成される緩衝液で予め平衡化したレンチルレクチンアフィニティクロマトグラフィーカラムにかけた。試料は４分間の滞留時間で充填した。充填後に、３ＣＶのレンチルレクチン平衡緩衝液を用いて洗浄を行った。生成物を２５ｍＭのリン酸ナトリウム、ｐＨ７．５、２００ｍＭの塩化ナトリウム、５００ｍＭのメチル－α－Ｄ－マンノピラノシド、０．０１％（ｗ／ｖ）のＰＳ８０、ｐＨ７．５で溶出し、２ＣＶを７５ｃｍ／時及び８分間の滞留時間で回収した。

【０３３２】

Ｂ株については、ＴＭＡＥカラム生成物を、カプトブルーカラムを使用してさらに精製した。このカラムを、２５ｍＭのＴｒｉｓ、ｐＨ８．０、１０７ｍＭの塩化ナトリウム、

０．０２％（ｗ／ｖ）のＮＰ－９で平衡化し、続いてＴＭＡＥ生成物を、４分間の滞留時間で２２５ｃｍ／時の流速で充填し、２ＣＶの平衡緩衝液で収集した。カプトブルーカラムからの生成物についてナノ濾過を行い、続いて、３ＣＶ（流速：１５０ｃｍ／時）の２５ｍＭのＴｒｉｓ、５０ｍＭ及び１０７ｍＭの塩化ナトリウム（それぞれＡ株及びＢ株の場合）、０．０２％（ｗ／ｖ）のＮＰ－９、ｐＨ８．０で構成される緩衝液で予め平衡化したレンチルレクチンアフィニティクロマトグラフィーカラムにかけた。試料は４分間の滞留時間で充填した。充填後に、３ＣＶのレンチルレクチン平衡緩衝液を用いて洗浄を行った。生成物を２５ｍＭのリン酸ナトリウム、ｐＨ７．５、２００ｍＭの塩化ナトリウム、５００ｍＭのメチル－α－Ｄ－マンノピラノシド、０．０１％（ｗ／ｖ）のＰＳ８０、ｐＨ７．５で溶出し、２ＣＶを７５ｃｍ／時及び８分間の滞留時間で回収した。

【０３３３】

Ａ株及びＢ株の双方に対するレンチルレクチン生成物を、標的ＨＡ濃度に濃縮し、次いで最終原薬製剤緩衝液へと緩衝液交換した。限外濾過及び透析濾過により濃度及び緩衝液交換を行った。

【０３３４】

実施例３

ＨａＳＭａＮの製剤

実施例２の洗剤－コアナノ粒子を、サポニンアジュバント（すなわち、８５重量％の画分ＡのＩＳＣＯＭマトリクスと１５重量％の画分ＣのＩＳＣＯＭマトリクス）と混合し、少なくとも２４時間インキュベートする。図７（右パネル）に、ＨａＳＭａＮの電子顕微鏡画像を示す。

【０３３５】

実施例４

ＣＯＶＩＤ－１９及びインフルエンザに対する組み合わせワクチンの免疫原性及び有効性

ＣＯＶＩＤ－１９及びインフルエンザ（「ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３」とも呼ばれる）に対する組み合わせワクチンの免疫原性及び有効性を評価した。組み合わせワクチンは、（ｉ）ＣｏＶ　Ｓポリペプチド（配列番号８７）を含むナノ粒子を含む第１のワクチン（「ＣｏＶ２３７３」と呼ばれる）と、（ｉｉ）４つの異なるインフルエンザ株に由来するヘマグルチニン（ＨＡ）を含むナノ粒子を含む第２のワクチン（「ｑＮＩＶ」と呼ばれる）と、を含む。Ａ型インフルエンザ粒子を含むナノ粒子は、ＨａＳＭａＮを形成する。Ａ型インフルエンザ粒子を含むナノ粒子は、洗剤－コアナノ粒子を形成する。これら４つの異なるインフルエンザ株は、Ａ／Ｋａｎｓａｓ／１４／１７、Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／０１６、Ｂ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／１６、及びＢ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７３／１３である。「標準的」な組み合わせワクチンは、１株あたり５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチド及び１５μｇのＨＡを含んでいた。「高用量」の組み合わせワクチンは、１株あたり５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチド及び６０μｇのＨＡを含んでいた。ナノ粒子を、サポニンアジュバント（すなわち、８５％のＩＳＣＯＭマトリクス画分Ａ及び１５％のＩＳＣＯＭマトリクス画分Ｃ）と予め混合した。

【０３３６】

オス及びメスの動物の群を、標準的なワクチンまたは高用量ワクチンで免疫した。比較基準群を、（ｉ）ＣｏＶ２３７３を含まないｑＮＩＶ（それぞれのヘマグルチニンは１５μｇＨＡ／株で存在）、（ｉｉ）ＣｏＶ２３７３を含まないｑＮＩＶ（それぞれのヘマグルチニンは５０μｇＨＡ／株で存在）、または（ｉｉｉ）ｑＮＩＶを含まないＣｏＶ２３７３（５μｇのＣｏＶ　Ｓポリペプチド）のいずれかを含むワクチンで免疫した。すべてのワクチンは、５０μｇのサポニンアジュバント（図８Ａ）を含んでいた。

【０３３７】

組み合わせワクチンによって産生されたヒトＡＣＥ２受容体阻害抗体レベルを、ｑＮＩＶのみまたはＣｏＶ２３７３のみを用いて免疫した動物と比較した。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３で免疫した動物は、単回投与の２週間後にｈＡＣＥ２受容体ブロッキング抗体のレ

ベルがわずかに上昇し（ＧＭＴ＝３４～３９）、これは追加免疫の２週間後に３．２～７．３倍（ＧＭＴ１０７～２０２）上昇した。ヒトＡＣＥ２阻害力価は、５μｇのＣｏＶ２３７３を含むナノ粒子で免疫した動物に匹敵した（ＧＭＴ＝２９０）。ｑＮＩＶを単独で免疫した動物は、測定可能なｈＡＣＥ阻害抗体を有していなかった（図８Ｂ）。血球凝集阻害（ＨＡＩ）抗体価を群間で比較した。インフルエンザＡ株及びインフルエンザＢ株に対するＨＡＩ力価は、単回投与の２週間後に上昇し、追加免疫後２週間で２～７倍に上昇した。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせによって産生されたＨＡＩ力価は、すべてのインフルエンザＡ株及びＢ株について低用量または高用量のｑＮＩＶでの免疫によって産生されたＨＡＩ力価に匹敵していた。５μｇのＣｏＶ２３７３ワクチンで免疫した動物は、Ａ株またはＢ株に対する測定可能なＨＡＩ抗体を有していなかった（図８Ｃ～Ｆ）。

【０３３８】

ハムスターにおける免疫原性ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチン

次に、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンが産生する免疫原性及び保護について、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を接種したハムスターにおいてｑＮＩＶ単独を含むワクチンまたはＣｏＶ２３７３単独を含むワクチンと比較した。ハムスターの群を、１０μｇまたは２．５μｇのＨＡ／株と５μｇまたは１μｇのＣｏＶ２３７３とを組み合わせたものからなるｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３で免疫した。比較基準群を、ｑＮＩＶ（１０μｇまたは２．５μｇのＨＡ／株）またはＣｏＶ２３７３（５μｇまたは１μｇ）で免疫した。すべてのワクチン製剤に１５μｇのサポニンアジュバントをアジュバントした。プラセボ群は、製剤緩衝液を受け取った（図９Ａ）。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせを受けた動物は、初回免疫から２週間後に抗Ｓ　ＩｇＧ抗体の上昇（ＧＭＴ＝９４６７～２５，２９５）を示し、これは追加免疫の２週間後に１５～３０倍（ＧＭＴ＝２７５，３４１～４１８，１２４）に上昇した（図９Ｂ、図９Ｃ）。一価ＣｏＶ２３７３の最初のＧＭＴ＝４５７６～４３，６３２及び二回目の投与（ＧＭＴ＝３０２，９６７～５２３，１４３）の２週間後の抗Ｓ　ＩｇＧ力価は、組み合わされたワクチンを受けている動物に匹敵していた（図９Ｂ、図９Ｃ）。

【０３３９】

一価のＣｏＶ２３７３により誘発される抗体レベルと比較して、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせにより誘発される抗体レベルを阻害するヒトＡＣＥ２受容体。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３で免疫したハムスターは、抗体レベル（IC_{50}）が上昇し、単回投与後（ＧＭＴ＝５７～１３６）にｈＡＣＥ２受容体へのスパイク結合を遮断した。受容体阻害力価は、追加免疫後、６．２～１６．３倍増加（ＧＭＴ＝６５４～１０８６）した。ヒトＡＣＥ２阻害レベルは、ＣｏＶ２３７３で単回免疫した後のハムスターに類似していた（ＧＭＴ＝２４～２３０）。ヒトＡＣＥ２受容体阻害力価は、追加免疫後に７．７～６８倍増加（ＧＭＴ＝１６３６～１７６９）した（図９Ｄ、図９Ｅ）。

【０３４０】

ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３により誘発されたインフルエンザＡ株及びＢ株に対する免疫応答を、ｑＮＩＶによる免疫と比較した。この組み合わせワクチンで免疫したハムスターは、１回の免疫後、Ａ／Ｋａｎｓａｓ　Ｈ３Ｎ２（ＧＭＴ＝１１３～２０２）及びＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ　Ｈ１Ｎ１（ＧＭＴ＝１４３～２２６）に対して高いＨＡＩ力価を有していた。Ａ／Ｋａｎｓａｓ　Ｈ３Ｎ２のＨＡＩ力価は、追加免疫に続いて６．３～１４．２倍（ＧＭＴ＝１２８０～１８１０）増加し、Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ　Ｈ１Ｎ１のＨＡＩ力価は、追加免疫に続いて５．７～１０倍（ＧＭＴ＝１２８０～１４３７）増加した　（図１０Ａ～Ｄ）。ｑＮＩＶで免疫した動物はＡ株と同等のＨＡＩ力価を有していた。単一の免疫の後のＡ／Ｋａｎｓａｓ（ＧＭＴ＝８０～１０６）及びＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ（ＧＭＴ＝１２１～２１１）。追加免疫後に、Ａ／ＫａｎｓａｓのＨＡＩ力価は２４倍上昇し（ＧＭＴ＝１９４０～２５６０）、Ａ／ＢｒｉｓｂａｎｅのＨＡＩ力価は８～１２．１倍上昇した（ＧＭＴ１４７０～１６８９）。組み合わせワクチンで免疫した動物は、１回目の免疫後に、Ｂ／Ｐｈｕｋｅｔに対するＨＡＩ力価が上昇し（ＧＭＴ＝８０～１４３）、これは２回目の免疫後に５～９倍（ＧＭＴ＝５７０～７１８）上昇した。ｑＮＩＶでの１回

の免疫を受けた動物は、一次／追加免疫後に匹敵するＢ／ＰｈｕｋｅｔのＨＡＩ力価（ＧＭＴ＝　７３５～８４４）を有していた（図１０Ｅ、図１０Ｆ）。同様に、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３で２回免疫した動物は、同様のＢ／Ｍａｒｙｌａｎｄ（ＧＭＴ＝１６０～１４２）のＨＡＩ力価を有しており、これはｑＮＩＶ（ＧＭＴ＝１０６～２４２）での免疫によって誘発されたＨＡＩ力価に等しかった（図１０Ｇ、図１０Ｈ）。

【０３４１】

ウイルス中和抗体価は、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３で免疫したハムスター群間で、ｑＮＩＶのみを用いて免疫した動物と比較して同等であった。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３を用いて一次／追加免疫で免疫した動物は、Ａ／Ｋａｎｓａｓ（ＧＭＴ＝１５，６９３～１６，９１６）及びＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ（ＧＭＴ＝６９９２～１０，５０７）に対して高い中和力価を有していた。ｑＮＩＶを用いた免疫によってＡ／Ｋａｎｓａｓ（ＧＭＴ＝１３，６２５～１９，３１４）及びＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ（ＧＭＴ＝２０，１４６～２２，１４６）に対して同様の中和力価が誘発された（図１１Ａ～Ｄ）同様に、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３またはｑＮＩＶを用いて免疫した動物は、同等レベルのＢ株中和力価を有していた（図１１Ｅ～Ｈ）全体として、これらの結果は、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３組み合わせワクチンが免疫原性においてｑＮＩＶ及び一価のＣｏＶ２３７３比較基準と同等であり、このことは、ｑＮＩＶ及びＣｏＶ２３７３をサポニンアジュバントと共投与した場合に、免疫応答に干渉がないことを示している。

中和ｍＡｂｓに対する競合的ポリクローナルＲＢＤ抗体

【０３４２】

ポリクローナル抗体を、１価のＣｏＶ２３７３または組み合わせのｑＮＩＶによるワクチン接種に関係なく、プロトタイプＵＳ－ＷＡスパイクＲＢＤ中和ｍＡｂｓ　ＣＲ３０２２、ＮＶＸ．３２２．３、及びＮＶＸ．２３９．１２（表３）と競合的にハムスターに誘導した。１価のＣｏＶ２３７３で免疫したハムスターは、５μｇ対１μｇの１価のＣｏＶ２３７３で免疫した場合、ＵＳ－ＷＡ　ＲＢＤ　ｍＡｂｓに対して競合する著しく高いポリクローナル抗体を有していた（図１２Ａ～Ｃ）

【表１１】

表３．　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクモノクローナル抗体の機能的特徴

抗体	同位体	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク結合（EC_{50}、ｎｇ／ｍＬ）	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクＲＢＤ[a]（EC_{50}、ｎｇ／ｍＬ）	ＡＣＥ２[b]受容体阻害（IC_{50}、ｎｇ／ｍＬ）	１００％のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２中和（IC_{100}、ｎｇ／ｍＬ）
ＮＶＸ．２３９．１２	ＩｇＧ１／カッパ	７	３２	５６	１２．３５
ＮＶＸ．３２２．０３	ＩｇＧ１／カッパ	２８	２５０	２７５	１８５

[a]ＲＢＤ：受容体結合ドメイン
[b]ＡＣＥ２：アンジオテンシン変換酵素２受容体

【０３４３】

ｑＮＩＶと１μｇまたは５μｇのＣｏＶ２３７３　ｒＳとの組み合わせは、ＵＳ－ＷＡＲＢＤに対して測定された競合的ポリクローナル抗体のレベルをいくらか低下させた。Ｂ．１．３５１バリアントに対する競合的ポリクローナル抗体応答の同様のパターンが、一

価のＣｏＶ２３７３とｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３との組み合せワクチンで免疫したハムスターにおいて誘導された。しかしながら、一価のＣｏＶ２３７３またはｑＮＩＶとの組み合わせワクチンは、ＣＲ３００２及びＮＶＸ．３２２．３と競合する顕著なポリクローナル抗体を誘導した（図１２Ｄ～Ｅ）。ＮＶＸ－２３９．１２は、Ｂ．１．３５１バリアントＲＢＤに結合しなかった。

接種後の臨床シグナル

【０３４４】

組み合わせワクチンの保護効果を評価するために、免疫及びプラセボ処理したハムスターに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による鼻腔内経路による２回目の免疫（３５日目）の２１日後に鼻腔内経路によりＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を接種した。すべての動物は、予定された剖検（７ｄｐｉ）まで接種後の段階で生き残った。接種後の期間を通じて、動物の体重を毎日モニタリングした。プラセボを受けた動物またはｑＮＩＶ（２．５μｇまたは１０μｇのＨＡ／株）で免疫した動物は、７ｄｐｉで１２．５％～１５％の体重を失った。対照的に、１μｇまたは５μｇのＣｏＶ２３７３で免疫した動物は、７ｄｐｉで２．６％～５％の重量増加で体重を保持した（図１３Ａ）。ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３で免疫した動物は、７ｄｐｉで２．５％～５％の重量増加でそれらの重量を保持し、これは非感染のシャム群と同じであった（図１３Ｂ）。

口腔スワブ、気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）、及び肺試料中のサブゲノムウイルスｍＲＮＡ

【０３４５】

ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの有効性を調べるために、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２サブゲノム（ｓｇ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシド（Ｎ）ＲＮＡを検出するように設計されたｑＲＴ－ＰＣＲを用いて、上気道及び下気道のウイルス量を決定した。経口スワブを、感染後（ｄｐｉ）２日目、４日目、及び７日目に収集した。最高レベルのｓｇＲＮＡは、メジアンピークが４．４（範囲２．７～５．１）$\log_{10}$ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$のプラセボ処理動物の口腔スワブで２ｄｐｉで観察された。ウイルスのレベルは、４ｄｐｉで３．２（範囲２．９～４．２）$\log_{10}$ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$に上昇し、７ｄｐｉで３．０$\log_{10}$（範囲１．７～３．７）ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$低下した。ウイルスＲＮＡレベルは、１０μｇまたは２．５μｇのＨＡ／株で免疫した動物の口腔スワブでは、著しく異なることはなく、２ｄｐｉで、４．４～４．５（範囲３．９～４．９）$\log_{10}$ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$の最高レベルのｓｇＲＮＡであり、４ｄｐｉで、３．２～３．４（範囲１．７～３．７）$\log_{10}$ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$、及び７ｄｐｉで、２．５～３．４（１．７～３．９）$\log_{10}$ＲＮＡ／ｍＬ$^{-1}$であった。５μｇまたは１μｇのＣｏＶ２３７３で免疫した動物からの口腔スワブは、２ｄｐｉで検出可能なウイルスＲＮＡを有していた（２．９～３．６$\log_{10}$コピー／ｍＬ$^{-1}$）。ウイルスＲＮＡは、４ｄｐｉまたは７ｄｐｉでＣｏＶ２３７３で免疫した動物のスワブでは検出されなかった（図１３Ｃ）。ウイルスＲＮＡ（３．２～３．５$\log_{10}$ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$）は、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３で免疫した動物では２ｄｐｉのスワブで検出されたのみで、４ｄｐｉまたは７ｄｐｉでは複製ウイルスは検出されなかった（図１３Ｄ）。

【０３４６】

ＢＡＬ洗浄液を剖検時に得て、ウイルスＲＮＡについて分析した。プラセボ群及び１株あたり１０μｇまたは２．５μｇのＨＡで免疫した群は、ウイルスＲＮＡの最も高い中央値を有していた。プラセボ群からの吸引物は、中央値５．６（範囲５．１～６．４）$\log_{10}$ｓｇＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$を有する複製ウイルスのレベルを有していた。ＢＡＬ中のウイルス量も、１株あたり１０μｇのＨＡで免疫した動物で中央値が５．６（範囲４．４～５．９）$\log_{10}$ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$、１株あたり２．５μｇのＨＡで免疫した動物で中央値が５．５（範囲３．６～６．０）$\log_{10}$ＲＮＡコピー／ｍＬ$^{-1}$と高かった。ＣｏＶ２３７３（１μｇもしくは５μｇ）またはｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせで免疫した動物から得られたＢＡＬ試料において、ウイルスＲＮＡはほとんどまたはまったく検出されなかった（図１３Ｅ）。

【０３４７】

剖検時に肺組織を採取し、ウイルス量を評価した。プラセボ処理した肺ホモジネート及びｑＮＩＶを受けた動物は、最も高いウイルス量を有した：プラセボ中央値７．１（範囲６．４～８．９）ｌｏｇ$_{10}$ＲＮＡコピー／グラム$^{-1}$；１株当たり１０μｇＨＡ、７．３（範囲６．７～７．８）ｌｏｇ$_{10}$ＲＮＡコピー／グラム$^{-1}$；及び１株当たり２．５μｇＨＡ、６．７（範囲６．０～７．７）ｌｏｇ$_{10}$ＲＮＡコピー／グラム$^{-1}$。ＣｏＶ２３７３またはｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせを用いて免疫した動物からの肺ホモジネートは、検出可能なウイルスがほとんどまたはまったくなかった（図１３Ｆ）。

【０３４８】

巨視的及び微視的な観察：すべての動物は予定通りの剖検まで生存した（研究日４２）。肺を回収して秤量した。ＣｏＶ２３７３またはｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３の組み合わせで免疫した動物と比較して、プラセボで処置またはｑＮＩＶで免疫した動物では、肺重量が著しく高かった（ｐ≦０．００３）（図１３Ｇ）。プラセボで処置した動物の気道とｑＮＩＶで免疫した動物の気道の顕微鏡所見は同一であり、気管支肺胞過形成、混合肺胞炎症、周辺組織の浮腫を伴う血管周囲炎症、及び希少な合胞細胞から成っていた。ＣｏＶ２３７３ワクチンまたはｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンで免疫した動物の肺に顕著な所見は見られなかった（図１４Ａ－Ｊ）。これらの結果は、プラセボで治療された動物、ｑＮＩＶを受けた動物における高いウイルス量及び肺炎と一致するが、一方でＣｏＶ２３７３及びｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３でワクチン接種した動物の肺は正常であり、ウイルスを含んでいなかった。

【０３４９】

組み合わせ呼吸ワクチンの成功に必要なさらなる能力は、避けられないウイルスの進化に直面して、カバーを提供することであろう。ＲＮＡ呼吸ウイルスは、特に急速に進化しやすく、多くの場合、宿主からの免疫圧力下で、及び動物起源からの抗原性シフト下で発生する。Ｓａｒｓ－ＣｏＶ－２ウイルスの進化は、南アフリカで免疫圧下で起こり、一定レベルの群免疫が確立されていた集団において明らかなアウトブレイクが生じている。季節性インフルエンザの状況では、ウイルスの進化が効果的な免疫化に対する重要な課題である。最近、現場でのワクチンの有効性が不十分であるという報告が繰り返されている中で、Ａ（Ｈ３Ｎ２）が優勢な重篤なインフルエンザの季節が複数回発生した。これは、卵ベースのワクチンから生じる抗原ミスマッチと、抗原の進化速度が速いためウイルス自体との両方によって引き起こされていると考えられる。

【０３５０】

本研究では、ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３ワクチンの組み合わせが、ＵＳ－ＷＡだけでなくＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質ＲＢＤ中和エピトープのＢ．１．３５１南アフリカバリアントに対する競合的ポリクローナル抗体応答を誘発したことを実証する。また、本研究は、ＵＳ－ＷＡとＢ．１．３５２　ＲＢＤとの間に共通し、ＣｏＶ２３７３ワクチンによって誘導される中和エピトープの可能性を実証した。

【０３５１】

２０１９－２０年の注目すべきイベントでは、新型コロナウイルス及びＣＯＶＩＤ－１９疾患の出現と急激な増加の両方が、季節性インフルエンザのほぼ不在に付随して見られた。現時点では、ＣＯＶＩＤ－１９の制御手段が季節性インフルエンザの症例の減少をもたらした可能性が提案され、一方で他の人は生態学的メカニズムを提案している。いずれの場合も、過去の数世紀で、インフルエンザが再循環し、疾患及び非常に感染性及び臨床的に重要なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、ならびに新たなバリアントを引き起こす可能性が世界的に進化し続けていることが示された。インフルエンザとＳＡＲ－ＣｏＶ－２の共感染について記載した。ＣＯＶＩＤ－１９の一般的な臨床症状には、発熱、悪寒、咳、及び呼吸困難が含まれ、インフルエンザウイルス感染の診断を困難としている。重症のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２陽性の入院患者の遡及調査では、１２％（５４４人の６４人）が、インフルエンザＡ（８４％、５４人／６４人）及びインフルエンザＢ（１６％、１０人／６４人）と共感染していることが示された。しかしながら、インフルエンザとＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２共感染の臨床的影響は不明である。

【０３５２】
季節性インフルエンザの将来のニーズ及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンの継続的なニーズにより、年２回のワクチンによる予防接種のロジスティクスにより、組み合わせワクチンへの要望が高まっている。本報告では、共配合されたインフルエンザとＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ナノ粒子ワクチンを記載し、共循環する季節性インフルエンザとＣＯＶＩＤ－１９ウイルスから広く保護し、新たなインフルエンザ株及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントの問題に対処するための広い保護応答に基づく可能性を有する。
【０３５３】
材料及び方法：ウイルスストック及び受容体：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（株２０１９－ｎＣｏＶ／ＵＳＡ－ＷＡ１／２０２０）の単離物を、疾病防除センターから入手し、ベロＥ６細胞に継代することによって調製したストックウイルスを用いた。Ａ／Ｋａｎｓａｓ／１４／１７、Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／０１６、Ｂ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／１６、及びＢ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７３／１３のウイルスストックは、Ｎｏｖａｖａｘ，Ｉｎｃ．（Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ，ＵＳＡ）によって提供された。Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ（Ｂｅｉｊｉｎｇ， ＣＨＮ）から購入されたヒスチジンタグ付きヒトＡＣＥ２受容体。モノクローナル抗体ＣＲ３０２２［２３］をＣｒｅａｔｉｖｅ ＢｉｏＬａｂｓ（Ｓｈｉｒｌｅｙ， ＮＹ， ＵＳＡ，カタログ番号ＭＲＯ－１２１４ＬＣ）から入手した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ ＵＳ－ＷＡ組換え６ヒスチジンタグ付き受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）は、Ｎｏｖａｖａｘ，Ｉｎｃ．（Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ，ＵＳＡ）によって提供された。ヒスチジンタグ付きＢ．１．３５１スパイクＲＢＤを、Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ（カタログ番号４０５９２－Ｖ０８Ｈ８５，Ｂｅｉｊｉｎｇ，ＣＨＮ）から得た。
【０３５４】
ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３スパイク（Ｓ）タンパク質及び組換えヘマグルチニンワクチン：ＣｏＶ２３７３ワクチンは、ＧｅｎＢａｎｋ遺伝子配列ＭＮ９０８９４７ヌクレオチド２１５６３～２５３８４に基づく全長の野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ糖タンパク質から構築された。この天然の全長Ｓタンパク質を、Ｓ１／Ｓ２切断ドメイン内に位置する推定フューリン切断部位を（６８２－ＲＲＡＲ－６８５から６８２－ＱＱＡＱ－６８５に）変異させてプロテアーゼ耐性を付与することにより改変した。２つのプロリンアミノ酸置換を、７回繰り返し１（ＨＲ１）ドメイン内のＫ９８６Ｐ及びＶ９８７Ｐ（２Ｐ）の位置に挿入して、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓを好ましい立体配座で安定化させた。
【０３５５】
この合成導入遺伝子をコドン最適化し、Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ（Ｓｆ９）昆虫細胞（ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ，ＵＳＡ）での発現のためにバキュロウイルスベクターへと遺伝子操作した。スパイクトリマー（ＣｏＶ２３７３と命名）は、ＴＥＲＧＩＴＯＬ ＮＰ－９洗剤を含むＴｒｉｓ緩衝液を用いて原形質膜から洗剤抽出し、遠心分離により浄化した。ＴＭＡＥアニオン交換及びレンチルレクチンアフィニティクロマトグラフィーを使用して、Ｓ－トリマーを精製した。精製したＣｏＶ２３７３を、２５ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．２）、３００ｍＭのＮａＣｌ、及び０．０２％（ｖ／ｖ）のポリソルベートに配合した。
【０３５６】
ヘマグルチニン（ＨＡ）ナノ粒子：インフルエンザウイルスＡ／Ｋａｎｓａｓ／１４／１７、Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／０１６、Ｂ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／１６、及びＢ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７３／１３ ＨＡ遺伝子のクローニング及び発現を、Ｓｆ９昆虫細胞における発現のためにコドン最適化した。合成コドン最適化ＨＡ遺伝子を、ｐＢａｃ１バキュロウイルス移入ベクター（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｓｉｇｍａ，Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ，ＭＡ，ＵＳＡ）にクローニングした。ｐＢａｃ１プラスミドを、Ａｕｔｏｇｒａｐｈａ ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ多角体病ウイルスゲノムを含むＦｌａｓｈ－ｂａｃＧＯＬＤバクミド（Ｏｘｆｏｒｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｏｘｆｏｒｄ ＵＫ）でＳｆ９にトランスフェクトした。Ｓｆ９細胞培養物に、ＨＡ遺伝子を発現する組

換えバキュロウイルスを感染させた。組み換えＨＡを、前述のように精製した。

【０３５７】

フェレットの免疫原性。フェレット（ｎ＝３０、オス１５頭、メス１５頭）を５つの群に無作為に分けた。動物を、５μｇのＣｏＶ２３７３を含まないか、または５μｇのＣｏＶ２３７３と混合して、１５μｇまたは６０μｇのＨＡ／株を用いて筋注により免疫した。比較基準群を、５μｇのＣｏＶ２３７３で免疫した。すべてのワクチンを５０μｇのサポニンアジュバントでアジュバントした。すべての群に、２１日間の間隔を空けた一次／追加免疫レジメンで免疫した。血清は、一次投与の２１日後、及び追加免疫の１４日後に、分析のために収集した。

【０３５８】

ハムスター免疫原性及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の接種６～９週齢及び体重約１００ｇのハムスター（ｎ＝５４、オス２７、メス２７）を、無作為に１０群（ｎ＝５～６／群）に分けた。動物を、５μｇまたは１μｇのＣｏＶ２３７３と組み合わせた１株あたり１０μｇのＨＡ；５μｇまたは１μｇのＣｏＶ２３７３と組み合わせた１株あたり２．５μｇのＨＡ；１株あたり１０μｇのＨＡ；１株あたり２．５μｇのＨＡ；５μｇのＣｏＶ２３７３；または１μｇのＣｏＶ２３７３で筋肉内注射により免疫した。ワクチンを注射の日に１５μｇのサポニンアジュバントと混合した。すべての群に、１４日間の間隔を空けた一次／追加免疫レジメンで免疫した。プラセボ群（ｎ＝５）は、０日目及び１４日目に製剤緩衝液を受け取った。シャム対照群（ｎ＝５）は免疫しなかった。初回接種１４日後及び追加接種１４日後に分析を行った。

【０３５９】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２鼻腔内接種：第２の免疫化（３５日目）の３週間後に、ワクチン接種動物及びプラセボ動物を、２０μＬの滅菌リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中の８０ｍｇ／ｋｇのケタミン及び５ｍｇ／ｋｇキシラジンで鎮静し、２．０×10^4ｐｆｕのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（２０１９－ｎＣｏＶ／ＵＳＡ－ＷＡ１／２０２０株）を鼻腔内経路で接種した。

【０３６０】

抗スパイクＩｇＧ　ＥＬＩＳＡ：血清中の抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質ＩｇＧ力価を決定するために、スパイクタンパク質ＥＬＩＳＡを用いた。マイクロタイタープレート（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｒｏｃｈｅｓｔｅｒ，ＮＹ，ＵＳＡ）を、１．０μｇ／ｍＬ$^{-1}$のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（ＣｏＶ２３７３，ロット番号１６Ａｐｒ２０，Ｎｏｖａｖａｘ，Ｉｎｃ．Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ，ＵＳＡ）でコーティングした。ＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ（ＰＢＳ－Ｔ）で洗浄したプレートを、非特異的結合をＴＢＳ　Ｓｔａｒｔｂｌｏｃｋブロッキング緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）でブロッキングした。血清試料を、１：５０の希釈から出発して３倍に段階希釈し、コーティングされたプレートに添加し、続いて室温で２時間インキュベートした。インキュベーション後、プレートをＰＢＳ－Ｔで洗浄し、ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）結合ヤギ抗ハムスターＩｇＧ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，ＡＬ，ＵＳＡ）を１時間加えた。プレートをＰＢＳ－Ｔで洗浄し、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）ペルオキシダーゼ基質（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ　Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ，ＵＳＡ）を添加した。反応を、ＴＭＢ停止溶液（ＳｃｙＴｅｋ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．Ｌｏｇａｎ，ＵＴ）を用いて停止した。プレートを、ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｐｌｕｓプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ，ＵＳＡ）を用いてＯＤ　４５０ｎｍで読み取った。ＥＣ５０値を、ＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏ　６．５．１　ＧｘＰソフトウェアを使用して、４パラメータフィッティングにより計算した。個々の動物の抗スパイクＩｇＧ力価を決定し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　８ソフトウェアを使用してプロットされた群幾何学的平均力価（ＧＭＴ）及び９５％の信頼区間（±９５％ＣＩ）をプロットした。５０（開始希釈）のアッセイ検出下限値（ＬＯＤ）を下回る力価を報告し、この試料に「２５」の値を割り当てて、群ＧＭＴを計算

した。

【０３６１】

ヒトＡＣＥ２受容体ブロッキング抗体ＥＬＩＳＡ：ｈＡＣＥ２受容体ブロッキング抗体価をＥＬＩＳＡにより決定した。マイクロタイタープレートを、１．０μｇ／ｍＬ$^{-1}$のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（ＣｏＶ２３７３，ロット番号０２Ａｐｒ２０，Ｎｏｖａｖａｘ，Ｉｎｃ．，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ，ＵＳＡ）で４℃で一晩コーティングした。血清を１：４０の希釈液から出発して２倍に段階希釈し、コーティングしたウェルに添加し、室温で１時間インキュベートした。洗浄後、３０ｎｇ／ｍＬ$^{-1}$のヒスチジンタグ付きのｈＡＣＥ２（Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ，Ｂｅｉｊｉｎｇ，ＣＮ）を室温で１時間ウェルに加えた。ＨＲＰコンジュゲート抗ヒスチジンＩｇＧを添加し、１時間インキュベートし、続いてＴＭＢ基質を添加した。プレートを、ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｐｌｕｓプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ，ＵＳＡ）を用いてＯＤ４５０ｎｍで読み取り、ＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏ　６．５．１　ＧｘＰソフトウェアでデータを分析した。それぞれの試料のそれぞれの希釈に対する阻害％は、ＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏプログラムの次の式：　１００－［（ＭｅａｎＲｅｓｕｌｔｓ／ＣｏｎｔｒｏｌＶａｌｕｅ@ＰｏｓｉｔｉｖｅＣｏｎｔｒｏｌ）＊１００］を使用して計算した。

【０３６２】

血清希釈対阻害％のプロットを生成し、データへの４パラメータロジスティック（４ＰＬ）曲線フィッティングにより曲線フィッティングを行った。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ｒＳタンパク質に対するｈＡＣＥ２の５０％阻害（ＩＣ５０）時の血清抗体価を、ＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏプログラムで決定した。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　８ソフトウェアを使用して、個々の動物のｈＡＣＥ２受容体阻害力価、群ＧＭＴ±９５％　ＣＩをプロットした。アッセイ検出下限値（ＬＯＤ）を下回る力価について４０（開始希釈）未満の力価を報告し、この試料に「２０」の値を割り当てて、群ＧＭＴを計算した。

【０３６３】

バイオレイヤー干渉法競合的結合アッセイ：　競合的結合バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）のアッセイを、Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ　３８４機器（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を用いて行った。ＢＬＩ研究は、ｈｉｓ$_6$タグ付きＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ｒＳタンパク質受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）をＮｉ－ＮＴＡバイオセンサチップに結合させて行った。アッセイは、１）実験血清試料（１：２００）、前免疫（０日目）陰性対照、及び前免疫血清に５μｇ／ｍＬ$^{-1}$のスパイク特異的モノクローナル抗体（ｍＡｂ）をスパイクして調製した陽性対照試料をＲＢＤバイオセンサチップに充填するステップと、２）競合ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ｍＡｂ（５μｇ／ｍＬ$^{-1}$）をＲＢＤバイオセンサチップに充填し、結合または競合を測定した２つのステップとからなる。ｍＡｂと競合する血清ポリクローナル抗体のｒＳＲＢＤタンパク質結合の競合を測定した。データは、オクテットデータ分析ＨＴ１０．０ソフトウェアを使用して分析した。データを、プラセボ０日目の血清ならびにｒＳ　ＲＢＤ　ｍＡｂの結合及び競合のパーセンテージに対して正規化した。血清試料中の競合抗体濃度（μｇ／ｍＬ$^{-1}$）を、ポリクローナル抗体競合のパーセンテージ及び競合ｍＡｂの濃度に基づいて計算した。

【０３６４】

ヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）：インフルエンザＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／２０１８（Ｈ１Ｎ１）、Ａ／Ｋａｎｓａｓ／１４／１７（Ｈ３Ｎ２）、ならびにＢ株（Ｂ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／１６及びＢ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７３／１３）に対するＨＡＩ応答を、１４日目及び２８日目の血清試料を用いて評価した。ヒト赤血球（ＲＢＣ，Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｓｐｅｃｉａｌｔｙ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ａｌｌｅｎｔｏｗｎ，ＰＡ，ＵＳＡ）の０．７５％の懸濁液を、ダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水（ＤＰＢＳ）で調製した。血清試料を、Ｖｉｂｒｉｏ　ｃｈｏｌｅｒａｅ（Ｄｅｎｋａ　Ｓｅｉｋｅｎ，Ｓｔａｍｆｏｒｄ，ＴＸ，ＵＳＡ）製の受容体破壊酵素（ＲＤＥ）で３７℃で一晩処理して、非特異的な赤血球（ＲＢＣ）血球凝集活性を除去した。ＲＤＥを、翌日に５６

℃で１時間インキュベートすることにより不活性化させた。ＲＤＥ処理した血清を、９６ウェル、Ｕ底プレート中のＤＰＢＳ中で２倍に段階希釈（１：１０で開始、２５μＬ）し、標準化したインフルエンザウイルス濃度（２５μＬ中４ＨＡ単位）と共に２５分間インキュベートした。インキュベーションの完了時に、ヒトＲＢＣの０．７５％懸濁液（５０μＬ）をそれぞれのウェルに加え、プレートを室温で４５分間インキュベートした。赤血球凝集抑制（ＨＡＩ）は、試料ウェル及び陰性対照ウェル内のＲＢＣにより形成されるＯリングの形状を観察することにより決定した。ＨＡＩ力価は、ＨＡＩが観察された最高の血清希釈の逆数として記録した（Ｏリングで最後のウェル）。アッセイ検出限界（ＬＯＤ）を下回る力価について１０（開始希釈）未満の力価を報告し、この試料に「５」の値を割り当てて、群幾何平均力価（ＧＭＴ）を計算した。

【０３６５】

マイクロ中和（ＭＮ）アッセイ：Ａ／Ｋａｎｓａｓ／１４／１７（Ｈ３Ｎ２）、Ａ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ／０２／２０８　Ｈ１Ｎ、Ｂ／Ｐｈｕｋｅｔ／３０７３／１３、及びＢ／Ｍａｒｙｌａｎｄ／１５／２０１６に対するウイルス中和抗体を、１４日目及び２８日目の血清試料を用いて評価した。血清試料を５６℃で３０分間熱不活性化し、２倍に段階希釈し（１：２０、５０μＬで開始）、１００個のＴＣＩＤ５０ウイルス（５０μＬ）と共に２時間インキュベートした。インキュベーションの終了時に、１００μＬの1.5×10^{5}／ｍＬ$^{-1}$のＭＤＣＫ細胞をそれぞれのウェルに加え、プレートを５％のＣＯ２と共に、インフルエンザＡ型ウイルスについては３７℃で、インフルエンザＢ型ウイルスについては３２℃でインキュベートした。１８～２２時間のインキュベーション後に、細胞を８０％の冷アセトンで固定し、マウスモノクローナル抗インフルエンザＡまたはＢ核タンパク質（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ，ＭＡ，ＵＳＡ）と共にインキュベートし、続いてペルオキシダーゼコンジュゲートヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｋｉｒｋｅｇａａｒｄ　ａｎｄ　Ｐｅｒｒｙ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ，ＵＳＡ）と共にインキュベートした。３－アミノ－９－エチルカルバゾール（ＡＥＣ）基質（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｓａｉｎｔ　Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ，ＵＳＡ）での現像後の光学濃度を使用して、それぞれの血清試料の５０％マイクロ中和力価（５０％ＭＮ）を算出した。アッセイ検出限界（ＬＯＤ）を下回る力価について２０（開始希釈）未満の力価を報告し、この試料に「１０」の値を割り当てて、群幾何平均力価（ＧＭＴ）を計算した。

【０３６６】

経口スワブ、気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）、及び肺組織試料の収集：経口スワブを、研究３７日目、３９日目、及び４２日目（２、４及び７ｄｐｉ）で収集した。ＢＡＬ試料及び肺を７ｄｐｉで実行された剖検で収集した。肺を秤量し、半分に分け、１セットを秤量し（約０．１～０．２グラム）、ウイルス力価決定のためにスナップ凍結した。第２のセットを、病理組織分析のためにホルマリン中で保存した。ウイルス量アッセイのために、組織を秤量し、事前にラベル付けされたＳａｒｓｔｅｄｔクリオバイアル（２／試料）に入れ、ドライアイスでスナップ凍結した。肺ホモジネートを、手持ち式組織ホモジナイザー（Ｏｍｎｉ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，　Ｋｅｎｎｅｓａｗ，　ＧＡ，　ＵＳＡ）を約２０秒間使用して０．５ｍＬのＲＮＡ－Ｓｔａｔ中で調製した。これらの試料を遠心分離により浄化し、ウイルス量決定のために上清を単離した。

【０３６７】

ｑＲＴ－ＰＣＲによるサブゲノム（ｓｇ）ＲＮＡの定量：ｑＲＴ－ＰＣＲアッセイでは、コロナウイルスのヌクレオカプシド（Ｎ）遺伝子の保存された領域を増幅し、結合するように設計されたプライマー及びプローブを利用した。このシグナルを標準曲線と比較し、１ｍＬあたりのコピー数を算出した。ｑＲＴ－ＰＣＲアッセイでは、クロロホルムと混合したＲＮＡ－ＳＴＡＴ　６０（Ｔｅｌ－ｔｅｓｔ「Ｂ」）でウイルスＲＮＡを肺ホモジネートから抽出し、これを沈殿させ、ＲＮａｓｅを含まない０．０４％のNaN_3（ＡＶＥ）緩衝液（ＱＩＡＧＥＮカタログ番号１０２０９５３）に懸濁させた。増幅反応の対照を生成するために、同じ手順を使用してウイルスストックからＲＮＡを単離した。ウイル

スＲＮＡの量を、既知の量のプラスミド対照と比較することによって決定した。最終希釈物３μＬあたり10^8のコピーを、１０μＬのシングルユースアリコートに分け、－８０℃で保存した。ＴａｑＭａｎ　ＲＴ－ＰＣＲキット（ビオリン＃ＢＩＯ－７８００５）から調製したＴａｑ－ポリメラーゼを含む２．５ｍＬの２×緩衝液を用いてマスターミックスを調製した。このキットから、５０μＬのＲＴ及び１００μＬのＲＮＡｓｅ阻害剤を加えた。２μＭの濃度のプライマー対を１．５ｍＬの体積で添加した。０．５ｍＬの水及び２μＭの濃度の３５０μＬのプローブを加え、チューブをボルテックス処理した。反応のために、４５μＬのマスターミックス及び５μＬの試料ＲＮＡを、９６ウェルプレートのウェルに３重で添加する。

【０３６８】

対照曲線の作成のために、対照ウイルスＲＮＡを、３μＬあたり10^6～10^7コピーを含むように調製する。対照ＲＮＡの１０倍系列段階希釈を、ＲＮＡｓｅを含まない水を用いて、５μＬの対照を４５μＬの水に加え、これを７段階希釈分繰り返すことによって調製した。標準曲線範囲は１～10^7コピー／反応である。ｓｇ－Ｎは、その曲線のために既知のプラスミドを使用した。それぞれの希釈物の２重試料を、上記のように調製する。増幅のために、プレートをＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　７５００配列検出器（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に入れ、以下のプログラムを使用して増幅した：４８℃で３０分間、９５℃で１０分間、その後に９５℃で１５秒間及び１分間で５５℃を４０サイクル。ｍＬあたりのＲＮＡのコピー数を標準曲線から外挿し、０．２ｍｌ抽出体積の逆数を乗じることによって計算した。鼻腔洗浄については、５０～５×10^8ＲＮＡコピー／ｍＬの範囲である。肺ウイルス量をホモジネート１グラムあたりのＲＮＡコピーとして報告した。本研究で使用したプライマー及びプローブの配列を以下に示す：

【０３６９】

２０１９－ｎＣｏＶ＿Ｎ１－Ｆ：５’－ＧＡＣ　ＣＣＣ　ＡＡＡ　ＡＴＣ　ＡＧＣ　ＧＡＡ　ＡＴ－３’（配列番号１６９）

【０３７０】

２０１９－ｎＣｏＶ＿Ｎ１－Ｒ：５’－ＴＣＴ　ＧＧＴ　ＴＡＣ　ＴＧＣ　ＣＡＧ　ＴＴＧ　ＡＡＴ　ＣＴＧ－３’（配列番号１７０）

【０３７１】

２０１９－ｎＣｏＶ＿Ｎ１－Ｐ：５’－６－ＦＡＭ／ＡＣＣＣＣＧＣＡＴ／ＺＥＮ／ＴＡＣＧＴＴＧＧＴＧＧＡＣＣ／３ＩＡＢｋＦＱ（配列番号１７１）

【０３７２】

Ｓｇ－Ｎ－Ｆ　５’－ＣＧＡＴＣＴＣＴＴＧＴＡＧＡＴＣＴＧＴＴＣＴＣ－３’（配列番号１７２）

【０３７３】

Ｓｇ－Ｎ－Ｒ　５’－ＧＧＴＧＡＡＣＣＡＡＧＡＣＧＣＡＧＴＡＴ－３’（配列番号１７３）

【０３７４】

Ｓｇ－Ｎ－Ｐ　５’－６－ＦＡＭ／ＴＡＡＣＣＡＧＡＡ／ＺＥＮ／ＴＧＧＡＧＡＡＣＧＣＡＧＴＧＧＧ／３ＩＡＢｋＦＱ（配列番号１７４）

【０３７５】

病理組織学：実験後７日目の剖検で採取した肺検体を、１０％中性ホルマリン中に入れた。固定された組織を処理し、組織学的検査のためにヘマトキシリン及びエオシン（Ｈ＆Ｅ）で染色した。Ｈ＆Ｅスライドを、委員会認定の病理学者（Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．（ＥＰＩ，Ｓｔｅｒｌｉｎｇ，ＶＡ，ＵＳＡ）が目隠し方式で検査した。

【０３７６】

統計分析：ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　９．０．０ソフトウェアを統計分析に使用した。血清抗体価を、個々の動物についてグラフで表示し、幾何学的平均力価（ＧＭＴ）

及び９５％信頼区間（９５％ＣＩ）をプロットした。ウイルス量を、中央値、四分位範囲、及び最小値と最大値としてプロットした。スチューデントのｔ検定を使用して、図面の凡例に示されているように、対にされた群間の差を求めた。ｐ≦０．０５が有意であると考えられた。

【０３７７】

実施例５

ＣＯＶＩＤ－１９及びインフルエンザに対する免疫原性組成物の安全性及び有効性を評価する第１／２相試験

「ｑＮＩＶ／ＣｏＶ２３７３」または「ＩＣＣワクチン」とも呼ばれる、ＣＯＶＩＤ－１９及びインフルエンザに対する組み合わせ免疫原性組成物の免疫原性及び有効性を、５０～７０歳の約６４０名の健康な参加者を含む第１／２相試験において評価した。参加者の年齢の中央値は、５９歳であった。試験母集団は、男性６２％及び女性３８％を含んでいた。参加者の１００％は、ＣｏＶ　ＳポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含む最初のＣＯＶＩＤ－１９ワクチン接種シリーズまたはＣｏＶ　ＳポリペプチドをコードするｄＮＡを含むアデノウイルスワクチンを以前に受け取っていた。

【０３７８】

組み合わせ免疫原性組成物は、（ｉ）４つの異なるインフルエンザ株のヘマグルチニン（ＨＡ）を含むナノ粒子；（ｉｉ）配列番号８７のＣｏＶ　Ｓポリペプチドを含むナノ粒子；及び（ｉｉｉ）サポニンアジュバント（すなわち８５％のＩＳＣＯＭマトリクス画分Ａ及び１５％のＩＳＣＯＭマトリクス画分Ｃ）を含む。ＣｏＶ　Ｓポリペプチド及びＨＡの１４の異なる組み合わせ用量を評価した（表４）。表４に、試験デザインと、それぞれの群のヘマグルチニン、ＣｏＶ　Ｓポリペプチド、及びサポニンアジュバントの量を示す。患者に、０日目に免疫原性組成物の初回用量と、初回用量の投与後の５６日目（＋５日）に免疫原性組成物の追加用量を投与した。

【０３７９】

組み合わせ免疫原性組成物の免疫原性ならびにＣＯＶＩＤ－１９及びインフルエンザに対する有効性を、ヘマグルチニンナノ粒子及びサポニンアジュバント（ヘマグルチニン免疫原性組成物）を含む免疫原性組成物ならびにＣｏＶ　Ｓポリペプチド及びサポニンアジュバント（ＣｏＶ　Ｓポリペプチド免疫原性組成物）を含む免疫原性組成物と比較した。

【表１２－１】

表4：試験デザイン

ワクチン群	N	0日目			56日目（+5日）		
		1株あたりのヘマグルチニンの量（μg）	CoV Sポリペプチド量（μg）	サポニンアジュバント（μg）	1株あたりのヘマグルチニンの量（μg）	CoV Sポリペプチド量（μg）	サポニンアジュバント（μg）
ICCワクチン製剤							
A	40	60	22・5	50	60	22・5	50
B	40	10	2・5	50	10	2・5	50
C	40	60	22・5	50	60	22・5	50
D	40	10	7・5	50	10	7・5	50
E	40	10	22・5	50	10	22・5	50
F	40	35	7・5	50	35	7・5	50
G	40	5	22・5	50	5	22・5	50
H	40	60	2・5	50	60	2・5	50
I	40	5	7・5	50	5	7・5	50
J	40	5	2・5	50	5	2・5	50
K	40	35	22・5	50	35	22・5	50
L	40	35	2・5	50	35	2・5	50
M	40	60	7・5	50	60	7・5	50

【表１２－２】

ワクチン群	N	０日目			５６日目（＋５日）		
		１株あたりのヘマグルチニンの量（μｇ）	ＣｏＶ　Ｓポリペプチド量（μｇ）	サポニンアジュバント（μｇ）	１株あたりのヘマグルチニンの量（μｇ）	ＣｏＶ　Ｓポリペプチド量（μｇ）	サポニンアジュバント（μｇ）
Ｎ	４０	６０	２・５	５０	６０	２・５	５０
ヘマグルチニン免疫原性組成物							
Ｏ[1]	４０	６０	０	７５	０	５	５０
ＣｏＶ　Ｓポリペプチド免疫原性組成物							
Ｐ	４０	０	５	５０	０	５	５０
合計	６４０						

【０３８０】

これらの組み合わせワクチンは十分に耐容性であった。最も一般的に応答した局所的有害事象は、注射部位の疼痛及び圧痛であった。最も一般的な全身性の有害事象は、疲労、頭痛、倦怠感、筋肉痛、または発熱であった。ほとんどの有害事象は、グレード０、グレード１、またはグレード２の有害事象であった。グレード３のイベントはまれであり、グレード４のイベントはなかった。有害事象は、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量によって実質的に変化しなかった。しかしながら、ヘマグルチニンの投与量の増加に伴い、有害事象はわずかに増加した。特に注目すべき有害事象はなかった。

【０３８１】

患者の血清を０日目、２８日目、５６日目、及び７０日目に収集して、様々なインフルエンザ株に対する抗スパイクＩｇＧ抗体及びヘマグルチニン阻害抗体（ＨＡＩ）幾何学的平均力価を定量化した。

【０３８２】

図１５は、免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量の関数として抗スパイクＩｇＧ抗体の力価を示す。図１６は、免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量の関数としてのＡ／Ｂｒｉｓｂａｎｅ　Ｈ１Ｎ１に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。図１７は、免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量の関数としてのＡ／Ｋａｎｓａｓ　Ｈ３Ｎ２に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。図１８は、免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量の関数としてのＢ／Ｍａｒｙｌａｎｄ（Ｖｉｃ）に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。図１９は、免疫後０日目から２８日目までのヘマグルチニン及びＣｏＶ　Ｓポリペプチドの用量の関数としてのＢ／Ｐｈｕｋｅｔ（Ｙａｍ）に対するＨＡＩ幾何平均力価を示す。

【０３８３】

このデータは、ヘマグルチニンとＣｏＶ　Ｓポリペプチドの組み合わせを含む組成物が、ＣｏＶ　Ｓポリペプチドのみを含む組成物と比較して、同等以上の抗スパイクＩｇＧ抗体を誘導することを示している（図１５）。さらに、組成物は４種のインフルエンザウイルス株に対して有効である。

【０３８４】

本開示のナンバリングされた実施形態

【０３８５】

１．　免疫原性組成物であって、

（ａ）洗剤－コアナノ粒子の形態のコロナウイルスＳ（ＣｏＶ　Ｓ）糖タンパク質（前記洗剤は非イオン性洗剤である）と、

（ｂ）少なくとも３種のヘマグルチニン（ＨＡ）糖タンパク質（それぞれのＨＡ糖タンパク質が、異なるインフルエンザ株由来である）と、

（ｃ）薬学的に許容される緩衝液と、

を含む、前記免疫原性組成物。

【０３８６】

２．　前記少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質が、

（ａ）ヘマグルチニン（ＨＡ）を含む洗剤－コアナノ粒子；

（ｂ）ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）；

（ｃ）不活化された全インフルエンザウイルス；

（ｄ）インフルエンザウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物（任意選択でインフルエンザスプリットビリオン組成物またはサブユニットインフルエンザ組成物である）；及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される形態である、実施形態１に記載の免疫原性組成物。

【０３８７】

３．　少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質が、ＨＡを含む洗剤－コアナノ粒子の形態であり、少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質が、ＨａＳＭａＮの形態である、実施形態１または２のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０３８８】

４．　前記少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質が、細胞培養ベースのプロセスまたは卵ベースの製造プロセスに由来する、実施形態１～３のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０３８９】

５．　前記洗剤－コアナノ粒子のヘマグルチニン糖タンパク質が、Ｂ型インフルエンザ株由来である、実施形態２～４のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０３９０】

６．　前記洗剤－コアナノ粒子のヘマグルチニン糖タンパク質が、Ａ型インフルエンザ株由来である、実施形態２～５のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。
【０３９１】
７．　前記洗剤－コアナノ粒子が、トリプシン耐性ナノ粒子である、実施形態２～６のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。
【０３９２】
８．　前記ＨａＳＭａＮが、トリプシン耐性ナノ粒子である、実施形態２～７のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。
【０３９３】
９．　前記洗剤が、ＰＳ８０である、実施形態１～９のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。
【０３９４】
１０．　前記インフルエンザ株が、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１０、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１４、Ｈ１５、Ｈ１６、Ｈ１７、及びＨ１８からなる群から選択されるサブタイプのものである、実施形態１～９のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。
【０３９５】
１１．　前記薬学的に許容される緩衝液が、（ｉ）約２５ｍＭのリン酸ナトリウム；（ｉｉ）約１５０ｍＭの塩化ナトリウム；（ｉｉｉ）約１００ｍＭのアルギニン塩酸塩；（ｉｖ）約５％のトレハロースを含み、前記組成物のｐＨが約７．５である、実施形態２～１０のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。
【０３９６】
１２．　追加の１種以上の洗剤－コアナノ粒子と、追加の１種以上のＨａＳＭａＮとを含み、それぞれの洗剤－コアナノ粒子が、Ｂ型ＨＡ糖タンパク質を含み、それぞれのＨａＳＭａＮがＡ型株ＨＡ糖タンパク質を含み、それぞれのＨＡ糖タンパク質が、異なるインフルエンザ株に由来する、実施形態２～１１のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。
【０３９７】
１３．　前記ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質が、
（ｉ）不活性化されたフューリン切断部位を有するＳ１サブユニット（前記Ｓ１サブユニットは、Ｎ末端ドメイン（ＮＴＤ）、受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）、サブドメイン１及び２（ＳＤ１／２）を含み、前記不活性化されたフューリン切断部位は、ＱＱＡＱ（配列番号７）のアミノ酸配列を有する）
（前記ＮＴＤは、任意選択で：
（ａ）アミノ酸５６、５７、１３１、１３２、１４４、１４５、２２８、２２９、２３０、２３１、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２３９、２４０及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の欠失；
（ｂ）アミノ酸１３２の後に１、２、３、または４個のアミノ酸の挿入；
（ｃ）アミノ酸５、６、７、１３、５１、５３、５６、５７、６２、６３、６７、８２、１２５、１２９、１３１、１３２、１３３、１３９、１４３、１４４、１４５、１７７、２００、２０１、２０２、２０９、２２９、２３３、２４０、２４５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異、
からなる群から選択される１つ以上の改変を含み、
前記ＲＢＤは、任意選択で、アミノ酸３３３、４０４、４１９、４２６、４３９、４４０、４６４、４６５、４７１、４７７、４８１、４８８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異を含み、
前記ＳＤ１／２ドメインは、任意選択で、５５７、６００、６０１、６４２、６６４、６６８、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１個以上のアミノ酸の変異を含む）と、
（ｉｉ）Ｓ２サブユニット（アミノ酸９７３及び９７４がプロリンである）、
（前記Ｓ２サブユニットは、任意選択で：

（ａ）６７６～６８５、６７６～７０２、７０２～７１１、７７５～７９３、８０６～８１５、及びそれらの組み合わせからの１個以上のアミノ酸の欠失；
（ｂ）６８８、７０３、８４６、８７５、９３７、９６９、１０１４、１０５８、１１０５、及び１１６３、ならびにそれらの組み合わせからの１個以上のアミノ酸の変異；（ｃ）ＴＭＣＴからの１個以上のアミノ酸の欠失；
を含む）と、を含み、前記ＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質のアミノ酸は、配列番号２の配列を有するポリペプチドに対してナンバリングされる、実施形態１～１２のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０３９８】

１４．　前記ＣｏＶ　Ｓポリペプチドが、配列番号８６～８９、１０５、１０６、１１２～１１５、及び１６４～１６８のいずれか１つに対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０３９９】

１５．　前記Ｓ２サブユニット、ＮＴＤ、ＲＢＤ、及びＳＤ１／２のそれぞれが、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットまたはドメインと少なくとも９５％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４００】

１６．　前記Ｓ２サブユニット、ＮＴＤ、ＲＢＤ、及びＳＤ１／２のそれぞれが、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットまたはドメインと少なくとも９７％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４０１】

１７．　前記Ｓ２サブユニット、ＮＴＤ、ＲＢＤ、及びＳＤ１／２のそれぞれが、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットまたはドメインと少なくとも９９％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４０２】

１８．　前記Ｓ２サブユニット、ＮＴＤ、ＲＢＤ、及びＳＤ１／２のそれぞれが、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットまたはドメインと少なくとも９９．５％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４０３】

１９．　３種または４のヘマグルチニン糖タンパク質を含む、実施形態１～１８のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０４０４】

２０．　最大４種、最大５種、最大６種、最大７種、最大８種、最大９種、または最大１０種のＨＡ糖タンパク質を含む、実施形態１～１９のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０４０５】

２１．　それぞれのＨＡ糖タンパク質がナノ粒子の形態である、実施形態１～２０のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０４０６】

２２．　それぞれのナノ粒子が、単一インフルエンザ株由来のＨＡ糖タンパク質を含む、実施形態２１に記載の免疫原性組成物。

【０４０７】

２３．　それぞれのナノ粒子が、洗剤－コアナノ粒子またはＨａＳＭａＮである、実施形態２２に記載の免疫原性組成物。

【０４０８】

２４．　前記Ｓ２サブユニットが、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９

２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４０９】

２５．　前記ＮＴＤが、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４１０】

２６．　前記ＲＢＤが、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４１１】

２７．　前記ＳＤ１／２が、配列番号２のアミノ酸配列を有するＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質の対応するサブユニットと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一である、実施形態１４に記載の免疫原性組成物。

【０４１２】

２８．　アジュバントを含む、実施形態１～２７のいずれか１つに記載の免疫原性組成物。

【０４１３】

２９．　前記アジュバントが、少なくとも２つのＩＳＣＯＭ粒子を含み、
前記第１のＩＳＣＯＭ粒子が、Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａ画分Ａを含み、Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａ画分Ｃを含まず；
前記第２のＩＳＣＯＭ粒子が、Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａ画分Ｃを含み、Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａ画分Ａを含まない；
実施形態２８に記載の免疫原性組成物。

【０４１４】

３０．　Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分ＡとＱｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃが、前記アジュバント中の、Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分Ａ、及びＱｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃの合計の重量の、それぞれ約９２重量％と約８重量％を占める、実施形態２９に記載の免疫原性組成物。

【０４１５】

３１．　Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分ＡとＱｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃが、前記アジュバント中の、Ｑｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分Ａ、及びＱｕｉｌｌａｊａ　Ｓａｐｏｎａｒｉａ　Ｍｏｌｉｎａの画分Ｃの合計の重量の、それぞれ約８５重量％と約１５重量％を占める、実施形態２９に記載の免疫原性組成物。

【０４１６】

３２．　前記アジュバントが、約５０μｇまたは約７５μｇの用量で投与される、実施形態２８に記載の免疫原性組成物。

【０４１７】

３３．　対象におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、インフルエンザウイルス、またはそれらの組み合わせに対する免疫応答を刺激する方法であって、実施形態１～３２のいずれか１つに記載の免疫原性組成物を投与することを含む、前

記方法。
【０４１８】
３４．前記対象に、０日目に初回用量を投与し、５６日目に追加用量を投与する、実施形態３３に記載の方法。
【０４１９】
３５．前記対象に、約１μｇ～約２５μｇのＣｏＶ Ｓ糖タンパク質を投与する、実施形態３３に記載の方法。
【０４２０】
３６．前記対象に、約３μｇ、約５μｇ、約２５μｇ、約２２．５μｇ、約７．５μｇ、または約２．５μｇのコロナウイルスＳ糖タンパク質を投与する、実施形態３３に記載の方法。
【０４２１】
３７．前記対象に、１株あたり約５μｇ、約１０μｇ、約２４μｇ、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９μｇ、約３０μｇ、約３１μｇ、約３２μｇ、約３３μｇ、約３４μｇ、約３５μｇ、約３６μｇ、約３７μｇ、約３８μｇ、約３９μｇ、約４０μｇ、または約６０μｇのヘマグルチニンを投与する、実施形態３３に記載の方法。
【０４２２】
３８．前記対象に、１株あたり約２０μｇ～約５０μｇのＣｏＶ Ｓ糖タンパク質及び約２４μｇ～約４０μｇのヘマグルチニンを投与することを含む、実施形態３３～３７のいずれか１つに記載の方法。
【０４２３】
３９．前記対象に、１株あたり約１μｇ～約５０μｇのＣｏＶ Ｓ糖タンパク質及び約５μｇ～約６０μｇのヘマグルチニンを投与することを含む、実施形態３３～３７のいずれか１つに記載の方法。
【０４２４】
４０．前記対象に、約３μｇ、約５μｇ、約２５μｇ、約２２．５μｇ、約７．５μｇ、または約２．５μｇのコロナウイルスＳ糖タンパク質を投与することを含む、実施形態３３～３７のいずれか１つに記載の方法。
【０４２５】
４１．前記対象に、１株あたり約５μｇ、約１０μｇ、約２４μｇ、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９μｇ、約３０μｇ、約３１μｇ、約３２μｇ、約３３μｇ、約３４μｇ、約３５μｇ、約３６μｇ、約３７μｇ、約３８μｇ、約３９μｇ、約４０μｇ、または約６０μｇのヘマグルチニンを投与することを含む、実施形態３３～３７のいずれか１つに記載の方法。
【０４２６】
４２．前記免疫原性組成物を筋肉内投与することを含む、実施形態３３に記載の方法。
【０４２７】
４３．前記免疫原性組成物の単回投与が投与される、実施形態３３及び３５～４２までのいずれか１つに記載の方法。
【０４２８】
４４．前記不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株が、Ｃａｌ．２０Ｃ ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｐ．１ ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．３５１ ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、Ｂ．１．１．７ ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｂ．１．６１７．２株、Ｂ．１．５２５株、、Ｂ．１．５２６株、Ｂ．１．６１７．１株、Ｃ．３７株、Ｂ．１．６２１株、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロン株からなる群から選択される、実施形態３３～４３のいずれか１つに記載の方法。
【０４２９】
４５．コロナウイルス疾患１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を予防するための前記免疫原性組成物の有効性が、前記免疫原性組成物の投与後、最大約２か月、最大約２．５か月、最

大約３か月、最大約３．５か月、最大約４か月、最大約４．５か月、最大約５か月、最大約５．５か月、最大約６か月、最大約６．５か月、最大約７か月、最大約７．５か月、最大約８か月、最大約８．５か月、最大約９か月、最大約９．５か月、最大約１０か月、最大約１０．５か月、最大約１１か月、最大約１１．５か月、または最大約１２か月の間で、少なくとも５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、もしくは少なくとも約９９％、または約１００％である、実施形態３３～４３のいずれか１つに記載の方法。

【０４３０】

４６．　実施形態では、コロナウイルス疾患１９（ＣＯＶＩＤ－１９）を予防するための前記免疫原性組成物の有効性が、免疫原性組成物の投与後、最大約２か月、最大約２．５か月、最大約３か月、最大約３．５か月、最大約４か月、最大約４．５か月、最大約５か月、最大約５．５か月、最大約６か月、最大約６．５か月、最大約７か月、最大約７．５か月、最大約８か月、最大約８．５か月、最大約９か月、最大約９．５か月、最大約１０か月、最大約１０．５か月、最大約１１か月、最大約１１．５か月、または最大約１２か月の間で、約５０％～約９９％、約５０％～約９５％、約５０％～約９０％、約５０％～約８５％、約５０％～約８０％、約６０％～約９９％、約６０％～約９５％、約６０％～約９０％、約６０％～約８５％、約６０％～約８０％、約４０％～約９９％、約４０％～約９５％、約４０％～約９０％、約４０％～約８５％、約４０％～約８０％、約４０％～約７５％、約４０％～約７０％、約４０％～約６５％、約４０％～約５５％、または約４０％～約５０％である、実施形態３３～４３のいずれか１つに記載の方法。

【０４３１】

４７．　対象におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、不均一なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株、インフルエンザウイルス、またはそれらの組み合わせに対する免疫応答を刺激する方法であって、

（ａ）（ｉ）洗剤－コアナノ粒子の形態のＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質（前記洗剤が非イオン性洗剤である）、及び（ｉｉ）薬学的に許容される緩衝液を含む第１の免疫原性組成物を投与することと；

（ｂ）（ｉ）少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質（それぞれのＨＡ糖タンパク質が異なるインフルエンザ株由来である）、及び（ｉｉ）薬学的に許容される緩衝液を含む第２の免疫原性組成物を投与することと

を含む前記方法。

【０４３２】

４８．　前記第１の免疫原性組成物の用量が、約１μｇ～約５０μｇのＣｏＶ　Ｓ糖タンパク質を含む、実施形態４７に記載の方法。

【０４３３】

４９．　前記第２の免疫原性組成物の用量が、約５μｇ～約１００μｇのヘマグルチニンを含む、実施形態４７～４８のいずれか１つに記載の方法。

【０４３４】

５０．　前記第１の免疫原性組成物及び前記第２の免疫原性組成物が、筋肉内に投与される、実施形態４７～４９のいずれか１つに記載の方法。

【０４３５】

５１．　前記第１の免疫原性組成物が筋肉内に投与され、前記第２の免疫原性組成物が筋肉内に投与される、実施形態４７～４９のいずれか１つに記載の方法。

【０４３６】

５２．　前記第１の免疫原性組成物と前記第２の免疫原性組成物が、互いに１５分以内に投与される、実施形態４７～４５１のいずれか１つに記載の方法。

【０４３７】

５３．　前記第１の免疫原性組成物と前記第２の免疫原性組成物が、同じ腕に投与される、実施形態４７～５０、及び５２のいずれか１つに記載の方法。

【０４３８】

５４．　前記第１の免疫原性組成物と前記第２の免疫原性組成物が、異なる腕に投与される、実施形態４７～５０、及び５２のいずれか１つに記載の方法。

【０４３９】

５５．　前記第２の免疫原性組成物が、少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質を含み、それぞれの糖タンパク質が、独立して、

（ａ）ヘマグルチニン（ＨＡ）を含む洗剤－コアナノ粒子；

（ｂ）ＨａＳＭａＮ（ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子）；

（ｃ）不活化された全インフルエンザウイルス；

（ｄ）インフルエンザウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物（任意選択でインフルエンザスプリットビリオン組成物またはサブユニットインフルエンザ組成物である）；及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される形態である、実施形態４７～５４のいずれか１つに記載の方法。

【０４４０】

５６．　少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質が、ＨＡを含む洗剤－コアナノ粒子の形態であり、少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質が、ＨａＳＭａＮの形態である、実施形態５５に記載の方法。

【０４４１】

５７．　前記第２の免疫原性組成物が、ウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物の形態の少なくとも３種のＨＡ糖タンパク質を含む、実施形態４７～５６のいずれか１つに記載の方法。

【０４４２】

５８．　前記ウイルスから抽出されたヘマグルチニン組成物が、インフルエンザスプリットビリオンである、実施形態５７に記載の方法。

【０４４３】

５９．　前記第２の免疫原性組成物が、ヘマグルチニンを含む洗剤－コアナノ粒子の形態の少なくとも１種のＨＡ糖タンパク質と、ＨａＳＭａＮの形態の少なくとも１種のヘマグルチニンとを含む、実施形態５５に記載の方法。

【０４４４】

６０．　前記第２の免疫原性組成物が、少なくとも４種のＨＡ糖タンパク質を含み、それぞれのＨＡ糖タンパク質が、異なるインフルエンザ株由来である、実施形態４７～５９のいずれか１つに記載の方法。

【０４４５】

６１．　実施形態１～３２のいずれか１つに記載の免疫原性組成物を含む、充填済みシリンジ。

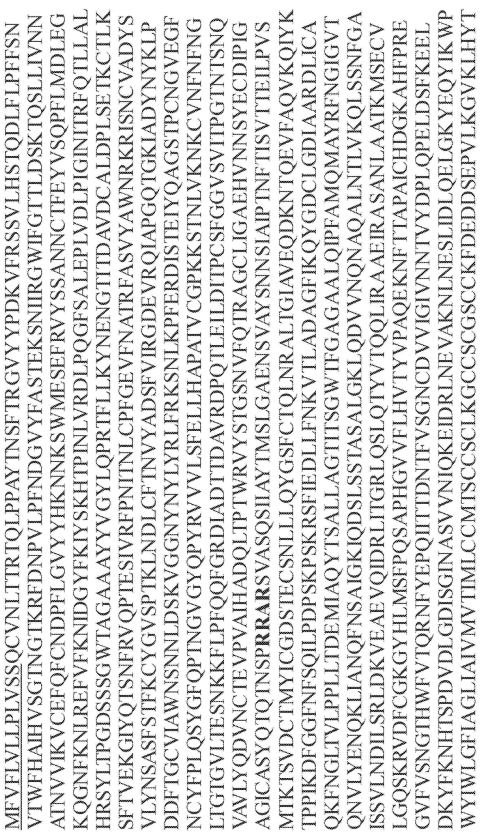
【０４４６】

参照による組み込み

本明細書に引用されるすべての参考文献、記事、刊行物、特許、特許公報、及び特許出願は、参照によりそれらの全体があらゆる目的で本明細書に組み込まれる。しかしながら、本明細書で引用されるいずれの参考文献、論文、刊行物、特許、特許公開、及び特許出願の言及も、それらが有効な先行技術を構成する、または世界のいずれかの国における一般的知識の一部を形成するという認識でも、いかなる形態の示唆でもなく、そのように解釈されるべきではない。本出願はさらに、米国特許第１０，４２６，８２９号、米国特許出願公開第２０１９／０３１４４８７号、米国特許第１０，９５３，０８９号、米国特許第１０，７２９，７６４号、及び米国特許第８，８２１，８８１号の特許文献の内容全体を組み込む。

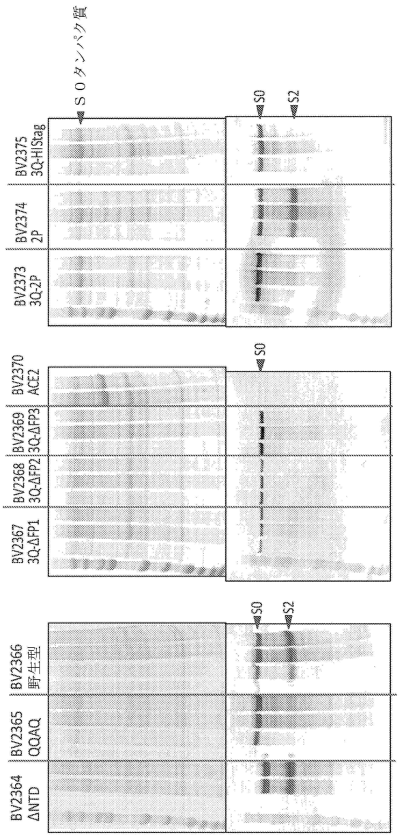
【図面】

【図１】

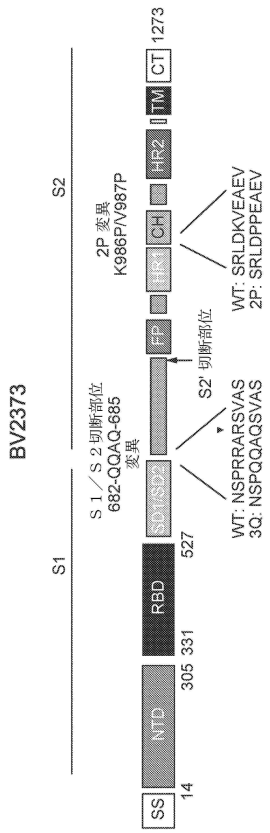


配列番号１

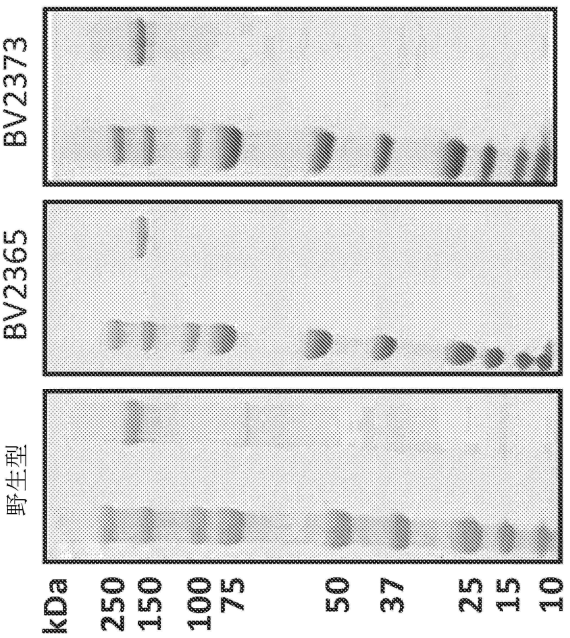
【図２】



【図３】



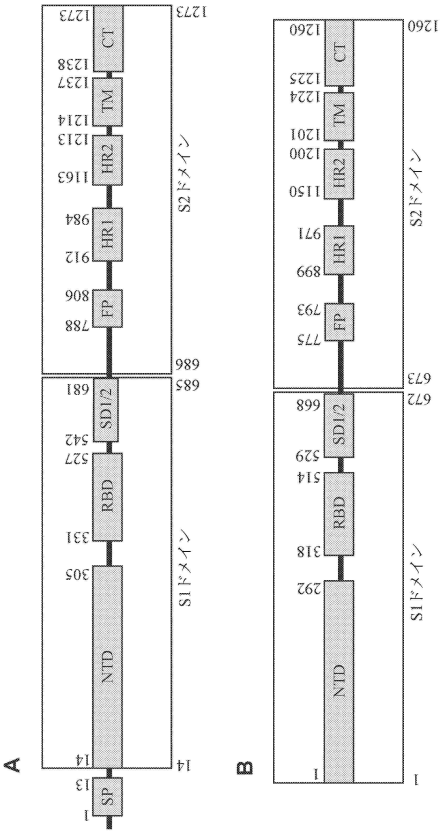
【図４】



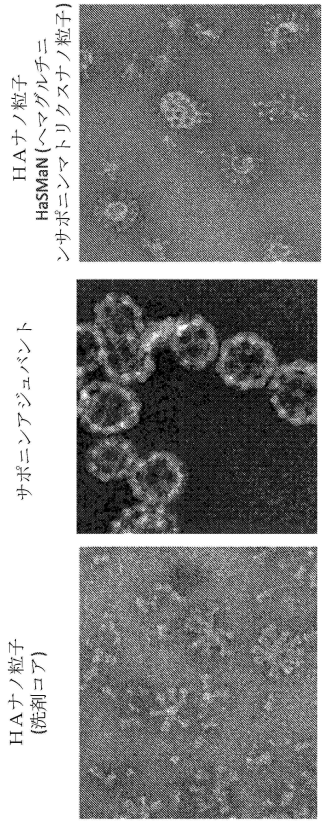
【図５】

BV2373 (配列番号８６)
CoV-2019/QQAQ/K986P/V987P
不活性なフューリン切断部位
シグナルペプチド
MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGT
NGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYH
KNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQG
FSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCA
LDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADY
SVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS
NNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVV
VLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEI
LDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVN
NSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPQQAQSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVS
MTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFS
QILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSA
LLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTPSALGKLQ
DVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASA
NLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF
VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGD
ISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCC
SCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT

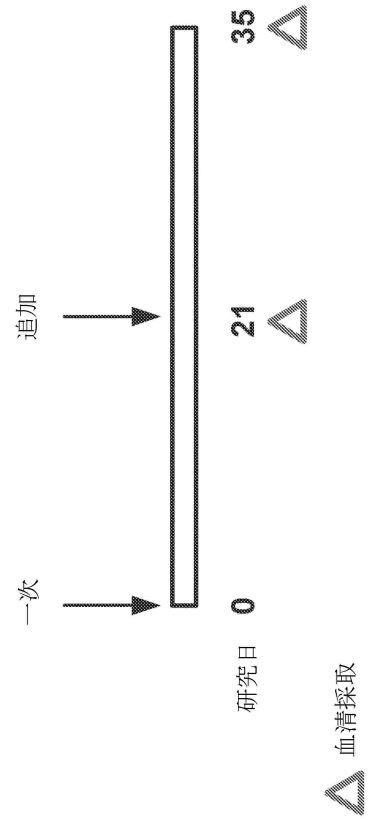
【図６】


A
B
SP
NTD
RBD
SD1/2
FP
HR1
HR2
TM
CT
S1ドメイン
S2ドメイン
1
13
14
305
331
527
542
681
685
686
788
806
912
984
1163
1213
1214
1237
1238
1273
672
673
292
318
514
529
668
773
793
899
971
1150
1200
1201
1224
1225
1260

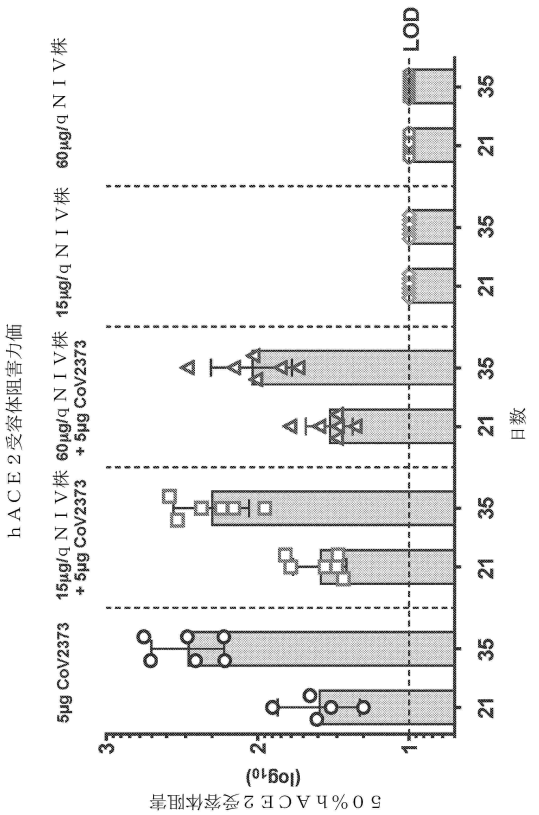
【図７】


HAナノ粒子
(洗剤コア)
サポニンアジュバント
HAナノ粒子
HaSMaN (ヘマグルチニンサポニンマトリクスナノ粒子)

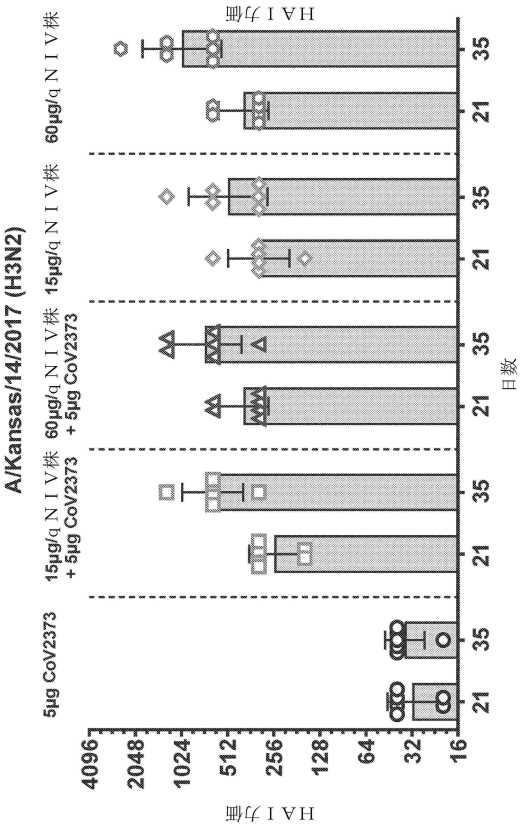
【図８Ａ】


一次
追加
0
21
35
研究日
血清採取

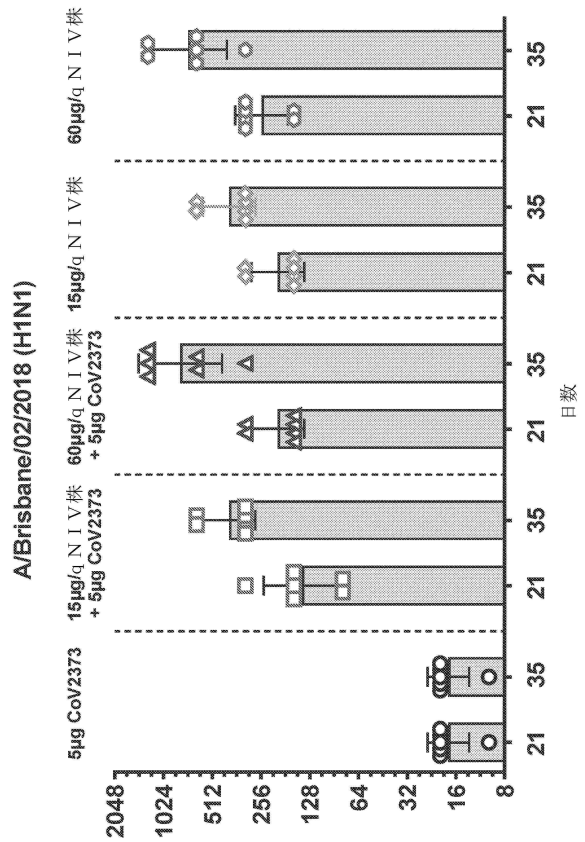
【図８Ｂ】



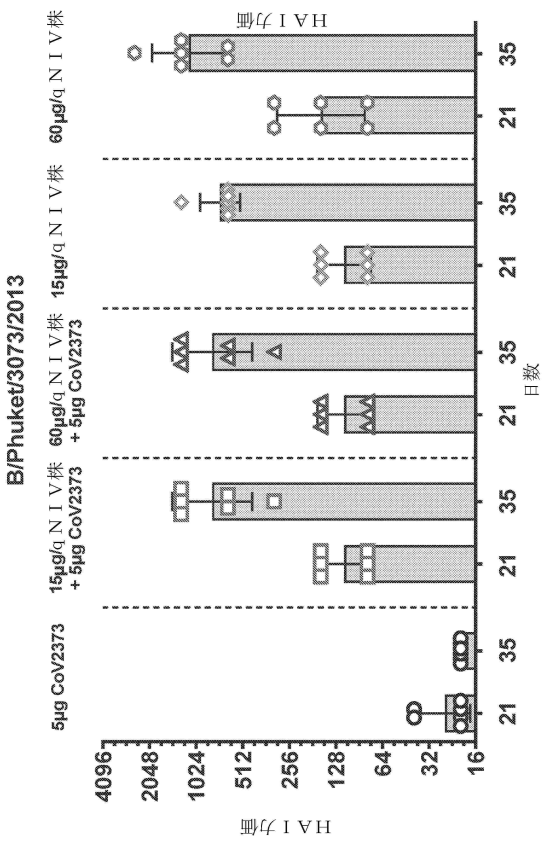
【図８Ｃ】



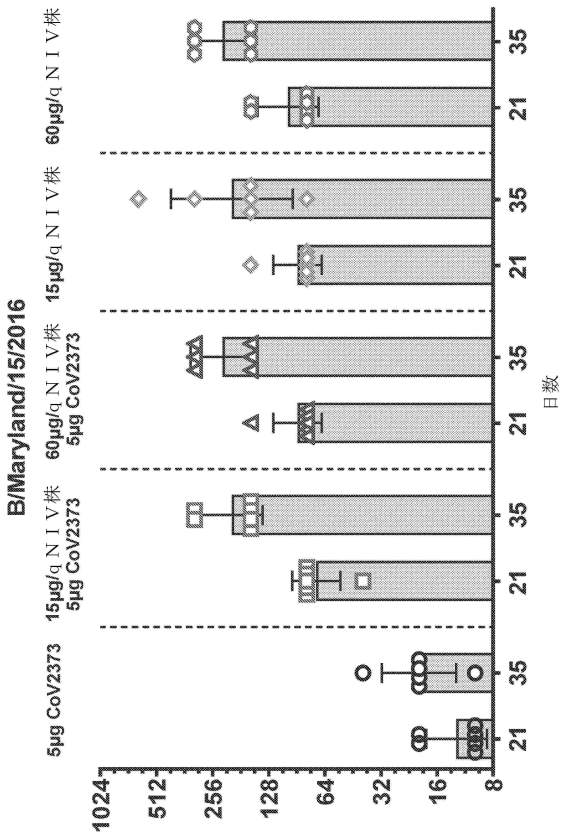
【図８Ｄ】



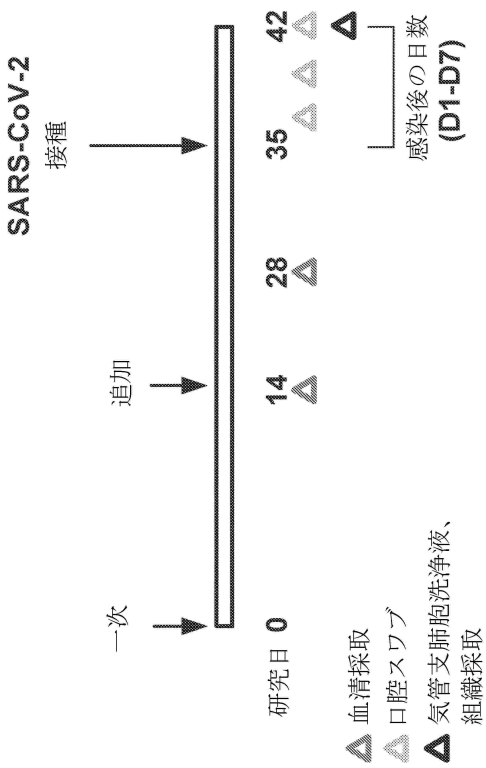
【図８Ｅ】



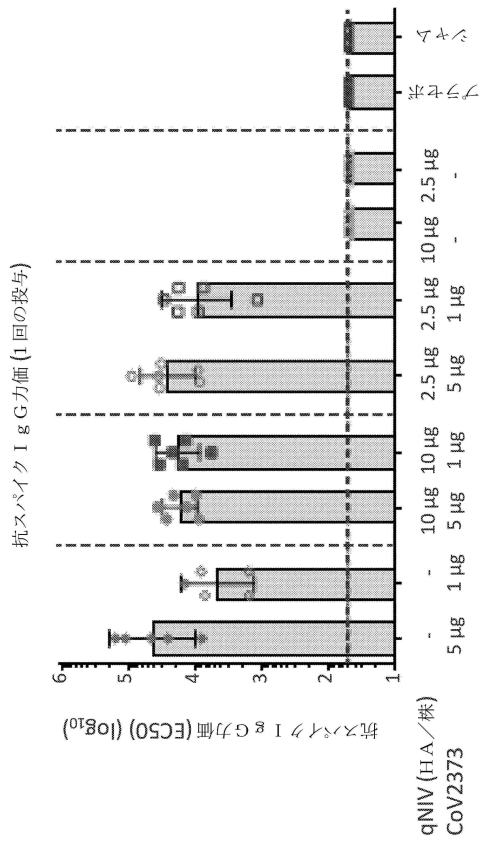
【図８Ｆ】



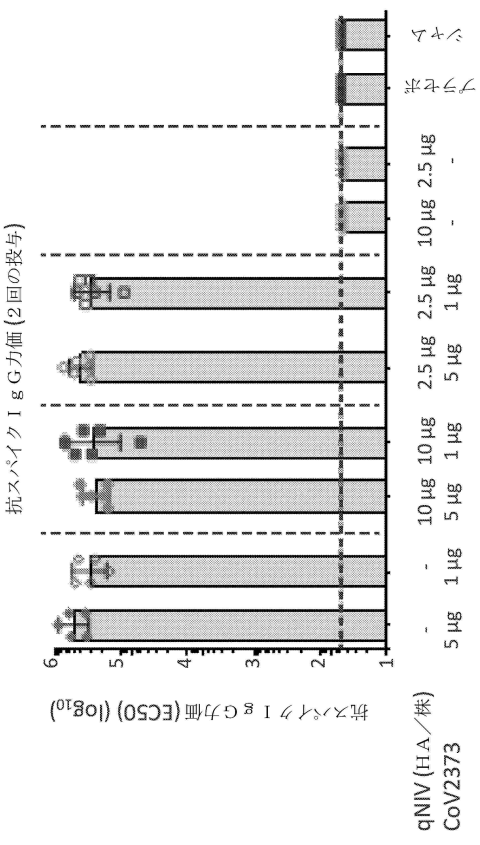
【図９Ａ】



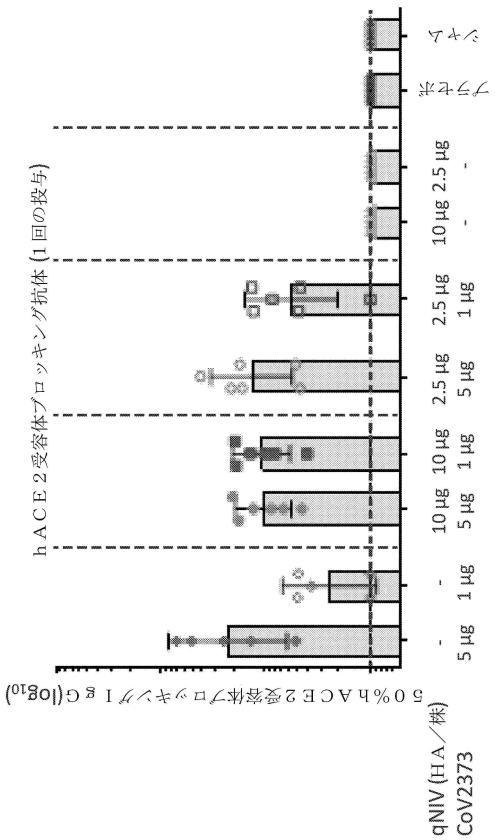
【図９Ｂ】



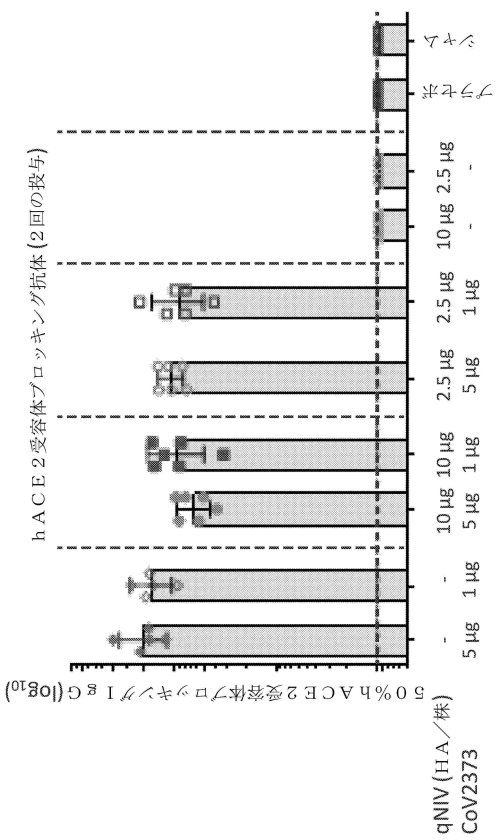
【図９Ｃ】



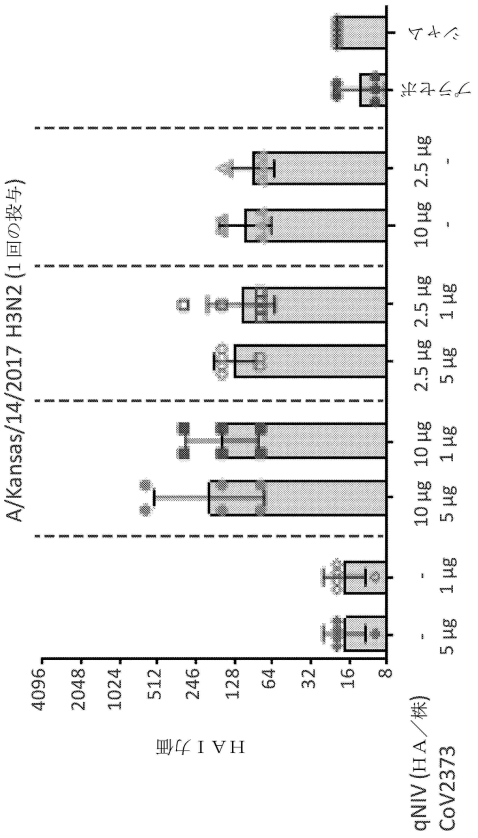
【図９Ｄ】



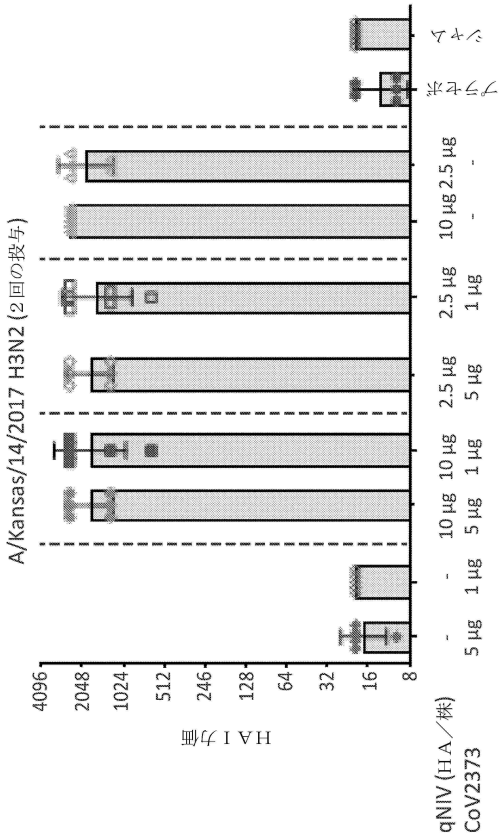
【図９Ｅ】



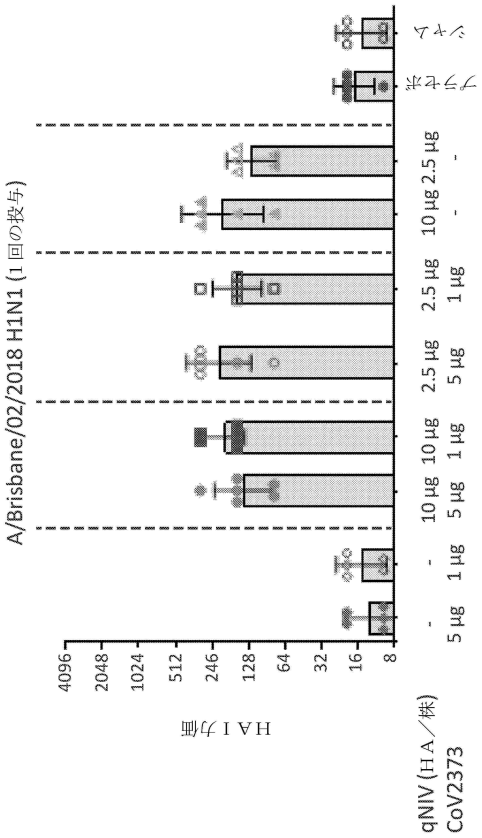
【図１０Ａ】



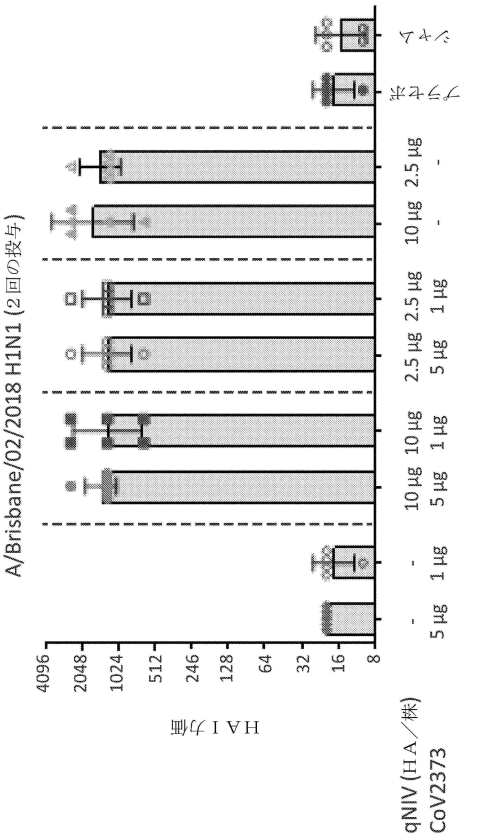
【図１０Ｂ】



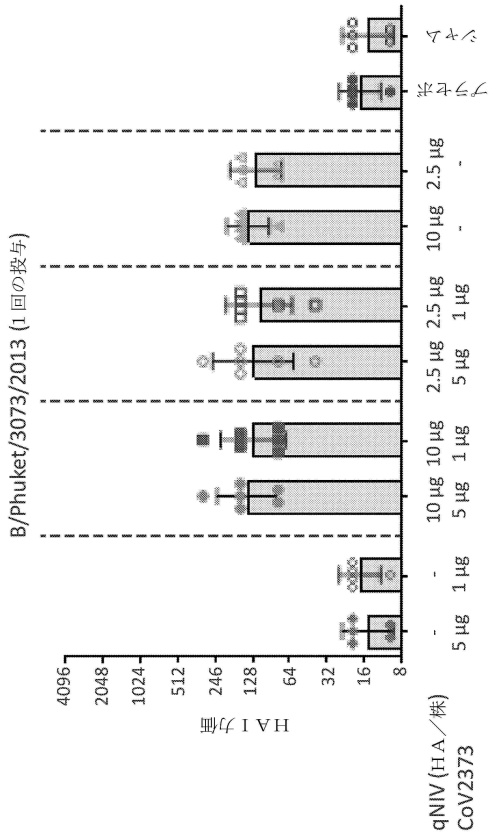
【図１０Ｃ】



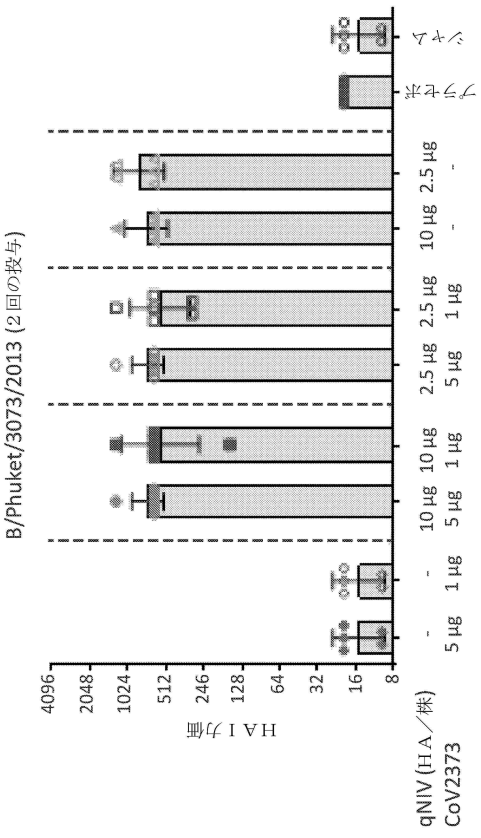
【図１０Ｄ】



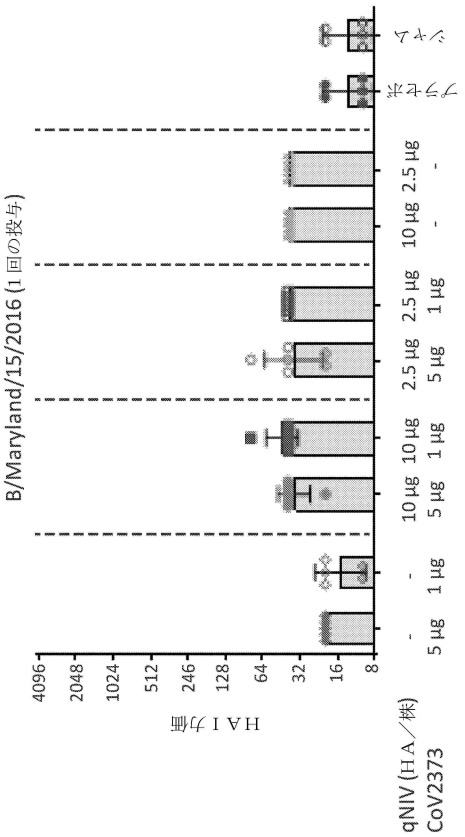
【図１０Ｅ】



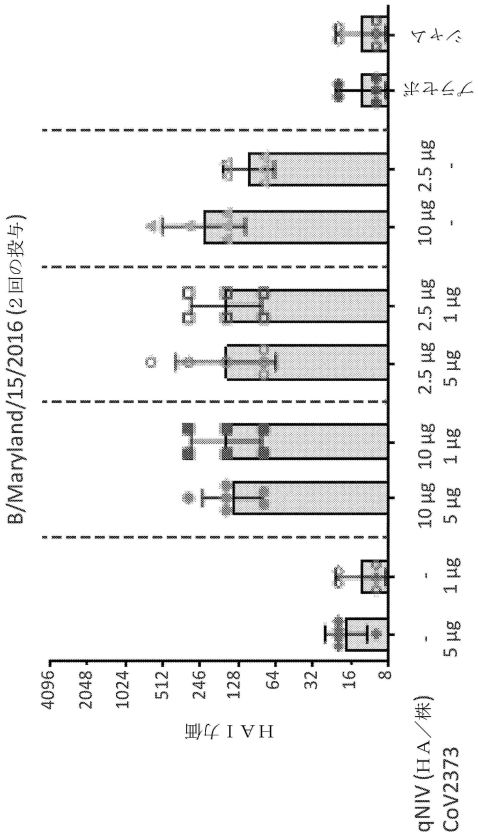
【図１０Ｆ】



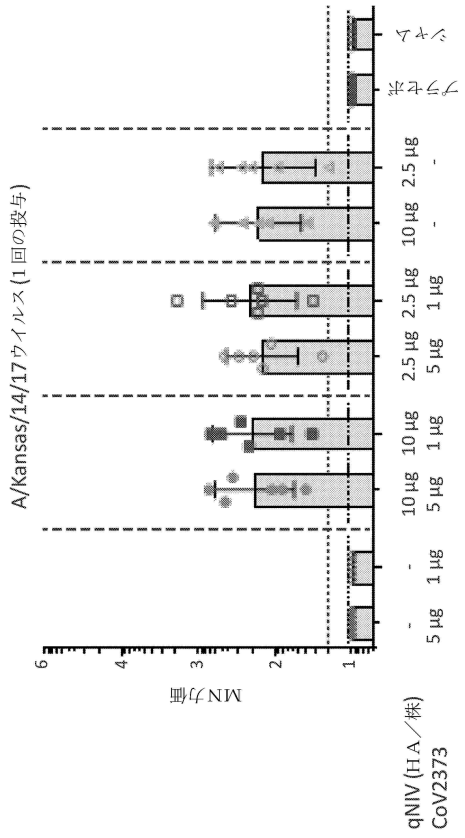
【図１０Ｇ】



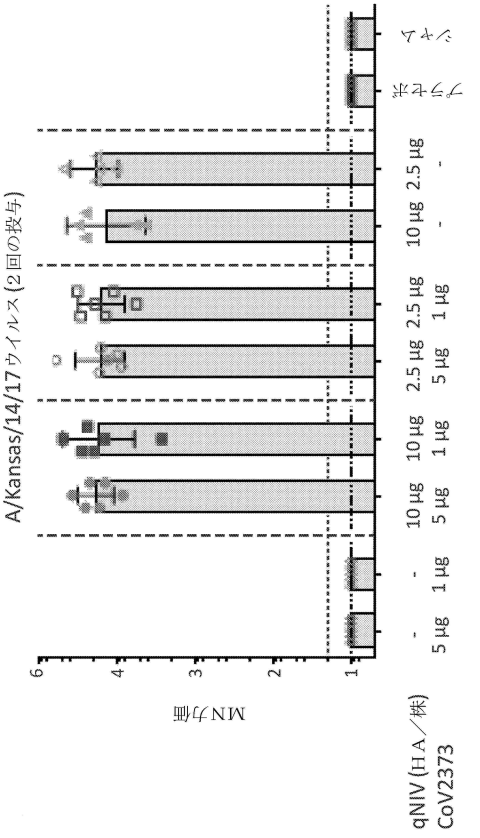
【図１０Ｈ】



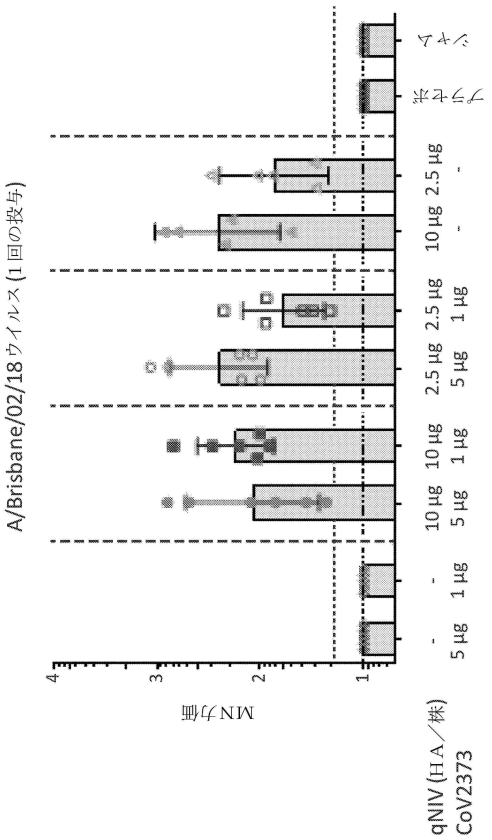
【図１１Ａ】



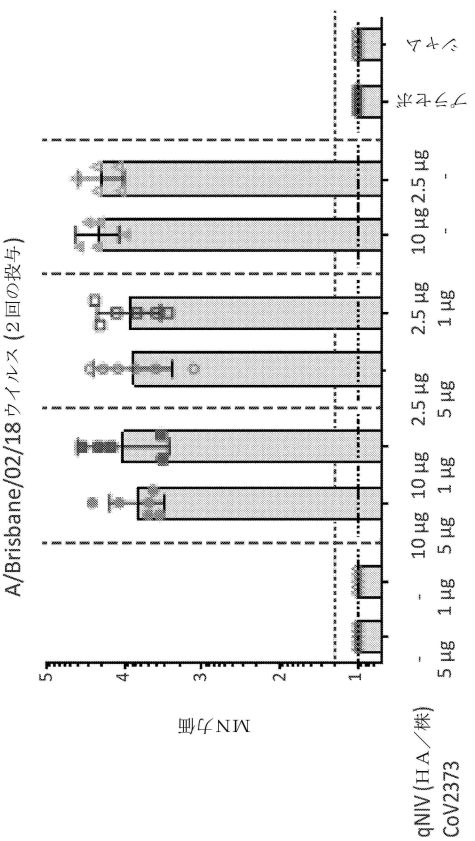
【図１１Ｂ】



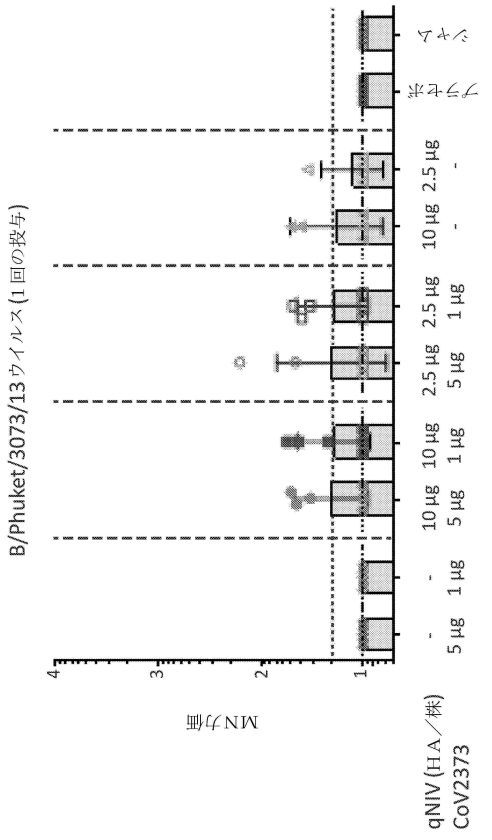
【図１１Ｃ】



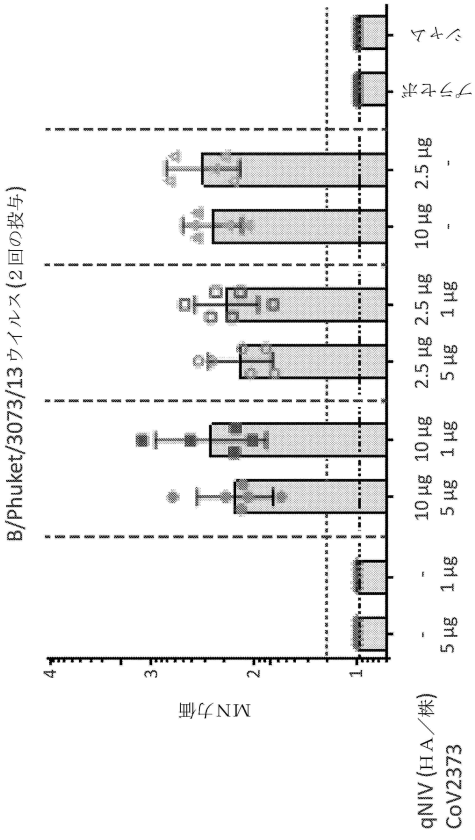
【図１１Ｄ】



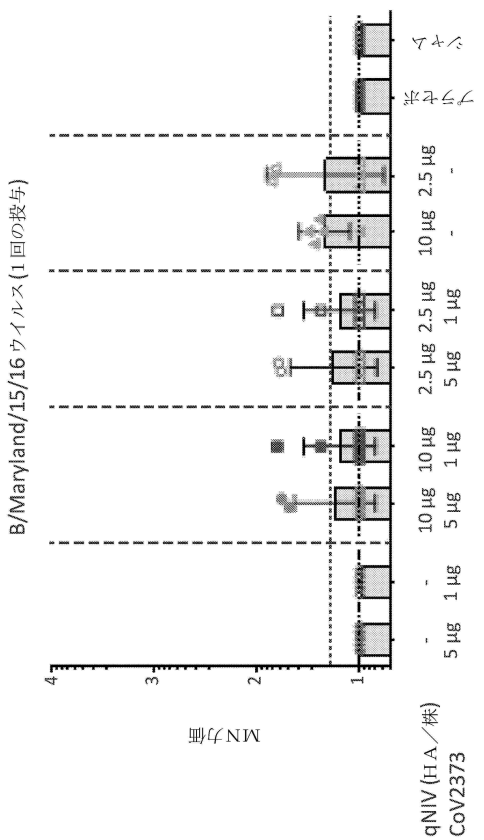
【図１１Ｅ】



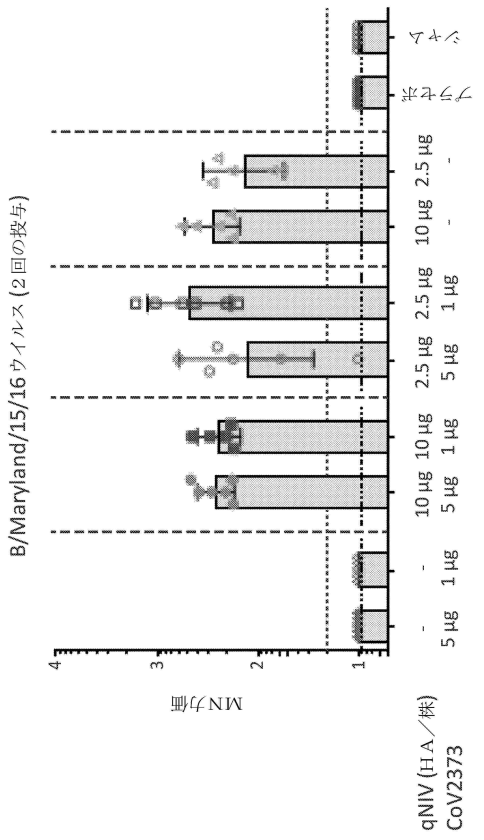
【図１１Ｆ】



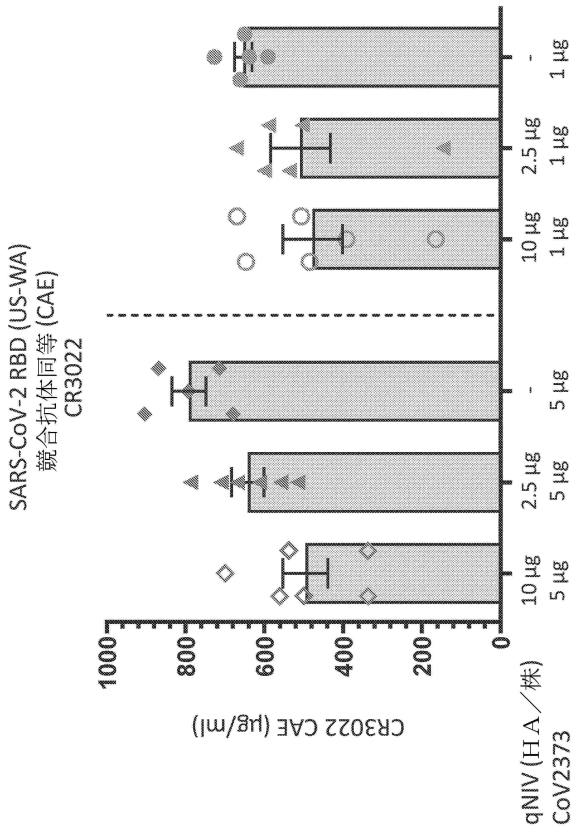
【図１１Ｇ】



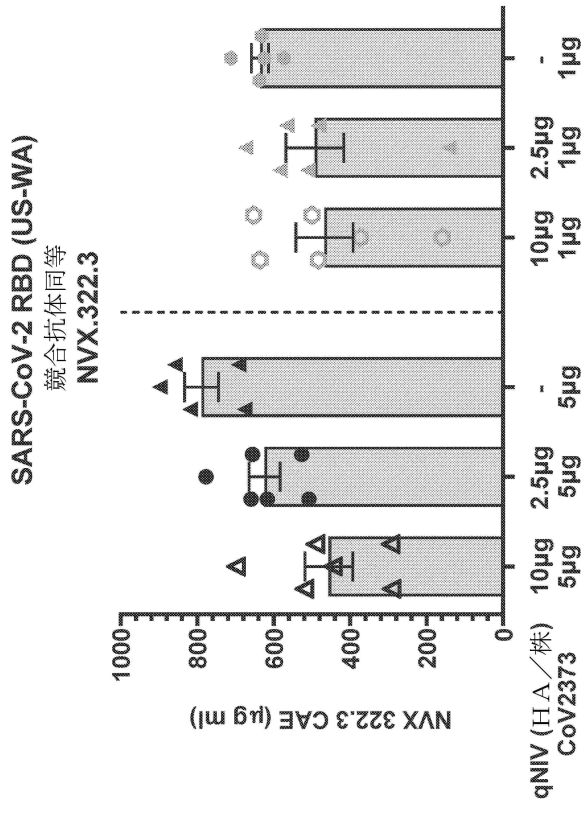
【図１１Ｈ】



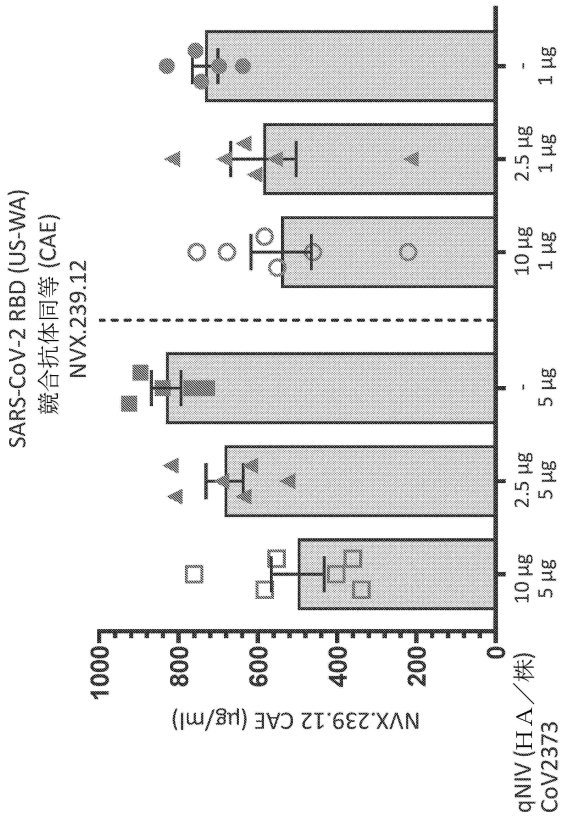
【図１２Ａ】



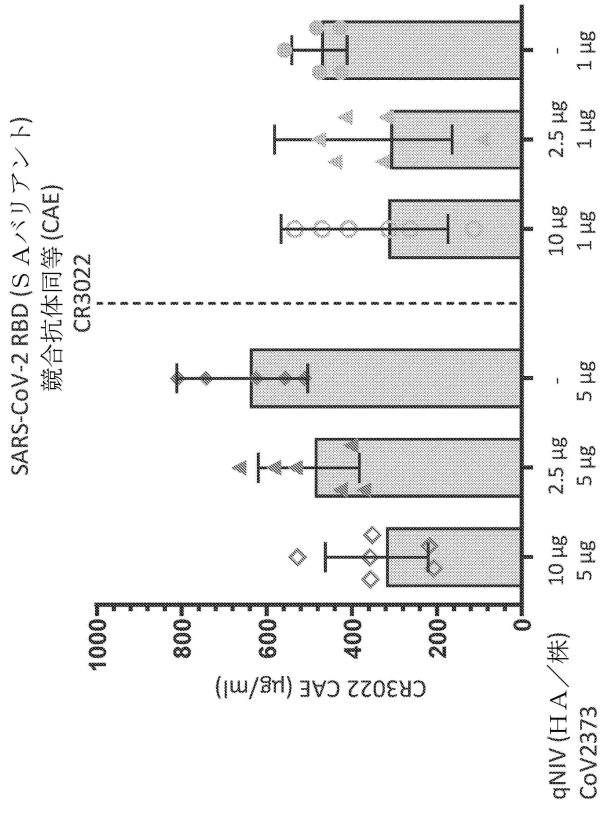
【図１２Ｂ】



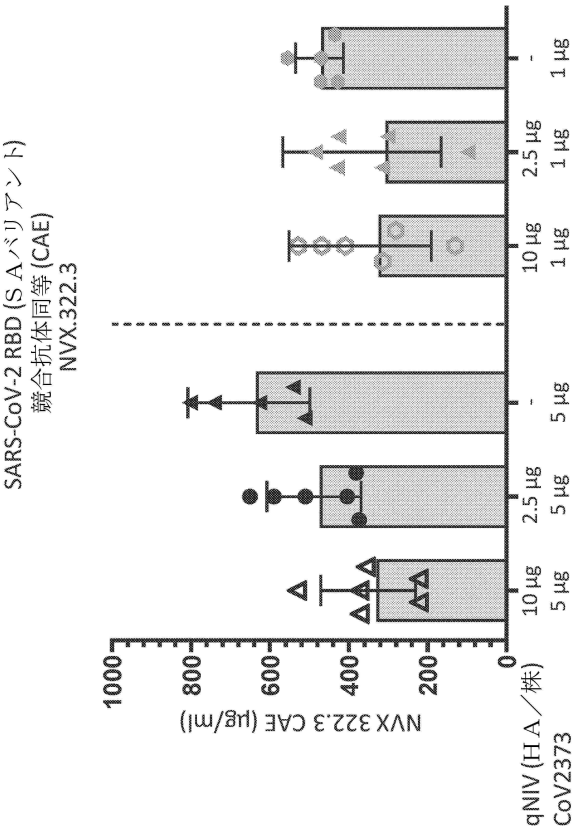
【図１２Ｃ】



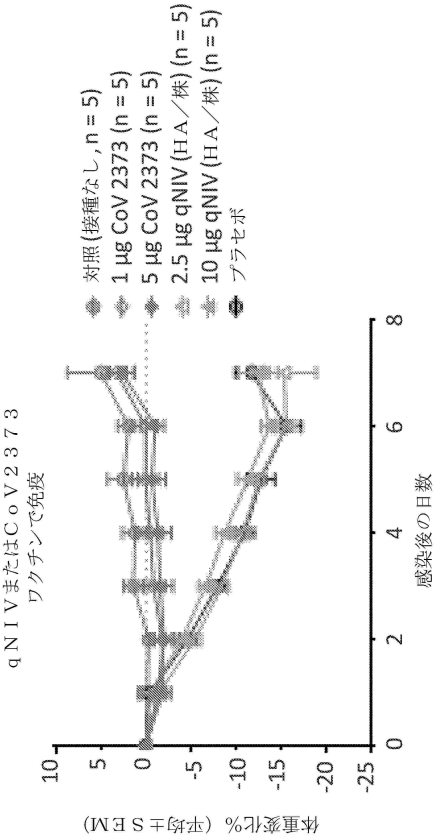
【図１２Ｄ】



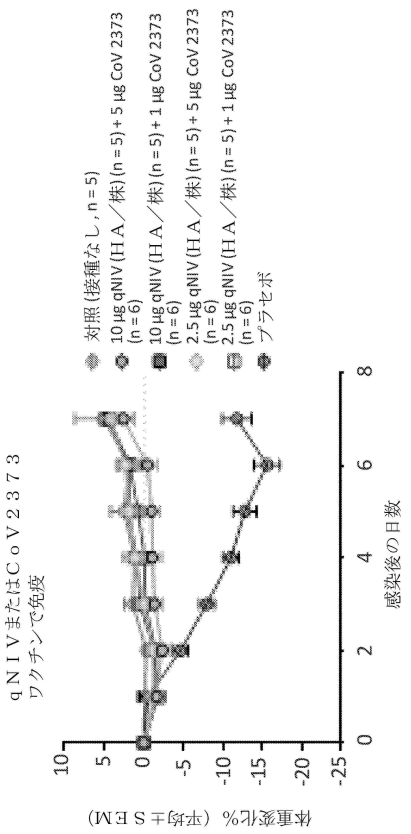
【図１２Ｅ】



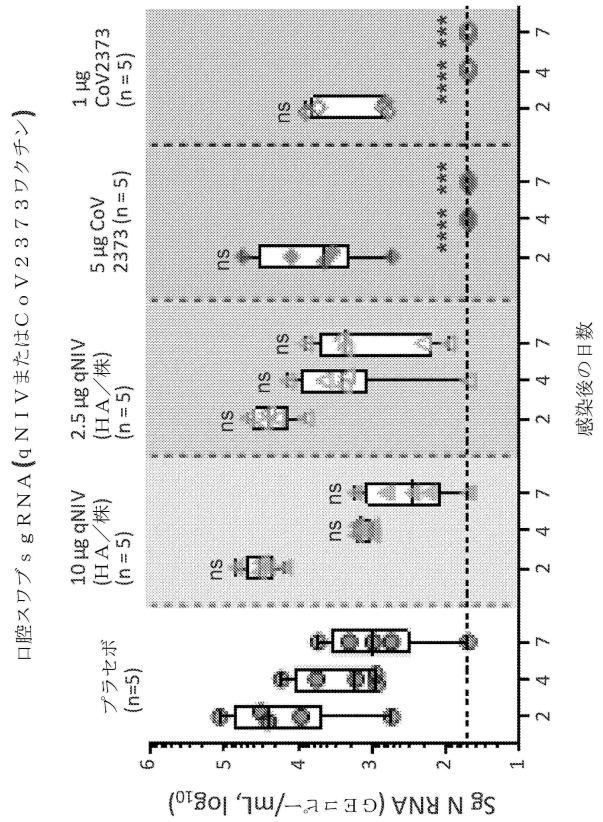
【図１３Ａ】



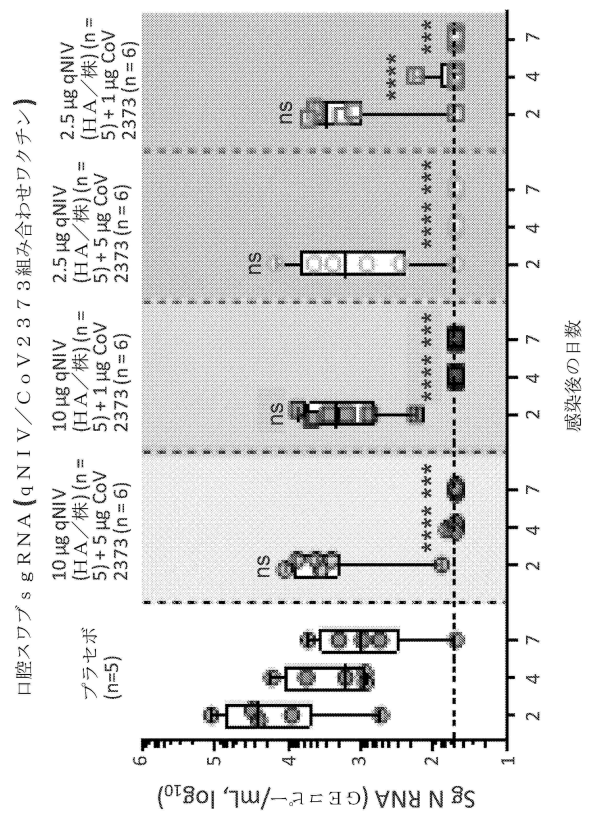
【図１３Ｂ】



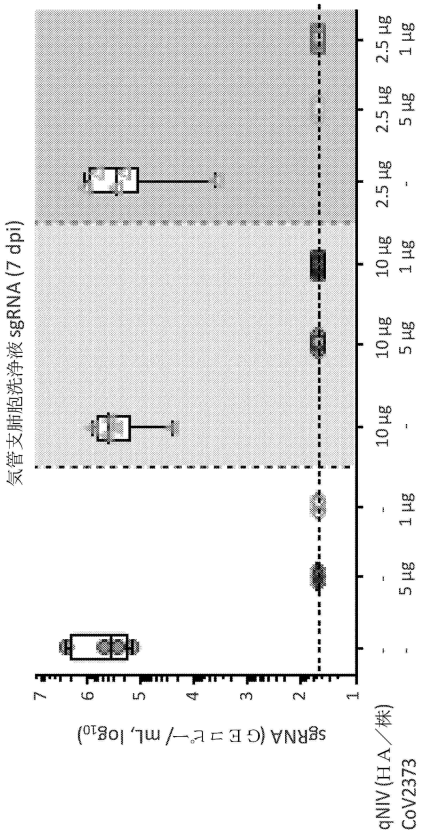
【図１３Ｃ】



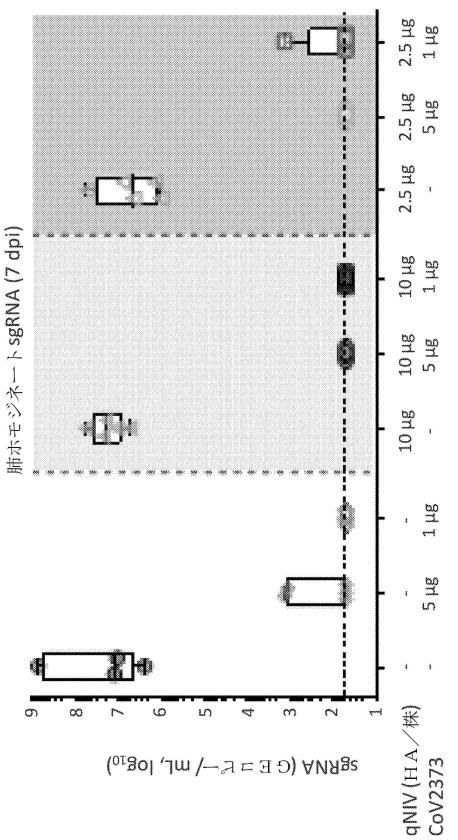
【図１３Ｄ】



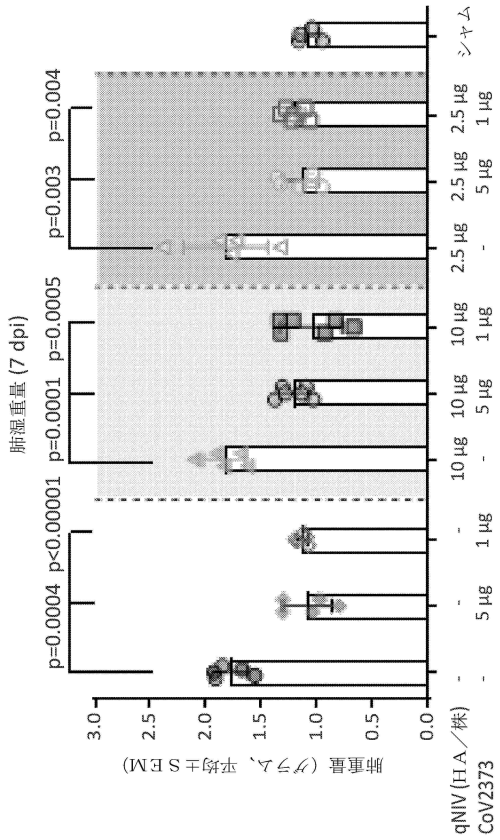
【図１３Ｅ】



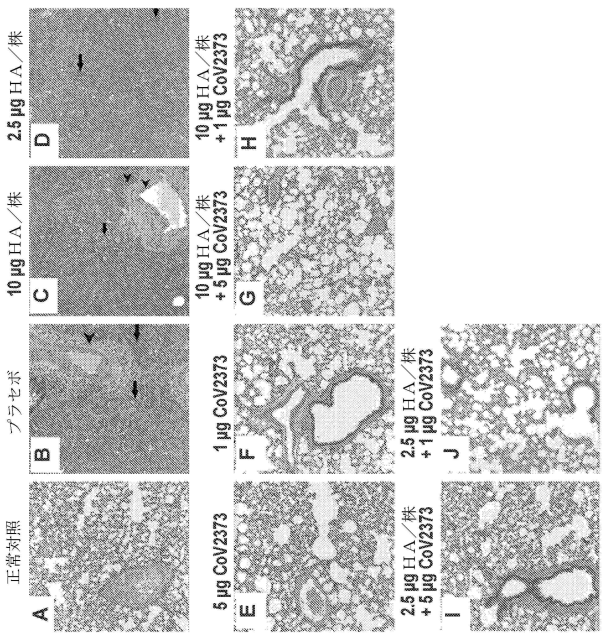
【図１３Ｆ】



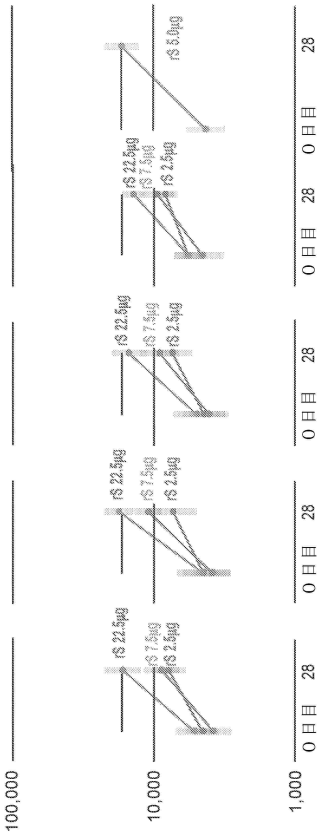
【図１３Ｇ】



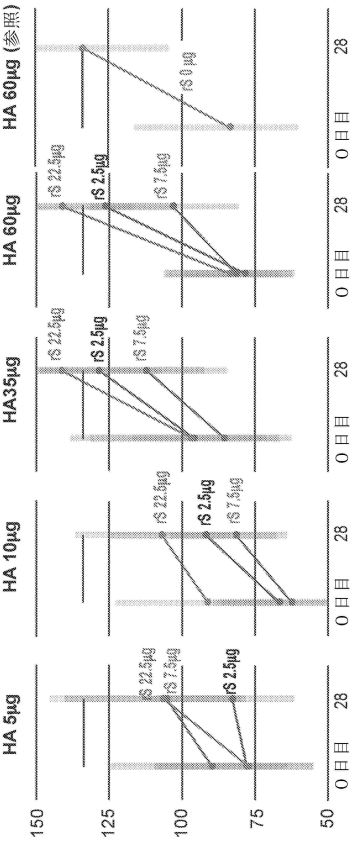
【図１４】



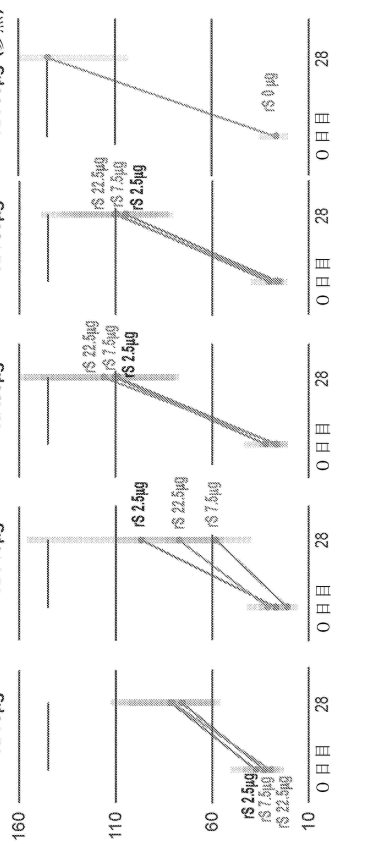
【図１５】



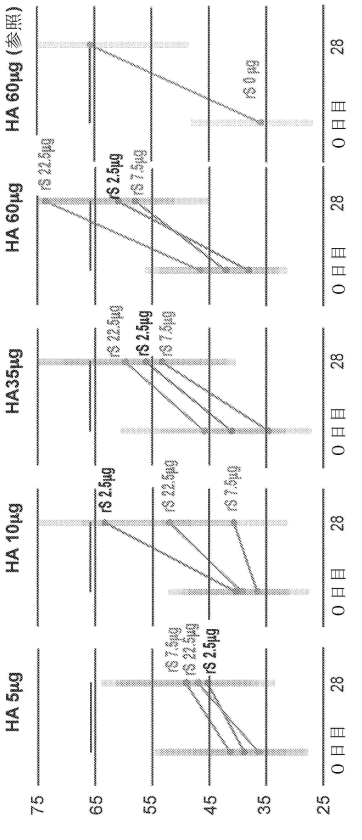
【図１６】



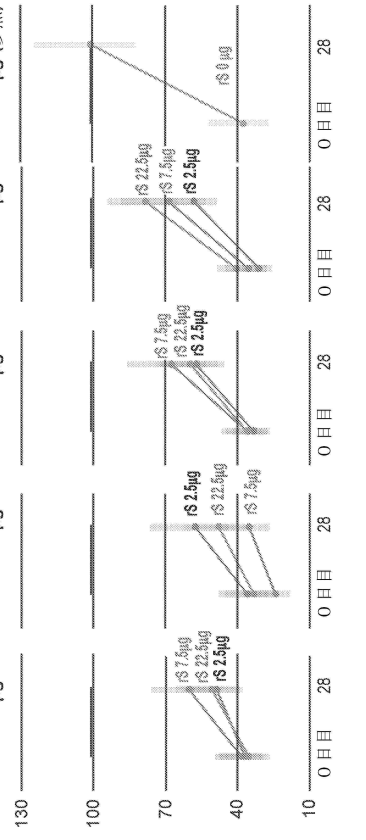
【図１７】



【図１８】



【図１９】



【配列表】
20245163090000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/27465

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - INV. A61K 39/12, C07K 14/165; ADD. A61K 39/215, A61K 39/39, A61P 31/14 (2022.01)

CPC - INV. A61K 39/12, C07K 14/005; ADD. A61K 39/215, C12N 2770/20034, A61K 2039/55555, A61K 2039/55577

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)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2019/0314487 A1 (NOVAVAX, INC.) 17 October 2019 (17.10.2019) abstract; claims 1-3, 32; para [0010]; [0055]; [0064]-[0067]; [0077]; [0085]; [0121]	1-8
Y	US 10,953,089 B1 (NOVAVAX, INC.) 23 March 2021 (23.03.2021) abstract; claim 1	1-8
Y	CN 112546211 A (HANGZHOU BIOTECHNOLOGY CO LTD) 26 March 2021 (26.03.2021) abstract	1-8
X,P	MASSARE et al. Combination respiratory vaccine containing recombinant SARS-CoV-2 spike and quadrivalent seasonal influenza hemagglutinin nanoparticles with matrix-m adjuvant. BioRxiv. 05 May 2021. [online]. [Retrieved on 15 July 2022]. Retrieved from the internet: <URL: https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2021/05/05/2021.05.05.442782.full.pdf> full document	1-8

☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
15 July 2022	AUG 10 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/27465

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 9-36
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C07K	*14/165 (2006.01)*	C07K	14/165	ZNA
C07K	*14/11 (2006.01)*	C07K	14/11	
C12N	*7/06 (2006.01)*	C12N	7/06	
C12N	*7/04 (2006.01)*	C12N	7/04	
C12N	*15/50 (2006.01)*	C12N	15/50	

(32)優先日 令和3年10月14日(2021.10.14)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 63/332,537
(32)優先日 令和4年4月19日(2022.4.19)
(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,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,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,ZA,ZM,ZW

８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 ジョウ，ビン
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 ゲブレ－シャビエル，ミミ
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 ティアン，ジン－フイ
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 ポートノフ，アリス ディー．
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 マサレ，マイケル ジェイ．
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 シンデ，ヴィヴェク
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 フライズ，ルイス
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内
(72)発明者 スミス，ゲイル
アメリカ合衆国，メリーランド州 ２０８７８，ゲイザースバーグ，ファーストフィールド ロード ２１，ノババックス，インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考） 4B065 AA95X AC12 BD13 BD14 CA45
4C085 AA03 AA38 BA55 BA71 BB12 EE03 EE05 EE06 FF14 FF18 GG01

Fターム（参考）　4H045　AA11 AA20 AA30 BA10 CA01 DA86 EA31 FA74