

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-536436

(P2023-536436A)

(43)公表日 令和5年8月25日(2023.8.25)

| (51)国際特許分類                         | F I                    | テーマコード (参考) |
|------------------------------------|------------------------|-------------|
| C 1 2 N 15/113 (2010.01)           | C 1 2 N 15/113 1 0 0 Z | 4 C 0 7 6   |
| C 0 7 K 14/165 (2006.01)           | C 0 7 K 14/165 Z N A   | 4 C 0 8 4   |
| C 1 2 N 9/50 (2006.01)             | C 1 2 N 9/50           | 4 C 0 8 6   |
| C 0 7 K 19/00 (2006.01)            | C 0 7 K 19/00          | 4 H 0 4 5   |
| A 6 1 P 31/14 (2006.01)            | A 6 1 P 31/14          |             |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全128頁) 最終頁に続く |                        |             |

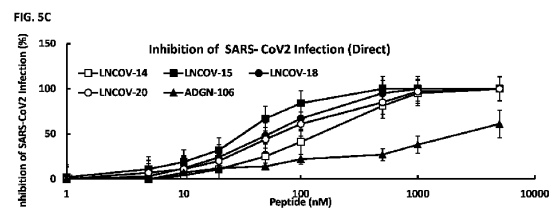
|                   |                                                                                                                                                                             |         |                       |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------------------|
| (21)出願番号          | 特願2023-504816(P2023-504816)                                                                                                                                                 | (71)出願人 | 514289920             |
| (86)(22)出願日       | 令和3年7月23日(2021.7.23)                                                                                                                                                        |         | アーディジェン, エルエルシー       |
| (85)翻訳文提出日        | 令和5年3月8日(2023.3.8)                                                                                                                                                          |         | アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 0 2 |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2021/043077                                                                                                                                                           |         | 7 2, パシフィック パリセーズ, ルナ |
| (87)国際公開番号        | WO2022/020782                                                                                                                                                               |         | ビスタ ドライブ 1 3 4 3      |
| (87)国際公開日         | 令和4年1月27日(2022.1.27)                                                                                                                                                        | (74)代理人 | 100078282             |
| (31)優先権主張番号       | 2007849                                                                                                                                                                     |         | 弁理士 山本 秀策             |
| (32)優先日           | 令和2年7月24日(2020.7.24)                                                                                                                                                        | (74)代理人 | 100113413             |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | フランス(FR)                                                                                                                                                                    |         | 弁理士 森下 夏樹             |
| (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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く | (74)代理人 | 100181674             |
|                   |                                                                                                                                                                             |         | 弁理士 飯田 貴敏             |
|                   |                                                                                                                                                                             | (74)代理人 | 100181641             |
|                   |                                                                                                                                                                             |         | 弁理士 石川 大輔             |
|                   |                                                                                                                                                                             | (74)代理人 | 230113332             |
|                   |                                                                                                                                                                             |         | 弁護士 山本 健策             |
|                   |                                                                                                                                                                             |         | 最終頁に続く                |

(54)【発明の名称】 ウイルス感染を治療するための組成物及び方法

## (57)【要約】

本出願は、ウイルス（例えば、SARS-CoV-2）感染の治療に有用なペプチド及び核酸を提供する。例示的なペプチドは、キメラペプチドと、SPIKEとACE2との間の相互作用を遮断するブロッキングペプチドと、を含む。例示的な核酸には、SARS-CoV-2を特異的に標的とするsiRNAが含まれる。本出願は、ペプチド及び核酸の細胞内送達を促進する第2のペプチド（例えば、細胞透過性ペプチド）をさらに含む複合体及びナノ粒子も提供する。

【選択図】図5C



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドであって、前記ブロッキングペプチドが、S P I K E と A C E 2 との相互作用を特異的に遮断し、前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの二次構造または三次構造を安定化する、前記キメラペプチド。

## 【請求項 2】

前記ブロッキングペプチドが、S P I K E の受容体結合ドメイン（R B D）内のループ配列を含む、請求項 1 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 3】

前記ループ配列が、アミノ酸約 20 個以下の長さを有する、請求項 2 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 4】

前記ループ配列が、アミノ酸約 7 個～アミノ酸約 18 個の長さを有する、請求項 3 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 5】

前記ブロッキングペプチドが、C 末端にリシン（K）を含む、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 6】

前記ループ配列が、配列番号 1～11 及び 42～46 からなる群から選択される、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 7】

前記ループ配列が、配列番号 1、6、8～11、42 及び 45 からなる群から選択される、請求項 6 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 8】

前記ブロッキングペプチドが、A C E 2 の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列を含む、請求項 1 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 9】

前記ブロッキングペプチドが、配列番号 23～31 及び 47～52 からなる群から選択される配列を含む、請求項 8 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 10】

前記ブロッキングペプチドが、配列番号 23、24、26～28、31 及び 47～52 からなる群から選択される配列を含む、請求項 9 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 11】

前記ループ配列が環状である、請求項 2～10 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 12】

前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの C 末端に連結されている、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 13】

前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの N 末端に連結されている、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 14】

前記安定化ペプチドが、アミノ酸約 12 個～アミノ酸約 30 個の長さを有する、請求項 12 または請求項 13 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 15】

前記ブロッキングペプチド及び前記安定化ペプチドがそれぞれ、A C E 2 に由来する配列を含む、請求項 8～14 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 16】

前記安定化ペプチドが、配列番号 49 または 50 に示される配列を含む、請求項 15 に記載のキメラペプチド。

10

20

30

40

50

## 【請求項 17】

前記安定化ペプチドが、両親媒性ヘリックス構造を含む、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 18】

前記安定化ペプチドが、ADGN-100 ペプチドまたは VEP-6 ペプチドを含む、請求項 17 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 19】

前記安定化ペプチドが、配列番号 53～107 のいずれか 1 つに示される配列を含む、請求項 18 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 20】

前記安定化ペプチドが、配列番号 55 または 97 に示される配列を含む、請求項 19 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 21】

前記ブロッキングペプチドと前記安定化ペプチドとがリンカーによって連結されている、請求項 1～20 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 22】

前記リンカーが、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG 部分、Aun、Ava、及び Ahx からなる群から選択される、請求項 21 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 23】

前記 PEG 部分が、約 2～約 7 個のエチレングリコール単位からなる、請求項 19 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 24】

配列番号 12～22、27、28、及び 31～41 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、請求項 1～23 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 25】

配列番号 12、17、19～22、27、28、31～33、35、及び 38～40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載のキメラペプチド。

## 【請求項 26】

配列番号 12～22、24～41、及び 151～160 のいずれかのアミノ酸配列を含む非天然ペプチド。

## 【請求項 27】

前記ペプチドが、配列番号 12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び 158～160 のいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 26 に記載の非天然ペプチド。

## 【請求項 28】

前記ペプチドが、アミノ酸約 100 個以下の長さを有する、請求項 26 または 27 に記載の非天然ペプチド。

## 【請求項 29】

配列番号 161～180 からなる群から選択される核酸配列を含む、siRNA。

## 【請求項 30】

前記 siRNA が、配列番号 163、170、166、または 168 に示される核酸配列を含む、請求項 29 に記載の siRNA。

## 【請求項 31】

a) 請求項 1～25 のいずれかに記載のキメラペプチド、請求項 26 もしくは 27 に記載のペプチド、または請求項 28 もしくは請求項 29 に記載の siRNA を含むカーゴと、b) 第 2 のペプチドと、を含む複合体であって、前記ペプチドまたは前記 siRNA が前記第 2 のペプチドと複合体を形成している、前記複合体。

## 【請求項 32】

前記第 2 のペプチドが、CADDY、PEP-1 ペプチド、PEP-2 ペプチド、PEP-3 ペプチド、LNCOV ペプチド、VEPEP-3 ペプチド、VEPEP-6 ペプチド

10

20

30

40

50

、V E P E P - 9 ペプチド、及び A D G N - 1 0 0 ペプチドからなる群から選択される細胞透過性ペプチドである、請求項 3 1 に記載の複合体。

【請求項 3 3】

前記第 2 のペプチドと前記ペプチドまたは前記 s i R N A とのモル比が、約 1 : 1 ~ 約 8 0 : 1 である、請求項 3 1 または請求項 3 2 に記載の複合体。

【請求項 3 4】

前記第 2 のペプチドと前記ペプチドとのモル比が、約 2 : 1 ~ 約 1 0 : 1 である、請求項 3 3 に記載の複合体。

【請求項 3 5】

前記第 2 のペプチドと前記 s i R N A とのモル比が、約 5 : 1 ~ 約 5 0 : 1 である、請求項 3 4 に記載の複合体。

【請求項 3 6】

a) 請求項 1 ~ 2 5 のいずれかに記載のキメラペプチド、もしくは請求項 2 6 ~ 2 8 のいずれかに記載のペプチド、及び／または b) 請求項 2 9 もしくは請求項 3 0 に記載の s i R N A を含む、請求項 3 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の複合体。

【請求項 3 7】

前記 s i R N A が、配列番号 1 6 6 に示される核酸配列を含む、請求項 3 6 に記載の複合体。

【請求項 3 8】

配列番号 1 7 または 3 3 に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドを含む、請求項 3 7 に記載の複合体。

【請求項 3 9】

請求項 3 0 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の複合体を含む、ナノ粒子。

【請求項 4 0】

前記ナノ粒子が、約 1 0 0 n m 以下の直径を有する、請求項 3 9 に記載のナノ粒子。

【請求項 4 1】

前記ナノ粒子が、約 4 0 ~ 約 6 0 n m の直径を有する、請求項 4 0 に記載のナノ粒子。

【請求項 4 2】

a) 請求項 1 ~ 2 5 のいずれかに記載のキメラペプチド、請求項 2 6 ~ 2 8 のいずれかに記載のペプチド、請求項 2 9 または請求項 3 0 に記載の s i R N A、請求項 3 1 ~ 4 1 のいずれかに記載の複合体またはナノ粒子と、b) 薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。

【請求項 4 3】

前記組成物が、2 つ以上の複合体またはナノ粒子を含み、前記 2 つ以上の複合体またはナノ粒子が異なるカーゴを含む、請求項 4 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 4】

前記カーゴを前記第 2 のペプチドと組み合わせることを含む、請求項 3 1 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の複合体またはナノ粒子を調製する方法。

【請求項 4 5】

個体における S A R S - C o V - 2 感染を治療する方法であって、前記個体に有効量の請求項 4 2 または請求項 4 3 の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

【請求項 4 6】

前記医薬組成物が、噴霧または局所肺または経鼻送達により投与される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記個体が、ヒトである、請求項 4 5 または請求項 4 6 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

10

20

30

40

50

本出願は、2020年7月24日に出願されたフランス国特許出願第FR2007849号に基づく優先権を主張し、あらゆる目的で本明細書に参照によりその全容を援用する。

ASCIIテキストファイルでの配列表の提出

【0002】

ASCIIテキストファイルでの次の提出物の全容を参照によって本明細書に援用する。すなわち、配列表のコンピュータ可読形態（CRF）（ファイル名：737372001341SEQLIST.TXT、記録日：2021年7月23日、サイズ：59KB）

【0003】

本出願は、ウイルス（例えば、SARS-CoV-2）感染を治療するための阻害ペプチド、核酸（例えば、siRNA）、複合体、ナノ粒子、及び組成物に関する。

【背景技術】

【0004】

中国の武漢での新しいヒトコロナウイルスSARS-CoV-2の出現は、呼吸器疾患（COVID-19）の世界的な流行を引き起こした。この病気を治療するためのワクチン及び標的治療薬は現在不足している。

【0005】

本明細書で言及されるあらゆる刊行物、特許、特許出願、及び公開された特許出願の開示内容は、参照により本明細書にそれらの全容を援用するものである。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本出願は、一態様において、安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドを提供し、ブロッキングペプチドは、スパイク糖タンパク質（「SPIKE」）とアンジオテンシン変換酵素2（「ACE2」）との相互作用を特異的に遮断し、安定化ペプチドは、ブロッキングペプチドの二次構造または三次構造を安定化する。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、SPIKEの受容体結合ドメイン（RBD）内のループ配列を含む。いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約20個以下の長さを有する。いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約7個～アミノ酸約18個の長さを有する。

【0007】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、C末端にリシン（K）を含む。

【0008】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1～11及び42～46からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1、6、8～11、42及び45からなる群から選択される。

【0009】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、ACE2の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号23～31及び47～52からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号23、24、26～28、31及び47～52からなる群から選択される配列を含む。

【0010】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、ループ配列は、環状である。

【0011】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、ブロッキングペプチドのC末端に連結されている。

10

20

30

40

50

## 【0012】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、ブロッキングペプチドのN末端に連結されている。

## 【0013】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、アミノ酸約12個～アミノ酸約30個の長さを有する。

## 【0014】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、ブロッキングペプチド及び安定化ペプチドがそれぞれ、ACE2に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、配列番号49または50に示される配列を含む。

10

## 【0015】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、両親媒性ヘリックス構造を含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、ADGN-100ペプチドまたはVEPEP-6ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、配列番号53～107のいずれか1つに示される配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、配列番号55または97に示される配列を含む。

## 【0016】

上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、Aun、Ava、及びAhxからなる群から選択される。上記に述べたキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、PEG部分は、約2～約7個のエチレングリコール単位で構成される。

20

## 【0017】

上記のキメラペプチドのいずれかによるいくつかの実施形態では、キメラペプチドは、配列番号12～22、27、28、及び31～41のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、キメラペプチドは、配列番号12、17、19～22、27、28、31～33、35、及び38～40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

30

## 【0018】

本出願は別の態様において、配列番号12～22、24～41、及び151～160のいずれかのアミノ酸配列を含む非天然ペプチドを提供する。いくつかの実施形態では、ペプチドは、配列番号12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び158～160のいずれかのアミノ酸配列を含む。

## 【0019】

本出願は別の態様において、配列番号161～180からなる群から選択される核酸配列を含むsiRNAを提供する。いくつかの実施形態では、siRNAは、配列番号163、166または168、または170に示される核酸配列を含む。

## 【0020】

本出願は別の態様において、a) 上記に述べたペプチドまたはsiRNAのいずれかを含むカーゴと、b) 第2のペプチドと、を含む複合体であって、ペプチドまたはsiRNAが第2のペプチドと複合体を形成している、複合体を提供する。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、CADDY、PEP-1ペプチド、PEP-2ペプチド、PEP-3ペプチド、LNCOVペプチド、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される細胞透過性ペプチドである。いくつかの実施形態では、第2のペプチドとペプチドまたはsiRNAとのモル比は、約1:1～約80:1である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドとペプチドとのモル比は、約2:1～約10:1である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドとsiRNAとのモル比は、約5:1～約50:1である。いくつかの

40

50

実施形態では、複合体は、a) 請求項 1～25 のいずれかに記載のキメラペプチド、または請求項 26 または 27 に記載のペプチド、b) 請求項 28 または請求項 29 に記載の siRNA を含む。いくつかの実施形態では、siRNA は、配列番号 166 に示される核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、配列番号 17 または 33 に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドを含む。

#### 【0021】

本出願は別の態様において、上記に述べた複合体のいずれかを含むナノ粒子を提供する。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、約 100 nm 以下の直径を有する。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、約 40～約 60 nm の直径を有する。

#### 【0022】

本出願は別の態様において、上記に述べたペプチド、siRNA、複合体、またはナノ粒子のいずれかと、b) 薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は、2 つ以上の複合体またはナノ粒子を含み、2 つ以上の複合体またはナノ粒子は異なるカーゴを含む。

#### 【0023】

本出願は別の態様において、カーゴを第 2 のペプチドと組み合わせることを含む、上記に述べた複合体またはナノ粒子のいずれかを調製する方法を提供する。

#### 【0024】

本出願は別の態様において、有効量の上記に述べた医薬組成物のいずれかの個体に投与することを含む、個体における SARS-CoV-2 感染を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、噴霧または局所肺または経鼻送達により投与される。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0025】

【図 1】A～D は、ACE2 に結合した SARS-CoV-2 受容体結合ドメイン (RBD) の全体構造を示している。この構造は、Lan et al. (Nature volume 581, pages 215–220 (2020)) により報告されている、細胞受容体 ACE2 に結合した SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質の RBD の結晶構造に基づいている。A 及び B において、ACE2 タンパク質の N 末端ヘリックスと相互作用する SARS-CoV-2 の RBD ドメインの部分が薄い灰色で示されている。C 及び D において、SARS-CoV-2 RBD ドメインと相互作用する ACE2 ドメインが強調されている。SARS-CoV-2 RBD の RBD ドメインに接触する  $\alpha 1$  及び  $\alpha 2$  ヘリックスは薄い灰色である。

#### 【0026】

【図 2】A～E は、選択されたペプチド阻害剤の構造編成を示す。Peplook-Zultim プログラムを使用して、各ヘリックス状ペプチドの構造の動的および安定性分析を決定した。ADGN ペプチドは黒色で、阻害ペプチドは薄い灰色で示されている。主な相互作用を形成する残基は棒で示されている。

#### 【0027】

【図 3】A 及び B は、ACE2 : SARS-CoV-2 スパイク阻害剤アッセイにおけるペプチド阻害剤のスクリーニングを示す。異なるペプチドを、遊離ペプチドとして (A)、または 5 / 1 のモル比で ADGN-106 と形成されたナノ粒子複体内 (B) で、一定範囲の濃度 (0.1 nM ~ 10  $\mu$ M) で評価した。結果は、3 つの別々の実験の平均に相当する。

#### 【0028】

【図 4】A 及び B は、SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 阻害剤アッセイにおけるペプチド阻害剤のスクリーニングを示す。異なるペプチドを、遊離ペプチドとして (A)、または 5 / 1 のモル比で ADGN-106 と形成されたナノ粒子複体内 (B) で、一定範囲の濃度 (0.1 nM ~ 10  $\mu$ M) で評価した。結果は、3 つの別々の実験の平均に相当する。

10

20

30

40

50

## 【0029】

【図5A】SARS-CoV-2ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。ペプチド溶液をDMSO／水（2％）中で調製し、5mMのストック液から希釈した。異なる希釈濃度を有するペプチドを、ウイルス感染の直前に単層Vero-E6細胞に直接加えるか（C）、またはSARS-CoV-2と30分間混合してから単層Vero-E6細胞に加えた（A）。ADGN-106、ヒドロキシクロロキン、及びバッファーをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。阻害率及び細胞変性効果を72時間後に測定した。異なるペプチドの細胞毒性を、CellTiter-Gloアッセイを用いてVero-6細胞で分析した（B及びD）。

10

【図5B】SARS-CoV-2ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。ペプチド溶液をDMSO／水（2％）中で調製し、5mMのストック液から希釈した。異なる希釈濃度を有するペプチドを、ウイルス感染の直前に単層Vero-E6細胞に直接加えるか（C）、またはSARS-CoV-2と30分間混合してから単層Vero-E6細胞に加えた（A）。ADGN-106、ヒドロキシクロロキン、及びバッファーをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。阻害率及び細胞変性効果を72時間後に測定した。異なるペプチドの細胞毒性を、CellTiter-Gloアッセイを用いてVero-6細胞で分析した（B及びD）。

【図5C】SARS-CoV-2ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。ペプチド溶液をDMSO／水（2％）中で調製し、5mMのストック液から希釈した。異なる希釈濃度を有するペプチドを、ウイルス感染の直前に単層Vero-E6細胞に直接加えるか（C）、またはSARS-CoV-2と30分間混合してから単層Vero-E6細胞に加えた（A）。ADGN-106、ヒドロキシクロロキン、及びバッファーをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。阻害率及び細胞変性効果を72時間後に測定した。異なるペプチドの細胞毒性を、CellTiter-Gloアッセイを用いてVero-6細胞で分析した（B及びD）。

20

【図5D】SARS-CoV-2ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。ペプチド溶液をDMSO／水（2％）中で調製し、5mMのストック液から希釈した。異なる希釈濃度を有するペプチドを、ウイルス感染の直前に単層Vero-E6細胞に直接加えるか（C）、またはSARS-CoV-2と30分間混合してから単層Vero-E6細胞に加えた（A）。ADGN-106、ヒドロキシクロロキン、及びバッファーをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。阻害率及び細胞変性効果を72時間後に測定した。異なるペプチドの細胞毒性を、CellTiter-Gloアッセイを用いてVero-6細胞で分析した（B及びD）。

30

## 【0030】

【図6】A及びBは、SARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするsiRNAの評価を示す。H1299肺上皮細胞に、eGFPでタグ付けされたSARS-CoV-2ヌクレオカプシドをコードするpcDNA3.1(+)-N-eGFP-NPプラスミドをトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比1／20でADGN-100と複合体化したsiRNA（1nM～200nM）で処理した。eGFPを標的とするsiRNA及びscr-siRNAを、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。ヌクレオカプシド-eGFPタンパク質のレベルをトランスフェクションから48時間後に評価し（A）、GlowMaxでCellTiter-Gloキットを使用して毒性を測定した（B）。

40

## 【0031】

【図7】A及びBは、SARS-CoV-2のORF3a遺伝子を標的とするsiRNAの評価を示す。H1299肺上皮細胞に、eGFPでタグ付けされたSARS-CoV-

50

2 ORF3aをコードするp cDNA3.1(+)-N-eGFP-ORF3aプラスミドをトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比1/20でADGN-100と複合体化したsiRNA(1nM~200nM)で処理した。eGFPを標的とするsiRNA及びscr-siRNAを、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。ORF3A-eGFPタンパク質のレベルをトランスフェクションから48時間後に評価し(A)、GlowMaxでCellTiter Glowキットを使用して毒性を測定した(B)。

【0032】

【図8】A及びBは、SARS-CoV-2のORF8遺伝子を標的とするsiRNAの評価を示す。H1299肺上皮細胞に、eGFPでタグ付けされたSARS-CoV-2 ORF8をコードするp cDNA3.1(+)-N-eGFP-ORF8プラスミドをトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比1/20でADGN-100と複合体化したsiRNA(1nM~200nM)で処理した。eGFPを標的とするsiRNA及びscr-siRNAを、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。ORF8-eGFPタンパク質のレベルをトランスフェクションから48時間後に評価し(A)、GlowMaxでCellTiter Glowキットを使用して毒性を測定した(B)。

10

【0033】

【図9】A及びBは、SARS-CoV-2ウイルス感染に対するsiRNAの評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。siRNAを、モル比1/20でADGN-100と複合体を形成させた。異なる希釈濃度のsiRNA/ADGN-100を、ウイルス感染の直前に単層のVero-E6細胞に直接加えた(A)。ADGN-100、及びバッファをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。阻害率及び細胞変性効果を72時間後に測定した。CellTiter-Gloアッセイを使用してVero-6細胞に対する異なるsiRNA/ADGN複合体の細胞毒性を分析した(B)。

20

【0034】

【図10】SARS-CoV-2ウイルス感染に対するsiRNA/阻害剤ペプチドの評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。siRNA溶液をDMSO/水(2%)中で調製し、5mMのストック液から希釈した。異なる希釈濃度のsiRNA/ADGN-100複合体及びLNCOV-15またはLNCOV-18を、ウイルス感染の前に単層のVero-E6細胞に直接加えた。ADGN-100、及びバッファをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。阻害率及び細胞変性効果を72時間後に測定した。

30

【0035】

【図11A】LNCOVペプチドと複合体を形成したSARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするDIVC-6 siRNAの評価を示す。H1299肺上皮細胞に、eGFPでタグ付けされたSARS-CoV-2ヌクレオカプシドをコードするp cDNA3.1(+)-N-eGFP-NPプラスミドをトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比1/20でADGN-100、LNCOV-15、及びLNCOV-18と複合体化したsiRNA(1nM~200nM)で処理した。scr-siRNAを、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。ヌクレオカプシド-eGFPタンパク質のレベルを、トランスフェクションの48時間後に評価した。

40

【0036】

【図11B】示された二次構造を有するVEPEP-9ペプチドを示す。「H」は「ヘリックス」、「t」はターンを表す。

【0037】

【図12A】ACE2:SARS-CoV-2スパイク阻害剤アッセイにおけるペプチド阻害剤の影響を示す。異なるペプチドを一定範囲の濃度(0.1nM~10μM)で評価

50

10

20

30

40

50

【図 13A】 SARS-CoV-2 変異体ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価を

示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。抗ウイルスアッセイをVero E6細胞で行った。細胞を、配列17、配列28、または配列33のペプチド(10 nM~1 μMの範囲の濃度)または6 μMのレムデシビル(ポジティブコントロール、RMD)を含む培地、または抗ウイルス分子を含まない培地(ネガティブコントロール、「T-」)中で1時間インキュベートすることにより、SARS-CoV-2アルファ(A)またはベータ(B)またはデルタ(C)変異株にMOI0.001で3重に感染させた。ペプチド溶液をDMSO/水(2%)中で調製し、5 mMのストック液から希釈した。上清を感染の24時間後に回収し、Vero E6細胞でTCID50法によってウイルス力価を測定し、Spearman & Kaerberアルゴリズムによって計算した。

【図13B】SARS-CoV-2変異体ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。抗ウイルスアッセイをVero E6細胞で行った。細胞を、配列17、配列28、または配列33のペプチド(10 nM~1 μMの範囲の濃度)または6 μMのレムデシビル(ポジティブコントロール、RMD)を含む培地、または抗ウイルス分子を含まない培地(ネガティブコントロール、「T-」)中で1時間インキュベートすることにより、SARS-CoV-2アルファ(A)またはベータ(B)またはデルタ(C)変異株にMOI0.001で3重に感染させた。ペプチド溶液をDMSO/水(2%)中で調製し、5 mMのストック液から希釈した。上清を感染の24時間後に回収し、Vero E6細胞でTCID50法によってウイルス力価を測定し、Spearman & Kaerberアルゴリズムによって計算した。

【図13C】SARS-CoV-2変異体ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。抗ウイルスアッセイをVero E6細胞で行った。細胞を、配列17、配列28、または配列33のペプチド(10 nM~1 μMの範囲の濃度)または6 μMのレムデシビル(ポジティブコントロール、RMD)を含む培地、または抗ウイルス分子を含まない培地(ネガティブコントロール、「T-」)中で1時間インキュベートすることにより、SARS-CoV-2アルファ(A)またはベータ(B)またはデルタ(C)変異株にMOI0.001で3重に感染させた。ペプチド溶液をDMSO/水(2%)中で調製し、5 mMのストック液から希釈した。上清を感染の24時間後に回収し、Vero E6細胞でTCID50法によってウイルス力価を測定し、Spearman & Kaerberアルゴリズムによって計算した。

【0039】

【図14】A~Cは、SARS-CoV-2ウイルス感染に対するsiRNA/阻害剤ペプチドの評価を示す。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。siRNA溶液をDMSO/水(2%)中で調製し、5 mMのストック液から希釈した。異なる希釈濃度のsiRNA/ADGN-100複合体及びLNCOV-15、LNCOV-20またはLNCOV-18を、ウイルス感染の前に単層のVero-E6細胞に直接加えた。6 μMのレムデシビル(ポジティブコントロール、RMD)、または抗ウイルス分子なし(ネガティブコントロール、「T-」)。ペプチド溶液をDMSO/水(2%)中で調製し、5 mMのストック液から希釈した。上清を感染の24時間後に回収し、Vero E6細胞でTCID50法によってウイルス力価を測定し、Spearman & Kaerberアルゴリズムによって計算した。

【0040】

【図15A】SARS-CoV-2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA阻害剤のインビボ肺生体内分布を示す。試験は健康な4週齢の雄C57BL/6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド/siRNA複合体の単回用量を気管内注入(200 μg)により投与した。非侵襲的なインビボ全身蛍光画像法により、蛍光を、T0、注入の1時間、2時間、6時間、24時間、48時間、及び72時間後に評価した(A)。注入から6時間、12時間、48時間、及び72時間後の臓器でエキスピボ蛍光シグナルが観察された。Living imageソフトウェアを使用して蛍光画像から半定量的データを取得した。

【図15B】SARS-CoV-2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA阻害剤の

インビボ肺生体内分布を示す。試験は健康な4週齢の雄C57BL/6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド/siRNA複合体の単回用量を気管内注入(200 μg)により投与した。非侵襲的なインビボ全身蛍光画像法により、蛍光を、T0、注入の1時間、2時間、6時間、24時間、48時間、及び72時間後に評価した(A)。注入から6時間、12時間、48時間、及び72時間後の臓器でエキスピボ蛍光シグナルが観察された。Living imageソフトウェアを使用して蛍光画像から半定量的データを取得した。

【図15C】SARS-COV-2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA阻害剤のインビボ肺生体内分布を示す。試験は健康な4週齢の雄C57BL/6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド/siRNA複合体の単回用量を気管内注入(200 μg)により投与した。非侵襲的なインビボ全身蛍光画像法により、蛍光を、T0、注入の1時間、2時間、6時間、24時間、48時間、及び72時間後に評価した(A)。注入から6時間、12時間、48時間、及び72時間後の臓器でエキスピボ蛍光シグナルが観察された。Living imageソフトウェアを使用して蛍光画像から半定量的データを取得した。

10

【図15D】SARS-COV-2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA阻害剤のインビボ肺生体内分布を示す。試験は健康な4週齢の雄C57BL/6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド/siRNA複合体の単回用量を気管内注入(200 μg)により投与した。非侵襲的なインビボ全身蛍光画像法により、蛍光を、T0、注入の1時間、2時間、6時間、24時間、48時間、及び72時間後に評価した(A)。注入から6時間、12時間、48時間、及び72時間後の臓器でエキスピボ蛍光シグナルが観察された。Living imageソフトウェアを使用して蛍光画像から半定量的データを取得した。

20

【図15E】SARS-COV-2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA阻害剤のインビボ肺生体内分布を示す。試験は健康な4週齢の雄C57BL/6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド/siRNA複合体の単回用量を気管内注入(200 μg)により投与した。非侵襲的なインビボ全身蛍光画像法により、蛍光を、T0、注入の1時間、2時間、6時間、24時間、48時間、及び72時間後に評価した(A)。注入から6時間、12時間、48時間、及び72時間後の臓器でエキスピボ蛍光シグナルが観察された。Living imageソフトウェアを使用して蛍光画像から半定量的データを取得した。

30

【0041】

【図16】A及びBは、SARS-COV-2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA阻害剤で処置した肺の共焦点顕微鏡分析を示す。試験は健康な4週齢の雄C57BL/6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド/siRNA複合体の単回用量を気管内注入(200 μg)により投与した。投与4時間、24時間および72時間後に肺を採取し、5%グルコース中の4%ホルムアルデヒドで固定した。組織をMito tracker redで染色し、核はHoeschで染色した。

【0042】

【図17】SARS-COV-2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA阻害剤で処置した肺の定量的共焦点顕微鏡分析を示す。試験は健康な4週齢の雄C57BL/6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド/siRNA複合体の単回用量を気管内注入(200 μg)により投与した。投与4時間、24時間および72時間後に肺を採取し、5%グルコース中の4%ホルムアルデヒドで固定した。組織をMito tracker redで染色し、核はHoeschで染色した。対数変換されたデータに対する複数の比較による一元配置分散分析。\*\*\*P=0.0005、\*\*P=0.001、\*P=0.0011; NS、有意でない。

40

【0043】

【図18A】インビボでのSARS-COV2阻害剤の特性評価、体重及び臓器重量分析を示す。気管内注入(0日目)の前、1日目、2日目、及び 殺前(3日目)にマウスの

50

体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。

【図18B】インビボでのSARS-COV2阻害剤の特性評価、体重及び臓器重量分析を示す。気管内注入（0日目）の前、1日目、2日目、及び殺前（3日目）にマウスの体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。

【図18C】インビボでのSARS-COV2阻害剤の特性評価、体重及び臓器重量分析を示す。気管内注入（0日目）の前、1日目、2日目、及び殺前（3日目）にマウスの体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。

10

【図18D】インビボでのSARS-COV2阻害剤の特性評価、体重及び臓器重量分析を示す。気管内注入（0日目）の前、1日目、2日目、及び殺前（3日目）にマウスの体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。

【図18E】インビボでのSARS-COV2阻害剤の特性評価、体重及び臓器重量分析を示す。気管内注入（0日目）の前、1日目、2日目、及び殺前（3日目）にマウスの体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。

【図18F】インビボでのSARS-COV2阻害剤の特性評価、体重及び臓器重量分析を示す。気管内注入（0日目）の前、1日目、2日目、及び殺前（3日目）にマウスの体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。

20

【図18G】インビボでのSARS-COV2阻害剤の特性評価、体重及び臓器重量分析を示す。気管内注入（0日目）の前、1日目、2日目、及び殺前（3日目）にマウスの体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。

【0044】

【図19A】ペプチド及びペプチド／siRNA複合体による処置後の気管支肺胞洗浄分析を示す。注入から2日後にBALを行った。BAL中の細胞の割合、総タンパク質、及びLDHのレベルを分析した。結果を、ネガティブコントロールとして使用した生理食塩水緩衝液と比較した。

30

【図19B】ペプチド及びペプチド／siRNA複合体による処置後の気管支肺胞洗浄分析を示す。注入から2日後にBALを行った。BAL中の細胞の割合、総タンパク質、及びLDHのレベルを分析した。結果を、ネガティブコントロールとして使用した生理食塩水緩衝液と比較した。

【図19C】ペプチド及びペプチド／siRNA複合体による処置後の気管支肺胞洗浄分析を示す。注入から2日後にBALを行った。BAL中の細胞の割合、総タンパク質、及びLDHのレベルを分析した。結果を、ネガティブコントロールとして使用した生理食塩水緩衝液と比較した。

【0045】

40

【図20】A及びBは、ペプチド及びペプチド／siRNA複合体による処置後のAST及びALT血液分析を示す。各ペプチドまたは各ペプチド／siRNA複合体の単回用量を気管内注入（200μg）により投与した。生理食塩水をネガティブコントロールとして用いた。血漿中のAST及びALTレベルを注入の2日後にアッセイした。

【発明を実施するための形態】

【0046】  
本出願は、一態様において、コロナウイルス（SARS-CoV-2など）のスパイク糖タンパク質（SPIKE）と、個体（人間など）の様々な細胞型（肺細胞など）で発現するACE2との相互作用を遮断する新規阻害ペプチド（すなわち、ブロックペプチド）を提供する。実施例のセクションに示されるように、例示的な阻害ペプチドは、イン

50

ピトロ及び感染細胞の両方で、S P I K EとA C E 2との相互作用を効果的に遮断する。

【0047】

いくつかの実施形態では、阻害ペプチドは、安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドであり、安定化ペプチドはブロッキングペプチドの二次構造または三次構造を安定化する。理論に拘束されるものではないが、両親媒性ヘリックス構造を有するペプチドは、螺旋状のブロッキングペプチドを安定化することが観察されており、これにはヘリックスの同じ側に位置する主に芳香族残基（例えば、トリプトファン残基）及び静電相互作用が関与している。ループ配列を有するブロッキングペプチドの環化がブロッキングペプチドを安定化し、環化したブロッキングペプチドと安定化ペプチドとの融合によってブロッキングペプチドがさらに安定化することも観察されている。実施例で示されるように、例示的なペプチド（配列番号17、28、または33に示される配列を含むペプチドなど）は、強力な抗ウイルス効果及び肺に浸透する能力を示す。

10

【0048】

本出願は、別の態様において、SARS-CoV-2を標的とする新規核酸（s i R N A）を提供する。いくつかの実施形態では、s i R N Aは、配列番号163、166または170に示される核酸配列を含む。

【0049】

本出願は、別の実施形態において、本明細書に記載の阻害ペプチドまたは核酸のいずれかを含む複合体及びナノ粒子を提供する。いくつかの実施形態では、複合体またはナノ粒子は第2のペプチドを含み、第2のペプチドは、阻害ペプチド及び／または核酸（s i R N Aなど）のいずれか1つ以上と複合体を形成する。阻害ペプチド及び／またはサイレンシングRNAベースの複合体及びナノ粒子は、SARS-CoV-2の細胞侵入を中和し、サイレンシングRNAの送達によってウイルス産生を防止することが観察されている。要約すると、本明細書に記載の阻害ペプチド、核酸、複合体、ナノ粒子は、COVID-19疾患に対する簡単で効率的な治療法を提供するものである。

20

【0050】

本出願はまた、本明細書に記載のキメラペプチド、ペプチド、s i R N A、複合体、及び／またはナノ粒子を投与することによってCOVID-19を治療する方法も提供する。

【0051】

30

## I. 定義

「非天然の」、「合成」、または「操作された」という用語は、互換的に使用され、人の手が関与していることを示す。核酸分子またはポリペプチドについて言及する場合、これらの用語は、核酸分子またはポリペプチドが、それらが自然界で自然に付随し、自然界で見出される少なくとも1つの他の成分を少なくとも実質的に含まないことを意味する。

【0052】

本明細書で互換的に使用される「ポリヌクレオチド」または「核酸」とは、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドもしくは塩基、及び／またはそれらの類似体、あるいはDNAもしくはRNAポリメラーゼによりポリマーに組み込むことができる任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、修飾ヌクレオチド、例えば、メチル化ヌクレオチド及びそれらの類似体を含み得る。本明細書で使用される「核酸」という用語は、一本鎖または二本鎖形態の少なくとも2個のデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドを含むポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。DNAは、例えば、アンチセンス分子、プラスミドDNA、予め凝縮されたDNA、PCR産物、ベクター（PAC、BAC、YAC、人工染色体）、発現カセット、キメラ配列、染色体DNA、またはこれらの群の誘導体及び組み合わせの形態であり得る。RNAは、s i R N A、非対称干渉RNA（a i R N A）、マイクロRNA（m i R N A）、mRNA、tRNA、rRNA、RNA、ウイルスRNA（vRNA）、及びそれらの組み合わせの形態であり得る。核酸には、合成、天然、及び非天然であってよく、参照核酸と同様の結合特性を有す

40

50

る、ロック核酸（LNA）、アンロック核酸（UNA）、及びジップ核酸（ZNA）を含む、既知のヌクレオチド類似体または修飾骨格残基もしくは結合を含む核酸が含まれる。このような類似体の例としては、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2'-O-メチルリボヌクレオチド、及びペプチド核酸（PNA）が挙げられるが、これらに限定されない。特に限定されない限り、この用語には、参照核酸と同様の結合特性を有する天然ヌクレオチドの既知の類似体を含む核酸が含まれる。特に示されない限り、特定の核酸配列は、保存的に改変されたその変異体（例えば、縮重コドン置換物）、アレル、オーソログ、SNP、及び相補的配列、ならびに明示的に示される配列も暗黙的に含む。詳細には、縮重コドン置換物は、1つ以上の選択された（またはすべての）コドンの3番目の位置が混合塩基及び／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作製することによって得ることができる（Batzert al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem., 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al., Mol. Cell. Probes, 8:91-98 (1994)）。「ヌクレオチド」は、糖デオキシリボース（DNA）またはリボース（RNA）、塩基、及びリン酸基を含む。ヌクレオチド同士は、リン酸基を介して結合される。「塩基」には、天然化合物のアデニン、チミン、グアニン、シトシン、ウラシル、イノシン、及び天然類似体をさらに含むプリン及びピリミジン、ならびにこれらに限定されるものではないが、アミン、アルコール、チオール、カルボキシラーゼ、及びハロゲン化アルキルなどの新しい反応基を配置する修飾を含むがこれらに限定されないプリン及びピリミジンの合成誘導体が含まれる。本明細書で使用される「オリゴヌクレオチド」は、一般的に（ただし、必ずしもそうではない）ヌクレオチド約200個未満の長さである、短鎖の、一般的には合成ポリヌクレオチドを指す。用語「オリゴヌクレオチド」と「ポリヌクレオチド」とは、互いに相容れないものではない。ポリヌクレオチドに関する上記の説明は、等しく完全にオリゴヌクレオチドにも適用可能である。

【0053】

「対象」、「個体」、及び「患者」という用語は、本明細書では、脊椎動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトを指して互換的に使用される。哺乳類としては、マウス、サル、ヒト、家畜、狩猟動物、及び愛玩動物が挙げられるが、これらに限定されない。インビトロで得られたまたはインビトロで培養された生物学的実体の組織、細胞、及びそれらの子孫も包含される。

【0054】

「治療剤」、「治療能力のある薬剤」または「治療薬」という用語は互換的に使用され、対象に投与される際に何らかの有益な効果を与える分子または化合物を指す。有益な効果には、診断判定を可能とすること；疾患、症状、障害、または病的状態の改善；疾患、症状、障害または状態の発症の軽減または予防；及び、疾患、症状、障害または病的状態に広く抗することが含まれる。

【0055】

本明細書で使用される場合、「治療」または「治療すること」は、臨床結果を含む有益なまたは望ましい結果を得るためのアプローチである。本発明の目的のために、有益なまたは望ましい臨床結果は、以下のうちの1つ以上を含むが、これらに限定されない：疾患に起因する1つ以上の症状を減少させること（例えば、やはりウイルスに感染した治療していない個人と比較してウイルス量を減少させるかまたはウイルス量の増加を遅くすること）、疾患の程度を軽減すること（例えば、感染の経過を減少させること、例えば、感染の発症を減少させること、個人が集中治療室（ICU）または換気装置内にいる日数を減らすことなど）、疾患を安定させること（例えば、疾患の悪化を予防または遅延させること）、疾患の広がりや再発を予防または遅延させること、疾患の再発を予防または遅延させること、疾患の進行を遅延または減速させること、病状を改善すること、疾患の（部分的または全体的）寛解を提供すること、疾患の処置に必要な1つ以上の他の治療剤の投与量を減少させること、疾患の進行を遅延すること、生活の質を高めるまたは向上させること、体

重増加を増大させること、及び／または生存期間を延長させること。疾患（例えば、コロナウイルス感染における呼吸器症状など）の病理学的結果の低減も「治療」に包含される。本発明の方法は、これらの治療の態様のうちの任意の1つ以上を企図する。

【0056】

「有効量」または「治療有効量」という用語は、有益なまたは望ましい結果をもたらすのに十分な薬剤の量を指す。治療有効量は、治療される対象及び病状、対象の体重及び年齢、病状の重症度、当業者によって容易に決定できる投与方法などのうちの1つ以上に応じて異なり得る。この用語は、本明細書に記載の画像法のいずれか1つによる検出を行うための画像を与える線量にも適用される。特定の用量は、選択される特定の薬剤、従うべき投薬レジメン、他の化合物と併用して投与されるかどうか、投与のタイミング、画像化しようとする組織、及びそれが運ばれる物理的送達系のうちの1つ以上に応じて異なり得る。

10

【0057】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」または「薬学的に適合する」とは、生物学的にまたは他の方法で望ましくない材料を意味し、例えば、材料は、任意の顕著な望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、またはそれが含有される組成物の他の成分のうちのいずれかと有害な形で相互作用することなく、患者に投与される薬学的組成物に組み込まれてもよい。薬学的に許容される担体または賦形剤は、好ましくは、毒性試験及び製造試験の必要な基準を満たし、及び／または米国食品医薬品局によって作成された *Inactive Ingredient Guide* に含まれている。

20

【0058】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」または「薬学的に適合する」とは、生物学的にまたは他の方法で望ましくない材料を意味し、例えば、材料は、任意の顕著な望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、またはそれが含有される組成物の他の成分のうちのいずれかと有害な方法で相互作用することなく、患者に投与される薬学的組成物に組み込まれてもよい。薬学的に許容される担体または賦形剤は、好ましくは、毒性試験及び製造試験の必要な基準を満たし、及び／または米国食品医薬品局によって作成された *Inactive Ingredient Guide* に含まれている。

【0059】

本明細書に記載される本発明の実施形態は、実施形態「からなる」及び／または「から本質的になる」ことを含むと理解される。

30

【0060】

本明細書で使用する場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、別途指示されない限り、複数の対象を含む。

【0061】

本明細書で「約」の値またはパラメータを参照することは、その値またはパラメータをそれ自体で対象とする実施形態を含む（かつ記載する）。例えば、「約X」と言う場合の記載は、「X」の記載を含む。

【0062】

本出願の組成物及び方法は、本明細書に記載された本出願の必須要素及び限定、ならびに本明細書に記載された、またはさもなくば有用な任意の追加的または任意の成分、構成要素、または限定を含むか、それらから構成されるか、またはそれらから本質的に構成される。

40

【0063】

特に断りのない限り、専門用語は従来用法に従って使用される。

【0064】

キメラペプチド

本出願は、安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドを提供し、ここで、ブロッキングペプチドは、SPIKEとACE2との相互作用を特異的に遮断し、安定化ペプチドは、ブロッキングペプチドの二次構造または三次構造を安定化

50

する。

【0065】

いくつかの実施形態では、キメラペプチドは、アミノ酸約5～約100個（アミノ酸約10～約80個、アミノ酸約10～約70個、アミノ酸約10～約60個、アミノ酸約10～約50個など）の長さを有する。

【0066】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドに連結されたブロックングペプチドを含むキメラペプチドが提供され、ブロックングペプチドは、SPIKEとACE2との相互作用を特異的に遮断し、SPIKEの受容体結合ドメイン（RBD）内のループ配列を含み、安定化ペプチドは両親媒性ヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、CADDY、VEPEP-106ペプチド、ADGN-100ペプチド、及びVEPEP-109ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、ブロックングペプチドのC末端に連結される。いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約20個以下（例えばアミノ酸約7～18個）の長さを有する。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、C末端にリシン（K）を含む。いくつかの実施形態では、ループ配列は環状である。いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1～11及び42～46からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1、6、8～11、42及び45からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、Aun、Ava、及びAhxからなる群から選択される。

【0067】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドに連結されたブロックングペプチドを含むキメラペプチドが提供され、ブロックングペプチドは、SPIKEとACE2との相互作用を特異的に遮断し、ACE2の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列を含み、安定化ペプチドは両親媒性ヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、CADDY、VEPEP-106ペプチド、ADGN-100ペプチド、及びVEPEP-109ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、ブロックングペプチドのC末端に連結される。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号23～31及び47～52からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号23、24、26～28、31及び47～52からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、Aun、Ava、及びAhxからなる群から選択される。

【0068】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドに連結されたブロックングペプチドを含むキメラペプチドが提供され、ブロックングペプチドは、配列番号1、6、8～11、23、24、26～28、31、42、45及び47～52からなる群から選択される配列を含み、安定化ペプチドはADGN-100ペプチドまたはVEPEP-6ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、Aun、Ava、及びAhxからなる群から選択される。

【0069】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドに連結されたブロックングペプチドを含むキメラペプチドが提供され、ブロックングペプチドは、配列番号1、6、及び8～11からなる群から選択される配列を含み、安定化ペプチドは配列番号55または97のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは環状である。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG

部分、A u n、A v a、及びA h xからなる群から選択される。

【0070】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドが提供され、ブロッキングペプチドは、配列番号151、156、及び158～160からなる群から選択される環状ペプチドを含み、安定化ペプチドは配列番号55または97のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、A u n、A v a、及びA h xからなる群から選択される。

【0071】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドが提供され、ブロッキングペプチドは、配列番号23、24、26～28、31及び47～52からなる群から選択される配列を含み、安定化ペプチドは配列番号55または97のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号23、24、26～28、及び31からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、A u n、A v a、及びA h xからなる群から選択される。

【0072】

いくつかの実施形態では、配列番号17、20、21、27、28、33、39、及び40に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドが提供される。

【0073】

ブロッキングペプチド

本出願は、ブロッキングペプチド、及び本明細書に記載のブロッキングペプチドと安定化ペプチドとを含むキメラペプチドを提供する。

【0074】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、S P I K Eの受容体結合ドメイン(R B D)内のループ配列、またはA C E 2(例えば、ヒトA C E 2)の細胞外ドメイン内の配列(例えば、ループ配列、 $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ 鎖、またはこれらの組み合わせ)に由来する配列を含む。本明細書に記載のループ配列は、S P I K EまたはA C Eタンパク質の構造から選択され、 $\beta$ 鎖または $\alpha$ ヘリックスであり得る2個の二次構造モチーフの間に位置する。ループ配列は環化されてもよい。

【0075】

いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約50個以下(例えば、アミノ酸約40、35、30、25、または22個以下)の長さを有する。いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約20個以下(例えば、アミノ酸約18、15、12、または10個以下)の長さを有する。

【0076】

いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約5～40個(例えば、アミノ酸約5～30個、アミノ酸5～25個、アミノ酸5～20個)の長さを有する。いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約7個～アミノ酸約18個の長さを有する。

【0077】

いくつかの実施形態では、ループ配列は環状である。

【0078】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、C末端にリシン(K)を含む。リシンを用いることでリシン側鎖による連結を介してループの環化を促進することができる。

【0079】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、S P I K Eの受容体結合ドメイン(R B D)内のループ配列を含む。いくつかの実施形態では、ループ配列は、S P I K E

10

20

30

40

50

の受容体結合モチーフ（RBM）内にある。いくつかの実施形態では、ループ配列は、ループ $\alpha 4 - \beta 5$ 、ループ $\beta 5 - \beta 6$ 、及びループ $\beta 6 - \alpha 5$ からなる群から選択されるRBM構造モチーフのいずれかのモチーフ内にある。

【0080】

いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1～11及び42～46からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1、6、8～11、42及び45からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号1、6及び8～11からなる群から選択される配列を含む。

【0081】

いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、ACE2（例えば、ヒトACE2）の細胞外ドメイン内の配列（例えば、ループ配列、または $\alpha$ ヘリックスモチーフ）に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、ヒトACE2の $\alpha 1$ ヘリックス内の配列に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、ヒトACE2の $\alpha 1$ 及び $\alpha 2$ ヘリックス内の配列に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、ヒトACE2の $\beta 3$ と $\beta 4$ 鎖との間のループ配列に由来する配列を含む。

【0082】

いくつかの実施形態では、ACE2の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列は、ACE2の細胞外ドメイン内の配列と配列のC末端の1個、2個または3個のアミノ酸が異なる。

【0083】

いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、ACE2の細胞外ドメイン内の配列を含む。

【0084】

いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号23～31及び47～52からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号23、24、26～28、31及び47～52からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号23、24、26～28、及び31からなる群から選択される配列を含む。

【0085】

いくつかの実施形態では、遮断ペプチドは、配列番号151～160のいずれか1つから選択される環状ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号151、156及び158～160からなる群から選択される環状ペプチドを含む。

【0086】

いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、配列番号12～22及び24～41のいずれか1つから選択される非天然ペプチドを含む。

【0087】

いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、ACE2（例えば、ヒトACE2）の $\alpha 1$ 及び $\alpha 2$ ヘリックスに由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロックングペプチドは、ACE2（例えば、ヒトACE2）の $\alpha 1$ ヘリックスに由来する第1の配列と、ACE2（例えば、ヒトACE2）の $\alpha 2$ ヘリックスに由来する第2の配列とを含む。いくつかの実施形態では、第1の配列は、配列番号47または48に示されるアミノ酸配列を含み、第2の配列は、配列番号49または50に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の配列は、配列番号51に示されるアミノ酸配列を含み、第2の配列は、配列番号52に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2の配列は、第1の配列のC末端に連結される。いくつかの実施形態では、第2の配列は、第1の配列のN末端に連結される。いくつかの実施形態では、第1の配列と第2の配列とは、リンカー（本明細書に記載のリンカーのいずれかなど）によって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部

10

20

30

40

50

分、A u n、A v a、及びA h xからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号27、38、39、40のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

#### 【0088】

本明細書に記載のブロッキングペプチドは、ステープルされる。本明細書で使用される「ステープルされた」とは、ペプチド内の2個の残基間の化学結合を指す。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドはステープルされ、ペプチドの2個のアミノ酸間に化学結合を含む。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸は、3個または6個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸は、3個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2つのアミノ酸は、6個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはRまたはSである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはRである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはSである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸の一方はRであり、他方はSである。いくつかの実施形態では、化学結合は炭化水素結合である。

10

#### 【0089】

いくつかの実施形態では、配列番号1～52及び151～160のいずれかのアミノ酸配列を含み、少なくとも1つ以上のアミノ酸がD-アミノ酸であるブロッキングペプチドが提供される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドのアミノ酸の少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、または95%は、D-アミノ酸の形態である。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、D-アミノ酸で100%構成される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドの少なくとも一部は環状である。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドの少なくとも一部は $\alpha$ ヘリックス構造を有する。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号12～22、24～41、及び151～160のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号151～160のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び158～160のいずれかのアミノ酸配列を含む。

20

30

#### 【0090】

いくつかの実施形態では、配列番号1～22、42～46、及び151～160のいずれかのアミノ酸配列を含むブロッキングペプチドが提供される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドの少なくとも一部は環状である。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドのアミノ酸の少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、または95%は、D-アミノ酸の形態である。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、D-アミノ酸で100%構成される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号151、156及び158～160からなる群から選択される環状ペプチドを含む。

40

#### 【0091】

いくつかの実施形態では、配列番号23～41及び47～52のいずれかのアミノ酸配列を含むブロッキングペプチドが提供される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドの少なくとも一部（例えば、約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%）は $\alpha$ ヘリックス構造を有する。いくつかの実施形態では、非ヘリックス構造のアミノ酸の少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、または95%、または100%は、D-アミノ酸の形態である。いく

50

つかの実施形態では、アミノ酸の少なくとも約 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、または 90 %、または 95 %、または 100 % は、レトロインベルソペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドの少なくとも一部（例えば、非ヘリックス構造の一部）はステーブルされる。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドはステーブルされ、ペプチドの 2 個のアミノ酸間に化学結合を含む。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された 2 個のアミノ酸は、3 個または 6 個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された 2 個のアミノ酸は、3 個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された 2 つのアミノ酸は、6 個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された 2 個のアミノ酸のそれぞれは R または S である。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された 2 個のアミノ酸のそれぞれは R である。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された 2 個のアミノ酸のそれぞれは S である。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された 2 個のアミノ酸の一方は R であり、他方は S である。いくつかの実施形態では、化学結合は炭化水素結合である。

10

#### 【0092】

いくつかの実施形態では、配列番号 12 ~ 22、24 ~ 41、及び 151 ~ 160 のいずれかのアミノ酸配列を含むブロッキングペプチド（または非天然ペプチド）が提供される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 12、17、19 ~ 22、24、26 ~ 28、31 ~ 33、35、38 ~ 40、151、156、及び 158 ~ 160 のいずれかのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチド（または非天然ペプチド）は、アミノ酸約 5 ~ 約 100 個（アミノ酸約 10 ~ 約 80 個、アミノ酸約 10 ~ 約 70 個、アミノ酸約 10 ~ 約 60 個、アミノ酸約 10 ~ 約 50 個など）の長さを有する。

20

#### 【0093】

本出願はまた、第 2 の部分に連結された、本明細書に記載のブロッキングペプチドのいずれかを提供する。第 2 の部分は、ブロッキングペプチドの構造（二次構造、例えばループまたはヘリックス構造など）を安定化する。いくつかの実施形態では、第 2 の部分は PEG 部分である。いくつかの実施形態では、第 2 の部分は脂質である。いくつかの実施形態では、第 2 の部分はナノ粒子である。いくつかの実施形態では、第 2 の部分は抗体である。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドの少なくとも一部は環状である。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 151 ~ 160（例えば、配列番号 151、156、及び 158 ~ 160）からなる群から選択される環状ペプチドを含む。

30

#### 【0094】

いくつかの実施形態では、第 2 の部分は PEG 部分（本明細書に記載の PEG 部分のいずれかなど）である。ペプチドの PEG 化は、 $\alpha$ ヘリックスの二次構造の促進、薬物送達の促進、結合体のインビボ循環時間など、様々な利点を与える。例えば、Hamed et al. (Biomacromolecules 2013, 14, 4053-4060)、Hamley (Biomacromolecules 2014, 15, 1543-1559)、及び Lawrence et al., (Curr Opin Chem Biol. 2016 October; 34: 88-94) を参照されたい。PEG 部分をペプチドに連結する方法は、例えば、Hamed 及び Hamley に記載の方法など、当該技術分野では周知のものである。いくつかの実施形態では、PEG 部分は、約 7、6、5、4、3、または 2 個以下の単位で構成される。いくつかの実施形態では、PEG 部分は、2 個または 4 個の単位で構成される。

40

#### 【0095】

いくつかの実施形態では、第 2 の部分は、ウイルス（例えばコロナウイルス、例えば SARS-CoV-2）を標的とする、または中和する抗体である。いくつかの実施形態で

50

は、抗体はナノボディーである。例示的な抗体は、例えば、Wang et al. (Nature Communications, volume 11, Article number: 2251 (2020))、及びPinto et al., (Nature volume 583, pages 290–295 (2020))に見ることができる。

【0096】

いくつかの実施形態では、第2の部分はナノ粒子である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は金ナノ粒子（例えば、Auナノ粒子）である。ペプチドをナノ粒子に連結する一般的な原理及び方法は、例えば、Brancolini et al. (Current Opinion in Colloid & Interface Science 2019, 41: 86–94)に記載されるように当該技術分野では周知かつ認識されているものである。

10

【0097】

いくつかの実施形態では、第2の部分は脂質である。ペプチドの脂質化は、ペプチドベースの薬物の薬物動態及び薬力学プロファイルを促進する。例えば、Kowalczyk et al. (Adv Exp Med Biol. 2017; 1030: 185–227)及びWard et al. (Molecular Metabolism 2 (2013) 468–479)を参照されたい。脂質をペプチドに連結する方法は、例えば、Kowalczyk及びWardに記載の方法など、当該技術分野では周知のものである。いくつかの実施形態では、脂質はアシル化剤である。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドはアシル化される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドはC8またはC16脂肪酸によりアシル化される。いくつかの実施形態では、C8またはC16脂肪酸は、直鎖炭化水素鎖にある。

20

【0098】

いくつかの実施形態では、第2の部分はペプチドのN末端に連結される。いくつかの実施形態では、第2の部分はペプチドのC末端に連結される。いくつかの実施形態では、第2の部分は、ペプチド内の1つ以上のアミノ酸に付加される（システイン、セリン、スレオニン、またはリシンに付加された脂質など）。

【0099】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドと第2の部分とは、リンカー（本明細書に記載のリンカーのいずれかなど）によって連結される。

30

【0100】

安定化ペプチド

いくつかの実施形態における安定化ペプチドは、両親媒性 $\alpha$ ヘリックス（または両親媒性ヘリックス）構造を含む。両親媒性ヘリックスは、極性／非極性界面と接触すると $\alpha$ ヘリックス構造に折り畳まれるペプチド配列である。多くのタンパク質に見られる二次構造である両親媒性ヘリックスは、その構造と、ヘリックスの2つの面間での疎水性残基と極性残基との分離によって定義される。この分離のため両親媒性ヘリックス（AH）は極性－非極性界面に吸着することができる。

【0101】

40

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはブロッキングペプチドのC末端に連結される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはブロッキングペプチドのN末端に連結される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはリンカー（本明細書に記載されるリンカーのいずれかなど）によってブロッキングペプチドに連結される。

【0102】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、アミノ酸約8個～アミノ酸約50個（例えば、アミノ酸約10個～約40個、例えば、アミノ酸約12個～約30個）の長さを有する。

【0103】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、単一コアのヘリックスモチーフを含む。

50

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは2個以上のヘリックスモチーフを含む。例示的な安定化ペプチドは、C A D Y（例えば、配列番号150）、V E P E P-106ペプチド、A D G N-100ペプチド、及びV E P E P-109ペプチドを含む。4つのペプチドはいずれも、膜を模倣した環境内で二次両親媒性ヘリックス構造をとり、一方の側にT r p基、もう一方の側に荷電残基、さらに別の側に疎水性残基を露出させる。C A D YとV E P E P-6は同じ二次構造を有し、ペプチドのコア、C及びN末端にヘリックスモチーフがある（表1）。これに対し、A D G N-100及びV E P E P-9ペプチドは単一コアのヘリックスモチーフを有し、これはV E P E P-9でより長く、K o n a t e e t a l 2010（B i o c h e m i s t r y）, C r o w l e t e t a l 2014（B B A）と一致している。

10

【表1】

表1

| ペプチド     | 二次構造予測                                           |
|----------|--------------------------------------------------|
| ADGN-100 | KWRSAGWRWRLWRVRSWSR(配列番号61)<br>hhhhhhhhhhhhhh    |
| CADY     | GLWRALWRLRLSLWRLWLV(配列番号150)<br>hhh hhhh hhhh    |
| VEPEP-6  | LWRALWRLWRSLWRLWKA(配列番号92)<br>hhh hhhh hhhh      |
| VEPEP-9  | LRWWLRWASRWFSRWAWWR(配列番号120)<br>hhhhhhhhhhhhhhhh |

20

h：ヘリックスモチーフ

【0104】

30

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、A D G N-100ペプチドまたはV E P E P-6ペプチドを含む。

【0105】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、本明細書に記載の安定化ペプチドのいずれかのレトロインベルソペプチド（例えば、逆配列のD-アミノ酸で構成され、伸長されると、その親分子のものと同様であるがアミドペプチド結合が反転した側鎖トポロジーをとるペプチド）である。

【0106】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の安定化ペプチド（例えば、C A D Y、V E P E P-3ペプチド、V E P E P-4ペプチド、V E P E P-5ペプチド、V E P E P-6ペプチド、V E P E P-9ペプチド、またはA D G N-100ペプチド）はステーブルされる。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはステーブルされ、ペプチドの2個のアミノ酸間に化学結合を含む。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸は、3個または6個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸は、3個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2つのアミノ酸は、6個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはRまたはSである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはRである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはSである。いくつかの実施形態では、化学結

40

50

合によって連結された2個のアミノ酸の一方はRであり、他方はSである。いくつかの実施形態では、化学結合は炭化水素結合である。

【0107】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、ACE2（例えば、ヒトACE2）に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチド及び安定化ペプチドはそれぞれ、ACE2（例えば、ヒトACE2）に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、配列番号49または50に示される配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはブロッキングペプチドのN末端に連結される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはブロッキングペプチドのC末端に連結される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはリンカー（本明細書に記載されるリンカーのいずれかなど）によってブロッキングペプチドに連結される。

10

【0108】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号49、50、及び53～150のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0109】

ADGN-100ペプチド

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のADGN-100ペプチドはコアモチーフを含み、コアモチーフはアミノ酸配列RWRLWRX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>SR（配列番号53）であり、ただし、X<sub>1</sub>はVまたはSであり、X<sub>2</sub>はR、V、またはAであり、X<sub>3</sub>はSまたはLであり、X<sub>4</sub>はWまたはYである。いくつかの実施形態では、ペプチドは、その長さの約50%を超える範囲（例えば、約55%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、及び95%のいずれかを越える範囲）にわたってαヘリックス構造の形をとる。例示的なADGN-100ペプチドは、例えば、本明細書に参照によりそれらの全容を援用するところのUS20190002499A1、EP3237436、及びWO2016/102687に記載されている。

20

【0110】

いくつかの実施形態では、ヘリックス構造は、S及びR残基の少なくとも2個（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、または8個のいずれか）がヘリックス構造の一方の側にあり、W残基の少なくとも1個（例えば、少なくとも2、3、4、または5個のいずれか）がヘリックス構造の反対側にあるように構成される。いくつかの実施形態では、S及びR残基の大部分がヘリックス構造の一方の側にあり、W残基の大部分がヘリックス構造の反対側にある。いくつかの実施形態では、S及びR残基の全部がヘリックス構造の一方の側にあり、W残基の全部がヘリックス構造の反対側にある。いくつかの実施形態では、ヘリックス構造は、静電接触のパッチがヘリックス構造の一方の側に形成され、疎水性接触のパッチがヘリックス構造の他方の側に形成されるように構成される。いくつかの実施形態では、ペプチドは、カーゴ分子の存在下で単一のヘリックスの形をとる。

30

【0111】

いくつかの実施形態では、ADGN-100ペプチドは、配列番号53～79のいずれか1つに示される配列を含む。

【0112】

いくつかの実施形態では、ADGN-100細胞透過性ペプチドは、アミノ酸配列RSX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>RWRLWRX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>SR（配列番号54）（ただし、X<sub>1</sub>はAまたはVであり、X<sub>2</sub>はGまたはLであり、X<sub>3</sub>はWまたはYであり、X<sub>4</sub>はVまたはSであり、X<sub>5</sub>はR、VまたはAであり、X<sub>6</sub>はSまたはLであり、X<sub>7</sub>はWまたはYである）を含む。いくつかの実施形態では、ADGN-100ペプチドは、アミノ酸配列RSAGWRWRLWRVRSWSR（配列番号55）、RSALYRWRLWRVRSWSR（配列番号56）、RSALYRWRLWRSRSWSR（配列番号57）、またはRSALYRWRLWRSALYSR（配列番号58）を含む。いくつかの実施形態では、ADGN-100ペプチドは、アミノ酸配列RSAGWRWRLWRVRSWSR（配列番号55）を含む。

40

50

## 【0113】

いくつかの実施形態では、ADGN-100細胞透過性ペプチドは、 $X_1$ KWRS $X_2$  $X_3$  $X_4$ RWRLWR $X_5$  $X_6$  $X_7$  $X_8$ SR（配列番号59）（ただし、 $X_1$ は任意のアミノ酸またはアミノ酸なしであり、 $X_2 \sim X_8$ は任意のアミノ酸である）を含む。いくつかの実施形態では、ADGN-100細胞透過性ペプチドは、 $X_1$ KWRS $X_2$  $X_3$  $X_4$ RWRLWR $X_5$  $X_6$  $X_7$  $X_8$ SR（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、S、またはアミノ酸なしであり、 $X_2$ はAまたはVであり、 $X_3$ はGまたはLであり、 $X_4$ はWまたはYであり、 $X_5$ はVまたはSであり、 $X_6$ はR、V、またはAであり、 $X_7$ はSまたはLであり、 $X_8$ はWまたはYである）を含む。いくつかの実施形態では、ADGN-100細胞透過性ペプチドは、配列番号61～64のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

10

## 【0114】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のADGN-100ペプチドはコアモチーフを含み、コアモチーフはアミノ酸配列RWRLWRWSR（配列番号65）である。

## 【0115】

いくつかの実施形態では、ADGN-100ペプチドは、レトロインベルソペプチド（例えば、逆配列のD-アミノ酸で構成され、伸長されると、その親分子のものと同様であるがアミドペプチド結合が反転した側鎖トポロジーをとるペプチド）である。いくつかの実施形態では、レトロインベルソペプチドは、配列番号66または67の配列を含む。

## 【0116】

いくつかの実施形態では、ADGN-100ペプチドは、炭化水素結合によって連結された3個または6個の残基によって分離された2個の残基を含む。いくつかの実施形態では、この結合はキメラペプチドの安定性を高める。いくつかの実施形態では、ADGN-100ペプチドは、アミノ酸配列RS<sub>S</sub>AGWR<sub>S</sub>WRLWRVRSWSR（アミノ酸配列68）、RS<sub>S</sub>AGWRWR<sub>S</sub>LWRVRSWSR（アミノ酸配列69）、RSAGWR<sub>S</sub>WRLWRVRS<sub>S</sub>WSR（アミノ酸配列70）、RS<sub>S</sub>ALYR<sub>S</sub>WRLWRSRSWSR（アミノ酸配列71）、RS<sub>S</sub>ALYRWR<sub>S</sub>LWRSRSWSR（アミノ酸配列72）、RSALYR<sub>S</sub>WRLWRSRS<sub>S</sub>WSR（アミノ酸配列73）、RSALYRWR<sub>S</sub>LWRS<sub>S</sub>RSWSR（アミノ酸配列74）、RSALYRWRLWRS<sub>S</sub>RSWS<sub>S</sub>R（アミノ酸配列75）、RS<sub>S</sub>ALYRWR<sub>S</sub>LWRSALYSR（アミノ酸配列76）、RS<sub>S</sub>ALYR<sub>S</sub>WRLWRSALYSR（アミノ酸配列77）、RSALYRWR<sub>S</sub>LWRS<sub>S</sub>ALYSR（アミノ酸配列78）、またはRSALYRWRLWRS<sub>S</sub>ALYS<sub>S</sub>R（アミノ酸配列79）（ただし、下付き文字「S」で示された残基は、炭化水素結合によって連結されている）を含む。

20

30

## 【0117】

VEPEP-6ペプチド

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、VEPEP-6ペプチド（ADGN-106ペプチドまたはVEPEP-106ペプチドとも呼ばれる）を含む。本明細書に記載のVEPEP-6ペプチドは二次両親媒性ペプチドである。これらは非常に汎用性が高く、強い構造多型を示す。VEPEP-6は溶液中で遊離型としてアンフォールドし、脂質または人工細胞膜の存在下、及びカーゴ（siRNA／一本鎖及び二本鎖オリゴヌクレオチドなど）の存在下で $\alpha$ ヘリックス構造の形をとる。例示的なVEPEP-6ペプチドについては、本明細書に参照によりその全容を援用するところのUS20140227344及びEP2694529を参照されたい。

40

## 【0118】

いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、L $X_1$ RALWX<sub>8</sub>L $X_2$  $X_8$  $X_3$ LWX<sub>8</sub>L $X_4$  $X_5$  $X_6$  $X_7$ （配列番号80）、L $X_1$ LARWX<sub>8</sub>L $X_2$  $X_8$  $X_3$ LWX<sub>8</sub>L $X_4$  $X_5$  $X_6$  $X_7$ （配列番号81）、L $X_1$ ARLWX<sub>8</sub>L $X_2$  $X_8$  $X_3$ LWX<sub>8</sub>L $X_4$  $X_5$  $X_6$  $X_7$ （配列番号82）、L $X_1$ RALWRL $X_2$ R $X_3$ LWRL $X_4$  $X_5$  $X_6$  $X_7$ （配列番号83）（ただし、 $X_1$ はFまたはWであり、 $X_2$ はL、W、CまたはIであり、 $X_3$ はS、A、NまたはTであり、 $X_4$ はLまたはWであり、 $X_5$ はWまたはR

50

であり、 $X_6$ はKまたはRであり、 $X_7$ はAまたはアミノ酸なしであり、 $X_8$ はRまたはSである）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-6は、 $LX_1RALWRLX_2RX_3LWRLX_4X_5KX_6$ （配列番号84）（ただし、 $X_1$ はFまたはWであり、 $X_2$ はLまたはWであり、 $X_3$ はS、AまたはNであり、 $X_4$ はLまたはWであり、 $X_5$ はWまたはRであり、 $X_6$ はAまたはアミノ酸なしである）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、配列番号85～90のいずれか1つに示される配列を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、アミノ酸配列LWRALWRLWRS LWRL LWK（配列番号97）を含む。

10

【0119】

いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドはレトロインベルソペプチドである。いくつかの実施形態では、レトロインベルソペプチドは配列番号98の配列を含む。

【0120】

いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、炭化水素結合によって連結された3個または6個の残基によって分離された2個の残基を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、7位と11位の2個の残基の間に炭化水素結合を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、10位と14位の2個の残基の間に炭化水素結合を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、4位と11位の2個の残基の間に炭化水素結合を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-6ペプチドは、配列番号99～107のいずれか1つに示される配列を含む。

20

【0121】

VEPEP-9ペプチド

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、VEPEP-9ペプチド（またはVEPEP-109ペプチドとも呼ばれる）を含む。VEPEP-9c及びVEPEP-9eを除くVEPEP-9ペプチドは、二次両親媒性ペプチドであり、非常に汎用性が高く、強い構造多型を示す。図11Bを参照されたい。VEPEP-9は溶液中で遊離型としてアンフォールドし、脂質または人工細胞膜の存在下、ならびにペプチド、SMH、及び低分子オリゴヌクレオチドなどのカーゴの存在下で $\alpha$ ヘリックス構造の形をとる。これに対して、VEPEP-9c及びVEPEP-9eは、配列中のプロリン残基の存在により、コイル／ターン編成の形をとる。VEPEP-9cのN末端ドメインは、脂質または人工細胞膜の存在下、及びカーゴの存在下で、 $\alpha$ ヘリックス構造の形をとる。VEPEP-9c及びVEPEP-9eも安定化ペプチドとして機能することが予想される。本明細書に参照によりその全容を援用するところのWO2014/053624、US20160060296A1、及びEP2928908に記載される例示的なVEPEP-9ペプチドを参照されたい。

30

【0122】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の複合体またはナノ粒子は、アミノ酸配列 $X_1X_2X_3WWX_4X_5WAX_6X_3X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}WX_{13}R$ （配列番号108）（ただし、 $X_1$ は $\beta A$ 、Sまたはアミノ酸なしであり、 $X_2$ はLまたはアミノ酸なしであり、 $X_3$ はRまたはアミノ酸なしであり、 $X_4$ はL、RまたはGであり、 $X_5$ はR、WまたはSであり、 $X_6$ はS、PまたはTであり、 $X_7$ はWまたはPであり、 $X_8$ はF、AまたはRであり、 $X_9$ はS、L、PまたはRであり、 $X_{10}$ はRまたはSであり、 $X_{11}$ はWまたはアミノ酸なしであり、 $X_{12}$ はA、Rまたはアミノ酸なしであり、 $X_{13}$ はWまたはFであり、 $X_3$ がアミノ酸なしである場合、 $X_2$ 、 $X_{11}$ 及び $X_{12}$ もアミノ酸なしである）を含むVEPEP-9細胞浸透性ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-9ペプチドは、アミノ酸配列 $X_1X_2RWWLRWAX_6RWX_8X_9X_{10}WX_{12}WX_{13}R$ （配列番号109）（ただし、 $X_1$ は $\beta A$ 、S、またはアミノ酸なしであり、 $X_2$ はLまたはアミノ酸なし、 $X_6$ はSまたはPであり、 $X_8$ はFまたはAであり、 $X_9$ はS、LまたはPであり、 $X_{10}$ はRまたはSであり、 $X_{12}$ はAまたは

40

50

Rであり、 $X_{13}$ はWである）を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-9ペプチドは、 $X_1$ LRWWLRWASRWFSRWAWWR（配列番号110）、 $X_1$ LRWWLRWASRWASRWAWFR（配列番号111）、 $X_1$ RWWLRWASRWALS WRWW（配列番号112）、 $X_1$ RWWLRWASRWFLSWRWWR（配列番号113）、 $X_1$ RWWLRWAPRWFP SWRWWR（配列番号114）、及び $X_1$ RWWLRWASRWAPSWRWWR（配列番号115）（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、Sまたはアミノ酸なしである）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-9ペプチドは、 $X_1$ WW $X_4$  $X_5$ W $X_6$  $X_7$  $X_8$ R $X_{10}$ WW（配列番号116）（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、Sまたはアミノ酸なしであり、 $X_4$ はRまたはGであり、 $X_5$ はWまたはSであり、 $X_6$ はS、TまたはPであり、 $X_7$ はWまたはPであり、 $X_8$ はAまたはRであり、 $X_{10}$ はSまたはRである）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-9ペプチドは、 $X_1$ WWRWASWARSWWR（配列番号117）、 $X_1$ WWGSWATPRRRWW（配列番号118）、及び $X_1$ WWRWAPWARSWW（配列番号119）（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、S、またはアミノ酸なしである）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-9ペプチドは、配列番号120または121に示される配列を含む。

10

#### 【0123】

##### VEPEP-3ペプチド

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはVEPEP-3ペプチドを含む。VEPEP-3ペプチドは、一次両親媒性ペプチドであり、非常に汎用性が高く、強い構造多型を示す。VEPEP-3ペプチドは溶液中で遊離型としてアンフォールドし、脂質または人工細胞膜の存在下、ならびにペプチドまたはタンパク質などのカーゴの存在下でN末端部分が $\alpha$ ヘリックス構造の形をとる。例示的なVEPEP-3ペプチドは、例えば、本明細書に参照によりそれらの全容を援用するところのWO2014/053622、US20160089447、及びEP2951196に記載されている。

20

#### 【0124】

いくつかの実施形態では、VEPEP-3ペプチドは、アミノ酸配列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_2X_3X_4X_6X_7X_3X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}$ （配列番号122）（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、Sまたはアミノ酸なしであり、 $X_2$ はK、RまたはLであり（互いに独立して）、 $X_3$ はFまたはWであり（互いに独立して）、 $X_4$ はF、WまたはYであり（互いに独立して）、 $X_5$ はE、RまたはSであり、 $X_6$ はR、TまたはSであり、 $X_7$ はE、R、またはSであり、 $X_8$ はアミノ酸なし、FまたはWであり、 $X_9$ はPまたはRであり、 $X_{10}$ はRまたはLであり、 $X_{11}$ はK、WまたはRであり、 $X_{12}$ はRまたはFであり、 $X_{13}$ はRまたはKである）を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-3ペプチドは、アミノ酸配列 $X_1X_2WX_4EX_2WX_4X_6X_7X_3PRX_{11}RX_{13}$ （配列番号123）（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、Sまたはアミノ酸なしであり、 $X_2$ はK、RまたはLであり、 $X_3$ はFまたはWであり、 $X_4$ はF、WまたはYであり、 $X_5$ はE、RまたはSであり、 $X_6$ はR、TまたはSであり、 $X_7$ はE、R、またはSであり、 $X_8$ はアミノ酸なし、FまたはWであり、 $X_9$ はPまたはRであり、 $X_{10}$ はRまたはLであり、 $X_{11}$ はK、WまたはRであり、 $X_{12}$ はRまたはFであり、 $X_{13}$ はRまたはKである）を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-3ペプチドは、アミノ酸配列 $X_1KWFERWFREWPRKR$ （配列番号124）、 $X_1KWWERWWREWPRKR$ （配列番号125）、 $X_1KWWERWWREWPRKRK$ （配列番号126）、 $X_1RWWEKWWTRWPRKRK$ （配列番号127）、または $X_1RWYEKWYTEFPRRRR$ （配列番号128）（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、Sまたはアミノ酸なしである）を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-3ペプチドは、アミノ酸配列 $X_1KX_{14}WREWWRX_{14}WPRKRK$ （配列番号129）（ただし、 $X_1$ は $\beta$ A、S、またはアミノ酸なしであり、 $X_{14}$ は非天然アミノであり、2個の非天然アミノ酸間に炭化水素結合がある）を含む。いくつかの実施形態では、VEPEP-3ペプチドは、アミノ酸配

30

40

50

列  $X_1 X_2 X_3 W X_5 X_{10} X_3 W X_6 X_7 W X_8 X_9 X_{10} W X_{12} R$  (配列番号 130) (ただし、 $X_1$  は  $\beta A$ 、 $S$  またはアミノ酸なしであり、 $X_2$  は  $K$ 、 $R$  または  $L$  であり、 $X_3$  は  $F$  または  $W$  であり、 $X_5$  は  $R$  または  $S$  であり、 $X_6$  は  $R$  または  $S$  であり、 $X_7$  は  $R$  または  $S$  であり、 $X_8$  は  $F$  または  $W$  であり、 $X_9$  は  $R$  または  $P$  であり、 $X_{10}$  は  $L$  または  $R$  であり、 $X_{12}$  は  $R$  または  $F$  である) を含む。いくつかの実施形態では、 $VEPEP-3$  ペプチドは、アミノ酸配列  $X_1 R W W R L W W R S W F R L W R R$  (配列番号 131)、 $X_1 L W W R R W W S R W W P R W R R$  (配列番号 132)、 $X_1 L W W S R W W R S W F R L W F R$  (配列番号 133)、または  $X_1 K F W S R F W R S W F R L W R R$  (配列番号 134) (ただし、 $X_1$  は  $\beta A$ 、 $S$  またはアミノ酸なしである) を含む。いくつかの実施形態では、 $VEPEP-3$  ペプチドは、配列番号 122~134 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含み、細胞透過性ペプチドは、非天然アミノ酸による 5 位及び 12 位のアミノ酸の置換、及び 2 個の非天然アミノ酸間の炭化水素結合の付加によって改変されている。いくつかの実施形態では、 $VEPEP-3$  ペプチドは、アミノ酸配列  $X_1 R W W X_{14} L W W R S W X_{14} R L W R R$  (配列番号 135) (ただし、 $X_1$  はベータアラニン、セリン、またはアミノ酸なしであり、 $X_{14}$  は非天然アミノ酸であり、2 個の非天然アミノ酸間に炭化水素結合がある) を含む。いくつかの実施形態では、 $VEPEP-3$  ペプチドは、配列番号 136 または 137 に示される配列を含む。

10

【0125】

$VEPEP-4$  ペプチド

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは  $VEPEP-4$  ペプチドを含む。 $VEPEP-4$  ペプチドは、両親媒性ペプチドであり、非常に汎用性が高く、強い構造多型を示す。 $VEPEP-4$  ペプチドは溶液中、ならびに脂質または人工細胞膜の存在下、またはペプチドもしくは小分子などのカーゴの存在下で遊離型としてアンフォールドする。例示的な  $VEPEP-4$  ペプチドは、例えば、本明細書に参照によりそれらの全容を援用するところの  $US20160115199A1$ 、 $WO2014/053628$ 、及び  $EP2928906$  に記載されている。

20

【0126】

いくつかの実施形態では、 $VEPEP-4$  ペプチドは、アミノ酸配列  $X W X R L X X X X X X X X$  (配列番号 138) (ただし、1 位の  $X$  は  $\beta A$ 、 $S$ 、またはアミノ酸なしであり、3、9 及び 10 位の  $X$  は互いに独立して  $W$  または  $F$  であり、8 位の  $X$  が  $S$  である場合、6 位の  $X$  は  $R$  であり、8 位の  $X$  が  $R$  の場合、6 位の  $X$  は  $S$  であり、7 位の  $X$  は  $L$  またはアミノ酸なしであり、11 位の  $X$  は  $R$  またはアミノ酸なしであり、11 位の  $X$  がアミノ酸なしである場合、7 位の  $X$  は  $L$  である) を含む。いくつかの実施形態では、 $VEPEP-4$  ペプチドは、配列番号 138~142 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。

30

$VEPEP-5$  ペプチド

【0127】

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは  $VEPEP-5$  ペプチドを含む。 $VEPEP-5$  は短い一次ペプチドであり、場合によっては二次両親媒性ペプチドであり、ペプチド、ペプチド類似体、 $PNA$ 、及び疎水性小分子 (*small hydrophobic molecules*; 以下、「 $SHM$ 」として示す) などの分子と安定したナノ粒子を形成する。例示的な  $VEPEP-5$  ペプチドは、例えば、本明細書に参照によりそれらの全容を援用するところの  $US20160145299A1$ 、 $WO2014/053629$ 、及び  $EP2928907$  に記載されている。

40

【0128】

いくつかの実施形態では、 $VEPEP-5$  ペプチドは、アミノ酸配列  $R X W X R L W X R L R$  (配列番号 143) (ただし、2 位の  $X$  は  $R$  または  $S$  であり、4 及び 8 位の  $X$  は互いに独立して  $W$  または  $F$  である) を含む。いくつかの実施形態では、 $VEPEP-5$  ペプチドは、配列番号 144~149 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。

【0129】

リンカー

50

いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、リンカーによりブロッキングペプチドに連結される。

【0130】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ポリグリシンリンカーを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $\beta$ -アラニンを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、少なくとも約2個、3個、または4個のグリシン、場合により連続したグリシンを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、セリンを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、GGGGS（配列番号186）またはSGGGG（配列番号187）配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、グリシン- $\beta$ -アラニンモチーフを含む。

【0131】

いくつかの実施形態では、1つ以上の部分は、ポリマー（例えば、PEG、ポリリシン、PET）を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーは、CPPのN末端に結合される。いくつかの実施形態では、ポリマーは、CPPのC末端に結合される。いくつかの実施形態では、第1のポリマーはCPPのN末端に結合され、第2のポリマーはCPPのC末端に結合される。いくつかの実施形態では、ポリマーは、PEGである。いくつかの実施形態において、PEGは、直鎖状PEGである。いくつかの実施形態において、PEGは、分枝状PEGである。いくつかの実施形態では、PEGの分子量は、約5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、30 kDa、または40 kDa以下である。いくつかの実施形態では、PEGの分子量は、少なくとも約5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、30 kDa、または40 kDaである。いくつかの実施形態では、PEGの分子量は、約5 kDa～約10 kDa、約10 kDa～約15 kDa、約15 kDa～約20 kDa、約20 kDa～約30 kDa、または約30 kDa～約40 kDaである。いくつかの実施形態では、PEGの分子量は、約5 kDa、10 kDa、20 kDa、または40 kDaである。いくつかの実施形態では、PEGの分子量は、5 kDa、10 kDa、20 kDaまたは40 kDaから選択される。いくつかの実施形態では、PEGの分子量は、約5 kDaである。いくつかの実施形態では、PEGの分子量は、約10 kDaである。いくつかの実施形態では、PEGは、少なくとも約1、2、または3個のエチレングリコール単位を含む。いくつかの実施形態では、PEGは、約10、9、8、または7個のエチレングリコール単位で構成される。いくつかの実施形態では、PEGは、約1、2、または3個のエチレングリコール単位で構成される。いくつかの実施形態では、PEG部分は、約1～8個、または約2～約7個のエチレングリコール単位で構成される。

【0132】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ベータアラニン、システイン、システアミド架橋、ポリグリシン（G2またはG4など）、Aun（11-アミノウンデカン酸）、Avva（5-アミノペンタン酸）、及びAhx（アミノカプロン酸）からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカー部分は、Aun（11-アミノウンデカン酸）を含む。いくつかの実施形態では、リンカー部分はAvva（5-アミノペンタン酸）を含む。いくつかの実施形態では、リンカー部分は、Ahx（アミノカプロン酸）を含む。

【0133】

いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリンを含む。プロリンは、ブロックドメインと安定化ドメインの間の二次構造にキックを形成する。

【0134】

いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分（例えば、約2～7個のエチレングリコール単位で構成される）、Aun、Avva、及びAhxからなる群から選択される。

【0135】

本明細書に記載のキメラペプチド、ブロッキングペプチド、または安定化ペプチドのいずれかをコードする核酸も想到される。

【0136】

## s i R N A

本出願は、SARS-CoV-2 ウイルスを標的とする新規 s i R N A を提供する。

### 【0137】

いくつかの実施形態では、s i R N A は、SARS-CoV-2 のヌクレオカプシドを標的とする。いくつかの実施形態では、s i R N A は、配列番号 161 ~ 170 のいずれか 1 つの核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、s i R N A は、配列番号 163、166、168、及び 170 からなる群から選択される核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、s i R N A は配列番号 166 の核酸配列を含む。

### 【0138】

いくつかの実施形態では、s i R N A は、SARS-CoV-2 の ORF3A 遺伝子を標的とする。いくつかの実施形態では、s i R N A は、配列番号 171 ~ 175 のいずれか 1 つの核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、s i R N A は、配列番号 171、173、及び 174 からなる群から選択される核酸配列を含む。

### 【0139】

いくつかの実施形態では、s i R N A は、SARS-CoV-2 の ORF8 遺伝子を標的とする。いくつかの実施形態では、s i R N A は、配列番号 176 ~ 179 のいずれか 1 つの核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、s i R N A は、配列番号 177、178、及び 180 からなる群から選択される核酸配列を含む。

### 【0140】

いくつかの実施形態では、s i R N A を修飾することができる（例えば、化学的に修飾する）。修飾の例としては、3' 末端デオキシチミン、2'-O-メチル、2'-デオキシ修飾、2'-アミノ修飾、2'-アルキル修飾、モルホリノ修飾、ホスホルアミデート修飾、5'-ホスホロチオエート基修飾、5'リン酸または 5'リン酸模倣体修飾、コレステリル誘導体またはドデカン酸ビスデシルアミド基修飾が挙げられるが、これらに限定されない。修飾ヌクレオチドは、ロックヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、またはヌクレオチドを含む非天然塩基のいずれであってもよい。

### 【0141】

本明細書ではまた、以下に記載されるような複合体、ナノ粒子、組成物を含むがこれらに限定されない、上記に述べたようなキメラペプチド、ブロッキングペプチド、または s i R N A のいずれかを含む複合体、ナノ粒子、組成物も提供される。

### 【0142】

ウイルス、リボソーム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、及びコンジュゲーションを含む（ただし、これらに限定されない）本出願に記載のキメラペプチド、ブロッキングペプチド、または s i R N A、複合体、ナノ粒子、及び組成物のいずれかを送達するための多くの送達システムを使用して、キメラペプチド（複数可）、ブロッキングペプチド（複数可）及び／または s i R N A を宿主細胞に導入することができる。従来のウイルス及び非ウイルスベースの遺伝子導入方法を用いて哺乳類細胞または標的組織に核酸を導入することができる。このような方法を使用して、本発明のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドをコードする核酸を、培養細胞または宿主生物に投与することができる。非ウイルスベクター送達系としては、DNA プラスミド、RNA（例えば、本明細書に記載のコンストラクトの転写産物）、ネイキッド核酸、及びリボソームなどの送達ビヒクルと複合体を形成させた核酸が挙げられる。

### 【0143】

核酸の非ウイルス送達の方法としては、リポフェクション、ヌクレオフェクション、マイクロインジェクション、バイオリスティックス、ピロソーム、リポソーム、イムノリポソーム、ポリカチオンまたは脂質：核酸コンジュゲート、エレクトロポレーション、ナノ粒子、エクソソーム、マイクロベシクル、または遺伝子銃、ネイキッド DNA、及び人工ビリオンが挙げられる。

### 【0144】

核酸を送達するための RNA または DNA ウイルスベースの系の使用は、ウイルスを体

10

20

30

40

50

内の特定の細胞に標的化し、及び／またはウイルスペイロードを細胞核に輸送するうえで高い効率を有する。

【0145】

複合体及びナノ粒子

本出願は、a) 本明細書に記載されるもののいずれかのようなキメラペプチド、ブロッキングペプチド、またはs i R N Aを含むカーゴと、b) 第2のペプチドと、を含む複合体であって、キメラペプチド、ブロッキングペプチド、またはs i R N Aが第2のペプチドと複合体を形成している、複合体を提供する。本明細書に記載の複合体のいずれかを含むナノ粒子も提供される。いくつかの実施形態では、a) 本明細書に記載されるもののいずれかのようなキメラペプチド、ブロッキングペプチド、またはs i R N Aを含むカーゴと、b) 第2のペプチドと、を含むナノ粒子が提供される。

10

【0146】

いくつかの実施形態では、a) ブロッキングペプチドと安定化ペプチドとを含むキメラペプチドを含むカーゴであって、ブロッキングペプチドがS P I K EとA C E 2との相互作用を特異的にブロックし、S P I K Eの受容体結合ドメイン(R B D)内のループ配列を含み、安定化ペプチドが両親媒性ヘリックスを含む、カーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1ペプチド、P E P-2ペプチド、P E P-3ペプチド(例えば、配列番号183)、L N C O Vペプチド、V E P E P-3ペプチド、V E P E P-4ペプチド、V E P E P-5ペプチド、V E P E P-6ペプチド、V E P E P-9ペプチド、及びA D G N-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、C A D Y、V E P E P-6ペプチド、A D G N-100ペプチド、およびV E P E P-9ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはブロッキングペプチドのC末端に連結される。いくつかの実施形態では、ループ配列は、アミノ酸約20個以下(例えばアミノ酸約7~18個)の長さを有する。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、C末端にリシン(K)を含む。いくつかの実施形態では、ループ配列は環状である。いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1~11及び42~46からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号1、6、8~11、42及び45からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、P E G部分、A u n、A v a、及びA h xからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、A D G N-100ペプチド(例えば、配列番号55)、V E P E P-6ペプチド(例えば、配列番号97)またはV E P E P-9ペプチド(例えば、配列番号120または121)。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53~79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80~107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108~121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約1:1~約80:1(例えば、約2:1~約10:1、約5:1)である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはキメラペプチドと複合体を形成する。

20

30

40

【0147】

いくつかの実施形態では、a) ブロッキングペプチドと安定化ペプチドとを含むキメラペプチドを含むカーゴであって、ブロッキングペプチドがS P I K EとA C E 2との相互作用を特異的にブロックし、A C E 2の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列を含み、安定化ペプチドが両親媒性ヘリックスを含む、カーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1ペプチド、P E P-2ペプチド、P E P-3ペプチド(例えば、配列番号183)、L N C O Vペプチド、V E P E P-3ペプチド、V E P E P-4ペプチド、V E P E P-5ペプチド、V E P E P-6ペプチド、V E P E P-9ペプチド、及びA D G N-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が

50

提供される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、C A D Y、V E P E P-106 ペプチド、A D G N-100 ペプチド、及び V E P E P-109 ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドはブロッキングペプチドの C 末端に連結される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 23~31 及び 47~52 からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 23、24、26~28、31 及び 47~52 からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドと安定化ペプチドとはリンカーによって連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、P E G 部分、A u n、A v a、及び A h x からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、A D G N-100 ペプチド（例えば、配列番号 55）、V E P E P-6 ペプチド（例えば、配列番号 97）または V E P E P-9 ペプチド（例えば、配列番号 120 または 121）。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、配列番号 53~79 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、配列番号 80~107 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、配列番号 108~121 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第 2 のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約 1:1~約 80:1（例えば、約 2:1~約 10:1、約 5:1）である。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドはキメラペプチドと複合体を形成する。

10

20

【0148】

いくつかの実施形態では、a) 安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドを含むカーゴであって、ブロッキングペプチドが配列番号 1、6、8~11、23、24、26~28、31、42、45 及び 47~52 からなる群から選択される配列を含み、安定化ペプチドが、リンカーによってブロッキングペプチドの C 末端に連結された A D G N-100 ペプチドまたは V E P E P-6 ペプチドを含む、カーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号 183）、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-4 ペプチド、V E P E P-5 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及び A D G N-100 ペプチドからなる群から選択される第 2 のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、C A D Y、V E P E P-106 ペプチド、A D G N-100 ペプチド、及び V E P E P-109 ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、P E G 部分、A u n、A v a、及び A h x からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、A D G N-100 ペプチド（例えば、配列番号 55）、V E P E P-6 ペプチド（例えば、配列番号 97）または V E P E P-9 ペプチド（例えば、配列番号 120 または 121）。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、配列番号 53~79 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、配列番号 80~107 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、配列番号 108~121 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第 2 のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約 1:1~約 80:1（例えば、約 2:1~約 10:1、約 5:1）である。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドはキメラペプチドと複合体を形成する。

30

40

【0149】

いくつかの実施形態では、a) リンカーによって安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチド（例えば、ブロッキングペプチドの C 末端に連結される）を含むキメラペプチドを含むカーゴであって、ブロッキングペプチドが、配列番号 1、6、及び 8~11 からなる群から選択される配列を含み、安定化ペプチドが、配列番号 55 または 97 のアミノ酸配列を含む、カーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号 183）、L N C O V ペプチド、V E P

50

EP-3ペプチド、VEPEP-4ペプチド、VEPEP-5ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、CADY、VEPEP-106ペプチド、ADGN-100ペプチド、及びVEPEP-109ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、Aun、Ava、及びAhxからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、ADGN-100ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53～79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80～107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108～121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約2：1～約10：1、約5：1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはキメラペプチドと複合体を形成する。

10

#### 【0150】

いくつかの実施形態では、a) リンカーによって安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチド（例えば、ブロッキングペプチドのC末端に連結される）を含むキメラペプチドを含むカーゴであって、ブロッキングペプチドが、配列番号151、156、及び158～160からなる群から選択される環状ペプチドを含み、安定化ペプチドが、配列番号55または97のアミノ酸配列を含む、カーゴと、b) CADY、MPG、PEP-1ペプチド、PEP-2ペプチド、PEP-3ペプチド（例えば、配列番号183）、LNCOVペプチド、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-4ペプチド、VEPEP-5ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体が提供される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、CADY、VEPEP-106ペプチド、ADGN-100ペプチド、及びVEPEP-109ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、Aun、Ava、及びAhxからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、ADGN-100ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53～79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80～107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108～121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約2：1～約10：1、約5：1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはキメラペプチドと複合体を形成する。

20

30

#### 【0151】

いくつかの実施形態では、a) リンカーによって安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチド（例えば、ブロッキングペプチドのC末端に連結される）を含むキメラペプチドを含むカーゴであって、ブロッキングペプチドが、配列番号23、24、26～28、31及び47～52からなる群から選択される配列を含み、安定化ペプチドが、配列番号55または97のアミノ酸配列を含む、カーゴと、b) CADY、MPG、PEP-1ペプチド、PEP-2ペプチド、PEP-3ペプチド（例えば、配列番号183）、LNCOVペプチド、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-4ペプチド、VEPEP-5ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、CADY、VEPEP-106ペ

40

50

プチド、ADGN-100 ペプチド、及びVEPEP-109 ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG 部分、Aun、Ava、及びAhx からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、ADGN-100 ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6 ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9 ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53～79 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80～107 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108～121 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約2：1～約10：1、約5：1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはキメラペプチドと複合体を形成する。

10

#### 【0152】

いくつかの実施形態では、a) 配列番号17、20、21、27、28、33、39、及び40に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドを含むカーゴと、b) CADY、MPG、PEP-1 ペプチド、PEP-2 ペプチド、PEP-3 ペプチド（例えば、配列番号183）、LNCOV ペプチド、VEPEP-3 ペプチド、VEPEP-4 ペプチド、VEPEP-5 ペプチド、VEPEP-6 ペプチド、VEPEP-9 ペプチド、及びADGN-100 ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、安定化ペプチドは、CADY、VEPEP-106 ペプチド、ADGN-100 ペプチド、及びVEPEP-109 ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG 部分、Aun、Ava、及びAhx からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、ADGN-100 ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6 ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9 ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53～79 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80～107 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108～121 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約2：1～約10：1、約5：1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはキメラペプチドと複合体を形成する。

20

30

#### 【0153】

いくつかの実施形態では、a) 配列番号27、38、39、40のいずれか1つのアミノ酸配列を含むブロックングペプチドを含むカーゴと、b) CADY、MPG、PEP-1 ペプチド、PEP-2 ペプチド、PEP-3 ペプチド（例えば、配列番号183）、LNCOV ペプチド、VEPEP-3 ペプチド、VEPEP-4 ペプチド、VEPEP-5 ペプチド、VEPEP-6 ペプチド、VEPEP-9 ペプチド、及びADGN-100 ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体が提供される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、ADGN-100 ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6 ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9 ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53～79 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80～107 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108～121 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとブロックングペプチドとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約2：1～約10：1、約5：1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはブロックング

40

50

ペプチドと複合体を形成する。

【0154】

いくつかの実施形態では、a) 配列番号12~22、24~41、及び151~160のいずれかのアミノ酸配列を含むブロックングペプチドを含むカーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号183）、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-4 ペプチド、V E P E P-5 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及びA D G N-100 ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、A D G N-100 ペプチド（例えば、配列番号55）、V E P E P-6 ペプチド（例えば、配列番号97）またはV E P E P-9 ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53~79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80~107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108~121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとブロックングペプチドとのモル比は、約1:1~約80:1（例えば、約2:1~約10:1、約5:1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはブロックングペプチドと複合体を形成する。

10

【0155】

いくつかの実施形態では、a) 配列番号12、17、19~22、24、26~28、31~33、35、38~40、151、156、及び158~160のいずれかのアミノ酸配列を含むブロックングペプチドを含むカーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号183）、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-4 ペプチド、V E P E P-5 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及びA D G N-100 ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、A D G N-100 ペプチド（例えば、配列番号55）、V E P E P-6 ペプチド（例えば、配列番号97）またはV E P E P-9 ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53~79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80~107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108~121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとブロックングペプチドとのモル比は、約1:1~約80:1（例えば、約2:1~約10:1、約5:1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはブロックングペプチドと複合体を形成する。

20

30

【0156】

いくつかの実施形態では、a) S A R S-C o V-2 のヌクレオカプシドを標的とする s i R N A を含むカーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号183）、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-4 ペプチド、V E P E P-5 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及びA D G N-100 ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、A D G N-100 ペプチド（例えば、配列番号55）、V E P E P-6 ペプチド（例えば、配列番号97）またはV E P E P-9 ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53~79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80~107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108~121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドと s i R

40

50

NAとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約5：1～約50：1、約20：1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはブロッキングペプチドと複合体を形成する。いくつかの実施形態では、siRNAは、配列番号161～170のいずれか1つの核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、siRNAは、配列番号163、166、168、及び170からなる群から選択される核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、siRNAは配列番号166の核酸配列を含む。

【0157】

いくつかの実施形態では、a) 配列番号163、166、168、及び170（例えば、配列番号66）からなる群から選択される核酸配列を含むsiRNAを含むカーゴと、b) ADGN-100ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9ペプチド（例えば、配列番号120または121）からなる群から選択される第2のペプチドとを含み、siRNAが第2のペプチドと複合体を形成している、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとsiRNAとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約5：1～約50：1、約20：1）である。

【0158】

いくつかの実施形態では、a) i) 配列番号17、20、21、27、28、33、39、及び40に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドと、ii) 配列番号163、166、168、及び170（例えば、配列番号166）からなる群から選択される核酸配列を含むsiRNAと、を含むカーゴと、b) CADY、MPG、PEP-1ペプチド、PEP-2ペプチド、PEP-3ペプチド（例えば、配列番号183）、LNCOVペプチド、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-4ペプチド、VEPEP-5ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、ADGN-100ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53～79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80～107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108～121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとsiRNAとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約5：1～約50：1、約20：1）である。いくつかの実施形態において、第2のペプチドとキメラペプチドとのモル比は、約1：1～約80：1（例えば、約2：1～約10：1、約5：1）である。

【0159】

いくつかの実施形態では、a) i) 配列番号12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び158～160のいずれかのアミノ酸配列を含むブロッキングペプチドと、ii) 配列番号163、166、168、及び170（例えば、配列番号166）からなる群から選択される核酸配列を含むsiRNAと、を含むカーゴと、b) CADY、MPG、PEP-1ペプチド、PEP-2ペプチド、PEP-3ペプチド（例えば、配列番号183）、LNCOVペプチド、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-4ペプチド、VEPEP-5ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む、複合体またはナノ粒子が提供される。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、ADGN-100ペプチド（例えば、配列番号55）、VEPEP-6ペプチド（例えば、配列番号97）またはVEPEP-9ペプチド（例えば、配列番号120または121）。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号53～79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号80～107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、配列番号108～121からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチドとsiRNAとのモル比は、約1:1～約80:1（例えば、約5:1～約50:1、約20:1）である。いくつかの実施形態では、第2のペプチドとブロックングペプチドとのモル比は、約1:1～約80:1（例えば、約2:1～約10:1、約5:1）である。

【0160】

カーゴ分子

いくつかの実施形態では、上記に述べた複合体またはナノ粒子のカーゴ分子は、核酸（例えば、本明細書に記載のsiRNAのいずれか）、ペプチド（例えば、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロックングペプチドのいずれか）、及びペプチド／核酸複合体からなる群から選択される。

10

【0161】

核酸

いくつかの実施形態では、上記に述べた複合体またはナノ粒子のカーゴ分子は、核酸を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、一本鎖または二本鎖のオリゴ及びポリヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、様々な形態のRNAi（例えばsiRNA、shRNAなど）、マイクロRNA（miRNA）、アンタゴマー、リボザイム、アプタマー、プラスミドDNAなど、及びそれらの1つ以上の適当な組み合わせからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、核酸は、siRNA、miRNA、shRNA、gRNA、mRNA、DNA、DNAプラスミド、オリゴヌクレオチド及びそれらの類似体からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、核酸はmRNAを含む。いくつかの実施形態では、核酸はRNAiを含む。いくつかの実施形態では、核酸はmRNA及びRNAiを含み、mRNAは疾患または状態を治療するための治療用タンパク質をコードし、RNAiはRNAを標的とし、RNAの発現はSARS-CoV-2、またはSARS-CoV-2に関連する疾患もしくは状態に関連する。いくつかの態様では、細胞透過性ペプチドと核酸とのモル比は、約1:1～約100:1である。

20

【0162】

いくつかの実施形態では、核酸は一本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、核酸は二本鎖オリゴヌクレオチドである。本明細書に記載の核酸は、アンチセンスオリゴヌクレオチド、RNAi、siRNA、shRNA、iRNA、アンタゴマーの場合には必ずしもではないが最大200ヌクレオチドまで、またはプラスミドDNAの場合には最大1000キロ塩基までの範囲の長さのいずれであってもよい。

30

【0163】

いくつかの実施形態では、核酸は、siRNA（例えば、本明細書に記載のsiRNAのいずれか）またはshRNAのような干渉RNAである。「干渉RNA」または「RNAi」または「干渉RNA配列」という用語は、干渉RNAが標的遺伝子または配列と同じ細胞内にある場合に、標的遺伝子または配列の発現を低減または阻害することができる（例えば、干渉RNA配列に相補的なmRNAの分解を媒介するかまたはその翻訳を阻害することにより）一本鎖RNA（例えば、成熟miRNA）または二本鎖RNA（すなわち、siRNA、aiRNA、またはpre-miRNAなどの二重鎖RNA）のことを指し、したがって、干渉RNAとは、標的mRNA配列に相補的な一本鎖RNA、または2本の相補鎖若しくは単一の自己相補鎖によって形成される二本鎖RNAのことを指す。干渉RNAは、標的遺伝子または配列に対して実質的または完全な同一性を有してもよく、またはミスマッチ領域（すなわち、ミスマッチモチーフ）を含んでもよい。干渉RNAの配列は、全長標的遺伝子またはその部分配列に対応することができる。干渉RNAには、「低分子干渉RNA」または「siRNA」が含まれ、例えば、約15～60、15～50、または5～40（二重鎖）ヌクレオチドの長さ、より典型的には約15～30、15～25、または19～25（二重鎖）ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20～24、21～22、または21～23（二重鎖）ヌクレオチドの長さの干渉RNAが含まれる（

40

50

例えば、二本鎖 *siRNA* の各相補配列は、15～60、15～50、15～40、15～30、15～25、または19～25ヌクレオチドの長さ、好ましくは約20～24、21～22、または21～23ヌクレオチドの長さであり、二本鎖 *siRNA* は約15～60、15～50、15～40、5～30、5～25、または19～25塩基対の長さ、好ましくは約8～22、9～20、または19～21塩基対の長さである。

【0164】

いくつかの実施形態では、核酸は二本鎖アンチセンスRNAである。干渉RNAの適当な長さは、約5～約200ヌクレオチド、または10～50ヌクレオチドもしくは塩基対、または15～30ヌクレオチドもしくは塩基対である。いくつかの実施形態では、干渉RNAは、対応する標的遺伝子と実質的に相補的（例えば、少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、またはそれ以上同一）である。いくつかの実施形態では、アンチセンスRNAは、例えば、非天然ヌクレオチドを組み込むことによって改変される。

【0165】

いくつかの実施形態では、核酸は、SARS-COV-2またはSARS-COV-2に関連する疾患に関与するタンパク質をコードするmRNAなどのRNA分子を特異的に標的とする *siRNA* などの干渉RNAである。

【0166】

いくつかの実施形態では、*siRNA* は、SARS-CoV-2のヌクレオカプシドを標的とする。いくつかの実施形態では、*siRNA* は、配列番号161～170のいずれか1つの核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、*siRNA* は、配列番号163、166、168、及び170からなる群から選択される核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、*siRNA* は配列番号166の核酸配列を含む。

【0167】

いくつかの実施形態では、*siRNA* は、SARS-CoV-2のORF3A遺伝子を標的とする。いくつかの実施形態では、*siRNA* は、配列番号171～175のいずれか1つの核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、*siRNA* は、配列番号171、173、及び174からなる群から選択される核酸配列を含む。

【0168】

いくつかの実施形態では、*siRNA* は、SARS-CoV-2のORF8遺伝子を標的とする。いくつかの実施形態では、*siRNA* は、配列番号176～179のいずれか1つの核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、*siRNA* は、配列番号177、178、及び180からなる群から選択される核酸配列を含む。

【0169】

いくつかの実施形態において、核酸はmiRNAである。マイクロRNA (miRNAと略される) は、真核細胞に見られる短いリボ核酸 (RNA) 分子である。マイクロRNA分子は、他のRNAと比較して非常に少ない数のヌクレオチド (平均22個) を有する。miRNAは、標的のメッセンジャーRNA転写産物 (mRNA) 上の相補配列に結合する転写後制御因子であり、通常は翻訳抑制または標的の分解及び遺伝子サイレンシングをもたらす。ヒトゲノムは、1000種以上のmiRNAをコードしていると考えられるが、これは哺乳類遺伝子の約60%を標的にできると考えられ、多くのヒト細胞型に豊富に存在している。miRNAの適当な長さは、約5～約200ヌクレオチド、または0～50ヌクレオチドもしくは塩基対、または15～30ヌクレオチドもしくは塩基対である。いくつかの実施形態では、miRNAは、対応する標的遺伝子と実質的に相補的（例えば、少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、またはそれ以上同一）である。いくつかの実施形態では、アンチセンスRNAは、例えば、非天然ヌクレオチドを組み込むことによって改変される。

【0170】

いくつかの実施形態では、核酸は、プラスミドDNAまたはDNAフラグメント（例えば、約1000bp以下の長さのDNAフラグメント）である。さらに、プラスミドDN

10

20

30

40

50

A または DNA フラグメントは、高メチル化または低メチル化されてもよい。いくつかの実施形態では、プラスミド DNA または DNA フラグメントは 1 つ以上の遺伝子をコードし、前記 1 つ以上の遺伝子の発現に必要な調節エレメントを含み得る。いくつかの実施形態では、プラスミド DNA または DNA フラグメントは、適当な宿主細胞中でのプラスミド DNA または DNA フラグメントの維持を可能とする選択マーカーをコードする 1 つ以上の遺伝子を含んでもよい。

【0171】

ペプチド

いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、ACE2 と SPIKE との相互作用を阻害するブロッキングペプチド（例えば、本明細書に記載のブロッキングペプチドのいずれか）を含む。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、本明細書に記載のキメラペプチドのいずれかなどのキメラペプチドを含む。

10

【0172】

いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、ACE2（例えば、ヒト ACE2）を特異的に標的とするブロッキングペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、スパイクタンパク質（例えば、ヒト ACE2）に由来するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列は、SPIKE の受容体結合ドメイン（RBD）内のループ配列を含む。いくつかの実施形態では、ループ配列は、SPIKE の受容体結合モチーフ（RBM）内にある。いくつかの実施形態では、ループ配列は、ループ  $\alpha 4 - \beta 5$ 、ループ  $\beta 5 - \beta 6$ 、及びループ  $\beta 6 - \alpha 5$  からなる群から選択される RBM 構造モチーフのいずれかのモチーフ内にある。

20

【0173】

いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号 1 ~ 11 及び 42 ~ 46 からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ループ配列は、配列番号 1、6、8 ~ 11、42 及び 45 からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 1、6 及び 8 ~ 11 からなる群から選択される配列を含む。

【0174】

いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、スパイクタンパク質を特異的に標的とする阻害ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、阻害ペプチドは、ACE2（例えば、ヒト ACE2）に由来するアミノ酸配列を含む。

30

【0175】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、ACE2（例えば、ヒト ACE2）の細胞外ドメイン内の配列（例えば、ループ配列、または  $\alpha$  ヘリックスモチーフ）に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、ヒト ACE2 の  $\alpha 1$  ヘリックス内の配列に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、ヒト ACE2 の  $\alpha 1$  及び  $\alpha 2$  ヘリックス内の配列に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、ヒト ACE2 の  $\beta 3$  と  $\beta 4$  鎖との間のループ配列に由来する配列を含む。

【0176】

いくつかの実施形態では、ACE2 の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列は、ACE2 の細胞外ドメイン内の配列と配列の C 末端の 1 個、2 個または 3 個のアミノ酸が異なる。

40

【0177】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、ACE2 の細胞外ドメイン内の配列を含む。

【0178】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 23 ~ 31 及び 47 ~ 52 からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 23、24、26 ~ 28、31 及び 47 ~ 52 からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号 23、24、

50

26～28、及び31からなる群から選択される配列を含む。

【0179】

いくつかの実施形態では、遮断ペプチドは、配列番号151～160のいずれか1つから選択される環状ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号151、156及び158～160からなる群から選択される環状ペプチドを含む。

【0180】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号12～22及び24～41のいずれか1つから選択される非天然ペプチドを含む。

【0181】

ペプチド／核酸複合体

いくつかの実施形態では、カーゴは、a) 核酸（例えば、SARS-CoV-2またはそれに関連する疾患に関与するタンパク質をコードする、mRNAなどのRNA分子を特異的に標的とするsiRNA）と、b) ACE2とSPIKEとの相互作用を阻害するブロッキングペプチドと、を含む2つ以上のカーゴ分子を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、SARS-CoV-2のヌクレオカプシドを標的とするsiRNAである。

【0182】

いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドとsiRNAとのモル比は、約1：5～約50：1（例えば、約1：1～約20：1、約2：1～約10：1、約4：1）である。

【0183】

例示的な核酸には、本明細書に記載のsiRNAのいずれも含まれる。いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号163、166、168、及び170からなる群から選択される核酸配列を含むsiRNAを含む。いくつかの実施形態では、siRNAは配列番号166の核酸配列を含む。

【0184】

例示的なブロッキングペプチドには、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドのいずれも含まれる。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、a) 配列番号151、156、及び158～160からなる群から選択される環状ペプチド、またはb) 配列番号1、6、8～11、12、17、19～24、26～28、31～33、35、38～40、45、47、48、50、及び52からなる群から選択される配列を含むペプチドを含む。

【0185】

第2のペプチド

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の第2のペプチドは、カーゴと複合体を形成した後、ナノ構造（例えば、直径200nm以下の）に自己集合することができる。

【0186】

第2のペプチドは、上記に述べた安定化ペプチドのいずれであってもよい。

【0187】

細胞透過性ペプチド

いくつかの実施形態では、第2のペプチドは細胞透過性ペプチドである。細胞透過性ペプチド（CPP）は、有望な非ウイルス手法の1つである。CPPの定義は常に変化しているが、一般に、タンパク質またはキメラ配列のいずれかに由来するアミノ酸30個未満の短いペプチドとして説明されている。CPPは通常、両親媒性であり、正味の正電荷を持っている（Langel U（2007）Handbook of Cell-Penetrating Peptides（CRC Taylor & Francis, Boca Raton）；Heitz et al.（2009）Br J Pharmacol 157, 195-206）。CPPは生体膜を透過し、細胞質中へと細胞膜を通過するへの様々な生体分子の移動を誘発し、それらの細胞内経路を改善することで、標的との相互作用を促進することができる。CPPは2つの主要なクラスに分類され、

10

20

30

40

50

1つ目はカーゴとの化学結合を必要とするもので、2つ目は安定した非共有結合複合体の形成を伴うものである。いずれの手法のCPPも、広範な細胞型及びインビボモデルへの様々なカーゴ（プラスミドDNA、オリゴヌクレオチド、siRNA、PNA、タンパク質、ペプチド、リポソーム、ナノ粒子など）の送達を助けることが報告されている（Langel U (2007) Handbook of Cell-Penetrating Peptides (CRC Taylor & Francis, Boca Raton) ; Heitz et al. (2009) Br J Pharmacol 157, 195-206 ; Mickan et al. (2014) Curr Pharm Biotechnol 15, 200-209 ; Shukla et al. (2014) Mol Pharm 11, 3395-3408）。

10

【0188】

タンパク質伝達ドメイン（PTD）の概念は、ある種のタンパク質（主に転写因子）が細胞内及び細胞間を往来できるという観察に基づいて最初に提案された（レビューについては、Langel U (2007) Handbook of Cell-Penetrating Peptides (CRC Taylor & Francis, Boca Raton) ; Heitz et al. (2009) Br J Pharmacol 157, 195-206を参照）。最初の観察は、1988年にFrankelとPaboによって行われた。彼らは、HIV-1の転写トランス活性化（Tat）タンパク質が細胞内に入り、核内に移行できることを示した。1991年、Prochiantzのグループは、ショウジョウバエのアンテナペディアホメオドメインについて同じ結論に達し、このドメインが神経細胞に内在化されることを実証した。これらの研究は、1994年の最初のタンパク質伝達ドメイン（ペネトラチンと名付けられたアンテナペディアのホメオドメインの3番目のヘリックスに由来する16量体ペプチド）の発見の起源となった。1997年、Lebleuのグループは、細胞取り込みに必要なTatの最小配列を特定し、インビボでのPTDの応用の最初の概念実証が、低分子ペプチド及び高分子タンパク質の送達についてDowdyのグループによって報告された（Gump JM, and Dowdy SF (2007) Trends Mol Med 13, 443-448.）。歴史的には、細胞透過性ペプチド（CPP）の概念は、1998年にLangelのグループによって導入され、スズメバチ毒ペプチドであるマストパランに連結された神経ペプチドガラニンのN末端フラグメントに由来する最初のキメラペプチドキャリアとしてトランスポーターが設計された。トランスポーターは、培養細胞とインビボの両方でPNA（ペプチド核酸）の送達を改善することが最初に報告されている（Langel U (2007) Handbook of Cell-Penetrating Peptides (CRC Taylor & Francis, Boca Raton)）。1997年に、HeitzとDivitaのグループは、CPPがカーゴとの安定した非共有複合体の形成に関与する新しい手法を提案した（Morris et al. (1997) Nucleic Acids Res 25, 2730-2736）。この手法は、最初、親水性（極性）ドメインと疎水性（無極性）ドメインの2つのドメインからなる短いペプチドキャリア（MPG）に基づいたものであった。MPGは核酸の送達用に設計されたものである。その後、一次両親媒性ペプチドPep-1が、タンパク質及びペプチドの非共有結合的送達について提案された（Morris et al. (2001) Nat Biotechnol 19, 1173-1176）。その後、WenderとFutakiのグループにより、ポリアルギニン配列（Arg8）が低分子及び高分子を細胞内にインビボで誘導するのに十分であることが示された（Nakase et al. (2004) Mol Ther 10, 1011-1022 ; Rothbard et al. (2004) J Am Chem Soc 126, 9506-9507）。それ以来、天然または非天然の配列に由来する多くのCPPが同定され、そのリストは常に加え続けている。単純ヘルペスウイルスのVP22タンパク質、カルシトニン、抗菌ペプチドまたは毒素ペプチド、細胞周期の調節に関与するタンパク質、及びポリプロリンリッチペプチドに由来するペプチドが得られている（Heitz et al. (2009)

20

30

40

50

Br J Pharmacol 157, 195-206)。最近では、二次両親媒性 CPP に基づいた新しい非共有結合的手法が記載されている。上記に述べた CADY 及び VEPEP ファミリーのようなこれらのペプチドは、分子の異なる側に親水性及び疎水性残基を有するヘリックス形状（すなわち、両親媒性ヘリックス）に自己集合することができる。WO2014/053879 は、VEPEP-3 ペプチドを開示し、WO2014/053881 は、VEPEP-4 ペプチドを開示し、WO2014/053882 は、VEPEP-5 ペプチドを開示し、WO2012/137150 は、VEPEP-6 ペプチドを開示し、WO2014/053880 は、VEPEP-9 ペプチドを開示し、WO2016/102687 は、ADGN-100 ペプチドを開示し、US2010/0099626 は、CADY ペプチドを開示し、米国特許第 7,514,530 号は、MPG ペプチドを開示しており、これらの開示内容の全体を参照により本明細書に援用するものである。

10

#### 【0189】

いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは、CADY、MPG、PEP-1 ペプチド（例えば、配列番号 181）、PEP-2 ペプチド（例えば、配列番号 182）、PEP-3 ペプチド（例えば、配列番号 183）、LNCOV ペプチド、VEPEP-3 ペプチド、VEPEP-6 ペプチド、VEPEP-9 ペプチド、及び ADGN-100 ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは ADGN-100 ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは VEPEP-6 ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは VEPEP-9 ペプチドを含む。

20

#### 【0190】

##### LNCOV ペプチド

いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは LNCOV ペプチドを含む。実施例 13 に示されるように、例示的な LNCOV ペプチド（LNCOV-15 及び LNCOV-18）は、細胞内のカーゴ（例えば、siRNA）の送達を促進する。いくつかの実施形態では、LNCOV ペプチドは、配列番号 12~22、27、28、及び 31~41 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、LNCOV ペプチドは、配列番号 17 または 33 のアミノ酸配列を含む。

#### 【0191】

##### 第 2 のペプチドの修飾

いくつかの実施形態において、第 2 のペプチド（例えば、本明細書に記載の CPP、例えば、VEPEP-3 ペプチド、VEPEP-6 ペプチド、VEPEP-9 ペプチド、または ADGN-100 ペプチド）は、第 2 のペプチドの N 末端に連結された（例えば、共有結合により連結された）1 つ以上の部分をさらに含む。いくつかの実施形態では、1 つ以上の部分は第 2 のペプチドの N 末端に共有結合により連結される。いくつかの実施形態では、1 つ以上の部分は、アセチル基、ステアシル基、脂肪酸、コレステロール、ポリエチレングリコール、核局在化シグナル、核搬出シグナル、抗体またはその抗体フラグメント、ペプチド、多糖類、リンカー部分、及び標的化部分からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、1 つ以上の部分は第 2 のペプチドの N 末端に共有結合により連結されたアセチル基を含む。

30

40

#### 【0192】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の第 2 のペプチド（例えば、VEPEP-3 ペプチド、VEPEP-6 ペプチド、VEPEP-9 ペプチド、または ADGN-100 ペプチド）は、第 2 のペプチドの C 末端に連結された（例えば、共有結合により連結された）1 つ以上の部分をさらに含む。いくつかの実施形態では、1 つ以上の部分は、システアミド基、システイン、チオール、アミド、ニトリロ三酢酸、カルボキシル基、直鎖状または分枝状の C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> アルキル基、第一級または第二級アミン、配糖体誘導体、脂質、リン脂質、脂肪酸、コレステロール、ポリエチレングリコール、核局在化シグナル、核搬出シグナル、抗体またはその抗体フラグメント、ペプチド、多糖類、リンカー部分、及び標的化部分からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、1 つ以上の部分はシス

50

テアミド基を含む。

【0193】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の第2のペプチド（例えば、PEP-1、PEP-2、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-4ペプチド、VEPEP-5ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、またはADGN-100ペプチド）はステーブルされる。本明細書で使用される「ステーブルされた」とは、ペプチド内の2個の残基間の化学結合を指す。いくつかの実施形態では、第2のペプチドはステーブルされ、ペプチドの2個のアミノ酸間に化学結合を含む。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸は、3個または6個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸は、3個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2つのアミノ酸は、6個のアミノ酸によって分離される。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはRまたはSである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはRである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸のそれぞれはSである。いくつかの実施形態では、化学結合によって連結された2個のアミノ酸の一方はRであり、他方はSである。いくつかの実施形態では、化学結合は炭化水素結合である。

10

【0194】

いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、Lアミノ酸を含むLペプチドである。いくつかの実施形態では、第2のペプチドは、レトロインベルソペプチド（例えば、逆配列のD-アミノ酸で構成され、伸長されると、その親分子のものと同様であるがアミドペプチド結合が反転した側鎖トポロジーをとるペプチド）である。いくつかの実施形態では、レトロインベルソペプチドは、配列番号66、67または98の配列を含む。

20

【0195】

いくつかの実施形態では、CPPは、N末端から、アセチル基、標的化部分、及び細胞透過性ペプチドのN末端に共有結合により連結されたリンカー部分を含む。

【0196】

標的化部分

一部の実施形態において、第2のペプチドは、標的化部分をさらに含む。いくつかの実施形態では、標的化部分は、複合体またはナノ粒子の特定の臓器または組織への送達を促進する。いくつかの実施形態では、標的化部分は第2のペプチドのN末端に結合される。いくつかの実施形態では、標的化部分は第2のペプチドのC末端に結合される。いくつかの実施形態では、第1の標的化部分が第2のペプチドのN末端に結合され、第2の標的化部分が第2のペプチドのC末端に結合される。

30

【0197】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、1つ以上の臓器を標的とする標的化ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の臓器は、筋肉、心臓、脳、脾臓、リンパ節、肝臓、肺、及び腎臓からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、標的化ペプチドは肺を標的とする。いくつかの実施形態では、標的化ペプチドは、YIGSR（配列番号185）のアミノ酸配列を含む。

40

【0198】

いくつかの実施形態では、標的化部分はリンカー（本明細書に記載されるリンカーのいずれかなど）によって第2のペプチドに連結される。

【0199】

ナノ粒子

本出願は一態様において、上記に述べた複合体のいずれか1つ以上を含むコアを含むナノ粒子を提供する。

【0200】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の複合体を含むコアを含むナノ粒子であって、複合体中の第2のペプチド（細胞透過性ペプチドなど）がカーゴと結合している、ナノ

50

粒子が提供される。いくつかの実施形態では、結合は、共有結合によらない。いくつかの実施形態では、結合は、共有結合による。

#### 【0201】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、外周細胞透過性ペプチド（すなわち、CPP）を含む表面層（例えば、シェル）をさらに含み、コアはシェルによって被覆される。いくつかの実施形態では、外周CPPは、コア内の第2のペプチドと同じである。いくつかの実施形態では、外周CPPは、コア内の第2のペプチドと異なる。いくつかの実施形態では、外周CPPは、PTDベースのペプチド、両親媒性ペプチド、ポリアルギニンベースのペプチド、MPGペプチド、CADYペプチド、VEPEPペプチド（VEPEP-3、VEPEP-4、VEPEP-5、VEPEP-6、またはVEPEP-9ペプチドなど）、ADGN-100ペプチド、Pep-1ペプチド、及びPep-2ペプチドを含む（ただし、これらに限定されない）。いくつかの実施形態では、外周CPPは、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、またはADGN-100ペプチドである。いくつかの実施形態では、外周細胞透過性ペプチドは、PEP-1ペプチド、PEP-2ペプチド、PEP-3ペプチド、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、表面層中の外周細胞透過性ペプチドの少なくとも一部は、標的化部分に連結される。いくつかの実施形態では、連結は、共有結合による。いくつかの実施形態では、共有結合による連結は、化学結合による。いくつかの実施形態では、共有結合による連結は、遺伝子的手法による。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、ナノ粒子のコアと表面層との間に中間層をさらに含む。いくつかの実施形態では、中間層は中間CPPを含む。いくつかの実施形態では、中間CPPは、コア内の第2のペプチドと同じである。いくつかの実施形態では、中間CPPは、コア内の第2のペプチドと異なる。いくつかの実施形態では、中間CPPは、PTDベースのペプチド、両親媒性ペプチド、ポリアルギニンベースのペプチド、MPGペプチド、CADYペプチド、VEPEPペプチド（VEPEP-3、VEPEP-6、またはVEPEP-9ペプチドなど）、ADGN-100ペプチド、Pep-1ペプチド、及びPep-2ペプチドを含む（ただし、これらに限定されない）。いくつかの実施形態では、中間CPPは、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、またはADGN-100ペプチドである。

#### 【0202】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、複数の複合体を含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、所定の比率で存在する複数の複合体を含む。いくつかの実施形態において、所定の比率は、下記により詳細に記載される方法のいずれかにおけるナノ粒子の最も効果的な使用を可能にするように選択される。いくつかの実施形態では、ナノ粒子コアは、1つ以上のさらなるsiRNA、1つ以上の本明細書に記載のさらなるキメラまたはブロックペプチド、及び／または1つ以上の第2のペプチド（例えば、細胞透過性ペプチド）をさらに含む。

#### 【0203】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、a) 第2のペプチド（例えば、本明細書に記載の第2のペプチドのいずれか）と複合体を形成した第1のキメラペプチドまたはブロックペプチド（例えば、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロックペプチドのいずれか）を含む第1の複合体と、b) 第3のペプチド（例えば、「第2のペプチド」セクションに記載のペプチドのいずれか）と複合体を形成した第2のキメラペプチドまたはブロックペプチド（例えば、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロックペプチドのいずれか）を含む第2の複合体と、を含み、第1のキメラまたはブロックペプチドはACE2を標的とし、第2のキメラまたはブロックペプチドはSPIKEを標的とする。いくつかの実施形態では、第1のキメラペプチドまたはブロックペプチドは、配列番号1、6、8～11、42及び45からなる群から選択されるループ配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のキメラペプチドまたはブロックペプチドは、

配列番号 23、24、26～28、31 及び 47～52 からなる群から選択される配列を含む。

【0204】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、a) 第2のペプチド（例えば、本明細書に記載の第2のペプチドのいずれか）と複合体を形成したキメラペプチドまたはブロッキングペプチド（例えば、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドのいずれか）を含む第1の複合体と、b) 第3のペプチド（例えば、「第2のペプチド」のセクションに記載されるペプチドのいずれか）と複合体を形成した siRNA（例えば、本明細書に記載の siRNA のいずれか）を含む第2の複合体と、を含み、キメラペプチドまたはブロッキングペプチドは ACE2 と SPIKE との相互作用を阻害し、siRNA は SPIKE のヌクレオカプシドを標的とする。いくつかの実施形態では、キメラペプチドまたはブロッキングペプチドは、配列番号 17、20、21、27、28、33、39、及び 40 に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、siRNA は、配列番号 163、166、168、及び 170（例えば、配列番号 166）からなる群から選択される核酸配列を含む。

10

【0205】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、a) 第2のペプチド（例えば、本明細書に記載の第2のペプチドのいずれか）と複合体を形成した第1のキメラペプチドまたはブロッキングペプチド（例えば、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドのいずれか）を含む第1の複合体と、b) 第3のペプチド（例えば、「第2のペプチド」セクションに記載のペプチドのいずれか）と複合体を形成した第2のキメラペプチドまたはブロッキングペプチド（例えば、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドのいずれか）を含む第2の複合体と、c) 第4のペプチド（例えば、「第2のペプチド」のセクションに記載されるペプチドのいずれか）と複合体を形成した siRNA（例えば、本明細書に記載の siRNA のいずれか）を含む第3の複合体と、を含み、第1のキメラまたはブロッキングペプチドは ACE2 を標的とし、第2のキメラまたはブロッキングペプチドは SPIKE を標的とし、siRNA は SPIKE のヌクレオカプシドを標的とする。いくつかの実施形態では、第1のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドは、配列番号 1、6、8～11、42 及び 45 からなる群から選択されるループ配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドは、配列番号 23、24、26～28、31 及び 47～52 からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、siRNA は、配列番号 163、166、168、及び 170（例えば、配列番号 166）からなる群から選択される核酸配列を含む。

20

30

【0206】

いくつかの実施形態では、上記に述べた第2、第3、及び第4のペプチドのうちの1つ以上は、PTDベースのペプチド、両親媒性ペプチド、ポリアルギニンベースのペプチド、MPGペプチド、CADYペプチド、VEPEPペプチド（VEPEP-3、VEPEP-6、またはVEPEP-9ペプチドなど）、ADGN-100ペプチド、Pep-1ペプチド、及びPep-2ペプチドを含む（ただし、これらに限定されない）細胞透過性ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第2、第3、及び第4のペプチドのうちの1つ以上の少なくとも一部は、標的化部分に連結される。いくつかの実施形態では、連結は、共有結合による。

40

【0207】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のナノ粒子のいずれかによれば、ナノ粒子の平均サイズ（直径）は、約20nm～約1000nmであり、例えば、約20nm～約800nm、約20nm～約600nm、約20nm～約600nm、及び約20nm～約400nmを含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均サイズ（直径）は、約1000ナノメートル（nm）以下、例えば、約900、800、700、600、500、400、300、200、100、90、80、70または60nmのいずれか以下である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約100nm以下であ

50

る。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 60 nm 以下である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 20 nm～約 100 nm である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 20 nm～約 80 nm である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 30 nm～約 60 nm である。

#### 【0208】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 150 nm 以下である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 100 nm 以下である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 20 nm～約 400 nm である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 30 nm～約 400 nm である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 40 nm～約 300 nm である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 50 nm～約 200 nm である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 60 nm～約 150 nm である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の平均または中間直径は、約 70 nm～約 100 nm である。

#### 【0209】

平均粒径を決定する方法は当該技術分野では周知のものであり、例えば動的光散乱 (DLS) は、サブマイクロメートルサイズの粒子のサイズを決定するために一般的に使用されてきた。国際規格 ISO 22412 粒径分析—動的光散乱、国際標準化機構 (ISO) 2008 及び動的光散乱一般的用語の定義 (Malvern Instruments Limited, 2011)。いくつかの実施形態では、粒径は、組成物中のナノ粒子の体積重み付け平均粒径 (Dv50) として測定される。

#### 【0210】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は滅菌濾過可能である。

#### 【0211】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子のゼータ電位は、約 -30 mV～約 60 mV (例えば、約 -30、-25、-20、-15、-10、-5、0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、及び 60 mV (これらの値の間の任意の範囲を含む)) である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子のゼータ電位は、約 -30 mV～約 30 mV であり、例えば、約 -25 mV～約 25 mV、約 -20 mV～約 20 mV、約 -15 mV～約 15 mV、約 -10 mV～約 10 mV、及び約 -5 mV～約 10 mV を含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の多分散指数 (PI) は、約 0.05～約 0.6 (例えば、約 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、及び 0.6 のいずれか) (これらの値の間の任意の範囲を含む) である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の多分散指数 (PI) は、約 0.1～約 0.4、または約 0.15～約 0.3 である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は実質的に無毒性である。ゼータ電位は、Zetasizer 4 装置 (Malvern Ltd) を使用して測定することができる。

#### 【0212】

##### 組成物

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラペプチド、ブロックペプチド、siRNA、複合体、またはナノ粒子のいずれかを含む組成物 (例えば、薬学的組成物) が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載のキメラペプチド、ブロックペプチド、siRNA、複合体、またはナノ粒子のいずれかと、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体と、を含む医薬組成物である。

#### 【0213】

いくつかの実施形態では、組成物は、異なるカーゴを含む 2 つ以上のナノ粒子の混合物を含む。例えば、いくつかの実施形態では、組成物は、a) ACE2 または SPIKE を特異的に標的とするキメラペプチドまたはブロックペプチドを含む上記の第 1 のナノ粒子と、b) SARS-CoV-2 のヌクレオカプシドを特異的に標的とする siRNA

を含む第2のナノ粒子と、を含む。いくつかの実施形態では、キメラペプチドまたはブロックペプチドは、配列番号17、20、21、27、28、33、39、及び40に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、siRNAは、配列番号163、166、168、及び170（例えば、配列番号166）からなる群から選択される核酸配列を含む。

#### 【0214】

いくつかの実施形態では、組成物中の複合体またはナノ粒子の濃度は、約1 nM～約100 mMであり、例えば、約10 nM～約50 mM、約25 nM～約25 mM、約50 nM～約10 mM、約100 nM～約1 mM、約500 nM～約750 μM、約750 nM～約500 μM、約1 μM～約250 μM、約10 μM～約200 μM、及び約50 μM～約150 μMを含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、凍結乾燥される。

10

#### 【0215】

本明細書で使用される「薬学的に許容される希釈剤、賦形剤及び／または担体」という用語には、ヒトまたは他の脊椎動物宿主への投与に適合した、あらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などが含まれるものとする。一般的には、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体とは、連邦、州政府の規制機関、もしくは他の規制機関によって承認されているか、または米国薬局方もしくはヒト及び非ヒト哺乳動物を含む動物における使用について他の広く認識される薬局方に記載されている希釈剤、賦形剤、及び／または担体である。希釈剤、賦形剤、及び／または「担体」という用語は、医薬組成物とともに投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤、または溶媒を指す。かかる医薬希釈剤、賦形剤、及び／または担体は、滅菌液、例えば、水及び、石油、動物、植物または合成起源のものを含めた油であり得る。水、生理食塩水ならびにデキストロース及びグリセロール水溶液を液体希釈剤、賦形剤及び／または担体として、特に注射液に使用することができる。好適な医薬希釈剤及び／または賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールなどが挙げられ、凍結乾燥補助剤も含まれる。組成物は、必要に応じて、少量の湿潤剤、増量剤、乳化剤、またはpH緩衝剤を含有することもできる。これらの組成物は、溶液、懸濁液、エマルジョン、徐放製剤などの形態をとることができる。適切な医薬希釈剤、賦形剤、及び／または担体の例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載されている。製剤は、投与方法に適合する必要がある。適切な希釈剤、賦形剤、及び／または担体は当業者には明らかであり、投与経路に大きく依存する。

20

30

#### 【0216】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラペプチド、ブロックペプチド、siRNA、複合体またはナノ粒子を含む組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体をさらに含む。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体は、組成物中の複合体またはナノ粒子の凝集レベル、及び／または組成物中の複合体またはナノ粒子によって媒介される細胞内送達の効率に影響を与える。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体によって媒介される凝集及び／または送達効率に対する効果の程度及び／または方向は、組成物中の薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体の相対量に依存する。

40

#### 【0217】

例えば、いくつかの実施形態では、組成物中の1つ以上の濃度での薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体（塩、糖、化学緩衝剤、緩衝液、細胞培地、または担体タンパク質など）の存在は、複合体またはナノ粒子の凝集を促進しない及び／またはこれに寄与しないか、あるいは複合体またはナノ粒子のサイズよりも約200%（例えば、190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3

50

、2、または1%（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進及び／またはこれに寄与する。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体を、複合体またはナノ粒子の凝集を促進しない及び／またはこれに寄与しないか、あるいは複合体またはナノ粒子のサイズよりも約200%（例えば、190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約150%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約100%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約50%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約20%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約15%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体は、NaCl（ただしこれに限定されない）を含む塩である。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体は、スクロース、グルコース、及びマンニトール（ただしこれらに限定されない）を含む糖である。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体は、HEPES（ただしこれに限定されない）を含む化学緩衝剤である。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体は、PBS（ただしこれに限定されない）を含む緩衝液である。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、及び／または担体は、DMEM（ただしこれに限定されない）を含む細胞培地である。粒径は、動的光散乱（DLS）など、粒径を測定するための当該技術分野では周知の任意の手段を使用して決定することができる。例えば、いくつかの実施形態では、複合体またはナノ粒子のDLSによって測定されるZ平均よりも10%大きい、DLSによって測定されるZ平均を有する凝集体は、複合体またはナノ粒子よりも10%大きい。

10

20

30

40

#### 【0218】

いくつかの実施形態では、組成物は、塩（例えば、NaCl）を、複合体またはナノ粒子の凝集を促進しない及び／またはこれに寄与しないか、あるいは複合体またはナノ粒子のサイズよりも約100%（例えば、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、塩（例えば、NaCl）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約75%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／また

50

はこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、塩（例えば、NaCl）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約50%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、塩（例えば、NaCl）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約20%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、塩（例えば、NaCl）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約15%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、塩（例えば、NaCl）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約10%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物中の塩の濃度は、約100mM以下（例えば、約90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1mM以下（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））である。いくつかの実施形態では、塩は、NaClである。

10

20

30

40

50

#### 【0219】

いくつかの実施形態では、組成物は、糖（例えば、スクロース、グルコース、またはマンニトール）を、複合体またはナノ粒子の凝集を促進しない及び／またはこれに寄与しないか、あるいは複合体またはナノ粒子のサイズよりも約25%（例えば、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、糖（例えば、スクロース、グルコース、またはマンニトール）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約75%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、糖（例えば、スクロース、グルコース、またはマンニトール）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約50%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、糖（例えば、スクロース、グルコース、またはマンニトール）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約20%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、糖（例えば、スクロース、グルコース、またはマンニトール）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約15%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、糖（例えば、スクロース、グルコース、またはマンニトール）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約10%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物中の糖の濃度は、約20%以下（例えば、約18、16、14、12、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%以下（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））である。いくつかの実施形態では、糖はスクロースである。いくつかの実施形態では、糖はグルコースである。いくつかの実施形態では、糖はマンニトールである。

#### 【0220】

いくつかの実施形態では、組成物は、化学緩衝剤（例えば、HEPESまたはリン酸塩）を、複合体またはナノ粒子の凝集を促進しない及び／またはこれに寄与しないか、あるいは複合体またはナノ粒子のサイズよりも約10%（例えば、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、化学緩衝剤（例えば、HEP

ES またはリン酸塩) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 7.5% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、化学緩衝剤 (例えば、HEPES またはリン酸塩) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 5% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、化学緩衝剤 (例えば、HEPES またはリン酸塩) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 3% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、化学緩衝剤 (例えば、HEPES またはリン酸塩) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 1% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、化学緩衝剤 (例えば、HEPES またはリン酸塩) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 1% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進しない及び／またはこれに寄与しない濃度で含む。いくつかの実施形態では、化学緩衝剤は HEPES である。いくつかの実施形態では、HEPES は、HEPES を含む緩衝液の形態で組成物に添加される。いくつかの実施形態では、HEPES を含む溶液の pH は、約 5 ～ 約 9 (例えば、約 5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、及び 9 のいずれか (これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む)) である。いくつかの実施形態では、組成物は、約 75 mM 以下 (例えば、約 70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10 mM 以下 (これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む)) の濃度の HEPES を含む。いくつかの実施形態では、化学緩衝剤はリン酸塩である。いくつかの実施形態では、リン酸塩は、リン酸塩を含む緩衝液の形態で組成物に添加される。いくつかの実施形態では、組成物は PBS を含まない。

10

20

30

40

50

#### 【0221】

いくつかの実施形態では、組成物は、細胞培地 (例えば、DMEM または Opti-MEM) を、複合体またはナノ粒子の凝集を促進しない及び／またはこれに寄与しないか、あるいは複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 200% (例えば、190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または 1% (これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む)) 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、細胞培地 (例えば、DMEM または Opti-MEM) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 150% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、細胞培地 (例えば、DMEM または Opti-MEM) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 100% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、細胞培地 (例えば、DMEM または Opti-MEM) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 50% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、細胞培地 (例えば、DMEM または Opti-MEM) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 25% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、細胞培地 (例えば、DMEM または Opti-MEM) を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約 10% 大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、細胞培地は、DMEM である。いくつかの実施形態では、組成物は、約 70% 以下 (例えば、約 65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10% 以下 (これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む)) の濃度の DMEM を含む。

## 【0222】

いくつかの実施形態では、組成物は、担体タンパク質（例えば、アルブミン）を、複合体またはナノ粒子の凝集を促進しない及び／またはこれに寄与しないか、あるいは複合体またはナノ粒子のサイズよりも約200%（例えば、190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%（これらの値のいずれかの間の任意の範囲を含む））大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、担体タンパク質（例えば、アルブミン）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約150%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、担体タンパク質（例えば、アルブミン）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約100%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、担体タンパク質（例えば、アルブミン）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約50%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、担体タンパク質（例えば、アルブミン）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約25%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、組成物は、担体タンパク質（例えば、アルブミン）を、複合体またはナノ粒子のサイズよりも約10%大きいサイズ以下のサイズを有する複合体またはナノ粒子の凝集体の形成を促進する及び／またはこれに寄与する濃度で含む。いくつかの実施形態では、担体タンパク質はアルブミンである。いくつかの実施形態では、アルブミンはヒト血清アルブミンである。

10

20

## 【0223】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、静脈内、腫瘍内、動脈内、局所、眼球内、眼内、門脈内、頭蓋内、脳内、脳室内、くも膜下腔内、小胞内、皮内、皮下、筋肉内、鼻腔内、気管内（気管内注入など）、肺、腔内、経鼻または経口投与、または噴霧（NB）用に製剤化される。

## 【0224】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、噴霧用に製剤化される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、経鼻投与用に製剤化される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、気管内投与（気管内注入など）用に製剤化される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、吸入用に製剤化される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、静脈内投与用に製剤化される。

30

## 【0225】

## 調製方法

本明細書に記載のキメラペプチド、ブロッキングペプチド、及び非天然ペプチドのいずれかのような、本明細書に記載されるペプチドは、当該技術分野では周知の任意の方法によって合成することができる。例えば、ペプチドは、Pioneer Peptide Synthesizer（Pioneer（商標），Applied Biosystems，Foster City，CA）で（フルオレニルメトキシ）-カルボニル（Fmoc）を含むAED1-expensin樹脂を使用した固相ペプチド合成法によって合成することができる。例えば、本明細書に参照によりその全容を援用するところのWO2014/053628、US20160115199A1またはEP2928906を参照されたい。

40

## 【0226】

本明細書に記載のペプチドを調製する方法については、実施例（例えば、実施例1）も参照されたい。環状ペプチドの調製については、例えば、Rashad et al.（Methods Mol Biol. 2019；2001：133-145）及び

50

Alsina J. et al. (Tetrahedron Letters, Volume 35, Issue 51, 19 December 1994, Pages 9633-9636)に記載されている。

【0227】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の複合体またはナノ粒子を調製する方法が提供される。

【0228】

いくつかの実施形態では、第2のペプチドをカーゴ分子と結合させ、それによって複合体を形成することを含む、第2のペプチドとカーゴ分子とを含む上記に述べた複合体を調製する方法が提供される。

10

【0229】

いくつかの実施形態では、ペプチドとカーゴ分子とは、それぞれ、約1:1~約100:1(約1:1~約50:1、または約5:1~約20:1)のモル比で組み合わせられる。

【0230】

いくつかの実施形態では、方法は、カーゴ分子を含む第1の溶液を第2のペプチドを含む第2の溶液と混合して第3の溶液を形成することを含み、第3の溶液は、i) 約0~5%のスクロース、ii) 約0~5%のグルコース、iii) 約0~50%のDMEM、iv) 約0~80mMのNaCl、またはv) 約0~20%のPBSを含むかまたは含むように調整され、第3の溶液は複合体が形成されるようにインキュベートされる。いくつかの実施形態では、第1の溶液は滅菌水中にカーゴを含み、及び/または第2の溶液は滅菌水中にペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第3の溶液は、複合体が形成されるようにインキュベートした後に、i) 約0~5%のスクロース、ii) 約0~5%のグルコース、iii) 約0~50%のDMEM、iv) 約0~80mMのNaCl、またはv) 約0~20%のPBSを含むように調整される。

20

【0231】

いくつかの実施形態では、方法は、複合体を細孔サイズの膜を通して濾過する濾過プロセスをさらに含む。いくつかの実施形態では、細孔は、少なくとも約0.1μm(少なくとも約0.1μm、0.15μm、0.2μm、0.25μm、0.3μm、0.35μm、0.4μm、0.45μm、0.5μm、0.6μm、0.7μm、0.8μm、0.9μm、1.0μm、1.1μmまたは1.2μmなど)の直径を有する。いくつかの実施形態では、細孔は、約1.2μm、1.0μm、0.8μm、0.6μm、0.5μm、0.45μm、0.4μm、0.35μm、0.3μm、または0.25μm以下の直径を有する。いくつかの実施形態では、最高は、約0.1μm~約1.2μm(例えば、約0.1~約0.8μm、約0.2~約0.5μm)の直径を有する。

30

【0232】

いくつかの実施形態では、本出願のカーゴ分子送達複合体またはナノ粒子を含む安定な組成物では、複合体またはナノ粒子の平均直径は約10%よりも大きく変化せず、多分散指数は約10%よりも大きく変化しない。

【0233】

本明細書に記載のペプチドのいずれかを調製する方法も提供される。

40

【0234】

使用方法

本出願は、一態様において、個体におけるウイルス感染(例えば、SARS-CoV-2感染)またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療する方法であって、キメラペプチド、ブロックペプチド、siRNA、複合体、ナノ粒子、上記に述べたものなどの組成物を含む組成物(例えば、医薬組成物)を個体に投与することを含む、方法を提供する。本出願はまた、個体におけるウイルス感染(例えば、SARS-CoV-2感染)またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を予防する方法であって、キメラペプチド、ブロックペプチド、siRNA、複合体、ナノ粒子、上記に述べたものなど

50

の組成物を含む組成物（例えば、医薬組成物）を個体に投与することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV-2である。

【0235】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療する方法であって、個体に、リンカーによって安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドを含む組成物を投与することを含み、ブロッキングペプチドが、配列番号1、6、8～11、23、24、26～28、31、42、45及び47～52からなる群から選択される配列を含み、安定化ペプチドが、ADGN-100ペプチドまたはVEPEP-6ペプチドを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG部分、Aun、Ava、及びAhxからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号55または97のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号151、156及び158～160からなる群から選択される環状ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号23、24、26～28、31及び47～52からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号23、24、26～28、及び31からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、キメラペプチドは、配列番号17、20、21、27、28、33、39、及び40に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV-2である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

10

20

【0236】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療する方法であって、個体に、配列番号12～22、24～41、及び151～160のいずれか1つから選択される非天然ペプチドを含むブロッキングペプチドを含む組成物を投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び158～160のいずれかのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ブロッキングペプチドは、配列番号27、38、39、40のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV-2である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

30

【0237】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療または予防する方法であって、個体に、配列番号161～170のいずれか1つの核酸配列を含むsiRNAを含む組成物を投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、siRNAは、配列番号163、166、168、及び170からなる群から選択される核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、siRNAは配列番号166の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV-2である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

40

【0238】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療または予防する方法であって、個体に、a) 配列番号12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び158～160（例えば、配列番号17、20、21、27、28、33、39、及び40）に示されるアミノ酸配列を含む第1のペプチ

50

ドを含むカーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号 183）、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-4 ペプチド、V E P E P-5 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及び A D G N-100 ペプチドからなる群から選択される第 2 のペプチドと、を含む複合体を含む組成物を投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドと第 1 のペプチドとのモル比は、約 1 : 1 ~ 約 80 : 1（例えば、約 2 : 1 ~ 約 10 : 1、約 5 : 1）である。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドは第 1 のペプチドと複合体を形成する。いくつかの実施形態では、ウイルスは、S A R S-C o V-2 である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

10

#### 【0239】

いくつかの実施形態では、個体に、a) 配列番号 27、38、39、40 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含むブロッキングペプチドを含むカーゴと、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号 183）、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-4 ペプチド、V E P E P-5 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及び A D G N-100 ペプチドからなる群から選択される第 2 のペプチドと、を含む複合体を含む組成物を投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドとブロッキングペプチドとのモル比は、約 1 : 1 ~ 約 80 : 1（例えば、約 2 : 1 ~ 約 10 : 1、約 5 : 1）である。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドはブロッキングペプチドと複合体を形成する。いくつかの実施形態では、ウイルスは、S A R S-C o V-2 である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

20

#### 【0240】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、S A R S-C o V-2 感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療または予防する方法であって、個体に、a) 配列番号 163、166、168、及び 170（例えば、配列番号 166）からなる群から選択される核酸配列を含む s i R N A を含むカーゴと、b) A D G N-100 ペプチド（例えば、配列番号 55）、V E P E P-6 ペプチド（例えば、配列番号 97）または V E P E P-9 ペプチド（例えば、配列番号 120 または 121）からなる群から選択される第 2 のペプチドとを含む複合体であって、s i R N A が第 2 のペプチドと複合体を形成している、複合体を含む組成物を投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第 2 のペプチドと s i R N A とのモル比は、約 1 : 1 ~ 約 80 : 1（例えば、約 5 : 1 ~ 約 50 : 1、約 20 : 1）である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、S A R S-C o V-2 である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

30

#### 【0241】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、S A R S-C o V-2 感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療または予防する方法であって、個体に、i) 配列番号 17、20、21、27、28、33、39、及び 40 に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドと、i i) 配列番号 163、166、168、及び 170（例えば、配列番号 166）からなる群から選択される核酸配列を含む s i R N A と、b) C A D Y、M P G、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド（例えば、配列番号 183）、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-4 ペプチド、V E P E P-5 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及び A D G N-100 ペプチドからなる群から選択される第 2 のペプチドと、を含む複合体を含む組成物を投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、ウイルスは、S A R S-C o V-2 である。いくつかの実施形態では、個体

40

50

は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

【0242】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療または予防する方法であって、個人に、i) 配列番号12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び158～160のいずれかのアミノ酸配列を含むブロッキングペプチドと、ii) 配列番号163、166、168、及び170（例えば、配列番号166）からなる群から選択される核酸配列を含むsiRNAと、b) CADY、MPG、PEP-1ペプチド、PEP-2ペプチド、PEP-3ペプチド（例えば、配列番号183）、LNCOVペプチド、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-4ペプチド、VEPEP-5ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチド、及びADGN-100ペプチドからなる群から選択される第2のペプチドと、を含む複合体を含む組成物を投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV-2である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

10

【0243】

いくつかの実施形態では、個体におけるウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）またはウイルス感染に関連する疾患もしくは状態を治療または予防する方法であって、個人に、a) 第2のペプチド（例えば、本明細書に記載の第2のペプチドのいずれか）と複合体を形成したキメラペプチドまたはブロッキングペプチド（例えば、本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロッキングペプチドのいずれか）を含む第1の複合体と、b) 第3のペプチド（例えば、「第2のペプチド」のセクションに記載されるペプチドのいずれか）と複合体を形成したsiRNA（例えば、本明細書に記載のsiRNAのいずれか）を含む第2の複合体と、を含む組成物を投与することを含み、キメラペプチドまたはブロッキングペプチドがACE2とSPIKEとの相互作用を阻害し、siRNAがSPIKEのヌクレオカプシドを標的とする、方法が提供される。いくつかの実施形態では、キメラペプチドまたはブロッキングペプチドは、配列番号17、20、21、27、28、33、39、及び40に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、siRNAは、配列番号163、166、168、及び170（例えば、配列番号166）からなる群から選択される核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV-2である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、経鼻または気管内に、あるいは吸入または噴霧によって投与される。

20

30

【0244】

本明細書に記載の方法のいくつかの実施形態では、個体は、哺乳動物である。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、個体は、男性である。いくつかの実施形態では、個体は、女性である。いくつかの実施形態では、個体は、免疫系が損なわれている。

40

【0245】

いくつかの実施形態では、個体はウイルス（例えば、SARS-CoV-2）に曝露されている。いくつかの実施形態では、個体は、ウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）の初期症状（例えば、発熱、例えば、空咳、例えば、息切れ）を示している。いくつかの実施形態では、個体は、胸痛もしくは胸の圧迫感、息切れ、及び／または唇もしくは顔面の蒼白を有する。いくつかの実施形態では、個体は、急性呼吸窮迫症候群（ARD）を有する。いくつかの実施形態では、個体は病院に入院している。いくつかの実施形態では、個体は集中治療室（ICU）に入れられる。

【0246】

いくつかの実施形態では、組成物は、ウイルス（例えば、SARS-CoV-2）への

50

曝露から約 1、3、5、または 7 日以内に投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、ウイルスに曝露される前に投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、ウイルスへの潜在的曝露の約 1、2、3、4、5、6、または 7 日前に投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、ウイルスへの潜在的曝露の約 1、2、または 3 週間前に投与される。

【0247】

いくつかの実施形態では、組成物は、ウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2 感染）の初期症状（例えば、発熱、例えば、空咳、例えば、息切れ）の出現から約 1、3、5、または 7 日以内に投与される。

【0248】

いくつかの実施形態では、組成物は、個体が胸痛もしくは胸の圧迫感、息切れ、及び／または唇もしくは顔面の蒼白を有してから約 1、2、3、4、5、6、または 7 日以内に投与される。

【0249】

いくつかの実施形態では、組成物は、個体が急性呼吸窮迫症候群（ARD）を有してから約 3、6、12、または 24 時間以内に投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、個体が急性呼吸窮迫症候群（ARD）を有してから約 1、2、3、4、または 5 以内に投与される。

【0250】

いくつかの実施形態では、組成物は、1 日 3 回、1 日 2 回、毎日、2、3、4、5、または 6 日に 1 回、週 1 回、隔週 1 回、または月 1 回投与される。

【0251】

ウイルス

いくつかの実施形態では、ウイルス感染は、コロナウイルス科（例えば、アルファコロナウイルス、ベータコロナウイルス、デルタコロナウイルス、もしくはガンマコロナウイルス）、オルトミクソウイルス科（例えば、インフルエンザウイルス）、フラビウイルス科（例えば、フラビウイルスもしくはヘパシウイルス）、またはカリシウイルス科（例えば、ノロウイルス）のメンバーであるウイルスによって引き起こされる。

【0252】

いくつかの実施形態では、ウイルス感染は、コロナウイルス科のメンバーであるウイルスによって引き起こされる。いくつかの実施形態では、ウイルスは、アルファコロナウイルス（例えば、HCoV-229E または HCoV-NL63）、ベータコロナウイルス（例えば、HCoV-OC43、HCoV-HKU1、MERS-CoV、SARS-CoV、または SARS-CoV-2）、デルタコロナウイルス、またはガンマコロナウイルスである。

【0253】

いくつかの実施形態では、ウイルスは、アルファコロナウイルスである。いくつかの実施形態では、ウイルスは、HCoV-229E または HCoV-NL63 である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、HCoV-229E である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、HCoV-NL63 である。

【0254】

いくつかの実施形態では、ウイルスは、ベータコロナウイルスである。いくつかの実施形態では、ウイルスは、HCoV-OC43、HCoV-HKU1、MERS-CoV、SARS-CoV、または SARS-CoV-2 である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、MERS-CoV、SARS-CoV、または SARS-CoV-2 である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、HCoV-OC43 である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、HCoV-HKU1 である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、H MERS-CoV である。いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV である。

【0255】

いくつかの実施形態では、ウイルスは、SARS-CoV-2である。

【0256】

#### 併用療法

いくつかの実施形態では、方法は、治療有効量の第2の薬剤または療法を投与することをさらに含む。本明細書に記載の第2の薬剤または療法は、ウイルス感染を治療するうえで有用な任意の薬剤または療法であってよい。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、ミコフェノール酸モフェチル(MMF)及び／またはコルチコステロイドを含む。いくつかの実施形態では、方法は、治療有効量のミコフェノール酸モフェチル(MMF)を投与することを含む。いくつかの実施形態では、方法は、治療有効量のコルチコステロイドを投与することを含む。

10

【0257】

いくつかの実施形態では、方法はまた、治療有効量のさらなる抗ウイルス剤を投与することを含む。いくつかの実施形態では、さらなる抗ウイルス剤は、レムデシビル、ロピナビル／リトナビル、IFN- $\alpha$ 、ロピナビル、リトナビル、ペンシクロビル、ガリデシビル、ジスルフィラム、ダルナビル、コビススタット、ASC09F、ジスルフィラム、ナファモスタット、グリフィスシン、アリスポリビル、クロロキン、ヒドロキシクロロキン、ニタゾキサニド、バロキサビルマルボキシル、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、アマンタジン、リマンタジン、ファビピラビル、ラニナミビル、リバビリン、ウミフェノビル、またはそれらの任意の組み合わせである。いくつかの実施形態では、抗ウイルス剤は、クロロキンである。いくつかの実施形態では、抗ウイルス剤は、ヒドロキシクロロキンである。いくつかの実施形態では、抗ウイルス剤は、レムデシビルである。

20

【0258】

いくつかの実施形態では、組成物と第2の薬剤とは同時に(simultaneously)投与される。いくつかの実施形態では、組成物と第2の薬剤とは同時に(concurrently)投与される。いくつかの実施形態では、組成物と第2の薬剤とは順次投与される。

【0259】

#### 投与量及び投与方法

組成物及び／または第2の薬剤／療法の投与頻度は、投与する医師の判断に基づいて、治療過程で調節することができる。別々に投与される場合、組成物及び／または第2の薬剤／療法は、異なる投与頻度または間隔で投与することができる。いくつかの実施形態では、組成物及び／または第2の薬剤／療法の徐放製剤を使用することができる。徐放を行うための各種の製剤及び装置が、当該技術分野において周知である。本明細書に記載の投与形態の組み合わせも使用することができる。

30

【0260】

いくつかの実施形態では、ヒトまたは哺乳動物対象を治療するための本明細書に記載のキメラペプチド、ブロックングペプチド、またはsiRNAの投与量は、各投与で約0.001mg/kg～約100mg/kgの範囲である。いくつかの実施形態では、投与後の感染部位における本明細書に記載のキメラまたはブロックングペプチドの濃度は、約0.01 $\mu$ M～10 $\mu$ M(例えば、約0.1 $\mu$ M～約1 $\mu$ M、例えば約0.5 $\mu$ M)である。いくつかの実施形態では、投与後の感染部位における本明細書に記載のsiRNAの濃度は、約0.1nM～約10 $\mu$ M(例えば、約1nM～1 $\mu$ M、例えば約1nM～約200nM)である。

40

【0261】

いくつかの実施形態では、組成物は、ウイルス(例えば、SARS-CoV-2)への曝露から約1、2、3、4、5、6、7、10、12、14、16、18、20、25、または30日以内に投与される。

【0262】

いくつかの実施形態では、組成物は、ウイルス感染(例えば、SARS-CoV-2感染)の最初の症状(例えば、発熱、例えば、空咳、例えば、息切れ)の出現から約1、2

50

、3、4、5、6、7、10、12、14、16、18、または20以内に投与される。いくつかの実施形態において、組成物は、症状（例えば、発熱、例えば、空咳、例えば、息切れ）が少なくとも2、3、4、5、6、または7日間続く場合に投与される。

【0263】

いくつかの実施形態では、組成物は、個体が胸痛もしくは胸の圧迫感、息切れ、及び／または唇もしくは顔面の蒼白を有してから約1、2、3、4、5、6、または7日以内に投与される。

【0264】

いくつかの実施形態では、組成物は、個体が急性呼吸窮迫症候群（ARD）を有してから約3、6、12、または24時間以内に投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、個体が急性呼吸窮迫症候群（ARD）を有してから約1、2、3、4、または5以内に投与される。

【0265】

いくつかの実施形態では、組成物は、1日3回、1日2回、毎日、2、3、4、5、または6日に1回、週1回、隔週1回、または月1回投与される。

【0266】

組成物及び／または第2の薬剤／療法は、同じ投与経路または異なる投与経路を使用して投与することができる。本明細書に記載される方法のいくつかの実施形態では、組成物または第2の薬剤／療法は、静脈内、腫瘍内、動脈内、局所、眼球内、眼内、門脈内、頭蓋内、脳内、脳室内、くも膜下腔内、小胞内、皮内、皮下、筋肉内、鼻腔内、気管内、肺、腔内、経鼻、または経口投与、または噴霧（NB）または気管内注入のいずれかによって個体に投与される。

【0267】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び／または第2の薬剤／療法は、全身または局所投与用に製剤化される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び／または第2の薬剤／療法は、静脈内、局所、眼球内、眼内、門脈内、頭蓋内、脳内、脳室内、くも膜下腔内、小胞内、皮内、皮下、筋肉内、鼻腔内、気管内、肺、腔内、または経口投与、または噴霧（NB）、吸入、または気管内注入用に製剤化される。

【0268】

いくつかの実施形態では、組成物及び／または第2の薬剤／療法は、噴霧用に製剤化されるかまたは噴霧により個体に投与される。いくつかの実施形態では、組成物及び／または第2の薬剤／療法は、経鼻投与用に製剤化されるかまたは経鼻投与により個体に投与される。いくつかの実施形態では、組成物及び／または第2の薬剤／療法は、気管内投与（例えば、気管内注入）用に製剤化されるかまたは気管内投与により個体に投与される。いくつかの実施形態では、組成物及び／または第2の薬剤／療法は、吸入用に製剤化されるかまたは吸入により個体に投与される。いくつかの実施形態では、組成物及び／または第2の薬剤／療法は、静脈内投与用に製剤化されるかまたは静脈内投与により個体に投与される。

【0269】

患者集団

いくつかの実施形態では、個体は、免疫系が損なわれている。

【0270】

いくつかの実施形態では、個体は、男性である。いくつかの実施形態では、個体は、女性である。

【0271】

いくつかの実施形態では、個体は、少なくとも約40、45、50、55、60、65、70、75、80、85または90歳の年齢である。いくつかの実施形態では、個体は、少なくとも約18、15、12、10、8、6、4、2、または1歳以下の年齢である。いくつかの実施形態では、個体は約20歳～約40歳の年齢である。

【0272】

いくつかの実施形態では、個体はウイルス（例えば、SARS-CoV-2）に曝露されている。

【0273】

いくつかの実施形態では、個体は、ウイルス感染（例えば、SARS-CoV-2感染）の最初の症状（例えば、発熱、例えば空咳、例えば息切れ）を示している。

【0274】

いくつかの実施形態では、個体は、胸痛もしくは胸の圧迫感、息切れ、及び／または唇もしくは顔面の蒼白を示している。いくつかの実施形態では、個体は、急性呼吸窮迫症候群（ARD）を有する。いくつかの実施形態では、個体は病院に入院している。いくつかの実施形態では、個体は集中治療室（ICU）に入れられる。

【0275】

いくつかの実施形態では、個体は、参照ACE2発現よりも高いACE2発現（例えば肺細胞上でのACE2発現）（例えば、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、75%、100%、150%または200%高い）を有する。いくつかの実施形態では、参照ACE2発現は、個体と同じ性別及び／または民族性を有する個体群の平均ACE2発現である。

【0276】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される個体は、自己免疫疾患を有する。いくつかの実施形態では、個体は、移植片拒絶反応に関連する疾患または状態を有する。

【0277】

いくつかの実施形態では、個体は、ミコフェノール酸モフェチル（MMF）による治療を受けたことがあるかまたは治療に失敗したことがある。いくつかの実施形態では、個体は、コルチコステロイドによる治療を受けたことがあるかまたは治療に失敗したことがある。いくつかの実施形態では、個体は、レムデシビル、ロピナビル／リトナビル、IFN- $\alpha$ 、ロピナビル、リトナビル、ペンシクロビル、ガリデシビル、ジスルフィラム、ダルナビル、コビシスタット、ASC09F、ジスルフィラム、ナファモスタット、グリフィスシン、アリスポリビル、クロロキン、ヒドロキシクロロキン、ニタゾキサニド、パロキサビルマルボキシル、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、アマンタジン、リマンタジン、ファビピラビル、ラニナミビル、リバビリン、ウミフェノビル、またはそれらの任意の組み合わせのうちのいずれか1つ以上による治療を受けたことがあるかまたは治療に失敗したことがある。いくつかの実施形態では、個体は、クロロキンによる治療を受けたことがあるかまたは治療に失敗したことがある。いくつかの実施形態では、個体は、ヒドロキシクロロキンによる治療を受けたことがあるかまたは治療に失敗したことがある。いくつかの実施形態では、個体は、レムデシビルによる治療を受けたことがあるかまたは治療に失敗したことがある。

【0278】

キット

本明細書では、本明細書に記載の方法において有用なキット、試薬、及び製品も提供される。いくつかの実施形態では、キットは、キメラペプチド、ブロックングペプチド、siRNA、第2のペプチド（例えば、細胞透過性ペプチド）のいずれかなどの本明細書に記載のペプチド及びsiRNAのいずれかを含有バイアルを、場合により他の分子とともに、1つのバイアルに組み合わせて、または異なるバイアルで別々に含む。いくつかの実施形態では、第2のペプチド（例えば、細胞透過性ペプチドのいずれか）は、適切な1つ以上のキメラペプチド／ブロックングペプチド及び／またはsiRNAと組み合わせることで、効果的な治療を行うために患者に投与できる複合体またはナノ粒子を与える。したがって、いくつかの実施形態では、1）本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロックングペプチドと、2）第2のペプチドと、を含むキットが提供される。いくつかの実施形態では、1）本明細書に記載のsiRNAと、2）第2のペプチドと、を含むキットが提供される。いくつかの実施形態では、1）本明細書に記載のsiRNAと、2）本明細書に記載のキメラペプチドまたはブロックングペプチドと、場合により3）本明細書に記載

10

20

30

40

50

の第2のペプチドと、を含むキットが提供される。いくつかの実施形態では、キットは、薬学的に許容される担体をさらに含む。

【0279】

本明細書に記載のキットは、本発明の方法を実施するためにキットの構成要素を使用するための説明書（例えば、本明細書に記載の医薬組成物を調製するための説明書及び／または医薬組成物を使用するための説明書）をさらに含むことができる。本発明の方法を実施するための説明書は、適当な記録媒体に記録することができる。例えば、説明書は、紙またはプラスチックなどの基材に印刷することができる。したがって、説明書は、添付文書としてキット内、キットまたはその構成要素の容器のラベル内（すなわち、パッケージまたはサブパッケージに付属する）などに存在してもよい。いくつかの実施形態では、説明書は、例えば、CD-ROM、ディスクなどの適当なコンピュータ可読記憶媒体上に存在する電子記憶データファイルとして存在してもよい。さらに他の実施形態では、実際の説明書はキットの中には存在せず、例えば、インターネット経由でリモートソースから説明書を得る手段が提供される。この実施例の一例としては、説明書を見ることができる、及び／またはダウンロードすることができるウェブアドレスを含むキットがある。説明書と同様、説明書を得るためのこうした手段は適当な媒体に記録される。

10

【0280】

キットの様々な構成要素は別々の容器に入れることができ、これらの容器を単一のハウジング、例えば箱の中に入れることができる。

【0281】

20

例示的な実施形態

実施形態1．安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドであって、前記ブロッキングペプチドが、SPIKEとACE2との相互作用を特異的に遮断し、前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの二次構造または三次構造を安定化する、前記キメラペプチド。

【0282】

実施形態2．前記ブロッキングペプチドが、SPIKEの受容体結合ドメイン（RBD）内のループ配列を含む、請求項1に記載のキメラペプチド。

【0283】

実施形態3．前記ループ配列が、アミノ酸約20個以下の長さを有する、請求項2に記載のキメラペプチド。

30

【0284】

実施形態4．前記ループ配列が、アミノ酸約7個～アミノ酸約18個の長さを有する、請求項3に記載のキメラペプチド。

【0285】

実施形態5．前記ブロッキングペプチドが、C末端にKを含む、請求項1～4のいずれか1項に記載のキメラペプチド。

【0286】

実施形態6．前記ループ配列が、配列番号1～11及び42～46からなる群から選択される、請求項1～5のいずれか1項に記載のキメラペプチド。

40

【0287】

実施形態7．前記ループ配列が、配列番号1、6、8～11、42及び45からなる群から選択される、請求項6に記載のキメラペプチド。

【0288】

実施形態8．前記ブロッキングペプチドが、ACE2の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列を含む、請求項1に記載のキメラペプチド。

【0289】

実施形態9．前記ブロッキングペプチドが、配列番号23～31及び47～52からなる群から選択される配列を含む、請求項8に記載のキメラペプチド。

【0290】

50

実施形態 10. 前記ブロッキングペプチドが、配列番号 23、24、26～28、31 及び 47～52 からなる群から選択される配列を含む、請求項 9 に記載のキメラペプチド。

【0291】

実施形態 11. 前記ループ配列が、環状である、請求項 2～10 に記載のキメラペプチド。

【0292】

実施形態 12. 前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの C 末端に連結されている、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【0293】

実施形態 13. 前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの N 末端に連結されている、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【0294】

実施形態 14. 前記安定化ペプチドが、アミノ酸約 12 個～アミノ酸約 30 個の長さを有する、請求項 12 または請求項 13 に記載のキメラペプチド。

【0295】

実施形態 15. 前記ブロッキングペプチド及び前記安定化ペプチドがそれぞれ、ACE2 に由来する配列を含む、請求項 8～14 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【0296】

実施形態 16. 前記安定化ペプチドが、配列番号 49 または 50 に示される配列を含む、請求項 15 に記載のキメラペプチド。

【0297】

実施形態 17. 前記安定化ペプチドが、両親媒性ヘリックス構造を含む、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【0298】

実施形態 18. 前記安定化ペプチドが、ADGN-100 ペプチドまたは VEP EP-6 ペプチドを含む、請求項 17 に記載のキメラペプチド。

【0299】

実施形態 19. 前記安定化ペプチドが、配列番号 53～107 のいずれか 1 つに示される配列を含む、請求項 18 に記載のキメラペプチド。

【0300】

実施形態 20. 前記安定化ペプチドが、配列番号 55 または 97 に示される配列を含む、請求項 19 に記載のキメラペプチド。

【0301】

実施形態 21. 前記ブロッキングペプチドと前記安定化ペプチドとがリンカーによって連結されている、請求項 1～20 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【0302】

実施形態 22. 前記リンカーが、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG 部分、Aun、Ava、及び Ahx からなる群から選択される、請求項 21 に記載のキメラペプチド。

【0303】

実施形態 23. 前記 PEG 部分が、約 2～約 7 個のエチレングリコール単位で構成される、請求項 19 に記載のキメラペプチド。

【0304】

実施形態 24. 配列番号 12～22、27、28、及び 31～41 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、請求項 1～23 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【0305】

実施形態 25. 配列番号 12、17、19～22、27、28、31～33、35、及び 38～40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載のキメラペプチド。

10

20

30

40

50

## 【0306】

実施形態26．配列番号12～22、24～41、及び151～160のいずれかのアミノ酸配列を含む非天然ペプチド。

## 【0307】

実施形態27．前記ペプチドが、配列番号12、17、19～22、24、26～28、31～33、35、38～40、151、156、及び158～160のいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項26に記載の非天然ペプチド。

## 【0308】

実施形態28．前記ペプチドが、アミノ酸約100個以下の長さを有する、実施形態26または27に記載の非天然ペプチド。

## 【0309】

実施形態29．配列番号161～180からなる群から選択される核酸配列を含む、s i R N A。

## 【0310】

実施形態30．前記s i R N Aが、配列番号163、170、166、または168に示される核酸配列を含む、実施形態29に記載のs i R N A。

## 【0311】

実施形態31．a) 実施形態1～25のいずれかのキメラペプチド、実施形態26もしくは27のペプチド、または実施形態28もしくは実施形態29のs i R N Aを含むカーゴと、b) 第2のペプチドと、を含む複合体であって、前記ペプチドまたはs i R N Aが前記第2のペプチドと複合体を形成している、前記複合体。

## 【0312】

実施形態32．前記第2のペプチドが、C A D Y、P E P - 1ペプチド、P E P - 2ペプチド、P E P - 3ペプチド、L N C O Vペプチド、V E P E P - 3ペプチド、V E P E P - 6ペプチド、V E P E P - 9ペプチド、及びA D G N - 100ペプチドからなる群から選択される細胞透過性ペプチドである、実施形態31に記載の複合体。

## 【0313】

実施形態33．前記第2のペプチドと前記ペプチドまたはs i R N Aとのモル比が、約1：1～約80：1である、実施形態31または実施形態32に記載の複合体。

## 【0314】

実施形態34．前記第2のペプチドと前記ペプチドとのモル比が、約2：1～約10：1である、実施形態33に記載の複合体。

## 【0315】

実施形態35．前記第2のペプチドと前記s i R N Aとのモル比が、約5：1～約50：1である、実施形態34に記載の複合体。

## 【0316】

実施形態36．a) 実施形態1～25のいずれかのキメラペプチド、もしくは実施形態26～28のいずれかのペプチド、及び／またはb) 実施形態29もしくは実施形態30のs i R N Aを含む、実施形態31～35のいずれか1つに記載の複合体。

## 【0317】

実施形態37．前記s i R N Aが、配列番号166に示される核酸配列を含む、実施形態36に記載の複合体。

## 【0318】

実施形態38．配列番号17または33に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドを含む、実施形態37に記載の複合体。

## 【0319】

実施形態39．実施形態30～38のいずれか1つの複合体を含む、ナノ粒子。

## 【0320】

実施形態40．前記ナノ粒子が、約100nm以下の直径を有する、実施形態39に記載のナノ粒子。

10

20

30

40

50

## 【0321】

実施形態41．前記ナノ粒子が、約40～約60nmの直径を有する、実施形態40に記載のナノ粒子。

## 【0322】

実施形態42．a) 実施形態1～25のいずれかのキメラペプチド、実施形態26～28のいずれかのペプチド、実施形態29または実施形態30のsiRNA、実施形態31～41のいずれかの複合体またはナノ粒子と、b) 薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。

## 【0323】

実施形態43．2つ以上の複合体またはナノ粒子を含み、前記2つ以上の複合体またはナノ粒子が異なるカーゴを含む、実施形態42に記載の医薬組成物。

## 【0324】

実施形態44．前記カーゴを前記第2のペプチドと組み合わせることを含む、実施形態31～41のいずれか1つに記載の複合体またはナノ粒子を調製する方法。

## 【0325】

実施形態45．個体におけるSARS-CoV-2感染を治療する方法であって、前記個体に有効量の実施形態42または実施形態43の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

## 【0326】

実施形態46．前記医薬組成物が、噴霧または局所肺または経鼻送達により投与される、実施形態45に記載の方法。

## 【0327】

実施形態47．前記個体が、ヒトである、実施形態45または実施形態46に記載の方法。

## 【実施例】

## 【0328】

以下の実施例は、本出願の純粋な例示であることが意図されており、したがって、あらゆる意味において本出願を限定するものとしてみなされるべきではない。以下の実施例及び詳細な説明は、例示の目的で示されるものであって、限定することを目的とするものではない。

## 【0329】

実施例1．ACE2/SARS-CoV RBDの相互作用を標的とするペプチド及びペプチドベースのナノ粒子の設計

ACE2またはSpikeタンパク質結合ドメインのいずれかを標的とするペプチド阻害剤を、ACE2:Spikeタンパク質複合体の公開された結晶(PDBコード:6M17)構造及び電子顕微鏡(PDBコード:6LZG)構造の両方に基づいて設計した。阻害剤は、環化、ステアブル化学、レトロインベルソ、またはDアミノ酸の使用のいずれかによってさらに安定化できる安定した構造体得られるように設計した。

## 【0330】

A．スパイクタンパク質由来の阻害剤の選択

SARS-CoV-2 RBD構造には、5本鎖の逆平行βシート(β1、β2、β3、β4、及びβ7)の短い連結ヘリックスとループを有するコアドメインが含まれていた。ACE2受容体に結合するSARS-CoV-2 RBDの接触残基の多くは、コアドメインのβ4鎖とβ7鎖の間に位置している(図1A)。受容体結合モチーフ(RBM)ドメインには、短いβ5及びβ6鎖、α4及びα5ヘリックス及びループが含まれる。主な接触には、α4とβ5の間のループ、β6とα5の間のループ、及びβ5とβ6の間のループの一部が関与していた。RBMドメインの遠位端のループを連結するシステインペアCys480-Cys488も、界面の安定化に主要な役割を果たしている(図1B)。SARS-CoV-2 RBD構造内のRBMドメインから、以下の配列を有する11個の阻害配列が得られている。下記表2を参照。

10

20

30

40

50

【0331】

【表2】

表2.

| 配列                 | RBM 構造モチーフ                                     | 配列コード           |
|--------------------|------------------------------------------------|-----------------|
| SKVGGNYNYLYR       | ループ $\alpha 4$ - $\beta 5$                     | 配列 1 (LNCOV-01) |
| KVGGNYL            | ループ $\alpha 4$ - $\beta 5$                     | 配列 2 (LNCOV-0)  |
| GNVNYLYRL          | ループ $\alpha 4$ - $\beta 5$                     | 配列 3 (LNCOV-1)  |
| GGNYNYLYRLFRK      | ループ $\alpha 4$ - $\beta 5/\beta 5$             | 配列 4 (LNCOV-2)  |
| STEYQAGST          | ループ $\beta 5$ - $\beta 6$                      | 配列 5 (LNCOV-3)  |
| CNGVEGFNC          | ループ $\beta 5$ - $\beta 6$                      | 配列 6 (LNCOV-4)  |
| VEGFNCYFP          | ループ $\beta 5$ - $\beta 6$                      | 配列 7 (LNCOV-5)  |
| YFPLQSYGFQPTNGVGYQ | $\beta 6$ /ループ $\beta 6$ - $\alpha 5/\alpha 5$ | 配列 8 (LNCOV-6)  |
| SYGFQPTNGV         | ループ $\beta 6$ - $\alpha 5$                     | 配列 9 (LNCOV-7)  |
| GFQPTNGVK          | ループ $\beta 6$ - $\alpha 5$                     | 配列 10 (LNCOV-8) |
| TNGVGYQPY          | ループ $\beta 6$ - $\alpha 5/\alpha 5$            | 配列 11 (LNCOV-9) |

10

20

【0332】

各ペプチド配列を、クリックケミストリーを使用して直鎖状または環状のいずれかとしてADGN-106またはADGN-100ペプチドに連結した(Rashad et al., Methods Mol Biol. 2019; 2001: 133-145を参照)。場合によっては、ブロッキングペプチドのC末端にある1個または2個のアミノ酸をリシンに置き換えることでリシン側鎖による連結を介した環状ペプチドが得られる(Alsina J. et al., Tetrahedron Letters, Volume 35, Issue 51, 19 December 1994, Pages 9633-9636を参照)。各配列は、ADGNペプチドのN末端にアミノ結合により直接連結するか、またはリンカーモチーフを介して連結した。Ava(4ペンチン酸)、Ahx(アミノヘキサン酸)、ポリGまたはPEG(PEG-2)をリンカーとして使用した。表3を参照。

30

【0333】

40

50

【表 3】

表 3.

|                                                                              |                  |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Ac-S <sup>*</sup> KVGGNYNYLY <sup>*</sup> R Ava/Ahx-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2 | 配列 12 (LNCOV-10) |
| Ac-K <sup>*</sup> VGGNYNYK <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2        | 配列 13 (LNCOV-11) |
| Ac-G <sup>*</sup> NYNYLYRL <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2        | 配列 14 (LNCOV-12) |
| Ac-G <sup>*</sup> NYNYLYRLFK <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2      | 配列 15 (LNCOV-22) |
| Ac-T <sup>*</sup> EYQAGSTK <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2        | Sed16 (LNCOV-17) |
| Ac-N <sup>*</sup> GVEGFNK <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2         | 配列 17 (LNCOV-15) |
| Ac-V <sup>*</sup> EGFNCYF <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2         | 配列 18 (LNCOV-16) |
| Ac-YFPLQSYGFQPTNGVGYQ-Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2                           | 配列 19 (LNCOV-23) |
| Ac-S <sup>*</sup> YGFQPTNGV <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2       | 配列 20 (LNCOV-24) |
| Ac-G <sup>*</sup> FQPTNGVK <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2        | 配列 21 (LNCOV-13) |
| Ac-T <sup>*</sup> NGVGYQPYK <sup>*</sup> -Ava-LWRALWRLWRSLWRLWLLWK-NH2       | 配列 22 (LNCOV-14) |
| *環化部位                                                                        |                  |

## 【0334】

## B. ACE2ドメイン由来の阻害剤の選択

SARS-CoV-2 RBDの拡張されたRBMは、ACE2の小葉部分の下面と接触し、RBMの凹状の外表面がACE2のN末端ヘリックスを収容する。SARS-CoV-2 RBDとACE2受容体ドメインとの主要な接触には主としてα1ヘリックスが関与し、α2ヘリックス及びβ3鎖とβ4鎖との間のループもある程度関与している（図1C及び1D）。

## 【0335】

以下の配列を有する、ACE2構造に基づいた9個の阻害配列が選択されている。α1ヘリックスに由来するLNCOV-19/33/34、α1ヘリックスとα2ヘリックスの両方に由来するLNCOV20/27、ならびにβ3鎖とβ4鎖の一部及びそれに続くαヘリックスを含むβ3鎖とβ4鎖の間のループに由来するLNCOV-35/36/37。表4を参照。

## 【0336】

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4.

| 配列                                      | ACE2 構造モチーフ             | 配列コード            |
|-----------------------------------------|-------------------------|------------------|
| Ac-IEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQS              | $\alpha 1$              | 配列 23 (SBP-1)    |
| Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF                   | $\alpha 1$              | 配列 24 (LNCOV-19) |
| Ac-KTFLDKFNHEAEDLF                      | $\alpha 1$              | 配列 25 (LNCOV-33) |
| Ac-KTFLDKFNHEAEDLFYS                    | $\alpha 1$              | 配列 26 (LNCOV-34) |
| Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLFPKWSAFLKEQSTLAQMYG | $\alpha 1$ と $\alpha 2$ | 配列 27 (LNCOV-27) |
| Ac-KTFLDKFNHEAEDLFPKWSAFLKEQSTLAQMYG    | $\alpha 1$ と $\alpha 2$ | 配列 28 (LNCOV-20) |
| Ac-TAWDLGKGDFRI                         | $\beta 3$ と $\beta 4$   | 配列 29 (LNCOV-35) |
| Ac-NMTQGFENSMLTD                        | $\beta 3$ と $\beta 4$   | 配列 30 (LNCOV-36) |
| Ac-NMTQGFWENPGGPTAWDLGK                 | $\beta 3$ と $\beta 4$   | 配列 31 (LNCOV-37) |

10

20

30

## 【0337】

各ペプチド配列を、クリックケミストリーを使用して直鎖状としてADGNペプチドに連結した。各配列は、ADGNペプチドのN末端にアミノ結合で直接連結するか、またはリンカーモチーフを介して連結した。Ava（4ペンチン酸）、Ahx（アミノヘキサン酸）、ポリGまたはPEG（PEG-2）をリンカーとして使用した。表5を参照。

## 【0338】

40

50

【表 5】

表 5.

|                                                                    |                          |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Ac-IEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQS-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2              | 配列 32 (LNCOV-21)         |
| Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2                   | 配列 33 (LNCOV-18)         |
| Ac-KTFLDKFNHEAEDLF-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2                      | 配列 34 (LNCOV-25)         |
| Ac-KTFLDKFNHEAEDLFYS-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2                    | 配列 35 (LNCOV-26)         |
| AC-TAWDLGKGDFRI-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2                         | 配列 36 (LNCOV-28)         |
| Ac-NMTQGFWENSMLTD-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2                       | 配列 37 (LNCOV-29)         |
| Ac-NMTQGFWENPGGPTAWDLGK-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2                 | 配列 38 (LNCOV-30)         |
| Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLFPKWSAFLKEQSTLAQMYG-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2 | 配列 39 (LNCOV-31)         |
| Ac-KTFLDKFNHEAEDLFPKWSAFLKEQSTLAQMYG-Ahx-LWRALWRLWRSLWRLLWK-NH2    | 配列 40 (LNCOV-32)         |
| Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF-ahx-RSAGWRWRLWRVRSWSR-NH2                    | 配列 41 または 188 (LNCOV-33) |

10

20

30

## 【0339】

## 実施例 2. 選択された阻害配列の構造解析

ADGN ペプチドに連結された、またはされていない ACE2 の  $\alpha 1$  及び  $\alpha 2$  ヘリックスに由来する阻害配列の二次構造を、分子モデリング `peplook-Zultim` 及び `PEPFOLD` プログラムを使用して決定した (Thomas A and Brass eur R., 2006, Prediction of peptide structure: how far are we?, Proteins. 65, 889-97 及び Lamiable A, Thevenet P, Rey J, Vavrusa M, Derreumaux P, Tuffery P. Nucleic Acids Res. 2016 Jul 8; 44 (W1): W449-54)。

40

## 【0340】

以下の表 6 に示されているように、 $\alpha 1$  ヘリックス (配列 23 ~ 26) 及び  $\alpha 1$  及び  $\alpha 2$  ヘリックス (配列 27 / 28) に由来するペプチドは、溶液中で二次ヘリックス構造をとる。

50

## 【表 6】

表 6.

| ペプチド配列                                                                                    | 配列コード                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Ac-I[EEQAKTFLDKFNHEAEDL]FYQS                                                              | 配列 23 (SBP-1)            |
| Ac-EQ[AKTFLDKFNHEAED]LF                                                                   | 配列 24 (LNCOV-19)         |
| Ac-KT[FLDKFNHEA]EDLF                                                                      | 配列 25 (LNCOV-33)         |
| Ac-KTF[LDKFNHEAE]DLFYS                                                                    | 配列 26 (LNCOV-34)         |
| Ac-EQA[KTFLDKFNHEAED]LFPGKW[SAFLKEQ]ST[LAQM]YG                                            | 配列 27 (LNCOV-27)         |
| Ac-KT[FLDKFNHEAED]LFPGPKW[SAFLKEQ]ST[LAQM]YG                                              | 配列 28 (LNCOV-20)         |
| Ac-I[EEQAKTFLDKFNHEAEDLFY]QS-Ahx-L[WRA]L[WRLWR]S[LWRL]WK-NH <sub>2</sub>                  | 配列 32 (LNCOV-21)         |
| Ac-EQA[KTFLDKFNHEAEDL]F-Ahx-L[WRA]L[WRLWR]S[LWRL]WK-NH <sub>2</sub>                       | 配列 33 (LNCOV-18)         |
| Ac-KT[FLDKFNHEAE]DLF-Ahx-L[WRA]L[WRLWR]S[LWRLW]K-NH <sub>2</sub>                          | 配列 34 (LNCOV-25)         |
| Ac-KT[FLDKFNHEAEDL]FYS-Ahx-L[WRA]L[WRLWR]S[LWRLW]K-NH <sub>2</sub>                        | 配列 35 (LNCOV-26)         |
| Ac-EQ[AKTFLDKFN]HE[AEDL]FPK[WSAFLKEQSTLAQMY]G-Ahx-L[WRA]L[WRLWR]S[LWRLW]K-NH <sub>2</sub> | 配列 39 (LNCOV-31)         |
| Ac-K[TFLDKFNHEAEDL]FPK[WSAFLKEQSTLAQMY]G-Ahx-L[WRA]L[WRLWR]S[LWRLW]K-NH <sub>2</sub>      | 配列 40 (LNCOV-32)         |
| Ac-IE[EQAKTFLDKFNHEAEDLF]YQS-Ahx-[RSAGWRWRLWRVR]SWSR-NH <sub>2</sub>                      | 配列 41 または 188 (LNCOV-33) |

\* [ ]:ヘリックスモチーフ

## 【0341】

Peplook-Zultim プログラムを使用して、各ヘリックス状ペプチドの構造の動的および安定性分析を決定した。各ペプチドのアミノ酸及びペプチド配列全体の平均二乗偏差 (RMSD)、及びファンデルワールス力 (vdW) と静電エネルギーの両方の相互作用エネルギーを計算した。結果は、阻害ドメインのヘリックス構造は、ADGN ペプチドに連結されると、ADGN ペプチドの芳香族残基との直接的な相互作用によって、強力に安定化されることを示した。

## 【0342】

ADGN を介した二次構造の安定化は、主に配列 32 / 33 / 34 / 35 及び配列 41 で観察される。ADGN-106 残基と ADGN-100 残基は、阻害ドメインのヘリックス構造を安定化させた。ADGN ペプチドのアルギニン残基がペプチドの表面でアクセス可能な状態に保たれていることで、他の ADGN ペプチドとのさらなる相互作用が可能

となった。RBDドメインと接触するペプチドの残基は、ペプチドの表面でアクセス可能な状態に保たれている（図2A～2E）。

【0343】

実施例3．ACE2：SARS-CoV-2スパイク相互作用のペプチド阻害剤のスクリーニング

ACE2：SARS-CoV-2スパイク相互作用を遮断する様々なペプチドの効力を、ACE2：SARS-CoV-2スパイク Inhibitor Screening Assay Kit (DBS Bioscience) を使用してインビトロで評価した。スクリーニングは、ACE2：SARS-CoV-2スパイク相互作用の阻害剤をスクリーニング及びプロファイリングするように設計した。評価は96ウェルフォーマットで行った。ACE2タンパク質をニッケル被覆96ウェルプレートに付着させ、次いでゆっくりと振盪しながらペプチド阻害剤溶液と室温で30分間、インキュベートした。最後に、SARS-CoV-2スパイクFcを、ペプチド阻害剤溶液の存在下でプレート上のACE2に加え、ゆっくりと振盪しながら室温で1時間、インキュベートした。各プレートを抗Fc-HRPで処理した後、HRP基質を加えて化学発光を発生させ、化学発光リーダーを使用して分析した。Zhang et alにより記載されるSBP-1ペプチド（SARS-CoV-2スパイクタンパク質に対するファースト・イン・クラスのペプチドバインダー、G. Zhang, S. Pomplun, A. R. Loftis, A. Loas, B. L. Pentelute bioRxiv 2020.03.19.999318; doi:https://doi.org/10.1101/2020.03.19.999318 2020）をポジティブコントロールとして使用した。結果は、3回の別々の実験の平均に相当し、図3A～3B及び表7に示す。

10

20

【0344】

ACE2の $\alpha 1$ ヘリックスに由来するSBP-1コントロール配列は、 $IC_{50} = 78.5 \pm 2.5$  nMでACE2：スパイク阻害を妨げる。SBP-1をADGN-106（配列32）と共有結合させた場合、 $IC_{50} = 325.2 \pm 1.7$  nMであり、効力は2.4倍増加し、ADGN-106の存在がSBP-1ドメインのヘリックス構造を安定化させたことが確認された。ADGN-100（配列41）と共有結合させた場合、 $IC_{50} = 432.5 \pm 2.1$  nMであり、SBP-1の効力はやはり1.8倍増加した。

【0345】

30

A．スパイクタンパク質由来のペプチド：

直鎖状配列（配列1～11）のいずれも、 $10 \mu M$ 未満の濃度では阻害を示さなかった。

【0346】

これに対して、ADGN-106と共有結合させた環状ペプチドに相当する配列12／17／19／20／21のペプチドは、ACE2：SARS-CoV-2スパイク相互作用を遮断した。これらの結果は、ペプチド構造を安定化させるための環化の存在が、ACE2タンパク質表面との相互作用に必要であることを示唆している。

【0347】

ADGN-106（配列19）と共有結合させた場合、配列8のみが $IC_{50} = 90.6 \pm 8$  nMでACE2：SARS-CoV-2スパイク相互作用を阻害することは、ADGNペプチドとの共有結合が阻害ドメインの構造を安定化させることを裏付けるものである。

40

【0348】

システインペアCys480-Cys488によって安定化されたループ $\beta 5 - \beta 6$ 由来の配列17のペプチドは、 $IC_{50} = 57.5 \pm 1.1$  nMで相互作用を遮断し、これは遊離SBP-1またはADGN-106と連結されたSBP-1と比較して15倍及び6倍高い効力である。

【0349】

$IC_{50} = 17.2 \pm 5$  nM及び $22.6 \pm 7$  nMの最も強い阻害が $\beta 6 - \alpha 5$ 間のル

50

ープに由来する配列 20 及び配列 21 のペプチドで得られ、これは遊離 SBP-1 または ADGN-106 と連結された SBP-1 と比較して 40 倍及び 16 倍高い効力である。

【0350】

B. ACE2 タンパク質由来のペプチド：

ACE2 の  $\alpha 1$  ヘリックスに由来するペプチドである配列 23 ~ 26 は、 $IC_{50} = 7.85 < x < 2 \mu M$  で ACE2 : SARS-CoV-2 スパイク相互作用を遮断した。これらのペプチドを ADGN-106 と共有結合させると（配列 32 ~ 35）、効果が 3 ~ 6 倍向上する。ADGN-106 に連結された配列 24 に相当する配列 33 は、配列 24 で得られた  $IC_{50} = 1.3 \mu M$  と比較して、 $IC_{50} = 178 \pm 14 nM$  を示している。これらの結果は、ADGN-106 の存在が阻害ドメインのヘリックス構造を安定化させたことを裏付けるものである。

10

【0351】

最も強い阻害が ACE2 の  $\alpha 1$  ヘリックス及び  $\alpha 2$  ヘリックスに由来するペプチドで得られた。すなわち、配列 27 及び配列 28 は、 $IC_{50} \approx 50 nM$  で ACE2 : SARS-CoV-2 スパイク相互作用を遮断し、これは遊離 SBP-1 または ADGN-106 と連結された SBP-1 と比較して 15 倍及び 6 倍高い効力である。これらのペプチドを ADGN-106 と共有結合させると（配列 39 及び 40）、効果が 1.4 倍向上する。

【0352】

ACE2 タンパク質の  $\beta 3$  及び  $\beta 4$  ループに由来するペプチドである配列 29 / 30 / 31 は、 $10 \mu M$  未満の濃度では阻害を示さなかった。これらのペプチドを ADGN-106 と共有結合させると（配列 36 ~ 38）、効果が 10 ~ 100 倍向上する。ADGN-106 に連結された配列 31 に相当する配列 38 は、配列 31 で得られた  $IC_{50} = 25 \mu M$  と比較して、 $IC_{50} = 214.2 \pm 21 nM$  を示している。スパイク由来の阻害剤に関して、これらの結果は、ADGN ペプチドとの共有結合がこれらの阻害ペプチドの構造を安定化させるうえで不可欠であることを示した。

20

【0353】

結論として、ACE2 : SARS-CoV-2 スパイクの相互作用を遮断する最良の候補は以下に相当する。

ADGN-106 と共有結合させた SPIKE の  $\beta 6 - \alpha 5$  ループに相当する環状ペプチド（例えば、配列 20 及び配列 21）、

30

ADGN-106 と共有結合させた SPIKE の  $\beta 5 - \beta 6$  ループに相当する環状ペプチド（例えば、配列 17）、

ADGN-106 と結合された、または結合されていない ACE2 の  $\alpha 1$  及び  $\alpha 2$  ヘリックスに由来するペプチド（例えば、配列 27、28、39、40）。

【0354】

実施例 4 SARS-CoV-2 スパイク：ACE2 相互作用のペプチド阻害剤のスクリーニング

SARS-CoV-2 スパイク：ACE2 相互作用を遮断する異なるペプチドの効力を、SARS-CoV-2 スパイク：ACE2 Inhibitor Screening Assay Kit (DBS Bioscience) を使用してインビトロで評価した。スクリーニングは、SARS-CoV-2 スパイク：ACE2 の阻害剤をスクリーニング及びプロファイリングするように設計した。評価は 96 ウェルフォーマットで行った。SARS-CoV-2 スパイクタンパク質をニッケル被覆 96 ウェルプレートに付着させ、次いでゆっくりと振盪しながらペプチド阻害剤溶液と室温で 30 分間、インキュベートする。最後に、ACE2-Fc を、ペプチド阻害剤溶液の存在下でプレート上の SARS-CoV-2 スパイク-Fc に加え、ゆっくりと振盪しながら室温で 1 時間、インキュベートする。各プレートを抗 Fc-HRP で処理した後、HRP 基質を加えて化学発光を発生させ、化学発光リーダーを使用して分析した。Zhang et al. により記載される SBP-1 ペプチドをポジティブコントロールとして使用した。結果は、3 回の別々

40

50

の実験の平均に相当し、図 4 A ～ 4 B 及び表 7 に示す。

【0355】

SBP-1 コントロール配列は、 $IC_{50} = 267 \pm 12 \text{ nM}$  で ACE2 : スパイク阻害を妨げる。SBP-1 が ADGN-106 (配列 32) または ADGN-100 (配列 41) と共有結合された場合、 $IC_{50} = 134.2 \pm 14 \text{ nM}$  及び  $219.7 \pm 9 \text{ nM}$  であり、効力は 2.0 倍及び 1.4 倍増加する。

【0356】

A. スパイクタンパク質由来のペプチド：

対応する直鎖状配列または ADGN-106 と連結されない (配列 1 ～ 11) のいずれも、 $10 \mu\text{M}$  未満の濃度では阻害を示さなかった。ADGN-106 と連結された  $\alpha 4 - \beta 5$  間のループに相当するペプチド (配列 1 ～ 11) のいずれも、 $10 \mu\text{M}$  未満の濃度では阻害を示さなかった。

【0357】

ADGN-106 と共有結合させた環状ペプチドに相当する配列 17 / 19 / 20 / 21 / 22 のペプチドは、SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 相互作用を遮断し、このことは環化の存在及び ADGN ペプチドとの共有結合の両方が、ACE2 タンパク質表面との相互作用の主要な要件として、阻害ドメインの構造を安定化させることを示唆した。

【0358】

$IC_{50} = 44.2 \pm 7 \text{ nM}$  及び  $38.5 \pm 11 \text{ nM}$  の最良の阻害が  $\beta 6 - \alpha 5$  間のループに由来する配列 20 及び配列 21 のペプチドで得られ、これは遊離 SBP-1 または ADGN-106 と連結された SBP-1 と比較して 6.6 倍及び 3.3 倍高い効力である。 $\beta 6 - \alpha 5$  間のループと  $\alpha 5$  ヘリックスに相当する配列 22 は、配列 20 / 配列 21 よりも 3.6 倍効力が低く、 $\beta 6 - \alpha 5$  間のループが SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 相互作用を遮断するのに十分であることを示唆している。

【0359】

ループ  $\beta 5 - \beta 6$  由来の配列 17 のペプチドは、 $IC_{50} = 78.2 \pm 9 \text{ nM}$  で相互作用を遮断し、これは遊離 SBP-1 または ADGN-106 と連結された SBP-1 と比較して 3.4 倍及び 1.7 倍高い効力である。

【0360】

B. ACE2 タンパク質由来のペプチド：

ACE2 の  $\alpha 1$  ヘリックスに由来するペプチドである配列 23 ～ 26 は、 $IC_{50} = 300 < x < 1 \mu\text{M}$  で SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 相互作用を遮断した。これらのペプチドを ADGN-106 と共有結合させると (配列 32 ～ 35)、効果が 2 ～ 10 倍向上する。

【0361】

最良の阻害が、ADGN-106 と連結された ACE2 の  $\alpha 1$  ヘリックスの一部に相当する配列 33 で得られ、配列 24 で得られた  $IC_{50} = 570 \pm 30 \text{ nM}$  と比較して、 $IC_{50} = 18.4 \pm 3 \text{ nM}$  で SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 相互作用を遮断した。これらの結果は、ADGN-106 の存在が阻害ドメインのヘリックス構造を安定化したことを裏付けている。配列 33 は、遊離 SBP-1 及び ADGN-106 と連結された SBP-1 と比較して 14 倍及び 8 倍高い効力である。

【0362】

ACE2 の  $\alpha 1$  及び  $\alpha 2$  ヘリックスに由来するペプチドである配列 27 及び配列 28 は、 $IC_{50} = 37.4 \text{ nM} \pm 8 \text{ nM}$  及び  $38.5 \text{ nM} \pm 7 \text{ nM}$  で SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 相互作用を遮断し、これは遊離 SBP-1 及び ADGN-106 と連結された SBP-1 と比較して 7 倍及び 3.5 倍高い効力である。

【0363】

ACE2 タンパク質の  $\beta 3$  及び  $\beta 4$  ループに由来するペプチドである配列 29 / 30 / 31 は、 $10 \mu\text{M}$  未満の濃度では阻害を示さなかった。これらのペプチドを ADGN-1

10

20

30

40

50

06と共有結合させると（配列36～38）、効果が10～100倍向上する。ADGN-106に連結された配列31に相当する配列38は、配列31で得られた $IC_{50} = 25 \mu M$ と比較して、 $IC_{50} = 102.8 \pm 17 nM$ を示している。スパイク由来の阻害剤に関して、これらの結果は、ADGNペプチドとの共有結合が阻害ペプチドの構造を安定化させるうえで不可欠であることを示した。

【0364】

結論として、SARS-CoV-2スパイク：ACE2の相互作用を遮断する最良の候補は以下に相当する。

ADGN-106と共有結合させた $\beta 6 - \alpha 5$ ループに相当する環状ペプチド（例えば、配列20及び配列21）、

ADGN-106と共有結合させたACE2の $\alpha 1$ ヘリックスに由来するペプチド（例えば、配列33）、

ADGN-106と結合された、または結合されていないACE2の $\alpha 1 - \alpha 2$ ヘリックスに由来するペプチド（例えば、配列27、28、39、40）。

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表 7.

| コード配列               | ADGN<br>* | 環状<br>** | 標的   | SARS-CoV-2 スパイク:ACE2 | ACE2:SARS-CoV-2 スパイク |
|---------------------|-----------|----------|------|----------------------|----------------------|
|                     |           |          |      | IC <sub>50</sub>     | IC <sub>50</sub>     |
| 配列 1<br>(LNCOV-01)  | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 2<br>(LNCOV-0)   | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 3<br>(LNCOV-1)   | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 4 (LNCOV-2)      | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 5<br>(LNCOV-3)   | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 6<br>(LNCOV-4)   | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 7 (LNCOV-5)      | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 8 (LNCOV-6)      | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 9 (LNCOV-7)      | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 10<br>(LNCOV-8)  | -         | -        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 11<br>(LNCOV-9)  | -         | -        | ACE2 | >1 $\mu$ M           | >1 $\mu$ M           |
| 配列 12<br>(LNCOV-10) | +         | +        | ACE2 | 247 nM               | >1 $\mu$ M           |
| 配列 13<br>(LNCOV-11) | +         | +        | ACE2 | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |

【表 7 - 2】

|                     |   |   |       | SARS-CoV-2 スパイク:ACE2 | ACE2:SARS-CoV-2 スパイク |
|---------------------|---|---|-------|----------------------|----------------------|
| 配列 14<br>(LNCOV-12) | + | + | ACE2  | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 15<br>(LNCOV-22) | + | + | ACE2  | >1 $\mu$ M           | >10 $\mu$ M          |
| 配列 16<br>(LNCOV-17) | + | + | ACE2  | >1 $\mu$ M           | >10 $\mu$ M          |
| 配列 17<br>(LNCOV-15) | + | + | ACE2  | 57.5 nM              | 78.2 $\pm$ 14nM      |
| 配列 18<br>(LNCOV-16) | + | + | ACE2  | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 19<br>(LNCOV-23) | + | - | ACE2  | 90.6 nM              | 348.9 $\pm$ 26 nM    |
| 配列 20<br>(LNCOV-24) | + | + | ACE2  | 17.2 nM              | 44.2 $\pm$ 7nM       |
| 配列 21<br>(LNCOV-13) | + | + | ACE2  | 22.6 nM              | 38.5 $\pm$ 11nM      |
| 配列 22<br>(LNCOV-14) | + | + | ACE2  | >1 $\mu$ M           | 145 nM               |
| 配列 23 (SBP-1)       | - | - | SPIKE | 785 $\pm$ 25 nM      | 267 nM               |
| 配列 24<br>(LNCOV-19) | - | - | SPIKE | 1.3 $\mu$ M          | 570 $\pm$ 30 $\mu$ M |
| 配列 25<br>(LNCOV-33) | - | - | SPIKE | 2.5 $\mu$ M          | 1.9 $\mu$ M          |
| 配列 26<br>(LNCOV-34) | - | - | SPIKE | 1.9 $\mu$ M          | 2.1 $\mu$ M          |
| 配列 27<br>(LNCOV-27) | - | - | SPIKE | 66.1 $\pm$ 12 nM     | 37.4 nM              |
| 配列 28<br>(LNCOV-20) | - | - | SPIKE | 58.7 $\pm$ 9 nM      | 38.6 nM              |
| 配列 29<br>(LNCOV-35) | - | - | SPIKE | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 30<br>(LNCOV-36) | - | - | SPIKE | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |
| 配列 31<br>(LNCOV-37) | - | - | SPIKE | >10 $\mu$ M          | >10 $\mu$ M          |

10

20

30

40

50

【表 7 - 3】

|                     |   |   |       | SARS-CoV-2 スパイク:ACE2 | ACE2:SARS-CoV-2 スパイク |
|---------------------|---|---|-------|----------------------|----------------------|
| 配列 32<br>(LNCOV-21) | + | - | SPIKE | 325.2 ± 17μM         | 134 nM               |
| 配列 33<br>(LNCOV-18) | + | - | SPIKE | 178±14 nM            | 18.4 nM              |
| 配列 34<br>(LNCOV-25) | + | - | SPIKE | >1μM                 | >1μM                 |
| 配列 35<br>(LNCOV-26) | + | - | SPIKE | 545.8 nM             | 728.5 nM             |
| 配列 36<br>(LNCOV-28) | + | - | SPIKE | >1μM                 | >1μM                 |
| 配列 37<br>(LNCOV-29) | + | - | SPIKE | >1μM                 | 645 nM               |
| 配列 38<br>(LNCOV-30) | + | - | SPIKE | 214.2 nM             | 102.8 ± 17nM         |
| 配列 39<br>(LNCOV-31) | + | - | SPIKE | 55.2 nM              | 68.4 ± 10nM          |
| 配列 40<br>(LNCOV-32) | + | - | SPIKE | 45.1 nM              | 85.4±12 nM           |

ADGN\* : ADGN-106またはADGN-100と共有結合させたペプチド

環状\* : ADGN-106と連結された環状コンフォメーションを示すペプチド

## 【0365】

## 実施例 5 . 阻害剤ペプチドを用いたADGNペプチドベースのナノ粒子の形成

次に、異なるペプチドがADGN-106またはADGN-100ペプチドの存在下でナノ粒子組織を形成する能力を試験した。1 μM未満のIC<sub>50</sub>でACE2:SARS-CoV-2スパイク相互作用を阻害するペプチドを、1/5のペプチド/ADGNモル比でADGN-106ペプチドとの複合体としてさらに評価した。各ペプチドで、5または10モル過剰のADGN-106と複合体を形成させた。ペプチド/ADGN-106複合体の平均サイズと多分散性を、測定ごとに25℃で3分間測定し、ゼータ電位をZetasizer 4装置(Malvern Ltd)を使用して測定した。3回の別々の実験の平均のデータを表8に示す。

【表 8】

表 8

| コード配列            | 平均サイズ (nm) | PI   |
|------------------|------------|------|
| 配列 12 (LNCOV-10) | 35.4±5     | 0.21 |
| 配列 15 (LNCOV-22) | 37.5±5     | 0.23 |
| 配列 16 (LNCOV-17) | 44.2±7     | 0.28 |
| 配列 17 (LNCOV-15) | 57±4       | 0.17 |
| 配列 19 (LNCOV-23) | 37.2±5     | 0.24 |
| 配列 20 (LNCOV-24) | 68.1±5     | 0.25 |
| 配列 21 (LNCOV-13) | 78.2±7     | 0.3  |
| 配列 22 (LNCOV-14) | 54.4±8     | 0.24 |
| 配列 27 (LNCOV-27) | 62.1±10    | 0.21 |
| 配列 28 (LNCOV-20) | 34.6±7     | 0.18 |
| 配列 32 (LNCOV-21) | 58.2±9     | 0.17 |
| 配列 33 (LNCOV-18) | 45.9±10    | 0.24 |
| 配列 35 (LNCOV-26) | 44±10      | 0.22 |
| 配列 37 (LNCOV-29) | 59.2±14    | 0.24 |
| 配列 38 (LNCOV-30) | 39±10      | 0.25 |
| 配列 39 (LNCOV-31) | 48.5±5     | 0.29 |
| 配列 40 (LNCOV-32) | 54.5±14    | 0.31 |

10

20

## 【0366】

30

表 8 に示されるように、ADGN-106 は、配列 23 / 配列 39 / 配列 40 を除いて、約 35 ~ 50 nm の平均直径及び 0.2 ~ 0.25 の多分散指数 (PI) を有する安定した複合体を異なるペプチドと形成する。これに対して、配列 1 ~ 11 及び配列 24 ~ 26 に対応するペプチドでは、ADGN-106 または ADGN-100 の存在下で複合体は検出されず、阻害ペプチドの構造的編成及びサイズが複合体形成に重要であることを示唆した。

## 【0367】

実施例 6. ACE2 : SARS-CoV-2 スパイク相互作用のペプチドベースナノ粒子による阻害

ACE2 : SARS-CoV-2 スパイク相互作用を遮断する異なるペプチド阻害剤 / ADGN-106 複合体の効力を、SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 及び ACE2 : SARS-CoV-2 スパイク Inhibitor Screening Assay Kit (DBS Bioscience) の両方を使用してインビトロで評価した。結果は、3 回の別々の実験の平均に相当し、図 3 B、図 4 B 及び表 7 に示す。

40

## 【0368】

図 3 A ~ 3 B、図 4 A ~ 4 B 及び表 7 に示されるように、ADGN-106 ナノ粒子内の異なるペプチドの結合は、SARS-CoV-2 スパイク : ACE2 相互作用を遮断する効力を有意に改善している。

## 【0369】

A. ACE2 : SARS-CoV-2 スパイク相互作用

50

SBP-1コントロール配列はADGN-106とナノ粒子の形で複合体を形成させた場合、 $IC_{50} = 163.4 \pm 29 \text{ nM}$ でACE2：スパイク阻害を妨げ、SBP-1は $IC_{50} = 24.5 \pm 2 \text{ nM}$ でADGN-106に共有結合した（配列32）。

【0370】

ペプチド配列17、19、20、21、27、28、39、40は、ナノ粒子の形でADGN-106と複合体を形成させた場合、SARS-CoV-2スパイク：ACE2相互作用を $IC_{50} < 10 \text{ nM}$ で阻害した。最高の阻害は、 $IC_{50}$ 値が $3.4 \pm 0.2$ 、 $3.7 \pm 0.5$ 、 $5.2 \pm 0.4$ 、 $1.8 \pm 0.8$ 、及び $2.7 \pm 0.7 \text{ nM}$ である配列17、20、27、28で得られ、SBP-1ペプチド／ADGN-106複合体及びSBP-1-ADGN-106／ADGN-106複合体よりも40～6倍高い効力である。

10

【0371】

B. SARS-CoV-2スパイク：ACE2相互作用

SBP-1コントロール配列はADGN-106とナノ粒子の形で複合体を形成させた場合、 $IC_{50} = 87.5 \pm 15 \text{ nM}$ でACE2：スパイク阻害を妨げ、SBP-1は $IC_{50} = 7.2 \pm 4 \text{ nM}$ でADGN-106に共有結合した（配列32）。

【0372】

ペプチド配列17／27／28／33／39／40は、ナノ粒子の形でADGN-106と複合体を形成させた場合、SARS-CoV-2スパイク：ACE2相互作用を $IC_{50} < 5 \text{ nM}$ で阻害した。最高の阻害は、 $IC_{50}$ 値が $2.7 \pm 0.1$ 、 $1.1 \pm 0.5$ 、 $2.1 \pm 0.4$ 、及び $1.2 \pm 0.4 \text{ nM}$ である配列17／27／28／33で得られ、SBP-1ペプチド／ADGN-106複合体及びSBP-1-ADGN-106／ADGN-106複合体よりも35～4倍高い効力である。

20

30

40

50

## 【表 9】

表 9：ペプチドのナノ粒子形態の結果

|                  | SARS-CoV-2 スパイク:ACE2  | ACE2:SARS-CoV-2 スパイク  |
|------------------|-----------------------|-----------------------|
| コード配列            | IC <sub>50</sub> (nM) | IC <sub>50</sub> (nM) |
| 配列 12 (LNCOV-10) | 45.4                  | 268.5                 |
| 配列 17 (LNCOV-15) | 3.4                   | 2.7                   |
| 配列 19 (LNCOV-23) | 7.8                   | 132.5                 |
| 配列 20 (LNCOV-24) | 3.7                   | 8.7                   |
| 配列 21 (LNCOV-13) | 5.2                   | 11.2                  |
| 配列 22 (LNCOV-14) | 78.2                  | 7.2                   |
| 配列 23 (SBP-1)    | 163.4                 | 87.5                  |
| 配列 27 (LNCOV-27) | 1.8                   | 1.1                   |
| 配列 28 (LNCOV-20) | 2.7                   | 2.1                   |
| 配列 32 (LNCOV-21) | 24.5                  | 7.2                   |
| 配列 33 (LNCOV-18) | 27.6                  | 1.2                   |
| 配列 35 (LNCOV-26) | 217.2                 | 55.4                  |
| 配列 38 (LNCOV-30) | 91.4                  | 49.7                  |
| 配列 39 (LNCOV-31) | 3.7                   | 2.4                   |
| 配列 40 (LNCOV-32) | 2.1                   | 3.4                   |

## 【0373】

驚くべきことに、これらの結果はナノ粒子としての異なるペプチドのADGN-106との結合は、SARS-CoV-2 スパイク:ACE2 相互作用を遮断するそれらの効力を有意に向上させることを示唆している。表9を参照されたい。ADGN-106と異なるペプチドとの安定したナノ粒子の形成により、阻害ドメインの濃度が局所的に増加し、効果が高まるものと考えられる。

## 【0374】

結論として、ACE2:SARS-CoV-2 スパイクの相互作用を遮断する最良の候補は以下に相当する。

ADGN-106と共有結合させたβ6-α5ループに相当する環状ペプチド（配列20及び配列21）、

ADGN-106と共有結合させたβ5-β6ループに相当する環状ペプチド（配列17）、

ADGN-106と結合された、または結合されていないACE2のα1及びα2ヘリックスに由来するペプチド（配列27、28、39、40）、

ADGN-106と共有結合させたACE2のα1ヘリックスに由来するペプチド（配列33）。

## 【0375】

実施例7．SARS-CoV-2 ウイルス感染のペプチド阻害剤のスクリーニング

SARS-CoV-2ウイルス感染に対する異なるペプチド（ナノ粒子形態ではない）の影響をVero E6細胞で評価した。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。ペプチド溶液をDMSO／水（2％）中で調製し、5mMのストック液から希釈した。0.5μMの単一濃度のペプチドを使用してスクリーニングを行った。ペプチドをSARS-CoV-2（MOI 0.01）と30分間混合した後、単層Vero-E6細胞に加えた。感染から72時間後、プレートを固定、染色し、分析した。これと並行して、非感染細胞を使用し、CellTiter-Gloアッセイ（Promega）を使用して、異なるペプチドのみの細胞毒性をモニタリングした。

【0376】

結果を表10に示す。

【表10】

10

表10

|                  | LNCOV |       |
|------------------|-------|-------|
|                  | 残留感染  | 細胞生存率 |
| コード配列            | (%)   | (%)   |
| Seq15 (LNCOV-22) | 100   | 95    |
| 配列 17 (LNCOV-15) | 20    | 85    |
| 配列 19 (LNCOV-23) | 90    | 87    |
| 配列 20 (LNCOV-24) | 65    | 91    |
| 配列 21 (LNCOV-13) | 79    | 78    |
| 配列 22 (LNCOV-14) | 40    | 87    |
| 配列 28 (LNCOV-20) | 10    | 78    |
| 配列 32 (LNCOV-21) | 70    | 81    |
| 配列 33 (LNCOV-18) | 15    | 94    |
| 配列 34 (LNCOV-25) | 100   | 98    |
| 配列 38 (LNCOV-30) | 80    | 68    |
| ADGN-106         | 80    | 84    |

20

30

【0377】

表10に示されるように、0.5μMの濃度でペプチド配列17、20、22、28、及び33はウイルス感染の阻害を示す。配列17、28、及び33はウイルス感染を80％以上、配列22は60％減少させ、細胞毒性は極めて低い。そこで、感染の阻害に関する完全なIC50情報を得るためにペプチド配列17、22、28、及び33を、SARS-CoV-2ウイルスの感染力及び複製についてさらに評価した。

40

【0378】

感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。ペプチド溶液をDMSO／水（2％）中で調製し、5mMのストック液から希釈した。異なる希釈濃度を有するペプチドを、ウイルス感染の直前に単層Vero-E6細胞に直接加えるか、またはSARS-CoV-2と30分間混合してから単層Vero-E6細胞に加えた。ADGN-106、ヒドロキシクロロキン、及びバッファーをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。CellTiter-Gloアッセイ（Promega）を使用してVero-6、H1299及びHEPG2細胞に対する異なるペプチドの細胞毒性を分析した。

【0379】

50

結果を表 1 1 に示す。

【表 1 1】

表 1 1 .

| 化合物              | P-IC <sub>50</sub> (nM) | D-IC <sub>50</sub> (nM) | TD <sub>50</sub> (μ M) |
|------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| 配列 22 (LNCOV-14) | 145.2 ± 25              | 124.5 ± 17              | 358 ± 27               |
| 配列 17 (LNCOV-15) | 57.2 ± 12               | 21.5 ± 12               | 340 ± 28               |
| 配列 33 (LNCOV-18) | 12.2 ± 5                | 21.7 ± 8                | 510 ± 31               |
| 配列 28 (LNCOV-20) | 17.7 ± 9                | 34.5 ± 11               | 290 ± 51               |
| ADGN-106         | 6800 ± 1200             | 5450 ± 956              | 356 ± 64               |
| ヒドロキシクロロキン       | 4700 ± 523              | 4400 ± 215              | 190 ± 28               |

10

\*P-IC<sub>50</sub>値は、SARS-CoV-2/ペプチドを感染前にプレインキュベートした時点で得た。

\*D-IC<sub>50</sub>値は、ペプチドを直接 Vero 6 細胞に適用した時点で得た。

20

### 【 0 3 8 0 】

図 5 A、5 C 及び表 1 1 に示されるように、4 つのペプチドはいずれも、ナノモル範囲の IC<sub>50</sub> で SARS-CoV-2 ウイルス感染に対して強力な阻害活性を示した。配列 1 7 及び配列 2 2 は、それぞれ 2 1 . 5 ± 1 2 n M 及び 1 2 4 . 5 ± 1 4 n M の IC<sub>50</sub> を示した。配列 2 8 及び配列 3 3 は、それぞれ 3 4 . 5 ± 1 1 n M 及び 2 1 . 7 ± 8 n M の IC<sub>50</sub> を示した。感染前に SARS-CoV-2 とプレインキュベートすることにより、配列 2 8 及び配列 3 3 の効力が 2 倍増加したが、このことは、これらのペプチドがスパイクタンパク質と相互作用し、したがってウイルスと直接相互作用するという事実と一致している。これに対して、プレインキュベーションは配列 2 2 の効力には影響せず、配列 1 7 の抗ウイルス活性を 2 倍減少させた。ADGN-106 単独では、IC<sub>50</sub> = 5 . 5 ~ 6 . 8 μ M と弱い抗ウイルス活性を示した。

30

### 【 0 3 8 1 】

すべてのペプチドが、非感染細胞に対して比較的低い細胞毒性を示し、300 ~ 500 μ M の範囲の TD<sub>50</sub> 値を示した。図 5 B 及び 5 D を参照されたい。

### 【 0 3 8 2 】

配列 1 7 / 2 8 / 3 3 は、SARS-CoV-2 感染の極めて強力な阻害剤を構成し、硫酸ヒドロキシクロロキン (IC<sub>50</sub> = 4 . 4 ± 0 . 2 1 5 μ M) よりも 2 5 0 倍強い抗 SARS-CoV-2 活性を示している。

### 【 0 3 8 3 】

実施例 8 . SARS-CoV-2 のヌクレオカプシドを標的とする siRNA の選択

SARS-CoV-2 ヌクレオカプシド遺伝子を標的とする 10 種類の siRNA を選択した (表 1 2) 。

40

## 【表 1 2】

表 1 2

| s i R<br>NA | 位置   | 配列                                | IC50(nM) |
|-------------|------|-----------------------------------|----------|
| DIVC-1      | 400  | GCAACTGAGGGAGCCTTGAAT (配列番号 161)  | >500     |
| DIVC-2      | 862  | GACCAGGAACTAATCAGACAA (配列番号 162)  | >500     |
| DIVC-3      | 206  | GACAAGGCGTTCCAATTAACA (配列番号 163)  | 11.4     |
| DIVC-4      | 359  | GACTTCCCTATGGTGCTAACA (配列番号 164)  | 254      |
| DIVC-5      | 1122 | GGCTGATGAAACTCAAGCCTT (配列番号 165)  | >500     |
| DIVC-6      | 727  | GGCCAAACTGTCAC TAAGAAA (配列番号 166) | 8.7      |
| DIVC-7      | 824  | GCAGACGTGGTCCAGAACAAA (配列番号 167)  | 147      |
| DIVC-8      | 544  | GCCTCTTCTCGTTCCTCATCA (配列番号 168)  | 27.3     |
| DIVC-9      | 1063 | AAGCATATTGACGCATACAAA (配列番号 169)  | 394.2    |
| DIVC-10     | 1221 | GCAACAATCCATGAGCAGTGC (配列番号 170)  | 28.4     |

10

20

## 【0384】

これらのs i R N Aを、e G F P - S A R S - C o V - 2のヌクレオカプシドを発現するH1299肺上皮細胞で評価した。H1299肺上皮細胞に、e G F Pでタグ付けされたS A R S - C O V - 2ヌクレオカプシドをコードするp c D N A 3 . 1 ( + ) - N - e G F P - N Pプラスミド ( G e n s c r i p t 参照番号M C - 0 1 0 1 1 3 7 ) をトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比1 / 20でA D G N - 1 0 0と複合体化したs i R N A ( 1 n M ~ 2 0 0 n M ) で処理した。e G F Pを標的とするs i R N A及びs c r - s i R N Aを、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。ヌクレオカプシド-e G F Pタンパク質のレベルをトランスフェクションから48時間後にE l i s a ( A b c a m ) により評価し、G l o w M a x ( P r o m e g a ) でC e l l T i t e r G l o wキットを使用して毒性を測定した。結果を図6 A ~ 6 B、及び表1 2に示す。

30

## 【0385】

図6 Aに示されるように、e G F Pを標的とするs i R N Aは、 $I C_{50} = 4.5 \pm 2$  n Mでe G F Pサイレンシングを誘導した。4つのs i R N A ( D I V C - 6 / D I V C - 3 / D I V C - 8 / D I V C - 1 0 ) は、低ナノモル濃度でN Cサイレンシングを誘導した。最良のサイレンシング応答は、D I V C - 6及びD I V C - 3でそれぞれ $I C_{50} = 8.7 \pm 2$  n M及び $11.4 \pm 5$  n Mで得られた。s i R N Aに関連する顕著な毒性は観察されなかった。図6 Bを参照されたい。

40

## 【0386】

実施例9. S A R S - C o V - 2のO R F 3 A遺伝子を標的とするs i R N Aの選択

S A R S - C o V - 2のO R F 3 A遺伝子を標的とする5種類の異なるs i R N Aを選択した (表1 3)。

50

【表 13】

表 13

| s i R<br>NA | 位置  | 配列                                | IC <sub>50</sub> (nM) |
|-------------|-----|-----------------------------------|-----------------------|
| DIVC-31     | 52  | GGTGAAATCAAGGATGCTACT (配列番号 171)  | 18.4 ± 2              |
| DIVC-32     | 485 | GTGTAACCTTCTTCAATTGTCA (配列番号 172) | 95.1 ± 7              |
| DIVC-33     | 527 | CAAGTCCTATTTCTGAACATG (配列番号 173)  | 57.2 ± 12             |
| DIVC-34     | 676 | GAACATGTTACCTTCTTCATC (配列番号 174)  | 12.3 ± 1              |
| DIVC-35     | 366 | TGCAGAGTATAAACTTTGTAA (配列番号 175)  | 125 ± 11              |

10

20

## 【0387】

これらの s i RNA を、e G F P - S A R S - C o V - 2 の O R F 3 A 遺伝子を発現する H 1 2 9 9 肺上皮細胞で評価した。H 1 2 9 9 肺上皮細胞に、e G F P でタグ付けされた S A R S - C O V - 2 O R F 3 A をコードする p c D N A 3 . 1 ( + ) - N - e G F P - O R F 3 a プラスミド ( G e n s c r i p t 参照番号 M C - 0 1 0 1 1 3 7 ) をトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比 1 / 2 0 で A D G N - 1 0 0 と複合体化した s i RNA ( 1 n M ~ 2 0 0 n M ) で処理した。e G F P を標的とする s i RNA 及び s c r - s i RNA を、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。O R F 3 a - e G F P タンパク質のレベルをトランスフェクションから 4 8 時間後に E l i s a ( A b c a m ) により評価し、G l o w M a x ( P r o m e g a ) で C e l l T i t e r G l o w キットを使用して毒性を測定した。結果を図 7 A 及び 7 B 、ならびに表 13 に示す。

30

## 【0388】

図 7 A に示されるように、e G F P を標的とする s i RNA は、 $4.5 \pm 2$  n M の I C <sub>50</sub> で e G F P サイレncing を誘導した。

## 【0389】

D I V C - 3 1 及び D I V C - 3 4 s i RNA は、それぞれ I C <sub>50</sub> =  $18.4 \pm 2$  n M 及び  $12.3 \pm 1$  n M の低ナノモル濃度で O R F 3 a タンパク質のサイレンシングを誘導した。s i RNA に関連する顕著な毒性は観察されなかった。

## 【0390】

実施例 10. S A R S - C o V - 2 の O R F 8 遺伝子を標的とする s i RNA の選択

S A R S - C o V - 2 の O R F 8 遺伝子を標的とする 5 種類の s i RNA を選択した ( 表 14 ) 。

40

50

【表 1 4】

表 1 4

| s i R N A | 位置  | 配列                                | IC50(nM)   |
|-----------|-----|-----------------------------------|------------|
| DIVC-81   | 97  | GTTGATGACCCGTGTCCTATT (配列番号 176)  | >200       |
| DIVC-82   | 103 | GACCCGTGTCCTATTCCTTC (配列番号 177)   | 21.7 ± 7   |
| DIVC-83   | 184 | GTGGATGAGGCTGGTTCTAAA (配列番号 178)  | 15.4 ± 3   |
| DIVC-84   | 300 | GCGTTGTTCTGTTCTATGAAGA (配列番号 179) | 112.8 ± 15 |
| DIVC-85   | 110 | GTCCTATTCCTTCTATTCTA (配列番号 180)   | 10.8 ± 2   |

10

## 【0391】

これらの s i R N A を、e G F P - S A R S - C o V - 2 の O R F 8 遺伝子を発現する H 1 2 9 9 肺上皮細胞で評価した。H 1 2 9 9 肺上皮細胞に、e G F P でタグ付けされた S A R S - C O V - 2 O R F 8 をコードする p c D N A 3 . 1 ( + ) - N - e G F P - O R F 8 プラスミド ( G e n s c r i p t 参照番号 M C - 0 1 0 1 1 3 7 ) をトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比 1 / 2 0 で A D G N - 1 0 0 と複合体化した s i R N A ( 1 n M ~ 2 0 0 n M ) で処理した。e G F P を標的とする s i R N A 及び s c r - s i R N A を、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。O R F 8 - e G F P タンパク質のレベルをトランスフェクションから 4 8 時間後に E l i s a ( A b c a m ) により評価し、G l o w M a x ( P r o m e g a ) で C e l l T i t e r G l o w キットを使用して毒性を測定した。結果を図 8 A ~ 8 B、及び表 1 4 に示す。

20

## 【0392】

図 8 A に示されるように、D I V C - 8 2、D I V C - 8 3 及び D I V C - 8 5 s i R N A は、それぞれ  $I C_{50} = 21.7 \pm 7 \text{ nM}$ 、 $15.4 \pm 3 \text{ nM}$ 、及び  $10.8 \pm 2 \text{ nM}$  で O R F 8 a タンパク質のサイレンシングを誘導した。s i R N A に関連する顕著な毒性は観察されなかった。

30

## 【0393】

実施例 11. S A R S - C o V - 2 ウイルス感染の s i R N A のスクリーニング

S A R S - C o V - 2 ウイルス感染に対する s i R N A の影響を V e r o E 6 細胞で評価した。感染の 1 日前に細胞を 9 6 ウェルに播種した。s i R N A ( D I V C - 3、D I V C - 6、D I V C - 8、D I V C - 3 4 及び / または D I V C - 8 5 ) を、モル比 1 / 2 0 で A D G N - 1 0 0 と複合体を形成させた。異なる希釈濃度の s i R N A / A D G N - 1 0 0 複合体を、ウイルス感染の直前に単層の V e r o - E 6 細胞に直接加えた。A D G N - 1 0 0、及びバッファーをコントロールとして使用し、すべての処理を 3 重に行った。C e l l T i t e r - G l o アッセイ ( P r o m e g a ) を使用して V e r o - 6 細胞に対する異なる s i R N A / A D G N - 1 0 0 複合体の細胞毒性を分析した。

40

## 【0394】

結果を図 9 A ~ 9 B、及び表 1 5 に示す。

## 【0395】

50

【表 15】

表 15.

| SIRNA    | IC <sub>50</sub> (nM) | TD <sub>50</sub> (μM) |
|----------|-----------------------|-----------------------|
| DIVC-3   | 84 ± 14               | 452 ± 20              |
| DIVC-6   | 68 ± 12               | 652 ± 24              |
| DIVC-8   | 117 ± 8               | 548 ± 25              |
| DIVC-34  | 1450 ± 11             | 589 ± 17              |
| DIVC-85  | 1221 ± 18             | 248 ± 35              |
| AGDN-100 | 7500 ± 523            | 368 ± 18              |

10

## 【0396】

図9及び表15に示されるように、SARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするsiRNA（DIVC-3、DIVC-6及びDIVC-8）は、ナノモル範囲のIC<sub>50</sub>でSARS-CoV2ウイルス感染に対して強力な阻害活性を示した。DIVC-3及びDIVC-6は、それぞれIC<sub>50</sub> = 84 ± 14 nM及び68 ± 12 nMを示している。これに対してSARS-CoV-2のORF8（DIVC-85）またはORF3A（DIVC-34）を標的とするsiRNAは、IC<sub>50</sub> = 約1 μMで中程度の抗ウイルス活性を示した。ADGN-100単独では、IC<sub>50</sub> = 7.5 μMと弱い抗ウイルス活性を示した。これらのデータは、ORF3A及びORF8タンパク質とは対照的に、ヌクレオカプシドがウイルス産生に不可欠であることを示唆するものである。

20

## 【0397】

すべてのsiRNA / ADGN-100複合体が、非感染細胞に対して比較的低い細胞毒性を示し、300 ~ 600 μMの範囲のTD<sub>50</sub>値を示した。

## 【0398】

SARS-CoV-2のヌクレオカプシド遺伝子を標的とするDIVC-6 siRNAは、SARS-CoV-2感染の極めて強力な阻害剤を構成し、硫酸ヒドロキシクロキニン（IC<sub>50</sub> 4.4 ± 0.215 μM）よりも64倍強い抗SARS-CoV-2活性を示している。

30

## 【0399】

実施例12. SARS-CoV2ウイルス感染に対するsiRNAとペプチド阻害剤の組み合わせの影響

本発明者らは、SARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするDIVC-6 siRNAである配列17（LNCOV-15）及び33（LNCOV-18）が、SARS-CoV-2感染の極めて強力な阻害剤を構成することを実証した。次に、SARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするsiRNAと、SARS-CoV2:ACE2受容体のペプチド阻害剤を組み合わせることによるウイルス複製への影響を評価した。

40

## 【0400】

SARS-CoV-2ウイルス感染に対するsiRNA / ペプチド阻害剤の組み合わせの影響をVero E6細胞で評価した。感染の1日前に細胞を96ウェルに播種した。DIVC-6 siRNAを、モル比1 / 20でADGN-100と複合体を形成させた。異なる希釈濃度のsiRNA / ADGN-100複合体及び配列17または配列33を、ウイルス感染の直前に単層のVero-E6細胞に直接加えた。ADGN-100、及びバッファをコントロールとして使用し、すべての処理を3重に行った。

## 【0401】

結果を図10及び表16に示す。

50

【0402】

【表16】

表16.

| 処置              | IC <sub>50</sub> (nM) |
|-----------------|-----------------------|
| DIVC-6/ADGN-100 | 68 ± 12               |
| LNCOV-15        | 27.5 ± 11             |
| LNCOV-18        | 22.9 ± 8              |
| DIVC-6/LNCOV-15 | 8.4 ± 8               |
| DIV6/LNCOV-18   | 11.2 ± 4              |

10

20

【0403】

図10及び表16に示されるように、LNCOV-15またはLNCOV-18ペプチドを、SARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするDIVC-3 siRNAと組み合わせることで、遊離ペプチドの効力が2～3倍、DIVC-6 siRNAペプチドの効力が6倍向上し、DIVC-6/LNCOV-15及びDIVC-6/LNCOV-18の組み合わせで、それぞれIC<sub>50</sub> = 8.4 ± 8 nM及び11.2 ± 4 nMであった。これらの結果は、siRNAを阻害剤ペプチドと組み合わせることで、細胞への侵入と複製を含むウイルス複製における2つの異なる段階を標的化できることを実証するものである。

30

【0404】

実施例13. LNCOV-15及びLNCOV-18は、培養細胞におけるsiRNAの送達を促進する。

LNCOV-15及びLNCOV-18が培養細胞におけるsiRNA送達を促進する効力は、SARS-CoV-2ヌクレオカプシドを標的とするsiRNAを使用して評価されている。

【0405】

siRNA DIVC-6を、eGFP-SARS-CoV-2のヌクレオカプシドを発現するH1299肺上皮細胞で評価した。H1299肺上皮細胞に、eGFPでタグ付けされたSARS-CoV-2ヌクレオカプシドをコードするpcDNA3.1(+)-N-eGFP-NPプラスミド(Genscript参照番号MC-0101137)をトランスフェクトした。次いで、細胞を、モル比1/20でADGN-100、LNCOV-15、及びLNCOV-18と複合体化したsiRNA(1 nM～200 nM)で処理した。scr-siRNAを、それぞれポジティブコントロール及びネガティブコントロールとして使用した。ヌクレオカプシド-eGFPタンパク質のレベルをトランスフェクションから48時間後にElisa(Abcam)により評価し、GlowMax(Promega)でCellTiter Glowキットを使用して毒性を測定した。結果を表11Aに示す。

40

【0406】

図11Aに示されるように、LNCOV-15及びLNCOV-18は、培養細胞にお

50

ける s i R N A 送達を促進し、低ナノモル濃度で N C サイレンシングのサイレンシングをもたらしている。L N C O V - 1 5 及び L N C O V - 1 8 と複合体を形成させた場合、それぞれ  $I C_{50} = 11 \pm 4 \text{ nM}$  及び  $8.7 \pm 2 \text{ nM}$  で、D I V C - 6 s i R N A に関連するサイレンシング応答が得られた。これらの結果は A D G N - 1 0 0 で得られたものと同様であり、L N C O V ペプチドが強力な s i R N A 送達ベクターであり、s i R N A の送達とウイルスの細胞への侵入の阻止の両方の目的で利用できることを示唆するものである。

#### 【0407】

実施例 14：ペプチド阻害剤を使用した A C E 2：S A R S - C o V - 2 スパイクバリエント相互作用の阻害。

ここ数カ月で、S A R S - C o V - 2 ウイルスのいくつかの新たな変異株が出現した。英国変異株 B.1.1.7、ブラジル変異株 P.1、南アフリカ変異株 B.1.351、及び最新のインド変異株 B.1.617 は、感染率が高いため特に懸念されている。スパイクタンパク質の R B D ドメインで特定された変異のサブセットが複数の株で生じており、伝染性、感染力を高め、免疫回避能力を高める可能性があることが報告されている。

#### 【0408】

A C E 2 と S A R S - C o V - 2 スパイクバリエントとの相互作用を遮断するリードペプチド配列 17 (L N - C O V - 1 5)、配列 28 (L N - C O V - 2 0) 及び配列 33 (L N - C O V - 1 8) の効力を、Inhibitor Screening Assay Kit (D B S B i o s c i e n c e) を使用してインビトロで評価した。アルファ (B1.1.7/英国)、ベータ (B1.351/南アフリカ)、ガンマ (P1/ブラジル)、デルタ (B1.617.2/インド) 及びイプシロン (B1.429) 変異株を含む、主要な変異を有する 5 つの異なる S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質バリエントでペプチド阻害を評価した (表 17)。R B D 及びスパイクタンパク質バリエントは、S i n o B i o l o g i c a l (米国) より入手した。

#### 【0409】

#### 【表 17】

表 17

| 変異株         | 系統              | スパイク変異                                                            |
|-------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------|
| アルファ (英国)   | B117            | H69-V70 欠失, N501Y, D614G                                          |
| ベータ (南アフリカ) | B15351          | K417N, E484K, N501Y, D614G                                        |
| ガンマ (ブラジル)  | P1              | L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y |
| デルタ (インド)   | B1.6.1.7.2      | T19R, G142D, E156G, L452R, T478K, D614G, P681R                    |
| イプシロン (米国)  | B.1.429/B.1.427 | S13I, W152C, L452R, D614G                                         |

#### 【0410】

ペプチドの評価は 96 ウェルフォーマットで行った。A C E 2 タンパク質をニッケル被覆 96 ウェルプレートに付着させ、次いでゆっくりと振盪しながらペプチド阻害剤溶液と室温で 30 分間、インキュベートした。最後に、異なる S A R S - C o V - 2 スパイク R F c を、ペプチド阻害剤溶液の存在下でプレート上の A C E 2 に加え、ゆっくりと振盪しながら室温で 1 時間、インキュベートした。各プレートを抗 R F c - H R P で処理した後、

H R P 基質を加えて化学発光を発生させ、化学発光リーダーを使用して分析した。結果は、3回の別々の実験の平均に相当し、図12A～12E及び表18に示す。

【0411】

【表18】

表18.

| ペプチド             | SARS-COV2 | アルファ (B117) | ベータ (B1312) | ガンマ (P1)  | デルタ (B1617) | イプシロン (B1429) |
|------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|-------------|---------------|
| 配列 17 (LNCOV-15) | 78.2±14nM | 135.5±21nM  | 75.2±21nM   | 87.2±20nM | 48.2±11nM   | 94.7±17nM     |
| 配列 28(LNCOV-20)  | 38.6±11nM | 24.6±11nM   | 31.5±05nM   | 41.7±11nM | 29.2±11nM   | 28.8±07nM     |
| 配列 33 (LNCOV-18) | 18.4±11nM | 17.8±09nM   | 28.8±10nM   | 20.2±05nM | 25.7±08nM   | 31.4±09nM     |

10

20

【0412】

図12A～12Eに示されるように、各リードペプチドは、ACE2と異なるSARS-CoV-2スパイクバリエントとの相互作用を遮断している。いずれの場合も、IC50値は、SARS-CoV-2の原株で得られたものと同様である。

【0413】

配列28及び配列33ペプチドは、使用したスパイクバリエントに関係なくIC50=50nM未満であり、最も効率的である。配列28及び配列33ペプチドはスパイクタンパク質を直接標的とし、ACE2との界面について競合した。このACE2／スパイク界面には、残基N501、E484、L452、及びK417が含まれており、ACE2に対する親和性が高い異なるバリエントで変異している。

30

【0414】

変異L452R（デルタ及びイプシロン変異株）は、免疫回避及び高い伝染性との関連が示されている。この変異は、配列28及び配列33の直接の標的となる。

【0415】

E484残基の変異は、ウイルスの感染力を高め、ACE2との相互作用を強化することが報告されている。このE484K（Pガンマ及びベータ変異株）及びE484Q（デルタ変異株）変異は、同じスパイク／ACE2界面について競合する配列17の直接の標的となる。

40

【0416】

実施例15：SARS-CoV-2変異株ウイルス感染に対するペプチド阻害剤の評価

SARS-CoV-2変異株ウイルスの感染力及び複製を遮断するリードペプチド配列17（LNCOV-15）、配列28（LNCOV-20）、及び配列33（LNCOV-18）の効力をさらに評価した。

【0417】

抗ウイルスアッセイを、2%FBS（Eurobio-Scientific）及び1%ペニシリン-ストレプトマイシン溶液（P0781；Sigma Aldrich）を添加したDMEM高グルコース培地（D6429；Sigma Aldrich）中のVeroE6細胞で行った。配列17、配列28、または配列33のペプチド（10nM～

50

1  $\mu$ M の範囲の濃度) または 6  $\mu$ M のレムデシビル (ポジティブコントロール、RMD) を含む培地、または抗ウイルス分子を含まない培地 (ネガティブコントロール、「T-」) 中で 1 時間インキュベートすることにより、SARS-CoV-2 変異株 (アルファ/ベータ/デルタ) に MOI 0.001 で 3 重に感染させた。ペプチド溶液を DMSO/水 (2%) 中で調製し、5 mM のストック液から希釈した。感染の 1 時間後に接種材料を除去し、細胞を PBS で 1 回洗浄した後、前に示した濃度の新しい培地を加えた。上清を感染の 24 時間後に回収し、Vero E6 細胞で TCID<sub>50</sub> 法によってウイルス力価を測定し、Spearman & Kaerber アルゴリズムによって計算した。結果を図 13A~13C、及び表 19 に示す。

【0418】

【表 19】

10

表 19.

| ペプチド             | SARS-COV2        | アルファ (B117)       | ベータ (B1312)       | デルタ (B1617)      |
|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| 配列 17 (LNCOV-15) | 31.5 $\pm$ 12 nM | 125.2 $\pm$ 24 nM | 118.2 $\pm$ 15 nM | 25.7 $\pm$ 10 nM |
| 配列 28 (LNCOV-20) | 34.5 $\pm$ 11 nM | 28.4 $\pm$ 09 nM  | 57.5 $\pm$ 11 nM  | 18.2 $\pm$ 11 nM |
| 配列 33 (LNCOV-18) | 21.7 $\pm$ 8 nM  | 48.2 $\pm$ 15 nM  | 47.2 $\pm$ 14 nM  | 32.2 $\pm$ 09 nM |

20

【0419】

図 13A~13C 及び表 19 に示されるように、3 つのペプチドはいずれも、すべての SARS-CoV-2 変異株ウイルスに対して強力な阻害活性を示し、試験した最大濃度 (500 nM) で 99.99% を上回るウイルス阻害率を実現した。アルファ/ベータ及びデルタ変異株では、配列 28 及び配列 33 で得られた IC<sub>50</sub> 値は、SARS-CoV-2 の原株で得られた値と同様である。配列 17 は、アルファ及びベータ変異株に対する効果がそれぞれ 3~4 倍低くなっている。

30

【0420】

配列 28 及び配列 33 は、すべての SARS-CoV-2 変異株感染の極めて強力な阻害剤を構成し、レムデシビルよりも 200 倍強い抗 SARS-CoV-2 活性を示している。

【0421】

実施例 16. SARS-CoV-2 ウイルス変異株の感染に対する siRNA とペプチド阻害剤の組み合わせの影響

40

本発明者らは、SARS-CoV-2 ヌクレオカプシド遺伝子を標的とする DIVC-6 siRNA である配列 17 (LNCOV-15)、配列 28 (LNCOV-20) 及び 33 (LNCOV-18) が、SARS-CoV-2 感染の極めて強力な阻害剤を構成することを実証した。本発明者らは、SARS-CoV-2 ヌクレオカプシド遺伝子を標的とする siRNA と、SARS-CoV-2 ACE2 受容体のペプチド阻害剤を組み合わせることによる SARS-CoV-2 アルファ、ベータ、及びデルタ変異株の複製への影響を評価した。

【0422】

SARS-CoV-2 ウイルス感染に対する siRNA/ペプチド阻害剤の組み合わせの影響を Vero E6 細胞で評価した。感染の 1 日前に細胞を 96 ウェルに播種した。

50

DIVC-6 siRNAを、ADGN-100、配列17、配列28、または配列33とモル比1/20で複合体化した。異なる希釈濃度のsiRNA/ペプチド複合体及び配列17、配列28、及び配列33を、ウイルス感染の直前に単層のVero-E6細胞に直接加えた。6  $\mu$ Mのレムデシビル（ポジティブコントロール、RMD）、または抗ウイルス分子なし（ネガティブコントロール、「T-」）をコントロールとして使用し、すべての処置を3重で行った。

【0423】

結果を図14A～14C、及び表19に示す。

【0424】

【表20】

10

表19.

| 化合物              | SARS-COV2<br>IC <sub>50</sub> (nM) | アルファ<br>(B117)<br>IC <sub>50</sub> (nM) | ベータ (B1312)<br>IC <sub>50</sub> (nM) | デルタ (B1617)<br>IC <sub>50</sub> (nM) |
|------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| DIVC-6           | 68 + 12                            | 84.5 + 10                               | 58.5 + 11                            | 91.3 + 15                            |
| 配列 17 (LNCOV-15) | 31.5 ± 12                          | 125.2 ± 24                              | 118.2 ± 15                           | 25.7 ± 10                            |
| DIVC-6/配列 17     | 11.4 ± 4                           | 21.4 ± 5                                | 27.5 ± 10                            | 8.7 ± 5                              |
| 配列 28 (LNCOV-20) | 34.5 ± 10                          | 28.4 ± 09                               | 57.5 ± 11                            | 18.2 ± 11                            |
| DIVC-6/配列-28     | 16.8 ± 9                           | 6.5 ± 4                                 | 5.9 ± 3                              | 9.8 ± 5                              |
| 配列 33 (LNCOV-18) | 21.7 ± 8                           | 48.2 ± 15                               | 47.2 ± 14                            | 32.2 ± 09                            |
| DIVC-6/配列-33     | 17.5 ± 4                           | 11.8 ± 7                                | 5.7 ± 1                              | 6.9 ± 4                              |

20

30

【0425】

図14A～14Cに示されるように、DIVC-6 siRNAは、すべてのSARS-CoV2変異株ウイルスに対して強力な阻害活性を示した。DIVC-6が標的とする配列は、変異率が低く、試験した異なる変異株では影響を受けていないヌクレオカプシドのCTDドメインのN末端部分に位置していることから、このことは驚くには値しない。

【0426】

SARS-CoV-2の原株について報告されているように、配列17、配列28、及び配列33のペプチドを、SARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするDIVC-6 siRNAと組み合わせることで、遊離ペプチドの効力が2～3倍、DIVC-6 siRNAの効力が6～10倍向上した。

40

【0427】

これらの結果は、siRNAを阻害剤ペプチドと組み合わせることで、細胞への侵入と複製を含むウイルス複製における2つの異なる段階を標的化できることを実証するものである。

【0428】

実施例17. SARS-CoV2のペプチド阻害剤及びペプチド/siRNA複合体阻害剤の肺投与。

SARS-CoV-2ヌクレオカプシド遺伝子を標的とするDIVC-6 siRNAである配列17 (LNCOV-15) 及び配列33 (LNCOV-18) は、SARS-

50

C o V - 2 感染の極めて強力な阻害剤を構成する。S A R S - C o V - 2 は呼吸を介して肺組織に感染するため、本発明者らは、同じ経路を用いてペプチド阻害剤とペプチド／s i R N A 複合体を送達することを試みた。

#### 【0429】

肺の治療では、高い組織浸透性を得ることと、肺の深部に到達させることが重要である点を考慮して、本発明者らは、配列17 (L N C O V - 1 5)、配列33 (L N C O V - 1 8)、配列17／D I V C - 6 及び配列33／D I V C - 6 複合体の気管内注入を用いて肺への送達と分布を評価した。配列33 及び配列17 の体内分布をモニターするために、ペプチドのN末端をC y 5 . 5 色素で標識した。D I V C - 6 s i R N A の体内分布をモニターするために、s i R N A をC y - 5 . 5 で標識した。

10

#### 【0430】

インビボでの肺の体内分布試験を、健康な4週齢の雄C 5 7 B L / 6 J マウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド／s i R N A 複合体の単回用量を気管内注入 (200 μg) により投与した (表20)。非侵襲的なインビボ全身蛍光画像法により、蛍光を、T 0、注入の1時間、2時間、6時間、24時間、48時間、及び72時間後に評価した。I V I S キネティックシステム (P e r k i n E l m e r) で蛍光画像を取得し (e x : 640 ± 17 nm、e m : 680 ± 10 nm)、L i v i n g i m a g e ソフトウェア (C a l i p e r 2 D) を使用して蛍光画像から半定量的データを取得した。

#### 【0431】

#### 【表21】

20

表20

| 群 | マウス群        | 投与量/マウス            | 体積   | マウス/群 |
|---|-------------|--------------------|------|-------|
| 1 | コントロール      | 200μg<br>(10mg/kg) | 25μl | 6     |
| 2 | 配列17        | 200μg (10mg/kg)    | 25μl | 6     |
| 3 | 配列33        | 200μg (10 mg/kg)   | 25μl | 6     |
| 4 | 配列33/DIVC-6 | 200 μg (10 mg/Kg)  | 25μl | 6     |
| 5 | 配列17/DIVC-6 | 200 μg (10 mg/Kg)  | 25μl | 6     |

30

#### 【0432】

図15A～15Eに示されるように、マウスの気管内注入後、すべての化合物が肺で非常に強いシグナルを示し、投与後72時間まで高く維持されている。これに対して、遊離C y 5 . 5 色素では、シグナルは4時間後に検出されなかった。すべての化合物は、注射後24時間及び48時間で膀胱及び肝臓から速やかに排出されている。72時間後、肺のみがインビボで検出可能なシグナルを示している。

40

#### 【0433】

共焦点顕微鏡により、異なる化合物の肺分布のさらなる分析を行った。投与4時間、24時間および72時間後に肺を採取し、5%グルコース中の4%ホルムアルデヒドで固定した。組織をM i t o t r a c k e r r e d で染色し、核はH o e s c h で染色した。共焦点顕微鏡分析を図16A～16Bに示す。

#### 【0434】

4時間後、ペプチド及びペプチド／s i R N A 複合体のいずれもが主に細胞表面に蓄積した。蛍光シグナルがマクロファージ及び実質でもみられるが、いずれの化合物も核では

50

検出されなかった。

【0435】

24時間後、ペプチド及びペプチド／s i R N A複合体は同様の明るいシグナルを発し、マクロファージ及び細胞型1及び2に蓄積がみられた。これに対して、遊離Cy5.5色素ではシグナルは検出されず、異なる化合物の肺送達の特異性が確認された。

【0436】

72時間後、ペプチド及びペプチド／s i R N A複合体はいずれも、主に1／2型上皮細胞及びマクロファージの細胞質に位置している。

【0437】

これらの結果は、配列17及び配列33ペプチドが気管内投与された場合、1型及び2型肺上皮細胞を標的として肺組織に顕著に浸透できることを示唆している。図17に示されるように、すべての化合物が肺で72時間検出可能であるのに対して、遊離色素は24時間後にはほとんど検出されない。

【0438】

ペプチド及びペプチド／s i R N Aの両方が気管内注入後に細胞表面に蓄積したことは、これらがSARS-COV-2の初期感染を防ぐための優れた候補となることを実証するものである。

【0439】

実施例18. SARS-COV-2のペプチド阻害剤及びペプチド／s i R N A複合体阻害剤の肺及び肝臓毒性試験

配列17 (LNCOV-15)、配列33 (LNCOV-18)、配列17／DIVC-6及び配列33／DIVC-6複合体の肺及び肝臓毒性試験を、健康な4週齢の雄C57BL／6Jマウスで実施した。各ペプチドまたは各ペプチド／s i R N A複合体の単回用量を気管内注入(200μg)により投与した(表20)。生理食塩水をネガティブコントロールとして用いた。投与12、24、48及び72時間後に試料を採取した。

【0440】

気管内注入(0日目)の前、1日目、2日目、及び 殺前(3日目)にマウスの体重を記録した。肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳を3日目に採取し、臓器指数を測定した。図18A～18Gに示されるように、統計的データ分析によって、異なる群間で有意な体重変化及び臓器指数の変化がないことが示された。

【0441】

注入から2日後に気管支肺泡洗浄(BAL)を行った。BAL中の細胞の割合、総タンパク質、及びLDHのレベルを分析した。結果を、ネガティブコントロールとして使用した生理食塩水緩衝液と比較した。図19Aに示されるように、候補化合物とネガティブコントロールとの間に明らかな差は認められなかった。配列17及び配列33／DIVC6で処置したマウスでは、マクロファージのわずかな増加のみが検出された。統計的データ分析に基づくと、5つの群間でLDH及び総タンパク質アッセイに有意差は認められない(図19B～19C)。

【0442】

これらのデータは、ペプチド阻害剤による処置もペプチド／s i R N A複合体による処置も肺炎症を誘発せず、どちらの処置も十分に忍容されることを示すものである。

【0443】

血漿中のAST及びALTレベルを注入の2日後にアッセイした。統計的データ分析に基づくと、5つの群間でALTまたはASTアッセイに有意差は認められない(図20A～20B)。これらのデータは、ペプチド阻害剤もペプチド／s i R N A複合体も、肺への注入時に肝臓毒性を誘発しなかったことを示すものである。

【0444】

リードSARS-COV-2阻害剤である配列17、配列33、配列17／DIVC-6、及び配列33／DIVC6は、気管内投与時に忍容性が高く、処置に伴う肺及び肝臓への毒性はみられなかった。

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 1】

配列表

| 配列番号 | 説明       | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                            |
|------|----------|------------------------------------------------------------|
| 1.   | LNCOV-01 | SKVGGNYNYLYR                                               |
| 2.   | LNCOV-0  | KVGGNYNYL                                                  |
| 3.   | LNCOV-1  | GNYNLYRL                                                   |
| 4.   | LNCOV-2  | GGNYNYLYRLFRK                                              |
| 5.   | LNCOV-3  | STEYQAGST                                                  |
| 6.   | LNCOV-4  | CNGVEGFNC                                                  |
| 7.   | LNCOV-5  | VEGFNCYFP                                                  |
| 8.   | LNCOV-6  | YFPLQSYGFQPTNGVGYQ                                         |
| 9.   | LNCOV-7  | SYGFQPTNGV                                                 |
| 10.  | LNCOV-8  | GFQPTNGVK                                                  |
| 11.  | LNCOV-9  | TNGVGYQPY                                                  |
| 12.  | LNCOV-10 | Ac-S*KVGGNYNYLY*R-Ava/Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位 |
| 13.  | LNCOV-11 | Ac-K*VGGNYNYK*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位        |
| 14.  | LNCOV-12 | Ac-G*NYNYLYRL*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位        |
| 15.  | LNCOV-22 | Ac-G*NYNYLYRLFK*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位      |
| 16.  | LNCOV-17 | Ac-T*EYQAGSTK*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位        |
| 17.  | LNCOV-15 | Ac-N*GVEGFNK*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位         |
| 18.  | LNCOV-16 | Ac-V*EGFNCYF*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位         |
| 19.  | LNCOV-23 | Ac-YFPLQSYGFQPTNGVGYQ-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2          |
| 20.  | LNCOV-24 | Ac-S*YGFQPTNGV*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位       |
| 21.  | LNCOV-13 | Ac-G*FQPTNGVK*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位        |
| 22.  | LNCOV-14 | Ac-T*NGVGYQPYK*-Ava-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2<br>*環化部位       |
| 23.  | SBP-1    | Ac-IEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQS                                 |
| 24.  | LNCOV-19 | Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF                                      |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 2】

| 配列番号 | 説明       | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                       |
|------|----------|-----------------------------------------------------------------------|
| 25.  | LNCOV-33 | Ac-KTFLDKFNHEAEDLF                                                    |
| 26.  | LNCOV-34 | Ac-KTFLDKFNHEAEDLFYS                                                  |
| 27.  | LNCOV-27 | Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF-P-KWSAFLKEQSTLAQMYG                             |
| 28.  | LNCOV-20 | Ac-KTFLDKFNHEAEDLFPG-P-KWSAFLKEQSTLAQMYG                              |
| 29.  | LNCOV-35 | Ac-TAWDLGKGDFRI                                                       |
| 30.  | LNCOV-36 | Ac-NMTQGFWENSMLTD                                                     |
| 31.  | LNCOV-37 | Ac-NMTQGFWEN-PGGP-TAWDLGK                                             |
| 32.  | LNCOV-21 | Ac-IEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQS-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2                |
| 33.  | LNCOV-18 | Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2                     |
| 34.  | LNCOV-25 | Ac-KTFLDKFNHEAEDLF-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2                        |
| 35.  | LNCOV-26 | Ac-KTFLDKFNHEAEDLFYS-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2                      |
| 36.  | LNCOV-28 | Ac-TAWDLGKGDFRI-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2                           |
| 37.  | LNCOV-29 | Ac-NMTQGFWENSMLTD-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2                         |
| 38.  | LNCOV-30 | Ac-NMTQGFWENPGGP-TAWDLGK-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2                  |
| 39.  | LNCOV-31 | Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF-P-KWSAFLKEQSTLAQMYG-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2 |
| 40.  | LNCOV-32 | Ac-KTFLDKFNHEAEDLF-P-KWSAFLKEQSTLAQMYG-Ahx-LWRALWRLWRSWRLWLLWK-NH2    |
| 41.  | LNCOV-33 | Ac-EQAKTFLDKFNHEAEDLF-ahx-RSAGWRWRLWVRVRSWR-NH2                       |
| 42.  | SPIKE    | KVGGNYNY                                                              |
| 43.  | SPIKE    | GNYNLYRLF                                                             |
| 44.  | SPIKE    | TEYQAGST                                                              |
| 45.  | SPIKE    | NGVEGFN                                                               |
| 46.  | SPIKE    | VEGFNCYF                                                              |
| 47.  | ACE2     | KTFLDKFNHEAEDLFY                                                      |
| 48.  | ACE2     | KTFLDKFNHEAEDLFYS                                                     |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 3】

| 配列番号 | 説明                     | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 49.  | ACE2                   | KWSAFLKEQSTLAQMY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 50.  | ACE2                   | KWSAFLKEQSTLAQMYG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 51.  | ACE2                   | NMTQGFWEN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 52.  | ACE2                   | TAWDLGK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 53.  | ADGN-100 コア<br>モチーフ    | RWRLWRX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> SR<br>X <sub>1</sub> はVまたはSであり、X <sub>2</sub> はR、V、またはAであり、X <sub>3</sub> はSまたはLであり、X <sub>4</sub> はWまたはYである。                                                                                                                                                                              |
| 54.  | ADGN-100               | RSX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> RWRLWRX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> SR<br>X <sub>1</sub> はAまたはVであり、X <sub>2</sub> はGまたはLであり、X <sub>3</sub> はWまたはYであり、X <sub>4</sub> はVまたはSであり、X <sub>5</sub> はR、V、またはAであり、X <sub>6</sub> はSまたはLであり、X <sub>7</sub> はWまたはYである。                                                    |
| 55.  | ADGN-100a              | RSAGWRWRLWRVRSWSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 56.  | ADGN-100b              | RSALYRWRLWRVRSWSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 57.  | ADGN-100c              | RSALYRWRLWRSRSWSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 58.  | ADGN-100d              | RSALYRWRLWRSALYSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 59.  | ADGN-100               | X <sub>1</sub> KWRSX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> RWRLWRX <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> SR<br>X <sub>1</sub> は任意のアミノ酸またはアミノ酸なしであり、X <sub>2</sub> ~X <sub>8</sub> は任意のアミノ酸である。                                                                                                                                      |
| 60.  | ADGN-100               | X <sub>1</sub> KWRSX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> RWRLWRX <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> SR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしであり、X <sub>2</sub> はAまたはVであり、X <sub>3</sub> はGまたはLであり、X <sub>4</sub> はWまたはYであり、X <sub>5</sub> はVまたはSであり、X <sub>6</sub> はR、V、またはAであり、X <sub>7</sub> はSまたはLであり、X <sub>8</sub> はWまたはYである。 |
| 61.  | ADGN-100a              | KWRSAGWRWRLWRVRSWSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 62.  | ADGN-100b              | KWRSALYRWRLWRVRSWSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 63.  | ADGN-100c              | KWRSALYRWRLWRSRSWSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 64.  | ADGN-100d              | KWRSALYRWRLWRSALYSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 65.  | ADGN-102 core<br>motif | RWRLWRWSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 66.  | ADGN-100-RI            | RSWSRVRWLRWRWGASR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 67.  | ADGN-100-RI            | RSWSRVRWLRWRWGASRWK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 68.  | ADGN-100 aa            | RS <sub>8</sub> AGWR <sub>5</sub> WRLWRVRSWSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。                                                                                                                                                                                                                                                                          |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 4】

| 配列番号 | 説明          | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                     |
|------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 69.  | ADGN-100 ab | R <sub>s</sub> SAGWRWR <sub>s</sub> LWRVRSWSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 70.  | ADGN-100 ac | RSAGWR <sub>s</sub> WRLWRVR <sub>s</sub> SWSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 71.  | ADGN-100 ba | RS <sub>s</sub> ALYR <sub>s</sub> WRLWRSRSWSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 72.  | ADGN-100 bb | R <sub>s</sub> SALYRWR <sub>s</sub> LWRSRSWSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 73.  | ADGN-100 bc | RSALYR <sub>s</sub> WRLWRSR <sub>s</sub> SWSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 74.  | ADGN-100 bd | RSALYRWR <sub>s</sub> LWRS <sub>s</sub> RSWSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 75.  | ADGN-100 be | RSALYRWRLWRS <sub>s</sub> RSWS <sub>s</sub> R<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 76.  | ADGN-100 ca | R <sub>s</sub> SALYRWR <sub>s</sub> LWRSALYSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 77.  | ADGN-100 cb | RS <sub>s</sub> ALYR <sub>s</sub> WRLWRSALYSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 78.  | ADGN-100 cc | RSALYRWR <sub>s</sub> LWRS <sub>s</sub> ALYSR<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |
| 79.  | ADGN-100 cd | RSALYRWRLWRS <sub>s</sub> ALYS <sub>s</sub> R<br>下付き文字「S」で示される残基は、炭化水素結合により結合されている。 |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 5】

| 配列番号 | 説明         | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 80.  | VEPEP-6/1  | LX <sub>1</sub> RALWX <sub>8</sub> LX <sub>2</sub> X <sub>8</sub> X <sub>3</sub> LWX <sub>8</sub> LX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub><br>X <sub>1</sub> はFまたはWであり、X <sub>2</sub> はL、W、CまたはIであり、X <sub>3</sub> はS、A、NまたはTであり、X <sub>4</sub> はLまたはWであり、X <sub>5</sub> はWまたはRであり、X <sub>6</sub> はKまたはRであり、X <sub>7</sub> はAまたはアミノ酸なしであり、X <sub>8</sub> はRまたはSである。 |
| 81.  | VEPEP-6/2  | LX <sub>1</sub> LARWX <sub>8</sub> LX <sub>2</sub> X <sub>8</sub> X <sub>3</sub> LWX <sub>8</sub> LX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub><br>X <sub>1</sub> はFまたはWであり、X <sub>2</sub> はL、W、CまたはIであり、X <sub>3</sub> はS、A、NまたはTであり、X <sub>4</sub> はLまたはWであり、X <sub>5</sub> はWまたはRであり、X <sub>6</sub> はKまたはRであり、X <sub>7</sub> はAまたはアミノ酸なしであり、X <sub>8</sub> はRまたはSである。 |
| 82.  | VEPEP-6/3  | LX <sub>1</sub> ARLWX <sub>8</sub> LX <sub>2</sub> X <sub>8</sub> X <sub>3</sub> LWX <sub>8</sub> LX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub><br>X <sub>1</sub> はFまたはWであり、X <sub>2</sub> はL、W、CまたはIであり、X <sub>3</sub> はS、A、NまたはTであり、X <sub>4</sub> はLまたはWであり、X <sub>5</sub> はWまたはRであり、X <sub>6</sub> はKまたはRであり、X <sub>7</sub> はAまたはアミノ酸なしであり、X <sub>8</sub> はRまたはSである。 |
| 83.  | VEPEP-6/4  | LX <sub>1</sub> RALWRLX <sub>2</sub> RX <sub>3</sub> LWRLX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub><br>X <sub>1</sub> はFまたはWであり、X <sub>2</sub> はL、W、CまたはIであり、X <sub>3</sub> はS、A、NまたはTであり、X <sub>4</sub> はLまたはWであり、X <sub>5</sub> はWまたはRであり、X <sub>6</sub> はKまたはRであり、X <sub>7</sub> はAまたはアミノ酸なしである。                                                                    |
| 84.  | VEPEP-6/5  | LX <sub>1</sub> RALWRLX <sub>2</sub> RX <sub>3</sub> LWRLX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> KX <sub>6</sub><br>X <sub>1</sub> はFまたはW、X <sub>2</sub> はLまたはWであり、X <sub>3</sub> はS、AまたはNであり、X <sub>4</sub> はLまたはWであり、X <sub>5</sub> はWまたはRであり、X <sub>6</sub> はAまたはアミノ酸なしである。                                                                                                                    |
| 85.  | VEPEP-6/6  | LFRALWRLRX <sub>1</sub> LWRLWX <sub>2</sub><br>X <sub>1</sub> はSまたはTであり、X <sub>2</sub> はKまたはRである。                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 86.  | VEPEP-6/7  | LWRALWRLWRX <sub>1</sub> LWRLWX <sub>2</sub> A<br>X <sub>1</sub> はSまたはTであり、X <sub>2</sub> はKまたはRである。                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 87.  | VEPEP-6/8  | LWRALWRLX <sub>3</sub> RX <sub>1</sub> LWRLWRX <sub>2</sub> A<br>X <sub>1</sub> はSまたはTであり、X <sub>2</sub> はKまたはRであり、X <sub>3</sub> はL、CまたはIである。                                                                                                                                                                                                                                          |
| 88.  | VEPEP-6/9  | LWRALWRLWRX <sub>1</sub> LWRLWRX <sub>2</sub> A<br>X <sub>1</sub> はSまたはTであり、X <sub>2</sub> はKまたはRである。                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 89.  | VEPEP-6/10 | LWRALWRLX <sub>1</sub> RALWRLWX <sub>2</sub> A<br>X <sub>1</sub> はLまたはIであり、X <sub>2</sub> はKまたはRである。                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 6】

| 配列番号 | 説明           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                       |
|------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 90.  | VEPEP-6/ 11  | LWRALWRLX <sub>1</sub> RNLWRLWX <sub>2</sub> A<br>X <sub>1</sub> はL、CまたはI、及びX <sub>2</sub> はKまたはRである。 |
| 91.  | VEPEP-6a     | LFRALWRLRLSLWRLWK                                                                                     |
| 92.  | VEPEP-6b     | LWRALWRLWRLSLWRLWKA                                                                                   |
| 93.  | VEPEP-6c     | LWRALWRLRLSLWRLWKA                                                                                    |
| 94.  | VEPEP-6d     | LWRALWRLWRLSLWRLWKA                                                                                   |
| 95.  | VEPEP-6e     | LWRALWRLRLALWRLWKA                                                                                    |
| 96.  | VEPEP-6f     | LWRALWRLRLNLWRLWKA                                                                                    |
| 97.  | ADGN-106     | LWRALWRLWRLSLWRLWK                                                                                    |
| 98.  | ADGN-106-RI  | KWLLRWLSRWLRWLARWL                                                                                    |
| 99.  | ST-VEPEP-6a  | LFRALWR <sub>8</sub> LLRS <sub>8</sub> LWRLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。                 |
| 100. | ST-VEPEP-6aa | LFLARWR <sub>8</sub> LLRS <sub>8</sub> LWRLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。                 |
| 101. | ST-VEPEP-6ab | LFRALWS <sub>8</sub> LLRS <sub>8</sub> LWRLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。                 |
| 102. | ST-VEPEP-6ad | LFLARWS <sub>8</sub> LLRS <sub>8</sub> LWRLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。                 |
| 103. | ST-VEPEP-6b  | LFRALWRLRLR <sub>8</sub> SLWS <sub>8</sub> LLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。               |
| 104. | ST-VEPEP-6ba | LFLARWRLRLR <sub>8</sub> SLWS <sub>8</sub> LLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。               |
| 105. | ST-VEPEP-6bb | LFRALWRLRLS <sub>8</sub> SLWS <sub>8</sub> LLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。               |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 7】

| 配列番号 | 説明           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 106. | ST-VEPEP-6bd | LFLARWRLLS <sub>8</sub> SLWS <sub>5</sub> LLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 107. | ST-VEPEP-6c  | LFAR <sub>5</sub> LWRLRS <sub>5</sub> LWRLWK<br>下付き文字「S」が後に示される残基は、炭化水素結合により結合されている。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 108. | VEPEP-9/1    | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> WWX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> WAX <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> WX <sub>13</sub> R<br>X <sub>1</sub> はβA、Sまたはアミノ酸なしであり、X <sub>2</sub> はLまたはアミノ酸なしであり、X <sub>3</sub> はRまたはアミノ酸なしであり、X <sub>4</sub> はL、RまたはGであり、X <sub>5</sub> はR、WまたはSであり、X <sub>6</sub> はS、PまたはTであり、X <sub>7</sub> はWまたはPであり、X <sub>8</sub> はF、AまたはRであり、X <sub>9</sub> はS、L、PまたはRであり、X <sub>10</sub> はRまたはSであり、X <sub>11</sub> はWまたはアミノ酸なしであり、X <sub>12</sub> はA、Rまたはアミノ酸なしであり、X <sub>13</sub> はWまたはFであり、X <sub>3</sub> がアミノ酸なしである場合、X <sub>2</sub> 、X <sub>11</sub> 及びX <sub>12</sub> もアミノ酸なしである。 |
| 109. | VEPEP-9/2    | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> RWWLRWAX <sub>6</sub> RWX <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> WX <sub>12</sub> WX <sub>13</sub> R<br>X <sub>1</sub> はβA、Sまたはアミノ酸なしであり、X <sub>2</sub> はLまたはアミノ酸なしであり、X <sub>6</sub> はSまたはPであり、X <sub>8</sub> はFまたはAであり、X <sub>9</sub> はS、LまたはPであり、X <sub>10</sub> はRまたはSであり、X <sub>12</sub> はAまたはRであり、X <sub>13</sub> はWまたはFである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 110. | VEPEP9a1     | X <sub>1</sub> LRWWLRWASRWFSRWAWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 111. | VEPEP9a2     | X <sub>1</sub> LRWWLRWASRWASRWAWFR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 112. | VEPEP9b1     | X <sub>1</sub> RWWLRWASRWALSWRWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 113. | VEPEP9b2     | X <sub>1</sub> RWWLRWASRWFLSWRWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 114. | VEPEP9c1     | X <sub>1</sub> RWWLRWAPRWFPSRWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 115. | VEPEP9c2     | X <sub>1</sub> RWWLRWASRWAPSWRWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 116. | VEPEP-9/3    | X <sub>1</sub> WWX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> WAX <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> RX <sub>10</sub> WWR<br>X <sub>1</sub> はβA、Sまたはアミノ酸なしであり、X <sub>4</sub> はRまたはGであり、X <sub>5</sub> はWまたはSであり、X <sub>6</sub> はS、TまたはPであり、X <sub>7</sub> はWまたはPであり、X <sub>8</sub> はAまたはRであり、X <sub>10</sub> はSまたはRである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 8】

| 配列番号 | 説明         | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 117. | VEPEP9d    | X <sub>1</sub> WWRWWASWARSWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 118. | VEPEP9e    | X <sub>1</sub> WWGSWATPRRRWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 119. | VEPEP9f    | X <sub>1</sub> WWRWWAPWARSWWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 120. | VEPEP-9    | ALRWLRLWASRWFSRWAWWR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 121. | VEPEP-9C   | RWWLRLWASRWFSRWAWR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 122. | VEPEP-3    | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub><br>X <sub>1</sub> はβA、Sまたはアミノ酸なしであり、X <sub>2</sub> はK、RまたはLであり(互いに独立して)、X <sub>3</sub> はFまたはWであり(互いに独立して)、X <sub>4</sub> はF、WまたはYであり(互いに独立して)、X <sub>5</sub> はE、RまたはSであり、X <sub>6</sub> はR、TまたはSであり、X <sub>7</sub> はE、R、またはSであり、X <sub>8</sub> はアミノ酸なしであり、FまたはWであり、X <sub>9</sub> はPまたはRであり、X <sub>10</sub> はRまたはLであり、X <sub>11</sub> はK、WまたはRであり、X <sub>12</sub> はRまたはFであり、X <sub>13</sub> はRまたはKである。 |
| 123. | VEPEP-3/1  | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> WX <sub>4</sub> EX <sub>2</sub> WX <sub>4</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>3</sub> PRX <sub>11</sub> RX <sub>13</sub><br>X <sub>1</sub> はβA、Sまたはアミノ酸なしであり、X <sub>2</sub> はK、RまたはLであり、X <sub>3</sub> はFまたはWであり、X <sub>4</sub> はF、WまたはYであり、X <sub>5</sub> はE、RまたはSであり、X <sub>6</sub> はR、TまたはSであり、X <sub>7</sub> はE、R、またはSであり、X <sub>8</sub> はアミノ酸なしであり、FまたはWであり、X <sub>9</sub> はPまたはRであり、X <sub>10</sub> はRまたはLであり、X <sub>11</sub> はK、WまたはRであり、X <sub>12</sub> はRまたはFであり、X <sub>13</sub> はRまたはKである。                                                                     |
| 124. | VEPEP-3 1a | X <sub>1</sub> KWFERWFREWPKRRR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 125. | VEPEP-3 1b | X <sub>1</sub> KWWERWWREWPRKRR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 126. | VEPEP-3 1c | X <sub>1</sub> KWWERWREWPRK<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 127. | VEPEP-3 1d | X <sub>1</sub> RWWEKWWTRWPRKRK<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 128. | VEPEP-3 1e | X <sub>1</sub> RWYEKWYTEFPRRRR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 9】

| 配列番号 | 説明         | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 129. | VEPEP-3 1S | X <sub>1</sub> KX <sub>14</sub> WWERWWRX <sub>14</sub> WPRKRRK<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしであり、X <sub>14</sub> は非天然アミノ酸であり、2個の非天然アミノ酸の間に炭化水素結合がある。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 130. | VEPEP-3/2  | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> WX <sub>5</sub> X <sub>10</sub> X <sub>3</sub> WX <sub>6</sub> X <sub>7</sub> WX <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> WX <sub>12</sub> R<br>X <sub>1</sub> はβA、Sまたはアミノ酸なしであり、X <sub>2</sub> はK、RまたはLであり、X <sub>3</sub> はFまたはWであり、X <sub>5</sub> はRまたはSであり、X <sub>6</sub> はRまたはSであり、X <sub>7</sub> はRまたはSであり、X <sub>8</sub> はFまたはWであり、X <sub>9</sub> はRまたはPであり、X <sub>10</sub> はLまたはRであり、X <sub>12</sub> はRまたはFである。 |
| 131. | VEPEP-3 2a | X <sub>1</sub> RWWRLWWRSWFRLWRR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 132. | VEPEP-3 2b | X <sub>1</sub> LWWRRWWSRWWRWRR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 133. | VEPEP-3 2c | X <sub>1</sub> LWWSRWWRSWFRLWFR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 134. | VEPEP-3 2d | X <sub>1</sub> KFWSRFWRSWFRLWRR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 135. | VEPEP-3 2S | X <sub>1</sub> RWWX <sub>14</sub> LWWRSWX <sub>14</sub> RLWRR<br>X <sub>1</sub> はβアラニン、セリン、またはアミノ酸なしであり、X <sub>14</sub> は非天然アミノ酸であり、2個の非天然アミノ酸の間に炭化水素結合がある。                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 136. | VEPEP-3a   | AKWFERWFREWPKRRR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 137. | VEPEP-3b   | AKWWERWREWPKRRR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 138. | VEPEP-4    | XWXRLXXXXXX<br>1位のXはβA、S、またはアミノ酸なしであり、3、9及び10位のXは互いに独立してWまたはFであり、8位のXがSである場合、6位のXはRであり、8位のXがRの場合、6位のXはSであり、7位のXはLまたはアミノ酸なしであり、11位のXはRまたはアミノ酸なしであり、11位のXがアミノ酸なしである場合、7位のXはLである。                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 139. | VEPEP-4    | X <sub>1</sub> WWRLSLRWW<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 140. | VEPEP-4    | X <sub>1</sub> WFRLSLRFWR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 1 0】

| 配列番号 | 説明              | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                |
|------|-----------------|----------------------------------------------------------------|
| 141. | VEPEP-4         | X <sub>1</sub> WWRLRSWFR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。 |
| 142. | VEPEP-4         | X <sub>1</sub> WFRLSLRFW<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。 |
| 143. | VEPEP-5         | RXWXRLWXRLR<br>2位のXはRまたはSであり、4位及び8位のXは互いに独立してWまたはFである。         |
| 144. | VEPEP-5         | X <sub>1</sub> WWRLWWRLR<br>X <sub>1</sub> はベータA、S、またはなし       |
| 145. | VEPEP-5         | X <sub>1</sub> WFRLWFRLR<br>X <sub>1</sub> はベータA、S、またはなし       |
| 146. | VEPEP-5         | X <sub>1</sub> WFRLWWRLR<br>X <sub>1</sub> はベータA、S、またはなし       |
| 147. | VEPEP-5         | X <sub>1</sub> WWRLWFRLR<br>X <sub>1</sub> はベータA、S、またはなし       |
| 148. | VEPEP-5         | X <sub>1</sub> RWWRLWWRL<br>X <sub>1</sub> はベータA、S、またはなし       |
| 149. | VEPEP-5         | X <sub>1</sub> RSWFRLWFR<br>X <sub>1</sub> はβA、S、またはアミノ酸なしである。 |
| 150. | CADY            | GLWRALWRLLRSLWRLWKV                                            |
| 151. | LNCOV-10 環状ペプチド | S*KVGGNYNYLY*R<br>*環化部位                                        |
| 152. | LNCOV-11 環状ペプチド | K*VGGNYNYK*<br>*環化部位                                           |
| 153. | LNCOV-12 環状ペプチド | G*NYNYLYRL*<br>*環化部位                                           |
| 154. | LNCOV-22 環状ペプチド | G*NYNYLYRLFK*<br>*環化部位                                         |
| 155. | LNCOV-17 環状ペプチド | T*EYQAGSTK*<br>*環化部位                                           |
| 156. | LNCOV-15 環状ペプチド | N*GVEGFNK*<br>*環化部位                                            |
| 157. | LNCOV-16 環状ペプチド | V*EGFNCYF*<br>*環化部位                                            |

10

20

30

40

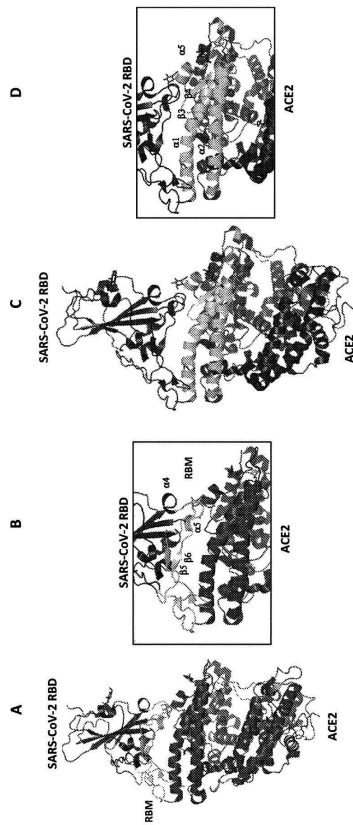
50

【表 2 2 - 1 1】

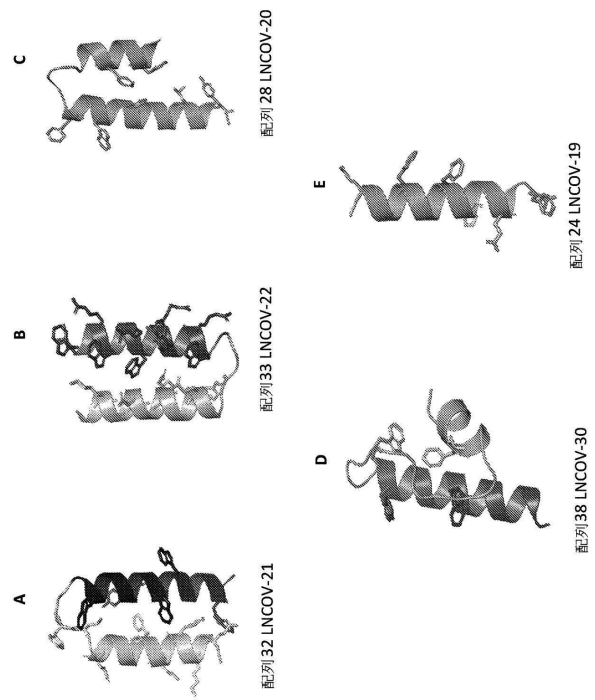
| 配列番号 | 説明                 | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                           |
|------|--------------------|-----------------------------------------------------------|
| 158. | LNCOV-24<br>環状ペプチド | S*YGFQPTNGV*<br>*環化部位                                     |
| 159. | LNCOV-13<br>環状ペプチド | G*FQPTNGVK*<br>*環化部位                                      |
| 160. | LNCOV-14<br>環状ペプチド | T*NGVGYPYK*<br>*環化部位                                      |
| 161. | DIVC-1             | GCAACTGAGGGAGCCTTGAAT                                     |
| 162. | DIVC-2             | GACCAGGAACATAATCAGACAA                                    |
| 163. | DIVC-3             | GACAAGGCGTTCCAATTAACA                                     |
| 164. | DIVC-4             | GACTTCCCTATGGTGCTAACA                                     |
| 165. | DIVC-5             | GGCTGATGAAACTCAAGCCTT                                     |
| 166. | DIVC-6             | GGCCAAACTGTCACTAAGAAA                                     |
| 167. | DIVC-7             | GCAGACGTGGTCCAGAACAAA                                     |
| 168. | DIVC-8             | GCCTCTTCTCGTTCCTCATCA                                     |
| 169. | DIVC-9             | AAGCATATTGACGCATACAAA                                     |
| 170. | DIVC-10            | GCAACAATCCATGAGCAGTGC                                     |
| 171. | DIVC-31            | GGTGAAATCAAGGATGCTACT                                     |
| 172. | DIVC-32            | GTGTAACCTTCTCAATTGTCA                                     |
| 173. | DIVC-33            | CAAGTCCTATTTCTGAACATG                                     |
| 174. | DIVC-34            | GAACATGTTACCTTCTTCATC                                     |
| 175. | DIVC-35            | TGCAGAGTATAAACTTTGTAA                                     |
| 176. | DIVC-81            | GTGATGACCCGTGTCCTATT                                      |
| 177. | DIVC-82            | GACCCGTGTCCTATTCACCTC                                     |
| 178. | DIVC-83            | GTGGATGAGGCTGGTTCTAAA                                     |
| 179. | DIVC-84            | GCGTTGTTCGTTCTATGAAGA                                     |
| 180. | DIVC-85            | GTCCTATTCACCTTCTATTCTA                                    |
| 181. | PEP-1              | KETWWETWWTEWSQPKKKRKV                                     |
| 182. | PEP-2              | KETWFETWFTEWSQPKKKRKV                                     |
| 183. | PEP-3              | KWFETWFTEWPKKRRK                                          |
| 184. | MPG                | GALFLGFLGAAGSTMGAWSQPKKKRKV                               |
| 185. | 標的化ペプチド            | YIGSR                                                     |
| 186. | リンカー               | GGGGS                                                     |
| 187. | リンカー               | SGGGG                                                     |
| 188. | LNCOV-33           | Ac- IEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQS-Ahx-<br>RSAGWRWRLWRVRSWSR-NH2 |

【図面】

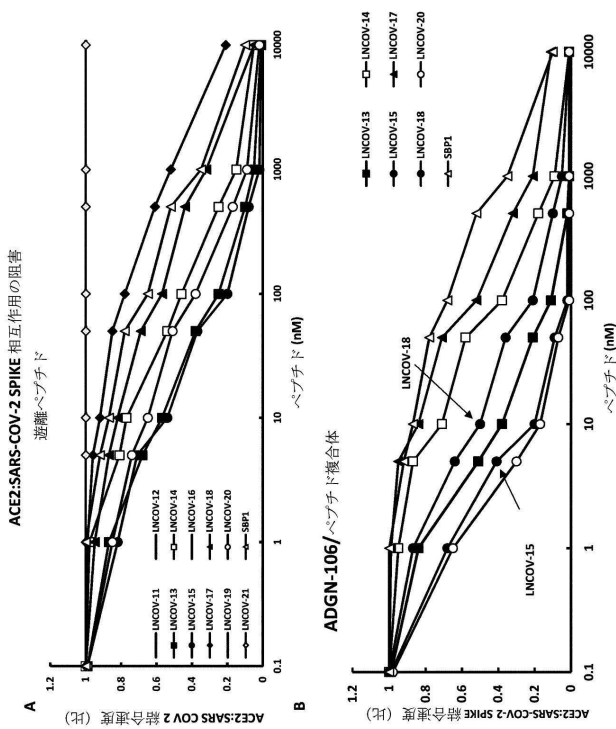
【図 1】



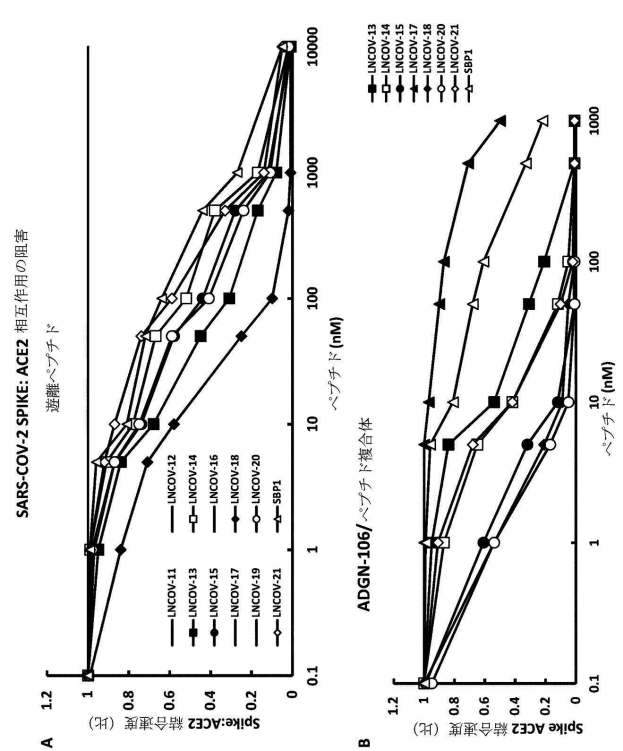
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

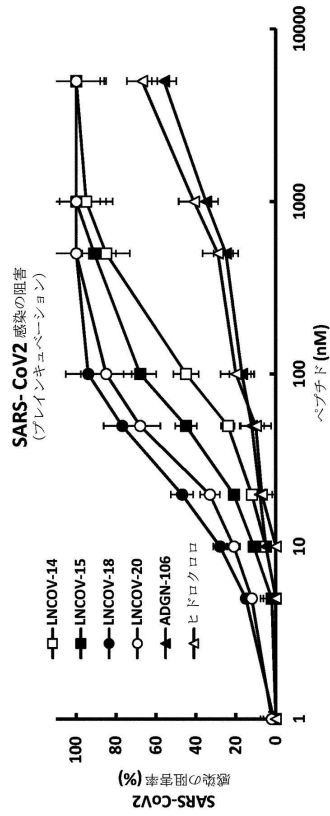
20

30

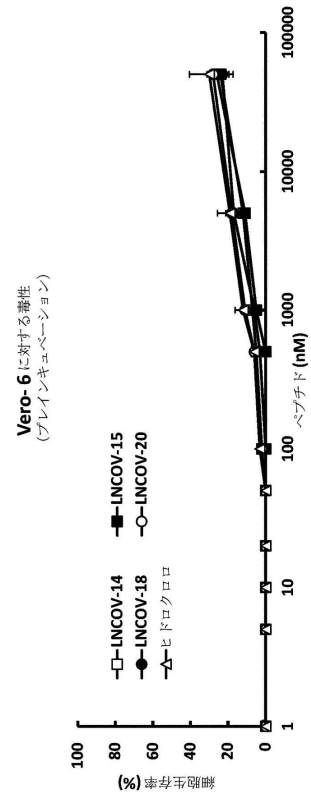
40

50

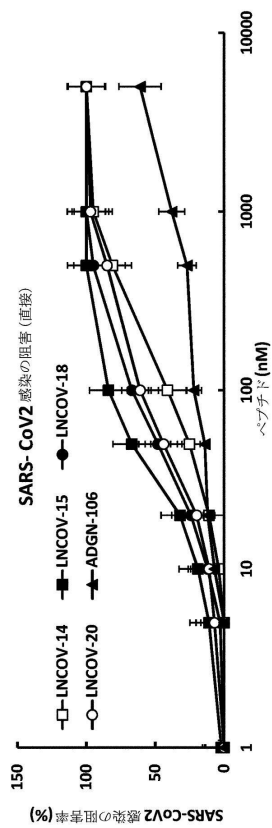
【図 5 A】



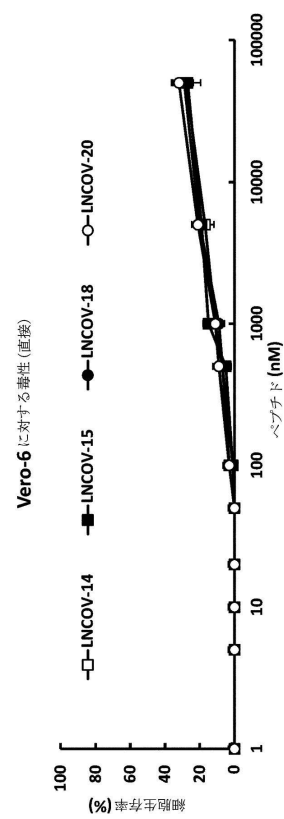
【図 5 B】



【図 5 C】



【図 5 D】



10

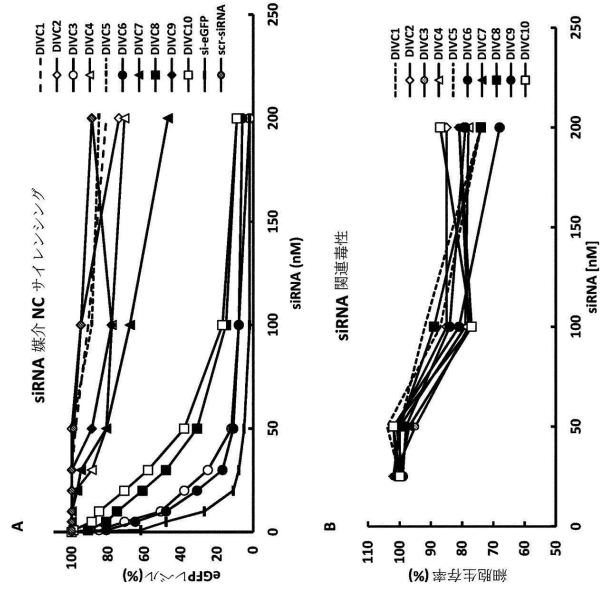
20

30

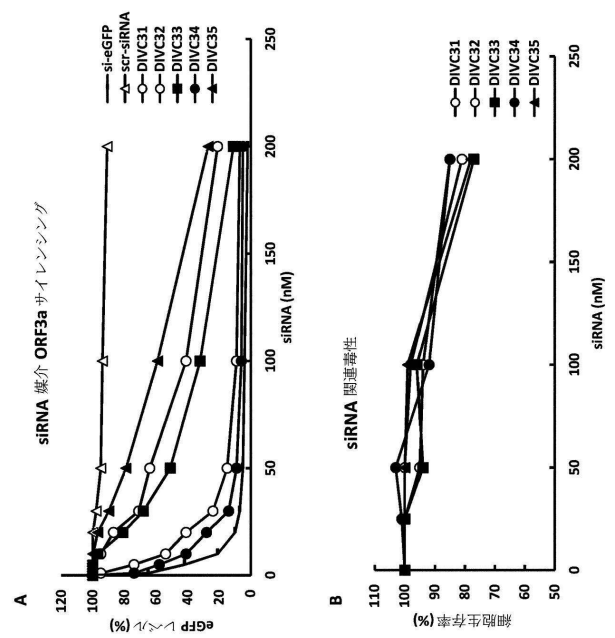
40

50

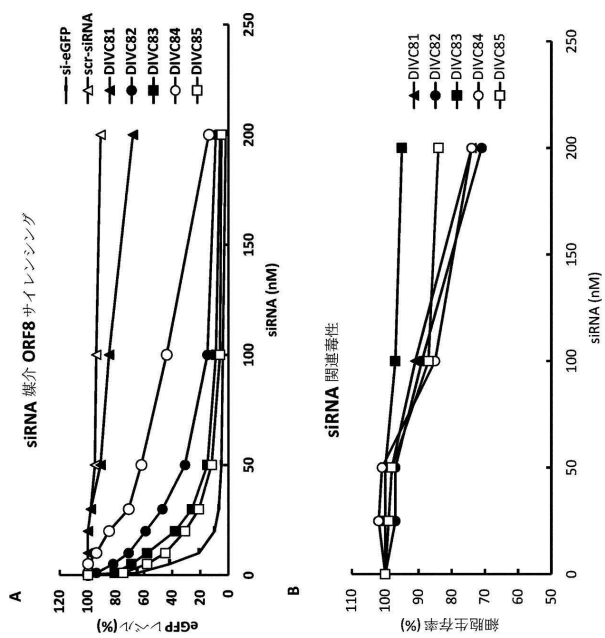
【図 6】



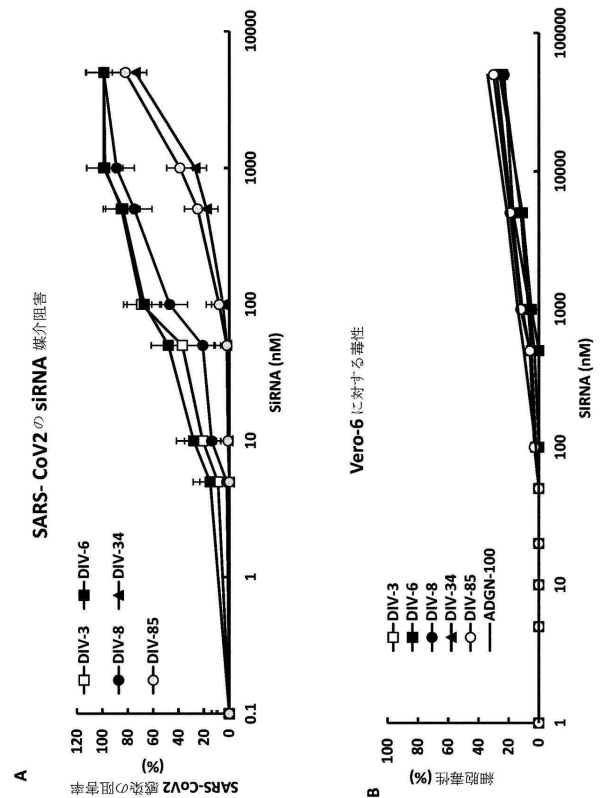
【図 7】



【図 8】



【図 9】



10

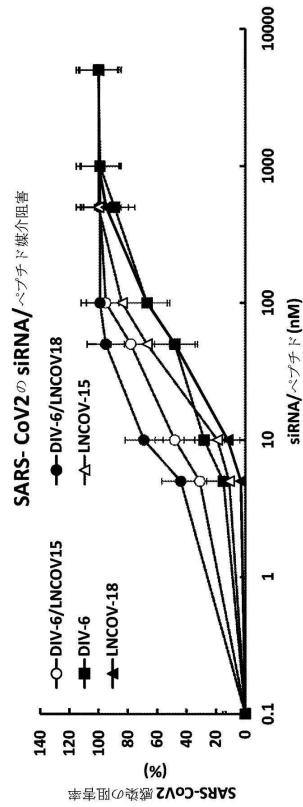
20

30

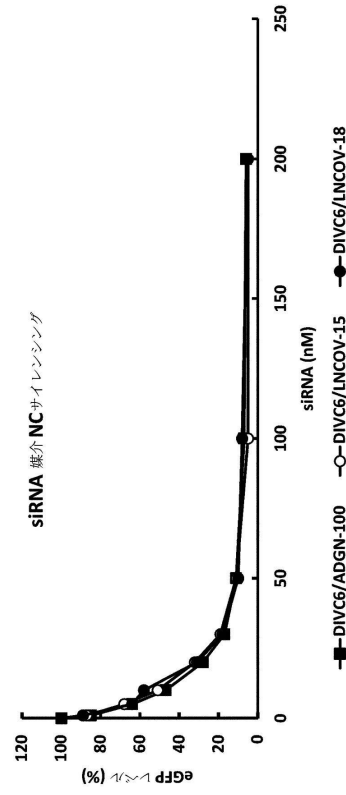
40

50

【図 1 0】



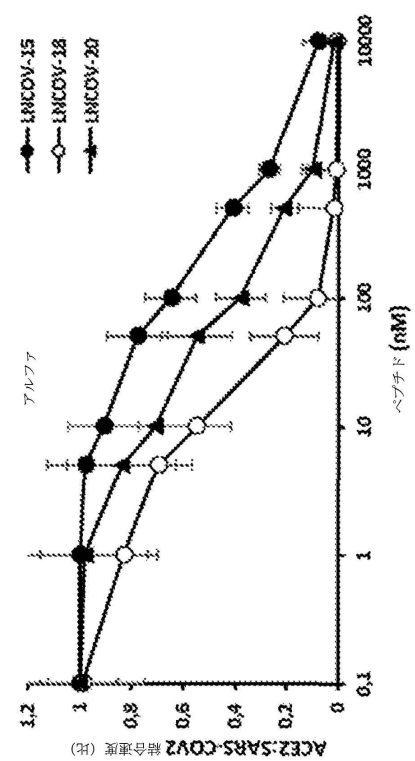
【図 1 1 A】



【図 1 1 B】

|                                                                                                                |                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| VEPEP9a1: ( $\beta$ A/S) LRWLRLWASRWFSRWAWWR<br>HHHHHHHHHHHHHHHH                                               | 配列番号 110             |
| VEPEP9a2: ( $\beta$ A/S) LRWLRLWASRWASRWAWFR<br>HHHHHHHHHHHHHHHH                                               | 配列番号 111             |
| VEPEP9b1: ( $\beta$ A/S) RWLRLWASRWALSRRWWR<br>VEPEP9b2: ( $\beta$ A/S) RWLRLWASRWFLSWRWWR<br>HHHHHHHHHHHHHHHH | 配列番号 112<br>配列番号 113 |
| VEPEP9c1: ( $\beta$ A/S) RWLRLWAPRWFPWSRWWR<br>HHHHH TTHH                                                      | 配列番号 114             |
| VEPEP9c2: ( $\beta$ A/S) RWLRLWASRWAPWSRWWR<br>HHHHHHHHH                                                       | 配列番号 115             |
| VEPEP9d: ( $\beta$ A/S) WWRWASRWASRWWR<br>HHHHHHHHHHH                                                          | 配列番号 117             |
| VEPEP9e: ( $\beta$ A/S) WWSWATPRRRWWR<br>HHHHIT                                                                | 配列番号 118             |
| VEPEP9f: ( $\beta$ A/S) WWRWAPWARSWWR<br>HHHHH THH                                                             | 配列番号 119             |

【図 1 2 A】



10

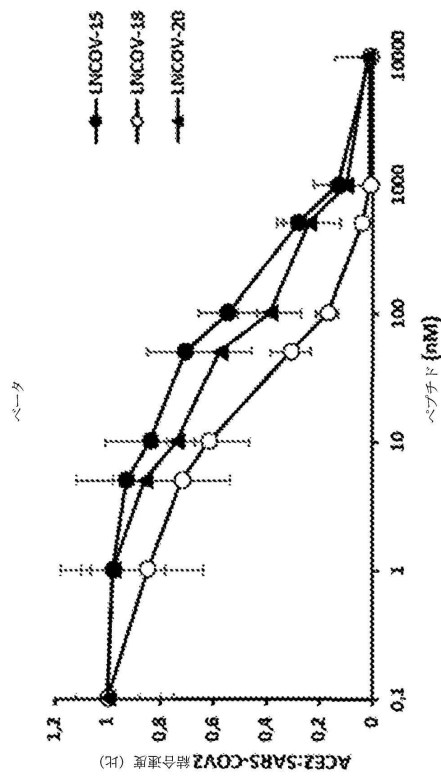
20

30

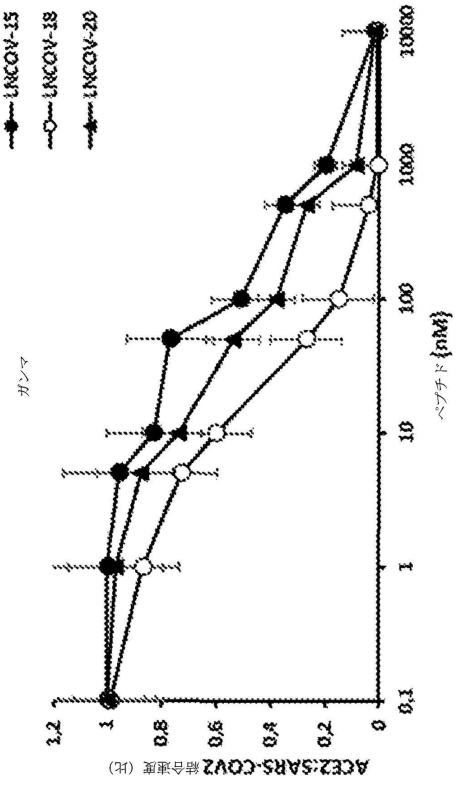
40

50

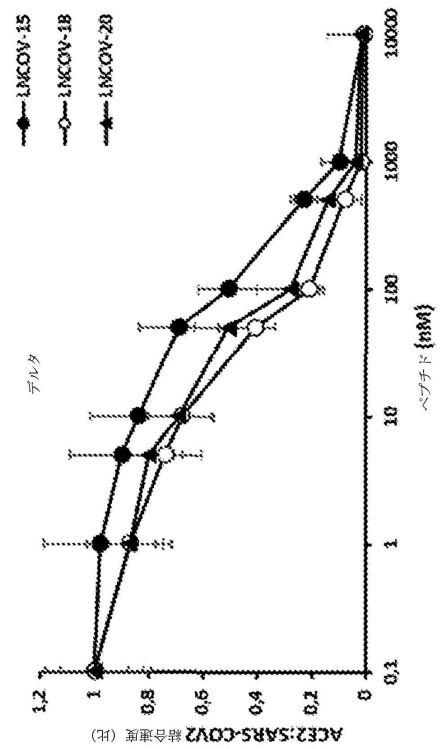
【図 1 2 B】



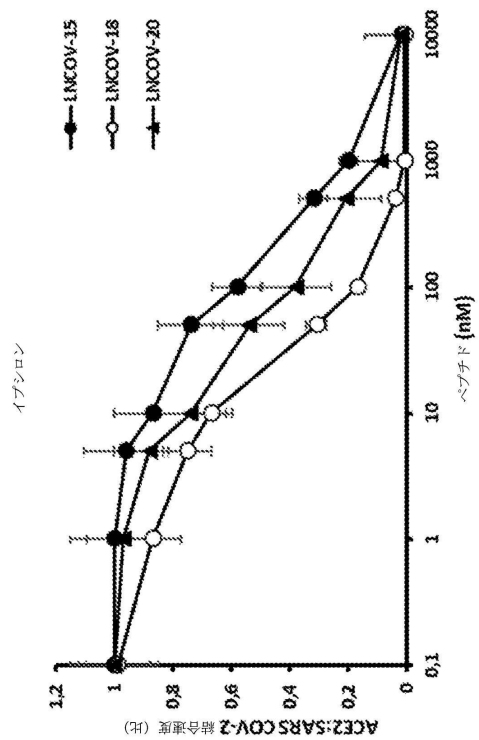
【図 1 2 C】



【図 1 2 D】



【図 1 2 E】



10

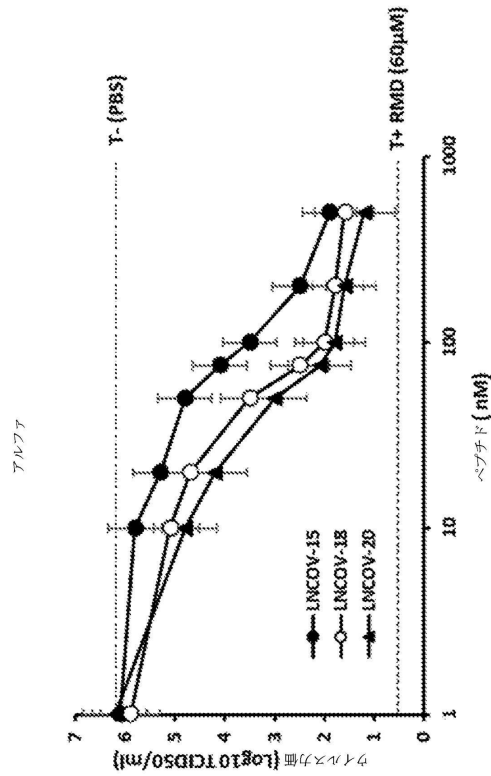
20

30

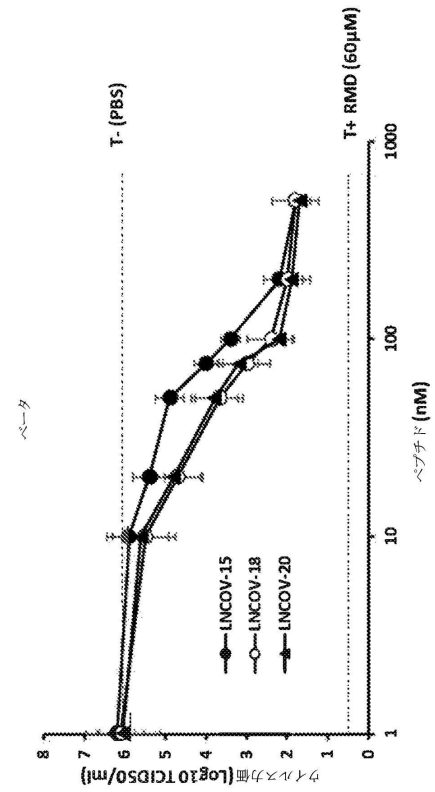
40

50

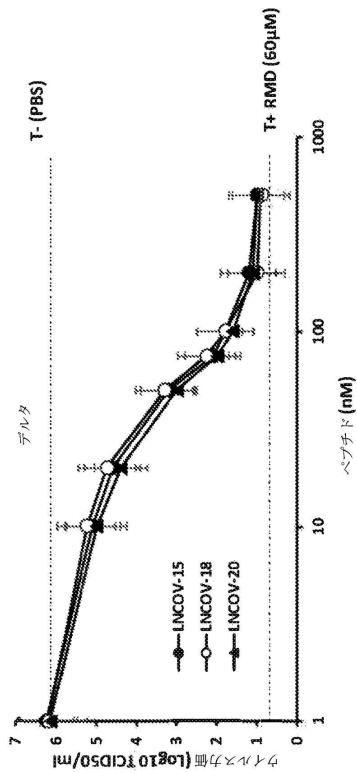
【図 13 A】



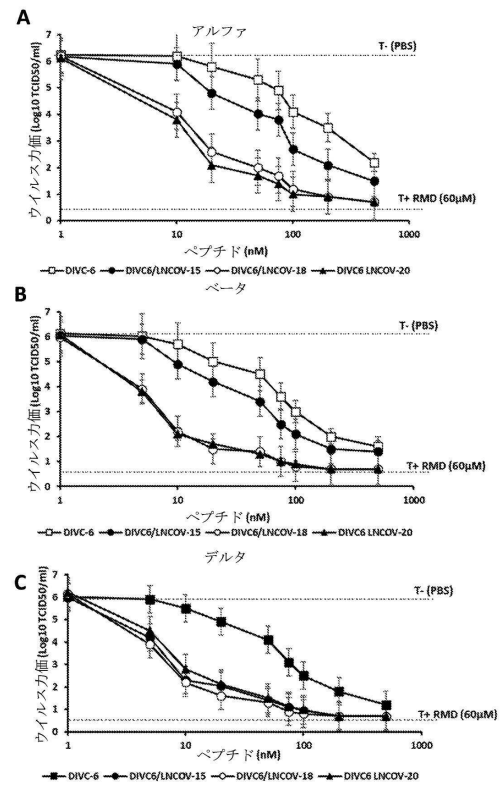
【図 13 B】



【図 13 C】



【図 14】



10

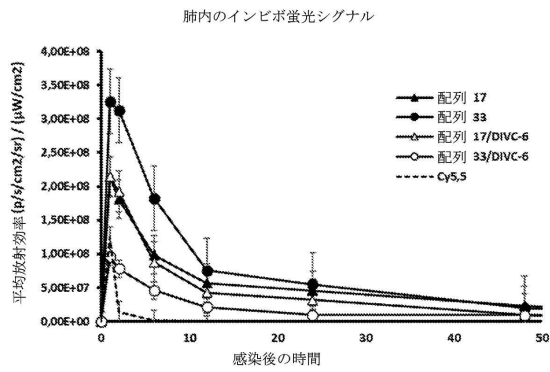
20

30

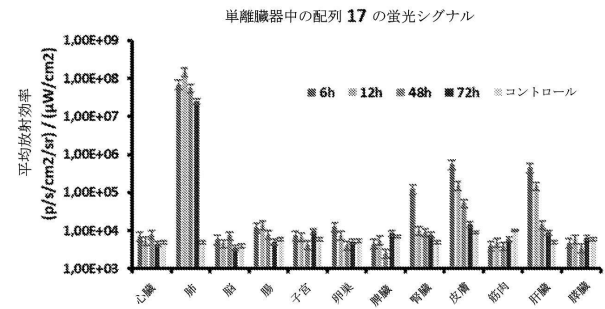
40

50

【図 15 A】

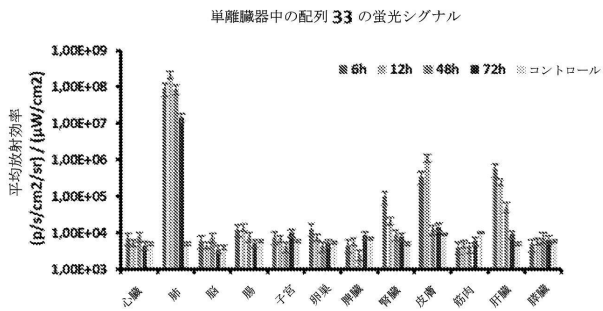


【図 15 B】

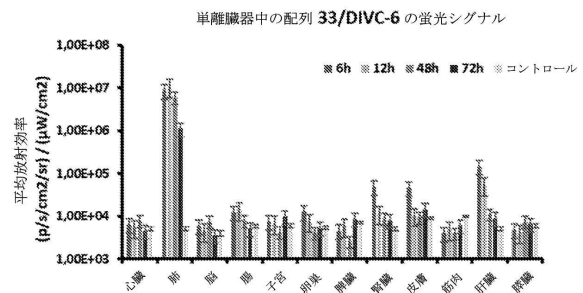


10

【図 15 C】



【図 15 D】



20

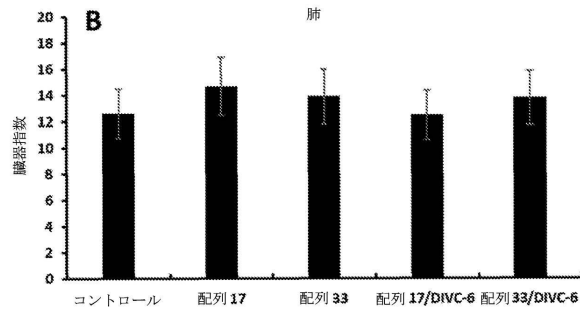
30

40

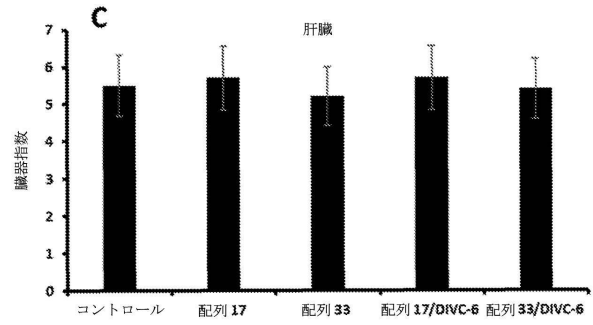
50



【図 18 B】

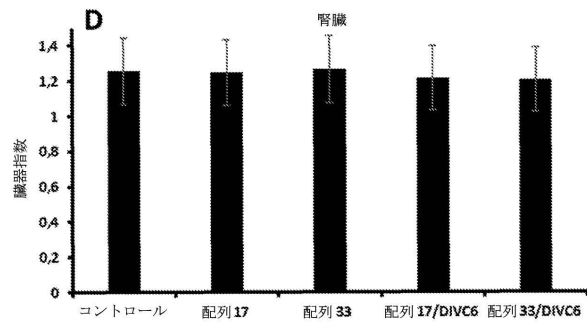


【図 18 C】

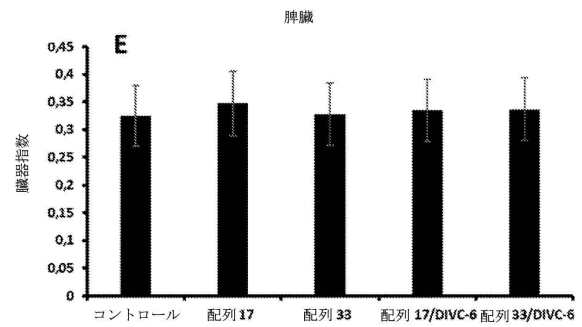


10

【図 18 D】

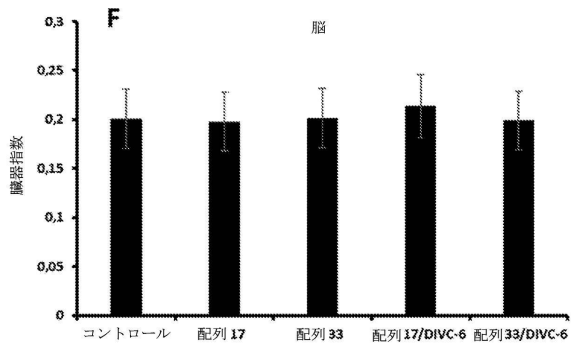


【図 18 E】

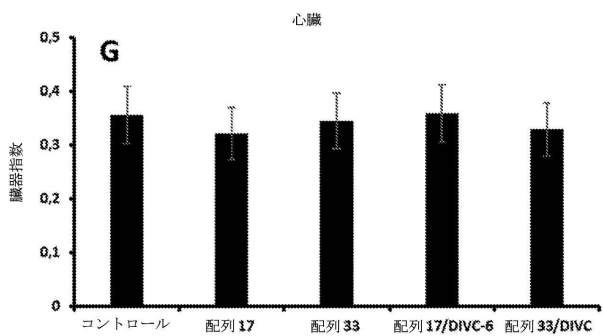


20

【図 18 F】



【図 18 G】

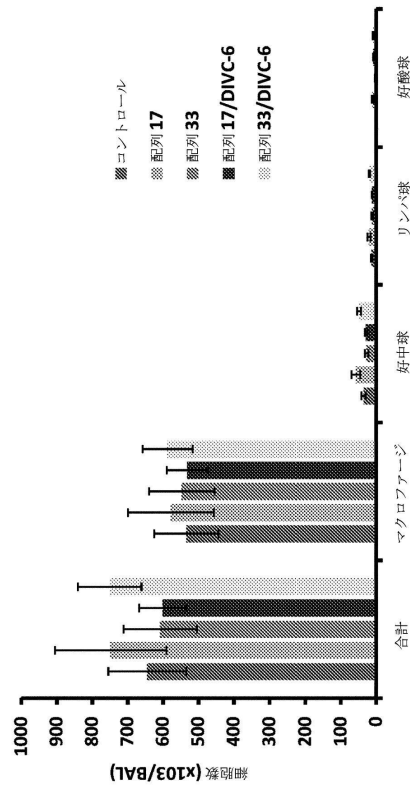


30

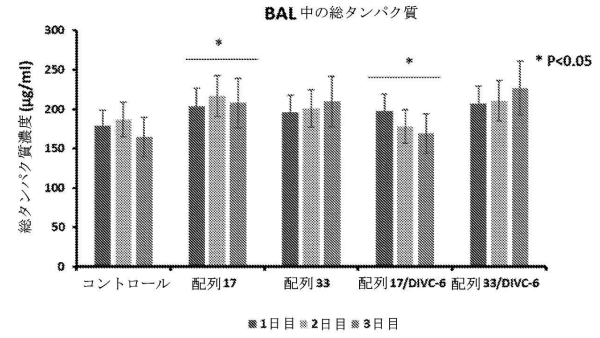
40

50

【図 19 A】



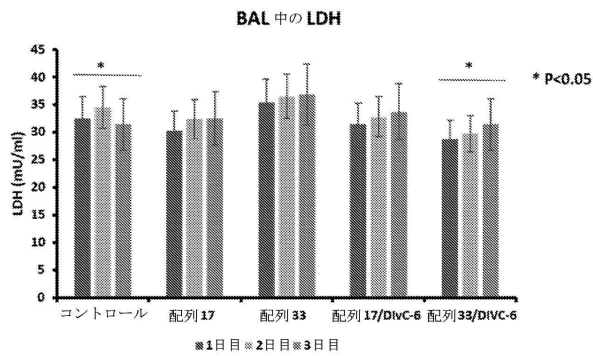
【図 19 B】



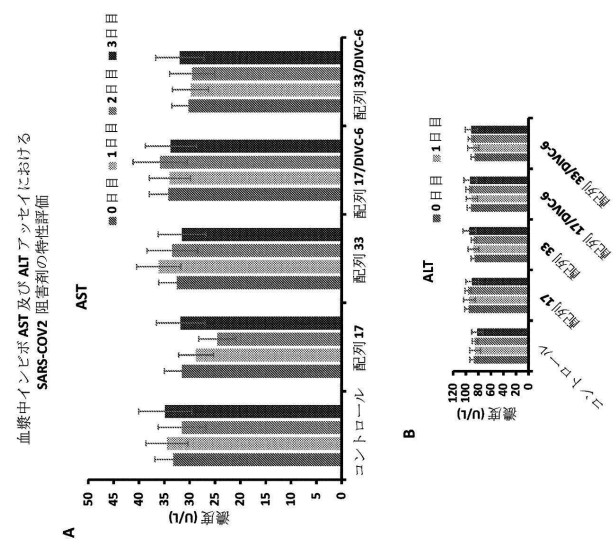
10

20

【図 19 C】



【図 20】



30

40

50

【配列表】

2023536436000001.app

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和5年3月27日(2023.3.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドであって、前記ブロッキングペプチドが、SPIKEとACE2との相互作用を特異的に遮断し、前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの二次構造または三次構造を安定化する、前記キメラペプチド。 10

【請求項2】

前記ブロッキングペプチドが、SPIKEの受容体結合ドメイン(RBD)内のループ配列を含む、請求項1に記載のキメラペプチド。

【請求項3】

前記ループ配列が、アミノ酸約20個以下の長さを有する、請求項2に記載のキメラペプチド。

【請求項4】 20

前記ループ配列が、アミノ酸約7個～アミノ酸約18個の長さを有する、請求項3に記載のキメラペプチド。

【請求項5】

前記ブロッキングペプチドが、C末端にリシン(K)を含む、請求項1～4のいずれか1項に記載のキメラペプチド。

【請求項6】

前記ループ配列が、配列番号1～11及び42～46からなる群から選択される、請求項1～5のいずれか1項に記載のキメラペプチド。

【請求項7】

前記ループ配列が、配列番号1、6、8～11、42及び45からなる群から選択される、請求項6に記載のキメラペプチド。 30

【請求項8】

前記ブロッキングペプチドが、ACE2の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列を含む、請求項1に記載のキメラペプチド。

【請求項9】

前記ブロッキングペプチドが、配列番号23～31及び47～52からなる群から選択される配列を含む、請求項8に記載のキメラペプチド。

【請求項10】

前記ブロッキングペプチドが、配列番号23、24、26～28、31及び47～52からなる群から選択される配列を含む、請求項9に記載のキメラペプチド。 40

【請求項11】

前記ループ配列が環状である、請求項2～10に記載のキメラペプチド。

【請求項12】

前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドのC末端に連結されている、請求項1～11のいずれか1項に記載のキメラペプチド。

【請求項13】

前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドのN末端に連結されている、請求項1～11のいずれか1項に記載のキメラペプチド。

【請求項14】

前記安定化ペプチドが、アミノ酸約12個～アミノ酸約30個の長さを有する、請求項 50

1 2 または請求項 1 3 に記載のキメラペプチド。

【請求項 1 5】

前記ブロッキングペプチド及び前記安定化ペプチドがそれぞれ、ACE 2 に由来する配列を含む、請求項 8 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【請求項 1 6】

前記安定化ペプチドが、配列番号 4 9 または 5 0 に示される配列を含む、請求項 1 5 に記載のキメラペプチド。

【請求項 1 7】

前記安定化ペプチドが、両親媒性ヘリックス構造を含む、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【請求項 1 8】

前記安定化ペプチドが、ADGN-100 ペプチドまたは VEP EP-6 ペプチドを含む、請求項 1 7 に記載のキメラペプチド。

【請求項 1 9】

前記安定化ペプチドが、配列番号 5 3 ～ 1 0 7 のいずれか 1 つに示される配列を含む、請求項 1 8 に記載のキメラペプチド。

【請求項 2 0】

前記安定化ペプチドが、配列番号 5 5 または 9 7 に示される配列を含む、請求項 1 9 に記載のキメラペプチド。

【請求項 2 1】

前記ブロッキングペプチドと前記安定化ペプチドとがリンカーによって連結されている、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【請求項 2 2】

前記リンカーが、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、PEG 部分、Aun、Ava、及び Ahx からなる群から選択される、請求項 2 1 に記載のキメラペプチド。

【請求項 2 3】

前記 PEG 部分が、約 2 ～ 約 7 個のエチレングリコール単位からなる、請求項 1 9 に記載のキメラペプチド。

【請求項 2 4】

配列番号 1 2 ～ 2 2、2 7、2 8、及び 3 1 ～ 4 1 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

【請求項 2 5】

配列番号 1 2、1 7、1 9 ～ 2 2、2 7、2 8、3 1 ～ 3 3、3 5、及び 3 8 ～ 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 2 4 に記載のキメラペプチド。

【請求項 2 6】

配列番号 1 2 ～ 2 2、2 4 ～ 4 1、及び 1 5 1 ～ 1 6 0 のいずれかのアミノ酸配列を含む非天然ペプチド。

【請求項 2 7】

前記ペプチドが、配列番号 1 2、1 7、1 9 ～ 2 2、2 4、2 6 ～ 2 8、3 1 ～ 3 3、3 5、3 8 ～ 4 0、1 5 1、1 5 6、及び 1 5 8 ～ 1 6 0 のいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 2 6 に記載の非天然ペプチド。

【請求項 2 8】

前記ペプチドが、アミノ酸約 1 0 0 個以下の長さを有する、請求項 2 6 または 2 7 に記載の非天然ペプチド。

【請求項 2 9】

配列番号 1 6 1 ～ 1 8 0 からなる群から選択される核酸配列を含む、siRNA。

【請求項 3 0】

前記 siRNA が、配列番号 1 6 3、1 7 0、1 6 6、または 1 6 8 に示される核酸配列を含む、請求項 2 9 に記載の siRNA。

【請求項 3 1】

10

20

30

40

50

a) 請求項 1～25 のいずれかに記載のキメラペプチド、請求項 26 もしくは 27 に記載のペプチド、または請求項 28 もしくは請求項 29 に記載の s i R N A を含むカーゴと、b) 第 2 のペプチドと、を含む複合体であって、前記ペプチドまたは前記 s i R N A が前記第 2 のペプチドと複合体を形成している、前記複合体。

【請求項 32】

前記第 2 のペプチドが、C A D Y、P E P-1 ペプチド、P E P-2 ペプチド、P E P-3 ペプチド、L N C O V ペプチド、V E P E P-3 ペプチド、V E P E P-6 ペプチド、V E P E P-9 ペプチド、及び A D G N-100 ペプチドからなる群から選択される細胞透過性ペプチドである、請求項 31 に記載の複合体。

【請求項 33】

前記第 2 のペプチドと前記ペプチドまたは前記 s i R N A とのモル比が、約 1 : 1 ～約 80 : 1 である、請求項 31 または請求項 32 に記載の複合体。

【請求項 34】

前記第 2 のペプチドと前記ペプチドとのモル比が、約 2 : 1 ～約 10 : 1 である、請求項 33 に記載の複合体。

【請求項 35】

前記第 2 のペプチドと前記 s i R N A とのモル比が、約 5 : 1 ～約 50 : 1 である、請求項 34 に記載の複合体。

【請求項 36】

a) 請求項 1～25 のいずれかに記載のキメラペプチド、もしくは請求項 26～28 のいずれかに記載のペプチド、及び／または b) 請求項 29 もしくは請求項 30 に記載の s i R N A を含む、請求項 31～35 のいずれか 1 項に記載の複合体。

【請求項 37】

前記 s i R N A が、配列番号 166 に示される核酸配列を含む、請求項 36 に記載の複合体。

【請求項 38】

配列番号 17 または 33 に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドを含む、請求項 37 に記載の複合体。

【請求項 39】

請求項 30～38 のいずれか 1 項に記載の複合体を含む、ナノ粒子。

【請求項 40】

前記ナノ粒子が、約 100 nm 以下の直径を有する、請求項 39 に記載のナノ粒子。

【請求項 41】

前記ナノ粒子が、約 40～約 60 nm の直径を有する、請求項 40 に記載のナノ粒子。

【請求項 42】

a) 請求項 1～25 のいずれかに記載のキメラペプチド、請求項 26～28 のいずれかに記載のペプチド、請求項 29 または請求項 30 に記載の s i R N A、請求項 31～41 のいずれかに記載の複合体またはナノ粒子と、b) 薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。

【請求項 43】

前記組成物が、2 つ以上の複合体またはナノ粒子を含み、前記 2 つ以上の複合体またはナノ粒子が異なるカーゴを含む、請求項 42 に記載の医薬組成物。

【請求項 44】

前記カーゴを前記第 2 のペプチドと組み合わせることを含む、請求項 31～41 のいずれか 1 項に記載の複合体またはナノ粒子を調製する方法。

【請求項 45】

個体における S A R S-C o V-2 感染を治療するための、請求項 42 または請求項 43 の医薬組成物。

【請求項 46】

前記医薬組成物が、噴霧または局所肺または経鼻送達により投与されるものである、請

10

20

30

40

50

求項 4 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 7】

前記個体が、ヒトである、請求項 4 5 または請求項 4 6 に記載の医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 4】

本出願は別の態様において、有効量の上記に述べた医薬組成物のいずれかの個体に投与することを含む、個体における SARS-CoV-2 感染を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、噴霧または局所肺または経鼻送達により投与される。いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。

10

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

安定化ペプチドに連結されたブロッキングペプチドを含むキメラペプチドであって、前記ブロッキングペプチドが、SPIKE と ACE 2 との相互作用を特異的に遮断し、前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの二次構造または三次構造を安定化する、前記キメラペプチド。

(項目 2)

前記ブロッキングペプチドが、SPIKE の受容体結合ドメイン (RBD) 内のループ配列を含む、項目 1 に記載のキメラペプチド。

20

(項目 3)

前記ループ配列が、アミノ酸約 20 個以下の長さを有する、項目 2 に記載のキメラペプチド。

(項目 4)

前記ループ配列が、アミノ酸約 7 個～アミノ酸約 18 個の長さを有する、項目 3 に記載のキメラペプチド。

(項目 5)

前記ブロッキングペプチドが、C 末端にリシン (K) を含む、項目 1～4 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

30

(項目 6)

前記ループ配列が、配列番号 1～11 及び 42～46 からなる群から選択される、項目 1～5 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

(項目 7)

前記ループ配列が、配列番号 1、6、8～11、42 及び 45 からなる群から選択される、項目 6 に記載のキメラペプチド。

(項目 8)

前記ブロッキングペプチドが、ACE 2 の細胞外ドメイン内の配列に由来する配列を含む、項目 1 に記載のキメラペプチド。

40

(項目 9)

前記ブロッキングペプチドが、配列番号 23～31 及び 47～52 からなる群から選択される配列を含む、項目 8 に記載のキメラペプチド。

(項目 10)

前記ブロッキングペプチドが、配列番号 23、24、26～28、31 及び 47～52 からなる群から選択される配列を含む、項目 9 に記載のキメラペプチド。

(項目 11)

前記ループ配列が環状である、項目 2～10 に記載のキメラペプチド。

(項目 12)

前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの C 末端に連結されている、項目 1

50

～ 1 1 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

(項目 1 3)

前記安定化ペプチドが、前記ブロッキングペプチドの N 末端に連結されている、項目 1 ～ 1 1 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

(項目 1 4)

前記安定化ペプチドが、アミノ酸約 1 2 個～アミノ酸約 3 0 個の長さを有する、項目 1 2 または項目 1 3 に記載のキメラペプチド。

(項目 1 5)

前記ブロッキングペプチド及び前記安定化ペプチドがそれぞれ、A C E 2 に由来する配列を含む、項目 8 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

(項目 1 6)

前記安定化ペプチドが、配列番号 4 9 または 5 0 に示される配列を含む、項目 1 5 に記載のキメラペプチド。

(項目 1 7)

前記安定化ペプチドが、両親媒性ヘリックス構造を含む、項目 1 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

(項目 1 8)

前記安定化ペプチドが、A D G N - 1 0 0 ペプチドまたは V E P E P - 6 ペプチドを含む、項目 1 7 に記載のキメラペプチド。

(項目 1 9)

前記安定化ペプチドが、配列番号 5 3 ～ 1 0 7 のいずれか 1 つに示される配列を含む、項目 1 8 に記載のキメラペプチド。

(項目 2 0)

前記安定化ペプチドが、配列番号 5 5 または 9 7 に示される配列を含む、項目 1 9 に記載のキメラペプチド。

(項目 2 1)

前記ブロッキングペプチドと前記安定化ペプチドとがリンカーによって連結されている、項目 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

(項目 2 2)

前記リンカーが、プロリン、ポリグリシンリンカー部分、P E G 部分、A u n、A v a、及び A h x からなる群から選択される、項目 2 1 に記載のキメラペプチド。

(項目 2 3)

前記 P E G 部分が、約 2 ～約 7 個のエチレングリコール単位からなる、項目 1 9 に記載のキメラペプチド。

(項目 2 4)

配列番号 1 2 ～ 2 2、2 7、2 8、及び 3 1 ～ 4 1 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、項目 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載のキメラペプチド。

(項目 2 5)

配列番号 1 2、1 7、1 9 ～ 2 2、2 7、2 8、3 1 ～ 3 3、3 5、及び 3 8 ～ 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 2 4 に記載のキメラペプチド。

(項目 2 6)

配列番号 1 2 ～ 2 2、2 4 ～ 4 1、及び 1 5 1 ～ 1 6 0 のいずれかのアミノ酸配列を含む非天然ペプチド。

(項目 2 7)

前記ペプチドが、配列番号 1 2、1 7、1 9 ～ 2 2、2 4、2 6 ～ 2 8、3 1 ～ 3 3、3 5、3 8 ～ 4 0、1 5 1、1 5 6、及び 1 5 8 ～ 1 6 0 のいずれかのアミノ酸配列を含む、項目 2 6 に記載の非天然ペプチド。

(項目 2 8)

前記ペプチドが、アミノ酸約 1 0 0 個以下の長さを有する、項目 2 6 または 2 7 に記載の非天然ペプチド。

10

20

30

40

50

(項目 2 9)

配列番号 1 6 1 ～ 1 8 0 からなる群から選択される核酸配列を含む、s i R N A。

(項目 3 0)

前記 s i R N A が、配列番号 1 6 3、1 7 0、1 6 6、または 1 6 8 に示される核酸配列を含む、項目 2 9 に記載の s i R N A。

(項目 3 1)

a) 項目 1 ～ 2 5 のいずれかに記載のキメラペプチド、項目 2 6 もしくは 2 7 に記載のペプチド、または項目 2 8 もしくは項目 2 9 に記載の s i R N A を含むカーゴと、b) 第 2 のペプチドと、を含む複合体であって、前記ペプチドまたは前記 s i R N A が前記第 2 のペプチドと複合体を形成している、前記複合体。

(項目 3 2)

前記第 2 のペプチドが、C A D Y、P E P - 1 ペプチド、P E P - 2 ペプチド、P E P - 3 ペプチド、L N C O V ペプチド、V E P E P - 3 ペプチド、V E P E P - 6 ペプチド、V E P E P - 9 ペプチド、及び A D G N - 1 0 0 ペプチドからなる群から選択される細胞透過性ペプチドである、項目 3 1 に記載の複合体。

(項目 3 3)

前記第 2 のペプチドと前記ペプチドまたは前記 s i R N A とのモル比が、約 1 : 1 ～ 約 8 0 : 1 である、項目 3 1 または項目 3 2 に記載の複合体。

(項目 3 4)

前記第 2 のペプチドと前記ペプチドとのモル比が、約 2 : 1 ～ 約 1 0 : 1 である、項目 3 3 に記載の複合体。

(項目 3 5)

前記第 2 のペプチドと前記 s i R N A とのモル比が、約 5 : 1 ～ 約 5 0 : 1 である、項目 3 4 に記載の複合体。

(項目 3 6)

a) 項目 1 ～ 2 5 のいずれかに記載のキメラペプチド、もしくは項目 2 6 ～ 2 8 のいずれかに記載のペプチド、及び／または b) 項目 2 9 もしくは項目 3 0 に記載の s i R N A を含む、項目 3 1 ～ 3 5 のいずれか 1 項に記載の複合体。

(項目 3 7)

前記 s i R N A が、配列番号 1 6 6 に示される核酸配列を含む、項目 3 6 に記載の複合体。

(項目 3 8)

配列番号 1 7 または 3 3 に示されるアミノ酸配列を含むキメラペプチドを含む、項目 3 7 に記載の複合体。

(項目 3 9)

項目 3 0 ～ 3 8 のいずれか 1 項に記載の複合体を含む、ナノ粒子。

(項目 4 0)

前記ナノ粒子が、約 1 0 0 n m 以下の直径を有する、項目 3 9 に記載のナノ粒子。

(項目 4 1)

前記ナノ粒子が、約 4 0 ～ 約 6 0 n m の直径を有する、項目 4 0 に記載のナノ粒子。

(項目 4 2)

a) 項目 1 ～ 2 5 のいずれかに記載のキメラペプチド、項目 2 6 ～ 2 8 のいずれかに記載のペプチド、項目 2 9 または項目 3 0 に記載の s i R N A、項目 3 1 ～ 4 1 のいずれかに記載の複合体またはナノ粒子と、b) 薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。

(項目 4 3)

前記組成物が、2 つ以上の複合体またはナノ粒子を含み、前記 2 つ以上の複合体またはナノ粒子が異なるカーゴを含む、項目 4 2 に記載の医薬組成物。

(項目 4 4)

前記カーゴを前記第 2 のペプチドと組み合わせることを含む、項目 3 1 ～ 4 1 のいずれ

10

20

30

40

50

か 1 項に記載の複合体またはナノ粒子を調製する方法。

( 項目 4 5 )

個体における S A R S - C o V - 2 感染を治療する方法であって、前記個体に有効量の項目 4 2 または項目 4 3 の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

( 項目 4 6 )

前記医薬組成物が、噴霧または局所肺または経鼻送達により投与される、項目 4 5 に記載の方法。

( 項目 4 7 )

前記個体が、ヒトである、項目 4 5 または項目 4 6 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2021/043077

| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br><b>INV.</b> C07K14/165 A61P31/14 A61K38/17 C07K7/08 C07K14/005<br>C07K14/705 C07K14/08 C12N15/113<br><b>ADD.</b><br>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br><b>A61P A61K C07K C12N</b><br><br>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched<br><br>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br><b>EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                             |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                             |
| Category*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Relevant to claim No.                                                       |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <b>ANNA-WINONA STRUCK ET AL: "A hexapeptide of the receptor-binding domain of SARS corona virus spike protein blocks viral entry into host cells via the human receptor ACE2", ANTIVIRAL RESEARCH, ELSEVIER BV, NL, vol. 94, no. 3, 20 December 2011 (2011-12-20), pages 288-296, XP028505925, ISSN: 0166-3542, DOI: 10.1016/J.ANTIVIRAL.2011.12.012 [retrieved on 2012-01-17]</b> | <b>1-7, 11-14, 21-23, 31-47</b>                                             |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <b>tables 1, 2</b><br><br>-----<br>-/--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <b>17-20, 24, 26, 28</b>                                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                             |
| * Special categories of cited documents :<br><b>"A"</b> document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br><b>"E"</b> earlier application or patent but published on or after the international filing date<br><b>"L"</b> 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)<br><b>"O"</b> document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br><b>"P"</b> document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br><b>"T"</b> 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<br><b>"X"</b> 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<br><b>"Y"</b> 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<br><b>"&amp;"</b> document member of the same patent family |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                             |
| Date of the actual completion of the international search<br><br><b>8 November 2021</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Date of mailing of the international search report<br><br><b>17/01/2022</b> |
| Name and mailing address of the ISA/<br>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040,<br>Fax: (+31-70) 340-3016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Authorized officer<br><br><b>Schmitz, Till</b>                              |

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

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <div style="border-bottom: 1px solid black; margin-bottom: 5px;">International application No.</div> <div style="text-align: center;">PCT/US2021/043077</div> |
| <b>Box No. I    Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                               |
| <p>1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:</p> <p style="margin-left: 20px;">a. <input checked="" type="checkbox"/> forming part of the international application as filed:</p> <div style="margin-left: 40px;"><input checked="" type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file.<br/><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file.</div> <p style="margin-left: 20px;">b. <input type="checkbox"/> furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.</p> <p style="margin-left: 20px;">c. <input type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:</p> <div style="margin-left: 40px;"><input type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).<br/><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).</div> <p>2. <input type="checkbox"/> In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.</p> <p>3. Additional comments:</p> |                                                                                                                                                               |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2021/043077

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                   |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Relevant to claim No.             |
| X                                                    | WO 2005/028497 A2 (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL [US]; FARZAN MICHAEL [US]; LI WENHUI [US]) 31 March 2005 (2005-03-31)                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1-7,<br>11-14,<br>21-23,<br>31-47 |
| Y                                                    | figure 3c                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 17-20,<br>24,26,28                |
| X                                                    | HO T Y ET AL: "Design and biological activities of novel inhibitory peptides for SARS-CoV spike protein and angiotensin-converting enzyme 2 interaction",<br>ANTIVIRAL RESEARCH, ELSEVIER BV, NL, vol. 69, no. 2,<br>1 February 2006 (2006-02-01), pages 70-76, XP025031482,<br>ISSN: 0166-3542, DOI:<br>10.1016/J.ANTIVIRAL.2005.10.005<br>[retrieved on 2006-02-01]                                                 | 1-7,<br>11-14,<br>21-23,<br>31-47 |
| Y                                                    | table 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 17-20,<br>24,26,28                |
| X                                                    | VANPATTEN SONYA ET AL: "Evidence supporting the use of peptides and peptidomimetics as potential SARS-CoV-2 (COVID-19) therapeutics",<br>FUTURE MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 12, no. 18, 16 July 2020 (2020-07-16), pages 1647-1656, XP055842614, GB<br>ISSN: 1756-8919, DOI:<br>10.4155/fmc-2020-0180<br>Retrieved from the Internet:<br>URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7364852/pdf/fmc-2020-0180.pdf | 1-7,<br>11-14,<br>21-23,<br>31-47 |
| Y                                                    | table 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 17-20,<br>24,26,28                |
| Y                                                    | WO 2017/205846 A1 (AADIGEN LLC [US])<br>30 November 2017 (2017-11-30)<br><br>paragraphs [0002], [0006]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 17-20,<br>24,26,<br>28,31-47      |
| Y                                                    | WO 2019/032917 A1 (AADIGEN LLC [US])<br>14 February 2019 (2019-02-14)<br><br>page 97 - page 103                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 17-20,<br>24,26,<br>28,31-47      |
|                                                      | -----<br>-/--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                   |

2

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

page 2 of 3

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2021/043077

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                        |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Relevant to claim No.                                  |
| A                                                    | <p>G. Zhang ET AL: "The first-in-class peptide binder to the SARS-CoV-2 spike protein",<br/>bioRxiv,<br/>17 June 2020 (2020-06-17), XP055732328,<br/>DOI: 10.1101/2020.03.19.999318<br/>Retrieved from the Internet:<br/>URL:https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.19.999318v1.full.pdf<br/>cited in the application<br/>line 143</p> <p>-----</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <p>1-7,<br/>11-14,<br/>17-24,<br/>26,28,<br/>31-47</p> |
| A                                                    | <p>BARH DEBMALYA ET AL: "Potential chimeric peptides to block the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain",<br/>F1000RESEARCH,<br/>vol. 9, 1 January 2020 (2020-01-01), page 576, XP055853074,<br/>DOI: 10.12688/f1000research.24074.1<br/>Retrieved from the Internet:<br/>URL:https://f1000researchdata.s3.amazonaws.com/manuscripts/26557/40915fa4-ff97-4031-989b-17cda449b5dd_24074_-_debmalya_barh.pdf?doi=10.12688/f1000research.24074.1&amp;numberOfBrowsableCollections=29&amp;numberOfBrowsableInstitutionalCollections=4&amp;numberOfBrowsableGateways=29&gt;<br/>figure 3<br/>"Strategy III";<br/>page 3 - page 4</p> <p>-----</p> | <p>1-7,<br/>11-14,<br/>17-24,<br/>26,28,<br/>31-47</p> |
| A                                                    | <p>Huang: "De novo design of protein peptides to block association of the SARSCoV-2 spike protein with human ACE2",<br/>,<br/>16 June 2020 (2020-06-16), pages 11263-11276, XP055855619,<br/>Retrieved from the Internet:<br/>URL:https://www.aging-us.com/article/103416/pdf<br/>[retrieved on 2021-10-27]<br/>the whole document</p> <p>-----</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <p>1-7,<br/>11-14,<br/>17-24,<br/>26,28,<br/>31-47</p> |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2021/043077

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

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

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

10

20

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

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

**see additional sheet**

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims.; it is covered by claims Nos.:  
**2-7 (completely); 1, 11-14, 17-28, 31-47 (partially)**

30

40

**Remark on Protest**

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

International Application No. PCT/US2021/043077

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 2-7(completely); 1, 11-14, 17-28, 31-47(partially)

Chimeric peptide comprising spike RBD-derived peptide as blocking peptide and a stabilising peptide as claimed. Further a complex, nanoparticle, pharmaceutical composition, method referring thereto.

---

2. claims: 8-10, 15, 16(completely); 1, 11-14, 17-28, 31-47(partially)

As invention 1, but relating to a ACE2 (extracellular domain)-derived peptide.

---

3. claims: 29, 30(completely); 31-47(partially)

siRNA comprising SQ ID NOs 161-180. Further complex, nanoparticle pharmaceutical composition, methods relating thereto.

---

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

**PCT/US2021/043077**

| Patent document<br>cited in search report |           | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)                                                                                                                                                       | Publication<br>date                                                                                                                             |
|-------------------------------------------|-----------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>WO 2005028497</b>                      | <b>A2</b> | <b>31-03-2005</b>   | <b>US 2005113298 A1</b><br><b>WO 2005028497 A2</b>                                                                                                                               | <b>26-05-2005</b><br><b>31-03-2005</b>                                                                                                          |
| <hr/>                                     |           |                     |                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                 |
| <b>WO 2017205846</b>                      | <b>A1</b> | <b>30-11-2017</b>   | <b>AU 2017268842 A1</b><br><b>CA 3025523 A1</b><br><b>CN 109689677 A</b><br><b>EP 3464323 A1</b><br><b>EP 3910059 A1</b><br><b>JP 2019521659 A</b><br><b>WO 2017205846 A1</b>    | <b>13-12-2018</b><br><b>30-11-2017</b><br><b>26-04-2019</b><br><b>10-04-2019</b><br><b>17-11-2021</b><br><b>08-08-2019</b><br><b>30-11-2017</b> |
| <hr/>                                     |           |                     |                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                 |
| <b>WO 2019032917</b>                      | <b>A1</b> | <b>14-02-2019</b>   | <b>AU 2018313940 A1</b><br><b>CA 3072461 A1</b><br><b>CN 111194351 A</b><br><b>EP 3665285 A1</b><br><b>JP 2020530463 A</b><br><b>US 2020172913 A1</b><br><b>WO 2019032917 A1</b> | <b>05-03-2020</b><br><b>14-02-2019</b><br><b>22-05-2020</b><br><b>17-06-2020</b><br><b>22-10-2020</b><br><b>04-06-2020</b><br><b>14-02-2019</b> |
| <hr/>                                     |           |                     |                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                 |

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

## F I

## テーマコード (参考)

|                |                         |                |               |
|----------------|-------------------------|----------------|---------------|
| <b>A 6 1 K</b> | <b>9/72 (2006.01)</b>   | <b>A 6 1 K</b> | <b>9/72</b>   |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>9/12 (2006.01)</b>   | <b>A 6 1 K</b> | <b>9/12</b>   |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>38/16 (2006.01)</b>  | <b>A 6 1 K</b> | <b>38/16</b>  |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>31/713 (2006.01)</b> | <b>A 6 1 K</b> | <b>31/713</b> |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>47/64 (2017.01)</b>  | <b>A 6 1 K</b> | <b>47/64</b>  |
| <b>C 1 2 N</b> | <b>15/50 (2006.01)</b>  | <b>C 1 2 N</b> | <b>15/50</b>  |
| <b>C 1 2 N</b> | <b>15/57 (2006.01)</b>  | <b>C 1 2 N</b> | <b>15/57</b>  |

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,N  
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,  
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K  
E,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,N  
G,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

(72)発明者 デサイ, ニール ピー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 0 2 7 2, パシフィック パリセーズ, ルナ ビスタ ドライ  
ブ 1 3 4 3

(72)発明者 ディビタ, ジル

フランス国 3 4 7 2 5 サン タンドレ ド サンゴニ, リュ スー レ ゼール 2 6 ビス

F ターム (参考) 4C076 AA24 AA93 AA95 BB25 BB27 CC35 CC41 EE41 EE59 FF34  
FF68

4C084 AA13 BA08 BA18 BA19 BA23 BA41 MA13 MA55 MA59 NA13  
NA14 ZB33

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA13 MA55 MA59 NA14 ZB33

4H045 AA10 AA30 BA09 CA01 CA40 DA50 EA20 FA74