(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-524767
(P2023-524767A)
(43)公表日　令和5年6月13日(2023.6.13)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N	*15/50 (2006.01)*	C12N	15/50	ZNA	4C076
A61K	*39/215 (2006.01)*	A61K	39/215		4C085
A61P	*31/14 (2006.01)*	A61P	31/14		4C086
A61K	*31/7105 (2006.01)*	A61K	31/7105		4H045
A61K	*31/711 (2006.01)*	A61K	31/711		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全285頁）　最終頁に続く

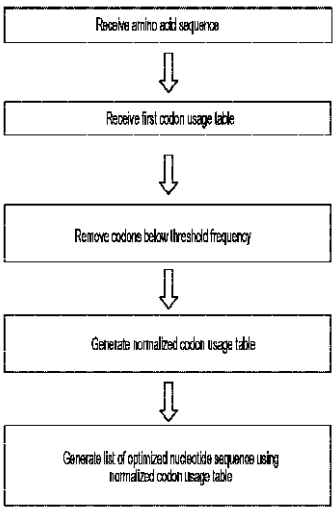
(21)出願番号　特願2022-567240(P2022-567240)
(86)(22)出願日　令和3年5月7日(2021.5.7)
(85)翻訳文提出日　令和4年12月28日(2022.12.28)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/031256
(87)国際公開番号　WO2021/226436
(87)国際公開日　令和3年11月11日(2021.11.11)
(31)優先権主張番号　63/076,729
(32)優先日　令和2年9月10日(2020.9.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/021,319
(32)優先日　令和2年5月7日(2020.5.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/076,718
最終頁に続く

(71)出願人　517316797
トランスレイト バイオ， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４５１．ウォルサム．ウェスト・ストリート２００
(74)代理人　100127926
弁理士　結田 純次
(74)代理人　100140132
弁理士　竹林 則幸
(72)発明者　アニュシャ・ディアス
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列

(57)【要約】
本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列に関する。これらの配列は、このような処置が必要なヒトまたは動物対象において、ＣＯＶＩＤ－１９感染を含むβ－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止するためのワクチン組成物に使用するのに特に好適である。
【選択図】図１Ａ

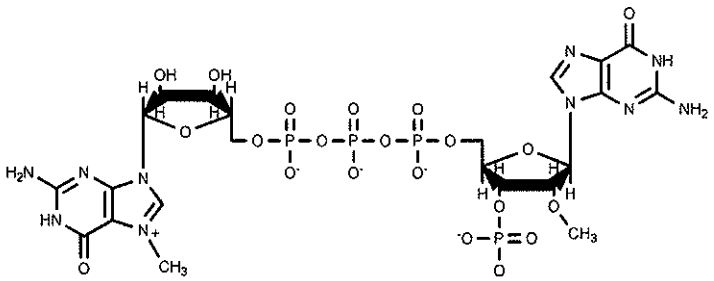
Figure 1A



【特許請求の範囲】
【請求項１】
フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、最適化されたヌクレオチド配列は、１０％より大きいかまたはそれに等しい使用頻度に関連するコドンからなり；最適化されたヌクレオチド配列は：
（ｉ）以下のヌクレオチド配列：
５’－X_1ＡＴＣＴX_2ＴX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＴまたはＧから選択される）；および５’－X_1ＡＵＣＵX_2ＵX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＵまたはＧから選択される）
のうちの１つを有する終結シグナルを含有せず；
（ｉｉ）いかなる負のシス調節エレメントおよび負の反復エレメントも含有せず；
（ｉｉｉ）０．８より大きいコドン適応指標を有し；
オーバーラップしていない３０ヌクレオチドの長さの部分に分割される場合、最適化されたヌクレオチド配列の各部分は、３０％～７０％のグアニンシトシン含量範囲を有する、核酸。
【請求項２】
最適化されたヌクレオチド配列は、以下の配列：ＴＡＴＣＴＧＴＴ；ＴＴＴＴＴＴ；ＡＡＧＣＴＴ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＴＣＴＡＧＡ；ＵＡＵＣＵＧＵＵ；ＵＵＵＵＵＵ；ＡＡＧＣＵＵ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＵＣＵＡＧＡのうちの１つを有する終結シグナルを含有しない、請求項１に記載の核酸。
【請求項３】
最適化された配列によってコードされた全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質は、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する、請求項１または２に記載の核酸。
【請求項４】
ｍＲＮＡである、請求項１～３のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項５】
ＤＮＡである、請求項１～３のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項６】
最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードし、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列を有する、請求項１～５のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項７】
最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６７を含むアミノ酸配列をコードし、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６または配列番号１７３の核酸配列を有する、請求項１～５のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項８】
療法における使用のための、請求項１～７のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項９】
β－コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防における使用のための、請求項１～７のいずれか１項に記載の核酸を含む免疫原性組成物。
【請求項１０】
β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する、請求項９に記載の使用のための免疫原性組成物。
【請求項１１】
β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項９または１０に記載の使

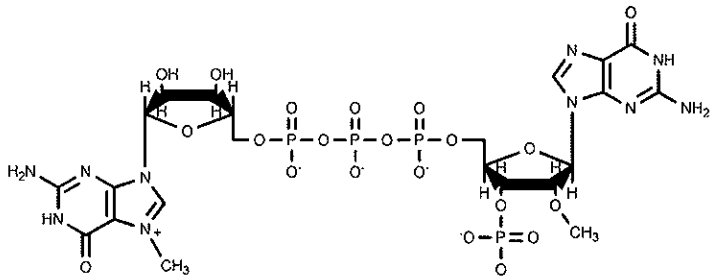
用のための免疫原性組成物。
【請求項１２】
β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する、請求項９～１１のいずれか１項に記載の使用のための免疫原性組成物。
【請求項１３】
β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止する方法であって、請求項１～７のいずれか１項に記載の核酸を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法。
【請求項１４】
β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項１３または１４に記載の方法。
【請求項１６】
β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する、請求項１３～１５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７】
ｉ）請求項１～７のいずれか１項に記載の核酸およびｉｉ）脂質ナノ粒子を含む医薬組成物。
【請求項１８】
核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている、請求項１７に記載の医薬組成物。
【請求項１９】
脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む、請求項１７または１８に記載の医薬組成物。
【請求項２０】
ａ．カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；
ｂ．非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；
ｃ．コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；
ｄ．ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである、請求項１９に記載の医薬組成物。
【請求項２１】
カチオン脂質は、モル比で、脂質ナノ粒子の約３０～６０％を構成し、例えば、約３５～４０％を構成する、請求項１９または２０に記載の医薬組成物。
【請求項２２】
カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、モル比で、およそ３０～６０：２５～３５：２０～３０：１～１５である、請求項１９～２１のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項２３】
脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＯＦ－Ｄｅｇ－Ｌｉｎ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；またはＯＦ－０２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを含む、請求項１９～２２のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項２４】
脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む、請求項１９～２３のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項２５】
脂質ナノ粒子は、１５０ｎｍ未満、例えば、１００ｎｍ未満の平均サイズを有する、請求項１７～２４のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項２６】
脂質ナノ粒子は、約５０～７０ｎｍ、例えば、約５５～６５ｎｍの平均サイズを有する、請求項２５に記載の医薬組成物。
【請求項２７】
核酸は、約０．５ｍｇ／ｍＬ～約１．０ｍｇ／ｍＬの濃度のｍＲＮＡである、請求項１７～２６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項２８】
β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止することにおける使用のための、請求項１７～２７のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項２９】
β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する、請求項２８に記載の使用のための医薬品。
【請求項３０】
β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項２８または２９に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項３１】
β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する、請求項２８～３０のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項３２】
筋肉内に投与される、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項３３】
少なくとも１回投与される、請求項３２に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項３４】
少なくとも２回投与される、請求項３３に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項３５】
投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば３週間、または１ヶ月である、請求項３４に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項３６】
以下の構造エレメント：
（ｉ）以下の構造を有する５’キャップ：
【化１】



（ｉｉ）配列番号１４４の核酸配列を有する５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）；
（ｉｉｉ）配列番号１４８の核酸配列を有するタンパク質コード領域；
（ｉｖ）配列番号１４５の核酸配列を有する３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）；および
（ｖ）ポリＡテール

からなるｍＲＮＡ構築物。
【請求項３７】
以下の構造エレメント：
（ｉ）以下の構造を有する５’キャップ：
【化２】



（ｉｉ）配列番号１４４の核酸配列を有する５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）；
（ｉｉｉ）配列番号１７３の核酸配列を有するタンパク質コード領域；
（ｉｖ）配列番号１４５の核酸配列を有する３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）；および
（ｖ）ポリＡテール
からなるｍＲＮＡ構築物。
【請求項３８】
請求項３６に記載のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子。
【請求項３９】
請求項３７に記載のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子。
【請求項４０】
請求項３６に記載のｍＲＮＡ構築物および請求項３７に記載のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子。
【請求項４１】
カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質およびＰＥＧ修飾脂質を含む、請求項３８～４０のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項４２】
カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである、請求項４１に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項４３】
脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む、請求項４２に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項４４】
請求項３６に記載のｍＲＮＡ構築物および／もしくは請求項３７に記載のｍＲＮＡ構築物、または請求項３８～４３のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子を含む免疫原性組成物。
【請求項４５】
５μｇ～２００μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４４に記載の免疫原性組成物。
【請求項４６】
７μｇ～１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４５に記載の免疫原性組成物。
【請求項４７】
少なくとも１０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項４８】

少なくとも１５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項４９】
少なくとも２０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項５０】
少なくとも２５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項５１】
少なくとも３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項５２】
少なくとも４０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項５３】
少なくとも４５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項５４】
７．５μｇ、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項４６に記載の免疫原性組成物。
【請求項５５】
β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止する方法であって、請求項４４～５４のいずれか１項に記載の有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法。
【請求項５６】
β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する、請求項５５に記載の方法。
【請求項５７】
β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項５５または５６に記載の方法。
【請求項５８】
β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する、請求項５５～５７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５９】
免疫原性組成物は、少なくとも２回、対象に投与される、請求項５５～５８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６０】
投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば３週間、または１ヶ月である、請求項５９に記載の方法。
【請求項６１】
少なくとも２つの核酸を含む免疫原性組成物であって、
１．第１の核酸は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み；
２．第２の核酸は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する、免疫原性組成物。
【請求項６２】
第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列を有する、請求項６１に記載の免疫原性組成物。

【請求項６３】
第２の核酸は、配列番号１６７を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６または配列番号１７３の核酸配列を有する、請求項６１または６２に記載の免疫原性組成物。
【請求項６４】
少なくとも２つの核酸は、ｍＲＮＡ構築物である、請求項６１～６３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項６５】
第１の核酸の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４８の核酸配列を有し、第２の核酸の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７３の核酸配列を有する、請求項６４に記載の免疫原性組成物。
【請求項６６】
第１の核酸は、請求項３６に記載のｍＲＮＡ構築物であり、第２の核酸は、請求項３７に記載のｍＲＮＡ構築物である、請求項６５に記載の免疫原性組成物。
【請求項６７】
少なくとも２つの核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている、請求項６１～６６のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項６８】
少なくとも２つの核酸は、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化されている、請求項６７に記載の免疫原性組成物。
【請求項６９】
少なくとも２つの核酸は、別々の脂質ナノ粒子中にカプセル化されている、請求項６７に記載の免疫原性組成物。
【請求項７０】
脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質およびＰＥＧ修飾脂質を含む、請求項６７～６９のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項７１】
カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである、請求項７０に記載の免疫原性組成物。
【請求項７２】
脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む、請求項７１に記載の免疫原性組成物。
【請求項７３】
合計で、７．５μｇ、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇの少なくとも２つの核酸を含む、請求項６１～７２のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項７４】
β－コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防における使用のための、請求項６１～７３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
【請求項７５】
β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する、請求項７４に記載の免疫原性組成物。
【請求項７６】
β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項７４または７５に記載の使用のための免疫原性組成物。
【請求項７７】
β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する、請求項７４～７６のいずれか１項に記載の

使用のための免疫原性組成物。
【請求項７８】
β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止する方法であって、請求項６１～７３のいずれか１項に記載の有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法。
【請求項７９】
β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する、請求項７８に記載の方法。
【請求項８０】
β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項７８または７９に記載の方法。
【請求項８１】
β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する、請求項７８～８０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８２】
対象は、事前に、前記感染の予防のための免疫原性組成物を投与されていない、請求項７８～８１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８３】
対象は、事前に、前記感染の予防のために、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物を投与されている、請求項７８～８１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８４】
対象は、事前に、前記感染の予防のために、少なくとも２週間の間隔を空けて２つの免疫原性組成物を投与されている、請求項８３に記載の方法。
【請求項８５】
１つまたはそれ以上の免疫原性組成物は、請求項６１～７３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物と異なる、請求項８３または８４に記載の方法。
【請求項８６】
１つまたはそれ以上の免疫原性組成物は、
ａ．請求項９～１２のいずれか１項に記載の免疫原性組成物；
ｂ．請求項１７～３５のいずれか１項に記載の医薬組成物；
ｃ．請求項４４～５４のいずれか１項に記載の免疫原性組成物；ならびに
ｄ．Ｍｏｄｅｒｎａ（例えば、ｍＲＮＡ－１２７３またはｍＲＮＡ－１２８３のようなＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＭｏｄｅｒｎａ）、ＣｕｒｅＶａｃ（ＣＶｎＣｏＶ）、Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎ（ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＪａｎｓｓｅｎ）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ（Ｖａｘｚｅｖｒｉａ）、Ｐｆｉｚｅｒ／ＢｉｏＮＴｅｃｈ（Ｃｏｍｉｒｎａｔｙ）、Ｓｐｕｔｎｉｋ（Ｇａｍ－ＣＯＶＩＤ－Ｖａｃ）、Ｓｉｎｏｖａｃ（不活化ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖｅｒｏ細胞））およびＮｏｖａｖａｘ（ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３）
から選択される、請求項８３～８５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８７】
請求項６１～７３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物は、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の３～１８ヶ月後に投与される、請求項８３～８６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８８】
請求項５３～６５のいずれか１項に記載の免疫原性組成物は、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の少なくとも９ヶ月または少なくとも１２ヶ月後に投与される、請求項８７に記載の方法。
【請求項８９】
請求項６１～７３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物は、少なくとも１回、例えば

、少なくとも２回投与される、請求項８３～８８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９０】
β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止する方法であって、ｍＲＮＡ構築物を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含み、前記ｍＲＮＡ構築物は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する、方法。
【請求項９１】
最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６７を含むアミノ酸配列をコードし、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７３の核酸配列を有する、請求項９０に記載の方法。
【請求項９２】
ｍＲＮＡ構築物は、請求項３１に記載のｍＲＮＡ構築物である、請求項９０または９１に記載の方法。
【請求項９３】
ｍＲＮＡ構築物は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている、請求項９０～９２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９４】
脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質およびＰＥＧ修飾脂質を含む、請求項９３に記載の方法。
【請求項９５】
カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである、請求項９４に記載の方法。
【請求項９６】
脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む、請求項９５に記載の方法。
【請求項９７】
免疫原性組成物は、７．５μｇ、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、請求項９０～９６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９８】
β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する、請求項９０～９７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９９】
β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項９０～９８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１００】
β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する、請求項９０～９９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０１】
対象は、事前に、前記感染の予防のための免疫原性組成物を投与されていない、請求項９０～１００のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０２】
対象は、事前に、前記感染の予防のために、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物を投与されている、請求項９０～１０１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１０３】
対象は、事前に、前記感染の予防のために、少なくとも２週間の間隔を空けて２つの免疫原性組成物を投与されている、請求項１０２に記載の方法。
【請求項１０４】
１つまたはそれ以上の免疫原性組成物は、請求項５３～６５のいずれか１項に記載の免疫原性組成物と異なる、請求項１０２または１０３に記載の方法。
【請求項１０５】
第１および／または第２の免疫原性組成物は、
ａ．請求項９～１２のいずれか１項に記載の免疫原性組成物；
ｂ．請求項１７～３５のいずれか１項に記載の医薬組成物；または
ｃ．請求項４４～５４のいずれか１項に記載の免疫原性組成物；ならびに
ｄ．Ｍｏｄｅｒｎａ（例えば、ｍＲＮＡ－１２７３もしくはｍＲＮＡ－１２８３のようなＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＭｏｄｅｒｎａ）、ＣｕｒｅＶａｃ（ＣＶｎＣｏＶ）、Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎ（ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＪａｎｓｓｅｎ）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ（Ｖａｘｚｅｖｒｉａ）、Ｐｆｉｚｅｒ／ＢｉｏＮＴｅｃｈ（Ｃｏｍｉｒｎａｔｙ）、Ｓｐｕｔｎｉｋ（Ｇａｍ－ＣＯＶＩＤ－Ｖａｃ）、Ｓｉｎｏｖａｃ（不活化ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖｅｒｏ細胞））およびＮｏｖａｖａｘ（ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３）
から選択される、請求項１０２～１０４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０６】
請求項６１～７３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物は、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の３～１８ヶ月後に投与される、請求項１０２～１０５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０７】
請求項６１～７３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物は、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の少なくとも９ヶ月または少なくとも１２ヶ月後に投与される、請求項１０６に記載の方法。
【請求項１０８】
請求項６１～７３のいずれか１項に記載の免疫原性組成物は、少なくとも１回、例えば、少なくとも２回投与される、請求項９０～１０７のいずれか１項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２０年５月７日に出願された米国仮特許出願第６３／０２１，３１９号、２０２０年６月１日に出願された米国仮特許出願第６３／０３２，８２５号、２０２０年９月１０日に出願された米国仮特許出願第６３／０７６，７１８号、２０２０年９月１０日に出願された米国仮特許出願第６３／０７６，７２９号、２０２０年１０月７日に出願された米国仮特許出願第６３／０８８，７３９号、２０２１年１月２９日に出願された米国仮特許出願第６３／１４３，６０４号、２０２１年１月２９日に出願された米国仮特許出願第６３／１４３，６１２号、および２０２１年２月８日に出願された米国仮特許出願第６３／１４６，８０７号の利益およびそれらに対する優先権を主張し、それらの内容は、本明細書にその全体が組み入れられる。
【０００２】
配列表
本明細書は、配列表（２０２１年５月７日にＭＲＴ－２１６１ＷＯ＿ＳＬと名付けられた。ｔｘｔファイルとして電子的に提出された）に言及する。この．ｔｘｔファイルは、期日に作成され、７５７ＫＢのサイズである。配列表の内容全体は、参照によって本明細書に組み入れられる。
【０００３】

発明の分野

本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原性ポリペプチドおよびこれらのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原性ポリペプチドをコードする最適化されたヌクレオチド配列に関する。これらの抗原性ポリペプチドおよび最適化されたヌクレオチド配列は、このような処置が必要なヒトまたは動物対象において、ＣＯＶＩＤ－１９感染を含むβ－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止するためのワクチン組成物に使用するのに特に好適である。

【背景技術】

【０００４】

コロナウイルス疾患２０１９（ＣＯＶＩＤ－１９）パンデミックは、世界的な公衆衛生に深刻な脅威をもたらす。ＣＯＶＩＤ－１９の原因因子は、新たに出現したヒト病原体である重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）である。

【０００５】

タンパク質抗原の選択と設計はどちらも、ワクチンがタンパク質ベースかまたは核酸ベースかに関わらず、ワクチンの免疫原性に寄与する。さらに、ｍＲＮＡベースのワクチンなどの核酸ベースの免疫原性組成物に関して、１つまたはそれ以上のタンパク質抗原をコードする核酸から達成される発現レベルは、効能に有意に影響を与えることができる。

【０００６】

一旦病原体のゲノム配列が決定されれば、組換えＤＮＡ技術ならびに核酸のシーケンシングおよび合成における進歩によってタンパク質抗原を迅速に設計することが可能になった。ワクチンの成功または失敗は、インビボにおいて中和抗体の形態で極めて有効な応答を生じる抗原性ポリペプチドの選択によって決まる可能性がある。それゆえに、ＣＯＶＩＤ－１９に対する予防を提供する免疫原性組成物における使用のためのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質由来の新しい抗原性ポリペプチドを提供する必要性がある。

【０００７】

細胞内におけるｍＲＮＡからのタンパク質の有効な発現または生産は、様々な要因に依存する。タンパク質をコードするヌクレオチド配列内のコドンの組成および順番の最適化（「コドン最適化」）は、ｍＲＮＡによってコードされたタンパク質のより多くの発現をもたらすことができる。コドン最適化の様々な方法を実行することは当業界において公知であるが、それぞれコンピューターおよび／または治療的な視点から著しい欠点および限界を有する。特に、公知のコドン最適化の方法は各アミノ酸につき、「最適化された」配列が各アミノ酸をコードする唯一のコドンを含有するように、そのアミノ酸について最大の使用頻度を有するコドンでコドン毎に置き換えることを含むことが多い。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

したがって、効果のあるｍＲＮＡワクチン生産のために選択または設計されたタンパク質抗原をコードするｍＲＮＡの発現増加のための、最適化されたヌクレオチド配列を生成する改善されたコドン最適化方法の必要がある。

【０００９】

さらに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の世界的な広がりに伴い、ウイルスの新しいバリアントが出現しつつある。それゆえに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の多数の天然に存在するバリアントに対して有効な広域中和抗体応答を惹起することが可能な医薬組成物（例えば、免疫原性組成物）を提供する必要がある。

【課題を解決するための手段】

【００１０】

本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する有効な免疫応答をもたらすタンパク質抗原を選択および／または設計することへの必要性に取り組む。本発明はまた、最適化されたヌクレオチド配列を有する核酸（例えば、ｍＲＮＡ）を含むワクチンの提供を介したＣＯＶＩＤ－１９感染の有効な処置または防止のための、そのタンパク質抗原をコードする最適

化されたヌクレオチド配列を生成することへの必要性にも取り組む。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対して選択および／または設計された様々なタンパク質抗原、加えて、このようなタンパク質抗原のそれぞれに対する少なくとも１つの最適化されたヌクレオチド配列が本明細書で提供される。

【００１１】

加えて、少なくとも１つの最適化されたヌクレオチド配列を生産するためのタンパク質抗原のアミノ酸配列を分析するために方法が提供される。それぞれ選択および／または設計されたタンパク質抗原のための最適化されたヌクレオチド配列は、天然に存在するヌクレオチド配列に関連するタンパク質の発現と比較して、そのコードされたタンパク質抗原の発現を増加させるように設計される。コドン最適化は、遺伝子コードにおける冗長性によって、コードされたタンパク質抗原の翻訳されたアミノ酸の配列を変更することなく、様々な基準に基づいてタンパク質をコードするヌクレオチド配列を生産する。さらに、本明細書で開示された最適化されたヌクレオチド配列は、インビトロでの合成中に高品質の全長転写物を生産するように設計され、それゆえに、先行技術のコドン最適化アルゴリズムを用いて生成された最適化されたヌクレオチド配列より高い費用効果で製造することができる。特に、インビトロでの合成中に不完全な転写物をもたらす可能性がある終結配列などは、本明細書に記載される配列最適化プロセスによって効果的に除去される。

【００１２】

実施例で実証されたように、全長の融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする、ＬＮＰにカプセル化された最適化された本発明のヌクレオチド配列を含む免疫原性組成物が、有効な中和抗体応答を生じさせることができ、それゆえに、ＣＯＶＩＤ－１９感染に対する保護的な効能を提供することができる。

【００１３】

本発明はまた、特に中和抗体の形態で、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の天然に存在するバリアントに対して広範に有効な免疫応答を惹起することが可能な免疫原性組成物への必要性にも取り組む。実施例で示されるように、発明者らは驚くべきことに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の南アフリカバリアントをコードする、ＬＮＰにカプセル化された最適化されたヌクレオチド配列を含む免疫原性組成物の、ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンで事前に免疫化された対象への投与が、武漢、南アフリカ、日本／ブラジルおよびカリフォルニア州で単離されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の天然に存在するバリアント、加えて系統発生学的により遠位のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１株を含む広範囲のβ－コロナウイルスに対して有効な中和抗体応答を誘導できることを発見した。

【００１４】

特に、本発明は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、最適化されたヌクレオチド配列は、１０％より大きいかまたはそれに等しい使用頻度に関連するコドンからなり；最適化されたヌクレオチド配列は：以下のヌクレオチド配列：５’－X_1ＡＴＣＴX_2ＴX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＴまたはＧから選択される）；および５’－X_1ＡＵＣＵX_2ＵX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＵまたはＧから選択される）のうちの１つを有する終結シグナルを含有せず；いかなる負のシス調節エレメントおよび負の反復エレメントも含有せず；０．８より大きいコドン適応指標を有し；オーバーラップしていない３０ヌクレオチドの長さの部分に分割される場合、最適化されたヌクレオチド配列の各部分は、３０％～７０％のグアニンシトシン含量範囲を有する、核酸を提供する。特定の実施形態において、核酸は、ｍＲＮＡである。一部の実施形態において、核酸は、ＤＮＡである。ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、以下の配列：ＴＡＴＣＴＧＴＴ；ＴＴＴＴＴＴＴ；ＡＡＧＣＴＴ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＴＣＴＡＧＡ；ＵＡＵＣＵＧＵＵ；ＵＵＵＵＵＵＵ；ＡＡＧＣＵＵ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＵＣＵＡＧＡのうちの１つを有する終結シグナルを含有しない。

【００１５】
一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１のアミノ酸配列をコードする。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１１のアミノ酸配列をコードする。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列を有する。
【００１６】
一部の実施形態において、最適化された配列によってコードされた全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質は、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する。これらの実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードしていてもよい。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチドは、配列番号１６６または配列番号１７３の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードする。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６または配列番号１７３の核酸配列を有する。
【００１７】
ある特定の実施形態において、本発明の核酸は、療法における使用のためのものである。例えば、本発明はまた、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防における使用のための、本発明の核酸を含む免疫原性組成物も提供する。加えて、本発明はまた、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防のための、医薬の製造における本発明の核酸の使用も提供する。ある特定の実施形態において、β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する。具体的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。他の実施形態において、β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する。
【００１８】
本発明はさらに、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止する方法であって、本発明の核酸を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態において、β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する。具体的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。他の実施形態において、β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する。
【００１９】
さらに、本発明は、ｉ）本発明の核酸およびｉｉ）脂質ナノ粒子を含む医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態において、核酸は、約０．５ｍｇ／ｍＬ～約１．０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し得るｍＲＮＡである。ある特定の実施形態において、本発明の核酸（例えば、本発明によるｍＲＮＡ）は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む。特定の実施形態において、カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである。ある特定の実施形態において、カチオン脂質は、モル比で、脂質ナノ粒子の約３０～６０％を構成し、例えば、約３５～４０％を構成する。ある特定の実施形態において、カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、モル比で、およそ３０～６０：２５～３５：２０～３０：１～１５である。
【００２０】

ある特定の実施形態において、本発明の核酸（例えば、本発明によるｍＲＮＡ）をカプセル化している脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＯＦ－Ｄｅｇ－Ｌｉｎ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；またはＯＦ－０２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを含む。具体的な実施形態において、脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む。ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１５０ｎｍ未満、例えば、１３０ｎｍ未満、１１０ｎｍ未満、１００ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約９０～１１０ｎｍの平均サイズを有するか、または約５０～７０ｎｍ、例えば、約５５～６５ｎｍの平均サイズを有する。

【００２１】

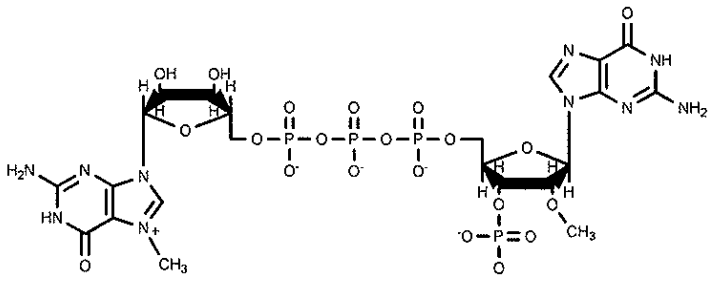
ある特定の実施形態において、本発明の医薬組成物は、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止することにおける使用のためのものである。ある特定の実施形態において、β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する。具体的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。他の実施形態において、β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する。

【００２２】

ある特定の実施形態において、本発明の医薬組成物は、筋肉内に投与される。ある特定の実施形態において、本発明の医薬組成物は、少なくとも１回投与される。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくとも２回投与される。特定の実施形態において、投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば３週間、または１ヶ月である。一部の実施形態において、投与間の期間は、約３週間である。

【００２３】

１つの特定の実施形態において、本発明は、以下の構造エレメント：
以下の構造を有する５’キャップ：
【化１】

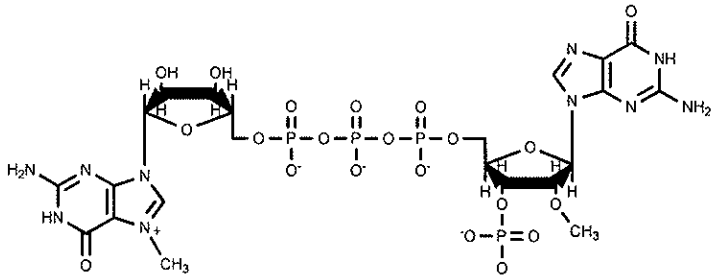


配列番号１４４の核酸配列を有する５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）；
配列番号１４８の核酸配列を有するタンパク質コード領域；
配列番号１４５の核酸配列を有する３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）；および
ポリＡテール
からなるｍＲＮＡ構築物（ｍＲＮＡ構築物１）を提供する。

【００２４】

別の特定の実施形態において、本発明は、以下の構造エレメント：
以下の構造を有する５’キャップ：

【化２】



配列番号１４４の核酸配列を有する５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）；
配列番号１７３の核酸配列を有するタンパク質コード領域；
配列番号１４５の核酸配列を有する３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）；および
ポリＡテール
からなるｍＲＮＡ構築物（ｍＲＮＡ構築物２）を提供する。

【００２５】

具体的な実施形態において、本発明は、本発明のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子を提供する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１つより多くの本発明のｍＲＮＡ構築物をカプセル化しており、例えば脂質ナノ粒子は、ｍＲＮＡ構築物１とｍＲＮＡ構築物２の両方をカプセル化していてもよい。ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質およびＰＥＧ修飾脂質を含む。ある特定の実施形態において、カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである。具体的な実施形態において、脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む。

【００２６】

本発明はまた、本発明のｍＲＮＡ構築物、または本発明のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子を含む免疫原性組成物も提供する。一部の実施形態において、免疫原性組成物は、１つより多くの本発明のｍＲＮＡ構築物、例えば、ｍＲＮＡ構築物１およびｍＲＮＡ構築物２を含む。一部の実施形態において、免疫原性組成物は、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化された１つより多くのｍＲＮＡ構築物（例えば、ｍＲＮＡ構築物１およびｍＲＮＡ構築物２）を含む。他の実施形態において、１つより多くのｍＲＮＡ構築物（例えば、ｍＲＮＡ構築物１およびｍＲＮＡ構築物２）は、別々の脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、５μｇ～２００μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。

【００２７】

ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、７μｇ～１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも１０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも１５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも２０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも２５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも４０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも４５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、７．５μｇ、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。典型的には、ｍＲＮＡのある特定のμｇの量への言及は、免疫原

性組成物中のｍＲＮＡの総用量を指す。

【００２８】

特定の実施形態において、本発明のｍＲＮＡ構築物、または本発明のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子を含む免疫原性組成物は、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止することにおける使用のためのものである。ある特定の実施形態において、β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する。具体的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。他の実施形態において、β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する。

【００２９】

本発明はまた、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止する方法であって、本発明のｍＲＮＡ構築物、または本発明のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法も提供する。ある特定の実施形態において、β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する。具体的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。他の実施形態において、β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する。特定の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも２回、対象に投与される。ある特定の実施形態において、投与間の期間は、少なくとも２週間である。一部の実施形態において、投与間の期間は、約３週間である。

【００３０】

特定の実施形態において、本発明は、少なくとも２つの核酸を含む免疫原性組成物であって、第１の核酸は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み；第２の核酸は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する、免疫原性組成物を提供する。

【００３１】

一部の実施形態において、第１の核酸は、配列番号１１のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、第１の核酸は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１１のアミノ酸配列をコードする、最適化されたヌクレオチド配列を含む。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列を有する。

【００３２】

一部の実施形態において、第２の核酸は、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、第２の核酸は、配列番号１６８または配列番号１７３の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６または配列番号１６９の核酸配列を有する。

【００３３】

ある特定の実施形態において、少なくとも２つの核酸は、ｍＲＮＡ構築物である。具体的な実施形態において、第１の核酸の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４８

の核酸配列を有し、第２の核酸の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７３の核酸配列を有する。特定の実施形態において、第１の核酸は、ｍＲＮＡ構築物１であり、第２の核酸は、ｍＲＮＡ構築物２である。ある特定の実施形態において、少なくとも２つの核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。ある特定の実施形態において、少なくとも２つの核酸は、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。ある特定の実施形態において、少なくとも２つの核酸は、別々の脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。

【００３４】

一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質およびＰＥＧ修飾脂質を含む。ある特定の実施形態において、カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである。具体的な実施形態において、脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む。さらなる具体的な実施形態において、免疫原性組成物は、合計で、７．５μｇ、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇの少なくとも２つの核酸を含む。

【００３５】

段落［００３０］～［００３４］に記載される免疫原性組成物は、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防において使用することができる。ある特定の実施形態において、β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する。具体的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。他の実施形態において、β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％（例えば、少なくとも８０％、９０％、９５％または９９％）同一のスパイクタンパク質を有する。

【００３６】

ある特定の実施形態において、対象は、事前に、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染の予防のための免疫原性組成物を投与されておらず、すなわち、段落［００３０］～［００３４］に記載される免疫原性組成物は、その目的のために対象に投与される第１の免疫原性組成物である。より一般的には、対象は、事前に、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染の予防のための１つまたはそれ以上の免疫原性組成物を投与されている。明確にするために、「対象は、事前に、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物を投与されている」は、対象が、事前に、同じ免疫原性組成物の１つまたはそれ以上の用量、または異なる免疫原性組成物の１つまたはそれ以上の用量を投与されていることを意味する。例えば、対象は、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染の予防のために、事前に、少なくとも２週間の間隔を空けて２つの免疫原性組成物を投与されていてもよい。一部の実施形態において、これらの１つまたはそれ以上の免疫原性組成物は、段落［００３０］～［００３４］に記載される免疫原性組成物と異なる。具体的な実施形態において、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物は、本明細書で開示される医薬組成物（例えば、免疫原性組成物または本明細書で開示されるワクチン）、およびＭｏｄｅｒｎａによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（例えば、ｍＲＮＡ－１２７３またはｍＲＮＡ－１２８３のようなＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＭｏｄｅｒｎａ）、ＣｕｒｅＶａｃによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＣＶｎＣｏＶ）、Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＪａｎｓｓｅｎ）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖａｘｚｅｖｒｉａ）、Ｐｆｉｚｅｒ／ＢｉｏＮＴｅｃｈによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｃｏｍｉｒｎａｔｙ）、Ｓｐｕｔｎｉｋによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｇａｍ－ＣＯＶＩＤ－Ｖａｃ）、Ｓｉｎｏｖａｃによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（不活化ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖｅｒｏ細胞））またはＮｏｖａｖａｘによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＮＶＸ

－ＣｏＶ２３７３）から選択される。ある特定の実施形態において、段落［００３０］～［００３４］に記載される免疫原性組成物は、事前に、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染の予防のために対象に投与された１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の３～１８ヶ月後に投与される。ある特定の実施形態において、段落［００３０］～［００３４］に記載される免疫原性組成物は、事前に、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染の予防のために対象に投与された１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の少なくとも９ヶ月または少なくとも１２ヶ月後に投与される。ある特定の実施形態において、段落［００３０］～［００３４］に記載される免疫原性組成物は、少なくとも１回、例えば、少なくとも２回投与される。

【００３７】

別の特定の実施形態において、本発明は、β－コロナウイルスによって引き起こされる感染を処置または防止する方法であって、ｍＲＮＡ構築物を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含み、前記ｍＲＮＡ構築物は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する、方法を提供する。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードする。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６または配列番号１７３の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７３の核酸配列を有する。ある特定の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物は、ｍＲＮＡ構築物２である。ある特定の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質およびＰＥＧ修飾脂質を含む。ある特定の実施形態において、カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである。具体的な実施形態において、脂質ナノ粒子は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを、４０：３０：２８．５：１．５のモル比で含む。ある特定の実施形態において、免疫原性組成物は、７．５μｇ、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。ある特定の実施形態において、β－コロナウイルスは、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現する。具体的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。他の実施形態において、β－コロナウイルスは、配列番号１と少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％または９９％同一のスパイクタンパク質を有する。

【００３８】

段落［００３７］に記載される方法において、対象は、事前に、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染の予防のために、免疫原性組成物を投与されていない。より一般的には、対象は、事前に、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染の予防のために、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物を投与されており、例えば、少なくとも２週間の間隔を空けて２つの免疫原性組成物を投与されている。ある特定の実施形態において、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物は、本発明の免疫原性組成物と異なる。ある特定の実施形態において、事前に対象に投与された１つまたはそれ以上の免疫原性組成物は、本明細書で開示される医薬組成物（例えば、免疫原性組成物または本明細書で開示されるワクチン）、およびＭｏｄｅｒｎａによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（例えば、ｍＲＮＡ－１

２７３またはｍＲＮＡ－１２８３のようなＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＭｏｄｅｒｎａ）、ＣｕｒｅＶａｃによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＣＶｎＣｏＶ）、Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＪａｎｓｓｅｎ）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖａｘｚｅｖｒｉａ）、Ｐｆｉｚｅｒ／ＢｉｏＮＴｅｃｈによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｃｏｍｉｒｎａｔｙ）、Ｓｐｕｔｎｉｋによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｇａｍ－ＣＯＶＩＤ－Ｖａｃ）、Ｓｉｎｏｖａｃによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（不活化ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖｅｒｏ細胞））またはＮｏｖａｖａｘによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３）から選択される。ある特定の実施形態において、段落［００３７］に記載される方法は、事前に対象に投与された１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の約３～１８ヶ月後に、その段落に記載される免疫原性組成物を投与することを含む。ある特定の実施形態において、段落［００３７］に記載される方法は、１つまたはそれ以上の免疫原性組成物の投与の少なくとも９ヶ月または少なくとも１２ヶ月後に、その段落に記載される免疫原性組成物を投与することを含む。ある特定の実施形態において、段落［００３７］に記載される方法は、少なくとも１回、例えば、少なくとも２回、その段落に記載される免疫原性組成物を投与することを含む。

【図面の簡単な説明】

【００３９】

【図１Ａ】本発明に従って、最適化されたヌクレオチド配列を生成するプロセスを示す図である。図１Ａに示されるように、プロセスは、関心対象のアミノ酸配列と、所定の生物体（例えば、哺乳動物またはヒト）における各コドンの頻度を反映する第１のコドンの使用頻度表を受け取る。次いで、プロセスは、コドンが閾値頻度より低いコドン使用頻度（例えば、１０％）に関連する場合、第１のコドン使用頻度表から当該コドンを除去する。第１の工程において除去されなかったコドンのコドン使用頻度は、正規化されたコドン使用頻度表を生成するために正規化される。最適化されたヌクレオチド配列のリストを生成するために、当該正規化されたコドン使用頻度表を使用する。最適化されたヌクレオチド配列のそれぞれは、関心対象のアミノ酸配列をコードする。

【図１Ｂ】本発明に従って、最適化されたヌクレオチド配列を生成するプロセスを示す図である。図１Ｂに示されるように、最適化されたヌクレオチド配列の当該リストは、最適化されたヌクレオチド配列の更新されたリストを生成するために、モチーフスクリーンフィルタ、グアニン－シトシン（ＧＣ）含量分析フィルタ、およびコドン適応指標（ＣＡＩ）解析フィルタを、その順番においてを適用することによってさらに処理される。

【図２】ＥＰＯに対するＥＬＩＳＡアッセイによって特定される場合の、様々なコドン最適化ヌクレオチド配列から生産されたタンパク質の収率を表す例示的棒グラフを示す図である。

【図３】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質の構造を示す図である。ＳＳ＝シグナル配列；ＮＴＤ＝Ｎ末端ドメイン；ＲＢＤ＝受容体結合ドメイン；ＦＰ＝融合ペプチド；ＨＲ１＝ヘプタッドリピート－Ｎ；ＣＨ、中央ヘリックス；ＣＴＤ、コネクタードメイン；ＨＲ２、ヘプタッドリピート２；ＴＭ、膜貫通ドメイン；ＣＴ、細胞質テールである。Ｓ２’、Ｓ２’プロテアーゼ切断部位が、矢印で示されている。ＰＰおよびＧＳＡＳ変異は、スパイクタンパク質の融合前の高次構造を生じる。この画像は、Ｗｒａｐｐら（２０２０）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３６７，６４８３，１２６０～１２６３の図１に基づいている。

【図４－１】本明細書において開示される医薬組成物の一部を形成し得るかまたは例えば、本明細書において開示される核酸ベースのワクチンにおける使用のために、本明細書において開示される最適化されたヌクレオチド配列によってコードすることができる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質およびそのバリアントを示す図である。ドメインおよびサブユニット、フューリン切断部位を除去し、残基９８５、９８６、および９８７をプロリンで置き換えるための変異（Ｐ、ＰＰ、ＰＰＰ、およびＧＳＡＳ変異）、ならび

に関連する配列番号が示されている。同じ略語が、図３において使用されている。
【図４－２】図４－１の続き。
【図５】全長の天然ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（構築物Ａ）およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質の３つの安定な融合前の高次構造（構築物Ｂ～Ｄ）をコードする最適化された核酸配列を発現する核酸ベクター構築物のタンパク質生産を実証する図である。構築物Ｂは、フューリン切断部位を欠くように（結果として、切断されてもＳ１およびＳ２サブユニットを形成しない）、ならびに残基９８６および９８７としてプロリンを含むように（結果として、その融合前の高次構造における当該タンパク質を安定化する）、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。構築物Ｃは、残基９８６および９８７としてプロリンを含むように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし、ならびに構築物Ｄは、フューリン切断部位を欠くように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。図５～６は、構築物ＡおよびＢが、グリコシル化された成熟タンパク質（約２２５ｋＤａバンド）および前処理された全長Ｓタンパク質（約１７０～１８０ｋＤａバンド）を生産することができることを示している。図５は、構築物ＡによるＳ１およびＳ２サブユニットバンドの存在も示しており、それは、天然の全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質が細胞によって正しく処理されることを実証している。図７は、４つ全ての構築物が、全長Ｓタンパク質を生産することができたということを実証している。Ｓ１およびＳ２サブユニットのバンドは、構築物Ａおよび構築物Ｃによって検出された。完全にグリコシル化された成熟Ｓタンパク質の強いバンドは、構築物Ｂおよび構築物Ｄによって検出された。
【図６】全長の天然ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（構築物Ａ）およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質の３つの安定な融合前の高次構造（構築物Ｂ～Ｄ）をコードする最適化された核酸配列を発現する核酸ベクター構築物のタンパク質生産を実証する図である。構築物Ｂは、フューリン切断部位を欠くように（結果として、切断されてもＳ１およびＳ２サブユニットを形成しない）、ならびに残基９８６および９８７としてプロリンを含むように（結果として、その融合前の高次構造における当該タンパク質を安定化する）、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。構築物Ｃは、残基９８６および９８７としてプロリンを含むように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし、ならびに構築物Ｄは、フューリン切断部位を欠くように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。図５～６は、構築物ＡおよびＢが、グリコシル化された成熟タンパク質（約２２５ｋＤａバンド）および前処理された全長Ｓタンパク質（約１７０～１８０ｋＤａバンド）を生産することができることを示している。図５は、構築物ＡによるＳ１およびＳ２サブユニットバンドの存在も示しており、それは、天然の全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質が細胞によって正しく処理されることを実証している。図７は、４つ全ての構築物が、全長Ｓタンパク質を生産することができたということを実証している。Ｓ１およびＳ２サブユニットのバンドは、構築物Ａおよび構築物Ｃによって検出された。完全にグリコシル化された成熟Ｓタンパク質の強いバンドは、構築物Ｂおよび構築物Ｄによって検出された。
【図７】全長の天然ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（構築物Ａ）およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質の３つの安定な融合前の高次構造（構築物Ｂ～Ｄ）をコードする最適化された核酸配列を発現する核酸ベクター構築物のタンパク質生産を実証する図である。構築物Ｂは、フューリン切断部位を欠くように（結果として、切断されてもＳ１およびＳ２サブユニットを形成しない）、ならびに残基９８６および９８７としてプロリンを含むように（結果として、その融合前の高次構造における当該タンパク質を安定化する）、

天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。構築物Ｃは、残基９８６および９８７としてプロリンを含むように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし、ならびに構築物Ｄは、フューリン切断部位を欠くように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に関連して改変されたバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。図５～６は、構築物ＡおよびＢが、グリコシル化された成熟タンパク質（約２２５ｋＤａバンド）および前処理された全長Ｓタンパク質（約１７０～１８０ｋＤａバンド）を生産することができることを示している。図５は、構築物ＡによるＳ１およびＳ２サブユニットバンドの存在も示しており、それは、天然の全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質が細胞によって正しく処理されることを実証している。図７は、４つ全ての構築物が、全長Ｓタンパク質を生産することができたということを実証している。Ｓ１およびＳ２サブユニットのバンドは、構築物Ａおよび構築物Ｃによって検出された。完全にグリコシル化された成熟Ｓタンパク質の強いバンドは、構築物Ｂおよび構築物Ｄによって検出された。

【図８】本明細書において開示される医薬組成物の一部を形成し得るかまたは、例えば、本明細書において開示される核酸ベースのワクチンにおける使用のために、本明細書において開示される最適化されたヌクレオチド配列によってコードすることができる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質およびそのバリアントを示す図である。ドメイン、サブユニット、フューリン切断部位を除去して残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンで変異させるための変異（Ｐ、ＰＰ、ＰＰＰ、ＰＰＰＰＰ、およびＧＳＡＳ）、Ｄ６１４Ｇ変異、ＥＲ回収シグナルおよび伸長されたＮ末端シグナルペプチドおよび関連する配列番号の除去が示されている。同じ略語が、図３において使用されている。

【図９－１】全長の切断不可能な融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）カプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物が、ロバストな結合およびマウスにおける中和抗体応答を生じたことを示す図である。図９Ａは、０．２μｇ、１μｇ、５μｇ、または１０μｇのＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの２回の投薬による免疫化後にマウスにおいて誘発されたＥＬＩＳＡ力価を示している。当該ｍＲＮＡ－ＬＮＰ組成物の希釈物が投与されたマウス群は、ネガティブコントロールとして機能した。図９Ｂは、疑似ウイルスベースのアッセイによって特定した場合の、０．２μｇ、１μｇ、５μｇ、または１０μｇのいずれかのＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの２回の投薬による免疫化後にマウスにおいて生産された中和抗体の力価を示している。軽度、重度、および深刻な症状のＣＯＶＩＤ－１９患者からの３９の個々の変換血清試料（変換血清）が、ポジティブコントロールとして機能した。図９Ｃに示されるように、免疫原性組成物が、０日目および２１日目に投与された。－７日目（ベースライン）、１４日目、２１日目、２８日目、および３５日目に血液が採取された。

【図９－２】図９－１の続き。

【図９－３】図９－２の続き。

【図１０－１】切断不可能な全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物が、マウスにおいてＴｈ１バイアスＴ細胞応答を生じたことを示す図である。図１０Ａは、３５日目に単離された脾細胞が、高レベルのＴｈ１サイトカインインターフェロン－γ（ＩＦＮ－γ）を分泌したことを示している。図１０Ｂは、これらの脾細胞が検出可能な量のＴｈ２サイトカインＩＬ－５を分泌しなかったことを示している。図１０Ｃに示されるように、マウスを、０日目および２１日目に５μｇまたは１０μｇいずれかのＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの２回の投薬によって免疫化し、－４日目、１４日目、２１日目、２８日目、および３５日目に血液を採取し、ならびにＥＬＩＳＰＯＴアッセイによるＩＦＮ－γおよびＩＬ－５レベルの特定のために、脾臓を３５日目に回収した。

【図１０－２】図１０－１の続き。

【図１１－１】切断不可能な全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物が、ロバストな結合およびカニクイザルにおける中和抗体応答を生じたことを示す図である。図１１Ａは、１５μｇ、４５μｇ、または１３５μｇのＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの２回の投薬による免疫化後にカニクイザルにおいて引き起こされたＥＬＩＳＡ力価を示している。図１１Ｂは、疑似ウイルスベースのアッセイによって特定した場合の、１５μｇ、４５μｇ、または１３５μｇのＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡによる２回の投薬による免疫化後にカニクイザルにおいて生産された中和抗体の力価を示している。図１１Ｃは、１５μｇ、４５μｇ、または１３５μｇのいずれかのＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの２回の投薬による免疫化後にカニクイザルにおいて生じたマイクロ中和の力価を示している。軽度、重度、および深刻な症状のＣＯＶＩＤ－１９患者からの３９の個々の変換血清試料（変換血清）が、図１１Ｂおよび１１Ｃによって示されるアッセイにおけるポジティブコントロールとして機能した。図１１Ｄに示されるように、免疫原性組成物が、０日目および２１日目に投与された。－４日目（ベースライン）、２日目、７日目、１４日目、２１日目、２３日目、２８日目、および３５日目、および４２日目に血液が採取された。試験組成物によって引き起こされた細胞媒介免疫（ＣＭＩ）を特定するために、末梢血単核細胞（ＰＭＣ）を４２日目に単離した。

【図１１－２】図１１－１の続き。

【図１１－３】図１１－２の続き。

【図１１－４】図１１－３の続き。

【図１２－１】切断不可能な全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物が、カニクイザルにおいてＴｈ１バイアスＴ細胞応答を生じたことを示す図である。カニクイザルを、０日目および２１日目に５μｇまたは１０μｇいずれかのＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの２回の投薬によって免疫化した。図１２Ａおよび１２Ｃは、それぞれペプチドプールＳ１およびＳ２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質誘導ペプチド）による刺激の後、４２日目に単離されたＰＭＢＣが、高レベルのＴｈ１サイトカインインターフェロン－γ（ＩＦＮ－γ）を分泌したことを示している。図１２Ｂおよび１２Ｄは、これらのＰＭＢＣが、ペプチド刺激に応答してベースラインレベルのＴｈ２サイトカインＩＬ－１３のみを分泌したことを示している。ナイーブ（非活性および非刺激性）脾細胞は、ＩＦＮ－γおよびＩＬ－１３のベースラインレベル（破線）を確立するためのコントロールとして機能した。

【図１２－２】図１２－１の続き。

【図１２－３】図１２－２の続き。

【図１３－１】図９および１１にまとめられたデータの統計的分析を説明する図である。試験される免疫原性組成物の１μｇ、５μｇ、および１０μｇの用量レベルでのマウスにおける疑似ウイルス（ＰｓＶ）力価は、コントロールヒト回復期血清ＰｓＶ力価とはかなり異なっていた（図１３Ａ）。ＥＬＩＳＡ（ＩｇＧ）、疑似ウイルスの（ＰｓＶ）、およびマイクロ中和（ＭＮ）力価の間のスピアマン相関係数（Ｓｐｅａｒｍａｎ　Ｃｏｒｒｅｌａｔｉｏｎ　Ｃｏｅｆｆｉｃｉｅｎｔ）（ＳＣＣ）を、図１１にまとめられたカニクイザル実験に対して算出した。個別の動物ごとにＳＣＣを実施し、用量ごと（Ｎ＝４）または全ての試験動物（Ｎ＝１２）に対して平均（±標準誤差）を算出した。この分析の結果は、図１３Ｂに示される。図１３Ｃおよび１３Ｄは、カニクイザルにおけるマイクロ中和（ＭＮ）および疑似ウイルス（ＰｓＶ）力価が、コントロールとして機能したヒト回復期血清のＭＮおよびＰｓＶ力価より著しく高かったことを示している。

【図１３－２】図１３－１の続き。

【図１３－３】図１３－２の続き。

【図１３－４】図１３－３の続き。

【図１４】全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたｍＲＮＡを含むＬＮＰ製剤による免疫化によってマウスおよびＮＨＰにおいて誘導さ

れた中和抗体力価を示す図である。マウスに、５つの製剤（ＷＴ、２Ｐ、ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＡＬＡＹＴ）のそれぞれの用量当たり０．４μｇによる３週間の間隔を空けた２回の免疫化を投与した。非ヒト霊長類（ＮＨＰ）には、６つの製剤（２Ｐ、ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＡＬＡＹＴ、６Ｐおよび６Ｐ／ＧＳＡＳ）の用量当たり５μｇでの同じ免疫化スケジュールを使用して免疫化した。免疫化前の動物（－４日目）ならびに投与後１４日目、２１日目、２８日目、３５日目、および４２日目に血清試料を採取した。それぞれの点は、個々の血清試料を表しており、直線は、その群の幾何平均を表している。各パネルの下の点線は、アッセイ読み取りの下限を表している。

【図１５－１】シリアゴールデンハムスターでの実施例５のＬＮＰ製剤の防御能力を表す図である。（ａ）単回または２回用量レジームのどちらかによって投与したハムスターの体重減少；（ｂ）１回用量０．１５μｇ（－●－）、１．５μｇ（－■－）、４．５μｇ（－▲－），１３．５μｇ（－▼－）、偽（－◆－）のいずれかを受けたハムスター、またはチャレンジ感染なし（－○－）の動物の肺のＨ＆Ｅ染色；（ｃ）１回または２回用量レジメンのどちらかで免疫化したハムスターのチャレンジ感染後４日目および７日目の病原性スコア；（ｄ）感染後４日目および７日目（ＤＰＩ）でのコントロール（偽およびナイーブ）と比較したときの、実施例５のＬＮＰ製剤の２回用量によって免疫化したハムスターの肺および鼻組織でのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２サブゲノムｍＲＮＡ（ｓｇｍＲＮＡ）の定量化。

【図１５－２】図１５－１の続き。

【図１５－３】図１５－２の続き。

【図１５－４】図１５－３の続き。

【図１６】実施例１４において説明される中和アッセイにおいて使用した疑似ウイルス（ＰｓＶ）の調製のためのＳタンパク質が由来する株を提供する図である。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株に対して、武漢インデックス株に由来するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比較した変異が、Ｄ６１４Ｇ変異の存在と同様に示されている。該当する場合は、Ｓタンパク質アミノ酸配列のＧｅｎＢａｎｋ番号が提供される。当該ＰｓＶは、Ｉｎｔｅｇｒａｌ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒから入手し、各ＰｓＶに対するカタログ番号およびロット番号の両方も示される。

【図１７】実施例５のＬＮＰ製剤の２回用量によって前に免疫化された非ヒト霊長類（ＮＨＰ）が、オリジナルの武漢株に由来するＳタンパク質ならびに南アフリカ、日本／ブラジル、およびカルフォルニアにおいて得られるＳタンパク質の天然に存在するバリアント、ならびにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の南アフリカバリアントをコードするブースターｍＲＮＡワクチンによる免疫化後のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１株に由来するＳタンパク質に対する効果的な中和抗体応答を開始することを示す図である。実施例５において説明される全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたｍＲＮＡを含んだＬＮＰ製剤による０日目および３５日目における２回免疫化を、ＮＨＰに投与した。天然に存在する南アフリカ株において観察される変異を有する対応するＳタンパク質をコードするｍＲＮＡを含むブースターＬＮＰ製剤を、３０５日目に注射した。３５日目、３０８日目、３２９日目、および３４３日目に、血清試料を採取した。各点は、個々の血清試料を表しており、直線は、その群に対する幾何平均を表している。点線は、検出の下限を表している。

【発明を実施するための形態】

【００４０】

定義

本発明がより容易に理解されるために、最初に、ある特定の用語が下記において定義される。以下の用語および他の用語に対する追加の定義は、本明細書全体を通して説明される。

【００４１】

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ

」および「ｔｈｅ」は文脈上明らかにそうでないことが示されない限り、複数の指示対象を含む。

【００４２】

明記されないかまたは文脈から明白でない限り、本明細書で使用される場合、用語「または（ｏｒ）」は、包括的であると理解され、「または（ｏｒ）」および「および（ａｎｄ）」の両方を網羅する。

【００４３】

用語「例えば（ｅ．ｇ．）」および「すなわち（ｉ．ｅ．）」は、本明細書で使用される場合、非限定的に、単なる一例として使用され、ならびに本明細書において明確に列挙されたそれら品目のみを言及していると理解されるべきではない。

【００４４】

明記されないかまたは文脈から明白でない限り、本明細書で使用される場合、用語「約（ａｂｏｕｔ）」は、当技術分野における標準的許容性の範囲内、例えば、平均の２標準偏差以内、であると理解される。「約（ａｂｏｕｔ）」は、言明された値の１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％、０．５％、０．１％、０．０５％、０．０１％、または０．００１％以内であると理解することができる。そうでないことが文脈から明白でない限り、本明細書において提供される全ての数値は、当業者によって理解される通常の変動を反映する。

【００４５】

本明細書で使用される場合、用語「アボーティブ転写産物」または「プレアボーテッド転写産物」または同様のものは、配列非依存的な方式での鋳型ＤＮＡからのＲＮＡポリメラーゼの時期尚早な放出に由来するＤＮＡ鋳型によってコードされる全長ｍＲＮＡ分子より短い任意の転写産物である。一部の実施形態において、アボーティブ転写産物は、標的ＤＮＡ分子から転写される全長ｍＲＮＡ分子の長さの９０％未満、例えば、当該全長ｍＲＮＡ分子の長さの８０％、７０％、６０％、５０％、４０％、３０％、２０％、１０％、５％、１％未満であり得る。

【００４６】

本明細書で使用される場合、用語「コドン」は、遺伝コードの単位を一緒に形成する３つのヌクレオチドの配列を意味する。各コドンは、翻訳またはタンパク質合成のプロセスにおける特定のアミノ酸または停止シグナルに対応する。遺伝コードは縮重しており、２つ以上のコドンは、特定のアミノ酸残基をコードすることができる。例えば、コドンは、ＤＮＡまたはＲＮＡヌクレオチドを含むことができる。

【００４７】

本明細書で使用される場合、用語「コドン最適化」および「コドン最適化された」は、自身のアミノ酸配列を変更しないペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質をコードし、それによって当該核酸のタンパク質発現を改良する、天然に存在する核酸または野生型核酸のコドン組成の改変を意味する。本発明との文脈において、「コドン最適化」は、１つまたはそれ以上の最適化されたヌクレオチド配列が、ヌクレオチド配列のリストから最適未満のヌクレオチド配列をフィルタで除去することによって、例えば、グアニン－シトシン含量、コドン適応指標、不安定化核酸配列もしくはモチーフの存在、ならびに／または休止部位および／もしくはターミネーターシグナルの存在などによるフィルタリングによって達成されるプロセスも意味し得る。

【００４８】

本明細書で使用される場合、「全長ｍＲＮＡ」は、特定のアッセイ、例えば、ゲル電気泳動法ならびにキャピラリ電気泳動による分離を伴う、ＵＶおよびＵＶ吸収分光法を使用した検出など、を使用した場合において特徴付けられる通りである。全長ポリペプチドをコードするｍＲＮＡ分子の長さは、標的ＤＮＡから転写される全長ｍＲＮＡ分子の長さの少なくとも５０％、例えば、標的ＤＮＡから転写される全長ｍＲＮＡ分子の長さの少なくとも６０％、７０％、８０％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．０１％、９９．０５％、９９．１％、９９．２％、

９９．３％、９９．４％、９９．５％、９９．６％、９９．７％、９９．８％、９９．９％である。

【００４９】

本明細書で使用される場合、用語「インビトロ」は、多細胞生物内においてよりもむしろ、人工的環境、例えば、試験管または反応容器において、細胞培養においてなど、において生じる事象を意味する。

【００５０】

本明細書で使用される場合、用語「インビボ」は、多細胞生物、例えば、ヒトおよび非ヒト動物など、内において生じる事象を意味する。細胞ベースの系との文脈において、当該用語は、生細胞内において生じる事象（例えば、インビトロ系とは対照的に）を意味するために使用される。

【００５１】

本明細書で使用される場合、用語「メッセンジャＲＮＡ（ｍＲＮＡ）」は、少なくとも１つのポリペプチドをコードするポリリボヌクレオチドを意味する。ｍＲＮＡは、本明細書で使用される場合、改変されたＲＮＡおよび未改変のＲＮＡの両方を包含する。ｍＲＮＡは、１つまたはそれ以上のコード領域および非コード領域を含有し得る。ｍＲＮＡは、天然源から精製することができ、組換え発現系を使用して生産し、場合により精製してもよく、インビトロにおいて転写させることができ、または化学的に合成することができる。適切であれば、例えば、化学的に合成された分子の場合、ｍＲＮＡは、ヌクレオチド類似物、例えば、化学的に改変された塩基または糖類、骨格修飾などを有する類似物など、を含み得る。ｍＲＮＡ配列は、特に明記されない限り、５’から３’方向において示される。

【００５２】

本明細書で使用される場合、用語「核酸」は、最も広範な意味において、ポリヌクレオチド鎖に組み入れられているかまたは組み入れることができる任意の化合物および／または物質を意味する。一部の実施形態において、核酸は、ホスホジエステル結合を介してポリヌクレオチド鎖に組み入れられているかまたは組み入れることができる化合物および／または物質である。一部の実施形態において、「核酸」は、個々の核酸残基を意味する（例えば、ヌクレオチドおよび／またはヌクレオシド）。一部の実施形態において、「核酸」は、個々の核酸残基を含むポリヌクレオチド鎖を意味する。一部の実施形態において、「核酸」は、ＲＮＡならびに一本鎖および／または二本鎖ＤＮＡおよび／またはｃＤＮＡを包含する。その上、用語「核酸」、「ＤＮＡ」、「ＲＮＡ」、および／または同様の用語は、核酸類似物、すなわち、ホスホジエステル骨格以外を有する類似物を含む。核酸配列は、特に明記されない限り、５’から３’方向において示される。

【００５３】

本明細書で使用される場合、用語「ヌクレオチド配列」は、最も広範な意味において、核酸内の核酸塩基の並びを意味する。一部の実施形態において、「ヌクレオチド配列」は、遺伝子内での個々の核酸塩基の並びを意味する。一部の実施形態において、「ヌクレオチド配列」は、タンパク質コード遺伝子内での個々の核酸塩基の並びを意味する。一部の実施形態において、「ヌクレオチド配列」は、一本鎖および／または二本鎖ＤＮＡおよび／またはｃＤＮＡ内の個々の核酸塩基の並びを意味する。一部の実施形態において、「ヌクレオチド配列」は、ＲＮＡ内での個々の核酸塩基の並びを意味する。一部の実施形態において、「ヌクレオチド配列」は、ｍＲＮＡ内での個々の核酸塩基の並びを意味する。特定の実施形態において、「ヌクレオチド配列」は、ＲＮＡまたはＤＮＡのタンパク質コード配列内での個々の核酸塩基の並びを意味する。ヌクレオチド配列は、通常、特に明記されない限り、５’から３’方向において示される。

【００５４】

本明細書で使用される場合、用語「早期終止（ｐｒｅｍａｔｕｒｅ　ｔｅｒｍｉｎａｔｉｏｎ）」は、ＤＮＡ鋳型の全長が転写される前の転写の終止を意味する。本明細書で使用される場合、早期終止は、ＤＮＡ鋳型内のヌクレオチド配列モチーフ（本明細書では、

単に「モチーフ」とも呼ばれる）、例えば、終止シグナルなど、の存在によって引き起こされ、結果として、全長ｍＲＮＡより短いｍＲＮＡ転写産物（「早期に終止した転写産物」または「末端切断されたｍＲＮＡ転写産物」）を生じる。終止シグナルの例としては、本明細書において説明されるような、大腸菌（Ｅ．　ｃｏｌｉ）ｒｒｎＢターミネーターｔ１シグナル（コンセンサス配列：ＡＴＣＴＧＴＴ）およびそのバリアントが挙げられる。

【００５５】

本明細書で使用される場合、用語「鋳型ＤＮＡ」（または「ＤＮＡ鋳型」）は、インビトロ転写によって合成されるｍＲＮＡ転写産物をコードする核酸配列を含むＤＮＡ分子に関連する。鋳型ＤＮＡは、鋳型ＤＮＡによってコードされるｍＲＮＡ転写産物を生産するためにインビトロ転写のための鋳型として使用される。鋳型ＤＮＡは、インビトロ転写に必要な全てのエレメント特にＤＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼの結合のためのプロモータエレメント、例えば、所望のｍＲＮＡ転写産物をコードするＤＮＡ配列に作動可能に連結される、Ｔ３、Ｔ７、およびＳＰ６　ＲＮＡポリメラーゼなど、を含む。その上、鋳型ＤＮＡは、例えば、ＰＣＲまたはＤＮＡ配列決定法などによって、ｍＲＮＡ転写産物をコードするＤＮＡ配列の同一性を特定するために、ｍＲＮＡ転写産物をコードするＤＮＡ配列のプライマ結合部位５’および／または３’を含み得る。本発明の文脈における「鋳型ＤＮＡ」は、直鎖状または環状ＤＮＡ分子であり得る。本明細書で使用される場合、用語「鋳型ＤＮＡ」は、所望のｍＲＮＡ転写産物をコードする核酸配列を含む、ＤＮＡベクター、例えば、プラスミドＤＮＡなど、を意味し得る。

【００５６】

本明細書で使用される場合、用語「防ぐこと（ｐｒｅｖｅｎｔｉｎｇ）」は、特定の感染症、疾患、障害、および／または状態の１つまたはそれ以上の症状または特徴の発症を、部分的にまたは完全に阻害することを意味する。

【００５７】

本明細書で使用される場合、用語「予防（ｐｒｏｐｈｙｌａｘｉｓ）」は、特定の感染症、疾患、障害、および／または状態の１つまたはそれ以上の症状または特徴の発症を、部分的にまたは完全に阻害することを意味する。

【００５８】

本明細書で使用される場合、用語「治療する（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」は、特定の感染症、疾患、障害、および／または状態の１つまたはそれ以上の症状または特徴を、部分的にまたは完全に、軽減する、改善する、向上させる、緩和する、その発症を遅延させる、その進行を阻害する、その重症度を減少させる、および／またはその発生を減少させることを意味する。

【００５９】

本明細書で使用される場合、用語「免疫原性組成物」は、対象に投与される場合に免疫応答を引き起こす核酸またはタンパク質を含む組成物を意味する。一部の実施形態において、「免疫原性組成物」は、核酸を含む。一部の実施形態において、核酸は、ｍＲＮＡである。一部の実施形態において、核酸は、ＤＮＡである。用語「免疫原性組成物」および「ワクチン」は、本明細書において相互互換的に使用されると理解され、したがって、同等の意味を有することが意図される。

【００６０】

２つのヌクレオチド（またはアミノ酸）配列の間のパーセンテージ配列同一性は、当該２つの配列のアラインメントの後に特定される。このアラインメントおよびパーセンテージ配列同一性は、例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｆ．Ｍ．　Ａｕｓｕｂｅｌら編，　１９８７）　Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ　３０のセクション７．７．１８に記載されるような、当技術分野において既知のソフトウェアプログラムを使用して特定することができる。本発明の文脈において、アラインメントは、１２のｇａｐ　ｏｐｅｎ　ｐｅｎａｌｔｙおよび２のｇａｐ　ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ　ｐｅｎａｌｔｙ、６２のＢＬＯＳＵＭ　ｍａｔｒｉｘによるアフィンギャップ

サーチを使用したＳｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎ相同性サーチアルゴリズムによって特定される。Ｓｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎ相同性サーチアルゴリズムは、Ｓｍｉｔｈ　＆　Ｗａｔｅｒｍａｎ　（１９８１）　Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．　Ｍａｔｈ．２：４８２～４８９において開示される。次いで、２つのヌクレオチド（またはアミノ酸）配列の同じ位置に位置されるそれぞれのヌクレオチド（またはアミノ酸）の間において比較が行われる。当該２つのヌクレオチド（またはアミノ酸）配列において、所定の位置が同じヌクレオチド（またはアミノ酸）によって占められる場合、これらの配列は、この位置において同一である。次いで、比較が為されたヌクレオチド（またはアミノ酸）配列のヌクレオチド（またはアミノ酸）の総数に対する、それぞれのヌクレオチド（またはアミノ酸）が同一である位置の数から、配列同一性のパーセンテージが特定される。

【００６１】

本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本願の属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味および本願が属する技術分野において一般的に使用されるのと同じ意味を有する。本発明の背景を説明するため、およびその実施に関連する追加詳細を提供するために本明細書において参照される刊行物および他の参考文献は、参照によって本明細書に組み入れられる。

【００６２】

本発明は、最適化されたヌクレオチド配列を伴うｍＲＮＡを含むワクチンを提供することによる感染病の効果的な治療または予防のためにタンパク質抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を生成する必要性に対処する。少なくとも１つの最適化されたヌクレオチド配列を生産するために、タンパク質抗原をコードする天然に存在するヌクレオチド配列を処理する方法が提供される。最適化されたヌクレオチド配列は、天然に存在するヌクレオチド配列に関連するタンパク質の発現と比較して、コードされたタンパク質抗原の発現を増加させるように設計される。コドン最適化は、遺伝コードの冗長性に起因して、コードされたタンパク質抗原の翻訳されたアミノ酸の配列を変えることなく、様々な基準に基づいてタンパク質コードヌクレオチド配列の組成を変更することができる。

【００６３】

ｍＲＮＡコドン使用率と同族ｔＲＮＡの存在量との間の不均衡を避けるために、コドン最適化は、宿主細胞における転移ＲＮＡ（ｔＲＮＡ）の天然に存在する量により一致し特定のｔＲＮＡの枯渇を避けるようなヌクレオチド配列内のコドンの組成を提供することができる。ｔＲＮＡ存在量は、タンパク質翻訳の速度に影響を及ぼすため、ヌクレオチド配列のコドン最適化は、タンパク質翻訳の効率およびコードされたタンパク質の収率を増加させることができる。例えば、レアｔＲＮＡの不足がタンパク質翻訳を失速または停止させるため、低いコドン使用率によって特徴付けられるレアコドンを使用しないことによって、タンパク質翻訳の効率およびタンパク質収率を増加させることができる。

【００６４】

当該プロセスは、タンパク質の翻訳の制御および新生ポリペプチド鎖の適切な折り畳みの確保にとって重要なヌクレオチド配列においてコードされる情報を除去し得るため、コドン最適化は、コードされたタンパク質の機能活性の減少およびそれに関連する効率の減少という代償を払うことになり得る（ＭａｕｒｏおよびＣｈａｐｐｅｌｌ，　Ｔｒｅｎｄｓ　Ｍｏｌ　Ｍｅｄ．　２０１４；　２０（１１）：６０４～１３）。本発明者らは、最適化された配列は、いくらかの多様性を維持し、すなわち、必ずしも、各アミノ酸をコードするコドン１つだけ含むわけでなく、最適化された配列は、当該コードされたタンパク質の機能活性を維持しつつ、増加したタンパク質収率を達成することができる。

【００６５】

最適化されたヌクレオチド配列の生成

図１Ａおよび１Ｂは、本発明に従って、最適化されたヌクレオチド配列を生成するプロセスを示している。当該プロセスは、最初に、コドン最適化配列のリストを生成し、次いで、当該リストに３つのフィルタを適用する。詳細には、当該プロセスは、最適化されたヌクレオチド配列の更新されたリストを生産するために、モチーフスクリーンフィルタ、

グアニン－シトシン（ＧＣ）含量分析フィルタ、およびコドン適応指標（ＣＡＩ）解析フィルタを適用する。更新されたリストは、もはや、コードされたタンパク質抗原の効果的な転写および／または翻訳を妨げると予想される特徴を含むヌクレオチド配列を含まない。

【００６６】

コドン最適化

遺伝コードは、６４の可能なコドンを有する。各コドンは、３つのヌクレオチドの配列を含む。ゲノムのタンパク質コード領域における各コドンの使用頻度は、特定のコドンが当該ゲノムのタンパク質コード領域内に現れる事例の数を特定し、その後に当該得られた値を、当該ゲノムのタンパク質コード領域内の同じアミノ酸をコードするコドンの総数で割ることによって計算することができる。

【００６７】

コドン使用頻度表は、表が生成された特定の生物源に対して、各コドンが、ある特定のアミノ酸をコードするために使用される頻度に関して実験的に誘導されたデータを含む。この情報は、各コドンに対して、コドンがある特定のアミノ酸をコードする回数の総数に対する、そのアミノ酸をコードするためにそのコドンが使用される頻度のパーセンテージ（０～１００％）、または分数（０～１）として表される。

【００６８】

コドン使用頻度表は、公的に利用可能なデータベース例えば、Ｃｏｄｏｎ Ｕｓａｇｅ Ｄａｔａｂａｓｅ（Ｎａｋａｍｕｒａら （２０００） Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２８（１）， ２９２；ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｋａｚｕｓａ．ｏｒ．ｊｐ／ｃｏｄｏｎ／においてオンラインで利用可能）、およびＨｉｇｈ－ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ Ｖｉｒｔｕａｌ Ｅｎｖｉｒｏｎｍｅｎｔ－Ｃｏｄｏｎ Ｕｓａｇｅ Ｔａｂｌｅｓ（ＨＩＶＥ－ＣＵＴｓ）データベース（Ａｔｈｅｙら，（２０１７），ＢＭＣ Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ １８（１），３９１；ｈｔｔｐ：／／ｈｉｖｅ．ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．ｇｗｕ．ｅｄｕ／ｒｅｖｉｅｗ／ｃｏｄｏｎにおいてオンラインで利用可能）など、に保存される。

【００６９】

コドン最適化の第１の工程において、コドンが閾値頻度より低いコドン使用頻度（例えば、１０％）に関連している場合、所定の生物体（例えば、哺乳動物またはヒト）における各コドンの頻度を反映する第１のコドン使用頻度表からコドンが除去される。第１の工程において除去されなかったコドンのコドン使用頻度は、正規化されたコドン使用頻度表を生成するために正規化される。関心対象のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、正規化されたコドン使用頻度表における所定のアミノ酸に関連する１つまたはそれ以上のコドンの使用頻度に基づいて、アミノ酸配列における各アミノ酸に対してコドンを選択することによって生成される。所定のアミノ酸に対してある特定のコドンを選択する確率は、正規化されたコドン使用頻度表におけるこのアミノ酸に関連するコドンに関連する使用頻度に等しい。

【００７０】

本発明のコドン最適化配列は、最適化されたヌクレオチド配列を生成するためのコンピューターによる実施方法によって生成される。当該方法は、（ｉ）アミノ酸配列を受け入れる工程であって、当該アミノ酸配列が、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質をコードする、工程；（ｉｉ）第１のコドン使用頻度表を受け取る工程であって、当該第１のコドン使用頻度表が、アミノ酸のリストを含み、当該テーブルの各アミノ酸が、少なくとも１つのコドンに関連しており、各コドンが、使用頻度に関連している、工程；（ｉｉｉ）閾値頻度未満の使用頻度に関連している全てのコドンが、コドン使用頻度表から除去される工程；（ｉｖ）工程（ｉｉｉ）において除去されなかったコドンの使用頻度を正規化することによって、正規化されたコドン使用頻度表を生成する工程；および（ｖ）正規化されたコドン使用頻度表におけるアミノ酸に関連した１つまたはそれ以上のコドンの使用頻度に基づいて、アミノ酸配列における各アミノ酸に対するコドンを選択することによ

って、アミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を生成する工程；を含む。閾値頻度は、５％～３０％の範囲、特に、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、または３０％であり得る。本発明の文脈において、閾値頻度は、典型的には、１０％である。

【００７１】

正規化されたコドン使用頻度表を生成する工程は、（ａ）第１のアミノ酸に関連し、工程（ｉｉｉ）において除去された各コドンの使用頻度を、第１のアミノ酸に関連付した残りのコドンに分配する工程；および（ｂ）正規化されたコドン使用頻度表を生産するために各アミノ酸に対して工程（ａ）を繰り返す工程を含む。一部の実施形態において、除去されたコドンの使用頻度は、残りのコドンの間で等しく分配される。一部の実施形態において、除去されたコドンの使用頻度は、各残りのコドンの使用頻度に基づいて比例的に残りのコドンの間で分配される。この文脈における「分配される」は、ある特定のアミノ酸に関連した除去されたコドンの使用頻度における組み合わされた大きさを取り、およびこれらの組み合わされた頻度のいくらかをある特定のアミノ酸をコードする残りのコドンのそれぞれに分配することとして定義される。

【００７２】

各アミノ酸に対してコドンを選択する工程は、（ａ）正規化されたコドン使用頻度表において、アミノ酸配列の第１のアミノ酸に関連した１つまたはそれ以上のコドンを識別する工程；（ｂ）第１のアミノ酸に関連したコドンを選択する工程であって、ある特定のコドンを選択する確率が、正規化されたコドン使用頻度表における第１のアミノ酸に関連したコドンに関連した使用頻度に等しい、工程；ならびに（ｃ）アミノ酸配列における各アミノ酸に対してコドンが選択されるまで、工程（ａ）および（ｂ）を繰り返す工程；を含む。

【００７３】

アミノ酸配列における各アミノ酸に対してコドンを選択することにより、最適化されたヌクレオチド配列を生成する工程（上記の方法における工程（ｖ））は、最適化されたヌクレオチド配列のリストを生成するために、ｎ回実施される。

【００７４】

モチーフスクリーン

モチーフスクリーンフィルタが、最適化されたヌクレオチド配列のリストに適用される。更新されたリストを生成するために、任意の既知の負のシス調節エレメントおよび負の反復エレメントをコードする最適化されたヌクレオチド配列がリストから除去される。

【００７５】

リストの各最適化されたヌクレオチド配列に対して、それが終止シグナルを含むか否かも特定される。１つまたはそれ以上の終止シグナルを含む全てのヌクレオチド配列は、更新されたリストを生成するリストから除去される。一部の実施形態において、終止シグナルは、以下のヌクレオチド配列：５’－X_1ＡＴＣＴX_2ＴX_3－３’を有し、この場合、X_1、X_2、およびX_3は、Ａ、Ｃ、Ｔ、またはＧから独立して選択される。一部の実施形態において、終止シグナルは、以下のヌクレオチド配列のうちの１つを有する：ＴＡＴＣＴＧＴＴ；および／またはＴＴＴＴＴＴ；および／またはＡＡＧＣＴＴ；および／またはＧＡＡＧＡＧＣ；および／またはＴＣＴＡＧＡ。一部の実施形態において、終止シグナルは、以下のヌクレオチド配列：５’－X_1ＡＵＣＵX_2ＵX_3－３’を有し、この場合、X_1、X_2、およびX_3は、Ａ、Ｃ、Ｕ、またはＧから独立して選択される。一部の実施形態において、終止シグナルは、以下のヌクレオチド配列のうちの１つを有する：ＵＡＵＣＵＧＵＵ；および／またはＵＵＵＵＵＵ；および／またはＡＡＧＣＵＵ；および／またはＧＡＡＧＡＧＣ；および／またはＵＣＵＡＧＡ。

【００７６】

グアニン－シトシン（ＧＣ）含量

当該方法は、さらに、最適化されたヌクレオチド配列の当該更新されたリストにおける最適化されたヌクレオチド配列のそれぞれのグアニン－シトシン（ＧＣ）含量を特定する

工程を含む。配列のＧＣ含量は、グアニンまたはシトシンであるヌクレオチド配列における塩基のパーセンテージである。最適化されたヌクレオチド配列の当該リストは、任意のヌクレオチド配列のＧＣ含量が、所定のＧＣ含量範囲外の場合、リストから当該ヌクレオチド配列を除去することによってさらに更新される。

【００７７】

最適化されたヌクレオチド配列のそれぞれのＧＣ含量を特定する工程は、各ヌクレオチド配列に対して、以下：当該ヌクレオチド配列の１つまたはそれ以上の追加部分のＧＣ含量を特定する工程を含み、この場合、当該追加部分は、互いに、および第１の部分と重なり合わず、ならびに最適化された配列のリストを更新する工程は、任意の部分のＧＣ含量が所定のＧＣ含量範囲から外れる場合に当該ヌクレオチド配列を除去する工程を含み、場合により、任意の部分のＧＣ含量が、所定のＧＣ含量範囲外であることが特定された場合、ヌクレオチド配列のＧＣ含量を特定する工程は、中止される。一部の実施形態において、当該ヌクレオチド配列の第１の部分および／または１つもしくはそれ以上の追加部分は、所定の数のヌクレオチドを含み、場合により当該ヌクレオチドの所定の数は、５から３００のヌクレオチド、または１０から２００のヌクレオチド、または１５から１００のヌクレオチド、または２０から５０のヌクレオチドの範囲にある。本発明の文脈において、ヌクレオチドの所定の数は、典型的には、３０のヌクレオチドである。所定のＧＣ含量の範囲は、１５％～７５％、または４０％～６０％、または３０％～７０％であり得る。本発明の文脈において、所定のＧＣ含量の範囲は、３０％～７０％である。

【００７８】

本発明の文脈における好適なＧＣ含量フィルタは、最初に、最適化されたヌクレオチド配列の最初の３０のヌクレオチド、すなわち、最適化されたヌクレオチド配列のヌクレオチド１番目から３０番目、を分析し得る。分析は、ＧまたはＣのどちらかである一部分のヌクレオチドの数を特定する工程を含み得、当該一部分のＧＣ含量を特定する工程は、当該一部分におけるＧまたはＣヌクレオチドの数を当該一部分におけるヌクレオチドの総数で割る工程を含み得る。この分析の結果は、ＧまたはＣである当該一部分のヌクレオチドの割合を説明する値を提供するであろうし、およびパーセンテージであり得、例えば、５０％、または少数、例えば、０．５、であり得る。第１の部分のＧＣ含量が、所定のＧＣ含量範囲外である場合、最適化されたヌクレオチド配列は、最適化されたヌクレオチド配列のリストから除外される。

【００７９】

第１の部分のＧＣ含量が、所定のＧＣ含量範囲にある場合、ＧＣ含量フィルタは、次いで、最適化されたヌクレオチド配列の第２の部分を分析し得る。この例において、第２の部分は、第２の３０のヌクレオチド、すなわち、最適化されたヌクレオチド配列のヌクレオチド３１番目から６０番目であり得る。当該部分分析は、どちらかまで各部分に対して繰り返されることができ：一部分が、所定のＧＣ含量範囲外となるＧＣ含量を有することが分かり、その場合、当該最適化されたヌクレオチド配列は、リストから除外されることができ、または、最適化されたヌクレオチド配列全体が分析され、およびそのような一部分が見出されず、その場合、ＧＣ含量フィルタは、当該最適化されたヌクレオチド配列をリストにとどめ、およびリストの次の最適化されたヌクレオチド配列に移動し得る。

【００８０】

コドン適応指標（ＣＡＩ）

当該方法は、さらに、最適化されたヌクレオチド配列の最も最近に更新されたリストにおいて各最適化ヌクレオチド配列のコドン適応指標を特定する工程を含む。配列のコドン適応指標は、コドン使用頻度バイアスの指標であり、０から１の間の値であり得る。最適化されたヌクレオチド配列の最も最近に更新されたリストは、さらに、コドン適応指標が所定のコドン適応指標の閾値以下である場合に全てのヌクレオチド配列を除去することによって更新される。コドン適応指標の閾値は、０．７、または０．７５、または０．８、または０．８５、または０．９であり得る。本発明者らは、０．８以上のコドン適応指標を有する最適化されたヌクレオチド配列が、非常に高いタンパク質収率を提供することを

見出した。したがって、本発明の文脈において、コドン適応指標の閾値は、典型的には、０．８である。

【００８１】

コドン適応指標は、例えば、「Ｔｈｅ ｃｏｄｏｎ ａｄａｐｔａｔｉｏｎ ｉｎｄｅｘ－－ａ ｍｅａｓｕｒｅ ｏｆ ｄｉｒｅｃｔｉｏｎａｌ ｓｙｎｏｎｙｍｏｕｓ ｃｏｄｏｎ ｕｓａｇｅ ｂｉａｓ，ａｎｄ ｉｔｓ ｐｏｔｅｎｔｉａｌ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」（ＳｈａｒｐおよびＬｉ，１９８７．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ １５（３），ｐ．１２８１～１２９５）；ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｐｍｃ／ａｒｔｉｃｌｅｓ／ＰＭＣ３４０５２４／においてオンラインで利用可能、に記載されるような、当業者に明らかである任意の方法において、それぞれの最適化されたヌクレオチド配列に対して算出される。

【００８２】

コドン適応指標の算出の実践は、下記による方法または下記と同様の方法を含み得る。配列における各アミノ酸に対して、配列の各コドンの重みは、相対的適合性（w_i）と呼ばれるパラメータによって表される。相対的適合性は、観察されたコドンの頻度f_iとそのアミノ酸に対して最も頻度の高い同義コドンの頻度f_jとの間の比として、参照配列セットから算出される。次いで、配列のコドン適応指標が、配列の長さ（コドンにおいて測定される）全体に対する各コドンに関連する重みの幾何平均として算出される。コドン適応指標を算出するために使用される参照配列セットは、本発明の方法によって使用されるコドン使用頻度表を得たのと同じ参照配列セットであってよい。

【００８３】

最適化されたヌクレオチド配列の合成

一度、最適化されたヌクレオチド配列のリストが生成されると、インビトロ合成（一般的に「インビトロ転写」とも呼ばれる）を、核酸ベクター、例えば、プロモーター、リボヌクレオチド三リン酸のプール、ＤＴＴおよびマグネシウムイオンを含み得る緩衝系、ならびに適切なＲＮＡポリメラーゼ（例えば、Ｔ３、Ｔ７、もしくはＳＰ６ＲＮＡポリメラーゼ）、ＤＮａｓｅ Ｉ、ピロホスファターゼ、ならびに／またはＲＮａｓｅ阻害剤、を含む直鎖状または環状のＤＮＡ鋳型など、によって実施することができる。正確な条件は、特定の用途に従って異なるであろう。

【００８４】

核酸ベクターは、典型的には、プラスミドである。用語「プラスミド」または「プラスミド核酸ベクター」は、環状核酸分子、例えば、人工の核酸分子を意味する。本発明の文脈におけるプラスミドＤＮＡは、所望の核酸配列、例えば、ｍＲＮＡ転写産物をコードする配列および／または少なくともタンパク質抗原をコードするオープンリーディングフレームを含む核酸配列など、を組み込むかまたは含ませるために好適である。そのようなプラスミドＤＮＡ構築物／ベクターは、発現ベクター、クローニングベクター、トランスファベクターなどであり得る。

【００８５】

当該核酸ベクターは、典型的には、所望のｍＲＮＡ転写産物に対応する（をコードする）配列またはその一部、例えば、タンパク質抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列ならびにｍＲＮＡの５’および／または３’ＵＴＲに対応する配列など、を含む。一部の実施形態において、所望のｍＲＮＡ転写産物に対応する配列は、３’ＵＴＲの後のポリＡテールもコードし得、それにより、当該ポリＡテールは、ｍＲＮＡ転写産物に含められる。より典型的には、本発明の文脈において、所望のｍＲＮＡ転写産物に対応する配列は、５’／３’ＵＴＲおよびオープンリーディングフレームからなる。本発明の一部の実施形態において、インビトロ転写の際に核酸ベクターから合成されるｍＲＮＡ転写産物は、ポリＡテールを含まない。ポリＡテールは、合成処理工程の後にｍＲＮＡ転写産物に加えられる。

【００８６】

最適化されたヌクレオチド配列のスクリーニング

タンパク質抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列をコードする個々のインビトロ転写されたキャッピングおよびテーリングされたｍＲＭＡは、インビボまたはインビトロのどちらかにおいて細胞へトランスフェクトすることにより、当該最適化されたヌクレオチド配列によってコードされたタンパク質の発現レベルを特定することができる。例えば、タンパク質抗原をコードする天然に存在するヌクレオチド配列、または本明細書において説明される最適化されたヌクレオチド配列を生成するためのプロセス以外の方法によって調製されたタンパク質抗原をコードするコドン最適化されたヌクレオチド配列、をコードするｍＲＮＡは、コントロールｍＲＮＡとして機能し得る。各ｍＲＮＡおよびコントロールｍＲＮＡは、別々の細胞または生物体と接触し、その場合、当該細胞または生物体は接触した。本発明による免疫原性組成物が、コントロールｍＲＮＡと接触した細胞または生物体によって産生されるタンパク質の収率と比較して、増加した収率においてタンパク質抗原を生産する場合、本発明に従って生成された最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡが、本発明による免疫原性組成物における使用のために選択される。

【００８７】

当技術分野において周知の方法、例えば、ウエスタンブロット法など、は、最適化されたヌクレオチド配列が、結果として、コードされたタンパク質抗原の増加した発現および生産を生じることを実験的に検証するために好適である。その上、本発明の方法によって生成された複数の最適化されたヌクレオチド配列をスクリーニングすることにより、最も高いタンパク質収率を生じる１つまたはそれ以上の配列を特定することができる。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列によってコードされたタンパク質の発現レベルは、少なくとも２倍、例えば、少なくとも３倍または４倍増加する。

【００８８】

一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質抗原の機能活性が特定される。最適化されたヌクレオチド配列によってコードされたタンパク質の機能活性は、さまざまな十分に確立された方法を使用して特定することができる。これらの方法は、コードされるタンパク質抗原の特性に応じて変わり得る。例えば、最適化されたヌクレオチド配列から発現されたタンパク質抗原の適切な折り畳みを確認するために、タンパク質抗原上の高次構造エピトープを認識する抗体が使用される。あるいは、またはさらに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質に関する本発明の実施形態において、その受容体結合活性を確認するために、スパイクタンパク質が、ヒトアンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に接触させることができる。結合活性は、典型的には、コントロール、例えば、天然に存在するコード配列から発現されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のスパイクタンパク質など、と比較して評価される。

【００８９】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質

コロナウイルス（ＣｏＶ）は、コロナウイルス科（Coronaviridae）、アルテリウイルス科（Arteriviridae）、およびロニウイルス科（Roniviridae）を含むニドウイルス目（Nidovirales）に属するウイルスの最大のグループである。ＣｏＶは、正の向きの一本鎖ＲＮＡゲノムと、直径が約１２５ｎｍである螺旋対称のヌクレオカプシドとを有する球状のエンベロープウイルスである。

【００９０】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、ＭＥＲＳ－ＣｏＶおよびＳＡＲＳ－ＣｏＶ等のヒトに感染する他のコロナウイルスと同様に、β－コロナウイルスである。ＯＲＦ１ａ／ｂ領域と主に命名されている、ウイルス３０ｋｂ　ＲＮＡゲノムの最初の３分の２は、主要な非構造タンパク質を構成する２つのポリタンパク質（ｐｐ１ａおよびｐｐ１ａｂ）をコードする。残りのゲノムは、アクセサリータンパク質と、４つの必須構造タンパク質（すなわち、スパイク（Ｓ）糖タンパク質、小エンベロープ（Ｅ）タンパク質、マトリックス／膜（Ｍ）タンパク質、およびヌクレオカプシド（Ｎ）タンパク質）とをコードする（Ｋａｎｇら（２０２０年）ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１１０１／２０２０．０３．０６．９７７８７６）。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、そのＳタンパク質を使用して、宿主細胞の

受容体（ヒトではＡＣＥ２）に結合して細胞侵入を媒介する。このため、下記で詳述するように、Ｓタンパク質が中和抗体の主な標的となる。

【００９１】

スパイク糖タンパク質（Ｓタンパク質）

細胞侵入は、細胞表面上の受容体へのＳタンパク質の結合と、宿主細胞のプロテアーゼによるＳタンパク質のプライミングとに依存している。このＳタンパク質は、２つの機能的サブユニットを含み、すなわち、宿主細胞の受容体との結合に関与する機能的サブユニット（Ｓ１サブユニット）と、ウイルスおよび細胞膜の融合に関与する機能的サブユニット（Ｓ２サブユニット）とを含む（図３）。このＳタンパク質は、ウイルスの表面上で特徴的なスパイク構造を生産するホモ三量体を形成する。Ｓ１サブユニットは、大きな受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を有し、Ｓ２は、スパイク分子の軸を形成する。完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１により提供される（Ｇｅｎ　Ｂａｎｋ　ＱＨＤ４３４１６．１）。Ｓ１サブユニットは、残基１～６８１に位置しており、Ｓ２サブユニットは、残基６８６～１２０８に位置しており、Ｓ２’サブユニットは、残基８１６～１２０８に位置している。このＳタンパク質のＣ末端は、膜貫通ドメインを含み、細胞質テールの最後の１９個のアミノ酸は、小胞体（ＥＲ）保留シグナルを含む。

【００９２】

天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質への言及は、配列番号１により提供される完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質を指す。天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する改変は全て、配列番号１での残基に基づいて番号付けされている。

【００９３】

パンデミックＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２配列間で観察された多様性は低いが、その急速な世界的蔓延は、希ではあるが有利な変異に作用する自然選択の十分な機会をウイルスに提供する。武漢由来の指標株（すなわち配列番号１）だけでなく、流行しているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスの配列を標的とすることが有利である。

【００９４】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質中のアミノ酸変化Ｄ６１４Ｇは、２０２０年のＣＯＶＩＤ－１９パンデミックの初期に出現しており、２０２０年７月時点で、世界中で最も蔓延しているウイルス形態となっている。Ｇ６１４に感染した患者は、Ｄ６１４に感染した患者と比較して多くのウイルス核酸を排出しており、Ｇ６１４を持つウイルスは、そのＤ６１４カウンターパートと比べてインビトロで有意に高い感染力価を示す（Ｋｏｒｂｅｒら、２０２０年、Ｃｅｌｌ　１８２、１～１６頁）。したがって、Ｄ６１４Ｇ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、本明細書に記載されている免疫原性組成物での使用に特に好適である。

【００９５】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質で同定されている他の希な変異の概要を、下記の表にまとめる（Ｋｏｒｂｅｒら、２０２０年－ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１１０１／２０２０．０４．２９．０６９０５４）：

【００９６】

【表１】

スパイク変異	影響の可能性があるスパイク位置
L5F	シグナルペプチド
L8V/W	シグナルペプチド
H49Y	S1 NTD ドメイン
Y145H/del	S1 NTD ドメイン
Q239K	S1 NTD ドメイン
V367F	上/下高次構造
G476S	RBD に直接
V483A	上/下高次構造
V6151/F	SARS-CoV ADE エピトープ中
A831V	S2 中の潜在的な融合ペプチド
D839Y/N/E	S2 サブユニット
S943P	HR1 の融合コア
P1263L	細胞質テール

【００９７】

さらなるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質変異として、下記が挙げられる：Ｌ１８Ｆ、ＨＶ６９－７０欠失、Ｙ１４４欠失、Ｅ１５４Ｑ、Ｑ２１８Ｅ、Ａ２２２Ｖ、Ｓ４４７Ｎ、Ｆ４９０Ｓ、Ｓ４９４Ｐ、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｅ５８３Ｄ、Ｔ６１８Ｅ、Ｐ６８１Ｈ、Ａ７０１Ｖ、Ｔ７１６Ｉ、Ｔ７２３Ｉ、Ｉ８４３Ｖ、Ｓ９８２Ａ、およびＤ１１１８Ｈ。２０２０年後半に、英国、南アフリカ、ブラジル、およびカリフォルニアにおいて、複数の変異を含む新たなＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントが出現した。ＵＫバリアント（系統Ｂ．１．１．７と命名されている）でのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質中に存在する変異は、Ｈ６９欠失（ΔＨ６９）、Ｖ７０欠失（ΔＶ７０）、Ｙ１４４欠失（ΔＹ１４４）、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、およびＤ１１１８Ｈを含む（Ｒａｍｂａｕｔら、２０２０年、ｈｔｔｐｓ：／／ｖｉｒｏｌｏｇｉｃａｌ．ｏｒｇ／ｔ／ｐｒｅｌｉｍｉｎａｒｙ－ｇｅｎｏｍｉｃ－ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｓａｔｉｏｎ－ｏｆ－ａｎ－ｅｍｅｒｇｅｎｔ－ｓａｒｓ－ｃｏｖ－２－ｌｉｎｅａｇｅ－ｉｎ－ｔｈｅ－ｕｋ－ｄｅｆｉｎｅｄ－ｂｙ－ａ－ｎｏｖｅｌ－ｓｅｔ－ｏｆ－ｓｐｉｋｅ－ｍｕｔａｔｉｏｎｓ／５６３）。２０２０年１０月に、南アフリカバリアント（系統Ｂ．１．３５１と命名されている）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質中に下記の６つの変異を含む：Ｄ８０Ａ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ。１１月末までに、さらに３つのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質変異が出現しており（Ｌ１８Ｆ、Ｒ２４６Ｉ、およびＫ４１７Ｎ）、Ｌ２４２（ΔＬ２４２）、Ａ２４３（ΔＡ２４３）、およびＬ２４４（ΔＬ２４４）での３つのアミノ酸が欠失している（Ｔｅｇａｌｌｙら、（２０２０年）ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１１０１／２０２０．１２．２１．２０２４８６４０）。ブラジルバリアント（系統Ｐ．１と命名されている）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質中に存在する変異は、Ｌ１８Ｆ、Ｔ２０Ｎ、Ｐ２６Ｓ、Ｄ１３８Ｙ、Ｒ１９０Ｓ、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｈ６５５Ｙ、Ｔ１０２７Ｉ、およびＶ１１７６Ｆを含む。カリフォルニアバリアント（ＣＡＬ．２０Ｃとして既知である）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タ

ンパク質中に存在する変異は、Ｓ１３Ｉ、Ｗ１５２Ｃ、およびＬ４５２Ｒを含む（Ｚｈａｎｇら（２０２１年）ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１１０１／２０２１．０１．１８．２１２４９７８６）。

【００９８】

一部の実施形態において、完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質のアミノ酸配列は、複数の変異を有し得る。例えば、配列番号１のアミノ酸配列に対する２個またはそれ以上、３個またはそれ以上、４個またはそれ以上、５個またはそれ以上、６個またはそれ以上、７個またはそれ以上、８個またはそれ以上、９個またはそれ以上、１０個またはそれ以上の変異。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質中の変異は、アミノ酸欠失またはアミノ酸置換であり得る。変異の可能な組合せとして、下記が挙げられる：（ａ）Ｌ１８Ｆ、Ａ２２２Ｖ、Ｄ６１４Ｇ；（ｂ）Ａ２２２Ｖ、Ｄ６１４Ｇ；（ｃ）Ａ２２２Ｖ、Ｅ５８３Ｄ、Ｄ６１４Ｇ；（ｄ）Ｓ４４７Ｎ、Ｄ６１４Ｇ；（ｅ）Ｅ１５４Ｑ、Ｆ４９０Ｓ、Ｄ６１４Ｇ、Ｉ８３４Ｖ；（ｆ）Ｄ６１４Ｇ、Ａ７０１Ｖ；（ｇ）Ｑ２１８Ｅ、Ｄ６１４Ｇ；（ｈ）Ｄ６１４Ｇ、Ｔ６１８Ｒ；（ｉ）ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４；（ｊ）Ａ２２２Ｖ、Ｅ５８３Ｄ、Ａ７０１Ｖ；（ｋ）ΔＨ６９、ΔＶ７０、ΔＹ１４４、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、Ｄ１１１８Ｈ（ＵＫバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）；（ｌ）Ｄ８０Ａ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ（南アフリカの固定された変異＋Ｄ６１４Ｇ）；（ｍ）Ｄ８０Ａ、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、およびＡ７０１Ｖ（南アフリカの固定された変異）；（ｎ）Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、Ａ７０１Ｖ（南アフリカバリアント１＋Ｄ６１４Ｇ）；（ｏ）Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ（南アフリカバリアント２＋Ｄ６１４Ｇ）；（ｐ）Ｌ１８Ｆ、Ｔ２０Ｎ、Ｐ２６Ｓ、Ｄ１３８Ｙ、Ｒ１９０Ｓ、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、Ｈ６５５Ｙ、Ｔ１０２７Ｉ、およびＶ１１７６Ｆ（ブラジルバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）、ならびに（ｑ）Ｓ１３Ｉ、Ｗ１５２Ｃ、Ｌ４５２Ｒ、およびＤ６１４Ｇ（カリフォルニアバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）。

【００９９】

一部の実施形態において、完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１のアミノ酸配列に対して１つまたはそれ以上の変異を有し得る。これは、下記の変異のうちの１つまたはそれ以上を含み得る：Ｄ６１４Ｇ変異、Ｌ５Ｆ変異、Ｌ８Ｖ／Ｗ変異、Ｈ４９Ｙ変異、Ｙ１４５Ｈ／欠失変異、Ｑ２３９Ｋ変異、Ｖ３６７Ｆ変異、Ｇ４７６Ｓ変異、Ｖ４８３Ａ変異、Ｖ６１５１／Ｆ変異、Ａ８３１Ｖ変異、Ｄ８３９Ｙ／Ｎ／Ｅ変異、Ｓ９４３Ｐ変異、Ｐ１２６３Ｌ変異。したがって、特定の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｄ６１４Ｇ変異を含む。例えば、特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、その外部ドメイン、またはその抗原性断片は、Ｄ６１４Ｇ変異を含む。

【０１００】

一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｌ５Ｆ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｌ８Ｖ／Ｗ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｈ４９Ｙ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｙ１４５Ｈ／欠失変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｑ２３９Ｋ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｖ３６７Ｆ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｇ４７６Ｓ変異を含む。一部の実施形態において、

本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｖ４８３Ａ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｖ６１５１／Ｆ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ａ８３１Ｖ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｄ８３９Ｙ／Ｎ／Ｅ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｓ９４３Ｐ変異を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されているＳタンパク質またはその抗原性断片のうちのいずれかは、Ｐ１２６３Ｌ変異を含む。

【０１０１】

本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードし得る。特定の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。この完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質は、配列番号１を含むアミノ酸配列を有し得るか、または配列番号１と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％同一のアミノ酸配列を有し得る。一部の実施形態において、完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２９の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２９と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１のアミノ酸配列をコードする。

【０１０２】

一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１のアミノ酸配列に対して１つまたはそれ以上の変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。例えば、一部の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、下記の変異のうちの１つまたはそれ以上を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする：Ｄ６１４Ｇ変異、Ｌ５Ｆ変異、Ｌ８Ｖ／Ｗ変異、Ｈ４９Ｙ変異、Ｙ１４５Ｈ／欠失変異、Ｑ２３９Ｋ変異、Ｖ３６７Ｆ変異、Ｇ４７６Ｓ変異、Ｖ４８３Ａ変異、Ｖ６１５１／Ｆ変異、Ａ８３１Ｖ変異、Ｄ８３９Ｙ／Ｎ／Ｅ変異、Ｓ９４３Ｐ変異、Ｐ１２６３Ｌ変異。したがって、特定の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、Ｄ６１４Ｇ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。例えば、特定の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、Ｄ６１４Ｇ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、その外部ドメイン、またはその抗原性断片をコードする。

【０１０３】

一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｌ５Ｆ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｌ８Ｖ／Ｗ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｈ４９Ｙ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｙ１４５Ｈ／欠失変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｑ２３９Ｋ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｖ３６７Ｆ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｇ４６７Ｓ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｖ４８３Ａ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｖ６１５１／Ｆ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ａ８３１Ｖ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は

、Ｄ８３９Ｙ／Ｎ／Ｅ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｓ９４３Ｐ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｐ１２６３Ｌ変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　Ｓタンパク質をコードする。

【０１０４】

あるいは、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性断片をコードし得る。ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインをコードし得、この外部ドメインは、配列番号２のアミノ酸配列を有し得るか、または配列番号２と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％同一のアミノ酸配列を有し得る。この外部ドメインは、完全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基１２０９～１２７３を含まず、これらの残基には、膜貫通ドメインおよび細胞質テールが含まれる。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３０の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３０と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号２のアミノ酸配列をコードする。

【０１０５】

他の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ１サブユニット、Ｓ２サブユニット、および／またはＳ２’サブユニットのうちの１つまたはそれ以上を含み得る。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｓ１サブユニットをコードし得、このＳ１サブユニットは、配列番号３のアミノ酸配列を有する。したがって、一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３を含むアミノ酸配列をコードし得る。一実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ１サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３１の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３１と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号３のアミノ酸配列をコードする。代替実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｓ２サブユニットをコードし得、このＳ２サブユニットは、配列番号４のアミノ酸配列を有する。したがって、一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４を含むアミノ酸配列をコードし得る。一実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３２の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３２と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号４のアミノ酸配列をコードする。代替実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｓ２’サブユニットをコードし得、このＳ２’サブユニットは、配列番号５のアミノ酸配列を有する。したがって、一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５を含むアミノ酸配列をコードし得る。一実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２’サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３３の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３３と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号５のアミノ酸配列をコードする。

【０１０６】

一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長のＳ２サブユニットまたはＳ２’サブユニットを含み得る。完全長のＳ２サブユニットまたはＳ２’サブユニットは、膜貫通ドメインおよび細胞質テールを含む。完全長Ｓ２サブユニットは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパ

ク質の残基６８６～１２７３を包含し、Ｓ２’サブユニットは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基８１６～１２７３を包含する。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、完全長Ｓ２サブユニットをコードし得、この完全長Ｓ２サブユニットは、配列番号７２のアミノ酸配列を有する。したがって、一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７２を含むアミノ酸配列をコードし得る。一実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７１の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７１と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号７２のアミノ酸配列をコードする。代替実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、完全長Ｓ２’サブユニットをコードし得、この完全長Ｓ２’サブユニットは、配列番号９８のアミノ酸配列を有する。したがって、一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９８を含むアミノ酸配列をコードし得る。一実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２’サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９７の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、少なくとも８１個であり、かつ配列番号９８のアミノ酸配列をコードする。

【０１０７】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質は、最初に、Ｓ１サブユニット中に位置する受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を介してアンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）受容体に結合し、次いで、Ｓ２サブユニットを介してウイルスと宿主膜とを融合させることにより、宿主細胞へのウイルスの侵入を媒介する（Ｔａｉら（２０２０年）Ｃｅｌｌｕｌａｒ　ａｎｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１０３８／ｓ４１４２３－０２０－０４００－４）。Ｔａｉらは、Ｓタンパク質の残基３３１～５２４でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＲＢＤの領域を同定した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基３３１～５２１の推定ＲＢＤは、下記の表２の配列番号６により提供される。ＳＡＲＳ－ＣｏＶの１９３個のアミノ酸のＲＢＤ（残基３１８～５１０）と、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ断片とを含む組換え融合タンパク質は、これで免疫化されたウサギにおいて非常に強力な抗体応答を誘発することが分かっている（Ｈｅら（２００４年）Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｂｉｏｐｈｙｓ　Ｒｅｓ　Ｃｏｍｍｕｎ；３２４（２）：７７３～７８１頁）。したがって、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤはまた、抗体応答も高度に誘発し得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶのＲＢＤおよびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＲＢＤは両方とも、ＡＣＥ２に結合する。したがって、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性断片がＲＢＤをコードし得ることが企図される。したがって、特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６のアミン酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤを含むアミノ酸配列をコードし得る。一実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３４の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３４と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号６のアミノ酸配列をコードする。

【０１０８】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性断片は、外来性Ｎ末端シグナルペプチドと融合している。このシグナルペプチドは、このタンパク質が、それが発現される宿主細胞中の分泌経路に入るように、このタンパク質の標的をＥＲおよび分泌経路に定める。特定の実施形態において、本発明は、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性断片を提供する。例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤは、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されており、これにより、得られたタンパク質のそれを発現する宿主細胞からの分泌が可能となる。

【０１０９】
具体的な実施形態において、Ｎ末端シグナルペプチドは、配列ＭＦＶＦＬＶＬＬＰＬＶＳＳＱＣ（配列番号７）を有し得、この配列は、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の天然のシグナルペプチドである。一部の実施形態において、このシグナルペプチドは、ヌクレチド配列ＡＴＧＴＴＣＧＴＣＴＴＣＣＴＣＧＴＧＣＴＧＣＴＣＣＣＡＣＴＣＧＴＴＴＣＴＴＣＣＣＡＧＴＧＴ（配列番号３７）によりコードされる。宿主細胞からのタンパク質の分泌に使用され得る多数の他のシグナルペプチドが、当該技術分野で既知であり、例えば、Ｆｒｅｕｄｌ（２０１８年）Ｍｉｃｒｏｂｉａｌ　Ｃｅｌｌ　Ｆａｃｔｏｒｉｅｓ　１７：５２の概説で言及されているものが挙げられる。本発明の一部として使用され得る代替シグナルペプチドは、ＭＡＴＧＳＲＴＳＬＬＬＡＦＧＬＬＣＬＰＷＬＱＥＧＳＡＦＰＴＩＰＬＳ（配列番号３８）である。一部の実施形態において、このシグナルペプチドは、ヌクレオチド配列ＡＵＧＧＣＣＡＣＵＧＧＡＵＣＡＡＧＡＡＣＣＵＣＡＣＵＧＣＵＧＣＵＣＧＣＵＵＵＵＧＧＡＣＵＧＣＵＵＵＧＣＣＵＧＣＣＣＵＧＧＵＵＧＣＡＡＧＡＡＧＧＡＵＣＧＧＣＵＵＵＣＣＣＧＡＣＣＡＵＣＣＣＡＣＵＣＵＣＣ（配列番号３９）によりコードされる。本発明の一部として使用され得る別のシグナルペプチドは、ＭＡＴＧＳＲＴＳＬＬＬＡＦＧＬＬＣＬＰＷＬＱＥＧＳＡＦＰＴＩＰＬＳ（配列番号４０）である。一部の実施形態において、このシグナルペプチドは、ヌクレオチド配列ＡＵＧＧＣＡＡＣＵＧＧＡＵＣＡＡＧＡＡＣＣＵＣＣＣＵＣＣＵＧＣＵＣＧＣＡＵＵＣＧＧＣＣＵＧＣＵＣＵＧＵＣＵＣＣＣＡＵＧＧＣＵＣＣＡＡＧＡＡＧＧＡＡＧＣＧＣＧＵＵＣＣＣＣＡＣＵＡＵＣＣＣＣＣＵＣＵＣＧ（配列番号４１）によりコードされる。

【０１１０】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ゲノムの最初のアノテーションにより、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のシグナルペプチド配列は配列番号７であると特定された。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ゲノムの代替アノテーションにより、９個のアミノ酸長である、より長い天然のＮ末端シグナルペプチド配列ＭＦＬＬＴＴＫＲＴＭＦＶＦＬＶＬＬＰＬＶＳＳＱＣ（配列番号１４２）が特定された。具体的な実施形態において、Ｎ末端シグナルペプチドは、配列番号１４２の配列を有し得る。一部の実施形態において、このシグナルペプチドは、ヌクレオチド配列ＡＴＧＴＴＣＣＴＧＣＴＧＡＣＡＡＣＡＡＡＡＡＧＡＡＣＣＡＴＧＴＴＴＧＴＧＴＴＣＣＴＧＧＴＧＣＴＧＣＴＧＣＣＴＣＴＧＧＴＧＴＣＣＴＣＡＣＡＧＴＧＴ（配列番号１４３）によりコードされる。

【０１１１】
特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤを含むアミノ酸配列をコードし得る。一実施形態において、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３５の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３５と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号８のアミノ酸配列をコードする。

【０１１２】
特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７４を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２サブユニットをコードし得る。一実施形態において、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７３の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７３と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号７４のアミノ酸配列をコードする。

【０１１３】
特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６６を

含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２’サブユニットをコードし得る。一実施形態において、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６５の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６５と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号６６のアミノ酸配列をコードする。

【０１１４】

特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６８を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２サブユニットをコードし得る。一実施形態において、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６７の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６７と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号６８のアミノ酸配列をコードする。特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９６を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２’サブユニットをコードし得る。一実施形態において、Ｎ末端シグナルペプチドと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２’サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９５の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９５と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号９６のアミノ酸配列をコードする。

【０１１５】

ＣｏＶ　Ｓタンパク質は、典型的なクラスＩウイルス融合タンパク質であり、Ｓタンパク質の融合能を活性化させるためにはプロテアーゼ切断が必要である。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳタンパク質の活性化に関して、下記の２段階の連続プロテアーゼ切断モデルが提案されている：（１）Ｓ１サブユニットとＳ２サブユニットとの間のプライミング切断、および（２）Ｓ２’部位での切断の活性化（Ｏｕら（２０２０年）Ｎａｔｕｒｅ　ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ、１１、１６２０頁）。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質は、Ｓ１／Ｓ２サブユニットの境界で、生合成中に処理されるフューリン切断部位を持っており、これにより、このウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶおよびＳＡＲＳ関連ＣｏＶと区別される（Ｗａｌｌｓら（２０２０年）Ｃｅｌｌ　ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１０１６／ｊ．ｃｅｌｌ．２０２０．０２．０５８）。

【０１１６】

一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに残基９８６および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対して変更されており、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含む。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２３を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２２の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２２と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１２３のアミノ酸配列をコードする。

【０１１７】
一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含む。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３７を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３６の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３６と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１３７のアミノ酸配列をコードする。

【０１１８】
融合前の安定化により、おそらく、そのようなタンパク質が融合後のより安定した構造を採用する傾向に起因するミスフォールディングを防ぐことによって、ウイルス融合糖タンパク質の組換え発現量が増加する傾向がある。融合前の安定化されたウイルス糖タンパク質は、その野生型カウンターパートと比べて優れた免疫源と考えられる。

【０１１９】
Ｓ１サブユニットおよびＳ２サブユニットの切断を防ぐためにフューリン切断部位を変異させることにより、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された高次構造が作出される。例えば、フューリン切断部位中のＲＲＡＲ残基（６８２～６８５位）を、ＧＳＡＳ残基へと変異させる（すなわち、Ｒ６８２Ｇ　Ｒ６８３Ｓ　Ａ６８４Ａ　Ｒ６８５Ｓ）。したがって、一部の実施形態において、本発明に従う最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、例えば、フューリンにより認識されるアミノ酸残基を、フューリン切断部位を形成しないがこのＳタンパク質の構造を維持する代替アミノ酸へと置き換えることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、ＲＲＡＲフューリン切断部位残基６８２～６８５を残基ＧＳＡＳへと変異させて、フューリン切断部位を除去し得る。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４２の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４２と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号９のアミノ酸配列をコードする。

【０１２０】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質は、残基９８５、９８６、および９８７のうちの１つまたはそれ以上をプロリンに置換することにより（すなわちＤ９８５Ｐ）、このタンパク質の融合前の高次構造が安定化される。例えば、残基９８５で１つの安定化プロリン変異（すなわちＤ９８５Ｐ）を生じさせるか；残基９８６および９８７で２つの安定化プロリン変異（すなわち、Ｋ９８６Ｐ、Ｖ９８７Ｐ）を生じさせるか；または残基９８５、９８６、および９８７での３つの安定化プロリン変異（すなわち、Ｄ９８５Ｐ、Ｋ９８６Ｐ、Ｖ９８７Ｐ）を生じさせることにより、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された高次構造が作出される。

【０１２１】

一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、残基９８６および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在しているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４３の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４３と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１０のアミノ酸配列をコードする。さらなる実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１８を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。このアミノ酸配列は、Ｄ６１４Ｇ変異を含む。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１９の配列を有する。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１９と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１１８のアミノ酸配列をコードする。

【０１２２】

ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７８のアミノ酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２サブユニットの融合前の安定化されたバリアントをコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７７の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７７と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号７８のアミノ酸配列をコードする。ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７０のアミノ酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２サブユニットの融合前の安定化されたバリアントをコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６９の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６９と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号７０のアミノ酸配列をコードする。

【０１２３】

ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８２のアミノ酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２’サブユニットの融合前の安定化されたバリアントをコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８１の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８１と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号８２のアミノ酸配列をコードする。ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８６のアミノ酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の完全長Ｓ２’サブユニットの融合前の安定化されたバリアントをコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８５の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８５と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号８６のアミノ酸配列をコードする。

【０１２４】

一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これ

らは、残基９８５をプロリンへと変異させることにより、天然に存在しているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８８を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８７の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８７と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号８８のアミノ酸配列をコードする。

【０１２５】

一部の実施形態において、残基９８５、９８６、および９８７にてＳ２サブユニットのＣ末端において３つの安定化プロリン変異を行なうことにより（すなわち、Ｄ９８５Ｐ、Ｋ９８６Ｐ、Ｖ９８７Ｐ）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された高次構造が作出される。一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、残基９８５、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在しているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９２を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９１の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９１と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号９２のアミノ酸配列をコードする。

【０１２６】

一部の実施形態において、Ｓ１サブユニットおよびＳ２サブユニットの切断を防ぐためにフューリン切断部位を変異させることにより、かつ（ａ）残基９８６および９８７で２つの安定化プロリン変異を生じさせることにより（すなわち、Ｋ９８６Ｐ、Ｖ９８７Ｐ）、ならびに／または（ｂ）残基９８５で安定化プロリン変異を生じさせることにより、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された高次構造が作出される。例えば、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに残基９８６および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。一部の実施形態において、残基６８２～６８５でフューリン切断部位を形成している残基は、残基ＧＳＡＳへと変異している。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１１のアミノ酸配列をコードする。さらなる実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２０を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。このアミノ酸配列は、Ｄ６１４Ｇ変異を含む。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２１の配列を有する。一部の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２１と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１２０のアミノ酸配列をコードする。あるいは、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２を含むアミノ酸配列を有する、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変さ

れているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメインをコードする。一部の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４５の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４５と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１２のアミノ酸配列をコードする。

【０１２７】

ある特定の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、および残基９８５をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。一部の実施形態において、残基６８２～６８５でフューリン切断部位を形成している残基は、残基ＧＳＡＳへと変異している。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９０を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８９の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８９と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号９０のアミノ酸配列をコードする。

【０１２８】

ある特定の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに残基９８５、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。一部の実施形態において、残基６８２～６８５でフューリン切断部位を形成している残基は、残基ＧＳＡＳへと変異している。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９４を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９３の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９３と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号９４のアミノ酸配列をコードする。

【０１２９】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質は、残基８１７、８９２、８９９、および９４２のうちの１つまたはそれ以上をプロリンに置換することにより（すなわち、Ｆ８１７Ｐ、Ａ８９２Ｐ、Ａ８９９Ｐ、およびＡ９４２Ｐ）、その融合前の高次構造でさらに安定化される。例えば、残基８１７で１つの安定化プロリン変異（すなわちＦ８１７Ｐ）を生じさせるか；残基８１７および８９２で２つの安定化プロリン変異（すなわち、Ｆ８１７Ｐ、Ａ８９２Ｐ）を生じさせるか；または残基８１７、８９２、８９９で３つの安定化プロリン変異（すなわち、Ｆ８１７Ｐ、Ａ８９２Ｐ、Ａ８９９Ｐ）を生じさせるか；または残基８１７、８９２、８９９、および９４２で４つの安定化プロリン変異（すなわち、Ｆ８１７Ｐ、Ａ８９２Ｐ、Ａ８９９Ｐ、Ａ９４２Ｐ）を生じさせることにより、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された高次構造が作出される。一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、残基８１７、８９２、８９９、および９４２をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。

【０１３０】
好ましい実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された高次構造は、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６で安定化プロリン変異を生じさせることにより作出される。一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２９を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２８の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２８と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１２９のアミノ酸配列をコードする。

【０１３１】
一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３１を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３０の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３０と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１３１のアミノ酸配列をコードする。

【０１３２】
一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、かつＤ６１４Ｇ変異を含む。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３３を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３２の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３２と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１３３のアミノ酸配列をコードする。

【０１３３】
一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、かつＤ６１４Ｇ変異を含む。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３５を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコード

し得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３４の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３４と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１３５のアミノ酸配列をコードする。

【０１３４】

Ｔ４バクテリオファージフィブリチンフォールドン（T4 bacteriophage fibritin Foldon）は、三量体形成の誘発を促進するために、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性断片のＣ末端に配置される。フォールドンは、インフルエンザワクチンでの使用のための三量体インフルエンザヘマグルチニンの幹ドメインの生産に使用されている（Ｌｕら（２０１４年）ＰＮＡＳ、１１１、１、１２４～１３０頁）。このフォールドンは、ＧＹＩＰＥＡＰＲＤＧＱＡＹＶＲＫＤＧＥＷＶＬＬＳＴＦＬ（配列番号１３）のアミノ酸配列を有し得る。したがって、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインまたはその抗原性断片と、Ｃ末端フォールドンとをコードし得る。特定の実施形態において、このフォールドンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインまたはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２’サブユニットのＣ末端に位置している。一実施形態において、本発明は、配列番号１４を含むアミノ酸配列を有する、Ｃ末端フォールドンを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４６の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４６と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１４のアミノ酸配列をコードする。本発明はまた、配列番号７６を含むアミノ酸配列を有する、Ｃ末端フォールドンを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２サブユニットを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列も提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７５の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７５と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号７６のアミノ酸配列をコードする。本発明はまた、配列番号１５を含むアミノ酸配列を有する、Ｃ末端フォールドンを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２’サブユニットを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列も提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４７の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４７と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１５のアミノ酸配列をコードする。

【０１３５】

一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｃ末端フォールドンを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメインをコードし、この外部ドメインは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに／または残基９８６および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインと比べて改変されている。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６を含むアミノ酸配列を有する、Ｃ末端フォールドンを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメインをコードする。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４８の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４８と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１６のアミノ酸配列をコードする。他の特定の実施形態において、最適化された

ヌクレオチド配列は、Ｃ末端フォールドンを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメインをコードし、この外部ドメインは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、ならびに残基９８６および９８７をプロリンへと変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインと比べて改変されている。したがって、特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７を含むアミノ酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメインをコードする。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４９の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４９と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１７のアミノ酸配列をコードする。

【０１３６】

一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｃ末端フォールドンを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＳ２サブユニットまたはＳ２’サブユニットの融合前の安定化された外部ドメインをコードし、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比較して、残基９８６および９８７がプロリンへと変異している。したがって、特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８０を含むアミノ酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化されたＳ２サブユニットをコードする。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７９の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号７９と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号８０のアミノ酸配列をコードする。したがって、特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８４を含むアミノ酸配列を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化されたＳ２サブユニットをコードする。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８３の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８３と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号８４のアミノ酸配列をコードする。

【０１３７】

タンパク質中におけるＦｃドメインの存在により、このタンパク質の血漿中半減期が顕著に長くなり、それにより、この分子の治療活性が延長される。このＦｃドメインはまた、血流からのタンパク質の腎クリアランスを遅延させることも可能であり、かつこのタンパク質と、免疫細胞上で見出されるＦｃ受容体（ＦｃＲ）との相互作用も可能にし、これは、ワクチンでの使用に有利な特徴であり得る。加えて、Ｆｃドメインは、独立して折り畳まれ、インビトロおよびインビボの両方でパートナー分子の溶解性および安定性を改善し得る（Ｃｚａｊｋｏｗｓｋｙら（２０１２年）ＥＭＢＯ　Ｍｏｌ　Ｍｅｄ．（１０）：１０１５～１０２８頁）。したがって、本発明はまた、Ｃ末端Ｆｃドメインを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインまたはその抗原性断片を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列も提供する。Ｆｃドメインは、下記のアミノ酸配列を含み得る：

ＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号１８）。特定の実施形態において、この抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳタンパクのＲＢＤである。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１９を含むアミノ酸配列を有する、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳタンパクのＲＢＤとＦｃドメ

インとを含むアミノ酸配列をコードする。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５０の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５０と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１９のアミノ酸配列をコードする。

【０１３８】

本発明はまた、Ｎ末端シグナルペプチドおよびＣ末端Ｆｃドメインと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の外部ドメインまたはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列も提供する。このＦｃは、配列番号１８のアミノ酸配列を有し得る。このシグナルペプチドは、配列番号７のアミノ酸配列を有し得る。特定の実施形態において、この抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤである。一部の実施形態において、本発明は、配列番号２０を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドおよびＣ末端Ｆｃドメインと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３６の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３６と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号２０のアミノ酸配列をコードする。

【０１３９】

抗体の薬物動態特性は、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）へのＦｃドメインのｐＨ依存的な結合により主に決定される。例えば、アミノ酸置換Ｍ４２８Ｌ／Ｎ４３４Ｓ（ＬＳ変異体）、Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ（ＹＴＥ変異体）、またはＨ４３３Ｋ／Ｎ４３４Ｆ（ＫＦ変異体）を含むＦｃドメインは、ｐＨ５．８でのＦｃＲｎに対する１０～１２倍高い親和性を付与する。これにより、抗体の半減期が大きく伸びる（２～４倍長い循環時間）。したがって、本発明の融合タンパク質に含まれるＦｃ領域の改変により、このタンパク質の血清中での半減期を延長させ得る。Ｌ３０９Ｄ／Ｑ３１１Ｈ／Ｎ４３４Ｓ（ＤＨＳ）置換を含むＦｃバリアントは、天然ＩｇＧ１および上述のバリアントの両方に対する抗体の薬物動態をさらに改善することが示されている（Ｌｅｅら（２０１９年）Ｎａｔｕｒｅ　ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ、１０、５０３１）。したがって、ある特定の実施形態において、Ｆｃ領域は、ヒトＩＧＨＧに基づくＥＵ番号付けシステムを使用して、野生型と比較して変異している。例えば、３０９位のＬ残基、３１１位のＱ残基、および４３４位のＮ残基は、それぞれ、Ｄ、Ｈ、およびＳへと変異している（すなわち、Ｌ３０９Ｄ、Ｑ３１１Ｈ、およびＮ４３４Ｓ）。変異したＦｃドメインは、下記の配列を含み得る：

ＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴ
ＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹ
ＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＤＨＨＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩ
ＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ
ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲ
ＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＳＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号１００）

【０１４０】

他の実施形態において、４２８位のＭ残基および４３４位のＮ残基は、それぞれ、ＬおよびＳへと変異している（すなわち、Ｍ４２８ＬおよびＮ４３４Ｓ）。変異したＦｃドメインは、下記の配列を含み得る：

ＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴ
ＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹ
ＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩ
ＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ
ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲ

ＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＬＨＥＡＬＨＳＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号１０１）
【０１４１】
他の実施形態において、２５２位のＭ残基、２５４位のＳ残基、および２５６位のＴ残基は、それぞれ、Ｙ、Ｔ、およびＥへと変異している（すなわち、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、およびＴ２５６Ｅ）。変異したＦｃドメインは、下記の配列を含み得る：
ＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＹＩＴＲＥ
ＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹ
ＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩ
ＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ
ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲ
ＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号１０２）
【０１４２】
他の実施形態において、４３３位のＨ残基および４３４位のＮ残基は、それぞれ、ＫおよびＦへと変異している（すなわち、Ｈ４３３ＫおよびＮ４３４Ｆ）。変異したＦｃドメインは、下記の配列を含み得る：
ＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴ
ＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹ
ＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩ
ＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ
ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲ
ＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＫＦＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ
（配列番号１０３）
【０１４３】
したがって、本発明はまた、Ｎ末端シグナルペプチドおよびＣ末端Ｆｃドメインと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列も提供する。このＦｃは、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、または配列番号１０３のアミノ酸配列を有し得る。このシグナルペプチドは、配列番号７のアミノ酸配列を有し得る。特定の実施形態において、この抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳタンパクのＲＢＤである。
【０１４４】
一部の実施形態において、本発明は、配列番号１０４を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドおよびＣ末端変異Ｆｃドメインと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳタンパクのＲＢＤを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０５の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０５と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１０４のアミノ酸配列をコードする。
【０１４５】
一部の実施形態において、本発明は、配列番号１０６を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドおよびＣ末端変異Ｆｃドメインと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳタンパクのＲＢＤを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０７の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０７と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１０６のアミノ酸配列をコードする。
【０１４６】
一部の実施形態において、本発明は、配列番号１０８を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドおよびＣ末端変異Ｆｃドメインと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－

ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０９の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０９と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１０８のアミノ酸配列をコードする。

【０１４７】

一部の実施形態において、本発明は、配列番号１１０を含むアミノ酸配列を有する、Ｎ末端シグナルペプチドおよびＣ末端変異Ｆｃドメインと作動可能に連結されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＲＢＤを含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を提供する。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１１の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１１と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１１０のアミノ酸配列をコードする。

【０１４８】

コロナウイルスは、小胞体（ＥＲ）－ゴルジ中間区画（ＥＲＧＩＣ）の内腔で集合して出芽する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の細胞質テールは、Ｓタンパク質をゴルジからＥＲへと移動させ得るＥＲ回収シグナル（ＥＲＲＳ）を含む。このプロセスにより、ＥＲＧＩＣにＳタンパク質が蓄積され、これによりウイルス粒子へのＳタンパク質の取り込みが促進されると考えられる。ＳＡＲＳ　ＣｏＶ　Ｓタンパク質中のＥＲ回収シグナルは、細胞質テール中の二塩基性モチーフ（ＫｘＨｘｘ）であり、これは、カノニカルジリシンＥＲ回収シグナル（canonical dilysine ER retrieval signal）と類似している（ＭｃＢｒｉｄｅら（２００７年）Ｊｏｕｒｎａｌ　Ｏｆ　Ｖｉｒｏｌｏｇｙ、８１、５、２４１８～２４２８頁）。

【０１４９】

ＥＲ回収シグナルを変異させることにより、ウイルスがウイルス粒子を形成することを防ぐことができる。任意の特定の理論に拘束されることを望むものではないが、本発明者らは、ワクチンへの含有が意図されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質からＥＲ回収シグナルを除去することが有利であると考える。したがって、一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、ＥＲ回収シグナルを変異させることにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のＫＬＨＹＴ　ＥＲ回収シグナルを、残基１２６８および１２７０をアラニンへと変異させることにより（すなわちＡＬＡＹＴ）除去する。

【０１５０】

一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、残基９８６および９８７をプロリンへと変異させることにより、ならびにＥＲ回収シグナルを除去することにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２５を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２４の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２４と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１２５のアミノ酸配列をコードする。

【０１５１】
一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、残基９８６および９８７をプロリンへと変異させることにより、ならびにＥＲ回収シグナルを除去することにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含む。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２７を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２６の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２６と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１２７のアミノ酸配列をコードする。
【０１５２】
一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、ならびにＥＲ回収シグナルを除去することにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３９を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３８の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３８と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１３９のアミノ酸配列をコードする。
【０１５３】
一部の実施形態において、本発明に係る最適化されたヌクレオチド配列は、融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前の安定化された外部ドメイン、またはいずれかの抗原性断片をコードし得、これらは、活性化に必要なフューリン切断部位を除去することにより、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンへと変異させることにより、ならびにＥＲ回収シグナルを除去することにより、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含む。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４１を含むアミノ酸配列を有する融合前の安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４０の配列を有する。他の実施形態において、この最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４０と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１４１のアミノ酸配列をコードする。
【０１５４】
パラグラフ０および［０１１０］に列挙される変異の特定の組合せは、本明細書において開示されるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のいずれかに導入される。例えば、特定の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、ΔＨ６９、ΔＶ７０、ΔＹ１４４、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、およびＤ１１１８Ｈ変異を含むように、武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化

エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５１を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５０の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５０と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１５１のアミノ酸配列をコードする。

【０１５５】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させることによって武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、ならびに、ΔＨ６９、ΔＶ７０、ΔＹ１４４、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、およびＤ１１１８Ｈ変異（ＵＫバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５３を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５２の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５２と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１５３のアミノ酸配列をコードする。

【０１５６】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、活性化にとって必要なフューリン切断部位を除去することによって武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、ならびに、ΔＨ６９、ΔＶ７０、ΔＹ１４４、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、およびＤ１１１８Ｈ変異（ＵＫバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５５を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５４の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５４と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１５５のアミノ酸配列をコードする。

【０１５７】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させることによって、活性化にとって必要なフューリン切断部位を除去することにより武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、ならびに、ΔＨ６９、ΔＶ７０、ΔＹ１４４、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、およびＤ１１１８Ｈ変異（ＵＫバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５７を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５６の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５６と少なくとも

６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１５７のアミノ酸配列をコードする。

【０１５８】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、残基８１７、８９２、８９９および９４２、９８６、および９８７をプロリンに変異させることによって、活性化にとって必要なフューリン切断部位を除去することにより武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、ならびに、ΔＨ６９、ΔＶ７０、ΔＹ１４４、Ｎ５０１Ｙ、Ａ５７０Ｄ、Ｄ６１４Ｇ、Ｐ６８１Ｈ、Ｔ７１６Ｉ、Ｓ９８２Ａ、およびＤ１１１８Ｈ変異（ＵＫバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５９を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５８の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５８と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１５９のアミノ酸配列をコードする。

【０１５９】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ変異（南アフリカバリアント１＋Ｄ６１４Ｇ）を含むように、武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６１を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６０の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６０と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１６１のアミノ酸配列をコードする。

【０１６０】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させることによって、活性化にとって必要なフューリン切断部位を除去することにより武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、ならびに、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ変異（南アフリカバリアント１＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６３を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６２の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６２と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１６３のアミノ酸配列をコードする。

【０１６１】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、Ｌ１８Ｆ、

Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ変異（南アフリカバリアント２＋Ｄ６１４Ｇ）を含むように武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６５を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６４の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６４と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１６５のアミノ酸配列をコードする。

【０１６２】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させることによって、活性化にとって必要なフューリン切断部位を除去することにより武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、ならびに、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ変異（南アフリカバリアント２＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６７を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードする。

【０１６３】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、Ｌ１８Ｆ、Ｔ２０Ｎ、Ｐ２６Ｓ、Ｄ１３８Ｙ、Ｒ１９０Ｓ、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、Ｈ６５５Ｙ、Ｔ１０２７Ｉ、およびＶ１１７６Ｆ変異（ブラジルバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）を含むように、武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されている、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６９を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６８の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６８と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１６９のアミノ酸配列をコードする。

【０１６４】

一部の実施形態において、本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させることによって、活性化にとって必要なフューリン切断部位を除去することにより武漢由来のインデックス株（配列番号１）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、ならびに、Ｌ１８Ｆ、Ｔ２０Ｎ、Ｐ２６Ｓ、Ｄ１３８Ｙ、Ｒ１９０Ｓ、Ｋ４１７Ｔ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、Ｈ６５５Ｙ、Ｔ１０２７Ｉ、およびＶ１１７６Ｆ変異（ブラジルバリアント＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタ

ンパク質の融合前安定化エクトドメイン、またはそのどちらかの抗原性断片をコードし得る。したがって、ある特定の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７１を含むアミノ酸配列を有する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードし得る。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７０の配列を有する。他の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７０と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であり、配列番号１７１のアミノ酸配列をコードする。

【０１６５】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質および抗原性断片をコードする例示的な最適化されたヌクレオチド配列

本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードし得る。一実施形態において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。一部の実施形態において、当該核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡである。一部の実施形態において、好適なｍＲＮＡ配列は、ヒト細胞での効率的な発現のために最適化された、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードするヌクレオチド配列を含む。本発明に従って最適化されたヌクレオチド配列を生成するためのプロセスによって生産された、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする例示的な最適化されたヌクレオチド配列、およびそれらの対応するアミノ酸配列が、表１に示される。太字の残基は、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて変異されているアミノ酸を示しており、下線が引かれた残基は、シグナルペプチドを表しており、斜体の残基は、Ｆｃ領域またはフォールドンの存在を示している。

【０１６６】

【表２－１】

表 1. 例示的な SARS-CoV-2 S 配列

SARS-CoV-2 S タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 29) ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA

【表２－２】

	GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
SARS-CoV-2 S タンパク質配列	**(配列番号 1)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY

【表２－３】

	QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
SARS-CoV-2 S タンパク質のエクトドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 30)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA

10 20 30 40 50

【表２－４】

	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTGA
SARS-CoV-2 S タンパク質のエクトドメイン	**(配列番号 2)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY

【表２－５】

	AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ
SARS-CoV-2 S タンパク質の **S1** サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 31)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC

【表２－６】

	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTTGA
SARS-CoV-2 S タンパク質の **S1** サブユニット	**(配列番号 3)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP
SARS-CoV-2 S タンパク質のサブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 32)** ATGTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGC CTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCAT CGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGAT CCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCAT GTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCT TCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGA CTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGT GTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTA AGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACC CCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTG TTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCA ATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGA TTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTC TGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTG CTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGG AGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATA GATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAA AACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGG AAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCG GAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTG AACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATC AGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGT GGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGC TGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGA GCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAA

【表２－７】

	GATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACT TTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGC GCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCT GCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCAT GACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTC CAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATG AACCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGA AATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTA CGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAAC TGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGAT CTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATAT CCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACC TCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTAT GAGCAGTGA
SARS-CoV-2 S タンパク質の **S2** サブユニット	**(配列番号 4)** MSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVS MTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVE QDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFI EDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVL PPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAY RFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKL QDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEV QIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLG QSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTT APAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTF VSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDV DLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ
SARS-CoV-2 S タンパク質の全長 **S2** サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 71)** ATGTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGC CTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCAT CGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGAT CCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCAT GTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCT TCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGA CTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGT GTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTA AGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACC CCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTG TTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCA ATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGA TTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTC TGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTG CTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGG AGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATA GATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAA AACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGG AAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCG GAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTG AACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATC AGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGT GGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGC TGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGA GCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAA GATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACT TTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGC GCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCT GCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCAT

【表２－８】

	GACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTC CAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATG AACCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGA AATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTA CGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAAC TGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGAT CTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATAT CCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACC TCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTAT GAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTTGGCTGGGGTTT ATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGACCATCATGCTG TGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGT AGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAGATGATAGCGA GCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTATACCTGA
SARS-CoV-2 S タンパク質の全長 **S2** サブユニット	**(配列番号 72)** MSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVS MTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVE QDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFI EDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVL PPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAY RFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKL QDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEV QIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLG QSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTT APAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTF VSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDV DLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ YIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGS CCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 73)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCC TCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATC GCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGATC CTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATG TATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTT CAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGAC TGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGTG TTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTAA GGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCC CAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTT TAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAAT ATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGATT TGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTG CTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCT GGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAG CAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGA TTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAA CCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAA AGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGA AAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAA CACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAG CTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGG AGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTG CAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGC AGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGA TGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTT

【表２－９】

	TGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGC CCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGC TCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGA CGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCA ATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATGAA CCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGAAAT TGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTACGA CCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGG ATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGATCTC GGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATATCCA GAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCA ATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAG CAGTGA
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニット	**(配列番号 74)** MFVFLVLLPLVSSQCSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIP TNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFC TQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQ ILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA LQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDS LSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDIL SRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTY VPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNF YEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDK YFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLI DLQELGKYEQ
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の全長 **S2** サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 67)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCC TCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATC GCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGATC CTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATG TATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTT CAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGAC TGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGTG TTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTAA GGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCC CAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTT TAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAAT ATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGATT TGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTG CTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCT GGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAG CAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGA TTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAA CCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAA AGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGA AAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAA CACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAG CTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGG AGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTG CAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGC AGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGA TGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTT TGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGC CCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGC

【表２－１０】

	TCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGA CGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCA ATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATGAA CCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGAAAT TGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTACGA CCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGG ATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGATCTC GGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATATCCA GAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCA ATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAG CAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATC GCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGACCATCATGCTGTGT TGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGT TGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAGATGATAGCGAGCC CGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTATACCTGA
シグナル配列を有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質の全長**S2**サブユニット	**(配列番号 68)** MFVFLVLLPLVSSQCSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIP TNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFC TQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQ ILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA LQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDS LSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDIL SRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTY VPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNF YEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDK YFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLI DLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCC SCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
SARS-CoV-2 Sタンパク質の**S2'**サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 33)** ATGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT

【表２－１１】

	TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTAA
SARS-CoV-2 S タンパク質の **S2'**サブユニット	**(**配列番号 **5)** MSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGL TVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQ MAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASAL GKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVE AEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSEC VLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKN FTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTD NTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSP DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKY EQ
SARS-CoV-2 S タンパク質の全長 **S2'**サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(**配列番号 **97)** ATGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
SARS-CoV-2 S タンパク質の全長 **S2'**サブユニット	**(**配列番号 **98)** MSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGL TVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQ MAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASAL GKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVE AEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSEC VLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKN FTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTD

【表２－１２】

	NTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSP DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKY EQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSC GSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質 の **S2'**サブユニットをコー ドする最適化されたヌクレ オチド配列	**(**配列番号 **65)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCC ATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTAA
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質 の **S2'**サブユニット	**(**配列番号 **66)** MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTF GAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAI GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS SVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIR ASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFK EELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLG DIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGW TFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNS AIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAI SSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEI RASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGV VFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWF VTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSF KEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKN LNESLIDLQELGKYEQ
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質	**(**配列番号 **95)**

【表２－１３】

の全長 S2'サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCC ATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
シグナル配列を有する SARS-CoV-2 S タンパク質の全長 S2'サブユニット	**(配列番号 96)** MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTF GAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAI GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS SVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIR ASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFK EELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCM TSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
SARS-CoV-2 S タンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 34)** ATGCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTC AACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAA GAGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAA CAGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCC GACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCG ACTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCA CCAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCT GCCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAA ACAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTG

【表２－１４】

	TATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAG GGACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTT GCAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGT CTTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCAT ACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAT AA
SARS-CoV-2 S タンパク質の受容体結合ドメイン	**(配列番号 6)** MPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNS ASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQT GKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFR KSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTN GVGYQPYRVVVLSFELLHAP
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 35)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCA ACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAG AGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAAC AGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCG ACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGA CTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCAC CAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTG CCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAA CAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGT ATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGG GACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTG CAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTC TTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATA CAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCATA A
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の受容体結合ドメイン	**(配列番号 8)** MFVFLVLLPLVSSQCPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVI RGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKV GGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP
フューリン切断部位を除去するように変異させた **SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 42)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT

【表２－１５】

	GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT TCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGATTG ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC

【表２－１６】

	AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように変異させた **SARS-CoV-2 S** タンパク質	**(**配列番号 **9)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
プロリンへ変異させた残基 **986** および **987** を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(**配列番号 **43)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC

【表２－１７】

	TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT
	GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA
	CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG
	GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC
	AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC
	CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG
	CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA
	CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG
	ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC
	TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT
	GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT
	GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG
	AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT
	CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT
	CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG
	GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA
	ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT
	TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG
	AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG
	ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA
	CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC
	TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA
	CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT
	CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA
	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC
	GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC
	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC
	GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC
	GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT
	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA
	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA
	CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA
	GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG
	GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG
	GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC
	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG
	TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA
	TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG
	CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC
	TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC
	AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA
	GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT
	TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA
	CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT
	CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT
	GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG
	CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC
	AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA
	ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA
	GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG
	GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG
	CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA
	ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG
	ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC
	ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC
	CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC
	GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC

【表２－１８】

	TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
プロリンへ変異させた残基**986**および**987**を有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号10)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT

【表２－１９】

フューリン切断部位を除去し、残基 **986** および **987** をプロリンで置き換えるように変異させた **SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 44)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC

10 20 30 40 50

【表２－２０】

	AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT TCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTG ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号11)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI

【表２－２１】

	KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質のエクトドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号45)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC

【表２－２２】

	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT TCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTG ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTGA
プロリンに変異させ、**D614G** 変異を含むように変異させた残基 **986** および **987** を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質	**(配列番号 118)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR

【表２－２３】

	DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
プロリンに変異させ、**D614G** 変異*を含むように変異させた残基 **986** および **987** を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列 *下線を引かれた残基は **D614G** 変異の位置に対応する	**(配列番号 119)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT

【表２－２４】

	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGGCGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換え、	**(配列番号120)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN

【表２－２５】

D614G 変異を含むように変異させた **SARS-CoV-2 S** タンパク質	DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
フューリン切断部位を除去し、残基 **986** および **987** をプロリンで置き換え、**D614G** 変異*を含むように変異させた **SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列 *下線を引かれた残基は **D614G** 変異の位置に対応する	**(配列番号 121)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG

【表２－２６】

	AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG
	ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA
	CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC
	TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA
	CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT
	CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA
	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC
	GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC
	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC
	GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC
	GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT
	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA
	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA
	CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA
	GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG
	GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG
	GTTGCCGTCCTGTATCAGGGCGTCAATTGCACAGAAGTGCC
	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG
	TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA
	TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG
	CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC
	TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA
	GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG
	CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT
	CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC
	TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC
	TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG
	CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC
	AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA
	GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA
	TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG
	GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC
	AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG
	ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT
	GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT
	CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT
	CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA
	TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC
	ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA
	CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA
	GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC
	AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT
	GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT
	TCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTG
	ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC
	GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC
	CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG
	GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC
	CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT
	CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC
	AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC
	ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG
	TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT
	GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG
	CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC
	TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC
	CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT

【表２－２７】

	TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質のエクトドメイン	**(配列番号12)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ
フォールドンを有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質のエクトドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号46)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG

【表２－２８】

	ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC
	TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT
	GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT
	GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG
	AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT
	CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT
	CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG
	GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA
	ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT
	TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG
	AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG
	ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA
	CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC
	TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA
	CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT
	CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA
	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC
	GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC
	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC
	GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC
	GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT
	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA
	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA
	CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA
	GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG
	GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG
	GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC
	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG
	TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA
	TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG
	CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC
	TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC
	AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA
	GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT
	TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA
	CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT
	CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT
	GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG
	CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC
	AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA
	ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA
	GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG
	GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG
	CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA
	ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG
	ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC
	ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC
	CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC
	GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC
	TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT
	CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG
	TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG
	CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC
	ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT
	TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT
	ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA
	TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT

【表２－２９】

	GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGGGGTACATTCCCGA GGCTCCTAGGGACGGCCAGGCATACGTGCGCAAAGACGGCG AGTGGGTGCTGCTGTCCACATTCCTGTAA
フォールドンを有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質のエクトドメイン	**(配列番号 14)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ*GYIPEAPRDGQAYVRK* *DGEWVLLSTFL*
フォールドンおよびシグナル配列を有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質の**S2'**サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 47)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCC ATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG

【表２－３０】

	TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGGGGTACATTCCCGA GGCTCCTAGGGACGGCCAGGCATACGTGCGCAAAGACGGCG AGTGGGTGCTGCTGTCCACATTCCTGTAA
フォールドンおよびシグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2'**サブユニット	**(**配列番号 **15)** MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTF GAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAI GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS SVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIR ASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFK EELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQ*GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL*
残基 **986** および **987** をプロリンに変異させることによって改変されている、フォールドを有する、**SARS-CoV-2 S** タンパク質のエクトドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(**配列番号 **48)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT

【表２－３１】

	CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG
	GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA
	ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT
	TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG
	AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG
	ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA
	CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC
	TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA
	CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT
	CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA
	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC
	GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC
	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC
	GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC
	GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT
	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA
	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA
	CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA
	GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG
	GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG
	GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC
	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG
	TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA
	TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG
	CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC
	TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC
	AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA
	GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT
	TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA
	CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT
	CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT
	GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG
	CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC
	AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA
	ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA
	GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG
	GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG
	CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA
	ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG
	ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC
	ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC
	CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC
	GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC
	TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT
	CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG
	TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG
	CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC
	ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT
	TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT
	ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA
	TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT
	GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC
	ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT
	TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA
	CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC
	CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC
	GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC

【表２－３２】

	TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGGGGTACATTCCCGA GGCTCCTAGGGACGGCCAGGCATACGTGCGCAAAGACGGCG AGTGGGTGCTGCTGTCCACATTCCTGTAA
残基**986**および**987**をプロリンに変異させることによって改変されている、フォールドを有する、**SARS-CoV-2 S**タンパク質のエクトドメイン	**(配列番号16)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ*GYIPEAPRDGQAYVRK* *DGEWVLLSTFL*
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように改変されている、**C**末端フォールドンを有する、**SARS-CoV-2 S**タンパク質のエクトドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号49)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA

【表２－３３】

	CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT TCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTG ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC

【表２－３４】

	CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGGGGTACATTCCCGA GGCTCCTAGGGACGGCCAGGCATACGTGCGCAAAGACGGCG AGTGGGTGCTGCTGTCCACATTCCTGTAA
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように改変されている、**C**末端フォールドンを有する、**SARS-CoV-2 S**タンパク質のエクトドメイン	**(配列番号17)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSASS**VASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQ*GYIPEAPRDGQAYVRK* *DGEWVLLSTFL*
Fc領域を有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号50)** ATGCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTC AACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAA GAGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAA CAGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCC GACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCG ACTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCA CCAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCT GCCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAA ACAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTG TATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAG

【表２－３５】

	GGACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTT GCAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGT CTTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCAT ACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAC CTAAGTCCTGCGACAAAACCCATACATGTCCACCATGCCCA GCTCCTGAACTGCTCGGCGGGCCTAGTGTTTTCCTCTTCCCT CCTAAGCCCAAGGATACCCTCATGATCTCTCGCACACCAGA AGTGACCTGCGTGGTCGTGGATGTCTCTCACGAGGATCCTG AAGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGACGGAGTGGAAGTGCAC AACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAGAACAATACAATTCTA CTTATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATT GGCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAAGGTCTCTAACAAG GCCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAATTTCCAAGGCCAA GGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACACACTGCCCCCAT CCAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTCTCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCTGTGGAGTG GGAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAGACCACAC CACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGTATTCTA AACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTG TTTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGCACAATCACTAT ACACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA
Fc 領域を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の受容体結合ドメイン	(配列番号 **19**) MNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSA SFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTG KIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRK SNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNG VGYQPYRVVVLSFELLHAP*PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
シグナル配列および **Fc** 領域を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 **36**) ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCA ACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAG AGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAAC AGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCG ACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGA CTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCAC CAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTG CCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAA CAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGT ATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGG GACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTG CAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTC TTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATA CAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCACC TAAGTCCTGCGACAAAACCCATACATGTCCACCATGCCCAG CTCCTGAACTGCTCGGCGGGCCTAGTGTTTTCCTCTTCCCTC CTAAGCCCAAGGATACCCTCATGATCTCTCGCACACCAGAA GTGACCTGCGTGGTCGTGGATGTCTCTCACGAGGATCCTGA AGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGACGGAGTGGAAGTGCACA ACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAGAACAATACAATTCTACT TATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTG GCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAAGGTCTCTAACAAGG CCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAATTTCCAAGGCCAAG

【表２－３６】

	GGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACACACTGCCCCCATC CAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTCTCTGACATGCC TGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCTGTGGAGTGG GAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAGACCACACC ACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGTATTCTAA ACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTGT TTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGCACAATCACTATA CACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA
シグナル配列および Fc 領域を有する SARS-CoV-2 S タンパク質の受容体結合ドメイン	(配列番号 20) MFVFLVLLPLVSSQCPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVI RGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKV GGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP*PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
残基 986 および 987 を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列を有する SARS-CoV-2 S タンパク質の S2 サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 69) ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCC TCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATC GCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGATC CTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATG TATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTT CAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGAC TGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGTG TTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTAA GGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCC CAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTT TAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAAT ATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGATT TGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTG CTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCT GGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAG CAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGA TTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAA CCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAA AGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGA AAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAA CACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAG CTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGA GGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGC AGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCA GCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGAT GAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTT GTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCC CCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCT CAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGA CGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCA ATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATGAA CCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGAAAT TGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTACGA CCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGG ATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGATCTC GGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATATCCA

【表２－３７】

	GAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCA ATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAG CAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATC GCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGACCATCATGCTGTGT TGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGT TGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAGATGATAGCGAGCC CGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTATACCTGA
残基 **986** および **987** を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニット	**(配列番号 70)** MFVFLVLLPLVSSQCSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIP TNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFC TQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQ ILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA LQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDS LSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDIL SRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTY VPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNF YEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDK YFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLI DLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCC SCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
シグナル配列およびフォールドンを有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニットのエクトドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 75)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCC TCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATC GCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGATC CTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATG TATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTT CAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGAC TGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGTG TTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTAA GGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCC CAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTT TAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAAT ATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGATT TGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTG CTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCT GGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAG CAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGA TTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAA CCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAA AGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGA AAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAA CACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAG CTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGG AGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTG CAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGC AGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGA TGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTT TGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGC CCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGC TCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGA CGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCA ATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATGAA CCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGAAAT TGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTACGA

【表２－３８】

	CCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGG ATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGATCTC GGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATATCCA GAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCA ATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAG CAGGGGTACATTCCCGAGGCTCCTAGGGACGGCCAGGCATA CGTGCGCAAAGACGGCGAGTGGGTGCTGCTGTCCACATTCC TGTGA
シグナル配列およびフォールドンを有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニット	**(配列番号 76)** MFVFLVLLPLVSSQCSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIP TNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFC TQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQ ILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA LQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDS LSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDIL SRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTY VPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNF YEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDK YFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLI DLQELGKYEQ*GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL*
残基 **986** および **987** を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 77)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCC TCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATC GCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGATC CTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATG TATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTT CAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGAC TGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGTG TTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTAA GGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCC CAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTT TAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAAT ATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGATT TGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTG CTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCT GGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAG CAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGA TTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAA CCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAA AGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGA AAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAA CACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAG CTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGA GGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGC AGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCA GCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGAT GAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTT GTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCC CCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCT CAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGA CGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCA ATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATGAA CCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGAAAT TGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTACGA

【表２－３９】

	CCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGG ATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGATCTC GGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATATCCA GAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCA ATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAG CAGTGA
残基 **986** および **987** を除去するようにプロリンで改変されている **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニット	**(配列番号 78)** MFVFLVLLPLVSSQCSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIP TNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFC TQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQ ILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA LQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDS LSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDIL SRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTY VPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNF YEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDK YFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLI DLQELGKYEQ
残基 **986** および **987** を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列およびフォールドンを有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の **S2** サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 79)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCC TCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATC GCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGACCACCGAGATC CTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATG TATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTT CAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGAC TGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACACAGGAGGTG TTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCTCCTATTAA GGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCC CAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTT TAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAAT ATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAGACCTGATT TGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTG CTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCT GGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAG CAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGA TTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAA CCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAA AGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGA AAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAA CACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAG CTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGA GGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGC AGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCA GCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGAT GAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTT GTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCC CCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCT CAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGA CGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCA ATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTCTATGAA CCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCTGGAAAT TGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGTGTACGA CCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGG ATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTGGATCTC

【表２－４０】

	GGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAATATCCA GAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCA ATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAG CAGGGGTACATTCCCGAGGCTCCTAGGGACGGCCAGGCATA CGTGCGCAAAGACGGCGAGTGGGTGCTGCTGTCCACATTCC TGTGA
残基**986**および**987**を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列およびフォールドンを有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質の**S2**サブユニット	**(配列番号80)**_ MFVFLVLLPLVSSQCSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIP TNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFC TQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQ ILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDL ICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAA LQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDS LSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDIL SRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTY VPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNF YEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDK YFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLI DLQELGKYEQ*GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL*
残基**986**および**987**を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列を有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質の**S2'**サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号81)**_ ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCC ATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTGA
残基**986**および**987**を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列を有する**SARS-CoV-2 S**タ	**(配列番号82)**_ MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTF GAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAI GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS SVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIR

【表２－４１】

ンパク質の S2'サブユニット	ASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFK EELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQ
残基 986 および 987 を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列およびフォールドンを有する SARS-CoV-2 S タンパク質の S2'サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 83)_ ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCC ATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGGGGTACATTCCCGA GGCTCCTAGGGACGGCCAGGCATACGTGCGCAAAGACGGCG AGTGGGTGCTGCTGTCCACATTCCTGTGA
残基 986 および 987 を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列およびフォールドンを有する SARS-CoV-2 S タンパク質の S2'サブユニット	(配列番号 84)_ MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTF GAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAI GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS SVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIR ASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFK EELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQ*GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL*
残基 986 および 987 を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列を有する SARS-CoV-2 S タンパク質の全長 S2'サブユニットをコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 85)_ ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCC

【表２－４２】

	ATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
残基 **986** および **987** を除去するようにプロリンで改変されている、シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S** タンパク質の全長 **S2'**サブユニット	**(配列番号 86)**_ MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTF GAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAI GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS SVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIR ASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFK EELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCM TSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
残基 **985** を除去するようにプロリンで改変されている **SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 87)**_ ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG

【表２－４３】

	CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA
	CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG
	ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC
	TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT
	GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT
	GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG
	AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT
	CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT
	CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG
	GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA
	ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT
	TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG
	AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG
	ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA
	CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC
	TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA
	CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT
	CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA
	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC
	GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC
	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC
	GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC
	GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT
	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA
	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA
	CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA
	GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG
	GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG
	GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC
	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG
	TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA
	TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG
	CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC
	TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC
	AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA
	GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT
	TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA
	CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT
	CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT
	GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG
	CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC
	AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA
	ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA
	GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG
	GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG
	CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA
	ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG
	ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC
	ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC
	CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC
	GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC
	TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT
	CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG
	TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG
	CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC
	ATTCTGAGCCGCCTGCCCAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT
	TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT

【表２－４４】

	ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
残基 **985** を除去するようにプロリンで改変されている **SARS-CoV-2 S** タンパク質	**(配列番号 88)**_ MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRL**P**KVEAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
フューリン切断部位を除去し、残基 **985** をプロリンで置き換えるように改変されている **SARS-CoV-2 S** タン	**(配列番号 89)**_ ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT

【表２－４５】

パク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT

【表２－４６】

	GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT TCTGAGCCGCCTGCCCAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGATTG ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**985**をプロリンで置き換えるように改変されている**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号90)**_ MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRL**P**KVEAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE

【表２－４７】

	GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
残基**985**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように改変されている**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号91)_** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA

【表２－４８】

	GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGCCTCCACCCGAGGCTGAAGTCCAGATT GACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATA CGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCAT CCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTG GGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCA CCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTT TCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
残基 985、986、および 987 をプロリンで置き換えるように改変されている SARS-CoV-2 S タンパク質	(配列番号 92)_ MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY

【表２－４９】

	QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRL**PPP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
フューリン切断部位を除去し、残基**985**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように改変されている**SARS-CoV-2 S**タンパク質配列をコードする最適化されたヌクレオチド	**(配列番号93)_** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA

【表２－５０】

	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT TCTGAGCCGCCTGCCTCCACCCGAGGCTGAAGTCCAGATTG ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**985**、**986**、および**987**をプロリンで置き換え	**(配列番号94)**_ MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE

【表２－５１】

るように改変されている **SARS-CoV-2 S** タンパク質	FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRL**PPP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
シグナル配列を有する **SARS-CoV-2 S2'**サブユニットタンパク質配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 95)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCC ATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT

【表２－５２】

	CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
シグナル配列を有する**SARS-CoV-2**タンパク質の全長**SARS-CoV-2 S2'**サブユニット	**(配列番号96)** MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTF GAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAI GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAIS SVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIR ASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVV FLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFV TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFK EELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCM TSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT
シグナル配列および変異した**Fc**領域を有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列 **(L309D/Q311H/N434S)**	**(配列番号105)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCA ACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAG AGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAAC AGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCG ACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGA CTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCAC CAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTG CCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAA CAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGT ATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGG GACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTG CAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTC TTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATA CAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCACC TAAGTCCTGCGACAAAACCCATACATGTCCACCATGCCCAG CTCCTGAACTGCTCGGCGGGCCTAGTGTTTTCCTCTTCCCTC CTAAGCCCAAGGATACCCTCATGATCTCTCGCACACCAGAA GTGACCTGCGTGGTCGTGGATGTCTCTCACGAGGATCCTGA AGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGACGGAGTGGAAGTGCACA ACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAGAACAATACAATTCTACT TATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGGATCACCATGATTG GCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAAGGTCTCTAACAAGG CCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAATTTCCAAGGCCAAG GGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACACACTGCCCCCATC CAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTCTCTGACATGCC TGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCTGTGGAGTGG GAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAGACCACACC ACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGTATTCTAA ACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTGT TTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGCACTCTCACTATA CACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA
シグナル配列および変異した**Fc**領域を有する**SARS-CoV-2 S**タンパク質の受容体結合ドメイン **(L309D/Q311H/N434S)**	**(配列番号104)** MFVFLVLLPLVSSQCPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVI RGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKV GGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP*PKSCDKTHTCPP*

【表２－５３】

	*CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV**D**H**H**DWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH**S**HYTQKSLSLSPGK*
シグナル配列および変異した Fc 領域を有する SARS-CoV-2 S タンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列 **(M428L/N434S)**	**(配列番号 107)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCA ACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAG AGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAAC AGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCG ACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGA CTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCAC CAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTG CCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAA CAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGT ATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGG GACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTG CAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTC TTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATA CAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCACC TAAGTCCTGCGACAAAACCCATACATGTCCACCATGCCCAG CTCCTGAACTGCTCGGCGGGCCTAGTGTTTTCCTCTTCCCTC CTAAGCCCAAGGATACCCTCTATATCACTCGCGAACCAGAA GTGACCTGCGTGGTCGTGGATGTCTCTCACGAGGATCCTGA AGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGACGGAGTGGAAGTGCACA ACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAGAACAATACAATTCTACT TATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTG GCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAAGGTCTCTAACAAGG CCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAATTTCCAAGGCCAAG GGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACACACTGCCCCCATC CAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTCTCTGACATGCC TGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCTGTGGAGTGG GAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAGACCACACC ACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGTATTCTAA ACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTGT TTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGCACAATCACTATA CACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA
シグナル配列および変異した Fc 領域を有する SARS-CoV-2 S タンパク質の受容体結合ドメイン **(M428L/N434S)**	**(配列番号 106)** MFVFLVLLPLVSSQCPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVI RGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKV GGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP*PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSV**L**HEALH**S**HYTQKSLSLSPGK*
シグナル配列および変異した Fc 領域を有する SARS-CoV-2 S タンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列 **(M252Y/S254T/T256E)**	**(配列番号 109)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCA ACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAG AGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAAC AGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCG ACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGA CTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCAC

【表２－５４】

	CAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTG CCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAA CAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGT ATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGG GACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTG CAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTC TTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATA CAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCACC TAAGTCCTGCGACAAAACCCATACATGTCCACCATGCCCAG CTCCTGAACTGCTCGGCGGGCCTAGTGTTTTCCTCTTCCCTC CTAAGCCCAAGGATACCCTCTATATCACTCGCGAACCAGAA GTGACCTGCGTGGTCGTGGATGTCTCTCACGAGGATCCTGA AGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGACGGAGTGGAAGTGCACA ACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAGAACAATACAATTCTACT TATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTG GCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAAGGTCTCTAACAAGG CCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAATTTCCAAGGCCAAG GGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACACACTGCCCCCATC CAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTCTCTGACATGCC TGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCTGTGGAGTGG GAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAGACCACACC ACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGTATTCTAA ACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTGT TTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGCACAATCACTATA CACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA
シグナル配列および変異したFc領域を有するSARS-CoV-2 Sタンパク質の受容体結合ドメイン **(M252Y/S254T/T256E)**	**(配列番号108)** MFVFLVLLPLVSSQCPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVI RGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKV GGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP*PKSCDKTHTCPP* *CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL**YI**T**R**EPEVTCVVVDVSHEDPEVK* *FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY* *KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT* *CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV* *DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
シグナル配列および変異したFc領域を有するSARS-CoV-2 Sタンパク質の受容体結合ドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列 **(H433K/N434F)**	**(配列番号111)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTCCTAATATCACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCA ACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAG AGGATCTCTAACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAAC AGCGCCTCCTTCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCG ACAAAACTGAACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGA CTCTTTTGTGATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCAC CAGGACAGACAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTG CCTGACGACTTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAA CAATCTGGACTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGT ATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGG GACATCAGTACAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTG CAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTC TTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATA CAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCACC TAAGTCCTGCGACAAAACCCATACATGTCCACCATGCCCAG CTCCTGAACTGCTCGGCGGGCCTAGTGTTTTCCTCTTCCCTC CTAAGCCCAAGGATACCCTCATGATCTCTCGCACACCAGAA GTGACCTGCGTGGTCGTGGATGTCTCTCACGAGGATCCTGA AGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGACGGAGTGGAAGTGCACA

【表２－５５】

	ACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAGAACAATACAATTCTACT TATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTG GCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAAGGTCTCTAACAAGG CCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAATTTCCAAGGCCAAG GGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACACACTGCCCCCATC CAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTCTCTGACATGCC TGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCTGTGGAGTGG GAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAGACCACACC ACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGTATTCTAA ACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTGT TTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGAAATTTCACTATA CACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA
シグナル配列および変異したFc領域を有するSARS-CoV-2 Sタンパク質の受容体結合ドメイン **(H433K/N434F)**	**(配列番号110)** MFVFLVLLPLVSSQCPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVI RGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKV GGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP*PKSCDKTHTCPP* *CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK* *FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY* *KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT* *CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV* *DKSRWQQGNVFSCSVMHEAL**KF**HYTQKSLSLSPGK*
フューリン切断部位を除去するように、残基986および987をプロリンで置き換えるように変異され、伸長されたシグナル配列を含む、SARS-CoV-2 Sタンパク質	**(配列番号122)** ATGTTCCTGCTGACAACAAAAAGAACCATGTTTGTGTTCCTG GTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCTCACAGTGTGTCAACCTGACA ACAAGAACTCAGCTGCCACCAGCCTACACCAACTCCTTCAC CAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGTGTTTAGAAGCAGCG TGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCTGCCCTTTTTCAGCA ACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGTGTCCGGCACTAATG GCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTTCAACGAT GGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATATCATTAGG GGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGACCCAGAG CCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTCATTAAGG TTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTGGGCGTGT ATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGAGTTT AGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTACGTG AGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAGGAAA CTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATCGACG GCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAACCTCG TGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGCCACTG GTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTCAGACC CTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGAGACTC CTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTATGTGG GCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAATGAG AACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCGACCC CCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACCGTCG AGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCAGCCC ACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCTGTGT CCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTG TATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCGCCGA CTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACATTCAA ATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTCTGCT TTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGGGACG AGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGATTGCT GACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGATGTGT GATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTCGGGG

【表２－５６】

	GCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACC TGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTATCAG GCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGT TATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGA GTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGA GCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGAAGT CCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAACTTT AACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAACAA GAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTGCCGA CACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAAATTC TGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGTGATC ACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCCTGTA TCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATCCACG CAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCACCGGA TCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGGGGCC GAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCATTGG CGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACTCTCC TGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTAT ACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAA TAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGAC CACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGA TTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAA CCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAG AGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACAC AGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCT CCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTG CCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGA TCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTAT TAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAG ACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGC CACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGC GCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGG GGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGG CCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTG TACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGC AATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTG CACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAG GCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGC GCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGAT CCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGG CCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGA TCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCA ACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGT GGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCA GAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGT CCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTG CCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTG TGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTC TATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCT GGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGT GTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGG AACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTG GATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAA TATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGA ACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAG TATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTTGGCTGGG GTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGACCATCAT

【表２－５７】

	GCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGAAGGGCTG CTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAGATGATAG CGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、伸長されたシグナル配列を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号123)** MFLLTTKRTMFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPD KVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVL PFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIK VCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYV SQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRD LPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTA GAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTL KSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFA SVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLC FTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIA WNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGST PCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP ATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQ FGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVA VLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIG AEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTM SLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYIC GDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVK QIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAG FIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSA LLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
フューリン切断部位を除去するように、残基**986**および**987**をプロリンで置き換え、**ER**回収シグナルを変異させるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号124)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG

【表２－５８】

	AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT
	CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT
	CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG
	GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA
	ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT
	TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG
	AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG
	ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA
	CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC
	TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA
	CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT
	CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA
	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC
	GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC
	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC
	GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC
	GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT
	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA
	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA
	CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA
	GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG
	GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG
	GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC
	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG
	TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA
	TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG
	CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC
	TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA
	GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG
	CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT
	CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC
	TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC
	TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG
	CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC
	AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA
	GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA
	TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG
	GAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGC
	AGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCG
	ACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAAT
	GGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGAT
	CGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACAT
	CAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCA
	TTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTC
	ACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAA
	CCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCA
	GCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC
	AACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCT
	GTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACAT
	TCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTG
	ACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATAC
	GTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATC
	CGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGG
	GCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCAC
	CTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTT
	CTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC
	AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC

【表２－５９】

	ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGG CCCTGGCTTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように、残基**986**および**987**をプロリンで置き換え、**ER**回収シグナルを変異させるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号125)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSASS**VASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VA**LA**YT
フューリン切断部位を除去するように、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように、**ER**回収シグナルを変異させるように変異され、伸長されたシグナル配列を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号126)** ATGTTCCTGCTGACAACAAAAAGAACCATGTTTGTGTTCCTG GTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCTCACAGTGTGTCAACCTGACA ACAAGAACTCAGCTGCCACCAGCCTACACCAACTCCTTCAC CAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGTGTTTAGAAGCAGCG TGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCTGCCCTTTTTCAGCA ACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGTGTCCGGCACTAATG GCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTTCAACGAT GGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATATCATTAGG GGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGACCCAGAG CCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTCATTAAGG TTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTGGGCGTGT

【表２－６０】

	ATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGAGTTT AGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTACGTG AGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAGGAAA CTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATCGACG GCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAACCTCG TGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGCCACTG GTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTCAGACC CTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGAGACTC CTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTATGTGG GCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAATGAG AACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCGACCC CCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACCGTCG AGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCAGCCC ACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCTGTGT CCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTG TATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCGCCGA CTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACATTCAA ATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTCTGCT TTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGGGACG AGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGATTGCT GACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGATGTGT GATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTCGGGG GCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACC TGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTATCAG GCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGT TATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGA GTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGA GCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGAAGT CCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAACTTT AACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAACAA GAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTGCCGA CACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAAATTC TGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGTGATC ACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCCTGTA TCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATCCACG CAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCACCGGA TCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGGGGCC GAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCATTGG CGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACTCTCC TGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTAT ACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAA TAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGAC CACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGA TTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAA CCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAG AGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACAC AGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCT CCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTG CCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCATCGAGGA TCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTAT TAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAG ACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGC CACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGC GCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGG GGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATGCAGATGG CCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTG TACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGC

【表２－６１】

	AATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCGCCTCTG CACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAG GCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGC GCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGAT CCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGG CCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGA TCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCA ACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGT GGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCA GAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGT CCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTG CCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTG TGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTC TATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCT GGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGT GTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGG AACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTG GATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAA TATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGA ACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAG TATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTTGGCTGGG GTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGACCATCAT GCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGAAGGGCTG CTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAGATGATAG CGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGGCCCTGGCTTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように、**ER**回収シグナルを変異させるように変異され、伸長されたシグナル配列を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号127)** MFLLTTKRTMFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPD KVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVL PFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIK VCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYV SQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRD LPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTA GAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTL KSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFA SVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLC FTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIA WNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGST PCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAP ATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQ FGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVA VLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIG AEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSASS**VASQSIIAYTM SLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYIC GDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVK QIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAG FIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSA LLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN QKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTL VKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTY VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHL MSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPRE GVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQ KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAG LIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VALAYT

【表２－６２】

残基817、892、899、942、986、および987をプロリンで置き換えるように変異させたSARS-CoV-2 Sタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号128) ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG

10 20 30 40 50

【表２－６３】

	CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA GGAGCCCTATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGACCAGCACTGCAGATTC CATTCCCTATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCCCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号129)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRS**P**IEDLLFNKVTLADAGFI

【表２－６４】

	KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAG**P**ALQIPF**P**MQMAYRFNGIGVTQNVLYENQ KLIANQFNSAIGKIQDSLSST**P**SALGKLQDVVNQNAQALNTLV KQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREG VFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTV YDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQK EIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLI AIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV KLHYT
フューリン切断部位を除去し、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号130)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC

【表２－６５】

	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCCCTATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGACCAGCACTGCAGATTCC ATTCCCTATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGT CACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTA ACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTC AGCTCAACCCCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGT CAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGC TGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACA TTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATT GACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATA CGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCAT CCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTG GGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCA CCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTT TCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号131)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY

【表２－６６】

	AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRS**P**IEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAG**P**ALQIPF**P**MQMAYRFNGIGVTQNVLYENQ KLIANQFNSAIGKIQDSLSST**P**SALGKLQDVVNQNAQALNTLV KQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREG VFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTV YDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQK EIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLI AIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV KLHYT
残基 817、892、899、942、986、および 987 をプロリンで置き換えるように変異され、D614G 変異を含む、SARS-CoV-2 S タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 132)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA

【表２－６７】

	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGGCGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTC AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA GGAGCCCTATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGACCAGCACTGCAGATTC CATTCCCTATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCG TCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCT AACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCCCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA

10

20

30

40

50

【表２－６８】

	ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**D614G**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号133)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSPIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAGPALQIPFPMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQ KLIANQFNSAIGKIQDSLSSTPSALGKLQDVVNQNAQALNTLV KQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREG VFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTV YDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQK EIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLI AIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV KLHYT
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**D614G**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号134)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT

【表２－６９】

	CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT
	CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG
	GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA
	ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT
	TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG
	AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG
	ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA
	CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC
	TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA
	CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT
	CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA
	CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC
	GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC
	AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC
	GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC
	GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT
	CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA
	CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA
	CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA
	GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG
	GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG
	GTTGCCGTCCTGTATCAGGGCGTCAATTGCACAGAAGTGCC
	AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG
	TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA
	TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG
	CGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC
	TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA
	GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG
	CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT
	CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC
	TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC
	TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG
	CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC
	AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA
	GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA
	TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG
	GAGCCCTATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG
	CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC
	GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA
	TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA
	TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA
	TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGACCAGCACTGCAGATTCC
	ATTCCCTATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGT
	CACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTA
	ACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTC
	AGCTCAACCCCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGT
	CAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGC
	TGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACA
	TTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATT
	GACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATA
	CGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCAT
	CCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTG
	GGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCA
	CCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTT
	TCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC
	AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC
	ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG

【表２－７０】

	TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGA AGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**D614G**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号135)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRS**P**IEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL LAGTITSGWTFGAG**P**ALQIPF**P**MQMAYRFNGIGVTQNVLYENQ KLIANQFNSAIGKIQDSLSST**P**SALGKLQDVVNQNAQALNTLV KQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREG VFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTV YDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQK EIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLI AIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV KLHYT
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、伸長されたシグナル配列を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号136)** ATGTTCCTGCTGACAACAAAAAGAACCATGTTTGTGTTCCTG GTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCTCACAGTGTGTCAACCTGACA ACAAGAACTCAGCTGCCACCAGCCTACACCAACTCCTTCAC CAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGTGTTTAGAAGCAGCG TGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCTGCCCTTTTTCAGCA ACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGTGTCCGGCACTAATG GCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTTCAACGAT GGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATATCATTAGG GGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGACCCAGAG CCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTCATTAAGG TTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTGGGCGTGT ATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGAGTTT

【表２－７１】

	AGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTACGTG AGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAGGAAA CTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATCGACG GCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAACCTCG TGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGCCACTG GTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTCAGACC CTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGAGACTC CTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTATGTGG GCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAATGAG AACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCGACCC CCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACCGTCG AGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCAGCCC ACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCTGTGT CCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTG TATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCGCCGA CTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACATTCAA ATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTCTGCT TTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGGGACG AGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGATTGCT GACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGATGTGT GATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTCGGGG GCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACC TGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTATCAG GCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGT TATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGA GTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGA GCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGAAGT CCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAACTTT AACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAACAA GAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTGCCGA CACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAAATTC TGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGTGATC ACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCCTGTA TCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATCCACG CAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCACCGGA TCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGGGGCC GAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCATTGG CGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACTCTCC TGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTAT ACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAA TAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGAC CACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGA TTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAA CCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAG AGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACAC AGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCT CCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTG CCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCCCTATCGAGGA TCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTAT TAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAG ACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGC CACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGC GCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGG GGCCGGACCAGCACTGCAGATTCCATTCCCTATGCAGATGG CCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTG TACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGC AATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCCCCTCTG

【表２－７２】

	CACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAG GCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGC GCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGAT CCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGG CCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGA TCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCA ACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGT GGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCA GAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGT CCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTG CCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTG TGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTC TATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCT GGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGT GTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGG AACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTG GATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAA TATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGA ACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAG TATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTTGGCTGGG GTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGACCATCAT GCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGAAGGGCTG CTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAGATGATAG CGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、伸長されたシグナル配列を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号137)** MFLLTTKRTMFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRG VYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRF DNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNAT NVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNC TFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPI NLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSS GWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSE TKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFN ATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTK LNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDF TGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIY QAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFE LLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKK FLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNT SNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTR AGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSASS**VASQ SIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSV DCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQ EVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRS**P**IEDLLFNK VTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDE MIAQYTSALLAGTITSGWTFGAG**P**ALQIPF**P**MQMAYRFNGIGV TQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSST**P**SALGKLQDVVNQ NAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITG RLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDF CGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHD GKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCD VVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISG INASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPW YIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDE DDSEPVLKGVKLHYT
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、	**(配列番号138)**

【表２－７３】

892、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換え、**ER**回収シグナルを変異させるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTA CCTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCAAGATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC GAAGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTC AGCCTACTAATGGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTC GTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGC GGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGT CAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGA CTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGA CGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACA GACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGG GCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAG GTTGCCGTCCTGTATCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCC AGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGG TGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGA TGTCTCATTGGGGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTG CGACATCCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGAC TCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCA GTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAG CGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTT CACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGAC TAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTC TACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTG CACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGC AGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCA

10

20

30

40

50

【表２－７４】

	GATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAA TTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAG GAGCCCTATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGG CAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGC GACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAA TGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGA TCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACA TCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGACCAGCACTGCAGATTCC ATTCCCTATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGT CACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTA ACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTC AGCTCAACCCCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGT CAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGC TGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACA TTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATT GACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATA CGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCAT CCGCAAATCTGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTG GGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCA CCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTT TCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTAC AACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCC ACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCG TGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT GACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCCGTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGAT CTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCC CTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCAT CGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTG TTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAA ATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGG CCCTGGCTTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換え、**ER**回収シグナルを変異させるように変異させた**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号139)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQP FLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAA AYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSF TVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVY AWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTN VYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCN GVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATV CGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGR DIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLY QDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGD STECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQI YKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRS**PI**EDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSAL

【表２－７５】

	LAGTITSGWTFGAG**P**ALQIPF**P**MQMAYRFNGIGVTQNVLYENQ KLIANQFNSAIGKIQDSLSST**P**SALGKLQDVVNQNAQALNTLV KQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYV TQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREG VFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTV YDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQK EIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLI AIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV ALAYT
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように、**ER**回収シグナルを変異させるように変異させ、伸長されたシグナル配列を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(**配列番号**140)** ATGTTCCTGCTGACAACAAAAAGAACCATGTTTGTGTTCCTG GTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCTCACAGTGTGTCAACCTGACA ACAAGAACTCAGCTGCCACCAGCCTACACCAACTCCTTCAC CAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGTGTTTAGAAGCAGCG TGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCTGCCCTTTTTCAGCA ACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGTGTCCGGCACTAATG GCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTTCAACGAT GGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATATCATTAGG GGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGACCCAGAG CCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTCATTAAGG TTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTGGGCGTGT ATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGAGTTT AGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTACGTG AGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAGGAAA CTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATCGACG GCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAACCTCG TGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGCCACTG GTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTCAGACC CTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGAGACTC CTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTATGTGG GCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAATGAG AACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCGACCC CCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACCGTCG AGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCAGCCC ACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCTGTGT CCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAGCGTG TATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCGCCGA CTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACATTCAA ATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTCTGCT TTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGGGACG AGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGATTGCT GACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGATGTGT GATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTCGGGG GCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCCAACC TGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTATCAG GCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAATTGT TATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACTAATGGA GTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTTCGA GCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGAAGT CCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAACTTT AACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAACAA GAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTGCCGA CACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAAATTC TGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGTGATC ACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCCTGTA TCAGGATGTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATCCACG

【表２－７６】

	CAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCACCGGA TCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGGGGCC GAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCATTGG CGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACTCTCC TGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGCCTAT ACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTACTCCAA TAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTGTGAC CACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGCGTTGA TTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGTTCTAA CCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTGAACAG AGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGAACACAC AGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAGACCCCT CCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAGATTCTG CCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCCCTATCGAGGA TCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCGGCTTTAT TAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTGCCAGAG ACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACAGTGCTGC CACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATACACTAGC GCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGACCTTCGG GGCCGGACCAGCACTGCAGATTCCATTCCCTATGCAGATGG CCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAACGTGCTG TACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTAATTCCGC AATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACCCCCTCTG CACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAATGCTCAG GCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAACTTTGGC GCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCGCCTGGAT CCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGATTACCGG CCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAGCAGCTGA TCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCTGGCAGCA ACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCAAGCGGGT GGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCCCA GAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTGACCTATGT CCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCTGCTATCTG CCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGGAGTGTTTG TGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGAGGAACTTC TATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATACCTTCGTGTCT GGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAACAACACCGT GTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTTAAGGAGG AACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCCAGATGTG GATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCGTGGTGAA TATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTTGCCAAGA ACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACTGGGCAAG TATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTTGGCTGGG GTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGACCATCAT GCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGAAGGGCTG CTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAGATGATAG CGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGGCCCTGGCTTATACCTGA
フューリン切断部位を除去するように、残基**817**、**892**、**899**、**942**、**986**、および**987**をプロリンで置き換えるように、**ER**回収シグナルを変異させるように変異され、伸長されたシグナル配列を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号141)** MFLLTTKRTMFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRG VYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRF DNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNAT NVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNC TFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPI NLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSS GWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSE TKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFN ATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTK

【表２－７７】

	LNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDF TGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIY QAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFE LLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKK FLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNT SNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTR AGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQ SIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSV DCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQ EVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRS**P**IEDLLFNK VTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDE MIAQYTSALLAGTITSGWTFGAG**P**ALQIPF**P**MQMAYRFNGIGV TQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSST**P**SALGKLQDVVNQ NAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITG RLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDF CGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHD GKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCD VVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISG INASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPW YIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDE DDSEPVLKGVALAYT

H69-、V70-、Y144-、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、およびD1118H変異を含むように変異させたSARS-CoV-2Sタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号150)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTTCCGG CACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTT CAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATAT CATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGA CCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTC ATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTG GGCGTTTACCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGA GTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTA CGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAG GAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATC GACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAA CCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGC CACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTC AGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGA TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA

【表２－７８】

	TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAA
	TTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TAT**
	GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTT
	CGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGA
	AGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAAC
	TTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAA
	CAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATT**G**
	ATGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA
	ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT
	GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC
	TGTATCAG**GGA**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC
	CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC
	CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG
	GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA
	TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT
	CT**CAT**AGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTG
	CCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTAC
	TCCAATAATTCCATCGCAATCCCT**ATA**AACTTCACTATTTCT
	GTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAG
	CGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATG
	TTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCT
	GAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAG
	AACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAA
	GACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACA
	GATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCA
	TCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCC
	GGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCT
	GCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCAC
	AGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAAT
	ACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGG
	ACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCAT
	GCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGA
	ACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTT
	AATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAAC
	CGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGA
	ATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTA
	ACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTG**GCA**C
	GCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTG
	ATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCA
	GCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATC
	TGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCC
	AAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAG
	CTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGT
	GACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCC
	TGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGG
	GAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAG
	AGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT**CAC**AATAC
	CTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAA
	CAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTT
	TAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCC
	CAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCC
	GTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGT
	TGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAAC
	TGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATT
	TGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTG
	ACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTG
	AAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAA

【表２－７９】

	GATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTA TACCTGA
H69-、V70-、Y144-、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、および D1118H 変異を含むように変異させた **SARS-CoV-2 S** タンパク質	**(配列番号 151)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAISGTNGTKRFDNPVLPFNDG VYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQ FCNDPFLGVYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFS ALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI **D**DTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNS**H**RRARSVASQSIIAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIP**I**NFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDIL**A**RLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITT**H**NTFVSGNCDVVIGIVNNTVY DPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEI DRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAI VMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKL HYT*
残基 **986** および **987** がプロリンに変異され、**H69-、V70-、Y144-、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、**および **D1118H** 変異を含む、**SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 152)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTTCCGG CACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTT CAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATAT CATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGA CCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTC ATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTG GGCGTTTACCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGA GTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTA CGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAG GAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATC GACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAA CCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGC CACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTC AGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA

【表２－８０】

	GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGA TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAA TTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TAT** GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTT CGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGA AGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAAC TTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAA CAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATT**G** **AT**GACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGA**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CT**CAT**AGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTG CCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTAC TCCAATAATTCCATCGCAATCCCT**ATA**AACTTCACTATTTCT GTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAG CGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATG TTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCT GAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAG AACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAA GACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACA GATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCA TCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCC GGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCT GCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCAC AGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAAT ACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGG ACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCAT GCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGA ACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTT AATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAAC CGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGA ATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTA ACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTG**GCA**C GCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTG ATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCA GCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATC TGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCC AAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAG CTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGT GACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCC TGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGG GAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAG

10 20 30 40 50

【表２－８１】

	AGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT**CAC**AATAC CTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAA CAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTT TAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCC CAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCC GTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGT TGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAAC TGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATT TGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTG ACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTG AAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAA GATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTA TACCTGA
残基 **986** および **987** がプロリンに変異され、**H69-、V70-、Y144-、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A**、および **D1118H** 変異を含む、**SARS-CoV-2 S** タンパク質	**(**配列番号 **153)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAISGTNGTKRFDNPVLPFNDG VYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQ FCNDPFLGVYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFS ALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI **D**DTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNS**H**RRARSVASQSIIAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIP**I**NFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDIL**A**RLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITT**H**NTFVSGNCDVVIGIVNNTVY DPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEI DRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAI VMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKL HYT
活性化のために必要なフューリン切断部位を除去するように変異され、**H69-、V70-、Y144-、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A**、および **D1118H** 変異を含む、**SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(**配列番号 **154)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTTCCGG CACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTT CAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATAT CATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGA CCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTC ATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTG GGCGTTTACCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGA GTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTA

【表２－８２】

	CGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAG GAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATC GACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAA CCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGC CACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTC AGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGA TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAA TTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TAT** GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTT CGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGA AGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAAC TTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAA CAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATT**G** **AT**GACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGA**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CT**CAT**GGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTG CCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTAC TCCAATAATTCCATCGCAATCCCT**ATA**ACTTCACTATTTCT GTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAG CGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATG TTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCT GAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAG AACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAA GACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACA GATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCA TCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCC GGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCT GCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCAC AGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAAT ACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGG ACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCAT GCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGA ACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTT AATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAAC CGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGA

10 20 30 40 50

【表２－８３】

	ATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTA ACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTG**GCA**C GCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTG ATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCA GCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATC TGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCC AAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAG CTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGT GACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCC TGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGG GAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAG AGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT**CAC**AATAC CTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAA CAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTT TAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCC CAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCC GTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGT TGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAAC TGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATT TGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTG ACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTG AAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAA GATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTA TACCTGA
活性化のために必要なフューリン切断部位を除去するように変異され、**H69-**、**V70-**、**Y144-**、**N501Y**、**A570D**、**D614G**、**P681H**、**T716I**、**S982A**、および**D1118H**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号155)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAISGTNGTKRFDNPVLPFNDG VYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQ FCNDPFLGVYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFS ALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI **D**DTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNS**HGSAS**SVASQSIIAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIP**I**NFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDIL**A**RLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITT**H**NTFVSGNCDVVIGIVNNTVY DPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEI DRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAI VMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKL HYT
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**を	**(配列番号156)**

【表２－８４】

プロリンで置き換えるように変異され、**H69-**、**V70-**、**Y144-**、**N501Y**、**A570D**、**D614G**、**P681H**、**T716I**、**S982A**、および**D1118H**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTTCCGG CACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTT CAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATAT CATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGA CCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTC ATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTG GGCGTTTACCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGA GTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTA CGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAG GAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATC GACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAA CCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGC CACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTC AGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGA TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAA TTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TAT** GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTT CGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGA AGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAAC TTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAA CAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATT**G** **AT**GACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGA**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CT**CAT**GGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTG CCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTAC TCCAATAATTCCATCGCAATCCCT**ATA**AACTTCACTATTTCT GTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAG CGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATG TTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCT GAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAG AACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAA

10 20 30 40 50

【表２－８５】

	GACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACA GATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCA TCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCC GGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCT GCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCAC AGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAAT ACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGG ACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCAT GCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGA ACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTT AATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAAC CGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGA ATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTA ACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTG**GCA**C GCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTG ATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCA GCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATC TGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCC AAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAG CTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGT GACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCC TGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGG GAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAG AGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT**CAC**AATAC CTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAA CAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTT TAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCC CAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCC GTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGT TGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAAC TGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATT TGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTG ACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTG AAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAA GATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTA TACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**H69-**、**V70-**、**Y144-**、**N501Y**、**A570D**、**D614G**、**P681H**、**T716I**、**S982A**、および**D1118H**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号157)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAISGTNGTKRFDNPVLPFNDG VYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQ FCNDPFLGVYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFS ALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI **D**DTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNS**H**GSASSVASQSIIAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIP**I**NFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA

【表２－８６】

	GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDIL**A**RLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITT**H**NTFVSGNCDVVIGIVNNTVY DPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEI DRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAI VMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKL HYT
フューリン切断部位を除去し、残基**817**、**892**、**899**、および**942**、**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**H69-**、**V70-**、**Y144-**、**N501Y**、**A570D**、**D614G**、**P681H**、**T716I**、**S982A**、および**D1118H**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号158)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTTCCGG CACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCCTGCCTTT CAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAATCCAATAT CATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGATTCTAAGA CCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAACGTGGTC ATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCCTTTTCTG GGCGTTTACCATAAGAACAATAAGAGCTGGATGGAGTCCGA GTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTACCTTTGAGTA CGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGGGAAAACAAG GAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTCAAAAACATC GACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATACCCCAATCAA CCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCGCACTGGAGC CACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCACAAGATTTC AGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGCAAGA TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTCGAAGGCTTTAA TTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TAT** GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCTT CGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAGA AGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAAC TTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCAA CAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATT**G** **AT**GACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGC**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC

【表２－８７】

	CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CT**CAT**GGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTG CCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATAGCGTGGCCTAC TCCAATAATTCCATCGCAATCCCT**ATA**AACTTCACTATTTCT GTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAG CGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATG TTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCT GAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAG AACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAA GACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACA GATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCCCTA TCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCC GGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCT GCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCAC AGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAAT ACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGG ACCTTCGGGGCCGGACCAGCACTGCAGATTCCATTCCCTATG CAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAA CGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTA ATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACC CCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAA TGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAA CTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCT**GGCA**CG CCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGA TTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAG CAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCT GGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCA AGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGC TTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTG ACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCT GCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGG AGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGA GGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACT**CAC**AATACC TTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAAC AACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTT AAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCC AGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCG TGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTT GCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACT GGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTT GGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGA CCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGA AGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAG ATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTAT ACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**817**、**892**、**899**、および**942**、**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**H69-**、**V70-**、**Y144-**、**N501Y**、**A570D**、**D614G**、**P681H**、**T716I**、**S982A**、および	**(配列番号159)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAISGTNGTKRFDNPVLPFNDG VYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQ FCNDPFLGVYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLM DLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFS ALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY

【表２－８８】

D1118H 変異を含む、**SARS-CoV-2 S** タンパク質	ADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV EGFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI **D**DTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNS**HGSASS**VASQSIIAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIP**I**NFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRS**P**IEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAG**P**ALQIPF**P**MQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKL IANQFNSAIGKIQDSLSST**P**SALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQ LSSNFGAISSVLNDIL**A**RLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQ QLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFP QSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFV SNGTHWFVTQRNFYEPQIITT**H**NTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDP LQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDR LNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVM VTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHY T
D80A、**D215G**、**L242-**、**A243-**、**L244-**、**K417N**、**E484K**、**N501Y**、**D614G**、および **A701V** 変異を含む **SARS-CoV-2 S** タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 160)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTC**GCC**AATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTAC CTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGG**GGC**CTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGC**AAC**A TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC**AAG**GGCTTTA

【表２－８９】

	ATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TA** **C**GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCT TCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAG AAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAA CTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCA ACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTG CCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGC**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTG CCTATACCATGAGCCTCGGA**GTG**GAGAATAGCGTGGCCTAC TCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCT GTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAG CGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATG TTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCT GAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAG AACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAA GACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACA GATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCA TCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCC GGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCT GCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCAC AGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAAT ACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGG ACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCAT GCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGA ACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTT AATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAAC CGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGA ATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTA ACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCC GCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTG ATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCA GCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATC TGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCC AAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAG CTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGT GACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCC TGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGG GAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAG AGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATAC CTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAA CAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTT TAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCC CAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCC GTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGT TGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAAC TGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATT TGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTG ACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTG AAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAA

10

20

30

40

50

【表２－９０】

	GATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTA TACCTGA
D80A、**D215G**、**L242-**、 **A243-**、**L244-**、**K417N**、 **E484K**、**N501Y**、**D614G**、 および **A701V** 変異を含む **SARS-CoV-2 S** タンパク質	**(**配列番号 **161)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRF**A**NPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF LMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVR**G**LPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTG**N**IADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV **K**GFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI ADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG**V** ENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYD PLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEID RLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIV MVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLH YT
フューリン切断部位を除去 し、残基 **986** および **987** を プロリンで置き換えるよう に変異され、**D80A**、 **D215G**、**L242-**、**A243-**、 **L244-**、**K417N**、**E484K**、 **N501Y**、**D614G**、および **A701V** 変異を含む **SARS-** **CoV-2 S** タンパク質をコー ドする最適化されたヌクレ オチド配列	**(**配列番号 **162)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACCTGACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTC**GCC**AATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTAC CTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGG**GGC**CTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA

【表２－９１】

	GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGC**AAC**A TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC**AAG**GGCTTTA ATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TA** **C**GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCT TCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAG AAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAA CTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCA ACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTG CCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGC**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGC CTATACCATGAGCCTCGGA**GTG**GAGAATAGCGTGGCCTACT CCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTG TGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGC GTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGT TCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTG AACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGA ACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAG ACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAG ATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCAT CGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCG GCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTG CCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACA GTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATA CACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGA CCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATG CAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAA CGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTA ATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACC GCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAA TGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAA CTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCG CCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGA TTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAG CAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCT GGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCA AGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGC TTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTG ACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCT GCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGG AGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGA

10 20 30 40 50

【表２－９２】

	GGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATACC TTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAAC AACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTT AAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCC AGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCG TGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTT GCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACT GGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTT GGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGA CCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGA AGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAG ATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTAT ACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**D80A**、**D215G**、**L242-**、**A243-**、**L244-**、**K417N**、**E484K**、**N501Y**、**D614G**、および**A701V**変異を含む**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号163)** MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRF**A**NPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF LMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVR**G**LPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTGN**I**ADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV **K**GFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI ADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLG**V** ENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYD PLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEID RLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIV MVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLH YT
L18F、**D80A**、**D215G**、**L242-**、**A243-**、**L244-**、**K417N**、**E484K**、**N501Y**、**D614G**、および**A701V**変異を含む**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号164)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAAC**TTC**ACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTC**GCC**AATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTAC

【表２－９３】

	CTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGG**GGC**CTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGC**AAC**A TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC**AAG**GGCTTTA ATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TA** **C**GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCT TCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAG AAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAA CTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCA ACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTG CCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGC**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTG CCTATACCATGAGCCTCGGA**GTG**GAGAATAGCGTGGCCTAC TCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCT GTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAG CGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATG TTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCT GAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAG AACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAA GACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACA GATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCA TCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCC GGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCT GCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCAC AGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAAT ACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGG ACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCAT GCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGA ACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTT AATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAAC CGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGA

10 20 30 40 50

【表２－９４】

	ATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTA ACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCC GCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTG ATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCA GCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATC TGGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCC AAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAG CTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGT GACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCC TGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGG GAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAG AGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATAC CTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAA CAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTT TAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCC CAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCC GTGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGT TGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAAC TGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATT TGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTG ACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTG AAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAA GATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTA TACCTGA
L18F、D80A、D215G、L242-、A243-、L244-、K417N、E484K、N501Y、D614G、およびA701V変異を含むSARS-CoV-2 Sタンパク質	**(配列番号165)** MFVFLVLLPLVSSQCVN**F**TTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRF**A**NPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF LMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVR**G**LPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTG**N**IADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV **K**GFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI ADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG**V** ENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYD PLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEID RLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIV MVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLH YT
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**を	**(配列番号166)**

【表２－９５】

プロリンで置き換えるように変異され、**L18F**、**D80A**、**D215G**、**L242-**、**A243-**、**L244-**、**K417N**、**E484K**、**N501Y**、**D614G**、および**A701V**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAAC**TTC**ACAACTAGGACTCAGCTGCCACCAGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTC**GCC**AATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACGATCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTAC CTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGCGGGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGG**GGC**CTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCATAGAAGCTATCTGACCCCTGGA GACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGCTGCCTACTAT GTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCTGAAATACAA TGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATTGCGCACTCG ACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAGAGCTTTACC GTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTTCAGGGTGCA GCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATATCACTAACCT GTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAGGTTTGCTAG CGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTAACTGCGTCG CCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCTTCTCCACAT TCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTGAACGATCTC TGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTGATCAGAGGG GACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGACAGGC**AAC**A TTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGACTTCACAGGAT GTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGACTCCAAAGTC GGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTTCCGGAAGTCC AACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTACAGAGATCTA TCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC**AAG**GGCTTTA ATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTTCAGCCTACT**TA** **C**GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGTCGTGCTCAGCT TCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTGCGGGCCAAAG AAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCGTCAACTTCAA CTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTGACTGAGAGCA ACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGGACGGGACATTG CCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCACAGACCCTGGAA ATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGGGGCGTGAGCGT GATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCAGGTTGCCGTCC TGTATCAG**GGC**GTCAATTGCACAGAAGTGCCAGTTGCTATC CACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGGGTGTATAGCAC CGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGGATGTCTCATTGG GGCCGAGCACGTGAATAACAGCTACGAGTGCGACATCCCCA TTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGACTCAGACCAACT CTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTCAGTCTATTATTGC CTATACCATGAGCCTCGGA**GTG**GAGAATAGCGTGGCCTACT CCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACTTCACTATTTCTG TGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGACTAAGACTAGC GTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACTCTACCGAATGT TCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTTGCACACAGCTG AACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAGCAGGACAAGA ACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGCAGATCTATAAG

【表２－９６】

	ACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCAATTTCTCACAG ATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGAGGAGCTTCAT CGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCAGACGCCG GCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGGCGACATTGCTG CCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCAATGGCCTCACA GTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATGATCGCTCAATA CACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCACATCAGGCTGGA CCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTCCATTCGCCATG CAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGCGTCACACAGAA CGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGCTAACCAGTTTA ATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACTCAGCTCAACC GCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGGTCAACCAGAA TGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAGCTGTCCTCTAA CTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGACATTCTGAGCCG CCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGATTGACCGCCTGA TTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACATACGTGACCCAG CAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCATCCGCAAATCT GGCAGCAACTAAGATGAGCGAATGCGTGCTGGGCCAGTCCA AGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGC TTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTTTTCTGCACGTG ACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTACAACTGCTCCT GCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCCCACGGGAGGG AGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTCGTGACCCAGA GGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCACTGACAATACC TTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGGCATCGTTAAC AACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGCTGGACTCCTTT AAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAACCACACAAGCCC AGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAATTAACGCCTCCG TGGTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCCTAAATGAAGTT GCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATCTGCAGGAACT GGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCCTGGTACATTT GGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATCGTCATGGTGA CCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGTTCCTGTCTGA AGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAATTCGACGAAG ATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAAGCTGCATTAT ACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基**986**および**987**をプロリンで置き換えるように変異され、**L18F**、**D80A**、**D215G**、**L242-**、**A243-**、**L244-**、**K417N**、**E484K**、**N501Y**、**D614G**、および**A701V**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号167)** MFVFLVLLPLVSSQCVN**F**TTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRF**A**NPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF LMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVR**G**LPQ GFSALEPLVDLPIGINITRFQTLHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAY YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVE KGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAW NRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVY ADSFVIRGDEVRQIAPGQTG**N**IADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGV **K**GFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCG PKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDI ADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPGSASSVASQSIIAYTMSLG**V** ENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA

【表２－９７】

	GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYD PLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEID RLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIV MVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLH YT
L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、D614G、H655Y、T1027I、およびV1176F変異を含むSARS-CoV-2 Sタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号168)** ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAAC**TTT**ACA**AAC**AGGACTCAGCTGCCA**TCC**GCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAAC**TAC**CC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTAC CTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTG**AGC**GAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGC**ACC**ATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC **AAG**GGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTT CAGCCTACT**TAC**GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGT CGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTG CGGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCG TCAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTG ACTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGG ACGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCAC AGACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGG GGCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCA GGTTGCCGTCCTGTATCAG**GGC**GTCAATTGCACAGAAGTGC CAGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGG

10 20 30 40 50

【表２－９８】

	GTGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGG ATGTCTCATTGGGGCCGAG**TAC**GTGAATAACAGCTACGAGT GCGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGA CTCAGACCAACTCTCCTAGAAGGGCCAGGTCCGTTGCTAGT CAGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAAT AGCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAAC TTCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATG ACTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGAC TCTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTT TGCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGA GCAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAG CAGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTC AATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAG AGGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCT GGCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGG GCGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTC AATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGAT GATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCA CATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATT CCATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGG CGTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCG CTAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCA CTCAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGT GGTCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGC AGCTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACG ACATTCTGAGCCGCCTGGATAAGGTGGAGGCTGAAGTCCAG ATTGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAAC ATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGG CATCCGCAAATCTGGCAGCA**ATC**AAGATGAGCGAATGCGTG CTGGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTA CCACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGT TTTTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTT TACAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTT CCCACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGT TCGTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACC ACTGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATC GGCATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGA GCTGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGA ACCACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGA ATTAACGCCTCC**TTC**GTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCG CCTAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTG ATCTGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGG CCCTGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCC ATCGTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGT TGTTCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGT AAATTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGT GAAGCTGCATTATACCTGA
L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、D614G、H655Y、T1027I、およびV1176F変異を含むSARS-CoV-2Sタンパク質	**(配列番号169)** MFVFLVLLPLVSSQCVN**F**T**N**RTQLP**S**AYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCN**Y**PFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF LMDLEGKQGNFKNL**S**EFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQG FSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAA YYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFT VEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYA WNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNV

【表２－９９】

	YADSFVIRGDEVRQIAPGQTGTIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS NNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNG VKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVC GPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRD IADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ GVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEYV NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAAIKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYD PLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASFVNIQKEID RLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIV MVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLH YT
フューリン切断部位を除去し、残基986および987をプロリンで置き換えるように変異され、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、D614G、H655Y、T1027I、およびV1176F変異を含む、SARS-CoV-2 Sタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号170) ATGTTCGTCTTCCTCGTGCTGCTCCCACTCGTTTCTTCCCAGT GTGTCAACTTTACAAACAGGACTCAGCTGCCATCCGCCTAC ACCAACTCCTTCACCAGAGGCGTGTATTACCCAGACAAGGT GTTTAGAAGCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTCTTTCT GCCCTTTTTCAGCAACGTGACATGGTTTCACGCAATTCACGT GTCCGGCACTAATGGCACAAAGCGGTTCGACAATCCAGTCC TGCCTTTCAACGATGGCGTCTACTTTGCATCTACTGAGAAAT CCAATATCATTAGGGGATGGATCTTCGGCACAACCCTGGAT TCTAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTCAACAACGCCACAAA CGTGGTCATTAAGGTTTGCGAGTTTCAGTTCTGTAACTACCC TTTTCTGGGCGTGTATTATCATAAGAACAATAAGAGCTGGAT GGAGTCCGAGTTTAGAGTGTATAGCTCTGCAAATAATTGTAC CTTTGAGTACGTGAGCCAGCCCTTTCTGATGGACCTGGAGG GAAAACAAGGAAACTTCAAAAACCTGAGCGAATTCGTTTTC AAAAACATCGACGGCTATTTCAAGATCTATAGCAAGCATAC CCCAATCAACCTCGTGAGGGACCTCCCCCAGGGCTTTAGCG CACTGGAGCCACTGGTTGACCTGCCTATCGGCATTAATATCA CAAGATTTCAGACCCTGCTGGCACTGCATAGAAGCTATCTG ACCCCTGGAGACTCCTCTAGTGGGTGGACTGCCGGCGCCGC TGCCTACTATGTGGGCTATCTGCAGCCACGGACATTCCTGCT GAAATACAATGAGAACGGGACAATCACAGATGCTGTTGATT GCGCACTCGACCCCCTGTCCGAGACAAAGTGCACTCTCAAG AGCTTTACCGTCGAGAAGGGCATCTATCAGACCTCAAACTT CAGGGTGCAGCCCACAGAATCTATCGTGCGCTTCCCTAATAT CACTAACCTGTGTCCTTTCGGTGAAGTGTTCAACGCCACCAG GTTTGCTAGCGTGTATGCCTGGAACAGGAAGAGGATCTCTA ACTGCGTCGCCGACTATTCCGTGCTGTATAACAGCGCCTCCT TCTCCACATTCAAATGCTATGGAGTGAGCCCGACAAAACTG AACGATCTCTGCTTTACAAATGTCTACGCCGACTCTTTTGTG ATCAGAGGGGACGAGGTCCGGCAGATCGCACCAGGACAGA CAGGCACCCATTGCTGACTACAACTATAAGCTGCCTGACGAC TTCACAGGATGTGTGATCGCATGGAACTCAAACAATCTGGA CTCCAAAGTCGGGGGCAACTATAATTACCTGTATCGCCTGTT CCGGAAGTCCAACCTGAAGCCCTTCGAGAGGGACATCAGTA CAGAGATCTATCAGGCTGGCTCCACCCCTTGCAATGGCGTC

【表２－１００】

	AAGGGCTTTAATTGTTATTTTCCCCTGCAGTCTTACGGGTTT CAGCCTACT**TAC**GGAGTTGGGTACCAGCCATACAGAGTGGT CGTGCTCAGCTTCGAGCTCCTGCATGCTCCAGCTACAGTTTG CGGGCCAAAGAAGTCCACTAACCTGGTGAAGAATAAGTGCG TCAACTTCAACTTTAACGGGCTCACCGGCACCGGCGTGCTG ACTGAGAGCAACAAGAAGTTTCTGCCATTTCAACAGTTTGG ACGGGACATTGCCGACACCACCGATGCCGTTCGGGATCCAC AGACCCTGGAAATTCTGGACATTACACCGTGCAGCTTCGGG GGCGTGAGCGTGATCACACCCGGAACCAATACAAGCAACCA GGTTGCCGTCCTGTATCAG**GGC**GTCAATTGCACAGAAGTGC CAGTTGCTATCCACGCAGACCAGCTGACTCCCACATGGCGG GTGTATAGCACCGGATCCAACGTGTTTCAGACCCGCGCCGG ATGTCTCATTGGGGCCGAG**TAC**GTGAATAACAGCTACGAGT GCGACATCCCCATTGGCGCCGGCATTTGTGCGTCTTACCAGA CTCAGACCAACTCTCCTGGCTCCGCCTCTTCCGTTGCTAGTC AGTCTATTATTGCCTATACCATGAGCCTCGGAGCTGAGAATA GCGTGGCCTACTCCAATAATTCCATCGCAATCCCTACTAACT TCACTATTTCTGTGACCACCGAGATCCTGCCTGTGTCTATGA CTAAGACTAGCGTTGATTGTACCATGTATATTTGTGGCGACT CTACCGAATGTTCTAACCTGCTGCTTCAGTACGGCTCATTTT GCACACAGCTGAACAGAGCCCTGACTGGGATCGCTGTGGAG CAGGACAAGAACACACAGGAGGTGTTTGCACAGGTGAAGC AGATCTATAAGACCCCTCCTATTAAGGATTTCGGCGGATTCA ATTTCTCACAGATTCTGCCAGACCCCAGTAAGCCTTCCAAGA GGAGCTTCATCGAGGATCTCCTGTTTAACAAGGTGACCCTG GCAGACGCCGGCTTTATTAAGCAATATGGGGATTGCCTGGG CGACATTGCTGCCAGAGACCTGATTTGCGCCCAGAAATTCA ATGGCCTCACAGTGCTGCCACCTCTGCTGACCGACGAGATG ATCGCTCAATACACTAGCGCACTGCTGGCCGGAACCATCAC ATCAGGCTGGACCTTCGGGGCCGGAGCAGCACTGCAGATTC CATTCGCCATGCAGATGGCCTATAGATTCAACGGCATTGGC GTCACACAGAACGTGCTGTACGAAAACCAGAAGCTCATCGC TAACCAGTTTAATTCCGCAATTGGAAAGATCCAAGATTCACT CAGCTCAACCGCCTCTGCACTCGGAAAGCTGCAGGACGTGG TCAACCAGAATGCTCAGGCCCTGAACACACTCGTCAAGCAG CTGTCCTCTAACTTTGGCGCTATCAGCTCCGTTCTGAACGAC ATTCTGAGCCGCCTGGATCCCCCAGAGGCTGAAGTCCAGAT TGACCGCCTGATTACCGGCCGGCTGCAGTCTCTGCAAACAT ACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCAGCCGAGATCCGGGCA TCCGCAAATCTGGCAGCA**ATC**AAGATGAGCGAATGCGTGCT GGGCCAGTCCAAGCGGGTGGACTTTTGTGGCAAGGGCTACC ACCTGATGAGCTTCCCCCAGAGCGCCCCACATGGCGTTGTTT TTCTGCACGTGACCTATGTCCCTGCTCAGGAAAAGAACTTTA CAACTGCTCCTGCTATCTGCCATGACGGCAAGGCCCACTTCC CACGGGAGGGAGTGTTTGTGTCCAATGGCACACACTGGTTC GTGACCCAGAGGAACTTCTATGAACCCCAGATCATCACCAC TGACAATACCTTCGTGTCTGGAAATTGCGACGTCGTGATCGG CATCGTTAACAACACCGTGTACGACCCTCTCCAGCCAGAGC TGGACTCCTTTAAGGAGGAACTGGATAAGTATTTTAAGAAC CACACAAGCCCAGATGTGGATCTCGGGGACATCTCCGGAAT TAACGCCTCC**TTC**GTGAATATCCAGAAGGAGATTGACCGCC TAAATGAAGTTGCCAAGAACCTCAATGAGTCTCTGATTGATC TGCAGGAACTGGGCAAGTATGAGCAGTATATCAAATGGCCC TGGTACATTTGGCTGGGGTTTATCGCCGGACTGATTGCCATC GTCATGGTGACCATCATGCTGTGTTGCATGACCTCCTGTTGT TCCTGTCTGAAGGGCTGCTGTAGTTGCGGCTCTTGCTGTAAA

10 20 30 40 50

【表２－１０１】

	TTCGACGAAGATGATAGCGAGCCCGTGCTGAAGGGCGTGAA GCTGCATTATACCTGA
フューリン切断部位を除去し、残基986および987をプロリンで置き換えるように変異され、**L18F**、**T20N**、**P26S**、**D138Y**、**R190S**、**K417T**、**E484K**、**N501Y**、**D614G**、**H655Y**、**T1027I**、および**V1176F**変異を含む、**SARS-CoV-2 S**タンパク質	**(配列番号171)** MFVFLVLLPLVSSQCVN**F**T**N**RTQLP**S**AYTNSFTRGVYYPDKVF RSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFN DGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCE FQFCN**Y**PFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF LMDLEGKQGNFKNL**S**EFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQG FSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAA YYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFT VEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYA WNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNV YADSFVIRGDEVRQIAPGQTGTIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS NNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNG V**K**GFNCYFPLQSYGFQPT**Y**GVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVC GPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRD IADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQ **G**VNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAE**Y**V NNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP**GSAS**SVASQSIIAYTMSLGA ENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDST ECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYK TPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQ YGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK LIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK QLSSNFGAISSVLNDILSRLD**PP**EAEVQIDRLITGRLQSLQTYVT QQLIRAAEIRASANLAA**I**KMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSF PQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVF VSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYD PLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINAS**F**VNIQKEID RLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIV MVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLH YT

【０１６７】

ペプチド融合

本発明者らは、高い抗原性である可能性の高いＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の領域を識別した。これらは、残基８１５～８３３（ＦＰ）、８２０～８４６（Ｄ１）、１０７８～１１１１（Ｄ２）、および残基８１５～８４６（Ｆ１／Ｄ１）を含む。配列番号１のアミノ酸配列を有する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質におけるこれらの抗原性断片に対する配列は、それぞれ、ＳＦＩＥＤＬＬＦＮＫＶＴＬＡＤＡＧＦ（配列番号２１）、ＬＬＦＮＫＶＴＬＡＤＡＧＦＩＫＱＹＧＤＣＬＧＤＩＡＡ（配列番号２２）、ＰＡＩＣＨＤＧＫＡＨＦＰＲＥＧＶＦＶＳＮＧＴＨＷＦＶＴＱＲＮＦＹＥ（配列番号２３）、およびＧＧＦＮＦＳＱＩＬＰＤＰＳＫＰＳＫＲＳＦＩＥＤＬＬＦＮＫＶＴＬＡ（配列番号２４）である。当該抗原性領域は、異なる順序において配置することにより、高い抗原性である可能性の高い、したがって、強い免疫原性応答を引き起こすことが予想される、様々な融合ペプチドを形成することができる。ドメインは、リンカー配列、例えば、ＧＧＧＧＳなど、によって連結することができる。あるいは、それらのアミノ酸配列における類似性を考慮すると、ＦＰおよびＤ１領域は、単一の免疫原性モチーフ：ＳＦＩＥＤＬＬＦＮＫＶＴＬＡＤＡＧＦＩＫＱＹＧＤＣＬＧＤＩＡＡ（ＦＰ／Ｄ１）（配列番号９９）、を生産するように重なることができ、この場合、重なった配列には下線が引かれている。

【０１６８】

例示的なペプチド融合は、以下のドメインを有し得る：

Ｄ１－リンカー－ＦＰ－リンカー－Ｄ２－リンカー－Ｄ１（融合ペプチドＡ）
ＦＰ／Ｄ１－リンカー－ＦＰ／Ｄ１－リンカー－ＦＰ／Ｄ１（融合ペプチドＢ）

【０１６９】

したがって、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性領域を含む融合ペプチドをコードする最適化されたヌクレオチド配列を提供する。一実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、融合ペプチドＡを含むアミノ酸配列をコードする。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２５のアミノ酸配列をコードすることができる。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２６の配列を有する。別の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、融合ペプチドＢを含むアミノ酸配列をコードする。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２７のアミノ酸配列をコードすることができる。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２８の配列を有する。

【０１７０】

ある特定の実施形態において、融合ペプチドは、配列番号７などのＮ末端シグナル配列に作動可能に連結される。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｎ末端シグナル配列に作動可能に連結された融合ペプチドＡを含むアミノ酸配列をコードし得る。最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５１のアミノ酸配列をコードすることができる。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５２の配列を有する。あるいは、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｎ末端シグナル配列に作動可能に連結された融合ペプチドＢを含むアミノ酸配列をコードし得る。最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５３のアミノ酸配列をコードすることができる。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５４の配列を有する。

【０１７１】

さらに、融合ペプチドは、典型的にはＮ末端シグナル配列に加えて、Ｃ末端Ｆｃドメインと作動可能に連結させることができる。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｃ末端Ｆｃドメイン（例えば、配列番号１８）およびＮ末端シグナル配列（例えば、配列番号７）と作動可能に連結された融合ペプチドＡを含むアミノ酸配列をコードし得る。最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５５のアミノ酸配列をコードすることができる。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５６の配列を有する。あるいは、最適化されたヌクレオチド配列は、Ｃ末端Ｆｃドメイン（例えば、配列番号１８）およびＮ末端シグナル配列（例えば、配列番号７）と作動可能に連結された融合ペプチドＢを含むアミノ酸配列をコードし得る。最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５７のアミノ酸配列をコードすることができる。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５８の配列を有する。

【０１７２】

一部の実施形態において、融合ペプチドは、結果として得られる融合タンパク質の循環半減期を改善するように変更されているＣ末端Ｆｃドメインと作動可能に連結することができる。特定の実施形態において、改善された循環半減期を有する当該Ｆｃドメインは、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、または配列番号１０３のアミノ酸配列を有する。したがって、本発明は、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、または配列番号１０３のアミノ酸配列を有するＮ末端シグナルペプチドおよびＣ末端Ｆｃドメインと作動可能に連結された融合ペプチドＡまたは融合ペプチドＢをコードする最適化されたヌクレオチド配列も提供する。当該シグナルペプチドは、配列番号７のアミノ酸配列を有し得る。

【０１７３】

融合ペプチドをコードする例示的な最適化されたヌクレオチド配列

本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、融合ペプチドの形態のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性領域をコードし得る。一実施形態において、本発明は、融合ペプチドの形態のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性領域をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸を提供

する。一部の実施形態において、当該核酸は、融合ペプチドの形態のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性領域をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡである。一部の実施形態において、好適なｍＲＮＡ配列は、ヒト細胞での効率的な発現のために最適化された、融合ペプチドの形態のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性領域をコードするヌクレオチド配列を含む。本発明に従って、最適化されたヌクレオチド配列を生成するプロセスによって生産された融合ペプチドの形態のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の抗原性領域をコードする例示的な最適化されたヌクレオチド配列、および対応するアミノ酸配列が、表２に示される。太字の残基は、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて変異されているアミノ酸を示しており、下線が引かれた残基は、シグナルペプチドを表しており、斜体の残基は、Ｆｃ領域の存在を示している。

【０１７４】

【表３－１】

表 2. 例示的な融合ペプチド

融合ペプチド A をコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 25) ATGCTGCTGTTTAACAAAGTGACTCTGGCAGACGCAGGCTTT ATCAAGCAGTACGGAGACTGTCTCGGGGACATTGCAGCCGGC GGCGGAGGCTCATCTTTCATTGAGGACCTGCTGTTCAACAAG GTCACTCTGGCAGATGCCGGATTCGGAGGAGGGGGATCTCCA GCTATCTGCCATGACGGAAAGGCTCATTTTCCTCGGGAGGGT GTGTTTGTGTCCAACGGAACCCATTGGTTCGTCACACAGCGC AACTTCTATGAAGGAGGGGGGGGCTCCAGCTTCATCGAGGAC CTGCTCTTTAACAAAGTGACCCTGGCCGATGCTGGATTTGGG GGAGGGGGATCCCTGCTGTTCAACAAAGTTACACTGGCCGAC GCAGGCTTCATCAAACAGTACGGCGATTGTTTAGGGGACATC GCCGCTGGCGGCGGAGGATCACCTAAGTCCTGCGACAAAACC CATACATGTCCACCATGCCCAGCTCCTGAACTGCTCGGCGGG CCTAGTGTTTTCCTCTTCCCTCCTAAGCCCAAGGATACCCTCA TGATCTCTCGCACACCAGAAGTGACCTGCGTGGTCGTGGATG TCTCTCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGA CGGAGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAG AACAATACAATTCTACTTATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGT GCTGCACCAGGATTGGCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAA GGTCTCTAACAAGGCCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAAT TTCCAAGGCCAAGGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACAC ACTGCCCCCATCCAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTC TCTGACATGCCTGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCT GTGGAGTGGGAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAG ACCACACCACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGT ATTCTAAACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAA ACGTGTTTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGCACAATCA CTATACACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA
融合ペプチド A	(配列番号 26) MLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGGGSSFIEDLLFNKVT LADAGFGGGGSPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFY EGGGGSSFIEDLLFNKVTLADAGFGGGGSLLFNKVTLADAGFIK QYGDCLGDIAA
融合ペプチド B をコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 27) ATGTCCTTCATTGAGGACCTGCTGTTTAATAAGGTGACCCTGG CCGACGCTGGGTTCATCAAACAGTATGGAGATTGTCTGGGAG ATATTGCAGCAGGCGGGGGCGGCAGCAGCTTTATTGAGGACC TCCTGTTCAACAAGGTGACCCTTGCCGACGCAGGGTTTATTAA GCAGTATGGCGACTGTCTGGGAGACATTGCAGCCGGCGGCGG CGGGTCTTCTTTTATCGAGGACCTGCTGTTCAACAAGGTGACA CTGGCCGACGCAGGCTTTATTAAGCAGTACGGGGACTGCCTG GGAGACATTGCCGCCTGA
融合ペプチド B	(配列番号 28) MSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGGGSSFIEDLLF NKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGGGSSFIEDLLFNKVTLADA GFIKQYGDCLGDIAA
シグナルペプチドを有する融合ペプチド A をコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号 52) ATGTTCGTGTTCCTGGTGCTGCTGCCACTGGTTTCCTCCCAGT GTCTGCTGTTTAACAAGGTTACACTGGCAGACGCCGGCTTCAT CAAGCAGTATGGGGACTGTCTGGGCGATATCGCCGCTGGCGG CGGAGGATCTAGCTTCATTGAGGACCTGCTGTTCAACAAAGT GACTCTGGCTGACGCCGGATTTGGCGGAGGAGGGTCTCCTGC CATTTGTCATGACGGGAAGGCTCATTTCCCTAGGGAGGGGGT

【表３－２】

	TTTTGTCTCCAATGGAACTCACTGGTTCGTGACCCAAAGAAAC TTCTATGAGGGAGGTGGCGGATCCTCTTTTATCGAGGACCTGC TGTTTAACAAGGTCACTCTGGCCGATGCAGGCTTCGGAGGAG GAGGGTCTCTGCTGTTCAACAAAGTTACTCTGGCAGATGCTG GGTTCATTAAGCAGTACGGCGACTGTCTGGGCGATATTGCCG CCTGA
シグナルペプチドを有する融合ペプチド**A**	**(配列番号 51)** MFVFLVLLPLVSSQCLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGG GSSFIEDLLFNKVTLADAGFGGGGSPAICHDGKAHFPREGVFVSN GTHWFVTQRNFYEGGGGSSFIEDLLFNKVTLADAGFGGGGSLLF NKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAA
シグナルペプチドを有する融合ペプチド**B**をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 54)** ATGTTCGTGTTCCTGGTCCTGCTACCCCTGGTGTCCTCTCAGT GCTCCTTCATTGAGGACCTGCTGTTTAATAAGGTGACCCTGGC CGACGCTGGGTTCATCAAACAGTATGGAGATTGTCTGGGAGA TATTGCAGCAGGCGGGGGCGGCAGCAGCTTTATTGAGGACCT CCTGTTCAACAAGGTGACCCTTGCCGACGCAGGGTTTATTAA GCAGTATGGCGACTGTCTGGGAGACATTGCAGCCGGCGGCGG CGGGTCTTCTTTTATCGAGGACCTGCTGTTCAACAAGGTGACA CTGGCCGACGCAGGCTTTATTAAGCAGTACGGGGACTGCCTG GGAGACATTGCCGCCTGA
シグナルペプチドを有する融合ペプチド**B**	**(配列番号 53)** MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIA AGGGGSSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGGGSSFI EDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAA
シグナルペプチドおよび**Fc**領域を有する融合ペプチド**A**をコードする最適化されたヌクレオチド配列	**(配列番号 56)** ATGTTTGTGTTCCTCGTTCTGCTGCCTCTGGTGAGCTCCCAGT GTCTGCTGTTTAACAAAGTGACTCTGGCAGACGCAGGCTTTAT CAAGCAGTACGGAGACTGTCTCGGGGACATTGCAGCCGGCGG CGGAGGCTCATCTTTCATTGAGGACCTGCTGTTCAACAAGGTC ACTCTGGCAGATGCCGGATTCGGAGGAGGGGGATCTCCAGCT ATCTGCCATGACGGAAAGGCTCATTTTCCTCGGGAGGGTGTG TTTGTGTCCAACGGAACCCATTGGTTCGTCACACAGCGCAACT TCTATGAAGGAGGGGGGGGCTCCAGCTTCATCGAGGACCTGC TCTTTAACAAAGTGACCCTGGCCGATGCTGGATTTGGGGGAG GGGGATCCCTGCTGTTCAACAAAGTTACACTGGCCGACGCAG GCTTCATCAAACAGTACGGCGATTGTTTAGGGGACATCGCCG CTGGCGGCGGAGGATCACCTAAGTCCTGCGACAAAACCCATA CATGTCCACCATGCCCAGCTCCTGAACTGCTCGGCGGGCCTA GTGTTTTCCTCTTCCCTCCTAAGCCCAAGGATACCCTCATGAT CTCTCGCACACCAGAAGTGACCTGCGTGGTCGTGGATGTCTCT CACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTTAACTGGTATGTCGACGGA GTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCAAGAGAAGAACA ATACAATTCTACTTATAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAATGGAAAAGAATATAAGTGTAAGGTC TCTAACAAGGCCCTGCCCGCTCCAATTGAGAAGACAATTTCC AAGGCCAAGGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTGTACACACTG CCCCCATCCAGGGATGAACTGACTAAAAATCAGGTGTCTCTG ACATGCCTGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGTGACATTGCTGTG GAGTGGGAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAATAACTACAAGACC ACACCACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCTTTCTTTCTGTATT CTAAACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAACG TGTTTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTCTGCACAATCACTA TACACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGGCAAATAA

【表３－３】

シグナルペプチドおよびFc領域を有する融合ペプチドA	(配列番号55) MFVFLVLLPLVSSQCLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGG GSSFIEDLLFNKVTLADAGFGGGGSPAICHDGKAHFPREGVFVSN GTHWFVTQRNFYEGGGGSSFIEDLLFNKVTLADAGFGGGGSLLF NKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGGGS*PKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
シグナルペプチドおよびFc領域を有する融合ペプチドBをコードする最適化されたヌクレオチド配列	(配列番号58) ATGTTCGTGTTCCTGGTCCTGCTGCCTCTGGTGTCCTCTCAGTG CAGCTTCATCGAGGACCTGCTCTTTAACAAGGTGACTCTCGCA GATGCTGGCTTCATCAAGCAGTACGGAGACTGCCTTGGAGAC ATCGCTGCAGGCGGAGGGGGCAGCAGTTTCATCGAGGACCTG CTGTTTAACAAGGTGACCCTGGCCGACGCCGGGTTCATTAAG CAATACGGCGATTGTCTGGGAGACATCGCAGCTGGGGGAGGG GGGAGCTCTTTTATTGAGGACCTGCTGTTCAACAAGGTGACTC TGGCCGACGCAGGGTTCATCAAACAGTATGGGGACTGTCTGG GAGATATCGCAGCCGGGGGAGGAGGCTCCCCTAAGTCCTGCG ACAAAACCCATACATGTCCACCATGCCCAGCTCCTGAACTGC TCGGCGGGCCTAGTGTTTTCCTCTTCCCTCCTAAGCCCAAGGA TACCCTCATGATCTCTCGCACACCAGAAGTGACCTGCGTGGTC GTGGATGTCTCTCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTTAACTGG TATGTCGACGGAGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCC AAGAGAAGAACAATACAATTCTACTTATAGGGTGGTGTCTGT GCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAATGGAAAAGAATA TAAGTGTAAGGTCTCTAACAAGGCCCTGCCCGCTCCAATTGA GAAGACAATTTCCAAGGCCAAGGGGCAGCCTCGGGAACCTCA GGTGTACACACTGCCCCCATCCAGGGATGAACTGACTAAAAA TCAGGTGTCTCTGACATGCCTGGTGAAAGGGTTTTATCCAAGT GACATTGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGGCAGCCTGAAAAT AACTACAAGACCACACCACCAGTGCTCGATAGCGACGGGTCT TTCTTTCTGTATTCTAAACTGACCGTGGATAAATCTCGGTGGC AGCAGGGAAACGTGTTTTCTTGCTCAGTGATGCACGAAGCTC TGCACAATCACTATACACAGAAATCCCTGTCCCTGTCTCCAGG CAAATAA
シグナルペプチドおよびFc領域を有する融合ペプチドB	(配列番号57) MFVFLVLLPLVSSQCSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIA AGGGGSSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGGGSSFI EDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAAGGGGS*PKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

【０１７５】

他の必須構造タンパク質

関連するβコロナウイルスにおけるタンパク質に対するそれらの相同性に基づいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＭ、Ｎ、およびＥタンパク質は、ウイルス粒子の構造を形成する際に重要な役割を果たすと考えられる。Ｍタンパク質は、ビリオンにおける最も豊富な構造タンパク質であると考えられる。それは、３つの膜貫通ドメインを有する２２２のアミノ酸長である。Ｍタンパク質がウイルス粒子にその形状を与えると提唱されてきた。Ｍタンパク質は、二量体としてビリオンに存在することが示唆され、そこにおいて、それは、膜湾曲を促進してヌクレオカプシドに結合することを可能にする２つの異なる高次構造を採

用し得る。
【０１７６】
４１９アミノ酸長のＮタンパク質は、ヌクレオカプシドを形成する可能性が高い。それは、２つの別々のドメインから構成され、両方とも、異なるメカニズムを使用してインビトロにおいてＲＮＡに結合することができる。Ｎタンパク質は、ｂｅａｄｓ－ｏｎ－ａ－ｓｔｒｉｎｇ（糸を通したビーズ）型の高次構造においてウイルスゲノムに結合し、ウイルスレプリカーゼ複合体の重要な成分であるｎｓｐ３とＭタンパク質にも結合することができる。
【０１７７】
Ｅタンパク質は、７７のアミノ酸長であり、ウイルス粒子内に少量のみ存在すると考えられる。提唱されるＥタンパク質の機能の１つは、ウイルスの組立ておよび放出を促進することである。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＭ、Ｎ、およびＥタンパク質に対するアミノ酸配列が、下記の表３に示されている。
【０１７８】
記憶ＣＤ８＋Ｔ細胞は、ＯＲＦ１ａｂ、Ｓ、Ｎ、Ｍ、およびＯＲＦ３ａを含む多くのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質に対する広範な反応性を有するが、その一方で、エピトープの大部分は、ＯＲＦ１ａｂに位置されており、エピトープの最も高い密度は、Ｎタンパク質に位置される（Ｆｅｒｒｅｔｔｉら （２０２０） ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１１０１／２０２０．０７．２４．２０１６１６５３）。ＯＲＦ１ａｂは、ＮＣ＿０４５５１２．２ ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ゲノムの残基２６６…１３５５５によってコードされる。したがって、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＯＲＦ１ａｂおよびＮタンパク質は、Ｔ細胞応答を誘導するために有用であり得る。
【０１７９】

【表４－１】

表3. SARS-CoV-2 M、E、およびNタンパク質

SARS-CoV-2 M タンパク質のヌクレオチド配列 NC_004718.3 SARS-CoV-2 ゲノム 範囲 26398..27063	**(配列番号 59)** ATGGCAGACAACGGTACTATTACCGTTGAGGAGCTTAAACAAC TCCTGGAACAATGGAACCTAGTAATAGGTTTCCTATTCCTAGC CTGGATTATGTTACTACAATTTGCCTATTCTAATCGGAACAGGT TTTTGTACATAATAAAGCTTGTTTTCCTCTGGCTCTTGTGGCCA GTAACACTTGCTTGTTTTGTGCTTGCTGCTGTCTACAGAATTAA TTGGGTGACTGGCGGGATTGCGATTGCAATGGCTTGTATTGTA GGCTTGATGTGGCTTAGCTACTTCGTTGCTTCCTTCAGGCTGTT TGCTCGTACCCGCTCAATGTGGTCATTCAACCCAGAAACAAAC ATTCTTCTCAATGTGCCTCTCCGGGGGACAATTGTGACCAGAC CGCTCATGGAAAGTGAACTTGTCATTGGTGCTGTGATCATTCGT GGTCACTTGCGAATGGCCGGACACTCCCTAGGGCGCTGTGACA TTAAGGACCTGCCAAAAGAGATCACTGTGGCTACATCACGAAC GCTTTCTTATTACAAATTAGGAGCGTCGCAGCGTGTAGGCACT GATTCAGGTTTTGCTGCATACAACCGCTACCGTATTGGAAACT ATAAATTAAATACAGACCACGCCGGTAGCAACGACAATATTGC TTTGCTAGTACAGTAA
SARS-CoV-2 M タンパク質配列 受託番号 QII57163	**(配列番号 60)** MADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFLTWICLLQFAYANRNRF LYIIKLIFLWLLWPVTLACFVLAAVYRINWITGGIAIAMACLVGLM WLSYFIASFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLHGTILTRPLLESEL VIGAVILRGHLRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGAS QRVAGDSGFAAYSRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ
SARS-CoV-2 E タンパク質のヌクレオチド配列 NC_004718.3 SARS-CoV-2 ゲノム 範囲 26117..26347	**(配列番号 61)** ATGTACTCATTCGTTTCGGAAGAAACAGGTACGTTAATAGTTA ATAGCGTACTTCTTTTTCTTGCTTTCGTGGTATTCTTGCTAGTCA CACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCGATTGTGTGCGTACTGCTGC AATATTGTTAACGTGAGTTTAGTAAAACCAACGGTTTACGTCT ACTCGCGTGTTAAAAATCTGAACTCTTCTGAAGGAGTTCCTGA TCTTCTGGTCTAA
SARS-CoV-2 E タンパク質配列 受託番号 P59637.1	**(配列番号 62)** MYSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIV NVSLVKPSFYVYSRVKNLNSSRVPDLLV
SARS-CoV-2 N タンパク質のヌクレオチド配列 NC_045512.2 SARS-CoV-2 ゲノム 範囲 28274..29533	**(配列番号 63)** ATGTCTGATAATGGACCCCAAAATCAGCGAAATGCACCCCGCA TTACGTTTGGTGGACCCTCAGATTCAACTGGCAGTAACCAGAA TGGAGAACGCAGTGGGGCGCGATCAAAACAACGTCGGCCCCA AGGTTTACCCAATAATACTGCGTCTTGGTTCACCGCTCTCACTC AACATGGCAAGGAAGACCTTAAATTCCCTCGAGGACAAGGCG TTCCAATTAACACCAATAGCAGTCCAGATGACCAAATTGGCTA CTACCGAAGAGCTACCAGACGAATTCGTGGTGGTGACGGTAAA ATGAAAGATCTCAGTCCAAGATGGTATTTCTACTACCTAGGAA CTGGGCCAGAAGCTGGACTTCCCTATGGTGCTAACAAAGACGG CATCATATGGGTTGCAACTGAGGGAGCCTTGAATACACCAAAA GATCACATTGGCACCCGCAATCCTGCTAACAATGCTGCAATCG TGCTACAACTTCCTCAAGGAACAACATTGCCAAAAGGCTTCTA CGCAGAAGGGAGCAGAGGCGGCAGTCAAGCCTCTTCTCGTTCC TCATCACGTAGTCGCAACAGTTCAAGAAATTCAACTCCAGGCA

【表４－２】

	GCAGTAGGGGAACTTCTCCTGCTAGAATGGCTGGCAATGGCGG TGATGCTGCTCTTGCTTTGCTGCTGCTTGACAGATTGAACCAGC TTGAGAGCAAAATGTCTGGTAAAGGCCAACAACAACAAGGCC AAACTGTCACTAAGAAATCTGCTGCTGAGGCTTCTAAGAAGCC TCGGCAAAAACGTACTGCCACTAAAGCATACAATGTAACACAA GCTTTCGGCAGACGTGGTCCAGAACAAACCCAAGGAAATTTTG GGGACCAGGAACTAATCAGACAAGGAACTGATTACAAACATT GGCCGCAAATTGCACAATTTGCCCCCAGCGCTTCAGCGTTCTTC GGAATGTCGCGCATTGGCATGGAAGTCACACCTTCGGGAACGT GGTTGACCTACACAGGTGCCATCAAATTGGATGACAAAGATCC AAATTTCAAAGATCAAGTCATTTTGCTGAATAAGCATATTGAC GCATACAAAACATTCCCACCAACAGAGCCTAAAAAGGACAAA AAGAAGAAGGCTGATGAAACTCAAGCCTTACCGCAGAGACAG AAGAAACAGCAAACTGTGACTCTTCTTCCTGCTGCAGATTTGG ATGATTTCTCCAAACAATTGCAACAATCCATGAGCAGTGCTGA CTCAACTCAGGCCTAA
SARS-CoV-2 N タンパク質配列 受託番号 QIS29990.1	**(配列番号 64)** MSDNGPQNQRNAPRITFGGPSDSTGSNQNGERSGARSKQRRPQGL PNNTASWFTALTQHGKEDLKFPRGQGVPINTNSSPDDQIGYYRRA TRRIRGGDGKMKDLSPRWYFYYLGTGPEAGLPYGANKDGIIWVA TEGALNTPKDHIGTRNPANNAAIVLQLPQGTTLPKGFYAEGSRGG SQASSRSSSRSRNSSRNLTPGSSRGTSPARMAGNGGDAALALLLL DRLNQLESKMSGKGQQQQGQTVTKKSAAEASKKPRQKRTATKA YNVTQAFGRRGPEQTQGNFGDQELIRQGTDYKHWPQIAQFAPSA SAFFGMSRIGMEVTPSGTWLTYTGAIKLDDKDPNFKDQVILLNKH IDAYKTFPPTEPKKDKKKKADETQALPQRQKKQQTVTLLPAADL DDFSKQLQQSMSSADSTQA

【０１８０】

本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｅタンパク質またはその抗原性断片をコードし得る。一実施形態において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｅタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。一部の実施形態において、当該核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｅタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡである。一部の実施形態において、好適なｍＲＮＡ配列は、ヒト細胞での効率的な発現のために最適化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スモールエンベロープタンパク質またはその抗原性断片をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０１８１】

本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードし得る。一実施形態において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。一部の実施形態において、当該核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡである。一部の実施形態において、好適なｍＲＮＡ配列は、ヒト細胞での効率的な発現のために最適化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードするヌクレオチド配列を含む。本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎタンパク質またはその抗原性断片をコードし得る。一実施形態において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。一部の実施形態において、当該核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡである。一部の実施形態において、好適なｍＲＮＡ配列は、ヒト細胞での効率的な発現のために最適化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎ

タンパク質またはその抗原性断片をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０１８２】

本発明による最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＯＲＦ１ａｂタンパク質またはその抗原性断片をコードし得る。一実施形態において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＯＲＦ１ａｂタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。一部の実施形態において、当該核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＯＲＦ１ａｂタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡである。一部の実施形態において、好適なｍＲＮＡ配列は、ヒト細胞での効率的な発現のために最適化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＯＲＦ１ａｂタンパク質またはその抗原性断片をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０１８３】

一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸と組み合わされる。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸と組み合わされる。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｅタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸と組み合わされる。他の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸が、第２、第３、および／または第４の核酸と組み合わされ、この場合、上記第２の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、上記第３の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、上記第４の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｅタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。

【０１８４】

一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡまたはその抗原性断片はまた、５’および３’ＵＴＲ配列も含有する。以下に例示的な５’および３’ＵＴＲ配列を示す：

例示的な５’ＵＴＲ配列

ＧＧＡＣＡＧＡＵＣＧＣＣＵＧＧＡＧＡＣＧＣＣＡＵＣＣＡＣＧＣＵＧＵＵＵＵＧＡＣＣ
ＵＣＣＡＵＡＧＡＡＧＡＣＡＣＣＧＧＧＡＣＣＧＡＵＣＣＡＧＣＣＵＣＣＧＣＧＧＣＣＧ
ＧＧＡＡＣＧＧＵＧＣＡＵＵＧＧＡＡＣＧＣＧＧＡＵＵＣＣＣＣＧＵＧＣＣＡＡＧＡＧＵ
ＧＡＣＵＣＡＣＣＧＵＣＣＵＵＧＡＣＡＣＧ（配列番号１４４）

例示的な３’ＵＴＲ配列

ＣＧＧＧＵＧＧＣＡＵＣＣＣＵＧＵＧＡＣＣＣＣＵＣＣＣＣＡＧＵＧＣＣＵＣＵＣＣＵＧ
ＧＣＣＣＵＧＧＡＡＧＵＵＧＣＣＡＣＵＣＣＡＧＵＧＣＣＣＡＣＣＡＧＣＣＵＵＧＵＣＣ
ＵＡＡＵＡＡＡＡＵＵＡＡＧＵＵＧＣＡＵＣＡＡＧＣＵ（配列番号１４５）

または

ＧＧＧＵＧＧＣＡＵＣＣＣＵＧＵＧＡＣＣＣＣＵＣＣＣＣＡＧＵＧＣＣＵＣＵＣＣＵＧＧ
ＣＣＣＵＧＧＡＡＧＵＵＧＣＣＡＣＵＣＣＡＧＵＧＣＣＣＡＣＣＡＧＣＣＵＵＧＵＣＣＵ
ＡＡＵＡＡＡＡＵＵＡＡＧＵＵＧＣＡＵＣＡＡＡＧＣＵ（配列番号１４６）

【０１８５】

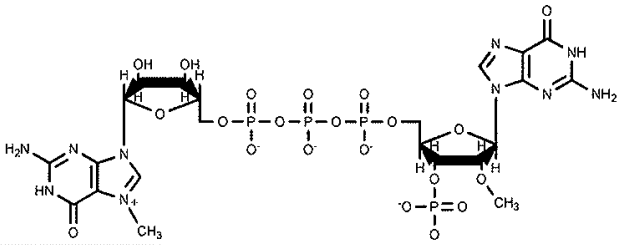
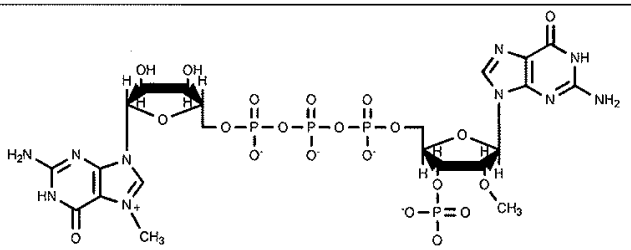
例示的なｍＲＮＡ構築物

特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡは、以下の構造エレメントを含む：

【０１８６】

【表５－１】

表 44. 例示的な mRNA 構築物の構造エレメント

構造エレメント	説明	配列座標
mRNA construct 1		
キャップ構造		1
5′ UTR	*GGAC...CACG*	1-140 ((配列番号 **144**)
SARS-CoV-2 S タンパク質[1]	AUG....UGA	141-3962 (配列番号 **148**)、配列番号 44 のヌクレオチド配列に対応する
3′ UTR	*CGGG...AGCU*	3963-4067 ((配列番号 **145**)
ポリ A テール	$(A)_x$, x=100-500[3]	NA
mRNA 構築物 2		
キャップ構造		1
5′ UTR	*GGAC...CACG*	1-140 (配列番号 **144**)
SARS-CoV-2 S タンパク質[2]	AUG....UGA	141-3962 (配列番号 **173**)、配列番号 166 のヌクレオチド配列に対応する
3′ UTR	*CGGG...AGCU*	3963-4067 (配列番号 **145**)
ポリ A テール	$(A)_x$, x=100-500[3]	NA

NA=該当なし
UTR=非翻訳領域

【表５－２】

[1] フューリン切断部位を除去し、残基 986 および 987 をプロリンで置き換えるように変異させた SARS-CoV-2 S タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列
[2] フューリン切断部位を除去し、残基 986 および 987 をプロリンで置き換えるように変異させ、さらに L18F、D80A、D215G、L242-、A243-、L244-、K417N、E484K、N501Y、D614G および A701V 変異を含有する、SARS-CoV-2 S タンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列
[3] 予測される範囲

【０１８７】

１つの特定の実施形態において、本発明によるｍＲＮＡは、以下の核酸配列を有する：

1 GGACAGAUCG CCUGGAGACG CCAUCCACGC UGUUUUGACC UCCAUA
GAAG

51 ACACCGGGAC CGAUCCAGCC UCCGCGGCCG GGAACGGUGC AUUGGA
ACGC

101 GGAUUCCCCG UGCCAAGAGU GACUCACCGU CCUUGACACG AUGUUC
GUCU

151 UCCUCGUGCU GCUCCCACUC GUUUCUUCCC AGUGUGUCAA CCUGAC
AACU

201 AGGACUCAGC UGCCACCAGC CUACACCAAC UCCUUCACCA GAGGCG
UGUA

251 UUACCCAGAC AAGGUGUUUA GAAGCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAG
GACC

301 UCUUUCUGCC CUUUUUCAGC AACGUGACAU GGUUUCACGC AAUUC
ACGUG

351 UCCGGCACUA AUGGCACAAA GCGGUUCGAC AAUCCAGUCC UGCCUU
UCAA

401 CGAUGGCGUC UACUUUGCAU CUACUGAGAA AUCCAAUAUC AUUAG
GGGAU

451 GGAUCUUCGG CACAACCCUG GAUUCUAAGA CCCAGAGCCU GCUGAU
CGUC

501 AACAACGCCA CAAACGUGGU CAUUAAGGUU UGCGAGUUUC AGUUCU
GUAA

551 CGAUCCUUUU CUGGGCGUGU AUUAUCAUAA GAACAAUAAG AGCUG
GAUGG

601 AGUCCGAGUU UAGAGUGUAU AGCUCUGCAA AUAAUUGUAC CUUUG
AGUAC

651 GUGAGCCAGC CCUUUCUGAU GGACCUGGAG GGAAAACAAG GAAACU
UCAA

701 AAACCUGCGG GAAUUCGUUU UCAAAAACAU CGACGGCUAU UUCAAG
AUCU

751 AUAGCAAGCA UACCCCAAUC AACCUCGUGA GGGACCUCCC CCAGGG
CUUU

801 AGCGCACUGG AGCCACUGGU UGACCUGCCU AUCGGCAUUA AUAUCA
CAAG

851 AUUUCAGACC CUGCUGGCAC UGCAUAGAAG CUAUCUGACC CCUGGA
GACU

901 CCUCUAGUGG GUGGACUGCC GGCGCCGCUG CCUACUAUGU GGGCUA
UCUG

951 CAGCCACGGA CAUUCCUGCU GAAAUACAAU GAGAACGGGA CAAUCA
CAGA

1001 UGCUGUUGAU UGCGCACUCG ACCCCCUGUC CGAGACAAAG UGCAC
UCUCA

1051 AGAGCUUUAC CGUCGAGAAG GGCAUCUAUC AGACCUCAAA CUUCA
GGGUG

1101 CAGCCCACAG AAUCUAUCGU GCGCUUCCCU AAUAUCACUA ACCUG
UGUCC

1151 UUUCGGUGAA GUGUUCAACG CCACCAGGUU UGCUAGCGUG UAUGC
CUGGA

1201 ACAGGAAGAG GAUCUCUAAC UGCGUCGCCG ACUAUUCCGU GCUGU
AUAAC
1251 AGCGCCUCCU UCUCCACAUU CAAAUGCUAU GGAGUGAGCC CGACA
AAACU
1301 GAACGAUCUC UGCUUUACAA AUGUCUACGC CGACUCUUUU GUGAU
CAGAG
1351 GGGACGAGGU CCGGCAGAUC GCACCAGGAC AGACAGGCAA GAUUGC
UGAC
1401 UACAACUAUA AGCUGCCUGA CGACUUCACA GGAUGUGUGA UCGCA
UGGAA
1451 CUCAAACAAU CUGGACUCCA AAGUCGGGGG CAACUAUAAU UACCU
GUAUC
1501 GCCUGUUCCG GAAGUCCAAC CUGAAGCCCU UCGAGAGGGA CAUCAG
UACA
1551 GAGAUCUAUC AGGCUGGCUC CACCCCUUGC AAUGGCGUCG AAGGC
UUUAA
1601 UUGUUAUUUU CCCCUGCAGU CUUACGGGUU UCAGCCUACU AAUGG
AGUUG
1651 GGUACCAGCC AUACAGAGUG GUCGUGCUCA GCUUCGAGCU CCUGC
AUGCU
1701 CCAGCUACAG UUUGCGGGCC AAAGAAGUCC ACUAACCUGG UGAAG
AAUAA
1751 GUGCGUCAAC UUCAACUUUA ACGGGCUCAC CGGCACCGGC GUGCU
GACUG
1801 AGAGCAACAA GAAGUUUCUG CCAUUUCAAC AGUUUGGACG GGACA
UUGCC
1851 GACACCACCG AUGCCGUUCG GGAUCCACAG ACCCUGGAAA UUCUGG
ACAU
1901 UACACCGUGC AGCUUCGGGG GCGUGAGCGU GAUCACACCC GGAACC
AAUA
1951 CAAGCAACCA GGUUGCCGUC CUGUAUCAGG AUGUCAAUUG CACAG
AAGUG
2001 CCAGUUGCUA UCCACGCAGA CCAGCUGACU CCCACAUGGC GGGUGU
AUAG
2051 CACCGGAUCC AACGUGUUUC AGACCCGCGC CGGAUGUCUC AUUGG
GGCCG
2101 AGCACGUGAA UAACAGCUAC GAGUGCGACA UCCCCAUUGG CGCCGG
CAUU
2151 UGUGCGUCUU ACCAGACUCA GACCAACUCU CCUGGCUCCG CCUCU
UCCGU
2201 UGCUAGUCAG UCUAUUAUUG CCUAUACCAU GAGCCUCGGA GCUGA
GAAUA
2251 GCGUGGCCUA CUCCAAUAAU UCCAUCGCAA UCCCUACUAA CUUCA
CUAUU
2301 UCUGUGACCA CCGAGAUCCU GCCUGUGUCU AUGACUAAGA CUAGC
GUUGA
2351 UUGUACCAUG UAUAUUUGUG GCGACUCUAC CGAAUGUUCU AACCU
GCUGC
2401 UUCAGUACGG CUCAUUUUGC ACACAGCUGA ACAGAGCCCU GACUG
GGAUC

2451 GCUGUGGAGC AGGACAAGAA CACACAGGAG GUGUUUGCAC AGGUG
AAGCA
2501 GAUCUAUAAG ACCCCUCCUA UUAAGGAUUU CGGCGGAUUC AAUUU
CUCAC
2551 AGAUUCUGCC AGACCCCAGU AAGCCUUCCA AGAGGAGCUU CAUCG
AGGAU
2601 CUCCUGUUUA ACAAGGUGAC CCUGGCAGAC GCCGGCUUUA UUAAG
CAAUA
2651 UGGGGAUUGC CUGGGCGACA UUGCUGCCAG AGACCUGAUU UGCGC
CCAGA
2701 AAUUCAAUGG CCUCACAGUG CUGCCACCUC UGCUGACCGA CGAGA
UGAUC
2751 GCUCAAUACA CUAGCGCACU GCUGGCCGGA ACCAUCACAU CAGGCU
GGAC
2801 CUUCGGGGCC GGAGCAGCAC UGCAGAUUCC AUUCGCCAUG CAGAU
GGCCU
2851 AUAGAUUCAA CGGCAUUGGC GUCACACAGA ACGUGCUGUA CGAAA
ACCAG
2901 AAGCUCAUCG CUAACCAGUU UAAUUCCGCA AUUGGAAAGA UCCAA
GAUUC
2951 ACUCAGCUCA ACCGCCUCUG CACUCGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUC
AACC
3001 AGAAUGCUCA GGCCCUGAAC ACACUCGUCA AGCAGCUGUC CUCUAA
CUUU
3051 GGCGCUAUCA GCUCCGUUCU GAACGACAUU CUGAGCCGCC UGGAU
CCCCC
3101 AGAGGCUGAA GUCCAGAUUG ACCGCCUGAU UACCGGCCGG CUGCAG
UCUC
3151 UGCAAACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCAGCCGA GAUCCG
GGCA
3201 UCCGCAAAUC UGGCAGCAAC UAAGAUGAGC GAAUGCGUGC UGGGC
CAGUC
3251 CAAGCGGGUG GACUUUUGUG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUU
CCCCC
3301 AGAGCGCCCC ACAUGGCGUU GUUUUUCUGC ACGUGACCUA UGUCC
CUGCU
3351 CAGGAAAAGA ACUUUACAAC UGCUCCUGCU AUCUGCCAUG ACGGC
AAGGC
3401 CCACUUCCCA CGGGAGGGAG UGUUUGUGUC CAAUGGCACA CACUG
GUUCG
3451 UGACCCAGAG GAACUUCUAU GAACCCCAGA UCAUCACCAC UGACAA
UACC
3501 UUCGUGUCUG GAAAUUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUCGUUA ACAAC
ACCGU
3551 GUACGACCCU CUCCAGCCAG AGCUGGACUC CUUUAAGGAG GAACU
GGAUA
3601 AGUAUUUUAA GAACCACACA AGCCCAGAUG UGGAUCUCGG GGACA
UCUCC
3651 GGAAUUAACG CCUCCGUGGU GAAUAUCCAG AAGGAGAUUG ACCGC
CUAAA

3701 UGAAGUUGCC AAGAACCUCA AUGAGUCUCU GAUUGAUCUG CAGGA
ACUGG
3751 GCAAGUAUGA GCAGUAUAUC AAAUGGCCCU GGUACAUUUG GCUGG
GGUUU
3801 AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUCAUGGUG ACCAUCAUGC UGUGU
UGCAU
3851 GACCUCCUGU UGUUCCUGUC UGAAGGGCUG CUGUAGUUGC GGCUC
UUGCU
3901 GUAAAUUCGA CGAAGAUGAU AGCGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGA
AGCUG
3951 CAUUAUACCU GACGGGUGGC AUCCCUGUGA CCCCUCCCCA GUGCCU
CUCC
4001 UGGCCCUGGA AGUUGCCACU CCAGUGCCCA CCAGCCUUGU CCUAA
UAAAA
4051 UUAAGUUGCA UCAAGCU（配列番号１４７）
＋ポリＡテール
太字の核酸は、開始および停止コドンを意味する
【０１８８】
別の特定の実施形態において、本発明によるｍＲＮＡは、以下の核酸配列を有する：
1 GGACAGAUCG CCUGGAGACG CCAUCCACGC UGUUUUGACC UCCAUAGAAG
51 ACACCGGGAC CGAUCCAGCC UCCGCGGCCG GGAACGGUGC AUUGGAACGC
101 GGAUUCCCCG UGCCAAGAGU GACUCACCGU CCUUGACACG AUGUUCGUCU
151 UCCUCGUGCU GCUCCCACUC GUUUCUUCCC AGUGUGUCAA CUUCACAACU
201 AGGACUCAGC UGCCACCAGC CUACACCAAC UCCUUCACCA GAGGCGUGUA
251 UUACCCAGAC AAGGUGUUUA GAAGCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC
301 UCUUUCUGCC CUUUUUCAGC AACGUGACAU GGUUUCACGC AAUUCAC
GUG
351 UCCGGCACUA AUGGCACAAA GCGGUUCGCC AAUCCAGUCC UGCCUUUCAA
401 CGAUGGCGUC UACUUUGCAU CUACUGAGAA AUCCAAUAUC AUUAGGGGAU
451 GGAUCUUCGG CACAACCCUG GAUUCUAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUC
501 AACAACGCCA CAAACGUGGU CAUUAAGGUU UGCGAGUUUC AGUUCUGUAA
551 CGAUCCUUUU CUGGGCGUGU AUUAUCAUAA GAACAAUAAG AGCUGGA
UGG
601 AGUCCGAGUU UAGAGUGUAU AGCUCUGCAA AUAAUUGUAC CUUUGAG
UAC
651 GUGAGCCAGC CCUUUCUGAU GGACCUGGAG GGAAAACAAG GAAACUUCAA
701 AAACCUGCGG GAAUUCGUUU UCAAAAACAU CGACGGCUAU UUCAAGAUCU
751 AUAGCAAGCA UACCCCAAUC AACCUCGUGA GGGGCCUCCC CCAGGGCUUU
801 AGCGCACUGG AGCCACUGGU UGACCUGCCU AUCGGCAUUA AUAUCACAAG
851 AUUUCAGACC CUGCAUAGAA GCUAUCUGAC CCCUGGAGAC UCCUCUAGUG
901 GGUGGACUGC CGGCGCCGCU GCCUACUAUG UGGGCUAUCU GCAGCCACGG
951 ACAUUCCUGC UGAAAUACAA UGAGAACGGG ACAAUCACAG AUGCUGUUGA
1001 UUGCGCACUC GACCCCCUGU CCGAGACAAA GUGCACUCUC AAGAGCUUUA
1051 CCGUCGAGAA GGGCAUCUAU CAGACCUCAA ACUUCAGGGU GCAGCCCACA
1101 GAAUCUAUCG UGCGCUUCCC UAAUAUCACU AACCUGUGUC CUUUCGGUGA
1151 AGUGUUCAAC GCCACCAGGU UUGCUAGCGU GUAUGCCUGG AACAGGAAGA
1201 GGAUCUCUAA CUGCGUCGCC GACUAUUCCG UGCUGUAUAA CAGCGCCUCC
1251 UUCUCCACAU UCAAAUGCUA UGGAGUGAGC CCGACAAAAC UGAACGAUCU
1301 CUGCUUUACA AAUGUCUACG CCGACUCUUU UGUGAUCAGA GGGGACGAGG
1351 UCCGGCAGAU CGCACCAGGA CAGACAGGCA ACAUUGCUGA CUACAACUAU

1401 AAGCUGCCUG ACGACUUCAC AGGAUGUGUG AUCGCAUGGA ACUCAAACAA
1451 UCUGGACUCC AAAGUCGGGG GCAACUAUAA UUACCUGUAU CGCCUGUUCC
1501 GGAAGUCCAA CCUGAAGCCC UUCGAGAGGG ACAUCAGUAC AGAGAUCUAU
1551 CAGGCUGGCU CCACCCCUUG CAAUGGCGUC AAGGGCUUUA AUUGUUAUUU
1601 UCCCCUGCAG UCUUACGGGU UUCAGCCUAC UUACGGAGUU GGGUACCAGC
1651 CAUACAGAGU GGUCGUGCUC AGCUUCGAGC UCCUGCAUGC UCCAGCUACA
1701 GUUUGCGGGC CAAAGAAGUC CACUAACCUG GUGAAGAAUA AGUGCGUCAA
1751 CUUCAACUUU AACGGGCUCA CCGGCACCGG CGUGCUGACU GAGAGCAACA
1801 AGAAGUUUCU GCCAUUUCAA CAGUUUGGAC GGGACAUUGC CGACACCACC
1851 GAUGCCGUUC GGGAUCCACA GACCCUGGAA AUUCUGGACA UUACACCGUG
1901 CAGCUUCGGG GGCGUGAGCG UGAUCACACC CGGAACCAAU ACAAGCAACC
1951 AGGUUGCCGU CCUGUAUCAG GGCGUCAAUU GCACAGAAGU GCCAGUUGCU
2001 AUCCACGCAG ACCAGCUGAC UCCCACAUGG CGGGUGUAUA GCACCGGAUC
2051 CAACGUGUUU CAGACCCGCG CCGGAUGUCU CAUUGGGGCC GAGCACGUGA
2101 AUAACAGCUA CGAGUGCGAC AUCCCCAUUG GCGCCGGCAU UUGUGCGUCU
2151 UACCAGACUC AGACCAACUC UCCUGGCUCC GCCUCUUCCG UUGCUAGUCA
2201 GUCUAUUAUU GCCUAUACCA UGAGCCUCGG AGUGGAGAAU AGCGUGGCCU
2251 ACUCCAAUAA UUCCAUCGCA AUCCCUACUA ACUUCACUAU UUCUGUGACC
2301 ACCGAGAUCC UGCCUGUGUC UAUGACUAAG ACUAGCGUUG AUUGUACCAU
2351 GUAUAUUUGU GGCGACUCUA CCGAAUGUUC UAACCUGCUG CUUCAGUACG
2401 GCUCAUUUUG CACACAGCUG AACAGAGCCC UGACUGGGAU CGCUGUGGAG
2451 CAGGACAAGA ACACACAGGA GGUGUUUGCA CAGGUGAAGC AGAUCUAUAA
2501 GACCCCUCCU AUUAAGGAUU UCGGCGGAUU CAAUUUCUCA CAGAUUCUGC
2551 CAGACCCCAG UAAGCCUUCC AAGAGGAGCU UCAUCGAGGA UCUCCUGUUU
2601 AACAAGGUGA CCCUGGCAGA CGCCGGCUUU AUUAAGCAAU AUGGGGAUUG
2651 CCUGGGCGAC AUUGCUGCCA GAGACCUGAU UUGCGCCCAG AAAUUCAAUG
2701 GCCUCACAGU GCUGCCACCU CUGCUGACCG ACGAGAUGAU CGCUCAAUAC
2751 ACUAGCGCAC UGCUGGCCGG AACCAUCACA UCAGGCUGGA CCUUCGGGGC
2801 CGGAGCAGCA CUGCAGAUUC CAUUCGCCAU GCAGAUGGCC UAUAGAUUCA
2851 ACGGCAUUGG CGUCACACAG AACGUGCUGU ACGAAAACCA GAAGCUCAUC
2901 GCUAACCAGU UUAAUUCCGC AAUUGGAAAG AUCCAAGAUU CACUCAGCUC
2951 AACCGCCUCU GCACUCGGAA AGCUGCAGGA CGUGGUCAAC CAGAAUGCUC
3001 AGGCCCUGAA CACACUCGUC AAGCAGCUGU CCUCUAACUU UGGCGCUAUC
3051 AGCUCCGUUC UGAACGACAU UCUGAGCCGC CUGGAUCCCC CAGAGGCUGA
3101 AGUCCAGAUU GACCGCCUGA UUACCGGCCG GCUGCAGUCU CUGCAAACAU
3151 ACGUGACCCA GCAGCUGAUC AGAGCAGCCG AGAUCCGGGC AUCCGCAAAU
3201 CUGGCAGCAA CUAAGAUGAG CGAAUGCGUG CUGGGCCAGU CCAAGCGGGU
3251 GGACUUUUGU GGCAAGGGCU ACCACCUGAU GAGCUUCCCC CAGAGCGCCC
3301 CACAUGGCGU UGUUUUUCUG CACGUGACCU AUGUCCCUGC UCAGGAAAAG
3351 AACUUUACAA CUGCUCCUGC UAUCUGCCAU GACGGCAAGG CCCACUUCCC
3401 ACGGGAGGGA GUGUUUGUGU CCAAUGGCAC ACACUGGUUC GUGACCCAGA
3451 GGAACUUCUA UGAACCCCAG AUCAUCACCA CUGACAAUAC CUUCGUGUCU
3501 GGAAAUUGCG ACGUCGUGAU CGGCAUCGUU AACAACACCG UGUACGACCC
3551 UCUCCAGCCA GAGCUGGACU CCUUUAAGGA GGAACUGGAU AAGUAUUUUA
3601 AGAACCACAC AAGCCCAGAU GUGGAUCUCG GGGACAUCUC CGGAAUUAAC
3651 GCCUCCGUGG UGAAUAUCCA GAAGGAGAUU GACCGCCUAA AUGAAGUUGC
3701 CAAGAACCUC AAUGAGUCUC UGAUUGAUCU GCAGGAACUG GGCAAGUAUG
3751 AGCAGUAUAU CAAAUGGCCC UGGUACAUUU GGCUGGGGUU UAUCGCCGGA
3801 CUGAUUGCCA UCGUCAUGGU GACCAUCAUG CUGUGUUGCA UGACCUCCUG
3851 UUGUUCCUGU CUGAAGGGCU GCUGUAGUUG CGGCUCUUGC UGUAAAU

UCG
3901 ACGAAGAUGA UAGCGAGCCC GUGCUGAAGG GCGUGAAGCU GCAUUAUACC
3951 UGACGGGUGG CAUCCCUGUG ACCCCUCCCC AGUGCCUCUC CUGGCCCUGG
4001 AAGUUGCCAC UCCAGUGCCC ACCAGCCUUG UCCUAAUAAA AUUAAGUUGC
4051 AUCAAGCU（配列番号１７２）
＋ポリＡテール
太字の核酸は、開始および停止コドンを意味する
【０１８９】
ｍＲＮＡ合成
インビトロ転写
本発明によるｍＲＮＡは、様々な公知の方法のいずれかに従って合成することができる。様々な方法は、公開米国特許出願ＵＳ２０１８／０２５８４２３号に記載されており、本発明を実施するのに使用でき、これらの全ては、参照によって本明細書に組み入れられる。例えば、本発明によるｍＲＮＡは、インビトロ転写（ＩＶＴ）を介して合成することができる。簡単に言えば、ＩＶＴは、典型的には、プロモーターを含有する直鎖状または環状のＤＮＡテンプレート、三リン酸リボヌクレオチドのプール、ＤＴＴおよびマグネシウムイオンを含んでいてもよい緩衝系、ならびに適切なＲＮＡポリメラーゼ（例えば、Ｔ３、Ｔ７、またはＳＰ６ＲＮＡポリメラーゼ）、ＤＮアーゼＩ、ピロホスファターゼ、および／またはＲＮアーゼ阻害剤を用いて実行される。正確な条件は、具体的な用途に従って変化することになる。
【０１９０】
一部の実施形態において、本発明によるｍＲＮＡの調製のために、インビトロでＤＮＡテンプレートを転写させる。好適なＤＮＡテンプレートは、典型的には、インビトロ転写のためのプロモーター、例えばＴ３、Ｔ７またはＳＰ６プロモーター、それに続いて、所望のｍＲＮＡのための所望のヌクレオチド配列、ならびに終結シグナルを有する。
【０１９１】
ヌクレオチド
一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、天然に存在するヌクレオシド（または改変されていないヌクレオシド；すなわち、アデノシン、グアノシン、シチジン、およびウリジン）を含むかまたはそれからなる。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、１つまたはそれ以上の改変されたヌクレオシド、例えばヌクレオシドアナログ（例えばアデノシンアナログ、グアノシンアナログ、シチジンアナログ、またはウリジンアナログ）を含む。１つまたはそれ以上のヌクレオシドアナログの存在は、ｍＲＮＡを、同じ配列を有するが天然に存在するヌクレオシドのみを含有する対照ｍＲＮＡより安定に、および／またはそれより低い免疫原性にすることができる。本発明の特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡは、天然に存在するヌクレオシドを用いて合成される。いかなる特定の理論にも縛られることは望まないが、発明者らは、天然に存在するヌクレオシドを用いて調製されたｍＲＮＡを使用することが、本発明の免疫原性組成物を提供するために有利であると考える。
【０１９２】
一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、改変されていない、および改変されたヌクレオシドの両方を含む。一部の実施形態において、１つまたはそれ以上の改変されたヌクレオシドは、ヌクレオシドアナログである。一部の実施形態において、１つまたはそれ以上の改変されたヌクレオシドは、改変された糖、および改変された核酸塩基から選択される少なくとも１つの改変を含む。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、１つまたはそれ以上の改変されたヌクレオシド間の連結を含む。
【０１９３】
一部の実施形態において、１つまたはそれ以上の改変されたヌクレオシドは、ヌクレオシドアナログであり、例えば、２－アミノアデノシン、２－チオチミジン、イノシン、ピロロ－ピリミジン、３－メチルアデノシン、５－メチルシチジン、Ｃ－５プロピニル－シ

チジン、Ｃ－５プロピニル－ウリジン、２－アミノアデノシン、Ｃ５－ブロモウリジン、Ｃ５－フルオロウリジン、Ｃ５－ヨードウリジン、Ｃ５－プロピニル－ウリジン、Ｃ５－プロピニル－シチジン、Ｃ５－メチルシチジン、２－アミノアデノシン、７－デアザアデノシン、７－デアザグアノシン、８－オキソアデノシン、８－オキソグアノシン、Ｏ（６）－メチルグアニン、プソイドウリジン（例えば、Ｎ－１－メチル－プソイドウリジン）、２－チオウリジン、および２－チオシチジンのうちの１つである。５－メチル－シチジン、プソイドウリジン、および２－チオ－ウリジンならびにそれらのｍＲＮＡへの取り込みの議論については、例えば、米国特許第８，２７８，０３６号またはＷＯ２０１１／０１２３１６を参照されたい。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、ＲＮＡであってもよく、この場合、Ｕ残基の２５％は、２－チオ－ウリジンであり、Ｃ残基の２５％は、５－メチルシチジンである。このような改変されたＲＮＡの使用に関する教示は、どちらも参照によってその全体が本明細書に組み入れられる米国特許公報ＵＳ２０１２／０１９５９３６および国際公報ＷＯ２０１１／０１２３１６に開示されている。

【０１９４】

合成後プロセシング

典型的には、ｍＲＮＡ合成後に、５’キャップおよび／または３’テールを付加してもよい。キャップの存在は、ほとんどの真核細胞で見出されるヌクレアーゼへの耐性を提供することにおいて重要である。「テール」の存在は、エキソヌクレアーゼ分解からｍＲＮＡを保護するのに役立つ。代替として、５’キャップおよび／または３’テール配列は、インビトロ転写反応で使用されるＤＮＡテンプレート配列中に含まれる。

【０１９５】

５’キャップは、典型的には、以下のように付加される：まず、ＲＮＡ末端ホスファターゼによって、５’ヌクレオチドから末端リン酸基のうちの１つを除去し、２つの末端リン酸基を残す；次いでグアニリルトランスフェラーゼを介して末端リン酸にグアノシン三リン酸（ＧＴＰ）を付加し、５’５’５三リン酸連結を生産し；次いでメチルトランスフェラーゼによってグアニンの７位の窒素をメチル化する。キャップ構造の例としては、これらに限定されないが、ｍ７Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’（Ａ，Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）ＡおよびＧ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇが挙げられる。追加のキャップ構造は、参照によって本明細書に組み入れられる公開米国特許出願ＵＳ２０１６／００３２３５６号および公開米国特許出願ＵＳ２０１８／０１２５９８９号に記載されている。

【０１９６】

典型的には、テール構造は、ポリ（Ａ）および／またはポリ（Ｃ）テールを含む。ｍＲＮＡの３’末端におけるポリＡまたはポリＣテールは、典型的には、それぞれ、少なくとも５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも１５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも２００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも２５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも３００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも３５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも４００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも４５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも５００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも５５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも６５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも７００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも７５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも８００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも８５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも９００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、少なくとも９５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、または少なくとも１ｋｂのアデノシンもしくはシトシンヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、ポリＡまたはポリＣテールは、それぞれ、約１０～８００アデノシンまたはシトシンヌクレオチド（例えば、約１０～２００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１０～３００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１０～４００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１０～

５００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１０～５５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１０～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約５０～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１００～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１５０～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約２００～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約２５０～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約３００～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約３５０～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約４００～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約４５０～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約５００～６００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１０～１５０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約１０～１００アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、約２０～７０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド、または約２０～６０アデノシンもしくはシトシンヌクレオチド）であってもよい。一部の実施形態において、テール構造は、本明細書に記載される様々な長さを有するポリ（Ａ）およびポリ（Ｃ）テールの組合せを含む。一部の実施形態において、テール構造は、少なくとも５０％、５５％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％のアデノシンヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、テール構造は、少なくとも５０％、５５％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％のシトシンヌクレオチドを含む。

【０１９７】

合成後精製

合成後にｍＲＮＡを精製するために、様々な方法を使用することができる。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、タンジェンシャルフローろ過を使用して精製される。好適な精製方法としては、公開米国特許出願ＵＳ２０１６／００４０１５４号、公開米国特許出願ＵＳ２０１５／０３７６２２０、公開米国特許出願ＵＳ２０１８／０２５１７５５号、公開米国特許出願ＵＳ２０１８／０２５１７５４号、２０１８年１１月８日に出願された米国仮出願第６２／７５７，６１２号、および２０１９年８月２６日に出願された米国仮出願第６２／８９１，７８１号に記載されるものが挙げられ、これらは全て参照によって本明細書に組み入れられ、本発明を実施するのに使用することができる。

【０１９８】

一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、キャッピングおよびテーリングの前に精製される。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、キャッピングおよびテーリングの後に精製される。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、キャッピングおよびテーリングの前と後の両方で精製される。

【０１９９】

一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、キャッピングおよびテーリングの前もしくは後のいずれかに、またはキャッピングおよびテーリングの前ならびに後の両方に、遠心分離によって精製される。

【０２００】

一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、キャッピングおよびテーリングの前もしくは後のいずれかに、またはキャッピングおよびテーリングの前ならびに後の両方に、ろ過によって精製される。

【０２０１】

一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、キャッピングおよびテーリングの前もしくは後のいずれかに、またはキャッピングおよびテーリングの前ならびに後の両方に、タンジェンシャルフローろ過（ＴＦＦ）によって精製される。

【０２０２】

脂質ナノ粒子

本発明によれば、本発明の最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡは、脂質ナノ粒子中で送達してもよい。典型的には、本発明と共に使用するのに好適な脂質ナノ粒子は

、１つまたはそれ以上のカチオン脂質を含む。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１つまたはそれ以上のカチオン脂質、１つまたはそれ以上の非カチオン脂質、１つまたはそれ以上のコレステロールベースの脂質および１つまたはそれ以上のＰＥＧ修飾脂質を含む。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１つまたはそれ以上のカチオン脂質、１つまたはそれ以上の非カチオン脂質、および１つまたはそれ以上のＰＥＧ修飾脂質を含む。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、４つ以下の別個の脂質成分を含む。

【０２０３】

本発明と共に使用するための典型的な脂質ナノ粒子は、４つの脂質成分：カチオン脂質（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）、非カチオン脂質（例えば、ＤＯＰＥまたはＤＥＰＥ）、コレステロールベースの脂質（例えば、コレステロール）およびＰＥＧ修飾脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ）で構成される。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、３つ以下の別個の脂質成分を含む。例示的な脂質ナノ粒子は、３つの脂質成分：カチオン脂質（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）、非カチオン脂質（例えば、ＤＯＰＥまたはＤＥＰＥ）およびＰＥＧ修飾脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ）で構成される。

【０２０４】

ｍＲＮＡをカプセル化している脂質ナノ粒子の形成

本発明における使用のための脂質ナノ粒子は、現在当業界において公知の様々な技術によって調製することができる。例えば、多層小胞（ＭＬＶ）は、従来の技術に従って調製してもよく、例えば、適切な溶媒中に脂質を溶解させ、次いで、溶媒を蒸発させて容器の内部に薄膜を残すことによって、または噴霧乾燥によって、好適なコンテナまたは容器の内壁上に選択された脂質を堆積させることにより調製してもよい。次いで水性相をボルテックス運動で混合しながら容器に添加してもよく、それによりＭＬＶの形成が起こる。次いで多層小胞の均質化、音波処理または押出しによって、単層小胞（ＵＬＶ）を形成することができる。加えて、界面活性剤除去技術によって、単層小胞を形成することができる。

【０２０５】

様々な方法が、公開米国特許出願ＵＳ２０１１／０２４４０２６号、公開米国特許出願ＵＳ２０１６／００３８４３２号、公開米国特許出願ＵＳ２０１８／０１５３８２２号、公開米国特許出願ＵＳ２０１８／０１２５９８９号および２０１９年７月２３日付けで出願された米国仮出願第６２／８７７，５９７号に記載されており、本発明を実施するのに使用することができ、これらの全ては参照によって本明細書に組み入れられる。プロセスＡは、本明細書で使用される場合、ＵＳ２０１６／００３８４３２に記載されたように、まず脂質を脂質ナノ粒子に予備形成することなく、それを脂質の混合物と混合することによってｍＲＮＡをカプセル化する従来の方法を指す。プロセスＢは、本明細書で使用される場合、ＵＳ２０１８／０１５３８２２に記載されたように、予備形成された脂質ナノ粒子をｍＲＮＡと混合することによってｍＲＮＡをカプセル化するプロセスを指す。

【０２０６】

簡単に言えば、ｍＲＮＡが充填された脂質ナノ粒子を調製するプロセスは、周囲温度より高い温度に（またはその温度で維持するために）溶液の１つまたはそれ以上を加熱する工程（すなわち、熱源からの熱を溶液に適用する工程）を含み、１つまたはそれ以上の溶液は、予備形成された脂質ナノ粒子を含む溶液、ｍＲＮＡを含む溶液、およびｍＲＮＡをカプセル化した脂質ナノ粒子を含む混合された溶液である。一部の実施形態において、このプロセスは、混合する工程の前に、ｍＲＮＡ溶液および予備形成された脂質ナノ粒子の溶液の一方または両方を加熱する工程を含む。一部の実施形態において、このプロセスは、混合する工程中に、予備形成された脂質ナノ粒子を含む溶液、ｍＲＮＡを含む溶液、およびｍＲＮＡをカプセル化した脂質ナノ粒子を含む溶液の１つまたはそれ以上を加熱することを含む。一部の実施形態において、このプロセスは、混合する工程の後に、ｍＲＮＡをカプセル化した脂質ナノ粒子を加熱する工程を含む。一部の実施形態において、溶液の１つまたはそれ以上が加熱される（または溶液の１つまたはそれ以上が維持される）温度

は、約３０℃、３７℃、４０℃、４５℃、５０℃、５５℃、６０℃、６５℃、もしくは７０℃であるかまたはそれより高い温度である。一部の実施形態において、溶液の１つまたはそれ以上が加熱される温度は、約２５～７０℃、約３０～７０℃、約３５～７０℃、約４０～７０℃、約４５～７０℃、約５０～７０℃、または約６０～７０℃の範囲である。一部の実施形態において、溶液の１つまたはそれ以上が加熱される周囲温度より高い温度は、約６５℃である。

【０２０７】

様々な方法を、本発明に好適なｍＲＮＡ溶液を調製するのに使用することができる。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、本明細書に記載される緩衝溶液中に直接的に溶解してもよい。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ溶液は、カプセル化するための脂質溶液と混合する前に、ｍＲＮＡストック溶液を緩衝溶液と混合することによって生成してもよい。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ溶液は、カプセル化するための脂質溶液と混合する直前に、ｍＲＮＡストック溶液を緩衝溶液と混合することによって生成してもよい。一部の実施形態において、好適なｍＲＮＡストック溶液は、水中にｍＲＮＡを、約０．２ｍｇ／ｍｌ、０．４ｍｇ／ｍｌ、０．５ｍｇ／ｍｌ、０．６ｍｇ／ｍｌ、０．８ｍｇ／ｍｌ、１．０ｍｇ／ｍｌ、１．２ｍｇ／ｍｌ、１．４ｍｇ／ｍｌ、１．５ｍｇ／ｍｌ、もしくは１．６ｍｇ／ｍｌ、２．０ｍｇ／ｍｌ、２．５ｍｇ／ｍｌ、３．０ｍｇ／ｍｌ、３．５ｍｇ／ｍｌ、４．０ｍｇ／ｍｌ、４．５ｍｇ／ｍｌ、もしくは５．０ｍｇ／ｍｌの濃度で、またはそれより大きい濃度で、含有していてもよい。

【０２０８】

一部の実施形態において、ｍＲＮＡストック溶液は、ポンプを使用して緩衝溶液と混合される。例示的なポンプとしては、これらに限定されないが、ギアポンプ、蠕動ポンプおよび遠心ポンプが挙げられる。

【０２０９】

典型的には、緩衝溶液は、ｍＲＮＡストック溶液の速度より速い速度で混合される。例えば、緩衝溶液は、ｍＲＮＡストック溶液の速度の、少なくとも１倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、または２０倍速い速度で混合することができる。一部の実施形態において、緩衝溶液は、約１００～６０００ｍｌ／分（例えば、約１００～３００ｍｌ／分、３００～６００ｍｌ／分、６００～１２００ｍｌ／分、１２００～２４００ｍｌ／分、２４００～３６００ｍｌ／分、３６００～４８００ｍｌ／分、４８００～６０００ｍｌ／分、または６０～４２０ｍｌ／分）の範囲の流速で混合される。一部の実施形態において、緩衝溶液は、約６０ｍｌ／分、１００ｍｌ／分、１４０ｍｌ／分、１８０ｍｌ／分、２２０ｍｌ／分、２６０ｍｌ／分、３００ｍｌ／分、３４０ｍｌ／分、３８０ｍｌ／分、４２０ｍｌ／分、４８０ｍｌ／分、５４０ｍｌ／分、６００ｍｌ／分、１２００ｍｌ／分、２４００ｍｌ／分、３６００ｍｌ／分、４８００ｍｌ／分、もしくは６０００ｍｌ／分の流速、またはそれより速い流速で混合される。

【０２１０】

一部の実施形態において、ｍＲＮＡストック溶液は、約１０～６００ｍｌ／分（例えば、約５～５０ｍｌ／分、約１０～３０ｍｌ／分、約３０～６０ｍｌ／分、約６０～１２０ｍｌ／分、約１２０～２４０ｍｌ／分、約２４０～３６０ｍｌ／分、約３６０～４８０ｍｌ／分、または約４８０～６００ｍｌ／分）の範囲の流速で混合される。一部の実施形態において、ｍＲＮＡストック溶液は、約５ｍｌ／分、１０ｍｌ／分、１５ｍｌ／分、２０ｍｌ／分、２５ｍｌ／分、３０ｍｌ／分、３５ｍｌ／分、４０ｍｌ／分、４５ｍｌ／分、５０ｍｌ／分、６０ｍｌ／分、８０ｍｌ／分、１００ｍｌ／分、２００ｍｌ／分、３００ｍｌ／分、４００ｍｌ／分、５００ｍｌ／分、もしくは６００ｍｌ／分の流速、またはそれより速い流速で混合される。

【０２１１】

本発明によれば、脂質溶液は、ｍＲＮＡのカプセル化のための脂質ナノ粒子を形成するのに好適な脂質の混合物を含有する。一部の実施形態において、好適な脂質溶液は、エタノールベースである。例えば、好適な脂質溶液は、純粋なエタノール（すなわち、１００

％のエタノール）中に溶解した所望の脂質の混合物を含有していてもよい。別の実施形態において、好適な脂質溶液は、イソプロピルアルコールベースである。別の実施形態において、好適な脂質溶液は、ジメチルスルホキシドベースである。別の実施形態において、好適な脂質溶液は、これらに限定されないが、エタノール、イソプロピルアルコールおよびジメチルスルホキシドなどの好適な溶媒の混合物である。

【０２１２】

好適な脂質溶液は、様々な濃度で所望の脂質の混合物を含有していてもよい。例えば、好適な脂質溶液は、所望の脂質の混合物を、約０．１ｍｇ／ｍｌ、０．５ｍｇ／ｍｌ、１．０ｍｇ／ｍｌ、２．０ｍｇ／ｍｌ、３．０ｍｇ／ｍｌ、４．０ｍｇ／ｍｌ、５．０ｍｇ／ｍｌ、６．０ｍｇ／ｍｌ、７．０ｍｇ／ｍｌ、８．０ｍｇ／ｍｌ、９．０ｍｇ／ｍｌ、１０ｍｇ／ｍｌ、１５ｍｇ／ｍｌ、２０ｍｇ／ｍｌ、３０ｍｇ／ｍｌ、４０ｍｇ／ｍｌ、５０ｍｇ／ｍｌ、もしくは１００ｍｇ／ｍｌの総濃度、またはそれより大きい総濃度で、含有していてもよい。一部の実施形態において、好適な脂質溶液は、所望の脂質の混合物を、約０．１～１００ｍｇ／ｍｌ、０．５～９０ｍｇ／ｍｌ、１．０～８０ｍｇ／ｍｌ、１．０～７０ｍｇ／ｍｌ、１．０～６０ｍｇ／ｍｌ、１．０～５０ｍｇ／ｍｌ、１．０～４０ｍｇ／ｍｌ、１．０～３０ｍｇ／ｍｌ、１．０～２０ｍｇ／ｍｌ、１．０～１５ｍｇ／ｍｌ、１．０～１０ｍｇ／ｍｌ、１．０～９ｍｇ／ｍｌ、１．０～８ｍｇ／ｍｌ、１．０～７ｍｇ／ｍｌ、１．０～６ｍｇ／ｍｌ、または１．０～５ｍｇ／ｍｌの範囲の総濃度で含有していてもよい。一部の実施形態において、好適な脂質溶液は、所望の脂質の混合物を、約１００ｍｇ／ｍｌ、９０ｍｇ／ｍｌ、８０ｍｇ／ｍｌ、７０ｍｇ／ｍｌ、６０ｍｇ／ｍｌ、５０ｍｇ／ｍｌ、４０ｍｇ／ｍｌ、３０ｍｇ／ｍｌ、２０ｍｇ／ｍｌ、または１０ｍｇ／ｍｌまでの総濃度で含有していてもよい。

【０２１３】

あらゆる所望の脂質を、ｍＲＮＡをカプセル化するのに好適なあらゆる比率で混合することができる。一部の実施形態において、好適な脂質溶液は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、両親媒性ブロックコポリマー（例えばポロキサマー）および／またはＰＥＧ修飾脂質を含む所望の脂質の混合物を含有する。一部の実施形態において、好適な脂質溶液は、１つまたはそれ以上のカチオン脂質、１つまたはそれ以上の非カチオン脂質、１つまたはそれ以上のコレステロールベースの脂質、および／または１つまたはそれ以上のＰＥＧ修飾脂質を含む所望の脂質の混合物を含有する。

【０２１４】

一部の実施形態において、提供される医薬組成物は、脂質ナノ粒子を含み、ｍＲＮＡは、脂質ナノ粒子の両方の表面に会合されており、同じ脂質ナノ粒子内にカプセル化されている。例えば、本発明の医薬組成物の調製中に、カチオン脂質ナノ粒子は、静電的相互作用を介してｍＲＮＡと会合することができる。

【０２１５】

一部の実施形態において、本発明の化合物、医薬組成物および方法は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されたｍＲＮＡを含む。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、異なる脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、それらの脂質組成、脂質成分のモル比、サイズ、電荷（ゼータ電位）、標的化するリガンドおよび／またはそれらの組合せの点で異なる１つまたはそれ以上の脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。一部の実施形態において、１つまたはそれ以上の脂質ナノ粒子は、ステロールベースのカチオン脂質、中性脂肪、ＰＥＧ修飾脂質および／またはそれらの組合せの異なる組成を有していてもよい。一部の実施形態において、１つまたはそれ以上の脂質ナノ粒子は、脂質ナノ粒子を作り出すのに使用される、コレステロールベースの脂質、カチオン脂質、中性脂肪、およびＰＥＧ修飾脂質の異なるモル比を有していてもよい。

【０２１６】

脂質ナノ粒子への所望のｍＲＮＡの取り込みプロセスは、しばしば「ローディング」と称される。例示的な方法は、参照によって本明細書に組み入れられるＬａｓｉｃら、ＦＥ

ＢＳ　Ｌｅｔｔ．、３１２：２５５～２５８、１９９２に記載されている。脂質ナノ粒子に取り込まれた核酸は、脂質ナノ粒子の二分子層膜内の脂質ナノ粒子の内部空間中に完全または部分的に配置されていてもよいし、または脂質ナノ粒子膜の外表面に会合していてもよい。脂質ナノ粒子へのｍＲＮＡの取り込みはまた、本明細書では「カプセル化」とも称され、この場合、核酸は、脂質ナノ粒子の内部空間内に全体が含有される。ｍＲＮＡを脂質ナノ粒子に取り込む目的はしばしば、ｍＲＮＡを分解する酵素もしくは化学物質および／またはｍＲＮＡの迅速な排出を引き起こす系もしくは受容体を含有する可能性がある環境からｍＲＮＡを保護することである。したがって、一部の実施形態において、好適な脂質ナノ粒子は、そこに含有されるｍＲＮＡの安定性を強化することが可能であり、および／または標的細胞もしくは組織へのｍＲＮＡの送達を容易にする。

【０２１７】

本発明による好適な脂質ナノ粒子は、様々なサイズで作製することができる。一部の実施形態において、提供される脂質ナノ粒子は、これまで公知の脂質ナノ粒子より小さく作製することができる。一部の実施形態において、減少したサイズの脂質ナノ粒子は、ｍＲＮＡのより効率的な送達に関連する。適切な脂質ナノ粒子のサイズの選択は、標的細胞または組織の部位および作製される脂質ナノ粒子の適用のある程度を考察に入れることができる。

【０２１８】

一部の実施形態において、脂質ナノ粒子の適切なサイズは、ｍＲＮＡの全身への分布が容易になるように選択される。代替として、またはそれに加えて、脂質ナノ粒子は、脂質ナノ粒子の寸法が、特定の細胞または組織への分布を制限するかまたは特別に回避するのに十分な直径を有するようなサイズにしてもよい。

【０２１９】

脂質ナノ粒子の集団のサイズ調整のために当業界において公知の様々な代替方法が利用可能である。１つのこのようなサイズ調整方法は、参照によって本明細書に組み入れられる米国特許第４，７３７，３２３号に記載されている。バスまたはプローブ超音波処理のいずれかによって脂質ナノ粒子懸濁液を超音波処理することによって、直径約０．０５ミクロン未満の小さいＵＬＶまで徐々にサイズを低減させる。均質化は、大きい脂質ナノ粒子をより小さいものに断片化するために剪断エネルギーに頼る別の方法である。典型的な均質化手順において、ＭＬＶは、選択される脂質ナノ粒子サイズ、典型的には約０．１～０．５ミクロンが観察されるまで、標準的なエマルジョンホモジナイザーを介して再循環させる。脂質ナノ粒子のサイズは、参照によって本明細書に組み入れられるＢｌｏｏｍｆｉｅｌｄ、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｂｉｏｅｎｇ．、１０：４２１～４５０（１９８１）に記載されるような準弾性光散乱（ｑｕａｓｉ－ｅｌｅｃｔｒｉｃ　ｌｉｇｈｔ　ｓｃａｔｔｅｒｉｎｇ；ＱＥＬＳ）によって決定することができる。平均脂質ナノ粒子直径は、形成された脂質ナノ粒子の超音波処理によって低減することもできる。間欠的な超音波処理サイクルは、効率的な脂質ナノ粒子合成をガイドするためのＱＥＬＳ評価と交互に行ってもよい。

【０２２０】

脂質ナノ粒子の配合物

一部の実施形態において、医薬組成物中の精製された脂質ナノ粒子の大部分、すなわち、脂質ナノ粒子の、約５０％より多く、５５％より多く、６０％より多く、６５％より多く、７０％より多く、７５％より多く、８０％より多く、８５％より多く、９０％より多く、９５％より多く、９６％より多く、９７％より多く、９８％より多く、または９９％より多くは、約１５０ｎｍ（例えば、約１４５ｎｍ、約１４０ｎｍ、約１３５ｎｍ、約１３０ｎｍ、約１２５ｎｍ、約１２０ｎｍ、約１１５ｎｍ、約１１０ｎｍ、約１０５ｎｍ、約１００ｎｍ、約９５ｎｍ、約９０ｎｍ、約８５ｎｍ、または約８０ｎｍ）のサイズを有する。一部の実施形態において、精製された脂質ナノ粒子の実質的に全ては、約１５０ｎｍ（例えば、約１４５ｎｍ、約１４０ｎｍ、約１３５ｎｍ、約１３０ｎｍ、約１２５ｎｍ、約１２０ｎｍ、約１１５ｎｍ、約１１０ｎｍ、約１０５ｎｍ、約１００ｎｍ、約９５ｎ

ｍ、約９０ｎｍ、約８５ｎｍ、または約８０ｎｍ）のサイズを有する。

【０２２１】

一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１５０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１２０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１００ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、９０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、８０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、７０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、６０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、５０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、３０ｎｍ未満の平均サイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、２０ｎｍ未満の平均サイズを有する。

【０２２２】

一部の実施形態において、本発明によって提供される医薬組成物中の脂質ナノ粒子の、約７０％より多く、７５％より多く、８０％より多く、８５％より多く、９０％より多く、９５％より多く、９６％より多く、９７％より多く、９８％より多く、９９％より多くは、約４０～９０ｎｍ（例えば、約４５～８５ｎｍ、約５０～８０ｎｍ、約５５～７５ｎｍ、約６０～７０ｎｍ）の範囲のサイズを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子の実質的に全ては、約４０～９０ｎｍ（例えば、約４５～８５ｎｍ、約５０～８０ｎｍ、約５５～７５ｎｍ、約６０～７０ｎｍ）の範囲のサイズを有する。約５０～７０ｎｍ（例えば、５５～６５ｎｍ）の平均サイズを有する脂質ナノ粒子を含む組成物は、噴霧を介した肺送達に特に好適である。

【０２２３】

一部の実施形態において、本発明によって提供される医薬組成物中の脂質ナノ粒子の、分散性、または分子のサイズにおける不均質性の尺度（ＰＤＩ）は、約０．５未満である。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．５未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．４未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．３未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．２８未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．２５未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．２３未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．２０未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．１８未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．１６未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．１４未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．１２未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．１０未満のＰＤＩを有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約０．０８未満のＰＤＩを有する。

【０２２４】

一部の実施形態において、本発明によって提供される医薬組成物中の精製された脂質ナノ粒子の、約７５％より多く、８０％より多く、８５％より多く、９０％より多く、９５％より多く、９６％より多く、９７％より多く、９８％より多く、または９９％より多くが、それぞれ個々の粒子内にｍＲＮＡをカプセル化する。一部の実施形態において、医薬組成物中の精製された脂質ナノ粒子の実質的に全てが、それぞれ個々の粒子内にｍＲＮＡをカプセル化する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、５０％～９９％のカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約６０％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約６５％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約７０％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約７５％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約８０％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約８５％より

大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約９０％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約９２％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約９５％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約９８％より大きいカプセル化効率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約９９％より大きいカプセル化効率を有する。典型的には、本発明と共に使用するための脂質ナノ粒子は、少なくとも９０％～９５％のカプセル化効率を有する。

【０２２５】

一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１～１０のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１を超えるＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約１のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約２のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約３のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約４のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約５のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約６のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約７のＮ／Ｐ比率を有する。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、約８のＮ／Ｐ比率を有する。本発明と共に使用するための典型的な脂質ナノ粒子は、約４のＮ／Ｐ比率を有する。

【０２２６】

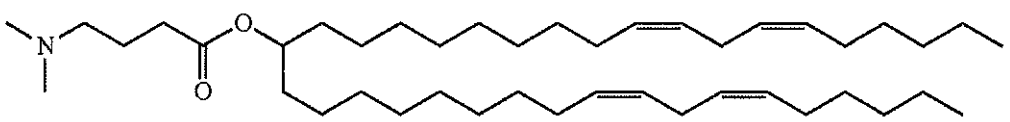
一部の実施形態において、本発明による医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約０．５ｍｇ、１ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１００ｍｇ、５００ｍｇ、または１０００ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、カプセル化されたｍＲＮＡ約０．１ｍｇ～１０００ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約０．５ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約０．８ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約１ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約５ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約８ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約１０ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約５０ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約１００ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約５００ｍｇを含有する。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくともカプセル化されたｍＲＮＡ約１０００ｍｇを含有する。

【０２２７】

カチオン脂質

本発明の医薬組成物および方法における使用のための好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１０／１４４７４０に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化３】



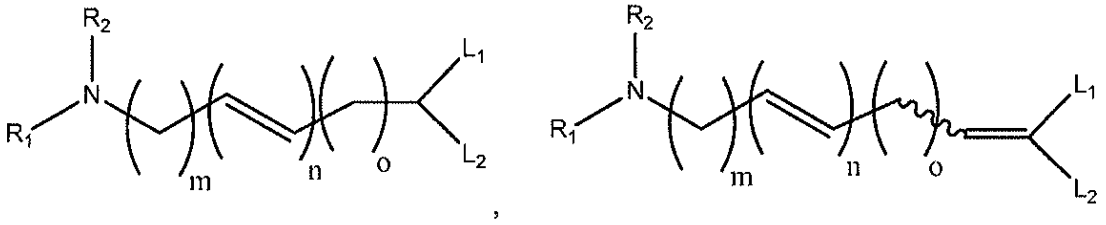
の化合物構造を有するカチオン脂質である、（６Ｚ，９Ｚ，２８Ｚ，３１Ｚ）－ヘプタトリアコンター６，９，２８，３１－テトラエン－１９－イル４－（ジメチルアミノ）ブタ

ノエートおよびその医薬的に許容される塩を含む。

【０２２８】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質は、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１３／１４９１４０に記載されるようなイオン化可能なカチオン脂質を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式のうちの１つのカチオン脂質：

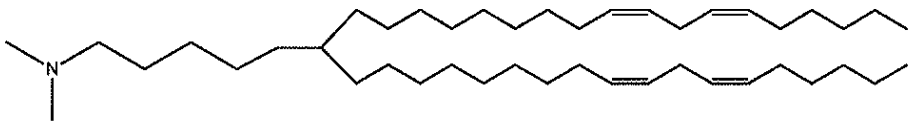
【化４】



，

またはそれらの医薬的に許容される塩を含み、式中、R_1およびR_2は、それぞれ独立して、水素、場合により置換されていてもよい、可変的に飽和または不飽和のC_1～C_{20}アルキルおよび場合により置換されていてもよい、可変的に飽和または不飽和のC_6～C_{20}アシルからなる群から選択され；L_1およびL_2は、それぞれ独立して、水素、場合により置換されていてもよいC_1～C_{30}アルキル、場合により置換されていてもよい可変的に不飽和のC_1～C_{30}アルケニル、および場合により置換されていてもよいC_1～C_{30}アルキニルからなる群から選択され；mおよびoは、それぞれ独立して、ゼロおよびあらゆる正の整数からなる群から選択され（例えば、mは、３である）；nは、ゼロまたはあらゆる正の整数である（例えば、nは、１である）。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の化合物構造を有するカチオン脂質である、（１５Ｚ，１８Ｚ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－６－（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イル）テトラコサ－１５，１８－ジエン－１－アミン（「ＨＧＴ５０００」）：

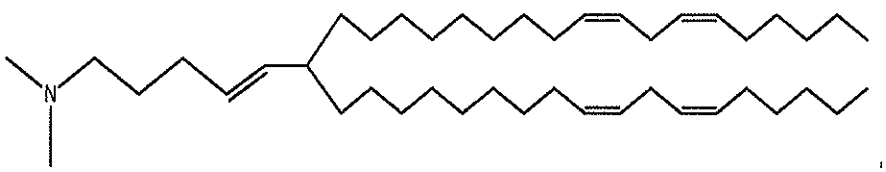
【化５】



(HGT-5000)

およびその医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の化合物構造を有するカチオン脂質である、（１５Ｚ、１８Ｚ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－６－（（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イル）テトラコサ－４，１５，１８－トリエン－１－アミン（「ＨＧＴ５００１」）：

【化６】

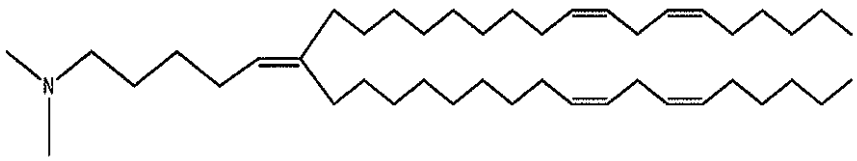


(HGT-5001)

およびその医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物

および方法は、以下の化合物構造を有するカチオン脂質である、（１５Ｚ，１８Ｚ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－６－（（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イル）テトラコサ－５，１５，１８－トリエン－１－アミン（「ＨＧＴ５００２」）：

【化７】



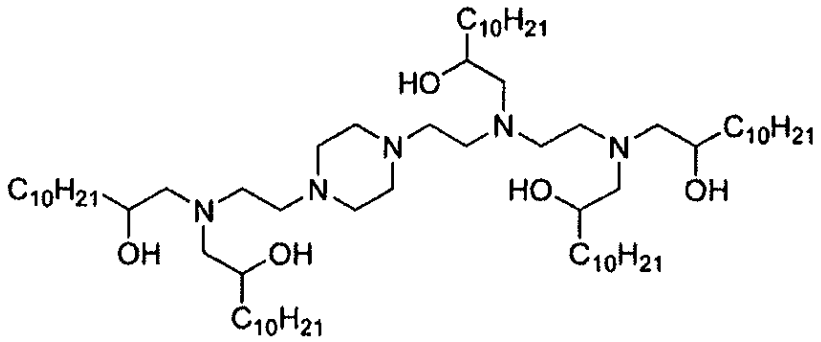
(HGT-5002)

およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２２９】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１０／０５３５７２においてアミノアルコールリピドイドとして記載されたカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化８】

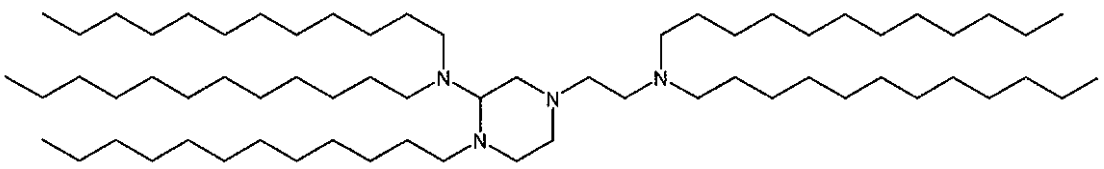


の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２３０】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１６／１１８７２５に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化９】

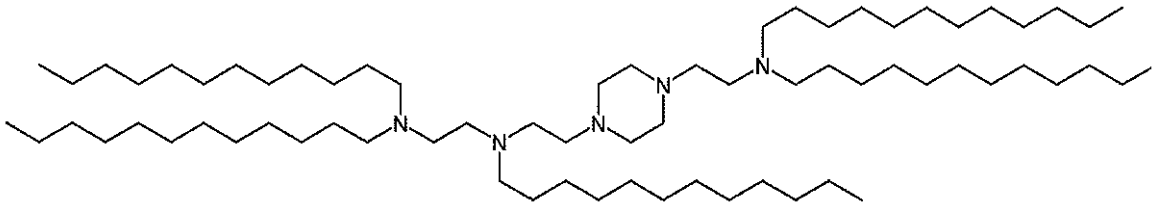


の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２３１】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１６／１１８７２４に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化１０】



の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

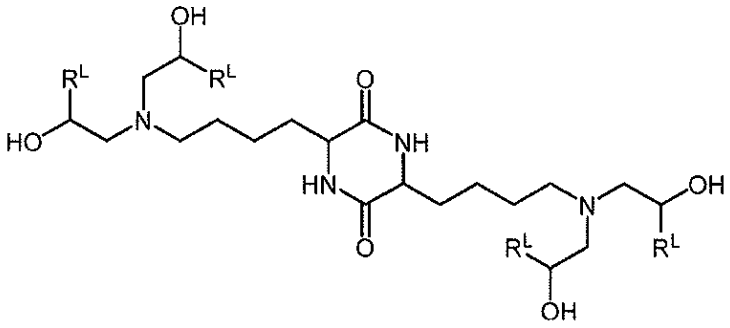
【０２３２】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、１４，２５－ジトリデシル１５，１８，２１，２４－テトラアザ－オクタトリアコンタンの式を有するカチオン脂質、およびそれらの医薬的に許容される塩が挙げられる。

【０２３３】

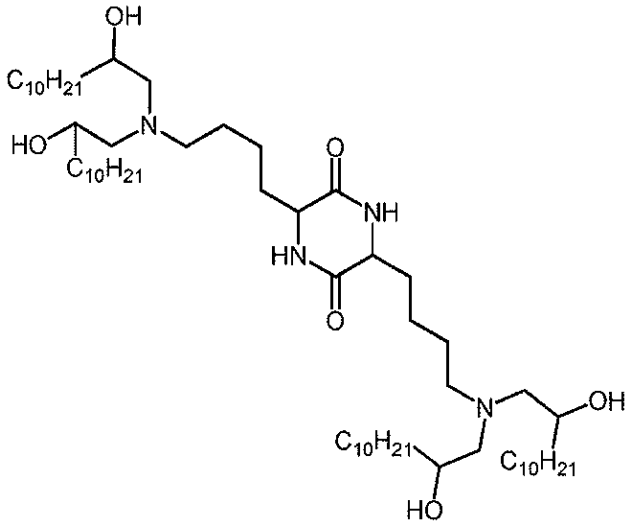
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、国際特許公開ＷＯ２０１３／０６３４６８およびＷＯ２０１６／２０５６９１に記載されるようなカチオン脂質が挙げられ、これらのそれぞれは、参照によって本明細書に組み入れられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式のカチオン脂質：

【化１１】



またはそれらの医薬的に許容される塩を含み、式中、R^Lの各出現は、独立して、場合により置換されていてもよいC_6～C_{40}アルケニルである。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

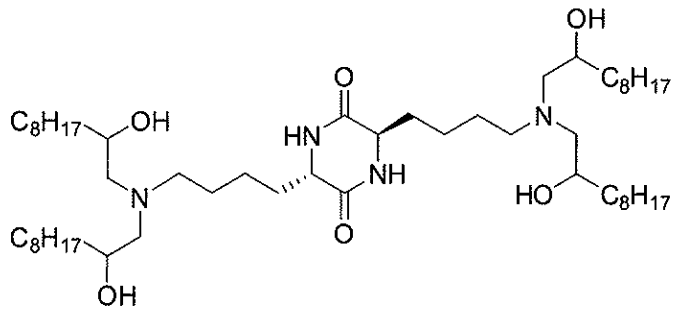
【化１２】



(cKK-E12)

の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

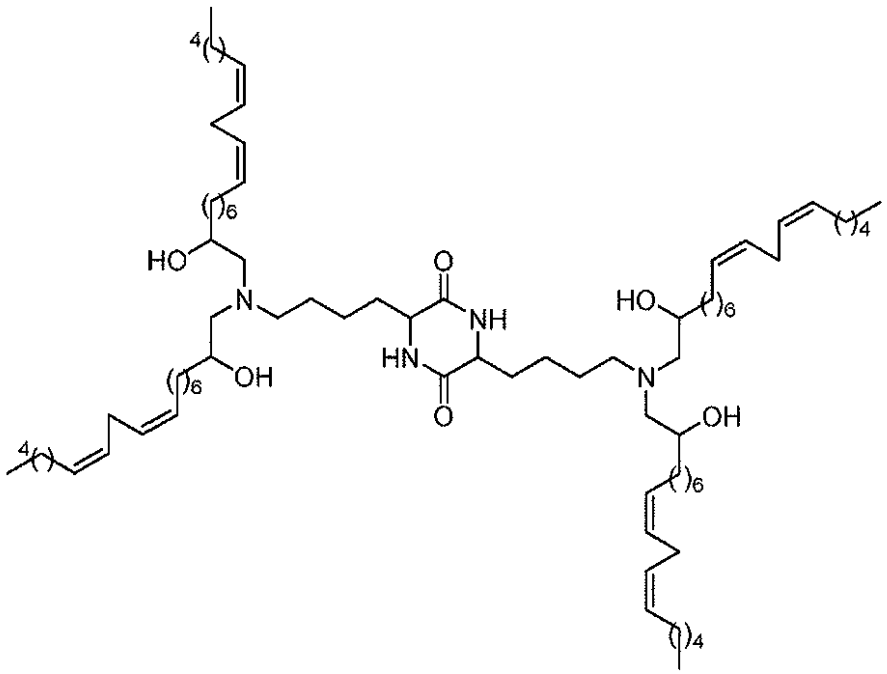
【化１３】



(cKK-E10)

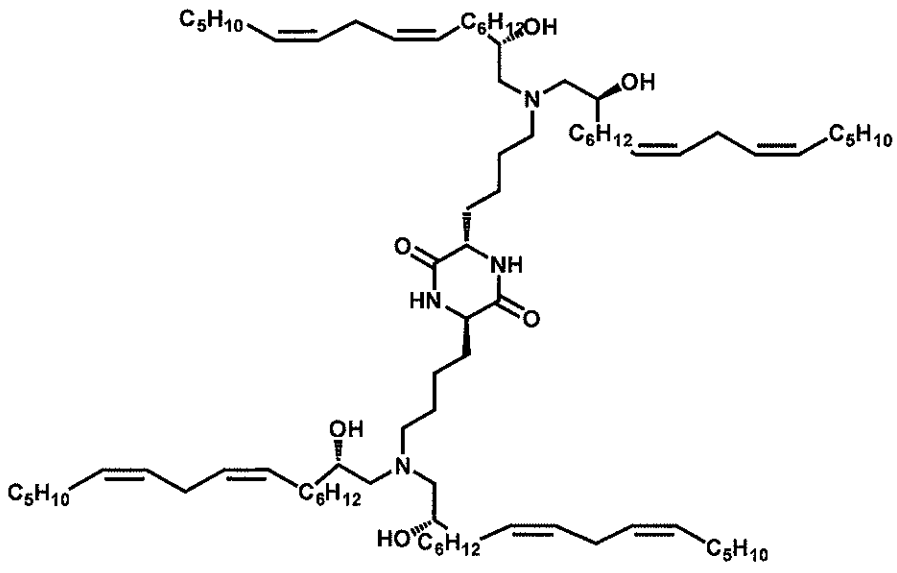
の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化１４】



の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

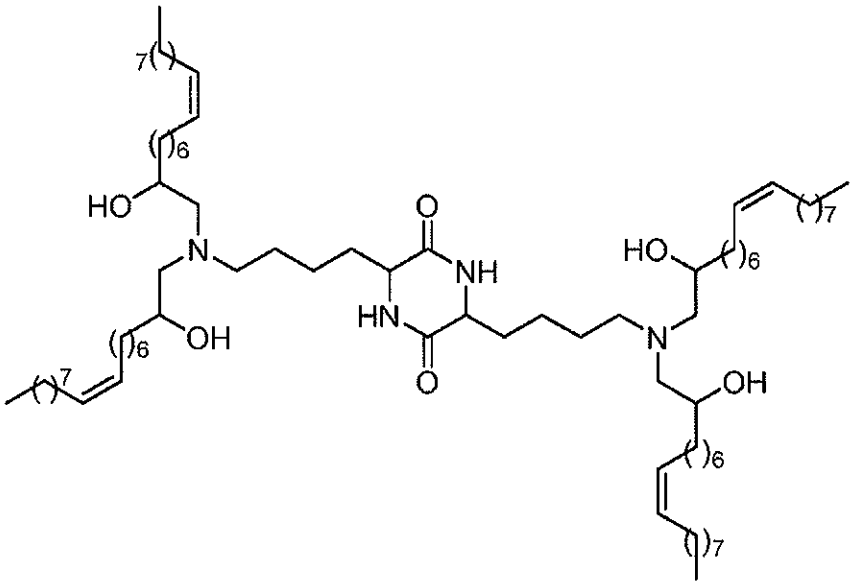
【化１５】



(OF-02)

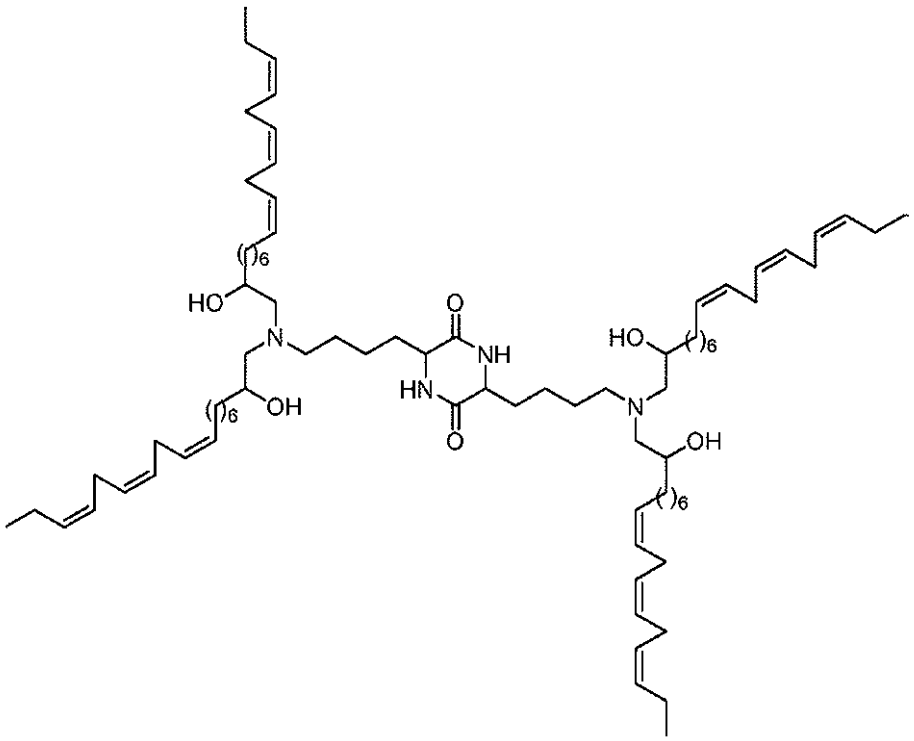
の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化１６】



の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化１７】

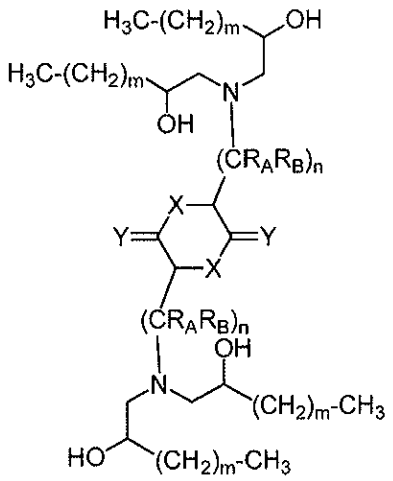


の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２３４】

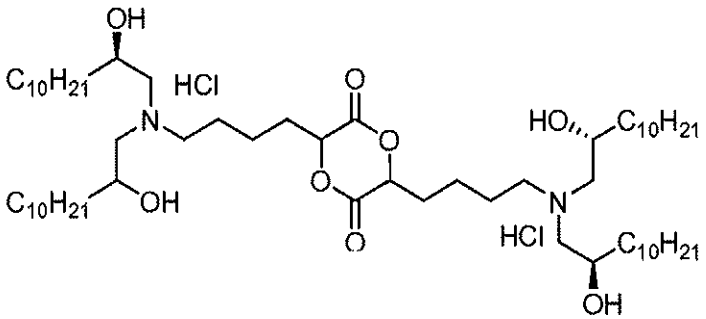
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１５／１８４２５６に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

【化１８】



のカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含み、式中、各Ｘは、独立して、ＯまたはＳであり；各Ｙは、独立して、ＯまたはＳであり；各ｍは、独立して、０～２０であり；各ｎは、独立して、１～６であり；各R_Aは、独立して、水素、場合により置換されていてもよいＣ１～５０アルキル、場合により置換されていてもよいＣ２～５０アルケニル、場合により置換されていてもよいＣ２～５０アルキニル、場合により置換されていてもよいＣ３～１０カルボシクリル、場合により置換されていてもよい３～１４員のヘテロシクリル、場合により置換されていてもよいＣ６～１４アリール、場合により置換されていてもよい５～１４員のヘテロアリールまたはハロゲンであり；各R_Bは、独立して、水素、場合により置換されていてもよいＣ１～５０アルキル、場合により置換されていてもよいＣ２～５０アルケニル、場合により置換されていてもよいＣ２～５０アルキニル、場合により置換されていてもよいＣ３～１０カルボシクリル、場合により置換されていてもよい３～１４員のヘテロシクリル、場合により置換されていてもよいＣ６～１４アリール、場合により置換されていてもよい５～１４員のヘテロアリールまたはハロゲンである。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化１９】



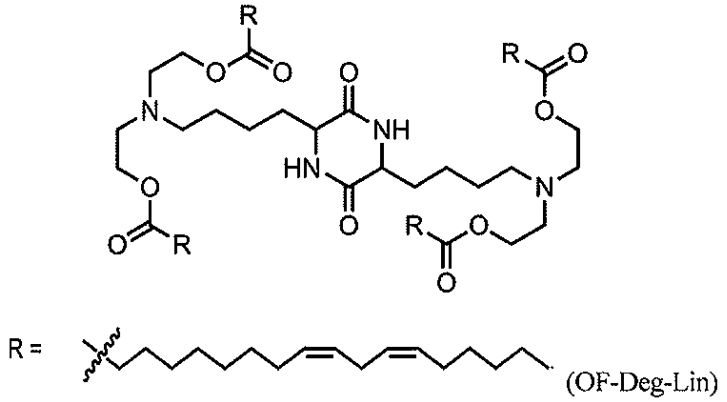
(標的23)

の化合物構造を有するカチオン脂質である、「標的２３」およびその医薬的に許容される塩を含む。

【０２３５】

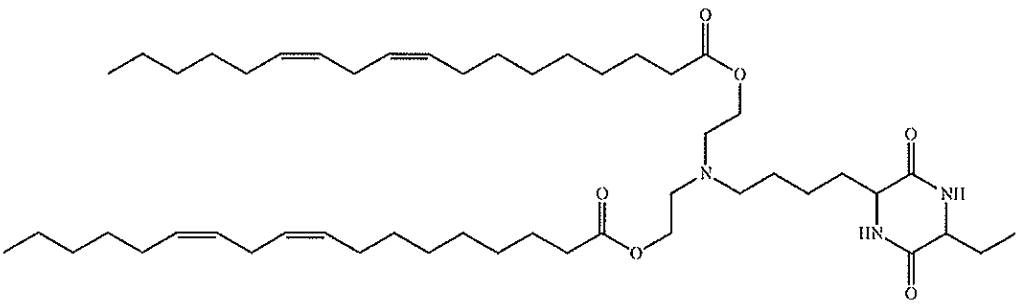
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１６／００４２０２に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化２０】



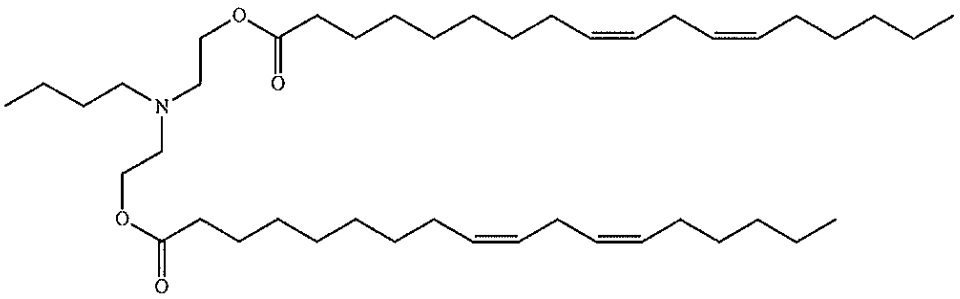
を有するカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化２１】



を有するカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化２２】

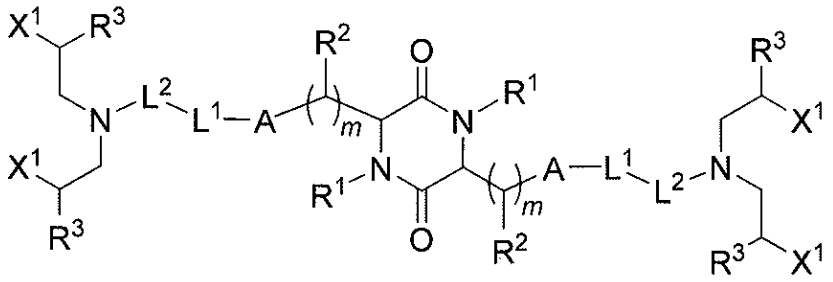


を有するカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２３６】

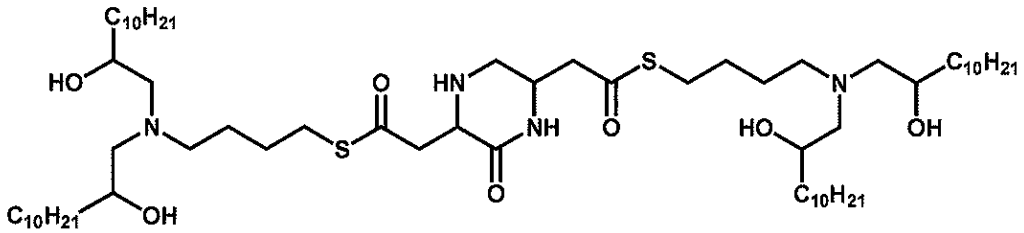
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる、２０１８年１１月９日に出願された米国仮特許出願第６２／７５８，１７９号、および２０１９年７月８日に出願された仮特許出願第６２／８７１，５１０号に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

【化２３】



のカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含み、式中、各R^1およびR^2は、独立して、ＨまたはC_1～C_6脂肪族であり；各ｍは、独立して、１～４の値を有する整数であり；各Ａは、独立して、共有結合またはアリーレンであり；各L^1は、独立して、エステル、チオエステル、ジスルフィド、または無水物基であり；各L^2は、独立して、C_2～C_{10}脂肪族であり；各X^1は、独立して、ＨまたはＯＨであり；各R^3は、独立して、C_6～C_{20}脂肪族である。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

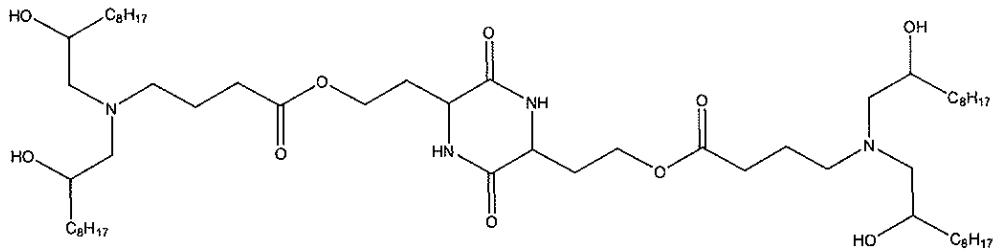
【化２４】



(化合物1)

のカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

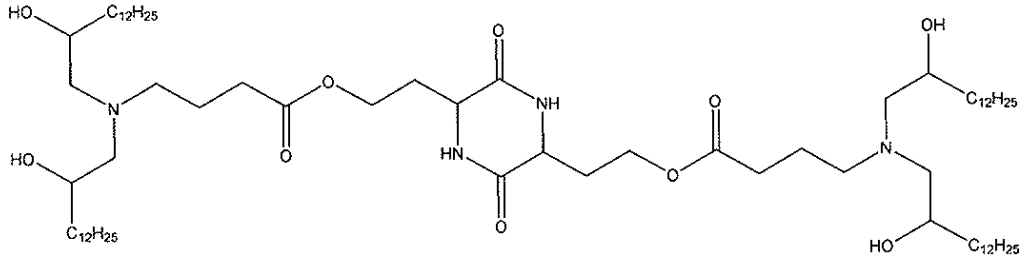
【化２５】



(化合物2; cHse-E-3-E10)

のカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

【化２６】



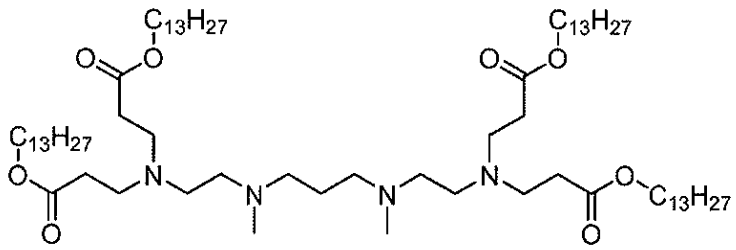
(化合物3)

のカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２３７】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる、Ｊ．ＭｃＣｌｅｌｌａｎ、Ｍ．Ｃ．Ｋｉｎｇ、Ｃｅｌｌ ２０１０、１４１、２１０～２１７およびＷｈｉｔｅｈｅａｄら、Ｎａｔｕｒｅ Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ（２０１４）５：４２７７に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法のカチオン脂質は：

【化２７】

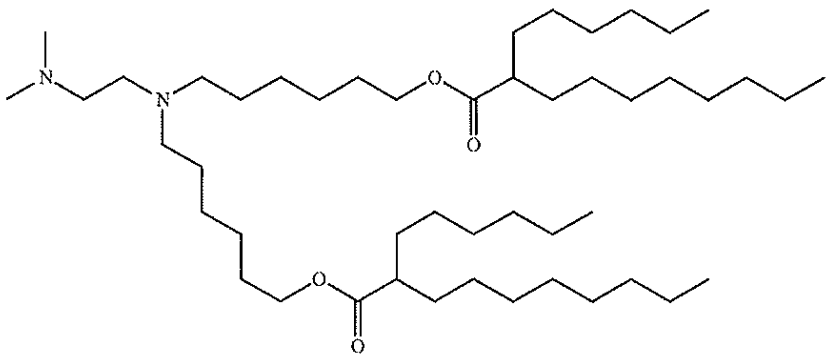


の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２３８】

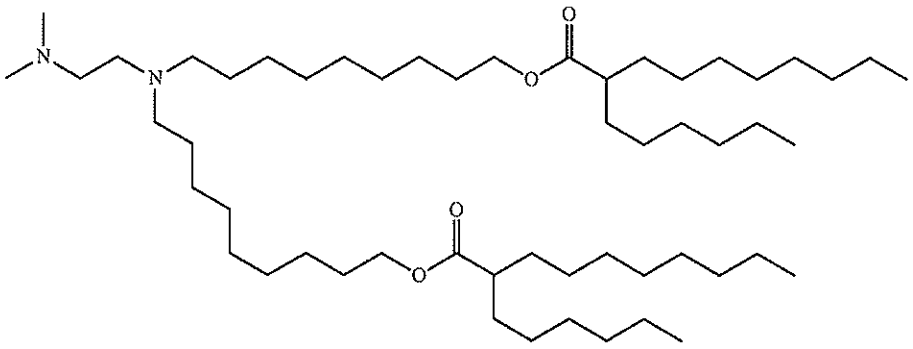
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１５／１９９９５２に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化２８】



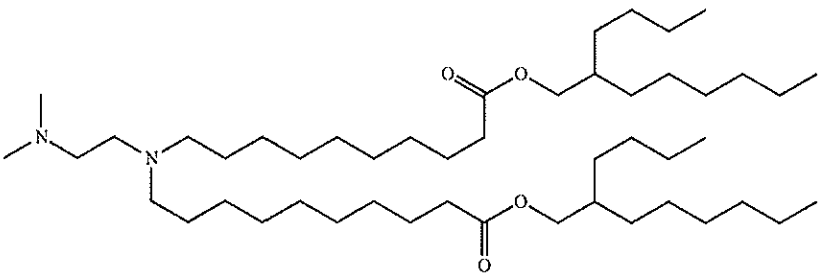
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化２９】



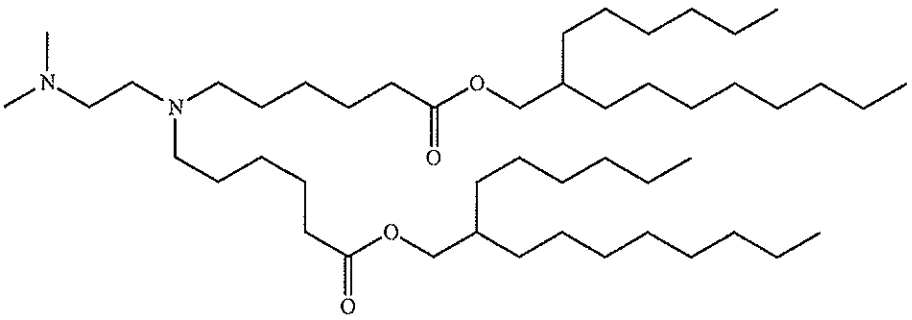
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３０】



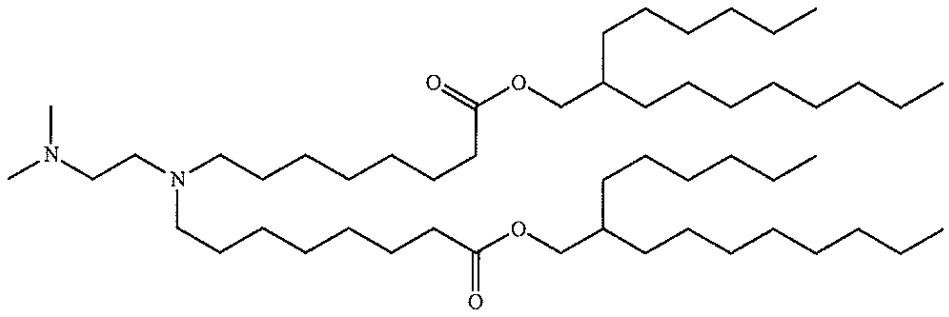
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３１】



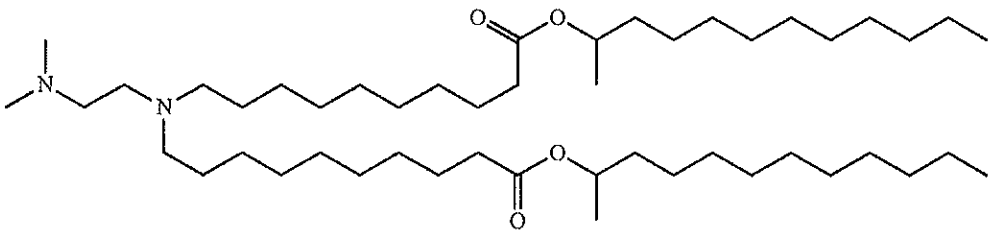
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３２】



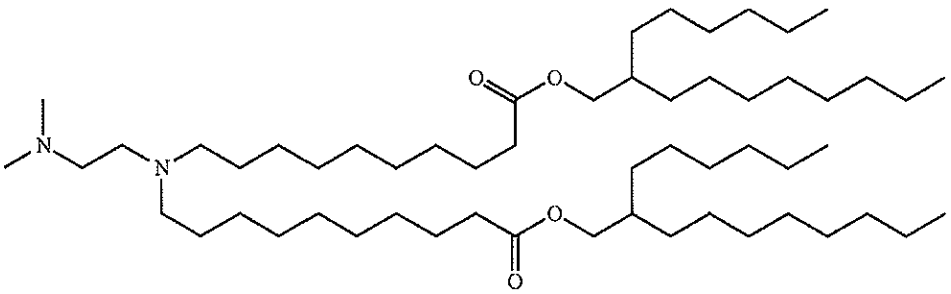
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３３】



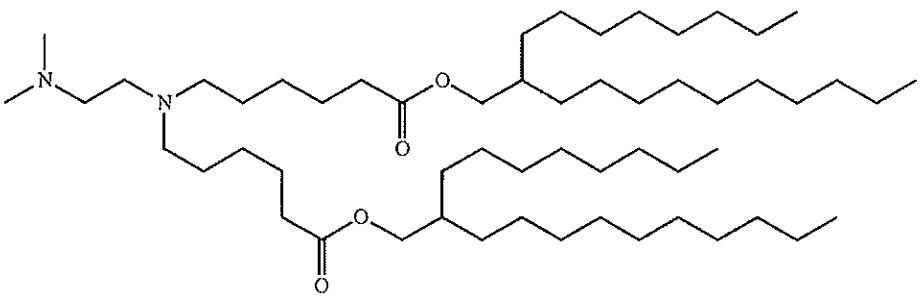
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３４】



を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

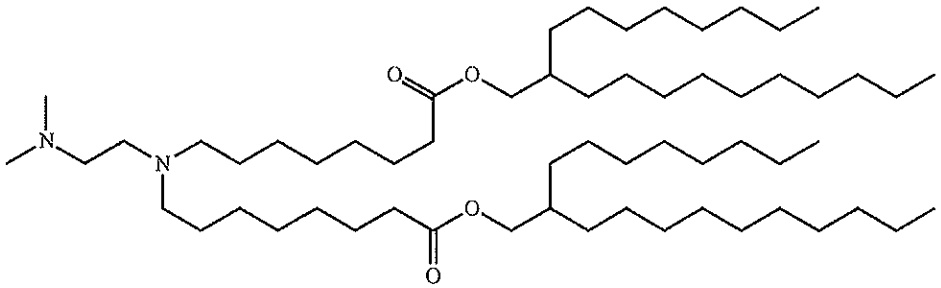
【化３５】



を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態にお

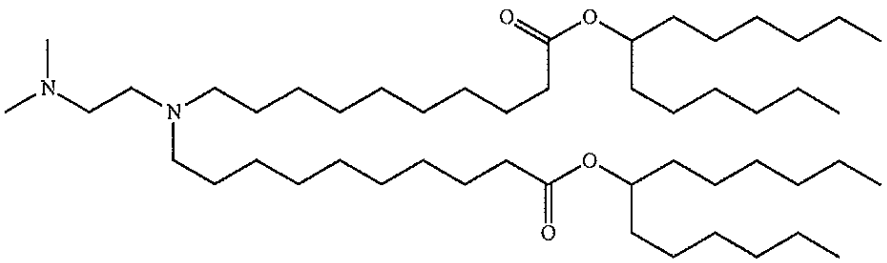
いて、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３６】



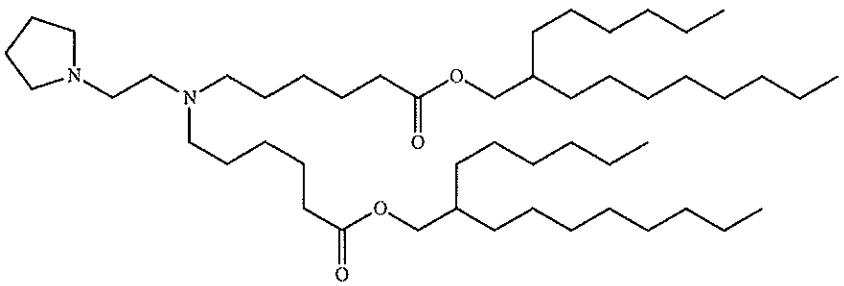
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３７】



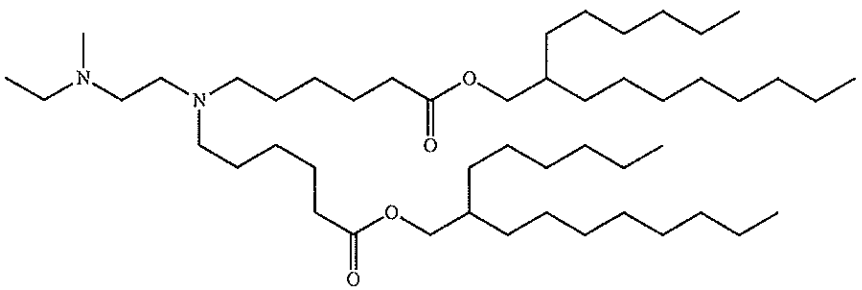
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３８】



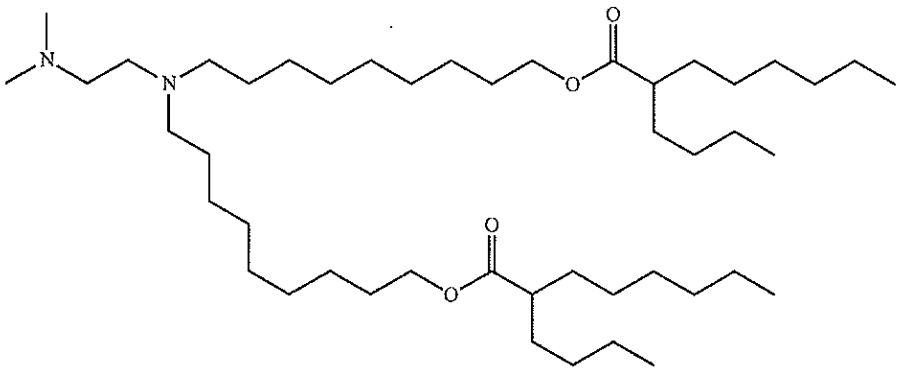
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化３９】



を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４０】

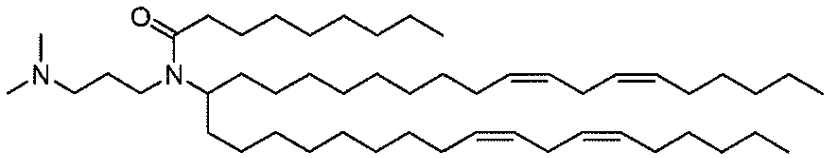


を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２３９】

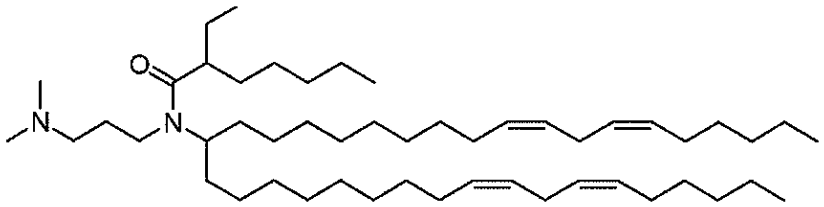
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１７／００４１４３に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４１】



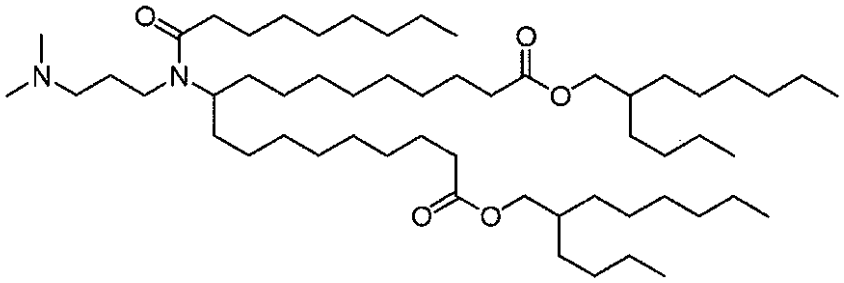
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４２】



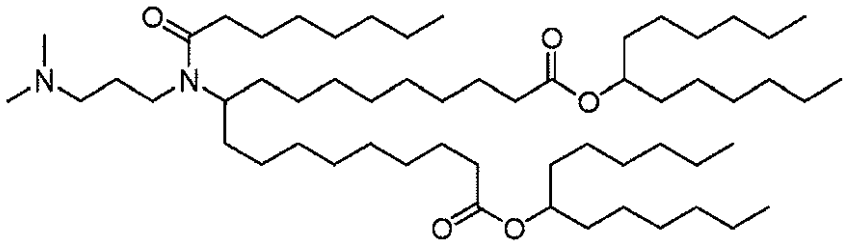
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４３】



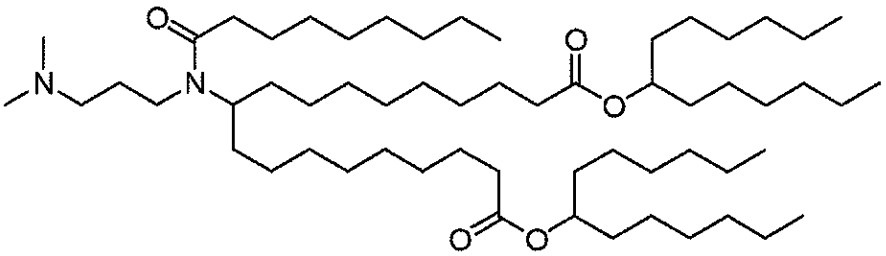
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４４】



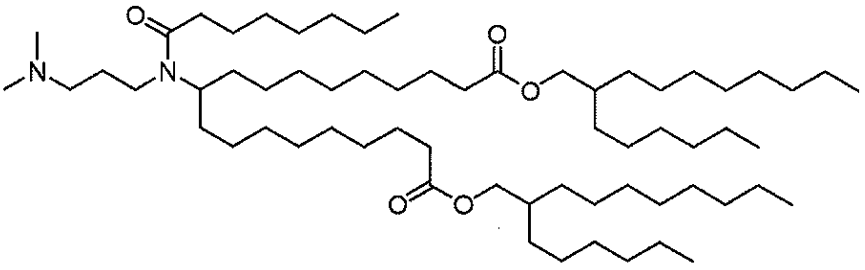
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４５】



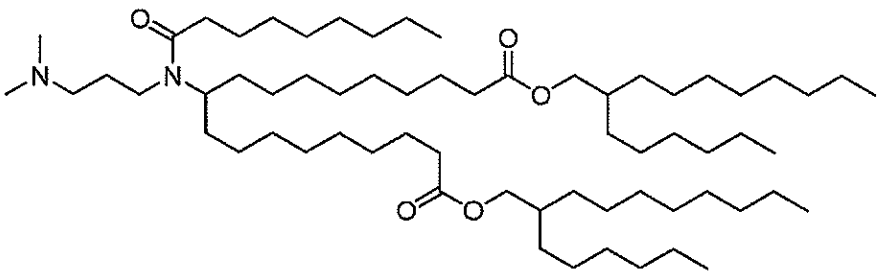
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４６】



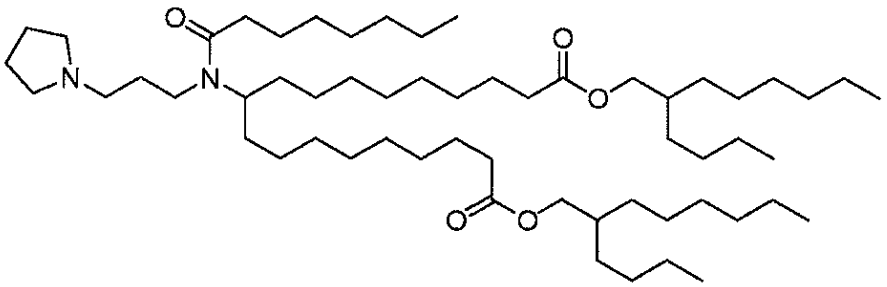
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４７】



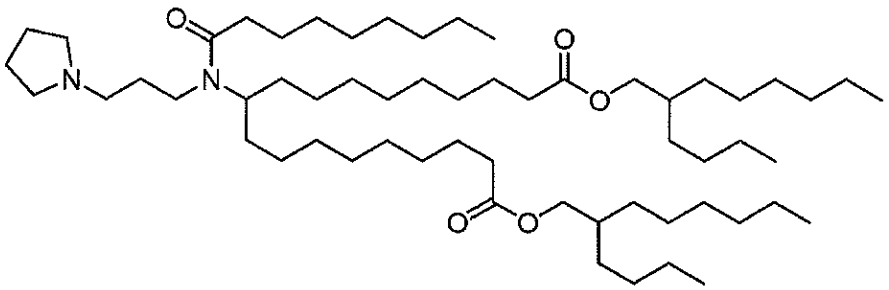
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４８】



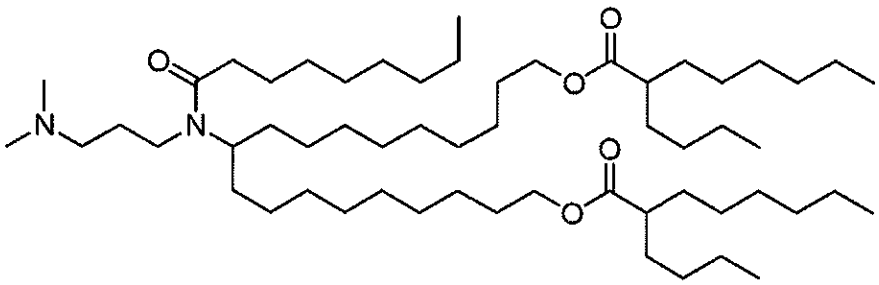
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化４９】



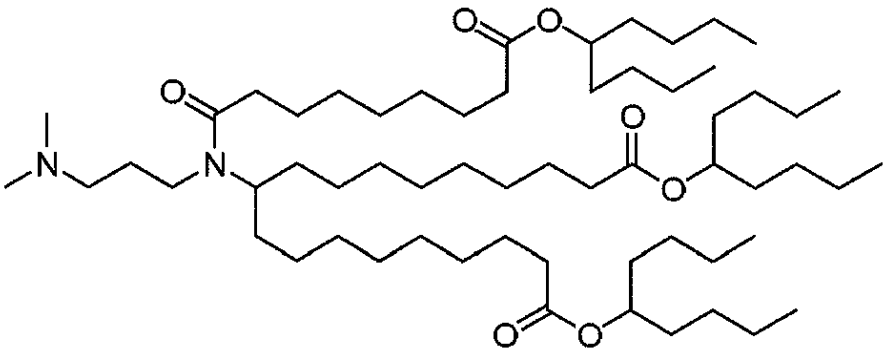
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５０】



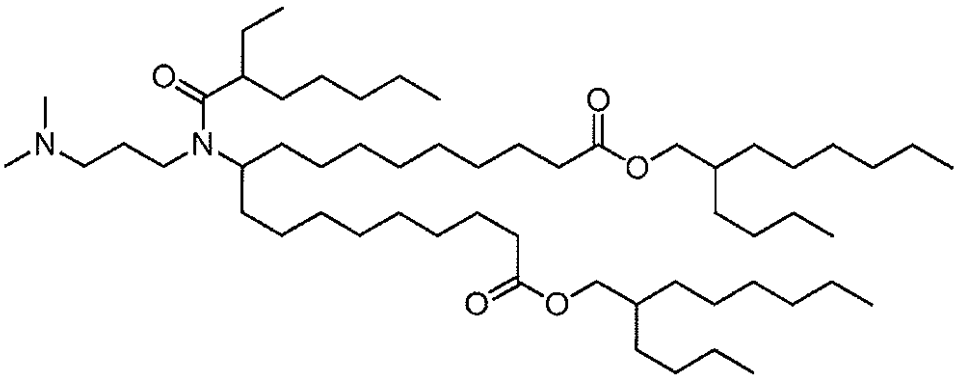
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５１】



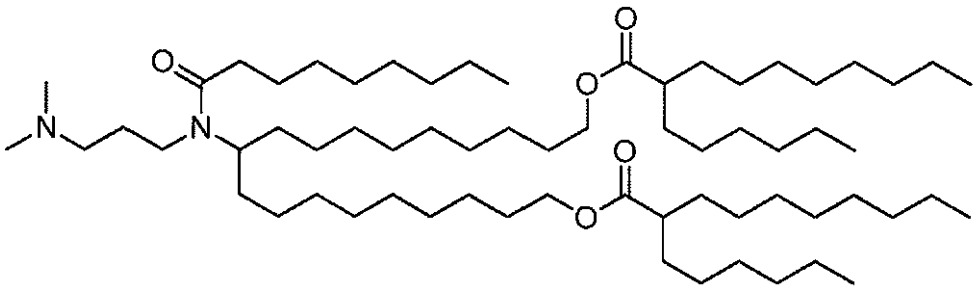
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５２】



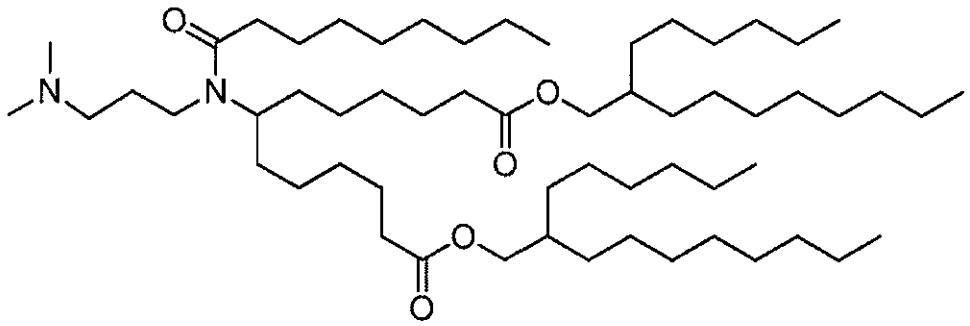
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５３】



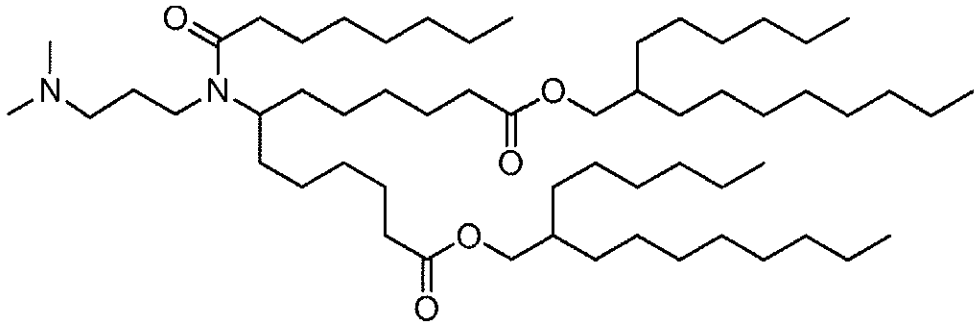
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５４】



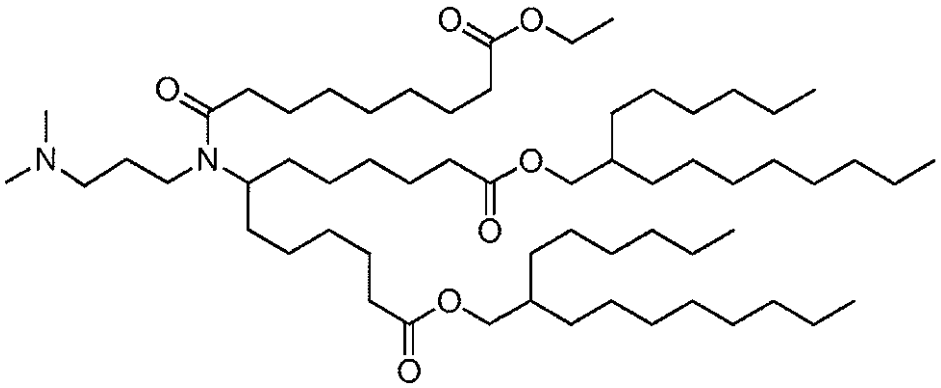
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５５】



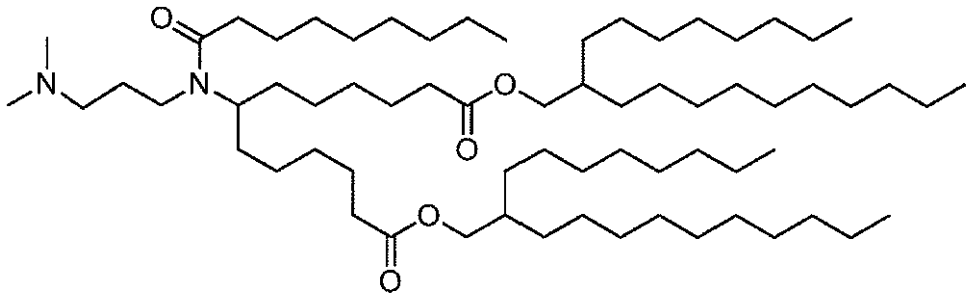
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５６】



を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５７】

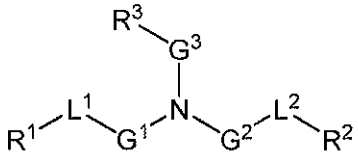


を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２４０】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１７／０７５５３１に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

【化５８】

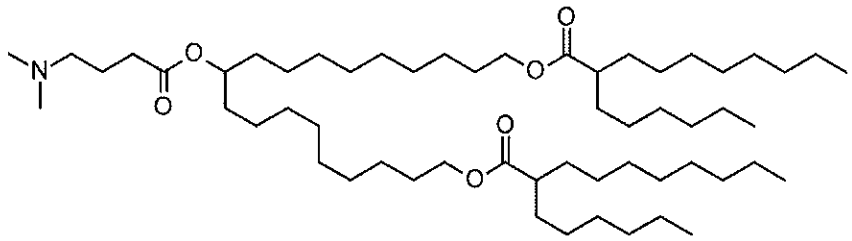


のカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含み、式中、L^1またはL^2のうちの一方は、－Ｏ（Ｃ＝Ｏ）－、－（Ｃ＝Ｏ）Ｏ－、－Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ（Ｏ）$_x$、－Ｓ－Ｓ－、－Ｃ（＝Ｏ）Ｓ－、－ＳＣ（＝Ｏ）－、－ＮＲ^{a}Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ^a－、ＮＲ^{a}Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ^a－、－ＯＣ（＝Ｏ）ＮＲ^a－、または－ＮＲ^{a}Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－であり；L^1またはL^2の他方は、－Ｏ（Ｃ＝Ｏ）－、－（Ｃ＝Ｏ）Ｏ－、－Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ（Ｏ）$_x$、－Ｓ－Ｓ－、－Ｃ（＝Ｏ）Ｓ－、ＳＣ（＝Ｏ）－、－ＮＲ^{a}Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ^a－、ＮＲ^{a}Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ^a－、－ＯＣ（＝Ｏ）ＮＲ^a－もしくは－ＮＲ^{a}Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－または直接結合であり；G^1およびG^2は、それぞれ独立して、非置換のＣ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキレンまたはＣ$_1$～Ｃ$_{12}$アルケニレンであり；G^3は、Ｃ$_1$～Ｃ$_{24}$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_{24}$アルケニレン、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$シクロアルキレン、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$シクロアルケニレンであり；Ｒ^{a}は、ＨまたはＣ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキルであり；R^1およびR^2は、それぞれ独立して、Ｃ$_6$～Ｃ$_{24}$アルキルまたはＣ$_6$～Ｃ$_{24}$アルケニルであり；R^3は、Ｈ、ＯＲ^5、ＣＮ、－Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ^4、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ^{4}または－ＮＲ^{5}Ｃ（＝Ｏ）Ｒ^{4}であり；R^4は、Ｃ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキルであり；R^5は、ＨまたはＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり；ｘは、０、１または２である。

【０２４１】

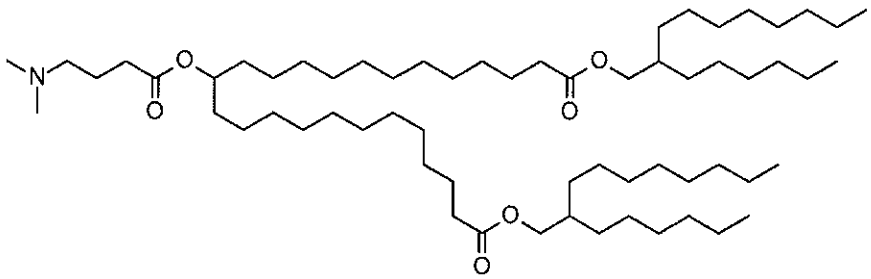
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１７／１１７５２８に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化５９】



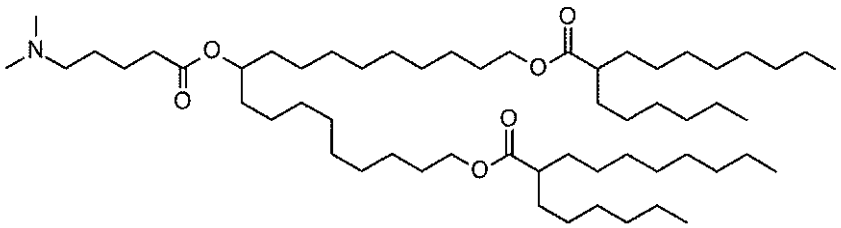
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化６０】



を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、化合物構造：

【化６１】

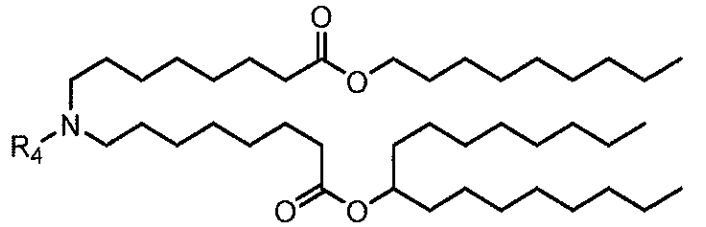


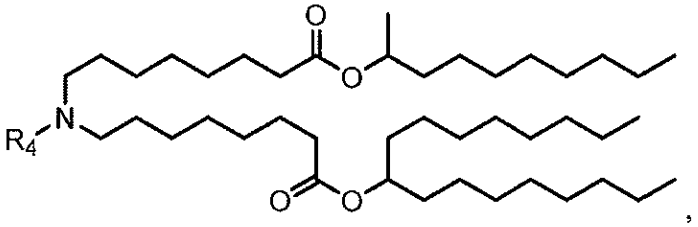
を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

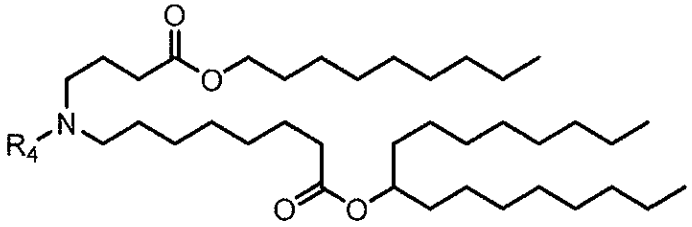
【０２４２】

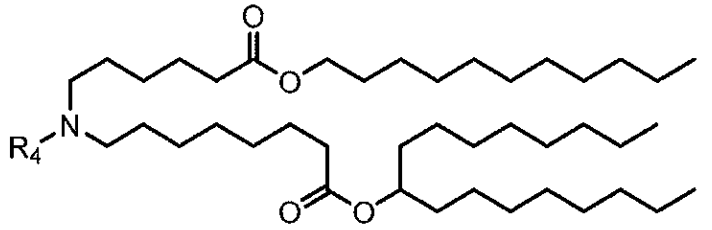
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１７／０４９２４５に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法のカチオン脂質は、以下の式：

【化６２】


,

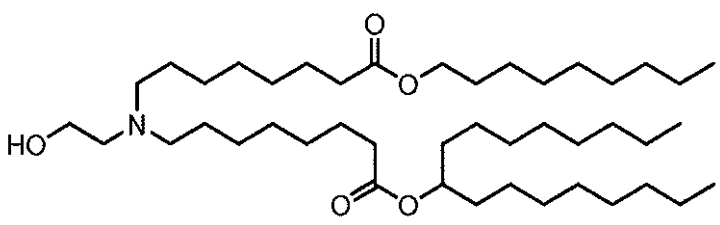

,


,および


,

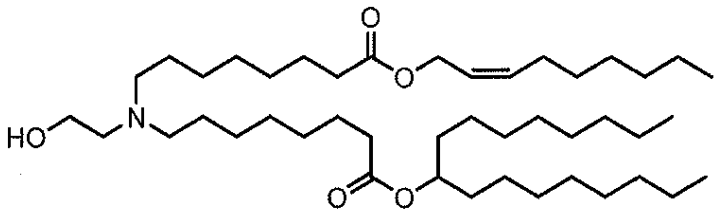
のうちの１つの化合物およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。これらの４つの式のいずれか１つに関して、R_4は、独立して、－（CH_2）$_n$Qおよび－（CH_2）$_n$CHQRから選択され；Qは、－OR、－OH、－O（CH_2）$_n$N（R）$_2$、－OC（O）R、－CX_3、－CN、－N（R）C（O）R、－N（H）C（O）R、－N（R）S（O）$_2$R、－N（H）S（O）$_2$R、－N（R）C（O）N（R）$_2$、－N（H）C（O）N（R）$_2$、－N（H）C（O）N（H）（R）、－N（R）C（S）N（R）$_2$、－N（H）C（S）N（R）$_2$、－N（H）C（S）N（H）（R）、および複素環からなる群から選択され；nは、１、２、または３である。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化６３】



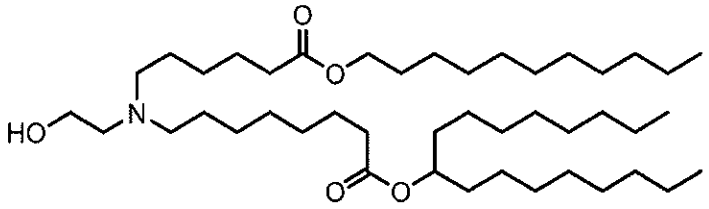
の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化６４】



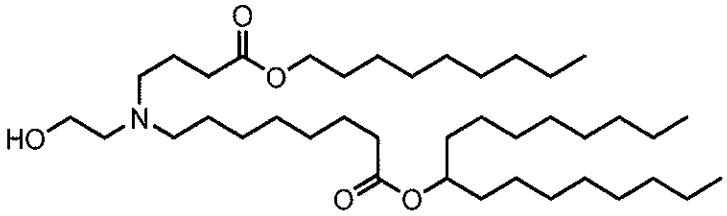
の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化６５】



の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化６６】

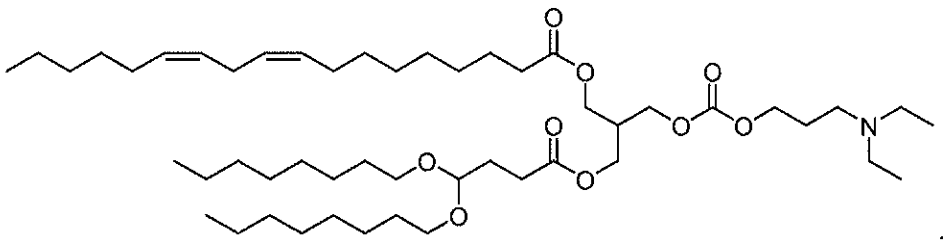


の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２４３】

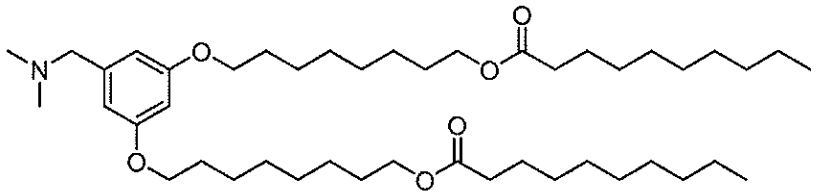
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、国際特許公開ＷＯ２０１７／１７３０５４およびＷＯ２０１５／０９５３４０に記載されるようなカチオン脂質が挙げられ、これらのそれぞれは、参照によって本明細書に組み入れられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化６７】



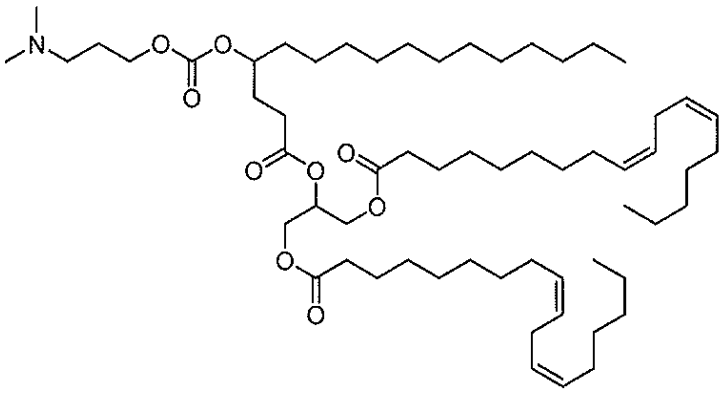
の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化６８】



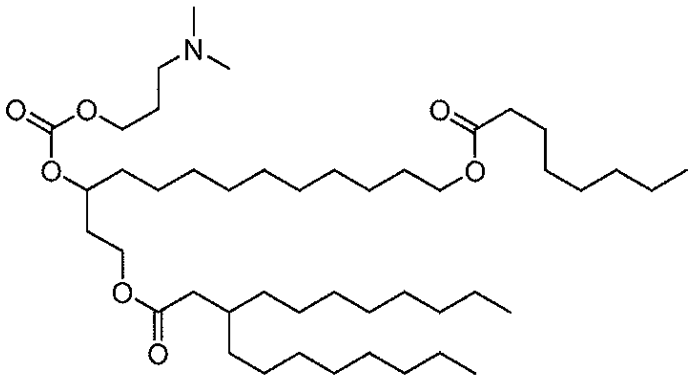
の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化６９】



の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化７０】

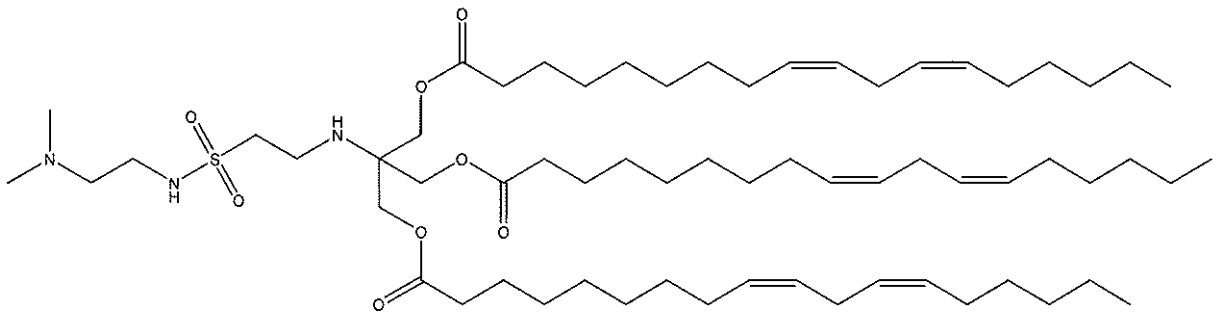


の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２４４】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる２０１９年６月２４日に出願された米国仮特許出願第６２／８６５，５５５号に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化７１】



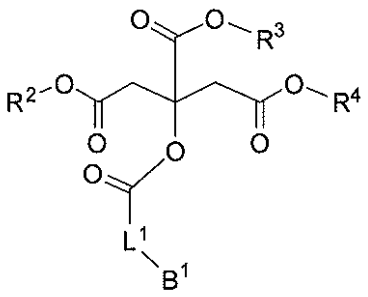
(GL-TES-SA-DME-E18-2)

の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２４５】

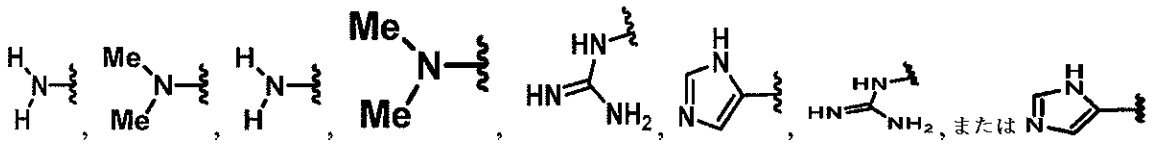
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる２０１９年６月２１日に出願された米国仮特許出願第６２／８６４，８１８号に記載されるようなカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

【化７２】



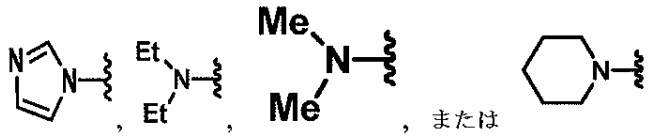
による化合物構造を有するカチオン脂質またはそれらの医薬的に許容される塩を含み、式中、R^2、R^3、およびR^4のそれぞれは、独立して、C_6～C_{30}アルキル、C_6～C_{30}アルケニル、またはC_6～C_{30}アルキニルであり；L^1は、C_1～C_{30}アルキレン；C_2～C_{30}アルケニレン；またはC_2～C_{30}アルキニレンであり、B^1は、イオン化可能な窒素を含有する基である。実施形態において、L^1は、C_1～C_{10}アルキレンである。実施形態において、L^1は、非置換のC_1～C_{10}アルキレンである。実施形態において、L^1は、$(CH_2)_2$、$(CH_2)_3$、$(CH_2)_4$、または$(CH_2)_5$である。実施形態において、L^1は、(CH_2)、$(CH_2)_6$、$(CH_2)_7$、$(CH_2)_8$、$(CH_2)_9$、または$(CH_2)_{10}$である。実施形態において、B^1は、独立して、NH_2、グアニジン、アミジン、モノもしくはジアルキルアミン、５～６員の窒素を含有するヘテロシクロアルキル、または５～６員の窒素を含有するヘテロアリールである。実施形態において、B^1は、

【化７３】



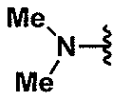
である。実施形態において、B^1は、

【化７４】



である。実施形態において、Ｂ^{1}は、

【化７５】

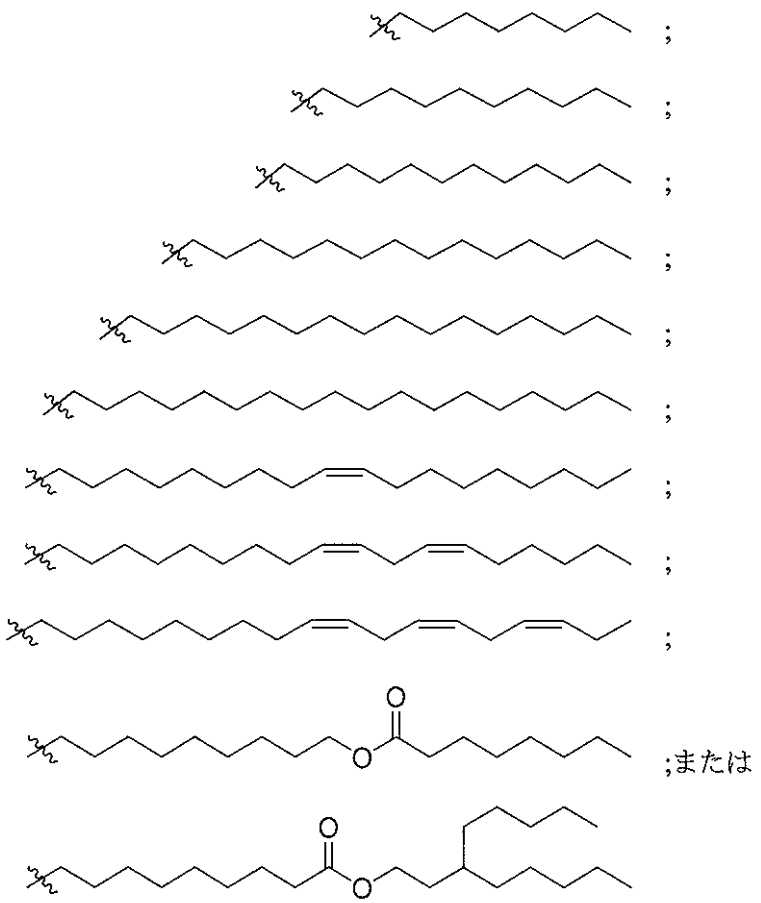


である。実施形態において、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}のそれぞれは、独立して、非置換の直鎖状Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルキル、非置換の直鎖状Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルケニル、非置換の直鎖状Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルキニル、非置換の分岐状Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルキル、非置換の分岐状Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルケニル、または非置換の分岐状Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルキニルである。実施形態において、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}のそれぞれは、非置換のＣ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルキルである。実施形態において、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}のそれぞれは、－Ｃ$_{6}$Ｈ$_{13}$、－Ｃ$_{7}$Ｈ$_{15}$、－Ｃ$_{8}$Ｈ$_{17}$、－Ｃ$_{9}$Ｈ$_{19}$、－Ｃ$_{10}$Ｈ$_{21}$、－Ｃ$_{11}$Ｈ$_{23}$、－Ｃ$_{12}$Ｈ$_{25}$、－Ｃ$_{13}$Ｈ$_{27}$、－Ｃ$_{14}$Ｈ$_{29}$、－Ｃ$_{15}$Ｈ$_{31}$、－Ｃ$_{16}$Ｈ$_{33}$、－Ｃ$_{17}$Ｈ$_{35}$、－Ｃ$_{18}$Ｈ$_{37}$、－Ｃ$_{19}$Ｈ$_{39}$、－Ｃ$_{20}$Ｈ$_{41}$、－Ｃ$_{21}$Ｈ$_{43}$、－Ｃ$_{22}$Ｈ$_{45}$、－Ｃ$_{23}$Ｈ$_{47}$、－Ｃ$_{24}$Ｈ$_{49}$、または－Ｃ$_{25}$Ｈ$_{51}$である。実施形態において、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}のそれぞれは、独立して、－Ｏ（ＣＯ）Ｒ^{5}または－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{5}によって置換されたＣ$_{6}$～Ｃ$_{12}$アルキルであり、Ｒ^{5}は、非置換のＣ$_{6}$～Ｃ$_{14}$アルキルである。実施形態において、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}のそれぞれは、非置換のＣ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルケニルである。実施形態において、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}のそれぞれは、－（ＣＨ$_{2}$）$_{4}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{5}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{8}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{9}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{10}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{11}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{12}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{13}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{14}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{15}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{16}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{17}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{18}$ＣＨ＝ＣＨ$_{2}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$ＣＨ$_{3}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{5}$ＣＨ$_{3}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{4}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{8}$ＣＨ$_{3}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ$_{3}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{4}$ＣＨ$_{3}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{4}$ＣＨ$_{3}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$、－（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{4}$ＣＨ$_{3}$、
－（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$、
－（ＣＨ$_{2}$）$_{11}$ＣＨ＝ＣＨ（ＣＨ$_{2}$）$_{7}$ＣＨ$_{3}$、または
－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ＝ＣＨＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$である。

【０２４６】

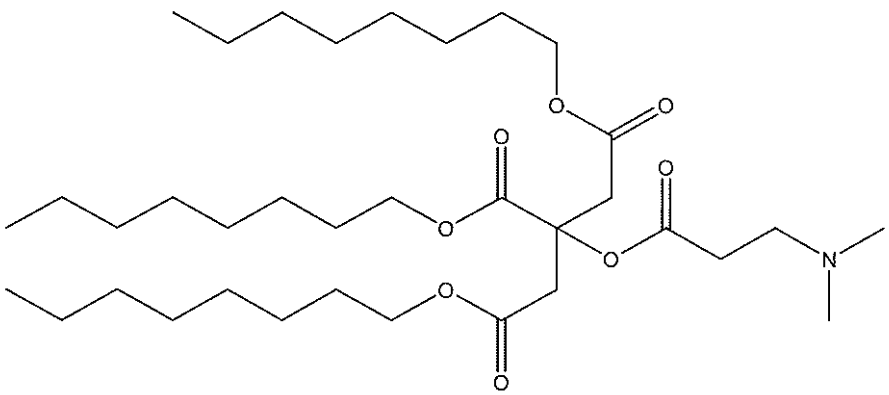
実施形態において、前記Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{22}$アルケニルは、モノアルケニル、ジエニル、またはトリエニルである。実施形態において、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}のそれぞれは、

【化７６】



である。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

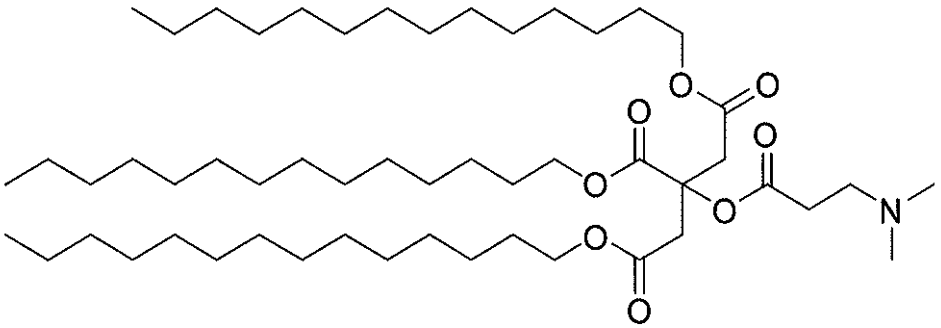
【化７７】



(TL1-01D-DMA)

の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

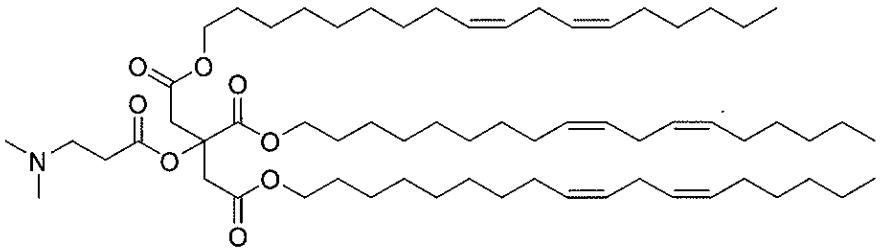
【化７８】



(TL1-04D-DMA)

の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

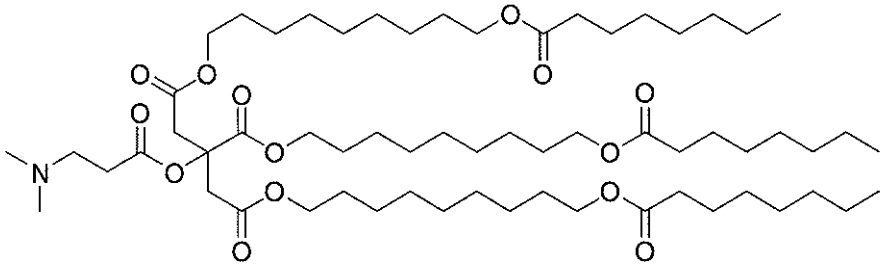
【化７９】



(TL1-08D-DMA)

の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化８０】



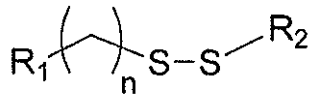
(TL1-10D-DMA)

の化合物構造を有するカチオン脂質およびそれらの医薬的に許容される塩を含む。

【０２４７】

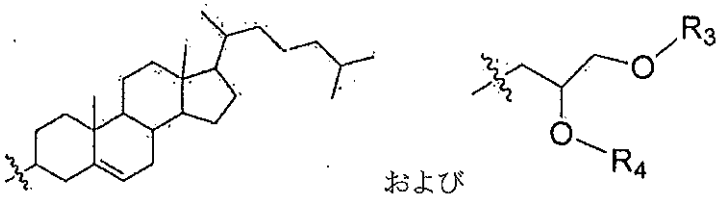
本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１２／１７０８８９に記載されるような切断可能なカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、以下の式：

【化８１】



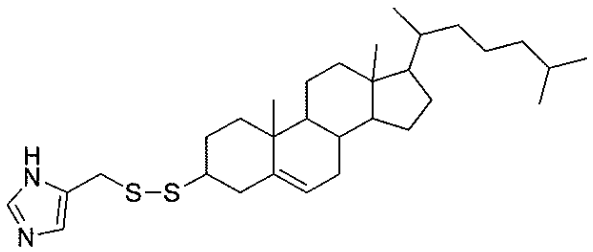
のカチオン脂質を含み、式中、Ｒ１は、イミダゾール、グアニジニウム、アミノ、イミン、エナミン、場合により置換されたアルキルアミノ（例えば、アルキルアミノ、例えばジメチルアミノ）およびピリジルからなる群から選択され；Ｒ２は、以下の２つの式：

【化８２】



のうちの１つからなる群から選択され、Ｒ３およびＲ４は、それぞれ独立して、場合により置換されていてもよい、可変的に飽和または不飽和のＣ６～Ｃ２０アルキルおよび場合により置換されていてもよい、可変的に飽和または不飽和のＣ６～Ｃ２０アシルからなる群から選択され；ｎは、ゼロまたはあらゆる正の整数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０またはそれを超える整数）である。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

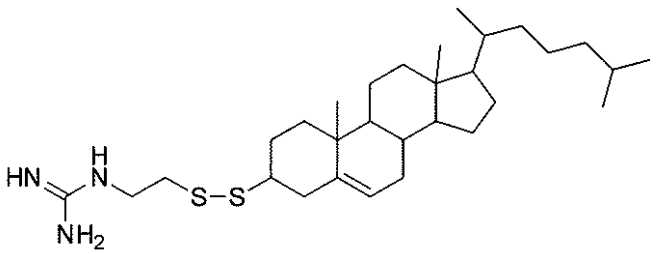
【化８３】



(HGT4001)

の化合物構造を有するカチオン脂質である、「ＨＧＴ４００１」およびその医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化８４】

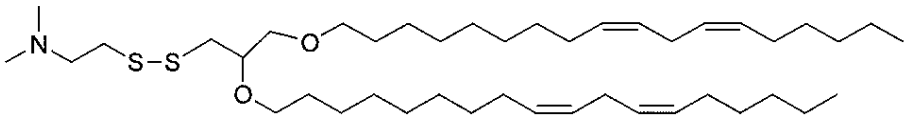


(HGT4002)

の化合物構造を有するカチオン脂質である、「ＨＧＴ４００２」およびその医薬的に許容

される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

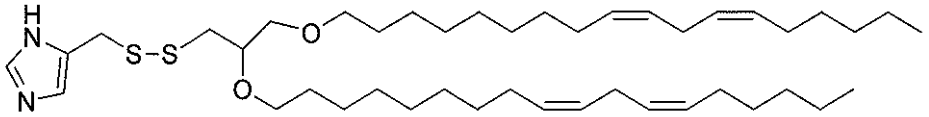
【化８５】



(HGT4003)

の化合物構造を有するカチオン脂質である、「ＨＧＴ４００３」およびその医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

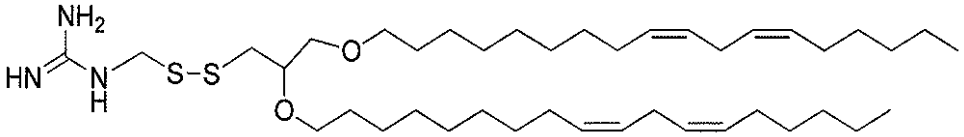
【化８６】



(HGT4004)

の化合物構造を有するカチオン脂質である、「ＨＧＴ４００４」およびその医薬的に許容される塩を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化８７】



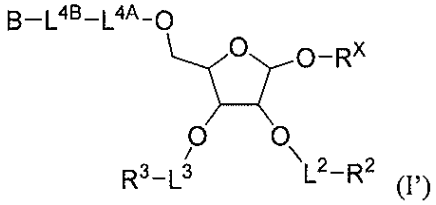
(HGT4005)

の化合物構造を有するカチオン脂質である「ＨＧＴ４００５」およびその医薬的に許容される塩を含む。

【０２４８】

本発明の医薬組成物および方法における使用のための他の好適なカチオン脂質としては、参照によって本明細書に組み入れられる国際特許公開ＷＯ２０１９／２２２４２４に記載されるような切断可能なカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法としては、国際特許公開ＷＯ２０１９／２２２４２４に記載される一般式のいずれか、または構造（１ａ）～（２１ａ）および（１ｂ）～（２１ｂ）および（２２）～（２３７）のいずれかであるカチオン脂質が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、式（Ｉ’）、

【化８８】



(I')

による構造を有するカチオン脂質を含み、

式中：

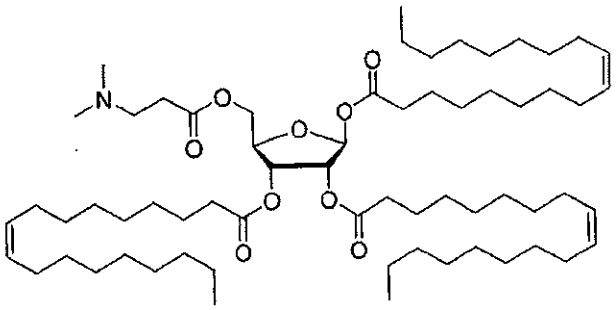
R^Xは、独立して、－Ｈ、$-L^1-R^1$、または$-L^{5A}-L^{5B}-B'$であり；

L^1、L^2、およびL^3のそれぞれは、独立して、共有結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、または－Ｃ（Ｏ）NR^L－であり；
各L^{4A}およびL^{5A}は、独立して、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、または－Ｃ（Ｏ）NR^L－であり；
各L^{4B}およびL^{5B}は、独立して、C_1～C_{20}アルキレン；C_2～C_{20}アルケニレン；またはC_2～C_{20}アルキニレンであり；
各ＢおよびＢ’は、NR^4R^5または５～１０員の窒素を含有するヘテロアリールであり；
各R^1、R^2、およびR^3は、独立して、C_6～C_{30}アルキル、C_6～C_{30}アルケニル、またはC_6～C_{30}アルキニルであり；
各R^4およびR^5は、独立して、水素、C_1～C_{10}アルキル；C_2～C_{10}アルケニル；またはC_2～C_{10}アルキニルであり；
各R^Lは、独立して、水素、C_1～C_{20}アルキル、C_2～C_{20}アルケニル、またはC_2～C_{20}アルキニルである。

【０２４９】

一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化８９】



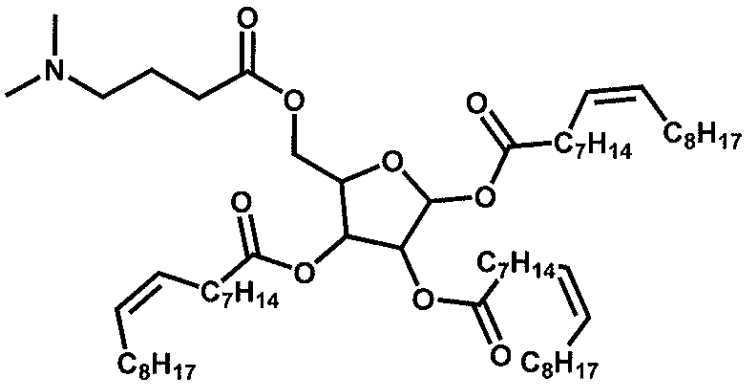
（「18:1炭素テール－リボース脂質」）

の化合物構造を有する、国際出願ＰＣＴ／ＵＳ２０１９／０３２５２２号の化合物（１３９）である、カチオン脂質を含む。

【０２５０】

一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は：

【化９０】



(RL3-DMA-07D)

の化合物構造を有するＲＬ３－ＤＭＡ－０７Ｄであるカチオン脂質およびその医薬的に許容される塩を含む。

【０２５１】

一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法は、カチオン脂質である、Ｎ－［１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル］－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウム塩化物（「ＤＯＴＭＡ」）を含む。（参照によって本明細書に組み入れられる、Ｆｅｉｇｎｅｒら（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８４、７４１３（１９８７）；米国特許第４，８９７，３５５号）。本発明の医薬組成物および方法に好適な他のカチオン脂質としては、例えば、５－カルボキシスペルミルグリシンジオクタデシルアミド（「ＤＯＧＳ」）；２，３－ジオレイルオキシ－Ｎ－［２（スペルミン－カルボキシアミド）エチル］－Ｎ，Ｎ－ジメチル－１－プロパンアミニウム（「ＤＯＳＰＡ」）（Ｂｅｈｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８６、６９８２（１９８９）、米国特許第５，１７１，６７８号；米国特許第５，３３４，７６１号）；１，２－ジオレオイル－３－ジメチルアンモニウム－プロパン（「ＤＯＤＡＰ」）；１，２－ジオレオイル－３－トリメチルアンモニウム－プロパン（「ＤＯＴＡＰ」）が挙げられる。

【０２５２】

本発明の医薬組成物および方法に好適な追加の例示的なカチオン脂質としてはまた、１，２－ジステアリルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－アミノプロパン（「ＤＳＤＭＡ」）；１，２－ジオレイルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－アミノプロパン（「ＤＯＤＭＡ」）；１，２－ジリノレイルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－アミノプロパン（「ＤＬｉｎＤＭＡ」）；１，２－ジリノレニルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－アミノプロパン（「ＤＬｅｎＤＭＡ」）；Ｎ－ジオレイル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアンモニウムクロリド（「ＤＯＤＡＣ」）；Ｎ，Ｎ－ジステアリル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアンモニウムブロミド（「ＤＤＡＢ」）；Ｎ－（１，２－ジミリスチルオキシプロパ－３－イル）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－Ｎ－ヒドロキシエチルアンモニウムブロミド（「ＤＭＲＩＥ」）；３－ジメチルアミノ－２－（コレスタ－５－エン－３－ベータ－オキシブタン－４－オキシ）－１－（ｃｉｓ，ｃｉｓ－９，１２－オクタデカジエノキシ）プロパン（「ＣＬｉｎＤＭＡ」）；２－［５’－（コレスタ－５－エン－３－ベータ－オキシ）－３’－オキサペントキシ）－３－ジメチル－１－（ｃｉｓ，ｃｉｓ－９’，１２’－オクタデカジエノキシ）プロパン（「ＣｐＬｉｎＤＭＡ」）；Ｎ，Ｎ－ジメチル－３，４－ジオレイルオキシベンジルアミン（「ＤＭＯＢＡ」）；１，２－Ｎ，Ｎ’－ジオレイルカルバミル－３－ジメチルアミノプロパン（「ＤＯｃａｒｂＤＡＰ」）；２，３－ジリノレオイルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルプロピルアミン（「ＤＬｉｎＤＡＰ」）；１，２－Ｎ，Ｎ’－ジリノレイルカルバミル－３－ジメチルアミノプロパン（「ＤＬｉｎｃａｒｂＤＡＰ」）；１，２－ジリノレオイルカルバミル－３－ジメチルアミノプロパン（「ＤＬｉｎＣＤＡＰ」）；２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノメチル－［１，３］－ジオキソラン（「ＤＬｉｎ－Ｋ－ＤＭＡ」）；２－（（８－［（３Ｐ）－コレスタ－５－エン－３－イルオキシ］オクチル）オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（「オクチル－ＣＬｉｎＤＭＡ」）；（２Ｒ）－２－（（８－［（３ベータ）－コレスタ－５－エン－３－イルオキシ］オクチル）オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（「オクチル－ＣＬｉｎＤＭＡ（２Ｒ）」）；（２Ｓ）－２－（（８－［（３Ｐ）－コレスタ－５－エン－３－イルオキシ］オクチル）オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（「オクチル－ＣＬｉｎＤＭＡ（２Ｓ）」）；２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（「ＤＬｉｎ－Ｋ－ＸＴＣ２－ＤＭＡ」）；および２－（２，２－ジ（（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イル）－１，３－ジオキソラン－４－イル）－Ｎ，Ｎ－ジメチルエタンアミン（「ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ」）も挙げられる（参照によって本明細書に組み入れられるＷＯ２０１０／０４２８７７；Ｓｅｍｐｌｅら、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．２８：１７２～１７６（２０１０）；Ｈｅｙｅｓ，Ｊ．ら、Ｊ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ １０７：２７６～２８７（２００５）；Ｍｏｒｒｉｓｓｅｙ，ＤＶ．ら、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２３（８）：１００３～１００７（２００５）；国際特

許公開ＷＯ２００５／１２１３４８を参照）。一部の実施形態において、カチオン脂質の１つまたはそれ以上は、イミダゾール、ジアルキルアミノ、またはグアニジニウム部分の少なくとも１つを含む。

【０２５３】

一部の実施形態において、本発明の医薬組成物および方法に好適な１つまたはそれ以上のカチオン脂質としては、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（「ＸＴＣ」）；（３ａＲ，５ｓ，６ａＳ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－２，２－ジ（（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエニル）テトラヒドロ－３ａＨ－シクロペンタ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－アミン（「ＡＬＮＹ－１００」）および／または４，７，１３－トリス（３－オキソ－３－（ウンデシルアミノ）プロピル）－Ｎ１，Ｎ１６－ジウンデシル－４，７，１０，１３－テトラアザヘキサデカン－１，１６－ジアミド（「ＮＣ９８－５」）が挙げられる。

【０２５４】

一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は、医薬組成物中の、例えば、脂質ナノ粒子中の総脂質含量の、重量によって測定された、少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、または７０％を構成する１つまたはそれ以上のカチオン脂質を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は、医薬組成物中の、例えば、脂質ナノ粒子中の総脂質含量の、モル％として測定された、少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、または７０％を構成する１つまたはそれ以上のカチオン脂質を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は、医薬組成物中の、例えば、脂質ナノ粒子中の総脂質含量の、重量によって測定された、約３０～７０％（例えば、約３０～６５％、約３０～６０％、約３０～５５％、約３０～５０％、約３０～４５％、約３０～４０％、約３５～５０％、約３５～４５％、または約３５～４０％）を構成する１つまたはそれ以上のカチオン脂質を含む。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は、医薬組成物中の、例えば、脂質ナノ粒子中の総脂質含量の、モル％として測定された、約３０～７０％（例えば、約３０～６５％、約３０～６０％、約３０～５５％、約３０～５０％、約３０～４５％、約３０～４０％、約３５～５０％、約３５～４５％、または約３５～４０％）を構成する１つまたはそれ以上のカチオン脂質を含む。

【０２５５】

非カチオン脂質

一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１つまたはそれ以上の非カチオン脂質を含有する。語句「非カチオン脂質」は、本明細書で使用される場合、あらゆる中性、両性イオン性またはアニオン性脂質を指す。語句「アニオン性脂質」は、本明細書で使用される場合、選択されたｐＨ、例えば生理学的なｐＨで正味の負電荷を有する多くの脂質種のいずれかを指す。非カチオン脂質としては、これらに限定されないが、ジステアロイルホスファチジルコリン（ＤＳＰＣ）、ジオレオイルホスファチジルコリン（ＤＯＰＣ）、ジパルミトイルホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）、ジオレオイルホスファチジルグリセリン（ＤＯＰＧ）、ジパルミトイルホスファチジルグリセリン（ＤＰＰＧ）、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（ＰＯＰＣ）、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＰＯＰＥ）、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン４－（Ｎ－マレイミドメチル）－シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＤＯＰＥ－ｍａｌ）、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＰＰＥ）、ジミリストイルホスホエタノールアミン（ＤＭＰＥ）、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＳＰＥ）、１，２－ジエルコイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＤＥＰＥ）、ホスファチジルセリン、スフィンゴ脂質、セレブロシド、ガングリオシド、１６－Ｏ－モノメチルＰＥ、１６－Ｏ－ジメチルＰＥ、１８－１－トランスＰＥ、１－ステアロイル－２－オレオイルホスファチジルエタノールアミン（ｐｈｏｓｐｈａｔｉｄｙｅｔｈａｎｏｌａｍｉｎｅ）（ＳＯＰＥ）、またはそれらの混合物が挙げられる。一部の実施形態において、本発明との使用の

ために好適な脂質ナノ粒子は、非カチオン脂質成分として、ＤＯＰＥを含む。他の実施形態において、本発明との使用のために好適な脂質ナノ粒子は、非カチオン脂質成分として、ＤＥＰＥを含む。

【０２５６】

一部の実施形態において、非カチオン脂質は、中性脂肪であり、すなわち、医薬組成物が製剤化および／または投与される条件で正味の電荷を有さない脂質である。

【０２５７】

一部の実施形態において、このような非カチオン脂質は、単独で使用してもよいが、好ましくは、他の脂質と組み合わせて、例えば、カチオン脂質と組み合わせて使用される。

【０２５８】

一部の実施形態において、非カチオン脂質は、医薬組成物中に存在する総脂質の、約５％～約９０％、約５％～約７０％、約５％～約５０％、約５％～約４０％、約５％～約３０％、約１０％～約７０％、約１０％～約５０％、または約１０％～約４０％のモル比（モル％）で存在し得る。一部の実施形態において、総非カチオン脂質は、医薬組成物中に存在する総脂質の、約５％～約９０％、約５％～約７０％、約５％～約５０％、約５％～約４０％、約５％～約３０％、約１０％～約７０％、約１０％～約５０％、または約１０％～約４０％のモル比（モル％）で存在し得る。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の非カチオン脂質のパーセンテージは、約５モル％より多く、約１０モル％より多く、約２０モル％より多く、約３０モル％より多く、または約４０モル％より多くてもよい。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の総非カチオン脂質のパーセンテージは、約５モル％より多く、約１０モル％より多く、約２０モル％より多く、約３０モル％より多く、または約４０モル％より多くてもよい。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の非カチオン脂質のパーセンテージは、約５モル％以下、約１０モル％以下、約２０モル％以下、約３０モル％以下、または約４０モル％以下である。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の総非カチオン脂質のパーセンテージは、約５モル％以下、約１０モル％以下、約２０モル％以下、約３０モル％以下、または約４０モル％以下であってもよい。

【０２５９】

一部の実施形態において、非カチオン脂質は、医薬組成物中に存在する総脂質の、約５％～約９０％、約５％～約７０％、約５％～約５０％、約５％～約４０％、約５％～約３０％、約１０％～約７０％、約１０％～約５０％、または約１０％～約４０％の重量比（ｗｔ％）で存在し得る。一部の実施形態において、総非カチオン脂質は、医薬組成物中に存在する総脂質の、約５％～約９０％、約５％～約７０％、約５％～約５０％、約５％～約４０％、約５％～約３０％、約１０％～約７０％、約１０％～約５０％、または約１０％～約４０％の重量比（ｗｔ％）で存在し得る。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の非カチオン脂質のパーセンテージは、約５ｗｔ％より多く、約１０ｗｔ％より多く、約２０ｗｔ％より多く、約３０ｗｔ％より多く、または約４０ｗｔ％より多くてもよい。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の総非カチオン脂質のパーセンテージは、約５ｗｔ％より多く、約１０ｗｔ％より多く、約２０ｗｔ％より多く、約３０ｗｔ％より多く、または約４０ｗｔ％より多くてもよい。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の非カチオン脂質のパーセンテージは、約５ｗｔ％以下、約１０ｗｔ％以下、約２０ｗｔ％以下、約３０ｗｔ％以下、または約４０ｗｔ％以下である。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中の総非カチオン脂質のパーセンテージは、約５ｗｔ％以下、約１０ｗｔ％以下、約２０ｗｔ％以下、約３０ｗｔ％以下、または約４０ｗｔ％以下であってもよい。

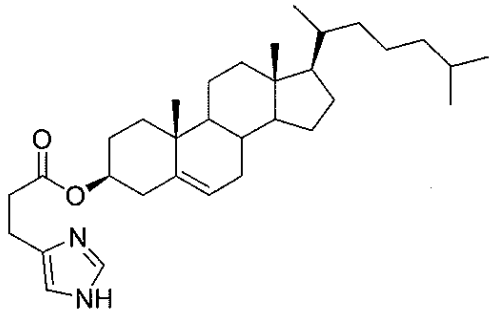
【０２６０】

コレステロールベースの脂質

一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１つまたはそれ以上のコレステロールベースの脂質を含む。例えば、好適なコレステロールベースのカチオン脂質は、例えば、ＤＣ－Ｃｈｏｉ（Ｎ，Ｎ－ジメチル－Ｎ－エチルカルボキシアミドコレステロール）、１，４－ビス（３－Ｎ－オレイルアミノプロピル）ピペラジン（Ｇａｏら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍ．１７９、２８０（１９９１）；Ｗｏｌｆら、ＢｉｏＴ

ｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　２３、１３９（１９９７）；米国特許第５，７４４，３３５号）、または以下の構造：

【化９１】



(“ICE”)

を有する、国際特許公開ＷＯ２０１１／０６８８１０で開示されたようなイミダゾールコレステロールエステル（ＩＣＥ）を含む。

【０２６１】

実施形態において、コレステロールベースの脂質は、コレステロールである。

【０２６２】

一部の実施形態において、コレステロールベースの脂質は、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の約１％～約３０％、または約５％～約２０％のモル比（モル％）を構成し得る。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中のコレステロールベースの脂質のパーセンテージは、約５モル％より多く、約１０モル％より多く、約２０モル％より多く、約３０モル％より多く、または約４０モル％より多くてもよい。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中のコレステロールベースの脂質のパーセンテージは、約５モル％以下、約１０モル％以下、約２０モル％以下、約３０モル％以下、または約４０モル％以下であってもよい。

【０２６３】

一部の実施形態において、コレステロールベースの脂質は、脂質ナノ粒子中に存在する総脂質の、約１％～約３０％、または約５％～約２０％の重量比（ｗｔ％）で存在し得る。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中のコレステロールベースの脂質のパーセンテージは、約５ｗｔ％より多く、約１０ｗｔ％より多く、約２０ｗｔ％より多く、約３０ｗｔ％より多く、または約４０ｗｔ％より多くもよい。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子中のコレステロールベースの脂質のパーセンテージは、約５ｗｔ％以下、約１０ｗｔ％以下、約２０ｗｔ％以下、約３０ｗｔ％以下、または約４０ｗｔ％以下であってもよい。

【０２６４】

ＰＥＧ修飾脂質

一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１つまたはそれ以上のＰＥＧ化脂質を含む。

【０２６５】

また、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）修飾リン脂質および誘導体化された脂質、例えば誘導体化セラミド（ＰＥＧ－ＣＥＲ）、例えばＮ－オクタノイル－スフィンゴシン－１－［スクシニル（メトキシポリエチレングリコール）－２０００］（Ｃ８　ＰＥＧ－２０００セラミド）などの、単独で、または好ましくは一緒に移動媒体（例えば、脂質ナノ粒子）を含む他の脂質医薬組成物と組み合わせてのいずれかでの使用も本発明によって予期される。

【０２６６】

予期されるＰＥＧ修飾脂質としては、これらに限定されないが、長さC_6～C_{20}のアルキル鎖を有する脂質に共有結合で付着した、長さが５ｋＤａまでのポリエチレングリコール鎖が挙げられる。一部の実施形態において、ＰＥＧ修飾またはＰＥＧ化脂質は、ＰＥ

Ｇ化コレステロールまたはＰＥＧ－２Ｋである。このような成分の付加は、複合体の凝集を防止することができ、また、循環寿命を増加させるための手段や、脂質－核酸医薬組成物の標的組織への送達を増加させるための手段を提供することもでき（Ｋｌｉｂａｎｏｖら（１９９０）ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ、２６８（１）：２３５～２３７）、またはそれらは、インビボで医薬組成物から迅速に交換されるように選択することができる（米国特許第５，８８５，６１３号を参照）。特に有用な交換可能な脂質は、より短いアシル鎖（例えば、C_{14}またはC_{18}）を有するＰＥＧ－セラミドである。本発明との使用のために好適な脂質ナノ粒子としては、典型的には、１，２－ジミリストイル－ｒａｃ－グリセロ－３－メトキシポリエチレングリコール－２０００（ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ）などのＰＥＧ修飾脂質が挙げられる。

【０２６７】

本発明のＰＥＧ修飾リン脂質および誘導体化脂質は、リポソームの移動媒体（例えば、本明細書で開示された脂質ナノ粒子）中に存在する総脂質の、約０％～約２０％、約０．５％～約２０％、約１％～約１５％、約４％～約１０％、または約２％のモル比を構成していてもよい。一部の実施形態において、１つまたはそれ以上のＰＥＧ修飾脂質は、モル比によって、総脂質の約４％を構成する。一部の実施形態において、１つまたはそれ以上のＰＥＧ修飾脂質は、モル比によって、総脂質の約５％を構成する。一部の実施形態において、１つまたはそれ以上のＰＥＧ修飾脂質は、モル比によって、総脂質の約６％を構成する。肺送達などの特定の適用に関して、ＰＥＧ修飾脂質成分がモル比によって総脂質の約５％を構成する脂質ナノ粒子が、特に好適であることが見出されている。

【０２６８】

別個の脂質成分の比率

本発明のための好適な脂質ナノ粒子は、様々な比率での、本明細書に記載されるカチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロール脂質、ＰＥＧ修飾脂質、両親媒性ブロックコポリマーおよび／またはポリマーのいずれかの１つまたはそれ以上を含んでいてもよい。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、ナノ粒子の５つおよび５つ以下の別個の成分を含む。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、ナノ粒子の４つおよび４つ以下の別個の成分を含む。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、ナノ粒子の３つおよび３つ以下の別個の成分を含む。非限定的な例として、好適な脂質ナノ粒子医薬組成物は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；Ｃ１２－２００、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＨＧＴ４００３、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＩＣＥ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＨＧＴ４００１、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＨＧＴ４００２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０１Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０４Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０８Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－１０Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＩＣＥ、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＨＧＴ４００１、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；またはＨＧＴ４００２、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋから選択される組合せを含み得る。

【０２６９】

様々な実施形態において、カチオン脂質（例えば、ｃＫＫ－Ｅ１２、Ｃ１２－２００、ＴＬ１－０１Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０４Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０８Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－１０Ｄ－ＤＭＡ、ＩＣＥ、ＨＧＴ４００１、ＨＧＴ４００２および／またはＨＧＴ４００３）は、モル比によって、脂質ナノ粒子の、約３０～６０％（例えば、約３０～５５％、約３０～５０％、約３０～４５％、約３０～４０％、約３５～５０％、約３５～４５％、または約３５～４０％）を構成する。一部の実施形態において、カチオン脂質（例えば、ｃＫＫ－Ｅ１２、Ｃ１２－２００、ＴＬ１－０１Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０４Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０８Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－１０Ｄ－ＤＭＡ、ＩＣＥ、ＨＧＴ４００１、ＨＧＴ４００２および／またはＨＧＴ４００３）のパーセンテージは、モル比によって、脂質ナノ

粒子の、約３０％であるかまたはそれより多く、約３５％であるかまたはそれより多く、約４０％であるかまたはそれより多く、約４５％であるかまたはそれより多く、約５０％であるかまたはそれより多く、約５５％であるかまたはそれより多く、または約６０％であるかまたはそれより多い。

【０２７０】

一部の実施形態において、カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質のモル比は、それぞれ、約３０～６０：２５～３５：２０～３０：１～１５であってもよい。一部の実施形態において、カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、それぞれおよそ４０：３０：２０：１０である。一部の実施形態において、カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、それぞれおよそ４０：３０：２５：５である。一部の実施形態において、カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、それぞれおよそ４０：３２：２５：３である。一部の実施形態において、カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、およそ５０：２５：２０：５である。

【０２７１】

脂質ナノ粒子が脂質の３つおよび３つ以下の別個の成分を含む実施形態において、総脂質含量の比率（すなわち、脂質成分（１）：脂質成分（２）：脂質成分（３）の比率）は、ｘ：ｙ：ｚとして表すことができ、

（ｙ＋ｚ）＝１００－ｘである。

【０２７２】

一部の実施形態において、「ｘ」、「ｙ」、および「ｚ」のそれぞれは、脂質の３つの別個の成分のモルパーセンテージを表し、比率は、モル比である。

【０２７３】

一部の実施形態において、「ｘ」、「ｙ」、および「ｚ」のそれぞれは、脂質の３つの別個の成分の重量パーセンテージを表し、比率は、重量比である。

【０２７４】

一部の実施形態において、脂質成分（１）は、可変値「ｘ」によって表され、ステロールベースのカチオン脂質である。

【０２７５】

一部の実施形態において、脂質成分（２）は、可変値「ｙ」によって表され、非カチオン脂質である。

【０２７６】

一部の実施形態において、脂質成分（３）は、可変値「ｚ」によって表され、ＰＥＧ脂質である。

【０２７７】

一部の実施形態において、可変値「ｘ」は、脂質成分（１）（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）のモルパーセンテージを表し、少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、または約９５％である。

【０２７８】

一部の実施形態において、可変値「ｘ」は、脂質成分（１）（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）のモルパーセンテージを表し、約９５％以下、約９０％以下、約８５％以下、約８０％以下、約７５％以下、約７０％以下、約６５％以下、約６０％以下、約５５％以下、約５０％以下、約４０％以下、約３０％以下、約２０％以下、または約１０％以下である。実施形態において、可変値「ｘ」は、約６５％以下、約６０％以下、約５５％以下、約５０％以下、約４０％以下である。

【０２７９】

一部の実施形態において、可変値「ｘ」は、脂質成分（１）（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）のモルパーセンテージを表し、少なくとも約５０％であるが約９５％

未満；少なくとも約５０％であるが約９０％未満；少なくとも約５０％であるが約８５％未満；少なくとも約５０％であるが約８０％未満；少なくとも約５０％であるが約７５％未満；少なくとも約５０％であるが約７０％未満；少なくとも約５０％であるが約６５％未満；または少なくとも約５０％であるが約６０％未満である。実施形態において、可変値「ｘ」は、少なくとも約５０％であるが約７０％未満；少なくとも約５０％であるが約６５％未満；または少なくとも約５０％であるが約６０％未満である。

【０２８０】

一部の実施形態において、可変値「ｘ」は、脂質成分（１）（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）の重量パーセンテージを表し、少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、または約９５％である。

【０２８１】

一部の実施形態において、可変値「ｘ」は、脂質成分（１）（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）の重量パーセンテージを表し、約９５％以下、約９０％以下、約８５％以下、約８０％以下、約７５％以下、約７０％以下、約６５％以下、約６０％以下、約５５％以下、約５０％以下、約４０％以下、約３０％以下、約２０％以下、または約１０％以下である。実施形態において、可変値「ｘ」は、約６５％以下、約６０％以下、約５５％以下、約５０％以下、約４０％以下である。

【０２８２】

一部の実施形態において、可変値「ｘ」は、脂質成分（１）（例えば、ステロールベースのカチオン脂質）の重量パーセンテージを表し、少なくとも約５０％であるが約９５％未満；少なくとも約５０％であるが約９０％未満；少なくとも約５０％であるが約８５％未満；少なくとも約５０％であるが約８０％未満；少なくとも約５０％であるが約７５％未満；少なくとも約５０％であるが約７０％未満；少なくとも約５０％であるが約６５％未満；または少なくとも約５０％であるが約６０％未満である。実施形態において、可変値「ｘ」は、少なくとも約５０％であるが約７０％未満；少なくとも約５０％であるが約６５％未満；または少なくとも約５０％であるが約６０％未満である。

【０２８３】

一部の実施形態において、可変値「ｚ」は、脂質成分（３）（例えば、ＰＥＧ脂質）のモルパーセンテージを表し、約１％以下、２％以下、３％以下、４％以下、５％以下、６％以下、７％以下、８％以下、９％以下、１０％以下、１５％以下、２０％以下、または２５％以下である。実施形態において、可変値「ｚ」は、脂質成分（３）（例えば、ＰＥＧ脂質）のモルパーセンテージを表し、約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％である。実施形態において、可変値「ｚ」は、脂質成分（３）（例えば、ＰＥＧ脂質）のモルパーセンテージを表し、約１％～約１０％、約２％～約１０％、約３％～約１０％、約４％～約１０％、約１％～約７．５％、約２．５％～約１０％、約２．５％～約７．５％、約２．５％～約５％、約５％～約７．５％、または約５％～約１０％である。

【０２８４】

一部の実施形態において、可変値「ｚ」は、脂質成分（３）（例えば、ＰＥＧ脂質）の重量パーセンテージを表し、約１％以下、２％以下、３％以下、４％以下、５％以下、６％以下、７％以下、８％以下、９％以下、１０％以下、１５％以下、２０％以下、または２５％以下である。実施形態において、可変値「ｚ」は、脂質成分（３）（例えば、ＰＥＧ脂質）の重量パーセンテージを表し、約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％である。実施形態において、可変値「ｚ」は、脂質成分（３）（例えば、ＰＥＧ脂質）の重量パーセンテージを表し、約１％～約１０％、約２％～約１０％、約３％～約１０％、約４％～約１０％、約１％～約７．５％、約２．５％～約１０％、約２．５％～約７．５％、約２．５％～約５％、約５％～約７．５％、または約５％～約１０％である。

【０２８５】

３つおよび３つのみの別個の脂質成分を有する医薬組成物の場合、可変値「ｘ」、「ｙ」、および「ｚ」は、トータルで３つの可変値を合計して総脂質含量の１００％になる限りは、どのような組合せであってもよい。例えば、本発明との使用のために好適な典型的な３成分の脂質ナノ粒子において、カチオン脂質対非カチオン脂質対ＰＥＧ修飾脂質のモル比は、それぞれ約５５～６５：３０～４０：１～１５であってもよい。一部の実施形態において、例えば、噴霧を介した脂質ナノ粒子の肺送達の場合、６０：３５：５のカチオン脂質（例えば、ステロールベースの脂質）対非カチオン脂質（例えば、ＤＯＰＥまたはＤＥＰＥ）対ＰＥＧ修飾脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ）のモル比が特に好適である。

【０２８６】

例示的な脂質ナノ粒子配合物

本発明による核酸のインビボでの送達のための例示的な脂質ナノ粒子は、カチオン脂質（例えば、ｃＫＫ－Ｅ１０）、非カチオン脂質（例えば、ＤＯＰＥ）、コレステロールおよびＰＥＧ修飾脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ）を含む。特定の実施形態において、本発明は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋからなる脂質成分を４０：３０：２８．５：１．５のモル比で有する、本発明の核酸の送達のための脂質ナノ粒子を提供する。実施例で示されるように、この脂質ナノ粒子配合物は、本発明の免疫原性組成物における使用に、特に本発明の核酸を含む脂質ナノ粒子の筋肉内投与に、特に有効であることが見出された。

【０２８７】

少なくとも２つの核酸を含有する脂質ナノ粒子組成物

一部の実施形態において、本発明の異なる最適化されたヌクレオチド配列を含む少なくとも２つの核酸は、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化されている（例えば、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを含む脂質ナノ粒子）。例えば、本発明の第１の最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸（例えば、ｍＲＮＡ）は、本発明の第２の最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸（例えば、ｍＲＮＡ）と組み合わせてもよく、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。

【０２８８】

他の実施形態において、本発明の異なる最適化されたヌクレオチド配列を含む少なくとも２つの核酸は、別々にカプセル化されている（典型的には、同じ脂質組成を有する、例えば、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋを有する脂質ナノ粒子配合物を使用して）。例えば、本発明の第１の最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸（例えば、ｍＲＮＡ）および本発明の第２の最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸（例えば、ｍＲＮＡ）はそれぞれ、別々の脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよく、次いでこれを組み合わせて、第１の核酸をカプセル化している脂質ナノ粒子および第２の核酸をカプセル化している脂質ナノ粒子の混合物が提供される（典型的には１：１の比率で）。

【０２８９】

例えば、本発明による免疫原性組成物は、少なくとも２つの核酸を含んでいてもよく、第１の核酸は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み（例えば、配列番号４４の最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡ、または表４に示される例示的なｍＲＮＡ構築物１）；第２の核酸は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する（例えば、配列番号１６６の最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡ、または

表４に示される例示的なｍＲＮＡ構築物２）。一部の実施形態において、第１の核酸は、第２の核酸と組み合わせてもよく、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。他の実施形態において、第１の核酸および第２の核酸はそれぞれ、別々の脂質ナノ粒子（典型的には、同じ脂質成分、例えば、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋから形成された）中にカプセル化してもよい。次いで、第１の核酸をカプセル化している脂質ナノ粒子および第２の核酸をカプセル化している脂質ナノ粒子は組み合わされる（典型的には１：１の比率で）。

【０２９０】

医薬組成物

本発明によるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸は、医薬組成物（例えば、免疫原性組成物またはワクチン）の形態で提供することができる。典型的な実施形態において、本発明による医薬組成物は、本発明による核酸および脂質ナノ粒子を含む。特定の実施形態において、核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、ＰＥＧ修飾脂質、またはそれらの組合せの１つまたはそれ以上を含んでいてもよい。典型的な実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む。一部の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む。

【０２９１】

医薬的に許容される賦形剤

核酸および／もしくは脂質ナノ粒子を安定化するために、または医薬組成物の投与を容易にする、ならびに／またはインビボでの本発明の核酸の発現を強化するために、核酸および／または脂質ナノ粒子は、１つまたはそれ以上の追加の核酸、担体、標的化リガンド、安定化試薬、および／または他の医薬的に許容される賦形剤と組み合わせて製剤化することができる。薬物の配合および投与のための技術は、「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．、Ｅａｓｔｏｎ，　Ｐａ．、最新版に見出すことができる。

【０２９２】

一部の実施形態において、医薬組成物は、希釈剤を用いて製剤化される。一部の実施形態において、希釈剤は、ＤＭＳＯ、エチレングリコール、グリセリン、２－メチル－２，４－ペンタンジオール（ＭＰＤ）、プロピレングリコール、スクロース、およびトレハロースからなる群から選択される。一部の実施形態において、配合物は、１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％または２０％の希釈剤を含む。特定の実施形態において、ｍＲＮＡは、希釈剤として１０％のトレハロース中で製剤化される。

【０２９３】

治療有効量

本発明による核酸は、本明細書で提供される医薬組成物中、治療有効量で提供される。用語「治療有効量」は、本明細書で使用される場合、主として、本発明の医薬組成物に含有される治療剤の総量に基づいて決定される。一般的に、治療有効量は、対象に対して有意義な利益を達成するのに十分な量である（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染を処置または防止すること）。例えば、治療有効量は、本発明の免疫原性組成物を用いて所望の予防的作用を達成するのに十分な量であってもよい。

【０２９４】

一部の実施形態において、本発明による医薬組成物（例えば、免疫原性組成物）は、０．１ｍｇ／ｍＬ～１０．０ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度で、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡを含む。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．１ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．２ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ

は、少なくとも０．３ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．４ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．５ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．６ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．７ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．８ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも０．９ｍｇ／ｍＬの濃度である。一部の実施形態において、ｍＲＮＡは、少なくとも１．０ｍｇ／ｍＬの濃度である。典型的な実施形態において、ｍＲＮＡは、約０．５ｍｇ／ｍＬ～約１．０ｍｇ／ｍＬ、例えば、約０．６ｍｇ／ｍＬ～約０．８ｍｇ／ｍＬの濃度である。

【０２９５】

一部の実施形態において、本発明による医薬組成物（例えば、免疫原性組成物）は、５μｇ～２００μｇの用量で、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡを含む。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、１０μｇ～２００μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、７μｇ～１３５μｇである。特定の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、１５μｇ～１３５μｇ（例えば、１５μｇ～４５μｇ）である。

【０２９６】

一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも５μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも１０μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも１５μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも２０μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも２５μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも３０μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも３５μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも４０μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも４５μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも５０μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも７５μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも１００μｇである。一部の実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、少なくとも１５０μｇである。

【０２９７】

具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約７．５μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約１０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約１５μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約２０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約３０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約４０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約４５μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡの用量は、約１３５μｇである。

【０２９８】

一部の実施形態において、本発明による医薬組成物（例えば、免疫原性組成物）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む１つより多くのｍＲＮＡ構築物（例えば、少なくとも２つのｍＲＮＡ構築物）（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の天然に存在するバリアントをコードする２つのｍＲＮＡ構築物）を含む。したがって、一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、５μｇ～２００μｇである。例えば、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、１０μｇ～２００μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、７μｇ～１３５μｇである。特定の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、１５μｇ～１３５μｇ（例えば、１５

μｇ～４５μｇ）である。
【０２９９】
一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも５μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも１０μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも１５μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも２０μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも２５μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも３０μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも３５μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも４０μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも４５μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも５０μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも７５μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも１００μｇである。一部の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物の総用量は、少なくとも１５０μｇである。
【０３００】
具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約７．５μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約１０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約１５μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約２０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約３０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約４０μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約４５μｇである。別の具体的な実施形態において、医薬組成物中のｍＲＮＡ構築物の総用量は、約１３５μｇである。
【０３０１】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の組合せ
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする１つより多くの最適化されたヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列のそれぞれは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質の天然に存在するバリアントをコードする。一部の実施形態において、これらの最適化されたヌクレオチド配列の１つまたはそれ以上は、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする。特定の実施形態において、改変は、上記で詳述したように、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をその融合前の高次構造で安定化させる。
【０３０２】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号１、２、３、４、５、８、９、１０、１１、１２、１４、１５、１６、１７、１９、２０、３５、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１０４、１０６、１０８、１１０、１１８、１２０、１２３、１２５、１２７、１２９、１３１、１３３、１３５、１３７、１３９または１４１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、１つまたはそれ以上のさらなる核酸は、配列番号１５１、１５３、１５５、１５７、１５９、１６１、１６３、１６５、１６７、１６９または１７１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。
【０３０３】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードし；第２の核酸は、配列番号１５７のアミノ酸配列をコ

ードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。
【０３０４】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号４４の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の核酸配列を有し；第２の核酸は、配列番号１５６の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１５７を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５６の核酸配列を有する。
【０３０５】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードし；第２の核酸は、配列番号１６３のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。
【０３０６】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号４４の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の核酸配列を有し；第２の核酸は、配列番号１６２の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１６３を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６２の核酸配列を有する。
【０３０７】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードし；第２の核酸は、配列番号１６７のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。
【０３０８】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号４４の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の核酸配列を有し；第２の核酸は、配列番号１６６の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１６７を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６の核酸配列を有する。
【０３０９】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードし；第２の核酸は、配列番号１７１のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。
【０３１０】
一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号４４の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の核酸配列を有し；第２の核酸は、配列番号１７０の核酸配列と少なくとも８５％（例えば、少なくとも９０％）同一であり、

配列番号１７１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７０の核酸配列を有する。

【０３１１】

一部の実施形態において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための、少なくとも３つ、少なくとも４つ、または少なくとも５つの核酸を含む。第１、第２、第３、第４および第５の核酸は、適用可能な場合、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。代替として、第１、第２、第３、第４および第５の核酸は、適用可能な場合、別々の脂質ナノ粒子中にカプセル化することができ、これらが一緒に混合されて本発明による医薬組成物が形成される。

【０３１２】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原の組合せ

一部の実施形態において、本発明による医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする１つより多くの最適化されたヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態において、医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸を含んでいてもよい。一部の実施形態において、医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸を含んでいてもよい。一部の実施形態において、医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｅタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第２の核酸を含んでいてもよい。他の実施形態において、医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む第１の核酸、ならびに第２、第３および／または第４の核酸を含んでいてもよく、前記第２の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｍタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、前記第３の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、前記第４の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｅタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。

【０３１３】

第１、第２、第３および第４の核酸は、適用可能な場合、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。代替として、第１、第２、第３および第４の核酸は、適用可能な場合、別々の脂質ナノ粒子中にカプセル化することができ、これらが一緒に混合されて本発明による医薬組成物が形成される。

【０３１４】

投与

典型的には、本発明による医薬組成物（例えば、免疫原性組成物またはワクチン）は、例えば、静脈内、皮内、皮下、または筋肉内経路によって、非経口的に投与される。最も一般的には、投与は、筋肉内である。投与は、注射による投与でもよく、例えば、無針および／または針での注射による投与でもよい。

【０３１５】

例えば、カチオン脂質ＯＦ－Ｄｅｇ－Ｌｉｎを含有する脂質ナノ粒子を使用して、Ｆｅｎｔｏｎら（Ａｄｖ　Ｍａｔｅｒ．２０１７；２９（３３））は、静脈注射を介して脾臓にカプセル化されたｍＲＮＡをうまく送達することを可能にした。彼らは、総タンパク質生産の８５％より多くが脾臓で起こったことを観察した。彼らが試験動物の脾臓を分析したとき、彼らは、脂質ナノ粒子が、カプセル化されたｍＲＮＡを、主としてＢ細胞および単球／マクロファージ集団に送達したことを見出した。またｍＲＮＡのごく一部もまた好中球およびＴ細胞集団に送達されたようであった。本明細書の実施例で示されるように、

カプセル化された核酸に対して免疫応答を惹起することにおいて、特に筋肉内に投与される場合、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋからなる脂質成分を４０：３０：２８．５：１．５のモル比で有する脂質ナノ粒子を含む医薬組成物がとりわけ有効である。

【０３１６】

プライム－ブースト免疫化

一部の実施形態において、本発明による医薬組成物は、１回投与される。一部の実施形態において、本発明による医薬組成物は、少なくとも２回投与される。

【０３１７】

例えば、β－コロナウイルス、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染に対して事前に免疫化されていない対象の典型的なプライム－ブースト免疫化は、典型的には、少なくとも２つの免疫化を含む。一般的に、これらの２つの免疫化は、間隔を空けて投与される。したがって、一部の実施形態において、本発明による医薬組成物は、２、３、４、５、６、７または８週間の間隔を空けて、少なくとも２回（例えば、３回）投与される。一部の実施形態において、本発明による医薬組成物は、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１または１２週間の間隔を空けて、２回投与される。典型的な実施形態において、投与間隔は、２週間または４週間（例えば、１ヶ月）である。他の実施形態において、投与間隔は、１１週間、または１２週間（例えば約３ヶ月）である。したがって、一実施形態において、本発明は、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染を防止する方法であって、本発明のｍＲＮＡ構築物を含む免疫原性組成物の第１の用量、および本発明の免疫原性組成物の第２の用量を対象に投与することを含み、前記第１および第２の用量は、互いに少なくとも２週間の間隔を空けて投与される、前記方法を提供する。一部の実施形態において、本発明は、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）によって引き起こされる感染を防止する方法であって、本発明のｍＲＮＡ構築物を含む免疫原性組成物の第１の用量、および本発明の免疫原性組成物の第２の用量を対象に投与することを含み、前記第１および第２の用量は、互いに約３週間の間隔を空けて投与される、前記方法を提供する。

【０３１８】

時には、最初のプライム－ブースト免疫化に続いて、最初の一連の免疫化の保護的な有効性を回復させるために、少なくとも１回のさらなる免疫化が行われる。このさらなる免疫化は、典型的には、最初のプライム－ブースト免疫化の、数ヶ月後、時には数年後に行われる。したがって、一部の実施形態において、本発明による医薬組成物は、β－コロナウイルス、例えば、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するβ－コロナウイルス、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防のための免疫原性組成物の少なくとも１つの用量を対象に投与してから、３～１８ヶ月後（例えば、約９ヶ月または約１２ヶ月後）に少なくとも１回対象に投与される。例えば、対象は、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）での感染の予防のための免疫原性組成物の少なくとも１つの用量を受けていてもよく、３～１８ヶ月後に（例えば、約９ヶ月または約１２ヶ月後に）、対象は、本発明の医薬組成物を投与される。より典型的には、対象は、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）での感染の予防のための免疫原性組成物の２つの用量を受けていてもよく、例えば第１の用量と、少なくとも２週間後に第２の用量とを受けていてもよい。第２の用量を受けてから３～１８ヶ月後に、対象に、本発明の医薬組成物を投与してもよい。本発明の医薬組成物の投与は、一般的に、対象がβ－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）での感染の予防のための免疫原性組成物の第２の用量を受けてから少なくとも９ヶ月後（例えば、約１２ヶ月後）に行うことができる。

【０３１９】

一部の実施形態において、第１および第２の用量は、β－コロナウイルス（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）での感染の予防のための免疫原性組成物、例えば、武漢からのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２指標株のＳタンパク質（配列番号１）に対する中和抗体を惹起するワク

チンであってもよい。例えば、ワクチンは、全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をその融合前の高次構造で安定化するために、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする核酸を含んでいてもよい。中和抗体を惹起するワクチンとしては、本明細書で開示される医薬組成物（例えば、本明細書で開示される免疫原性組成物またはワクチン）、加えて、Ｍｏｄｅｒｎａによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（例えば、ｍＲＮＡ－１２７３またはｍＲＮＡ－１２８３のようなＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＭｏｄｅｒｎａ）、ＣｕｒｅＶａｃによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＣＶｎＣｏＶ）、Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＪａｎｓｓｅｎ）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖａｘｚｅｖｒｉａ）、Ｐｆｉｚｅｒ／ＢｉｏＮＴｅｃｈによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｃｏｍｉｒｎａｔｙ）、Ｓｐｕｔｎｉｋによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｇａｍ－ＣＯＶＩＤ－Ｖａｃ）、Ｓｉｎｏｖａｃによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（不活化ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖｅｒｏ細胞））およびＮｏｖａｖａｘによって生産されたＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３）が挙げられる。第１の用量および第２の用量は、同じワクチンを含んでいてもよい。第１の用量および第２の用量は、異なるワクチンを含んでいてもよい。

【０３２０】

特定の実施形態において、３～１８ヶ月後に投与される本発明の医薬組成物は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する核酸（例えば、ｍＲＮＡ）を含む。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸（例えば、ｍＲＮＡ）は、武漢指標株、加えて、南アフリカ、日本、ブラジル、英国、インドおよびカリフォルニア州で観察されたバリアントを含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の天然に存在するバリアントに対して広域中和抗体応答を惹起することが可能である。一部の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸（例えば、ｍＲＮＡ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１に対して中和抗体応答を惹起することが可能である。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸（例えば、ｍＲＮＡ）は、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するβ－コロナウイルスに対して中和抗体応答を惹起することが可能である。一部の実施形態において、スパイクタンパク質は、配列番号１と少なくとも７５％（例えば、少なくとも８０％、９０％、９５％または９９％）同一である。具体的な実施形態において、核酸（例えば、ｍＲＮＡ）は、配列番号１６７を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６の核酸配列を有する。例えば、ｍＲＮＡの最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７３の核酸配列を有していてもよい。

【０３２１】

具体的な一実施形態において、３～１８ヶ月後に投与される本発明の医薬組成物は、少なくとも２つの核酸（例えば、第１のｍＲＮＡおよび第２のｍＲＮＡ）を含み、第１の核酸（例えば、第１のｍＲＮＡ）は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み；第２の核酸（例えば、第２のｍＲＮＡ）は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする最適化された

ヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有する。特定の実施形態において、第１および第２のｍＲＮＡを含む医薬組成物は、武漢指標株、加えて、南アフリカ、日本、ブラジル、英国、インドおよびカリフォルニア州で観察されたバリアントを含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の天然に存在するバリアントに対して広域中和抗体応答を惹起することが可能である。一部の実施形態において、第１および第２のｍＲＮＡを含む医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１に対して中和抗体応答を惹起することが可能である。具体的な実施形態において、第１および第２のｍＲＮＡを含む医薬組成物は、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するβ－コロナウイルスに対して中和抗体応答を惹起することが可能である。一部の実施形態において、スパイクタンパク質は、配列番号１と少なくとも７５％（例えば、少なくとも８０％、９０％、９５％または９９％）同一である。第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードし、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の核酸配列を有する最適化されたヌクレオチド配列を含んでいてもよい。第２の核酸は、配列番号１６７を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６の核酸配列を有する。例えば、第１のｍＲＮＡの最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４８の核酸配列を有していてもよく、第２のｍＲＮＡの最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７３の核酸配列を有していてもよい。典型的には、少なくとも２つの核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。例えば、第１の核酸および第２の核酸は、同じ脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。代替として、第１の核酸および第２の核酸は、別々の脂質ナノ粒子中にカプセル化してもよい。

【０３２２】

実施例で示されるように、武漢からのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２指標株のＳタンパク質（配列番号１）に対する中和抗体を惹起するワクチンで事前に免疫化された対象、および約９ヶ月後に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化南アフリカバリアントをコードする本発明の最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡワクチンが投与される対象は、元のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２武漢株の天然に存在するバリアント、加えて、他のβ－コロナウイルス、特にアンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するもの、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１によって発現される様々なＳタンパク質に対して有効な広域中和抗体応答を生じさせることができる。

【０３２３】

したがって、一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は、β－コロナウイルスによって、特にアンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するβ－コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防における使用のためである。一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は、β－コロナウイルスによって、特にアンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するβ－コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防のための医薬の製造における使用のためである。一部の実施形態において、スパイクタンパク質は、配列番号１と少なくとも７５％（例えば、少なくとも８０％、９０％、９５％または９９％）同一である。典型的な実施形態において、β－コロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である（例えば、武漢指標株の天然に存在するバリアント、例えば南アフリカバリアント、日本バリアント、ブラジルバリアント、英国バリアント、インドバリアントまたはカリフォルニアバリアント）。

【０３２４】

具体的な実施形態において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２によって引き起こされる感染を防止する方法であって、ｍＲＮＡ構築物を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含み、前記ｍＲＮＡ構築物は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、配列番号１の天然に存在する全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変された全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタ

ンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、Ｌ２４２－、Ａ２４３－、Ｌ２４４－、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４ＧおよびＡ７０１Ｖ変異をさらに含有し、前記免疫原性組成物は、対象を第１のＣＯＶＩＤ－１９ワクチンおよび第２のＣＯＶＩＤ－１９ワクチンで免疫化してから少なくとも３ヶ月後（例えば、約６ヶ月、約９ヶ月または約１２ヶ月後）に対象に投与され、前記第１および第２のＣＯＶＩＤ－１９ワクチンは、互いに少なくとも２週間の間隔を空けて対象に投与されており、前記第１および第２のＣＯＶＩＤ－１９ワクチンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質に対する、例えば、武漢からのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２指標株のＳ－タンパク質（配列番号１）に対する中和抗体を惹起するように設計された、前記方法を提供する。一部の実施形態において、第１および第２のＣＯＶＩＤ－１９ワクチンは、同一である。他の実施形態において、前記第１および第２のワクチンは、異なる。特定の実施形態において、前記第１および第２のＣＯＶＩＤ－１９ワクチンは、Ｍｏｄｅｒｎａ（例えば、ｍＲＮＡ－１２７３またはｍＲＮＡ－１２８３のようなＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＭｏｄｅｒｎａ）、ＣｕｒｅＶａｃ（ＣＶｎＣｏＶ）、Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎ（ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンのＪａｎｓｓｅｎ）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ（Ｖａｘｚｅｖｒｉａ）、Ｐｆｉｚｅｒ／ＢｉｏＮＴｅｃｈ（Ｃｏｍｉｒｎａｔｙ）、Ｓｐｕｔｎｉｋ（Ｇａｍ－ＣＯＶＩＤ－Ｖａｃ）、Ｓｉｎｏｖａｃ（不活化ＣＯＶＩＤ－１９ワクチン（Ｖｅｒｏ細胞））またはＮｏｖａｖａｘ（ＮＶＸ－ＣｏＶ２３７３）によって生産される。

【０３２５】

一部の実施形態において、免疫原性組成物は、武漢指標株、加えて、南アフリカ、日本、ブラジル、英国、インドおよびカリフォルニア州で観察されたバリアントを含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の天然に存在するバリアントに対して広域中和抗体応答を惹起することが可能である。一部の実施形態において、免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１に対して中和抗体応答を惹起することが可能である。特定の実施形態において、免疫原性組成物は、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するβ－コロナウイルスに対して中和抗体応答を惹起することが可能である。特定の実施形態において、スパイクタンパク質は、配列番号１と少なくとも７５％（例えば、少なくとも８０％、９０％、９５％または９９％）同一である。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６７を含むアミノ酸配列をコードし、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７３の核酸配列を有する。具体的な実施形態において、ｍＲＮＡ構築物は、ｍＲＮＡ構築物２である。特定の実施形態において、前記ｍＲＮＡ構築物は、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋからなる脂質成分を例えば４０：３０：２８．５：１．５のモル比で有する脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。一部の実施形態において、免疫原性組成物は、７μｇ～１３５μｇのｍＲＮＡ構築物、例えば、７．５μｇ、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。

【０３２６】

本発明のさらなる例示的な実施形態

一態様において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、最適化されたヌクレオチド配列は、１０％より大きいかまたはそれに等しい使用頻度に関連するコドンからなり；最適化されたヌクレオチド配列は：

（ｉ）以下のヌクレオチド配列：

５’－X_1ＡＴＣＴX_2ＴX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＴまたはＧから選択される）；および５’－X_1ＡＵＣＵX_2ＵX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＵまたはＧから選択される）

のうちの１つを有する終結シグナルを含有せず；

（ｉｉ）いかなる負のシス調節エレメントおよび負の反復エレメントも含有せず；

（ｉｉｉ）０．８より大きいコドン適応指標を有し；

オーバーラップしていない３０ヌクレオチドの長さの部分に分割される場合、最適化されたヌクレオチド配列の各部分は、３０％～７０％のグアニンシトシン含量範囲を有する、核酸を提供する。

【０３２７】

ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、以下の配列：ＴＡＴＣＴＧＴＴ；ＴＴＴＴＴＴ；ＡＡＧＣＴＴ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＴＣＴＡＧＡ；ＵＡＵＣＵＧＵＵ；ＵＵＵＵＵＵ；ＡＡＧＣＵＵ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＵＣＵＡＧＡのうちの１つを有する終結シグナルを含有しない。ある特定の実施形態において核酸は、ｍＲＮＡまたはＤＮＡである。

【０３２８】

以下において、改変されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質またはその抗原性断片は、特定の最適化された核酸配列への言及によって記載される。これらの改変されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質または抗原性断片が、開示された本発明の核酸ベースのワクチンの状況で特定の有用性を有する可能性があるが、それらはまた、タンパク質ベースのワクチンにおいて有用性を有する可能性があることが理解されるものとする。さらに、最適化された核酸配列はまた、このようなタンパク質ベースのワクチンの効率的な生産においても有用であり得る。

【０３２９】

ある特定の態様において、本発明の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質またはその抗原性断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列である。ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１を含むアミノ酸配列をコードする。他の実施形態において、本発明の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質またはその抗原性断片のエクトドメインをコードする最適化されたヌクレオチド配列である。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２を含むアミノ酸配列をコードする。ある特定の実施形態において、抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を含む。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３０】

ある特定の実施形態において、抗原性断片は、シグナル配列をさらに含む。ある特定の実施形態において、シグナル配列は、配列番号７である。他の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８を含むアミノ酸配列をコードする。ある特定の実施形態において、シグナル配列は、配列番号１４２である。他の実施形態において、本発明の最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４３を含むアミノ酸配列をコードする。本発明のさらなる態様において、抗原性断片は、追加で、Ｆｃ領域を含んでいてもよい。具体的な実施形態において、Ｆｃ領域は、配列番号１８のアミノ酸配列を有する。ある特定の実施形態において、抗原性断片は、シグナル配列およびＦｃ領域をさらに含む。

【０３３１】

ある特定の実施形態において、抗原性断片は、シグナル配列およびＦｃ領域に作動可能に連結したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のＲＢＤからなる。特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２０を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３２】

他の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインまたはその抗原性断片は、安定な融合前の高次構造を形成するように改変されている。ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインまたは抗原性断片は、活性化に必要なフューリン切断部位を除去するように、天然に存在す

るＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、活性化に必要なフューリン切断部位を除去するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。さらなる具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３３】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインまたはその抗原性断片は、残基９８５をプロリンに変異させるか、ならびに／または残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。さらなる具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０を含むアミノ酸配列をコードする。さらなる具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１８を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３４】

ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８５、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９２を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３５】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、（ａ）残基９８５をプロリンに；および／または（ｂ）残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列を有する。さらなる具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２０を含むアミノ酸配列をコードする。例えば、最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質のエクトドメインをコードする。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３６】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８５、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。さらなる具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９４を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３７】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクト

ドメインまたはその抗原性断片は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１８を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３８】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２０を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３３９】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２９を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４０】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３１を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４１】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３３を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４２】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３５を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４３】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２３を含むアミノ酸配列をコードする。ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３７を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４４】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、ＥＲ回収シグナルを変異させるように、天然に存在す

るＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２５を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４５】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去し、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２７を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４６】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３９を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４７】

ある特定の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去し、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４１を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４８】

ある特定の実施形態において、抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のＳ１、Ｓ２もしくはＳ２’サブユニットを含むかまたはそれからなる。ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３、配列番号４または配列番号５を含むアミノ酸配列をコードする。

【０３４９】

ある特定の実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性断片を含む融合ペプチドをコードする。具体的な実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性断片は、配列番号２１のアミノ酸配列、配列番号２２のアミノ酸配列、配列番号２３のアミノ酸配列および／または配列番号２４のアミノ酸配列を有する。

【０３５０】

ある特定の実施形態において、１つまたはそれ以上の抗原性断片は、リンカー配列、例えば、ＧＧＧＧＳによって連結されている。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２５または配列番号２７を含む融合ペプチドをコードする。ある特定の実施形態において、融合ペプチドは、Ｎ末端シグナル配列を含み、例えば最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５１または配列番号５３を含む融合ペプチドをコードする。ある特定の実施形態において、融合ペプチドは、Ｃ末端Ｆｃドメインを含む。他の実施形態において、融合ペプチドは、Ｎ末端シグナル配列およびＣ末端Ｆｃドメインを含む。具体的な実施形態において、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５５または配列番号５７を含む融合ペプチドをコードする。

【０３５１】

他の態様において、上記で開示された本発明の核酸は、療法における使用のためである

。例えば、上記で開示された本発明の核酸は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防のための医薬の製造における使用のためであってもよい。他の態様において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための本発明の核酸を含む免疫原性組成物が提供される。本発明はまた、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染を処置または防止する方法であって、本発明の核酸を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、前記方法も提供する。

【０３５２】

他の態様において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号１、２、３、４、５、８、９、１０、１１、１２、１４、１５、１６、１７、１９、２０、３５、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１０４、１０６、１０８、１１０、１１８、１２０、１２３、１２５、１２７、１２９、１３１、１３３、１３５、１３７、１３９または１４１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、１つまたはそれ以上のさらなる核酸は、配列番号１５１、１５３、１５５、１５７、１５９、１６１、１６３、１６５、１６７、１６９または１７１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む。

【０３５３】

他の態様において、本発明による免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための少なくとも２つの核酸を含み、第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の核酸配列を有し、１つまたはそれ以上のさらなる核酸は、

（ａ）配列番号１５７から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５６の核酸配列を有する、核酸、および

（ｂ）配列番号１６３から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６２の核酸配列を有する、核酸；および

（ｃ）配列番号１６７から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６の核酸配列を有する、核酸；および

（ｄ）配列番号１７１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７０の核酸配列を有する、核酸

から選択される。

【０３５４】

ある特定の態様において、本発明は、ｉ）本発明の核酸およびｉｉ）脂質ナノ粒子を含む医薬組成物を提供する。特定の実施形態において、核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、ＰＥＧ修飾脂質、またはそれらの組合せの１つまたはそれ以上を含んでいてもよい。ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む。

【０３５５】

ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む。ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、

（ａ）ＤＯＴＡＰ（１，２－ジオレイル－３－トリメチルアンモニウムプロパン）、ＤＯＤＡＰ（１，２－ジオレイル－３－ジメチルアンモニウムプロパン）、ＤＯＴＭＡ（Ｎ－［１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル］－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロリド）、ＤＬｉｎＫＣ２ＤＭＡ、ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭ、Ｃ１２－２００、ｃＫ

Ｋ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＨＧＴ５０００、ＨＧＴ５００１、ＨＧＴ４００３、ＩＣＥ、ＨＧＴ４００１、ＨＧＴ４００２、ＴＬ１－０１Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０４Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０８Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－１０Ｄ－ＤＭＡ、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択されるカチオン脂質；

（ｂ）ＤＳＰＣ（１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＯＰＥ（１，２－ジオレイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン）、ＤＥＰＥ　１，２－ジエルコイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、ＤＯＰＣ（１，２－ジオレイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスファチジルコリン）、ＤＰＰＥ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン）、ＤＭＰＥ（１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン）、およびＤＯＰＧ（１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセリン））から選択される非カチオン脂質；

（ｃ）ＤＣ－Ｃｈｏｉ（Ｎ，Ｎ－ジメチル－Ｎ－エチルカルボキシアミドコレステロール）、１，４－ビス（３－Ｎ－オレイルアミノ－プロピル）ピペラジン、もしくはイミダゾールコレステロールエステル（ＩＣＥ）から選択されるコレステロールベースの脂質；ならびに／または

（ｄ）ＰＥＧ化コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋから選択されるＰＥＧ修飾脂質

を含む。

【０３５６】

医薬組成物のある特定の実施形態において、

ａ．カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；

ｂ．非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；

ｃ．コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；

ｄ．ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである。

【０３５７】

ある特定の実施形態において、カチオン脂質は、モル比で、脂質ナノ粒子の約３０～６０％を構成し、例えば、約３５～４０％を構成する。ある特定の実施形態において、カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、モル比で、およそ３０～６０：２５～３５：２０～３０：１～１５であるか、またはカチオン脂質対非カチオン脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、モル比で、およそ５５～６５：３０～４０：１～１５である。

【０３５８】

ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、ＰＥＧ修飾脂質、ならびに場合によりｃＫＫ－Ｅ１２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＯＦ－Ｄｅｇ－Ｌｉｎ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＯＦ－０２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０１Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０４Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０８Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－１０Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＩＣＥ、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＨＧＴ４００１、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；またはＨＧＴ４００２、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋから選択されるコレステロールの組合せを含む。

【０３５９】

ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、１５０ｎｍ未満、例えば、１００ｎｍ未満の平均サイズを有する。具体的な実施形態において、脂質ナノ粒子は、約５０～７０ｎｍ、例えば、約５５～６５ｎｍの平均サイズを有する。

【０３６０】
ある特定の実施形態において、脂質ナノ粒子は、注射用水中の１０％のトレハロースに懸濁されている。ある特定の実施形態において、核酸は、約０．５ｍｇ／ｍＬ～約１．０ｍｇ／ｍＬの濃度のｍＲＮＡである。
【０３６１】
ある特定の態様において、本発明は、ｉ）本発明の最適化された核酸（例えば、ｍＲＮＡ）およびｉｉ）脂質ナノ粒子を含む医薬組成物を提供する。このような医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染を処置または防止することにおける使用のためである。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、非経口的に投与される。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、静脈内、皮内、皮下、または筋肉内に投与される。具体的な実施形態において、医薬組成物は、静脈内または筋肉内に投与される。
【０３６２】
ある特定の実施形態において、医薬組成物は、少なくとも１回投与される。具体的な実施形態において、医薬組成物は、少なくとも２回投与される。より具体的な実施形態において、投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば１ヶ月である。一部の実施形態において、投与間の期間は、約３週間である。
【０３６３】
ある特定の態様において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原を提供する。例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、上記で、または特定の最適化された核酸配列への言及において下記でより詳細に記載される、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、抗原性断片または抗原性断片の融合ペプチドのいずれかであり得る。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号９のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号３のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号２０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１７のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号６６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１５のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号８２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号８４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号７４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号７６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号７８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。

一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号８０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号６８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号７０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号９６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号８６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号８８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号９０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号９２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号９４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１１８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。一部の実施形態において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原は、配列番号１２０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである。

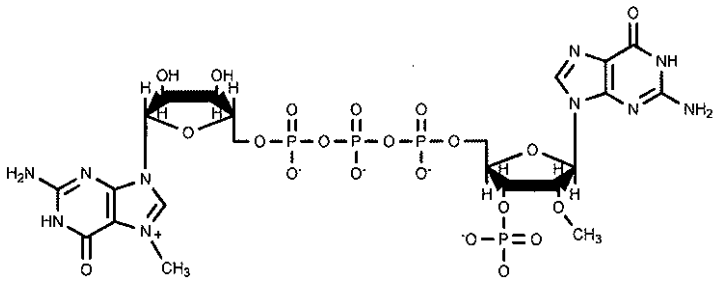
【０３６４】

さらなる態様において、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性領域を含むペプチド融合構築物であって、１つまたはそれ以上の抗原性領域は、以下の成分：ＦＰ、Ｄ１、Ｄ２および／またはＢ１を含むかまたはそれからなり、ＦＰは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基８１５～８３３を含み、Ｄ１は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基８２０～８４６を含み、Ｄ２は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基１０７８～１１１１を含み、Ｂ１は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基７９８～８２９を含む、ペプチド融合構築物を提供する。ペプチド融合構築物は、以下の構造：Ｄ１－リンカー－ＦＰ－リンカー－Ｄ２－リンカー－Ｄ１を有していてもよい。Ｄ１は、配列番号２２の配列を有していてもよい。ＦＰは、配列番号２１の配列を有していてもよい。リンカーは、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳを含むかまたはそれからなる。例えば、ペプチド融合構築物は、配列番号２５もしくは５１、５５の配列を含んでいてもよいし、またはそれからなっていてもよい。代替として、ペプチド融合構築物は、以下の構造：ＦＰ－リンカー－ＦＰ－リンカー－ＦＰ、Ｄ１－リンカー－Ｄ１－リンカー－Ｄ１、またはＦＰ／Ｄ１－リンカー－ＦＰ／Ｄ１－リンカー－ＦＰ／Ｄ１を有していてもよい。ＦＰ／Ｄ１部分は、配列番号９９の配列を有していてもよい。リンカーは、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳを含んでいてもよいし、またはそれからなっていてもよい。例えば、ペプチド融合構築物は、配列番号２７もしくは５３、５７の配列を含んでいてもよいし、またはそれからなっていてもよい。

【０３６５】

本発明はまた、本発明のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原またはペプチド融合構築物を含む医薬組成物も提供する。一部の実施形態において、医薬組成物は、アジュバントをさらに含む。ある特定の実施形態において、アジュバントは、アラム、ＣｐＧ、ポリＩ：Ｃ、ＭＦ５９、ＡＳ０１、ＡＳ０２、ＡＳ０３、ＡＳ０４、ＡＦ０３、フラジェリン、ＩＳＣＯＭおよびＩＳＣＯＭＭＡＴＲＩＸから選択される。一部の態様において、医薬組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染を処置または防止することにおける使用のためである。一部の実施形態において、医薬組成物は、非経口的に投与される。一部の実施形態において、医薬組成物は、皮内、皮下、または筋肉内に投与される。一部の実施形態において、医薬組成物は、筋肉内に投与される。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくとも１回投与される。一部の実施形態において、医薬組成物は、少なくとも２回投与される。一部の実施形態において、投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば１ヶ月である。一部の実施形態において、投与間の期間は、約３週間である。

【０３６６】
特定の実施形態において、本発明は、以下の構造エレメント：
（ｉ）以下の構造を有する５’キャップ：
【化９２】



（ｉｉ）配列番号１４４の核酸配列を有する５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）；
（ｉｉｉ）配列番号１４８の核酸配列を有するタンパク質コード領域；
（ｉｖ）配列番号１４５の核酸配列を有する３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）；および
（ｖ）ポリＡテール
からなるｍＲＮＡ構築物を提供する。
【０３６７】
具体的な実施形態において、本発明は、前記ｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子を提供する。脂質ナノ粒子は、カチオン脂質（例えば、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎまたはＯＦ－０２）、非カチオン脂質（例えば、ＤＯＰＥまたはＤＥＰＥ）、コレステロールベースの脂質（例えば、コレステロール）およびＰＥＧ修飾脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋ）を含んでいてもよい。特定の実施形態において、ｍＲＮＡ構築物またはそれをカプセル化する脂質ナノ粒子は、免疫原性組成物として提供される。一部の実施形態において、免疫原性組成物は、１０μｇ～２００μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。特定の実施形態において、免疫原性組成物は、１５μｇ～１３５μｇ（例えば、１５μｇ～４５μｇ）のｍＲＮＡ構築物を含む。一部の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも２０μｇ、少なくとも２５μｇ、少なくとも３０μｇ、少なくとも３５μｇ、少なくとも４０μｇ、または少なくとも４５μｇのｍＲＮＡ構築物を含んでいてもよい。具体的な実施形態において、免疫原性組成物は、１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む。本発明はさらに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染を処置または防止する方法であって、有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、前記方法を提供する。一部の実施形態において、免疫原性組成物は、少なくとも２回、対象に投与される。一部の実施形態において、投与間の期間は、少なくとも２週間である。一部の実施形態において、投与間の期間は、約３週間である。
【０３６８】
ある特定の実施形態において、以下の番号付けした実施形態によって本発明をさらに説明する：
１．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、最適化されたヌクレオチド配列は、１０％より大きいかまたはそれに等しい使用頻度に関連するコドンからなり；最適化されたヌクレオチド配列は：
（ｉ）以下のヌクレオチド配列：
５’－X_1ＡＴＣＴX_2ＴX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＴまたはＧから選択される）；および５’－X_1ＡＵＣＵX_2ＵX_3－３’（式中、X_1、X_2およびX_3は、独立して、Ａ、Ｃ、ＵまたはＧから選択される）
のうちの１つを有する終結シグナルを含有せず；
（ｉｉ）いかなる負のシス調節エレメントおよび負の反復エレメントも含有せず；
（ｉｉｉ）０．８より大きいコドン適応指標を有し；

オーバーラップしていない３０ヌクレオチドの長さの部分に分割される場合、最適化されたヌクレオチド配列の各部分は、３０％～７０％のグアニンシトシン含量範囲を有する、核酸。

２．最適化されたヌクレオチド配列は、以下の配列：ＴＡＴＣＴＧＴＴ；ＴＴＴＴＴＴ；ＡＡＧＣＴＴ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＴＣＴＡＧＡ；ＵＡＵＣＵＧＵＵ；ＵＵＵＵＵＵ；ＡＡＧＣＵＵ；ＧＡＡＧＡＧＣ；ＵＣＵＡＧＡのうちの１つを有する終結シグナルを含有しない、実施形態１に記載の核酸。

３．ｍＲＮＡである、実施形態１または２に記載の核酸。

４．ＤＮＡである、実施形態１または２に記載の核酸。

５．最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質またはその抗原性断片をコードする、実施形態１～４のいずれか１項に記載の核酸。

６．最適化されたヌクレオチド配列は、全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする、実施形態５に記載の核酸。

７．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態５または実施形態６に記載の核酸。

８．最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質またはその抗原性断片のエクトドメインをコードする、実施形態５に記載の核酸。

９．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態８に記載の核酸。

１０．抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を含む、実施形態５に記載の核酸。

１１．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号６を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態１０に記載の核酸。

１２．抗原性断片は、シグナル配列をさらに含む、実施形態１０または１１に記載の核酸。

１３．シグナル配列は、配列番号７である、実施形態１２に記載の核酸。

１４．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号８を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態１２または実施形態１３に記載の核酸。

１５．シグナル配列は、配列番号１４２である、実施形態１２に記載の核酸。

１６．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４３を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態１２または実施形態１３に記載の核酸。

１７．抗原性断片は、Ｆｃ領域をさらに含む、実施形態１０～１６のいずれか１項に記載の核酸。

１８．Ｆｃ領域は、配列番号１８である、実施形態１７に記載の核酸。

１９．抗原性断片は、シグナル配列およびＦｃ領域をさらに含む、実施形態１０～１８のいずれか１項に記載の核酸。

２０．抗原性断片は、シグナル配列およびＦｃ領域に作動可能に連結したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のＲＢＤからなる、実施形態１０～１８のいずれか１項に記載の核酸。

２１．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２０を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態２０に記載の核酸。

２２．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、安定な融合前の高次構造を想定するために、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態５、実施形態６または実施形態８のいずれか１項に記載の核酸。

２３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、エクトドメインまたは抗原性断片は、活性化に必要なフューリン切断部位を除去するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２に記載の核酸。

２４．最適化されたヌクレオチド配列は、活性化に必要なフューリン切断部位を除去するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されて

いるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする、実施形態２３に記載の核酸。

２５．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態２３に記載の核酸。

２６．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、残基９８５をプロリンに変異させるか、ならびに／または残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～２５のいずれか１項に記載の核酸。

２７．最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする、実施形態２６に記載の核酸。

２８．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１０または配列番号１１８を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態２７に記載の核酸。

２９．最適化されたヌクレオチド配列は、残基９８５、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする、実施形態２６に記載の核酸。

３０．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９２を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態２９に記載の核酸。

３１．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、

（ａ）残基９８５をプロリンに；および／または

（ｂ）残基９８６および９８７をプロリンに

変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～３０のいずれか１項に記載の核酸。

３２．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態３１に記載の核酸。

３３．最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする、実施形態３２に記載の核酸。

３４．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１または配列番号１２０を含むアミノ酸配列をコードし、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４または配列番号１４８の核酸配列を有する、実施形態３３に記載の核酸。

３５．最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のエクトドメインをコードする、実施形態３２に記載の核酸。

３６．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態３５に記載の核酸。

３７．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８５、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態３１に記載の核酸。

３８．最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする、実施形態３７に記載の核酸。

３９．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号９４を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態３８に記載の核酸。

４０．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように改変されている、実施形態２２～３９のいずれか１項に記載の核酸。

４１．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１１８を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態４０に記載の核酸。

４２．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように改変されている、実施形態２２～４１のいずれか１項に記載の核酸。

４３．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２０を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態４２に記載の核酸。

４４．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～４３のいずれか１項に記載の核酸。

４５．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２９を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態４４に記載の核酸。

４６．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～４５のいずれか１項に記載の核酸。

４７．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３１を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態４６に記載の核酸。

４８．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～４７のいずれか１項に記載の核酸。

４９．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３３を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態４８に記載の核酸。

５０．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、Ｄ６１４Ｇ変異を含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～４９のいずれか１項に記載の核酸。

５１．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３５を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態５０に記載の核酸。

５２．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～５１のいずれか１項に記載の核酸。

５３．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２３を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態５２に記載の核酸。

５４．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～５３のいずれか１項に記載の核酸。

５５．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３７を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態５４に記載の核酸。

５６．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、ＥＲ回収シグナルを変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２

スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態２２～５５のいずれか１項に記載の核酸。

５７．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態５６に記載の核酸。

５８．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２５を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態５７に記載の核酸。

５９．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去し、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態５６に記載の核酸。

６０．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１２７を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態５９に記載の核酸。

６１．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態５６に記載の核酸。

６２．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１３９を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態６１に記載の核酸。

６３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質、そのエクトドメインまたはその抗原性断片は、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンに変異させ、ＥＲ回収シグナルを除去し、伸長されたＮ末端シグナルペプチドを含有するように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている、実施形態５６に記載の核酸。

６４．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４１を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態６３に記載の核酸。

６５．抗原性断片は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のＳ１、Ｓ２もしくはＳ２’サブユニットを含むかまたはそれからなる、実施形態５に記載の核酸。

６６．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号３、配列番号４または配列番号５を含むアミノ酸配列をコードする、実施形態６５に記載の核酸。

６７．最適化されたヌクレオチド配列は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性断片を含む融合ペプチドをコードする、実施形態１～４のいずれか１項に記載の核酸。

６８．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性断片は、配列番号２１のアミノ酸配列、配列番号２２のアミノ酸配列、配列番号２３のアミノ酸配列および／または配列番号２４のアミノ酸配列を有する、実施形態６７に記載の核酸。

６９．１つまたはそれ以上の抗原性断片は、リンカー配列、例えば、ＧＧＧＧＳによって連結されている、実施形態６７または６８に記載の核酸。

７０．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号２５または配列番号２７を含む融合ペプチドをコードする、実施形態６９に記載の核酸。

７１．融合ペプチドは、Ｎ末端シグナル配列を含む、実施形態６７～７０のいずれか１項に記載の核酸。

７２．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５１または配列番号５３を含む融合ペプチドをコードする、実施形態７１に記載の核酸。

７３．融合ペプチドは、Ｃ末端Ｆｃドメインを含む、実施形態６７～７２に記載の核酸。

７４．融合ペプチドは、Ｎ末端シグナル配列およびＣ末端Ｆｃドメインを含む、実施形

態６７～７３のいずれか１項に記載の核酸。
７５．最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号５５または配列番号５７を含む融合ペプチドをコードする、実施形態７４に記載の核酸。
７６．療法における使用のための、実施形態１～７５のいずれか１項に記載の核酸。
７７．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための、実施形態１～７６のいずれか１項に記載の核酸を含む免疫原性組成物。
７８．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染を処置または防止する方法であって、実施形態１～７６のいずれか１項に記載の核酸を含む有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法。
７９．ｉ）実施形態１～７６のいずれか１項に記載の核酸およびｉｉ）脂質ナノ粒子を含む医薬組成物。
８０．核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている、実施形態７９に記載の医薬組成物。
８１．脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、ＰＥＧ修飾脂質、またはそれらの組合せの１つまたはそれ以上を含む、実施形態７９または実施形態８０に記載の医薬組成物。
８２．脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む、実施形態８１に記載の医薬組成物。
８３．脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、およびＰＥＧ修飾脂質を含む、実施形態７９に記載の医薬組成物。
８４．脂質ナノ粒子は、
ａ．ＤＯＴＡＰ（１，２－ジオレイル－３－トリメチルアンモニウムプロパン）、ＤＯＤＡＰ（１，２－ジオレイル－３－ジメチルアンモニウムプロパン）、ＤＯＴＭＡ（Ｎ－［１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル］－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロリド）、ＤＬｉｎＫＣ２ＤＭＡ、ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭ、Ｃ１２－２００、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＨＧＴ５０００、ＨＧＴ５００１、ＨＧＴ４００３、ＩＣＥ、ＨＧＴ４００１、ＨＧＴ４００２、ＴＬ１－０１Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０４Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－０８Ｄ－ＤＭＡ、ＴＬ１－１０Ｄ－ＤＭＡ、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択されるカチオン脂質；
ｂ．ＤＳＰＣ（１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＯＰＥ（１，２－ジオレイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン）、ＤＥＰＥ１，２－ジエルコイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、ＤＯＰＣ（１，２－ジオレイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスファチジルコリン）、ＤＰＰＥ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン）、ＤＭＰＥ（１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン）、およびＤＯＰＧ（１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセリン））から選択される非カチオン脂質；
ｃ．ＤＣ－Ｃｈｏｉ（Ｎ，Ｎ－ジメチル－Ｎ－エチルカルボキシアミドコレステロール）、１，４－ビス（３－Ｎ－オレイルアミノ－プロピル）ピペラジン、もしくはイミダゾールコレステロールエステル（ＩＣＥ）から選択されるコレステロールベースの脂質；ならびに／または
ｄ．ＰＥＧ化コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋから選択されるＰＥＧ修飾脂質
を含む、実施形態７９～８３のいずれか１項に記載の医薬組成物。
８５．ａ．カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；
ｂ．非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；
ｃ．コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；
ｄ．ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである、実施形態８２に記載の医薬組成

物。
８６．カチオン脂質は、モル比で、脂質ナノ粒子の約３０～６０％を構成し、例えば、約３５～４０％を構成する、実施形態７９～８５のいずれか１項に記載の医薬組成物。
８７．カチオン脂質対非カチオン脂質対コレステロールベースの脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、モル比で、およそ３０～６０：２５～３５：２０～３０：１～１５であるか、またはカチオン脂質対非カチオン脂質対ＰＥＧ修飾脂質の比率は、モル比で、およそ５５～６５：３０～４０：１～１５である、実施形態７９～８６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
８８．脂質ナノ粒子は、カチオン脂質、非カチオン脂質、ＰＥＧ修飾脂質、ならびに場合によりｃＫＫ－Ｅ１２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ｃＫＫ－Ｅ１０、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＯＦ－Ｄｅｇ－Ｌｉｎ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＯＦ－０２、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０１Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０４Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－０８Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＴＬ１－１０Ｄ－ＤＭＡ、ＤＯＰＥ、コレステロールおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＩＣＥ、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；ＨＧＴ４００１、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋ；またはＨＧＴ４００２、ＤＯＰＥおよびＤＭＧ－ＰＥＧ２Ｋから選択されるコレステロールの組合せを含む、実施形態７９～８７のいずれか１項に記載の医薬組成物。
８９．脂質ナノ粒子は、１５０ｎｍ未満、例えば、１００ｎｍ未満の平均サイズを有する、実施形態７９～８８のいずれか１項に記載の医薬組成物。
９０．脂質ナノ粒子は、約５０～７０ｎｍ、例えば、約５５～６５ｎｍの平均サイズを有する、実施形態８９に記載の医薬組成物。
９１．脂質ナノ粒子は、注射用水中の１０％のトレハロースに懸濁されている、実施形態７９～９０のいずれか１項に記載の医薬組成物。
９２．核酸は、約０．５ｍｇ／ｍＬ～約１．０ｍｇ／ｍＬの濃度のｍＲＮＡである、実施形態７９～９１のいずれか１項に記載の医薬組成物。
９３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染を処置または防止することにおける使用のための、実施形態７９～９２のいずれか１項に記載の医薬組成物。
９４．非経口的に投与される、実施形態７９～９３のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。
９５．静脈内、皮内、皮下、または筋肉内に投与される、実施形態７９～９３のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。
９６．静脈内投与される、実施形態９５に記載の使用のための医薬組成物。
９７．筋肉内に投与される、実施形態９５に記載の使用のための医薬組成物。
９８．少なくとも１回投与される、実施形態７９～９７のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。
９９．少なくとも２回投与される、実施形態９８に記載の使用のための医薬組成物。
１００．投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば３週間、または１ヶ月である、実施形態９９に記載の使用のための医薬組成物。
１０１．配列番号１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０２．配列番号１０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０３．配列番号９のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０４．配列番号１１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０５．配列番号２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０６．配列番号１２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０７．配列番号３のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０８．配列番号８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１０９．配列番号２０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１０．配列番号１７のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１１．配列番号１４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１２．配列番号１６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１３．配列番号６６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１４．配列番号１５のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１５．配列番号８２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１６．配列番号８４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１７．配列番号７４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１８．配列番号７６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１１９．配列番号７８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２０．配列番号８０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２１．配列番号６８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２２．配列番号７０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２３．配列番号９６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２４．配列番号８６のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２５．配列番号８８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２６．配列番号９０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２７．配列番号９２のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２８．配列番号９４のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１２９．配列番号１１８のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３０．配列番号１２０のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドであ

る、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３１．配列番号１２３のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３２．配列番号１２５のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３３．配列番号１２７のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３４．配列番号１２９のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３５．配列番号１３１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３６．配列番号１３３のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３７．配列番号１３５のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３８．配列番号１３９のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１３９．配列番号１４１のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドである、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原。
１４０．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の１つまたはそれ以上の抗原性領域を含むペプチド融合構築物であって、１つまたはそれ以上の抗原性領域は、以下の成分：ＦＰ、Ｄ１、Ｄ２および／もしくはＢ１を含むかまたはそれからなり、ＦＰは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基８１５～８３３を含み、Ｄ１は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基８２０～８４６を含み、Ｄ２は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基１０７８～１１１１を含み、Ｂ１は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の残基７９８～８２９を含む、ペプチド融合構築物。
１４１．ペプチド融合構築物は、以下の構造：Ｄ１－リンカー－ＦＰ－リンカー－Ｄ２－リンカー－Ｄ１を有する、実施形態１４０に記載のペプチド融合構築物。
１４２．Ｄ１は、配列番号２２の配列を有する、実施形態１４１に記載のペプチド融合構築物。
１４３．ＦＰは、配列番号２１の配列を有する、実施形態１４０または１４１に記載のペプチド融合構築物。
１４４．リンカーは、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳを含むかもしくはそれからなる、実施形態１４０、１４１または１４２のいずれか１項に記載のペプチド融合構築物。
１４５．配列番号２５もしくは５１、５５の配列を含むかまたはそれからなる、実施形態１４０～１４４のいずれか１項に記載のペプチド融合構築物。
１４６．以下の構造：ＦＰ－リンカー－ＦＰ－リンカー－ＦＰ、Ｄ１－リンカー－Ｄ１－リンカー－Ｄ１、またはＦＰ／Ｄ１－リンカー－ＦＰ／Ｄ１－リンカー－ＦＰ／Ｄ１を有する、実施形態１４０に記載のペプチド融合構築物。
１４７．ＦＰ／Ｄ１部分は、配列番号９９の配列を有する、実施形態１４６に記載のペプチド融合構築物。
１４８．リンカーは、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳを含むかまたはそれからなる、実施形態１４６または１４７に記載のペプチド融合構築物。
１４９．配列番号２７もしくは５３、５７の配列を含むかまたはそれからなる、実施形態１４６～１４８のいずれか１項に記載のペプチド融合構築物。
１５０．実施形態１０１～１３１のいずれか１項に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原または実施形態１４６～１４９のいずれか１項に記載のペプチド融合構築物を含む医薬組成物。
１５１．アジュバントをさらに含む、実施形態１５０に記載の医薬組成物。
１５２．アジュバントは、アラム、ＣｐＧ、ポリＩ：Ｃ、ＭＦ５９、ＡＳ０１、ＡＳ０

２、ＡＳ０３、ＡＳ０４、ＡＦ０３、フラジェリン、ＩＳＣＯＭおよびＩＳＣＯＭＭＡＴＲＩＸから選択される、実施形態１５１に記載の医薬組成物。

１５３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染を処置または防止することにおける使用のための、実施形態１５０～１５２のいずれか１項に記載の医薬組成物。

１５４．非経口的に投与される、実施形態１５３に記載の使用のための医薬組成物。

１５５．皮内、皮下、または筋肉内に投与される、実施形態１５４に記載の使用のための医薬組成物。

１５６．筋肉内に投与される、実施形態１５５に記載の使用のための医薬組成物。

１５７．少なくとも１回投与される、実施形態１５３～１５６のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。

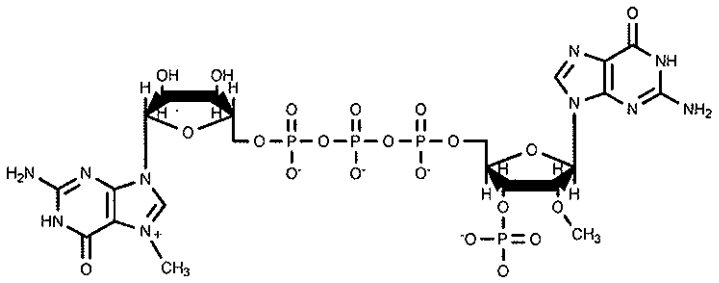
１５８．少なくとも２回投与される、実施形態１５３～１５６のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。

１５９．投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば３週間、または１ヶ月である、実施形態１５８に記載の使用のための医薬組成物。

１６０．以下の構造エレメント：

（ｉ）以下の構造を有する５’キャップ：

【化９３】



（ｉｉ）配列番号１４４の核酸配列を有する５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）；

（ｉｉｉ）配列番号１４８の核酸配列を有するタンパク質コード領域；

（ｉｖ）配列番号１４５の核酸配列を有する３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）；および

（ｖ）ポリＡテール

からなるｍＲＮＡ構築物。

１６１．実施形態１６０に記載のｍＲＮＡ構築物をカプセル化している脂質ナノ粒子。

１６２．カチオン脂質、非カチオン脂質、コレステロールベースの脂質およびＰＥＧ修飾脂質を含む、実施形態１６１に記載の脂質ナノ粒子。

１６３．カチオン脂質は、ｃＫＫ－Ｅ１２、ｃＫＫ－Ｅ１０、ＯＦ－Ｄｅｇ－ＬｉｎおよびＯＦ－０２から選択され；非カチオン脂質は、ＤＯＰＥおよびＤＥＰＥから選択され；コレステロールベースの脂質は、コレステロールであり；ＰＥＧ修飾脂質は、ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋである、実施形態１６１または１６２に記載の脂質ナノ粒子。

１６４．実施形態１６０に記載のｍＲＮＡ構築物または実施形態１６１～１６３のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子を含む免疫原性組成物。

１６５．１０μｇ～２００μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６４に記載の免疫原性組成物。

１６６．１５μｇ～１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６５に記載の免疫原性組成物。

１６７．少なくとも２０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６６に記載の免疫原性組成物。

１６８．少なくとも２５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６６に記載の免疫原性組成物。

１６９．少なくとも３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６６に記載の免疫原

性組成物。
１７０．少なくとも４０μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６６に記載の免疫原性組成物。
１７１．少なくとも４５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６６に記載の免疫原性組成物。
１７２．１５μｇ、４５μｇまたは１３５μｇのｍＲＮＡ構築物を含む、実施形態１６６に記載の免疫原性組成物。
１７３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染を処置または防止する方法であって、実施形態１６４～１７２のいずれか１項に記載の有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法。
１７４．免疫原性組成物は、少なくとも２回、対象に投与される、実施形態１７３に記載の方法。
１７５．投与間の期間は、少なくとも２週間、例えば３週間、または１ヶ月である、実施形態１７４に記載の方法。
１７６．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための、少なくとも２つの核酸を含む免疫原性組成物であって、第１の核酸は、配列番号１、２、３、４、５、８、９、１０、１１、１２、１４、１５、１６、１７、１９、２０、３５、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１０４、１０６、１０８、１１０、１１８、１２０、１２３、１２５、１２７、１２９、１３１、１３３、１３５、１３７、１３９または１４１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、１つまたはそれ以上のさらなる核酸は、配列番号１５１、１５３、１５５、１５７、１５９、１６１、１６３、１６５、１６７、１６９または１７１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む、免疫原性組成物。
１７７．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２での感染の予防における使用のための、少なくとも２つの核酸を含む免疫原性組成物であって、第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号４４の核酸配列を有し、
１つまたはそれ以上のさらなる核酸は、
（ａ）配列番号１５７から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１５６の核酸配列を有する、核酸、および
（ｂ）配列番号１６３から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６２の核酸配列を有する、核酸；および
（ｃ）配列番号１６７から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１６６の核酸配列を有する、核酸；および
（ｄ）配列番号１７１から選択される配列を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸であって、場合により、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１７０の核酸配列を有する、核酸
から選択される、免疫原性組成物。
１７８．少なくとも２つの核酸は、ｍＲＮＡである、実施形態１７６または実施形態１７７に記載の免疫原性組成物。
１７９．第１の核酸は、配列番号１１を含むアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含み、最適化されたヌクレオチド配列は、配列番号１４８の核酸配列を有する、実施形態１７８に記載の免疫原性組成物。
１８０．核酸は、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている、実施形態１７６～１７８のいずれか１項に記載の免疫原性組成物。
１８１．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染を処置または防止する方法であって、実施形態１７

６～１７９のいずれか１項に記載の有効量の免疫原性組成物を対象に投与することを含む、方法。

【実施例】

【０３６９】

実施例１．最適化されたヌクレオチド配列の生成

この実施例は、インビトロ合成の際に全長転写産物をもたらし、結果として、コードされたタンパク質の高いレベルの発現を生じるように最適化された、結果として本発明による最適化されたヌクレオチド配列を生じるプロセスを例示するものである。

【０３７０】

当該プロセスは、最適化されたヌクレオチド配列のリストを生成するために、図１Ａのコドン最適化方法を、図１Ｂに示されるフィルタリング工程の配列と組み合わせる。詳細には、図１Ａに示されるように、当該プロセスは、関心対象のアミノ酸配列と、所定の生物体における各コドンの頻度（すなわち、本実施例の文脈におけるヒトコドン使用優先性）を反映する第１のコドン使用頻度表とを受け取る。当該プロセスは、次いで、コドンが閾値頻度より低いコドン使用頻度（１０％）に関連している場合に、第１のコドン使用頻度表からそのコドンを除去する。第１の工程において除去されなかったコドンのコドン使用頻度は、正規化されたコドン使用頻度表を生成するために正規化される。

【０３７１】

当該コドン使用頻度表の正規化は、それぞれの除去されたコドンの使用頻度値を再分配する工程を伴い；ある特定の除去されたコドンに対する使用頻度は、除去されたコドンがアミノ酸を共有する他のコドンの使用頻度に加えられる。この実施例において、この再分配は、当該表から除去されていないコドンの使用頻度の大きさに比例する。当該プロセスは、最適化されたヌクレオチド配列のリストを生成するために、正規化されたコドン使用頻度表を使用する。最適化されたヌクレオチド配列のそれぞれは、関心対象のアミノ酸配列をコードする。

【０３７２】

図１Ｂに示されるように、最適化されたヌクレオチド配列の当該リストは、最適化されたヌクレオチド配列の更新されたリストを生成するために、モチーフスクリーンフィルタ、グアニン－シトシン（ＧＣ）含量分析フィルタ、およびコドン適応指標（ＣＡＩ）解析フィルタを、その順番において適用することによってさらに処理される。

【０３７３】

以下の実施例において例示されるように、このプロセスは、結果として、関心対象のアミノ酸配列をコードする最適化されたヌクレオチド配列を生じる。当該ヌクレオチド配列は，インビトロ合成において全長転写産物をもたらし、結果として、コードされたタンパク質の高レベルの発現を生じる（実施例２を参照されたい）。

【０３７４】

実施例２．タンパク質収率を向上させる高いＣＡＩスコアを有するヌクレオチド配列を生成するためのコドン最適化

この実施例は、約０．８以上のコドン適応指標（ＣＡＩ）を有するコドン最適化タンパク質コード配列が、０．８未満のＣＡＩを有するコドン最適化タンパク質コード配列より優れていることを実証するものである。

【０３７５】

ヒトエリトロポイエチン（ｈＥＰＯ）の野生型アミノ酸配列に対して、コドン最適化を実施した。ｈＥＰＯは、低い細胞酸素レベル（低酸素血症）に対応して、腎臓によって分泌されるタンパク質ホルモンである。ｈＥＰＯは、赤血球の生産である赤血球生成に必須である。組換えｈＥＰＯは、慢性腎疾患の対象またはがん化学療法を受けている対象に生じ得る、低い赤血球またはヘモグロビンの数によって特徴付けられる状態である貧血の治療において一般的に使用される。

【０３７６】

異なるコドン最適化アルゴリズムを使用することにより、合計で５つの、ｈＥＰＯをコ

ードする新規のコドン最適化ヌクレオチド配列（＃１～＃５）を生成した。ヌクレオチド配列＃４および＃５は、図１Ａおよび１Ｂに示されるコドン最適化方法に従って生成した。参照配列として、以前にインビトロおよびインビボの両方において実験的に検証したコドン最適化ｈＥＰＯコード配列を有するヌクレオチド配列を提供した。参照ヌクレオチド配列は、野生型ヌクレオチド配列、およびｈＥＰＯタンパク質をコードする他のコドン最適化ヌクレオチド配列と比べて、優れたタンパク質収率を提供することがわかっている。

【０３７７】

【表６－１】

表 5. hEPO-コードヌクレオチド配列

配列番号 112	ATGGGTGTGCACGAATGTCCTGCTTGGCTGTGGCTCCTTCTCTCCCT GCTGTCCCTGCCTCTTGGACTCCCGGTGCTTGGAGCACCCCCGAGAC TGATCTGCGACAGCAGGGTGCTCGAGCGCTACCTCCTGGAAGCCAA GGAAGCCGAAAACATCACTACTGGCTGCGCCGAACACTGCTCCCTG AACGAGAACATCACCGTGCCGGACACCAAGGTCAACTTCTACGCGT GGAAGAGAATGGAGGTCGGACAGCAAGCCGTGGAAGTGTGGCAGG GACTTGCGCTCCTGTCGGAAGCCGTGCTGAGGGGACAAGCCCTGCT CGTGAACAGCTCACAGCCTTGGGAGCCCCTGCAGCTGCATGTCGAC AAGGCCGTGTCCGGACTGCGCTCACTGACCACTCTGCTGAGGGCCTT GGGTGCCCAGAAAGAGGCTATTTCCCCACCGGATGCAGCCTCGGCA GCTCCTCTGCGGACCATTACGGCGGACACCTTTCGGAAGCTGTTCCG CGTCTACAGCAATTTCCTCCGGGGGAAGTTGAAACTGTATACCGGC GAAGCCTGTCGGACTGGCGATCGCTGA
配列番号 113	ATGGGGGTTCATGAGTGCCCAGCTTGGCTTTGGCTCCTGCTCAGCTT GCTTAGTCTCCCTTTGGGCCTGCCCGTGCTGGGCGCCCCTCCACGCT TGATCTGTGACAGCAGGGTCTTGGAACGGTATTTGCTTGAAGCTAA AGAAGCTGAGAACATAACAACGGGATGTGCTGAACATTGCTCCTTG AACGAAAACATCACAGTTCCCGACACAAAAGTCAATTTTTACGCAT GGAAGCGGATGGAGGTTGGCCAGCAAGCTGTGGAGGTCTGGCAAG GGCTGGCTCTTCTCAGTGAAGCCGTGCTGCGCGGACAAGCACTCTTG GTGAACTCCAGCCAGCCCTGGGAGCCCCTTCAGCTCCATGTCGATA AAGCAGTTAGCGGCCTCCGATCATTGACTACCCTCCTTAGGGCTTTG GGTGCACAAAAAGAGGCCATTTCACCACCGGACGCGGCAAGTGCTG CTCCGTTGCGAACTATAACTGCTGACACCTTCCGGAAACTTTTTCGG GTATATTCCAACTTTCTCAGGGGGAAACTCAAGCTCTACACCGGCG AGGCGTGCCGAACTGGAGACCGCTGA
配列番号 114	ATGGGCGTACATGAATGCCCGGCATGGCTTTGGCTGCTGCTGTCCCT GCTGAGTTTGCCGCTGGGCCTCCCCGTCCTCGGCGCTCCCCCGAGAC TCATTTGCGACTCTAGGGTCCTCGAACGCTATCTGCTGGAAGCAAAA GAAGCTGAGAACATAACTACAGGATGCGCTGAGCACTGTTCCTTGA ATGAGAATATCACAGTACCTGACACTAAGGTGAATTTTTACGCATG GAAACGCATGGAAGTGGGTCAGCAGGCCGTGGAAGTGTGGCAGGG CCTGGCGCTGCTGTCCGAGGCTGTTCTTAGAGGCCAAGCCTTGTTGG TCAATTCCTCTCAACCCTGGGAGCCCCTCCAGCTGCATGTTGATAAA GCCGTCTCTGGTCTCCGGTCCCTTACCACCCTGCTCAGGGCACTTGG CGCACAGAAGGAAGCTATCTCCCCCCCAGACGCTGCCAGTGCCGCC CCCCTCCGGACTATTACCGCCGATACTTTCAGGAAACTGTTTCGAGT CTATAGCAATTTTCTCCGCGGGAAACTGAAGCTGTATACAGGTGAG GCCTGCAGGACAGGAGATCGCTGA
配列番号 115	ATGGGCGTGCACGAATGTCCTGCTTGGCTGTGGCTGCTGCTGAGTCT GCTGTCTCTGCCTCTGGGACTGCCTGTTCTTGGAGCCCCTCCTAGAC TGATCTGCGACAGCAGAGTGCTGGAAAGATACCTGCTGGAAGCCAA AGAGGCCGAGAACATCACAACAGGCTGTGCCGAGCACTGCAGCCTG AACGAGAATATCACCGTGCCTGACACCAAAGTGAACTTCTACGCCT GGAAGCGGATGGAAGTGGGACAGCAGGCTGTGGAAGTTTGGCAAG GACTGGCCCTGCTGTCTGAAGCTGTTCTGAGAGGACAGGCTCTGCTG GTCAATAGCTCTCAGCCTTGGGAACCTCTCCAGCTGCATGTGGATAA GGCCGTGTCTGGCCTGAGAAGCCTGACAACACTGCTGAGAGCCCTG GGAGCCCAGAAAGAGGCCATTTCTCCACCTGATGCTGCCAGCGCTG CCCCTCTGAGAACAATCACCGCCGACACCTTCAGAAAGCTGTTCCG GGTGTACAGCAACTTCCTGCGGGGCAAGCTGAAACTGTACACCGGC GAAGCCTGCAGAACCGGCGATAGATAA

10 20 30 40 50

【表６－２】

配列番号 116	ATGGGGGTGCACGAGTGCCCTGCCTGGCTGTGGTTGCTGCTGTCCCT GCTGTCTCTGCCACTGGGACTGCCAGTGCTGGGAGCTCCACCTAGGC TGATCTGCGACAGCCGGGTCCTGGAGAGGTACCTGCTCGAGGCCAA GGAGGCCGAGAACATTACCACAGGCTGCGCCGAGCACTGCAGCCTG AACGAGAACATTACAGTGCCCGATACAAAGGTGAACTTCTACGCCT GGAAGAGGATGGAGGTGGGCCAGCAGGCCGTGGAGGTGTGGCAGG GGCTGGCCCTGCTGAGCGAGGCCGTGCTGAGGGGCCAAGCCCTGCT GGTCAACAGCAGCCAGCCTTGGGAGCCCCTGCAGCTCCACGTGGAC AAGGCTGTGTCTGGCTTGAGGTCTCTCACAACATTGCTGAGGGCCCT GGGCGCACAGAAAGAAGCTATCAGCCCACCTGATGCCGCTAGTGCC GCTCCACTGCGGACAATTACCGCCGATACCTTTAGAAAATTGTTCAG GGTCTACTCCAACTTTTTGCGCGGGAAGCTGAAGCTCTATACCGGCG AGGCCTGCCGGACAGGGGACAGATGA
配列番号 117	ATGGGAGTGCACGAATGTCCTGCATGGCTCTGGCTCCTGCTGTCTCT CCTGAGCCTGCCACTGGGACTCCCAGTGCTGGGAGCACCCCCTAGG CTGATCTGCGATTCTCGGGTGCTGGAGCGCTACCTGCTCGAGGCTAA GGAGGCCGAGAATATCACTACTGGGTGTGCCGAACACTGTAGCCTC AATGAAAACATTACAGTCCCAGATACCAAGGTGAACTTTTATGCAT GGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCAGTGGAGGTGTGGCAGG GACTGGCTCTGCTGTCCGAAGCCGTGCTCAGAGGTCAGGCCCTGCT GGTTAATTCCAGCCAGCCTTGGGAACCTCTGCAGCTGCATGTGGAC AAGGCAGTGTCTGGCCTGAGATCCCTTACTACACTGCTGAGAGCAC TGGGGGCTCAGAAAGAAGCTATTTCCCCACCAGACGCCGCCTCAGC AGCACCTCTCCGGACCATCACTGCTGACACCTTCCGCAAGCTCTTTA GGGTGTACTCCAACTTCCTGCGCGGGAAGCTCAAGCTGTACACCGG CGAAGCCTGCAGGACCGGGGATCGCTGA

【０３７８】

ＣＡＩ、ＧＣ含量、コドン頻度分布（ＣＦＤ）、ならびに負のＣＩＳエレメントおよび負の反復エレメントの存在に関して５つのヌクレオチド配列のそれぞれの特性を、表６にまとめる。

【０３７９】

【表７】

表 6. hEPO をコードする最適化されたヌクレオチド配列の特徴

ヌクレオチド配列	配列番号	CAI	GC 含量 %	CFD %	負のシス調節エレメント	負の反復エレメント
レファレンス	配列番号 112	0.79	61.06%	3%	0	0
#1	配列番号 113	0.69	54.12%	2%	0	0
#2	配列番号 114	0.76	56.23%	1%	0	0
#3	配列番号 115	0.90	57.28%	0%	0	0
#4	配列番号 116	0.89	60.95%	0%	0	0
#5	配列番号 117	0.86	59.56%	0%	0	0

【０３８０】

当該コドン最適化配列のそれぞれからのタンパク質収率を調べるために、同一の３’および５’非翻訳配列（３’および５’ＵＴＲ）によって隣接され、ＲＮＡポリメラーゼプロモータによって先行される、ｈＥＰＯタンパク質をコードする６つのヌクレオチド配列のうちの１つを含む発現カセットをそれぞれが含む、６つの核酸ベクターを調製した。これらの核酸ベクターは、６つのコドン最適化ヌクレオチド配列（参照およびヌクレオチド配

列＃１～＃５）を含むｍＲＮＡの６つのバッチを提供するために、インビトロ転写反応のための鋳型として機能した。キャッピングおよびテーリングを別々に実施した。キャッピングおよびテーリングされたｍＲＮＡのそれぞれを、細胞系（ＨＥＫ２９３）へ別々にトランスフェクトした。コードされたｈＥＰＯタンパク質の発現レベルを、ＥＬＩＳＡによって評価した。この実験の結果を図２にまとめる。

【０３８１】

図２からわかるように、ヌクレオチド配列＃３において、発現の最も高いレベルが観察され、それは、実験的に検証した参照ヌクレオチド配列のおよそ２倍にもなるｈＥＰＯタンパク質をもたらした。そのＣＡＩに依存して、配列に対して、より高いタンパク質収率へと向かう傾向を観察することができた（表６を参照のこと）。最も高いタンパク質収率のヌクレオチド配列＃３は、最も高いＣＡＩを有した。２番目および３番目に高い収量のヌクレオチド配列＃４および＃５は、３番目および４番目に高いＣＡＩを有した。最も低い性能のヌクレオチド配列＃１および＃２は、最も低いＣＡＩも有した。偶然にも、これらは、最も低いＧＣ含量のヌクレオチド配列でもあった。しかしながら、ＧＣ含量のみでは決定的ではなかった。参照ヌクレオチド配列は、全ての試験したコドン最適化配列の最も高いＧＣ含量（６１％）を有したが、ヌクレオチド配列＃３、＃４、および＃５と同様の性能は示さず、それらの全てが低いＧＣ含量を有した。とりわけ、最も低い性能のヌクレオチド配列＃１および＃２は、より高いＣＦＤも有した。

【０３８２】

以上をまとめると、この実施例のデータは、約０．８以上のＣＡＩを達成するための治療的に関連のあるヌクレオチド配列のコドン最適化は、結果として、例えば、最も高い可能なＧＣ含量を有するヌクレオチド配列を達成するためのコドン最適化などよりも、高いタンパク質収率をもたらすことを実証する。

【０３８３】

実施例３．最適化されたヌクレオチド構築物を使用して生産されるスパイクタンパク質の検出

この実施例は、全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列が、トランスフェクション後に、高レベルで培養細胞において首尾よく発現されることを実証している。それは、発現されたタンパク質が、予想されるように細胞によって処理されることも実証している。

【０３８４】

全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸構築物を、図１Ａおよび１Ｂに示されるようなコドン最適化方法に従って生成した。最適化されたヌクレオチド配列が表７に示される。

【０３８５】

【表８】

表7. SARS-CoV-2 Sタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含む核酸

構築物番号	最適化された核酸配列	アミノ酸配列	タンパク質の説明
A	配列番号29	配列番号1	天然の全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質
B	配列番号44	配列番号11	フューリン切断部位を除去し、残基986および987をプロリンに変異させるように、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質と比較して改変されているSARS-CoV-2 Sタンパク質
C	配列番号43	配列番号10	残基986および987をプロリンに変異させるように、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質と比較して改変されているSARS-CoV-2 Sタンパク質
D	配列番号42	配列番号9	フューリン切断部位を除去するように、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質と比較して改変されているSARS-CoV-2 Sタンパク質

【０３８６】

培養細胞のトランスフェクションのために、１５０μＬのＯｐｔｉＭＥＭ Ｒｅｄｕｃｅｄ Ｓｅｒｕｍ Ｍｅｄｉｕｍを、０．５μｇ（図７）または１μｇ（図５および６）のｍＲＮＡおよびトランスフェクション試薬へのｍＲＮＡの複合体化のための２．５μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ２０００と共に、１．５ｍＬのＥｐｐｅｎｄｏｒｆ管に加えた。各管を、Ｖｏｒｔｅｘにおいて穏やかに混合し、内容物を収集するために微量遠心機において手短に遠心分離した。複合体を、室温において１０±２分間インキュベートした。次いで、複合体の容積全体を、ＨＥＫ２９３細胞の単層を乱さないように、１２ウェルプレートのウェルに注意深く加えた（１ウェル当たり５×10^5）。細胞を、３７℃のインキュベーターに戻し、回収まで１８±２時間インキュベートした。

【０３８７】

培養培地を除去し、２５０μＬのＣｅｌＬｙｔｉｃ Ｍ（Ｓｉｇｍａ）＋１×ＨＡＬＴを加えることによって、各ウェルの内容物を回収した。細胞懸濁液を氷上に２０分間位置することにより、細胞が完全に溶解するのを可能にし、その後、溶解物を１．５ｍＬのＥｐｐｅｎｄｏｒｆ管に収集した。溶解物を、１３，０００ＲＰＭにおいて３分間遠心分離することにより、デブリをペレット化した。上清を、清浄な１．５ｍＬのＥｐｐｅｎｄｏｒｆ管に移した。この時点から後は、試料を常に氷上に維持した。

【０３８８】

ウエスタンブロット法のために、１５μＬのそれぞれ細胞溶解物を、ＮｕＰａｇｅ Ｓａｍｐｌｅ Ｒｅｄｕｃｉｎｇ Ａｇｅｎｔ（１×）を補った５μＬのＮｏｖｅｘ ＮｕＰＡＧＥ ＬＤＳ Ｓａｍｐｌｅ Ｂｕｆｆｅｒ（４×）と組み合わせた。試料を８５℃で５分間インキュベートし、次いで、氷上で冷却した。試料容積全体を、３μｇのＩ－５６５７８ＳＳ／ゲルを伴うＮｏｖｅｘ ＷｅｄｇｅＷｅｌｌ １２ウェル６％トリス－グリシンミニゲルにロードし、１６５Ｖで１～１．５時間、ゲル電気泳動を行った。ＰＶＤＦ移送パックを伴うＴｒａｎｓＢｌｏｔ Ｔｕｒｂｏを移送のために使用し、ＰＢＳ（１×）中における０．０５％のＴｗｅｅｎ－２０を伴った０．２％のｉＢｌｏｃｋ（Ｔｈｅｒｍｏ）において当該膜をブロッキングした。当該膜を、ブロッキングバッファーにおいて指定のように希釈された一次抗体（抗ウサギＨＲＰ ＃Ｗ４０１Ｂ）を用いて、１時間以上インキュベートした。次いで、それらを、ＴＢＳＴ（１×）（Ｔｈｅｒｍｏ）で２回洗浄した。次いで、当該膜を、ブロッキングバッファーにおいて１：１０，０００に希釈した、種に対して適正な二次抗体を用いて、１時間以上インキュベートした。次いで、それらを、ＴＢＳＴ（１×）で４回洗浄した。次いで、当該膜を、フィルム上においてＳｕ

ｐｅｒＳｉｇｎａｌ　Ｐｉｃｏ　Ｗｅｓｔ基質を使用して現像した。

【０３８９】

表７に説明される最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡのトランスフェクションは、結果として、培養されたＨＥＫ２９３細胞においてあるレベルのタンパク質発現を生じた。図５および６は、前処理された全長Ｓタンパク質に対応する約１７０～１８０ｋＤａのバンドを示している。図５は、Ｓ１およびＳ２サブユニットのバンドの存在も示しており、それは、天然の全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（構築物Ａ）が細胞によって適切に処理されていることを実証している。完全にグリコシル化された成熟タンパク質に対応する大きなバンドは、細胞が構築物Ｂを発現する場合に観察された。構築物Ｂは、フューリン切断部位を欠くように（結果として、切断されてもＳ１およびＳ２サブユニットを形成しない）、ならびに、残基９８６および９８７としてプロリンを含むように（結果として、その融合前の高次構造における当該タンパク質を安定化する）、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されるバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。

【０３９０】

図７は、約１７０～１８０ｋＤａの全長Ｓタンパク質のバンドも示している。このバンドは、試験した４つ全ての構築物において観察された。Ｓ１およびＳ２サブユニットのバンドは、構築物Ａおよび構築物Ｃによって検出された。構築物Ｃは、残基９８６および９８７としてプロリンを含むように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に関して改変されるバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質を発現する（結果として、その融合前の高次構造における当該タンパク質を安定化する）。再び、構築物Ｂおよび構築物Ｄによる強いバンドとして、完全にグリコシル化された成熟タンパク質が検出された。構築物Ｄは、フューリン切断部位を欠くように（結果として、切断されてもＳ１およびＳ２サブユニットを形成しない）天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に関連して改変されるバリアントＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする。

【０３９１】

この実施例は、全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質またはそのバリアントをコードする最適化された核酸が、高いレベルで発現されることを実証している。それは、発現されたタンパク質が、予想されるように細胞によって処理されることも実証している。

【０３９２】

実施例４．全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする配列最適化されたｍＲＮＡによる免疫化に対する中和抗体応答

この実施例は、全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡが、マウスにおける中和抗体応答の誘導において効果的であることを実証している。

【０３９３】

実施例３の表７に記載される最適化されたヌクレオチド配列を含む４つそれぞれのｍＲＮＡを、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）においてカプセル化した。ＢＡＬＢ／ｃマウスの群に、３週間の間隔において４つの製剤のうちの１つを０．４μｇ用量において２回の免疫化を投与した。血清試料における結合抗体活性を、酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）によって評価した。中和抗体の力価を特定するために、疑似ウイルスベースの中和アッセイを使用した。

【０３９４】

ＥＬＩＳＡのために、２０１９－ｎＣｏＶスパイクタンパク質（Ｓ１＋Ｓ２）エクトドメイン（Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ、Ｃａｔ＃４０５８９－Ｖ０８Ｂ１）を基質として使用し、重炭素塩緩衝液中における２μｇ／ｍＬ濃度において、４℃で一晩かけてコーティングした。当該プレートを、発色基質Ｓｕｒｅ　Ｂｌｕｅ　ＴＭＢ（一成分）（ＳＥＲＡ　ＣＡＲＥ，　ＫＰＬ　Ｃａｔ＃５１２０－００７７）を使用して現像し、停止溶液（ＳＥＲＡ　ＣＡＲＥ　Ｓｕｒｅ　Ｂｌｕｅ、ＫＰＬ　Ｃａｔ＃５１２０－００２４）によって停止させた。各試料に対するエンドポイント抗体価を、バックグラウンドより３

倍高いＯＤ値を与える最も高い希釈として特定した。

【０３９５】

疑似ウイルスベースの中和アッセイのために、血清試料を、媒質（ＦｌｕｏｒｏＢｒｉｔｅフェノールレッドフリーＤＭＥＭ＋１０％ＦＢＳ＋１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ＋１％ＰＳ＋１％Ｇｌｕｔａｍａｘ）において１：４に希釈し、５６℃において０．５時間、熱不活性化した。さらに、熱不活性化された血清の２倍希釈系列を調製し、レポーターウイルス粒子（ＲＶＰ）－ＧＦＰ（Ｉｎｔｅｇｒａｌ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ）と混合し、ウェル当たり３００の感染性粒子を含むように希釈して、３７℃で１時間インキュベートした。７５μＬ容積の５０％コンフルエント２９３Ｔ－ｈｓＡＣＥ２クローン細胞の９６ウェルプレートを、血清／ウイルス混合物５０μＬを播種して、３７℃で７２時間インキュベートした。インキュベーションの終了時に、プレートをハイコンテントイメージャーにおいてスキャンし、個々のＧＦＰ発現細胞をカウントした。抑制的希釈力価（ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｙ　ｄｉｌｕｔｉｏｎ　ｔｉｔｅｒ）（ＩＤ５０）が、試験においてウイルスプラークの数を５０％減らす希釈の逆数として報告された。各試験試料のＩＤ５０を、５０％中和点未満のプラーク数の最後の希釈と５０％中和点を超えるプラーク数の最初の希釈を使用して傾きおよび切片を算出することによって補間した。

ＩＤ５０力価＝（５０％中和点－切片）／傾き

【０３９６】

４つ全てのｍＲＮＡ製剤が、最初のワクチン接種の１４日目において同様のレベルの結合抗体を誘導し、応答は、２８日目における第２の用量の１週間後に、さらに増強された。３５日目に、疑似ウイルス中和アッセイによって特定された中和抗体に対する幾何平均力価（ＧＭＴ）は、構築物Ａに対しては１５２であり、構築物Ｂに対しては３５４であり、構築物Ｃに対しては１９５であり、構築物Ｄに対しては１００５であった。構築物Ｄバリアントの中和能力は、わずかに、構築物Ｂより高い傾向にあった。

【０３９７】

ＥＬＩＳＡでの結合に対して検出された血清学的抗体価は、疑似ウイルスによって特定された中和力価を予測しなかった。構築物Ａおよび構築物Ｃの群における何匹かのマウスは、中和アッセイにおいて抗体陽転しなかったが、ＥＬＩＳＡにおけるそれらのエンドポイント滴定力価は、群の他のものに匹敵した。構築物ＢおよびＤは、中和抗体の誘導に対する免疫原性において匹敵する可能性が高かった。

【０３９８】

この実施例は、全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡは、天然の全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードするｍＲＮＡより、中和抗体力価の誘導においてより効果的であることを実証している。残基９８６および９８７をプロリンに変異させることに加えて、フューリン切断部位をブロッキングすることは、融合後変換に対して融合前の防止のための別の層を加える。融合前の高次構造の重要性を考慮して、構築物Ｂ（フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする）を、さらなる臨床前評価のために選択した。

【０３９９】

実施例５．ｍＲＮＡカプセル化脂質ナノ粒子の調製

フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されている全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡを、インビトロにおいて合成した。ＲＮＡポリメラーゼプロモータ配列に作動可能に連結された下記の核酸配列を含む鋳型プラスミドを使用して、ｍＲＮＡを調製した：

１ GGACAGATCG CCTGGAGACG CCATCCACGC TGTTTTGACC TCCATAGAAG
51 ACACCGGGAC CGATCCAGCC TCCGCGGCCG GGAACGGTGC ATTGGAA
CGC

101 GGATTCCCCG TGCCAAGAGT GACTCACCGT CCTTGACACG ATGTTCG
TCT
151 TCCTCGTGCT GCTCCCACTC GTTTCTTCCC AGTGTGTCAA CCTGACAACT
201 AGGACTCAGC TGCCACCAGC CTACACCAAC TCCTTCACCA GAGGCGT
GTA
251 TTACCCAGAC AAGGTGTTTA GAAGCAGCGT GCTGCACTCT ACCCAGG
ACC
301 TCTTTCTGCC CTTTTTCAGC AACGTGACAT GGTTTCACGC AATTCACGTG
351 TCCGGCACTA ATGGCACAAA GCGGTTCGAC AATCCAGTCC TGCCTTT
CAA
401 CGATGGCGTC TACTTTGCAT CTACTGAGAA ATCCAATATC ATTAGGG
GAT
451 GGATCTTCGG CACAACCCTG GATTCTAAGA CCCAGAGCCT GCTGATC
GTC
501 AACAACGCCA CAAACGTGGT CATTAAGGTT TGCGAGTTTC AGTTCTG
TAA
551 CGATCCTTTT CTGGGCGTGT ATTATCATAA GAACAATAAG AGCTGGA
TGG
601 AGTCCGAGTT TAGAGTGTAT AGCTCTGCAA ATAATTGTAC CTTTGAG
TAC
651 GTGAGCCAGC CCTTTCTGAT GGACCTGGAG GGAAAACAAG GAAACTT
CAA
701 AAACCTGCGG GAATTCGTTT TCAAAAACAT CGACGGCTAT TTCAAGA
TCT
751 ATAGCAAGCA TACCCCAATC AACCTCGTGA GGGACCTCCC CCAGGGC
TTT
801 AGCGCACTGG AGCCACTGGT TGACCTGCCT ATCGGCATTA ATATCAC
AAG
851 ATTTCAGACC CTGCTGGCAC TGCATAGAAG CTATCTGACC CCTGGAG
ACT
901 CCTCTAGTGG GTGGACTGCC GGCGCCGCTG CCTACTATGT GGGCTAT
CTG
951 CAGCCACGGA CATTCCTGCT GAAATACAAT GAGAACGGGA CAATCAC
AGA
1001 TGCTGTTGAT TGCGCACTCG ACCCCCTGTC CGAGACAAAG TGCACTC
TCA
1051 AGAGCTTTAC CGTCGAGAAG GGCATCTATC AGACCTCAAA CTTCAG
GGTG
1101 CAGCCCACAG AATCTATCGT GCGCTTCCCT AATATCACTA ACCTGTG
TCC
1151 TTTCGGTGAA GTGTTCAACG CCACCAGGTT TGCTAGCGTG TATGCCT
GGA
1201 ACAGGAAGAG GATCTCTAAC TGCGTCGCCG ACTATTCCGT GCTGTA
TAAC
1251 AGCGCCTCCT TCTCCACATT CAAATGCTAT GGAGTGAGCC CGACAA
AACT
1301 GAACGATCTC TGCTTTACAA ATGTCTACGC CGACTCTTTT GTGATCA
GAG
1351 GGGACGAGGT CCGGCAGATC GCACCAGGAC AGACAGGCAA GATTGC
TGAC

1401 TACAACTATA AGCTGCCTGA CGACTTCACA GGATGTGTGA TCGCAT
GGAA
1451 CTCAAACAAT CTGGACTCCA AAGTCGGGGG CAACTATAAT TACCTG
TATC
1501 GCCTGTTCCG GAAGTCCAAC CTGAAGCCCT TCGAGAGGGA CATCAG
TACA
1551 GAGATCTATC AGGCTGGCTC CACCCCTTGC AATGGCGTCG AAGGCT
TTAA
1601 TTGTTATTTT CCCCTGCAGT CTTACGGGTT TCAGCCTACT AATGGAG
TTG
1651 GGTACCAGCC ATACAGAGTG GTCGTGCTCA GCTTCGAGCT CCTGCA
TGCT
1701 CCAGCTACAG TTTGCGGGCC AAAGAAGTCC ACTAACCTGG TGAAGA
ATAA
1751 GTGCGTCAAC TTCAACTTTA ACGGGCTCAC CGGCACCGGC GTGCTG
ACTG
1801 AGAGCAACAA GAAGTTTCTG CCATTTCAAC AGTTTGGACG GGACAT
TGCC
1851 GACACCACCG ATGCCGTTCG GGATCCACAG ACCCTGGAAA TTCTGG
ACAT
1901 TACACCGTGC AGCTTCGGGG GCGTGAGCGT GATCACACCC GGAACC
AATA
1951 CAAGCAACCA GGTTGCCGTC CTGTATCAGG ATGTCAATTG CACAGA
AGTG
2001 CCAGTTGCTA TCCACGCAGA CCAGCTGACT CCCACATGGC GGGTGT
ATAG
2051 CACCGGATCC AACGTGTTTC AGACCCGCGC CGGATGTCTC ATTGGG
GCCG
2101 AGCACGTGAA TAACAGCTAC GAGTGCGACA TCCCCATTGG CGCCGG
CATT
2151 TGTGCGTCTT ACCAGACTCA GACCAACTCT CCTGGCTCCG CCTCTTC
CGT
2201 TGCTAGTCAG TCTATTATTG CCTATACCAT GAGCCTCGGA GCTGAGA
ATA
2251 GCGTGGCCTA CTCCAATAAT TCCATCGCAA TCCCTACTAA CTTCACT
ATT
2301 TCTGTGACCA CCGAGATCCT GCCTGTGTCT ATGACTAAGA CTAGCGT
TGA
2351 TTGTACCATG TATATTTGTG GCGACTCTAC CGAATGTTCT AACCTGC
TGC
2401 TTCAGTACGG CTCATTTTGC ACACAGCTGA ACAGAGCCCT GACTGG
GATC
2451 GCTGTGGAGC AGGACAAGAA CACACAGGAG GTGTTTGCAC AGGTGA
AGCA
2501 GATCTATAAG ACCCCTCCTA TTAAGGATTT CGGCGGATTC AATTTCT
CAC
2551 AGATTCTGCC AGACCCCAGT AAGCCTTCCA AGAGGAGCTT CATCGA
GGAT
2601 CTCCTGTTTA ACAAGGTGAC CCTGGCAGAC GCCGGCTTTA TTAAGC
AATA

2651 TGGGGATTGC CTGGGCGACA TTGCTGCCAG AGACCTGATT TGCGCC
CAGA
2701 AATTCAATGG CCTCACAGTG CTGCCACCTC TGCTGACCGA CGAGAT
GATC
2751 GCTCAATACA CTAGCGCACT GCTGGCCGGA ACCATCACAT CAGGCT
GGAC
2801 CTTCGGGGCC GGAGCAGCAC TGCAGATTCC ATTCGCCATG CAGATG
GCCT
2851 ATAGATTCAA CGGCATTGGC GTCACACAGA ACGTGCTGTA CGAAAA
CCAG
2901 AAGCTCATCG CTAACCAGTT TAATTCCGCA ATTGGAAAGA TCCAAG
ATTC
2951 ACTCAGCTCA ACCGCCTCTG CACTCGGAAA GCTGCAGGAC GTGGTC
AACC
3001 AGAATGCTCA GGCCCTGAAC ACACTCGTCA AGCAGCTGTC CTCTAA
CTTT
3051 GGCGCTATCA GCTCCGTTCT GAACGACATT CTGAGCCGCC TGGATCC
CCC
3101 AGAGGCTGAA GTCCAGATTG ACCGCCTGAT TACCGGCCGG CTGCAG
TCTC
3151 TGCAAACATA CGTGACCCAG CAGCTGATCA GAGCAGCCGA GATCCG
GGCA
3201 TCCGCAAATC TGGCAGCAAC TAAGATGAGC GAATGCGTGC TGGGCC
AGTC
3251 CAAGCGGGTG GACTTTTGTG GCAAGGGCTA CCACCTGATG AGCTTC
CCCC
3301 AGAGCGCCCC ACATGGCGTT GTTTTTCTGC ACGTGACCTA TGTCCCT
GCT
3351 CAGGAAAAGA ACTTTACAAC TGCTCCTGCT ATCTGCCATG ACGGCA
AGGC
3401 CCACTTCCCA CGGGAGGGAG TGTTTGTGTC CAATGGCACA CACTGG
TTCG
3451 TGACCCAGAG GAACTTCTAT GAACCCCAGA TCATCACCAC TGACAA
TACC
3501 TTCGTGTCTG GAAATTGCGA CGTCGTGATC GGCATCGTTA ACAACA
CCGT
3551 GTACGACCCT CTCCAGCCAG AGCTGGACTC CTTTAAGGAG GAACTG
GATA
3601 AGTATTTTAA GAACCACACA AGCCCAGATG TGGATCTCGG GGACAT
CTCC
3651 GGAATTAACG CCTCCGTGGT GAATATCCAG AAGGAGATTG ACCGCC
TAAA
3701 TGAAGTTGCC AAGAACCTCA ATGAGTCTCT GATTGATCTG CAGGAA
CTGG
3751 GCAAGTATGA GCAGTATATC AAATGGCCCT GGTACATTTG GCTGGG
GTTT
3801 ATCGCCGGAC TGATTGCCAT CGTCATGGTG ACCATCATGC TGTGTTG
CAT
3851 GACCTCCTGT TGTTCCTGTC TGAAGGGCTG CTGTAGTTGC GGCTCTT
GCT

3901 GTAAATTCGA CGAAGATGAT AGCGAGCCCG TGCTGAAGGG CGTGAA
GCTG
3951 CATTATACCT GACGGGTGGC ATCCCTGTGA CCCCTCCCCA GTGCCTC
TCC
4001 TGGCCCTGGA AGTTGCCACT CCAGTGCCCA CCAGCCTTGT CCTAATA
AAA
4051 TTAAGTTGCA TCAAGCT（配列番号１４９）

【０４００】

未改変のヌクレオチドの鋳型依存性ＲＮＡ合成は、配列番号１４８の最適化された核酸配列を含む配列番号１４７の核酸配列を有するポリヌクレオチドをもたらした。多段工程である酵素触媒プロセスにおいて、最終ｍＲＮＡ生成物を合成し、それを精製して、酵素試薬および時期尚早に中止された合成生成物（ショートマー（ｓｈｏｒｔｍｅｒ））を除去した。

【０４０１】

最終ｍＲＮＡは、表４に示される構造エレメントを有した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質コード配列は、それぞれ１４０および１０５ヌクレオチドの５’および３’非翻訳領域（ＵＴＲ）によって隣接される。当該ｍＲＮＡは、それ自身が２’Ｏリボースメチル化によって修飾される、５’ＵＴＲの第１のヌクレオシドに逆５’５’三リン酸架橋（ｔｒｉｐｈｏｓｐｈａｔｅ　ｂｒｉｄｇｅ）を介して連結される７メチルグアノシン（ｍ７Ｇ）残基からなる５’キャップ構造も含む。５’キャップは、リボゾームによる翻訳の開始のために必須である。直線構造全体は、およそ１００から５００のアデノシンヌクレオシド（ポリＡ）の広がりによって３’末端において終わる。ポリＡ領域は、ｍＲＮＡに安定性を付与し、さらに、翻訳を増強すると考えられる。これらの構造エレメントの全ては、天然に存在する成分であり、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクｍＲＮＡの効率的な翻訳にとって必要である。

【０４０２】

精製したｍＲＮＡを、独自のカチオン性脂質、非カチオン性脂質（ＤＯＰＥ）、コレステロールベースの脂質（コレステロール）、およびＰＥＧで修飾された脂質（ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋ）を含む脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）に封入した。最終的なｍＲＮＡ－ＬＮＰ製剤は、水性懸濁液であった。

【０４０３】

実施例６．マウスにおける中和抗体応答の誘導

この実施例は、全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物が、マウスにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する結合および中和抗体のロバストな応答を誘導することを実証している。

【０４０４】

実施例５において調製したＬＮＰ製剤を使用して、筋肉内注射（ＩＭ）により０日目および２１日目の２回においてマウスを免疫化した（図９Ｃを参照されたい）。８匹の６～８週齢のＢＡＬＢ／ｃマウスの４つの群を、それぞれ、１用量当たり０．２μｇ、１μｇ、５μｇ、または１０μｇのｍＲＮＡによって免疫化した。第５の群のマウス（ネガティブコントロールとして機能する）は、ｍＲＮＡ－ＬＮＰ組成物の希釈物のみを受けた。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する抗体のベースラインレベルを特定するために、免疫化の７日前（７日目）に、各マウスから血液試料を採取した。さらなる血液試料を、１４日目、２１日目、２８日目、および３５日目に採取した。マウス実験は、全ての適切な米国衛生研究所の規制およびＣｏｖａｎｃｅ　Ｉｎｃ．（デンバー、ＰＡ）の動物実験委員会の承認に従って行った。

【０４０５】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する抗体価を特定するために、ＥＬＩＳＡアッセイを使用した。９６ウェルプレートを、市販のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質

（ＳｉｎｏＢｉｏ）でコーティングし、－７日目、１４日目、２１日目、２８日目、および３５日目からの、連続的に希釈したマウス血清を用いてインキュベートし、結合した総マウスＩｇＧを検出するために二次抗体で調べた。

【０４０６】

中和抗体の力価を特定するために、疑似ウイルスベースのアッセイを使用した。軽度、重度、および深刻な症状のＣＯＶＩＤ－１９患者からの３９の個々の変換血清試料が、ポジティブコントロールとして機能した。血清試料を、媒質（ＦｌｕｏｒｏＢｒｉｔｅフェノールレッドフリーＤＭＥＭ＋１０％ＦＢＳ＋１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ＋１％ＰＳ＋１％Ｇｌｕｔａｍａｘ）において１：４に希釈し、５６℃で３０分間、熱不活性化した。熱不活性化された血清の、さらに２倍の９点段階希釈系列を、同じ培地において実施した。希釈した血清試料を、ウェル当たり約３００の感染性粒子を含むように希釈したある量のレポーターウイルス粒子（ＲＶＰ）－緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）（Ｉｎｔｅｇｒａｌ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ）と混合し、３７℃で１時間インキュベートした。７５μＬ容積の約５０％コンフルエント２９３Ｔ－ｈｓＡＣＥ２クローン細胞の９６ウェルプレートを、シングルトンにおける血清＋ウイルス混合物５０μＬを播種して、３７℃で７２時間インキュベートした。７２時間のインキュベーションの終了時に、プレートをハイコンテントイメージャーにおいてスキャンし、個々のＧＦＰ発現細胞をカウントした。中和抗体力価は、試験においてウイルスプラークの数を５０％減らす希釈の逆数として報告される（図９Ｂを参照されたい）。

【０４０７】

このマウス免疫化実験の結果は、図９Ａおよび９Ｂにまとめられている。シングルショット後でさえ、ロバストな抗体応答が、全ての試験した用量に対し、１４日目にＥＬＩＳＡによって観察された（図９Ａを参照されたい）。セカンドショットは、結果として、抗体応答の著しいブーストを生じ、中和抗体の力価を劇的に向上させた（図９Ｂを参照されたい）。１μｇ、５μｇ、または１０μｇのｍＲＮＡの２回用量の投与は、結果として、３５日目にＥＬＩＳＡによって特定した場合、同等の抗体価を生じた。図９Ｂからわかるように、０．２μｇのｍＲＮＡの２回用量は、３５日目における中和抗体の誘導においてわずかに効果的ではなかったが、その一方で、１μｇ、５μｇ、または１０μｇのｍＲＮＡの２回用量は、３５日目において同等の抗体価を誘導し、それは、以前にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染したヒト患者の変換血清において観察された中和抗体の力価を超えた。

【０４０８】

この実施例は、この実施例において試験した免疫原性組成物が、２回用量の後においてロバストな中和抗体応答を誘導することを実証している。応答の大きさは、用量依存性であった。結果は、当該免疫原性組成物は、回復期ヒト患者におけるものに匹敵する中和抗体力価を誘導することができることを示している。

【０４０９】

実施例７．マウスにおけるＴｈ１バイアスＴ細胞応答の誘導

Ｔｈ１バイアス免疫を促進するワクチンは、典型的には、それを行っていないワクチンよりもウイルス病原体に対してより保護的である。ＩＦＮ－γなどのＴｈ１サイトカインの分泌は、ウイルスに感染した細胞の死を誘導することができる、Ｔ細胞のサブグループである細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）を活性化する。この実施例は、実施例６において試験した免疫原性組成物が、マウスにおいてＴｈ１バイアスＴ細胞応答を誘導することを実証している。

【０４１０】

実施例６において試験したワクチンの免疫応答の品質をさらに評価するために、その実施例において説明される実験は、それぞれ、５μｇまたは１０μｇのｍＲＮＡによるＩＭ注射によってマウスの群を２回免疫化することによって反復された。－４日目（ベースライン）、１４日目、２１日目、２８日目、および３５日目に血液を採取した（図１０Ｃを参照されたい）。マウス実験は、全ての適切な米国衛生研究所の規制およびＣｏｖａｎｃｅ　Ｉｎｃ．（デンバー、ＰＡ）の動物実験委員会の承認に従って行った。マウスを３５

日目に犠牲にし、それらの脾臓を取り出した。単離された脾臓をホモジナイズし、脾細胞を下記において説明されるように単離した。ペプチド刺激された脾細胞によるＩＦＮ－γおよびＩＬ－５の分泌を、ＥＬＩＳＰＯＴアッセイによって特定した。

【０４１１】

回収した脾臓を、氷上において冷蔵した培地５ｍＬにおいて貯蔵した。処理の直前に、脾臓を、培地を含む無菌ペトリ皿に位置した。１０ｃｃの注射器のプランジャの戻しを使用して、脾臓をホモジナイズした。ホモジネートをフィルタに通し、無菌管に移した。次いで、ホモジネートを、１２００ｒｐｍにおいて８～１０分間遠心分離することによってペレット化した。上清を穏やかに注ぎ出して、管の端を清浄なペーパータオルに滲みさせた。ＡＣＫ溶解バッファーを加えて赤血球を溶解させ、細胞を、５分間室温でインキュベートした。当該管を１２００ｒｐｍで８～１０分間遠心分離した。上清を注ぎ出して、ペレットを２ｍＭのＬ－グルタミンＣＴＬ試験培地に再懸濁させた。懸濁液を、新しい１５ｍＬの円錐管へとフィルタにかけた。使用まで、細胞を、加湿されたインキュベーターにおいて３７℃で維持した。

【０４１２】

ＰｅｐＭｉｘ（商標）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（Ｓｐｉｋｅ Ｇｌｙｃｏｐｒｏｔｅｉｎ、Ｃａｔ＃ ＰＭ－ＷＣＰＶ－Ｓ－１）ペプチドプール１およびペプチドプール２の溶液を、試験培地を使用して調製した。アッセイにおける各ペプチドの最終濃度は、２μｇ／ｍｌであった。ポジティブコントロールとして、試験培地中におけるＣｏｎＡ１μｇ／ｍｌを使用した。これらの抗原／マイトジェン溶液を、１００μＬ／ウェルにおいて播種した。ｐＨおよび温度が細胞にとって最適であることを確実にするために、細胞を播種する前に抗原／マイトジェン溶液を含むプレートを３７℃のインキュベーターに１０～２０分間位置した。細胞濃度を所望の濃度に調節した。０．３×１０^{6}／１００μｌ／ウェルの脾細胞を、抗原／マイトジェン溶液を伴う当該プレートに加えた。完了した後、当該プレートに穏やかにテープを貼り、３７℃に加湿した５％CO_2のインキュベーターに位置し、一晩インキュベートした。プレートをＰＢＳで２回洗浄し、次いで、２００μＬ／ウェルの０．０５％Ｔｗｅｅｎ－ＰＢＳで２回洗浄した。

【０４１３】

マウスＩＦＮ－γ／ＩＬ－５ダブルカラー酵素ＥＬＩＳＰＯＴキット（ＣＴＬ Ｓｈａｋｅｒ Ｈｅｉｇｈｔｓ、クリーブランド）を、製造元のプロトコルに従って使用した。検出溶液を製造元の取扱説明書によって調製し、８０μＬを各ウェルに加えた。次いで、当該プレートを室温で２時間インキュベートした。プレートを、２００μＬ／ウェルの０．０５％Ｔｗｅｅｎ－ＰＢＳで３回洗浄した。８０μＬ／ウェルの第３の溶液を加え、プレートを室温で３０分間インキュベートした。プレートを、０．０５％のＴｗｅｅｎ－ＰＢＳで２回、次いで、蒸留水で２回、それぞれ２００μＬ／ウェルで洗浄した。８０μＬ／ウェルの現像剤溶液をウェルに加え、室温で１５分間インキュベートした。膜を水道水で穏やかに３回すすぐことによって反応を止めた。プレートを風乾し、ＣＴＬアナライザを使用してスキャンした。百万細胞当たりにおいて産生されたサイトカインの数が報告された（図１０を参照されたい）。

【０４１４】

図１０Ａからわかるように、ｍＲＮＡ５μｇまたは１０μｇのいずれかで２回免疫化されたマウスから３５日目に単離した脾細胞は、大量のＴｈ１サイトカイン ＩＦＮ－γを分泌した。しかしながら、図１０Ｂからわかるように、これらの細胞は検出可能な量のＴｈ２サイトカインＩＬ－５を分泌しなかった。

【０４１５】

この実施例は、試験した免疫原性組成物が、マウスにおいてＴｈ１バイアスＴ細胞応答を誘導することにおいて効果的であることを実証しており、それは、この免疫原性組成物を伴うワクチン接種が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染細胞を認識し排除するＣＴＬ応答を誘導することができることを示している。

【０４１６】

実施例８．カニクイザルにおける中和抗体応答の誘導

この実施例は、全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物が、カニクイザルにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する結合および中和抗体のロバストな応答を誘導することを実証している。

【０４１７】

実施例５において調製したＬＮＰ製剤を使用して、０日目および２１日目にＩＭ投与によってサルに２回免疫化した（図１０を参照されたい）。４匹の３～４歳のカニクイザルの３つの群を、それぞれ、１用量当たり１５μｇ、４５μｇ、または１３５μｇのｍＲＮＡによって免疫化した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する抗体のベースラインレベルを特定するために、免疫化の４日前（－４日目）に、各サルから血液試料を採取した。－４日目、２日目、７日目、１４日目、２１日目、２３日目、２８日目、および３５日目ならびに４２日目に追加の血液試料を採取した。カニクイザル実験は、全ての適切な米国衛生研究所の規制およびＮｅｗ　Ｉｂｅｒｉａ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｅｎｔｅｒの動物実験委員会の承認に従って実施した。

【０４１８】

カニクイザルから得られた血液試料においてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する抗体価を特定するために、ＥＬＩＳＡアッセイを使用した。軽度、重度、および深刻な症状のＣＯＶＩＤ－１９患者からの３９の個々の血清試料が、ポジティブコントロールとして機能した。ヌンクマイクロウェルプレートを、ＰＢＳ中における０．５μｇ／ｍｌにおいて、４℃で一晩かけて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ　Ｓ－ＧＣＮ４タンパク質（ＧｅｎｅＡｒｔ、Ｅｘｐｉ２９３細胞系において発現）でコーティングした。プレートを、０．１％のＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎで３回洗浄し、その後、０．１％のＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ中における１％のＢＳＡによって１時間かけてブロッキングした。試料を、１：４５０の初期希釈とその後のブロッキングバッファーにおける３倍７点の段階希釈において播種した。１時間のインキュベーション後に、プレートを室温で３回洗浄し、その後、各ウェルに５０μｌの１：５０００ウサギ抗ヒトＩｇＧ（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏ　Ｒｅｓｅｒａｒｃｈ）を加えた。プレートを室温で１時間インキュベートし、３回洗浄した。Ｐｉｅｒｃｅ１－Ｓｔｅｐ　Ｕｌｔｒａ　ＴＭＢ－ＥＬＩＳＡ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎを使用して６分間かけてプレートを現像し、ＴＭＢ　ＳＴＯＰ溶液によって停止させた。プレートをＳｐｅｃｔｒａＭａｘプレートリーダにおいて４５０ｎｍで読み取った。抗体価は、０．２ＯＤカットオフに等しい最も高い希釈として報告された。

【０４１９】

疑似ウイルスベースのアッセイを使用して、カニクイザルの血清における中和抗体の力価を特定した。軽度、重度、および深刻な症状のＣＯＶＩＤ－１９患者からの３９の個々の変換血清試料が、ポジティブコントロールとして機能した。血清試料を、培地（ＦｌｕｏｒｏＢｒｉｔｅフェノールレッドフリーＤＭＥＭ＋１０％ＦＢＳ＋１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ＋１％ＰＳ＋１％Ｇｌｕｔａｍａｘ）において１：４に希釈し、５６℃で３０分間、熱不活性化した。熱不活性化された血清の、さらに２倍の９点段階希釈系列を、培地において実施した。希釈した血清試料を、ウェル当たり約３００の感染性粒子を含むように希釈したある量のレポーターウイルス粒子（ＲＶＰ）－ＧＦＰ（Ｉｎｔｅｇｒａｌ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ）と混合し、３７℃で１時間インキュベートした。７５μＬ容積の約５０％コンフルエント２９３Ｔ－ｈｓＡＣＥ２クローン細胞の９６ウェルプレートを、シングルトンにおける血清＋ウイルス混合物５０μＬを播種して、３７℃で７２時間インキュベートした。インキュベーションの終了時に、プレートをハイコンテントイメージャーにおいてスキャンし、個々のＧＦＰ発現細胞をカウントした。中和抗体力価は、試験においてウイルスプラークの数を５０％減らす希釈の逆数として報告された（図１１Ｂを参照されたい）。

【０４２０】

加えて、ポジティブコントロールとして３９のヒト変換血清を使用して、各サル試料の

マイクロ中和力価を特定した。使用の前日に、ウェル当たり０．１ｍＬにおいて、２×１０^{4}細胞の濃度で９６ウェル平底細胞培養プレートにＶｅｒｏＥ６細胞を播種した。実験の当日に、１：１０希釈で開始して、熱不活性化サルまたはヒト血清の２倍段階希釈を、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス（例えば、分離株ＵＳＡ－ＷＡ１／２０２０［ＢＥＩ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅｓ；カタログ＃　ＮＲ－５２２８１］）を用いて、３７℃のインキュベーターにおいて、６０±５分間インキュベートした。次いで、増殖培地を、ＶｅｒｏＥ６細胞から無菌的に除去し、ならびに、試験試料（血清およびウイルス）を、ＶｅｒｏＥ６を播種したプレートに加え、３７℃のインキュベーターにおいて３０±５分間インキュベートした。それに続いて、既存の播種材料を除去することなく、増殖培地１００μＬを、全てのプレートの全てのウェルに加えた。次いで、当該プレートをインキュベーターに戻し、２日間インキュベートした。感染後の２日目に、細胞を固定し、一次抗体（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ抗核タンパク質マウスモノクローナル抗体（ＳｉｎｏＢｉｏ　カタログ＃４０１４３－ＭＭ０５または同等物）で染色し、次いで、ＨＲＰタグ付けした二次抗体（ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）標識ヤギ抗マウス免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、カタログ＃１１５－０３５－０６２または同等物）によって染色した。

【０４２１】

これらのアッセイの結果は、図１１にまとめられている。最も低い試験ｍＲＮＡ用量の１５μｇにおいてさえ、２回のショットの後に、ロバストな結合および中和抗体応答が観察された（図１１Ａおよび１１Ｂを参照されたい）。１５μｇ、４５μｇ、または１３５μｇのｍＲＮＡの２回用量の投与は、結果として、２８日目、３５日目、および４２日目にＥＬＩＳＡによって特定した場合、匹敵する抗体価を生じた（図１１Ａを参照されたい）。１５μｇまたは４５μｇのｍＲＮＡの２回用量は、これらの日数において中和抗体の匹敵するレベルももたらした（図１１Ｂを参照されたい）。１３５μｇのｍＲＮＡの２回用量は、２８日目、３５日目、および４２日目に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染したヒト患者の変換血清において観察された中和抗体の力価を超える抗体の力価を誘導した。マイクロ中和力価アッセイも、１５μｇおよび４５μｇのｍＲＮＡの用量は、結果として、匹敵する力価を生じ、１３５μｇの用量は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染したヒト患者の変換血清において観察された力価を超えるという、同様の結果を提供した（図１１Ｃを参照されたい）。

【０４２２】

この実施例は、試験した免疫原性組成物は、投与の間の期間が少なくとも２週間（特に約３週間）である場合、２回のショットの後に、最も低い用量の１５μｇにおいてさえ、ロバストな中和抗体応答を誘導することを実証している。当該データは、ヒト患者における当該試験組成物の使用が保護的中和抗体応答を誘導することを支持している。

【０４２３】

実施例９．カニクイザルにおけるＴｈ１バイアスＴ細胞応答の誘導

この実施例は、実施例８において試験した免疫原性組成物が、カニクイザルにおいてＴｈ１バイアスＴ細胞応答を誘導することを実証している。

【０４２４】

実施例８において試験したワクチンの免疫応答の品質をさらに評価するために、ＰＢＭＣを、カニクイザル血液試料として単離した。単離されたＰＢＭＣを、クライオバイアルに貯蔵した。ＥＬＩＳＰＯＴアッセイを使用した、ペプチド刺激ＰＢＭＣによるＩＦＮ－γおよびＩＬ－１３の分泌を特定することによって、Ｔ細胞応答を評価した。ナイーブＰＢＭＣは、非活性化非刺激細胞におけるＩＦＮ－γ、またはＩＬ－１３分泌のベースラインレベルを確立するためのコントロールとして機能した。結果は図１２にまとめられる。

【０４２５】

アッセイを実施するために、サルＰＢＭＣ（ＤＭＥＭ１６４０＋１０％熱不活性化ＦＣＳ）に対する完全培地を、３７℃の水浴において予熱した。ＰＢＭＣクライオバイアルを、３７℃の水浴において急速に解凍し、その内容物を、円錐管における予熱した培地中へ

滴下によってゆっくり移した。次いで、当該管を、１５００ＲＰＭで５分間遠心分離した。当該細胞ペレットを、予熱した完全培地で１回洗浄し、１５００ＲＰＭで１５分かけて再ペレット化した。上清を破棄し、ＰＢＭＣを完全培地によって再懸濁させ、Ｇｕａｖａ細胞カウンターを使用してカウントした。

【０４２６】

サルＩＦＮ－γ　ＥＬＩＳＰＯＴキット（ＣＴＬ、ｃａｔ＃３４２１Ｍ－４ＡＰＷ）およびＩＬ－１３　ＥＬＩＳＰＯＴキット（ＣＴＬ、ｃａｔ＃３４７０Ｍ－４ＡＰＷ）を使用して、ペプチド刺激されたＰＢＭＣによるＩＦＮ－γおよびＩＬ－１３の分泌のレベルを特定した。キットによって提供される予備コーティングされたプレートを、無菌ＰＢＳで４回洗浄し、次いで、２００μｌ／ウェルの完全培地によってブロッキングした。ブロッキング工程は、３７℃のインキュベーターにおいて、少なくとも３０分間かけて実施した。ＰｅｐＭｉｘ（商標）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（ＪＰＴ　Ｃａｔ＃　ＰＭ－ＷＣＰＶ－Ｓ－１）ペプチドプール１およびペプチドプール２を、アッセイにおいてペプチド当たり２μｇ／ｍｌの最終濃度において、リコール抗原として使用した。コンカナバリンＡ（Ｓｉｇｍａ、ｃａｔ＃Ｃ５２７５）２μｇ／ｍｌをポジティブコントロールとして使用した。リコール抗原５０μｌと５０μｌ中における３００，０００のＰＢＭＣを、刺激のために各ウェルに加えた。次いで、当該プレートを、３７℃、５％CO_2の加湿されたインキュベーターに２４時間位置した。２４時間のインキュベーションの後、当該プレートをＰＢＳで５回洗浄した。１％胎児ウシ血清を含有するＰＢＳにおいて調製された、１００μｌ／ウェルのビオチン化された抗ＩＦＮ－γまたは抗ＩＬ－１３検出抗体（１μｇ／ｍｌ）を加え、当該プレートを、室温で２時間インキュベートした。次いで、当該プレートを、前のようにＰＢＳで５回洗浄し、１％ウシ胎仔血清を含有するＰＢＳにおける１：１０００希釈のストレプトアビジン１００μｌ／ウェルを用いて、室温で１時間インキュベートした。当該プレートを再びＰＢＳで５回洗浄し、スポットが可視化するまで、１００μｌ／ウェルのＢＣＩＰ／ＮＢＴ基質溶液を使用して現像した。プレートを水道水で洗浄することによって発色現像を止めた。次いで、プレートを一晩乾燥し、スキャンして、ＣＴＬアナライザを使用してスポットをカウントした。データは、１００万のＰＢＭＣ当たりのスポット形成細胞（ＳＦＣ）として報告された（図１２を参照されたい）。

【０４２７】

図１２Ａ（ペプチドプールＳ１）および１２Ｃ（ペプチドプールＳ２）からわかるように、１５μｇ、４５μｇ、または１３５μｇのｍＲＮＡの用量によって２回免疫化されたサルから４２日目に単離されたＰＢＭＣは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に由来するペプチドによる刺激に応答して、大量のＴｈ１サイトカインＩＦＮ－γを分泌した。対照的に、これらの細胞は、ペプチド刺激に応答して、ベースライン量のＴｈ２サイトカインＩＬ－１３のみを分泌した（図１２Ｂ（ペプチドプールＳ１）および１２Ｄ（ペプチドプールＳ２）を参照されたい）。

【０４２８】

この実施例は、試験した免疫原性組成物は、カニクイザルにおいてＴｈ１バイアスＴ細胞応答を誘導することにおいて効果的であることを実証しており、それは、この免疫原性組成物を伴うワクチン接種が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染細胞を認識し排除する、ヒトにおけるＣＴＬ応答を誘導することができることを示している。

【０４２９】

実施例１０．用量モデリング

この実施例は、実施例６および８で試験した免疫原性組成物の低ｍＲＮＡ用量が、ＣＯＶＩＤ－１９患者からの回復期血清のコントロールパネルにおいて観察された対応する力価よりも著しく高い中和抗体力価を得る上で効果的であることを実証している。

【０４３０】

３５日目の疑似ウイルス中和力価において、実施例６において説明される免疫化されたマウスの１μｇ、５μｇ、および１０μｇの群の間に、統計的に有意な差はなく、そのことは、全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする試験された最

適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡ１μｇを超えた用量飽和効果を示唆していた。マウスにおける３５日目のピーク疑似ウイルス中和力価は、ＣＯＶＩＤ－１９患者からの回復期血清のコントロールパネルにおいて観察された対応する力価よりも著しく高かった（図１３Ａを参照されたい）。

【０４３１】

実施例８において説明されたカニクイザル実験に対する疑似ウイルス中和アッセイおよびマイクロ中和アッセイの両方からの結果は、高度に相関した（図１３Ｂ）。用量レベルにかかわらず、３５日目の疑似ウイルスおよびマイクロ中和力価は、免疫前動物より約１３０倍高かった。ＣＯＶＩＤ－１９患者からの９３の回復期血清による完全なデータセットのさらなる統計分析は、それぞれ、１５μｇ、４５μｇ、および１３５μｇのｍＲＮＡ用量によって得られた力価が、回復期ヒト血清において観察される対応する力価より著しく高いことを明らかにした（全てのＰ値は、０．００５未満であった；図１３Ｃおよび１３Ｄ）。

【０４３２】

この実施例は、実施例５において調製した免疫原性組成物の安全性および有効性を調査するヒト臨床試験のための１０μｇから２００μｇのｍＲＮＡ用量範囲を支持した。実際に、１５μｇから４５μｇの間の用量は、効果的な中和抗体応答を誘導するのに十分であり得、同時に良好な忍容性を示した。

【０４３３】

実施例１１．全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードするｍＲＮＡの免疫原性

この実施例は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように（２Ｐ／ＧＳＡＳ）天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードするｍＲＮＡが、中和抗体応答を誘導する上で、他の全長融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードするｍＲＮＡよりも効果的であることを実証している。

【０４３４】

免疫原性に対する、その融合前の高次構造においてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質を安定化する変異の影響を特定するために、７つのｍＲＮＡ構築物（野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（ＷＴ）および対応する融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質（それぞれ、２Ｐ、ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＡＬＡＹＴ、６Ｐ、および６Ｐ／ＧＳＡＳ））を、実施例５において説明されるｍＲＮＡワクチンと同様に脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）において製剤化した。ＷＴ、２Ｐ／ＧＳＡＳ、２Ｐ、ＧＳＡＳはそれぞれ、実施例３の構築物Ａ～Ｄに対応した。２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＫＬＨＹＴは、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンで置き換え、ＥＲ回収シグナルを変異させるように変異させたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質であり、配列番号１２４の最適化された核酸配列と配列番号１２５のアミノ酸配列を有する。６Ｐは、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６および９８７をプロリンで置き換えるように変異させたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質であり、配列番号１２８の最適化された核酸配列と配列番号１２９のアミノ酸配列を有する。６Ｐ／ＧＳＡＳは、フューリン切断部位を除去し、残基８１７、８９２、８９９、９４２、９８６、および９８７をプロリンで置き換えるように変異させたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質であり、配列番号１３０の最適化された核酸配列と配列番号１３１のアミノ酸配列を有する。

【０４３５】

免疫評価のために、２つの動物モデルを使用した。ＢＡＬＢ／ｃマウスに、５つの製剤（ＷＴ、２Ｐ、ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＡＬＡＹＴ）のそれぞれの用量当たり０．４μｇによる３週間の間隔を空けた２回の免疫化を投与した。並行して、非ヒト霊長類（ＮＨＰ）には、６つのＳ　ｍＲＮＡワクチン（２Ｐ、ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ、２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＡＬＡＹＴ、６Ｐ、および６Ｐ／ＧＳＡＳ）の用量当たり５μｇでの同じ免疫化スケジュールを使用して免疫化した。

【０４３６】
機能的抗体に対して、例えば、ｎＡｂ力価などを評価するために、ヒトＡＣＥ２を安定して過剰発現するＨＥＫ－２９３Ｔ細胞でのＧＦＰレポーター疑似ウイルス粒子（ＲＶＰ）の感染性を中和する免疫血清の能力を調べた。ＳＡＲＳ　ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質を発現するＲＶＰは、エントリーでのＧＦＰ発現によって示される、一回感染の能力がある。ＲＶＰエントリーの５０％阻害を達成することができる血清希釈（ＩＤ５０）として中和効力を特定した。加えて、酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）力価を、抗原としてＧＣＮ４ヘリックスバンドルによって三量体化された組換え可溶性Ｓタンパク質を使用して評価した。

【０４３７】
何匹かの動物は、最初の免疫化後１４日目に中和力価を生じたが、当該力価は、概して低かった。予想されるように、大部分の試験動物は、２回目の免疫化後に中和力価を生じた（図１４）。３５日目において、マウスにおける疑似ウイルス（ＰｓＶ）ｎＡｂ力価に対する９５％信頼区間（９５％ＣＩ）での幾何平均力価（ＧＭＴ）は、ＷＴでは１５２（３６；６４５）、２Ｐでは１９５（４４；８７０）、ＧＳＡＳでは１００５（２６１；３８７７）、２Ｐ／ＧＳＡＳでは３５４（１２９；９７６）、および２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＡＬＡＹＴでは９４０であった。ＷＴおよび２Ｐ構築物と比較した場合、とりわけ３５日目および４２日目に、ＧＳＡＳ変異を有する３つの構築物に対して、より高いＧＭＴの傾向が存在した。

【０４３８】
ＮＨＰでは、２回目の免疫化後でさえ、各群内において様々な中和力価が観察された（図１４）。２Ｐおよび６Ｐ／ＧＳＡＳワクチンは、３５日目において、他の構築物より、それぞれ７８および１０のＧＭＴによる低い免疫原性を示した。６Ｐワクチンは、任意の検出可能な中和力価を生じさせられなかった。マウス試験での観察と一致して、６Ｐ／ＧＳＡＳ以外の全てのＧＳＡＳ構築物は、２回目の投薬後に、Ｄ３５において、２Ｐワクチン群と比較した場合、ＧＳＡＳに対する４２５（４８；３７６９）、２Ｐ／ＧＳＡＳに対する７７２（１１６；５１２１）、２Ｐ／ＧＳＡＳ／ＡＬＡＹＴに対する２８０（１１；６９７０）として記録されたＧＭＴ（９５％ＣＩ）によるより高い中和性力価を誘導した。マウスおよびＮＨＰにおけるＧＭＴの当該傾向は、他の構築物に対する２Ｐ／ＧＳＡＳの優れた免疫原性を示唆していた。その上、マウスおよびＮＨＰにおける２Ｐ／ＧＳＡＳバリアントに対するピークＰｓＶＮａ力価（３５日目）は、ＣＯＶＩＤ－１９患者からの９３の回復期血清のパネルにおいて観察された力価に匹敵するかまたはより高かった。

【０４３９】
この実施例は、ＧＳＡＳ変異がワクチン免疫原性にとって有益であることを実証している。Ｓタンパク質の融合前形態の安定化のために導入された２Ｐ変異は、ＧＳＡＳ変異に関して有益であると思われるが、その一方で、ＡＬＡＹＴは、２Ｐ／ＧＳＡＳに関して、とりわけＮＨＰにおいて、免疫原性に対する影響をあまり示さなかった。したがって、この実施例は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたｍＲＮＡが、中和抗体の誘導において、他の融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードするｍＲＮＡよりも効果的であり得ることのさらなる確認を提供する。

【０４４０】
実施例１２．シリアンゴールデンハムスターにおける防御効果
この実施例は、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されているＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物が、肺のウイルス感染を減少させて肺の病理を防ぐことによって、ＣＯＶＩＤ－１９の動物モデルにおいて防御効果を有し得ることを実証している。

【０４４１】
シリアンゴールデンハムスターにおけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染は、ウイルス感染が、感染の２日後（ＤＰＩ）における肺および鼻上皮でのピーク力価を伴う高レベルのウイルス複製、７ＤＰＩでの肺における疾患の組織病理学的証拠、およびおよそ７ＤＰＩでの約８～１５％の体重減少に関連する、病理モデルである。
【０４４２】
実施例５において調製されたＬＮＰ製剤の、ウイルス感染および疾患に対して防御する能力を見積もるために、シリアンゴールデンハムスターを、Ｄ２１での１回のＩＭ免疫化、あるいは０日目および２１日目の２回のＩＭ投与のどちらかによる、用量当たり０．１５μｇ、１．５μｇ、４．５μｇ、または１３．５μｇの用量レベルにおける、４つのワクチン製剤によって免疫化した。動物を、４９日目に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の鼻腔内（ＩＮ）接種によってチャレンジ感染させ、８ＤＰＩにおける体重減少として、疾患の臨床徴候をモニターした。組織病理学のため、および、サブゲノムＲＮＡ　ＲＴ－ＰＣＲアッセイによるウイルス複製の定量化のために、４ＤＰＩおよび７ＤＰＩにおいて、肺および鼻の組織を採取した。
【０４４３】
実施例５のＬＮＰ製剤は、最初のワクチン接種後、ロバストな用量依存性中和抗体応答を誘導し、それは、２回目の免疫化によって著しく増強された。最初の免疫化後、０．１５μｇ用量の群以外の全ての動物は、中和抗体を生じ、それは、野生型ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対して、プラーク減少中和力価（ＰＲＮＴ）として記録された。３５日目における、１回用量免疫化スケジュールに対するＰＲＮＴ５０　ＧＭＴは、それぞれ、１．５μｇ、４．５μｇ、および１３．５μｇの用量に対して２３７、４１０、および７１１であり、その一方で、２回用量の群における対応する値は、３２１９、２４４６、および３２１９であった。用量の増加に伴って力価が高くなる傾向が観察されたにもかかわらず、１．５μｇ、４．５μｇ、および１３．５μｇの群の力価の間の差は、統計的に有意ではなかった。
【０４４４】
ワクチン接種の保護効果を調べるために、全ての群を、鼻腔内においてチャレンジ感染させた。各動物の体重を、７日間において毎日モニターした（図１５ａ）。偽（希釈剤）ワクチン接種した動物では、７ＤＰＩにおいて１０％を超える最も著しい体重減少が観察された。１．５μｇ、４．５μｇ、および１３．５μｇのワクチン接種レジメンは、１回用量または２回用量レジメンにかかわらず、体重減少に対して動物を保護し、ほとんどの動物は５％未満の体重減少しか経験せず、体重減少は、およそ２～３ＤＰＩに、ほとんどピークに達した。これらの群の間での体重比較では有意な差はなかった。偽群と比較して、同程度の体重減少を経験した群のみが、１回免疫化による０．１５μｇ用量の群であった。
【０４４５】
ウイルス感染によって引き起こされる病理を評価するために、４ＤＰＩまたは７ＤＰＩのどちらかにおいて各群の４匹の動物から肺試料を採取し、固定した組織を薄片にして、病理組織学的試験のためにランダム化および盲検を行った。より高いスコアがより重症の病理を反映するように、組織損傷の厳しさに基づいて、０～３の病理学スコアを各試料に割り当てた。１のスコアは、薄片の２５％未満においての組織病理学的発見を明らかにする肺の薄片に起因した。同様に、２５％超だが５０％未満の柔組織を伴う場合、２のスコアを割り当てた。３のスコアは、薄片全体の５０％超が影響を受けている薄片に対して指定した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を接種させた偽ワクチン接種ハムスターは、ＯＶＩＤ－１９患者において検出された重症の肺炎の報告に似ている広範囲の肺の組織病理を明らかにした（図１５ｂ）。ナイーブハムスターからの肺は、組織学的に平凡であった。１回ワクチン接種の０．１５μｇ用量の群からの肺試料において、同様の病変を見ることができ、それを、盲検試験において３としてスコア付けした。それとは対照的に、１回ワクチン接種の１３．５μｇ用量群からの肺試料は、健康なコントロールと同様に、そのような病変

が存在しないことを明らかにし、その両方とも、０としてスコア付けした（図１５Ｃ）。

【０４４６】

肺病理は、実施例５のＬＮＰ製剤の１回用量または２回用量のどちらかを受けたハムスターにおいて顕著に弱毒化され、４ＤＰＩおよび７ＤＰＩの両方において用量依存性効果が見られた（図１５ｂ）。１．５μｇ、４．５μｇ、および１３．５μｇの１回ワクチン接種は、感染によって引き起こされた病理を実質的に軽減し、１．５μｇ、４．５μｇ、および１３．５μｇの２回用量ワクチン接種は、病理に対するほぼ完全な保護を提供した。０．１５μｇの非常に低い用量レベルは、１回用量レジメンにおいて使用した場合、保護を示さなかったが、２回用量ワクチン接種レジメンではいくらかのわずかな保護を示した。

【０４４７】

実施例５のＬＮＰ製剤による免疫化が、ハムスターにおいてウイルス感染に影響を与えるか否かを評価するために、肺試料および鼻試料からのウイルスサブゲノムｍＲＮＡ（ｓｇＲＮＡ）をＲＴ－ＰＣＲによって測定した。群の半分からの肺試料および鼻試料（ｎ＝４）を、４ＤＰＩまたは７ＤＰＩのどちらかにおいて採取し、総ＲＮＡを、ＲＴ－ＰＣＲによるｓｇＲＮＡの検出のために処理した（図１５ｄ）。４ＤＰＩまたは７ＤＰＩにおいて採取した肺試料の場合、偽ワクチン接種した群は、それぞれ組織１グラム当たり約１０８および１０５コピーをもたらしたが、その一方で、１３．５μｇの２回用量レジメンを受けた動物は、両方の時点において検出レベル未満であった。１．５μｇおよび４．５μｇの２回用量レジメンを受けた動物からの肺試料は、４ＤＰＩにおいてウイルスｓｇＲＮＡコピーにおいておよそ３ｌｏｇの減少を有し、ならびに、７ＤＰＩでは検出レベル未満であった。１．５μｇ、４．５μｇ、および１３．５μｇの１回用量ワクチン接種を受けた動物からの肺試料の場合、４ＤＰＩでのウイルス負荷は、偽ワクチン接種を受けた群と異なっておらず、その一方で、７ＤＰでのウイルス負荷は、検出の閾値未満であった。とりわけ、０．１５μｇの１回用量または２回用量レジメンを受けた動物からの肺試料は、４ＤＰＩまたは７ＤＰＩのどちらかにおいて、偽ワクチン接種した群と比較して同じかまたはさらに高いウイルス負荷を有した。しかしながら、ウイルス負荷（ｓｇＲＮＡ）は、４ＤＰＩにおいて全ての群の間でより多様であり、１つまたは２つの動物試験は、ほとんどの群において陰性であった。７ＤＰＩでの鼻試料においてウイルスｓｇＲＮＡのクリアランスを達成した唯一の群が、１３．５μｇの２回用量ワクチン接種群であった。

【０４４８】

この実施例は、実施例５において調製した免疫原性組成物は、ＣＯＶＩＤ－１９の動物モデルにおいて、肺のウイルス感染を減少させることができ、ならびに、肺の病理を防ぐことができることを実証している。実施例５において調製した免疫原性組成物による免疫化は、上部気道からのウイルス排出の短縮された所要時間およびより低い負荷により、伝播に対して影響を有し得る。

【０４４９】

実施例１３．ｍＲＮＡカプセル化脂質ナノ粒子の調製

フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように、天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質と比べて改変されており、ならびに、Ｌ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２，ΔＡ２４３，ΔＬ２４４，Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ変異（南アフリカバリアント２＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、全長ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡを、インビトロにおいて合成した。当該ｍＲＮＡを、ＲＮＡポリメラーゼプロモータ配列に作動可能に連結された配列番号１６６の配列を含む鋳型プラスミドを使用して調製した。

【０４５０】

未改変のヌクレオチドの鋳型依存性ＲＮＡ合成は、配列番号１７３の最適化された核酸配列を含む配列番号１７２の核酸配列を有するポリヌクレオチドをもたらした。多段工程である酵素触媒プロセスにおいて、最終ｍＲＮＡ生成物を合成し、それを精製して、酵素

試薬および時期尚早に中止された合成生成物（ショートマー）を除去した。
【０４５１】
最終ｍＲＮＡは、表４のｍＲＮＡ構築物２に示された構造エレメントを有した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質コード配列は、それぞれ１４０および１０５のヌクレオチドの５’および３’非翻訳領域（ＵＴＲ）によって隣接される。当該ｍＲＮＡは、それ自身が２’Ｏリボースメチル化によって修飾される、５’ＵＴＲの第１のヌクレオシドに逆５’５’三リン酸架橋（ｔｒｉｐｈｏｓｐｈａｔｅ　ｂｒｉｄｇｅ）を介して連結される７メチルグアノシン（ｍ７Ｇ）残基からなる５’キャップ構造も含む。５’キャップは、リボゾームによる翻訳の開始のために必須である。直線構造全体は、およそ１００から５００のアデノシンヌクレオシド（ポリＡ）の広がりによって３’末端において終わる。ポリＡ領域は、ｍＲＮＡに安定性を付与し、翻訳を増強すると考えられる。これらの構造エレメントの全ては、天然に存在する成分であり、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクｍＲＮＡの効率的な翻訳にとって必要である。
【０４５２】
精製したｍＲＮＡを、４０％のｃＫＫ－Ｅ１０、３０％のＤＯＰＥ、２８．５％のコレステロール、および１．５％の　ＤＭＧ－ＰＥＧ－２Ｋ（モル比）を含む脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）に封入した。最終的なｍＲＮＡ－ＬＮＰ製剤は、水性懸濁液であった。
【０４５３】
実施例１４．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアント株に対して効果的な中和抗体応答
この実施例は、実施例５のＬＮＰ製剤の２回用量によって前に免疫化された非ヒト霊長類（ＮＨＰ）が、オリジナルの武漢株に由来するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質ならびに南アフリカ、日本／ブラジル、およびカルフォルニアにおいて得られるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の天然に存在するバリアント、および、フューリン切断部位を除去し、残基９８６および９８７をプロリンに変異させるように天然に存在するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質と比べて改変されており、南アフリカバリアントのＬ１８Ｆ、Ｄ８０Ａ、Ｄ２１５Ｇ、ΔＬ２４２、ΔＡ２４３、ΔＬ２４４、Ｋ４１７Ｎ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｄ６１４Ｇ、およびＡ７０１Ｖ変異（南アフリカバリアント２＋Ｄ６１４Ｇ）を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質をコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むＬＮＰカプセル化ｍＲＮＡの免疫原性組成物による曝露に応答してＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１に由来するＳタンパク質に対して効果的な中和抗体応答を実装することを実証している。当該免疫原性組成物を、実施例１３において説明されるように調製した。
【０４５４】
実施例５において説明されたｍＲＮＡワクチン（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質の融合前安定化武漢バリアントをコードする）によって誘導された、オリジナルの武漢株に対するオリジナルの抗原特異性に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化南アフリカ（ＳＡ）バリアントをコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡワクチンによる後続の免疫化によって打ち勝つことができるか否かを調査するために、非ヒト霊長類（ＮＨＰ）モデル（カニクイザル）を、単独で、または、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の異なる循環バリアントおよびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１に由来するＳタンパク質を標的にする広範な免疫応答を引き起こすために実施例５（武漢）のｍＲＮＡワクチンと組み合わせて、使用した。カニクイザル（ｎ＝４）を、実施例５において調製したＬＮＰ製剤のそれぞれ１５μｇ、４５μｇ、または１３５μｇのいずれかによって、３週間離して（０日目および２１日目）、２回免疫化した。３１５日目に、動物をランダム化し、２つの群に分配して、免疫化した。群１を、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の南アフリカバリアントに由来する変異を含む、実施例１３において説明されるｍＲＮＡワクチンによって免疫化した（ＳＡ単独）。群２を、実施例５からのオリジナルのｍＲＮＡワクチンと群１に与えたバリアントとを含む製剤によって免疫化した（武漢＋ＳＡ）。群１および群２の両方は、１０μｇの総ｍＲＮＡ用量を受けた。研究は、二価の免疫原性組成物（武漢＋ＳＡ）が、抗原応答を広げるために必要であるか否か、または、非武漢バリアントに由来するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質を含む一価の免疫原性組成物（ＳＡ単独）が、抗原応答を広げる

ために十分であるか否かを評価するように設計した。

【０４５５】

免疫化前およびブースト前動物からの血清試料（４日目、３０８日目）ならびに、１４日目、２１日目、２８日目、３５日目、４２日目、９０日目、３０８日目、および３２９日目に採取した試料を、武漢Ｓタンパク質発現疑似ウイルス（ＰｓＶ）中和アッセイにおいて試験した。３５日目、３０８日目、および３２９日目に採取した血清試料を、疑似ウイルス（ＰｓＶ）中和アッセイにおいて試験した。図１６に示されるように、試験したＰｓＶは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２株武漢、南アフリカ（ＳＡ　２０ＣおよびＳＡ　２０Ｈ）、日本／ブラジル（Ｊａｐ／Ｂｒａｚ）、またはカルフォルニアに由来するＳタンパク質、あるいはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１株に由来するＳタンパク質を発現した。血清試料を、媒質（ＦｌｕｏｒｏＢｒｉｔｅフェノールレッドフリーＤＭＥＭ＋１０％ＦＢＳ＋１０ｍＭＨＥＰＥＳ＋１％ＰＳ＋１％Ｇｌｕｔａｍａｘ）において希釈し、５６℃で３０分間、熱不活性化した。熱不活性化された血清の、さらに２倍の１１点段階希釈系列を、培地において実施した。希釈した血清試料を、レポーターウイルス粒子（ＲＶＰ）－ＧＦＰ（Ｉｎｔｅｇｒａｌ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ）と混合し、ウェル当たり約３００の感染性粒子を含むように希釈して、３７℃で１時間インキュベートした。７５μＬ体積の約５０％コンフルエント２９３Ｔ－ｈｓＡＣＥ２クローン細胞の９６ウェルプレートを、シングルトンにおける５０μＬの血清＋ＲＶＰ混合物を播種して、３７℃で７２時間インキュベートした。インキュベーションの終了時に、プレートをハイコンテントイメージャーにおいてスキャンし、、個々のＧＦＰ発現細胞をカウントした。抑制的希釈力価（ＩＤ５０）が、試験においてウイルスプラークの数を５０％減らす希釈の逆数として報告された。各試験試料のＩＤ５０を、５０％中和点未満のプラーク数の最後の希釈と５０％中和点を超えるプラーク数の最初の希釈とを使用して傾きおよび切片を算出することによって補間した（ＩＤ５０力価＝（５０％中和点－切片）／傾き）。結果は図１７にまとめられる。

【０４５６】

図１７からわかるように、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合安定化南アフリカバリアントをコードする最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡワクチンによるＮＨＰブースター免疫化の両方の群において、オリジナルの２用量のプライム－ブースト免疫化後の約９か月により、結果として、オリジナルの武漢株のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質を発現した武漢ＰｓＶに対する高い中和効力を生じた。これらのデータは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ　２　Ｓタンパク質の南アフリカバリアントをコードするｍＲＮＡワクチンへの曝露が、オリジナルのｍＲＮＡワクチンによってコードされるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質に対する中和抗体応答をブーストすることを示唆している。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化南アフリカバリアントをコードするｍＲＮＡワクチンと武漢株に由来する融合前安定化Ｓタンパク質をコードするオリジナルのｍＲＮＡとの混合物への曝露は、オリジナルの武漢株のＳタンパク質に対する中和抗体応答のブーストにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化南アフリカバリアントをコードするｍＲＮＡワクチンのみへの曝露より効果的ではない。

【０４５７】

興味深いことに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化南アフリカバリアントをコードするｍＲＮＡワクチンによる免疫化は、結果として、南アフリカにおいて観察されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の天然に存在するバリアントおよび日本／ブラジルおよびカルフォルニアで観察されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の天然に存在するバリアントを発現する、全ての他の試験したＰｓＶに対する高い中和効力も生じた。驚くべきことに、抗原応答は非常に広いため、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１のＳタンパク質を発現するＰｓＶは、ＮＨＰ試験血清によっても効果的に中和された。これは予期されないことであり、というのも、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１のＳタンパク質は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２武漢のＳタンパク質と７６％しか同一でないためである。

【０４５８】

図１７からわかるように、ほとんどの場合、中和抗体応答は、オリジナルの武漢株に由

来するＳタンパク質に対してと同程度にバリアントＳタンパク質に対して効果的であった。その上、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化南アフリカバリアントをコードするｍＲＮＡワクチンによる免疫化後に観察される中和抗体応答の大きさは、実施例５のｍＲＮＡワクチンによるオリジナルのプライム－ブースト免疫化に応答して３５日目に誘導された中和抗体応答と同じかそれ以上であった。

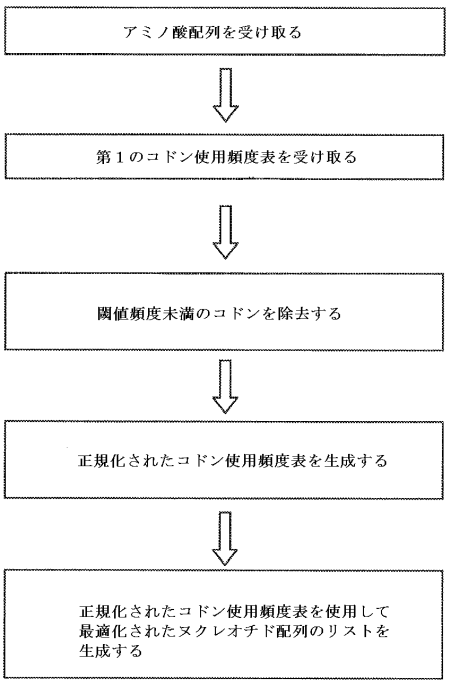
【０４５９】

これらのデータは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２武漢のＳタンパク質に対する中和抗体を生じさせるワクチンによって以前に免疫化され、続いて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の融合前安定化南アフリカバリアントをコードする本発明の最適化されたヌクレオチド配列を含むｍＲＮＡワクチンを投与された対象が、様々なＳタンパク質バリアントに対して効果的な広範な中和抗体応答を実装することができることを実証しており、したがって、オリジナルのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２武漢株の天然に存在するバリアント、ならびに他のβコロナウイルス、特に、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）に結合するスパイクタンパク質を発現するもの、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１など、によって引き起こされるＣＯＶＩＤ－１９感染に対して効果的に保護されるはずである。

【図面】

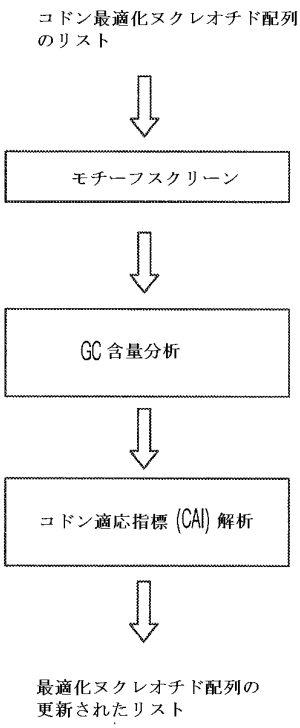
【図１Ａ】

図 1A



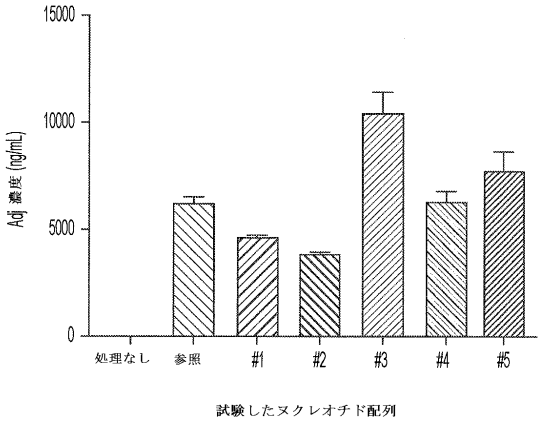
【図１Ｂ】

図 1B



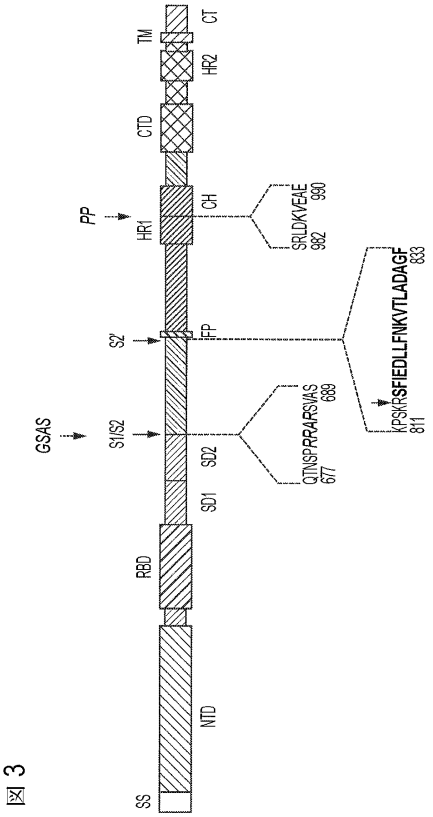
【図２】

図２



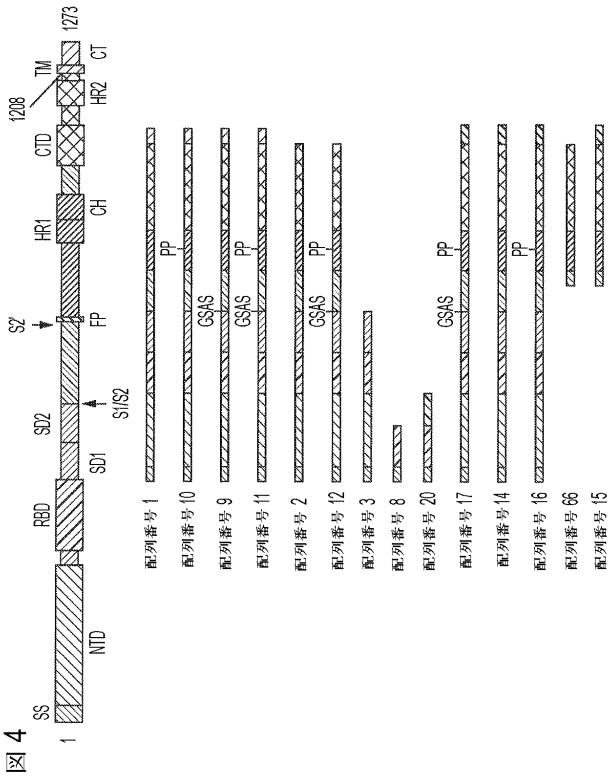
【図３】

図３



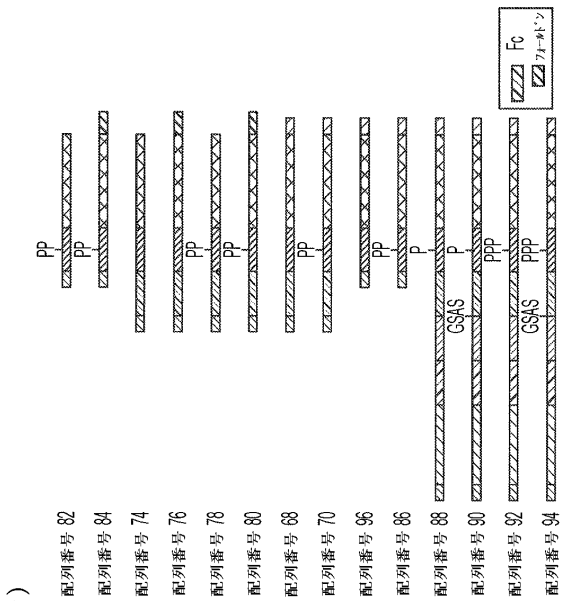
【図４－１】

図４



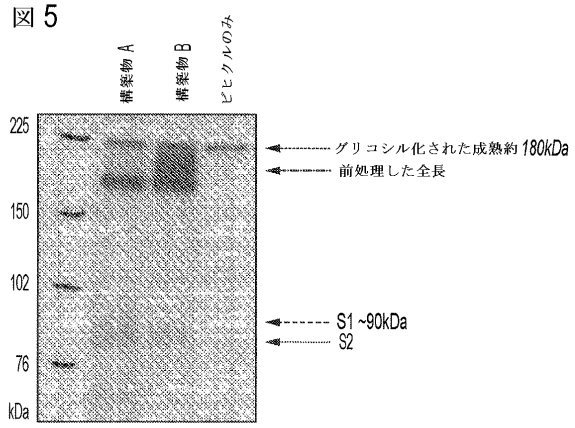
【図４－２】

図４（続き）



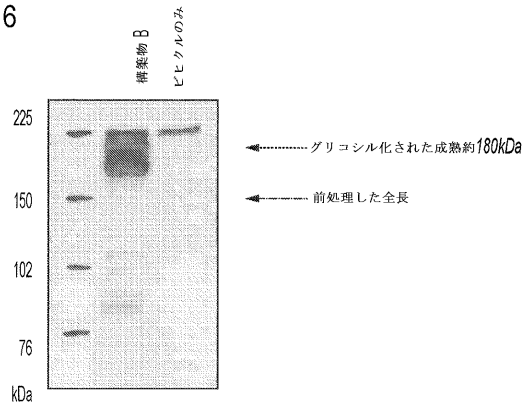
【図５】

図５



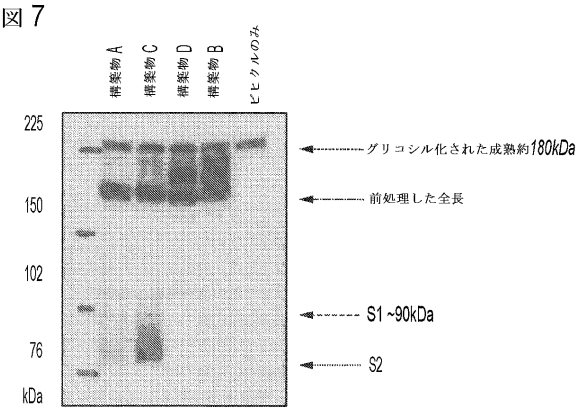
【図６】

図６



【図７】

図７



【図８】

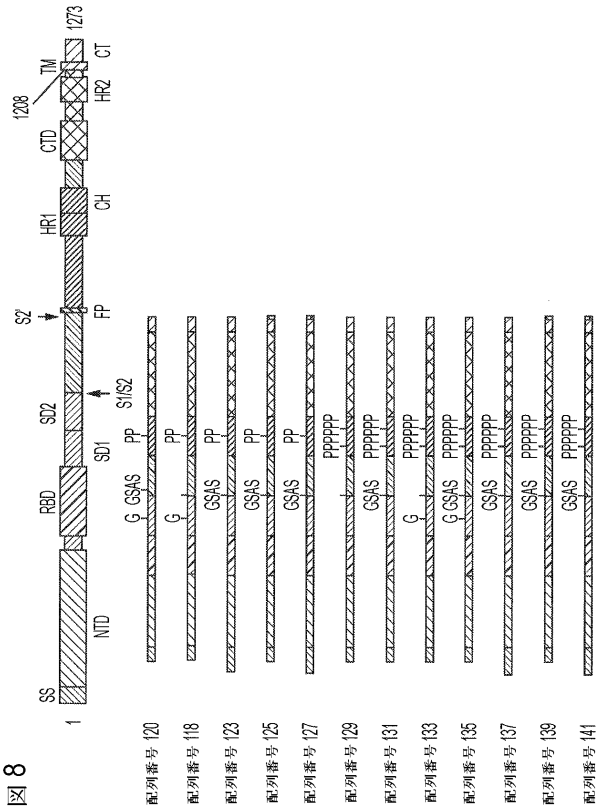


図８

【図９－１】

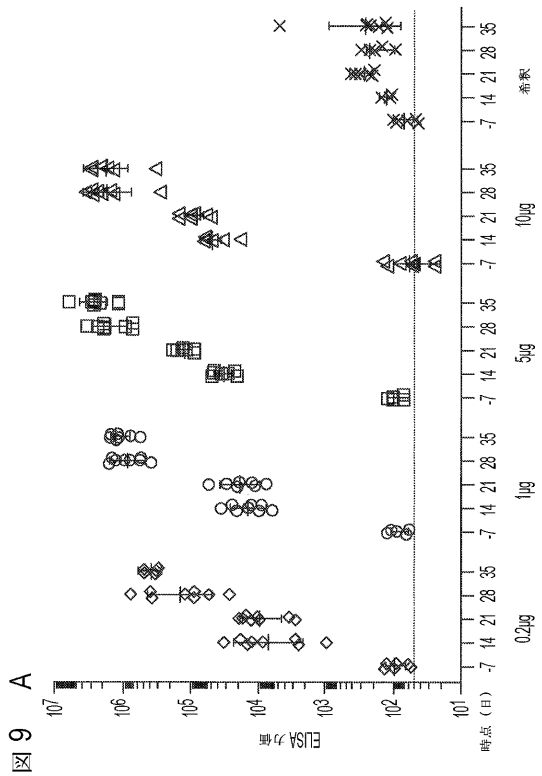


図９

【図９－２】

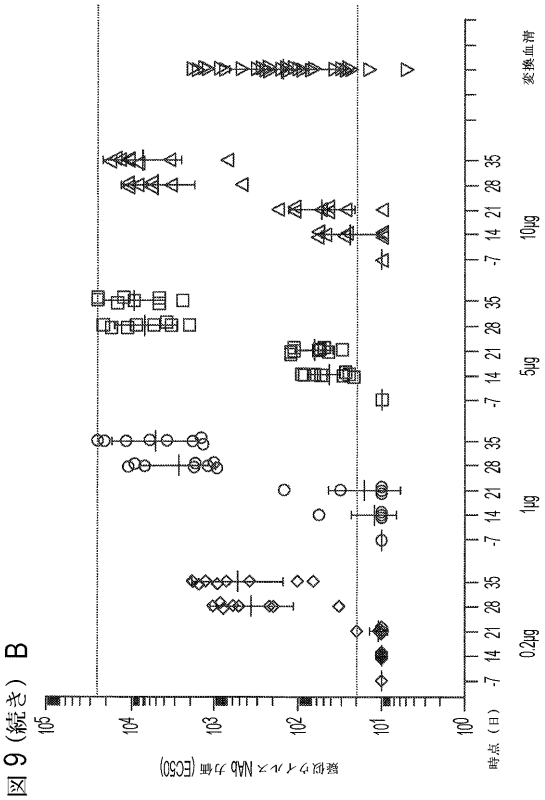
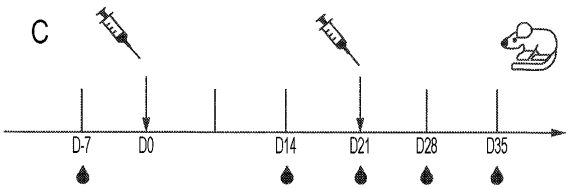


図９（続き）

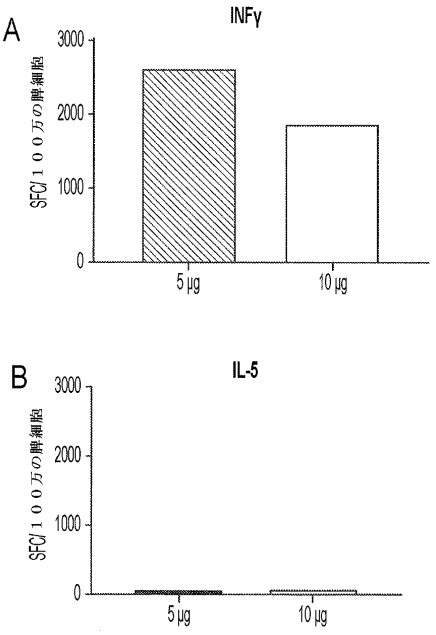
【図９－３】

図９（続き）



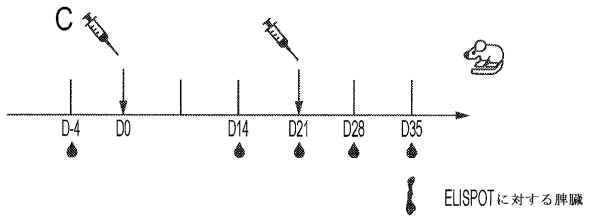
【図１０－１】

図10



【図１０－２】

図 10（続き）



【図１１－１】

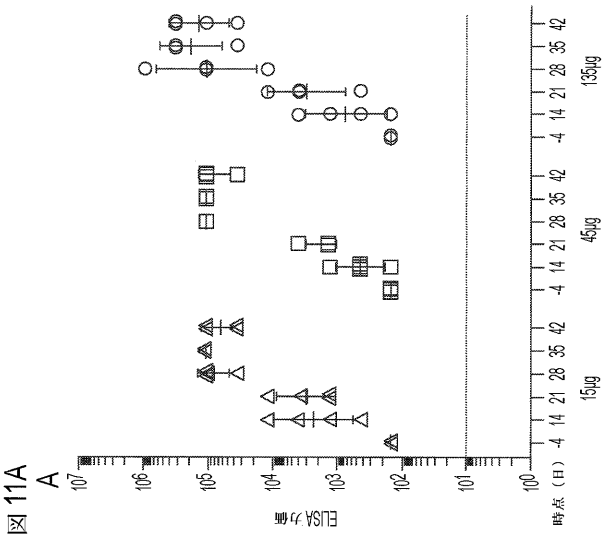


図 11A

【図１１－２】

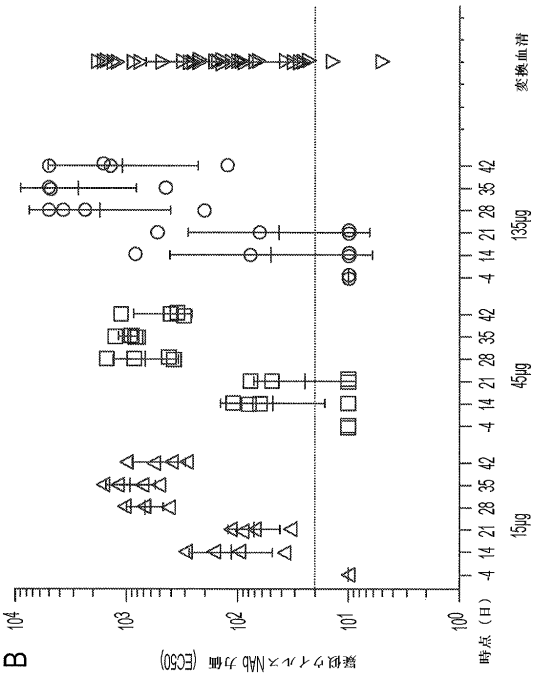


図 11（続き）

【図１１－３】

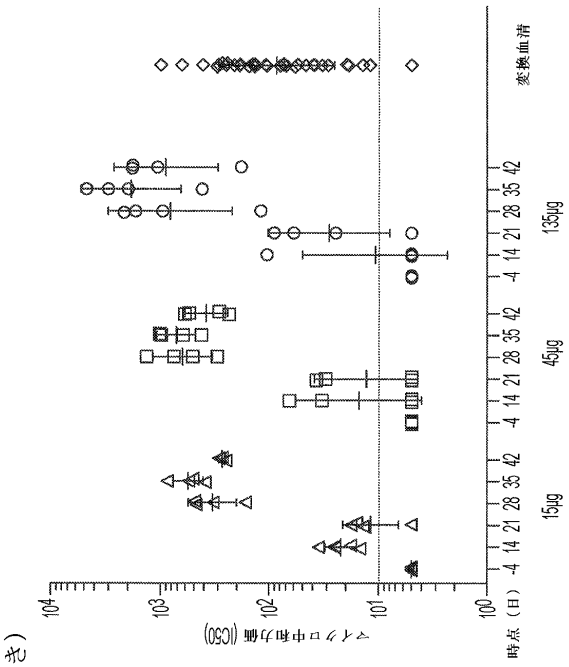


図 11（続き）

【図１１－４】

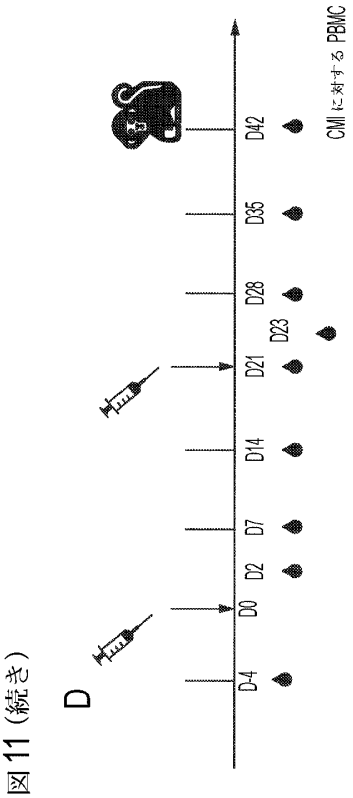
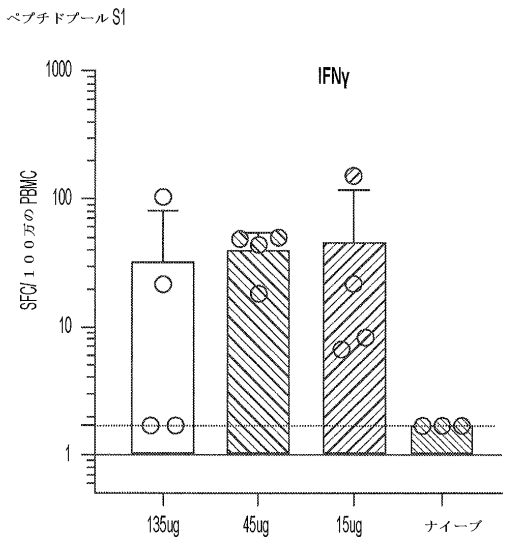


図11（続き）

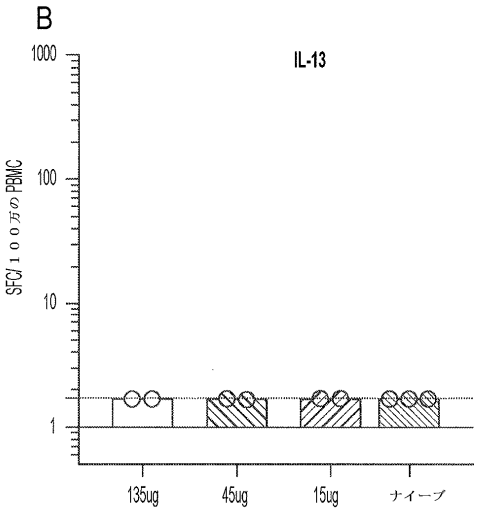
【図１２－１】

図12



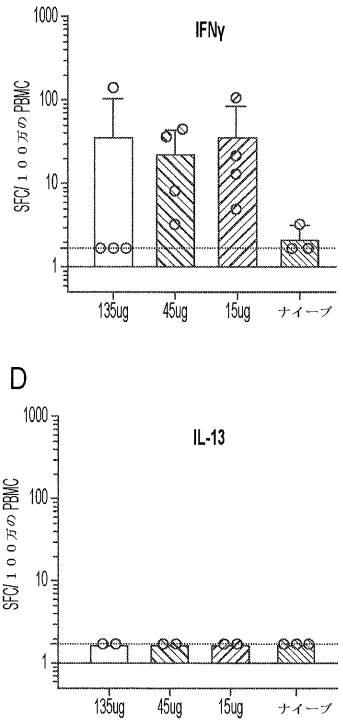
【図１２－２】

図12（続き）



【図１２－３】

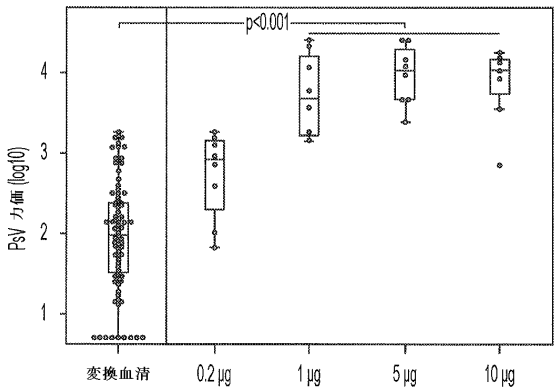
図12（続き）



【図１３－１】

図 13

A



【図１３－２】

図 13（続き）

B

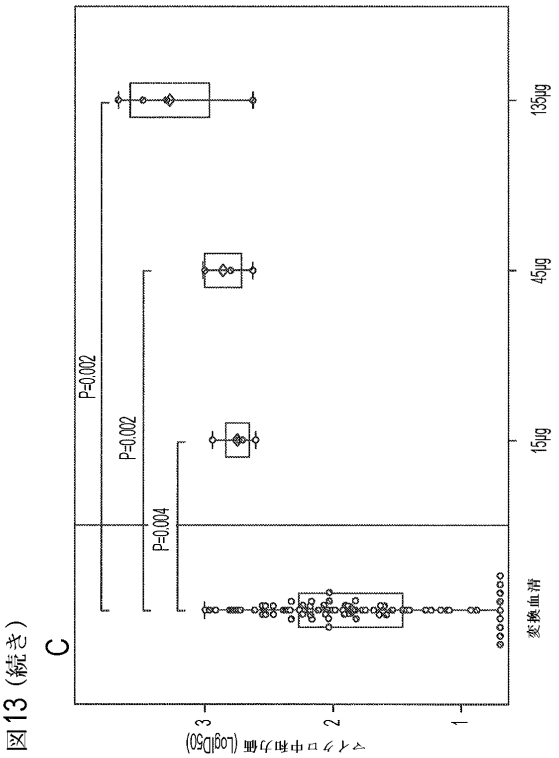
用量	N	スピアマン相関係数*		
		IgG/MN	IgG/PsV	MN/PsV
15 µg	4	0.94 (± 0.01)	0.95 (± 0.02)	0.95 (± 0.02)
45 µg	4	0.88 (± 0.02)	0.90 (± 0.02)	0.92 (± 0.03)
135 µg	4	0.93 (± 0.03)	0.88 (± 0.03)	0.91 (± 0.02)
合計	12	0.92 (± 0.01)	0.91 (± 0.02)	0.93 (± 0.01)

*平均（± 標準誤差）

【図１３－３】

図 13（続き）

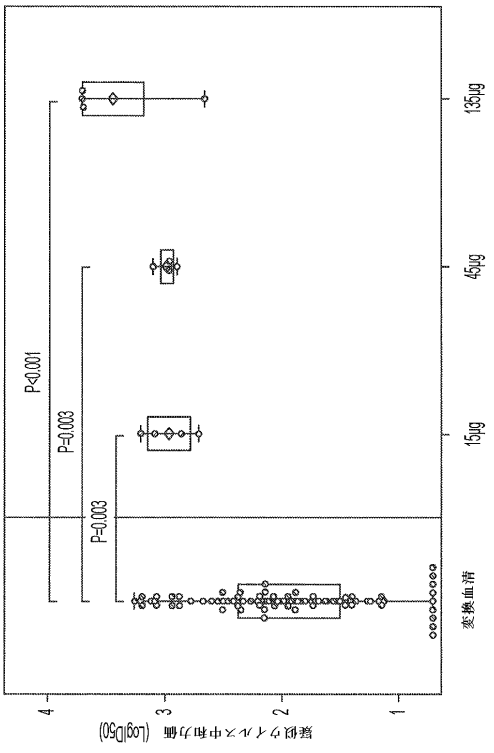
C



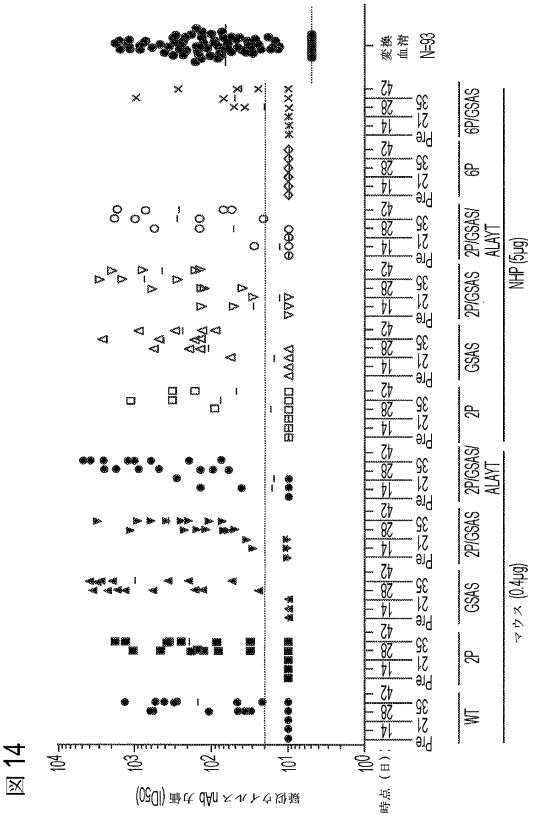
【図１３－４】

図 13（続き）

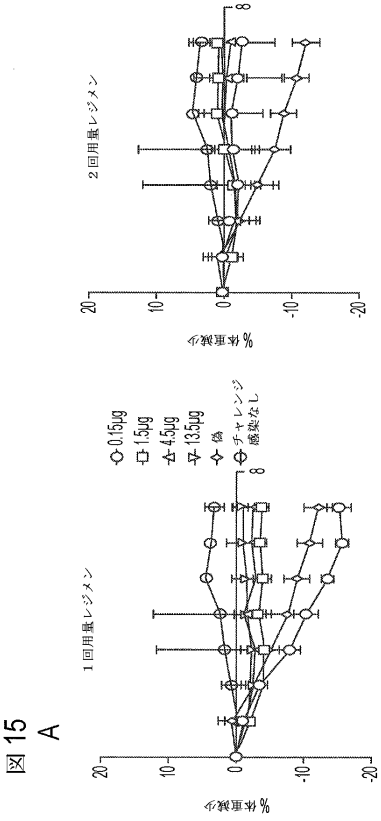
D



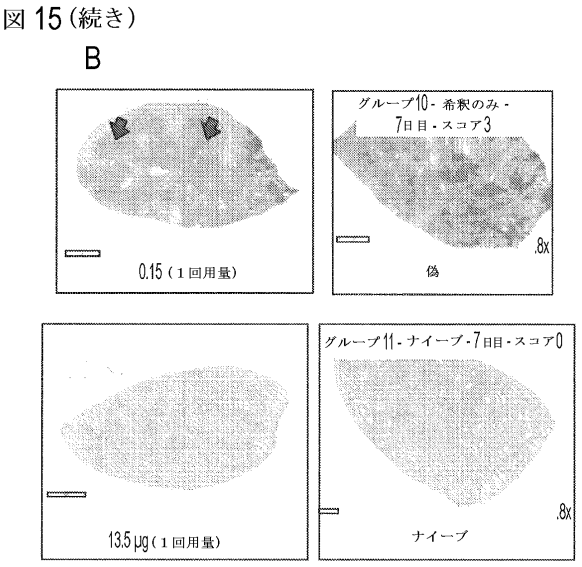
【図１４】



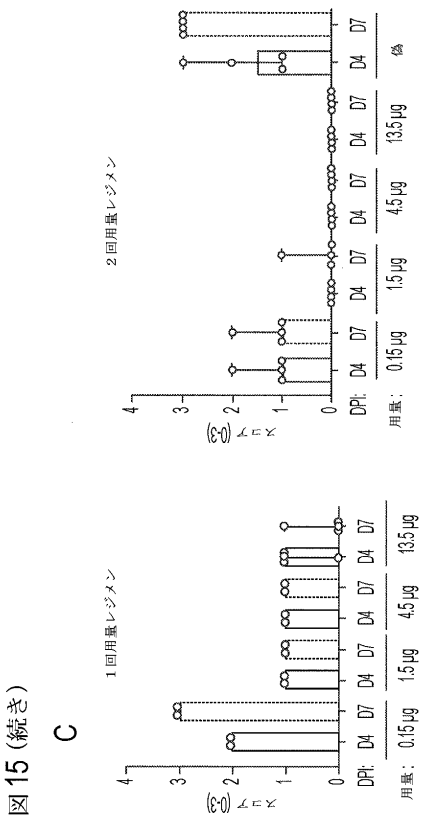
【図１５－１】



【図１５－２】



【図１５－３】



【図１５－４】

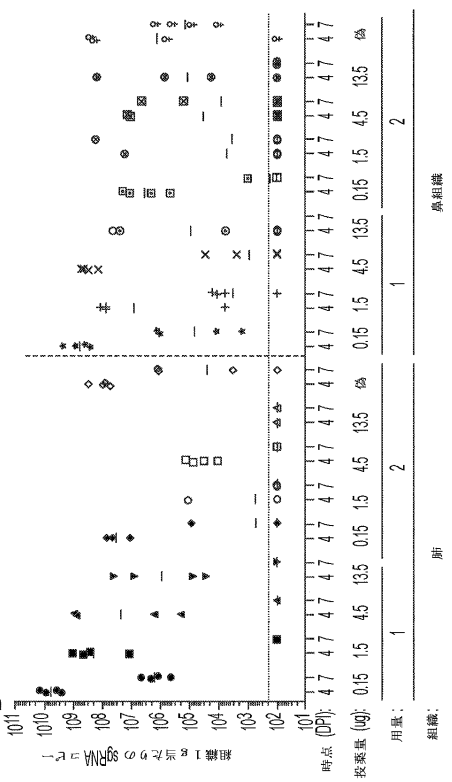


図15（続き）

【図１６】

図16

株		武漢と比較した変異	D614G	GenBank	カタログ番号	ロット
WIV04	武漢－胡-1	NA	なし	QHD43416.1	RVP-701G	113A
B.1.351	南アフリカ (20/501Y.V2)	L18F, D80A, D215G, L242H, R246I, K417N, N501Y, E484K, A701V	あり	Tegally ら 2020	RVP-707G	CG-136A
B.1.351	南アフリカ (20H/501Y.V2)	L18F, D80A, D215G, ΔLL242/A243, R246I, K417N, N501Y, E484K, A701V	あり	Tegally ら 2020	RVP-714G	CG-162A
P.1	日本／ブラジル	L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, V1176	あり	QQX12069.1	RVP-708	CG-160A
452R	カルフォルニア	S13I, W152C, L452R	あり	QPJ72086.1	RVP-713	CG-161A
B.1.1.7	UK (VUI202012/01)	ΔH69/V70, ΔY144, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H	あり	QOH18545.1	RVP-706G	CG-135A
Urbani	SARS-CoV1	NA	NA	P59594.1	RVP-801G	SG-115B

【図１７】

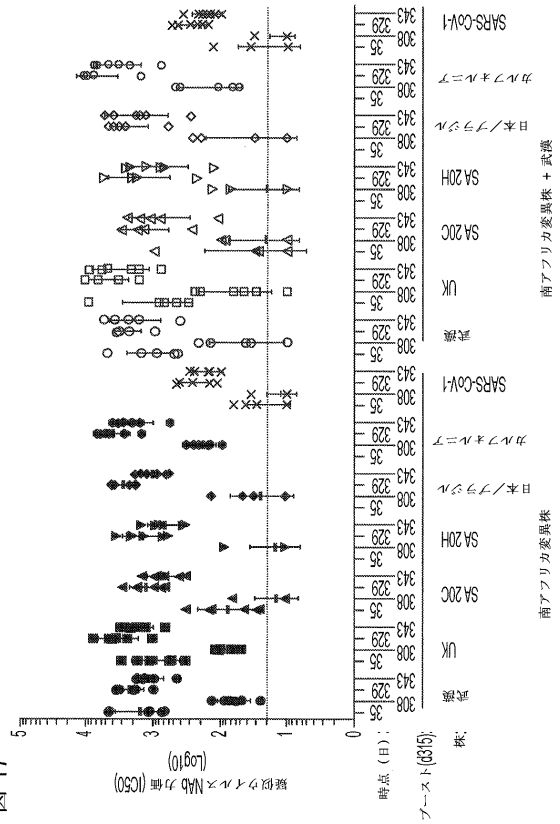


図17

【配列表】
20235247670000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/031256

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/215 A61P31/14 C07K16/10 C07K14/08
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P C07K

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, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GASPAR P ET AL: "EuGene: maximizing synthetic gene design for heterologous expression", BIOINFORMATICS (OXFORD),, vol. 28, no. 20, 1 October 2012 (2012-10-01), pages 2683-2684, XP002776591, DOI: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTS465 the whole document ----- -/--	1-108

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 August 2021	25/08/2021

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Scheffzyk, Irmgard

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/031256

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	STEPHAN FATH ET AL: "Multiparameter RNA and Codon Optimization: A Standardized Tool to Assess and Enhance Autologous Mammalian Gene Expression", PLOS ONE, vol. 6, no. 3, 3 March 2011 (2011-03-03), pages 1-14, XP055531212, DOI: 10.1371/journal.pone.0017596 the whole document	1-108
Y	CN 110 951 756 A (GUANGZHOU NBIOMED MEDICINE TECH CO LTD) 3 April 2020 (2020-04-03) figures 1,2; sequence 1	1-108
A	WO 2018/236849 A1 (TRANSLATE BIO INC [US]) 27 December 2018 (2018-12-27) sequences 6,7	36,37
X	HODGSON JOHN: "The pandemic pipeline", NATURE BIOTECHNOLOGY, GALE GROUP INC, NEW YORK, vol. 38, no. 5, 20 March 2020 (2020-03-20) , pages 523-532, XP037154993, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/D41587-020-00005-Z [retrieved on 2020-03-20] page 523; table 2	1-108
Y	WO 2018/081318 A1 (US HEALTH [US]; DARTMOUTH COLLEGE [US]; SCRIPPS RESEARCH INST [US]) 3 May 2018 (2018-05-03) example 1	1-108
A	JACKSON NICHOLAS A. C. ET AL: "The promise of mRNA vaccines: a biotech and industrial perspective", NPJ VACCINES, vol. 5, no. 1, 4 February 2020 (2020-02-04), XP55824497, DOI: 10.1038/s41541-020-0159-8 Retrieved from the Internet: URL:https://www.nature.com/articles/s41541-020-0159-8.pdf> the whole document	1-108
A	"The species: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2", NATURE MICROBIOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP UK, LONDON, vol. 5, no. 4, 2 March 2020 (2020-03-02), pages 536-544, XP037075574, DOI: 10.1038/S41564-020-0695-Z [retrieved on 2020-03-02] the whole document	1-108

-/--

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/031256

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Wrapp Daniel ET AL: "Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation", Science (American Association for the Advancement of Science), 15 February 2020 (2020-02-15), XP55806635, United States DOI: 10.1101/2020.02.11.944462 Retrieved from the Internet: URL:https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.11.944462v1.full.pdf [retrieved on 2021-05-21] cited in the application section "Materials and Methods"	1-108
Y	WO 2015/061461 A1 (SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES [US]) 30 April 2015 (2015-04-30) claims 6-10,17	20-26, 41-43, 70-72, 94-96
X	Rahman M. Shaminur ET AL: "Epitope-based chimeric peptide vaccine design against S, M and E proteins of SARS-CoV-2 2 etiologic agent of global pandemic COVID-19: an in silico approach", bioRxiv, 31 March 2020 (2020-03-31), XP055817723, DOI: 10.1101/2020.03.30.015164 Retrieved from the Internet: URL:https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.30.015164v1.full.pdf [retrieved on 2021-06-24] the whole document page 16	1-108
Y	CN 110 974 950 A (GUANGZHOU NBIOMED PHARMACEUTICAL TECH CO LTD) 10 April 2020 (2020-04-10) figures 1,2; sequence 1	1-108

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/031256

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. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] 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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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/US2021/031256

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN 110951756 A	03-04-2020	NONE	
WO 2018236849 A1	27-12-2018	EP 3641834 A1	29-04-2020
		US 2018369413 A1	27-12-2018
		US 2021187122 A1	24-06-2021
		WO 2018236849 A1	27-12-2018
WO 2018081318 A1	03-05-2018	EP 3532095 A1	04-09-2019
		US 2020061185 A1	27-02-2020
		WO 2018081318 A1	03-05-2018
WO 2015061461 A1	30-04-2015	AU 2014340149 A1	12-05-2016
		AU 2021201220 A1	11-03-2021
		CA 2928040 A1	30-04-2015
		CN 105658800 A	08-06-2016
		EA 201690588 A1	30-09-2016
		EP 3060671 A1	31-08-2016
		JP 6893785 B2	23-06-2021
		JP 2016539916 A	22-12-2016
		JP 2019065047 A	25-04-2019
		JP 2021073313 A	13-05-2021
		US 2015110857 A1	23-04-2015
		US 2018028445 A1	01-02-2018
		US 2021196633 A1	01-07-2021
		WO 2015061461 A1	30-04-2015
CN 110974950 A	10-04-2020	NONE	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*9/51 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/51	
Ａ６１Ｋ	*47/18 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/18	
Ａ６１Ｋ	*47/24 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/24	
Ａ６１Ｋ	*47/28 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/28	
Ａ６１Ｋ	*47/10 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/10	
Ｃ０７Ｋ	*14/165 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/165	

(32)優先日　令和2年9月10日(2020.9.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/032,825
(32)優先日　令和2年6月1日(2020.6.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/143,604
(32)優先日　令和3年1月29日(2021.1.29)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/088,739
(32)優先日　令和2年10月7日(2020.10.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/143,612
(32)優先日　令和3年1月29日(2021.1.29)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/146,807
(32)優先日　令和3年2月8日(2021.2.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,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．ＴＷＥＥＮ

(72)発明者　クーアン・アイン・トラン
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
(72)発明者　ミニー・ザチャリア
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
(72)発明者　シャオポー・グゥー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９

．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
(72)発明者　リアン・ベーグリン
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９
．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
(72)発明者　ジョセフ・エー・スカレスキー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９
．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
(72)発明者　シュリラン・カルヴ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９
．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
(72)発明者　フランク・デロサ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９
．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド
(72)発明者　トン－ミン・フー
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１８３７０．スウィフトウォーター．ディスカヴァリー・ドライ
ヴ１．サノフィ・パスツール，インコーポレイテッド
(72)発明者　キリル・カルニン
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１８３７０．スウィフトウォーター．ディスカヴァリー・ドライ
ヴ１．サノフィ・パスツール，インコーポレイテッド
(72)発明者　サッダ・チブクラ
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１８３７０．スウィフトウォーター．ディスカヴァリー・ドライ
ヴ１．サノフィ・パスツール，インコーポレイテッド
(72)発明者　ティモシー・プリトニク
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１８３７０．スウィフトウォーター．ディスカヴァリー・ドライ
ヴ１．サノフィ・パスツール，インコーポレイテッド
(72)発明者　ダニロ・カシミロ
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１８３７０．スウィフトウォーター．ディスカヴァリー・ドライ
ヴ１．サノフィ・パスツール，インコーポレイテッド
(72)発明者　ジェフリー・エス・ドゥビンズ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４２１．レキシントン．ハートウェル・アヴェニュー２９
．トランスレイト・バイオ・インコーポレイテッド

Ｆターム（参考）　4C076　AA65 BB15 CC06 CC35 DD49A DD63A DD70A EE23A
4C085　AA03 BA71 BB11 CC08 DD62 GG03
4C086　AA01 AA02 EA16 MA03 MA05 MA55 MA66 NA14 ZB33
4H045　AA10 AA30 BA09 CA01 DA86 EA20 FA74