(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-543954
(P2024-543954A)
(43)公表日　令和6年11月26日(2024.11.26)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/215 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/215	ＺＮＡ	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ	*31/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/14		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*37/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00 １０５		
Ｃ０７Ｋ	*14/165 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/165		

審査請求　未請求　予備審査請求　有　（全32頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-532354(P2024-532354)
(86)(22)出願日　令和4年11月29日(2022.11.29)
(85)翻訳文提出日　令和6年5月29日(2024.5.29)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/080561
(87)国際公開番号　WO2023/102375
(87)国際公開日　令和5年6月8日(2023.6.8)
(31)優先権主張番号　63/284,203
(32)優先日　令和3年11月30日(2021.11.30)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　520393015
イミュニティーバイオ、インコーポレイテッド
ＩｍｍｕｎｉｔｙＢｉｏ，Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国カリフォルニア州、カルバー、シティ、ジェファーソン、ブルバード、９９２０
(74)代理人　100120031
弁理士　宮嶋 学
(74)代理人　100120617
弁理士　浅野 真理
(74)代理人　100126099
弁理士　反町 洋
(72)発明者　パトリック、スンーシオン
アメリカ合衆国カリフォルニア州、カル
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＮＡＮＴ　ＣＯＶＩＤワクチン交差反応性

(57)【要約】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２Ａに対する有意な反応性に加えて、様々な他のコロナウイルス、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及びＨＫＵ１－ＣｏＶに対する予想外の交差反応性を有する組換えＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ワクチン組成物及び方法が提示される。さらに、本明細書に提示されるワクチン組成物はまた、比較的広範囲の異なるコロナウイルスにわたる交差反応性を有する交差反応性記憶Ｂ細胞及び交差反応性記憶Ｔ細胞を産生した。

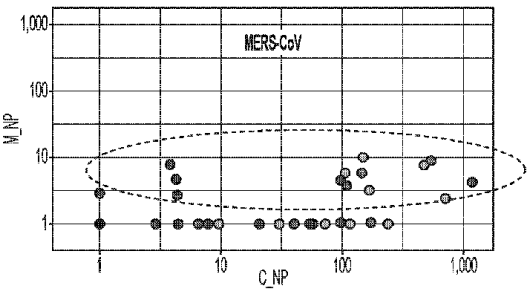


FIG. 4A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
対象においてコロナウイルスに対する免疫応答を誘発する方法であって：
組換えワクチン組成物をプライム及び／又はブースト投与で前記対象に投与することを含み、前記組換えワクチン組成物は、
エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と；
ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分と；
を有し、
前記ワクチン組成物は、前記免疫応答を誘発する量で投与され；
前記免疫応答は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の血清学的に異なる変異体まで、及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２から、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスまで及ぶ、方法。
【請求項２】
前記免疫応答が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の血清学的に異なる変異体の少なくとも２つ及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、並びにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外の少なくとも１つのコロナウイルスに結合する抗体の産生である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記免疫応答が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の各々の血清学的に異なる変異体を保有する異なる細胞、及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２を保有する細胞、及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスを保有する細胞に対して細胞傷害性を有する細胞傷害性Ｔ細胞の産生である、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記免疫応答が、記憶Ｔ細胞の産生である、請求項１～３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５】
前記免疫応答が、記憶Ｂ細胞の産生である、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
前記ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及び／又はＨＫＵ１－ＣｏＶである、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記Ｎが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来である、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
前記Ｎ－ＥＴＳＤの前記エンドソーム標的化配列が、前記第１の部分の５’末端にコードされる、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記Ｎ－ＥＴＳＤの前記エンドソーム標的配列が、前記第１の部分の３’末端にコードされる、請求項７に記載の方法。
【請求項１０】
前記第１及び第２の部分が、バイシストロン性配列で配列される、請求項７に記載の方法。
【請求項１１】
前記Ｎ－ＥＴＳＤが、配列番号１又は配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する、請求項７に記載の方法。

【請求項１２】
前記Ｎ－ＥＴＳＤが、配列番号１のアミノ酸配列を有する、請求項７に記載の方法。
【請求項１３】
前記第１の部分が、配列番号２のヌクレオチド配列を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項１４】
前記Ｓタンパク質が、配列番号３又は配列番号４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する、請求項７に記載の方法。
【請求項１５】
前記Ｓタンパク質が配列番号３のアミノ酸配列を有する、請求項７に記載の方法。
【請求項１６】
前記Ｓタンパク質が配列番号４のアミノ酸配列を有する、請求項７に記載の方法。
【請求項１７】
前記第２の部分が配列番号５のヌクレオチド配列を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項１８】
前記第２の部分が配列番号６のヌクレオチド配列を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項１９】
前記組換えワクチン組成物が、組換えウイルスとして製剤化される、請求項１～１８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２０】
前記組換えウイルスが、Ｅ１遺伝子領域欠失及びＥ２ｂ遺伝子領域欠失を有するアデノウイルスである、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記組換えワクチン組成物が、組換えＲＮＡとして製剤化される、請求項１～２０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２２】
前記組換えＲＮＡが、前記第１及び第２の部分を含むポリシストロン性ＲＮＡである、請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
前記組換えワクチン組成物が、組換えＤＮＡとして製剤化される、請求項１～２２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２４】
前記組換えＤＮＡが、前記第１及び第２の部分を含む、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
前記組換えワクチン組成物が、前記プライム投与及び前記ブースト投与で投与される、請求項１～２４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２６】
前記組換えワクチン組成物が、アデノウイルスワクチン組成物として製剤化される、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
前記組換えワクチン組成物が、前記ブースト投与においてのみ投与される、請求項１～２４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２８】
前記ブースト投与が、ＲＮＡワクチン、ＤＮＡワクチン、ウイルスワクチン、及びサブユニットワクチンの群から選択されるプライムワクチン接種に後続する、請求項２７に記載の方法。
【請求項２９】
前記ＲＮＡワクチンプライムワクチン接種が自己増幅自己アジュバントＲＮＡワクチンを含む、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
前記自己増幅自己アジュバントＲＮＡワクチンが、コロナウイルスＳタンパク質及び／

又はコロナウイルスＮタンパク質をコードするＲＮＡを含む、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記ウイルスワクチンプライムワクチン接種がアデノウイルスウイルスワクチンを含み、前記アデノウイルスウイルスワクチンがコロナウイルスＳタンパク質をコードする組換え核酸を含む、請求項２７に記載の方法。
【請求項３２】
複数の異なるコロナウイルスに対する特異性を有する記憶Ｂ細胞を産生する方法であって：
組換えワクチン組成物をプライム及び／又はブースト投与で対象に投与することを含み、前記組換えワクチン組成物は、
エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と；
ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分と；
を有し、
前記ワクチン組成物は、前記記憶Ｂ細胞の産生を誘発する量で投与される、方法。
【請求項３３】
複数の異なるコロナウイルスに対する特異性を有する記憶Ｔ細胞を産生する方法であって：
組換えワクチン組成物をプライム及び／又はブースト投与で対象に投与することを含み、前記組換えワクチン組成物は、
エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と；
ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分と；
を有し、
前記ワクチン組成物は、前記記憶Ｔ細胞の産生を誘発する量で投与される、方法。
【請求項３４】
前記複数の異なるコロナウイルスが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及び／又はＨＫＵ１－ＣｏＶからなる群から選択される、請求項３２又は３３に記載の方法。
【請求項３５】
前記ＮがＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来である、請求項３２～３４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３６】
前記Ｎ－ＥＴＳＤのエンドソーム標的配列が、前記第１の部分の５’末端にコードされる、請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
前記Ｎ－ＥＴＳＤのエンドソーム標的配列が、前記第１の部分の３’末端にコードされる、請求項３５に記載の方法。
【請求項３８】
前記第１及び第２の部分が、バイシストロン性配列で配列される、請求項３５に記載の方法。
【請求項３９】
前記Ｎ－ＥＴＳＤが、配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する、請求項３５に記載の方法。

【請求項４０】
前記Ｎ－ＥＴＳＤが配列番号１のアミノ酸配列を有する、請求項３５に記載の方法。
【請求項４１】
前記第１の部分が配列番号２のヌクレオチド配列を有する、請求項３２又は３３に記載の方法。
【請求項４２】
前記Ｓタンパク質が、配列番号３又は配列番号４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する、請求項３２又は３３に記載の方法。
【請求項４３】
前記Ｓタンパク質が配列番号３のアミノ酸配列を有する、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記Ｓタンパク質が配列番号４のアミノ酸配列を有する、請求項４２に記載の方法。
【請求項４５】
前記第２の部分が、配列番号５のヌクレオチド配列を有する、請求項３２又は３３に記載の方法。
【請求項４６】
前記第２の部分が、配列番号６のヌクレオチド配列を有する、請求項３２又は３３に記載の方法。
【請求項４７】
前記組換えワクチン組成物が、組換えウイルスとして製剤化される、請求項３２～４６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４８】
前記組換えウイルスが、Ｅ１遺伝子領域欠失及びＥ２ｂ遺伝子領域欠失を有するアデノウイルスである、請求項４７に記載の方法。
【請求項４９】
前記組換えワクチン組成物が、組換えＲＮＡとして製剤化される、請求項３２～４６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５０】
前記組換えＲＮＡが、前記第１及び第２の部分を含むポリシストロン性ＲＮＡである、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】
前記組換えワクチン組成物が、組換えＤＮＡとして製剤化される、請求項３２～４６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５２】
前記組換えＤＮＡが、前記第１及び第２の部分を含む、請求項５２に記載の方法。
【請求項５３】
対象においてコロナウイルスに対する免疫応答を誘発するワクチンとして使用するための組換えワクチン組成物であって、
前記組換えワクチン組成物は、
エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と；
ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分と；
を有し、
前記免疫応答は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２からＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の血清学的に異なる変異体まで、及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２からＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスまで及ぶ、組換えワクチン組成物。
【請求項５４】

キットであって：
エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と；
ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分と；
を有する第１の組換えワクチン組成物；
Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合された、ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする組換え核酸を含む組換えウイルスワクチン；
又は
Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合された、ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードし、且つ場合によりさらに、Ｎ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）をコードする、組換え核酸を含む自己増幅自己アジュバントＲＮＡワクチン；又は
コロナウイルスの組換えタンパク質を含むサブユニットワクチン；又は
熱不活化コロナウイルスワクチン組成物
を有する第２の組換えワクチン組成物
含む、キット。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２０２１年１１月３０日に出願された同時係属中の米国仮特許出願第６３／２８４，２０３号の利益を主張するものであり、該出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
本発明の分野は、特に、様々なコロナウイルスに有効な交差反応性ワクチン組成物に関するためワクチン組成物及び方法である。
【背景技術】
【０００３】
背景技術の説明は、本発明を理解するのに有用であり得る情報を含む。本明細書で提供される情報のいずれも、先行技術であるか、又は現在特許請求されている発明に関連すること、又は具体的に若しくは暗示的に参照されるいずれの刊行物も、先行技術であることを認めるものではない。
【０００４】
本明細書における全ての刊行物及び特許出願は、個々の各刊行物又は特許出願が参照により組み込まれることが具体的且つ個々に示されているのと同程度に、参照により組み込まれる。組み込まれた参考文献における用語の定義又は使用が、本明細書で提供されるその用語の定義と一致しないか又は反対である場合、本明細書で提供されるその用語の定義が適用され、参考文献におけるその用語の定義は適用されない。
【０００５】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２診断試験は比較的短時間で利用可能となったが、疾患を治療するための多数の試みはこれまで、矛盾した又は決定的でない結果を示している。最も典型的には、重症症状を有する患者は、呼吸／血液酸素化を維持するために治療される。より最近では、ワクチン接種努力及び抗体カクテル（例えば、カシリビマブ及びイムビマブ）、並びにパキソロビド（Ｐｆｉｚｅｒ）又はモルヌピラビル（Ｍｅｒｃｋ）などの新たに開発された抗ウイルス剤の使用が入院率及び死亡率を低下させている。それにもかかわらず、ＣＯＶＩＤ１９死亡率は、特に高齢者、免疫不全者、及び心疾患、肺疾患、又は糖尿病を有する個体において、有意なままであった。急性期のケアの改善にもかかわらず、社会的

距離及び他の公衆衛生緩和措置が中程度の緩和しか提供できないため、疾患の封じ込めが極めて重要であることが明らかになっている。このような封じ込めの必要性は、新たなウイルス突然変異体が時間の経過とともに必ず進化し、これらの突然変異体の少なくともいくつかは、現在知られている免疫療法から逃れる可能性があると予想されるため、特に差し迫っている。

【０００６】

さらに、図１から分かるように、最近導入されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　ＲＮＡワクチンの防御は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２野生型ウイルスの変異体に対して等しく有効ではない。また、図２から分かるように、初期対応者や医療関係者などの個体に早期にワクチン接種を行った場合でも、新たな感染に対する防御効果は、比較的短期間で低下し始めた。

【０００７】

この差し迫った必要性に対処するために、多数の候補抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ワクチン組成物が開発されてきており、ウイルスの１つ以上のタンパク質を標的とする（例えば、ＦＩＭＭＵ　２０２０、１１：６０２２５６を参照されたい）。例えば、Ｓｉｎｏｖａｃ及びＳｉｎｏｐｈａｒｍは、現在、不活化ウイルスワクチン調製物を試験している。Ｃａｎｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ、Ｊａｎｓｓｅｎ　Ｐｈａｒｍａ、Ｏｘｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ、及びＧａｒｎａｌｅｙａは、１つ以上のウイルスタンパク質をコードする非複製アデノウイルスベクターに基づくワクチンを開発した。Ｎｏｖａｍａｘは、タンパク質サブユニットベースのワクチンを生産した。より最近では、Ｍｏｄｅｒｎａ及びＰｆｉｚｅｒからのＲＮＡベースのワクチンがいくつかの管轄区域において承認されている。これらのワクチンの大部分は、疾患をもたらす感染に対して少なくともいくらかの（典型的には、非無菌）免疫を誘導するが、防御が異なる変異体若しくはさらには株にわたって有効であるか否か、防御が数ヶ月にわたって有効であるか否か、及び／又は十分な免疫記憶が長期間にわたって接種された個体を防御するか否かは不明である。さらに、そのようなワクチンが臨床的に意味のあるＴ細胞ベースの応答を生じるか否かは不明である。残念ながら、また開発及び使用において比較的多数のワクチン製剤が存在するにもかかわらず、既知のワクチン組成物のいずれも、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、又はＨＫＵ１－ＣｏＶなどの他のコロナウイルスに対して交差反応性であることが示されておらず、それによりそのようなワクチンの有用性が制限され、また耐久性のある記憶Ｂ及びＴ細胞集団が誘発されることが示されていない。

【０００８】

したがって、様々なワクチン組成物及びコロナウイルスを標的とする方法が当技術分野で公知であるにもかかわらず、それらの全て又はほとんど全てが、特にワクチンが特定の株の単一変異体のみに対して高度に特異的である場合、いくつかの欠点を有する。したがって、様々なコロナウイルス株及びその変異体に対して有効な、改善されたコロナウイルス組成物及び方法が依然として必要とされている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００９】

本発明の主題は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及びＨＫＵ１－ＣｏＶを含む、複数のコロナウイルスに対する免疫応答を生成する様々なワクチン組成物及び方法に関する。注目すべきことに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳ（スパイクタンパク質）及びＮ（ヌクレオカプシド）の両方を標的とする本明細書に提示されるワクチン組成物は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２に加えて、様々な他のコロナウイルス、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及びＨＫＵ１－ＣｏＶに対する予想外の交差反応性を示した。さらにより注目すべきことに、本明細書に提示されるワクチン組成物はまた、比較的広範囲の異なるコロナウイルスにわたる交差反応性を有する交差反応性記憶Ｂ細胞及び交差反応性記憶Ｔ細胞を生成した。

【００１０】

本発明の主題の一態様では、本発明者は、対象においてコロナウイルスに対する交差反

応性免疫応答を誘発する方法を企図し、この方法は、組換えワクチン組成物をプライム及び／又はブースト投与で対象に投与する工程を含む。そのような方法において、組換えワクチン組成物は、（ａ）エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と、（ｂ）ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分とを有する。ワクチン組成物は、交差反応性免疫応答を誘発する量で対象に投与され、交差反応性免疫応答は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２からＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の血清学的に異なる変異体まで、及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスまで及ぶ。最も典型的には、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及び／又はＨＫＵ１－ＣｏＶである。

【００１１】

いくつかの実施形態では、免疫応答は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の血清学的に異なる変異体及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外の少なくとも１つのコロナウイルスのうちの少なくとも２つに結合する抗体の産生であり、他の実施形態では、免疫応答は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の血清学的に異なる変異体を各々保有する異なる細胞、及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２を保有する細胞及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスを保有する細胞に対して細胞傷害性を有する細胞傷害性Ｔ細胞の産生である。さらなる実施形態では、免疫応答は、交差反応性記憶Ｔ細胞の産生であり、さらに他の実施形態では、免疫応答は、交差反応性記憶Ｂ細胞の産生である。

【００１２】

好ましくは、Ｎタンパク質は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来であり、Ｎ－ＥＴＳＤのエンドソーム標的化配列は、第１の部分の５’末端又は第１の部分の３’末端にコードされることが企図される。さらに、第１及び第２の部分は、バイシストロン性配列で配列されることが好ましい。例えば、Ｎ－ＥＴＳＤは、配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有するか、又は配列番号１のアミノ酸配列を有し得る。他の例では、第１の部分は、配列番号２のヌクレオチド配列を有し得る。

【００１３】

Ｓタンパク質に関して、Ｓタンパク質は、配列番号３若しくは配列番号４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し得ること、又はＳタンパク質は、配列番号３若しくは配列番号４のアミノ酸配列を有することが企図される。例えば、第２の部分は、配列番号５のヌクレオチド配列又は配列番号６のヌクレオチド配列を有し得る。

【００１４】

さらに企図される態様では、組換えワクチン組成物は、組換えウイルスとして、最も好ましくは、Ｅ１遺伝子領域欠失及びＥ２ｂ遺伝子領域欠失を有するアデノウイルスとして製剤化することができる。或いは、又はさらに、組換えワクチン組成物は、組換えＲＮＡ、好ましくは、第１及び第２の部分を含むポリシストロン性ＲＮＡとして製剤化される。必要に応じて、組換えワクチン組成物は、好ましくは第１及び第２の部分を含む組換えＤＮＡとして製剤化することもできる。

【００１５】

組換えワクチン組成物は、プライム投与及びブースト投与において投与されることがさらに企図される。好ましくは、必ずしも必要ではないが、組換えワクチン組成物は、アデノウイルスワクチン組成物として製剤化される。

【００１６】

さらに他の実施形態では、組換えワクチン組成物は、ブースト投与においてのみ投与される。そのような場合、ブースト投与は、ＲＮＡワクチン、ＤＮＡワクチン、ウイルスワクチン、又はサブユニットワクチンなどのワクチンを使用するプライムワクチン接種に続

いてもよい。例示的なＲＮＡワクチンプライムワクチン接種は、自己増幅自己アジュバントＲＮＡワクチン（好ましくは、コロナウイルスＳタンパク質及び／又はコロナウイルスＮタンパク質をコードするＲＮＡを含む）であり得、例示的なウイルスワクチンプライムワクチン接種は、アデノウイルスウイルスワクチン（好ましくは、コロナウイルスＳタンパク質のみをコードする組換え核酸を含む）を含み得る。

【００１７】

本発明の主題の別の態様では、本発明者らは、複数の異なるコロナウイルスに対して交差反応性を有する記憶Ｂ細胞及び／又は記憶Ｔ細胞を生成する方法を企図し、この方法は、組換えワクチン組成物をプライム及び／又はブースト投与で対象に投与する工程を含み、組換えワクチン組成物は、（ａ）エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と、（ｂ）ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分とを有する。記憶Ｂ細胞は、交差反応性である抗体を産生することが企図される。最も典型的には、ワクチン組成物は、交差反応性記憶Ｂ細胞及び／又は記憶Ｔ細胞の形成を誘発する量で投与される。最も典型的には、複数の異なるコロナウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及びＨＫＵ１－ＣｏＶを含む。

【００１８】

ヌクレオカプシドタンパク質ＮはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２由来であり、これはさらに５’末端又は３’末端にエンドソーム標的化配列を含み得ることがさらに一般的に好ましい。さらに好ましい態様では、第１の部分及び第２の部分は、バイシストロン性配列で配列される。例えば、Ｎ－ＥＴＳＤは、配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、又は配列番号１のアミノ酸配列を有し得る。したがって、第１の部分は、配列番号２のヌクレオチド配列を有する。

【００１９】

スパイクＳタンパク質は、好ましくは、配列番号３若しくは配列番号４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、又は配列番号３若しくは配列番号４のアミノ酸配列を有する。したがって、第２の部分は、配列番号５又は配列番号６のヌクレオチド配列を有し得る。

【００２０】

容易に理解されるように、組換えワクチン組成物は、組換えウイルス（例えば、Ｅ１遺伝子領域欠失及びＥ２ｂ遺伝子領域欠失を有するアデノウイルス）として製剤化され得るか、又は組換えＲＮＡ（例えば、第１及び第２の部分を含むポリシストロン性ＲＮＡ）として製剤化され得るか、又は組換えＤＮＡ（例えば、第１及び第２の部分を含む）として製剤化され得る。

【００２１】

異なる観点から見ると、本発明者はまた、（ａ）エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と、（ｂ）ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分とを有する、第１の組換えワクチン組成物を含むキットを企図する。キットはまた、（ａ）Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合された、ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする組換え核酸を含む組換えウイルスワクチン；又は（ｂ）Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合された、ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする、及び場合によりＮ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタ

ンパク質（Ｎ）をさらにコードする、組換え核酸を含む自己増幅自己アジュバントＲＮＡワクチン；又は（ｃ）コロナウイルスの組換えタンパク質を含むサブユニットワクチン；又は（ｄ）熱不活化コロナウイルスワクチン組成物を有する第２の組換えワクチン組成物を含むであろう。

【００２２】

したがって、本発明者らは、対象においてコロナウイルスに対する交差反応性免疫応答を誘発するワクチンとして使用するための組換えワクチン組成物であって、（ａ）エンドソーム標的化配列に融合された重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）コロナウイルスヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）（Ｎ－ＥＴＳＤ）をコードする第１の部分であって、Ｎ－ＥＴＳＤ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第１の部分と、（ｂ）ＳＡＲＳウイルススパイクタンパク質（Ｓ）をコードする第２の部分であって、Ｓ発現を可能にする１つ以上の調節エレメントに機能的に結合されている、第２の部分とを有することを特徴とする、組換えワクチン組成物を企図する。好ましくは、交差反応性免疫応答は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２からＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の血清学的に異なる変異体まで、及び／又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ２からＳＡＲＳ－ＣｏＶ２以外のコロナウイルスまで及ぶ。

【００２３】

本発明の主題の様々な目的、特徴、態様及び利点は、同様の番号が同様の構成要素を表す添付の図面と共に、好ましい実施形態の以下の詳細な説明からより明らかとなるであろう。

【図面の簡単な説明】

【００２４】

【図１】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２の様々な株に対するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　ＲＮＡワクチンの効力の差異を示す概略図である。

【図２】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２　ＲＮＡワクチンの防御効果の低下を示す概略図である。

【図３】本明細書に提示される交差反応性ワクチン組成物及び方法に使用される例示的な組換えｈＡｄ５ウイルスの概略図を示す。

【図４Ａ－Ｄ】図３の組換えｈＡｄ５ウイルスによるワクチン接種後の個体における抗体交差反応性についての例示的な結果を示す。図４Ａは、ＭＥＲＳ－ＣｏＶについての交差反応性の結果を示し、図４Ｂは、ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１についての交差反応性の結果を示し、図４Ｃは、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３についての交差反応性の結果を示し、図４Ｄは、交差反応性についての時間経過を示す。

【図５】図３の組換えｈＡｄ５ウイルスによるワクチン接種後の非ヒト霊長類において生成された記憶Ｂ細胞についての例示的な結果を示し、ｈＡｄ５　Ｓ＋ＮがＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＮに対する交差反応性記憶Ｂ細胞を誘導することを示す。

【図６】図３の組換えｈＡｄ５ウイルスによるワクチン接種後に健康なヒト対象において生成された記憶Ｂ細胞についての例示的な結果を示し、ｈＡｄ５　Ｓ＋ＮがＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＮに対する交差反応性記憶Ｂ細胞を誘導することを示す。

【図７】図３の組換えｈＡｄ５ウイルスによるワクチン接種後に健康なヒト対象において生成された記憶Ｔ細胞についての例示的な結果を示し、ｈＡｄ５　Ｓ＋ＮがＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＮに対する交差反応性記憶Ｂ細胞を誘導することを示す。

【図８】図３の組換えｈＡｄ５ウイルスを使用する１つの例示的なプライム－ブーストワクチンレジメンを示す。

【図９】図３の組換えｈＡｄ５ウイルスを使用するプライム－ブーストワクチンレジメンでの使用に適した例示的なＳＡＳＡワクチン組成物を示す。

【図１０】図３の組換えｈＡｄ５ウイルスを使用する別の例示的なプライム－ブーストワクチンレジメンを示す。

【図１１】普遍的ＣＯＶＩＤワクチンについての例示的なＢ及びＴ細胞交差反応性を示す。

【図１２】普遍的第２世代ワクチンのための長期記憶Ｂ＆Ｔ細胞を誘導するためのＳ＋Ｎ

の必要性の例示的な検証を示す。
【図１３】Ｔ細胞応答の生成におけるＮの例示的な重要性を示す。
【発明を実施するための形態】
【００２５】
本発明者は、ヌクレオカプシド成分を含む様々なＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ワクチン組成物が、特にブースト投与として、投与時にヒト及び非ヒト対象において交差反応性免疫応答を予想外に誘発することを発見した。注目すべきことに、交差反応性は、異なるＳＡＲＳ－ＣｏＶ２株にわたるだけでなく、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ、及び／又はＨＫＵ１－ＣｏＶを含むコロナウイルス科（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｉｄａｅ）の他のメンバーにも及んだ。さらにより注目すべきことに、交差反応性は、以下により詳細に記載されるように、交差反応性記憶Ｔ細胞及び記憶Ｂ細胞が観察される耐久性応答であった。
【００２６】
例えば、Ｓ成分及びＮ成分の両方を含む１つのワクチン組成物が図３に示されており、ワクチン組成物は、組換えヒトアデノウイルス、特にＥ１、Ｅ２ｂ、及びＥ３に欠失を有するｈＡｄ５として製剤化されている。ウイルスゲノムには、Ｓ－融合タンパク質をコードする第１のセグメント（融合タンパク質の発現を増強するセグメントに融合されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳタンパク質を含む）及びＮ－ＥＴＳＤをコードする第２のセグメント（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＮタンパク質及びエンドソーム標的化セグメントを含む）を有する組換え核酸が挿入されている。図３から分かるように、Ｓ－融合物及びＮ－ＥＴＳＤの両方は、組換えウイルスに感染した細胞における組換えＳＡＲＳ－ＣｏＶ２タンパク質の発現を駆動するために、強力な構成的ＣＭＶプロモーターの制御下にある。
【００２７】
ｈＡｄ５　Ｓ－融合物＋Ｎ－ＥＴＳＤを含む上記のアデノウイルスベースのワクチンは、Ｅ１、Ｅ２ｂ、Ｅ３遺伝子の欠失によりアデノウイルス線維産生を伴わずに、独特の、臨床的に利用可能な唯一のヒトアデノウイルス（ｈＡｄ５）ベクター技術を使用し、最大の細胞性及び体液性免疫のための強力で持続性のタンパク質産生を可能にした。さらに、このような組換えアデノウイルスは、１２５人を超える高齢者及び免疫不全癌患者における１３の第Ｉ／ＩＩ相臨床試験において証明された安全性プロファイルを示した。さらに、図３の組換えアデノウイルスは、以前のアデノウイルス免疫を有していても、患者において抗原特異的ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を産生した。したがって、組換えアデノウイルス技術は、細胞媒介性免疫原性を最大化し、抗体依存性増強のリスクを低減する独特のワクチンコンストラクトを提供したことを理解するべきである。またさらに、このような組換えウイルスは、確立された細胞株を用いて大量に調製することができ、またこのようなワクチンは、単純な冷蔵（２～８℃）で安定であることを認識するべきである。
【００２８】
この組換えウイルスワクチンコンストラクトは、一般に、企図される使用及び方法において好ましいが、ワクチンコンストラクトがＮ－タンパク質成分を含む限り、多数の修飾を行うことができることを認識するべきである。したがって、組換えコンストラクトは、組換えウイルス及び組換え酵母を含み、その各々は、Ｎタンパク質（又はその修飾物及び／又は部分）及びＳタンパク質（又はその修飾物及び／又は部分）の発現をもたらすであろう組換え核酸を含むことを理解するべきである。
【００２９】
一実施形態では、Ｎ－ＥＴＳＤポリペプチドは、配列番号１に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含むことができる。他の実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。さらに他の実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。Ｎ－ＥＴＳＤ融合タンパク質がＮ－ＥＴＳＤドメインとヌクレオカプシドタンパク質との間にリンカーを含むこともさらに企図される。例えば、このリンカーは、配列（Ｇ３Ｓ）４を

有する１６アミノ酸リンカーであり得る。特定の実施形態では、細胞内抗原の免疫原性を増強するための方法が本明細書に開示され、方法は、抗原をＥＴＳＤでタグ付けし、抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）においてタグ付け抗原を発現させることを含む。

【００３０】

いくつかの実施形態では、Ｎ－ＥＴＳＤ及びＣｏＶ－２ヌクレオカプシドタンパク質を含む融合タンパク質は、配列番号２に対して少なくとも８０％の同一性を有する核酸配列によってコードされ得る。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。

【００３１】

ＣｏＶ－２スパイクタンパク質は、配列番号３に対して少なくとも８５％の同一性を有することが企図される。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。ＣｏＶ－２スパイクタンパク質をコードする核酸は、配列番号５に対して少なくとも８５％の同一性を有する。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。

【００３２】

ＣｏＶ－２スパイク融合タンパク質は、配列番号４に対して少なくとも８５％の同一性を有することが企図される。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。ＣｏＶ－２スパイク融合タンパク質をコードする核酸は、配列番号６に対して少なくとも８５％の同一性を有する。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。

【００３３】

本開示の第２の態様では、コロナウイルス２（ＣｏＶ－２）ヌクレオカプシドタンパク質、ＣｏＶ２　Ｎ－ＥＴＳＤタンパク質、ＣｏＶ２スパイクタンパク質、ＣｏＶ２スパイク－融合タンパク質、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるタンパク質をコードする核酸を含む組換え酵母が本明細書に提供される。さらに、これらのコードされたタンパク質の各々は、下記により詳細に記載されるように、さらに修飾され得る。好ましくは、組換え酵母はサッカロミセス・セレビシエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）である。

【００３４】

この第２の態様のいくつかの実施形態では、ＣｏＶ－２ヌクレオカプシドタンパク質又はその変異体は、配列番号１又は配列番号７に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。他の実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。さらに他の実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。

【００３５】

この第２の態様のいくつかの実施形態では、ＣｏＶ－２スパイクタンパク質又はスパイク融合タンパク質は、配列番号３又は配列番号４に対して少なくとも８０％の同一性を有

する配列を含む。他の実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。さらに他の実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。

【００３６】

いくつかの実施形態では、ＣｏＶ－２スパイクタンパク質又はスパイク融合タンパク質をコードする核酸は、配列番号５又は配列番号６に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。他の実施形態では、同一性値は少なくとも８５％である。さらに他の実施形態では、同一性値は少なくとも９０％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９５％である。いくつかの実施形態では、同一性値は少なくとも９９％である。いくつかの実施形態では、同一性値は１００％である。

【００３７】

最も好ましくは、組換えウイルスは、皮下（ｓｕｂｃｕｔａｎｅｏｕｓ）又は皮下（ｓｕｂｄｅｒｍａｌ）注射を介して投与される。しかしながら、他の企図される態様では、投与は静脈内注射又は筋肉内注射でもあり得る。別の態様では、組換えウイルスは、鼻腔内に、例えば鼻腔内スプレーを介して投与することができる。代替的又は追加的に、抗原提示細胞は、患者の細胞から単離又は成長され、インビトロで感染され、次いで患者に注入され得る。

【００３８】

本明細書において上記又は他の箇所で記載した実施形態のいずれかの一態様では、組成物は、対象への投与に適した薬学的に許容され得る賦形剤中で製剤化される。

【００３９】

本明細書に開示される免疫治療組成物は、「予防的」又は「治療的」のいずれかであり得る。予防的に提供される場合、本開示の組成物は、コロナウイルス疾患の発生を予防、阻害若しくは遅延させることを目標として、コロナウイルス疾患の発生に先立って若しくは発生の検出時に提供され；並びに／又は一般に個体におけるコロナウイルス疾患の進行を予防若しくは阻害する。したがって、予防組成物は、コロナウイルス疾患を有さない（健康な、又は正常な個体）と思われる個体、又はコロナウイルスが未だ検出されていない個体に投与され得る。コロナウイルス疾患を発生するリスクが高い個体は、本開示の組成物を用いて予防的に治療され得る。

【００４０】

治療的に提供される場合、免疫治療組成物は、コロナウイルス疾患の改善又は治癒；個体の生存率を増加させること；個体におけるコロナウイルス疾患の発生を予防、阻害、逆転又は遅延させることを目的として、コロナウイルス疾患と診断された個体に提供される。

【００４１】

さらなる別の実施形態では、上記に開示したアデノウイルス又は酵母を含むワクチン組成物が本明細書に開示され、ここで組成物は注射用に製剤化される。ワクチン組成物は、患者にワクチン組成物を投与することによって、それを必要とする患者においてＣｏＶ－２に対する免疫を誘導するために使用され得る。

【００４２】

コロナウイルス疾患、特にＣＯＶＩＤ－１９を予防及び／又は治療するための方法も本明細書に開示される。好ましくは、方法は、コロナウイルスのヌクレオカプシドタンパク質の野生型若しくは修飾形態、及び／又はスパイクタンパク質の野生型若しくは修飾形態をコードするウイルス又は酵母ベクターを、対象個体に投与される免疫原性組成物中で使用することを含む。そのように投与されるウイルス及び／又は酵母ワクチンは、ＣｏＶ－２、ヌクレオカプシド又はスパイクタンパク質の野生型又は修飾形態で個体を感染させるであろう。それが整った状態で、個体は、それに対する免疫応答を有し、ワクチン接種されるであろう。特に、ヌクレオカプシドタンパク質及びスパイクタンパク質は比較的保存されたポリペプチドであるため、コロナウイルスファミリーの多様なメンバーに対して免

疫応答が誘発され得る。

【００４３】

組換えベクターがアデノウイルスである場合、アデノウイルスベクターは、ヌクレオカプシドタンパク質、及び／又はスパイクタンパク質の野生型又は修飾形態をコードするように修飾され得る。同様に、酵母の場合、酵母ベクターもヌクレオカプシドタンパク質、及び／又はスパイクタンパク質の野生型又は修飾形態をコードするように修飾され得る。下記により詳細に示すように、それを必要とする患者において、ウイルス及び／又は酵母ベクターを含む免疫原性組成物を投与した後、陽性免疫応答は、細胞媒介免疫に対して得られる。したがって、一実施形態では、本開示は、酵母表面上でのコロナウイルススパイクの発現を作り上げることを企図する。そのような実施形態では、酵母はアバターコロナウイルスとして機能してＢ細胞を刺激し、次いで液性免疫をもたらす。

【００４４】

本明細書に開示されるように、既存のアデノウイルス免疫を有する患者において免疫を誘導することが可能な次世代二価ヒトアデノウイルス血清型５（ｈＡｄ５）ワクチンであり、これは、細胞表面発現について最適化されたＳ配列（Ｓ－融合物）及びエンドソーム細胞内コンパートメントに輸送されるように設計された保存されたヌクレオカプシド（Ｎ）抗原の両方を含み、耐久性のある免疫防御を生成する可能性を有する。本明細書にさらに記載されるように、そのような二価ワクチンは、以下の知見により証明されるように免疫原性について最適化されていることが見出されている：

１）最適化されたＳ－融合物は、表面発現が殆ど検出されないＳ－ＷＴと比較して、改善されたＳ受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）細胞表面発現を示した；

２）Ｓ－融合物からの発現ＲＢＤは、立体構造の完全性及びＡＣＥ２－Ｆｃによる認識を保持した；

３）増強されたＴ細胞刺激ドメイン（ＥＴＳＤ）で修飾されたウイルスＮタンパク質は、ＭＨＣ　Ｉ／ＩＩ提示のためにエンドソーム／リソソーム細胞内コンパートメントに局在化した；並びに

４）これらのＳ及びＮ（Ｓ－融合物及びＮ－ＥＴＳＤ）への最適化は、抗原ネイティブ前臨床モデルにおいて、増強されたデノボ抗原特異的Ｂ細胞並びにＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞応答を生成した。

【００４５】

Ｓ及びＮ成分へのＴ細胞及び抗体免疫応答の両方は、Ｔ－ヘルパー１（Ｔｈ１）バイアスを示した。抗体応答は、独立ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２中和アッセイによって示されるように中和であった。したがって、一実施形態では、次世代二価ｈＡｄ５　Ｓ－融合物　＋　Ｎ－ＥＴＳＤワクチンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染に対して頑強で耐久性のある細胞媒介及び液性免疫を提供する。さらに、また下記により詳細にさらに記載されるように、ワクチンコンストラクトは、経口、鼻腔内又は舌下に投与され得る。したがって、一実施形態では、本開示はまた、注射用製剤（例えば、ＳＣ又はＩＭ）以外に、経口、鼻腔内、及び舌下製剤中のワクチンコンストラクトを提供して、細胞媒介及び液性免疫に加えて粘膜免疫を誘導する。別の視点から見ると、実質的な免疫は、注射、経口／粘膜投与の単独又は組み合わせにより生成され得る。一実施形態では、本明細書に開示されるＣＯＶＩＤ－１９ワクチンは、長期Ｔ及びＢ細胞記憶を生成する。本明細書での使用に適したさらなる態様、利点及び考察は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、公開番号国際公開第２０２１／１８３６６５号パンフレット（ＰＣＴ／ＵＳ２１／２１７３７）を有する本出願人らの同時係属中の国際出願公開に開示されている。

【００４６】

ヒト（健康なボランティア）におけるプライム及びブーストレジメンにおいて、図３に概略的に示されるような上記アデノウイルスｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチン組成物を使用して、本発明者は、ブースト後のワクチン組成物がＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳ及びＮに対する強力な免疫応答を誘発するだけでなく、ワクチン接種したヒトの抗体が、図４Ａ、図４Ｂ及び図４Ｃに各々例示的に示されるように、他のコロナウイルス、特にＭＥＲＳ－ＣｏＶ、

ＨｃｏＶ－ＨＫＵ１及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対しても有意な交差反応性を有することを発見した。ワクチン接種したボランティアにおける抗体産生の時間経過を観察すると、図４Ｄに見られるように、抗Ｎ抗体が抗Ｓ抗体と比較して急速に増加することが観察された。このような発見は完全に予想外であり、ワクチン中の成分としてのＮの存在に起因し、おそらくＮタンパク質に結合されたＥＴＳＤ配列にも起因し、ＮタンパクをＭＨＣ－ＩＩを介してエンドソーム提示経路に導き、それによって強力なＣＤ４＋応答を誘発する。

【００４７】

これらの結果に続いて、本発明者は次いで、本明細書に提示されるワクチン組成物が、ワクチン接種に応答して、Ｎに対する交差反応性記憶Ｂ細胞も誘発するか否かを同定しようとした。注目すべきことに、ｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチンは、図５の例示的なデータに示されるように、交差反応性記憶Ｂ細胞の産生を再度誘発した。ここで、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＨｃｏＶ－ＨＫＵ１、及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対して交差反応性が観察された。同様に、健康なヒトボランティアを、ｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチンによるプライム及びブーストワクチン接種に供した場合、ワクチンは、図６の例示的なデータに示されるように、記憶Ｂ細胞の形成を誘導した。ここでもまた、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＨｃｏＶ－ＨＫＵ１、及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対して交差反応性が観察された。

【００４８】

次いで、ｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチンが健康なヒトボランティアにおいて交差反応性記憶Ｔ細胞の形成を誘導するか否かを決定するために、さらなる実験セットを実施した。例示的な結果を図７に示す。容易に明らかなように、ワクチンは、野生型変異体に対してだけでなく、広範囲の変異体にわたっても有効であった。

【００４９】

上記の実験データは、プライム及びブースト投与の両方においてｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチンを使用するプロトコルの下で得られたが、本明細書に提示されるワクチン製剤は、プライム又はブーストのいずれかに適していることを理解するべきである。しかしながら、本明細書に提示されるワクチン組成物は、Ｎ－成分を含んでも含まなくてもよいプライム投与後のブースト投与において使用される場合、特に有益であることが特に企図される。したがって、本明細書に提示されるワクチン組成物が後続することができる企図されるプライムワクチン投与は、Ｓタンパク質、Ｓタンパク質の断片（及び特にＳタンパク質のＲＢＤを含む断片）、及び／又はＳタンパク質若しくはその断片の融合タンパク質を標的とするものを含む。

【００５０】

例えば、適切なプライム／ブーストレジメンが図８に概略的に示されており、プライムワクチン接種は、Ｓタンパク質をコードする核酸を含む組換えアデノウイルス（ここでは、Ａｄ２６）を使用する。ブーストワクチン接種は、図３に概略的に示されるように、ｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチンを使用する。或いは、プライムワクチン接種は上記のような組換えウイルスに基づく必要はなく、Ｓ及び／又はＮタンパク質をコードする核酸が脂質担体に結合されて、図９に例示的に示されるような自己増幅自己アジュバントＲＮＡ又はＤＮＡワクチンを形成するＳＡＳＡ型ワクチン組成物を使用してもよい。ＳＡＳＡ型ワクチンは、ナノ粒子ベースのＲＮＡワクチン（例えば、Ｐｆｉｚｅｒ又はＭｏｄｅｒｎａによって提供されるものなど）を超える様々な利点を有する。下記の表は、ナノ粒子ベースのＲＮＡワクチンとは対照的な、ＳＡＳＡ型ワクチンについての例示的な利点を示す。

【００５１】

【表１】

制限	現在のRNAワクチン	ImmunityBio RNAワクチン
保存/流通	低温流通体系を 必要とする	**NLC製剤**は、 室温で数年の保存を 可能にする
効力	回復患者と同様の レベルの免疫を誘発し、 再感染を可能にし得る	**自己複製**RNAは、 効力を増大させ、潜在的な 単発防御を可能にする
免疫の持続時間	中程度の免疫原性は、 短い耐久性に 関連し得る	**自己アジュバントRNA ワクチンプラットフォーム**は、 免疫の持続時間及び 幅を増大させ得る
突然変異体 SARS-CoV-2株に 対する防御	送達ビヒクル内に 封入されたRNA配列は、 新たな株に 適応することを 困難にする	**NLCの外側に装飾された** RNA、遺伝子配列の容易な 交換を可能にする。 多価株によるワクチン接種が 可能であることを証明した。

【００５２】

したがって、本発明者はまた、図１０に例示的に示されるＳＡＳＡプライムワクチン接種、続いて図３に例示的に示されるｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチンを使用する組換えウイルスブーストワクチン接種の使用を企図する。この文脈において、異種プライムブースト（「Ｍｉｘ　ａｎｄ　Ｍａｔｃｈ」）ワクチンレジメンは、ＣＯＶＩＤに対する最も強力で潜在的に最も耐久性のある免疫応答のいくつかを誘発することが示されていることを理解するべきである。特に、ＲＮＡワクチンを用いた「プライム」ワクチンは、強い抗体応答をもたらし、一方、組換えアデノウイルスワクチンを用いた「ブースト」ワクチンは、強い細胞性免疫応答をもたらす。図１０に例示的に概説されるこのようなワクチン戦略は、強力な抗体応答を送達すると考えられる：野生型及びβ変異体の両方に対する強力なＴｈ１抗体、並びに強力な免疫細胞応答：野生型及びβ変異体のＳ及びＮの両方に対する強力なＣＤ８＋Ｔｔ細胞、並びに野生型及びβ変異体のＳ及びＮの両方に対する強力なＣＤ４＋Ｔ細胞。

【００５３】

したがって、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２に対する任意の所与のプライムワクチン接種は、図３に例示的に示されるようなｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチン（又はＮ成分を含む他のワクチン製剤）を使用するブーストワクチン接種で実質的に増強され得ることが企図される。実際、ｈＡｄ５　Ｓ＋Ｎワクチンは、個体がすでにプライム及びブーストワクチン接種（例えば、Ｐｆｉｚｅｒ、Ｍｏｄｅｒｎａ、又はＪｏｈｎｓｏｎ　＆　Ｊｏｈｎｓｏｎワクチン）を受けている場合にも適していると考えられる。このような追加のブーストは、交差反応性並びに記憶Ｂ及び記憶Ｔ細胞形成に関して同じ利点を与えると考えられる。

【００５４】

本発明の主題のさらに企図される態様では、特に組換えＳ及び／又はＮタンパク質が酵母又は別の適切な発現系において発現される場合、組換えタンパク質は、サブユニットワクチンとしてアジュバント３Ｍ－０５２－Ａｌｕｍ（ＩＤＲＩ及び３Ｍによって開発された）と組み合わせることができる。予想外に観察されたように、３Ｍ－０５２－Ａｌｕｍアジュバントも、他のＳＡＲＳ－ＣｏＶ変異体及び他のコロナウイルスに対してさえも有意な交差反応性を誘発した。したがって、本明細書に提示されるＮ／Ｎ－ＥＴＳＤ及びＳ／Ｓ融合配列は、３Ｍ－０５２－Ａｌｕｍアジュバントを有するそのようなサブユニット

ワクチンについて特に企図される。

【００５５】

普遍的ＣＯＶＩＤワクチンについてのＢ及びＴ細胞交差反応性の重要な新事実を図１１に示す。Ｈｉｃｋｓ Ｊら（参照により本明細書に組み込まれるＳｅｒｏｌｏｇｉｃ ｃｒｏｓｓ－ｒｅａｃｔｉｖｉｔｙ ｏｆ ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ ｗｉｔｈ ｅｎｄｅｍｉｃ ａｎｄ ｓｅａｓｏｎａｌ Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓｅｓ．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０２１ Ｍａｒ １６）は、ヒトに疾患を引き起こす他の４つのベータコロナウイルス、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３及びＨＣｏＶ－ＨＫＵ１の完全なスパイクタンパク質とＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗体との交差反応性の可能性を開示している。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する抗体の、他の４つのコロナウイルスに対する潜在的な交差反応性が存在し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２とＳＡＲＳ ／ＭＥＲＳ－ＣｏＶ抗体との間で最も強い交差認識がある（これらの各々のスパイクタンパク質の配列相同性に基づいて予想されるように）ことが見出された。

【００５６】

本明細書に開示される結果は、第２世代ワクチン中に非スパイク抗原を含めることを支持する。特に、感冒コロナウイルスによって誘導されるＴ細胞は、ＳＡＲＳ－ＣＯＶ２感染に対して防御的役割を果たす。これらのＴ細胞は、ウイルスの表面上のスパイクタンパク質ではなく、ウイルス内のタンパク質を攻撃することによって防御を提供する。スパイクタンパク質は、ワクチン逃避変異体の進化を駆動するワクチン誘導抗体からの強い免疫圧力下にある。対照的に、Ｔ細胞が標的とする内部タンパク質の突然変異は、はるかに少ない。その結果、それらは、オミクロンを含む様々なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２変異体間で高度に保存される。したがって、広範な防御性Ｔ細胞応答を誘導する本開示のワクチンは、現在及び将来のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２変異体に対するより良好な防御を提供する。

【００５７】

図１２は、普遍的第２世代ワクチンのための長期記憶Ｂ及びＴ細胞を誘導するために、Ｓ＋Ｎの両方が存在する必要性を検証する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染患者は、抗体を有さない交差反応性Ｔ細胞によって防御される。ｈＡｄ５ Ｓ＋Ｎワクチン接種は、ＮＨＰでのウイルス攻撃後に完全防御を伴う記憶Ｂ細胞を誘導する。ｈＡｄ５ Ｓ＋Ｎワクチン接種は、健康な対象においてＴ細胞及び交差反応性記憶Ｂ細胞の両方を誘導する。Ｔ細胞応答の生成におけるＮの重要性は、図１３にさらに開示されている。この図から分かるように、本明細書に開示されるｈＡｄ５ Ｓ＋Ｎワクチンプライム＋ブーストスケジュールは、スパイクベースのワクチンと比較して、より良好でより長い防御を提供する。結果として、本発明者らは、驚くべきことに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２のＳ及びＮの両方を標的とする本明細書に提示されるワクチン組成物が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２に加えて、様々な他のコロナウイルス、特にＳＡＲＳ－ＣｏＶ１、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＯＣ４３－ＣｏＶ及びＨＫＵ１－ＣｏＶに対する予想外の交差反応性を示すことを見出した。

【実施例】

【００５８】

本開示の実施形態は、以下の実施例においてさらに説明される。実施例は単なる例示であり、特許請求される本発明の範囲を決して限定しない。

【００５９】

実施例１

実施された実験及び提示されたデータに関して、周知のプロトコルに加えて、以下の試薬及び方法を使用した。

【００６０】

ペプチドプール（Ｐｅｐｍｉｘ（商標））：１１アミノ酸が重複し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（Ｗｕｈａｎ、Ａｌｐｈａ、Ｅｐｓｉｌｏｎ、Ｇａｍｍａ及びＢｅｔａ）のスパイクの全タンパク質配列にわたる１５量体ペプチドを、ＪＰＴ（ＪＰＴ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ＧｍｂＨ、Ｂｅｒｌｉｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）から購入した。

【００６１】

ＥＬＩＳｐｏｔアッセイ：ＥＬＩＳｐｏｔプレートをヒトＩＦＮγ及びＩＬ－４抗体（ＩｍｍｕｎｏＳｐｏｔ、Ｃｌｅｖｅｌａｎｄ，ＵＳＡ）で４℃で一晩被覆した。次いで、ウェルあたり３００，０００個のＰＢＭＣを播種し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｐｅｐｍｉｘ（商標）（２．５μｇ／ｍｌ／ペプチド、ＪＰＴ、Ｇｅｒｍａｎｙ）で４４～４８時間刺激し、続いて、プレートをキットの説明書（ｈＩＦＮｇＩＬ４－２Ｍ／２、Ｉｍｍｕｎｏｓｐｏｔ）に従って展開した。プレートをスキャンし、ＩｍｍｕｎｏＳｐｏｔ　ＭｕｌｔｉＳｅｔ　ＡｕｔｏＣｏｕｎｔ（商標）ソフトウェアを備えたＩｍｍｕｎｏＳｐｏｔ　Ｓ６　Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ－Ｖ　Ａｎａｌｙｚｅｒを用いてスポット形成単位（ＳＦＵ）を定量した。

【００６２】

実施例２：サイトメトリービーズアレイの生成

ビーズとストレプトアビジンとのコンジュゲーション：この分析に使用したサイトメトリービーズアレイ（ＣＢＡ）は、スフェロテック４ｕｍ及び５ｕｍカルボキシブルーパクアレイキット（各々、ｃａｔ　ＰＡＫ－４０６７－８Ｋ及びＰＡＫ－５０６７－１０Ｋ）を使用して構築した。最初に、一般的に使用される１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣ）化学を介して、ストレプトアビジン（ＳＡ）をビーズにコンジュゲーすることによって、ビーズを官能化した。ＳＡ（サザンバイオテックｃａｔ　７１０５－０１）を、ｐｄ－１０カラム（Ｃｙｔｉｖａ　１７－０８５１－０１）を用いてＰＢＳ中に緩衝交換し、２ｍｇ／ｍＬに希釈した。コンジュゲーションのために、１０ｅ８スフェロテック粒子を１０，０００Ｘｇで３分間の遠心分離によって単離した。上清を注意深く除去した後、ビーズペレットをＰＢＳ中の０．５ｍｌのＳＡに再懸濁した。ピペッティングによる完全な再懸濁の後、０．０５Ｍ　ＭＥＳ緩衝液ＰＨ　５．０に溶解した６ｍＭ　ＥＤＣ　０．５ｍｌを添加し、反応混合物を室温で一晩回転させた。コンジュゲーション反応が完了した後、０．１ｍＬの１Ｍ　ｔｒｉｓ　ＰＨ　８．０を加えて反応をクエンチした。室温で回転する１時間のインキュベーションの後、ビーズを上述のように遠心分離によって回収し、１ｍＬのＰＢＳ中で２回洗浄した。最終洗浄後、０．２５％ＮａＮ３を含む１ｍＬのＰＢＳにビーズを再懸濁し、使用するまで４℃で保存した。

【００６３】

ＳＡ負荷品質保証：ＳＡコンジュゲーションに続いて、ＳＡコンジュゲート粒子を蛍光標識ビオチン化ヘマグルチニン（ＰＲ８）で染色することによる標識の程度及び均一性（複数の粒子サイズ及び／又はピーク同一性が使用される場合）を決定するために品質管理実験を実施した。個々のアレイ成分を混合し、１ｍＬあたり各粒子１ｅ６に希釈した。ＰＲ８の連続希釈物４０ｍｌを、１ｕｇ／ｍＬ～２ｎｇ／ｍＬの範囲で９６ウェルＵ底プレート（ｃｏｓｔａｒ　３７９７）中で調製した。ビーズ懸濁液５ｍｌを加え、ピペッティングにより混合し、室温で１５分間インキュベートした。ＰＢＳ２００ｍｌを加え、プレートを３０００Ｘｇで５分間遠心分離した。ビーズをＰＢＳ　８０ｍｌに再懸濁した。次いで、サンプルをフローサイトメトリーによって分析した。

【００６４】

組換え抗原吸収：上述したＳＡ結合及び品質管理手順に続いて、ビオチン化組換えアレイ抗原を個々の粒子上に受動的に吸収させた。このアレイ構成で使用される抗原の場合、単一のビオチン部位をカルボキシ末端ＡＶＩタグ上に酵素的に加えた。ＳＡコンジュゲート粒子を、上述したように遠心分離によって回収し、ＰＢＳ中の１％　ＢＳＡ中の１ｍｇ／ｍＬのビオチン化組換えタンパク質に再懸濁した。抗原負荷は、４℃で一晩回転させることによって行った。吸収後、ビーズを記載のように遠心分離により回収し、ＰＢＳ中１％　ＢＳＡで２回洗浄した。最後に、抗原で被覆されたビーズを、ＰＢＳ、０．２５％ＮａＮ３中１％　ＢＳＡ中１ｅ８粒子／ｍＬで再懸濁し、使用するまで４℃で保存した。

【００６５】

Ｉｇ標準：間接標準ビーズを構築するために、各アイソタイプについて選択したビーズピークを合わせ、ビオチン化ヤギ抗Ｉｓｏｔｙｐｅ　Ｆ（ａｂ）２　ａｂ（Ｓｏｕｔｈｅ

ｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ：抗ＩｇＭ　２０２２－０１、抗ＩｇＡ　２０５２－０１、及び抗ＩｇＧ　２０４２－０１）を１ｍｇ／ｍＬの濃度で添加した。標準ビーズ調製物を洗浄し、回収し、抗原被覆ビーズについて記載したように保存した。

【００６６】

実施例３：組換え抗原の生成

ＣＢＡにおいて使用される組換え抗原：このアレイ中で使用される組換え抗原は、インフルエンザＨ１　Ｃａ０９ヘマグルチニン（ＨＡ）及びｂ－コロナウイルス（ＣｏＶ）スパイク（ＳＰ）、スパイクサブドメイン（受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）及びＮ末端ドメイン（ＮＴＤ））、並びにヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）を含む。組換えＣｏＶ　Ｓ及びＮタンパク質は、５種の既知のヒト感染性ｂ－コロナウイルスに由来する配列から生成された。これらには、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（Ｃと略記）、ＳＡＲＳ１（Ｓと略記）、ＭＥＲＳ（Ｍと略記）、ＯＣ４３（Ｏと略記）、及びＨＫＵ１（Ｈと略記）のＷｕｈａｎ／Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ株が含まれる。ＲＢＤ及びＮＴＤ　ＳＰサブドメインは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＷｕｈａｎ／Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ株に由来する配列から産生された。インフルエンザヘマグルチニンタンパク質は、配列番号２６のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。

【００６７】

プレ融合組換えスパイク（ＳＰ）タンパク質の産生：外部ドメインＳＰプレ融合三量体（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ１４－１２１１）を、ＳＰ－Ａｖｉタグ及びＳＰ－６Ｘ－Ｈｉｓタグコンストラクトを１：２の比でＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　２９３－Ｆ細胞に共トランスフェクトすることによって産生した。トランスフェクトした細胞をＦｒｅｅＳｔｙｌｅ２９３培地中で３日間培養し、ニッケルアフィニティークロマトグラフィーを用いてＦＰＬＣにより培養上清から組換えＳＰ三量体を精製した。精製したタンパク質を、ＢｉｒＡ酵素を用いてインビトロでビオチン化した。

【００６８】

ＣｏＶスパイク（ＳＰ）外部ドメインに関して、ＡＶＩタグを有するＳＡＲＳ１－ＣｏＶスパイク外部ドメイン（Ｓ　ＳＰ）は、配列番号８のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。Ｓ　ＳＰ　６Ｈｉｓタンパク質は、配列番号９のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＡＶＩタグを有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイク外部ドメイン（ＣＳＰ）は、配列番号１０のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。Ｃ　ＳＰ　６　Ｈｉｓタグタンパク質は、配列番号１１のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＭＥＲＳスパイク外部ドメイン（Ｍ　ＳＰ）６Ｈｉｓタグタンパク質は、配列番号１２のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。Ｍ　ＳＰ　ＡＶＩタグタンパク質は、配列番号１３のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＯＣ４３スパイク外部ドメイン（Ｏ　ＳＰ）６Ｈｉｓタグタンパク質は、配列番号１４のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＯＣ４３スパイク外部ドメイン（Ｏ　ＳＰ）６Ｈｉｓタグタンパク質は、配列番号１５のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＨＫＵ１スパイク外部ドメ

インＨ　ＳＰ）６Ｈｉｓタグタンパク質は、配列番号１６のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。Ｈ　ＳＰ　Ａｖｉタグタンパク質は、配列番号１７のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。

【００６９】

Ｓサブドメインの生成：Ｃ末端二重Ａｖｉタグ／６Ｘ－Ｈｉｓタグ配列を有するＮＴＤ（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ$_{14-305}$）及びＲＢＤ（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ$_{319-541}$）モノマーを、単一コンストラクトをＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　２９３－Ｆ細胞にトランスフェクトすることによって生成した。３日間の発現後、ニッケルアフィニティークロマトグラフィーを用いてＦＰＬＣにより培養上清からサブドメインを精製し、ＢｉｒＡの添加によりインビトロでビオチン化した。

【００７０】

スパイクサブドメインに関して、ＡＶＩタグを有するＳａｒｓ－ＣｏＶ－２受容体結合ドメイン（Ｃ　ＲＢＤ）６ＨＩＳは、配列番号１８のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。Ｓａｒｓ－ＣｏＶ－２　Ｎ末端ドメイン（Ｃ　ＮＴＤ）は、配列番号１９のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＳＡＲＳ１－ＣｏＶ受容体結合ドメイン（ＳＲＢＤ）６ＨＩＳ　ＡＶＩタグタンパク質は、配列番号２０のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。

【００７１】

ＣｏＶヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ）の生成：全長Ｎ及びタンデムＡｖｉタグ／６Ｘ－Ｈｉｓタグ配列を含有する組換えＮを、Ｎ発現プラスミド及び誘導性ＢｉｒＡ発現プラスミドでＲｏｓｅｔｔａ細胞を共形質転換することによって生成した。クロラムフェニコール、アンピシリン及びストレプトマイシンの存在下で細胞を増殖させ、ＩＰＴＧで誘導し、ビオチンを補充した。ビオチン化Ｎタンパク質を、ニッケルアフィニティーカラム及びその後のサイズ排除クロマトグラフィーを用いてＦＰＬＣにより精製した。

【００７２】

Ｎタンパク質に関して、ＳＡＲＳ－ＣｏＶヌクレオカプシドタンパク質（Ｓ　ＮＰ）６ＨＩＳ　ＡＶＩタグは、配列番号２１のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシドタンパク質（Ｃ　ＮＰ）６ＨＩＳ　ＡＶＩタグは、配列番号２２のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＭＥＲＳヌクレオカプシドタンパク質（Ｍ　ＮＰ）６ＨＩＳ　ＡＶＩタグは、配列番号２３のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＯＣ４３ヌクレオカプシドタンパク質（Ｏ　ＮＰ）６ＨＩＳ　ＡＶＩタグは、配列番号２４のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。ＨＫＵ１ヌクレオカプシドタンパク質（Ｈ　ＮＰ）６ＨＩＳ　ＡＶＩタグは、配列番号２５のポリペプチドに対して少なくとも約８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有することが企図される。

【００７３】

抗体及び標準：ＩＧ蛍光ヤギポリクローナル抗ＩＧ　Ｆ（ａｂ’）２二次抗体の検出、

ＳｏｕｔｈｅｒｎＢｉｏｔｅｃｈ（ＩｇＭ ｃａｔ ２０２２－０２、ＩｇＧ ｃａｔ＃ ２０６２－０９、ＩｇＡ ｃａｔ＃ ２０５２－０９）アイソタイプ標準を、１ｕｇ／ｍＬ～１．３ｎｇ／ｍＬの範囲の精製ヒト抗体サザンバイオテック（ＩｇＧ ｃａｔ＃ ０１５０－０１、ＩｇＭ ｃａｔ＃ ０１５８Ｌ－０１、ＩｇＡ ｃａｔ＃ ０１５５Ｌ－０１）の０．７５ｘ連続希釈物とＩＧ捕捉ビーズとの混合物に対してアレイを実施することによって作製した。

【００７４】

実施例４：ＣＢＡアッセイ

血清サンプルをＰＢＳ中に希釈し（ＩｇＧ検出については１／７１５０、又はＩｇＭ及びＩｇＡ検出については１／５００）、９６ウェルｕ底プレート中にアレイ化した。５×１ｅ５の各抗原被覆微粒子を含有する５μｌの懸濁液をサンプルに添加した。Ｉｇ標準の場合、抗ＩｇＭ、抗ＩｇＡ、及び抗ＩｇＧビーズを標準Ａｂの連続希釈物５０ｍｌに添加した。懸濁液をピペッティングにより混合し、室温で１５分間インキュベートした。２００μｌのＰＢＳを加えてビーズを洗浄し、室温で５分間３０００ｇで遠心分離した。ＣＢＡ粒子を、ＰＢＳ中１％ ＢＳＡで１／４００に希釈した適切な二次からなる二次染色溶液に再懸濁した。懸濁液を暗所内で室温で１５分間インキュベートした。ビーズを２００μｌのＰＢＳの添加により洗浄し、室温で５分間３０００ｇでの遠心分離によりペレット化した。粒子を８０μｌのＰＢＳに再懸濁し、ＢＤ Ｃｙｔｏｆｌｅｘフローサイトメーターでプレートモードで１００ｍｌ／分のサンプル速度で直接分析した。７５μＬの取得後、サンプル収集を停止した。取得後、得られたＦＣＳファイルを、以下に記載するソフトウェアを用いて処理した。

【００７５】

実施例５：サンプル分析

ＦＣＳ処理：サンプルから得られたＦＣＳファイルを、カスタムソフトウェアを用いてＦＣＳファイルを自動的に処理して、血清サンプルの抗体反応性を迅速に定量して分析した。このソフトウェアは、ＭａｃＯＳ上のＭａｔｌａｂ（Ｔｈｅ Ｍａｔｈｗｏｒｋｓ，Ｉｎｃ．Ｎａｔｉｃｋ ＭＡ，ＵＳＡ）バージョンＲ２０２０ａで開発された。これには、Ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ ａｎｄ Ｍａｃｈｉｎｅ Ｌｅａｒｎｉｎｇ Ｔｏｏｌｂｏｘ、Ｃｕｒｖｅ Ｆｉｔｔｉｎｇ Ｔｏｏｌｂｏｘ、Ｓｉｇｎａｌ Ｐｒｏｃｅｓｓｉｎｇ Ｔｏｏｌｂｏｘ、及びＭａｔｌａｂ Ｃｅｎｔｒａｌ（ｗｗｗ．ｍａｔｈｗｏｒｋｓ．ｃｏｍ／ｍａｔｌａｂｃｅｎｔｒａｌ／）の追加コードが必要である。

【００７６】

濃度決定：ＭＦＩデータはＦＣＳファイルから抽出され、双曲線アークサインを使用して変換される。次に、前方散乱対側方散乱プロットを使用して、ＡＰＣ－ｃｙ７チャネルにおける異なるサイズのビーズ及び強度を点の密度として区別する。これらは自動的に検出され、これらのゲート内の事象は、ビーズの別個の集団として注釈付けされる。最後に、各ビーズゲートからの事象を、二次アイソタイプフローチャネルｒ各ビーズ特徴及びアイソタイプ上で評価する。

【００７７】

各アイソタイプ及びビーズサイズについての標準サンプルを同様に処理し、得られたデータを使用して、各ビーズサイズ／アイソタイプ／希釈について４パラメータロジスティック（４ＰＬ）フィットを計算する。最後に、４ＰＬフィットを使用して、アレイ内の全ての特徴について計算されたＩｇ濃度データを含む単一の表形式テキストファイルとして、データセット全体にわたってＭＦＩデータの濃度単位を逆計算する。

【００７８】

いくつかの実施形態では、本発明の特定の実施形態を説明し、特許請求するために使用される、成分の量、濃度、反応条件などの特性を表す数字は、いくつかの例では、「約」という用語によって修正されるものとして理解されるべきである。したがって、いくつかの実施形態では、記載された説明及び添付の特許請求の範囲に示される数値パラメータは、特定の実施形態によって得ようとする所望の特性に応じて変化し得る近似値である。本

明細書における値の範囲の列挙は、単に、その範囲内に入る各別個の値を個々に参照する簡潔な方法としての役割を果たすことを意図している。本明細書に別段の指示がない限り、各個々の値は、あたかも本明細書に個々に列挙されているかのように、本明細書に組み込まれる。

【００７９】

本明細書で使用される場合、医薬組成物又は薬物を「投与する」という用語は、医薬組成物又は薬物の直接的及び間接的投与の両方を指し、医薬組成物又は薬物の直接的投与は、典型的には、医療専門家（例えば、医師、看護師など）によって行われ、間接的投与は、医薬組成物又は薬物を直接的投与（例えば、注射、注入、経口送達、局所送達などによる）のために医療専門家に提供又は利用可能にする工程を含む。状態、疾患の発症に対する感受性、又は意図される治療に対する応答を「予測する」又は「予測すること」という用語は、対象における状態の進行、改善、及び／又は持続の速度を含む、状態、感受性、及び／又は応答を予測する行為又は予測（治療又は診断ではない）をカバーすることを意図することにさらに留意するべきである。

【００８０】

本明細書で記載した全ての方法は、本明細書に別段の指示がない限り、又は、明らかに文脈に矛盾しない限り、任意の適切な順序で行われ得る。本明細書の特定の実施形態に関して提供される任意の及び全ての例、又は例示的な言語（例えば、「など」）の使用は、単に、本発明をより良く明示することを意図し、さもなければ特許請求される本発明の範囲を限定するものではない。明細書中のいかなる言語も、本発明の実施に不可欠な、特許請求されない任意の要素を示すものと解釈されるべきではない。

【００８１】

本明細書の説明及び以下の特許請求の範囲全体で使用される場合、「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」の意味は、文脈が明らかに別段の指示をしない限り、複数の参照を含む。また、本明細書の説明で使用される場合、「ｉｎ」の意味は、文脈が明確に別段の指示をしない限り、「ｉｎ」及び「ｏｎ」を含む。また、本明細書で使用されるように、文脈が別段の指示をしない限り、用語「～に結合される」は、直接結合（互いに結合される２つの要素が互いに接触する）及び間接結合（少なくとも１つの追加の要素が２つの要素の間に位置する）の両方を含むことが意図される。したがって、「～に結合される」及び「～と結合される」という用語は、同義的に使用される。

【００８２】

当業者には、本明細書の発明概念から逸脱することなく、既に説明したもの以外のさらに多くの変更が可能であることが明らかであろう。したがって、本発明の主題は、添付の特許請求の範囲を除いて、限定されるべきではない。さらに、明細書及び特許請求の範囲の両方を解釈する際に、全ての用語は、文脈と矛盾しない可能な限り広い方法で解釈されるべきである。特に、用語「含む」及び「含むこと」は、非排他的な方法で要素、成分、又は工程を指すものとして解釈されるべきであり、参照された要素、成分、又は工程が明示的に参照されていない他の要素、成分、又は工程が存在し、利用され、又は組み合わされ得ることを示す。明細書又は特許請求の範囲がＡ、Ｂ、Ｃ．．．及びＮからなる群から選択されるものの少なくとも１つに言及している場合、文章は、Ａ＋Ｎ、又はＢ＋Ｎなどではなく、群からの１つの要素のみを必要とするとして解釈されるべきである。

【図面】

【図１－１】

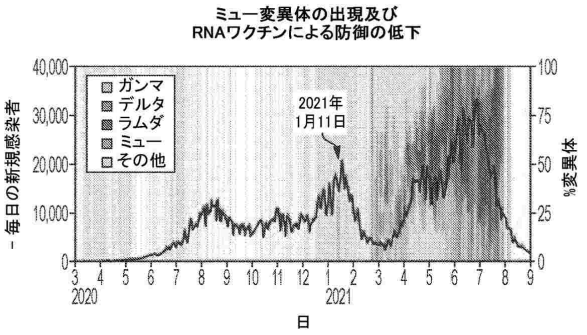


図1A
先行技術

【図１－２】

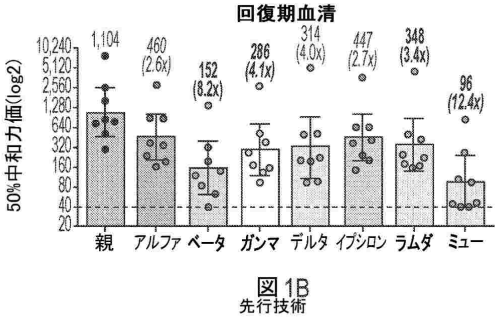


図1B
先行技術

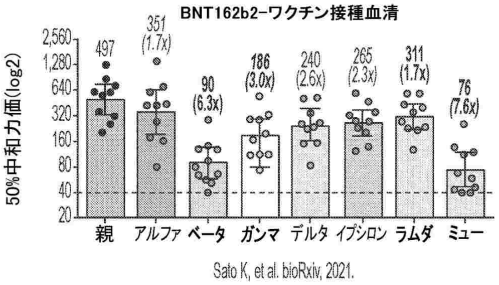


図1C
先行技術

【図２】

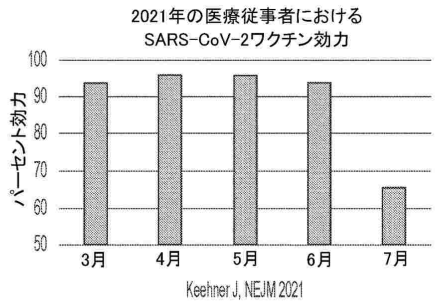


図2
先行技術

【図３】

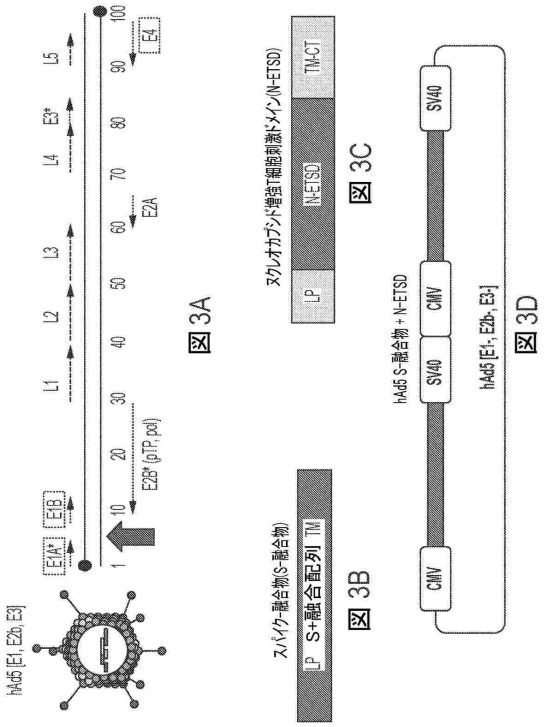


図3A
図3B
図3C
図3D

【図４－１】

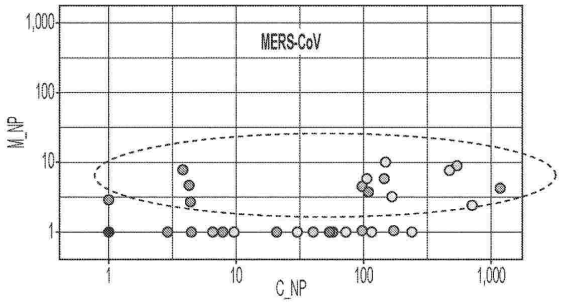


図4A

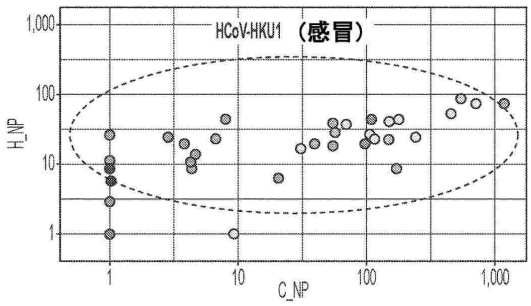


図4B

【図４－２】

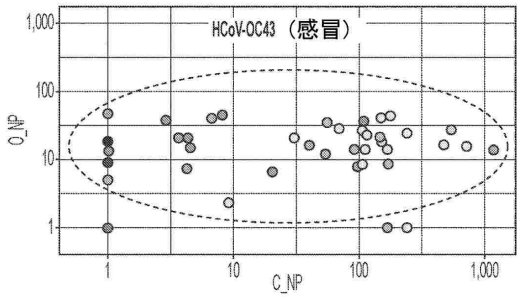


図4C

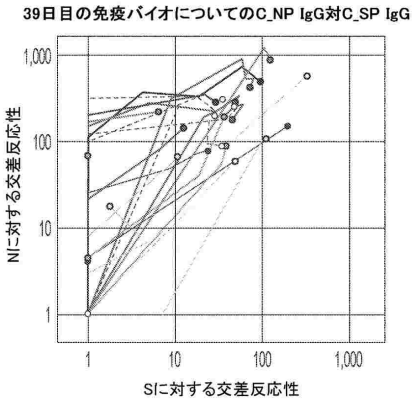


図4D

【図５】

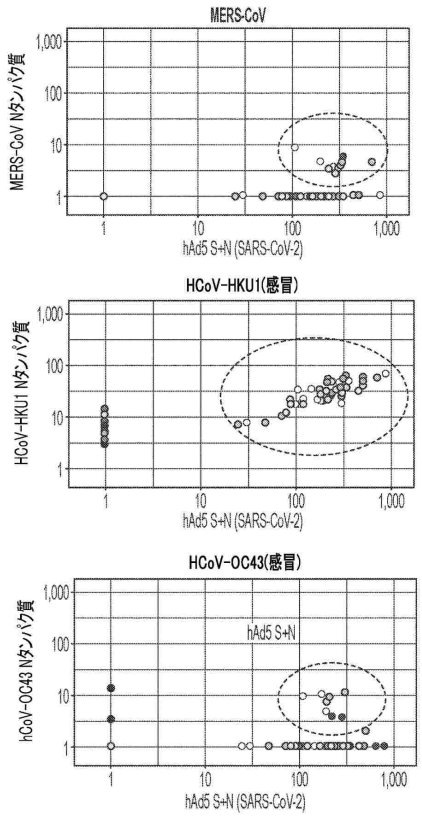


図5

【図６】

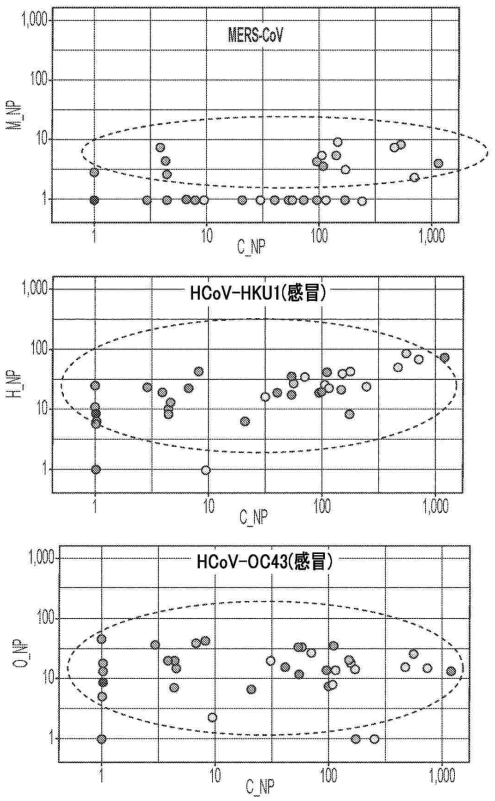


図6

【図７】

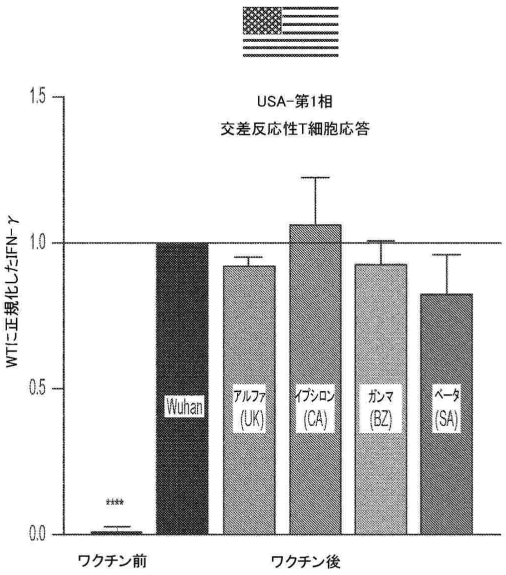


図7

【図８】

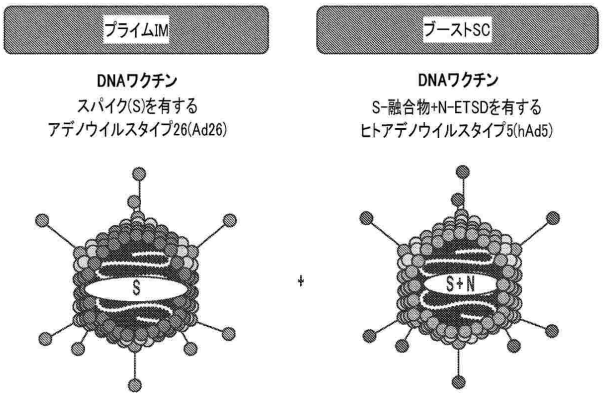


図8

【図９】

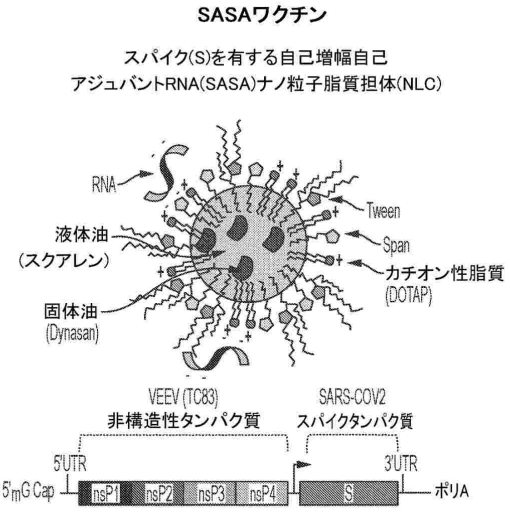


図9

【図１０】

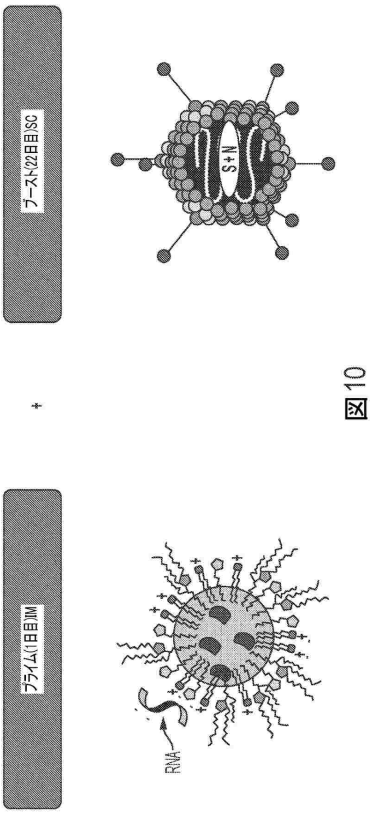


図10

【図１１】

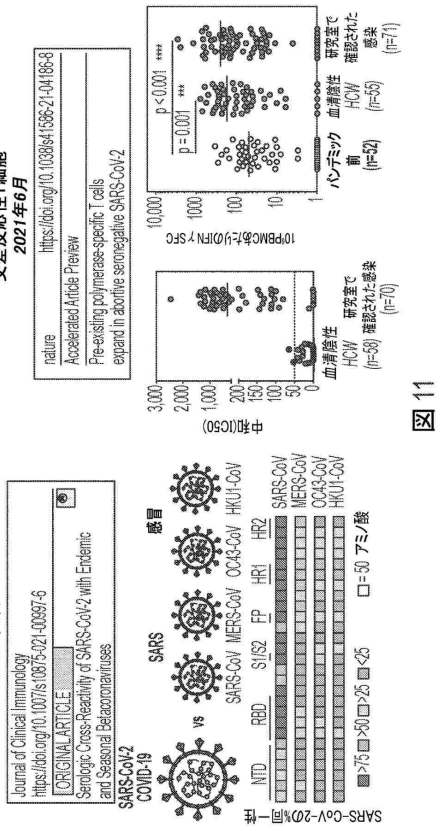


図１１

【図１２－１】

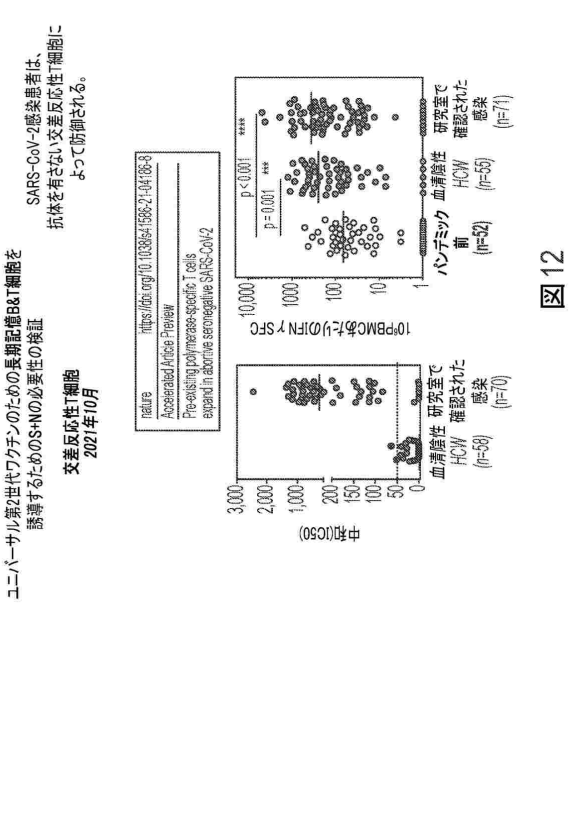


図１２

【図１２－２】

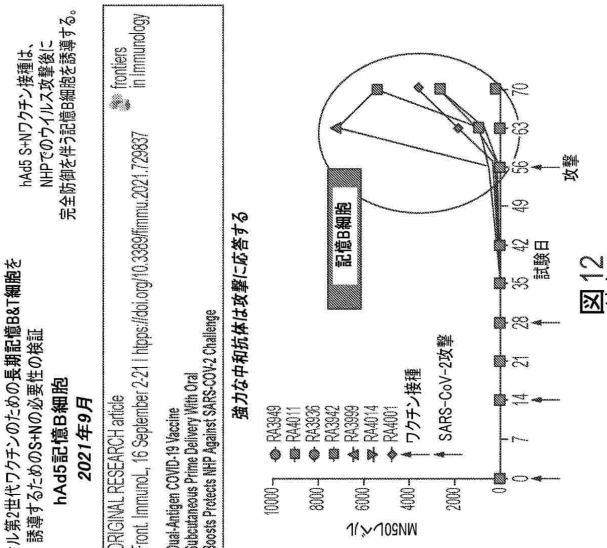


図１２
続き

【図１２－３】

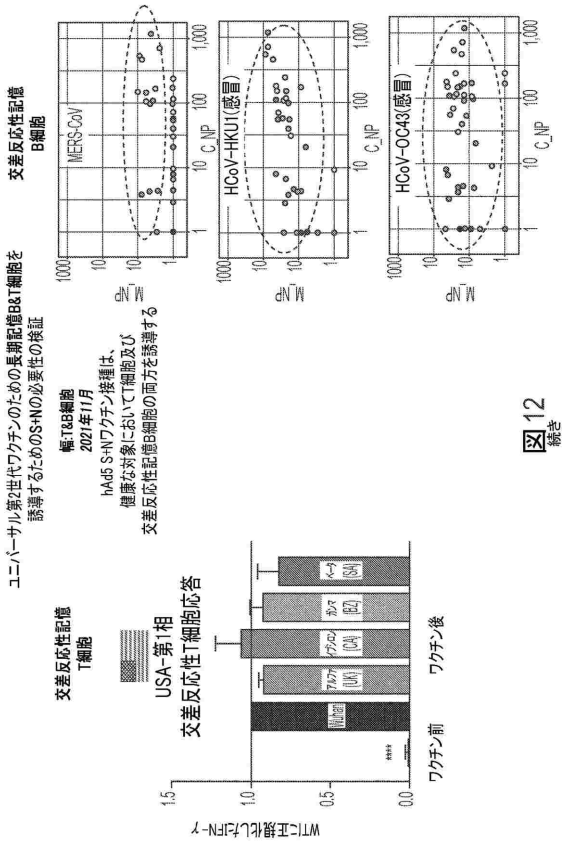


図１２
続き

【図１３－１】

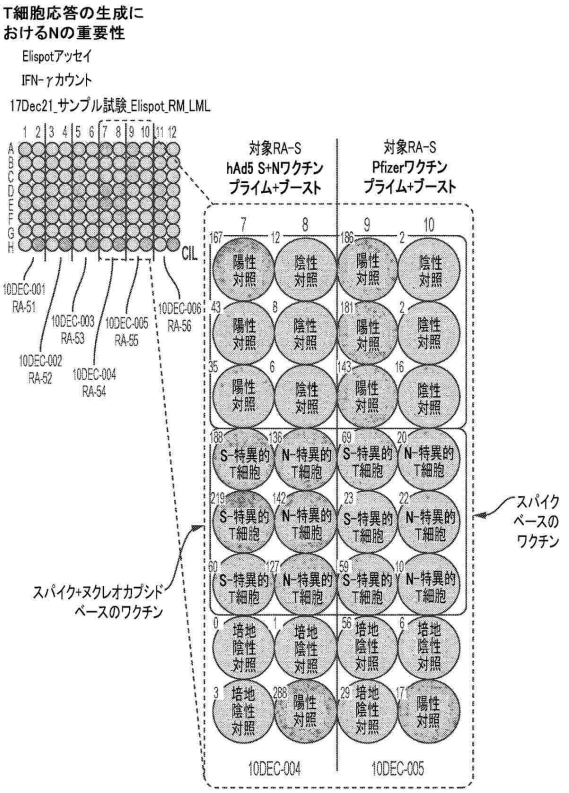


図13

【図１３－２】

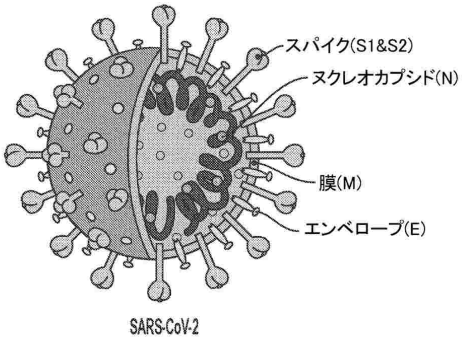


図13
続き

【配列表】

<u>2024543954000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/080561

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/215(2006.01)i; **A61P 31/14**(2006.01)i

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 39/215(2006.01); C07K 14/005(2006.01); C12N 15/62(2006.01)

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

Korean utility models and applications for utility models
Japanese utility models and applications for utility models

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

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: vaccine, immune response, coronavirus, SARS, N-ETSD, spike protein, SARS-CoV2, cross-reactivity

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021-183665 A1 (NANT HOLDINGS IP, LLC) 16 September 2021 (2021-09-16) abstract; and claim 1	53,54
A	BATES, T. A. et al., `Cross-reactivity of SARS-CoV structural protein antibodies against SARS-CoV-2`, Cell Reports, 16 February 2021, Vol.34, Article 108737, pages 1-17 the whole document	53,54
A	MIN, L. et al., `Antibodies and Vaccines Target RBD of SARS-CoV-2`, Frontiers in Molecular Biosciences, 22 April 2021, Vol.8, Article 671633, pages 1-9 the whole document	53,54
A	MENDONCA, S. A. et al., `Adenoviral vector vaccine platforms in the SARS-CoV-2 pandemic`, NPJ Vaccines, Epub. 05 August 2021, Vol.6, Article 97, pages 1-14 the whole document	53,54
A	GROBBEN, M. et al., `Cross-reactive antibodies after SARS-CoV-2 infection and vaccination`, eLife, 23 November 2021, Vol.10, Article e70330, pages 1-20 the whole document	53,54

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
12 April 2023	**12 April 2023**
Name and mailing address of the ISA/KR **Korean Intellectual Property Office** **189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon** **35208, Republic of Korea** Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Authorized officer **HEO, Joo Hyung** Telephone No. **+82-42-481-5373**

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/080561

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

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

International application No.
PCT/US2022/080561

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

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

1. ☑ Claims Nos.: **1-52**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 1-52 are directed to a treatment method of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv), to search.

2. ☑ Claims Nos.: **8-12,14-16,20,22,24,26,28-31,36-40,48,50,52**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claims 8-12, 14-16, 20, 22, 24, 26, 28-31, 36-40, 48, 50, 52 are unclear since they are referring to the multiple dependent claims which do not comply with PCT Rule 6.4(a).

3. ☑ Claims Nos.: **4-7,19,21,23,25,27,35,47,49,51**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2022/080561

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2021-183665 A1	16 September 2021	AU 2021-236141 A1	16 September 2021
		CA 3170513 A1	16 September 2021
		CN 115244077 A	25 October 2022
		CN 115552011 A	30 December 2022
		EP 4118109 A1	18 January 2023
		EP 4118210 A1	18 January 2023
		KR 10-2022-0154163 A	21 November 2022
		US 2021-0283245 A1	16 September 2021
		US 2021-0284713 A1	16 September 2021
		US 2021-0284716 A1	16 September 2021
		US 2022-0023415 A1	27 January 2022
		WO 2021-183717 A1	16 September 2021
		WO 2021-211691 A1	21 October 2021
		WO 2022-018528 A1	27 January 2022

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

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）
Ｃ０７Ｋ　19/00　(2006.01)	Ｃ０７Ｋ　19/00	

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,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,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ｍａｃＯＳ

バー、シティ、ジェファーソン、ブルバード、９９２０

Ｆターム（参考）　4C085　AA03 AA38 BA71 BA77 DD62 GG02 GG03 GG04

4H045　AA11 AA30 BA10 BA41 DA86 EA31 FA74