



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0058434
(43) 공개일자 2023년05월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/10 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/10 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7009720
- (22) 출원일자(국제) 2021년08월26일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년03월21일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2021/047757
- (87) 국제공개번호 WO 2022/047033
국제공개일자 2022년03월03일
- (30) 우선권주장
63/070,707 2020년08월26일 미국(US)

- (71) 출원인
플래그쉽 파이어니어링 이노베이션스 브이아이,
엘엘씨
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 55 캠브리지
파크웨이 8 플로어
- (72) 발명자
그리고리안, 게보그
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 55 캠브리지
파크웨이 8 플로어
- 인그라함, 존
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 55 캠브리지
파크웨이 8 플로어
- (74) 대리인
특허법인 광장리앤코

전체 청구항 수 : 총 68 항

(54) 발명의 명칭 SARS-CoV-2를 표적으로 하는 항원 결합 분자

(57) 요약

본 발명은, 다양한 실시형태에서, 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스의 스파이크 당단백질(예를 들어, SARS-CoV-2-Spike)에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드(예를 들어, 낙타 항체 및 이의 항원 결합 단편)를 제공한다. 본 발명은 또한, 다양한 실시형태에서, 상기 폴리펩티드 중 하나 이상을 포함하는 융합 단백질, 상기 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 상기 폴리펩티드를 발현하는 데 적합한 벡터 및 숙주 세포, 및 바이러스 감염(예를 들어, COVID-19)의 치료 방법을 제공한다.

대표도 - 도1

```

***** **
NLCFGEVFNATKFFSVYAWERKKISNCVADYSVLYNSTEFTFKCYGVSATKLNLDLCSNVYADSFVVKGDYRQTAPQGTGVIA
**
DYNKLPDDEFMGCVLAWTEFNIDATSTGWYKRYLRHGKLRPFPERDISNVFFSPDGRCTPFALNCTWPLNDIGFYTTTGIGVQ
*
FXRVVVLSEFGSLEVLFQ (서열번호 21)

```

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/22 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/30 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/569 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2 스파이크 당단백질(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 Spike glycoprotein: SARS-CoV-2-Spike)에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드로서,

- a) 서열번호 4; 또는
- b) 서열번호 5

로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 항체의 파라토프와 동일한 파라토프를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 3

중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2 스파이크 당단백질(SARS-CoV-2-Spike)에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드로서, 각각 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3)과 동일한 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(V_H) 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 4

제3항에 있어서,

- a) 서열번호 4; 또는
- b) 서열번호 5

를 포함하는 단일-도메인 항체의 파라토프와 동일한 파라토프를 더 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 5

중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2 스파이크 당단백질(SARS-CoV-2-Spike)에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드로서, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(V_H)을 포함하되,

- a) X_1 은 T가 아니거나;
- b) X_2 는 V가 아니거나;
- c) X_3 은 V가 아니거나,

또는 이들의 임의의 조합인, 폴리펩티드.

청구항 6

제5항에 있어서,

- a) X_1 은 T 또는 V이거나;
- b) X_2 는 V 또는 H이거나;
- a) X_3 은 V 또는 L이거나,

또는 이들의 임의의 조합인, 폴리펩티드.

청구항 7

제6항에 있어서,

- a) X_1 은 V이거나;
- b) X_2 는 H이거나;
- c) X_3 은 L이거나,

또는 이들의 임의의 조합인, 폴리펩티드.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 V_H 는 각각 서열번호 4 또는 서열번호 5의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3)과 아미노산 서열이 동일한 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 V_H 는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이들의 조합과 적어도 85% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 V_H 는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이들의 조합에 비해서 약 1~10개의 아미노산 치환을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 아미노산 치환은 보존적 치환인, 폴리펩티드.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 아미노산 치환은 고도의 보존적 치환인, 폴리펩티드.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 V_H 는 인간 프레임워크 영역을 함유하는, 폴리펩티드.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 단일-도메인 항체 또는 이의 항원-결합 단편인, 폴리펩티드.

청구항 15

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 중쇄 불변 도메인 서열을 더 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 도메인은 IgA 불변 도메인, IgD 불변 도메인, IgE 불변 도메인, IgG 불변 도메인 및 IgM 불변 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 도메인은 IgG1 중쇄 불변 도메인인, 폴리펩티드.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드에 연결된, 폴리펩티드.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 제2 폴리펩티드는 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 제2 폴리펩티드는,

- a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 단일-도메인 항체의 파라토프와 동일한 파라토프;
 - b) 각각 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 단일-도메인 항체의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3과 동일한 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 V_H ;
 - c) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 V_H ; 또는
 - d) 서열번호 3의 아미노산 서열에 비해서 약 1 내지 10개의 아미노산 치환을 포함하는 V_H ,
- 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 21

제18항에 있어서,

- a) 상기 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩티드는 서열번호 3, 4 또는 5의 아미노산 서열을 포함하거나;
- b) 상기 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩티드는 서열번호 3, 4 또는 5의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 22

제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드 및 상기 제2 폴리펩티드는 링커를 통해서 서로에 연결된, 폴리펩티드.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 링커는 이황화물 결합인, 폴리펩티드.

청구항 24

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 면역글로불린 경쇄 가변 도메인(V_L)에 연결된, 폴리펩티드.

청구항 25

제18항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드, 상기 제2 폴리펩티드 또는 둘 다는 면역글로불린 경쇄 가변 도메인(V_L)을 포함하는 제3 폴리펩티드에 연결된, 폴리펩티드.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, 상기 제3 폴리펩티드는 항체 경쇄 불변 도메인 서열을 더 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 항체 경쇄 불변 도메인은 κ 불변 도메인 또는 λ 불변 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 이중 모이어티에 접합되는, 폴리펩티드.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 이중 모이어티는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합물인, 폴리펩티드.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 이중 모이어티는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 헥사데칸산, 히드로겔, 지질 나노입자, 중합체 나노입자 및 이중 폴리펩티드 서열 또는 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 중합체 나노입자는 폴리(락트-코-글리콜)산(PLGA)을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 32

제28항에 있어서, 상기 이중 폴리펩티드 서열은 담체 폴리펩티드를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 담체 폴리펩티드는 알부민 또는 Fc 폴리펩티드인, 폴리펩티드.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서,

- a) SARS-CoV-2에 10 μ M 이하의 K_D 로 결합하거나;
 - b) 앤지오텐신-전환 효소 2(ACE2)에 대한 SARS-CoV-2의 결합을 감소시키거나;
 - c) 인간 세포에서 SARS-CoV-2의 감염성을 감소시키거나,
- 또는 이들의 임의의 조합인, 폴리펩티드.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 SARS-CoV-2는 T19R, 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R 및 D950N을 포함하고, 선택적으로 G142D를 더 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 SARS-CoV-2에 100 nM 이하의 K_D 로 결합하는, 폴리펩티드.

청구항 37

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 ACE2에 대한 SARS-CoV-2의 결합을 적어도 약 30%만큼 감소시키는, 폴리펩티드.

청구항 38

제34항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ACE2는 영장류 ACE2인, 폴리펩티드.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 영장류 ACE2는 인간 ACE2(GeneID 59272; 예시적인 단백질 서열 NP_001358344.1)인, 폴리펩티드.

청구항 40

제38항에 있어서, 상기 영장류 ACE2는 침팬지 ACE2, 마카크 ACE2, 시노몰거스 ACE2 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 비-인간 영장류 ACE2인, 폴리펩티드.

청구항 41

제34항 또는 제35항에 있어서, 인간 세포에서 SARS-CoV-2의 감염성을 적어도 약 30%만큼 감소시키는, 폴리펩티드.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 43

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 폴리펩티드 또는 제42항의 융합 단백질을 암호화하는 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 44

제43항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 발현 벡터.

청구항 45

제43항의 폴리뉴클레오티드 또는 제44항의 발현 벡터를 포함하는, 숙주 세포.

청구항 46

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항의 폴리펩티드 또는 제42항의 융합 단백질을 포함하는, 조성물.

청구항 47

제46항에 있어서, 1종 이상의 약제학적 부형제, 희석제 또는 담체를 더 포함하는, 조성물.

청구항 48

치료를 필요로 하는 대상체의 치료 방법으로서, 유효량의 제46항 또는 제47항의 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 49

대상체에서 SARS-CoV-2-Spike와 세포 간의 융합을 저해하는 방법으로서, 상기 세포를 유효량의 제46항 또는 제47항의 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 상기 대상체는 COVID-19를 갖는, 방법.

청구항 51

제48항 또는 제49항에 있어서, 상기 대상체는 COVID-19의 발병 위험이 있는, 방법.

청구항 52

제48항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 인간인, 방법.

청구항 53

제48항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 심장병을 갖는, 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 심장병은 울혈성 심장병, 관상 동맥 질환, 고혈압성 심장병, 염증성 심장병, 폐성 심장병, 류마티스성 심장병, 판막성 심장병, 심장근육병증, 심부전 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 심부전은 울혈성 심부전인, 방법.

청구항 56

제54항에 있어서, 상기 염증성 심장병은 심내막염, 심장비대, 심근염 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 57

제48항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 당뇨병을 갖는, 방법.

청구항 58

제48항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 폐 질환을 갖는, 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 폐 질환은 급성 호흡 곤란 증후군, 천식, 기관지염, COPD, 폐기종, 폐 종양, 흉강 질환, 폐혈관 질환, 기도 감염 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 60

제59항에 있어서,

- a) 상기 기도 감염은 상기도 감염, 하기도 감염 또는 폐렴이거나;
- b) 상기 흉강 질환은 흉막 중피종 또는 긴장성 기흉이거나;
- c) 상기 폐혈관 질환은 색전증, 부종, 동맥성 고혈압 또는 출혈이거나;
- d) 이들의 조합인, 방법.

청구항 61

제48항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 담배 흡연자인, 방법.

청구항 62

제48항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 면역-손상된, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 대상체는 면역억제 요법 중인, 방법.

청구항 64

제48항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 40세 이상인, 방법.

청구항 65

제48항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 치료적 유효량의 추가적인 치료제를 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 추가적인 치료제는 항바이러스제, ACE2 저해제, 추가적인 SARS-CoV-2-Spike-결합 항체, 항생제, 항말라리아제, 백신 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 67

제66항에 있어서,

- a) 상기 추가적인 SARS-CoV-2-Spike-결합 항체는 밤라니비맵(bamlanivimab), 에테세비맵(etesevimab), 카시리비맵(casirivimab), 임데비맵(imdevimab) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되거나;
- b) 상기 항바이러스제는 오셀타미비어(oseltamivir)(타미플루(Tamiflu)), 파비피라비어(favipiravir), 아만타

딘(amantadine), 렘데시비어(remdesivir), 리만타딘(rimantadine), 플레코나릴(pleconaril), SARS-CoV-2에 대한 안티센스 RNA, SARS-CoV-2에 대한 siRNA 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되거나;

c) 상기 ACE2 저해제는 ACE2에 대한 RNAi, ACE2에 대한 siRNA, ACE2, 가용성 ACE2, 가용성 ACE2 변이체의 CRISPR-기반 저해제, 항-ACE2 항체 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되거나;

d) 상기 항생제는 아지트로마이신을 포함하거나;

e) 상기 항말라리아제는 클로로퀸을 포함하거나;

f) 상기 백신은 핵산 백신 또는 불활성화 바이러스 백신이거나; 또는

g) 이들의 조합인, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 백신은 mrna-1273, BNT162, INO-4800, AZD1222, Ad5-nCoV, PiCoVacc, NVX-CoV2373 또는 이들의 조합인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 미국 가출원 제63/070,707호(출원일: 2020년 8월 26일)의 이익을 주장한다. 상기 출원의 전체 교시는 본 명세서에 참조에 의해 포함된다.

[0003] ASCII 텍스트 파일의 자료의 참조에 의한 포함

[0004] 본 출원은 이와 동시에 제출되는 다음 ASCII 텍스트 파일에 포함된 서열 목록을 참조에 의해 포함한다:

[0005] a) 파일명: 5708_1029001_Sequence_Listing.txt; 작성일, 2021년 8월 26일, 크기, 33,014바이트.

배경 기술

[0006] 신종 코로나바이러스(novel coronavirus)인 SARS-코로나바이러스-2(SARS-CoV-2)는 중국 우한에서 처음으로 폐렴 사례 집단(COVID-19)을 초래하였다. 2020년 3월 1일 현재, 중국에서 79,968명의 환자가 COVID-19 양성 판정을 받았고, 2,873명이 사망하였는데, 이는 사망률 3.6%(95% CI 3.5~3.7)에 해당한다(Baud D. et al., *Lancet Infect Dis.* (2020)). 그러나, 이 수치는 유증상 환자에서 COVID-19의 잠재적 위협을 과소평가한 것일 수 있다(상기 문헌).

[0007] COVID-19는 전 세계적으로 빠르게 확산되어 팬데믹을 초래하였다. 2020년 4월 21일 세계보건기구(WHO)가 발표한 코로나바이러스 질환(COVID-2019) 상황 보고서에 따르면 확진자는 2,397,216명, 사망자는 162,956명이다. 이들 중, 지난 24시간 동안 83,006건의 새로운 사례 및 5,109건의 사망이 추가되었다. 검역(quarantine), 격리 및 감염-통제 조치는 질환 확산을 방지하고, 병에 걸린 사람들을 위한 지원 치료에 의존해 왔다(Baden and Rubin, *N Engl J Med.*, (2020)).

발명의 내용

[0008] COVID-19 환자를 치료할 뿐만 아니라 COVID-19의 전파를 예방하기 위한 특정 항바이러스 치료제를 개발하는 것이 매우 필요하다.

[0009] 본 명세서에 개시된 발명은 부분적으로 본 발명의 폴리펩티드가 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2의 스파이크 당단백질(Spike glycoprotein of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: SARS-CoV-2-Spike)에 특이적으로 결합한다는 발견에 기초한다. 따라서, 본 발명은 일반적으로 스파이크(예를 들어, SARS-CoV-2-Spike) 매개 바이러스가 세포에 진입하는 것을 감소시키는 데 유용한 조성물(예를 들어, 폴리펩티드, 약제학적 조성물) 및 방법에 관한 것이다.

[0010] 본 명세서에는 SARS-CoV-2-Spike에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드가 제공된다. 일 양상에서, 본 발명은 SARS-CoV-2-Spike에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드를 제공하고, 여기서 폴리펩티드는,

- [0011] a) 서열번호 4; 또는
- [0012] b) 서열번호 5로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 항체의 파라토프와 동일한 파라토프를 포함한다.
- [0013] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(V_H)을 포함한다.
- [0014] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SARS-CoV-2-Spike에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드를 제공하며, 여기서 폴리펩티드는 각각 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3)과 동일한 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(V_H) 아미노산 서열을 포함한다.
- [0015] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는,
- [0016] a) 서열번호 4; 또는
- [0017] b) 서열번호 5를 포함하는 단일 도메인 항체의 파라토프와 동일한 파라토프를 추가로 포함한다.
- [0018] 또 다른 양태에서, 본 발명은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하는 폴리펩티드를 제공하며, 여기서
- [0019] a) X_1 은 T가 아니거나;
- [0020] b) X_2 는 V가 아니거나;
- [0021] c) X_3 은 V가 아니거나,
- [0022] 또는 이들의 임의의 조합이다.
- [0023] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 단일-도메인 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0024] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드에 연결된다. 용어 "연결된"은 공유 또는 비공유 상호작용을 통해서 부착되는 것을 의미한다. 접합은 적합한 연결제를 사용할 수 있다. 비제한적인 예는 펩티드 링커, 화합물 링커 및 화학 가교제를 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 이황화물 결합이다.
- [0025] 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 융합 단백질이다.
- [0026] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 및 상기 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0027] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, SARS-CoV 감염, 예컨대, COVID-19를 갖는 대상체)의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 폴리펩티드 또는 본 명세서에 개시된 폴리펩티드를 포함하는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0028] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SARS-CoV-2-Spike와 세포(예를 들어, 대상체의 세포) 간의 융합을 저해하는 방법을 제공하며, 이 방법은 세포를 유효량의 본 명세서에 개시된 폴리펩티드를 포함하는 조성물 또는 본 명세서에 개시된 폴리펩티드를 포함하는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)과 접촉시키는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0029] 본 특허 또는 출원 파일은 컬러로 실행된 적어도 하나의 도면을 포함한다. 컬러 도면(들)이 포함된 본 특허 또는 특허 출원 간행물의 사본은 요청 및 필요한 수수료 지불 시 특허청에서 제공된다.
- 진술한 내용은 첨부 도면에 도시된 바와 같이 예시적인 실시형태의 다음의 보다 구체적인 설명으로부터 명백할 것이며, 동일한 참조 부호는 다른 관점에서 동일한 부분을 지칭한다. 도면은 반드시 축척에 맞춰진 것은 아니며, 대신 실시형태를 설명하는 데 중점을 둔다.
- 도 1은 SARS-Cov-1-Spike의 수용체 결합 도메인(receptor binding domain: RBD)의 아미노산 서열(서열번호 21)을 도시한다. 본 명세서에 개시된 참조 항체에 의해 결합된 에피토프 잔기는 별표로 표시된다.
- 도 2는 본 발명의 폴리펩티드에 유용한 중쇄 가변(V_H) 서열의 비제한적인 예의 정렬을 도시한다. 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 서열은 볼드체와 밑줄을 사용하여 표시된다. 파라토프 잔기는 흑색 "*"로 나타낸다. 추가의 가능

한 파라토프 잔기는 적색 "*"로 나타낸다. X_n (여기서, n은 1~3의 숫자)의 위치는 정렬의 하단에 해당 숫자로 표시된다. 또한 표 1의 V_H 공통(서열번호 2)을 참조한다. 참조 폴리펩티드(참조)의 서열 및 구조로부터의 정보를 사용하여 항체 서열을 컴퓨터로 생성시켰다. 파라토프 위치를 모체 구조에서 항원의 5옹스트롬 이내의 항체 잔기로 정의하였다.

도 3은 효모 표면 디스플레이를 사용하여 측정된, COV-2 RBD에 대한, 참조 VHH 분자(참조) 및 본 발명의 2개의 변이체 VHH 분자인 AB-1 및 AB-2의 친화도를 도시한다.

도 4는 변이체 SARS-CoV-2 슈도바이러스를 중화시키는 본 발명의 폴리펩티드(AB-1)의 능력을 도시한다. 막대는 모체 D614G-모 바이러스에 대한 새로 발생한 돌연변이 또는 결실을 갖는 슈도바이러스의 항체 중화에 대한 IC_{50} 값의 배수 차이(WT-돌연변이체)/(WT)를 나타낸다. -2.5 내지 2.5의 값은 이러한 검정에서 유의하지 않은 것으로 간주된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 예시적인 실시형태의 설명은 다음과 같다.

[0031] 본 발명의 몇몇 양태는 예시 목적만을 위한 실시예를 참조하여 하기에 설명된다. 본 발명의 완전한 이해를 제공하기 위해 다수의 특정 세부사항, 관계 및 방법이 제시된다는 것을 이해해야 한다. 그러나 당업자라면 본 발명이 하나 이상의 특정 세부 사항 없이 실시될 수 있거나 다른 방법, 프로토콜, 시약, 세포주 및 동물로 실시될 수 있음을 쉽게 인식할 것이다. 본 발명은 일부 행동이 상이한 순서로 그리고/또는 다른 행동 또는 이벤트와 동시에 발생할 수 있으므로 행동 또는 이벤트의 예시된 순서에 의해 제한되지 않는다. 또한, 본 발명에 따른 방법론을 구현하기 위해 예시된 행동, 단계 또는 이벤트가 모두 요구되는 것은 아니다. 본 명세서에 기재되거나 참조된 다수의 기술 및 절차는 당업자에 의해 통상적인 방법론을 사용하여 상호하게 이해되고 일반적으로 사용된다.

[0032] SARS-CoV-2 Spike 단백질에 결합하는 폴리펩티드

[0033] SARS-CoV-2는 COVID-19의 원인 작용제이다. SARS-CoV-2 바이러스가 숙주 세포, 예컨대, 인간 숙주 세포에 진입하는 것을 촉진하는 단백질인 SARS-CoV-2-Spike 또는 SARS-CoV-2의 S 단백질. 이론에 얽매이지 않으나, SARS-CoV-2-Spike는 숙주 세포 표면의 진입 수용체(예를 들어, 앤지오텐신 전환 효소 2(angiotensin converting enzyme: ACE2) 또는 막관통 프로테아제, 세린 2(Transmembrane protease, serine 2: TMPRSS2))에 결합함으로써 감염을 촉진하는 것으로 여겨진다. 야생형 SARS-CoV-2-Spike 서열의 비제한적인 예는 NCBI RefSeq YP_009724390(서열번호 1)이다.

MFVFLVLLPLVSSQC VNLTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFS
 NVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSTQSLIV
 NNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMD
 LEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQT
 LLALHRSYLPDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSET
 KCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISN
 CVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIA
 DYNKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRFRKSNLKPFERDISTEIQAGST
 PCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSEFLLHAPATVCGPKKSTNLVKN
 KCVNFNENGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVS
 VITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEH
 VNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNPRRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNNSIAIPT
 NFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTEC SNLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDK
 NTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQY
 GDCLGDIAARDLCAQKFNGLTVLPPLLDEMIAYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIP
 FAMQMAYRFGIGVTVNVL YENQKLIANQFN SAIGKIQDSLSTASALGKLQDVVNQN
 AQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRDLKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAA
 EIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKN
 FTTAPAICHDGKAHFPREGVVFVSNGTHWFVTVQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVN
 NTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLDGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLN
 ESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCCLKGCCSCGSCC
 KFDEDDSEPV LKGVKLHYT (서열번호 1).

[0034]

[0035]

본 명세서에서 사용되는 바와 같이, SARS-CoV-2 Spike는 야생형 SARS-CoV-2 Spike 단백질(예를 들어, 서열번호 1), 야생형 SARS-CoV-2 Spike 단백질의 변이체 및 야생형 및 변이체 SARS-CoV-2 Spike 단백질의 변형된 형태를 포함한다.

[0036]

일 양태에서, 본 발명은 서열번호 1을 포함하는 SARS-CoV-2 Spike 단백질에 결합하는 폴리펩티드를 제공한다.

[0037]

일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2-Spike의 변이체에 결합한다. 일부 실시형태에서, 변이체는 야생형 SARS-CoV-2-Spike 서열(예를 들어, 서열번호 1)과 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 예를 들어, 야생형 SARS-CoV-2-Spike 서열과 적어도 약 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7%, 99.8% 또는 99.9% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 서열 동일성은 약 90~99.9%, 90~99.8%, 92~99.8%, 92~99.6%, 94~99.6%, 94~99.5%, 95~99.5%, 95~99.4%, 96~99.4%, 96~99.2%, 97~99.2% 또는 97~99%이다.

[0038]

일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 서열번호 1에 비해서, L5F, S13I, T19R, A67V, 69del, 70del, D80G, T95I, G142D, 144del, W152C, E154K, F157S, A222V, D253G, G261D, V367F, K417N, N439K, L452R, Y453F, S477N, E484K, F486L, S494P, E484Q, N501T, N501Y, F565L, A570D, D614G, Q677H, P681H, P681R, A701V, T716I, T859N, F888L, S982A, D950N, Q957R, Q1071H, V1176F, D1118H, K1191N 또는 이들의 조합으로부터 선택된 1개 이상의 돌연변이, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44개 또는 45개 모두의 돌연변이를 포함한다.

[0039]

일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 서열번호 1에 비해서, 69del, 70del, 144del, E484K, S494P, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H 또는 K1191N 또는 이들의 조합으로부터 선택된 1개 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 69del, 70del, 144del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A 및 D1118H를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 E484K, S494P 또는 K1191N 또는 이들의 조합을 더 포함한다.

[0040]

일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 서열번호 1에 비해서, D80A, D215G, 241del, 242del, 243del, K417N, E484K, N501Y, D614G 또는 A701V 또는 이들의 조합으로부터 선택된 1개 이상의 돌연변이를 포함한다. 일

부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 D80A, D215G, 241del, 242del, 243del, K417N, E484K, N501Y, D614G 및 A701V를 포함한다.

[0041] 일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 서열번호 1에 비해서, T19R, G142D, 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R 또는 D950N 또는 이들의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 T19R, 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R 및 D950N을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 G142D를 더 포함한다.

[0042] 일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 서열번호 1에 비해서, 69del, 70del, 144del, A222V, G261D, V367F, K417N, N439K, Y453F, S477N, E484K, F486L, N501T, N501Y, A570D 또는 D614G 또는 이들의 조합으로부터 선택된 1개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0043] 일부 실시형태에서, 변이체 SARS-CoV-2-Spike는 서열번호 1에 비해서, E484K, N501Y 또는 D614G 또는 이들의 조합으로부터 선택된 1개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0044] 일부 실시형태에서, 변형된 SARS-CoV-2 Spike 단백질은 서열번호 1에 비해서, F817P, A892P, A899P, A942P, K986P, V987P로부터 선택된 1개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0045] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2 Spike 단백질 수용체-결합 도메인(RBD)(서열번호 17) 또는 (예를 들어, RBD 커뮤니티 7에 의해서 인식되는) RBD 내의 에피토프에 결합한다.

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNS
 ASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTG
 CVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYF
 PLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP (서열번호 17).

[0046]

[0047] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2-Spike RBD의 변이체 또는 SARS-CoV-2-Spike RBD 내의 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 변이체는 야생형 SARS-CoV-2-Spike RBD(예를 들어, 서열번호 17)와 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는, 예를 들어, 적어도 약 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7%, 99.8% 또는 99.9% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 서열 동일성은 약 90~99.9%, 90~99.8%, 92~99.8%, 92~99.6%, 94~99.6%, 94~99.5%, 95~99.5%, 95~99.4%, 96~99.4%, 96~99.2%, 97~99.2% 또는 97~99%이다.

[0048] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2 Spike 단백질(예를 들어, 서열번호 1, 서열번호 17)에 결합하고, 면역글로불린 중쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 폴리펩티드는 서열번호 6, 서열번호 7 및 서열번호 9 중 3개 모두를 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 6, 서열번호 7 및 서열번호 9로부터 선택된 1 또는 2개의 CDR을 포함한다.

[0049] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SARS-CoV-2 Spike 단백질에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드를 제공하며, 여기서 폴리펩티드는 서열번호 3과 적어도 55%(예를 들어, 적어도 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하고, 여기서 폴리펩티드는 서열번호 6, 서열번호 7 및 서열번호 9 중 3개 모두를 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 6, 서열번호 7 및 서열번호 9로부터 선택된 1 또는 2개의 CDR을 포함한다.

[0050] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 야생형 SARS-CoV-2 Spike 단백질(예를 들어, 서열번호 1)에 결합한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 야생형 SARS-CoV-2 Spike 단백질의 하나 이상의 에피토프 잔기(예를 들어, SARS-CoV-2 Spike RBD 내의 하나 이상의 에피토프 잔기)에 결합한다.

[0051] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "참조" 또는 "참조 폴리펩티드"는 SARS-CoV-1에 특이적으로 결합하고, 본 발명의 폴리펩티드가 아닌 폴리펩티드(예를 들어, 면역글로불린 분자)를 지칭한다. 참조 폴리펩티드 및 본 발명의 폴리펩티드의 서열은 그들 간의 구조적 차이(예를 들어, 하나 이상의 아미노산 위치에서의 차이, 예컨대, 아미노산 치환)를 설명하기 위해서 비교될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 참조 폴리펩티드와 비교하여 실질적이지 않은 차이를 초과하는 차이(예를 들어, 하나 이상의 실질적인 차이)를 가질 것이며, 따라서 일반적으로 본 발명의 폴리펩티드는 제어된 조건 하에서 참조 폴리펩티드와 비교하여 상이한 결과를 달성하기 위해서, 상이한 방식으로 하나 이상(즉, 1개, 2개 또는 3개 모두)의 상이한 기능을 나타낼 것이다. 참조 폴리펩티드는 본 발명의 폴리펩티드로부터의 하나 이상의 아미노산, 예를 들어 일부 실시형태에서 1,

2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과와 아미노산이 달라질 것이다. 특정 실시형태에서, 참조 폴리펩티드는 적어도 약 0.4, 0.8, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55% 또는 그 초과와 아미노산 동일성으로 본 발명에 의해 제공되는 폴리펩티드로부터 분기된다.

[0052] 일부 실시형태에서, "참조 폴리펩티드"는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 영역을 포함하는 "참조 항체"로서 본 명세서에서 지칭되는 항체이다. 참조 항체는 SARS-CoV-2 spike RBD에 결합하고 ACE2와의 상호작용을 차단하는 단일-도메인 낙타(camelid) 항체이다. 참조 항체에 대한 추가 정보에 대해서는, 예를 들어, 문헌 [Protein Data Bank (PDB) accession 6WAQ, Huo *et al.*, *Neutralizing nanobodies bind SARS-CoV-2 spike RBD and block interaction with ACE2*, *Nat Struct Mol Biol.* 27(9):846-54 (2020)], 및 문헌 [Wrapp *et al.*, *Structural Basis for Potent Neutralization of Betacoronaviruses by Single-Domain Camelid Antibodies*, *Cell* 181(5):1004-15 (2020)]을 참조한다.

[0053] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "서열 동일성"은 최대 수준의 동일성을 달성하기 위해 서열이 정렬될 때 2개의 뉴클레오티드 서열 또는 2개의 아미노산 서열이 동일한 위치에서 동일한 잔기를 갖는 정도를 지칭하며, 백분율로 표현된다. 서열 정렬 및 비교를 위해, 전형적으로 하나의 서열이 참조 서열로 지정되고, 시험 서열이 이것과 비교된다. 참조 서열과 시험 서열 사이의 서열 동일성은 최대 수준의 동일성을 달성하기 위해 참조 서열과 시험 서열의 정렬 시 참조 서열과 시험 서열이 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산을 공유하는 참조 서열의 전체 길이에 걸친 위치의 백분율로 표현된다. 예를 들어, 최대 수준의 동일성을 달성하기 위한 정렬 시 시험 서열이 참조 서열의 전체 길이에 걸쳐 동일한 위치의 70%에서 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기를 갖는 경우 두 서열은 70%의 서열 동일성을 갖는다고 간주된다.

[0054] 최대 수준의 동일성을 달성하기 위한 비교를 위한 서열의 정렬은 적절한 정렬 방법 또는 알고리즘을 사용하여 당업자에 의해 용이하게 수행될 수 있다. 일부 경우에, 정렬은 최대 수준의 동일성을 제공하기 위해 도입된 갭을 포함할 수 있다. 예는 문헌 [Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981)]의 국부적 동일성 알고리즘, 문헌 [Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970)]의 상동성 정렬 알고리즘, 문헌 [Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988)]의 유사성 방법에 대한 검색, 이들 알고리즘의 컴퓨터 구현(미국 위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575에 소재한 Genetics Computer Group의 Wisconsin Genetics Software Package의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA) 및 육안 검사(일반적으로 문헌 [Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*] 참조)를 포함한다.

[0055] 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우, 시험 서열 및 참조 서열을 컴퓨터에 입력하고, 필요에 따라 후속 좌표를 지정하고, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터를 지정한다. 이어서 서열 비교 알고리즘은 지정된 프로그램 매개변수에 기초하여 참조 서열에 대한 시험 서열(들)에 대한 서열 동일성 백분율을 계산한다. 서열 동일성 백분율을 결정하기 위해 일반적으로 사용되는 도구는 미국 국립 보건원(National Institutes of Health)의 국립 의학 도서관(National Library of Medicine)의 국립 생명공학 정보 센터(National Center for Biotechnology Information)를 통해 이용 가능한 단백질 기본 로컬 정렬 검색 도구(Protein Basic Local Alignment Search Tool: BLASTP)이다(Altschul *et al.*, 1990).

[0056] 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 또는 "단백질"은 길이 또는 번역 후 변형(예를 들어, 글리코실화 또는 인산화)에 관계없이 아미드 결합에 의해 공유 결합된 적어도 2개의 아미노산의 중합체를 나타낸다. 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드는 임의의 적합한 L- 및/또는 D-아미노산, 예를 들어 일반적인 α -아미노산(예를 들어, 알라닌, 글리신, 발린), 비- α -아미노산(예를 들어, β -알라닌), 4-아미노부티르산, 6-아미노카프로산, 사르코신, 스타틴) 및 특이한 아미노산(예를 들어, 시트룰린, 호모시트룰린, 호모세린, 노르류신, 노르발린, 오르니틴)을 포함할 수 있다. 펩티드 상의 아미노, 카르복실 및/또는 다른 작용기는 유리(예를 들어, 변형되지 않음)되거나 적합한 보호기로 보호될 수 있다. 아미노 및 카르복실기에 적합한 보호기, 및 보호기를 부가하거나 제거하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌 [Green and Wuts, *"Protecting Groups in Organic Synthesis"*, John Wiley and Sons, 1991]에 개시되어 있다. 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드의 작용기는 또한 당업계에 공지된 방법을 사용하여 유도체화(예를 들어, 알킬화) 또는 (예를 들어, 검출 가능한 표지, 형광원 또는 합텐으로) 표지될 수 있다. 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드는 바람직한 경우 하나 이상의 변형(예를 들어, 아미노산 링커, 아실화, 아세틸화, 아미드화, 메틸화, 말단 변형기(예를 들어, 고리화 변형), N-메틸- α -아미노기 치환)를 포함할 수 있다. 또한, 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드는 공지된 및/또는 자연 발생 펩티드의 유사체, 예를 들어, 보존적 아미노산 잔기 치환(들)을 갖는 펩티드 유사체일 수 있다.

- [0057] 일 양상에서, 본 발명은 SARS-CoV-2-Spike에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드를 제공하고, 여기서 폴리펩티드는,
- [0058] a) 서열번호 4; 또는
- [0059] b) 서열번호 5로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 항체의 파라토프와 동일한 파라토프를 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 도메인(V_H)을 포함한다.
- [0060] 서열번호 4 및 5에 대해서는 표 1 및 서열번호 4 및 5를 포함하는 항체의 파라토프 잔기에 대해서는 도 2를 참조한다. 일부 실시형태에서, 파라토프는 서열번호 2의 S52, W53 또는 Y53, S54, G56, S57, T58, Y59, G102, T103 또는 V103, V104 또는 H104, V105 또는 L105, S106, E107, W108, Y110 및 D111에 상응하는 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 파라토프는 서열번호 2의 G55 및 D62에 상응하는 아미노산 잔기를 추가로 포함한다.
- [0061] 용어 "파라토프"는 표적 단백질의 에피토프와의 결합 상호작용에 기여하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 내의 아미노산 잔기의 세트를 지칭한다. 결합 상호작용은 수소 결합, 염 다리, 반데르발스 상호작용, 이온 결합 또는 이들의 조합일 수 있다. 결합 상호작용은 예를 들어, 배위된 중간체 분자, 예컨대, 이온 또는 물을 통해서 간접적이거나 직접적일 수 있다. 파라토프의 잔기는, 일부 실시형태에서, 정의된 CDR의 일부인 잔기만을 포함한다. 다른 실시형태에서, 파라토프의 잔기는 정의된 CDR의 일부가 아닌 하나 이상의 잔기를 더 포함한다.
- [0062] 일부 실시형태에서, 파라토프는 폴리펩티드가 표적 항원에 결합하는 경우 표적 항원 상의 에피토프로부터 약 5.0 옹스트롬 미만, 예를 들어, 에피토프로부터 약 4.5, 4.0, 3.5, 3.0, 2.5, 2.4, 2.3, 2.2, 2.1, 2.0, 1.9, 1.8, 1.7, 1.6, 1.5, 1.4, 1.3, 1.2, 1.1, 1.0 또는 0.9 옹스트롬 미만 또는 약 0.9~5.0, 0.9~4.8, 1.0~5, 1.0~4.5, 1.0~4.0, 1.0~3.5, 1.1~3.5, 1.1~3.0, 1.2~3.0, 1.2~2.5, 1.3~2.5, 1.3~2.4, 1.4~2.4, 1.4~2.3, 1.5~2.3, 1.5~2.2, 1.6~2.2, 1.6~2.1, 1.7~2.1, 1.7~2.0 또는 1.8~2.0 옹스트롬 내에 배향되어 있다. 일부 실시형태에서, 파라토프를 구성하는 아미노산 잔기 모두는 폴리펩티드가 표적 항원에 결합하는 경우 표적 항원 상의 에피토프로부터 약 5.0 옹스트롬 미만 내에 배향되어 있다. 다른 실시형태에서, 파라토프에서 파라토프를 구성하는 아미노산 잔기 모두보다 적은 수(예를 들어, 아미노산 잔기의 약 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%)는 폴리펩티드가 표적 항원에 결합하는 경우 표적 항원 상의 에피토프로부터 약 5.0 옹스트롬 미만에 배향되어 있다.
- [0063] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 파라토프를 포함하는 폴리펩티드는 면역글로불린 경쇄 가변 도메인(V_L)을 추가로 포함한다.
- [0064] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SARS-CoV-2-Spike에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드를 제공하며, 여기서 폴리펩티드는 각각 서열번호 4 또는 서열번호 5의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3)과 아미노산 서열이 동일한 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 V_H 아미노산 서열을 포함한다.
- [0065] CDR(예를 들어, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3)은 본 명세서에 추가로 기재된 바와 같은 항체의 CDR 잔기를 식별하는 임의의 당업계에서 인식되는 방법에 의해서 정의된 CDR(예를 들어, 카밧(Kabat)에 의해서 정의된 바와 같은 CDR, 코티아(Chothia)에 의해서 정의된 바와 같은 CDR)일 수 있다.
- [0066] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는,
- [0067] a) 서열번호 4; 또는
- [0068] b) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 단일 도메인 항체의 파라토프와 동일한 파라토프를 추가로 포함한다.
- [0069] 또 다른 양태에서, 본 발명은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하는, SARS-CoV-2-Spike에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드를 제공하며, 여기서
- [0070] a) X_1 은 T가 아니거나;
- [0071] b) X_2 는 V가 아니거나;
- [0072] c) X_3 은 V가 아니거나,

[0073] 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0074] 서열번호 2로서 식별된 서열은 하기에 제시되어 있고, 이것은 본 명세서에서 서열번호 3~5에 대한 공통 V_H 서열이다.

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGKEREFVATISWGGST
 YYTDSVKGRFTISRDNKNTVYVYLMNSLKPDDTAVYYCAAAGLGX₁X₂X₃SEWDYDYD
 YWGQGTQVTVSSGS (서열번호 2).

[0075]
 [0076] 일부 실시형태에서,

[0077] a) X_1 은 T 또는 V이거나;

[0078] b) X_2 는 V 또는 H이거나;

[0079] c) X_3 은 V 또는 L이거나,

[0080] 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0081] 일부 실시형태에서,

[0082] a) X_1 은 V이거나;

[0083] b) X_2 는 H이거나;

[0084] c) X_3 은 L이거나,

[0085] 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0086] 일부 실시형태에서, X_1 은 T가 아니다. 일부 실시형태에서, X_1 은 T 또는 V이다. 일부 실시형태에서, X_1 은 T이다. 일부 실시형태에서, X_1 은 V이다. 일부 실시형태에서, X_2 는 V가 아니다. 일부 실시형태에서, X_2 는 V 또는 H이다. 일부 실시형태에서, X_2 는 V이다. 일부 실시형태에서, X_2 는 H이다. 일부 실시형태에서, X_3 은 V가 아니다. 일부 실시형태에서, X_3 은 V 또는 L이다. 일부 실시형태에서, X_3 은 V이다. 일부 실시형태에서, X_3 은 L이다.

[0087] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 각각 서열번호 4 또는 서열번호 5의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3과 아미노산 서열이 동일한 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 V_H 를 포함한다(서열번호 4 및 5에 대해서는 표 1 및 상응하는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열에 대해서는 도 2 참조).

[0088] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 약 70% 동일한 V_H 를 포함한다. 예를 들어, V_H 는 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 약 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, V_H 는 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 약 85% 또는 적어도 약 90% 동일하다. 서열번호 3으로서 식별된 서열은 하기에 제시되어 있고, 이것은 인간 V_H 도메인에 상응한다:

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGKEREFVATISWGGST
 YYTDSVKGRFTISRDNKNTVYVYLMNSLKPDDTAVYYCAAAGLGTVVSEWDYDYDY
 WGQGTQVTVSSGS (서열번호 3)

[0089]
 [0090] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이들의 조합과 적어도 약 70% 동일한 V_H 를 포함한다. 예를 들어, V_H 는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이들의 조합과 적어도 약 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, V_H 는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이들의 조합과 적어도 약 85% 또는 적어도 약 90% 동일하다.

- [0091] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 15 또는 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 이들의 조합과 적어도 약 70% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 서열은 서열번호 15 또는 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 이들의 조합과 적어도 약 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 아미노산 서열은 서열번호 15 또는 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 이들의 조합과 적어도 약 85% 또는 적어도 약 90% 동일하다.
- [0092] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열에 비해서 적어도 1개의 아미노산 치환을 포함하는 V_H 를 포함한다. 예를 들어, 아미노산 치환의 수는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 또는 약 1~20, 1~19, 2~19, 2~18, 2~17, 3~17, 3~16, 4~16, 4~15, 5~15, 5~14, 6~14, 6~13, 7~13, 7~12, 8~12, 8~11 또는 9~11개일 수 있다. 일부 실시형태에서, V_H 는 서열번호 3의 아미노산 서열에 비해서 약 1~10개의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0093] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이들의 조합에 비해서 적어도 1개의 아미노산 치환을 포함하는 V_H 를 포함한다. 예를 들어, 아미노산 치환의 수는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 또는 약 1~20, 1~19, 2~19, 2~18, 2~17, 3~17, 3~16, 4~16, 4~15, 5~15, 5~14, 6~14, 6~13, 7~13, 7~12, 8~12, 8~11 또는 9~11개일 수 있다. 일부 실시형태에서, V_H 는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이들의 조합에 비해서 약 1~10개의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0094] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 15 또는 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 이들의 조합에 비해서 적어도 1개의 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 치환의 수는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 또는 약 1~20, 1~19, 2~19, 2~18, 2~17, 3~17, 3~16, 4~16, 4~15, 5~15, 5~14, 6~14, 6~13, 7~13, 7~12, 8~12, 8~11 또는 9~11개일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아미노산 서열은 서열번호 15 또는 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 이들의 조합에 비해서 약 1~10개의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0095] 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적 치환이다. 용어 "보존적 아미노산 치환(들)" 또는 "보존적 치환(들)"은 BLOSUM62에서 0 이상의 값을 갖는 아미노산 치환을 지칭한다.
- [0096] 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 고도의 보존적 치환이다. 용어 "고도로 보존적인 아미노산 치환(들)" 또는 "고도의 보존적 치환(들)"은 BLOSUM62에서 적어도 1(예를 들어, 적어도 2)의 값을 갖는 아미노산 치환을 지칭한다.
- [0097] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함한다.
- [0098] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 15 또는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0099] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 인간 프레임워크 영역을 함유하는 V_H 를 포함한다.
- [0100] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 면역글로불린 분자, 예컨대, 항체(예를 들어, 전체 항체, 온전한 항체) 또는 항체의 항원-결합 단편이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 폴리펩티드 등과 같은 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 전장 항체를 지칭한다.
- [0101] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 단일-도메인 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단일-도메인 항체(sdAb)" 또는 "나노바디"는 단일 단량체 가변 항체 도메인으로 이루어지고 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자를 지칭한다. 단일-도메인 항체는 무린

항체, 인간 항체 또는 인간화 단일-도메인 항체와 같은 임의의 중일 수 있다.

- [0102] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 2개 이상의 중쇄를 포함하지만, 경쇄 또는 이의 항원-결합 단편이 없는 중쇄 항체이다. 중쇄 항체의 비제한적인 예는 낙타 Vhh(VHH 또는 V_{HH})라고도 지칭) 항체를 포함한다. 낙타 항체는 라마, 낙타 및 알파카를 포함하는 포유동물의 낙타과(*Camelidae* family)로부터의 항체이다.
- [0103] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 이황화물 결합 또는 이의 다량체(예를 들어, IgM)에 의해 상호 연결된 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄를 포함하는 항체이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(V_H) 및 중쇄 불변 영역(도메인 CH1, 힌지 CH2 및 CH3을 포함)을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(V_L) 및 경쇄 불변 영역(C_L)을 포함한다. V_H 영역 및 V_L 영역은 프레임워크 영역(FR) 내에 산재된 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는 초가변 영역으로 더 세분될 수 있다. V_H 및 V_L 은 각각 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4의 순서로 아미노 말단에서 카르복시 말단까지 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR 분절을 포함한다. 항체는 무린 항체, 인간 항체 또는 인간화 항체와 같은 임의의 중일 수 있다.
- [0104] 항체의 프레임워크 영역 및 CDR의 정도는 예를 들어, 카밧 정의, 코티아 정의, AbM 정의 및/또는 컨택트(contact) 정의에 의해서 당업계에 널리 공지된 여러 적합한 방법론 중 하나를 사용하여 식별될 수 있다. 프레임워크 및/또는 CDR 영역을 식별하기 위한 공개 및/또는 상업적으로 입수 가능한 도구는 IgBlast(www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/로 접근 가능함), Scaligner(www.scaligner.com/에서 drugdesigntech로부터 입수 가능), IMGT 규칙 및/또는 도구(예를 들어, www.imgt.org/IMGTScientificChart/Nomenclature/IMGT-FRCDRdefinition.html 참조, 또한 www.imgt.org/로 접근 가능함), Chothia Canonical Assignment(www.bioinf.org.uk/abs/chothia.html로 접근 가능함), 항원 수용체 넘버링 및 수용체 분류(Antigen receptor Numbering And Receptor Classification: ANARCI, opig.stats.ox.ac.uk/webapps/newsabdab/sabpred/anarci/로 접근 가능함) 또는 Paratome 웹 서버(www.ofranlab.org/paratome/로 접근 가능함, 예를 들어, 문헌[Vered Kunik, et al, Nucleic Acids Research, Volume 40, Issue W1, 1 July 2012, Pages W521-W524] 참조)를 포함한다.
- [0105] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "CDR"은 항체 상의 CDR 잔기를 식별하기 위한 당업계에 인식된 방법에 의해 정의된 임의의 CDR을 포함한다. 예를 들어, 예를 들어, 문헌[Kabat, E.A., et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242], 문헌[Chothia et al., (1989) Nature 342:877]; 문헌[Chothia, C. et al., (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Al-lazikani et al., (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948]; 및 문헌[Almagro, J. Mol. Recognit. 17:132-143 (2004)] 참조. 예를 들어, hgmp.mrc.ac.uk 및 bioinf.org.uk/abs 참조. 2개의 항체는 동일한 방법을 사용하여 두 항체에 대해 CDR의 동일성을 결정할 때 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3에 대해 서로 동일한 CDR을 갖는 것으로 결정된다.
- [0106] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 항체의 항원-결합 단편이다. 용어 "항원-결합 단편"은 모체 전장 단일-도메인 항체의 항원 결합 특성을 보유하는 면역글로불린 분자(예를 들어, 단일-도메인 항체)의 일부를 지칭한다. 항원-결합 단편의 비제한적 예는 V_H 영역, V_L 영역, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편, Fd 단편, Fv 단편 및 하나의 V_H 도메인 또는 하나의 V_L 도메인으로 이루어진 도메인 항체(dAb)를 포함한다. V_H 도메인 및 V_L 도메인은 합성 링커를 통해 함께 연결되어 V_H/V_L 도메인이 분자내에서 또는 V_H 도메인 및 V_L 도메인이 개별 쇠에 의해서 발현되는 경우에는 분자간에 쌍을 이루는 다양한 유형의 단일 쇠 항체 설계를 형성하여, 1가 항원 결합 부위, 예컨대, 단일 쇠 Fv(scFv) 또는 다이아바디를 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 Fab, $F(ab')_2$, Fab', scFv 또는 Fv로부터 선택된 항원 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 scFv이다.
- [0107] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드(예를 들어, 항체 또는 항원-결합 단편)는 세포-기반 요법에 통합된다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 조작된 T 세포 수용체이다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 키메라 항원 수용체(CAR)(예를 들어, T(CAR-T) 세포, 자연 살해(CAR-NK) 세포 또는 대식세포(CAR-M) 세포에서 발현됨)이다. 일부 실시형태에서, CAR은 막관통 도메인 및 항원-인식 모이어티를 포함하고, 항원-인식 모이어티는 SARS-CoV-2(예를 들어, RBD 커뮤니티 7에 의해서 인식되는, 예를 들어, RBD 내의 에피토프)에 결합한다.
- [0108] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 항체 모방체이다. 용어 "항체 모방체"는 항원에 결합하는 항체의 능력을 모방

할 수 있지만 구조적으로 천연 단일-쇄 항체 구조와 상이한 폴리펩티드를 지칭한다. 항체 모방체의 비제한적 예는 애드넥틴(Adnectin), 아피바디(Affibody), 아필린(Affilin), 아피머(Affimer), 아피틴(Affitin), 알파바디(Alphabody), 안티칼린(Anticalin), 아비머(Avimer), DARPin, 피노머(Fynomer), 쿠니츠(Kunitz) 도메인 펩티드, 모노바디, 나노바디, 나노CLAMP 및 베르사바디(Versabody)를 포함한다.

[0109] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 항체 중쇄 불변 도메인 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 IgA 불변 영역, IgD 불변 영역, IgE 불변 영역, IgG 불변 영역 및 IgM 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, IgG 불변 영역은 IgG1 불변 영역, IgG2 불변 영역, IgG3 불변 영역 또는 IgG4 불변 영역이다. 일부 실시형태에서, IgG2 불변 영역은 IgG2a, IgG2b 불변 영역 또는 IgG2c 불변 영역이다. 일부 실시형태에서, IgA 불변 영역은 IgA1 불변 영역 또는 IgA2 불변 영역이다. 일부 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 IgG1 불변 영역(예를 들어, IGHV5-51)이다.

[0110] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 면역글로불린 경쇄 가변 도메인(V_L)을 추가로 포함한다. V_H 도메인 및 V_L 도메인은 링커(예를 들어, 합성 링커)를 통해 함께 연결되어 V_H/V_L 도메인이 분자 내에서 또는 V_H 도메인 및 V_L 도메인이 개별 쇠에 의해서 발현되는 경우에는 분자간에 쌍을 이루는 다양한 유형의 단일 쇠 항체 설계를 형성하여, 1가 항원 결합 부위를 형성할 수 있다.

[0111] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 항체 경쇄 불변 도메인 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 도메인은 κ 불변 도메인 및 λ 불변 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 IgG1 불변 영역이고, 항체 경쇄 불변 영역은 κ 불변 영역이다.

[0112] 일부 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역 서열은 서열번호 12의 아미노산 서열과 적어도 약 60% 동일하다. 예를 들어, 항체 중쇄 불변 영역 서열은 서열번호 12의 아미노산 서열과 적어도 약 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역 서열은 서열번호 12의 아미노산 서열과 적어도 70% 또는 적어도 약 80% 동일하다. 서열번호 12로 식별된 서열이 하기에 제시되어 있다:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 12).
```

[0113] 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열과 적어도 약 60% 동일하다. 예를 들어, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열과 적어도 약 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열과 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80% 동일하다. 서열번호 13 또는 서열번호 14로 식별된 서열이 하기에 제시되어 있다:

```
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 13).
GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPS
KQSNKYAAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (서열번호 14).
```

[0115]

[0116] 일부 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역 서열은 서열번호 12의 아미노산 서열에 비해서 적어도 1개의 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 치환의 수는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 또는 약 1~20, 1~19, 2~19, 2~18, 2~17, 3~17, 3~16, 4~16, 4~15, 5~15, 5~14, 6~14, 6~13, 7~13, 7~12, 8~12, 8~11 또는 9~11개일 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역 서열은 서열번호 12의 아미노산 서열에 비해서 약 1 내지 10개의 아미노산 치환을 포함한다.

- [0117] 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열에 비해서 적어도 1개의 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 치환의 수는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 또는 약 1~20, 1~19, 2~19, 2~18, 2~17, 3~17, 3~16, 4~16, 4~15, 5~15, 5~14, 6~14, 6~13, 7~13, 7~12, 8~12, 8~11 또는 9~11개일 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열에 비해서 약 1 내지 10개의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0118] 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적 치환이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 고도의 보존적 치환이다.
- [0119] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드에 연결된다.
- [0120] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 링커를 통해 서로에 연결된다. 일부 실시형태에서, 링커는 이황화물 결합이다.
- [0121] 일부 실시형태에서, 제2 폴리펩티드는 본 명세서에 기재된 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 폴리펩티드는,
- [0122] a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 단일-도메인 항체의 파라토프와 동일한 파라토프;
- [0123] b) 각각 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 단일-도메인 항체의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3과 동일한 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 V_H ;
- [0124] c) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 V_H ; 또는
- [0125] d) 서열번호 3의 아미노산 서열에 비해서 약 1 내지 10개의 아미노산 치환을 포함하는 V_H ,
- [0126] 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0127] 일부 실시형태에서,
- [0128] a) 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 3, 4 또는 5의 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0129] b) 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 3, 4 또는 5의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0130] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0131] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서

열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0132] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 둘 다는 V_L 을 포함하는 제3 폴리펩티드에 연결된다.
- [0133] 일부 실시형태에서, 제3 폴리펩티드는 항체 경쇄 불변 도메인 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 도메인은 κ 불변 도메인 및 λ 불변 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0134] 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열과 적어도 약 60% 동일하다. 예를 들어, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열과 적어도 약 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열과 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80% 동일하다.
- [0135] 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열에 비해서 적어도 1개의 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 치환의 수는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 또는 약 1~20, 1~19, 2~19, 2~18, 2~17, 3~17, 3~16, 4~16, 4~15, 5~15, 5~14, 6~14, 6~13, 7~13, 7~12, 8~12, 8~11 또는 9~11개일 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호 13 또는 서열번호 14의 아미노산 서열에 비해서 약 1 내지 10개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적 치환이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 고도의 보존적 치환이다.
- [0136] 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 야생형 SARS-CoV-1-Spike, SARS-CoV-1-Spike 변이체 또는 이들의 조합물에 대한 결합에 대해서 참조 항체와 경쟁하고, 참조 항체는 야생형 SARS-CoV-1-Spike에 특이적으로 결합한다. 용어 "특이적으로 결합하는" 또는 "특이적으로 결합한다"는 다른 항원 또는 아미노산 서열에 비해 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 이의 에피토프 사이의 우선적인 상호작용, 즉 상당히 더 높은 결합 친화도를 지칭한다.
- [0137] 일부 실시형태에서, 참조 항체는 서열번호 3의 V_H 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 참조 항체는 각각 서열번호 6, 서열번호 7 및 서열번호 9의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0138] 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 단리된 폴리펩티드이다. 일부 실시형태에서, 단리된 폴리펩티드는 재조합 방식으로 생산된다. 일부 실시형태에서, 단리된 폴리펩티드는 합성 방식으로 생산된다.
- [0139] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 이중 모이어티에 접합된다. 용어 "접합된"은 공유 또는 비공유 상호작용을 통해서 부착되는 것을 지칭한다. 접합은 임의의 적합한 연결체를 사용할 수 있다. 비제한적인 예는 펩티드 링커, 화합물 링커 및 화학 가교제를 포함한다.
- [0140] 일부 실시형태에서, 이중 모이어티는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합물이다. 일부 실시형태에서, 이중 모이어티는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 헥사데칸산, 히드로겔, 나노입자, 다량체화 도메인 및 담체 펩티드이다.
- [0141] 일부 실시형태에서, 나노입자는 지질 나노입자이다. 일부 실시형태에서, 나노입자는 중합체 나노입자이다. 일부 실시형태에서, 중합체는 양친매성 중합체이다. 다른 실시형태에서, 중합체는 소수성 또는 친수성 중합체이다. 중합체의 비제한적인 예는 폴리(락트산)-폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(락트산-코-글리콜산)-폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(락트-코-글리콜산)(PLGA), 폴리(락트산-코-글리콜산)-d- α -토코페릴 폴리에틸렌 글리콜 석신에이트, 폴리(락트산-코-글리콜산)-에틸렌 옥시드 푸마레이트, 폴리(글리콜산)-폴리(에틸렌 글리콜), 폴리카프로락톤-폴리(에틸렌 글리콜) 또는 이들의 임의의 염을 포함한다. 일부 실시형태에서, 중합체 나노입자는 폴리(락트-코-글리콜산)(PLGA)을 포함한다.
- [0142] 일부 실시형태에서, 담체 폴리펩티드는 알부민 또는 Fc 폴리펩티드이다.
- [0143] 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드는,
- [0144] a) SARS-CoV-1 RBD의 아미노산 잔기 Y36, N37, S38, T39, F40, F41, S42, T43, F44, K45, C46, A51, T52, G71, D72, V74, R75, I169, G170 및 Y174에 상응하는 아미노산 잔기를 포함하는 SARS-CoV-2 RBD의 에피토프에 결합할 수 있거나;
- [0145] b) SARS-CoV-2에 10 μ M 이하의 친화도로 결합하거나;

- [0146] c) 엔지오텐신-전환 효소 2(ACE2)에 대한 SARS-CoV-2의 결합을 감소시키거나;
- [0147] d) 인간 세포에서 SARS-CoV-2의 감염성을 감소시키거나,
- [0148] 또는 이들 중 임의의 것의 조합이다.
- [0149] 야생형 SARS-CoV-1-Spike 서열의 비제한적인 예는 서열번호 21이다.

NLCPFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLVNSTFFSTFKCYGVSAT
 KLNDLCFSNVYADSFVVKGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFMGCVLAWNTRNID
 ATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFERDISNVFPSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTTTG
 IGYQPYRVVVLSEFGSLEVLVLFQ (서열번호 21)

- [0150]
- [0151] 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 SARS-CoV-1 RBD의 아미노산 잔기 Y36, N37, S38, T39, F40, F41, S42, T43, F44, K45, C46, A51, T52, G71, D72, V74, R75, I169, G170 및 Y174에 상응하는 아미노산 잔기를 포함하는 SARS-CoV-2 RBD의 에피토프에 결합할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 또한 SARS-CoV-1 RBD, 예를 들어, SARS-CoV1 RBD의 아미노산 잔기 Y36, N37, S38, T39, F40, F41, S42, T43, F44, K45, C46, A51, T52, G71, D72, V74, R75, I169, G170 및 Y174에 결합할 수 있다.
- [0152] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2-Spike에 약 10 μM 이하의 결합 상수(K_D)로 결합한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "결합 상수", "평형 해리 상수" 또는 "친화도 상수"라고도 지칭되는 용어 "K_D"는 2개의 분자 중(예를 들어, 항체 및 표적 단백질) 사이의 가역적 회합 정도의 척도이고, 실제 결합 친화도와 겉보기 결합 친화도 둘 다를 포함한다. 결합 친화도는 예를 들어, 표면 플라즈몬 공명의 측정, 예를 들어 생물층 간섭계(Octet, ForteBio) 또는 표면 플라즈몬 공명(Biacore) 시스템 및 검정을 사용하여 당업계에 공지된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 결합 친화도 및 동력학을 측정하기 위한 다양한 표면 기술을 비교하는 참고 자료는 내용 전문가가 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Yang, D., Singh, A., Wu, H., & Kroe-Barrett, R., *Comparison of biosensor platforms in the evaluation of high affinity antibody-antigen binding kinetics*, Analytical Biochemistry 508: 78-96 (2016)]이다.
- [0153] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2-Spike에 약 5 μM, 2 μM, 1 μM, 500 nM, 200 nM, 100 nM, 50 nM, 20 nM, 10 nM, 5 nM, 2 nM, 1 nM, 0.5 nM, 0.2 nM 또는 0.1 nM 이하의 K_D로 결합한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2에 100 nM 이하의 K_D로 결합한다.
- [0154] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-2-Spike에 약 10⁻¹⁰~10⁻⁵ M, 10⁻¹⁰~5×10⁻⁶ M, 2×10⁻¹⁰~5×10⁻⁶ M, 2×10⁻¹⁰~2×10⁻⁶ M, 5×10⁻¹⁰~2×10⁻⁶ M, 5×10⁻¹⁰~10⁻⁷ M, 10⁻⁹~10⁻⁷ M, 10⁻⁹~5×10⁻⁸ M, 2×10⁻⁹~5×10⁻⁸ M, 2×10⁻⁹~2×10⁻⁸ M, 5×10⁻⁹~2×10⁻⁸ M 또는 5×10⁻⁹~10⁻⁸ M의 K_D로 결합한다.
- [0155] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드(예를 들어, 낙타 항체)는 SARS-CoV-2-Spike 또는 이의 단편(예를 들어, RBD 커뮤니티 7에 의해서 인식되는, 예를 들어, RBD 내의 에피토프) 또는 이의 변이체에 약 10⁻⁶ M 이하, 예를 들어, 약 500 nM, 200 nM, 100 nM, 50 nM, 20 nM, 10 nM, 5 nM, 2 nM, 1 nM, 0.5 nM, 0.2 nM 또는 0.1 nM 이하; 또는 약 10⁻¹⁰~10⁻⁶ M, 10⁻¹⁰~5×10⁻⁷ M, 2×10⁻¹⁰~5×10⁻⁷ M, 2×10⁻¹⁰~2×10⁻⁷ M, 5×10⁻¹⁰~2×10⁻⁷ M, 5×10⁻¹⁰~10⁻⁷ M, 10⁻⁹~10⁻⁷ M, 10⁻⁹~5×10⁻⁸ M, 2×10⁻⁹~5×10⁻⁸ M, 2×10⁻⁹~2×10⁻⁸ M, 5×10⁻⁹~2×10⁻⁸ M 또는 5×10⁻⁹~10⁻⁸ M의 K_D로 결합한다.
- [0156] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-1-Spike에 약 10 μM 이하의 K_D로 결합한다. 일부 실시형태에서, K_D는 약 5 μM, 2 μM, 1 μM, 500 nM, 200 nM, 100 nM, 50 nM, 20 nM, 10 nM, 5 nM, 2 nM, 1 nM, 0.5 nM, 0.2 nM 또는 0.1 nM 이하이다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-CoV-1-Spike에 약 10⁻¹⁰~10⁻⁵ M, 10⁻¹⁰~5×10⁻⁶ M, 2×10⁻¹⁰~5×10⁻⁶ M, 2×10⁻¹⁰~2×10⁻⁶ M, 5×10⁻¹⁰~2×10⁻⁶ M, 5×10⁻¹⁰~10⁻⁷ M, 10⁻⁹~10⁻⁷ M, 10⁻⁹~5×10⁻⁸ M, 2×10⁻⁹~5×10⁻⁸ M, 2×10⁻⁹~2×10⁻⁸ M 또는 5×10⁻⁹~10⁻⁸ M의 K_D로 결합한다.
- [0157] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드(예를 들어, 낙타 항체)는 SARS-CoV-2-Spike 또는 이의 단편(예를 들어, RBD 커

뮤니티 7에 의해서 인식되는, 예를 들어, RBD 내의 에피토프) 또는 이의 변이체에 약 10^6 /Ms 이하, 예를 들어, 약 5×10^5 /Ms, 2×10^5 /Ms, 10^5 /Ms, 5×10^4 /Ms, 2×10^4 /Ms, 10^4 /Ms 이하; 또는 약 $10^4 \sim 10^6$ /Ms, $10^4 \sim 5 \times 10^5$ /Ms, $2 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ /Ms, $2 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$ /Ms, $5 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$ /Ms 또는 $5 \times 10^4 \sim 10^5$ /Ms의 회합 상수로 결합한다.

[0158] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드(예를 들어, 낙타 항체)는 SARS-CoV-2-Spike 또는 이의 단편(예를 들어, RBD 커뮤니티 7에 의해서 인식되는, 예를 들어, RBD 내의 에피토프) 또는 이의 변이체에 약 10^{-2} /s 이하, 예를 들어, 약 8×10^{-3} /s, 6×10^{-3} /s, 4×10^{-3} /s, 2×10^{-3} /s, 10^{-3} /s, 8×10^{-4} /s, 6×10^{-4} /s, 4×10^{-4} /s, 2×10^{-4} /s, 10^{-4} /s, 8×10^{-5} /s, 6×10^{-5} /s, 4×10^{-5} /s, 2×10^{-5} /s, 10^{-5} /s, 8×10^{-6} /s, 6×10^{-6} /s, 4×10^{-6} /s, 2×10^{-6} /s 또는 10^{-6} /s 이하; 또는 약 $10^{-6} \sim 10^{-2}$ /s, $2 \times 10^{-6} \sim 10^{-2}$ /s, $2 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-3}$ /s, $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-3}$ /s, $5 \times 10^{-6} \sim 2 \times 10^{-3}$ /s, $10^{-5} \sim 2 \times 10^{-3}$ /s, $10^{-5} \sim 10^{-3}$ /s, $2 \times 10^{-5} \sim 10^{-3}$ /s, $2 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-4}$ /s, $5 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-4}$ /s, $5 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-4}$ /s 또는 $10^{-4} \sim 2 \times 10^{-4}$ /s의 해리 상수로 결합한다.

[0159] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드(예를 들어, 낙타 항체)는 SARS-CoV-2-Spike 또는 이의 단편(예를 들어, RBD 커뮤니티 7에 의해서 인식되는, 예를 들어, RBD 내의 에피토프) 또는 이의 변이체에 약 0.05 이상, 예를 들어, 약 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.5, 0.55, 0.6, 0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85, 0.9, 0.95, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0 이상; 또는 약 0.1~2.0, 0.15~2.0, 0.15~1.8, 0.2~1.8, 0.2~1.6, 0.25~1.6, 0.25~1.4, 0.3~1.4, 0.3~1.2, 0.35~1.2, 0.35~1.0, 0.4~1.0, 0.4~0.95, 0.45~0.95, 0.45~0.9, 0.5~0.9, 0.5~0.85, 0.55~0.85, 0.55~0.8, 0.6~0.8, 0.6~0.75, 0.65~0.75 또는 0.65~0.7의 R_{max} 로 결합한다.

[0160] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 진입 수용체(예를 들어, ACE2)에 대한 SARS-CoV-2-Spike의 결합을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 SARS-Cov-2-Spike(RBD)의 S1 소단위 수용체 결합 도메인에 대한 결합에 대해서 진입 수용체(예를 들어, ACE2)와 경쟁한다.

[0161] 일부 실시형태에서, 진입 수용체는 ACE2이다. 일부 실시형태에서, ACE2는 포유동물 ACE2이다. 일부 실시형태에서, ACE2는 영장류 ACE2이다. 일부 실시형태에서, 영장류 ACE2는 인간 ACE2(GeneID 59272; 예시적인 단백질 서열 NP_001358344.1)이다. 일부 실시형태에서, 영장류 ACE2는 침팬지 ACE2(예를 들어, A0A2J8KU96, XP_016798468.1, XP_016798469.1, PNI38578.1), 마카크 ACE2(예를 들어, B6DUF2, NP_001129168.1, XP_024647450.1), 시노몰거스 ACE2(예를 들어, A0A2K5X283, XP_005593094.1) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 비-인간 영장류 ACE2이다.

[0162] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 세포 표적 수용체(예를 들어, ACE2)에 대한 SARS-CoV-2-Spike의 결합을 적어도 약 10%만큼 감소시킨다. 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 ACE2에 대한 SARS-CoV-2-Spike의 결합을 적어도 약 30%만큼 감소시킨다.

[0163] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드의 존재 하에서 SARS-CoV-2-Spike와 이의 세포 표적 수용체(예를 들어, ACE2) 간의 결합 수준은 폴리펩티드의 부재 하에서의 결합 수준에 비해서 약 90% 미만, 예를 들어, 약 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1% 미만이다.

[0164] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드의 존재 하에서의 SARS-CoV-2-Spike와 이의 세포 표적 수용체(예를 들어, ACE2) 간의 결합 수준은 폴리펩티드의 부재 하에서의 결합 수준에 비해서 약 1~90%, 예를 들어, 폴리펩티드의 부재 하에서의 결합 수준에 비해서 약 2~90%, 2~85%, 3~85%, 3~80%, 4~80%, 4~75%, 5~75%, 5~70%, 6~70%, 6~65%, 7~65%, 7~60%, 8~60%, 8~55%, 9~55%, 9~50%, 10~50%, 10~45%, 15~45%, 15~40%, 20~40%, 20~35%, 25~35% 또는 25~30%이다.

[0165] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 세포 표적 수용체에 대한 SARS-CoV-1-Spike의 결합을 적어도 약 10%만큼 감소시킨다. 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%.

[0166] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드(예를 들어, 낙타 항체)는 인간 숙주 세포의 SARS-CoV-2 감염성을 약 25,000 ng/ml 이하, 예를 들어, 약 20,000 ng/ml, 15,000 ng/ml, 10,000 ng/ml, 5,000 ng/ml, 2,500 ng/ml, 1,000 ng/ml,

750 ng/ml, 500 ng/ml, 250 ng/ml, 100 ng/ml, 75 ng/ml, 50 ng/ml, 25 ng/ml 또는 10 ng/ml 이하; 예를 들어, 약 10~25,000 ng/ml, 10~20,000 ng/ml, 25~20,000 ng/ml, 25~15,000 ng/ml, 50~15,000 ng/ml, 50~10,000 ng/ml, 75~10,000 ng/ml, 75~5,000 ng/ml, 100~5,000 ng/ml, 100~2,500 ng/ml, 250~2,500 ng/ml, 250~1,000 ng/ml, 500~1,000 ng/ml 또는 500~750 ng/ml의 IC₅₀으로 중화시킨다.

[0167] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드(예를 들어, 낙타 항체)는 인간 숙주 세포의 SARS-CoV-2 감염성을 약 50,000 ng/ml 이하, 예를 들어, 약 25,000 ng/ml, 15,000 ng/ml, 10,000 ng/ml, 5,000 ng/ml, 2,500 ng/ml, 1,000 ng/ml, 750 ng/ml, 500 ng/ml, 250 ng/ml, 100 ng/ml, 75 ng/ml, 50 ng/ml, 25 ng/ml 또는 10 ng/ml 이하; 예를 들어, 약 10~50,000 ng/ml, 10~25,000 ng/ml, 25~25,000 ng/ml, 25~15,000 ng/ml, 50~15,000 ng/ml, 50~10,000 ng/ml, 75~10,000 ng/ml, 75~5,000 n/ml, 100~5,000 ng/ml, 100~2,500 ng/ml, 250~2,500 ng/ml, 250~1,000 ng/ml, 500~1,000 ng/ml 또는 500~750 ng/ml의 IC₈₀으로 중화시킨다.

[0168] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 프로테아제(예를 들어, 타입 II 막관통 세린 프로테아제(TMPS2))에 대한 SARS-CoV-2의 결합을 감소시킨다. 이론에 얽매이지 않으나, 1차 표적 세포 및 초기 바이러스 진입에 대한 SARS-CoV-2-Spike 활성화를 매개하는 주요 숙주 프로테아제는 TMPS2이다.

[0169] 일부 실시형태에서, 숙주 프로테아제는 TMPS2이다. 일부 실시형태에서, TMPS2는 포유동물 TMPS2이다. 일부 실시형태에서, TMPS2는 영장류 TMPS2, 예를 들어, 인간 TMPS2 또는 비-인간 영장류 TMPS2(예를 들어, 침팬지 TMPS2, 마카크 TMPS2 또는 시노몰거스 TMPS2)이다.

[0170] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 프로테아제(예를 들어, TMPS2)에 대한 SARS-CoV-2의 결합을 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼 감소시킨다.

[0171] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드의 존재 하에서의 SARS-CoV-2와 숙주 프로테아제(예를 들어, TMPS2) 간의 결합 수준은 폴리펩티드의 부재 하에서의 결합 수준에 비해서 약 90% 미만, 예를 들어, 약 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1% 미만이다.

[0172] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드의 존재 하에서의 SARS-CoV-2와 숙주 프로테아제(예를 들어, TMPS2) 간의 결합 수준은 폴리펩티드의 부재 하에서의 결합 수준에 비해서 약 1~90%, 예를 들어, 폴리펩티드의 부재 하에서의 결합 수준에 비해서 약 2~90%, 2~85%, 3~85%, 3~80%, 4~80%, 4~75%, 5~75%, 5~70%, 6~70%, 6~65%, 7~65%, 7~60%, 8~60%, 8~55%, 9~55%, 9~50%, 10~50%, 10~45%, 15~45%, 15~40%, 20~40%, 20~35%, 25~35% 또는 25~30%이다.

[0173] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 세포(예를 들어, 인간 숙주 세포) 내로의 SARS-CoV-2의 진입을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 세포 내로의 SARS-CoV-2의 진입을 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼 감소시킨다.

[0174] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 세포(예를 들어, 인간 숙주 세포)에서 SARS-CoV-2의 감염성을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 세포(예를 들어, 인간 숙주 세포)에서 SARS-CoV-2의 감염성을 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 인간 세포에서 SARS-CoV-2의 감염성을 적어도 약 30%만큼 감소시킨다.

[0175] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 세포(예를 들어, 인간 숙주 세포)에서 SARS-CoV-2의 재감염을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 숙주 세포(예를 들어, 인간 숙주 세포)에서 SARS-CoV-2의 재감염을 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 폴리펩티드는 인간 세포에서 SARS-CoV-2의 재감염을 적어도 약 30%만큼 감소시킨다.

[0176] 감염성 또는 재감염은 슈도바이러스 중화 검정 또는 생 바이러스 중화 검정과 같은 기술을 사용하여 측정될 수 있다(예를 들어, 문헌[Pinto et al., *Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody*, Nature 583: 290-95 (2020)], 내용이 본 명세서에 참조에 의해 포함됨). 키트, 예를 들어, GenScript cPass™ SARS-CoV-2 중화 항체 검출 키트(Genscript Biotech, 미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재)는

제조사의 프로토콜에 따라서 사용될 수 있다.

- [0177] 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 폐 타입 II 폐포세포, 회장 흡수성 장세포, 비강 술잔 분비 세포 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0178] 융합 단백질
- [0179] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 중 하나 이상을 포함하는 융합 단백질을 제공한다.
- [0180] 용어 "융합 단백질"은 합성, 반합성 또는 재조합 단일 단백질 분자를 지칭한다. 융합 단백질은 공유 결합(예를 들어, 펩티드 결합)에 의해 부착된 2개 이상의 상이한 단백질 및/또는 폴리펩티드의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다. 본 발명의 융합 단백질은 당업계에 널리 공지된 통상적인 방법 및 시약을 사용하여 재조합 방식으로 또는 합성 방식으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 융합 단백질은 당업계에 공지된 방법에 따라 적합한 숙주 세포(예를 들어, 박테리아)에서 재조합 방식으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌[*Current Protocols in Molecular Biology*, Second Edition, Ausubel *et al.* eds., John Wiley & Sons, 1992]; 및 문헌[*Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 2nd edition, Sambrook *et al.*, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press] 참조. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자는 적합한 숙주 세포(예를 들어, 이. 콜라이(E. coli))에 도입 및 발현될 수 있으며, 발현된 융합 단백질은 통상적인 방법 및 쉽게 입수 가능한 시약을 사용하여 숙주 세포(예를 들어, 이. 콜라이)로부터 단리/정제될 수 있다. 예를 들어, 상이한 단백질 서열(예를 들어, 광-반응성 도메인, 이중 펩티드 성분)을 암호화하는 DNA 단편은 통상적인 기술에 따라 인-프레임으로 함께 결합될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 융합 유전자는 자동 DNA 합성기를 포함하는 통상적인 기술에 의해 합성될 수 있다. 대안적으로, 핵산 단편의 PCR 증폭은 후속적으로 어닐링되고 재증폭되어 키메라 핵산 서열을 생성할 수 있는 2개의 연속적인 핵산 단편 사이에 상보적 오버행을 발생시키는 앵커 프라이머를 사용하여 수행될 수 있다(문헌[Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, 1992] 참조).
- [0181] 핵산, 발현 벡터, 발현 숙주 세포
- [0182] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질 중 임의의 하나를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드 또는 융합 단백질은 단일 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩티드 또는 융합 단백질은 다중 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된다.
- [0183] 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 선택된 숙주 세포에 대해 코돈-최적화된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0184] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드 중 임의의 하나 이상을 포함하는 발현 벡터를 제공한다.
- [0185] 용어 "발현 벡터"는 발현 벡터가 적합한 발현 숙주 세포로 형질전환될 때 하나 이상의 단백질이 발현될 수 있는 복제 가능한 핵산을 지칭한다.
- [0186] 일부 실시형태에서, 발현 벡터는 폴리뉴클레오티드에 작동 가능하게 연결된 발현 제어 폴리뉴클레오티드 서열, 선택 가능한 마커를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열 또는 둘 다를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 발현 제어 폴리뉴클레오티드 서열은 프로모터 서열, 인핸서 서열 또는 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 발현 제어 폴리뉴클레오티드 서열은 유도성 프로모터 서열을 포함한다. 용어 "프로모터"는 용어는 RNA 중합효소가 결합하여 유전자의 전사를 개시하는 DNA 영역을 지칭한다. 용어 "작동 가능하게 연결된"은 핵산이 연결된 요소(예를 들어, 프로모터)의 제어 하에 핵산의 발현을 가능하게 하는 방식으로 재조합 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 벡터에 위치한다는 것을 의미한다. 용어 "선택 가능한 마커 요소"는 인공 선택에 적합한 특성을 부여하는 요소이다. 선택 가능한 마커 요소는 음수 또는 양수 선택 마커일 수 있다.
- [0187] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 발현 벡터 중 임의의 하나 이상을 포함하는 발현 숙주 세포를 제공한다.
- [0188] 용어 "발현 숙주 세포"는 벡터를 수용, 유지, 재생산 및 증폭하는 데 유용한 세포를 지칭한다.
- [0189] 발현 숙주 세포의 비제한적 예는 포유동물 세포, 예컨대, 하이브리도마 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, COS

세포, 인간 배아 신장(HEK), 효모 세포, 예컨대, 피치아 파스토리스(Pichia pastoris) 세포 또는 박테리아 세포, 예컨대, DH5 α 등을 포함한다.

[0190] 조성물

[0191] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질 중 임의의 하나를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약제학적 조성물이다.

[0192] 일부 실시형태에서, 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 안정화제, 희석제 또는 긴장제(tonifier)를 추가로 포함한다(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)). 적합한 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 무독성이다. 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 안정화제, 희석제 또는 긴장제의 비제한적 예는 완충제(예를 들어, 포스페이트, 시트레이트, 히스티딘), 항산화제(예를 들어, 아스코르브산 또는 메티오닌), 보존제, 단백질(예를 들어, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 친수성 중합체, 아미노산, 탄수화물(예를 들어, 단당류, 이당류, 글루코스, 만노스 또는 텍스트린); 킬레이팅제(예를 들어, EDTA), 당(예를 들어, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨), 염-형성 반대-이온(예를 들어, 나트륨), 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 비이온성 계면활성제(예를 들어, Tween), PLURONICS™ 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다.

[0193] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)은 적합한 투여 일정 및 경로를 위해 제형화된다. 투여 경로의 비제한적 예는 경구, 직장, 점막, 정맥내, 근육내, 피하 및 국소 등을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)은 수용액 또는 건조 제형(예를 들어, 동결건조)의 형태로 저장된다.

[0194] 일부 실시형태에서, 조성물은 주입(예를 들어, 정맥내 주입)에 의해 투여되도록 제형화된다.

[0195] 일부 실시형태에서, 조성물은 병용 요법으로서 추가적인 치료제(들)와 함께 투여되도록 제형화된다.

[0196] 사용 방법

[0197] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 SARS-CoV-2 감염의 가능성을 감소시키는 방법을 제공하며, 이 방법은, 대상체에게, 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 활성 성분으로서 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질 중 임의의 하나를 포함하는, 유효량의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0198] 일부 실시형태에서, 대상체에서 SARS-CoV-2 감염의 가능성은 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼 감소된다.

[0199] 일부 실시형태에서, 폴리펩티드의 존재 하에서 대상체에서 SARS-CoV-2 감염 공산은 폴리펩티드의 부재 하에서의 공산에 비해서 약 1~90%, 예를 들어, 약 2~90%, 2~85%, 3~85%, 3~80%, 4~80%, 4~75%, 5~75%, 5~70%, 6~70%, 6~65%, 7~65%, 7~60%, 8~60%, 8~55%, 9~55%, 9~50%, 10~50%, 10~45%, 15~45%, 15~40%, 20~40%, 20~35%, 25~35% 또는 25~30%이다.

[0200] 용어 "대상체" 또는 "환자"는 동물(예를 들어, 포유동물)을 지칭한다. 본 명세서에 기재된 방법에 따라 치료될 대상체는 특정 병태(예를 들어, COVID-19)로 진단된 사람이거나 이러한 병태가 발생할 위험이 있는 사람일 수 있다. 진단은 당업계에 공지된 임의의 방법 또는 기술에 의해 수행될 수 있다. 당업자는 본 개시내용에 따라 치료될 대상체가 표준 시험을 받았을 수 있거나 검사 없이 질환 또는 병태와 연관된 하나 이상의 위험 인자의 존재로 인해 위험에 처한 사람으로 확인되었을 수 있음을 이해할 것이다.

[0201] 일부 실시형태에서, 대상체는 COVID-19를 갖는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 COVID-19로 진단되었다. 다른 실시형태에서, 대상체는 COVID-19가 발병할 위험이 있다.

[0202] 일부 실시형태에서, 대상체는 포유동물이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 개, 고양이, 마우스, 래트, 햄스터, 기니피그, 말, 돼지, 양, 소, 침팬지, 마카크, 시노몰거스 및 인간으로 이루어진 군으로부터 선택된 포유동물이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 영장류이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다.

[0203] 일부 실시형태에서, 대상체는 심장병을 갖는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 선천성 심장병, 관상 동맥 질환, 고혈압성 심장병, 염증성 심장병, 폐성 심장병, 류마티스성 심장병, 판막성 심장병, 심장근육병증, 심부전 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 심장병을 갖는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 울혈성 심부전을 갖는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 심내막염, 심장비대, 심근염 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터

선택되는 염증성 심장병을 갖는다.

- [0204] 일부 실시형태에서, 대상체는 당뇨병을 갖는다.
- [0205] 일부 실시형태에서, 대상체는 폐 질환을 갖는다. 폐 질환의 비제한적인 예는 급성 호흡 곤란 증후군, 천식, 기관지염, COPD, 폐기종, 폐 종양, 흉강 질환(예를 들어, 흉막 중피종 또는 긴장성 기흉), 폐혈관 질환(예를 들어, 색전증, 부종, 동맥성 고혈압 또는 출혈), 기도 감염(예를 들어, 폐렴 또는 다른 상기도 감염 또는 하기도 감염)을 포함한다.
- [0206] 일부 실시형태에서, 대상체는 담배 흡연자이다.
- [0207] 일부 실시형태에서, 대상체는 면역-손상되어 있다(예를 들어, 기저 장애를 갖거나 면역억제 요법 중이다).
- [0208] 일부 실시형태에서, 대상체는 40세 이상, 예를 들어, 적어도 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90세 이상이다.
- [0209] "치료적 유효량", "유효량" 또는 "유효 투여량"은 목적하는 치료 결과(예를 들어, 생리학적 반응 또는 병태의 치료, 치유, 저해 또는 개선 등)를 달성하는 데 필요한 투여량 및 기간 동안의 유효한 양이다. 완전한 치료 효과는 1회 용량의 투여로 반드시 발생하는 것은 아니며 일련의 용량의 투여 후에만 발생할 수 있다. 따라서, 치료적 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 치료적 유효량은 포유동물의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 투여 방식 및 개체에서 원하는 반응을 유도하는 치료제 또는 치료제의 조합물의 능력과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다.
- [0210] 투여될 작용제의 유효량은 본 명세서에 제공된 지침 및 당업계에 공지된 다른 방법을 사용하여 통상의 기술을 가진 임상가에 의해 결정될 수 있다. 관련 인자는 주어진 작용제, 약제학적 제형, 투여 경로, 질환 또는 장애의 유형, 대상체의 아이덴티티(예를 들어, 연령, 성별, 체중) 또는 치료될 숙주 등을 포함한다. 예를 들어, 적합한 투여량은 치료당 약 0.001 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 1 mg/kg 체중일 수 있다. 특정 작용제, 대상체 및 질환에 대한 투여량을 결정하는 것은 당업자의 능력 범위 내에 있다. 바람직하게는, 투여량은 최소한의 부작용을 유발하거나 생성하지 않는다.
- [0211] 목적하는 반응 또는 목적하는 결과는 세포 수준, 조직 수준 또는 임상 결과에서의 효과를 포함한다. 이와 같이, "치료적 유효량" 또는 이에 대한 동의어는 그것이 적용되는 맥락에 따라 달라진다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 이는 조성물의 투여 없이 얻어진 반응과 비교하여 치료 반응을 달성하기에 충분한 조성물의 양이다. 다른 실시형태에서, 이것은 대조군과 비교하여 대상체에서 유익하거나 목적하는 결과를 초래하는 양이다. 본 명세서에 정의된 바와 같이, 본 개시내용의 조성물의 치료적 유효량은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 의해 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 투여 요법 및 투여 경로는 최적의 치료 반응을 제공하도록 조정될 수 있다.
- [0212] 일부 실시형태에서, 방법은 예방 요법을 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 유효 투여량은 대상체가 SARS-CoV-2에 의해 감염되는 것을 방지하기에 충분하다.
- [0213] 일부 실시형태에서, 방법은 SARS-CoV-2 감염을 치료하기 위해 사용된다.
- [0214] 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 용어는 본 명세서에 예시된 특정 적응증과 같은 질환, 병리학적 병태 또는 장애를 향상, 개선, 안정화(즉, 악화하지 않음), 예방 또는 치유하려는 의도를 가진 대상체의 의학적 관리를 지칭한다. 이 용어는 적극적인 치료(질환, 병리학적 병태 또는 장애를 개선하기 위한 치료), 인과적 치료(관련 질환, 병리학적 병태 또는 장애의 원인에 대한 치료), 완화 치료(증상 완화를 위해 고안된 치료), 예방적 치료(관련 질환, 병리학적 병태 또는 장애의 발달을 최소화하거나 부분적으로 또는 완전히 저해하는 것에 관한 치료); 및 지지 치료(또 다른 요법을 보완하기 위해 사용되는 치료)를 포함한다. 치료는 또한 검출 가능한지 검출 불가능한지에 관계 없이 질환 또는 병태의 정도의 감소; 질환 또는 병태의 확산 방지; 질환 또는 병태의 진행의 지연 또는 둔화; 질환 또는 병태의 개선 또는 완화; 및 관해(부분이든 전체이든)를 포함한다. 질환 또는 병태의 "개선" 또는 "완화"는 치료의 부재 하에서의 정도 또는 시간 경과에 비해서 질환, 장애 또는 병태의 정도 및/또는 바람직하지 않은 임상적 징후가 감소되거나 진행의 시간 경과가 둔화되거나 길어지는 것을 의미한다. "치료"는 치료를 제공받지 않을 경우 예상되는 생존 기간과 비교하여 생존 기간을 연장하는 것을 의미할 수도 있다. 치료를 필요로 하는 사람은 병태 또는 장애를 이미 갖는 사람뿐만 아니라 병태 또는 장애를 가질 경향이 있는 사람 또는 병태 또는 장애가 예방되어야 하는 사람을 포함한다.
- [0215] 일부 실시형태에서, 유효 투여량은 대상체에서 바이러스 양(viral load)을 저해하기에 충분하다. 일부 실시형태

에서, 바이러스 양의 감소는 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 실시 형태에서, 바이러스 양의 감소는 약 10~99%, 예를 들어, 약 10~98%, 15~98%, 15~97%, 20~97%, 20~96%, 25~96%, 25~95%, 30~95%, 30~94%, 35~94%, 35~93%, 40~93%, 40~92%, 45~92%, 45~91%, 50~91%, 50~90%, 55~90%, 55~85%, 60~85%, 60~80%, 65~80%, 65~75% 또는 70~75%이다.

[0216] 일부 실시형태에서, 유효 투여량은 바이러스가 이의 표적 단백질, 표적 세포 또는 둘 다에 결합하는 것을 감소 시키기에 충분하다. 일부 실시형태에서, 결합의 감소는 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 실시형태에서, 결합의 감소는 약 10~99%, 예를 들어, 약 10~98%, 15~98%, 15~97%, 20~97%, 20~96%, 25~96%, 25~95%, 30~95%, 30~94%, 35~94%, 35~93%, 40~93%, 40~92%, 45~92%, 45~91%, 50~91%, 50~90%, 55~90%, 55~85%, 60~85%, 60~80%, 65~80%, 65~75% 또는 70~75%이다.

[0217] 일부 실시형태에서, 유효 투여량은 표적 세포와의 바이러스 매개 융합을 저해하기에 충분하다. 일부 실시형태에서, 융합의 감소는 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 실시형태에서, 융합의 감소는 약 10~99%, 예를 들어, 약 10~98%, 15~98%, 15~97%, 20~97%, 20~96%, 25~96%, 25~95%, 30~95%, 30~94%, 35~94%, 35~93%, 40~93%, 40~92%, 45~92%, 45~91%, 50~91%, 50~90%, 55~90%, 55~85%, 60~85%, 60~80%, 65~80%, 65~75% 또는 70~75%이다.

[0218] 일부 실시형태에서, 유효 투여량은 세포 감염성에 필요한 바이러스 외피 단백질의 형태 변화를 방해하기에 충분하다.

[0219] 본 명세서에 기재된 치료제는 화합물 및 치료될 특정 질환에 따라서 예를 들어, 경구, 식이, 국소, 경피, 직장, 비경구(예를 들어, 동맥내, 정맥내, 근육내, 피하 주사, 피부내 주사), 정맥내 주입 및 흡입(예를 들어, 기관지 내, 비강내 또는 경구 흡입, 비강내 점적제) 투여 경로를 포함하는 다양한 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 투여는 제시된 바와 같이 국소적이거나 전신적일 수 있다. 바람직한 투여 방식은 선택된 특정 화합물에 따라 달라질 수 있다.

[0220] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩티드, 조성물 또는 약제학적 조성물은 1종 이상의 추가적인 치료제와 조합하여(예를 들어, 1종 이상의 추가적인 치료제와 동시에 또는 순차적으로) 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본 명세서에 개시된 폴리펩티드, 조성물 또는 약제학적 조성물이 투여되기 전에 1종 이상의 치료제로 이전에 치료된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 방법은 본 명세서에 개시된 폴리펩티드, 조성물 또는 약제학적 조성물의 투여와 동시에 또는 투여 후에 대상체에게 치료적 유효량의 1종 이상의 추가적인 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0221] 추가적인 치료제의 비제한적 예는 항생제(예를 들어, 아지트로마이신), 항체 또는 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 다른 SARS-CoV-2-Spike 결합 펩티드), 항말라리아제(예를 들어, 클로로퀸 또는 히드록시클로로퀸), 항바이러스제(예를 들어, 파비피라비어, 로피나비어 및/또는 리토나비어), 사이토카인(예를 들어, 타입 1 인터페론, 예컨대, 인터페론 베타-1a), 뉴클레오타이드 유사체(예를 들어, 램데시비어), 프로테아제 저해제(예를 들어, 다노프레비어), 레닌-엔지오텐신 - 알도스테론 시스템 저해제(예를 들어, ACE2 저해제 또는 엔지오텐신-수용체 차단제(ARB))를 포함한다.

[0222] 일부 실시형태에서, 항바이러스제는 아만타딘, 파비피라비어, 로피나비어, 오셀타미비어(타미플루(Tamiflu)), 플레코나빌, 리만타딘, 리토나비어, SARS-CoV-2에 대한 안티센스 RNA, SARS-CoV-2에 대한 siRNA, 추가적인 항-SARS-CoV-2 단클론성 항체 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0223] 일부 실시형태에서, 추가적인 항-SARS-CoV-2 단클론성 항체는 SARS-CoV-2의 S 단백질의 RBD를 표적으로 한다. 일부 실시형태에서, 추가적인 항-SARS-CoV-2 단클론성 항체는 중화 단클론성 항체이다. 항-SARS-CoV-2 단클론성 항체의 비제한적 예는 밤라니비맵(bamlanivimab)(LY-CoV555 또는 LY3819253), 에테세비맵(etesevimab)(LY-CoV016 또는 LY3832479), 카시리비맵(casirivimab)(REGN10933) 및 임데비맵(imdevimab)(REGN10987)을 포함한다. 예를 들어, www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/anti-sars-cov-2-antibody-products/anti-sars-cov-2-monoclonal-antibodies 참조.

[0224] 일부 실시형태에서, ACE2 저해제는 ACE2에 대한 RNAi, ACE2에 대한 siRNA, ACE2, 가용성 ACE2, 가용성 ACE2 변이체의 CRISPR-기반 저해제, 항-ACE2 항체, 백신 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되거나; 일부 실

시형태에서, 항생제는 아지트로마이신이다. 일부 실시형태에서, 항말라리아제는 클로로퀸 또는 히드록시클로로퀸을 포함한다. 일부 실시형태에서, 백신은 핵산 백신 또는 불활성화 바이러스 백신이다. 일부 실시형태에서, 백신은 mrna-1273, BNT162, INO-4800, AZD1222, Ad5-nCoV, PiCoVacc, NVX-CoV2373 또는 이들의 조합물이다.

- [0225] 2종 이상의 치료제의 투여는 약제학적 조합물에서 같이 실질적으로 동시적인 방식으로 치료제를 동시 투여하는 것을 포함한다. 대안적으로, 이러한 투여는 각각의 치료제에 대한 다중 용기 또는 별도의 용기(예를 들어, 캡슐, 분말 및 액체)에서의 동시 투여를 포함한다. 이러한 투여는 또한 대략 동시에 또는 상이한 시간에 순차적인 방식으로 각각의 유형의 치료제를 사용하는 것을 포함한다. 본 명세서에 기재된 조성물 및 추가적인 치료제(들)는 동일한 투여 경로를 통해 또는 상이한 투여 경로를 통해 투여될 수 있다.
- [0226] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 SARS-CoV-2 감염을 예방하는 방법을 제공하며, 이 방법은, 대상체에게, 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 활성 성분으로서 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질 중 임의의 하나를 포함하는, 유효량의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0227] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 SARS-CoV-2 감염을 치료하는 방법을 제공하며, 이 방법은, 대상체에게, 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 활성 성분으로서 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질 중 임의의 하나를 포함하는, 유효량의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0228] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 SARS-CoV-2의 바이러스 양을 감소시키는 방법을 제공하며, 이 방법은, 대상체에게, 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 활성 성분으로서 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질 중 임의의 하나를 포함하는, 유효량의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0229] 또 다른 양태에서, 본 발명은 표적 세포에 대한 SARS-CoV-2의 결합을 저해하는 방법을 제공하며, 이 방법은 표적 세포를 유효량의 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0230] 또 다른 양태에서, 본 발명은 표적 세포 상의 표적 단백질에 대한 SARS-CoV-2의 결합을 저해하는 방법을 제공하며, 이 방법은 표적 세포를 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0231] 또 다른 양태에서, 본 발명은 표적 세포와의 바이러스 매개 융합을 저해하는 방법을 제공하며, 이 방법은 표적 세포를 유효량의 본 명세서에 기재된 폴리펩티드 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0232] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 용어, 표기법 및 기타 과학 용어 또는 전문 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 갖도록 의도된다. 일부 경우에, 일반적으로 이해되는 의미를 갖는 용어는 명료성 및/또는 용이한 참조를 위해 본 명세서에 정의되며, 본 명세서에 이러한 정의를 포함하는 것이 당업계에서 일반적으로 이해되는 것과 실질적 차이를 나타내는 것으로 반드시 해석되어서는 안 된다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의된 용어와 같은 용어는 관련 기술의 맥락 및/또는 본 명세서에서 달리 정의된 바와 같은 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 한다는 것이 추가로 이해될 것이다.
- [0233] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 실시형태를 설명하기 위한 목적만을 위한 것이며 제한하려는 의도가 아니다.
- [0234] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단수 표현은 문맥상 달리 명확하게 나타내지 않는 한 복수 대상을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0235] 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 본 명세서 및 이어지는 청구범위 전체에서, 단어 "포함하다" 및 "포함하다" 및 "포함하는"과 같은 변형은 예를 들어, 명시된 정수 또는 단계 또는 정수 또는 단계의 군을 포함하지만 임의의 다른 정수 또는 단계 또는 정수 또는 단계의 군을 제외하지는 않음을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 본 명세서에서 사용되는 경우 용어 "포함하는"은 "함유하는" 또는 "비롯한"으로 대체될 수 있다.
- [0236] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "이루어진"은 청구범위 요소에 명시되지 않은 임의의 요소, 단계 또는 성분을 배제한다. 본 명세서에서 사용되는 경우, "본질적으로 이루어진"은 청구범위의 기본적인 신규한 특징에 실질적으로 영향을 미치지 않는 물질 또는 단계를 배제하지 않는다. 용어 "포함하는", "함유하는", "비롯한" 및 "갖는" 중 임의의 것은 본 발명의 양태 또는 실시형태의 맥락에서 본 명세서에서 사용될 때마다 일부 실시형태에서 본 개시내용의 범주를 다양하게 하기 위해 용어 "이루어진" 또는 "본질적으로 이루어진"으로 대체될 수 있다.
- [0237] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 다수의 인용된 요소 사이의 접속 용어 "및/또는"은 개별 및 조합된 옵션을 모두 포함하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 두 요소가 "및/또는"으로 결합된 경우, 첫 번째 옵션은 두 번째 요소 없이 첫 번째 요소의 적용 가능성을 지칭한다. 두 번째 옵션은 첫 번째 요소 없이 두 번째 요소의 적용 가능

성을 지칭한다. 세 번째 옵션은 첫 번째 요소와 두 번째 요소를 함께 적용할 수 있는 가능성을 지칭한다. 이들 옵션 중 임의의 하나는 그 의미 내에 속하는 것으로 이해되며, 따라서 본 명세서에서 사용되는 "및/또는"이라는 용어의 요구 사항을 충족한다. 옵션 중 하나 초과와 동시에 적용 가능성이 또한 그 의미 내에 속하는 것으로 이해되므로 용어 "및/또는"의 요구 사항을 충족한다.

[0238] 목록이 제시될 때, 달리 언급되지 않는 한, 그 목록의 각각의 개별 요소 및 그 목록의 모든 조합은 별개의 실시 형태라는 것을 이해해야 한다. 예를 들어, "A, B, 또는 C"로 제시된 실시형태의 목록은 실시형태 "A", "B", "C", "A 또는 B", "A 또는 C", "B 또는 C", 또는 "A, B 또는 C"를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0239] 예시

[0240] 실시예 1. 항원-결합 분자와 SARS-Cov-2-Spike의 S1 소단위 수용체 결합 도메인(RBD) 간의 직접 결합

[0241] 관심 분자를 재조합 방식으로 발현시키고, 정제시키고, 정량한다. ELISA 플레이트를 상업용 SARS-Cov-2 RBD의 PBS에서 밤새 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 코팅한다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 그 다음 비-특이적 결합을 차단하기 위해 37°C에서 1시간 동안 PBS 중의 5% BSA로 차단시킨다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 관심 분자를 ELISA 플레이트에서 연속 희석액으로 적정하고, 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션시킨다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 표적 분자에 특이적인 2차 항체(HRP와 접합됨)를 플레이트에 고정 희석액으로 첨가한다. 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션시킨다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 관심 웰에 TMB 기질을 첨가함으로써 결합을 프로빙한다. 5 내지 10분 후, 산성 정지 용액으로 반응을 정지시키고, 플레이트 판독기에서 450 nm에서 흡광도를 측정하여 신호를 정량한다. 양성 신호는 음성 대조군(전형적으로 항체 동위원소 대조군)의 배경에 대한 흡광도 판독값에 해당한다. 결합의 반정량적 이해는 표적 분자의 더 높은 희석에서 결합 강도를 평가함으로써 추론될 수 있다. 이론적으로, SARS-Cov-2 RBD에 대해 더 큰 친화도를 가진 후보 분자는 더 약한 결합체에 비해 더 높은 희석에서 더 큰 신호를 나타내어야 한다.

[0242] 실시예 2. 항원-결합 분자는 시험관내에서 RBD에 대한 결합에 대해서 인간 ACE2(hACE2)와 경쟁한다.

[0243] 관심 분자를 재조합 방식으로 발현시키고, 정제시키고, 정량한다. ELISA 플레이트를 상업용 SARS-Cov-2 RBD의 PBS에서 밤새 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 코팅한다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 그 다음 비-특이적 결합을 차단하기 위해 37°C에서 1시간 동안 PBS 중의 5% BSA로 차단시킨다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 관심 분자를 ELISA 플레이트에서 연속 희석액으로 적정한다. 동시에, 고정 농도의 상업용 hACE2(비오티닐화)를 후보 분자와 함께 공동 인큐베이션시킨다. hACE2의 고정 농도는 SARS-Cov-2 RBD에 대한 최대 결합의 50%가 이 검정 형식에서 경험적으로 결정되는 농도에 해당한다. 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션시킨다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 비오티닐화된 hACE2에 특이적인 2차 항체(HRP와 접합된 스트렙타비딘)를 플레이트에 고정 희석액으로 첨가한다. 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션시킨다. 그 다음 플레이트를 자동 플레이트 세척기에서 200 μl 의 PBS-T로 3회 세척하고, 관심 웰에 TMB 기질을 첨가함으로써 결합을 프로빙한다. 5 내지 10분 후, 산성 정지 용액으로 반응을 정지시키고, 플레이트 판독기에서 450 nm에서 흡광도를 측정하여 신호를 정량한다. 양성 신호는 음성 대조군(전형적으로 항체 동위원소 대조군)에 대한 배경을 초과하는 후보 분자가 없는 웰과 비교하여 후보 분자가 있는 웰에 대한 흡광도 감소에 해당한다. hACE2와 경쟁하는 표적 분자의 능력의 반정량적 이해는 표적 분자의 더 높은 희석에서 hACE2 결합의 총 감소를 평가함으로써 추론될 수 있다. 이론적으로, SARS-Cov-2 RBD에 대해서 hACE2와 경쟁하는 더 큰 능력을 가진 후보 분자는 더 약한 능력을 갖는 분자에 비해서 더 높은 희석에서 더 큰 신호를 나타내어야 한다.

[0244] 실시예 3. 항원-결합 분자는 세포 표면 상의 RBD에 대한 결합에 대해서 hACE2와 경쟁한다.

[0245] 관심 분자를 재조합 방식으로 발현시키고, 정제시키고, 정량한다. 야생형 수준에서 hACE2를 발현하는 세포주를 배양하고, (표면 단백질 파괴를 방지하기 위해) 트립신 처리 없이 수거하고, 계수한다. 고정된 수의 세포를 96 웰 플레이트에 첨가하고, 일련의 희석으로 적정된 관심 분자와 함께 인큐베이션시킨다. 동시에, 고정 농도의 상업용 SARS-Cov-2(비오티닐화)를 후보 분자와 함께 공동 인큐베이션시킨다. SARS-Cov-2의 고정 농도는 세포 상의 hACE2에 대한 최대 결합의 50%가 이 검정 형식에서 경험적으로 결정되는 농도에 해당한다. 세포의 플레이트를 4°C에서 1시간 동안 암실에서 인큐베이션시킨다. 플레이트를 400xg에서 5분 동안 원심분리시키고, 상청액을 흡인하고, 세포를 PBS 중의 0.2% BSA로 세척한다. 이 과정을 총 3번의 세척을 위해 2회 더 반복한다. 비오티닐화된

SARS-Cov-2에 특이적인 2차 항체(Alexa Fluor 488과 접합된 스트렙타비딘)를 플레이트에 고정 희석액으로 첨가한다. 세포의 플레이트를 4°C에서 1시간 동안 암실에서 인큐베이션시킨다. 플레이트를 400xg에서 5분 동안 원심 분리시키고, 상청액을 흡인하고, 세포를 PBS 중의 0.2% BSA로 세척한다. 그 다음 세포를 PBS에서 0.2% BSA의 고정 부피로 재현탁시키고, 유세포 분석을 실시한다. SARS-Cov-2 RBD의 총 결합을 FIT-C 채널의 중간 형광 강도(MFI)로 분석한다. 양성 신호는 음성 대조군(전형적으로 항체 동위원소 대조군)에 대한 배경을 초과하는 후보 분자가 없는 웰과 비교하여 후보 분자가 있는 웰에 대한 MFI 감소에 해당한다. SARS-Cov-2 RBD와 경쟁하는 능력의 반정량적 이해는 표적 분자의 더 높은 희석에서 SARS-Cov-2 RBD MFI의 총 감소를 평가함으로써 추론될 수 있다. 이론적으로, hACE2에 대해 SARS-Cov-2 RBD와 경쟁하는 더 큰 능력(SARS-Cov-2 RBD에 대한 친화성으로 간주될 수도 있음)을 가진 후보 분자는 더 약한 능력을 가진 분자에 비해서 더 높은 희석에서 더 큰 신호를 나타내어야 한다.

[0246] 실시예 4. 항체 설계의 효모 디스플레이 특징

[0247] 항체를 c-Myc 에피토프 태그에 융합된 단일 VH 도메인으로서 형식화하고, 효모 디스플레이를 사용하여 결합에 대해서 시험하였다. VH-c-Myc 융합 작제물을 효모 디스플레이 벡터에 클로닝하기 위한 오버행을 갖는 DNA 단편(TWIST Biosciences)으로서 합성하였다. DNA 삽입물 및 분해된 벡터를 효모 내에서 형질전환시키고, 전체 플라스미드를 상동 재조합에 의해 생체내에서 생성시켰다. 효모 세포 표면 상에서의 VH-c-Myc 발현 및 디스플레이를 위해 세포를 유도하였다. 유도된 세포를 VHc-Myc 발현을 위해 비오틴닐화된 SARS-CoV-2 수용체 결합 도메인(RBD) 항원(ACROBiosystems, 미국 델라웨어주 뉴아크 소재) 또는 SARS-CoV RBD(Genscript) 및 항-c-myc(Exalpha)에 대한 결합에 대해 염색하였다. 결합을 나타낸 클론에 대해, 다양한 농도의 SARS-CoV-2 RBD 또는 SARS-CoV 항원으로 적정 곡선을 수행하여 평형 해리 상수(KD)를 평가하였다. SAR-CoV-2 RBD에 결합한 모든 클론은 SARS-CoV RBD에 대한 교차 반응성 결합을 또한 나타내었다. 결합 특이성 및 K_D 값을 표 2에 요약한다.

[0248] 실시예 5. VH-Fc 융합체의 생산

[0249] 종래의 방법을 사용하여 VH-cMyc 융합 작제물을 VH-Fc 융합체로 재형식화하였다. 발현을 유도하기 위한 CMV 프로모터 및 완전히 접힌 VH-Fc 융합체의 상청액으로의 분비를 촉진하기 위한 신호 펩티드를 함유하는 발현 플라스미드를 사용하여 동종이량체 VHH 항체를 생성시켰다. 포유동물 발현 숙주 시스템(예컨대, 중국 햄스터 난소 - CHO S 세포주)을 유가식 생산 절차와 함께 양이온성 지질 기반 일시적 형질주입 방법론을 사용하여 단백질 발현에 사용하였다. 발현된 가용성 VH-Fc 융합체를 단백질 A 친화성 수지(예컨대, MabSelect Sure 수지, GE Healthcare) 및 수성 완충액을 사용하는 친화성 포획-기반 정제 방법을 사용하여 정제시켰다. 낮은 pH의 산성 조건(예컨대, pH 3.5) 하에서 용출을 수행하고, 그 다음 2 M Tris 염기를 사용하여 pH 7.5로 중화시켰다. 정제된 VHH 항체를 장기간 저장/냉동을 위해 수성 완충액(예컨대, NaCl을 함유하는 히스티딘-기반 완충액)에서 추가로 안정화시켰다.

[0250] 실시예 6. VHH 항체의 결합 동력학 및 친화도

[0251] ForteBio Octet Red96e 기기를 사용하여 생물층 간섭계(BLI)로 결합 동력학 및 친화도를 측정하였다. 바이오센서 상에 항체를 포획하였다. 그 다음 회합 및 해리를 위해 바이오센서를 SARS-CoV-2 RBD(Acro Biosystems)의 연속 희석액과 함께 인큐베이션시켰다.

[0252] 실시예 7. 물질 및 방법

[0253] 전장 IgG의 발현

[0254] 설계된 항체의 VHH 가변 도메인(scFc) 서열을 암호화하는 역번역된 DNA를 PCR 증폭시키고, NEBuilder[®] HiFi DNA Assembly(New England Biolabs, 미국 매사추세츠주 Ipswich 소재)를 사용하여 CMV 프로모터 서열, 신호 펩티드 및 상응하는 불변 영역을 함유하는 인간 hG1 Fc 벡터에 클로닝하였다. VHH 단백질을 제조사의 방법(Thermo Fisher Scientific, Inc., 미국 매사추세츠주 월섬 소재)에 따라 ExpiCHO 세포에서 발현시켰고, 제조사의 방법에 따라 MabSelect Sure Protein A 친화성 수지(Cytiva, 미국 매사추세츠주 말보로 소재)를 사용하는 친화성 크로마토그래피로 정제시켰다.

[0255] 중화 검정

[0256] 미리 적정된 양의 rVSV-SARS-CoV-2를 1시간 동안 37°C에서 연속 희석된 단클론성 항체와 함께 인큐베이션시킨 후 96웰 플레이트의 컨플루언트 Vero(ATCC CCL-81) 단일층에 첨가하였다. 감염을 37°C에서, 5% CO₂에서 16-18시간 동안

간 동안 진행시킨 후 세포를 4% 파라포름알데히드로 고정시키고, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Hoechst로 염색하였다. CellInsight CX5 영상화기를 사용하여 세포를 영상화하고 총 세포 및 녹색 형광 단백질(GFP)을 발현하는 세포를 자동으로 열거하여 감염을 정량하였다. 인간 IgG 이소타입 대조군과 함께 인큐베이션된 rVSV-SARS-CoV-2로 감염된 세포의 평균 수에 대해서 감염을 정규화시켰다.

[0257] WT 및 돌연변이체 SARS-CoV-2 Spike 단백질의 생성

[0258] 엑토도메인의 HexaPro 배경(잔기 14~1208 함유)(Genbank: MN908947), 6개의 프롤린 치환(F817P, A892P, A899P, A942P, K986P, V987P), 뿐만 아니라 북유럽에서 스피로버/스필백(spillover/spillback)과 연관된 모든/대부분의 변이체에서 확립된 D614G 돌연변이 및 절단 부위 잔기 682~685의 대체("RRAR"(서열번호 18)에서 "GSAS"(서열번호 19))를 사용하여 에피토프 비닝(binning) 연구 및 구조 생물학을 위해서 스파이크 단백질을 생성시켰다. 생성된 스파이크 변이체를 N-말단 가우시아 루시페라제 신호 서열(MGVKLVFALICIAVAEA(서열번호 20)) 및 C-말단 폴돈 삼량체화 도메인(foldon trimerization domain), 그 다음 HRV-3C 절단 부위 및 Twin-Strep-Tag를 함유하는 phCMV 포유동물 발현 벡터에 클로닝하였다. 플라스미드를 Stellar 컴피턴트 세포(competent cell) 내에서 형질전환시키고, Plasmid Plus Midi 키트(Qiagen, 독일 힐덴 소재)를 사용하여 단리시켰다.

[0259] SARS-CoV-2 HexaPro 스파이크를 Freestyle 293-F 또는 ExpiCHO-S 세포(Thermo Fisher Scientific, Inc., 미국 매사추세츠주 윌섬 소재)에 일시적으로 형질주입시켰다. 두 세포주 모두 제조사의 프로토콜에 따라 유지시키고, 형질주입시켰다. 간략하면, 293-F 세포를 2.0×10^6 개 세포/ ml 의 밀도로 성장시키고, 형질주입 당일(제0일)에 2.0×10^6 개 세포/ ml 로 희석시켰다. 플라스미드 DNA와 폴리에틸렌이민을 Opti-MEM(Thermo Fisher Scientific, Inc., 미국 매사추세츠주 윌섬 소재)에서 혼합하고, 25분 동안 인큐베이션시킨 다음 세포에 첨가하였다. 세포 배양물을 37°C, 8% CO₂ 및 120 RPM에서 인큐베이션시키고, 제5일에 수거하였다. ExpiCHO 배양물의 경우, 제조사의 "High Titer" 프로토콜을 사용하였다. 간략하면, 세포를 1×10^7 개 세포/ ml 의 밀도로 성장시키고, 형질주입 당일(제0일)에 6×10^6 개 세포/ ml 로 희석시켰다. 플라스미드 DNA와 Expifectamine을 제조사의 지침에 따라 Opti-PRO SFM(Thermo Fisher Scientific, Inc., 미국 매사추세츠주 윌섬 소재)에서 혼합하고, 세포에 첨가하였다. 제1일에, 제안된 프로토콜에 따라 제조사에서 제공한 공급물 및 인헨서를 세포에 공급한 다음, 배양물을 32°C, 5% CO₂ 및 115 RPM에서 인큐베이션시켰다. ExpiCHO 배양물을 제7일에 수거하였다. 모든 배양물을 원심분리시킨 후 BioLock(IBA Lifesciences, 독일 괴팅겐 소재)을 첨가하여 정화하고, 상청액을 0.22 μM 멸균 필터를 통해 유동시키고, TBS 완충액(25 mM Tris pH 7.6, 200 mM NaCl, 0.02% NaN₃)으로 평형화시키고, 5 mM d-테스티오비오틴(Sigma-Aldrich, 미국 미조리주 세인트 루이스 소재)이 보충된 TBS 완충액에서 용리시키는 5 ml StrepTrap-HP 칼럼을 사용하여 ÄKTA GO(Cytiva, 미국 매사추세츠주 말보로 소재)에서 정제시켰다. strep-태그를 HRV-3C 프로테아제를 사용하여 절단하였고, 단백질을 TBS에서 Superdex 6 증가 10/300 칼럼(GE Healthcare, 미국 일리노이주 시카고 소재)에서 크기 배제 크로마토그래피(SEC)에 의해 추가로 정제시켰다.

[0260] 고속대량처리 표면 플라즈몬 공명(HT-SPR) 에피토프 비닝

[0261] 25°C에서 CMDP 센서 칩이 장착된 Carterra LSA SPR 기기에서 그리고 HBSTE-BSA 전개 완충액(10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% Tween-20, 0.5 mg/ml BSA가 보충됨)에서 샌드위치 검정 형식으로 에피토프 비닝을 수행하였다. 96채널 프린트-헤드(96PH) 및 단일 플로우 셀(SFC)의 두 가지 미세 유체 모듈을 사용하여 센서 칩에 샘플을 전달하였다. 전개 완충액으로서 0.05% Tween-20을 함유하는 25 mM MES(pH 5.5)로 표면 준비를 수행하였다. SFC를 사용하여 0.1 M MES(pH 5.5)에서 130 mM 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드(EDC) + 33 mM N-히드록시술포숙신아미드(Sulfo-NHS)의 새로 준비된 용액으로 칩을 활성화시켰다. 항체를 10 mM 아세트산나트륨(pH 4.25)에 희석된 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 10분 동안 96PH를 사용하여 고정시켰다. 비반응성 에스테르를 SFC를 사용하여 1 M 에탄올아민-HCl(pH 8.5)을 7분 동안 주입하여 쉐칭하였다. 전개 완충액 및 샘플 희석액으로서 HBSTE-BSA 완충액 사용하여 이 어레이에 대해 비닝 분석을 수행하였다. RBD 항원을 50 nM(1.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 4분 동안 각각의 주기에서 주입하였고, 직후에 분석 항체를 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (IgG 작제물의 경우 200 nM)로 4분 동안 주입하였다. 표면을 10 mM 글리신(pH 2.0)의 이중 펄스(펄스당 17초)로 주기마다 재생시켰다. 데이터를 Epitope Tool 소프트웨어(Carterra, 미국 유타주 솔트 레이크 시티 소재)로 처리 및 분석하였다.

[0262] 실시예 8. 에피토프 및 친화도

[0263] 가용성 G614 HexaPro 스파이크 엑토도메인 및 단량체 RBD에 대한 단클론성 항체의 친화도를 조사하였다. 고속대

량처리 표면 플라즈몬 공명 분석을 사용하여, RBD와 반응하는 항체를 7개의 상이한 "커뮤니티"(코로나바이러스 면역요법 컨소시엄(Coronavirus Immunotherapy Consortium: COVIC))로 분류하였다. RBD 커뮤니티는 동일한 커뮤니티의 두 구성원 간에 SPR 샌드위치 쌍을 만들 수 없는 것으로 정의되었는데, 이는 결합을 위한 공유된 에피토프를 나타낸다. 참조, AB-1 및 AB-2는 구별되는 "RBD 커뮤니티" 에피토프 빈인 "RBD 커뮤니티 7"에 클러스터링되는 것을 발견하였다(COVIC, 데이터 나타내지 않음). G614 HexaPro 스파이크 엑토도메인 및 단량체 RBD에 대한 친화도를 표 2에 기재한다.

[0264] 실시예 9. VHH 분자는 YSD에 의해서 SARS-COV-2 RBD에 결합한다.

[0265] c-myc 에피토프 태그에 융합된 ScFv 작제물을 효모 디스플레이 벡터에 클로닝하기 위한 오버행을 갖는 DNA 단편 (Twist Biosciences)으로서 합성하였다. DNA 삽입물 및 분해된 벡터를 효모 내에서 형질전환시키고, 전체 플라스미드를 상동 재조합에 의해 생체내에서 생성시켰다. 효모 세포 표면 상에서의 scFv 발현 및 디스플레이를 위해 세포를 유도하였다. 유도된 세포를 scFv 발현을 위해 비오틴화된 SARS-CoV-2 수용체 결합 도메인(RBD) 항원(ACROBiosystems, 미국 델라웨어주 뉴아크 소재) 또는 SARS-CoV RBD(Genscript Biotech, 미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재) 및 항-c-myc(Exalpha Biologicals Inc, 미국 매사추세츠주 설리 소재)에 대한 결합에 대해 염색하였다. 항원의 적정 농도에서 작제물을 염색함으로써 친화도를 결정하고, 각각의 농도에서 중간 형광 강도를 플로팅함으로써 평형에서 K_D 를 계산하였다(표 2, 도 3).

[0266] 실시예 10. VHH 분자는 시험관내에서 SARS-COV-2를 중화시킨다.

[0267] AB-1 및 AB-2를 중화 연구를 위해 코로나바이러스 면역요법 컨소시엄(COVIC)에 제출하였다. 두 분자 모두는 유사 WT 바이러스 및 실제 WT 바이러스 둘 다의 Vero 단일층 감염을 차단하는 능력을 나타낸다(표 2).

[0268] COV-2 RBD에서 새로 발생한 돌연변이의 민감성을 추가로 조사하기 위해서 AB-1를 선택하였다. 다수의 인간 변이체 및 밍크 변이체에서 발견된 점 돌연변이를 보유하는 슈도바이러스를 사용하여 슈도바이러스 중화 연구를 수행하였다. 데이터를 도 4에 제시한다. AB-1은 -2.5 내지 2.5의 IC_{50} 배수 변화에 의해서 제시된 바와 같이 대부분의 돌연변이에 대해서 내성이었다.

표 1

아미노산 서열

명칭	서열	아미노산 서열
V _H 공통	번호 2	QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGK EREFVATISWGGSTYYTDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLK PDDTAVYYCAAAGLGX ₁ X ₂ X ₃ SEWDYDYDYWGQGTQVTVSSGS
참조의 V _H	번호 3	QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGK EREFVATISWGGSTYYTDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLK PDDTAVYYCAAAGLGTVVSEWDYDYDYWGQGTQVTVSSGS
AB-1의 V _H	번호 4	QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGK EREFVATISWGGSTYYTDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLK PDDTAVYYCAAAGLGVVLESEWDYDYDYWGQGTQVTVSSGS
AB-2의 V _H	번호 5	QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGK EREFVATISYGGSTYYTDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLK PDDTAVYYCAAAGLGVHVSEWDYDYDYWGQGTQVTVSSGS
참조, AB-1, 2의 HCDR1	번호 6	GRITFSEYA
참조, AB-1, 2의 HCDR2	번호 7	ISWGGST
HCDR3 공통	번호 8	AAAGLGX ₁ X ₂ X ₃ SEWDYDYDY
참조의 HCDR3	번호 9	AAAGLGTVVSEWDYDYDY
AB-1의 HCDR3	번호 10	AAAGLGVVLESEWDYDYDY
AB-2의 HCDR3	번호 11	AAAGLGVHVSEWDYDYDY
중쇄 IgG1	번호 12	ASTKGPVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKLSLSLSPGK
경쇄 κ	번호 13	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
경쇄 λ	번호 14	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DGSFVKAAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSTLTPQWKSQRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS

[0269]

명칭	서열	아미노산 서열
AB-1	번호 15	QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGK EREFVATISWGGSTYYTDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLK PDDTAVYYCAAAGLGVVLESEWDYDYDYWGQGTQVTVSSDKTH TCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSP GK
AB-2	번호 16	QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLCAASGRITFSEYAMGWFRQAPGK EREFVATISYGGSTYYTDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLK PDDTAVYYCAAAGLGVHVSEWDYDYDYWGQGTQVTVSSDKTH TCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSP GK

[0270]

[0271]

중쇄 IgG1, 경쇄 κ, 경쇄 λ 서열은 비제한적인 예시적인 서열이다.

표 2

효모 디스플레이 친화도 측정치

클론	YSD K _D (nM)		Octet K _D (nM)
	SARS-CoV-2 RBD	SARS-CoV RBD	
참조	6.0	+	+
AB-1	9.3	+	+
AB-2	6.6	+	+

[0272]

[0273]

참고문헌

1. Baud D, et al. (2020) Real estimates of mortality following COVID-19 infection. *Lancet Infect Dis.*: S1473-3099(20)30195-X. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30195-X. [Epub ahead of print].
2. Lindsey R. Baden and Eric J. Rubin (2020) Covid-19 - The Search for Effective Therapy, *N Engl J Med.*, doi: 10.1056/NEJMe2005477.
3. Ziegler et al. (2020) SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues, *Cell*, DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.035 [Journal pre-proof].

[0274]

본 명세서에 인용된 모든 특허, 공개된 출원 및 참고 문헌의 교시는 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0275]

예시적인 실시형태가 구체적으로 도시되고 설명되었지만, 당업자라면 첨부된 청구범위에 포함된 실시형태의 범주를 벗어나지 않고 형태 및 상세 사항의 다양한 변경이 이루어질 수 있음을 이해할 것이다.

[0276]

도면

도면1

```

***** ** **
NLCPFGEVFNATKFPSPVYAWERKKISNCVADYSVLYNSTFFSTFKCYGVSATKLNLDLCFSNVYADSFVVKGGDDVRQIAPGQTVIA
* *
DYNKLPDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNVNYKYRYLRHGKLRPFERDISNVFPSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTTIGLYQ
*
PYRVVVLSEFGSLEVLQ (시열번호 21)
    
```

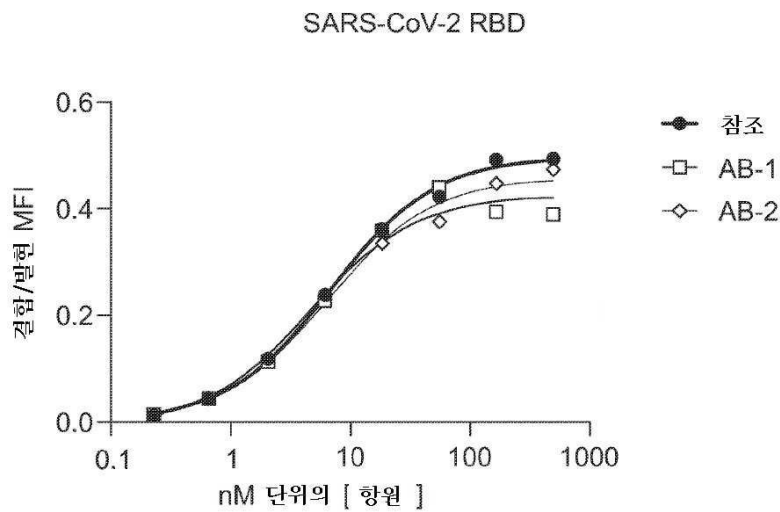
도면2

	HCDR1	HCDR2
참조	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSEYAMGWRQAPGKEREFVATISWGGSTYYTDSVKGRFTI	***** * ISWGGSTYYTDSVKGRFTI
AB-1	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSEYAMGWRQAPGKEREFVATISWGGSTYYTDSVKGRFTI	ISWGGSTYYTDSVKGRFTI
AB-2	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSEYAMGWRQAPGKEREFVATISWGGSTYYTDSVKGRFTI	ISYGGSTYYTDSVKGRFTI

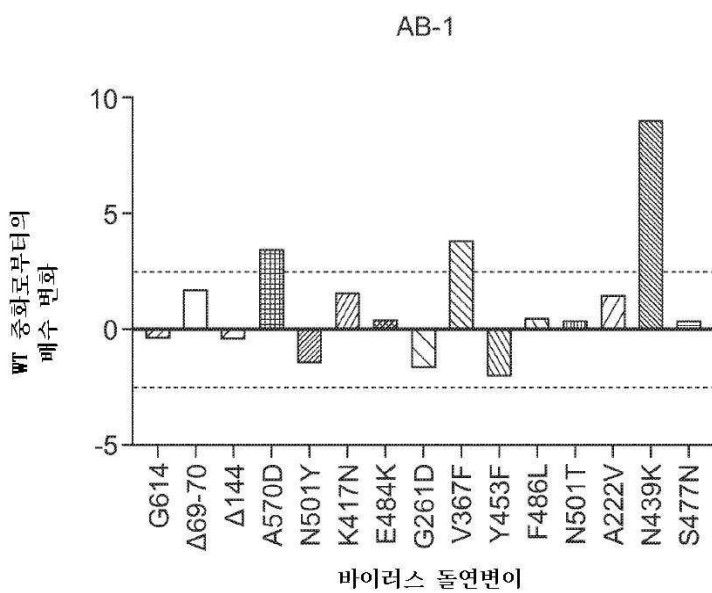
	HCDR3	
참조	SRDNAKNTVYLQMNLSKPDDTAVYYCAAAGLGVVSEWDYDYDYWGQGTQVTVSSGS	(서열번호 3)
AB-1	SRDNAKNTVYLQMNLSKPDDTAVYYCAAAGLGVVSEWDYDYDYWGQGTQVTVSSGS	(서열번호 4)
AB-2	SRDNAKNTVYLQMNLSKPDDTAVYYCAAAGLGVVSEWDYDYDYWGQGTQVTVSSGS	(서열번호 5)

123

도면3



도면4



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Flagship Pioneering Innovations VI, LLC
 <120> Antigen Binding Molecules Targeting SARS-CoV-2
 <130> 5708.1029001
 <150> US 63/070,707
 <151> 2020-08-26
 <160> 21
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 1273
 <212> PRT
 <213> Virus, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
 <400> 1

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val
 1 5 10 15
 Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe
 20 25 30
 Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu
 35 40 45
 His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp
 50 55 60
 Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp
 65 70 75 80
 Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu
 85 90 95
 Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser
 100 105 110
 Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile
 115 120 125
 Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr
 130 135 140
 Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr

Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
 405 410 415
 Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
 420 425 430
 Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
 435 440 445
 Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
 450 455 460
 Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys
 465 470 475 480
 Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
 485 490 495
 Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
 500 505 510
 Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
 515 520 525
 Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn
 530 535 540
 Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu
 545 550 555 560
 Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val
 565 570 575
 Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe
 580 585 590
 Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val
 595 600 605
 Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile
 610 615 620
 His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser
 625 630 635 640
 Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val

Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr
 900 905 910
 Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn
 915 920 925
 Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala
 930 935 940
 Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn
 945 950 955 960
 Thr Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val
 965 970 975
 Leu Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln
 980 985 990
 Ile Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val
 995 1000 1005
 Thr Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn
 1010 1015 1020
 Leu Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys
 1025 1030 1035
 Arg Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro
 1040 1045 1050
 Gln Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val
 1055 1060 1065
 Pro Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His
 1070 1075 1080
 Asp Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn
 1085 1090 1095
 Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln
 1100 1105 1110
 Ile Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val
 1115 1120 1125
 Val Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro

1130 1135 1140
 Glu Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn

1145 1150 1155
 His Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn

1160 1165 1170
 Ala Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu

1175 1180 1185
 Val Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu

1190 1195 1200
 Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu

1205 1210 1215
 Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met

1220 1225 1230
 Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys

1235 1240 1245
 Ser Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro

1250 1255 1260
 Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr

1265 1270

<210> 2

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (103)..(105)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 2

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Glu Tyr

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Xaa Xaa Xaa Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ser
 115 120 125

<210> 3

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Thr Val Val Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Glu Tyr

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Val His Val Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ser

115 120 125

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 6

Gly Arg Thr Phe Ser Glu Tyr Ala

1 5

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 7

Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 8

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(9)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 8

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Xaa Xaa Xaa Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 9

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 9

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Thr Val Val Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 10

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 10

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Val Val Leu Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 11

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 11

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Val His Val Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr
 1 5 10 15
 Asp Tyr

<210> 12

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

- <210> 13
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 13

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105
 <210> 14
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14
 Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
 1 5 10 15
 Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp

 20 25 30
 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
 35 40 45
 Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
 50 55 60
 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
 65 70 75 80
 Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

 85 90 95
 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100 105
 <210> 15
 <211> 352
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 15

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Glu Tyr

 20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val

 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Ala Ala Gly Leu Gly Val Val Leu Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr

 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Asp Lys Thr

 115 120 125

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

 130 135 140

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

145 150 155 160

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

 165 170 175

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

 180 185 190

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

 195 200 205

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

 210 215 220

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 225 230 235 240
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 245 250 255
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 260 265 270
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 275 280 285

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 290 295 300
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 305 310 315 320
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 325 330 335
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340 345 350

<210> 16

<211> 352

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 16

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

 Ala Thr Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ala Gly Leu Gly Val His Val Ser Glu Trp Asp Tyr Asp Tyr
 100 105 110

 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Asp Lys Thr
 115 120 125
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 130 135 140
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 145 150 155 160
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 165 170 175

 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 180 185 190
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 195 200 205
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 210 215 220
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 225 230 235 240

 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 245 250 255
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 260 265 270
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 275 280 285
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 290 295 300

 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 305 310 315 320
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly

195

200

205

Pro

<210> 18

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 18

Arg Arg Ala Arg

1

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 19

Gly Ser Ala Ser

1

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> *Gaussia princeps* (copepod)

<400> 20

Met Gly Val Lys Val Leu Phe Ala Leu Ile Cys Ile Ala Val Ala Glu

1

5

10

15

Ala

<210> 21

<211> 190

<212> PRT

<213> Virus, Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus

<400> 21

Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Lys Phe Pro Ser
 1 5 10 15
 Val Tyr Ala Trp Glu Arg Lys Lys Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr
 20 25 30
 Ser Val Leu Tyr Asn Ser Thr Phe Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly
 35 40 45
 Val Ser Ala Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Ser Asn Val Tyr Ala
 50 55 60
 Asp Ser Phe Val Val Lys Gly Asp Asp Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly
 65 70 75 80
 Gln Thr Gly Val Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe
 85 90 95
 Met Gly Cys Val Leu Ala Trp Asn Thr Arg Asn Ile Asp Ala Thr Ser
 100 105 110
 Thr Gly Asn Tyr Asn Tyr Lys Tyr Arg Tyr Leu Arg His Gly Lys Leu
 115 120 125
 Arg Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Asn Val Pro Phe Ser Pro Asp Gly
 130 135 140
 Lys Pro Cys Thr Pro Pro Ala Leu Asn Cys Tyr Trp Pro Leu Asn Asp
 145 150 155 160
 Tyr Gly Phe Tyr Thr Thr Thr Gly Ile Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val
 165 170 175
 Val Val Leu Ser Phe Glu Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln
 180 185 190