

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2023-524054  
(P2023-524054A)

(43)公表日 令和5年6月8日(2023.6.8)

| (51)国際特許分類        |                             | F I     |           | テーマコード (参考)                                                                      |                    |
|-------------------|-----------------------------|---------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| A 6 1 K           | 39/215 (2006.01)            | A 6 1 K | 39/215    | 4 B 0 6 4                                                                        |                    |
| C 1 2 N           | 15/50 (2006.01)             | C 1 2 N | 15/50     | 4 B 0 6 5                                                                        |                    |
| C 1 2 N           | 15/63 (2006.01)             | C 1 2 N | 15/63     | 4 C 0 8 5                                                                        | Z                  |
| C 1 2 N           | 5/10 (2006.01)              | C 1 2 N | 5/10      | 4 H 0 4 5                                                                        |                    |
| C 1 2 N           | 1/15 (2006.01)              | C 1 2 N | 1/15      |                                                                                  |                    |
|                   |                             | 審査請求    | 未請求       | 予備審査請求                                                                           | 未請求 (全139頁) 最終頁に続く |
| (21)出願番号          | 特願2022-566176(P2022-566176) | (71)出願人 | 512330710 | ナイコード セラピューティクス アルメ<br>ン アクスイェ セルスカブ<br>ノルウェー国, エン-0 3 4 9 オスロ<br>, ガウスタダレーン 2 1 |                    |
| (86)(22)出願日       | 令和3年5月3日(2021.5.3)          | (74)代理人 | 100099759 |                                                                                  |                    |
| (85)翻訳文提出日        | 令和4年12月1日(2022.12.1)        | (74)代理人 | 弁理士 青木 篤  |                                                                                  |                    |
| (86)国際出願番号        | PCT/EP2021/061602           | (74)代理人 | 100123582 |                                                                                  |                    |
| (87)国際公開番号        | WO2021/219897               | (74)代理人 | 弁理士 三橋 真二 |                                                                                  |                    |
| (87)国際公開日         | 令和3年11月4日(2021.11.4)        | (74)代理人 | 100117019 | 弁理士 渡辺 陽一<br>100141977<br>弁理士 中島 勝<br>100138210<br>弁理士 池田 達則                     |                    |
| (31)優先権主張番号       | PA202070282                 | (74)代理人 | 弁理士 渡辺 陽一 |                                                                                  |                    |
| (32)優先日           | 令和2年5月1日(2020.5.1)          | (74)代理人 | 100141977 |                                                                                  |                    |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | デンマーク(DK)                   | (74)代理人 | 弁理士 中島 勝  |                                                                                  |                    |
| (31)優先権主張番号       | PA202070293                 | (74)代理人 | 100138210 |                                                                                  |                    |
| (32)優先日           | 令和2年5月6日(2020.5.6)          |         | 弁理士 池田 達則 | 最終頁に続く                                                                           |                    |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | デンマーク(DK)                   |         |           |                                                                                  |                    |
| (31)優先権主張番号       | PA202070735                 |         |           |                                                                                  |                    |
|                   |                             | 最終頁に続く  |           |                                                                                  |                    |

(54)【発明の名称】 ベータコロナウイルスの予防と治療

(57)【要約】

ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（当該抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを免疫学的に有効な量で含むワクチンが開示されている。この抗原は抗原提示細胞を標的としているため、体内でこの抗原が産生されることから、本ワクチンは、より低い／少ない用量を用いて迅速で強力な免疫応答を誘導することができるためパンデミックとエピデミックにとって理想的である。

Fig. 1  
SEQ ID NO: 230

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLPLFFSNVTFWHAHVSGTNGTKRFD  
NPVLFPNDGVYFASTKSNIRGWIFCTTLDSTQGLLVNATNVVKKVECFQFNDPFVGVYVKKNSHMESEFRVYS  
SANNCTFEYVSQFLNDLEGGKGNFKALREFVKNIDSYFKYSKHTPINLVRLPOGFSALPEVLDLPKGNITRFTQLAL  
HRSYLTPODSSSGWTAGAAAYVYGYLQPRTRLLKYNGENSTTDAVDCALDRSETKLSFTVEKGYQTSNFRVORTE  
SVRFPMITNLCPDGEVFNATRFASVYAWNRRKRSKGVADYSVLYNSASFSTFKCYGYSPTKLDNLCFTIVVYADSFVRGD  
EVRQIAPGQTGKAADYNYKLPODFTGCVIANNNSNLDKVGKGNVNYLVRLFRKSNLKPFERDSTETVQAGSTPCNGVEG  
FNCYFLQSYGFGPTNGVGYQPYRVVWVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCYVNFNFGLTGTGTITESTNKKFLPFQ  
FGRDIADTTDAVRDPTLEILDITPCSFSGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTVNFVAHADQLPTVWRVYSTGNSVFT  
RAGCLGAEHVNSYECDFIGAGICASYQTQTSNPRARSVASQSIAYTMSLGAENSVAYSNNIAPTNFTISVTTELPLV  
SMTKTSVDCMTMYCGDSTECNSLLQYGSFCTQLNRLTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQYKTPPKDFGGFNFSQILPDPS  
KPSKRSFIEDLLFNKVTADAGFIKQYGGDLGDIARDLCAQKFNGLTVLPPLLTDEMAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA  
LQIPFAMQAMAYRFNGVYQNVLYENQKLIANGFNISAIGKIGDSLSSTASALGKLQDVVNDQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS  
SVLNDILSRDKVEAEVIDRLITGRLOSLQTYTQQLRAAEIRASANLAATKMSCEVLDGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQS  
APHGVVFLHYTYVPAQEKFTTAPACHDGKAHFPREGVPSNGTHWVFTQRNFYEPQITTDNTFYSGNCDVVGIVNNT  
VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNITSPDVLGDIGSINASVYNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLGELGKYEQYKWPWYIWL  
GFIAGLIAMVMTIMLCMTSCCCKGSCGSCGCKFDDEDDSEPVLLKGVKLHYT

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、ここで前記抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む；または

(i i) (i) に記載のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または (i i i) (i) に記載のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質；および  
薬学的に許容可能な担体を含む、ワクチン。

10

## 【請求項 2】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部である、請求項 1 に記載のワクチン。

## 【請求項 3】

前記ウイルス表面タンパク質が、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼから選択される、請求項 2 に記載のワクチン。

## 【請求項 4】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記スパイクタンパク質を含む、または前記スパイクタンパク質である、請求項 2 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

20

## 【請求項 5】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記完全長スパイクタンパク質を含む、または前記完全長スパイクタンパク質である、請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

## 【請求項 6】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号 275 のアミノ酸配列 243 ～ 1437 と少なくとも 70 % 一致する配列、例えば少なくとも 75 %、例えば少なくとも 77 %、例えば少なくとも 80 %、例えば少なくとも 85 %、例えば少なくとも 90 %、例えば少なくとも 91 %、例えば少なくとも 92 %、例えば少なくとも 93 %、例えば少なくとも 94 %、例えば少なくとも 95 %、例えば少なくとも 96 %、例えば少なくとも 97 %、例えば少なくとも 98 %、または例えば少なくとも 99 % 一致する配列、または例えば 100 % 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項 5 に記載のワクチン。

30

## 【請求項 7】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記スパイクタンパク質の一部を含む、または前記スパイクタンパク質の一部である、請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

## 【請求項 8】

前記スパイクタンパク質の前記一部が、受容体結合ドメイン (RBD)、h e p t a d r e p e a t 1 (HR1) ドメイン、および h e p t a d r e p e a t 2 (HR2) ドメインからなる群から選択される 1 つである、請求項 7 に記載のワクチン。

40

## 【請求項 9】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記 RBD または前記 RBD の一部を含むか、前記 RBD または前記 RBD の一部である、請求項 8 に記載のワクチン。

## 【請求項 10】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号 231 または配列番号 802、または配列番号 803 または配列番号 804 または配列番号 805 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 一致する配列、例えば少なくとも 75 %、例えば少なくとも 7

50

7 %、例えば少なくとも80 %、例えば少なくとも85 %、例えば少なくとも90 %、例えば少なくとも91 %、例えば少なくとも92 %、例えば少なくとも93 %、例えば少なくとも94 %、例えば少なくとも95 %、例えば少なくとも96 %、例えば少なくとも97 %、例えば少なくとも98 %、または例えば少なくとも99 %一致する配列、または例えば100 %一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項9に記載のワクチン。

【請求項11】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号255のアミノ酸配列243～465と少なくとも70 %一致する配列、例えば少なくとも75 %、例えば少なくとも77 %、例えば少なくとも80 %、例えば少なくとも85 %、例えば少なくとも90 %、例えば少なくとも91 %、例えば少なくとも92 %、例えば少なくとも93 %、例えば少なくとも94 %、例えば少なくとも95 %、例えば少なくとも96 %、例えば少なくとも97 %、例えば少なくとも98 %、または例えば少なくとも99 %一致する配列、または例えば100 %一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項9に記載のワクチン。

10

【請求項12】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号246のアミノ酸配列と少なくとも70 %一致する配列、例えば少なくとも75 %、例えば少なくとも77 %、例えば少なくとも80 %、例えば少なくとも85 %、例えば少なくとも90 %、例えば少なくとも91 %、例えば少なくとも92 %、例えば少なくとも93 %、例えば少なくとも94 %、例えば少なくとも95 %、例えば少なくとも96 %、例えば少なくとも97 %、例えば少なくとも98 %、例えば少なくとも99 %一致する配列、または例えば100 %一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項9に記載のワクチン。

20

【請求項13】

前記抗原ユニットが前記RBDまたはその一部の複数のコピーを含み、それらコピーはアミノ酸配列が同じである、または異なっている、請求項9～12のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項14】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれるB細胞エピトープである、請求項2～13のいずれか1項に記載のワクチン。

30

【請求項15】

前記抗原ユニットが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれる複数のB細胞エピトープを含む、請求項2～14のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項16】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープがT細胞エピトープである、請求項1に記載のワクチン。

【請求項17】

前記抗原ユニットが複数のT細胞エピトープを含む、請求項16に記載のワクチン。

40

【請求項18】

前記T細胞エピトープが、ベータコロナウイルスの異なる属および／または種および／または株の間、好ましくはSARS-CoV2とSARS-CoVの間で保存されている、請求項16～17のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項19】

前記T細胞エピトープが、7～約200個のアミノ酸の長さ、好ましくは7～100個のアミノ酸を有するか、またはHLAクラスI／IIアレルによって提示されるのに適した長さ、好ましくは7～30個のアミノ酸の長さ、より好ましくは長さ8～15個のアミノ酸を有する、請求項16～18のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項20】

50

前記 T 細胞エピトープが免疫原性であることが知られているか、または H L A クラス I / I I アレルへの結合に関して予測される能力に基づいて選択される、請求項 1 6 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 2 1】

前記 T 細胞エピトープが、配列番号 1 ~ 配列番号 4 4 4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を有するエピトープから選択される、請求項 1 6 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 2 2】

前記 T 細胞エピトープが、R S F I E D L L F N K V T L A、M T Y R R L I S M M G F K M N Y Q V N G Y P N M F、L M I E R F V S L A I D A Y P、R A M P N M L R I M A S L V L、M V Y M P A S W V M R I M T W、F L N R F T T T L N D F N L V A M、S S V E L K H F F F A Q D G N A A I、H F A I G L A L Y Y P S A R I V Y T A C S H A A V、Y F I K G L N N L N R G M V L、Y L N T L T L A V P Y N M R V、A Q F A P S A S A F F G M S R I、E I V D T V S A L V Y D N K L、S S G D A T T A Y A N S V F N I C Q A V T A N V N A L L、H V I S T S H K L V L S V N P Y V、M L S D T L K N L S D R V V F V L W A H G F E L、T A N P K T P K Y K F V R I Q P G Q T F、A S I K N F K S V L Y Y Q N N V F M、F V N E F Y A Y L R K H F S M M、R V W T L M N V L T L V Y K V、F A Y A N R N R F L Y I I K L、および L V K P S F Y V Y S R V K N L からなるリストから選択される、請求項 1 6 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 2 3】

前記 T 細胞エピトープが、R A M P N M L R I M A S L V L、H V I S T S H K L V L S V N P Y V、および L V K P S F Y V Y S R V K N L からなるリストから選択される、請求項 1 6 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 2 4】

前記抗原ユニットが、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部である少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープをさらに含む、請求項 1 6 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 2 5】

前記ウイルス表面タンパク質が、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択される、請求項 2 4 に記載のワクチン。

【請求項 2 6】

前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが、前記スパイクタンパク質を含む、または前記スパイクタンパク質である、請求項 2 4 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 2 7】

前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが、前記完全長スパイクタンパク質を含む、または前記完全長スパイクタンパク質である、請求項 2 4 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 2 8】

前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号 2 7 5 のアミノ酸配列 2 4 3 ~ 1 4 3 7 と少なくとも 7 0 % 一致する配列、例えば少なくとも 7 5 %、例えば少なくとも 7 7 %、例えば少なくとも 8 0 %、例えば少なくとも 8 5 %、例えば少なくとも 9 0 %、例えば少なくとも 9 1 %、例えば少なくとも 9 2 %、例えば少なくとも 9 3 %、例えば少なくとも 9 4 %、例えば少なくとも 9 5 %、例えば少なくとも 9 6 %、例えば少なくとも 9 7 %、例えば少なくとも 9 8 %、または例えば少なくとも 9 9 % 一致する配列、または例えば 1 0 0 % 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項 2 7 に記載のワクチン。

【請求項 2 9】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記スパイクタンパク質の一部を含む、または前記スパイクタンパク質の一部である、請求項24～26のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項30】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記RBDまたは前記RBDの一部を含むか、前記RBDまたは前記RBDの一部である、請求項29に記載のワクチン。

【請求項31】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号231または配列番号802、または配列番号803または配列番号804または配列番号805のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項30に記載のワクチン。

【請求項32】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号255のアミノ酸配列243～465と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項30に記載のワクチン。

【請求項33】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号246のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、またはそのアミノ酸配列からなる、請求項30に記載のワクチン。

【請求項34】

前記抗原ユニットが前記RBDまたはその一部の複数のコピーを含み、それらコピーはアミノ酸配列が同じである、または異なっている、請求項30～33のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項35】

前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれるB細胞エピトープである、請求項24～34のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項36】

前記抗原ユニットが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれる複数のB細胞エピトープを含む、請求項24～35のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項37】

前記抗原ユニットが、RSFIEDLLFNKVTLA、MTYRRLISMFGKMN YQVNGYPNMF、LMIERFVSLAIDAYP、RAMPNMLRIMASLV L、MVYMPASWVMRIMTW、FLNRF TTT LND FNLVAM、S

10

20

30

40

50

S V E L K H F F F A Q D G N A A I、H F A I G L A L Y Y P S A R I V Y T A C S H  
A A V、Y F I K G L N N L N R G M V L、Y L N T L T L A V P Y N M R V、A Q F A  
P S A S A F F G M S R I、E I V D T V S A L V Y D N K L、S S G D A T T A Y A N  
S V F N I C Q A V T A N V N A L L、H V I S T S H K L V L S V N P Y V、M L S D  
T L K N L S D R V V F V L W A H G F E L、T A N P K T P K Y K F V R I Q P G Q T  
F、A S I K N F K S V L Y Y Q N N V F M、F V N E F Y A Y L R K H F S M M、R V  
W T L M N V L T L V Y K V、F A Y A N R N R F L Y I I K L、および L V K P S F Y  
V Y S R V K N からなるリストから選択される T 細胞エピトープを含み、さらに、配列番  
号 231 または配列番号 802、または配列番号 803 または配列番号 804 または配列  
番号 805 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 一致する配列、例えば少なくとも 75%、  
例えば少なくとも 77%、例えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 85%、例えば少  
なくとも 90%、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも  
93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96%、  
例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98%、または例えば少なくとも 99% 一致  
する配列、または例えば 100% 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、請求項 24  
に記載のワクチン。

10

#### 【請求項 38】

前記抗原ユニットが、R A M P N M L R I M A S L V L、H V I S T S H K L V L S V  
N P Y V、および L V K P S F Y V Y S R V K N L からなるリストから選択される 1 つ以  
上の T 細胞エピトープを含み、さらに、配列番号 255 のアミノ酸配列 243～465 と  
少なくとも 70% 一致する配列、例えば少なくとも 75%、例えば少なくとも 77%、例  
えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 85%、例えば少なくとも 90%、例えば少  
なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも 93%、例えば少なくとも 9  
4%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96%、例えば少なくとも 97%、例  
えば少なくとも 98%、または例えば少なくとも 99% 一致する配列、または例えば 10  
0% 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載のワクチン。

20

#### 【請求項 39】

前記抗原ユニットが、3500 個までのアミノ酸、例えば 21～3500 個のアミノ酸  
、好ましくは約 30 個のアミノ酸～約 2000 個のアミノ酸、例えば約 50～約 1500  
個のアミノ酸、より好ましくは約 100～約 1500 個のアミノ酸、例えば約 100～約  
1000 個のアミノ酸、または約 100～約 500 個のアミノ酸、または約 100～約 3  
00 個のアミノ酸を含む、請求項 1～38 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

30

#### 【請求項 40】

前記抗原ユニットが、1 つ以上のリンカー、好ましくは 1 つ以上の非免疫原性および／  
または可動性リンカーを含む、請求項 1～39 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

#### 【請求項 41】

前記抗原ユニットが、10、20、30、40、または 50 個のエピトープ、好ましく  
は T 細胞エピトープを含む、請求項 1～40 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

#### 【請求項 42】

前記ターゲティングユニットが、抗原提示細胞（APC）上の分子または受容体に対す  
る特異性、好ましくは CD14、CD40、Toll 様受容体、CCR1、CCR3、C  
CR5、MHC クラス II タンパク質、または MHC クラス II タンパク質に対する特異性  
を有する抗体結合領域を含む、請求項 1～41 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

40

#### 【請求項 43】

前記ターゲティングユニットが、CCR1、CCR3、および CCR5 から選択される  
ケモカイン受容体に対する親和性を有する、請求項 1～42 のいずれか 1 項に記載のワク  
チン。

#### 【請求項 44】

前記ターゲティングユニットが、MHC クラス II タンパク質、好ましくは抗 HLA－  
DP、抗 HLA－DR、および抗 p a n HLA クラス II からなる群から選択される M

50

H C クラス I I タンパク質に対する親和性を有する、請求項 4 2 ~ 4 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 4 5】

前記ターゲティングユニットが抗 p a n H L A クラス I I と M I P - 1 α から選択され、好ましくは抗 p a n H L A クラス I I およびヒト M I P - 1 α から選択される、請求項 1 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 4 6】

前記ターゲティングユニットが M I P - 1 α であり、好ましくはヒト M I P - 1 α である、請求項 4 5 によるワクチン。

【請求項 4 7】

前記ターゲティングユニットが抗 p a n H L A クラス I I である、請求項 4 5 に記載のワクチン。

【請求項 4 8】

前記二量体化ユニットがヒンジ領域を含む、請求項 1 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 4 9】

前記二量体化ユニットが、二量体化を容易にする別のドメインをさらに含む、請求項 4 8 に記載のワクチン。

【請求項 5 0】

前記別のドメインが免疫グロブリンドメインであり、好ましくは免疫グロブリン定常ドメインである、請求項 4 9 に記載のワクチン。

【請求項 5 1】

前記二量体化ユニットが二量体化ユニットリンカーをさらに含み、そのリンカーが、前記ヒンジ領域と、二量体化を容易にする前記別のドメインを接続する、請求項 4 8 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 5 2】

前記ポリヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 5 3】

前記ポリヌクレオチドがシグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 5 2 に記載のワクチン。

【請求項 5 4】

前記ポリペプチドまたは前記二量体化ユニットを含み、前記ペプチドまたは前記二量体タンパク質における前記ターゲティングユニット、前記二量体化ユニット、および前記抗原ユニットが、N 末端から C 末端に向かい、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットの順番である、請求項 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 5 5】

前記ベータコロナウイルスが、S A R S - C o V、M E R S - C o V、S A R S - C o V - 2、H C o V - O C 4 3、および H C o V - H K U 1 からなる群から選択される 1 つ、好ましくは S A R S - C o V と S A R S - C o V からなる群から選択される 1 つである、請求項 1 ~ 5 4 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 5 6】

請求項 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載のワクチンとしてのポリヌクレオチド。

【請求項 5 7】

請求項 5 6 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 5 8】

請求項 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む、または請求項 5 7 によるベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 5 9】

請求項 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド。

10

20

30

40

50

## 【請求項 6 0】

請求項 5 9 に記載のポリペプチド 2 つからなる二量体タンパク質。

## 【請求項 6 1】

ホモ二量体タンパク質である、請求項 6 0 に記載の二量体タンパク質。

## 【請求項 6 2】

薬剤として使用するための、請求項 5 6 に記載のポリヌクレオチド、または請求項 5 9 に記載のポリペプチド、または請求項 6 0 または 6 1 のいずれかに記載の二量体タンパク質。

## 【請求項 6 3】

請求項 1 ～ 5 1 と 5 4 ～ 5 5 のいずれか 1 項に記載のワクチンを調製する方法であって、前記ワクチンが前記ポリペプチドまたは前記二量体タンパク質を含み、前記方法が、

10

a) 請求項 1 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを細胞にトランスフェクトする工程；

b) 前記細胞を培養する工程；

c) 前記細胞から発現した前記二量体タンパク質または前記ポリペプチドを回収して精製する工程；および

d) 工程 c) から得られた前記二量体タンパク質または前記ポリペプチドを薬学的に許容可能な前記担体と混合する工程、を含む、方法。

## 【請求項 6 4】

20

請求項 1 ～ 5 3 と 5 5 のいずれか 1 項に記載のワクチンを調製する方法であって、前記ワクチンが前記ポリペプチドまたは前記二量体タンパク質を含み、および前記方法が、

a) 前記ポリヌクレオチドを調製する工程；

b) 場合により、前記ポリヌクレオチドを発現ベクターにクローニングする工程；および

c) 工程 a) から得られた前記ポリヌクレオチド、または工程 b) から得られた前記ベクターを薬学的に許容可能な前記担体と混合する工程、を含む、方法。

## 【請求項 6 5】

ベータコロナウイルス感染症に罹患しているか、その予防を必要とする対象を治療する方法であって、請求項 1 ～ 5 5 のいずれか 1 項に記載のワクチンを前記対象に投与することを含む、方法。

30

## 【請求項 6 6】

ベータコロナウイルスの感染症の治療に使用するための、またはベータコロナウイルス感染症の予防に使用するための、請求項 1 ～ 5 5 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

本発明は、ベータコロナウイルスに対する治療と予防のワクチン（コロナウイルス疾患 2 0 1 9（C O V I D - 1 9）などに対するワクチンなど）に関する。

40

## 【発明の概要】

## 【0 0 0 2】

本発明は、典型的なワクチンに比べて少ない用量を用いて迅速で強力な免疫応答を誘導することができるためパンデミックおよびエビデミックと戦うのに理想的なワクシボディ（v a c c i b o d y）コンストラクトを含むワクチンに関する。なぜならこの抗原は抗原提示細胞を標的としているため、体内でこの抗原が産生されるからである。このワクシボディコンストラクトは、完全長スパイクタンパク質またはその一部；または選択された T 細胞エпитープ（例えば異なるベータコロナウイルス（S A R S - C o V と S A R S - C o V 2 など）の間で保存されているもの）を通じて；またはこれらの組み合わせを通じて抗原効果を誘導する設計にされている。

50

## 【0003】

体内でこれら抗原性エピトープを例えば抗pan HLAクラスIIまたはMIP-1 $\alpha$ を通じて標的とすることにより、免疫応答がB細胞および／またはT細胞を通じて生じるため、予防設定と治療設定でこのワクチンを使用することができる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0004】

## 図面の説明

【図1】SARS-CoV-2の完全長スパイクタンパク質（配列番号230）

## 【0005】

【図2】A：SARS-CoV-2のスパイクタンパク質のRBDの代表的な配列（配列番号231）。B：実施例のVB10・COV2コンストラクトで使用したSARS-CoV-2武漢株のスパイクタンパク質のRBD配列（配列番号802）。C：実施例のVB10・COV2コンストラクトで使用したSARS-CoV-2南アフリカバリエントB.1.351のスパイクタンパク質のRBD配列（配列番号803）。D：実施例のVB10・COV2コンストラクトで使用したSARS-CoV-2 UKバリエントB.1.1.7のスパイクタンパク質のRBD配列（配列番号804）。E：実施例のVB10・COV2コンストラクトで使用したSARS-CoV-2カリフォルニアバリエントB.1.427のスパイクタンパク質のRBD配列（配列番号805）。

10

## 【0006】

【図3】SARS-CoV-2とSARS-CoVのスパイクタンパク質のHR2ドメイン（配列番号232）

20

## 【0007】

【図4】hMIP1 $\alpha$ （LD78b）のシグナルペプチドと成熟ペプチド、IgG3からのヒトヒンジ領域1、IgG3からのヒトヒンジ領域4、グリシン-セリンリンカー、IgG3のヒトCH3ドメイン、およびグリシン-ロイシンリンカーのアミノ酸配列（配列番号233）。配列を「|」によって分割し、この配列のさまざまな部分を識別しやすくしてある

## 【0008】

【図5】：シグナルペプチド（アミノ酸1～23）と成熟ペプチド（hMIP1 $\alpha$ /LD78-ベータ、アミノ酸24～93）を含むC-Cモチーフケモカイン3様1前駆体（配列番号234）

30

## 【0009】

【図6】：シグナルペプチド（配列番号235）

## 【0010】

【図7】シグナルペプチド（配列番号236）

## 【0011】

【図8】VB2040の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号237）

## 【0012】

【図9】VB2041の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号238）

## 【0013】

【図10】VB2042の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号239）

40

## 【0014】

【図11】VB2043の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号240）

## 【0015】

【図12】VB2044の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号241）

## 【0016】

【図13】VB2045の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号242）

## 【0017】

【図14】VB2046の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号243）

## 【0018】

50

【図 15】VB2047 の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号 244）  
【0019】

【図 16】VB2048 の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号 245）  
【0020】

【図 17】VB2049 の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号 246）  
【0021】

【図 18】VB2050 の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号 247）  
【0022】

【図 19】：VB2051 の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号 248）  
【0023】

【図 20】SARS-CoV-2 と SARS-CoV のスパイクタンパク質の代替 HR2  
ドメイン（配列番号 249）

【0024】

【図 21】VB2053 の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号 250）  
【0025】

【図 22】VB2054 の抗原ユニットのアミノ酸配列（配列番号 251）  
【0026】

【図 23】A. VB2049 のヌクレオチド配列（配列番号 252）、B. VB2049  
のアミノ酸配列（配列番号 253）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット  
hMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3 の h1 と h4 と CH3 ドメインを含む二量体化ユニット、お  
よび短い RBD ドメインを有する VB2049 タンパク質をコードしている。

【0027】

【図 24】A. VB2060 のヌクレオチド配列（配列番号 254）、B. VB2060  
のアミノ酸配列（配列番号 255）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット  
hMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3 の h1 と h4 と CH3 ドメインを含む二量体化ユニット、お  
よび長い RBD ドメインを有する VB2060 タンパク質をコードしている。

【0028】

【図 25A】A. VB2065 のヌクレオチド配列（配列番号 256）。この大文字のヌ  
クレオチド配列は、ターゲティングユニット hMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3 の h1 と h4 と  
CH3 ドメインを含む二量体化ユニット、およびスパイクドメインを有する VB2065  
タンパク質をコードしている。

【図 25B】B. VB2065 のアミノ酸配列（配列番号 257）。この大文字のヌクレ  
オチド配列は、ターゲティングユニット hMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3 の h1 と h4 と CH  
3 ドメインを含む二量体化ユニット、およびスパイクドメインを有する VB2065 タン  
パク質をコードしている。

【0029】

【図 26】A. VB2048 のヌクレオチド配列（配列番号 258）。B. VB2048  
のアミノ酸配列（配列番号 259）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット  
hMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3 の h1 と h4 と CH3 ドメインを含む二量体化ユニット、お  
よび 20 個の予測される T 細胞エピトープを有する VB2048 タンパク質をコードして  
いる。

【0030】

【図 27】A. VB2059 のヌクレオチド配列（配列番号 260）。B. VB2059  
のアミノ酸配列（配列番号 261）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット  
抗マウス MHC II scFv、hIgG3 の h1 と h4 と CH3 ドメインを含む二量体  
化ユニット、および長い RBD ドメインを有する VB2059 タンパク質をコードしてい  
る。

【0031】

【図 28A】A. VB2071 のヌクレオチド配列（配列番号 262）。このヌクレオチ  
ド配列は、ターゲティングユニット抗マウス MHC II scFv、hIgG3 の h1 と

10

20

30

40

50

h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、およびスパイクタンパク質を有する V B 2 0 7 1 タンパク質をコードしている。

【図 2 8 B】 B . V B 2 0 7 1 のアミノ酸配列（配列番号 2 6 3）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット抗マウス M H C I I s c F v、h I g G 3 の h 1 と h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、およびスパイクタンパク質を有する V B 2 0 7 1 タンパク質をコードしている。

【 0 0 3 2 】

【図 2 9】 A . V B 2 0 8 1 のヌクレオチド配列（配列番号 2 6 4）。B . V B 2 0 8 1 のアミノ酸配列（配列番号 2 6 5）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット h M I P - 1 α、h I g G 3 の h 1 と h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、および ( G G G G S )<sub>2</sub> リンカーを用いて連結された 1 つの予測される T 細胞エпитープ ( p e p 0 8 ) と長い R B D ドメインを含む抗原ユニットを有する V B 2 0 8 1 タンパク質をコードしている。

10

【 0 0 3 3 】

【図 3 0】 A . V B 2 0 8 2 のヌクレオチド配列（配列番号 2 6 6）。B . V B 2 0 8 2 のアミノ酸配列（配列番号 2 6 7）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット h M I P - 1 α、h I g G 3 の h 1 と h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、および ( G G G G S )<sub>2</sub> リンカーを用いて連結された 1 つの予測される T 細胞エпитープ ( p e p 1 8 ) と長い R B D ドメインを含む抗原ユニットを有する V B 2 0 8 2 タンパク質をコードしている。

20

【 0 0 3 4 】

【図 3 1】 A . V B 2 0 8 3 のヌクレオチド配列（配列番号 2 6 8）。B . V B 2 0 8 3 のアミノ酸配列（配列番号 2 6 9）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット h M I P - 1 α、h I g G 3 の h 1 と h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、および ( G G G G S )<sub>2</sub> リンカーを用いて連結された 2 つの予測される T 細胞エпитープ ( エピトープ間に ( G G G G S )<sub>2</sub> リンカーを有する p e p 0 8 + p e p 1 8 ) と長い R B D ドメインを含む抗原ユニットを有する V B 2 0 8 3 タンパク質をコードしている。

【 0 0 3 5 】

【図 3 2】 A . V B 2 0 8 4 のヌクレオチド配列（配列番号 2 7 0）。B . V B 2 0 8 4 のアミノ酸配列（配列番号 2 7 1）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット h M I P - 1 α、h I g G 3 の h 1 と h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、および ( G G G G S )<sub>2</sub> リンカーを用いて連結された 3 つの予測される T 細胞エピトープ ( エピトープ間に ( G G G G S )<sub>2</sub> リンカーを有する p e p 0 8、p e p 1 8、および p e p 2 5 ) と長い R B D ドメインを含む抗原ユニットを有する V B 2 0 8 4 タンパク質をコードしている。

30

【 0 0 3 6 】

【図 3 3】 A . V B 2 0 8 5 のヌクレオチド配列（配列番号 2 7 2）。B . V B 2 0 8 5 のアミノ酸配列（配列番号 2 7 3）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット h M I P - 1 α、h I g G 3 の h 1 と h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、および G L G G L リンカーを用いて連結された 1 つの予測される T 細胞エピトープ ( p e p 0 8 ) と長い R B D ドメインを含む抗原ユニットを有する V B 2 0 8 5 タンパク質をコードしている。

40

【 0 0 3 7 】

【図 3 4】 A . V B 2 0 8 6 のヌクレオチド配列（配列番号 2 7 4）。B . V B 2 0 8 6 のアミノ酸配列（配列番号 2 7 5）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニット h M I P - 1 α、h I g G 3 の h 1 と h 4 と C H 3 ドメインを含む二量体化ユニット、および ( G L G G L )<sub>2</sub> リンカーを用いて連結された 1 つの予測される T 細胞エピトープ ( p e p 0 8 ) と長い R B D ドメインを含む抗原ユニットを有する V B 2 0 8 6 タンパク質をコードしている。

【 0 0 3 8 】

50

【図35】A. VB2087のヌクレオチド配列（配列番号276）。B. VB2087のアミノ酸配列（配列番号277）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびGLGGLリンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピトープ（pep18）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2087タンパク質をコードしている。

【0039】

【図36】A. VB2088のヌクレオチド配列（配列番号278）。B. VB2088のアミノ酸配列（配列番号279）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびGLGGLリンカーを用いて連結された2つの予測されるT細胞エピトープ（エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有するpep08+pep18）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2088タンパク質をコードしている。

10

【0040】

【図37】A. VB2089のヌクレオチド配列（配列番号280）。B. VB2089のアミノ酸配列（配列番号281）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびGLGGLリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有するpep08、pep18、およびpep25）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2089タンパク質をコードしている。

20

【0041】

【図38】A. VB2091のヌクレオチド配列（配列番号282）。B. VB2091のアミノ酸配列（配列番号283）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびTQKSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピトープ（pep08）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2091タンパク質をコードしている。

【0042】

【図39】A. VB2092のヌクレオチド配列（配列番号284）。B. VB2092のアミノ酸配列（配列番号285）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびTQKSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有するpep08、pep18、およびpep25）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2092タンパク質をコードしている。

30

【0043】

【図40】A. VB2094のヌクレオチド配列（配列番号286）。B. VB2094のアミノ酸配列（配列番号287）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピトープ（pep08）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2094タンパク質をコードしている。

40

【0044】

【図41】A. VB2095のヌクレオチド配列（配列番号288）。B. VB2095のアミノ酸配列（配列番号289）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有するpep08、pep18、およびpep25）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2095タ

50

ンパク質をコードしている。

【0045】

【図42】A. VB2097のヌクレオチド配列（配列番号290）。B. VB2097のアミノ酸配列（配列番号291）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびGSA Tリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（エピトープ間に（GGGG S）<sub>2</sub>リンカーを有するpep08、pep18、およびpep25）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2097タンパク質をコードしている。

【0046】

【図43】A. VB2099のヌクレオチド配列（配列番号292）。B. VB2099のアミノ酸配列（配列番号293）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびSEGリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（エピトープ間に（GGGG S）<sub>2</sub>リンカーを有するpep08、pep18、およびpep25）と長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2099タンパク質をコードしている。

【0047】

【図44】A. VB2129のヌクレオチド配列（配列番号294）。B. VB2129のアミノ酸配列（配列番号295）。このヌクレオチド配列は、ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、および南アフリカバリエントB. 1. 351に特徴的な3つの変異を有する長いRBDドメインを含む抗原ユニットを有するVB2129タンパク質をコードしている。

【0048】

【図45】VB2131のアミノ酸配列（配列番号296）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびSEGリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（武漢株と南アフリカバリエントB. 1. 351からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2131タンパク質。

【0049】

【図46】VB2132のアミノ酸配列（配列番号297）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびGSA Tリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（武漢株と南アフリカバリエントB. 1. 351からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2132タンパク質。

【0050】

【図47】VB2133のアミノ酸配列（配列番号298）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびTQKSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（武漢株と南アフリカバリエントB. 1. 351からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2133タンパク質。

【0051】

【図48】VB2134のアミノ酸配列（配列番号299）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（武漢株と南アフリカバリエントB. 1. 351からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2134タンパク質。

【0052】

【図49】VB2135のアミノ酸配列（配列番号300）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およ

10

20

30

40

50

びSEGリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（南アフリカバリエントB. 1. 351とUKバリエントB. 1. 1. 7からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2135タンパク質。

【0053】

【図50】VB2136のアミノ酸配列（配列番号301）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびGSAリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（南アフリカバリエントB. 1. 351とUKバリエントB. 1. 1. 7からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2136タンパク質。

【0054】

【図51】VB2137のアミノ酸配列（配列番号302）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびSEGリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（南アフリカバリエントB. 1. 351とカリフォルニアバリエントB. 1. 427からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2137タンパク質。

【0055】

【図52】VB2138のアミノ酸配列（配列番号303）。ターゲティングユニットhMIP-1 $\alpha$ 、hIgG3のh1とh4とCH3ドメインを含む二量体化ユニット、およびGSAリンカーを用いて連結された2つの長いRBDドメイン（南アフリカバリエントB. 1. 351とカリフォルニアバリエントB. 1. 427からのRBD）を含む抗原ユニットを有するVB2138タンパク質。

【0056】

【図53AB】非臨床開発で使用したVB10. COV2コンストラクトのタンパク質の形式の概要：A：VB2049、VB2060、VB2065、およびVB2048。B：VB2059とVB2071。

【図53CD】C：VB2081-VB2099。D：VB2129。

【図53E】E：VB2131-VB2138。

【0057】

【図54】HEK293細胞のトランスフェクションの3日後にVB10. COV2ワクシボディタンパク質VB2049、VB2060、およびVB2065が機能的ホモ二量体として産生されて分泌された。これらタンパク質の立体配置の完全さは、ELISAにおいて、ヒトMIP-1 $\alpha$ （ターゲティングユニット）、ヒトIgG CH3ドメイン（二量体化ユニット）（捕獲抗体として）、RBDドメインまたはスパイクタンパク質（抗原ユニット）を検出する抗体への結合によって確認した。

【0058】

【図55AB】A：HEK293細胞のトランスフェクションの3日後にVB2048ワクシボディタンパク質が機能的ホモ二量体として産生されて分泌された。これらタンパク質の立体配置の完全さは、ヒトMIP-1 $\alpha$ （ターゲティングユニット）を検出する抗体と、ヒトIgG CH3ドメイン（二量体化ユニット）を捕獲する抗体への結合によって確認した。B：HEK293細胞のトランスフェクションの3日後にVB10. COV2ワクシボディタンパク質VB2059とVB2071が機能的ホモ二量体として産生されて分泌された。これらタンパク質の立体配置の完全さは、ELISAにおいて、ヒトIgG CH3ドメイン（二量体化ユニット）、RBDドメイン、またはスパイクタンパク質（抗原ユニット）を検出する抗体への結合によって確認した。

【図55C】C：HEK293細胞のトランスフェクションの6日後にVB10. COV2ワクシボディタンパク質VB2081-VB2099が機能的ホモ二量体として産生されて分泌された。これらタンパク質の立体配置の完全さは、ELISAにおいて、ヒトIgG CH3ドメイン（二量体化ユニット）を捕獲する抗体と、RBDドメイン（抗原ユニット）タンパク質を検出する抗体への結合によって確認した。

【図55D】D：HEK293細胞のトランスフェクションの3日後にVB10. COV

10

20

30

40

50

2 ワクシボディタンパク質 VB 2 1 2 9 と VB 2 0 6 0 が機能的ホモ二量体として産生されて分泌された。これらタンパク質の立体配置の完全さは、E L I S A において、ヒト M I P - 1  $\alpha$  (ターゲティングユニット)、ヒト I g G C H 3 ドメイン (二量体化ユニット、捕獲抗体として)、および R B D ドメインタンパク質 (抗原ユニット) を検出する抗体への結合によって確認した。

【図 5 5 E】E : VB 2 0 4 8 と VB 2 0 4 9 を同時にトランスフェクトされていた H E K 2 9 3 細胞から一過性トランスフェクションの 3 日後に回収した上清で E L I S A を実施した。これらタンパク質の立体配置の完全さは、E L I S A において、ヒト I g G C H 3 ドメイン (二量体化ユニット) (捕獲抗体として) とヒト M I P - 1  $\alpha$  (ターゲティングユニット)、または R B D ドメインタンパク質 (抗原ユニット) を検出する抗体への結合によって確認した。両方のプラスミドの発現は、これらの結果に、マウスにおいて VB 2 0 4 8 (T 細胞エпитープに対する応答) と VB 2 0 4 9 (R B D ドメインに対する応答) に対する生体内免疫応答を示すデータを組み合わせることによって確認する (例えば図 7 6) 。

【0 0 5 9】

【図 5 6】VB 1 0 . C O V 2 ワクシボディタンパク質 VB 2 0 6 0 の S D S - P A G E とウエスタンブロット分析。(A) 還元 (S D S + 還元剤) 条件下または非還元 (S D S) 条件下で VB 2 0 6 0 をトランスフェクトされた H E K 2 9 3 細胞から上清を回収した。上清を一過性トランスフェクションの 6 日後に回収し、濃度を約 4 倍大きくした後にゲルにロードした。矢印は可能なバンドを示す。

【0 0 6 0】

【図 5 7 A】A : 本発明による VB 2 0 4 9 または VB 2 0 6 0 の D N A ワクチンを接種したマウスにおける抗 R B D I g G 免疫応答 (棒グラフと線グラフ)。マウスに D N A を筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔することによって接種した。ワクチン、投与日、投与回数、および用量レベルが示されている。2 つの独立な実験の平均値が示されている。

【図 5 7 B C】B : 3 つの VB 1 0 . C O V 2 D N A ワクチン (VB 2 0 4 9、VB 2 0 6 0、VB 2 0 6 5、および VB 2 0 7 1) のうちの 1 つを 5 0  $\mu$  g で 2 回接種したマウスにおける抗 R B D I g G 免疫応答。マウスに 0 日目と 2 1 日目に D N A を筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔することによって接種した。ワクチンのタイプと対照 (P B S) が示されている。最初のワクチン接種の 7 日後、1 4 日後、および 2 8 日後に得られた血清を調べて R B D タンパク質に結合する抗 R B D I g G 抗体を探した。群ごとに 5 匹までのマウスの平均値が示されている。C : 3、6、1 2、5、または 2 5  $\mu$  g いずれかの VB 2 0 6 0 D N A ワクチンを 1 回または 2 回接種したマウスにおける抗 R B D I g G 免疫応答。マウスに 0 日目 (と 2 1 日目) に D N A を筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔することによって接種した。最初のワクチン接種の 7 日後、1 4 日後、および 2 1 日後、および 2 8 日後と、2 1 日目のブーストワクチン接種の 7 日後に得られた血清を調べ、R B D タンパク質に結合する抗 R B D I g G 抗体を探した。群ごとに 4 ~ 5 匹のマウスの平均値が示されている。

【図 5 7 D】D : 3、6、2 5、1 2、5、または 2 5  $\mu$  g の VB 2 0 6 0 D N A ワクチンを 1 回または 2 回接種したマウスの気管支肺胞洗浄 (B A L) で測定された抗 R B D I g G。マウスに 0 日目に、または 0 日目と 2 1 日目に D N A を筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔することによって接種した。最初のワクチン接種の 1 4 日後、2 1 日後、および 2 8 日後と、2 1 日目のブーストワクチン接種の 7 日後に得られた B A L 液を調べて抗 R B D を探した。

【図 5 7 E F】E : 本発明による VB 2 0 5 9 D N A ワクチンを接種したマウスにおける抗 R B D I g G 免疫応答。マウスに D N A を筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔することによって接種した。ワクチン、投与日、投与回数、および用量レベルが示されている。2 つの独立な実験の平均値が示されている。F : 示されているワクチン候補を 2 5  $\mu$  g で 1 回接種したマウスにおける抗 R B D I g G 免疫応答。マウスに 0 日目に D

10

20

30

40

50

NAを筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔することにより接種した。ワクチン接種の14日後に得られた血清を調べてRBDタンパク質に結合する抗RBD IgG抗体を探した。群ごとに2～5匹のマウスの平均値が示されている。

【図57GH】G：1、6、25、12.5、または25  $\mu$ gいずれかのVB2129とVB2060のDNAワクチンを1回または2回接種したマウスにおける抗RBD IgG免疫応答。マウスに0日目（と21日目）にDNAを筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔することによって接種した。最初のワクチン接種の7日後、14日後、および21日後、および28日後と、21日目のブーストワクチン接種の7日後に得られた血清を調べ、RBDタンパク質に結合する抗RBD IgG抗体を探した。群ごとに4～5匹のマウスの平均値が示されている。H：DNAプラスミドVB2048とVB2049を含むワクチンを接種したマウスにおける抗RBD IgG免疫応答。薬学的に許容可能な1つの担体の中に12.5  $\mu$ gの各プラスミドを組み合わせるものを1回、0日目にマウスに筋肉内投与した直後に注射部位に電気穿孔した。ワクチン接種の7日後と14日後に得られた血清を調べ、RBDタンパク質に結合する抗RBD IgG抗体を探した。群ごとに3～5匹のマウスの平均値が示されている。

【0061】

【図58】A：VB10、COV2 DNAワクチンVB2049、VB2060、およびVB2065は口バスターナ中和抗体応答を誘導する。マウスに0日目、21日目、および89日目に2.5  $\mu$ g、25  $\mu$ g、または50  $\mu$ gのVB2049、VB2060、またはVB2065を筋肉内接種した（調べた群が示されている）。血清を回収し、同型SARS-CoV-2生ウイルス株Australia/VIC01/2020単離体44に対する中和抗体を評価した。PBSを接種したマウスからの血清を陰性対照として使用し、NIBSC 20/130を陽性対照として使用した。点線はアッセイの検出限界を示す。B：VB10、COV2 DNAワクチンVB2060は口バスターナ中和抗体応答を誘導する。マウスに0日目（と21日目）に3、6、12.5、または25  $\mu$ gいずれかのVB2060を筋肉内接種した（調べた群が示されている）。血清を回収し、同型SARS-CoV-2生ウイルス株Australia/VIC01/2020単離体44に対する中和抗体を評価した。PBSを接種したマウスからの血清を陰性対照として使用し、NIBSC 20/130を陽性対照として使用した。点線はアッセイの検出限界を示す。

【0062】

【図59】異なる用量と投与回数のVB10、COV2 DNAワクチンVB2049で誘導されたT細胞応答。重複するRBDペプチドプールで再刺激した後に2.5  $\mu$ gまたは25  $\mu$ gのVB2049 DNAプラスミドを筋肉内接種したマウス（5匹/群）からのIFN- $\gamma$ 陽性スポットの総数/1 $\times$ 10<sup>6</sup>個の脾臓細胞。脾臓細胞を最初のワクチン接種の14日後と、21日目のブーストワクチン接種の7日後に回収した。

【0063】

【図60AB】マウスに筋肉内ワクチン接種した後のCD4+ RBD特異的免疫応答とCD8+ RBD特異的免疫応答の誘導とT細胞エピトープマッピング。CD4細胞集団とCD8細胞集団を61個の個々のRBDペプチド（SARS-CoV2 RBDドメインからの12個のアミノ酸が重複する15量体ペプチド）で24時間刺激し、IFN- $\gamma$ 陽性スポットの数/1 $\times$ 10<sup>6</sup>個の脾臓細胞をELISpotアッセイにおいて検出した。A．マウス（5匹/群）に2 $\times$ 25  $\mu$ gのVB2049を0日目と21日目（ブーストワクチン接種）に接種し、ELISpotアッセイを28日目（ブーストワクチン接種の7日後）に実施した。B．マウス（2～3匹/群）に3 $\times$ 50  $\mu$ gのVB2060を0日目、21日目、および89日目に接種し、ELISpotアッセイを99日目（最後のブーストワクチン接種の10日後）に実施した。

【図60C】C．SARS-CoV2 RBDドメインのマップと、BALB/cマウスにおける免疫優性ペプチドの同定。

【0064】

10

20

30

40

50

【図61A】A. 25  $\mu$ gのVB2060を接種したマウスにおけるT細胞応答の動態。マウスに1回または2回（0日目と7日目）接種し、脾臓細胞を4日目、7日目、11日目、14日目、18日目、および21日目に回収した（5～6匹／群）が、1回だけの免疫化群の21日目（2匹／群）は例外である。

【図61B】B. 誘導されたT細胞応答を3つのVB10、COV2 DNAワクチンVB2049、VB2059、およびVB2060で比較。重複するRBDペプチドプールで再刺激した後に2 $\times$ 2.5  $\mu$ gの3つのVB10、COV2 DNAプラスミドを筋肉内接種したマウス（4～5匹／群）からのIFN- $\gamma$ 陽性スポットの総数／1 $\times$ 10<sup>6</sup>個の脾臓細胞。脾臓細胞を28日目に回収した（21日目のブーストワクチン接種の7日後）。

10

【0065】

【図62】異なる用量と投与回数のVB2060を用いて誘導されたT細胞応答。重複するRBDペプチドプールで再刺激した後に25  $\mu$ gまたは50  $\mu$ gのVB2060 DNAプラスミドを筋肉内接種したマウス（2～3匹／群）からのIFN- $\gamma$ 陽性スポットの総数／1 $\times$ 10<sup>6</sup>個の脾臓細胞。脾臓細胞を最初のワクチン接種の90日後、または89日目のブーストワクチン接種の10日後のいずれかに回収した。

【0066】

【図63】A：VB2065またはVB2071のDNAワクチンによって誘導されるCD4+スパイク特異的免疫応答とCD8+スパイク特異的免疫応答の誘導。スパイクペプチドプールで再刺激した後に50  $\mu$ gのVB2065 DNAプラスミドを2回（0日目と21日目）筋肉内接種したマウス（5～6匹／群）からのIFN- $\gamma$ 陽性スポットの総数／1 $\times$ 10<sup>6</sup>個の脾臓細胞。脾臓細胞を28日目（21日目のブーストワクチン接種の7日後）に回収した。B DNAワクチンVB2129によって誘導されるT細胞応答。重複するRBDペプチドプールで再刺激した後に1 $\times$ 1.0、6.25、12.5、または25  $\mu$ gを筋肉内接種したマウス（5匹／群）からのIFN- $\gamma$ 陽性スポットの総数／1 $\times$ 10<sup>6</sup>個の脾臓細胞。脾臓細胞をワクチン接種の7日後と14日後に回収した。

20

【0067】

【図64A】AとB：RBD特異的Th1応答を示すTh1／Th2サイトカインプロファイル。VB10、COV2 DNAワクチン（A）VB2060、VB2049、またはVB2059と、

30

【図64B】（B）VB2065またはVB2071と、対照群（PBS）を筋肉内接種したマウスからの脾臓細胞培養物の上清に含まれるサイトカインの濃度。

【0068】

【図65】T細胞を同定するためのゲーティングストラテジー：A. 全細胞を側方散乱（SSC）と前方散乱（FSC）のパラメータを用いて調べた。リンパ球ゲートを細胞の相対サイズ（FSC）に基づいて設定した。B. リンパ球を分析してダブレットの存在を探し、ゲートを設定して単一細胞だけが将来の分析に含まれるようにした。C. 死んだ細胞を生死判別染料を用いて同定し、ゲートを設定して生存細胞がさらなる分析に含まれるようにした。D. 生存細胞の集団において、全CD3+細胞を将来の分析のためゲーティングした。E. T細胞をCD3+ T細胞と定義し、 $\gamma\delta$  TCR T細胞を分析から除外した。F. 全T細胞を分析してCD4マーカーとCD8マーカーの発現を探した。

40

【0069】

【図66】最初のワクチン接種の28日後にVB2060（AとB）またはVB2049（CとD）を接種したマウスにおけるRBD特異的多機能性T細胞応答の検出。A／C. RBD刺激に応答したCD4+ T細胞とCD8+ T細胞の割合。各マーカー（またはマーカーの組み合わせ）を発現している細胞の割合をそれぞれの集団の合計として示す。B／D. サイトカインの発現に基づく応答のタイプのグラフ表示。CD4とCD8のグラフはSPICEソフトウェアを用いて作成した。

【0070】

50

【図67】VB2060を接種したマウスにおける最初のワクチン接種の90日後のRBD特異的多機能性CD4<sup>+</sup> T細胞応答の検出。A. RBD刺激に応答したCD4<sup>+</sup> T細胞の割合。グラフは3つの群におけるサイトカインの産生を示す — 中用量 (VB2060 2×25 μg) を2回ワクチン接種、高用量 (VB2060 1×50 μg) を1回ワクチン接種、および高用量 (VB2060 2×50 μg) を2回ワクチン接種。B. サイトカインの発現に基づく応答のタイプのグラフ表示。CD4とCD8のグラフはSPICEソフトウェアを用いて作成した。

【0071】

【図68】VB2060を接種したマウスにおける最初のワクチン接種の90日後のRBD特異的多機能性CD8<sup>+</sup> T細胞応答の検出。A. RBD刺激に応答したCD8<sup>+</sup> T細胞の割合。グラフは3つの群におけるサイトカインの産生を示す — 中用量 (VB2060 2×25 μg) を2回ワクチン接種、高用量 (VB2060 1×50 μg) を1回ワクチン接種、および高用量 (VB2060 2×50 μg) を2回ワクチン接種。B. サイトカインの発現に基づく応答のタイプのグラフ表示。円グラフはSPICEソフトウェアを用いて作成した。

10

【0072】

【図69】VB2060を接種したマウスにおける最初のワクチン接種の100日後のRBD特異的多機能性CD4<sup>+</sup> T細胞応答の検出。A. RBD刺激に応答したCD4<sup>+</sup> T細胞の割合。グラフは3つの群におけるサイトカインの産生を示す — 中用量 (VB2060 3×25 μg) を3回ワクチン接種、高用量 (VB2060 2×50 μg) を2回ワクチン接種、および高用量 (VB2060 3×50 μg) を3回ワクチン接種。B. サイトカインの発現に基づく応答のタイプのグラフ表示。円グラフはSPICEソフトウェアを用いて作成した。

20

【0073】

【図70】VB2060を接種したマウスにおける最初のワクチン接種の100日後のRBD特異的多機能性CD8<sup>+</sup> T細胞応答の検出。A. RBD刺激に応答したCD8<sup>+</sup> T細胞の割合。グラフは3つの群におけるサイトカインの産生を示す — 中用量 (VB2060 3×25 μg) を3回ワクチン接種、高用量 (VB2060 2×50 μg) を2回ワクチン接種、および高用量 (VB2060 3×50 μg) を3回ワクチン接種。B. サイトカインの発現に基づく応答のタイプのグラフ表示。CD4とCD8のグラフはSPICEソフトウェアを用いて作成した。

30

【0074】

【図71】ワクチン接種の7日後とブーストの7日後のリンパ節におけるT細胞応答。マウスに0日目と21日目にVB2060 DNAワクチンを接種し、T細胞応答を流入領域リンパ節において28日目に分析した。細胞をRBDペプチドで16時間刺激し、多パラメータフローサイトメトリーを利用して分析した。T細胞を図65に記載されているようにしてゲートした。CD4<sup>+</sup> T細胞とCD8<sup>+</sup> T細胞を調べてTNF-α、IFN-γ、IL-2、およびグランザイムBの発現を探した。陽性細胞の割合がパネルA、B、D、およびEに棒グラフで示されている。図72に示されているT<sub>rm</sub>細胞も調べてTNF-α、IFN-γ、IL-2、およびグランザイムBの発現を探した。陽性細胞の割合がパネルCとFに示されている。

40

【0075】

【図72】図71の中のCD8<sup>+</sup>陽性T細胞を分析してCD103とCD69の発現を探し、常在メモリT細胞 (T<sub>rm</sub>) を明確にした。

【0076】

【図73】異なる用量と投与回数のVB10、COV2 DNAワクチンVB2048を用いて誘導されたT細胞応答。20個の予測されるT細胞エピトープを用いて刺激した後に0日目 (と21日目) に2.5 μgまたは25 μgのVB2048 DNAプラスミドを筋肉内接種したマウス (5匹/群) からのIFN-γ陽性スポットの総数/1×10<sup>6</sup>個の脾臓細胞。脾臓細胞を最初のワクチン接種の14日後と、28日目 (21日目の

50

ブーストワクチン接種の7日後)に回収した。

【0077】

【図74】 $2 \times 25 \mu\text{g}$ のVB2048 DNAプラスミドを0日目と21日目に筋肉内接種された後のマウス(5匹/群)におけるCD4+ペプチド特異的免疫応答とCD8+ペプチド特異的免疫応答の誘導。CD4細胞集団とCD8細胞集団を20個の予測されるペプチドで24時間刺激し、IFN- $\gamma$ 陽性スポットの数/ $1 \times 10^6$ 個の脾臓細胞をELISpotアッセイにおいて21日目のブーストワクチン接種の7日後に検出した。

【0078】

【図75】予測されるT細胞エピトープとRBDドメインの両方を含む抗原ユニットを有するVB10、COV2コンストラクトによって誘導されるT細胞応答。マウス(5匹/群)に0日目に示されているVB10、COV2 DNAプラスミドを $25 \mu\text{g}$ 、筋肉内接種した。ワクチン接種の14日後、脾臓を回収し、脾臓細胞を1~3個の予測されるT細胞エピトープまたはRBDプールのいずれかを用いて再刺激した。この図はIFN- $\gamma$ 陽性スポットの総数/ $1 \times 10^6$ 個の脾臓細胞を表わす。

10

【0079】

【図76】単一のプラスミドを含むワクチンによって誘導されるT細胞応答を2つのプラスミドを含むワクチンと比較。ワクチン接種のため、VB10、COV2コンストラクトVB2048(20個のT細胞エピトープ)とVB2049(RBD)を、単独ワクチン、または薬学的に許容可能な担体の中にVB2048とVB2049の両方を含むワクチン(組み合わせワクチン)のいずれかとして使用した。マウス(5匹/群)に0日目に、単独ワクチンとしての $25 \mu\text{g}$ のVB2048またはVB2049、またはVB2048とVB2049のそれぞれを $12.5 \mu\text{g}$ 含む組み合わせワクチンを筋肉内接種した。ワクチン接種の14日後、脾臓を回収し、脾臓細胞を20個の予測されるT細胞エピトープおよび/またはRBDプールのいずれかで再刺激した。この図はIFN- $\gamma$ 陽性スポットの総数/ $1 \times 10^6$ 個の脾臓細胞を表わす。

20

【0080】

【図77】シグナルペプチドと抗pan HLAクラスIIターゲティングユニットのアミノ酸配列。配列を「|」によって分割し、この配列の以下の部分、すなわちIg VHシグナルペプチド | 抗pan HLAクラスII VL | リンカー | 抗pan HLAクラスII VHを識別しやすくしてある。

30

【0081】

【図78】VB10、COV2 DNAワクチンVB2060の安定性データ。VB2060を4週間まで $37^\circ\text{C}$ で保管し、スーパーコイルDNAの割合を1週間後(T1)、2週間後(T2)、3週間後(T3)、および4週間後(T4)に、安定性を示すパラメータとしてHPLCによって求めた。

【発明を実施するための形態】

【0082】

詳細な説明

本発明の1つの態様は、免疫学的に有効な量の

(i)ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット(この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む)をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド;または

40

(ii)(i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii)(i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と;

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0083】

一般に、ワクシボディコンストラクトは、配列内に、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットを含む。このワクチンは、例えば非常に少ない用量を用

50

いて迅速で強力な免疫応答を誘導する。そのことが、このワクチンをパンデミックとエビデミックの状況にとって理想的なものにしている。

【0084】

本明細書では、ワクチンは、それを投与された個人で免疫応答を誘導することができる。一実施形態では、免疫応答は、B細胞による抗体の生成を通じた液性免疫応答である。別の実施形態では、免疫応答は、T細胞による抗体の生成を通じた細胞性免疫応答である。さらに別の実施形態では、免疫応答は、液性かつ細胞性の免疫応答である。

【0085】

個人として健康な個人が可能であり、ワクチンを用いてその個人に予防的処置を提供する、すなわちその個人をベータコロナウイルスの感染に対して保護する。あるいは個人として、ベータコロナウイルスに感染したことがある個人が可能であり、ワクチンを用いてその個人に治療的処置を提供する、すなわち症状を緩和したり感染症を治癒させたりする。

10

【0086】

ベータコロナウイルスはオルトコロナウイルス亜科の中の1つの属である。ベータコロナウイルスはエンベロープを有するポジティブセンス一本鎖RNAウイルスである。この属の中に4つの系列、すなわち系列A（エンベコウイルス亜属）、系列B（サルベコウイルス亜属）、系列C（メルベコウイルス亜属）、および系列D（ノベコウイルス亜属）が一般に認められる。ベータコロナウイルスに含まれるのは、ヒトでパンデミック／エビデミックを引き起こした／引き起こすか、ヒトに感染することができる以下のウイルス、すなわち重症急性呼吸器症候群（SARS）を引き起こすSARS-CoV、中東呼吸器症候群（MERS）を引き起こすMERS-CoV、コロナウイルス疾患2019（Covid-19）を引き起こすSARS-CoV2、HCoV-OC43、およびHCoV-HKU1である。SARS-CoVとSARS-CoV2は系列B（サルベコウイルス亜属）に属し、MERS-CoVは系列C（メルベコウイルス亜属）に属し、HCoV-OC43とHCoV-HKU1は系列A（エンベコウイルス亜属）に属する。

20

【0087】

したがってさらなる一実施形態では、個人として、系列B（サルベコウイルス亜属）に属するベータコロナウイルスに感染するリスクがあるか、感染したことがある個人が可能である。あるいは個人として、SARS-CoVまたはSARS-CoV2に感染するリスクがあるか、感染したことがある個人が可能である。

30

【0088】

ウイルス感染症はウイルスに対する中和抗体を生じさせることによって回避すべきであると一般に考えられている。しかし本発明の1つの態様は、個人に投与されるとT細胞応答だけ、またはT細胞応答とB細胞応答の両方を誘導するワクチンに関する。本明細書に提示されているポリヌクレオチド／ポリペプチド／二量体タンパク質は細胞傷害性T細胞を生じさせることができる。生じたCD8+ T細胞は、予防的設定と治療的設定の両方においてウイルスに感染した細胞を殺してそのウイルスを排除することで、疾患から治癒させる／保護するか、疾患の重症度を少なくとも緩和する。本発明によるワクチンの抗原ユニットは、T細胞エピトープだけを含むこと、または本明細書に示されているようにB細胞エピトープ（例えばスパイクタンパク質）も含むベータコロナウイルスタンパク質の中に含まれるT細胞エピトープを含むことができる。T細胞エピトープだけを含む抗原ユニットについては、それらエピトープは、本質的に細胞内にあってウイルス表面タンパク質よりも保存されているウイルスタンパク質に由来することができる。そのことにより、同様のベータコロナウイルスによって起こる進行中と将来のパンデミック／エビデミックの両方で使用できるワクチンが得られる。ベータコロナウイルス表面タンパク質の中に含まれるT細胞エピトープについては、表面タンパク質は、抗体応答（すなわちウイルスが循環しているときにウイルス表面タンパク質に抗体が結合し、そのウイルスが宿主細胞の中に入るのを阻止することによってウイルスを中和させること）を誘導できるB細胞エピトープも含むことができる。上記のワクチンは、治療用ワクチンとして、または予防用ワ

40

50

クチンとして用いることができる。

【0089】

1つの態様では、個人はベータコロナウイルス感染症に罹患しており、ワクチンは治療用ワクチンである。そこでワクチンを、ベータコロナウイルスに曝露されていて影響を受けている可能性のある個人に投与して感染した細胞を排除し、したがって疾患の重症度を最小にするとともに、さらなる細胞の感染に対する中和抗体を産生させる。

【0090】

本発明の別の1つの態様では、個人は健康な個人であり、ワクチンは予防用ワクチンである。典型的には、これは、予防設定において例えば感染症を予防するためベータコロナウイルスに対する中和抗体を生じさせることが望ましい人々に免疫を誘導するのに使用される。

10

【0091】

本発明の1つの態様は、抗原ユニットが、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはそのようなタンパク質の一部である少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含むワクチンに関する。そのため一実施形態では、その少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは完全長タンパク質またはその一部であり、そのタンパク質は、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびスパイク様タンパク質であるヘマグルチニンエステラーゼ（ベータコロナウイルスがエンベコウイルスである場合）からなる群から選択される。

【0092】

一実施形態では、抗原ユニットは、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質に含まれる（例えば上記のタンパク質のいずれかの中に含まれる）少なくとも1つのB細胞エピトープを含み、好ましくはベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質に含まれる（例えば上記のタンパク質のいずれかの中に含まれる）いくつかのB細胞エピトープを含む。

20

【0093】

「いくつかの」という用語は、本明細書では、「複数の」と「2つ以上」という用語と交換可能に用いられる。

【0094】

B細胞エピトープとして、直線状または立体的B細胞エピトープが可能である。

30

【0095】

したがって1つの態様では、本発明は、免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットはベータコロナウイルスのウイルス表面タンパク質またはその一部、好ましくはエンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択されるタンパク質を含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質二量体タンパク質と、  
薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

40

【0096】

上記のワクチン、すなわち抗原ユニットを含んでいて、その抗原ユニットがベータコロナウイルスのウイルス表面タンパク質またはその一部を含むワクチンは、投与されると、B細胞応答とT細胞応答を誘導するため、予防用または治療用のワクチンとして使用することができる。一実施形態では、上記のワクチンは予防用ワクチンとして使用される。

【0097】

本発明の1つの態様は、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープがベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質であるワクチンに関する。そのスパイクタ

50

ンパク質はウイルスの構造タンパク質の1つであり、エンベロープタンパク質および膜タンパク質と合わさってウイルスのエンベロープを形成する。宿主細胞の表面でのウイルススパイクタンパク質とアンジオテンシン変換酵素2（ACE2）の間の相互作用によりウイルスが宿主細胞の膜に付着するとその膜と融合して細胞の中に入り、したがって感染プロセスを開始することが可能になる。スパイクタンパク質は中和抗体を誘導する主要な抗原であるため、ワクチンを設計するための抗原と見なされる。スパイクタンパク質は変異しやすいため、スパイクタンパク質とスパイクタンパク質に含まれるRBDドメインにはいくつかのバリエーションが存在する（図2）。

#### 【0098】

別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号230のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

10

#### 【0099】

好ましい一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、スパイクタンパク質の一部、すなわちスパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）またはRBDの一部である。RBDは非常に強力な中和抗体を誘導する上で重要な複数の立体配置依存性エピトープを含有することが見いだされている。別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号231のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

20

#### 【0100】

別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号802のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

30

#### 【0101】

一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは配列番号802のアミノ酸配列を有する。

#### 【0102】

さらに別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号803のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

40

#### 【0103】

一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは配列番号803のアミノ酸配列を有する。

50

## 【0104】

さらに別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号804のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0105】

一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは配列番号804のアミノ酸配列を有する。

10

## 【0106】

さらに別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号805のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0107】

一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは配列番号805のアミノ酸配列を有する。

20

## 【0108】

好ましい一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号246のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

30

## 【0109】

一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは配列番号246のアミノ酸配列を有する。

## 【0110】

別の好ましい一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号255のアミノ酸243～465のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

40

## 【0111】

一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは配列番号255のアミノ酸243～465のアミノ酸配列を有する。

## 【0112】

さらなる一実施形態では、前記抗原ユニットは、RBDおよび／またはその一部の複数のコピー（例えば2、3、4、または5個のコピー）を含み、それらコピーは同じではなく、変異（例えば1、2、3、4、5個、またはそれよりも多い変異）を含む。

## 【0113】

一例として、抗原ユニットは2つのRBDまたはその一部（例えばSARS-CoV-

50

2の武漢株のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部と、SARS-CoV-2の南アフリカバリエントB.1.351のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部)を含むことができる。さらなる一例として、抗原ユニットは、SARS-CoV-2の南アフリカバリエントB.1.351のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部と、SARS-CoV-2のUKバリエントB.1.1.7のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部と、SARS-CoV-2のカリフォルニアバリエントB.1.427のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部を含むことができる。好ましい一実施形態では、コピーはリンカーによって分離されている。

#### 【0114】

別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、患者からのプロトタイプ血清またはワクチンの中和力価を新たなバリエント株と比べて有意に減らすバリエントである。一実施形態では、そのバリエントは中和力価(すなわちプロトタイプ株の血清力価を新たなバリエント株に対する力価で割ることによって計算される)を2〜4倍以上減らす。別の一実施形態では、そのバリエントとして、E484(例えばGreaneyらの中のB.1.351、P.1、B.1.429など)、L452(Cherian et al. 2021)、およびQ498(Zhradnik et al 2021と、PHE, 22 April 2021 VOC Tech briefing)にRBD変異を有するあらゆるバリエントが可能である。

#### 【0115】

別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、スパイクタンパク質の一部、すなわちスパイクタンパク質のheptad repeat 1(HR1)またはheptad repeat 2(HR2)ドメインである。ビリオンの表面のスパイクタンパク質が宿主細胞の表面のACE受容体に結合した後、HR1とHR2は互いに相互作用して6螺旋バンドル(6-HB)融合コアを形成し、融合と感染のためウイルス膜と細胞膜を近接させる。一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、スパイクタンパク質のHR1ドメインであり、別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、スパイクタンパク質のHR2ドメインである。

#### 【0116】

別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号232のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

#### 【0117】

さらに別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、配列番号249のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

#### 【0118】

別の一実施形態では、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープは、スパイクタンパク質の少なくとも一部、好ましくはスパイクタンパク質に含まれる少なくともB細胞エピトープ、より好ましくはいくつかのそのようなB細胞エピトープを含む。

#### 【0119】

したがって1つの態様では、本発明は、免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット(この抗原ユ

10

20

30

40

50

ニットは、ベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質または完全長スパイクタンパク質の少なくとも一部、またはスパイクタンパク質に含まれる少なくとも1つのB細胞エピトープを含む)をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(i i) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(i i i) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

#### 【0120】

好ましい一実施形態では、スパイクタンパク質の前記少なくとも一部は受容体結合ドメイン(RBD)である。別の好ましい一実施形態では、スパイクタンパク質の前記少なくとも一部はHR1ドメインまたはHR2ドメインである。さらに別の好ましい一実施形態では、スパイクタンパク質の前記少なくとも一部はHR2ドメインである。

#### 【0121】

別の好ましい一実施形態では、抗原ユニットは、ベータコロナウイルスのスパイクタンパク質に含まれる少なくとも1つのB細胞エピトープを含み、好ましくはベータコロナウイルスのスパイクタンパク質またはその一部(例えば受容体結合ドメイン、HR1ドメイン、またはHR2ドメイン)に含まれるいくつかのB細胞エピトープを含む。

#### 【0122】

抗体応答はウイルスを阻止してそのウイルスが宿主細胞に感染するのを予防するため、治療設定よりも予防設定において重要である。SARS-CoVとCoV-2では、ヒト細胞への感染は、ウイルスのスパイクタンパク質がヒト肺上皮上のACE受容体に結合することを通じて起こることができる。

#### 【0123】

別のアプローチはワクチンであり、前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープはベータコロナウイルスT細胞エピトープである。本開示は、ゲノム中においてベータコロナウイルスの間で保存されている部分が免疫応答を開始させることのできるT細胞エピトープを含むことを明らかにする。したがって本発明の1つの態様は、少なくとも1つのT細胞エピトープ、好ましくはいくつかの種または株のベータコロナウイルスの間で保存されている(例えばSARS-CoVとSARS-CoV-2の間で保存されている)少なくとも1つのT細胞エピトープを含むワクチンに関する。

#### 【0124】

T細胞エピトープは、ウイルスの任意のタンパク質(すなわちウイルス表面タンパク質)だけでなく、ヌクレオカプシドタンパク質、またはレプリカーゼポリタンパク質、または他の構造タンパク質と非構造タンパク質に含まれていてもよい。

#### 【0125】

ヒトにおいて反応性があることが見いだされたT細胞エピトープのいくつかは、機能がまだ十分に解明されていなくともウイルスにとって極めて重要な機能を持っている可能性がある非構造タンパク質とオープンリーディングフレームの中にも存在する(例えばTarkenton他2021年の補足情報の中の表に掲載されている遺伝子とエピトープを参照されたい)。

#### 【0126】

したがって別の1つの態様では、本発明は、免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット(この抗原ユニットは、ベータコロナウイルスの少なくとも1つのT細胞エピトープを含む)をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(i i) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(i i i) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

10

20

30

40

50

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0127】

好ましい一実施形態では、抗原ユニットは、ベータコロナウイルスのいくつかのT細胞エпитープ、好ましくはいくつかの種または株のベータコロナウイルスの間で保存されているいくつかのT細胞エпитープを含む。一実施形態では、抗原ユニットは、2～50個のT細胞エпитープ、例えば3～45個のT細胞エпитープ、例えば4～40個のT細胞エпитープ、例えば5～35個のT細胞エпитープ、例えば6～30個のT細胞エпитープ、例えば7～25個のT細胞エпитープ、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25個のT細胞エпитープを含む。

10

【0128】

ベータコロナウイルスの保存された領域からのT細胞エпитープを含むワクチンは、いくつかの種／株のベータコロナウイルス（例えばいくつかの株のSARS-CoV、例えばSARS-CoVとSARS-CoV-2）に対する保護を提供するであろう。このようなワクチンは、ベータコロナウイルスの複数のバリエーション（例えばSARS-CoVのバリエーション、またはSARS-CoV-2のバリエーション）に対する保護も提供するであろう。それは、将来の変異したウイルスに対するそのようなワクチンの有効性にとって重要である。ウイルスは変異する（例えばウイルス抗原ドリフトまたは抗原シフトをする）ことが知られている。ベータコロナウイルスの属を横断して保存された領域という知見により、これらの保存された領域は不可欠な構造または機能を維持するのに必要とされ、したがって将来の変異がより保存されていない領域で起こるであろう可能性が大きくなる。保存された領域に対する免疫応答を起こさせることにより、ワクチンを接種された個人は将来の変異したい（したがって新規な）株に対しても保護されることになる。

20

【0129】

したがって本発明の一実施形態では、ワクチンは、ベータコロナウイルスエпитープに対するT細胞の活性化を通じて細胞を媒介とする免疫応答を誘起する設計にされる。T細胞がエпитープを認識するのは、エпитープが処理されて複合体としてMHC分子に提示されるときである。

【0130】

主要組織適合性複合体（MHC）分子の2つの主要なクラスMHC IとMHC IIが存在する。MHC（クラス）IとMHC（クラス）IIという用語は本明細書では、HLA（クラス）IとHLA（クラス）IIと交換可能に用いられる。ヒト白血球抗原（HLA）はヒトにおける主要組織適合性複合体である。

30

【0131】

T細胞エпитープだけを含む本発明のワクチンの抗原ユニットの中、またはT細胞エпитープを含むが、完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部である少なくとも1つのベータコロナウイルスをさらに含む本発明のワクチンの抗原ユニットの中に含まれるT細胞エпитープは長さが7～約200個のアミノ酸を持ち、より長いT細胞エпитープは、最小エпитープのホットスポットをおそらく含む。最小エпитープのホットスポットは、世界の人口の広い範囲をカバーする異なるHLAアレルによって提示されることが予測されるいくつかの最小エпитープ（例えば長さが8～15個のアミノ酸）を含有する領域である。

40

【0132】

一実施形態では、このようなワクチンの抗原ユニットは、長さが7～150個のアミノ酸、好ましくは7～100個のアミノ酸、例えば約10～約100個のアミノ酸、または約15～約100個のアミノ酸、または約20～約75個のアミノ酸、または約25～約50個のアミノ酸のT細胞エпитープを含む。

【0133】

好ましい一実施形態では、このようなワクチンの抗原ユニットは、MHC IまたはMHC IIの表面への特異的提示に適した長さを有するT細胞エпитープを含む。一実施

50

形態では、T細胞エピトープは、MHC I 提示のため7～11個のアミノ酸の長さを有する。別の一実施形態では、T細胞エピトープの配列は、MHC II 提示のため9～60個のアミノ酸、例えば9～30個のアミノ酸、例えば15～60個のアミノ酸、例えば15～30個のアミノ酸の長さを有する。好ましい一実施形態では、T細胞エピトープはMHC II 提示のため15個のアミノ酸の長さを有する。

【0134】

別の好ましい一実施形態では、T細胞エピトープは、HLAクラスI／IIアレルへの結合に関して予測される能力に基づいて選択される。さらに別の好ましい一実施形態では、T細胞エピトープは免疫原性であることが知られており、例えばその免疫原性は適切な方法によって確認され、結果は例えば学術文献に公開されている。

10

【0135】

本発明の別の一実施形態では、抗原ユニットは、免疫原性であることが知られているか、HLAクラスI／IIアレルに結合することが予測される複数のT細胞エピトープを含む。後者のT細胞エピトープは、予測HLA結合アルゴリズムに基づいてインシリコで選択される。すべての関連するエピトープが同定された後、それらエピトープは、HLAクラスI／IIアレルに結合する能力に従ってランク付けされ、最もよく結合することが予測されるエピトープが選択されて抗原ユニットに含められる。

【0136】

適切な任意のHLA結合アルゴリズムを使用することができ、それは以下に示すものの1つである。

20

ペプチド-MHC結合の分析に利用できるソフトウェア（IEDB、NetMHCpanとNetMHCIIpan）は、以下のウェブサイト：

<http://www.iedb.org/>

<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetMHCpan-4.0>

<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetMHCIIpan-3.2>

からダウンロードすること、またはオンラインでを使用することができる。

ワクチンのための最適な配列を予測する市販の高度なソフトウェアは、

<http://www.oncoimmunity.com/>

<https://omictools.com/T細胞エピトープ-category>

<https://github.com/griffithlab/pVAC-Seq>

<http://crdd.osdd.net/raghava/cancertope/help.php>

<http://www.epivax.com/tag/neoantigen/>

に見いだされる。

30

【0137】

別の一実施形態では、各T細胞エピトープが、予測される結合親和性および／または抗原性に従ってランク付けされ、最も抗原性があると予測されるエピトープが選択されて、好ましくは抗原ユニットの中に最適に配置される。

【0138】

本発明の一実施形態では、T細胞エピトープの配列は、スパイクタンパク質、または膜タンパク質、またはエンベロープタンパク質、またはヌクレオカプシドタンパク質、またはORF1a／bタンパク質、またはORF3aタンパク質の配列の一部である。別の一実施形態では、T細胞エピトープの配列は、以下の遺伝子／タンパク質、すなわちNCAP、AP3A、スパイク、ORF1a／b、ORF3a、VME1、およびVEMPの一部である。

40

【0139】

本発明の一実施形態は、本発明は、ベータコロナウイルスの間（例えば同じ亜属のベータコロナウイルスの間、例えばSARS-CoV-2とSARS-CoVの間）で保存されているT細胞エピトープを同定する方法に関係しており、この方法は、

・特定の人口または特定の民族集団または特定の地理的領域に特異的なHLAクラスIとIIのアレルのセットを同定すること

50

・SARS-CoV-2の保存されたウイルス配列の中で最小エピトープ（すなわち世界の人口の広い範囲をカバーするため異なるHLAクラスIとIIのアレルによって提示されることが予想される最小エピトープ）のホットスポットを含有するゲノム領域を同定すること

・異なるHLAクラスIとIIのアレルの最大数をカバーするホットスポットの中でSARS-CoV-2 T細胞エピトープを選択すること

・選択されたT細胞エピトープから、SARS-CoV-とSARS-CoV2の間で保存されているものを同定すること

・選択されたT細胞エピトープについて正常なヒトのプロテオームに見られる配列との類似性をチェックし、そのような配列との一致が多数あるT細胞エピトープを除去すること

10

・残った選択されたT細胞エピトープから、免疫原性であることがすでに記載されている最小エピトープと一致するかそれとの類似性が大きいものを同定することを含む。

#### 【0140】

本発明の別の一実施形態では、本発明は、ベータコロナウイルスの間（例えば同じ亜属のベータコロナウイルスの間、例えばSARS-CoV-2とSARS-CoVの間）で保存されているT細胞エピトープを同定する方法に関係しており、この方法は、

・特定の人口または特定の民族集団または特定の地理的領域に特異的なHLAクラスIとIIのアレルのセットを同定すること

・SARS-CoV-2のウイルス配列の中で最小エピトープのホットスポットを含有するゲノム領域を同定すること

20

・SARS-CoV-とSARS-CoV2のバリエーションのほか、異なるHLAクラスIとIIのアレルを最も多くカバーするホットスポットの最適なセットを選択すること

・選択されたT細胞エピトープについて正常なヒトのプロテオームに見られる配列との類似性をチェックし、そのような配列との一致が多数あるT細胞エピトープを除去すること

・残った選択されたT細胞エピトープから、免疫原性であることがすでに記載されている最小エピトープと一致するかそれとの類似性が大きいものを同定することを含む。

#### 【0141】

この方法では、ホットスポットの最適なセットの選択は、最適化アルゴリズム（最大セットカバレッジ）として実現されるため、HLAカバレッジと病原体保存の両方が同時に最適化される。

30

#### 【0142】

特異的T細胞エピトープは、開示されている手続きによって同定されている。本発明の一実施形態では、T細胞エピトープは、実施例1に掲載されているエピトープから選択される。好ましい一実施形態では、T細胞エピトープは、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、配列番号62、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号70、配列番号71、配列番号72、配列番号73、配列番号74、配列番号75、配列番号76、配列番号77、配列番号78、配列番号79、配列番号80、配列番号81、配列番号82、配列番号83、配列番

40

50

号 8 4、配列番号 8 5、配列番号 8 6、配列番号 8 7、配列番号 8 8、配列番号 8 9、配列番号 9 0、配列番号 9 1、配列番号 9 2、配列番号 9 3、配列番号 9 4、配列番号 9 5、配列番号 9 6、配列番号 9 7、配列番号 9 8、配列番号 9 9、配列番号 1 0 0、配列番号 1 0 1、配列番号 1 0 2、配列番号 1 0 3、配列番号 1 0 4、配列番号 1 0 5、配列番号 1 0 6、配列番号 1 0 7、配列番号 1 0 8、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 0、配列番号 1 1 1、配列番号 1 1 2、配列番号 1 1 3、配列番号 1 1 4、配列番号 1 1 5、配列番号 1 1 6、配列番号 1 1 7、配列番号 1 1 8、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 0、配列番号 1 2 1、配列番号 1 2 2、配列番号 1 2 3、配列番号 1 2 4、配列番号 1 2 5、配列番号 1 2 6、配列番号 1 2 7、配列番号 1 2 8、配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 0、配列番号 1 3 1、配列番号 1 3 2、配列番号 1 3 3、配列番号 1 3 4、配列番号 1 3 5、配列番号 1 3 6、配列番号 1 3 7、配列番号 1 3 8、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 0、配列番号 1 4 1、配列番号 1 4 2、配列番号 1 4 3、配列番号 1 4 4、配列番号 1 4 5、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 0、配列番号 1 5 1、配列番号 1 5 2、配列番号 1 5 3、配列番号 1 5 4、配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 6、配列番号 1 5 7、配列番号 1 5 8、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 0、配列番号 1 6 1、配列番号 1 6 2、配列番号 1 6 3、配列番号 1 6 4、配列番号 1 6 5、配列番号 1 6 6、配列番号 1 6 7、配列番号 1 6 8、配列番号 1 6 9、配列番号 1 7 0、配列番号 1 7 1、配列番号 1 7 2、配列番号 1 7 3、配列番号 1 7 4、配列番号 1 7 5、配列番号 1 7 6、配列番号 1 7 7、配列番号 1 7 8、配列番号 1 7 9、配列番号 1 8 0、配列番号 1 8 1、配列番号 1 8 2、配列番号 1 8 3、配列番号 1 8 4、配列番号 1 8 5、配列番号 1 8 6、配列番号 1 8 7、配列番号 1 8 8、配列番号 1 8 9、配列番号 1 9 0、配列番号 1 9 1、配列番号 1 9 2、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 4、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 6、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 8、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 0、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 2、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 4、配列番号 2 0 5、配列番号 2 0 6、配列番号 2 0 7、配列番号 2 0 8、配列番号 2 0 9、配列番号 2 1 0、配列番号 2 1 1、配列番号 2 1 2、配列番号 2 1 3、配列番号 2 1 4、配列番号 2 1 5、配列番号 2 1 6、配列番号 2 1 7、配列番号 2 1 8、配列番号 2 1 9、配列番号 2 2 0、配列番号 2 2 1、配列番号 2 2 2、配列番号 2 2 3、配列番号 2 2 4、配列番号 2 2 5、配列番号 2 2 6、配列番号 2 2 7、配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9、および配列番号 3 2 2 ~ 4 4 4 からなるリストから選択される。

10

20

30

#### 【0 1 4 3】

好ましい一実施形態では、T細胞エピトープは、配列番号 6 7、配列番号 1 9、配列番号 7 8、配列番号 5 7、配列番号 5 0、配列番号 5 5、配列番号 6 4、配列番号 2 2、配列番号 8 7、配列番号 6 2、配列番号 3 9、配列番号 5 9、配列番号 2 6、配列番号 5 3、配列番号 3 2、配列番号 3 8、配列番号 3 0、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 3 5、配列番号 7 1、配列番号 9、配列番号 2 1、配列番号 8 5、配列番号 7 5、配列番号 2 3、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 7 7、および配列番号 2 0 からなるリストから選択される。

#### 【0 1 4 4】

別の一実施形態では、T細胞エピトープは、配列番号 6 7、配列番号 1 9、配列番号 7 8、配列番号 5 7、配列番号 5 0、配列番号 5 5、配列番号 6 4、配列番号 2 2、配列番号 8 7、および配列番号 6 2 からなるリストから選択される。

40

#### 【0 1 4 5】

さらに別の一実施形態では、T細胞エピトープは、表 1 と配列番号 7 5 に開示されている pep 1 ~ pep 2 0 からなるリストから選択される。さらに別の一実施形態では、T細胞エピトープは、臨床試験で免疫原性であることが確認されたか、ベータコロナウイルスに感染したことがあるヒト患者で検証されているものである。

#### 【0 1 4 6】

さらに別の 1 つの態様では、本発明は、免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユ

50

ニットは、a) ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部と、b) 少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エピトープを含む) をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(i i) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(i i i) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0147】

一実施形態では、前記完全長タンパク質は、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択される。

【0148】

別の一実施形態では、抗原ユニットは、ベータコロナウイルスのそのような完全長ウイルス表面タンパク質に含まれる(例えば上記のタンパク質のいずれか1つに含まれる)少なくとも1つのB細胞エピトープを含み、好ましくはベータコロナウイルスのそのような完全長ウイルス表面タンパク質に含まれる(例えば上記のタンパク質のいずれか1つに含まれる)いくつかのB細胞エピトープを含む。

【0149】

さらに別の一実施形態では、本発明は、免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット(この抗原ユニットは、a) ベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質またはその一部、またはスパイクタンパク質に含まれる少なくとも1つのベータコロナウイルスB細胞エピトープと、b) 少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エピトープを含む) をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(i i) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(i i i) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0150】

一実施形態では、抗原ユニットは完全長スパイクタンパク質を含む。そのため抗原ユニットは、配列番号230のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

【0151】

一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、a) ベータコロナウイルスのスパイクタンパク質の受容体結合ドメインと、b) 少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エピトープを含む。

【0152】

一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号231のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

【0153】

一実施形態では、抗原ユニットは配列番号231のアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

## 【0154】

別の一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号802のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むアミノ酸配列を含む。

## 【0155】

一実施形態では、抗原ユニットは配列番号802のアミノ酸配列を含む。

10

## 【0156】

さらに別の一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号803のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0157】

一実施形態では、抗原ユニットは配列番号803のアミノ酸配列を含む。

20

## 【0158】

さらに別の一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号804のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0159】

一実施形態では、抗原ユニットは配列番号804のアミノ酸配列を含む。

30

## 【0160】

さらに別の一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号805のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0161】

一実施形態では、抗原ユニットは配列番号805のアミノ酸配列を含む。

40

## 【0162】

好ましい一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号246のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0163】

一実施形態では、抗原ユニットは配列番号246のアミノ酸配列を含む。

50

## 【0164】

別の好ましい一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号255のアミノ酸243～455のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0165】

一実施形態では、抗原ユニットは配列番号255のアミノ酸243～455のアミノ酸配列を含む。

10

## 【0166】

さらなる一実施形態では、抗原ユニットは、RBDおよび／またはその一部の複数のコピー（例えば2、3、4、または5個のコピー）を含み、それらコピーは同じではなく、変異（例えば1、2、3、4、5個、またはそれよりも多い変異）を含む。

## 【0167】

一例として、抗原ユニットはRBDまたはその一部を2つ（例えばSARS-CoV-2の武漢株のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部と、SARS-CoV-2の南アフリカバリエントB.1.351のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部）含むことができる。さらなる一例として、抗原ユニットは、SARS-CoV-2の南アフリカバリエントB.1.351のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部と、SARS-CoV-2のUKバリエントB.1.1.7のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部と、SARS-CoV-2のカリフォルニアバリエントB.1.427のスパイクタンパク質のRBDまたはその一部を含むことができる。

20

## 【0168】

別の一実施形態では、上記のワクチンの抗原ユニットは、a) ベータコロナウイルスのスパイクタンパク質のHR1ドメインまたはHR2ドメインと、b) 少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エピトープを含む。さらに別の一実施形態では、上記のワクチンの抗原ユニットは、a) ベータコロナウイルスのスパイクタンパク質のHR2ドメインと、b) 少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エピトープを含む。

30

## 【0169】

好ましい一実施形態では、少なくとも1つのT細胞エピトープは、配列番号1～配列番号444からなるリストから選択され、好ましくは少なくとも1つのT細胞エピトープは、配列番号67、配列番号19、配列番号78、配列番号57、配列番号50、配列番号55、配列番号64、配列番号22、配列番号87、配列番号62、配列番号39、配列番号59、配列番号26、配列番号53、配列番号32、配列番号38、配列番号30、配列番号40、配列番号42、配列番号35、配列番号71、配列番号9、配列番号21、配列番号85、配列番号75、配列番号23、配列番号34、配列番号36、配列番号77、および配列番号20からなるリストから選択され、より好ましくは少なくとも1つのT細胞エピトープは、配列番号67、配列番号19、配列番号78、配列番号57、配列番号50、配列番号55、配列番号64、配列番号22、配列番号87、および配列番号62からなるリストから選択される。

40

## 【0170】

抗原ユニットの長さは、主に、その中に含まれるエピトープ配列の長さのほか、エピトープ配列の数によって決まる。一実施形態では、エピトープはリンカーによって互いに分離されており、そのことも抗原ユニットの長さに寄与する。

## 【0171】

一実施形態では、抗原ユニットは3500個までのアミノ酸、例えば21～3500個のアミノ酸、好ましくは約30個のアミノ酸～約2000個のアミノ酸、例えば約50～約1500個のアミノ酸、より好ましくは約100～約1500個のアミノ酸、例えば約

50

100～約1000個のアミノ酸、または約100～約500個のアミノ酸、または約100～約300個のアミノ酸を含む。

【0172】

ベータコロナウイルスエピトープが抗原ユニットの中にランダムに配置されている場合、関連する免疫応答を得ることは可能だが、免疫応答を増強するため抗原ユニットの中にT細胞エピトープおよび／またはB細胞エピトープ、好ましくは直線状B細胞エピトープ（今後は「エピトープ」と表記する）を配置するのに以下の方法の少なくとも1つに従うことが好ましい。

【0173】

抗原ユニットは、N末端開始部とC末端終止部を有するポリペプチドとして記述することができる。抗原ユニットは、好ましくはユニットリンカーを介して二量体化ユニットに接続される。抗原ユニットは、ポリペプチド／二量体化タンパク質のCOOH末端またはNH<sub>2</sub>末端のいずれかに位置する。抗原ユニットはポリペプチド／二量体化タンパク質のCOOH末端にあることが好ましい。

【0174】

一実施形態では、エピトープは、二量体化ユニットから抗原ユニットの末端（すなわち末端エピトープ）に向かう方向に、抗原性が最高のもから最低のものへの順番で配置される。

【0175】

別の一実施形態では、特に親水性／疎水性がエピトープ間で大きく変動する場合には、疎水性が最高のエピトープを抗原ユニットの実質的に中央に位置させ、親水性が最高のエピトープを抗原ユニットの先端および／または末端に位置させる。

【0176】

抗原ユニットをちょうど中央部に位置させることは、抗原ユニットが奇数のエピトープを含む場合にだけ可能である。この文脈における「実質的に」という用語は偶数のエピトープを含む抗原ユニットを意味し、疎水性が最高のエピトープはできるだけ中央に近く位置させる。

【0177】

例として、抗原ユニットは、1-2-3\*-4-5のように配置された5つのエピトープを含む。ここに1、2、3\*、4、および5はそれぞれが1つのエピトープであり、\*は疎水性が最高のエピトープを示しており、抗原ユニットの中央に位置している。

【0178】

別の一例では、抗原ユニットは、1-2-3\*-4-5-6、あるいは1-2-4-3\*-5-6のように配置された6つのエピトープを含む。ここに1、2、3\*、4、5、および6はそれぞれが1つのエピトープであり、\*は疎水性が最高のエピトープを示しており、抗原ユニットの実質的に中央に位置している。

【0179】

あるいはエピトープは、親水性抗原配列と疎水性抗原配列の間に交互に配置することができる。

【0180】

さらに、GCが豊富なエピトープは、GCクラスターを回避するため互いに近接して配置してはならない。好ましい一実施形態では、GCが豊富な1つのエピトープの後にGCが豊富でない少なくとも1つのエピトープが続き、その後にGCが豊富な第2のエピトープが続く。

【0181】

一実施形態では、本発明のワクチンは、1～50個のエピトープを含む抗原ユニットを含む。好ましい一実施形態では、前記エピトープはT細胞エピトープである。

【0182】

一実施形態では、3～50個のエピトープが抗原ユニットに含まれる（例えば3～30個のエピトープ、例えば3～20個のエピトープ、例えば3～15個のエピトープ、また

10

20

30

40

50

は例えば3～10個のエピトープ)。好ましい一実施形態では、前記エピトープはT細胞エピトープである。

【0183】

別の一実施形態では、5～50個のエピトープが抗原ユニットに含まれる(例えば5～30個のエピトープ、例えば5～25個のエピトープ、例えば5～20個のエピトープ、例えば5～15個のエピトープ、または例えば5～10個のエピトープ)。好ましい一実施形態では、前記エピトープはT細胞エピトープである。

【0184】

さらなる一実施形態では、10～50個のエピトープが抗原ユニットに含まれる(例えば10～40個のエピトープ、例えば10～30個のエピトープ、例えば10～25個のエピトープ、例えば10～20個のエピトープ、または例えば10～15個のエピトープ)。好ましい一実施形態では、前記エピトープはT細胞エピトープである。

【0185】

好ましい一実施形態では、抗原ユニットは、10、20、30、または50個のエピトープからなる。好ましい一実施形態では、前記エピトープはT細胞エピトープである。

【0186】

抗原ユニットは、1つのエピトープまたはいくつかのエピトープを他の1つのエピトープまたは他のいくつかのエピトープから分離する1つ以上のリンカーと、抗原ユニットを二量体化ユニットに接続する1つのリンカー(今後はユニットリンカーと呼ぶ)をさらに含むことができる。前記1つ以上のリンカーはエピトープが最適なやり方で免疫系に提示されることを保証するため、ワクチンの有効性が向上する。抗原ユニットがベータコロナウイルスの完全長タンパク質またはそのようなタンパク質の一部を含むワクチンでは、リンカーが存在しているとタンパク質が正しく折り畳まれることも保証することができる。

【0187】

前記1つ以上のリンカーは、非免疫原性であって好ましくは可撓性でもあるように設計することが好ましい。完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部(例えばスパイクタンパク質またはその一部)を含むワクチンでは、リンカーによりタンパク質を正しく折り畳むことが可能になり、したがって含まれるB細胞エピトープをB細胞に提示することが最適化される。それに加え、リンカーは、抗原提示細胞に効果的に送達される機能的ワクチンタンパク質の効果的な分泌を可能にするため、抗原ユニットが多数のエピトープを含む場合でさえ、T細胞へのT細胞エピトープの提示が増加する。前記1つ以上のリンカーの長さは、可撓性を保証するため4～20個のアミノ酸であることが好ましい。別の好ましい一実施形態では、前記1つ以上のリンカーの長さは8～20個のアミノ酸、例えば8～15個のアミノ酸、例えば8～12個のアミノ酸、または、例えば10～15個のアミノ酸である。特別な一実施形態では、前記1つ以上のリンカーの長さは10個のアミノ酸である。

【0188】

前記1つ以上のリンカーは、すべてが同じヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を有することが好ましい。しかし1つ以上のエピトープがリンカーと似たアミノ酸モチーフを含む場合には、そのエピトープの近傍のリンカーを異なる配列のリンカーで置き換えることが有利である可能性がある。さらに、エピトープ／リンカーの接合がエピトープそのものを構成することが予測される場合には、異なる配列のリンカーを使用できる可能性がある。

【0189】

前記1つ以上のリンカーは、いくつかのセリン残基および／またはいくつかのグリシン残基を含むセリン(S)－グリシン(G)リンカーであることが好ましい。好ましい例は、GGGGS(配列番号806)、GGGSS(配列番号807)、GGGSG(配列番号808)、GGGGS、またはこれらの複数のバリエーション(GGGGS GGGGS(配列番号809)または(GGGGS)<sub>m</sub>、(GGGSS)<sub>m</sub>、(GGGSG)<sub>m</sub>(ただしmは、1～5、1～4、または1～3の整数である)など)である。好ましい一実施形態

では、mは2である。

【0190】

好ましい一実施形態では、セリン-グリシンリンカーは、少なくとも1個のロイシン（L）残基（少なくとも2個、または少なくとも3個のロイシンなど）をさらに含む。セリン-グリシンリンカーは、例えば1、2、3、4個のロイシンを含むことができる。セリン-グリシンリンカーは1個のロイシンまたは2個のロイシンを含むことが好ましい。

【0191】

一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGGGS（配列番号810）、GLGGS（配列番号811）、GGLGS（配列番号812）、GGGLS（配列番号813）、またはGGGGL（配列番号814）という配列を含むか、その配列からなる。別の一実施形態では、1つ以上のリンカーは、LGGSG（配列番号815）、GLGSG（配列番号816）、GGLSG（配列番号817）、GGGLG（配列番号818）、またはGGGSLという配列を含むか、その配列からなる。さらに別の一実施形態では、1つ以上のリンカーは、LGGSS（配列番号819）、GLGSS（配列番号820）、GGLSS（配列番号821）、GGGLS、またはGGGSL（配列番号822）という配列を含むか、その配列からなる。

【0192】

さらに別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGLGS（配列番号823）、GLGLS（配列番号824）、GLLGS（配列番号825）、LGLLS（配列番号826）、またはGLGGL（配列番号827）という配列を含むか、その配列からなる。さらに別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGLSG（配列番号828）、GLLSG（配列番号829）、GGLSL（配列番号830）、GGLLG（配列番号831）、またはGLGSL（配列番号832）という配列を含むか、その配列からなる。さらに別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGLSS（配列番号833）、GLGLS、GGLLS（配列番号834）、GLGSL、またはGLGSLという配列を含むか、その配列からなる。

【0193】

別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは長さが10個のアミノ酸を有するセリン-グリシンリンカーであり、1個のロイシンまたは2個のロイシンを含む。

【0194】

一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGGSGGGGS（配列番号835）、GLGGSGGGGS（配列番号836）、GGLGGSGGGGS（配列番号837）、GGGLSGGGGS（配列番号838）、またはGGGGLGGGGGS（配列番号839）という配列を含むか、その配列からなる。別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGGSGGGGSG（配列番号840）、GLGGSGGGGSG（配列番号841）、GGLSGGGGSG（配列番号842）、GGGLGGGGSG（配列番号843）、またはGGGSLGGGSG（配列番号844）という配列を含むか、その配列からなる。さらに別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGGSSGGGGSS（配列番号845）、GLGGSSGGGGSS（配列番号846）、GGLSSGGGGSS（配列番号847）、GGGLSGGGSS（配列番号848）、またはGGGSLGGGGSS（配列番号849）という配列を含むか、その配列からなる。

【0195】

さらなる一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGGGSLGGGS（配列番号850）、GLGGSGLGGGS（配列番号851）、GGLGGSGGLGS（配列番号852）、GGGLSGGGLS（配列番号853）、またはGGGGLGGGGL（配列番号854）という配列を含むか、その配列からなる。別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGGSGLGGSG（配列番号855）、GLGGSGGLGSG（配列番号856）、GGLSGGGLSG（配列番号857）、GGGLGGGGLG（配列番号858）、またはGGGSLGGGSL（配列番号859）という配列を含むか、その配列からなる。さらに別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、LGG

SSLGGSS（配列番号860）、GLGSSGLGSS（配列番号861）、GGLSSGGLSS（配列番号862）、GGGLSGGGLS、またはGGGSLGGSLという配列を含むか、その配列からなる。

【0196】

さらなる実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、TQKSLSPGKGLGL（配列番号863）という配列を含むか、その配列からなる。別の一実施形態では、前記1つ以上のリンカーは、SLSLSPGKGLGL（配列番号864）という配列を含むか、その配列からなる。

【0197】

ベータコロナウイルスの完全長タンパク質またはそのようなタンパク質の一部と1つ以上のT細胞エпитープを含む抗原ユニットを含むワクチンのため、一実施形態では、T細胞エпитープとそのタンパク質を分離するリンカーは、10～60個のアミノ酸、例えば11～50個のアミノ酸、または12～45個のアミノ酸、または13～40個のアミノ酸の長さを有する。

【0198】

このようなリンカーは非免疫原性でもあることが好ましい。このようなリンカーの例は、上記のようなグリシン-セリンが豊富なリンカー、またはグリシン-セリン-ロイシンが豊富なリンカー、GGSAGGSGSGSSGGS SGA SGTGTAGGTGSGSGTGS（配列番号866）という配列を含むか、その配列からなるGSAT（配列番号865）リンカーである。別の一実施形態では、このようなリンカーはSEGリンカーであり、GSGSGGSGEGGSGEGGSGEGGSGEGGSGEGGSGEGGSGSGGSG（配列番号867）という配列を含むか、その配列からなる。さらに、タンパク質モデリングを利用してリンカーに接続されたタンパク質の3D構造／立体配置をモデル化し、どのような長さでアミノ酸配列が正しい折り畳みを促進するかを明らかにすることができる。

【0199】

一実施形態では、抗原ユニットは、10～20個または10～25個のエピトープと複数のリンカーを含み、それらリンカーは、それらエピトープのそれぞれを分離するか、いくつかのエピトープを他のいくつかのエピトープから分離している。前記リンカーは10個のアミノ酸の長さを有することが好ましい。リンカーは上に規定した任意の長さ（例えば5～12個のアミノ酸など）を有することもできる。

【0200】

あるいは前記1つ以上のリンカーは、GSATリンカー（すなわち1つ以上のグリシン、セリン、アラニン、およびトレオニンという残基を含むリンカー）と、SEGリンカー（すなわち1つ以上のセリン、グルタミン酸、およびグリシンという残基を含むリンカー）、またはこれらの複数のバリエーションから選択することができる。

【0201】

抗原ユニットと二量体化ユニットはユニットリンカーによって接続されることが好ましい。ユニットリンカーは、ポリヌクレオチドの構築を容易にするため制限部位を含むことができる。ユニットリンカーはGLGGLリンカーまたはGLSGL（配列番号868）リンカーであることが好ましい。

【0202】

リンカーのさらなる配列の例は、WO 2020/176797 A1の段落[0098]～[0099] および記載されている配列（本明細書に参照によって組み込まれている）と、US 2019/0022202 A1の参考文献および段落[0135]～[0139]（本明細書に参照によって組み込まれている）に開示されている。

【0203】

「ターゲティングユニット」という用語は、本明細書では、抗原ユニットを有するワクチンに含まれる（ポリヌクレオチドによってコードされる）ポリペプチド／二量体タンパク質を抗原提示細胞に送達するユニットを意味する。

## 【0204】

ターゲティングユニットにより、本発明のワクチンに含まれるポリペプチド／二量体タンパク質は樹状細胞（DC）、好中球、および他の免疫細胞を引き付ける。したがってターゲティングユニットを含むポリペプチド／二量体タンパク質／ワクチンは、その中に含まれる抗原ユニットを特定の細胞に向けるだけでなく、それに加え、特定の免疫細胞をワクチンの投与部位にリクルートすることによって応答増幅効果（アジュバント効果）を容易にするであろう。この独自の機構は、患者がいかなる追加アジュバントもなしで本発明のワクチン接種を受ける臨床設定において非常に重要である。なぜならワクチンそのものがアジュバント効果を提供するからである。

## 【0205】

ターゲティングユニットは、ポリペプチド／二量体タンパク質のCOOH末端またはNH<sub>2</sub>末端のいずれかに位置する抗原ユニットに二量体化ユニットを介して接続される。抗原ユニットは、ポリペプチド／二量体タンパク質のCOOH末端にあることが好ましい。

## 【0206】

ターゲティングユニットは、本発明のポリペプチド／二量体タンパク質／ワクチンをAPC上に発現している表面分子（DCのサブセットの表面にだけ発現している分子など）に向かわせるように設計されている。

## 【0207】

APC上のそのような表面分子の例は、HLA、分化のクラスター14（CD14）、分化のクラスター40（CD40）、ケモカイン受容体、およびToll様受容体（TLR）である。ケモカイン受容体に含まれるのは、C-Cモチーフケモカイン受容体1（CCR1）、C-Cモチーフケモカイン受容体3（CCR3）、およびC-Cモチーフケモカイン受容体5（CCR5）と、XCR1である。Toll様受容体に含まれるのはTLR-2、TLR-4、およびTLR-5である。

## 【0208】

ターゲティングユニットは、表面分子と相互作用する部分であるか、その部分を含む。したがってターゲティングユニットは、HLA、CD14、CD40、またはToll様受容体に対する特異性を有する抗体結合領域を含むか、その抗体結合領域からなる。別の一実施形態では、ターゲティングユニットは合成リガンドまたは天然リガンドを含むか、それからなる。例に含まれるのは、可溶性CD40リガンド、ケモカインなどの天然リガンド（例えばケモカインリガンド5（C-Cモチーフリガンド5（CCL5またはRANTES）とも呼ばれる）、マクロファージ炎症性タンパク質アルファ（CCL3またはMIP-1 $\alpha$ ）、ケモカインモチーフリガンド1または2（XCL1またはXCL2）、および細菌抗原（例えばフラジェリンなど）である。

## 【0209】

本発明の1つの態様では、ターゲティングユニットは、抗原提示細胞上の表面受容体（CD14、CD40、Toll様受容体（TLR-2、TLR-4、および／またはTLR-5など）、ケモカイン受容体（CCR1、CCR3、CCR5、またはMHCクラスIとIIタンパク質など）など）に対する特異性を有する抗体結合領域を含む。

## 【0210】

別の一実施形態では、ターゲティングユニットは、CD40、TLR-2、TLR-4、およびTLR-5からなる群から選択される表面分子に対する親和性を有する。したがって一実施形態では、ターゲティングユニットは、抗CD40、抗TLR-2、抗TLR-4、または抗TLR-5に対する特異性を有する抗体可変ドメイン（VLとVH）を含むか、それからなる。さらに別の一実施形態では、ターゲティングユニットは、TLR-5に対する親和性を有するフラジェリンを含むか、それからなる。

## 【0211】

一実施形態では、ターゲティングユニットは、MHCクラスIIタンパク質に対する親和性を有する。したがって一実施形態では、ターゲティングユニットは、抗HLA-DP、抗HLA-DR、および抗pan HLAクラスIIからなる群から選択されるMHC

10

20

30

40

50

クラスⅡタンパク質に対する特異性を有する抗体可変ドメイン（V<sub>L</sub>とV<sub>H</sub>）を含むか、それからなる。

【0212】

本発明の好ましい一実施形態では、ターゲティングユニットは、CCR1、CCR3、およびCCR5から選択されるケモカイン受容体に対する親和性、好ましくはCCR1とCCR5から選択されるケモカイン受容体に対する親和性を有する。本発明の別の好ましい実施形態では、ターゲティングユニットは、MHCクラスⅡタンパク質に対する親和性、好ましくは抗HLA-DP、抗HLA-DR、および抗pan HLAクラスⅡからなる群から選択されるMHCクラスⅡタンパク質に対する親和性を有する。より具体的には、一実施形態では、ターゲティングユニットは抗pan HLAクラスⅡとMIP-1αを含む。

10

【0213】

一実施形態では、ターゲティングユニットがそのコグネイト受容体に結合すると、ポリペプチド／二量体タンパク質／ワクチンがAPCにおいて内部化され、それが分解されて小さなペプチドになり、MHC分子にロードされてCD4<sup>+</sup> T細胞とCD8<sup>+</sup> T細胞に提示され、特異的免疫応答が誘導される。MHCⅡ分子にロードされたペプチドは抗原特異的CD4<sup>+</sup> Tヘルパー細胞が認識することができるのに対し、MHCⅠ分子にロードされたペプチドは抗原特異的CD8<sup>+</sup> T細胞が認識することができ、細胞傷害機能の増殖と活性化へとつながる。MHCⅠ分子の表面への内部化された抗原の提示は、交差提示と呼ばれるプロセスである。CD8<sup>+</sup> T細胞は、刺激されると、活性化されたCD4<sup>+</sup> T細胞の助けを借りて、同じ抗原を発現している細胞に向かい、その細胞を殺す。

20

【0214】

本発明の1つの態様では、ターゲティングユニットはMIP-1αを含むかMIP-1αであり、そのMIP-1αはヒトMIP-1α（hMIP-1α、LD78βとも呼ばれる）であることが好ましい。MIP-1αはその走化性能力を通じてAPCをワクチンに引き付けるだけでなく、古典経路と交差提示経路の両方を通じてポリペプチド／二量体タンパク質ワクチンコンストラクトの内部化を引き起こし、そのことによってエピトープが酵素によって処理され、細胞表面に提示されてT細胞応答、特にTh1 CD4<sup>+</sup> 応答とCD8<sup>+</sup> T細胞応答を生じさせる。MIP-1αはベータコロナウイルス感染症に対する保護にとって重要な抗体応答（特にIgG2a）の誘導も支援することができる。

30

【0215】

本発明の一実施形態では、ターゲティングユニットは、配列番号234のアミノ酸配列24～93と少なくとも80%配列が一致するアミノ酸配列を含む。好ましい一実施形態では、ターゲティングユニットは、配列番号234のアミノ酸配列24～93と少なくとも85%一致する配列、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。さらに別の好ましい一実施形態では、ターゲティングユニットは配列番号234のアミノ酸配列24～93を含む。

40

【0216】

より好ましい一実施形態では、ターゲティングユニットは、配列番号1のアミノ酸配列24～93と少なくとも80%一致する配列、配列番号234のアミノ酸配列24～93と例えば少なくとも85%、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%、例えば少なくとも100%一致する配列を

50

有するアミノ酸配列からなる。

【0217】

一実施形態では、ターゲティングユニットは抗pan HLAクラスIIを含む抗pan HLAクラスIIである。このターゲティングユニットは、混合されたIgG1抗体とIgG2a抗体を用いて迅速かつ強力な抗体応答を誘導する。さらに、このターゲティングユニットは有意な細胞性応答（CD4+とCD8+タイプのT細胞）を誘導する。

【0218】

本発明の1つの態様は、免疫学的に有効な量の

(i) 抗pan HLAクラスIIを含むターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部、好ましくはエンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択されるタンパク質を含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つのからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0219】

一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質に含まれる（例えば上記のタンパク質のいずれかに含まれる）少なくとも1つのB細胞エпитープを含み、好ましくはベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質に含まれる（例えば上記のタンパク質のいずれかに含まれる）いくつかのB細胞エпитープを含む。

【0220】

本発明の別の1つの態様は、免疫学的に有効な量の

(i) 抗pan HLAクラスIIを含むターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは、ベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質またはその一部、またはそのスパイクタンパク質またはその一部に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つのからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0221】

本発明のさらなる1つの態様は、免疫学的に有効な量の

(i) hMIP-1 $\alpha$ を含むターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは、ベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質またはその一部、またはそのスパイクタンパク質またはその一部に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0222】

一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部

10

20

30

40

50

の受容体結合ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。別の一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR1ドメインまたはHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。さらに別の一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。

【0223】

このワクチンは投与されると強力な液性応答を誘導し、潜在的には細胞応答も誘導する。

【0224】

本発明の別の1つの態様は、免疫学的に有効な量の

(i) hMIP-1 $\alpha$ を含むターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは、少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エпитープ、好ましくはベータコロナウイルスの間で保存されているいくつかのT細胞エпитープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0225】

このワクチンは、投与されるとT細胞応答、すなわち強力な細胞性応答を誘導する。これは治療設定において特に重要である。というのもCD8<sup>+</sup> T細胞がウイルスに感染した細胞を殺し、したがってウイルスを除去することができるからである。ワクチンがベータコロナウイルスの間で保存されたT細胞エпитープを含む場合、ベータコロナウイルスの複数のバリエーション（例えばSARS-CoVウイルスの複数のバリエーション）に対する保護を提供することができよう。これは、保存されていない領域に変異が起こる将来のベータコロナウイルスバリエーションに対しても潜在的に有効であるため重要である。

【0226】

特別な1つの態様は、免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは、a) ベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質またはその一部、またはそのスパイクタンパク質またはその一部に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープと、b) 少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エпитープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0227】

一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部の受容体結合ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。別の一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR1ドメインまたはHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。さらに別の一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。

【0228】

このようなワクチンは、投与されるとT細胞応答とB細胞応答を誘導する。エピデミッ

10

20

30

40

50

クとパンデミックの状況では、最初に個人を診断し、必要とされるのが主にB細胞応答であるかT細胞応答であるかや、医学的に最も必要とされるのが予防的処置であるか治療的処置であるかを判断するのは時間効率がよくない。個人が感染しているかいないかの判断は（十分な）適用可能な試験が欠けていて困難である可能性があるため、ますますそうである。したがって保護と治療が同時に可能であることが重要である。スパイクタンパク質の完全長または一部、またはそのスパイクタンパク質の中に存在するいくつかのB細胞エピトープに保存されたT細胞エピトープを組み合わせることにより、ワクチンが投与されると強力な液性応答と細胞性応答の両方が誘導される。応答は、選択したターゲティングユニットに応じてより液性になること、またはより細胞性になることができる。

【0229】

上記のワクチンは、MIP-1 $\alpha$ または抗pan HLAクラスIIを含むターゲティングユニットを含むことが好ましい。

【0230】

したがって本発明の1つの態様は、免疫学的に有効な量の

(i) hMIP-1 $\alpha$ を含むターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは、a）ベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質またはその一部、またはそのスパイクタンパク質またはその一部に含まれる少なくとも1つのB細胞エピトープと、b）少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0231】

一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部の受容体結合ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エピトープを含む。別の一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR1ドメインまたはHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エピトープを含む。さらに別の一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エピトープを含む。

【0232】

別の一実施形態では、抗原ユニットは抗pan HLAクラスIIを含む。このターゲティングユニットは、混合されたIgG1抗体とIgG2a抗体を用いて迅速かつ強力な抗体応答を誘導する。さらに、このターゲティングユニットは有意な細胞性応答（CD4 $^{+}$ とCD8 $^{+}$ タイプのT細胞）を誘導する。

【0233】

したがって本発明の一実施形態は、免疫学的に有効な量の

(i) 抗pan HLAクラスIIを含むターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは、a）ベータコロナウイルスの完全長スパイクタンパク質またはその一部、またはそのスパイクタンパク質またはその一部に含まれる少なくとも1つのB細胞エピトープと、b）少なくとも1つのベータコロナウイルスT細胞エピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と、

薬学的に許容可能な担体を含むワクチンに関する。

【0234】

10

20

30

40

50

一実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部の受容体結合ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。別の実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR1ドメインまたはHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。さらに別の実施形態では、上記ワクチンの抗原ユニットは、スパイクタンパク質またはその一部のHR2ドメイン、またはその中に含まれる少なくとも1つのB細胞エпитープを含む。

#### 【0235】

本発明のさらなる実施形態では、抗原ユニットは、10、14、20、24、および30個のT細胞エпитープと、RBDと、エピトープ間のリンカーのセットを含む。一実施形態では、抗原ユニットは、10個のT細胞エピトープと、RBDと、10個のT細胞エピトープを含む。別の実施形態では、抗原ユニットは、RBDと20個のエピトープを含む。さらなる実施形態では、抗原ユニットは20個のT細胞エピトープとRBDを含み、リンカーは存在しない。別の実施形態では、抗原ユニットは20個のT細胞エピトープを含む。

10

#### 【0236】

本発明のさらなる実施形態では、抗原ユニットは、10、14、20、24、および30個のT細胞エピトープと、HR1ドメインまたはHR2ドメイン（好ましくはHR2ドメイン）と、エピトープ間のリンカーのセットを含む。一実施形態では、抗原ユニットは、10個のT細胞エピトープと、HR1ドメインまたはHR2ドメイン（好ましくはHR2ドメイン）と、10個のT細胞エピトープを含む。別の実施形態では、抗原ユニットは、HR1ドメインまたはHR2ドメイン（好ましくはHR2ドメイン）と20個のエピトープを含む。さらなる実施形態では、抗原ユニットは、20個のT細胞エピトープとHR1ドメインまたはHR2ドメイン（好ましくはHR2ドメイン）を含み、リンカーは存在しない。

20

#### 【0237】

さらに別の実施形態では、抗原ユニットは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個のT細胞エピトープと、完全長のスパイクタンパク質またはその一部（好ましくはRBDまたはその一部）を含む。さらに別の実施形態では、2～10個のT細胞エピトープはリンカーによって互いに分離されており、完全長のスパイクタンパク質またはその一部（好ましくはRBDまたはその一部）は最終T細胞エピトープからリンカーによって分離されている。さらに別の実施形態では、抗原ユニットは、1～3個のT細胞エピトープと、完全長のスパイクタンパク質またはその一部（好ましくはRBDまたはその一部）を含む。さらに別の実施形態では、前記2または3個のT細胞エピトープはリンカーによって互いに分離されており、完全長のスパイクタンパク質またはその一部（好ましくはRBDまたはその一部）は1つのまたは最後のT細胞エピトープからリンカーによって分離されている。

30

#### 【0238】

一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号265または配列番号267または配列番号269または配列番号271または配列番号273または配列番号275または配列番号277または配列番号279または配列番号281または配列番号283または配列番号285または配列番号287または配列番号289または配列番号291または配列番号293のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

40

#### 【0239】

一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号265または配列番号267または配列番

50

号 2 6 9 または配列番号 2 7 1 または配列番号 2 7 3 または配列番号 2 7 5 または配列番号 2 7 7 または配列番号 2 7 9 または配列番号 2 8 1 または配列番号 2 8 3 または配列番号 2 8 5 または配列番号 2 8 7 または配列番号 2 8 9 または配列番号 2 9 1 または配列番号 2 9 3 のアミノ酸配列を含む。

【0240】

好ましい一実施形態では、前記 10、14、20、24、および 30 個の T 細胞エピートープは、配列番号 67、配列番号 19、配列番号 78、配列番号 57、配列番号 50、配列番号 55、配列番号 64、配列番号 22、配列番号 87、配列番号 62、配列番号 39、配列番号 59、配列番号 26、配列番号 53、配列番号 32、配列番号 38、配列番号 30、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 35、配列番号 71、配列番号 9、配列番号 21、配列番号 85、配列番号 75、配列番号 23、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 77、および配列番号 20 からなる群から選択される。

10

【0241】

本発明の好ましい一実施形態では、抗原ユニットは、配列番号 237、配列番号 238、配列番号 239、配列番号 240、配列番号 241、配列番号 242、配列番号 243、配列番号 244、配列番号 245、配列番号 246、配列番号 247、配列番号 248、配列番号 249、配列番号 250、および配列番号 251 からなる群から選択される。

【0242】

本発明のワクチンは二量体化ユニットを含む。「二量体化ユニット」という用語は、本明細書では、抗原ユニットとターゲティングユニットの間のヌクレオチドまたはアミノ酸の配列を意味する。したがって二量体化ユニットは抗原ユニットとターゲティングユニットを接続するのに役立ち、2つの単量体ペプチドを二量体化して二量体タンパク質にするのを容易にする。さらに、二量体化ユニットはポリペプチド／二量体タンパク質に可撓性を提供し、ターゲティングユニットが APC 上の表面分子に、それら表面分子がさまざまな距離に位置する場合でさえ、最適に結合できるようにする。二量体化ユニットとして、これらの条件を満たす任意のユニットが可能である。

20

【0243】

したがって一実施形態では、二量体化ユニットはヒンジ領域を含む。別の一実施形態では、二量体化ユニットは、ヒンジ領域と、二量体化を容易にする別のドメインを含む。一実施形態では、ヒンジ領域とその別のドメインはリンカー（すなわち二量体化ユニットリンカー）を介して接続される。さらに別の一実施形態では、二量体化ユニットは、ヒンジ領域、二量体化ユニットリンカー、および二量体化を容易にする別のドメインを含み、二量体化ユニットリンカーはヒンジ領域と二量体化を容易にするその別のドメインの間に位置する。

30

【0244】

「ヒンジ領域」という用語は、二量体タンパク質に含まれていて2つのポリペプチドの接合に寄与する（すなわち二量体タンパク質の形成に寄与する）アミノ酸配列を意味する。さらに、ヒンジ領域はポリペプチド間の可動性リンカーとして機能し、二量体タンパク質の2つのターゲティングユニットが APC 上の2つの表面分子に同時に結合することを、それら表面分子がさまざまな距離で発現している場合でさえ可能にする。ヒンジ領域は Ig に由来すること（例えば Ig G3 に由来すること）が可能である。ヒンジ領域は共有結合（例えばシステイン間のジスルフィド架橋）の形成を通じて二量体化に寄与する可能性がある。したがって一実施形態では、ヒンジ領域は1つ以上の共有結合を形成する能力を有する。共有結合はジスルフィド架橋であることが好ましい。

40

【0245】

一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号 233 のアミノ酸配列 94～120 と少なくとも 80% 一致する配列を有するアミノ酸配列を有するヒンジエキソン h1 とヒンジエキソン h4（ヒトヒンジ領域 1 とヒトヒンジ領域 4）を含む。

【0246】

好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号 233 のアミノ酸配列 94～

50

120と少なくとも85%一致する配列、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を有するヒンジエキソンh1とヒンジエキソンh4を含む。

【0247】

好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号233のアミノ酸配列94～120を有するヒンジエキソンh1とヒンジエキソンh4を含む。

【0248】

一実施形態では、二量体化ユニットは二量体化を容易にする別のドメインを含み、前記別のドメインは、免疫グロブリンドメイン、例えば免疫グロブリン定常ドメイン（Cドメイン）であり、それは、カルボキシ末端Cドメイン（すなわちCH3ドメイン）、CH1ドメイン、またはCH2ドメイン、またはCドメインと実質的に一致する配列、またはそのバリエーションである。二量体化を容易にする前記別のドメインはIgGに由来するカルボキシ末端Cドメインであることが好ましい。二量体化を容易にする前記別のドメインはIgG3に由来するカルボキシ末端Cドメインであることがより好ましい。

【0249】

免疫グロブリンドメインは非共有結合相互作用（例えば疎水性相互作用）を通じて二量体化に寄与する。例えば免疫グロブリンドメインは非共有結合相互作用を通じて二量体を形成する能力を有する。したがって一実施形態では、免疫グロブリンドメインは非共有結合相互作用を通じて二量体を形成する能力を有する。非共有結合相互作用は疎水性相互作用であることが好ましい。

【0250】

二量体化ユニットがCH3ドメインを含む場合には、CH2ドメインを含まないことが好ましい。さらに、二量体化ユニットCH2ドメインを含む場合にはCH3ドメインを含まないことが好ましい。

【0251】

一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号233のアミノ酸配列131～237と少なくとも80%一致する配列を有するアミノ酸配列を有するIgG3由来のカルボキシ末端Cドメインを含む。

【0252】

好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号233のアミノ酸配列131～237と少なくとも85%一致する配列、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列を有するアミノ酸配列を有するIgG3由来のカルボキシ末端Cドメインを含む。

【0253】

好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号233のアミノ酸配列131～237を有するアミノ酸配列を有するIgG3由来のカルボキシ末端Cドメインを含む。

【0254】

好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、ヒンジエキソンh1、ヒンジエキソンh4、二量体化ユニットリンカー、およびヒトIgG3のCH3ドメインを含む。さらなる好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、ヒンジエキソンh1、ヒンジエキソンh4、二量体化ユニットリンカー、およびヒトIgG3のCH3ドメインからなるポリペプチドを含む。

【0255】

10

20

30

40

50

別の好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、ヒト IgG3 の CH3 ドメインへの二量体化ユニットリンカーを通じて接続されたヒンジエキソン h1 とヒンジエキソン h4 からなる。

【0256】

本発明の一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号 233 のアミノ酸配列 94 ~ 237 と少なくとも 80 % 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号 233 のアミノ酸配列 94 ~ 237 と少なくとも 85 % 一致する配列、例えば少なくとも 86 %、例えば少なくとも 87 %、例えば少なくとも 88 %、例えば少なくとも 89 %、例えば少なくとも 90 %、例えば少なくとも 91 %、例えば少なくとも 92 %、例えば少なくとも 93 %、例えば少なくとも 94 %、例えば少なくとも 95 %、例えば少なくとも 96 %、例えば少なくとも 97 %、例えば少なくとも 98 %、例えば少なくとも 99 % 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0257】

本発明の一実施形態では、二量体化ユニットは配列番号 233 のアミノ酸配列 94 ~ 237 を含む。

【0258】

より好ましい一実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号 233 のアミノ酸配列 94 ~ 237 と少なくとも 80 % 一致する配列、例えば配列番号 233 のアミノ酸配列 94 ~ 237 と少なくとも 85 %、例えば少なくとも 86 %、例えば少なくとも 87 %、例えば少なくとも 88 %、例えば少なくとも 89 %、例えば少なくとも 90 %、例えば少なくとも 91 %、例えば少なくとも 92 %、例えば少なくとも 93 %、例えば少なくとも 94 %、例えば少なくとも 95 %、例えば少なくとも 96 %、例えば少なくとも 97 %、例えば少なくとも 98 %、例えば少なくとも 99 %、例えば 100 % 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。より一層好ましい実施形態では、二量体化ユニットは、配列番号 233 のアミノ酸配列 94 ~ 237 からなる。

20

【0259】

一実施形態では、二量体化ユニットリンカー、すなわちヒンジ領域を他のドメインに接続するリンカーは、二量体化ユニットの中に存在する。別の一実施形態ではリンカーが存在し、それはグリシン-セリンが豊富なリンカー、好ましくは G3S2G3SG リンカー (GGGSSGGSG) である。

30

【0260】

二量体化ユニットは、抗原ユニットおよびターゲティングユニットに対して任意の向きを有する。一実施形態では、抗原ユニットは二量体化ユニットの COOH 末端にあり、ターゲティングユニットは二量体化ユニットの N 末端にある。そのため抗原ユニットは (例えばユニットリンカーを介して) 二量体化ユニットの C 末端に接続され、ターゲティングユニットは二量体化ユニットの N 末端に接続される。別の一実施形態では、抗原ユニットは二量体化ユニットの N 末端にあり、ターゲティングユニットは二量体化ユニットの COOH 末端にある。そのため抗原ユニットは (例えばユニットリンカーを介して) 二量体化ユニットの N 末端に接続され、ターゲティングユニットは二量体化ユニットの C 末端に接続される。抗原ユニットは二量体化ユニットの COOH 末端にあること、すなわち抗原ユニットは好ましくはユニットリンカーを介して二量体化ユニットの C 末端に接続され、ターゲティングユニットは二量体化ユニットの N 末端に接続されることが好ましい。

40

【0261】

好ましい一実施形態では、抗原ユニットは二量体化ユニットにリンカーによって接続される。したがって一実施形態では、ポリヌクレオチド/ポリペプチド/二量体タンパク質は、ユニットリンカーをコードするヌクレオチド配列、または抗原ユニットを二量体化ユニットに接続するそのユニットリンカーであるアミノ酸配列を含む。

【0262】

ユニットリンカーは、ポリヌクレオチドの構築を容易にするため制限部位を含むことができる。好ましい一実施形態では、ユニットリンカーは GLGGL または GLSGL であ

50

る。

【0263】

好ましい一実施形態では、本発明のワクチンは、シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列をさらに含むポリヌクレオチドを含む。シグナルペプチドは、ポリペプチドの中でのターゲティングユニットの向きに応じてターゲティングユニットのN末端またはターゲティングユニットのC末端のいずれかに位置する。シグナルペプチドは、前記ポリヌクレオチドによってコードされる前記ポリペプチドを、前記ポリヌクレオチドをトランスフェクトされた細胞の中で分泌できるように設計されて構築される。

【0264】

適切な任意のシグナルペプチドを使用することができる。適切なペプチドの例は、ヒト Ig VHシグナルペプチド（配列番号235のアミノ酸配列と少なくとも80%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むシグナルペプチドなど）、ヒトTPAシグナルペプチド（配列番号236など）、および配列番号234のアミノ酸配列1~23と少なくとも80%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むシグナルペプチド、すなわちヒトMIP1- $\alpha$ シグナルペプチドである。

【0265】

好ましい一実施形態では、ポリヌクレオチドは、hMIP1- $\alpha$ であるターゲティングユニットと、ヒトMIP1- $\alpha$ シグナルペプチドをコードする核酸配列を含む。

【0266】

別の好ましい一実施形態では、ポリヌクレオチドは、ヒト抗pan HLAクラスIIであるターゲティングユニットと、Ig VHシグナルペプチドをコードする核酸配列を含む。

【0267】

好ましい一実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号235のアミノ酸配列と少なくとも85%一致する配列、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%、例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

【0268】

より好ましい一実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号235のアミノ酸配列と少なくとも80%一致する配列、好ましくは少なくとも85%（例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%、例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列からなる。

【0269】

好ましい一実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号234のアミノ酸配列1~23と少なくとも85%一致する配列、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%、例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む。

【0270】

より好ましい一実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号234のアミノ酸配列1~23と少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%一致する配列、例えば少なくとも86%、例えば少なくとも87%、例えば少なくとも88%、例えば少なくとも89%

10

20

30

40

50

、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%、例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列からなる。

#### 【0271】

配列一致は以下のようにして判断することができる。高レベルの配列一致は、第2の配列が第1の配列に由来することを示している可能性が大きい。アミノ酸配列の一致は、アラインメントさせた2つの配列の間のアミノ酸配列が同じであることを必要とする。したがって参照配列と70%のアミノ酸の一致を共有する候補配列は、アラインメントの後、候補配列のアミノ酸の70%が参照配列の中に対応するアミノ酸と一致することを必要とする。一致は、コンピュータ分析（その非限定的な例は、CLUSTAL Wコンピュータアラインメントプログラム(Higgins D., Thompson J., Gibson T., Thompson J. D., Higgins D.G., Gibson T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22:4673-4680)とその中で推奨されているデフォルトパラメータである）の助けを借りて判断することができる。このプログラムをそのデフォルト設定で使用し、質問と参照ポリペプチドの成熟した（生物活性な）部分をアラインメントさせる。完全に保存された残基の数をカウントし、参照ポリペプチドの長さで割る。そうすることで、質問配列の一部を形成するあらゆるタグまたは融合タンパク質配列がアラインメントの中で無視され、その後に配列一致が判断される。

10

20

#### 【0272】

CLUSTAL Wアルゴリズムはヌクレオチド配列のアラインメントでも同様に用いることができる。配列一致はアミノ酸配列について示したのと同様のやり方で計算することができる。

#### 【0273】

配列の比較に用いられる別の好ましい数学的アルゴリズムはMyersとMiller、CABIOS（1989年）のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、FASTA配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている(Pearson WR, Methods Mol Biol, 2000, 132:185-219)。Alignは全体的なアラインメントに基づいて配列一致を計算する。Align0は配列の端部にあるギャップにペナルティを課さない。ALIGNとAlign0プログラムを用いてアミノ酸配列を比較するとき、ギャップの開き／延長のペナルティが-12／-2であるBLOSUM50置換マトリックスを用いることが好ましい。

30

#### 【0274】

配列の比較に用いられる別の好ましい数学的アルゴリズムは、「Smith-Watermanアルゴリズム」と呼ばれるBioPythonの局所的ペア式アラインメントアルゴリズムの実装である。

#### 【0275】

本発明の1つの態様は、配列番号253のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2049またはそれをコードするポリヌクレオチドに関係しており、その中には、ヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットと、SARS-CoV-2 RBDの短い形態（「RBD短い」、アミノ酸331～524、すなわち193個のアミノ酸）を含む抗原ユニットが含まれる。このコンストラクトは中和効果を有する抗RBD IgG抗体を生じさせることができる。このコンストラクトは、RBDに含まれるエピトープに対して強力なT細胞応答を誘導することもできる。

40

#### 【0276】

本発明の1つの態様は、配列番号255のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2060またはそれをコードするポリヌクレオチドに関係しており、そ

50

の中には、ターゲティングユニットとしてのヒトMIP-1 $\alpha$ と、SARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）を含む抗原ユニットが含まれる。このコンストラクトは中和抗RBD IgG抗体を生じさせることができ、その抗体は肺にさえ見いだされる。このコンストラクトは、ワクチン接種から7日以内にRBDに対して強力なT細胞応答を誘導することができ、それが長く持続する。

【0277】

本発明の1つの態様は、配列番号257のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2065、またはそれをコードするポリヌクレオチドに関係しており、その中には、ヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットと、SARS-CoV2株Wuhan Hu-1からの完全長スパイクタンパク質を含む抗原ユニットが含まれる。このコンストラクトは中和抗RBD IgG抗体を生じさせることができる。このコンストラクトは広くて強力なT細胞応答を誘導することができる。

10

【0278】

本発明の1つの態様は、配列番号259のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2048、またはそれをコードするポリヌクレオチドに関係しており、その中には、ヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットと、複数のSARS-CoV2株からの20個の免疫原性T細胞エピトープ（表1参照）を含む抗原ユニットが含まれる。このコンストラクトは、強力なT細胞応答を、他のコンストラクト（例えばVB2049）と同時に投与したときでさえ誘導することができる。

20

【0279】

本発明の1つの態様は、ポリペプチド、またはそれをコードして、ヒト抗panHLAクラスIIターゲティングユニットと、SARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）を含む抗原ユニットを含むポリヌクレオチドに関する。ターゲティングユニットとして抗マウスMHCIIs cFvを含む対応するマウスコンストラクト（コンストラクトVB2059）は、RBDに対する抗体を生じさせることと、RBDに対するT細胞応答を誘導することができる。

【0280】

本発明の1つの態様は、ポリペプチド、またはそれをコードして、ヒト抗panHLAクラスIIターゲティングユニットと、SARS-CoV2株Wuhan Hu-1からの完全長スパイクタンパク質を含む抗原ユニットを含むポリヌクレオチドに関する。ターゲティングユニットとして抗マウスMHCIIs cFvを含む対応するマウスコンストラクトであるコンストラクトVB2071は抗RBD IgG抗体を誘導することができ、広くて強力なT細胞応答を誘導する。

30

【0281】

本発明の1つの態様は、配列番号265のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2081、またはそれをコードして、ヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットを含むとともに、1つの予測されるT細胞エピトープ（pep08）と、（GGGGs）<sub>2</sub>リンカーを用いてそのT細胞エピトープに連結されたSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョンとを含む抗原ユニットを含むポリヌクレオチドに関する。このコンストラクトはRBDに対するIgG抗体を生じさせ、RBDと含まれている1つのT細胞エピトープに対するT細胞応答を誘導する。

40

【0282】

本発明の1つの態様は、配列番号267のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2082、またはそれをコードして、ヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットを含むとともに、1つの予測されるT細胞エピトープ（pep18）と、（GGGGs）<sub>2</sub>リンカーを用いてそのT細胞エピトープに連結されたSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョンとを含む抗原ユニットを含むポリヌクレオチドに関する。このコンストラクトはRBDに対するIgG応答を生じさせ、含まれているその1つの

50

T細胞エピトープに対してT細胞応答を誘導することができる。

【0283】

本発明の1つの態様は、配列番号271のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2084、またはそれをコードしてヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットを含むポリヌクレオチドに関する。このポリヌクレオチドは、3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、pep25）と、それらすべてが（GGGS）<sub>2</sub>リンカーを用いて連結されたSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョンを含む抗原ユニットを有する。このコンストラクトは、RBD内のエピトープに対してのほか、含まれている3つのT細胞エピトープに対してT細胞応答を誘導することができる。

10

【0284】

本発明の1つの態様は、配列番号293のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2097、またはそれをコードしてヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットを含むポリヌクレオチドに関する。抗原ユニットは、（GGGS）<sub>2</sub>リンカーを用いて互いに分離された3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25）と、GSATリンカーによってT細胞エピトープから分離された「RBD長い」を含む。このコンストラクトはRBDに対するIgG抗体を生じさせただけでなく、RBDと含まれているT細胞エピトープに対する顕著で強力なT細胞応答も示した。

【0285】

本発明の1つの態様は、配列番号297のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2099、またはそれをコードしてヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットを含むポリヌクレオチドに関する。抗原ユニットは、（GGGS）<sub>2</sub>リンカーを用いて互いに分離された3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25）と、SEGリンカーによってT細胞エピトープに連結されたSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、223個のアミノ酸）を含む。このコンストラクトは、RBDに対するIgG抗体を生じさせることができる。それに加え、このコンストラクトは、RBDに対して含まれているT細胞エピトープに対してT細胞応答を誘導することができる。

20

【0286】

本発明の1つの態様は、配列番号295のアミノ酸配列を有するポリペプチドであるコンストラクトVB2129、またはそれをコードして、ヒトMIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニットと、南アフリカRBD（南アフリカバリアントB.1.351において特徴的な3つの変異を有する）を含む抗原ユニットを含むポリペプチドに関する。このコンストラクトは、RBDに対するIgG応答を生じさせ、T細胞応答を誘導することができる。

30

【0287】

本発明の一実施形態では、前記ポリペプチドまたは二量体タンパク質の中のターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットは、N末端からC末端に向かい、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットの順番で存在する。

40

【0288】

本発明のワクチンは薬学的に許容可能な担体を含み、その非限定的な例に含まれるのは、生理食塩水、緩衝化生理食塩水（PBSなど）、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、滅菌等張水性バッファ、およびこれらの組み合わせである。

【0289】

ワクチンはアジュバントをさらに含むことができる。特に、ポリペプチド／タンパク質を含むワクチンに関し、薬学的に許容可能なアジュバントの非限定的な例に含まれるのは、ポリ-ICLC、1018 ISS、アルミニウム塩、Amplivax、AS15、BCG、CP-870、893、CpG7909、CyaA、dSLIM、GM-CSF、IC30、IC31、イミキモド、ImuFact EV1 P321、ISパッチ

50

、ISS、ISCOMATRIX、Juvlmmune、LipoVac、MF59、モノホスホリル脂質A、モンタニドIMS 1312、モンタニドISA 206、モンタニドISA 50V、モンタニドISA-51、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、PLGA微粒子、レシキモド、SRL172、ウイロソーム、および他のウイルス様粒子、YF-17D、VEGFトラップ、R848、ベータグルカン、Pam3Cys、AquilaのQS21 stimulation、バジメザン、および／またはAsA404 (DMXAA)である。

【0290】

ポリヌクレオチドを含むワクチンでは、ワクチンは、細胞および／またはアジュバントのトランスフェクションを容易にするため、ケモカインまたはサイトカインをコードするヌクレオチド配列を含むプラスミドの形態の分子を含むことができる。

10

【0291】

ワクチンは、対象（例えば個人）に適切な任意のやり方で投与するための製剤にすること、例えば注射（例えば皮内注射または筋肉内注射）のための液体製剤などにすることができる。

【0292】

本発明のワクチンは、ポリペプチド／タンパク質ワクチンまたはポリヌクレオチドワクチンのいずれかを適切な任意のやり方で対象（例えば個人）に投与すること、例えば皮内、筋肉内、節内、または皮下への注射によって投与すること、または粘膜または表皮への塗布によって投与すること（鼻腔内、経口、経腸、または（膀胱への）膀胱内投与）ができる。

20

【0293】

好ましい一実施形態では、ワクチンはポリヌクレオチドを含み、筋肉内注射または皮内注射によって投与される。

【0294】

ワクチンは、1つのポリヌクレオチド（例えばDNAプラスミドの形態のもの）を含むこと、または2つ以上のポリヌクレオチド（例えば2つ以上のDNAプラスミドの形態のもの）を含むことができる。一実施形態では、ワクチンは2つのDNAプラスミドを含み、一方は、ベータコロナウイルスの完全長表面タンパク質またはその一部（例えばRBD）を含む抗原ユニットをコードするヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを含み、他方は、T細胞エпитープ、好ましくは保存されたT細胞エпитープを含む抗原ユニットをコードするヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを含む。ワクチンは、「T細胞エпитーププラスミド」があるためにベータコロナウイルスのいくつかの種／株に対する（例えばSARS-CoVのいくつかの株に対する、例えばSARS-CoVとSARS-CoV-2に対する）保護を提供することになる。このようなワクチンは、ベータコロナウイルスの複数のバリエーション、例えばSARS-CoVウイルスのバリエーション、またはSARS-CoV-2ウイルスのバリエーションに対する保護も提供することになる。それは、将来変異するウイルスに対するそのようなワクチンの効果にとって重要である。

30

【0295】

一実施形態では、ウイルスが変異するとき、ベータコロナウイルスの完全長表面タンパク質またはその一部（例えばRBD）を含む抗原ユニットをコードするヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを含むプラスミドを操作してその変異が含まれるようにする一方で、T細胞エпитープを含む抗原ユニットをコードするヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを含むプラスミドはそのままにしておくことができる。

40

【0296】

本発明のワクチンは、免疫学的に有効な量のポリヌクレオチド／ポリペプチドまたは二量体タンパク質を含む。「免疫学的に有効な量」という表現は、ワクチンを接種された個人で（保護用ワクチンに関しては）免疫保護応答または（治療用ワクチンに関しては）免疫治療応答を誘導する量を意味し、そのような応答は、1回だけのワクチン接種または数回のワクチン接種（例えば初回のワクチン接種と、十分に時間間隔を空けた1回または数

50

回のブースターワクチン接種)によって誘導される。そのような量は、どの特定のポリヌクレオチド／ポリペプチド／二量体タンパク質を使用するかに応じて変わる可能性がある。そのような量は、ワクチンが予防のために投与されるか治療のために投与されるか、ベータコロナウイルスに感染した個人の疾患の重症度、年齢、体重、病歴、およびあらかじめ存在している状態に応じて変化する可能性もある。

【0297】

免疫学的に有効な量として、徴候／症状の発生を減らすか阻止する、発生した徴候／症状の重症度を低下させる、徴候／症状の発生をなくす、発生した徴候／症状の進行を遅延させる、発生した徴候／症状の進行を阻止する、および／または徴候／症状の発生を予防するのに有効な量が可能である。

10

【0298】

予防のための免疫学的に有効な量は、ベータコロナウイルスによって起こる疾患の予防、またはそのような疾患の再発の予防に有効な量が可能であり、その疾患または再発をそのように予防するのに十分である。それは、ベータコロナウイルス感染症の徴候および／または症状の発生を阻止するのに有効な量が可能である。

【0299】

治療のための免疫学的に有効な量として、ベータコロナウイルスによって起こる疾患またはその臨床症状の進行を停止または低下させ、および／またはその疾患を緩和し、または和らげ、その疾患またはその臨床症状の後退を引き起こすのに有効な量が可能である。

【0300】

20

本発明のワクチンは、典型的には、0.1～10 mgの範囲、例えば約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、または1 mg、または例えば2、3、4、5、6、7、8、9、または10 mgのポリヌクレオチドを含む。本発明のワクチンは、典型的には、5 μg～5 mgの範囲のポリペプチド／二量体タンパク質を含む。

【0301】

本発明は、上記のポリヌクレオチドにも関する。そのポリヌクレオチドは、二本鎖または一本鎖いずれかのDNAヌクレオチド配列またはRNAヌクレオチド配列（ゲノムDNA配列、cDNA配列、およびRNA配列など）を含むことができる。

【0302】

30

前記ポリヌクレオチドは、それが投与される対象の種に最適化されていることが好ましい。ヒトに投与するには、ポリヌクレオチド配列がヒトコドンに最適化されていることが好ましい。

【0303】

好ましい一実施形態では、ワクチンはDNAワクチンである。すなわちポリヌクレオチドはDNAである。

【0304】

本発明はさらに、上に規定したポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドに関する。このポリペプチドは本発明によるワクチンを製造するためインビトロで発現させること、または対象（個人など）にポリヌクレオチドを投与した結果として生体内で発現させることが可能である。

40

【0305】

二量体化ユニットが存在するため、ポリペプチドが発現するとき二量体タンパク質が形成される。二量体タンパク質としてホモ二量体が可能である。すなわち2つのポリペプチド鎖が同じであり、その帰結として同じベータコロナウイルスエピトープを含む。あるいは二量体タンパク質として、抗原ユニットの中にコードされている2つの異なる単量体ポリペプチドを含むヘテロ二量体が可能である。後者は、例えばベータコロナウイルスエピトープの数、したがってアミノ酸の数が抗原ユニットに含められる上限を超える場合に重要になる可能性がある。しかし二量体タンパク質はホモ二量体であることが好ましい。

【0306】

50

さらに、本発明は、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含む（例えばDNAの形態の）ポリヌクレオチド配列を含むベクターに関する。

【0307】

ベクターは、宿主細胞にトランスフェクトして上記のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド／二量体タンパク質を発現させることを目的とする。すなわち発現ベクター、好ましくはDNAプラスミドである。

【0308】

ベクターによって上記のさまざまなユニット（特に抗原ユニット）の容易な交換が可能になることが好ましい。一実施形態では、発現ベクターとしてpUMVC4aベクター、またはNTC9385Rベクター骨格を含むベクターが可能である。抗原ユニットは、SfiI制限酵素カセットによって制限される抗原ユニットカセットと交換することができる。5'部位はGLGGL／GLSGLリンカーに組み込まれており、3'部位はベクター内の終止コドンの後に含まれている。

【0309】

本発明は、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む宿主細胞、またはターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド配列を含むベクターを含む宿主細胞にも関する。

【0310】

適切な宿主細胞に含まれるのは、原核生物、酵母、昆虫、またはより高等な真核生物である。好ましい一実施形態では、宿主細胞はヒト細胞、好ましくは本発明のワクチンを必要とする個人の細胞である。

【0311】

1つの態様では、本発明は、上記のポリヌクレオチド、ポリペプチド、または二量体タンパク質の薬としての利用に関する。

【0312】

本発明の特別な一実施形態では、上記のポリヌクレオチド、またはポリペプチド、または二量体タンパク質は、ベータコロナウイルスの感染症の治療に使用することを目的とする。好ましい一実施形態では、ベータコロナウイルスはSARS-CoV-2である。

【0313】

本発明によるワクチンを調製するための適切な方法は、WO 2004/076489 A1、WO 2011/161244 A1、WO 2013/092875 A1、およびWO 2017/118695 A1に開示されており、これらは参照によって本明細書に組み込まれている。

【0314】

1つの態様では、本発明は、上に規定した二量体タンパク質またはポリペプチドを免疫学的に有効な量で含むワクチンを、そのポリペプチドをインビトロで生成させることによって調製する方法に関する。そのポリペプチドとタンパク質のインビトロでの合成は、当業者に知られている適切な任意の方法によって（例えばペプチド合成を通じて、または多彩な発現系のいずれかにおいてそのポリペプチドを発現させた後に精製することを通じて）実施することができる。したがって一実施形態では、本発明により、

（i）ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質；または

（ii）ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原

ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む)をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドを、前記二量体タンパク質またはポリペプチドをインビトロで生成させることにより含むワクチンを調製する方法として、

a) 前記ポリヌクレオチドを細胞にトランスフェクトする工程；

b) 前記細胞を培養する工程；

c) 前記細胞から発現した前記二量体タンパク質または前記ポリペプチドを回収して精製する工程；および

d) 工程c) から得られた前記二量体タンパク質またはポリペプチドを薬学的に許容可能な前記担体と混合する工程を含む方法が提供される。

10

【0315】

好ましい一実施形態では、工程c) から得られた二量体タンパク質またはポリペプチドは、薬学的に許容可能な前記担体に溶かされる。

【0316】

薬学的に許容可能な担体は、薬学的に許容可能な前記担体（例えば薬学的に許容可能な水性担体である水やバッファなど）の1つである。一実施形態では、ワクチンはさらにアジュバントを含む。

【0317】

精製は適切な任意の方法（クロマトグラフィ、遠心分離、または較差溶解度など）に従って実施することができる。

20

【0318】

別の1つの態様では、本発明は、上に規定したポリヌクレオチドを免疫学的に有効な量で含む本発明によるワクチンを調製する方法に関する。

【0319】

したがって一実施形態では、本発明により、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを免疫学的に有効な量で含むワクチンを調製する方法として、

a) 前記ポリヌクレオチドを調製する工程；

b) 場合により、前記ポリヌクレオチドを発現ベクターにクローニングする工程；および

30

c) 工程a) から得られたポリヌクレオチド、または工程b) から得られたベクターを薬学的に許容可能な担体と混合する工程を含む方法が提供される。

【0320】

前記ポリヌクレオチドは当業者に知られている適切な任意の方法によって調製することができる。例えば前記ポリヌクレオチドはオリゴヌクレオチド合成装置を用いて化学合成によって調製することができる。

【0321】

特に、より小さいヌクレオチド配列（例えばターゲティングユニット、二量体化ユニット、および／または抗原ユニットのサブユニットをコードするヌクレオチド配列）は、個別に合成した後、連結させて最終ポリヌクレオチドを作製し、ベクター骨格の中に入れることができる。

40

【実施例】

【0322】

実施例1：T細胞エピトープの選択：

【0323】

SARS-CoVウイルスの保存された領域から予測される免疫原性エピトープを以下のようにして同定した：

【0324】

第1の工程では、世界中の人口のHLAクラスIとIIのアレルを同定した。HLAク

50

ラスⅠについては、<http://www.allelefrequencies.net>で入手できるアレル頻度データベースを使用し、最頻のHLAアレルを以下のやり方で同定した：各遺伝子座A、B、およびCに関する別々の検索と、以下の地域、すなわち欧州、東南アジア（中国に焦点）、および北アメリカ（アメリカ合衆国に焦点）に関する別々の検索を実施した。人口の基準を「金」に設定して高品質の研究だけを得た。解像度のレベルは少なくとも4桁に設定した（例えばHLA-A\*01:01）。サンプリングする年は2005年以降に設定した。各研究で頻出する上位4つのアレルを回収した。全研究でのあらゆる上位4つのうちで、各地域（欧州／東南アジア／北アメリカ）で頻出する上位4～5つのアレルを選択した。地域間の重複が原因で、最終的に選択されたアレルの数は、A、B、Cについてそれぞれ10、10、11であった。これら31個のHLAクラスⅠアレルは、IEDB人口カバレッジ評価ツール(<http://tools.iedb.org/population/>)によって評価すると、世界人口の99.4%をカバーする。詳細なカバレッジは以下の通りである。すなわち、欧州：99.9%；北アメリカ：99.2%；南アメリカ：92.7%；東アジア：98.5%；東南アジア：98.1%；北東アジア：97.4%；南アジア：93.1%；西南アジア：93.3%；中央アフリカ：94.3%；東アフリカ：92.3%；北アフリカ：96.2%；南アフリカ：91.2%、および西アフリカ：94.3%。

10

【0325】

HLAクラスⅠⅡについてはこの実施例1で実施しなかったが、アレル頻度をHLAクラスⅠと同様にして回収することができる。

20

【0326】

次の工程は、SARS-CoV-2に関するT細胞エピトープを同定することであった。これは、高品質のSARS-CoV-2参照アミノ酸配列を得ることによってなされた。注釈付き（注釈スコア5/5）Uniprot武漢株をUniprotから質問SARS-CoV-2でダウンロードした（[https://www.uniprot.org/uniprot/?query=sars-cov-2&fil=organism%3A%22Severe%20acute%20respiratory%20syndrome%20coronavirus%202%20\(2019-nCoV\)%20\(SARS-CoV-2\)%20%5B2697049%5D%22&columns=id%2Centry%20name%2Creviewed%2Cprotein%20names%2Cgenes%2Corganism%2Clength&sort=score](https://www.uniprot.org/uniprot/?query=sars-cov-2&fil=organism%3A%22Severe%20acute%20respiratory%20syndrome%20coronavirus%202%20(2019-nCoV)%20(SARS-CoV-2)%20%5B2697049%5D%22&columns=id%2Centry%20name%2Creviewed%2Cprotein%20names%2Cgenes%2Corganism%2Clength&sort=score)）。6つのタンパク質が選択された。すなわちスパイクタンパク質、エンベロープタンパク質、膜タンパク質、およびヌクレオカプシドタンパク質という4つの構造タンパク質と、ORF1a/bとORF3aという2つの非構造タンパク質である。6つのタンパク質配列の中でHLAクラスⅠアレルに結合することが予測されるエピトープのホットスポットゲノム領域を探す検索を、NetMHCpan 4.0（<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetMHCpan-4.0>）と最初の工程で規定されたHLAクラスⅠアレルを用いて実施した。少なくとも1つのHLAクラスⅠアレルに結合することが予測される合計で13236個のエピトープが見いだされた。ホットスポット領域を同定するため、フィルタリングを適用し、10個超の異なるHLAクラスⅠアレルと、各遺伝子座（A/B/C）からの少なくとも1つのアレルに結合するエピトープだけを残した。残った高品質の604個のエピトープを、重複するか隣接するエピトープ（アミノ酸3個以内離れている）を統合することによってさらに処理し、ホットスポットエピトープ領域を得た。アミノ酸15個よりも短いエピトープをアミノ酸15個まで伸長させた。統合されたエピトープの最終リストについて、HLAⅠアレルとHLAⅠⅡアレルへの結合を、それぞれNetMHCpan 4.0とNetMHCIIpan 3.2（<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetMHCIIpan-3.2>）を用いて予測した。

30

40

【0327】

次いで、SARS-CoV2とSARS-CoVに関するNCBIウイルスデータベースから最新の高品質注釈付き配列を取得した。全体的アラインメントによりこれら配列との相同性（株とエピトープ配列の間の%一致）を明らかにした。最新の高品質注釈付きヒト参照タンパク質配列は<https://www.uniprot.org/proteomes/UP000005640>から取得した。6、7、8、および9個のアミノ酸という短い配列を用いて前記エピトープ

50

とヒトプロテオームの間のあらゆる一致のまとめを作成し、前記エピトープと、T / B 細胞応答またはMHCクラスIへの結合を誘導することが示されている免疫エピトープデータベース (IEDB) に寄託されたあらゆるエピトープの間のサブストリング一致を検索した。エピトープの最終的な優先度は、回収された情報に基づいて以下のようにつけた：

- ・異なるMHCクラスIとIIのアレルの大きなセットをカバーするエピトープを優先することにより、全体集団のカバレッジを最大にすること

- ・最新のNCBIウイルスデータベースからの世界中の200超の異なるSARS-CoV-2株の中で保存されていること

- ・一般に、異なるSARS-CoV株とベータコロナウイルスの中で保存保存されていること

- ・ヒトプロテオームの任意のタンパク質と6個のアミノ酸の正確な一致が不在／最小数であること

- ・免疫エピトープデータベース (IEDB) に寄託された免疫優性SARS-CoVエピトープと一致すること。

【0328】

配列番号1～229を有するエピトープが同定された。

【0329】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

| ペプチド ID          | アミノ酸配列                                                             | 配列番号    |
|------------------|--------------------------------------------------------------------|---------|
| orflab_6411-6454 | HANEYRLYLDAYNMMISAGFSLWVYKQFDTYNLWNTFTRLQSL                        | 配列番号 1  |
| orflab_2844-2905 | YTNDKACPLIAAVITREVG FVVPGLPGTILRTTNGDFLHFLPRVF<br>SAVGNICYTPSKLIEY | 配列番号 2  |
| orflab_2936-2969 | NVLEGSVAYESLRPDTRYVLM DGSIIQFPNTYL                                 | 配列番号 3  |
| orflab_5266-5307 | QEYADV FHLYLQYIRKLHDEL TGHMLDMYSVMLTNDNTSRY                        | 配列番号 4  |
| SPIKE_864-906    | LTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRF                         | 配列番号 5  |
| orflab_1413-1448 | GVVDYGARFYFYTSKTTVASLINTLNDLNETLV TM                               | 配列番号 6  |
| orflab_3097-3123 | YSFLPGVYSVIYLYLTFYLTNDVSFL                                         | 配列番号 7  |
| orflab_3182-3217 | FLLNKEMYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNKYKF                                 | 配列番号 8  |
| orflab_2371-2400 | VQMAPISAMVRMYIFFASFYYVWKS YVHV                                     | 配列番号 9  |
| orflab_1535-1560 | YYTSNPTTFHLDGEVITFDNLKTLL                                          | 配列番号 10 |
| orflab_1565-1599 | RTIKVFTTVDNINLHTQVVDMSMTYGQQFGPTYL                                 | 配列番号 11 |
| orflab_4751-4781 | NLHSSRLSFKELLVYAADPAMHAASGNLLL                                     | 配列番号 12 |
| orflab_3068-3092 | RAFGEYSHV VAFNTLLFLMSFTVL                                          | 配列番号 13 |
| orflab_2331-2365 | ILFTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLM                                 | 配列番号 14 |
| orflab_1169-1193 | RTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEM                                           | 配列番号 15 |
| SPIKE_257-277    | WTAGAAAYYVGYLQPRTFLL                                               | 配列番号 16 |
| orflab_3932-3957 | EMLDNRATLQAIASEFSSLPSYAAF                                          | 配列番号 17 |
| orflab_1261-1286 | NLHPDSATLVSDIDITFLKKDAPYI                                          | 配列番号 18 |
| orflab_5973-5998 | MTYRRLISMMGFKMNYQVNGYPNMF                                          | 配列番号 19 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

|                  |                                   |         |
|------------------|-----------------------------------|---------|
| SPIKE_703-726    | SVAYSNNISIAIPTNFTISVTTEI          | 配列番号 20 |
| orflab_6481-6507 | TVYTKVDGVDVELFENKTLTPVNVAF        | 配列番号 21 |
| orflab_5613-5638 | HFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAV         | 配列番号 22 |
| orflab_1797-1816 | VQQESPVMMSAPPAQYEL                | 配列番号 23 |
| orflab_5462-5489 | KATEETFKLSYGIATVREVLSDRELHL       | 配列番号 24 |
| orflab_3619-3647 | AMSAFAMMFVKHKHAFCLCLLPSLATV       | 配列番号 25 |
| orflab_5072-5100 | SSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALL      | 配列番号 26 |
| orflab_2771-2796 | QLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVM         | 配列番号 27 |
| orflab_3682-3701 | VMYASAVVLLILMTARTVY               | 配列番号 28 |
| orflab_999-1023  | TTIQTIVEVQPQLEMLTPVVQTI           | 配列番号 29 |
| orflab_5168-5186 | ASIKNFKSVLYYQNNVFM                | 配列番号 30 |
| VEMP_3-21        | FVSEETGTLIVNSVLLFL                | 配列番号 31 |
| orflab_6093-6117 | MLSDTLKNLSDRVVFVLWAHGFEI          | 配列番号 32 |
| orflab_676-709   | TFFKLVNKFLALCADSIIIGGAKLKALNLGETF | 配列番号 33 |
| orflab_2588-2604 | KMFDAYVNTFSSTFNV                  | 配列番号 34 |
| VME1_36-51       | FAYANRRNFLYIIKL                   | 配列番号 35 |
| orflab_824-849   | FGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERI         | 配列番号 36 |
| orflab_3604-3619 | FLYENAFLPFAMGII                   | 配列番号 37 |
| orflab_3355-3375 | TANPKTPKYKFVRIQPGQTF              | 配列番号 38 |
| NCAP_304-320     | AQFAPSASAFFGMSRI                  | 配列番号 39 |
| orflab_5132-5148 | FVNEFYAYLRKHFSMM                  | 配列番号 40 |
| orflab_2166-2181 | NYMPYFFTLQLCT                     | 配列番号 41 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

|                  |                       |         |
|------------------|-----------------------|---------|
| orf1ab_3706-3721 | RVWTLMNVLTLYYKV       | 配列番号 42 |
| orf1ab_2241-2262 | SLIYSTAALGVLSNLGMPSY  | 配列番号 43 |
| orf1ab_2611-2633 | LVATAEELAKNVSLDNVLSTF | 配列番号 44 |
| orf1ab_1760-1776 | TLKGVEAVMYMGTLSTY     | 配列番号 45 |
| orf1ab_3905-3921 | EAFEKMSVLLSVLLSM      | 配列番号 46 |
| orf1ab_1466-1486 | RSLKVPATVSVSSPDVATAY  | 配列番号 47 |
| AP3A_88-107      | TVYSHLLLVAAGLEAPFLY   | 配列番号 48 |
| SPIKE_49-70      | STQDLFLPFFSNVTWFHAIHV | 配列番号 49 |
| orf1ab_3651-3666 | MVYMPASWVMRIMTW       | 配列番号 50 |
| orf1ab_76-92     | RTAPHGHVMVELVAEL      | 配列番号 51 |
| orf1ab_3038-3055 | GALDISASIVAGGIVAI     | 配列番号 52 |
| orf1ab_5356-5373 | HVISTSHKLVLVSNPYV     | 配列番号 53 |
| AP3A_53-68       | AVFQSASKIITLKKR       | 配列番号 54 |
| orf1ab_3481-3498 | FLNRFTTTLNDFNLVAM     | 配列番号 55 |
| AP3A_203-218     | HSYFTSDYYQLYSTQ       | 配列番号 56 |
| orf1ab_5015-5030 | RAMPNMLRIMASLVL       | 配列番号 57 |
| SPIKE_686-701    | VASQSIIAYTMSLGA       | 配列番号 58 |
| orf1ab_5770-5785 | EIVDTVSALVYDNKL       | 配列番号 59 |
| SPIKE_191-210    | FVFKNIDGYFKIYSKHTPI   | 配列番号 60 |
| orf1ab_4023-4038 | KVTSAMQTMFTMLR        | 配列番号 61 |
| orf1ab_6850-6865 | YLNTLTLAVPYNMRV       | 配列番号 62 |
| SPIKE_108-127    | TLDSKTQSLLVNNTATNVV   | 配列番号 63 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

|                  |                    |         |
|------------------|--------------------|---------|
| orflab_4824-4842 | SSVELKHFFFAQDGNAAI | 配列番号 64 |
| orflab_478-493   | SFSASTSAFVETVKG    | 配列番号 65 |
| orflab_1674-1689 | YLATALTLQQIELK     | 配列番号 66 |
| SPIKE_814-829    | RSFIEDLLFNKVTLA    | 配列番号 67 |
| orflab_527-544   | SILSPLYAFASEAARVV  | 配列番号 68 |
| orflab_3129-3144 | VMFTPLVPFWITIAY    | 配列番号 69 |
| orflab_6748-6763 | LLDDFVEIISQDL      | 配列番号 70 |
| orflab_4630-4645 | SLLMPILTLTRALTA    | 配列番号 71 |
| VME1_94-109      | YFIASFRLFARTRSM    | 配列番号 72 |
| orflab_7039-7054 | YSLFDMSKFPLKLRG    | 配列番号 73 |
| orflab_6283-6298 | KAYKIEELFYSYATH    | 配列番号 74 |
| VEMP_50-65       | LVKPSFYVYSRVKNL    | 配列番号 75 |
| orflab_4086-4101 | TTFTYASALWEIQV     | 配列番号 76 |
| SPIKE_633-648    | RVYSTGSNVFQTRAG    | 配列番号 77 |
| orflab_5245-5260 | LMIERFVSLAIDAYP    | 配列番号 78 |
| orflab_6153-6168 | HSIGFDYVYNPFMID    | 配列番号 79 |
| orflab_3541-3557 | RTILGSALLEDEFTPF   | 配列番号 80 |
| orflab_5532-5547 | VVYRGTTTYKLVGD     | 配列番号 81 |
| orflab_7063-7078 | QINDMILSLLSKGRL    | 配列番号 82 |
| AP3A_222-237     | TGVEHVTFFIYNKIV    | 配列番号 83 |
| VEMP_28-43       | VTLAILTALRLCAYC    | 配列番号 84 |
| orflab_859-874   | YTVELGTEVNEFACV    | 配列番号 85 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

|                  |                           |          |
|------------------|---------------------------|----------|
| orflab_3573-3591 | RTIKGTHHWLLLTILTSL        | 配列番号 86  |
| orflab_4228-4243 | YFIKGLNNLNRGMVL           | 配列番号 87  |
| orflab_5380-5405 | VTDVTQLYLGGMSYYCKSHKPPISF | 配列番号 88  |
| orflab_6799-6815 | SQAWQPGVAMPNLYKM          | 配列番号 89  |
| SPIKE_1053-1068  | QSAPHGVVFLHVTYV           | 配列番号 90  |
| orflab_5719-5736 | YVYIGDPAQLPAPRTLL         | 配列番号 91  |
| orflab_4513-4528 | YTMADLVYALRHFDE           | 配列番号 92  |
| SPIKE_494-513    | YGFQPTNGVGYQPYRVVVL       | 配列番号 93  |
| orflab_4725-4740 | FVDGVPFVVSTGYHF           | 配列番号 94  |
| orflab_6873-6892 | KGVAPGTAVLRQWLPTGTL       | 配列番号 95  |
| orflab_904-919   | YYLDESGEFKLASH            | 配列番号 96  |
| orflab_4113-4130 | ISMDNSPNLAWPLIVTA         | 配列番号 97  |
| orflab_1633-1650 | YYHTDPSFLGRYMSAL          | 配列番号 98  |
| orflab_873-889   | VVADAVIKTLQPVSEL          | 配列番号 99  |
| SPIKE_77-92      | RFDNPVLPFNDGVYF           | 配列番号 100 |
| orflab_4064-4080 | TTAAKLMVVIPDYNTY          | 配列番号 101 |
| orflab_561-576   | LQKAAITILDGISQY           | 配列番号 102 |
| AP3A_32-47       | ATIQASLPFGWLI             | 配列番号 103 |
| orflab_5212-5229 | KQGDDYVYLPYPDPSRI         | 配列番号 104 |
| orflab_4709-4724 | STVFPPTSFGPLVRK           | 配列番号 105 |
| orflab_2425-2444 | IVNGVRRSFYVYANGGKGF       | 配列番号 106 |
| orflab_2298-2314 | DTYPSLETIQITISSF          | 配列番号 107 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

|                  |                     |          |
|------------------|---------------------|----------|
| orflab_105-120   | VLVPHVGEIPVAYRK     | 配列番号 108 |
| orflab_250-266   | LQTPFEIKLAKKFDTF    | 配列番号 109 |
| orflab_4925-4940 | NVIPTITQMNLYAI      | 配列番号 110 |
| SPIKE_365-380    | SVLYNSASFSTFKCY     | 配列番号 111 |
| orflab_6831-6846 | ATLPKGIMMNVAKYT     | 配列番号 112 |
| orflab_4002-4017 | KMADQAMTQMYKQAR     | 配列番号 113 |
| orflab_6605-6620 | SVGPKQASLNGVTLI     | 配列番号 114 |
| SPIKE_432-452    | VIAWNSNNLDSKVGGNYYL | 配列番号 115 |
| SPIKE_1219-1234  | FIAGLIAIVMTIML      | 配列番号 116 |
| NCAP_330-346     | LTYTGAIKLDDKDPNF    | 配列番号 117 |
| orflab_1618-1633 | YVLPNDTLRVEAFE      | 配列番号 118 |
| orflab_6668-6683 | AMDEFIERYKLEGYA     | 配列番号 119 |
| orflab_804-819   | NMMVTNNTFTLKGA      | 配列番号 120 |
| orflab_5555-5570 | VMPLSAPTLVPQEHY     | 配列番号 121 |
| orflab_4672-4687 | KLFDTRYFKYWDQTYH    | 配列番号 122 |
| orflab_2269-2284 | YLNSTNVTIATYCTG     | 配列番号 123 |
| orflab_4997-5012 | YSDVENPHLMGWDYP     | 配列番号 124 |
| orflab_4904-4919 | RLYYDSMSYEDQDAL     | 配列番号 125 |
| SPIKE_220-235    | SALEPLVDLPIGINI     | 配列番号 126 |
| orflab_2098-2113 | YVDNSSLTIKKPNEL     | 配列番号 127 |
| SPIKE_325-340    | IVRFPNITNLCPFGE     | 配列番号 128 |
| orflab_3751-3766 | MFLARGIVFMCVEYC     | 配列番号 129 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

|                  |                   |          |
|------------------|-------------------|----------|
| SPIKE_1135-1150  | TVYDPLQPELDSFKE   | 配列番号 130 |
| SPIKE_27-42      | YTNSFTRGVYYPDKV   | 配列番号 131 |
| orflab_1336-1351 | YTVEEAKTVLKKCKS   | 配列番号 132 |
| orflab_5314-5329 | AMYPHTVLQAVGAC    | 配列番号 133 |
| orflab_6632-6647 | KVDGVVQQLPETYFT   | 配列番号 134 |
| orflab_4977-4993 | TVVIGTSKFYGGWHNM  | 配列番号 135 |
| orflab_2140-2156 | YAKPFLNKVVSTTTNI  | 配列番号 136 |
| AP3A_5-20        | RIFTIGTVTLKQGEI   | 配列番号 137 |
| AP3A_246-263     | HTIDGSSGVVNPVMEPI | 配列番号 138 |
| orflab_618-633   | TVYEKLKPVLDWLEE   | 配列番号 139 |
| orflab_1247-1262 | FLTENLLLYIDINGN   | 配列番号 140 |
| orflab_6342-6357 | SLYVKNHAFHTPAFD   | 配列番号 141 |
| orflab_733-748   | KAPKEIIFLEGETLP   | 配列番号 142 |
| orflab_37-53     | VLSEARQHLKDGTGCL  | 配列番号 143 |
| orflab_6708-6723 | RFKESPFEEDEFIPM   | 配列番号 144 |
| SPIKE_936-951    | SLSSTASALGKLQDV   | 配列番号 145 |
| orflab_6694-6709 | SQLGGLHLLIGLAKR   | 配列番号 146 |
| orflab_5843-5858 | AVASKILGLPTQTVD   | 配列番号 147 |
| orflab_1153-1168 | FGADPIHSLRVCVDT   | 配列番号 148 |
| orflab_272-287   | FVFPLNSIIKTIQPR   | 配列番号 149 |
| SPIKE_1094-1109  | FVSNGTHWFVTQRNF   | 配列番号 150 |
| VME1_190-205     | SGFAAYSRYRIGNYK   | 配列番号 151 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

|                  |                  |          |
|------------------|------------------|----------|
| orflab_6900-6915 | FVSDADSTLIGDCAT  | 配列番号 152 |
| orflab_5923-5938 | LQAENVTLGFKDCSK  | 配列番号 153 |
| VME1_169-184     | VATSRTLSTYKLGAS  | 配列番号 154 |
| orflab_2216-2233 | YLKSPNFSKLINIIWF | 配列番号 155 |
| orflab_4862-4877 | FVVEVDKYFDCYDG   | 配列番号 156 |
| orflab_2075-2090 | ILKPANNSLKITEEV  | 配列番号 157 |
| NCAP_158-173     | LQLPQGTTLPKGFYA  | 配列番号 158 |
| AP3A_138-153     | LLYDANYFLCWHTNC  | 配列番号 159 |
| orflab_6763-6778 | SVVSKVVKVTIDYTE  | 配列番号 160 |
| SPIKE_914-929    | VLNENKLIANQFNS   | 配列番号 161 |
| SPIKE_950-966    | VVNQNAQALNTLVKQL | 配列番号 162 |
| orflab_6245-6260 | LLADKFPVLHDIGNP  | 配列番号 163 |
| orflab_5515-5530 | KVQIGEYTFEKG DYG | 配列番号 164 |
| AP3A_70-85       | LALSKGVHFCNLLL   | 配列番号 165 |
| orflab_3311-3326 | MLNPNYEDLLIRKSN  | 配列番号 166 |
| orflab_3966-3981 | AVANGDSEVVLKCLK  | 配列番号 167 |
| SPIKE_1184-1199  | RLNEVAKNLNESLID  | 配列番号 168 |
| orflab_2552-2567 | SAKSASVYYSQLMCQ  | 配列番号 169 |
| orflab_4418-4433 | STDVVYRAFDIYNDK  | 配列番号 170 |
| SPIKE_780-795    | VFAQVKQIYKTPPIK  | 配列番号 171 |
| SPIKE_975-990    | VLNDILSRDKVEAE   | 配列番号 172 |
| orflab_640-655   | FLRDGWEIVKFISTC  | 配列番号 173 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

|                  |                 |          |
|------------------|-----------------|----------|
| orf1ab_444-459   | GLNDNLLEILQKEKV | 配列番号 174 |
| SPIKE_416-431    | KIADYNYKLPDDFTG | 配列番号 175 |
| NCAP_221-236     | LLLDRLNQLESKMSG | 配列番号 176 |
| orf1ab_2749-2764 | VYNVVTTKIALKGGK | 配列番号 177 |
| orf1ab_5110-5125 | YVRNLQHRLYECLYR | 配列番号 178 |
| orf1ab_4162-4177 | CTDDNALAYNTTKG  | 配列番号 179 |
| orf1ab_3163-3178 | RVVFNGVSFSTFEEA | 配列番号 180 |
| orf1ab_5945-5960 | TQAPTHLSVDTKFKT | 配列番号 181 |
| orf1ab_1056-1071 | VVNAANVYLKHGGGV | 配列番号 182 |
| orf1ab_6681-6696 | YAFEHIVYGDFSHSQ | 配列番号 183 |
| orf1ab_4846-4861 | YYRYNLPTMCDIRQL | 配列番号 184 |
| orf1ab_2488-2503 | YIVDSVTVKNGSIHL | 配列番号 185 |
| orf1ab_12-27     | HVQLSLPVLQVRDVL | 配列番号 186 |
| SPIKE_583-598    | ILDITPCSGGGVSVI | 配列番号 187 |
| orf1ab_5057-5072 | MVMCGGSLYVKPGGT | 配列番号 188 |
| orf1ab_5571-5586 | RITGLYPTLNISDEF | 配列番号 189 |
| orf1ab_358-373   | YLPQNAVVKIYCPAC | 配列番号 190 |
| orf1ab_5655-5670 | RIIPARARVECFDKF | 配列番号 191 |
| orf1ab_1922-1937 | ASFDNFKFVCDNIKF | 配列番号 192 |
| orf1ab_1875-1890 | TIKPVTYKLDGVVCT | 配列番号 193 |
| orf1ab_2468-2483 | VARDLSLQFKRPINP | 配列番号 194 |
| orf1ab_4282-4297 | YLASGGQPITNCVKM | 配列番号 195 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 0】

|                  |                 |          |
|------------------|-----------------|----------|
| orf1ab_3240-3255 | FSNSGSDVLYQPPQT | 配列番号 196 |
| NCAP_265-280     | KAYNVTQAFGRRGPE | 配列番号 197 |
| NCAP_47-62       | NTASWFTALTQHGKE | 配列番号 198 |
| orf1ab_6577-6592 | RVDGQVDLFRNARNG | 配列番号 199 |
| orf1ab_1350-1365 | SAFYILPSIISNEKQ | 配列番号 200 |
| orf1ab_2534-2549 | SLPINVIVFDGKSKC | 配列番号 201 |
| orf1ab_599-614   | YITGGVVQLTSQWLT | 配列番号 202 |
| orf1ab_7019-7034 | YVMHANYIFWRNTNP | 配列番号 203 |
| orf1ab_4356-4371 | ANDPVGFTLKNTVCT | 配列番号 204 |
| orf1ab_4251-4266 | LQAGNATEVPANSTV | 配列番号 205 |
| VME1_147-162     | HLRIAGHHLGRCDIK | 配列番号 206 |
| orf1ab_2515-2530 | HLSHFVNLDNLRAN  | 配列番号 207 |
| orf1ab_5803-5818 | ITHDVSSAINRPQIG | 配列番号 208 |
| orf1ab_140-155   | KSFDLGDELGTDPYE | 配列番号 209 |
| orf1ab_2121-2136 | LATHGLAAVNSVPWD | 配列番号 210 |
| orf1ab_5753-5768 | KTIGPDMFLGTCRRC | 配列番号 211 |
| orf1ab_6958-6973 | LALGGSVAIKITEHS | 配列番号 212 |
| orf1ab_6212-6227 | KRVDWTIEYPIIGDE | 配列番号 213 |
| orf1ab_4197-4212 | KSDGTGTIYTELEPP | 配列番号 214 |
| orf1ab_5678-5693 | YVFCTVNALPETTAD | 配列番号 215 |
| orf1ab_2674-2689 | LTYNKVENMTPRDLG | 配列番号 216 |
| orf1ab_3329-3344 | LVQAGNVQLRVIGHS | 配列番号 217 |

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 1】

|                  |                 |          |
|------------------|-----------------|----------|
| SPIKE_393-408    | NVYADSFVIRGDEVR | 配列番号 218 |
| orflab_4460-4475 | YFVVKRHTFSNYQHE | 配列番号 219 |
| VME1_64-79       | FVLAAYRINWITGG  | 配列番号 220 |
| orflab_6048-6063 | YVDTPNNTDFSRVSA | 配列番号 221 |
| orflab_3767-3782 | IFFITGNTLQCIMLV | 配列番号 222 |
| orflab_5880-5895 | NVNRFNVAITRAKVG | 配列番号 223 |
| orflab_4532-4547 | TLKEILVTYNCCDDD | 配列番号 224 |
| orflab_1213-1228 | FITESKPSVEQRKQD | 配列番号 225 |
| SPIKE_603-618    | TSNQVAVLYQDVNCT | 配列番号 226 |
| orflab_1733-1748 | YLFQHANLDSCKRVL | 配列番号 227 |
| orflab_5437-5452 | WTNAGDYILANTCTE | 配列番号 228 |
| orflab_5038-5053 | SLSHRFYRLANCAQ  | 配列番号 229 |

10

20

30

## 【0 3 3 0】

他のT細胞エピトープは、上記の方法に基づく（似ているか同じ）方法によって予測した。以下のT細胞エピトープが同定された。

## 【0 3 3 1】

40

50

【表 2 - 1】

| 名称               | 配列                                             | 配列番号 |
|------------------|------------------------------------------------|------|
| AP3A_1_21        | DLFMRIFTIGTVTLKQGEIK                           | 322  |
| AP3A_33_73       | TIPIQASLPFGWLIVGVALLAVFQSASKIITLKKRWQLAL       | 323  |
| AP3A_96_120      | VAAGLEAPFLYLYALVYFLQSINF                       | 324  |
| AP3A_157_192     | IPYNSVTSSIVITSGDGTTSPISEHDYQIGGYTEK            | 325  |
| AP3A_201_219     | VLHSYFTSDYYQLYSTQL                             | 326  |
| AP3A_219_235     | STDTGVEHVTFFIYNK                               | 327  |
| NCAP_44_74       | LPNNTASWFTALTQHGKEDLKFPRGQGVPI                 | 328  |
| NCAP_99_113      | KMKDLSPRWYFYLL                                 | 329  |
| NCAP_153_172     | NAAIVLQLPQGTTLPKGFY                            | 330  |
| NCAP_215_230     | DAALALLLLDRLNQL                                | 331  |
| NCAP_248_274     | KSAAEASKKPRQKRTATKAYNVTQAF                     | 332  |
| NCAP_296_333     | DYKHWPQIAQFAPSASAFFGMSRIGMEVTPSGTWLTY          | 333  |
| NCAP_337_353     | KLDDKDPNFKDQVILL                               | 334  |
| NCAP_344_370     | NFKDQVILLNKHIDAYKTFPTEPKK                      | 335  |
| NCAP_378_411     | TQALPQRQKKQQTIVTLLPAADLDDFSKQLQQSM             | 336  |
| orflab_728_742   | LLMPLKAPKEIIFL                                 | 337  |
| orflab_824_843   | FGDDTVIEVQGYKSVNITF                            | 338  |
| orflab_1172_1197 | VYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEK                      | 339  |
| orflab_1605_1634 | KIKPHNSHEGKTFYVLPNDTLRVEAFEY                   | 340  |
| orflab_2067_2086 | TTEVVGDIILKPANNSLKI                            | 341  |
| orflab_2165_2177 | TNYMPYFFTL                                     | 342  |
| orflab_2370_2394 | LVQMAPISAMVRMYIFFASFYVW                        | 343  |
| orflab_2478_2511 | RPINPTDQSSYIVDSVT                              | 344  |
| orflab_2581_2613 | DSAEVAVKMFDAYVNTFSSTFNVPMEKLTIV                | 345  |
| orflab_2880_2909 | FLHFLPRVFSAVGNICYTPSKLIEYTDFA                  | 346  |
| orflab_2944_2975 | YESLRPDTRYVLMDSIIQFPNTYLEGSRV                  | 347  |
| orflab_3387_3404 | VYQCAMRPNFTIKGSFL                              | 348  |
| orflab_4195_4215 | FPKSDGTGTIYTELEPPCRF                           | 349  |
| orflab_4498_4516 | DGDMVPHISRQRLTKYTM                             | 350  |
| orflab_4647_4667 | HVDTLTKPYIKWDLLKYDF                            | 351  |
| orflab_5014_5037 | DRAMPNMLRIMASLVLRKHTTC                         | 352  |
| orflab_5244_5292 | TLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVHLYLQYIRKLHDELTHML | 353  |
| orflab_5452_5481 | RLKLFAAETLKATEETFKLSYGIATVREV                  | 354  |
| orflab_5556_5577 | MPLSAPTLVPQEHYVRITGLY                          | 355  |
| orflab_5726_5741 | AQLPAPRTLLTKGTL                                | 356  |
| orflab_5813_5830 | RPQIGVVREFLTRNPAW                              | 357  |
| orflab_6498_6509 | TTLPVNVAFEL                                    | 358  |
| orflab_6632_6655 | KVDGVVQQLPETYFTQSRNLQEF                        | 359  |
| orflab_6792_6828 | FYPKLQSSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKCDLQNY           | 360  |
| orflab_6856_6874 | LAVPYNMRVIFHGAGSDK                             | 361  |

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

|                 |                                            |     |
|-----------------|--------------------------------------------|-----|
| SPIKE_108_119   | TLDSKTQSLLI                                | 362 |
| SPIKE_191_212   | FVFKNIDGYFKIYSKHTPINL                      | 363 |
| SPIKE_264_279   | YYVGYLQPRTFLLKY                            | 364 |
| SPIKE_291_320   | ALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRV              | 365 |
| SPIKE_319_338   | VQPTESIVRFPNITNLCPF                        | 366 |
| SPIKE_341_357   | FNATRFASVYAWNRKR                           | 367 |
| SPIKE_358_380   | SNCVADYSVLVNSASFSTFKCY                     | 368 |
| SPIKE_407_425   | RQIAPGQTGKIADYNYKL                         | 369 |
| SPIKE_525_565   | GPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQF   | 370 |
| SPIKE_624_636   | HADQLTPTWRVY                               | 371 |
| SPIKE_711_741   | IAIPTNFTISVTTEILPVSMKTTSVDCTMY             | 372 |
| SPIKE_778_797   | QEVFAQVKQIYKTPPIKDF                        | 373 |
| SPIKE_814_841   | RSFIEDLLFNKVTADAGFIKQYGDCL                 | 374 |
| SPIKE_891_933   | AALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGK | 375 |
| SPIKE_955_970   | AQALNTLVKQLSSNF                            | 376 |
| SPIKE_974_991   | SVLNDILSRDLKVEAEV                          | 377 |
| SPIKE_995_1008  | LITGRLQSLQTYV                              | 378 |
| SPIKE_1046_1075 | YHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNF              | 379 |
| SPIKE_1136_1148 | VYDPLQPELDSF                               | 380 |
| VEMP_48_69      | VSLVKPSFYVYSRVKNLNSSR                      | 381 |
| VME1_2_23       | DSNGTITVEELKKLLEQWNLV                      | 382 |
| VME1_36_54      | FAYANRNRFLYIIKLIFL                         | 383 |
| VME1_88_116     | GLMWLSYFIASFRLFARTRSMWSFNPET               | 384 |
| VME1_147_180    | HLRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYK          | 385 |

## 【0 3 3 2】

SPIKE 8\_110 : (配列番号386) PLVSSQCVNLTTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPD  
KVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSNGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEK  
SNIIRGWIFGTTL

SPIKE\_286\_395 (配列番号387) DAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNF  
RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLVNSASFST  
FKCYGVSPTKLNDLCFTNV

SPIKE\_483\_552 (配列番号388) EGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSP  
ELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVL

NCAP\_288\_387 (配列番号389) QELIRQGTDYKHWPQIAQFAPSASAFFGMSRI  
GMEVTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPNFKDQVILLNKHIDAYKTFPTEPKKDKKKKA  
DETQALPQRQK

SPIKE\_671\_750 (配列番号390) ASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLGAEN  
SVAYSNNISIAIPTNFTISVTTEILPVSMKTTSVDCTMYICGDSTEC

SPIKE\_1036\_1090 (配列番号391) SKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHV  
TYVPAQEKNF T TAPAICHGKAHFP

SPIKE\_252\_295 (配列番号392) DSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENG  
TITDAVDCALDP

SPIKE\_805\_853 (配列番号393) LPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTADAGFIKQYG

DCLGDIAARDLICAQ

SPIKE\_1180\_1232 (配列番号394) KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYI  
KWPWYIWLGFIAGLIAIVMTINCAP\_49\_129 (配列番号395) ASWFTALTQHGKEDLKFPRGQGVPIINTNSSPDD  
QIGYYRRATRRIRGGDGKMKDLSRWYFYLLGTGPEAGLPYGANKDGSPIKE\_438\_479 (配列番号396) NNLD SKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDIST  
EIYQAGSTPVME1\_153\_212 (配列番号397) HHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQ  
RVAGDSGFAAYSRYRIGNYKLNTDHSSAP3A\_164\_233 (配列番号398) SSIVITSGDGTTSPISEHDYQIGGYTEKWESGV  
KDCVVLHSYFTSDYYQLYSTQLSTDTGVEHVTFFIYAP3A\_84\_132 (配列番号399) LLFVTVYSHLLLVAAGLEAPFLYLYALVYFLQSI  
N FVRIIMRLWLCWKSPIKE\_126\_185 (配列番号400) VIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEF  
RVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNSPIKE\_880\_941 (配列番号401) TITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGV  
TQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTVEMP\_18\_67 (配列番号402) LFLAFVVFLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSLVK  
PSFYVYSRVKNLNSAP3A\_0\_33 (配列番号403) MDLFMRIFTIGTVTLKQGEIKDATPSDFVRATA  
【0333】

【表3】

| 名称／配列番号             | 配列                                           |
|---------------------|----------------------------------------------|
| SPIKE_187_218/404   | NLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ              |
| SPIKE_1085_1115/405 | KAHFPREGVFSNGTHWFVTQRNFYEPQII                |
| NCAP_243_285/406    | QTVTKKSAAEASKKPRQKRTATKAYNVTQAFGRRGPEQTQGN   |
| SPIKE_619_651/407   | VPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLI             |
| SPIKE_849_890/408   | ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGA    |
| SPIKE_398_435/409   | SFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIA       |
| AP3A_41_85/410      | PFGWLIVGVALLAVFQSASKIITLKKRWQLALSKGVHFVCNLLL |
| SPIKE_771_805/411   | VEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQI           |
| VME1_85_120/412     | CLVGLMWLSYFIASFRLFARTRSMWSFNPETNILL          |
| NCAP_206_242/413    | PARMAGNGGDAALALLLDRLNQLESKMSGKGQQQQ          |
| VME1_0_32/414       | MADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFTWI              |
| VME1_30_63/415      | WICLLQFAYANRNRFYI IKLIFLWLLWPVTLA            |

【0334】

10

20

30

40

50

【表 4】

| 名称／配列番号              | 配列                            |
|----------------------|-------------------------------|
| NCAP_304-320/416     | AQFAPSASAFFGMSRI              |
| orflab_824-849/417   | FGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERI     |
| orflab_859-874/418   | YTVELGTEVNEFACV               |
| orflab_1797-1816/419 | VQQESPFFVMSAPPAQYEL           |
| orflab_2371-2400/420 | VQMAPISAMVRMYIFFASFYYVWKSIVHV |
| orflab_2588-2604/421 | KMFDAYVNTFSSTFNV              |
| orflab_3355-3375/422 | TANPKTPKYKFVRIQPGQTF          |
| orflab_3481-3498/423 | FLNRFTTTLNDFNLVAM             |
| orflab_3651-3666/424 | MVYMPASWVMRIMTW               |
| orflab_3706-3721/425 | RVWTLMNVLTLVYKV               |
| orflab_4228-4243/426 | YFIKGLNNLNRGMVL               |
| orflab_4630-4645/427 | SLLMPILTLTRALTA               |
| orflab_4824-4842/428 | SSVELKHFFFAQDGNAAI            |
| orflab_5015-5030/429 | RAMPNMLRIMASLVL               |
| orflab_5072-5100/430 | SSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALL  |
| orflab_5132-5148/431 | FVNEFYAYLRKHFSMM              |
| orflab_5168-5186/432 | ASIKNFKSVLYYQNNVFM            |
| orflab_5245-5260/433 | LMIERFVSLAIDAYP               |
| orflab_5356-5373/434 | HVISTSHKLVLVSVNPYV            |
| orflab_5613-5638/435 | HFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAV     |
| orflab_5770-5785/436 | EIVDTVSAALVYDNKL              |
| orflab_5973-5998/437 | MTYRRLISMMGFKMNYQVNGYPNMF     |
| orflab_6093-6117/438 | MLSDTLKNLSRNVFVLWAHGFEL       |
| orflab_6481-6507/439 | TVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAF    |
| orflab_6850-6865/440 | YLNTLTAVPYNMRV                |
| SPIKE_633-648/441    | RVYSTGSNVFQTRAG               |
| SPIKE_703-726/442    | SVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEI       |
| VEMP_50-65/443       | RSFIEDLLFNKVTLA               |
| VME1_36-51/444       | LVKPSFYVYSRVKNL               |

## 【0335】

実施例 2：ワクチンの構築と発現

## 【0336】

試験したコンストラクト（VB10・COV2）の全遺伝子配列は G e n s c r i p t（860 センテナリ・アヴェニュー、ピスカタウェイ、NJ 08854、アメリカ合衆国）から注文され、発現ベクター pUMVC4a にクローニングされた。

## 【0337】

すべてのコンストラクトを HEK293 細胞にトランスフェクトし、完全なワクシボディタンパク質の発現の確認を上清のサンドイッチ ELISA によって実施した。それに加え、ウエスタンブロット分析をいくつかのコンストラクトで実施してワクシボディタンパク質の立体配置とサイズを確認した。

## 【0338】

実施例 3a：さまざまなタンパク質ワクシボディ DNA ワクチン（VB10・COV2 と呼ぶ）の設計、製造、および特徴づけ

## 【0339】

複数の V B 1 0 . C O V 2 D N A ワクチンを設計した ( 図 5 3 ) :

【 0 3 4 0 】

V B 2 0 4 9 ( 配列番号 2 5 2 、 図 2 3 A ) は、 M I P - 1  $\alpha$  ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および S A R S - C o V - 2 R B D の短い形態 ( 「 R B D 短」、アミノ酸 3 3 1 ~ 5 2 4 、すなわち 1 9 3 個のアミノ酸) を含む抗原ユニットをコードしている。

【 0 3 4 1 】

V B 2 0 6 0 ( 配列番号 2 5 4 、 図 2 4 A ) は、 M I P - 1  $\alpha$  ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および S A R S - C o V - 2 R B D のより長いバージョン ( 「 R B D 長い」、アミノ酸 3 1 9 ~ 5 4 2 、すなわち 2 2 3 個のアミノ酸) を含む抗原ユニットをコードしている。

【 0 3 4 2 】

V B 2 0 6 5 ( 配列番号 2 5 6 、 図 2 5 A ) は、 M I P - 1  $\alpha$  ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および S A R S - C o V 2 株武漢 H u - 1 からのスパイクタンパク質 ( 完全長融合前安定化スパイクタンパク質の発現が可能になるようコドンが最適化され、フーリンによって認識される多塩基切断部位が除去され、安定化変異が付加されている、Wrapp et al., Science 367, (2020), 1260-1263 を参照されたい) を含む抗原ユニットをコードしている。

【 0 3 4 3 】

V B 2 0 4 8 ( 配列番号 2 5 8 、 図 2 6 A ) は、 M I P - 1  $\alpha$  ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および実施例 1 に記載されているように保護免疫を誘導する設計にされた複数の S A R S - C o V 2 株からの 2 0 個の予測される免疫原性 T 細胞エピートープ ( 下記の表 1 参照) を含む抗原ユニットをコードしている。

【 0 3 4 4 】

【 表 5 】

表 1 : T 細胞エピートープ V B 2 0 4 8

|       | 配列                        |       | 配列                           |
|-------|---------------------------|-------|------------------------------|
| pep1  | RSFIEDLLFNKVTLA           | pep11 | AQFAPSASAFFGMSRI             |
| pep2  | MTYRRLISMGMFKMNYQVNGYPNMF | pep12 | EIVDTVSALVYDNKL              |
| pep3  | LMIERFVSLAIDAYP           | pep13 | SSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALL |
| pep4  | RAMPNMLRIMASLVL           | pep14 | HVISTSHKLVLVSNPYV            |
| pep5  | MVYMPASWVMRIMTW           | pep15 | MLSDTLKNLSDRVVFVLWAHGFEL     |
| pep6  | FLNRFTTTLNDFNLVAM         | pep16 | TANPKTPKYKFVRIQPGQTF         |
| pep7  | SSVELKHFFFAQDGNAAI        | pep17 | ASIKNFKSVFLYYQNNVFM          |
| pep8  | HFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAV | pep18 | FVNEFYAYLRKHFSMM             |
| pep9  | YFIKGLNNLNRGMVL           | pep19 | RVWTLNMVLTLYYKV              |
| pep10 | YLNTLTAVPYNMRV            | pep20 | FAYANRRFLYIIKL               |

【 0 3 4 5 】

V B 2 0 5 9 ( 配列番号 2 6 0 、 図 2 7 ) は、抗マウス M H C I I s c F v ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および S A R S - C o V - 2 R B D のより長いバージョン ( 「 R B D 長い」、アミノ酸 3 1 9 ~ 5 4 2 、すなわち 2 2 3 個のアミノ酸) を含む抗原ユニットをコードしている。

【 0 3 4 6 】

V B 2 0 7 1 ( 配列番号 2 6 2 、 図 2 8 ) は、抗マウス M H C I I s c F v ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および S A R S - C o V 2 株 W u h a n H u - 1 からのスパイクタンパク質 ( 完全長融合前安定化スパイクタンパク質の発現が可能になる

ようコドンが最適化され、フーリンによって認識される多塩基切断部位が除去され、安定化変異が付加されている、Wrapp et al., Science 367, (2020), 1260-1263を参照されたい)を含む抗原ユニットをコードしている。

【0347】

下記のコンストラクトVB2081～VB2099に含まれる予測されるT細胞エピートープ pep08とpep18は、表1の中の対応するエピートープと同じである。pep25は実施例1で同定された配列番号75のアミノ酸配列を有する。

【0348】

VB2081 (配列番号264、図29)は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および(GGGGS)<sub>2</sub>リンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピートープ(pep08)とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン(「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸)からなる抗原ユニットをコードしている。

10

【0349】

VB2082 (配列番号266、図30)は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および(GGGGS)<sub>2</sub>リンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピートープ(pep18)とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン(「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸)からなる抗原ユニットをコードしている。

20

【0350】

VB2083 (配列番号268、図31)は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および(GGGGS)<sub>2</sub>リンカーを用いて連結された2つの予測されるT細胞エピートープ(pep08+pep18であり、エピートープ間に(GGGGS)<sub>2</sub>リンカーを有する)とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン(「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸)からなる抗原ユニットをコードしている。

30

【0351】

VB2084 (配列番号270、図32)は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および(GGGGS)<sub>2</sub>リンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピートープ(pep08、pep18、およびpep25であり、エピートープ間に(GGGGS)<sub>2</sub>リンカーを有する)とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン(「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸)からなる抗原ユニットをコードしている。

【0352】

VB2085 (配列番号272、図33)は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびGLGGLリンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピートープ(pep08)とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン(「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸)からなる抗原ユニットをコードしている。

40

【0353】

VB2086 (配列番号274、図34)は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および(GLGGL)<sub>2</sub>リンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピートープ(pep08)とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン(「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸)からなる抗原ユニットをコードしている。

【0354】

VB2087 (配列番号276、図35)は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびGLGGLリンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピートープ(pep18)とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン(「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸)からなる抗原ユ

50

ニットをコードしている。

【0355】

VB2088（配列番号278、図36）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびGLGGLリンカーを用いて連結された2つの予測されるT細胞エピトープ（pep08+pep18であり、エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有する）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0356】

VB2089（配列番号280、図37）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびGLGGLリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25であり、エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有する）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

10

【0357】

VB2091（配列番号282、図38）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびTQKSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピトープ（pep08）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

20

【0358】

VB2092（配列番号284、図39）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびTQKSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25であり、エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有する）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0359】

VB2094（配列番号286、図40）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された1つの予測されるT細胞エピトープ（pep08）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

30

【0360】

VB2095（配列番号288、図41）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびSLSLSPGKGLGGLリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25であり、エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有する）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

40

【0361】

VB2097（配列番号290、図42）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびGSATリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25であり、エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有する）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0362】

VB2099（配列番号292、図43）は、MIP-1 $\alpha$ ターゲティングユニット、

50

二量体化ユニット、およびSEGリンカーを用いて連結された3つの予測されるT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25であり、エピトープ間に（GGGGS）<sub>2</sub>リンカーを有する）とSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0363】

VB2129（配列番号294、図44）は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、および南アフリカバリエントB.1.351において特徴的な3つの変異を有するSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）を含む抗原ユニットをコードしている。

10

【0364】

VB2131は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびSEGリンカー（アミノ酸配列：配列番号296、図45）を用いて連結された武漢株と南アフリカバリエントB.1.351からのSARS-CoV-2 RBDの2つの長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0365】

VB2132は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびGSATリンカー（アミノ酸配列：配列番号297、図46）を用いて連結された武漢株と南アフリカバリエントB.1.351からのSARS-CoV-2 RBDの2つの長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

20

【0366】

VB2133は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびTQKSLSLSPGKGLGGLリンカー（アミノ酸配列：配列番号298、図47）を用いて連結された武漢株と南アフリカバリエントB.1.351からのSARS-CoV-2 RBDの2つの長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0367】

VB2134は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびLSLSPGKGLGGLリンカー（アミノ酸配列：配列番号299、図48）を用いて連結された武漢株と南アフリカバリエントB.1.351からのSARS-CoV-2 RBDの2つの長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

30

【0368】

VB2135は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびSEGリンカー（アミノ酸配列：配列番号300、図49）を用いて連結された南アフリカバリエントB.1.351とUKバリエントB.1.1.7からのSARS-CoV-2 RBDの2つの長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

40

【0369】

VB2136は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびGSATリンカー（アミノ酸配列：配列番号301、図50）を用いて連結された南アフリカバリエントB.1.351とUKバリエントB.1.1.7からのSARS-CoV-2 RBDの2つの長いバージョン（「RBD長い」、アミノ酸319～542、すなわち223個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0370】

VB2137は、MIP-1αターゲティングユニット、二量体化ユニット、およびSEGリンカー（アミノ酸配列：配列番号302、図51）を用いて連結された南アフリカ

50

バリエーション B. 1. 351 とカリフォルニアバリエーション B. 1. 427 からの SARS-CoV-2 RBD の 2 つの長いバージョン（「RBD 長い」、アミノ酸 319～542、すなわち 223 個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0371】

VB2138 は、MIP-1 $\alpha$  ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および GSAT リンカー（アミノ酸配列：配列番号 303、図 52）を用いて連結された南アフリカバリエーション B. 1. 351 とカリフォルニアバリエーション B. 1. 427 からの SARS-CoV-2 RBD の 2 つの長いバージョン（「RBD 長い」、アミノ酸 319～542、すなわち 223 個のアミノ酸）からなる抗原ユニットをコードしている。

【0372】

実施例 3b：哺乳類の細胞に VB10. COV2 DNA プラスミドを一過性にトランスフェクトした後の VB10. COV2 タンパク質発現レベルのインビトロでの特徴づけ

【0373】

この研究の目的は、哺乳類細胞に VB10. COV2 DNA プラスミドを一過性にトランスフェクトした後の VB10. COV2 タンパク質の発現レベルをインビトロで特徴づけることであり、それは、細胞上清の中の機能的 VB10. COV2 タンパク質の存在を ELISA アッセイによりそのタンパク質のターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットへの特異的抗体の結合を利用して測定することによりなされた。それに加え、ウエスタンブロット分析を実施し、VB2060 によってコードされるタンパク質の立体配置とサイズを確認した。

【0374】

VB10. COV2 DNA コンストラクトは Genscript によって合成され、クローニングされ、作製された。得られたコンストラクトは、MIP-1 $\alpha$  および他のターゲティングユニットと、抗原ユニットとしての RBD／スパイクおよび／または T 細胞エピトープを持ち、それらユニットがヒトヒンジエキソン h1 および h4 と IgG3 の CH3 ドメインからなる二量体化ユニットによって接続されたホモ二量体タンパク質をコードしていた。Genscript は DNA プラスミドの調製（0.5～1.0 mg）も実施した。

【0375】

HEK293 細胞を ATCC から取得した。HEK293 細胞に VB10. COV2 DNA プラスミドを一過性にトランスフェクトした。簡単に述べると、10% の FBS 増殖培地を含む 24 ウェルの組織培養プレートに  $2 \times 10^5$  個の細胞／ウェルを播種し、リポフェクタミン（登録商標）2000 試薬を製造者（Invitrogen、Thermo Fischer Scientific）が推奨する条件で使用して 1  $\mu$ g の VB10. COV2 DNA プラスミドをトランスフェクトした。次いでトランスフェクトされた細胞を 6 日間まで 5% CO<sub>2</sub> で 37℃ に維持し、VB10. COV2 タンパク質を特徴づけるため細胞上清を回収した。

【0376】

ELISA を実施し、HEK293 細胞によって産生されて細胞上清の中に分泌される VB10. COV2 タンパク質の量を確認した。簡単に述べると、MaxiSorp Nunc-immuno プレートを、1  $\mu$ g/ml の抗 CH3（MCA878G、BioRad）を含む 1 $\times$  PBS を 100  $\mu$ l／ウェルで用いて被覆し、プレートを 4℃ で一晩インキュベートした。その微量滴定ウェルを、4% の BSA を含む 1 $\times$  PBS を 200  $\mu$ l／ウェルで添加することによってブロックした。VB10. COV2 タンパク質を含有するトランスフェクトされた HEK293 細胞からの細胞上清 100  $\mu$ l をプレートに添加した。検出抗体については、ビオチニル化された抗ヒト MIP-1 $\alpha$ （R&D Systems）、ビオチニル化された抗ヒト IgG（Thermo Fischer Scientific）、SARS-CoV-2／2019-nCoV スパイク／RBD 抗体（1：1000）（Sino Biologic）のいずれかを添加してインキュベートした。その後、strept-HRP（1：3000）または抗ウサギ IgG-HRP

10

20

30

40

50

(1:5000)を添加してインキュベートした。特に断わらない限り、すべてのインキュベーションを37℃で1時間実施した後、PBS-Tweenで3回洗浄した。その後、TMB溶液を100 µl/ウェルで添加し、5~15分後に1 MのHClを100 µl/ウェルで添加して発色を停止させた。450 nmでの光学密度を自動化されたプレートリーダー(Thermo Scientific Multiscan GO)で求めた。

#### 【0377】

それに加えてウェスタンブロット分析を実施し、HEK293細胞によって産生されて細胞上清の中に分泌されるVB10、COV2タンパク質の量を確認した。簡単に述べると、トランスフェクトされたHEK293細胞からの上清24 µlを、3 µlの還元剤(Invitrogen)の添加あり、またはなしの8 µlのNovex Bolt LDSサンプルバッファ4×(Invitrogen)と混合することによってサンプルを調製した。(還元された、または還元されていない)サンプルを95℃で4~5分間沸騰させた後、4%~12%のNovex トリス-グリシンプレキャストゲル(Invitrogen)に添加した。SDS-PAGEを、SeeBlue Plus2であらかじめ染色した基準(Invitrogen)を含むNovex Bolt LDSランニングバッファの中で実施した。Trans-Blot Turboシステム(Bio-Rad)を用い、EtOHで活性化させたPVDF膜にタンパク質を移した。PVDF膜を3%BSA PBSTでブロックし、タンパク質をスパイク-RBDウサギpAb(Sino Biological)-ヤギ抗ウサギAP(Sigma)で検出した。発色するまで、膜のためのBCIP/NBT-Purple Liquid基質系を用いてバンドを現像した。

#### 【0378】

図54、55、および56は、以下の機能的VB10、COV2タンパク質の発現と分泌がうまくいったことを示す：VB2049(配列番号253、図23B)、VB2060(配列番号255、図24B)、VB2065(配列番号257、図25B)、VB2048(配列番号259、図26B)、VB2059(配列番号261、図27B)、VB2071(配列番号263、図28B)、VB2081(配列番号265、図29B)、VB2082(配列番号267、図30B)、VB2083(配列番号269、図31B)、VB2084(配列番号271、図32B)、VB2085(配列番号273、図33B)、VB2086(配列番号275、図34B)、VB2087(配列番号277、図35B)、VB2088(配列番号279、図36B)、VB2089(配列番号281、図37B)、VB2091(配列番号283、図38B)、VB2092(配列番号285、図39B)、VB2094(配列番号287、図40B)、VB2095(配列番号289、図41B)、VB2097(配列番号291、図42B)、VB2099(配列番号293、図43B)、VB2129(配列番号295、図44B)、VB2131(配列番号296、図45)、VB2132(配列番号297、図46)、VB2133(配列番号298、図47)、VB2134(配列番号299、図48)、VB2135(配列番号300、図49)、VB2136(配列番号301、図50)、VB2137(配列番号302、図51)、およびVB2138(配列番号303、図52)。

#### 【0379】

VB10、COV2タンパク質の立体配置の完全さを、ELISAとウェスタンブロット分析において、抗hIgG(CH3ドメイン)(捕獲抗体として)、hMIP-1α、RBDドメイン、またはスパイクタンパク質に対して特異的な抗体への結合によって確認した。

#### 【0380】

ELISAでは、発現レベルがさまざまなVB10、COV2コンストラクトの間で分子構造に応じて高発現、中発現、低発現の間で変化することが見いだされた。

#### 【0381】

より長いRBDドメインを含有するコンストラクト(VB2059とVB2060)は

、短いRBDドメインを有するコンストラクト（VB2049）と比べて最高レベルで発現した（図54と図55B）。より長いRBDドメインに変異を導入すると、VB2060をVB2129と比べたときに観察されるように、発現レベルがわずかに変化した（図55D）。スパイクタンパク質を含有するコンストラクト（VB2065とVB2071）はRBDコンストラクトよりも低いレベルで発現した（図54と図55B）。同じ抗原ユニット（長いRBDまたはスパイクタンパク質のいずれか）を含有するがターゲティングユニット（ヒトMIP1 $\alpha$ または抗マウスMHCIIs c Fv）は異なるコンストラクトは発現レベルに有意差がなかった（図54と図55B）。

#### 【0382】

抗原ユニットの中に予測されるT細胞エピトープと長いRBDドメインの組み合わせを含有するコンストラクトでは、発現レベルの差が、含まれるT細胞エピトープとリンカーに応じて観察された。発現レベルは、pep08を含有するコンストラクト（VB2081）と比べてpep18を含有するコンストラクト（VB2082とVB2087）で最高であった。コンストラクトが3つのT細胞エピトープ（pep08、pep18、およびpep25）を含んでいるとき、SEGリンカーまたはGSATリンカーを有するコンストラクトは、それら3つのT細胞エピトープの最後と長いRBDドメインの間に他のリンカーを有するコンストラクトと比べて有意により多く発現した（図55C）。

#### 【0383】

HEK293細胞に2つのプラスミドVB2048とVB2049を同時にトランスフェクトするとき、発現レベルは、それらプラスミドの一方だけをトランスフェクトしたときと同様であった（図55Eと図54／55B）。

#### 【0384】

ウエスタンブロット分析（図56）では、非還元条件下で強いバンドがVB2060に関して約95 kDaの位置に検出された。これは、VB2060ホモ二量体タンパク質の存在を示す。非還元条件ではほぼ半分のサイズの位置のバンドは検出されなかった。これは、HEK293E細胞から発現したコードされたVB2060ポリペプチドが上清の中でホモ二量体を形成していることを示唆する。還元条件下で約50 kDaの位置にバンドが観察された。これは、VB2060のヒンジ領域で共有ジスルフィド架橋が還元され、単量体分子が形成されたことを示す。リポフェクタミン対照レーンに観察されるバンドがないのは、検出抗体の高い特異性と低い交差反応性を示す（図56A）。

#### 【0385】

結論として、実施例3はコンストラクトがHEK293細胞の中で発現することを示しており、これは、コンストラクトが筋肉内ワクチン接種後に生体内で、すなわち筋細胞からより高いレベルで分泌されうることを示している可能性がある。

#### 【0386】

実施例4：VB10．COV2ワクシボディ DNAワクチンで免疫化したマウスにおける抗RBD免疫応答

#### 【0387】

マウスを用いたすべての実験（実施例4～8）に以下の研究設計を適用した：

#### 【0388】

雌の6～8週齢のBALB／cマウスをJanvier Labs（フランス国）から取得した。すべてのマウスをRadium Hospital（オスロ、ノルウェー国）またはオスロ大学（ノルウェー国）の動物施設に収容した。すべての動物プロトコルがNorwegian Food Safety Authority（オスロ、ノルウェー国）によって承認された。研究のため、下記の表2に記載されているようにしてマウスにDNAワクチンを接種した。ワクチンは、（無菌PBSの中にワクシボディDNAプラスミドを含む25  $\mu$ lの溶液をそれぞれの脚の）それぞれの前脛骨（TA）筋への針注射と、それに続くAgilePulse生体内電気穿孔（EP）（BTX、アメリカ合衆国）によって投与した。AgilePulse EPによる送達は、110～450ボルトの3セットのパルスからなる。第1のセットには0．2ミリ秒の遅延がある1つの50マ

10

20

30

40

50

マイクロ秒のパルスが存在し；第2のセットは50ミリ秒の遅延がある1つの50マイクロ秒のパルスであり、第3のセットは、10ミリ秒のパルスと20ミリ秒の遅延がある8つのパルスである。血清サンプル（気管支肺胞洗浄（BAL）によって肺から回収したサンプル）と脾臓を下記の表2に記載されているようにして回収した。

【0389】

【表6】

表2：マウスでの研究：ワクチン接種、頻度と用量、サンプル回収、実施例と図面の参照

| 群        | 濃度<br>[μg] | ワクチン接種<br>(日目)  | 終了<br>(日<br>目) | 血清 (日<br>目)                             | 脾臓<br>(日<br>目) | 実施例と図面                                          |
|----------|------------|-----------------|----------------|-----------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------|
| 実験1      |            |                 |                |                                         |                |                                                 |
| 低用量      | 2.5        | 0               | 14             | NA                                      | 14             | 実施例9 図73                                        |
| 低用量      | 2.5        | 0、21            | 14、28          | 0、7、14、2<br>0、28                        | 14、28          | 実施例4～8 図57<br>A、58、59、61、6<br>4、66              |
| 中用量<br>1 | 25         | 0               | 7              | NA                                      | 7              | 実施例6 図61A                                       |
| 中用量<br>2 | 25         | 0               | 14             | NA                                      | 14             | 実施例9 図73                                        |
| 中用量<br>3 | 25         | 0、21            | 14、2<br>8、90   | 0、7、14、2<br>0、28、42、<br>56、70、90        | 14、2<br>8、90   | 実施例4～6、8、9<br>図57A、58、59、<br>62、67、68、73～7<br>4 |
| 中用量<br>4 | 25         | 0、21、89         | 99             | 0、7、14、2<br>0、28、42、<br>56、70、9<br>0、99 | 99             | 実施例4～6、8 図<br>57A、58～60、62、5<br>7A、69～70        |
| 高用量<br>1 | 50         | 0               | 90、99          | 0、7、14、2<br>0、28、42、<br>56、70、9<br>0、99 | 90/99          | 実施例4～6、8 図<br>57A、58、62、57、<br>67～68            |
| 高用量<br>2 | 50         | 0、21（また<br>は89） | 28、90          | 0、7、14、2<br>0、28、42、<br>56、70、90        | 28、90          | 実施例4～6、8 図<br>57A/B、58、62、6<br>3、57、67～70       |
| 高用量<br>3 | 50         | 0、21、89         | 99             | 0、7、14、2<br>0、28、42、<br>56、70、9<br>0、99 | 99             | 実施例4～6、8 図<br>57A、58、62、57、<br>69～70            |
| 実験2      |            |                 |                |                                         |                |                                                 |
| 処置1      | 3.0        | 0、(21)          | 28+BAL         | 0、7、14、2<br>1、28                        | NA             | 図57C/D                                          |
| 処置2      | 6.25       | 0、(21)          | 28+BAL         | 0、7、14、2<br>1、28                        | NA             | 図57C/D                                          |
| 処置3      | 12.5       | 0、(21)          | 28+BAL         | 0、7、14、2<br>1、28                        | NA             | 図57C/D                                          |
| 処置4      | 25         | 0、(21)          | 28+BAL         | 0、7、14、2<br>1、28                        | NA             | 図57C/D                                          |
| 実験3      |            |                 |                |                                         |                |                                                 |
| 処置1      | 1.0        | 0               | 7+14           | 7+14                                    | 7+14           | 実施例6<br>図63                                     |
| 処置2      | 6.25       | 0               | 7+14           | 7+14                                    | 7+14           | 実施例6<br>図63                                     |
| 処置3      | 12.5       | 0               | 7+14           | 7+14                                    | 7+14           | 実施例6<br>図63                                     |
| 処置4      | 25         | 0               | 7+14           | 7+14                                    | 7+14           | 実施例6<br>図63                                     |

【0390】

実施例4の研究の目的は、VB10.COV2ワクシボディDNAワクチンを接種したときにマウスでRBDに対して誘導される液性免疫応答を、投与されるDNAワクチンの用量と投与回数関数として評価することであった。

## 【0391】

液性免疫応答を、ワクチンを接種したマウスから回収した血清の中で、血清中において SARS-CoV-2 からの RBD に結合する全 IgG を検出する ELISA アッセイによって評価した。Nunc ELISA プレートを、 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  の組み換えタンパク質抗原を含む D-PBS を用いて  $4^{\circ}\text{C}$  で一晩被覆した。プレートを、4% の BSA を含む D-PBS を用いて室温で 1 時間ブロックした。次いでプレートをマウス血清の段階希釈液とともにインキュベートした後、 $37^{\circ}\text{C}$  で 2 時間インキュベートした。プレートを 3 回洗浄し、HRP-抗マウス IgG 二次抗体 (Southern Biotech) の 1:50000 希釈液とともにインキュベートし、 $37^{\circ}\text{C}$  で 1 時間インキュベートした。最終洗浄の後、プレートを、TMB 基質 (Merck、カタログ番号 CL07-1000) を用いて現像した。プレートを 30 分以内に Multiscan GO (Thermo Fisher Scientific) を用いて  $450 \text{ nm}$  の波長で読んだ。結合抗体のエンドポイント力価を計算した。調べた結合抗原には SARS-CoV-2 抗原である RBD (Sino Biological 40592-V08H) が含まれていた。

10

## 【0392】

4 つの DNA ワクチン (VB2049、VB2060、VB2065、および VB2071) について抗 RBD IgG を誘導する能力を比較すると、VB2060 が VB2049 よりも優れていた (図 57A/B、図 57A の中の 2 つのグラフは同じデータを異なるやり方で示している)。

## 【0393】

VB2060 は、ワクチンを 1 回接種してから早くも 7 日目に；最少用量でさえ、特異的抗 RBD IgG と整合する用量-応答を示した (図 57A と 57C)。抗体レベルは 1 回投与してから 28 日目にピークに達し ( $10^5$  エンドポイント力価)、少なくとも 90 日間持続した (図 57A と 57B)。VB2060 については、応答のピークと持続性は、1 回投与群と比べて 2 回投与計画 (0 日目と 21 日目) の後にさらに増大した ( $10^6$  超のエンドポイント力価)。限定された追加の利益が、89 日目にブーストワクチン接種を受けたマウスで 99 日目に観察された (図 57A と 57B)。

20

## 【0394】

第 2 の実験により、3.0、6.25、12.5、および  $25 \mu\text{g}$  の範囲の VB2060 で用量に依存した応答が特に 7 日目に確認された (図 57C) が、すでに 14 日目にレベルがすべての用量で約  $10^5$  エンドポイント力価に到達した。

30

## 【0395】

さらに、RBD 特異的 IgG の動態を、異なる用量の VB2060 を 1 回または 2 回接種したマウスからの気管支肺胞洗浄 (BAL) で調べた (図 57D)。肺における RBD 特異的 IgG は、呼吸管感染症に対する最前線の保護としての局所的ウイルス中和に寄与する可能性がある。RBD 特異的 IgG は、最低用量でさえ、調べた最も早い時点 (14 日目) で BAL の中に見いだされた。レベルは用量および時間経過とともに上昇した。

## 【0396】

VB2065 と VB2071 (スパイクタンパク質) も RBD に対して強力な IgG 応答を誘導したが、RBD に基づくコンストラクト VB2060 よりも弱いように見えた (図 57B)。この知見は、ワクチンタンパク質の分泌がより少ないことでおそらく説明することができる (図 54 参照)。抗マウス MHC II scFv ターゲティングを有する VB2059 (長い RBD) と VB2071 (スパイクタンパク質) も RBD に対する強力な IgG 応答を誘導した。しかしこれらは、MIP1 $\alpha$  が標的とする RBD に基づくコンストラクト VB2060 よりも弱いように見えた (図 57B と 57E)。VB2059 は、1 回だけのワクチン接種から早くも 7 日目に；最低用量でさえ、特異的抗 RBD IgG を伴う一貫性のある用量-応答を示した (図 57E)。しかし抗体レベルは VB2060 と比べてより遅い時点でピークに達し、より低い応答であった (56 日目、 $10^5$  エンドポイント力価) (図 57A と 57E)。この知見は、MIP1 $\alpha$  ターゲティングユニットが、そのようなターゲティングユニットを含む VB10. COV2 ワクチン

40

50

を用いて迅速で長く続く高レベルの抗RBD抗体を誘導することに関して抗マウスMHCI IscFvターゲティングよりも優れていることを明らかに示している。

【0397】

予測されるT細胞エピトープと長いRBDドメインの組み合わせを抗原ユニットに含有するコンストラクトについては、コンストラクトVB2097（3つのエピトープ+GSATリンカー）とVB2099（3つのエピトープ+SEGリンカー）が、他のリンカーを持っていて3つのエピトープを含むコンストラクトよりもRBDに対してより強いIgG応答を誘導した（図57F）。1つのエピトープを有するコンストラクトについては、VB2082とVB2087（pep18を含む）が、pep08エピトープを含むコンストラクト（VB2081）と比べてより強い抗RBD IgG応答を誘導した（図57F）。これらの知見は、ワクチンタンパク質の分泌がより少ないことでおそらく説明することができる（図55C参照）。予測されるT細胞エピトープと長いRBDの組み合わせを含有する最良のコンストラクトVB2097とVB2087は、長いRBDだけを含むVB2060（図57Aと57B）と比べて同様の免疫応答を誘導する。

【0398】

3つの南アフリカバリエーションを有する長いRBDドメインを含有するVB10. COV2 DNAワクチンであるVB2129は、1回だけの接種から早くも7日目に；低い用量でさえ、特異的抗RBD IgGを示した（図57G）。抗体のレベルは、すべての用量で14日目までにさらに上昇した（ $10^4$ エンドポイント力価）。

【0399】

2つのプラスミドVB2048とVB2049を、 $12.5 \mu\text{g}$ の各プラスミドを1つに組み合わせたDNAワクチン溶液にしてマウスに同時に接種したとき、データは、強力な抗RBD IgG応答がすでに14日目に誘導されることを示している（図57H）。

【0400】

実施例5：VB10. COV2ワクシボディDNAワクチンはマウスで強力な中和抗体応答を誘導する

【0401】

この研究の目的は、VB10. COV2ワクシボディDNAコンストラクトVB2049、VB2060、およびVB2065を接種したとき、生きているSARS-CoV-2ウイルスに対してマウスの中で誘導される中和抗体応答の程度を、マウスに与えるDNAワクチンの用量と投与回数関数として評価することであった。

【0402】

生存ウイルスマイクロ中和アッセイ（MNA）を、Folegatti et al., Lancet 396（10249）, 2020, 467-478に記載されているようにしてPublic Health England（ポートン・ダウン、連合王国）で実施した。中和ウイルス力価を、熱で不活化した（ $56^\circ\text{C}$ で30分間）血清サンプルの中で測定した。希釈したSARS-CoV-2（Australia/VIC01/20202）を96ウエルのV底プレートの中の1% FCS/MEMの中で2倍血清希釈液と50:50で混合し、湿潤な箱の中で $37^\circ\text{C}$ にて1時間インキュベートした。次いでこのウイルス/血清混合物を96ウエルの平底プレートの中の洗浄したVero E6（EACC 85020206）細胞単層に移し、 $37^\circ\text{C}$ でさらに1時間吸着できるようにした後、ウイルス接種源を除去し、オーバーレイ（1% w/v CMCを含む完全培地）で置換した。箱を再度密封し、24時間インキュベートした後、PBSの中の8%（w/v）ホルムアルデヒド溶液で固定した。SARS-CoV-2 RBDスパイクタンパク質に対して特異的なSARS-CoV-2抗体とウサギHRP複合体を用いてマイクロブランクを検出し、TrueBlue™基質を用いて感染した病巣を検出した。染色されたマイクロブランクをImmunoSpot（登録商標）S6 Ultra-V Analyzerを用いてカウントし、得られたカウント数をSoftMax Pro v7.0ソフトウェアで分析した。国際基準20/130（回復したヒト血漿からのヒト抗SARS-CoV-2抗体、NIBSC、連合王国）を比較のため陽性対照として使用

10

20

30

40

50

した。

【0403】

VB10. COV2 ワクチンボディ DNA コンストラクト VB2049、VB2060、および VB2065 を接種したマウスからの血清は評価された生存ウイルス中和アッセイであり、中和抗体応答がすべてのコンストラクトで見られた。

【0404】

用量に依存した応答が観察され、28日目に顕著な中和活性を誘導するのに低用量の VB2060 (2.5  $\mu$ g) で十分であった。また、1回だけの高用量の VB2060 (50  $\mu$ g) は7日目にすでに中和活性を誘導することができて28日目にピークに達し、90日目の時点で減衰する兆候がなく、回復した COVID-19 患者からの回復血漿 (NIBSC 基準 20/130) で観察されたのと同様かより高いレベルであった。用量とは独立に、最強の応答が (89日目のブーストの後である) 99日目に観察された。これは、VB2060 を用いた長く持続する中和抗体応答の誘導を示す。

10

【0405】

25 または 50  $\mu$ g の VB2049 の2回と3回の投与は90日目と99日目に中レベルの中和抗体応答を誘導し、50  $\mu$ g の VB2065 の2回の投与は同様に28日目に中レベルの中和抗体応答を誘導した。

【0406】

第2の実験により、3.0、6.25、12.5、および25  $\mu$ g の範囲の VB2060 で用量に依存した応答が特に7日目に確認された (図58B) が、すでに14日目にレベルがすべての用量で約  $10^3$  エンドポイント力価に到達した。この実験では、最高用量の VB2060 (25  $\mu$ g) での1回のワクチン接種によりすでに7日目に強力な中和活性を誘導することができ、28日目 (ブーストなし) にピークに達し、回復した COVID-19 患者からの回復血漿 (NIBSC 基準 20/130) で観察されたレベルと同様かより高いレベルであった。

20

【0407】

上記の結果から、VB2060 は、わずか1回の投与でさえ迅速で高レベルの中和抗体を誘導する点で VB2065 および VB2049 よりも優れているように見える。結果は、VB2060 が、ワクチン接種後の7日目にすでにウイルス中和活性を誘導できる強力な DNA ワクチンであることを示している (図58)。

30

【0408】

実施例6: VB10. COV2 ワクチンボディ DNA ワクチンを用いたワクチン接種後の T 細胞応答の大きさと特異性の評価

【0409】

この研究の目的は、VB10. COV2 ワクチンボディ DNA コンストラクトを接種したマウスからの脾臓細胞の中の RBD/スパイクに対する細胞性免疫応答を、用量と投与回数関数の関数として評価することであった。ワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞を、RBD/スパイク特異的細胞応答を検出する IFN- $\gamma$  ELISpot アッセイで分析した。簡単に述べると、マウスを表2に示されている日に安楽死させ、脾臓を無菌で回収した。脾臓をすりつぶし、細胞懸濁液を  $1 \times$  ACK バッファとともにインキュベートし、洗浄し、 $6 \times 10^6$  個の細胞という細胞濃度で再懸濁させた。いくつかの実験において、Dynabead (カタログ番号 11447D または 11445D; Thermo Fisher Scientific) 磁性ビーズシステムを製造者が推奨する手続きに従って用い、CD4+ T 細胞または CD8+ T 細胞の集団を全脾臓細胞集団から枯渇させた。次いで ELISpot アッセイのため細胞を完全培地の中に  $6 \times 10^6$  個の細胞/ml の割合で再懸濁させた。枯渇はフローサイトメトリー分析によって確認した。さらに、細胞を三連で播種し ( $6 \times 10^5$  個の細胞/ウェル)、2  $\mu$ g/ml の RBD/スパイクプール (下記の表3と4) または個々のペプチド (RBD 全体にわたって12個のアミノ酸が重複した15量体ペプチド (合計で61個のペプチド)、またはスパイクタンパク質全体にわたって12個のアミノ酸が重複した15量体ペプチド (合計で296個のペプ

40

50

チド) ) で 2 4 時間刺激した。ペプチド刺激なしを陰性対照として使用した。刺激された脾臓細胞を I F N - γ E L I S p o t P l u s キット ( M a b t e c h A B、スウェーデン国) を用いて分析して I F N - γ 応答を探した。スポット形成細胞を C e l l u l a r T e c h n o l o g y からの I m m u n o S p o t 5 . 0 . 3 という C T L E L I S p o t リーダーで測定した。結果は、 s I F N - γ + スポットの平均数 / 1 0 <sup>6</sup> 個の脾臓細胞として示される。

【 0 4 1 0 】

【表 7】

表 3：RBD プールとペプチド

| プール ID    | 組成                                   |
|-----------|--------------------------------------|
| RBD プール 1 | RBD 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10             |
| RBD プール 2 | RBD 11、12、13、14、15、16、17、18、19、24    |
| RBD プール 3 | RBD 20、21、22、23、25、26、27、28、29、30    |
| RBD プール 4 | RBD 31、32、33、34、35、36、37、38、39、40    |
| RBD プール 5 | RBD 41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51 |
| RBD プール 6 | RBD 52、53、54、55、56、57、58、59、60、61    |

【 0 4 1 1 】

【表 8】

| RBD ペプチド番号／配列番号 | 配列               | RBD ペプチド番号／配列番号 | 配列               |
|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| 1/445           | NITNLCPFGEVFNAT  | 32/476          | KLPDDFTGCVIAWNS  |
| 2/446           | NLCPPFGEVFNATRFA | 33/477          | DDFTGCVIAWNSNNL  |
| 3/447           | PFGEVFNATRFASVY  | 34/478          | TGCVIAWNSNNLDSK  |
| 4/448           | EVFNATRFASVYAWN  | 35/479          | VIAWNSNNLDSKVGG  |
| 5/449           | NATRFASVYAWNRKR  | 36/480          | WNSNNLDSKVGGNYN  |
| 6/450           | RFASVYAWNRKRISN  | 37/481          | NNLDSKVGGNYNYLY  |
| 7/451           | SVYAWNRKRISNCVA  | 38/482          | DSKVGGNYNYLYRLF  |
| 8/452           | AWNRKRISNCVADYS  | 39/483          | VGGNYNYLYRLFRKS  |
| 9/453           | RKRISNCVADYSVLY  | 40/484          | NYNYLYRLFRKSNLK  |
| 10/454          | ISNCVADYSVLYNSA  | 41/485          | YLYRLFRKSNLKPFE  |
| 11/455          | CVADYSVLYNSASF   | 42/486          | RLFRKSNLKPFERDI  |
| 12/456          | DYSVLYNSASFSTFK  | 43/487          | RKSNLKPFERDISTE  |
| 13/457          | VLYNSASFSTFKCYG  | 44/488          | NLKPFERDISTEIQ   |
| 14/458          | NSASFSTFKCYGVSP  | 45/489          | PFERDISTEIQAGS   |
| 15/459          | SFSTFKCYGVSPTKL  | 46/490          | RDISTEIQAGSTPC   |
| 16/460          | TFKCYGVSPTKLNDL  | 47/491          | STEIQAGSTPCNGV   |
| 17/461          | CYGVSPTKLNDLCFT  | 48/492          | IYQAGSTPCNGVEGF  |
| 18/462          | VSPTKLNDLCFTNVY  | 49/493          | AGSTPCNGVEGFNCY  |
| 19/463          | TKLNDLCFTNVYADS  | 50/494          | TPCNGVEGFNCYFPL  |
| 20/464          | NDLCFTNVYADSFVI  | 51/495          | NGVEGFNCYFPLQSY  |
| 21/465          | CFTNVYADSFVIRGD  | 52/496          | EGFNCYFPLQSYGFQ  |
| 22/466          | NVYADSFVIRGDEVR  | 53/497          | NCYFPLQSYGFQPTN  |
| 23/467          | ADSFVIRGDEVRQIA  | 54/498          | FPLQSYGFQPTNGVG  |
| 24/468          | FVIRGDEVRQIAPGQ  | 55/499          | QSYGFQPTNGVGYQP  |
| 25/469          | RGDEVRQIAPGQTGK  | 56/500          | GFQPTNGVGYQPYRV  |
| 26/470          | EVRQIAPGQTGKIAD  | 57/501          | PTNGVGYQPYRVVVL  |
| 27/471          | QIAPGQTGKIADYNY  | 58/502          | GVGYQPYRVVVLSE   |
| 28/472          | PGQTGKIADYNYKLP  | 59/503          | YQPYRVVVLSEFELLH |
| 29/473          | TGKIADYNYKLPDDF  | 60/504          | YRVVVLSEFELLHAPA |
| 30/474          | IADYNYKLPDDFTGC  | 61/505          | VVLSFELLHAPAT    |
| 31/475          | YNYKLPDDFTGCVIA  |                 |                  |

【 0 4 1 2 】

10

20

30

40

50

## 【表 9】

表 4：スパイクプールとペプチド

| プール ID     | 組成                                           |
|------------|----------------------------------------------|
| スパイクプール 1  | ペプチド 1～12                                    |
| スパイクプール 2  | ペプチド 13～24                                   |
| スパイクプール 3  | ペプチド 25～35、37                                |
| スパイクプール 4  | ペプチド 38～49                                   |
| スパイクプール 5  | ペプチド 50～61                                   |
| スパイクプール 6  | ペプチド 62～73                                   |
| スパイクプール 7  | ペプチド 74～80、82～84、87、88                       |
| スパイクプール 8  | ペプチド 85、86、89～93、98～101、108                  |
| スパイクプール 9  | ペプチド 94～97、102～105、109～112                   |
| スパイクプール 10 | ペプチド 106、107、113～122                         |
| スパイクプール 11 | ペプチド 123～134                                 |
| スパイクプール 12 | ペプチド 135～146                                 |
| スパイクプール 13 | ペプチド 147～156、159～161                         |
| スパイクプール 14 | ペプチド 156～158、162～169、172                     |
| スパイクプール 15 | ペプチド 170、171、173、174、177～180、186、188、189、191 |
| スパイクプール 16 | ペプチド 175、176、181、182、193～195、197～200         |
| スパイクプール 17 | ペプチド 183～185、187、190、192、201～206             |
| スパイクプール 18 | ペプチド 196、207～217                             |
| スパイクプール 19 | ペプチド 218～230                                 |
| スパイクプール 20 | ペプチド 231～238、240～242、244、245                 |
| スパイクプール 21 | ペプチド 23、243、246～256                          |
| スパイクプール 22 | ペプチド 257～269                                 |
| スパイクプール 23 | ペプチド 270～276、278、280～283                     |
| スパイクプール 24 | ペプチド 284～287、289～296                         |

10

20

30

## 【0 4 1 3】

40

50

【表 10 - 1】

| ペプチド番号<br>／配列番号 | 配列              | ペプチド番号<br>／配列番号 | 配列               |
|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| 1/506           | VNLTTTRQLPPAYTN | 149/654         | VAVLYQDVNCTEVPV  |
| 2/507           | TRTQLPPAYTNSFTR | 150/655         | YQDVNCTEVPVAIHA  |
| 3/508           | LPPAYTNSFTRGVYY | 151/656         | NCTEVPVAIHADQLT  |
| 4/509           | YTNSFTRGVYYPDKV | 152/657         | VPVAIHADQLTPTWR  |
| 5/510           | FTRGVYYPDKVFRSS | 153/658         | IHADQLTPTWRVYST  |
| 6/511           | VYYPDKVFRSSVLHS | 154/659         | QLTPTWRVYSTGSNV  |
| 7/512           | DKVFRSSVLHSTQDL | 155/660         | TWRVYSTGSNVFQTR  |
| 8/513           | RSSVLHSTQDLFLPF | 156/661         | YSTGSNVFQTRAGCL  |
| 9/514           | LHSTQDLFLPFSSNV | 157/662         | SNVFQTRAGCLIGAE  |
| 10/515          | QDLFLPFSSNVTFWH | 158/663         | QTRAGCLIGAEHVNN  |
| 11/516          | LPFFSNVTFWHAIHV | 159/664         | GCLIGAEHVNNSEYEC |
| 12/517          | SNVTFWHAIHVSGTN | 160/665         | GAEHVNNSEYECDIPI |
| 13/518          | WFHAIHVSGTNGTKR | 161/666         | VNNSEYECDIPIGAGI |
| 14/519          | IHVSGTNGTKRFDNP | 162/667         | YECDIPIGAGICASY  |
| 15/520          | GTNGTKRFDNPVLPF | 163/668         | IPIGAGICASYQTQT  |
| 16/521          | TKRFDNPVLPFNDGV | 164/669         | AGICASYQTQTNspr  |
| 17/522          | DNPVLPFNDGVYFAS | 165/670         | ASYQTQTNsprRARS  |
| 18/523          | LPFNDGVYFASTEKS | 166/671         | TQTNsprRARSVASQ  |
| 19/524          | DGVYFASTEKSNIIR | 167/672         | SPRRARSVASQSIIA  |
| 20/525          | FASTEKSNIIRGWIF | 168/673         | ARSVASQSIIAYTMS  |
| 21/526          | EKSNIIRGWIFGTTL | 169/674         | ASQSIIAYTMSLGAE  |
| 22/527          | IIRGWIFGTTLDSKT | 170/675         | IIAYTMSLGAENSV   |
| 23/528          | WIFGTTLDSKTQSL  | 171/676         | TMSLGAENSVAYSNN  |
| 24/529          | TTLDSKTQSLLIVNN | 172/677         | GAENSVAYSNNIAI   |
| 25/530          | SKTQSLLIVNNATNV | 173/678         | SVAYSNNIAIPTNF   |
| 26/531          | SLLIVNNATNVVIKV | 174/679         | SNNIAIPTNFTISV   |
| 27/532          | VNNATNVVIKVCEFQ | 175/680         | IAIPTNFTISVTTEI  |
| 28/533          | TNVVIKVCEFQFCND | 176/681         | TNFTISVTTEILPVS  |
| 29/534          | IKVCEFQFCNDPFLG | 177/682         | ISVTTEILPVSMTKT  |
| 30/535          | EFQFCNDPFLGVYYH | 178/683         | TEILPVSMTKTSVDC  |
| 31/536          | CNDPFLGVYYHKNNK | 179/684         | PVSMTKTSVDCTMYI  |
| 32/537          | FLGVYYHKNNKSWME | 180/685         | TKTSVDCTMYICGDS  |
| 33/538          | YYHKNNKSWMESEFR | 181/686         | VDCTMYICGDSTEC   |
| 34/539          | NNKSWMESEFRVYSS | 182/687         | MYICGDSTECNLLL   |
| 35/540          | WMESEFRVYSSANNC | 183/688         | GDSTECNLLLQYGS   |
| 36/541          | EFRVYSSANNTFEY  | 184/689         | ECSNLLLQYGSFCTQ  |
| 37/542          | YSSANNTFEYVSQP  | 185/690         | LLLQYGSFCTQLNRA  |
| 38/543          | NNCTFEYVSQPFLMD | 186/691         | YGSFCTQLNRALTGI  |
| 39/544          | FEYVSQPFLMDLEGK | 187/692         | CTQLNRALTGIAVEQ  |
| 40/545          | SQPFLMDLEGKQGNF | 188/693         | NRALTGIAVEQDKNT  |
| 41/546          | LMDLEGKQGNFKNLR | 189/694         | TGIAVEQDKNTQEVF  |
| 42/547          | EGKQGNFKNLREFVF | 190/695         | VEQDKNTQEVFAQVK  |
| 43/548          | GNFKNLREFVFNID  | 191/696         | KNTQEVFAQVKIYK   |
| 44/549          | NLREFVFNIDGYFK  | 192/697         | EVFAQVKIYKTPPI   |

10

20

30

40

50

【表 10 - 2】

|        |                  |         |                 |
|--------|------------------|---------|-----------------|
| 45/550 | FVFNIDGYFKIYSK   | 193/698 | QVKQIYKTPPIKDFG |
| 46/551 | NIDGYFKIYSKHTPI  | 194/699 | IYKTPPIKDFGGFNF |
| 47/552 | YFKIYSKHTPINLVR  | 195/700 | PPIKDFGGFNFSQIL |
| 48/553 | YSKHTPINLVRDLPQ  | 196/701 | DFGGFNFSQILPDPS |
| 49/554 | TPINLVRDLPQGSA   | 197/702 | FNFSQILPDPSKPSK |
| 50/555 | LVRDLPQGFSALEPL  | 198/703 | QILPDPSKPSKRSFI |
| 51/556 | LPQGFSALEPLVDLP  | 199/704 | DPSKPSKRSFIEDLL |
| 52/557 | FSALEPLVDLPIGIN  | 200/705 | PSKRSFIEDLLFNKV |
| 53/558 | EPLVDLPIGINITRF  | 201/706 | SFIEDLLFNKVTLAD |
| 54/559 | DLPIGINITRFQTLL  | 202/707 | DLLFNKVTLADAGFI |
| 55/560 | GINITRFQTLLALHR  | 203/708 | NKVTLADAGFIKQYG |
| 56/561 | TRFQTLLALHRSYLT  | 204/709 | LADAGFIKQYGDCLG |
| 57/562 | TLALHRSYLTTPGDS  | 205/710 | GFIKQYGDCLGDIAA |
| 58/563 | LHRSYLTTPGDSSSGW | 206/711 | QYGDCLGDIAARDLI |
| 59/564 | YLTTPGDSSSGWTAGA | 207/712 | CLGDIAARDLICAQK |
| 60/565 | GDSSSGWTAGAAAYY  | 208/713 | IAARDLICAQKFNGL |
| 61/566 | SGWTAGAAAYYVGYL  | 209/714 | DLICAQKFNGLTVLP |
| 62/567 | AGAAAYYVGYLQPR   | 210/715 | AQKFNGLTVLPPLT  |
| 63/568 | AYYVGYLQPRFLLK   | 211/716 | NGLTVLPPLTDEMI  |
| 64/569 | GYLQPRFLLKYNEN   | 212/717 | VLPPLTDEMIAQYT  |
| 65/570 | PRTFLLKYNENGTIT  | 213/718 | LLTDEMIAQYTSALL |
| 66/571 | LLKYNENGTITDAVD  | 214/719 | EMIAQYTSALLAGTI |
| 67/572 | NENGTITDAVDCALD  | 215/720 | QYTSALLAGTITSGW |
| 68/573 | TITDAVDCALDPLSE  | 216/721 | ALLAGTITSGWTFGA |
| 69/574 | AVDCALDPLSETKCT  | 217/722 | GTITSGWTFGAGAAL |
| 70/575 | ALDPLSETKCTLKSF  | 218/723 | SGWTFGAGAALQIPF |
| 71/576 | LSETKCTLKSFVEK   | 219/724 | FGAGAALQIPFAMQM |
| 72/577 | KCTLKSFVEKGIYQ   | 220/725 | AALQIPFAMQMAYRF |
| 73/578 | KSFTVEKGIYQTSNF  | 221/726 | IPFAMQMAYRFNGIG |
| 74/579 | VEKGIYQTSNFRVQP  | 222/727 | MQMAYRFNGIGVTQN |
| 75/580 | IYQTSNFRVQPTESI  | 223/728 | YRFNGIGVTQNVLYE |
| 76/581 | SNFRVQPTESIVRFP  | 224/729 | GIGVTQNVLYENQKL |
| 77/582 | VQPTESIVRFPNITN  | 225/730 | TQNVLYENQKLIANQ |
| 78/583 | ESIVRFPNITNLCPF  | 226/731 | LYENQKLIANQFNSA |
| 79/584 | RFPNITNLCPFGEVF  | 227/732 | QKLIANQFNSAIGKI |
| 80/585 | ITNLCPFGEVFNATR  | 228/733 | ANQFNSAIGKIQDSL |
| 81/586 | CPFGEVFNATRFASV  | 229/734 | NSAIGKIQDSLSTAS |
| 82/587 | EVFNATRFASVYAWN  | 230/735 | GKIQDSLSTASALG  |
| 83/588 | ATRFASVYAWNKRRI  | 231/736 | DSLSTASALGKLQD  |
| 84/589 | ASVYAWNKRISNCV   | 232/737 | STASALGKLQDVVNQ |
| 85/590 | AWNKRISNCVADYS   | 233/738 | ALGKLQDVVNQNAQA |
| 86/591 | KRISNCVADYSVLYN  | 234/739 | LQDVVNQNAQALNTL |
| 87/592 | NCVADYSVLYNSASF  | 235/740 | VNQNALNTLVKQL   |
| 88/593 | DYSVLYNSASFSTFK  | 236/741 | AQALNTLVKQLSSNF |
| 89/594 | LYNSASFSTFKCYGV  | 237/742 | NTLVKQLSSNFGAIS |
| 90/595 | ASFSTFKCYGVSPTK  | 238/743 | KQLSSNFGAISSVLN |
| 91/596 | TFKCYGVSPTKLNDL  | 239/744 | SNFGAISSVLNDILS |
| 92/597 | YGVSPTKLNDLCFTN  | 240/745 | AISSVLNDILSRLDK |

10

20

30

40

50

【表 10 - 3】

|         |                  |         |                  |
|---------|------------------|---------|------------------|
| 93/598  | PTKLNLCFTNVYAD   | 241/746 | VLNDILSRLDKVEAE  |
| 94/599  | NLCFTNVYADSFVI   | 242/747 | ILSRLDKVEAEVQID  |
| 95/600  | FTNVYADSFVIRGDE  | 243/748 | LDKVEAEVQIDRLIT  |
| 96/601  | YADSFVIRGDEVQRQI | 244/749 | EAEVQIDRLITGRLQ  |
| 97/602  | FVIRGDEVQRQIAPGQ | 245/750 | QIDRLITGRLQSLQT  |
| 98/603  | GDEVQRQIAPGQTGKI | 246/751 | LITGRLQSLQTYVTQ  |
| 99/604  | RQIAPGQTGKIADYN  | 247/752 | RLQSLQTYVTQQLIR  |
| 100/605 | PGQTGKIADYNYKLP  | 248/753 | LQTYVTQQLIRAAEI  |
| 101/606 | GKIADYNYKLPPDFT  | 249/754 | VTQQLIRAAEIRASA  |
| 102/607 | DYNYKLPPDFTGCVI  | 250/755 | LIRAAEIRASANLAA  |
| 103/608 | KLPDFTGCVIAWNS   | 251/756 | AEIRASANLAATKMS  |
| 104/609 | DFTGCVIAWNSNNLD  | 252/757 | ASANLAATKMSECVL  |
| 105/610 | CVIAWNSNNLDSKVG  | 253/758 | LAATKMSECVLGQSK  |
| 106/611 | WNSNNLDSKVGNYN   | 254/759 | KMSECVLGQSKRVDF  |
| 107/612 | NLDSKVGNYNYLYR   | 255/760 | CVLGQSKRVDFCGKG  |
| 108/613 | KVGNYNYLYRLFRK   | 256/761 | QSKRVDFCGKGYHLM  |
| 109/614 | NYNYLYRLFRKSNLK  | 257/762 | VDFCGKGYHLMSPFPQ |
| 110/615 | LYRLFRKSNLKPFER  | 258/763 | GKGYHLMSPFQSAPH  |
| 111/616 | FRKSNLKPFERDIST  | 259/764 | HLMSFPQSAPHGVVF  |
| 112/617 | NLKPFERDISTEIYQ  | 260/765 | FPQSAPHGVVFLHVT  |
| 113/618 | FERDISTEIYQAGST  | 261/766 | APHGVVFLHVTYVPA  |
| 114/619 | ISTEIYQAGSTPCNG  | 262/767 | VVFLHVTYVPAQEKD  |
| 115/620 | IYQAGSTPCNGVEGF  | 263/768 | HVTYVPAQEKDFTTA  |
| 116/621 | GSTPCNGVEGFNCYF  | 264/769 | VPAQEKDFTTAPAIC  |
| 117/622 | CNGVEGFNCYFPLQS  | 265/770 | EKNFTTAPAICHDKG  |
| 118/623 | EGFNCYFPLQSYGFQ  | 266/771 | TTAPAICHDKGAHFP  |
| 119/624 | CYFPLQSYGFQPTNG  | 267/772 | AICHDKGAHFPREGV  |
| 120/625 | LQSYGFQPTNGVGYQ  | 268/773 | DGKAHFPREGVVFVS  |
| 121/626 | GFQPTNGVGYQPYRV  | 269/774 | HFPREGVVFVSNHGW  |
| 122/627 | TNGVGYQPYRVVLS   | 270/775 | EGVFVSNHGWVFTQ   |
| 123/628 | GYQPYRVVLSFELL   | 271/776 | VSNHGWVFTQRFNY   |
| 124/629 | YRVVLSFELLHAPA   | 272/777 | THWVFTQRFNYEPQI  |
| 125/630 | VLSFELLHAPATVCG  | 273/778 | VTQRFNYEPQIITTD  |
| 126/631 | ELLHAPATVCGPKKS  | 274/779 | NFYEPQIITTDNTFV  |
| 127/632 | APATVCGPKKSTNLV  | 275/780 | PQIITTDNTFVSGNC  |
| 128/633 | VCGPKKSTNLVKNC   | 276/781 | TTDNTFVSGNCDVVI  |
| 129/634 | KKSTNLVKNCVNFN   | 277/782 | TFVSGNCDVVIIVN   |
| 130/635 | NLVKNCVNFNFNGL   | 278/783 | GNCDVVIIVNNTVY   |
| 131/636 | NKCVNFNFNGLTGTG  | 279/784 | VVIGIVNNTVYDPLQ  |
| 132/637 | NFNFNGLTGTGVLTE  | 280/785 | IVNNTVYDPLQPELD  |
| 133/638 | NGLTGTGVLTESNKK  | 281/786 | TVYDPLQPELDSFKE  |
| 134/639 | GTGVLTESNKKFLPF  | 282/787 | PLQPELDSFKEELDK  |
| 135/640 | LTESNKKFLPFQQFG  | 283/788 | ELDSFKEELDKYFKN  |
| 136/641 | NKKFLPFQQFGRDIA  | 284/789 | FKEELDKYFKNHTSP  |
| 137/642 | LPFQQFGRDIADTTD  | 285/790 | LDKYFKNHTSPDVL   |
| 138/643 | QFGRDIADTTDAVRD  | 286/791 | FKNHTSPDVLGDIS   |
| 139/644 | DIADTTDAVRDPQTL  | 287/792 | TSPDVLGDISGINA   |
| 140/645 | TTDAVRDPQTLEILD  | 288/793 | VDLGDISGINASVVN  |

10

20

30

40

50

【表 10-4】

|         |                 |         |                 |
|---------|-----------------|---------|-----------------|
| 141/646 | VRDPQTLEILDITPC | 289/794 | DISGINASVVNIQKE |
| 142/647 | QTLEILDITPCSFGG | 290/795 | INASVVNIQKEIDRL |
| 143/648 | ILDITPCSFGGVSVI | 291/796 | VVNIQKEIDRLNEVA |
| 144/649 | TPCSFGGVSVITPGT | 292/797 | QKEIDRLNEVAKNLN |
| 145/650 | FGGVSVITPGTNTSN | 293/798 | DRLNEVAKNLNESLI |
| 146/651 | SVITPGTNTSNQVAV | 294/799 | EVAKNLNESLIDLQE |
| 147/652 | PGTNTSNQVAVLYQD | 295/800 | NLNESLIDLQELGKY |
| 148/653 | TSNQVAVLYQDVNCT | 296/801 | SLIDLQELGKYEQYI |

10

## 【0414】

結局、VB10. COV2 コンストラクトはすべて、ワクチン接種後に用量に依存する強力なT細胞応答を誘導し、それが時間経過とともに増大した。応答はCD8<sup>+</sup> T細胞に支配されており、有意だがより弱いCD4<sup>+</sup> T細胞応答を伴っていた。

## 【0415】

SARS-CoV-2のRBDドメインに対する強力なT細胞応答が、2.5 μgまたは25 μgのVB2049の両方について、1回または2回接種したマウスからの脾臓で検出された（図59）。用量レベルと投与回数に応じ、応答は、1回目の投与の2週間後、または21日目のブーストワクチン接種後の最初の週に採取してRBDに広がる6つのペプチドプールで別々に刺激した脾臓細胞において、10<sup>6</sup>個の細胞につき約1800~6000 SFUの範囲であった。応答は、低用量（2.5 μgのDNA）でさえ1回目のワクチン接種の14日後にすでに強力であり、21日目に2回目のワクチン接種を受けた群では28日目までに（用量に依存して）増強された（図59）。

20

## 【0416】

CD4<sup>+</sup> T細胞集団またはCD8<sup>+</sup> T細胞集団のいずれかが枯渇した脾臓細胞の中で12個のアミノ酸が重複する個々の15量体を用いて刺激することにより、T細胞によって認識されるエピトープを特徴づけた。9つのペプチドに対する強力な（約4000 SFUまで/10<sup>6</sup>個の細胞）CD8<sup>+</sup> T細胞応答が観察された。RBD特異的CD4<sup>+</sup> 応答も7つのペプチドに対して検出されたが、大きさがより小さく、より少数のエピトープであった（約1000 SFUまで/10<sup>6</sup>個の細胞）（図60Aと60B）。重複するペプチドのアミノ酸配列は、RBDの中の4つの異なるMHCクラスI制限エピトープと3つのMHCクラスII制限エピトープに対する反応性を示した（図60C）。

30

## 【0417】

VB2060の1回の投与（0日目）または2回の迅速な投与（0日目+7日目）によって誘導される初期T細胞応答の動態を調べた。1×25 μgのVB2060を用いたワクチン接種は7日目という初期にT細胞応答を誘導し（10<sup>6</sup>個の脾臓細胞につき約550スポット）、14日目に応答がピークに達した（10<sup>6</sup>個の脾臓細胞につき約2750スポット）。7日目の追加のブーストワクチン接種は、1回だけ投与するワクチン計画と比べてT細胞応答を増大させなかった（図61A）。別の1つの実験では、T細胞応答が50 μgのVB2060を接種した後の少なくとも90日間にわたって持続することが相変わらず見いだされ（約5000 SFU/10<sup>6</sup>個の脾臓細胞）、89日目のブースト投与の10日後である99日目に強力なブースト効果があった（約20000 SFU/10<sup>6</sup>個の脾臓細胞）（図62）。21日目にVB2060、VB2049、またはVB2059のいずれかをブーストワクチン接種した7日後に2.5 μgを2回投与することによるT細胞応答を比較したとき、VB2049はVB2060よりも強い応答を誘導し、VB2059よりも有意に強い応答を誘導した（それぞれ、約3800対 約2600 SFU/10<sup>6</sup>個の細胞 対 約1000 SFU/10<sup>6</sup>個の細胞）（図61B）。この知見は、MIP1αターゲティングユニット（VB2049とVB2060）が、そのようなターゲティングユニットを含むVB10. COV2ワクチンを用いて高レベ

40

50

ルのRBD特異的T細胞応答を誘導することに関して抗マウスMHCIIs cFvターゲットユニット(VB2059)よりも優れていることを明らかに示している。

【0418】

IFN- $\gamma$  ELISpotアッセイを、スパイクタンパク質を含有するDNAワクチンVB2065とVB2071を接種したマウスからの新鮮な脾臓細胞で実施し、ワクチン投与T細胞応答効果を評価した。予想通り、VB2065とVB2071の両方が、抗原がより大きいという理由で、VB2049、VB2060、およびVB2059よりも広くて強い全T細胞応答を誘導した(図63)。マウスを28日目、すなわち21日目のブーストワクチン接種の7日後に安楽死させた。脾臓を回収し、脾臓細胞を単離した後にスパイクペプチドプールで刺激した。ビーズを用いて全脾臓細胞集団の中でCD4細胞とCD8細胞の集団を枯渇させ、特異的なCD8+ RBD特異的免疫応答とCD4+ RBD特異的免疫応答を評価した。VB2065とVB2071の両方ともCD8+が優位な強力なT細胞応答を誘導し、広くてより弱いCD4+応答が付随していた。

10

【0419】

南アフリカウイルスバリエーションからの3つの変異を有する長いRBDドメインを含有するVB2129の単回のワクチン接種によって誘導される用量に依存した初期T細胞応答の動態を調べた。1×1.0、6.25、12.5、または25  $\mu$ gのVB2129の接種によってT細胞応答が低用量で早くも7日目に誘導され(6.25  $\mu$ gの用量で10<sup>6</sup>個の脾臓細胞につき約500スポット)、14日目までに応答が有意に増加した(25  $\mu$ gの用量で10<sup>6</sup>個の脾臓細胞につき約2750スポット)(図63B)。この実験におけるデータは、同様の実験におけるVB2060のデータと同等である(図61)。

20

【0420】

実施例7: VB10. COV2 DNAワクチンはマウスにおいてRBD/スパイクタンパク質に対するTh1応答を優位に誘導する

【0421】

この研究の目的は、VB10. COV2 DNAワクチンを2回投与した後にマウスで誘導される細胞応答のTh1/2プロファイルを分析することであった。

【0422】

マウスに2.5  $\mu$ gのVB10. COV2ワクシボディDNAコンストラクトVB2049、VB2059、およびVB2060を2回、または50  $\mu$ gのVB2065とVB2071を2回、0日目と21日目に接種し、初回のワクチン接種の28日後に安楽死させた。脾臓を無菌で取り出し、すりつぶして脾臓細胞を含む細胞上清を取得した後、1×ACKバッファを用いて赤血球を除去した。次いで脾臓細胞を洗浄し、播種し(24ウエルのプレートに1.5×10<sup>6</sup>個の細胞/ウエル)、2  $\mu$ g/mLのRBDペプチドプールまたは選択されたスパイクペプチドプールで24時間刺激した(表3と4)。細胞培養物の上清を回収し、分析してサイトカインの存在を探した。簡単に述べると、ProcartaPlexイムノアッセイを供給者(Thermo Fisher)のプロトコルに記載されているようにして使用する際に50  $\mu$ Lの細胞培養物上清を用いた。上清の中にIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、およびIL-12p70が存在することが、Th1応答であることを明確にした。Th2応答は、IL-4およびIL-5の産生と、部分的にはIL-6の存在を通じて明確にされた。

30

40

【0423】

ワクチンを接種され、RBDまたはスパイクペプチドのプールで再刺激されたマウスからの脾臓細胞の細胞培養物の上清に含まれるTh1(IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-12)サイトカインとTh2(IL-4、IL-5)サイトカインの特徴づけから、VB2060については応答はIFN- $\gamma$ とTNF- $\alpha$ が優位であり、微量のIL-6、IL-12p70、IL-4、またはIL-5が検出されることがわかった。これは、ワクチン接種の1ヵ月後に特徴づけたときにT細胞応答が強力なTh1バイアスを示したのに対し、Th2応答はごくわずかであったことを示す。VB2049とVB2059について

50

は、わずかな I L - 6 応答が観察され、I L - 1 2 p 7 0、I L - 4、または I L - 5 の有意な応答はなかった（図 6 4 A）。

【 0 4 2 4 】

同じパターンが V B 2 0 6 5 と V B 2 0 7 1（スパイク）で観察され、I L - 6 が、プールされたペプチド（ペプチド 5 と 6）の 1 つについてある程度検出された（図 6 4 B）。

【 0 4 2 5 】

結局、これは、ワクチンによって誘導される T h 1 優位の応答と整合する。T h 1 優位の応答は、ワクチンに関連して疾患が増強される可能性を回避する上で好ましい（疾患の増強がいくつかの S A R S - C o V ワクチンで観察されたことがあり、T h 2 優位の応答が関与している可能性が大きい）。実施例 8：V B 1 0 . C O V 2 D N A ワクチンに対する R B D 特異的細胞を媒介とした免疫応答

【 0 4 2 6 】

実施例 8：V B 1 0 . C O V 2 D N A ワクチンに対する R B D 特異的細胞を媒介とした免疫応答

【 0 4 2 7 】

この研究の目的は、V B 1 0 . C O V 2 ワクチンボディ D N A コンストラクトを 2 回接種したマウスにおける T 細胞応答を単一細胞のレベルで評価することであった。マルチフローサイトメトリーを開発し、V B 2 0 4 9 または V B 2 0 6 0 D N A ワクチンを接種したマウスにおける T 細胞サブセットを評価した。T 細胞は、C D 3、C D 4、C D 8、および  $\gamma \delta$  T C R 細胞系マーカーを用いて明確にした。I F N -  $\gamma$ 、T N F -  $\alpha$ 、I L - 2、I L - 4、I L - 1 7、および F o x P 3 の発現を詳細に分析することで、T ヘルパー（T h）1 型と 2 型の応答、T h 1 7、および制御性 T 細胞（T r e g）の評価が可能になった。

【 0 4 2 8 】

B A L B / c マウスに低用量（2 . 5  $\mu$  g）、中用量（2 5  $\mu$  g）、または高用量（5 0  $\mu$  g）いずれかの V B 2 0 4 9 または V B 2 0 6 0 D N A ワクチンを 1 回、2 回、または 3 回、表 2 に記載されているようにして接種した。ワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞を以前に記載されているようにして単離した。脾臓細胞をよりも洗浄し、播種し（2 4 ウェルのプレートに  $2 \times 10^6$  個の細胞 / ウェル）、2  $\mu$  g / m l の R B D ペプチドで 1 6 時間刺激した。フローサイトメトリーでサイトカインを検出するため、インキュベーションの間に 1  $\times$  モネシンと 1  $\times$  プレフェルジンとをウェルに添加した。R B D ペプチドプールで刺激した後、細胞を回収し、洗浄し、生死判別染料で染色した後、細胞外抗体（抗 C D 3、抗 C D 4、抗 C D 8、および g d T C R）で染色し、固定し、透過処理した後、染色して T N F -  $\alpha$ 、I F N -  $\gamma$ 、I L - 2（評価する場合）、I L - 4、I L - 1 7、および F o x P 3 を検出した。染色した細胞を B D F A C S y m p h o n y A 5 の中で走らせ、F l o w J o ソフトウェアを用いて分析した。

【 0 4 2 9 】

R B D で刺激したマウスの脾臓細胞 T 細胞を、死んだ細胞、ダブレット、および C D 3 - 非 T 細胞を除外することによって明確にした（図 6 5 A ~ D）。次いで C D 3 + T 細胞を分析して  $\gamma \delta$  T C R T 細胞の存在を探し、これらの細胞を分析からさらに除外した（図 6 5 E）。次いで T 細胞の残りを調べて C D 4 マーカーと C D 8 マーカーを探すことで、C D 4 + T 細胞と C D 8 + T 細胞を明確にした（図 6 5 F）。両方の集団で I F N -  $\gamma$ 、T N F -  $\alpha$ 、I L - 2、I L - 4、I L - 1 7、または F o x P 3 の個別の発現を調べ、ゲートを設定して陽性細胞を明確にした。これら陽性細胞を F l o w J o ソフトウェアの中のブリーアン・ゲーティングアルゴリズムを用いてさらに分析し、各細胞によって産生されるサイトカインの可能なあらゆる組み合わせを計算することで、多機能性 T 細胞を単一細胞のレベルで分析できるようにした。

【 0 4 3 0 】

V B 2 0 6 0 を接種したマウス（低用量）における T 細胞のフローサイトメトリー分析

は、CD4<sup>+</sup> T細胞とCD8<sup>+</sup> T細胞によるRBD刺激に対する応答を示した（図66Aと66B）。CD4<sup>+</sup> RBD特異的T細胞は、Th1応答に典型的なサイトカインプロファイルであるIFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、またはこれらサイトカインの組み合わせを産生した。他のマーカー（IL-4（Th2分化）、IL-17（Th17）、およびFoxP3（Treg）など）の存在もCD4<sup>+</sup> T細胞の集団で見られた。CD8<sup>+</sup> T細胞の分析から、応答が、IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、またはこれら2つの組み合わせによって支配されていることがわかった。CD8<sup>+</sup> T細胞の小さな集団はIL-17とFoxP3も発現した。IL-2の発現は調べなかった。

#### 【0431】

VB2049を接種したマウス（低用量）におけるRBD特異的T細胞の同じ分析から、CD4<sup>+</sup> T細胞とCD8<sup>+</sup> T細胞の応答がわかった（図66Cと66D）。CD4<sup>+</sup> T細胞は、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、またはこれら2つのサイトカインの組み合わせを発現した。CD4<sup>+</sup> T細胞の一部は、Th2細胞サイトカインであるIL-4と、Th17サイトカインであるIL-17も発現したため、Th1、Th2、Th17、およびTreg応答が混合していることが明らかになった。しかしCD8<sup>+</sup> T細胞応答はIFN- $\gamma$ とTNF- $\alpha$ の組み合わせ産生によって支配されていた一方で、RBD特異的細胞の残りはこれらサイトカインの1つを産生した。

#### 【0432】

したがってVB10、COV2を接種したマウス（低用量）におけるRBD特異的CD4<sup>+</sup> T細胞の分析から、Th1応答（組み合わせられたIFN- $\gamma$  / TNF $\alpha$ 産生によって定義される）と、Th2応答、Th17応答、およびTreg応答の混合がわかった。CD8<sup>+</sup> T細胞はIFN- $\gamma$ とTNF $\alpha$ の存在に支配されていた。これは、VB10、COV2がSARS-CoV-2に特異的な細胞傷害性T細胞応答を誘導することを示す。

#### 【0433】

VB2060（中用量と高用量）を接種したマウスにおけるT細胞応答の持続性を調べるため、脾臓細胞を90日目に分析した。用量に依存した応答が観察され、それは、IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、IL-2、またはこれらサイトカインの組み合わせを産生する多機能性CD4<sup>+</sup> T細胞によって支配されていた（図67）。CD4<sup>+</sup> T細胞の小さな集団だけがIL-17を産生した。同様に、CD8<sup>+</sup> T細胞応答も用量依存性であり、IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ によって支配されていた（図68）。これらの結果から、低用量のVB2060を接種したマウスにおける最初の知見、すなわちVB2060 DNAワクチンの接種が、Th1とTh17 T細胞応答の組み合わせと、SARS-CoV-2に特異的な細胞傷害性T細胞応答を誘導することが確認された。これらの結果は、T細胞に対する用量に依存した効果が最初のワクチン接種後の90日間にわたって持続することを示している。

#### 【0434】

マウスに89日目にブーストワクチンを接種した後、T細胞応答を99日目に分析した。CD4<sup>+</sup> T細胞は、以前に観察されたようにIFN- $\gamma$ とTNF $\alpha$ を産生した。これらの細胞はIL-2の産生量も増加させたため、T細胞の生存と増殖を示している。CD4<sup>+</sup> T細胞の一部はIL-17も産生する（図69）。CD8<sup>+</sup> T細胞応答は、以前の知見と同様、IFN- $\gamma$ と、ある程度TNF $\alpha$ によって支配されていた（図70）。結論として、これらのデータは、VB2060 DNAワクチンが持続可能なTh1、Th17、および細胞傷害性T細胞応答を誘導し、それが少なくとも100日間継続することを示している。

#### 【0435】

それに加え、流入領域リンパ節における初期T細胞応答を最初にワクチンを接種してから7日目と28日目に、すなわちワクチン接種の7日後とブーストワクチン接種の7日後に評価した。流入領域リンパ節からの細胞をRBDペプチドで刺激した後、多色フローサイトメトリーを利用して分析した。CD4<sup>+</sup> T細胞およびCD8<sup>+</sup> T細胞と、常在メ

10

20

30

40

50

メモリT細胞 (T<sub>rm</sub>) と呼ばれるCD8<sup>+</sup> T細胞のサブセットを評価した。活性化状態と応答のタイプを評価するため、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-2、およびグランザイムBの発現を分析した (図71と図72)。

【0436】

ワクチン接種の7日後、25  $\mu$ gのVB2060を接種したマウスを分析し、対照群 (PBS) と比較した。グランザイムBの存在によって明確にされる強力なCD8 T細胞応答が観察された。CD8 T細胞のT<sub>rm</sub>サブセットはIFN- $\gamma$ だけ、またはグランザイムBとの組み合わせを主に発現したため、RBDペプチドに対する細胞傷害性応答を示している (図71A~C)。同じ時点で、CD4<sup>+</sup> T細胞は、IL-2、TNF- $\alpha$ 、またはこれら2つのサイトカインの組み合わせを産生した。

10

【0437】

ブーストワクチン接種の7日後、3.0  $\mu$ g、6.25  $\mu$ g、12.5  $\mu$ g、および25  $\mu$ gのVB2060を接種したマウスにおけるT細胞応答を評価した。この分析から、用量に依存した強力なCD8<sup>+</sup> T細胞応答に、グランザイムB、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、またはこれらの組み合わせの産生が伴うことが明らかになった。同様の結果が常在メモリT細胞で観察された (図71EとF)；それに加え、このサブセットはブーストワクチン接種の後にリンパ節の中で増加した (図72B)。ブーストワクチン接種の後、CD4<sup>+</sup> T細胞は、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-2、またはこれらサイトカインの組み合わせを用量に依存して産生した。

【0438】

これらのデータは、合わせて考えると、細胞傷害性T細胞に支配される強力な用量依存性のT細胞応答と、それに付随するTh1分化CD4<sup>+</sup> T細胞を示している。

20

【0439】

実施例9：予測されるT細胞エピトープに対してVB2048 DNAワクチン接種によって誘導される特異的細胞応答

【0440】

この研究の目的は、VB2048 DNAワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞において、予測されるT細胞エピトープに対する細胞性免疫応答を、用量と投与回数に関数として評価することであった。

【0441】

ワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞を、予測されるエピトープ特異的細胞応答を検出するIFN- $\gamma$  ELISpotアッセイで分析した。簡単に述べると、マウスを14日目または28日目に安楽死させ、脾臓を無菌で回収した。脾臓をすりつぶし、細胞懸濁液を1 $\times$ ACKバッファとともにインキュベートし、洗浄し、再懸濁させて6 $\times$ 10<sup>5</sup>個の細胞という細胞濃度にした。さらに、細胞を三連で播種し (6 $\times$ 10<sup>5</sup>個の細胞/ウエル)、2  $\mu$ g/mlの個々のペプチド (VB2048に含まれるT細胞エピトープ) で24時間刺激した。ペプチド刺激なしを陰性対照として使用した。刺激された脾臓細胞を、IFN- $\gamma$  ELISpot Plusキット (Mabtech AB、スウェーデン国) を用いて分析してIFN- $\gamma$  応答を探した。スポットを形成する細胞は、Cellular TechnologyからのImmunoSpot 5.0.3というCTL ELISpotリーダーで測定した。結果は、IFN- $\gamma$  +スポットの平均数/10<sup>6</sup>個の脾臓細胞として示される。

30

【0442】

複数のSARS-CoV-2株からの予測されるエピトープに対する強力なT細胞応答を、2.5  $\mu$ gまたは25  $\mu$ gのVB2048 DNAワクチンのいずれかを1回または2回接種したマウスからの脾臓で検出した。応答は、用量レベルと投与回数に応じ、最初の投与から2週間後、または21日目のブーストワクチン接種から1週間後に採取した脾臓細胞において10<sup>6</sup>個の細胞につき約1500~2200 SFCの範囲であった。応答は低用量 (2.5  $\mu$ gのDNA) でさえ最初の投与から14日後にすでに強力であり、21日目に高用量 (25  $\mu$ g) で第2のワクチンを接種した後の28日目に増強

40

50

された（図 7 3）。

#### 【0 4 4 3】

C D 4 細胞または C D 8 細胞の集団のいずれかが枯渇した脾臓細胞において、1 つの優位なペプチド（p e p 0 8）に対する強力な（約 2 2 0 0 S F U まで /  $10^6$  個の細胞）C D 8 + が優位な T 細胞応答が観察される（図 7 4）。T 細胞エピトープ特異的 C D 4 + 応答も 2 つの予測されるペプチド（p e p 0 2 と p e p 1 8）に対して検出されたが、大きさはより小さかった（約 4 6 0 S F U まで /  $10^6$  個の細胞）。

#### 【0 4 4 4】

実施例 1 0：T 細胞エピトープと長い R B D ドメインの両方を含有するコンストラクトを用いた D N A ワクチン接種による、予測される T 細胞エピトープと R B D の両方に対する特異的細胞応答の誘導

10

#### 【0 4 4 5】

この研究の目的は、T 細胞エピトープと長い R B D ドメインの両方を含有する V B 1 0 . C O V 2 D N A ワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞において予測される T 細胞エピトープと R B D ドメインの両方に対する細胞性免疫応答を評価することであった。

#### 【0 4 4 6】

ワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞を、予測されるエピトープと R B D 特異的細胞応答を検出する I F N -  $\gamma$  L I S p o t アッセイで分析した。簡単に述べると、マウスを 1 4 日目に安楽死させ、脾臓を無菌で回収した。脾臓をすりつぶし、細胞懸濁液を  $1 \times A C K$  バッファとともにインキュベートし、洗浄し、再懸濁させて  $6 \times 10^5$  個の細胞という細胞濃度にした。さらに、細胞を三連で播種し（ $6 \times 10^5$  個の細胞 / ウエル）、 $2 \mu g / m l$  の個々のペプチド（各コンストラクトに含まれる T 細胞エピトープ）と  $2 \mu g / m l$  の R B D ペプチドプール（表 3）で 2 4 時間刺激した。ペプチド刺激なしを陰性対照として使用した。刺激された脾臓細胞を、I F N -  $\gamma$  E L I S p o t P l u s キット（M a b t e c h A B、スウェーデン国）を用いて分析して I F N -  $\gamma$  応答を探した。スポット形成細胞を C e l l u l a r T e c h n o l o g y からの I m m u n o S p o t 5 . 0 . 3 という C T L E L I S p o t リーダーで測定した。結果は、I F N -  $\gamma$  + スポットの平均数 /  $10^6$  個の脾臓細胞として示される。

20

#### 【0 4 4 7】

複数の S A R S - C o V - 2 株からの予測されるエピトープに対する強力な T 細胞応答が、1 つまたは 3 つの予測される T 細胞エピトープのいずれかを含有する  $25 \mu g$  のコンストラクトを 1 回接種したマウスからの脾臓で 1 4 日目に検出された。V B 2 0 9 7（3 つのエピトープ + G S A T リンカー）は、他のリンカーを持っていて 3 つのエピトープを含む他のコンストラクトよりも強い T 細胞特異的応答（ $10^6$  個の細胞につき約 1 2 5 0 S F C）を誘導した。それに加え、すべてのコンストラクトが強力な R B D 特異的細胞応答も誘導することができた。V B 2 0 9 7 と V B 2 0 8 7 は R B D に対する最強の応答を誘導し、V B 2 0 6 0 に対するのと同様のレベルであった（図 7 5）。

30

#### 【0 4 4 8】

実施例 1 1：2 つの V B 1 0 . C O V 2 コンストラクトを含有するワクチンを用いたワクチン接種による、予測される T 細胞エピトープと R B D の両方に対する特異的細胞応答の誘導

40

#### 【0 4 4 9】

この研究の目的は、2 つのプラスミド V B 2 0 4 8（2 0 個の T 細胞エピトープ）と V B 2 0 4 9（短い R B D ドメイン）をそれぞれ  $12.5 \mu g$  含む V B 1 0 . C O V 2 D N A ワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞において、予測される T 細胞エピトープと R B D ドメインの両方に対する細胞性免疫応答を評価することであった。

#### 【0 4 5 0】

ワクチンを接種したマウスからの脾臓細胞を、予測されるエピトープと R B D 特異的細胞応答を検出する I F N -  $\gamma$  L I S p o t アッセイで分析した。簡単に述べると、マウスを 1 4 日目に安楽死させ、脾臓を無菌で回収した。脾臓をすりつぶし、細胞懸濁液を 1

50

×ACKバッファとともにインキュベートし、洗浄し、再懸濁させて $6 \times 10^5$ 個の細胞という細胞濃度にした。さらに、細胞を三連で播種し（ $6 \times 10^5$ 個の細胞／ウエル）、 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ の20個の個別のペプチドと、 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ のRBDペプチドプール（表3）で24時間刺激した。ペプチド刺激なしを陰性対照として使用した。刺激された脾臓細胞を、IFN- $\gamma$  ELISpot Plusキット（Mabtech AB、スウェーデン国）を用いて分析してIFN- $\gamma$ 応答を探した。スポット形成細胞をCellular TechnologyからのImmunoSpot 5.0.3というCTL ELISpotリーダーで測定した。結果は、IFN- $\gamma$  +スポットの平均数／ $10^6$ 個の脾臓細胞として示される。

【0451】

複数のSARS-CoV-2株からの予測されるエピトープに対する強力なT細胞応答が、薬学的に許容可能な担体と $12.5 \mu\text{g}$ の各プラスミド（VB2048とVB2049）を含むワクチンを1回接種したマウスからの脾臓において14日目に検出された。それに加え、このワクチンは強力なRBD特異的細胞応答も誘導することができた。マウスに上記のワクチンを接種したとき、予測されるT細胞エピトープとRBDドメインの両方に対する全免疫応答は、用量を考慮すると、マウスにいずれかのコンストラクト（すなわちVB2048またはVCB2049）を含有するワクチンを接種したときと同様であった（図76）。

【0452】

実施例12：VB10. COV2 DNAワクチンVB2060の安定性データ

【0453】

この研究の目的は、VB10. COV2 DNAワクチンVB2060を上昇した温度（ $37^\circ\text{C}$ ）で4週間まで保管した後、安定性を示すパラメータとしての%超螺旋DNA含量を求めることであった。

【0454】

VB2060プラスミドの殺菌溶液（D-PBSの中に $3 \text{ mg}/\text{ml}$ の製剤） $0.5 \text{ ml}$ を $2 \text{ ml}$ の透明なタイプIガラス製バイアル（Adelphi/Schott、VCDIN2R）に満たし、 $13 \text{ mm}$  FluroTec（登録商標）注入ストッパ（Adelphi/West、7001-8021/INJ13TB3WRS）で封止し、 $13 \text{ mm}$ の白色のFlip-offオーバーシール（Adelphi/West、5921-9826/FOT13W5117）を被せた。バイアルを直立でインキュベータの中に $37^\circ\text{C}$ で4週間保管した。研究開始時と研究中の毎週、バイアルでHPLCによってプラスミドの立体形態を調べた。HPLC法は、カラムTSKゲルDNA-NPR（Tosoh Bioscience/Y0064）を用い、移動相A； $2.4 \text{ TRIS-Bas}$ を含む $1000 \text{ ml}$ の水（HClによってpHを調節してpH 9にした）と、移動相B； $29.22 \text{ g}$ のNaClを含む $500 \text{ ml}$ の移動相Aを $0.75 \text{ ml}/\text{分}$ の流速にして実施した。カラムの温度は $5^\circ\text{C}$ であり、サンプル注入体積は $1.5 \mu\text{l}$ であった。立体形態は、プラスミドDNAの安定性を示す最も敏感なパラメータであることが知られている。

【0455】

研究開始時のプラスミドVB2060の超螺旋化度は約90%であることが判明した。1週間後、超螺旋化度は約80%まで低下していた。その後の数週間でプラスミドの立体形態は実質的に変化せず、さらにわずかに分解しただけであった。これは、VB10. COV2 DNAワクチンVB2060が上昇した温度で保管するときでさえ、非常に安定であることを示す。

【0456】

実施例のまとめ：

【0457】

一例としてVB2060を使用し、二量体分子が形成されることを示してある（実施例3b）。例としてVB2060、VB2129、およびVB2132を使用し、単量体タ

10

20

30

40

50

ンパク質は、いくつかのRBDユニットをそのタンパク質に付加することから出発しているため、それら単量体タンパク質コンストラクトのサイズから予測される分子量を有することも示してある（実施例3b）。

【0458】

SARS-CoV-2 RBDの短い形態（VB2049）、SARS-CoV-2 RBDのより長いバージョン（VB2060）、南アフリカバリエントB.1.351に見られる3つの変異（VB2129）とスパイクタンパク質（VB2065とVB2071）を有するSARS-CoV-2 RBDのより長いバージョンを含む抗原ユニットを含むワクシボディを用いて抗RBD IgGの形成を誘導することを示してある（実施例4）。予測されるT細胞エピトープをコンストラクト（VB2081、VB2082、VB2087、VB2097、およびVB2099）に付加するときこの応答が変化しないことを示してある。したがってRBDタンパク質に対する翻訳後修飾（グリコシル化や、液性応答を誘導するのに必要なその正しい折り畳みなどは、さらなるアミノ酸の付加による影響を受けない（実施例4）。ワクシボディによって生じた抗体が生存ウイルスマイクロ中和アッセイで有効であることを示してある（実施例5）。

【0459】

生じた抗体に加え、細胞傷害性T細胞応答が、RBDユニットを含有するコンストラクトと、南アフリカSARS-CoV-2ウイルスバリエントからの3つの変異を有するRBDユニットとを含有するコンストラクトにより、RBDタンパク質に対して誘導されることを示してある。この応答は迅速であり（わずか7日後）、長く持続する（実施例6）。スパイクタンパク質に対する細胞傷害性T細胞応答も生じさせている（実施例6）。大半のT細胞応答はTh1を媒介とする（実施例7）。

【0460】

したがって1回だけのワクチンで、ベータコロナウイルスの感染症に対する免疫を得るのに必要とされるB細胞応答を得ることができるだけでなく、既存の感染症を攻撃して患者の回復を助けるT細胞も得られる。

【0461】

われわれはベータコロナウイルスからT細胞エピトープを予測する方法を開発したため、それを実施例1に示してある。それらT細胞エピトープが強力なT細胞応答を誘導することを示してある（実施例9）。予測されるT細胞エピトープを含むコンストラクトのプラスミドを、RBDユニットを含むコンストラクトのプラスミドと同時に投与するとき、T細胞応答はそれぞれのプラスミドだけによって誘導される応答と同様であることがわかる（実施例11）。これらの予測されるT細胞エピトープは、同じコンストラクトの中でRBDユニットと組み合わせるとき、T細胞特異的応答を相変わらず生じさせつつ、RBDユニットのT細胞特異的応答が維持される（実施例10）。

【0462】

実施した実験からの結論

【0463】

実施例3～12からの1つの結論として、ELISAによって検出されたように、発現レベルは、さまざまなVB10.COV2コンストラクトの間で分子構造に応じて高発現、中発現、および低発現というように異なることが見いだされた。

【0464】

VB10.COV2ワクチンは、マウスにおいて1回だけのワクチン投与により迅速で用量に依存したRBD IgG抗体応答を誘導し、それが少なくとも3ヶ月後まで持続した。VB2060では、生きているウイルスに対する中和抗体の力価が、1回投与した7日後から検出された。調べたすべての投与計画で、ヒトCOVID-19回復患者からの血清よりも大きい同等な力価に28日目から到達した。強力なT細胞応答がVB2060とVB2129では7日目にすでに確立されて検出され、その後、VB2049とVB2060は多機能性のCD8+ T細胞とTh1が優位なCD4+ T細胞であると特徴づけられた。応答は1回だけワクチンを接種してから少なくとも3ヶ月後まで高レベルに

維持され、89日目の第2のワクチン接種によってさらに強く増強された。

【0465】

MIP1 $\alpha$ ターゲティングは、VB10・COV2ワクチンを用いてより強い抗RBD IgG応答とより高いレベルのRBD特異的T細胞応答の両方を誘導することに関して抗マウスMHCII scFvターゲティングよりも優れていた。

【0466】

SARS-COV2ゲノムから予測されるT細胞エピトープに対する特異的T細胞応答に加えて強力なRBD特異的抗体応答とT細胞応答の両方を誘導することが、2つの異なる戦略で実現可能であることも示された。1つの成功する戦略は、1つのVB10・COV2コンストラクトに含まれる抗原ユニットの中で、予測されるT細胞エピトープをRBDドメインと組み合わせることであり、別のうまくいく戦略は、2つの別々のプラスミドの組み合わせ（一方のプラスミドは予測されたT細胞エピトープを含有し、もう一方のプラスミドは抗原ユニットの中にRBDドメインを含有する）を含む1つのワクチン溶液を接種するというものである。

【0467】

これらの知見は、上昇した温度でさえ投与が簡単で安定に保管されることと合わせて考えると、VB10・COV2 DNAワクチンがCovid-19の予防と治療のための有望な将来の候補であることを示唆する。

【0468】

実施形態A

【0469】

1. 免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド；または

(ii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i)で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と；

薬学的に許容可能な担体を含むワクチン。

【0470】

2. 個人に投与されるとB細胞による抗体の生成を通じて液性応答を誘導する、実施形態A1によるワクチン。

【0471】

3. 個人に投与されるとT細胞による抗体の生成を通じて液性応答を誘導する、実施形態A1によるワクチン。

【0472】

4. 個人に投与されると液性かつ細胞性の免疫応答を誘導する、実施形態A1によるワクチン。

【0473】

5. 前記個人がベータコロナウイルス感染症に罹患しており、前記ワクチンが治療用ワクチンである、実施形態A2～A4のいずれか1つによるワクチン。

【0474】

6. 前記個人が健康な個人であり、前記ワクチンが予防用ワクチンである、実施形態A2～A4のいずれか1つによるワクチン。

【0475】

7. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープがベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部である、実施形態A1～A6のいずれか1つによるワクチン。

【0476】

10

20

30

40

50

8. 前記ウイルス表面タンパク質が、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択される、実施形態 A 7 によるワクチン。

【0477】

9. 前記ウイルス表面タンパク質が前記スパイクタンパク質である、実施形態 A 7 ~ A 8 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0478】

10. 前記ウイルス表面タンパク質が前記完全長スパイクタンパク質である、実施形態 A 7 ~ A 9 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0479】

11. 前記ウイルス表面タンパク質が前記スパイクタンパク質の一部である、実施形態 A 7 ~ A 10 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0480】

12. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが、受容体結合ドメイン (RBD)、heptad repeat 1 (HR1) ドメイン、および heptad repeat 2 (HR2) ドメインからなる群から選択される前記スパイクタンパク質の一部である、実施形態 A 7 ~ A 11 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0481】

13. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが前記 RBD である、実施形態 A 7 ~ A 12 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0482】

14. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが前記 HR1 ドメインまたは前記 HR2 ドメインであり、前記 HR2 ドメインであることが好ましい、実施形態 A 7 ~ A 12 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0483】

15. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれる B 細胞エピトープである、実施形態 A 7 ~ A 14 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0484】

16. 前記抗原ユニットが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれる複数の B 細胞エピトープを含む、実施形態 A 7 ~ A 15 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0485】

17. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが T 細胞エピトープである、実施形態 A 1 ~ A 6 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0486】

18. 前記 T 細胞エピトープが異なる種および／または異なる株のベータコロナウイルスの間で保存されている、実施形態 A 17 によるワクチン。

【0487】

19. 前記 T 細胞エピトープが SARS-CoV2 と SARS-CoV の間で保存されている、実施形態 A 17 または A 18 によるワクチン。

【0488】

20. 前記 T 細胞エピトープが HLA クラス I / II アレルによる提示に適した長さを持ち、好ましくは 7 ~ 30 個のアミノ酸の長さを有する、実施形態 A 17 ~ A 19 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0489】

21. 前記 T 細胞エピトープが、HLA クラス I / II アレルへの結合に関して予測される能力に基づいて選択される、実施形態 A 17 ~ A 20 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0490】

22. 前記抗原ユニットが、複数の T 細胞エピトープ、好ましくは HLA クラス I / II

10

20

30

40

50

エアレルに結合することが予測される複数の T 細胞エピトープを含む、実施形態 A 17 ~ A 21 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0491】

23. 前記 T 細胞エピトープが、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 35、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 60、配列番号 61、配列番号 62、配列番号 63、配列番号 64、配列番号 65、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 69、配列番号 70、配列番号 71、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 74、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84、配列番号 85、配列番号 86、配列番号 87、配列番号 88、配列番号 89、配列番号 90、配列番号 91、配列番号 92、配列番号 93、配列番号 94、配列番号 95、配列番号 96、配列番号 97、配列番号 98、配列番号 99、配列番号 100、配列番号 101、配列番号 102、配列番号 103、配列番号 104、配列番号 105、配列番号 106、配列番号 107、配列番号 108、配列番号 109、配列番号 110、配列番号 111、配列番号 112、配列番号 113、配列番号 114、配列番号 115、配列番号 116、配列番号 117、配列番号 118、配列番号 119、配列番号 120、配列番号 121、配列番号 122、配列番号 123、配列番号 124、配列番号 125、配列番号 126、配列番号 127、配列番号 128、配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131、配列番号 132、配列番号 133、配列番号 134、配列番号 135、配列番号 136、配列番号 137、配列番号 138、配列番号 139、配列番号 140、配列番号 141、配列番号 142、配列番号 143、配列番号 144、配列番号 145、配列番号 146、配列番号 147、配列番号 148、配列番号 149、配列番号 150、配列番号 151、配列番号 152、配列番号 153、配列番号 154、配列番号 155、配列番号 156、配列番号 157、配列番号 158、配列番号 159、配列番号 160、配列番号 161、配列番号 162、配列番号 163、配列番号 164、配列番号 165、配列番号 166、配列番号 167、配列番号 168、配列番号 169、配列番号 170、配列番号 171、配列番号 172、配列番号 173、配列番号 174、配列番号 175、配列番号 176、配列番号 177、配列番号 178、配列番号 179、配列番号 180、配列番号 181、配列番号 182、配列番号 183、配列番号 184、配列番号 185、配列番号 186、配列番号 187、配列番号 188、配列番号 189、配列番号 190、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196、配列番号 197、配列番号 198、配列番号 199、配列番号 200、配列番号 201、配列番号 202、配列番号 203、配列番号 204、配列番号 205、配列番号 206、配列番号 207、配列番号 208、配列番号 209、配列番号 210、配列番号 211、配列番号 212、配列番号 213、配列番号 214、配列番号 215、配列番号 216、配列番号 217、配列番号 218、配列番号 219、配列番号 220、配列番号 221、配列番号 222、配列番号 223 からなるリストから選択される、実施形態 A 17 ~ A 22 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0492】

24. 前記 T 細胞エピトープが、配列番号 67、配列番号 19、配列番号 78、配列番号 57、配列番号 50、配列番号 55、配列番号 64、配列番号 22、配列番号 87、配

10

20

30

40

50

列番号 62、配列番号 39、配列番号 59、配列番号 26、配列番号 53、配列番号 32、配列番号 38、配列番号 30、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 35、配列番号 71、配列番号 9、配列番号 21、配列番号 85、配列番号 75、配列番号 23、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 77、および配列番号 20 からなるリストから選択される、実施形態 A17～A23 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0493】

25. 前記 T 細胞エпитープが、配列番号 67、配列番号 19、配列番号 78、配列番号 57、配列番号 50、配列番号 55、配列番号 64、配列番号 22、配列番号 87、および配列番号 62 からなるリストから選択される、実施形態 A17～A24 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0494】

26. 前記抗原ユニットが複数の T 細胞エпитープを含む、実施形態 A17～A25 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0495】

27. 前記抗原ユニットがベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部を含む、実施形態 A17～A26 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0496】

28. 前記ウイルス表面タンパク質が、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択される、実施形態 A27 によるワクチン。

【0497】

29. 前記ウイルス表面タンパク質が前記スパイクタンパク質である、実施形態 A27 または A28 によるワクチン。

【0498】

30. 前記ウイルス表面タンパク質が前記完全長スパイクタンパク質である、実施形態 A27～A29 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0499】

31. 前記ウイルス表面タンパク質が前記スパイクタンパク質の一部である、実施形態 A27～A30 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0500】

32. 前記抗原ユニットが、受容体結合ドメイン (RBD)、heptad repeat 1 (HR1) ドメイン、および heptad repeat 2 (HR2) ドメインからなる群から選択される前記スパイクタンパク質の一部をさらに含む、実施形態 A27～A31 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0501】

33. 前記抗原ユニットが前記 RBD をさらに含む、実施形態 A27～A32 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0502】

34. 前記抗原ユニットが、前記 HR1 ドメインまたは前記 HR2 ドメイン、好ましくは前記 HR2 ドメインをさらに含む、実施形態 A27～A33 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0503】

35. 前記抗原ユニットが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれる B 細胞エпитープをさらに含む、実施形態 A27～A34 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0504】

36. 前記抗原ユニットが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれる複数の B 細胞エпитープをさらに含む、実施形態 A27～A35 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0505】

37. 前記抗原ユニットが、21～2000 個のアミノ酸、好ましくは約 30 個のアミ

10

20

30

40

50

ノ酸～約1500個のアミノ酸、より好ましくは約50～約1000個のアミノ酸、例えば約100～約500個のアミノ酸、または約100～約400個のアミノ酸、または約100～約300個のアミノ酸を含む、実施形態A1～A36のいずれか1つによるワクチン。

【0506】

38. 前記抗原ユニットが、1つ以上のリンカー、好ましくは1つ以上の非免疫原性および／または可動性リンカーを含む、実施形態A1～A37のいずれか1つによるワクチン。

【0507】

39. 前記抗原ユニットが10、20、30、または50個のエピトープ、好ましくはT細胞エピトープを含む、実施形態A1～A38のいずれか1つによるワクチン。

【0508】

40. 前記ターゲティングユニットが、抗原提示細胞（APC）上の表面受容体、好ましくはCD14、CD40、Toll様受容体、CCR1、CCR3、CCR5、MHCクラスIIタンパク質、またはMHCクラスIIタンパク質に対する特異性を有する抗体結合領域を含む、実施形態A1～A39のいずれか1つによるワクチン。

【0509】

41. 前記ターゲティングユニットが、CCR1、CCR3、およびCCR5から選択されるケモカイン受容体に対する親和性を有する、実施形態A1～A40のいずれか1つによるワクチン。

【0510】

42. 前記ターゲティングユニットが、MHCクラスIIタンパク質、好ましくは抗HLA-DP、抗HLA-DR、および抗pan HLAクラスIIからなる群から選択されるMHCクラスIIタンパク質に対する親和性、実施形態A1～A41のいずれか1つによるワクチン。

【0511】

43. 前記ターゲティングユニットが抗pan HLAクラスIIとMIP-1αから選択される、実施形態A1～A42のいずれか1つによるワクチン。

【0512】

44. 前記ターゲティングユニットがMIP-1αである、実施形態A1～A43のいずれか1つによるワクチン。

【0513】

45. 前記ターゲティングユニットが抗pan HLAクラスIIである、実施形態A1～A44のいずれか1つによるワクチン。

【0514】

46. 前記二量体化ユニットが、ヒンジ領域と、場合により、二量体化を容易にする別のドメインを含み、両者が場合によりリンカーを介して接続されている、実施形態A1～A45のいずれか1つによるワクチン。

【0515】

47. 前記ポリヌクレオチドがシグナルペプチドをさらにコードする、実施形態A1～A46のいずれか1つによるワクチン。

【0516】

48. 前記ペプチドの中の前記ターゲティングユニット、前記二量体化ユニット、および前記抗原ユニットが、N末端からC末端に向かい、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットの順番である、実施形態A1～A47のいずれか1つによるワクチン。

【0517】

49. 前記ベータコロナウイルスが、SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2、HCoV-OC43、およびHCoV-HKU1からなる群から選択される1つ、好ましくはSARS-CoVとSARS-CoV2からなる群から選択される1

10

20

30

40

50

つである、実施形態 A 1 ～ A 4 8 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0518】

50. 実施形態 A 1 ～ A 4 9 のいずれか 1 つに規定されているポリヌクレオチド。

【0519】

51. 実施形態 A 50 によるポリヌクレオチドを含むベクター。

【0520】

52. 実施形態 A 50 によるポリヌクレオチドを含むか、実施形態 A 51 によるベクターを含む宿主細胞。

【0521】

53. 個人に投与するために製剤化された、実施形態 A 50 によるポリヌクレオチド。

10

【0522】

54. 実施形態 A 50 によるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド

。

【0523】

55. 実施形態 A 54 によるポリペプチド 2 つからなる二量体タンパク質。

【0524】

56. ホモ二量体タンパク質である、実施形態 A 55 による二量体タンパク質。

【0525】

57. 薬として使用するための、実施形態 A 50 によるポリヌクレオチド、または実施形態 53 によるポリペプチド、または実施形態 A 55 または A 56 のいずれか 1 つによる二量体タンパク質。

20

【0526】

58. ベータコロナウイルスの感染症の治療に使用するための、またはベータコロナウイルス感染症の予防に使用するための、実施形態 A 50 によるポリヌクレオチド、または実施形態 A 54 によるポリペプチド、または実施形態 A 55 または A 56 のいずれか 1 つによる二量体タンパク質。

【0527】

59. SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2、HCoV-OC43、または HCoV-HKU1、好ましくは SARS-CoV または SARS-CoV-2 の感染症の治療に使用するための、または予防に使用するための、実施形態 A 50 によるポリヌクレオチド、または実施形態 A 54 によるポリペプチド、または実施形態 A 55 または A 56 のいずれか 1 つによる二量体タンパク質。

30

【0528】

60. 実施形態 A 1 ～ A 4 9 のいずれか 1 つによるワクチンを調製する方法であって、

a) 実施形態 A 1 ～ A 4 9 のいずれか 1 つに規定されたポリヌクレオチドを細胞にトランスフェクトする工程；

b) 前記細胞を培養する工程；

c) 前記細胞から発現した前記二量体タンパク質または前記ポリペプチドを回収して精製する工程；および

d) 工程 c) から得られた前記二量体タンパク質または前記ポリペプチドを薬学的に許容可能な前記担体と混合する工程を含む方法。

40

【0529】

61. 配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 35、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46、配列番

50

号 47、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 60、配列番号 61、配列番号 62、配列番号 63、配列番号 64、配列番号 65、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 69、配列番号 70、配列番号 71、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 74、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84、配列番号 85、配列番号 86、配列番号 87、配列番号 88、配列番号 89、配列番号 90、配列番号 91、配列番号 92、配列番号 93、配列番号 94、配列番号 95、配列番号 96、配列番号 97、配列番号 98、配列番号 99、配列番号 100、配列番号 101、配列番号 102、配列番号 103、配列番号 104、配列番号 105、配列番号 106、配列番号 107、配列番号 108、配列番号 109、配列番号 110、配列番号 111、配列番号 112、配列番号 113、配列番号 114、配列番号 115、配列番号 116、配列番号 117、配列番号 118、配列番号 119、配列番号 120、配列番号 121、配列番号 122、配列番号 123、配列番号 124、配列番号 125、配列番号 126、配列番号 127、配列番号 128、配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131、配列番号 132、配列番号 133、配列番号 134、配列番号 135、配列番号 136、配列番号 137、配列番号 138、配列番号 139、配列番号 140、配列番号 141、配列番号 142、配列番号 143、配列番号 144、配列番号 145、配列番号 146、配列番号 147、配列番号 148、配列番号 149、配列番号 150、配列番号 151、配列番号 152、配列番号 153、配列番号 154、配列番号 155、配列番号 156、配列番号 157、配列番号 158、配列番号 159、配列番号 160、配列番号 161、配列番号 162、配列番号 163、配列番号 164、配列番号 165、配列番号 166、配列番号 167、配列番号 168、配列番号 169、配列番号 170、配列番号 171、配列番号 172、配列番号 173、配列番号 174、配列番号 175、配列番号 176、配列番号 177、配列番号 178、配列番号 179、配列番号 180、配列番号 181、配列番号 182、配列番号 183、配列番号 184、配列番号 185、配列番号 186、配列番号 187、配列番号 188、配列番号 189、配列番号 190、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196、配列番号 197、配列番号 198、配列番号 199、配列番号 200、配列番号 201、配列番号 202、配列番号 203、配列番号 204、配列番号 205、配列番号 206、配列番号 207、配列番号 208、配列番号 209、配列番号 210、配列番号 211、配列番号 212、配列番号 213、配列番号 214、配列番号 215、配列番号 216、配列番号 217、配列番号 218、配列番号 219、配列番号 220、配列番号 221、配列番号 222、配列番号 223 からなるリストからのアミノ酸配列を含むポリペプチド。

10

20

30

40

【0530】

62. 配列番号 67、配列番号 19、配列番号 78、配列番号 57、配列番号 50、配列番号 55、配列番号 64、配列番号 22、配列番号 87、配列番号 62、配列番号 39、配列番号 59、配列番号 26、配列番号 53、配列番号 32、配列番号 38、配列番号 30、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 35、配列番号 71、配列番号 9、配列番号 21、配列番号 85、配列番号 75、配列番号 23、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 77、および配列番号 20 からなるリストからのアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【0531】

63. 配列番号 67、配列番号 19、配列番号 78、配列番号 57、配列番号 50、配列番号 55、配列番号 64、配列番号 22、配列番号 87、および配列番号 62 からなるリストからのアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【0532】

実施形態 B

【0533】

50

1. 免疫学的に有効な量の

(i) ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニット（この抗原ユニットは少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープを含む）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド；または

(ii) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または

(iii) (i) で規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド2つからなる二量体タンパク質と；

薬学的に許容可能な担体を含むワクチン。

【0534】

2. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部である、実施形態B1によるワクチン。

【0535】

3. 前記ウイルス表面タンパク質が、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択される、実施形態B2によるワクチン。

【0536】

4. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記スパイクタンパク質を含むか前記スパイクタンパク質である、実施形態B2～B3のいずれか1つによるワクチン。

【0537】

5. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記完全長スパイクタンパク質を含むか前記完全長スパイクタンパク質である、実施形態B2～B4のいずれか1つによるワクチン。

【0538】

6. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号230のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B5によるワクチン。

【0539】

7. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号275のアミノ酸配列243～1437と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B5によるワクチン。

【0540】

8. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記スパイクタンパク質の一部を含むか前記スパイクタンパク質の一部である、実施形態B2～B4のいずれか1つによるワクチン。

【0541】

9. 前記スパイクタンパク質の前記一部が、受容体結合ドメイン(RBD)、heptad repeat 1(HR1)ドメイン、およびheptad repeat 2(HR2)ドメインからなる群から選択される1つである、実施形態B8によるワクチン。

10

20

30

40

50

## 【0542】

10. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記RBDまたは前記RBDの一部を含むか、前記RBDまたは前記RBDの一部である、実施形態B9によるワクチン。

## 【0543】

11. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号231または配列番号802、または配列番号803または配列番号804または配列番号805のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B10によるワクチン。

10

## 【0544】

12. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号255のアミノ酸配列243～465と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B10によるワクチン。

20

## 【0545】

13. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号246のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B10によるワクチン。

30

## 【0546】

14. 前記抗原ユニットが前記RBDまたはその一部の複数のコピーを含み、それらコピーはアミノ酸配列が同じであるか異なっている、実施形態B10～B13のいずれか1つによるワクチン。

## 【0547】

15. 前記抗原ユニットが1～5個のコピーからなる、実施形態B14によるワクチン。

## 【0548】

16. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記HR1ドメインまたは前記HR2ドメイン、好ましくは前記HR2ドメインを含むか、前記HR1ドメインまたは前記HR2ドメイン、好ましくは前記HR2ドメインである、実施形態B8によるワクチン。

40

## 【0549】

17. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれるB細胞エピトープである、実施形態B2～B16のいずれか1つによるワクチン。

## 【0550】

18. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記ウイルス表面タ

50

ンパク質またはその一部に含まれる複数の B 細胞エピトープである、実施形態 B 2 ～ B 17 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0551】

19. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエピトープが T 細胞エピトープである、実施形態 B 1 によるワクチン。

【0552】

20. 前記抗原ユニットが複数の T 細胞エピトープを含む、実施形態 B 19 によるワクチン。

【0553】

21. 前記 T 細胞エピトープが構造タンパク質または非構造タンパク質に含まれる、実施形態 B 19 ～ B 20 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0554】

22. 前記 T 細胞エピトープが、表面タンパク質、ヌクレオカプシドタンパク質、またはレプリカーゼポリタンパク質に含まれる、実施形態 B 19 ～ B 21 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0555】

23. 前記 T 細胞エピトープが、異なる属および／または種および／または株のベータコロナウイルスの間で保存されている、実施形態 B 19 ～ B 22 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0556】

24. 前記 T 細胞エピトープが SARS-CoV2 と SARS-CoV の間で保存されている、実施形態 B 19 ～ B 23 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0557】

25. 前記 T 細胞エピトープが、長さ 7 ～ 約 200 個のアミノ酸、好ましくは 7 ～ 100 個のアミノ酸を有するか、HLA クラス I / II アレルによって提示されるのに適した長さ、好ましくは長さ 7 ～ 30 個のアミノ酸、より好ましくは長さ 8 ～ 15 個のアミノ酸を有する、実施形態 B 19 ～ B 24 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0558】

26. 前記 T 細胞エピトープが免疫原性であることが知られているか、HLA クラス I / II アレルへの結合に関して予測される能力に基づいて選択される、実施形態 B 19 ～ B 25 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0559】

27. 前記抗原ユニットが、免疫原性であることが知られているか HLA クラス I / II アレルに結合すると予測される複数の T 細胞エピトープを含む、実施形態 B 19 ～ B 26 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0560】

28. 前記 T 細胞エピトープが、配列番号 1 ～ 配列番号 444 のいずれかのアミノ酸配列を有するエピトープから選択される、実施形態 B 19 ～ B 27 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0561】

29. 前記 T 細胞エピトープが、配列番号 67、配列番号 19、配列番号 78、配列番号 57、配列番号 50、配列番号 55、配列番号 64、配列番号 22、配列番号 87、配列番号 62、配列番号 39、配列番号 59、配列番号 26、配列番号 53、配列番号 32、配列番号 38、配列番号 30、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 35、配列番号 71、配列番号 9、配列番号 21、配列番号 85、配列番号 75、配列番号 23、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 77、および配列番号 20 からなるリストから選択される、実施形態 B 28 によるワクチン。

【0562】

30. 前記 T 細胞エピトープが、配列番号 67、配列番号 19、配列番号 78、配列番号 57、配列番号 50、配列番号 55、配列番号 64、配列番号 22、配列番号 87、お

10

20

30

40

50

よび配列番号 62 からなるリストから選択される、実施形態 B 28 によるワクチン。

【0563】

31. 前記 T 細胞エпитープが、配列番号 245 のアミノ酸配列を有する抗原ユニットに含まれる T 細胞エпитープから選択され、その中の配列 GGGGSGGGGS はリンカーであり、T 細胞エпитープではない、実施形態 B 19～B 27 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0564】

32. 前記 T 細胞エпитープが、RSFIEDLLFNKVTLA、MTYRRLISMGMGFKMNYQVNGYPNMF、LMIERFVSLAIDAYP、RAMPNMLRIMASLVL、MVYMPASWVMRIMTW、FLNRF TTTTLNDFNLVAM、SSVELKHFFFAQDGNAAI、HFAIGLALYYPSARIVYTACSHA AV、YFIKGLNNLNRGMVL、YLN TLT L AVPYNMRV、AQFAPSASAFFGMSRI、EIVDTVSA L VYDNKL、SSGDATAYANSVFNICQAVTANVNALL、HVI STSHKLVL SVNPYV、MLS DTLK NLS DRVVFV LWAHGFEL、TANPKTPKYKFVRIQPGQTF、ASIKNFKSVLYYQNNVFM、FVNEFYAYLRKHFSMM、RVWTL MNVLT L VYKV、FAYANRNRFLYIIKL、および LVKPSFYVYSRVKNL からなるリストから選択される、実施形態 B 19～B 27 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0565】

33. 前記 T 細胞エпитープが、RAMPNMLRIMASLVL、HVI STSHKLVL SVNPYV、および LVKPSFYVYSRVKNL からなるリストから選択される 1 つ以上の T 細胞エпитープを含む、実施形態 B 19～B 27 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0566】

34. 前記抗原ユニットが、ベータコロナウイルスの完全長ウイルス表面タンパク質またはその一部である少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエпитープをさらに含む、実施形態 B 19～B 33 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0567】

35. 前記ウイルス表面タンパク質が、エンベロープタンパク質、スパイクタンパク質、膜タンパク質、およびヘマグルチニンエステラーゼからなる群から選択される、実施形態 B 34 によるワクチン。

【0568】

36. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエпитープが前記スパイクタンパク質を含むか前記スパイクタンパク質である、実施形態 B 34～B 35 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0569】

37. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエпитープが前記完全長スパイクタンパク質を含むか前記完全長スパイクタンパク質である、実施形態 B 34～B 36 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0570】

38. 前記少なくとも 1 つのベータコロナウイルスエпитープが、配列番号 230 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 一致する配列、例えば少なくとも 75 %、例えば少なくとも 77 %、例えば少なくとも 80 %、例えば少なくとも 85 %、例えば少なくとも 90 %、例えば少なくとも 91 %、例えば少なくとも 92 %、例えば少なくとも 93 %、例えば少なくとも 94 %、例えば少なくとも 95 %、例えば少なくとも 96 %、例えば少なくとも 97 %、例えば少なくとも 98 %、または例えば少なくとも 99 % 一致する配列、または例えば 100 % 一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態 B 37 によるワクチン。

【0571】

10

20

30

40

50

39. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号275のアミノ酸配列243～1437と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B37によるワクチン。

【0572】

40. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記スパイクタンパク質の一部を含むか前記スパイクタンパク質の一部である、実施形態B34～B36のいずれか1つによるワクチン。

【0573】

41. 前記スパイクタンパク質の前記一部が、受容体結合ドメイン(RBD)、heptad repeat 1(HR1)ドメイン、およびheptad repeat 2(HR2)ドメインからなる群から選択される1つである、実施形態B40によるワクチン。

【0574】

42. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記RBDを含むか、前記RBDである、実施形態B41によるワクチン。

【0575】

43. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号231または配列番号802、または配列番号803または配列番号804または配列番号805のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B42によるワクチン。

【0576】

44. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号255のアミノ酸配列243～465と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B42によるワクチン。

【0577】

45. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、配列番号246のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B42によるワクチン。

【0578】

46. 前記抗原ユニットが前記RBDまたはその一部の複数のコピーを含み、それらコピーはアミノ酸配列が同じであるか異なっている、実施形態B42～B45のいずれか1

10

20

30

40

50

つによるワクチン。

【0579】

47. 前記抗原ユニットが1～5個のコピーを含む、実施形態B46によるワクチン。

【0580】

48. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが前記HR1ドメインまたは前記HR2ドメイン、好ましくは前記HR2ドメインを含むか、前記HR1ドメインまたは前記HR2ドメイン、好ましくは前記HR2ドメインである、実施形態B40によるワクチン。

【0581】

49. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれるB細胞エピトープである、実施形態B34～B48のいずれか1つによるワクチン。

【0582】

50. 前記少なくとも1つのベータコロナウイルスエピトープが、前記ウイルス表面タンパク質またはその一部に含まれる複数のB細胞エピトープである、実施形態B34～B49のいずれか1つによるワクチン。

【0583】

51. 前記抗原ユニットが、RSFIEDLLFNKVTLA、MTYRRRLISM  
GFKMNYQVNGYPNMF、LMIERFVSLAIDAYP、RAMPNMLR  
IMASLVL、MVYMPASWVMRIMTW、FLNRF TTTTLNDFNLVA  
M、SSVELKHFFFAQDGNAAI、HFAIGLALYYPSARIVYTA  
CSHA AV、YFIKGLNNLNRGMVL、YLNTLTTLAVPYNMRV、A  
QFAPSASAFFGMSRI、EIVDTVSA LVYDNKL、SSGDATTA  
YANSVFNICQAVTANVNALL、HVI STSHKLVL SVNPYV、M  
LSDTLKNLS DRVV FVLWAHGFEL、TANPKTPKYKFVRIQP  
GQTF、ASIKNFKSVLYYQNNVFM、FVNEFYAYLRKHFSMM  
、RVWTL MNVLT LVYKV、FAYANRNRFLYIIKL、およびLVKP  
SFYVYSRVKNからなるリストから選択されるT細胞エピトープを含み、さらに、  
配列番号231または配列番号802、または配列番号803または配列番号804また  
は配列番号805のアミノ酸配列と少なくとも70%一致する配列、例えば少なくとも7  
5%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも85%、例  
えば少なくとも90%、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少  
なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも9  
6%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、または例えば少なくとも99  
%一致する配列、または例えば100%一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、実施  
形態B34によるワクチン。

【0584】

52. 前記抗原ユニットが、RSFIEDLLFNKVTLA、MTYRRRLISM  
GFKMNYQVNGYPNMF、LMIERFVSLAIDAYP、RAMPNMLR  
IMASLVL、MVYMPASWVMRIMTW、FLNRF TTTTLNDFNLVA  
M、SSVELKHFFFAQDGNAAI、HFAIGLALYYPSARIVYTA  
CSHA AV、YFIKGLNNLNRGMVL、YLNTLTTLAVPYNMRV、A  
QFAPSASAFFGMSRI、EIVDTVSA LVYDNKL、SSGDATTA  
YANSVFNICQAVTANVNALL、HVI STSHKLVL SVNPYV、M  
LSDTLKNLS DRVV FVLWAHGFEL、TANPKTPKYKFVRIQP  
GQTF、ASIKNFKSVLYYQNNVFM、FVNEFYAYLRKHFSMM  
、RVWTL MNVLT LVYKV、FAYANRNRFLYIIKL、およびLVKP  
SFYVYSRVKNからなるリストから選択されるT細胞エピトープを含み、さらに、  
配列番号255のアミノ酸配列243～465と少なくとも70%一致する配列、例えば  
少なくとも75%、例えば少なくとも77%、例えば少なくとも80%、例えば少なくと

10

20

30

40

50

も 85%、例えば少なくとも 90%、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも 93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96%、例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98%、または例えば少なくとも 99% 一致する配列、または例えば 100% 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 B34 によるワクチン。

【0585】

53. 前記抗原ユニットが、RSFIEDLLFNKVTLA、MTYRRLISM  
GFKMNYQVNGYPNMF、LMIERFVSLAIDAYP、RAMPNMLR  
IMASLV L、MVYMPASWVMRIMTW、FLNRF TTT LND FNLVA  
M、SSVELKHFFFAQDGNAAI、HFAIGLALYYPSARIVYTA  
CSHA AV、YFIKGLNNLN RGMVL、YLNTLT L AVPYNMRV、A  
QFAPSASAFFGMSRI、EIVDTVSA LVYDNKL、SSGDATTA  
YANSVFNICQAVTANVNALL、HVI STSHKLVL SVNPYV、M  
LSDTLK NLS DRVV FVLWAHGFEL、TANPKTPKYKFVRIQP  
GQTF、ASIKNFKSVLYYQNNVFM、FVNEFYAYLRKHFSMM  
、RVWTL MNVL TLVYKV、FAYANRNRFLYIIKL、および LVKP  
SFYVYSRVKN からなるリストから選択される T 細胞エピトープを含み、さらに、  
配列番号 246 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 一致する配列、例えば少なくとも 75  
%、例えば少なくとも 77%、例えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 85%、例  
えば少なくとも 90%、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なく  
とも 93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96  
%、例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98%、または例えば少なくとも 99%  
一致する配列、または例えば 100% 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、実施形  
態 B34 によるワクチン。

【0586】

54. 前記抗原ユニットが、RSFIEDLLFNKVTLA、MTYRRLISM  
GFKMNYQVNGYPNMF、LMIERFVSLAIDAYP、RAMPNMLR  
IMASLV L、MVYMPASWVMRIMTW、FLNRF TTT LND FNLVA  
M、SSVELKHFFFAQDGNAAI、HFAIGLALYYPSARIVYTA  
CSHA AV、YFIKGLNNLN RGMVL、YLNTLT L AVPYNMRV、A  
QFAPSASAFFGMSRI、EIVDTVSA LVYDNKL、SSGDATTA  
YANSVFNICQAVTANVNALL、HVI STSHKLVL SVNPYV、M  
LSDTLK NLS DRVV FVLWAHGFEL、TANPKTPKYKFVRIQP  
GQTF、ASIKNFKSVLYYQNNVFM、FVNEFYAYLRKHFSMM  
、RVWTL MNVL TLVYKV、FAYANRNRFLYIIKL、および LVKP  
SFYVYSRVKN からなるリストから選択される T 細胞エピトープを含み、さらに、  
配列番号 246 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 一致する配列、例えば少なくとも 75  
%、例えば少なくとも 77%、例えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 85%、例  
えば少なくとも 90%、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なく  
とも 93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96  
%、例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98%、または例えば少なくとも 99%  
一致する配列、または例えば 100% 一致する配列を有するアミノ酸配列を含む、実施形  
態 B34 によるワクチン。

【0587】

55. 前記抗原ユニットが、RAMPNMLRIMASLV L、HVI STSHKLVL  
SVNPYV、および LVKPSFYVYSRVKNL からなるリストから選択される  
1 つ以上の T 細胞エピトープを含み、さらに、配列番号 255 のアミノ酸配列 243~4  
65 と少なくとも 70% 一致する配列、例えば少なくとも 75%、例えば少なくとも 77  
%、例えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 85%、例えば少なくとも 90%、例  
えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも 93%、例えば少なく

10

20

30

40

50



62. 前記ターゲティングユニットが、抗原提示細胞（APC）上の分子または受容体に対する特異性、好ましくはCD14、CD40、Toll様受容体、CCR1、CCR3、CCR5、MHCクラスIIタンパク質、またはMHCクラスIIタンパク質に対する特異性を有する抗体結合領域を含む、実施形態B1～B61のいずれか1つによるワクチン。

【0595】

63. 前記ターゲティングユニットが、CCR1、CCR3、およびCCR5から選択されるケモカイン受容体に対する親和性を有する、実施形態B1～B62のいずれか1つによるワクチン。

【0596】

64. 前記ターゲティングユニットが、MHCクラスIIタンパク質、好ましくは抗HLA-DP、抗HLA-DR、および抗pan HLAクラスIIからなる群から選択されるMHCクラスIIタンパク質に対する親和性を有する、実施形態B62～B63のいずれか1つによるワクチン。

【0597】

65. 前記ターゲティングユニットが、抗pan HLAクラスIIとMIP-1αから選択され、好ましくは抗pan HLAクラスIIとヒトMIP-1αから選択される、実施形態B1～B64のいずれか1つによるワクチン。

【0598】

66. 前記ターゲティングユニットがMIP-1αであり、好ましくはヒトMIP-1αである、実施形態B65によるワクチン。

【0599】

67. 前記ターゲティングユニットが、配列番号233のアミノ酸配列24～93と少なくとも85%一致するアミノ酸配列、例えば少なくとも86%、または少なくとも87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、少なくとも99%、または100%一致するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B66によるワクチン。

【0600】

68. 前記ターゲティングユニットが抗pan HLAクラスIIである、実施形態B65によるワクチン。

【0601】

69. 前記ターゲティングユニットが、配列番号321のアミノ酸配列20～260と少なくとも85%一致するアミノ酸配列、例えば少なくとも86%、または少なくとも87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、少なくとも99%、または100%一致するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態B68によるワクチン。

【0602】

70. 前記二量体化ユニットがヒンジ領域を含む、実施形態B1～B69のいずれか1つによるワクチン。

【0603】

71. 前記ヒンジ領域が1つ以上の共有結合を形成する能力を有する、実施形態B70によるワクチン。

【0604】

72. 前記ヒンジ領域がIg由来である、実施形態B70～B71のいずれか1つによるワクチン。

【0605】

73. 前記二量体化ユニットが、二量体化を容易にする別のドメインをさらに含む、実施形態B70～B72のいずれか1つによるワクチン。

【0606】

74. 前記別のドメインが、免疫グロブリンドメイン、好ましくは免疫グロブリン定常

10

20

30

40

50

ドメインである、実施形態 B 7 3 によるワクチン。

【0607】

75. 前記別のドメインが、IgG、好ましくはIgG3に由来するカルボキシ末端 C ドメインである、実施形態 B 7 3 と B 7 4 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0608】

76. 前記二量体化ユニットが二量体化ユニットリンカーをさらに含む、実施形態 B 7 0 ～ B 7 5 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0609】

77. 前記二量体化ユニットリンカーが、前記ヒンジ領域と、二量体化を容易にする前記別のドメインを接続する、実施形態 B 7 6 によるワクチン。

【0610】

78. 前記二量体化ユニットが、ヒンジエキソン h 1 とヒンジエキソン h 4、二量体化ユニットリンカー、およびヒト IgG3 の CH3 ドメインを含む、実施形態 B 7 0 ～ B 7 7 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0611】

79. 前記二量体化ユニットが、配列番号 233 のアミノ酸配列 94 ～ 237 と少なくとも 85 % 一致するアミノ酸配列、例えば少なくとも 86 %、または少なくとも 87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、少なくとも 99 %、または 100 % 一致するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態 B 7 8 によるワクチン。

【0612】

80. 前記ポリヌクレオチド (i) を含む、実施形態 B 1 ～ B 7 9 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0613】

81. 前記ポリヌクレオチドが RNA または DNA であり、好ましくは DNA である、実施形態 B 8 0 によるワクチン。

【0614】

82. 前記ポリヌクレオチドが、シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列をさらに含む、実施形態 B 8 0 ～ B 8 1 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0615】

83. 前記シグナルペプチドが、Ig V H シグナルペプチド、ヒト TPA シグナルペプチド、またはヒト MIP 1- $\alpha$  シグナルペプチドである、実施形態 B 8 2 によるワクチン。

【0616】

84. 前記シグナルペプチドが、配列番号 233 のアミノ酸配列 1 ～ 23 と少なくとも 85 % 一致するアミノ酸配列、例えば少なくとも 86 %、例えば少なくとも 87 %、例えば少なくとも 88 %、例えば少なくとも 89 %、例えば少なくとも 90 %、例えば少なくとも 91 %、例えば少なくとも 92 %、例えば少なくとも 93 %、例えば少なくとも 94 %、例えば少なくとも 95 %、例えば少なくとも 96 %、例えば少なくとも 97 %、例えば少なくとも 98 %、例えば少なくとも 99 %、または 100 % 一致するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態 B 8 3 によるワクチン。

【0617】

85. 前記ターゲティングユニットがヒト MIP-1 $\alpha$  である、実施形態 B 8 4 によるワクチン。

【0618】

86. 前記シグナルペプチドが、配列番号 321 のアミノ酸配列 1 ～ 19 と少なくとも 85 % 一致するアミノ酸配列、例えば少なくとも 86 %、例えば少なくとも 87 %、例えば少なくとも 88 %、例えば少なくとも 89 %、例えば少なくとも 90 %、例えば少なくとも 91 %、例えば少なくとも 92 %、例えば少なくとも 93 %、例えば少なくとも 94 %、例えば少なくとも 95 %、例えば少なくとも 96 %、例えば少なくとも 97 %、例え

10

20

30

40

50

ば少なくとも 98%、例えば少なくとも 99%、または 100%一致するアミノ酸配列を含むかそのアミノ酸配列からなる、実施形態 B 83 によるワクチン。

【0619】

87. 前記ターゲティングユニットが抗 p a n H L A クラス I I である、実施形態 B 86 によるワクチン。

【0620】

88. 前記ポリペプチドまたは前記二量体化ユニットを含み、前記ペプチドまたは前記二量体タンパク質の中の前記ターゲティングユニット、前記二量体化ユニット、および前記抗原ユニットが、N 末端から C 末端に向かい、ターゲティングユニット、二量体化ユニット、および抗原ユニットの順番である、実施形態 B 1 ~ B 87 のいずれか 1 つによるワクチン。

10

【0621】

89. 前記ベータコロナウイルスが、S A R S - C o V、M E R S - C o V、S A R S - C o V - 2、H C o V - O C 43、および H C o V - H K U 1 からなる群から選択される 1 つ、好ましくは S A R S - C o V と S A R S - C o V からなる群から選択される 1 つである、実施形態 B 1 ~ B 88 のいずれか 1 つによるワクチン。

【0622】

90. 前記ベータコロナウイルスが S A R S - C o V 2 である、実施形態 B 89 によるワクチン。

【0623】

91. 薬学的に許容可能な前記担体が、生理食塩水、緩衝化生理食塩水 (P B S など)、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、滅菌等張水性バッファ、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態 B 1 ~ B 90 のいずれか 1 つによるワクチン。

20

【0624】

92. 実施形態 B 1 ~ B 90 のいずれか 1 つに規定されたポリヌクレオチド。

【0625】

93. 実施形態 B 92 によるポリヌクレオチドを含むベクター。

【0626】

94. 実施形態 B 1 ~ B 90 のいずれか 1 つに規定されたポリヌクレオチドを含むか、実施形態 B 93 によるベクターを含む宿主細胞。

30

【0627】

95. 実施形態 B 92 に規定されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド。

【0628】

96. 実施形態 B 95 に規定されたポリペプチド 2 つからなる二量体タンパク質。

【0629】

97. 前記二量体タンパク質がホモ二量体タンパク質である、実施形態 B 96 による二量体タンパク質。

【0630】

98. 薬として使用するための、実施形態 B 92 によるポリヌクレオチド、または実施形態 B 95 によるポリペプチド、または実施形態 B 96 または B 97 のいずれか 1 つによる二量体タンパク質。

40

【0631】

99. ベータコロナウイルスの感染症の治療に使用するための、またはベータコロナウイルス感染症の予防に使用するための、実施形態 B 92 によるポリヌクレオチド、または実施形態 B 95 によるポリペプチド、または実施形態 B 96 または B 97 のいずれか 1 つによる二量体タンパク質。

【0632】

100. S A R S - C o V、M E R S - C o V、S A R S - C o V - 2、H C o V - O

50

C 4 3、または H C o V - H K U 1、好ましくは S A R S - C o V または S A R S - C o V、より好ましくは S A R S - C o V 2 の感染症の治療に使用するための、または予防に使用するための、実施形態 B 9 2 によるポリヌクレオチド、または実施形態 B 9 5 によるポリペプチド、または実施形態 B 9 6 または B 9 7 のいずれか 1 つによる二量体タンパク質。

#### 【0633】

101. 実施形態 B 1 ~ B 7 9 と B 8 8 ~ B 9 1 のいずれか 1 つによるワクチンを調製する方法であって、

a) 実施形態 B 1 ~ B 9 0 のいずれか 1 つに規定されたポリヌクレオチドを細胞にトランスフェクトする工程；

b) 前記細胞を培養する工程；

c) 前記細胞から発現した前記二量体タンパク質または前記ポリペプチドを回収して精製する工程；および

d) 工程 c) から得られた前記二量体タンパク質または前記ポリペプチドを薬学的に許容可能な前記担体と混合する工程を含む方法。

#### 【0634】

102. 実施形態 B 1 ~ B 8 7 と B 8 9 ~ B 9 1 のいずれか 1 つによるワクチンを調製する方法であって、前記ワクチンが前記ポリペプチドを含み、前記方法が、

a) 前記ポリヌクレオチドを調製する工程；

b) 場合により、前記ポリヌクレオチドを発現ベクターにクローニングする工程；および

c) 工程 a) から得られた前記ポリヌクレオチド、または工程 b) から得られた前記ベクターを薬学的に許容可能な前記担体と混合する工程を含む方法。

#### 【0635】

103. ベータコロナウイルス感染症に罹患しているか、その予防を必要とする対象を治療する方法であって、実施形態 B 1 ~ B 9 1 のいずれか 1 つに規定されたワクチンを前記対象に投与することを含む方法。

#### 【0636】

104. ベータコロナウイルスの感染の治療、またはベータコロナウイルス感染症の予防に使用するための、実施形態 B 1 ~ B 9 1 のいずれか 1 つに規定されたワクチン。

#### 【図面】

##### 【図 1】

Fig. 1

配列番号230

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSQTNGTKRFD  
NPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNNATNVIKVCEQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYS  
SANNCTFEVYQSPFLMDLEGGKQGNFKNLREFVKNIDGYFKYKHTPINLVRDLPGQFSALEFLVDLPIGINITRFQTLAL  
HRSYLTGPDSSSGWTAGAAAYYGYLQPRTELLKYENGTITDAVDCALDPLSETKCTLSFTVEKGIVQTSNFRVQPT  
SIVRFNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADS  
FVIRGDEVIRGQIAPGQTKGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFFERDITEIYQAGSTPCNGVEG  
FNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFGTLTGTVLTESNKKFLPFQ  
FGRDIADTTDAVRDPTLEILDITPCSFSGGVSVITPGTNSQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGNSVFT  
RAGCLIGAHEVNNSECDIPIGAGICASYQTQNSPRRSVASQSIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNTISVTTEILPV  
SMTKTSVDCITMYICGDSSTECNLLQYGSFQTLNRLATGIAVEQDKNTQEVFAQVQKIQYTPPIKDFGGFNFSQILPDPS  
KPSKRSFIEDLLFNKVTLDAGFIKQYGDCLGDIARDLCAQKFNGLTVLPPLTDEMAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA  
LQIPFAMQAMAYRFNGIGVTVQNVLYENQKLIANQFNSAIGIKQDLSSTASALGKLDVNVNQAQALNTLVKQLSSNFGAIS  
SVLNDILSRDLKVEAEVQIDRLITGRQLQTVVTOQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGOQSKRVDFCGKGYHLSMFPQS  
APHGVFLHVTYPAPAEKNFTTAPACHDGAHFREGVFSNGTHWFTVQRNFYEQIITDNTFVSGNCDVIGIVNNT  
VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDIGINASVNNIKEIDRLNEVAKNLSLIDLQELGKYEYQIKWPVYIWL  
GFIAGLIAVMITLCCMTSCCSCSLKGCSCSGCKFDEDDSEFVLKGVKLHYT

##### 【図 2】

Fig. 2

A: 配列番号231

NITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADS  
FVIRGDEVIRGQIAPGQTKGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFFERDITEIYQAGSTPCNGVEG  
FNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFGTLTGTVLTESNKKFLPFQ  
FGRDIADTTDAVRDPTLE

B: 配列番号802

RVQPTESIVRFNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADS  
FVIRGDEVIRGQIAPGQTKGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFFERDITEIYQAGSTPC  
NGVEGFNCFYPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

C: 配列番号803

RVQPTESIVRFNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADS  
FVIRGDEVIRGQIAPGQTKGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFFERDITEIYQAGSTPC  
NGVEGFNCFYPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

D: 配列番号804

RVQPTESIVRFNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADS  
FVIRGDEVIRGQIAPGQTKGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFFERDITEIYQAGSTPC  
NGVEGFNCFYPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

E: 配列番号805

RVQPTESIVRFNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADS  
FVIRGDEVIRGQIAPGQTKGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFFERDITEIYQAGSTPC  
NGVEGFNCFYPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

10

20

30

40

50

## 【図 3】

Fig. 3

配列番号232

DVDLGDISGINASVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDL

## 【図 5】

Fig. 5

配列番号234

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEE  
VVQKYVSDLELSA

## 【図 7】

Fig. 7

配列番号236

MDAMKRGLCVLLCGAVFVSP

## 【図 9】

Fig. 9

配列番号238

MTYRRLISMGMFKMNYQVNGYPNMFGGGSGGGGSHVISTSHKLVLSVNPYVCGGSGGGGSFLNRFTTTLNDFNLV  
AMSSVELKHFFFAQDGNAAIGGGSGGGGSHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVGGGSGGGGSRAMPNMLRIMASL  
VLMVYMPASWVMRIMTWGGGSGGGGSRFIEDLLFNKVTALMIERFVSLAIDAYPGGGSGGGGSAQFAPSASAFF  
GMSRIEIVTVSALVYDNKLSGGGSGGGGSHFIKGLNNLNRGMVLYLNTLTLAVPYNMRVSGGGSGGGGSGDATT  
YANSVFNICQAVTANVNALLGGGSGGGGSHFNKVTALMIERFVSLAIDAYPGGGSGGGGSAQFAPSASAFF  
YGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVIRGDEVIRQIAPGQTGKIADYNYKLDDFTGCVIAWNSNLDKVGNGNYNYLRLFRKS  
NLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCFPLQSYGQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

## 【図 4】

Fig. 4

配列番号233

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLS |  
APLAADPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEEVVQKYVSDLELSA |  
ELKTPGLDTHHT | EPKSCDTPPPCPRCP | GGGSSGGGSG |  
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSGGSFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNIFSCSVMHREALHNRFTQKLSLSLSPGK | GLGGL |

## 【図 6】

Fig. 6

配列番号235

MNFGLRLIFLVLTKGVQC

## 【図 8】

Fig. 8

配列番号237

MTYRRLISMGMFKMNYQVNGYPNMFGGGSGGGGSHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYYQNNVFMGGGSGG  
GGSRFIEDLLFNKVTALMIERFVSLAIDAYPGGGSGGGGSRAMPNMLRIMASLVMVYMPASWVMRIMTWGGGSG  
GGGSHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVGGGSGGGGSHFIKGLNNLNRGMVLYLNTLTLAVPYNMRVSGGGSGGG  
GSNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVIRGDEVIR  
QIAPGQTGKIADYNYKLDDFTGCVIAWNSNLDKVGNGNYNYLRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCF  
YPLQSYGQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

## 【図 10】

Fig. 10

配列番号239

MTYRRLISMGMFKMNYQVNGYPNMFGGGSGGGGSHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYYQNNVFMGGGSGG  
GGSYFIKGLNNLNRGMVLYLNTLTLAVPYNMRVGGGSGGGGSHFIKGLNNLNRGMVLYLNTLTLAVPYNMRVGGGSGGG  
HFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVGGGSGGGGSRFIEDLLFNKVTALMIERFVSLAIDAYPGGGSGGGGSRAMPN  
MLRIMASLVMVYMPASWVMRIMTWGGGSGGGGSRVWTLMNVLTVYKFAYANRNRFLYIKLSGGGSGGGGSAQ  
FAPSASAFFGMSRIEIVTVSALVYDNKLSGGGSGGGGSHFIKGLNNLNRGMVLYLNTLTLAVPYNMRVGGGSGGGG  
GGGSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLGGGSGGGGSHFNKVTALMIERFVSLAIDAYPGGGSGGGGSAQFAPSASAFF  
YGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVIRGDEVIRQIAPGQTGKIADYNYKLDDFTGCVIAWNSNLDKVGNGNYNYLRLFRKSNLKP  
FERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCFPLQSYGQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

10

20

30

40

50

## 【図 1 1】

Fig. 11

配列番号240

MTYRRLISMGMKMYQVNGYPNMFGGGSGGGGSHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMGGGGSGG  
GGGSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSGGGSGGGGFLNRFTTLDNDFNLVAMSSVELKHFFAQDGNAAIGGG  
GSGGGGSM L S D T L K N L S D R V F V L W A H G F E L S G G G S G G G G H F A I G L A L Y Y P S A R I V Y T A C S H A A V G G G S G G G S R  
S F I E D L L F N K V T L A L M I E R F V S L A I D A Y P G G G S G G G S R A M P N M L R I M A S L V L M V Y P A S W V M R I M T W G G G S G G G S  
S V Q M A P I S A M V R M Y I F F A S F Y Y W K S Y V H V G G G S G G G S R V W T L M N V L T L Y Y K V F A Y A N R N R F L Y I I K L S G G G S G G  
G G A Q F A P S A F F G M S R I E I D V T V S A L Y D N K L S G G G S G G G S L L M P I L T R A L T A Y T V E L G T E V N E F A C V G G G S G G  
G G G S Y F I K L N L N R G M V L Y L N T L T L A V P Y N M R V G G G S G G G S T V Y T K V D G V D E L F E N K T T L P V N V A F G G G S G G  
G S T A N P K T P K Y K F V R I Q P G Q T F F V N E F A Y L R K H F S M M G G G S G G G S N I T N L C P F G E V F N A T R F A S V A W N R K R I S N C  
V A D Y S V L Y N S A S F T F K C Y G V S P T K L N D L C F T N Y A D S F V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N L D  
S K V G G N Y N Y L R L F R K S N L K P F E R D I S T E I Y A G S T P C N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T N G V G Y Q P Y R V V L S F E L L H A P A  
T

## 【図 1 3】

Fig. 13

配列番号242

MTYRRLISMGMKMYQVNGYPNMFGGGSGGGGSHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMGGGGSGG  
GGSYFIKGLNLRGMVLYLNTLTALVPYNMRVGGGSGGGGSM L S D T L K N L S D R V F V L W A H G F E L S G G G S G G G G  
H F A I G L A L Y Y P S A R I V Y T A C S H A A V G G G S G G G S R S F I E D L L F N K V T L A L M I E R F V S L A I D A Y P G G G S G G G S N I T N L C  
P F G E V F N A T R F A S V A W N R K R I S N C V A D Y S V L Y N S A S F T F K C Y G V S P T K L N D L C F T N Y A D S F V I R G D E V R Q I A P G Q T G  
K I A D Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N L D S K V G G N Y N Y L R L F R K S N L K P F E R D I S T E I Y A G S T P C N G V E G F N C Y F P L Q S Y G  
F Q P T N G V G Y Q P Y R V V L S F E L L H A P A T G G G S G G G S R A M P N M L R I M A S L V L M V Y P A S W V M R I M T W G G G S G G G G  
S R V W T L M N V L T L Y Y K V F A Y A N R N R F L Y I I K L S G G G S G G G G A Q F A P S A F F G M S R I E I D V T V S A L Y D N K L S G G G S G G  
G G F L N R F T T L D N D F N L V A M S S V E L K H F F A Q D G N A I S G G G S G D A T T A Y A N S V F N I C Q A V T A N V N A L L S G G G  
G S G G G T A N P K T P K Y K F V R I Q P G Q T F F V N E F A Y L R K H F S M M

## 【図 1 5】

Fig. 15

配列番号244

MTYRRLISMGMKMYQVNGYPNMFHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMFYIKGLNLRGMVLYLNTL  
TLAVPYNMRVMLSDTLKNLSDRVFVLWAHGFELHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVRSFIEDLLFNKVTALMIERFVS  
LAIDAYPRAMPNMLRIMASLVLMVYMPASWVMRIMTWVRWVTLMNVLTLVYKVFAYANRNRFLYIIKLAQFAPSASAFFGM  
SRIEIVDTVSALYVDNKLFLNRFTTTLNDFNLVAMSSVELKHFFAQDGNAAISSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLT  
ANPKTPKYKFVRIQPGQTFFVNEFYAYLRKHFSMMNITNLPFGGEVFNATRFSASYAWNKRISNCVADYSVLNSASFST  
FKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVIRGDEVRIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYNYLRL  
FRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

## 【図 1 7】

Fig. 17

配列番号246

NITNLPFGGEVFNATRFSASYAWNKRISNCVADYSVLNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVIRGDEVRIAP  
PGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYNYLRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP  
LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

## 【図 1 2】

Fig. 12

配列番号241

KMFDAYVNTFSSTFNVRVYSTGSNVFQTRAGGSSGGSGGSVAYSNNISAIPTNFTISVTTEIGGGSGGGGSTANPK  
TPKYKFVRIQPGQTFFVNEFYAYLRKHFSMMGGGGSGGGSTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFGGGSGGGGS  
YFIKGLNLRGMVLYLNTLTALVPYNMRVGGGSGGGGSLVKPSFYVYSRVKNLVQGESPFVMMASAPPAQYELSGGG  
GSGGGGMLSDTLKNLSDRVFVLWAHGFELSGGGSGGGGHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVGGGSGGGGSR  
FIEDLLFNKVTALMIERFVSLAIDAYPGGGSGGGGSRAMPNMLRIMASLVLMVYMPASWVMRIMTWGGGSGGGGS  
VQMAPISAMVRMYIFFASFYYWKSYYHVGGGSGGGGSRVWTLMNVLTLVYKVFAYANRNRFLYIIKLSGGGSGGG  
GAQFAPSASAFFGMSRIEIVDTVSALYVDNKLSGGGSGGGGSLMPILTALTRALTAYTVELGTEVNEFACVGGGSGG  
GGSFLNRFTTTLNDFNLVAMSSVELKHFFAQDGNAAISGGGSGGGSDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSGG  
GSGGGGHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMGGGSGGGGSMYRRLISMGMKMYQVNGYPNMF  
GGGSGGGSGGSDDTVIEVQGYKSVNITFELDERIGGGSGGGGSNITNLPFGGEVFNATRFSASYAWNKRKISNCVAD  
YSVLNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVIRGDEVRIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSK  
VGNGNYNYLRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

## 【図 1 4】

Fig. 14

配列番号243

NITNLPFGGEVFNATRFSASYAWNKRISNCVADYSVLNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVIRGDEVRIAP  
PGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYNYLRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP  
LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATGGGSGGGGSMYRRLISMGMKMYQVNGYPNMFGGGSGGGG  
SHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMGGGSGGGGSHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMGGGGSGG  
GSGGGGSM L S D T L K N L S D R V F V L W A H G F E L S G G G S G G G G H F A I G L A L Y Y P S A R I V Y T A C S H A A V G G G S G G G S R  
S F I E D L L F N K V T L A L M I E R F V S L A I D A Y P G G G S G G G S R A M P N M L R I M A S L V L M V Y P A S W V M R I M T W G G G S G G G G  
S R V W T L M N V L T L Y Y K V F A Y A N R N R F L Y I I K L S G G G S G G G G A Q F A P S A F F G M S R I E I D V T V S A L Y D N K L S G G G S G G  
G G F L N R F T T L D N D F N L V A M S S V E L K H F F A Q D G N A I S G G G S G D A T T A Y A N S V F N I C Q A V T A N V N A L L S G G G  
G S G G G T A N P K T P K Y K F V R I Q P G Q T F F V N E F A Y L R K H F S M M

## 【図 1 6】

Fig. 16

配列番号245

MTYRRLISMGMKMYQVNGYPNMFGGGSGGGGSHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMGGGGSGG  
GGSYFIKGLNLRGMVLYLNTLTALVPYNMRVGGGSGGGGSM L S D T L K N L S D R V F V L W A H G F E L S G G G S G G G G  
H F A I G L A L Y Y P S A R I V Y T A C S H A A V G G G S G G G S R S F I E D L L F N K V T L A L M I E R F V S L A I D A Y P G G G S G G G S R A M P N  
M L R I M A S L V L M V Y P A S W V M R I M T W G G G S G G G S R V W T L M N V L T L Y Y K V F A Y A N R N R F L Y I I K L S G G G S G G G G A Q  
F A P S A F F G M S R I E I D V T V S A L Y D N K L S G G G S G G G G F L N R F T T L D N D F N L V A M S S V E L K H F F A Q D G N A I S G G G S  
G G G S G S G D A T T A Y A N S V F N I C Q A V T A N V N A L L S G G G S G G G G T A N P K T P K Y K F V R I Q P G Q T F F V N E F A Y L R K H F S M M

## 【図 1 8】

Fig. 18

配列番号247

KMFDAYVNTFSSTFNVRVYSTGSNVFQTRAGGSSGGSGGSVAYSNNISAIPTNFTISVTTEIGGGSGGGGSTANPK  
TPKYKFVRIQPGQTFFVNEFYAYLRKHFSMMGGGGSGGGSTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFGGGSGGGGS  
YFIKGLNLRGMVLYLNTLTALVPYNMRVGGGSGGGGSLVKPSFYVYSRVKNLVQGESPFVMMASAPPAQYELSGGG  
GSGGGGMLSDTLKNLSDRVFVLWAHGFELSGGGSGGGGHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVGGGSGGGGSR  
FIEDLLFNKVTALMIERFVSLAIDAYPGGGSGGGGSRAMPNMLRIMASLVLMVYMPASWVMRIMTWGGGSGGGGS  
VQMAPISAMVRMYIFFASFYYWKSYYHVGGGSGGGGSRVWTLMNVLTLVYKVFAYANRNRFLYIIKLSGGGSGGG  
GAQFAPSASAFFGMSRIEIVDTVSALYVDNKLSGGGSGGGGSLMPILTALTRALTAYTVELGTEVNEFACVGGGSGG  
GGSFLNRFTTTLNDFNLVAMSSVELKHFFAQDGNAAISGGGSGGGSGGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSGG  
GSGGGGHVISTSHKLVLSVNPYVASIKNFKSVLYQNNVFMGGGSGGGGSMYRRLISMGMKMYQVNGYPNMF  
GGGSGGGSGGSDDTVIEVQGYKSVNITFELDERI

10

20

30

40

50

## 【図 19】

Fig. 19

配列番号248

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVHSTQDLPLFFSNVTFWFAIHVSGTNGTKRFD  
NPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNNATNVKVCCEFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYS  
SANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRLDQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLAL  
HRSYLTTPGSSSGWTAGAAAYYGYLQPRFTLLKYVENGTITDAVDCALDPLSETKGLKSFTEVKGIYQTSNFRVQPTTE  
SVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNYYADSFVRGD  
EVQRAPGQGTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLRLFRKSNLKPFRDISTEIYQAGSTPCNGVEG  
FNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNNKCVNFNENGLTGTGLTESNKKFLPFQ  
FGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGNSNVFQT  
RAGCLIGAEHVNNSEYCDIPIGAGICASYQTQTSNPRRARSVASQSIAYTMSLGAENSAYSNSIAIPTNFTISVTTEILPV  
SMTKTSVDCITMYCDSSTECNNLLQYSGFTQLNRALTQIAVEQDNKTQEVFAQVKQIYKTPPKQFGGFMFSQILPDPS  
KPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIARDLCAQKFNGLTVLPPLTDEMAQVTSALLAGTITSGWTFGAGAA  
LQIPFAMQMYRNFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTASALGKLDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS  
SVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRQLSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGGSKRVDVFCGKGYHLSMFPQS  
APHGVVFLHVTVYPAGEKNFTTAPAICHGKAHFPREGVFSNGTHWFVTQRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVIGIVNNT  
VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEYQYKWPWYWL  
GFIAGLIAVMVMTLCOMTSCCSDLKGCSCSGCKFDEDDSEPLVGKVLHYT

## 【図 20】

Fig. 20

配列番号249

DVLGDISGINASVVIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEYQYK

10

## 【図 21】

Fig. 21

配列番号250

KMFDAYVNTFSSTFNVRVYSTGSNVFQTRAGSGSGGSGGSSVAYSNNISIAIPTNFTISVTTEIGGGSGGGSGSTANPK  
TPKYKPVRIQPGQTFFVNEFYAYLRKHFSMMGGGSGGGGSTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFGGGSGGGGS  
YFIKGLNNLNRGMVLYLNTLTAVPYNMVRVGGGSGGGGSLVKPSFYYSRVKNLVQQESPFVMSAPPAQYELSGGG  
SGGGGMLSDTLKNLSRVRVFLWAHGFELSGGGSGGGGHFAIGLALYYP SARIVYTACSHAAVGGGSGGGGSR  
FIEDLLFNKVTLALMIERFVSLADAYPGGGSGGGGSRAMPNMLRIMASLVLVVMYPASWVMRIMTWGGGSGGGGS  
VQMAPISAMVRMYIFASPHYWKSIVHVGSGGSGGGGSRVWTLMNVLTVYKFAYANRRLYIKLSGGGSGGG  
GAQFAPSASAFFGMSRIEIVDVSALVYDNKLSGGGSGGGGSLMPILTLTRALTAYTVELGTEVNEFACVGGGSGG  
GGSFLNRFITTLNDFNLVAMSSVELKHFFAODGNAASGGGSGGGGSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSGG  
GSGGGGHVISTSHKLVSVNPHYASIKNFKSVLYYQNNVFMGGGSGGGGSMYRRLISMFGKMNQVNGYPNMF  
GGGSGGGGSGFGDDTVEVQGYKSVNITFELDERIGGGSGGGGSDVLGDISGINASVVIQKEIDRLNEVAKNLNESL  
IDLQELGKYEYQYK

## 【図 22】

Fig. 22

配列番号251

DVLGDISGINASVVIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEYQYKGGGSGGGSGGSKMFDAYVNTFSSTFNVRVYSTG  
SNVFQTRAGSGSGGSGGSSVAYSNNISIAIPTNFTISVTTEIGGGSGGGSGSTANPKTPKYKPVRIQPGQTFFVNEFYAY  
LRKHFSMMGSGGGSGGSTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFGGGSGGGGSYFIKGLNNLNRGMVLYLNTLTAV  
PYNMVRVGGGSGGGGSLVKPSFYYSRVKNLVQQESPFVMSAPPAQYELSGGGSGGGGMLSDTLKNLSRVRVFL  
LWAHGFELSGGGSGGGGHFAIGLALYYP SARIVYTACSHAAVGGGSGGGGSRFIEDLLFNKVTLALMIERFVSLAD  
AYPGGGSGGGGSRAMPNMLRIMASLVLVVMYPASWVMRIMTWGGGSGGGGSRVQMAPISAMVRMYIFASPHYW  
KSYVHVGGGSGGGGSRVWTLMNVLTVYKFAYANRRLYIKLSGGGSGGGGGAQFAPSASAFFGMSRIEIVDVS  
ALVYDNKLSGGGSGGGGSLMPILTLTRALTAYTVELGTEVNEFACVGGGSGGGGSLNRFITTLNDFNLVAMSSVE  
LKHHFFAODGNAASGGGSGGGGSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSGGGSGGGGHVISTSHKLVSVNPHY  
ASIKNFKSVLYYQNNVFMGGGSGGGGSMYRRLISMFGKMNQVNGYPNMFGGGSGGGGSGFGDDTVEVQGYK  
SVNITFELDERIGGGSGGGGSNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNSASFSTFKCYGVSPTKLN  
DLCTFTNVYADSFVRGDEVQRAPGQGTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLRLFRKSNLKPFRDIS  
TEIYQAGSTPCNGVEGFNCFYPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

20

30

40

50

## 【図 2 3】

Fig. 23

## A. 配列番号252

ATGCAGGTTCCACTGCTGCCCTTCCGCTCTCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACAGGTTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACACGCCGACGCCCTGCTGCTTCAAGTCAACCTCCGACAGATTCCACAGAATTTATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCCAAAGCCAGTGTATCTTCTTAACCAAGAGAGGCCGCGAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTGAGTGTGAGCTGGAGTGAAGTCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCGTGCCTCAAGGTGCCAGGCGGTGGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAATGGAGGACAGCCCGGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCTTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAG  
GTGACGCTGACCTGCTGCTCAAAAGCTTCTACCCACGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAGAGCAGCGGCGAGCCG  
GAGAACAACATAACAACACCGCTCCATGTGTGAGTCCGACGCGCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTCTCATGCTCGCTGATGCATGAGGCTCTGCAACAACCGCTTACGCGAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCTCGGTGGCTGAATATTACTAACTGTGCCATTCGCGAGGTTGT  
CAACGCAACCGGTTTTCAGAGCGTGTACGATGGAACAGAAAGCGGATTAGCAACTGCTGCGCGACTACAGCGTG  
CTCTACAACAGCGCATCTTCTCCACATTCAGTGTTACGGAGTGTCAACCACTAAGCTGAACGACCTCTGCTTCA  
AATGTCTACGCGGATTCCTTCTGTTGATCCGGGAGATGAAGTCAAGGAGATTGACCAAGGACAGACTGGCAAAATCG  
CTGACTACAACATAAGCTGCAGACGATTTCACTGGCTGCGTGTATGTCATGGAACAGCAATAAATCGTGAATCAAAG  
GTGCGCGTGAATTAATAACTGTATCGGCTTGTACAGAAAGAGCAACCTGAAGCGCTTCCAGCGGGACATCTCCAC  
CGAATCTACACGCGAGGCTCAACACCTGCAACGAGTGGAAAGGCTTCAACTGCTATTCCCTCGCAGTCTTACG  
GRTTTCAGCGCAACACCGGTGTGGGCTATCAGCCATACAGGTTGGTCTGCTGAGCTCGAACTGCTCCATGCCCC  
CGCTACA

## B. 配列番号253

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYTRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRKGRQVQADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKPLNGDTTHTEPKSCDTPPPCPCPGGGSSGGSGGQPREQVYVLTTPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSGDSFLLYSKLVTDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
GLGLNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPKLNLDLCTFNVYADSVFVRGD  
EVRQIAPGQTGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNLDKSVGGNNYLYRFRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVE  
GFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPAT

## 【図 2 4】

Fig. 24

## A. 配列番号254

ATGCAGGTTCCACTGCTGCCCTTCCGCTCTCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACAGGTTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACACGCCGACGCCCTGCTGCTTCAAGTCAACCTCCGACAGATTCCACAGAATTTATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCCAAAGCCAGTGTATCTTCTTAACCAAGAGAGGCCGCGAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTGAGTGTGAGCTGGAGTGAAGTCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCGTGCCTCAAGGTGCCAGGCGGTGGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAGTGGAGGACAGCCCGGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCTTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAG  
GTGACGCTGACCTGCTGCTGCTCAAAAGCTTCTACCCACGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAGAGCAGCGGCGAGCCG  
GAGAACAACATAACAACACCGCTCCATGTGTGAGTCCGAGGCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTCTCATGCTCGGTGATGCATGAGGCTCTGCAACAACCGCTTACGCGAG  
AAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAAAGGCTCGGTGGCTGGCTGCGAGTCCAGGCCACAGAAATCAATCGTGGGTTTC  
CAACATCACCATCTCTGCCCTTCGGGAAGTGTTAATGCCACAGGTTGCCCTCAGTGTATGCTGGAAACCGG  
AAGAAATCTCCAAGTGTGCGGACACTTCTGTGCTGTACACAGCGCTCTCTCTCTCAATTCGCTGCTACGG  
CGTGTCTCTCAATGCTGAAGCATCTCTGCTTCAACAAGCTGTATGCCGATTCCTTGTGATCAGAGGAGACGAAG  
TGCACAGAAATGCTCTCGACAGACCGGGAAGATTGCCGACTACAATATAAGCTGCCAGACGATTTCACTGGCTG  
CGTATTGCTCGGAATCAACAACCTCGATTCCAAGTGGCGGGGAATTAATACTACCTTATAGACTGTTCGCTAA  
GTCTAACCTGAAGCATTCGAGCGTGATATTAGCAGCAAGATCTACAGGCGAGGTCAACTCTTGTAAAGCGATGG  
AGGAGTTCAGCTGCTACTTCCCACTCGAGTCTATGGGTTCAGCGCTCAACAACGGAAGTGGGTCACGAGCTTATCG  
GGTCTGTTGCTGTCTTGTGAGCTGCTCAACGCTCTGCAACTGTTCGCGGACCTAAGAAATCACCACCTGCTGTA  
AGAAAGTGTGCTGAATTTTC

## B. 配列番号255

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYTRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRKGRQVQADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKPLNGDTTHTEPKSCDTPPPCPCPGGGSSGGSGGQPREQVYVLTTPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSGDSFLLYSKLVTDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
GLGLNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPKLNLDLCTFNVYADSVFVRGD  
EVRQIAPGQTGIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNLDKSVGGNNYLYRFRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVE  
GFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSNLKNKCVNF

10

20

## 【図 2 5 A】

Fig. 25A. 配列番号256

ATGCAGGTTCCACTGCTGCCCTTCCGCTCTCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACAGGTTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACACGCCGACGCCCTGCTGCTTCAAGTCAACCTCCGACAGATTCCACAGAATTTATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCCAAAGCCAGTGTATCTTCTTAACCAAGAGAGGCCGCGAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTGAGTGTGAGCTGGAGTGAAGTCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCGTGCCTCAAGGTGCCAGGCGGTGGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAATGGAGGACAGCCCGGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCTTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAG  
GTGACGCTGACCTGCTGCTGGTCAAAAGCTTCTACCCACGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAGAGCAGCGGCGAGCCG  
GAGAACAACATAACAACACCGCTCCATGTGTGAGTCCGACGCTGGAATGATGATGAGGCTCTGCAACAACCGCTTACGCGAG  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCGGTGATGCATGAGGCTCTGCAACAACCGCTTACGCGAG  
AAGAGCTCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCTCGGTGGCTGAATATTACTAACTGTGCCATTCGCGAGGTTGT  
CTTATACAAATAGTTTATCTCGGGCTCTACTACTGCTGCAAAAGTGTTCGAGCAGTGTGCTGATGACACCGAG  
GAGCTGCTTCTCCCTCTCTCAGTAAATGCTACTGTGTTCCATGCAATCAAGCTGTCAGGTAATTAATGGACAAAGAG  
TTGCAACAACCGCTTCCGCTTCAATGACGGGCTTACTTCCGCGAGTACGAAAGTCTAATATCTTCTGGTGT  
GATCTCGGAACACCGTGGACAGTAAAGCCAGTCTCTGCTGATTTAATAAGCCCAAAATGCTGCTGATCAAG  
TTTTGTAATTTCAAGTGTGTAAGCTCAATCTTCCGCGCTGCTACTACATCAAGAAATTAAGAAGCTGGATGGAAGCG  
GAGTTTCAAGTGTACAGCAGTGCCTAATTTGATACATTCGAGTACGTTTCTGACGCTTCTCTGATGAGACTGGAGGS  
CAAGAGGGAATTTTAAATATCTCTGTAATTTCTTAAGATATTGACGGCTACTTCAAATCTACAGAGCA  
CACCCGATTAATTTGCTGCGAGCTGCGCAAGGGCTTCACTGACGCTGGAGGCCCTCGGTTGATCTCGAATCGGA  
ATTAATATCACTAAGTTCAGACGCTGCTGCGACATGCATGATGATCTCACACCTCGGGGATCTAGTTCCGGCTG  
CAGCTGCGGGCAGCGCCCTACTATGTGGGCTTCACTCAGCCCTCGCACTTCTGCTGAAGTAAATGAAGAGCTG  
ACTATTACGACGACGTGGATGCTGATCTCGACCCACTGAGTGAAGTGAATGACACCTCAAAAGTTTCAACGCTCGA  
GAAGGGTATCTACAGAGATCAATTTTCCGCTGAGAGCTCTGAGTGCATGCTGCGCTTCCAAATATCAACAAT  
TGTGCAATTCGGTGAAGTTTCAATCTGCTACTGCTTGTGCTAGTTTACGATGTGCAACAGAGAGGATCTCAAC  
TGCCTGGCTGACTATAGGCTTCTGTACAATTTCTCGAAGTTTCTTCAATTTAATGTTACGGGCTTACTGCTACGAA  
CTGAACGACCTGTTCTTCAACAAGCTCTACGCTGACTCTTCTGCTACCGGGCGGATGAAGTGCAGACATCGCCCG  
AGGCGACAGAGGAAGATGCAAGACTACAATACAAGCTGCCAGTGAATCACCGCTGCGTTATTGCTCGGAC  
TCCCAATATCTGGAACAGCAAGTGGGTGGGAATCAACTACTCTACCGCTTCTCAGAAAGATGATCTGAAAGC  
GTTTGAGCGGATATTTCCACCGAATCTATCAGCGCGGAAGCAGCAGCTGCAATGGAATGGAAGGTTCAATGTT  
ACTTTCGCTCCAGAGCTACGGGTTCCAGCCCAAGATGGGTTGATATACGCTTACAGGATGGTGTCTGTGCT  
TTGAGGCTGCTGATGACAGCTACCGCTGCGGGCCAGAGAGACCAATCTCGTCAAGACAGTGTGCTGGA  
ATTTCAACTTCAACGGGCTCAACGGGACGGCTCTGACAGAGTCTAATAAGAAATTTCTGCCCTTCCAGCAGTTT  
GGAAGAGACATCGCTGATACACAGACGCGCTCGGGATCCCAAGACACTGGAATCTCGACATCACACATGTA  
GCTTTGGGGAGTATAGCTATTACACGAGGAATTAATACGAAATCAGTGGCGCTCTGCTACCAAGCAGCTGAA  
TTGTACAGAAAGTTCCAGTGCCTATCACAGCAGACGCTGACCCGACTTGGCGGTGTACTCCACAGAGTCAAC  
GTGTTCCAGACAGCTGCGGGCTGCTGATTTAGGGCTGAGCAGCTCAACAATTTCTACGAGTGTGACATTTCCCATG  
GAGCGGAATCTGTGCTTCTACAGACGCTGACAGAACTCTCTCAGGAGCGGATCGGTTGCTTCAATCAAT  
ATCTGCTACTACTATGAGCTGGGTGCCAAACTCTGTTGCTTATTCTAACAATAGCATTTGCTACCGGACCAATTC  
ACCATCTCTGTCAACACTGAGATCTGCGAGTCTCATGACCAAGACCTCGCTGAGTGTACAATGATATTGTTGGA  
GACTCAACCGAGTGTCTAATCTCTGCTGCGATATGGATCTTCTGCAACCCAGCTCAACAGGCGACTGACCGGAAT  
TGCTGTGCAAGCAGGACAGAACTCAGGAGGTCTTCCGACAGGTCAAGCAGATATACAGAACCCCGCTATCAAA  
GACTTTGGGSGATTTCAACTTCTGCGAGATCTCCCGATCTTCTAAGCCATCAAGCGAGGTTTCAATGAGGATCT  
GCTCTTCAACAAGGTCACCTCTGCTGAGCTGCTTAACTGAGTACGAGAGCTCTGGGAGCATTCGACGAG  
AGAGACTGTATCTGCGCCAGAGTCAACGGACTACAGCTCTCGCCCTGCTCACTGATGAATGATCGCC  
AGTATACAAGTGTCTGCTGCGCGGAACACTACTTCCGGTGGACCTTGGAGCAGCGCGAGCTGCGATCTCC  
TTTCGCTGCGAGTGGCTACCGGTTCAATGGCATCGGCTGACCCAGAAATGCTGTGATGAGAATCGAAGAGCTG  
ATCGCAATCAGTTCAACAGCGCATCGGAAATTCAGGACTCACTCTAGTACCGGCTACGCTGGGAAACT  
CGAGGATGTTGTGAACAGAAATGCTCAGGCTCTCAACTCTTGGTAAACAGCTCAGCAGCAATTTGGTGGCATTA  
GCTCGCTCTGAATGACATCTCAGCGCTGCTGATCAGCGGAAGCTGAATCTCAAGTGTGCTTCTATCAAGAG  
CAGCTCAGAGGCTCGACACTACTGCGACACAGAGCTCACTCGCGCTGCCAAATCGAGCAGCGCAACTCG  
CAGCTACAAAATGAGCGAGTGTCTGCGGACAGTGCAGAGAGTTGATTTCTGCGGGAAGGAGCTTATCTCTAT

Fig. 25A. 続き

GTCTTCCACAGCTGCTGACACACGGGCTGGTTTCTGCGAGTCACTACGCTCCAGCCAGGAGAAGAACTTTA  
CGCCCGCTCCAGCATTTGTATGACGCGCAAAAGCCATTTTCGCGGCAAGGAGTTTCTGCTCAGCAATGGGACTCAC  
TGCTTTGTCACTCAGCGCAATTTATGAACCAAGATTAATCAACCGATAATACCTTCTGCTAGTGAATTTGAC  
GTAGTGATCGGCATCGTTAAACAATACAGTCTATGATCCGCTGCGAGCTGAGCTCGACAGCTTCAAGGAGGAGCTGG  
ACAAGTACTTCAAGAACCAACCGGCTCAGTGGATCTCGGCGACATTTCTGGCATTAAAGCTCTGTGCTCAAT  
ATCCAGGAAGGAATGAGCGACTGAATGAAGTCGCAAGAAATCTGAACGAGAGTCTGATTGATCTGACGAGGCTGG  
GAAATCAGACAGTACATC

## 【図 2 5 B】

Fig. 25B. 配列番号257

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYTRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRKGRQVQADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKPLNGDTTHTEPKSCDTPPPCPCPGGGSSGGSGGQPREQVYVLTTPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSGDSFLLYSKLVTDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
GLGLNITNLTRTQPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLPPFFSNVTFWHAIHVSHTNGTKRFDNPVLPFNDGV  
YFASTEKSNIIRGWFITTLDSKTSLLVNNATNVVIVKEFQFQNDPFLGVYHKNKSWMESEFRVYSSANNCCTFEYV  
SQPFLMDLEGGKQFNKLRPEFVKIDYGYFKIYKSHTPINLVRDLPDGSFALEPLVDLIGINITRFQTLALHRSPTGDS  
SSGWTAGAAAYYVYQPRFTLLKYNENGTTDAVDCALDPLSETKTLKSTVEKGIQTSNFRVQTESIVRFPNITNL  
PFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPKLNLDLCTFNVYADSVFVRGDEVRIAPGQTG  
KIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNLDKSVGGNNYLYRFRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCFPLQSYG  
FQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSNLKNKCVNFNGLTGTGVLTESNKKLPFQQGFRDIADTTDAV  
RDNTLEILDITPSCFGSVVITPGTNSNQAVLYQDVNCTEVPVAIHADQTLPTWRVYSTGNSNVFQTRAGCLGAEHVN  
NRYEDDIPGAGICASYQTQNSPSGAGSVAOSIIATYMSLGAENSVAYSNNNSIATPINTISVTIELVPMSTKTSVDDCTM  
YICGDSITECSNLLQYGSFCTQLNRLTLGIAVEQDKNTQEVPAOVKQYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKSFIEDLL  
FNKVTLDAGFIKQYGDCLDJAARDLCAQKFNGLTLPPLLTDEMIQYTSALLAGTITSGWFTGAGAALQIFPMQAMAY  
RNFVIGVTQNLVYENQKLIANQFNSAIGKIQDLSSTASALGKQDQVNVQNAQALNTLVKLSNSNFGAISVNLNLSRLPD  
PEAVEQIDRLITGRQLQTYVTQQILRAAEIRASANLAATKMSECVLGGSKRVDFCGKYHLMSPFQSAFHGVVFLHVTY  
VPAQEKNFITPAICHGDKAHFPREGVFSVNGTHWFTVRNFYEQIITDNTFVSGNCDVYIVGIVNTVYDLPQLPELDSF  
KEELDKEYFNHTSPDVLDSIGINASVWNIQEKIDRLNEVAKNLNLSIDLQELQKEYQYI

30

40

50

【圖 26】

Fig. 26

A. 配列番号258

TGTGAGGTCTCCACCTGCTCGTCTCGGTCTCTCTCTGCACATCTACCTCTGCACACAGAGTCTCTCTGCACACACT  
 AGTCTGCTGACGCGCAGCGACCGTCTGCTGCTCTCAGTCACATCTCCGCGACAGTTTCCACAGAATTAATCAATGACTACT  
 TTGAGACGACGAGCCAGCTGCTCCAAAGCCAGTGTCTACTCTTCTCAACAGGAGGCGCGAGGAGTCTGTGTGTCAGCC  
 CAGTGAAGGATGGGTGCAGAAATACGTAGTCACTGACGTGACCTGATGCGCAAGCTCAAACCCCACTTGTGTGACACA  
 ATCTCACACAGGACCAAAATCTTGTGACACAACTCCCCCGTCCAGAGAGTGTCCCAAGGGTGTGAAGACGGGAGAT  
 GGAAATGGAGGACAGCCCGGACGACCAAGTGTACCTTGCGCCCAATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACC  
 TGTCAAGCTGACTCTGGTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCAAGCACTCGCTGGAGGTGGAGGACAGCGGGACGCGG  
 GAGAACCACTAACACACAGGCTCCATGCTGGAGCTGCAGCGAGTCTTCTTCTTACAGAAGCTCAAGCTGACGTGGA  
 CAAGACAGAGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATCTCCGTGATGATGAGGCTGTGCACAAAGCTCCGAGCTTCAAGG  
 AAGAGCTCTCCCTGTCTCCGTGGTAAGGCGCTGGTGGGCTGATGACTTCTCCGACAGTCTTCCATGATGAGTGT  
 TCAAGATGAGCACTACAGGTCGAATGCTATCCCAATCATCTTCGTGGGGGGTGTGTCTTGGCGGGGGTGGAGACGAGCT  
 GATCTTCACTTCCGACACAGGCTGGTCTGTGCGTAAGCCCTAGCTGGGCTCTCATAAAGGCTTAAGTCTGCTGCTCT  
 ATTATCAACAAATGACTGTTCTCATGGTGGGGGGGGTCTGGAGTGGCGGGTCAATACTTATTTAAGGCGCTGAATAA  
 CTCACAAAGGGGATGGTGGTCTGTATCTCAACAACTGACTTCTCGCGTGGCTTCAATAATGCGCGTGGGTGGTGGT  
 GGCCTTCAGCGGTGGCGGCTGTATGCTGTCTGATACATGAAGAAATCTGTCCGACGAGTGGGTGTGTCTGTCTGTGG  
 GACAGGCTTTCGAGCTGTCCAGGGGGTGGAGGGTGTGGGGGAGGGGGCAATTCGSCATGCTGCTGCTGCTTATTT  
 TGGTGGTGGTGGTCTATGCTGCTTCTGTCATGACAGTGTGGGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  
 CCAAGTCTTTTATGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT  
 ATTATGATCAACCAAGCTGGCGAGGCTGACAGGTGACGAGGAGCGGCTCCGCGGCTATGCCAACATCTGAGATATG  
 GCATCTCTGGTCTGATCTGTGATCTGCTCAAGCTGGGTATCGCAATATGACATGGGGGAGAGGCGGTAGC  
 GTGGCGGAGGCTCAAGAGTCTGGACATCTAAGAGCTGCTGACTCTTGTCAACAAGTGTGTGCTTAGCCCAATCT  
 GCACAAAGGTTTCTGATCAATCAAGCTCTCCGGTGGCGGAGGTTCCGGGGAGGGGCGCGGCACTTGCCTTCATC  
 CGCTCAGCATCTCTGGTATGAGTGGATCGGATCGGTATGCTGATCGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT  
 CGGAGGATGGTGGGTCGGCGGCTGGGGGGTCTGCAACAGAGTCAACCAACCTTCAACAGCTTAATCTGTGTC  
 CCATGTCAAGCTGCGCAATCAGCAATTTCTTTCTTCCAGGATGTGCACAGCACTATCTCCGGTGGAGGAGATGAG  
 TGGCGGGGCTGGATCTTCCGGCAGTCTACCAACAGCTACGCTAATCTTCTGTTAAATCTTGAAGCTGTGACT  
 GCTCAAGTGAACGACTGCTGTCTGTGTGGGGGAGCGGGGGGCGGGGACTGCTGCACCACTCAAGCTTCCCAAG  
 TACAATTTGCTCGCATCAGCTGGCCAGCATTTCTCTGTGAACGAGTTTACGCTTATCTCGGGAAGCACTTTAG  
 CATGATG

B. 配列番号259

MVQVSLAALLVLTCLMCLNSAPLAAEDTPACCFSTSRQIPONFIADYFETSSOCSKPSVILTKRGROVCAADPSE  
 WQVYKYSDEL.SAELKLTGDTHTPEKSDPTPPPCRPGGGGGGGGGDPGPEVLTPLPSREMMOONSLTCL  
 VKGFPSYDIAVEWESSGPPENNYNTPMLPMSDGSFFLYSKLTVKDSRWOQGNFSCSPMHEALHNRFTOKSLSPGK  
 LGLGLTYITRISIMMGPPYVNGVYPMKGGGSGGGGGSHVITSHKPLVSNVPYASIKNFYSVLYNNYFMVGG  
 GGGGGGYFKLNGLRMGMVLTLLTAVLYNPMRGGGSGGGSGSLSDKLSDRWFVJWAGHFSGGGGS  
 GGGGGFAGLALYTPSARIYATCSHAAGVGGGSGGGSGSRFIEDLLNKVTLAMIERFVLSAIDAYGGGGGGGSR  
 AMPMILIRMASLVLYMPSVIMRMTWGGGGGGGGSRVLTMLNVLTYKLFNANRNFRLYKJGGGGSG  
 GGAQFAPASAFAGMSRIEDVTSALYVNLKSGGSGGGGGGLRFTTITDYNFLVAMSSYLHKFFAADDGAASIG  
 GGGSGGGGGSDATAYANSVNICQAVTANVALLSGGGSGGGGGVTHKPLTKYKVRQIPQDFTVNFYFYLRLKH  
 F58M

【圖 28 A】

Fig. 28A. 配列番号262

[illegible]

Fig. 28A. 続き

[illegible]

【圖 27】

## Fig. 27

A. 配列番号260

[illegible]

B. 配列番号261

[illegible]

【圖 28 B】

Fig. 28B. 配列番号263

MNFRLLRILFVLTKVQVQCOZTQSPASLVAQLSQRRATISCSANVSTVSZGYMHHVQQKQPGPKLLLYKSNLESG  
VPAFFSGSGSGZDFTLNLHVEEEDAAATYQHSRELVPFWGGTKGILREKGGSGGGGGGGGGGGGGQQVQSGQSDP  
VPGKASVTSKCSAGYAFSSMMWSKVLQRPKGLEWIGVFPDRDGTNYNGKPKGATLADKSSSSTYMQQLSSLTS  
EDSAVYFCARRGGDQWGLDWMYGQSTVVSSEKLTQDHTPEKSCDTPPPCRPGKGSAGGGGGQQPREPQV  
TLPRLREEMTKNQVSLTKLQVSGPDAIEWESSQPPENYNTTLPMLSDSGSFYSLKLTKDQSLVQQQGNIFSVH  
MHEALHNRFTQSLSLSPGKLGGLVNLTRTLQPEWSSSTFRGQVYKPFVRSVLHVLTRDLPFFSNVTHFAHVV  
SGTNGKTRFDPNLVFNQDGYFASTKECNIRIWRGDTGLTDSKQSLVNLNHYKVECFOPDPPGLVYHYKNNK  
SMESSEFVSYSANNTCEYFQSPFLMDLKGQGNFKLRFVFNKIDYFKYSKHTPNLVRLDPCNPFSLVDLPI  
GINIRFTQLLALHRSVLTGDDSSSGMAGAAVYQGLRPTLQNLNENGYDTIDVACDLSETKCTKLSTFVKGI  
YQTSNRFTQVHSTSVIRPNITNLPCPGFVFNTRFASVYAWNRKSNICVADSVLYNSASFSTFKCYGVPKTLNDLCT  
NADVSFVRIGDEVRQIAPQGTQKADIYVLPQDDPTQSIWANSNLNDSKGGVNYNLVLRKSNLCPERDITSEI  
QAGSTCPGVEGFGFQCLQSGYQFQDNGVYQPRVVLSLHNPATCGPKKSTNLVKKSNVFNFNLTGTGLV  
TESNFKLPQFQGDIAOTDVARQDRLTELTQSCFGSVGSVPTGTTNMSQVAVLYQDVNCFVYVIAHQJTL  
IAHPTFTTISVITLPLMSKTSVDOCTMLQCGDSTCSNLQYGSFCTNRAJLJGKQKNDKQVFAQKQKQYTPP  
IKDGGFNSQLPLDPSKPSKRISIEDLNNLQVLDADFKFQGGCLDQALKAQFNGILVTLPLDTEMAQYTS  
ALLAGTTSVGTGGAAGALQFPMQAKYRNFNGIVGTQVNLQYKJIANQFISAIKQIGLSSZSALAGQVQVQVQ  
NAQALNTNLQLSSNFAGSVLNLDRDPEAEVQDRLTRGLQSLTYTQVYQLJRAEFIRASMANLAATKMSCEVL  
QSKRVFCGKGXVHLMFSQASPHGVFLVHLYTVPAQEKNTFTAPACHDGKHAAGFVSNGHTHVFVTRCNFPFYQ  
IITTDNVSNGCDNVGIVVNTNLYDLPQELDFSKEELDKYFNKNTSPVDLQDGSIGNASVNIQKIEDLRNEVAKNLS  
ESLDLQELQGEQYI

【図 2 9】

Fig. 29

A. 配列番号264

ATGCAGGTTCTCCACTGCTGCCCTTGCCGTCTCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACACGCCGACGCCCTGCTGCTTCAGCTACACCTCCCGACAGATTCCACAGAATTTCTATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCAAGCCCAAGTGTATCTTCTTCAACCAAGAGAGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCAGTGACCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCCGTCGCCAAGGTGCCAGGCGGTGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAGTGGAGGACAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTTGCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAG  
GTCAGCCTGACCTGCTGCTGGTCAAAGGCTTCTACCCACGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGGCAGCCG  
GAGAACAACCTACAACACCAACGCTCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGGA  
CAAGAGCAGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCAACACCGCTTACCGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCCCTCGGTGGCCTGCATTTGCCATCGGACTGGCCCTCTACTATCCCTC  
TGCCAGAACTCGTGTACACTGCTGTAGCCATGCCGTGTGGGTGGCGGGGATCAGGTGGCGAGGCTCCCGAGT  
CCAGCCCAACAGAATCAATGCTGGCGGTTTTCAAACATACCAATCTCTGCCCTTCGGAGAAGTGTTAATGCCACAC  
GGTTTGCTCAGTGTATGCTGGAAACCGGAAGAGAATCTCCAACGCTGGCAGACATATTCTGTGCTGTACAACAG  
CGCTTCTCTCTACTTTCAAGTGCTACGGCGTGTCTCTACTAAGCTGAACGATCTCTGCTTCAACAACGTTGATGC  
CGATTCTTGTGATCAGAGGAGACGAAGTGCAGCAGATGTCTCTGGACAGACCGGGAAGATTGCCGACTACAAC  
TATAAGCTGCCAGCAGATTTCACTGGCTGCGTATTGCTGGAATTCAAACAACCTCGATTCCAAGTGGCGCGGAA  
TTATAACTACCTCTATAGACTGTTCCGTAAGCTTAACCTGAAGCATTTCAGCGTGATATTAGCAACGAAATCTACCA  
CGCAGGTTCAACTCTCTGTAACGGAGTGGAGGATTCAACTGCTACTTCCCACTGCAAGTCTTATGGGTTCCAGCCTA  
CAACCGAAGTGGGTTACACGCTTATCGGGTGGTGTGCTGCTTGTAGCTGCTCCAGCTCTGCAACTGTTTGC  
GGACCTAAGAAATCCACCAACCTGGTGAAGAACAGTGGCTGAATTC

B. 配列番号265

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKPLGDTHTTEPKSCDTPPPCRCPGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK  
GLGGLHFAIGLALYPSARIVYATCSHAAVGGGSGGGSGRVPQTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI  
SNADVADSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVFIRGDEVRLQAPGQTGKIADYNYKLDPDFTGCVIAWN  
SNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDITSEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFEL  
LHAPATVCGPKKSTNLVKNKCNVF

【図 3 1】

Fig. 31

A. 配列番号268

ATGCAGGTTCTCCACTGCTGCCCTTGCCGTCTCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACACGCCGACGCCCTGCTGCTTCAGCTACACCTCCCGACAGATTCCACAGAATTTCTATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCAAGCCCAAGTGTATCTTCTTCAACCAAGAGAGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCAGTGACCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCCGTCGCCAAGGTGCCAGGCGGTGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAGTGGAGGACAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTTGCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAG  
GTCAGCTGACCTGCTGCTGGTCAAAGGCTTCTACCCACGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGGCAGCCG  
GAGAACAACCTACAACACCAACGCTCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGGA  
CAAGAGCAGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCAACAACCGCTTACCGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCCCTCGGTGGCTGCATTCGCAATCGGGCTCGCACTGTACTATCTCTA  
GTGCGCAGGATCGTGATACCCGCTTGATGCTACGCGCTCTCCACCAAGCTGAACGACCTGTGCTTCACTACAGTGT  
TGAAAGGATTTCTATGCTTACCTGCGCAACACTTCTCCATGATGGCGGTGGAGGGTCTGGCGGGGGAGGCTCAC  
GGGTCCAGGCTACAGAGTCTATTGTGGGTTTTCCCAATATCACCAATCTGTGGCAATTTGGCAGAGTGTTAACGCA  
ACCAGGTTCCGCTGTCTATGATGATGAATCGGAAGCGGATCAGTAACCTGCGTGCATGATTAATCTGTCTGTATAA  
CAGCGCTCTTTCAGCAGCTTTAAGTGTACGCGCTCTCTCCACCAAGCTGAACGACCTGTGCTTCACTACAGTGT  
ACGCGGATAGCTTTGTATCGGGGCGACGAGGTCTCGCCAGATTTGCTCCCGGCCAGACCGGAAGATGCTGCTACT  
ACAACCTACAACCTGCTGACGATTTTCCCGGTGCGTGATCGCTTGGAAATAGTAACAATCTCGACAGCAAAAGTCGCG  
GGGACCTATACTACTCTTACCGGCTCTTGAAGAGGACCACTGAAGCCTTTGAACGGGATATTAGCACCGAAAT  
CTACACGCGAGCAGCACCCCTTGCAATGGCTCGAGGGCTCAACTGCTATTCCCACTCAGTCTTATGGCTTCC  
AGCTTCACAATGGCGTGGGATACGCGATACGCGTGGTGGTCTCTCTTGAAGTCTGATGCTCCAGCACC  
GTGTGCGGTCCAAAAAGAGCACTAACTGTCAAGAACAAAGTGGCTCAACTTT

B. 配列番号269

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKPLGDTHTTEPKSCDTPPPCRCPGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK  
GLGGLHFAIGLALYPSARIVYATCSHAAVGGGSGGGSGRVPQTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI  
SNADVADSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVFIRGDEVRLQAPGQTGKIADYNYKLDPDFTGCVIAWN  
SNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDITSEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFEL  
LHAPATVCGPKKSTNLVKNKCNVF

【図 3 0】

Fig. 30

A. 配列番号266

ATGCAGGTTCTCCACTGCTGCCCTTGCCGTCTCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACACGCCGACGCCCTGCTGCTTCAGCTACACCTCCCGACAGATTCCACAGAATTTCTATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCAAGCCCAAGTGTATCTTCTTCAACCAAGAGAGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCAGTGACCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCCGTCGCCAAGGTGCCAGGCGGTGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAGTGGAGGACAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTTGCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAG  
GTCAGCTGACCTGCTGCTGGTCAAAGGCTTCTACCCACGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGGCAGCCG  
GAGAACAACCTACAACACCAACGCTCCATGCTGGAATCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCAACAACCGCTTACCGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCCCTCGGTGGCTGCTTCTGGAACGAGTTCTACGCTATCTGAGAAAGC  
ACTTCTCCATGATGGGGGGGAGTATGTCGCGGAGGTGGCTCCGAGTCCAGCCCAAGAAATCAATCGTGGGT  
TTCCAAACATACCAATCTCTGCCCTTCGGAAGAGTGTAAAGTCAACAGGTTTGGCTCAGTGTATGCTTGGAAAC  
CGGAAGAGAATCTCCAATGCTGCTGGCAGACTATTCTGTGCTGTACAACAGCGCTCTTCTCTACTTCAAGTGCTA  
CGCGCTGTCTCTACTAAGCTGAACGATCTGCTTCAACAACGTTGATGCCGATTCCTTGTGATCAGAGGAGCG  
AAGTGGCAGAGATTGCTCTGGAGACAGACCGGAAGATTGCCGACTACAATAAGTCCGACGAGATTCACTGG  
TTCGCTATTGCTGGAATTCAAACAACCTCGATTCCAAGTGGCGGGAATTAACTACCTCTATAGACTGTTCC  
GTAAGTCTAACCTGAAGCATTGAGCGTGATATTAGCAGCAAACTACACAGCGAGTTCACCTCTTGTAAACGGA  
GTGGAGGAGTTCACTGCTACTTCCCACTGCACTCTATGGGTTCAGGCTCAACAACGAGTGGGTACGAGCTT  
ATCGGGTGGTGTGCTGCTCTTGAAGTGTCCACGCTCTGCAACTGTTTGGCGACCTAAGAAATCCAAACCTG  
GTGAAGAACAAAGTGGTGAATTC

B. 配列番号267

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKPLGDTHTTEPKSCDTPPPCRCPGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK  
GLGGLFVNEFYALYLRHFSMMGGGSGGGSGRVPQTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKISNCVADY  
SVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVFIRGDEVRLQAPGQTGKIADYNYKLDPDFTGCVIAWNSNLDK  
VGGNYNYLRLFRKSNLKPFRDITSEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFELHAPATV  
CGPKKSTNLVKNKCNVF

【図 3 2】

Fig. 32

A. 配列番号270

ATGCAGGTTCTCCACTGCTGCCCTTGCCGTCTCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACACGCCGACGCCCTGCTGCTTCAGCTACACCTCCCGACAGATTCCACAGAATTTCTATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCAAGCCCAAGTGTATCTTCTTCAACCAAGAGAGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCAGTGACCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCCGTCGCCAAGGTGCCAGGCGGTGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAGTGGAGGACAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTTGCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAG  
GTCAGCTGACCTGCTGCTGGTCAAAGGCTTCTACCCACGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGGCAGCCG  
GAGAACAACCTACAACACCAACGCTCCATGCTGGAATCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCAACAACCGCTTACCGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCCCTCGGTGGCTGCATTCGCAATTGGCTCGCCCTGTATTACCTTCT  
TGCCCGGATCGTGATACAGCATGCTCTACGCTGCAAGTGGGGGGCGGTGGCTCCGGCGGTGGCGAAGCTTTGT  
GAACGAGTTCTATGCTACCTGAGAAAGCACTTCTATGATGGGTGGCGGAGGCTCCGGAGGGGGTGGCTCTCTG  
GTGAAGCTTCTTCTACGCTACTCCAGAGTGAAGAATCTCGGAGGTGGCGGTTCTGTTGGCGGAGGTTCTAGGG  
TCCAGCAACCGAATCCATGTCGATTCCCAATATCACAAAGCTGTGCCCTTTTGGGGAGGTGTTCAATGCTACC  
AGATTTGCTCAGTGTACGATGGAAACAGAAAGAGGATTAGTAACCTGCGTGGCCGACTATAGCGTGTCTGATATAA  
CGCCGAGCTTCTTACCTTCAAGTGTACGGGTGCTTCTCTACCAAGCTCAACGATCTTGTCTTCAACCAAGCTGTAT  
GCGGATTCCTTCTGCTATTAGGGGCGATGAGGTGCGACAGATCGCCCTGGACAGACCGGAAGATCGCCGATTATA  
ACTACAACCTGCTGATGACTTACCGGTTGCTGATGCTGGAACCTCAACAACCTGGAACCTCAAGGTGGGTGG  
CAACTATAATTACCTGTACAGGCTGTTCAGGAAGTCCAATCTGAAGCCTTTTGAACGAGATATCAGCACCGAAATCTA  
CCAGGCGGATCTACCCACGCAACGCTGCAAGGCTTAACTGTACTTCTCTCCAGAGTATAGCTTCCAGC  
CAACCAATGGGTGGGCTATCAGCCTTATCGAGTGGTCTGCTGTCTTGAAGTCTGATGCTCCCGCAGCTACTGCT  
TGTGGCCCAAGAAATCCACCAATCTGCTGAAAAACAAGTGGCTCAATTC

B. 配列番号271

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKPLGDTHTTEPKSCDTPPPCRCPGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK  
GLGGLHFAIGLALYPSARIVYATCSHAAVGGGSGGGSGRVPQTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI  
SNADVADSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVFIRGDEVRLQAPGQTGKIADYNYKLDPDFTGCVIAWN  
SNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDITSEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFELHAPATV  
CGPKKSTNLVKNKCNVF

10

20

30

40

50

【図 3 3】

Fig. 33

A. 配列番号272

ATGCAAGTCTCCACGCTGCTCCCTTCGGTCTCTCTCTGCACCAATGGCTCTCTGCACCAAGGTGCTCTCTGCACCAATCT  
 AGTCATGACACGGCAGCGACGCTGCTCTCTCTCAGTACCAATCTCCGCACAGATTCACCAAGAATTTCAATGCTGACTACT  
 TGTAGACGAGCAGCAGTCTGTCTCAAGCCACAGTGTATCTCTTCAACCAAGGAGGCGCCGAGTCTGTGTCTGACCC  
 CAGTGAAGAGTGGGTCCAGAAATACGCTCAGTGAAGCTGAGCTGAGTGTGGCAGGCTAAAACCCAGGTTTGTTGACACA  
 ACTCACACAGAGCCCAAATTTGTGTACACAACTCCCCCGCCGAAGTGTCCGACGGCGTGTGAAGACGGCGGAGGAG  
 GGAAGTGTGAAGACAGCCGCCGACGACACCAAGTGTACACCTCGCCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGACCAAGT  
 GTGACCTGTACCTCGCTGTGTTCAAGGCGTTCTAACCCAGCAGCAATCCGCTGGTAGTGGGAGACAGCGGGCAGCGG  
 GAGAACCACTACCAACACAGAGCTCCATGCTGGACTGGACCGAGCTGTTCTTCTCTACCAAGCACTCAGCTGTGA  
 CAGAGCAAGTGGCGACGAGGAGCAAGATCTCTTCATCGCTCGTATGATGAGCAAGCTGTGCACAAAGCTCTCAAGCAG  
 AAGAGCTCTCTCTGTCTCCGGTAAGGCGCTGGTGCGCTGAGATTTGGCATCTCGAATGGCGCTGTACTATCTCTCT  
 TCCGCAAGATTTGTACACGGCGCTGTTCTCATGCGCGCTGTGGGTGTGGGCGAGCTCGGAGTCAGGCCACCAAGATACAT  
 ATGCTGGGTTTCAAACATCAACAATCTTGCTGCCCTCGGAGAAGTGTGTAATGCCACAGGTTGCTCTGATGTA  
 TCTGCTGGAACGGGAGAGAATACCAACTGCTGGGCGAGCACTATTTGTGCTGTACCAACAGCGCTCTCTCTCTACT  
 TCAAGTGTACGGGTTGTCTCTATAAGCTGAAGTACTTCTGTTCAACAACTGTATGGCTGATCTCTTGTGAT  
 GAGGAGACAGAGTGCACAGATAGTCTCTCGACAGACGGGAAAGATTCGGCATAACCAATTAATGAGCTCGGACAG  
 ATTTCACTGGCTCGTGTATGTTCTGGAATTCAGCAACCTCAAGTTCAAAGTGGCGGGAATATAACCTACTCTAT  
 GATCTGTCGTGATGCTCAACTCGAAGCACTCTGGCGATGATTAGCACAGGAGTCTACAGGACAGGTTCAACTCT  
 TGACTGAAGTGGAGGGATTAACCTGCTATCCCACTCAGCTCATCTGGGTCAGGCTCAGCAACAGGATGGGT  
 ACCAGCTTCTCGGCTGTTGTGCTGCTGTTTGGTGTCTCCAGCTCTGCACATGTTGTGCGAAGTCAAGAAATCC  
 AACAACCTGTGTGAAGAGAGTGTGCGTAATTC

B. 配列番号273

[illegible]

【圖 3 5】

Fig. 35

A. 配列番号276

TGCTAGGCTTCACCTGCTCTCGCTGCTCTCTCTGCTACGACATGGCTCTCTGCAACAGAGCTCCTCTCTGCACCATCT  
ATGCTGCTGACACGGCGAGCGCTCTGCTCTCAGTACACCTCCGACAGATTCACAGAAGTTTCATAGCTGACTACT  
TGTGAGACGAGCAGCAGTCTGTCAAGGCCAGTGTATCTCTTAAACAGAAAGAGGCTGCAAGGCTCTGTGCTGACGCC  
CAGTGAAGAGTGGGTGCAGAAATACGCTCAGTGAAGCTGAGAGCTGAGTCCGAGGCTCCGAAAGCCCACTTGTTGACACA  
ACTCACACAGAGGCCCAAATCTTGTGACACACCTCTCCCCGCGCCGAAGGCTCCGACGGCTGGTGAAGAGCGGAGGAG  
GGAAGTGTGAGGACAGCGCCGACAGACACAGATGTGACACCTCGCCCAATCTCCGGAGGAGATGACGACAAAGACAG  
GTACGCTTGACCTGCTGCTGCTCAAGGCTGTCTAACCCGAGCAGATCTCCGCTGGAGTGGGAGACAGCGGCCAGCCG  
GAGAACACTACAACACAGAGCTCCATGCTGGACTGACCGAGCTGCTTCTCTCTACAAGACAGTCACTGCTGAG  
GACAGCAAGCTGGGACAGAGCGGAGCAATCTTCTACATGCTCGTATGATCAGAGGCTCTGACACACGGCTCTACCGAC  
AAGAGCTCTCTCTGCTTCTCGGGTAAGGCGCTGGTGCCCTGTGTGTGAAGAGAGTTCACGCTACTCTGAGAAAGT  
ACTTCAGCATGTAGGAGAGCTGGGCGCTCTGCGAGTCAGGCCACACAGAAATCAATGTGGGGGTTTCCAAACATCCAAAT  
TCTGCGCCCTCTGCGAAGATGTTTAATGCGACACAGGTTTGCTCAGTGTATGCTGGAACCGGAGAGAAATCTCTAC  
ACTGTGGGCGAGCATATCTTCTGCTGTACACAGCGCCTCTCTCTCTACTTTCAGTGTACCGGCTGCTCTCTCTACT  
ACGTGAAGCATCTCTGCTTCAAGCGCTGTATGCGCAATCTTGTGTGATGAGGACAGACAGATGCGACAGATGTTCT  
CTCGGACAGCGGGAAGATGTGGCAGTCAAGTAACTAATGCTCGGACAGCAATTCAGTGGCTGCTTATGCTCGGA  
ATTCAACAACCTCTGCTTCAAAGTGGCGGCAATTAACCTACTCTATAAGACTTGTCCGTAAAGTCTAACTGACGGA  
CATTGAGGCTGATTAATGCGGAAATCTACAGGCAAGCTCAACTCTCTGTAAAGGAGTGGAGGATTAACATGCT  
TCTTCCGACTCGAGCTCTATGGTTTCAGGCTACACAGGATGGGGTACCGAGTCTCGGTTGCTGTCTGCTGCT  
CTTTGACGCTCTCACGCTCTCCTCAACTGTTTGGCGACCTAAGAAATCCACCAACTGGTGAAGAACAGTGCCTGTA  
ATTTC

B. 配列番号277

WQVSTAALVLDLCTALCNQLSAPKSDADTPACFSTYSRQIPQNFADYFETTSQSCSPVIFLTKRGKROVCDPSEE  
MVQVYSLSDLSLCTMLKQLDGTTHETPSKDDTPPPRCPSGGSGGSGGQCPQEQPYVITPLPSREEMTKNQVSLZL  
KGFPYSDIAVEWESSGQPPENNYTTPMLDSGGSFYLKSLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK  
LGLGFPVFNYPYLRKHFSMMGLGGLRVPTSDIRFPNITLCPGFIADNYTRFADYVAWNRKRISNLDKSGVSYLNSA  
SFTSTKQVNSYKALNDLCTFNVAJGVPVIGTEVRQAPQKQKQVFNKALYKLDQDFTGCVAKWNSNLDKSGVSYNLY  
LYRFRKSNLKPFRDISEIYQAGSTPCNGVEFPNCYFPLQSYGQFNTGVGYQYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTN  
LVNKKCNVNF

【圖 3 4】

Fig. 34

A. 配列番号274

TGT CAGGT CTCT CAC TGT CCGT CTG CCGT CTT CTT CCGAC AAT GGG TCT CTG CCA ACG AAG TCG TCT TCT GCG ACC AAT  
 AGCT TCT CAGAC CGG CAG CCG TCT GCT TCT CAGCT A CAGCT CCG CCA AAG TCT CCA CAA AAT TCT CTA GCT CAG TACT  
 T TGAG A CAG GAG CAG CAG TGT C CAA GCG CAG TGT CAT TCT T AAT CCA AAG AAG GCG CGG CAG GTT GTT GCT GAC CC  
 CAG TGA GAG AAT GGG T CAG AAT AAT CTT CAG TAC CAG TGG AAT GAG TCG CCG AAT CCAA CCCC AAT TGG TGA CCA  
 AT C CAC A CAG CCG CCA AAT TCT TGT GAC A CAG T CCCC GTT GCC AAG GTT CCG CCA GCG GGT GGA AG CAG CCG GAG GT  
 GGA GTT GGA G A CAG CCG C CAG A A CAG CAG GTT G A CCG CCG CCA T CCG GGA GAG GAGT GAC CAA CCA AAG CAG  
 GT CAG CTT CAG CTT GCT TGT CCG AAG GGT T C T CAC CAG CAG CAA T CCG CCG GAG TCG GAG A GAG CAG CCG GCG AAG  
 GAGA A CCA A CCA A CAG CCG C CCA T CGT GGA C T CAG CCG GTT C TTT C T CTA CCA AAG C CTA ACG T GSA  
 CAA GAG CAG GTT GGA CAG CCG GGA A C AAT C TGT GCT CCG T GAT C A GAG GGT C TGC A CCA AAT CCG T CAG CAG  
 AAG AGC T C C C T T C T CCG G A AAG C C T C G T GGG C T CAG T C T G C A T T GGG C T GGG C C T G T A C T T C C T  
 CCG CAG AAT T G T G A C A C C G C T T C G T C CAG CCG GAG TGG GGT CCG GAG GGT C T G G T C C G G G C A G T C G G A T  
 C A G C C A C A A G A A T C T G G C T T T C C A A C A C C A C A A T C T C C G C C T C G G A A G T G T T A A T G C C A C  
 G T T T G C C T C A G T T A T G C T G G A A C C G A A G A A T T C C A A C T G G T C G C A G C A T T A T T G C T G C A C A A C  
 C C C T T C T C T C T A C T T C A A G T C A G C G G T T C T C T A C T A G C T A A G C A T T C T C T C T C A A A G C T A T G T  
 C G A T T C T T G T G A C A G G A G A C A G A A T G C A C A A T G C T C T G G A C A C C G G A A G A T T G C C G A C T A A G  
 T A A A G C T G C C A G A C A T T C A C T G G C T G G T T A T G C T G G A A T T C C A A A C C A A T C G T T C A A A G T G G G C G G A A  
 T T A A C A T C T T A T A G A C T T G C T G A A T T A A C T G A A G C A A T C G A G G G T G A T T A A G C A C C A A A T T A C C A  
 G C A G C G T C A A C T C T T A A G A A G G T G A G G A A T C A A C T G A C T C C C A C T G A C T G A C T T G G T T C A G C A T C  
 C A A A C G G A G T G G G G A C A C C A T T C C G G T C T G T G T C T C T T T G A G T C T C C A C A C G C T C T G C A A C T T T T G C  
 G A C C A T A A G A A T C C C A A C C A T G G T G A A G A A C C A A G C T G C G T A A T T C

B. 配列番号275

WQVSTAALVLEITCMALCNCSAPLAADATPCPFYSTRQIQPNIAFDYFTTSKQSCSPKSVILTKGRGQVADPSSSE  
WVQVYDLSLELSAEKLTGDTTHTEKPCSDTPPCPCPGGSGGGGSGGQPREQVITLPPSEEMTKNQVSLTCLV  
LKGYPSSIDAEVYESSQGPENNYNITPPMLDGSDFSVLTKITVDKSRWQQGNFISCPYMEALHNRFTQKSLISLSPGK  
GGLGVLFAIGLALYVSSARIVYTACSHAVLGGGLGLGLGRVQFTESTRFRFNITLCPFMGEHNRATFVYAWNRNK  
NCVADYSVLVYSASFSTKCYGVGSPKLNLDLITKNNVADSVFQTEDEVRQIAPGQTKGAIAYNKLPPDFTGCVIAWNS  
NNLDSKPGKGNNTYLRKLNKSPFERDITSEYQAGSTPQGVGEFNCYFPLQSYGFQPTNGVQPYRVRVLSPELL  
HAPATVCGPKNTYILRFXNLCNVNF

【圖 3 6】

Fig. 36

A. 配列番号278

[illegible]

B. 配列番号279

MQVSTAALAVLCTMALCNQVLSAPLAADDITACCFYSYQIQPIFIADYFETSQSKPVSLITKRGQVADPSE56  
WGVYVSDLSLEAKLCTLDGTTHTHEKPSCDTPCPRCPGGSSGGGSGGQVPEQVYTLPPSEEMTKNQVSLTCLV  
KQFVSTDAIEAVWEVSGSPENNYNTPPMLDSGGFSLYSLKVDKSRWGGQVQVSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
LGLGHFAIGALYPSYRIVYPTACSHAAGVGGGGGGGSGVFEYFLAKRHSMLGLGRVQVSTLNTMLNCLP  
GEVFNATVYSGVYAWNRKRISVCVADYVSLYNASFSATFCYGVYKLDLFCFTMVADYFVIRGEVDRVQIPAGTQ  
KIADYNKLPDDFTGCVIAVNSGKGVYNNYLRLFKNSKLPFERDISTEYIQAQGSTPCNGVEGFCNYQVLSYQ  
FOPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCKPKNSLTKMKNVNF

【圖 3 5】

Fig. 35

A. 配列番号276

TCGAGGCTTCACCTGCTCTGGCTGCTCTCTGCTTCACCAATGGGCTCTCTGCACCAAGAGCTCCTCTCTGCACCACT  
 ATGCTGCTACGACCGGCAGCGCTCGCTGCTTCAGTACACCTCCGCACAGATTTCACAGAAGTTTCATAGCTGACTACT  
 TGTAGACGAGCAGCAGTTCGTCTCAAGGCCAGTGTCATCTCTTAAACCAAGAGAGGCTCCAAAGGCTCTGTGCTGACGCC  
 CAGTGAAGAGTGGGTGCAGAAATACGCTCAGTGAAGTCGAGGCTGAGTGGCCGAGGCTCGGAGGACCTTGTGTGACACA  
 ACTCACACAGAGGCCCAAATCTTGTGACACACCTCTCCCCGCGCCGAAGGCTCCGACGGCTGGGAGGACGCGGAGGAG  
 GGAAGTGTGAGGACGCGCCGACGACACACAGTGTGTACACCTCGCCCAATCTCCGGAGGAGATGACGACAAAGACAG  
 GTGACGCTGACCTGCTGGTCTCAAAGGCTCTTCAACCCGAGCAGCATCCGCTGGAGTGGGAGACGCGGCCGAGCCG  
 GAGAACCACTAACACACAGGCTCCCATGTGGACTGGACCTGACGCGGCTCTTCTCTCTCAACAGAAGTCACTCAGTGA  
 CAGACGAGCTGGTGGCAGGACGGAGCAATCTTCTCATCGCTCGTATGATCAGAGGCTCTGCACACCGGCTCTCCAGCAG  
 AAGAGCTCTCTCCGTCTCTGGGTAAGGCGCTGGTGCCGCTCTGTGTGAAGAGGATCTACGGCTACTCTGAGAAGAG  
 ACTTCACGATCATGGGAGCTGGGCGGCTCTGCGAGTCGACGCCACACAGCAATCAATGTGGGGGTTTCCAAACATCCAA  
 TCTGCGCCCTCTGGAAGAAGTGTTAATGCGACACAGGTTTGCTCAGTGTATGCTGGAAACGGAAGAAGAACTCTCA  
 ACTGCTGGGACAGATCTTCTTCTGCTGTACACAGCGCCTCTCTTCTCATCTTGAAGTGCATCGGCGCTCTCTCTCTACT  
 ACGTGAAGCACTCTGCTGTACAGCGCTGTATGCGCAATCTTGTGTGATGACGAGACAGCAAGTGGCAGACAGTTGCT  
 CTGGACAGACGCGGAAGATGTGGCAGTCAAGTAAATGCTGGCCAGCAGCAATCTCACTGGTGCTGTATTGCTGGTGA  
 ATTCAACAACCTCTGAGTCTTCAAGTGGCGGGAATTATAACTCACTATAAGACTTGTCCGTAAAGTCTAACTGACGGA  
 CATTGAGGCTGATTAATGACGCGAAATCTACACCGAGGCTCAACTCTCTTGAAGGAGTGGAGGAGTAACTCACTG  
 TACTTCCGCTCAGGCTCTATGGTTGCTCAGGCTACACCAAGGATGGGGTACCGAGCTTACCTGGGTGCTGTGCTGCT  
 CTTTGAAGCTCTCCAGCTCTCCTCAACTGTTTGGCGACCTAAGAAATCCACCAACCTGGTGAAGAACCAAGTCGCTGA  
 ATTTC

B. 配列番号277

WQVSTAALVLDLCTALCNQLSAPKSDADPTACFCSYTSRQIPQNFADYFETTSQSCSPVILITKGRGVOCADPSEE  
MVQVYSLSDLSLCTMLQCLDTHTEPSKDDTPPPRCPSGGSGGSGGQCPQEQVYITPLPSREEMTKNQVSLILCL  
KGFPYSDIAVEWESSGQPPENNYTTPMLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNFSCVMHEALHNRFQKLSLSPGK  
LGLGFPYVFPYILARKHFSMMGLGGLRVITSDIRFPNITLCPGFIADNYTRFADYVWANKRKNISNDKSGVSYLNSA  
SFTSTKQVNSYNAIOLDCTFNVAJSGVPTGIEVRQJAPQKQVFNKALYKALDPTFGTCVJAKRNSNLDKSGVNNY  
LYLFRKSNLKPFRDISEIYQAGSTPCNGVEFPNCYFPLQSYGQFINTGVGYQYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTN  
LVXKNCVNF

GAACGAGT TTTACGCT  
TCCATTGTCCGCTTCCC  
TATGCTTGGGAACAGAAA

GTATAGA  
CACCATG

## AGTCCACTAACCTGC

[illegible]

【図 3 7】

Fig. 37

A. 配列番号280

ATGCAGGTTCCACTGCTGCCCTTGCCTCCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACAGCCGACGCCCTGCTGCTTCACTGCTACACTCCCGACAGATTCCACAGAAATTCATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCCAAAGCCAGTGTCTCTTCTTCAACCAAGAGAGGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCACTGACCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCAAATCTTGTGACACACTCCCCCTGCTCCAAAGGTGCCAGGCGGTGGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAAGTGGAGGACAGCCCGGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCTTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAG  
GTCAAGCAGTGGGACAGCGGGAACATCTTCTCATGCTCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCAAGCAG  
GAGAACCACTACAAACCAACGCTTCCATGCTGGACTCCGACGCTCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCAACGCTGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCAAGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCTCGGTGGCTGCATTCGCAATTGGACTCGCACTGTATTACCCCTC  
AGCCAGGATCGGTGATCTGATGCATGCACTGACGCTGCGCTCGCGGCGCGGGGTAGTGGGGAGGGCGGATCCTTTGT  
GAATGAGTTCTATGCTTACTGCTGAGAAAGCACTTACGATGATGGCGGTGGGGGAAAGCGGGGTGGAGGATCCCT  
CGTGAACCCCTCTTCTATGCTACTCAGGGTGAAGAACCTGGGCTCGGAGGTCTCAGAGTCCAGCTACCGAG  
TCTATGCTGAGGTTTCAAAACATCACTAATCTGTGCCCTTTCGGAAGAAGTGTAAAGCCACCCGGTTTGTCTCAGT  
GTACGCTTGGAAATAGGAAGCGGATCTCAAAATTCGTGGGAGATTACAGCGTGTGTACAACCTCCGCTCATTCAGTA  
CATTCAGGTGCTATGGCTGAGCCCAACCAAGCTGAACGATCTGTGCTTCAACAAAGTGTACGCGAGATTCCTTCTGCT  
ATCAGAGGGGATGAAGTCAGACAGATCTCTCAGGCGACAGAGAAAGATCGCAGATTATAATATAAAGTCCCTG  
ACGATTTACACGGATGCTGATCGCTGGAAACAGTAATAAAGTGAATCAAAAGTGGCGGTAACTATAATTAAGTCTG  
TACAGACTGTTCAGGAAGAGCAACTGAAGCAATTTGACGCGACATTTCAACCGAAATCTACCAAGCAGGAAGCA  
CACCTCTGTAATGGCGTGGAGGGCTTTAAGTCTGTAATTCCTCCCTGCAAGTCTTCTGAGTGTTCGAGCCACAAATGGGGT  
GGGTACCAAGCCCTACCGGCTGCTGGTCTGAGCTTCAAGCTCTGCAAGCAGCAGCCCACTGTCTGTGAGCCCAAGA  
AATCCACTAACCTCGTGAAGAACAGTGCCTGAACCTC

B. 配列番号281

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYTSRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLDGTTHTPEKSCDTPPPCRPCGGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIJAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNFSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
KLGGLHFAIGLALYPSARIVYTACSHAAVYQKLSLSPGKLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCFGEVFNATRFASVYAWNRK  
RISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVIRGDEVVRQIAPGQTKGIADYNYKLDDFTGCVIAWNSNLD  
SKVGNVNYLRLFRKSNLKPFRDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCFYPLQSYGQPTNGVGYQPYRVVLSFELHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

【図 3 9】

Fig. 39

A. 配列番号284

ATGCAGGTTCTCACTGCTGCCCTTGCCTCCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACAGCCGACGCCCTGCTGCTTCACTGCTACACTCCCGACAGATTCCACAGAAATTCATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCCAAAGCCAGTGTCTCTTCTTCAACCAAGAGAGGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCACTGACCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCAAATCTTGTGACACACTCCCCCTGCTCCAAAGGTGCCAGGCGGTGGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAAGTGGAGGACAGCCCGGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCTTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAG  
GTCAAGCAGTGGGACAGCGGGAACATCTTCTCATGCTCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCAAGCAG  
GAGAACCACTACAAACCAACGCTTCCATGCTGGACTCCGACGCTCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCAACGCTGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCAAGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCTCGGTGGCTGCATTCGCAATTGGTCTGGCACTCTACTACCCATC  
AGCCAGAATCGGTGACACCGCTCTGCCATGCTCGAGTGGGTGGAGGGGGAAGCGGAGCGGGGGATCTTTGCT  
CAACGAATTTACGCTGCTACGCGGAGCACTTACGATGATGGCGCGGGGGGCAAGCGGGGGGTGGGTCACT  
CGTGAAGCGCAAGCTTCACTGCTTCTCTAGAGTGAAGAACTGACCCAGAAGTCACTGCTCTGCTCACTGGCAAG  
CTGCTCGGAGGCTCAGGGTGACGCCAACCGAAAGCAATTGTGCAATTCACCAATCACTAATCTCTGCTCCCTTGG  
CGAAGTGTTCACGCAACCCGGTTTGCATCACTGATGTGCTGGAATCGGAAGAGGATCTCCAATCGCTGGCGGAT  
TACAGCGCTGCTGTAATTAAGCAGCTTCTCCACTTCAAGTGTACAGGGGTCTCTCTCAACAAATCAACGACCTC  
TGCTTTACCAATGTCTACGCTGACAGCTTTGTGATCCGGGGCAGTGAAGTCCGCGAGATTGCACAGCAGACAGCC  
GGAAATCGCCGATTACACTATAAGTCCGCGAGCTTTACAGGCTGCTGATCGCTGGAATTTAACAATCTG  
GATAGCAAGGTGGCGGGAATTAACAATCTGTACCGACTTTCGGAAGTCAAACTGAAGCCCTTTGAACGG  
ATATCTCCACGAAATCTACAGCGGGAAGTACTCTGCAACGGGGTGAAGGGTTCAACTGTACTTCCCTC  
CAGTCTTACGATTCCAGCTTACCAAGGATGGGCTACACGCCCTATAGAGTGTGCTGCTGCTCTTGAAGTGT  
GCACGCCCCAGCTACAGTGTGCGGCCCTAAGAAGTCAACCAACCTCGTGAATAAAGTGCCTCAATTTT

B. 配列番号285

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYTSRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLDGTTHTPEKSCDTPPPCRPCGGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIJAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNFSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
KLGGLHFAIGLALYPSARIVYTACSHAAVYQKLSLSPGKLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCFGEVFNATRFASVYAWNRK  
RISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVIRGDEVVRQIAPGQTKGIADYNYKLDDFTGCVIAWNSNLD  
SKVGNVNYLRLFRKSNLKPFRDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCFYPLQSYGQPTNGVGYQPYRVVLSFELHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

【図 3 8】

Fig. 38

A. 配列番号282

ATGCAGGTTCTCACTGCTGCCCTTGCCTCCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACAGCCGACGCCCTGCTGCTTCACTGCTACACTCCCGACAGATTCCACAGAAATTCATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCCAAAGCCAGTGTCTTCTTCAACCAAGAGAGGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCACTGAGCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCAAATCTTGTGACACACTCCCGCTGCCCAAGGTGCCAGGCGGTGGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAAGTGGAGGACAGCCCGGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCTTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAG  
GTCAAGTGTGAGTGGTCCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGCGACGCC  
GAGAACCACTACACACCAACGCTTCCATGCTGGAAGTCCGAGCGCTCTCTTCTCTTACAGCAAGCTCAACGCTGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCGGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCAAGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCTCGGTGGCTGCACTTCGCTATCGGACTGGCCCTTCTACTCTCTC  
CGCTCGGATTTGTACACTGCTCGAGCCATGCTGCAAGTGAACCCAGAAATCACTGAGCCTCAGCCCTGGCAAAGGT  
CTGGAGGCGCTCAGAGTCCAGCCTACTGAGAGCATGCTGCGCTTCCAAACATCAACAAACCTGCTGCCCTTTTGGAG  
AAGTCTTCAATGCCACTCGGTTTGTCTTCACTGCTATGCTTGGAAATAGGAAGCGGATAGCAATTCGCTGGCCAGCTAC  
TCAGTGTGTACAATAGCGCAAGTTTCAGCACTTCAAGTGTCTAGGAGTCTCCCAACCAAACTCAATGACCTGTG  
CTTCAAGCTGATGCTGATGCTGATGCTTGTGATCAGAGGTGACGAAGTGGCGCAGATTGCCCTGTGTCAGACCGGA  
AAGATTGCGGACTACAATTAACAAAGTCCGAGCAGATTTCACAGGATGCTGATGCTGTTGGAATAGCAACAACTGGA  
CTTCAAGTGGGGGCACTACAATTAACCTGTACCGGCTCTTTCGCAAGTCTAACCTGAAGCTTTTGAAGAGAGACA  
TTAGCAGCGAAATCTACAGGCTGGAAGCAGCACCATGACGAGGTGGAGGGCTCTAATTTGCTACTTCCCTCTCCA  
GAGCTATGGTTTTCAGGCCACTAACGGTGTGGTTACGAGCATACAGAGTGGTCTGCTGCTGCTCATTTGAGCTGCTCC  
ATGCCCCGCTCAGCTGTGGACCTAAAAAGAGCACAATCTGGTGAAGAACAAATGCGTCAACTTC

B. 配列番号283

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYTSRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLDGTTHTPEKSCDTPPPCRPCGGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIJAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNFSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
KLGGLHFAIGLALYPSARIVYTACSHAAVYQKLSLSPGKLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCFGEVFNATRFASVYAWNRK  
RISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVIRGDEVVRQIAPGQTKGIADYNYKLDDFTGCVIAWNSNLD  
SKVGNVNYLRLFRKSNLKPFRDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCFYPLQSYGQPTNGVGYQPYRVVLSFELHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

【図 4 0】

Fig. 40

A. 配列番号286

ATGCAGGTTCTCACTGCTGCCCTTGCCTCCTCTGCACCATTGGCTCTCTGCAACCAGGTCTCTCTGCACCATT  
TGCTGCTGACAGCCGACGCCCTGCTGCTTCACTGCTACACTCCCGACAGATTCCACAGAAATTCATAGCTGACTACT  
TTGAGACGAGCAGCCAGTGTCTCCAAAGCCAGTGTCTTCTTCAACCAAGAGAGGCCGCGCAGGTCTGTGCTGACCC  
CAGTGAGGAGTGGGTCCAGAAATACGTCACTGAGCTGGAGCTGAGTGCCGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACACAGAGCCAAATCTTGTGACACACTCCCGCTGCCCAAGGTGCCAGGCGGTGGGAAGCAGCGGAGGT  
GGAAAGTGGAGGACAGCCCGGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCTTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAG  
GTCAAGCAGTGGGACAGCGGGAACATCTTCTCATGCTCGGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCAAGCAG  
GAGAACCACTACAAACCAACGCTTCCATGCTGGAAGTCCGAGCGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCAACGCTGGA  
CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCGGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCAAGCAG  
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCTCGGTGGCTGCATTTGCCATCGGCTGGCCCTGTACTATCCCTC  
TGCCAGAATCGTGTACACTGCTGCTCTCATGCTGCGCTGAGCTGTCTCTGAGCCCTGGCAAAGCACTGGGTGGC  
CTCCGAGTCCAGCCACAGAAATCACTGCTGCGGTTTCCAAACATCAACAACTCTGCTGCCCTTGGGAAAGTGTAA  
TGCCACAGGTTTGCCTCAGTGTATGCTGGAACCGGGAAGAGAATCTCAACTGGCTGGCAGACTATCTGCTGCTGT  
ACAAACGCGCTCTCTCTTCAAGTGTACGCGGTGCTCTCTACTAAGCTGAACGATCTCTGCTTCAACAAAG  
TGTATGCCGATTCCTTGTGATCAGAGGAGCAGAGTGGCAGAGATTGCTCTGGACAGACCGGGAAGATTGCCGA  
CTACAATATAAGTGGCAGACGATTCTGCTGCTGCTATTGCTGGAAATCAACAAACCTCGATTCAAAAGTGG  
CGCGGAATATAACTACCTCTATAGACTGTTCCGTAAGTCTAACTGAAGCCATTGAGGCTGATATTAGCAACGGA  
ATCTACCAAGGACGTTCACTCTTGTAAACGAGTGGAGGATTCAACTGCTACTTCCCACTGCACTCTATGCGGTT  
CCAGCTCAACACGAGTGGGTACAGCTTATCGGGTCTGTTGCTGTCTTTGAGCTGCTCCACGCTCTGCA  
ACTGTTTGGCGACCTAAGAAATCCACCAACCTGGTGAAGAACAGTGCCTGAATTTCT

B. 配列番号287

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFYSYTSRQIPQNFADYFETSSQCKSPVIFLTRKGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLDGTTHTPEKSCDTPPPCRPCGGGSSGGSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIJAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNFSCVMHEALHNRFTQKLSLSPGK  
KLGGLHFAIGLALYPSARIVYTACSHAAVYQKLSLSPGKLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCFGEVFNATRFASVYAWNRK  
RISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSVIRGDEVVRQIAPGQTKGIADYNYKLDDFTGCVIAWNSNLD  
SKVGNVNYLRLFRKSNLKPFRDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCFYPLQSYGQPTNGVGYQPYRVVLSFELHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

【図 4 1】

Fig. 41

A. 配列番号288

TGCTCAGGTTCTCAGCTCGTCTTGGCTGCTCTTCAGCAACGAGGCTCTCTGCAACAGCAAGTCTCTCTGCACACTCT  
AGTCCTGTCAGCAGCCGACGCGCTGCTGTTCTCAGTCAACACTCTCCGACAGATTTACAAGAAATTTATAGCTGACTACT  
TGTGAGAGCAGCAGCAGTCTGTTCAAGCTCAAGTCTGCTTTCTTCAACAGAAAGAGAGAGTCTGTTGCTGACGCC  
CAGTGAAGAGAGTGGGTGCTCAAACTGCGTCAGTGACCTGAGAGTGTAGCCGAGCTCAAAAGCCCACTTGGTGACACA  
ACTCACAGCAGGCCCCAAATCTTGTGACACAACTCCCCCGTCCGAAGGTCGCCAGGCTGGTGAAGACGCGGAGGAG  
GAAGTGTGAGAGCAGCCGCGGACAGCAACAGTGTGTACACCTTCCGCCCTTCCGGGAGGAGATGACCAAGAAAGAG  
TGCTCAGCTGACCTGCTGCTTGAAGGCTGTCTTACCTCCAGCAGCACTCCGCTGGTGGTGGGAGAGCAGCGGACGCCG  
GAGAACAACTACAACACAGGCTCTCCATGCTGGACTGTCAGCGAGCTCTTCTTCTCTACAAGAAAGTCAACGTGAG  
CAGAGCAAGCTGGCAGCAGGAGCAAGTCTTCTCATGCTGATGACAGAGTCTGCAACAACCGCTTCAACCGAG  
AAGAGCTTCTCCTGTTCTCCGGTGAAGGCTCTGGTGCGTCAATCTCGCATATGGGCTGGCTGTCTATTACCACTCT  
AGCCGAAATGCTTACAACGAGTCTCCATCAGCTCTCGGGGGTGGCGGATAGTGGGGGGGGGCTAGTCTCTGCT  
AATAGTAGTTTACGCTCATCTGAGAAACAATTTCTCATGATGGGTGGGCGGGAAGTGGCGGGGGTGGTGGT  
GCTTGAAGCCCTCTCTCATGCTGATTTCTCGATGAGAAATCTCTCTCTCAGTCTGCCCTCCGAAAGGCTCTGGGGG  
GGTCAGGGTGGCAGCCGACGAGTCACTGAGTCAAGTTCGCCCAACTACAACAACTGCTGCCCTTTGGGAGAGTCT  
CAAGCCGCACTGCTTGTCTTCTGTCTGACGCTTGAAGCAGGAAGCAATCAAGTAAGTCGGTCCGGTATTAACCTG  
TGTAATAATCCGCTCATTCAGCAACTTCAAGTGTACGGGTGCTTCTTCAACAAAGTCAAGATCTCTGCTGTGCA  
ATGTTCTACGCGACAGTCTGTGATCAGAGGCGAGTGGGTGCGCCAGATTTGCCCAAGCGCAGACCGGAAAAATCT  
CGACTATAATACAGGCTGCTGTAGTACTACCGGGTGGTGGTTCGATGAGTAATTCACCAAACTCACTGACCTCAAG  
TGGGGAGGACATCAACAACTTGTACCGGCTGTTTCAAGAAAGCAACCTTGAACCTTTTGAAGAGGATATCTCAACT  
GAAATCTACGGCGGGGTCCACCGTATGATGGGGTGAAGGGTCAAGCTGTAACTTCTTCTGAGTCTGCTGACTG  
TGCTGACGCTCAACATGAGTGGCTGACGCGCTCAAGGCTCAAGTGGTGGTGTCTTCTGCAACTCTCTGCACGCCCC  
TGCCACCTCTCGGGCGCAAGAAATCCCAAACTTGTGAGAAAAATAGGTCGTCACTT

B. 配列番号289

WQVSTAALVLLCTMALCQNLCPASAKDPTATCFVSYSQIPQNFIADEFYFETSSQKSPVILITKRGKQVCDPSEE  
WQVQYSDVLEL SAEKLPIGLDTHTEPKDSDTPPPRCPPSSSSGGSGGQPREQYUVTLPSPREEMTKWQVSLDIL  
KGFPYSDIAVEWSSGQPENNYNTTPMLDSGDSFGLYSKLTVDKSRWQQQGNFSCVMHEALHNRFTQKSLSDSPGK  
GLGLGHAFAGLIGLQVRIPTVSTACHSAAGVGGGSGGGGGGGVFAYLRKLRSSMMGGGSGGGGGLKVPFYSRVYR  
KNLSDLSFGKGLGLGRVOTIESYRFPNLTILCPGEVFNATRFASVFNWKRKISCNADVSLYNASFASTFCYKG  
SPTKLNLCFTNYTQASGTVNDEVRQIAGQPTAGVADYNNKPLDQTCVIAWNNSLSDKPGKNTLYNLFRKSNL  
KPFERDSTIYQDSGFCPNCGVEGFYCLPQSYGQFTNGVYQGYPRVYUWLLSLHAPATCVKGGNYNLRKNM/CNF

【図 4 3】

Fig. 43

A. 配列番号292

[illegible]

B. 配列番号293

MQVSTAALVLDLCTMALCQLGSDLADEADTACCFSTYSRQIPQNFIAIDYFETSSQKSCPSVILITKRGKRVCPADPSEE  
WYQYWSLDLSEALPTQLDPTTHEPKCDPTTPPCRPKSGSGSGGGSGGQPEQVQYITLTPSPREEMETKQVSLDIL  
KGFPSYIVLAEWESSQPPENNYITTPMLDSQGSFFLYLKTVKDYRQKHIFSCSYVMHAEHRFTKLSLSPGLK  
LGLGHFAIGALQYPPANNYITACHAAHVVGGGSGGGGSGGVDFYALVRLGHFSMMGGGSGGGGSLKPSFYFVSRYR  
KRLNCGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSRQVPTSEFVPIATLQCPGEVFNATKPSYVAYWNR  
KRNSGVADYSYVLSNASFSTFKQYGVSTPLNLDCTFNYSVDSFVIRGEDVRNITQPGQTKGDIYNKFLADPFGTCVIA  
VWSNNLNDKSGVGNMYNLYLRKFNKSNLFPERDITSTYQAGSTPCNGVEGFNCPFLQSGYGFQPTNGVQGYQPVVWLS  
FELLHAPATVCPKPKYNLTLLVKKCNV

【図 4 2】

Fig. 42

A. 配列番号290

[illegible]

B. 配列番号291

WQVSTAALVLAICTMALCNLSAPLAADTACCFYSYTRQPNQIFADYFSTSQSCQPVVLTAKRGQVQADPSE  
 MVQVYSLDLESLALCTPLDGTTHTEKPCSDTPRCPGQSGGGGSGGQSPQVYVTPSPSEEMTKNQVSLTCLV  
 KGFPYSDVLEAVESWGSSGPPYNTTHPMLDSGGFSLVLTDKRWQKQFSGFCVSYMHAEHNRQVTKSLSDSPGK  
 LGLGHFAIGALVYPSARIYACNAHAGVGSGGGGSGFYNEFYARLKHFSMMGGGSGGGGSLKSPYFVYSRW  
 KNLGSGASVGSNGSGSGGSSGSGGTAGTGGTSGSGTSGSRVQPSYTVRFPNTLCPFGVEFNATRSVIAWNRK  
 RINCSDVADYSLYNSAFSGYFKCVGVPSTKLDLNCFTGSGVDFVRIGDEQVJAGPQTKIADYNYLKPDDFTGCYV  
 NSNNLSDVKVGGNNYLYLRKSNLKFPERDISTEIEVSGDTPCNGVEGFCNYFLQPSYQFGPQTNGVQPYRWVLSFE  
 LHAPATVCGPKSKNLTLYKNKCNVFI

【圖 44】

Fig. 44

A. 配列番号294

ATGACTGCTCTCAACCTGCTCTGCTGGCGTCTCTCTCTGCACATGGGCTCTCTGCACAACAGGTCTCTCTCTGCACCAC  
TGCTGCTGACACGGACACCGCTGCTGCTTCAGCTACACCTCCCGACAGTCTTACCAAGAAATCTAACTAGCTACTGACT  
TGAGACAGACGGCAGCTGCTCAAGCGCATGTGATCTTCTTAAACCAAGAGGCGCGGAGCTGTGTCTGACCC  
CAGTGAAGAGTGGCTGACAAATAGCTGACGTACCTGGAGCTGAGTCCGACGACTAAACCCCACTTGGTACAC  
ACTCACACAGAGCCCAATCTTGTGACACACTCCCCGTGCCAAGTGGCCAGGCGGTGGAAGACGCGGAGGT  
GGAGGTGGAGGACAGCCCGGACAGAACACAGGTGTACACCTCGCCCATCTCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAC  
TGTCAGCTTCTGACTGCTGTGTCAAAAGGCTCTATCCCAAGGCACATGCCCTGGAGGTGGAGGACGCGGACGCG  
GAGAACAAGTACACACACACGCTCCATCTGCGGACTCGACGGCTCTCTTCTTCTCAATCAAGCACTCACCTGG  
CAGACAGCGTGGGACAGCGGGAGAATCTTCTATGCTCTGATGACGAGGCTGTGCACAAACCGCTTGACGAC  
AGAGCGCTCTCTGCTTCTCGGCTTAAAGGCGTGGTGGTCTGGAGTCCAGCCACAGATCAATCTGTCGGGTTT  
CAACATCAACCAATCTCTGCCCTTCGGAGAGGCTTTAATGCACACAGGTTTGCTCATGCTTGTCCGAAGCCG  
AGAGTAATCTCAACCTGCTGGGACGACTATCTGTGCTGTACAAACGAGTGGCGCTCTTCTCTACTTCAAGTGGTACG  
CGTGTCTCTACTAAGCTGAAGACTTCTGCTTCAAACTGATGTGCGCAATCTTGTGATCAGAGAGACCAAG  
TGACACAGATTTGCTCTGGACACCGCGGAACTTGGCAGTACCAATTAAGTCTGCGGACAGCAATTTACGCTGCG  
TGTTATCTCGGAAATCAACCAACTGATTCAGAAAGTGGGCGGAAATTAACCTACTCTATAGACTTCTGTGTA  
GTCTAACTGAAGCATCTGACAGCGTGAATATAGGACAGGAAATACCGAGGCGGTCAACTCTTGTAAAGCGGTGA  
AGGAAATCAACTGCTACTTCCCACTGACGCTCTGAGTTTCAGCGTACATATGAGTGGGGTACCGAGCTTATCGG  
GTGTTGTGCTGTCTTTGAGCTGCTCCAGCTCTCTGCAACTGTTTGGCGACCTAAGAAATCCACCAAGCTGGTGA  
GACCAACGTGGGAATTTC

## B. 配列番号295

MQVSTAALVALLCTMALCNQVLSAPLAADPTTACCFSYTSRQIPNFADYFETSSQCSKPSVILFKRGRQVCADPSEE  
WQVYVSDLESLAEKPTLDGTHITPKSCDTPPCGGSSGGGGGGQREPQVYTPPSEEMERKQNLVSLTLC  
KGQFSPDIADVESSGKPELNNYTHHMLDSDGGFFLYLTKVDSRWQSGFCYSVMEHHRNFQTKSLSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPGFEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLGF  
NYADSVIRGVDEGRQIAPQGTGNIAHYTKYGLDPTFGCIVANNSNLDLSKVGNGYNYLYLVRKFNKLPFERDISST  
QAAGSTQAGGKGFNCYCPQLSQYGVQYGVQYPRVYVLSFELHAPATVCGPKKSTNLVYKCNVSN

## Fig. 44

ATGCAGG

## TTGAGACGAGCAGC

ATGATGACGAGCCAAATCTTTGTGACACACTCTCCCCGTGCCAAGGTGCCGAGCGTGGGAGAGCGCGGAGGT  
 CGAAGTGGAGAGACCCGCGGAGAACACAGGTGTTCAGCCGCCCATCCCGGGAGAGATGACCAAGAACAGC  
 TGACCTCTGACCTCGCTGCTGGAAGCGTCTTGACCAACGACAGTCCGCCGTGGAGTGGAGAGACGCGGACGCCG  
 GAGAACAACTACAACACAGCTCCGATCTGACCTGCAGCGGCTCTTCTTCTCTACAAGCTCACCTGGTGAA  
 CAAGACAGCGTGGACAGACGGAAGACTTCTCTACTGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCGCTTCCGCG  
 AAGAGCCTCTCCCTGTCCGGGTAAAGGCTCGGTGGCTGCGAGTCCGACCCCAAGCAATCAATCGTACCGGTTT  
 CAACATCAACCAATCTTGCCTCTCGAGAGAAGTGTTAATGCACACAGGTTTGCTCAGTGTATGCTGGAAACGG  
 AAGAGAATCTCCAATCGTGGCGAGCAATCTTGTGCTGTACAACAGCGGCTCTTCTCTACTTTCAGTGGTACGG  
 CGTGTCTCTACTAAGCTGAAGACTTCTGCTTCAAAAGTGTATGCGCAATCTTTGTGATCAGAGAGACAGAA  
 TGCGACAGATTGTCTCTGGACACGCGGAGCAAGTTCGCGCATCAACTAATTAAGCTCCGAGACAGATTCCTGCGT  
 CGTATCTCTCGGAATTAACAAACCTGATTCAAAGTGGCGGAAATTAATCACTCACTATAGACTTGTCTGTA  
 GTCTAACTGAAGCATCGACGTGATATAGCAACGAAATCTACCGAGCAAGTCAACTCTCTGACCGGAATGA  
 AGGAAATCAACTGCTACTTCCAGCTGACGTCTATGGTGTACAGTAACTAGATGGTGGGGTACCACTGCTTACGG  
 GTGTTGTGCTGTCTTGTAGCTGCTCCAGCTCTCTGCAACTGTTTGGCGACCTAAGAAATCAAGCTGTGTGAA  
 GAACAAGTGGCGGAATTTC

## B. 配列番号295

MQVSTAALVALLCTMALCNQVLSAPLAADPTTACCFSYTSRQIPNQFIADYFETSSQCSKPSVILFKRGRQVCADPSEE  
WQVYVSDLESLAEKPTLDGTHITPKSCDTPPCGGSSGGGGGGQREPQVITLPSEEMERKQNSVLTLC  
KGQFSPDIADVESSGKPELNNYTHHMLDSDGGFFLYLTKVDSRWQSGFCVYMHAEHNRFKTLQSLSDPGK  
GLGGLRVQPTESIVRPNITNLCPGFEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSLVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLGF  
NYADSVIRGVDEGRQIAPQGTGNIAHYTKYGLDPTFGCIVANNSNLDLSKVGNGYNYLYLVRKNSKLPFERDISST  
QAAGSTQAGGKGFNCYCPQPSQYGVQYGVQYPRVYVLSFELHAPATVCGPKKSTNLVFNKCNFNL

## 【図 4 5】

Fig. 45

配列番号296

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADTPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLGDTTHTEPKSCDTPPPCPRCPGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
NVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEY  
QAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFGSGGGSEGG  
GSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLN  
SASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNY  
NYLYRLFRKSNLKPFRDISTEYQAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKS  
TNLVKNKCVNF

## 【図 4 6】

Fig. 46

配列番号297

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADTPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLGDTTHTEPKSCDTPPPCPRCPGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
NVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEY  
QAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFGSGAGSGSG  
SSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLN  
SASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNY  
NYLYRLFRKSNLKPFRDISTEYQAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKS  
TNLVKNKCVNF

10

## 【図 4 7】

Fig. 47

配列番号298

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADTPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLGDTTHTEPKSCDTPPPCPRCPGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
NVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEY  
QAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFTQKSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
NVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEY  
QAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

## 【図 4 8】

Fig. 48

配列番号299

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADTPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLGDTTHTEPKSCDTPPPCPRCPGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
NVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEY  
QAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFSLSLSPGKGL  
GLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYA  
DSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEYQAGS  
TPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

20

## 【図 4 9】

Fig. 49

配列番号300

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADTPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLGDTTHTEPKSCDTPPPCPRCPGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
NVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEY  
QAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFGSGGGSEGG  
GSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLN  
SASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNY  
NYLYRLFRKSNLKPFRDISTEYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKS  
TNLVKNKCVNF

## 【図 5 0】

Fig. 50

配列番号301

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADTPTACCFSYTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTRGRQVCADPSEE  
WVQKYVSDLELSAELKTPLGDTTHTEPKSCDTPPPCPRCPGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSPGK  
GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
NVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEY  
QAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFGSGAGSGSG  
SSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLN  
SASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGNY  
NYLYRLFRKSNLKPFRDISTEYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKS  
TNLVKNKCVNF

30

40

50

## 【図 5 1】

Fig. 51

配列番号302

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFSTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTKRGRQVCADPSEE  
 WVQKYVSDLELSAELKTPGLDTHTEPKSCDTPPCPCPGGGSSGGSSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
 KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK  
 GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
 NVYADSFVIRGDEVIRQIAPGQTGNIADYNYKLPPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLFRKSNLKPFRDISTEY  
 QAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFGSSGGSSGG  
 GSEGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYN  
 SASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVIRQIAPGQTGKIADYNYKLPPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNY  
 NYRYLFRKSNLKPFRDISTEYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKK  
 STNLVKNKCVNF

## 【図 5 2】

Fig. 52

配列番号303

MQVSTAALAVLLCTMALCNQVLSAPLAADPTACCFSTSRQIPQNFADYFETSSQCSKPSVIFLTKRGRQVCADPSEE  
 WVQKYVSDLELSAELKTPGLDTHTEPKSCDTPPCPCPGGGSSGGSSGGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
 KGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK  
 GLGGLRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT  
 NVYADSFVIRGDEVIRQIAPGQTGNIADYNYKLPPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLFRKSNLKPFRDISTEY  
 QAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFGSSAGGSSGG  
 SGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYN  
 SASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVIRQIAPGQTGKIADYNYKLPPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNY  
 NYRYLFRKSNLKPFRDISTEYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKK  
 STNLVKNKCVNF

## 【図 5 3 A B】

Fig. 53A.

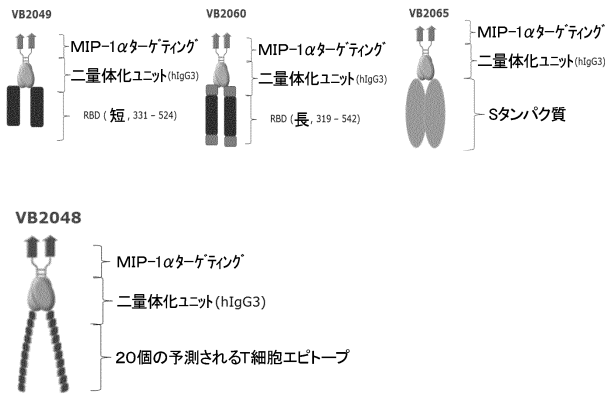
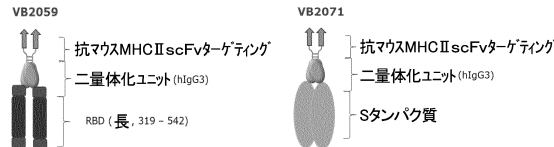


Fig. 53B.



## 【図 5 3 C D】

Fig. 53C.

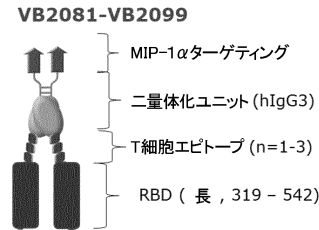
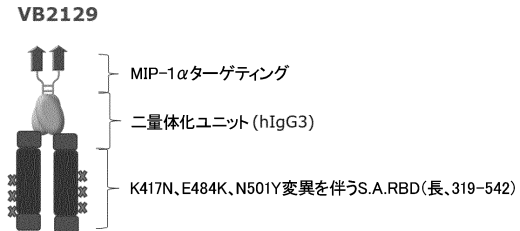


Fig. 53D.



10

20

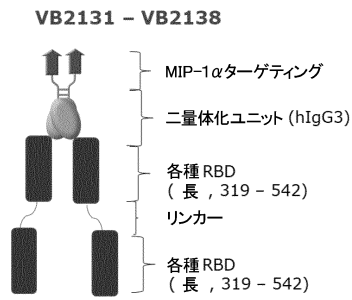
30

40

50

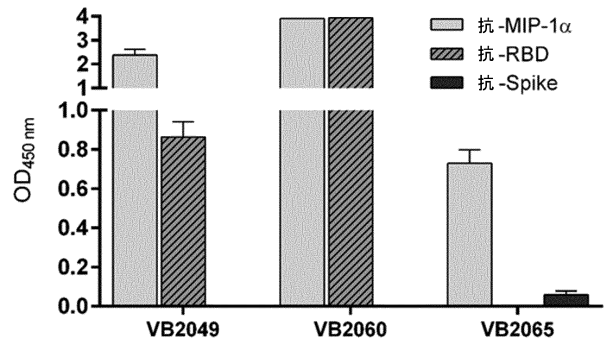
【図 5 3 E】

Fig. 53E.



【図 5 4】

Fig. 54



10

【図 5 5 A B】

Fig. 55A.

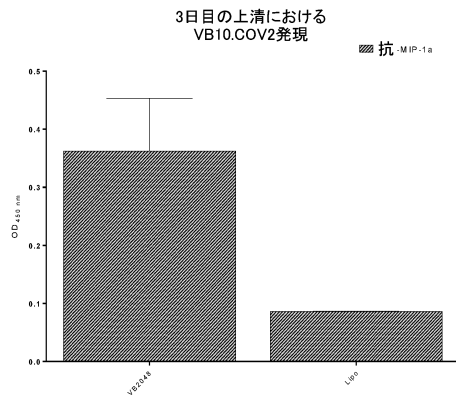
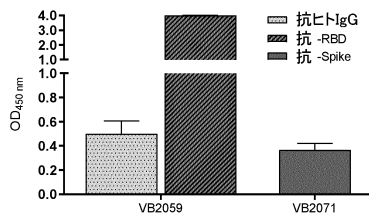
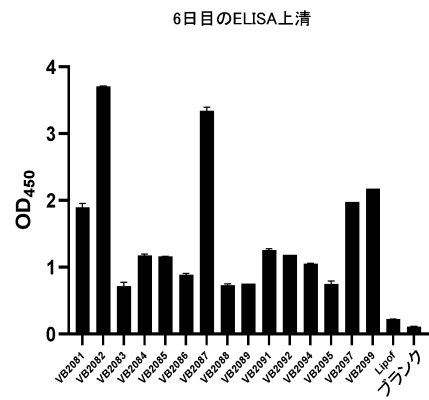


Fig. 55B.



【図 5 5 C】

Fig. 55C.



20

30

40

50



## 【図 5 7 B C】

Fig. 57B.

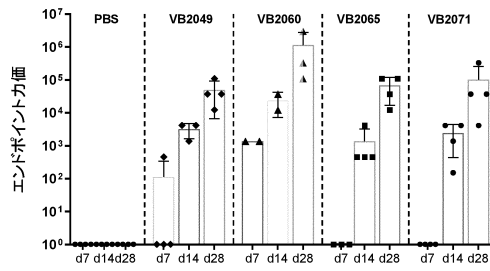
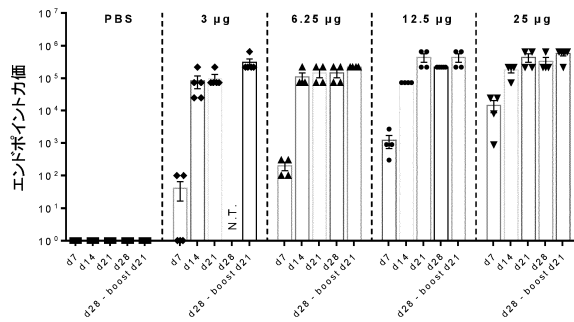


Fig. 57C.



## 【図 5 7 E F】

Fig. 57E.

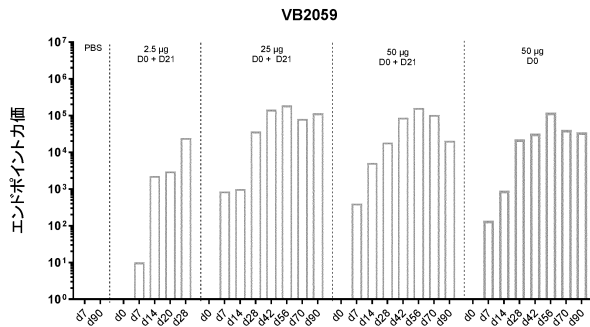
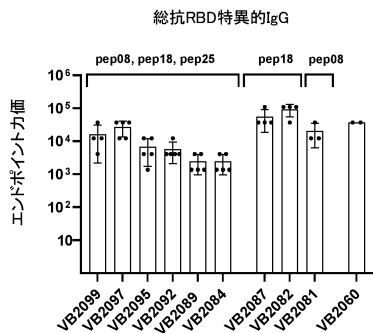
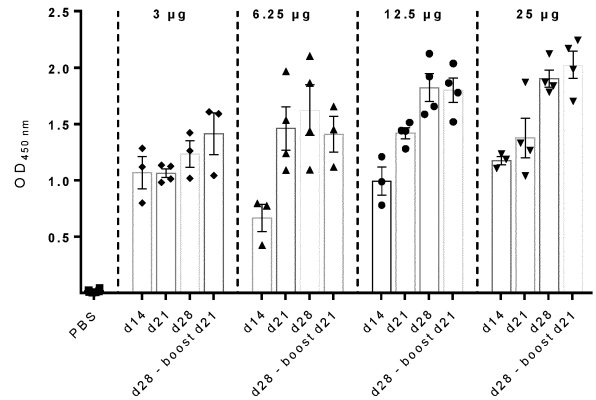


Fig. 57F.



## 【図 5 7 D】

Fig. 57D.

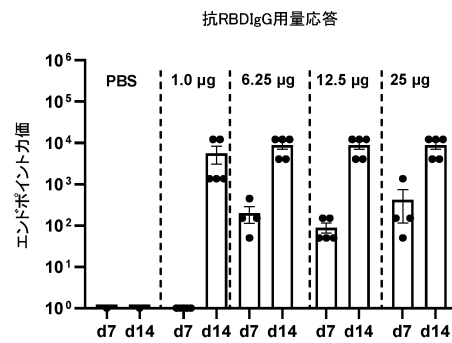


10

20

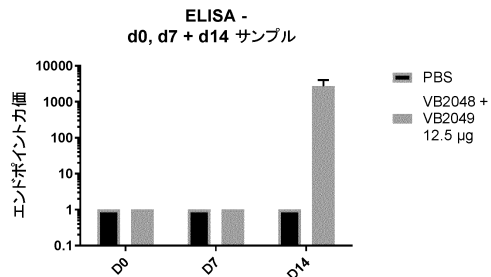
## 【図 5 7 G H】

Fig. 57G.



30

Fig. 57H.



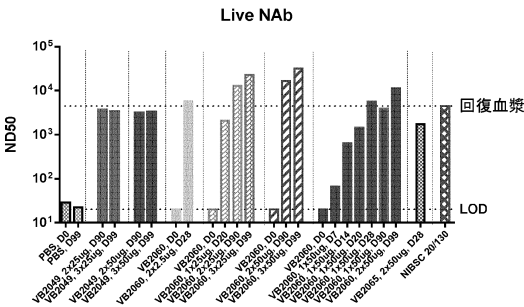
40

50

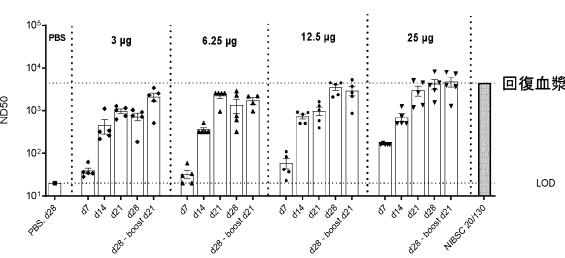
【図 5 8】

Fig. 58

A:

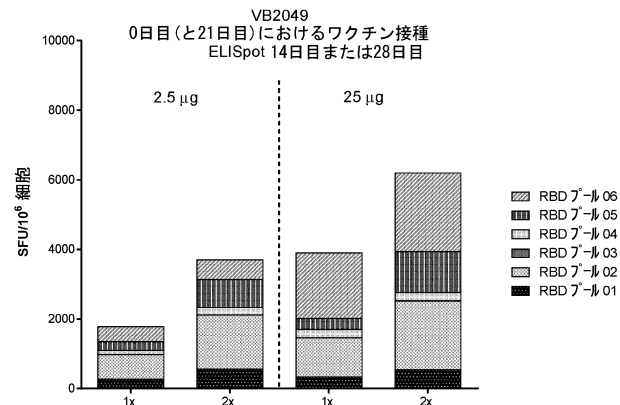


B:



【図 5 9】

Fig. 59



10

20

【図 6 0 A B】

Fig. 60A.

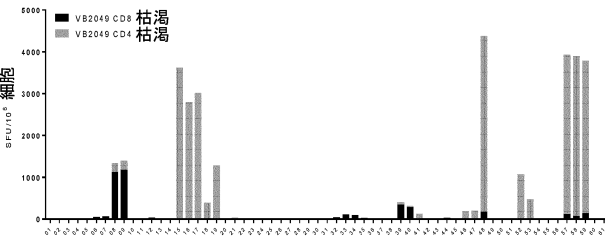
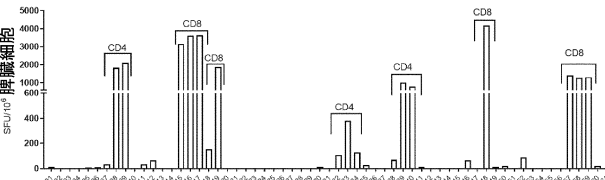
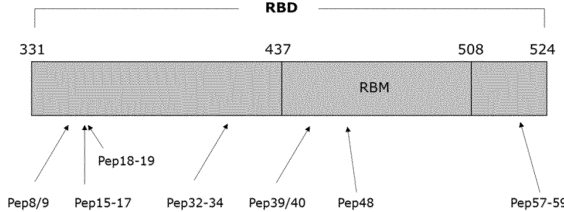


Fig. 60B.



【図 6 0 C】

Fig. 60C.



30

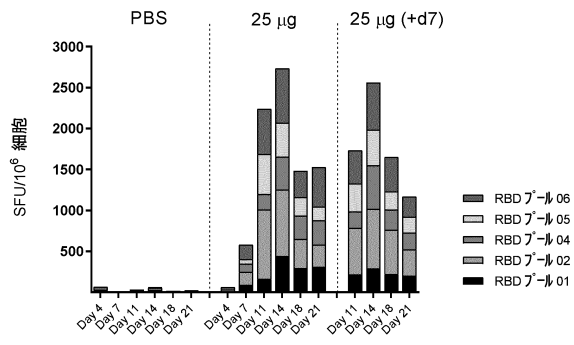
| ドミナントペプチド番号<br>/配列番号 | 配列               | アミノ酸    | CD4または<br>CD8優位な応答 |
|----------------------|------------------|---------|--------------------|
| 08/304               | AWNKRKISNCVADYS  | 355-369 | CD4 (中)            |
| 09/305               | RKRISNCVADYSVLY  | 358-370 | CD4 (中)            |
| 15/306               | SFSTFKCYGVSP TKL | 374-388 | CD8 (強)            |
| 16/307               | TFKCYGVSP TKLNDL | 377-391 | CD8 (強)            |
| 17/308               | CYGVSP TKLNDLCFT | 380-394 | CD8 (強)            |
| 18/309               | VSPTKLNDLCFTNVY  | 383-397 | CD8 (弱)            |
| 19/310               | TKLNDLCFTNVYADS  | 386-400 | CD8 (中)            |
| 39/311               | VGGNYNYLYRLFRKS  | 445-459 | CD4 (弱)            |
| 40/312               | NYNYLYRLFRKSNLK  | 448-462 | CD4 (弱)            |
| 46/313               | RDISTEIQAGSTPC   | 465-479 | CD8 (弱)            |
| 47/314               | STEIQAGSTPCNGV   | 468-482 | CD8 (弱)            |
| 48/315               | IYQAGSTPCNGVEGF  | 471-485 | CD8 (強)            |
| 52/316               | EGFNCFYPLQSYGFQ  | 484-498 | CD8 (中)            |
| 53/317               | NCYFPLQSYGFQPTN  | 487-501 | CD8 (弱)            |
| 57/318               | PTNGVGYQPYRVVVL  | 499-511 | CD8 (強)            |
| 58/319               | GVGYQPYRVVLSFE   | 502-516 | CD8 (強)            |
| 59/320               | YQPYRVVLSFELLH   | 505-519 | CD8 (強)            |

40

50

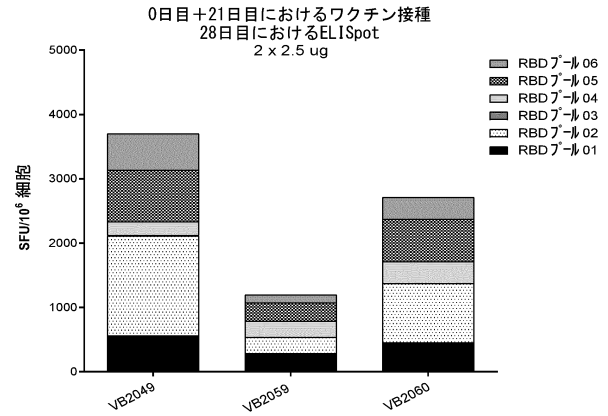
【図 6 1 A】

Fig. 61A.



【図 6 1 B】

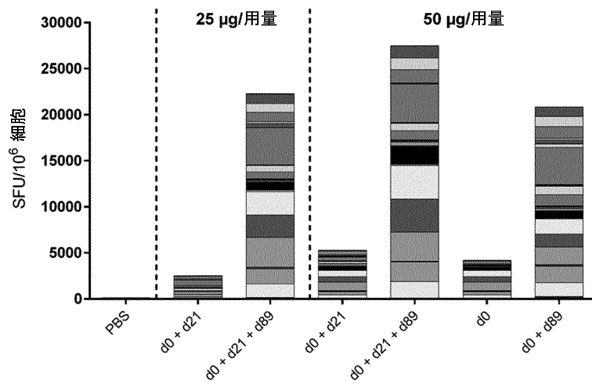
Fig. 61B.



10

【図 6 2】

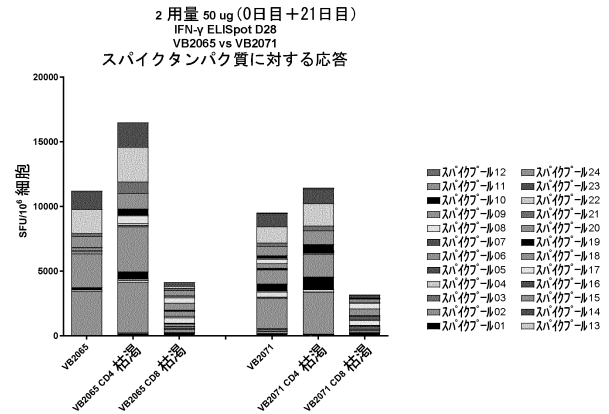
Fig. 62



【図 6 3】

Fig. 63

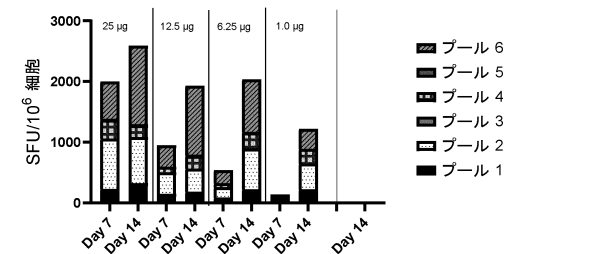
A:



30

B:

S. A 変異を伴うRBD

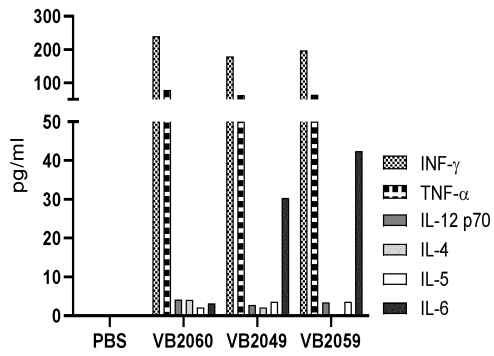


40

50

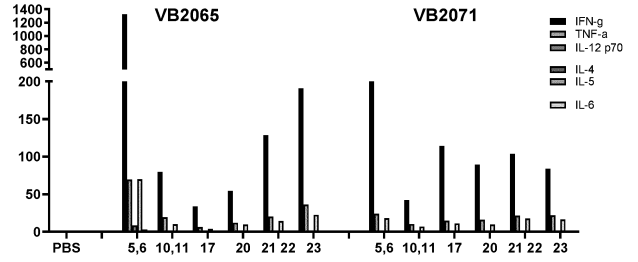
【図 6 4 A】

Fig. 64A.



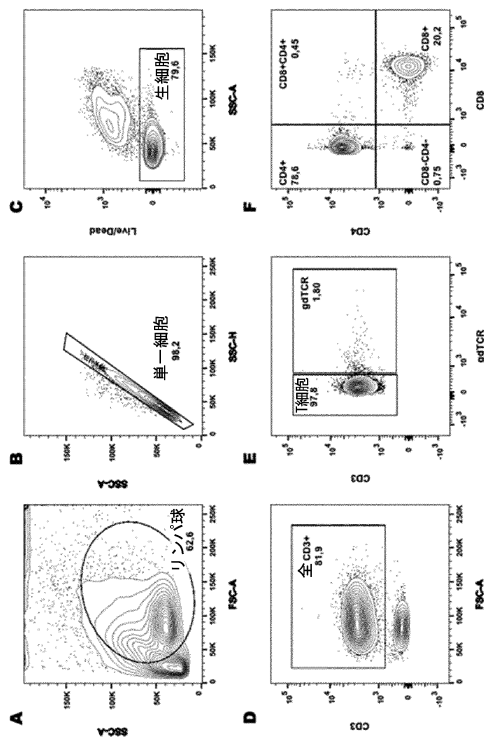
【図 6 4 B】

Fig. 64B.



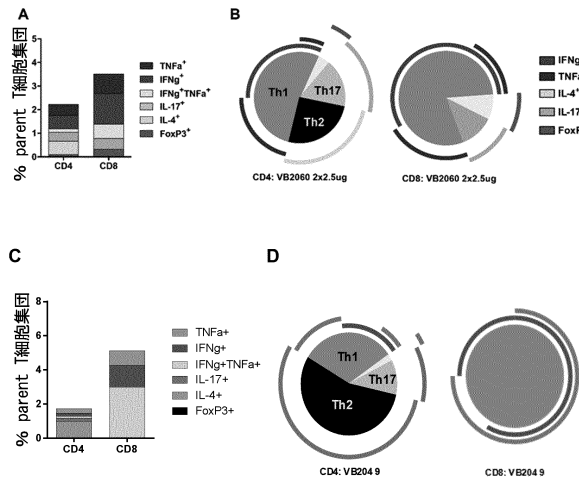
【図 6 5】

Fig. 65



【図 6 6】

Fig. 66



10

20

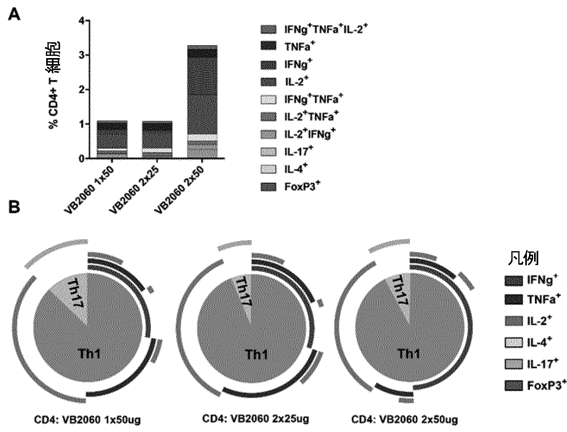
30

40

50

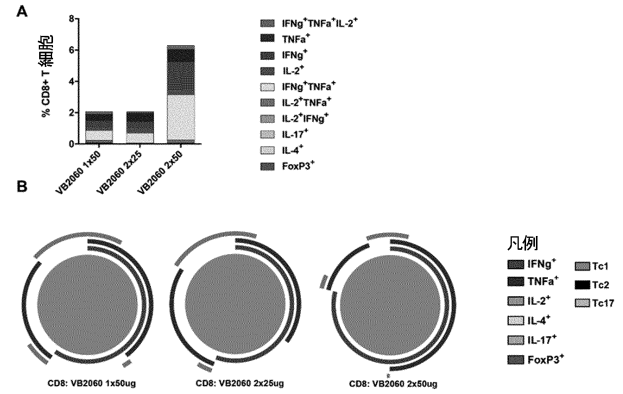
【図 67】

Fig. 67



【図 68】

Fig. 68

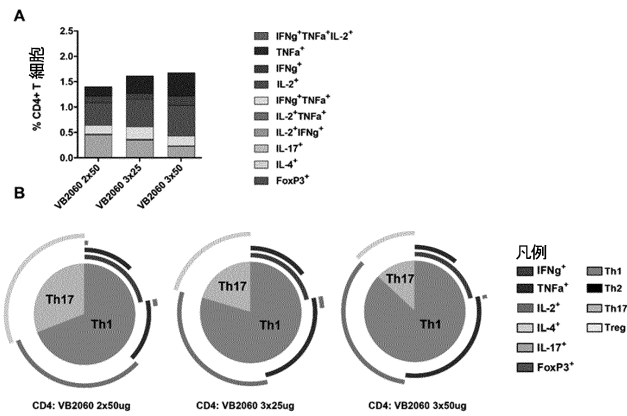


10

20

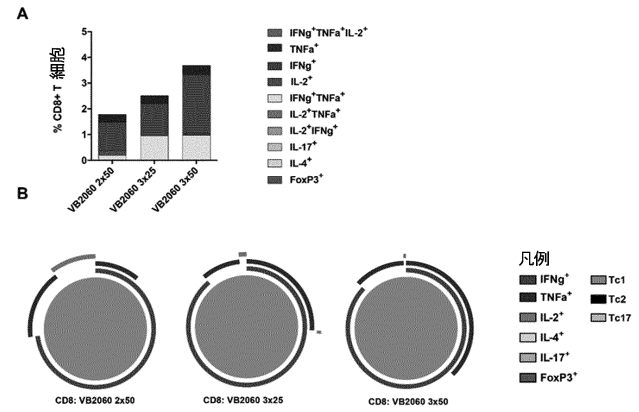
【図 69】

Fig. 69



【図 70】

Fig. 70

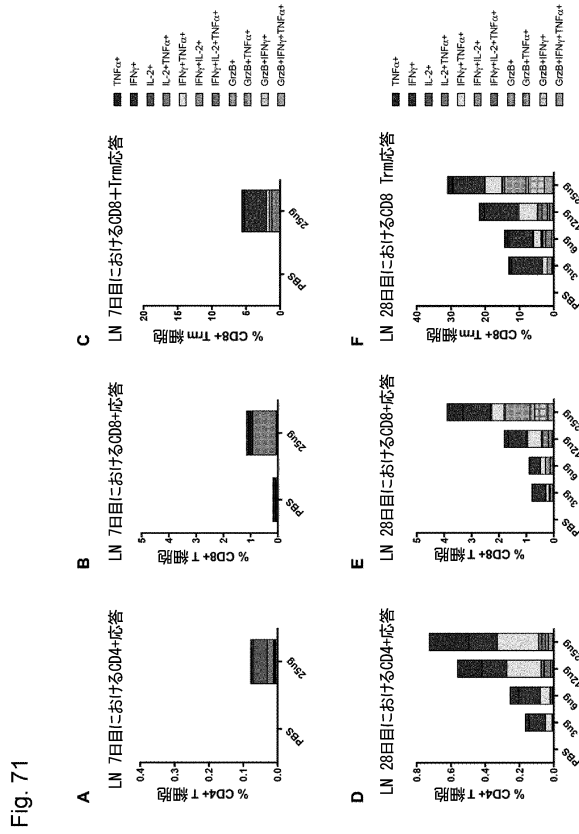


30

40

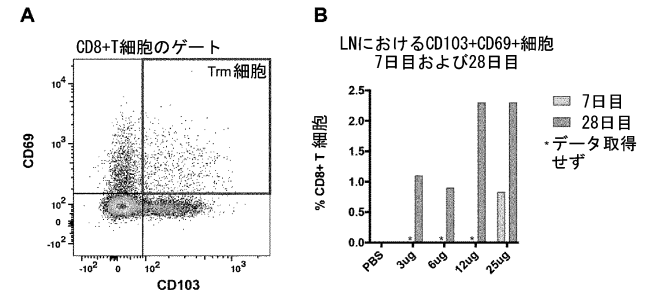
50

【図 7 1】



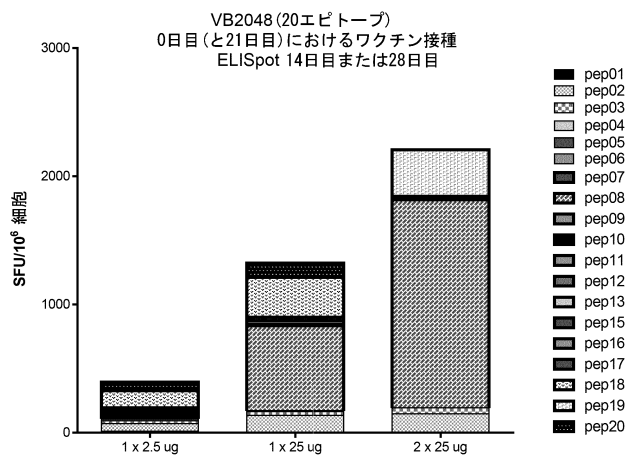
【図 7 2】

Fig. 72



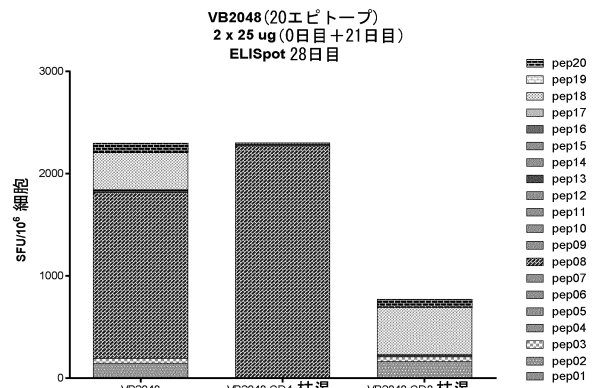
【図 7 3】

Fig. 73



【図 7 4】

Fig. 74



10

20

30

40

50



【配列表】

2023524054000001.app

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2021/061602

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K14/165 A61K39/12 A61P31/14  
 ADD. A61K39/00

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

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, CHEM ABS Data, Sequence Search

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                    | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y         | WO 2018/151816 A1 (MODERNATX INC [US])<br>23 August 2018 (2018-08-23)<br>page 19, paragraph 2; claims<br>-----                                                                                                                                                                                                                                        | 1-66                  |
| A         | WO 2012/159643 A1 (BIONTECH AG [DE] ET AL.)<br>29 November 2012 (2012-11-29)<br>the whole document<br>-----                                                                                                                                                                                                                                           | 1-66                  |
| Y         | FREDRIKSEN ET AL: "DNA Vaccines Increase Immunogenicity of Idiotypic Tumor Antigen by Targeting Novel Fusion Proteins to Antigen-Presenting Cells",<br>MOLECULAR THERAPY, ELSEVIER INC, US,<br>vol. 13, no. 4, 1 April 2006 (2006-04-01),<br>pages 776-785, XP005358612,<br>ISSN: 1525-0016, DOI:<br>10.1016/J.YMTHE.2005.10.019<br>abstract<br>----- | 1-66                  |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 July 2021

Date of mailing of the international search report

29/07/2021

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Meyer, Wolfram

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2021/061602

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)**

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

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2021/061602

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| W0 2018151816 A1                          | 23-08-2018          | EP 3582790 A1              | 25-12-2019          |
|                                           |                     | US 2018312549 A1           | 01-11-2018          |
|                                           |                     | US 2019211065 A1           | 11-07-2019          |
|                                           |                     | W0 2018151816 A1           | 23-08-2018          |
| -----                                     |                     |                            |                     |
| W0 2012159643 A1                          | 29-11-2012          | NONE                       |                     |
| -----                                     |                     |                            |                     |

## フロントページの続き

| (51)国際特許分類               | F I            | テーマコード (参考) |
|--------------------------|----------------|-------------|
| C 1 2 N 1/19 (2006.01)   | C 1 2 N 1/19   |             |
| C 1 2 N 1/21 (2006.01)   | C 1 2 N 1/21   |             |
| C 0 7 K 19/00 (2006.01)  | C 0 7 K 19/00  |             |
| C 0 7 K 16/00 (2006.01)  | C 0 7 K 16/00  |             |
| C 0 7 K 14/52 (2006.01)  | C 0 7 K 14/52  |             |
| C 0 7 K 14/165 (2006.01) | C 0 7 K 14/165 |             |
| A 6 1 P 31/14 (2006.01)  | A 6 1 P 31/14  |             |
| C 1 2 N 15/62 (2006.01)  | C 1 2 N 15/62  | Z           |
| C 1 2 N 15/13 (2006.01)  | C 1 2 N 15/13  |             |
| C 1 2 N 15/12 (2006.01)  | C 1 2 N 15/12  |             |
| C 1 2 P 21/02 (2006.01)  | C 1 2 P 21/02  | Z           |

(32)優先日 令和2年11月5日(2020.11.5)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
デンマーク(DK)

(31)優先権主張番号 PA202070820

(32)優先日 令和2年12月8日(2020.12.8)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
デンマーク(DK)

(31)優先権主張番号 PA202170069

(32)優先日 令和3年2月15日(2021.2.15)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
デンマーク(DK)

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

## 1. T W E E N

(72)発明者 アグネーテ ブルンスピク フレードリクセン  
ノルウェー国, 2 0 0 5 ラェーリングエン, エーブレ ラェーリンクスベーク 8 2 ベー(72)発明者 モニカ セケーリヤ  
ノルウェー国, 0 3 7 7 オスロ, ヤルスボルグベイエン 1 イー(72)発明者 カロリーネ シュエットウーヌ  
ノルウェー国, 1 3 5 0 ロンメダーレン, ヨンサルードガータ 4 8(72)発明者 グンヌステイン ノルヘイム  
ノルウェー国, 0 4 9 2 オスロ, グレフセンベイエン 1 0 6(72)発明者 エリーサベト ステューブスルー  
ノルウェー国, 0 3 7 5 オスロ, スケーイエンベイエン 6 9

F ターム (参考) 4B064 AG32 CA19 CC24 CE12 DA01  
4B065 AA01X AA57X AA72X AA88X AA90X AA95Y AB01 AC02 AC14 BA02  
CA24 CA45  
4C085 AA03 BA71 CC08 DD62 EE01  
4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 CA01 CA40 DA01 DA75 DA86 EA31  
FA74