(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-518078
(P2025-518078A)
(43)公表日　令和7年6月12日(2025.6.12)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*7/01 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	7/01	４Ｂ０６５
Ｃ１２Ｎ	*7/04 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	7/04	ＺＮＡ　４Ｃ０８７
Ｃ１２Ｎ	*15/33 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/33	
Ｃ１２Ｎ	*15/45 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/45	
Ｃ１２Ｎ	*15/50 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/50	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全67頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-569642(P2024-569642)
(86)(22)出願日　令和5年5月25日(2023.5.25)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月23日(2025.1.23)
(86)国際出願番号　PCT/EP2023/064144
(87)国際公開番号　WO2023/227758
(87)国際公開日　令和5年11月30日(2023.11.30)
(31)優先権主張番号　22175583.8
(32)優先日　令和4年5月25日(2022.5.25)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　390040420
マックス－プランク－ゲゼルシャフト・ツア・フェルデルング・デア・ヴィッセンシャフテン・エー・ファオ
Ｍａｘ－Ｐｌａｎｃｋ－Ｇｅｓｅｌｌｓｃｈａｆｔ ｚｕｒ Ｆｏｅｒｄｅｒｕｎｇ ｄｅｒ Ｗｉｓｓｅｎｓｃｈａｆｔｅｎ ｅ．Ｖ．
ドイツ８０５３９ミュンヘン、ホーフガルテンシュトラーセ８番
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷 道子
(74)代理人　100138911
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　低減した抗ベクター抗原性を有するワクチン

(57)【要約】
本発明は、（ｉ）表面に異種抗原を提示でき、宿主の粘膜免疫を誘導でき、（ｉｉ）宿主細胞に侵入した後、異種抗原を産生し、それにより抗原に対する宿主の免疫応答を改善でき、（ｉｉｉ）野生型ベクターと比較して低減した抗ベクター抗原性を有し、それによりベクターに対する宿主の免疫応答を低下させることができる、組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスであって、そのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、該改変はマイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列；および、
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含み、
ここで、該異種ポリペプチドはウイルス抗原を含み、該ウイルス抗原およびマイナス鎖ＲＮＡウイルスは異なるファミリーのウイルスから選択される、
組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項２】
ヌクレオチド配列（ａ）における改変が、
（ｉ）野生型と比較して、Ｐポリペプチドのアミノ酸２～７７をコードするヌクレオチド配列の欠失、または
（ｉｉ）ＲＮＡウイルスの複製不全を引き起こす、（ｉ）の部分配列
である、請求項１に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項３】
組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスであって、そのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該Ｐタンパク質がウイルス複製サイクルにおいて天然の機能を発揮する、ヌクレオチド配列
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含み、
ここで、該異種ポリペプチドはウイルス抗原を含み、該ウイルス抗原およびマイナス鎖ＲＮＡウイルスは異なるファミリーのウイルスから選択される、
組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項４】
弱毒化されている、請求項３に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項５】
低減された抗ベクター抗原性を有する、請求項１から４のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項６】
センダイウイルスである、請求項１から５のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項７】
転写コンピテント型である、請求項１から６のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項８】
異種ポリペプチドがコロナウイルスのスパイクタンパク質（Ｓタンパク質）またはその免疫原性フラグメントを含む、請求項１から７のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項９】
Ｆポリペプチドをコードする内因性配列および／またはＨＮポリペプチドをコードする内因性配列が、それらの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、ヌクレオチド配列（ｂ）がＦ遺伝子および／またはＨＮ遺伝子の遺伝子座に

挿入される、請求項１から８のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項１０】
ウイルス表面上に提示されたときに宿主細胞に吸着し、宿主細胞に侵入できる、請求項１から９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項１１】
前記ヌクレオチド配列（ｂ）が以下：
Ａ．（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳｅＶＦポリペプチドもしくはＨＮポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶポリペプチドＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント、
または
Ｂ．（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶポリペプチドＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント、
または
Ｃ．（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードする、請求項１から１０のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項１２】
少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる少なくとも１つの異種ポリペプチドに対する粘膜免疫応答を誘導できる、請求項１から１１のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【請求項１３】
請求項１から１２のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルスを含む、医薬組成物。
【請求項１４】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の予防方法に使用するための、請求項１から１２のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、または請求項１３に記載の医薬組成物。
【請求項１５】
鼻腔内および／または粘膜経路により投与される、請求項１から１２のいずれか一項に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、または請求項１４に記載の使用のための請求項１３に記載の医薬組成物。
【請求項１６】
請求項１から１２のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードする、ＲＮＡ分子またはＤＮＡ分子。
【請求項１７】

請求項１６に記載のＲＮＡ分子を含む、ヌクレオキャプシド。
【請求項１８】
請求項１から１２のいずれか一項に記載の複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、請求項１６に記載のＲＮＡ分子、請求項１７に記載のヌクレオキャプシド、および／または請求項１６に記載のＤＮＡ分子を含む、宿主細胞。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明者らは、（ｉ）表面上に異種抗原を提示でき、（ｉｉ）宿主の粘膜免疫を誘導でき、（ｉｉｉ）宿主細胞に侵入した後、異種抗原を産生し、それにより抗原に対する宿主の免疫応答を改善し、（ｉｖ）野生型ベクターと比較して、低減した抗ベクター抗原性を有し、それによりベクターに対する宿主の免疫応答を低下させる、すなわち、より少ない抗ベクター免疫を誘導する、組換えコンピテント（複製能を有する）型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスを構築した。
【０００２】
本発明は、そのゲノム中に、（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、該改変はマイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドはウイルス粒子の表面上に提示され、感染細胞中で発現され得る、ヌクレオチド配列、を含む、組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに関する。
【０００３】
本発明の別の態様は、そのゲノム中に、（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここでＰタンパク質がウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列、および（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、少なくとも１つの異種ポリペプチドがウイルス粒子の表面上に提示され、感染細胞中で発現および複製され得る、ヌクレオチド配列、を含む、組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに関する。
【０００４】
本発明の他の態様は、本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスを含む、医薬組成物、ワクチンおよび免疫原性組成物に関する。本発明のさらなる態様は、ＲＮＡ分子、および本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードするＤＮＡ分子に関する。別の態様は、本発明のＲＮＡ分子を含むヌクレオキャプシドに関する。
【背景技術】
【０００５】
背景
永続的に蔓延するウイルス感染症の完全な制御に画期的な進歩をもたらすのは、多くの場合、第２世代のワクチンであることを歴史は教えている。７０年前のポリオ（小児麻痺）対策でさえ、持続的な成功は、天然の経腸－粘膜感染経路を模倣した第２世代ワクチンによってのみ達成された。それまで開発されていた第１世代ワクチンは、当時は上腕の筋肉に注射することしかできなかったが、ポリオウイルスの腸管粘膜注入経路では、消化管に複製されるポリオウイルスの感染を防ぐことができなかったため、“殺菌免疫（sterilizing immunity）”は得られなかった。そのため、ワクチン接種を受けた人はポリオウイルスに感染し続け、腸管で産生された子孫ウイルスが経腸排泄物（便）を介して他の人に病気を移す可能性があった。このため、第１世代のワクチンは十分な集団免疫を確立できなかった。
【０００６】
ＣＯＶＩＤ－１９ワクチンおよび候補ワクチンの概要はＷＨＯのホームページ（“ＣＯＶＩＤ－１９ ワクチン追跡およびランドスケープ“ :https://www.who.int/publica

tions/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines）で見出だすことができる。ＷＨＯの定義によれば、これまでに承認された抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンはすべて第１世代に属する。これらの薬剤は筋肉内投与され、通常は上腕の筋肉に注射する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染のように、呼吸器官から体内に侵入することはない。第１世代のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンは、ＣＯＶＩＤ－１９の重症化をほとんど予防するのに十分な免疫反応を引き起こすが、呼吸器に対する十分な免疫は得られない。

【０００７】

このことはワクチン接種を受けた対象も感染する可能性が未だにあることを意味する（いわゆるブレークスルー感染が頻繁に観察される）。飛沫感染によってワクチン未接種者に感染する可能性がある。このことは、これまでに承認された第１世代に属するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンは、感染の連鎖を効果的に遮断できないことを意味する。したがって、ＣＯＶＩＤ－１９に対する呼吸器系の“殺菌免疫”を誘発するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンが強く必要とされている。

【０００８】

ブレークスルー感染症が頻繁に発生し、病院に負担をかけ得る。緊急に必要とされる集団免疫は、まだ先の話だ。パンデミック以前の“通常の”生活に戻ることは成功せず、それは私たちの生活のあらゆる分野に影響を及ぼす。

【０００９】

既知のベクターベース（アデノウイルスベース）のワクチンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質をベクターワクチン粒子のエンベロープに組み込むことができない。コロナウイルスとは対照的に、アデノウイルスベースのワクチンは抗原として組換えＳタンパク質を直ちに提供しない。というより、筋肉内注射後、ベクターワクチンに感染した筋肉細胞でＳタンパク質が産生されなければならず、その結果、免疫応答が遅れ、特に気管粘膜免疫の発達において効率が低下する。同じことが筋肉内投与されるｍＲＮＡベースのワクチンにも当てはまる。

【００１０】

抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンの免疫学的防御が十分に持続しない場合は、反復投与が必須である。現在のところ、３回以上の予防接種が必要と考えられており、例えば６カ月に１回ブースター接種を受ける。さらに、新たに出現したウイルス亜種は、適応したワクチンを投与する必要があり、そのため反復投与する必要がある。ベクターワクチンの場合、アデノウイルスキャプシドは強い免疫原性を有し、顕著な抗ベクター免疫（抗アデノウイルス免疫）をもたらす。アデノウイルスベクターを再投与すると、このような抗ベクター免疫によってベクターが中和され、有効性が低下し、２回以上のワクチン接種を必要とするスケジュールで第１世代ベクターワクチンを投与する選択肢が制限され得る。抗ベクター免疫が顕著であれば、ブースター免疫の効果が中和されるため、効果がなくなったり、大量投与が必要になったりして、生産にかかる労力およびコスト、ならびに副作用によるリスクが増す。

【００１１】

したがって、上記の第１世代ワクチンの欠点を少なくとも部分的に克服したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンが必要とされている。

【００１２】

パラミクソウイルス、特にセンダイウイルスは、らせん状のヌクレオキャプシドを有するエンベロープウイルスである。エンベロープは脂質膜を含み、ウイルスが放出された宿主細胞の細胞膜に由来する。膜貫通型糖タンパク質、すなわち融合タンパク質（Ｆ）およびヘマグルチニン－ノイラミニダーゼ（ＨＮ）はウイルスエンベロープに固定されている。マトリックスタンパク質（Ｍ）は膜の内側に位置する。ヌクレオキャプシド、すなわちウイルスの複製複合体は、ヌクレオタンパク質（Ｎ）と複合化した一本鎖ＲＮＡからなり、それぞれの場合、ＲＮＡの６ヌクレオチドが１つのＮタンパク質、ＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ（Ｌ）、補酵素のホスホタンパク質（ｐ）によって結合され、ＲＮＡポリメラーゼ複合体を形成している。一次転写の間、ゲノムはウイルスＲＮＡ依存性ＲＮＡポリ

メラーゼ（ｖＲｄＲｐ）によって転写され、デノボタンパク質合成が始まる。十分な量のＮタンパク質が作られるとすぐに、ｖＲｄＲｐは複製モードに切り替わり、アンチゲノム体を合成すると考えられている。その鋳型から、Ｎタンパク質でカプセル化された新しいゲノムが複製される。

【００１３】

ウイルスファミリー、すなわちマイナス鎖ＲＮＡウイルスファミリーのゲノムＲＮＡは、細胞に感染し、このＲＮＡが細胞内に放出された後、すぐには翻訳されないが、通常、ヌクレオタンパク質（ＮタンパクまたはＮＰ）と呼ばれるタンパク質と複合体を形成している。このウイルスＲＮＡとＮタンパク質の複合体のみが、ウイルスポリメラーゼによってウイルスゲノム複製またはウイルス転写の鋳型として認識される。ウイルスゲノムの複製中、新たに合成されたゲノムまたは抗原は、直ちにＮタンパク質と複合体化する。ウイルスの転写の際、Ｎタンパク質と複合体化されていないｍＲＮＡが合成される。これはリボソームでの翻訳を妨げる。つまり、ウイルスゲノム／アンチゲノム体だけがＮタンパク質と複合体化している。ウイルスＲＮＡとＮタンパク質が複合体化する過程で、別のウイルスタンパク質であるＰタンパク質が関与する。Ｐタンパク質そのものがＮタンパク質と複合体を形成している。このＮ－ｐ複合体だけが、ウイルスＲＮＡとＮタンパク質との複合化を可能にしている。このＮとＰの間の複合が、ＮまたはＰタンパク質上の相互作用部位の変異などにより形成されない場合、新たに合成されたウイルスゲノム／アンチゲノム体の複合体は形成されない。機能的な新規ウイルスゲノムは生成できず、したがって新しい機能的ウイルス粒子も生成できない。ウイルスは複製不全となり得る。この複製欠損は、Ｐタンパク質とＮタンパク質との結合部位を変異させることによって、具体的にはＰタンパク質のアミノ酸２－７７をコードするヌクレオチドを欠失させることによって達成できる（Wiegandら、2007も参照のこと）。

【００１４】

センダイウイルスのマイナス鎖ＲＮＡゲノムには、６つの構造タンパク質の遺伝子が以下の順で含まれている：３’－Ｎ－Ｐ－Ｍ－Ｆ－ＨＮ－Ｌ－５’。Ｐ遺伝子は、構造タンパク質であるリン酸化タンパク質と、現在までに知られているすべての非構造タンパク質の合計８種のタンパク質をコードしている。

【００１５】

Ｐ、ＮおよびＬタンパク質は機能的転写および複製に重要である（Lamb et al., Paramyxoviridae: The Virus and their Replication. Fields Virology, 4th edition (2001), Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, 1305-1340）。

【００１６】

ＷＯ ２００６／０８４７４６は、複製欠損および転写コンピテントなセンダイウイルス（ＳｅＶ）を開示しており、これらは導入遺伝子の発現に用いられた。

【００１７】

Wiegand (Journal of Virology 2017:91(10)、e02298-16）は、ＳｅＶの表面タンパク質Ｆのエクトドメインが、ＲＳＶウイルスＦの対応するエクトドメインで置換できることを示した。ＳｅＶ Ｆタンパク質とＲＳＶ Ｆタンパク質の置換は、機能的にも構造的にも等価な配列の“ファミリー間（interfamiliar）”置換である。

【００１８】

パラミクソウイルスおよびコロナウイルスという全く異なるウイルスファミリーの間で、機能を失うことなく、このような機能的に必須なタンパク質の“ファミリー間”置換を実証した試験は、今のところない。

【００１９】

ウイルス複製の減弱とは、特定のベクター構築物が、天然／野生型と比較して最適条件下でないことを意味する。後者が進化の過程で好みの宿主生物または細胞型に適応して、高いウイルス複製率を達成しているのに対し、弱毒化ウイルスベクターは複製時に最適ではない力価しか生じない。減弱および最適でない複製が起こりうる理由は様々である。減弱は、ウイルスベクターそのもの、宿主システム、複製時の条件、あるいはこれらの混合

要因で起こり得る。もちろん、ウイルスゲノムの変化は、ウイルスの複製挙動に大きな影響を与える可能性がある。なぜなら、導入された突然変異は、ウイルスが天然で選択されるような最適化ではない可能性が高いためである。単一または複数の点突然変異の影響は、影響を受ける遺伝子または遺伝子産物によって、通常すでに明確に認識できる。ウイルスの複製に関与するウイルス酵素の機能に影響を与える変異は、ウイルスの複製に大きな影響を与え得る。例えば、センダイウイルスＰ遺伝子のＮ末端欠失は、Ｌ－タンパク質がウイルスゲノムと相互作用し、ウイルスＲＮＡゲノムのコピーの合成を仲介するのに必要な形で、その補因子であるＰタンパク質と相互作用できないため、複製不全を引き起こし得る。別のタイプの変異は、表面タンパク質またはエンベロープタンパク質のような、ウイルスの構造タンパク質に影響を与え得る。エンベロープタンパク質は、ウイルスの繁殖時に新しいウイルス粒子を形成し、これらの粒子を宿主細胞から放出するために必要である。さらに、これらのタンパク質は、ウイルスが新しい宿主細胞と相互作用し、受容体と結合して細胞内に取り込まれ、膜融合または小胞による細胞内への取り込みなどの取り込み機構を仲介するために不可欠である。ウイルスによって、取り込み戦略は異なる。例えば、ウイルス粒子の膜性エンベロープにあるセンダイウイルスＨＮおよびＦタンパク質は、受容体との結合を可能にし、次いでウイルス膜と宿主細胞膜との融合を可能にし、それによってウイルスゲノムを宿主細胞内に放出する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２はむしろ、その表面タンパク質Ｓを介した小胞への取り込みによって宿主細胞に侵入する。必須アミノ酸の点変異、あるいは異なるウイルスファミリーのゲノム間でのエンベロープタンパク質全体の交換など、これらの表面／エンベロープタンパク質の大きな変異は、正常なウイルスのライフサイクルおよびその増殖効率に大きな影響を与え得る。

【発明の概要】

【００２０】

詳細な説明

本発明者らは、以下の要件を満たす第２世代のワクチン(特に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対するワクチン）を開発した：

・ワクチンベクターは最大限の減弱を示し安全であるため、健康な対象だけでなく、疾患の前段階の、部分的に免疫抑制された対象にも使用できる。

・このベクターは粘膜の粘液層を効率的に貫通するはずであり、したがって呼吸器粘膜免疫を誘導するワクチンベクターとして適している。

・ワクチンベクターは自然感染経路（特に、抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンでは呼吸器粘膜経路）で投与される。

・ワクチンベクターは、ウイルス表面上の抗原（特に、抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンではスパイク（Ｓ）タンパク質など）を提示することにより、即時粘膜免疫を誘発する。

・ワクチンベクターが全く、あるいはせいぜい減少した抗ベクター免疫しか誘導しない場合、反復投与によって有効性の喪失を防ぐ。

・感染細胞に導入遺伝子を発現させると、ベクターは全身性の免疫反応を引き起こす。

【００２１】

本発明者らは、上記の要件に従って、ベクターワクチン粒子の表面にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクタンパク質を担持させたベクターベースのワクチンを開発した。この設計により、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による呼吸器の自然感染と同じように、鼻腔内／粘膜への適用過程でタンパク質が免疫系に直接提示される。さらに、宿主の粘膜細胞に侵入すると、ウイルスはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクタンパク質を産生し、細胞表面上に提示できる。このようにして、非常に脅威的なＣＯＶＩＤ－１９疾患に対する広範な保護、特に“殺菌免疫”を含む保護が達成され、確保される。

【００２２】

本発明者らは、好適なベクターが弱毒化（複製欠損）センダイウイルス（ＳｅＶ）であることを見出した。センダイウイルス（パラミクソウイルス科）は通常げっ歯動物に感染し、感染性の高い呼吸器感染症を引き起こす。

【００２３】

センダイウイルス（ＳｅＶ、パラミクソウイルス科）は、（ｉ）ヘマグルチニン－ノイラミニダーゼ（ＨＮ）タンパク質、および（ｉｉ）融合（Ｆ）タンパク質、の２つのタンパク質を表面上に担持している。ＨＮタンパク質はＳｅＶウイルス粒子の細胞受容体への結合（吸着）を仲介する。Ｆタンパク質はＳｅＶウイルス膜と細胞質膜の融合を仲介する。膜融合（貫通）後、ＳｅＶ複製複合体（ヌクレオキャプシド）は細胞内に放出される。

【００２４】

ＳｅＶ表面上に存在するＨＮおよびＦの生物学的に活性な形態は、いずれもオリゴマーである。ウイルスが成熟すると、これらのオリゴマーはＳｅＶマトリックスタンパク質（Ｍ）との相互作用によって細胞質膜の特定の領域に集中し、感染細胞から新しく形成されたウイルス粒子が放出される(“出芽”)ための主要な前提条件となる。

【００２５】

本発明者らの試験開始当初、他のウイルスファミリーから得られた組換えタンパク質（例えば、コロナウイルスのファミリーメンバーであるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質などである）が、標的細胞への感染におけるＳｅＶのＨＮおよびＦタンパク質機能（吸着および浸透）に大きな悪影響を及ぼすことなく、ＳｅＶワクチンベクター（パラミクソウイルス科）のエンベロープに組み込まれるかどうかは不明であった。

【００２６】

また、組換えタンパク質（例えば、キメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓタンパク質）のどのような修飾が、ＳｅＶエンベロープにうまく組み込まれ、表面上に提示されるために必要なのか、またどのような修飾が許容されるのか、組換えタンパク質の生物学的機能（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ ２の抗原性および感染過程における機能性など）に影響がないのか、全く不明であった。

【００２７】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の表面上に存在する唯一のポリペプチドは、スパイクタンパク質Ｓである。Ｓタンパク質は、オリゴマー形態で存在する。Ｓタンパク質は、融合機能を有する最大のウイルスタンパク質である（長さ１２００アミノ酸残基以上）。１個のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２粒子のエンベロープには、約３０－６０個のＳタンパク質分子が平均１５ｎｍの距離で固定されている。本発明者らの試験開始当初は、Ｓタンパク質の表面上の距離が機能に必須であるかどうか、あるいはＳタンパク質が組換え的にエンベロープに組み込まれた場合、ＳｅＶ ＦおよびＨＮと組み合わされて機能するかどうか、あるいはＳｅＶ表面上への複合提示が機能の一部または完全な喪失をもたらすかどうかは不明であった。

【００２８】

さらに、ＳｅＶゲノムからＦおよび／またはＨＮポリペプチドをコードする配列の一部または全部が欠失した場合、組換えＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓタンパク質がＦおよび／またはＨＮポリペプチドの機能を補うことができるかどうかは不明であった。

【００２９】

これらの点から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対するＳｅＶベクターベースのワクチンの設計および構築は、決して些細で単純なものではなく、かなりの創意工夫が必要であることが明らかである。

【００３０】

本発明者らは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２から得られた組換え抗原（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクタンパク質）を表面上に提示した組換えセンダイウイルスを構築した。実施例１および２は、コロナウイルスＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質を発現できる組換えセンダイウイルス（ＳｅＶ）のｃＤＮＡ構築物を記載している。Ｓタンパク質は、Ｓタンパク質のエクトドメイン、ＳｅＶポリペプチドの細胞質ドメイン、ＳｅＶポリペプチドまたはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクの膜貫通ドメインを含むキメラタンパク質として発現させることができる。本発明者らは、ｃＤＮＡとして提供されたワクチン候補が、ＧＭＰ適格Ｖｅｒｏ細胞から取得され、Ｖｅｒｏ細胞由来のＶ３－１０ヘルパー細胞で増殖できることを示した。本発明者らは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパ

ク質が候補ウイルス粒子に組み込まれていることを示した。

【００３１】

本発明者らは、組換えＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓタンパク質がＳｅＶ表面上に機能的な形で提示されることを発見した。本発明者らは、（ｉ）表面Ｆおよび／またはＨＮタンパク質の量を減少させた、または（ｉｉ）ＦおよびＨＮタンパク質を含まない、ＳｅＶワクチンベクターを提供した。本発明者らは、コロナウイルス（プラス鎖）のＳタンパク質は、これらの能力を仲介する天然（内因性）遺伝子がこれらのウイルスで欠失した場合、マイナス鎖ＲＮＡウイルスの吸着能力および侵入能力を補完できることを認識した。特に、マイナス鎖のパラミクソウイルスＦおよびＨＮタンパク質の吸着および浸透能力は、吸着および浸透能を有するプラス鎖のコロナウイルス科のウイルスのＳタンパク質によって補完され得る。これは、パラミクソウイルス（ＳｅＶ）の２つの内在性ＦおよびＨＮタンパク質が、単一のコロナウイルスタンパク質によって機能的な“ファミリー間”置換がなされたことを示す初めての例である。

【００３２】

本発明者らは、センダイウイルスの減弱はＰタンパク質を改変することで達成でき、その結果、複製欠損ウイルスが得られることを見出した。

【００３３】

本発明者らはまた、複製能を有するＳｅＶにおいて、表面タンパク質Ｆおよび／またはＨＮがＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２表面タンパク質Ｓ、またはそのフラグメントによって少なくとも部分的に置換され、該そのフラグメントのＳタンパク質がＦおよび／またはＨＮタンパク質の機能を発揮できるように、減弱が達成され得ることを見出した。本発明者らはまた、このような改変された複製能を有するＳｅＶは、本発明の複製欠損ＳｅＶと比較して、複製効率が増大することを見出した（実施例４）。

【００３４】

本発明者らはまた、経鼻免疫によってＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する特異的粘膜免疫反応を刺激できることも見出した。本発明のウイルスで免疫すると、用量依存的に特異的ＩｇＡ抗体が誘導された（実施例５）。

【００３５】

ワクチン接種を受けた対象が、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染により、呼吸器官においてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫を既に獲得している場合、対象の免疫系は、組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスワクチンベクター、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対するＳｅＶワクチンベクターを認識でき、ワクチンはブースター免疫として作用できる。ワクチン接種を受けた対象が呼吸器でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫をまだ獲得していない場合、ワクチンベクターは異なる免疫刺激経路および免疫系との相互作用を介してＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫を誘導できる。第一に、ワクチンベクター粒子は表面にスパイクタンパク質を提示するため、それ自体がＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対して免疫原性を示す。このようにして、ワクチンベクターは、例えばナノ粒子ワクチンまたはウイルス様粒子ワクチン（ＶＬＰ）として機能する。これらの粒子は多くの場合、免疫系の抗原提示細胞、例えば樹状細胞によって認識されるか、マクロファージに取り込まれる。マクロファージはスパイクタンパク質の一部をＴリンパ球に提示し、Ｔリンパ球はその後ヘルパー細胞およびエフェクター細胞に分化できる。第二に、ワクチンベクターは呼吸器などの細胞に感染し、コードされたスパイクタンパク質を細胞内で発現させることができる。その結果、これらの細胞の表面にスパイクタンパク質が発現し、免疫系に感染していると認識され、また、これらの細胞の内部で標準的なタンパク質分解が行われた後、ＭＨＣ－Ｉ分子上にスパイクタンパク質のペプチドが提示され得る。

【００３６】

表面上に抗原（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓタンパク質）を組換え的に提示するパラミクソウイルス（例えば、ＳｅＶ）を用いて得られた実験的証拠に鑑み、本発明者らは、組換え抗原を担持し、抗ベクター免疫の発現がわずかであるか、あるいは全くない組換えマイナス鎖ＲＮＡウイルスベクターが構築可能であると結論付けた。

【００３７】
第一の態様において、本発明は、そのゲノム中に以下：
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、前記改変はマイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに関する。
【００３８】
本発明では、用語“ウイルス”とは、生細胞内でのみ複製する感染性物質を意味する。ウイルスには独自の代謝機構がない。本明細書で用いる用語“ウイルス”とは、宿主細胞内のすべての形態、および宿主細胞外のウイルス粒子（ビリオンとも呼ばれる）、すなわち宿主細胞から放出され、新たな宿主細胞に感染できるものを含む。ＲＮＡウイルスは一本鎖ＲＮＡウイルスでも二本鎖ＲＮＡウイルスでもよい。
【００３９】
本発明では、用語“ゲノム”または“ウイルスゲノム”は互換的に用いられ、ヌクレオキャプシドに存在する核酸全体を意味する。ゲノムは非セグメント化（唯一の核酸分子）またはセグメント化（２以上の核酸分子）にされ得る。一本鎖ウイルスは、プラス鎖ウイルスでもマイナス鎖ウイルスでもよい。マイナス鎖ウイルスでは、ゲノムに相補的な核酸を抗原体と称する。マイナス鎖ウイルスでは、遺伝子がｍＲＮＡに転写され、それがポリペプチドに翻訳される。プラス鎖ウイルスでは、ゲノムに相補的な核酸をゲノムと称する。プラス鎖ウイルスでは、ゲノム配列は直接ポリペプチドに翻訳される。本発明では、ゲノムは組換えゲノムであってもよい。本明細書に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、組換えゲノムを含んでいてもよい。組換えゲノムは、組換えＲＮＡ分子を含んでいてもよい。
【００４０】
本発明では、用語“ファミリー間”および“ファミリー内（intrafamiliar）”は、異なるウイルスファミリーまたは同じウイルスファミリーのウイルス間の関係を表す。例えば、ヌクレオチド配列のファミリー間置換とは、異なるファミリーのウイルス間の交換であり、ヌクレオチド配列のファミリー内置換とは、同じファミリーのウイルス間の交換である。
【００４１】
本明細書で用いる用語“異種”または“外来”とは、マイナス鎖ＲＮＡウイルスなどの特定のウイルスにとって外来であるポリペプチドおよび／または核酸を意味する。異種（外来）ポリペプチドおよび／または核酸は、特定のウイルスには天然に存在せず、人工手段または組換え手段によってウイルスゲノムに導入される。例えば、異種（外来）ヌクレオチド配列とは、ウイルスゲノムに導入された外来配列のことである。異種（外来）ヌクレオチド配列は、発現制御配列のような、天然または内在性のウイルス配列と作動連結していてもよい。異種（外来）ヌクレオチド配列は、異種（外来）ポリペプチド配列および天然または内在性アミノ酸配列を含む融合タンパク質またはキメラタンパク質を発現させるように、天然または内在性ウイルスコーディング配列のフレーム内に挿入することもできる。
【００４２】
本発明のさらに別の態様は、そのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列

を含み、
ここで、異種ポリペプチドはウイルス抗原を含み、ウイルス抗原およびマイナス鎖ＲＮＡウイルスは異なるファミリーのウイルスから選択される、
組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルスに関する。
【００４３】
特に、組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは弱毒化されている。組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、Ｐタンパク質は野生型Ｐタンパク質、例えば配列番号１によってコードされるＰタンパク質、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列であり得る。野生型Ｐタンパク質は、配列番号２を含むアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し得る。
【００４４】
本発明において、用語“弱毒化ウイルス”とは、病原性が低下しているか、あるいは全くないウイルス、特にそのほとんどが複製が低下しているか、あるいは消失しているウイルスに関する。弱毒化ウイルスは、非減弱型ウイルスによって引き起こされる特異的な疾患を引き起こすことなく、免疫応答を誘発できる。
【００４５】
特に、本発明は複製欠損型のマイナス鎖ＲＮＡウイルスにも関する。複製能力の喪失とは、ウイルスで欠失した機能をトランス産生しない標的細胞では、検出可能なウイルスゲノムの複製が認められないことを意味し、複製能の低下または条件付き複製欠損とは対照的に、複製が起こるような許容条件も存在しない。本明細書で用いる、本発明のマイナス鎖ＲＮＡウイルスは依然として感染性である、すなわち宿主細胞に吸着し、その宿主細胞に侵入できる。本明細書で用いられる、感染性であるマイナス鎖ＲＮＡウイルスは、宿主細胞において少なくとも異種遺伝子の発現を誘導することもできる。
【００４６】
本明細書で用いる、“本発明による組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス”とは、本発明の２つの異なるウイルス：（ｉ）組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、および（ｉｉ）組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスを記載する。用語“本発明による組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス”または類似の表現（例えば、特定のウイルス種に関する）は、特に本明細書において、（ｉ）組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、および（ｉｉ）組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに独立して存在し得る特徴を記載するために使用される。組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに関する本発明の実施形態は、特に項１～６９に記載されている。組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに関する本発明の実施形態は、特に項７０～１３３に記載されている。
【００４７】
本発明による組換えウイルスは、転写コンピテントであってもよい。すなわち、ウイルスは、ウイルスおよび異種ｍＲＮＡ合成を誘導し、ウイルスポリペプチドおよび異種ポリペプチドに翻訳できる。特に、ウイルスによってコードされる遺伝子産物は、標的細胞での感染後に転写され、１以上の異種遺伝子産物を含むウイルスタンパク質の発現が標的細胞で行われるようになる。異種ポリペプチドは、標的細胞、すなわちワクチン接種を受けた対象の粘膜細胞の表面上に提示され、それによって異種ポリペプチドに対する免疫応答を誘導および／または改善できる
【００４８】
転写には一次転写および二次転写が含まれ得る。本明細書で用いられる、一次転写は最小複製単位、すなわち細胞に浸透したヌクレオキャプシドから始まり、前記ヌクレオキャプシドは、ヌクレオプロテイン（Ｎ）、ＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ（Ｌ）およびホスホプロテイン（Ｐ）と複合体化した一本鎖ＲＮＡ分子を含み、ＲＮＡポリメラーゼ複合体を形成する。一次転写は、ウイルスをコードするＤＮＡ分子、特にｃＤＮＡ分子から始

めることもできる。一次転写中は、ゲノムはＲＮＡポリメラーゼによって転写され、デノボのタンパク質合成が始まる。新しいゲノムが複製されると同時に、これらのテンプレートも転写される。この転写の段階は二次転写と呼ばれ、一次転写よりもはるかに効果的である。

【００４９】

本発明において、用語“遺伝子産物”とは、遺伝子の発現によって得られる産物を表す。遺伝子産物には、遺伝子から転写される核酸（例えば、ｍＲＮＡ）と、ｍＲＮＡから翻訳されて得られるポリペプチドまたはタンパク質が含まれる。

【００５０】

本発明による組換え複製欠損ＲＮＡウイルスは、欠損ウイルスタンパク質をコードする外因性配列(“ヘルパー細胞”)でトランス相補された宿主細胞で複製できる。その結果、複製欠損ウイルス粒子が得られる。真核宿主細胞は、ウイルスヌクレオキャプシドの形成に必要なウイルスタンパク質、すなわち構造タンパク質およびｃＤＮＡ配列の複製に必要なポリメラーゼをコードする少なくとも１つの真核発現ベクターと共導入できる。例えば、宿主細胞を、複製欠損ウイルスゲノムを含むプラスミドでトランスフェクトでき、前記ゲノムは野生型と比較して改変されており、前記改変はマイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらし、宿主細胞を、それぞれ天然ウイルスタンパク質Ｎ（キャプシド）、ＬおよびＰ（ＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ複合体を形成）をコードする３つのプラスミドで共トランスフェクトできる。ゲノムは、宿主細胞に内在性のポリメラーゼ（例えば、ＲＮＡ Ｐｏｌ ＩＩ）によって抗原ＲＮＡに転写され得る。抗原体（antigenome）はヌクレオキャプシドに組み立てられ得る。図１には、複製欠損センダイウイルスの例示的なレスキュー戦略が記載されている。

【００５１】

複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの初期生産（本明細書では“レスキュー”または“ウイルスレスキュー”と呼ぶ）のために、真核宿主細胞にウイルスゲノムを構成するｃＤＮＡをトランスフェクトしてもよい。特に、ウイルスゲノムをコードするＤＮＡ分子からのウイルスレスキューが可能な宿主細胞は、欠損したウイルスタンパク質をコードする外来性配列とのトランスコンプリメンテーションを必要としない。

【００５２】

本発明では、用語“Ｐポリペプチド”とは、マイナス鎖ＲＮＡウイルスに存在するリンタンパク質を意味する。Ｐポリペプチドはこれらのウイルスの ＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼの補因子であり、ウイルスの転写と複製に関与している。

【００５３】

本発明において、用語“野生型”とは、組換え配列または欠失などの修飾を本質的に含まない組換えマイナス鎖ＲＮＡウイルスを表す。特定の配列に関する「野生型」という用語は、組換え配列や欠失などの修飾を本質的に含まない配列に関する。例えば、Ｐポリペプチドの野生型配列は、組換え配列または欠失などの修飾を本質的に含まないＰポリペプチドの配列である。野生型」が組換えマイナス鎖ＲＮＡウイルスの特定の配列(Ｐ配列など)を指す場合、他の配列は修飾されていてもよいし、修飾されていない野生型配列であってもよい。当業者は野生型Ｐポリペプチド配列を知っている。

【００５４】

本発明による組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、天然のマイナス鎖ＲＮＡウイルスに基づき得る。本発明による組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、モノネガウイルス目から選択できる。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスが基づくことができる好ましいファミリー（科）は、アートウイルス科（Artoviridae）、ボルナウイルス科、フィロウイルス科、リスピウイルス科、マイモナウイルス科、ニャミウイルス科、パラミクソウイルス科、ニューモウイルス科、ラブドウイルス科、サンウイルス科およびシンモウイルス科である。本発明び組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスが基づくことができる好ましいファミリー（科）は、パラミクソウイルス科（p

amyxovirus）、ラブドウイルス科（rhabdovirus）、フィロウイルス科（Filoviridae）、ボルナウイルス科（Bornaviridae）、およびそれらの組換え変異体である。

【００５５】

本発明において、一本鎖非セグメント化マイナス鎖ＲＮＡウイルスとしては、パラミクソウイルス科（パラミクソウイルス）、ラブドウイルス科（ラブドウイルス）、フィロウイルス科（フィロウイルス）およびボルナウイルス科（ボルナウイルス）などが挙げられる。

【００５６】

パラミクソウイルスの例としては、センダイウイルス、ヒトおよびウシのパラインフルエンザウイルス、例えばヒトパラインフルエンザウイルス（ｈＰＩＶ）１型、２型、３型、４ａ型または４ｂ型、ニューカッスル病ウイルス（ＮＤＶ）、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）およびヒト呼吸器合胞体ウイルス（ｈＲＳＶ）が挙げられるが、これらに限定されない。ラブドウイルスの例としては、水疱性口内炎ウイルス（ＶＳＶ）などがあるが、これらに限定されない。

【００５７】

好ましくは、組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスはパラミクソウイルスである。好ましくは、本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、センダイウイルス、例えば伏見株（ＡＴＣＣ ＶＲ１０５）であってもよい。例えばＥＰ－Ａ－７０２ ０８５、ＥＰ－Ａ－０ ８６３ ２０２またはＷＯ ０１／４２４４５に記載される、上記のウイルスの組換え変異体も本発明に包含される。

【００５８】

本発明において、一本鎖正鎖ウイルスにはコロナウイルス科（Ｃｏｒｏｎａｖｉｒｉｄａｅ）が含まれる。コロナウイルスの例としては、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ（中東呼吸器症候群コロナウイルス）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ（重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１とも呼ばれる）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２型）などが挙げられる。

【００５９】

本発明において、用語“ヌクレオキャプシド”とは、ウイルス核酸および少なくとも１つのウイルスタンパク質(“キャプシド”)を含む複合体に関する。ヌクレオキャプシドはウイルス粒子（ビリオン）だけでなく、宿主細胞にも存在する。

【００６０】

本発明において、用語“ウイルスエンベロープ”は、存在するならば、ウイルスの外層に関する。エンベロープは宿主細胞膜に由来でき、ウイルスペプチド、例えば宿主細胞の受容体に吸着して細胞内への侵入を仲介できるペプチドを含む。これらのペプチドは膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインによってエンベロープに固定され得る。本発明において、組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡのエンベロープは、少なくとも１つの異種ポリペプチド、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質またはそのフラグメントを、ウイルス粒子の表面上に提示されるように含み得る。

【００６１】

本発明において、用語“ペプチド”および“ポリペプチド”は互換的に用いられ得る。

【００６２】

本発明では、用語“核酸”、“核酸分子”および“ポリヌクレオチド”は互換的に用いられ得る。

【００６３】

本発明において、用語“ウイルスペプチド”とは、核酸合成（例えば、ポリメラーゼまたはポリメラーゼ複合体などの、転写または複製）、エンベロープ構造（エンベロープが存在する場合）、ヌクレオキャプシド構造、および表面構造（宿主細胞への吸着および細胞内への浸透に必要である）に必要なペプチドに関する。ウイルスペプチドおよびかかるペプチドをコードする遺伝子に関する統一された用語は存在しない。本発明において、特定

のウイルスまたはウイルス科における特定の遺伝子および／またはペプチドへの言及は、他のウイルス種および／または科における相同遺伝子および／またはペプチド、特に同じ機能を有する遺伝子および／またはペプチド（本明細書において“機能的相同体”とも称する）への言及を含むことを意図する。例えば、本明細書において特にセンダイウイルスに記載されているＰペプチドへの言及は、センダイウイルスのＰペプチドと本質的に同じ機能を有する一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルスに記載されているペプチドのいずれかへの言及を含む。

【００６４】

本発明において、Ｐポリペプチド（Ｐタンパク質またはリンタンパク質とも呼ばれる）をコードするヌクレオチド配列（ａ）は、野生型（すなわち、野生型Ｐ配列）と比較して改変されていてよく、前記改変は、マイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす。本明細書で用いる用語“Ｐポリペプチド”とは、パラミクソウイルス、特にセンダイウイルスのＰポリペプチドと本質的に同じ機能を有する、マイナス鎖一本鎖ＲＮＡウイルスのポリペプチドを表す。Ｐポリペプチド（配列番号２）およびＰポリペプチドをコードする配列（配列番号１）の例示的な限定されない例として、Ｐポリペプチドをコードするセンダイウイルス配列を本明細書で参照する。

【００６５】

本明細書で用いる“修飾”には、ヌクレオチド配列またはポリヌクレオチドにおける欠失、挿入、および／または置換が含まれる。ヌクレオチド配列がコーディング配列を含む場合、このような修飾は修飾ポリペプチドをもたらし得る。

【００６６】

Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（ａ）において、ヌクレオチド配列（ａ）の修飾は、ＰポリペプチドのＮ末端をコードするヌクレオチド配列に位置し得る。少なくともＰポリペプチドのアミノ酸３３－４１の領域は修飾されていてよく、これは複製能力にとって重要である。Ｐポリペプチドのアミノ酸２－７７の領域における修飾は、例えば、（ｉ）遺伝子Ｐによってコードされるタンパク質のアミノ酸２－７７の欠失、または（ｉｉ）複製能の喪失に十分な（ｉ）の部分配列の欠失をもたらす。他のマイナス鎖ＲＮＡウイルス、例えば他のパラミクソウイルス、例えばｈＰＩＶ３のＰタンパク質にも同様の変異が起こり得る。

【００６７】

特に、ヌクレオチド配列（ａ）の改変は、ＰポリペプチドのＮ末端をコードするヌクレオチド配列の欠失である。より詳細には、ヌクレオチド配列（ａ）における修飾は以下の通りである：

（ｉ）野生型と比較して、Ｐポリペプチドのアミノ酸２－７７をコードするヌクレオチド配列の欠失（“ｄｅｌｔａＰ ２－７７”、配列番号４）、または

（ｉｉ）ＲＮＡウイルスの複製不全を引き起こす、（ｉ）の部分配列。

【００６８】

配列番号３は、配列番号４のアミノ酸２－７７を欠失させたＳｅＶ Ｐタンパク質をコードするヌクレオチド配列を記載する。

【００６９】

特に、ＰポリペプチドのＣ末端領域（アミノ酸３２０から始まる）には、転写機能を損なう修飾はない。

【００７０】

本明細書に記載の複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、ゲノムはさらに以下を含み得る：

（ｃ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスNポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、

（ｄ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスMポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および

（ｅ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスLポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【００７１】

本明細書で用いる用語“Ｎポリペプチド”、“Ｎタンパク質”または“核タンパク質”とは、

パラミクソウイルス、特にセンダイウイルスのＮポリペプチドと本質的に同じ機能を有する、マイナス鎖一本鎖ＲＮＡウイルスのポリペプチドを表す。当業者は、パラミクソウイルスの適当なＮポリペプチドとその機能を知っている。一本鎖ＲＮＡウイルスのヌクレオキャプシドでは、ＲＮＡ分子はＮポリペプチドと複合体を形成している。本明細書において、Ｎポリペプチドへの言及はパラミクソウイルスに限定されるものではなく、他のウイルスファミリーの機能的および構造的相同体も含まれる。

【００７２】

本明細書で用いる用語“Ｍポリペプチド”、“Ｍタンパク質”または“マトリックスタンパク質”とは、パラミクソウイルス、特にセンダイウイルスのＭポリペプチドと本質的に同じ機能を有する、マイナス鎖一本鎖ＲＮＡウイルスのポリペプチドを表す。当業者はパラミクソウイルスの適当なＭポリペプチドとその機能を知っている。Ｍポリペプチドはウイルスエンベロープの内表面に存在する。本明細書において、Ｍポリペプチドへの言及はパラミクソウイルスに限定されるものではなく、他のウイルスファミリーの機能的および構造的相同体も含まれる。

【００７３】

本明細書で用いる用語“Ｌポリペプチド”、“Ｌタンパク質”または“ラージタンパク質”とは、パラミクソウイルス、特にセンダイウイルスのＬポリペプチドと本質的に同じ機能を有する、マイナス鎖一本鎖ＲＮＡウイルスのポリペプチドを表す。当業者はパラミクソウイルスの適当なＬポリペプチドとその機能を知っている。Ｌポリペプチドはポリメラーゼ複合体の中で最大のタンパク質であり、ＲＮＡ依存性ポリメラーゼ活性を有する。本明細書において、Ｌポリペプチドへの言及はパラミクソウイルスに限定されるものではなく、他のウイルスファミリーの機能的および構造的相同体も含まれる。

【００７４】

さらに、組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスのゲノムは、以下をさらに含み得る。

（ｆ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＦポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および

（ｇ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスHNポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【００７５】

本明細書で用いる用語“Ｆポリペプチド”、“Ｆタンパク質”または“融合タンパク質”とは、パラミクソウイルス、特にセンダイウイルスのＦポリペプチドと本質的に同じ機能を有する、マイナス鎖一本鎖ＲＮＡウイルスのポリペプチドを表す。当業者は、パラミクソウイルスの適当なＦポリペプチドとその機能を知っている。Ｆポリペプチドはウイルス粒子と宿主細胞膜との融合を仲介する。本明細書において、Ｆポリペプチドへの言及はパラミクソウイルスに限定されるものではなく、他のウイルスファミリーにおける機能的および構造的相同体も含まれる。

【００７６】

本明細書で用いる、ＦポリペプチドまたはＦポリペプチドをコードする配列は、本明細書に記載される配列を含み得る。

【００７７】

配列番号６は、センダイウイルス（ＳｅＶ）ＳｅＶ Ｆポリペプチドのアミノ酸配列を記載している。配列番号５は、配列番号６のセンダイウイルス（ＳｅＶ）ＳｅＶ Ｆポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を記載する。

【００７８】

本明細書で用いる用語“ＨＮポリペプチド”、“ＨＮタンパク質”または“ヘマグルチニン－ノイラミニダーゼ”とは、パラミクソウイルス、特にセンダイウイルスのＨＮポリペプチドと本質的に同じ機能を有する、マイナス鎖一本鎖ＲＮＡウイルスのポリペプチドを表す。当業者はパラミクソウイルスの適切なＨＮポリペプチドとその機能を知っている。ＨＮポリペプチドはウイルス粒子の宿主細胞への吸着を仲介する。本明細書において、ＨＮポリペプチドへの言及はパラミクソウイルスに限定されるものではなく、他のウイルスファミリーにおける機能的および構造的相同体も含まれる。

【００７９】
本明細書で用いる、ＨＮポリペプチドまたはＨＮポリペプチドをコードする配列は、本明細書に記載される配列を含み得る。
【００８０】
配列番号１２は、センダイウイルス（ＳｅＶ）ＳｅＶ ＨＮポリペプチドのアミノ酸配列を記載している。配列番号１１は、配列番号１２のセンダイウイルス（ＳｅＶ）ＳｅＶ ＨＮポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を記載する。
【００８１】
本明細書で用いる、“少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）”には、各々が独立して異種ポリペプチドをコードする、１つ、２つ、３つ、４つ、またはそれ以上のヌクレオチド配列（ｂ）が含まれる。好ましくは、“少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）”は、１つまたは２つのヌクレオチド配列（ｂ）を含み、より好ましくは１つのヌクレオチド配列（ｂ）である。“少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）”および“ヌクレオチド配列（ｂ）”は、本明細書において互換的に使用され得る。
【００８２】
ヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる少なくとも１つの異種ポリペプチドは、治療に適した何れかのポリペプチド、例えば免疫応答が産生される抗原、または治療用タンパク質、例えばウイルス治療用タンパク質を含み得る。
【００８３】
ヌクレオチド配列（ｂ）によりコードされる少なくとも１つの異種ポリペプチドは、異種抗原、例えば病原体（ウイルス、細菌、真菌または原虫など）、腫瘍抗原または自己抗原に由来する異種抗原を含み得る。当業者は、ウイルス、細菌、真菌、原虫などの病原体に対する免疫原性組成物および／またはワクチンを調製するのに適した抗原を知っている。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫原性組成物および／またはワクチンの調製に適した抗原の例は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質（Ｓタンパク質）またはその免疫原性フラグメントである。
【００８４】
異種ポリペプチドはウイルスポリペプチド、特にウイルス抗原を含んでいてもよい。ウイルスポリペプチドまたはウイルス抗原とマイナス鎖ＲＮＡウイルスは、異なるファミリーのウイルスから選択できる。例えば、マイナス鎖ＲＮＡウイルスはパラミクソウイルスであってもよく、異種抗原はパラミクソウイルス以外の科のウイルス抗原、例えば、ラブドウイルス科、フィロウイルス科、ボルナウイルス科（マイナス鎖ウイルス）およびコロナウイルス科（プラス鎖ウイルス）のウイルスポリペプチドおよび抗原から選択できる。
【００８５】
異種ポリペプチドは、マイナス鎖ＲＮＡウイルスではないウイルス由来の抗原を含み得る。
【００８６】
異種ポリペプチドはまた、コロナウイルスなどのプラス鎖ウイルス由来の抗原を含み得る。
【００８７】
一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルスがセンダイウイルスなどのパラミクソウイルスであり、異種ポリペプチドがコロナウイルス、特にＳＡＲＳ ＣｏＶ ２などのプラス鎖ウイルス由来の抗原を含むことが好ましい。
【００８８】
一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルスがセンダイウイルスであり、異種ポリペプチドがコロナウイルス由来の抗原であることがより好ましい。
【００８９】
一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルスがセンダイウイルスなどのパラミクソウイルスであり、異種ポリペプチドがコロナウイルス、特にＳＡＲＳ ＣｏＶ ２由来のスパイクタンパク質（Ｓタンパク質）またはその免疫原性フラグメントを含むことがより好ましい。

【００９０】
抗原は、ウイルスの表面ポリペプチド、またはその免疫原性フラグメントであってもよい。当業者は適当な抗原、例えばウイルス粒子上に存在するポリペプチドを知っている。ウイルス表面ポリペプチドの例としては、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質（Ｓタンパク質）、またはその免疫原性フラグメントが挙げられる。
【００９１】
少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、ＲＮＡ分子中の２つのコーディング配列の間、５’末端コーディング配列の上流および／または３’末端コーディング配列の下流の位置に存在することがある。例えば、パラミクソウイルスにおいて、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、独立して、Ｎ遺伝子の５’末端上流、ＮとＰ、ＰとＭ、ＭとＦ、ＦとＨＮ、およびＨＮとＬの遺伝子間、および／またはＬ遺伝子の３’末端下流に位置できる。この配置により、ＲＮＡ分子中に存在する少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性ウイルス配列およびその発現を妨害しない。
【００９２】
本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、ゲノムは、
（ｆ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＦポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｇ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＨＮポリペプチドをコードするヌクレオチド配列
をさらに含み、
そして、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、２つのコーディング配列の間、５’末端コーディング配列の上流および／または３’末端コーディング配列の下流の位置、例えばＮ遺伝子の５’末端の上流、Ｎ遺伝子とＰ遺伝子、Ｐ遺伝子とＭ遺伝子、Ｍ遺伝子とＦ遺伝子、Ｆ遺伝子とＨＮ遺伝子、およびＨＮ遺伝子とＬ遺伝子の間、および／またはＬ遺伝子の３’末端の下流の位置に、独立してＲＮＡ分子中に位置できる。このような構築物の例は実施例に記載されている（“タイプＡ”構築物）。好ましくは、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、Ｐ遺伝子とＭ遺伝子の間に位置する。
【００９３】
複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、少なくとも１つの内在性ウイルスポリペプチドの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように、少なくとも１つのウイルスポリペプチドをコードする少なくとも１つの天然（内在性）配列に挿入されるか、または少なくとも部分的に置換され得る。特に、少なくとも１つのウイルスポリペプチドはＰポリペプチドとは異なる。ウイルスポリペプチドは、パラミクソウイルスのＮ、Ｍ、Ｆ、ＨＮおよび／またはＬ、および他のウイルスファミリーのそれらの相同体であってもよい。好ましくは、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、Ｆおよび／またはＨＮの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように、パラミクソウイルス、および他のウイルスファミリーのそれらの相同体のＦおよび／またはＨＮに挿入されるか、または少なくとも部分的に置換され得る。
【００９４】
本明細書で用いる用語“天然”または“内因性”とは、特定のウイルス、特にマイナス鎖ＲＮＡウイルスに天然に存在するポリペプチドおよび／または核酸を意味する。
【００９５】
当業者は、本明細書に記載されるような構築物は、野生型または修飾されたマイナス鎖一本鎖ＲＮＡウイルスから種々の方法で得ることができることを理解している。例えば、置換修飾は、単一の組換え事象によって、あるいは欠失とそれに続く挿入によって、あるいは挿入とそれに続く欠失によって得ることができる。本発明では、これらの修飾は同等であり得る。
【００９６】
複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに、ウイルス遺伝子およびその機能を改変することなく挿入される異種配列は、増殖および／または感染に必須でない配列であり得る。したがって、このような非必須の異種配列が、例えばＲＮＡポリメ

ラーゼによる誤った転写によって、ウイルス増殖中に失われる危険性がかなりある。例えば、ヌクレオキャプシド形成の際、それぞれのケースでＲＮＡの６ヌクレオチドが１つのＮタンパク質に結合し得る。不正確な転写はＲＮＡ分子の長さを６で割ることができず、ヌクレオキャプシドの形成に失敗する可能性がある。

【００９７】

本発明において、複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、遺伝的に安定なＲＮＡ分子を含み得る。本明細書で用いる用語“遺伝的に安定な”とは、複製および／または増殖の過程で配列が変化することなく複製および／または増殖できる核酸分子またはゲノムに関する。特に、本質的にすべてのコーディング配列が複製および／または増殖に必須である場合、すなわち本質的にすべてのコーディング配列が複製および／または増殖に必要である場合、核酸分子は遺伝的に安定である。塩基配列に変化があると、必須塩基配列が欠落している可能性があるため、変化した分子の複製および／または増殖が阻害され得る。

【００９８】

本発明において、少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（ｂ）は、ウイルスの複製および／または増殖に必須であり得る。少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、少なくとも１つの天然ウイルスポリペプチドの機能または活性を提供できる。特に、ヌクレオチド配列（ｂ）は、少なくとも１つの内在性ウイルス配列と本質的に同じ機能を示す。本発明では、少なくとも１つの内因性ウイルス配列の機能または活性を少なくとも部分的または完全に破壊し、配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドを機能的に発現させることができる。例えば、このような天然ウイルスポリペプチドをコードする配列は、少なくとも部分的または完全に欠失させることができる。異種ヌクレオチド配列は、少なくとも１つの天然配列の機能を代替し、ウイルスの複製および増殖に必須となり、構築物の遺伝的安定性をもたらし得る。特に、配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドは、生物学的に活性な形で表面上に提示される。本発明では、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質は、ＳｅＶ ＦおよびＨＮをコードする配列と本質的に同じ機能を示す。

【００９９】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、Ｆポリペプチドをコードする内因性配列および／またはＨＮポリペプチドをコードする内因性配列は、それらの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように修飾され得る。ヌクレオチド配列（ｂ）は、Ｆおよび／またはＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入できる。好ましいのは、ヌクレオチド配列（ｂ）がＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入されることである。さらに好ましいのは、ヌクレオチド配列（ｂ）がF遺伝子の遺伝子座に挿入されることである。

【０１００】

天然のＳｅＶウイルスでは、ＦおよびＨＮは直接隣接している。特に、Ｆポリペプチドをコードする配列および／またはＨＮポリペプチドをコードする配列は、少なくとも部分的または完全に欠失することがある。このような構築物の例は実施例に記載されている(“タイプＢ” 構築物および“タイプＣ”構築物)。

【０１０１】

例えば、ヌクレオチド配列（ｂ）は、ウイルスゲノムの少なくとも１つの天然（内因性）配列を少なくとも部分的または完全に置き換えることができる。例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をコードする配列（ｂ）は、ＳｅＶ Ｆおよび／またはＨＮをコードする内因性配列の少なくとも一部を置き換えることができる。

【０１０２】

例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質のエクトドメインをコードする配列（ｂ）は、ＳｅＶ Ｆおよび／またはＨＮをコードする配列中に挿入でき、これにより、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質のエクトドメインは、F膜貫通ドメインおよび／または細胞質ドメイン、ならびに/またはＨＮ膜貫通ドメインおよび／または細胞質ドメインとフレ

ーム内で融合でき、ここで、天然ＨＮおよび／またはＦポリペプチドの機能および／または活性は、少なくとも部分的または完全に破壊される。

【０１０３】

本明細書で用いる、ＦおよびＨＮポリペプチドの膜貫通ドメイン、細胞質ドメイン、またはそのようなドメインをコードする配列は、独立して、本明細書に記載される配列を含み得る：

配列番号８は、ＳｅＶ Ｆタンパク質の膜貫通ドメインのアミノ酸配列を記載している（配列番号６のＳｅＶ Ｆタンパク質の部分配列）。配列番号７は、配列番号８をコードするＳｅＶ Ｆタンパク質膜貫通ドメインをコードするヌクレオチド配列を記載する。

配列番号１０は、ＳｅＶ Ｆタンパク質の細胞質ドメインのアミノ酸配列を記載している（配列番号６のＳｅＶ Ｆタンパク質の部分配列）。配列番号９は、配列番号１０をコードするＳｅＶ Ｆタンパク質細胞質ドメインをコードするヌクレオチド配列を記載する。

配列番号１６は、ＳｅＶ ＨＮタンパク質の膜貫通ドメインのアミノ酸配列を記載している（配列番号１２のＳｅＶ ＨＮタンパク質の部分配列）。配列番号１５は、配列番号１６をコードするＳｅＶ ＨＮタンパク質膜貫通ドメインをコードするヌクレオチド配列を記載する。

配列番号１４は、ＳｅＶ ＨＮタンパク質の細胞質ドメインのアミノ酸配列を記載している（配列番号１２のＳｅＶ ＨＮタンパク質の部分配列）。配列番号１３は、配列番号１４をコードするＳｅＶ ＨＮタンパク質細胞質ドメインをコードするヌクレオチド配列を記載する。

配列番号１８は、ＳｅＶ ＨＮタンパク質エクトドメインのアミノ酸配列を記載している（配列番号１２のＳｅＶ ＨＮタンパク質の部分配列）。配列番号１７は、配列番号１８をコードするＳｅＶ ＨＮタンパク質エクトドメインをコードするヌクレオチド配列を記載する。

【０１０４】

複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの改変された少なくとも１つのコーディング配列は、それぞれが別個のポリペプチドをコードする２以上のコーディング配列、例えば２つ、３つ、４つのコーディング配列を含み得る。好ましくは、修飾された少なくとも１つのコーディング配列は、２つのコーディング配列を含む。例えば、変更された少なくとも１つのコーディング配列には、ＳｅＶ ＦおよびＨＮコーディング配列が含まれる。

【０１０５】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスでは、ＨＮポリペプチドをコードする内因性配列は、その機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように修飾され得る。ヌクレオチド配列（ｂ）は、ＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入できる。Ｆポリペプチドをコードする内在性配列は修飾されていないこともある。

【０１０６】

特に、ＨＮポリペプチドをコードする配列は、少なくとも部分的または完全に欠失させることができる。より詳細には、組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスでは、ＲＮＡ分子はＨＮポリペプチドをコードする配列を含んでいない。このような構築物の例は実施例に記載されている（“タイプＢ”構築物）。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、ＨＮポリペプチドをコードする内因性配列は、少なくとも部分的または完全に欠失させることができ、ヌクレオチド配列（ｂ）は、ＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入できる。

【０１０７】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、Ｆポリペプチドをコードする内因性配列は、その機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され得る。ヌクレオチド配列（ｂ）は、Ｆ遺伝子の遺伝子座に挿入できる。ＨＮポリペプチドをコードする内在性配列は修飾されていなくてもよい。

【０１０８】

特に、Ｆポリペプチドをコードする配列は、少なくとも部分的または完全に欠失していてもよい。より詳細には、組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスでは、ＲＮＡ分子はＦポリペプチドをコードする配列を含んでいない。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、Ｆポリペプチドをコードする内因性配列は、少なくとも部分的または完全に欠失させることができ、ヌクレオチド配列（ｂ）は、Ｆ遺伝子の遺伝子座に挿入されてもよい。

【０１０９】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、Ｆポリペプチドをコードする内因性配列およびＨＮポリペプチドをコードする内因性配列は、それらの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように修飾され得る。ヌクレオチド配列（ｂ）は、ＦおよびＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入できる。

【０１１０】

特に、ＦおよびＨＮポリペプチドをコードする配列は、少なくとも部分的または完全に欠失させることができる。より詳細には、組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、ＲＮＡ分子はＦポリペプチドをコードする配列を含まず、前記ＲＮＡ分子はＨＮポリペプチドをコードする配列を含まない。このような構築物の例は、実施例に記載されている（“タイプＣ”構築物)。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損ＲＮＡウイルスにおいて、Ｆポリペプチドをコードする内因性配列およびＨＮポリペプチドをコードする内因性配列は、少なくとも部分的または完全に欠失させることができ、ヌクレオチド配列（ｂ）は、Ｆ遺伝子および／またはＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入できる。

【０１１１】

本発明において、ヌクレオチド配列（ｂ）は、少なくとも１つの内因性発現制御配列と作動連結している可能性がある。ヌクレオチド配列（ｂ）はまた、異種コーディング配列と作動連結した少なくとも１つの異種発現制御配列を含み得る。ヌクレオチド配列（ｂ）はまた、少なくとも１つの内因性ウイルス発現制御配列と少なくとも１つの異種発現制御配列の組み合わせと作動連鎖していてもよい。例えば、内在性ウイルスプロモーター配列を使用できる。例えば、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、Ｆ遺伝子座に挿入されると、Ｆ遺伝子の内因性プロモーターと作動可能に連結され得る。別の例では、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、ＨＮ遺伝子座に挿入されたとき、ＨＮ遺伝子の内因性プロモーターと作動的に連結され得る。

【０１１２】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、レポーターポリペプチド（レポーター遺伝子）、例えばＧＦＰ、ｅＧＦＰまたはその誘導体などの蛍光タンパク質をコードする異種配列をさらに含んでいてもよい。レポーター遺伝子は、本明細書に記載のＲＮＡウイルス構築物のインビトロ評価のためだけに存在してもよい。ｅＧＦＰのようなレポーター遺伝子は、Ｌ遺伝子の３’末端の下流に位置することがある。レポーター遺伝子は、ＲＮＡウイルス構築物の免疫効果に対して機能的な意味はない。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスを医療用に使用する場合、レポーター遺伝子は必須ではない。むしろ、レポーター遺伝子の存在は、本発明の複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの医学的使用を妨げ得る。本明細書で用いる、本明細書に記載する医療用組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡは、好ましくはレポーター遺伝子を含まない。特に、本明細書で用いる、本明細書に記載する医療用組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡは、ＧＦＰ遺伝子またはｅＧＦＰ遺伝子、あるいはそれらに由来する配列を含まない。

【０１１３】

本発明において、本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、宿主細胞に吸着し、宿主細胞に侵入できる。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、真核細胞に感染することもできる。

【０１１４】

ＨＮタンパク質をコードする配列が本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスに存在する場合、宿主細胞への吸着はＨＮタンパク質によって仲介され得る。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにＦタンパク質をコードする配列が存在する場合、細胞内への侵入はＦタンパク質によって開始され得る。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス中にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をコードする配列が存在する場合、宿主細胞への吸着および侵入は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質によって仲介され得る

【０１１５】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、異種ポリペプチドは、ウイルス表面上に提示された場合、宿主細胞への吸着および侵入を仲介できる。特に、異種タンパク質は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質であってもよく、本明細書に記載されているように、キメラタンパク質であってもよい。

【０１１６】

特に、宿主細胞は真核細胞である。宿主細胞は、マイナス鎖ＲＮＡウイルスに感染可能な宿主細胞であれば何でもよい。当業者は適切な宿主細胞を知っている。適切な宿主細胞は本明細書に記載されている。

【０１１７】

本発明の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、真核細胞からレスキューできる。

【０１１８】

本発明の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの欠損配列でトランス相補された、特にＰポリペプチドをコードする配列でトランス相補された真核細胞中で増殖可能であり得る。細胞はまた、Ｎおよび／またはＬポリペプチドをコードする配列でトランス型に相補されることもある。特に、本発明の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、（ｉ）Ｐポリペプチド、および（ｉｉ）ＮおよびＬポリペプチドをコードする配列でトランス相補された真核細胞で増殖可能である。

【０１１９】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドは、スパイクポリペプチド、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのフラグメントからなり得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓタンパク質はキメラタンパク質であってもよい。特に、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドは、ＳＡＲＳ ＣｏＶ ２ スパイクポリペプチドのエクトドメインを含み得る。

【０１２０】

異種ポリペプチドはキメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドであってもよい。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、ヌクレオチド配列（ｂ）は、

（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、

（ｉｉ）ＳｅＶ ＦもしくはＨＮポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および

（ｉｉｉ）ＳｅＶ ＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント

をコードし得る。

【０１２１】

この構築物のヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメインの部分配列を含んでいてもよい。

【０１２２】

この構築物では、ヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性のＳｅＶ発現制御配列、特にＳｅＶ ＦまたはＨＮプロモーターなどのＳｅＶ ＦまたはＨＮ発現制御配列と作動的に結合し

得る。
【０１２３】
このような構築物を本明細書では“バリアント１構築物”と呼ぶ。バリアント１構築物の例は実施例に記載されている。
【０１２４】
特に、バリアント１構築物において、ヌクレオチド配列（ｂ）は、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳｅＶ Ｆポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ Ｆポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードし得る。
【０１２５】
この構築物のヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメインの部分配列を含み得る。
【０１２６】
特に、ヌクレオチド配列（ｂ）は配列番号２７または３０を含み得る。ヌクレオチド配列（ｂ）によりコードされる異種ポリペプチドは、配列番号３１を含み得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインは、配列番号２１または２８によってコードされ得る。ＳｅＶ Ｆの膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインは、配列番号２９にコードされ得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインのアミノ酸配列は、配列番号２２または３２を含み得る。ＳｅＶ Ｆの膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインは、配列番号３３を含み得る。
【０１２７】
この構築物では、ヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性のＳｅＶ発現制御配列、特にＳｅＶ Ｆプロモーターなどのセンダイウイルス Ｆ発現制御配列と作動的に連結され得る。
【０１２８】
特に、バリアント１構築物において、ヌクレオチド配列（ｂ）はまた、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳｅＶ ＨＮポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ ＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードし得る。
【０１２９】
この構築物のヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメインの部分配列を含み得る。
【０１３０】
この構築物では、ヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性ＳｅＶ発現制御配列、特にＳｅＶ ＨＮ発現制御配列、例えばＳｅＶ ＨＮプロモーターと作動的に連結し得る。
【０１３１】
本明細書で用いる用語“フラグメント”には、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの部分配列が含まれる。フラグメントは、全長ポリヌクレオチドまたはポリペプチドと本質的に同じ活性および／または機能を有し得る。フラグメントは、全長ポリヌクレオチドまたはポリペプチドと少なくとも８０％、好ましくは少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有する。
【０１３２】
特に“Ｓタンパク質のフラグメント”または“ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質のフラグメント”には、全長Ｓタンパク質の部分配列を含むポリペプチドが含まれる。このフラグメントは、全長のＳタンパク質と本質的に同じ活性および／または機能を有し得る。特に、フラグメントは全長Ｓタンパク質と少なくとも８０％、好ましくは少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有する

。Ｓタンパク質のフラグメントの例には以下が含まれる：
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質のエクトドメインおよび膜貫通ドメインの部分配列、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のSタンパク質のエクトドメインおよび膜貫通ドメイン、
（ｉｉｉ）エクトドメイン、膜貫通ドメイン、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の細胞質ドメインの部分配列、または／および
（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質のエクトドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞質ドメインであって、細胞質ドメインの１９個のＣ末端アミノ酸残基が欠失されている、エクトドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞質ドメイン。

【０１３３】

好ましくは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓポリペプチドのこれらのフラグメントでは、ドメインは直接隣接している。

【０１３４】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインは、配列番号１９のヌクレオチド（ｎｔ）１～３，６３９、または配列番号２１もしくは２８によってコードされる。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメインは、配列番号１９のｎｔ　３，６４０～３，７０２、または配列番号２３、または配列番号４０によってコードされ得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメインは、配列番号１９のｎｔ　３，７０３～３，８１９、または配列番号２５、または配列番号４２によってコードされ得る。配列番号１９の２８２０－２８２２位は停止コドンを記載している。

【０１３５】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインは、配列番号２０のアミノ酸残基（ａａ）１～１，２１３を含むか、または配列番号２２を含み得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメインは、配列番号２０のａａ１，２１４～１，２３４を含むか、または配列番号２４を含むか、または配列番号４１を含み得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメインは、配列番号２０のａａ１，２３５～１，２７３を含むか、または配列番号２６を含むか、または配列番号４３を含み得る。

【０１３６】

このフラグメントは、特に免疫原性フラグメント、すなわち対象に免疫応答を誘導できるポリペプチドである。Ｓタンパク質の特定のフラグメント、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質のフラグメントは、免疫原性フラグメントであってもよい。

【０１３７】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、ヌクレオチド配列（ｂ）は
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ　ＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードし得る。

【０１３８】

この構築物のヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメインの部分配列を含み得る。

【０１３９】

この構築物では、ヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性ＳｅＶ発現制御配列、特にＳｅＶ ＦまたはＨＮ発現制御配列、例えばＳｅＶ　ＦまたはＨＮプロモーターと作動的に連結していてもよい。

【０１４０】

かかる構築物を本明細書では“バリアント２構築物”と呼ぶ。バリアント２構築物の例は実施例に記載されている。

【０１４１】

特に、変異体２構築物において、ヌクレオチド配列（ｂ）は、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ Ｆポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードし得る。

【０１４２】

この構築物のヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメインの部分配列を含み得る。特に、ヌクレオチド配列（ｂ）は、配列番号３６、４４または４６を含み得る。ヌクレオチド配列（ｂ）によりコードされる異種ポリペプチドは、それぞれ配列番号３６、４４または４６によりコードされる、配列番号３７、４５または４７を含んでなり得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のエクトドメインは配列番号２１、２８または３８によってコードされる。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のエクトドメインは、配列番号２２、３２または３９を含み得る。

【０１４３】

この構築物では、ヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性のＳｅＶ発現制御配列、特にＳｅＶ Ｆプロモーターなどのセンダイウイルス Ｆ発現制御配列と作動的に連結していてもよい。

【０１４４】

特に、バリアント２構築物において、ヌクレオチド配列（ｂ）はまた、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ ＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードし得る。

【０１４５】

この構築物のヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメインの部分配列を含み得る。

【０１４６】

この構築物では、ヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性のＳｅＶ発現制御配列、特にＳｅＶ ＨＮプロモーターなどのＳｅＶ ＨＮ発現制御配列と作動的に接触し得る。

【０１４７】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、ヌクレオチド配列（ｂ）は、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードし得る。

【０１４８】

このような構築物を本明細書では“バリアント３構築物”と呼ぶ。バリアント３構築物の例は実施例に記載されている。

【０１４９】

この構築物では、ヌクレオチド配列（ｂ）は、内因性ＳｅＶ発現制御配列、特にＳｅＶ

ＦまたはＨＮ発現制御配列、例えばＳｅＶ ＦまたはＨＮプロモーターと作動的に連結され得る。

【０１５０】

本発明において、本明細書で用いる用語“抗ベクター抗原性”とは、宿主（すなわち、ベクターが投与される対象）の免疫系に曝露されたベクターの内因性成分に対する免疫応答を誘導するベクターの能力を表す。抗ベクター抗原性は、ベクターに対する宿主の免疫応答、すなわち抗ベクター免疫を誘導する。マイナス鎖ＲＮＡウイルスでは、特に宿主の免疫系に曝される成分として、Ｆおよび／またはＨＮポリペプチドなどの表面タンパク質が挙げられる。表面ポリペプチドをコードする配列の少なくとも部分的または完全な欠失は、抗ベクター抗原性を低下させ得る。

【０１５１】

本発明において、組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、野生型と比較して抗ベクター抗原性が低下し得る。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、抗ベクター抗原性の低下は、本明細書に記載されるように、ウイルス表面ポリペプチド、特にＦおよび／またはＨＮをコードするヌクレオチド配列の少なくとも部分的または完全な欠失によって達成され得る。例えば、本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子は、その表面に内因性（天然）表面ポリペプチドを本質的に含まなくてもよい。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子は、その表面に少なくとも１つの異種ポリペプチド、例えば本明細書に記載のＳタンパク質を提示できる。これらの構築物において、Ｆおよび／またはＨＮポリペプチドの機能および／または活性は、Ｓタンパク質、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質によって補足され得る。

【０１５２】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインは、Ｓ１サブユニットを含んでいてもよく、前記Ｓ１サブユニットは、宿主細胞のＡＣＥ－２受容体に結合できる受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を含む。

【０１５３】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスでは、Ｓ１サブユニットが宿主細胞のＡＣＥ－２プロテアーゼによって切断され得る。

【０１５４】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインは、ＳｅＶエンベロープを宿主細胞膜またはエンドソーム膜と融合させることができるＳ２サブユニットを含み得る。

【０１５５】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて、Ｓタンパク質のエクトドメインの配列は、前結合(prefusion)の形態でエクトドメインを安定化させることができる少なくとも１つの配列修飾を含み得る。例えば、Ｓタンパク質またはそのエクトドメインは、残基Ｋ９８６およびＶ９８７における２つの連続したプロリン置換（Ｋ９８６ＰおよびＶ９８７Ｐ）を含む、安定化された前結合形態で提供され得る。前結合型では、Ｓタンパク質は受容体結合後の細胞膜／エンドソーム膜とウイルスエンベロープの融合を仲介できない。ウイルスエンベロープと細胞／エンドソーム膜との融合を仲介するために、Ｆタンパク質をコードする配列が存在し得る。

【０１５６】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、例えば、鼻腔内および／または粘膜投与経路により投与された場合、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によりコードされる少なくとも１つの異種ポリペプチドに対する粘膜免疫応答を誘導することができる。本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、特に本明細書に記載の本発明のＳｅＶベクターは、呼吸器のムチン層

に容易に浸透することが可能であり、従って、少なくとも１つの異種ポリペプチドを、鼻腔内および／または粘膜投与経路を介して、例えば取り扱いが容易で使いやすい鼻腔内／粘膜スプレーワクチンの形態で送達するための理想的な条件を提供する。

【０１５７】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、少なくとも１つの異種ポリペプチドを表面上に提示できるので、粘膜免疫応答は即時応答であってもよい。

【０１５８】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされるポリペプチド抗原を有する病原体、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する防御免疫応答を誘導できる。保護免疫は滅菌免疫(sterilizing immunity)であり得る。本明細書で用いる用語“滅菌免疫”とは、病原体、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する免疫応答であって、まだ感染していない別の対象への病原体の感染を防ぐものを意味する。

【０１５９】

本発明の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による呼吸器の自然感染と同様に、特に鼻腔内／粘膜適用の過程で、粘膜免疫系に直接提示できる。さらに、宿主の粘膜細胞に侵入すると、ウイルスはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクタンパク質を産生し、細胞表面上に提示できる。このようにして、特に殺菌免疫を含む広範な保護が達成され、確保される。

【０１６０】

本明細書で用いる、Ｐタンパク質は、配列番号１のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。

【０１６１】

本明細書で用いる、Ｐタンパク質は、配列番号２のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。

【０１６２】

本明細書で用いられるように、デルタＰ ２－７７タンパク質は、配列番号３のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。

【０１６３】

本明細書で用いる、デルタｐ ２－７７タンパク質は配列番号４のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含んでいてもよい。

【０１６４】

本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆタンパク質は、配列番号５のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。

【０１６５】

本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆタンパク質は、配列番号６のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含むことができる。

【０１６６】

本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆタンパク質膜貫通ドメインは、配列番号７のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。

【０１６７】
本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆタンパク質膜貫通ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。
【０１６８】
本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆタンパク質細胞質ドメインは、配列番号９のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１６９】
本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆタンパク質細胞質ドメインは、配列番号１０のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。
【０１７０】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮタンパク質は、配列番号１１のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１７１】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮタンパク質は、配列番号１２のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。
【０１７２】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮ細胞質ドメインは、配列番号１３のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１７３】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮ細胞質ドメインは、配列番号１４のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列から構成され得る。
【０１７４】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮ膜貫通ドメインは、配列番号１５のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１７５】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮ膜貫通ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列から構成され得る。
【０１７６】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮエクトドメインは、配列番号１７のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１７７】
本明細書で用いる、ＳｅＶ ＨＮエクトドメインは、配列番号１８のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含んでいてもよい。
【０１７８】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質は、配列番号１９のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。

【０１７９】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質は、配列番号２０のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。
【０１８０】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）エクトドメインは、配列番号２１、２８、または３８のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１８１】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）エクトドメインは、配列番号２２、３２、または３９のアミノ酸配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列を含んでなる。
【０１８２】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）膜貫通ドメインは、配列番号２３もしくは４０のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％もしくは少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１８３】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）膜貫通ドメインは、配列番号２４もしくは４１のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、もしくは少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。
【０１８４】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）細胞質ドメインは、配列番号２５もしくは４２のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％もしくは少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１８５】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）細胞質ドメインは、配列番号２６もしくは４３のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、もしくは少なくとも９８％の同一性を有する配列を含んでなる。
【０１８６】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメイン、ＳｅＶ Ｆ膜貫通ドメイン、およびＳｅＶ細胞質ドメインからなるキメラタンパク質（変異体１構築物）は、配列番号２７、３０、または３４のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１８７】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメイン、ＳｅＶ Ｆ膜貫通ドメインおよびＳｅＶ細胞質ドメインからなるキメラタンパク質（変異体１構築物）は、配列番号３１もしくは３５のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％もしくは少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。
【０１８８】
本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆ膜貫通ドメインおよびＳｅＶ細胞質ドメインは、配列番号２９のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列に

よってコードされ得る。
【０１８９】
本明細書で用いる、ＳｅＶ Ｆ膜貫通ドメインおよびＳｅＶ細胞質ドメインは、配列番号３３のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する配列から構成され得る。
【０１９０】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイク エクト、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン（細胞質ドメインの１９個のＣ末端アミノ酸残基が欠失）、ならびにＳｅＶ Ｆ細胞質ドメインからなるキメラタンパク質（変異体２構築物）は、配列番号３６、４４もしくは４６のヌクレオチド配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％もしくは少なくとも９８％の同一性を有する配列によってコードされ得る。
【０１９１】
本明細書で用いる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイク エクト、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン（細胞質ドメインの１９個のＣ末端アミノ酸残基が欠失）、ならびにＳｅＶ Ｆ細胞質ドメイン（変異体２構築物）からなるキメラタンパク質は、配列番号３７、４５もしくは４７のアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％もしくは少なくとも９８％の同一性を有する配列を含み得る。
【０１９２】
本発明の別の態様は、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含み、前記ヌクレオキャプシドが、そのゲノム中に、
（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は、野生型と比較して改変されており、前記改変は、マイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換え複製欠損一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子に関する。
【０１９３】
Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して修飾されているヌクレオチド配列（ａ）、および少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの文脈において本明細書に記載される。
【０１９４】
本発明の別の態様は、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含み、前記ヌクレオキャプシドがそのゲノム中に、
（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換え複製能を有する一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子に関する。
【０１９５】
特に、組換え複製能を有する一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子は弱毒化される。
【０１９６】
特に、このウイルスはセンダイウイルスである。
【０１９７】
特に、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポ

リペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントがウイルス粒子の表面上に提示されている。

【０１９８】

本発明のさらに別の態様は、そのゲノムに以下を含む組換え複製欠損センダイウイルスに関する：

（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、前記改変はマイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および

（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、少なくとも１つの異種ポリペプチドはセンダイウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列。

【０１９９】

Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して修飾されているヌクレオチド配列（ａ）、および少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの文脈において本明細書に記載される。

【０２００】

特に、この態様において、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントがセンダイウイルス粒子の表面上に提示されている。

【０２０１】

本発明のさらに別の態様は、そのゲノム中に以下を含む組換えコンピテント型センダイウイルスに関する：

（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列

（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列。

【０２０２】

特に、複製能を有するセンダイウイルス粒子は弱毒化されている。

【０２０３】

特に、この態様において、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントがセンダイウイルス粒子の表面上に提示されている。

【０２０４】

本発明のさらに別の態様は、ヌクレオキャプシドとエンベロープとを含み、前記ヌクレオキャプシドがそのゲノム中に、

（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、前記改変はセンダイウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列と

（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列

を含む、組換え複製欠損センダイウイルス粒子に関する。

【０２０５】

Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（ａ）であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して修飾されているヌクレオチド配列（ａ）、および少なくとも１つの異

種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの文脈において本明細書に記載される。
【０２０６】
特に、この態様において、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントがセンダイウイルス粒子の表面上に提示されてなる。
【０２０７】
本発明のさらに別の態様は、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含み、前記ヌクレオキャプシドがそのゲノム中に、
（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列と
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換えコンピテント型センダイウイルス粒子に関する。
【０２０８】
特に、複製能を有するセンダイウイルスは弱毒化されている。
【０２０９】
特に、この態様において、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントがセンダイウイルス粒子の表面上に提示されている。
【０２１０】
本発明のさらに別の態様は、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含む組換え複製欠損センダイウイルス（ＳｅＶ）粒子に関し、前記ヌクレオキャプシドはそのゲノム中に、
（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、前記改変はセンダイウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列と
（ｂ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列
を含み、ここで、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントは、ウイルス粒子の表面上に提示される、
組換え複製欠損センダイウイルス（ＳｅＶ）粒子に関する。
【０２１１】
本発明のさらに別の態様は、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含む組換えコンピテント型センダイウイルス（ＳｅＶ）粒子に関し、前記ヌクレオキャプシドはそのゲノム中に、
（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列と
（ｂ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列、
を含み、ここで、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントは、ウイルス粒子の表面上に提示される、
組換え複製欠損センダイウイルス（ＳｅＶ）粒子に関する。
【０２１２】
特に、複製能を有するセンダイウイルスは弱毒化されている。
【０２１３】
本発明のさらなる側面は、本発明の組換え複製欠損一本鎖マイナス鎖ＲＮＡウイルスの

医学的使用に関する。本明細書で用いる用語“ウイルス”には、ＲＮＡ分子、ヌクレオキャプシドおよび新しい宿主細胞に感染できるウイルス粒子が含まれる。これらの態様において、本発明の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、ウイルス粒子の形態で提供されることが好ましい。

【０２１４】

本発明の一態様は、本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、および／または本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子を含む医薬組成物に関する。

【０２１５】

特に、医薬組成物は、本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型センダイウイルス、および／または本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型センダイウイルス粒子を含む。

【０２１６】

本発明のさらに別の態様は、本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、および／または本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子を含むワクチンに関する。ワクチンは、抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチン、またはＣＯＶＩＤ １９の予防用ワクチンである。

【０２１７】

本発明のさらに別の態様は、本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、および／または本明細書に記載の組換え複製欠損もしくは複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子を含む免疫原性組成物に関する。免疫原性組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫反応を引き起こし得る。

【０２１８】

本発明のさらに別の態様は、医療用の、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、本明細書に記載の医薬組成物、本明細書に記載のワクチン、または本明細書に記載の免疫原性組成物に関する。

【０２１９】

特に、本発明は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の予防方法に使用するための、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、本明細書に記載の医薬組成物、本明細書に記載のワクチン、または本明細書に記載の免疫原性組成物に関する。

【０２２０】

本発明のさらに別の態様は、ＣＯＶＩＤ １９の予防方法における使用のための、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、本明細書に記載の医薬組成物、本明細書に記載のワクチン、または本明細書に記載の免疫原性組成物に関する。

【０２２１】

本発明のさらに別の態様は、ワクチンとして使用するための、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、本明細書に記載の組換え複製欠損型または複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、本明細書に記載の医薬組成物、本明細書に記載のワクチン、または本明細書に記載の免疫原性組成物に関する。ワクチンは、抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチン、またはＣＯＶＩＤ １９の予防用ワクチンである。

【０２２２】

組換え複製欠損型または複製能を有する型組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、組換え複製欠損型または複製能を有する型組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、医薬組成物、ワクチンまたは免疫原性組成物は、鼻腔内および／または粘膜経路に

より、それを必要とする対象に投与され得る。
【０２２３】
本発明のさらに別の態様は、本明細書に記載の、組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードするＲＮＡ分子に関する。ＲＮＡ分子は単離されたＲＮＡ分子であってもよい。特に、ＲＮＡ分子は、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されている、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列
を含む。
【０２２４】
Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して修飾されているヌクレオチド配列（ａ）、および少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）は、複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの文脈において本明細書に記載される。
【０２２５】
本発明のさらに別の態様は、本明細書に記載の、組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードするＲＮＡ分子に関する。ＲＮＡ分子は単離されたＲＮＡ分子であってもよい。特に、ＲＮＡ分子は、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列、
を含む。
【０２２６】
特に、複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルスは弱毒化されている。
【０２２７】
特に、ＲＮＡ分子は、
（ｃ）Ｎポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、
（ｄ）Ｍポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｅ）Ｌポリペプチドをコードするヌクレオチド配列
をさらに含む。
【０２２８】
ヌクレオチド配列（ｃ）、（ｄ）および（ｅ）は、複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの文脈で本明細書に記載されている。
【０２２９】
本発明のさらに別の態様は、本発明のＲＮＡ分子を含むヌクレオキャプシドである。
【０２３０】
ヌクレオキャプシドは一本鎖ＲＮＡとヌクレオタンパク質（Ｎ）との複合体からなり得る。特にそれぞれの場合、ＲＮＡの６ヌクレオチドが１つのＮタンパク質に結合し得る。ヌクレオキャプシドはまた、ＲＮＡポリメラーゼ複合体を形成するＲＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼ（Ｌ）および補因子リン酸化タンパク質（Ｐ）を含んでいてもよい。
【０２３１】
本発明のさらに別の態様は、本発明のＲＮＡ分子をコードするＤＮＡ分子である。ＤＮＡ分子は単離されたＤＮＡ分子であってもよい。特に、ＤＮＡ分子はｃＤＮＡ分子であってもよい。ｃＤＮＡは、本明細書に記載の複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスのゲノムを構成できる。このｃＤＮＡは、適当なヘルパー細胞内でウイルス粒子を形成できる。ｃＤＮＡは、本明細書に記載の複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードするＲＮＡ分子に転写可能な、発現プラスミドなどのプラスミドの形態で提供できる。

【０２３２】
本発明のさらに別の態様は、本明細書に記載の複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、本明細書に記載の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、本明細書に記載のＲＮＡ分子、本明細書に記載のヌクレオキャプシドおよび／または本明細書に記載のＤＮＡ分子を含む、宿主細胞である。特に、宿主細胞は真核細胞である。宿主細胞は、マイナス鎖ＲＮＡウイルスに感染可能な宿主細胞であれば何れでもよい。当業者は適切な宿主細胞を知っている。
【０２３３】
例えば、（ｉ）少なくともＳｅＶ Ｐタンパク質をトランスでコードする核酸分子をトランスフェクトしたＶｅｒｏ（ベロ）細胞、またはそれに由来する細胞、例えばＶ３－１０ヘルパー細胞が挙げられる。特に、細胞は、（ｉｉ）天然ウイルスタンパク質Ｎおよび／またはＬをトランスコードする少なくとも１つの核酸分子でさらにトランスフェクトされ得る。
【０２３４】
宿主細胞、特にＶ３－１０ヘルパー細胞は、本発明の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスを複製できる。複製には、本発明の複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの増殖も含まれる。組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡを複製できるこのような真核細胞の例は、複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの欠損配列でトランス型に相補された細胞、特に（ｉ）Ｐポリペプチドをコードする核酸分子でトランス型に相補された細胞である。細胞はさらに、（ｉｉ）Ｎおよび／またはＬポリペプチドをコードする少なくとも１つの核酸分子でトランスフェクトされ得る。例としては、本明細書に記載されているＶ３－１０ヘルパー細胞がある。
【０２３５】
宿主細胞、特にＶ３－１０ヘルパー細胞は、本発明の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードする核酸分子、例えば本明細書に記載のＤＮＡ分子でトランスフェクトされた後、本発明の複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをレスキューすることもできる。特に、ウイルスレスキューが可能な宿主細胞は、欠損したウイルスタンパク質をコードする外来性配列でトランスコンプリメントされていない。
【０２３６】
本明細書に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスは、トランスコンプリメンテーションを必要とせずに、宿主細胞内で複製できる。そのような細胞の例がベロ細胞である。
【０２３７】
宿主細胞は、ＧＭＰ適格真核細胞であってもよい。適切なＧＭＰ適格真核細胞は当業者に知られている。その一例がベロ細胞である。
【０２３８】
宿主細胞はまた、本発明の複製能を有する型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードする、本明細書に記載のＤＮＡ分子の維持および増殖に適した、細菌などの原核細胞であってもよい。適切な原核細胞は当業者に知られている。
【０２３９】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２および／またはＣＯＶＩＤ １９の感染を予防するための方法のさらに別の態様は、本明細書に記載の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、本明細書に記載の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、本明細書に記載の医薬組成物、本明細書に記載のワクチン、および／または本明細書に記載の免疫原性組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む。
【０２４０】
本発明のさらなる態様は、本明細書に記載の医薬組成物、本明細書に記載の組換えコンピテント型または複製欠損組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、本明細書に記載のワクチン、または本明細書に記載の免疫原性組成物の製造方

法に関する、または本明細書に記載の免疫原性組成物であって、本明細書に記載の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、本明細書に記載のＲＮＡ分子、または／およびヌクレオキャプシドを、少なくとも１つの薬学的に許容される賦形剤とともに製剤化することを含む。

【０２４１】

本発明のさらに別の態様は、本明細書に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの生産方法である。

【０２４２】

本明細書に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子の生産方法は、以下の工程を含み得る：

（ａ）本発明のＲＮＡ分子をコードするＤＮＡ分子で真核宿主細胞をトランスフェクトする工程、前記宿主細胞はＳｅＶポリペプチドＮ、ＰおよびＬを発現できる、

（ｂ）前記ＤＮＡ分子が転写され、ウイルス粒子が形成されるような条件下で、宿主細胞を培養する工程、および

（ｃ）（ｂ）のウイルス粒子を分離する工程。

【０２４３】

本明細書に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子の生産方法は、以下の工程もまた包含し得る：

（ａ）野生型マイナス鎖ＲＮＡウイルスで真核宿主細胞を感染させ、本発明の組換え複製欠損ＲＮＡウイルスをコードする、本明細書に記載のＤＮＡ分子で真核宿主細胞をトランスフェクトする工程、

（ｂ）前記ＤＮＡ分子が転写され、ウイルス粒子が形成されるような条件下で宿主細胞を培養する工程、および

（ｃ）（ｂ）のウイルス粒子を分離する工程、

ここで、野生型マイナス鎖ＲＮＡウイルスおよび組換え複製欠損ＲＮＡウイルスは、同じ種に由来し得る。

【０２４４】

本発明のさらに別の態様は、本明細書に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子の産生方法であって、以下を含む方法である：

（ａ）本明細書に記載のDNA分子を真核宿主細胞にトランスフェクトする工程、

（ｂ）前記ＤＮＡ分子が転写され、ウイルス粒子が形成されるような条件下で宿主細胞を培養する工程、および

（ｃ）（ｂ）のウイルス粒子を分離する工程。

【０２４５】

本発明のさらに別の態様は、組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスおよび／または組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子の産生のための、本明細書に記載の宿主細胞の使用に関する。

【０２４６】

本発明のさらなる態様は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２および／またはＣＯＶＩＤ １９の感染を予防するための医薬の製造のための、本明細書に記載の組換えコンピテント型または複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの使用に関する。

【０２４７】

塩基配列とアミノ酸配列の説明

配列番号	説明
1	センダイウイルス(SeV)野生型Pタンパク質をコードする塩基配列
2	配列番号1にコードされるセンダイウイルス(SeV)野生型Pタンパク質のアミノ酸配列
3	アミノ酸2-77を欠失したSeV Pタンパク質(“デルタP 2-77”)をコードするヌクレオチド配列
4	配列番号3によってコードされる、アミノ酸2-77を欠失したSeV Pタンパク質(“デルタP 2-77”)のアミノ酸配列
5	センダイウイルス(SeV)SeV Fタンパク質(標的細胞との融合用表面タンパク質)をコードするヌクレオチド配列
6	配列番号5によってコードされるセンダイウイルス(SeV)SeV Fタンパク質(標的細胞との融合用表面タンパク質)のアミノ酸配列
7	SeV Fタンパク質の膜貫通ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号5のSeV Fタンパク質の部分配列)
8	配列番号7によってコードされるSeV Fタンパク質の膜貫通ドメインのアミノ酸配列(配列番号6のSeV Fタンパク質の部分配列)。
9	SeV Fタンパク質細胞質ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号5のSeV Fタンパク質の部分配列)
10	配列番号9によってコードされるSeV Fタンパク質細胞質ドメイン(配列番号6のSeV Fタンパク質の部分配列)のアミノ酸配列
11	センダイウイルス(SeV)HNタンパク質(標的細胞に結合するための表面タンパク質)をコードする塩基配列 細胞質ドメイン:nt 1 - 111 膜貫通ドメイン:nt 112 - 174 エクトドメイン:nt 175 - 1.728
12	配列番号11でコードされるセンダイウイルス(SeV)HNタンパク質(標的細胞に結合するための表面タンパク質)をコードするヌクレオチド配列のアミノ酸配列
13	SeV HNタンパク質細胞質ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号11のSeV HNタンパク質の部分配列)
14	配列番号13によってコードされるSeV HNタンパク質細胞質ドメイン(配列番号12のSeV Fタンパク質の部分配列)のアミノ酸配列
15	SeV HNタンパク質の膜貫通ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号11のSeV HNタンパク質の部分配列)
16	配列番号15によってコードされるSeV HNタンパク質の膜貫通ドメイン(配列番号12のSeV HNタンパク質の部分配列)のアミノ酸配列
17	SeV HNタンパク質エクトドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号11のSeV HNタンパク質の部分配列)
18	配列番号17によってコードされるSeV HNタンパク質エクトドメインのアミノ酸配列(配列番号12のSeV HNタンパク質の部分配列)。

19	コロナウイルスＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク(S)タンパク質(受容体結合および標的細胞との融合のための表面タンパク質)をコードするヌクレオチド配列 エクト・ドメイン:nt 1 - 3.639 膜貫通ドメイン:nt 3.640 - 3.702 細胞質ドメイン:nt 3.703 - 3.822
20	SEQ ID Nos:19によってコードされる、コロナウイルスＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク(S)タンパク質(受容体結合および標的細胞との融合のための表面タンパク質)のアミノ酸配列 エクトドメイン:aa 1 - 1.213 膜貫通ドメイン:aa 1.214 - 1.234 細胞質ドメイン:aa 1.235 - 1.273
21	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクエクトドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号19の部分配列)
22	配列番号21によってコードされるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクエクトドメイン(配列番号20の部分配列)のアミノ酸配列
23	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイク膜貫通ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号19の部分配列)
24	配列番号23によってコードされるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク膜貫通ドメイン(配列番号20の部分配列)のアミノ酸配列
25	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイク細胞質ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号19の部分配列)
26	配列番号25によってコードされるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク細胞質ドメイン(配列番号20の部分配列)のアミノ酸配列
27	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメイン、SeV F膜貫通ドメイン、SeV細胞質ドメインからなるキメラタンパク質をコードするヌクレオチド配列(バリアント1構築物) ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２エクトドメイン:nt 1 - 3639 SeV F膜貫通+細胞質ドメイン:nt 3.640 - 3.840
28	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメインをコードするヌクレオチド配列、配列番号27の部分配列
29	SeV F膜貫通ドメインとSeV細胞質ドメインのヌクレオチド配列、配列番号27の部分配列
30	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメイン、SeV F膜貫通ドメイン、SeV細胞質ドメインからなるキメラタンパク質をコードするヌクレオチド配列(変異体1構築物)、Wuhan株+D614G変異に基づき、ヒトでの発現のためにコドン最適化された配列
31	配列番号27または30によってコードされる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメイン、SeV F膜貫通ドメインおよびSeV細胞質ドメインからなるキメラタンパク質(変異体1構築物)のアミノ酸配列 ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２エクトドメイン:aa 1 - 1213 SeV F膜貫通+細胞質ドメイン:aa 1214-1279
32	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメインのアミノ酸配列、配列番号31の部分配列、配列番号28によりコードされる。
33	SeV F膜貫通ドメインとSeV細胞質ドメインのアミノ酸配列、配列番号31の部分配列、配列番号29によりコードされる。

34	キメラタンパク質ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２エクトドメイン(融合前安定化変異を含む)+SeV F膜貫通ドメイン+細胞質ドメインをコードする核酸配列を、ヒト細胞での発現のためにコドン最適化した核酸配列
35	配列番号34によってコードされる、ヒト細胞での発現のためのコドン最適化バージョンとしての、前置安定化変異+SeV F膜貫通+細胞質ドメインを含むキメラタンパク質ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ ectoドメインのアミノ酸配列
36	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイク ecto、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン(細胞質ドメインのC末端アミノ酸19残基が欠失)、およびSeV F細胞質ドメインからなるキメラタンパク質をコードするヌクレオチド配列(バリアント２構築物)。例示的構築物SeV85E 1V2には、配列番号36が含まれる。武漢株+D614G変異に基づく ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２エクトドメイン:nt 1 - 3.639 ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２膜貫通ドメイン+細胞質ドメイン(末端19アミノ酸(aa)なし):nt 3.640 - 3.762 SeV F細胞質ドメイン:nt 3.763 - 3.891
37	配列番号36によってコードされる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン(細胞質ドメインの19個のC末端アミノ酸残基が欠失)、ならびにSeV F細胞質ドメインからなるキメラタンパク質のアミノ酸配列(バリアント2構築物)。
38	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号36の部分配列)
39	配列番号38によってコードされるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクトドメインのアミノ酸配列(配列番号37の部分配列)
40	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイク膜貫通ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号36の部分配列)
41	配列番号40によってコードされるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク膜貫通ドメイン(配列番号37の部分配列)のアミノ酸配列
42	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイク細胞質ドメインをコードするヌクレオチド配列(配列番号36の部分配列)
43	配列番号42によってコードされるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク細胞質ドメイン(配列番号37の部分配列)のアミノ酸配列
44	D614G変異を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のWuhan配列に基づき、キメラタンパク質ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２エクト、膜貫通ドメイン、および末端19aaを含まない細胞質ドメイン+SeV F細胞質ドメイン、ヒトでの発現のために上記配列のコドン最適化配列 SeV F細胞質ドメイン:nt 3763 - 3891
45	配列番号44でコードされるアミノ酸配列
46	キメラタンパク質ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２エクト、膜貫通ドメイン、および末端19aaのない細胞質ドメイン+SeV F細胞質ドメイン、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のOmicron変異体に基づき、ヒトでの発現のために上記配列のコドンを最適化した配列 SeV F細胞質ドメイン:nt 3769 - 3897
47	配列番号46でコードされるアミノ酸配列

【０２４８】

本発明を詳細に説明し、図および実施例によって例示するが、これらは説明のためにのみ使用され、限定することを意図するものではない。本明細書および実施例により、同様に本発明に含まれるさらなる態様も当業者には利用可能である。

【図面の簡単な説明】

【０２４９】

【図１】図１：ＲＮＡ Ｐｏｌ ＩＩヘルパーシステムにおける組換えＳｅＶのレスキュー。

【図２】図２：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対するＳｅＶベースの候補のｃＤＮＡ構築物。

【図３】図３：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ１Ｖ１またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ２Ｖ１の

塩基配列をコードする真核発現プラスミドをトランスフェクトしたＶｅｒｏ細胞の免疫蛍光染色から、両変異体の発現が成功したことが明らかになった。
【図４】図４:ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２ワクチンベクターゲノム（ＳｅＶタンパク質ＦおよびＨＮの代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質を表面タンパク質としてコードする）はＶｅｒｏ細胞でレスキューに成功した。
【図５】図５：ＳｅＶ８５Ｅ－２Ｖ１ワクチンベクターゲノム(表面タンパク質としてＳｅＶタンパク質ＦおよびＨＮの代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をコード）はＶｅｒｏ細胞でレスキューに成功した。
【図６】図６：ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２ワクチンベクターゲノム（表面タンパク質としてＳｅＶタンパク質ＦおよびＨＮの代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をコード）は、Ｖ３－１０ヘルパー細胞でレスキューに成功した。
【図７】図７：ＳｅＶ８５Ｅ－２Ｖ１ワクチンベクターゲノム（表面タンパク質としてＳｅＶタンパク質ＦおよびＨＮの代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をコード）は、Ｖ３－１０ヘルパー細胞でレスキューに成功した。
【図８】図８：ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２ワクチン（表面タンパク質としてＳｅＶタンパク質ＦおよびＨＮの代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をコード）は、観察期間中にウイルスが拡散したことを示す経時的な蛍光の増加によって反映されるように、Ｖ３－１０ヘルパー細胞において増殖に成功した。
【図９】図９：ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２ワクチン（表面タンパク質としてＳｅＶタンパク質ＦおよびＨＮの代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をコード）は、Ｖ３－１０ヘルパー細胞で継代２～４まで、規定された感染倍率（ＭＯＩ）で増殖に成功した。
【図１０】図１０：ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２ウイルス粒子（超遠心分離（ＵＣ）により精製）のイムノブロットは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の発現を示し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＳタンパクがＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２ウイルス粒子に直接組み込まれたことを示している。ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２ ｐ１およびＳｅＶ８５Ｅ ｐ１（キメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質をコードしない対照ウイルス）の精製ウイルス粒子を、還元条件（＋β－ＭＥ）または非還元条件（－β－ＭＥ）下でＳＤＳ ＰＡＧＥにより分離した。ウイルスがコードするタンパク質ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＳおよびＥＧＦＰの発現を免疫ブロッティングで解析した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の検出には、２種の抗体を用いた（Sigma、GeneTex）。
【図１１】図１１：ＳｅＶ８８－１Ｖ２で免疫したマウスの鼻洗浄液（Ａ）および肺胞洗浄液（Ｂ）における用量依存的ＩｇＡレベルを示す。
【実施例】
【０２５０】
実施例１
実施例には、第２世代のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンが記載されている。このワクチンは、表面にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗原を有するセンダイウイルスベクターを含む。
【０２５１】
品質および安全性
候補ワクチンには、ＷＯ ２００６／０８４７４６に記載される、センダイウイルス（ＳｅＶ）ベクターの品質および安全性の特徴が含まれる：
●重要な安全性の特徴は、ＳｅＶのウイルスＲＮＡポリメラーゼ複合体のタンパク質を部分的に切断し、完全な複製欠損を達成することである。従って、ワクチン接種を受けた対象における制御不能なベクター伝播は完全に排除できる。ＳｅＶをベースとするワクチンで処置された対象の感染は、完全に阻止する。
●ＳｅＶベクターは、組換え現象に対する遺伝的安定性を特徴としており、ベクターに望ましくない性質（例えば、トランスジェニック）が導入されることはない。
●ＳｅＶベクターが呼吸器内のムチン層に容易に浸透する真正の能力は、扱いやすく使いやすい経鼻／粘膜スプレーワクチンの形態で、経鼻／粘膜投与経路を介して遺伝子導入抗原を送達する理想的な条件を提供する。

【０２５２】
ウイルスレスキューおよび増殖
ＳｅＶベクターの一次生産（いわゆるＳｅＶレスキュープロセス）には、レスキュー細胞の選択に柔軟性を持たせ、すでにワクチン生産で承認されている細胞を使用できるようにするため、細胞内ＲＮＡポリメラーゼＩＩに支持されるシステムが確立された。これにより、手間のかかる試験手順が軽減され、規制当局の負担も軽減される。
【０２５３】
ＷＯ ２００６／０８４７４６は、異なる細胞株におけるＳｅＶレスキューおよびＳｅＶ伝播を記載している。本実施例では、ＳｅＶワクチン候補の製造システムを変更し、同じ細胞をＳｅＶレスキューとその後の増殖に使用できるようにした。これにより、ＳｅＶワクチン候補の製造工程が大幅に簡略化される。
【０２５４】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチン候補
効率的な第２世代抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンを達成するために、本発明者らは以下のことを行った。
（ｉ）ＳｅＶ－ワクチンベクターの表面にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質を組み込んだ。
（ｉｉ）ＳｅＶワクチンベクター表面のＳｅＶタンパク質ＦおよびＨＮの量を減少させた。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＳおよびＳｅＶ ＦおよびＨＮに関して、本明細書ではＡ型、Ｂ型およびＣ型と呼ばれるベクター構築物を以下の表１に記載する。
【０２５５】
【表１】
表１

タイプ	説明	構築物からなるワクチンの候補
タイプ Ａ	――ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ―SeV F―SeV HN――	SeV85E-2V1
タイプ Ｂ	――ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ―SeV F――	
タイプ Ｃ	――ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２型S―― 。	SeV85E-1V1、SeV85E-1V2、SeV88-1V2

表１：ワクチン候補コンストラクトの表面タンパク質コード遺伝子

【０２５６】
ワクチン接種を受けた対象が、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染により、呼吸器系でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫をすでに獲得している場合、対象の免疫系はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対するＳｅＶワクチンベクターを認識し、ＳｅＶワクチンはブースター免疫として作用し得る。ワクチン接種を受けた対象が呼吸器官でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫をまだ獲得していない場合、ワクチンベクターは異なる免疫刺激経路および免疫系との相互作用を介してＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫を誘導する。第一に、ワクチンベクター粒子は表面にスパイクタンパク質を提示するため、それ自体がＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対して免疫原性を示す。このようにワクチンベクターは、例えばナノ粒子ワクチンやウイルス様粒子ワクチン（ＶＬＰ）として機能する。これらの粒子は多くの場合、免疫系の抗原提示細胞、例えば樹状細胞によって認識されるか、マクロファージに取り込まれる。マクロファージはスパイクタンパク質の一部をＴリンパ球に提示し、Ｔリンパ球はその後ヘルパー細胞およびエフェクター細胞に分化できる。第二に、ワクチンベクターは呼吸器などの細胞に感染し、コードされたスパイクタンパク質を細胞内で発現させることができる。その結果、これらの細胞の表面にスパイクタンパク質が発現し、免疫系に感染し

ていると認識され、また、これらの細胞の内部で標準的なタンパク質分解が行われた後、ＭＨＣ－Ｉ分子上にスパイクタンパク質のペプチドが提示され得る。

【０２５７】

新たに生成されたＳｅＶワクチン粒子の検出を容易にするため、すべてのＳｅＶワクチンプロトタイプのゲノムに増強型緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）の遺伝子が挿入された。ｅＧＦＰ遺伝子はインビトロ評価のためだけに存在し、ワクチン候補の免疫効果に何らの機能意味を有さない。ベクターワクチン候補の肯定的評価後、ｅＧＦＰ遺伝子は構築物から除去される。ＧＦＰをコードする配列を含まない本発明のＲＮＡウイルスの例は、ＳｅＶ８８－１Ｖ２である（実施例５）。

【０２５８】

Ａ型：ＳｅＶベクタータンパク質ＦおよびＨＮの発現に加えてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質を発現（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ ＋ ＳｅＶ ＦおよびＨＮ）

Ａ型コンストラクトでは、ＳｅＶのＰ遺伝子（切断型P_{mut}）とＭ遺伝子の間にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳ遺伝子が導入された。

【０２５９】

Ａ型コンストラクトは、パラミクソウイルスのエンベロープ（特に、ＳｅＶのエンベロープ）上に、他のファミリー（コロナウイルス）から得られた組換えウイルスタンパク質（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質）を、タンパク質ＦおよびＨＮと組み合わせて表示するように設計されている。このような組換え遺伝子および／またはタンパク質は、ウイルスの集合を妨害し得、タンパク質が表面上に提示されている場合、Ｆおよび／またはＨＮと相互作用し得るため、吸着および浸透能力に悪影響を及ぼし得る。

【０２６０】

吸着および浸透は、宿主細胞への感染において、複製欠損ウイルスベクターのワクチン製造においても、対象の免疫反応を惹起する上でも、不可欠な工程である。

【０２６１】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳ遺伝子は３ｋｂ以上の長さを有する。組換えＳ遺伝子がＳｅＶベクター中で遺伝的に安定であり、したがってＳｅＶワクチンベクターゲノム中に永続的に存在するかどうかを決定しなければならなかった。ベクターワクチンの製造に関して、この側面は決して些細なこととは考えられない。Ａ型ウイルスベクターでは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２遺伝子／タンパク質は増殖および／または感染には必須ではない。したがって、このような非必須遺伝子が野生型から見て不利な点があれば、ウイルス増殖中に失われたり不活性化されたりして、増殖能が低下する危険性がかなりある。

【０２６２】

Ａ型コンストラクトにおいて、ＳＡＲＳ ＣｏＶ－２Ｓタンパク質は、例えば、残基Ｋ９８６およびＶ９８７における２つの連続したプロリン置換（Ｋ９８６ＰおよびＶ９８７Ｐ）によって、安定化された前結合形態で提供され得る。

【０２６３】

Ｂ型：ＳｅＶ－ベクタータンパク質Ｆの発現に加えてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の発現（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ ＋ ＳｅＶ－Ｆ）

Ｂ型コンストラクトでは、ＳｅＶ ＨＮ遺伝子が欠失されている。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳ遺伝子は、ＳｅＶのＦ遺伝子とＬ遺伝子の間に、つまりＨＮ遺伝子に代わって導入された。

【０２６４】

パラミクソウイルスおよびコロナウイルスという全く異なるウイルスファミリー間で、機能を失うことなく、このような機能的に必須なタンパク質の“ファミリー間”置換を証明した研究は、今のところない。重要なことは、パラミクソウイルスおよびコロナウイルスの表面タンパク質の機能は同等ではないということである。宿主細胞への吸着はＨＮタンパク質によって仲介され、細胞内への侵入（融合）はＦタンパク質によって開始される。対照的に、コロナウイルス、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２では、吸着および侵入は単一の表面タンパク質であるＳタンパク質によって仲介される。本発明者らは、ＦおよびＨＮタン

パク質の一部または全部をＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質に置き換えたＳｅＶウイルスが、標的細胞への吸着および細胞内への侵入が可能な組換えＳｅＶウイルス粒子を形成し、抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンとして適していることを実証した。

【０２６５】

さらに、Ｂ型候補ワクチン（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ ＋ ＳｅＶ－Ｆ）では、ＳｅＶワクチンベクターゲノムにＳｅＶ－ＨＮが存在しなくなったため、ＳｅＶ表面タンパク質の量が減少し、抗ＳｅＶベクター免疫の低下につながった。

【０２６６】

侵入メカニズムはパラミクソウイルス（宿主細胞膜との融合）およびコロナウイルス(ほとんどがエンドサイトーシス）で異なる。コロナウイルスの膜融合による侵入が報告されているが、エンドサイトーシスよりも効率が悪いようである（Jackson、C.B., Farzan、M., Chen, B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. Nat Rev Mol Cell Biol 23, 3－20 (2022). https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x)。この点で、上記のような“ファミリー内”置換は、浸透メカニズム、ひいては複製効果に悪影響を及ぼし得る。

【０２６７】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の吸着は、宿主（標的）細胞のＡＣＥ－２受容体にウイルスが“前結合形態”でドッキングすることから始まる。前結合形態では、受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）は、その天然の折り畳み特性により、Ｓタンパク質の内部に位置している。しかしながら、ヒンジのような動きによって、ＲＢＤドメインはＳタンパク質の表面に繰り返し移動し、それによって標的細胞のＡＣＥ－２受容体と結合できる。ＡＣＥ－２受容体に結合すると、Ｓタンパク質のコンフォメーションが安定でない前結合コンフォメーションから安定性の高い結合後コンフォメーションへと変化し、その後の膜融合が促進／安定化される。しかしながら、ＡＣＥ－２タンパク質はＳタンパク質の受容体としてだけでなく、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質のＳ１ドメインとＳ２ドメインの間を切断する細胞外ペプチダーゼとしても働く。Ｓ１はそれによって切断され、Ｓ２は宿主細胞膜と融合する。Ｓ１サブユニットにはＲＢＤが含まれ、標的細胞（宿主細胞）の受容体に結合する。Ｓ２サブユニットは受容体結合後、ウイルスエンベロープと細胞膜／エンドソーム膜との融合を仲介する。ＲＢＤの無作為な構造変化はＡＣＥ－２受容体の影響を受ける。ＡＣＥ－２受容体はＲＢＤと結合し、融合後の形態を融合前の形態よりも安定化させる。

【０２６８】

多くのウイルス融合糖タンパク質では、配列修飾による前結合安定化は、本明細書に記載されるように、切断部位でのアミノ酸の特異的交換によって誘導することができ、一般に、よりコンフォメーション的に安定な結合後構造を保護できる。従って、前結合安定化により、通常、多数のウイルス融合糖タンパク質の組換え発現における収率が顕著に増加する。さらに、前結合で安定化されたウイルス糖タンパク質は、抗体による中和が結合後コンフォメーションよりも前結合のコンフォメーションに対応するため、通常、安定化されていない野生型の対応物よりも優れた／強い免疫原となる。

【０２６９】

Ｂ型コンストラクトでは、ＳＡＲＳ ＣｏＶ－２Ｓタンパク質は、例えば、残基Ｋ９８６およびＶ９８７における２つの連続したプロリン置換（Ｋ９８６ＰおよびＶ９８７Ｐ）によって、安定化された前結合形態で提供され得る。

【０２７０】

Ｂ型候補ワクチン（前結合で安定化したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質をＳｅＶベクタータンパク質Ｆと共に発現させ、ＳｅＶ ＨＮは発現させない（＝ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ＋ＳｅＶ Ｆ））は、前結合コンフォメーションで安定化させることにより、より効率的なベクター生産とＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質に対する免疫原性の向上を目指して設計されている。同時に、ＳｅＶベクタータンパク質ＨＮを除くことで、ＳｅＶワクチン粒子中のＳｅＶベクタータンパク質の割合を減少させ、抗ベクターワクチン免疫原性を著しく低下させることで、より効率的な再接種を可能にする（例えば、ブースター・

ワクチン接種）。
【０２７１】
Ｂ型ＳｅＶコンストラクトでは、ＳｅＶ ＨＮタンパク質の代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓタンパク質が受容体結合を行う。Ｓタンパク質はＳｅＶワクチンベクターの必須成分である。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳ遺伝子は、ＳｅＶワクチンベクターの必須遺伝子であり、その欠損または損傷は、組換えＳｅＶワクチンウイルスのトランスコンプリメント細胞における複製能力を完全に無効にする。
【０２７２】
Ｂ型ＳｅＶ構築物では、ＳｅＶのＨＮタンパク質の代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質が受容体結合を行う。Ｓタンパク質はＳｅＶワクチンベクターの必須成分である。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳ遺伝子はＳｅＶワクチンベクターの必須遺伝子であり、その欠損または損傷は、組換えＳｅＶワクチンウイルスのトランスコンプリメント細胞内での複製能を完全に無効にし得る。
【０２７３】
Ｂ型コンストラクトでは、ＨＮコーディング配列が存在しなくてもよい。Ｂ型コンストラクトでは、標的細胞のＡＣＥ－２受容体へのＳｅＶベクター粒子の吸着は、融合前に安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質によって仲介され得る。Ｂ型コンストラクトでは、ＳｅＶ Ｆタンパク質がウイルスエンベロープと細胞膜またはエンドソーム膜との融合を仲介し得る。しかしながら、融合前安定化Ｓタンパク質とＳｅＶ Ｆタンパク質が機能的に相互作用して、融合前安定化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質を含むＢ型コンストラクトが宿主細胞に吸着し融合できるかどうかは、本発明者らには不明であった。
【０２７４】
Ｃ型：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質のみの発現（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ“のみ”）；ＳｅＶベクタータンパク質ＦおよびＨＮの発現はなし
Ｃ型コンストラクトでは、ＳｅＶ ＨＮ遺伝子およびＦ遺伝子が欠失された。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳ遺伝子はＳｅＶのＭ遺伝子とＬ遺伝子の間に、すなわちＦ遺伝子およびＨＮ遺伝子の代わりに導入された。
【０２７５】
このアプローチ（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓ“のみ”）は、ＳｅＶベクターの表面タンパク質がすべて除去され、抗ベクター免疫の抗原として機能しないため、アプローチＡ、Ｂ、Ｃの中で最も興味深いと思われた。
【０２７６】
複製不全のため、ワクチンベクターは対象内で増殖しない。重要なことは、Ｃ型ワクチンベクターは表面にベクタータンパク質を提示しないため、対象がワクチンベクターに対して獲得した免疫（例えば、アデノウイルスベクターの場合）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫獲得の妨げにならないということである。
【０２７７】
Ｃ型ワクチンベクターでは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質は標的細胞への吸着および侵入を担っている。Ｓタンパク質の機能は、ワクチンベクターの複製／増殖に必要である。すなわち、ワクチンベクターはＳ遺伝子が無傷でなければ複製できず、増殖中に無傷のＳ遺伝子が選択される。
【０２７８】
ＳｅＶ遺伝子ＦおよびＨＮの欠失により、Ｃ型のキメラＳｅＶベクターはＳｅＶ野生型ウイルスとほぼ同じ長さのゲノム長を有する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２タンパク質の吸着能および侵入能力は、ＳｅＶ ＦおよびＨＮタンパク質と同等であり、ＳｅＶ野生型と同様の効率で複製される。
【０２７９】
好ましくは、タイプＣの構築物には前結合安定化配列は存在しない。Ｃ型構築物では、ＳＡＲＳ ＣｏＶ－２Ｓタンパク質は、前結合形態と結合後形態との間でコンフォメーション変化可能で、宿主細胞のＡＣＥ－２受容体プロテアーゼによって切断可能な形態で提

供され得る。

【０２８０】

実施例２

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質の変異体：Ｓタンパク質のエクトドメインとＳｅＶＦおよび／またはＨＮの細胞質ドメインおよび／または膜貫通ドメインを組み合わせたキメラ構築物

表面タンパク質の組み合わせ（すなわち、ウイルス粒子上の表面タンパク質分子の配置、距離、数）に関する考察と並行して、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質がＳｅＶベクターのエンベロープに組み込まれているかどうか、またどのような配列で組み込まれているかを調査しなければならなかった。ＳｅＶのマトリックスタンパク質（Ｍ）に加えて、ＳｅＶの表面タンパク質が宿主細胞の細胞質膜への濃縮に関与しているとすれば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質がワクチンベクターのエンベロープに組み込まれることは、出芽プロセスに悪影響を及ぼし得る。

【０２８１】

ＳｅＶベクター表面タンパク質ＦおよびＨＮの一部が、例えばウイルスの組み立てにおいて、ＳｅＶベクタータンパク質Ｍ（マトリックスタンパク質）との相互作用に必要であるかどうかを試験する必要がある。ワクチン候補の３つの異なるデザインタイプ（Ａ－Ｃ）はそれぞれ、（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質由来のエクトドメインecto、（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはＳｅＶ由来の膜貫通ドメインtm、および／または（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはＳｅＶ由来の細胞質ドメインctを含む３つの異なるＳタンパク質を用いてデザインされた（表２）。この結果、Ａ型－Ｃ型コンストラクト毎に以下の３つのバリエーションが得られる：

【０２８２】

【表２】

表２

バリアント	ドメイン	説明	構築物からなるワクチンの候補
バリアントV1	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２エクト、SeV tm、SeV ct	SeV/ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２キメラタンパク質	SeV85E-2V1、SeV85E-1V1
バリアントV2	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ ecto、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ tmおよびSeV ct	SeV/ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２キメラタンパク質	SeV85E-1V2
バリアントV3	ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ ecto、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ tm、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ct		

表２：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の変異体

【０２８３】

コンストラクトＳｅＶ８５Ｅ １Ｖ２の例としては配列番号３６が挙げられる。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクエクト、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン（１９個のＣ末端アミノ酸残基が欠失）、ならびにＳｅＶ Ｆ細胞質ドメインを含むキメラポリペプチドは、配列番号３６によってコードされ、配列番号３７のアミノ酸配列を有する。

【０２８４】

合計９種のＳｅＶワクチンコンストラクトが設計された（図２）。

【０２８５】

実施例３

多数の可能性のある組み合わせから、ＳｅＶワクチンコンストラクトの意味のある有望な選択（優先順位付け）をしなければならなかった。ＳｅＶ８５Ｅ－２Ｖ１（Ａ型）、ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ１（Ｃ型）、ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２（Ｃ型）を、表３に概略を示した６工程で評価した：

【０２８６】

【表３】

表３

工程	
１	細胞培養における、プラスミドベースの、優先順位付けされたＳｅＶワクチン候補のキメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の発現(キメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の構造的に正しい発現の検証のための対照実験)
２	レスキュー、すなわちGMP適格Ｖｅｒｏ細胞およびＶ３－１０ヘルパー細胞でのＳｅＶワクチン候補の初期生産
３	その後のインビボ試験（動物モデル、臨床治験）に十分な量のウイルスを供給するために、少なくともＳｅＶ Ｐタンパク質をトランスでコードする核酸分子をトランスフェクトしたヘルパー細胞中でＳｅＶワクチン候補を増殖させる。
４	ＳｅＶワクチン候補ウイルス粒子におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の組み込みの証拠
５	細胞培養におけるＳｅＶワクチン候補によるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の発現の安定性
６	ＳｅＶワクチン候補をマウス実験動物に感染させた後の免疫学的反応の特性化

表３：ＳｅＶワクチンコンストラクトの評価

【０２８７】

工程１

プラスミドを用いた、優先順位付けされたＳｅＶワクチン候補のキメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の細胞培養での発現（キメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の構造的に正しい発現の検証のための対照実験）

ＳｅＶワクチン候補であるＳｅＶ８５Ｅ－２Ｖ１、ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ１およびＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２のキメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質のプラスミドを用いた細胞培養での発現により、キメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の正しい構造の発現が確認された。

【０２８８】

Ｖｅｒｏ細胞に、真核生物発現プラスミドｐｃＤＮＡ３．１ ＣｏＶ－２ Ｓ２Ｖ１（Ａ型）、ｐｃＤＮＡ３．１ ＣｏＶ－２ Ｓ１Ｖ１（Ｃ型）、ｐｃＤＮＡ３．１ ＣｏＶ－２ Ｓ１Ｖ２（Ｃ型）であって、それぞれＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ２Ｖ１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ１Ｖ１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ１Ｖ２のコーディング配列を有するプラスミドをトランスフェクトしたか、あるいはトランスフェクトしなかった（ＭＯＣＫ＝陰性対照）。トランスフェクションの４８時間後、細胞をＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１／２Ｓタンパク質に対する一次抗体で染色した。二次抗体にはヤギ抗マウスＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ５４６を用いた。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ２Ｖ１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ１Ｖ１、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ Ｓ１Ｖ２のいずれかのコード化キメラ配列の構造的完全性を赤いシグナルで示す（図３、中および右パネル）。

【０２８９】

工程２

レスキュー、すなわちＧＭＰ適格Ｖｅｒｏ細胞およびＶ３－１０ヘルパー細胞でのＳｅＶワクチン候補の初期生産
　レスキュー、すなわち組換えウイルス粒子の初期産生は、ＧＭＰ適合Ｖｅｒｏ細胞を用いたＳｅＶワクチン候補ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２（Ｃ型）およびＳｅＶワクチン候補ＳｅＶ８５Ｅ－２Ｖ１（Ａ型）の両方で成功した（図４および５）。
【０２９０】
　さらに、ヘルパー細胞株Ｖ３－１０では、ＳｅＶワクチン候補であるＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２（Ｃ型）およびＳｅＶ８５Ｅ－２Ｖ１（Ａ型）でレスキューが達成された（図６および７）。
【０２９１】
　Ｖ３－１０細胞は、少なくともＳｅＶタンパク質ＮとＰをコードするプラスミドを安定的にトランスフェクトしたＶｅｒｏベースのヘルパー細胞である。このヘルパー細胞株は、複製欠損ＳｅＶベクター（ここではP_{mut}）のレスキューおよび増殖に使用できる。P_{mut}はＰタンパク質のＮ末端切断型である。
【０２９２】
工程３
その後のインビボ試験（動物モデル、臨床治験）に十分な量のウイルスを供給するために、少なくともＳｅＶ　Ｐタンパク質をトランスでコードする核酸分子をトランスフェクトしたヘルパー細胞中でＳｅＶワクチン候補を増殖させる。
　Ｖ３－１０ヘルパー細胞での増殖は、ＳｅＶワクチン候補ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２（Ｃ型）で成功した。このＣ型プロトタイプを使えば、動物実験に必要な力価をすでに達成できる（図８および９）。
【０２９３】
工程４
ＳｅＶワクチン候補ウイルス粒子におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の組み込みの証拠
　ＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２（Ｃ型）ウイルス粒子（超遠心分離で精製）のイムノブロットは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の発現を示し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＳタンパクがＳｅＶ８５Ｅ－１Ｖ２（Ｃ型）ウイルス粒子に直接取り込まれていることを示した（図１０）。
【０２９４】
工程５
細胞培養におけるＳｅＶワクチン候補によるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質の発現の安定性。
　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質発現の安定性は、様々なウイルス継代から集めた上清および全細胞溶解液の免疫ブロット分析によって証明された。
【０２９５】
工程６
ＳｅＶワクチン候補をマウス実験動物に感染させた後の免疫学的反応の特性化
　ＳｅＶベクター構築物をワクチン接種したマウスの体液性および細胞性免疫応答を測定した。
【０２９６】
結論
　本実施例は、組換えＳｅＶ候補ワクチンが、キメラＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２Ｓタンパク質を表面に提示し、同時にＳｅＶ表面抗原の発現が大幅に減少していることを示している。ＳｅＶワクチン候補は、ＧＭＰ適合のＶｅｒｏ細胞からレスキューできた。ＳｅＶ候補ワクチンは、少なくともＳｅＶ　Ｐタンパク質をトランスでコードする核酸分子をトランスフェクトしたＶｅｒｏ細胞由来のヘルパー細胞（例えば、細胞株Ｖ３－１０）で増殖させることができる。Ｖｅｒｏ細胞由来のヘルパー細胞での細胞培養は、インビボ試験（動物モデルおよび臨床試験）に十分な量のウイルスを供給できる。

【０２９７】
実施例４
複製能を有するＳｅＶの減弱化
ここで本発明者らは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ワクチンの２つのウイルスベクター構築物間の減弱の違いを確認した。この２つのウイルスベクター構築物は、いずれもＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２表面タンパク質Ｓに対して、センダイ表面タンパク質ＦおよびＨＮの両方を完全に交換するという減弱突然変異を含んでいる。一方のワクチン候補（１）は複製能力があり、依然として未修飾のセンダイＰ遺伝子を含んでいるが、もう一方のワクチン候補（２）は、Ｐタンパク質内のアミノ酸２～７７の追加減弱欠失を含んでおり、複製不全となっている。未修飾の組換えセンダイウイルスベクターと比較すると、減弱変異の追加により、複製効力の大幅な低下が観察される。以下のウイルス力価は、Ｖｅｒｏ細胞（複製能を有するＳｅＶ）およびＶ３－１０ヘルパー細胞（複製欠損ＳｅＶ）を用いた細胞培養条件下でのウイルス複製研究から得られた。
【０２９８】

	表面タンパク質としてセンダイＦおよびＨＮを有する、未修飾の複製能を有するSeV	(1) ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質を唯一の表面タンパク質として有する複製能を有するSeV	(2) ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質を唯一の表面タンパク質として有する複製欠損SeV
細胞感染単位/mL（ciu/mL）	5x 10e8	2x 10e6	2x 10e4
減弱係数	100%	0.4%	0.004%

【０２９９】
結論として、表面タンパク質ＦおよびＨＮがＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２表面タンパク質Ｓで置換された複製能を有するＳｅＶ（１）は、未修飾の複製能を有するＳｅＶから見て弱毒化されており、このような組換えウイルスはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する免疫原性薬剤またはワクチンとして適している。
【０３００】
さらに、このような改変型複製能を有するＳｅＶ（１）は、複製欠損型ＳｅＶ（２）と比較して、生産効率が向上している。
【０３０１】
実施例５
ＳｅＶ８８－１Ｖ２の免疫原性効果
ＢＡＬ検体は下気道の粘膜組織検体、ＮＷ検体は上気道の粘膜組織検体である。どちらのサンプルも、マクロファージ、リンパ球、好中球、あるいは組織の周囲の細胞や免疫細胞から放出される抗体など、免疫系の構成成分を含むため、これらの組織の免疫学的状態を説明するのに役立つ。病原体に対する特異的抗体は、ウイルスなどの侵入病原体に結合し中和することで、防御免疫反応に寄与する。
【０３０２】
方法
雌のＢＡＬＢ／ｃマウス(４週齢)を５匹１組とし、３週間毎に２～３回、ワクチンの投与量を増やしながら経鼻的（ＩＮ）に免疫した。気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）および鼻洗浄液（ＮＷ）を採取するために、マウスを最後の免疫の２週間後に麻酔下で頸椎脱臼により　殺した。
【０３０３】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質に対するＩｇＡ抗体は、マイクロタイター形

式の酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）で測定した。連続２倍希釈液を調製し、抗原プレコートマイクロタイタープレートでインキュベートした。その後、西洋ワサビペルオキシダーゼ標識抗マウスＩｇＡを添加した。１時間後、基質３，３’，５，５’テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）を加え、３０分後にNaH_2SO_4で反応を停止させた。その後、比色変換を分光光度計で４５０ｎｍで測定した。力価は平均値の逆数で表される。

【０３０４】

鼻洗浄

	投与量	SeV88-1V2	平均	SD
G1	1x 10e4 ciu*	低用量3回	27	18
G2	1x 10e5	中用量2回	34	28
G3	1x 10e5	中用量3回	41	27
G4	1x 10e6	高用量2回	50	30
G5	1x 10e6	高用量3回	64	22
G6	PBS	陰性対照	0	0

気管支肺胞洗浄(バル)

	投与量	SeV88-1V2	平均	SD
G1	1x 10e4 ciu*	低用量3回	10	6
G2	1x 10e5	中用量2回	21	17
G3	1x 10e5	中用量3回	41	30
G4	1x 10e6	高用量2回	304	215
G5	PBS	陰性対照	0	0

*細胞感染性ユニット

【０３０５】

結果

ＩＮ免疫マウスにおける特異的ＩｇＡの検索から、この免疫がＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する特異的粘膜免疫反応を刺激できることが示された。ＳｅＶ８８－１Ｖ２は用量依存的に特異的ＩｇＡ抗体を誘導した。特異的ＩｇＡ濃度に基づくと、ＩｇＡ濃度はＮＷよりＢＡＬの方が高かった。特に、Ｇ４群およびＧ５群は、ＳｅＶ８８－１Ｖ２の低用量または少ない用量で免疫した群と比較して、最も高い力価を示した（図１１）。

【０３０６】

また、本発明には以下の項も含まれる：

１．組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスであって、そのゲノム中に、

（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、前記改変はマイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および

（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列

を含む、組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。

２．パラミクソウイルス、アートウイルス（Artovirus）、ボルナウイルス、フィロウイルス、リスピウイルス、マイモナウイルス、ニャミウイルス、ニューモウイルス、ラブドウイルス、サンウイルス、またはシンモウイルスである、項１に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。

３．センダイウイルスである、項１または２に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡ

ウイルス。
４．ヌクレオチド配列（ａ）の改変が、Ｐポリペプチドの Ｎ末端をコードするヌクレオチド配列に位置する、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
５．前記ヌクレオチド配列（ａ）における改変が、Ｐポリペプチドの Ｎ末端をコードするヌクレオチド配列における欠失である、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
６．前記ヌクレオチド配列（ａ）における改変が、
（ｉ）野生型と比較して、Ｐポリペプチドのアミノ酸２～７７をコードするヌクレオチド配列の欠失、または
（ｉｉ）ＲＮＡウイルスの複製不全を引き起こす（ｉ）の部分配列
である、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７．転写能を有する、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８．前記ゲノムが、
（ｃ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＮポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、
（ｄ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＭポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｅ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＬポリペプチドをコードするヌクレオチド配列
をさらに含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９．前記異種ポリペプチドが異種抗原を含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０．前記異種ポリペプチドがウイルス抗原を含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１１．前記ウイルス抗原および前記マイナス鎖ＲＮＡウイルスが、異なるファミリーのウイルスから選択される、項１０に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１２．前記異種ポリペプチドが、マイナス鎖ＲＮＡウイルスではないウイルス由来の抗原を含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１３．前記異種ポリペプチドが、コロナウイルスなどのプラス鎖ウイルス由来の抗原を含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損負鎖ＲＮＡウイルス。
１４．マイナス鎖ＲＮＡウイルスがセンダイウイルスなどのパラミクソウイルスであり、異種ポリペプチドがコロナウイルス由来の抗原を含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１５．前記異種ポリペプチドが、コロナウイルスのスパイクタンパク質（Ｓタンパク質）またはその免疫原性フラグメントを含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１６．コロナウイルスがＳＡＲＳ ＣｏＶ ２である、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１７．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、２つのコーディング配列間のＲＮＡ分子において、５’末端コーディング配列の上流および／または３’末端コーディング配列の下流の位置に配置される、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１８．前記ゲノムが、
（ｆ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＦポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｇ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＨＮポリペプチドをコードするヌクレオチド配列
をさらに含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１９．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、少なくとも１つの内因性ウイルスポリペプチドの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように、少なくとも１つのウイルスポリペプチドをコードする少なくとも１つの天然（内因性）配列に挿

入されるか、または少なくとも部分的に置換される、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２０．少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（ｂ）が、ウイルスの複製および／または増殖に必須である、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【０３０７】
２１．配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドが機能的に発現される（生物学的に活性な形態で発現される）、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２２．Ｆポリペプチドをコードする内因性配列および／またはＨＮポリペプチドをコードする内因性配列が、それらの機能または活性が少なくとも部分的にまたは完全に破壊されるように改変され、そしてヌクレオチド配列（ｂ）が、Ｆ遺伝子座および／またはＨＮ遺伝子座に挿入される、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２３．ＨＮポリペプチドをコードする内因性配列が、その機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、そしてヌクレオチド配列（ｂ）が、ＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入される、項２２に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２４．Ｆポリペプチドをコードする内因性配列が、その機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、そしてヌクレオチド配列（ｂ）が、Ｆ遺伝子の遺伝子座に挿入される、項２２に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２５．Ｆポリペプチドをコードする内因性配列およびＨＮポリペプチドをコードする内因性配列が、それらの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、そしてヌクレオチド配列（ｂ）が、Ｆ遺伝子座およびＨＮ遺伝子座に挿入される、項２２に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２６．ウイルスの表面上に提示されたとき、宿主細胞に吸着し、宿主細胞に侵入できる、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２７．前記異種ポリペプチドが、ウイルス表面上に提示された場合に、宿主細胞への吸着および宿主細胞への侵入を仲介する、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２８．宿主細胞が真核細胞である、項２７に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
２９．真核細胞に感染可能な、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３０．真核細胞からレスキュー可能な、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３１．真核細胞中で増殖可能な、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスであって、前記細胞は、複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて欠損した配列でトランス相補され、特にＰポリペプチドをコードする配列でトランス相補される、組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３２．（ｉ）Ｐポリペプチド、および／または
（ｉｉ）ＮおよびＬポリペプチド
をコードする配列でトランス相補された真核細胞中で増殖可能である、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３３．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドが、スパイクポリペプチドのフラグメントを含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３４．前記ヌクレオチド配列（ｂ）が、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、

（ｉｉ）ＳｅＶ ＦもしくはＨＮポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ ＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードする、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３５．前記ヌクレオチド配列（ｂ）が、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ ＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードする、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３６．前記ヌクレオチド配列（ｂ）が、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードする、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３７．抗ベクター抗原性が低下している、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３８．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインが、宿主細胞のＡＣＥ－２受容体に結合可能な受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を含むＳ１サブユニットを含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
３９．Ｓ１サブユニットが宿主細胞のＡＣＥ－２プロテアーゼによって切断され得る、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
４０．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメインが、ＳｅＶエンベロープを宿主細胞膜またはエンドソーム膜と融合させることができるＳ２サブユニットを含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【０３０８】
４１．エクトドメインの配列が、前結合形態においてエクトドメインを安定化させることができる少なくとも１つの配列改変を含む、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
４２．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる少なくとも１つの異種ポリペプチドに対する粘膜免疫応答を誘導できる、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
４３．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされるポリペプチド抗原を有する病原体に対する防御免疫応答を誘導できる、前記項のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
４４．組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子であって、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含み、前記ヌクレオキャプシドがそのゲノム中に以下を含む、組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子：
（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は、野生型と比較して改変されており、前記改変は、マイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および

（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列。
４５．前記少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントがセンダイウイルス粒子の表面上に提示されることを含む、項４４に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子。
４６．組換え複製欠損センダイウイルスであって、そのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されており、前記改変はマイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換え複製欠損センダイウイルス。
４７．項４６に記載の組換え複製欠損センダイウイルス（ＳｅＶ）であって、ここで、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、そして前記エンベロープが、センダイウイルス粒子の表面上に提示されるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントを含み、組換え複製欠損センダイウイルス（ＳｅＶ）。
４８．組換え複製欠損センダイウイルス粒子であって、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含み、前記ヌクレオキャプシドはそのゲノム中に、
（ａ）ＳｅＶ Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は、野生型と比較して改変されており、前記改変は、マイナス鎖ＲＮＡウイルスの複製欠損をもたらす、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、少なくとも１つの異種ポリペプチドはセンダイウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換え複製欠損センダイウイルス粒子。
４９．項４８に記載の組換え複製欠損センダイウイルス（ＳｅＶ）粒子であって、ここで、少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、そして前記エンベロープが、センダイウイルス粒子の表面上に提示されるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントを含む、組換え複製欠損センダイウイルス（ＳｅＶ）粒子。
５０．項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスおよび／または項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子を含む、医薬組成物。
５１．項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスおよび／または項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子を含む、ワクチン。
５２．項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスおよび／または項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子を含む、免疫原性組成物。
５３．医薬用途のための、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、項５０に記載の医薬組成物、項５１に記載のワクチン、または項５２に記載の免疫原性組成物。
５４．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の予防方法において使用するための、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、項４４～４９のいずれか

一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、項５０に記載の医薬組成物、項５１に記載のワクチン、または項５２に記載の免疫原性組成物。
５５．ＣＯＶＩＤ １９の予防方法において使用するための、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、項５０に記載の医薬組成物、項５１に記載のワクチン、または項５２に記載の免疫原性組成物。
５６．ワクチンとして使用するための、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、項５０に記載の医薬組成物、項５１に記載のワクチン、または項５２に記載の免疫原性組成物。
５７．項５３～５６のいずれか一項に記載の使用のために、鼻腔内経路および／または粘膜経路に投与される、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、項５０に記載の医薬組成物、項５１に記載のワクチン、または項５２に記載の免疫原性組成物。
５８．組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードするＲＮＡ分子であって、前記ＲＮＡ分子が、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、前記ヌクレオチド配列は野生型と比較して改変されている、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列
を含む、ＲＮＡ分子。
５９．（ｃ）Ｎポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、
（ｄ）Ｍポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｅ）Ｌポリペプチドをコードするヌクレオチド配列
をさらに含む、項５８に記載のＲＮＡ分子。
６０．項５８または５９に記載のＲＮＡ分子を含む、ヌクレオキャプシド。
６１．項５８または５９に記載のＲＮＡ分子をコードするＤＮＡ分子。
【０３０９】
６２．項１～４３のいずれか一項に記載の複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、項５８または５９に記載のＲＮＡ分子、項６０に記載のヌクレオキャプシド、および／または項６１に記載のＤＮＡ分子を含む、宿主細胞。
６３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２および／またはＣＯＶＩＤ １９の感染を予防するための方法であって、それを必要とする対象に、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子、項５０に記載の医薬組成物、項５１に記載のワクチン、または項５２に記載の免疫原性組成物を投与することを含む、方法。
６４．項５０に記載の医薬組成物、項５１に記載のワクチン、または項５２に記載の免疫原性組成物の製造方法であって、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、または項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子を、少なくとも１つの薬学的に許容可能な賦形剤とともに製剤する工程を包含する、製造方法。
６５．項１～４５のいずれか一項に記載の組換えマイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子の産生方法であって、以下の工程：
（ａ）項６１に記載のＤＮＡ分子で真核宿主細胞をトランスフェクトする工程、前記宿主細胞はＳｅＶポリペプチドＮ、ＰおよびＬを発現できる、
（ｂ）前記ＤＮＡ分子が転写され、ウイルス粒子が形成されるような条件下で宿主細胞を培養する工程、および
（ｃ）（ｂ）のウイルス粒子を分離する工程

を包含する、方法。
６６．項１～４５のいずれか一項に記載の組換えマイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子の産生方法であって、以下の工程：
（ａ）野生型マイナス鎖ＲＮＡウイルスで真核宿主細胞を感染させ、組換え複製欠損ＲＮＡウイルスをコードする項６１に記載のＤＮＡ分子で該真核宿主細胞をトランスフェクトする工程、
（ｂ）前記ＤＮＡ分子が転写され、ウイルス粒子が形成されるような条件下で宿主細胞を培養する工程、および
（ｃ）（ｂ）のウイルス粒子を分離する工程
を包含する、方法。
６７．野生型マイナス鎖ＲＮＡウイルスおよび組換え複製欠損ＲＮＡウイルスが、同じ種に由来する、項６６に記載の方法。
６８．項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス、および／または請求項４４～４９のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子の産生のための、項６２に記載の宿主細胞の使用。
６９．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２および／またはＣＯＶＩＤ １９の感染を予防するための医薬の製造のための、項１～４３のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルスの使用。
７０．組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルスであって、そのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含み、ここで、前記異種ポリペプチドはウイルス抗原を含み、ウイルス抗原とマイナス鎖ＲＮＡウイルスは異なるファミリーのウイルスから選択される
組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７１．弱毒化されている、項６８に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７２．パラミクソウイルス、アートウイルス（Ａｒｔｏｖｉｒｕｓ）、ボルナウイルス、フィロウイルス、リスピウイルス、マイモナウイルス、ニャミウイルス、ニューモウイルス、ラブドウイルス、サンウイルス、またはシンモウイルスである、項７０～７１のいずれか一項に記載の組換え複製欠損型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７３．センダイウイルスである、項７０～７２のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７４．ゲノムが以下をさらに含む、項７０～７３のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス：
（ｃ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＮポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、
（ｄ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＭポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｅ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＬポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。
７５．異種ポリペプチドが異種抗原を含む、項７０～７４のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７６．異種ポリペプチドがウイルス抗原を含む、項７０～７５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７７．前記ウイルス抗原および前記マイナス鎖ＲＮＡウイルスが、異なるファミリーのウイルスから選択される、項７６に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
７８．異種ポリペプチドが、マイナス鎖ＲＮＡウイルスではないウイルス由来の抗原を含む、項７０～７７のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。

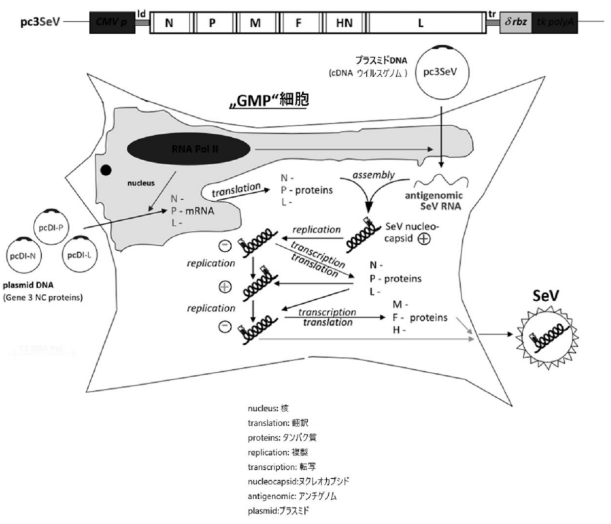
７９．異種ポリペプチドが、コロナウイルスなどの正鎖ウイルス由来の抗原を含む、項７０～７８のいずれか一項に記載の組換え複製能を有する負鎖ＲＮＡウイルス。
８０．マイナス鎖ＲＮＡウイルスがセンダイウイルスなどのパラミクソウイルスであり、そして異種ポリペプチドがコロナウイルス由来の抗原を含む、項７０～７９のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【０３１０】
８１．異種ポリペプチドが、コロナウイルスのスパイクタンパク質（Ｓタンパク質）またはその免疫原性フラグメントを含む、項７０～８０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８２．コロナウイルスがＳＡＲＳ ＣｏＶ ２である、項７０～８１のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８３．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、ＲＮＡ分子において、２つのコーディング配列の間、５’末端コーディング配列の上流の位置および／または３’末端コーディング配列の下流の位置に位置する、項７０～８２のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス
８４．ゲノムが、
（ｆ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスＦポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｇ）マイナス鎖ＲＮＡウイルスHNポリペプチドをコードするヌクレオチド配列
をさらに含む、項７０～８３のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８５．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、少なくとも１つの内因性ウイルスポリペプチドの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように、少なくとも１つのウイルスポリペプチドをコードする少なくとも１つの天然（内因性）配列中に挿入されるか、または少なくとも部分的に置換される、項７０～８４のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８６．少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（ｂ）が、ウイルスの複製および／または増殖に必須である、項７０～８５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８７．配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドが機能的に発現される（生物学的に活性な形態で発現される）、項７０～８６のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８８．Ｆポリペプチドをコードする内因性配列および／またはＨＮポリペプチドをコードする内因性配列が、それらの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、そしてヌクレオチド配列（ｂ）が、Ｆ遺伝子座および／またはＨＮ遺伝子座に挿入される、項７０～８７のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
８９．ＨＮポリペプチドをコードする内因性配列が、その機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、そしてヌクレオチド配列（ｂ）が、ＨＮ遺伝子の遺伝子座に挿入される、項８８に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９０．Ｆポリペプチドをコードする内因性配列が、その機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、そして該ヌクレオチド配列がＦ遺伝子の遺伝子座に挿入される、項８８に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９１．Ｆポリペプチドをコードする内因性配列およびＨＮポリペプチドをコードする内因性配列が、それらの機能または活性が少なくとも部分的または完全に破壊されるように改変され、そして該ヌクレオチド配列が、Ｆ遺伝子座およびＨＮ遺伝子座に挿入される、項８８に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９２．ウイルス表面上に提示された場合に、宿主細胞に吸着し、宿主細胞に侵入できる、項７０～９１のいずれか一項に記載の組換え複製能を有する負鎖ＲＮＡウイルス。
９３．異種ポリペプチドが、ウイルスの表面上に表示された場合に、宿主細胞への吸着お

よび宿主細胞への侵入を媒介する、項７０～９２のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９４．宿主細胞が真核細胞である、項９３に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９５．真核細胞に感染可能な、項７０～９４のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９６．　　真核細胞からレスキュー可能な、項７０～９５のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９７．真核細胞中で増殖可能な、項７０～９６のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスであって、前記細胞は、複製能を有する型マイナス鎖ＲＮＡウイルスにおいて欠損する配列でトランスに相補され、特に、Ｐポリペプチドをコードする配列でトランスに相補される、組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９８．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる異種ポリペプチドが、スパイクポリペプチドのフラグメントを含む、項７０～９７のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
９９．ヌクレオチド配列（ｂ）が、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳｅＶ　ＦもしくはＨＮポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ　ＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードする、項７０～９８のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１００．ヌクレオチド配列（ｂ）が、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳｅＶ　ＦもしくはＨＮポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメント
をコードする、項７０～９９のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
【０３１１】
１０１．ヌクレオチド配列（ｂ）が、
（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドのエクトドメイン、またはそのフラグメント、
（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの膜貫通ドメイン、またはそのフラグメント、および
（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドの細胞質ドメイン、またはそのフラグメン
をコードする、項７０～１００のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０２．減少した抗ベクター抗原性を有する、項７０～１０１のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクポリペプチドのエクトドメインが、宿主細胞のＡＣＥ－２受容体に結合可能な受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を含むＳ１サブユニットを含む、項７０～１０２のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０４．Ｓ１サブユニットが、宿主細胞のＡＣＥ－２プロテアーゼによって切断され得る

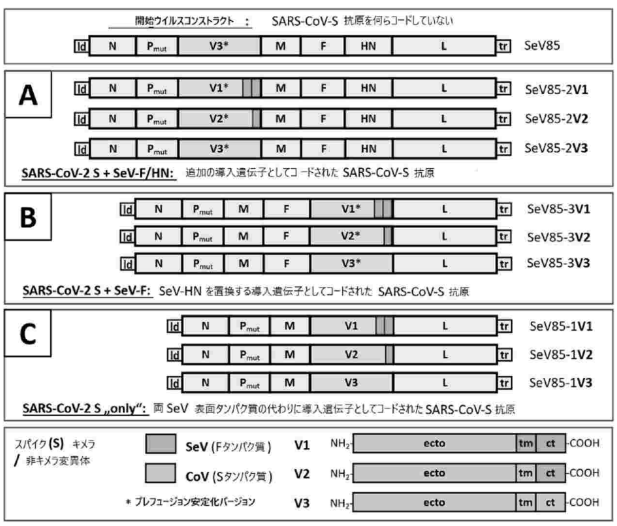
、項７０～１０３のいずれか一項に記載の組換え複製能を有する負鎖ＲＮＡウイルス。
１０５．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクポリペプチドのエクトドメインが、ＳｅＶエンベロープを宿主細胞膜またはエンドソーム膜と融合させることができるＳ２サブユニットを含む、項７０～１０４のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０６．エクトドメインの配列が、前結合形態においてエクトドメインを安定化させることができる少なくとも１つの配列改変を含む、項７０～１０５のいずれか一項に記載の組換え複製能を有するマイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０７．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされる少なくとも１つの異種ポリペプチドに対する粘膜免疫応答を誘導できる、項７０～１０６のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０８．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）によってコードされるポリペプチド抗原を有する病原体に対する防御免疫応答を誘導できる、項７０～１０７のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス。
１０９．ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含む組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子であって、前記ヌクレオキャプシドがそのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列、
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子。
１１０．前記少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープが、センダイウイルス粒子の表面上に提示されるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントを含む、項１０９に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルス粒子。
１１１．組換えコンピテント型センダイウイルスであって、そのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、該少なくとも１つの異種ポリペプチドは該ウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換えコンピテント型センダイウイルス。
１１２．前記少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、前記エンベロープが、センダイウイルス粒子の表面上に提示されるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントを含む、項１１１に記載の組換えコンピテント型センダイウイルス（ＳｅＶ）。
１１３．組換えコンピテント型センダイウイルス粒子であって、ヌクレオキャプシドおよびエンベロープを含み、前記ヌクレオキャプシドはそのゲノム中に、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列であって、少なくとも１つの異種ポリペプチドはセンダイウイルス粒子の表面上に提示される、ヌクレオチド配列
を含む、組換えコンピテント型センダイウイルス粒子。
１１４．少なくとも１つのヌクレオチド配列（ｂ）が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはそのフラグメントをコードし、そして前記エンベロープが、センダイウイルス粒子の表面上に提示されるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクポリペプチドまたはその

フラグメントを含む、項１１３に記載の組換えコンピテント型センダイウイルス（ＳｅＶ）粒子。
１１５．弱毒化されている、項１１１～１１４のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたは粒子。
１１６．項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスもしくはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスもしくはウイルス粒子を含む、医薬組成物。
１１７．項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスもしくはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスもしくはウイルス粒子を含む、ワクチン。
１１８．項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスもしくはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスもしくはウイルス粒子を含む、免疫原性組成物。
１１９．医薬用途用である、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたはウイルス粒子、項１１６に記載の医薬組成物、項１１７に記載のワクチン、または項１１８に記載の免疫原性組成物。
１２０．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の予防方法において使用するための、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子、項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたはウイルス粒子、項１１６に記載の医薬組成物、項１１７に記載のワクチン、または項１１８に記載の免疫原性組成物。
【０３１２】
１２１．ＣＯＶＩＤ １９の予防方法における使用のための、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子、項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたはウイルス粒子、項１１６に記載の医薬組成物、項１１７に記載のワクチン、または項１１８に記載の免疫原性組成物。
１２２．ワクチンとして使用するための、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子、項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたはウイルス粒子、項１１６に記載の医薬組成物、項１１７に記載のワクチン、または項１１８に記載の免疫原性組成物。
１２３．項１１９～１２２のいずれか一項に記載の使用のために、鼻腔内および／または粘膜経路により投与される、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子、項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたはウイルス粒子、項１１６に記載の医薬組成物、項１１７に記載のワクチン、または項１１８に記載の免疫原性組成物。
１２４．組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスをコードするＲＮＡ分子であって、前記ＲＮＡ分子は、
（ａ）Ｐポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該Ｐタンパク質が特にウイルス複製サイクルにおいて本来の機能を発揮する、ヌクレオチド配列、および
（ｂ）少なくとも１つの異種ポリペプチドをコードする少なくとも１つのヌクレオチド配列
を含む、ＲＮＡ分子。
１２５．（ａ）Ｎポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、
（ｂ）Ｍポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および
（ｃ）Ｌポリペプチドをコードするヌクレオチド配列
をさらに含む、項１２４に記載のＲＮＡ分子。
１２６．項１２４～１２５のいずれか一項に記載のＲＮＡ分子を含む、ヌクレオキャプシ

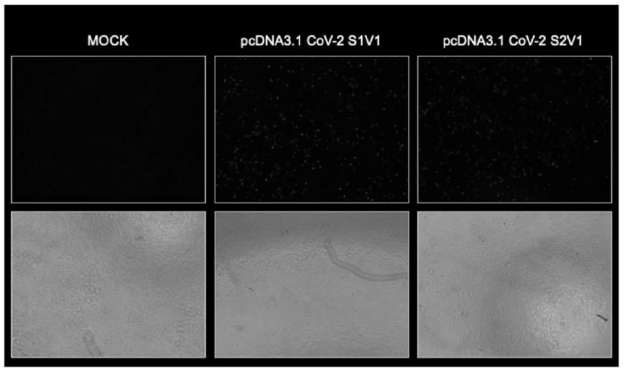
ド。
１２７．項１２４～１２５のいずれか一項に記載のＲＮＡ分子をコードするＤＮＡ分子。
１２８．項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子、項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたはウイルス粒子、項１２４～１２５のいずれか一項に記載のＲＮＡ分子、項１２６に記載のヌクレオキャプシドおよび／または項１２７に記載のＤＮＡ分子を含む、宿主細胞。
１２９．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２および／またはＣＯＶＩＤ １９の感染を予防するための方法であって、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスまたはウイルス粒子、項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスまたはウイルス粒子、項１１６に記載の医薬組成物、項１１７に記載のワクチン、または項１１８に記載の免疫原性組成物を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、方法。
１３０．項１１６に記載の医薬組成物、項１１７に記載のワクチン、または項１１８に記載の免疫原性組成物の製造方法であって、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスもしくはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスもしくはウイルス粒子を、少なくとも１つの薬学的に許容可能な賦形剤とともに製剤する工程を含む、方法。
１３１．項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスもしくはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスもしくはウイルス粒子の製造方法であって、
（ａ）真核宿主細胞を、項１２７に記載のＤＮＡ分子でトランスフェクトすること、
（ｂ）前記ＤＮＡ分子が転写され、ウイルス粒子が形成されるような条件下で宿主細胞を培養すること、および
（ｃ）（ｂ）のウイルス粒子を単離すること
を含む、方法。
１３２．項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスもしくはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスもしくはウイルス粒子の産生のための、項１２８に記載の宿主細胞の使用。
１３３．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２および／またはＣＯＶＩＤ １９の感染を予防するための医薬の製造のための、項７０～１１０のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型マイナス鎖ＲＮＡウイルスもしくはウイルス粒子、または項１１１～１１５のいずれか一項に記載の組換えコンピテント型センダイウイルスもしくはウイルス粒子の使用。
【図面】
【図１】



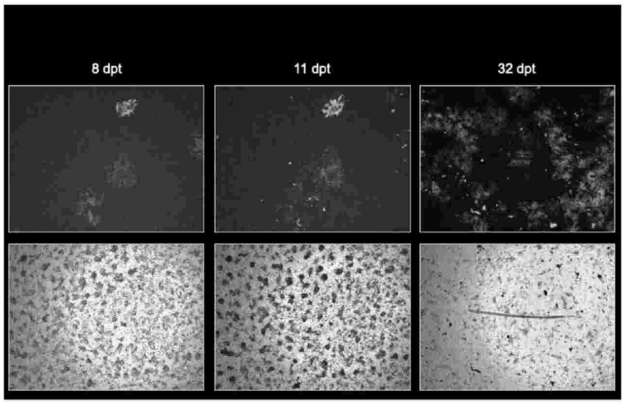
【図２】



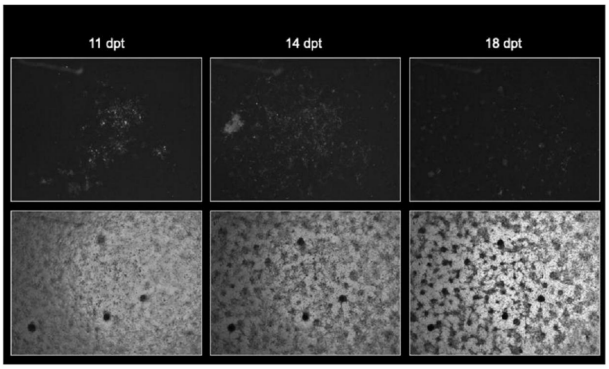
【図３】



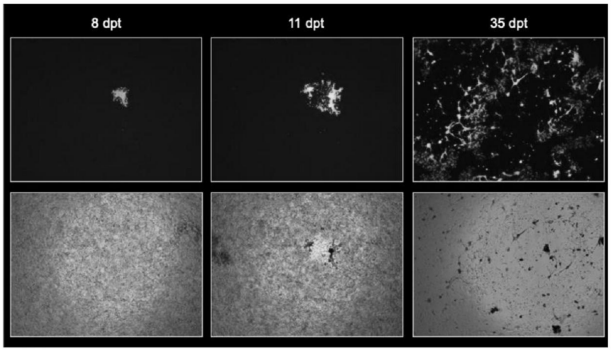
【図４】



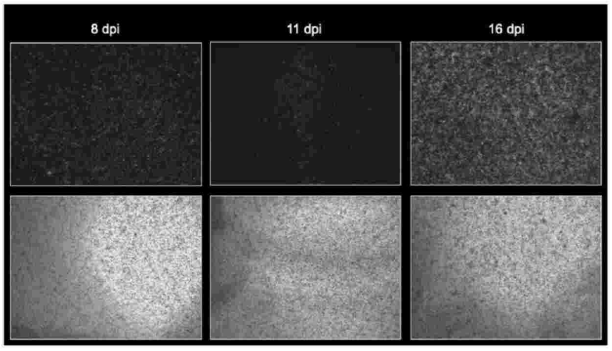
【図５】



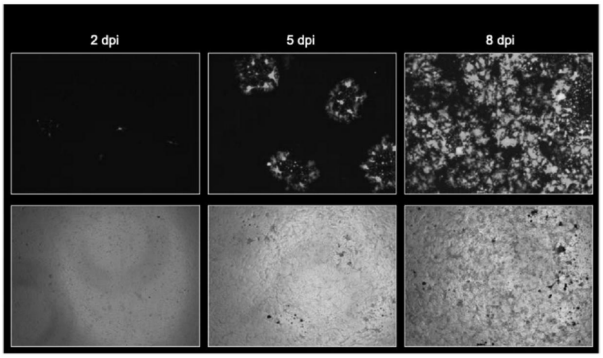
【図６】



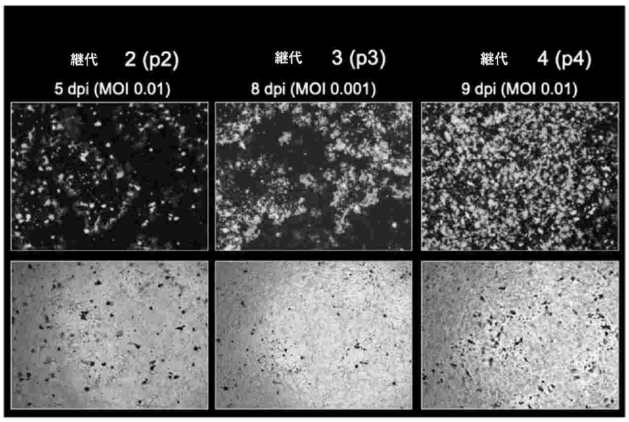
【図７】



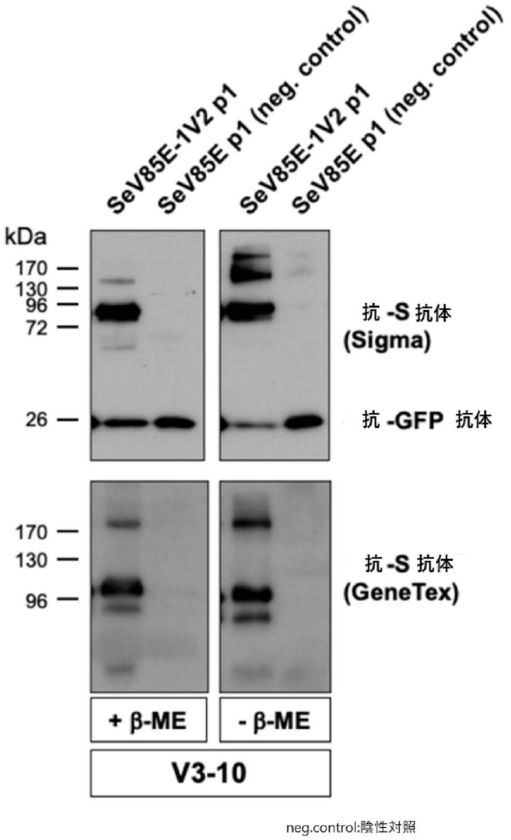
【図８】



【図９】



【図１０】



neg.control:陰性対照

【図１１】

Figure 11A

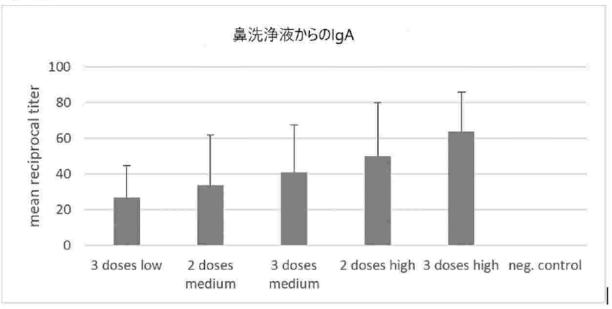
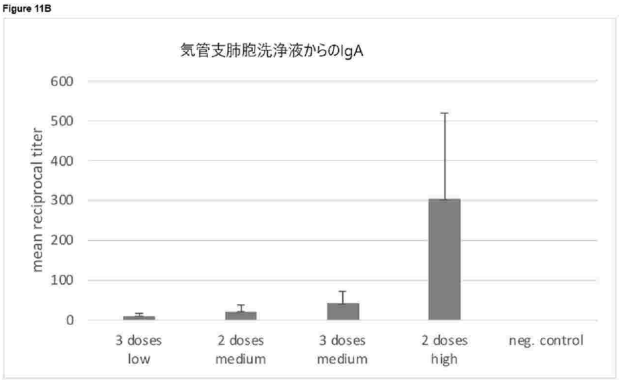


Figure 11B



3 doses low:低用量3回
2 doses medium:中用量2回
3 doses medium:中用量3回
2 doses high:高用量2回
3 doses high:高用量3回
neg. control:陰性対照

【配列表】
20255180780000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/064144

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/12 A61K39/215 A61P31/14 C12N7/00 C12N15/86
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K A61P C12N

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SHIMAZAKI RYUTARO ET AL: "Development of intranasal Sendai virus vector-based vaccine against COVID-19", TRANSLATIONAL AND REGULATORY SCIENCES , vol. 3, no. 3 1 January 2021 (2021-01-01), pages 122-124, XP055982302, DOI: 10.33611/trs.2021-024 Retrieved from the Internet: URL:https://www.jstage.jst.go.jp/article/trs/3/3/3_2021-024/_pdf/-char/en the whole document ----- -/--	1-18

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
29 August 2023	08/09/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Merkl, Philipp

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/064144

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ISHII HIROSHI ET AL: "Neutralizing-antibody-independent SARS-CoV-2 control correlated with intranasal-vaccine-induced CD8+ T cell responses", CELL REPORTS MEDICINE , vol. 3, no. 2 1 February 2022 (2022-02-01), page 100520, XP055982234, ISSN: 2666-3791, DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100520 Retrieved from the Internet: URL:https://www.cell.com/cell-reports-medicine/pdf/S2666-3791(22)00020-9.pdf page 1 - page 3	1-18
Y	US 2016/120974 A1 (WIEGAND MARIAN [DE] ET AL) 5 May 2016 (2016-05-05) paragraphs 0011, 0066-0068, 0076-0077; claims 1-15	1-18
Y	US 11 028 409 B2 (MAX PLANK GESELLSCHAFT ZUR FORDERUNG DER WSS E V [DE] ET AL.) 8 June 2021 (2021-06-08) the whole document	1-18
A	WO 2016/125364 A1 (ID PHARMA CO LTD [JP]) 11 August 2016 (2016-08-11) the whole document	1-18
Y	ZAICHUK T A ET AL: "The Challenges of Vaccine Development against Betacoronaviruses: Antibody Dependent Enhancement and Sendai Virus as a Possible Vaccine Vector", MOLECULAR BIOLOGY : COVER-TO-COVER TRANSLATION = MOLEKULYARNAYA BIOLOGIYA, vol. 54, no. 6, 4 September 2020 (2020-09-04), pages 812-826, XP037328795, ISSN: 0026-8933, DOI: 10.1134/S0026893320060151 page 821, last para before conclusions	1-18

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2023/064144

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2023/064144

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2016120974 A1	05-05-2016	AU 2014280545 A1	24-12-2015
		BR 112015030697 A2	22-08-2017
		CA 2914821 A1	18-12-2014
		CN 105378090 A	02-03-2016
		EA 201592298 A1	30-06-2016
		EP 3008190 A1	20-04-2016
		HK 1223644 A1	04-08-2017
		JP 2016521566 A	25-07-2016
		KR 20160025553 A	08-03-2016
		MX 367093 B	05-08-2019
		US 2016120974 A1	05-05-2016
		WO 2014198407 A1	18-12-2014
US 11028409 B2	08-06-2021	AT 421529 T	15-02-2009
		AU 2006212385 A1	17-08-2006
		BR PI0607487 A2	08-09-2009
		CA 2599036 A1	17-08-2006
		CN 101155826 A	02-04-2008
		DE 102005006388 A1	24-08-2006
		DK 1851239 T3	18-05-2009
		EA 200701695 A1	28-02-2008
		EP 1851239 A1	07-11-2007
		EP 2045260 A1	08-04-2009
		ES 2321651 T3	09-06-2009
		HK 1118297 A1	06-02-2009
		HR P20090230 T1	31-05-2009
		IL 185147 A	29-12-2011
		JP 5679620 B2	04-03-2015
		JP 2008529508 A	07-08-2008
		JP 2012213407 A	08-11-2012
		KR 20070110345 A	16-11-2007
		PL 1851239 T3	31-07-2009
		PT 1851239 E	28-04-2009
		SI 1851239 T1	31-08-2009
		US 2009041725 A1	12-02-2009
		US 2018142256 A1	24-05-2018
		WO 2006084746 A1	17-08-2006
		ZA 200707216 B	28-05-2008
WO 2016125364 A1	11-08-2016	JP 6769880 B2	14-10-2020
		JP 2020195381 A	10-12-2020
		JP WO2016125364 A1	30-11-2017
		US 2018195085 A1	12-07-2018
		WO 2016125364 A1	11-08-2016

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	P	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		
A61K	*35/76*	*(2015.01)*	A61K	35/76		
A61P	*31/14*	*(2006.01)*	A61P	31/14		
C12N	*15/86*	*(2006.01)*	C12N	15/86	Z	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士　櫻井 陽子

(72)発明者　フェスラー，ラインハルト
ドイツ８２１５２マルティンスリート、アム・クロップファーシュピッツ１８、マックス－プランク－インスティテュート・フューア・ビオヒェミー内

(72)発明者　ノイベルト，ヴォルフガング
ドイツ８２１５２マルティンスリート、アム・クロップファーシュピッツ１８、マックス－プランク－インスティテュート・フューア・ビオヒェミー内

(72)発明者　ヴィーガント，マリアン
ドイツ８１５４１ミュンヘン、レガープラッツ４エー

(72)発明者　ラウアー，ウルリヒ エム
ドイツ７２０７２テュービンゲン、ランメルトシュトラーセ４２

Ｆターム（参考）　4B065　AA90X AA95X AA97X AB01 AC14 BA01 CA24 CA44
4C087　AA01 AA02 BC83 MA59 NA14 ZB33