(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년05월28일
(11) 등록번호 10-2813425
(24) 등록일자 2025년05월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/215 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) *C07K 14/005* (2006.01)
C12N 15/88 (2017.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/215 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7040676
(22) 출원일자(국제) 2021년04월16일
심사청구일자 2024년04월05일
(85) 번역문제출일자 2022년11월21일
(65) 공개번호 10-2023-0015350
(43) 공개일자 2023년01월31일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/059947
(87) 국제공개번호 WO 2021/213924
국제공개일자 2021년10월28일
(30) 우선권주장
PCT/EP2020/061239 2020년04월22일
유럽특허청(EPO)(EP)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020230015350 A*
WO2020261156 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
바이오엔테크 에스이
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12
(72) 발명자
사힌, 우구르
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
귈러, 알프테킨
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
박장원

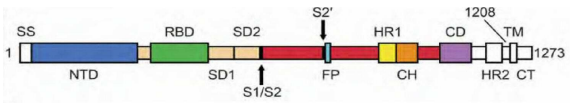
전체 청구항 수 : 총 73 항 심사관 : 이동욱

(54) 발명의 명칭 **코로나바이러스 백신**

(57) 요 약

본 개시내용은 코로나바이러스 감염을 예방하거나 치료하기 위한 RNA 분야에 관한 것이다. 특히, 본 개시내용은 코로나바이러스 감염에 대한 백신접종 및 항체 및/또는 T 세포 반응과 같은 효과적인 코로나바이러스 항원-특이적 면역 반응을 유도하기 위한 방법 및 작용제에 관한 것이다. 구체적으로, 일 구체예에서, 본 개시내용은 코로나바이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2의 S 단백질에 대해 면역 반응을 유도하기 위한 SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 에피토프를 포함하는 펩타이드 또는 단백질을 인코딩하는 RNA, 즉 백신 항원을 인코딩하는 백신 RNA를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C07K 14/005 (2013.01)
C12N 15/88 (2013.01)
A61K 2039/53 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
A61K 2039/55555 (2013.01)
C12N 2770/20034 (2013.01)
C12N 2840/00 (2013.01)

(72) 발명자
쿤, 안드레아스
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
무이크, 알렉산더
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
포겔, 아네트
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
발저, 커스틴
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
비첼, 소냐
독일 55131 마인츠 프라일리그라트슈트라쎄 12 트론-트란슬라셔날레 온콜로기 안 데어 유니버시태츠메디진 데어 요하네스 구텐베르크-유니버시태트 마인츠 게마인뉘치게 게엠베하 내
하인, 스테파니
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내
튀레치, 외즐렘
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 내

(30) 우선권주장
PCT/EP2020/066968 2020년06월18일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/068174 2020년06월26일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/069805 2020년07월13일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/071733 2020년07월31일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/071839 2020년08월03일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/073668 2020년08월24일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/081544 2020년11월09일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/081981 2020년11월12일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/082601 2020년11월18일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/082989 2020년11월20일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/083435 2020년11월25일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/084342 2020년12월02일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/085145 2020년12월08일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/085653 2020년12월10일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2020/087844 2020년12월23일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2021/050027 2021년01월04일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2021/050874 2021년01월15일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2021/050875 2021년01월15일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2021/051772 2021년01월26일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2021/052572 2021년02월03일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2021/052716 2021년02월04일 유럽특허청(EPO)(EP)
PCT/EP2021/054622 2021년02월24일 유럽특허청(EPO)(EP)

명 세 서

청구범위

청구항 1

SARS-CoV-2 감염을 예방하거나 치료하기 위한, 변형된 우리딘을 포함하는 SEQ ID NO: 9의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 RNA를 포함하는 약학적 조성물로서,

변형된 우리딘은 N1-메틸-슈도우리딘인, 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, RNA는 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG이거나 이를 포함하는 5'-캡을 포함하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

RNA는 폴리A 서열을 포함하고,

폴리A 서열은 30개의 아데닌 뉴클레오타이드에 이어 70개의 아데닌 뉴클레오타이드를 포함하고,

30개의 아데닌 뉴클레오타이드와 70개의 아데닌 뉴클레오타이드는 링커 서열에 의해 분리된 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, RNA는, SEQ ID NO: 12의 서열 또는 SEQ ID NO: 12와 적어도 90% 동일한 서열이거나 또는 그를 포함하는 5'-UTR을 포함하는 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, RNA는 스플릿의 아미노 말단 인핸서(AES) 메신저 RNA로부터의 제1 서열 및 미토콘드리아 인코딩된 12S 리보솜 RNA로부터의 제2 서열이거나 이를 포함하는 3'-UTR을 포함하는 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 뉴클레오타이드 서열은 모든 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, RNA는: 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR 및 폴리A 서열을 포함하는 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 5' 캡은 cap1 구조이거나 이를 포함하는 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 폴리A 서열은 적어도 100개의 A 뉴클레오타이드를 포함하는 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 폴리A 서열은 A 뉴클레오타이드의 단절된 서열인 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, RNA는: (i) 양이온성으로 이온화 가능한 지질; (ii) 중성 지질; (iii) 스테롤; 및 (iv) 지질 접합체 각각을 포함하는 지질 나노입자 내에 제형화된 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 적어도 하나의 염 및/또는 동결 방지제를 더 포함하는 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 동결 방지제는 수크로스이거나 이를 포함하는 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 조성물은 근육내 투여용으로 제형화된 조성물.

청구항 15

제11항에 있어서, RNA가 조성물 중 용량당 1 ㎍ 내지 100 ㎍ 범위 내의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 16

제11항에 있어서, RNA가 조성물 내 용량당 3 ㎍의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 17

제11항에 있어서, RNA가 조성물 내 용량당 10 ㎍의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 18

제11항에 있어서, RNA가 조성물 내 용량당 30 ㎍의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 19

SARS-CoV-2 감염을 예방하거나 치료하기 위한, 다음을 포함하는 약학적 조성물로서:

변형된 우리딘을 포함하고, SEQ ID NO: 7의 폴리펩타이드와 적어도 95% 동일하고 SEQ ID NO: 7의 아미노산 986 및 987에 상응하는 위치에 프롤린 잔기를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 SARS-CoV-2 스파이크 (S) 폴리펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA,

여기서 RNA는 SEQ ID NO: 20과 적어도 95% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하고,

여기서 변형된 우리딘은 N1-메틸-슈도우리딘인, 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 7을 포함하는 SARS-CoV-2 스파이크 (S) 폴리펩타이드를 인코딩하는 조성물.

청구항 21

제19항에 있어서, 뉴클레오타이드 서열은 모든 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 조성물.

청구항 22

제19항에 있어서, RNA는, cap1 구조이거나 이를 포함하는 5' 캡을 포함하는 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, RNA는 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG이거나 이를 포함하는 5'-캡을 포함하는 조성물.

청구항 24

제19항에 있어서, RNA는 적어도 100개의 A 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리A 서열을 포함하는 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 폴리A 서열은 A 뉴클레오타이드의 단절된 서열을 포함하는 것인 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서,

단절된 서열은 30개의 아데닌 뉴클레오타이드에 이어 70개의 아데닌 뉴클레오타이드를 포함하고,

30개의 아데닌 뉴클레오타이드와 70개의 아데닌 뉴클레오타이드는 링커 서열에 의해 분리된 조성물.

청구항 27

제19항에 있어서, RNA는, SEQ ID NO: 12의 서열 또는 SEQ ID NO: 12와 적어도 90% 동일한 서열이거나 또는 그를 포함하는 5'-UTR을 포함하는 조성물.

청구항 28

제19항에 있어서, RNA는 스플릿의 아미노 말단 인핸서 (AES) 메신저 RNA로부터의 제1 서열 및 미토콘드리아 인코딩된 12S 리보솜 RNA로부터의 제2 서열이거나 이를 포함하는 3'-UTR을 포함하는 조성물.

청구항 29

제19항에 있어서, 변형된 우리딘을 포함하고 SARS-CoV-2 스파이크(S) 폴리펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 인간 대상체에 대해 코돈-최적화된 조성물.

청구항 30

제19항에 있어서, RNA는: (i) 양이온성으로 이온화 가능한 지질; (ii) 중성 지질; (iii) 스테롤; 및 (iv) 지질 접합체 각각을 포함하는 지질 나노입자 내에 제형화된 조성물.

청구항 31

제30항에 있어서, 적어도 하나의 염 및/또는 동결 방지제를 더 포함하는 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 동결 방지제가 수크로스이거나 이를 포함하는 조성물.

청구항 33

제30항에 있어서, 상기 조성물은 근육내 투여용으로 제형화된 조성물.

청구항 34

제30항에 있어서, RNA가 조성물 중 용량당 1 μg 내지 100 μg 범위 내의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 35

제30항에 있어서, RNA가 조성물 내 용량당 3 μg의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 36

제30항에 있어서, RNA가 조성물 내 용량당 10 μg의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 37

제30항에 있어서, RNA가 조성물 내 용량당 30 μg의 양으로 존재하는 조성물.

청구항 38

제19항에 있어서, RNA는 SEQ ID NO: 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 조성물.

청구항 39

제38항에 있어서, 뉴클레오타이드 서열은 모든 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 조성물.

청구항 40

제38항에 있어서, RNA는, cap1 구조이거나 이를 포함하는 5'-캡을 포함하는 조성물.

청구항 41

제38항에 있어서, RNA는, $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG이거나 이를 포함하는 5'-캡을 포함하는 조성물.

청구항 42

제39항에 있어서, RNA는, $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG이거나 이를 포함하는 5'-캡을 포함하는 조성물.

청구항 43

SARS-CoV-2 감염을 예방하거나 치료하기 위한, RNA를 포함하는 약학적 조성물로서, 상기 RNA는, 5'에서 3' 방향으로 다음을 포함하는 약학적 조성물:

(i) 인간 알파-글로빈 5'-UTR을 포함하는 5' UTR;

(ii) SEQ ID NO: 9과 적어도 90% 동일한 뉴클레오타이드 서열로서, 여기서 상기 뉴클레오타이드 서열은:

(a) 우리딘 대신에 변형된 우리딘을 포함하는데, 여기서 변형된 우리딘은 N1-메틸-슈도우리딘이고; 및

(b) SEQ ID NO: 7과 적어도 95% 동일하고, 그것이 SEQ ID NO: 7의 위치 986 및/또는 987에 상응하는 위치에 적어도 하나의 프롤린을 포함하는 점에 있어서 융합전 안정화된 SARS-CoV-2 스파이크 (S) 폴리펩타이드를 인코딩하는 것인, 뉴클레오타이드 서열; 및

(iii) 스플릿의 아미노 말단 인핸서(AES) 메신저 RNA로부터의 제1 서열 및 미토콘드리아 인코딩된 12S 리보솜 RNA로부터의 제2 서열을 포함하는 3'-UTR.

청구항 44

제43항에 있어서, RNA는, $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG를 포함하는 5'-캡을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 45

제43항에 있어서,

RNA는 폴리A 서열을 포함하고,

폴리A 서열은, SEQ ID NO: 14와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 것이거나, 또는 하나 이상의 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 SEQ ID NO: 14와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 것인 약학적 조성물.

청구항 46

제45항에 있어서, 5'-UTR은, SEQ ID NO: 12와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 것이거나, 또는 하나 이상의 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 SEQ ID NO: 12와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 것인 약학적 조성물.

청구항 47

제46항에 있어서, 3'-UTR은, SEQ ID NO: 13과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 것이거나, 또는 하나 이상의 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 SEQ ID NO: 13과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 것인 약학적 조성물.

청구항 48

제43항에 있어서, RNA는 모든 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 49

제43항에 있어서, (ii)의 뉴클레오타이드 서열은, SEQ ID NO: 2의 뉴클레오타이드 서열의 G/C 함량에 비해 그의 G/C 함량이 55% 증가된 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 50

제43항에 있어서, RNA는 다음을 포함하는 지질 나노입자 내에 제형화된 약학적 조성물:

(A) 양이온성으로 이온화 가능한 지질;

(B) 스테롤;

(C) 중성 지질; 및

(D) 폴리머 접합된 지질.

청구항 51

제50항에 있어서, 하나 이상의 염 및/또는 동결 방지제를 더 포함하는 약학적 조성물.

청구항 52

제51항에 있어서, 동결 방지제는 수크로스를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 53

제50항에 있어서, 상기 조성물은 근육내 투여용으로 제형화된 약학적 조성물.

청구항 54

제50항에 있어서, RNA가 용량당 3 ㎍, 용량당 10 ㎍, 또는 용량당 30 ㎍의 양으로 조성물에 존재하는 약학적 조성물.

청구항 55

제43항에 있어서,

RNA는 폴리A 서열을 포함하고,

폴리A 서열은 적어도 100개의 아데닌 뉴클레오타이드를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 56

SARS-CoV-2에 대한 백신을 접종하는 방법에 사용하기 위한 약학적 조성물로서,

상기 방법은 RNA를 포함하는 상기 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하고,

상기 RNA는, 5'에서 3' 방향으로 다음을 포함하는 것인, 약학적 조성물:

(i) 인간 알파-글로빈 5'-UTR을 포함하는 5' UTR;

(ii) SEQ ID NO: 9과 적어도 90% 동일한 뉴클레오타이드 서열로서, 여기서 상기 뉴클레오타이드 서열은:

(a) 우리딘 대신에 변형된 우리딘을 포함하는데, 여기서 변형된 우리딘은 N1-메틸-슈도우리딘이고; 및

(b) SEQ ID NO: 7과 적어도 95% 동일하고, 그것이 SEQ ID NO: 7의 위치 986 및/또는 987에 상응하는 위치에 적어도 하나의 프롤린을 포함하는 점에 있어서 융합전 안정화된 SARS-CoV-2 스파이크 (S) 폴리펩타이드를 인코딩하는 것인, 뉴클레오타이드 서열; 및

(iii) 스플릿의 아미노 말단 인핸서(AES) 메신저 RNA로부터의 제1 서열 및 미토콘드리아 인코딩된 12S 리보솜 RNA로부터의 제2 서열을 포함하는 3'-UTR.

청구항 57

제56항에 있어서, 투여의 단계는 상기 약학적 조성물의 하나 이상의 용량을 투여하는 것을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 58

제57항에 있어서,

하나 이상의 용량은 제1 용량 및 적어도 제2 용량을 포함하고,

상기 제1 용량 및 제2 용량은 21일의 기간만큼 간격을 두는 약학적 조성물.

청구항 59

제56항에 있어서, 투여의 단계는, 그의 각각이 독립적으로 1 ㎍ 내지 100 ㎍ 범위 내의 양으로 RNA를 포함하는, 상기 약학적 조성물의 적어도 1회 용량을 투여하는 것을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 60

제56항에 있어서, 투여의 단계는, 그의 각각이 30 ㎍의 RNA를 포함하는, 상기 약학 조성물의 적어도 2회 용량을 투여하는 것을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 61

제56항에 있어서, RNA는 SEQ ID NO: 20과 적어도 95% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 62

제61항에 있어서, RNA는 모든 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 63

제56항에 있어서, (ii)의 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 9인 약학적 조성물.

청구항 64

제56항에 있어서, 투여의 단계는, 그의 각각이 독립적으로 10 ㎍ 내지 30 ㎍ 범위 내의 양으로 RNA를 포함하는, 상기 약학적 조성물의 적어도 1회 용량을 투여하는 것을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 65

제56항에 있어서, 상기 투여는 근육내 투여에 의한 것인 약학적 조성물.

청구항 66

제56항에 있어서, RNA는 다음을 포함하는 약학적 조성물:

(A) $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG를 포함하는 5'-캡; 또는

(B) 30개의 아데닌 뉴클레오타이드에 이어 70개의 아데닌 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리A 서열로서, 여기서 30개의 아데닌 뉴클레오타이드 및 70개의 아데닌 뉴클레오타이드는 링커 서열에 의해 분리된 폴리A 서열; 또는

(C) (A)와 (B)의 조합.

청구항 67

제56항에 있어서, RNA는 다음을 포함하는 지질 나노입자로 제형화된 약학적 조성물:

(A) 양이온성으로 이온화 가능한 지질;

(B) 스테롤;

(C) 중성 지질; 그리고

(D) 폴리머 접합된 지질.

청구항 68

제66항에 있어서, 투여의 단계는 상기 약학적 조성물의 적어도 2회 용량을 투여하는 것을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 69

제68항에 있어서,

투여의 단계는 제2 용량 후에 상기 약학적 조성물의 후속 용량을 투여하는 것을 포함하고,

후속 용량은 제2 용량 투여 후 적어도 3개월에 투여되는 약학적 조성물.

청구항 70

제56항에 있어서, 제2 백신을 투여하는 단계를 더 포함하는 약학적 조성물.

청구항 71

제70항에 있어서, 제2 백신은 인플루엔자 백신인 약학적 조성물.

청구항 72

RNA를 양이온성으로 이온화 가능한 지질, 스테롤, 중성 지질 및 폴리머 접합된 지질과 조합하여 RNA를 캡슐화하는 지질 나노입자를 형성하는 단계를 포함하는, 제43항의 약학적 조성물을 제조하는 방법.

청구항 73

제72항에 있어서, RNA는 SEQ ID NO: 20과 적어도 95% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 방법.

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시내용은 코로나바이러스 감염을 예방하거나 치료하기 위한 RNA 분야에 관한 것이다. 특히, 본 개시내용은 코로나바이러스 감염에 대한 백신접종 및 항체 및/또는 T 세포 반응과 같은 효과적인 코로나바이러스 항원-특이적 면역 반응을 유도하기 위한 방법 및 작용제에 관한 것이다. 이러한 방법 및 제제는 특히 코로나바이러스 감염의 예방 또는 치료에 유용하다. 본 명세서에 개시된 RNA를 대상자에게 투여하면 대상자를 코로나바이러스 감염으로부터 보호할 수 있다. 구체적으로, 일 구체예에서, 본 개시내용은 대상자에서 코로나바이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2의 S 단백질, 즉 백신 항원을 인코딩하는 백신 RNA에 대해 면역 반응을 유도하기 위해, SARS-CoV-2 스파이크 단백질(S 단백질)의 에피토프를 포함하는 펩타이드 또는 단백질을 인코딩하는 RNA를 대상자에게 투여하는 것을 포함하는 방법에 관한 것이다. 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 대상자에게 투여하면 (적절한 표적 세포에 의한 RNA의 발현 후) 대상체에서 백신 항원(및 질병-관련 항원)에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 백신 항원이 제공될 수 있다.

배 경 기 술

[0002] 2019년 12월 중국 우한에서 원인 불명의 폐렴이 발생하여 신종 코로나바이러스(중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2; SARS-CoV-2)가 기저 원인임이 밝혀졌다. SARS-CoV-2의 유전자 서열이 WHO와 대중에게 공개되었고 (MN908947.3) 이 바이러스는 β코로나바이러스 아과로 분류되었다. 염기서열 분석을 통해 계통수는 인간을 감염시키는 또 다른 코로나바이러스, 즉 중동호흡기증후군(MERS) 바이러스보다 중증급성호흡기증후군(SARS) 바이러스 분리주와 더 밀접한 관계가 있는 것으로 밝혀졌다. 2월 2일, 독일을 포함한 24개국에서 전 세계적으로 총 14,557건의 사례가 확인되었고 이후 자급자족식의 인간 대 인간 바이러스 확산으로 SARS-CoV-2가 전 세계적인 유행병이 되었다.

[0003] 코로나바이러스는 총 4개의 구조 단백질인 스파이크 단백질(S), 외피 단백질(E), 막 단백질(M) 및 뉴클레오캡시드 단백질(N)을 인코딩하는, 양성 센스 단일 가닥 RNA((+)ssRNA) 외피 바이러스이다. 스파이크 단백질(S 단백질)은 수용체-인식, 세포에 대한 부착, 엔도솜 경로를 통한 감염, 바이러스와 엔도솜 막의 융합에 의해 구동되는 게놈 방출을 담당하다. 서로 다른 가족 구성원 사이의 서열은 다양하지만, S 단백질 내에 보존된 영역과 모티프가 있어 S 단백질을 S1과 S2의 두 하위 도메인으로 나눌 수 있다. 막관통 도메인이 있는 S2는 막 융합을 담당하는 반면, S1 도메인은 바이러스-특이 수용체를 인식하고 표적 숙주 세포에 결합하다. 여러 코로나바이러스 분리주에서 수용체 결합 도메인(RBD)이 확인되어 S 단백질의 일반적인 구조가 정의되었다(도 1).

[0004] SARS-CoV-2에 대한 백신 접근법과 치료제는 현재 사용할 수 없지만 시급히 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 숙주 세포 인식 및 진입과 숙주 면역 체계에 의한 바이러스 중화 항체 유도에서의 S 단백질의 중요성으로 인해, 본 발명자들은 SARS-CoV-2의 바이러스 S 단백질 및 S1 또는 RBD와 같은 S 단백질의 하위 도메인을 백신 개발을 위한 대상으로 하기로 결정하였다. 컨퍼메이션에 중요한 영역 내의 돌연변이는 더 강력한 보호 면역 반응을 유도하는 데 도움이 될 수 있다. 따라서 본 발명자들은 여러 작제물을 테스트하려 한다(도 2). 나이브 S 단백질은 삼량체이고 이 삼량체 구조는 단백질의 안정성과 항원성에 영향을 미칠 가능성이 높기 때문에 우리는 안정적인 gp140 삼량체를 생성하고 SARS RBD-구성에 기능적인, HIV에서도 사용되는 T4 박테리오파지 피브리틴 도메인을 도입하는 안정화된 구조에 기반 한 전략을 포함시켰다.

과제의 해결 수단

[0006] **개요**

[0007] 본 발명은 일반적으로 SARS-CoV-2 S 단백질, 그의 면역원성 변이체(본 명세서에서 '변이체'라는 표현은 '변종', '변이'라는 표현과 혼용됨), 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편 또는 그의 면역원성 변이체, 즉, 항원성 펩타이드 또는 단백질을 인코딩하는 RNA, 즉 백신 RNA를 대상자에게 투여하는 것을 포함하는, 대상자의 면역 치료법을 포함한다. 따라서, 백신 항원은 대상자에서 코로나바이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 SARS-CoV-2 S 단백질의 에피토프를 포함하다. 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (적절한 표적 세포에 의한 폴리뉴클레오타이드의 발현 후) 면역 반응, 예를 들어 표적 항원(코로나바이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질) 또는 그 생성물을 표적으로 하는, 항체 및/또는 면역 이펙터 세포의 유도, 즉 자극, 프라이밍 및/또는 확장을 위한 항원을 제공하기 위해 투여된다. 한 구체예에서, 본 개시내용에 따라 유도

될 면역 반응은 B 세포-매개 면역 반응, 즉 항체-매개 면역 반응이다. 추가로 또는 대안적으로, 일 구체예에서, 본 개시내용에 따라 유도될 면역 반응은 T 세포-매개 면역 반응이다. 일 구체예에서, 면역 반응은 항-코로나바이러스, 특히 항-SARS-CoV-2 면역 반응이다.

[0008] 본원에 기재된 백신은 수용자의 세포에 들어갈 때 각각의 단백질로 번역될 수 있는 단일 가닥 RNA를 활성 성분으로서 포함한다. 항원 서열을 인코딩하는 야생형 또는 코돈-최적화된 서열에 더하여, RNA는 안정성 및 번역 효율과 관련하여 RNA의 최대 효능을 위해 최적화된 하나 이상의 구조적 요소를 함유할 수 있다(5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 폴리(A)-꼬리). 한 구체예에서, RNA는 이들 요소 모두를 함유한다. 일 구체예에서, 베타-S-ARCA(D1)($m_2^{7,2'-O}$GppSpG) 또는 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG는 RNA 약물 물질의 5'-말단에서 특정 캡핑 구조로서 이용될 수 있다.

5'-UTR 서열로는 인간 알파-글로빈 mRNA의 5'-UTR 서열을 사용할 수 있으며, 선택적으로 번역 효율을 높이기 위해 최적화된 'Kozak 서열'을 사용할 수 있다. 3'-UTR 서열로는, 더 높은 최대 단백질 수준과 mRNA의 장기간 지속성이 보장되도록, 인코딩 서열과 폴리(A)-꼬리 사이에 배치된 미토콘드리아 인코딩된 12S 리보솜 RNA(I라 칭함)과 "스플릿의 아미노 말단 인핸서"(AES) mRNA(F라 칭함)로부터 유도된 2개의 서열 요소(FI 요소)의 조합이 사용될 수 있다. 이들은 RNA 안정성을 부여하고 총 단백질 발현을 증가시키는 서열에 대한 생체외 선택 과정에 의해 확인되었다(본원에 참조로 포함된 WO 2017/060314 참조). 대안적으로, 3'-UTR은 인간 베타-글로빈 mRNA의 2개의 반복된 3'-UTR일 수 있다. 또한, 30개 아데노신 잔기의 스트레치에 이어 10개 뉴클레오타이드 링커 서열(무작위 뉴클레오타이드의) 및 또 다른 70개 아데노신 잔기로 구성된, 110개 뉴클레오타이드 길이의 폴리(A)-꼬리(poly(A)-tail)가 사용될 수 있다. 이 폴리(A)-꼬리 서열은 RNA 안정성과 번역 효율을 향상시키도록 설계되었다.

[0009] 또한, 분비 신호 펩타이드(sec)는 바람직하게는 sec가 N 말단 태그로 번역되는 방식으로 항원-인코딩 영역에 융합될 수 있다. 일 구체예에서, sec는 S 단백질의 분비 신호 펩타이드에 해당한다. 융합 단백질에 일반적으로 사용되는 아미노산 글리신(G) 및 세린(S)으로 주로 구성된 짧은 링커 펩타이드를 인코딩하는 서열이 GS/링커로 사용될 수 있다.

[0010] 본원에 기재된 백신 RNA는 단백질 및/또는 지질, 바람직하게는 지질과 복합화되어 투여용 RNA-입자를 생성할 수 있다. 상이한 RNA의 조합이 사용되는 경우, RNA는 투여를 위한 RNA-입자를 생성하기 위해 단백질 및/또는 지질과 함께 복합화되거나 개별적으로 복합화될 수 있다.

[0011] 일 측면에서, 본 발명은 SARS-CoV-2 S 단백질, 그의 면역원성 변이체 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편 또는 그의 면역원성 변이체를 인코딩하는 RNA를 포함하는 조성물 또는 의약 제조물에 관한 것이다.

[0012] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편은 SARS-CoV-2 S 단백질의 S1 서브유닛 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 S1 서브유닛의 수용체 결합 도메인(RBD)을 포함한다.

[0013] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 아미노산 서열은 다량체 복합체(multimer complex), 특히 삼량체 복합체를 형성할 수 있다. 이를 위해, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열의 다량체 복합체, 특히 삼량체 복합체의 형성을 허용하는 도메인을 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 다량체 복합체의 형성을 허용하는 도메인은 삼량체화 도메인, 예를 들어 본원에 기술된 삼량체화 도메인을 포함한다.

[0014] 한 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은, 코돈-최적화되거나 및/또는 그의 G/C 함량이 야생형 인코딩 서열에 비해 증가된 인코딩 서열에 의해 인코딩되며 여기서 상기 코돈-최적화된 및/또는 그의 G/C 함량 증가는 좋기로는, 상기 인코딩된 아미노산 서열의 서열 변화를 일으키지 않는 것이다.

[0015] 일 구체예에서,

[0016] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열의 단편 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클

레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0017] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0018] 일 구체예에서,

[0019] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0020] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0021] 일 구체예에서,

[0022] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0023] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0024] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은 분비 신호 펩타이드를 포함한다.

[0025] 일 구체예에서, 분비 신호 펩타이드는 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편에, 바람직하게는 N-말단에 융합된다.

[0026] 일 구체예에서,

[0027] (i) 분비 신호 펩타이드를 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일

성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0028] (ii) 분비 신호 펩타이드는, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열의 기능성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능성 단편을 포함한다.

[0029] 일 구체예에서,

[0030] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0031] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0032] 일 구체예에서, RNA는 변형된 RNA, 특히 안정화된 mRNA이다. 일 구체예에서, RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다. 일 구체예에서, RNA는 각각의 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다. 일 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘(m1ψ) 및 5-메틸-우리딘(m5U)으로부터 독립적으로 선택된다.

[0033] 일 구체예에서, RNA는 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다.

[0034] 일 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드 슈도우리딘 (ψ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1ψ), 및 5-메틸-우리딘 (m5U)으로부터 선택된다.

[0035] 일 구체예에서, RNA는 5' 캡을 포함한다.

[0036] 한 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 5' UTR을 포함한다.

[0037] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 13의 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함한다.

[0038] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA는 폴리-A 서열을 포함한다.

[0039] 일 구체예에서, 폴리-A 서열은 적어도 100개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0040] 일 구체예에서, 폴리-A 서열은 SEQ ID NO: 14의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0041] 일 구체예에서, RNA는 액체, 고체 또는 이들의 조합으로 제형화되거나 제형화될 것이다.

[0042] 일 구체예에서, RNA는 주사용으로 제형화되거나 제형화될 것이다.

[0043] 일 구체예에서, RNA는 근육내 투여를 위해 제형화되거나 제형화될 것이다.

[0044] 일 구체예에서, RNA는 입자로서 제형화되거나 제형화될 것이다.

[0045] 일 구체예에서, 입자는 지질 나노입자(LNP) 또는 리포플렉스(LPX) 입자이다.

[0046] 일 구체예에서, LNP 입자는 ((4-하이드록시부틸)아자네디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트), 2-

[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 및 콜레스테롤을 포함한다.

[0047] 일 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 리포솜과 혼합함으로써 얻을 수 있다. 일 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 지질과 혼합함으로써 얻을 수 있다.

[0048] 일 구체예에서, RNA는 콜로이드로 제형화되거나 제형화될 것이다. 일 구체예에서, RNA는 콜로이드의 분산상을 형성하는 입자로서 제형화되거나 제형화될 것이다. 일 구체예에서, RNA의 50% 이상, 75% 이상 또는 85% 이상은 분산상에 존재한다. 일 구체예에서, RNA는 RNA 및 지질을 포함하는 입자로서 제형화되거나 제형화될 것이다. 일 구체예에서, 입자는 수성 상에 용해된 RNA를 유기 상에 용해된 지질에 노출시킴으로써 형성된다. 일 구체예에서, 유기상은 에탄올을 포함한다. 일 구체예에서, 입자는 수성 상에 용해된 RNA를 수성 상에 분산된 지질과 함께 노출시킴으로써 형성된다. 일 구체예에서, 수성 상에 분산된 지질은 리포좀을 형성한다.

[0049] 일 구체예에서, RNA는 mRNA 또는 saRNA이다.

[0050] 일 구체예에서, 조성물 또는 의약 제조물은 약학적 조성물이다

[0051] 일 구체예에서, 조성물 또는 의약 제조물은 백신이다.

[0052] 일 구체예에서, 약학적 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 및/또는 부형제를 더 포함한다.

[0053] 일 구체예에서, 조성물 또는 의약 제조물은 키트이다.

[0054] 일 구체예에서, RNA 및 선택적으로 입자 형성 성분은 별도의 바이알에 존재한다.

[0055] 일 구체예에서, 키트는 대상자에서 코로나바이러스에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 조성물 또는 의약 제조물의 사용 지침서를 추가로 포함한다.

[0056] 일 측면에서, 본 발명은 약학적 용도를 위한 본원에 기술된 조성물 또는 의약 제제에 관한 것이다.

[0057] 일 구체예에서, 약학적 용도는 대상자에서 코로나바이러스에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 포함한다.

[0058] 일 구체예에서, 약학적 용도는 코로나바이러스 감염의 치료적 또는 예방적 처치를 포함한다.

[0059] 일 구체예에서, 본원에 기술된 조성물 또는 의약 제제는 인간에게 투여하기 위한 것이다.

[0060] 일 구체예에서, 코로나바이러스는 베타코로나바이러스이다.

[0061] 일 구체예에서, 코로나바이러스는 사르베코바이러스이다.

[0062] 일 구체예에서, 코로나바이러스는 SARS-CoV-2이다.

[0063] 한 측면에서, 본 발명은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA를 포함하는 조성물을 대상자에게 투여하는 것을 포함하는, 대상자에서 코로나바이러스에 대해 면역 반응을 유도하는 방법에 관한 것이다.

[0064] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편은 SARS-CoV-2 S 단백질의 S1 서브유닛 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 S1 서브유닛의 수용체 결합 도메인(RBD)을 포함한다.

[0065] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은 다량체 복합체, 특히 삼량체 복합체를 형성할 수 있다. 이를 위해, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열의 다량체 복합체, 특히 삼량체 복합체의 형성을 허용하는 도메인을 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 다량체 복합체의 형성을 허용하는 도메인은 삼량체화 도메인, 예를 들어 본원에 기술된 삼량체화 도메인을 포함한다.

[0066] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은 코돈-최적화되거나 및/또는 그의 G/C 함량이 야생형 인코딩 서열에 비해 증가된 인코딩 서열에 의해 인코딩되며, 여기서 상기 코돈-최적화된 및/또는 G/C 함량의 증가는 좋기로는 인코딩된 아미노산 서열의 서열을 변경시키지 않는다.

[0067] 일 구체예에서,

[0068] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0069] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0070] 일 구체예에서,

[0071] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0072] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0073] 일 구체예에서,

[0074] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0075] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0076] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은 분비 신호 펩타이드를 포함한다.

[0077] 일 구체예에서, 분비 신호 펩타이드는 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편에, 바람직하게는 N-말단에 융합된다.

[0078] 일 구체예에서,

[0079] (i) 분비 신호 펩타이드를 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0080] (ii) 분비 신호 펩타이드는, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열의 기능성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능성 단편을 포함한다.

[0081] 일 구체예에서,

[0082] (i) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는

[0083] (ii) SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0084] 일 구체예에서, RNA는 변형된 RNA, 특히 안정화된 mRNA이다. 일 구체예에서, RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다. 일 구체예에서, RNA는 각각의 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다. 일 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘(m1ψ) 및 5-메틸-우리딘(m5U)으로부터 독립적으로 선택된다.

[0085] 일 구체예에서, RNA는 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다.

[0086] 일 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드 슈도우리딘 (ψ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1ψ), 및 5-메틸-우리딘 (m5U)로부터 선택된다.

[0087] 일 구체예에서, RNA는 캡을 포함한다.

[0088] 한 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 5' UTR을 포함한다.

[0089] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA는 SEQ ID NO: 13의 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함한다.

[0090] 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA는 폴리-A 서열을 포함한다.

[0091] 일 구체예에서, 폴리-A 서열은 적어도 100개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0092] 일 구체예에서, 폴리-A 서열은 SEQ ID NO: 14의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0093] 일 구체예에서, RNA는 액체, 고체 또는 이들의 조합으로 제형화되거나 제형화될 것이다.

[0094] 일 구체예에서, RNA는 주사에 의해 투여된다.

[0095] 일 구체예에서, RNA는 근육내 투여에 의해 투여된다.

[0096] 일 구체예에서, RNA는 입자로서 제형화된다.

[0097] 일 구체예에서, 입자는 지질 나노입자(LNP) 또는 리포플렉스(LPX) 입자이다.

[0098] 일 구체예에서, LNP 입자는 ((4-하이드록시부틸)아자네디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트), 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 및 콜레스테롤을 포함한다.

[0099] 일 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 리포솜과 혼합함으로써 얻을 수 있다. 일 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 지질과 혼합함으로써 얻을 수 있다.

[0100] 일 구체예에서, RNA는 콜로이드로 제형화된다. 일 구체예에서, RNA는 콜로이드의 분산상을 형성하는 입자로서 제형화된다. 일 구체예에서, RNA의 50% 이상, 75% 이상 또는 85% 이상은 분산상에 존재한다. 일 구체예에서, RNA는 RNA 및 지질을 포함하는 입자로서 제형화된다. 일 구체예에서, 입자는 수성 상에 용해된 RNA를 유기 상에 용해된 지질에 노출시킴으로써 형성된다. 일 구체예에서, 유기상은 에탄올을 포함한다. 일 구체예에서, 입자는 수성 상에 용해된 RNA를 수성 상에 분산된 지질과 함께 노출시킴으로써 형성된다. 일 구체예에서, 수성 상에 분산된 지질은 리포좀을 형성한다.

[0101] 일 구체예에서, RNA는 mRNA 또는 saRNA이다.

[0102] 일 구체예에서, 방법은 코로나바이러스에 대한 백신접종 방법이다.

[0103] 일 구체예에서, 방법은 코로나바이러스 감염의 치료적 또는 예방적 처치를 위한 방법이다.

[0104] 일 구체예에서, 대상자는 인간이다.

[0105] 일 구체예에서, 코로나바이러스는 베타코로나바이러스이다.

[0106] 일 구체예에서, 코로나바이러스는 사르베코바이러스이다.

[0107] 일 구체예에서, 코로나바이러스는 SARS-CoV-2이다.

[0108] 본원에 기술된 방법의 일 구체예에서, 조성물은 본원에 기술된 조성물이다.

[0109] 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 본원에 기재된 조성물 또는 의약 제제에 관한 것이다.

[0110] 무엇보다도, 본 개시내용은 SARS-CoV-2-인코딩된 폴리펩타이드의(예컨대, SARS-CoV-2-인코딩된 S 단백질의) 적어도 일부(예컨대, 에피토프이거나 에피토프를 포함함)를 인코딩하는 지질 나노입자 캡슐화된 mRNA를 포함하는 조성물이, 상기 백신 조성물의 적어도 1회 용량의 투여를 포함하는 투여요법에 따라 성인 인간 대상자 집단에게 투여된 후 7일 이내에, 혈청 내 에피토프에 대해 검출 가능한 항체 역가를 달성할 수 있음을 입증한다. 또한, 본 개시내용은 이러한 항체 역가의 지속성을 입증한다. 일부 구체예에서, 본 개시내용은 상응하는 변형되지 않은 mRNA로 달성된 것과 비교하여 변형된 mRNA가 사용될 때 증가된 이러한 항체 역가를 입증한다.

[0111] 일부 구체예에서, 제공된 투여요법은 적어도 1회 용량을 포함한다. 일부 구체예에서, 제공된 투여요법은 제1 용량 및 적어도 하나의 후속 용량을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 용량은 적어도 하나의 후속 용량과 동일한 양이다. 일부 구체예에서, 제1 용량은 모든 후속 용량과 동일한 양이다. 일부 구체예에서, 제1 용량은 적어도 하나의 후속 용량과 상이한 양이다. 일부 구체예에서, 제1 용량은 모든 후속 용량과 상이한 양이다. 일부 구체예에서, 제공된 투여요법은 2회 용량을 포함한다. 일부 구체예에서, 제공된 투여요법은 2회 용량으로 구성된다.

[0112] 특정 구체예에서, 면역원성 조성물은 용기, 예를 들어 바이알에 단일 용량으로 제형화된다. 일부 구체예에서, 면역원성 조성물은 바이알에 다회 용량 제형(multi-dose formulation)으로 제형화된다. 일부 구체예에서, 다회 용량 제형은 바이알당 적어도 2회 용량을 포함한다. 일부 구체예에서, 다회 용량 제형은 바이알당 총 2-20회 용량, 예를 들어 바이알당 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12회 용량을 포함한다. 일부 구체예에서, 바이알 내 각 용량은 부피가 동일하다. 일부 구체예에서, 제1 용량은 후속 용량과 상이한 부피이다.

[0113] "안정한" 다회 용량 제형은 허용할 수 없는 수준의 미생물 성장을 나타내지 않으며, 활성 생물학적 분자 성분(들)의 분해 또는 분해가 실질적으로 없거나 저하되지 않는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "안정한" 면역원

성 조성물은 대상자에게 투여될 때 원하는 면역학적 반응을 유도할 수 있는 제형을 포함한다.

[0114] 일부 구체예에서, 다회-용량 제형은 다회-용량 용기로의 다회 또는 반복 접종/삽입으로 특정 시간 동안 안정하게 유지된다. 예를 들어, 일부 구체예에서 다회 용량 제형은 다회 용량 용기 내에 함유될 때 최대 10회 사용까지 적어도 3일 동안 안정할 수 있다. 일부 구체예에서, 다회-용량 제형은 2-20회의 접종/삽입으로 안정하게 유지된다.

[0115] 일부 구체예에서, 예컨대 본원에 설명된 투여요법에 따른, SARS-CoV-2-인코딩 폴리펩타이드의(예컨대 SARS-CoV-2-인코딩 S 단백질의) 적어도 일부(예컨대 에피토프이거나 에피토프를 포함)를 인코딩하는 지질 나노입자 캡슐화된 mRNA를 포함하는 조성물의 투여는, 일부 대상자(예를 들어, 모든 대상자에서, 대부분의 대상자에서, 약 50% 이하, 약 40% 이하, 약 40% 이하, 약 25% 이하, 약 20% 이하, 약 15% 이하, 약 10% 이하, 약 5% 이하 등)에서 림프구 감소증을 유발할 수 있다. 무엇보다도, 본 개시내용은 그러한 림프구 감소증이 시간이 지남에 따라 해결될 수 있음을 입증한다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 림프구 감소증은 약 14일, 약 10일, 약 9일, 약 8일, 약 7일 이내 또는 그 보다 더 빨리 해소된다. 일부 구체예에서, 림프구 감소증은 3등급, 2등급 또는 그 이하이다.

[0116] 따라서, 무엇보다도, 본 개시내용은 관련된 성인 집단에 투여될 때 본원에 기술된 바와 같은 특정 특성(예컨대 특정 효과를 달성)을 나타내는 것으로 특징지어지는, SARS-CoV-2-인코딩 폴리펩타이드의(예컨대 SARS-CoV-2-인코딩 S 단백질의) 적어도 일부(예컨대 에피토프이거나 에피토프를 포함)를 인코딩하는 지질 나노입자 캡슐화된 mRNA를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구체예에서, 제공된 조성물은 온도가 특정 임계값을 초과하지 않는 조건 하에서 제조, 보관, 운송, 특성화 및/또는 사용되었을 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서, 제공된 조성물은 그의 제조, 보관, 수송, 특성화 및/또는 사용의 일부 또는 전부 동안 광선(예를 들어, 특정 파장)으로부터 보호될 수 있다. 일부 구체예에서, 제공된 조성물의 하나 이상의 특징(예를 들어, 크기, 특정 모이어티 또는 변형의 존재 등 중 하나 이상; 지질 나노입자 안정성 또는 응집, pH 등에 의해 평가될 수 있는 바와 같은 mRNA 안정성)는 투여 전 준비, 보관, 운송 및/또는 사용 중 하나 이상의 시점에서 평가되었거나 평가되었을 수 있다.

[0117] 무엇보다도, 본 개시내용은 mRNA 내의 뉴클레오타이드가 변형되지 않은(예를 들어, 자연 발생 A, U, C, G) 제공된 특정 조성물, 및/또는 이러한 조성물과 관련된 제공된 방법이 고유한 어쥬번트 효과를 특징으로 함(예를 들어, 일부 구체예에서 성인 집단일 수 있거나 성인 집단을 포함할 수 있는 관련 집단에 투여될 때)을 문서화한다. 일부 구체예에서, 이러한 조성물 및/또는 방법은 항체 및/또는 T 세포 반응을 유도할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 조성물 및/또는 방법은 종래의 백신(예를 들어, 단백질 백신과 같은 비-mRNA 백신)과 비교하여 더 높은 T 세포 반응을 유도할 수 있다.

[0118] 대안적으로 또는 추가로, 본 개시내용은 mRNA 내의 뉴클레오타이드가 변형된 제공된 조성물(예컨대, SARS-CoV-2-인코딩 폴리펩타이드의(예컨대, SARS-CoV-2-인코딩 S 단백질의) 적어도 일부(에피토프이거나 에피토프를 포함)를 인코딩하는 지질 나노입자 캡슐화된 mRNA를 포함하는 조성물), 및/또는 이러한 조성물과 관련된 제공된 방법이, 고유의 아쥬반트 효과의 부재에 의해, 또는 변경되지 않은 결과를 갖는 다른 유사한 조성물(또는 방법)과 비교시 감소된 고유 아쥬반트 효과에 의해 특징지어짐(예컨대, 일부 구체예에서 성인 집단이거나 이를 포함할 수 있는, 관련 집단에 투여될 경우)을 문서화한다.

[0119] 별법으로 또는 추가적으로, 일부 구체예에서, 이러한 조성물(또는 방법)은 이들이(예컨대, 일부 구체예에서 성인 집단이거나 이를 포함할 수 있는, 관련 집단에 투여될 경우) 항체 반응 및/또는 CD4+ T 세포 반응을 유도할 수 있음을 특징으로 한다. 별법으로 또는 추가적으로, 일부 구체예에서, 이러한 조성물(또는 방법)은 이들이(예컨대, 일부 구체예에서 성인 집단이거나 이를 포함할 수 있는, 관련 집단에 투여될 경우) 대안적인 백신 포맷(예컨대, 펩타이드 백신)에서 관찰되는 것보다 더 높은 CD4+ T 세포 반응을 유도함을 특징으로 한다. 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 일부 구체예에서, 이러한 변형된 뉴클레오타이드는 예를 들어 3' UTR 서열, 항원-인코딩 서열 및/또는 5'UTR 서열에 존재할 수 있다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형된 우라실 잔기 및/또는 하나 이상의 변형된 시토신 잔기이거나 이를 포함한다.

[0120] 무엇보다도, 본 개시내용은 제공된 조성물(예컨대, SARS-CoV-2-인코딩 폴리펩타이드의(예컨대, SARS-CoV-2-인코딩 S 단백질의) 적어도 일부(에피토프이거나 에피토프를 포함)를 인코딩하는 지질 나노입자 캡슐화된 mRNA를 포함하는 조성물), 및/또는 방법이 (예컨대, 일부 구체예에서 성인 집단이거나 이를 포함할 수 있는, 관련 집단에 투여될 경우), 인코딩된 폴리펩타이드(예컨대, SARS-CoV-2-인코딩 단백질[예컨대 S 단백질] 또는 이의 일부분(이 일부분은 일부 구체예에서 그의 에피토프이거나 이를 포함할 수 있음)의 지속적인 발현을 특징으로 한다.

예를 들어, 일부 구체예에서, 이러한 조성물 및/또는 방법은, 인간에게 투여될 때 이러한 인간으로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈청)에서 검출가능한 폴리펩타이드 발현을 달성하고, 일부 구체예에서 이러한 발현이 적어도 36시간 이상, 예를 들어 적어도 48시간, 적어도 60시간, 적어도 72시간, 적어도 96시간, 적어도 120시간, 적어도 148시간 또는 그 이상의 기간 동안 지속되는 것을 특징으로 한다.

[0121] 본 개시내용을 읽는 당업자는 본 개시내용이 SARS-CoV-2-인코딩 폴리펩타이드(예컨대 SARS -CoV-2-인코딩 S 단백질)의 적어도 일부(예컨대 에피토프이거나 에피토프를 포함함)를 인코딩하는 다양한 mRNA 작제물을 설명한다는 것을 이해할 것이다. 본 개시내용을 읽는 이러한 당업자는 본 개시내용이 특히 SARS-CoV-2 S 단백질의 적어도 일부, 예를 들어 SARS-CoV-2 S 단백질의 적어도 RBD 부분을 인코딩하는 다양한 mRNA 작제물을 설명한다는 것을 이해할 것이다. 또한, 본 개시내용을 읽는 이러한 당업자는 본 개시내용이, SARS-CoV-2-인코딩 폴리펩타이드(예컨대 SARS-CoV-2-인코딩 S 단백질)의 적어도 일부(예를 들어, 에피토프이거나 에피토프를 포함함)를 인코딩하는 mRNA 작제물의 특정 특성 및/또는 이점을 설명한다는 것을 이해할 것이다. 무엇보다도, 본 개시내용은 특히 SARS-CoV-2 RBD 부분을 인코딩하고, 일부 구체예에서는 전장 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하지 않는 특정 mRNA 작제물의 놀랍고 유용한 특징 및/또는 이점을 문서화한다. 본 개시내용은 전장보다 짧은 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하는 제공된 mRNA 작제물, 특히 이러한 SARS-CoV-2 S 단백질의 적어도 RBD 부분을 인코딩하는 작제물이 면역원성 조성물(예컨대 백신)로 사용하거나 여기에 기술된 면역학적 효과를 달성하는데 있어(예컨대 SARS-CoV-2 중화 항체의 생성, 및 /또는 T 세포 반응(예를 들어, CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 반응)), 특히 유용하고/유용하거나 효과적일 수 있음을 제안하지만, 특정 이론에 구해되기를 원하는 것은 아니다.

[0122] 일부 구체예에서, 본 개시내용은 SARS-CoV-2 S 단백질의 수용체-결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 오픈 리딩 프레임을 포함하는 RNA(예를 들어, mRNA)를 제공하며, 상기 RNA는 폴리펩타이드의 세포내 발현에 적합한 것이다. 일부 구체예에서, 이러한 인코딩된 폴리펩타이드는 완전한 S 단백질을 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 인코딩된 폴리펩타이드는 예를 들어 SEQ ID NO: 5에 나타낸 바와 같은 수용체 결합 도메인(RBD)을 포함한다. 일부 구체예에서, 인코딩된 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 29 또는 31에 따른 펩타이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 그러한 RNA(예를 들어, mRNA)는 (다가)양이온 폴리머, 폴리플렉스(들), 단백질(들) 또는 펩타이드(들)에 의해 복합체화될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 RNA는 지질 나노입자(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)로 제형화될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 RNA(예를 들어, mRNA)는 면역원성 조성물(예를 들어, 백신)로서 또는 면역조성물에 사용하기에 및/또는 본원에 기재된 바와 같은 면역학적 효과(예를 들어, SARS-CoV-2 중화 항체의 생성 및/또는 T 세포 반응(예컨대 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 반응))를 달성하는데 특히 유용하고/하거나 효과적일 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 RNA(예를 들어, mRNA)는 인간(예를 들어, SARS-CoV-2에 노출 및/또는 감염된 것으로 알려진 인간 및/또는 노출된 것으로 알려지지 않은 인간 포함)을 백신접종하는데 유용할 수 있다.

[0123] 본 개시내용을 읽는 당업자는 본 개시내용이 전장 CoV-2 스파이크 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 다양한 mRNA 작제물을 설명하는 것임을 추가로 이해할 것이다(예를 들어, 그러한 인코딩된 SARS-CoV -2 스파이크 단백질이 적어도 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 프롤린 치환을 포함하는 구체예 및/또는 mRNA 서열이 예를 들어 포유동물, 예를 들어 인간 대상자에 대해 코돈-최적화된 구체예를 포함함). 일부 구체예에서, 이러한 전장 SARS-CoV-2 스파이크 단백질은 SEQ ID NO: 7에 제시된 아미노산 서열이거나 이를 포함하는 아미노산 서열을 가질 수 있다. 또한, 본 개시내용을 읽는 이러한 당업자는, 무엇보다도 본 개시내용이 전장 SARS-CoV-2 스파이크 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 특정 mRNA 작제물의 특정 특성 및/또는 이점을 설명한다는 것을 이해할 것이다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 본 개시내용은 전장 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하는 제공된 mRNA 작제물이 면역원성 조성물로서 또는 면역원성 조성물(예를 들어, 백신) 특정 대상체 집단(예컨대 특정 연령 집단)에서 특히 유용하고/유용하거나 효과적일 수 있음을 제안한다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 이러한 mRNA 조성물은 어린(예를 들어, 25세 미만, 20세 미만, 18세 미만, 15세 미만, 10세 미만 또는 더 어린) 대상체에서 특히 유용할 수 있고; 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서, 이러한 mRNA 조성물은 늙은 대상체(예를 들어, 55세 이상, 60세 이상, 65세 이상, 70세 이상, 75세 이상, 80세 이상, 85세 이상 또는 더 늙은)에서 특히 유용할 수 있다. 특정 구체예에서, 본원에서 제공되는 이러한 mRNA 작제물을 포함하는 면역원성 조성물은 적어도 일부 대상자(예컨대, 일부 대상자 연령 그룹에서)에서, 용량 수준 및/또는 용량 횟수-의존적 전신 반응성(예컨대, 발열, 피로, 두통, 오한, 설사, 근육통, 및/또는 관절통, 등) 및/또는 국소 내성(예컨대, 통증, 발적, 및/또는 부기, 등)의 최소 내지 보통 증가(예를 들어, 30% 이하 증가, 20% 이하 증가, 또는 10% 이하 증가, 또는 그 이하)를 나타내며; 일부 구체예에서, 이러한 반응성 및/또는 국소 내성은 특히 더 젊은 연령 그룹(예를 들어, 25세 미만, 20세 미만, 18세 이하) 대상체 및/또는 더 늙은(예를 들어, 고령자) 연령대(예컨대 65-85세)에서 관찰된다. 일부 구체예에서, 전장 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하

는 제공된 mRNA 작제물은 SARS-CoV-2 감염과 관련된 심각한 질병에 걸릴 위험이 높은 대상체 집단(예컨대 고령자 집단, 예를 들어 65-85세 그룹)에서 SARS-CoV-2 중화 항체 반응 수준을 유도하기 위한 면역원성 조성물(예컨대 백신)로서 또는 이러한 조성물에 사용하기에 특히 유용하고/하거나 효과적일 수 있다. 일부 구체예에서, 본 개시내용을 읽는 통상의 기술자는 무엇보다도, 젊은 집단과 늙은 집단에서 바람직한 반응성 프로파일(예컨대, 본원에 기재된 바와 같은)을 나타내는, 전장 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하는 제공된 mRNA 작제물이, 본원에 기재된 바와 같은 면역학적 효과(예를 들어, SARS-CoV-2 중화 항체의 생성 및/또는 T 세포 반응(예컨대 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 반응))를 달성하기 위한 면역원성 조성물 (예컨대, 백신)로서 또는 이러한 면역원성 조성물에 사용하기에 특히 유용하고/유용하거나 효과적일 수 있음을 이해할 것이다. 일부 구체예에서, 본 개시내용은 또한 전장 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하는 제공된 mRNA 작제물이, 이러한 mRNA 작제물을 포함하는 면역원성 조성물로 면역화되고 이어서 SARS-CoV-2 균주에 의해 챌린지된 비인간 포유동물 대상자(예를 들어, 붉은털 원숭이)에서 SARS-CoV-2이 조기 제거되는 것에 의해 특징지어지는 바와 같이, SARS-CoV-2 감염으로부터의 보호에 특히 효과적일 수 있음을 시사한다. 일부 구체예에서, SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 이러한 조기 제거는 이러한 mRNA 작제물을 포함하는 면역원성 조성물로 면역화되고 이후 SARS-CoV-2 균주에 의해 챌린지된 비인간 포유동물 대상자(예를 들어, 붉은털 원숭이)의 코에서 관찰될 수 있다.

[0124] 일부 구체예에서, 본 개시내용은 전장 SARS-CoV-2 S 단백질(예컨대, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 전장 SARS-CoV-2 S 단백질)을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임을 포함하는 RNA(예를 들어, mRNA)을 제공하며, 상기 RNA는 폴리펩타이드의 세포내 발현에 적합하다. 일부 구체예에서, 인코딩된 폴리펩타이드는 SEQ ID NO:_7의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 이러한 RNA(예를 들어, mRNA)는 (다가)양이온성 폴리머, 폴리플렉스(들), 단백질(들) 또는 펩타이드(들)에 의해 복합체화될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 RNA는 지질 나노입자(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)로 제형화될 수 있다.

[0125] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 면역원성 조성물은 SARS-CoV-2 폴리펩타이드 또는 그의 변이체의 면역반응성 에피토프를 복수개(예컨대, 적어도 2개 이상, 예를 들어 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개 등) 포함할 수 있다. 이러한 일부 구체예에서, 이러한 복수의 면역반응성 에피토프는 복수의 RNA(예를 들어, mRNA)에 의해 인코딩될 수 있다. 이러한 일부 구체예에서, 이러한 복수의 면역반응성 에피토프는 단일 RNA(예를 들어, mRNA)에 의해 인코딩될 수 있다. 일부 구체예에서, 복수의 면역반응성 에피토프를 인코딩하는 핵산 서열은 링커(예를 들어, 일부 구체예에서 펩타이드 링커)에 의해 단일 RNA(예를 들어, mRNA)에서 서로 분리될 수 있다. 일부 구체예에서 제공된 폴리에피토프 면역원성 조성물(예를 들어, 전장 SARS-CoV-2 스파이크 단백질을 인코딩하는 것을 포함)은 SARS-CoV-2 변이체의 유전적 다양성을 고려할 때, 수많은 바이러스 변이체에 대한 보호를 제공하는데 특히 유용할 수 있고/있거나, 다양하고/다양하거나 강력한(예컨대 1회 이상의 용량 투여 후 예컨대 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60일 이상 동안 지속가능한, 예컨대 검출가능한) 중화 항체 및/또는 T 세포 반응, 특히 특히 강력한 T_H1형 T 세포(예컨대 CD4+ 및/ 또는 CD8+ T 세포) 반응을 개발하는데 있어 보다 큰 기회를 제공할 수 있으나, 특정 이론에 구애받고자 하는 것은 아니다.

[0126] 일부 구체예에서, 본 개시내용은 제공된 조성물 및/또는 방법이(예를 들어, 일부 구체예에서 성인 집단일 수 있거나 성인 집단을 포함할 수 있는 관련 집단에 투여될 때), 단일 투여로 하나 이상의 특정한 치료 결과(예컨대 본원에 기술된 바와 같은 효과적인 면역 반응 및/또는 인코딩된 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 단편의 검출 가능한 발현)를 달성할 수 있다는 특징이 있음을 문서화한다; 이러한 일부 구체예에서, 결과는 예를 들어 본원에 기재된 mRNA 백신의 부재시 관찰된 것과 비교하여 평가될 수 있다. 일부 구체예에서, 특정한 결과는 하나 이상의 대체 전략에 필요한 것보다 더 낮은 용량으로 달성될 수 있다.

[0127] 일부 구체예에서, 본 개시내용은 분리된 메신저 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 면역원성 조성물을 제공하며, 여기서 상기 분리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 SARs-CoV-2 S 단백질의 수용체-결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 오픈 리딩 프레임을 포함하며, 여기서 단리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 적어도 하나의 지질 나노입자로 제형화된다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 이러한 지질 나노입자는 몰비로 20-60% 이온화 가능한 양이온성 지질, 5-25% 비-양이온성 지질(예를 들어, 중성 지질), 25-55% 스테롤 또는 스테로이드, 및 0.5-15% 폴리머-접합된(conjugated) 지질(예컨대, PEG-변형된 지질)을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 지질 나노입자에 포함된 스테롤 또는 스테로이드는 콜레스테롤일 수 있거나 콜레스테롤을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 중성 지질은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC)이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 폴리머-접합 지질은 PEG2000 DMG이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 면역원성 조성물은 약 1 mg 내지 10 mg, 또는 3 mg 내지 8 mg, 또는 4 mg 내지 6 mg의 총 지질 함량을 포함할

수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 면역원성 조성물은 약 5 mg/mL - 15 mg/mL 또는 7.5 mg/mL - 12.5 mg/mL 또는 9-11 mg/mL의 총 지질 함량을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 단리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 적어도 1회 용량의 면역원성 조성물이 투여된 대상자에서 면역 반응을 유도하기에 효과적인 양으로 제공된다. 일부 구체예에서, 제공된 단리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 폴리펩타이드는 완전한 S 단백질을 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 면역원성 조성물에 제공된 이러한 단리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 자가복제 RNA가 아니다.

[0128] 일부 구체예에서, 면역 반응은 SARS-CoV-2 단백질(예를 들어, 일부 구체예에서 안정화된 융합전 스파이크 삼량체 포함) 또는 이의 단편에 대한 결합 항체 역가의 생성을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 면역 반응은 SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD)에 대한 결합 항체 역가의 생성을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 제공된 면역원성 조성물은 제1 용량 투여 후 예를 들어 약 2주일 까지, 적어도 이러한 제공된 면역원성 조성물을 받은 대상자 집단의 70%(예를 들어, 예컨대, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 및 최대 100% 포함)에서 혈청전환과 함께 검출가능한 결합 항체 역가를 달성하도록 확립되었다.

[0129] 일부 구체예에서, 면역 반응은 SARS-CoV-2 단백질(예를 들어, 일부 구체예에서 안정화된 융합전 스파이크 삼량체 포함) 또는 이의 단편에 대한 중화 항체 역가의 생성을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 면역 반응은 SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD)에 대한 중화 항체 역가의 생성을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 제공된 면역원성 조성물은 적절한 시스템(예를 들어, SARS-CoV-2에 감염된 인간 및/또는 이의 집단, 및/또는 이를 위한 모델 시스템)에서 중화 항체 역가를 달성하기 위해 확립되었다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 이러한 중화 항체 역가는 인간 집단, 비인간 영장류 모델(예를 들어, 붉은털 원숭이) 및/또는 마우스 모델 중 하나 이상에서 입증되었을 수 있다.

[0130] 일부 구체예에서, 중화 항체 역가는 적절한 대조군(예를 들어, 백신접종되지 않은 대조군 대상자, 또는 약독화된 바이러스 생백신, 불활성화 바이러스 백신, 또는 단백질 서브유닛 바이러스 백신, 또는 이들의 조합으로 백신접종된 대상자)에 대해 관찰된 것에 비해 B 세포의 바이러스 감염을 감소시키기에 충분한(예컨대, 충분하도록 확립된) 역가이다. 그러한 일부 구체예에서, 이러한 감소는 적어도 적어도 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 이상의 감소이다.

[0131] 일부 구체예에서, 중화 항체 역가는 적절한 대조군(예를 들어, 백신접종되지 않은 대조군 대상자, 또는 약독화된 바이러스 생백신, 불활성화 바이러스 백신, 또는 단백질 서브유닛 바이러스 백신, 또는 이들의 조합으로 백신접종된 대상자)에 대해 관찰된 것에 비해 무증상 바이러스 감염률을 감소시키기에 충분한(예컨대, 충분하도록 확립된) 역가이다. 그러한 일부 구체예에서, 이러한 감소는 적어도 적어도 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 이상의 감소이다. 일부 구체예에서, 이러한 감소는 SARS-CoV-2 N 단백질 혈청학의 평가를 특징으로 할 수 있다. 무증상 감염에 대한 유의한 보호는 실생활 관찰에서도 확인되었다(Dagan N. et al., N Engl J Med. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2101765. Epub ahead of print. PMID: 33626250 도 참조할 것).

[0132] 일부 구체예에서, 중화 항체 역가는 적절한 대조군(예를 들어, 백신접종되지 않은 대조군 대상자, 또는 약독화된 바이러스 생백신, 불활성화 바이러스 백신, 또는 단백질 서브유닛 바이러스 백신, 또는 이들의 조합으로 백신접종된 대상자)에 대해 관찰된 것에 비해 백신접종된 대상자의 상피 세포 및/또는 B 세포와 바이러스와의 융합을 감소 또는 차단하는데 충분한(예컨대, 충분하도록 확립된) 역가이다. 그러한 일부 구체예에서, 이러한 감소는 적어도 적어도 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 이상의 감소이다.

[0133] 일부 구체예에서, 중화 항체 역가의 유도는 B 세포 수의 상승을 특징으로 할 수 있으며, 일부 구체예에서는 형질 세포, 클래스 전환된 IgG1- 및 IgG2-양성 B 세포, 및/또는 배 중심(germinal center) B 세포를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 제공된 면역원성 조성물은 적절한 시스템에서(예를 들어, SARS-CoV-2 및/또는 그의 집단에 감염된 인간에서, 및/또는 그의 모델 시스템에서) B 세포 수의 증가를 달성하기 위해 확립되었다. 예를 들어, 일부 구체예에서, B 세포 수의 이러한 상승은 인간 집단, 비인간 영장류 모델(예를 들어, 붉은털 원숭이) 및/또는 마우스 모델 중 하나 이상에서 입증되었을 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 B 세포 수의 상승은 제공된 면역원성 조성물로 이러한 마우스 모델을 면역화한 후(예를 들어, 적어도 7일, 적어도 8일, 적어도 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일 후) 마우스 모델의 배액 림프절 및/또는 비장에서 입증되었을 수 있다.

[0134] 일부 구체예에서, 중화 항체 역가의 유도는 혈액 중 순환 B 세포 수의 감소를 특징으로 할 수 있다. 일부 구체

예에서, 제공된 면역원성 조성물은 적절한 시스템에서(예를 들어, SARS-CoV-2 및/또는 그의 집단에 감염된 인간에서, 및/또는 그의 모델 시스템에서) 혈액 중 순환 B 세포 수의 감소를 달성하기 위해 확립되었다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 혈액 중 순환 B 세포 수의 이러한 감소는 인간 집단, 비인간 영장류 모델(예를 들어, 붉은털 원숭이) 및/또는 마우스 모델 중 하나 이상에서 입증되었을 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 혈액 중 순환 B 세포 수의 감소는 제공된 면역원성 조성물로 이러한 마우스 모델을 면역화한 후(예를 들어, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 8일, 적어도 9일, 적어도 10일 후) 마우스 모델에서 입증되었을 수 있다. 혈액 중 순환 B 세포의 감소는 B 세포가 림프 구획으로 귀소하기 때문일 수 있으나 어떤 이론에 구애받고자 하는 것은 아니다.

[0135] 일부 구체예에서, 제공된 면역원성 조성물에 의해 유도된 면역 반응은 T 세포 수의 증가를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 T 세포 수의 상승은 T 여포 헬퍼(T_{FH}) 세포 수의 상승을 포함할 수 있으며, 이는 일부 구체예에서 ICOS 상향조절을 갖는 하나 이상의 서브세트를 포함할 수 있다. 당업자는 배중심에서의 T_{FH}의 증식이 적응성 B-세포 반응의 생성에 필수적이며, 또한 인간에서 백신접종 후 순환에서 발생하는 T_{FH}가 전형적으로 높은 빈도의 항원-특이 항체와 연관되어 있음을 이해할 것이다. 일부 구체예에서, 제공된 면역원성 조성물은 적절한 시스템(예를 들어, SARS-CoV-2로 감염된 인간 및/또는 집단, 및/또는 그의 모델 시스템)에서 T 세포(예를 들어, T_{FH} 세포)의 수의 증가를 달성하기 위해 확립되었다. 예를 들어, 일부 구체예에서, T 세포(예를 들어, T_{FH} 세포) 수의 이러한 상승은 인간 집단, 비인간 영장류 모델(예를 들어, 붉은털 원숭이), 및 /또는 마우스 모델 중 하나 이상에서 입증되었을 수 있다. 일부 구체예에서, T 세포(예를 들어, T_{FH} 세포) 수의 이러한 증가는 제공된 면역원성 조성물로 이러한 마우스 모델을 면역화한 후(예컨대, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 8일, 적어도 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일 후) 마우스 모델의 배액 림프절, 비장 및/또는 혈액에서 입증되었을 수 있다.

[0136] 일부 구체예에서, 제공된 면역원성 조성물에 의해 유도된 SARS-CoV-2에 대한 보호 반응은 SARS-CoV-2에 대한 적절한 모델 시스템에서 확립되었다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 그러한 보호 반응은 동물 모델, 예를 들어, 비인간 영장류 모델(예를 들어, 붉은털 원숭이) 및/또는 마우스 모델에서 증명되었을 수 있다. 일부 구체예에서, 제공된 면역원성 조성물로 적어도 1회 면역화된 비인간 영장류(예컨대 붉은털 원숭이) 또는 그의 집단은 예를 들어 비강내 및/또는 또는 기관내 경로를 통해 SARS-CoV-2로 챌린지된다. 일부 구체예에서, 이러한 챌린지는 제공된 면역원성 조성물로 적어도 1회 면역화(예를 들어, 적어도 2회 면역화 포함)로부터 수 주일(예를 들어, 5-10주) 후에 수행될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 챌린지는 제공된 면역원성 조성물로 적어도 1회 면역화된(예컨대 적어도 2회 면역화 포함) 비인간 영장류(들)(예컨대 붉은털 원숭이(들))에서, SARS-CoV-2 중화 역가의 검출 가능한 수준(예를 들어, SARS-CoV-2 스파이크 단백질 및/또는 이의 단편에 대한 항체 반응, 예컨대 비제한적인 예로서 안정화된 융합전 스파이크 삼량체, S-2P 및/또는 SARS-CoV-2의 수용체-결합 부분에 대한 항체 반응)이 달성될 때 수행될 수 있다. 일부 구체예에서, 보호 반응은 챌린지된 비인간 영장류(들)(예를 들어, 붉은털 원숭이(들))의 기관지폐포 세척액(BAL) 및/또는 비강 면봉에서 검출가능한 바이러스 RNA의 부재 또는 감소를 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 면역원성 조성물은 면역화되지 않은 동물, 예를 들어 비인간 영장류(예를 들어, 붉은털 원숭이) 집단에 비해, 집단 중 제공된 면역원성 조성물로 적어도 1회 면역화된, 챌린지된 동물, 예컨대 비인간 영장류(예컨대 붉은털 원숭이) 더 많은 비율이, 그들의 BAL 및/또는 비강 면봉에서 검출가능한 RNA의 부재를 나타냄을 특징으로 할 수 있다.

[0137] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 면역원성 조성물은 면역화되지 않은 동물, 예를 들어 비인간 영장류(예를 들어, 붉은털 원숭이) 집단에 비해, 집단 중 제공된 면역원성 조성물로 적어도 1회 면역화(예를 들어, 적어도 2회의 면역화를 포함)된, 챌린지된 동물, 예컨대 비인간 영장류(예컨대 붉은털 원숭이)가, 10일 이내, 예를 들어 8일 이내, 6일 이내, 4일 이내 등에, 비강 면본 중 바이러스 RNA의 제거를 나타낼 수 있음을 특징으로 한다.

[0138] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 이를 필요로 하는 대상자에게 투여될 때 백신-관련 증강 호흡기 질환의 위험을 실질적으로 증가시키지 않는다. 일부 구체예에서, 이러한 백신-관련 증강 호흡기 질환은 항체-의존성 복제 증진 및/또는 불량한 중화 활성 및 Th2-편향 반응을 갖는 항체를 유도한 백신 항원과 관련될 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 면역원성 조성물은 이를 필요로 하는 대상자에게 투여될 때 항체-의존성 복제 증강의 위험을 실질적으로 증가시키지 않는다.

[0139] 일부 구체예에서, 단일 용량의 mRNA 조성물(예를 들어, 지질 나노입자로 제형화됨)은 백신접종 10일이 채 못되어 치료 항체 반응을 유도할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 치료적 항체 반응은 이러한 mRNA 백신이, 동물

모델에서 0.1 내지 10 ug 또는 0.2 내지 5 ug의 용량으로 백신접종한지 10일 후 측정된 약 10 내지 100 ug/mL IgG의 생성을 유도할 수 있는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 치료적 항체 반응은 이러한 mRNA 백신이, 동물 모델에서 0.1 내지 10ug 또는 0.2 내지 5ug의 용량으로 백신접종한지 20일 후에 측정된 약 100 내지 1000ug/mL IgG를 유도하는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구체예에서, 단일 용량은 백신접종 15일 후 동물 모델에서 측정시 10-200 pVN50 역가의 슈도바이러스-중화 역가를 유도할 수 있다. 일부 구체예에서, 단일 용량은 백신접종 15일 후 동물 모델에서 측정시 50-500 pVN50 역가의 슈도바이러스-중화 역가를 유도할 수 있다.

[0140] 일부 구체예에서,

[0141] mRNA 조성물의 단일 용량은 SARS-COV2 면역원성 단백질 또는 그의 단편 (예컨대, 스파이크 단백질 및/또는 수용체 결합 도메인)을 인코딩하는 mRNA 작제물 등의 부재시 관찰되는 것에 비해, 항원-특이적 CD8 및/또는 CD4 T 세포 반응을 적어도 50% 이상(예컨대, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 이상) 확장시킬 수 있다. 일부 구체예에서, mRNA 조성물의 단일 용량은 SARS-COV2 면역원성 단백질 또는 그의 단편 (예컨대, 스파이크 단백질 및/또는 수용체 결합 도메인)을 인코딩하는 mRNA 작제물 등의 부재시 관찰되는 것에 비해, 항원-특이적 CD8 및/또는 CD4 T 세포 반응을 적어도 1.5배 이상(예컨대, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 500배, 적어도 1000배 이상) 확장시킬 수 있다.

[0142] 일부 구체예에서, 투여요법(예를 들어, mRNA 조성물의 단일 용량)은 Th1 표현형(예를 들어, IFN-감마, IL-2, IL-4, 및/또는 IL-5의 발현을 특징으로 함)을 나타내는 T 세포를, SARS-COV2 면역원성 단백질 또는 그의 단편 (예컨대, 스파이크 단백질 및/또는 수용체 결합 도메인)을 인코딩하는 mRNA 작제물의 부재시 관찰되는 것에 비해, 적어도 50% 이상 (예컨대, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 이상) 확장시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 투여요법(예를 들어, mRNA 조성물의 단일 용량)은 Th1 표현형(예를 들어, IFN-감마, IL-2, IL-4, 및/또는 IL-5의 발현을 특징으로 함)을 나타내는 T 세포를, SARS-COV2 면역원성 단백질 또는 그의 단편 (예컨대, 스파이크 단백질 및/또는 수용체 결합 도메인)을 인코딩하는 mRNA 작제물의 부재시 관찰되는 것에 비해, 적어도 1.5배 이상(예컨대, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 500배, 적어도 1000배, 이상) 확장시킬 수 있다. 일부 구체예에서, T-세포 표현형은 Th1-우세 사이토카인 프로필(예를 들어, INF-감마 양성 및/또는 IL-2 양성을 특징으로 함)이거나 이를 포함할 수 있고/있거나 생물학적으로 유의하지 않은 IL-4 분비가 없거나 이를 포함할 수 있다.

[0143] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 투여요법(예를 들어, mRNA 조성물의 1회 이상의 용량)은 RBD-특이적 CD4+ T 세포의 생성을 유도 및/또는 달성한다. 무엇보다도, 본 개시내용은 SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 RBD-함유 부분을 인코딩하는(예를 들어, 및 전장 SARS-CoV-2 스파이크 단백질을 인코딩하지 않는) mRNA 조성물이 그러한 RBD-특이적 CD4+ T 세포의 유도 및/또는 생성에 특히 유용 및/또는 효과적일 수 있음을 문서화한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물에 의해(예를 들어, SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 RBD-함유 부분을 인코딩하는 mRNA 조성물 및, 일부 구체예에서 전장 SARS-CoV-2 스파이크 단백질을 인코딩하지 않는 mRNA 조성물에 의해) 유도된 RBD-특이적 CD4+ T 세포는 Th1-우세 사이토카인 프로필(예컨대 INF-감마 양성 및/또는 IL-2 양성 및/또는 없거나 생물학적으로 유의하지 않은 IL-4 분비을 특징으로 함)을 입증한다.

[0144] 일부 구체예에서, mRNA 조성물(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같음)을 투여받은 대상자에서 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 반응(예를 들어, 본원에 기재된 것)의 특성화는 대상자로부터 수집된 PBMC를 사용하는 생체외 검정, 예를 들어, 실시예에 설명된 바와 같은 분석법을 사용하여 수행될 수 있다.

[0145] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물의 면역원성은 하기 혈청학적 면역원성 검정 중 하나 이상에 의해 평가될 수 있다: 제공된 mRNA 조성물을 투여받은 대상자의 혈액 샘플에 존재하는 SARS-CoV-2 S 단백질에 대한 IgG, IgM 및/또는 IgA의 검출, 및/또는 SARS-CoV-2 슈도바이러스 및/또는 야생형 SARS-CoV-2 바이러스를 사용한 중화 분석.

[0146] 일부 구체예에서, mRNA 조성물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)은 10 ug - 100 ug 또는 1 ug - 50 ug의 용량으로 백신접종 후 7일 이내에 비교적 낮은 부작용(예를 들어, 1등급 내지 2등급 통증, 발적 및/또는 부기)을 제공한다. 일부 구체예에서, mRNA 조성물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)은 10 ug - 100 ug의 용량으로 접종 후 7일 이내 전신 사례(예를 들어, 1등급 내지 2등급 발열, 피로, 두통, 오한, 구토, 설사, 근육통, 관절통, 약물투여, 및 이들의 조합)가 상대적으로 낮은 빈도로 관찰된다.

[0147] 일부 구체예에서, mRNA 조성물은 대상자에게 10-100 ug 용량 또는 1 ug-50 ug 용량으로 투여시, SARS-CoV2 면

역원성 단백질 또는 이의 단편(예컨대 스파이크 단백질 및/또는 수용체 결합 도메인)에 대한 IgG가 백신접종 21일 후, 100-100,000 U/mL 또는 500-50,000 U/mL의 수준으로 생산된다는 특징을 갖는다.

[0148] 일부 구체예에서, mRNA는 SARS-CoV-2의 천연적으로 접힌 삼량체 수용체 결합 단백질을 인코딩한다. 일부 구체예에서, mRNA는 인코딩된 변이체가 10pM 이하의 Kd, 예컨대, 9 pM, 8 pM, 7 pM, 6 pM, 5 pM, 4 pM 이하의 Kd에서 ACE2에 결합하도록 이러한 수용체 결합 단백질의 변이체를 인코딩한다. 일부 구체예에서, mRNA는 인코딩된 변이체가 5 pM의 Kd에서 ACE2에 결합하도록 이러한 수용체 결합 단백질의 변이체를 인코딩한다. 일부 실시예에서, mRNA는 ACE2 수용체 결합 부위를 포함하는 SARS-CoV-2의 삼량체 수용체 결합 부분을 인코딩한다. 일부 구체예에서, mRNA는 인코딩 서열이, ACE2 수용체 결합 부위를 갖고 ACE2에 결합하는 삼량체 단백질의 발현을 지시하도록, SARS-CoV-2의 수용체-결합 부분에 대한 인코딩 서열 및 삼량체화 도메인(예를 들어, T4 피브리틴의 천연 삼량체화 도메인(폴돈:foldon))을 포함한다. 예를 들어, 일부 구체예에서, mRNA는 Kd가 SARS-CoV-2의 RBD에 대한 것보다 적어도 10배(예를 들어, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 500배, 적어도 1000배 등) 더 작도록 SARS-CoV-2 또는 이의 변이체의 삼량체 수용체 결합 부분을 인코딩한다.

[0149] 일부 구체예에서, mRNA(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같음)에 의해 인코딩된 SARS-CoV-2의 삼량체 수용체 결합 부분은 전자저온현미경(cryoEM)으로 특징지어지는 바와 같이 폐쇄 형태에서 ACE2 및 B^0AT1 중성 아미노산 산 트랜스포터와 복합시 약 3-4 옹스트롬의 크기를 갖는 것으로 결정될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 mRNA 조성물 또는 방법에 의해 특징화되고/되거나 달성되는 기하 평균 SARS-CoV-2 중화 역가는 COVID-19 회복기 인간 패널(예컨대 증상 발현 후 20-40일 및 무증상 회복기 시작으로부터 적어도 14일 후에 수득된 COVID-19 회복기 인간으로부터의 혈청 패널)의 중화 역가의 적어도 2배, 적어도 2.5배, 적어도 3배 또는 그 이상에 도달할 수 있다.

[0150] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 mRNA 조성물은 이러한 조성물로(예를 들어, 적어도 1회 용량, 적어도 2회 용량 등으로) 치료된 대상자가 적절한 대조군(예컨대 그렇게 치료받지 않았고 합리적으로 비교할 수 있는 노출 조건에서 바이러스에 노출된 비교 가능한 대상자 또는 집단에 대해 설정된 예상 수준)에 비해, 관련 부위(들)(예컨대 코 및/또는 폐 등 및/또는 감염되기 쉬운 기타 조직)에서 바이러스 RNA의 감소된 및/또는 보다 일시적인 존재를 나타낼 수 있음을 특징으로 할 수 있다.

[0151] 일부 실시예에서, mRNA 작제물(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같음)에 의해 발현된 RBD 항원은 예를 들어 그의 면역원성을 증가시키기 위해 T4-피브리틴-유래 "폴돈" 삼량합체화 도메인의 첨가에 의해 변형될 수 있다.

[0152] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 특정 국소 반응(예를 들어, 통증, 발적 및/또는 부기 등) 및/또는 전신 사례(예를 들어, 발열, 피로, 두통 등)이 백신접종 후 2일째에 발생할 수 있고/있거나 최고조에 달할 수 있다는 특징을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물은 특정 국소 반응(예를 들어, 통증, 발적 및/또는 부기 등) 및/또는 전신 사례(예를 들어, 발열, 피로, 두통 등)이 백신접종 후 7일째에 해소될 수 있음을 특징으로 한다.

[0153] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 (예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은) mRNA 조성물이 투여된 대상자에서 일상적인 임상 실험실 값 또는 실험실 비정상치에 있어 등급 1 이상의 변화가 관찰되지 않는 것을 특징으로 한다. 이러한 임상 실험실 분석의 예에는 림프구 수, 혈액학적 변화 등이 포함될 수 있다.

[0154] 일부 구체예에서,

[0155] 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 제1 용량(예를 들어, 10-100 ug 또는 1 ug-50 ug) 후 21일까지, SARS-CoV-2 S 폴리펩타이드 또는 이의 면역원성 단편(예컨대 RBD)에 대한 IgG의 기하 평균 농도(GMC)가 COVID-19 회복기 인간 혈청 패널에 대해 602 유닛/mL인 것에 비해 200-3000 유닛/mL 또는 500-3000 유닛/mL 또는 500-2000 유닛/mL에 달할 수 있다는 특징을 갖는다. 일부 구체예에서,

[0156] 본원에 기술된 mRNA 조성물은 제2 용량(예를 들어, 10-30 ug; 또는 1 ug-50 ug) 후 7일까지 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 또는 이의 면역원성 단편(예컨대 RBD)에 대한 IgG의 기하 평균 농도(GMC)가 예를 들어 적어도 8배 이상, 예컨대 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 30배, 적어도 35배, 적어도 40배 이상 또는 그 이상까지 증가할 수 있음을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 제2 용량(예를 들어, 10-30 ug; 또는 1 ug-50 ug) 후 7일까지 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 또는 이의 면역원성 단편(예컨대 RBD)에 대한 IgG의 기하 평균 농도(GMC)가 1500 유닛/mL 내지 40,000 유닛/mL 또는 4000 유닛/mL 내지 40,000 유닛/mL로 증가할 수 있음을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 항체 농도는 제1 용량 투여 후 적어도 20일 이상, 예컨대, 적어도 25일, 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도

40일, 적어도 45일, 적어도 50일, 또는 제2 용량 후 적어도 10일 이상, 예컨대, 적어도 15일, 적어도 20일, 적어도 25일, 또는 그 이상 지속될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체 농도는 제1 용량 투여 후 35일까지, 또는 제2 용량 투여 후 적어도 14일 동안 지속될 수 있다.

[0157] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 제2 용량(예를 들어, 1-50ug) 투여 후 7일째에 측정시, SARS-CoV-2 S 폴리펩타이드 또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에 대한 IgG의 GMC는, COVID-19 회복기 인간 혈청 패널에서 관찰된 항체 농도에 비해 적어도 30% 더 높다(예컨대 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 더 높다)는 특징을 갖는다. 많은 구체예에서, 본원에 설명된 IgG의 기하 평균 농도(GMC)는 RBD-결합 IgG의 GMC이다.

[0158] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 제2 용량(예를 들어, 10-50ug) 투여 후 7일째에 측정시, SARS-CoV-2 S 폴리펩타이드 또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에 대한 IgG의 GMC가, COVID-19 회복기 인간 혈청 패널에서 관찰된 항체 농도에 비해 적어도 1.1배 더 높다(예를 들어, 예컨대, 적어도 1.5배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 30배 더 높다)는 특징을 갖는다. 많은 구체예에서, 본원에 설명된 IgG의 기하 평균 농도(GMC)는 RBD-결합 IgG의 GMC이다.

[0159] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 제2 용량 투여 후 21일째에 측정시, SARS-CoV-2 S 폴리펩타이드 또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에 대한 IgG의 GMC가, COVID-19 회복기 인간 혈청 패널에서 관찰된 항체 농도에 비해 적어도 5배 더 높다(예컨대, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 30배 더 높다)는 특징을 갖는다. 많은 구체예에서, 본원에 설명된 IgG의 기하 평균 농도(GMC)는 RBD-결합 IgG의 GMC이다.

[0160] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 SARS-CoV-2 중화 기하 평균 역가(GMT)의 증가가 제1 용량 투여 후 21일에 관찰된다는 특징을 갖는다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물은 대상자가 제2 용량(예컨대, 10 μg-30 μg)을 투여받은지 7일 후의 혈청 중화 GMT가, COVID-19 회복기 혈청 패널의 94인 경우에 비해 150-300에 달하여, 실질적으로 더 큰 혈청 중화 GMT를 나타낸다는 특징이 있다.

[0161] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 제2 용량 투여 7일 후에 보호 효능이 적어도 60%, 예컨대, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90, 또는 적어도 95%임을 특징으로 한다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 제2 용량 투여 7일 후에 보호 효능이 적어도 70%인 것을 특징으로 한다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 제2 용량 투여 7일 후에 보호 효능이 적어도 80%인 것을 특징으로 한다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 제2 용량 투여 7일 후에 보호 효능이 적어도 90%인 것을 특징으로 한다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 제2 용량 투여 7일 후에 보호 효능이 적어도 95%인 것을 특징으로 한다.

[0162] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물은 용량(예컨대 제2 용량) 투여으로부터 적어도 7일 후, SARS-CoV-2에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물은 용량(예컨대 제2 용량) 투여으로부터 14일 이내에, SARS-CoV-2에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 특징으로 한다. 일부 실시예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물은 백신접종 투여요법으로부터 적어도 7일 후에 SARS-CoV-2에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 백신접종 투여요법은 제1 용량 및 제2 용량을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 용량 및 제2 용량은 적어도 21일 간격으로 투여된다. 그러한 일부 구체예에서, SARS-CoV-2에 대한 면역 반응은 제1 용량 투여 후 적어도 28일 후에 유도된다.

[0163] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 또는 이의 면역원성 단편(예컨대 RBD)에 대한 항체의 기하 평균 농도(GMC)가, 본 개시내용의 mRNA 조성물(예를 들어, 10-30㎍의 용량)을 투여받은 대상자의 혈청에서 측정시, 회복기 혈청 패널(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같음)에서 측정된 것보다 실질적으로 더 높다는 특징을 갖는다. 대상체가 제2 용량(예컨대 제1 용량 투여로부터 21일 후)을 받을 수 있는 일부 구체예에서, SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 또는 이의 면역원성 단편(예컨대 RBD)에 대한 항체의 기하 평균 농도(GMC)는 대상체의 혈청에서 측정시, 회복기 혈청 패널 GMC보다 8.0배 내지 50배 더 높을 수 있다. 대상체가 제2 용량(예컨대 제1 용량 투여로부터 21일 후)을 받을 수 있는 일부 구체예에서, SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 또는 이의 면역원성 단편(예컨대 RBD)에 대한 항체의 기하 평균 농도(GMC)는 대상자의 혈청에서 측정된 바와 같이, 회복기 혈청 패널 GMC에 비해 적어도 8.0배 이상, 예컨대, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배 이상일 수 있다.

[0164] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 제1 용량 투여 후 28일 또는 제2 용량 투여 후 7일에 측정된 SARS-CoV-2 중화 기하 평균 역가가 회복기 혈청 패널의 중화 GMT에 비해 적어도 1.5배 이상(예컨대, 적어도 2배, 적어도 2.5배, 적어도 3배, 적어도 3.5배 이상)일 수 있음을 특징으로 한다.

[0165] 일부 구체예에서, 대상자에게 투여되는 섭생법은 단일 용량일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 대상자에게 투여되는 투여요법은 다회 용량(예를 들어, 적어도 2회 용량, 적어도 3회 용량 또는 그 이상)을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 대상자에게 투여되는 투여요법은 제1 용량 및 제2 용량을 포함할 수 있으며, 이는 적어도 2주 간격, 적어도 3주 간격, 적어도 4주 간격 또는 그 이상의 간격으로 제공된다. 일부 구체예에서, 이러한 용량들은 적어도 1개월, 적어도 2 개월, 적어도 3 개월, 적어도 4 개월, 적어도 5 개월, 적어도 6 개월, 적어도 7 개월, 적어도 8 개월, 적어도 9 개월, 적어도 10 개월, 적어도 11 개월, 적어도 12 개월의 간격을 두고 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 용량은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ,10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60일 이상의 간격을 두고 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 용량은 약 1 내지 약 3주 간격, 또는 약 1 내지 약 4주 간격, 또는 약 1 내지 약 5주 간격, 또는 약 1 내지 약 6주 간격, 또는 약 1 내지 6주 초과의 간격으로 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 용량들은 예를 들어 약 14일 내지 약 48일 등과 같은 약 7일 내지 약 60일의 간격으로 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 용량 사이의 최소 일수는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21일 이상이다. 일부 구체예에서, 투여 사이의 최대 일수는 약 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21일 이하일 수 있다.

[0166] 일부 구체예에서, 용량 투여는 약 21일 내지 약 28일 간격일 수 있다.

[0167] 일부 구체예에서, 용량 투여는 약 19일 내지 약 28일 간격일 수 있다.

[0168] 일부 구체예에서, 용량 투여는 약 7일 내지 약 28일 간격일 수 있다.

[0169] 일부 구체예에서, 용량 투여는 약 14일 내지 약 24일 간격일 수 있다.

[0170] 일부 구체예에서, 용량 투여는 약 21일 내지 약 42일 간격일 수 있다.

[0171] 일부 구체예에서, 특히 약 3주보다 긴 기간 동안 상승된 항체 및/또는 T-세포 역가를 달성하기 위해 확립된 조성물에 대해 - 예를 들어, 일부 구체예에서, 제공된 조성물은 상승된 항체 및/또는 T-세포 역가를 달성하기 위해 확립된다. 약 3주 이상의 기간 동안 세포 역가(예컨대 SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 관련 부분에 특이적인)를 달성하기 위해 확립된다; 일부 이러한 구체예에서, 투약 요법은 단일 용량만을 포함할 수 있거나, 일부 구체예에서 약 21일 또는 3주보다 긴 기간의 간격을 두고 투여될 수 있는 2회 이상의 용량을 포함할 수 있다. 예를 들어, 이러한 일부 구체에서, 이러한 기간은 약 4주, 5주, 6주 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주 이상 또는 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월 이상 또는 일부 실시예에서 약 1년 이상이다.

[0172] 일부 구체예에서, 제1 용량 및 제2 용량 (및/또는 다른 후속 용량)은 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 제1 용량 및 제2 용량은 삼각근에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 제1 용량 및 제2 용량은 동일한 팔에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 21일 간격으로 일련의 2회 용량(예를 들어, 각각 0.3mL)으로 투여된다(예를 들어, 근육내 주사에 의해). 일부 실시예에서, 각각의 용량은 약 30㎍이다. 일부 구체예에서, 각각의 용량은 30ug 초과, 예를 들어 약 40ug, 약 50ug, 약 60ug일 수 있다. 일부 구체예에서, 각 용량은 30ug 미만, 예를 들어, 약 20ug, 약 10ug, 약 5ug 등일 수 있다. 일부 구체예에서, 각 용량은 약 3ug 이하, 예를 들어, 약 1ug이다. 그러한 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 16세 이상(예를 들어, 16-85세)의 대상자에게 투여된다. 그러한 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 18-55세의 대상체에게 투여된다. 그러한 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 56-85세의 대상체에게 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 단일 용량으로 투여된다(예를 들어, 근육내 주사에 의해).

[0173] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 이러한 mRNA 조성물 및/또는 방법에 의해 유도된 RBD-특이적 IgG(예를 들어, 폴리클로날 반응)가 SARS-CoV-2 RBD-결합 친화성을 가진 참조 인간 모노클로날 항체(예컨대, J. ter Meulen et al., PLOS Med. 3, e237 (2006)에 설명된 CR3022)에 비해 RBD에 대해 더 높은 결합 친화도를 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0174] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상자의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체의 패널(예컨대 적어도 10, 적어도 15 이상)에 걸쳐 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다. 일부 구체예에서, 이러한 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 돌연변이 in RBD의 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 Q321L, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378R, R408I, Q409E, A435S, N439K, K458R, I472V, G476S, S477N, V483A, Y508H, H519P, 등), 및/또는 스파이크 단백질의 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 D614G, 등)를 포함한다. 당업자는 다양한 스파이크 변이체 및/또는 이를 문서화하는 자원(예컨대 COVID-19 바이러스 게놈 분석 파이프라인에 의해 유지되고 https://cov.lanl.gov/components/서열/COV/int_sites_tbls.comp에서 찾아볼 수 있음)에 대해 알고 있으며, 본 명세서를 읽는 당업자라면, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법이 이러한 변이체 및/또는 그의 조합 중 어느 하나 또는 모두에 대해 중화 활성을 나타내는 백신접종된 대상자에서 혈청을 유도하는 능력을 갖는다는 특징이 있음을 이해할 것이다.

[0175] 특정 구체예에서, SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 RBD를 인코딩하는 mRNA 조성물은 백신접종된 대상자의 혈청이, RBD 변이체 (예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 Q321L, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378R, R408I, Q409E, A435S, N439K, K458R, I472V, G476S, S477N, V483A, Y508H, H519P, 등) 및 스파이크 단백질 변이체 (예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 D614G)를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체의 패널(예를 들어, 적어도 10, 적어도 15 또는 그 이상)에 걸쳐 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0176] 특정 구체예에서, S2 서브유닛의 중심 나선의 정상부에 있는 아미노산 위치 986 및 987에서 2개의 연속적인 프롤린 치환을 포함하는 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 변이체를 인코딩하는 mRNA 조성물은, 백신접종된 대상자의 혈청이 RBD 변이체(예컨대, SEQ ID NO: 1에 비해 비제항적인 예로서 Q321L, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378R, R408I, Q409E, A435S, N439K, K458R, I472V, G476S, S477N, V483A, Y508H, H519P, 등) 및 스파이크 단백질 변이체 (예컨대, SEQ ID NO: 1에 비해 비제한적인 예로서 D614G)를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체의 패널(예를 들어, 적어도 10, 적어도 15 또는 그 이상)에 걸쳐 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다. 예를 들어, 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 7 (S P2)을 인코딩하는 mRNA 조성물은 (예컨대, SEQ ID NO: 1에 비해 비제항적인 예로서 Q321L, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378R, R408I, Q409E, A435S, N439K, K458R, I472V, G476S, S477N, V483A, Y508H, H519P, 등) 및 스파이크 단백질 변이체 (예컨대, SEQ ID NO: 1에 비해 비제한적인 예로서 D614G)를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체의 어느 하나에 대해 면역 반응을 이끌어낸다.

[0177] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상자의 혈청이 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질의 위치 501에 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타낸다는 특징이 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상자의 혈청이 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질에서 N501Y 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타낸다는 특징이 있다.

[0178] SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질의 위치 501에 돌연변이를 포함하는 상기 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질에 N501Y 돌연변이를 포함하는 상기 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1에 비해 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, 비제한적인 예로서, SEQ ID NO: 1에 비해 H69/V70 결실, Y144 결실, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, E484K, A701V, L18F, R246I, K417N, L242/A243/L244 결실 등)를 포함할 수 있다.

[0179] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "우려 변종(Variant of Concern) 202012/01"(VOC-202012/01; 계통 B.1.1.7로도 알려짐)에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다. 이 변종은 이전에 Public Health England에서 2020년 12월에 조사 중인 첫 번째 변종(VUI - 202012/01)으로 지정되었지만 우려 변종(VOC-202012/01)으로 재분류되었다. VOC-202012/01은 SARS-CoV-2의 변종으로 2020년 10월 영국에서 COVID-19 대유행 기간 동안 지난달에 채취한 샘플에서 처음 발견되었으며 12월 중순까지 빠르게 확산되기 시작하였다. 이는 영국에서의 COVID-19 감염률의 상당한 증가와 관련이 있다: 이러한 증가는 적어도 부분적으로 인간 세포에서 ACE2에 결합하는 데 필요한 스파이크 당단백질의 수용체 결합 도메인 내부의 N501Y 변화 때문인 것으로 생각된다. VOC-202012/01 변종은 23개의 돌연변이, 즉: 13개의 비동의 돌연변이, 4개의 결실 및 6개의 동의 돌연변이로 정의된다(즉, 단백질을 변화시키는 17개의 돌연변이와 그렇지 않은 6개의 돌연변이가 있음). VOC 202012/01의 스파이크 단백질 변화에는 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, 및 D1118H가 포함된다. VOC-202012/01에서 가장 중요한 변화 중

하나는 아미노산 위치 501에서 아스파라긴(N)이 티로신(Y)으로의 변화한 N501Y인 것 같다. 이 돌연변이는 단독으로 또는 N 말단 도메인(NTD)의 위치 69/70에서의 결실과 조합하여 바이러스의 전염성을 향상시킬 수 있다.

[0180] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, 및 D1118H를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0181] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "501.V2"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다. 이 변종 또는 변이체는 2020년 10월 샘플에서 처음 관찰되었으며, 그 이후로 501.V2 변이를 갖는 300건 이상의 사례가 2020년 12월에 바이러스의 지배적인 형태였던 남아프리카의 전체 게놈 시퀀싱(WGS)에 의해 확인되었다. 예비 결과는 이 변종이 증가된 전염력을 가질 수 있음을 나타낸다. 501.V2 변이체는 D80A, D215G, E484K, N501Y 및 A701V를 포함한 다중 스파이크 단백질 변화로 정의되며, 보다 최근에 수집된 바이러스는 L18F, R246I, K417N 및 결실 242-244와 같은 추가 변화를 갖는다.

[0182] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음의 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 D80A, D215G, E484K, N501Y 및 A701V를 포함하고, 선택적으로: SEQ ID NO: 1에 비해 L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다. 상기 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1과 비교하여 D614G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0183] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질에서 H69/V70 결실을 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타낸다는 특징을 갖는다.

[0184] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 H69/V70 결실을 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예를 들어, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 Y144 결실, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, E484K, A701V, L18F, R246I, K417N, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I 등)를 포함할 수 있다.

[0185] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "우려 변종 202012/01"(VOC-202012/01; 계통 B.1.1.7로도 알려짐)에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다.

[0186] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이: SEQ ID NO: 1과 비교하여 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, 및 D1118H를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0187] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "클러스터 5"(Danish State Serum Institute(SSI)에 의해 ΔFVI-스파이크라고도 함)에 대한 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다. 이것은 덴마크의 North Jutland에서 발견되었으며 밍크 농장을 통해 밍크에서 인간으로 전파된 것으로 여겨진다. 클러스터 5에서는 바이러스의 스파이크 단백질에서 여러 가지 다른 돌연변이가 확인되었다. 특이적인 돌연변이에는 69-70deltaHV(단백질의 69번째 및 70번째 위치에서 히스티딘 및 발린 잔기의 결실), Y453F(위치 453에서 티로신이 페닐알라닌으로 변경됨), I692V(위치 692에서 이소류신이 발린으로), M1229I(위치 1229에서 메티오닌이 이소류신으로), 및 선택적으로 S1147L(위치 1147에서 세린이 류신으로)이 포함된다.

[0188] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1과 비교하여, 결실 69-70, Y453F, I692V, M1229I, 및 선택적으로 S1147L을 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0189] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청은 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 614에서의 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타냄을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청은 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 D614G 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타냄을 특징으로 한다.

[0190] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 614에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 D614G 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, E484K, A701V, L18F, R246I, K417N, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I 등)를 포함할 수 있다.

[0191] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "우려 변종202012/01"(VOC-202012/01; 계통 B.1.1.7로도 알려짐)에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다.

[0192] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이: SEQ ID NO: 1과 비교하여 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, 및 D1118H를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0193] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1과 비교하여, D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V, 및 D614G, 및 선택적으로 SEQ ID NO: 1과 비교하여, 결실 242-244를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0194] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청은 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 501 및 614에서의 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타냄을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청은 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 N501Y 돌연변이 및 D614G 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타냄을 특징으로 한다.

[0195] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 501 및 위치 614에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 N501Y 돌연변이 및 D614G 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, E484K, A701V, L18F, R246I, K417N, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I 등)를 포함할 수 있다.

[0196] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "우려 변종202012/01"(VOC-202012/01; 계통 B.1.1.7로도 알려짐)에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다.

[0197] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, 및 D1118H를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0198] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체자의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V, 및 D614G , 및 선택적으로: SEQ ID NO: 1에 비해 L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0199] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체자의 혈청이 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질의 위치 484에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체자의 혈청이 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질에서 E484K의 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0200] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질의 위치 484에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질에서 E484K 돌연변이를 포함하는 상기 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1에 비해 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1에 비해, 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, A701V, L18F, R246I, K417N, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I,

T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, H655Y, T1027I, V1176F 등)를 포함할 수 있다.

[0201] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "501.V2"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0202] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 하기 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 D80A, D215G, E484K, N501Y, 및 A701V, 및 선택적으로: SEQ ID NO: 1과 비교하여 L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0203] 브라질 변종으로 알려진 계통 B.1.1.248은 P.1 계통으로 명명된 SARS-CoV-2의 변종 중 하나이며 17개의 고유한 아미노산 변화가 있으며 그 중 10개는 N501Y 및 E484K 포함하여 스파이크 단백질에 존재한다. B.1.1.248은 B.1.1.28에서 유래되었다. E484K는 B.1.1.28 및 B.1.1.248 모두에 존재한다. B.1.1.248은 다수의 S-단백질 다형성[L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, V1176F]을 가지며 남아공에서 설명된 변이체에 대해 특정한 주요 RBD 위치(K417, E484, N501) 위치가 유사하다.

[0204] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "B.1.1.28"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0205] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "B.1.1.248"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0206] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 하기 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0207] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID:1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 501 및 484에서의 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID:1과 비교하여 스파이크 단백질에서 N501Y 돌연변이 및 E484K 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다.

[0208] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 501 및 484에서의 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 N501Y 돌연변이 및 E484K 돌연변이를 포함하는 상기 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, A701V, L18F, R246I, K417N, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, H655Y, T1027I, V1176F 등)를 포함할 수 있다.

[0209] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "501.V2"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0210] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID: 1과 비교하여 D80A, D215G, E484K, N501Y 및 A701V, 및 선택적으로: SEQ ID NO: 1과 비교하여 L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다. 상기 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1과 비교하여 D614G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0211] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "B.1.1.248"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0212] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 하기 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1과 비교하여 L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다.

[0213] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 501, 484 및 614에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이

체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 N501Y 돌연변이, E484K 돌연변이 및 D614G 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0214] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 501, 484 및 614에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 N501Y 돌연변이, E484K 돌연변이 및 D614G 돌연변이를 포함하는 상기 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대 SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, A701V, L18F, R246I, K417N, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, H655Y, T1027I, V1176F 등)를 더 포함할 수 있다.

[0215] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 다음의 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1과 비교하여 D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V, 및 D614G, 및 선택적으로: SEQ ID NO: 1과 비교하여 L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0216] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 L242/A243/L244 결실을 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다.

[0217] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 L242/A243/L244 결실을 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, E484K, A701V, L18F, R246I, K417N, Y453F, I692V, S1147L, M1229I, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, H655Y, T1027I, V1176F 등)를 포함할 수 있다.

[0218] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "501.V2"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0219] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1과 비교하여 D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V 및 결실, 및 선택적으로: SEQ ID NO: 1과 비교하여 L18F, R246I, 및 K417N를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 하다.

[0220] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 417에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 K417N 또는 K417T 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0221] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 417에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 K417N 또는 K417T 돌연변이를 포함하는 상기 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, E484K, A701V, L18F, R246I, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I, T20N, P26S, D138Y, R190S, H655Y, T1027I, V1176F 등)을 포함할 수 있다.

[0222] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "501.V2"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0223] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V 및 K417N, 및 선택적으로: SEQ ID NO: 1에 비해 L18F, R246I, 및 결실 242-244를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0224] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크

변이체 "B.1.1.248"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0225] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이: 즉, SEQ ID NO: 1에 비해 L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0226] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질의 위치 417 및 484 및/또는 501에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SEQ ID NO: 1에 비해 스파이크 단백질에서 K417N 또는 K417T 돌연변이 및 E484K 및/또는 N501Y 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0227] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질의 위치 417 및 484 및/또는 501에서 돌연변이를 포함하는 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 또는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 K417N 또는 K417T 돌연변이 및 E484K 및/또는 N501Y 돌연변이를 포함하는 상기 하나 이상의 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 하나 이상의 추가 돌연변이(예컨대, SEQ ID NO: 1과 비교하여 비제한적인 예로서 H69/V70 결실, Y144 결실, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H, D80A, D215G, A701V, L18F, R246I, L242/A243/L244 결실, Y453F, I692V, S1147L, M1229I, T20N, P26S, D138Y, R190S, H655Y, T1027I, V1176F 등)을 포함할 수 있다.

[0228] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "501.V2"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0229] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이, 즉: SEQ ID NO: 1에 비해 D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V 및 K417N, 및 선택적으로: SEQ ID NO: 1에 비해 L18F, R246I, 및 결실 242-244를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0230] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 SARs-CoV-2 스파이크 변이체 "B.1.1.248"에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0231] 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 백신접종된 대상체의 혈청이 다음 돌연변이: 즉, SEQ ID NO: 1에 비해 L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F를 포함하는 SARs-CoV-2 스파이크 변이체에 대해 중화 활성을 나타내는 것을 특징으로 한다.

[0232] 본원에 기술된 SARs-CoV-2 스파이크 변이체는 SEQ ID NO: 1과 비교하여 D614G 돌연변이를 포함하거나 포함하지 않을 수 있다.

[0233] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물 및/또는 방법은 이러한 mRNA 조성물 및/또는 방법을 수용하는 대상체의 적어도 50%에서 SARS-CoV-2에 대한 보호를 제공하고/하거나 SARS-CoV-2 감염의 중증도를 감소시킬 수 있다.

[0234] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 18-55세의 대상자를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 56-85세의 대상자를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 나이든 대상체(예를 들어, 60, 65, 70, 75, 80, 85세 등, 예를 들어 65-85세의 대상체)를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 18-85세의 대상자를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 18세 이하의 대상자를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 12세 이하의 대상자를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 10세 이하의 대상자를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 청소년 집단(예를 들어, 대략 12세 내지 대략 17세의 개인)을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 영아(예를 들어, 1세 미만)를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 산모가 임신 중에 본원에 기술된 그러한 mRNA 조성물을 받은 영아(예를 들어, 1세 미만)는 포함하지 않는다. 실시예 31에 나타낸 바와 같은 래트 연구는 임신 중에 그러한 mRNA 조성물이 제공된 암컷 래트에서 유도된 SARS-CoV-2 중화 항체 반응이 태아에게 전달될 수 있음을 시사하였으나 특정 이론에 구해받고자 하는 것은 아니다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 산모가 임신 중에 본원에 기술된 그러한 mRNA 조성물을 투여받지 않은 영아(예를 들어, 1세 미만)를 포함한다. 일부

구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 임산부를 포함한다; 일부 구체예에서, 임신 중에 백신접종을 받은 산모(예를 들어, 적어도 1회 용량을 받거나 대안적으로 두 용량을 모두 받은 산모)의 영아는, 생후 처음 몇 주, 몇 달 또는 심지어 몇 년 동안(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 이상 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24개월 또는 그 이상 또는 1, 2, 3, 4, 5년 또는 그 이상) 백신접종되지 않는다. 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서, 임신 중에 백신접종을 받은 산모(예를 들어, 적어도 1회 용량을 받거나 대안적으로 두 용량을 모두 받은 산모)의 영아는, 생후 감소된 백신접종(예를 들어, 주어진 기간 동안 더 낮은 용량 및/또는 더 적은 횟수의 투여 - 예컨대 부스터 및/또는 총 노출량 감소), 예컨대, 출생 후 첫 주, 몇 달 또는 몇 년동안(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 이상 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24개월 또는 그 이상 또는 1, 2, 3, 4, 5년 또는 그 이상) 감소된 백신접종을 받거나, 또는 백신접종을 줄여야 할 수 있다(예컨대 주어진 기간 동안 더 낮은 용량 및/또는 더 적은 횟수의 투여 - 예컨대 부스터). 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 조성물은 임산부를 포함하지 않는 집단에 투여된다.

[0235] 일부 특정 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 조성물은 임신 약 24주 후(예를 들어, 임신 약 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28주 후 또는 그 이상) 제1 용량을 투여하는 것을 포함하는 투여요법에 따라 임산부에게 투여된다; 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 조성물은 임신 약 34주 전에(예를 들어, 임신 약 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 임신 38주 전) 제1 용량을 투여하는 것을 포함하는 투여요법에 따라 임산부에게 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 조성물은 임신 약 24주 후(예를 들어, 임신 약 27주 후, 예를 들어, 약 24주 내지 34주 사이, 또는 약 임신 27주 내지 34주 사이)에 제1 용량을 투여하고 약 21후에 제2 용량을 투여하는 투여요법에 따라 임산부에게 투여된다; 일부 구체예에서 두 용량 모두 출산 전에 투여된다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 이러한 투여요법(예를 들어, 임신 약 24주 또는 27주 후 및 선택적으로 임신 약 34주 전에 제1 용량의 투여를 포함함), 및 선택적으로 21일 이내, 이상적으로는 분만 전에 제2 용량을 투여하는 것은, 대안적인 투여요법(예컨대 임신 중 아무때나 투여하거나, 임신 중 투여를 삼가하거나, 및/또는 임신 중 오직 1회 용량만 투여되도록 임신 후반에 투여)에 비해 안전성(예컨대 조산 또는 태아 이환율 또는 사망 위험 감소) 및/또는 효능(예컨대 영아에게 투여되는 이월 백신접종) 측면에서 특정 이점이 있을 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같이(또한 실시예 34 참조), 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 특정 요법에 따라 임신 중에 백신접종된 산모에게서 태어난 영아는 추가 백신접종이 필요하지 않거나 또는 출산 후 주어진 기간 동안 감소된 백신접종(예를 들어, 주어진 기간 동안 더 낮은 용량 및/또는 더 적은 횟수의 투여 - 예컨대 부스터 및/또는 어 낮은 총 노출)을 필요로 할 수 있다.

[0236] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 조성물은 백신을 받은 후 일정 기간 동안(예를 들어, 백신의 제1 용량을 받은 후, 백신의 최후 용량을 받은 후 등) 임신이 권장되지 않는 여성 집단에 투여되며; 이러한 일부 구체예에서, 상기 기간은 적어도 1주, 적어도 2주, 적어도 3주, 적어도 4주, 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 9주, 적어도 10주 이상일 수 있거나, 또는 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 또는 그 이상이 될 수 있다.

[0237] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 특히 고위험 상태 또는 병력을 갖는 하나 이상의 집단을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 그의 직업 및/또는 환경 노출이 SARS-CoV-2 감염에 걸릴 위험을 극적으로 증가시킬 수 있는 대상자를 포함할 수 있다(예를 들어, 그러나 이에 제한되지 않는 대량 수송 , 수감자, 식료품점 근로자, 장기 요양 시설 거주자, 정육점 또는 기타 육류 가공 근로자, 의료 종사자 및/또는 최초 대응자(예컨대 응급 구조원). 특정 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 의료 종사자 및/또는 최초 응답자, 예를 들어 응급 응답자를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 흡연 또는 베이핑(vaping)의 이력이 있는 개체를 포함할 수 있다(예를 들어, 만성 흡연 또는 베이핑의 이력을 포함하여 6개월, 12개월 이상 이내). 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 SARS-CoV-2 감염에 더 취약한 것으로 결정된 특정 인종 그룹을 포함할 수 있다.

[0238] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 SARS-CoV-2 감염에 더 민감한 것으로 결정될 수 있는 혈액형을 가진 특정 집단을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 면역손상된 대상자(예를 들어, HIV/AIDS를 앓는 대상자, 특정 면역억제제를 복용하는 암 및 이식 환자, 자가면역 질환 또는 면역억제 요법을 보증할 것으로 예상되는 다른 생리학적 상태(예를 들어, 3개월 이내, 6개월 이내 또는 그 이상); 및 면역 체계에 영향을 미치는 유전 질환(예컨대 선천성 무감마글로불린혈증, 선천성 IgA 결핍증이 있는 사람)일 수 있다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 감염

성 질환에 걸린 집단을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 및/또는 간염 바이러스(예를 들어, HBV, HCV)로 감염된 집단을 포함할 수 있다. 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 근본적인 의학적 상태를 가진 집단을 포함할 수 있다. 이러한 기저의 의학적 병태의 예로는 고혈압, 심혈관 질환, 당뇨병, 만성 호흡기 질환, 예를 들어 만성 폐 질환, 천식 등, 암, 및 기타 질환, 예를 들어 루푸스, 류마티스 관절염, 만성 간 질환, 만성 신장 질환(예를 들어, 일부 구체예에서 60 mL/min/1.73m^2 미만의 사구체 여과율(GFR)을 특징으로 하는 것과 같은 3기 또는 그 이상)을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 과체중 또는 비만 대상자, 예를 들어 구체적으로 약 30 kg/m^2 이상의 체질량 지수(BMI)를 갖는 대상자를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물로 치료될 집단은 예를 들어 혈청학 또는 비강 면봉에 기초하여 이전에 COVID-19로 진단되거나, 또는 현재 또는 이전에 SARS-CoV-2 감염의 증거가 있는 대상자를 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 치료될 집단은 백인 및/또는 비히스패닉/비라틴계를 포함한다.

[0239] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 특정 mRNA 조성물(예를 들어, BNT162b1)은 아시아인 집단(예를 들어, 중국인 집단), 또는 특정 구체예에서 나이든 아시아인 집단(예를 들어, 60세 이상, 예를 들어, 60세 이상)에 대한 투여를 위해 선택될 수 있다. 85세 또는 65-85세)에 투여되도록 선택될 수 있다.

[0240] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 mRNA 조성물은 투여 전에 사전 감염 및/또는 현재 감염의 증거를 나타내지 않는 것으로 결정된 대상자(들)에게 투여 및/또는 평가되며; 일부 구체예에서, 사전 감염 및/또는 현재 감염의 증거는 대상자에 존재하는 온전한 바이러스, 또는 임의의 바이러스 핵산, 단백질, 지질 등의 증거(예를 들어, 그의 생물학적 샘플, 예컨대 혈액, 세포, 점액 및/또는 조직에서) 및/또는 이에 대한 대상체의 면역 반응의 증거일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 mRNA 조성물은 투여 전에 사전 감염 및/또는 현재 감염의 증거를 나타내는 것으로 결정된 대상자(들)에게 투여 및/또는 평가된다; 일부 구체예에서, 사전 감염 및/또는 현재 감염의 증거는 대상자에 존재하는 온전한 바이러스, 또는 임의의 바이러스 핵산, 단백질, 지질 등의 증거(예를 들어, 그의 생물학적 샘플, 예컨대 혈액, 세포, 점액 및/또는 조직에서) 및/또는 이에 대한 대상체의 면역 반응의 증거일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 대상자는 1차 투여(Dose 1)의 투여일에 양성 N-결합 항체 검사 결과 또는 양성 핵산 증폭 검사(NAAT) 결과를 갖는 것에 기초하여 사전 감염이 있는 것으로 간주된다.

[0241] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 예를 들어 오한, 발열, 두통, 주사 부위의 통증, 근육통, 피로 중 하나 이상을 포함할 수 있는 부작용의 위험에 대해 알고 있는 대상자에게 투여된다; 일부 구체예에서, RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은

[0242] 하나 이상의 이러한 부작용이 발생하거나, 그러한 부작용이 경증 또는 중등도 이상으로 경험되거나, 그러한 부작용이 하루 또는 수일간 지속될 경우, 또는 여하한 심각하거나 예상치 못한 사례가 경험될 경우 대상자가 합리적으로 판단하기에 그 원인이 조성물 투여와 관련된다고 여겨질 경우, 의료 서비스 제공자에게 이를 통지하도록 권고된 대상자에게 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 예를 들어 알레르기, 출혈 장애 또는 혈액 희석제, 모유 수유, 발열, 면역저하 상태 또는 면역계에 영향을 미치는 약물 복용, 임신 또는 임신 계획 중 하난 이상을 포함할 수 있는 특정 의학적 상태를 의료 서비스 제공자에게 통지하도록 권고받은 대상자에게 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 의료 제공자에게 또 다른 COVID-19 백신을 접종받았다는 것을 통지하도록 초대받은 대상체에게 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 하기 의학적 상태 중 하나를 갖지 않는 대상자에게 투여된다: 열병을 경험하는 것, 면역억제 요법을 받는 것, 항응고제 요법을 받는 것, 출혈 장애(예를 들어, 하나의 근육 주사를 금하는 경우) 또는 임신 및/또는 모유 수유/수유. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 또 다른 COVID-19 백신을 받지 않은 대상자에게 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물의 임의의 성분에 대해 알레르기 반응을 나타내지 않은 대상자에게 투여된다. 이러한 알레르기 반응의 예로는 호흡 곤란, 목 및/또는 목의 부종, 빠른 심장 박동, 발진, 현기증 및/또는 쇠약이 포함될 수 있지만 이에 국한되지 않는다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 제1 용량을 받았고 제1 용량에 대해 알레르기 반응(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같음)을 나타내지 않은 대상자에게 투여된다. 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물의 용량을 받은 후 대상체(들)에서 알레르기 반응이 발생하는 일부 구체예에서, 그러한 대상체(들)에게는 하나 이상의 개재, 예를 들어 이러한 알레르기 반응의 증상을 관리 및/또는 감소시키기 위한 처치, 예컨대 해열제 및/또는 소염제를 투여할 수 있다.

[0243] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물의 적어도 1회 용량을 받은 대상체는 제2 용량 투여 수 일(예컨대, 적어도 7일, 적어도 8일, 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일, 등)이 경과하지 않는 한 또는 수 일 전까지코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2)에 대한 노출을 회피하도록 통지받는다. 예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예컨대 mRNA) 조성물의 적어도 1회 용량을 받은 대상체는 제2 용량 투여 수 일(예컨대, 적어도 7일, 적어도 8일, 9일, 적어도 10일, 적어도 11일, 적어도 12일, 적어도 13일, 적어도 14일, 등)이 경과하지 않는 한 또는 수 일 전까지 SARS-CoV-2 감염에 대한 예방 조치(예컨대 사회적 거리 유지, 마스크 착용, 자주 손씻기 등)를 취하도록 통지받는다.

[0244] 따라서, 일부 구체예에서, 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물을 투여하는 방법은 제1 용량을 투여받고 코로나바이러스(예컨대 SARS-CoV-2)에 노출되는 것을 피하도록 사전 대책이 통지된 대상자에게 본원에 제공된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물의 제2 용량을 투여하는 것을 포함한다.

[0245] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 mRNA 조성물은 예를 들어 백신 프라이밍을 위해 이를 필요로 하는 대상자의 배액 림프절로 전달될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 전달은 제공된 mRNA 조성물의 근육내 투여에 의해 수행될 수 있다.

[0246] 일부 구체예에서, 상이한 특정 mRNA 조성물이 상이한 대상체 집단(들)에 투여될 수 있다; 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서, 상이한 투여 요법이 상이한 대상체 집단에 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 특정 대상 집단(들)에게 투여된 mRNA 조성물은 이러한 대상 집단에서 하나 이상의 특정 효과(예를 들어, 발생률 및/또는 효과 정도)를 특징으로 할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 효과(들)는 예를 들어 중화 항체 및/또는 T 세포(예컨대, $CD4^+$ 및/또는 $CD8^+$ T 세포와 같은 T_H1형 T 세포)의 역가 및/또는 지속성, 챌린지(예컨대 주사 및/또는 비강 노출 등을 통한)에 대한 보호, 부작용(예컨대 반응원성(reactogenicity))의 발생률, 중증도 및/또는 지속성 등일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0247] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물은 예를 들어 핵산 증폭 시험(NAAT)과 같은 실험실 시험에 기초하여 1000인년당 COVID-19 발생률(COVID-19 incidence per 1000 person-years)을 감소시키기 위해 확립된 요법에 따라 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물은 과거 SARS-CoV-2 감염의 혈청학적 또는 바이러스학적 증거(예컨대 마지막 용량을 받은 후 최대 7일) 없이 제공된 mRNA 조성물의 최소 1회 용량을 받은 대상체에서 핵산 증폭 검사(NAAT)와 같은 실험실 검사를 기반 으로 1000인년당 COVID-19 발생률을 감소시키기 위해 확립된 요법에 따라 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물은 1000인년당 확인된 중증 COVID-19 발병률을 감소시키기 위해 확립된 요법에 따라 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 하나 이상의 mRNA 조성물은 과거 SARS-CoV-2 감염의 혈청학적 또는 바이러스학적 증거 없이 제공된 mRNA 조성물의 적어도 1회 용량을 받는 대상자에서 1000인년당 확인된 중증 COVID-19 발생을 감소시키기 위해 확립된 요법에 따라 투여될 수 있다.

[0248] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물은 일정 기간 동안 참조 수준(예컨대 인간 SARS-CoV-2 감염/COVID-19 회복기 혈청을 기반 으로 결정된 참조 수준)을 달성하거나 초과하는 환자 및/또는 일정 기간 동안 예컨대 일부 구체예에서 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에서 적어도 하나 이상의 MHC 제한된(예컨대 MHC 클래스 I-제한된) 에피토프를 인식하는 T 세포의 유도를 포함하여, 세포-매개형 면역 반응(예컨대, SARS-CoV-2에 대한 T 세포 반응)의 유도를 달성하거나 초과하는 환자의 혈청에서 측정된 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 이의 면역원성 단편에 대한 중화 항체를 생산하기 위해 확립된 요법에 따라 투여될 수 있다. 그러한 일부 구체예에서, 상기 기간은 적어도 적어도 2 개월, 3 개월, 적어도 4 개월, 적어도 5 개월, 적어도 6 개월, 적어도 7 개월, 적어도 8 개월, 적어도 9 개월, 적어도 10 개월, 적어도 11 개월, 적어도 12 개월 또는 그 이상일 수 있다. 일부 구체예에서, 백신-유도된 T 세포(예를 들어, CD8+ T 세포)에 의해 인식되는 하나 이상의 에피토프는 대상자의 적어도 50%, 예를 들어, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 그 이상에 존재하는 MHC 클래스 I 대립유전자에 존재할 수 있고; 그러한 일부 구체예에서, MHC 클래스 I 대립유전자는 HLA-B*0702, HLA-A*2402, HLA-B*3501, HLA-B*4401, 또는 HLA-A*0201일 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 HLA-A*0201 YLQPRTFLL; HLA-A*0201 RLQSLQTYV; HLA-A*2402 QYIKWPWYI; HLA-A*2402 NYNYLYRLF; HLA-A*2402 KWPWYIWLGF; HLA-B*3501 QPTESIVRF; HLA-B*3501 IPFAMQMAY; 또는 HLA-B*3501 LPFNDGVYF를 포함할 수 있다.

[0249] 일부 구체예에서, 효능은 백신접종 투여요법 전 및 투여요법 동안 과거 SARS-CoV-2 감염의 혈청학적 또는 바이러스학적 증거가 없는 개인에서 1000인년당 COVID-19 발생률로 평가되고; 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서, 효능은 백신접종 투여요법 전 및 투여요법 동안 과거 SARS-CoV-2 감염의 증거가 있거나 없는 대상자에서

1000인년당 COVID-19 발생률로서 효능을 평가한다. 이러한 일부 구체예에서, 이러한 발생률은 최종 백신접종 용량(예를 들어, 단일 용량 요법의 제1 용량; 2회 용량 요법의 제2 용량 등) 투여 후 특정 기간 내에 확인된 COVID-19 사례의 발생률이며; 일부 실시예에서, 이러한 기간은 특정 일수(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30일 이상) 이내(즉 최대 7일)일 수 있다. 일부 구체예에서, 그러한 기간은 7일 이내 또는 14일 이내 또는 21일 이내 또는 28일 이내일 수 있다. 일부 실시예에서, 그러한 기간은 7일 이내일 수 있다. 일부 실시예에서, 그러한 기간은 14일 이내일 수 있다.

[0250] 일부 구체예(예를 들어, 효능 평가의 일부 구체예)에서, 다음, 즉: 대상자의 샘플에서 SARS-CoV-2 핵산 검출, SARS-CoV-2(예컨대 SARS-Co-V-2 스파이크 단백질)를 특이적으로 인식하는 항체 검출, COVID-19 감염의 하나 이상의 증상 및 이들의 조합 중 하나 이상이 확립되면 대상자는 COVID-19 감염을 경험한 것으로 결정된다. 그러한 일부 구체예에서, SARS-CoV-2 핵산의 검출은 예를 들어 중비갑개(mid-turbinatae) 면봉 샘플에 대한 NAAT 테스트를 포함할 수 있다. 그러한 일부 구체예에서, 관련 항체의 검출은 혈액 샘플 또는 그 일부의 혈청학적 검사를 수반할 수 있다. 그러한 일부 구체예에서, COVID-19 감염의 증상은: 발열, 새로운 또는 증가된 기침, 새로운 또는 증가된 숨가쁨, 오한, 새로운 또는 증가된 근육통, 새로운 미각 또는 후각 상실, 인후통, 설사, 구토 및 그 조합일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 그러한 일부 구체예에서, COVID-19 감염의 증상은 발열, 새로운 또는 증가된 기침, 새로운 또는 증가된 숨가쁨, 오한, 새로운 또는 증가된 근육통, 새로운 미각 또는 후각 상실, 인후통, 설사, 구토, 피로, 두통, 코막힘 또는 콧물, 메스꺼움 및 이들의 조합일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이러한 일부 구체예에서, 대상자가 상기한 한 가지 증상을 경험하고 이에 더해 SARS-CoV-2 핵산 또는 항체, 또는 둘 다에 대한 검사가 양성인 경우 그 대상자는 COVID-19 감염을 경험한 것으로 결정된다. 이러한 일부 구체예에서, 대상자가 상기한 한 가지 이러한 증상을 경험하고 이에 더해 SARS-CoV-2 핵산에 대한 검사가 양성인 경우 그 대상자는 COVID-19 감염을 경험한 것으로 결정된다. 이러한 일부 구체예에서, 대상자가 상기한 한 가지 증상을 경험하고 이에 더해 SARS-CoV-2 항체에 대한 검사가 양성인 경우 그 대상자는 COVID-19 감염을 경험한 것으로 결정된다.

[0251] 일부 구체예(예를 들어, 효능 평가의 일부 구체예)에서, 대상체가 다음, 즉: 휴식 중 임상 징후 또는 중증 전신 질환(예컨대 분당 30회 이상의 호흡수, 분당 125회 이상의 심박수, 해수면의 실내 공기에서 SpO_2 93% 이하 또는 300m Hg 미만의 PaO_2/FiO_2 중 하나 이상), 호흡 부전(예컨대 고유량 산소, 비침습적 환기, 기계적 환기, ECMO 중 하나 이상을 필요로 함), 쇼크의 증거(수축기 혈압 90mmHg 미만, 확장기 혈압 60mmHg 미만, 승압제 필요), 심각한 급성 신장, 간 또는 신경학적 기능 장애, 중환자실 입원, 사망 및 이들의 조합 중 하나 이상을 경험한 경우, 대상체는 중증 COVID-19 감염을 경험한 것으로 결정된다.

[0252] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물은 하기 중 적어도 하나를 보고하는 대상자의 백분율을 감소시키기 위해 확립된 요법에 따라 투여될 수 있다: (i) 각 용량 투여 후 최대 7일 동안 하나 이상의 국소 반응(예컨대 본원에 설명된 바와 같음); (ii) 각 용량 투여 후 최대 7일 동안 하나 이상의 전신 반응; (iii) 제1 용량 투여부터 최후 용량 투여까지 이상사례(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같음); 및/또는 (iv) 제1 용량 투여부터 최후 용량 투여 후 6개월까지 심각한 이상사례(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같음).

[0253] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물을 투여받은 1명 이상의 대상자를 모니터링하여(예를 들어, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10일 이상, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 주일 이상, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ,10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 개월 이상, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10년 이상) 예를 들어, 투여된 조성물의 성분(들)에 대한 면역 반응의 존재, SARS-CoV-2 또는 다른 코로나바이러스에 대한 노출의 증거 및/또는 면역 반응, 여하한 이상사례의 증거를 평가할 수 있다. 일부 구체예에서 모니터링은 원격 방문을 통해 이루어질 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 일부 실시 예에서 모니터링은 대면일 수 있다. 일부 구체예에서, 모니터링은 원격 방문을 통해 이루어질 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 일부 구체예에서, 모니터링은 대면 방식일 수 있다.

[0254] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물에 의해 부여되는 치료 효과는 (i) 사전 결정된 역치를 초과하는 SARS-CoV-2 항-S1 결합 항체 수준; (ii) 사전 결정된 역치를 초과하는 SARS-CoV-2 항-RBD 결합 항체 수준; 및/또는 (iii) 베이스라인, 백신접종 완료로부터 1개월, 3개월, 6개월, 9개월, 12개월, 18개월 및/또는 24개월 후에서 역치 수준을 초과하는 SARS-CoV-2 혈청 중화 역가에 의해 특징지어질 수 있다. 일부 구체예에서, 항-S1 결합 항체 및/또는 항-RBD 결합 항체 수준 및/또는 혈청 중화 역가는 기하 평균 농도(GMC), 기하 평

균 역가(GMT) 또는 기하 평균 배수 상승(GMFR)을 특징으로 할 수 있다.

[0255] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물에 의해 부여되는 치료 효과는 예컨대 베이스라인, 백신접종 완료로부터 1 개월, 3 개월, 6 개월, 9 개월, 12 개월, 18 개월, 및/또는 24 개월 후에 사전 결정된 역치를 초과하는 SARS-CoV-2 혈청 중화 역가를 나타내는 치료된 대상자의 비율이, 그러한 사전 결정된 역치(예컨대 본원에서 기술된 바와 같은)를 초과하는 SARS-CoV-2 혈청 중화 역가를 나타내는 치료되지 않은 대상자의 비율보다 높음을 특징으로 할 수 있다. 일부 구체예에서, 혈청 중화 역가는 기하 평균 농도(GMC), 기하 평균 역가(GMT) 또는 기하 평균 배수 상승(GMFR)을 특징으로 할 수 있다.

[0256] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 mRNA 조성물에 의해 부여되는 치료 효과는 SARS-CoV-2 NVA-특이 결합 항체의 검출을 특징으로 할 수 있다.

[0257] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물에 의해 부여된 치료 효과는 핵산 증폭 테스트에 의한 SARS-CoV-2 검출을 특징으로 할 수 있다.

[0258] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 mRNA 조성물에 의해 부여되는 치료 효과는 예를 들어, 일부 구체예에서 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에서 적어도 하나 이상의 MHC 제한된(예컨대 MHC 클래스 I-제한된) 에피토프를 인식하는 T 세포의 유도를 포함하여, 세포-매개형 면역반응(예컨대, SARS-CoV-2에 대한 T 세포 반응)의 유도체 의해 특징지어질 수 있다. 일부 구체예에서, 백신-유도된 T 세포(예를 들어, CD8+ T 세포)에 의해 인식되는 하나 이상의 에피토프는 대상자의 적어도 50%, 예를 들어, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 그 이상에 존재하는 MHC 클래스 I 대립유전자에 존재할 수 있고; 그러한 일부 구체예에서, MHC 클래스 I 대립유전자는 HLA-B*0702, HLA-A*2402, HLA-B*3501, HLA-B*4401, 또는 HLA-A*0201일 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 HLA-A*0201 YLQPRTFLL; HLA-A*0201 RLQSLQTYV; HLA-A*2402 QYIKWPWYI; HLA-A*2402 NYNYLYRLF; HLA-A*2402 KWPWYIWLGF; HLA-B*3501 QPTESIVRF; HLA-B*3501 IPFAMQMAY; 또는 HLA-B*3501 LPFNDGVYF를 포함할 수 있다.

[0259] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물의 1차 백신 효능(VE)은 1차 VE1 또는 1차 VE1와 1차 VE2 양자 모두 >30% 이상(예를 들어, 40% 초과, 50% 초과, 60% 초과, 70% 초과, 80% 초과, 90% 초과, 95% 초과, 96% 초과, 97% 초과, 98 초과% 또는 그 이상)이라는 충분한 증거(사후 확률)가 있는 경우 확립될 수 있고, 여기서 1차 VE는 1차 VE = 100 × (1 - IRR)로 정의되며; IRR은 위약 그룹의 해당 질병 비율에 대한 백신 그룹의 COVID-19 질병 비율로 계산된다. 1차 VE1은 백신접종 전 감염의 증거가 없는 참가자의 확인된 COVID-19에 대한 본원에 기술된 예방적 mRNA 조성물에 대한 VE를 나타내고, 1차 VE2는 백신접종 후 모든 참가자에서 확인된 COVID-19에 대한 본원에 기술된 예방적 mRNA 조성물에 대한 VE를 나타낸다. 일부 실시예에서, 1차 VE1 및 VE2는 2.5%의 전체 I형 오류를 제어하기 위해 순차적으로 평가될 수 있다(계층적 테스트). 본원에 기재된 하나 이상의 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 상기 논의된 바와 같은 1차 VE 종점을 달성한 것으로 입증된 일부 구체예에서, 2차 VE 종점(예를 들어, 백신접종 전 감염의 증거 없이 참가자에서 확인된 중증 COVID-19 및 모든 참가자에서 확인된 중증 COVID-19)은 예를 들어 위에서 논의한 바와 같이 1차 VE 종료점 평가(계층적 테스트)에 사용된 것과 동일한 방법에 의해 순차적으로 평가될 수 있다. 일부 구체예에서, 1차 및/또는 2차 VE 종점의 평가는 백신 또는 위약 그룹에 대해 1:1 비율로 무작위화된 적어도 20,000명 이상의 대상자(예를 들어, 적어도 25,000명 이상의 대상자)에 기초할 수 있고, 예컨대, 다음 가정에 기초할 수 있다: (i) 위약 그룹에서 연간 1.0%의 질병 발생률 및 (ii) 참가자의 20%가 평가될 수 없거나 SARS-CoV-2의 사전 감염의 혈청학적 증거가 있어 이들이 추가 감염에 대해 잠재적으로 면역이 될 수 있음.

[0260] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 mRNA 조성물은 면역 반응의 유지 및/또는 지속적인 향상을 달성하기 위해 확립된 투여요법에 따라 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 투여요법은 제1 용량을 포함할 수 있고 선택적으로 1회 이상의 후속 용량을 포함할 수 있다; 일부 구체예에서, 이러한 임의의 후속 용량(들)의 필요성, 시기 및/또는 크기는 하나 이상의 면역 반응 또는 이의 특징을 유지, 향상 및/또는 변형하도록 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 투여량(들)의 수, 시기 및/또는 양(들)은 관련 집단에 투여시 효과적일 수 있도록 확립되었다. 일부 실시예에서, 용량(들)의 수, 시기 및/또는 양(들)은 개별 대상체에 대해 조정될 수 있다; 예를 들어, 일부 구체예에서, 개별 대상체에서 면역 반응의 하나 이상의 특징을, 제1 용량 수령 후 적어도 1회(및 선택적으로 1회 초과, 예를 들어 여러 번, 전형적으로 기간을 두고, 종종 미리 선택된 간격으로) 평가될 수 있다. 예를 들어, 항체, B 세포 및/또는 T 세포(예컨대 $CD4^+$ 및/또는 $CD8^+$ T 세포) 및/또는 그에 의해 분비되는 사이토카인의 존재 및/또는 특정 항원(들) 및/또는 에피토프(들)에 대한 반응의 정체 및/또는 정도기 평가될 수 있다. 일부 구체예에서, 후속 용량의 필요성, 시기 및/또는 양은 이러한 평가에 비추어 결정될 수 있다.

[0261] 상기 언급된 바와 같이, 일부 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물을 받은 1명 이상의 대상자를 임의의 특정 용량을 투여받은 후 모니터링하여(예컨대, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 일 이상, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 주일 이상, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ,10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 개월 이상, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10년 이상의 기간 동안), 예를 들어, 투여된 조성물의 성분(들)에 대한 면역 반응의 존재, SARS-CoV-2 또는 다른 코로나바이러스에 대한 노출 및/또는 면역 반응의 증거를 평가하여, 임의의 특정 용량을 받은 후, SARS-CoV-2 또는 다른 코로나바이러스에 대한 노출 및/또는 면역 반응의 증거, 항체, B 세포 및/또는 T 세포(예컨대, $CD4^+$ 및/또는 $CD8^+$ T 세포), 및/또는 이에 의해 분비된 사이토카인 및/또는 특정 항원(들)에 대한 반응의 정체 및/또는 정도 및/또는 또는 에피토프(들)이 평가될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 조성물의 투여는 이러한 모니터링 단계를 하나 이상 포함하는 요법에 따를 수 있다.

[0262] 예를 들어, 일부 구체예에서, 제1 용량에 상대적인 제2 용량의(및/또는 이전 용량에 상대적인 후속 용량의) 필요성, 시기 및/또는 양은 그러한 2차(또는 후속) 용량이 제1 용량(또는 다른 사전) 용량 투여 후 관찰된 면역 반응(예컨대 본원에 기재된 바와 같은)의 증폭 또는 변형을 달성하도록 평가, 결정 및/또는 선택된다. 일부 구체예에서, 면역 반응(예컨대 본원에 기재된)의 이러한 증폭은 제1 용량 투여 후 관찰된 면역 반응 수준에 비해 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 이상일 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 면역 반응의 증폭은 제1 용량 투여 후 관찰된 면역 반응 수준에 비해 적어도 1.5배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 이상일 수 있다.

[0263] 일부 구체예에서, 1차(또는 다른 사전) 용량에 상대적인 2차(또는 후속) 용량의 필요성, 시기 및/또는 양은 후속 용량의 투여가 앞선 용량 투여 후 관찰된 면역 반응(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같음)의 지속성을 연장하도록 평가, 결정 및/또는 선택된다; 이러한 일부 구체예에서, 지속성은 적어도 1 주일, 적어도 2 주일, 적어도 3 주일, 적어도 1 개월, 적어도 2 개월, 적어도 3 개월, 적어도 4 개월, 적어도 5 개월, 적어도 6 개월, 적어도 7 개월, 적어도 8 개월, 적어도 9 개월, 또는 그 이상 연장될 수 있다. 일부 구체예에서, 제1 용량 투여 후 관찰되는 면역 반응은 대상자의 혈청에서 측정되는 바와 같은 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에 지향된 중화 항체의 생성 및/또는 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에서 적어도 하나 이상의 MHC 제한된(예컨대 MHC 클래스 I-제한된) 에피토프를 인식하는 T 세포의 유도를 포함하여, 세포-매개형 면역 반응(예컨대, SARS-CoV-2에 대한 T 세포 반응)의 유도체의해 특징지어질 수 있다. 일부 구체예에서, 백신-유도된 T 세포(예를 들어, CD8+ T 세포)에 의해 인식되는 하나 이상의 에피토프는 대상자의 적어도 50%, 예를 들어, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 그 이상에 존재하는 MHC 클래스 I 대립유전자에 존재할 수 있고; 그러한 일부 구체예에서, MHC 클래스 I 대립유전자는 HLA-B*0702, HLA-A*2402, HLA-B*3501, HLA-B*4401, 또는 HLA-A*0201일 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 HLA-A*0201 YLQPRTFLL; HLA-A*0201 RLQSLQTYV; HLA-A*2402 QYIKWPWYI; HLA-A*2402 NYNYLYRLF; HLA-A*2402 KWPWYIWLGF; HLA-B*3501 QPTESIVRF; HLA-B*3501 IPFAMQMAY; 또는 HLA-B*3501 LPFNDGVYF를 포함할 수 있다.

[0264] 일부 구체예에서, 제1 용량(또는 이전 용량에 비해 다른 후속 용량)에 대한 제2 용량의 필요성, 시기 및/또는 양이 평가, 결정 및/또는 선택되어 이러한 제2(또는 후속) 용량은, 그러한 2차(또는 후속) 용량의 투여가 면역 반응의 참조 수준을 유지하거나 초과하도록 평가, 결정 및/또는 선택된다; 이러한 일부 구체예에서, 참조 수준은 인간 SARS-CoV-2 감염/COVID-19 회복기 혈청 및/또는 대상체로부터 채취한 PBMC 샘플에 기초하여 결정된다(예컨대, 대상자가 무증상인 경우 PCR-확인된 진단 후 적어도 14일 또는 그 이상, 예컨대, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 25일, 30일, 35일, 40일, 45일, 50일, 55일, 60일, 또는 그 이상의 기간 동안). 일부 구체예에서, 면역 반응은 대상자의 혈청에서 측정되는 바와 같은 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에 지향된 중화 항체의 생성 및/또는 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에서 적어도 하나 이상의 MHC 제한된(예컨대 MHC 클래스 I-제한된) 에피토프를 인식하는 T 세포의 유도를 포함하여, 세포-매개형 면역 반응(예컨대, SARS-CoV-2에 대한 T 세포 반응)의 유도체의해 특징지어질 수 있다. 일부 구체예에서, 백신-유도된 T 세포(예를 들어, CD8+ T 세포)에 의해 인식되는 하나 이상의 에피토프는 대상자의 적어도 50%, 예를 들어, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 그 이상에 존재하는 MHC 클래스 I 대립유전자에 존재할 수 있고; 그러한 일부 구체예에서, MHC 클래스 I 대립유전자는 HLA-B*0702, HLA-A*2402, HLA-B*3501, HLA-B*4401, 또는 HLA-A*0201일 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 HLA-A*0201 YLQPRTFLL; HLA-A*0201 RLQSLQTYV; HLA-A*2402 QYIKWPWYI; HLA-A*2402 NYNYLYRLF; HLA-A*2402 KWPWYIWLGF; HLA-B*3501 QPTESIVRF; HLA-B*3501 IPFAMQMAY; 또는 HLA-B*3501 LPFNDGVYF를 포함할 수 있다.

[0265] 일부 구체예에서, 제2 용량(또는 후속 용량)의 필요성, 시기 및/또는 양의 결정은 제1 용량(또는 그 이전의 다른) 용량 투여 후 (예컨대 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21일 또는 그 후), 대상자의 혈청에서 측정되는 바와 같은 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에 지향된 중화 항체의 존재여부 및/또는 발현 수준 및/또는 SARS-CoV-2 스파이크 폴리펩타이드 및/또는 그의 면역원성 단편(예컨대, RBD)에서 적어도 하나 이상의 MHC 제한된(예컨대 MHC 클래스 I-제한된) 에피토프를 인식하는 T 세포의 유도를 포함하여, 세포-매개형 면역 반응(예컨대, SARS-CoV-2에 대한 T 세포 반응)의 유도체 의해 특징지어질 수 있다. 일부 구체예에서, 백신-유도된 T 세포(예를 들어, CD8+ T 세포)에 의해 인식되는 하나 이상의 에피토프는 대상자의 적어도 50%, 예를 들어, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 그 이상에 존재하는 MHC 클래스 I 대립유전자에 존재할 수 있고; 그러한 일부 구체예에서, MHC 클래스 I 대립유전자는 HLA-B*0702, HLA-A*2402, HLA-B*3501, HLA-B*4401, 또는 HLA-A*0201일 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 HLA-A*0201 YLQPRTFLL; HLA-A*0201 RLQSLQTYV; HLA-A*2402 QYIKWPWYI; HLA-A*2402 NYNYLYRLF; HLA-A*2402 KWPWYIWLGF; HLA-B*3501 QPTESIVRF; HLA-B*3501 IPFAMQMAY; 또는 HLA-B*3501 LPFNDGVYF를 포함할 수 있다.

[0266] 일부 구체예에서, 본원에 제공된 키트는 예를 들어 일부 구체예에서 배송 온도, 배송 시간 및/또는 위치를 제공할 수 있는 실시간 모니터링 로깅 장치를 포함할 수 있다.

[0267] 일부 구체예에서,본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 일부 구체예에서 단일 용량 용기 또는 다회 용량 용기(예를 들어, 투여를 위한 제품의 단일 용량 또는 다회 용량을 보유하거나 및/또는 일부 구체예에서 보유할 수 있도록 배열 또는 구성될 수 있음)일 수 있는, 예컨대 유리 용기(예를 들어 유리 바이알 또는 주사기)와 같은 용기(예컨대 바이알 또는 주사기)에서 운송, 보관 및/또는 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 다회 용량 용기(다회 용량 바이알 또는 주사기와 같은)는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 이상의 용량을 담도록 배열 및 구성될 수 있다; 일부 특정 구체예에서, 이는 5회 용량을 유지하도록 설계될 수 있고 및/또는 유지될 수 있다. 일부 구체예에서, 단일 용량 또는 다회 용량 용기(예컨대 단일 용량 또는 다회 용량 바이알 또는 주사기)는 예를 들어, 전달 및/또는 투여 과정에서의 일부 손실을 허용하기 위해, 표시된 수의 용량보다 더 많은 부피 또는 양을 보유하도록 배열 및 구성될 수 있고 및/또는 보유할 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 방부제가 없는 유리 용기(예를 들어, 방부제가 없는 유리 바이알 또는 주사기, 예를 들어, 방부제가 없는 단일 용량 또는 다회 용량 유리 바이알 또는 주사기)에서 운송, 보관 및/또는 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, - 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 방부제가 없는 유리 용기(예를 들어, 방부제가 없는 유리 바이알 또는 주사기, 예를 들어, 방부제가 없는 단일 용량 또는 다회 용량의 유리 바이알 또는 주사기)에서 운송, 보관 및/또는 사용될 수 있다.

[0268] . 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 0.45 ml의 냉동 액체(예컨대 5회 용량)을 함유하는, 방부제가 없는 유리 용기(예를 들어, 방부제가 없는 유리 바이알 또는 주사기, 예를 들어, 단일 용량 또는 다회 용량의 방부제가 없는 유리 바이알 또는 주사기)에서 운송, 보관 및/또는 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치, 운송, 보관 및/또는 이용되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 실온, 4℃ 이하, 또는 0℃ 이하, 또는 -20℃ 이하, 또는 -60℃ 이하, 또는 -70℃ 이하, 또는 -80℃ 이하, 또는 -90℃ 이하 등의 온도에서 유지될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치되고, 운송, 보관 및/또는 이용되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 -80℃ 내지 -60℃의 온도에서 유지될 수 있으며 일부 구체예에서는 빛으로부터 보호된다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치, 운송, 보관 및/또는 이용되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 약 25℃ 이하의 온도에서 유지될 수 있으며, 일부 구체예에서는 빛으로부터 보호된다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치, 운송, 보관 및/또는 이용되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 약 5℃ 미만(예컨대 약 4℃ 미만)의 온도에서 유지될 수 있으며, 일부 구체예에서는 빛으로부터 보호된다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치, 운송, 보관 및/또는 이용되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 약 -20℃ 미만(예컨대 약 4℃ 미만)의 온도에서 유지될 수 있으며, 일부 구체예에서는 빛으로부터 보호된다.

[0269] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치, 운송, 보관 및/또는 이용되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 약 -60℃ 보다 높은 온도(예컨대, 일부 구체예에서 약 -20°C 이상 및 약 25°C 미만, 및 일부 구체예에서 약 4-5°C 초과 및 약 25°C 미만)의 온도에서 유지될 수 있으며, 일부 구체예에서는 빛으로부터 보호되거나, 또는 그렇지 않으면 긍정적인 단계(예컨대 냉각 조치) 없이

실질적으로 약 -20°C 미만의 보관 온도를 달성하기 위해 취해진다.

[0270] 일부 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 열 보호 재료 또는 용기 및/또는 온도 조절 재료와 함께 또는 그러한 맥락에서 운송, 보관 및/또는 이용된다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물 및/또는 그것이 배치되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 얼음 및/또는 드라이 아이스 및/또는 단열재와 함께 함께 운송, 보관 및/또는 이용된다. 일부 특정 구체예에서, RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 배치되는 용기(예를 들어, 바이알 또는 주사기)는 트레이 또는 다른 보유 장치에 위치되고 추가로 온도 조절 재료(예컨대 얼음 및/또는 드라이 아이스) 및/또는 단열재와 추가로 접촉된다(또는 이들의 존재 하에). 일부 구체예에서, 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 배치되는 다수의 용기(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 단일 사용 또는 다회 사용 바이알 또는 주사기와 같은 다수의 바이알 또는 주사기)는 (예를 들어, 일반 트레이, 랙, 상자 등) 및 온도 조절(예컨대 얼음 및/또는 드라이아이스) 재료 및/또는 단열재와 함께(또는 존재하는 경우) 포장된다. 단지 하나의 예를 제공하기 위해, 일부 구체예에서, RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 배치되는 다수의 용기(예를 들어, 다수의 바이알 또는 주사기, 예를 들어, 단일 사용 또는 본원에 기재된 바와 같은 다용도 바이알 또는 주사기)는 일반적인 트레이 또는 랙에 위치되며, 이러한 여러 개의 트레이 또는 랙은 열(예컨대 절연) 배송업체에서 온도 조절 재료(예컨대 드라이아이스)로 둘러싸인 카톤 상자에 적층된다. 일부 구체예에서, 온도 조절 물질은 주기적으로(예를 들어, 현장에 도착한 후 24시간 이내 및/또는 2 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 10 시간, 12 시간, 14 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일 마다 등)보충된다. 바람직하게는 열 수송용기(thermal shipper)로 자주 재진입하여서는 아니되며, 바람직하게는 하루에 두 번 이상 발생하지 않아야 하다. 일부 실시예에서, 열 수송용기는 개봉된 지 5분, 4분, 3분, 2분 또는 1분 이하 이내에 다시 닫힌다. 일부 구체예에서, 일정 시간 동안, 선택적으로 특정 온도 범위 내에서 열 운송 기 내에 보관된 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 여전히 유용하다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물을 함유하는 본원에 기술된 바와 같은 열 수송용기가 약 15℃ 내지 약 25℃ 범위 내의 온도에서 유지(예컨대, 보관)되거나 되었다면, RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 최대 10일 동안 사용될 수 있으며; 즉, 일부 구체예에서, 10일 이하의 기간 동안 약 15℃ 내지 약 25℃ 범위의 온도의 열 수송용기 내에서 유지된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 대상자에 투여된다. 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서, 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 약 15℃ 내지 약 25℃ 범위 내의 온도에서 유지된(예컨대 보관된) 열 수송용기에서 유지(예컨대 보관)되거나 되었다면, 최대 10일까지 사용가능하다; 즉, 일부 구체예에서, 10일 이하의 기간 동안 약 15℃ 내지 약 25℃ 범위의 온도의 열 수송용기 내에서 유지된 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 대상자에 투여된다.

[0271] 일부 구체예에서, 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 냉동 상태로 운송 및/또는 보관된다. 일부 구체예에서, 제공된 RNA(예를 들어, mRNA 조성물은 일부 구체예에서 보존제를 함유하지 않는 냉동 현탁액으로서 운송 및/또는 보관된다. 일부 구체예에서, 냉동 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 해동된다. 일부 구체예에서 실시예에서, 해동된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물(예를 들어, 현탁액)은 백색 내지 회백색 불투명 무정형 입자를 함유할 수 있다. 일부 실시예에서, 해동된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 실온 이하(예컨대, 약 30℃, 25℃, 20℃, 15℃, 10℃, 8℃, 4℃ 미만, 등)에서 유지(예컨대 보관)되는 경우, 해동 후 수일 이내(예컨대 1, 2, 3, 4, 5 또는 6일)까지 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 해동된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 보관된 후(예를 들어, 이러한 적은 일수 동안) 사용될 수 있다. 약 2℃ 내지 약 8℃의 온도에서 사용될 수 있다; 대안적으로 또는 추가로, 해동된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 실온에서 해동 후 수 시간(예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6시간) 이내에 사용될 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 해동된 후 실온 이하의 온도, 일부 구체예에서 약 2℃ 내지 약 8℃에서 6, 5, 4, 3, 2 또는 1일 이하로 유지된 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 대상체에게 투여된다. 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서, 해동되어 실온에서 6, 5, 4, 3, 2 또는 1시간 이하 동안 유지된 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 대상자에게 투여된다. 일부 구체예에서, 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 농축된 상태로 운송 및/또는 보관된다. 일부 구체예에서, 이러한 농축된 조성물은 투여 전에 희석된다. 일부 구체예에서, 희석된 조성물은 희석 후 약 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1시간(들)의 기간 내에 투여되고; 일부 구체예에서, 이러한 투여는 희석 후 6시간 이내에 이루어진다. 따라서, 일부 구체예에서, 제공된 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물의 희석된 제제는 희석 후 6시간 이내에(예를 들어, 본원에 설명된 바와 같이 적절한 온도, 예컨대 실온 미만의 온도, 4℃ 이하, 또는 0℃ 이하, 또는 -20℃ 이하, 또는 -60℃ 이하, 또는 -70℃ 이하, 또는 - 80℃ 이하의 온도, 등 및 전형적으로 약 2℃ 이상, 예를 들어 약 2℃ 내지 약 8℃ 또는 약 2℃ 내지 약 25℃)에서 대상자에 투여된다. 일부 구체예에서, 미사용 조성물은 희석 후 수 시간(예를 들어, 약 10, 약 9, 약 8, 약 7, 약 6, 약 5시간 이하) 이내에 폐기되고; 일부 구체예에서, 미사용 조성물은 희석 6시간 이내에 폐

기된다.

[0272] 일부 구체예에서, 보관, 운송 또는 사용되는 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물(예를 들어, 냉동 조성물, 액체 농축 조성물, 희석 액체 조성물 등)은 실질적으로 -60℃보다 높은 온도에서, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일 이상, 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 주일 이상, 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 개월 이상의 기간 동안 유지되었을 수 있다; 이러한 일부 구체예에서, 이러한 조성물은 이러한 기간 동안 약 -20℃ 이상의 온도 및/또는 그러한 기간 및/또는 약 4-5℃ 이하의 온도에서 그러한 기간 동안 유지되었을 수 있고/있거나 2개월 미만 및/또는 선택적으로 약 1개월까지의 시간 동안 약 4-5℃보다 높은 온도, 및 선택적으로 약 25℃ 이상의 온도에서 2개월 미만 및/또는 선택적으로 최대 약 1개월의 기간 동안 유지될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 조성물은 약 4-5℃보다 실질적으로 높은 온도, 특히 일정 기간 동안 약 25℃의 온도 또는 그 부근의 온도에서 약 2주, 또는 일부 구체예에서 1주라는 긴 기간 동안 보관, 운송 또는 이용되지 않았을(또는 그렇지 않으면 노출되지 않았을) 수 있다. 일부 구체예에서, 그러한 조성물은 약 -20℃보다 실질적으로 높은 온도, 특히 약 4-5℃의 온도 또는 그 부근에서 약 12 개월, 11 개월, 10 개월, 9 개월, 8 개월, 7 개월, 6 개월, 5 개월, 4 개월, 3 개월, 2 개월, 또는, 일부 구체예에서, 약 8 주일 또는 6 주일이라는 긴 기간 또는 실질적으로 약 2 개월 이상, 또는 일부 구체예에서, 3 개월 또는 일부 구체예에서 4 개월이라는 긴 기간 동안 보관, 운송 또는 이용되지 않았을 수 있다(또는 그렇지 않으면 이에 노출되지 않을 수 있다).

[0273] 일부 구체예에서, 보관, 운송 또는 사용되는 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물(예를 들어, 냉동 조성물, 액체 농축 조성물, 희석 액체 조성물 등)은 빛으로부터 보호될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 조성물(예를 들어, 바이알 또는 주사기와 같은 용기 내에 배치될 수 있음)의 빛에 대한 노출을 감소시키거나 최소화하기 위해 하나 이상의 단계가 취해질 수 있다. 일부 구체예에서, 직사광선 및/또는 자외선에 대한 노출은 피한다. 일부 구체예에서, 희석된 용액은 정상적인 실내 조명 조건 하에서(예를 들어, 실내 조명에 대한 노출을 최소화하거나 감소시키기 위해 취해지는 특정 단계 없이) 취급 및/또는 이용될 수 있다. 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물의 취급(예를 들어, 희석 및/또는 투여) 동안 무균 기술을 엄격히 준수하는 것이 바람직하다는 것을 이해해야 한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 정맥내로 투여되지 않는다(예를 들어, 주사되지 않는다). 일부 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 피내로 투여되지 않는다(예를 들어, 주사되지 않는다). 일부 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 피하로 투여되지 않는다(예를 들어, 주사되지 않는다). 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 정맥내, 피내 또는 피하로 투여되지 않는다(예를 들어, 주사되지 않는다). 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 그의 임의의 성분에 대해 공지된 과민성을 갖는 대상자에게 투여되지 않는다. 일부 구체예에서, RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 투여된 대상자는 아나필락시스의 하나 이상의 징후에 대해 모니터링된다. 일부 구체예에서, RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 투여되는 대상자는 이전에 SARS-CoV-2에 대한 다른 백신의 적어도 1회 용량을 받았고; 일부 구체예에서, RNA(예를 들어, mRNA) 조성물이 투여되는 대상자는 이전에 SARS-CoV-2에 대한 상이한 백신을 받지 않았다. 일부 구체예에서, 대상자의 체온은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물의 투여 전에 즉시(예를 들어, 이러한 조성물의 해동, 희석 및/또는 투여 직전 또는 직후); 일부 구체예에서, 그러한 대상이 열이 있는 것으로 결정되면, 투여가 지연되거나 취소된다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 항응고 요법을 받고 있거나 근육내 주사가 금지되는 출혈 장애 또는 상태를 앓고 있거나 이에 걸리기 쉬운 대상자에게는 투여되지 않는다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 부작용 및 위험에 관한 조성물 정보를 수신하는 대상자와 의사소통한 의료 전문가에 의해 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 바와 같은 RNA(예를 들어, mRNA) 조성물은 임의의 심각한 이상사례에 대한 이상사례 보고서를 제출하는 데 동의한 의료 전문가에 의해 투여되며, 여기서 이러한 심각한 이상사례에는 사망, 장애 또는 선천적 기형/선천적 결함(예컨대 대상체의 자녀), 입원 환자 입원(기존 입원 기간 연장 포함), 생명을 위협하는 사건, 사망을 예방하기 위한 의학적 또는 수술적 개재, 지속적이거나 중대한 또는 정상적인 생활 기능을 수행하는 능력의 상당한 장애; 또는 개인을 위험에 빠뜨릴 수 있고 다른 결과 중 하나를 방지하기 위해 의료 또는 외과적 개재(치료)가 필요할 수 있는 또 다른 중요한 의학적 사건 중 하나 이상이 포함될 수 있다.

[0274] 일부 구체예에서, 제공된 RNA 조성물은 18세 미만, 또는 17세 미만, 또는 16세 미만, 또는 15세 미만, 또는 14세 미만, 또는 13세 미만의 개체 집단에게, 예를 들어 아래 표시된 발생률을 초과하지 않는 하기에 표시된 국소 반응 사례 중 하나 이상에 대한 발생률을 갖도록 설정된 요법에 따라 투여된다:

[0275] ● 주사 부위의 통증(제1 용량 및/또는 제2 용량 후 75%, 및/또는 제2 용량 후 더 낮은 발생률, 예를 들어 2차 투여 후 65%);

[0276] ● 주사 부위의 발적(제1 용량 및/또는 제2 용량 후 5% 미만); 및/또는

[0277] ● 주사 부위의 부기(제1 용량 및/또는 제2 용량여 후 5% 미만).

[0278] 일부 구체예에서, 제공된 RNA 조성물은 18세 미만, 또는 17세 미만, 또는 16세 미만, 또는 15세 미만, 또는 14세 미만, 또는 13세 미만의 개체 집단에게, 예를 들어 아래 표시된 발생률을 초과하지 않는 하기에 표시된 전신 반응 사례 중 하나 이상에 대한 발생률을 갖도록 설정된 요법에 따라 투여된다:

[0279] ● 피로 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 55%);

[0280] ● 두통 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 50%)

[0281] ● 근육통 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 40%)

[0282] ● 오한 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 40%)

[0283] ● 관절통 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 20%)

[0284] ● 발열 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 25%)

[0285] ● 구토 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 10%) 또는

[0286] ● 설사 (1차 투여 및/또는 2차 투여 후 10%).

[0287] 일부 구체예에서, 하나 이상의 국소 반응 및/또는 전신 반응 사례(예를 들어, 본원에 기재된 것)의 하나 이상의 증상을 완화시키는 약물이, 제공된 RNA 조성물을 투여받았으며 국소 및/또는 전신 반응 사례(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은) 중 하나 이상을 경험한 바 있는 18세 미만, 또는 17세 미만, 또는 16세 미만, 또는 15세 미만, 또는 14세 미만, 또는 13세 미만의 개체에게 투여된다. 일부 구체예에서, 해열제 및/또는 진통제가 그러한 개체에게 투여될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0288] **도 1: SARS-CoV-2 S 단백질의 S 단백질 조직에 대한 개략도.**

S1 서브유닛 내의 서열은 신호 서열(SS)과 인간 세포 수용체 ACE2에 대한 결합과 관련된 S 단백질 내의 주요 서브유닛인 수용체 결합 도메인(RBD)으로 구성된다. S2 서브유닛은 S2 프로테아제 절단 부위(S2'), 이어서 막 융합을 위한 융합 펩타이드(FP), 중심 나선(CH) 도메인, 막관통 도메인(TM) 및 세포질 꼬리(CT)를 포함한다.

도 2: ARS-CoV-2 백신 개발을 위한 예상 작제물.

전체 및 야생형 S 단백질을 기반 으로, 본 발명자들은 (1) 중화 민감 부위를 보존하는 안정화 돌연변이를 포함하는 제1 헵타드 반복체(HRP1)의 근접 거리에 돌연변이가 있는 전장 단백질, (2) S1 도메인 또는 (3) RB 도메인(RBD)만을 인코딩하는 상이한 작제물을 설계하였다. 또한, 단백질 단편을 안정화하기 위해 피브리틴 도메인(F)을 C-말단에 융합시켰다. 모든 작제물은 세포막으로의 골지 수송을 보장하기 위해 신호 펩타이드(SP)로 시작한다.

도 3: LNP로 제형화된 modRNA를 사용한 인플루엔자 HA에 대한 항체 면역 반응.

BALB/c 마우스를 1㎍의 백신 후보로 2회 면역화시켰다. 바이러스 항원 특이적 면역글로불린 G(IgG)의 총량을 ELISA를 통해 측정하였다. 항체의 기능은 VNT를 통해 평가되었다.

도 4: T LNP로 제형화된 modRNA 플랫폼을 사용한 인플루엔자 HA에 대한 T 세포 반응.

BALB/c 마우스를 1㎍의 백신 후보로 2회 IM 면역화시켰다. T 세포 반응은 비장에서 회수한 T 세포 자극용 항원 특이적 펩타이드를 사용하여 분석하였다. ELISpot 검정을 사용하여 펩타이드 자극 후 IFNɣ 방출을 측정하였다.

도 5: BNT162a1로 면역화한 후 7, 14, 21 및 28일째 항-S 단백질 IgG 반응.

BALB/c 마우스를, 1, 5 또는 10 ㎍의 LNP로 제형화된 RBL063.3을 이용하여 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 7, 14, 21 및 28일에 동물을 채혈하고 혈청 샘플을 ELISA를 통해 측정된 항-S1 (좌) 및 항-RBD (우) 항원-특이적 면역글로불린 G (IgG)의 총량에 대해 분석하였다. 7, 14, 21 및 28일에 대해, 1:100의 혈청 희석에 대한 값이 그래프에 포함되었다. 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균 + SEM이 그룹에 포함됨).

도 6: BNT162b1으로 면역화한 후 7, 14, 21 및 28일에 항-S 단백질 IgG 반응.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP로 제형화된 RBP020.3을 이용하여 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 7, 14, 21 및 28일에 동물을 채혈하고 혈청 샘플을 ELISA를 통해 측정된 항-S1 (좌) 및 항-RBD (우) 항원-특이적 면역글로불린 G (IgG)의 총량에 대해 분석하였다. 7일 (1:100), 14일 (1:300), 21일 (1:900) 및 28일 (1:2700)에 대해, 서로 다른 혈청 희석이 그래프에 포함되었다. 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다 (그룹 크기 n=8; 평균 + SEM이 그룹에 포함됨).

도 7: BNT162b1으로 면역화한 후 14, 21 및 28일에 SARS-CoV-2 슈도바이러스 (pseudovirus) 중화.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP-제형화 RBP020.3을 이용하여 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 14, 21 및 28일에 동물을 채혈하고 혈청을 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화에 대해 테스트하였다. 그래프는 pVN50 혈청 희석을 나타낸다 (혈청이 없는 양성 대조군과 비교하여, 감염 이벤트 50% 감소). 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타낸다. 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다. 그룹 크기 n=8. 평균 + SEM은 각 그룹에 대하여 연장선(whiskers)을 갖는 수평 막대로 표시된다. LLOQ, 정량화 하한. ULOQ, 정량화 상한.

도 8: BNT162c1으로 면역화한 후 7, 14 및 21일에 항-S 단백질 IgG 반응.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP로 제형화된 RBS004.3을 이용하여 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 7, 14 및 21일에 동물을 채혈하고 혈청 샘플을 ELISA를 통해 측정된 항-S1 (좌) 및 항-RBD (우) 항원-특이적 면역글로불린 G (IgG)의 총량에 대해 분석하였다. 7일 (1:100), 14일 (1:300) 및 21일 (1:900)에 대해, 서로 다른 혈청 희석이 그래프에 포함되었다. 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다 (그룹 크기 n=8; 평균 + SEM이 그룹에 포함됨).

도 9: BNT162c1으로 면역화한 후 14 및 21일에 SARS-CoV-2 슈도바이러스의 중화.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP로 제형화된 RBS004.3을 이용하여 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 14 및 21일에 동물을 채혈하고 혈청을 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화에 대해 테스트하였다. 그래프는 pVN50 혈청 희석을 나타낸다 (혈청이 없는 양성 대조군과 비교하여, 감염 이벤트 50% 감소). 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타낸다. 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다. 그룹 크기 n=8. 평균 + SEM은 각 그룹에 대하여 연장선 (whiskers)을 갖는 수평 막대로 표시된다. LLOQ, 정량화 하한. ULOQ, 정량화 상한.

도 10: LNP로 제형화된 RBL063.1로 면역화 후 7, 14, 21 및 28일째 항-S 단백질 IgG 반응.

BALB/c 마우스를 1, 5 또는 10μg의 LNP로 제형화된 RBL063.1로 1회 IM 면역화시켰다. 면역 후 7, 14, 21 및 28일에 동물을 채혈하고 ELISA를 통해 측정된 항-S1(왼쪽) 및 항-RBD(오른쪽) 항원 특이적 면역글로불린 G(IgG)의 총량에 대해 혈청 샘플을 분석하였다. 7일(1:100), 14일(1:100), 21일(1:300) 및 28일(1:900)에서 서로 다른 혈청 희석이 그래프에 포함되었다. 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균 + SEM이 그룹에 포함됨).

도 11: LNP로 제형화된 RBL063.1로 면역화한 후 14, 21 및 28일에 SARS-CoV-2 슈도바이러스의 중화.

BALB/c 마우스를 1, 5 또는 10μg의 LNP로 제형화된 RBL063.1을 이용하여 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 14, 21 및 28일에 동물을 채혈하고 혈청을 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화에 대해 테스트하였다. 그래프는 pVN50 혈청 희석을 나타낸다 (혈청이 없는 양성 대조군과 비교하여, 감염 이벤트 50% 감소). 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타낸다. 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다. 그룹 크기 n=8. 평균 + SEM은 각 그룹에 대하여 연장선 (whiskers)을 갖는 수평 막대로 표시된다. LLOQ, 정량화 하한. ULOQ, 정량화 상한.

도 12: BNT162b2 (LNP로 제형화된 RBP020.1)으로 면역화한 후 7, 14 및 21일의 항-S 단백질 IgG 반응.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP로 제형화된 RBP020.1로 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 7, 14 및 21에 동물을 채혈하고 혈청 샘플을 ELISA를 통해 측정된 항-S1 (좌) 및 항-RBD (우) 항원-특이적 면역글로불린 G (IgG)의 총량에 대해 분석하였다. 7일 (1:100), 14일 (1:300) 및 21일 (1:1100)에 대해 서로 다른 혈청 희석이 그래프에 포함되었다. 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다 (그룹 크기 n=8; 평균 + SEM이 그룹에 포함됨).

도 13: BNT162b2 (LNP로 제형화된 RBP020.1)으로 면역화한 후 14 및 21일의 SARS-CoV-2 슈도바이러스의 중화.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP로 제형화된 RBP020.1로 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 14 및

21일에 동물을 채혈하고 혈청을 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화에 대해 테스트하였다. 그래프는 pVN50 혈청 희석을 나타낸다 (혈청이 없는 양성 대조군과 비교하여 감염 이벤트 50% 감소). 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타낸다. 모든 마우스 샘플은 중복으로로 측정되었다. 그룹 크기 n=8. 평균 + SEM은 각 그룹에 대하여 연장선을 갖는 수평 막대로 표시된다. LLOQ, 정량화 하한. ULOQ, 정량화 상한.

도 14: LNP로 제형화된 RBS004.2로 면역화한 후 7, 14 및 21일의 항-S 단백질 IgG 반응.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP로 제형화된 RBS004.2로 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 7, 14 및 21일에 동물을 채혈하고 혈청 샘플을 ELISA를 통해 측정된 항-S1 (좌) 및 항-RBD (우) 항원-특이적 면역글로불린 G (IgG)의 총량에 대해 분석하였다. 7일 (1:100), 14일 (1:300) 및 21일 (1:900)에 대해 서로 다른 혈청 희석이 그래프에 포함되었다. 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다 (그룹 크기 n=8; 평균 + SEM이 그룹에 포함됨).

도 15: LNP로 제형화된 RBS004.2로 면역화한 후 14 및 21일의 SARS-CoV-2 슈도바이러스의 중화.

BALB/c 마우스를 0.2, 1 또는 5 μg의 LNP로 제형화된 RBS004.2로 IM으로 1회 면역화시켰다. 면역화 후 14 및 21일에 동물을 채혈하고 혈청을 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화에 대해 테스트하였다. 그래프는 pVN50 혈청 희석을 나타낸다 (혈청이 없는 양성 대조군과 비교하여 감염 이벤트 50% 감소). 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타낸다. 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다. 그룹 크기 n=8. 평균 + SEM은 각 그룹에 대하여 연장선을 갖는 수평 막대로 표시된다. LLOQ, 정량화 하한. ULOQ, 정량화 상한.

도 16: 스크리닝 과정에서의 ALC-0315 활성.

도 17: 루시페라제 발현이 야생형 (WT) 또는 ApoE3의 존재 또는 부재하의 ApoE 녹아웃 C57Bl/6 마우스에서 근육내 투여 후 동물의 우측 (주사 부위), 등쪽 (주사 부위) 및 배쪽 (간으로 배액) 면에서 모니터링되었다. 루시페라제 발현은 투여 후 4, 24, 72 및 96 시간에 Xenolight D-Luciferin Rediject를 사용하여 검출되었다.

도 18: 야생형 (WT) 또는 ApoE3의 존재(KO+) 또는 부재(KO) 하의 ApoE 녹아웃 C57Bl/6 마우스에서 정맥내 (IV) 및 근육내 (IM) 투여 후 루시퍼라제 활성을 나타낸다. 투여 후 4 시간에 Xenolight D-Luciferin Rediject를 사용하여 루시페라제 발현을 검출하였다.

도 19: RNA의 일반적인 구조.

5'-캡, 5'- 및 3'-비번역 영역, 내인성 분비 신호 펩타이드 및 GS-링커 및 폴리(A)-테일을 갖는 코딩 서열을 갖는 RNA 백신의 일반 구조의 개략도. 개별 요소는 각각의 시퀀스 길이와 비교하여 비율에 맞게 정확하게 그려지지 않는다는 점에 유의할 것.

UTR = 비번역 영역; sec = 분비 신호 펩타이드; RBD = 수용체 결합 도메인; GS = 글리신-세린 링커.

도 20: RNA의 일반적인 구조

5'-캡, 5'- 및 3'-비번역 영역, 내인성 분비 신호 펩타이드 및 GS-링커 및 폴리(A)-테일을 갖는 코딩 서열을 갖는 RNA 약물 물질의 일반 구조의 개략도. 개별 요소는 각각의 시퀀스 길이와 비교하여 비율에 맞게 정확하게 그려지지 않았다는 점에 유의할 것.

GS = 글리신-세린 링커; UTR = 비번역 영역; sec = 분비 신호 펩타이드; RBD = 수용체 결합 도메인.

도 21: RNA의 일반적인 구조.

5'-캡, 5'- 및 3'-비번역 영역, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스(VEEV) RNA 의존성 RNA 폴리머라제 레플리카제 및 내인성 분비 신호 펩타이드가 있는 SARS-CoV-2의 코딩 서열 및 GS-링커 및 폴리(A)-꼬리를 갖는 RNA 백신의 일반 구조에 대한 개략도. 개별 요소는 각각의 시퀀스 길이와 비교하여 비율에 맞게 정확하게 그려지지 않았다는 점에 유의할 것.

UTR = 비번역 영역; Sec = 분비 신호 펩타이드; RBD = 수용체 결합 도메인; GS = 글리신-세린 링커.

도 22: BNT162b1로 면역화 28일 후 ELISpot 분석.

BALB/c 마우스를 1μg의 LNP로 제형화된 RBP020.3으로 1회 IM 면역화시켰다. 면역 후 28일째에 마우스를 안락사시켜 비장 세포를 준비하였다. ELISpot 분석은 MACS 분류된 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 사용하여 수행되었다. T 세포를 S 단백질- 또는 RBD-특이적 중복 펩타이드 풀로 자극하고 T-세포 반응을 평가하기 위해 IFN-γ 분비를 측

정하였다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 스팟 수를 나타내며 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균치가 그룹에 포함됨).

도 23: BNT162b1로 면역화 12일 후 재자극된 비장 세포의 상등액 중 사이토카인 농도.

BALB/c 마우스를 5㎍의 LNP로 제형화된 RBP020.3으로 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 12일째에 마우스를 안락사시켰다. 비장 세포를 준비하고 S 단백질 특이적 중복 펩타이드 풀로 자극하였다. 자극 48시간 후, 상등액을 수집하고 사이토카인 농도를 측정하였다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 사이토카인 농도를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균치가 그룹에 포함됨).

도 24: BNT162b1로 면역화 7일 후 PBMC에서의 T 세포 면역 표현형.

BALB/c 마우스를 5㎍의 LNP로 제형화된 RBP020.3으로 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 7일째에 마우스에서 채혈하였다. PBMC의 유세포 분석은 T 세포에 대해 수행되었다. T 세포는 생존 가능한 $CD3^{+}CD4^{+}$ 및 $CD3^{+}CD8^{+}$ T T 세포로 정의되었다. 추가 표현형 마커가 도에 포함되어 있다. Tfh 세포는 $CD4^{+}$ T 세포로부터 게이팅되었고 $CD4^{+}T\text{-}bet^{-}GATA3^{-}CD44^{+}CD62L^{-}PD\text{-}1^{+}CXCR5^{+}$ 세포로 정의되었다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 세포 분획을 나타낸다(그룹 크기 n=8, 평균치가 그룹에 포함됨).

도 25: BALB/c BNT162b1로 면역화한지 12일 후 배액 림프절에서의 B 세포 면역 표현형.

BALB/c 마우스를 5㎍의 LNP로 제형화된 RBP020.3으로 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 12일째에 마우스를 안락사시켰다. 림프구의 유세포 분석은 B 세포에 대해 수행되었다. 활성화된 B 세포는 단일 생존 림프구 내에서 게이팅되었으며 IgD-Dump(CD4, CD8, F4/80, GR-1)$^{-}$ 세포로 정의되었다. 형질 세포는 $CD138^{+}B220^{low/-}$ 세포로 정의되었다. 전환된 B 세포는 비-플라즈마 세포로부터 게이팅되었고 $CD19^{+}CD138^{-}IgM^{-}$으로 정의되었다. 배 중심(GC) B 세포는 전환된 B 세포로부터 게이팅되었고 $CD19^{+}IgM^{-}CD38^{-}CD95^{+}$ 세포로 정의되었으며 IgG1 및 IgG2a에 대해 게이팅되었다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 세포 분획을 나타낸다(그룹 크기 n=8, 평균은 그룹에 포함됨).

도 26: LNP로 제형화된 modRNA RBP020.1로 면역화 후 28일째 ELISpot 분석.

BALB/c 마우스를 5㎍의 LNP로 제형화된 RBP020.1로 1회 IM 면역화시켰다. 면역 후 28일째에 마우스를 안락사시켜 비장 세포를 준비하였다. ELISpot 분석은 MACS 분류된 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 사용하여 수행되었다. S 단백질 특이적 중복 펩타이드 풀로 T 세포를 자극하고 IFN-γ 분비를 측정하여 T 세포 반응을 평가하였다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 스팟 수를 나타내며 모든 마우스 샘플은 중복으로 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균은 그룹에 포함됨).

도 27: LNP로 제형화된 modRNA RBP020.1로 면역화 28일 후 재자극된 비장 세포의 상등액 중 사이토카인 농도.

BALB/c 마우스를 5㎍의 LNP로 제형화된 RBP020.1로 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 28일째에 마우스를 안락사시켰다. 비장 세포를 준비하고 S 단백질 특이적 중복 펩타이드 풀로 자극하였다. 자극 48시간 후, 상등액을 수집하고 사이토카인 농도를 측정하였다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 사이토카인 농도를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균은 그룹에 포함됨).

도 28: LNP로 제형화된 saRNA RBS004.2로 면역화 후 28일째 ELISpot 분석.

BALB/c 마우스를 5㎍의 LNP로 제형화된 RBS004.2로 1회 IM 면역화시켰다. 면역 후 28일째에 마우스를 안락사시켜 비장 세포를 준비하였다. ELISpot 분석은 MACS 분류된 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 사용하여 수행되었다. S 단백질 특이적 중복 펩타이드 풀로 T 세포를 자극하고 IFN-γ 분비를 측정하여 T 세포 반응을 평가하였다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 스팟 수를 나타내며 모든 마우스 샘플은 중복으로 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균은 그룹에 포함됨).

도 29: LNP로 제형화된 saRNA RBS004.2로 면역화 28일 후 재자극된 비장 세포의 상등액 중 사이토카인 농도.

BALB/c 마우스를 1㎍의 LNP로 제형화된 RBS004.2로 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 28일째에 마우스를 안락사시켰다. 비장 세포를 준비하고 S 단백질 특이적 중복 펩타이드 풀로 자극하였다. 자극 48시간 후, 상등액을 수집하고 사이토카인 농도를 측정하였다. 그래프의 한 점은 마우스 한 마리의 개별 사이토카인 농도를 나타내며,

모든 마우스 샘플은 이중으로 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균은 그룹에 포함됨).

도 30: SARS-CoV-2 S 단백질의 S 단백질 구성 및 SARS-CoV-2 백신 개발을 위한 새로운 작제물의 개략도.

야생형 S 단백질을 기반 으로 본 발명자들은 자생(autochthonus) 막관통 도메인(TM) 및 T4 피브리틴 삼량체화 도메인(F)에 융합된 RBD 단편을 인코딩하는 두 개의 서로 다른 막관통-고정된 RBD 기반 백신 작제물을 설계하였다. 작제물(1)은 SARS-CoV-2-S 신호 펩타이드(SP; S 단백질의 AA 1-19)로 시작하는 반면 작제물(2)는 세포막으로의 골지 수송을 보장하기 위해 인간 Ig 중쇄 신호 펩타이드(huSec)로 시작한다.

도 31: 막관통-고정된 RBD-기반 백신 작제물을 코딩하는 LNP-C12 제형화된 modRNA로 면역화 후 6, 14 및 21일째의 항-S 단백질 IgG 반응.

BALB/c 마우스를 4 μg의 LNP-C12로 제형화된 막관통-고정된 RBD-기반 백신 작제물(BNT162b3c/BNT162b3d에 대한 대리)로 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 6, 14 및 21일에 동물을 채혈하고 ELISA를 통해 측정된 항-S1(왼쪽) 및 항-RBD(오른쪽) 항원 특이적 면역글로불린 G(IgG)의 총량에 대해 혈청 샘플을 분석하였다. 6일(1:50), 14일(1:300) 및 21일(1:900)에 대해 서로 다른 혈청 희석이 그래프에 포함되었다. 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타내며, 모든 마우스 샘플은 중복으로 측정되었다(그룹 크기 n=8; 평균 + SEM이 그룹에 포함됨).

도 32: BALB/c 막관통-고정된 RBD-기반 백신 작제물을 코딩하는 LNP-C12 제형화된 modRNA로 면역화 후 6, 14 및 21일째의 SARS-CoV-2 슈도바이러스의 중화.

BALB/c 마우스를 4 μg의 LNP-C12 제형 막관통 고정 RBD 기반 백신 구조물(BNT162b3c/BNT162b3d에 대한 대리)로 1회 IM 면역화시켰다. 면역화 후 6일, 14일 및 21일에 동물을 채혈하고 SARS CoV-2 슈도바이러스 중화에 대해 혈청을 테스트하였다. 그래프는 pVN50 혈청 희석을 나타낸다(혈청이 없는 양성 대조군과 비교하여 감염 사건의 50% 감소). 그래프의 한 점은 한 마리의 마우스를 나타낸다. 모든 마우스 샘플을 중복 측정하였다. 그룹 크기 n=8. 평균 + SEM은 각 그룹에 대해 연장선이 있는 가로 막대로 표시된다. LLOQ, 정량화 하한. ULOQ, 정량화 상한.

도 33: 붉은털 원숭이에서 BNT162b1의 면역원성 및 인간 회복기 혈청과의 비교.

붉은털 원숭이를 0일과 21일에 30μg 또는 100μg의 BNT162b1 또는 위약(0.9% NaCl)으로 IM 면역화시켰다. 혈청은 면역화 전과 면역화 후 14, 21, 28 및 35일에 얻었다; PBMC는 면역화 전 14일 및 면역화 42일 후에 얻었다. COVID-19 환자의 혈청은 증상 발현 후 20-40일 및 무증상 회복기 최소 14일 후에 채취하였다. **a,** 면역화 후 지시된 시간에 추출된 붉은털 원숭이 혈청(그룹당 n=6, 위약 그룹의 모든 측정 시점은 '대조군' 하에 나타냄) 및 인간 회복기 혈청(n=62)에서 SARS-CoV-2 S의 재조합 S1 프로테아제 단편에 결합하는 IgG의 기하 평균 농도. **b,** 붉은털 원숭이 혈청(그룹당 n=6, 위약 그룹의 모든 측정 시점은 '대조군' 하에 나타냄) 및 인간 회복기 혈청(n=38)의 SARS-CoV-2 기하 평균 50% 중화 역가. P 값은 양측 단방향 ANOVA 및 Dunnett의 다중 비교 테스트에 의해 결정되었다. **c,** 42일째 붉은털 원숭이 PBMC에서 IFNɣ, IL-2, TNF (T_H1), IL-21 또는 IL-4 (T_H2) 사이토카인을 생성하는 CD4+ T 세포의 유세포 분석. P 값은 양측 단방향 Kruskal-Wallis 테스트에 이어 Dunn의 다중 비교 테스트에 의해 결정하였다. 각 데이터 포인트는 개별 동물에 해당하다.

도 34: 연구 집단 개요

도 35: 모든 용량 수준에서 백신접종 7일 이내에 보고된 국소 반응.

구해진 주사 부위(국소) 반응은 다음과 같다: 주사 부위 통증(경증 = 활동에 지장 없음, 중등도 = 활동에 지장 있음, 중증 = 일상 활동 방해, 4등급 = 응급실 방문 또는 입원) 및 발적 및 부기(경미함 = 직경 2.5 ~ 5.0cm, 중등도 = 직경 5.5 ~ 10.0cm, 중증 = 직경 > 10.0cm, 4등급 = 발적에 대한 괴사 또는 박리성 피부염, 부기 괴사). 각 백신접종 후 14일 동안 전자 다이어리를 사용하여 데이터를 수집하였다.

도 36: a: 백신접종 1 후 7일 이내에 보고된 전신 반응: 모든 용량 수준; b: 백신접종 1 후 7일 이내에 보고된 전신 반응 10μg 및 30μg 용량 수준

구해진 전신 반응은 다음과 같다: 메스꺼움/구토(경증 = 활동에 방해가 되지 않거나 24시간에 1~2회; 중등도 = 활동에 약간의 방해가 있거나 24시간에 2회 초과; 중증 = 일상 활동을 방해하거나 정맥 수분 공급이 필요함; 4등급4 = 저혈압 쇼크로 응급실 방문 또는 입원), 설사(경증, 24시간 동안 2~3회 묽은 변, 중등도, 24시간 동안 4~5회 묽은 변, 중증, 24시간 동안 ≥6 묽은 변, 4등급 = 응급실 방문 또는 입원), 두통(경증 = 활동에 지장이

없음, 중등도 = 비마약성 진통제의 반복 사용 > 24시간 또는 약간의 활동 방해, 중증 = 심각, 마약성 진통제 사용 또는 일상 활동 방해, 등급 4 = 응급실 방문 또는 입원), 피로/피곤함(경증 = 활동에 지장 없음, 중등도 = 활동에 약간의 지장, 심함 = 심각함, 일상 활동 방해, 4등급 = 응급실 방문 또는 입원), 근육통(주사 부위 이외의 부위에서 발생하는 통증; 경증 = 활동에 방해가 되지 않음; 중등도 = 활동에 약간의 간섭; 중증 = 상당한; 일상 활동을 방해; 4등급 = 응급실 방문 또는 입원), 관절통(경증 = 활동에 지장 없음, 중등도 = 활동에 약간의 지장, 중증 = 심각함, 일상 활동 방해, 4등급 = 응급실 방문 또는 입원) 및 발열(경증 = 100.4°F 내지 101.1°F [38.0℃ 내지 38.4℃], 중간 = 101.2°F 내지 102.0°F[38.5℃ 내지 38.9℃], 심각 = 102.1°F 내지 104.0°F[39.0℃ 내지 40℃], 4등급 = >104.0°F [>40.0℃]).

도 37: BNT162b1의 면역원성 - 1회 또는 2회 투여 후 RBD-결합 IgG GMC 및 SARS CoV2 50% 중화 역가

15명으로 구성된 그룹의 대상자를 BNT162b1(n=12) 또는 위약으로 제1일(모든 용량 수준 및 위약) 및 제21일(10 μg 및 30μg 용량 수준 및 위약)에 표시된 용량 수준으로 면역화시켰다. 혈청은 면역화 전(제1일) 및 1차 면역화 후 7, 21 및 28일에 얻었다. 인간 COVID-19 회복기 혈청(HCS)(n=38)은 증상이 시작된 후 20-40일 및 무증상 회복기 최소 14일 후에 얻었다. **a,** 재조합 RBD-결합 IgG의 GMC. 정량 하한(LLOQ) 1.15(점선). **b,** 50% SARS-CoV-2 중화 GMT. 각 데이터 포인트는 혈청 샘플을 나타내고 각 세로 막대는 95% 신뢰 구간의 기하 평균을 나타낸다.

도 38: BNT162b1은 인간에서 강한 CD4 및 CD8 T 세포 반응을 유도한다

BNT162 유도된 T 세포: INFγ ELISpot 생체 외; 테스트된 대상체 8명 중 8명의 T 세포 반응. 여기서: 대상체는 10 μg BNT162b1로 프라임/부스트 백신접종됨; CEF: CMV, EBV, 인플루엔자 CD8 T 세포 에피토프 믹스, CEFT: CMV, EBV, 인플루엔자, 파상풍 CD4 T 세포 에피토프 믹스.

도 39: BNT162b1-유도된 IgG 농도

대상체를 제1일(모든 용량 수준) 및 제22일(60μg을 제외한 모든 용량 수준)에 BNT162b1로 면역화시켰다(그룹당 n=12, 10μg 및 50μg 코호트의 경우 22일부터 n=11). 혈청은 제1일(사전 프라임) 및 8일, 제22일(사전 부스트), 제29일 및 제43일에 채취하였다. 모든 용량 수준에 걸쳐 용량-전(pre-dose) 반응을 합쳤다. 인간 COVID-19 회복기 혈청(HCS, n=38)은 PCR로 확인된 진단 후 최소 14일이 지난 시점과 기증자가 더 이상 증상이 없는 시점에 확보하였다. 정량 하한(LLOQ = 1.15) 미만의 RBD-결합 IgG 농도에 대해, LLOQ/2 값을 플로팅하였다. 화살촉 표시는 백신접종을 나타낸다. 체크 무늬 막대는 부스트 면역화가 수행되지 않았음을 나타낸다. 막대 위의 값은 95% 신뢰 구간의 기하학적 평균이다. 제출 당시 50μg 코호트의 5명의 대상체와 60μg 코호트의 모든 대상체에 대한 43일 데이터가 계류 중이었다.

도 40: BNT162b1-유도된 바이러스 중화 역가

백신접종 일정 및 혈청 채취는 도 39에서와 동일하다. **a,** 백신접종된 대상체 및 COVID-19 회복기 환자(HCS)의 SARS-CoV-2 50% 중화 역가(VNT_{50}). 정량화 하한(LLOQ) = 20 미만의 값에 대해 LLOQ/2 값이 플롯되었다. 화살촉 표시는 백신접종 일수를 나타낸다. 체크 무늬 막대는 부스트 면역화가 수행되지 않았음을 나타낸다. 95% 신뢰 구간의 기하 평균(막대 위의 값). 제출 당시, 제43일 데이터는 50μg 코호트의 5명의 대상체와 60μg 코호트의 모든 대상체에 대해 아직 이용가능하지 않았다. **b,** 제29일의 VNT_{50}(모든 평가 가능한 대상체 혈청)과 RBD-결합 IgG 기하 평균 농도(GMC)의 상관 관계(도 39에서와 같이). 비모수적 스피어만(Spearman) 상관관계. **c,** 16개의 RBD 돌연변이 및 우세한 스파이크 단백질 변이체 D614G를 포함한 17개의 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 변이체를 표시하는 슈도바이러스 패널에 걸친 슈도바이러스 50% 중화 역가($pVNT_{50}$)(용량 수준 10, 30 및 50μg, n=1-2 각각; 제29일). 정량화 하한(LLOQ) = 40. 기하 평균.

도 41: BNT162b1-유도된 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 반응의 빈도 및 크기

백신접종 일정은 도 39와 같다. 제1일(Pre) 및 제29일(Post, 부스트 후 7일)에 얻은 PBMC(각각 1 및 50 μg, n=8; 10 및 30 μg, n=10)를 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 이펙터에 대해 농축하고 직접적인 생체외 IFNγ ELISpot에서의 평가를 위해 백신-인코딩된 RBD를 나타내는 중복 펩타이드 풀로 밤새 개별적으로 자극하였다. 공통 병원체 T-세포 에피토프 풀 CEF(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스 HLA 클래스 I 에피토프) 및 CEFT(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스, 파상풍 톡소이드 HLA 클래스 II 에피토프)를 이용하여 정규화된 T-세포 반응성을 평가하고, 배지는 음성 대조군으로서 사용하였다. 각 점은 배지-단독 대조군을 뺀 후, 한 연구 대상체에 대한 중복 웰의 정규

화된 평균 스폿 수를 나타낸다. **a,** 백신접종 후 데이터 포인트 위의 비율은 용량 코호트당 테스트 대상체의 총 수 내에서 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 반응이 검출가능한 대상체의 수이다. **b,** 10-㎍ 코호트 대상체의 예시적인 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ ELISpot. **c,** 모든 프라임/부스트 백신접종된 대상체체에서의 RBD-특이적 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 반응 및 이들의 베이스라인 CEFT- 및 CEF-특이적 T-세포 반응. **d,** 용량 코호트 10 내지 50㎍(1 및 50㎍, 각각 n=8; 10 및 30㎍, 각각 n=10)의 CD4+ T-세포 반응(도 41에서와 같음)과 VNT_{50}(도 40a에서와 같음)의 상관관계). 비모수적 Spearman 상관관계.

도 42: BNT162b1-유도된 T 세포의 사이토카인 분극화(polarisation)

백신접종 일정 및 PBMC 샘플링은 도 41과 같다. 백신접종자 및 COVID-19 회복 기증자(HCS n=6; (c)에서)의 PBMC를 밤새도록 백신-인코딩된 RBD를 나타내는 중첩 펩타이드 풀로 자극하고 유세포 분석법(a-c) 및 비드 기반 면역 분석법(d)으로 분석하였다. **a,** 10-μg 코호트 대상체의 사이토카인 생성 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 예시적인 의사색 유세포분석 도표. **b,** 총 사이토카인 생성 RBD-특이 $CD4^+$ T 세포의 분획(fraction)으로서 표시된 사이토카인을 생산하는 RBD-특이 $CD4^+$ T 세포, 및 **c,** 표시된 사이토카인을 생산하는 RBD-특이 CD8+(왼쪽) 또는 CD4+(오른쪽) T 세포는 동일한 서브세트의 총 순환 T 세포 분획으로서 표시된 사이토카인을 생성한다. 30-μg 코호트로부터의 한 CD4 비반응자(<0.02% 총 사이토카인 생성 T 세포) 및 한 CD8 비반응자(<0.01% 총 사이토카인 생성 T 세포)는 (b)에서 제외되었다. 데이터 포인트 위의 값은 모든 용량 코호트에 걸친 평균 분획이다. **d,** 50-μg 코호트의 PBMC. 각 점은 하나의 연구 대상체에 대해 DMSO 대조군을 뺀 복제 웰의 평균을 나타낸다. 정량 하한(LLOQ)은 TNF의 경우 6.3pg/mL, IL-1β의 경우 2.5pg/mL, IL-12p70의 경우 7.6pg/mL였다. 평균 (b)

도 44: 구해진 부작용

대상체를 제1일(모든 용량 수준) 및 제22일(60μg을 제외한 모든 용량 수준)에 BNT162b1의 표시된 용량 수준으로 면역화시켰다(그룹당 n=12, 10μg의 경우 n=11, 22일부터 50μg 코호트). . **a, b,** 일(1-9일, 22-30일) 및 코호트별 국소(a) 또는 전신 반응(b)이 있는 대상체 수. 이상반응의 등급은 FDA 권장사항(U.S. Department of Health and Human Services, Administration, F. and D. & Research, C. for B. E. and. Toxicity grading scale for 건강한 성인 및 청소년 자원봉사자를 위한 예방 백신 임상 실험에 등록됨)에 따라 수행되었다. (2007) 참조: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/toxicity-grading-scale-healthy-adult-and-adolescent-volunteers-enrolled-preventive-vaccine-clinical.).

도 45: 약력학적(Pharmacodynamic) 마커

대상체는 제1일(모든 용량 수준) 및 제22일(60μg을 제외한 모든 용량 수준)에 BNT162b1의 표시된 용량 수준으로 면역화되었다. **a,** C-반응성 단백질(CRP) 수준의 동역학 **및** b, 림프구 수의 동역학. 점선은 기준 범위의 상한과 하한을 나타낸다. 정량화 하한(LLOQ = 0.3) 미만의 값에 대해 LLOQ/2 값이 플롯되었다(a).

도 46: 항체와 T 세포 반응의 상관관계

대상체는 제1일(모든 용량 수준) 및 제22일(60μg을 제외한 모든 용량 수준)에 BNT162b1의 표시된 용량 수준으로 면역화되었다. **a,** RBD-특이적 IgG 반응(도 39a로부터)과 29일째 CD4+ T-세포 반응의 상관관계(각각 1 및 50μg, n=8; 각각 10 및 30μg, n=10). 비모수적 Spearman 상관관계. **b,** 용량 코호트 10 내지 50㎍(각각 1 및 50㎍, n=8; 10 및 30㎍, n=10)의 29일째 CD4+와 CD8+ T-세포 반응의 상관관계(도 41에서와 같음). 모수적 피어슨 상관관계. **c,** 29일째 CD8+ T-세포 반응과 RBD-특이적 IgG 반응(도 39a로부터)의 상관관계(각각 1 및 50㎍, n=8; 각각 10 및 30㎍, n=10). 비모수적 Spearman 상관관계.

도 47: 도 42에 제시된 데이터의 유세포 분석을 위한 게이팅 전략

연구 대상체 PBMC 샘플에서 IFNɣ, IL-2 및 IL-4 분비 T 세포의 식별을 위한 유세포 분석 게이팅 전략. **a,** CD4+ 및 CD8+ T 세포는 단일 생존 림프구 내에서 게이팅되었다. **b, c,** CD4+ T 세포에서 IFNɣ, IL-2 및 IL-4의 게이팅(b) 및 CD8+ T 세포에서 IFNɣ 및 IL-2의 게이팅(c).

도 48: BNT162b1 18-55세: 각 투여 후 국소 반응

도 49: BNT162b1 18-55세: 각 투여 후 전신 반응

도 50: BNT162b1 65-85세: RBD-결합 IgG GMC

도 51: BNT162b1 65-85세: 50% SARS-CoV-2 중화 GMT

도 52: BNT162b2 18-55세: 각 투여 후 국소 반응

도 53: BNT162b2 18-55세: 각 투여 후 전신 반응

도 54: BNT162b2 65-85세: 각 투여 후 국소 반응

도 55: BNT162b2 65-85세: 각 투여 후 전신 반응

도 56: BNT162b2 18-55세: S1-결합 IgG GMC

도 57: BNT162b2 18~55세: 50% SARS-CoV-2 중화 GMT

도 58: BNT162b2 65-85세: S1-결합 IgG GMC

도 59: BNT162b2 65-85세: 50% SARS-CoV-2 중화 GMT

도 60: 마우스에서 BNT162b2-유발된 T 세포 반응

BNT162b2 또는 완충액으로 IM 면역화된 BALB/c 마우스의 비장 세포를 전장 S 펩타이드 믹스 또는 음성 대조군(a, 오른쪽의 무관한 펩타이드)으로 생체외 재자극하였다; (a, 왼쪽) 및 (c))에는 펩타이드가 없다. P-값을 양측 대응 t-테스트에 의해 결정하였다. (a) 5 μg BNT162b2(왼쪽)로 마우스(그룹당 n=8)를 면역화한 지 12일 후에 수집된 비장 세포의 IFNγ ELISpot. 1 μg BNT162b2(가운데 및 오른쪽)로 마우스(그룹당 n=8 마우스)를 면역화한 지 28일 후 분리된 비장 CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포의 IFNγ ELISpot. (b) 5 μg BNT162b2 또는 완충액(대조군)으로 면역화된 마우스의 비장 세포(그룹당 n=8)에 의한 CD8+ T 세포 특이적 사이토카인 방출, 유세포 분석법으로 측정. S-펩타이드 특이적 반응이 배경에 대해 보정된다(펩타이드 없음). (c) 1μg BNT162b2로 마우스를 면역화 후 28일에 얻은 비장세포에 의한 사이토카인 생산(그룹당 n=8, IL-4, IL-5 및 IL-13의 경우 n=7, 하나의 특이값(outlier)은 라우트 테스트를 통해 제거됨[Q=1 %] S 펩타이드 자극 샘플의 경우), 비드-기반 멀티플렉스 분석으로 결정.

도 61: 0 μg BNT162b2로 백신접종된 5명의 대상체에 대한 IFNγ ELISpot 데이터

10^6개 세포당 백신접종 전(Pre) 및 29일(Post - 부스트 후 7일) 복제물로부터 백그라운드-감산된 스폿 수. 검정된 생체외 IFNγ ELISpot 분석을 사용하여 GCLP 준수 방식으로 T 세포 반응 분석을 수행하였다. 모든 테스트는 이중으로 수행되었으며 음성 및 양성 대조군(배지 단독 및 항-CD3)을 포함하였다. 또한, 사이토메갈로바이러스(CMV), 엡스타인 바 바이러스(EBV) 및 인플루엔자 바이러스 유래의 펩타이드 에피토프를 양성 대조군으로 사용하였다. CD4- 또는 CD8-고갈된 PBMC를 스파이크 당단백질의 N-말단 부분과 C-말단 부분을 커버하는 중복 펩타이드로 사전 코팅된 ELISpot 플레이트(Mabtech)에서 16-20시간 동안 자극시켰다. 생체외 T-세포 반응의 분석을 위해, 결합된 IFNγ를 알칼리 포스파타제-접합된 2차 항체로 가시화하였다.플레이트들을 Robot ELISPOT Reader를 사용하여 스캔하고 ImmunoCapture V6.3 또는 AID ELISPOT 7.0 소프트웨어로 분석하였다. 스폿 수를 각 중복에 대한 평균값으로서 요약하였다. T 세포 수는 S 풀 1 및 S 풀 2로 자극한 후 검출된 스팟 수의 합으로 계산되었다. 펩타이드에 의해 자극된 T 세포 반응을 Moodie et al. (Moodie Z. et al., J Immunol Methods 315, 2006, 121-32; Moodie Z. et al., Cancer Immunol Immunother 59, 2010, 1489-501)에 따른 두 가지 통계 테스트(무료 배포 샘플링)에 기반하여 ELISpot 데이터 분석 도구(EDA)를 사용하여 음성 대조군으로서 배지 단독으로 인큐베이션된 이펙터와 비교하고, 이에 따라 위양성 비율에 대한 통제를 유지하면서 민감도를 제공하다. CMV, EBV 및 인플루엔자 바이러스의 양성 대조군 펩타이드에 대한 제29일 전 및 제29일의 T 세포 반응 사이에는 유의한 변화가 관찰되지 않았다(나타내지 않음).

도 62: CD4+ 및 CD8+ IFNγ ELISpot 데이터의 예

면역화 이전 및 10 μg BNT162b2의 1차 투여 후 29일(2차 투여후 7일)에 대상체로부터 얻은 PBMC를 사용하여 도 61에서와 같이 IFNγ ELISpot을 수행하였다. HLA 클래스 I 및 클래스 II 펩타이드 풀 CEF(거대세포 바이러스[CMV], 엡스타인 바 바이러스[EBV](2차 투여 후 7일) 및 인플루엔자 바이러스, HLA 클래스 I 에피토프 혼합) 및 CEFT(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 톡소이드 HLA 클래스 II 세포 에피토프 믹스)를 CD8+ 및 CD4+ T 세포 반응성을 평가하기 위한 벤치마킹 대조군으로 사용하였다.

도 63: BNT162b2-유도된 및 벤치마크 INFγ ELISpot 응답 비교

제1일과 제22일에 10μg의 BNT162b2로 면역화된 5명의 대상체로부터 얻은 제29일(2차 투여 후 7일)부터의 IFNγ

스폿 수. CEF(CMV, EBV 및 인플루엔자 바이러스 HLA 클래스 I 에피토프 믹스) 및 CEFT(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 톡소이드 HLA 클래스 II 세포 에피토프 믹스)를 CD8+ 및 CD4+ T 세포 반응성을 평가하기 위한 벤치마킹 대조군으로서 사용하였다. 수평선은 중앙값을 나타낸다.

도 64: 면역원의 설계 및 특성화

a, BNT162b1의 구조. RNA의 선형 다이어그램(왼쪽) 및 LNP의 만화(오른쪽). UTR, 비번역 영역; SP, 신호 펩타이드. **b,** 음성으로 염색된 RBD-폴돈 삼량체의 전자현미경에서 얻은 대표적인 2D 클래스 평균. 박스 가장자리: 37nm. **c,** RBD 단량체에 결합된 ACE2 세포외 도메인의 집중 정제 후 3.24Å에서의 ACE2/B^0AT1/RBD-폴돈 삼량체 복합체의 밀도 맵. 서브유닛에 의한 표면 색상 코딩. 밀도로 정제된 리본 모델은 RBD-ACE2 결합 인터페이스를 나타내며, 잠재적으로 극성 상호작용을 매개하는 잔류물이 표지되어 있다.

도 65: 마우스 면역원성

a-c, BALB/c 마우스(그룹당 n=8)를 0.2, 1 또는 5μg의 BNT162b1 또는 완충액으로 근육내(IM) 면역화시켰다. 각 그룹의 기하 평균 ± 95% CI, P-값을 28일을 비면역 혈청(0 μg; n=8) 베이스라인 혈청과 비교하다(Dunnett의 다중 비교 테스트를 사용한 혼합 효과 분석의 다중 비교)(a, c). **a,** 면역화 후 7, 14, 21 및 28일에 얻은 혈청에서 RBD-결합 IgG 반응을 ELISA에 의해 결정. 제0일에, 무작위화된 동물의 사전 스크리닝을 수행하였다(n=4). **b,** 5 μg BNT162b1(n=8)로 면역화 28일 후 혈청으로부터 고정된 마우스 IgG에 대한 His-태그 RBD의 결합 동역학의 대표적인 표면 플라즈몬 공명 센서그램. 실제 결합(녹색) 및 1:1 결합 모델(검은색)에 가장 잘 맞는 데이터. **c,** VSV-SARS-CoV-2 슈도바이러스 50% 혈청 중화 역가($pVNT_{50}$). **d-f**, BNT162b1 또는 완충액(대조군)으로 IM 면역화한 BALB/c 마우스의 비장세포를 전장 S 펩타이드 믹스 또는 음성 대조군((d, 왼쪽) 및 (e, f)에서 펩타이드 없음; (d, 오른쪽))에서 관련 없는 펩타이드)으로 생체외 재자극하였다. P-값은 양측 대응 t-테스트에 의해 결정되었다. **d,** 5 μg BNT162b1(왼쪽)로 마우스(그룹당 n=8)를 면역화한 지 12일 후에 수집된 비장 세포의 IFNγ ELISpot. 1 μg BNT162b1로 면역화한 지 28일 후 분리된 비장 CD4+ T 세포(n=7, Grubbs 테스트에 의해 하나의 이상치 제거됨, α=0.05) 또는 CD8+ T 세포(n=8)의 IFNγ ELISpot(중간 및 오른쪽). **e,** 5μg BNT162b1로 면역화된 마우스의 비장 세포(그룹당 n=8)에 의한 T 세포 특이적 사이토카인 방출, 유세포 분석법으로 측정. S-펩타이드 특이적 반응은 백그라운드에 대해 보정된다(펩타이드 없음). **f,** 0.2μg BNT162b1로 마우스(그룹당 n=8)를 면역화한 지 28일 후에 얻은 비장 세포에 의한 사이토카인 생산, 비드-기반 멀티플렉스 분석으로 결정.

도 66: 붉은털 원숭이에서의 BNT162b1의 면역원성 및 인간 회복기 혈청과의 비교

a, b, 2-4세의 수컷 붉은털 원숭이(그룹당 n=6)를 0일 및 21일에 30μg 또는 100μg의 BNT162b1 또는 완충액으로 IM 면역화하고 면역화전 및 면역화로부터 14, 21, 28, 35 및 42일후에 혈청을 얻었다. 인간 회복기 혈청(HCS)은 PCR-확인 진단 후 최소 14일 후 및 급성 COVID-19 증상이 해결된 시점(n=38)에 SARS-CoV-2 감염 환자로부터 채취하였다. 막대 위의 값은 기하학적 수단을 제공하다. **a,** 재조합 SARS-CoV-2 RBD에 결합하는 IgG의 기하 평균 농도(GMC). 점선은 위약 그룹(1.72 U/mL)에 대한 모든 시점에서 혈청의 기하 평균을 나타낸다. 모든 시점에 대한 그룹 IgG 역가는 Dunnett의 다중 비교 보정과 함께 일원 분산 분석을 사용하여 HCS 샘플에 대한 통계적 유의성에 대해 분석되었으며, 통계적 유의성은 30μg 용량 수준 그룹에서 확인되었다(28일, $p<0.0001$; 35일, $p=0.0016$), 100μg 용량 수준 그룹(28일, 35일 및 42일, 모두 $p<0.0001$). b, SARS-CoV-2 50% 중화 역가(VNT_{50}). 점선은 위약 그룹(10.31 U/mL)에 대한 모든 시점에서 혈청의 기하 평균을 나타낸다. 모든 시점에 대한 그룹 VNT_{50}은 Dunnett의 다중 비교 보정과 함께 일원 분산 분석을 사용하여 HCS 샘플에 대한 통계적 유의성에 대해 분석되었으며, 통계적 유의성은 30μg 용량 수준 그룹(Day 28, $p<0.0001$) 및 100μg 용량 수준 그룹(28일 및 35일, 모두 $p<0.0001$; 42일, $p=0.007$)에서 확인되었다.

도 67: SARS-CoV-2 챌린지 후 면역화되지 않은 붉은털 원숭이와 면역화된 붉은털 원숭이의 바이러스 RNA

붉은털 원숭이(그룹당 n=6)를 도 66에 설명된 대로 100μg BNT162b1 또는 완충액(대조군)으로 0일과 21일에 면역화하였다. 2차 면역화로부터 41일에서 48일 후 동물을 IN 경로와 IT 경로로 균등하게 나누어 1×10^6 SARS-CoV-2의 총 pfu로 챌린지하였다. 3마리의 면역화되지 않은 연령 일치 수컷 붉은털 원숭이는 세포 배양 배지(Sentinel)로 챌린지되었다. 바이러스 RNA 수준은 RT-qPCR에 의해 검출되었다. 데이터 포인트 위의 비율은 그룹당 모든 동물 내 바이러스 RNA 양성 동물의 수이다. **a,** 챌린지 전과 챌린지 후 3일 및 6일에 얻은 기관지폐포 세척액(BAL)의 바이러스 RNA. 6일째, 대조군과 BNT162b1-면역화된 동물 사이의 바이러스 양은 통계적으로 유의하였다($p=0.0131$). **b,** 챌린지 전 및 챌린지 후 1, 3 및 6일에 얻은 비강 면봉의 바이러스 RNA. 3일째, 대조군과

BNT162b1-면역화된 동물 사이의 바이러스 양은 통계적으로 유의하였다(p=0.0229). 점선은 검출 하한(LLOD)을 나타낸다. 음성 표본은 LLOD의 ½로 설정되었다. P-값은 이항 반응(챌린지 후 검출할 수 없는 바이러스 부하를 성공으로, 챌린지 후 측정 가능한 바이러스 부하를 실패로)에 대한 범주 분석으로 결정하였다.

도 68: NT162b1 및 b2 V8 면역화는 SARS-CoV-2로 챌린지 후 붉은털 원숭이에서 바이러스 RNA를 감소시킨다; b2는 코의 초기 클리어런스를 보여준다.

도 69: 전염병 공급 제품 포장 개요의 예시

도 70: 백신접종 시점에서 예시적인 백신 보관 및 취급

도 71: 예시적인 다회 용량 준비

도 72: 기하 평균 역가 및 95% CI: SARS-CoV-2 중화 분석 - NT50 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b1 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 73: 기하 평균 역가 및 95% CI: SARS-CoV-2 중화 분석 - NT50 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b1 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 74: 기하 평균 역가 및 95% CI: SARS-CoV-2 중화 분석 - NT50 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b2 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 75: 기하 평균 역가 및 95% CI: SARS-CoV-2 중화 분석 - NT50 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b2 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 76: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 RBD 결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b1 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 77: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 RBD-결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 65-85세, BNT162b1 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 78: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 S1-결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b1 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 79: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 S1-결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b1 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 80: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 S1-결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b2 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 81: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 S1-결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b2 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 82: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 RBD-결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b2 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 83: 기하 평균 농도 및 95% CI: SARS-CoV-2 RBD-결합 IgG 수준 분석 - 1상, 2회 용량, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b2 - 평가 가능한 면역원성 집단

도 84: 각 투여 후 7일 이내 최대 중증도에 따른 국소 반응을 보고한 대상체 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b1 - 안전성 집단

도 85: 각 투여 후 7일 이내 최대 중증도에 따른 국소 반응을 보고한 대상체 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b1 - 안전성 집단

도 86: 각 투여 후 7일 이내 최대 중증도에 따른 국소 반응을 보고한 대상체 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b2 - 안전성 집단

도 87: 각 투여 후 7일 이내 최대 중증도에 따른 국소 반응을 보고한 대상체 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b2 - 안전성 집단

도 88: 각 투여 후 7일 이내 최대 중증도에 따라 전신 반응을 보고한 대상체 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b1 - 안전성 집단

도 89: 전신 반응을 보고한 대상체, 최대 중증도 기준, 각 투여 후 7일 이내 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b1 - 안전성 집단

도 90. 각 투여 후 7일 이내 최대 중증도에 따라 전신 반응을 보고한 대상체 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 18-55세 - BNT162b2 - 안전성 집단

도 91: 각 투여 후 7일 이내 최대 중증도에 따라 전신 반응을 보고한 대상체 - 1상, 2회 투여, 21일 간격 - 65-85세 - BNT162b2 - 안전성 집단

도 92: 각 투여 후 7일 이내에 국소 반응을 보고한 대상체, 최대 중증도, 연령 그룹 18세 - 55세 - 2상 - 안전성 집단

도 93: 각 투여 후 7일 이내에 국소 반응을 보고한 대상체, 최대 중증도, 연령 그룹 56세 - 85세 - 2상 - 안전성 집단

도 94: 각 투여 후 7일 이내에 최대 중증도에 따라 전신 반응을 보고한 대상체, 연령 그룹 18세 55세 - 2상 - 안전성 집단

도 95: 각 투여 후 7일 이내에 최대 중증도에 따라 전신 반응을 보고한 대상체, 연령 그룹 56세 85세 - 2상 - 안전성 집단

도 96: 국소 반응을 보고한 대상체, 최대 중증도 기준, 각 투여 후 7일 이내, 18세 55세 연령 그룹 - 2/3상에 대해 ~6000명의 대상체 - 안전성 집단

도 97: 국소 반응을 보고한 대상체, 최대 중증도 기준, 각 투여 후 7일 이내, 56세 85세 연령 그룹 - 2/3상에 대해 ~6000명의 대상체 - 안전성 집단

도 98: 각 투여 후 7일 이내에 최대 중증도에 따라 전신 반응을 보고한 대상체, 18-55세 연령 그룹 - 2/3상에 대해 ~6000명의 대상체 - 안전성 집단

도 99: 각 투여 후 7일 이내에 최대 중증도에 따라 전신 반응을 보고한 대상체, 56-85세 연령 그룹 - 2/3상에 대해 ~6000명의 대상체 - 안전성 집단

도 100: 1차 투여 후 첫 번째 COVID-19 발생에 대한 누적 발생률 곡선- 용량 1 이용가능한 모든 효능 집단

도 101: BNT162b2 - 예시적인 기능적 50% SARS-CoV-2 중화 항체 역가(VN_{50}).

젊은 성인(18~55세)과 고령자(56~85세)을 제1일과 제22일에 BNT162b2로 면역화시켰다(그룹당 n=12). 젊은 성인에게서 제1일(베이스라인)과 제8일, 22일(사전 부스트), 제29일, 제43일, 제50일 및 제85일에 혈청을 수득하였다. 고령자에게서 제1일(베이스라인)과 제8일, 22일 및 제29일에 혈청을 얻었다. 인간 COVID-19 회복기 혈청(HSC, n=38)은 진단이 확인된 지 최소 14일 후 및 기증자가 더 이상 증상이 없을 때 수득하였다. 95% 신뢰구간을 갖는 SARS-CoV-2 50% 중화 역가(VN_{50} 역가)를 1, 3, 10, 20 또는 30㎍ BNT162b2로 백신접종을 받은 젊은 성인과 20㎍ BNT162b2로 백신접종을 받은 고령자에 대해 나타낸다. 검출 한계(LOD)보다 작은 값은 0.5*LOD로 표시된다. 화살촉 표시는 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. 점선으로 된 수평선은 LOD를 나타낸다. VN_{50} = 50% SARS-CoV-2 중화 항체 역가; HCS = 인간 COVID-19 회복기 혈청.

도 102: BNT162b1 - 기능적 50% SARS-CoV-2 중화 항체 역가(VN_{50})의 베이스라인 대비 배수 증가 예시.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 39에서와 동일하다(그룹당 n=12). 1, 10, 30, 50 또는 60㎍ BNT162b1로 백신접종을 받은 젊은 참가자(18~55세)에 대해 95% 신뢰 구간을 사용하여 VN_{50} 역가의 베이스라인으로부터의 기하 평균 배수 증가(GMFI)를 나타내었다. 화살촉 표시는 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. 2차 투여는 60㎍ 용량군에서 수행되지 않았다. 점선 수평선은 혈청 전환에 대한 임계값을 나타낸다(배수 증가 ≥4). VN_{50} = 50% SARS-CoV-2 중화 항체 역가.

도 103: BNT162b2 - 기능적 50% SARS-CoV-2 중화 항체 역가(VN_{50})의 베이스라인 대비 배수 증가 예시.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 101에서와 동일하다. 95% 신뢰 구간을 갖는 VN50 역가의 베이스라인으로부터의 기하 평균 배수 증가(GMFI)를 (**A**) 1, 3, 10, 20 또는 30㎍ BNT162b2로 면역화된 젊은 참가자(18 내지 55세) 및 (**B**) 20㎍ BNT162b2로 면역화된 고령자(56~85세). 화살촉 표시는 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2

차 투여(제22일)를 나타낸다. 점선 수평선은 혈청 전환에 대한 임계값을 나타낸다(배수 증가 ≥4). VN50 = 50% SARS-CoV-2 중화 항체 역가.

도 104: NT162b1로 면역화 후 SARS-CoV-2 GMT 혈청전환이 있는 참가자의 예시적인 빈도.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 39에서와 동일하다(그룹당 n=12). 50% SARS CoV 2 중화 항체 역가(VN_{50})에 대한 혈청전환은 1, 10, 30, 50 또는 60㎍ BNT162b1로 백신접종을 받은 젊은 참가자(18~55세)에서 표시된다. 혈청전환은 베이스라인과 비교하여 기능적 항체 반응이 최소 4배 증가한 것으로 정의된다. 화살촉 표시는 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. 2차 투여의 투여는 60㎍ 용량군에서 수행되지 않았다. GMT = 기하 평균 역가.

도 105: BNT162b2로 면역화 후 SARS-CoV-2 GMT 혈청전환이 있는 참가자의 예시적인 빈도.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 101과 동일하다. 50% SARS CoV 2 중화 항체 역가(VN_{50})에 대한 혈청전환은 (**A**) 1, 3, 10, 20 또는 30㎍의 용량의 BNT162b2가 투여된 젊은 참가자(18-55세) 및 (B) 20㎍ BNT162b2의 용량이 투여된한 고령자(56~85세)에서 표시된다. 혈청전환은 베이스라인과 비교하여 기능적 항체 반응이 최소 4배 증가한 것으로 정의된다. 화살촉 표시는 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. GMT = 기하 평균 역가.

도 106: BNT162b1로 면역화 후 S1-결합 항체 농도의 베이스라인으로부터의 예시적인 배수 증가.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 39에서와 동일하다(그룹당 n=12). 1, 10, 30, 50 또는 60㎍ BNT162b1로 백신접종을 받은 젊은 참가자(18~55세)에 대해 95% 신뢰 구간의 S1 결합 항체 농도에서 베이스라인으로부터의 기하 평균 배수 증가(GMFI)가 표시된다. 화살촉은 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. 2차 투여는 60㎍ 용량군에서 수행되지 않았다. 점선 수평선은 혈청 전환에 대한 임계값을 나타낸다(배수 증가 ≥4).

도 107: BNT162b2로 면역화 후 S1-결합 항체 농도의 베이스라인으로부터의 예시적인 배수 증가.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 101에서와 동일하다. 95% 신뢰 구간을 갖는 S1-결합 항체 농도에서 베이스라인으로부터의 기하 평균 배수 증가(GMFI)가 (**A**) 1, 3, 10, 20 또는 30㎍ BNT162b2로 백신접종된 젊은 참가자(18세 내지 55세) 및 (B) 20㎍ BNT162b2로 백신접종을 받은 고령자(56~85세)에서 표시된다. 화살촉은 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. 점선 수평선은 혈청 전환에 대한 임계값을 나타낸다(배수 증가 ≥4).

도 108: BNT162b1로 면역화 후 S1-결합 IgG GMC 혈청전환을 갖는 참가자의 예시적인 빈도.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 39에서와 동일하다(그룹당 n=12). S1 결합 항체 GMC에 대한 혈청전환은 1, 10, 30, 50 또는 60㎍ BNT162b1로 면역화된 젊은 참가자(18~55세)에 대해 표시된다. 혈청전환은 베이스라인과 비교하여 S1-결합 IgG GMC 반응이 적어도 4배 증가한 것으로 정의된다. 화살촉은 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. 2차 투여는 60㎍ 용량군에서 수행되지 않았다. GMC = 기하 평균 농도.

도 109: BNT162b2로 면역화 후 S1-결합 IgG GMC 혈청전환을 갖는 참가자의 예시적인 빈도.

백신접종 일정 및 혈청 샘플링은 도 101과 동일하다. S1-결합 항체 GMC에 대한 혈청전환을 (A) 1, 3, 10, 20 또는 30㎍ BNT162b2로 면역화된 젊은 참가자(18-55세) 및 (B) 20 ㎍ BNT162b2가 투여된 고령 참가자(56~85세)에 대해 나타내었다. 혈청전환은 베이스라인과 비교하여 S1-결합 IgG GMC 반응이 적어도 4배 증가한 것으로 정의된다. 화살촉은 베이스라인(1차 투여 전, 제1일) 및 2차 투여(제22일)를 나타낸다. GMC = 기하 평균 농도

도 110: BNT162b2로 면역화된 젊은 참가자의 S-특이적 $CD4^+$ T 세포에서 생성된 사이토카인 생산의 예시적인 결과.

다양한 용량의 BNT162b2로 치료받은 참가자의 혈액에서 분리한 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 세포 분획을 베이스라인(1차 투여 전) 및 1차 투여 후 29일(±3일)에 수집하여 분석하였다. 참가자에는 1㎍(n=8), 3㎍(n=9), 10㎍(n=10), 20㎍(n=9) 또는 30㎍(n=10) 용량이 투여된 젊은 참가자(18-55세)가 포함되었다. 막대 차트는 95% 신뢰 구간의 산술 평균을 보여준다. 사이토카인 생성은 IFNɣ, IL-2 또는 IL-4에 대해 양성인 모든 CD4+ T 세포의 분율을 합산하고 이 합산치를 100%로 설정하여 각각의 특정 사이토카인 생성 서브세트의 분율을 구하여 계산하였다. 1㎍ 코호트에서 2명, 3㎍ 코호트에서 1명, 10㎍ 코호트에서 1명의 참가자를 이 분석에서 제외하였다

(총 사이토카인 생성 CD4+ T 세포의 빈도 < 0.03%). IFN = 인터페론; IL = 인터루킨; 젊은 참가자 = 18세에서 55세 사이의 참가자; S 단백질 = SARS-CoV-2 스파이크 단백질.

도 111: BNT162b2로 면역화된 고령 참가자의 S-특이적 CD4+ T 세포에서 생성된 사이토카인 생산의 예시적인 결과.

다양한 용량의 BNT162b2로 치료받은 참가자의 혈액에서 분리한 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 세포 분획을 베이스라인(1차 투여 전) 및 1차 투여 후 29일(±3일)에 수집하여 분석하였다. 참가자에는 10μg(n=11), 20μg(n=8) 또는 30μg(n=9)의 용량이 투여된 고령 참가자(56-85세)가 포함되었다. 막대 차트는 95% CI의 산술 평균을 보여준다. 사이토카인 생성은 IFNɣ, IL-2 또는 IL-4에 대해 양성인 모든 CD4+ T 세포의 분율을 합산하고 이 합계를 100%로 설정하여 각각의 특정 사이토카인 생성 서브세트의 분율을 구하여 계산하였다. 10μg 코호트에서 6명의 참가자와 20μg 코호트에서 1명의 참가자가 이 분석에서 제외되었다(총 사이토카인 생성 CD4+ T 세포의 빈도 <0.03%). IFN = 인터페론; IL = 인터루킨; 고령 참가자 = 56세에서 85세 사이의 참가자; S 단백질 = SARS-CoV-2 스파이크 단백질.

도 112: BNT162b2-유도된 T-세포 반응의 발생률 및 크기.

제1일(프라임 전) 및 제29일(부스팅 7일 후)에 얻은 PBMC(용량 코호트 1, 10 및 20 μg, n=9 각각; 30 μg, n=10)를 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 이펙터에 대해 농축하고 직접적인 생체외 IFNɣ ELISpot 평가를 위해, SARS-CoV-2 S의 야생형 서열(N-말단 풀 S 풀 1 및 RBD, C-말단 S 풀 2)의 서로 다른 부분을 나타내는 3개의 중복 펩타이드 풀로 밤새 개별적으로 자극하였다. 일반적인 병원체 T 세포 에피토프 풀 CEF(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스의 면역우세 HLA 클래스 I 에피토프) 및 CEFT(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스, 파상풍 톡소이드의 면역우세 HLA 클래스 II 에피토프)를 대조군으로 사용하였다. 세포 배양 배지는 음성 대조군으로 사용되었다. 각 점은 배지 단독 대조군(a, c)을 뺀 후 한 연구 참가자에 있어서 중복 웰의 정규화된 평균 스팟 수를 나타낸다. **a,** 각 용량 코호트에 대한 항원 특이적 CD4+ 및 CD8+ T 세포 반응. 용량 코호트당 테스트된 참가자의 총 수에 대해 제29일에 검출 가능한 T 세포 반응이 있는 참가자의 수가 제공된다. 20μg 용량 코호트에서 두 참가자의 스팟 카운트 데이터는 정규화할 수 없었고, 플롯되지 않는다. **b,** 30μg 용량 코호트 참가자에 대한 CD4+ 및 CD8+ ELISpot의 예. **c,** S 펩타이드 풀과 그의 베이스라인 CEFT 및 CEF 특이적 T 세포 반응을 인식하는 모든 참가자의 S 특이적 T 세포 반응. 가로 막대는 중앙값을 나타낸다.

도 113: BNT162b2-유도된 S-특이 $CD8^+$ 및 $CD4^+$ T 세포

제1일(프라임 전) 및 제29일(부스팅 후 7일)에 얻은 PBMC에서 유래한 면역화된 참가자의 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 이펙터-농축 분획(1, 10 및 20 μg 용량 코호트, n=9 각각; 30 μg 용량 코호트, n=10)을, 직접적인 생체외 IFNɣ ELISpot(a-c)에서 평가하기 위해 야생형 SARS-CoV-2 S(S 풀 1 및 S 풀 2)를 포함하는 2개의 중복 펩타이드 풀로 밤새 자극시켰다. 각 점은 배지 단독 대조군을 뺀 후 한 연구 참여자에 있어서 중복 웰의 정규화된 평균 스팟 수를 나타낸다. 참가자당 S 풀 1 및 S 풀 2에 대한 T-세포 반응을 결합하였다. 20μg 용량 코호트에서 두 참가자의 스팟 카운트 데이터는 정규화할 수 없었으며 플롯되지 않는다. 제29일(부스팅 후 7일)에 백신접종 참가자의 PBMC(용량 코호트 1μg, n=7; 10 및 30μg, n=10; 20μg, n=9)를 위에서 설명한 대로 자극하고 유동 세포 계측법으로 분석하였다. (**d,e**). **a,** 각 용량 코호트에 대한 S-특이적 CD4+ 및 CD8+ T-세포 반응. 용량 코호트당 테스트된 참가자의 총 수에 대해 제29일에 검출가능한 T-세포 반응이 있는 참가자의 수가 제공된다. **b,** 평가 가능한 베이스라인 데이터(CD4+의 경우 n=34 및 CD8+ T 세포 반응의 경우 n=37)가 있는 참가자의 백신 유도 반응을 S의 다른 부분에 매핑하다. De novo 유도 또는 증폭 반응은 BNT162b2 유도 반응으로 분류된다; 무반응 또는 백신접종에 의해 증폭되지 않은 기존 반응은 무백신 반응(없음)으로 분류된다. **c,** S 풀 2에 대한 기존 반응이 있거나 없는 개인의 S 풀 1에 대한 반응 강도. 이 용량 코호트에는 S 풀 2에 대한 베이스라인 반응이 없었기 때문에 1μg 용량 코호트의 데이터는 제외되었다. 가로 막대는 각 그룹의 중앙값을 나타낸다. **d,** 30μg BNT162b2로 백신접종된 참가자 프라임/부스트에서의 사이토카인 생성 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 슈도컬러 유세포분석 플롯의 예. **e,** 백신-유도된 S-특이적 $IFN\gamma^+$ $CD4^+$ T 세포 대 $IL4^+$ $CD4^+$ T 세포의 빈도. ICS 자극은 S 풀 1과 S 풀 2의 펩타이드 혼합물을 사용하여 수행되었다. 각 데이터 포인트는 한 연구 참가자를 나타낸다(1μg 용량 코호트, n=8; 20μg 용량 코호트, n=8; 10 및 30μg, n= 각 10개). 20 μg 용량 코호트에서 S 풀 2에 대한 기존의 강력한 CD4+ T 세포 반응이 있는 한 참가자는 제외되었다. **f, 도 116**에서 분석된 3명의 참가자에 대한 pMHC 클래스 I 멀티머 염색($CD8^+$의 % 멀티머$^+$), ICS 및 ELISpot($CD8^+$의 % $IFN\gamma^+$)에 의해 결정된 항원-특이적 $CD8^+$ T 세포 빈도. S 풀 1 및 S 풀에 대한 신호 2개가 합쳐졌다.

도 114: 항체 및 T-세포 반응의 상관관계.

제29일부터의 모든 프라임/부스트 백신접종된 참가자(용량 코호트 1, 10, 20 및 30㎍)에 대한 데이터가 표시되며, T 세포 반응이 감지되지 않는 참가자(열린 원; b,c)에 대한 데이터 포인트는 상관 분석에서 제외된다. **a,** S-특이 CD4+ T-세포 반응과 S1-특이 IgG 반응의 상관관계. **b,** S-특이적 CD4+와 CD8+ T-세포 반응의 상관관계. **c,** S-특이 CD8+ T-세포 반응과 S1-특이 IgG 반응의 상관관계.

도 115: BNT162b2-유도된 T 세포의 사이토카인 분극화.

제1일(프라임 전) 및 제29일(부스팅 후 7일)에 얻은 PBMC(용량 코호트 1㎍, n=8; 10 및 30㎍, 각각 n=10; 20㎍, n=9) 및 COVID-19에서 회복된 기증자(HCS, n=18; **c,d**)를 SARS-CoV-2 S의 야생형 서열의 서로 다른 부분을 나타내는 3가지 중첩된 펩타이드 풀(N-말단 풀 S 풀 1 [aa 1 -643] 및 RBD [aa 327-528에 융합된 aa1-16], 및 C-말단 S 풀 2 [aa 633-1273])로 밤새 자극하고, 유세포 분석기로 분석하였다. **a,** S 풀 1에 대한 반응으로 30㎍ 용량 코호트 참가자로부터의 사이토카인 생성 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 슈도컬러 유세포 분석 플롯의 예시. **b,** S 풀 1 및 S 풀 2에 대한 반응으로 총 사이토카인 생산 S-특이 CD4+ T 세포의 일부로서 표시된 사이토카인을 생산하는 S-특이 CD4+ T 세포. CD4 비반응자(<0.03% 총 사이토카인을 생산 T 세포 : 1 ㎍, n=2 [S 풀 1] 및 n=1 [S 풀 2]; 10 ㎍, n=1)는 제외하였다. 95% 신뢰 구간의 산술 평균. **c,** S-특이적 CD4+(S 풀 1, S 풀 2 및 RBD) 및 **d,** CD8+ T 세포(S 풀 1, S 풀 2 및 RBD)는 동일한 서브세트의 총 순환 T 세포의 일부로서 표시된 사이토카인을 생성하다. 데이터 포인트 위의 값은 용량 코호트당 평균 분획을 나타낸다. 참가자 PBMC는 단일 인스턴스(**b-d**)로 테스트되었다.

도 116: PBMCs 단일 에피토프 수준에서 BNT162b2-유도된 T 세포의 특성화.

3명의 백신접종 참가자(용량 코호트 10㎍, n=1; 30㎍, n=2)의 제1일(프라임 전) 및 제29일(부스팅 후 7일)에 얻은 PBMC를 개별 pMHC 클래스 I 멀티머 칵테일로 염색하고 유세포 계측법에 의해 T 세포 에피토프 특이성(**a**) 및 표현형(**b**; 참가자 3의 예; YLQPRTFLL)을 분석하였다. 도트 플롯 위의 펩타이드 서열은 pMHC 클래스 I 멀티머 에피토프 특이성을 나타내고, 도트 플롯 위의 숫자는 S 내의 에피토프에 해당하는 아미노산을 나타낸다. **c,** S 내의 확인된 MHC 클래스 I-제한 에피토프의 국소화.

도 117: 재조합 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 S1 도메인에 대한 항체 반응을 검출하기 위한 예시적인 코호트 혈청의 ELISA 스크리닝 분석.

유도된 항체 반응을 분석하기 위해, BNT162c1로 2회 면역화(제1일 및 제8일에 프라임/부스트)한 후 10일째, 또는 BNT162a1, BNT162b1, 또는 BNT162b2로 3회 투여(제1일/제8일/제15일에 프라임/부스트)한 후 17일째 수집된 혈청 샘플을 이용하여 ELISA를 수행하였다. 혈청 샘플을 S1 단백질에 대해 테스트하였다. n=20 마우스/그룹의 그룹 평균 ΔOD 값은 1:100에서 1:24,300 범위의 혈청 희석에 걸쳐 도트로 표시하였다.

도 118: 재조합 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 RBD 도메인에 대한 항체 반응을 검출하기 위한 예시적인 코호트 혈청의 ELISA 스크리닝 분석.

유도된 항체 반응을 분석하기 위해, BNT162c1로 2회 면역화(제1일 및 제8일에 프라임/부스트)한 후 10일째, 또는 BNT162a1, BNT162b1, 또는 BNT162b2로 3회 투여(제1일/제8일/제15일에 프라임/부스트)한 후 17일째 수집된 혈청 샘플을 이용하여 ELISA를 수행하였다. 혈청 샘플을 RBD 도메인에 대해 테스트하였다. n=20 마우스/그룹의 그룹 평균 ΔOD 값은 1:100에서 1:24,300 범위의 혈청 희석에 걸쳐 도트로 표시하였다.

도 119: pVN_{50} 역가로서 플로팅된 예시적인 코호트 혈청의 슈도바이러스 중화 활성.

동물들을 1차 면역화한 후 10일(BNT162c1, saRNA) 또는 17일(다른 모든 코호트)에 혈청 샘플을 수집하고 바이러스 중화 항체의 역가를 슈도바이러스 기반 중화 시험(pVNT)으로 결정하였다. 50% 슈도바이러스 중화(pVN_{50})를 초래하는 개별 VNT 역가를 도트로 나타내었다; 그룹 평균 값은 수평 막대(±SEM, 평균의 표준 오차)로 표시하였다.

도 120: 참가자의 RBD 및 S1에 대한 바이러스 중화 항체 및 특이적 결합 항체 반응.

RBD=수용체 결합 도메인. GMT=기하 평균 역가. 젊은 성인 그룹에서는 접종 전(1일)과 1차 프라임 백신접종 후 8, 22, 29, 43일째에 혈청 샘플을 채취하고 고령자 그룹에서는 접종 전(1일)과 1차 프라임 백신접종 후 22일, 29일, 43일째에 혈청 샘플을 채취하였다. 인간 COVID-19 회복기 혈청 패널(n=24)은 COVID-19 환자에서 PCR 확인 진단 후 최소 14일 후에 획득하였다. (A) SARS-CoV-2 중화 항체의 GMT. (B) ELISA에 의해 측정된 RBD에 대한

결합 항체의 GMT. (C) S1에 대한 ELISA 항체의 GMT. 각 점은 혈청 샘플을 나타내고 각 세로 막대는 95% CI의 기하 평균을 나타낸다.

도 121: IFN-γ ELISpot에 의해 측정된 백신접종 전후 참가자의 T-세포 반응.

IFN=인터페론. PBMC = 말초 혈액 단핵 세포. S1 펩타이드 풀은 RBD를 포함하여 SARS-CoV-2 스파이크의 N-말단 커버한다. S2 펩타이드 풀은 RBD를 포함하지 않고 SARS-CoV-2 스파이크의 C-말단을 커버한다. CEF 펩타이드 풀은 인간 사이토메갈로바이러스, 엡스타인-바 바이러스 및 인플루엔자 바이러스로부터의 32개의 MHC 클래스 I 제한 바이러스 펩타이드로 구성된다. 패널 A는 18-55세의 젊은 참가자에서 1일, 29일 및 43일에 IFN-γ를 분비하는 특이적인 T 세포의 수를 보여준다. 패널 B는 65-85세의 고령자 참가자에서 1일, 29일 및 43일에 IFN-γ를 분비하는 특이적인 T 세포의 수를 보여준다.

도 122: *N*=8 우한 또는 계통 B.1.1.7 스파이크 단백질을 산생하는 VSV-SARS-CoV-2-S 슈도바이러스에 대한 BNT162b2 백신 수용자로부터의 16개 혈청의 50% 슈도바이러스 중화 역가. 43일(투약 2 후 21일)에 채취한 젊은 성인(18~55세; 삼각형으로 표시) 및 고령자(56~85세; 원으로 표시)의 N=8 대표 혈청을 각각 테스트하였다.

도 123: SARS-CoV-2 S 단백질을 포함하는 VSV 슈도바이러스 생산의 개략도. (1) SARS-CoV-2-S 발현 플라스미드의 HEK293/T17 세포로의 형질감염. (2) 게놈(VSV-G)에 VSV-G가 없고($VSV^{\Delta}G$) 리포터 유전자를 인코딩하는 VSV-G 보완 입력 바이러스로 SARS-CoV-2 S 발현 세포를 감염시킴. (3) 항-VSV-G 항체를 추가하여 잔류 VSV-G 보완 입력 바이러스를 중화하면 살아 있는 SARS-CoV-2의 대용물로서 SARS-CoV-2 S 슈도타입 $VSV^{\Delta}G$가 생성된다.

도 124: GFP 감염 세포를 판독값으로 사용하여 Vero 76 세포에서 SARS-CoV-2 우한 참조 균주 및 계통 B.1.1.7 스파이크 슈도형 VSV의 적정.

도 125: BNT162b2 백신접종 및 혈청 샘플링의 계획.

도 126: SARS-CoV-2 계통 B.1.1.7 및 우한 참조 균주 스파이크 슈도형 VSV 사이의 $pVNT_{50}$ 비율 플롯. 삼각형은 젊은 성인(18~55세)의 혈청을 나타내고 원은 고령자(56~85세)의 혈청을 나타낸다. 혈청은 43일(2차 투여 후 21일)에 채취되었다.

Fig. 127: 우한 Hu-1 참조, 계통 B.1.1.298 또는 계통 B.1.351 스파이크를 산생하는 VSV-SARS-CoV-2-S 슈도바이러스에 대한 BNT162b2 백신 수용자로부터의 12개 혈청의 50% 유사바이러스 중화 역가(pVNT50) 단백질. 제29일 또는 제43일(2차 투여 후 7일 또는 21일)에 30㎍ BNT162b2로 면역화된 젊은 성인의 N=12 혈청을 테스트하였다. 기하 평균 역가가 표시된다. Wilcoxon Matched-Pairs Signed Rank Test에 의해 우한 Hu-1 참조 슈도바이러스의 중화와 계통 B.1.1.298 또는 계통 B.1.351 슈도바이러스 사이의 차이의 통계적 유의성을 계산하였다. 양측 p-값을 나타내었다. ns, 유의하지 않음;***, P<0.001; LLOQ, 정량화 하한.

도 128: N501 및 Y501 SARS-CoV-2에 대한 BNT162b2 백신접종자의 20개 혈청의 50% 플라크 감소 중화 역가. 백신의 제2 용량 투여로부터 2주 후 7개의 혈청(삼각형으로 표시)을 채취하였다; 13개의 혈청(원으로 표시됨)은 제2 용량 투여로부터 4주 후에 채취하였다.

도 129: N501Y 대체 다이어그램. L - 리더 시퀀스; ORF - 오픈 리딩 프레임; RBD - 수용체 결합 도메인; S - 스파이크 당단백질; S1 - S의 N-말단 푸린 절단 단편; S2 - S의 C-말단 푸린 절단 단편; E - 외피 단백질; M - 막 단백질; N - 핵단백질; UTR - 비번역 영역.

도 130: Vero E6 세포에서 N501 및 Y501 SARS-CoV-2의 플라크 형태.

도 131: BNT162 백신접종 및 혈청 샘플링 계획.

도 132: Y501과 N501 바이러스 간의 $PRNT_{50}$ 비율 플롯. 삼각형은 제2 용량 투약 후 2주 후에 채취한 혈청을 나타낸다; 원은 제2 용량 투여 후 4주에 채취한 혈청을 나타낸다.

도 133: 조작된 돌연변이. 뉴클레오타이드 및 아미노산 위치가 표시된다. 결실은 점선으로 표시된다. 돌연변이 뉴클레오타이드는 빨간색이다. L, 리더 서열; ORF, 오픈 리딩 프레임; RBD, 수용체 결합 도메인; S, 스파이크 당단백질; S1, S의 N-말단 푸린 절단 단편; S2, S의 C-말단 푸린 절단 단편; E, 외피 단백질; M, 막 단백질; N, 핵단백질; UTR, 비번역 영역.

도 134: Vero E6 세포에서 WT(USA-WA1/2020), 돌연변이 N501Y, Δ69/70+N501Y+D614G 및 E484K+N501Y+D614G

SARS-CoV-2s의 플라크 형태.

도 135: BNT162 백신접종 및 혈청 샘플링 계획.

도 136: 야생형(WT) 및 돌연변이 SARS-CoV-2에 대한 20개의 BNT162b2-백신접종된 인간 혈청의 $PRNT_{50}$. (a) WT(USA-WA1/2020) 및 돌연변이 N501Y. **(b)** WT 및 Δ69/70+N501Y+D614G. **(c)** WT 및 E484K+N501Y+D614G. 제2 용량으로 백신접종 후 각 2주 및 4주 후에 후에 각각 7개(삼각형)와 13개(원)의 혈청을 채취하였다. WT 및 돌연변이 바이러스에 대해 서로 다른 $PRNT_{50}$을 가진 혈청을 선으로 연결하였다. **(a)**의 결과는 하나의 실험에서 나온 것이다; **(b)**와 **(c)**의 결과는 다른 실험 세트에서 나온 것이다. 각 데이터 포인트는 중복 분석 결과의 평균값이다.

도 137: 돌연변이 바이러스에 대한 중화 GMT 대 WT 바이러스에 대한 GMT의 비율. 삼각형은 제2 용량으로 백신접종한지 2주 후 채취한 혈청을 나타낸다. 원은 제2 용량으로 백신접종한지 4주에 채취한 혈청을 나타낸다.

도 138: 조작된 스파이크 대체 및 결실 다이어그램. 임상 분리주 USA-WA1/2020의 게놈 및 서열을 본 연구에서 야생형 바이러스로서 사용하였다. 영국 B.1.1.7, 브라질 P.1 및 남아공 B.1.351 계통의 돌연변이가 표시된다. 결실은 점선으로 표시된다. 돌연변이된 뉴클레오타이드는 빨간색이다. 뉴클레오타이드 및 아미노산 위치를 표시하였다. L - 리더 시퀀스; ORF - 오픈 리딩 프레임; RBD - 수용체 결합 도메인; S - 스파이크 당단백질; S1 - S의 N-말단 푸린 절단 단편; S2 - S의 C-말단 푸린 절단 단편; E - 외피 단백질; M - 막 단백질; N - 핵단백질; UTR - 비번역 영역.

도 139: USA-WA1/2020 및 돌연변이 SARS-CoV-2의 플라크 형태. 플라크 분석은 6-웰 플레이트의 Vero E6 세포에서 수행되었다.

도 140: BNT162 면역화 및 혈청 수집 개략도.

도 141: BNT162b2 백신의 2차 접종 후 SARS-CoV-2 변이체 균주의 혈청 중화. BNT162b2 백신의 2차 접종 후 2주(원) 또는 4주(삼각형)에 15명의 시험 참가자로부터 얻은 20개의 샘플을 사용하여 50% 플라크 감소 중화 시험($PRNT_{50}$) 결과를 나타내었다. 돌연변이 바이러스는 B.1.1.7, P.1. 또는 B.1.351 계통의 전체 돌연변이 세트 또는 B.1.351 계통의 S 유전자 돌연변이 서브세트(B.1.351-Δ242-244+D614G 및 B.1.351-RBD-D614G)를 USA-WA1/2020 내로 조적함으로써 수득하였다. 각 데이터 포인트는 표 31에 자세히 설명된 바와 같이 반복 실험의 데이터를 포함하여 표시된 바이러스에 대한 혈청 샘플로 얻은 기하 평균 $PRNT_{50}$을 나타낸다. USA-WA1/2020에 대한 데이터는 3 가지 실험으로부터 얻었다; B.1.1.7-스파이크, B.1.351-Δ242-244+D614G 및 B.1.351-RBD-D614G 바이러스에 대해 각각 하나의 실험에서; 그리고 P.1-스파이크 및 B.1.351-스파이크 바이러스에 대해 각각 두 번의 실험에서. 각각의 실험에서, 중화 역가는 중복 검정으로 결정되었고 기하 평균이 취해졌다. LOD: 검출 하한.

도 142: BNT162b2-유도된 T 세포 반응의 지속성

제1일(프리프라임), 제29일, 제85일 및 제184일(각각 부스트 후 7일, 9주 및 23주)에 얻은 PBMC를 생체 외 IFN γ ELISpot에서 분석하였다(자세한 내용은 GA-RB-022-01A 참조). 일반적인 병원체 T 세포 에피토프 풀 CEF(CMV, EBV 및 인플루엔자 바이러스 HLA 클래스 I 에피토프) 및 CEFT(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 독소 HLA 클래스 II 에피토프)를 일반적인 T 세포 반응성을 평가하는데 사용하고, 세포 배양 배지는 음성 대조군으로 사용되었다. 각 도트는 한 연구 대상에 대한 전체 길이 wt S 단백질에 해당하는 두 개의 펩타이드 풀로 자극된 복제 웰에서 배지 전용 대조군을 뺀 후 정규화된 평균 스폿 수의 합을 나타낸다. 백신접종 후 데이터 포인트 위의 비율은 용량 코호트 및 시점당 테스트 대상체의 총 수 내에서 검출 가능한 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 반응을 보이는 대상체의 수이다.

도 143: 이중 IHC-ISH 검정에서 modV9 프로브를 사용하여 주입 6시간 후 LN에서 특정 백신 mRNA 신호(적색)가 검출된다. 백신은 대부분 피막하동(LN 9번 및 5번 위치) 및 B 세포 소낭(LN 12번 및 1번 위치)에 국소화된다. 수지상 세포는 CD11c 염색(청록색, 위 이미지)으로 가시화되며 일부만이 백신을 흡수하다. 대부분의 CD169+ 대식세포(낭하 부비동 대식세포, 청록색, 중간 이미지)는 백신에 대해 양성이다. B 세포(CD19+, 청록색, 하단 이미지)는 백신 신호를 나타내는 두 번째 주요 집단이다.

도 144: 이중 IHC-ISH 검정에서 modV9 프로브를 사용하여 주사 6시간 후 비장에서 특정 백신 mRNA 신호(적색)가 검출된다. 대부분의 백신 신호는 백색 펄프에서 검출된다. 수지상 세포를 CD11c 염색(청록색, 위 이미지)으로 가시화하자 일부만이 백신을 흡수하였다. F4/80+ 대식세포(청록색, 중간 이미지)의 작은 부분이 백신을 받아들이다. B 세포(CD19+, 청록색, 하단 이미지)는 백신 신호를 나타내는 주요 집단이다.

도 145: 예시적인 안정성 데이터. 특정 안정성 연구로부터의 예시적인 데이터(예를 들어, 실시예 42 참조)를, S1 스파이크 단백질에 반응성인 항체를 특성화하는 ELISA에 의해 평가된 바와 같이 지시된 농도 및 온도 조건에서 BNT162b2 LNP 제제에 대해 제시하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0289] **서열에 대한 설명**

[0290] 본원에서 참조되는 특정 서열의 목록을 다음 표에 나타내었다.

[0291]

표 1: 서열에 대한 설명

SEQ ID NO:	설명	서열
항원성 S 단백질 서열		
1	S 단백질 (아미노산)	MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEK SNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFV FKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCAL DPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCF TNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNC YFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEIL DITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAG TITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISS VLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQE KNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDI SGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT

[0292]

2	S 단백질 (CDS)	auguuuguguuucuugugcugccuccuuguguccuucucagugugugaauuugacaacaagaacacagcugccaccagcuuauaacaaauucuuuuaccagaggagug uauuauccugauaaagugguuuagaucuucugugcugcacagcacacaggaccuguuucugccauuuuuuagcaaugugacaugguuucaugcaauucaugugucugg aacaaauggaacaaaagauuugauaaaccugugcugccuuuuaaugauggaguguauuuugcuucaacagaaaagucaaauauuauuagaggauggauuuuugga acaacacuggauucuaaaacacagucucugcugauuugugaauaaugcaacaaaugugguguauuaaagugugugaauuucaguuuuguaaugauccuuuucugggagu guauuaucacaaaaauaauaaacuuggauggaaucugaauuuagaguguauuccucugcaaauaauuguacauuugaauaugugucucagccuuuucugauggau cuggaaggaaaacagggcaauuuuaaaaacugagagaauuugugguuuaaaaauauugauggauauuuuaaaauuuauucuaaacacacaccaauuaauuuagga gagaucugccucagggauuuucugcucuggaaccucugguggaucugccaauuggcauuaauauucaagauuucagacacugcuggcucugcacagacuuaucugac accuggagauucuucuucuggauggacagccggagcugcagcuuauauaugugggcuaucugcagccaagaacauuucugcugaaauauaaugaaaauggaacaauuac agaugcugguggauugugcucuggauccucugucugaaacaaaauguacauuaaaaaucuuuuacaguggaaaaggcauuuaucagacaucuaauuuuagagugcagc caacagaauucuauuugagaauuuccaaauauuacaaaucugugucccauuuggagaaguguuuaaugcaacaagauuugcaucuguguaugcauggaauagaaaaaga auuucuaauuguguggcugauuauucugucuguauaauaugugcuucuuuuuccacauuuaaauguuaugguuauggagugucuccaacaaaauuaaaugauuuauguuuu acaaauguguaugcugauucuuuugugaucagaggugaugaagugagacagauugccccggacagacaggaaaaauugcugauuacaauuacaaacugccugaugau uuuacaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaagugggaggaaauuacaauuaucugcagacaguuuuagaaaaucaaaucugaaaccuu uugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggagugggaaggauuuaauuguuauuuuccauuacagagcuauggauuucagcca accaauggugugggauaucagccauauagagugggugcugucuuuugaacugcugcaugcaccugcaacagugugugga ccuaaaaaaucuacaaauuuagugaaa aauaaaugugugaauuuuaauuuuaaugguauuaacaggaacaggagugcugacagaaucuaauaaaaaaauuucugccuuuucagcaguuuggcagagauauugcag auaccacagaugcagugagagauccucagacauuagaaauucuggauauuacaccuuguucuuuuggggugugucugugauuacaccuggaacaaauacaucuaauc agguggcugugcugauccaggaugugaauuguacagaagugccaguggcaauucaugcagaucagcugacaccaacauggagaguguauucuacaggaucuaaugugu uucagacaagagcaggaugucugauuggagcagaacaugugaauaauucuuaugaaugugauauuccaauuggagcaggcauuugugcaucuuaucagacacagacaa auucccaaggagagcaagaucuguggcaucucagucuauuauugcauacaccaugucucugggagcagaaaauucuguggcauauucuaauaauucuauugcuauuc caacaaauuuuaccauuucugugacaacagaaauuuuaccugugucuauagacaaaaacaucuguggauuguaccauguacauuuguggagauucuacagaauguucu aaucugcugcugcaguauggaucuuuuuguacacagcugaauagagcuuuaacaggaauugcugugggaacaggauaaaaauacacaggaaguguuugcucaggugaaa cagauuuacaaaacaccaccaauuaaagauuuuggaggauuuaauuuuagccagauucugccugaucccuucuaaaccuucuaaaagaucuuuuauggaagaucugcu guuuaauaaagugacacuggcagaugcaggauuuauuaaacaguauggagauugccugggugauauugcugcaagagaucugauuugugcucagaaauuuaauggac ugacagugcugccucccucugcugacagaugaaaugauugcucaguacacaucugcuuuacuggcuggaacaauuacaagcggauggacauuuggagcuggagcugcucu gcagauucccuuuugcaaugcagauggcuuacagauuuaauggaauuggagugacacagaauguguuauauugaaaaucagaaacugauugcaaaucaguuuaauucug caauuggcaaaauucaggauucucugucuucuacagcuucugcucugggaaaacugcaggauguggugaaucagaaugcacaggcacugaauacucuggugaaacagcu gucuagcaauuuuggggcaauuucuucugugcugaaugauauucugucuagacuggauaaagguggaagcugaagugcagauugauagacugaucacaggaagacugca gucucugcagacuuauguugacacagcagcugauuagagcugcugaaauuagagcuucugcuaaucuggcugcuacaaaaaugucugaauguugcugcagacuaa
3	S 단백질 RBD (아미노산)(V05)	aagaguggauuuuuguggaaaaggauaucaucugaugucuuuucacagucugcuccacauggaguggugucuuuuuacaugugacauauguccagcacaggaaaagaa uuuuaccacagcaccagcaauuugucaugauggaaaagcacauuuuccaagagaaggaguguuuguguccuaaugaacacauuggcuuuguacacagagaaauuuuu augaaccucagauuauuacaacagauaauacauuuguguacaggaaauugugaugguggcauuggaaauuacagugauagauccacugcagccagaacug gauucuuuuaaagaagaacuggauaaauauuuuuaaaaaucacacaucuccugauguggauuuaggagauauuucuggaauccaaugcaucugugguggaauauuucaga aagaaauugauagacugaaugaaguggccaaaaaucugaaugaaucucugauugaucugcaggaacuuggaaaauaugaacaguacauuaaaauggccuugguacauu uggcuuggauuuauugcaggauuauuaauugcaauugugaugguggacaauuaugguuauguuguuauguaucaucauguuguucuuguuuaaaaggauguuguucuugugga agcuguuguaaaauuuguaugaagaugauucugaaccuguguuaaaaggagugaaauugcauuacaca
4	S 단백질 RBD (CDS) (V05)	auguuuguguuucuugugcugccuccuuguguccuucucagugugugaauuucaaauauuacaaaucuguguccauuuggagaagugguuuaaugcaacaag auuugcaucuguguaugcauggaauagaaaagaaauuucuaauuguguggcugauuauucugucuguauaauaugugcuucuuuuuccacauuuaaaugguuaugga guguccucaacaaaauuaaaugauuuauguuuuacaaauguguaugcugauuccuuuuguaucagaggugaugaagugagacagauugccccggacagacaggaaa aauugcugauuacaauucacaaacugccugaugauuuucaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaagugggaggaaauuacaauuaucug uacagacuguuuagaaaaucaaaucugaaaccuuuugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggagugguggaaggauuuaauug uuauuuuccauuacagagcuauggauuucagccaaccaaugguguggggauaucagccauauagagugggugcugucuuuugaacugcugcaugcaccugcaacagu guguggaccuaaa
5	S 단백질 RBD / 피브리틴(아미노산) (V05)	MFVFLVLLPLVSSQCVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVR QIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKGSPGSGSGSGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGRSLEVLFQGPG

[0293]

[0294]

6	S 단백질 RBD / 피브리틴(CDS) (V05)	auguuuguguuucuugugcugcugccucuugugucuucucagugugguggugagauuuccaaauauuacaaaucuguguccauuuggagaagugguuuaaugcaacaag auuugcaucugugauagcauggaauagaaaagaauuucuaauugugugggcugauauuucugugcugauaauucugugcuguauaaauagugcuucuuuuuccacauuuaaaugguuaugga gugucuccaacaaaauuaaaugauuuaugguuuuacaaauguguaugcugauucuuuugugaucagaggugaugaagugagacagauugccccggagacagacaggaaa aauugcugauuacaauuacaaacugccugaugauuuuacaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaagugggaggaaauuacaauuaucug uacagacuguuuagaaaaucaaaucugaaaccuuuugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggagugguggugcugcuuuugaacugcugcaugcaccugcaacagugugguggaccuaaaaaaucucacaaauuuaguggaa auuucuaauuguguggcugauuauuccugucguauaauaaugugcuucuuuuuccacauuuaaaugguuaugguguucuccaacaaaauuaaaugauuuauguuuu acaaauguguaugcugauucuuuuguguaucagaggugaugaagugagacagauugccccggacagacaggaaaaauugcugauuacaaaucaacugccugaugau uuuacaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaagugggaggaaauuacaauuaucuguacagacuguuuagaaaaucaaaucugaaaccuu uugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggagugguggugcugcuuuugaacugcugcaugcaccugcaacagugugguggaccuaaaaaaucucacaaauuuaguggaa accaauggugugggauaucagccauauagagugggugcugcuguuuugaacugcugcaugcaccugcaacagugugguggaccuaaaaaaucucacaaauuuaguggaa aauaaaaugugugaauuuuaauuuuaaugguauuaacaggaacaggaugugcugacagaauccuaauaaaaaaauuucugccuuuucagcaguuuggcagagauauugcag auaccacagaugcagugagagauccucagacauuagaaauucuggauauuacaccuugguucuuuugggggugugucugugauuacaccuggaacaaauacaucuaauc agguggcugugcuguaucaggaugugaauuguacagaagugccagguggcaauucaugcagaucagcugacaccaacauggagaguguauucuacaggaucuaaugugu uucagacaagagcaggaugucgauuggagcagaacaugugaaauaauucuuaugaauguguauuccaauuggagcaggcauuugugcauccuuauacagacacagacaa auuccccaaggagagcaagaucuguggcaucucagucuauuauugcauacaccaugucucugggagcagaaaauucuguggcauauucuaauaauucuauugcuauuc caacaaauuuuaccauuucugugacaacagaaauuuuaccugugucuauga caaaaacaucuguggauuguaccauguacauuuguggagauucuacagaauguucu aaucugcugcugcaguauggaucuuuuuguacacagcugaauagagcuuuaacaggaauugcuguggagacaggauaaaaauacagaggauguuugcucaggugaaa cagauuuacaaaacaccaccaauuaaagauuuuggaggauuuaauuuuagccagauucugccugauccuucuaaaccuucuaaaagaucuuuuauugaagaucugcu guuuaauaaagugacacuggcagaugcaggauuuauauaaacagauauggagauugccugggugauauugcugcaagagaucugauuugugcucagaaauuuaauggac ugacagugcugccucccucugcugacagaugaaaugauugcucaguacacaucugcuuuacuggcuggaacaauuacaagcggauggacauuuggagcuggagcugcucu gcagauuccuuuugcaaugcagauggcuuacagauuuaaugaauuggagugacacagaaugugauuauugaaaaucagaaacugauugcaaaucagauuuaauucug caauuggcaaaauucaggauucucugucuucuacagcuucugcucugggaaaacugcaggauguggugaaucagaaugcacaggcacugaaauacucuggugaaacagcu gucuagcaauuuuggggcaauuucuucugugcugaaugauauuucugucuagacuggauccucccugaagcugaagugcagauugauagacugaucacaggaagacugca gucucugcagacuuauguugacacagcagcugauuagagcugcugaaauuagagcuucugcuaaucuggcugcuacaaaaaugucugaauguguugcugggacagucaaa

[0295]

		aagaguggauuuuuguggaaaaggauaucaucugauguccuuuuccacagucugcuccacauggaguggugcuuuuuacaugugacauaugugccagcacaggaaaagaa uuuuaccacagcaccagcaauuugucaugauggaaaagcacauuuuccaagagaaggaguuuggugucuaaaggaacacauuggcuuuguggacacagagaaauuuuu augaaccucagauuauuacaacagauaauacauuugugucaggaaauugugauguggugauuggaauugugaauaaauacagugcuaugauccacugcagccagaacug gauucuuuuaaagaagaacuggauaaaauauuuuuaaaaaucacacaucuccugauguggauuuaggagauauuuccuggaaucaaugcaucugugguguaauauucaga aagaaauuguagacugaaugaaguggccaaaaacugaauguaaucucugauuguaccugcaggaacuuggaaaauagaacagucauaauaaaggccuugguacaau uggccuuggauuuauuugcaggauuaauugcaauugugauggugacaauuaauguuaauguuguaugacaucauguuguucuuguuuaaaaggauguuguucuuggaga agcuguugauaaauuugaugaagaugauucugaaccuguguuaaaaggagugaaauugcauuacaca

[0296]

9	S 단백질 PP (CDS) (V09)	auguucguguuccuggugcugcugccucugguguccagccagugugugaaccugaccaccagaacacagcugccuccagccuacaccaacagcuuuaccagaggcguguac uaccccgacaaggguguucagauccagcgugcugcacucuacccaggaccuguuccugccuuucuucagcaacgugaccuggtuuccacgccaaccagugcuccggcaccaaug gcaccaagagauucgacaaccccgugcugccccuucaacgacgggguguacuuugccagcaccgagaaguccaacaucaucagaggcuggaucuucggccaccacacuggacag caagacccagagccugcugaucgugaacaacgccaccaacguggucaucaaagugugcgaguuccaguucugcaacgacccccuuccugggcgucuacuaccacaagaacaac aagagcuggauggaaagcgaguuccggguguacagcagccgccaacaacugcaccuucgaguacgugucccagccuuuccugauggaccuggaaggcaagcagggcaacuuc aagaaccugcgcgaguucguguuuaagaacaucgacggcuacuucaagaucuacagcaagcacacccuaucaccgucgcgggaucgccuacaggcuucuccugcucug gaaccccugguggaucugcccaucggcaucaacaucacccgguuucagacacugcuggcccugcacagaagcuaccugacaccuggcgauagcagcagcggauggacagcug gugccgccgcuuacuauguggggcuaccugcagccuagaaccuucccugcugaaguacaacgagaacggcaccaucaccgacgccguggauugugcucuggauccucugagcg agacaaagugcacccugaagucccuaccguggaaagggcaucuaccagaccagcaacuucgggugcagcccaccgaaucaucgugcgguucccaaauaucaccaacuu gugccccuucggcgagguguucaaugccaccagauucgccucuguguacgccuggaacggaagcggaucagcaauugcguggccgacuacuccgugcuguacaacuccgcc agcuucagcaccuucaagugcuacggcguguccccuaccaagcugaacgaccugugcuucacaaacguguacgccgacagcuucgugauccggggagaugaagaugcggcag auugccccuggacagacaggcaagaucgccgacuacaacuacaagcugcccgacgacuucaccggcugugugauugccuggaacagcaacaaccuggacuccaaagucggcg gcaacuacaauuaccuguaccggcuguucccggaaguccaacugaagcccuucgagcgggacaucuccaccgagaucuacaggccggcagcacccccuuguaacggcgugg aaggcuucaacugcuacuucccacugcaguccuacggcuuucagcccacaaauggcgugggcuaucagcccuacagagugguggugcugagcuucgaacugcugcaugccc cugccacagugugcggccccuaagaaaagcaccaauucucgugaagaacaaaugcgugaacuucaacuucaacggccugaccggcaccggcgugcugacagagagcaacaaga aguuccugccaauccagcaguuuggccgggauaucgccgauaccacagacgccguuagagaucccccagacacuggaaaucccuggacaucaccccuugcagcuucggcggag ugucugugaucaccccuggcaccaacacccagcaaucaggugccagugcuguaccaggacgugaacuguaccgaagugcccguggccauucacgccgaucagcugacaccuac auggcggguguacuccaccggcagcaauguguuucagaccagagccggcugucugaucggagccgagcacgugaacaauagcuacgagugcgacaucccccaucggcgcugg aaucugcgccagcuaccagacacagacaaacagcccucggagagccagaagcguggccagccagagcaucauugccuacacaaugucucugggcgccgagaacagcgugguc uacuccaacaacucuaucgcuaucccccaccaacuucaccaucagcgugaccacagagauccuggcuguguccaugaccagcgugguacaccaugcaucaggcuguacgu gcgauucccaccgagugcuccaaccugcugcugcagcuacggcagcuucugcacccagcugaauagagcccugacagggaucgccguggaacaggacaagaacacccaagaggu guucgcccaagugaagcagaucuacaagacccccuucuaucaaggacuucggcggcuucaauuucagccagauucugcccgauccuagcaagcccagcaagcggagcuucau cgaggaccugcuguucaacaaagugacacuggccgacgccggcuucaucaagcaguauggcgauugucugggcgacauugccgccgcagggacuucgauuugcgcccagaaguu uaacggacugacagugcugccucccucugcugaccgaugagaugaucgcccaguacacaucugcccugcuggccggcacaaucacaagcggcuggacauuuggagcaggcgcc gcucugcagaucccccuuugcuaugcagauggccuaccgguucaacggcaucggagugacccagaaugugcuguacgagaaccagaagcugaucgccaaccaguucaacagc gccaucggcaagauccaggacagccugagcagcacagcaagcgcccugggaaagcugcaggacguggucaaccagaaugccaggcacugaacaccccuggucaagcagcugu ccuccaacuucggcgccaucagcucugugcugaacgauaucccugagcagacuggacccuccugaggccgaggugcagaucgacagacugaucacaggcagacugcagagccu ccagacauacgugacccagcagcugaucagagccgccgagauuagagccucugccaaucuggccgccaccaagauguccugaguguguggcuggggccagagcaagagagugga cuuuugcggcaagggcuaccaccugaugagcuucccucagucugccccucacggcgugguguuucugcacgugacauauggucccgcucaagagaagaauuucaccaccgc

[0297]

[0298]

		uccagccaucugccacgacggcaaagcccacuuuccuagagaaggcguguucgugucccaacggcacccauuggguucgugacacagcggaacuucuacgagccccagaucaucaccaccgacaacaccuucgugucuggcaacugcgacgucgugaucggcauugugaacaauaccguguacgacccucugcgccgagcuggacagcuucaaagaggaacuggacaaguacuuuuaagaaccacacaagccccgacguggaccugggcgauaucagcggaaucaaugccagcgucgugaacauccagaaagagaucgaccggcugaacgaggugccaagaaucugaacgagagccugaucgaccugcaagaacuggggaaguacgagcaguacaucaaguggcccugguacaucuggcugggcuuuaucgccggacugauugccaucgugauggucacaaucaugcuguguugcaugaccagcugcuguagcugccugaagggcuguuguagcuguggcagcugcugcaaguucgacgaggacgauucugagcccgugcugaagggcgugaaacugcacuacaca
Foldon		
10	폴돈(아미노산)	GSGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGRSLEVLFQGPG
11	폴돈(CDS)	ggaucuggguuauauuccugaagcuccaagagauggggcaagcuuacguucguaaagauggcgaauggguauuacuuucuaccuuuuuaggccggucccuggaggugcuguuccagggccccggc
5′-UTR (hAg-Kozak)		
12	5′-UTR	AACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC
3′-UTR (FI element)		
13	3′-UTR	CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACC
A30L70		
14	A30L70	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

[0306] **정의**

[0307] 하기에서, 본 발명의 모든 측면에 적용되는 정의가 제공될 것이다. 다음 용어는 자가 명시되지 않는 한 다음과 같은 의미를 갖는다. 정의되지 않은 모든 용어는 당해 기술분야에서 인정되는 의미를 갖는다.

[0308] 본원에서 사용되는 "감소시키다", "감소시키다", "억제하다" 또는 "손상시키다"와 같은 용어는 전체적인 감소 또는 바람직하게는 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 75% 또는 그 이상의 감소이다. 이들 용어는 완전한 또는 본질적으로 완전한 억제, 즉 0으로 또는 본질적으로 0으로의 감소를 포함한다.

[0309] "증가하다", "강화하다" 또는 "초과하다"와 같은 용어는 바람직하게는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 100%, 적어도 200%, 적어도 500%, 또는 그 이상의 증가 또는 강화에 관련된다.

[0310] 본 개시내용에 따르면, 용어 "펩타이드"는 올리고- 및 폴리펩타이드를 포함하고

[0311] 약 2개 이상, 약 3개 이상, 약 4개 이상, 약 6개 이상, 약 8개 이상, 약 10개 이상, 약 13개 이상, 약 16개 이상, 약 20개 이상 및 최대 약 50개, 약 100개 또는 약 150개의 연속 아미노산이 서로 펩타이드 결합을 통해 연결된 물질을 가리킨다. 용어 "단백질" 또는 "폴리펩타이드"는 큰 펩타이드, 특히 약 150개 이상의 아미노산을 갖는 펩타이드를 지칭하지만, 용어 "펩타이드", "단백질" 및 "폴리펩타이드"는 일반적으로 동의어로 사용된다.

[0312] "치료 단백질"은 대상체에게 치료 유효량으로 제공될 때 대상체의 상태 또는 질병 상태에 대해 긍정적이거나 유리한 효과를 갖는다. 일 구체예에서, 치료용 단백질은 치유 또는 고식적 특성을 갖고 질병 또는 장애의 하나 이상의 증상의 경감, 경감, 경감, 역전, 개시 지연 또는 중증도를 감소시키기 위해 투여될 수 있다. 치료용 단백질은 예방적 특성을 가질 수 있으며 질병의 발병을 지연시키거나 그러한 질병 또는 병리학적 상태의 중증도를 줄이기 위해 사용될 수 있다. 용어 "치료 단백질"은 전체 단백질 또는 펩타이드를 포함하며, 또한 그의 치료 활성 단편을 지칭할 수도 있다. 그것은 또한 단백질의 치료 활성 변이체를 포함할 수 있다. 치료 활성 단백질의 예는 백신접종용 항원 및 사이토카인과 같은 면역자극제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0313] 아미노산 서열(펩타이드 또는 단백질)과 관련하여 "단편"은 아미노산 서열의 일부, 즉 N-말단 및/또는 C-말단에서 단축된 아미노산 서열을 나타내는 서열에 관한 것이다.

[0314] C-말단에서 단축된 단편(N-말단 단편)은 예를 들어 절단된 오픈 리딩 프레임이 번역을 개시하는 역할을 하는 개시 코돈을 포함하는 한, 오픈 리딩 프레임의 3'-말단이 결여된 절단 오픈 리딩 프레임의 번역에 의해 얻을 수 있다.

[0315] N-말단에서 단축된 단편(C-말단 단편)은 예를 들어 절단된 오픈 리딩 프레임이 번역을 개시하는 역할을 하는 개시 코돈을 포함하는 한, 오픈 리딩 프레임의 5'-말단이 결여된 절단 오픈 리딩 프레임의 번역에 의해 얻을 수 있다. 아미노산 서열의 단편은 아미노산 서열로부터 아미노산 잔기의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%를 포함한다. 아미노산 서열의 단편은 바람직하게는 아미노산 서열로부터 적어도 6개, 특히 적어도 8개, 적어도 12개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 50개 또는 적어도 100개의 연속 아미노산을 포함한다.

[0316] 본원에서 "변이체"는 적어도 하나의 아미노산 변형으로 인해 모(parent) 아미노산 서열과 상이한 아미노산 서열을 의미한다. 모 아미노산 서열은 자연 발생 또는 야생형(WT) 아미노산 서열일 수 있거나, 야생형 아미노산 서열의 변형된 버전일 수 있다. 바람직하게는, 변이체 아미노산 서열은 모 아미노산 서열과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 변형, 예를 들어, 비교하여 1 내지 약 20개의 아미노산 변형, 바람직하게는 1 내지 약 10개 또는 1 내지 약 5개의 아미노산 변형을 갖는다. 부모에게.

[0317] 본원에서 "야생형" 또는 "WT" 또는 "천연"은 대립형질 변이를 포함하여 자연에서 발견되는 아미노산 서열을 의미한다. 야생형 아미노산 서열, 펩타이드 또는 단백질에는 의도적으로 변형되지 않은 아미노산 서열이 있다.

[0318] 본 발명의 목적상, 아미노산 서열(펩타이드, 단백질 또는 폴리펩타이드)의 "변이체"는 아미노산 삽입 변이체, 아미노산 부가 변이체, 아미노산 결실 변이체 및/또는 아미노산 치환 변이체를 포함한다. 용어 "변이체"는 모든 돌연변이, 스플라이스 변이체, 번역 후 변형된 변이체, 형태, 이소형, 대립형질 변이체, 종 변이체 및 종 상동체, 특히 자연적으로 발생하는 것들을 포함한다. 용어 "변이체"는 특히 아미노산 서열의 단편을 포함한다.

[0319] 아미노산 삽입 변이체는 특정 아미노산 서열에서 단일 또는 2개 이상의 아미노산 삽입을 포함한다. 삽입을 갖는 아미노산 서열 변이체의 경우, 하나 이상의 아미노산 잔기가 아미노산 서열의 특정 부위에 삽입되지만, 결과물

의 적절한 스크리닝을 통한 무작위 삽입도 가능하다. 아미노산 부가 변이체는 1개, 2개, 3개, 5개, 10개, 20개, 30개, 50개 이상의 아미노산과 같은 하나 이상의 아미노산의 아미노- 및/또는 카르복시-말단 융합을 포함한다. 아미노산 결실 변이체는 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 50개 이상의 아미노산을 제거하는 것과 같이 서열로부터 하나 이상의 아미노산을 제거하는 것을 특징으로 하다. 결실은 단백질의 임의의 위치에 있을 수 있다. 단백질의 N-말단 및/또는 C-말단 말단에서 결실을 포함하는 아미노산 결실 변이체는 또한 N-말단 및/또는 C-말단 절단 변이체로 불린다. 아미노산 치환 변이체는 서열에서 적어도 하나의 잔기가 제거되고 다른 잔기가 그 자리에 삽입되는 것을 특징으로 하다. 상동 단백질 또는 펩타이드 간에 보존되지 않는 아미노산 서열의 위치에 있는 변형 및/또는 아미노산을 유사한 특성을 갖는 다른 것으로 대체하는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 펩타이드 및 단백질 변이체의 아미노산 변화는 보존적 아미노산 변화, 즉 유사하게 하전되거나 하전되지 않은 아미노산의 치환이다. 보존적 아미노산 변화는 측쇄와 관련된 아미노산 계열 중 하나의 치환을 포함하다. 자연적으로 발생하는 아미노산은 일반적으로 산성(아스파르테이트, 글루타메이트), 염기성(라이신, 아르기닌, 히스티딘), 비극성(알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 비하전 극성(글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신) 아미노산의 4가지 계열로 나뉜다. 페닐알라닌, 트립토판 및 티로신은 때때로 함께 방향족 아미노산으로 분류된다. 일 구체예에서, 보존적 아미노산 치환은 하기 그룹 내의 치환을 포함한다:

[0320] 글리신, 알라닌;

[0321] 발린, 이소류신, 류신;

[0322] 아스파르트산, 글루탐산;

[0323] 아스파라긴, 글루타민;

[0324] 세린, 트레오닌;

[0325] 라이신, 아르기닌; 및

[0326] 페닐알라닌, 티로신.

[0327] 좋기로는 주어진 아미노산 서열과 상기 주어진 아미노산 서열의 변이체인 아미노산 서열 사이의 유사성, 바람직하게는 동일성의 정도는 적어도 약 60%, 70%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%일 것이다. 유사성 또는 동일성의 정도는 바람직하게는 참조 아미노산 서열의 전체 길이의 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 약 100%인 아미노산 영역에 대해 주어진다. 예를 들어, 참조 아미노산 서열이 200개의 아미노산으로 구성되는 경우, 유사성 또는 동일성의 정도는 바람직하게는 적어도 약 20, 적어도 약 40, 적어도 약 60, 적어도 약 80, 적어도 약 100, 적어도 약 120, 적어도 약 140, 적어도 약 160, 적어도 약 180, 또는 약 200개 아미노산, 일부 구체예에서 연속 아미노산에 대해 주어진다. 일부 구체예에서, 유사성 또는 동일성의 정도는 참조 아미노산 서열의 전체 길이에 대해 주어진다. 서열 유사성, 바람직하게는 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 바람직하게는 최선의 서열 정렬을 사용하여, 예를 들어 Align을 사용하여 표준 설정, 바람직하게는 EMBOSS::needle, Matrix: Blosum62, Gap Open 10.0, Gap Extend 0.5를 사용하여 당업계에 알려진 도구를 이용하여 수행될 수 있다.

[0328] "서열 유사성"은 동일하거나 보존적 아미노산 치환을 나타내는 아미노산의 백분율을 나타낸다. 두 아미노산 서열 간의 "서열 동일성"은 서열 간에 동일한 아미노산의 백분율을 나타낸다. 2개의 핵산 서열 간의 "서열 동일성"은 서열 간에 동일한 뉴클레오타이드의 백분율을 나타낸다.

[0329] 용어 "% 동일한", "% 동일" 또는 이와 유사한 용어는 특히 비교될 서열 사이의 최적 정렬에서 동일한 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 백분율을 나타내는 것으로 의도된다. 상기 백분율은 순전히 통계적이며, 2개의 서열 사이의 차이는 비교될 서열의 전체 길이에 걸쳐 무작위로 분포될 수 있지만 반드시 그런 것은 아니다. 2개의 서열의 비교는 일반적으로 상응하는 서열의 국소 영역을 확인하기 위해 분절 또는 "비교 창"에 대해 최적 정렬 후 서열을 비교함으로써 수행된다. 비교를 위한 최적의 정렬은 수동으로 또는 Smith 및 Waterman, 1981, Ads App. Math. 2, 482에 의한 국소 상동성 알고리듬의 도움으로, Neddleman 및 Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48, 443에 의한 국소 상동성 알고리듬의 도움으로, Pearson 및 Lipman, 1988, Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 2444에 의한 유사성 조사 알고리듬의 도움으로, 또는 상기 알로리듬들을 이용하는 컴퓨터 프로그램(GAP, BESTFIT, FASTA, BLAST P, BLAST N 및 TFASTA in Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.)의 도움을 받아 결정된다. 일부 구체예에서, 2개 서열의 퍼센트 동일성은 미국

국립 생명공학 정보 센터(NCBI) 웹사이트(예를 들어, blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_ SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq)에서 이용 가능한 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 결정된다. 일부 구체예에서, NCBI 웹사이트에서 BLASTN 알고리즘에 사용되는 알고리즘 매개변수는 다음을 포함한다: (i) 10으로 설정된 예상 임계값; (ii) 28로 설정된 단어 크기; (iii) 0으로 설정된 쿼리 범위의 최대 일치; (iv) 1, -2로 설정된 일치/불일치 점수; (v) 선형으로 설정된 갭 비용; 및 (vi) 사용되는 복잡도가 낮은 영역에 대한 필터. 일부 구체예에서, NCBI 웹사이트에서 BLASTP 알고리즘에 사용되는 알고리즘 매개변수는 다음을 포함한다: (i) 10으로 설정된 예상 임계값; (ii) 3으로 설정된 단어 크기; (iii) 0으로 설정된 쿼리 범위의 최대 일치; (iv) BLOSUM62로 설정된 매트릭스; (v) 존재로 설정된 갭 비용: 11 확장: 1; 및 (vi) 조건부 구성 점수 매트릭스 조정.

[0330] 백분율 동일성은 비교할 서열이 대응하는 동일한 위치의 수를 결정하고 이 수를 비교된 위치의 수(예컨대 참조 서열의 위치 수)로 나누고 이 결과에 100을 곱하여 얻는다.

[0331] 일부 구체예에서, 유사성 또는 동일성의 정도는 참조 서열의 전체 길이의 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 약 100%인 영역에 대해 주어진다. 예를 들어, 참조 핵산 서열이 200개의 뉴클레오타이드로 구성된 경우, 동일성 정도는 적어도 약 100, 적어도 약 120, 적어도 약 140, 적어도 약 160, 적어도 약 180, 또는 약 200개 뉴클레오타이드, 일부 구체예에서 연속 뉴클레오타이드에 대해 주어진다. 일부 구체예에서, 유사성 또는 동일성의 정도는 참조 서열의 전체 길이에 대해 주어진다.

[0332] 상동 아미노산 서열은 본 개시내용에 따라 아미노산 잔기의 적어도 40%, 특히 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 및 좋기로는 적어도 95%, 적어도 98 또는 적어도 99% 동일성을 나타낸다.

[0333] 본원에 기재된 아미노산 서열 변이체는 예를 들어 재조합 DNA 조작에 의해 당업자에 의해 쉽게 제조될 수 있다. 치환, 부가, 삽입 또는 결실을 갖는 펩타이드 또는 단백질을 제조하기 위한 DNA 서열의 조작은 예컨대 Sambrook et al. (1989)에 설명되어 있다. 또한, 본원에 기재된 펩타이드 및 아미노산 변이체는 예를 들어 고상 합성 및 유사한 방법과 같은 공지된 펩타이드 합성 기술의 도움으로 쉽게 제조될 수 있다.

[0334] 일 구체예에서, 아미노산 서열(펩타이드 또는 단백질)의 단편 또는 변이체는 바람직하게는 "기능적 단편" 또는 "기능적 변이체"이다. 아미노산 서열의 "기능적 단편" 또는 "기능적 변이체"라는 용어는 이것이 유래된, 즉 기능적으로 동등한 아미노산 서열의 기능적 특성과 동일하거나 유사한 하나 이상의 기능적 특성을 나타내는 임의의 단편 또는 변이체에 관한 것이다. 항원 또는 항원성 서열과 관련하여, 하나의 특정 기능은 단편 또는 변이체가 유래된 아미노산 서열에 의해 나타나는 하나 이상의 면역원성 활성이다. 본원에서 사용되는 용어 "기능적 단편" 또는 "기능적 변이체"는 특히 모 분자 또는 서열의 아미노산 서열과 비교하여 하나 이상의 아미노산이 변경되고 면역 반응을 비롯한 모 분자 또는 서열의 기능 중 하나 이상을 여전히 수행할 수 있는 아미노산 서열을 포함하는 변이체 분자 또는 서열을 지칭한다. 일 구체예에서, 모 분자 또는 서열의 아미노산 서열에서의 변형은 그 분자 또는 서열의 특성에 유의미한 영향을 미치거나 변경하지 않는다. 다른 구체예에서, 기능적 단편 또는 기능적 변이체의 기능은 감소될 수 있지만 여전히 유의미하게 존재할 수 있으며, 예컨대 기능적 변이체의 면역원성은 모 분자 서열의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%일 수 있다. 그러나, 다른 구체예에서, 기능적 단편 또는 기능적 변이체의 면역원성은 모 분자 또는 서열에 비해 향상될 수 있다.

[0335] 지정된 아미노산 서열(펩타이드, 단백질 또는 폴리펩타이드)로부터 "유래된(derived from)" 아미노산 서열(펩타이드, 단백질 또는 폴리펩타이드)은 첫 번째 아미노산 서열의 기원을 의미하다. 바람직하게는, 특정 아미노산 서열로부터 유도된 아미노산 서열은 그 특정 서열 또는 이의 단편과 동일하거나 본질적으로 동일하거나 상동인 아미노산 서열을 갖는다. 특정 아미노산 서열로부터 유도된 아미노산 서열은 그 특정 서열의 변이체 또는 이의 단편일 수 있다. 예를 들어, 본원에서 사용하기에 적합한 항원은 원하는 활성을 유지하면서, 이들이 유래된 자연발생적인 또는 천연 서열과 서열이 달라지도록 변경될 수 있음을 당업자는 이해할 것이다.

[0336] 본원에서 사용되는 바와 같이, "지침 자료" 또는 "지침서"는 본 발명의 조성물 및 방법의 유용성을 전달하기 위해 사용될 수 있는 간행물, 기록물, 다이어그램 또는 임의의 다른 표현 매체를 포함한다. 본 발명의 키트의 교육 자료는 예를 들어 본 발명의 조성물을 함유하는 용기에 부착되거나 조성물을 함유하는 용기와 함께 수송될 수 있다. 대안적으로, 교육 자료는 수용자가 교육 자료와 구성물을 협력적으로 사용할 의도로 컨테이너와 별도로 배송될 수 있다.

[0337] "단리된(isolated)"은 자연 상태에서 변경되거나 제거된 것을 의미하다. 예를 들어, 살아있는 동물에 자연적으로 존재하는 핵산 또는 펩타이드는 "단리된" 것이 아니며, 자연 상태의 공존하는 물질로부터 부분적으로 또는

완전히 분리된 동일한 핵산 또는 펩타이드는 "단리된" 것이다. 단리된 핵산 또는 단백질은 실질적으로 정제된 형태로 존재할 수 있거나, 예를 들어 숙주 세포와 같은 비천연 환경에 존재할 수 있다.

[0338] 본 발명의 맥락에서 용어 "재조합"은 "유전공학을 통해 만들어진"을 의미한다. 바람직하게는, 본 발명의 맥락에서 재조합 핵산과 같은 "재조합 개체"는 자연적으로 발생하지 않는다.

[0339] 본 명세서에서 사용되는 "자연적으로 발생하는/자연발생적인"이라는 용어는 개체가 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 의미한다. 예를 들어, 유기체(바이러스 포함)에 존재하고 자연의 공급원으로부터 단리될 수 있으며 실험실에서 인간에 의해 의도적으로 변형되지 않은 펩타이드 또는 핵산은 자연발생적이다.

[0340] 본원에서 사용되는 "생리학적 pH"는 약 7.5의 pH를 의미한다.

[0341] "유전적 변형" 또는 간단히 "변형"이라는 용어는 핵산으로 세포를 형질감염시키는 것을 포함한다. "형질감염"이라는 용어는 핵산, 특히 RNA를 세포에 도입하는 것과 관련이 있다. 본 발명의 목적을 위해, 용어 "형질감염"은 또한 핵산을 세포로 도입하는 것 또는 이러한 세포에 의한 핵산의 흡수를 포함하며, 여기서 세포는 대상체, 예를 들어 환자에 존재할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따르면, 본원에 기술된 핵산의 형질감염을 위한 세포는 시험관내 또는 생체내에 존재할 수 있고, 예를 들어, 세포는 환자의 장기, 조직 및/또는 유기체의 일부를 형성할 수 있다. 본 발명에 따르면, 형질감염은 일시적이거나 안정적일 수 있다. 형질감염의 일부 응용 분야에서 형질감염된 유전 물질은 일시적으로만 발현된다면 충분하다. RNA는 인코딩된 단백질을 일시적으로 발현하기 위해 세포에 형질감염될 수 있다. 형질감염 과정에서 도입된 핵산은 일반적으로 핵 게놈에 통합되지 않기 때문에 외부 핵산은 유사분열을 통해 희석되거나 분해된다. 핵산의 에피좀 증폭을 허용하는 세포는 희석률을 크게 감소시킨다. 형질감염된 핵산이 실제로 세포 및 그 딸세포의 게놈에 남아있는 것이 바람직하다면, 안정적인 형질감염이 일어나야 하다. 이러한 안정적인 형질감염은 형질감염을 위해 바이러스 기반 시스템 또는 트랜스포존 기반 시스템을 사용하여 달성할 수 있다. 일반적으로 항원을 인코딩하는 핵산은 일시적으로 세포에 형질감염된다. RNA는 인코딩된 단백질을 일시적으로 발현하기 위해 세포에 형질감염될 수 있다.

[0342] "혈청전환(seroconversion)"이라는 용어는 백신접종 전에 비해 2차 투여 1 개월까지 ≥4배 증가를 포함하다.

[0343] **코로나바이러스**

[0344] 코로나바이러스는 외피가 있는 양성-센스 단일 가닥 RNA((+) ssRNA) 바이러스이다. 이들은 알려진 RNA 바이러스 중에서 가장 큰 게놈(26-32 kb)을 가지고 있으며 계통발생학적으로 4개의 속(α, β, γ 및 δ)으로 나뉘며, 베타코로나바이러스는 다시 4개의 계통(A, B, C 및 D)으로 세분된다. 코로나바이러스는 인간을 포함한 광범위한 조류 및 포유류 종을 감염시킨다. 일부 인간 코로나바이러스는 일반적으로 경미한 호흡기 질환을 유발하지만 영유아, 노인 및 면역력이 약한 사람에게는 중증도가 더 높을 수 있다. 중동호흡기증후군 코로나바이러스(MERS-CoV)와 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스(SARS-CoV)는 각각 베타코로나바이러스 계통 C와 B에 속하며 병원성이 매우 높다. 두 바이러스 모두 지난 15년 이내에 동물 보유숙주로부터 인간 집단으로 출현했으며 높은 치사율로 발병하였다. 비정형 폐렴(코로나바이러스 질병 2019; COVID-19)을 유발하는 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스-2(SARS-CoV-2)의 발생은 2019년 12월 중순 이후 중국에서 격렬해졌으며 국제적 우려 속에 관심 공중보건 비상사태에 직면하게 되었다. SARS-CoV-2(MN908947.3)는 베타코로나바이러스 계통 B에 속하다. 이것은 SARS-CoV와 최소 70%의 서열 유사성을 갖는다.

[0345] 일반적으로 코로나바이러스는 외피(E), 막(M), 뉴클레오캡시드(N) 및 스파이크(S)의 네 가지 구조 단백질을 가지고 있다. E 및 M 단백질은 바이러스 어셈블리에서 중요한 기능을 가지며 N 단백질은 바이러스 RNA 합성에 필요하다. 중요한 당단백질 S는 바이러스 결합 및 표적 세포로의 진입을 담당하다. S 단백질은 생산 세포에서 퓨린 유사 숙주 프로테아제에 의해 두 개의 비공유 결합 서브유닛인 S1 및 S2로 절단되는 단일 사슬 비활성 전구체로 합성된다. S1 서브유닛은 숙주 세포 수용체를 인식하는 수용체 결합 도메인(RBD)을 포함하다. S2 서브유닛은 융합 펩타이드, 2개의 헵타드 반복 및 막관통 도메인을 포함하며, 이들 모두는 대규모 구조적 재배열을 거쳐 바이러스 및 숙주 세포 막의 융합을 매개하는 데 필요하다. S1 및 S2 서브유닛체는 삼량체화하여 커다란 융합전(prefusion) 스파이크를 형성하다.

[0346] SARS-CoV-2의 S 전구체 단백질은 단백질 분해에 의해 절단되어 S1(685aa) 및 S2(588aa) 서브유닛으로 될 수 있다. S1 서브유닛은 숙주 안지오텐신 전환 효소 2(ACE2) 수용체를 통해 민감한 세포로 바이러스 유입을 매개하는 수용체 결합 도메인(RBD)으로 구성된다.

[0347] **항원**

[0348] 본 발명은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA의 사용을 포함한다. 따라서 RNA는 대상체에서 코로나바이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질에 대한 면역 반응을 유도하기 위해 적어도 에피토프 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체를 포함하는 펩타이드 또는 단백질을 인코딩하다. SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편(즉, 항원성 펩타이드 또는 단백질)을 포함하는 아미노산 서열 역시도 본원에서 "백신 항원", "펩타이드 및 단백질 항원", "항원 분자" 또는 간단히 "항원"이라 칭해진다. SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은 또한 본원에서 "항원성 펩타이드 또는 단백질" 또는 "항원성 서열"로 지칭된다.

[0349] SARS-CoV-2 코로나바이러스 전장 스파이크(S) 단백질은 1273개의 아미노산으로 구성된다(SEQ ID NO: 1 참조). 특정 구체예에서, SEQ ID NO: 1에 따른 전장 스파이크(S) 단백질은 원형의(prototypical) 융합전 형태가 안정화되는 방식으로 변형된다. 융합전 형태의 안정화는 전장 스파이크 단백질의 AS 잔기 986 및 987에서 2개의 연속적인 프롤린 치환을 도입함으로써 얻을 수 있다. 구체적으로, 스파이크(S) 단백질 안정화 단백질 변이체는 986번 위치의 아미노산 잔기가 프롤린으로 교체되고 987번 위치의 아미노산 잔기도 프롤린으로 교체되는 방식으로 얻어진다. 일 구체예에서, SARS-CoV-2 S 단백질 변이체는 SEQ ID NO: 7에 나타낸 아미노산 서열을 포함한다.

[0350] 일 구체예에서, 본원에 기술된 백신 항원은 SARS-CoV-2의 스파이크 단백질(S), 이의 변이체 또는 이의 단편을 포함하거나, 본질적으로 구성되거나, 구성된다.

[0351] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다.

[0352] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 3819의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 17 내지 1273의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0353] 일 구체예에서, 백신 항원은 SARS-CoV-2 스파이크 S1 단편(S1)(SARS-CoV-2의 스파이크 단백질(S)의 S1 서브유닛), 그의 변이체, 또는 그의 단편을 포함하거나, 본질적으로 구성되거나 구성된다.

[0354] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열을 포함한다.

[0355] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID

NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 683의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0356] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열을 포함한다.

[0357] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 49 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 17 내지 685의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0358] 일 구체예에서, 백신 항원은 SARS-CoV-2의 스파이크 단백질(S)의 수용체 결합 도메인 (RBD), 이의 변이체 또는 이의 단편을 포함하거나, 본질적으로 구성되거나 구성된다. SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열, 그의 변이체, 또는 그의 단편은 본원에서 "RBD" 또는 "RBD 도메인"으로도 지칭된다.

[0359] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열을 포함한다.

[0360] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO:

2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 979 내지 1584의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0361] 특정 구체예에서, 신호 펩타이드는 직접적으로 또는 링커를 통해 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉 항원성 펩타이드 또는 단백질에 융합된다. 따라서, 일 구체예에서, 신호 펩타이드는 상기 기재된 백신 항원에 포함된 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 면역원성 단편(항원성 펩타이드 또는 단백질)으로부터 유래된 상기 기재된 아미노산 서열에 융합된다.

[0362] 이러한 신호 펩타이드는 전형적으로 약 15 내지 30개의 아미노산 길이를 나타내고 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질의 N-말단에 위치하는 서열이지만, 이에 국한되지 않는다. 본원에 정의된 바와 같은 신호 펩타이드는 바람직하게는 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩타이드 또는 단백질을 정의된 세포 구획, 바람직하게는 세포 표면, 소포체(ER) 또는 엔도좀-리소좀 구획으로 수송할 수 있게 한다. 일 구체예에서, 본 명세서에서 정의된 신호 펩타이드 서열은 SARS-CoV-2 S 단백질의 신호 펩타이드 서열, 특히 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16 또는 1 내지 19의 아미노산 서열 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는 서열을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0363] 일 구체예에서, 신호 서열은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 신호 서열은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열을 포함한다.

[0364] 일 구체예에서, 신호 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 신호 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 48의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0365] 일 구체예에서, 신호 서열은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 신호 서열은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열을 포함한다.

[0366] 일 구체예에서, 신호 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 57의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 57의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 57의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 57의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 신호 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내

지 57의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 19의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0367] 본원에서 정의된 바와 같은 신호 펩타이드 서열은 면역글로불린의 신호 펩타이드 서열, 비제한적인 예로서 면역글로불린 중쇄 가변 영역의 신호 펩타이드 서열을 추가로 포함하며, 여기서 면역글로불린은 인간 면역글로불린일 수 있다. 특히, 본 명세서에서 정의된 신호 펩타이드 서열은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체를 포함하는 서열을 포함한다.

[0368] 일 구체예에서, 신호 서열은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 신호 서열은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열을 포함한다.

[0369] 일 구체예에서, 신호 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 119의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 119의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 119의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 119의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열의 기능적 단편 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열의 기능적 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 신호 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 119의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0370] 이러한 신호 펩타이드는 바람직하게는 인코딩된 항원성 펩타이드 또는 단백질의 분비를 촉진하기 위해 사용된다. 보다 바람직하게는, 본원에 정의된 바와 같은 신호 펩타이드는 본원에 정의된 바와 같은 코딩된 항원성 펩타이드 또는 단백질에 융합된다.

[0371] 따라서, 특히 바람직일 구체예에서, 본원에 기술된 RNA는 항원성 펩타이드 또는 단백질 및 신호 펩타이드를 인코딩하는 적어도 하나의 코딩 영역을 포함하고, 상기 신호 펩타이드는 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질, 보다 바람직하게는 본원에 기술된 바와 같은 항원성 펩타이드 또는 단백질의 N-말단에 융합된다.

[0372] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열을 포함한다.

[0373] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1 또는 7의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0374] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함한다.

[0375] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 15, 16, 19, 20, 24, 또는 25의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 15, 16, 19, 20, 24, 또는 25의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 15, 16, 19, 20, 24, 또는 25의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 15, 16, 19, 20, 24, 또는 25의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 15, 16, 19, 20, 24, 또는 25의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0376] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열을 포함한다.

[0377] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2049의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 683의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0378] 할 차례 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 상기 또는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열을 포함한다.

[0379] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685

의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 1 내지 2055의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 685의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0380] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0381] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 4의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 4의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 4의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 4의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 4의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0382] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열을 포함한다.

[0383] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 716의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 716의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 716의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 716의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 716의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii)SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 221의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0384] 일 구체예에서, 백신 항원 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열을 포함한다.

[0385] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 725의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 725의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이

드 54 내지 725의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 725의 뉴클레오타이드 서열의 단편에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 725의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 224의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0386] 특정 구체예에서, 삼량체화 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어 글리신/세린 링커를 통해 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉 항원성 펩타이드 또는 단백질에 융합된다. 따라서, 일 구체예에서, 삼량체화 도메인은 상기 기재된 백신 항원에 포함된 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 면역원성 단편(항원성 펩타이드 또는 단백질)으로부터 유래된 상기 기재된 아미노산 서열에 융합된다(전술한 바와 같이 신호 펩타이드에 선택적으로 융합될 수 있음).

[0387] 이러한 삼량체화 도메인은 항원성 펩타이드 또는 단백질의 C-말단에 위치하는 것이 바람직하나 이에 국한되지 않는다. 본원에 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인은 바람직하게는 RNA에 의해 인코딩되는 항원성 펩타이드 또는 단백질의 삼량체화를 가능하게 한다. 본원에서 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인의 비제한적인 예로는 T4 피브리틴의 천연 삼량체화 도메인인 폴돈을 들 수 있다. T4 피브리틴(폴돈)의 C-말단 도메인은 피브리틴 삼량체 구조의 형성에 필수적이며 인공 삼량체화 도메인으로 사용될 수 있다. 하나의 구체예에서, 본 명세서에서 정의된 삼량체화 도메인은 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체를 포함하는 서열을 포함하나 이에 국한되지 않는다. 하나의 구체예에서, 본 명세서에서 정의된 삼량체화 도메인은 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 서열 또는 이의 기능적 변이체를 포함하나 이에 국한되지 않는다.

[0388] 일 구체예에서, 삼량체화 도메인은 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 삼량체화 도메인은 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열을 포함한다.

[0389] 일 구체예에서, 삼량체화 도메인을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 7 내지 87의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 7 내지 87의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 7 내지 87의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 7 내지 87의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 삼량체화 도메인을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 7 내지 87의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0390] 일 구체예에서, 삼량체화 도메인은 아미노산 서열 SEQ ID NO: 10, 아미노산 서열 SEQ ID NO: 10에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 삼량체화 도메인은 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함한다

[0391] 일 구체예에서, 삼량체화 도메인을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 11

의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열의 기능적 단편을 인코딩한다. 일 구체예에서, 삼량체화 도메인을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 11의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0392] 이러한 삼량체화 도메인은 바람직하게는 인코딩된 항원성 펩타이드 또는 단백질의 삼량체화를 촉진하기 위해 사용된다. 보다 바람직하게는, 본원에 정의된 삼량체화 도메인은 본원에 정의된 항원 펩타이드 또는 단백질에 융합된다.

[0393] 따라서, 특히 바람직한 구체예에서, 본원에 기술된 RNA는 본원에 정의된 바와 같은 삼량체화 도메인 및 항원성 펩타이드 또는 단백질을 인코딩하는 적어도 하나의 코딩 영역을 포함하고, 상기 삼량체화 도메인은 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질, 보다 바람직하게는 항원성 펩타이드 또는 단백질의 C- 말단에 융합하는 것이 좋다

[0394] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함한다.

[0395] 일 구체예에서, 백신 항원은 (i) SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 6의 뉴클레오타이드 서열; 및/또는 (ii)SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0396] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 17, 21, 또는 26의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 17, 21, 또는 26의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 17, 21, 또는 26의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 17, 21, 또는 26의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 17, 21, 또는 26의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0397] 일 구체예에서, 백신 항원 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함한다.

[0398] 일 구체예에서, 백신 항원 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산

1 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열을 포함한다.

[0399] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 824의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 824의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 824의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 824의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 824의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 257의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0400] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열을 포함한다.

[0401] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 833의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 833의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 833의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 833의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 833의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 260의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0402] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열을 포함한다.

[0403] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 824의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 824의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열 또는 상기 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 824의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 824의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열, SEQ

ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 824의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 257의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0404] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열을 포함한다.

[0405] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 833의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 833의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 833의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 833의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열의 면역원성 단편 또는 상기 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 833의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 260의 아미노산 서열을 을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0406] 특정 구체예에서, 막관통 도메인 도메인은 직접적으로 또는 링커, 예를 들어 글리신/세린 링커를 통해 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉 항원성 펩타이드 또는 단백질에 융합된다. 따라서, 일 구체예에서, 막관통 도메인은 상기 기재된 백신 항원에 포함된 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 면역원성 단편(항원성 펩타이드 또는 단백질)으로부터 유래된 상기 기재된 아미노산 서열에 융합된다(전술한 신호 펩타이드 및/또는 삼량체화 도메인에 선택적으로 융합될 수 있음.

[0407] 이러한 막관통 도메인은 항원성 펩타이드 또는 단백질의 C-말단에 위치하는 것이 바람직하나 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는, 이러한 막관통 도메인은 존재하는 경우 삼량체화 도메인의 C-말단에 위치하지만, 이에 제한되지 않는다. 일 구체예에서, 삼량체화 도메인은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 변이체 또는 이의 단편, 즉 항원성 펩타이드 또는 단백질과 막관통 도메인 사이에 존재하다.

[0408] 본원에 정의된 바와 같은 막관통 도메인은 바람직하게는 RNA에 의해 코딩되는 항원성 펩타이드 또는 단백질의 세포막으로의 고정을 허용한다.

[0409] 일 구체예에서, 본원에서 정의된 막관통 도메인 서열은 SARS-CoV-2 S 단백질의 막관통 도메인 서열, 특히 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207번 내지 1254의 아미노산 서열 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는 서열을 포함하나 이에 국한되지 않는다.

[0410] 일 구체예에서, 막관통 도메인 서열 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 막관통 도메인 서열은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열을 포함한다.

[0411] 일 구체예에서, 막관통 도메인 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 3619 내

지 3762의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 3619 내지 3762의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 3619 내지 3762의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 3619 내지 3762의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열의 기능적 단편, 또는 상기 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 기능적 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 막관통 도메인 서열을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 2, 8 또는 9의 뉴클레오타이드 3619 내지 3762의 뉴클레오타이드 서열의 기능적 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0412] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열을 포함한다.

[0413] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 986의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 986의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 986의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 986의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 54 내지 986의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 1 내지 311의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0414] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열을 포함한다.

[0415] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 995의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 995의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 995의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 995의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 54 내지 995의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 314의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0416] 일 구체예에서, 백신 항원 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열을 포함한다.

[0417] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 986의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 986의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 986의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 986의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 111 내지 986의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 20 내지 311의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0418] 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열을 포함한다.

[0419] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 995의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 995의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 995의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 995의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 120 내지 995의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 23 내지 314의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0420] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 30의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0421] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 32의 뉴

클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 32의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0422] 일 구체예에서, 백신 항원 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열의 면역원성 단편 또는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함한다. 일 구체예에서, 백신 항원 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함한다.

[0423] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 27의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 27의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 27의 뉴클레오타이드 서열의 단편, 또는 SEQ ID NO: 27의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열의 단편을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열, SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열의 면역원성 단편, 또는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 (i) SEQ ID NO: 27의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0424] 일 구체예에서, 전술한 백신 항원은 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 면역원성 단편(항원성 펩타이드 또는 단백질)으로부터 유래된 전술한 전술한 아미노산 서열로 구성되거나 본질적으로 구성되는 SARS-CoV-2 코로나바이러스 스파이크(S) 단백질의 연속 서열을 포함한다. 일 구체예에서, 상기 기재된 백신 항원은 220개 아미노산, 215개 아미노산, 210개 아미노산 또는 205개 이하의 아미노산의 SARS-CoV-2 코로나바이러스 스파이크(S) 단백질의 연속 서열을 포함한다.

[0425] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 본원에서 BNT162b1(RBP020.3), BNT162b2(RBP020.1 또는 RBP020.2)로 기재된 뉴클레오사이드 변형 메신저 RNA(modRNA)이다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 본원에서 RBP020.2로 기재된 뉴클레오사이드 변형 메신저 RNA(modRNA)이다.

[0426] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA (modRNA)이고 (i) SEQ ID NO: 21의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 21의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나, 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA (modRNA)이고 (i) SEQ ID NO: 21의 뉴클레오타이드 서열; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0427] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA (modRNA)이고 (i) SEQ ID NO: 19, 또는 20의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 19, 또는 20의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나, 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA (modRNA)이고 (i) SEQ ID NO: 19, 또는 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0428] 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA (modRNA)이고 (i) SEQ ID NO:

20의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 20의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나, 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA (modRNA)이고 (i) SEQ ID NO: 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는 (ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0429] 본원에서 사용되는 바와 같이, "백신"이라는 용어는 대상체에 접종시 면역 반응을 유도하는 조성물을 의미한다. 일부 구체예에서, 유도된 면역 반응은 보호 면역을 제공한다.

[0430] 일 구체예에서, 항원 분자를 인코딩하는 RNA는 대상체의 세포에서 발현되어 항원 분자를 제공한다. 일 구체예에서, 항원 분자의 발현은 세포 표면에서 또는 세포외 공간에서 일어난다. 일 구체예에서, 항원 분자는 MHC와 관련하여 제시된다. 일 구체예에서, 항원 분자를 인코딩하는 RNA는 대상체의 세포에서 일시적으로 발현된다. 일 구체예에서, 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 투여 후, 특히 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 근육내 투여 후, 근육에서 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 발현이 일어난다. 일 구체예에서, 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 투여 후, 비장에서 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 발현이 일어난다. 일 구체예에서, 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 투여 후, 항원 제시 세포, 바람직하게는 전문 항원 제시 세포에서 항원 분자를 코딩하는 RNA의 발현이 일어난다. 일 구체예에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포, 대식세포 및 B 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 구체예에서, 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 투여 후, 폐 및/또는 간에서 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 발현이 없거나 본질적으로 전혀 발생하지 않는다. 일 구체예에서, 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 투여 후, 비장에서 항원 분자를 인코딩하는 RNA의 발현은 폐에서의 발현량의 적어도 5배이다.

[0431] 일부 구체예에서, 대상체에게 투여 후, 특히 근육내 투여 후 본원에 기술된 방법 및 제제, 예를 들어, mRNA 조성물은 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 림프절 및/또는 비장으로 전달하는 결과를 가져온다. 일부 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 투여 후 6시간 또는 그 이후, 바람직하게는 최대 6일 또는 그 이상에 림프절 및/또는 비장에서 검출가능하다.

[0432] 일부 구체예에서, 대상체에게 투여 후, 특히 근육내 투여 후 본원에 기술된 방법 및 작용제, 예를 들어 mRNA 조성물은 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 B 세포 소낭, 피막하 부비동, 및/또는 T 세포 구역, 특히 B 세포 여포 및/또는 림프절의 피막하 부비동으로 전달하는 결과를 가져온다.

[0433] 일부 구체예에서, 대상체에게 투여 후, 특히 근육내 투여 후 본원에 기술된 방법 및 작용제, 예를 들어 mRNA 조성물은 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 B 세포(CD19+), 피막하 부비동 대식세포(CD169+) 및/또는 림프절의 T 세포 영역 및 중간 부비동의 수지상 세포(CD11c+), 특히 B 세포(CD19+) 및/또는 림프절의 피막하 부비동 대식세포(CD169+)으로 전달하는 결과를 가져온다

[0434] 일부 구체예에서, 대상체에게 투여 후, 특히 근육내 투여 후 본원에 기술된 방법 및 제제, 예를 들어, mRNA 조성물은 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 비장의 백질에 전달하는 결과를 가져온다.

[0435] 일부 구체예에서, 대상체에게 투여 후, 특히 근육내 투여 후 본원에 기술된 방법 및 작용제, 예를 들어 mRNA 조성물은 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 B 세포, DC(CD11c+), 특히 B 세포를 둘러싸는 DC(CD11c+) 및/또는 비장의 대식세포, 특히 B 세포 및/또는 DC(CD11c+)에 전달하는 결과를 가져온다.

[0436] 일 구체예에서, 백신 항원은 림프절 및/또는 비장, 특히 전술한 림프절 및/또는 비장의 세포에서 발현된다.

[0437] 본 개시내용에 따라 사용하기에 적합한 펩타이드 및 단백질 항원은 면역 반응을 유도하기 위한 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 기능적 변이체의 에피토프를 포함하는 펩타이드 또는 단백질을 전형적으로 포함한다. 펩타이드 또는 단백질 또는 에피토프는 표적 항원, 즉 면역 반응이 유도되는 항원으로부터 유도될 수 있다. 예를 들어, 펩타이드 또는 단백질 항원 또는 펩타이드 또는 단백질 항원 내에 함유된 에피토프는 표적 항원 또는 표적 항원의 단편 또는 변이체일 수 있다. 표적 항원은 코로나바이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질일 수 있다.

[0438] 항원 분자 또는 이의 가공 산물, 예를 들어 이의 단편은 면역 이펙터 세포에 의해 운반되는 BCR 또는 TCR과 같은 항원 수용체 또는 항체에 결합할 수 있다.

[0439] 펩타이드 및 단백질 항원, 즉 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 투여함으로써 본 발명에 따라 대상체에게 제공되는 펩타이드 및 단백질 항원은 바람직하게는 면역 반응, 예를 들어 펩타이드 또는 단백질 항원이 제공되는 대상체에서 체액성 및/또는 세포성 면역 반응을 유도한다. 상기 면역 반응은 바람직하게는 표적 항원, 특히 코로나바

이러스 S 단백질, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질에 대한 것이다. 따라서, 백신 항원은 표적 항원, 이의 변이체 또는 이의 단편을 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 이러한 단편 또는 변이체는 면역학적으로 표적 항원과 동등하다. 본 발명의 맥락에서, 용어 "항원의 단편" 또는 "항원의 변이체"는 면역 반응이 항원, 즉 표적 항원을 표적화하는 면역 반응을 유도하는 제제를 의미한다. 따라서, 백신 항원은 표적 항원에 상응하거나 이를 포함할 수 있거나, 표적 항원의 단편에 상응하거나 이를 포함할 수 있거나, 또는 표적 항원 또는 이의 단편에 상동인 항원에 상응하거나 이를 포함할 수 있다. 따라서, 본 개시내용에 따르면, 백신 항원은 표적 항원의 면역원성 단편 또는 표적 항원의 면역원성 단편과 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 개시내용에 따른 "항원의 면역원성 단편"은 바람직하게는 표적 항원에 대한 면역 반응을 유도할 수 있는 항원의 단편에 관한 것이다. 백신 항원은 재조합 항원일 수 있다.

[0440] "면역학적으로 동등한"이라는 용어는 예를 들어, 면역학적으로 동등한 아미노산 서열과 같은 면역학적으로 동등한 분자가 면역학적 효과의 유형과 관련하여, 동일하거나 본질적으로 동일한 면역학적 특성을 나타내고/나타내거나 동일하거나 본질적으로 동일한 면역학적 특성을 발휘함을 의미한다. 본 발명의 맥락에서, "면역학적으로 동등한"이라는 용어는 바람직하게는 면역화에 사용되는 항원 또는 항원 변이체의 면역학적 효과 또는 특성과 관련하여 사용된다. 예를 들어, 대상체의 면역계에 노출되었을 때 상기 아미노산 서열이 참조 아미노산 서열과 반응하는 특이성을 갖는 면역 반응을 유도한다면, 아미노산 서열은 참조 아미노산 서열과 면역학적으로 동등하다.

[0441] 본원에서 사용되는 "활성화" 또는 "자극"은 검출가능한 세포 증식을 유도하기에 충분히 자극된 T 세포와 같은 면역 이펙터 세포의 상태를 지칭한다. 활성화는 또한 신호 경로의 개시, 유도된 사이토카인 생산 및 검출가능한 이펙터 기능과 연관될 수 있다. "활성화된 면역 효과기 세포"라는 용어는 무엇보다도 세포 분열을 겪고 있는 면역 효과기 세포를 의미하다.

[0442] 용어 "프라이밍(priming)"은 T 세포와 같은 면역 이펙터 세포가 그의 특이 항원과 처음 접촉하여 이펙터 T 세포와 같은 이펙터 세포로 분화를 일으키는 과정을 의미한다.

[0443] "클론 확장" 또는 "확장"이라는 용어는 특정 개체가 증식되는 과정을 의미하다. 본 발명의 맥락에서, 상기 용어는 바람직하게는 면역 이펙터 세포가 항원에 의해 자극되고, 증식하고, 상기 항원을 인식하는 특정 면역 이펙터 세포가 증폭되는 면역학적 반응의 맥락에서 사용된다. 바람직하게는, 클론 확장은 면역 이펙터 세포의 분화를 유도한다.

[0444] 용어 "항원"은 면역 반응이 생성될 수 있는 에피토프를 포함하는 제제에 관한 것이다. 용어 "항원"은 특히 단백질 및 펩타이드를 포함한다. 일 구체예에서, 항원은 수지상 세포 또는 대식세포와 같은 항원 제시 세포와 같은 면역계의 세포에 의해 제시된다. T-세포 에피토프와 같은 항원 또는 이의 가공 산물은 일 구체예에서 T- 또는 B-세포 수용체에 의해, 또는 항체와 같은 면역글로불린 분자에 의해 결합된다. 따라서, 항원 또는 이의 가공 산물은 항체 또는 T 림프구(T 세포)와 특이적으로 반응할 수 있다. 일 구체예에서, 항원은 코로나바이러스 S 단백질, 예를 들어 SARS-CoV-2 S 단백질과 같은 바이러스 항원이고, 에피토프는 이러한 항원으로부터 유래된다.

[0445] 용어 "바이러스 항원"은 항원 특성을 갖는, 즉 개체에서 면역 반응을 유발할 수 있는 임의의 바이러스 성분을 지칭한다. 바이러스 항원은 코로나바이러스 S 단백질, 예를 들어 SARS-CoV-2 S 단백질일 수 있다.

[0446] "세포 표면에서 발현되는" 또는 "세포 표면과 회합된/연관된(associated with cell surface)"이라는 용어는 항원과 같은 분자가 세포의 원형질막과 회합되고 위치하는 것을 의미하며, 여기서 분자의 적어도 일부는 상기 세포의 세포외 공간과 마주하며, 상기 세포의 외부로부터, 예를 들어 세포 외부에 위치한 항체에 의해 접근가능하다. 이와 관련하여, 일부는 적어도 4개, 좋기로는 적어도 8개, 좋기로는 적어도 12개, 더더욱 좋기로는 적어도 20개의 아미노산이다. 회합은 직접적이거나 간접적일 수 있다. 예를 들어, 회합/연관은 세포의 하나 이상의 막관통 도메인, 하나 이상의 지질 앵커에 의해, 또는 임의의 다른 단백질, 지질, 사카라이드, 또는 원형질막의 외부 첨판에서 발견될 수 있는 다른 구조와의 상호작용에 의해 이루어질 수 있다. 예를 들어, 세포 표면과 회합된 분자는 세포외 부분을 갖는 막관통 단백질일 수 있거나 막관통 단백질인 다른 단백질과 상호작용하여 세포 표면과 회합된 단백질일 수 있다.

[0447] "세포 표면" 또는 "세포의 표면"은 당업계에서의 통상적인 의미에 따라 사용되며, 따라서 단백질 및 다른 분자에 의해 결합될 수 있는 세포 외부를 포함한다. 항원이 세포의 표면에 위치하고 예를 들어 세포에 첨가된 항원 특이 항체에 의해 결합될 수 있는 경우, 그 항원은 세포의 표면에서 발현된다.

[0448] 본 발명의 맥락에서 "세포외 부분" 또는 "엑소도메인"이라는 용어는 세포의 세포외 공간을 향하고 좋기로는 상기 세포 외부에 위치한 항체와 같은 결합 분자에 의해, 상기 세포의 외부로부터 접근가능한 단백질과 같은 분자

의 일부를 칭한다. 바람직하게는, 상기 용어는 하나 이상의 세포외 루프 또는 도메인 또는 이의 단편을 의미한다.

[0449] 용어 "에피토프"는 면역계에 의해 인식되는 항원과 같은 분자의 일부 또는 단편을 의미한다. 예를 들어, 에피토프는 T 세포, B 세포 또는 항체에 의해 인식될 수 있다. 항원의 에피토프는 항원의 연속적 또는 불연속적 부분을 포함할 수 있고 약 5 내지 약 100, 예를 들어 약 5 내지 약 50, 더 바람직하게는 약 8 내지 약 30, 가장 바람직하게는 약 8 내지 약 25개의 아미노산 길이일 수 있으며, 예를 들어, 에피토프는 바람직하게는 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개의 아미노산 길이일 수 있다. 일 구체예에서, 에피토프는 길이가 약 10 내지 약 25개 아미노산이다. 용어 "에피토프"는 T 세포 에피토프를 포함한다.

[0450] 용어 "T 세포 에피토프"는 MHC 분자와 관련하여 제시될 때 T 세포에 의해 인식되는 단백질의 일부 또는 단편을 의미한다. 용어 "주요 조직 적합성 복합체" 및 약어 "MHC"는 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 분자를 포함하고 모든 척추동물에 존재하는 유전자 복합체에 관한 것이다. MHC 단백질 또는 분자는 면역 반응에서 림프구와 항원 제시 세포 또는 질병 세포 사이의 신호 전달에 중요하며, 여기서 MHC 단백질 또는 분자는 펩타이드 에피토프에 결합하여 T 세포 상의 T 세포 수용체에 의한 인식을 위해 제시하다. MHC에 의해 인코딩된 단백질은 세포 표면에서 발현되며, 자가 항원(세포 자체의 펩타이드 단편)과 비자가 항원(예컨대 침입한 미생물의 단편)을 모두 T 세포에 표시하다. 클래스 I MHC/펩타이드 복합체의 경우, 결합 펩타이드는 전형적으로 약 8 내지 약 10개의 아미노산 길이이지만 더 길거나 더 짧은 펩타이드가 효과적일 수 있다. 클래스 II MHC/펩타이드 복합체의 경우, 결합 펩타이드는 전형적으로 약 10 내지 약 25개의 아미노산 길이이고 특히 약 13 내지 약 18개의 아미노산 길이인 반면, 더 길고 더 짧은 펩타이드가 효과적일 수 있다.

[0451] 펩타이드 및 단백질 항원은 예를 들어 5개 아미노산, 10개 아미노산, 15개 아미노산, 20개 아미노산, 25개 아미노산, 30개 아미노산, 35개 아미노산, 40개 아미노산, 45개 아미노산 또는 50개의 아미노산 길이를 포함하는 2-100개 아미노산일 수 있다. 일부 구체예에서, 펩타이드는 50개 이상의 아미노산일 수 있다. 일부 구체예에서, 펩타이드는 100개 이상의 아미노산일 수 있다.

[0452] 펩타이드 또는 단백질 항원은 펩타이드 또는 단백질에 대한 항체 및 T 세포 반응을 발생시키는 면역계의 능력을 유도하거나 증가시킬 수 있는 임의의 펩타이드 또는 단백질일 수 있다.

[0453] 일 구체예에서, 백신 항원은 면역 이펙터 세포에 의해 인식된다. 바람직하게는, 면역 이펙터 세포에 의해 인식되는 경우 백신 항원은 백신 항원을 인식하는 항원 수용체를 보유하는 면역 이펙터 세포의 적절한 공동 자극 신호, 자극, 프라이밍 및/또는 확장의 존재 하에 유도할 수 있다. 본 발명의 구체예와 관련하여, 백신 항원은 바람직하게는 세포, 바람직하게는 항원 제시 세포의 표면에 제시되거나 존재한다. 일 구체예에서, 항원은 바이러스에 감염된 세포와 같은 병에 걸린 세포에 의해 제시된다. 일 구체예에서, 항원 수용체는 MHC와 관련하여 제시된 항원의 에피토프에 결합하는 TCR이다. 일 구체예에서, 항원 제시 세포와 같은 세포에 의해 제시된 항원에 T 세포에 의해 발현되고/되거나 T 세포 상에 존재할 때 TCR의 결합은 상기 T 세포의 자극, 프라이밍 및/또는 확장을 초래한다. 일 구체예에서, T 세포에 의해 발현되고/되거나 T 세포 상에 존재할 때 TCR이 질병 세포 상에 제시된 항원에 결합하면 질병 세포의 세포용해 및/또는 아폽토시스가 발생하며, 여기서 상기 T 세포는 바람직하게는 세포독성 인자, 예를 들어 퍼포린과 그랜자임을 방출한다.

[0454] 일 구체예에서, 항원 수용체는 항원의 에피토프에 결합하는 항체 또는 B 세포 수용체이다. 일 구체예에서, 항체 또는 B 세포 수용체는 항원의 천연 에피토프에 결합한다.

[0455] **핵산**

[0456] 본원에서 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 게놈 DNA, cDNA, mRNA, 재조합 생산 및 화학적 합성 분자와 같은 DNA 및 RNA를 포함하는 것으로 의도된다. 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. RNA는 시험관내 전사 RNA(IVT RNA) 또는 합성 RNA를 포함한다. 본 발명에 따르면, 폴리뉴클레오타이드는 바람직하게는 단리된다.

[0457] 핵산은 벡터에 포함될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "벡터"는 플라스미드 벡터, 코스미드 벡터, 람다 파지와 같은 파지 벡터, 레트로바이러스, 아데노바이러스 또는 바큘로바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터, 또는 박테리아 인공 염색체(BAC)와 같은 인공 염색체 벡터, 효모 인공 염색체(YAC) 또는 P1 인공 염색체(PAC)를 포함하는 당업자에게 공지된 임의의 벡터를 포함한다. 상기 벡터는 발현 및 클로닝 벡터를 포함한다. 발현 벡터는 플라스미드 및 바이러스 벡터를 포함하고 일반적으로 특정 숙주 유기체(예를 들어, 박테리아, 효모, 식물, 곤충 또는 포유동물)에서 또는 시험관내 발현 시스템에서 작동 가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 원하는

코딩 서열 및 적절한 DNA 서열을 함유한다. 클로닝 벡터는 일반적으로 원하는 특정 DNA 단편을 조작하고 증폭하는 데 사용되며 원하는 DNA 단편의 발현에 필요한 기능적 서열을 결여할 수 있다.

[0458] 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 백신 항원을 제공하도록 처리된 대상체의 항원 제시 세포와 같은 세포에서 발현된다.

[0459] 본원에 기술된 핵산은 재조합 및/또는 단리된 분자일 수 있다.

[0460] 본 개시내용에서 용어 "RNA"는 리보뉴클레오타이드 잔기를 포함하는 핵산 분자에 관한 것이다. 바람직한 구체예에서, RNA는 리보뉴클레오타이드 잔기의 전부 또는 대부분을 함유한다. 본원에 사용된 "리보뉴클레오타이드"는 β-D-리보푸라노실기의 2'-위치에 히드록실기를 갖는 뉴클레오타이드를 의미한다. RNA는 제한 없이 이중 가닥 RNA, 단일 가닥 RNA, 단리된 RNA, 예를 들어 부분적으로 정제된 RNA, 본질적으로 순수한 RNA, 합성 RNA, 재조합으로 생산된 RNA, 그리고 부가, 결실, 치환 및/또는 하나 이상의 뉴클레오타이드의 변경에 의해 자연발생적인 RNA와는 상이한 변형된 RNA를 포함하다. 이러한 변경은 내부 RNA 뉴클레오타이드 또는 RNA 말단(들)에 비뉴클레오타이드 물질의 추가를 의미할 수 있다. 또한 RNA의 뉴클레오타이드는 화학적으로 합성된 뉴클레오타이드 또는 데옥시뉴클레오타이드와 같은 비표준 뉴클레오타이드일 수 있음이 고려된다. 본 개시내용에서, 이들 변경된 RNA는 자연발생 RNA의 유사체로 간주된다.

[0461] 본 개시내용의 특정 구체예에서, RNA는 펩타이드 또는 단백질을 인코딩하는 RNA 전사물에 관한 메신저 RNA(mRNA)이다. 당업계에 확립된 바와 같이, mRNA는 일반적으로 5' 비번역 영역(5'-UTR), 펩타이드 코딩 영역 및 3' 비번역 영역(3'-UTR)을 함유한다. 일부 구체예에서, RNA는 시험관내 전사 또는 화학적 합성에 의해 생성된다. 일 구체예에서, mRNA는 DNA가 데옥시리보뉴클레오타이드를 함유하는 핵산을 지칭하는 DNA 주형을 이용하는 시험관내 전사에 의해 생성된다.

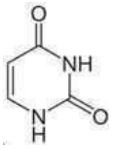
[0462] 일 구체예에서, RNA는 시험관내 전사된 RNA(IVT-RNA)이고 적절한 DNA 주형의 시험관내 전사에 의해 수득될 수 있다. 전사 조절을 위한 프로모터는 임의의 RNA 폴리머라제에 대한 임의의 프로모터일 수 있다. 시험관내 전사를 위한 DNA 주형은 핵산, 특히 cDNA를 클로닝하고 이를 시험관내 전사를 위한 적절한 벡터에 도입함으로써 얻을 수 있다. cDNA는 RNA의 역전사에 의해 얻을 수 있다.

[0463] 본 개시내용의 특정 구체예에서, RNA는 "레플리콘 RNA" 또는 단순히 "레플리콘", 특히 "자가 복제 RNA" 또는 "자가 증폭 RNA"이다. 특히 바람직한 일부 구체예에서, 레플리콘 또는 자가-복제 RNA는 ssRNA 바이러스, 특히 알파바이러스와 같은 양성-가닥 ssRNA 바이러스로부터 유래되거나 유래된 요소를 포함한다. 알파바이러스는 양성-가닥 RNA 바이러스의 전형적인 대표자이다. 알파바이러스는 감염된 세포의 세포질에서 복제한다 (알파바이러스 수명 주기에 대한 리뷰는, [Jose et al., Future Microbiol., 2009, vol. 4, pp. 837-856] 참조). 많은 알파바이러스의 총 게놈 길이는 일반적으로 11,000 내지 12,000개의 뉴클레오타이드 범위이며, 그 게놈 RNA는 일반적으로 5' 캡과 3' 폴리(A) 꼬리를 가지고 있다. 알파바이러스의 게놈은 비구조적 단백질 (바이러스 RNA의 전사, 변형 및 복제에 및 단백질 변형에 관여) 및 구조적 단백질 (바이러스 입자 형성)을 인코딩한다. 게놈에는 일반적으로 두 개의 ORF (오픈 리딩 프레임)가 있다. 4개의 비-구조 단백질 (nsP1-nsP4)은 통상 게놈의 5' 말단 근처에서 시작하는 첫 번째 ORF에 의해 함께 인코딩되는 반면, 알파바이러스의 구조 단백질은 상기 첫 번째 ORF의 다운스트림에서 발견되고 게놈의 3' 말단 근처로 연장되는 두 번째 ORF에 의해 함께 인코딩된다. 통상 첫 번째 ORF는 두 번째 ORF보다 크며 비는 대략 2:1이다. 알파바이러스에 감염된 세포에서, 비-구조 단백질을 인코딩하는 핵산 서열만이 게놈 RNA에서 번역되는 반면, 구조 단백질을 인코딩하는 유전 정보는 서브게놈 전사체로부터 번역될 수 있는데, 이는 진핵생물 메신저 RNA 와 유사한 RNA 분자이다 (mRNA; Gould et al., 2010, Antiviral Res., vol. 87 pp. 111-124). 감염 후, 즉 바이러스 수명 주기의 초기 단계에서, (+) 가닥 게놈 RNA는 비-구조적 폴리-단백질 (nsP1234)을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임의 번역을 위해 메신저 RNA처럼 직접 작용한다. 알파바이러스-유래 벡터는 외래 유전 정보를 표적 세포 또는 표적 유기체로 전달하기 위해 제안되었다. 간단한 접근 방식에 있어서, 알파바이러스 구조 단백질을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임은 관심 대상 단백질을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임으로 대체된다. 알파바이러스-기반의 트랜스-복제 시스템은 두 개의 개별 핵산 분자 상의 알파바이러스 뉴클레오타이드 서열 요소에 의존한다: 한 핵산 분자는 바이러스 레플리카제를 인코딩하고, 다른 핵산 분자는 트랜스로 상기 레플리카제에 의해 복제될 수 있다 (따라서, 명칭 트랜스-복제 시스템). 트랜스-복제는 주어진 숙주 세포에서 이들 두 핵산 분자 모두의 존재를 필요로 한다. 트랜스로 레플리카제에 의해 복제될 수 있는 핵산 분자는, 알파바이러스 레플리카제에 의한 인식 및 RNA 합성을 가능케 하기 위하여 특정한 알파바이러스 서열 요소를 포함해야 한다.

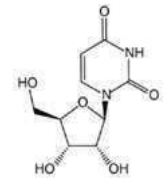
[0464] 일 구체예에서, 본원에 기재되는 RNA는 변형된 뉴클레오사이드를 가질 수 있다. 일부 구체예에서, RNA는, 적어

도 하나의 (예를 들어, 모든) 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다.

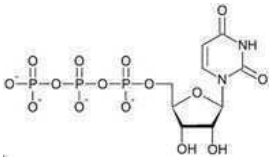
[0465] 본원에서 사용되는 바, 용어 "우라실"은 RNA의 핵산에 존재할 수 있는 핵염기들 중 하나를 설명한다. 우라실의 구조는 다음과 같다:

[0466] 
.

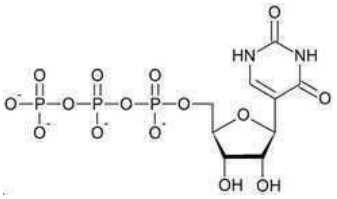
[0467] 본원에서 사용되는 바, 용어 "우리딘"은 RNA에 존재할 수 있는 뉴클레오사이드 중 하나를 설명한다. 우리딘의 구조는 다음과 같다:

[0468] 
.

[0469] UTP (우리딘 5'-트리포스페이트)는 다음의 구조를 갖는다:

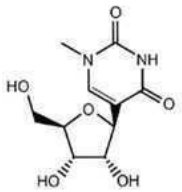
[0470] 
.

[0471] 슈도-UTP (슈도우리딘-5'-트리포스페이트)는 다음의 구조를 갖는다:

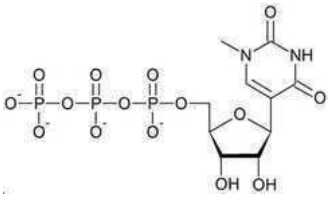
[0472] 
.

[0473] "슈도우리딘"은 우리딘의 이성질체인 변형된 뉴클레오사이드의 한 예이며, 여기서 우라실은, 질소-탄소 글리코시드 결합 대신 탄소-탄소 결합을 통해 펜토오스 고리에 부착된다.

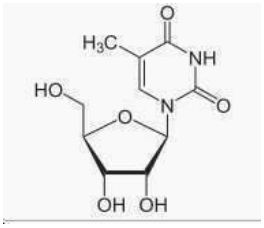
[0474] 또 다른 예시적인 변형된 뉴클레오사이드는 다음 구조를 갖는 N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ)이다:

[0475] 
.

[0476] N1-메틸-슈도-UTP는 다음의 구조를 갖는다:

[0477] 
.

[0478] 또 다른 예시적 변형 뉴클레오사이드는 5-메틸-우리딘 (m5U)이고, 이는 다음의 구조를 갖는다:

[0479] 

.

[0480] 일부 구체예에서, 본원에 기재되는 RNA에서 하나 이상의 우리딘은 변형된 뉴클레오사이드로 대체된다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 변형된 우리딘이다.

[0481] 일부 구체예에서, RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다. 일부 구체예에서, RNA는 각각의 우리딘 대신에 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다.

[0482] 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘 (Ψ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ), 및 5-메틸-우리딘 (m5U)으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘 (Ψ)을 포함한다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ)을 포함한다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다. 일부 구체예에서, RNA는 1 유형 이상의 변형된 뉴클레오사이드를 포함할 수 있고, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘 (Ψ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ), 및 5-메틸-우리딘 (m5U)으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘 (Ψ) 및 N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ)을 포함한다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘 (Ψ) 및 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ) 및 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다. 일부 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 슈도우리딘 (Ψ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ), 및 5-메틸-우리딘 (m5U)을 포함한다.

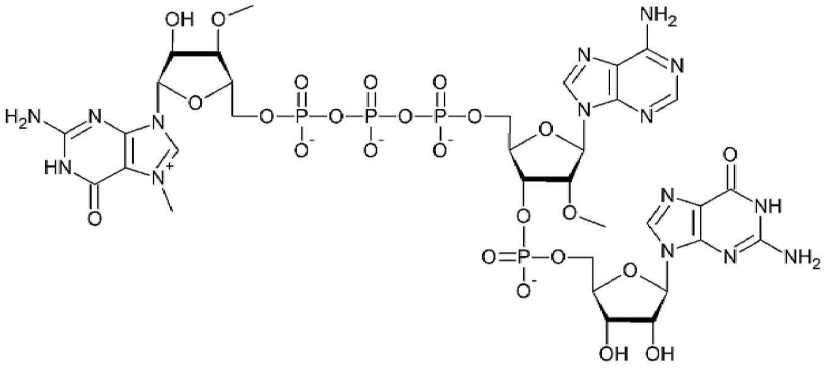
[0483] 일부 구체예에서, RNA 내 하나 이상의, 예컨대 모든 우리딘을 대체하는 변형된 뉴클레오사이드는 3-메틸-우리딘 (m^3U),5-메톡시-우리딘 (mo^5U),5-아자-우리딘, 6-아자-우리딘, 2-티오-5-아자-우리딘, 2-티오-우리딘 (s^2U),4-티오-우리딘 (s^4U),4-티오-슈도우리딘, 2-티오-슈도우리딘, 5-하이드록시-우리딘 (ho^5U),5-아미노알릴-우리딘, 5-할로-우리딘 (예컨대, 5-요오도-우리딘 또는 5-브로모-우리딘), 우리딘 5-옥시아세트산 (cmo^5U),우리딘 5-옥시아세트산 메틸 에스터 ($mcmo^5U$), 5-카르복시메틸-우리딘 (cm^5U),1-카르복시메틸-슈도우리딘, 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘 (chm^5U), 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘 메틸 에스터 ($mchm^5U$),5-메톡시카르보닐메틸-우리딘 (mcm^5U), 5-메톡시카르보닐메틸-2-티오-우리딘 (mcm^5s^2U),5-아미노메틸-2-티오-우리딘 (nm^5s^2U),5-메틸아미노메틸-우리딘 (mnm^5U),1-에틸-슈도우리딘, 5-메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 (mnm^5s^2U), 5-메틸아미노메틸-2-셀레노-우리딘 (mnm^5se^2U), 5-카르바모일메틸-우리딘 (ncm^5U),5-카르복시메틸아미노메틸-우리딘 ($cmnm^5U$),5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 ($cmnm^5s^2U$),5-프로피닐-우리딘, 1-프로피닐-슈도우리딘, 5-토리노메틸-우리딘 (τm^5U), 1-토리노메틸-슈도우리딘, 5-토리노메틸-2-티오-우리딘 ($\tau m5s2U$), 1-토리노메틸-4-티오-슈도우리딘), 5-메틸-2-티오-우리딘 (m^5s^2U), 1-메틸-4-티오-슈도우리딘 ($m^1s^4\Psi$), 4-티오-1-메틸-슈도우리딘, 3-메틸-슈도우리딘 ($m^3\Psi$), 2-티오-1-메틸-슈도우리딘, 1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 디하이드로우리딘 (D), 디하이드로슈도우리딘, 5,6-디하이드로우리딘, 5-메틸-디하이드로우리딘 (m^5D),2-티오-디하이드로우리딘, 2-티오-디하이드로슈도우리딘, 2-메톡시-우리딘, 2-메톡시-4-티오-우리딘, 4-메톡시-슈도우리딘, 4-메톡시-2-티오-슈도우리딘, N1-메틸-슈도우리딘, 3-(3-아미노-3-카르복시프로필)우리딘 (acp^3U), 1-메틸-3-(3-아미노-3-카르복시프로필)슈도우리딘 ($acp^3\Psi$), 5-(이소펜테닐아미노메틸)우리딘 (inm^5U),5-(이소펜테닐아미노메틸)-2-티오-우리딘 (inm^5s^2U),α-티오-우리딘, 2'-O-메틸-우리딘 (Um), 5,2'-O-디메틸-우리딘 (m^5Um), 2'-O-메틸-슈도우리딘 (Ψm), 2-티오-2'-O-메틸-우리딘 (s^2Um), 5-메톡시카르보닐메틸-2'-O-메틸-우리딘 (mcm^5Um), 5-카르바모일메틸-2'-O-메틸-우리딘 (ncm^5Um), 5-카르복시메틸아미노메틸-2'-O-메틸-우리딘 ($cmnm^5Um$), 3,2'-O-디메틸-우리딘 (m^3Um), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2'-O-메틸-우리딘 (inm^5Um), 1-티오-우리딘, 데옥시티미딘, 2'-F-아라-우리딘, 2'-F-우리딘, 2'-OH-아라-우리딘, 5-(2-카보메톡시비닐) 우리딘, 5-[3-(1-E-프로페닐아미

노)우리딘, 또는 이 기술 분야에 알려진 임의의 다른 변형된 우리딘 중 임의의 하나 이상일 수 있다.

[0484] 일 구체예에서, RNA는 다른 변형된 뉴클레오사이드를 포함하거나 추가로 변형된 뉴클레오사이드, 예를 들어 변형된 시티딘을 포함한다. 예를 들어, 일 구체예에서, RNA에서 5-메틸시티딘이, 시티딘에 대해, 부분적으로 또는 완전히, 바람직하게는 완전히, 치환된다. 일 구체예에서, RNA는 5-메틸시티딘, 및 슈도우리딘 (Ψ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ), 및 5-메틸-우리딘 (m5U)으로부터 선택된 하나 이상을 포함한다. 일 구체예에서, RNA는 5-메틸시티딘 및 N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ)을 포함한다. 일부 구체예에서, RNA는, 각각의 시티딘 대신에 5-메틸시티딘을 포함하고 및 각각의 우리딘 대신에 N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ)을 포함한다.

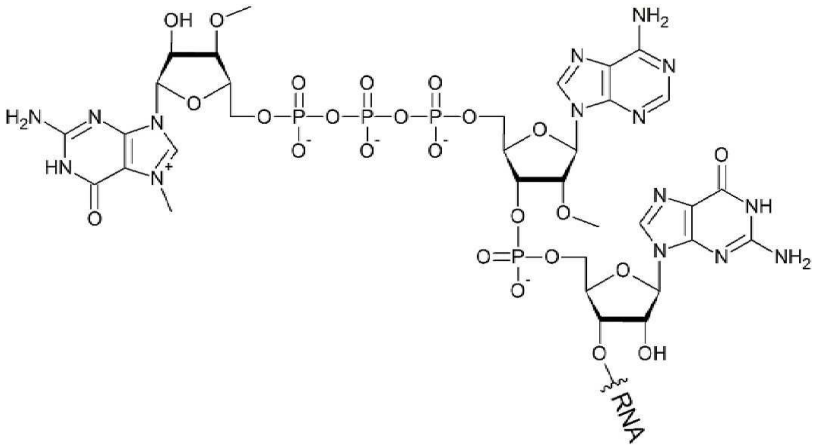
[0485] 일부 구체예에서, 본 개시내용에 따른 RNA는 5'-캡을 포함한다. 일 구체예에서, 본 개시내용의 RNA는 캡핑되지 않은 5'-트리포스페이트를 갖지 않는다. 일 구체예에서, RNA는 5'-캡 유사체에 의해 변형될 수 있다. 용어 "5'-캡"은 mRNA 분자의 5'-말단에서 발견되는 구조를 말하며 일반적으로 5'-에서 5'-트리포스페이트 연결을 통해 mRNA에 연결된 구아노신 뉴클레오타이드로 구성된다. 일 구체예에서, 이 구아노신은 7-위치에서 메틸화된다. RNA에 5'-캡 또는 5'-캡 유사체를 제공하는 것은 시험관내 전사에 의해 달성될 수 있으며, 여기서 5'-캡은 RNA 가닥으로 공동 전사적으로 발현되거나 캡핑 효소를 사용하여 전사 후 RNA에 부착될 수 있다.

[0486] 일부 구체예에서, RNA에 대한 빌딩 블록 캡은 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG (때때로 m27,3'OG(5')ppp(5')m2'-OApG라고도 함)이며, 이는 다음과 같은 구조를 갖는다:



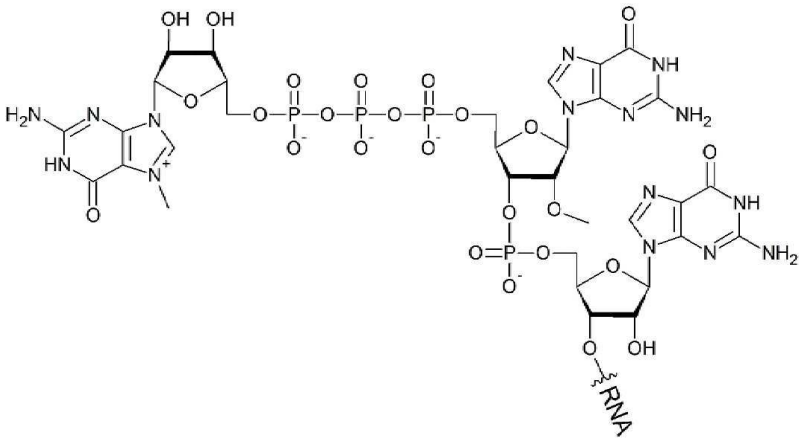
[0487] .

[0488] 아래는 RNA 및 $m_2^{7,3'O}$G(5')ppp(5')$m^{2'-O}$ApG를 포함하는 예시적인 Cap1 RNA이다:



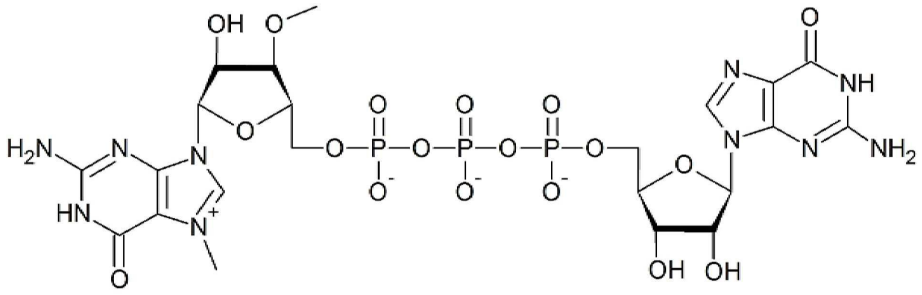
[0489] .

[0490] 아래는 또 다른 예시적인 Cap1 RNA(캡 아날로그 없음)이다:



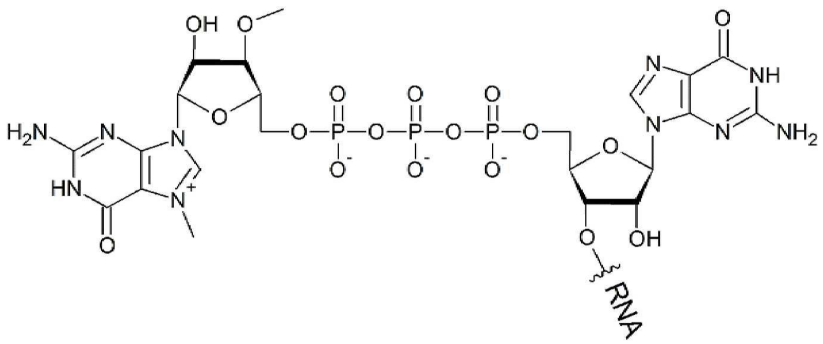
[0491]

[0492] 일부 구체예에서, RNA는 한 구체예에서 다음 구조를 갖는 캡 유사체 역전 방지 캡($m_2^{7,3`O}$G(5')ppp(5')G))을 사용하여 "Cap0" 구조로 변형된다:



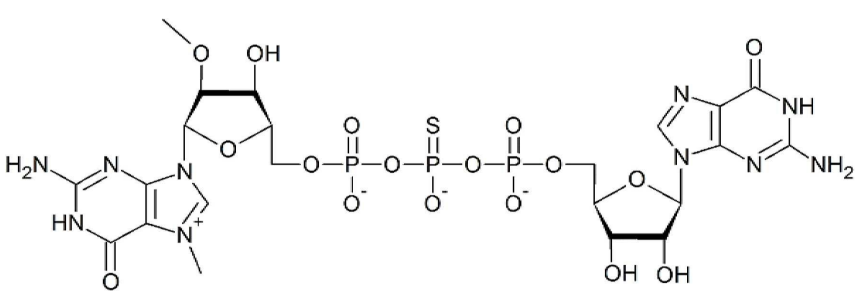
[0493]

[0494] 아래는 RNA $m_2^{7,3`O}$G(5')ppp(5')G를 포함하는 예시적인 Cap0 RNA이다:



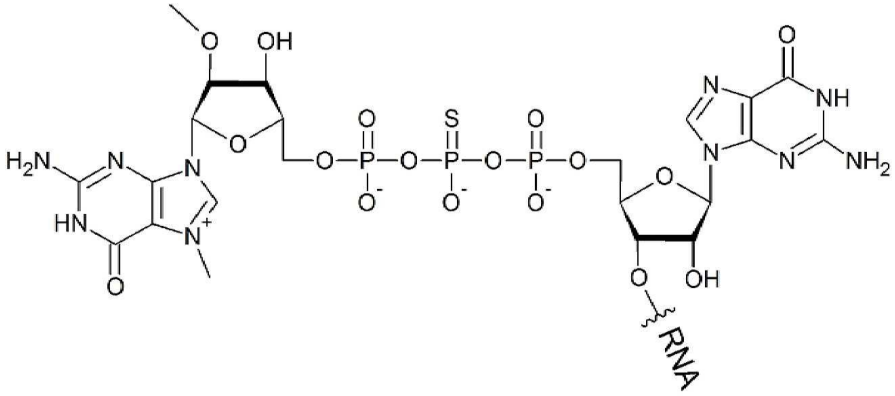
[0495]

[0496] 일부 구체예에서, "Cap0" 구조는 하기 구조를 갖는 캡 유사체 베타-S-ARCA($m_2^{7,2`O}$G(5')ppSp(5')G)를 사용하여 생성된다:



[0497]

[0498] 아래는 베타-S-ARCA ($m_2^{7,2`O}$G(5')ppSp(5')G) 및 RNA를 포함하는 예시적인 Cap0 RNA이다:



[0499] .

[0500] 베타-S-ARCA의 "D1" 부분입체이성질체 또는 "베타-S-ARCA(D1)"는 베타-S-ARCA의 D2 부분입체이성질체와 비교하여 HPLC 컬럼에서 먼저 용출되는 베타-S-ARCA의 부분입체이성질체(베타-S-ARCA(D2))이며 따라서 더 짧은 체류 시간을 나타낸다(참조, WO 2011/015347, 본원에 참조로 포함됨).

[0501] 특히 바람직한 캡은 베타-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'-O}$GppSpG) 또는 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG이다.

[0502] 일부 구체예에서, 본 개시내용에 따른 RNA는 5'-UTR 및/또는 3'-UTR을 포함한다. 용어 "비번역 영역" 또는 "UTR"은 전사되지만 아미노산 서열로 번역되지 않는 DNA 분자 내의 영역, 또는 mRNA 분자와 같은 RNA 분자 내의 상응하는 영역에 관한 것이다. 비번역 영역 (UTR)은 오픈 리딩 프레임의 5' (업스트림)(5'-UTR) 및/또는 오픈 리딩 프레임의 3' (다운스트림)(3'-UTR)에 존재할 수 있다. 존재하는 경우 5'-UTR은 단백질-인코딩 영역의 개시 코돈의 업스트림인 5' 말단에 위치한다. (존재한다면) 5'-UTR은 5'-캡의 다운스트림이며, 예를 들어 5'-캡에 직접 인접한다. 3'-UTR이 존재하는 경우 단백질 코딩 영역의 종결 코돈 하류인 3' 말단에 위치하지만, 용어 "3'-UTR"은 폴리(A) 서열을 포함하지 않는 것이 바람직하다. 따라서, 3'-UTR은 폴리(A) 서열(존재한다면)의 업스트림이며, 즉 폴리(A) 서열에 직접 인접한다.

[0503] 일부 구체예에서, RNA는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 또는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 5'-UTR을 포함한다.

[0504] 일부 구체예에서, RNA는 SEQ ID NO: 13의 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 13의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 또는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 3'-UTR을 포함한다.

[0505] 특히 바람직한 5'-UTR은 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특히 바람직한 3'-UTR은 SEQ ID NO: 13의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0506] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 RNA는 3'-폴리(A) 서열을 포함한다.

[0507] 본원에 사용되는 바 용어 "폴리(A) 서열" 또는 "폴리-A 꼬리"는 RNA 분자의 3'-말단에 전형적으로 위치하는 아데닐레이트 잔기의 단절되지 않거나 단절된 서열을 지칭한다. 폴리(A) 서열은 당업자에게 공지되어 있고 본원에 기재되는 RNA에서 3'-UTR에 이어질 수 있다. 단절되지 않은 폴리(A) 서열은 연속적인 아데닐레이트 잔기를 특징으로 한다. 자연에서, 단절되지 않는 폴리(A) 서열이 일반적이다. 본 명세서에 개시되는 RNA는, 전사 후 주형-비의존성 RNA 폴리머라제에 의해 RNA의 자유 3'-말단에 부착된 폴리(A) 서열 또는 DNA에 의해 인코딩되고 주형-의존성 RNA 폴리머라제에 의해 전사된 폴리(A) 서열을 가질 수 있다.

[0508] 약 120A 뉴클레오타이드로 이루어지는 폴리(A) 서열은 형질감염된 진핵 세포의 RNA 수준뿐만 아니라, 그 폴리(A) 서열의 업스트림(5')에 존재하는 오픈 리딩 프레임으로부터 번역되는 단백질 수준에 유익한 영향을 미친다는 것이 입증되었다. (*Holtkamp et al.*, 2006, Blood, vol. 108, pp. 4009-4017).

[0509] 폴리(A) 시퀀스는 임의의 길이일 수 있다. 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상 및 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 A 뉴클레오타이드, 특히 약 120개의 A 뉴클레오타이드를 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 이로 이루어진된다. 이러한 맥락에서, "본질적으로 ~로 이루어진다"는 폴리(A) 서열에서 대부분의 뉴클레오타이드, 전형적으로 폴리(A) 서열 내 뉴클레오타이드 수로 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도

95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%가 A 뉴클레오타이드이지만 나머지 뉴클레오타이드가 A 뉴클레오타이드 이외의 뉴클레오타이드, 예컨대 U 뉴클레오타이드 (우리딜레이트), G 뉴클레오타이드 (구아닐레이트), 또는 C 뉴클레오타이드 (시티딜레이트)임을 허용함을 의미한다. 이러한 맥락에서, "이루어진다"는 폴리(A) 서열 내 모든 뉴클레오타이드, 즉 폴리(A) 서열 내 뉴클레오타이드 수로 100%가 A 뉴클레오타이드임을 의미한다. 용어 "A 뉴클레오타이드" 또는 "A"는 아데닐레이트를 의미한다.

[0510] 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은, 코딩 가닥에 상보적인 가닥 내 반복된 dT 뉴클레오타이드 (데옥시티미딜레이트)를 포함하는 DNA 주형에 기초하여, RNA 전사 동안, 예를 들어 시험관내 전사된 RNA의 제조 동안 부착된다. 폴리(A) 서열을 인코딩하는 DNA 서열 (코딩 가닥) 폴리(A) 카세트로 지칭된다.

[0511] 일부 구체예에서, DNA의 코딩 가닥에 존재하는 폴리(A) 카세트는 본질적으로 dA 뉴클레오타이드로 이루어지지만, 4가지 뉴클레오타이드 (dA, dC, dG 및 dT)의 무작위 서열에 의해 단절된다. 이러한 무작위 서열은 길이가 5 내지 50개, 10 내지 30개, 또는 10 내지 20개 뉴클레오타이드일 수 있다. 이러한 카세트는 WO 2016/005324 A1에 개시되어 있으며, 이는 본원에 참조로서 포함된다. WO 2016/005324 A1에 개시된 임의의 폴리(A) 카세트가 본 발명에서 사용될 수 있다. 본질적으로 dA 뉴클레오타이드로 이루어지지만 4가지 뉴클레오타이드 (dA, dC, dG, dT)의 동일한 분포를 갖고 예를 들어 5 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 무작위 서열에 의해 단절된 폴리(A) 카세트는, DNA 수준에서, E. coli 내 플라스미드 DNA의 일정한 전파를 보여주며, RNA 수준에서, RNA 안정성 및 번역 효율을 지지함과 관련된 유익한 특성과 여전히 연관되어 있다. 결과적으로, 일부 구체예에서, 본원에 기재되는 RNA 분자에 함유된 폴리(A) 서열은 본질적으로 A 뉴클레오타이드로 이루어지지만, 4가지 뉴클레오타이드 (A, C, G, U)의 무작위 서열에 의해 단절된다. 이러한 무작위 서열은 길이가 5 내지 50개, 10 내지 30개, 또는 10 내지 20개 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0512] 일부 구체예에서, A 뉴클레오타이드 이외의 어떤 뉴클레오타이드도 그의 3'-말단에서 폴리(A) 서열의 측면으로 위치하지 않으며, 즉, 폴리(A) 서열은 그의 3'-말단에서 A 이외의 뉴클레오타이드에 의해 가려지거나 이어지지 않는다.

[0513] 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상 및 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상 및 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 뉴클레오타이드로 본질적으로 이루어질 수 있다. 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 80개 이상, 또는 100개 이상 및 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 또는 150개 이하의 뉴클레오타이드로 이루어질 수 있다. 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은 100개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은 약 150개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리(A) 서열은 약 120개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0514] 일부 구체예에서, RNA는 SEQ ID NO: 14의 뉴클레오타이드 서열, 또는 SEQ ID NO: 14의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0515] 특히 바람직한 폴리(A) 서열은 SEQ ID NO: 14의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0516] 본 개시내용에 따르면, 백신 항원은 바람직하게는 RNA가 투여되는 대상체의 세포에 들어갈 때 각각의 단백질로 번역되는 단일 가닥, 5' 캡핑된 mRNA로서 투여된다. 바람직하게는, RNA는 안정성 및 번역 효율과 관련하여 RNA의 최대 효능을 위해 최적화된 구조적 요소를 함유한다(5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 폴리(A) 서열).

[0517] 일 구체예에서, 베타-S-ARCA(D1)는 RNA의 5'-말단에서 특정 캡핑 구조로서 이용된다. 일 구체예에서, $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$는 RNA의 5'-말단에서 특정 캡핑 구조로서 이용된다. 일 구체예에서, 5'-UTR 서열은 인간 알파-글로빈 mRNA로부터 유도되고 선택적으로 번역 효율을 증가시키기 위해 최적화된 'Kozak 서열'을 갖는다. 일 구체예에서, "스플릿의 아미노 말단 인핸서"(AES) mRNA(F로 불림) 및 미토콘드리아 인코딩된 12S 리보솜 RNA(I로 불림)로부터 유도된 2개의 서열 요소(FI 요소)의 조합은 코딩 서열과 폴리(A) 서열 사이에 배치되어 더 높은 최대 단백질 수준과 mRNA의 장기간 지속성을 보장하다. 일 구체예에서, 인간 베타-글로빈 mRNA로부터 유래된 2개의 반복된 3'-UTR은 코딩 서열과 폴리(A) 서열 사이에 배치되어 더 높은 최대 단백질 수준 및 mRNA의 장기간 지속성을 보장한다. 일 구체예에서, 30개 아데노신 잔기의 스트레치에 이어서 10개 뉴클레오타이드 링커 서열 및 또 다른 70개 아데노신 잔기로 이루어진 110개 뉴클레오타이드 길이의, 폴리(A) 서열이 사용된다. 이 폴리(A) 서열은 RNA 안정성과 번역 효율을 향상시키도록 설계되었다.

[0518] 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 백신 항원을 제공하도록 처리된 대상체의 세포에서 발현된다. 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, RNA는 대상체의 세포에서 일시적으로 발현된다. 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, RNA는 시험관내에서 전사된 RNA이다. 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, 백신 항원의 발현은 세포 표면에서 일어난다. 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, 백신 항원은 MHC와 관련하여 발현 및 제시된다. 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, 백신 항원의 발현은 세포외 공간으로, 즉 백신 항원이 분비된다.

[0519] 본 발명의 맥락에서, 용어 "전사"는 DNA 서열의 유전자 코드가 RNA로 전사되는 과정에 관한 것이다. 그 후, RNA는 펩타이드 또는 단백질로 번역될 수 있다.

[0520] 본 발명에 따르면, 용어 "전사"는 "시험관내 전사"를 포함하고, 여기서 용어 "시험관내 전사"는, RNA, 특히 mRNA가 무세포 (cell-free) 시스템 내에서, 바람직하게는 적절한 세포 추출물을 사용하여 시험관내 합성되는, 과정에 관한 것이다. 바람직하게는, 클로닝 벡터는 전사체 생성에 적용된다. 이러한 클로닝 벡터는 일반적으로 전사 벡터로 칭해되며 본 발명에 따라 용어 "벡터"에 포함된다. 본 발명에 따르면, 본 발명에서 사용되는 RNA는 바람직하게는 시험관내 전사된 RNA (IVT-RNA)이고 적절한 DNA 주형의 시험관내 전사에 의해 수득될 수 있다. 전사를 제어하기 위한 프로모터는 임의의 RNA 폴리머라제에 대한 임의의 프로모터일 수 있다. RNA 폴리머라제의 특정 예는 T7, T3 및 SP6 RNA 폴리머라제이다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 시험관내 전사는 T7 또는 SP6 프로모터에 의해 조절된다. 시험관내 전사를 위한 DNA 주형은 핵산, 특히 cDNA를 클로닝하고 그것을 시험관내 전사를 위한 적절한 벡터에 도입함으로써 얻을 수 있다. cDNA는 RNA의 역전사에 의해 얻어질 수 있다.

[0521] RNA와 관련하여, 용어 "발현" 또는 "번역"은 그에 의하여 mRNA 가닥이 펩타이드 또는 단백질을 만들기 위한 아미노산 서열의 조립을 지시하는 세포의 리보솜에서의 과정에 관한 것이다.

[0522] 일 구체예에서, 예를 들어 RNA 지질 입자로서 제형화된, 본원에 기재된 RNA의 투여 후, RNA의 적어도 일부는 표적 세포에 전달된다. 일 구체예에서, RNA의 적어도 일부는 표적 세포의 세포질로 전달된다. 일 구체예에서, RNA는 표적 세포에 의해 번역되어 그것이 인코딩하는 펩타이드 또는 단백질을 생성한다. 부 구체예에서, 표적 세포는 비장 세포이다. 일 구체예에서, 표적 세포는, 비장의 전문적 항원 제시 세포와 같은 항원 제시 세포이다. 일 구체예에서, 표적 세포는 수지상 세포 또는 대식세포이다. 본원에 기재된 RNA 지질 입자와 같은 RNA 입자는 RNA를 이러한 표적 세포에 전달하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한, 본원에 기재된 RNA 입자를 대상체에 투여하는 것을 포함하는 대상체의 표적 세포에 RNA를 전달하는 방법에 관한 것이다. 일 구체예에서, RNA는 표적 세포의 세포질로 전달된다. 일부 구체예에서, RNA는 표적 세포에 의해 번역되어 그 RNA에 의해 인코딩되는 펩타이드 또는 단백질을 생성한다.

[0523] "인코딩"은, 생물학적 과정에서, 정의된 뉴클레오타이드 서열 (즉, rRNA, tRNA 및 mRNA)이나 정의된 아미노산 서열, 그리고 그로부터 생성되는 생물학적 특성을 갖는 다른 폴리머 및 거대분자의 합성을 위한 주형으로서의 역할을 하는 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 유전자, cDNA 또는 mRNA 내 특정한 뉴클레오타이드 서열의 고유한 특성을 말한다. 따라서, 유전자는, 그 유전자에 대응하는 mRNA의 전사 및 번역이 세포 또는 다른 생물학적 시스템에서 단백질을 생성하는 경우, 그 단백질을 인코딩하는 것이다. 그의 뉴클레오타이드 서열이 mRNA 서열과 동일하고 일반적으로 서열 목록으로 제공되는 코딩 가닥과, 유전자 또는 cDNA의 전사를 위한 주형으로 사용되는 비-코딩 가닥 양자 모두가 그 유전자 또는 cDNA의 단백질 또는 기타 산물로 일컬어질 수 있다.

[0524] 일 구체예에서, 본 발명에 따라 투여될 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 비-면역원성이다. 면역자극제를 인코딩하는 RNA는 아쥬반트 효과를 제공하기 위해 본 발명에 따라 투여될 수 있다. 면역자극제를 인코딩하는 RNA는 표준 RNA 또는 비면역원성 RNA일 수 있다.

[0525] 본원에 사용된 용어 "비면역원성 RNA"는 예를 들어 포유동물에 투여시 면역계에 의한 반응을 유도하지 않거나, 상기 비면역원성 RNA를 비면역원성으로 만드는 변형 및 처리를 받지 않았다는 점에서만 다른 동일한 RNA에 의해 유도되었을 것보다, 즉 표준 RNA (stdRNA)에 의해 유도되었을 것보다 약한 반응을 유도하는 RNA를 지칭한다. 하나의 바람직한 구체예에서, 본원에서 변형된 RNA (modRNA)라고도 하는 비-면역원성 RNA는 선천성 면역 수용체의 RNA-매개 활성화를 억제하는 변형된 뉴클레오사이드를 상기 RNA에 혼입하고 이중 가닥 RNA (dsRNA)를 제거함으로써 비면역원성이 된다.

[0526] 변형된 뉴클레오사이드의 혼입에 의해 비면역원성 RNA를 비면역원성으로 만들기 위해, 그것이 RNA의 면역원성을 낮추거나 억제하는 한 어떠한 변형된 뉴클레오사이드라도 사용될 수 있다. 선천성 면역 수용체의 RNA-매개 활성화를 억제하는 변형된 뉴클레오사이드가 특히 바람직하다. 일 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드는 하나 이상

의 우리딘을 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오사이드로 대체하는 것을 포함한다. 일 구체예에서, 변형된 핵염기는 변형된 우라실이다. 일 구체예에서, 상기 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오사이드는 3-메틸-우리딘 (m^3U), 5-메톡시-우리딘 (mo^5U), 5-아자-우리딘, 6-아자-우리딘, 2-티오-5-아자-우리딘, 2-티오-우리딘 (s^2U), 4-티오-우리딘 (s^4U), 4-티오-슈도우리딘, 2-티오-슈도우리딘, 5-하이드록시-우리딘 (ho^5U), 5-아미노알릴-우리딘, 5-할로-우리딘 (예컨대, 5-요오도-우리딘 또는 5-브로모-우리딘), 우리딘 5-옥시아세트산 (cmo^5U), 우리딘 5-옥시아세트산 메틸 에스터 ($mcmo^5U$), 5-카르복시메틸-우리딘 (cm^5U), 1-카르복시메틸-슈도우리딘, 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘 (chm^5U), 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘 메틸 에스터 ($mchm^5U$), 5-메톡시카르보닐메틸-우리딘 (mcm^5U), 5-메톡시카르보닐메틸-2-티오-우리딘 (mcm^5s^2U), 5-아미노메틸-2-티오-우리딘 (nm^5s^2U), 5-메틸아미노메틸-우리딘 (mnm^5U), 1-에틸-슈도우리딘, 5-메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 (mnm^5s^2U), 5-메틸아미노메틸-2-셀레노-우리딘 (mnm^5se^2U), 5-카르바모일메틸-우리딘 (ncm^5U), 5-카르복시메틸아미노메틸-우리딘 ($cmnm^5U$), 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오-우리딘 ($cmnm^5s^2U$), 5-프로피닐-우리딘, 1-프로피닐-슈도우리딘, 5-토리노메틸-우리딘 (τm^5U), 1-토리노메틸-슈도우리딘, 5-토리노메틸-2-티오-우리딘($\tau m5s2U$), 1-토리노메틸-4-티오-슈도우리딘), 5-메틸-2-티오-우리딘 (m^5s^2U),1-메틸-4-티오-슈도우리딘 ($m^1s^4\Psi$), 4-티오-1-메틸-슈도우리딘, 3-메틸-슈도우리딘 ($m^3\Psi$), 2-티오-1-메틸-슈도우리딘, 1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 디하이드로우리딘 (D), 디하이드로슈도우리딘, 5,6-디하이드로우리딘, 5-메틸-디하이드로우리딘 (m^5D), 2-티오-디하이드로우리딘, 2-티오-디하이드로슈도우리딘, 2-메톡시-우리딘, 2-메톡시-4-티오-우리딘, 4-메톡시-슈도우리딘, 4-메톡시-2-티오-슈도우리딘, N1-메틸-슈도우리딘, 3-(3-아미노-3-카르복시프로필)우리딘 (acp^3U), 1-메틸-3-(3-아미노-3-카르복시프로필)슈도우리딘 ($acp^3\Psi$), 5-(이소펜테닐아미노메틸)우리딘 (inm^5U),5-(이소펜테닐아미노메틸)-2-티오-우리딘 (inm^5s^2U),α-티오-우리딘, 2'-O-메틸-우리딘 (Um), 5,2'-O-디메틸-우리딘 (m^5Um),2'-O-메틸-슈도우리딘 (Ψm), 2-티오-2'-O-메틸-우리딘 (s^2Um),5-메톡시카르보닐메틸-2'-O-메틸-우리딘 (mcm^5Um), 5-카르바모일메틸-2'-O-메틸-우리딘 (ncm^5Um), 5-카르복시메틸아미노메틸-2'-O-메틸-우리딘 ($cmnm^5Um$), 3,2'-O-디메틸-우리딘 (m^3Um), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2'-O-메틸-우리딘 (inm^5Um), 1-티오-우리딘, 데옥시티미딘, 2'-F-아라-우리딘, 2'-F-우리딘, 2'-OH-아라-우리딘, 5-(2-카보메톡시비닐) 우리딘, 및 5-[3-(1-E-프로페닐아미노)우리딘으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 한 가지 특정한 구체예에서, 상기 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오사이드는 슈도우리딘 (Ψ), N1-메틸-슈도우리딘 (m1Ψ) 또는 5-메틸-우리딘 (m5U), 특히 N1-메틸-슈도우리딘이다.

[0527] 일 구체예에서, 하나 이상의 우리딘을 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오사이드로 교체하는 것은 상기 우리딘의 적어도 1%, 적어도 2%, 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 25%, 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 교체를 포함한다. T7 RNA 폴리머라제를 사용하는 시험관내 전사 (IVT)에 의한 mRNA 합성 동안, 효소의 비통상적 활성으로 인해 이중 가닥 RNA (dsRNA)를 포함한 상당한 양의 비정상적인 산물이 생성된다. dsRNA는 염증성 사이토카인을 유도하고 효과자 효소를 활성화하여 단백질 합성 억제를 유도한다. dsRNA는 예를 들어, 비-다공성 또는 다공성 C-18 폴리스티렌-디비닐벤젠 (PS-DVB) 매트릭스를 사용하는 이온-쌍 역상 HPLC에 의해, IVT RNA와 같은 RNA로부터 제거될 수 있다. 혹은, dsRNA를 특이적으로 가수분해하지만 ssRNA는 가수분해하지 않는 E. coli RNaseIII를 사용하는 효소 기반 방법을 사용하여, IVT RNA 제조물에서 dsRNA 오염물질을 제거할 수 있다. 또한, dsRNA는 셀룰로오스 물질을 사용하여 ssRNA로부터 분리될 수 있다. 일 구체예에서, RNA 제조물은 셀룰로오스 물질과 접촉되고 ssRNA는 셀룰로오스 물질에 대한 dsRNA의 결합을 허용하고 셀룰로오스 물질에 대한 ssRNA의 결합은 허용하지 않는 조건 하에 셀룰로오스 물질로부터 분리된다.

[0528] 본원에 사용된 용어 "제거하다" 또는 "제거"는 dsRNA와 같은 제2 물질 집단의 근접성으로부터 분리되는, 비-면역원성 RNA와 같은 제1 물질 집단의 특성을 지칭하는데, 여기서 제1 물질 집단에 반드시 제2 물질이 없는 것은 아니며, 제2 물질의 집단에 반드시 제1 물질이 없는 것은 아니다. 그러나, 제2 물질 집단의 제거를 특징으로 하는 제1 물질 집단은, 제1 및 제2 물질의 분리되지 않은 혼합물과 비교하여 측정상 더 낮은 제2 물질 함량을 갖는다.

[0529] 일 구체예에서, 비-면역원성 RNA로부터 dsRNA의 제거는, 상기 비면역원성 RNA 조성물 중 RNA의 10% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만, 0.3% 미만, 또는 0.1% 미만이 dsRNA도록, dsRNA의 제거를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 비-면역원성 RNA에는 dsRNA가 없거나 본질적으로 없다. 일 구체예에서, 비-면역원성 RNA 조성물은 단일 가닥 뉴클레오사이드 변형 RNA의 정제된 제조물을 포함한다. 예를 들어, 일 구체예에서, 단일 가닥 뉴클레오사이드 변형 RNA의 정제된 제조물에는 이중 가닥 RNA (dsRNA)가 실질적으로 없다. 일 구체예에서, 정제된 제조물은, 다른 모든 핵산 분자 (DNA, dsRNA 등)에 비해 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상, 또는 99.9% 이상의 단일 가닥 뉴클레오사이드 변형된 RNA이다.

[0530] 일 구체예에서, 비-면역원성 RNA는 동일한 서열을 갖는 표준 RNA보다 세포에서 더 효율적으로 번역된다. 일 구체예에서, 번역은 변형되지 않은 카운터파트에 비해 2배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 3배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 4배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 5배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 6배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 7배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 8배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 9배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 10배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 15배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 20배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 50배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 100배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 200배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 500배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 1000배로 향상된다. 일 구체예에서, 번역은 2000배로 향상된다. 일 구체예에서, 인자는 10-1000배이다. 일 구체예에서, 인자는 10-100배이다. 일 구체예에서, 인자는 10-200배이다. 일 구체예에서, 인자는 10-300배이다. 일 구체예에서, 인자는 10-500배이다. 일 구체예에서, 인자는 20-1000배이다. 일 구체예에서, 인자는 30-1000배이다. 일 구체예에서, 인자는 50-1000배이다. 일 구체예에서, 인자는 100-1000배이다. 일 구체예에서, 인자는 200-1000배이다. 일 구체예에서, 번역은 임의의 다른 상당한 양 또는 범위량으로 향상된다.

[0531] 일 구체예에서, 비-면역원성 RNA는 동일한 서열을 갖는 표준 RNA보다 상당히 덜 선천성 면역원성을 나타낸다. 일 구체예에서, 비-면역원성 RNA는 그의 비변형 카운터파트보다 2배 더 적은 선천성 면역 반응을 나타낸다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 3배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 4배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 5배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 6배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 7배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 8배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 9배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 10배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 15배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 20배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천적 면역원성은 50배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 100배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 200배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 500배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 1000배로 감소된다. 일 구체예에서, 선천성 면역원성은 2000배로 감소된다.

[0532] "상당히 덜 선천적 면역원성을 나타낸다"는 용어는 선천성 면역원성의 검출가능한 감소를 지칭한다. 일 구체예에서, 상기 용어는 검출가능한 선천성 면역 반응을 촉발하지 않고 유효량의 비-면역원성 RNA가 투여될 수 있도록 하는 감소를 지칭한다. 일 구체예에서, 상기 용어는 비-면역원성 RNA에 의해 인코딩되는 단백질의 생산을 검출가능하게 감소시키기에 충분한 선천적 면역 반응을 유도하지 않으면서 비-면역원성 RNA가 반복적으로 투여될 수 있도록 하는 감소를 지칭한다. 일 구체예에서, 상기 감소는 비-면역원성 RNA가 상기 비-면역원성 RNA에 의해 인코딩되는 단백질의 검출가능한 생산을 제거하기에 충분한 선천적 면역 반응을 유도하지 않고 반복적으로 투여될 수 있도록 한다. "면역원성"은 RNA와 같은 이물질이 인간이나 다른 동물의 신체에서 면역 반응을 유발하는 능력이다. 선천적 면역계는 상대적으로 비특이적이고 즉각적인 면역 체계의 구성 요소이다. 이는, 적응 면역계와 함께 척추동물 면역 체계의 두 가지 주요 구성 요소 중 하나이다.

[0533] 본원에 사용되는 바 "내인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로부터 또는 그 내부에서 생성되는 임의의 물질을 지칭한다.

[0534] 본원에 사용되는 바 용어 "외인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로부터 도입되거나 그 외부에서 생성되는 임의의 물질을 지칭한다.

[0535] 본원에 사용되는 바 용어 "발현"은 특정 뉴클레오타이드 서열의 전사 및/또는 번역으로 정의된다.

[0536] 본원에 사용되는 바 용어 "연결된", "융합된" 또는 "융합"은 상호교환적으로 사용된다. 이들 용어는 둘 이상의 요소 또는 구성 요소 또는 도메인을 함께 결합하는 것을 나타낸다.

[0537] **코돈-최적화된 / G/C 함량 증가**

[0538] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열은 코돈-최적화되고/되거나 야생형 코딩 서열과 비교하여 증가된 G/C 함량을 갖는 코딩 서열에 의해 인코딩된다. 이것은 또한 코딩 서열의 하나 이상의 서열 영역이 야생형 코딩 서열의 상응하는 서열 영역과 비교하여 G/C 함량에서 코돈-최적화된 및/또는 증가된 구체예를 포함한다. 일 구체예에서, 코돈-최적화된 및/또는 G/C 함량의 증가는 바람직하게는 인코딩된 아미노산 서열의 서열을 변화시키지 않는다.

[0539] "코돈-최적화된"이라는 용어는, 바람직하게는 핵산 분자에 의해 인코딩되는 아미노산 서열을 변경하지 않으면서, 숙주 유기체의 전형적인 코돈 사용을 반영하도록 상기 핵산 분자의 코딩 영역에서의 코돈의 변경을 지칭하는 것으로 당업자에 의해 이해된다. 본 발명의 맥락 내에서, 코딩 영역은 바람직하게는 본원에 개시되는 RNA 분자를 사용하여 치료될 대상체에서 최적의 발현을 위해 코돈-최적화된다. 코돈-최적화는 번역 효율이 또한 세포의 tRNA의 상이한 발생 빈도에 따라 결정된다는 발견을 기반으로 한다. 따라서, RNA의 서열은 "희귀 코돈" 대신에 빈번하게 존재하는 tRNA가 이용가능한 코돈이 삽입되도록 변형될 수 있다.

[0540] 본 발명의 일부 구체예에서, 본원에 설명된 RNA의 코딩 영역의 구아노신/시토신 (G/C) 함량은 야생형 RNA의 상응하는 코딩 서열의 G/C 함량과 비교하여 증가되고, 여기서 상기 RNA에 의해 인코딩되는 아미노산 서열은 바람직하게는 상기 야생형 RNA에 의해 인코딩되는 아미노산 서열과 비교하여 변형되지 않는다. RNA 서열의 이러한 변형은 번역될 임의의 RNA 영역의 서열이 그 mRNA의 효율적인 번역에 중요하다는 사실에 기초한다. 증가된 G(구아노신)/C(시토신) 함량을 갖는 서열은 증가된 A(아데노신)/U(우라실) 함량을 갖는 서열보다 더 안정하다. 여러 코돈이 하나의 그리고 동일한 아미노산을 코딩한다는 사실 (소위 유전자 코드의 축퇴)과 관련하여, 안정성에 가장 유리한 코돈을 결정할 수 있다 (소위 대체 코돈 사용). RNA에 의해 인코딩되는 아미노산에 따라, RNA 서열의 변형 가능성은 그 야생형 서열에 비해 다양하다. 특히, A 및/또는 U 뉴클레오타이드를 포함하는 코돈은, 동일한 아미노산을 코딩하지만 A 및/또는 U를 포함하지 않거나 더 낮은 함량의 A 및/또는 U 뉴클레오타이드를 포함하는 다른 코돈으로 이러한 코돈을 대체함으로써 변형될 수 있다.

[0541] 다양한 구체예에서, 본원에 기재된 RNA의 코딩 영역의 G/C 함량은 야생형 RNA의 코딩 영역의 G/C 함량과 비교하여 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 또는 그 이상으로 증가된다.

[0542] **구체예 of administered RNAs**

[0543] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물 또는 의약 제조물은 SARS-CoV-2 S 단백질, 그의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 RNA를 포함한다. 마찬가지로, 본원에 기재된 방법은 이러한 RNA의 투여를 포함한다.

[0544] 여기에서 사용하기 위한 활성 플랫폼은 강력한 중화 항체를 유도하기 위한 항원-코딩 RNA 백신 및 바람직하게는 최소 백신 용량으로 보호 면역화를 달성하기 위한 동반/수반 T 세포 반응을 기반으로 하다. 투여되는 RNA는 바람직하게는 시험관내 전사된 RNA이다.

[0545] 3 가지 상이한 RNA 플랫폼, 즉 변형되지 않은 우리딘 함유 mRNA(uRNA), 뉴클레오사이드 변형된 mRNA(modRNA) 및 자가 증폭 RNA(saRNA)가 특히 바람직하다. 특히 바람직한 일 구체예에서, RNA는 시험관내에서 전사된 RNA이다.

[0546] 본 명세서에 기술된 바와 같이, 이들 플랫폼 각각의 구체예가 본 명세서에서 평가되며(예를 들어 실시예 2 참조), 신속한 백신 개발을 위한 신규하고 강력한 접근법 및 시스템을 나타낸다. 이 기술된 접근 방식 및 시스템은 놀랍고 효율적인 성공을 달성하여 항원(예컨대 SARS-CoV-2 S1 단백질 및/또는 이의 RBD) 서열(본원에 기술된 관련 서열 정보, (예컨대 GenBank: MN908947.3)는 2020년 1월에 제공되었다. 이 설명된 접근 방식 및 시스템에 구현된 통찰력 및 이점에는 예를 들어 신속하고 효율적이며 효과적인 개발을 달성하기 위해 서로 다른 전략의 하나 이상의 기능을 직접 비교할 수 있는 기능이 포함된다. 무엇보다도, 본 개시내용은 백신 개발을 위한 보다 일반적인 전략으로 문제의 원인을 식별하는 통찰력을 포함한다. 또한, 여기에 포함된 발견 사항은 특히 신속한 백신 개발과 특히 대유행 상황에서 특별한 이점이 있는 다양한 이점과 이점을 확립하다.

[0547] 본원에 기재된 바와 같이, 일부 구체예에서, 백신 후보는 인코딩된 항원(예를 들어, S1 단백질) 또는 그의 일부(예를 들어, RBD)에 대한 모델 유기체(예를 들어, 마우스; 예를 들어, 실시예 2 참조)에서 유도된 항체의 역가에 대해 평가된다. 일부 구체예에서, 유도된 항체의 슈도바이러스 중화(예를 들어, 실시예 2 참조) 활성에 대해 백신 후보를 평가한다. 일부 구체예에서, 백신 후보는 유도된 T 세포 반응의 성질에 대해 특성화된다(예를 들어, TH_1 대 TH_2 특징; 예를 들어, 실시예 4 참조). 일부 구체예에서, 백신 후보는 하나 초과의 모델 유기체에

서 평가된다(예를 들어, 실시예 2, 실시예 4 등 참조).

[0548] 다음에서, 이들 3가지 상이한 RNA 플랫폼의 실시예가 기술되며, 그 요소를 설명할 때 사용되는 특정 용어는 다음과 같은 의미를 갖는다:

[0549] **S1S2 단백질/S1S2 RBD:** ARS-CoV-2의 각 항원을 인코딩하는 서열.

[0550] **nsP1, nsP2, nsP3 및 nsP4:** 베네수엘라 말 뇌염 바이러스(VEEV) RNA 의존성 RNA 폴리머라제 레플리카제 및 서브게놈 프로모터와 복제 및 번역을 지원하는 보존된 시퀀스 요소를 인코딩하는 야생형 시퀀스.

[0551] **virUTR:** 서브게놈 프로모터의 일부와 복제 및 번역 지원 서열 요소를 인코딩하는 바이러스 비번역 영역.

[0552] **hAg-Kozak:** 5'-UTR 번역 효율을 높이기 위해 최적화된 'Kozak 서열'을 갖는 인간 알파-글로빈 mRNA의 5'-UTR 서열.

[0553] **Sec:** Sec은 내인성 S1S2 단백질 분비 신호 펩타이드(sec)에 해당하며, 이는 초기 폴리펩타이드 사슬의 소포체로의 전좌를 가이드한다.

[0554] **글리신-세린 링커 (GS):** 융합 단백질에 일반적으로 사용되는 아미노산 글리신(G) 및 세린(S)으로 주로 구성된 짧은 링커 펩타이드를 코딩하는 서열.

[0555] **피브리틴:** 인공 삼량체화 도메인으로 사용되는, T4 피브리틴(폴돈)의 부분 서열.

[0556] **TM:** TM 서열은 S1S2 단백질의 막관통 부분에 해당한다.

[0557] **FI 요소:** 3'-UTR은 "AES(amino terminal enhancer of split)" mRNA(F라고 함)와 미토콘드리아에 인코딩된 12S 리보솜 RNA(I라고 함)에서 유래된 2 가지 서열 요소의 조합이다. 이들은 RNA 안정성을 부여하고 총 단백질 발현을 증가시키는 서열에 대한 생체외 선택 과정에 의해 확인되었다.

[0558] **A30L70:** 길이가 110개 뉴클레오타이드인 폴리(A)-꼬리로서, 30개 아데노신 잔기의 스트레치, 뒤이어 10개 뉴클레오타이드 링커 서열 및 수지상 세포에서 RNA 안정성 및 번역 효율을 향상시키도록 설계된 또 다른 70개 아데노신 잔기로 구성된다.

[0559] 일반적으로, 본원에 기재된 백신 RNA는 5'에서 3'으로 다음 구조 중 하나를 포함할 수 있다:

[0560] Cap-5'-UTR-백신 항원-인코딩 서열-3'-UTR-폴리(A)

[0561] 또는

[0562] 베타-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-백신 항원 인코딩 서열-FI-A30L70.

[0563] 일반적으로, 본원에 기재된 백신 항원은 N-말단에서 C-말단으로 다음 구조 중 하나를 포함할 수 있다:

[0564] 신호 서열-RBD-삼량체화 도메인

[0565] 또는

[0566] 신호 서열-RBD-삼량체화 도메인-막관통 도메인.

[0567] RBD 및 삼량체화 도메인은 링커, 특히 아미노산 서열 GSPGSGSGS를 갖는 링커와 같은 GS 링커에 의해 분리될 수 있다. 삼량체화 도메인 및 막관통 도메인은 링커, 특히 아미노산 서열 GSGSGS를 갖는 링커와 같은 GS 링커에 의해 분리될 수 있다.

[0568] 신호 서열은 여기에 설명된 신호 서열일 수 있다. RBD는 본 명세서에 기재된 바와 같은 RBD 도메인일 수 있다. 삼량체화 도메인은 본원에 기술된 삼량체화 도메인일 수 있다. 막관통 도메인은 본원에 기재된 바와 같은 막관통 도메인일 수 있다.

[0569] 일 구체예에서,

[0570] 신호 서열은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16 또는 1 내지 19의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열, 또는 이 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고,

[0571] RBD는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열, 또는 이 아미노산 서열에 대해 적어도 99%,

98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며,

[0572] 삼량체화 도메인은 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열, 또는 이 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고,

[0573] 막관통 도메인은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열, 또는 이 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0574] 일 구체예에서,

[0575] 신호 서열은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1 내지 16 또는 1 내지 19의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 1 내지 22의 아미노산 서열을 포함하고,

[0576] RBD는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 327 내지 528의 아미노산 서열을 포함하며,

[0577] 삼량체화 도메인은 SEQ ID NO: 10의 아미노산 3 내지 29의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하고;

[0578] 막관통 도메인은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 1207 내지 1254의 아미노산 서열을 포함한다.

[0579] 전술한 RNA 또는 전술한 백신 항원을 코딩하는 RNA는 변형되지 않은 우리딘 함유 mRNA(uRNA), 뉴클레오사이드 변형된 mRNA(modRNA) 또는 자가-증폭 RNA(saRNA)일 수 있다. 일 구체예에서, 전술한 RNA 또는 전술한 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 mRNA(modRNA)이다.

[0580] 변형되지 않은 우리딘 메신저 RNA(uRNA)

[0581] 변형되지 않은 메신저 RNA(uRNA) 약물의 활성 성분은 세포에 유입시 번역되는 단일 가닥 mRNA이다. 코로나바이러스 백신 항원을 인코딩하는 서열(즉, 오픈 리딩 프레임)에 추가하여, 각각의 uRNA는 안정성 및 번역 효율과 관련하여 RNA의 최대 효능을 위해 최적화된 공통 구조 요소를 함유하는 것이 바람직하다(5'-캡, 5'-UTR, 3 '-UTR, 폴리(A)-꼬리). 바람직한 5' 캡 구조는 베타-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'-O}$GppSpG)이다. 바람직한 5'-UTR 및 3'-UTR은 각각 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열 및 SEQ ID NO: 13의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 바람직한 폴리(A)-꼬리는 SEQ ID NO: 14의 서열을 포함한다.

[0582] 이 플랫폼의 다른 구체예는 다음과 같다:

[0583] **RBL063.1 (SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 7)**

[0584] 구조 베타-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

[0585] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의 바이러스

[0586] 스파이크 단백질(S1S2 단백질)

[0587] **RBL063.2 (SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 7)**

[0588] 구조 베타-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

[0589] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의 바이러스 스파이크 단백질 (S1S2 단백질)

[0590] **BNT162a1; RBL063.3 (SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 5)**

[0591] 구조 베타-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-RBD-GS-피브리틴-FI-A30L70

[0592] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(S1S2 전장 단백질의 부분 서열, 수용체 결합 도메인(RBD))

[0593] 도 19는 항원을 인코딩하는 RNA의 일반적인 구조를 도식화한 도면이다.

[0594] **RBL063.1의 뉴클레오타이드 서열**

[0595] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

[0596]

```
         10         20         30         40         50  52
GGGCGAACUA GUAUUCUUCU GGUCCCCACA GACUCAGAGA GAACCCGCCA CC
```

hAg-Kozak

```
         62         72         82         92        102        112
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGAA UUUGACAACA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   N  L  T  T
```

S 단백질

```
        122        132        142        152        162        172
AGAACACAGC UGCCACCAGC UUAUACAAAU UCUUUUACCA GAGGAGUGUA UUAUCCUGAU
  R  T  Q   L  P  P   A  Y  T  N   S  F  T   R  G  V   Y  Y  P  D
```

S 단백질

```
        182        192        202        212        222        232
AAAGUGUUUA GAUCUUCUGU GCUGCACAGC ACACAGGACC UGUUUCUGCC AUUUUUUAGC
  K  V  F   R  S  S   V  L  H  S   T  Q  D   L  F  L   P  F  F  S
```

S 단백질

```
        242        252        262        272        282        292
AAUGUGACAU GGUUUCAUGC AAUUCAUGUG UCUGGAACAA AUGGAACAAA AAGAUUUGAU
  N  V  T   W  F  H   A  I  H  V   S  G  T   N  G  T   K  R  F  D
```

S 단백질

```
        302        312        322        332        342        352
AAUCCUGUGC UGCCUUUUAA UGAUGGAGUG UAUUUUGCUU CAACAGAAAA GUCAAAUAUU
  N  P  V   L  P  F   N  D  G  V   Y  F  A   S  T  E   K  S  N  I
```

S 단백질

```
        362        372        382        392        402        412
AUUAGAGGAU GGAUUUUUGG AACAACACUG GAUUCUAAAA CACAGUCUCU GCUGAUUGUG
```

I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S 단백질

422 432 442 452 462 472

AAUAAUGCAA CAAAUGUGGU GAUUAAAGUG UGUGAAUUUC AGUUUUGUAA UGAUCCUUUU

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S 단백질

482 492 502 512 522 532

CUGGGAGUGU AUUAUCACAA AAAUAAUAAA UCUUGGAUGG AAUCUGAAUU UAGAGUGUAU

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S 단백질

542 552 562 572 582 592

UCCUCUGCAA AUAAUUGUAC AUUUGAAUAU GUGUCUCAGC CUUUUCUGAU GGAUCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S 단백질

602 612 622 632 642 652

GGAAAACAGG GCAAUUUUAA AAAUCUGAGA GAAUUUGUGU UUAAAAAUAU UGAUGGAUAU

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S 단백질

662 672 682 692 702 712

UUUAAAAUUU AUUCUAAACA CACACCAAUU AAUUUAGUGA GAGAUCUGCC UCAGGGAUUU

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S 단백질

722 732 742 752 762 772

UCUGCUCUGG AACCUCUGGU GGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUAUUACAAG AUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S 단백질

782 792 802 812 822 832

CUGCUGGCUC UGCACAGAUC UUAUCUGACA CCUGGAGAUU CUUCUUCUGG AUGGACAGCC

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

[0597] S 단백질

842 852 862 872 882 892

GGAGCUGCAG CUUAUUAUGU GGGCUAUCUG CAGCCAAGAA CAUUUCUGCU GAAAUAUAAU

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S 단백질

902 912 922 932 942 952

GAAAAUGGAA CAAUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAAACAAAA

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S 단백질

962 972 982 992 1002 1012

UGUACAUUAA AAUCUUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S 단백질

1022 1032 1042 1052 1062 1072

CAGCCAACAG AAUCUAUUGU GAGAUUUCCA AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S 단백질

1082 1092 1102 1112 1122 1132

GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S 단백질

1142 1152 1162 1172 1182 1192

UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S 단백질

1202 1212 1222 1232 1242 1252

GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S 단백질

1262 1272 1282 1292 1302 1312

GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU

[0598] *V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D*

S 단백질

1322 1332 1342 1352 1362 1372

UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S 단백질

1382 1392 1402 1412 1422 1432

UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S 단백질

1442 1452 1462 1472 1482 1492

CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S 단백질

1502 1512 1522 1532 1542 1552

AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S 단백질

1562 1572 1582 1592 1602 1612

AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S 단백질

1622 1632 1642 1652 1662 1672

CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAAUCU ACAAAUUUAG UGAAAAAUAA AUGUGUGAAU

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S 단백질

1682 1692 1702 1712 1722 1732

UUUAAUUUUA AUGGAUUAAC AGGAACAGGA GUGCUGACAG AAUCUAAUAA AAAAUUUCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S 단백질

[0599] 1742 1752 1762 1772 1782 1792

CCUUUUCAGC AGUUUGGCAG AGAUAUUGCA GAUACCACAG AUGCAGUGAG AGAUCCUCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S 단백질

1802 1812 1822 1832 1842 1852

ACAUUAGAAA UUCUGGAUAU UACACCUUGU UCUUUUGGGG GUGUGUCUGU GAUUACACCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S 단백질

1862 1872 1882 1892 1902 1912

GGAACAAAUA CAUCUAAUCA GGUGGCUGUG CUGUAUCAGG AUGUGAAUUG UACAGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S 단백질

1922 1932 1942 1952 1962 1972

CCAGUGGCAA UUCAUGCAGA UCAGCUGACA CCAACAUGGA GAGUGUAUUC UACAGGAUCU

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S 단백질

1982 1992 2002 2012 2022 2032

AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUGUGAA UAAUUCUUAU

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S 단백질

2042 2052 2062 2072 2082 2092

GAAUGUGAUA UUCCAAUUGG AGCAGGCAUU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUUCC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S 단백질

2102 2112 2122 2132 2142 2152

CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUAUUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S 단백질

2162 2172 2182 2192 2202 2212

GCAGAAAAUU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UUCCAACAAA UUUUACCAUU

[0600] A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S 단백질

```
      2222        2232        2242        2252        2262        2272
UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAAA CAUCUGUGGA UUGUACCAUG
  S  V  T   T  E  I   L  P  V  S   M  T  K   T  S  V   D  C  T  M
```

S 단백질

```
      2282        2292        2302        2312        2322        2332
UACAUUUGUG GAGAUUCUAC AGAAUGUUCU AAUCUGCUGC UGCAGUAUGG AUCUUUUUGU
  Y  I  C   G  D  S   T  E  C  S   N  L  L   L  Q  Y   G  S  F  C
```

S 단백질

```
      2342        2352        2362        2372        2382        2392
ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAUU GCUGUGGAAC AGGAUAAAAA UACACAGGAA
  T  Q  L   N  R  A   L  T  G  I   A  V  E   Q  D  K   N  T  Q  E
```

S 단백질

```
      2402        2412        2422        2432        2442        2452
GUGUUUGCUC AGGUGAAACA GAUUUACAAA ACACCACCAA UUAAAGAUUU UGGAGGAUUU
  V  F  A   Q  V  K   Q  I  Y  K   T  P  P   I  K  D   F  G  G  F
```

S 단백질

```
      2462        2472        2482        2492        2502        2512
AAUUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU
  N  F  S   Q  I  L   P  D  P  S   K  P  S   K  R  S   F  I  E  D
```

S 단백질

```
      2522        2532        2542        2552        2562        2572
CUGCUGUUUA AUAAAGUGAC ACUGGCAGAU GCAGGAUUUA UUAAACAGUA UGGAGAUUGC
  L  L  F   N  K  V   T  L  A  D   A  G  F   I  K  Q   Y  G  D  C
```

S 단백질

```
      2582        2592        2602        2612        2622        2632
CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAUU UGUGCUCAGA AAUUUAAUGG ACUGACAGUG
  L  G  D   I  A  A   R  D  L  I   C  A  Q   K  F  N   G  L  T  V
```

S 단백질

[0601]

```
      2642        2652        2662        2672        2682        2692
```

CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAAUGAUU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S 단백질

2702 2712 2722 2732 2742 2752

ACAAUUACAA GCGGAUGGAC AUUUGGAGCU GGAGCUGCUC UGCAGAUUCC UUUUGCAAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S 단백질

2762 2772 2782 2792 2802 2812

CAGAUGGCUU ACAGAUUUAA UGGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUAUA UGAAAAUCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S 단백질

2822 2832 2842 2852 2862 2872

AAACUGAUUG CAAAUCAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAAAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S 단백질

2882 2892 2902 2912 2922 2932

ACAGCUUCUG CUCUGGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S 단백질

2942 2952 2962 2972 2982 2992

ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCAAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUAUU

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S 단백질

3002 3012 3022 3032 3042 3052

CUGUCUAGAC UGGAUCCUCC UGAAGCUGAA GUGCAGAUUG AUAGACUGAU CACAGGAAGA

L S R L D P P E A E V Q I D R L I T G R

S 단백질

3062 3072 3082 3092 3102 3112

CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUUAGAGCU

[0602] *L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A*

S 단백질

```
      3122        3132        3142        3152        3162        3172
UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAAGAGUG
  S  A  N   L  A  A   T  K  M  S   E  C  V   L  G  Q   S  K  R  V
```

S 단백질

```
      3182        3192        3202        3212        3222        3232
GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUGCUCC ACAUGGAGUG
  D  F  C   G  K  G   Y  H  L  M   S  F  P   Q  S  A   P  H  G  V
```

S 단백질

```
      3242        3252        3262        3272        3282        3292
GUGUUUUUAC AUGUGACAUA UGUGCCAGCA CAGGAAAAGA AUUUUACCAC AGCACCAGCA
  V  F  L   H  V  T   Y  V  P  A   Q  E  K   N  F  T   T  A  P  A
```

S 단백질

```
      3302        3312        3322        3332        3342        3352
AUUUGUCAUG AUGGAAAAGC ACAUUUUCCA AGAGAAGGAG UGUUUGUGUC UAAUGGAACA
  I  C  H   D  G  K   A  H  F  P   R  E  G   V  F  V   S  N  G  T
```

S 단백질

```
      3362        3372        3382        3392        3402        3412
CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAAUUUUUAU GAACCUCAGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA
  H  W  F   V  T  Q   R  N  F  Y   E  P  Q   I  I  T   T  D  N  T
```

S 단백질

```
      3422        3432        3442        3452        3462        3472
UUUGUGUCAG GAAAUUGUGA UGUGGUGAUU GGAAUUGUGA AUAAUACAGU GUAUGAUCCA
  F  V  S   G  N  C   D  V  V  I   G  I  V   N  N  T   V  Y  D  P
```

S 단백질

```
      3482        3492        3502        3512        3522        3532
CUGCAGCCAG AACUGGAUUC UUUUAAAGAA GAACUGGAUA AAUAUUUUAA AAAUCACACA
  L  Q  P   E  L  D   S  F  K  E   E  L  D   K  Y  F   K  N  H  T
```

S 단백질

[0603]

```
      3542        3552        3562        3572        3582        3592
```

UCUCCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUAUUUCU GGAAUCAAUG CAUCUGUGGU GAAUAUUCAG
S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S 단백질

3602 3612 3622 3632 3642 3652
AAAGAAAUUG AUAGACUGAA UGAAGUGGCC AAAAAUCUGA AUGAAUCUCU GAUUGAUCUG
K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S 단백질

3662 3672 3682 3692 3702 3712
CAGGAACUUG GAAAAUAUGA ACAGUACAUU AAAUGGCCUU GGUACAUUUG GCUUGGAUUU
Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S 단백질

3722 3732 3742 3752 3762 3772
AUUGCAGGAU UAAUUGCAAU UGUGAUGGUG ACAAUUAUGU UAUGUUGUAU GACAUCAUGU
I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S 단백질

3782 3792 3802 3812 3822 3832
UGUUCUUGUU UAAAAGGAUG UUGUUCUUGU GGAAGCUGUU GUAAAUUUGA UGAAGAUGAU
C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S 단백질

3842 3852 3862 3872 3877
UCUGAACCUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA
S E P V L K G V K L H Y T * *

S 단백질

3887 3897 3907 3917 3927 3937
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI element

3947 3957 3967 3977 3987 3997
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI element

4007 4017 4027 4037 4047 4057
[0604] UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI element

4067 4077 4087 4097 4107 4117
CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI element

4127 4137 4147 4157 4167 4172
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI element

4182 4192 4202 4212 4222 4232
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

4242 4252 4262 4272 4282
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

[0605]

[0606] RBL063.2의 뉴클레오타이드 서열

[0607] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코

딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```
        10          20          30          40          50  52
GGGCGAACUA GUAUUCUUCU GGUCCCCACA GACUCAGAGA GAACCCGCCA CC
```

hAg-Kozak

```
        62          72          82          92         102         112
AUGUUCGUGU UCCUGGUGCU GCUGCCUCUG GUGUCCAGCC AGUGUGUGAA CCUGACCACC
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   N  L  T  T
```

S 단백질

```
       122         132         142         152         162         172
AGAACACAGC UGCCUCCAGC CUACACCAAC AGCUUUACCA GAGGCGUGUA CUACCCCGAC
  R  T  Q   L  P  P   A  Y  T  N   S  F  T   R  G  V   Y  Y  P  D
```

S 단백질

```
       182         192         202         212         222         232
AAGGUGUUCA GAUCCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC UGUUCCUGCC UUUCUUCAGC
  K  V  F   R  S  S   V  L  H  S   T  Q  D   L  F  L   P  F  F  S
```

S 단백질

```
       242         252         262         272         282         292
AACGUGACCU GGUUCCACGC CAUCCACGUG UCCGGCACCA AUGGCACCAA GAGAUUCGAC
  N  V  T   W  F  H   A  I  H  V   S  G  T   N  G  T   K  R  F  D
```

S 단백질

```
       302         312         322         332         342         352
AACCCCGUGC UGCCCUUCAA CGACGGGGUG UACUUUGCCA GCACCGAGAA GUCCAACAUC
  N  P  V   L  P  F   N  D  G  V   Y  F  A   S  T  E   K  S  N  I
```

S 단백질

```
       362         372         382         392         402         412
AUCAGAGGCU GGAUCUUCGG CACCACACUG GACAGCAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUG
```

[0608]

I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S 단백질

422 432 442 452 462 472

AACAACGCCA CCAACGUGGU CAUCAAAGUG UGCGAGUUCC AGUUCUGCAA CGACCCCUUC

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S 단백질

482 492 502 512 522 532

CUGGGCGUCU ACUACCACAA GAACAACAAG AGCUGGAUGG AAAGCGAGUU CCGGGUGUAC

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S 단백질

542 552 562 572 582 592

AGCAGCGCCA ACAACUGCAC CUUCGAGUAC GUGUCCCAGC CUUUCCUGAU GGACCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S 단백질

602 612 622 632 642 652

GGCAAGCAGG GCAACUUCAA GAACCUGCGC GAGUUCGUGU UUAAGAACAU CGACGGCUAC

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S 단백질

662 672 682 692 702 712

UUCAAGAUCU ACAGCAAGCA CACCCCUAUC AACCUCGUGC GGGAUCUGCC UCAGGGCUUC

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S 단백질

722 732 742 752 762 772

UCUGCUCUGG AACCCCUGGU GGAUCUGCCC AUCGGCAUCA ACAUCACCCG GUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S 단백질

782 792 802 812 822 832

CUGCUGGCCC UGCACAGAAG CUACCUGACA CCUGGCGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S 단백질

[0609]

842 852 862 872 882 892

GGUGCCGCCG CUUACUAUGU GGGCUACCUG CAGCCUAGAA CCUUCCUGCU GAAGUACAAC

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S 단백질

902 912 922 932 942 952

GAGAACGGCA CCAUCACCGA CGCCGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGAG CGAGACAAAG

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S 단백질

962 972 982 992 1002 1012

UGCACCCUGA AGUCCUUCAC CGUGGAAAAG GGCAUCUACC AGACCAGCAA CUUCCGGGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S 단백질

1022 1032 1042 1052 1062 1072

CAGCCCACCG AAUCCAUCGU GCGGUUCCCC AAUAUCACCA AUCUGUGCCC CUUCGGCGAG

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S 단백질

1082 1092 1102 1112 1122 1132

GUGUUCAAUG CCACCAGAUU CGCCUCUGUG UACGCCUGGA ACCGGAAGCG GAUCAGCAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S 단백질

1142 1152 1162 1172 1182 1192

UGCGUGGCCG ACUACUCCGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUU CAAGUGCUAC

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S 단백질

1202 1212 1222 1232 1242 1252

GGCGUGUCCC CUACCAAGCU GAACGACCUG UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S 단백질

1262 1272 1282 1292 1302 1312

GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAUU GCCCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC

[0610] *V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D*

S 단백질

1322 1332 1342 1352 1362 1372

UACAACUACA AGCUGCCCGA CGACUUCACC GGCUGUGUGA UUGCCUGGAA CAGCAACAAC

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S 단백질

1382 1392 1402 1412 1422 1432

CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCUGUACC GGCUGUUCCG GAAGUCCAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S 단백질

1442 1452 1462 1472 1482 1492

CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUCUAUC AGGCCGGCAG CACCCCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S 단백질

1502 1512 1522 1532 1542 1552

AACGGCGUGG AAGGCUUCAA CUGCUACUUC CCACUGCAGU CCUACGGCUU UCAGCCCACA

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S 단백질

1562 1572 1582 1592 1602 1612

AAUGGCGUGG GCUAUCAGCC CUACAGAGUG GUGGUGCUGA GCUUCGAACU GCUGCAUGCC

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S 단백질

1622 1632 1642 1652 1662 1672

CCUGCCACAG UGUGCGGCCC UAAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S 단백질

1682 1692 1702 1712 1722 1732

UUCAACUUCA ACGGCCUGAC CGGCACCGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUUCCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S 단백질

1742 1752 1762 1772 1782 1792

[0611]

CCAUUCCAGC AGUUUGGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCCCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S 단백질

1802 1812 1822 1832 1842 1852

ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S 단백질

1862 1872 1882 1892 1902 1912

GGCACCAACA CCAGCAAUCA GGUGGCAGUG CUGUACCAGG ACGUGAACUG UACCGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S 단백질

1922 1932 1942 1952 1962 1972

CCCGUGGCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GGGUGUACUC CACCGGCAGC

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S 단백질

1982 1992 2002 2012 2022 2032

AAUGUGUUUC AGACCAGAGC CGGCUGUCUG AUCGGAGCCG AGCACGUGAA CAAUAGCUAC

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S 단백질

2042 2052 2062 2072 2082 2092

GAGUGCGACA UCCCCAUCGG CGCUGGAAUC UGCGCCAGCU ACCAGACACA GACAAACAGC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S 단백질

2102 2112 2122 2132 2142 2152

CCUCGGAGAG CCAGAAGCGU GGCCAGCCAG AGCAUCAUUG CCUACACAAU GUCUCUGGGC

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S 단백질

2162 2172 2182 2192 2202 2212

GCCGAGAACA GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCAA CUUCACCAUC

[0612] A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S 단백질

2222 2232 2242 2252 2262 2272

AGCGUGACCA CAGAGAUCCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCAGCGUGGA CUGCACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S 단백질

2282 2292 2302 2312 2322 2332

UACAUCUGCG GCGAUUCCAC CGAGUGCUCC AACCUGCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S 단백질

2342 2352 2362 2372 2382 2392

ACCCAGCUGA AUAGAGCCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAAC AGGACAAGAA CACCCAAGAG

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S 단백질

2402 2412 2422 2432 2442 2452

GUGUUCGCCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S 단백질

2462 2472 2482 2492 2502 2512

AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S 단백질

2522 2532 2542 2552 2562 2572

CUGCUGUUCA ACAAAGUGAC ACUGGCCGAC GCCGGCUUCA UCAAGCAGUA UGGCGAUUGU

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S 단백질

2582 2592 2602 2612 2622 2632

CUGGGCGACA UUGCCGCCAG GGAUCUGAUU UGCGCCCAGA AGUUUAACGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S 단백질

2642 2652 2662 2672 2682 2692

[0613]

CUGCCUCCUC UGCUGACCGA UGAGAUGAUC GCCCAGUACA CAUCUGCCCU GCUGGCCGGC

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S 단백질

2702 2712 2722 2732 2742 2752

ACAAUCACAA GCGGCUGGAC AUUUGGAGCA GGCGCCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S 단백질

2762 2772 2782 2792 2802 2812

CAGAUGGCCU ACCGGUUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S 단백질

2822 2832 2842 2852 2862 2872

AAGCUGAUCG CCAACCAGUU CAACAGCGCC AUCGGCAAGA UCCAGGACAG CCUGAGCAGC

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S 단백질

2882 2892 2902 2912 2922 2932

ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCAACC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S 단백질

2942 2952 2962 2972 2982 2992

ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAACUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S 단백질

3002 3012 3022 3032 3042 3052

CUGAGCAGAC UGGACCCUCC UGAGGCCGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA

L S R L D P P E A E V Q I D R L I T G R

S 단백질

3062 3072 3082 3092 3102 3112

CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCCGCCGA GAUUAGAGCC

[0614] *L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A*

S 단백질

```
     3122       3132       3142       3152       3162       3172
UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGGCCAGAG CAAGAGAGUG
  S  A  N   L  A  A   T  K  M  S   E  C  V   L  G  Q   S  K  R  V
```

S 단백질

```
     3182       3192       3202       3212       3222       3232
GACUUUUGCG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUUCCCUC AGUCUGCCCC UCACGGCGUG
  D  F  C   G  K  G   Y  H  L  M   S  F  P   Q  S  A   P  H  G  V
```

S 단백질

```
     3242       3252       3262       3272       3282       3292
GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUUCACCAC CGCUCCAGCC
  V  F  L   H  V  T   Y  V  P  A   Q  E  K   N  F  T   T  A  P  A
```

S 단백질

```
     3302       3312       3322       3332       3342       3352
AUCUGCCACG ACGGCAAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACC
  I  C  H   D  G  K   A  H  F  P   R  E  G   V  F  V   S  N  G  T
```

S 단백질

```
     3362       3372       3382       3392       3402       3412
CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC
  H  W  F   V  T  Q   R  N  F  Y   E  P  Q   I  I  T   T  D  N  T
```

S 단백질

```
     3422       3432       3442       3452       3462       3472
UUCGUGUCUG GCAACUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUUGUGA ACAAUACCGU GUACGACCCU
  F  V  S   G  N  C   D  V  V  I   G  I  V   N  N  T   V  Y  D  P
```

S 단백질

```
     3482       3492       3502       3512       3522       3532
CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACCACACA
  L  Q  P   E  L  D   S  F  K  E   E  L  D   K  Y  F   K  N  H  T
```

S 단백질

```
     3542       3552       3562       3572       3582       3592
```

[0615]

AGCCCCGACG UGGACCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAAUG CCAGCGUCGU GAACAUCCAG

S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S 단백질

3602 3612 3622 3632 3642 3652

AAAGAGAUCG ACCGGCUGAA CGAGGUGGCC AAGAAUCUGA ACGAGAGCCU GAUCGACCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S 단백질

3662 3672 3682 3692 3702 3712

CAAGAACUGG GGAAGUACGA GCAGUACAUC AAGUGGCCCU GGUACAUCUG GCUGGGCUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S 단백질

3722 3732 3742 3752 3762 3772

AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUGAUGGUC ACAAUCAUGC UGUGUUGCAU GACCAGCUGC

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S 단백질

3782 3792 3802 3812 3822 3832

UGUAGCUGCC UGAAGGGCUG UUGUAGCUGU GGCAGCUGCU GCAAGUUCGA CGAGGACGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S 단백질

3842 3852 3862 3872 3877

UCUGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGAAACUG CACUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * **

S 단백질

3887 3897 3907 3917 3927 3937

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI element

3947 3957 3967 3977 3987 3997

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI element

4007 4017 4027 4037 4047 4057

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

[0616]

FI element

4067 4077 4087 4097 4107 4117

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI element

4127 4137 4147 4157 4167 4172

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI element

4182 4192 4202 4212 4222 4232

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

4242 4252 4262 4272 4282

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

[0617]

[0618] RBL063.3의 뉴클레오타이드 서열

[0619] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```
          10         20         30         40         50 52
GGGCGAACUA GUAUUCUUCU GGUCCCCACA GACUCAGAGA GAACCCGCCA CC
                                hAg-Kozak
        62         72         82         92        102        112
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   V  R  F  P
                              RBD (S 단백질)
       122        132        142        152        162        172
AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG
  N  I  T   N  L  C   P  F  G  E   V  F  N   A  T  R   F  A  S  V
                              RBD (S 단백질)
       182        192        202        212        222        232
UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU
  Y  A  W   N  R  K   R  I  S  N   C  V  A   D  Y  S   V  L  Y  N
                              RBD (S 단백질)
       242        252        262        272        282        292
AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA
  S  A  S   F  S  T   F  K  C  Y   G  V  S   P  T  K   L  N  D  L
                              RBD (S 단백질)
       302        312        322        332        342        352
UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU
  C  F  T   N  V  Y   A  D  S  F   V  I  R   G  D  E   V  R  Q  I
                              RBD (S 단백질)
       362        372        382        392        402        412
GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA
  A  P  G   Q  T  G   K  I  A  D   Y  N  Y   K  L  P   D  D  F  T
```

[0620]

RBD (S 단백질)

```
       422         432         442         452         462         472
GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU
  G   C   V   I   A   W   N   S   N   N   L   D   S   K   V   G   G   N   Y   N
```

RBD (S 단백질)

```
       482         492         502         512         522         532
UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA
  Y   L   Y   R   L   F   R   K   S   N   L   K   P   F   E   R   D   I   S   T
```

RBD (S 단백질)

```
       542         552         562         572         582         592
GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU
  E   I   Y   Q   A   G   S   T   P   C   N   G   V   E   G   F   N   C   Y   F
```

RBD (S 단백질)

```
       602         612         622         632         642         652
CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG
  P   L   Q   S   Y   G   F   Q   P   T   N   G   V   G   Y   Q   P   Y   R   V
```

RBD (S 단백질)

```
       662         672         682         692         702  706
GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA
  V   V   L   S   F   E   L   L   H   A   P   A   T   V   C   G   P   K
```

RBD (S 단백질)

```
       716         726     733
GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU
  G   S   P   G   S   G   S   G   S
```

GS linker

```
       743         753         763         773         783         793
GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG
  G   Y   I   P   E   A   P   R   D   G   Q   A   Y   V   R   K   D   G   E   W
```

피브리틴

[0621]

803 813 823 833 843 853

GUAUUACUUU CUACCUUUUU AGGCCGGUCC CUGGAGGUGC UGUUCCAGGG CCCCGGCUGA

*V L L S T F L G R S L E V L F Q G P G **

피브리틴

856

UGA

*

피브리틴

866 876 886 896 906 916

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI element

926 936 946 956 966 976

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI element

986 996 1006 1016 1026 1036

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI element

1046 1056 1066 1076 1086 1096

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI element

1106 1116 1126 1136 1146 1151

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI element

1161 1171 1181 1191 1201 1211

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

1221 1231 1241 1251 1261

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

[0622]

[0623] 뉴클레오사이드 변형 메신저 RNA(modRNA)

[0624] 뉴클레오사이드 변형 메신저 RNA(modRNA) 약물의 활성 성분은 세포에 유입시 번역되는 단일 가닥 mRNA이다. 코로나바이러스 백신 항원을 인코딩하는 서열(즉, 오픈 리딩 프레임) 외에도 각 modRNA는 uRNA로서 RNA의 최대 효능을 위해 최적화된 공통 구조 요소를 함유한다(5'-캡, 5'-UTR, 3'-UTR, 폴리 (A)-꼬리). uRNA와 비교하여 modRNA는 우리딘 대신 1-메틸-슈도우리딘을 포함하다. 바람직한 5' 캡 구조는 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG이다. 바람직한 5'-UTR 및 3'-UTR은 각각 SEQ ID NO: 12의 뉴클레오타이드 서열 및 SEQ ID NO: 13의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 바람직한 폴리(A)-테일은 SEQ ID NO: 14의 서열을 포함한다. 시험관내 전사 반응 동안 생성된 dsRNA 오염물을 감소시키기 위해 modRNA에 추가 정제 단계가 적용된다.

[0625] 이 플랫폼의 상이한 구체예는 다음과 같다:

[0626] **BNT162b2; RBP020.1(SEQ ID NO: 19; SEQ ID NO: 7)**

[0627] 구조 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

[0628] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의 바이러스

[0629] 스파이크 단백질(S1S2 단백질)

[0630] **BNT162b2; RBP020.2 (SEQ ID NO: 20; SEQ ID NO: 7)**

[0631] 구조 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

[0632] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의 바이러스

[0633] 스파이크 단백질(S1S2 단백질)

[0634] **BNT162b1; RBP020.3 (SEQ ID NO: 21; SEQ ID NO: 5)**

[0635] 구조 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG)-hAg-Kozak-RBD-GS-피브리틴-FI-A30L70

[0636] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(부분 서열, 피브리틴에 융합된 S1S2 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD))

[0637] 도 20은 항원을 인코딩하는 RNA의 일반적인 구조를 도식화한 도면이다.

[0638] **RBP020.1의 뉴클레오타이드 서열**

[0639] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```
         10         20         30         40         50  53
AGAAUAAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC ACC
                                hAg-Kozak
        63         73         83         93        103        113
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGAA UUUGACAACA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   N  L  T  T
                                S 단백질
       123        133        143        153        163        173
AGAACACAGC UGCCACCAGC UUAUACAAAU UCUUUUACCA GAGGAGUGUA UUAUCCUGAU
  R  T  Q   L  P  P   A  Y  T  N   S  F  T   R  G  V   Y  Y  P  D
                                S 단백질
       183        193        203        213        223        233
AAAGUGUUUA GAUCUUCUGU GCUGCACAGC ACACAGGACC UGUUUCUGCC AUUUUUUAGC
  K  V  F   R  S  S   V  L  H  S   T  Q  D   L  F  L   P  F  F  S
                                S 단백질
       243        253        263        273        283        293
AAUGUGACAU GGUUUCAUGC AAUUCAUGUG UCUGGAACAA AUGGAACAAA AAGAUUUGAU
  N  V  T   W  F  H   A  I  H  V   S  G  T   N  G  T   K  R  F  D
                                S 단백질
       303        313        323        333        343        353
AAUCCUGUGC UGCCUUUUAA UGAUGGAGUG UAUUUUGCUU CAACAGAAAA GUCAAAUAUU
  N  P  V   L  P  F   N  D  G  V   Y  F  A   S  T  E   K  S  N  I
                                S 단백질
       363        373        383        393        403        413
AUUAGAGGAU GGAUUUUUGG AACAACACUG GAUUCUAAAA CACAGUCUCU GCUGAUUGUG
```

[0640]

I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S 단백질

423 433 443 453 463 473

AAUAAUGCAA CAAAUGUGGU GAUUAAAGUG UGUGAAUUUC AGUUUUGUAA UGAUCCUUUU

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S 단백질

483 493 503 513 523 533

CUGGGAGUGU AUUAUCACAA AAAUAAUAAA UCUUGGAUGG AAUCUGAAUU UAGAGUGUAU

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S 단백질

543 553 563 573 583 593

UCCUCUGCAA AUAAUUGUAC AUUUGAAUAU GUGUCUCAGC CUUUUCUGAU GGAUCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S 단백질

603 613 622 633 643 653

GGAAAACAGG GCAAUUUUAA AAAUCUGAGA GAAUUUGUGU UUAAAAAUAU UGAUGGAUAU

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S 단백질

663 673 683 693 703 713

UUUAAAAUUU AUUCUAAACA CACACCAAUU AAUUUAGUGA GAGAUCUGCC UCAGGGAUUU

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S 단백질

723 733 743 753 763 773

UCUGCUCUGG AACCUCUGGU GGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUAUUACAAG AUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S 단백질

783 793 803 813 823 833

CUGCUGGCUC UGCACAGAUC UUAUCUGACA CCUGGAGAUU CUUCUUCUGG AUGGACAGCC

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S 단백질

[0641]

843 853 863 873 883 893

GGAGCUGCAG CUUAUUAUGU GGGCUAUCUG CAGCCAAGAA CAUUUCUGCU GAAAUAUAAU

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S 단백질

903 913 923 933 943 953

GAAAAUGGAA CAAUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAAACAAAA

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S 단백질

963 973 983 993 1003 1013

UGUACAUUAA AAUCUUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S 단백질

1023 1033 1043 1053 1063 1073

CAGCCAACAG AAUCUAUUGU GAGAUUUCCA AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S 단백질

1083 1093 1103 1113 1123 1133

GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S 단백질

1143 1153 1163 1173 1183 1193

UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S 단백질

1203 1213 1223 1233 1243 1253

GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S 단백질

1263 1273 1283 1293 1303 1313

GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU

[0642] *V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D*

S 단백질

```
      1323        1333        1343        1353        1363        1373
UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU
  Y   N   Y   K   L   P   D   D   F   T   G   C   V   I   A   W   N   S   N   N
```

S 단백질

```
      1383        1393        1403        1413        1423        1433
UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU
  L   D   S   K   V   G   G   N   Y   N   Y   L   Y   R   L   F   R   K   S   N
```

S 단백질

```
      1443        1453        1463        1473        1483        1493
CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU
  L   K   P   F   E   R   D   I   S   T   E   I   Y   Q   A   G   S   T   P   C
```

S 단백질

```
      1503        1513        1523        1533        1543        1553
AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC
  N   G   V   E   G   F   N   C   Y   F   P   L   Q   S   Y   G   F   Q   P   T
```

S 단백질

```
      1563        1573        1583        1593        1603        1613
AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA
  N   G   V   G   Y   Q   P   Y   R   V   V   V   L   S   F   E   L   L   H   A
```

S 단백질

```
      1623        1633        1643        1653        1663        1673
CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAAUCU ACAAAUUUAG UGAAAAAUAA AUGUGUGAAU
  P   A   T   V   C   G   P   K   K   S   T   N   L   V   K   N   K   C   V   N
```

S 단백질

```
      1683        1693        1703        1713        1723        1733
UUUAAUUUUA AUGGAUUAAC AGGAACAGGA GUGCUGACAG AAUCUAAUAA AAAAUUUCUG
  F   N   F   N   G   L   T   G   T   G   V   L   T   E   S   N   K   K   F   L
```

S 단백질

```
      1743        1753        1763        1773        1783        1793
```

[0643]

CCUUUUCAGC AGUUUGGCAG AGAUAUUGCA GAUACCACAG AUGCAGUGAG AGAUCCUCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S 단백질

1803 1813 1823 1833 1843 1853

ACAUUAGAAA UUCUGGAUAU UACACCUUGU UCUUUUGGGG GUGUGUCUGU GAUUACACCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S 단백질

1863 1873 1883 1893 1903 1913

GGAACAAAUA CAUCUAAUCA GGUGGCUGUG CUGUAUCAGG AUGUGAAUUG UACAGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S 단백질

1923 1933 1943 1953 1963 1973

CCAGUGGCAA UUCAUGCAGA UCAGCUGACA CCAACAUGGA GAGUGUAUUC UACAGGAUCU

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S 단백질

1983 1993 2003 2013 2023 2033

AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUGUGAA UAAUUCUUAU

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S 단백질

2043 2053 2063 2073 2083 2093

GAAUGUGAUA UUCCAAUUGG AGCAGGCAUU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUUCC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S 단백질

2103 2113 2123 2133 2143 2153

CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUAUUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S 단백질

2163 2173 2183 2193 2203 2213

GCAGAAAAUU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UUCCAACAAA UUUUACCAUU

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

[0644]

S 단백질

```
      2223        2233        2243        2253        2263        2273
UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAAA CAUCUGUGGA UUGUACCAUG
  S  V  T   T  E  I   L  P  V  S   M  T  K   T  S  V   D  C  T  M
```

S 단백질

```
      2283        2293        2303        2313        2323        2333
UACAUUUGUG GAGAUUCUAC AGAAUGUUCU AAUCUGCUGC UGCAGUAUGG AUCUUUUUGU
  Y  I  C   G  D  S   T  E  C  S   N  L  L   L  Q  Y   G  S  F  C
```

S 단백질

```
      2343        2353        2363        2373        2383        2393
ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAUU GCUGUGGAAC AGGAUAAAAA UACACAGGAA
  T  Q  L   N  R  A   L  T  G  I   A  V  E   Q  D  K   N  T  Q  E
```

S 단백질

```
      2403        2413        2423        2433        2443        2453
GUGUUUGCUC AGGUGAAACA GAUUUACAAA ACACCACCAA UUAAAGAUUU UGGAGGAUUU
  V  F  A   Q  V  K   Q  I  Y  K   T  P  P   I  K  D   F  G  G  F
```

S 단백질

```
      2463        2473        2483        2493        2503        2513
AAUUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU
  N  F  S   Q  I  L   P  D  P  S   K  P  S   K  R  S   F  I  E  D
```

S 단백질

```
      2523        2533        2543        2553        2563        2573
CUGCUGUUUA AUAAAGUGAC ACUGGCAGAU GCAGGAUUUA UUAAACAGUA UGGAGAUUGC
  L  L  F   N  K  V   T  L  A  D   A  G  F   I  K  Q   Y  G  D  C
```

S 단백질

```
      2583        2593        2603        2613        2623        2633
CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAUU UGUGCUCAGA AAUUUAAUGG ACUGACAGUG
  L  G  D   I  A  A   R  D  L  I   C  A  Q   K  F  N   G  L  T  V
```

S 단백질

```
      2643        2653        2663        2673        2683        2693
```

[0645]

CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAAUGAUU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S 단백질

2703 2713 2723 2733 2743 2753

ACAAUUACAA GCGGAUGGAC AUUUGGAGCU GGAGCUGCUC UGCAGAUUCC UUUUGCAAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S 단백질

2763 2773 2783 2793 2803 2813

CAGAUGGCUU ACAGAUUUAA UGGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUAUA UGAAAAUCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S 단백질

2823 2833 2843 2853 2863 2873

AAACUGAUUG CAAAUCAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAAAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S 단백질

2883 2893 2903 2913 2923 2933

ACAGCUUCUG CUCUGGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S 단백질

2943 2953 2963 2973 2983 2993

ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCAAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUAUU

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S 단백질

3003 3013 3023 3033 3043 3053

CUGUCUAGAC UGGAUCCUCC UGAAGCUGAA GUGCAGAUUG AUAGACUGAU CACAGGAAGA

L S R L D P P E A E V Q I D R L I T G R

S 단백질

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUUAGAGCU

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

[0646]

S 단백질

```
      3123        3133        3143        3153        3163        3173
UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAAGAGUG
  S  A  N   L  A  A   T  K  M  S   E  C  V   L  G  Q   S  K  R  V
```

S 단백질

```
      3183        3193        3203        3213        3223        3233
GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUGCUCC ACAUGGAGUG
  D  F  C   G  K  G   Y  H  L  M   S  F  P   Q  S  A   P  H  G  V
```

S 단백질

```
      3243        3253        3263        3273        3283        3293
GUGUUUUUAC AUGUGACAUA UGUGCCAGCA CAGGAAAAGA AUUUUACCAC AGCACCAGCA
  V  F  L   H  V  T   Y  V  P  A   Q  E  K   N  F  T   T  A  P  A
```

S 단백질

```
      3303        3313        3323        3333        3343        3353
AUUUGUCAUG AUGGAAAAGC ACAUUUUCCA AGAGAAGGAG UGUUUGUGUC UAAUGGAACA
  I  C  H   D  G  K   A  H  F  P   R  E  G   V  F  V   S  N  G  T
```

S 단백질

```
      3363        3373        3383        3393        3403        3413
CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAAUUUUUAU GAACCUCAGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA
  H  W  F   V  T  Q   R  N  F  Y   E  P  Q   I  I  T   T  D  N  T
```

S 단백질

```
      3423        3433        3443        3453        3463        3473
UUUGUGUCAG GAAAUUGUGA UGUGGUGAUU GGAAUUGUGA AUAAUACAGU GUAUGAUCCA
  F  V  S   G  N  C   D  V  V  I   G  I  V   N  N  T   V  Y  D  P
```

S 단백질

```
      3483        3493        3503        3513        3523        3533
CUGCAGCCAG AACUGGAUUC UUUUAAAGAA GAACUGGAUA AAUAUUUUAA AAAUCACACA
  L  Q  P   E  L  D   S  F  K  E   E  L  D   K  Y  F   K  N  H  T
```

S 단백질

[0647]

```
      3543        3553        3563        3573        3583        3593
```

UCUCCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUAUUUCU GGAAUCAAUG CAUCUGUGGU GAAUAUUCAG

S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S 단백질

3603 3613 3623 3633 3643 3653

AAAGAAAUUG AUAGACUGAA UGAAGUGGCC AAAAAUCUGA AUGAAUCUCU GAUUGAUCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S 단백질

3663 3673 3683 3693 3703 3713

CAGGAACUUG GAAAAUAUGA ACAGUACAUU AAAUGGCCUU GGUACAUUUG GCUUGGAUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S 단백질

3723 3733 3743 3753 3763 3773

AUUGCAGGAU UAAUUGCAAU UGUGAUGGUG ACAAUUAUGU UAUGUUGUAU GACAUCAUGU

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S 단백질

3783 3793 3803 3813 3823 3833

UGUUCUUGUU UAAAAGGAUG UUGUUCUUGU GGAAGCUGUU GUAAAUUUGA UGAAGAUGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S 단백질

3843 3853 3863 3873 3878

UCUGAACCUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * *

S 단백질

3888 3898 3908 3918 3928 3938

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI element

3948 3958 3968 3978 3988 3998

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI element

4008 4018 4028 4038 4048 4058

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

[0648] **FI element**

4068 4078 4088 4098 4108 4118

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI element

4128 4138 4148 4158 4168 4173

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI element

4183 4193 4203 4213 4223 4233

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

4243 4253 4263 4273 4283

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

[0649]

[0650] <u>RBP020.2의 뉴클레오타이드 서열</u>

[0651] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

[0652]


10 20 30 40 50 53
AGAAUAAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC ACC
hAg-Kozak
63 73 83 93 103 113
AUGUUCGUGU UCCUGGUGCU GCUGCCUCUG GUGUCCAGCC AGUGUGUGAA CCUGACCACC
M F V F L V L L P L V S S Q C V N L T T
S 단백질
123 133 143 153 163 173
AGAACACAGC UGCCUCCAGC CUACACCAAC AGCUUUACCA GAGGCGUGUA CUACCCCGAC
R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D
S 단백질
183 193 203 213 223 233
AAGGUGUUCA GAUCCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC UGUUCCUGCC UUUCUUCAGC
K V F R S S V L H S T Q D L F L P F F S
S 단백질
243 253 263 273 283 293
AACGUGACCU GGUUCCACGC CAUCCACGUG UCCGGCACCA AUGGCACCAA GAGAUUCGAC
N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D
S 단백질
303 313 323 333 343 353
AACCCCGUGC UGCCCUUCAA CGACGGGGUG UACUUUGCCA GCACCGAGAA GUCCAACAUC
N P V L P F N D G V Y F A S T E K S N I
S 단백질
363 373 383 393 403 413
AUCAGAGGCU GGAUCUUCGG CACCACACUG GACAGCAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUG

I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S 단백질

423 433 443 453 463 473

AACAACGCCA CCAACGUGGU CAUCAAAGUG UGCGAGUUCC AGUUCUGCAA CGACCCCUUC

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S 단백질

483 493 503 513 523 533

CUGGGCGUCU ACUACCACAA GAACAACAAG AGCUGGAUGG AAAGCGAGUU CCGGGUGUAC

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S 단백질

543 553 563 573 583 593

AGCAGCGCCA ACAACUGCAC CUUCGAGUAC GUGUCCCAGC CUUUCCUGAU GGACCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S 단백질

603 613 623 633 643 653

GGCAAGCAGG GCAACUUCAA GAACCUGCGC GAGUUCGUGU UUAAGAACAU CGACGGCUAC

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S 단백질

663 673 683 693 703 713

UUCAAGAUCU ACAGCAAGCA CACCCCUAUC AACCUCGUGC GGGAUCUGCC UCAGGGCUUC

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S 단백질

723 733 743 753 763 773

UCUGCUCUGG AACCCCUGGU GGAUCUGCCC AUCGGCAUCA ACAUCACCCG GUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S 단백질

783 793 803 813 823 833

CUGCUGGCCC UGCACAGAAG CUACCUGACA CCUGGCGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S 단백질

[0653]

```
       843        853        863        873        883        893
GGUGCCGCCG CUUACUAUGU GGGCUACCUG CAGCCUAGAA CCUUCCUGCU GAAGUACAAC
  G  A  A   A  Y  Y   V  G  Y  L   Q  P  R   T  F  L   L  K  Y  N
```

S 단백질

```
       903        913        923        933        943        953
GAGAACGGCA CCAUCACCGA CGCCGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGAG CGAGACAAAG
  E  N  G   T  I  T   D  A  V  D   C  A  L   D  P  L   S  E  T  K
```

S 단백질

```
       963        973        983        993       1003       1013
UGCACCCUGA AGUCCUUCAC CGUGGAAAAG GGCAUCUACC AGACCAGCAA CUUCCGGGUG
  C  T  L   K  S  F   T  V  E  K   G  I  Y   Q  T  S   N  F  R  V
```

S 단백질

```
      1023       1033       1043       1053       1063       1073
CAGCCCACCG AAUCCAUCGU GCGGUUCCCC AAUAUCACCA AUCUGUGCCC CUUCGGCGAG
  Q  P  T   E  S  I   V  R  F  P   N  I  T   N  L  C   P  F  G  E
```

S 단백질

```
      1083       1093       1103       1113       1123       1133
GUGUUCAAUG CCACCAGAUU CGCCUCUGUG UACGCCUGGA ACCGGAAGCG GAUCAGCAAU
  V  F  N   A  T  R   F  A  S  V   Y  A  W   N  R  K   R  I  S  N
```

S 단백질

```
      1143       1153       1163       1173       1183       1193
UGCGUGGCCG ACUACUCCGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUU CAAGUGCUAC
  C  V  A   D  Y  S   V  L  Y  N   S  A  S   F  S  T   F  K  C  Y
```

S 단백질

```
      1203       1213       1223       1233       1243       1253
GGCGUGUCCC CUACCAAGCU GAACGACCUG UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC
  G  V  S   P  T  K   L  N  D  L   C  F  T   N  V  Y   A  D  S  F
```

S 단백질

```
      1263       1273       1283       1293       1303       1313
GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAUU GCCCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC
  V  I  R   G  D  E   V  R  Q  I   A  P  G   Q  T  G   K  I  A  D
```

[0654]

S 단백질

1323 1333 1343 1353 1363 1373

UACAACUACA AGCUGCCCGA CGACUUCACC GGCUGUGUGA UUGCCUGGAA CAGCAACAAC

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S 단백질

1383 1393 1403 1413 1423 1433

CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCUGUACC GGCUGUUCCG GAAGUCCAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S 단백질

1443 1453 1463 1473 1483 1493

CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUCUAUC AGGCCGGCAG CACCCCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S 단백질

1503 1513 1523 1533 1543 1553

AACGGCGUGG AAGGCUUCAA CUGCUACUUC CCACUGCAGU CCUACGGCUU UCAGCCCACA

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S 단백질

1563 1573 1583 1593 1603 1613

AAUGGCGUGG GCUAUCAGCC CUACAGAGUG GUGGUGCUGA GCUUCGAACU GCUGCAUGCC

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S 단백질

1623 1633 1643 1653 1663 1673

CCUGCCACAG UGUGCGGCCC UAAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S 단백질

1683 1693 1703 1713 1723 1733

UUCAACUUCA ACGGCCUGAC CGGCACCGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUUCCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S 단백질

1743 1753 1763 1773 1783 1793

[0655]

CCAUUCCAGC AGUUUGGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCCCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S 단백질

1803 1813 1823 1833 1843 1853

ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S 단백질

1863 1873 1883 1893 1903 1913

GGCACCAACA CCAGCAAUCA GGUGGCAGUG CUGUACCAGG ACGUGAACUG UACCGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S 단백질

1923 1933 1943 1953 1963 1973

CCCGUGGCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GGGUGUACUC CACCGGCAGC

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S 단백질

1983 1993 2003 2013 2023 2033

AAUGUGUUUC AGACCAGAGC CGGCUGUCUG AUCGGAGCCG AGCACGUGAA CAAUAGCUAC

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S 단백질

2043 2053 2063 2073 2083 2093

GAGUGCGACA UCCCCAUCGG CGCUGGAAUC UGCGCCAGCU ACCAGACACA GACAAACAGC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S 단백질

2103 2113 2123 2133 2143 2153

CCUCGGAGAG CCAGAAGCGU GGCCAGCCAG AGCAUCAUUG CCUACACAAU GUCUCUGGGC

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S 단백질

2163 2173 2183 2193 2203 2213

GCCGAGAACA GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCAA CUUCACCAUC

[0656] *A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I*

S 단백질

2223 2233 2243 2253 2263 2273

AGCGUGACCA CAGAGAUCCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCAGCGUGGA CUGCACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S 단백질

2283 2293 2303 2313 2323 2333

UACAUCUGCG GCGAUUCCAC CGAGUGCUCC AACCUGCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S 단백질

2343 2353 2363 2373 2383 2393

ACCCAGCUGA AUAGAGCCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAAC AGGACAAGAA CACCCAAGAG

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S 단백질

2403 2413 2423 2433 2443 2453

GUGUUCGCCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S 단백질

2463 2473 2483 2493 2503 2513

AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S 단백질

2523 2533 2543 2553 2563 2573

CUGCUGUUCA ACAAAGUGAC ACUGGCCGAC GCCGGCUUCA UCAAGCAGUA UGGCGAUUGU

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S 단백질

2583 2593 2603 2613 2623 2633

CUGGGCGACA UUGCCGCCAG GGAUCUGAUU UGCGCCCAGA AGUUUAACGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S 단백질

2643 2653 2663 2673 2683 2693

[0657]

CUGCCUCCUC UGCUGACCGA UGAGAUGAUC GCCCAGUACA CAUCUGCCCU GCUGGCCGGC

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S 단백질

2703 2713 2723 2733 2743 2753

ACAAUCACAA GCGGCUGGAC AUUUGGAGCA GGCGCCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S 단백질

2763 2773 2783 2793 2803 2813

CAGAUGGCCU ACCGGUUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S 단백질

2823 2833 2843 2853 2863 2873

AAGCUGAUCG CCAACCAGUU CAACAGCGCC AUCGGCAAGA UCCAGGACAG CCUGAGCAGC

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S 단백질

2883 2893 2903 2913 2923 2933

ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCAACC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S 단백질

2943 2953 2963 2973 2983 2993

ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAACUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S 단백질

3003 3013 3023 3033 3043 3053

CUGAGCAGAC UGGACCCUCC UGAGGCCGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA

L S R L D P P E A E V Q I D R L I T G R

S 단백질

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCCGCCGA GAUUAGAGCC

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

[0658]

S 단백질

```
      3123        3133        3143        3153        3163        3173
UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGGCCAGAG CAAGAGAGUG
  S  A  N   L  A  A   T  K  M  S   E  C  V   L  G  Q   S  K  R  V
```

S 단백질

```
      3183        3193        3203        3213        3223        3233
GACUUUUGCG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUUCCCUC AGUCUGCCCC UCACGGCGUG
  D  F  C   G  K  G   Y  H  L  M   S  F  P   Q  S  A   P  H  G  V
```

S 단백질

```
      3243        3253        3263        3273        3283        3293
GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUUCACCAC CGCUCCAGCC
  V  F  L   H  V  T   Y  V  P  A   Q  E  K   N  F  T   T  A  P  A
```

S 단백질

```
      3303        3313        3323        3333        3343        3353
AUCUGCCACG ACGGCAAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACC
  I  C  H   D  G  K   A  H  F  P   R  E  G   V  F  V   S  N  G  T
```

S 단백질

```
      3363        3373        3383        3393        3403        3413
CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC
  H  W  F   V  T  Q   R  N  F  Y   E  P  Q   I  I  T   T  D  N  T
```

S 단백질

```
      3423        3433        3443        3453        3463        3473
UUCGUGUCUG GCAACUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUUGUGA ACAAUACCGU GUACGACCCU
  F  V  S   G  N  C   D  V  V  I   G  I  V   N  N  T   V  Y  D  P
```

S 단백질

```
      3483        3493        3503        3513        3523        3533
CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACCACACA
  L  Q  P   E  L  D   S  F  K  E   E  L  D   K  Y  F   K  N  H  T
```

S 단백질

[0659]

```
      3543        3553        3563        3573        3583        3593
```

```
AGCCCCGACG UGGACCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAAUG CCAGCGUCGU GAACAUCCAG
  S  P  D   V  D  L   G  D  I  S   G  I  N   A  S  V   V  N  I  Q
```

S 단백질

```
      3603        3613        3623        3633        3643        3653
AAAGAGAUCG ACCGGCUGAA CGAGGUGGCC AAGAAUCUGA ACGAGAGCCU GAUCGACCUG
  K  E  I   D  R  L   N  E  V  A   K  N  L   N  E  S   L  I  D  L
```

S 단백질

```
      3663        3673        3683        3693        3703        3713
CAAGAACUGG GGAAGUACGA GCAGUACAUC AAGUGGCCCU GGUACAUCUG GCUGGGCUUU
  Q  E  L   G  K  Y   E  Q  Y  I   K  W  P   W  Y  I   W  L  G  F
```

S 단백질

```
      3723        3733        3743        3753        3763        3773
AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUGAUGGUC ACAAUCAUGC UGUGUUGCAU GACCAGCUGC
  I  A  G   L  I  A   I  V  M  V   T  I  M   L  C  C   M  T  S  C
```

S 단백질

```
      3783        3793        3803        3813        3823        3833
UGUAGCUGCC UGAAGGGCUG UUGUAGCUGU GGCAGCUGCU GCAAGUUCGA CGAGGACGAU
  C  S  C   L  K  G   C  C  S  C   G  S  C   C  K  F   D  E  D  D
```

S 단백질

```
      3843        3853        3863        3873   3878
UCUGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGAAACUG CACUACACAU GAUGA
  S  E  P   V  L  K   G  V  K  L   H  Y  T   *  *
```

S 단백질

```
      3888        3898        3908        3918        3928        3938
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG
```

FI element

```
      3948        3958        3968        3978        3988        3998
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC
```

FI element

```
      4008        4018        4028        4038        4048        4058
UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG
```

[0660]

FI element

```
      4068        4078        4088        4098        4108        4118
CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA
```

FI element

```
      4128        4138        4148        4158        4168   4173
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC
```

FI element

```
      4183        4193        4203        4213        4223        4233
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

Poly(A)

```
      4243        4253        4263        4273        4283
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

Poly(A)

[0661]

[0662] RBP020.3의 뉴클레오타이드 서열

[0663] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코

딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```
         10         20         30         40         50  53
AGAAUAAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC ACC

                          hAg-Kozak
        63         73         83         93        103        113
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   V  R  F  P

                          RBD (S 단백질)
       123        133        143        153        163        173
AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG
  N  I  T   N  L  C   P  F  G  E   V  F  N   A  T  R   F  A  S  V

                          RBD (S 단백질)
       183        193        203        213        223        233
UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU
  Y  A  W   N  R  K   R  I  S  N   C  V  A   D  Y  S   V  L  Y  N

                          RBD (S 단백질)
       243        253        263        273        283        293
AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA
  S  A  S   F  S  T   F  K  C  Y   G  V  S   P  T  K   L  N  D  L

                          RBD (S 단백질)
       303        313        323        333        343        353
UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU
  C  F  T   N  V  Y   A  D  S  F   V  I  R   G  D  E   V  R  Q  I

                          RBD (S 단백질)
       363        373        383        393        403        413
GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA
  A  P  G   Q  T  G   K  I  A  D   Y  N  Y   K  L  P   D  D  F  T

                          RBD (S 단백질)
       423        433        443        453        463        473
GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU
  G  C  V   I  A  W   N  S  N  N   L  D  S   K  V  G   G  N  Y  N
```

[0664]

RBD (S 단백질)

```
       483         493         503         513         523         533
UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA
  Y  L  Y   R  L  F   R  K  S  N   L  K  P   F  E  R   D  I  S  T
```

RBD (S 단백질)

```
       543         553         563         573         583         593
GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU
  E  I  Y   Q  A  G   S  T  P  C   N  G  V   E  G  F   N  C  Y  F
```

RBD (S 단백질)

```
       603         613         623         633         643         653
CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG
  P  L  Q   S  Y  G   F  Q  P  T   N  G  V   G  Y  Q   P  Y  R  V
```

RBD (S 단백질)

```
       663         673         683         693         703  707
GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA
  V  V  L   S  F  E   L  L  H  A   P  A  T   V  C  G   P  K
```

RBD (S 단백질)

```
       717         727     734
GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU
  G  S  P   G  S  G   S  G  S
```

GS linker

```
       744         754         764         774         784         794
GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG
  G  Y  I   P  E  A   P  R  D  G   Q  A  Y   V  R  K   D  G  E  W
```

피브리틴

```
       804         814         824         834         844         854
GUAUUACUUU CUACCUUUUU AGGCCGGUCC CUGGAGGUGC UGUUCCAGGG CCCCGGCUGA
  V  L  L   S  T  F   L  G  R  S   L  E  V   L  F  Q   G  P  G  *
```

피브리틴

```
 857
UGA
  *
```

피브리틴

```
       867         877         887         897         907         917
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG
```

FI element

[0665]

```
       927        937        947        957        967        977
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

                          FI element
       987        997       1007       1017       1027       1037
UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

                          FI element
      1047       1057       1067       1077       1087       1097
CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

                          FI element
      1107       1117       1127       1137       1147  1152
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

                          FI element
      1162       1172       1182       1192       1202       1212
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

                          Poly(A)
      1222       1232       1242       1252       1262
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

                          Poly(A)
```

[0666] 뉴클레오사이드 변형 메신저 RNA(modRNA) 플랫폼의 추가 실시예는 다음과 같다:

[0667] **BNT162b3c(SEQ ID NO: 29; SEQ ID NO: 30)**

[0668] 구조 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG-hAg-Kozak-RBD-GS-피브리틴-GS-TM-FI-A30L70

[0669] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(부분 서열, S1S2 단백질의 막관통 도메인(TM)에 융합된 피브리틴에 융합된 S1S2 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD))의 바이러스 스파이크 단백질(S1S2 단백질); 항원 서열의 N-말단에 있는 내인성 S1S2 단백질 분비 신호 펩타이드(aa 1-19)

```
agaauaaacu aguauucuuc uggucccCac agacucagag agaacccgcc acc aug          56
                                                          Met
                                                           1

uuu gug uuu cuu gug cug cug ccu cuu gug ucu ucu cag ugu gug aau        104
Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
            5                  10                  15

uug aca gug aga uuu cca aau auu aca aau cug ugu cca uuu gga gaa        152
Leu Thr Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu
        20                  25                  30

gug uuu aau gca aca aga uuu gca ucu gug uau gca ugg aau aga aaa        200
Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys
    35                  40                  45

aga auu ucu aau ugu gug gcu gau uau ucu gug cug uau aau agu gcu        248
Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala
50                  55                  60                  65

ucu uuu ucc aca uuu aaa ugu uau gga gug ucu cca aca aaa uua aau        296
Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn
                70                  75                  80

gau uua ugu uuu aca aau gug uau gcu gau ucu uuu gug auc aga ggu        344
Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly
            85                  90                  95

gau gaa gug aga cag auu gcc ccc gga cag aca gga aaa auu gcu gau        392
Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp
        100                 105                 110
```

[0670]

```
uac aau uac aaa cug ccu gau gau uuu aca gga ugu gug auu gcu ugg        440
Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp
    115                 120                 125

aau ucu aau aau uua gau ucu aaa gug gga gga aau uac aau uau cug        488
Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu
130                 135                 140                 145

uac aga cug uuu aga aaa uca aau cug aaa ccu uuu gaa aga gau auu        536
Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile
                150                 155                 160

uca aca gaa auu uau cag gcu gga uca aca ccu ugu aau gga gug gaa        584
Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu
            165                 170                 175

gga uuu aau ugu uau uuu cca uua cag agc uau gga uuu cag cca acc        632
Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr
        180                 185                 190

aau ggu gug gga uau cag cca uau aga gug gug gug cug ucu uuu gaa        680
Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu
    195                 200                 205

cug cug cau gca ccu gca aca gug ugu gga ccu aaa ggc ucc ccc ggc        728
Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly
210                 215                 220                 225

ucc ggc ucc gga ucu ggu uau auu ccu gaa gcu cca aga gau ggg caa        776
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
                230                 235                 240

gcu uac guu cgu aaa gau ggc gaa ugg gua uua cuu ucu acc uuu uua        824
Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
            245                 250                 255

gga agc ggc agc gga ucu gaa cag uac auu aaa ugg ccu ugg uac auu        872
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile
        260                 265                 270

ugg cuu gga uuu auu gca gga uua auu gca auu gug aug gug aca auu        920
Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile
    275                 280                 285

aug uua ugu ugu aug aca uca ugu ugu ucu ugu uua aaa gga ugu ugu        968
Met Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys
290                 295                 300                 305

ucu ugu gga agc ugu ugu uga ugacucgagc ugguacugca ugcacgcaau          1019
Ser Cys Gly Ser Cys Cys
                310
```

[0671] gcuagcugcc ccuuuccccgu ccuggguacc ccgagucucc cccgaccucg ggucccaggu 1079

augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua guuccagaca ccucccaagc 1139

acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc cccacgggaa acagcaguga 1199

uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac uaaccccagg guuggucaau 1259

uucgugccag ccacacccug gagcuagcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaagc 1319

auaugacuaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1379

aaaaaaaaaa aaaaaaaa 1397

[0672]

[0673] **BNT162b3d (SEQ ID NO: 31; SEQ ID NO: 32)**

[0674] 구조 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG-hAg-Kozak-RBD-GS-피브리틴-GS-TM-FI-A30L70

[0675] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2(부분 서열, S1S2 단백질의 막관통 도메인(TM)에 융합된 피브리틴에 융합된 S1S2 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD))의 바이러스 스파이크 단백질(S1S2 단백질); 항원 서열의 N-말단에 있는 면역글로불린 분비 신호 펩타이드(aa 1-19)

```
agaauaaacu aguauucuuc uggucccCac agacucagag agaacccgcc acc aug          56
                                                           Met
                                                           1

gau ugg auu ugg aga auc cug uuc cuc gug gga gcc gcu aca gga gcc         104
Asp Trp Ile Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Gly Ala Ala Thr Gly Ala
            5                   10                  15

cac ucc cag aug cag gug aga uuu cca aau auu aca aau cug ugu cca         152
His Ser Gln Met Gln Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro
        20                  25                  30

uuu gga gaa gug uuu aau gca aca aga uuu gca ucu gug uau gca ugg         200
Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp
    35                  40                  45

aau aga aaa aga auu ucu aau ugu gug gcu gau uau ucu gug cug uau         248
Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr
50                  55                  60                  65

aau agu gcu ucu uuu ucc aca uuu aaa ugu uau gga gug ucu cca aca         296
Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr
                70                  75                  80

aaa uua aau gau uua ugu uuu aca aau gug uau gcu gau ucu uuu gug         344
Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val
            85                  90                  95

auc aga ggu gau gaa gug aga cag auu gcc ccc gga cag aca gga aaa         392
Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys
        100                 105                 110

auu gcu gau uac aau uac aaa cug ccu gau gau uuu aca gga ugu gug         440
Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val
    115                 120                 125

auu gcu ugg aau ucu aau aau uua gau ucu aaa gug gga gga aau uac         488
Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr
```

[0676]

```
130                 135                 140                 145

aau uau cug uac aga cug uuu aga aaa uca aau cug aaa ccu uuu gaa        536
Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu
                150                 155                 160

aga gau auu uca aca gaa auu uau cag gcu gga uca aca ccu ugu aau        584
Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn
            165                 170                 175

gga gug gaa gga uuu aau ugu uau uuu cca uua cag agc uau gga uuu        632
Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe
        180                 185                 190

cag cca acc aau ggu gug gga uau cag cca uau aga gug gug gug cug        680
Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu
    195                 200                 205

ucu uuu gaa cug cug cau gca ccu gca aca gug ugu gga ccu aaa ggc        728
Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly
210                 215                 220                 225

ucc ccc ggc ucc ggc ucc gga ucu ggu uau auu ccu gaa gcu cca aga        776
Ser Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg
                230                 235                 240

gau ggg caa gcu uac guu cgu aaa gau ggc gaa ugg gua uua cuu ucu        824
Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser
            245                 250                 255

acc uuu uua gga agc ggc agc gga ucu gaa cag uac auu aaa ugg ccu        872
Thr Phe Leu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro
        260                 265                 270

ugg uac auu ugg cuu gga uuu auu gca gga uua auu gca auu gug aug        920
Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met
    275                 280                 285

gug aca auu aug uua ugu ugu aug aca uca ugu ugu ucu ugu uua aaa        968
Val Thr Ile Met Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys
290                 295                 300                 305

gga ugu ugu ucu ugu gga agc ugu ugu uga ugacucgagc ugguacugca         1018
Gly Cys Cys Ser Cys Gly Ser Cys Cys
                310

ugcacgcaau gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc ccgagucucc cccgaccucg     1078

ggucccaggu augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua guuccagaca     1138

ccucccaagc acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc cccacgggaa     1198

acagcaguga uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac uaacccccagg    1258

guuggucaau uucgugccag ccacacccug gagcuagcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1318

aaaaaaaagc auaugacuaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1378

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa                                        1406
```

[0677]

[0678]

[0679] 자가-증폭 RNA (saRNA)

[0680] 자가-증폭 mRNA(saRNA) 약물의 활성 성분은 단일 가닥 RNA로서, 세포에 유입시 자체 증폭되며 이후 코로나 바이러스 백신 항원이 번역된다. 바람직하게는 단일 단백질을 코딩하는 uRNA 및 modRNA와 대조적으로, saRNA의 코딩 영역은 2개의 오픈 리딩 프레임(ORF)을 포함한다. 5'-ORF는 베네수엘라 말 뇌염 바이러스(VEEV) RNA 의존성 RNA 중합효소(레플리카제)와 같은 RNA-의존성 RNA 폴리머라제를 인코딩하다. 레플리카제 ORF 다음에는 3'에 서브게놈 프로모터 및 항원을 인코딩하는 두 번째 ORF가 온다. 또한 saRNA UTR에는 자가 증폭에 필요한 5' 및 3' 보존 서열 요소(CSE)가 포함되어 있다. saRNA는 uRNA로서 RNA의 최대 효능을 위해 최적화된 공통 구조 요소를 함유한다(5'-캡, 5'-UTR, 3'-UTR, 폴리(A)-테일). saRNA는 바람직하게는 우리딘을 함유한다. 바람직한 5' 캡 구조는 베타-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'-O}$GppSpG)이다.

[0681] saRNA의 세포질 전달은 알파바이러스-유사 수명 주기를 개시한다. 그러나 saRNA는 게놈 패키징 또는 세포 유입에 필요한 알파바이러스 구조 단백질을 인코딩하지 않으므로 복제 가능 바이러스 입자의 생성이 불가능할 가능

성이 매우 높다. 복제에는 DNA를 생성하는 중간 단계가 포함되지 않는다. 따라서 saRNA의 사용/흡수는 표적 세포 내에서 게놈 통합 또는 기타 영구적인 유전자 변형의 위험을 제기하지 않는다. 또한, saRNA 자체는 dsRNA 중간체의 인식을 통해 선천적 면역 반응을 효과적으로 활성화하여 지속적인 복제를 방지하다.

[0682] 이 플랫폼의 다른 구체예는 다음과 같다:

[0683] **RBS004.1 (SEQ ID NO: 24; SEQ ID NO: 7)**

[0684] 구조 베타-S-ARCA(D1)-레플리카제-S1S2-PP-FI-A30L70

[0685] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2 (S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의

[0686] 바이러스 스파이크 단백질(S 단백질)

[0687] **RBS004.2 (SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 7)**

[0688] 구조 베타-S-ARCA(D1)-레플리카제-S1S2-PP-FI-A30L70

[0689] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2 (S1S2 전장 단백질, 서열 변이체)의

[0690] 바이러스 스파이크 단백질(S 단백질)

[0691] **BNT162c1; RBS004.3 (SEQ ID NO: 26; SEQ ID NO: 5)**

[0692] 구조 베타-S-ARCA(D1)-레플리카제-RBD-GS-피브리틴-FI-A30L70

[0693] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2 (부분 서열, S1S2 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD))의 바이러스 스파이크 단백질(S 단백질)

[0694] **RBS004.4 (SEQ ID NO: 27; SEQ ID NO: 28)**

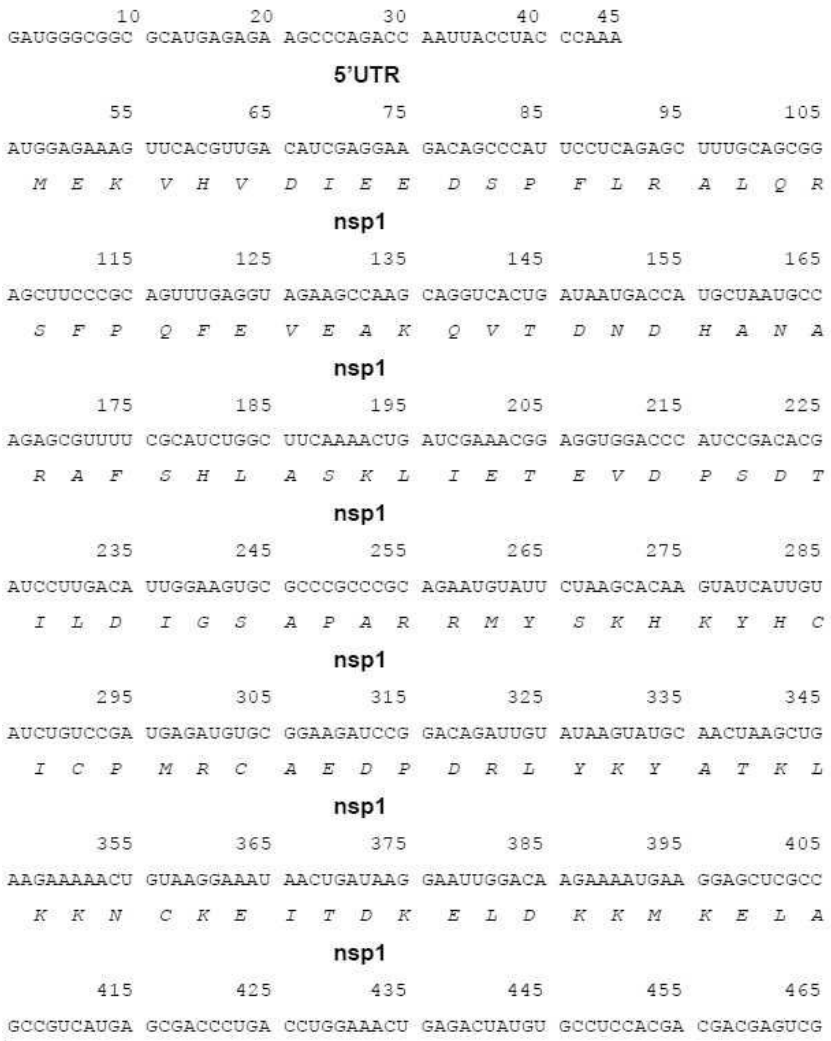
[0695] 구조 베타-S-ARCA(D1)-레플리카제-RBD-GS-피브리틴-TM-FI-A30L70

[0696] 인코딩된 항원 SARS-CoV-2 (부분 서열, S1S2 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD))의 바이러스 스파이크 단백질(S 단백질)

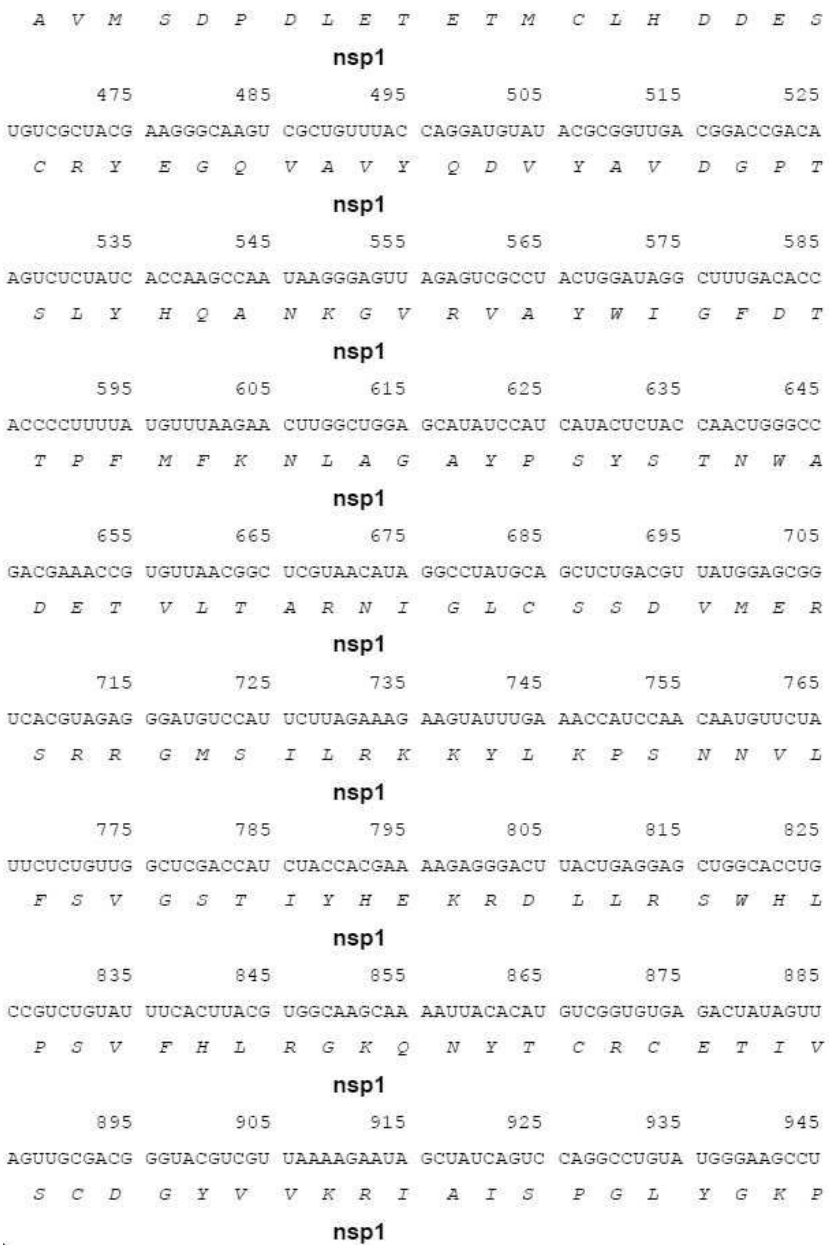
[0697] 도 21은 항원을 인코딩하는 RNA의 일반적인 구조를 도식화한 것이다.

[0698] **RBS004.1의 뉴클레오타이드 서열**

[0699] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).


10 20 30 40 45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA
5'UTR
55 65 75 85 95 105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
M E K V H V D I E E D S P F L R A L Q R
nsp1
115 125 135 145 155 165
AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC
S F P Q F E V E A K Q V T D N D H A N A
nsp1
175 185 195 205 215 225
AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG
R A F S H L A S K L I E T E V D P S D T
nsp1
235 245 255 265 275 285
AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU
I L D I G S A P A R R M Y S K H K Y H C
nsp1
295 305 315 325 335 345
AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG
I C P M R C A E D P D R L Y K Y A T K L
nsp1
355 365 375 385 395 405
AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC
K K N C K E I T D K E L D K K M K E L A
nsp1
415 425 435 445 455 465
GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG

[0700]


A V M S D P D L E T E T M C L H D D E S
nsp1
475 485 495 505 515 525
UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA
C R Y E G Q V A V Y Q D V Y A V D G P T
nsp1
535 545 555 565 575 585
AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC
S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T
nsp1
595 605 615 625 635 645
ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC
T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A
nsp1
655 665 675 685 695 705
GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG
D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R
nsp1
715 725 735 745 755 765
UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA
S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L
nsp1
775 785 795 805 815 825
UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG
F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L
nsp1
835 845 855 865 875 885
CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU
P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V
nsp1
895 905 915 925 935 945
AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU
S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P
nsp1

[0701]

```
      955        965        975        985        995       1005
UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA
  S  G  Y   A  A  T   M  H  R  E   G  F  L   C  C  K   V  T  D  T
```

nsp1

```
     1015       1025       1035       1045       1055       1065
UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC
  L  N  G   E  R  V   S  F  P  V   C  T  Y   V  P  A   T  L  C  D
```

nsp1

```
     1075       1085       1095       1105       1115       1125
CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU
  Q  M  T   G  I  L   A  T  D  V   S  A  D   D  A  Q   K  L  L  V
```

nsp1

```
     1135       1145       1155       1165       1175       1185
GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA
  G  L  N   Q  R  I   V  V  N  G   R  T  Q   R  N  T   N  T  M  K
```

nsp1

```
     1198       1205       1215       1225       1235       1245
AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA
  N  Y  L   L  P  V   V  A  Q  A   F  A  R   W  A  K   E  Y  K  E
```

nsp1

```
     1255       1265       1275       1285       1295       1305
GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU
  D  Q  E   D  E  R   P  L  G  L   R  D  R   Q  L  V   M  G  C  C
```

nsp1

```
     1315       1325       1335       1345       1355       1365
UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC
  W  A  F   R  R  H   K  I  T  S   I  Y  K   R  P  D   T  Q  T  I
```

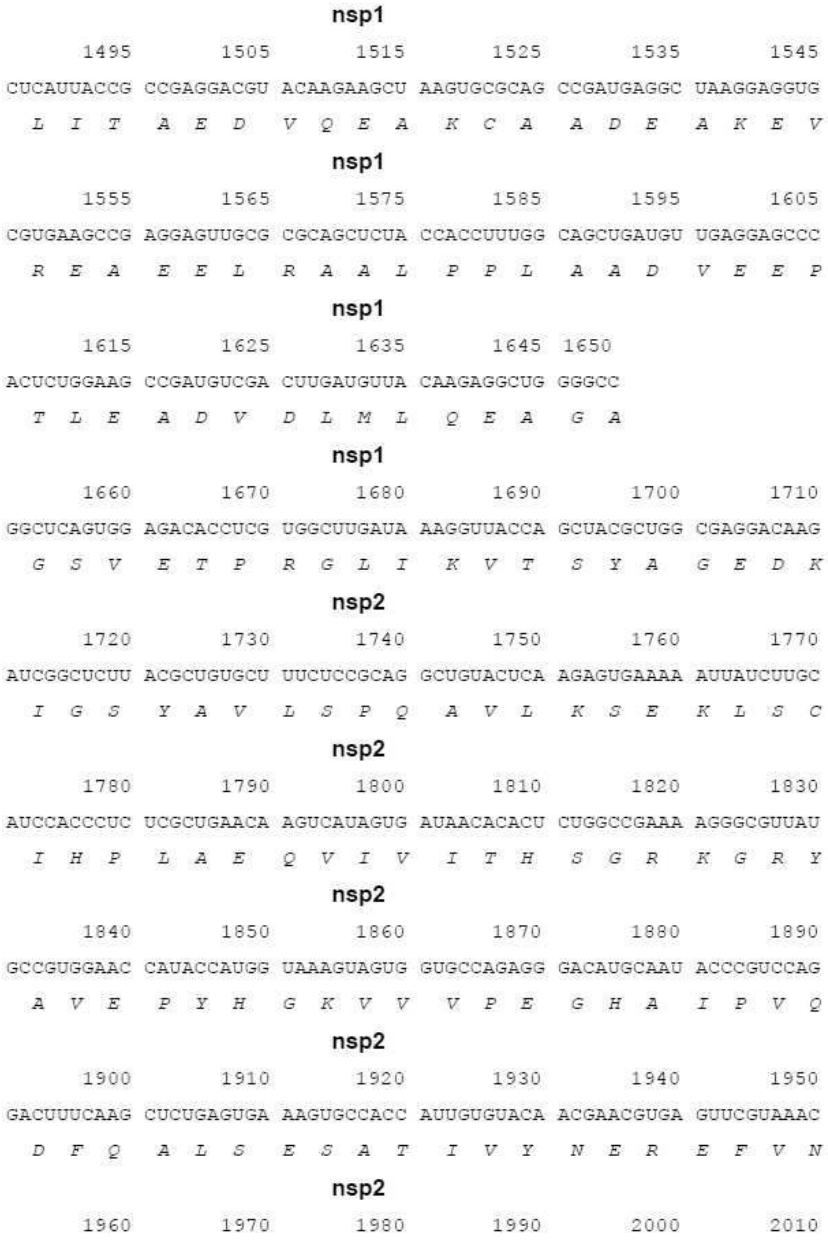
nsp1

```
     1375       1385       1395       1405       1415       1425
AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG
  I  K  V   N  S  D   F  H  S  F   V  L  P   R  I  G   S  N  T  L
```

nsp1

```
     1435       1445       1455       1465       1475       1485
GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU
  E  I  G   L  R  T   R  I  R  K   M  L  E   E  H  K   E  P  S  P
```

[0702]


nsp1
1495 1505 1515 1525 1535 1545
CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG
L I T A E D V Q E A K C A A D E A K E V
nsp1
1555 1565 1575 1585 1595 1605
CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC
R E A E E L R A A L P P L A A D V E E P
nsp1
1615 1625 1635 1645 1650
ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC
T L E A D V D L M L Q E A G A
nsp1
1660 1670 1680 1690 1700 1710
GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG
G S V E T P R G L I K V T S Y A G E D K
nsp2
1720 1730 1740 1750 1760 1770
AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC
I G S Y A V L S P Q A V L K S E K L S C
nsp2
1780 1790 1800 1810 1820 1830
AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU
I H P L A E Q V I V I T H S G R K G R Y
nsp2
1840 1850 1860 1870 1880 1890
GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG
A V E P Y H G K V V V P E G H A I P V Q
nsp2
1900 1910 1920 1930 1940 1950
GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC
D F Q A L S E S A T I V Y N E R E F V N
nsp2
1960 1970 1980 1990 2000 2010

[0703]

AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC

R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y

nsp2

2020 2030 2040 2050 2060 2070

AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG

K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q

nsp2

2080 2090 2100 2110 2120 2130

UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC

C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P

nsp2

2140 2150 2160 2170 2180 2190

UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA

F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P

nsp2

2200 2210 2220 2230 2240 2250

ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC

T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V

nsp2

2260 2270 2280 2290 2300 2310

ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC

T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D

nsp2

2320 2330 2340 2350 2360 2370

GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU

V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N

nsp2

2380 2390 2400 2410 2420 2430

GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU

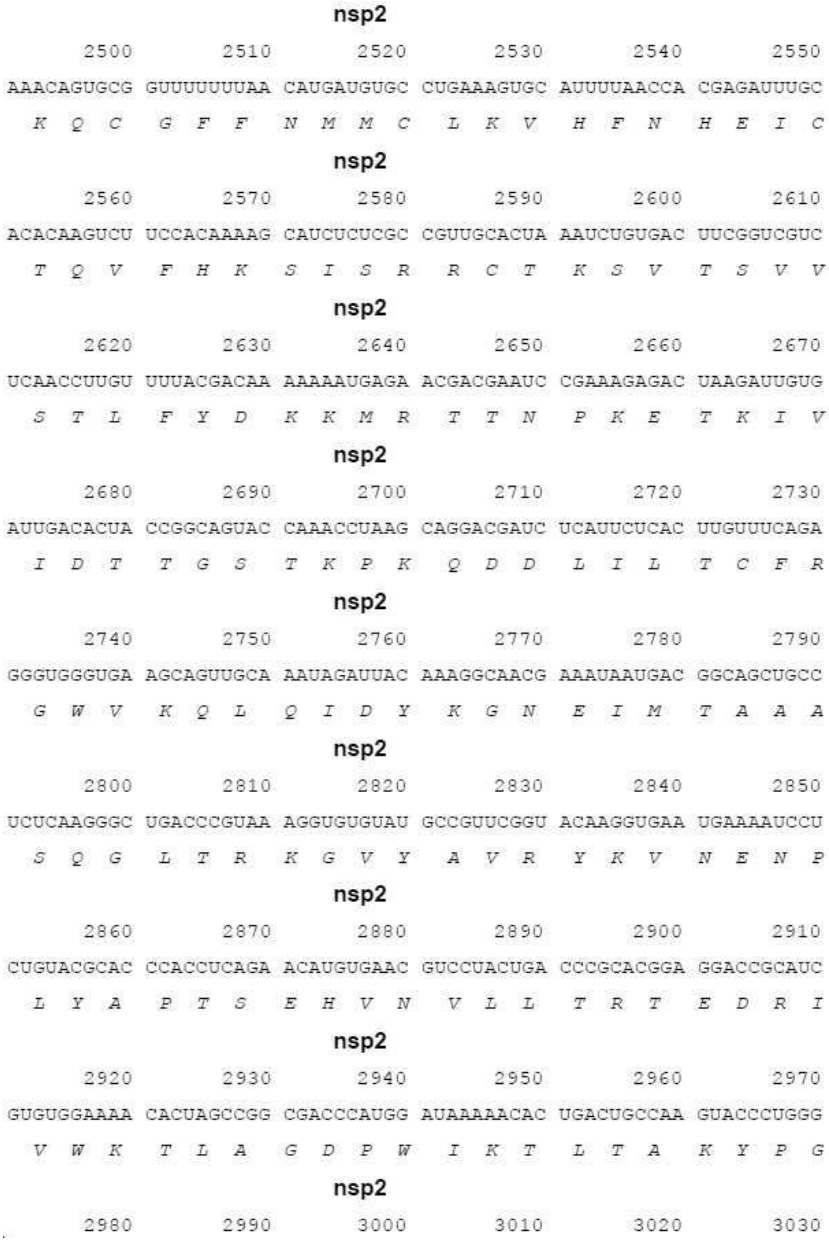
G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G

nsp2

2440 2450 2460 2470 2480 2490

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

[0704] T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P


nsp2
2500 2510 2520 2530 2540 2550
AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC
K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C
nsp2
2560 2570 2580 2590 2600 2610
ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC
T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V
nsp2
2620 2630 2640 2650 2660 2670
UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG
S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V
nsp2
2680 2690 2700 2710 2720 2730
AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA
I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R
nsp2
2740 2750 2760 2770 2780 2790
GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC
G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A
nsp2
2800 2810 2820 2830 2840 2850
UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU
S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P
nsp2
2860 2870 2880 2890 2900 2910
CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC
L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I
nsp2
2920 2930 2940 2950 2960 2970
GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG
V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G
nsp2
2980 2990 3000 3010 3020 3030

[0705]

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

3460 3470 3480 3490 3500 3510

CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU

[0706] *P V N R R L P H A L V L H H N E H P Q S*

nsp2

```
      3520        3530        3540        3550        3560        3570
GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG
  D  F  S   S  F  V   S  K  L  K   G  R  T   V  L  V   V  G  E  K
```

nsp2

```
      3580        3590        3600        3610        3620        3630
UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA
  L  S  V   P  G  K   M  V  D  W   L  S  D   R  P  E   A  T  F  R
```

nsp2

```
      3640        3650        3660        3670        3680        3690
GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU
  A  R  L   D  L  G   I  P  G  D   V  P  K   Y  D  I   I  F  V  N
```

nsp2

```
      3700        3710        3720        3730        3740        3750
GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA
  V  R  T   P  Y  K   Y  H  H  Y   Q  Q  C   E  D  H   A  I  K  L
```

nsp2

```
      3760        3770        3780        3790        3800        3810
AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA
  S  M  L   T  K  K   A  C  L  H   L  N  P   G  G  T   C  V  S  I
```

nsp2

```
      3820        3830        3840        3850        3860        3870
GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC
  G  Y  G   Y  A  D   R  A  S  E   S  I  I   G  A  I   A  R  Q  F
```

nsp2

```
      3880        3890        3900        3910        3920        3930
AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA
  K  F  S   R  V  C   K  P  K  S   S  L  E   E  T  E   V  L  F  V
```

nsp2

```
      3940        3950        3960        3970        3980        3990
UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG
  F  I  G   Y  D  R   K  A  R  T   H  N  P   Y  K  L   S  S  T  L
```

nsp2

```
      4000        4010        4020        4030  4032
```

[0707]

```
ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU
  T  N  I   Y  T  G   S  R  L  H   E  A  G   C
```

nsp2

```
      4042       4052       4062       4072       4082       4092
GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA
  A  P  S   Y  H  V   V  R  G  D   I  A  T   A  T  E   G  V  I  I
```

nsp3

```
      4102       4112       4122       4132       4142       4152
AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA
  N  A  A   N  S  K   G  Q  P  G   G  G  V   C  G  A   L  Y  K  K
```

nsp3

```
      4162       4172       4182       4192       4202       4212
UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU
  F  P  E   S  F  D   L  Q  P  I   E  V  G   K  A  R   L  V  K  G
```

nsp3

```
      4222       4232       4242       4252       4262       4272
GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA
  A  A  K   H  I  I   H  A  V  G   P  N  F   N  K  V   S  E  V  E
```

nsp3

```
      4282       4292       4302       4312       4322       4332
GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU
  G  D  K   Q  L  A   E  A  Y  E   S  I  A   K  I  V   N  D  N  N
```

nsp3

```
      4342       4352       4362       4372       4382       4392
UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA
  Y  K  S   V  A  I   P  L  L  S   T  G  I   F  S  G   N  K  D  R
```

nsp3

```
      4402       4412       4422       4432       4442       4452
CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC
  L  T  Q   S  L  N   H  L  L  T   A  L  D   T  T  D   A  D  V  A
```

nsp3

```
      4462       4472       4482       4492       4502       4512
AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA
  I  Y  C   R  D  K   K  W  E  M   T  L  K   E  A  V   A  R  R  E
```

[0708]

nsp3

4522 4532 4542 4552 4562 4572

GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG

A V E E I C I S D D S S V T E P D A E L

nsp3

4582 4592 4602 4612 4622 4632

GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC

V R V H P K S S L A G R K G Y S T S D G

nsp3

4642 4652 4662 4672 4682 4692

AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA

K T F S Y L E G T K F H Q A A K D I A E

nsp3

4702 4712 4722 4732 4742 4752

AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC

I N A M W P V A T E A N E Q V C M Y I L

nsp3

4762 4772 4782 4792 4802 4812

GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA

G E S M S S I R S K C P V E E S E A S T

nsp3

4822 4832 4842 4852 4862 4872

CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC

P P S T L P C L C I H A M T P E R V Q R

nsp3

4882 4892 4902 4912 4922 4932

CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU

L K A S R P E Q I T V C S S F P L P K Y

nsp3

4942 4952 4962 4972 4982 4992

AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG

R I T G V Q K I Q C S Q P I L F S P K V

nsp3

[0709] 5002 5012 5022 5032 5042 5052

CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG

P A Y I H P R K Y L V E T P P V D E T P

nsp3

5062 5072 5082 5092 5102 5112

GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC

E P S A E N Q S T E G T P E Q P P L I T

nsp3

5122 5132 5142 5152 5162 5172

GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU

E D E T R T R T P E P I I I E E E E E D

nsp3

5182 5192 5202 5212 5222 5232

AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU

S I S L L S D G P T H Q V L Q V E A D I

nsp3

5242 5252 5262 5272 5282 5292

CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU

H G P P S V S S S S W S I P H A S D F D

nsp3

5302 5312 5322 5332 5342 5352

GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG

V D S L S I L D T L E G A S V T S G A T

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

5482 5492 5502 5512 5522 5532

CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU

[0710] L A P S R A C S R T S L V S T P P G V N

nsp3

5542 5552 5562 5572 5582 5592

AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG

R V I T R E E L E A L T P S R T P S R S

nsp3

5602 5612 5622 5632 5642 5652

GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG

V S R T S L V S N P P G V N R V I T R E

nsp3

5662 5672 5682 5692 5702 5703

GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A

*E F E A F V A Q Q Q * R F D A G A*

nsp3

5713 5723 5733 5743 5753 5763

UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG

Y I F S S D T G Q G H L Q Q K S V R Q T

nsp4

5773 5783 5793 5803 5813 5823

GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC

V L S E V V L E R T E L E I S Y A P R L

nsp4

5833 5843 5853 5863 5873 5883

GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC

D Q E K E E L L R K K L Q L N P T P A N

nsp4

5893 5903 5913 5923 5933 5943

AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU

R S R Y Q S R K V E N M K A I T A R R I

nsp4

5953 5963 5973 5983 5993 6003

CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG

L Q G L G H Y L K A E G K V E C Y R T L

nsp4

[0711] 6013 6023 6033 6043 6053 6063

CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA
H P V P L Y S S S V N R A F S S P K V A

nsp4

6073 6083 6093 6103 6113 6123
GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU
V E A C N A M L K E N F P T V A S Y C I

nsp4

6133 6143 6153 6163 6173 6183
AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU
I P E Y D A Y L D M V D G A S C C L D T

nsp4

6193 6203 6213 6223 6233 6243
GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC
A S F C P A K L R S F P K K H S Y L E P

nsp4

6253 6263 6273 6283 6293 6303
ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU
T I R S A V P S A I Q N T L Q N V L A A

nsp4

6313 6323 6333 6343 6353 6363
GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG
A T K R N C N V T Q M R E L P V L D S A

nsp4

6373 6383 6393 6403 6413 6423
GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU
A F N V E C F K K Y A C N N E Y W E T F

nsp4

6433 6443 6453 6463 6473 6483
AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA
K E N P I R L T E E N V V N Y I T K L K

nsp4

6493 6503 6513 6523 6533 6543
GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA
G P K A A A L F A K T H N L N M L Q D I

[0712]

nsp4

6553 6563 6573 6583 6593 6603

CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA

P M D R F V M D L K R D V K V T P G T K

nsp4

6613 6623 6633 6643 6653 6663

CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG

H T E E R P K V Q V I Q A A D P L A T A

nsp4

6673 6683 6693 6703 6713 6723

UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC

Y L C G I H R E L V R R L N A V L L P N

nsp4

6733 6743 6753 6763 6773 6783

AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC

I H T L F D M S A E D F D A I I A E H F

nsp4

6793 6803 6813 6823 6833 6843

CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC

Q P G D C V L E T D I A S F D K S E D D

nsp4

6853 6863 6873 6883 6893 6903

GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG

A M A L T A L M I L E D L G V D A E L L

nsp4

6913 6923 6933 6943 6953 6963

ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA

T L I E A A F G E I S S I H L P T K T K

nsp4

6973 6983 6993 7003 7013 7023

UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC

F K F G A M M K S G M F L T L F V N T V

nsp4

[0713] 7033 7043 7053 7063 7073 7083

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

7513 7523 7527

GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA

[0714] A P I T L Y G *

nsp4

```
      7537        7547        7557        7567  7568
CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U
```

virUTR

```
      7578        7588        7598        7608        7618        7628
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGAA UUUGACAACA
  M   F   V   F   L   V   L   L   P   L   V   S   S   Q   C   V   N   L   T   T
```

S 단백질

```
      7638        7648        7658        7668        7678        7688
AGAACACAGC UGCCACCAGC UUAUACAAAU UCUUUUACCA GAGGAGUGUA UUAUCCUGAU
  R   T   Q   L   P   P   A   Y   T   N   S   F   T   R   G   V   Y   Y   P   D
```

S 단백질

```
      7698        7708        7718        7728        7738        7748
AAAGUGUUUA GAUCUUCUGU GCUGCACAGC ACACAGGACC UGUUUCUGCC AUUUUUUAGC
  K   V   F   R   S   S   V   L   H   S   T   Q   D   L   F   L   P   F   F   S
```

S 단백질

```
      7758        7768        7778        7788        7798        7808
AAUGUGACAU GGUUUCAUGC AAUUCAUGUG UCUGGAACAA AUGGAACAAA AAGAUUUGAU
  N   V   T   W   F   H   A   I   H   V   S   G   T   N   G   T   K   R   F   D
```

S 단백질

```
      7818        7828        7838        7848        7858        7868
AAUCCUGUGC UGCCUUUUAA UGAUGGAGUG UAUUUUGCUU CAACAGAAAA GUCAAAUAUU
  N   P   V   L   P   F   N   D   G   V   Y   F   A   S   T   E   K   S   N   I
```

S 단백질

```
      7878        7888        7898        7908        7918        7928
AUUAGAGGAU GGAUUUUUGG AACAACACUG GAUUCUAAAA CACAGUCUCU GCUGAUUGUG
  I   R   G   W   I   F   G   T   T   L   D   S   K   T   Q   S   L   L   I   V
```

S 단백질

```
      7938        7948        7958        7968        7978        7988
AAUAAUGCAA CAAAUGUGGU GAUUAAAGUG UGUGAAUUUC AGUUUUGUAA UGAUCCUUUU
  N   N   A   T   N   V   V   I   K   V   C   E   F   Q   F   C   N   D   P   F
```

[0715]

S 단백질

```
      7998        8008        8018        8028        8038        8048
CUGGGAGUGU AUUAUCACAA AAAUAAUAAA UCUUGGAUGG AAUCUGAAUU UAGAGUGUAU
  L   G   V   Y   Y   H   K   N   N   K   S   W   M   E   S   E   F   R   V   Y
```

S 단백질

```
      8058        8068        8078        8088        8098        8108
UCCUCUGCAA AUAAUUGUAC AUUUGAAUAU GUGUCUCAGC CUUUUCUGAU GGAUCUGGAA
  S   S   A   N   N   C   T   F   E   Y   V   S   Q   P   F   L   M   D   L   E
```

S 단백질

```
      8118        8128        8138        8148        8158        8168
GGAAAACAGG GCAAUUUUAA AAAUCUGAGA GAAUUUGUGU UUAAAAAUAU UGAUGGAUAU
  G   K   Q   G   N   F   K   N   L   R   E   F   V   F   K   N   I   D   G   Y
```

S 단백질

```
      8178        8188        8198        8208        8218        8228
UUUAAAAUUU AUUCUAAACA CACACCAAUU AAUUUAGUGA GAGAUCUGCC UCAGGGAUUU
  F   K   I   Y   S   K   H   T   P   I   N   L   V   R   D   L   P   Q   G   F
```

S 단백질

```
      8238        8248        8258        8268        8278        8288
UCUGCUCUGG AACCUCUGGU GGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUAUUACAAG AUUUCAGACA
  S   A   L   E   P   L   V   D   L   P   I   G   I   N   I   T   R   F   Q   T
```

S 단백질

```
      8298        8308        8318        8328        8338        8348
CUGCUGGCUC UGCACAGAUC UUAUCUGACA CCUGGAGAUU CUUCUUCUGG AUGGACAGCC
  L   L   A   L   H   R   S   Y   L   T   P   G   D   S   S   S   G   W   T   A
```

S 단백질

```
      8358        8368        8378        8388        8398        8408
GGAGCUGCAG CUUAUUAUGU GGGCUAUCUG CAGCCAAGAA CAUUUCUGCU GAAAUAUAAU
  G   A   A   A   Y   Y   V   G   Y   L   Q   P   R   T   F   L   L   K   Y   N
```

S 단백질

[0716]

```
      8418        8428        8438        8448        8458        8468
```

GAAAAUGGAA CAAUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAAACAAAA

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S 단백질

8478 8488 8498 8508 8518 8528

UGUACAUUAA AAUCUUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S 단백질

8538 8548 8558 8568 8578 8588

CAGCCAACAG AAUCUAUUGU GAGAUUUCCA AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S 단백질

8598 8608 8618 8628 8638 8648

GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S 단백질

8658 8668 8678 8688 8698 8708

UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S 단백질

8718 8728 8738 8748 8758 8768

GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S 단백질

8778 8788 8798 8808 8818 8828

GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S 단백질

8838 8848 8858 8868 8878 8888

UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU

[0717] *Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N*

S 단백질

```
      8898        8908        8918        8928        8938        8948
UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU
  L  D  S   K  V  G   G  N  Y  N   Y  L  Y   R  L  F   R  K  S  N
```

S 단백질

```
      8958        8968        8978        8988        8998        9008
CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU
  L  K  P   F  E  R   D  I  S  T   E  I  Y   Q  A  G   S  T  P  C
```

S 단백질

```
      9018        9028        9038        9048        9058        9068
AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC
  N  G  V   E  G  F   N  C  Y  F   P  L  Q   S  Y  G   F  Q  P  T
```

S 단백질

```
      9078        9088        9098        9108        9118        9128
AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA
  N  G  V   G  Y  Q   P  Y  R  V   V  V  L   S  F  E   L  L  H  A
```

S 단백질

```
      9138        9148        9158        9168        9178        9188
CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAAUCU ACAAAUUUAG UGAAAAAUAA AUGUGUGAAU
  P  A  T   V  C  G   P  K  K  S   T  N  L   V  K  N   K  C  V  N
```

S 단백질

```
      9198        9208        9218        9228        9238        9248
UUUAAUUUUA AUGGAUUAAC AGGAACAGGA GUGCUGACAG AAUCUAAUAA AAAAUUUCUG
  F  N  F   N  G  L   T  G  T  G   V  L  T   E  S  N   K  K  F  L
```

S 단백질

```
      9258        9268        9278        9288        9298        9308
CCUUUUCAGC AGUUUGGCAG AGAUAUUGCA GAUACCACAG AUGCAGUGAG AGAUCCUCAG
  P  F  Q   Q  F  G   R  D  I  A   D  T  T   D  A  V   R  D  P  Q
```

S 단백질

[0718]

```
      9318        9328        9338        9348        9358        9368
```

ACAUUAGAAA UUCUGGAUAU UACACCUUGU UCUUUUGGGG GUGUGUCUGU GAUUACACCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S 단백질

9378 9388 9398 9408 9418 9428

GGAACAAAUA CAUCUAAUCA GGUGGCUGUG CUGUAUCAGG AUGUGAAUUG UACAGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S 단백질

9438 9448 9458 9468 9478 9488

CCAGUGGCAA UUCAUGCAGA UCAGCUGACA CCAACAUGGA GAGUGUAUUC UACAGGAUCU

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S 단백질

9498 9508 9518 9528 9538 9548

AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUGUGAA UAAUUCUUAU

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S 단백질

9558 9568 9578 9588 9598 9608

GAAUGUGAUA UUCCAAUUGG AGCAGGCAUU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUUCC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S 단백질

9618 9628 9638 9648 9658 9668

CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUAUUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S 단백질

9678 9688 9698 9708 9718 9728

GCAGAAAAUU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UUCCAACAAA UUUUACCAUU

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S 단백질

9738 9748 9758 9768 9778 9788

UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAAA CAUCUGUGGA UUGUACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

[0719]

S 단백질

```
      9798        9808        9818        9828        9838        9848
UACAUUUGUG GAGAUUCUAC AGAAUGUUCU AAUCUGCUGC UGCAGUAUGG AUCUUUUUGU
  Y  I  C   G  D  S   T  E  C  S   N  L  L   L  Q  Y   G  S  F  C
```

S 단백질

```
      9858        9868        9878        9888        9898        9908
ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAUU GCUGUGGAAC AGGAUAAAAA UACACAGGAA
  T  Q  L   N  R  A   L  T  G  I   A  V  E   Q  D  K   N  T  Q  E
```

S 단백질

```
      9918        9928        9938        9948        9958        9968
GUGUUUGCUC AGGUGAAACA GAUUUACAAA ACACCACCAA UUAAAGAUUU UGGAGGAUUU
  V  F  A   Q  V  K   Q  I  Y  K   T  P  P   I  K  D   F  G  G  F
```

S 단백질

```
      9978        9988        9998       10008       10018       10028
AAUUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU
  N  F  S   Q  I  L   P  D  P  S   K  P  S   K  R  S   F  I  E  D
```

S 단백질

```
     10038       10048       10058       10068       10078       10088
CUGCUGUUUA AUAAAGUGAC ACUGGCAGAU GCAGGAUUUA UUAAACAGUA UGGAGAUUGC
  L  L  F   N  K  V   T  L  A  D   A  G  F   I  K  Q   Y  G  D  C
```

S 단백질

```
     10098       10108       10118       10128       10138       10148
CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAUU UGUGCUCAGA AAUUUAAUGG ACUGACAGUG
  L  G  D   I  A  A   R  D  L  I   C  A  Q   K  F  N   G  L  T  V
```

S 단백질

```
     10158       10168       10178       10188       10198       10208
CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAAUGAUU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA
  L  P  P   L  L  T   D  E  M  I   A  Q  Y   T  S  A   L  L  A  G
```

S 단백질

[0720]

```
     10218       10228       10238       10248       10258       10268
```

ACAAUUACAA GCGGAUGGAC AUUUGGAGCU GGAGCUGCUC UGCAGAUUCC UUUUGCAAUG
T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S 단백질

10278 10288 10298 10308 10318 10328
CAGAUGGCUU ACAGAUUUAA UGGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUAUA UGAAAAUCAG
Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S 단백질

10338 10348 10358 10368 10378 10388
AAACUGAUUG CAAAUCAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAAAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU
K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S 단백질

10398 10408 10418 10428 10438 10448
ACAGCUUCUG CUCUGGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU
T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S 단백질

10458 10468 10478 10488 10498 10508
ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCAAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUAUU
T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S 단백질

10518 10528 10538 10548 10558 10568
CUGUCUAGAC UGGAUCCTCC TGAAGCUGAA GUGCAGAUUG AUAGACUGAU CACAGGAAGA
L S R L D P P E A E V Q I D R L I T G R

S 단백질

10578 10588 10598 10608 10618 10628
CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUUAGAGCU
L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

S 단백질

10638 10648 10658 10668 10678 10688
UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAAGAGUG
S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

[0721]

S 단백질

```
    10698       10708       10718       10728       10738       10748
GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUGCUCC ACAUGGAGUG
  D  F  C   G  K  G   Y  H  L  M   S  F  P   Q  S  A   P  H  G  V
```

S 단백질

```
    10758       10768       10778       10788       10798       10808
GUGUUUUUAC AUGUGACAUA UGUGCCAGCA CAGGAAAAGA AUUUUACCAC AGCACCAGCA
  V  F  L   H  V  T   Y  V  P  A   Q  E  K   N  F  T   T  A  P  A
```

S 단백질

```
    10818       10828       10838       10848       10858       10868
AUUUGUCAUG AUGGAAAAGC ACAUUUUCCA AGAGAAGGAG UGUUUGUGUC UAAUGGAACA
  I  C  H   D  G  K   A  H  F  P   R  E  G   V  F  V   S  N  G  T
```

S 단백질

```
    10878       10888       10898       10908       10918       10928
CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAAUUUUUAU GAACCUCAGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA
  H  W  F   V  T  Q   R  N  F  Y   E  P  Q   I  I  T   T  D  N  T
```

S 단백질

```
    10938       10948       10958       10968       10978       10988
UUUGUGUCAG GAAAUUGUGA UGUGGUGAUU GGAAUUGUGA AUAAUACAGU GUAUGAUCCA
  F  V  S   G  N  C   D  V  V  I   G  I  V   N  N  T   V  Y  D  P
```

S 단백질

```
    10998       11008       11018       11028       11038       11048
CUGCAGCCAG AACUGGAUUC UUUUAAAGAA GAACUGGAUA AAUAUUUUAA AAAUCACACA
  L  Q  P   E  L  D   S  F  K  E   E  L  D   K  Y  F   K  N  H  T
```

S 단백질

```
    11058       11068       11078       11088       11098       11108
UCUCCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUAUUUCU GGAAUCAAUG CAUCUGUGGU GAAUAUUCAG
  S  P  D   V  D  L   G  D  I  S   G  I  N   A  S  V   V  N  I  Q
```

S 단백질

[0722]

```
    11118       11128       11138       11148       11158       11168
```

```
AAAGAAAUUG AUAGACUGAA UGAAGUGGCC AAAAAUCUGA AUGAAUCUCU GAUUGAUCUG
  K  E  I   D  R  L   N  E  V  A   K  N  L   N  E  S   L  I  D  L
```

S 단백질

```
    11178      11188      11198      11208      11218      11228
CAGGAACUUG GAAAAUAUGA ACAGUACAUU AAAUGGCCUU GGUACAUUUG GCUUGGAUUU
  Q  E  L   G  K  Y   E  Q  Y  I   K  W  P   W  Y  I   W  L  G  F
```

S 단백질

```
    11238      11248      11258      11268      11278      11288
AUUGCAGGAU UAAUUGCAAU UGUGAUGGUG ACAAUUAUGU UAUGUUGUAU GACAUCAUGU
  I  A  G   L  I  A   I  V  M  V   T  I  M   L  C  C   M  T  S  C
```

S 단백질

```
    11298      11308      11318      11328      11338      11348
UGUUCUUGUU UAAAAGGAUG UUGUUCUUGU GGAAGCUGUU GUAAAUUUGA UGAAGAUGAU
  C  S  C   L  K  G   C  C  S  C   G  S  C   C  K  F   D  E  D  D
```

S 단백질

```
    11358      11368      11378      11388  11393
UCUGAACCUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA
  S  E  P   V  L  K   G  V  K  L   H  Y  T   *  *
```

S 단백질

```
    11403      11413      11423      11433      11443      11453
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG
```

FI element

```
    11463      11473      11483      11493      11503      11513
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC
```

FI element

```
    11523      11533      11543      11553      11563      11573
UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG
```

FI element

```
    11583      11593      11603      11613      11623      11633
CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA
```

FI element

[0723]

```
    11643      11653      11663      11673      11683      11693
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC
```

FI element

```
    11703      11713      11723      11733      11743      11753
AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU
```

FI element

```
    11763      11773      11783      11793      11803    11807
UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC
```

FI element

```
    11817      11827      11837      11847      11857      11867
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

Poly(A)

```
    11877      11887      11897      11907      11917
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

Poly(A)

[0724]

[0725] RBS004.2의 뉴클레오타이드 서열

[0726] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코

딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```
         10         20         30         40     45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA

                    5' UTR

        55         65         75         85         95        105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
  M  E  K   V  H  V   D  I  E  E   D  S  P   F  L  R   A  L  Q  R

                      nsp1

       115        125        135        145        155        165
AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC
  S  F  P   Q  F  E   V  E  A  K   Q  V  T   D  N  D   H  A  N  A

                      nsp1

       175        185        195        205        215        225
AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG
  R  A  F   S  H  L   A  S  K  L   I  E  T   E  V  D   P  S  D  T

                      nsp1

       235        245        255        265        275        285
AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU
  I  L  D   I  G  S   A  P  A  R   R  M  Y   S  K  H   K  Y  H  C

                      nsp1

       295        305        315        325        335        345
AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG
  I  C  P   M  R  C   A  E  D  P   D  R  L   Y  K  Y   A  T  K  L

                      nsp1

       355        365        375        385        395        405
AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC
  K  K  N   C  K  E   I  T  D  K   E  L  D   K  K  M   K  E  L  A

                      nsp1

       415        425        435        445        455        465
```

[0727]

GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG

A V M S D P D L E T E T M C L H D D E S

nsp1

475 485 495 505 515 525

UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA

C R Y E G Q V A V Y Q D V Y A V D G P T

nsp1

535 545 555 565 575 585

AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC

S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T

nsp1

595 605 615 625 635 645

ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC

T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A

nsp1

655 665 675 685 695 705

GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG

D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R

nsp1

715 725 735 745 755 765

UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA

S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L

nsp1

775 785 795 805 815 825

UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG

F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L

nsp1

835 845 855 865 875 885

CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU

P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V

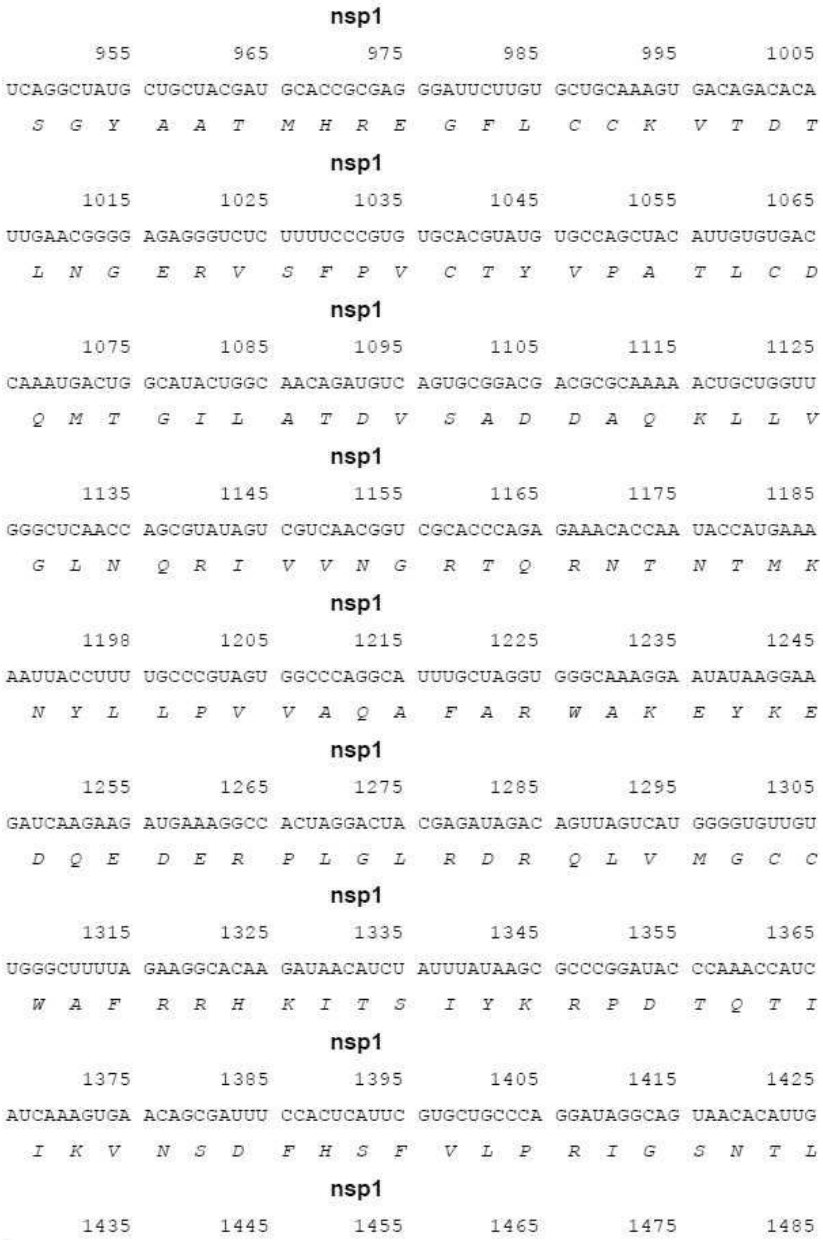
nsp1

895 905 915 925 935 945

AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU

S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P

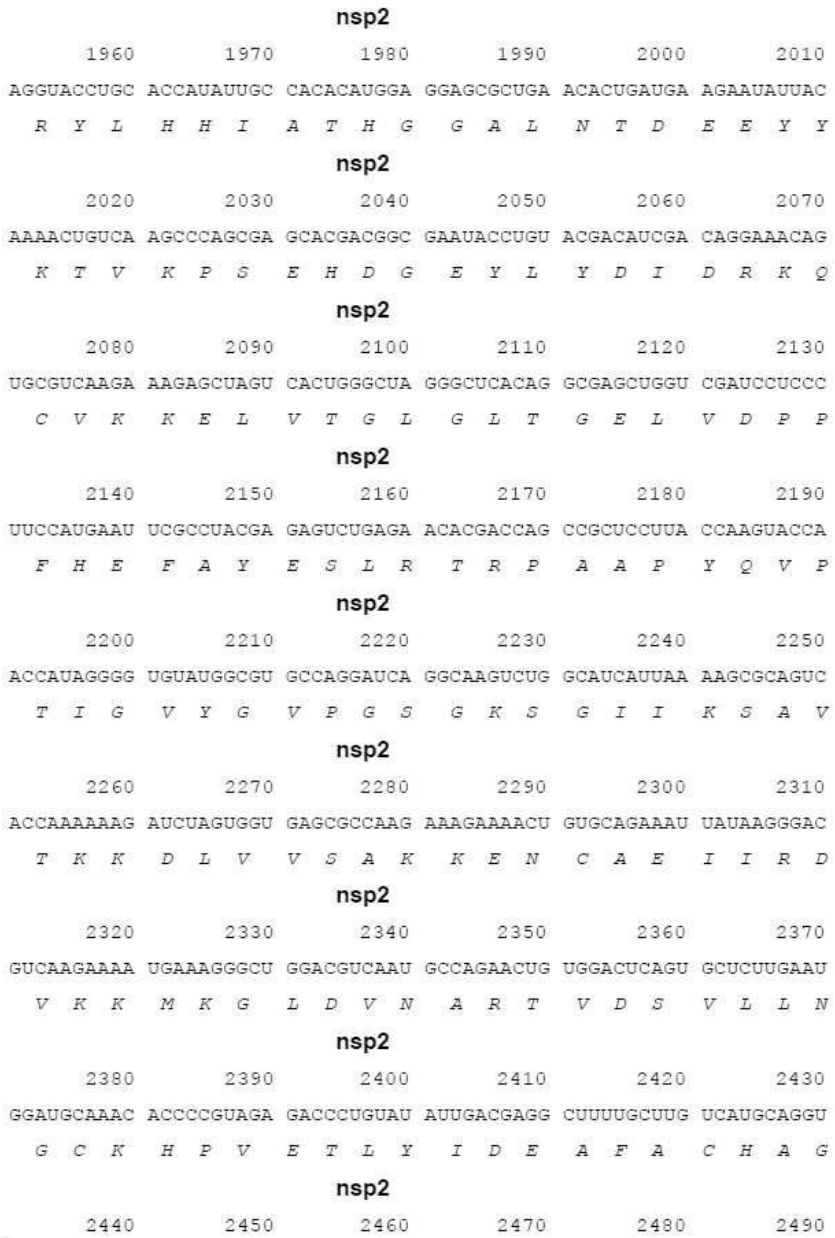
[0728]


nsp1
955 965 975 985 995 1005
UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA
S G Y A A T M H R E G F L C C K V T D T
nsp1
1015 1025 1035 1045 1055 1065
UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC
L N G E R V S F P V C T Y V P A T L C D
nsp1
1075 1085 1095 1105 1115 1125
CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU
Q M T G I L A T D V S A D D A Q K L L V
nsp1
1135 1145 1155 1165 1175 1185
GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA
G L N Q R I V V N G R T Q R N T N T M K
nsp1
1198 1205 1215 1225 1235 1245
AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA
N Y L L P V V A Q A F A R W A K E Y K E
nsp1
1255 1265 1275 1285 1295 1305
GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU
D Q E D E R P L G L R D R Q L V M G C C
nsp1
1315 1325 1335 1345 1355 1365
UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC
W A F R R H K I T S I Y K R P D T Q T I
nsp1
1375 1385 1395 1405 1415 1425
AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG
I K V N S D F H S F V L P R I G S N T L
nsp1
1435 1445 1455 1465 1475 1485

[0729]

```
GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU
  E  I  G   L  R  T   R  I  R  K   M  L  E   E  H  K   E  P  S  P
                          nsp1
     1495       1505       1515       1525       1535       1545
CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG
  L  I  T   A  E  D   V  Q  E  A   K  C  A   A  D  E   A  K  E  V
                          nsp1
     1555       1565       1575       1585       1595       1605
CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC
  R  E  A   E  E  L   R  A  A  L   P  P  L   A  A  D   V  E  E  P
                          nsp1
     1615       1625       1635       1645  1650
ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC
  T  L  E   A  D  V   D  L  M  L   Q  E  A   G  A
                          nsp1
     1660       1670       1680       1690       1700       1710
GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG
  G  S  V   E  T  P   R  G  L  I   K  V  T   S  Y  A   G  E  D  K
                          nsp2
     1720       1730       1740       1750       1760       1770
AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC
  I  G  S   Y  A  V   L  S  P  Q   A  V  L   K  S  E   K  L  S  C
                          nsp2
     1780       1790       1800       1810       1820       1830
AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU
  I  H  P   L  A  E   Q  V  I  V   I  T  H   S  G  R   K  G  R  Y
                          nsp2
     1840       1850       1860       1870       1880       1890
GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG
  A  V  E   P  Y  H   G  K  V  V   V  P  E   G  H  A   I  P  V  Q
                          nsp2
     1900       1910       1920       1930       1940       1950
GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC
  D  F  Q   A  L  S   E  S  A  T   I  V  Y   N  E  R   E  F  V  N
```

[0730]


nsp2
1960 1970 1980 1990 2000 2010
AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC
R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y
nsp2
2020 2030 2040 2050 2060 2070
AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG
K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q
nsp2
2080 2090 2100 2110 2120 2130
UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC
C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P
nsp2
2140 2150 2160 2170 2180 2190
UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA
F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P
nsp2
2200 2210 2220 2230 2240 2250
ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC
T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V
nsp2
2260 2270 2280 2290 2300 2310
ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC
T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D
nsp2
2320 2330 2340 2350 2360 2370
GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU
V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N
nsp2
2380 2390 2400 2410 2420 2430
GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU
G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G
nsp2
2440 2450 2460 2470 2480 2490

[0731]

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P

nsp2

2500 2510 2520 2530 2540 2550

AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC

K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C

nsp2

2560 2570 2580 2590 2600 2610

ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC

T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V

nsp2

2620 2630 2640 2650 2660 2670

UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG

S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V

nsp2

2680 2690 2700 2710 2720 2730

AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA

I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R

nsp2

2740 2750 2760 2770 2780 2790

GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC

G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A

nsp2

2800 2810 2820 2830 2840 2850

UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU

S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P

nsp2

2860 2870 2880 2890 2900 2910

CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC

L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I

nsp2

2920 2930 2940 2950 2960 2970

GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG

[0732] V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G

nsp2

2980 2990 3000 3010 3020 3030

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

[0733] 3460 3470 3480 3490 3500 3510

```
CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU
  P  V  N   R  R  L   P  H  A  L   V  L  H   H  N  E   H  P  Q  S
```

nsp2

```
      3520        3530        3540        3550        3560        3570
GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG
  D  F  S   S  F  V   S  K  L  K   G  R  T   V  L  V   V  G  E  K
```

nsp2

```
      3580        3590        3600        3610        3620        3630
UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA
  L  S  V   P  G  K   M  V  D  W   L  S  D   R  P  E   A  T  F  R
```

nsp2

```
      3640        3650        3660        3670        3680        3690
GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU
  A  R  L   D  L  G   I  P  G  D   V  P  K   Y  D  I   I  F  V  N
```

nsp2

```
      3700        3710        3720        3730        3740        3750
GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA
  V  R  T   P  Y  K   Y  H  H  Y   Q  Q  C   E  D  H   A  I  K  L
```

nsp2

```
      3760        3770        3780        3790        3800        3810
AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA
  S  M  L   T  K  K   A  C  L  H   L  N  P   G  G  T   C  V  S  I
```

nsp2

```
      3820        3830        3840        3850        3860        3870
GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC
  G  Y  G   Y  A  D   R  A  S  E   S  I  I   G  A  I   A  R  Q  F
```

nsp2

```
      3880        3890        3900        3910        3920        3930
AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA
  K  F  S   R  V  C   K  P  K  S   S  L  E   E  T  E   V  L  F  V
```

nsp2

```
      3940        3950        3960        3970        3980        3990
UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG
  F  I  G   Y  D  R   K  A  R  T   H  N  P   Y  K  L   S  S  T  L
```

[0734]

nsp2

```
     4000       4010       4020       4030  4032
ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU
  T  N  I   Y  T  G   S  R  L  H   E  A  G   C
```

nsp2

```
     4042       4052       4062       4072       4082       4092
GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA
  A  P  S   Y  H  V   V  R  G  D   I  A  T   A  T  E   G  V  I  I
```

nsp3

```
     4102       4112       4122       4132       4142       4152
AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA
  N  A  A   N  S  K   G  Q  P  G   G  G  V   C  G  A   L  Y  K  K
```

nsp3

```
     4162       4172       4182       4192       4202       4212
UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU
  F  P  E   S  F  D   L  Q  P  I   E  V  G   K  A  R   L  V  K  G
```

nsp3

```
     4222       4232       4242       4252       4262       4272
GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA
  A  A  K   H  I  I   H  A  V  G   P  N  F   N  K  V   S  E  V  E
```

nsp3

```
     4282       4292       4302       4312       4322       4332
GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU
  G  D  K   Q  L  A   E  A  Y  E   S  I  A   K  I  V   N  D  N  N
```

nsp3

```
     4342       4352       4362       4372       4382       4392
UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA
  Y  K  S   V  A  I   P  L  L  S   T  G  I   F  S  G   N  K  D  R
```

nsp3

```
     4402       4412       4422       4432       4442       4452
CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC
  L  T  Q   S  L  N   H  L  L  T   A  L  D   T  T  D   A  D  V  A
```

nsp3

[0735]

```
     4462       4472       4482       4492       4502       4512
```

AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA

I Y C R D K K W E M T L K E A V A R R E

nsp3

4522 4532 4542 4552 4562 4572

GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG

A V E E I C I S D D S S V T E P D A E L

nsp3

4582 4592 4602 4612 4622 4632

GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC

V R V H P K S S L A G R K G Y S T S D G

nsp3

4642 4652 4662 4672 4682 4692

AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA

K T F S Y L E G T K F H Q A A K D I A E

nsp3

4702 4712 4722 4732 4742 4752

AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC

I N A M W P V A T E A N E Q V C M Y I L

nsp3

4762 4772 4782 4792 4802 4812

GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA

G E S M S S I R S K C P V E E S E A S T

nsp3

4822 4832 4842 4852 4862 4872

CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC

P P S T L P C L C I H A M T P E R V Q R

nsp3

4882 4892 4902 4912 4922 4932

CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU

L K A S R P E Q I T V C S S F P L P K Y

nsp3

4942 4952 4962 4972 4982 4992

AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG

[0736] *R I T G V Q K I Q C S Q P I L F S P K V*

nsp3

5002 5012 5022 5032 5042 5052

CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG

P A Y I H P R K Y L V E T P P V D E T P

nsp3

5062 5072 5082 5092 5102 5112

GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC

E P S A E N Q S T E G T P E Q P P L I T

nsp3

5122 5132 5142 5152 5162 5172

GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU

E D E T R T R T P E P I I I E E E E E D

nsp3

5182 5192 5202 5212 5222 5232

AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU

S I S L L S D G P T H Q V L Q V E A D I

nsp3

5242 5252 5262 5272 5282 5292

CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU

H G P P S V S S S S W S I P H A S D F D

nsp3

5302 5312 5322 5332 5342 5352

GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG

V D S L S I L D T L E G A S V T S G A T

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

[0737] 5482 5492 5502 5512 5522 5532

```
CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU
  L  A  P  S  R  A  C  S  R  T  S  L  V  S  T  P  P  G  V  N
```

nsp3

```
      5542       5552       5562       5572       5582       5592
AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG
  R  V  I  T  R  E  E  L  E  A  L  T  P  S  R  T  P  S  R  S
```

nsp3

```
      5602       5612       5622       5632       5642       5652
GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG
  V  S  R  T  S  L  V  S  N  P  P  G  V  N  R  V  I  T  R  E
```

nsp3

```
      5662       5672       5682       5692       5702 5703
GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A
  E  F  E  A  F  V  A  Q  Q  Q  *  R  F  D  A  G  A
```

nsp3

```
      5713       5723       5733       5743       5753       5763
UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG
  Y  I  F  S  S  D  T  G  Q  G  H  L  Q  Q  K  S  V  R  Q  T
```

nsp4

```
      5773       5783       5793       5803       5813       5823
GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC
  V  L  S  E  V  V  L  E  R  T  E  L  E  I  S  Y  A  P  R  L
```

nsp4

```
      5833       5843       5853       5863       5873       5883
GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC
  D  Q  E  K  E  E  L  L  R  K  K  L  Q  L  N  P  T  P  A  N
```

nsp4

```
      5893       5903       5913       5923       5933       5943
AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU
  R  S  R  Y  Q  S  R  K  V  E  N  M  K  A  I  T  A  R  R  I
```

nsp4

```
      5953       5963       5973       5983       5993       6003
CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG
```

[0738] `  L  Q  G  L  G  H  Y  L  K  A  E  G  K  V  E  C  Y  R  T  L`

nsp4

6013 6023 6033 6043 6053 6063

CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA

H P V P L Y S S S V N R A F S S P K V A

nsp4

6073 6083 6093 6103 6113 6123

GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU

V E A C N A M L K E N F P T V A S Y C I

nsp4

6133 6143 6153 6163 6173 6183

AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU

I P E Y D A Y L D M V D G A S C C L D T

nsp4

6193 6203 6213 6223 6233 6243

GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC

A S F C P A K L R S F P K K H S Y L E P

nsp4

6253 6263 6273 6283 6293 6303

ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU

T I R S A V P S A I Q N T L Q N V L A A

nsp4

6313 6323 6333 6343 6353 6363

GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG

A T K R N C N V T Q M R E L P V L D S A

nsp4

6373 6383 6393 6403 6413 6423

GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU

A F N V E C F K K Y A C N N E Y W E T F

nsp4

6433 6443 6453 6463 6473 6483

AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA

K E N P I R L T E E N V V N Y I T K L K

nsp4

6493 6503 6513 6523 6533 6543

[0739]

GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA

G P K A A A L F A K T H N L N M L Q D I

nsp4

6553 6563 6573 6583 6593 6603

CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA

P M D R F V M D L K R D V K V T P G T K

nsp4

6613 6623 6633 6643 6653 6663

CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG

H T E E R P K V Q V I Q A A D P L A T A

nsp4

6673 6683 6693 6703 6713 6723

UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC

Y L C G I H R E L V R R L N A V L L P N

nsp4

6733 6743 6753 6763 6773 6783

AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC

I H T L F D M S A E D F D A I I A E H F

nsp4

6793 6803 6813 6823 6833 6843

CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC

Q P G D C V L E T D I A S F D K S E D D

nsp4

6853 6863 6873 6883 6893 6903

GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG

A M A L T A L M I L E D L G V D A E L L

nsp4

6913 6923 6933 6943 6953 6963

ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA

T L I E A A F G E I S S I H L P T K T K

nsp4

6973 6983 6993 7003 7013 7023

UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC

[0740] F K F G A M M K S G M F L T L F V N T V

nsp4

7033 7043 7053 7063 7073 7083

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

[0741] 7513 7523 7527

```
GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA
  A  P  I   T  L  Y   G  *
```

nsp4

```
      7537        7547        7557        7567  7568
CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U
```

virUTR

```
      7578        7588        7598        7608        7618        7628
AUGUUCGUGU UCCUGGUGCU GCUGCCUCUG GUGUCCAGCC AGUGUGUGAA CCUGACCACC
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   N  L  T  T
```

S 단백질

```
      7638        7648        7658        7668        7678        7688
AGAACACAGC UGCCUCCAGC CUACACCAAC AGCUUUACCA GAGGCGUGUA CUACCCCGAC
  R  T  Q   L  P  P   A  Y  T  N   S  F  T   R  G  V   Y  Y  P  D
```

S 단백질

```
      7698        7708        7718        7728        7738        7748
AAGGUGUUCA GAUCCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC UGUUCCUGCC UUUCUUCAGC
  K  V  F   R  S  S   V  L  H  S   T  Q  D   L  F  L   P  F  F  S
```

S 단백질

```
      7758        7768        7778        7788        7798        7808
AACGUGACCU GGUUCCACGC CAUCCACGUG UCCGGCACCA AUGGCACCAA GAGAUUCGAC
  N  V  T   W  F  H   A  I  H  V   S  G  T   N  G  T   K  R  F  D
```

S 단백질

```
      7818        7828        7838        7848        7858        7868
AACCCCGUGC UGCCCUUCAA CGACGGGGUG UACUUUGCCA GCACCGAGAA GUCCAACAUC
  N  P  V   L  P  F   N  D  G  V   Y  F  A   S  T  E   K  S  N  I
```

S 단백질

```
      7878        7888        7898        7908        7918        7928
AUCAGAGGCU GGAUCUUCGG CACCACACUG GACAGCAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUG
  I  R  G   W  I  F   G  T  T  L   D  S  K   T  Q  S   L  L  I  V
```

S 단백질

```
      7938        7948        7958        7968        7978        7988
```

[0742]

AACAACGCCA CCAACGUGGU CAUCAAAGUG UGCGAGUUCC AGUUCUGCAA CGACCCCUUC

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S 단백질

7998 8008 8018 8028 8038 8048

CUGGGCGUCU ACUACCACAA GAACAACAAG AGCUGGAUGG AAAGCGAGUU CCGGGUGUAC

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S 단백질

8058 8068 8078 8088 8098 8108

AGCAGCGCCA ACAACUGCAC CUUCGAGUAC GUGUCCCAGC CUUUCCUGAU GGACCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S 단백질

8118 8128 8138 8148 8158 8168

GGCAAGCAGG GCAACUUCAA GAACCUGCGC GAGUUCGUGU UUAAGAACAU CGACGGCUAC

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S 단백질

8178 8188 8198 8208 8218 8228

UUCAAGAUCU ACAGCAAGCA CACCCCUAUC AACCUCGUGC GGGAUCUGCC UCAGGGCUUC

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S 단백질

8238 8248 8258 8268 8278 8288

UCUGCUCUGG AACCCCUGGU GGAUCUGCCC AUCGGCAUCA ACAUCACCCG GUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S 단백질

8298 8308 8318 8328 8338 8348

CUGCUGGCCC UGCACAGAAG CUACCUGACA CCUGGCGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S 단백질

8358 8368 8378 8388 8398 8408

GGUGCCGCCG CUUACUAUGU GGGCUACCUG CAGCCUAGAA CCUUCCUGCU GAAGUACAAC

[0743] *G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N*

S 단백질

```
      8418        8428        8438        8448        8458        8468
GAGAACGGCA CCAUCACCGA CGCCGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGAG CGAGACAAAG
  E  N  G   T  I  T   D  A  V  D   C  A  L   D  P  L   S  E  T  K
```

S 단백질

```
      8478        8488        8498        8508        8518        8528
UGCACCCUGA AGUCCUUCAC CGUGGAAAAG GGCAUCUACC AGACCAGCAA CUUCCGGGUG
  C  T  L   K  S  F   T  V  E  K   G  I  Y   Q  T  S   N  F  R  V
```

S 단백질

```
      8538        8548        8558        8568        8578        8588
CAGCCCACCG AAUCCAUCGU GCGGUUCCCC AAUAUCACCA AUCUGUGCCC CUUCGGCGAG
  Q  P  T   E  S  I   V  R  F  P   N  I  T   N  L  C   P  F  G  E
```

S 단백질

```
      8598        8608        8618        8628        8638        8648
GUGUUCAAUG CCACCAGAUU CGCCUCUGUG UACGCCUGGA ACCGGAAGCG GAUCAGCAAU
  V  F  N   A  T  R   F  A  S  V   Y  A  W   N  R  K   R  I  S  N
```

S 단백질

```
      8658        8668        8678        8688        8698        8708
UGCGUGGCCG ACUACUCCGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUU CAAGUGCUAC
  C  V  A   D  Y  S   V  L  Y  N   S  A  S   F  S  T   F  K  C  Y
```

S 단백질

```
      8718        8728        8738        8748        8758        8768
GGCGUGUCCC CUACCAAGCU GAACGACCUG UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC
  G  V  S   P  T  K   L  N  D  L   C  F  T   N  V  Y   A  D  S  F
```

S 단백질

```
      8778        8788        8798        8808        8818        8828
GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAUU GCCCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC
  V  I  R   G  D  E   V  R  Q  I   A  P  G   Q  T  G   K  I  A  D
```

S 단백질

[0744]

```
      8838        8848        8858        8868        8878        8888
```

UACAACUACA AGCUGCCCGA CGACUUCACC GGCUGUGUGA UUGCCUGGAA CAGCAACAAC
Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S 단백질

8898 8908 8918 8928 8938 8948
CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCUGUACC GGCUGUUCCG GAAGUCCAAU
L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S 단백질

8958 8968 8978 8988 8998 9008
CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUCUAUC AGGCCGGCAG CACCCCUUGU
L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S 단백질

9018 9028 9038 9048 9058 9068
AACGGCGUGG AAGGCUUCAA CUGCUACUUC CCACUGCAGU CCUACGGCUU UCAGCCCACA
N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S 단백질

9078 9088 9098 9108 9118 9128
AAUGGCGUGG GCUAUCAGCC CUACAGAGUG GUGGUGCUGA GCUUCGAACU GCUGCAUGCC
N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S 단백질

9138 9148 9158 9168 9178 9188
CCUGCCACAG UGUGCGGCCC UAAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC
P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S 단백질

9198 9208 9218 9228 9238 9248
UUCAACUUCA ACGGCCUGAC CGGCACCGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUUCCUG
F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S 단백질

9258 9268 9278 9288 9298 9308
CCAUUCCAGC AGUUUGGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCCCAG
P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

[0745]

S 단백질

```
      9318        9328        9338        9348        9358        9368
ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU
  T  L  E   I  L  D   I  T  P  C   S  F  G   G  V  S   V  I  T  P
```

S 단백질

```
      9378        9388        9398        9408        9418        9428
GGCACCAACA CCAGCAAUCA GGUGGCAGUG CUGUACCAGG ACGUGAACUG UACCGAAGUG
  G  T  N   T  S  N   Q  V  A  V   L  Y  Q   D  V  N   C  T  E  V
```

S 단백질

```
      9438        9448        9458        9468        9478        9488
CCCGUGGCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GGGUGUACUC CACCGGCAGC
  P  V  A   I  H  A   D  Q  L  T   P  T  W   R  V  Y   S  T  G  S
```

S 단백질

```
      9498        9508        9518        9528        9538        9548
AAUGUGUUUC AGACCAGAGC CGGCUGUCUG AUCGGAGCCG AGCACGUGAA CAAUAGCUAC
  N  V  F   Q  T  R   A  G  C  L   I  G  A   E  H  V   N  N  S  Y
```

S 단백질

```
      9558        9568        9578        9588        9598        9608
GAGUGCGACA UCCCCAUCGG CGCUGGAAUC UGCGCCAGCU ACCAGACACA GACAAACAGC
  E  C  D   I  P  I   G  A  G  I   C  A  S   Y  Q  T   Q  T  N  S
```

S 단백질

```
      9618        9628        9638        9648        9658        9668
CCUCGGAGAG CCAGAAGCGU GGCCAGCCAG AGCAUCAUUG CCUACACAAU GUCUCUGGGC
  P  R  R   A  R  S   V  A  S  Q   S  I  I   A  Y  T   M  S  L  G
```

S 단백질

```
      9678        9688        9698        9708        9718        9728
GCCGAGAACA GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCAA CUUCACCAUC
  A  E  N   S  V  A   Y  S  N  N   S  I  A   I  P  T   N  F  T  I
```

S 단백질

```
      9738        9748        9758        9768        9778        9788
AGCGUGACCA CAGAGAUCCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCAGCGUGGA CUGCACCAUG
```

[0746]

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S 단백질

9798 9808 9818 9828 9838 9848

UACAUCUGCG GCGAUUCCAC CGAGUGCUCC AACCUGCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S 단백질

9858 9868 9878 9888 9898 9908

ACCCAGCUGA AUAGAGCCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAAC AGGACAAGAA CACCCAAGAG

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S 단백질

9918 9928 9938 9948 9958 9968

GUGUUCGCCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S 단백질

9978 9988 9998 10008 10018 10028

AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S 단백질

10038 10048 10058 10068 10078 10088

CUGCUGUUCA ACAAAGUGAC ACUGGCCGAC GCCGGCUUCA UCAAGCAGUA UGGCGAUUGU

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S 단백질

10098 10108 10118 10128 10138 10148

CUGGGCGACA UUGCCGCCAG GGAUCUGAUU UGCGCCCAGA AGUUUAACGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S 단백질

10158 10168 10178 10188 10198 10208

CUGCCUCCUC UGCUGACCGA UGAGAUGAUC GCCCAGUACA CAUCUGCCCU GCUGGCCGGC

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S 단백질

[0747]

```
    10218      10228      10238      10248      10258      10268
ACAAUCACAA GCGGCUGGAC AUUUGGAGCA GGCGCCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG
  T  I  T   S  G  W   T  F  G  A   G  A  A   L  Q  I   P  F  A  M
```

S 단백질

```
    10278      10288      10298      10308      10318      10328
CAGAUGGCCU ACCGGUUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG
  Q  M  A   Y  R  F   N  G  I  G   V  T  Q   N  V  L   Y  E  N  Q
```

S 단백질

```
    10338      10348      10358      10368      10378      10388
AAGCUGAUCG CCAACCAGUU CAACAGCGCC AUCGGCAAGA UCCAGGACAG CCUGAGCAGC
  K  L  I   A  N  Q   F  N  S  A   I  G  K   I  Q  D   S  L  S  S
```

S 단백질

```
    10398      10408      10418      10428      10438      10448
ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCAACC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC
  T  A  S   A  L  G   K  L  Q  D   V  V  N   Q  N  A   Q  A  L  N
```

S 단백질

```
    10458      10468      10478      10488      10498      10508
ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAACUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC
  T  L  V   K  Q  L   S  S  N  F   G  A  I   S  S  V   L  N  D  I
```

S 단백질

```
    10518      10528      10538      10548      10558      10568
CUGAGCAGAC UGGACCCTCC TGAGGCCGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA
  L  S  R   L  D  P   P  E  A  E   V  Q  I   D  R  L   I  T  G  R
```

S 단백질

```
    10578      10588      10598      10608      10618      10628
CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCCGCCGA GAUUAGAGCC
  L  Q  S   L  Q  T   Y  V  T  Q   Q  L  I   R  A  A   E  I  R  A
```

S 단백질

```
    10638      10648      10658      10668      10678      10688
UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGGCCAGAG CAAGAGAGUG
[0748]  S  A  N   L  A  A   T  K  M  S   E  C  V   L  G  Q   S  K  R  V
```

S 단백질

```
    10698       10708       10718       10728       10738       10748
GACUUUUGCG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUUCCCUC AGUCUGCCCC UCACGGCGUG
  D  F  C   G  K  G   Y  H  L  M   S  F  P   Q  S  A   P  H  G  V
```

S 단백질

```
    10758       10768       10778       10788       10798       10808
GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUUCACCAC CGCUCCAGCC
  V  F  L   H  V  T   Y  V  P  A   Q  E  K   N  F  T   T  A  P  A
```

S 단백질

```
    10818       10828       10838       10848       10858       10868
AUCUGCCACG ACGGCAAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACC
  I  C  H   D  G  K   A  H  F  P   R  E  G   V  F  V   S  N  G  T
```

S 단백질

```
    10878       10888       10898       10908       10918       10928
CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC
  H  W  F   V  T  Q   R  N  F  Y   E  P  Q   I  I  T   T  D  N  T
```

S 단백질

```
    10938       10948       10958       10968       10978       10988
UUCGUGUCUG GCAACUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUUGUGA ACAAUACCGU GUACGACCCU
  F  V  S   G  N  C   D  V  V  I   G  I  V   N  N  T   V  Y  D  P
```

S 단백질

```
    10998       11008       11018       11028       11038       11048
CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACCACACA
  L  Q  P   E  L  D   S  F  K  E   E  L  D   K  Y  F   K  N  H  T
```

S 단백질

```
    11058       11068       11078       11088       11098       11108
AGCCCCGACG UGGACCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAAUG CCAGCGUCGU GAACAUCCAG
  S  P  D   V  D  L   G  D  I  S   G  I  N   A  S  V   V  N  I  Q
```

S 단백질

[0749]

```
    11118       11128       11138       11148       11158       11168
```

AAAGAGAUCG ACCGGCUGAA CGAGGUGGCC AAGAAUCUGA ACGAGAGCCU GAUCGACCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S 단백질

11178 11188 11198 11208 11218 11228

CAAGAACUGG GGAAGUACGA GCAGUACAUC AAGUGGCCCU GGUACAUCUG GCUGGGCUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S 단백질

11238 11248 11258 11268 11278 11288

AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUGAUGGUC ACAAUCAUGC UGUGUUGCAU GACCAGCUGC

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S 단백질

11298 11308 11318 11328 11338 11348

UGUAGCUGCC UGAAGGGCUG UUGUAGCUGU GGCAGCUGCU GCAAGUUCGA CGAGGACGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S 단백질

11358 11368 11378 11388 11393

UCUGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGAAACUG CACUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * *

S 단백질

11403 11413 11423 11433 11443 11453

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI element

11463 11473 11483 11493 11503 11513

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI element

11523 11533 11543 11553 11563 11573

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI element

11583 11593 11603 11613 11623 11633

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI element

[0750] 11643 11653 11663 11673 11683 11693

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC

FI element

11703 11713 11723 11733 11743 11753

AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU

FI element

11763 11773 11783 11793 11803 11807

UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC

FI element

11817 11827 11837 11847 11857 11867

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

11877 11887 11897 11907 11917

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

[0751] Poly(A)

[0752] RBS004.3의 뉴클레오타이드 서열

[0753] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```
         10         20         30         40    45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA

                    5' UTR

         55         65         75         85         95        105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
  M  E  K   V  H  V   D  I  E  E   D  S  P   F  L  R   A  L  Q  R

                      nsp1

        115        125        135        145        155        165
AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC
  S  F  P   Q  F  E   V  E  A  K   Q  V  T   D  N  D   H  A  N  A

                      nsp1

        175        185        195        205        215        225
AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG
  R  A  F   S  H  L   A  S  K  L   I  E  T   E  V  D   P  S  D  T

                      nsp1

        235        245        255        265        275        285
AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU
  I  L  D   I  G  S   A  P  A  R   R  M  Y   S  K  H   K  Y  H  C

                      nsp1

        295        305        315        325        335        345
AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG
  I  C  P   M  R  C   A  E  D  P   D  R  L   Y  K  Y   A  T  K  L

                      nsp1

        355        365        375        385        395        405
AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC
  K  K  N   C  K  E   I  T  D  K   E  L  D   K  K  M   K  E  L  A

                      nsp1

        415        425        435        445        455        465
```

[0754]

GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG

A V M S D P D L E T E T M C L H D D E S

nsp1

475 485 495 505 515 525

UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA

C R Y E G Q V A V Y Q D V Y A V D G P T

nsp1

535 545 555 565 575 585

AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC

S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T

nsp1

595 605 615 625 635 645

ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC

T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A

nsp1

655 665 675 685 695 705

GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG

D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R

nsp1

715 725 735 745 755 765

UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA

S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L

nsp1

775 785 795 805 815 825

UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG

F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L

nsp1

835 845 855 865 875 885

CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU

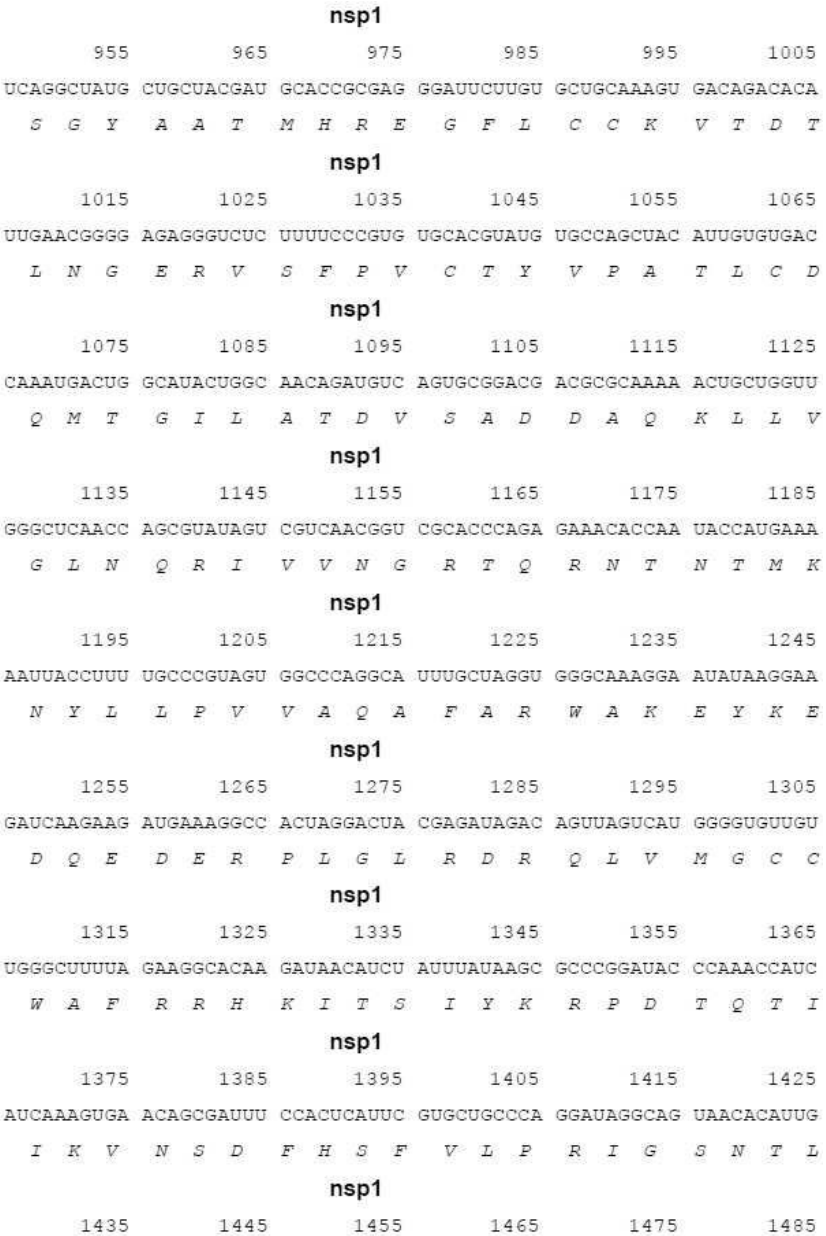
P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V

nsp1

895 905 915 925 935 945

AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU

[0755] S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P


nsp1
955 965 975 985 995 1005
UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA
S G Y A A T M H R E G F L C C K V T D T
nsp1
1015 1025 1035 1045 1055 1065
UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC
L N G E R V S F P V C T Y V P A T L C D
nsp1
1075 1085 1095 1105 1115 1125
CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU
Q M T G I L A T D V S A D D A Q K L L V
nsp1
1135 1145 1155 1165 1175 1185
GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA
G L N Q R I V V N G R T Q R N T N T M K
nsp1
1195 1205 1215 1225 1235 1245
AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA
N Y L L P V V A Q A F A R W A K E Y K E
nsp1
1255 1265 1275 1285 1295 1305
GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU
D Q E D E R P L G L R D R Q L V M G C C
nsp1
1315 1325 1335 1345 1355 1365
UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC
W A F R R H K I T S I Y K R P D T Q T I
nsp1
1375 1385 1395 1405 1415 1425
AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG
I K V N S D F H S F V L P R I G S N T L
nsp1
1435 1445 1455 1465 1475 1485

[0756]

GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU

E I G L R T R I R K M L E E H K E P S P

nsp1

1495 1505 1515 1525 1535 1545

CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG

L I T A E D V Q E A K C A A D E A K E V

nsp1

1555 1565 1575 1585 1595 1605

CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC

R E A E E L R A A L P P L A A D V E E P

nsp1

1615 1625 1635 1645 1650

ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC

T L E A D V D L M L Q E A G A

nsp1

1660 1670 1680 1690 1700 1710

GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG

G S V E T P R G L I K V T S Y A G E D K

nsp2

1720 1730 1740 1750 1760 1770

AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC

I G S Y A V L S P Q A V L K S E K L S C

nsp2

1780 1790 1800 1810 1820 1830

AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU

I H P L A E Q V I V I T H S G R K G R Y

nsp2

1840 1850 1860 1870 1880 1890

GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG

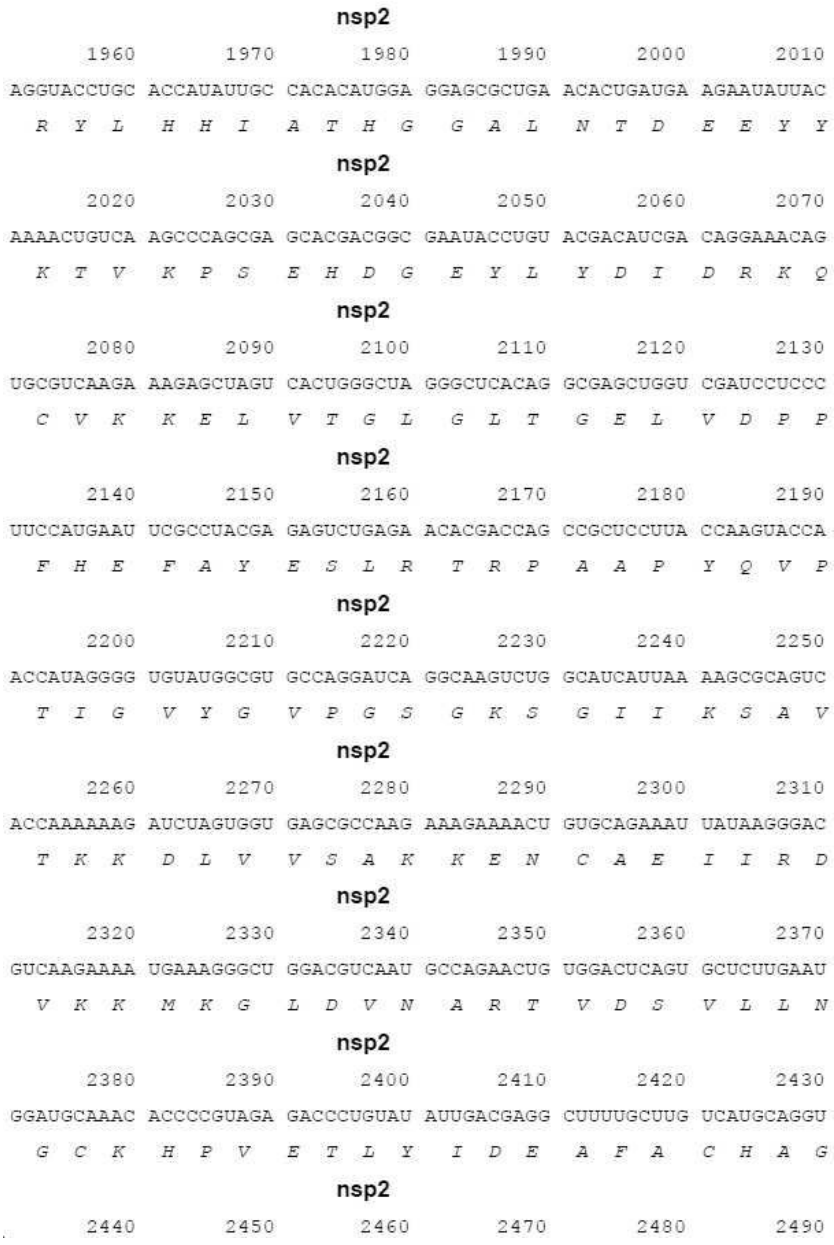
A V E P Y H G K V V V P E G H A I P V Q

nsp2

1900 1910 1920 1930 1940 1950

GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC

[0757] D F Q A L S E S A T I V Y N E R E F V N


nsp2
1960 1970 1980 1990 2000 2010
AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC
R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y
nsp2
2020 2030 2040 2050 2060 2070
AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG
K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q
nsp2
2080 2090 2100 2110 2120 2130
UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC
C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P
nsp2
2140 2150 2160 2170 2180 2190
UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA
F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P
nsp2
2200 2210 2220 2230 2240 2250
ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC
T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V
nsp2
2260 2270 2280 2290 2300 2310
ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC
T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D
nsp2
2320 2330 2340 2350 2360 2370
GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU
V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N
nsp2
2380 2390 2400 2410 2420 2430
GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU
G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G
nsp2
2440 2450 2460 2470 2480 2490

[0758]

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P

nsp2

2500 2510 2520 2530 2540 2550

AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC

K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C

nsp2

2560 2570 2580 2590 2600 2610

ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC

T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V

nsp2

2620 2630 2640 2650 2660 2670

UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG

S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V

nsp2

2680 2690 2700 2710 2720 2730

AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA

I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R

nsp2

2740 2750 2760 2770 2780 2790

GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC

G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A

nsp2

2800 2810 2820 2830 2840 2850

UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU

S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P

nsp2

2860 2870 2880 2890 2900 2910

CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC

L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I

nsp2

2920 2930 2940 2950 2960 2970

GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG

[0759] V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G

nsp2

2980 2990 3000 3010 3020 3030

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

3460 3470 3480 3490 3500 3510

[0760]

```
CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU
  P  V  N   R  R  L   P  H  A  L   V  L  H   H  N  E   H  P  Q  S
```

nsp2

```
     3520       3530       3540       3550       3560       3570
GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG
  D  F  S   S  F  V   S  K  L  K   G  R  T   V  L  V   V  G  E  K
```

nsp2

```
     3580       3590       3600       3610       3620       3630
UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA
  L  S  V   P  G  K   M  V  D  W   L  S  D   R  P  E   A  T  F  R
```

nsp2

```
     3640       3650       3660       3670       3680       3690
GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU
  A  R  L   D  L  G   I  P  G  D   V  P  K   Y  D  I   I  F  V  N
```

nsp2

```
     3700       3710       3720       3730       3740       3750
GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA
  V  R  T   P  Y  K   Y  H  H  Y   Q  Q  C   E  D  H   A  I  K  L
```

nsp2

```
     3760       3770       3780       3790       3800       3810
AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA
  S  M  L   T  K  K   A  C  L  H   L  N  P   G  G  T   C  V  S  I
```

nsp2

```
     3820       3830       3840       3850       3860       3870
GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC
  G  Y  G   Y  A  D   R  A  S  E   S  I  I   G  A  I   A  R  Q  F
```

nsp2

```
     3880       3890       3900       3910       3920       3930
AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA
  K  F  S   R  V  C   K  P  K  S   S  L  E   E  T  E   V  L  F  V
```

nsp2

```
     3940       3950       3960       3970       3980       3990
UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG
  F  I  G   Y  D  R   K  A  R  T   H  N  P   Y  K  L   S  S  T  L
```

[0761]

nsp2

```
     4000       4010       4020       4030  4032
ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU
  T  N  I   Y  T  G   S  R  L  H   E  A  G   C
```

nsp2

```
     4042       4052       4062       4072       4082       4092
GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA
  A  P  S   Y  H  V   V  R  G  D   I  A  T   A  T  E   G  V  I  I
```

nsp3

```
     4102       4112       4122       4132       4142       4152
AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA
  N  A  A   N  S  K   G  Q  P  G   G  G  V   C  G  A   L  Y  K  K
```

nsp3

```
     4162       4172       4182       4192       4202       4212
UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU
  F  P  E   S  F  D   L  Q  P  I   E  V  G   K  A  R   L  V  K  G
```

nsp3

```
     4222       4232       4242       4252       4262       4272
GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA
  A  A  K   H  I  I   H  A  V  G   P  N  F   N  K  V   S  E  V  E
```

nsp3

```
     4282       4292       4302       4312       4322       4332
GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU
  G  D  K   Q  L  A   E  A  Y  E   S  I  A   K  I  V   N  D  N  N
```

nsp3

```
     4342       4352       4362       4372       4382       4392
UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA
  Y  K  S   V  A  I   P  L  L  S   T  G  I   F  S  G   N  K  D  R
```

nsp3

```
     4402       4412       4422       4432       4442       4452
CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC
  L  T  Q   S  L  N   H  L  L  T   A  L  D   T  T  D   A  D  V  A
```

nsp3

[0762]

```
     4462       4472       4482       4492       4502       4512
```

AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA

I Y C R D K K W E M T L K E A V A R R E

nsp3

4522 4532 4542 4552 4562 4572

GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG

A V E E I C I S D D S S V T E P D A E L

nsp3

4582 4592 4602 4612 4622 4632

GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC

V R V H P K S S L A G R K G Y S T S D G

nsp3

4642 4652 4662 4672 4682 4692

AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA

K T F S Y L E G T K F H Q A A K D I A E

nsp3

4702 4712 4722 4732 4742 4752

AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC

I N A M W P V A T E A N E Q V C M Y I L

nsp3

4762 4772 4782 4792 4802 4812

GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA

G E S M S S I R S K C P V E E S E A S T

nsp3

4822 4832 4842 4852 4862 4872

CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC

P P S T L P C L C I H A M T P E R V Q R

nsp3

4882 4892 4902 4912 4922 4932

CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU

L K A S R P E Q I T V C S S F P L P K Y

nsp3

4942 4952 4962 4972 4982 4992

AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG

[0763] *R I T G V Q K I Q C S Q P I L F S P K V*

nsp3

5002 5012 5022 5032 5042 5052

CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG

P A Y I H P R K Y L V E T P P V D E T P

nsp3

5062 5072 5082 5092 5102 5112

GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC

E P S A E N Q S T E G T P E Q P P L I T

nsp3

5122 5132 5142 5152 5162 5172

GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU

E D E T R T R T P E P I I I E E E E E D

nsp3

5182 5192 5202 5212 5222 5232

AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU

S I S L L S D G P T H Q V L Q V E A D I

nsp3

5242 5252 5262 5272 5282 5292

CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU

H G P P S V S S S S W S I P H A S D F D

nsp3

5302 5312 5322 5332 5342 5352

GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG

V D S L S I L D T L E G A S V T S G A T

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

[0764] 5482 5492 5502 5512 5522 5532

```
CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU
  L  A  P   S  R  A   C  S  R  T   S  L  V   S  T  P   P  G  V  N
```

nsp3

```
      5542        5552        5562        5572        5582        5592
AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG
  R  V  I   T  R  E   E  L  E  A   L  T  P   S  R  T   P  S  R  S
```

nsp3

```
      5602        5612        5622        5632        5642        5652
GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG
  V  S  R   T  S  L   V  S  N  P   P  G  V   N  R  V   I  T  R  E
```

nsp3

```
      5662        5672        5682        5692        5702 5703
GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A
  E  F  E   A  F  V   A  Q  Q  Q   *  R  F   D  A  G   A
```

nsp3

```
      5713        5723        5733        5743        5753        5763
UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG
  Y  I  F   S  S  D   T  G  Q  G   H  L  Q   Q  K  S   V  R  Q  T
```

nsp4

```
      5773        5783        5793        5803        5813        5823
GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC
  V  L  S   E  V  V   L  E  R  T   E  L  E   I  S  Y   A  P  R  L
```

nsp4

```
      5833        5843        5853        5863        5873        5883
GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC
  D  Q  E   K  E  E   L  L  R  K   K  L  Q   L  N  P   T  P  A  N
```

nsp4

```
      5893        5903        5913        5923        5933        5943
AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU
  R  S  R   Y  Q  S   R  K  V  E   N  M  K   A  I  T   A  R  R  I
```

nsp4

```
      5953        5963        5973        5983        5993        6003
CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG
  L  Q  G   L  G  H   Y  L  K  A   E  G  K   V  E  C   Y  R  T  L
```

[0765]

nsp4

```
      6013        6023        6033        6043        6053        6063
CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA
  H  P  V   P  L  Y   S  S  S  V   N  R  A   F  S  S   P  K  V  A
```

nsp4

```
      6073        6083        6093        6103        6113        6123
GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU
  V  E  A   C  N  A   M  L  K  E   N  F  P   T  V  A   S  Y  C  I
```

nsp4

```
      6133        6143        6153        6163        6173        6183
AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU
  I  P  E   Y  D  A   Y  L  D  M   V  D  G   A  S  C   C  L  D  T
```

nsp4

```
      6193        6203        6213        6223        6233        6243
GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC
  A  S  F   C  P  A   K  L  R  S   F  P  K   K  H  S   Y  L  E  P
```

nsp4

```
      6253        6263        6273        6283        6293        6303
ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU
  T  I  R   S  A  V   P  S  A  I   Q  N  T   L  Q  N   V  L  A  A
```

nsp4

```
      6313        6323        6333        6343        6353        6363
GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG
  A  T  K   R  N  C   N  V  T  Q   M  R  E   L  P  V   L  D  S  A
```

nsp4

```
      6373        6383        6393        6403        6413        6423
GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU
  A  F  N   V  E  C   F  K  K  Y   A  C  N   N  E  Y   W  E  T  F
```

nsp4

```
      6433        6443        6453        6463        6473        6483
AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA
  K  E  N   P  I  R   L  T  E  E   N  V  V   N  Y  I   T  K  L  K
```

nsp4

[0766]

```
      6493        6503        6513        6523        6533        6543
```

```
GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA
  G  P  K   A  A  A   L  F  A  K   T  H  N   L  N  M   L  Q  D  I
```

nsp4

```
      6553        6563        6573        6583        6593        6603
CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA
  P  M  D   R  F  V   M  D  L  K   R  D  V   K  V  T   P  G  T  K
```

nsp4

```
      6613        6623        6633        6643        6653        6663
CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG
  H  T  E   E  R  P   K  V  Q  V   I  Q  A   A  D  P   L  A  T  A
```

nsp4

```
      6673        6683        6693        6703        6713        6723
UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC
  Y  L  C   G  I  H   R  E  L  V   R  R  L   N  A  V   L  L  P  N
```

nsp4

```
      6733        6743        6753        6763        6773        6783
AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC
  I  H  T   L  F  D   M  S  A  E   D  F  D   A  I  I   A  E  H  F
```

nsp4

```
      6793        6803        6813        6823        6833        6843
CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC
  Q  P  G   D  C  V   L  E  T  D   I  A  S   F  D  K   S  E  D  D
```

nsp4

```
      6853        6863        6873        6883        6893        6903
GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG
  A  M  A   L  T  A   L  M  I  L   E  D  L   G  V  D   A  E  L  L
```

nsp4

```
      6913        6923        6933        6943        6953        6963
ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA
  T  L  I   E  A  A   F  G  E  I   S  S  I   H  L  P   T  K  T  K
```

nsp4

```
      6973        6983        6993        7003        7013        7023
UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC
[0767]
  F  K  F   G  A  M   M  K  S  G   M  F  L   T  L  F   V  N  T  V
```

nsp4

7033 7043 7053 7063 7073 7083

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

[0768] 7513 7523 7527

```
GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA
  A  P  I   T  L  Y   G  *
```

nsp4

```
      7537        7547        7557        7567 7568
CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U
```

virUTR

```
      7578        7588        7598        7608        7618        7628
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   V  R  F  P
```

RBD (S 단백질)

```
      7638        7648        7658        7668        7678        7688
AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG
  N  I  T   N  L  C   P  F  G  E   V  F  N   A  T  R   F  A  S  V
```

RBD (S 단백질)

```
      7698        7708        7718        7728        7738        7748
UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU
  Y  A  W   N  R  K   R  I  S  N   C  V  A   D  Y  S   V  L  Y  N
```

RBD (S 단백질)

```
      7758        7768        7778        7788        7798        7808
AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA
  S  A  S   F  S  T   F  K  C  Y   G  V  S   P  T  K   L  N  D  L
```

RBD (S 단백질)

```
      7818        7828        7838        7848        7858        7868
UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU
  C  F  T   N  V  Y   A  D  S  F   V  I  R   G  D  E   V  R  Q  I
```

RBD (S 단백질)

```
      7878        7888        7898        7908        7918        7928
GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA
  A  P  G   Q  T  G   K  I  A  D   Y  N  Y   K  L  P   D  D  F  T
```

RBD (S 단백질)

[0769]

```
      7938        7948        7958        7968        7978        7988
```

```
GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU
  G  C  V   I  A  W   N  S  N  N   L  D  S   K  V  G   G  N  Y  N
```

RBD (S 단백질)

```
      7998       8008       8018       8028       8038       8048
UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA
  Y  L  Y   R  L  F   R  K  S  N   L  K  P   F  E  R   D  I  S  T
```

RBD (S 단백질)

```
      8058       8068       8078       8088       8098       8108
GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU
  E  I  Y   Q  A  G   S  T  P  C   N  G  V   E  G  F   N  C  Y  F
```

RBD (S 단백질)

```
      8118       8128       8138       8148       8158       8168
CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG
  P  L  Q   S  Y  G   F  Q  P  T   N  G  V   G  Y  Q   P  Y  R  V
```

RBD (S 단백질)

```
      8178       8188       8198       8208       8218  8222
GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA
  V  V  L   S  F  E   L  L  H  A   P  A  T   V  C  G   P  K
```

RBD (S 단백질)

```
      8232       8242    8249
GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU
  G  S  P   G  S  G   S  G  S
```

GS linker

```
      8259       8269       8279       8289       8299       8309
GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG
  G  Y  I   P  E  A   P  R  D  G   Q  A  Y   V  R  K   D  G  E  W
```

피브리틴

```
      8319       8329       8339       8349       8359       8369
GUAUUACUUU CUACCUUUUU AGGCCGGUCC CUGGAGGUGC UGUUCCAGGG CCCCGGCUGA
  V  L  L   S  T  F   L  G  R  S   L  E  V   L  F  Q   G  P  G  *
```

피브리틴

[0770]

8372

UGA

*

피브리틴

8382 8392 8402 8412 8422 8432

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI element

8442 8452 8462 8472 8482 8492

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI element

8502 8512 8522 8532 8542 8552

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI element

8562 8572 8582 8592 8602 8612

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI element

8622 8632 8642 8652 8662 8672

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC

FI element

8682 8692 8702 8712 8722 8732

AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU

FI element

8742 8752 8762 8772 8782 8786

UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC

FI element

8796 8806 8816 8826 8836 8846

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

8856 8866 8876 8886 8896

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Poly(A)

[0771]

[0772] RBS004.4의 뉴클레오타이드 서열

[0773] 뉴클레오타이드 서열은 굵은 글씨로 표시된 개별 서열 요소와 함께 표시된다. 또한, 번역된 단백질의 서열은 코딩 뉴클레오타이드 서열 아래에 이탤릭체로 표시된다(* = 정지 코돈).

```
         10         20         30         40     45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA
```

5' UTR

```
        55         65         75         85         95        105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
  M  E  K   V  H  V   D  I  E  E   D  S  P   F  L  R   A  L  Q  R
```

nsp1

```
       115        125        135        145        155        165
AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC
  S  F  P   Q  F  E   V  E  A  K   Q  V  T   D  N  D   H  A  N  A
```

nsp1

```
       175        185        195        205        215        225
AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG
  R  A  F   S  H  L   A  S  K  L   I  E  T   E  V  D   P  S  D  T
```

nsp1

```
       235        245        255        265        275        285
AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU
  I  L  D   I  G  S   A  P  A  R   R  M  Y   S  K  H   K  Y  H  C
```

nsp1

```
       295        305        315        325        335        345
AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG
  I  C  P   M  R  C   A  E  D  P   D  R  L   Y  K  Y   A  T  K  L
```

nsp1

```
       355        365        375        385        395        405
AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC
  K  K  N   C  K  E   I  T  D  K   E  L  D   K  K  M   K  E  L  A
```

nsp1

```
       415        425        435        445        455        465
GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG
```

[0774]

A V M S D P D L E T E T M C L H D D E S

nsp1

475 485 495 505 515 525

UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA

C R Y E G Q V A V Y Q D V Y A V D G P T

nsp1

535 545 555 565 575 585

AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC

S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T

nsp1

595 605 615 625 635 645

ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC

T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A

nsp1

655 665 675 685 695 705

GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG

D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R

nsp1

715 725 735 745 755 765

UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA

S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L

nsp1

775 785 795 805 815 825

UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG

F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L

nsp1

835 845 855 865 875 885

CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU

P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V

nsp1

895 905 915 925 935 945

AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU

S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P

nsp1

[0775]

955 965 975 985 995 1005
UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA
S G Y A A T M H R E G F L C C K V T D T

nsp1

1015 1025 1035 1045 1055 1065
UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC
L N G E R V S F P V C T Y V P A T L C D

nsp1

1075 1085 1095 1105 1115 1125
CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU
Q M T G I L A T D V S A D D A Q K L L V

nsp1

1135 1145 1155 1165 1175 1185
GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA
G L N Q R I V V N G R T Q R N T N T M K

nsp1

1195 1205 1215 1225 1235 1245
AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA
N Y L L P V V A Q A F A R W A K E Y K E

nsp1

1255 1265 1275 1285 1295 1305
GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU
D Q E D E R P L G L R D R Q L V M G C C

nsp1

1315 1325 1335 1345 1355 1365
UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC
W A F R R H K I T S I Y K R P D T Q T I

nsp1

1375 1385 1395 1405 1415 1425
AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG
I K V N S D F H S F V L P R I G S N T L

nsp1

1435 1445 1455 1465 1475 1485
GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU
E I G L R T R I R K M L E E H K E P S P

[0776]

nsp1

```
     1495       1505       1515       1525       1535       1545
CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG
  L  I  T   A  E  D   V  Q  E  A   K  C  A   A  D  E   A  K  E  V
```

nsp1

```
     1555       1565       1575       1585       1595       1605
CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC
  R  E  A   E  E  L   R  A  A  L   P  P  L   A  A  D   V  E  E  P
```

nsp1

```
     1615       1625       1635       1645 1650
ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC
  T  L  E   A  D  V   D  L  M  L   Q  E  A   G  A
```

nsp1

```
     1660       1670       1680       1690       1700       1710
GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG
  G  S  V   E  T  P   R  G  L  I   K  V  T   S  Y  A   G  E  D  K
```

nsp2

```
     1720       1730       1740       1750       1760       1770
AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC
  I  G  S   Y  A  V   L  S  P  Q   A  V  L   K  S  E   K  L  S  C
```

nsp2

```
     1780       1790       1800       1810       1820       1830
AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU
  I  H  P   L  A  E   Q  V  I  V   I  T  H   S  G  R   K  G  R  Y
```

nsp2

```
     1840       1850       1860       1870       1880       1890
GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG
  A  V  E   P  Y  H   G  K  V  V   V  P  E   G  H  A   I  P  V  Q
```

nsp2

```
     1900       1910       1920       1930       1940       1950
GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC
  D  F  Q   A  L  S   E  S  A  T   I  V  Y   N  E  R   E  F  V  N
```

nsp2

```
     1960       1970       1980       1990       2000       2010
```

[0777]

AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC

R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y

nsp2

2020 2030 2040 2050 2060 2070

AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG

K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q

nsp2

2080 2090 2100 2110 2120 2130

UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC

C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P

nsp2

2140 2150 2160 2170 2180 2190

UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA

F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P

nsp2

2200 2210 2220 2230 2240 2250

ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC

T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V

nsp2

2260 2270 2280 2290 2300 2310

ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC

T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D

nsp2

2320 2330 2340 2350 2360 2370

GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU

V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N

nsp2

2380 2390 2400 2410 2420 2430

GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU

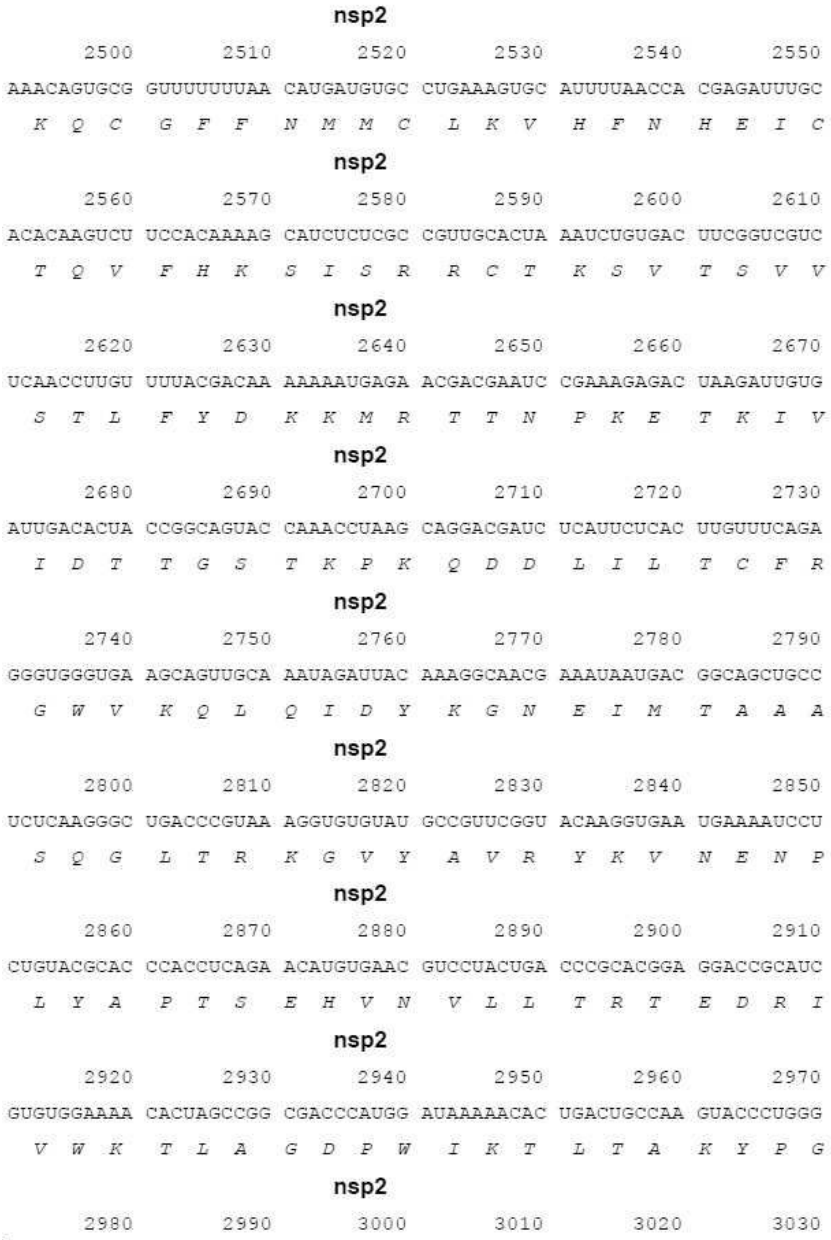
G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G

nsp2

2440 2450 2460 2470 2480 2490

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

[0778] T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P


nsp2
2500 2510 2520 2530 2540 2550
AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC
K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C
nsp2
2560 2570 2580 2590 2600 2610
ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC
T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V
nsp2
2620 2630 2640 2650 2660 2670
UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG
S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V
nsp2
2680 2690 2700 2710 2720 2730
AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA
I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R
nsp2
2740 2750 2760 2770 2780 2790
GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC
G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A
nsp2
2800 2810 2820 2830 2840 2850
UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU
S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P
nsp2
2860 2870 2880 2890 2900 2910
CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC
L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I
nsp2
2920 2930 2940 2950 2960 2970
GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG
V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G
nsp2
2980 2990 3000 3010 3020 3030

[0779]

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

3460 3470 3480 3490 3500 3510

CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU

[0780] *P V N R R L P H A L V L H H N E H P Q S*

nsp2

3520 3530 3540 3550 3560 3570

GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG

D F S S F V S K L K G R T V L V V G E K

nsp2

3580 3590 3600 3610 3620 3630

UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA

L S V P G K M V D W L S D R P E A T F R

nsp2

3640 3650 3660 3670 3680 3690

GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU

A R L D L G I P G D V P K Y D I I F V N

nsp2

3700 3710 3720 3730 3740 3750

GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA

V R T P Y K Y H H Y Q Q C E D H A I K L

nsp2

3760 3770 3780 3790 3800 3810

AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA

S M L T K K A C L H L N P G G T C V S I

nsp2

3820 3830 3840 3850 3860 3870

GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC

G Y G Y A D R A S E S I I G A I A R Q F

nsp2

3880 3890 3900 3910 3920 3930

AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA

K F S R V C K P K S S L E E T E V L F V

nsp2

3940 3950 3960 3970 3980 3990

UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG

F I G Y D R K A R T H N P Y K L S S T L

nsp2

4000 4010 4020 4030 4032

[0781]

```
ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU
  T  N  I   Y  T  G   S  R  L  H   E  A  G   C
```

nsp2

```
     4042       4052       4062       4072       4082       4092
GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA
  A  P  S   Y  H  V   V  R  G  D   I  A  T   A  T  E   G  V  I  I
```

nsp3

```
     4102       4112       4122       4132       4142       4152
AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA
  N  A  A   N  S  K   G  Q  P  G   G  G  V   C  G  A   L  Y  K  K
```

nsp3

```
     4162       4172       4182       4192       4202       4212
UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU
  F  P  E   S  F  D   L  Q  P  I   E  V  G   K  A  R   L  V  K  G
```

nsp3

```
     4222       4232       4242       4252       4262       4272
GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA
  A  A  K   H  I  I   H  A  V  G   P  N  F   N  K  V   S  E  V  E
```

nsp3

```
     4282       4292       4302       4312       4322       4332
GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU
  G  D  K   Q  L  A   E  A  Y  E   S  I  A   K  I  V   N  D  N  N
```

nsp3

```
     4342       4352       4362       4372       4382       4392
UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA
  Y  K  S   V  A  I   P  L  L  S   T  G  I   F  S  G   N  K  D  R
```

nsp3

```
     4402       4412       4422       4432       4442       4452
CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC
  L  T  Q   S  L  N   H  L  L  T   A  L  D   T  T  D   A  D  V  A
```

nsp3

```
     4462       4472       4482       4492       4502       4512
AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA
  I  Y  C   R  D  K   K  W  E  M   T  L  K   E  A  V   A  R  R  E
```

[0782]

nsp3

4522 4532 4542 4552 4562 4572

GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG

A V E E I C I S D D S S V T E P D A E L

nsp3

4582 4592 4602 4612 4622 4632

GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC

V R V H P K S S L A G R K G Y S T S D G

nsp3

4642 4652 4662 4672 4682 4692

AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA

K T F S Y L E G T K F H Q A A K D I A E

nsp3

4702 4712 4722 4732 4742 4752

AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC

I N A M W P V A T E A N E Q V C M Y I L

nsp3

4762 4772 4782 4792 4802 4812

GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA

G E S M S S I R S K C P V E E S E A S T

nsp3

4822 4832 4842 4852 4862 4872

CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC

P P S T L P C L C I H A M T P E R V Q R

nsp3

4882 4892 4902 4912 4922 4932

CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU

L K A S R P E Q I T V C S S F P L P K Y

nsp3

4942 4952 4962 4972 4982 4992

AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG

R I T G V Q K I Q C S Q P I L F S P K V

nsp3

[0783] 5002 5012 5022 5032 5042 5052

CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG

P A Y I H P R K Y L V E T P P V D E T P

nsp3

5062 5072 5082 5092 5102 5112

GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC

E P S A E N Q S T E G T P E Q P P L I T

nsp3

5122 5132 5142 5152 5162 5172

GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU

E D E T R T R T P E P I I I E E E E E D

nsp3

5182 5192 5202 5212 5222 5232

AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU

S I S L L S D G P T H Q V L Q V E A D I

nsp3

5242 5252 5262 5272 5282 5292

CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU

H G P P S V S S S S W S I P H A S D F D

nsp3

5302 5312 5322 5332 5342 5352

GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG

V D S L S I L D T L E G A S V T S G A T

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

5482 5492 5502 5512 5522 5532

CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU

[0784] L A P S R A C S R T S L V S T P P G V N

nsp3

```
      5542        5552        5562        5572        5582        5592
AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG
  R  V  I   T  R  E   E  L  E  A   L  T  P   S  R  T   P  S  R  S
```

nsp3

```
      5602        5612        5622        5632        5642        5652
GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG
  V  S  R   T  S  L   V  S  N  P   P  G  V   N  R  V   I  T  R  E
```

nsp3

```
      5662        5672        5682        5692        5702 5703
GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A
  E  F  E   A  F  V   A  Q  Q  Q   *  R  F   D  A  G   A
```

nsp3

```
      5713        5723        5733        5743        5753        5763
UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG
  Y  I  F   S  S  D   T  G  Q  G   H  L  Q   Q  K  S   V  R  Q  T
```

nsp4

```
      5773        5783        5793        5803        5813        5823
GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC
  V  L  S   E  V  V   L  E  R  T   E  L  E   I  S  Y   A  P  R  L
```

nsp4

```
      5833        5843        5853        5863        5873        5883
GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC
  D  Q  E   K  E  E   L  L  R  K   K  L  Q   L  N  P   T  P  A  N
```

nsp4

```
      5893        5903        5913        5923        5933        5943
AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU
  R  S  R   Y  Q  S   R  K  V  E   N  M  K   A  I  T   A  R  R  I
```

nsp4

```
      5953        5963        5973        5983        5993        6003
CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG
  L  Q  G   L  G  H   Y  L  K  A   E  G  K   V  E  C   Y  R  T  L
```

nsp4

[0785]

```
      6013        6023        6033        6043        6053        6063
```

CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA
H P V P L Y S S S V N R A F S S P K V A

nsp4

6073 6083 6093 6103 6113 6123
GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU
V E A C N A M L K E N F P T V A S Y C I

nsp4

6133 6143 6153 6163 6173 6183
AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU
I P E Y D A Y L D M V D G A S C C L D T

nsp4

6193 6203 6213 6223 6233 6243
GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC
A S F C P A K L R S F P K K H S Y L E P

nsp4

6253 6263 6273 6283 6293 6303
ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU
T I R S A V P S A I Q N T L Q N V L A A

nsp4

6313 6323 6333 6343 6353 6363
GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG
A T K R N C N V T Q M R E L P V L D S A

nsp4

6373 6383 6393 6403 6413 6423
GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU
A F N V E C F K K Y A C N N E Y W E T F

nsp4

6433 6443 6453 6463 6473 6483
AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA
K E N P I R L T E E N V V N Y I T K L K

nsp4

6493 6503 6513 6523 6533 6543
GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA
[0786] G P K A A A L F A K T H N L N M L Q D I

nsp4

6553 6563 6573 6583 6593 6603

CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA

P M D R F V M D L K R D V K V T P G T K

nsp4

6613 6623 6633 6643 6653 6663

CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG

H T E E R P K V Q V I Q A A D P L A T A

nsp4

6673 6683 6693 6703 6713 6723

UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC

Y L C G I H R E L V R R L N A V L L P N

nsp4

6733 6743 6753 6763 6773 6783

AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC

I H T L F D M S A E D F D A I I A E H F

nsp4

6793 6803 6813 6823 6833 6843

CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC

Q P G D C V L E T D I A S F D K S E D D

nsp4

6853 6863 6873 6883 6893 6903

GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG

A M A L T A L M I L E D L G V D A E L L

nsp4

6913 6923 6933 6943 6953 6963

ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA

T L I E A A F G E I S S I H L P T K T K

nsp4

6973 6983 6993 7003 7013 7023

UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC

F K F G A M M K S G M F L T L F V N T V

nsp4

7033 7043 7053 7063 7073 7083

[0787]

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

7513 7523 7527

GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA

[0788] *A P I T L Y G **

nsp4

```
      7537        7547        7557        7567  7568
CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U
```

virUTR

```
      7578        7588        7598        7608        7618        7628
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA
  M   F   V   F   L   V   L   L   P   L   V   S   S   Q   C   V   V   R   F   P
```

RBD (S 단백질)

```
      7638        7648        7658        7668        7678        7688
AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG
  N   I   T   N   L   C   P   F   G   E   V   F   N   A   T   R   F   A   S   V
```

RBD (S 단백질)

```
      7698        7708        7718        7728        7738        7748
UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU
  Y   A   W   N   R   K   R   I   S   N   C   V   A   D   Y   S   V   L   Y   N
```

RBD (S 단백질)

```
      7758        7768        7778        7788        7798        7808
AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA
  S   A   S   F   S   T   F   K   C   Y   G   V   S   P   T   K   L   N   D   L
```

RBD (S 단백질)

```
      7818        7828        7838        7848        7858        7868
UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU
  C   F   T   N   V   Y   A   D   S   F   V   I   R   G   D   E   V   R   Q   I
```

RBD (S 단백질)

```
      7878        7888        7898        7908        7918        7928
GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA
  A   P   G   Q   T   G   K   I   A   D   Y   N   Y   K   L   P   D   D   F   T
```

RBD (S 단백질)

```
      7938        7948        7958        7968        7978        7988
GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU
  G   C   V   I   A   W   N   S   N   N   L   D   S   K   V   G   G   N   Y   N
```

[0789]

RBD (S 단백질)

```
      7998        8008        8018        8028        8038        8048
UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA
  Y  L  Y   R  L  F   R  K  S  N   L  K  P   F  E  R   D  I  S  T
```

RBD (S 단백질)

```
      8058        8068        8078        8088        8098        8108
GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU
  E  I  Y   Q  A  G   S  T  P  C   N  G  V   E  G  F   N  C  Y  F
```

RBD (S 단백질)

```
      8118        8128        8138        8148        8158        8168
CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG
  P  L  Q   S  Y  G   F  Q  P  T   N  G  V   G  Y  Q   P  Y  R  V
```

RBD (S 단백질)

```
      8178        8188        8198        8208        8218    8222
GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA
  V  V  L   S  F  E   L  L  H  A   P  A  T   V  C  G   P  K
```

RBD (S 단백질)

```
      8232        8242    8249
GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU
  G  S  P   G  S  G   S  G  S
```

GS linker

```
      8259        8269        8279        8289        8299        8309
GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG
  G  Y  I   P  E  A   P  R  D  G   Q  A  Y   V  R  K   D  G  E  W
```

피브리틴

```
      8319        8329 8330
GUAUUACUUU CUACCUUUUU A
  V  L  L   S  T  F   L
```

피브리틴

```
      8340    8345
GGAAGCGGCA GCGGA
```

[0790]

```
  G  S  G  S  G
```

GS linker

```
      8355       8365       8375       8385       8395       8405
UCUGAACAGU ACAUUAAAUG GCCUUGGUAC AUUUGGCUUG GAUUUAUUGC AGGAUUAAUU
  S  E  Q  Y  I  K  W  P  W  Y  I  W  L  G  F  I  A  G  L  I
```

TM

```
      8415       8425       8435       8445       8455       8465
GCAAUUGUGA UGGUGACAAU UAUGUUAUGU UGUAUGACAU CAUGUUGUUC UUGUUUAAAA
  A  I  V  M  V  T  I  M  L  C  C  M  T  S  C  C  S  C  L  K
```

TM

```
      8475       8485       8495       8505       8515       8525
GGAUGUUGUU CUUGUGGAAG CUGUUGUAAA UUUGAUGAAG AUGAUUCUGA ACCUGUGUUA
  G  C  C  S  C  G  S  C  C  K  F  D  E  D  D  S  E  P  V  L
```

TM

```
      8535       8545       8555
AAAGGAGUGA AAUUGCAUUA CACAUGAUGA
  K  G  V  K  L  H  Y  T  *  *
```

TM

```
      8565       8575       8585       8595       8605       8615
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG
```

FI element

```
      8625       8635       8645       8655       8665       8675
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC
```

FI element

```
      8685       8695       8705       8715       8725       8735
UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG
```

FI element

```
      8745       8755       8765       8775       8785       8795
CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA
```

FI element

```
      8805       8815       8825       8835       8845       8855
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC
```

FI element

[0791]

```
      8865       8875       8885       8895       8905       8915

AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU
```

FI element

```
      8925       8935       8945       8955       8965    8969
UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC
```

FI element

```
      8979       8989       8999       9009       9019       9029
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

Poly(A)

```
      9039       9049       9059       9069       9079
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

[0792] **Poly(A)**

[0793] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 백신 RNA는 SEQ ID NO:: 15, 16, 17, 19, 20, 21, 24, 25, 26, 27, 30 및 32로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 본원에 기술된 백신 RNA는 SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 25, 26, 30 및 32로 이루어진 그룹으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열, 예컨대 SEQ ID NO: 17, 19, 21, 26, 30, 및 32로 이루어진 그룹으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0794] 본원에 기재된 RNA는 바람직하게는 지질 나노입자(LNP)로 제형화된다. 일 구체예에서, LNP는 양이온성 지질, 중

성 지질, 스테로이드, 폴리머 접합된 지질; 및 RNA를 포함한다. 일 구체예에서, 양이온성 지질은 ALC-0315이고, 중성 지질은 DSPC이며, 스테로이드는 콜레스테롤이고, 폴리머 접합된 지질은 ALC-0159이다. 바람직한 투여 방식은 근육내 투여, 보다 바람직하게는 근육내 투여를 위한 수성 동결 보호 완충액이다. 약물 제품은 바람직하게는 근육내 투여를 위한 수성 동결 방지제 완충제 중의 지질 나노입자(LNP)로 제형화된 RNA로서 무방부제의 무균 분산액인 것이 좋다.

[0795] 다른 구체예에서, 약물 제품은 바람직하게는 아래에 나타낸 비율 또는 농도로 하기에 나타낸 성분을 포함한다:

요소	기능	비율(몰%)
ALC-0315 [1]	기능성지질	47.5
ALC-0159 [2]	기능성지질	1.8
DSPC [3]	구조 지질	10.0
콜레스테롤, 합성	구조 지질	40.7

요소	기능	농도(mg/mL)
약물 물질	활동적인	0.5
ALC-0315 [1]	기능성지질	7.17
ALC-0159 [2]	기능성지질	0.89
DSPC [3]	구조 지질	1.56
콜레스테롤, 합성	구조 지질	3.1
자당	동결 방지제	102.69
NaCl	버퍼 _	6.0
KCl	완충기	0.15
Na_2HPO_4	완충기	1.08
KH_2PO_4	완충기	0.18
주사용수	용제/비히클	질문

요소	기능	농도(mg/mL)
약물 물질	활동적인	1.0
ALC-0315 [1]	기능성지질	13.56
ALC-0159 [2]	기능성지질	1.77
DSPC [3]	구조 지질	3.11
콜레스테롤, 합성	구조 지질	6.20
자당	동결 방지제	102.69
NaCl	완충기	6.0
KCl	완충기	0.15
$Na_2 HPO_4$	완충기	1.08
KH_2O_4	완충기	0.15
주사용수	용제/비히클	질문

[0796]

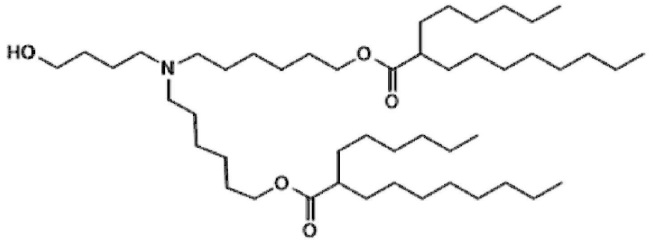
[1] ALC-0315 = ((4-히드록시부틸)아잔디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트) / 6-[N-6-(2-헥실데카노일옥시)헥실-N-(4 -히드록시부틸)아미노]헥실 2-헥실데카노에이트

[2] ALC-0159 = 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000] *-N,N- 디테트라데실아세트* 아미드 / 2-[2-(ω-메톡시(폴리에틸렌글리콜2000) 에톡시]-N,N-디테트라데실아세트아미드

[3] DSPC = 1,2-디스테아로일-*sn*-글리세로-3-포스포콜린

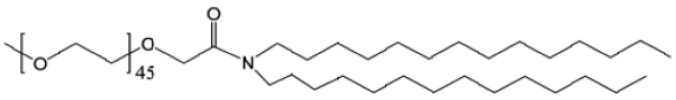
[0797] qs = 만족시키는 양 (충분한 만큼)

[0798] ALC-0315:



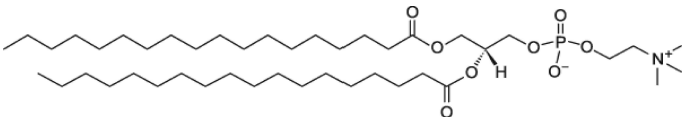
[0799]

[0800] ALC-0159:



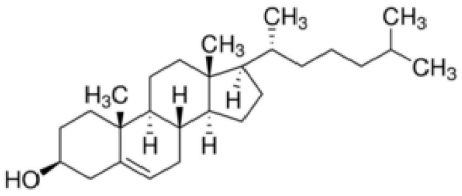
[0801]

[0802] DSPC:



[0803]

[0804] **콜레스테롤:**



[0805]

[0806] 일 구체예에서, 총 지질에 대한 mRNA의 비(N/P)는 6.0 내지 6.5, 예컨대 약 6.0 또는 약 6.3이다.

[0807] **핵산 함유 입자**

[0808] 백신 항원을 인코딩하는 RNA와 같은 본원에 기재되는 핵산은 입자로서 제형화되어 투여될 수 있다.

[0809] 본 발명의 맥락에서, 용어 "입자"는 분자 또는 분자 복합체에 의해 형성되는 구조화된 실체에 관한 것이다. 일 구체예에서, 용어 "입자"는 매질에 분산된 마이크로- 또는 나노- 크기의 콤팩트 구조와 같은 마이크로- 또는 나노- 크기의 구조에 관한 것이다. 일 구체예에서, 입자는 DNA, RNA 또는 이들의 혼합물을 포함하는 입자와 같은 핵산 함유 입자이다.

[0810] 폴리머 및 지질과 같은 양전하를 띤 분자와, 음전하를 띤 핵산 사이의 정전기적 상호작용이 입자 형성에 관여한다. 이것이 핵산 입자의 복합화 및 자발적 형성을 초래한다. 일부 구체예에서, 핵산 입자는 나노입자이다.

[0811] 본 발명에서 사용되는 바 "나노입자"는 비경구 투여에 적합한 평균 직경을 갖는 입자를 의미한다.

[0812] "핵산 입자"는 관심 표적 부위 (예를 들어, 세포, 조직, 기관 등)에 핵산을 전달하기 위해 사용될 수 있다. 핵산 입자는, 하나 이상의 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질, 프로타민과 같은 하나 이상의 양이온성 폴리머, 또는 이들의 혼합물과, 핵산으로부터 형성될 수 있다. 핵산 입자에는 지질 나노 입자 (LNP)-기반 및 리포플렉스 (LPX)-기반 제형이 포함된다.

[0813] 어떠한 이론에도 구속되지 않고, 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 및/또는 양이온성 폴리머는 핵산과 함께 결합하여 응집체를 형성하고, 이러한 응집체는 콜로이드적으로 안정한 입자를 결과하는 것으로 여겨진다.

[0814] 일 구체예에서, 본원에 기재되는 입자는, 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 이외의 하나 이상의 지질 또는 지질-유사 물질, 양이온성 폴리머가 아닌 하나 이상의 폴리머, 또는 이들의 혼합물을 추가로 포함한다.

[0815] 일 구체예에서, 핵산 입자는 하나 이상의 유형의 핵산 분자를 포함하며, 여기서 핵산 분자의 분자 파라미터는 서로 유사하거나 상이할 수 있는데, 몰 질량 또는 분자 구조와 같은 기본 구조 요소, 캡핑, 코딩 영역 또는 기타 특징과 관련하여와 같이 그러할 수 있다. 본원에 기재되는 핵산 입자는, 일부 구체예에서 약 30 nm 내지 약 1000 nm, 약 50 nm 내지 약 800 nm, 약 70 nm 내지 약 600 nm, 약 90 nm 내지 약 400 nm 범위 또는 약 100 nm 내지 약 300 nm의 범위인 평균 직경을 가질 수 있다.

[0816] 본원에 기재되는 핵산 입자는 약 0.5 미만, 약 0.4 미만, 약 0.3 미만, 또는 약 0.2 미만의 다분산 지수를 나타낼 수 있다. 예로서, 핵산 입자는 약 0.1 내지 약 0.3 또는 약 0.2 내지 약 0.3 범위의 다분산 지수를 나타낼 수 있다.

[0817] RNA 지질 입자와 관련하여, N/P 비는 RNA 내 포스페이트 기의 수에 대한 지질 내 질소 기의 비율을 제시한다. 질소 원자 (pH에 따라 다름)는 일반적으로 양전하를 띠고 포스페이트 기는 음전하를 띠기 때문에, 이는 전하 비와 상관 관계가 있다. 전하 평형이 존재하는, N/P 비율은 pH에 따라 달라진다. 양으로 하전된 나노입자가 형질 감염에 유리한 것으로 간주되기 때문에, 지질 제형은 흔히 4 초과 12 이하의 N/P 비로 형성된다. 이 경우 RNA는 나노 입자에 완전히 결합된 것으로 간주된다.

[0818] 본원에 기재되는 핵산 입자는, 하나 이상의 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 및/또는 하나 이상의 양이온성 폴리머로부터 콜로이드를 수득하는 단계 및 콜로이드를 핵산과 혼합하여 핵산 입자를 수득하는 단계를 포함할 수 있는 광범위한 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

[0819] 본원에 사용되는 바 용어 "콜로이드"는 분산된 입자가 가라앉지 않는 균질한 혼합물의 유형에 관한 것이다. 혼합물 내 불용성 입자는 1에서 1000 나노미터 사이의 입자 크기를 갖는 미시성이다. 혼합물은 콜로이드 또는 콜로이드 현탁액이라고 칭할 수 있다. 때때로 "콜로이드"라는 용어는 전체 현탁액이 아니라 혼합물의 입자만을 나타낸다.

[0820] 하나 이상의 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 및/또는 하나 이상의 양이온성 폴리머를 포함하는 콜로이드의 제조를 위해, 리포솜 소포를 제조하기 위해 통상적으로 사용되며 적절하게 적용되는 방법이 본원에서 적용 가능하다. 리포솜 소포를 제조하기 위해 가장 일반적으로 사용되는 방법은 다음과 같은 기본 단계를 공유한다: (i) 유기 용매에서 지질 용해, (ii) 생성된 용액의 건조, 및 (iii) 건조된 지질의 수화 (다양한 수성 매질 사용).

[0821] 막 수화법에서, 지질은 먼저 적절한 유기 용매에 용해되고 건조되어 플라스크 바닥에 박막을 생성한다. 얻어진 지질 필름은 적절한 수성 매질을 사용하여 수화되어 리포솜 분산액을 생성한다. 또한, 추가적인 다운사이징 단계가 포함될 수 있다.

[0822] 역상 증발은, 수성상과 지질을 포함하는 유기상 사이에 유-중-수 에멀젼의 형성을 포함하는, 리포솜 소포를 제조하기 위한, 막 수화의 대안적 방법이다. 이러한 혼합물의 간단한 초음파 처리는 시스템 균질화에 필요하다. 감압 하에서 유기상을 제거하면 유백색 겔이 생성되며, 이는 후속적으로 리포솜 현탁액으로 변한다.

[0823] "에탄올 주입 기술"이라는 용어는 지질을 포함하는 에탄올 용액을 바늘을 통해 수용액에 빠르게 주입하는 공정을 의미한다. 이러한 작용은 용액 전체에 지질을 분산시키고 지질 구조 형성, 예를 들어 리포솜 형성과 같은 지질 소포 형성을 촉진한다. 일반적으로, 본원에 기재되는 RNA 리포플렉스 입자는 RNA를 콜로이드성 리포솜 분산액에 첨가함으로써 얻을 수 있다. 에탄올 주입 기술을 사용하여, 이러한 콜로이드성 리포솜 분산액은 일 구체예에서 다음과 같이 형성된다: 양이온성 지질 및 추가적인 지질과 같은 지질을 포함하는 에탄올 용액을 교반하에 수용액에 주입. 일 구체예에서, 본원에 기재되는 RNA 리포플렉스 입자는 압출 단계 없이 수득가능하다.

[0824] "압출하다" 또는 "압출"이라는 용어는 고정된, 단면 프로파일을 갖는 입자의 생성을 의미한다. 특히, 이것은 그에 의하여 입자가 한정된 구멍을 갖는 필터를 통해 강제되는, 입자의 다운사이징을 의미한다.

[0825] 유기 용매가 없는 특성을 갖는 다른 방법 또한 콜로이드를 제조하기 위해 본 발명에 따라 사용될 수 있다.

[0826] LNP는 일반적으로 4가지 구성 요소를 포함한다: 이온화 가능한 양이온성 지질, 인지질과 같은 중성 지질, 콜레스테롤과 같은 스테로이드, 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)-지질과 같은 폴리머 접합된 지질. 각 구성 요소는 페이로드 보호를 담당하며 효과적인 세포 내 전달을 가능하게 한다. LNP는 에탄올에 용해된 지질을 수성 완충액에서 핵산과 빠르게 혼합함으로써 제조될 수 있다.

[0827] "평균 직경"이라는 용어는 소위 누적 알고리즘을 사용한 데이터 분석과 함께 동적 레이저 광 산란 (DLS)에 의해 측정된 입자의 평균 유체역학적 직경을 말하며, 이는 결과로서 길이 차원을 갖는 소위 재버리지 (Zaverage) 및

무차원인 다분산 지수 (PI)를 제공한다 (Koppel, D., J. Chem. Phys. 57, 1972, pp 4814-4820, ISO 13321). 본원에서, "평균 직경", "직경" 또는 입자에 대한 "크기"는 이 재버리지 값과 동의어로 사용된다.

[0828] "다분산 지수"는 바람직하게는, 상기 "평균 직경"의 정의에 언급된 바와 같은 소위 누적 분석에 의한 동적 광산란 측정에 기초하여 계산된다. 특정 전제 조건 하에서 이것을 나노 입자 총체 (ensemble)의 크기 분포의 척도로 취할 수 있다.

[0829] 입자를 포함하는 여러 유형의 핵산이 미립자 형태로 핵산 전달에 적합한 것으로 이전에 설명되었다 (예컨대, Kaczmarek, J. C. et al, 2017, Genome Medicine 9, 60). 비바이러스 핵산 전달 비히클의 경우, 핵산의 나노입자 캡슐화는 핵산이 분해되지 않도록 물리적으로 보호하고, 특정 화학에 따라, 세포 흡수 및 엔도솜 탈출을 도울 수 있다.

[0830] 본 발명은 핵산, 하나 이상의 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질, 및/또는 핵산과 결합하여 핵산 입자를 형성하는 하나 이상의 양이온성 폴리머를 포함하는 입자, 및 이러한 입자를 포함하는 조성물을 개시한다. 핵산 입자는, 입자와의 비-공유적 상호작용에 의해 여러 형태로 복합체화되는 핵산을 포함할 수 있다. 본원에 기재되는 입자는 바이러스 입자, 특히 감염성 바이러스 입자가 아니며, 즉 이들은 바이러스성으로 세포를 감염시킬 수 없다. 적합한 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 및 양이온성 폴리머는, 핵산 입자를 형성하고, 용어 "입자 형성 성분" 또는 "입자 형성 제제"에 포함되는 것들이다. 용어 "입자 형성 성분" 또는 "입자 형성 제제"는 핵산과 결합하여 핵산 입자를 형성하는 임의의 성분에 관한 것이다. 이러한 성분은 핵산 입자의 일부일 수 있는 임의의 성분을 포함한다.

[0831] **양이온성 폴리머**

[0832] 높은 수준의 화학적 유연성으로 인해 폴리머는 나노 입자-기반 전달에 흔히 사용되는 재료이다. 일반적으로 양이온성 폴리머는 음전하를 띤 핵산을 나노입자로 정전기적으로 응축시키는 데 사용된다. 이러한 양전하를 띤 그룹은 종종 5.5에서 7.5 사이의 pH 범위에서 그들의 양성자화 상태가 변하는 아민으로 구성되며, 이는 엔도솜 파열을 초래하는 이온 불균형을 초래하는 것으로 여겨진다. 폴리-L-리신, 폴리아미도아민, 프로타민 및 폴리에틸렌이민과 같은 폴리머, 뿐만 아니라 키토산과 같은 자연 발생적 폴리머는 모두 핵산 전달에 적용되었으며 본원의 일부 구체예에서 유용한 양이온성 물질로서 적합하다. 또한, 일부 연구자들은 핵산 전달을 위해 특별히 폴리머 물질을 합성하였다. 폴리(β-아미노 에스터)는, 특히, 그의 합성 및 생분해성의 용이성에 기하여 핵산 전달에 널리 사용되었다. 이러한 합성 폴리머는 본원의 양이온성 폴리머로서 사용하기에 적합할 수 있다.

[0833] 본원에서 사용되는 바 "폴리머"는 그의 통상적인 의미, 즉 공유 결합에 의해 연결된 하나 이상의 반복 단위 (단량체)를 포함하는 분자 구조로 주어진다. 반복 단위는 모두 동일할 수 있고; 혹은, 어떤 경우에는 폴리머 내에 하나 이상의 유형의 반복 단위가 존재할 수 있다. 일부 경우에, 폴리머는 생물학적 유래성이며, 예를 들어 단백질과 같은 생체고분자이다. 일부 경우에, 추가적인 모이어티 역시 폴리머 분자에 존재할 수 있는데, 예를 들어 본원에 기재된 것과 같은 표적화 모이어티이다.

[0834] 하나 이상의 유형의 반복 단위가 폴리머 내에 존재하는 경우, 그 폴리머를 "코폴리머"라고 한다. 본 발명에 따라 사용되는 폴리머는 코폴리머일 수 있다. 코폴리머를 형성하는 반복 단위는 임의의 방식으로 배열될 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서 반복 단위는 무작위 순서로 배열될 수 있으며; 교대 순서로, 또는 "블록" 코폴리머로서 배열될 수 있는데, 즉 각각 제1 반복 단위 (예를 들어, 제1 블록)를 포함하는 하나 이상의 영역, 및 각각 제2 반복 단위 (예를 들어, 제2 블록)를 포함하는 하나 이상의 영역 등을 포함한다. 블록 코폴리머는 2개 (이중 블록 코폴리머), 3개 (삼중 블록 코폴리머) 또는 그 이상의 개별 블록을 가질 수 있다.

[0835] 특정 구체예에서, 폴리머는 생체적합성이다. 생체적합성 폴리머는 일반적으로 중간 농도에서 심각한 세포 사멸을 일으키지 않는 폴리머이다. 특정 구체예에서, 생체적합성 폴리머는 생분해성이며, 즉 폴리머는 체내와 같은 생리학적 환경 내에서 화학적 및/또는 생물학적으로 분해될 수 있다.

[0836] 특정 구체예에서, 폴리머는 프로타민 또는 폴리알킬렌이민, 특히 프로타민일 수 있다.

[0837] 용어, "프로타민"은 아르기닌이 풍부하고 (물고기와 같은) 여러 동물의 정자 세포에서 체세포 히스톤 대신 특히 DNA와 관련된 것으로 발견되는 비교적 저분자량의 다양한 강염기성 단백질을 지칭한다. 특히, "프로타민"이라는 용어는 강염기성이고, 물에 용해성이며, 열에 의해 응고되지 않고, 가수분해시 주로 아르기닌을 생성하는, 어류 정자에서 발견되는 단백질을 지칭한다. 정제된 형태로, 이들은 인슐린의 지속형 제형에 사용되며 헤파린의 항응고 효과를 중화하는 데 사용된다.

[0838] 본원에 따라, 본원에 사용되는 용어 "프로타민"은 천연 또는 생물학적 원으로부터 얻어지거나 유래되는 프로타민 아미노산 서열, 예컨대 그의 단편 및 상기 아미노산 서열의 다량체 형태 또는 그의 단편, 및 인공적이며 특정 목적을 위해 특이적으로 설계되고 천연 또는 생물학적 공급원으로부터 단리될 수 없는 (합성) 폴리펩타이드를 모두 지칭한다.

[0839] 일 구체예에서, 폴리알킬렌이민은 폴리에틸렌이민 및/또는 폴리프로필렌이민, 바람직하게는 폴리에틸렌이민을 포함한다. 바람직한 폴리알킬렌이민은 폴리에틸렌이민 (PEI)이다. PEI의 평균 분자량은 바람직하게는 0.75 · 102 내지 107 Da, 바람직하게는 1000 내지 105 Da, 보다 바람직하게는 10000 내지 40000 Da, 더욱 바람직하게는 15000 내지 30000 Da, 더욱 더 바람직하게는 20000 내지 25000 Da이다.

[0840] 본 발명에서 바람직한 것은 선형 폴리에틸렌이민 (PEI)과 같은 선형 폴리알킬렌이민이다.

[0841] 본원에서 사용하기 위해 고려되는 양이온성 폴리머 (예를 들어, 다가양이온성 폴리머를 포함)는 핵산에 정전기적으로 결합할 수 있는 모든 양이온성 폴리머를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에서 사용하기 위해 고려되는 양이온성 폴리머는 예를 들어 핵산과 함께 복합체를 형성하거나 핵산이 그 안에 둘러싸이거나 캡슐화되는 소포를 형성함으로써, 핵산이 그와 결합될 수 있는 임의의 양이온성 폴리머 를 포함한다.

[0842] 본원에 기재되는 입자는 양이온성 폴리머 이외의 폴리머, 즉 비-양이온성 폴리머 및/또는 음이온성 폴리머를 포함할 수 있다. 총체적으로, 음이온성 및 중성 폴리머는 본원에서 비-양이온성 폴리머로 지칭된다.

[0843] **지질 및 지질-유사 물질**

[0844] 용어 "지질" 및 "지질-유사 물질"은, 하나 이상의 소수성 모이어티 또는 그룹 및 선택적으로 또한 하나 이상의 친수성 모이어티 또는 그룹을 포함하는 분자를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. 소수성 모이어티 및 친수성 모이어티를 포함하는 분자는 또한 종종 양친매성 물질로 표시된다. 지질은 일반적으로 물에 잘 녹지 않는다. 수성 환경에서 양친매성 성질은 분자로 하여금 조직화된 구조 및 다른 상 (phase) 내로 자가-조립되도록 한다. 이들 상 중 하나는, 그들이 수성 환경에서 소포, 다층/단층 리포솜 또는 막에 존재할 때, 지질 이중층으로 구성된다. 소수성은 장쇄 포화 및 불포화 지방족 탄화수소 그룹 및 하나 이상의 방향족, 지환족 또는 헤테로시클릭 그룹(들)로 치환된 그러한 그룹을 포함하지만 이에 제한되지 않는 비극성 그룹을 포함한다. 친수성 그룹은 극성 및/또는 하전된 그룹을 포함할 수 있고 탄수화물, 포스페이트, 카르복실, 설페이트, 아미노, 설프하이드릴, 니트로, 하이드록실, 및 기타 유사한 그룹을 포함할 수 있다.

[0845] 본 명세서에 사용되는 바, 용어 "양친매성"은 극성 부분 및 비-극성 부분 모두를 갖는 분자를 지칭한다. 종종 양친매성 화합물은 긴 소수성 꼬리에 부착되는 극성 헤드를 갖는다. 일부 구체예에서, 극성 부분은 물에 용해되는 반면, 비-극성 부분은 물에 불용성이다. 또한 극성 부분은 형식적 양전하 또는 형식적 음전하를 가질 수 있다. 혹은, 극성 부분은 형식적 양전하 및 음전하를 모두 가질 수 있고, 양쪽성 이온 (zwitter ion) 또는 내부염일 수 있다. 본 명세서의 목적상, 양친매성 화합물은 하나 또는 복수의 천연 또는 비-천연 지질 및 지질-유사 화합물일 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

[0846] "지질-유사 물질", "지질-유사 화합물" 또는 "지질-유사 분자"라는 용어는 구조적으로 및/또는 기능적으로 지질에 관한 것이지만 엄격한 의미에서 지질로 간주되지 않을 수 있는 물질에 관한 것이다. 예를 들어, 이 용어는 그들이 수성 환경에서 소포, 다층/단층 리포솜 또는 막에 존재할 때 양친매성 층을 형성할 수 있는 화합물을 포함하고, 계면활성제 또는 친수성 및 소수성 모이어티를 모두 갖는 합성 화합물을 포함한다. 일반적으로 말해서, 이 용어는, 지질의 그것과 유사하거나 유사하지 않을 수 있는 상이한 구조적 조직을 갖는 친수성 및 소수성 모이어티들을 포함하는 분자를 지칭한다. 본원에 사용되는 바, 용어 "지질"은 본원에 자가 나타내지 않거나 문맥상 명백히 모순되지 않는 한 지질 및 지질-유사 물질 모두를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.

[0847] 양친매성 층에 포함될 수 있는 양친매성 화합물의 특정한 예는 인지질, 아미노리피드 및 스핑고리피드를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0848] 특정 구체예에서, 양친매성 화합물은 지질이다. "지질"이라는 용어는 물에 녹지 않지만 많은 유기 용매에 용해되는 것을 특징으로 하는 유기 화합물 그룹을 지칭한다. 일반적으로 지질은 8개 범주로 나뉠 수 있다: 지방산, 글리세로리피드, 글리세로인지질, 스핑고리피드, 새커로리피드, 폴리케타이드 (케토아실 서브유닛의 축합에서 유래), 스테롤 지질 및 프레놀 지질 (이소프렌 서브유닛의 축합에서 유래). "지질"이라는 용어는 때때로 지방(fat)의 동의어로 사용되지만 지방은 트리글리세리드라고 불리는 지질의 하위 그룹이다. 지질은 또한 지방산 및 그 유도체와 같은 분자 (트리-, 디-, 모노글리세리드 및 인지질 포함) 및 콜레스테롤과 같은 스테롤-함유 대사

산물을 포함한다.

[0849] 지방산 또는 지방산 잔기는 카르복실산 기로 끝나는 탄화수소 사슬로 구성된 다양한 분자 그룹으로; 이러한 배열은 분자에 극성의 친수성 말단과 물에 불용성인 비극성의 소수성 말단을 부여한다. 일반적으로 길이가 4개에서 24개 사이인 탄소 사슬은 포화되거나 불포화될 수 있으며 산소, 할로겐, 질소 및 황을 포함하는 작용기에 부착될 수 있다. 지방산에 이중 결합이 포함되어 있으면 시스 또는 트랜스 기하 이성질체의 가능성이 있으며, 이는 분자 형태에 상당한 영향을 미친다. 시스-이중 결합은 지방산 사슬을 구부러지게 하며, 이는 사슬 내 더 많은 이중 결합으로 구성되는 효과이다. 지방산 범주의 다른 주요 지질 부류는 지방 에스터와 지방 아미드이다.

[0850] 글리세로리피드는 모노-, 디- 및 트리-치환된 글리세롤로 구성되며, 가장 잘 알려진 것은 트리글리세리드라고 하는 글리세롤의 지방산 트리에스터이다. "트리아실글리세롤"이라는 용어는 때로 "트리글리세리드"와 동의로 사용된다. 이들 화합물에서, 글리세롤의 3개의 하이드록실 그룹은 일반적으로 여러 지방산에 의해 각각 에스터화된다. 글리세로리피드의 추가적인 하위 부류는 글리코시드 결합을 통해 글리세롤에 부착되는 하나 이상의 당 잔기의 존재를 특징으로 하는 글리코실글리세롤로 대표된다.

[0851] 글리세로인지질은, 에스터 결합에 의해 2개의 지방산-유래 "꼬리"에 연결되고, 인산 에스터 결합에 의해 하나의 "헤드" 그룹에 연결되는, 글리세롤 코어를 포함하는 양친매성 분자 (소수성 및 친수성 영역 모두 포함)이다. 일반적으로 인지질 (스핑고미엘린도 인지질로 분류되지만)이라고 하는 글리세로인지질의 예는, 포스파티딜콜린 (PC, GPCho 또는 레시틴으로도 알려짐), 포스파티딜에탄올아민 (PE 또는 GPEtn) 및 포스파티딜세린 (PS 또는 GPSer)이다.

[0852] 스핑고리피드는 공통 구조적 특징인 스핑고이드 염기 백본을 공유하는 복합 화합물 패밀리이다. 포유동물의 주요 스핑고이드 염기는 일반적으로 스핑고신이라고 불린다. 세라마이드 (N-아실-스핑고이드 염기)는 아미드-결합 지방산을 가지는 스핑고이드 염기 유도체의 주요 하위 부류이다. 지방산은 전형적으로 16 내지 26개의 탄소 원자 사슬 길이를 갖고 포화되거나 단일-불포화된다. 포유동물의 주요 포스포스핑고지질은 스핑고미엘린 (세라마이드 포스포콜린)인 반면, 곤충은 주로 세라마이드 포스포에탄올아민을 함유하고 곰팡이는 피토세라마이드 포스포이노시톨과 만노스-함유 헤드그룹을 갖는다. 글리코스핑고리피드는 글리코시드 결합을 통해 스핑고이드 염기에 연결된 하나 이상의 당 잔기로 구성된 다양한 분자 패밀리이다. 이들의 예는 세레브로사이드 및 갱글리오사이드와 같은 단순 및 복합 글리코스핑고리피드이다.

[0853] 콜레스테롤 및 그 유도체, 또는 토코페롤 및 그 유도체와 같은 스테롤 지질은 글리세로인지질 및 스핑고미엘린과 함께 막 지질의 중요한 구성 요소이다.

[0854] 새커로리피드는, 지방산이 당 백본에 직접 연결되어 막 이중층과 호환되는 구조를 형성하는 화합물을 설명한다. 새커로리피드에서 단당류는 글리세로리피드 및 글리세로인지질에 존재하는 글리세롤 백본을 대체한다. 가장 친숙한 새커로리피드는 그람-음성 세균의 지질다당류의 지질 A 성분의 아실화된 글루코사민 전구체이다. 전형적인 지질 A 분자는 글루코사민의 이당류이며, 이는 무려 7개의 지방산-아실 사슬로 유도체화된다. 대장균에서 성장에 필요한 최소 지질다당류는 Kdo2-지질 A로, 2개의 3-데옥시-D-만노옥툴로손산 (Kdo) 잔기로 글리코실화된 글루코사민의 헥사-아실화된 이당류이다.

[0855] 폴리케타이드는, 고전적인 효소 뿐만 아니라 상기 지방산 합성효소와 기계적 특징을 공유하는 반복적이고 다중 모듈성 효소에 의한 아세틸 및 프로피오닐 서브유닛의 중합에 의해 합성된다. 이들은 동물, 식물, 박테리아, 곰팡이 및 해양 원으로부터의 많은 2차 대사 산물과 천연 산물을 포함하며 구조적 다양성이 뛰어나다. 많은 폴리케타이드는, 그의 백본이 종종 글리코실화, 메틸화, 하이드록실화, 산화 또는 기타 과정에 의해 추가로 변형되는 고리형 분자이다.

[0856] 본 발명에 따르면, 지질 및 지질-유사 물질은 양이온성, 음이온성 또는 중성일 수 있다. 중성 지질 또는 지질-유사 물질은 선택된 pH에서 전하를 띠지 않거나 중성 쯔비터이온 형태로 존재한다.

[0857] **양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질**

[0858] 본원에 설명된 핵산 입자는 입자 형성 제제로서 하나 이상의 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질을 포함할 수 있다. 본원에서 사용하기 위해 고려되는 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질은 핵산에 정전기적으로 결합할 수 있는 임의의 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질을 포함한다. 일 구체예에서, 본원에서 사용하기 위해 고려되는 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질은, 예를 들어 핵산과 복합체를 형성하거나 그

안에서 핵산이 둘러싸이거나 캡슐화되는 소포를 형성함으로써 핵산과 결합될 수 있다.

[0859] 본원에 사용되는 바, "양이온성 지질" 또는 "양이온성 지질-유사 물질"은 순 양전하를 갖는 지질 또는 지질-유사 물질을 지칭한다. 양이온성 지질 또는 지질-유사 물질은 정전기적 상호작용에 의해 음전하를 띤 핵산에 결합한다. 일반적으로, 양이온성 지질은 스테롤, 아실 사슬, 디아실 또는 더 큰 아실 사슬과 같은 친유성 모이어티를 가지며, 지질의 헤드 그룹은 일반적으로 양전하를 띤다.

[0860] 특정 구체예에서, 양이온성 지질 또는 지질-유사 물질은 특정 pH, 특히 산성 pH에서만 순 양전하를 갖는 반면, 다른, 바람직하게는 생리학적 pH와 같은 더 높은 pH에서는 바람직하게는 어떠한 순 양전하를 갖지 않고, 바람직하게는 전하를 갖지 않으며, 즉 중성이다. 이러한 이온화 가능 거동은 생리학적 pH에서 양이온성을 유지하는 입자와 비교하여 엔도솜 탈출을 돕고 독성을 감소시켜 효능을 향상시키는 것으로 여겨진다.

[0861] 본 발명의 목적상, 이러한 "양이온성으로 이온화 가능한" 지질 또는 지질-유사 물질은, 상황과 모순되지 않는 한 용어 "양이온성 지질 또는 지질-유사 물질"에 포함된다.

[0862] 일 구체예에서, 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질은 양전하를 띠거나 양성자화될 수 있는 적어도 하나의 질소 원자 (N)를 포함하는 헤드 그룹을 포함한다.

[0863] 양이온성 지질의 예는: 1,2-디올레오일-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTAP); N,N-디메틸-2,3-디올레일옥시프로필아민 (DODMA), 1,2-디-O-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA), 3-(N-(N',N'-디메틸아미노에탄)-카르바모일)콜레스테롤 (DC-Chol), 디메틸디옥타데실암모늄 (DDAB); 1,2-디올레오일-3-디메틸암모늄-프로판 (DODAP); 1,2-디아실옥시-3-디메틸암모늄 프로판; 1,2-디알킬옥시-3-디메틸암모늄 프로판; 디옥타데실디메틸 암모늄 클로라이드 (DODAC), 1,2-디스테아릴옥시-N,N-디메틸-3-아미노프로판 (DSDMA), 2,3-디(테트라데콕시)프로필-(2-하이드록시에틸)-디메틸아자늄 (DMRIE), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (DMEPC), 1,2-디미리스토일-3-트리메틸암모늄 프로판 (DMTAP), 1,2-디올레일옥시프로필-3-디메틸-하이드록시에틸 암모늄 브로마이드 (DORIE), 및 2,3-디올레오일옥시- N-[2(스퍼민 카르복사마이드)에틸]-N,N-디메틸-1-프로파나늄 트리플루오로아세테이트 (DOSPA), 1,2-디리놀레일옥시-N,N-디메틸아미노프로판 (DLinDMA), 1,2-디리놀레닐옥시-N,N-디메틸아미노프로판 (DLenDMA), 디옥타데실아미도글리실 스퍼민 (DOGS), 3-디메틸아미노-2-(콜레스트-5-엔-3-베타-옥시부탄-4-옥시)-1-(시스,시스-9,12-옥타데카디엔옥시)프로판 (CLinDMA), 2-[5'-(콜레스트-5-엔-3-베타-옥시)-3'-옥사펜톡시)-3-디메틸-1-(시스,시스-9',12'-옥타데카디엔옥시)프로판 (CpLinDMA), N,N-디메틸-3,4-디올레일옥시벤질아민 (DMOBA), 1,2-N,N'-디올레일카르바밀-3-디메틸아미노프로판 (DOcarbDAP), 2,3-디리놀레오일옥시-N,N-디메틸프로필아민 (DLinDAP), 1,2-N,N'-디리놀레일카르바밀-3-디메틸아미노프로판 (DLincarbDAP), 1,2-디리놀레오일카르바밀-3-디메틸아미노프로판 (DLinCDAP), 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노메틸-[1,3]-디옥솔란 (DLin-K-DMA), 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란 (DLin-K-XTC2-DMA), 2,2-디리놀레일-4-(2-디메틸아미노에틸)-[1,3]-디옥솔란 (DLin-KC2-DMA), 헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-일-4-(디메틸아미노)부타노에이트 (DLin-MC3-DMA), N-(2-하이드록시에틸)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)-1-프로판아미늄브로마이드 (DMRIE), (±)-N-(3-아미노프로필)-N,N-디메틸-2,3-비스(시스-9-테트라데세닐옥시)-1-프로판아미늄브로마이드 (GAP-DMORIE), (±)-N-(3-아미노프로필)-N,N-디메틸-2,3-비스(도데실옥시)-1-프로판아미늄브로마이드 (GAP-DLRIE), (±)-N-(3-아미노프로필)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)-1-프로판아미늄브로마이드 (GAP-DMRIE), N-(2-아미노에틸)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)-1-프로판아미늄브로마이드 (βAE-DMRIE), N-(4-카르복시벤질)-N,N-디메틸-2,3-비스(올레오일옥시)프로판-1-아미늄 (DOBAQ), 2-({8-[(3β)-콜레스트-5-엔-3-일옥시]옥틸}옥시)-N,N-디메틸-3-[(9Z,12Z)-옥타데카-9,12-디엔-1-일옥시]프로판-1-아민 (옥틸-CLinDMA), 1,2-디미리스토일-3-디메틸암모늄-프로판 (DMDAP), 1,2-디팔미토일-3-디메틸암모늄-프로판 (DPDAP), N1-[2-((1S)-1-[(3-아미노프로필)아미노]-4-[디(3-아미노-프로필)아미노]부틸카르복사미도)에틸]-3,4-디[올레일옥시]-벤즈아미드 (MVL5), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 (DOEPC), 2,3-비스(도데실옥시)-N-(2-하이드록시에틸)-N,N-디메틸프로판-1-암모늄 브로마이드 (DLRIE), N-(2-아미노에틸)-N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)프로판-1-아미늄 브로마이드 (DMORIE), 디((Z)-논-2-엔-1-일) 8,8'-((((2(디메틸아미노)에틸)티오)카르보닐)아잔디일)디옥타노에이트 (ATX), N,N-디메틸-2,3-비스(도데실옥시)프로판-1-아민 (DLDMA), N,N-디메틸-2,3-비스(테트라데실옥시)프로판-1-아민 (DMDMA), 디((Z)-논-2-엔-1-일)-9-((4-(디메틸아미노부타노일)옥시)헵타데칸디오에이트 (L319), N-도데실-3-((2-도데실카르바모일-에틸)-{2-[(2-도데실카르바모일-에틸)-2-{(2-도데실카르바모일-에틸)-[2-(2-도데실카르바모일-에틸아미노)-에틸]-아미노}-에틸아미노)프로피온아미드 (리피도이드 98N12-5), 1-[2-[비스(2-하이드록시도데실)아미노]에틸-[2-[4-[2-[비스(2 하이드록시도데실)아미노]에틸]피페라진-1-일]에틸]아미노]도데칸-2-올 (리피도이드 C12-200)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0864] 일부 구체예에서, 양이온성 지질은 입자에 존재하는 총 지질의 약 10 몰% 내지 약 100 몰%, 약 20 몰% 내지 약 100 몰%, 약 30 몰% 내지 약 100 몰%, 약 40 몰% 내지 약 100 몰%, 또는 약 50 몰% 내지 약 100 몰%를 포함할 수 있다.

[0865] **추가적인 지질 또는 지질-유사 물질**

[0866] 본원에 기재된 입자는 양이온성 또는 양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 외에도지질 또는 지질-유사 물질, 즉 비-양이온성 지질 또는 지질-유사 물질을 포함한다 (비-양이온성으로 이온화 가능한 지질 또는 지질-유사 물질 포함). 총체적으로, 음이온성 및 중성 지질 또는 지질-유사 물질은 본원에서 비-양이온성 지질 또는 지질 유사 물질로 지칭된다. 이온화가능/양이온성 지질 또는 지질-유사 물질에 더하여, 콜레스테롤 및 지질과 같은 다른 소수성 모이어티의 추가에 의해 핵산 입자의 제형을 최적화하면 입자 안정성 및 핵산 전달 효율이 향상될 수 있다.

[0867] 핵산 입자의 전체 전하에 영향을 미치거나 영향을 미치지 않을 수 있는 추가적인 지질 또는 지질-유사 물질이 혼입될 수 있다. 특정 구체예에서, 추가적인 지질 또는 지질-유사 물질은 비-양이온성 지질 또는 지질-유사 물질이다. 비-양이온성 지질은 예를 들어, 하나 이상의 음이온성 지질 및/또는 중성 지질을 포함할 수 있다. 본원에 사용되는 "음이온성 지질"은 선택된 pH에서 음으로 하전된 임의의 지질을 지칭한다. 본원에 사용되는 "중성 지질"은 선택된 pH에서 전하를 띠지 않거나 중성 쯔비터이온 형태 중 하나로 존재하는 다수의 지질 종 중 임의의 것을 지칭한다. 바람직한 구체예에서, 추가적인 지질은 하기 중성 지질 성분 중 하나를 포함한다: (1) 인지질, (2) 콜레스테롤 또는 그의 유도체; 또는 (3) 인지질과 콜레스테롤 또는 이의 유도체의 혼합물. 콜레스테롤 유도체의 예는 콜레스탄올, 콜레스타논, 콜레스테논, 코프로스탄올, 콜레스테릴-2'-하이드록시에틸 에테르, 콜레스테릴-4'-하이드록시부틸 에테르, 토코페롤 및 그의 유도체, 및 그의 혼합물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0868] 사용될 수 있는 특정 인지질은 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜글리세롤, 포스파타이드산, 포스파티딜세린 또는 스핑고미엘린을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이러한 인지질은 특히 디아실포스파티딜콜린, 예컨대 디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC), 디올레오일포스파티딜콜린 (DOPC), 디미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), 디펜타데카노일포스파티딜콜린, 디라우로일포스파티딜콜린, 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC), 디아라키도일포스파티딜콜린 (DAPC), 디베헤노일포스파티딜콜린 (DBPC), 디트리코사노일포스파티딜콜린 (DTPC), 디리그노세로일파티딜콜린 (DLPC), 팔미토일올레오일-포스파티딜콜린 (POPC), 1,2-디-O-옥타데세닐-sn-글리세로-3-포스포콜린 (18:0 디에테르 PC), 1-올레오일-2-콜레스테릴헤미숙시노일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (OChemsPC), 1-헥사데실-sn-글리세로-3-포스포콜린 (C16 Lyso PC) 및 포스파티딜에탄올아민, 특히 디아실포스파티딜에탄올아민, 예컨대 디올레오일포스파티딜에탄올아민 (DOPE), 디스테아로일-포스파티딜에탄올아민 (DSPE), 디팔미토일-포스파티딜에탄올아민 (DPPE), 디미리스토일-포스파티딜에탄올아민 (DMPE), 디라우로일-포스파티딜에탄올아민 (DLPE), 디피타노일-포스파티딜에탄올아민 (DPyPE), 및 여러 가지 소수성 사슬을 가지는 추가적인 포스파티딜에탄올아민을 포함한다.

[0869] 바람직한 특정 구체예에서, 추가적인 지질은 DSPC 또는 DSPC 및 콜레스테롤이다. 특정 구체예에서, 핵산 입자는 양이온성 지질 및 추가적인 지질 양자 모두를 포함한다.

[0870] 일 구체예에서, 본원에 기재되는 입자는 페길화 지질과 같은 폴리머 접합된 지질을 포함한다. 용어 "페길화 지질"은 지질 부분 및 폴리에틸렌 글리콜 부분 양자 모두를 포함하는 분자를 지칭한다. 페길화된 지질은 당업계에 공지되어 있다.

[0871] 이론에 얽매이고자 하는 것은 아니지만, 하나 이상의 추가적인 지질의 양과 비교할 때, 하나 이상의 양이온성 지질의 양은 핵산의 전하, 입자 크기, 안정성, 조직 선택성 및 생체활성과 같은 중요한 핵산 입자 특성에 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 하나 이상의 추가적인 지질에 대한 하나 이상의 양이온성 지질의 몰비는 약 10:0 내지 약 1:9, 약 4:1 내지 약 1:2, 또는 약 3:1 내지 약 1:1이다.

[0872] 일부 구체예에서, 비-양이온성 지질, 특히 중성 지질 (예를 들어, 하나 이상의 인지질 및/또는 콜레스테롤)은 입자에 존재하는 총 지질의 약 0 몰% 내지 약 90 몰%, 약 0 몰% 내지 약 80 몰%, 약 0 몰% 내지 약 70 몰%, 약 0 몰% 내지 약 60 몰%, 또는 약 0 몰% 내지 약 50 몰%를 포함할 수 있다.

[0873] **리포플렉스 입자**

[0874] 본 발명의 특정 구체예에서, 본원에 기재된 RNA는 RNA 리포플렉스 입자에 존재할 수 있다.

[0875] 본 발명의 맥락에서, 용어 "RNA 리포플렉스 입자"는 지질, 특히 양이온성 지질, 및 RNA를 함유하는 입자에 관한 것이다. 양전하를 띤 리포솜과 음전하를 띤 RNA 사이의 정전기적 상호작용은 RNA 리포플렉스 입자의 복합화 및 자발적인 형성을 초래한다. 양으로 하전된 리포솜은 일반적으로 DOTMA와 같은 양이온성 지질 및 DOPE와 같은 추가 지질을 사용하여 합성될 수 있다. 일 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 나노입자이다.

[0876] 특정 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 양이온성 지질 및 추가 지질 양자 모두를 포함한다. 예시적인 구체예에서, 양이온성 지질은 DOTMA이고 추가 지질은 DOPE이다.

[0877] 일부 구체예에서, 하나 이상의 양이온성 지질 대 하나 이상의 추가 지질의 몰비는 약 10:0 내지 약 1:9, 약 4:1 내지 약 1:2, 또는 약 3:1 내지 약 1:1이다. 특정 구체예에서, 몰비는 약 3:1, 약 2.75:1, 약 2.5:1, 약 2.25:1, 약 2:1, 약 1.75:1, 약 1.5:1, 약 1.25:1, 또는 약 1:1이다. 예시적인 구체예에서, 하나 이상의 추가 지질에 대한 하나 이상의 양이온성 지질의 몰 비는 약 2:1이다.

[0878] 본원에 기재되는 RNA 리포플렉스 입자는 일 구체예에서 약 200 nm 내지 약 1000 nm, 약 200 nm 내지 약 800 nm, 약 250 내지 약 700 nm, 약 400 내지 약 600 nm, 약 300 nm 내지 약 500 nm, 또는 약 350 nm 내지 약 400 nm 범위인 평균 직경을 갖는다. 특정 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 약 200 nm, 약 225 nm, 약 250 nm, 약 275 nm, 약 300 nm, 약 325 nm, 약 350 nm, 약 375 nm, 약 400 nm, 약 425 nm, 약 450 nm, 약 475 nm, 약 500 nm, 약 525 nm, 약 550 nm, 약 575 nm, 약 600 nm, 약 625 nm, 약 650 nm, 약 700 nm, 약 725 nm, 약 750 nm 약 775 nm, 약 800 nm, 약 825 nm, 약 850 nm, 약 875 nm, 약 900 nm, 약 925 nm, 약 950 nm, 약 975 nm, 또는 약 1000 nm의 평균 직경을 갖는다. 한 가지 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 약 250 nm 내지 약 700 nm 범위의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 약 300 nm 내지 약 500 nm 범위의 평균 직경을 갖는다. 예시적인 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자는 약 400 nm의 평균 직경을 갖는다.

[0879] RNA 리포플렉스 입자 및 본원에 기재되는 RNA 리포플렉스 입자를 포함하는 조성물은 비경구 투여 후, 특히 정맥내 투여 후 표적 조직으로 RNA의 전달에 유용하다. RNA 리포플렉스 입자는 에탄올 중의 지질 용액을 물 또는 적합한 수상에 주사함으로써 수득될 수 있는 리포솜을 사용하여 제조될 수 있다. 일 구체예에서, 수성 상은 산성 pH를 갖는다. 일 구체예에서, 수성 상은 예를 들어 약 5 mM의 양으로 아세트산을 포함한다. 리포솜은 RNA와 리포솜을 혼합하여 RNA 리포플렉스 입자를 제조하는 데 사용할 수 있다. 일 구체예에서, 리포솜 및 RNA 리포플렉스 입자는 하나 이상의 양이온성 지질 및 하나 이상의 추가 지질을 포함한다. 일 구체예에서, 하나 이상의 양이온성 지질은 1,2-디-O-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA) 및/또는 1,2-디올레오일-3-트리메틸암모늄-프로판 (DOTAP)을 포함한다. 일 구체예에서, 하나 이상의 추가 지질은 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE), 콜레스테롤 (Chol) 및/또는 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DOPC)을 포함한다. 부 구체예에서, 하나 이상의 양이온성 지질은 1,2-디-O-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA)을 포함하고, 하나 이상의 추가 지질은 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE)를 포함한다. 일 구체예에서, 리포솜 및 RNA 리포플렉스 입자는 1,2-디-O-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판 (DOTMA) 및 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE)을 포함한다.

[0880] 비장 표적화 RNA 리포플렉스 입자는 WO 2013/143683 (본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있다. 순 음전하를 갖는 RNA 리포플렉스 입자는 항원 제시 세포, 특히 수지상 세포와 같은 비장 세포 또는 비장 조직을 우선적으로 표적화하기 위해 사용될 수 있음이 밝혀졌다. 따라서, RNA 리포플렉스 입자의 투여 후, 비장에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 발생한다. 따라서, 본 발명의 RNA 리포플렉스 입자는 비장에서 RNA를 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 한 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자의 투여 후, 폐 및/또는 간에서 어떠한 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 발생하지 않거나 또는 본질적으로 발생하지 않는다. 부 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자의 투여 후, 비장의 전문적 항원 제시 세포와 같은 항원 제시 세포에서의 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 발생한다. 따라서, 본 발명의 RNA 리포플렉스 입자는 이러한 항원 제시 세포에서 RNA를 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 일 구체예에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포 및/또는 대식세포이다.

[0881] 지질 나노 입자(LNP)

[0882] 일 구체예에서, 본원에 기재되는 RNA와 같은 핵산은 지질 나노입자 (LNP)의 형태로 투여된다. LNP는, 그에 하나 이상의 핵산 분자가 부착되거나 그 안에 하나 이상의 핵산 분자가 캡슐화되는, 입자를 형성할 수 있는 임의의 지질을 포함할 수 있다.

[0883] 일 구체예에서, LNP는 하나 이상의 양이온성 지질, 및 하나 이상의 안정화 지질을 포함한다. 안정화 지질에는 중성 지질 및 페길화 지질이 포함된다.

[0884] 일 구체예에서, LNP는 양이온성 지질, 중성 지질, 스테로이드, 폴리머 접합된 지질; 및 지질 나노입자 내에 캡슐화되거나 그와 결합된 RNA를 포함한다.

[0885] 일 구체예에서, LNP는 40 내지 55 몰%, 40 내지 50 몰%, 41 내지 49 몰%, 41 내지 48 몰%, 42 내지 48 몰%, 43 내지 48 몰%, 44 내지 48 몰%, 45 내지 48 몰%, 46 내지 48 몰%, 47 내지 48 몰%, 또는 47.2 내지 47.8 몰%의 양이온성 지질을 포함한다. 일부 구체예에서, LNP는 약 47.0, 47.1, 47.2, 47.3, 47.4, 47.5, 47.6, 47.7, 47.8, 47.9 또는 48.0 몰%의 양이온성 지질을 포함한다.

[0886] 일 구체예에서, 중성 지질은 5 내지 15 몰%, 7 내지 13 몰%, 또는 9 내지 11 몰% 범위의 농도로 존재한다. 일 구체예에서, 중성 지질은 약 9.5, 10 또는 10.5 몰%의 농도로 존재한다.

[0887] 일 구체예에서, 스테로이드는 30 내지 50 몰%, 35 내지 45 몰% 또는 38 내지 43 몰% 범위의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 스테로이드는 약 40, 41, 42, 43, 44, 45 또는 46 몰%의 농도로 존재한다.

[0888] 일 구체예에서, LNP는 1 내지 10 몰%, 1 내지 5 몰%, 또는 1 내지 2.5 몰%의 폴리머 접합된 지질을 포함한다.

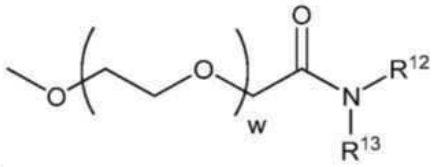
[0889] 일 구체예에서, LNP는, 40 내지 50 몰%의 양이온성 지질; 5 내지 15 몰%의 중성 지질; 35 내지 45 몰%의 스테로이드; 1 내지 10 몰%의 폴리머 접합된 지질; 및 지질 나노입자 내에 캡슐화되거나 그와 결합된 RNA를 포함한다.

[0890] 일부 구체예에서, 몰%는 지질 나노입자에 존재하는 지질의 총 몰에 기초하여 결정된다.

[0891] 일 구체예에서, 중성 지질은 DSPC, DPPC, DMPC, DOPC, POPC, DOPE, DOPG, DPPG, POPE, DPPE, DMPE, DSPE, 및 SM으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일 구체예에서, 중성 지질은 DSPC, DPPC, DMPC, DOPC, POPC, DOPE 및 SM으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일 구체예에서, 중성 지질은 DSPC이다.

[0892] 일 구체예에서, 스테로이드는 콜레스테롤이다.

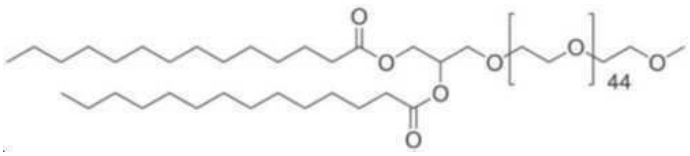
[0893] 일 구체예에서, 폴리머 접합된 지질은 페길화된 지질이다. 일 구체예에서, 페길화된 지질은 하기 구조를 갖거나, 그의 약학적으로 허용되는 염, 호변 이성질체 또는 입체 이성질체로:

[0894] 

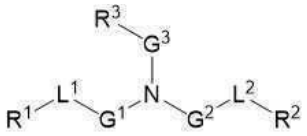
[0895] 여기서,

[0896] R^{12} 및 R^{13}은 각각 독립적으로 10 내지 30개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지쇄, 포화 또는 불포화 알킬쇄이며, 여기서 알킬쇄는 임의로 하나 이상의 에스터 결합에 의해 단절되고; w는 30 내지 60 범위의 평균값을 갖는다. 일 구체예에서, R^{12} 및 R^{13}은 각각 독립적으로 12 내지 16개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄, 포화 알킬쇄이다. 일 구체예에서, w는 40 내지 55 범위의 평균 값을 갖는다. 일 구체예에서, 평균 w는 약 45이다. 일 구체예에서, R^{12} 및 R^{13}은 각각 독립적으로 약 14개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄, 포화 알킬 사슬이고, w는 약 45의 평균값을 갖는다.

[0897] 일 구체예에서, 페길화된 지질은 예를 들어 하기 구조를 갖는 DMG-PEG 2000이다:

[0898] 

[0899] 일부 구체예에서, LNP의 양이온성 지질 성분은 화학식 (III)의 구조를 갖거나, 그의 약학적으로 허용되는 염, 호변 이성질체, 전구약물 또는 입체 이성질체로:



[0900] (III)

[0901] 여기서,

[0902] L^1 또는 L^2 중 하나는 -O(C=O)-, -(C=O)O-, -C(=O)-, -O-, -S(O)x-, -S-S-, -C(=O)S-, SC(=O)-, -NRaC(=O)-, -C(=O)NRa-, NRaC(=O)NRa-, -OC(=O)NRa- 또는 -NRaC(=O)O- 이고, L^1 또는 L^2 중 다른 것은 -O(C=O)-, -(C=O)O-, -C(=O)-, -O-, -S(O)x-, -S-S-, -C(=O)S-, SC(=O)-, -NRaC(=O)-, -C(=O)NRa-, NRaC(=O)NRa-, -OC(=O)NRa- 또는 -NRaC(=O)O- 또는 직접 결합이고;

[0903] G^1 및 G^2는 각각 독립적으로 비치환된 C1-C12 알킬렌 또는 C1-C12 알케닐렌이고;

[0904] G^3는 C1-C24 알킬렌, C1-C24 알케닐렌, C3-C8 사이클로알킬렌, C3-C8 사이클로알케닐렌이고;

[0905] Ra는 H 또는 C1-C12알킬이고;

[0906] R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 C6-C24 알킬 또는 C6-C24 알케닐이고;

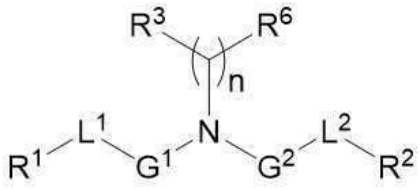
[0907] R^3는 H, OR^5, CN, $-C(=O)OR^4$, $-OC(=O)R^4$ 또는 $-NR^5C(=O)R^4$이고;

[0908] R^4는 C1-C12알킬이고;

[0909] R^5는 H 또는 C1-C6알킬이고; 및

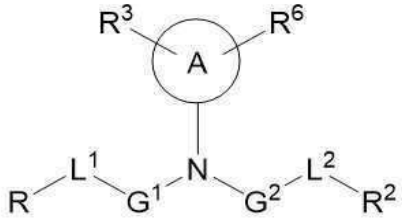
[0910] x는 0, 1 또는 2이다.

[0911] 화학식 (III)의 상기 구체예 중 일부에서, 지질은 하기 구조 (IIIA) 또는 (IIIB) 중 하나를 갖고:



(IIIA)

[0912] 또는



(IIIB)

[0913] 여기서,

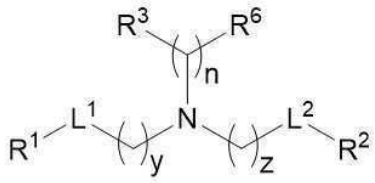
[0914] A는 3 내지 8-원 사이클로알킬 또는 사이클로알킬렌 고리이고;

[0915] R^6는 각 경우에 독립적으로 H, OH 또는 C1-C24알킬이고;

[0916] n은 1에서 15 범위의 정수이다.

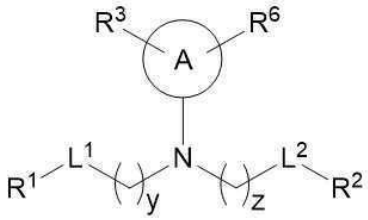
[0917] 화학식 (III)의 전술한 구체예 중 일부에서, 지질은 구조 (IIIA)를 갖고, 다른 구체예에서 지질은 구조 (IIIB)를 갖는다.

[0918] 화학식 (III)의 다른 구체예에서, 지질은 하기 구조 (IIIC) 또는 (IIID) 중 하나를 갖고:



(IIIC)

또는



(IIID)

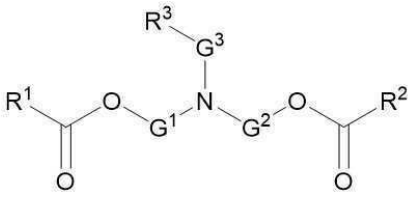
[0919]

[0920] 여기서,

[0921] y 및 z는 각각 독립적으로 1 내지 12 범위의 정수이다.

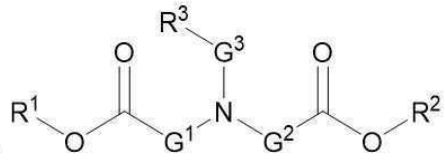
[0922] 화학식 (III)의 상기 구체예 중 임의의 것에서, L^1 또는 L^2 중 하나는 -O(C=O)-이다. 예를 들어, 일부 구체예에서 L^1 및 L^2 각각은 -O(C=O)-이다. 전술한 것들 중 어느 하나의 일부 상이한 구체예에서, L^1 및 L^2는 각각 독립적으로 -(C=O)O- 또는 -O(C=O)-이다. 예를 들어, 일부 구체예에서 각각의 L^1 및 L^2는 -(C=O)O-이다.

[0923] 화학식 (III)의 일부 상이한 구체예에서, 지질은 하기 구조 (IIIE) 또는 (IIIF) 중 하나를 갖는다:



(IIIE)

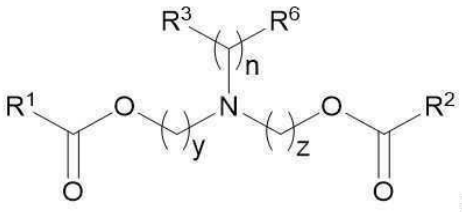
또는



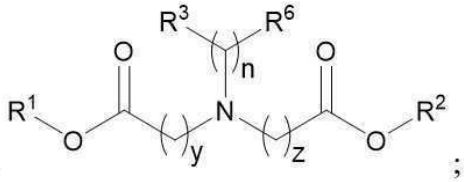
(IIIF)

[0924]

[0925] 화학식 (III)의 상기 구체예 중 일부에서, 지질은 하기 구조 (IIIG), (IIIH), (IIII), 또는 (IIIJ) 중 하나를 갖는다:

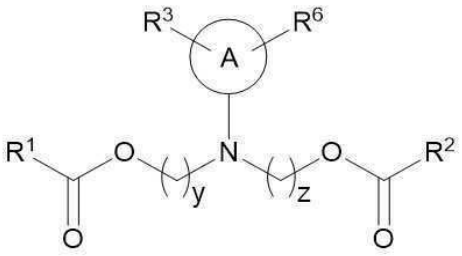


;

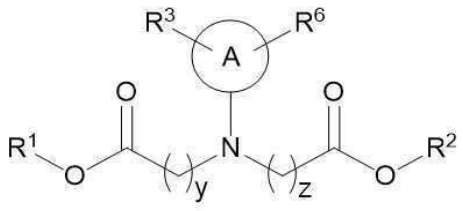


;

(IIIG) (IIIH)



또는



(IIII) (IIIJ)

[0926]

[0927] 화학식 (III)의 상기 구체예 중 일부에서, n은 2 내지 12, 예를 들어 2 내지 8 또는 2 내지 4 범위의 정수이다. 예를 들어, 일부 구체예에서, n은 3, 4, 5 또는 6이다. 일부 실시상태에서, n은 3이다. 일부 실시상태에서, n은 4이다. 일부 실시상태에서, n은 5이다. 일부 실시상태에서, n은 6이다.

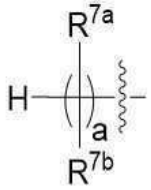
[0928] 화학식 (III)의 상기 구체예 중 일부 다른 것에 있어서, y 및 z는 각각 독립적으로 2 내지 10 범위의 정수이다. 예를 들어, 일부 구체예에서, y 및 z는 각각 독립적으로 4 내지 9 또는 4 내지 6 범위의 정수이다.

[0929] 화학식 (III)의 전술한 구체예 중 일부에서, R^6는 H이다. 전술한 구체예 중 다른 것에서, R^6는 C1-C24알킬이다. 다른 구체예에서, R^6는 OH이다.

[0930] 화학식 (III)의 일부 구체예에서, G^3는 비치환된다. 다른 구체예에서, G^3는 치환된다. 다양한 여러 구체예에서, G^3는 선형 C1-C24알킬렌 또는 선형 C1-C24알케닐렌이다.

[0931] 화학식 (III)의 일부 다른 상기 구체예에서, R^1 또는 R^2, 또는 양자 모두는 C6-C24 알케닐이다.

[0932] 예를 들어, 일부 구체예에서, R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 하기 구조를 갖고:



[0933] ,

[0934] 여기서:

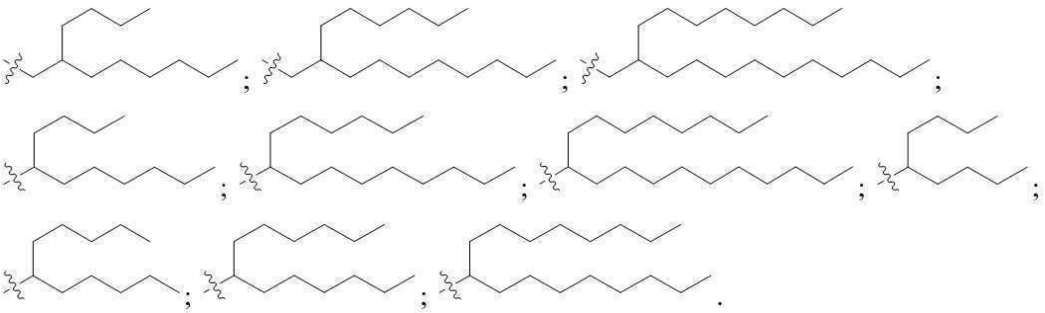
[0935] R^{7a} 및 R^{7b}는 각각의 경우에 독립적으로 H 또는 C1-C12 알킬이고; 및

[0936] a는 2 내지 12의 정수이고,

[0937] 여기서 R^{7a}, R^{7b} 및 a는 R^1 및 R^2가 각각 독립적으로 6 내지 20개의 탄소 원자를 포함하도록 각각 선택된다. 예를 들어, 일부 구체예에서 a는 5 내지 9 또는 8 내지 12 범위의 정수이다.

[0938] 화학식 (III)의 상기 구체예 중 일부에서, 적어도 하나의 R^{7a}은 H이다. 예를 들어, 일부 구체예에서, R^{7a}는 각각의 경우에 H이다. 전술한 것의 다른 상이한 구체예에서, 적어도 하나의 R^{7b}는 C1-C8 알킬이다. 예를 들어, 일부 구체예에서, C1-C8 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, n-헥실 또는 n-옥틸이다.

[0939] 화학식 (III)의 상이한 구체예에서, R^1 또는 R^2, 또는 양자 모두는 하기 구조 중 하나를 갖는다:

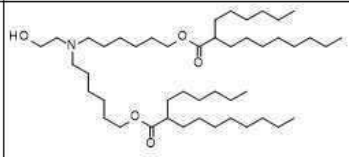
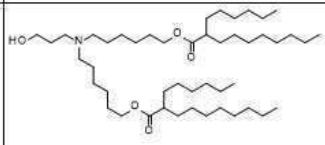
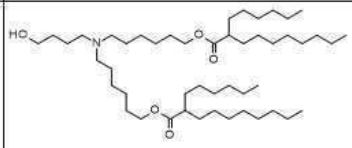
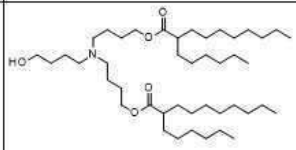
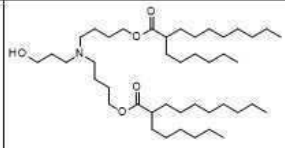
[0940] 

[0941] 화학식 (III)의 상기 구체예 중 일부에서, R^3는 OH, CN, $-C(=O)OR^4$, $-OC(=O)R^4$ 또는 $-NHC(=O)R^4$이다. 일부 구체예에서, R^4는 메틸 또는 에틸이다.

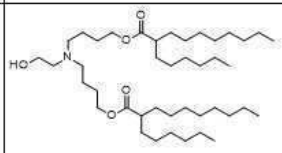
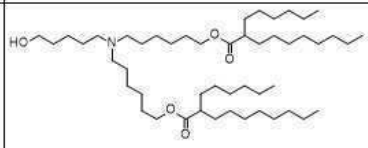
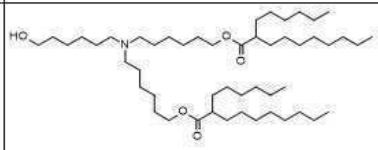
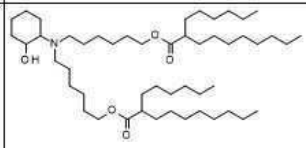
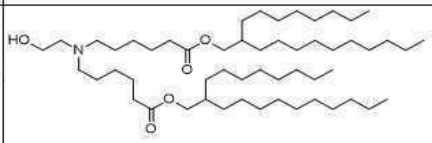
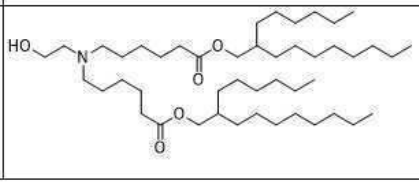
[0942] 다양한 상이한 구체예에서, 화학식 (III)의 양이온성 지질은 하기 표에 제시된 구조 중 하나를 갖는다.

[0943] 화학식 (III)의 대표적인 화합물.

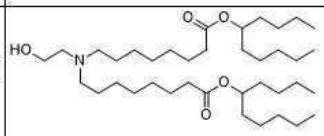
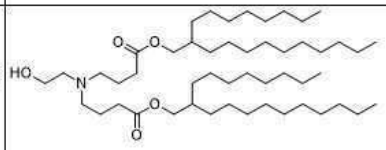
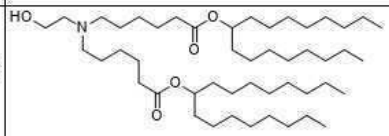
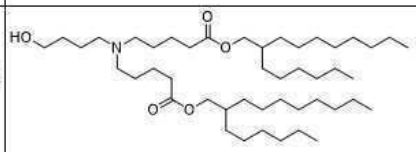
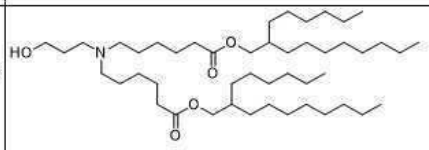
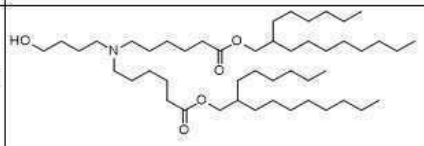
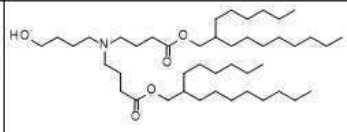
[0944]

No.	구조
III-1	
III-2	
III-3	
III-4	
III-5	

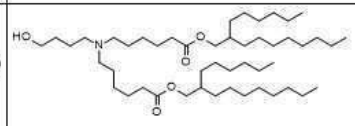
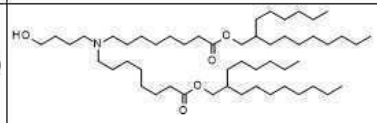
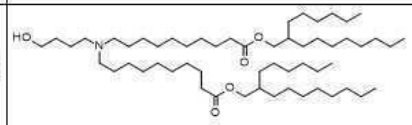
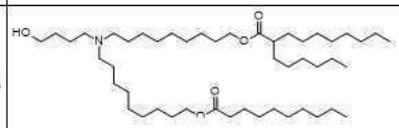
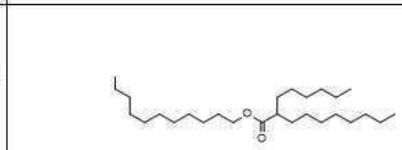
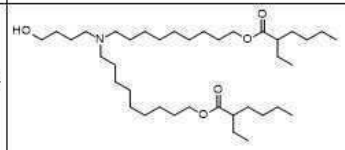
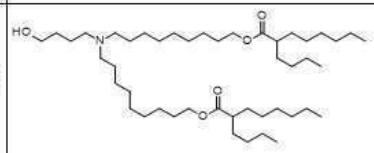
[0945]

No.	구조
III-6	
III-7	
III-8	
III-9	
III-10	
III-11	

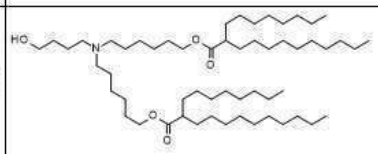
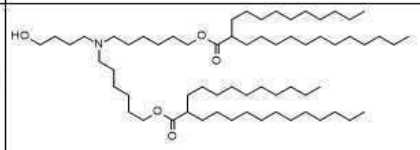
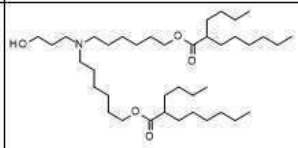
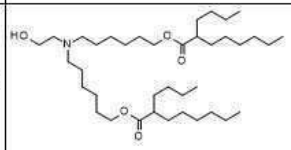
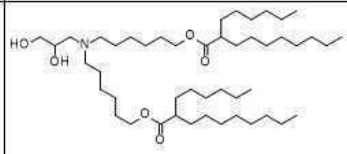
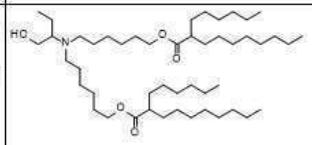
[0946]

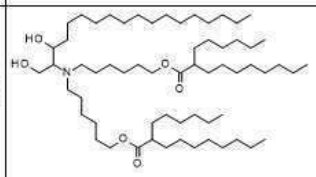
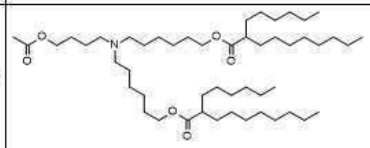
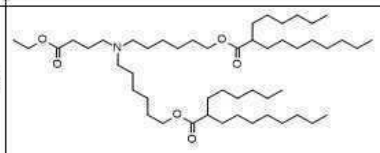
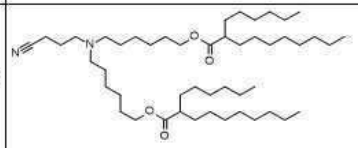
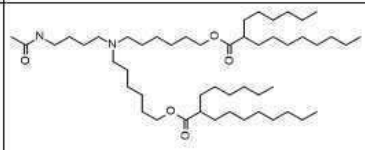
No.	구조
III-12	
III-13	
III-14	
III-15	
III-16	
III-17	
III-18	

[0947]

No.	구조
III-19	
III-20	
III-21	
III-22	
III-23	
III-24	
III-25	

[0948]

No.	구조
III-26	
III-27	
III-28	
III-29	
III-30	
III-31	

No.	구조
III-32	
III-33	
III-34	
III-35	
III-36	

[0949]

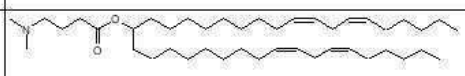
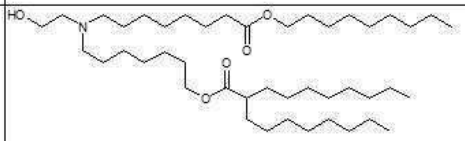
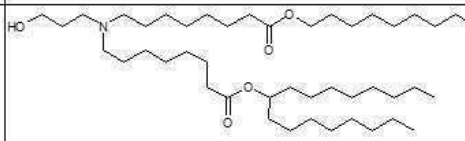
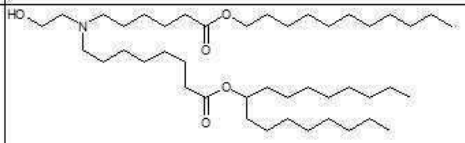
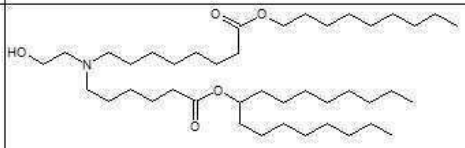
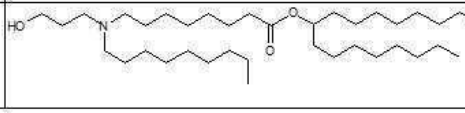
[0950] 일부 구체예에서, LNP는 화학식 (III)의 지질, RNA, 중성 지질, 스테로이드 및 페길화된 지질을 포함한다. 일부 구체예에서, 화학식 (III)의 지질은 화합물 III-3이다. 일부 구체예에서, 중성 지질은 DSPC이다. 일부 구체예에서, 스테로이드는 콜레스테롤이다. 일부 구체예에서, 페길화된 지질은 ALC-0159이다.

[0951] 일부 구체예에서, 양이온성 지질은 약 40 내지 약 50 몰%의 양으로 LNP에 존재한다. 일 구체예에서, 중성 지질은 약 5 내지 약 15 몰%의 양으로 LNP에 존재한다. 일 구체예에서, 스테로이드는 약 35 내지 약 45 몰%의 양으로 LNP에 존재한다. 일 구체예에서, 페길화된 지질은 약 1 내지 약 10 몰%의 양으로 LNP에 존재한다.

[0952] 일부 구체예에서, LNP는, 화합물 III-3을 약 40 내지 약 50 몰%의 양으로, DSPC를 약 5 내지 약 15 몰%의 양으로, 콜레스테롤을 약 35 내지 약 45 몰%의 양으로, 및 ALC-0159를 약 1 내지 약 10 몰%의 양으로 포함한다. 일부 구체예에서, LNP는, 화합물 III-3을 약 47.5 몰%의 양으로, DSPC를 약 10 몰%의 양으로, 콜레스테롤을 약 40.7 몰%의 양으로, ALC-0159를 약 1.8 몰%의 양으로 포함한다.

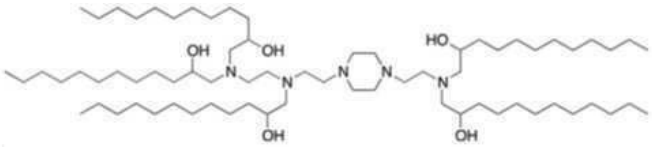
[0953] 다양한 상이한 구체예에서, 양이온성 지질은 하기 표에 제시된 구조 중 하나를 갖는다.

[0954]

No.	구조
A	
B	
C	
D	
E	
F	

[0955] 일부 구체예에서, LNP는 상기 표에 나타낸 양이온성 지질, 예를 들어 화학식 (B) 또는 화학식 (D)의 양이온성 지질, 특히 화학식 (D)의 양이온성 지질, RNA, 중성 지질, 스테로이드 및 페길화된 지질을 포함한다. 일부 구체예에서, 중성 지질은 DSPC이다. 일부 구체예에서, 스테로이드는 콜레스테롤이다. 일부 구체예에서, 페길화된 지질은 DMG-PEG 2000이다.

[0956] 일 구체예에서, LNP는 이온화 가능한 지질-유사 물질 (리피도이드)인 양이온성 지질을 포함한다. 일 구체예에서, 양이온성 지질은 하기 구조를 갖는다:

[0957] 

[0958] N/P 값은 바람직하게는 적어도 약 4이다. 일부 구체예에서, N/P 값은 4 내지 20, 4 내지 12, 4 내지 10, 4 내지 8, 또는 5 내지 7의 범위이다. 일 구체예에서, N/P 값은 약 6이다.

[0959] 본원에 기재되는 LNP는 일 구체예에서 약 30 nm 내지 약 200 nm, 또는 약 60 nm 내지 약 120 nm 범위의 평균 직경을 가질 수 있다.

[0960] **RNA 표적화**

[0961] 본 개시내용의 일부 측면은 본원에 개시된 RNA(예를 들어, 백신 항원 및/또는 면역자극제를 코딩하는 RNA)의 표적화된 전달을 포함한다.

[0962] 일 구체예에서, 본 개시내용은 폐를 표적화하는 것을 수반한다. 투여된 RNA가 백신 항원을 코딩하는 RNA인 경우 폐를 표적으로 삼는 것이 특히 바람직하다. RNA는 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 입자, 예를 들어 지질 입자로 제형화될 수 있는 RNA를 흡입에 의해 투여함으로써 폐로 전달될 수 있다.

[0963] 일 구체예에서, 본 개시내용은 림프계, 특히 이차 림프 장기, 보다 구체적으로 비장을 표적화하는 것을 포함한다. 림프계, 특히 2차 림프 장기, 보다 구체적으로 비장을 표적화하는 것은 투여된 RNA가 백신 항원을 코딩하는

RNA인 경우 특히 바람직하다.

[0964] 일 구체예에서, 표적 세포는 비장 세포이다. 일 구체예에서, 표적 세포는 비장에서 전문 항원 제시 세포와 같은 항원 제시 세포이다. 일 구체예에서, 표적 세포는 비장의 수지상 세포이다.

[0965] "림프계"는 순환계의 일부이며 림프를 운반하는 림프관 네트워크를 포함하는 면역계의 중요한 부분이다. 림프계는 림프 장기, 림프관의 전도 네트워크 및 순환 림프로 구성된다. 일차 또는 중추 림프 장기는 미성숙 전구 세포에서 림프구를 생성하다. 흉선과 골수는 일차 림프 기관을 구성하다. 림프절과 비장을 포함하는 이차 또는 말초 림프 장기는 성숙한 나이브 림프구를 유지하고 적응 면역 반응을 시작하다.

[0966] RNA는 소위 리포플렉스 제형에 의해 비장으로 전달될 수 있으며, 여기서 RNA는 양이온성 지질 및 선택적으로 추가 또는 헬퍼 지질을 포함하는 리포좀에 결합되어 주사 가능한 나노입자 제형을 형성한다. 리포솜은 에탄올 중 지질 용액을 물 또는 적합한 수성상에 주입하여 얻을 수 있다. RNA 리포플렉스 입자는 리포솜을 RNA와 혼합하여 제조할 수 있다. 비장 표적화 RNA 리포플렉스 입자는 본원에 참조로 포함된 WO 2013/143683에 기술되어 있다. 순 음전하를 갖는 RNA 리포플렉스 입자는 항원 제시 세포, 특히 수지상 세포와 같은 비장 조직 또는 비장 세포를 우선적으로 표적화하는 데 사용될 수 있음이 밝혀졌다. 따라서, RNA 리포플렉스 입자의 투여 후, 비장에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 일어난다. 따라서, 본 발명의 RNA 리포플렉스 입자는 비장에서 RNA를 발현하기 위해 사용될 수 있다. 일 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자의 투여 후, 폐 및/또는 간에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 전혀 또는 본질적으로 일어나지 않는다. 일 구체예에서, RNA 리포플렉스 입자의 투여 후, 비장에서 전문 항원 제시 세포와 같은 항원 제시 세포에서 RNA 축적 및/또는 RNA 발현이 발생한다. 따라서, 본 발명의 RNA 리포플렉스 입자는 이러한 항원 제시 세포에서 RNA를 발현하기 위해 사용될 수 있다. 일 구체예에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포 및/또는 대식세포이다.

[0967] 본 발명의 RNA 리포플렉스 입자의 전하는 적어도 하나의 양이온성 지질에 존재하는 전하와 RNA에 존재하는 전하의 합이다. 전하 비율은 적어도 하나의 양이온성 지질에 존재하는 양전하 대 RNA에 존재하는 음전하의 비율이다. 적어도 하나의 양이온성 지질에 존재하는 양전하 대 RNA에 존재하는 음전하의 전하 비율은 하기 방정식에 의해 계산된다: 전하 비율 = [(양이온성 지질 농도(mol)) * (양이온성 지질 중 총 양전하 수)] / [(RNA 농도(mol)) * (RNA 중 총 음전하 수)].

[0968] 생리학적 pH에서 본원에 기재된 비장 표적화 RNA 리포플렉스 입자는 바람직하게는 약 1.9:2 내지 약 1:2, 또는 약 1.6:2 내지 약 1:2, 또는 약 1.6:2 내지 약 1.1:2의 양전하 대 음전하의 전하 비율과 같은 순 음전하를 갖는다. 특정 구체예에서, 생리학적 pH의 RNA 리포플렉스 입자에서 양전하 대 음전하의 전하 비율은 약 1.9:2.0, 약 1.8:2.0, 약 1.7:2.0, 약 1.6:2.0, 약 1.5:2.0, 약 1.4:2.0, 약 1.3:2.0, 약 1.2:2.0, 약 1.1:2.0, 또는 약 1:2.0이다.

[0969] 면역자극제는 간 또는 간 조직으로의 RNA의 우선적 전달을 위한 제형으로 면역자극제를 코딩하는 RNA를 대상체에게 투여함으로써 대상체에게 제공될 수 있다. 그러한 표적 장기 또는 조직으로의 RNA의 전달은 특히 다량의 면역자극제를 발현시키는 것이 바람직한 경우 및/또는 특히 상당한 양의 면역자극제의 전신적 존재가 바람직하거나 요구되는 경우에 바람직하다.

[0970] RNA 전달 시스템은 본질적으로 간을 선호하다. 이는 지질-기반 입자, 양이온성 및 중성 나노입자, 특히 리포솜, 나노마이셀 및 생체접합체의 친유성 리간드와 같은 지질 나노입자에 적용된다. 간 축적은 간 맥관 구조 또는 지질 대사(리포솜 및 지질 또는 콜레스테롤 접합체)의 불연속적인 특성에 의해 발생하다.

[0971] 간으로의 RNA의 생체내 전달을 위해, RNA의 분해를 방지함으로써 간으로 RNA를 수송하는 약물 전달 시스템이 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)으로 코팅된 표면과 mRNA를 함유하는 코어로 구성된 폴리플렉스 나노마이셀은 생리학적 조건에서 RNA의 뛰어난 생체내 안정성을 제공하기 때문에 유용한 시스템이다. 또한, 고밀도 PEG 방어벽으로 구성된 폴리플렉스 나노마이셀 표면에 의해 제공되는 스텔스 특성은 숙주 면역 방어를 효과적으로 회피하다.

[0972] 간을 표적화하기 위한 적합한 면역자극제의 예는 T 세포 증식 및/또는 유지에 관여하는 사이토카인이다. 적합한 사이토카인의 예는 IL2 또는 IL7, 이의 단편 및 변이체, 및 이들 사이토카인, 단편 및 변이체, 예를 들어 확장된 PK 사이토카인의 융합 단백질을 포함한다.

[0973] 또 다른 구체예에서, 면역자극제를 인코딩하는 RNA는 림프계, 특히 이차 림프 장기, 보다 구체적으로는 비장으로의 RNA의 우선적 전달을 위한 제형으로 투여될 수 있다. 이러한 표적 조직으로의 면역자극제의 전달은 특히 이러한 장기 또는 조직에서 면역자극제의 존재가 요망되는 경우(예를 들어, 면역 반응을 유도하기 위해, 특히

사이토카인과 같은 면역자극제가 T-세포 프라이밍 동안 요구되는 경우 또는 거류 면역 세포의 활성화를 위해) 바람직한 반면, 면역자극제가 전신적으로, 특히 상당한 양으로 존재하는 것은 바람직하지 않는다(예를 들어, 면역자극제가 전신 독성을 갖기 때문에).

[0974] 적합한 면역자극제의 예는 T 세포 프라이밍에 관여하는 사이토카인이다. 적합한 사이토킨의 예로는 IL12, IL15, IFN-α 또는 IFN-β, 이들의 단편 및 변이체, 및 이들 사이토킨, 단편 및 변이체, 예를 들어 확장된 PK 사이토킨의 융합 단백질을 들 수 있다.

[0975] **면역자극제**

[0976] 일 구체예에서, 백신 항원을 코딩하는 RNA는 비-면역원성일 수 있다. 이 구체예 및 다른 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA는 면역자극제 또는 면역자극제를 인코딩하는 RNA와 공동투여될 수 있다. 본원에 기재된 방법 및 제제는 면역자극제가 약동학 변형 그룹(이하 "연장된 약동학(PK)" 면역자극제라고 함)에 부착되는 경우에 특히 효과적이다. 본원에 기술된 방법 및 제제는 면역자극제가 면역자극제를 코딩하는 RNA 형태로 투여되는 경우에 특히 효과적이다. 일 구체예에서, 상기 RNA는 전신 이용가능성을 위해 간에 표적화된다. 간 세포는 효율적으로 형질감염될 수 있으며 많은 양의 단백질을 생산할 수 있다.

[0977] "면역자극제"는 임의의 면역계 구성요소, 특히 면역 이펙터 세포의 활성을 증가시키거나 활성화를 유도함으로써 면역계를 자극하는 임의의 물질이다. 면역자극제는 염증촉진성(pro-inflammatory)일 수 있다.

[0978] 일 측면에서, 면역자극제는 사이토카인 또는 이의 변이체이다. 사이토카인의 예로는 인터페론-알파(IFN-α) 또는 인터페론-감마(IFN-γ)와 같은 인터페론, IL2, IL7, IL12, IL15 및 IL23과 같은 인터루킨, M-CSF 및 GM-CSF와 같은 집락자극인자 및 종양 괴사 인자를 들 수 있다. 또 다른 측면에 따르면, 면역자극제는 APC Toll-유사 수용체 작용제 또는 공동자극/세포 부착 막 단백질과 같은 아쥬반트형 면역자극제를 포함한다. 톨-유사 수용체 효능제의 예는 CD80, CD86 및 ICAM-1과 같은 동시자극/부착 단백질을 포함한다.

[0979] 사이토카인은 세포 신호 전달에 중요한 작은 단백질(~5-20kDa)의 범주이다. 이들의 방출은 주변 세포의 거동에 영향을 미친다. 사이토카인은 면역 조절제로서 자가분비 신호, 주변분비 신호 및 내분비 신호에 관여하다. 사이토카인에는 케모카인, 인터페론, 인터루킨, 림포카인 및 종양 괴사 인자가 포함되지만 일반적으로 호르몬이나 성장 인자는 포함되지 않는다(용어가 일부 중복되지만). 사이토카인은 대식세포, B 림프구, T 림프구 및 비만 세포와 같은 면역 세포뿐만 아니라 내피 세포, 섬유아세포 및 다양한 간질 세포를 포함하는 광범위한 세포에 의해 생성된다. 주어진 사이토카인은 하나 이상의 세포 유형에 의해 생성될 수 있다. 사이토카인은 수용체를 통해 작용하며 특히 면역 체계에서 중요하다. 사이토카인은 체액성 면역 반응과 세포 기반 면역 반응 사이의 균형을 조절하고 특정 세포 집단의 성숙, 성장 및 반응성을 조절하다. 일부 사이토카인은 복잡한 방식으로 다른 사이토카인의 작용을 강화하거나 억제하다.

[0980] 본 개시내용에 따르면, 사이토카인은 자연발생적인 사이토카인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체일 수 있다. 사이토카인은 인간 사이토카인일 수 있고 임의의 척추동물, 특히 임의의 포유동물로부터 유래될 수 있다. 하나의 특히 바람직한 사이토카인은 인터페론-α이다.

[0981] **인터페론**

[0982] 인터페론(IFN)은 바이러스, 박테리아, 기생충 및 종양 세포와 같은 여러 병원체의 존재에 대한 반응으로 숙주 세포에 의해 만들어지고 방출되는 신호 단백질 그룹이다. 일반적인 시나리오에서 바이러스에 감염된 세포는 인터페론을 방출하여 주변 세포가 항바이러스 방어를 강화하도록 하다.

[0983] 신호를 보내는 수용체의 유형에 따라 인터페론은 일반적으로 I형 인터페론, II형 인터페론 및 III형 인터페론의 세 부류로 나뉜다.

[0984] 모든 I형 인터페론은 IFNAR1 및 IFNAR2 사슬로 구성된 IFN-α/β 수용체(IFNAR)로 알려진 특정 세포 표면 수용체 복합체에 결합하다.

[0985] 인간에 존재하는 I형 인터페론은 IFNα, IFNβ, IFNε, IFNκ 및 IFNω이다. 일반적으로 I형 인터페론은 신체가 침입한 바이러스를 인식할 때 생성된다. 그들은 섬유아세포와 단핵구에 의해 생성된다. 일단 방출되면 I형 인터페론은 표적 세포의 특정 수용체에 결합하여 바이러스가 RNA와 DNA를 생성하고 복제하는 것을 방지하는 단백질을 발현시킨다.

[0986] IFNα 단백질은 주로 형질세포양 수지상 세포(pDC)에 의해 생성된다. 이들은 주로 바이러스 감염에 대한 선천적

면역에 관여하다. 합성을 담당하는 유전자는 IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21이라고 하는 13가지 서브타입이 있다. 이 유전자들은 9번 염색체의 클러스터에서 함께 발견된다.

[0987] IFNβ 단백질은 섬유아세포에 의해 대량으로 생성된다. 그들은 선천적 면역 반응에 주로 관여하는 항바이러스 활동을 가지고 있다.

[0988] IFNβ1과 IFNβ3의 두 가지 유형의 IFNβ가 설명되었다. IFNβ1의 천연 및 재조합 형태는 항바이러스, 항균 및 항암 특성을 가지고 있다.

[0989] II형 인터페론(인간의 IFNɣ)은 면역 인터페론으로도 알려져 있으며 IL12에 의해 활성화된다. 또한, II형 인터페론은 세포독성 T 세포 및 T 헬퍼 세포에 의해 방출된다.

[0990] III형 인터페론은 IL10R2(CRF2-4라고도 함) 및 IFNLR1(CRF2-12라고도 함)로 구성된 수용체 복합체를 통해 신호를 보낸다. I형 및 II형 IFN보다 더 최근에 발견되었지만 최근 정보는 일부 유형의 바이러스 또는 진균 감염에서 III형 IFN의 중요성을 보여준다.

[0991] 일반적으로 I형과 II형 인터페론은 면역 반응을 조절하고 활성화하는 역할을 하다.

[0992] 본 개시내용에 따르면, I형 인터페론은 바람직하게는 IFNα 또는 IFNβ, 보다 바람직하게는 IFNα이다.

[0993] 본 개시내용에 따르면, 인터페론은 자연 발생 인터페론 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체일 수 있다. 인터페론은 인간 인터페론일 수 있고 임의의 척추동물, 특히 임의의 포유동물로부터 유래될 수 있다.

[0994] **인터루킨**

[0995] 인터루킨(IL)은 사이토카인(분비 단백질 및 신호 분자)의 그룹으로, 구별되는 구조적 특징에 따라 4개의 주요 그룹으로 나눌 수 있다. 그러나 그들의 아미노산 서열 유사성은 다소 약하다(일반적으로 15-25% 동일성). 인간 게놈은 50개 이상의 인터루킨 및 관련 단백질을 인코딩하다.

[0996] 본 개시내용에 따르면, 인터루킨은 자연 발생 인터루킨 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체일 수 있다. 인터루킨은 인간 인터루킨일 수 있고 임의의 척추동물, 특히 임의의 포유동물로부터 유래될 수 있다.

[0997] **확장된 PK 그룹**

[0998] 본원에 기재된 면역자극제 폴리펩타이드는 면역자극제 부분 및 이종 폴리펩타이드(즉, 면역자극제가 아닌 폴리펩타이드)를 포함하는 융합 또는 키메라 폴리펩타이드로서 제조될 수 있다. 면역자극제는 순환 반감기를 증가시키는 확장된 PK 그룹에 융합될 수 있다. 확장된 PK 그룹의 비제한적 예는 아래에 설명되어 있다. 사이토카인 또는 이의 변이체와 같은 면역자극제의 순환 반감기를 증가시키는 다른 PK 그룹이 또한 본 개시내용에 적용가능하다는 것을 이해해야 한다. 특정 구체예에서, 확장된-PK 그룹은 혈청 알부민 도메인(예를 들어, 마우스 혈청 알부민, 인간 혈청 알부민)이다.

[0999] 본원에서 사용되는 바와 같이, "PK"라는 용어는 "pharmacokinetic(약동학)"의 약어이고, 예를 들어 대상체에 의한 흡수, 분포, 대사 및 제거를 포함하는 화합물의 특성을 포함한다. 본원에서 사용된 "확장된 PK 그룹"은 생물학적 활성 분자에 융합되거나 함께 투여될 때 생물학적 활성 분자의 순환 반감기를 증가시키는 단백질, 펩타이드 또는 모이어티를 의미한다. 확장된 PK 그룹의 예는 혈청 알부민(예컨대 HSA), 면역글로불린 Fc 또는 Fc 단편 및 이의 변이체, 트랜스페린 및 이의 변이체, 및 인간 혈청 알부민(HSA) 결합제(미국 공개 번호 2005/0287153 및 2007/0003549). 다른 예시적인 확장된 PK 그룹은 문헌[Kontermann, Expert Opin Biol Ther, 2016 Jul;16(7):903-15]에 개시되어 있으며, 이는 그 전문이 본원에 참고로 포함된다. 본원에서 사용되는 "확장된 PK" 면역자극제는 확장된 PK 그룹과 조합된 면역자극제 모이어티를 지칭한다. 일 구체예에서, 확장된 PK 면역자극제는 면역자극제 부분이 확장된 PK 그룹에 연결되거나 융합된 융합 단백질이다.

[1000] 확장된 PK 면역자극제의 혈청 반감기는 면역자극제 단독(즉, 확장된 PK 그룹에 융합되지 않은 면역자극제)에 비해 증가된다. 특정 구체예에서, 확장된 PK 면역자극제의 면역자극제 단독의 혈청 반감기에 비해 적어도 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 200, 400, 600, 800 또는 1000% 더 길다. 특정 구체예에서, 확장된 PK 면역자극제의 혈청 반감기는 면역자극제 단독의 혈청 반감기에 비해 적어도 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5 fold, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 10배, 12배, 13배, 15배, 17배, 20배, 22배, 25배, 27배, 30배, 35배, 40배, 또는 50배 이상 더 크다. 특정 구체예에서, 확장된 PK 면역자극제의 혈청 반감기는 적어도 10 시간, 15 시간, 20 시간, 25 시간, 30 시간, 35 시간, 40 시간, 50 시간, 60 시간, 70 시간, 80 시간, 90 시간, 100 시간, 110

시간, 120 시간, 130 시간, 135 시간, 140 시간, 150 시간, 160 시간, 또는 200 시간이다.

[1001] 본원에 사용된 바와 같이, "반감기"는 자연적인 메카니즘에 의한 분해 및/또는 소거 또는 격리(sequestration)로 인해, 펩타이드 또는 단백질와 같은 화합물의 혈청 또는 혈장 농도가 50% 감소하는데 걸리는 시간을 칭한다. 본원에서 사용하기에 적합한 확장된 PK 면역자극제는 분해 및/또는 제거 또는 격리에 저항하는 예를 들어, 혈청 알부민(예를 들어, HSA 또는 MSA)에 대한 융합에 의해 생체내에서 안정화되고 이의 반감기가 증가된다. 반감기는 약동학적 분석과 같이 그 자체로 알려진 임의의 방식으로 결정될 수 있다. 적합한 기술은 당업자에게 명백할 것이고, 예를 들어 일반적으로 아미노산 서열 또는 화합물의 적합한 투여량을 대상체에게 적절하게 투여하는 단계; 일정한 간격으로 상기 대상체로부터 혈액 샘플 또는 기타 샘플을 수집하는 단계; 상기 혈액 샘플에서 아미노산 서열 또는 화합물의 수준 또는 농도를 결정하는 단계; 및 이렇게 얻은 데이터(의 플롯)로부터 아미노산 서열 또는 화합물의 수준 또는 농도가 투여 시 초기 수준과 비교하여 50% 감소될 때까지의 시간을 계산하는 단계를 포함한다. 추가 세부 사항은 예를 들어 Kenneth, A. et al., Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists 및 Peters et al., Pharmacokinetic Analysis: A Practical Approach (1996)과 같은 표준 핸드북에 제공된다. 또한 Gibaldi, M. et al., Pharmacokinetics, 2nd Rev. Edition, Marcel Dekker(1982)를 참조할 수 있다.

[1002] 특정 구체예에서, 확장된-PK 그룹은 혈청 알부민, 또는 이의 단편 또는 혈청 알부민 또는 이의 단편의 변이체를 포함한다(본 개시내용의 목적을 위해 이들 모두는 용어 "알부민"에 포함됨). 본원에 기재된 폴리펩타이드는 알부민(또는 이의 단편 또는 변이체)에 융합되어 알부민 융합 단백질을 형성할 수 있다. 이러한 알부민 융합 단백질은 미국 공개번호 20070048282에 기술되어 있다.

[1003] 본원에서 사용되는 "알부민 융합 단백질"은 적어도 하나의 알부민 분자(또는 이의 단편 또는 변이체)가 치료용 단백질, 특히 면역자극제와 같은 단백질의 적어도 하나의 분자에 융합되어 형성된 단백질을 의미한다. 알부민 융합 단백질은 치료 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드가 알부민을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 인-프레임으로 연결된 핵산의 번역에 의해 생성될 수 있다. 알부민 융합 단백질의 한 부분인 치료 단백질 및 알부민은 각각 알부민 융합 단백질의 "부분", "영역" 또는 "모이어티"(예를 들어, "치료 단백질 부분" 또는 "알부민 단백질 부분")으로 칭해질 수 있다. 매우 바람직한 일 구체예에서, 알부민 융합 단백질은 적어도 하나의 치료 단백질 분자(치료 단백질의 성숙 형태를 포함하나 이에 제한되지 않음) 및 적어도 하나의 알부민 분자(알부민의 성숙 형태를 포함하나 이에 제한되지 않음)를 포함한다. 일 구체예에서, 알부민 융합 단백질은 투여된 RNA에 대한 표적 기관의 세포와 같은 숙주 세포, 예를 들어, 알부민 융합 단백질에 의해 처리된다. 간세포로 순환계로 분비된다. RNA의 발현을 위해 사용되는 숙주 세포의 분비 경로에서 발생하는 초기 알부민 융합 단백질의 처리는 신호 펩타이드 절단; 이황화 결합의 형성; 적절한 접기; 탄수화물의 첨가 및 처리(예를 들어, N- 및 O-연결 글리코실화); 특정 단백질분해 절단; 및/또는 다량체 단백질로의 조립. 알부민 융합 단백질은 바람직하게는 특히 그의 N-말단에 신호 펩타이드를 갖고 세포에 의해 분비된 후 바람직하게는 특히 신호 펩타이드가 절단된 가공된 형태로 존재하는 가공되지 않은 형태로 RNA에 의해 코딩된다. 가장 바람직일 구체예에서, "알부민 융합 단백질의 가공된 형태"는 N-말단 신호 펩타이드 절단을 겪은 알부민 융합 단백질 제품을 말하며, 본원에서는 "성숙 알부민 융합 단백질"이라고도 하다.

[1004] 바람직일 구체예에서, 치료 단백질을 포함하는 알부민 융합 단백질은 알부민에 융합되지 않은 경우 동일한 치료 단백질의 혈장 안정성에 비해 더 높은 혈장 안정성을 갖는다. 혈장 안정성은 일반적으로 치료 단백질이 생체내 투여되어 혈류로 운반되는 시점과 치료 단백질이 분해되어 혈류에서 제거되어 신장이나 간과 같은 장기로 들어가 궁극적으로 몸에서 치료 단백질이 제거되는 시점 사이의 기간을 칭한다. 혈장 안정성은 혈류에서 치료 단백질의 반감기로 계산된다. 혈류에서 치료 단백질의 반감기는 당업계에 공지된 통상적인 검정에 의해 쉽게 결정될 수 있다.

[1005] 본원에서 사용된 "알부민"은 집합적으로 알부민의 하나 이상의 기능적 활성(예를 들어, 생물학적 활성)을 갖는 알부민 단백질 또는 아미노산 서열, 또는 알부민 단편 또는 변이체를 지칭한다. 특히, "알부민"은 인간 알부민 또는 이의 단편 또는 변이체, 특히 성숙한 형태의 인간 알부민, 또는 다른 척추동물로부터의 알부민 또는 이의 단편, 또는 이들 분자의 변이체를 지칭한다. 알부민은 임의의 척추동물, 특히 임의의 포유동물, 예를 들어 인간, 소, 양 또는 돼지로부터 유래될 수 있다. 비포유류 알부민에는 암탉과 연어가 포함되지만 이에 국한되지는 않는다. 알부민 융합 단백질의 알부민 부분은 치료 단백질 부분과 다른 동물에서 유래할 수 있다.

[1006] 특정 구체예에서, 알부민은 US 5,876,969, WO 2011/124718, WO 2013/075066, 및 WO 2011/0514789에 개시된 바와 같은 인간 혈청 알부민(HSA), 이의 단편 또는 변이체이다.

[1007] 인간 혈청 알부민(HSA) 및 인간 알부민(HA)이라는 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용된다. "알부민 및 "혈청 알부민"이라는 용어는 더 광범위하며 인간 혈청 알부민(및 이의 단편 및 변이체)뿐만 아니라 다른 종의 알부민(및 이의 단편 및 변이체)을 포함하다.

[1008] 본원에 사용된 바와 같이, 치료 단백질의 치료 활성 또는 혈장 안정성을 연장시키기에 충분한 알부민의 단편은 단백질의 치료 활성 또는 혈장 안정성을 안정화시키거나 연장하기에 충분한 길이 또는 구조를 가짐으로 해서 알부민 융합 단백질의 치료 단백질 부분의 혈장 안정성이 비융합 상태의 혈장 안정성에 비해 연장 또는 확장되도록 해주는, 알부민의 단편을 지칭한다.

[1009] 알부민 융합 단백질의 알부민 부분은 전체 길이의 알부민 서열을 포함할 수 있거나 치료 활성 또는 혈장 안정성을 안정화하거나 연장할 수 있는 하나 이상의 이의 단편을 포함할 수 있다. 이러한 단편은 길이가 10개 이상의 아미노산일 수 있거나 알부민 서열로부터 약 15, 20, 25, 30, 50개 이상의 인접 아미노산을 포함할 수 있거나 알부민의 특정 도메인의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다. 예를 들어, 처음 2개의 면역글로불린-유사 도메인에 걸쳐 있는 HSA의 하나 이상의 단편이 사용될 수 있다. 바람직한 구체예에서, HSA 단편은 HSA의 성숙한 형태이다.

[1010] 일반적으로 말해서, 알부민 단편 또는 변이체는 적어도 100개 아미노산 길이, 바람직하게는 적어도 150개 아미노산 길이일 것이다.

[1011] 본 개시내용에 따르면, 알부민은 천연 발생 알부민 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 알부민은 인간 알부민일 수 있으며 모든 척추동물, 특히 모든 포유류에서 유래할 수 있다.

[1012] 좋기로는, 알부민 융합 단백질은 N-말단 부분으로서 알부민을 포함하고, C-말단 부분으로서 치료 단백질을 포함한다. 대안적으로, C-말단 부분으로서 알부민 및 N-말단 부분으로서 치료 단백질을 포함하는 알부민 융합 단백질이 또한 사용될 수 있다. 다른 구체예에서, 알부민 융합 단백질은 알부민의 N-말단 및 C-말단 모두에 융합된 치료 단백질을 갖는다. 바람직한 구체예에서, N- 및 C-말단에 융합된 치료 단백질은 동일한 치료 단백질이다. 또 다른 바람직한 실시예에서, N- 및 C-말단에 융합된 치료 단백질은 상이한 치료 단백질이다. 일 구체예에서, 상이한 치료 단백질은 모두 사이토카인이다.

[1013] 일 구체예에서, 치료 단백질(들)은 (a) 펩타이드 링커(들)를 통해 알부민에 결합된다. 융합된 부분 사이의 링커 펩타이드는 모이어티 사이에 더 큰 물리적 분리를 제공할 수 있고 따라서 예를 들어 동족 수용체에 결합하기 위해 치료 단백질 부분의 접근성을 최대화할 수 있다. 링커 펩타이드는 유연하거나 더 단단하도록 아미노산으로 구성될 수 있다. 링커 서열은 프로테아제에 의해 또는 화학적으로 절단가능할 수 있다.

[1014] 본원에서 사용되는 용어 "Fc 영역"은 2개의 중쇄의 각각의 Fc 도메인(또는 Fc 모이어티)에 의해 형성된 천연 면역글로불린의 부분을 의미한다. 본원에서 사용되는 용어 "Fc 도메인"은 Fc 도메인이 Fv 도메인을 포함하지 않는, 단일 면역글로불린(Ig) 중쇄의 일부 또는 단편을 지칭한다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 파파인 절단 부위 바로 상류의 힌지 영역에서 시작하여 항체의 C-말단에서 끝난다. 따라서, 완전한 Fc 도메인은 적어도 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 힌지(예를 들어, 상부, 중간 및/또는 하부 힌지 영역) 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, CH4 도메인, 또는 변이체, 또는 그의 단편 중 적어도 하나를 포함한다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 완전한 Fc 도메인(즉, 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인)을 포함한다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 CH3 도메인(또는 이의 일부)에 융합된 힌지 도메인(또는 이의 일부)을 포함한다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 CH3 도메인(또는 이의 일부)에 융합된 CH2 도메인(또는 이의 일부)을 포함한다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 CH3 도메인 또는 이의 일부로 구성된다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 힌지 도메인(또는 이의 일부) 및 CH3 도메인(또는 이의 일부)으로 구성된다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 CH2 도메인(또는 이의 일부) 및 CH3 도메인으로 구성된다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 힌지 도메인(또는 이의 일부) 및 CH2 도메인(또는 이의 일부)으로 구성된다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 CH2 도메인의 적어도 일부(예를 들어, CH2 도메인의 전부 또는 일부)가 결여되어 있다. 본원에서 Fc 도메인은 일반적으로 면역글로불린 중쇄의 Fc 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 폴리펩타이드를 의미한다. 여기에는 전체 CH1, 힌지, CH2 및/또는 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드뿐만 아니라 예를 들어 힌지, CH2 및 CH3 도메인만을 포함하는 이러한 펩타이드의 단편이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. Fc 도메인은 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE 또는 IgM 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 종 및/또는 임의의 서브타입의 면역글로불린으로부터 유래될 수 있다. Fc 도메인은 천연 Fc 및 Fc 변이체 분자를 포함하다. 본원에 기재된 바와 같이, 자연 발생 면역글로불린 분자의 천연 Fc 도메인으로부터 아미노산 서열이 달라지도록 임의의 Fc 도메인이 변형될 수 있다는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 감소된 이펙터 기능(예를

들어, FcγR 결합)을 갖는다.

[1015] 본원에 기재된 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 IgG1 분자로부터 유래된 CH2 및/또는 CH3 도메인 및 IgG3 분자로부터 유래된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 다른 예에서, Fc 도메인은 부분적으로는 IgG1 분자로부터, 부분적으로는 IgG3 분자로부터 유래된 키메라 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, Fc 도메인은 부분적으로는 IgG1 분자로부터, 부분적으로는 IgG4 분자로부터 유래된 키메라 힌지를 포함할 수 있다.

[1016] 특정 구체예에서, 확장된-PK 그룹은 Fc 도메인 또는 이의 단편 또는 Fc 도메인 또는 이의 단편의 변이체를 포함한다(본 발명의 목적상 이들 모두는 용어 "Fc 도메인"에 포함됨). Fc 도메인은 항원에 결합하는 가변 영역을 포함하지 않는다. 본 개시내용에 사용하기에 적합한 Fc 도메인은 다수의 상이한 공급원으로부터 얻을 수 있다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 인간 면역글로불린으로부터 유래된다. 특정 구체예에서, Fc 도메인은 인간 IgG1 불변 영역으로부터 유래한다. 그러나 Fc 도메인은 예를 들어 설치류(예컨대 마우스, 래트, 토끼, 기니아 피그) 또는 비인간 영장류(예컨대 침팬지, 마카크)를 포함하는 다른 포유류 종의 면역글로불린에서 유래할 수 있음이 이해된다.

[1017] 더욱이, Fc 도메인(또는 이의 단편 또는 변이체)은 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE를 포함하는 임의의 면역글로불린 부류 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하는 임의의 면역글로불린 이소형으로부터 유도될 수 있다.

[1018] 다양한 Fc 도메인 유전자 서열(예컨대 마우스 및 인간 불변 영역 유전자 서열)은 공개적으로 접근 가능한 기탁물 형태로 입수가능하다. Fc 도메인 서열을 포함하는 불변 영역 도메인은 특정 이펙터 기능이 결여되고/되거나 면역원성을 감소시키기 위한 특정 변형으로 선택될 수 있다. 항체 및 항체-인코딩 유전자의 많은 서열이 공개되었고 적합한 Fc 도메인 서열(예를 들어, 힌지, CH2 및/또는 CH3 서열, 또는 이의 단편 또는 변이체)은 당 분야에서 인정된 기술을 사용하여 이들 서열로부터 유도될 수 있다.

[1019] 특정 구체예에서, 확장된 PK 그룹은 본원에 그 전문이 참조 통합된 US2005/0287153, US2007/0003549, US2007/0178082, US2007/0269422, US2010/0113339, WO2009/083804, 및 WO2009/133208에 기재된 것과 같은 혈청 알부민 결합 단백질이. 특정 구체예에서, 확장된 PK 그룹은 본원에 그 전문이 참조 통합된 US 7,176,278 및 US 8,158,579에 개시된 바와 같이 트랜스페린이다. 특정 구체예에서, 확장된-PK 그룹은 본원에 그 전문이 참조 통합된 US2007/0178082, US2014/0220017, 및 US2017/0145062에 개시된 것과 같은 혈청 면역글로불린 결합 단백질이다. 특정 구체예에서 확장된-PK 그룹은 본원에 그 전문이 참조 통합된 US2012/0094909에 개시된 것과 같이 혈청 알부민에 결합하는 피브로넥틴(Fn) 기반 스캐폴드 도메인 단백질이다. 피브로넥틴 기반 스캐폴드 도메인 단백질을 만드는 방법은 US2012/0094909에도 개시되어 있다. Fn3에 기반하는 확장된 PK 그룹의 비제한적 예로는 Fn3(HSA), 즉 인간 혈청 알부민에 결합하는 Fn3 단백질을 들 수있다.

[1020] 특정 측면에서, 본 개시내용에 따라 사용하기에 적합한 확장된 PK 면역자극제는 하나 이상의 펩타이드 링커를 사용할 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "펩타이드 링커"는 폴리펩타이드 사슬의 선형 아미노산 서열에서 2개 이상의 도메인(예를 들어, 연장된 PK 부분 및 면역자극제 부분)을 연결하는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 서열을 의미한다. 예를 들어, 펩타이드 링커는 면역자극제 부분을 HSA 도메인에 연결하는 데 사용될 수 있다.

[1021] 확장된 PK 그룹을 예를 들어 면역자극제에 융합시키는데 적합한 링커는 당업계에 잘 알려져 있다. 예시적인 링커는 글리신-세린-폴리펩타이드 링커, 글리신-프롤린-폴리펩타이드 링커 및 프롤린-알라닌 폴리펩타이드 링커를 포함한다. 특정 구체예에서, 링커는 글리신-세린-폴리펩타이드 링커, 즉 글리신 및 세린 잔기로 구성된 펩타이드이다.

[1022] 상기 기재된 이종(heterologous) 폴리펩타이드에 추가하여 또는 대신에, 본원에 기재된 면역자극제 폴리펩타이드는 "마커" 또는 "리포터"를 코딩하는 서열을 함유할 수 있다. 마커 또는 리포터 유전자의 예로는 β-락타마제, 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제(CAT), 아데노신 데아미나제(ADA), 아미노글리코사이드 포스포트랜스퍼라제, 디히드로폴레이트 리덕타제(DHFR), 하이그로마이신-B-포스포트랜스퍼라제(HPH), 티미딘 키나제(TK), β-갈락토시다제 및 잔틴 구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(XGPRT)를 들 수 있다.

[1023] 약학적 조성물

[1024] 본원에 기술된 제제는 약제학적 조성물 또는 약제로 투여될 수 있고 임의의 적합한 약학적 조성물의 형태로 투여될 수 있다.

[1025] 일 구체예에서, 본원에 기재된 약학적 조성물은 대상체에서 코로나바이러스에 대한 면역 반응을 유도하기 위한

면역원성 조성물이다. 예를 들어, 일 구체예에서, 면역원성 조성물은 백신이다.

[1026] 본 발명의 모든 측면의 일 구체예에서, 백신 항원을 인코딩하는 RNA와 같은 본원에 기재된 성분은 제약상 허용되는 담체를 포함할 수 있고 임의로 하나 이상의 아쥬반트, 안정화제 등을 포함할 수 있는 제약 조성물로 투여될 수 있다. 일 구체예에서, 약학적 조성물은 예컨대 코로나바이러스 감염을 치료하거나 예방하는데 사용하기 위한 치료 또는 예방 치료를 위한 것이다.

[1027] 용어 "약학적 조성물"은 바람직하게는 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제 및/또는 부형제와 함께 치료 유효 제제를 포함하는 제제에 관한 것이다. 상기 약학적 조성물은 대상체에게 상기 약제학적 조성물을 투여함으로써 질병 또는 장애의 중증도를 치료, 예방 또는 감소시키는데 유용하다. 약학적 조성물은 또한 의약 제형으로서 당업계에 공지되어 있다.

[1028] 본 발명의 약학적 조성물은 하나 이상의 아쥬반트를 포함할 수 있거나 하나 이상의 아쥬반트와 함께 투여될 수 있다. 용어 "아쥬반트"는 면역 반응을 연장, 강화 또는 가속화하는 화합물에 관한 것이다. 아쥬반트는 오일 에멀젼 (예컨대 프로인트 아쥬반트), 미네랄 화합물 (예컨대 명반), 박테리아 제품 (예컨대 보르데텔라 페르투씨스 (*Bordetella pertussis*) 독소) 또는 면역-자극 복합체와 같은 이종 그룹의 화합물을 포함한다. 애쥬번트의 예는, 제한없이, LPS, GP96, CpG 올리고데옥시뉴클레오타이드, 성장 인자, 및 사이토카인, 예를 들어 모노카인, 림포카인, 인터루킨, 케모카인을 포함한다. 사이토카인은 IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL12, IFNα, IFNɣ, GM-CSF, LT-a일 수 있다. 추가로 공지된 아쥬반트는 수산화알루미늄, 프로인트 아쥬반트 또는 Montanide® ISA51과 같은 오일이다. 본 발명에서 사용하기 위한 다른 적합한 아쥬반트는 Pam3Cys와 같은 리포펩타이드를 포함한다.

[1029] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 일반적으로 "약학적 유효량"으로 및 "약학적으로 허용되는 제조물"로 적용된다.

[1030] "약학적으로 허용되는"이라는 용어는 약학적 조성물의 활성 성분의 작용과 상호작용하지 않는 물질의 무-독성을 의미한다.

[1031] 용어 "약학적 유효량" 또는 "치료학적 유효량"은 단독으로 또는 추가 용량과 함께 원하는 반응 또는 원하는 효과를 달성하는 양을 지칭한다. 특정 질병의 치료의 경우, 원하는 반응은 바람직하게는 질병 경과의 억제와 관련된다. 이것은 질병의 진행을 늦추는 것, 특히 질병의 진행을 방해하거나 역전시키는 것을 포함한다. 질병의 치료에서 원하는 반응은 또한 상기 질병 또는 상기 병태의 발병의 지연 또는 예방일 수 있다. 본원에 기재되는 조성물의 유효량은, 치료할 병태, 질병의 중증도, 환자의 개인적 파라미터, 예컨대 연령, 생리학적 상태, 체적 및 체중, 치료 기간, 동반 요법의 유형 (존재하는 경우), 특정한 투여 경로 및 유사 요인에 의존할 것이다. 따라서, 본원에 기재되는 조성물의 투여되는 용량은 다양한 이러한 파라미터에 의존할 수 있다. 환자의 반응이 초기 용량으로 충분하지 않은 경우, 더 높은 용량 (또는, 상이한, 보다 국소화된 투여 경로에 의해 달성되는 유효하게 더 높은 용량)이 사용될 수 있다.

[1032] 본원에 개시되는 약학적 조성물은 염, 완충제, 보존제, 및 임의로 다른 치료 제제를 함유할 수 있다. 일 구체예에서, 본원에 개시되는 약학적 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함한다.

[1033] 본 발명의 약학적 조성물에 사용하기에 적합한 보존제는, 제한없이, 염화벤잘코늄, 클로로부탄올, 파라벤 및 티메로살을 포함한다.

[1034] 본원에 사용되는 바 용어 "부형제"는 본 발명의 약학적 조성물에 존재할 수 있지만 활성 성분이 아닌 물질을 의미한다. 부형제의 예는, 제한없이, 담체, 결합제, 희석제, 윤활제, 증점제, 표면 활성 제제, 보존제, 안정화제, 유화제, 완충제, 향미 제제 또는 착색제를 포함한다.

[1035] "희석제"라는 용어는 희석 제제 및/또는 솎음 (thinning) 제제에 관한 것이다. 또한, "희석제"라는 용어는 임의의 하나 이상의 유체, 액체 또는 고체 현탁액 및/또는 혼합 매질을 포함한다. 적합한 희석제의 예에는 에탄올, 글리세롤 및 물이 포함된다.

[1036] "담체"라는 용어는 약학적 조성물의 투여를 촉진, 향상 또는 가능하게 하기 위해 활성 성분이 그 안에서 조합되는 천연, 합성, 유기, 무기일 수 있는 성분을 지칭한다. 본원에 사용되는 바 담체는 대상체에 투여하기에 적합한 하나 이상의 상용성 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질일 수 있다. 적합한 담체는, 제한없이, 멸균수, 링거, 링거 락테이트, 멸균 염화나트륨 용액, 등장성 염수, 폴리알킬렌 글리콜, 수소화된 나프탈

렌, 특히 생체적합성 락타이드 폴리머, 락타이드/글리콜라이드 코폴리머 또는 폴리옥시에틸렌/폴리옥시-프로필렌 코폴리머를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 등장성 염수를 포함한다.

[1037] 치료 용도를 위한 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제는 약학 분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro edit. 1985)]에 기재되어 있다.

[1038] 약학적 담체, 부형제 또는 희석제는 의도된 투여 경로 및 표준 약학적 관행과 관련하여 선택될 수 있다.

[1039] 일부 구체예에서, 본원에 기재되는 약학적 조성물은 정맥내, 동맥내, 피하, 피내 또는 근육내 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 국소 투여 또는 전신 투여를 위해 제형화된다. 전신 투여는 위장관을 통한 흡수를 수반하는 장관 투여 또는 비경구 투여를 포함할 수 있다. 본원에 사용되는 바 "비경구 투여"는 정맥내 주사에 의하는 바와 같이 위장관을 통하는 것 외의 임의의 방식으로 투여하는 것을 의미한다. 바람직한 구체예에서, 약학적 조성물은 근육내 투여를 위해 제형화된다. 또 다른 구체예에서, 약학적 조성물은 전신 투여, 예를 들어, 정맥 투여를 위해 제형화된다.

[1040] 다른 구체예에서, 약제학적 조성물은 전신 투여, 예를 들어 정맥내 투여용으로 제형화된다.

[1041] 본원에서 사용되는 용어 "공동-투여(co-administering)"는 상이한 화합물 또는 조성물(예를 들어, 항원을 코딩하는 RNA 및 면역자극제를 코딩하는 RNA)이 동일한 환자에게 투여되는 과정을 의미한다. 상이한 화합물 또는 조성물은 동시에, 본질적으로 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[1042] 본원에 기술된 약제학적 조성물 및 제품은 예를 들어 0.50 mg/mL의 농도에서 주사용 용액을 위한 냉동 농축액으로 제공될 수 있다. 일 구체예에서, 주사용 용액의 제조를 위해, 약물 제품을 해동시키고 등장성 염화나트륨 용액(예를 들어, 0.9% NaCl, 식염수)으로, 예를 들어 1단계 희석 공정에 의해 희석한다. 일부 구체예에서, 정균 염화나트륨 용액(예를 들어, 0.9% NaCl, 식염수)은 희석제로 사용될 수 없다. 일부 구체예에서, 희석된 약물 제품은 회백색 현탁액이다. 주사를 위한 최종 용액의 농도는 투여할 각 용량 수준에 따라 다르다.

[1043] 일 구체예에서, 미생물 오염의 위험 및 제조 과정의 다회-용량 접근법을 고려하여 제조 시작 후 6시간 이내에 투여를 수행한다. 일 구체예에서, 6시간의 이 기간에 2가지 조건, 즉: 준비, 취급 및 이송을 위한 실온 및 저장을 위한 2 내지 8℃가 허용된다.

[1044] 본원에 기재된 조성물은 온도 제어 조건, 예를 들어 약 4-5℃ 이하, 약 -20℃ 이하, -70℃±10℃(예를 들어, -80℃ 내지 -60℃), 예를 들어 냉각 시스템(예를 들어, 드라이아이스이거나 이를 포함할 수 있음)을 이용하여 원하는 온도를 유지한다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 조성물은 온도 조절식 열 운송기로 수송된다. 이러한 운송기는 각 발송물의 위치와 온도를 추적하기 위해 GPS 지원 열 센서를 포함할 수 있다. 조성물은 예를 들어 드라이아이스로 재충전하여 저장할 수 있다.

[1045] **치료(Treatments)**

[1046] 본 발명은 본원에 기재된 코로나바이러스 백신 항원을 인코딩하는 RNA를 포함하는 유효량의 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 코로나바이러스에 대한 적응 면역 반응을 유도하기 위한 방법 및 제제를 제공한다.

[1047] 일 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 제제는 코로나바이러스, 코로나바이러스 감염, 또는 코로나바이러스와 관련된 질환 또는 장애에 대한 대상체의 면역성을 제공한다. 따라서 본 발명은 코로나바이러스와 관련된 감염, 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 방법 및 작용제를 제공한다.

[1048] 일 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 코로나바이러스와 관련된 감염, 질환 또는 장애가 있는 대상체에게 투여된다. 일 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 제제는 코로나바이러스와 관련된 감염, 질환 또는 장애가 발병할 위험이 있는 대상체에게 투여된다. 예를 들어, 본원에 기술된 방법 및 제제는 코로나바이러스와 접촉할 위험이 있는 대상체에게 투여될 수 있다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 코로나바이러스가 유행하는 지리적 영역에 거주하거나, 여행하거나, 여행할 것으로 예상되는 대상체에게 투여된다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 코로나바이러스가 유행하는 지리적 지역에 거주하거나, 여행하거나, 여행할 것으로 예상되는 다른 사람과 접촉했거나 접촉할 것으로 예상되는 대상체에게 투여된다. 일 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 직업 또는 기타 접촉을 통해 코로나바이러스에 고의로 노출된 대상체에게 투여된다. 일 구체예에서, 코로나바이러스는 SARS-CoV-2이다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 SARS-CoV-2 및/또는 이의 항원 또는 에피토프에 대한 이전 노출 및/또는 감염의 증거가 있거나 이와 교차 반응하는 대상체에게 투여된다. 예를 들어, 일부 실시예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 하나 이상의

에피토프와 반응하는 항체, B 세포 및/또는 T 세포가 검출 가능하고/하거나 검출된 대상체에 투여된다.

[1049] 조성물이 백신으로 유용하려면, 조성물은 세포, 조직 또는 대상체(예컨대 인간)에서 코로나바이러스 항원에 대한 면역 반응을 유도해야 하다. 일부 구체예에서, 조성물은 세포, 조직 또는 대상체(예를 들어, 인간)에서 코로나바이러스 항원에 대한 면역 반응을 유도한다. 어떤 경우에는 백신이 포유류에서 보호 면역 반응을 유도하다. 본 발명의 치료 화합물 또는 조성물은 예방적으로(즉, 질병 또는 장애를 예방하기 위해) 또는 치료적으로(즉, 질병 또는 장애를 치료하기 위해) 질병 또는 장애를 앓고 있거나 발병할 위험이 있는(또는 발병하기 쉬운) 대상체에게 투여될 수 있다. 이러한 대상체는 표준 임상 방법을 사용하여 식별할 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 예방적 투여는 질병 또는 장애가 예방되거나 대안적으로 그의 진행이 지연되도록 질병의 명백한 임상 증상이 나타나기 전에 발생한다. 의학 분야의 맥락에서 "예방"이라는 용어는 질병으로 인한 사망 또는 이환율의 부담을 줄이는 모든 활동을 포함하다. 예방은 1차, 2차 및 3차 예방 수준에서 발생할 수 있다. 1차 예방이 질병의 발병을 예방하는 반면, 2차 및 3차 예방 수준은 질병의 진행과 증상의 출현을 예방하고 기능을 회복하고 질병 관련 합병증을 줄임으로써 이미 확립된 질병의 부정적인 영향을 줄이는 것을 목표로 하는 활동을 포함하다.

[1050] 본 개시내용은 제공된 조성물의 다양한 특성화를 보고하고(예를 들어, 실시예 2 참조; 또한 이후 실시예 참조), 또한 인간에서 효과적인 백신에 대한 매개변수를 확립한다.

[1051] 일부 구체예에서, 본 발명의 면역원성 조성물 또는 백신의 투여는 단일 투여에 의해 수행되거나 다중 투여에 의해 부스팅될 수 있다.

[1052] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 RNA의 양은 0.1 μg 내지 300 μg, 0.5 μg 내지 200 μg, 또는 1 μg 내지 100 μg, 예컨대 약 1 μg, 약 3 μg, 약 10 μg, 약 30 μg, 약 50 μg, 또는 약 100 μg이 용량당 투여될 수 있다. 일 구체예에서, 본 발명은 단일 용량의 투여를 구상한다. 일 구체예에서, 본 발명은 프라이밍 용량에 이어서 하나 이상의 부스터 용량의 투여를 구상한다. 부스터 용량 또는 1차 부스터 용량은 프라이밍 용량 투여 후 7일 내지 28일 또는 14일 내지 24일에 투여될 수 있다.

[1053] 일부 구체예에서, 60 μg 이하, 50 μg 이하, 40 μg 이하, 30 μg 이하, 20 μg 이하, 10 μg 이하, 5 μg 이하, 2.5 μg 이하, 또는 1 μg 이하의 본원에 기술된 RNA의 양이 용량 당 투여될 수 있다.

[1054] 일부 구체예에서, 적어도 0.25 μg, 적어도 0.5 μg, 적어도 1 μg, 적어도 2 μg, 적어도 3 μg, 적어도 4 μg, 적어도 5 μg, 적어도 10 μg, 적어도 20 μg, 적어도 30 μg, 또는 적어도 40 μg의 본원에 기재된 RNA의 양이 용량당 투여될 수 있다.

[1055] 일부 구체예에서, 0.25 μg 내지 60 μg, 0.5 μg 내지 55 μg, 1 μg 내지 50 μg, 5 μg 내지 40 μg, 또는 10 μg 내지 30 μg 의 본원에 기재된 RNA의 양이 용량당 투여될 수 있다.

[1056] 일 구체예에서, 약 30㎍의 본원에 기술된 RNA의 양이 용량당 투여된다. 일 구체예에서, 이러한 용량 중 적어도 2개가 투여된다. 예를 들어, 2차 용량은 1차 용량 투여 후 약 21일에 투여될 수 있다.

[1057] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 RNA 백신의 효능(예를 들어, 2회 용량으로 투여되며, 여기서 제2 용량은 제1 용량의 투여 후 약 21일에 투여될 수 있고, 예를 들어 용량 당 약 30㎍의 양으로 투여될 수 있다)은 2차 용량 투여 후 7일부터 시작하여(예를 들어, 2차 용량이 1차 용량로부터 21일 후에 투여되는 경우, 1차 용량 투여 후 28일부터 시작) 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 95% 이상이다.). 일부 구체예에서, 이러한 효능은 50세 이상, 55세 이상, 60세 이상, 65세 이상, 70세 이상 또는 그 이상의 연령 집단에서 관찰된다. 일부 구체예에서, 65세 이상의 집단, 예컨대 65 내지 80세, 65 내지 75세, 또는 65 내지 70세의 연령 집단에서 2차 용량 투여 후 7일째 시작(예컨대 첫 번째 용량 투여 후 21일 후에 두 번째 용량을 투여하는 경우 첫 번째 용량 투여 후 28일째 시작)하는, 본원에 기술된 RNA 백신의 효능(예를 들어, 2회 용량으로 투여되며, 여기서 제2 용량은 제1 용량의 투여 후 약 21일에 투여될 수 있고, 예를 들어 용량 당 약 30㎍의 양으로 투여될 수 있다)은 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상 또는 95% 이상이다. 이러한 효능은 최대 1개월, 2개월, 3개월, 6개월 또는 심지어 더 긴 기간에 걸쳐 관찰될 수 있다.

[1058] 일 구체예에서, 백신 효능은 감염 증거가 있는 대상체 수의 감소 백분율로 정의된다(백신접종된 대상체 대 백신 접종되지 않은 대상체).

[1059] 일 구체예에서, 효능은 COVID-19의 잠재적 사례에 대한 감시를 통해 평가된다. 언제든지 환자에게 급성 호흡기 질환이 발생하는 경우, 본원의 목적상 환자는 잠재적으로 COVID-19 질환이 있는 것으로 간주될 수 있다. 평가에는 SARS-CoV-2를 검출하기 위해 역전사 중합효소 연쇄 반응(RT-PCR) 테스트를 사용하여 테스트할 수 있는 비강

(중비갑개) 면봉이 포함될 수 있다. 또한 임상 정보 및 현지 표준 치료 테스트 결과를 평가할 수 있다.

[1060] 일부 구체예에서, 효능 평가는 다음과 같은 SARS-CoV-2 관련 사례의 정의를 활용할 수 있다.

[1061] ● COVID-19 확인: 다음 중 적어도 한 가지 증상이 존재하고, 증상이 있는 기간 중 또는 증상 기간 전후 4일 동안 SARS-CoV-2 NAAT(핵산 증폭 기반 검사)이 양성임: 발열; 새로운 또는 증가된 기침; 새로운 또는 증가된 숨가쁨; 오한; 새로운 또는 증가된 근육통; 미각 또는 후각의 새로운 상실; 목 쓰림; 설사; 구토.

[1062] 대안적으로 또는 추가로, 일부 구체예에서 효능 평가는 SARS-CoV-2 관련 사례의 정의를 활용할 수 있으며, 여기에서 CDC가 정의한 다음 추가 증상 중 하나 이상이 고려될 수 있다: 피로; 두통; 코막힘 또는 콧물; 메스꺼움.

[1063] 일부 구현에서 효능 평가는 SARS-CoV-2 관련 중증 사례의 정의를 활용할 수 있다.

[1064] ● 중증 COVID-19 확인: COVID-19 확인 및 다음 중 적어도 한 가지 존재: 중증 전신 질환을 나타내는 안정 시 임상 징후(예컨대 RR ≥30 분당 호흡, HR ≥125 분당 박동수, 해수면의 실내 공기 $SpO_2 \leq 93\%$, 또는 $PaO_2/FiO_2 < 300mmHg$); 호흡 부전(고유량 산소, 비침습적 환기, 기계적 환기 또는 ECMO가 필요한 것으로 정의될 수 있음); 쇼크의 증거(예컨대 SBP <90mmHg, DBP <60mmHg 또는 승압제 필요) 심각한 급성 신장, 간 또는 신경학적 기능 장애; ICU 입원; 사망.

[1065] 대안적으로 또는 추가적으로, 일부 구체예에서 혈청학적 정의가 COVID-19의 임상적 징후가 없는 환자에 대해 사용될 수 있다: 예를 들어, 확인된 COVID-19 없이 SARS-CoV-2로 확인된 혈청전환: 예를 들어, 환자에서 양성 N-결합 항체 결과 이전 음성 N-결합 항체 결과.

[1066] 일부 구체예에서, 하기 분석 중 어느 하나 또는 모두가 혈청 샘플에 대해 수행될 수 있다: SARS-CoV-2 중화 분석; S1-결합 IgG 수준 분석; RBD-결합 IgG 수준 분석; N-결합 항체 분석.

[1067] 일 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 소아 집단에 투여된다. 다양일 구체예에서, 소아 집단은 18세 미만, 예를 들어 5세 내지 18세 미만, 12세 내지 18세 미만, 16세 내지 18세 미만, 12세 내지 16세 미만 또는 5세 이상 12세 미만의 대상체를 포함하거나 이로 이루어진다. 다양일 구체예에서, 소아 집단은 5세 미만, 예를 들어 2세 내지 5세 미만, 12세 내지 24개월 미만, 7세 내지 12개월 미만, 또는 6개월 미만의 대상체를 포함하거나 이로 구성된다.

[1068] 일 구체예에서, 소아 집단은 16세 내지 18세 미만의 대상체 및/또는 12세 내지 16세 미만의 대상체를 포함하는 12세 내지 18세 미만의 대상자를 포함하거나 이들로 구성된다. 이 구체예에서, 치료는 21일 간격으로 2회의 백신접종을 포함할 수 있고, 여기서 일 구체예에서 백신은 예를 들어 근육내 투여에 의해 용량당 30㎍ RNA의 양으로 투여된다.

[1069] 일 구체예에서, 소아 집단은 12세 내지 18세 미만의 대상체 및/또는 5세 내지 12세 미만의 대상자를 포함하는 5세 내지 18세 미만의 대상자를 포함하거나 이들로 구성된다. 이 구체예에서, 치료는 21일 간격으로 2회의 백신접종을 포함할 수 있고, 다양일 구체예에서, 백신은 예를 들어 근육내 투여에 의해 용량당 10㎍, 20㎍ 또는 30㎍ RNA의 양으로 투여된다.

[1070] 일 구체예에서, 소아 집단은 2세 내지 5세 미만의 대상체, 12개월 내지 24개월 미만의 대상체, 7개월 내지 12개월 미만의 대상체, 6~12개월 미만 및/또는 6개월 미만 대상체를 비롯하여 5세 미만의 대상체를 포함하거나 이로 이루어진다. 이 구체예에서, 치료는 예를 들어 21일 내지 42일 간격, 예를 들어 21일 간격으로 2회 백신접종을 포함할 수 있고, 다양일 구체예에서 백신은 용량당 10㎍, 20㎍ 또는 30㎍ RNA의 양으로 예를 들어, 근육내 투여에 의해 투여된다.

[1071] 일부 구체예에서, 소아 집단에서 기술된(예를 들어, 본원에 기술된) mRNA 조성물에 대한 효능은 본원에 기술된 다양한 척도에 의해 평가될 수 있다(예를 들어, 비제한적인 예로서, 과거 COVID-19 감염의 혈청학적 또는 바이러스학적 증거가 없는 대상체에서 1000인-년당 COVID-19 발생률; 측정된 SARS CoV-2 중화 역가의 기하 평균비(GMR), 예컨대 2차 투여로부터 7일 등).

[1072] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 소아 집단(예를 들어, 12세 내지 16세 미만)은 본원에 기술된 RNA 조성물(예를 들어, mRNA)의 투여 후 다기관 염증 증후군(MIS)(예를 들어, 심장, 폐, 신장, 뇌, 피부, 눈 및/또는 위장관과 같은 상이한 여러 신체 부위의 염증)의 발병 여부에 대해 모니터링될 수 있다. 소아에서 MIS의 예시적인 증상은 발열, 복통, 구토, 설사, 목 통증, 발진, 충혈된 눈, 극도의 피로감 및 이들의 조합을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

[1073] 일 구체예에서, 상기 기재된 바와 같이 투여되는 RNA는 본원에서 BNT162b1(RBP020.3), BNT162b2(RBP020.1 또는 RBP020.2)로 기재된 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이다. 일 구체예에서, 상기 기재된 바와 같이 투여되는 RNA는 본원에서 RBP020.2로 기재된 뉴클레오사이드 변형 메신저 RNA(modRNA)이다.

[1074] 일 구체예에서, 상기 기술된 바와 같이 투여되는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이고(i) SEQ ID NO: 21의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 21의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 및/또는(ii) SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 전술한 바와 같이 투여되는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이고(i) SEQ ID NO: 21의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는(ii) SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[1075] 일 구체예에서, 상기 기술된 바와 같이 투여되는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이고(i) SEQ ID NO: 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 및/또는(ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 전술한 바와 같이 투여되는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이고(i) SEQ ID NO: 19 또는 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는(ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[1076] 일 구체예에서, 상기 기술된 바와 같이 투여되는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이고(i) SEQ ID NO: 20의 뉴클레오타이드 서열, SEQ ID NO: 20의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 및/또는(ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일 구체예에서, 전술한 바와 같이 투여되는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이고(i) SEQ ID NO: 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는(ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[1077] 일 구체예에서, 전술한 바와 같이 투여되는 RNA는 뉴클레오사이드 변형된 메신저 RNA(modRNA)이고(i) SEQ ID NO: 20의 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나; 및/또는(ii) SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하며 용량 당 약 30 μg의 양으로 투여된다. 일 구체예에서, 이러한 용량 중 적어도 2개가 투여된다. 예를 들어, 제2 용량은 제1 용량 투여 후 약 21일에 투여될 수 있다.

[1078] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 RNA로 치료될 집단은 적어도 50세, 적어도 55세, 적어도 60세, 또는 적어도 65세의 대상체를 포함하거나, 본질적으로 구성되거나, 구성된다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 RNA로 치료될 집단은 55세 내지 90세, 60세 내지 85세 또는 65세 내지 85세의 대상체를 포함하거나, 본질적으로 구성되거나 구성된다.

[1079] 일부 구체예에서, 투여되는 용량 사이의 기간은 적어도 7일, 적어도 14일, 또는 적어도 21일이다. 일부 구체예에서, 투여되는 용량 사이의 기간은 7일 내지 28일, 예컨대 14일 내지 23일이다.

[1080] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 RNA는 대상체에게 5회 용량 이하, 4회 용량 이하 또는 3회 용량 이하의 용량으로 대상체에게 투여될 수 있다.

[1081] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 이상반응(AE), 즉 환자의 임의의 원치 않는 의학적 발생, 예를 들어, 의약품과 관련이 있는지 여부에 관계없이 의약품 사용과 관련된 바람직하지 않고 의도하지 않은 징후, 증상 또는 질병의 강도가 약하거나 중간이 되도록 투여(예컨대, 용량, 용량 빈도 및/또는 용량 횟수 관점의 투여 요법으로)된다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 이상반응(AE)이 예컨대 파라세타몰 또는 진통, 해열(발열 감소) 및/또는 소염 효과를 제공하는 다른 약물, 예컨대 비스테로이드성 소염제(NSAID), 예를 들어 아스피린, 이부프로펜 및 나프록센을 이용한 치료와 같은 개재에 의해 관리되도록 투여될 수 있다. NSAID로 분류되지 않는 "아세트아미노펜" 또는 파라세타몰은 약한 소염 효과를 나타내고 본 발명에 따라 진통제로 투여될 수 있다.

[1082] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 제제는 대상체에서 코로나바이러스, 코로나바이러스 감염, 또는 코로나바이러스와 관련된 질병 또는 장애에 대해 중화 효과를 제공한다.

[1083] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 제제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 코로나바이러스를 차단하거나 중화시키는 면역 반응을 유도한다. 일부 구체예에서, 대상체에게 투여한 후 본원에 기재된 방법 및 제제는 대상체에서 코로나바이러스를 차단하거나 중화시키는 IgG 항체와 같은 항체의 생성을 유도한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 ACE2에 결합하는 코로나바이러스 S 단백질을 차단하거나 중화시키는 면역 반응을 유도한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 ACE2에 결합하는 코로나바이러스 S 단백질을 차단하거나 중화시키는 항체의 생성을 유도한다.

[1084] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 적어도 500 U/ml, 1000 U/ml, 2000 U/ml, 3000 U/ml, 4000 U/ml, 5000 U/ml, 10000 U/ml, 15000 U/ml, 20000 U/ml, 25000 U/ml, 30000 U/ml 또는그 이상의 IgG 항체와 같은 RBD 도메인-결합 항체의 기하 평균 농도(GMC)를 유도한다. 일부 구체예에서, RBD 도메인-결합 항체의 상승된 GMC는 적어도 14일, 21일, 28일, 1개월, 3개월, 6개월, 12개월 또는 그 이상 동안 지속된다.

[1085] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 적어도 100 U/ml, 200 U/ml, 300 U/ml, 400 U/ml, 500 U/ml, 1000 U/ml, 1500 U/ml 또는 그 이상의 IgG 항체와 같은 중화 항체의 기하 평균 역가(GMT)를 유도한다. 일부 구체예에서, 중화 항체의 상승된 GMT는 적어도 14일, 21일, 28일, 1개월, 3개월, 6개월, 12개월 또는 그 이상 동안 지속된다.

[1086] 본 명세서에서 용어 "중화(neutralization)"는 항체와 같은 결합제가 수용체 결합 단백질과 같은 바이러스의 생물학적 활성 부위에 결합하여 세포의 바이러스 감염을 억제하는 현상을 의미한다. 본 명세서에서 코로나바이러스, 특히 코로나바이러스 S 단백질과 관련하여 "중화"라는 용어는 항체와 같은 결합제가 S 단백질의 RBD 도메인에 결합하여 세포의 바이러스 감염을 억제하는 사건을 의미한다. 특히, 용어 "중화"는 결합제가 관심 바이러스의 병독성(예를 들어, 세포를 감염시키는 능력)을 제거하거나 상당히 감소시키는 사건을 지칭한다.

[1087] 항원 챌린지에 대한 반응으로 생성되는 면역 반응의 유형은 일반적으로 반응에 관여하는 T 헬퍼(Th) 세포의 서브세트에 의해 구별될 수 있다. 면역 반응은 Th1과 Th2의 두 가지 유형으로 크게 나눌 수 있다. Th1 면역 활성화는 바이러스와 같은 세포내 감염에 최적화된 반면, Th2 면역 반응은 체액(항체) 반응에 최적화되어 있다. Th1 세포는 인터루킨 2(IL-2), 종양 괴사 인자(TNFα) 및 인터페론 감마(IFNɣ)를 생산하다. Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 및 IL-13을 생성하다. Th1 면역 활성화는 많은 임상 상황에서 가장 많이 요구된다. Th2 또는 체액성 면역 반응을 유도하는 데 특화된 백신 조성물은 일반적으로 대부분의 바이러스성 질병에 대해 효과적이지 않는다.

[1088] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 Th1-매개 면역 반응을 유도하거나 촉진한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 Th1-매개 면역 반응에 전형적인 사이토카인 프로필을 유도하거나 촉진한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 인터루킨 2(IL-2), 종양 괴사 인자(TNFα) 및/또는 인터페론 감마(IFNɣ)의 생산을 유도하거나 촉진한다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 인터루킨 2(IL-2) 및 인터페론 감마(IFNɣ)의 생성을 유도하거나 촉진한다. 일부 구체예에서, 대상체에게 투여한 후 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에서 Th2-매개 면역 반응을 유도 또는 촉진하지 않거나, 또는 Th1 매개 면역 반응의 유도 또는 촉진과 비교하여, Th2-매개 면역 반응을 상당히 낮은 정도로 유도 또는 촉진한다. 일부 구체예에서, 대상체에게 투여한 후 본원에 기재된 방법 및 제제는 대상체에서 Th2-매개 면역 반응에 전형적인 사이토카인 프로필을 유도 또는 촉진하지 않거나, 또는 Th1-매개 면역 반응에 전형적인 사이토카인 프로파일의 유도 또는 촉진과 비교하여 대상체에서 Th2-매개 면역 반응에 전형적인 사이토카인 프로필을 상당히 낮은 정도로 유도 또는 촉진한다. 일부 구체예에서, 대상체에게 투여한 후 본원에 기술된 방법 및 제제는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 및/또는 IL-13의 생성을 유도하거나 촉진하지 않거나, 또는 종양 괴사 인자(TNFα) 및/또는 인터페론 감마(IFNɣ)의 유도 또는 촉진에 비해 상당히 낮은 정도로 대상체에서 IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 및/또는 IL-13의 생성을 유도한다. 일부 구체예에서, 대상체에게 투여한 후 본원에 기술된 방법 및 제제는 IL-4의 생성을 유도 또는 촉진하지 않거나, 또는 대상체에서 인터루킨 2(IL-2) 및 인터페론 감마(IFNɣ)의 유도 또는 촉진에 비해 훨씬 낮은 정도로 대상체에서 IL-4의 생성을 유도 또는 촉진한다.

[1089] 일부 구체예에서, 대상체에게 투여한 후 본원에 기재된 방법 및 작용제는 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 상이한 S 단백질 변이체, 특히 자연적으로 발생하는 S 단백질 변이체의 패널을 표적으로 하는 대상체에서 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다. 일부 구체예에서, 상이한 S 단백질 변이체의 패널은 5개 이상, 10개 이

상, 15개 이상 또는 훨씬 더 많은 S 단백질 변이체를 포함한다. 일부 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 RBD 도메인에서 아미노산 변형을 갖는 변이체 및/또는 RBD 도메인 외부에서 아미노산 변형을 갖는 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 321(Q)에 대응하는 아미노산이 S인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 321(Q)에 대응하는 아미노산이 L인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 한 실시예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 341(V)에 대응하는 아미노산이 I인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 348(A)에 대응하는 아미노산이 T인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 354(N)에 대응하는 아미노산이 D인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 359(S)에 대응하는 아미노산이 N인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 367(V)에 대응하는 아미노산이 F인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 378(K)에 대응하는 아미노산이 S인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 378(K)에 대응하는 아미노산이 R인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 408(R)에 대응하는 아미노산이 I인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 409(Q)에 대응하는 아미노산이 E인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 435(A)에 대응하는 아미노산이 S인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 439(N)에 대응하는 아미노산이 K인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 458(K)에 대응하는 아미노산이 R인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 472(I)에 대응하는 아미노산이 V인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 476(G)에 대응하는 아미노산이 S인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 477(S)에 대응하는 아미노산이 N인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 483(V)에 대응하는 아미노산이 A인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 508(Y)에 대응하는 아미노산이 H인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 519(H)에 대응하는 아미노산이 P인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 일 구체예에서, 이러한 S 단백질 변이체는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산이 G인 그의 자연 발생 변이체를 포함한다.

[1090] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여한 후 특히

[1091] SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 자연 발생 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 대상체에서 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다.

[1092] SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 위치에 돌연변이를 포함하는 상기 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치에서으 돌연변이로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 570(A), 614(D), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 484(E), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 242(L), 243(A), 및 244(L). 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산이 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산이 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산이 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다.일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예

에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다.

[1093] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 VOC-202012/01을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1094] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치에서 다음의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A 및 D1118H.

[1095] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 501.V2를 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1096] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치에서 다음의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y 및 A701V, 및 선택적으로: L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244. 상기 S 단백질 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1의 위치 614에 대응하는 위치에서 D->G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[1097] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 69(H) 및 70(V)에 대응하는 위치에서 결실을 포함하는 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다.

[1098] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H) 및 70(V)에 상응하는 위치에서 결실을 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치에서의 돌연변이들로부터 선택될 수 있다: 144(Y), 501(N), 570(A), 614(D), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 484(E), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 및 1229(M). 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(T)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다.

[1099] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 VOC-202012/01을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1100] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서 다음 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A 및 D1118H.

[1101] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 "클러스터 5"를 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1102] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서 다음 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: 결실 69-70, Y453F, I692V, M1229I, 및 선택적으로 S1147L.

[1103] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다.

[1104] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 상응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치에서의 돌연변이들로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 501(N), 570(A), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 484(E), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 및 1229(M). 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다.

[1105] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 VOC-202012/01을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1106] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서 다음 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, 및 D1118H.

[1107] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서 다음 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y, D614G 및 A701V, 및 선택적으로: L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244.

[1108] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 501(N) 및 614(D)에 대응하는 위치들에서 돌연변이를 포함하는 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이고 SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다.

[1109] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N) 및 614(D)에 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서의 돌연변이로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 570(A), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 484(E), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 및 1229(M)이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID

NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다.

[1110] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 VOC-202012/01을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1111] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서 다음 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: 결실 69-70, 결실 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, 및 D1118H.

[1112] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서 다음 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y, D614G 및 A701V, 및 선택적으로: L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244.

[1113] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다.

[1114] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서의 돌연변이로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 501(N), 570(A), 614(D), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 1229(M), 20(T), 26(P), 138(D), 190(R), 417(K), 655(H), 1027(T), 및 1176(V). 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 20(T)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치

26(P)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 138(D)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 190(R)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 T이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 655(H)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1027(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1176(V)에 대응하는 아미노산은 F이다.

[1115] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 501.V2를 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1116] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y 및 A701V, 및 선택적으로: L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244. 상기 S 단백질 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1의 위치 614에 해당하는 위치에서 D->G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[1117] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 "B.1.1.28"을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1118] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 "B.1.1.248"을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1119] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F.

[1120] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 501(N) 및 484(E)에 상응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이고 SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다.

[1121] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N) 및 484(E)에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치에서의 돌연변이를 포함할 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 570(A), 614(D), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 1229(M), 20(T), 26(P), 138(D), 190(R), 417(K), 655(H), 1027(T), 및 1176(V)이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 20(T)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 26(P)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 138(D)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 190(R)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 T이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 655(H)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1027(T)에 대

응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1176(V)에 대응하는 아미노산은 F이다.

[1122] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 501.V2를 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1123] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y 및 A701V, 및 선택적으로: L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244. 상기 S 단백질 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1의 위치 614에 해당하는 위치에서 D->G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[1124] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 "B.1.1.248"을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1125] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F.

[1126] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 501(N), 484(E) 및 614(D)에 상응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이고 SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이며, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다.

[1127] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N), 484(E) 및 614(D)에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1:의 다음 위치에 대응하는 위치의 돌연변이들로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 570(A), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 1229(M), 20(T), 26(P), 138(D), 190(R), 417(K), 655(H), 1027(T), 및 1176(V)이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 20(T)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 26(P)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 138(D)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 190(R)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 T이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 655(H)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1027(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1176(V)에 대응하는 아미노산은 F이다.

[1128] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서 다음 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V, 및 D614G, 및 선택적으로: L18F, R246I, K417N, 및 결실 242-244.

[1129] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 242(L), 243(A) 및 244(L)에 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다.

[1130] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L), 243(A) 및 244(L)에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1의 다음 위치에 대응하는 위치들에서의 돌연변이로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 501(N), 570(A), 614(D), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 484(E), 701(A), 18(L), 246(R), 417(K), 453(Y), 692(I), 1147(S), 1229(M), 20(T), 26(P), 138(D), 190(R), 417(K), 655(H), 1027(T), 및 1176(V)이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 20(T)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 26(P)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 138(D)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 190(R)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 T이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 655(H)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1027(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1176(V)에 대응하는 아미노산은 F이다.

[1131] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 501.V2를 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1132] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V 및 결실 242-244, 및 선택적으로: L18F, R246I, 및 K417N. 상기 S 단백질 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1의 위치 614에 해당하는 위치에서 D->G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[1133] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 상응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 T이다.

[1134] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1:의 다음 위치에 대응하는 위치의 돌연변이들로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 501(N), 570(A), 614(D), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 484(E), 701(A), 18(L), 246(R), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 1229(M), 20(T), 26(P), 138(D), 190(R), 655(H), 1027(T), 및 1176(V)이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결

실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 20(T)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 26(P)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 138(D)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 190(R)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 655(H)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1027(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1176(V)에 대응하는 아미노산은 F이다.

[1135] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 501.V2를 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1136] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V, 및 K417N, 및 선택적으로: L18F, R246I, 및 결실 242-244. 상기 S 단백질 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1의 위치 614에 해당하는 위치에서 D->G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[1137] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 "B.1.1.248"을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1138] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F.

[1139] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 위치 417(K) 및 484(E) 및/또는 501(N)에 상응하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 특히 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 자연 발생적인 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 N이고, 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이며 및/또는 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K)에 대응하는 아미노산은 T이고, 위치 484(E)에 대응하는 아미노산은 K이며 및/또는 위치 501(N)에 대응하는 아미노산은 Y이다.

[1140] 일부 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 417(K) 및 484(E) 및/또는 501(N)에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체는 하나 이상의 추가 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 하나 이상의 추가 돌연변이는 SEQ ID NO: 1:의 다음 위치에 대응하는 위치의 돌연변이들로부터 선택될 수 있다: 69(H), 70(V), 144(Y), 570(A), 614(D), 681(P), 716(T), 982(S), 1118(D), 80(D), 215(D), 701(A), 18(L), 246(R), 242(L), 243(A), 244(L), 453(Y), 692(I), 1147(S), 1229(M), 20(T), 26(P), 138(D), 190(R), 655(H), 1027(T), 및 1176(V)이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 69(H)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 70(V)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 144(Y)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 570(A)에 대응하는 아미노산은 D이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 614(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 681(P)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 716(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 982(S)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치

1118(D)에 대응하는 아미노산은 H이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 80(D)에 대응하는 아미노산은 A이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 215(D)에 대응하는 아미노산은 G이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 701(A)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 18(L)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 246(R)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 242(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 243(A)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 244(L)에 대응하는 아미노산은 결실된다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 453(Y)에 대응하는 아미노산은 F이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 692(I)에 대응하는 아미노산은 V이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1147(S)에 대응하는 아미노산은 L이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1229(M)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 20(T)에 대응하는 아미노산은 N이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 26(P)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 138(D)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 190(R)에 대응하는 아미노산은 S이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 655(H)에 대응하는 아미노산은 Y이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1027(T)에 대응하는 아미노산은 I이다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 1176(V)에 대응하는 아미노산은 F이다.

[1141] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 501.V2를 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1142] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V, 및 K417N 및 선택적으로: L18F, R246I, 및 결실 242-244. 상기 S 단백질 변이체는 또한 SEQ ID NO: 1의 위치 614에 해당하는 위치에서 D->G 돌연변이를 포함할 수 있다.

[1143] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 제제는 대상체에게 투여 후 대상체에서 "B.1.1.248"을 표적으로 하는 항체 반응, 특히 중화 항체 반응을 유도한다.

[1144] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제는 대상체에게 투여한 후 대상체에서 항체 반응, 특히 SEQ ID NO: 1의 하기 위치에 상응하는 위치에서 하기 돌연변이를 포함하는 S 단백질 변이체를 표적으로 하는 중화 항체 반응을 유도한다: L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, 및 V1176F.

[1145] 본원에서 사용된 용어 "… 위치에 상응하는 아미노산"은 SARS-CoV-2 S 단백질의 아미노산 위치 번호, 특히 SEQ ID NO: 1에 제시된 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 위치 번호를 의미한다. SARS-CoV-2 S 단백질 변이체와 같은 다른 코로나바이러스 S 단백질 변이체의 해당 아미노산 위치는 SARS-CoV-2 S 단백질, 특히 SEQ ID NO: 1에 표시된 아미노산 서열과 정렬하여 찾을 수 있다. 본 발명에 따라 서열 또는 서열 내의 분절을 정렬하여 서열 내의 상응하는 위치를 아미노산 위치로 결정하는 방법은 당업계에 널리 공지된 것으로 간주된다. ALIGN, ClustalW 또는 이와 유사한, 일반적으로 기본 설정과 같은 표준 서열 정렬 프로그램이 사용될 수 있다.

[1146] 일부 구체예에서, 항체 반응이 표적이 되는 상이한 S 단백질 변이체들의 패널은 전술한 Q321S, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378S, R408I, Q409E, A435S, K458R, I472V, G476S, V483A, Y508H, H519P 및 D614G 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된, 적어도 5개, 적어도 10개, 적어도 15개, 또는 그보다 더 많은 S 단백질 변이체를 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 반응이 표적이 되는 상이한 S 단백질 변이체의 패널은 전술한 Q321S, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378S, R408I, Q409E, A435S, K458R, I472V, G476S, V483A, Y508H, H519P 및 D614G 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된, 모든 S 단백질 변이체를 포함한다.

[1147] 일부 구체예에서, 항체 반응이 표적이 되는 상이한 S 단백질 변이체들의 패널은 전술한 Q321L, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378R, R408I, Q409E, A435S, N439K, K458R, I472V, G476S, S477N, V483A, Y508H, H519P 및 D614G 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된, 적어도 5개, 적어도 10개, 적어도 15개, 또는 그보다 더 많은 S 단백질 변이체를 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 반응이 표적이 되는 상이한 S 단백질 변이체의 패널은 전술한 Q321L, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378R, R408I, Q409E, A435S, N439K, K458R, I472V, G476S, S477N, V483A, Y508H, H519P 및 D614G 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된, 모든 S 단백질 변이체를 포함한다.

[1148] 일부 구체예에서, 예를 들어, 본원에 기재된 RNA에 의해 인코딩된 바와 같은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체는, SARS-CoV-2 S 단백질 변

이체s, 특히 자연 발생적인 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체에 대해 본원에 설명된 돌연변이를 하나 이상 포함한다. 일 구체예에서, 예를 들어, 본원에 기재된 RNA에 의해 인코딩된 바와 같은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 단편 또는 이의 면역원성 변이체는, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 해당하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일 구체예에서, SEQ ID NO: 1의 위치 501(N)에 해당하는 아미노산은 Y이다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 RNA에 의해 인코딩된 바와 같은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 변이체는, VOC-202012/01, 501.V2, Cluster 5 및 B.1.1.248로 이루어진 군으로부터 선택된 SARS-CoV-2 변이체의 SARS-CoV-2 S 단백질의 모든 돌연변이와 같은, 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 RNA에 의해 인코딩된 바와 같은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질의 면역원성 변이체는, SEQ ID NO:1의 아미노 위치 80에서 알라닌 치환, 위치 215에서 글리신 치환, 위치 484에서 라이신 치환, 위치 501에서 티로신 치환, 위치 701에서 발린 치환, 위치 18에서 페닐알라닌 치환, 위치 246에서 이소류신 치환, 위치 417에서 아스파라긴 치환, 위치 614에서의 글리신 치환, 위치 242 내지 244에서의 결실, 및 위치 986 및 987에서의 프롤린 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[1149] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 방법 및 작용제, 예를 들어 mRNA 조성물은 대상체에게 투여 후 세포-매개 면역 반응(예를 들어, CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 반응)을 유도한다. 일부 구체예에서, LPFNDGVYF, GVYFASTEK, YLQPRTFLL, QPTESIVRF, CVADYSVLY, KCYGVSPTK, NYNYLYRLF, FQPTNGVGY, IPFAMQMAY, RLQSLQTYV, GTHWFVTQR, VYDPLQPEL, QYIKWPWYI, 및 KWPWYIWLGF로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 에피토프(예컨대, MHC 클래스 I-제한된 에피토프)를 인식하는 T 세포가 유도된다. 일 구체예에서, 에피토프 YLQPRTFLL을 인식하는 T 세포가 유도된다. 일 구체예에서, 에피토프 NYNYLYRLF를 인식하는 T 세포가 유도된다. 일 구체예에서, 에피토프 QYIKWPWYI를 인식하는 T 세포가 유도된다. 일 구체예에서, 에피토프 KCYGVSPTK를 인식하는 T 세포가 유도된다. 일 구체예에서, 에피토프 RLQSLQTYV를 인식하는 T 세포가 유도된다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 제제, 예를 들어, mRNA 조성물은 T 세포의 이러한 유도를 달성하는 요법에 따라 투여된다.

[1150] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 작용제, 예를 들어 mRNA 조성물은 대상체에게 투여 후 15주 또는 그 이후, 16주에 검출가능한 세포-매개 면역 반응(예를 들어, CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 반응)을 유도한다. 투여 후 17주 이상, 18주 이상, 19주 이상, 20주 이상, 21주 이상, 22주 이상, 23주 이상, 24주 이상 또는 25주 이상, 예를 들어, 본원에 기술된 RNA의 2회 용량을 사용한다(여기서 제2 용량은 제1 용량의 투여 후 약 21일에 투여될 수 있다). 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 제제, 예를 들어, mRNA 조성물은 예컨대 본원에 설명된 RNA의 두 가지 용량을 이용한 투여(여기서 2차 용량은 1차 용량 투여로부터 약 21일 후에 투여될 수 있다)로부터 15주일 이후, 16주일 이후, 17주일 이후, 18주일 이후, 19주일 이후, 20주일 이후, 21주일 이후, 22주일 이후, 23주일 이후, 24주일 이후 또는 25주일 이후에 검출가능한 세포-매개 면역 반응(CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 반응)을 유도한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법 및 제제, 예를 들어, mRNA 조성물은 세포-매개 면역 반응의 유도를 달성하는 요법에 따라 투여된다.

[1151] 일 구체예에서, 예를 들어 본원에 기재된 양 및 예를 들어 용량당 30㎍의 2회 용량을, 예를 들어 21일 간격으로 접종하는 투여요법으로 투여될 수 있는 본원에 기재된 코로나바이러스에 대한 백신접종은, 일정 기간이 지난 후, 예컨대 코로나바이러스 감염에 대한 보호가 감소된 것이 일단 관찰될 경우, 1차 백신접종에 사용된 것과 동일하거나 다른 백신을 사용하여 반복될 수 있다. 그러한 특정 기간은 적어도 6개월, 1년, 2년 등일 수 있다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용된 것과 동일한 RNA가 더 낮은 용량 또는 더 낮은 투여 빈도로 2차 또는 추가 백신접종에 사용된다. 예를 들어, 1차 백신접종은 용량당 약 30㎍의 용량을 사용하는 백신접종을 포함할 수 있으며, 일 구체예에서 이러한 용량들 중 적어도 2가지 투여될 수 있고(예를 들어, 2차 용량은 1차 용량 투여 후 약 21일에 투여될 수 있다) 2차 또는 추가 백신접종은 용량당 약 30㎍ 미만의 용량을 사용하는 백신접종을 포함할 수 있으며, 여기서 일 구체예에서는 이러한 용량들 중 하나만 투여된다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용된 것과 다른 RNA가 2차 또는 추가 백신접종에 사용되며, 예를 들어, 1차 백신접종에는 BNT162b2를 사용하고 2차 또는 추가 백신접종에는BNT162B1 또는 BNT162b3을 사용한다.

[1152] 일 구체예에서, 백신접종 요법은 본원에 기재된 RNA의 적어도 2회 용량, 예를 들어 본원에 기재된 RNA의 2회 용량을 사용하는 1차 백신접종(여기서 2차 용량은 1차 용량의 투여 후 약 21일에 투여될 수 있음) 및 본원에 기술된 RNA의 단일 용량 또는 다회 용량, 예를 들어 2회 용량을 사용하는 2차 백신접종을 포함한다. 다양일 구체예에서, 2차 백신접종은 1차 백신접종 투여 후, 즉 예컨대 초기 2회 용량 요법 후, 3 내지 24개월, 6 내지 18개월, 6 내지 12개월, 또는 5 내지 7개월에 투여된다. 2차 백신접종의 각 용량에 사용된 RNA의 양은 1차 백신접종의 각 용량에 사용된 RNA의 양과 같거나 다를 수 있다. 일 구체예에서, 2차 백신접종의 각 용량에 사용되는

RNA의 양은 1차 백신접종의 각 용량에 사용되는 RNA의 양과 동일하다. 일 구체예에서, 2차 백신접종의 각 용량에 사용되는 RNA의 양 및 1차 백신접종의 각 용량에 사용되는 RNA의 양은 용량당 약 30㎍이다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용된 것과 동일한 RNA가 2차 백신접종에 사용된다. 일 구체예에서, 1차 백신접종 및 2차 백신접종에 사용되는 RNA는 BNT162b2이다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용된 것과 다른 RNA가 2차 백신접종에 사용된다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용되는 RNA는 BNT162b2이고, 2차 백신접종에 사용되는 RNA는 SARS-CoV-2 변이주, 예를 들어 본원에서 논의된 균주의 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하는 RNA이다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용되는 RNA는 BNT162b2이고, 2차 백신접종에 사용되는 RNA는 2차 백신접종 당시 유행하거나 빠르게 확산되고 있는 SARS-CoV-2 변이주의 SARS-CoV-2 S 단백질을 인코딩하는 RNA이다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용되는 RNA는 BNT162b2이고 2차 백신접종에 사용되는 RNA는 SARS-CoV-2 S 단백질 변이체, 특히 자연 발생 S 단백질 변이체와 같은 S 단백질 변이체에 대해 본원에서 설명된 돌연변이를 하나 이상 포함하는 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA이다.

[1153] 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용되는 RNA는 BNT162b2이고 2차 백신접종에 사용되는 RNA는 VOC-202012/01, 501.V2, 클러스터 5 및 B.1.1.248로 이루어진 군으로부터 선택된 SARS-CoV-2 변이체의 SARS-CoV-2 S 단백질의 하나 이상의 돌연변이, 예컨대 모든 돌연변이를 포함하는, 본원에 기재된 RNA에 의해 인코딩된 바와 같은 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질, 이의 면역원성 변이체의 면역원성 단편을 인코딩하는 RNA이다. 일 구체예에서, 1차 백신접종에 사용되는 RNA는 SEQ ID NO:1의 위치 986 및 987에서 프롤린 잔기 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 코딩하고, 2차 백신접종에 사용되는 RNA는 SEQ ID NO:1의 위치 80에서 알라닌 치환, 위치 215에서 글리신 치환, 위치 484에서 라이신 치환, 위치 501에서 티로신 치환, 위치 701에서 발린 치환, 위치 18에서 페닐알라닌 치환, 위치 246에서 이소류신 치환, 위치 417에서 아스파라긴 치환, 위치 614에서 글리신 치환, 위치 242 내지 244에서의 결실, 및 위치 986 및 987에서 프롤린 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 RNA이다.

[1154] 일 구체예에서, 백신접종 요법은 약 21일 간격으로 투여되는 SEQ ID NO:1의 986번 및 987번 위치에 프롤린 잔기가 치환된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 코딩하는 RNA의 2회 용량을 사용하는 1차 백신접종 및 1차 백신접종 후 약 6개월 내지 12개월 후에, 즉 최초 2회-용량 투여요법 후 투여되는 SEQ ID NO:1의 위치 986 및 987에 프롤린 잔기가 치환된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 RNA의 단일 용량 또는 다회 용량을 이용하는 2차 백신접종을 포함한다. 일 구체예에서, 각각의 RNA 용량은 30㎍ RNA를 포함한다.

[1155] 일 구체예에서, 백신접종 요법은 약 21일 간격으로 투여되는 SEQ ID NO: 1의 986번 및 987번 위치에 프롤린 잔기가 치환된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 코딩하는 RNA의 2회 용량을 사용하는 1차 백신접종 및 1차 백신접종 후 약 6개월 내지 12개월 후에, 즉 최초 2회-용량 투여요법 후 투여되는 SEQ ID NO: 1의 80번 위치에서 알라닌 치환, 215번 위치에서 글리신 치환, 484번 위치에서 라이신 치환, 501번 위치에서 티로신 치환, 701번 위치에서 발린 치환, 701번 위치에서 페닐알라닌 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 코딩하는 RNA의 단일 용량 또는 다회 용량 18, 246번 위치의 이소류신 치환, 417번 위치의 아스파라긴 치환, 614번 위치의 글리신 치환, 242번 내지 244번 위치의 결실, 및 986번 및 987번 위치의 프롤린 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 RNA의 단일 용량 또는 다회 용량을 이용하는 2차 백신접종을 포함한다. 일 구체예에서, 각각의 RNA 용량은 30㎍ RNA를 포함한다.

[1156] 일 구체예에서, 2차 백신접종은 면역 반응을 부스팅시킨다.

[1157] 일 구체예에서, 본원에 기술된 RNA는 다른 백신과 공동 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 기술된 RNA 조성물은 인플루엔자 백신과 공동 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물 및 다른 주사가능한 백신(들)은 상이한 시간에 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물은 다른 주사가능한 백신(들)과 동시에 투여된다. 이러한 일부 구체예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물 및 적어도 하나의 또 다른 주사가능한 백신(들)은 상이한 주사 부위에 투여된다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물은 동일한 주사기에서 임의의 다른 백신과 혼합되지 않는다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 RNA 조성물은 코로나바이러스, 예를 들어 SARS-CoV-2에 대한 백신접종의 일부로서 다른 코로나바이러스 백신과 조합되지 않는다.

[1158] "질병"이라는 용어는 개체의 신체에 영향을 미치는 비정상적인 상태를 의미하다. 질병은 종종 특정 증상 및 징후와 관련된 의학적 상태로 해석된다. 질병은 전염병과 같은 원래 외부 요인에 의해 발생하거나 자가 면역 질환과 같은 내부 기능 장애로 인해 발생할 수 있다. 인간에서 "질병"은 고통받는 개체에게 고통, 기능 장애, 고통, 사회적 문제 또는 사망을 유발하는 상태 또는 개체과 접촉하는 사람들에게 유사한 문제를 유발하는 상태를 지칭

하기 위해 더 광범위하게 사용되는 경우가 많다. 이 넓은 의미에서 부상, 장애, 장애, 증후군, 감염, 고립된 증상, 비정상적인 행동, 구조와 기능의 비정형 변이를 포함하는 반면, 다른 맥락에서 다른 목적을 위해 이들은 구별 가능한 범주로 간주될 수 있다. 질병은 일반적으로 신체적으로 뿐만 아니라 정서적으로도 개체에게 영향을 미친다. 많은 질병에 걸리고 생활하면 삶에 대한 관점과 성격이 바뀔 수 있기 때문이다. 본 문맥에서, "치료", "치료하는" 또는 "치료적 개입 또는 개재"라는 용어는 질병 또는 장애와 같은 상태를 퇴치할 목적으로 대상체를 관리 및 보호하는 것과 관련된다. 이 용어는 증상 또는 합병증을 완화하기 위해, 질병, 장애 또는 상태의 진행을 지연시키기 위해, 증상 및 합병증을 완화 또는 경감시키기 위해, 및/또는 질병, 장애 또는 상태를 치유 또는 제거하고 상태를 예방하기 위한 치료적으로 효과적인 화합물을 투여하는 것과 같은, 주어진 병태에 걸린 대상체를 치료하기 위한 모든 범위의 치료를 포함하는 것으로 의도되며, 여기서 예방은 질병, 상태 또는 장애 퇴치를 목적으로 개체를 관리하고 돌보는 것으로 이해되어야 하며, 증상 또는 합병증의 발병을 예방하기 위한 활성 화합물의 투여를 포함하다.

[1159] "치료적 치료"라는 용어는 건강 상태를 개선하고/하거나 개체의 수명을 연장(증가)시키는 모든 치료에 관한 것이다. 상기 치료는 개체에서 질병을 제거하고, 개체에서 질병의 발달을 정지시키거나 늦추고, 개체에서 질병의 발달을 억제하거나 늦추고, 개체에서 증상의 빈도 또는 중증도를 감소시키고/시키거나, 현재 질병을 앓고 있거나 또는 이전에 질병을 앓은 적이 있는 개체에서 재발을 감소시킬 수 있다.

[1160] "예방적(prophylactic 또는 preventive) 치료"라는 용어는 개체에게 질병이 발생하는 것을 예방하기 위한 모든 치료와 관련된다. 용어 "예방적 치료" 또는 "예방적 치료"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[1161] "개체" 및 "대상체"라는 용어는 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. 이그들은 질병이나 장애에 걸릴 수 있거나 걸리기 쉬운 인간 또는 다른 포유동물(예컨대 마우스, 쥐, 토끼, 개, 고양이, 소, 돼지, 양, 말 또는 영장류)을 말하지만, 질병이나 장애가 있을 수도 있고 없을 수도 있다. 많은 구체예에서, 개체는 인간이다. 별도의 언급이 없는 한, "개체" 및 "대상자"라는 용어는 특정 연령을 나타내지 않으며, 따라서 성인, 노인, 어린이 및 신생아를 포함한다. 일부 구체예에서, 용어 "대상체"는 50세 이상, 55세 이상, 60세 이상, 65세 이상, 70세 이상 또는 그 이상의 연령의 인간을 포함한다. 일부 구체예에서, "대상체"라는 용어는 65세 이상, 예를 들어 65세 내지 80세, 65세 내지 75세 또는 65세 내지 70세의 인간을 포함한다. 본 개시내용의 구체예에서, "개체" 또는 "대상자"는 "환자"이다.

[1162] 용어 "환자"는 치료를 위한 개인 또는 대상체, 특히 질병에 걸린 개인 또는 대상체를 의미한다.

[1163] 본 개시내용의 일 구체예에서, 목적은 코로나바이러스에 대한 면역 반응을 제공하고 코로나바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 것이다.

[1164] 에피토프를 포함하는 펩타이드 또는 단백질을 인코딩하는 RNA를 포함하는 약제학적 조성물은 대상체에서 치료적이거나 부분적으로 또는 완전히 보호적일 수 있는 상기 에피토프를 포함하는 항원에 대한 면역 반응을 유도하기 위해 대상체에 투여될 수 있다. 당업자는 면역요법 및 백신접종의 원리 중 하나가, 치료하고자 하는 질병과 면역학적으로 관련이 있는 항원 또는 에피토프로 대상체를 면역화함으로써 질병에 대한 면역보호 반응이 생성된다는 사실에 기초한다는 것을 알 것이다. 따라서, 본원에 기술된 약제학적 조성물은 면역 반응을 유도하거나 향상시키는 데 적용 가능하다. 따라서 본원에 기술된 제약 조성물은 항원 또는 에피토프와 관련된 질병의 예방적 및/또는 치료적 치료에 유용하다.

[1165] 본원에서 사용되는 "면역 반응"은 항원 또는 항원을 발현하는 세포에 대한 통합된 신체 반응을 의미하고, 세포성 면역 반응 및/또는 체액성 면역 반응을 의미한다. 면역계는 척추동물의 보다 원시적인 선천면역계와 체액성 및 세포성 성분을 포함하는 후천성 또는 적응성 면역계로 구분된다.

[1166] "세포-매개 면역", "세포 면역", "세포 면역 반응" 또는 유사한 용어는 항원의 발현을 특징으로 하는 세포에 대한 세포 반응, 특히 클래스 I 또는 클래스 II MHC 항원의 제시를 특징으로 하는 세포에 대한 세포 반응을 포함하도록 의도된다. 세포 반응은 면역 이펙터 세포, 특히 "헬퍼" 또는 "킬러"로서 작용하는 T 세포 또는 T 림프구로 불리는 세포에 관한 것이다. 헬퍼 T 세포(CD4+ T 세포라고도 함)는 면역 반응을 조절하고 킬러 세포(세포독성 T 세포, 세포용해 T 세포, CD8+ T 세포 또는 CTL이라고도 함)는 바이러스 감염 세포와 같은 질병 세포를 살해하고, 더 많은 병에 걸린 세포의 생성을 방지한다.

[1167] 면역 이펙터 세포는 백신 항원에 반응하는 모든 세포를 포함하다. 이러한 반응성은 활성화, 분화, 증식, 생존 및/또는 하나 이상의 면역 이펙터 기능의 표시를 포함하다. 세포는 특히 용해 가능성이 있는 세포, 특히 림프계 세포를 포함하고, 바람직하게는 T 세포, 특히 세포독성 림프구, 바람직하게는 세포독성 T 세포, 자연 살해(NK)

세포 및 림포카인-활성화 살해(LAK) 세포로부터 선택된다. 활성화되면 이러한 세포 독성 림프구 각각은 표적 세포의 파괴를 유발하다. 예를 들어, 세포독성 T 세포는 다음 수단 중 하나 또는 둘 다에 의해 표적 세포의 파괴를 유발하다. 첫째, 활성화 시 T 세포는 퍼포린, 그랜자임 및 그래뉼리신과 같은 세포독소를 방출하다. 퍼포린과 그래뉼리신은 표적 세포에 구멍을 만들고, 그랜자임은 세포에 들어가 세포질에서 카스파제 캐스케이드를 유발하여 세포의 아폽토시스(프로그램된 세포 사멸)을 유도하다. 둘째, T 세포와 표적 세포 사이의 Fas-Fas 리간드 상호작용을 통해 아폽토시스를 유도할 수 있다.

[1168] 본 발명의 맥락에서 용어 "이펙터 기능"은 예를 들어 바이러스와 같은 병원체의 중화 및/또는 바이러스에 감염된 세포와 같은 질병 세포의 사멸을 초래하는 면역계의 구성요소에 의해 매개되는 임의의 기능을 포함한다. 일 구체예에서, 본 발명의 맥락에서 이펙터 기능은 T 세포 매개된 이펙터 기능이다. 그러한 기능은 헬퍼 T 세포(CD4+ T 세포)의 경우 사이토카인의 방출 및/또는 CD8+ 림프구(CTL) 및/또는 B 세포의 활성화, 및 CTL의 경우 세포의 제거, 즉, 예를 들어, 아폽토시스 또는 퍼포린-매개 세포 용해, IFN-η 및 TNF-α와 같은 사이토카인 생성, 및 항원 발현 표적 세포의 특이적 세포용해성 살해를 통한 항원 발현을 특징으로 하는 세포의 제거를 포함한다.

[1169] 본 발명의 맥락에서 용어 "면역 이펙터 세포" 또는 "면역반응성 세포"는 면역 반응 동안 효과기 기능을 발휘하는 세포에 관한 것이다. 일 구체예에서 "면역 효과기 세포"는 세포 상의 MHC와 관련하여 제시되거나 세포 표면 상에 발현되고 면역 반응을 매개하는 항원과 같은 항원에 결합할 수 있다. 예를 들어, 면역 이펙터 세포는 T 세포(세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 종양 침윤 T 세포), B 세포, 자연 살해 세포, 호중구, 대식세포 및 수지상 세포를 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 맥락에서 "면역 효과기 세포"는 T 세포, 바람직하게는 $CD4^+$ 및/또는 $CD8^+$ T T 세포, 가장 바람직하게는 $CD8^+$ T 세포이다. 본 발명에 따르면, 용어 "면역 이펙터 세포"는 또한 적절한 자극으로 면역 세포(예를 들어, T 세포, 특히 T 헬퍼 세포 또는 세포용해 T 세포)로 성숙할 수 있는 세포를 포함한다. 면역 이펙터 세포는 $CD34^+$ 조혈 줄기 세포, 미성숙 및 성숙 T 세포 및 미성숙 및 성숙 B 세포를 포함한다. 항원에 노출되었을 때 T 세포 전구체의 세포용해성 T 세포로의 분화는 면역 체계의 클론 선택과 유사하다.

[1170] "림프 세포"는 세포 면역 반응과 같은 면역 반응을 생성할 수 있는 세포 또는 이러한 세포의 전구체 세포이며, 림프구, 바람직하게는 T 림프구, 림프모구 및 형질 세포를 포함한다. 림프계 세포는 본원에 기재된 바와 같은 면역 이펙터 세포일 수 있다. 바람직한 림프계 세포는 T 세포이다.

[1171] 용어 "T 세포" 및 "T 림프구"는 본원에서 상호교환적으로 사용되며 세포용해성 T 세포를 포함하는 T 헬퍼 세포(CD4+ T 세포) 및 세포독성 T 세포(CTL, CD8+ T 세포)를 포함한다. 용어 "항원-특이적 T 세포" 또는 유사한 용어는 T 세포가 표적이 되는 항원을 인식하고 바람직하게는 T 세포의 이펙터 기능을 발휘하는 T 세포에 관한 것이다.

[1172] T 세포는 림프구로 알려진 백혈구 그룹에 속하며 세포 매개 면역에서 중심적인 역할을 하다. 그들은 T 세포 수용체(TCR)라고 하는 세포 표면의 특수 수용체의 존재에 의해 B 세포 및 자연 살해 세포와 같은 다른 림프구 유형과 구별될 수 있다. 흉선은 T 세포의 성숙을 담당하는 주요 기관이다. 각각 고유한 기능을 가진 T 세포의 여러 서브세트가 발견되었다.

[1173] T 헬퍼 세포는 여러 다른 기능 중에서도, B 세포의 형질 세포로의 성숙 및 세포독성 T 세포 및 대식세포의 활성화를 포함하는 면역학적 과정에서 다른 백혈구를 돕는다. 이 세포는 표면에 CD4 당단백질을 발현하기 때문에 CD4+ T 세포라고도 하다. 헬퍼 T 세포는 항원제시세포(APC)의 표면에서 발현되는 MHC 클래스 II 분자에 의해 펩타이드 항원이 제시될 때 활성화된다. 일단 활성화되면 이들은 빠르게 분열하여 활성 면역 반응을 조절하거나 돕는 사이토카인이라는 작은 단백질을 분비하다.

[1174] 세포독성 T 세포는 바이러스에 감염된 세포와 종양 세포를 파괴하고 이식 거부와도 관련이 있다. 이 세포들은 표면에 CD8 당단백질을 발현하기 때문에 CD8+ T 세포로도 알려져 있다. 이 세포들은 신체의 거의 모든 세포 표면에 존재하는 MHC 클래스 I과 관련된 항원에 결합하여 표적을 인식하다.

[1175] 대다수의 T 세포는 여러 단백질의 복합체로 존재하는 T 세포 수용체(TCR)를 가지고 있다. T 세포의 TCR은 주요 조직 적합성 복합체(MHC) 분자에 결합되고 표적 세포의 표면에 제시된 면역원성 펩타이드(에피토프)와 상호 작용할 수 있다.

[1176] TCR의 특이적 결합은 T 세포 내부의 신호 캐스케이드를 유발하여 성숙한 이펙터 T 세포로의 증식 및 분화를 유도하다. 실제 T 세포 수용체는 독립적인 T 세포 수용체 알파 및 베타(TCRα 및 TCRβ) 유전자로부터 생산되는

두 개의 개별 펩타이드 사슬로 구성되며 α- 및 β-TCR 사슬이라고 하다. γδ T 세포(감마 델타 T 세포)는 표면에 뚜렷한 T 세포 수용체(TCR)가 있는 T 세포의 작은 서브세트를 나타낸다. 그러나 γδ T 세포에서 TCR은 하나의 γ-사슬과 하나의 δ-사슬로 구성된다. 이 T 세포 그룹은 αβ T 세포보다 훨씬 덜 흔하다(총 T 세포의 2%).

[1177] "체액성 면역" 또는 "체액성 면역 반응"은 분비 항체, 보체 단백질 및 특정 항미생물 펩타이드와 같은 세포외액에서 발견되는 거대분자에 의해 매개되는 면역의 측면이다. 이는 세포 매개 면역과 대조된다. 항체와 관련된 측면은 종종 항체 매개 면역이라고하다.

[1178] 체액성 면역은 Th2 활성화 및 사이토카인 생산, 배중심 형성 및 이소형 전환, 친화성 성숙 및 기억 세포 생성을 포함하는 항체 생산 및 이에 수반되는 부속 과정을 의미하다. 이것은 또한 병원체 중화, 고전적 보체 활성화, 식균 작용 및 병원체 제거의 옵소닌 촉진을 포함하는 항체의 이펙터 기능을 의미하다.

[1179] 체액성 면역 반응에서는, 먼저 B 세포가 골수에서 성숙하여 세포 표면에 대량으로 표시되는 B 세포 수용체(BCR's)를 얻는다. 이러한 막 결합 단백질 복합체는 항원 검출에 특이적인 항체를 가지고 있다. 각 B 세포에는 항원과 결합하는 고유한 항체가 있다. 성숙한 B 세포는 골수로부터 림프절이나 다른 림프 기관으로 이동하여 여기서 병원균과 만나기 시작하다. B 세포가 항원을 만나면 항원은 수용체에 결합하고 엔도사이토시스(endocytosis)에 의해 B 세포 내부로 들어간다. 항원은 MHC-II 단백질에 의해 처리되어 다시 B 세포 표면에 제시된다. B 세포는 헬퍼 T 세포(TH)가 복합체에 결합하기를 기다린다. 이 결합은 TH 세포를 활성화하고 B 세포가 빠르게 분열하도록 유도하는 사이토카인을 방출하여 수천 개의 동일한 B 세포 클론을 만든다. 이 딸 세포들은 형질 세포 또는 메모리 세포가 된다. 메모리 B 세포는 여기에서 비활성 상태로 유지되며; 나중에 이러한 메모리 B 세포는 재감염으로 인해 동일한 항원을 만나면 분열하여 형질 세포를 형성하다. 한편, 형질 세포는 순환계로 자유롭게 방출되는 많은 수의 항체를 생성하다. 이들 항체는 항원과 만나 이들과 결합할 것이다. 이것은 숙주와 외래 세포 사이의 화학적 상호 작용을 방해하거나, 적절한 기능을 방해하는 항원 부위 사이에 다리를 형성하거나, 그들의 존재가 대식세포나 킬러 세포를 유인하여 그들을 공격하고 식균 작용을 하게 할 것이다.

[1180] 용어 "항체"는 이황화 결합에 의해 상호 연결된 적어도 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄를 포함하는 면역글로불린을 포함한다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서는 VH로 약칭함)과 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서는 VL로 약칭함) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. VH 및 VL 영역은 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는 초가변 영역으로 더 세분될 수 있으며, 프레임워크 영역(FR)이라고 하는 보다 보존된 영역이 산재되어 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노 말단에서 카르복시 말단까지 다음 순서로 배열된 3개의 CDR과 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역에는 항원과 상호작용하는 결합 도메인이 포함되어 있다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 이펙터 세포) 및 고전적 보체 시스템의 제1 성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 항원과 바람직하게는 특이적으로 결합한다.

[1181] B 세포에 의해 발현되는 항체는 때때로 BCR(B 세포 수용체) 또는 항원 수용체로 언급된다. 이 종류의 단백질에 포함된 다섯 가지 구성원은 IgA, IgG, IgM, IgD 및 IgE이다. IgA는 침, 눈물, 모유, 위장 분비물, 호흡기 및 비뇨생식기의 점액 분비물과 같은 체액 분비물에 존재하는 1차 항체이다. IgG는 가장 일반적인 순환 항체이다. IgM은 대부분의 대상체에서 1차 면역 반응에서 생산되는 주요 면역글로불린이다. 이것은 응집, 보체 고정 및 기타 항체 반응에서 가장 효율적인 면역글로불린이며 박테리아 및 바이러스에 대한 방어에 중요하다. IgD는 알려진 항체 기능이 없지만 항원 수용체 역할을 할 수 있는 면역글로불린이다. IgE는 알레르겐에 노출되면 비만 세포와 호염기구에서 매개체를 방출하여 즉각적인 과민성을 매개하는 면역글로불린이다.

[1182] 본원에서 "항체 중쇄"는 자연적으로 발생하는 형태의 항체 분자에 존재하는 2가지 유형의 폴리펩타이드 사슬 중 더 큰 것을 의미한다.

[1183] 본원에서 "항체 경쇄"는 자연적으로 발생하는 형태의 항체 분자에 존재하는 2가지 유형의 폴리펩타이드 사슬 중 더 작은 것을 의미하고, κ 및 λ 경쇄는 두 가지 주요 항체 경쇄 이소형을 의미한다.

[1184] 본 발명은 보호적, 예방적, 예방적 및/또는 치료적일 수 있는 면역 반응을 고려한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "면역 반응을 유도한다[또는 유도하는]"이라는 표현은 특정 항원에 대한 면역 반응이 유도 전에 존재하지 않았음을 나타낼 수 있거나 또는 유도 전에 특정 항원에 대해 기본 수준의 면역 반응이 있었다가, 유도 후에 면역 반응이 강화됨을 나타낼 수 있다. 따라서 "면역 반응을 유도한다[또는 유도하는]"이라는 표현은 "면역 반응을 증강한다[또는 증강하는]"이라는 의미를 포함한다.

[1185] "면역요법"이라는 용어는 면역 반응을 유도하거나 강화함으로써 질병 또는 상태를 치료하는 것과 관련이 있다. "면역요법"이라는 용어는 항원 면역화 또는 항원 백신접종을 포함한다.

[1186] "면역화" 또는 "백신접종"이라는 용어는 예를 들어 치료 또는 예방 목적으로 면역 반응을 유도할 목적으로 개인에게 항원을 투여하는 과정을 설명한다.

[1187] "대식세포"라는 용어는 단핵구의 분화에 의해 생성된 식세포의 하위군을 의미한다. 염증, 면역 사이토카인 또는 미생물 산물에 의해 활성화되는 대식세포는 비특이적으로 대식세포 내의 외래 병원체를 가수분해 및 산화 공격에 의해 삼켜 죽여 병원체를 분해한다. 분해된 단백질의 펩타이드는 T 세포가 인식할 수 있는 대식세포 표면에 표시되며 B 세포 표면의 항체와 직접 상호 작용하여 T 및 B 세포 활성화 및 면역 반응의 추가 자극을 일으킬 수 있다. 대식세포는 항원 제시 세포 부류에 속한다. 일 구체예에서, 대식세포는 비장 대식세포이다.

[1188] "수지상 세포"(DC)라는 용어는 항원 제시 세포 부류에 속하는 또 다른 서브타입의 식세포를 지칭한다. 일 구체예에서, 수지상 세포는 조혈 골수 전구 세포로부터 유래된다. 이러한 선조 세포는 초기에 미성숙 수지상 세포로 변형된다. 이러한 미성숙 세포는 높은 식세포 활성과 낮은 T 세포 활성화 가능성을 특징으로 한다. 미성숙 수지상 세포는 바이러스 및 박테리아와 같은 병원체에 대해 주변 환경을 지속적으로 샘플링한다. 일단 이들이 제시 가능한 항원과 접촉하면 성숙한 수지상 세포로 활성화되어 비장이나 림프절로 이동하기 시작한다. 미성숙 수지상 세포는 병원균을 식균하고 단백질을 작은 조각으로 분해하며 성숙되면 MHC 분자를 사용하여 세포 표면에 이러한 조각을 제시한다. 이들은 동시에 CD80, CD86 및 CD40과 같은 T 세포 활성화에서 보조 수용체 역할을 하는 세포 표면 수용체를 상향조절하여 T 세포를 활성화하는 능력을 크게 향상시킨다. 이들은 또한 수지상 세포가 혈류를 통해 비장으로 이동하거나 림프계를 통해 림프절로 이동하도록 유도하는 화학주성 수용체인 CCR7을 상향조절한다. 여기에서 이들은 항원 제시 세포로 작용하고 헬퍼 T 세포와 킬러 T 세포 및 B 세포를 비항원 특이적 공동 자극 신호와 함께 항원에 제시함으로써 이들을 활성화시킨다. 따라서 수지상 세포는 T 세포 또는 B 세포 관련 면역 반응을 능동적으로 유도할 수 있다. 일 구체예에서, 수지상 세포는 비장 수지상 세포이다.

[1189] 용어 "항원 제시 세포"(APC)는 그의 세포 표면 상에(또는 그에서) 적어도 하나의 항원 또는 항원성 단편을 표시, 획득 및/또는 제시할 수 있는 다양한 세포의 세포이다. 항원-제시 세포는 전문 항원 제시 세포와 비전문 항원 제시 세포로 구분할 수 있다.

[1190] 용어 "전문 항원 제시 세포(professional antigen presenting cells)"는 나이브 T 세포와의 상호작용에 필요한 주요 조직 적합성 복합체 클래스 II(MHC 클래스 II) 분자를 구성적으로 발현하는 항원 제시 세포에 관한 것이다. T 세포가 항원 제시 세포의 막에 있는 MHC 클래스 II 분자 복합체와 상호 작용하면 항원 제시 세포는 T 세포의 활성화를 유도하는 공동-자극 분자를 생성한다. 전문 항원 제시 세포는 수지상 세포 및 대식세포를 포함한다.

[1191] 용어 "비전문 항원 제시 세포"는 MHC 클래스 II 분자를 구성적으로 발현하지 않지만 인터페론-감마와 같은 특정 사이토카인에 의한 자극 시 이를 구성적으로 발현하는 항원 제시 세포에 관한 것이다. 예시적인 비전문 항원 제시 세포는 섬유아세포, 흉선 상피 세포, 갑상선 상피 세포, 신경아교세포, 췌장 베타 세포 또는 혈관 내피 세포를 포함한다.

[1192] "항원 가공"은 항원의 상기 항원의 단편인 가공 산물로의 분해(예를 들어, 단백질의 펩타이드로의 분해) 및 특이 T 세포에 대한 항원 제시 세포와 같이, 세포에 의한 제시를 위해 이들 단편 중 하나 이상의(예를 들어, 결합을 통한) MHC와의 결합을 의미한다.

[1193] 용어 "항원 관련 질환"은 항원과 관련된 모든 질병, 예컨대 항원의 존재를 특징으로 하는 질병을 칭한다. 항원 관련 질병은 감염성 질병일 수 있다. 전술한 바와 같이, 항원은 바이러스 항원과 같은 질병 관련 항원일 수 있다. 일 구체예에서, 항원과 관련된 질병은 바람직하게는 세포 표면에서 항원을 발현하는 세포와 관련된 질병이다.

[1194] "전염성 질병"이라는 용어는 개인에서 개인으로 또는 유기체에서 유기체로 전염될 수 있는 모든 질병을 말하며 미생물 물질에 의해 발생한다(예컨대 감기). 감염성 질환은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 바이러스, 세균 및 기생충에 의해 발생하는 질병인 바이러스성 질환, 세균성 질환 또는 기생충성 질환을 포함한다. 이와 관련하여, 감염성 질병은 예를 들어 간염, 성병(예컨대 클라미디아 또는 임질), 결핵, HIV/후천성 면역결핍 증후군(AIDS), 디프테리아, B형 간염, C형 간염, 콜레라, 중증 급성 호흡기증후군(SARS), 조류 독감, 인플루엔자일 수 있다.

[1195] 예시적인 특정 구체예:

[1196] 1. SARS-CoV-2에 대한 면역화 방법으로서:

[1197] SARS-CoV-2-인코딩된 폴리펩타이드의 적어도 하나의 에피토프를 인코딩하는 지질 나노입자 캡슐화된 mRNA를 포함하는 조성물을, 상기 에피토프에 대해 검출가능한 항체 역가를 7일 이내에 달성하도록 확립된 투여요법에 따라 투여하는 단계를 포함하되, 상기 투여요법은 상기 조성물의 적어도 1회 용량을 투여하는 것을 포함하는, SARS-CoV-2에 대한 면역화 방법.

[1198] 2. 구체예 1에 있어서, 투여요법은 적어도 2회 용량의 조성물의 투여를 포함하는, 방법.

[1199] 3. 구체예 1에 있어서, 투여요법은 조성물의 2회 용량의 투여로 구성되는, 방법.

[1200] 4. 구체예 2 또는 구체예 3에 있어서, 제1 용량은 하나 이상의 후속 용량과 상이한 양인, 방법.

[1201] 5. 구체예 1 또는 구체예 4에 있어서, 제1 용량은 후속 용량 투여 전에 일정 기간 동안 투여되고, 그 기간은 적어도 1주, 1개월, 2개월, 3개월, 6개월, 1년, 2년, 3년 또는 그 이상인, 방법.

[1202] 6. 구체예 1-6 중 어느 한 구체예에 있어서, 투여요법은 관련 성인 집단에 투여시 60% 미만의 이상사례 발생률을 갖도록 확립된, 방법.

[1203] 7. 구체예 6에 있어서, 투여요법은 약 1/75을 초과하는 발생률로 중등도 를 초과하는 국소 주사 부위 반응을 유발하지 않도록 확립된, 방법.

[1204] 8. 구체예 1-7 중 어느 한 구체예에 있어서, 각 용량은 60 ug 이하, 예를 들어 50 ug 이하, 40 ug 이하, 30 ug 이하, 20 ug 이하, 10 ug 이하, 5 ug 이하, 2.5 ug 이하, 1 ug 이하인, 방법.

[1205] 9. 구체예 1-8 중 어느 한 구체예에 있어서, 각 용량은 적어도 1 ug 이상, 예를 들어 적어도 2 ug, 적어도 5 ug, 적어도 10 ug, 적어도 20 ug, 적어도 30 ug, 적어도 40 ug, 또는 그 이상인, 방법.

[1206] 10. 지질 나노입자 캡슐화 mRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 mRNA는 SARS-COV2 S 단백질 또는 이의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하고, 상기 조성물은 대상체에서 SARS-COV-2 S-단백질 특이적 면역 반응을 유도하는데 유효한 양으로 투여되며, 상기 유효량은 참조 조성물(예를 들어, 참조 RNA 백신 또는 조성물)에 비해 대상체에서 적어도 2배(예를 들어, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배 포함) 더 낮은 용량으로 살균 면역을 제공하기에 충분한 것인, 방법.

[1207] 11. 지질 나노입자 캡슐화 mRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 mRNA는 SARS-COV2 S 단백질 또는 이의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하고, 상기 조성물은 SARS-COV2에 노출 후 2일 이상(예를 들어, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일 이상 포함)에, 대상체에서 바이러스 부하를 대조군에 비해 적어도 80% 감소시키는데 유효한 양으로 투여되며, 상기 대조군은 참조 조성물(예를 들어, 참조 RNA 백신 또는 조성물)이 투여된 대상체의 바이러스 부하인, 방법.

[1208] 12. 지질 나노입자 캡슐화 mRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 mRNA는 SARS-COV2 S 단백질 또는 이의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하고, 상기 조성물은 대상체에서 SARS-COV-2 S-단백질 특이적 면역 반응을 유도하는데 유효한 양으로 투여되며, RNA 백신의 효능은 백신접종되지 않은 대조군 대상체에 비해 적어도 80%인, 방법.

[1209] 13. 구체예 10-12 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 투여 후 1-72시간에 대상체의 혈청에서 측정시 검출가능한 수준의 SARS-COV-2 S 단백질 또는 이의 단편을 생성하기에 충분한 것인, 방법.

[1210] 14. 구체예 10-12 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 투여 후 1-72시간에 대상체의 혈청에서 측정시 SARS-COV-2 S 단백질에 대한 항체를 중화함으로써 생성된 1,000-10,000 중화 역가를 생성하기에 충분한 것인, 방법.

[1211] 15. 구체예 10-14 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체에서 생성된 항-SARS-COV-2 S 단백질 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 1 log 증가되고, 여기서 대조군은 SARS-COV-2에 대한 백신을 투여받지 않은 대상체에서 생성된 항-SARS-COV-2 S 단백질 항체 역가인, 방법.

[1212] 16. 구체예 10-15 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체에서 생성된 항-SARS-COV-2 S 단백질 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 2배 증가되고, 여기서 대조군은 대조군은 SARS-COV-2에 대한 백신을 투여받지 않은 대상체에서 생성된 항-SARS-COV-2 S 단백질 항체 역가인, 방법.

[1213] 17. 구체예 1 내지 16 중 어느 한 구체예에 있어서, 투여는 근육내 주사에 의해 수행되는, 방법.

[1214] 18. SARS-CoV-2-인코딩된 폴리펩타이드의 적어도 하나의 에피토프를 인코딩하는 지질 나노입자 캡슐화 RNA(예컨대 mRNA)를 포함하는 면역원성 조성물로서, 백신 조성물은 혈청 내 에피토프에 대해 검출 가능한 항체 역가를 달성하도록 확립되었다. 적어도 1회 용량의 백신 조성물의 투여를 포함하는 투여요법에 따라 성인 인간 대상체 집단에 투여 후 7일 이내에 혈청에서 상기 에피토프에 대한 검출가능한 항체 역가를 달성하도록 확립된 것인, 면역원성 조성물.

[1215] 19. 구체예 18에 있어서, RNA 내 우리딘의 적어도 80%는 화학적 변형을 갖는, 면역원성 조성물.

[1216] 20. 구체예 18 또는 19에 있어서, RNA 내 우리딘의 100%가 화학적 변형을 갖는, 면역원성 조성물.

[1217] 21. 구체예 18-20 중 어느 한 구체예에 있어서, 5' 말단 캡은 7mG(5')ppp(5')NlmpNp인, 면역원성 조성물.

[1218] 22. 구체예 18-21 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물 내의 지질 나노입자는 양이온성 지질, PEG-변형 지질, 스테롤 및 비양이온성 지질을 포함하는, 면역원성 조성물.

[1219] 23. 구체예 18-22 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물 내의 지질 나노입자는 몰비로 약 20-60% 양이온성 지질, 0.5-15% PEG-변형 지질, 25-55% 스테롤 및 5%-25% 비양이온성 지질을 포함하는, 면역원성 조성물.

[1220] 24. 구체예 22 또는 23에 있어서, 양이온성 지질은 이온화가능한 양이온성 지질이고, 비양이온성 지질은 중성 지질이며, 스테롤은 콜레스테롤인, 면역원성 조성물.

[1221] 25. 구체예 22 또는 23에 있어서, 양이온성 지질은 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란(DLin-KC2-DMA), 디리놀레일-메틸-4-디메틸아미노부티레이트(DLin-MC3-DMA), 및 디((Z)-논-2-엔-1-일) 9-((4-(디메틸아미노)부타노일)옥시)헵타데칸디오에이트로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

[1222] 26. 구체예 18-25 중 어느 한 구체예에 있어서, RNA는 5' 말단 캡 및 화학적 변형을 포함하고, RNA는 지질 나노입자로서 제형화되거나 제형화될 것인 면역원성 조성물.

[1223] 27. 구체예 18-26 중 어느 한 구체예에 있어서, SARS-CoV-2 S 단백질, 그의 면역원성 변이체, 또는 SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 면역원성 변이체의 면역원성 단편은이 신호 펩타이드에 연결된 것인, 면역원성 조성물.

[1224] 28. 구체예 27에 있어서, 신호 펩타이드는: HuIgGk 신호 펩타이드(METPAQLLFLLLLWLPDTTG); IgE 중쇄 엡실론-1신호 펩타이드(MDWTWILFLVAAATRVHS); 일본 뇌염 PRM 신호 서열(MLGSNSGQRVVFTILLLLVAPAYS) 및 VSVg 단백질 신호 서열(MKCLLYLAFLFIGVNCA)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

[1225] 29. 생체내에서 T 세포를 활성화함으로써 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법으로서, 상기 방법은 지질 나노입자 캡슐화된 변형된 뉴클레오사이드 mRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하되, 상기 mRNA는 SARS-COV2 S 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 것으로서, 이에 따라 대상체에서 SARS-COV2에 의한 감염에 대해 생체내에서 T 세포를 활성화하는, 방법.

[1226] 30. 대상체에서 SARS-COV-2에 대한 면역 반응을 유도하는 방법으로서, 상기 방법은 지질 나노입자 캡슐화된 변형된 뉴클레오사이드 mRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하되, 상기 mRNA는 SARS-COV2 S 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하고, 상기 조성물은 대응하는 비변형 mRNA를 포함하는 조성물에 비해, SARS-COV2 폴리펩타이드 또는 그의 단편의 증가된 생성을 유도하는, 방법.

[1227] 31. 대상체에서 SARS-COV-2에 대한 면역 반응을 유도하는 방법으로서, 상기 방법은 지질 나노입자 캡슐화된 변형된 뉴클레오사이드 mRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하되, 상기 mRNA는 SARS-COV2 S 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하고, 상기 조성물은 대응하는 비변형 mRNA를 포함하는 조성물에 비해, 증가된 항체 역가를 유도하는, 방법.

[1228] 32. 대상체에서 SARS-COV-2에 대한 면역 반응을 유도하는 방법으로서, 지질 나노입자 캡슐화 변형 뉴클레오사이드 mRNA를 포함하는 조성물의 적어도 1회 용량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하되, 여기서 상기 mRNA는 SARS-COV2 S 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하고, 상기 조성물은 조성물 투여 전 SARS-COV-2에 대한 항체 역가와 비교하여 제1 용량 투여로부터 적어도 7일 후에 대상체에서 증가된 항체 역가를 유도하는, 방법.

[1229] 33. 대상체에서 SARS-COV-2에 대한 면역 반응을 유도하는 방법으로서, 지질 나노입자 캡슐화 변형 뉴클레오사이드 mRNA를 포함하는 조성물의 적어도 1회 용량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하되, 여기서 상기 mRNA는

SARS-COV2 S 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하고, 상기 조성물은 대응하는 비변형 mRNA를 포함하는 조성물에 비해 제1 용량 투여로부터 적어도 7일 후에 대상체에서 증가된 항체 역가를 유도하는, 방법.

[1230] 34. 구체예 29-33 중 어느 한 구체예에 있어서, mRNA는 90% 이상의 순도로 존재하는, 방법.

[1231] 35. 구체예 29-34 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물은 SARS-COV2 S 단백질을 인코딩하는 변형되지 않은 RNA 또는 이의 단편을 추가로 포함하지 않는, 방법.

[1232] 36. 구체예 29-35 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물은 적어도 2회 투여되고, 1차 및 2차 투여는 적어도 7일의 간격을 두는, 방법.

[1233] 37. 구체예 29-36 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체는 SARS-CoV-2 감염 위험이 있는, 방법.

[1234] 38. 구체예 29-37 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체는 심혈관 질환 치료 중인, 방법.

[1235] 39. 구체예 29-37 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체가 당뇨병 치료 중인, 방법.

[1236] 40. 구체예 29-37 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체는 만성 심폐질환 치료 중인, 방법.

[1237] 41. 구체예 29-37 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체는 만성 신장 질환 치료 중인, 방법.

[1238] 42. 구체예 29-41 중 어느 한 구체예에 있어서, 면역 반응은 적어도 약 30일 동안 지속되는, 방법.

[1239] 43. 구체예 29-42 중 어느 한 구체예에 있어서, 면역 반응은 적어도 약 60일 동안 지속되는, 방법.

[1240] 44. 구체예 29-43 중 어느 한 구체예에 있어서, 면역 반응은 적어도 약 180일 동안 지속되는, 방법.

[1241] 45. 구체예 29-44 중 어느 한 구체예에 있어서, 면역 반응은 바이러스 중화 역가를 포함하는 방법.

[1242] 46. 구체예 29-45 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체는 적어도 18세인, 방법.

[1243] 47. 구체예 29-46 중 어느 한 구체예에 있어서, 용량은 100 ug 이하의 mRNA를 포함하는, 방법.

[1244] 48. 구체예 29-47 중 어느 한 구체예에 있어서, 용량은 100 ug 미만의 mRNA를 포함하고 조성물은 적어도 100 ug의 mRNA를 포함하는 조성물에 의해 유도된 면역 반응보다 더 큰 면역 반응을 유도하는, 방법.

[1245] 49. 구체예 29-48 중 어느 한 구체예에 있어서, 용량은 약 30 ug의 mRNA를 포함하는, 방법.

[1246] 50. 구체예 29-49 중 어느 한 구체예에 있어서, 면역 반응은 SARS-CoV-2의 S 단백질의 수용체 결합 도메인에 대한 항체를 포함하는, 방법.

[1247] 51. 구체예 29-50 중 어느 한 구체예에 있어서, 면역 반응은 RBD-결합 IgG를 포함하는, 방법.

[1248] 52. 구체예 29-50 중 어느 한 구체예에 있어서, SARS-CoV-2 S 단백질 또는 그의 단편은 수용체 결합 도메인을 포함하는, 방법.

[1249] 53. a) 지질 나노입자 캡슐화 mRNA를 포함하는 조성물; 및 b) 온도 모니터링 시스템을 포함하는, 키트.

[1250] 54. 구체예 53에 있어서, 온도 모니터링 시스템은 온도 센서 및 디스플레이를 포함하고, 온도 모니터링 시스템은 조성물의 온도가 약 -80℃보다 높아질 때 이를 표시하거나 경고하는, 키트.

[1251] 55. 구체예 53에 있어서, 온도 모니터링 시스템은 온도 센서 및 디스플레이를 포함하고, 온도 모니터링 시스템은 조성물의 온도가 약 -60℃보다 높아질 때 이를 표시하거나 경고하는, 키트.

[1252] 56. a) 지질 나노입자 캡슐화 mRNA를 포함하는 조성물; 및 b) 광 센서를 포함하는, 키트.

[1253] 57. 구체예 56에 있어서, 광 센서는 감광성 요소의 재료 특성의 변경을 초래하는 광에 대한 노출에 반응하도록 구성된 감광성 요소를 포함하는, 키트.

[1254] 58. 구체예 29-35 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물은 적어도 2회 투여되고, 1차 및 2차 투여는 적어도 14일의 간격을 두는 것인 방법.

[1255] 59. 구체예 29-35 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물은 적어도 2회 투여되고, 1차 및 2차 투여는 적어도 21일의 간격을 두는 것인 방법.

[1256] 60. 구체예 29-48 중 어느 한 구체예에 있어서, 용량은 약 10 ug의 mRNA를 포함하는, 방법.

[1257] 61. 구체예 29-35 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물은 적어도 2회 투여되고, 1차 및 2차 투여는 적어도 28일의 간격을 두는 것인 방법.

[1258] 62. 구체예 29-35 중 어느 한 구체예에 있어서, mRNA는 아미노산 서열 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, 및 SEQ ID NO: 7 중 어느 하나를 인코딩하는, 방법.

[1259] 63. 적어도 1회 용량 투여시 대상체에서 면역 반응을 유도하는데 유효한 양으로, 양이온성 지질을 포함하는 적어도 하나의 지질 나노입자로 제형화된, SARs-CoV-2 S 단백질의 수용체-결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 오픈 리딩 프레임을 포함하는 메신저 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 면역원성 조성물로서, 여기서 단리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 자가 복제 RNA가 아닌, 면역원성 조성물.

[1260] 64. 구체예 63에 있어서, 지질 나노입자는 비-양이온성 지질, 스테롤 및 PEG-변형 지질 중 어느 하나를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

[1261] 65. 구체예 63에 있어서,

[1262] 적어도 1회 용량 투여시 대상체에서 면역 반응을 유도하는데 유효한 양으로;

[1263] 몰비로 20-60% 이온화가능한 양이온성 지질, 5-25% 비양이온성 지질, 25-55% 스테롤 및 0.5-15% PEG-변형된 지질을 포함하는 적어도 하나의 지질 나노입자로 제형화된; SARs-CoV-2 S 단백질의 수용체-결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 오픈 리딩 프레임을 포함하는 단리된 메신저 리보핵산(mRNA) 폴리뉴클레오타이드를 포함하며, 여기서 단리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 자가 복제 RNA가 아닌, 면역원성 조성물.

[1264] 66. 구체예 63에 있어서, 폴리펩타이드는 완전한 S 단백질을 포함하지 않는, 면역원성 조성물.

[1265] 67. 구체예 63에 있어서, 폴리펩타이드는 SARs-CoV-2 S 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD)을 포함하는, 면역원성 조성물.

[1266] 68. 구체예 63에 있어서, 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 5를 포함하는, 면역원성 조성물.

[1267] 69. 구체예 63에 있어서, 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 29 또는 31을 포함하는, 면역원성 조성물.

[1268] 70. 구체예 63에 있어서, 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 3을 포함하는, 면역원성 조성물.

[1269] 71. 구체예 63에 있어서, 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 7을 포함하는, 면역원성 조성물.

[1270] 72. 구체예 63-71 중 어느 한 구체예에 있어서, 단리된 mRNA 폴리뉴클레오타이드는 5' 말단 캡, 7mG(5')ppp(5')N1mpNp를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

[1271] 73. 구체예 63-72 중 어느 한 구체예에 있어서, 오픈 리딩 프레임 내의 우라실의 적어도 80%는 N1-메틸-슈도우리딘 또는 N1-에틸-슈도우리딘으로부터 선택되는 화학적 변형을 갖는, 면역원성 조성물.

[1272] 74. 구체예 63-73 중 어느 한 구체예에 있어서, 화학적 변형은 우라실의 5-위치에 있는, 면역원성 조성물.

[1273] 75. 구체예 63-74 중 어느 한 구체예에 있어서, 백신접종된 대상체에서의 면역원성 조성물의 효능은 면역원성 조성물의 단일 용량 투여 후, 백신접종되지 않은 대상체에 비해 적어도 60%인 면역원성 조성물.

[1274] 76. 구체예 75에 있어서, 백신접종된 대상체에서의 면역원성 조성물의 효능은 면역원성 조성물의 단일 용량 투여 후, 백신접종되지 않은 대상체에 비해 적어도 70%인 면역원성 조성물.

[1275] 77. 구체예 75에 있어서, 백신접종된 대상체에서의 면역원성 조성물의 효능은 면역원성 조성물의 단일 용량 투여 후, 백신접종되지 않은 대상체에 비해 적어도 80%인 면역원성 조성물.

[1276] 78. 구체예 75에 있어서, 백신접종된 대상체에서의 면역원성 조성물의 효능은 면역원성 조성물의 단일 용량 투여 후, 백신접종되지 않은 대상체에 비해 적어도 90%인 면역원성 조성물.

[1277] 79. 구체예 63-78 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 적어도 1회 용량의 면역원성 조성물로 백신접종된 대상체의 혈청에서 투여 후 1-72시간에 측정시 SARS-CoV-2 S 단백질의 수용체-결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드의 검출가능한 수준을 생성하기에 충분한, 면역원성 조성물.

[1278] 80. 구체예 63-79 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 적어도 1회 용량의 면역원성 조성물로 백신접종된 대

상체의 혈청에서 투여 후 1-72시간에 측정시 SARS-CoV-2 S 단백질의 수용체-결합 부분을 포함하는 항원성 폴리펩타이드에 대한 항체를 중화함으로써 생성되는 1,000-10,000 중화 역가를 생성하기에 충분한, 면역원성 조성물.

[1279] 81. 구체예 80에 있어서, 1,000-10,000의 중화 역가는 SARS-CoV-2 관련 질환의 항체 의존적 증강(ADE)의 부재하에 생성되는, 면역원성 조성물.

[1280] 82. 구체예 63-81 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 면역원성 조성물 관련 호흡기 강화 질환(ERD)을 유발하지 않는 면역원성 조성물.

[1281] 83. 구체예 63-82 중 어느 한 구체예에 있어서 중 어느 일 구체예에 있어서, 유효량은 SARS-CoV-2 바이러스로 감염된 후 대상체의 폐 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양을, SARS-CoV-2 바이러스에 감염된 후 백신을 접종하지 않은 대상체의 폐 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양에 비해 감소시키는, 면역원성 조성물.

[1282] 84. 구체예 63-82 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 SARS-CoV-2 바이러스로 감염된지 적어도 3일 후 대상체의 폐 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양을, SARS-CoV-2 바이러스 감염된지 3일 후 대상체의 폐 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양에 비해 감소시키는, 면역원성 조성물.

[1283] 85. 구체예 63-82 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 SARS-CoV-2 바이러스로 감염된 후 대상체의 비강 면봉 샘플 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양을, SARS-CoV-2 바이러스에 감염된 후 백신을 접종하지 않은 대상체의 비강 면봉 샘플 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양에 비해 감소시키는, 면역원성 조성물.

[1284] 86. 구체예 63-82 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 SARS-CoV-2 바이러스로 감염된지 3일 후 대상체의 비강 면봉 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양을, SARS-CoV-2 바이러스 감염된지 1일 후 대상체의 비강 면봉 내의 SARS-CoV-2 바이러스 RNA의 양에 비해 증가시키지 않는, 면역원성 조성물.

[1285] 87. 구체예 63-87 중 어느 한 구체예에 있어서, 적어도 1회 용량의 면역원성 조성물로 백신접종된 대상체에서 생성된 항-SARS-CoV-2 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 1 log 증가되고, 여기서 대조군은 SARS-CoV-2에 대한 면역원성 조성물을 투여받지 않은 대상체에서 생성된 항-SARS-CoV-2 항체 역가인, 면역원성 조성물.

[1286] 88. 구체예 63-87 중 어느 한 구체예에 있어서, 적어도 1회 용량의 면역원성 조성물로 백신접종된 대상체에서 생성된 항-SARS-CoV-2 항체 역가는 대조군에 비해 적어도 2배 증가되고, 여기서 대조군은 SARS-CoV-2에 대한 면역원성 조성물을 투여받지 않은 대상체에서 생성된 항-SARS-CoV-2 항체 역가인, 면역원성 조성물.

[1287] 89. 구체예 63-88 중 어느 한 구체예에 있어서, 유효량은 2 μg-100 μg의 총 용량인, 면역원성 조성물.

[1288] 90. 구체예 89에 있어서, 유효량은 100 μg의 총 용량인, 면역원성 조성물.

[1289] 91. 구체예 89에 있어서, 유효량은 20 μg-50 μg의 총 용량인, 면역원성 조성물.

[1290] 92. 구체예 89에 있어서, 유효량은10 μg-30 μg의 총 용량인, 면역원성 조성물.

[1291] 93. 구체예 89에 있어서, 유효량은 10 μg의 총 용량인, 면역원성 조성물.

[1292] 94. 구체예 89에 있어서, 유효량은 20 μg의 총 용량인, 면역원성 조성물.

[1293] 95. 구체예 89에 있어서, 유효량은 30 μg의 총 용량인, 면역원성 조성물.

[1294] 96. 구체예 63-95 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물은 단일-용량 바이알로 제형화된, 면역원성 조성물.

[1295] 97. 구체예 63-95 중 어느 한 구체예에 있어서, 조성물은 다회-용량 바이알로 제형화된, 면역원성 조성물.

[1296] 98. 구체예 63-97 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체에 대한 면역원성 조성물의 유효량의 근육내 투여는 대상체에서 중화 항체 역가를 유도하는, 면역원성 조성물.

[1297] 99. 구체예 98에 있어서, 중화 항체 역가는 백신접종되지 않은 대조군 대상체의 중화 항체 역가 또는 약독화 바이러스 생백신, 비활성화 바이러스 백신 또는 단백질 서브유닛 바이러스 백신으로 백신접종된 대상체의 중화 항체 역가에 비해, B 세포의 바이러스 감염을 적어도 50% 감소시키기에 충분한, 면역원성 조성물.

[1298] 100. 구체예 98 또는 99에 있어서, 중화 항체 역가는 면역원성 조성물의 3회 용량 미만 투여 후 대상체에서 유도되는, 면역원성 조성물.

[1299] 101. 구체예 98-100 중 어느 한 구체예에 있어서, 중화 항체 역가 및/또는 T 세포 면역 반응은 백신접종되지 않

은 대조군 대상체의 중화 항체 역가에 비해 무증상 바이러스 감염 비율을 감소시키는데 충분한, 면역원성 조성물.

[1300] 102. 구체예 98-101 중 어느 한 구체예에 있어서, 중화 항체 역가 및/또는 T 세포 면역 반응은 대상체에서 바이러스 잠복기를 예방하는데 충분한, 면역원성 조성물.

[1301] 103. 구체예 98-102 중 어느 한 구체예에 있어서, 중화 항체 역가는 대상체의 상피 세포 및/또는 B 세포와 바이러스의 융합을 차단하는데 충분한, 면역원성 조성물.

[1302] 104. 구체예 63-103 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체에게 유효량의 면역원성 조성물의 근육내 투여는 대상체에서 T 세포 면역 반응을 유도하는, 면역원성 조성물.

[1303] 105. 구체예 104 중 어느 한 구체예에 있어서, T 세포 면역 반응은 $CD4^+$ T 세포 면역 반응 및/또는 $CD8^+$ T 세포 면역 반응을 포함하는, 면역원성 조성물.

[1304] 107. 구체예 63-106 중 어느 일 구체예의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 면역원성 조성물은 대상체에서 면역 반응을 유도하는데 효과적인 양으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[1305] 108. 구체예 107에 있어서, 면역 반응은 SEQ ID NO: 5와 비교하여 RBD에 돌연변이가 있는 SARs-CoV-2 바이러스에 대해 유도되는, 방법.

[1306] 109. 구체예 107에 있어서, 면역 반응은 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에 돌연변이를 갖는 SARs-CoV-2 바이러스에 대해 유도되는, 방법.

[1307] 110. 구체예 108 또는 109에 있어서, 면역 반응은 SEQ ID NO: 1과 비교하여 RBD에서 하기 돌연변이 중 어느 하나를 것인, 방법: Q321L, V341I, A348T, N354D, S359N, V367F, K378R, R408I, Q409E, A435S, N439K, K458R, I472V, G476S, S477N, V483A, Y508H, 및 H519P.

[1308] 111. 구체예 109에 있어서, 면역 반응은 SEQ ID NO: 1과 비교하여 스파이크 단백질에서 D614G 돌연변이를 갖는 SARs-CoV-2 바이러스에 대해 유도되는, 방법.

[1309] 112. 구체예 107에 있어서, 대상체에 면역원성 조성물을 매년 투여하는, 방법.

[1310] 113. (다가)양이온성 폴리머, 폴리플렉스(들), 단백질(들) 또는 펩타이드(들)에 의해 선택적으로 복합화된 RNA로서, 상기 RNA는:(a) SARS-CoV-2 S 단백질의 수용체-결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 오픈 리딩 프레임을 포함하고; (b) 폴리펩타이드의 세포내 발현에 적합한 것인, RNA.

[1311] 114. 구체예 113에 있어서, 폴리펩타이드는 완전한 S 단백질을 포함하지 않는 것인, RNA.

[1312] 115. 구체예 113 또는 114 중 어느 한 구체예에 있어서, RNA는 5' 말단 캡, 7mG(5')ppp(5')N1mpNp를 추가로 포함하는, RNA.

[1313] 116. 구체예 113-115 중 어느 한 구체예에 있어서, 오픈 리딩 프레임 내의 우라실의 적어도 80%는 N1-메틸-슈도우리딘 또는 N1-에틸-슈도우리딘으로부터 선택된 화학적 변형을 갖는, RNA.

[1314] 117. 구체예 113-116 중 어느 한 구체예에 있어서, 화학적 변형은 우라실의 5-위치에 있는, RNA.

[1315] 118. 구체예 113-117 중 어느 한 구체예에 있어서, 인간에서 면역 반응을 유도하거나 인간을 백신접종하는데 사용하기 위한, RNA.

[1316] 119. 구체예 118에 있어서, 인간은 SARS-CoV-2에 노출된 것으로 알려진 인간을 포함하는 것인, RNA.

[1317] 120. 구체예 118에 있어서, 인간은 SARS-CoV-2에 감염된 것으로 알려진 인간을 포함하는 것인, RNA.

[1318] 121. 구체예 118에 있어서, 인간은 SARS-CoV-2에 노출된 것으로 알려지지 않은 인간을 포함하는 것인, RNA.

[1319] 122. 인간을 백신접종하는데 사용하기 위한, 구체예 113-117 중 어느 한 구체예에 있어서 중 어느 한 구체예의 RNA의 용도.

[1320] 123. 구체예 122에 있어서, 인간은 SARS-CoV-2에 노출된 것으로 알려진 인간을 포함하는, 용도.

[1321] 124. 구체예 122에 있어서, 인간은 SARS-CoV-2에 감염된 것으로 알려진 인간을 포함하는, 용도.

[1322] 125. 구체예 122에 있어서, 인간은 SARS-CoV-2에 노출된 것으로 알려지지 않은 인간을 포함하는, 용도.

[1323] 126. 구체예 63-106 중 어느 한 구체예의 면역원성 조성물을 포함하는 단일-용량 제형.

[1324] 127. 구체예 63-106 중 어느 한 구체예의 면역원성 조성물을 하나의 바이알에 포함하는 다회-용량 제형.

[1325] 128. 구체예 126에 있어서, 바이알 당 적어도 2회 용량을 포함하는, 제형.

[1326] 129. 구체예 126에 있어서, 바이알 당 2-12회 용량을 포함하는, 제형.

[1327] 130. 구체예 126-129 중 어느 한 구체예에 있어서, 각 용량은 동일한 부피인, 제형.

[1328] 131. 구체예 126-130 중 어느 한 구체예에 있어서, 각 제형은 바이알에 1-3 mL의 총 용량을 포함하는, 제형.

[1329] 132. 구체예 126-131 중 어느 한 구체예에 있어서, 면역원성 조성물이 동결된, 제형.

[1330] 133. 구체예 63-106 중 어느 한 구체예의 면역원성 조성물을 포함하는, 사전-충전된 백신 전달 장치.

[1331] 본원에 참조된 문서 및 연구의 인용이 곧 이들이 적절한 선행 기술임을 인정하는 것으로 의도되는 것은 아니다. 이들 문서의 내용에 대한 모든 진술은 출원인이에게 입수가능한 정보를 기반으로 하며 이들 문서 내용이 정확하다고 인정하는 것이 아니다.

[1332] 다음 설명은 당업자가 다양한 구체예를 만들고 사용할 수 있도록 제공된다. 특정 장치, 기술 및 응용 프로그램에 대한 설명은 예제로만 제공된다. 본 명세서에 기재된 실시예에 대한 다양한 수정은 당업자에게 용이하게 명백할 것이며, 본 명세서에 정의된 일반적인 원리는 다양한 실시예의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다른 구체예 및 응용에 적용될 수 있다. 따라서, 다양한 구체예는 본 명세서에 기술되고 도시된 실시예에 국한되도록 의도되는 것이 아니며 청구범위와 일치하는 범위를 인정받아야 한다.

[1333] **실시예**

[1334] **실시예 1: 인플루엔자 헤마글루티닌(HA)을 모델 항원으로 사용하는 생체내 면역원성**

[1335] 본원에 기술된 코로나바이러스 백신에 사용되는 RNA 플랫폼의 효능은 인플루엔자 HA를 모델 항원으로 사용하여 광범위한 면역원성 및 바이러스 챌린지 연구를 수행하여 테스트되었다. 이 연구에서는 항원 특이적 효소-결합 면역흡착 분석법(ELISA) 테스트로 결정된 항체 반응의 유도와 바이러스 중화(VNT) 분석법을 적용한 기능적 연구를 조사하였다. 한 연구에서는 인플루엔자 HA를 인코딩하는 modRNA-LNP 백신을 사용하여 LNP 제형의 효능을 평가하였다. LNP-제형화된 인플루엔자 HA modRNA 1㎍을 제0일 및 제28일에 마우스에 IM 주사하였다. 14일, 28일 및 49일에 혈액 샘플을 채취하여 면역원성을 테스트하였다. 분석 결과 높은 항체 면역 반응이 나타났고, 그 결과 혈청 내 항원-특이적 IgG 역가가 매우 높고 바이러스 중화 활성이 높았다(도 3). 또한, 강력한 Th1 CD4 및 CD8 T 세포 반응(도 4)이 modRNA 백신에 의해 유도되었다.

[1336] **실시예 2: 코로나바이러스 백신 후보에 대한 면역원성 연구**

[1337] 다음 표에 제시된 백신 후보의 면역원성을 테스트하기 위해 1차 약력학 연구를 BALB/c 마우스에서 수행하였다.

표 2: 백신 후보

백신	mRNA 유형	백신 암호화 항원
BNT162a1	uRNA	RBD(수용체 또는 결합 도메인)
BNT162b1	modRNA	SARS-CoV-2 스파이크 단백질(S 단백질)의 RBD(수용체 결합 도메인)
BNT162b2	modRNA	SARS-CoV-2 스파이크 단백질(S 단백질)의 변형 버전
BNT162c1	saRNA	SARS-CoV-2 스파이크 단백질(S 단백질)의 RBD(수용체 결합 도메인)

[1338]

[1339] 따라서, 알 수 있는 바와 같이, 다수의 형식의 구체예가 병렬로 평가되었다. 이 기술된 접근 방식 및 시스템은

놀랍고 효율적인 성공을 달성하여 항원(예컨대 SARS-CoV-2 S1 단백질 및/또는 이의 RBD) 서열(본원에 설명된 바와 같이, 관련 서열 정보(예컨대 GenBank: MN908947.3)가 2020년 1월에 이용가능하게 되었음) 제공 수개월 이내에 효과적인 임상 후보를 개발할 수 있었다.

[1340] 이 연구에서는, 각각 8마리의 암컷 BALB/c 마우스로 이루어진 4개의 그룹을 3가지 상이한 투여량의 동물 시험 물질 또는 완충액 (대조군; 표 4 참조)으로 1회 면역화하였다. 임상 시험 물질은 염수에 희석할 것인 반면, 동물 시험 물질은 300 mM 수크로스를 포함하는 PBS에 희석하였다. 이것은 물질 자체의 저장 완충액이기 때문에 시험 항목은 계획된 임상 시험에 사용될 백신을 대표한다. 면역화는 20 ㎕의 부피 용량을 사용하여 IM으로 주어졌다.

표 3: 연구 설계

그룹 번호	동물 수	백신 용량	백신접종일	투여량 [μL] / 경로	채혈일	수명 단계 종료
1	8	완충	0	20 / IM	7, 14, 21	28
2	8	저	0	20 / IM	7, 14, 21	28
삼	8	중	0	20 / IM	7, 14, 21	28
4	8	고	0	20 / IM	7, 14, 21	28

[1341]

[1342] 면역화된 동물의 혈액을 7, 14, 21 및 28일에 수집하고 ELISA 및 슈도바이러스-기반 중화 검정 (pVNT)에 의해 항체 면역 반응을 분석하였다. 재조합 S1 서브유닛 또는 RBD에 대한 SARS-CoV-2-S 특이적 항체 반응은 ELISA에 의해 검출되었다. 간단히, 고단백질-결합 96-웰 플레이트 (MaxiSorp ELISA 플레이트, VWR International GmbH, Cat. No. 7341284)를, 4℃에서 밤새 100 ㎕ 코팅 완충액 (50 mM 탄산-중탄산 나트륨 완충액, pH 9.6)에서 웰당 100 ng 재조합 S1 서브유닛 (Sino Biological Inc., Cat. No. 40591-V08H) 또는 RBD (Sino Biological Inc., Cat. No. 40592-V02H)로 코팅하였다. 플레이트를 0.01% Tween 20 (Carl Roth GmbH & Co. KG, Cat. No. 9127.1)로 보충된 300 ㎕/웰 1x 인산염 완충 염수 (PBS, VWR International GmbH, Cat. No. 0780-10L)로 3회 세척하였고 250 ㎕/웰 1x 카제인 블로킹 완충액 (Sigma-Aldrich GmbH, Cat No. B6429-500ml)으로 1시간 동안 37℃에서 마이크로플레이트 진탕기에서 블로킹하였다. 플레이트를 다시 0.01% Tween 20으로 보충된 300 ㎕/웰 1x PBS로 3회 세척하고 마이크로플레이트 진탕기에서 37℃에서 1시간 동안 1x 카제인 블로킹 완충액에 희석된 마우스 혈청 샘플과 함께 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.01% Tween 20로 보충된 300 ㎕/웰 1x PBS로 3회 세척한 다음, 마이크로플레이트 진탕기에서 37℃에서 45분 동안 퍼옥시다제-접합 고트 항-마우스 2차 항체 (Jackson ImmunoResearch Ltd., Cat. No. 115-036-071; 1x 카제인 블로킹 완충액에서 1: 7500 희석)로 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.01% Tween 20로 보충된 300 ㎕/웰 1x PBS로 3회 세척하고 100 ㎕/웰 TMB 기질 (Biotrend Chemiekalien GmbH, Cat. No. 4380A)을 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 8분 동안 인큐베이션하고 100 ㎕ 25% 황산 (VWR International GmbH, Cat. No. 1007161000)을 첨가하여 반응을 중단시켰다. 플레이트를 마이크로플레이트 리더에서 판독하고 450 nm에서의 기록된 흡광도를 620 nM에서 기준 흡광도를 빼 보정하였다.

[1343] 백신 후보에 대한 기능적 항체 반응은 pVNT에 의해 검출되었다. pVNT는, VSV 엔벨로프 당단백질 G에 대한 유전 정보를 결여하지만 녹색 형광 단백질 (GFP)에 대한 오픈 리딩 프레임 (ORF)을 포함하는 복제-결핍 수포성 구내염 바이러스 (VSV)를 사용한다. VSV/SARS-CoV-2 슈도바이러스는 공지의 프로토콜 (Hoffmann et al., Cell, 2020; PMID 32142651)에 따라 생성되었다. 수도유형 바이러스는, 세포 진입을 매개하는 SARS-CoV-2 S 단백질을 보유한다. 따라서 슈도바이러스는 SARS-CoV-2 S에 결합하는 항체를 중화함에 의하여 불활성화될 수 있다. 이러한 불활성화는 시험관 내 방법을 통해 분석될 수 있다.

[1344] 간단히, 웰당 $4x10^4$개 Vero 76 세포 (ATCC® CRL-1587™)를 10% 태아 소 혈청 (FBS, Sigma-Aldrich GmbH, Cat. No. F7524)으로 보충된 150 ㎕/웰 DMEM (Thermo Fisher Scientific, Cat. No. 61965059)에서 96-웰 플레이트 (Greiner Bio-One GmbH, Cat. No. 655160)에 시딩하였다. 세포를 37℃ 및 7.5% CO_2에서 4 내지 6시간 동안 인큐베이션하였다. 한편, 마우스 혈청 샘플을, DMEM/10% FBS에서, 1:6에서 1:768까지 2배 희석 단계로 희석하였다. 희석된 혈청 샘플을 동량의 적정 및 사전 희석된 VSV/SARS CoV-2 슈도바이러스 상등액과 결합하여 1:12에서 1:1536 범위의 혈청 희석액을 생성하였다. 슈도바이러스/혈청 희석 혼합물을 750 rpm의 마이크로플레이트 셰이커에서 실온으로 5분간 인큐베이션하였고, 교반 없이 RT에서 추가로 5분간 인큐베이션하였다. 50 ㎕/

웰 슈도바이러스/혈청 희석 혼합물을 200 감염 단위 (IU)에 해당하는 웰당 슈도바이러스 부피를 적용하여 시딩된 Vero-76 세포에 첨가하였다. 혈청 샘플의 각 희석액은 이중 (duplicate) 웰로 테스트되었다. 세포를 37℃ 및 7.5% CO_2에서 16 내지 24시간 동안 인큐베이션하였다. 마우스 혈청 없이 슈도바이러스로 인큐베이션된 Vero 76 세포를 양성 대조군으로 사용하였다. 슈도바이러스 없이 인큐베이션된 Vero 76 세포를 음성 대조군으로 사용하였다. 인큐베이션 후 세포 배양 플레이트를 인큐베이터에서 꺼내 IncuCyte Live Cell Analysis 시스템 (Essen Bioscience)에 넣고 분석 전에 30분 동안 인큐베이션하였다. 명시야 및 GFP 형광에 대한 전체 웰 스캐닝은 4x 대물렌즈를 사용하여 수행되었다. 중화 역가를 계산하기 위해, 웰당 감염된 GFP-양성 세포 수를 슈도바이러스 양성 대조군과 비교하였다. 슈도바이러스 양성 대조군의 평균값에 0.5를 곱한 값이 슈도바이러스 중화 50% (pVN50)를 나타낸다. 이 컷오프 아래의 평균값을 가진 혈청 샘플은 각각 >50% 바이러스 중화 활성을 나타낸다.

[1345] **BNT162a1 (RBL063.3)의 면역원성 연구**

[1346] BNT162a1을 코딩하는 LNP-제형화 uRNA 백신의 효능을 분석하기 위해, BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 바와 같이 1회 IM 면역화하였다. 항체 면역 반응에 초점을 맞추어 RNA 백신의 면역원성을 조사할 것이다.

[1347] 첫 번째 면역화 후 7, 14, 21 및 28일의 ELISA 데이터는 S1 단백질 및 수용체 결합 도메인에 대한 초기의, 용량-의존적 면역 활성화를 보여준다 (도 5).

[1348] **BNT162b1 (RBP020.3)의 면역원성 연구**

[1349] BNT162b1을 코딩하는 LNP-제형화 modRNA 백신의 효능을 분석하기 위해 BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 바와 같이 1회 IM 면역화하였다. 항체 면역 반응에 초점을 맞추어 RNA 백신의 면역원성을 조사할 것이다.

[1350] 첫 번째 면역화 후 7, 14, 21 및 28일의 ELISA 데이터는 S1 단백질 및 수용체 결합 도메인에 대한 초기의, 용량-의존적 면역 활성화를 보여준다 (도 6). 면역화 후 14, 21, 28일에 얻은 혈청이 높은 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화율을 보이며, 특히 1 또는 5 μg BNT162b1으로 면역화한 마우스의 혈청이 그러하고, IgG 항체 역가의 강력한 증가와 관련이 있다 (도 7).

[1351] **BNT162c1 (RBS004.3)의 면역원성 연구**

[1352] BNT162c1을 코딩하는 LNP-제형화 saRNA 백신의 효능을 분석하기 위해 BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 바와 같이 1회 IM 면역화하였다. 항체 면역 반응에 초점을 맞추어 RNA 백신의 면역원성을 조사할 것이다.

[1353] 첫 번째 면역화 후 7, 14 및 21일의 ELISA 데이터는 S1 단백질 및 수용체 결합 도메인에 대한 초기의, 용량-의존적 면역 활성화를 보여준다 (도 8). 면역화 후 14 및 21일에 얻은 혈청이 높은 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화 활성을 보인다 (도 9).

[1354] **바이러스 S 단백질-V8(SEQ ID NO: 7, 8)(RBL063.1)을 인코딩하는 LNP-제형화 uRNA의 면역원성 연구**

[1355] 바이러스 S 단백질-V8 (RBL063.1)을 코딩하는 LNP-제형화 uRNA 백신의 효능을 분석하기 위해 BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 바와 같이 1회 IM 면역화하였다. 항체 면역 반응에 초점을 맞추어 RNA 백신의 면역원성을 조사할 것이다.

[1356] 첫 번째 면역화 후 7, 14, 21 및 28일의 ELISA 데이터는 S1 단백질 및 수용체 결합 도메인에 대한 초기의, 용량-의존적 면역 활성화를 보여준다 (도 10). 면역화 후 14, 21, 28일에 얻은 혈청이 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화 활성을 보인다 (도 11).

[1357] **BNT162b2 (RBP020.1)의 면역원성 연구**

[1358] 백신 BNT162b2 (RBP020.1)의 효능을 분석하기 위해 작제물의 면역원성을 조사하였다. 이를 위해, 항체 면역 반응에 초점을 맞추어 면역 반응을 분석할 BALB/c 마우스에서 용량 적정 연구가 시작되었다.

[1359] 첫 번째 면역화 후 7, 14 및 21일의 ELISA 데이터는 S1 단백질 및 수용체 결합 도메인에 대한 초기의, 용량-의존적 면역 활성화를 보여준다 (도 12). 면역화 후 14 및 21일에 얻은 혈청은 용량-의존적 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화 활성을 보인다 (도 13).

[1360] **바이러스 S 단백질-V9 (SEQ ID NO: 7, 9)(RBS004.2)를 인코딩하는 LNP-제형화 saRNA의 면역원성 연구**

[1361] V9를 코딩하는 LNP-제형화 saRNA 백신의 효능을 분석하기 위해, BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 바와 같이 1회 IM 면역화하였다. 항체 면역 반응에 초점을 맞추어 RNA 백신의 면역원성을 조사할 것이다.

[1362] S1 단백질 및 수용체 결합 도메인에 대한 초기의, 용량-의존적 면역 활성화를 보여주는, 첫 번째 면역화 후 7, 14 및 21일의 ELISA 데이터가 이용 가능하다 (도 14). 면역화 후 14 및 21일에 얻은 혈청은 용량-의존적 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화 활성을 보여준다 (도 15).

[1363] 상기 데이터는, 테스트된 모든 플랫폼 (백신 BNT162a1, BNT162b1, BNT162b2 및 BNT162c1 포함)에서 삼량체화 도메인 ("V5")을 갖는 RBD 및 돌연변이된 전장 S 단백질 ("V8"/"V9") 양자 모두에 대한 생체내 면역 반응을 입증한다. 항체 면역 반응은 ELISA에 의해 매우 초기 시점 (즉, 면역화 후 7일)에 이미 나타났다. 중요한 것은, 유도된 항체가 시험관 내에서 SARS-CoV-2 슈도바이러스 감염을 효율적으로 중화할 수 있었다는 것이다. 또한, modRNA 플랫폼 (BNT162b1, BNT162b2) 뿐 아니라 saRNA 플랫폼 (BNT162c1)을 사용할 때 0.2 μg/마우스의 매우 낮은 면역화 용량을 사용하여 항체 반응을 유도하는 것은 백신 후보의 높은 효능을 나타낸다.

[1364] 마우스에서 BNT162b2는, 동일한 RNA 플랫폼으로 인코딩된 BNT162b1과 비교하여, 더 높은 항원-특이적 역가를 유도하였다. 예상대로, 항원에 대한 마우스의 면역원성은 RNA 플랫폼 간에 상이하다. 마우스에서, 항원-특이적 항체 유도에 기초한 가장 면역원성인 플랫폼은 modRNA이고, 그 다음이 saRNA이다. uRNA 플랫폼은 가장 낮은 항원 특이적 항체 역가를 유도한다.

[1365] **실시예 3: 제형 선택**

[1366] 생체내 국소 투여 후 치료용 핵산을 다양한 세포 유형의 세포질로 효과적이고 안전하게 전달하기 위해 LNP 전달 시스템이 일반적으로 개발되었다. 초기 제형화 작업은 몇 가지 유망한 LNP 제형 및 루시퍼라제를 코딩하는 대리 RNA로 수행되었다. 실험의 목적은 생체 내에서 LNP에 의한 RNA 전달의 효능에 대한 여러 이온화 가능한 양이온성 지질의 효과를 상호 연관시키는 것이었다. 제형은 RNA 캡슐화 효율, 겉보기 pKa, LNP 크기 및 다분산성 측면에서 비교되었다.

[1367] 스크리닝된 양이온성 지질 중에서 ALC-0315가 입자 크기, 균질성 및 RNA 캡슐화 효율과 관련하여 적절한 물리적 특성을 나타내었다.

[1368] 이를 기반으로 ALC-0315/DSPC/CHOL/ALC-0159 프로토타입이 생체 내 스크리닝을 위해 제출되었다. 도 16에 제시된 결과는 루시퍼라제 (Luc) RNA를 사용한 두 개의 독립적인 파일럿 배치의 생체 내 테스트를 요약한 것이다. 결과는 내부 벤치마크 (ALC-0218)와 비교하여 ALC-0315 프로토타입의 향상된 효능을 보여준다. 이러한 연구를 바탕으로 ALC-0315는 매우 강력한 양이온성 지질로 확인되었으며 추가 제품 개발 연구를 위해 제시되었다.

[1369] 상기 기술된 제형 스크리닝 과정은 주로 간으로의 전달을 결과하는 정맥내 투여를 수반한다. 간세포로의 LNP 흡수 메커니즘은, 내인성 아포지단백이 LNP에 결합한 후 예를 들어 저밀도 지단백 수용체를 통한 수용체-매개 내포작용에 의해 구동된다. 동일한 메커니즘이 근육내 투여에 관여하는지 여부를 조사하기 위해, ALC-0315를 포함하는 LNP를 포함하는 Luc RNA를, 재조합 인간 ApoE3의 존재 또는 부재하에 ApoE 녹아웃 마우스에게 정맥내 (0.3 mg/kg) 및 근육내 (0.2 mg/kg) 주사하였다. 대조군으로서, 야생형 C57B1/6 마우스도 상이한 투여 경로들로 처리하였다. RNA-LNP는 투여 전에 실온 (RT)에서 1시간 동안 재조합 인간 ApoE3 와 사전 인큐베이션되었다 (1 mg ApoE3와 함께 1 mg 캡슐화된 mRNA). Luc 발현을 투여 후 4, 24, 72 및 96시간에 모니터링하였다 (도 17).

[1370] 마우스에 정맥내 투여했을 때, 야생형 C57B1/6 마우스에서 Luc 발현이 검출되었다. ApoE 녹아웃 마우스에서 Luc 발현은 상당히 감소되었지만, 외인성 ApoE와 사전 인큐베이션되었을 때 Luc 발현은 야생형 마우스와 유사한 발현 수준으로 회복되었다 (도 18).

[1371] 마우스 모델을 이용한 생체내 Luc 발현 실험은, 근육내 투여의 경우 정맥내 투여에서와 유사한 메커니즘이 RNA-LNP의 흡수에 관여한다는 것을 보여주었고, 이는 간세포뿐만 아니라 투여 부위에 국소적인 세포에 대해서도 사실이다.

[1372] 최종 ALC-0315/DSPC/CHOL/ALC-0159의 근육내 투여 후 생체내 실험에서 생체분포, 면역원성 (백신 활성) 및 내약성과 관련하여 최소 배액 (drainage)이 확인되었다.

[1373] **실시예 4: 코로나바이러스 백신 후보에 대한 면역원성 연구**

[1374] 백신 후보에 대한 기능적 세포 면역 반응은 IFN-γ ELISpotPLUS 키트(Mabtech, Cat. No. 3321-4APT-2)를 사용하는 ELISpot 분석에 의해 검출되었다. 간단히 말해서, 백신접종 후 28일째 동물을 희생시켜 비장을 제거하였다. 비장은 주사기의 플런저와 70 μM 세포 여과기(Greiner Bio-One GmbH, Cat. No. 542070)를 사용하여 기계적으로 분리되었다. 비장 세포를 과량의 DPBS(Thermo Fisher Scientific, Cat. No. 14190-094)로 세척한 다음 실온에서 6분 동안 300 x g에서 원심분리하고 상층액을 버린다. 이어서 적혈구를 적혈구 용해 완충액

(154mM NH_4Cl, 10 mM $KHCO_3$, 0.1 mM EDTA)으로 실온에서 5분 동안 용해시켰다. 과량의 DPBS로 반응을 정지시켰다. 또 다른 세척 단계 후, 세포를 10% FBS, 1% MEM 비필수 아미노산 용액(Gibco, Cat. No. 11140-035), 1% 피루브산나트륨(Gibco, Cat. No. 11360-039), 0.5% 페니실린/스트렙토마이신(Gibco, Cat. No. 15140-122)이 보충된 RPMI 1640 배지(Gibco, Cat. no. 61870-010)에 재현탁하고, 다시 70μm 셀 메쉬를 통과시킨 다음 계수하였다. 제조업체의 지침에 따라 CD8a 또는 CD4 MACS® MicroBeads(Miltenyi Biotec, Cat. No. 130-117-044 및 130-117-043)를 사용하여 비장 세포 현탁액으로부터 CD8+ 또는 CD4+ T 세포를 분리하였다. 동시에, 96-웰 ELISpot 플레이트를 PBS로 세척하고 배지(10% FBS, 1% MEM 비필수 아미노산 용액, 1% 피루브산나트륨, 0.5% 페니실린/스트렙토마이신 배지가 보충된 RPMI 1640 배지)로 적어도 37℃에서 30분간 차단하였다. 이어서 IFN-γ ELISpot 분석으로 100μL 배지 중 1 X 10^5 CD8+ 또는 CD4+ T 세포를, 50μL의 펩타이드 용액(무관한 대조군 펩타이드 AH1(2μg/mL; 서열: SPSYVYHQF), PepMix™ SARS-CoV-2 S-RBD(0.025μg/mL 펩타이드, JPT, 맞춤형) 또는 PepMix™ SARS-CoV-2 스파이크 당단백질(0.1μg/mL 펩타이드, JPT, Cat. No. PM-WCPV-S-2) 및 자가 골수-유래 수지상 세포 50μL의 골수 유래 수지상 세포를 첨가함으로써 재자극하였다. 각 조건은 이중으로 테스트되었다. 플레이트를 5% CO_2가 있는 37℃ 가습 배양기에서 밤새 배양하고 약 18시간 후에 세포를 플레이트에서 제거하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 IFN-γ 스팟을 검출하였다. 층류 하에 2-3시간 동안 플레이트를 건조시킨 후 ELISpot 플레이트 판독기(ImmunoSpot® S6 Core Analyzer, CTL)를 사용하여 웰당 스팟 수를 세고 분석하였다.

[1375] ELISpot 분석 외에도 검출된 T 세포 반응의 T_H1 또는 T_H2 특성에 대한 정보를 위해 Luminex 분석을 수행하였다. 10% FBS, 1% MEM 비필수 아미노산 용액, 1% 피루브산 나트륨, 0.5% 페니실린/스트렙토마이신 배지가 보충된 100μL RPMI 1640 배지내의 5 x 10^5 비장 세포를 96-웰 평평한 바닥 세포 배양 플레이트로 옮겼다. 100μL의 무관한 대조군 펩타이드 AH1(2μg/mL; 서열: SPSYVYHQF) 또는 PepMix™ SARS-CoV-2 스파이크 당단백질(0.1μg/mL 펩타이드; JPT, Cat. No. PM-WCPV-S-2)을 추가하였다. 플레이트를 48시간 동안 인큐베이션한 후 사이토카인 프로파일링을 위해 상청액을 수확하였다. 제조업체의 지침에 따라 비드 기반 T_H1/T_H2 ProcartaPlex 면역분석법(Thermo Fisher Scientific, Cat. No. EPX110-20820-901)을 사용하여 재자극된 비장 세포의 상청액에서 사이토카인 농도를 구하였다. 형광은 Bioplex200 System(Biorad)으로 측정하고 ProcartaPlex Analyst 1.0 소프트웨어(Thermo Fisher Scientific)로 분석하였다. 다음 분석물이 측정되었다: IFN-γ; IL-12p70; IL-13; IL-1 beta; IL-2; IL-4; IL-5; IL-6; TNF alpha; GM-CSF; IL-18.

[1376] 면역 표현형 분석을 위해 유동 세포 계측법 분석을 수행하였다. 간략하게, 50 μL의 갓 채취한 혈액에서 적혈구를 ACK 용해 완충액(Gibco)으로 용해하고 세포를 2% FCS, 2mM EDTA(모두 Sigma) 및 0.01% 아지드화나트륨(Morphisto)이 보충된 유동 완충액(DPBS(Gibco)) 내 Fc 블록(둘 다 BD Bioscience)의 존재 하에 고정 가능한 생존능 염료(eBioscience) 및 항-CXCR5(랫트 IgG2a) 항체로 실온에서 20분 동안 염색하였다. 유동 완충액 중 항-래트 IgG2a 바이오틴으로 2-8℃에서 20분간 염색한 후, 세포를 유동 완충액에 희석된 Brilliant Stain Buffer Plus (BD Bioscience) 중 스트렙타비딘 및 CD3, CD4, CD8α, CD38, CD44, PD-1, ICOS, CD62L, CXCR5, CD19에 대한 항체로 2-8℃에서 20분간 세포외 염색하였다. 세포를실온에서 15분 동안 2% RotiHistofix(Roth)로 고정하였다. 세포를 Perm 완충액(FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set, eBioscience)에 재현탁하고 2-8℃에서 밤새 배양하였다. 침투된 세포를 2-8℃에서 10분 동안 Fc 블록으로 세포내 처리하고 T-bet 및 GATA(BD Bioscience) 항체로 2-8℃에서 30분간 염색하였다. 세포를 유동 완충액에 재현탁하고 BD Symphony A3 유세포 분석기(BD Bioscience)에서 획득하고 FlowJo 10.6.2로 분석하였다.

[1377] 배액 림프절에서 마우스 B 세포 아형 분석을 위해 2.5x10^5 림프절 세포를 15분 동안 Fc 블록으로 처리하고 Brilliant Stain Buffer (BD Bioscience)에서 CD19, CD45R/B220, IgD, CD138, IgM, CD38, CD95/FAS, IgG1, IgG2a, CD73, GR-1, F4/80, CD4, CD8에 대한 항체로 20분간 2-8℃에서 염색하였다. 세포를 2% RotiHistofix로 고정하고 2-8℃에서 밤새 배양하였다.

[1378] **BNT162b1(RBP020.3)의 면역원성 연구**

[1379] BNT162b1을 코딩하는 LNP-제형 modRNA 백신의 효능을 분석하기 위해 BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 대로 IM으로 한 번 면역화하였다. RNA 백신의 면역원성은 세포 면역 반응에 초점을 맞춰 조사하였다.

[1380] S 단백질- 또는 RBD-특이적 펩타이드 풀로 자극한 후(관련 없는 펩타이드 AH1로 자극한 후 아님), CD4+ 및 CD8+ T 세포 모두 IFN-γ ELISpot 분석에서 IFN-γ 반응을 나타냈다(도 22). Luminex 분석에서, 펩타이드 자극 후 사이토카인 생성이 T_H1에 의해 구동된 반응을 나타내는 분석물에 대해 확인되었다(도 23).

[1381] 면역화 7일 후 혈액의 면역표현형 분석 결과(도 24) 순환하는 T 소낭 헬퍼 세포(Tfh) 및 활성화된 T 세포가 유의하게 증가한 것으로 밝혀졌다. 면역화 후 12일째에, 면역화된 BALB/c 마우스로부터의 배액 림프절을 해부하고 B 세포 소집단 분석을 수행하였다(도 25). 검출가능한 수의 형질 세포, 클래스 전환된 B 세포 및 IgG1 또는 IgG2a 양성 배중심 B 세포가 있는 림프절에서 B 세포의 현저한 증가가 발견되었다. 혈액 및 배액 림프절 모두에서 적응 면역 반응의 활성화 및 성숙이 확인되었다.

[1382] **바이러스 P2-S 단백질 V8(RBP020.1)을 인코딩하는 LNP-제형화 modRNA의 면역원성 연구**

[1383] RBP020.1을 코딩하는 LNP-제형화 modRNA 백신의 효능을 분석하기 위해, BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 바와 같이 1회 IM 면역화하였다. RNA 백신의 면역원성을 세포 면역 반응에 초점을 맞추어 조사하였다.

[1384] S 단백질 특이적 펩타이드 풀로 자극한 후(관련 없는 펩타이드 AH1로 자극한 후 아님), CD4+ 및 CD8+ T 세포 모두 IFN-γ ELISpot 검정에서 IFN-γ 반응을 나타냈다(도 26). Luminex 분석에서, 펩타이드 자극 후 사이토카인 생산이 T_H1-구동된 면역 반응을 나타내는 분석물에 대해 확인되었다(도 27).

[1385] **바이러스 P2-S 단백질 V9(RBS004.2)를 인코딩하는 LNP-제형 saRNA의 면역원성 연구**

[1386] RBS004.2를 코딩하는 LNP-제형 saRNA 백신의 효능을 분석하기 위해, BALB/c 마우스를 표 3에 요약된 바와 같이 1회 IM 면역화하였다. RNA 백신의 면역원성을 세포 면역 반응에 초점을 맞추어 조사하였다.

[1387] S 단백질 특이적 펩타이드 풀로 자극한 후(관련 없는 펩타이드 AH1로 자극한 후 아님), CD4+ 및 CD8+ T 세포 모두 IFN-γ ELISpot 검정에서 IFN-γ 반응을 나타냈다(도 28). Luminex 분석에서, 펩타이드 자극 후 사이토카인 생산이 T_H1-구동된 면역 반응을 나타내는 분석물에 대해 확인되었다(도 29).

[1388] **BNT162b3 변이체 BNT162b3c 및 BNT162b3d의 면역원성 연구**

[1389] 막관통-고정된 RBD 기반 백신 항원(도 30의 개략도; BNT162b3c(1) 및 BNT162b3d(2))의 잠재적 효능에 대한 아이디어를 얻기 위해, BALB/c 마우스를 4μg LNP-C12 제형화된 mRNA로 또는 또는 대조군으로서 완충액으로 1회 IM 면역화하였다. 비임상 LNP-C12 제형화된 mRNA를 BNT162b3 변이체 BNT162b3c 및 BNT162b3d에 대한 대용물로서 사용되었다. RNA 백신의 면역원성은 항체면역반응에 초점을 맞추어 조사하였다.

[1390] 1차 면역화 후 6, 14 및 21일에, ELISA 데이터는 S1 단백질 및 수용체 결합 도메인에 대한 초기 용량 의존적 면역 활성화를 보여준다(도 31). 면역화 후 6, 14 및 21일에 얻은 혈청은 높은 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화를 나타내며, 이는 IgG 항체 역가의 증가와 관련이 있다(도 32).

[1391] **실시예 5: 비인간 영장류(NHP)에서 코로나바이러스 백신 후보에 대한 면역원성 연구**

[1392] 그룹당 6마리의 붉은털원숭이를 0일과 21일에 30 또는 100μg의 BNT162b1 또는 완충액으로 IM 면역화시켰다. 1차 투여 후 14일까지 재조합 S1에 결합하는 항체가 쉽게 검출되었으며 S1-결합 항체의 수준은 28일까지 분석의 정량화 상한(10,000 U/mL)을 초과하였다. 비교를 위해, 증상 발병 후 얻은 62개의 인간 COVID-19 회복기 혈청의 S1-결합 항체를 분석하였다. 2개의 NHP 그룹에 걸친 모든 시점은 422 U/mL의 인간 COVID-19 회복기 혈청의 평균을 유의하게 초과하였다(도 33a). 어느 한 용량 수준의 BNT162b1로 면역화된 붉은털원숭이 혈청의 VNT 기하 평균 역가(GMT)는 단일 면역 후 14일까지 검출할 수 있었고 28일까지 기하 평균 768(30μg 용량 수준) 또는 1,714(100μg)에 도달하였다 (도 33b). 중화 GMT는 35일(부스트 후 14일)에 282(30μg) 및 975(100μg)였다(도 33b). 42일째에 S 펩타이드 혼합물로 자극된 혈액 샘플의 CD4+ T 세포에 대한 유세포 분석 결과 T_H1 사이토카인 s IFNγ, IL-2 및 TNFα의 상당한 분비가 밝혀졌다. 또한 IL-21 분비가 크게 증가하였다. IL-21은 Tfh 생성뿐만 아니라 B 세포 활성화, 확장 및 형질 세포 생성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이와 대조적으로, T_H2 사이토카인 IL-4의 유의한 양은 검출되지 않았다(도 33c). 요약하면 마우스에서 얻은 결과와 일치되게 BNT162b1은 T_H1 편향된 면역 반응과 함께 오는 초기 친화성 성숙으로 높은 항체 면역을 유도하였다.

[1393] 요약하면, 본 발명자들은 SARS-CoV-2 S 단백질의 삼량체 수용체 결합 도메인을 인코딩하는 메틸 뉴클레오사이드 m1Ψ 변형 mRNA가 비인간 영장류에서 보호적임을 입증하였다.

[1394] **실시예 6: 18~55세의 건강한 성인에서 COVID-19 RNA 백신 후보(BNT162b1)의 안전성, 내약성 및 면역원성을 설명하기 위한 1/2상 연구**

[1395] 본 발명자들은 삼량체화된 SARS-CoV-2 스파이크 당단백질 RBD 항원을 인코딩하는 지질 나노입자(LNP)-제형화된,

뉴클레오사이드 변형 mRNA 백신 후보 BNT162b1의 10㎍, 30㎍ 또는 100㎍ 중 2회 용량을 무작위 투여받은 건강한 성인을 대상으로 한 위약 대조, 관찰자 맹검 용량 증량 시험의 안전성, 내약성 및 면역원성을 보고한다. 국소 반응 및 전신 반응은 용량 의존적이었고 일반적으로 경증에서 중등도였으며 일시적이었다. RBD-결합 IgG 농도와 SARS-CoV-2 중화 역가는 용량 수준에 따라 그리고 2차 투여 후에 증가하였다. 기하 평균 중화 역가는 COVID-19 회복기 인간 혈청 패널의 1.8~2.8배에 달하였다.

[1396] 현재 임상적으로 시험 중인 BNT162b1 백신 후보는 뉴클레오사이드 1-메틸-슈도우리딘 변형된 RNA(modRNA)를 통합하고 중화 항체의 핵심 표적인 SARS-CoV-2 스파이크의 수용체 결합 도메인을 인코딩한다. BNT162b1에 의해 발현되는 RBD 항원에 T4 피브리틴 유래 "폴돈" 삼량체화 도메인을 추가하여 변형시킴으로써 면역원성을 증가시킨다. 이 RNA 백신 후보는 독일과 미국에서의 공동 연구에서 동시에 테스트 중에 있다. 본원에서는 미국 연구에서 얻은 데이터를 제시한다.

[1397] **방법**

[1398] **연구 설계 및 참가자:** 이 1/2상, 무작위, 위약 대조, 관찰자 맹검 시험은 다양한 BNT162 mRNA 백신 후보의 증가하는 용량 수준의 안전성, 내약성 및 면역원성을 평가하기 위해 미국에서 수행되었다. BNT162b1 후보의 세 가지 용량 수준(10, 30 또는 100㎍)에 대한 평가가 미국의 두 곳에서 수행되었다. 이 연구는 각 용량 수준에서 센티넬 코호트의 데이터를 검토한 후 진행 및 용량 증가가 발생하는 센티넬 코호트 디자인을 활용하였다. 18세에서 55세 사이의 건강한 남성과 임신하지 않은 여성이 등록되었다. 주요 배제 기준에는 인간 면역결핍 바이러스, C형 간염 바이러스 또는 B형 간염 바이러스에 감염된 것으로 알려진 개체; 면역력이 약화된 개체 및 자가면역 질환 병력이 있는 개체; 중증 COVID-19에 걸릴 위험이 높은 사람들; 이전에 COVID 19에 걸린 것으로 임상 또는 미생물학적으로 진단된 개체; COVID 19 예방을 위한 의약품 수령; 코로나바이러스 백신을 사용한 이전 백신접종; 및 연구 백신접종 전 24시간 이내에 SARS-CoV-2 NAAT 양성 비강 면봉이 확인된 개체가 포함된다.

[1399] 최종 프로토콜 및 정보에 입각한 동의 문서는 이 연구에 참여하는 각 연구 센터에 대한 기관 검토 위원회의 승인을 받았으며, 이 연구는 모든 ICH(International Council for Harmonization) Good Clinical Practice(GCP) 지침 및 헬싱키 선언의 윤리적 지침을 준수하여 수행되었다. 연구 관련 활동을 수행하기 전에 서명 및 날짜가 기재된 정보에 입각한 동의가 필요하였다.

[1400] **종점:** 연구의 1차 종점에는 다음이 포함된다: 백신접종 후 7일 이내에 국소 반응, 전신 반응, 해열제 및/또는 진통제 사용이 촉발된 참가자의 비율, 마지막 투여 후 1개월까지의 AE 및 백신접종 후 6개월까지의 SAE, 및 백신접종 1주 후 임상 실험실 이상이 있는 센티넬 코호트 참가자의 비율 및 베이스라인과 1차 투여 후 1일 및 7일 그리고 2차 투여와 2차 투여 후 7일 사이의 실험실 평가 등급 변화. 2차 종점에는 다음이 포함되었다: SARS-CoV-2 중화 기하 평균 역가 (GMTs); SARS-CoV-2 S1-결합 IgG 및 RBD-결합 IgG 기하 평균 농도 (GMCs) 1차 투여 후 7일 및 21일 및 2차 투여 후 7일 및 14일; 기하 평균 배수 증가

[1401] 각 시점에서 SARS CoV 2 혈청 중화 GMT 대 SARS CoV 2 항원 결합 항체 GMC의 기하 평균 배수 상승(GMFR), 베이스라인으로부터의 ≥ 4배 상승 및 각 시점에서의 SARS-CoV-2 혈청 중화 GMT 대 SARS-CoV-2-항원 결합 항체 GMC의 기하 평균 비율(GMR).

[1402] **절차**: 연구 참가자는 대화형 웹 기반 응답 기술 시스템을 사용하여 백신 그룹에 무작위로 배정되었으며 각 그룹은 15명의 참가자(활성 백신접종자 12명과 위약 접종자 3명)로 구성되었다. 참가자들에게 BNT162b1 또는 위약을 2회에 걸쳐 0.5mL 용량으로 삼각근에 근육주사하였다.

[1403] BNT162b1은 삼량체 SARS-CoV-2 스파이크 당단백질 RBD 항원을 인코딩하는 GMP(Good Manufacturing Process) 등급 mRNA 약물 물질을 통합한 것이다. mRNA는 mRNA-LNP 약물 제품으로서 지질과 함께 제형화된다. 백신은 IM 주사를 위한 완충된 액체 용액으로 공급되었으며 -80℃에서 보관되었다. 위약은 주사용 멸균 식염수(0.9% 염화나트륨 주사, 0.5mL 용량)였다.

[1404] 모든 참가자에 대한 안전성 평가에는 백신접종 후 4시간 관찰(각 센티넬 그룹에서 백신접종된 처음 5명의 참가자에 대해) 및, 즉각적인 AE에 대해 30분 관찰(나머지 참가자에 대해)이 포함되었다. 안전성 평가에는 다음의 자가 보고도 포함되었다. 백신접종 후 7일 동안의 전자 다이어리(e-diary)에 국소 반응(주사 부위의 발적, 부기 및 통증), 전신 반응(발열, 피로, 두통, 오한, 구토, 설사, 근육통 및 관절통), 해열제 및/또는 진통제 사용, 백신접종 후 1개월까지 즉각적인 AE 보고 및 마지막 백신접종 후 6개월까지 SAE. 혈액학 및 화학 평가를 스크리닝 시, 1차 투여 후 1일 및 7일, 및 2차 투여 후, 1일 및 7일에 수행하였다.

[1405] 프로토콜은 모든 센티넬 코호트 참가자에 대한 안전 중지 규칙을 지정하였다. 내부 검토 위원회(IRC)와 외부 데

이터 모니터링 위원회(EDMC) 모두 모든 안전성 데이터를 검토하였다.

[1406] **면역원성 검사**: 면역원성 평가(SARS-CoV-2 혈청 중화 분석, SARS-CoV-2 S1-특이적 IgG 직접 Luminex 면역분석, SARS-CoV-2 RBD-특이적 IgG 직접 Luminex 면역분석 및 비백신 항원 (NVA) Ig 직접 Luminex 면역분석)를 위해, 각 연구 백신접종 전, 1차 투여 후 7일 및 21일 및 2차 투여 후 7, 14, 1개월 및 6개월에 혈액 50mL를 수집하였다

[1407] SARS-CoV-2 중화 분석에서는 역유전학에 의해 구조되고 mNeonGreen(mNG) 유전자를 바이러스 게놈의 오픈 리딩 프레임 7에 삽입하여 유전자 조작한 전술한 SARS-CoV-2(USA_WA1/2020) 균주를 사용하였다. 이 리포터 바이러스는 야생형 바이러스와 유사한 플라크 형태 및 구별할 수 없는 성장 곡선을 생성한다. Vero E6 세포 단층을 접종하기 전에 열 불활성화 혈청의 연속 희석액을 37℃에서 1시간 동안 리포터 바이러스와 함께 배양하였다. 감염된 병소는 Hoechst 33342 용액을 첨가하여 접종 후 16-24시간 사이에 형광에 의해 검출되었고 Cytation 7 Cell Imaging Multi-Mode Reader로 계수되었다.

[1408] **통계 분석:** 연구의 센티넬 코호트를 위한 샘플 크기는 통계적 가설 테스트를 기반으로 하지 않았다. 1차 안전성 목표는 국소 반응, 전신 반응, 비정상적인 혈액학 및 화학 검사실 매개변수, 각 백신 그룹에 대한 AE 및 SAE에 대한 기술 요약 통계로 평가되었다. AE를 요약하기 위해 3계층 접근법이 사용되었다. 2차 면역원성 목적은 다양한 시점에서 기술적으로 요약되었다.

[1409] **결과**

[1410] 2020년 5월 4일부터 2020년 6월 19일 사이에 76명의 피험자가 선별되었고 45명의 참가자가 무작위로 선택되어 백신접종을 받았다. 용량 수준(10㎍, 30㎍ 또는 100㎍)당 12명의 참가자가 0일 및 21일에 BNT162b1로 백신접종을 받았고, 9명의 참가자는 위약을 받았다(도 34). 연구 모집단은 건강한 남성과 임신하지 않은 여성 참가자로 구성되었으며, 평균 연령은 35.4세(최소 19세에서 최대 54세)이며 18세에서 55세 사이였다. 전반적으로 참가자의 51.1%가 남성이었고 48.9%가 여성이었다. 대부분의 참가자는 백인(82.2%)과 비-히스패닉/비-라틴계(93.3%)였다.

[1411] **안전성 및 내약성**

[1412] 백신접종 후 7일 동안 주사 부위의 통증이 가장 빈번한 국소 반응으로서, 1차 투여 후 10㎍ BNT162b1 그룹에서 58.3%(7/12), 30㎍ 및 100㎍ BNT162b1에서 100.0%(각각 12/12), 위약 용량 그룹의 22.2%(2/9)에서 보고되었고, 2차 투여 후 10㎍ 및 30㎍ 용량 수준의 BNT162b1 용량 그룹의 83.3% 및 100.0%에서 각각 보고되었다. 모든 국소 반응의 중증도는 BNT162b1 100㎍의 1회 용량 투여 후 심한 통증이 보고된 1건을 제외하고, 경증 또는 중등도였다.

[1413] 백신접종 후 7일 동안 보고된 가장 흔한 전신 반응은 BNT162b1 및 위약 용량 그룹 모두에서 경증 내지 중등도의 피로 및 두통이었다. 전신 반응은 용량 수준에 따라 증가했으며 2차 투여(10㎍ 및 30㎍ 그룹) 투여 후 더 많은 피험자에서 보고되었다. 1차 투여 후, 100㎍ 그룹에서 BNT162b1 접종자의 50.0%(6/12)와 10㎍ 및 30㎍ 그룹 각각에서 참가자의 8.3%(1/12)에서 38.0℃ 이상의 발열이 보고되었다. 2차 투여 후, 10㎍ 그룹 참가자의 8.3%(1/12)와 30㎍ 그룹 참가자의 75.0%(9/12)가 ≥38.0℃의 발열을 보고하였다. 4등급 전신 증상이나 발열은 보고되지 않았다. (도 35 및 36). 대부분의 국소 반응 및 전신 반응은 백신접종 후 2일차에 최고조에 달했고 7일차에 해소되었다. 반응원성 프로필에 따라 초기 100㎍ 용량을 투여받은 참가자는 2차 백신접종을 받지 않았다.

[1414] 이상사례은 BNT162b1 10㎍ 또는 30㎍을 투여받은 참가자의 50.0%(6/12), BNT162b1 100㎍을 투여받은 참가자의 58.3%(7/12), 및 위약 용량 그룹의 11.1%(1/9)에서 보고되었다. 2명의 참가자가 심각한 AE를 보고했는데, 30㎍ 용량 수준에서 1명(백신접종 후 2일째 3등급 발열), 그리고 100㎍ 용량 수준에서 1명(백신접종 1일 후 수면 장애)이었다. 관련 AE는 BNT162b1 용량 그룹의 25%(3/12) 내지 50%(6/12), 그리고 위약 용량 그룹의 11.1%(1/6)에서 보고되었다. 심각한 이상사례은 보고되지 않았다.

[1415] BNT162b1 백신접종 후 대부분의 피험자에서 일상적인 임상 실험실 값 또는 실험실 이상에서 1 등급 이상의 변화가 관찰되지 않았다. 가장 눈에 띄는 변화는 각각 10㎍, 30㎍ 또는 100㎍의 BNT162b1을 투여받은 참가자에서의 각각 8.3%(1/12), 45.5%(5/11) 및 50.0%(6/12)의 림프구 수 감소였다. 10㎍(8.3%) 및 30㎍(9.1%) 용량 수준에서 참가자 1명과 100㎍ 용량 수준(33.3%)에서 4명의 참가자는 림프구가 3등급 감소하였다. 1차 투여 후 1-3일에 채혈한 혈액에서 관찰된 이러한 혈액학적 변화는 백신접종 후 6-8일 후에 정상으로 돌아왔다. 백신 접* 후 실험실 값의 변화는 임상 소견과 관련이 없었다. 또한 10㎍ 또는 30㎍ BNT162b1의 2차 투여 후 6-9일에 2

등급 호중구감소증이 각각 1명의 참가자에게 나타났다. 호중구 계수는 이 두 피험자에 대해 반복되지 않았지만 이들에 대한 연구는 계속 추적되었으며 지금까지 호중구 감소증의 부작용이나 임상 증상이 보고되지 않았다.

[1416] **면역원성**

[1417] RBD-결합 IgG 농도 및 SARS-CoV-2 중화 역가는 베이스라인 및 BNT162b1의 1차 투여 후 7일 및 21일 그리고 2차 투여 후 7일(제28일)에 채취한 혈청에서 평가되었다(도 37a). 1차 투여 후 21일까지(세 가지 투여 수준 모두), RBD-결합 IgG의 기하 평균 농도(GMC)는 534-1,778 유닛/mL였는데, 이에 비해 COVID-19 회복기 인간 혈청 패널의 그것은 602 유닛/mL이었다. 2차 투여(10㎍ 및 30㎍ 용량 수준) 후 7일까지 RBD-결합 IgG GMC는 4,813-30,207 유닛/mL로 증가하였다. BNT162b1 100㎍이 1차 투여된 참가자는 2차 투여되지 않았기 때문에 2차 투여 없이 항체 반응의 발달을 평가할 수 없었고, 이 투약 그룹의 참가자 중 1차 투여 후 21일 이후에는 RBD-결합 항체 농도의 추가 증가는 없었다. BNT162b1을 10㎍ 및 30㎍ 용량 수준으로 투여받은 참가자에서 제35일(2차 투여 2주 후)까지, 높게 상승된 RBD-결합 항체 농도가 지속되었다.

[1418] SARS-CoV-2 중화 기하 평균 역가(GMT)의 완만한 증가가 1차 투여 후 21일에 관찰되었다(도 37b). 10㎍ 또는 30㎍ 용량을 2차 투여받은 참가자에서는 7일 후에 실질적으로 더 큰 혈청 중화 GMT가 달성되어 168-267에 달하였는데, 이에 비해 COVID-19 회복기 혈청 패널의 경우는 94에 달하였다.

[1419] **논의**

[1420] RNA 기반 백신 후보 BNT162b1은 안전하고 내약성이 우수하였다. 모든 용량 수준은 이전에 mRNA 기반 백신에서 관찰된 것과 일치하는 내약성 및 안전성 프로필을 나타냈다. 18-55세 성인에서 1차 및 2차 투여 후에 명확한 용량 수준 반응이 관찰되었다. 반응원성은 일반적으로 2차 투여 후 더 높았지만 증상은 발현 후 며칠 내에 해결되었다. 100㎍ 용량 수준의 2차 투여의 내약성 프로파일을 기반으로, 100㎍ 그룹으로 무작위 배정된 참가자는 2차 백신접종을 받지 않았다. 림프구의 일시적인 감소(1-3 등급)가 백신접종 후 수일 이내에 관찰되었다; 그러나 림프구 수는 모든 참가자에서 6-8일 이내에 베이스라인으로 돌아왔다. 이러한 실험실 이상은 임상 소견과 관련이 없었다. 백신접종 후 림프구 감소증은 림프구가 조직으로 일시적으로 이동하는 것으로 가장 잘 설명된다.

[1421] BNT162b1로 백신접종한 후 강력한 면역원성이 관찰되었다. RBD-결합 IgG 농도는 제21일에 검출되었고 제21일에 부스트 용량이 투여된지 7일 후에 실질적으로 증가하였다. 1차 투여 후, 백신접종 참가자의 RBD-결합 IgG GMC(10㎍ 용량 수준)는 증상이 시작된 지 20-40일 후 그리고 무증상 회복기 시작으로부터 최소 14일 후에 얻은 COVID-19 회복기 인간의 혈청 38개 패널에서 관찰된 것과 유사하였다. 30㎍ 및 100㎍ 용량 수준 코호트에서 채취한 혈청에서 GMC는 회복기 혈청 패널보다 실제로 더 높았다. 10㎍ 또는 30㎍ BNT162b1로 부스터 백신접종(용량 2) 후, RBD-결합 IgG GMC는 회복기 혈청 패널 GMC보다 8.0배 내지 50배 더 높았다.

[1422] 백신접종된 참가자의 혈청은 SARS-CoV-2 중화 분석에서도 테스트되었다. 중화 역가는 모든 용량 수준에 대해 제21일에 측정 가능하였다. 제28일(부스터 투여 후 7일)에 상당한 SARS-CoV-2 중화 역가가 관찰되었다. 10㎍ 및 30㎍ 부스터 접종(용량 2) 투여 후 바이러스 중화 GMT는 회복기 혈청 패널의 중화 GMT보다 각각 1.8배 및 2.8배 더 높았다. 100㎍ 용량 수준 코호트는 부스팅되지 않았기 때문에 2차 백신접종 후 면역원성에 대한 해당 데이터는 얻을 수 없다.

[1423] BNT162b1 백신 후보에 대한 이러한 임상 결과는 매우 고무적이며 COVID-19를 예방하기 위한 예방 백신의 가장 빠른 가용성에 대한 기회를 극대화하기 위해 개발 가속화 및 위험부담 있는 제조를 지원하는 강력한 증거를 제공한다.

[1424] **실시예 7: COVID-19 RNA 백신에 의해 유발된 동시 항체 및 T 세포 및 사이토카인 반응**

[1425] 이 실시예에서는 18-55세의 건강한 성인을 대상으로 한 무작위화되지 않은 공개 라벨 1상/2상 시험에서 BNT162b1 백신접종 후 항체 및 T 세포 반응의 특성을 제시한다. BNT162b1 1㎍, 10㎍, 30㎍ 및 50㎍의 2 용량을 21일 간격으로 투여하자 수반되는 항체와 강력한 CD4+ 및 CD8+ T 세포 반응이 유도되었다. 모든 피험자는 COVID-19 회복기 인간 혈청에서 관찰된 것보다 훨씬 높은 IgG 농도로 강력한 항체 반응을 보였다. 제43일에 SARS-CoV-2 혈청 중화 기하 평균 역가는 COVID-19 회복기 인간 혈청 패널에 비해 0.7배(1㎍) 내지 3.3배(50㎍) 범위였으며 다양한 SARS-CoV-2 스파이크 변종에 대해 광범위하게 활성적이었다. 항바이러스 특성을 지닌 면역 자극 사이토카인인 인터페론(IFN)γ가, 높은 빈도로 RBD 항원 특이적 CD8+ T와 수많은 CD4+ T 세포에 의해 생성되었다. T_H1 면역 세포 프로필을 강화하는 IL-12p70이 RBD로 자극된 면역 세포에서 검출되었다. BNT162b1 mRNA 백신에 의한 이러한 강력한 RBD 특이 항체, T 세포 및 유리한 사이토카인 반응은 COVID-19에 대한 여러 유

익한 보호 메커니즘의 가능성을 시사한다.

[1426] **재료 및 방법**

[1427] **임상 시험 설계**

[1428] 연구 BNT162-01(NCT04380701 - 독일 임상)은 근육내 투여된 다양한 BNT162 mRNA 백신 후보의 증가하는 용량 수준에서의 안전성, 내약성 및 면역원성을 평가하기 위해 진행 중인 인간을 대상으로 한 최초의 제I/II상 오픈 라벨 용량 결정 임상 시험이다. 18~55세(56~85세 추가로 개정)의 건강한 남성과 임신하지 않은 여성이 대상이다. 주요 배제 기준에는 이전에 COVID-19에 걸린 것으로 임상 또는 미생물 진단된 경우; COVID-19 예방을 위한 의약품 수령; 코로나바이러스 백신을 사용한 이전 백신접종; 스크리닝 방문 시 SARS-CoV-2 IgM 및/또는 IgG에 대한 혈청학적 검사 양성; 및 연구 백신접종 전 24시간 이내에 SARS-CoV-2 NAAT 양성 비강 면봉; 중증 COVID-19에 걸릴 위험이 높은 사람들; HIV, C형 간염 바이러스 또는 B형 간염 바이러스에 감염된 것으로 알려진 사람 및 자가면역 질환의 병력이 있는 사람이 포함된다. 이 연구의 일차 종점은 안정성과 면역원성이다.

[1429] 여기에 보고된 연구의 일부에서 BNT162b1 후보의 5가지 용량 수준(1μg, 10μg, 30μg, 50μg 또는 60μg)이 독일의 한 장소에서 12명의 건강한 지원자에 대해 용량 수준 별로, 용량 증량 및 용량 감량 설계 하에 평가되었다. 센티넬 투여는 각 용량 증량 코호트에서 수행되었다. 해당 코호트의 진행 및 용량 증량에는 안전성 검토 위원회의 데이터 검토가 필요하였다. 피험자는 1일차에 BNT162b1 프라임 용량을 투여받았고 22±2일차에 부스트 용량을 투여 받았다. 항체 분석을 위한 혈청은 1일(프라임 전), 8±1(프라임 후), 22±2(프리 부스트), 29±3 및 43±4일(포스트 부스트)에 획득하였다. T 세포 연구를 위한 PBMC는 1일(프라임 전) 및 29±3일(부스트 후)에 획득하였다. 10μg 용량의 한 대상자와 50μg 용량 코호트의 한 대상자는 동의 철회 및 개인 사유로 인해 부스트 면역화 전에 연구에서 이탈하였다.

[1430] 제시된 데이터는 BNT162b1 면역화된 코호트로만 구성되며 다양한 시점에서 기술적으로 요약된 백신 유발 면역원성(2차 종점) 분석에 초점을 맞춘 2020년 7월 13일 데이터 추출 날짜의 예비 분석을 기반으로 한다. 이용 가능한 데이터가 있는 모든 참가자가 면역원성 분석에 포함되었다.

[1431] 임상시험은 헬싱키 선언 및 임상시험 지침에 따라 독일에서 수행되었으며 독립 윤리 위원회(Ethik-Kommission of the Landesarztekammer Baden-Wurttemberg, Stuttgart, Germany) 및 관할 규제 당국(Paul- 에를리히 연구소, 랑엔, 독일)의 승인을 받았다. 모든 피험자는 서면 동의서를 제공하였다.

[1432] **RNA 제조**

[1433] BNT162b1은 삼량체화된 SARS-CoV-2 스파이크 당단백질 RBD 항원을 인코딩하는 GMP(Good Manufacturing Practice) 등급 mRNA 약물 물질을 통합한다. RNA는 우리딘-5'-트리포스페이트(UTP) 대신 1-메틸슈도우리딘-5'-트리포스페이트(m1YTP; Thermo Fisher Scientific)의 존재 하에서 시험관내 전사에 의해 DNA 주형으로부터 생성된다. 캡핑은 트리뉴클레오타이드 캡 1 유사체($(m_2^{7,3'-O})$Gppp($m^{2'-O}$)ApG; TriLink)를 사용하여 공동 전사적으로 수행된다. 항원을 인코딩하는 RNA는 인간 수지상 세포에서 RNA 안정성과 번역 효율을 증가시키는 서열 요소를 포함한다(Holtkamp, S. et al., Blood 108, 4009-4017 (2006); Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol. Ther. 27, 824-836 (2019)). mRNA는 RNA-LNP 약물 제품을 얻기 위해 지질로 제형화된다. 백신은 IM 주사를 위한 완충 액체 용액으로 운반 및 공급되었으며 -80℃에서 보관되었다.

[1434] **단백질 및 펩타이드**

[1435] 11 aa가 중첩되고 BNT162b1 인코딩 SARS-CoV-2 RBD의 전체 서열을 커버하는 15-mer 펩타이드 풀을, 유세포 분석, IFNγ ELISpot 및 사이토카인 프로파일링을 위한 PBMC의 생체외 자극에 사용하였다. CEF(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스; HLA 클래스 I 에피토프 펩타이드 풀) 및 CEFT(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스, 파상풍 톡소이드; HLA 클래스 II 에피토프 펩타이드 풀)(양자 모두 JPT Peptide Technologies)를 일반 T- 세포 반응성에 대한 대조군으로서 사용하였다.

[1436] **인간 회복기 혈청 및 PBMC 패널**

[1437] 인간 SARS-CoV-2 감염/COVID-19 회복기 혈청(n=38)을, PCR로 확인된 진단 후 최소 14일이 지난 18-83세 피험자로부터 그리고 피험자가 무증상일 때 채취하였다. 혈청 공여자는 증상이 있는 감염이 있었거나(n=35) 입원한 바 있었다(n=1). 혈청은 Sanguine Biosciences(Sherman Oaks, CA), MT Group(Van Nuys, CA) 및 Pfizer Occupational Health and Wellness(Pearl River, NY)에서 입수하였다. 인간 SARS-CoV-2 감염/COVID-19 회복기

PBMC 샘플(n=6)은 피험자가 무증상일 때 PCR 확인 진단 후 45-59일에 41-79세 피험자로부터 수집되었다. PBMC 기증자는 무증상/경증 감염(n=4; 임상 점수 1 및 2)이 있거나 입원 경험이 있었다(n=2; 임상 점수 4 및 5). 혈액 샘플은 프랑크푸르트 대학 병원(독일)에서 입수하였다.

[1438] **세포 배양 및 일차 세포 분리**

[1439] Vero 세포(ATCC CCL-81) 및 Vero E6 세포(ATCC CRL-1586)를 10% 소 태아 혈청(FBS)(Sigma-Aldrich)이 보충된 GlutaMAX™(Gibco)가 포함된 Dulbecco 변형 이글 배지(DMEM)에서 배양하였다. 수령 후 및 확장 및 동결 보존 전에 세포주를 마이코플라즈마 오염에 대해 테스트하였다. 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 Ficoll-Hypaque(Amersham Biosciences) 밀도 구배 원심분리에 의해 분리하고 후속 분석 전에 동결보존하였다.

[1440] **RBD-결합 IgG 항체 분석**

[1441] C-말단 Avitag™(Acro Biosystems)를 포함하는 재조합 SARS-CoV-2 RBD를 스트렙타비딘 코팅된 Luminex 마이크로스피어에 결합시켰다. 열 불활성화된 대상체 혈청을 1:500, 1:5,000 및 1:50,000으로 희석하였다. 진탕하면서 2-8℃에서 밤새 인큐베이션한 후, 플레이트를 0.05% Tween-20을 함유하는 용액으로 세척하였다. 2차 형광 표지된 염소 항-인간 폴리클로날 항체(Jackson Labs)를 진탕하면서 실온에서 90분 동안 첨가한 후, 플레이트를 0.05% Tween-20을 함유하는 용액으로 한번 더 세척하였다. Luminex 판독기를 사용하여 중간 형광 강도(MFI)로 데이터를 캡처하고 100 U/mL의 임의 할당 농도를 사용하고 혈청 희석 계수를 설명하는 참조 표준 곡선을 사용하여 U/mL 항체 농도로 변환하였다. 세 가지 희석을 사용하여 모든 샘플에 대한 최소 하나의 결과가 표준 곡선의 사용 가능한 범위 내에 속할 가능성을 높이다. 분석 결과는 IgG의 U/mL로 보고되었다. 최종 분석 결과는 분석 범위 내에서 유효한 분석 결과를 생성한 모든 샘플 희석액의 기하 평균 농도로 표현된다.

[1442] **SARS-CoV-2 중화 분석**

[1443] 중화 분석에는 전술한 SARS-CoV-2 변종(USA_WA1/2020)을 사용하였다. 이 변종은 역유전학에 의해 구제되고 mNeonGreen(mNG) 유전자를 바이러스 게놈의 오픈 리딩 프레임 7에 삽입하여 조작되었다(Xie, X. et al., Cell Host Microbe 27, 841-848.e3 (2020)). 이 리포터 바이러스는 야생형 바이러스와 유사한 플라크 형태 및 구별할 수 없는 성장 곡선을 생성한다. 바이러스 마스터 스톡(2×10^7 PFU/mL)을 전술한 바와 같이 Vero E6 세포에서 성장시켰다(Xie, X. et al., Cell Host Microbe 27, 841-848.e3 (2020)). 열 불활성화된 혈청의 연속 희석물을 리포터 바이러스(Vero 단일층의 약 10-30% 감염률을 산출하기 위해 0.5의 최종 감염 다중도(MOI)에 대해 웰당 2×10^4 PFU)와 함께 37℃에서 1시간 인큐베이션한 후, Vero CCL81 세포 단층(웰당 8,000~15,000개 세포를 갖는 것을 목표로 함)을 96-웰 플레이트에 접종하여 감염 세포를 정확한 정량화한다. 웰당 총 세포 수를 핵 염색(Hoechst 33342)으로 열거하고 Gen5 Image Prime 버전 3.09로, Cytation 7 Cell Imaging Multi-Mode Reader(Biotek)로 접종한 후 16-24시간 후에 형광 바이러스 감염 병소를 검출하였다. GraphPad Prism 버전 8.4.2에서 역가는 각각의 연속 혈청 희석에서 퍼센트 중화의 4-파라미터(4PL) 물류 적합도를 생성하여 계산되었다. 50% 중화 역가(VNT_{50})는 형광 바이러스 초점에서 50% 감소를 일으키는 희석의 보간된 역수로서 보고되었다.

[1444] **VSV-SARS-CoV-2 스파이크 변종 슈도바이러스 중화 분석**

[1445] VSV-SARS-CoV-2-S 유사입자 생성 및 중화 분석은 이전에 설명한 대로 수행되었다(Baum, A. et al., Science, eabd0831 (2020). doi:10.1126/science.abd0831). 간단히 말해서, 인간 코돈 최적화 SARS-CoV-2 스파이크(GenBank: MN908947.3)를 합성하고(Genscript) 발현 플라스미드로 클로닝하였다. SARS-CoV-2 전체 게놈 서열을 GISAID Nucleotide 데이터베이스(https://www.gisaid.org)에서 다운로드하였다(2020년 8월 24일에 마지막 액세스). 서열들을 선별하고 맞춤형 파이프라인을 사용하여 고품질 게놈 서열들에서 스파이크-인코딩 유전자의 유전적 다양성을 평가하였다. 위치-지향된 돌연변이유발을 사용하여 아미노산 치환을 스파이크 발현 플라스미드로 클로닝하였다. HEK293T 세포(ATCC CRL-3216)를 접종하고(배양 배지: 10% 열 불활성화 소 태아 혈청(FBS; Life Technologies) 및 페니실린/스트렙토마이신/L-글루타민(Life Technologies)이 보충된 DMEM 고포도당(Life Technologies)) 다음날 제조사의 프로토콜에 따라 Lipofectamine LTX(Life Technologies)를 사용하여 스파이크 발현 플라스미드로 형질감염시켰다. 37℃에서 형질감염 24시간 후, Opti-MEM(Life Technologies)에 희석된 VSV ΔG:mNeon/VSV-G 바이러스로 세포를 감염 다중도 1로 감염시켰다. 세포를 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 잔류 입력 바이러스를 제거하기 위해 세척하고 감염 배지(0.7% 저 IgG BSA(Sigma), 피루브산 나트륨(Life Technologies) 및 0.5% Gentamicin(Life Technologies)이 보충된 DMEM 고 포도당 배지)를 오버레이하였다. 37℃에서 24시간 후, VSV-SARS-CoV-2-S 슈도입자를 포함하는 상청액을 수집하고 3000xg에서 5분 동안 원심분리하

여 정화하고 추가 사용할 때까지 -80℃에서 보관하였다.

[1446] 슈도바이러스 중화 분석을 위해 Vero 세포(ATCC CCL-81)를 배양 배지의 96-웰 플레이트에 접종하고 분석에 사용하기 전에(24시간 후) 대략 85% 컨플루언스에 도달하도록 하였다. 혈청을 1:40 희석으로 시작하여 감염 배지에서 1:2로 연속 희석하였다. VSV-SARS-CoV-2-S 유사입자는 ~1000 분석에서 형광 초점 단위(ffu) 카운트를 위해 감염 배지에서 1:1로 희석되었다. 혈청 희석액을 실온에서 30분 동안 슈도입자와 1:1로 혼합한 후 Vero 세포에 첨가하고 37℃C에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 상청액을 제거하고 PBS(Gibco)로 교체하고 MiniMax 이미징 세포계산기(Molecular Devices)가 장착된 SpectraMax i3 플레이트 판독기를 사용하여 형광 초점을 정량화하였다. 중화 역가는 GraphPad Prism 버전 8.4.2에서 각각의 연속적인 혈청 희석에서 퍼센트 중화의 4-파라미터 물류(4PL) 맞춤을 생성하여 계산되었다. 50% 슈도바이러스 중화 역가(pVNT50)는 형광 바이러스 병소의 50% 감소를 야기하는 희석의 보간된 역수로서 보고되었다.

[1447] **IFNɣ ELISpot.**

[1448] IFNɣ ELISpot 분석은 CD4+가 고갈되고 CD8+ T 세포가 강화된 PBMC(CD8+ 이펙터) 또는 CD8+가 고갈되고 CD4+ T 세포가 강화된 PBMC(CD4+ 이펙터)를 사용하여 체외에서(확장을 위한 추가 시험관내 배양 없이) 수행되었다. 이 테스트는 양성 대조군(항-CD3 모노클로날 항체 CD3-2(1:1,000; Mabtech))으로 이중으로 수행되었다. IFNɣ-특이적 항체(ELISpotPro kit, Mabtech)로 사전 코팅된 멀티스크린 필터 플레이트(Merck Millipore)를 PBS로 세척하고 2% 인간 혈청 알부민(CSL-Behring)을 함유하는 X-VIVO 15 배지(Lonza)로 1- 5 시간 차단시켰다. 웰당, 3.3 x 10^5 이펙터 세포를 백신 인코딩된 RBD를 나타내는 중복 펩타이드 풀로 16-20시간 동안 자극하였다. 결합된 IFNɣ는 BCIP/NBT 기질(ELISpotPro 키트, Mabtech)과 함께 인큐베이션한 후 알칼리 포스파타제와 직접 접합된 2차 항체를 사용하여 시각화되었다. AID Classic Robot ELISPOT 판독기를 사용하여 플레이트를 스캔하고 ImmunoCapture V6.3(Cellular Technology Limited) 또는 AID ELISPOT 7.0 소프트웨어(AID Autoimmun Diagnostika)로 분석하였다. 스팟 카운트는 각 중복의 평균값으로 표시되었다. 펩타이드에 의해 자극된 T-세포 반응을 Moodie et al. (Moodie, Z., et al., J. Immunol. Methods 315, 121-32 (2006); Moodie, Z. et al., Cancer Immunol. Immunother. 59, 1489-501 (2010))에 따라, 두 가지 통계 시험(무배포 리샘플링)에 기초하여, 인하우스 ELISpot 데이터 분석 도구(EDA)를 사용하여 음성 대조군으로서 배지와만 인큐베이션된 이펙터와 비교하여, 거짓 양성에 대한 제어를 유지하면서 감도를 제공하였다.

[1449] 항-CD3 항체 자극에 대한 반응으로 스팟의 수에 반영된 다양한 샘플 품질을 설명하기 위해, 개체 간 스팟 수/반응 강도를 직접 비교할 수 있도록 정규화 방법을 적용하였다. 이 종속성은 노이즈 구성 요소(미공개)를 포함하는 베이지안 모델을 사용하여 로그 선형 방식으로 모델링되었다. 강력한 정규화를 위해 각 정규화는 모델에서 1000번 샘플링되었으며 중앙값은 정규화된 스팟 카운트 값으로 사용되었다. 모델의 우도: $\log \lambda_E = \alpha \log \lambda_p + \log \beta_j + \sigma\varepsilon$, 여기서 λ_E는 샘플의 정규화된 스팟 수이고 α는 모든 양성 대조군 λ_p, β_j 샘플 j 특이적 성분 샘플(정규 분포됨) 및 σε는 노이저 성분이고 여기서 σ는 Cauchy 분포이고 ε는 Student's-t 분포이다. β_j는 각 샘플이 다른 배치로 취급되도록 한다.

[1450] **유세포 분석**

[1451] 세포내 사이토카인 염색으로 사이토카인 생성 T 세포를 확인하였다. PBMC를 해동하고 2μg/mL DNAseI(Roche)가 보충된 OpTmizer 배지에서 4시간 동안 휴지시킨 후 백신으로 인코딩된 SARS-CoV-2 RBD(2μg/mL/펩타이드, JPT Peptide Technologies)를 나타내는 펩타이드 풀로 재자극하였다. 37℃에서 18시간 동안 GolgiPlug(BD)가 있는 상태에서. 대조군은 DMSO 함유 배지로 처리하였다. 세포를 유동 완충액(2% FCS(Biochrom), 2mM EDTA(Sigma-Aldrich)이 보충된 DPBS(Gibco))에서 4℃에서 20분 동안 생존력 및 표면 마커에 대해 염색하였다. 그 후, 샘플을 고정하고 투과성화하였다. 제조업체의 지침(BD Biosciences)에 따라 Cytofix/Cytoperm 키트를 사용하여 세포내 염색을 4℃에서 30분 동안 Perm/Wash 완충액에서 수행하였다. 샘플을 FACS VERSE 기기(BD Biosciences)에서 획득하고 FlowJo 소프트웨어 버전 10.5.3 (FlowJo LLC, BD Biosciences)으로 분석하였다. RBD-특이적 사이토카인 생산은 DMSO 함유 배지로 얻은 값을 빼서 배경에 대해 보정하였다. 음수 값은 0으로 설정하였다. 도 42b의 사이토카인 생산은 IFNɣ, IL-2 또는 IL-4에 대해 양성인 모든 CD4+ T 세포 분획들을 합산하여 계산하되, 그 합계를 100%로 설정하고 각각의 특정 사이토카인 생성 하위 집합의 비율을 계산하여 구하였다.

[1452] **사이토카인 프로파일링**

[1453] 인간 PBMC를 SARS-CoV-2 RBD 펩타이드 풀(펩타이드당 최종 농도 2μg/mL)로 48시간 동안 재자극하였다. DMSO-함

유 배지를 사용한 자극은 음성 대조군으로 사용되었다. 상청액에서 TNF, IL-1β 및 IL-12p70의 농도는 제조업체의 지침에 따라 비드 기반, 11-플렉스 T_H1/T_H2 인간 ProcartaPlex 면역분석법(Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 구하였다. 형광은 Bioplex200 시스템(Bio-Rad)으로 측정하고 ProcartaPlex Analyst 1.0 소프트웨어(Thermo Fisher Scientific)로 분석하였다. RBD 특이적 사이토카인 생산은 DMSO 함유 배지로 얻은 값을 빼서 배경에 대해 보정하였다. 음수 값은 0으로 설정되었다.

[1454] **결과**

[1455] **연구 설계 및 분석 세트**

[1456] 2020년 4월 23일부터 2020년 5월 22일 사이에 60명의 피험자가 BNT162b1을 접종하였다. 1μg, 10μg, 30μg 및 50μg 용량 수준당 12명의 참가자가 제1일에 1차 투여받고 제22일에 부스팅되었으며, 12명의 참가자는 제1일에만 60μg 프라임 용량을 투여받았다(도 43). 연구 집단은 평균 연령 41세(19~55세 범위)의 건강한 남성과 임신하지 않은 여성으로 성별 분포는 동일하였다. 대부분의 참가자는 백인(96.7%)이었고 아프리카계 미국인 1명과 아시아인 1명(각각 1.7%)이었다. 예비 데이터 분석은 면역원성에 중점을 두었다(표 4).

표 4. 대상체 배치 및 분석 세트.

BNT162b1			항체 분석					T 세포 분석	
코호트	초기	후원	1일차	8일차±1일	22일±2일	29일±3일	43±4일	1일차	29일±3일
1μg	12	12	12	12	12	12	12	8	8
10μg	12	11	12	12	12	11	11 (10)	10 (6)	10 (6)
30μg	12	12	12	12	12	12	12 (10)	10 (7)	10 (7)
50μg	12	11	12	12	12	11	6	8 (5)	8 (5)
60μg	12	해당 없음	12	12	11	12	해당 없음	해당 없음	해당 없음

항체 분석: 값은 바이러스 중화 분석이 수행된 대상체의 수를 나타낸다. 괄호 안의 값은 RBD 결합 IgG 항체 분석을 수행한 대상체의 수를 나타낸다. T-세포 분석: 값은 IFNγ ELISpot이 수행된 대상체의 수를 나타낸다. 괄호 안의 값은 유세포 분석을 수행한 대상체의 수를 나타낸다. N/A: 샘플을 아직 사용할 수 없다.

[1457]

[1458] 간단히 말해서, 심각한 이상사례(SAE), 예상하지 못한 독성 및 관련 AE로 인한 중단은 관찰되지 않았다. 보고된 대부분의 요청된 AE는 일반적으로 전신 및 주사 부위 반응과 같은 면역화 후 처음 24시간 이내에 개시되는 백신 반응성의 징후 및 증상, 주로 통증 및 압통의 증상이었다(도 44). 증상은 발열, 오한, 두통, 근육통 및 관절통, 주사 부위 반응과 같은 때때로 중증(3 등급) AE와 함께 강도가 대부분 경미하거나 중등도였다. 모든 AE는 대부분 발병 후 24시간 이내에 자발적으로 해결되었으며 간단한 조치(예: 파라세타몰)로 관리할 수 있었다. 1차 투여 후 보고된 반응성을 기반으로, 초기 60μg 용량을 받은 참가자는 제2 60μg 용량을 투여받지 않았다.

[1459] BNT162b1 백신접종 후 일상적인 임상 실험실 값의 관련 변화가 발생하지 않은 반면, 염증 마커 C-반응성 단백질(CRP)의 일시적인 증가 및 혈액 림프구 수의 일시적인 감소는 백신접종 대상체에서 용량 의존 방식으로 관찰되었다(도 45). RNA 백신에 대한 본 발명자들의 이전 임상 경험에 기초하여, 후자는 림프구의 선천적 면역 자극 관련 일시적인 재분배에 기인할 가능성이 있다(Kamphuis, E., et al., Blood 108, 3253-61 (2006)).

[1460] **백신-유도된 항체 반응**

[1461] RBD-결합 IgG 농도와 SARS-CoV-2 중화 역가를, 베이스라인, BNT162b1 프라임 용량 투여 후 7일 및 21일(제8일 및 제22일), 그리고 부스트 용량 투여 후 7일 및 21일(제29일 및 제43일)에, 프라임 용량만 투여받은 60μg 코호트를 제외하고, 평가하였다(도 39).

[1462] 1μg 용량을 투여받은 대상자를 포함한 모든 대상자는 강력한 용량 의존적 백신 유발 항체 반응을 보였다. 프라이밍 용량(1-50μg 범위의 4가지 용량 수준에 대해) 21일 후, RBD-결합 IgG의 기하 평균 농도(GMC)는 용량 의존적으로 약 265-1,672 U/mL이었다(도 39). 부스팅 투여 7일 후(제29일) 1-50μg BNT162b1로 처리된 피험자의

RBD-결합 IgG GMC는 용량 의존적으로 약 2,015-25,006U/mL로 크게 증가하였다. 제43일(부스트 후 21일)에 RBD-결합 항체 GMC는 BNT162b1 백신접종된 개체에서 약 3,920-22,700 U/mL 범위였는데, 이는 PCR-확진 진단 후 최소 14일 후에 채취된 38명의 SARS-CoV-2 감염 회복기 환자(18-83세)의 혈청 패널에서 측정된 약 602 U/mL인 것과 비교된다. 프라임 용량만을 사용한 60μg 용량 코호트에서, RBD-결합 IgG GMC는 제29일까지 약 1,058U/mL였는데 이는 항체 역가를 높이기 위해 2차 투여가 필요함을 나타낸다.

[1463] SARS-CoV-2 중화 항체 기하 평균 역가(GMT)는 프라이밍 용량 후 21일에 용량 의존적 방식으로 약간 증가하였다(도 40a). 실질적으로 더 높은 혈청 중화 GMT가 부스트 투여 7일 후에 달성되어 약 36(1μg 용량 수준), 약 158(10μg 용량 수준), 약 308(30μg 용량 수준) 및 약 578(50μg 용량 수준)에 도달하였으며, 이는 회복기 혈청 패널의 경우 약 94인 것과 비교된다. 제43일(부스팅 후 21일)에, 중화 항체 GMT는 용량 수준에 따라 약 62(1μg 용량)로 추가 증가하거나 약 126(10μg 용량)으로 비교적 안정적이거나 또는157(30μg 용량), 약 309(50μg 용량)으로 살짝 감소하였다. 중화 항체 GMT는 RBD-결합 IgG GMC와 강하게 상관관계가 있었다(도 40b). 요약하면, 중화 항체 역가는 이전에 BNT162b1에 대한 미국 연구에서 보고된 범위에 있었다.

[1464] 또한, 2차 투여 후 7일까지, 백신접종된 피험자의 혈청은 16개의 RBD 돌연변이를 포함하여 공개적으로 이용가능한 SARS-CoV-2 서열에서 확인된 17가지 SARS-CoV-2 스파이크 변종 패널(Baum, A. et al., Science, eabd0831 (2020). doi:10.1126/science.abd0831) 및 지배적인 스파이크 변종인 D614G(Baum, A. et al., Science, eabd0831 (2020). doi:10.1126/science.abd0831)에 걸쳐 광범위한 중화 활성을 나타냈다(도 40c).

[1465] **백신-유도된 T 세포 반응**

[1466] RBD BNT162b1 접종된 대상체의 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 반응은 1 μg에서 50 μg 용량 코호트에 걸쳐 36명의 대상체로부터의 PBMC와 함께 직접 생체외 IFNγ ELISPOT를 이용하여 프라임 백신접종 전(제1일) 및 프라임 후 제29일(부스트 백신접종으로부터 7일 후)에 특성화하였다(도 41). 이 분석에서 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ T 세포 이펙터는 백신으로 인코딩된 RBD의 전체 길이 서열을 나타내는 중복 펩타이드로 밤새 자극되었다.

[1467] 36명의 피험자 중 34명(94.4%, ≥ 10 μg BNT162b1으로 치료한 모든 피험자 포함)에서 RBD 특이 CD4+ T 세포 반응이 나타났다. 반응 강도는 개체들 간에 다양하였으며 가장 강한 CD4 T 세포 반응을 보이는 개체 사이의 크기는 동일한 대상체의 사이토메갈로바이러스(CMV), 엡스타인 바 바이러스(EBV), 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 톡소이드 유래 면역-우세 펩타이드 패널에 대해 관찰된 기억 반응의 10배 이상이었다(도 41a-c). 기존 RBD 반응성 CD4+ T 세포 수가 적은 한 대상자를 제외하고는(이는 백신접종 후 유의하게 증가하였다(50μg 용량 코호트에서 정규화된 평균 스팟 수가 63에서 1,519로)). RBD 특이적 CD4+ T 세포 반응의 강도는 RBD-결합 IgG 및 SARS-CoV-2 중화 항체 역가(도 41d, 도 46a)와 양의 상관관계를 보였고, 이는 분자 내 도움이라는 개념과도 맞닿아있는 것이다(Sette, A. et al. al., Immunity 28, 847-58 (2008)). CD4+ 반응이 결여된 2명의 피험자는 VNT_{50} 역가를 검출할 수 없었다(도 41d).

[1468] 백신-유도된 CD8+ T 세포 반응, 일부 강력한 것들은 대부분의 피험자(29/36, 80.6%)에 의해 증가되었고(도 41a), 동일한 대상체에서 CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 톡소이드에 대한 기억 반응과 매우 유사하였다(도 41b, c). RBD 특이적 CD8+ T 세포 반응의 강도는 백신 유도 CD4+ T 세포 반응과 양의 상관관계가 있었지만 SARS-CoV-2 중화 항체 역가와는 유의한 상관관계가 없었다(도 46b, c).

[1469] 주목할 점은, 1μg BNT162b1에서 면역원성 비율이 더 낮았지만(6/8 응답 대상자), 일부 대상자에서 백신 유도된 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 크기는 거의 50μg BNT162b1만큼 높았다는 것이다(도 41a). RBD-특이 T 세포의 기능성 및 분극화를 평가하기 위해, 백신 항원에 의한 자극에 반응하여 분비된 사이토카인을 백신접종 전 및 후 18명의 BNT162b1 면역화된 피험자의 PBMC에서 IFNγ, IL-2 및 IL-4 특이적 항체로 세포내 염색(ICS)에 의해 결정하였다. RBD-특이적 CD4+ T 세포는 IFNγ, IL-2, 또는 둘 모두를 분비했지만, IL-4는 분비하지 않았다(도 42a-c). 마찬가지로, RBD 특이적 IFNγ+ CD8+ T 세포의 일부도 IL-2를 분비하였다.

[1470] BNT162b1 백신접종으로 얻은 총 순환 T 세포 내 RBD 특이 T 세포의 평균 분율은 COVID-19에서 회복된 6명의 피험자에서 관찰된 것보다 훨씬 더 높았다. RBD 특이적 IFNγ+ CD8+ T 세포의 빈도는 총 말초 혈액 CD8+ T 세포의 최대 몇 퍼센트에 달하였다(도 42c). 5명의 백신접종된 대상체의 하위군으로부터의 중복 RBD 펩타이드로 생체외 자극된 PBMC의 상청액의 분석 결과 염증촉발성(proinflammatory) 사이토카인 TNF, IL-1β 및 IL-12p70의 동족 방출(cognate relase)가 나타났다(도 42d).

[1471] 요약하면, 이러한 결과는 BNT162b1이 거의 모든 피험자에서 기능적 및 전 염증촉발성 CD4+/CD8+ T 세포 반응을

유도하고 T_H1 극성화된 헬퍼 반응을 나타냄을 보여준다.

[1472] **논의**

[1473] 본 발명자들은 중화 항체의 동시 생성, 바이러스 특이 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 활성화, 바이러스 침입에 대응하기 위한 조율된 면역 반응을 나타내는 IFNγ와 같은 면역 조절 사이토카인의 강력한 방출을 관찰하였다(Vabret, N. et al., Immunity 52, 910-941 (2020)). IFNγ는 여러 항바이러스 반응에 대한 핵심 사이토카인을 나타낸다. 실제로, 손상된 IFNγ 활성과 관련된 IFNγ 유전자 다형성을 갖는 환자는 SARS에 대해 5배 증가된 감수성을 나타내는 것으로 나타났다(Chong, W. P. et al., BMC Infect. Dis. 6, 82 (2006)). 또한 IFNγ는 I형 인터페론과 상승 작용하여 SARS-CoV-2의 복제를 억제한다(Sainz, B., et al., Virology 329, 11-7 (2004)). CD8+ T 세포로부터 IFNγ의 왕성한 생산은 항바이러스 및 면역 강화 특성을 모두 갖는 유리한 면역 반응을 나타낸다.

[1474] 중요한 것은, IL-4가 아닌 IFNγ, IL-2 및 IL-12p70의 검출이, 유리한 T_H1 프로필 및 잠재적으로 유해한 T_H2 면역 반응의 부재를 나타낸다는 것이다. CD4+ 및 CD8+ T 세포는 SARS-CoV-1 생존자에서 나타난 것처럼 코로나 바이러스에 대해 오래 지속되는 면역을 부여할 수 있으며, 여기서 CD8+ T 세포 면역은 6-11년 동안 지속된다(Vabret, N. et al., Immunity 52, 910-941 (2020), Ng, O.-W. et al., Vaccine 34, 2008-14 (2016)).

[1475] 무증상 바이러스 노출의 일부 사례는 SARS-Cov-2 특이적 T 세포가 중화 항체가 없는 경우에도 질병 통제와 관련이 있을 수 있음을 나타내는 혈청전환 없는 세포 면역 반응과 관련이 있다(Gallais, F. et al. (2020). doi:medRxiv: 10.1101/2020.06.21.20132449). 백신접종된 거의 모든 지원자들은 고강도 T 세포 반응만을 포획하는 T 세포의 사전 확장 없이 수행된 체외 ELISpot 분석으로 검출된 RBD 특이적 T 세포 반응을 탑재하였다. T 세포 반응의 강도는 피험자 간에 상당히 차이가 있었으나 1μg ~ 50μg의 용량 범위에서는 T 세포 반응 강도의 명확한 용량 의존성이 관찰되지 않았는데, 이는 가장 낮은 mRNA 인코딩 면역원 수준에서 T 세포의 자극 및 강력한 확장이 달성될 수 있음을 나타낸다.

[1476] 이 연구는 RBD-결합 IgG 및 중화 반응의 용량 의존성을 확인하고, 미국 임상시험에서 10 및 30μg 용량 수준에 대한 이전 연구 결과를 재현하고, 중화 항체 역가가 50μg의 프라임/부스트 요법에 의해 추가로 증가함을 보여준다.

[1477] 주목할 만한 관찰은 BNT162b1을 1μg 정도의 낮은 용량 수준으로 두 번 주사하면 회복기 혈청에서 관찰되는 것보다 더 높은 RBD-결합 IgG 수준을 유도할 수 있으며, 혈청 중화 항체 역가가 43일까지도 여전히 증가하고 있다는 것이다. 보호 중화 항체 역가의 크기가 알려져 있지 않고, 1μg 코호트의 일부 피험자에 대해 관찰된 실질적인 T 세포 반응을 고려할 때 개인의 상당 부분이 이 최저 테스트 용량 수준에서도 혜택을 받을 수 있다는 가능성이 있다.

[1478] 전적으로 RBD-지향된 면역은 이 작은 도메인에서 단일 아미노산 변화에 의해 바이러스를 탈출하는 경향이 있는 것으로 간주될 수 있다. 그러나 17개(이 중 16개는 순환 계통에서 발견되는 다른 RBD 변형이 있는 스파이크를 사용하여 세포에 들어가고 그 중 하나는 지배적인 스파이크 변형 D614G를 이용함)의 슈도형 바이러스의 중화는 이러한 잠재적인 우려를 완화시켜준다.

[1479] **실시예 8: COVID-19 백신 BNT162의 1단계 안전성 및 면역원성 데이터 요약**

[1480] 이 실시예는 BNT162b1 및 BNT162b2 백신 후보에 대한 추가적인 안전성 및 면역원성 데이터를 제공한다. 이러한 안전성 및 내약성 데이터, 면역글로불린 G(IgG) 결합 및 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2) 중화 역가 데이터는 이러한 백신 후보에 대한 1단계 미국 연구의 미국 참가자로부터 나온 것이다.

[1481] **BNT162b1의 경우 다음 사항이 관찰된다:**

[1482] 10μg~30μg 용량 수준의 경우, 18~55세 및 65~85세 참가자에서 용량 수준이 증가함에 따라 반응원성(특히 전신 반응)이 증가한다. 반응원성(특히 전신 반응)은 1차 투여에 비해 2차 투여 후에 증가하였다.

[1483] **BNT162b2의 경우 다음 사항이 관찰된다:**

[1484] 용량 수준 및 용량 수에 따른 반응성 증가는 어느 연령대에서나 최소 수준에서 보통 수준이었다. 이용 가능한 모든 데이터에 기초하여, BNT162b2(및 특히 SEQ ID NO:20)에서 관찰된 반응성 프로파일은 상당히 유망하다.

[1485] 2차 투여 후 SARS-CoV-2 중화 반응에 초점을 맞춘 여기에 제시된 면역원성 데이터로부터 다음의 결론을 내릴 수

있다.

[1486] 제28일(2차 투여 후 7일)째 BNT162b1의 경우:

[1487] 10㎍ 및 30㎍ 용량(두 연령군에서 데이터가 있는 경우)으로 백신접종을 한 후 유도된 중화 항체 반응은 65~85세 그룹에 비해 18~55세 성인에서 더 높다. 65~85세 그룹에서 20㎍과 30㎍ 용량 후 중화 항체 반응은 유사했지만 20㎍ 용량 수준에서 수치적으로 더 높았다.

[1488] 제28일(2차 투여 후 7일)째 BNT162b2(특히, SEQ ID NO:20)의 경우:

[1489] 20㎍ 투여 후 중화 항체 반응(두 연령군 모두 데이터가 있음)은 65~85세 그룹에 비해 18~55세 그룹에서 더 높았다. 18~55세 그룹에서 중화 항체 반응은 10㎍ 용량 수준에 비해 20㎍을 투여받은 후 더 높았다. 도 56의 S1 IgG 결합 항체 데이터와 용량 수준에 걸친 1차 투여 후 반응(30㎍ 용량 수준에서 가장 높음)을 비교한 결과는, 중화 항체 수준이 2차 투여 후 30㎍ 투여량 수준에서도 높을 가능성이 있음을 시사하는데, 이는, 결합 항체의 수준이 중화 항체 수준과 잘 연관되어 있기 때문이다. 65~85세 그룹에서 20㎍ 및 30㎍ 용량 후 중화 항체 반응은 30㎍ 용량 수준에서 더 높았다.;

[1490] 전체적인 데이터는 BNT162b1과 BNT162b2 간에, 2차 투여 후 유사한 중화 항체 반응을 보여준다.

[1491] **BNT162b1의 안전성 및 내약성**

[1492] **18-55세 연령 그룹**

[1493] 이 연령군에 대한 안전성 데이터는 20㎍(및 내부 검토 위원회(IRC)의 권장 사항에 따라 2차 투여되지 않은 100㎍))을 제외한 모든 용량 수준에서 2차 투여 후에 대해 이용가능하며, 20㎍의 경우, 현재로서는 2차 투여 후 부분적인 데이터만 이용가능하다. 국소 반응은 도 48에 나타내었다. 전신 반응은 도 49에 나타내었다.

[1494] **BNT162b1의 면역원성**

[1495] **65-85세 연령 그룹**

[1496] 이 연령군에 대한 안전성 데이터는 모든 용량 수준에서 2차 투여 후에 대해 이용가능하다. RBD-결합 IgG 기하 평균 농도(GMC)는 도 50에 나타내었다. SARS-CoV-2 중화 기하 평균 역가(GMT)는 도 51에 나타내었다.

[1497] **BNT162b2의 안전성 및 내약성**

[1498] **18-55세 연령 그룹**

[1499] 이 연령군에 대한 안전성 데이터는 모든 용량 수준에서 2차 투여 후에 대해 이용가능하다. 국소 반응은 도 52에 나타내었다. 전신 반응은 도 53에 나타내었다.

[1500] **65-85세 연령 그룹**

[1501] 이 연령군에 대한 안전성 데이터는 모든 용량 수준에서 2차 투여 후에 대해 이용가능하지만, 10 ㎍ 용량 수준은 부분적이다. 국소 반응은 도 54에 나타내었다. 전신 반응은 도 55에 나타내었다.

[1502] **BNT162b2의 면역원성**

[1503] **18-55세 연령 그룹**

[1504] 이 연령군에 대한 면역원성 데이터는 30㎍ 용량 수준의 경우 1차 투여 후 및 10㎍ 및 20㎍ 용량 수준의 경우 2차 투여 후에 대해 이용가능하다. S1-결합 IgG GMC는 도 56에 나타내었다. SARS-CoV-2 중화 GMT는 도 57에 나타내었다.

[1505] **65-85세 연령 그룹**

[1506] 이 연령군에 대한 면역원성 데이터는 20㎍ 및 30㎍ 용량 수준의 경우 2차 투여 후에 대해 이용가능하다. S1-결합 IgG GMC는 도 58에 나타내었다. SARS-CoV-2 중화 GMT는 도 59에 나타내었다.

[1507] **결론**

[1508] BNT162b1 및 BNT162b2(및 특히 SEQ ID NO:20)의 국소 내약성 프로파일 및 면역 반응 데이터는 2 후보 간에 유사하다. BNT162b2(특히 SEQ ID NO:20)는 유리한 전신 반응성 프로파일을 나타낼 수 있다(특히 65세 내지 85세 그룹에서). BNT162b2(특히 SEQ ID NO:20)의 용량 수준을 선택할 때 65~85세 그룹의 SARS-CoV-2 중화 항체 반응

수준은 심각한 질병의 위험이 가장 높은 이 연령대의 중화 항체 반응을 최대화하기 위한 가중치가 될 수 있다. 본 연구에서 20㎍ 및 30㎍ 고령자 코호트의 중화 항체 수준을 비교하면, 30㎍ 용량 수준이 20㎍ 코호트보다 더 높은 중화 항체 수준을 나타냈다(도 59). GMT가 94인 인간 회복기 혈청 패널(HCS)의 중화 항체 수준과 비교하여 30μg 용량 수준의 GMT는 HCS의 GMT의 1.6배였다; 20㎍ 용량 수준에서의 GMT는 HCS의 GMT의 0.9배였다. 따라서 둘 다 인간 회복기 혈청 패널과 적어도 비슷한 중화 항체 역가를 보였다. 38개의 인간 SARS-CoV-2 감염/COVID-19 회복기 혈청을 PCR 확인 진단 후 최소 14일이 지난 18세에서 83세 사이의 참가자로부터 그리고 참가자가 무증상일 때 채취하였다. 혈청 공여자는 주로 증상이 있는 감염(35/38)이 있었고 한 명은 입원한 적이 있었다. 혈청은 Sanguine Biosciences(Sherman Oaks, CA), MT Group(Van Nuys, CA) 및 Pfizer Occupational Health and Wellness(Pearl River, NY)에서 구입하였다. 또한, 고령자 성인 코호트(도 58, 2차 투여 후) 및 젊은 성인 코호트(도 56, 1차 투여 후) 모두에서 S1-IgG 항체 결합 농도도 30㎍ 용량 수준의 선택을 선호했다. BNT162b2에 대한 독일 임상시험에서 생성되고 있는 예비 인간 T 세포 데이터는 RNA 플랫폼에 대해 기대되는 강력한 CD4+ 및 CD8+를 확인하고 있다. 이러한 점들을 고려할 때 BNT162b2(특히 SEQ ID NO:20)를 30μg 용량 수준으로 사용하여 2b/3상으로 진행하는 것이 제안되는데, 이는 이 용량과 구성이 유리한 반응성 프로필과 강력한 면역 반응의 최적 조합을 제공하여, 젊은 성인과 고령자의 COVID-19에 대한 보호를 제공할 가능성이 높기 때문이다.

[1509] **실시예 9: COVID-19 백신 BNT162의 면역학**

[1510] 18-85세 성인의 2/3상 진행을 지원하기 위해, BNT162 시험에 등록된 마우스 및 사람에서 BNT162b2 면역화 후 T 세포 반응을 요약하는 비임상 및 임상 데이터가 본원에 제공된다. 다음 면역원성 데이터가 제공된다.

[1511] 1. 예비 및 감사되지 않은 마우스 면역원성 데이터: IFNγ ELISpot(도 60), 세포내 사이토카인 염색, 및 BNT162b2 면역화 후 생성된 사이토카인의 Luminex 정량화.

[1512] 2. 독일 시험(BNT162-01)에서: 1차 투여 전 및 2차 투여 7일 후 18-55세 참가자의 10μg 용량 수준에서 BNT162b2에 대한 IFNγ ELISpot(도 61, 도 62, 도 63).

[1513] **마우스에서 BNT162b2에 대한 T 세포 반응**

[1514] 8마리의 암컷 BALB/c 마우스로 이루어진 4개의 그룹을 제0일에 동물 당 BNT162b2(특히 SEQ ID NO:20)를 0.2㎍, 1㎍ 또는 5㎍의 용량으로 또는 완충액 단독(대조군)을 근육 주사(IM) 주사하였다. 제12일 및 제28일에, 비장 세포 분리 및 IFNγ ELISpot 검정을 사용한 T-세포 반응 분석을 위해 비장을 수집하였다. 사이토카인 반응을 평가하기 위해 Luminex 분석 및 세포내 사이토카인 염색(ICS)을 수행하였다. 면역화 후 제12일 및 제28일에 BNT162b2-면역 마우스로부터 분리된 CD4+ 및 CD8+ T-세포 표현형 모두의 비장 세포의 높은 분율은, 전체 길이의 S 펩타이드 믹스로 체외에서 재자극되었을 때 ELISpot 및 유세포분석 분석에서 강력한 항원 특이적 IFNγ-반응 및 IL-2 반응을 나타내었다(도 60a 및 b). 제28일에 수집되고 전장 S 펩타이드 풀로 자극된 비장 세포는 멀티플렉스 면역분석에서 상응하는 최소 수준의 T_H2 사이토카인 IL-4, IL-5 및 IL-13과 함께 높은 수준의 T_H1 사이토카인 IL-2 및 IFNγ를 생산하였다(도 60c).

[1515] **독일 연구에서 BNT162b2에 대한 인간의 T 세포 반응**

[1516] BNT162b2(특히 SEQ ID NO:20)로 인간을 면역화함으로써 유발된 T 세포 표현형을 평가하기 위해, 독일 연구 참가자로부터 얻은 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에 대해 IFNγ ELISpot을 수행하였다.

[1517] **IFNγ ELISpot**

[1518] 1차 투여 전 및 제29일(2차 투여 7일 후)에 피험자로부터 얻은 CD4- 또는 CD8-고갈된 PBMC를 사용하여 백신 유발 T 세포 반응을 결정하였다. 제1일과 제22일에 10㎍의 BNT162b2(특히 SEQ ID NO:20)로 면역화된 5명의 피험자에 대해 IFNγ ELISpot 데이터가 생성되었다. 백신접종 후 스파이크 특이적 체외 CD4+ 및 CD8+ T 세포 반응이 각각 5/5(100%) 대상자에서 검출되었다. 모든 반응은 백신접종 전 샘플에서 최소이거나 검출되지 않았다. 반응은 백신 유도된 것으로 간주된다(도 61, 도 62, 도 63).

[1519] S 펩타이드 풀 1(수용체 결합 도메인[RBD]를 포함하는 스파이크의 N-말단 부분) 및 S 펩타이드 풀 2(스파이크의 C-말단 부분)에 의해 자극된 BNT162b2 백신 유발, 항원 특이적 CD8+ 및 CD4+ T 세포 반응은 CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 톡소이드에 대한 동일한 대상체의 기억 반응과 비슷하거나 더 높았다(도 63).

[1520] **결론**

[1521] BNT162b2 백신 후보에 대한 이러한 데이터는 전임상 모델과 modRNA(뉴클레오사이드 변형) 플랫폼으로 면역화된

인간에서 얻은 이전 결과를 확인해준다. 데이터는 modRNA가 상당한 Th1 유형 CD4+ 및 CD8+ T 세포 반응을 이끌어낸다는 것을 가리킨다.

[1522] **실시예 10: 삼량체 SARS-CoV-2 수용체-결합 도메인 RNA 백신은 비인간 영장류에서 면역원성이 높고 보호적이다.**

[1523] 이 실시예에서 본 발명자들은 우리는 BNT162b1 백신 후보의 설계 및 비임상 개발을 보고한다. 우리는 효과적인 근육 내 전달을 위해 지질 나노입자(LNP)에 캡슐화된 SARS-CoV-2의 구조적으로 안정하고 삼량체화된 수용체 결합 도메인(RBD)을 인코딩하는 뉴클레오사이드 변형 mRNA가, 마우스에서 강력한 항체 및 T_H1-우세 세포 면역 반응을 유도함을 입증하였다. BNT162b1 1회 용량으로 마우스를 면역화하자 슈도바이러스 중화 역가가 상당히 용량 수준-의존적으로 증가하였고 강력한 IFNɣ-양성 CD4+ 및 CD8+ T 세포 반응이 유발되었다. BNT162b1을 사용한 붉은털원숭이의 프라임-부스트 백신접종은 SARS-CoV-2 회복기 인간 혈청 패널의 2.6~6.0배인 확실한 SARS-CoV-2 중화 기하 평균 역가를 도출하였다. SARS-CoV-2 감염 챌린지시, 면역화된 원숭이는 면역되지 않은 대조군 원숭이보다 코와 폐에 바이러스 RNA가 존재하지 않거나 일시적으로 더 많이 존재하였다.

[1524] **Methods 재료 및 방법**

[1525] **윤리 성명서**

[1526] 모든 마우스 연구는 BioNTech SE에서 수행되었으며 프로토콜은 FELASA 권장 사항과 독일 동물 복지법 및 지침 2010/63/EU에 따라 수행된 지방 당국(지역 복지 위원회)의 승인을 받았다. 문제가 없는 건강 상태를 가진 동물만 테스트 절차를 위해 선택되었다.

[1527] 비인간 영장류(NHP) 연구를 위한 백신접종은 실험실 동물 관리 평가 및 인증 협회(AAALAC, Animal Assurance #: 000452)에 의해 인증된, Lafayette-New Iberia Research Center(NIRC)의 루이지애나 대학에서 수행되었다. 이 작업은 USDA 동물 복지법 및 규정, 재조합 DNA 분자와 관련된 연구에 대한 NIH 가이드라인, 미생물 및 생물의학 실험실의 생물학적 안전성을 준수하였다. 이들 동물에 대해 수행된 모든 절차는 규정 및 확립된 지침에 따라 수행되었으며 기관 동물 관리 및 사용 위원회 또는 윤리적 검토 프로세스를 통해 검토 및 승인되었다. NHP 연구를 위한 전염성 SARS-CoV-2 챌린지는 Southwest National Primate Research Center에서 수행되었다. 축산은 AAALAC International 및 NIH Guide for the Care of Use of Laboratory Animals에서 권장하는 표준을 따랐다. 이 연구는 Texas Biomedical Research Institute Animal Care and Use Committee의 승인을 받았다.

[1528] **단백질 및 펩타이드 시약.**

[1529] A 마우스 IgG1 불변 영역을 포함하는 정제된 재조합 SARS-CoV-2 RBD 융합체를 웨스턴 블롯의 표적으로 사용하고 인간 Fc-태그(둘 다 Sino Biological)로 태그시켜 SARS-CoV-2 S-특이 IgG를 검출하기 위해 ELISA 에 사용하였다. 히스티딘 태그가 있는 정제된 재조합 RBD(Sino Biological)를 표면 플라스몬 공명(SPR) 분광법에 사용하였다. S 단백질의 겹치는 15-mer 펩타이드 풀을 ELISpot, 사이토카인 프로파일링 및 세포내 사이토카인 염색에 사용하였다. 펩타이드 대조군(SPSYVYHQF, gp70 AH-1에서 유래(Slansky, J. E. et al., Immunity 13, 529-538, 2000))을 ELISpot 분석을 위한 대조군으로 사용하였다. 모든 펩타이드는 JPT Peptide Technologies에서 구입하였다.

[1530] **인간 회복기 혈청.**

[1531] 인간 COVID-19 회복기 혈청(n=38)은 PCR 확인 진단 후 최소 14일 후 및 참가자가 무증상일 때 18-83세의 기증자로부터 채취되었다. 혈청 공여자는 증상이 있는 감염이 있거나(35/38) 입원한 바 있다(1/38). 혈청은 Sanguine Biosciences(Sherman Oaks, CA), MT 그룹(Van Nuys, CA) 및 Pfizer Occupational Health and Wellness(Pearl River, NY)에서 구입하였다.

[1532] **세포 배양.**

[1533] 인간 배아 신장(HEK) 293T/17 및 Vero-76 세포(모두 ATCC)를 10% 소 태아 혈청(Sigma-Aldrich)이 보충된 GlutaMAX™(Gibco)가 포함된 Dulbecco 변형 이글 배지(DMEM)에서 배양하였다. 세포주는 수령 후 확장 및 동결보존 전에 마이코플라스마 오염에 대해 테스트되었다. Vero E6 및 Vero CCL81(모두 ATCC) 세포를 2% HyClone 태아 소 혈청 및 100U/mL 페니실륨/스트렙토마이신(Gibco)을 함유하는 DMEM(Gibco)에서 배양하였다. Expi293F™ 세포를 Expi293™ 배지에서 성장시키고 ExpiFectamine™293(모두 Thermo Fisher Scientific 제품)을 사용하여 일시적으로 형질감염시켰다.

[1534] **시험관내 전사된 RNA의 제조.**

[1535] RNA 합성을 위한 주형을 생성하기 위해 신호 펩타이드(SP, 아미노산 1-16), SARS-CoV-2 S RBD(GenBank: MN908947) 및 T4 피브리틴삼량체화 모티프('폴돈')으로 구성된 융합 단백질을 인코딩하는 DNA 단편을, 개선된 RNA 안정성 및 번역 효율을 위해 백본 서열 요소가 있는 출발 플라스미드 벡터에 클로닝하였다(Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol Ther 27, 824-836; 2019; Holtkamp, S. et al., Blood 108, 4009-4017, 2006). 비코딩 백본 요소에는 T7 프로모터에서 5' 및 3' UTR까지의 영역과 링커(A30LA70, 10개 뉴클레오타이드)에 의해 간섭된 폴리(A) 꼬리(100개 뉴클레오타이드)가 포함된다. DNA를 정제하고, 분광광도계로 정량화하고, 트리뉴클레오타이드 cap1 유사체($(m_2^{7,3'-O})$Gppp($m^{2'-O}$)ApG; TriLink)) 및 우리딘-5'-트리포스페이트(UTP) 대신 N^1-메틸슈도우리딘-5'-트리포스페이트(m1ΨTP; Thermo Fisher Scientific)의 존재 하에 T7 RNA 폴리머라제로 시험관내 전사하였다(Grudzien-Nogalska, E. et al., Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 969, 55-72, 2013). RNA는 자성 입자를 사용하여 정제되었으며(Berensmeier, S., Appl.Microbiol.Biotechnol. 73, 495-504, 2006), 미세유체 모세관 전기영동(Agilent Fragment Analyser) 및 농도, pH, 삼투압, 내독소 수준 및 바이오버든에 의해 무결성을 평가하였다.

[1536] **RNA의 지질-나노입자 제형.**

[1537] 이온화 가능한 양이온성 지질의 에탄올성 지질 혼합물을 사용하여 정제된 RNA를 LNP로 제형화하고 정용여과를 통해 수성 완충 시스템으로 옮겨 이전에 기술된 것과 유사한 LNP 조성물을 생성하였다(Maier, M. A. et al., Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy 21, 1570-1578, 2013). BNT162b1은 0.5mg/mL의 농도로 -70℃에서 보관되었다.

[1538] **mRNA 형질감염.**

[1539] HEK293T/17 세포를 18시간 동안 인큐베이션하여 형질감염 시약이 혼합된 BNT162b1 RNA 또는 BNT162b1로 형질감염시켰다. 비-LNP 제형화된 mRNA(웨스턴 블롯 및 유세포 분석의 경우 1μg, 면역형광의 경우 2.5μg)를 Opti-MEM 배지(Thermo Fisher Scientific)에 희석하고 제조업체의 지침(RiboJuice, Merck Millipore)에 따라 형질감염 시약과 혼합하였다.

[1540] **웨스턴 블롯 분석.**

[1541] BNT162b1 RNA 형질감염된 HEK293T/17 세포의 용해물을 10% Mini-Protean TGX 프리캐스트 폴리아크릴아미드 겔(Bio-Rad) 및 웨스턴 블롯으로 SDS-PAGE를 변성시켜 분석하였다. 반건조 이송 시스템(Trans-Blot Turbo Transfer System, Bio-Rad)을 사용하여 니트로셀룰로오스 막(Carl Roth)으로의 이송을 수행하였다. 블롯팅된 단백질은 SARS-CoV S(SinoBiological)의 재조합 S1 단편에 의해 유도된 1차 토끼 폴리클로날 항체와 2차 항토끼 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-접합 항체(Sigma Aldrich)로 검출되었다. 블롯을 SuperSignal West Femto 화학발광 기질(Thermo Fisher Scientific)으로 발달시켜 Image Lab 소프트웨어 버전 5.0을 사용하여 Bio-Rad ChemiDoc 시스템으로 이미지화하였다.

[1542] **면역형광.**

[1543] 형질감염된 HEK293T/17 세포를 4% 파라포름알데히드(PFA)에 고정하고 포스페이트-완충 염수(PBS)/0.2% Triton X-100에 침투시켰다. 자유 결합 부위를 차단하고 세포를 S1 서브유닛(SinoBiological)을 인식하는 토끼 다클론 항체 및 항토끼 IgG 2차 항체(Jackson ImmunoResearch) 또는 표지된 Concanavalin A(Invitrogen)와 함께 배양하였다. DNA는 Hoechst(Life Technologies)로 염색하였다. 이미지는 Leica SP8 공초점 현미경으로 획득하였다.

[1544] **유세포 분석.**

[1545] 형질감염된 HEK293T/17 세포를 Fixable Viability Dye(eBioscience)로 염색하였다. 고정(Fixation Buffer, Biolegend) 후, 세포를 투과(Perm Buffer, eBioscience)하고 모노클로날 SARS-CoV-2 스파이크 S1 항체(SinoBiological)로 염색하였다. BD FACSDiva 소프트웨어 버전 8.0.1을 사용하여 FACSCanto II 유세포 분석기(BD Biosciences)에서 세포를 획득하고 FlowJo 소프트웨어 버전 10.6.2(FlowJo LLC, BD Biosciences)로 분석하였다.

[1546] 말초 혈액에서 마우스 T 세포 분석을 위해, 50μL의 갓 채혈된 혈액의 적혈구를 용해하고(ACK 용해 완충액, Gibco) 세포를 유동 완충액(2% FCS, 2 mM EDTA [both Sigma] 및 0.01% 소듐 아자이드[Morphisto])가 보충된 DPBS [Gibco])에서 Fc 블록 존재 하에 Fixable Viability Dye(eBioscience) 및 1차 항체로 염색하였다. 유동 완충액에서 2차 비오틴 결합 항체로 염색한 후 세포를 유동 완충액에 희석된 Brilliant Stain Buffer Plus(BD

Bioscience)에서 직접 표지된 항체 및 스트렙타비딘으로 표면 마커에 대해 세포외 염색하였다. 세포를 2% RotiHistofix(Carl Roth)로 고정하고 밤새 투과시켰다(Perm Buffer, FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set, eBioscience). 투과된 세포를 Fc 블록으로 세포내 처리하고 Perm 완충액에서 전사 인자에 대한 항체로 염색하였다.

[1547] 림프 조직에서 마우스 T 세포 분석을 위해 1 x 10^6 림프절 및 4 x 10^6 비장 세포를 직접 표지된 항체로 생존 및 세포외 항원에 대해 염색하였다. 세포를 2% RotiHistofix로 세척하고 밤새 고정시켰다(Fix/Perm Buffer, FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set, eBioscience). 혈액 T-세포 염색에 대해 기술된 바와 같이 세포내 염색을 수행하였다. 림프 조직에서 마우스 B 세포 아형 결정을 위해 2.5 × 10^5 림프절 및 1 × 10^6 비장 세포를 Fc 블록으로 처리하고 혈액 T 세포 염색에 대해 설명한 대로 생존력 및 세포외 항원에 대해 염색하고 2% RotiHistofix로 밤새 고정하였다. T 세포에서 마우스 세포내 사이토카인 염색을 위해, 1 x 10^6 림프절 및 4 x 10^6 비장 세포를 GolgiStop 및 GolgiPlug(둘 다 BD Bioscience) 존재 하에 5시간 동안 전장 S 펩타이드 믹스의 펩타이드 당 0.2 μg/mL 최종 농도로 생체외 재자극하였다. 세포를 림프성 T-세포 염색에 대해 기술된 바와 같이 생존력 및 세포외 항원에 대해 염색하였다. 세포를 2% RotiHistofix로 고정하고 밤새 투과시켰다. 혈액 T-세포 염색에 대해 기술된 바와 같이 세포내 염색을 수행하였다.

[1548] 마우스 세포를 각각 BD FACSDiva 소프트웨어 버전 9.1 또는 8.0.1.1을 사용하여 BD Symphony A3 또는 BD Celesta(B 세포 하위 유형 지정) 유세포 분석기(BD Bioscience)에서 획득하고 FlowJo 10.6(FlowJo LLC, BD Biosciences)으로 분석하였다.

[1549] **단백질 발현 및 정제.**

[1550] 생화학 및 구조 분석을 위해 BNT162b1에 의해 인코딩된 RBD-폴돈을 발현하기 위해 RNA 코딩 서열에 해당하는 DNA를 pMCG1309 벡터에 클로닝하였다. Expi293F 세포에서 ACE2 펩티다제 도메인(ACE2 PD)의 일시적인 발현을 위해 C 말단 His-10 및 Avi 태그가 있는 인간 ACE2의 아미노산 1-615를 인코딩하는 플라스미드가 생성되었다. ACE2/B^0AT1 복합체는 Expi293F 세포에서 2개의 플라스미드의 공동-발현에 의해 생성되었으며, 그 중 하나는 ACE2 아미노산 1-17을 인코딩하고 그 다음에는 헤마글루티닌 및 Strep II 태그와 ACE2 아미노산 18-805를 인코딩하고 다른 하나는 메티오닌에 이어 인간 B^0AT1의 FLAG 태그 및 아미노산 2-634를 함유하였다.

[1551] 분비된 ACE2 PD는 Nickel Excel 수지(GE Healthcare)에 이어 PBS의 Superdex200 10/30 컬럼(GE Healthcare)에서 겔 여과 크로마토그래피를 사용하여 조정된 세포 배양 배지에서 분리되었다. AminoLink Plus 수지(Thermo Fisher Scientific)를 사용한 아민 커플링에 의해 1mL의 4% 비드 아가로스당 약 5mg의 정제된 ACE2 PD가 공유 결합되었다. RBD-삼량체는 ACE2 PD 가교된 아가로스로 친화성 포획에 의해 조정 배지로부터 정제되었고 3 M $MgCl_2$를 이용하여 수지로부터 용출되었다. 투석 후 단백질을 농축하고 10% 글리세롤이 포함된 HEPES 완충 식염수(HBS)에서 Superdex200 10/300 컬럼을 사용하여 겔 여과하여 정제하였다. ACE2/B^0AT1 복합체의 정제는 이전에 설명한 절차를 기반으로 하였다(Yan, R. et al., Science (New York, N.Y.) 367, 1444-1448, 2020). ACE2/B^0AT1/RBD-삼량체 복합체를 형성하기 위해, ACE2/B^0AT1 분취량을 ACE2/B^0AT1 크기 배제 크로마토그래피 완충액(25mM Tris pH 8.0, 150mM NaCl, 0.02% 글리코 디오스게닌)에 희석된 정제된 RBD-폴돈과, RBD-삼량체 대 ACE2 프로토머의 3:1 몰비로 조합하였다. 4℃에서 30분 동안 배양한 후, 시료를 농축하고 Superose 6 Increase 10/300 GL 컬럼에서 분석하였다. 복합체를 함유하는 피크 분획을 모아 농축하였다.

[1552] **표면 플라즈몬 공명 분광법.**

[1553] 쥐의 RBD-특이적 혈청 IgG의 결합 동력학은 25℃에서 HBS-EP 실행 완충액(BR100669, Cytiva)과 함께 Biacore T200 장치(Cytiva)를 사용하여 구하였다. CM5 센서 칩 매트릭스의 카르복실기는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보디이미드히드로클로라이드(EDC)와 N-히드록시석신이미드(NHS)의 혼합물로 활성화되어 아민기와의 반응을 위한 활성 에스테르를 형성하였다. 항-마우스-Fc-항체(Jackson ImmunoResearch)를 ~10,000 반응 유닛(RU)의 고정화 수준으로 공유 결합하기 위해 10mM 아세트산나트륨 완충액 pH 5(30μg/mL)에 희석하였다. 센서 표면의 자유 N-히드록시숙신이미드 에스테르는 에탄올아민으로 불활성화시켰다.

[1554] 마우스 혈청을 HBS-EP 완충액에 1:50으로 희석하고 고정된 항체에 의한 포획을 위해 활성 유동 세포에 30초 동안 10 μL/분으로 적용한 반면 참조 유동 세포는 완충액으로 처리하였다. RBD-His(Sino Biological Inc.)에 대

한 포획된 쥐의 IgG 항체의 결합 분석은 1.5625 내지 50 nM 범위의 농도를 갖는 다중 사이클 동역학 방법을 사용하여 수행되었다. 180초의 회합 기간에 이어 40 μL/분의 일정한 유속 및 최종 재생 단계로 600초의 해리 기간이 뒤따랐다. 결합 동역학은 전체 동역학 맞춤 모델을 사용하여 계산되었다(1:1 Langmuir, Biacore T200 평가 소프트웨어 버전 3.1, Cytiva).

[1555] **생물층 간섭계(Biolayer interferometry).**

[1556] ACE2-PD에 대한 RBD-폴돈의 결합은 25℃에서 10mM HEPES pH 7.5, 150mM NaCl 및 1mM EDTA로 구성된 완충액에서 Octet RED384(ForteBio)의 생물층 간섭계로 측정되었다. Avi-태그된 인간 ACE2 PD는 스트렙타비딘 코팅 센서에 고정되었다. 결합 데이터는 RBD-삼량체의 농도 계열에 대해 10분의 결합 및 15분의 해리 동안 수집되었다. Octet Data Analysis Software v10.0(ForteBio)을 사용하여 데이터를 참조값-차감하고 R^2 값이 0.96보다 큰 1:1 결합 모델에 맞춰 동역학 및 결합 친화력을 결정하였다. 상호작용의 해리 속도(k_d)는 기기의 측정 한계보다 느렸고, 결합 친화도(K_D)는 1×10^{-6} s^{-1}의 가정된 해리 속도 k_d를 사용하여 추정되었다.

[1557] **음성 염색된 샘플의 전자 현미경.**

[1558] 4 μL의 정제된 RBD-삼량체 단백질을 formvar 및 무정형 탄소(Ted Pella)로 덮힌 백열 방전 구리 그리드에 적용하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 Nano-W 유기 텅스텐 염색(Nanoprobes)으로 염색을 수행하고, 샘플은 200kV에서 작동하는 FEI TF-20 현미경을 사용하여 62,000x 배율 및 -2.5 μm의 디포커스로 이미지화하였다. 현미경 사진은 CTFFIND-4.1(Rohou, A. & Grigorieff, N., Journal of structural biology 192, 216-221, 2015)을 사용하여 RELION에서 콘트라스트 전달 함수(CTF)로 보정되었다. 수동으로 선택한 작은 데이터 세트를 사용하여 자동 선택을 위한 2D 참조를 생성하였다. 생성된 입자 세트를 RELION 3.0.6(Zivanov, J. et al., eLife 7; 10.7554/eLife.42166 (2018))로 2D 분류하였다.

[1559] **극저온 전자현미경.**

[1560] Pelco Easiglow를 사용하여 20mA에서 30초 동안 잔류 공기에서 방전된 금 Quantifoil R1.2/1.3 200 메쉬 그리드 글로우에 4 μL의 6mg/mL에서 정제된 ACE2/B^0AT1/RBD-삼량체 복합체를 적용하였다. 샘플을 액체 질소로 냉각된 액체 에탄에 넣기 전에 -3의 힘으로 5초 동안 Vitrobot Mark IV를 사용하여 블롯팅하였다. 전체적으로 Gatan K2 Summit 직접 전자 검출기가 장착된 300keV에서 작동하는 Titan Krios의 단일 그리드에서 165,000x 배율의 초고해상도 모드에서 검체 수준0.435Å의 확대된 픽셀 크기에 대해 총 7,455개의 현미경 사진이 수집되었다. 데이터는 1.30e-/$Å^2$/프레임에 대해 6초 노출에 걸쳐 40프레임으로 분할된 52.06e^-/$Å^2$의 총 전자 선량으로 -1.2 내지 -3.4 μm의 디포커스 범위에서 수집되었다. Warp(Tegunov, D. & Cramer, P., Nature methods 16, 1146-1152, 2019)에서 초기 모션 수정이 수행되었으며, 그 동안 초고해상도 데이터가 0.87Å의 픽셀 크기를 제공하도록 구간화되었다. CTFFIND-4.1(Rohou, A. & Grigorieff, N., Journal of structural biology 192, 216-221, 2015)을 사용한 CTF 추정을 위해 수정된 현미경 사진을 RELION 3.1-beta(Zivanov, J. et al., eLife 7; 10.7554/eLife.42166 (2018))로 가져왔다. RELION에 구현된 LaPlacian-of-Gaussian 입자 선택 알고리즘을 사용하여 입자를 선택하고 450픽셀의 상자 크기로 추출하였다. 2D 분류로 얻은 참조는 참조 기반 자동 선택의 두 번째 라운드에 사용되어 715,356개 입자의 데이터 세트를 생성하였다. 입자 이질성은 마스크 크기가 280nm인 2D 및 3D 분류로 필터링하여 각 RBD-트리머에서 비-ACE2 결합 RBD 사본을 필터링하여 87,487개의 입자 세트를 생성했으며, 이는 C2 대칭으로 3.73Å로 정제되었다. 입자에서 미셀 및 B^0AT1 밀도를 뺀 후 미세 조정하여 3.24Å의 개선된 지도가 생성되었다. PDB ID 6M17(Yan, R. et al., Science (New York, N.Y.) 367, 1444-1448, 2020)의 원자 모델은 3.24Å 밀도에 맞춰진 강체였으며, 그런 다음 Coot (Emsley, P. et al., Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography 66, 486-501, 2010)의 매뉴얼 빌딩과 교번하여 Phenix (Adams, P. D. et al., Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography 66, 213-221, 2010)에서 실공간 개선을 사용하여 밀도에 유연하게 맞추었다. 현미경은 SerialEM 소프트웨어 버전 3.8.0 베타(Mastronarde, D. N., Journal of structural biology 152, 36-51, 2005)를 사용하여 이미지 획득을 위해 작동되었다. Biolayer interferometry 데이터는 Octet Data Acquisition 소프트웨어 버전 10.0.0.87로 수집되었고 ForteBio Data Analysis 소프트웨어 버전 10.0을 사용하여 가공하였다.

[1561] **면역.**

[1562] 마우스. 암컷 BALB/c 마우스(Janvier; 8-12주)를 무작위로 그룹에 할당하였다. BNT162b1을 PBS, 300mM 수크로

스 또는 식염수(0.9% NaCl)에 희석하고 이소플루란 마취 하에 비복근 근육에 20μL의 IM을 주입하였다.

[1563] 붉은털 원숭이(Macaca mulatta). 수컷 붉은털 원숭이(2~4세)는 제0일과 제21일에 왼쪽 대퇴사두근 근육에 IM 주사로 투여되는 0.5mL 용량의 BNT162b1 또는 식염수 위약 대조군을 받도록 무작위로 배정되었다. 혈청 및 PBMC용 혈액은 NIRC 기관 동물 관리 및 사용 위원회에서 승인한 프로토콜 2017-8725-023 동물 규정에 따라 수집되었다. 채혈 및 면역화 동안 동물을 케타민 HCl(10 mg/kg; IM)로 마취시키고 적절한 진정 작용을 모니터링하였다.

[1564] **붉은털 원숭이의 SARS-CoV-2 챌린지.**

[1565] SARS-CoV-2 접종물은 이전에 Texas Biomedical Research Institute(텍사스주 샌안토니오 소재)에서 준비한 2.1 × 10^6 PFU/mL 스톡에서 얻었고, 일회용 바이알에 분주하여 -70℃에서 보관하였다. 작업 바이러스 스톡은 Vero E6 세포에서 SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 단리체(BEI Resources에서 구입한 4번째 계대 종자 스톡; NR-52281)를 두 번 계대시켜 생성되었다. 이 바이러스는 딥 시퀀싱을 통해 SARS-CoV-2로 확인되었으며 공개된 시퀀스(GenBank 수탁번호 MN985325.1)와 동일한다. BNT162b1-면역화(n=6) 및 연령 일치 식염수 대조군-면역화(n=6) 수컷 붉은털원숭이(대조군)를, 이전에 설명된 바와 같이(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020), 비강내(IN; 0.2mL) 및 기관지내(IT; 0.2mL) 경로로 동등하게 나누어진 SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 단리물의 1 × 10^6 플라크 형성 단위로 챌린지되하였다. 챌린지는 2차 면역화 후 41 내지 48일에 수행하였다. 연령 및 성별이 일치하는 동물(n=3)의 비면역 그룹에는 10% FCS가 보충된 DMEM만이 IN(0.2mL) 및 IT(0.2mL)로 제공되었다. 챌린지 약 2주 전에 동물을 사우스웨스트 국립 영장류 연구 센터(SNPRC; San Antonio, TX)의 동물 생물안전 수준 3(ABSL-3) 시설로 옮겼다. 직장 체온, 체중 및 신체 검사를 위해 위원회 인증 수의사 임상의가 동물을 정기적으로 모니터링하였다. 검체 수집은 기술된 바와 같이(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020) 틸레타민 졸라제팜(Telazol) 마취 하에 수행되었다. 바이러스 역가를 평가하기 위해 접종 후 0, 1, 3 및 6일에 원숭이로부터 비강 면봉을 수집하였다. BAL(Bronchoalveolar lavage)은 챌린지 전 주와 접종 3일 및 6일에 식염수 20mL를 4회 주입하여 수행되었다. 이러한 세척액을 모으고, 분주하여 -70℃에서 냉동 보관하였다.

[1566] **역전사 정량 폴리머라제 연쇄 반응.**

[1567] SARS-CoV-2를 검출하고 정량화하기 위해 이전에 설명된 대로 비강 면봉과 BAL 검체에서 바이러스 RNA를 추출하고(Mehra, S. et al., The Journal of infectious diseases 207, 1115-1127, 2013; Gautam, U. S. et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 115, E62-E71; 2018; Joosten, S. A. et al., PLoS pathogens 6, e1000782, 2010), 이전에 설명된 대로 RT-qPCR로 테스트하였다(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020). 간략하게, 10 μg 효모 tRNA 및 1 x 10^3 PFU의 MS2 파지(대장균 박테리오파지 MS2, ATCC)를 각각의 해동된 샘플에 첨가하고 RNA 추출을 NucleoMag Pathogen 키트(Macherey-Nagel)를 사용하여 수행하였다. SARS-CoV-2 RT-qPCR은 QuantStudio 3 기기(Applied Biosystems)에서 CDC가 개발한 2019-nCoV_N1 분석을 사용하여 추출된 RNA에서 수행되었다. 양성 컷오프(검출 한계, LOD)는 반응당 10 유전자 등가물(GE)(800 GE/mL)로 설정되었다. 샘플을 이중으로 테스트하였다. 제6일에 대조군의 BAL 검체 1개와 BNT162b1 면역화 그룹의 비강 면봉 1개는 반복 측정 시 LLOD 양쪽에서 바이러스 RNA 수준을 보였다. 이들 검체는 불확실한 것으로 분류되어 그래프 및 분석에서 제외되었다.

[1568] **조직 준비**

[1569] 마우스. 이소플루란 마취하에 안와후정맥총 또는 안면정맥에서 말초 혈액을 채취하였다. 혈액을 16.000 x g에서 5분 동안 원심분리하고 혈청을 다운스트림 분석에 즉시 사용하거나 -20℃에서 보관하였다. 3mL 주사기(BD Biosciences)의 플런저를 사용하여 70μm 세포 스트레이너(BD Falcon)의 표면에 대해 조직을 으깨어 PBS에서 비장 단일 세포 현탁액을 준비하였다. 적혈구는 저장성 용해에 의해 제거되었다. 슬와 림프절, 서혜부 및 장골 림프절을 모으고, 조각으로 다져서, 콜라게나아제 D(1 mg/mL; Roche)로 분해하고 세포 스트레이너를 통과시켰다.

[1570] 붉은털원숭이(Macaca mulatta). 혈청 및 PBMC용 혈액은 NIRC 기관 동물 관리 및 사용 위원회에서 승인한 동물 프로토콜 2017-8725-023에 따라 수집되었다.

[1571] **RBD-결합 IgG 항체 분석.**

[1572] 마우스 혈청의 경우, MaxiSorp 플레이트(Thermo Fisher Scientific)를 탄산나트륨 완충액에서 재조합 RBD(100 ng/100 μL)로 코팅하고 결합된 IgG를 HRP 결합 2차 항체 및 TMB 기질(Biotrend)을 사용하여 검출하였다. 데이터 수집은 BioTek Epoch 판독기와 Gen5 소프트웨어 버전 3.0.9를 사용하여 수행되었다. 농도 분석을 위해 특정 샘플의 신호를 이소형 대조군의 표준 곡선과 연관시켰다. 붉은 털원숭이 및 인간 혈청에 대해, C-말단 Avitag™ (Acro Biosystems)를 포함하는 재조합 SARS-CoV-2 RBD를 스트렙타비딘 코팅 Luminex 마이크로스피어에 결합시켰다. 결합된 히말라야원숭이 또는 혈청에 존재하는 인간 항-RBD 항체는 형광 표지된 염소 항-인간 폴리클로날 이차 항체(Jackson ImmunoResearch)로 검출되었다. Bioplex200 시스템(Bio-Rad)을 사용하여 중앙 형광 강도(MFI)로 데이터를 캡처하고 5개의 풀링된 인간 COVID-19 회복기 혈청 샘플로 구성된 참조 표준 곡선을 사용하여 U/mL 항체 농도로 변환하고(>14일 PCR 진단 획득)), 100U/mL의 임의 할당 농도 및 혈청 희석 인자를 고려하여 항체 고갈 인간 혈청에 희석하였다.

[1573] **VSV-SARS-CoV-2 스파이크 변종 슈도바이러스 중화.**

[1574] VSV-G 대신 GFP를 인코딩하는(VSVΔG-GFP) 재조합 복제 결핍 수포성 구내염 바이러스(VSV) 벡터를 공개된 슈도타이핑 프로토콜에 따라 SARS-CoV-2 S 단백질로 슈도타이핑하였다(Berger Rentsch, M. & Zimmer, G ., PLoS ONE 6, e25858, 2011; Lester, S. et al., Access Microbiology 1, 20290, 2019). 요약하면, C-말단 세포질 19개 아미노산이 절단된 SARS-CoV-2 S를 발현하도록 형질감염된 HEK293T/17 단층(SARS-CoV-2-S-CΔ19)에 VSVΔG-GFP 벡터를 접종하였다. 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, 접종물을 제거하고 세포를 PBS로 세척한 후 항-VSV-G 항체(클론 8G5F11, Kerafast Inc.)가 보충된 배지를 첨가하여 잔류 인풋 바이러스를 중화시켰다. VSV/SARS-CoV-2 슈도바이러스 함유 배지는 접종 20시간 후 수확하고 0.2μm 여과하여 -80℃에서 보관하였다.

[1575] Vero-76 세포를 96-웰 플레이트에 접종하였다. 마우스 혈청 샘플의 연속 희석액을 준비하고 VSV/SARS-CoV-2 슈도바이러스 현탁액(4.8×10^3 감염 유닛[IU]/mL)과 함께 실온에서 10분 동안 사전 배양한 후 혼합물을 Vero-76 세포로 옮겼다. 접종된 Vero-76 세포는 37℃에서 20시간 동안 배양되었다. 플레이트를 IncuCyte Live Cell Analysis 시스템(Sartorius)에 넣고 분석 전 30분 동안 배양하였다(IncuCyte 2019B Rev2 소프트웨어). 명시야 및 GFP 형광에 대한 전체 웰 스캐닝은 4X 대물렌즈를 사용하여 수행되었다. 50% 슈도바이러스 중화 역가($pVNT_{50}$)는 무혈청 슈도바이러스 양성 대조군의 평균과 비교하여 웰당 GFP-양성 감염된 세포 수의 50% 감소를 산출하는 첫 번째 혈청 희석의 역수로 보고되었다. 각 혈청 샘플 희석액을 이중으로 테스트하였다.

[1576] **인간 회복기 혈청 및 붉은털 원숭이 혈청에 의한 SARS-CoV-2 중화.**

[1577] SARS-CoV-2 중화 분석에서는 역유전학에 의해 구조되고 mNeonGreen(mNG) 유전자를 바이러스 게놈의 오픈 리딩 프레임 7에 삽입하여 조작된 이전에 설명된 SARS-CoV-2(USA_WA1/2020) 균주를 사용하였다 (Xie, X. et al., Cell host & microbe 27, 841-848.e3, 2020). 이 리포터 바이러스는 야생형 바이러스와 유사한 플라크 형태 및 구별할 수 없는 성장 곡선을 생성한다. 바이러스 마스터 스톡은 이전에 기술된 바와 같이 Vero E6 세포에서 성장되었다(Lester, S. et al., Access Microbiology 1, 20290, 2019). 인간 회복기 혈청 검체를 테스트할 때 형광 중화 분석은 기존의 플라크 감소 중화 분석과 유사한 결과를 생성하였다. 열 불활성화된 혈청의 연속 희석물을 리포터 바이러스(웰당 2×10^4 PFU)와 함께 배양하여 96-웰 플레이트에 Vero CCL81 세포 단일층을 접종하기 전에 37℃에서 1시간 동안 Vero CCL81 단일층의 감염률이 약 10-30%가 되도록 하여(웰당 8,000~15,000개 세포를 목표로 함) 감염된 세포의 정확한 정량화를 허용한다. 웰당 총 세포 수를 핵 염색(Hoechst 33342)으로 열거하고 Gen5 Image Prime 버전 3.09에 따라 Cytation 7 Cell Imaging Multi-Mode Reader(Biotek)로 접종한 후 16-24시간 후에 형광 바이러스 감염 병소를 검출하였다. GraphPad Prism 버전 8.4.2에서 역가는 각각의 연속 혈청 희석에서 퍼센트 중화의 4-매개변수(4PL) 물류 적합도를 생성하여 계산되었다. 50% 중화 역가(VNT_{50})는 형광 바이러스 초점 50% 감소를 야기하는 희석의 보간된 역수로 보고되었다.

[1578] **IFNγ ELISpot.**

[1579] 제조업체의 지침(Mabtech)에 따라 마우스 IFNγ ELISpot^{PLUS} 키트로 ELISpot 분석을 수행하였다. 총 5×10^5개의 비장 세포를 전장 S 펩타이드 믹스(펩타이드당 0.1μg/mL 최종 농도, JPT) 또는 대조군(gp70-AH1 [SPSYVYHQF] (Slansky, J. E. et al., Immunity 13, 529-538, 2000), JPT, 4 μg/mL; Concanavalin A (ConA), Sigma, 2 μg/mL)로 재자극하였다. 스트렙타비딘-ALP 및 BCIP/NBT-plus 기질을 추가하고 ELISpot 플레이트 판독기(ImmunoSpot® S6 Core Analyzer, CTL)를 사용하여 스팟을 세었다. 스팟 수는 ImmunoCapture Image Aquision Software V7.0 및 ImmunoSpot 7.0.17.0 Professional을 사용하여 평가되었다. T 세포 아형 분

석을 위해 제조업체의 지침에 따라 MACS MicroBeads(CD8a [Ly-2], Miltenyi Biotec)를 사용하여 비장 세포 현탁액에서 CD8+ T 세포를 분리하였다. 통과액은 CD4+ T 세포의 공급원 역할을 하였다. 이어서 CD8+ 또는 CD4+ T 세포를 전체 길이 S 펩타이드 믹스(펩타이드당 최종 농도 0.1μg/mL)가 로드된 동계 골수 유래 수지상 세포 또는 대조군으로서 배지로 재자극하였다. 1 X 10^5 $CD8^+$ 또는 $CD4^+$ T 세포당 스팟 수를 계산하기 위해 분리된 T 세포 서브세트의 순도를 유세포 계측법으로 구하였다.

[1580] **사이토카인 프로파일링.**

[1581] 마우스 비장 세포를 전장 S 펩타이드 믹스(펩타이드당 최종 농도 0.2μg/mL) 또는 배지만으로 48시간 동안 재자극하였따. 상청액 중 IFNɣ, IL-2, IL-4 및 IL-5의 농도는 제조업체의 지침에 따라 비드 기반, 11-플렉스 T_H1/T_H2 마우스 ProcartaPlex 다중 면역분석법(Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 결정되었다. 형광은 Bioplex200 시스템(Bio-Rad)으로 측정하고 ProcartaPlex Analyst 1.0 소프트웨어(Thermo Fisher Scientific)로 분석하였다.

[1582] **통계 및 재현성.**

[1583] 그룹 및 샘플 크기(n)를 미리 결정하기 위해 통계적 방법을 사용하지 않았다. 모든 실험은 한 번 수행되었다. RT-qPCR 분석에 대해 보고된 P-값은 SAS® 9.4의 PROC GENMOD를 사용하여 치료 및 일 효과에 대한 로짓 링크를 사용하여 이항 반응(챌린지 후 검출할 수 없는 바이러스 RNA를 성공으로, 측정 가능한 바이러스 RNA를 실패로)에 대한 범주 분석으로 결정하였다. 챌린지 후의 샘플(BAL의 경우 제3일 및 제6일; 비강 면봉의 경우 제1일, 제3일 및 제6일)이 분석에 포함되었다. 불확실한 결과는 이 분석에서 제외되었다. 나머지 모든 분석은 GraphPad Prism 8.4를 사용하여 수행되었다.

[1584] **결과**

[1585] 본 발명자들은 BNT162b1이라는 이름의 SARS-CoV-2 백신을 설계하였다. 이 백신은 C-말단에서 T4 피브리틴의 자연 삼량체화 도메인(foldon)에 융합된 RBD를 인코딩하는 LNP 캡슐화된 N^1-메틸-슈도우리딘(m1Ψ) 뉴클레오사이드 변형 mRNA로 구성된다(Meier, S. et al., Journal of molecularbiology 344, 1051-1069, 2004)(도 64a). SARS-CoV-2 S 신호 펩타이드(SP)는 삼량체 RBD의 ER 전좌 및 분비를 가능하게 한다. RNA의 m1Ψ 변형은 선천성 면역 감지를 약화시키고 최적화된 비-코딩 서열 요소와 함께 생체 내에서 RNA 번역을 증가시킨다(Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol Ther 27, 824-836, 2019; Karikσ, K. et al., Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy 16, 1833-1840, 2008).

[1586] 플라스미드 DNA 주형으로부터 T7 폴리머라제에 의해 시험관내 전사된 BNT162b1 RNA는 1262개 뉴클레오타이드의 계산된 길이와 일치하는 단일의 날카로운 피크 미세유체 모세관 전기영동 프로필을 갖는데 이는 그 순도와 무결성을 나타내는 것이다(데이터는 표시되지 않음). BNT162b1 RNA-형질감염된 HEK293T/17 세포의 용해물의 웨스턴 블롯 분석은 RBD가 RNA로부터 발현되고 29.46kDa의 계산된 중량과 일치하는 겉보기 분자량을 가짐을 입증하였다(데이터는 표시되지 않음). 형질감염된 세포에서 분비 경로 상의 단백질 발현 및 소포체 국소화를 각각 유동 세포측정법 및 면역형광 현미경법으로 확인하였다(데이터는 나타내지 않음).

[1587] 구조적 특성화를 위해 삼량체화된 RBD를, Expi293F 세포에서 BNT162b1 RNA의 코딩 서열에 해당하는 DNA 서열로부터 발현시키고 아가로스 비드에 고정된 ACE2 펩티다제 도메인으로 친화성 포획하여 정제하였다. 삼량체화된 RBD는 고친화성(5pM K_D)으로 인간 ACE2 펩티다제 도메인(PD)에 결합했으며, 이는 단량체 RBD에 대해 보고된 K_D 5.09nM의 약 1,000배이며 다량체 결합의 결합력 효과와 일치한다(데이터는 표시되지 않음). RBD-폴돈의 삼량체 결합가 및 그 유연성은 음으로 염색된 시편의 전자현미경(EM)에 의해 시각화되었으며, 이는 다양한 형태를 나타냈다(도 64b). RBD-폴돈의 유연성이 고해상도의 직접적인 구조 분석을 불가능하게 했지만, RBD 도메인은 ACE2 샤페론과 B^0AT1 중성 아미노산 수송체의 복합체가 전술한 바와 같이 닫힌 배열일 때 상기 복합체에 결합하여 고정될 수 있었다(Yan, R. et al., Science (New York, N.Y.) 367, 1444-1448, 2020). RBD-폴돈n/ACE2/B^0AT1 3원 복합체의 크기와 대칭성은 저온 전자온현미경(cryoEM)에 의한 이미지 재구성을 도왔고, 복합체 내 RBD 도메인의 구조는 3.24Å 해상도로 결정되었다(도 64c). 결합된 각 삼량체에 대해 RBD 카피 하나가 분석되었다. 분해된 RBD와 ACE2 세포외 도메인 사이의 결합 인터페이스는 이전에 보고된 구조에 맞춰졌고 잘 일치하였다(He, Y. et al., Biochemical 및 Biophysical Research Communications 324, 773-781, 2004; Yi, C. et al., Cellular & molecular immunology; 10.1038/s41423-020-0458-z, 2020). ACE2에 대한 높은 친화성 결합 및 ACE2와의 복합체

에서 잘 분해된 구조는 재조합 RBD-폴돈이 많은 SARS-CoV-2 중화 항체가 표적으로 하는 ACE2 결합 부위를 진정으로 제시한다는 것을 입증한다(Brouwer, P. J. M. et al., Science (New York, N.Y.); 10.1126/science.abc5902 (2020); Zost, S. J. et al., Nature medicine; 10.1038/s41591-020-0998-x (2020)).

[1588] BNT162b1-유발된 B 및 T 세포 면역 반응은 0.2, 1 또는 5 μg BNT162b1 또는 완충액 단독으로 단일 근육내(IM) 면역화 후 BALB/c 마우스에서 일련의 실험에서 특성화되었다. RBD-특이적 혈청 IgG는 용량 의존적 방식으로 모든 용량 수준에서 신속하게 발생하였고, 제21일경에 정체되었다(5 μg 용량 수준에 대해 1.63 ± 0.13 mg/mL; 도 65a). 백신-유발된 IgG는 높은 on-rate(기하 평균 k_{on} 1.72 x 10^6/Ms) 및 낮은 off-rate(기하 평균 K_{off} 8.27 x 10^{-5}/s; 도 65b)와 함께 높은 RBD-결합 친화도(기하 평균 K_D 48.0 pM)를 가졌다. 마우스 혈청에서 SARS-CoV-2 중화 활성은 수포성 구내염 바이러스(VSV) 기반 SARS-CoV-2 슈도바이러스 중화 분석으로 측정되었다. 평균 50% 슈도바이러스 중화 역가($pVNT_{50}$)는 0.2, 1 및 5μg 용량 수준에 대해 면역화 후 28일에 각각 102, 192 및 1,056으로 꾸준히 증가하였다(도 65c).

[1589] 면역화 후 제12일 및 제28일에 BNT162b1-면역 마우스로부터 분리된 CD4+ 및 CD8+ T-세포 표현형의 비장 세포의 높은 분율은 전체 길이의 S 펩타이드 믹스로 체외에서 재자극되었을 때, ELISpot 분석에서 강력한 항원 특이적 IFNɣ-반응을 발휘하였다(도 65d). 전장 S 펩타이드로 자극된 벌크 비장 세포와 CD4+ 및 CD8+ 서브세트 역시도 제12일에 높은 IFNɣ 생산과 유의한 IL-2 반응을 나타내지만 유세포 분석 사이토카인 방출 분석에서 훨씬 낮은 IL-4 반응을 나타내어, T_H1 표현형 반응을 시사한다(도 65e). T_H1 표현형은 제28일에 총 비장 세포를 수확하고 전체 길이의 S 펩타이드 풀로 자극하여 높은 수준의 IL-2 및 IFNɣ를 생성하지만 다중 면역분석에서 검출할 수 없는 양의 T_H2 사이토카인 IL-4 및 IL-5와 함께 지속된다(도 65f).

[1590] 마우스를 BNT162b1 또는 완충액으로 면역화한 후 12일 후에 얻은 배액 림프절(dLN) 및 비장에서 훨씬 더 많은 수의 B 세포(형질 세포, 클래스 전환된 IgG1- 및 IgG2a-양성 B 세포, 배중심 B 세포 포함)가 BNT162b1을 받은 마우스의 샘플에서 관찰되었다(데이터는 표시되지 않음). 면역화 7일 후에 얻은 혈액에서, 순환하는 B 세포의 수는 완충액-면역화 마우스에서보다 낮았는데, 이는 B 세포가 림프 구획으로 귀소했기 때문일 가능성이 높다(데이터는 표시되지 않음). BNT162b1-면역 마우스로부터의 dLN은 또한 T-세포 수, 특히 배 중심의 형성에 필수적인 역할을 하는 것으로 알려진 ICOS 상향 조절을 갖는 하위 집합을 포함하는 T 여포 헬퍼(TFH) 세포 수의 증가를 나타냈다(Hutloff, A., Oncotarget 6, 21785-21786, 2015)(데이터는 표시되지 않음). BNT162b1에 의해 유발된 T_{FH} 세포의 상승은 비장과 혈액에서도 검출되었다(데이터는 표시되지 않음). 전체적으로 이 데이터는 BNT162b1에 의한 SARS-CoV-2 S 특이적 중화 항체 역가와 T_H1 구동 T 세포 반응의 강력하고 동시적인 유도를 나타낸다. 근육내 투여된 BNT162b1은 백신 반응에 참여하기 위해 혈액에서 림프구 조직으로 림프구가 이동하는 능숙한 백신 프라이밍을 위한 면역 교육 부위로서 dLN에 전달되는 것으로 보이다.

[1591] BNT162b1의 면역원성은 다음으로 2~4세 수컷 붉은털원숭이에서 테스트되었다. 6개 그룹은 0일과 21일에 30 또는 100μg의 BNT162b1 또는 식염수 대조군으로 IM 면역화되었다. RBD-결합 IgG는 단일 면역화 후 제14일까지 쉽게 검출할 수 있었고, 부스팅 용량이 투여된 제21일까지 수준이 더 증가하였다. 주어졌다(도 66a). 2차 면역화 7일 후(제28일), 기하 평균 RBD-결합 IgG 농도(GMC)는 20,962 유닛(U)/mL(30μg 용량 수준) 및 48,575U/mL(100μg 용량 수준)이었다. 비교를 위해, 38개의 SARS-CoV-2 회복기 인간 혈청 패널의 RBD-결합 IgG GMC는 602 U/mL로, 1회 또는 2회 투여 후 면역화된 붉은털원숭이의 GMC보다 훨씬 낮았다. 정통 SARS-CoV-2 중화 분석법(Muruato, A. E. et al., bioRxiv: the preprint server for Biology; 10.1101/2020.05.21.109546, 2020)으로 측정한 50% 중화 역가(VNT_{50})는 단일 면역화 후 붉은털 원숭이 혈청에서 제14일까지 검출가능하였고 부스트 투여 7일후 기하 평균 역가 (GMTs)는f 768 (30 μg 용량 수준) 또는 1,714 (100 μg 용량 수준)에 달하였다 (제28일, 도 66b). 30μg의 경우 247, 100μg 용량 수준의 경우 564의 견고한 중화 GMT는 적어도 제42일(테스트한 가장 최근 시점)까지 지속되었다. 비교를 위해, 인간 회복기 혈청 패널의 50% 중화 GMT는 93.6이었다.

[1592] 100μg BNT162b1 또는 완충액 대조군으로 2회 면역화를 받은 붉은털원숭이 그룹(n=6)을, 2차 면역화 후 41~48일에 이전에 설명된 바와 같이(Singh, D. K. et al. SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular andinflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020), 비강내 및 기관지내 경로루 균등하게 분할된, SARS-CoV-2(균주 USA-WA1)의 1×10^6 플라크 형성 단위로 감염시

켰다. 면역화되지 않고 나이가 일치하는 3 마리의 수컷 붉은털 원숭이(센티넬)를 세포 배양 배지로 모의 챌린지 하였다. 챌린지 시점에 SARS-CoV-2 중화 역가는 BNT162b1로 면역된 동물에서 208~1,185 범위였으며 대조군 면역 동물과 센티넬 그룹의 동물에서는 감지할 수 없었다.

[1593] SARS-CoV-2 RNA를 역전사 정량 폴리머라제 연쇄 반응(RT-qPCR)에 의해 기관지폐포 세척액(BAL) 및 비강 면봉 샘플에서 측정하였다. 감염 챌린지 전에 얻은 모든 BAL 및 비강 면봉 샘플과 센티넬 동물에서 얻은 모든 샘플은 검출 가능한 SARS-CoV-2 RNA가 없었다(도 67). SARS-CoV-2 챌린지 3일 후, 5/6 대조군-면역된 동물 및 2/6 BNT162b1 면역된 동물의 BAL 유체에서 바이러스 RNA가 검출되었다(도 67a). 챌린지 6일 후, BNT162b1로 면역된 6마리 원숭이 모두 폐에 탐지할 수 없는 바이러스 RNA가 있었다. 대조군으로 면역화된 원숭이 중 3마리는 BAL 유체에 높은 수준의 바이러스 RNA가 있었고 2마리는 제거되었으며 1마리는 불확실한 RT-qPCR 결과를 보였다. 부검 시(챌린지 후 7-23일), 어떤 동물의 BAL 유체에서도 바이러스 RNA가 검출되지 않았다. SARS-CoV-2 챌린지 후, 각 시점에서 대조군-면역 그룹의 비강 면봉에서 바이러스 RNA가 검출되었다: 챌린지 후 제1일에 2마리 동물, 제3일 및 제6일에 3마리 동물(도 67b), 부검시 2마리 동물(표시되지 않음). BNT162b1-면역 동물에서는, 모든 비강 면봉이 제1일에 음성이거나 불확실했고, 제3일과 부검 시 모두 음성이었다; 제6일에, 2마리로부터의 면봉은 양성이었고, 이는 면역화되지 않은 붉은털 원숭이에 비해 바이러스 RNA 검출의 더 일시적인 과정을 나타낸다. BNT162b1-면역 동물과 대조군-면역 동물 사이에 검출가능한 바이러스 RNA를 갖는 동물 비율의 차이는 통계적으로 유의하다(BAL의 경우 p=0.0037, 비강 면봉의 경우 0.0212). 챌린지된 동물 중 어느 것도 심각한 질병의 임상적 또는 방사선학적 징후를 보이지 않았으며, 이는 2~4세 수컷 원숭이 챌린지 모델이 주로 COVID-19 질병 모델이 아닌 SARS-CoV-2 감염 모델임을 나타낸다.

[1594] **논의**

[1595] 본 발명자들은 삼량체 RBD 항원을 인코딩하는, LNP로 제형화된 m1Ψ 뉴클레오사이드 변형 mRNA인 BNT162b1이 마우스와 붉은털원숭이에서 면역원성이 높고, 감염성 SARS-CoV-2에 감염된 붉은털원숭이의 감염을 제한한다는 것을 입증한다. RBD-폴돈 코딩 서열은 ACE2에 고친화도로 결합하고 구조적으로 온전한 ACE2 수용체 결합 부위를 갖는 유연한 삼량체 단백질의 발현을 지시한다. 한 가지 주요 발견은 마우스에서 마이크로그램 미만의 단일 면역이 최근 보고된 SARS-CoV-2 백신 후보 범위 또는 그 이상의 높은 중화 항체 역가를 빠르게 유도한다는 것이다(van Doremalen, N. et al., bioRxiv : the preprint server for biology; 10.1101/2020.05.13.093195 (2020); Corbett, K. S. et al., bioRxiv : the preprint server for biology; 10.1101/2020.06.11.145920 (2020)). 강력한 CD4+ 및 더 강력한 CD8+ T-세포 반응(두 가지 모두 T_H1 편향 및 T_{FH} 생성 쪽으로 치우침)은 백신 후보에 의해 유도된 강력한 보호 능력을 암시할 수 있다(Pardi, N. et al., The Journal of Experimental Medicine 215, 1571-1588, 2018). 배 중심에서 T_{FH}의 증식은 적응형 B 세포 반응 생성에 필수적이다. 인간에서 백신접종 후 순환계에서 발생하는 T_{FH}는 높은 빈도의 항원 특이적 항체와 상관관계가 있었다(Farooq, F. et al., Scientific reports 6, 27944, 2016). BNT162b1로 면역화하면 B 세포와 T_{FH} 세포가 혈액에서 항원 제시가 일어나는 림프 조직으로 재분포된다.

[1596] 또 다른 중요한 발견은 붉은털원숭이에서 삼량체 SARS-CoV-2 S RBD-폴돈을 인코딩하는 m1Ψ 뉴클레오사이드 변형 mRNA의 2회 용량이 SARS-CoV-2 중화 GMT를 회복기 인간 혈청 패널에 비해 8.2배에서 18.2배로 유도했다는 것이다. 비인간 영장류에서의 결과는 급성 SARS-CoV-2 감염의 전임상 모델에서 SARS-CoV-2 챌린지로부터의 백신의 높은 보호 효능과 능력을 확인해준다.

[1597] **실시예 11: 융합전 안정한 SARS-CoV-2 S를 인코딩하는 RNA 백신은 마우스 및 비인간 영장류에서 높은 면역원성을 나타낸다.**

[1598] 여기에서 본 발명자들은 BNT162b2 백신으로 백신접종된 원숭이의 SARS-CoV-2 전염성 챌린지에 대해 보고한다.

[1599] **재료 및 방법**

[1600] **시험관내 전사된 RNA의 제조.**

[1601] RNA 합성을 위한 주형을 생성하기 위해, 아미노산 변화 K986P 및 V987P를 갖는, 전장 SARS-CoV-2 S 단백질(GenBank: MN908947)을, 개선된 RNA 안정성 및 번역 효율을 위해 백본 서열 요소가 있는 출발 플라스미드 벡터에 클로닝하였다(Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol Ther 27, 824-836; 2019; Holtkamp, S. et al., Blood 108, 4009-4017, 2006). 비코딩 백본 요소에는 T7 프로모터에서 5' 및 3' UTR까지의 영역과 링커(A30LA70, 10개 뉴클레오타이드)에 의해 간섭된 폴리(A) 꼬리(100개 뉴클레오타이드)가 포함된다. DNA를 정제하

고, 분광광도계로 정량화하고, 트리뉴클레오타이드 cap1 유사체(($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)ApG; TriLink)) 및 우리딘-5'-트리포스페이트(UTP) 대신 N^1-메틸슈도우리딘-5'-트리포스페이트(m1ΨTP; Thermo Fisher Scientific)의 존재하에 T7 RNA 폴리머라제로 시험관내 전사하였다(Grudzien-Nogalska, E. et al., Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 969, 55-72, 2013). RNA는 자성 입자를 사용하여 정제되었으며(Berensmeier, S., Appl.Microbiol.Biotechnol. 73, 495-504, 2006), 미세유체 모세관 전기영동(Agilent Fragment Analyser) 및 농도, pH, 삼투압, 내독소 수준 및 바이오버든에 의해 무결성을 평가하였다.

[1602] **RNA의 지질-나노입자 제형.**

[1603] 이온화 가능한 양이온성 지질의 에탄올성 지질 혼합물을 사용하여 정제된 RNA를 LNP로 제형화하고 정용여과를 통해 수성 완충 시스템으로 옮겨 이전에 기술된 것과 유사한 LNP 조성물을 생성하였다(Maier, M. A. et al., Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy 21, 1570-1578, 2013). BNT162b2를 0.5mg/mL의 농도로 -70℃에서 보관하였다.

[1604] **면역.**

[1605] 수컷 붉은털 원숭이(2~4세)를, 제0일과 제21일에 왼쪽 대퇴사두근에 IM 주사로 투여되는 0.5mL 용량의 BNT162b2 또는 식염수 위약 대조군을 받도록 무작위로 배정하였다. 혈청 및 PBMC용 혈액은 NIRC 기관 동물 관리 및 사용 위원회에서 승인한 프로토콜 2017-8725-023 동물 규정에 따라 수집되었다. 혈액 수집 및 면역화 동안 동물을 케타민 HCl(10 mg/kg; IM)로 마취시키고 적절한 진정 작용을 모니터링하였다.

[1606] **붉은털 원숭이의 SARS-CoV-2 챌린지.**

[1607] SARS-CoV-2 접종물을 이전에 Texas Biomedical Research Institute(텍사스주 샌안토니오)에서 준비한 2.1×10^6 PFU/mL 스톡으로부터 얻어, 일회용 바이알에 분취하여 -70℃에서 보관하였다. 작업 바이러스 스톡은 Vero E6 세포에서 SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 분리체(BEI Resources에서 구입한 4번째 계대 종자 스톡, NR-52281)을 2회 계대하여 생성되었다. 이 바이러스는 딥 시퀀싱을 통해 SARS-CoV-2로 확인되었으며 공개된 시퀀스(GenBank 수탁번호 MN985325.1)와 동일한다.

[1608] BNT162b2-면역화(n=6) 및 연령 일치 식염수 대조군-면역화(n=6) 수컷 붉은털원숭이(대조군)를, 이전에 설명된 바와 같이(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020), 비강내(IN; 0.2mL) 및 기관지내(IT; 0.2mL) 경로로 동등하게 나누어진 SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 단리물의 1×10^6 플라크 형성 단위로 챌린지되하였다. 챌린지는 2차 면역화 후 41 내지 48일에 수행하였다. 연령 및 성별이 일치하는 동물(n=3)의 비면역 그룹에는 10% FCS가 보충된 DMEM만이 IN(0.2mL) 및 IT(0.2mL)로 제공되었다. 챌린지 약 2주 전에 동물을 사우스웨스트 국립 영장류 연구 센터(SNPRC; San Antonio, TX)의 동물 생물안전 수준 3(ABSL-3) 시설로 옮겼다. 직장 체온, 체중 및 신체 검사를 위해 위원회 인증 수의사 임상의가 동물을 정기적으로 모니터링하였다. 검체 수집은 기술된 바와 같이(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020) 틸레타민 졸라제팜(Telazol) 마취 하에 수행되었다. 바이러스 역가를 평가하기 위해 접종 후 0, 1, 3 및 6일에 원숭이로부터 비강 면봉을 수집하였다. BAL(Bronchoalveolar lavage)은 챌린지 전 주와 접종 3일 및 6일에 식염수 20mL를 4회 주입하여 수행되었다. 이러한 세척액을 모으고, 분주하여 -70℃에서 냉동 보관하였다.

[1609] **역전사 정량 폴리머라제 연쇄 반응.**

[1610] SARS-CoV-2를 기본적으로 위의 실시예 10에 설명된 대로 NHP에서 검출 및 정량하였다.

[1611] **결과**

[1612] 결과는 COVID-19 mRNA 백신 BNT162b2가 제2 용량으로 부스팅된 단일 용량 후 IgG 반응을 유도하는 면역원성임을 보여주었다. 이들은 또한 용량-반응을 보였다. 30μg BNT162에서 중화 기하 평균 역가를 SARS CoV-2에 걸린 인간 환자의 회복기 혈장에서 관찰된 것과 비교하자 7일 동안 약 8배 더 높고 이보다 높은 100μg의 더 높은 용량을 투여한 후 ~ 18배까지 더 높았으며 마지막 면역화 5주 후 이 벤치마크보다 3.3배 더 높게 유지되는 것으로 밝혀졌다. 원숭이에서의 반응 역시도 IFN-γ 및 IL-2에서 Th1-우성으로 특성화되었지만 IL-4 반응은 없었다. CD4 및 CD8 양성 세포 반응도 원숭이에서도 관찰되었다. 이러한 세포 면역 반응은 동시 인터페론-γ(IFN-γ)+

CD8+ T 세포 반응과 함께 강하게 Th1 편향된 CD4+ T 세포 반응을 특징으로 한다.

[1613] 100㎍ BNT162b2 또는 완충액 대조군으로 2회 면역화를 받은 붉은털원숭이 그룹(n=6)을, 2차 면역화 후 41~48일에 이전에 설명된 바와 같이(Singh, D. K. et al. SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular andinflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020), 비강내 및 기관지내 경로루 균등하게 분할된, SARS-CoV-2(균주 USA-WA1)의 1×10^6 플라크 형성 단위로 감염시켰다. 면역화되지 않고 나이가 일치하는 3 마리의 수컷 붉은털 원숭이(센티넬)를 세포 배양 배지로 모의 챌린지 하였다. 챌린지 시점에 SARS-CoV-2 중화 역가는 BNT162b2로 면역된 동물에서 204~938 범위였으며 대조군 면역 동물과 센티넬 그룹의 동물에서는 감지할 수 없었다.

[1614] SARS-CoV-2 RNA를 역전사 정량 폴리머라제 연쇄 반응(RT-qPCR)에 의해 기관지폐포 세척액(BAL) 및 비강 면봉 샘플에서 측정하였다. 감염 챌린지 전에 얻은 모든 BAL 및 비강 면봉 샘플과 센티넬 동물에서 얻은 모든 샘플은 검출 가능한 SARS-CoV-2 RNA가 없었다(도 68). SARS-CoV-2 챌린지 3일 후, 5/6 대조군-면역된 동물 및 2/6 BNT162b2로 면역된 동물의 BAL 유체에서 바이러스 RNA가 검출되었다(도 68). 챌린지 6일 후, BNT162b2로 면역된 6마리 원숭이 모두 폐에 탐지할 수 없는 바이러스 RNA가 있었다. 대조군으로 면역화된 원숭이 중 3마리는 BAL 유체에 높은 수준의 바이러스 RNA가 있었고 2마리는 제거되었으며 1마리는 불확실한 RT-qPCR 결과를 보였다. SARS-CoV-2 챌린지 후, 각 시점에서 대조군-면역 그룹의 비강 면봉에서 바이러스 RNA가 검출되었다: 챌린지 후 제1일에 2마리 동물, 제3일 및 제6일에 3마리 동물(도 68). BNT162b2로 면역화된 동물에서 모든 비강 면봉 검사는 제3일과 제6일에 모두 음성이었다.

[1615] 폐 조직에서 대조군 원숭이는 10일째 점수가 3일째 점수보다 낮다는 점에서 회복의 암시와 함께 컴퓨터 단층촬영 스캔에서 증가된 점수로 표시되는 폐 질환의 증거가 있었다; 이와 대조적으로 COVID-19 mRNA 백신 BNT162b2를 투여한 원숭이는 점수가 더 낮았다. 폐 조직의 현미경 분석 결과 폐 염증이 대조군과 BNT162b2-면역 원숭이 간에 유사하였고, 호흡기 질환이 강화되었다는 증거는 없는 것으로 나타났다.

[1616] **논의**

[1617] 비인간 영장류의 결과는 융합전 형태로 포획된 S 항원을 인코딩하는 LNP-제형 m1Ψ 뉴클레오사이드-변형 mRNA인 BNT162b2의, 급성 SARS-CoV-2의 전임상 모델에서 SARS-CoV-2 챌린지로부터의 보호를 위이한 능력과 효능을 확인해준다 보호하기 위해 융합 전 형태로 포획된 의 효능과 능력을 확인한다.

[1618] **실시예 12: 보관, 수송 및 용량 준비**

[1619] 이 실시예는 주사용 BNT162b2 농축액 다회 용량 바이알의 보관, 수송 및 용량 준비를 설명한다.

[1620] 도 69에 도시된 바와 같이, 1차 포장 단계에서 2ml의 1형 유리, 무방부제, 다회-용량 바이알(MDV)이 사용되며, 여기서 MDV는 0.45ml의 냉동 액상 의약품을 함유하고 있으며, 바이알 당 5회 용량이다. 2차 포장 단계에서 단일 트레이는 트레이당 975개 용량과 같이 195개의 바이알을 수용한다. 트레이(흰색 상자) 치수는 229 X 229 x 40mm이다. 3차 포장 단계에서 최소 1개의 트레이(975개 용량)(또는 최대 5개의 트레이(최대 4875개 용량))가 페이로드 상자에 적층된다. 페이로드 상자는 23Kg의 드라이아이스 펠릿(10mm - 16mm 펠릿)에 잠겨 있다. 열 수송용기 치수는 다음과 같다. 내부 치수: 245mm X 245mm X 241mm; 외부 치수: 400mm X 400mm X 560mm. 열 수송용기의 총 중량은 ~ 35Kg이다.

[1621] 다양한 크기의 초저온(ULT) 냉동고가 시중에 나와 있다. 도 70은 소용량 보관(약 90리터, 약 30K 용량(왼쪽)) 및 대용량 보관(약 500리터, 약 200K 용량(오른쪽))의 예를 보여준다. 열 수송용기는 개봉하지 않을 경우 ULT(예컨대, -90℃ 내지 -60℃)를 15℃ 내지 25℃ 온도에서 보관할 경우 최대 10일을 유지하며 이러한 보관 기간은 용기 상단을 드라이아이스로 지속적으로 리필할 경우 더 연장될 수 있다. 수령 및 개봉한 후 상자는 24시간 이내에 드라이아이스로 보충해야 한다(23Kg의 드라이아이스 펠릿(10mm - 16mm 펠릿). 열 수송용기는 5일마다 다시 얼음을 채워야 한다. 열 수송용기는 하루 2회 이내로 개봉할 것이 권장된다. 열 수송용기는 개봉 후 1분(또는 그 이하) 이내에 닫아야 한다. 백신은 해동 후 2℃ 내지 8℃에서 2일 이내 또는 실온에서 2 시간 이내로 보관가능하다. 희석 후 사용기간은 6시간이다.

[1622] 도 71은 방부제가 없고 투여 전에 해동 및 희석되어야 하는 냉동 농축 용액을 함유하는 BNT162b2 5-용량 바이알에 대한 예시적인 용량 제제를 보여준다. 준비 단계는 다음과 같다:

[1623] 냉동 보관 상자에서 주사용 BNT162b2 농축액 5회 용량 바이알을 꺼내 실온(예: 최대 25℃)에서 약 30분 동안 해동한다. 일부 구체예에서, 이러한 BNT162b2의 다회 용량 바이알은 해동되어 예를 들어 최대 5일 동안

냉장고(예: 2℃ - 8℃)에 보관될 수 있다. 실온에서 해동된 바이알은 2시간 이내에 희석하거나 냉장고로 옮겨야 한다. 희석되지 않은 바이알은 냉장고에서 최대 48시간 동안 보관할 수 있다. 해동한 바이알을 다시 얼려서는 안된다. 보관 중에는 실내 조명에 대한 노출을 최소화하고 직사광선 및 자외선에 대한 노출을 피한다. 해동된 바이알은 실내 조명 조건에서 취급할 수 있다.

[1624] 해동 후 사용하기 전에 바이알이 실온에 도달했는지 확인하고 부드럽게 10회 뒤집어 섞는다. 흔들지 말 것.

[1625] 무균 기술을 사용하여 일회용 소독 면봉으로 바이알 마개를 세척한 다음 해동된 BNT162b2 바이알을 바이알에 0.9% 염화나트륨 주사액(USP) 1.8mL를 첨가하여 희석한다. 21 게이지 바늘 또는 더 좁은 바늘을 권장한다. 그러나, 당업자는 일부 구체예에서 더 넓은 바늘이 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 20, 19, 18, 17, 16, 15 (게이지) 바늘 또는 더 넓은 바늘이 사용될 수 있다.

[1626] 희석제를 추가할 때 바이알에 약간의 압력이 느껴질 수 있다. 바이알에서 바늘을 빼기 전에 1.8mL의 공기를 빈 희석제 주사기로 빼서 바이알 압력이 균일한지 확인한다.

[1627] 희석된 바이알을 10회 부드럽게 뒤집어 혼합한다. 흔들지 말 것.

[1628] BNT162b2 바이알 라벨의 적절한 위치에 희석 날짜와 시간을 기록한다. 유통기한은 희석한 시점부터 6시간이다. 희석된 다회 용량 바이알은 2℃와 25℃ 사이에서 보관된다. 동결하지 말 것. 얼면 폐기한다.

[1629] 무균 기술을 사용하여 일회용 소독 면봉으로 바이알 마개를 세척하고 희석된 투약 용액 0.3mL를 근육 주사에 적합한 바늘이 있는 새로운 멸균 투약 주사기에 끌어들이다. 기포를 제거하기 위한 조정은 투약 용액의 손실을 방지하기 위해 바늘이 바이알에 남아 있는 상태에서 수행되어야 한다. 가능하다면 동일한 바늘을 사용하여 용량을 꺼내서 투여하는 것이 좋다. 투약을 위해 두 번째 바늘이 필요한 경우 바늘을 교체하는 동안 투약 용액의 손실을 방지하기 위해 첫 번째 바늘을 제거하기 전에 소량의 공기가 주사기에 들어갈 때까지 주사기 플런저를 뒤로 당긴다. 용량 손실을 방지하기 위해 투여 바늘을 프라이밍할 때 주의하여야 한다.

[1630] 각 추가 용량에 대해 새 멸균 주사기와 바늘을 사용하고 각 회수 전에 바이알 마개를 방부제로 세척했는지 확인한다. 준비된 주사기는 즉시 투여해야 한다. 즉시 투여할 수 없는 경우 초기 바이알 희석 후 6시간 이내에 투여해야 한다. 투여하기 전에 주사기의 최종 주입량을 0.3mL로 확인하십시오.

[1631] **실시예 13: COVID-19에 대한 백신 후보는 3상 연구의 1차 중간 분석에서 성공적이었다**

[1632] BNT162b2의 임상 3상 시험에는 지금까지 43,000명 이상의 참가자가 등록했으며, 이 중 거의 39,000명이 2020년 11월 8일 현재 백신 후보의 제2 용량을 접종받았다. 전 세계 참가자의 약 42%와 미국 참가자의 30%는 인종적으로 (예: 백인, 흑인 또는 아프리카계 미국인, 아메리칸 인디언 또는 알래스카 원주민, 아시아인, 하와이 원주민 또는 기타 태평양 섬 주민, 다인종 포함) 및 민족적으로(예: 히스패닉/라틴계 및 비히스패닉/비라틴계 포함) 다양한 배경을 가졌다. 임상시험은 등록을 계속하고 있으며 총 164건의 확인된 COVID-19 사례가 누적되면 최종 분석을 통해 계속될 것으로 예상된다.

[1633] 백신 후보 BNT162b2는 3상 연구의 1차 중간 분석에서 성공을 거두었다. 이 백신 후보는 1차 중간 유효성 분석에서 이전 SARS-CoV-2 감염 증거가 없는 참가자의 COVID-19 예방에 90% 이상 효과적인 것으로 나타났다. 분석은 시험 참여자 중 94건의 COVID-19 확진 사례를 평가하였다. 심각한 안전 문제는 관찰되지 않았다.

[1634] 2020년 11월 4일까지 수집된 3상 COVID-19 백신 실험의 일련의 결과는 BNT162b2가 COVID-19를 예방할 수 있다는 증거를 제공한다. 백신을 접종한 사람과 위약을 받은 사람으로 나눈 사례는 2차 투여 후 7일에 90% 이상의 백신 효능률을 나타낸다. 특히, 결과의 초기 분석에 따르면 3주 간격으로 백신을 2회 주사한 개인은 위약을 받은 사람보다 증상이 있는 COVID-19 사례가 90% 이상 적었다. 이것은 2회 접종 일정으로 구성된 백신접종 시작 후 28일에 보호가 달성되었음을 확인한다.

[1635] 이러한 예비 데이터에는 다음 표가 포함된다:

표 5. 백신 효능 – 2 차 접종 후 7 일부터 첫 COVID-19 발생 – 2 차 접종 후 7 일 이전에 감염 증거가 없는 대상체 – 평가 가능한 효능 모집단(7 일) – 중간 분석 1.

	백신 그룹 (무작위))						
	BNT162b2 (30 μg) (N[a]=16061)		위약 (N[a]=16218)				
	감시		감시				
효능 종점	n1[b]	Time[c] (n2[d])	n1[b]	Time[c] (n2[d])	VE (%)	(95% CI[e])	Pr (VE >30% | data)[f]
2 차 접종 7 일 후 첫 COVID-19 발생	4	1.72161 (15899)	90	1.73212 (16010)	95.5	(88.8, 98.4)	>0.9999

약어: N-결합 = SARS-CoV-2 핵단백질-결합; NAAT = 핵산 증폭 테스트; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2; VE = 백신 효능.
참고: 과거 SARS-CoV-2 감염에 대한 혈청학적 또는 바이러스학적 증거(마지막 투여 후 7 일 이전)가 없었고(즉, 방문 1 에서 N-결합 항체[혈청] 음성)이고 방문 1 및 2 에서 NAAT[비강 면봉]에 의해 SARS-CoV-2 가 검출되지 않음), 2 차 투여 후 7 일 전의 예정되지 않았던 임의 방문에서 음성 NAAT 를 나타낸 대상체는 분석에 포함시켰다.
참고: 보고된 모든 데이터를 종합적으로 표시하고/하거나 총 감시 시간 계산에 기여하기 위해 2 차 투여 7 일 후 확인되지 않은 대상체의 데이터가 분석에 포함되지만 추가 후속 조치로 변경될 수 있다.
a. N = 지정된 그룹의 주제 수.
b. n1 = 종점 정의를 충족하는 대상체의 수.

[1636]

c. 종점에 대한 위험이 있는 각 그룹 내의 모든 대상체에 대한 주어진 종점에 대한 1000 인년의 총 감시 시간. COVID-19 사례 발생 기간은 2 차 투여 후 7 일부터 감시 기간 종료까지이다.
d. n2 = 종점에 대한 위험에 처한 대상체 수.
e. VE 에 대한 신뢰 구간은 감시 시간에 대해 조정된 베타-이항 모델을 사용하여 계산되었다.
f. 사후 확률(Pr)은 감시 시간에 대해 조정된 베타-이항 모델을 사용하여 계산되었다. 백신이 효능이 있다는 결론을 내리기 위해서는 중간 분석에서 이 확률이 99.5% 이상이어야 한다.

[1637]

표 6. 1 차 투여 후 중증 COVID-19 발생 – 1 차 투여 전유효 효능 모집단 – 중간 분석 1.

	백신 그룹 (무작위)	
	BNT162b2 (30 μg) (N[a]=21617)	위약 (N[a]=21633)
효능 종점	n[b]	n[b]
1 차 투여 후 중증 COVID-19 발생	0	7

참고: 보고된 모든 데이터를 종합적으로 표시하고/하거나 총 감시 시간 계산에 기여하기 위해 2 차 투여 7 일 후 확인되지 않은 대상체의 데이터가 분석에 포함되지만 추가 후속 조치로 변경될 수 있다.
a. N = 지정된 그룹의 대상체 수.
b. n = 종점 정의를 충족하는 대상체 수.

[1638]

[1639] **실시예 14: 효능 및 면역원성 평가**

[1640] **효능 결과**

[1641] 과거 SARS-CoV-2 감염의 증거가 없는 참가자 중 COVID-19에 대한 BNT162b2의 백신 효능은 프로토콜 및 SAP에 따라 최소 62건의 사례가 발생한 후 수행된 1차 중간 분석에서 입증되었다. 이 섹션에 제시된 주요 효능 결과는 해당 중간 분석에서 나온 것이다.

[1642] BNT162b2의 첫 번째 1차 효능 종점에 대한 백신 효능(제2 용량을 받은 후 7일 이전에 과거 SARS-CoV-2 감염에 대한 혈청학적 또는 바이러스학적 증거 없이, 중앙 실험실 또는 지역적으로 확인된 참가자의 NAAT를 기반으로

한 COVID-19 발생률) 만을 분석하여 본 중간분석에 제시하였다.

[1643] **1차 효능 종점**

[1644] 평가 가능한 효능 집단에 포함된 참가자 중 32,279명의 참가자(BNT162b2 그룹 16,061명 및 위약 그룹 16,218명)는 2차 투여 후 7일 동안 SARS-CoV-2 감염의 증거가 없었다. COVID-19 사례는 위약 그룹에서 보고된 90건과 비교하여 BNT162b2 그룹에서 4건이었다. 이 데이터는 BNT162b2에 대해 95.5%의 예상 백신 효능을 제공한다. >99.99%의 사후 확률은 미리 지정된 중간 분석 성공 기준 >99.5%를 충족하였다(표 7). 백신 효능에 대한 95% 신뢰 구간은 88.8%에서 98.4%였으며, 현재 주어진 관찰된 데이터 기준으로 진정한 VE가 이 구간에 있을 확률이 95%임을 나타낸다. 또한 진정한 VE > 86.0%인 사후 확률은 99.5%이고 VE > 88.8%인 사후 확률은 97.5%임에 유의한다.

표 7. 백신 효능 – 2차 접종 후 7일부터 첫 COVID-19 발생 – 2차 접종 후 7일 이전에 감염 증거가 없는 대상체 – 평가 가능한 효능 모집단(7일) – 중간 분석 1

	백신 그룹(무작위)						
	BNT162b2(30μg) (Na=16061)		위약 (N [a] =16218)				
효능 종점	n1[b] -	감시 시간[c] (n2[d])	n1[b] -	감시 시간[c] (n2[d])	VE(%)	(95% CI[e])	Pr (VE >30% | 데이터)[f]
2차 접종 7일 후 첫 COVID-19 발생	4	1.722 (15899)	90	1.732 (16010)	95.5	(88.8, 98.4)	>0.9999

약어: N-결합 = SARS-CoV-2 핵단백질-결합; NAAT = 핵산 증폭 테스트; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2; VE = 백신 효능.

참고: 과거 SARS-CoV-2 감염에 대한 혈청학적 또는 바이러스학적 증거(마지막 투여 후 7일 이전)가 없었고(즉, 방문 1에서 N-결합 항체[혈청] 음성)이고 방문 1 및 2에서 NAAT[비강 면봉]에 의해 SARS-CoV-2가 검출되지 않음), 2차 투여 후 7일 전의 예정되지 않았던 임의 방문에서 음성 NAAT를 나타낸 대상체는 분석에 포함시켰다.

참고: 보고된 모든 데이터를 종합적으로 표시하고/하거나 총 감시 시간 계산에 기여하기 위해 2차 투여 7일 후 확인되지 않은 대상체의 데이터가 분석에 포함되지만 추가 후속 조치로 변경될 수 있다.

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수.

b. n1 = 종점 정의를 충족하는 대상체의 수.

c. 종점에 대한 위험이 있는 각 그룹 내의 모든 대상체에 대한 주어진 종점에 대한 1000인년의 총 감시 시간. COVID-19 사례 발생 기간은 2차 투여 후 7일부터 감시 기간 종료까지이다.

d. n2 = 종점에 대한 위험에 처한 대상체 수.

e. VE에 대한 신뢰 구간은 감시 시간에 대해 조정된 베타-이항 모델을 사용하여 계산되었다.

f. 사후 확률(Pr)은 감시 시간에 대해 조정된 베타-이항 모델을 사용하여 계산되었다. 백신이 효능이 있다는 결론을 내리기 위해서는 중간 분석에서 이 확률이 99.5% 이상이어야 한다.

[1645]

[1646] 모든 이용 가능한 효능 집단을 기반으로 한 동일한 1차 효능 종점에 대한 BNT162b2의 백신 효능은 95.7%였으며, BNT162b2 및 위약 그룹에서 각각 4건 및 93건이었다.

[1647] 91.2% 내지 100.0% 범위의 VE 추정치와 함께, 용량 2 평가가능한 효능 모집단에서 연령 그룹, 국가, 민족, 성별 또는 인종에 따른 하위군에 의한 VE의 임상적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(표 8).

표 8. 백신 효능 – 2차 접종 7일 후부터 첫 COVID-19 발생, 하위 그룹별 – 2차 접종 후 7일 이전에 감염 증거가 없는 대상체 – 평가 가능한 효능 모집단(7일) – 중간 분석 1

	백신 그룹(무작위)					
	BNT162b2(30μg) (Na=16061)		위약 (N [a] =16218)			
효능 종점 하위 그룹	n1[b] -	감시 시간[c] (n2[d])	n1[b] -	감시 시간[c] (n2[d])	VE(%)	(95% CI[e])
2차 접종 7일 후 첫 COVID-19 발생						
전반적인	4	1.722 (15899)	90	1.732 (16010)	95.5	(88.1, 98.8)
연령대(세)						
16~55	2	0.954 (8994)	67	0.959 (9040)	97.0	(88.7, 99.6)
>55	2	0.767 (6905)	23	0.773 (6970)	91.2	(64.6, 99.0)
성별						
남성	2	0.874 (8115)	38	0.865 (8029)	94.8	(79.8, 99.4)
여성	2	0.848 (7784)	52	0.867 (7981)	96.1	(85.1, 99.5)
인종						
백인	4	1.477 (13399)	85	1.491 (13530)	95.3	(87.4, 98.7)
흑인 또는 아프리카계 미국인	0	0.124 (1263)	4	0.124 (1277)	100.0	(-51.8, 100.0)
기타[f]	0	0.121 (1237)	1	0.118 (1203)	100.0	(-3690.1, 100.0)
민족성						
히스패닉/라틴계	1	0.464 (4389)	34	0.459 (4342)	97.1	(82.7, 99.9)
비 히스패닉/비 라틴계	삼	1.247 (11418)	56	1.262 (11570)	94.6	(83.3, 98.9)
국가						
아르헨티나	0	0.271 (2436)	28	0.266 (2402)	100.0	(86.2, 100.0)
브라질	0	0.087 (878)	2	0.087 (879)	100.0	(-432.5, 100.0)
미국	4	1.360 (12384)	60	1.376 (12530)	93.3	(81.8, 98.2)

[1648]

약어: N-결합 = SARS-CoV-2 핵단백질-결합; NAAT = 핵산 증폭 테스트; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2; VE = 백신 효능.

참고: 과거 SARS-CoV-2 감염에 대한 혈청학적 또는 바이러스학적 증거(마지막 투여 후 7일 이전)가 없었고(즉, 방문 1에서 N-결합 항체[혈청] 음성)이고 방문 1 및 2에서 NAAT[비강 면봉]에 의해 SARS-CoV-2가 검출되지 않음), 2차 투여 후 7일 전의 예정되지 않았던 임의 방문에서 음성 NAAT를 나타낸 대상체는 분석에 포함시켰다.

참고: 보고된 모든 데이터를 종합적으로 표시하고/하거나 총 감시 시간 계산에 기여하기 위해 2차 투여 7일 후 확인되지 않은 대상체의 데이터가 분석에 포함되지만 추가 후속 조치로 변경될 수 있다.

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수.

b. n1 = 종점 정의를 충족하는 대상체의 수.

c. 종점에 대한 위험이 있는 각 그룹 내의 모든 대상체에 대한 주어진 종점에 대한 1000인년의 총 감시 시간. COVID-19 사례 발생 기간은 2차 투여 후 7일부터 감시 기간 종료까지이다.

d. n2 = 종점에 대한 위험에 처한 대상체 수

e. VE에 대한 신뢰 구간(CI)은 감시 시간에 맞게 조정된 Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 도출 된다.

f. 아메리칸 인디언 또는 알래스카 원주민, 아시아인, 하와이 원주민 또는 기타 태평양 섬 주민, 다인종, 보고되지 않은 인종 범주는 "기타"로 표시된다.

[1649]

[1650] **중증 COVID-19 사례**

[1651] 중증 COVID-19 사례는 1차 중간 분석을 위한 2020년 11월 4일 데이터 컷오프 날짜를 기준으로 3상 참가자 총 7명(모두 위약 그룹)에서 보고되었다(표 9). 이 중 5건의 사례가 1차 투여와 용량과 2차 투여 사이에 보고되었고, 2차 투여후 7일 이내에 보고된 사례는 없었으며, 2차 투여로부터 최소 7일 후에 보고된 사례는 2건이었다.

표 9. 1차 투여 후 중증 COVID-19 발생 – 1차 투여 이용가능한 모든 효능 모집단 – 중간 분석 1

	백신 그룹(무작위)	
	BNT162b2(30μg) (N [a] =21617)	위약 (N [a] =21633)
효능 종점	nb	nb
1차 투여 후 중증 COVID-19 발생	0	7

참고: 보고된 모든 데이터를 종합적으로 표시하고/하거나 총 감시 시간 계산에 기여하기 위해 2차 투여 7일 후 확인되지 않은 대상체의 데이터가 분석에 포함되지만 추가 후속 조치로 변경될 수 있다.

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수.

b. n = 종점 정의를 충족하는 대상체의 수.

[1652]

[1653] **효능 결론**

[1654] 첫 번째 주요 효능 목표는 성공 기준을 충족하였다. BNT162b2는 2차 투여 후 최대 7일까지 감염 증거가 없는 참가자들 사이에서 88.8%~98.4%의 양측 95% 신뢰 구간으로 95.5%의 백신 효능을 달성했으며 실제 백신 효능에 대한 >99.99% 사후 확률은 사용 가능한 데이터에 있어서 30% 컨디셔닝을 상회하였다.

[1655] 중증 COVID-19 사례 7건(1차 투여 후)은 모두 중간 분석 컷오프 날짜 현재 위약 그룹에서 관찰되었다.

[1656] **면역원성 결과**

[1657] **1상**

[1658] 이 1상 중간 임상 연구 보고서(CSR)는 BNT162b1 및 BNT162b2 백신 후보에 대해 10-μg, 20μg 및 30μg 용량 수준으로 2차 접종 후 최대 1개월까지 두 성인 연령 그룹 모두에 대한 면역원성 결과와, 100μg 용량 수준으로 BNT162b1을 1차 투여후 최대 7주까지(저연령 그룹만 해당)에서의 면역원성 결과를 나타낸다.

[1659] 1차 투여 시점 이후 7일 동안의 결과는 10μg 및 30μg BNT162b1에 대한 저연령 그룹(18~55세)에 대해서만 분석 및 제시된다.

[1660] **SARS-CoV-2 중화 역가 - 1상**

[1661] **GMT**

[1662] 전반적으로, 두 연령대의 BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두 SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 1차 투여 후 제21일까지 완만하게 증가했으며 2차 투여로부터 7일 후에는 상당히 증가하였다. 대체로 BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두에 있어서 대부분의 시점에서 고령자 그룹의 GMT는 저연령 그룹의 GMT보다 다소 낮다.

[1663] **BNT162b1**

[1664] 저연령 그룹에서 SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 BNT162b1의 1차 투여 후 제21일까지 완만하게 증가했으며 BNT162b1의 2차 투여로부터 7일 후(제28일)에 상당히 증가했으며, 10μg 및 20μg 용량 그룹에 비해, 30μg 용량 그룹에서 더 높은 GMT가 관찰되었다(도 72). GMT는 모든 용량 그룹에서 2차 투여로부터 14일 후(제35일)에 증가했고, 비록 GMT는 2차 투여로부터 1개월 후(제52일)에는 감소했지만, 제52일 GMT는 1차 투여 후 초기 시점보다 상당히 높게 유지되었다.

[1665] 100μg 투여 그룹에서 SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 BNT162b1 1차 투여 후 제21일까지 완만하게 증가했으며 제52일까지 거의 베이스라인 값으로 감소하였다.

[1666] 일반적으로 유사한 경향이 고령자 그룹에서 관찰되었으며, 10μg 용량 그룹에 비해 BNT162b1의 20μg 및 30μg 용량 그룹에서 더 높은 GMT가 관찰되었다(도 73).

[1667] SARS CoV-2 90% 중화 GMT에서도 유사한 경향이 관찰되었다.

[1668] 저연령층과 노년층의 모든 이용 가능한 면역원성 집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1669] BNT162b1 투여후 SARS-CoV-2 50% 및 90% 중화 역가의 RCDC는 저연령층과 노년층을 대상으로 대다수의 참가자가 BNT162b1 2차 투여 후 7일까지 반응한 것으로 나타났다.

[1670] **BNT162b2**

[1671] 저연령 그룹에서 SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 BNT162b2의 1차 투여 후 제21일까지 증가했고 BNT162b2의 2차 투여로부터 7일(제28일)까지 실질적으로 증가했으며, 10μg 용량 그룹에 비해 20μg 및 30μg 용량 그룹에서 더 높은 GMT가 관찰되었다(도 74). GMT는 BNT162b2의 2차 투여로부터 14일(제35일) 및 2차 투여로부터 1개월(제52일)에 감소하였다; 그러나 GMT는 1차 투여 초기 시점보다 상당히 높게 유지되었다.

[1672] 유사한 경향이 일반적으로 고령자 그룹에서 관찰되었으며, 20μg 및 10μg 용량 그룹에 비해 30μg 용량 그룹에서 더 높은 GMT가 관찰되었다(도 75). SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 2차 투여로부터 7일 후에 증가했으며 10μg 및 20μg 용량 그룹에서 비슷했고 30μg 용량 그룹에서 더 높았다. 2차 투여 후 1개월에 GMT는 1회 투여 후 초기 시점보다 상당히 높게 유지되었다. 고령자 그룹에서 SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 일반적으로 저연령 그룹의 GMT보다 낮았다.

[1673] SARS CoV-2 90% 중화 GMT에서도 유사한 경향이 관찰되었다.

[1674] 저연령층과 노년층 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1675] SARS-CoV-2 50% 및 90% 중화 역가의 RCDC는 저연령층과 노년층 그룹에 있어서 대부분의 참가자가 BNT162b2의 2차 투여 후 7일까지 반응한 것으로 나타났다.

[1676] **GMFR**

[1677] 전반적으로, BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두에서, 그리고 두 연령대 모두에서 백신접종전부터 2차 투여로부터 7일후(제28일)까지 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 1차 투여 후 각각의 GMFR과 비교하여 상당히 높았다.

BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두에서 고령자 그룹의 GMFR은 저연령 그룹의 GMFR보다 일반적으로 낮았다.

[1678] **BNT162b1**

[1679] 저연령 그룹에서 백신접종 전부터 BNT162b1 2차 투여 7일 후(제28일)까지 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 모든 용량에서 BNT162b1 1차 투여 후 초기 시점의 GMFR에 비해 상당히 높았으며, GMFR은 30㎍ 용량 그룹에서 가장 높았다. 2차 투여 후 1개월에, GMFR은 1차 투여 후 초기 시점보다 높게 유지되었다.

[1680] 100㎍ 용량 그룹에서 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 BNT162b1 1차 투여 후 52일까지 실질적으로 증가하지 않았다.

[1681] 고령자 그룹에서 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 20-㎍ 및 30-㎍ 그룹에서 백신접종 전부터 BNT162b1 2차 투여 후 7일(제28일)까지 BNT162b1 1차 투여 후 초기 시점의 GMFR에 비해 상당히 높았고, GMFR은 20㎍ 용량 그룹에서 가장 높았다. GMFR은 20-㎍ 및 30-㎍ 그룹에서 1차 투여 후 초기 시점의 GMFR과 비교하여 BNT162b1의 2차 투여로부터 1개월 후(제52일) 높게 유지되었다.

[1682] SARS CoV-2 90% 중화 역가의 GMFRs에 대해서도 저연령 그룹과 고령자 그룹에서 유사한 경향이 관찰되었다.

[1683] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1684] **BNT162b2**

[1685] 저연령 그룹에서 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 백신접종 전부터 BNT162b2 2차 투여 후 7일(제28일)까지 BNT162b2 1차 투여 후 초기 시점의 GMFR에 비해 모든 용량 그룹에서 상당히 높았고, GMFR은 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 비슷하고 가장 높았다. GMFR은 BNT162b2의 1차 투여로부터 21일 후에 비해 BNT162b2의 2차 투여 후 1개월 동안 높게 유지되었다.

[1686] 고령자 그룹에서 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 백신접종 전부터 BNT162b2 2차 투여 후 7일(제28일)까지 모든 용량 그룹에서 BNT162b2 1차 투여 후 초기 시점의 GMFR에 비해 상당히 높았으며 GMFR은 30㎍ 용량 그룹에서 가장 높았다. GMFR은 BNT162b2의 1차 투여 후 21일 후에 비해 BNT162b2의 2차 투여 후 1개월 동안 높게 유지되었다.

[1687] SARS CoV-2 90% 중화역가의 GMFRs에 대해서도 저연령 그룹과 고령자 그룹에서 유사한 경향이 관찰되었다.

[1688] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1689] **≥4배 상승을 달성한 참가자 수(%)**

[1690] 전반적으로 BNT162b1 및 BNT162b2 접종자, 그리고 두 연령대 모두에서 대부분의 참가자는 백신접종 전부터 2차 투여 후 7일까지 10㎍ BNT162b1 용량 그룹의 고령자 참가자의 경우를 제외하고, SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가하였다.

[1691] **BNT162b1**

[1692] 저연령층 그룹에서, 백신접종 전부터 BNT162b1의 1차 투여 후 21일까지 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가한 참가자는 10㎍ 용량 그룹에서는 아무도 없었고 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에는 3명 이하였다. 백신접종 전부터 BNT162b1 2차 투여 후 7일 및 1개월까지 10㎍, 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹의 대부분 또는 모든 참가자는 SARS-CoV 2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가하였다.

[1693] 고령자 그룹에서는 백신접종 전부터 BNT162b1의 1차 투여 후 21일까지 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가한 참가자는 30㎍ 용량 그룹에서 오직 1명이었다. 백신접종 전부터 BNT162b1 2차 투여 후 7일 및 1개월까지, 10㎍ 그룹의 2명 이하 참가자와 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹의 참가자 9~11명이 SARS-CoV 2 50 % 중화 역가가 4배 이상 증가하였다.

[1694] 저연령층과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1695] **BNT162b2**

[1696] 저연령층 그룹에서, 백신접종 전부터 BNT162b2의 1차 투여 후 21일까지 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상

증가한 참가자는 10㎍ 용량 그룹에서 2명(18.2%), 20㎍ 용량 그룹에서 3명(25.0%), 30㎍ 용량 그룹에서는 없었다. 백신접종 전부터 BNT162b2 2차 투여 후 7일까지, 모든 참가자는 SARS-CoV 2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가했고, 이는 BNT162b2의 2차 투여 후 1개월까지 유지되었다.

[1697] 고령자 그룹에서는 백신접종 전부터 BNT162b2 1차 투여 후 21일까지 모든 투여 그룹에서 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가한 참가자는 없었다. 백신접종 전부터 BNT162b2 2차 투여 후 7일까지 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가한 참가자는 10-㎍, 20-㎍, 및 30-㎍ 용량 그룹에서 각각 10명(83.3%), 9명(81.8%), 10명(90.9%)이었다. 백신접종 전부터 BNT162b2 2차 투여 후 1개월까지 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가한 참가자는 10-㎍, 20-㎍, 및 30-㎍ 용량 그룹에서 각각 9명(75.0%), 6명(54.5%), 11명(100.0%)이었다.

[1698] 저연령층과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1699] **SARS-CoV-2 항원-특이 결합 항체 수준 - 1상**

[1700] 백신 후보 BNT162b1은 SARS-CoV-2의 RBD를 인코딩한다. 이 후보에 있어서 각 용량 수준 및 연령 그룹에 대한 RBD-결합 IgG 반응이 이 섹션에 설명되어 있다. SARS-CoV-2의 P2 S를 인코딩하는 후보 BNT62b2에 대한 RBD-결합 IgG 수준도 평가되었다.

[1701] 백신 후보 BNT162b2는 SARS-CoV-2의 P2 S를 인코딩한다. 이 후보에 있어서 각 용량 수준 및 연령 그룹에 대한 S1-결합 IgG 반응이 이 섹션에 설명되어 있다. S1-결합 IgG 수준 역시도 SARS-CoV-2의 RBD를 인코딩하는 후보 BNT62b1에 대해 평가되었다.

[1702] **GMC**

[1703] 전반적으로, BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두 및 두 연령 그룹 모두에서 RBD 및 S1-결합 GMC는 1차 투여 후 제21일까지 상당히 증가했으며 2차 투여 후 7일에 추가로 증가하였다. 반응은 제52일까지 유지되었다. RBD- 및 S1-결합 IgG 수준 모두에서 20-㎍ BNT162b1 용량 그룹에서 제28일을 제외하고, 고령자 그룹은 일반적으로 저연령 그룹의 GMC보다 낮았다.

[1704] **BNT162b1**

[1705] 저연령 그룹에서 RBD-결합 GMC는 BNT162b1 1차 투여 후 제21일까지 크게 증가했으며 BNT162b1 2차 투여 후 7일(제28일)에 추가로 증가하였고, 10-㎍ 및 20-㎍ 용량 그룹에 비해 30㎍ 용량 그룹에서 더 높은 GMC가 관찰되었다(도 76). 2차 투여 후 1개월(제52일)에, GMC는 1차 투여 후 초기 시점보다 실질적으로 높게 유지되었다.

[1706] 100㎍ BNT162b1 그룹에서 RBD-결합 GMC는 BNT162b1 후 21일까지 실질적으로 증가했으며 제7일 GMC와 비교하여 제52일까지 높은 상태를 유지하였다.

[1707] 고령자 그룹에서, RBD-결합 GMC는 BNT162b1 1차 투여 후 제21일까지 크게 증가했으며 BNT162b1 2차 투여 후 7일(제28일)에 추가로 증가하였고, 10-㎍ 용량 그룹에 비해 20-㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 더 높은 GMC가 관찰되었다(도 77). 2차 투여 후 1개월(제52일)에, GMC는 1차 투여 후 초기 시점보다 실질적으로 높게 유지되었다.

[1708] BNT162b1에 대한 S1-결합 IgG GMC 결과는 젊은 그룹(도 78)과 고령자 그룹(도 79), 그리고 100㎍ BNT162b1 그룹에서 RBD-결합 IgG GMC에 대해 관찰된 결과와 유사하였다.

[1709] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1710] RBD- 및 S1-결합 IgG 수준의 RCDC는 대다수의 참가자가 BNT162b1의 1차 투여 후 21일까지 반응했음을 보여준다.

[1711] **BNT162b2**

[1712] 저연령 그룹에서 S1-결합 GMC는 BNT162b2의 1차 투여 후 제21일까지 크게 증가했으며 BNT162b2의 2차 투여 후 7일(제28일)까지 실질적으로 증가하였고, 10㎍ 용량 그룹과 비교하여 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 더 높은 GMC가 관찰되었다(도 80). 2차 투여 후 1개월(제52일)에, GMC는 1차 투여 1 후 초기 시점보다 실질적으로 높게 유지되었다.

[1713] 유사한 경향이 고령자 그룹에서 관찰되었으며, 10㎍ 및 20㎍ 용량 그룹과 비교하여 30㎍ 용량 그룹에서 더 높은

S1-결합 GMC가 관찰되었다(도 81).

[1714] BNT162b2에 대한 RBD-결합 IgG GMC 결과는 저연령 그룹(도 82) 및 고령자 그룹(도 83)에서 S1-결합 IgG GMC에 대해 관찰된 것과 유사하였다.

[1715] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1716] BNT162b2 후 RBD- 및 S1-결합 IgG 수준의 RCDC는 대부분의 참가자가 BNT162b2의 1차 투여 후 21일까지 반응했음을 보여준다.

[1717] **GMFRs**

[1718] 전반적으로, BNT162b1 및 BNT162b2 접종자, 그리고 두 연령 그룹 모두에서 RBD-결합 IgG 수준의 GMFR과 S1-결합 IgG 수준의 GMFR은 백신접종 전부터 1차 투여 후 21일까지 상당히 높았고, 백신접종 전부터 2차 투여 후 7일까지 더 큰 GMFR이 관찰되었다.

[1719] **BNT162b1**

[1720] RBD-결합 IgG 수준의 GMFR은 백신접종 전부터 BNT162b1 1차 투여 후 제21일(2차 투여 전)까지 상당히 높았고, 백신접종 전부터 BNT162b1 2차 투여 후 7일차(제28일)까지 저연령 그룹과 고령자 그룹 모두에서, 10㎍, 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹의 경우 더 큰 GMFR이 관찰되었다. GMFR은 10㎍, 20㎍ 및 30㎍ BNT162b1 그룹에서 백신접종 전부터 2차 투여 후 1개월까지 두 연령 그룹 모두 1차 투여 후 초기 시점과 비교하여 상당히 높게 유지되었다.

[1721] 100㎍ BNT162b1 그룹에서 RBD-결합 IgG 수준의 GMFR은 백신접종 전부터 BNT162b1 접종 후 21일까지 백신접종 전보다 상당히 높았으며 7일차 GMFR에 비해 제52일까지 높은 상태를 유지했다.

[1722] BNT162b1에 대한 S1-결합 IgG 수준의 GMFR에 대해서도 유사한 경향이 관찰되었다.

[1723] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1724] **BNT162b2**

[1725] S1-결합 IgG 수준의 GMFR은 백신접종 전부터 BNT162b2 1차 투여 후 제21일(2차 투여 전)까지 상당히 높았고, 백신접종 전부터 BNT162b2 2차 투여 후 7일차(제28일)까지 저연령 그룹과 고령자 그룹 모두에서, 10㎍, 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹의 경우 더 큰 GMFR이 관찰되었다. GMFR은 모든 BNT162b2 그룹에서 백신 접* 전부터 2차 투여 후 1개월까지 두 연령 그룹 모두 1차 투여 후 초기 시점과 비교하여 상당히 높게 유지되었다.

[1726] BNT162b1에 대한 RBD-결합 IgG 수준의 GMFR에 대해서도 유사한 경향이 관찰되었다.

[1727] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1728] **≥4배 상승을 달성한 참가자 수(%)**

[1729] 전반적으로, BNT162b1 및 BNT162b2 수용혜자와 두 연령 그룹 모두에서 모든 참가자는 젊은 20 ㎍ BNT162b1 그룹의 참가자 1명을 제외하고, 백신접종 전부터 2차 접종 후 7일까지 S1-결합 및 RBD-결합 IgG 수치가 4배 이상 증가하였다.

[1730] **BNT162b1**

[1731] 저연령 그룹에서는 백신접종 전부터 BNT162b1 1차 투여 후 21일까지 모든 용량 그룹에 걸쳐 모든 참가자(20㎍ 용량 그룹에서 1명 제외)가 RBD-결합 IgG 수준이 4배 이상 증가하였다. 20㎍ 용량 그룹의 모든 참가자는 백신접종 전에서 2차 접종 후 14일(제35일)까지 RBD-결합 IgG 수치가 4배 이상 증가하였다.

[1732] 고령자 그룹에서는 백신접종 전부터 BNT162b1 1차 투여 후 21일까지 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹의 모든 참가자와 10㎍ 용량 그룹의 8명(72.7%)에서 RBD 결합 IgG 수준이 4배 이상 증가하였다. 10㎍ 용량 그룹의 모든 참가자는 백신접종 전부터 2치 투여 후 7일(제28일)까지 RBD-결합 IgG 수준이가 4배 이상 증가하였다.

[1733] BNT162b1에 대해 S1-결합 IgG 수치가 4배 이상 증가한 참가자들에 대해서도 유사한 경향이 일반적으로 관찰되었

다.

[1734] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1735] **BNT162b2**

[1736] 저연령 그룹에서는 백신접종 전부터 BNT162b2 1차 접종 후 21일까지 각 투여 그룹의 모든 참가자가 S1-결합 IgG 수준이 4배 이상 증가하였다.

[1737] 고령자 그룹에서는 BNT162b2 1차 접종 후 21일까지 10μg 및 30μg 용량 그룹의 모든 참가자와 20μg 용량 그룹의 11명(91.7%)에서 S1 결합 IgG 수준이 4배 이상 증가하였다. 20μg 용량 그룹의 모든 참가자는 백신접종 전부터 2차 접종 후 7일(제28일)까지 S1-결합 IgG 수치가 4배 이상 증가하였다.

[1738] BNT162b2의 경우 RBD-결합 IgG 수준이 4배 이상 증가한 참가자들에 대해서도 유사한 경향이 일반적으로 관찰되었다.

[1739] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1740] **SARS-CoV-2 항원 특이적 결합 항체 수준에 대한 SARS-CoV-2 중화 역가의 GMR**

[1741] 전반적으로, BNT162b1 및 BNT162b2 접종자의 경우 RBD 또는 S1 결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 중화 역가에 비해 RBD- 또는 S1-결합 수준이 더 강력하며, 이는 각 연령 그룹에서 유사하였다.

[1742] **BNT162b1**

[1743] 10μg, 20μg 또는 30μg 용량으로 1차 투여 후 21일째에 RBD-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 저연령 그룹에서 ≤0.035였고, 고령자 그룹에서 ≤0.183이었다. 2차 투여 후 14일째에 GMR은 저연령 그룹에서 ≤0.032, 고령자 그룹에서 ≤0.018이었다.

[1744] 100μg 용량 그룹의 GMR은 1차 투여 후 21일째에 0.018, 1차 투여 후 35일째에 0.014였다.

[1745] BNT162b1 투여 후 젊은 그룹과 고령자 그룹에서 S1-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 RBD-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR과 유사하였다.

[1746] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1747] **BNT162b2**

[1748] 1차 투여 후 21일에, S1-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 저연령 그룹에서 0.035 이하, 고령자 그룹에서 0.124 이하였다. 2차 투여 후 14일째에 GMR은 저연령 그룹에서 0.040 이하, 고령자 그룹에서 0.037 이하였다.

[1749] 저연령 그룹과 고령자 그룹의 모든 이용 가능한 면역원성 모집단에 대한 결과는 평가 가능한 면역원성 모집단에서 관찰된 결과와 유사하였다.

[1750] **BNT162b1 및 BNT162b2 GMR 평가**

[1751] 1차 접종 후 21일째에 저연령 그룹에서 RBD-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 BNT162b1 투여 후 0.035 이하, BNT162b2 투여 후 0.054 이하였다. 2차 투여 후 14일째 GMR은 BNT162b1 투여 후 0.032 이하, BNT162b2 투여 후 0.046 이하였다.

[1752] 1차 접종 후 21일째 고령자 그룹에서 RBD-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 BNT162b1 투여 후 0.183 이하, BNT162b2 투여 후 0.196 이하였다. 2차 투여 후 14일째 GMR은 BNT162b1 투여 후 0.018 이하, BNT162b2 투여 후 0.043 이하였다.

[1753] 1차 접종 후 21일째의 저연령 그룹에서 S1-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 BNT162b1 투여 후 ≤0.061, BNT162b2 투여 후 ≤0.035였다. 2차 투여 후 14일에 GMR은 BNT162b1 투여 후 0.035 이하, BNT162b2 투여 후 0.040 이하였다.

[1754] 1차 접종 후 21일째 고령자 그룹에서 S1-결합 IgG 수준에 대한 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMR은 BNT162b1 투

여 후 ≤0.328, BNT162b2 투여 후 ≤0.124였다. 2차 투여 후 14일째 GMR은 BNT162b1 투여 후 0.022 이하, BNT162b2 투여 후 0.037 이하였다.

[1755] **BNT162b1 및 BNT162b2를 평가하는 임상 1상 면역원성 결과 요약**

[1756] 일반적으로, 1차 투여 후 저연령 그룹과 고령자 그룹 모두에서 약간의 중화 면역 반응이 관찰되었다. BNT162b1 또는 BNT162b2의 2차 투여로부터 7일 후에 훨씬 더 강력한 면역 반응이 모든 용량 수준에서 저연령 그룹과 고령자 그룹 모두에서 관찰되었다. 테스트한 마지막 시점의 항체 수준은 여전히 베이스라인 수준보다 상당히 높았다.

[1757] 저연령 그룹에서:

[1758] 2차 투여 후 7일째, 20μg 및 30μg 용량 그룹의 SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 BNT162b1 접종자보다 BNT162b2 접종자에서 더 높았다. GMT는 두 접종자 모두 10μg 용량 그룹에서 유사하였다. 2차 투여 후 1개월(제52일)에 GMT는 BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두에 있어서 1차 투여 후 이전 시점보다 상당히 높게 유지되었다.

[1759] 백신접종 전부터 2차 투여 후 7일까지 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 30μg 용량 수준에서 BNT162b1 및 BNT162b2 접종자에 있어 상당히 높았다.

[1760] 백신접종 전부터 2차 투여 후 7일까지 30μg 용량 수준으로 BNT162b1 또는 BNT162b2를 투여받은 모든 참가자는 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가하였다.

[1761] 고령자 그룹에서:

[1762] 2차 투여 후 7일째, 30μg 용량 그룹의 SARS CoV-2 50% 중화 GMT는 BNT162b1 접종자보다 BNT162b2 접종자에서 더 높았다. 2차 투여 후 1개월(제52일)에서 30 μg 용량 그룹의 SARS-CoV-2 50% 중화 GMT는 BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두에 있어서 유사하였다.

[1763] 백신접종 전부터 2차 투여 후 7일까지 SARS-CoV-2 50% 중화 역가의 GMFR은 30μg 용량 수준에서 BNT162b1 및 BNT162b2 접종자에서 상당히 높았다.

[1764] 백신접종 전부터 2차 투여 후 7일까지 BNT162b1 또는 BNT162b2를 30μg 용량 수준으로 투여받은 대부분의 참가자는 SARS CoV-2 50% 중화 역가가 4배 이상 증가하였다.

[1765] **1상 면역원성 결론**

[1766] BNT162b1과 BNT162b2 모두 GMT, GMFR, 중화 역가가 4배 이상 증가한 참가자 비율, RCDC를 기준으로 젊은 성인과 고령자에서 2차 투여 7일 후 왕성한 SARS-CoV-2 중화 항체 반응을 이끌어냈다. 중화 항체 반응은 제52일까지 유지되었고 해당 연령 및 용량 그룹 내의 후보에서 유사하였다.

[1767] BNT162b1 및 BNT162b2 모두 GMC, GMFR 및 IgG 항원 특이적 결합이 4배 이상 증가한 참가자의 비율을 기준으로 2차 투여 7일 후 항원 결합 IgG 수준의 실질적인 상승을 이끌어 냈다. 반응은 제52일까지 유지되었다.

[1768] 100μg 용량 그룹에서 SARS-CoV-2 중화 항체 반응은 BNT162b1의 1차 투여 후 3주까지 완만하게 증가했지만 중화 항체 반응은 1차 투여 후 7주까지 베이스라인과 유사한 수준으로 돌아왔다.

[1769] 이러한 데이터는 2회 백신접종 시리즈의 필요성을 뒷받침한다.

[1770] **2상**

[1771] 면역원성은 연구의 2상 부분에 대한 탐색적 종점이다.

[1772] **3상**

[1773] 면역원성은 2차적이며(16~25세에 비해 12~15세) 연구의 3상 부분에 대한 탐색적 종점이다.

[1774] **실시예 15: 안정성 평가**

[1775] 이 중간 CSR에서는 1상의 모든 참가자와 2/3상의 첫 6610명의 참가자(2상 참가자 360명 포함)가 e-일기를 사용하여 국소 반응과 전신 반응을 보고하였다. 2/3상에서 총 1,125명의 참가자가 베이스라인 SARS-CoV-2 양성(1차 투여 당일 양성 N-결합 항체 검사 결과 또는 양성 핵산 증폭 검사(NAAT) 결과를 갖는 것으로 정의됨)으로 확인되었다; 이 중 545명은 BNT162b2를, 580명은 위약을 받았다.

[1776] 1상

[1777] 안전성 데이터는 컷오프 날짜(2020년 8월 24일)까지 이용 가능하며 1차 투여 또는 2차 투여와 관련된 다양한 시점에서 요약된다. 두 성인 연령 그룹에 대한 1상 백신 후보 BNT162b1 및 BNT162b2의 안전성 결과는 최대 1개까지 제시된다. 10-μg, 20-μg 및 30-μg 용량 수준으로 2차 투여 후 1개월(또는 데이터 컷오프 날짜)까지 제시된다. BNT162b1의 100μg 용량에서 저연령 그룹에 대한 안전성 결과는 데이터 컷오프 날짜를 기준으로 1차 투여 후 최대 3주 또는 2차 투여 전까지 제시된다. 100μg BNT162b1을 투여받은 18~55세 참가자 그룹은 IRC 결정에 따라 100μg BNT162b2의 제2 용량을 투여받지 않았다.

[1778] 국소 반응 - 1상

[1779] 전반적으로, BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 및 두 연령 그룹 모두에서 주사 부위의 통증이 가장 빈번한 국소 반응이었다. 발적과 부기는 BNT162b2 그룹과 BNT162b1 그룹에서 덜 발생하였다. BNT162b1 그룹과 BNT162b2 그룹 모두 저연령군에 비해 고령자 그룹에서 국소반응 빈도가 낮았고, 용량이 증가할수록 국소반응 빈도가 높아지는 경향을 보였다.

[1780] BNT162b1

[1781] 저연령군에서 BNT162b1 1차 투여 후 7일 이내에 주사 부위 통증이 가장 빈번하게 보고된 국소 반응이었다. 용량 수준이 10μg에서 30μg으로 증가함에 따라 위약 그룹에서는 없는 것과 비교하여 주사 부위의 통증 빈도 증가(각각 58.3%에서 100.0%, 7명 및 12명)가 관찰되었다(도 84). 발적은 30μg 용량 그룹의 참가자 2명(16.7%)에서 보고되었으며 부기는 20μg 용량 그룹의 참가자 3명(25.0%)과 30μg 용량 그룹의 참가자 2명(16.7%)에서 보고되었다. 100μg 용량 그룹에서는 주사 부위 통증(12명[100.0%]), 부기(5명[41.7%]), 발적(4명[33.3%])이 보고되었고, 1명[8.3%]의 참가자는 심각한 주사 부위 통증이 있었다(참고: IRC 결정에 따라 2차 투여는 나중에 참가자에게 10μg 용량 수준으로 투여되었다).

[1782] 저연령군에서 BNT162b1 2차 투여 후 7일 이내에 주사 부위 통증이 가장 빈번하게 보고된 국소 반응으로 남아 위약 그룹(2[22.2%])과 비교하여 30μg 용량 그룹에서 12명(100.0%)의 참가자에 달한 반면, 발적(참가자 2명[16.7%]) 및 부기(참가자 3명[25.0%])가 있는 참가자의 비율은 30μg 용량 그룹에서 가장 높았다(도 84). 위약 그룹에서는 발적이나 부기가 보고되지 않았다.

[1783] 고령자 그룹에서는 BNT162b1 1차 투여 후 7일 이내에 주사 부위 통증이 위약 그룹(1명 [11.1%] 참가자)에 비해 20μg 및 30μg 용량 그룹 모두에서(각각 11명(91.7%) 참가자) 가장 많이 보고된 국소 반응이었다(도 85). 발적은 보고되지 않았으며 부기가 최대 빈도로 나타는 그룹(2명 [16.7%] 참가자)는 30μg 그룹이었다. 위약 그룹에서는 발적이나 부기가 보고되지 않았다.

[1784] 고령자 그룹에서 BNT162b1 2차 투여 후 7일 이내에 주사 부위 통증이 20μg 및 30μg 용량 그룹 모두에서 가장 빈번하게 보고된 국소 반응이었다(참가자 각각 9명[75.0%]). 부기의 빈도(참가자 3명[25.0%])는 30μg에서 최대였으며, 발적(각각 1명[8.3%]명)은 20μg 및 30μg 용량 그룹에서 보고되었다. 위약 그룹에서는 발적이나 부기가 보고되지 않았다.

[1785] 1차 및 2차 투여 후 및 두 연령 그룹에서 대부분의 국소 반응은 경증 또는 중등도였으며 4등급 국소 반응은 보고되지 않았다.

[1786] 전반적으로 BNT162b1 용량 그룹과 두 연령군 모두 주사 부위 통증이 가장 빈번한 국소 반응(58.3% ~ 100.0%)이었으며, 발적(0% ~ 16.7%)과 부기(0% ~ 25.0%)는 이보다 낮은 빈도로 특히, 저연령층에 비해 고령자 그룹에서 국소 반응 빈도가 낮았고, 용량이 증가할수록 국소 반응 빈도가 높아지는 경향을 보였다.

[1787] 저연령군에서 주사 부위의 통증의 발병일 중앙값(median onset day)은 BNT162b1 10~30μg 용량 투여 후 및 BNT162b1 100μg 1차 투여 후 제1일(백신접종 당일)이었다. 발적 및 부기에 대한 발병일 중앙값은 모든 용량 그룹에서 제1.0일 내지 제3.0일 사이였다.

[1788] 고령자 그룹에서 주사 부위의 통증의 발병일 중앙값(median onset day)은 BNT162b1의 모든 용량 그룹의 1차 투여 후 및 20μg 및 30μg 용량 그룹의 경우 2차 투여 후 제1.0일(백신접종 당일)이었다. 발적의 경우 1명의 참가자에서 2차 투여 후 각각 제4일(20-μg 용량 그룹) 및 제5일(30-μg 용량 그룹)인 경우를 제외하고, 보고된 다른 모든 발적 또는 부기의 국소 반응에서 발병일 중앙값은 모든 용량 그룹에서은 제1.0일과 제3.0일 사이였다.

[1789] 국소 반응은 용량 수준에 따라 저연령 그룹과 고령자 그룹에서 1.0~4.0일 사이의 기간의 중앙값으로 해소되었다.

[1790] **BNT162b2**

[1791] 저연령군에서 주사 부위의 통증은 1차 투여 후 7일 이내에 가장 자주 보고된 국소 반응이었으며, 이는 30㎍ 용량 그룹에서 최대였다(11[91.7%] 참가자)(도 86). 1명[8.3%]의 참가자가 30㎍을 1차 투여한 후 심각한 주사 부위 통증을 경험하였다. 대부분의 참가자는 붓기와 발적을 보고하지 않았다. 2차 투여 후 주사 부위 통증은 위약 그룹(2[22.2%] 참가자)과 비교하여 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 가장 자주 보고된 국소 반응(83.3%, 각 참가자 10명)으로 남아 있었다. 어떤 참가자도 위약을 포함한 모든 용량 그룹에서 발적과 부기를 보고하지 않았다.

[1792] 고령자 그룹에서는 모든 용량 그룹에서 BNT162b2 1차 투여 후 7일 이내에 주사 부위 통증이 보고되었으며, 30㎍ 용량 그룹(75.0%, 참여자 9명)에서 최대였던 반면, 어떤 그룹에서도 발적과 부기는 보고되지 않았다(도 87). 위약 그룹에서는 국소 반응이 보고되지 않았다. 2차 투여 후 위약 그룹(9명[11.1%]명)과 비교하여 30㎍ 그룹에서 주사 부위 통증(8명[66.7%]명)이 보고되었다; BNT162b2 또는 위약을 투여받은 참가자는 발적 및 부기를 보고하지 않았다.

[1793] 1차 및 2차 투여 후 및 두 연령군에서 대부분의 국소 반응은 경증 또는 중등도였으며 4등급 국소 반응은 보고되지 않았다.

[1794] 전반적으로 BNT162b2 용량 그룹과 두 연령대 모두 주사 부위 통증이 가장 빈번한 국소 반응(33.3%~91.7%)이었고, 발적(0%~8.3%)과 부기(0%~16.7%)는 드물게 나타났다. 국소반응의 빈도는 저연령군에 비해 고령자 그룹에서 낮았고, 용량이 증가할수록 국소반응 빈도가 높아지는 경향을 보였다.

[1795] 저연령 그룹에서 국소 반응의 발병일 중앙값은 모든 용량 수준에 걸쳐 BNT162b2 투여 후 제1.0일(백신접종일)에서 제2.0일 사이에 발생하였다. 고령 자 그룹에서 국소 반응의 발병일 중앙값은 모든 용량 수준에 걸쳐 BNT162b2 투여 후 제1.0일(백신접종일)에서 제2.0일 사이에 발생하였다. 국소 반응은 일반적으로 용량 수준에 따라 젊은 그룹과 고령자 그룹에서 1.0~2.0일의 기간 중앙값 사이에 해소되었다.

[1796] **전신 반응 - 1상**

[1797] 전반적으로, 1차 투여 후 7일 이내에 피로는 BNT162b1의 경우 일반적으로 저연령 그룹과 고령자 그룹 모두에서, 그리고 BNT162b2의 경우 고령자 그룹에서 가장 자주 보고된 전신 반응이었다; 두통과 피로는 젊은 BNT162b2 용량 그룹에서 가장 자주 보고되었다. 전반적으로, 2차 투여 후 7일 이내에 두통은 BNT162b1의 경우 일반적으로 저연령 그룹과 고령자 그룹 모두에서 가장 자주 보고된 전신 반응이었고, 피로는 BNT162b2의 경우 저연령 그룹과 고령자 그룹 모두에서 가장 자주 보고된 전신 사건이었다. 오한은 일반적으로 2차 투여 이후 더 높은 빈도로 보고되었으며 BNT162b2 그룹보다 BNT162b1 그룹에서 더 높은 빈도로 보고되었다. 발열은 고령자 BNT162b2 그룹보다 2차 투여 후 젊은 BNT162b1 그룹에서 더 자주 보고되었다. BNT162b1 및 BNT162b2 접종자 모두에서, 1차 및 2차 투여 후 및 두 연령 그룹 모두에서, 대부분의 전신 반응은 경증 또는 중등도였으며, 4등급 전신 반응은 보고되지 않았다.

[1798] **BNT162b1**

[1799] 저연령층에서 피로는 BNT162b1 1차 투여 후 7일 이내에 가장 빈번하게 보고된 전신 반응으로, 위약 그룹(2[22.2%] 참가자)에 비해, 10 ㎍, 20 ㎍ 및 30 ㎍ 용량 그룹 각각에서 각각 4명 (33.3%), 8명 (66.7%), 및 6명 (50.0%) 참가자였다(도 88), 두통(6[50.0%] 참가자) 및 오한(7[58.3%] 참가자)이 30㎍ 용량 그룹에서 보고되었으며, ≤1(8.1%) 참가자가 30㎍ 각 그룹에서 발열을 보고하였다. 위약 그룹에서는 두통(1명[11.1%])이 보고되었고 발열이나 오한은 보고되지 않았다. 100㎍ 용량 그룹에서는 30㎍ 용량 그룹에 비해: 피로(참가자 10명[83.3%]), 두통(참가자 9명[75.0%]), 오한(참가자 10명[83.3%]), 발열 (6 [50.0%] 참가자)이 더 높은 빈도로 보고되었다.

[1800] 저연령군에서 BNT162b1 2차 투여 후 7일 이내에 두통이 가장 빈번하게 보고된 전신 증상으로, 위약 그룹에서는 전혀 보고하지 않은 반면 30㎍ 용량 그룹에서는 12명(100.0%)의 참가자 전원이 이를 보고한 반면, 피로와 오한은 30㎍ 용량 그룹에서 각각 10명(83.3% 참가자)과 8명(66.7%) 참가자가 보고하였다. 발열은 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹 참가자의 각각 17% 및 75%에서 보고되었다. 위약 그룹에서 2명(22.2%)의 참가자가 피로를 보고했으며 발열과 오한은 아무도 보고하지 않았다.

[1801] 고령자 그룹에서 피로는 BNT162b1 1차 투여 후 7일 이내에 가장 빈번하게 보고된 전신 반응으로, 위약 그룹 참

가자 4명(44.4%)에 비해, 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 각각 7(58.3%) 및 6(50.0)%의 참가자가 피로를 보고하였다(도 89). 두통(참가자 6명[50.0%])과 오한(참가자 2명[16.7%])이 30㎍ 용량 그룹에서 보고되었고 발열(참가자 3명[25.0%])은 30㎍ 용량 그룹에서만 보고되었다. 위약 그룹에서는 오한(2명 [22.2%] 참가자)이 보고되었고 두통이나 발열은 보고되지 않았다. 한 참가자는 각각 심한 근육통(20㎍ 용량 그룹)과 심한 피로(30㎍ 용량 그룹)를 보고하였다(전자는 대상포진 발병과 관련된 통증이었다).

[1802] 고령자 그룹에서 위약 그룹(1[11.1 %] 참가자)에 비해 BNT162b1 2차 투여 후 7일 이내에 두통은 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 가장 빈번히 보고된 전신 반응이었다. 오한은 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 각각 7명(58.3%) 및 4명(33.3%)의 참가자에서 보고되었다. 발열은 20㎍ 용량 그룹의 참가자 6명(50.0%)과 30㎍ 용량 그룹의 참가자 4명(33.3%)에서 보고되었으며, 1명의 참가자는 >38.9° C~40.0° C의 발열을 보고하였다. 위약 그룹에서는 피로(2명 [22.2%] 참가자)가 보고되었고 발열과 오한은 보고되지 않았다.

[1803] 1차 및 2차 투여 후 및 두 연령군 모두에서 대부분의 전신 반응은 경증 또는 중등도였으며 4등급 전신 반응은 보고되지 않았다. 고령자 그룹에서 각 투여 후 유도된 전신 반응은 저연령 그룹에서 관찰된 것보다 경미하고 덜 빈번하였다.

[1804] 전신 반응은 1차 투여 후 100㎍ 용량 그룹에서 빈도 및/또는 중증도가 가장 높았다. 해열제/진통제의 사용도 두 연령군에서 투여량 수준과 투여 횟수가 증가함에 따라 증가하였다. 이러한 이유로 IRC는 더 저연령대의 참가자에게 BNT162b1 100㎍의 두 번째 용량을 투여해서는 안 된다고 결정하였다.

[1805] 저연령군에서 BNT162b1 10㎍~30㎍ 용량과 BNT162b1 100㎍ 용량의 1차 투여 후 대부분의 전신 반응의 발병일 중앙값은 제1.0일에서 제2.0일 사이였다. 대부분의 전신 이상사례은 일반적으로 1.0~2.0일 사이의 지속기간 중앙값에서 해소되었다. 피로의 경우, 1차 투여 후 지속기간 중앙값은 10㎍ 용량 그룹에서 4.0일, 30㎍ 용량 그룹에서 2.0일이었다.

[1806] 고령자 그룹에서 BNT162b1의 모든 투여 회차, 용량 그룹에 걸쳐 대부분의 전신 반응의 발병일 중앙값은 제1.0일에서 제3.5일 사이였다. 대부분의 전신 이상사례은 일반적으로 1.0~3.0일 사이의 지속기간 중앙값에서 해소되었다.

[1807] **BNT162b2**

[1808] 저연령층에서 두통(4명[33.3%]~6명[50.0%]의 참가자)과 피로(3명[25.0%]~5명[41.7%]명의 참가자)는, 위약 그룹(각각 3명 [33.3%] 참가자)에 비해 BNT162b2 1차 투여 후 7일 이내에 가장 빈번하게 보고된 전신 반응이었다(도 90). 발열(참가자 2명[16.7%])과 오한(참가자 4명[33.3%])은 30㎍ 용량 그룹에서만 보고되었다. 편두통 병력이 있는 30㎍ 그룹의 한 참가자는 1차 투여 후 제7일에 심각한 편두통을 보고하였다.

[1809] 저연령군에서 BNT162b2 2차 투여 후 7일 이내에 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹(각각 7명[58.3%] 및 9명[75.0%])에서 피로가 가장 빈번하게 보고된 전신 반응이었으며 이는 위약 그룹(5명 [55.6%] 참가자)과 대비된다. 두통(8[66.7%] 참가자), 오한(7[58.3%] 참가자), 근육통(7[58.3%] 참가자) 및 발열(2[16.7%] 참가자)이 30 ㎍ 용량 그룹에서 보고되었다. 이들 반응 중, 피로(5명[55.6%] 참가자), 두통(1명[11.1%] 참가자) 및 오한(1명[11.1%] 참가자)이 위약 그룹에서 보고되었으며 근육통은 보고되지 않았다.

[1810] 고령자 그룹에서 BNT162b2 1차 투여 후 7일 이내에 가장 빈번하게 보고된 전신 반응은 피로로서 위약 그룹(2명[22.2%] 참가자)에 비해, 20㎍ 용량 그룹과 30㎍ 용량 그룹(각각 4명[33.3%], 3명[25.0%])이었다(도 91). 두통(참가자 3명[25.0%]), 오한(참가자 2명[16.7%]), 근육통(참가자 1명[8.3%])은 20㎍ 용량 그룹에서 최대였다. 이들 반응 중 두통(참가자 1명[11.1%])과 근육통(참가자 2명[22.2%])만이 위약 그룹에서 보고되었다. 발열은 보고되지 않았다.

[1811] 고령자 그룹에서 BNT162b2 2회 투여 후 7일 이내에 피로는 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹(각각 6명[50.0%] 및 5명[41.7%])에서 가장 빈번한 전신 반응으로 남아 있었으며, 이는 위약 그룹(1 [11.1%] 참가자)과 대비된다. 두통은 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹(각각 4명[33.3%] 및 3명[25.0%])에서 보고되었으며, 근육통 및 오한은 30㎍ 용량 그룹(3명[25.0%] 및 2명16.7%] 참가자)에서 보고되었다. 발열(1명[8.3%] 참가자)이 30㎍ 용량 그룹에서 보고되었다. 이러한 사례 중 두통과 근육통은 위약 그룹(각각 1[11.1%] 참가자)에서 보고되었다.

[1812] 1차 및 2차 투여 후 및 두 연령군에서 대부분의 전신 반응은 경증 또는 중등도였으며 4등급 전신 반응은 보고되지 않았다.

[1813] 저연령군에서 BNT162b2 투여 후 대부분의 전신 반응의 발병일 중앙값은 모든 용량 그룹에 걸쳐 1.0일에서 4.0일

사이였다. 대부분의 전신 반응은 일반적으로 1.0~2.5일 사이의 지속기간 중앙값에서 해소되었다.

[1814] 고령자 그룹에서 BNT162b2 투여 후 모든 용량 수준에서 전신 반응의 발병일 중앙값 개시일은 10-μg 용량 그룹에서 1차 투여 후의 전신 반응의 발병일 중앙값이 제5.5이었던 것을 제외하고, 제1.5일에서 제2.0일 사이였다. 대부분의 전신 반응은 일반적으로 1.0~3.0일 사이의 지속기간 중앙값에서 해소되었다.

[1815] **이상사례(Adverse Events) - 1상**

[1816] **이상사례 요약 - 1상**

[1817] 1차 투여부터 2020년 8월 24일 데이터 컷오프 날짜까지의 모든 AE가 각 백신 후보 및 연령 그룹에 대한 모든 용량 수준에 대한 요약에 포함되었으며, 단 BNT162b1 100-μg 그룹의 경우 1차 투여부터 2차 투여 전까지의 AE가 요약되었다.

[1818] 전반적으로 젊은 그룹(41.7%~50.0%) 및 고령자(25.0%~58.3%) BNT162b2 그룹 및 젊은 BNT162b2 그룹 (33.3% 내지 41.7%)에 비해, 고령자 BNT162b2 그룹(8.3% 내지 25.0%)에서 1차 투여 후 적어도 1가지 AE를 보고한 참가자는 더 적었다.

[1819] **BNT162b1**

[1820] 저연령 그룹에서 5명(41.7%)~6명(50%)의 참가자가 BNT162b1을 최대 30μg까지 1차 투여한 후 최소 1건의 AE를 보고한 반면 위약 그룹 참가자는 2명(22.2%)이었다. 관련 AE는 BNT162b1 용량 수준이 증가함에 따라 증가하였다(25.0%에서 50.0%). 6명(50%)의 참가자가 30μg 용량 그룹에서 최소 1개의 관련 AE를 보고하였다. 1명(8.3%)의 참가자가 30μg 용량 그룹에서 심각한 AE(발열)를 보고하였다.

[1821] 100μg 용량 그룹에서 8명(66.7%)의 참가자가 BNT162b1의 1차 투여 후부터 2차 투여 전까지 최소 1건의 AE를 보고한 반면 위약 그룹 참가자는 1명(33.3%)이었다. 6명(50.0%)의 참가자는 적어도 1개의 관련된 AE를 가지고 있었고, 1명(8.3%)의 참가자는 심각한 AE(수면 장애)를 보고하였다.

[1822] 고령자 그룹에서 3명(25.0%)의 참가자(30μg 용량 그룹)와 7명(58.3%)의 참가자(10μg 및 20μg 용량 그룹)는 각각 BNT162b1 1차 투여 후 최소 1건의 부작용을 보고한 반면, 위약 그룹에서는 4명(44.4%)의 참가자가 보고하였다. 2명(16.7%)~4명(33.3%)의 참가자가 최소 1건의 관련 AE를 보고했으며, 20μg 용량 그룹에서 빈도가 가장 높았다. 한 참가자는 각각 20-μg(대상 포진) 및 30-μg(피로) 용량 그룹에서 심각한 AE를 보고하였다.

[1823] SAE, 철회로 이어지는 AE 또는 사망은 어느 연령 그룹에서도 보고되지 않았다.

[1824] **BNT162b2**

[1825] 저연령 그룹에서 4명(33.3%)~5명(41.7%)의 참가자가 BNT162b2 1차 투여 후 최소 1건의 AE를 보고한 반면 위약 그룹 참가자는 2명(22.2%)이었다. 2명(16.7%)~4명(33.3%)의 참가자가 최소 1건의 관련 AE를 보고했으며, 20μg 용량 그룹에서 빈도가 가장 높았다. 한 참가자는 30μg 용량 그룹에서 심각한 AE(편두통)를 보고하였다.

[1826] 고령자 그룹에서 1명(8.3%)~3명(25.0%)의 참가자가 BNT162b2 1차 투여 후 최소 1건의 AE를 보고한 반면 위약 그룹 참가자는 2명(22.2%)이었다. 1명(8.3%)의 참가자만이 최소 1건의 관련 AE(20μg 용량 그룹)를 보고하였다. 한 참가자는 각각 30μg 용량 그룹(근육 경련)과 위약 그룹(신경근병증)에서 심각한 AE를 보고하였다.

[1827] SAE, 금단으로 이어지는 AE 또는 사망은 어느 연령 그룹에서도 보고되지 않았다.

[1828] **이상사례의 분석 - 1상**

[1829] **신체 기관 분류(SOC) 및 우선순위 용어(PT)에 따른 이상사례 - 1상**

[1830] 이 섹션에서 SOC 및 PT 요약에 의한 AE에는 모든 그룹의 1차 투여로부터 2차 투여 후 1개월의 AE가 포함되었고, 단 BNT162b1 100ug 그룹의 경우 1차 투여로부터 1차 투여 3주후 또는 1차 투여로부터 2차 투여 전까지의 AE가 요약되었다.

[1831] 전신 장애 및 투여 부위 상태는 고령자 BNT162b1 그룹과 젊은 BNT162b2 그룹에서 가장 일반적으로 보고된 SOC였다. 가장 일반적으로 보고된 SOC는 젊은 BNT162b1 그룹의 위장 장애와 고령자 BNT162b2 그룹의 신경계 장애였다. 일반적으로 대부분의 PT는 용량 그룹당 2명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1832] **BNT162b1**

[1833] BNT162b1의 1차 투여에서 2차 투여 후 1개월 사이의 저연령 그룹에서 위장 장애는 BNT162b1 그룹에서 최대 30μg까지 가장 일반적으로 보고된 SOC였다(각 용량 그룹당 참가자 2명[16.7%]). 20μg 용량 그룹에서만 감각이상(3[25.0%])이 PT에 의한 가장 흔한 AE였다. 다른 모든 AE는 위약 그룹을 포함하여 용량 그룹당 2명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1834] 100 μg 용량군에서 BNT162b1의 1차 투여부터 1차 투여 후 3주까지 정신과적 장애가 가장 흔하게 보고된 SOC(참가자 3명[25.0%])였고, 수면 장애(참가자 3명[25%])는 PT에 의한 가장 흔한 AE였다. 다른 모든 AE는 위약 그룹을 포함하여 2명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1835] 고령자 그룹에서는 BNT162b1의 1차 투여에서 2차 투여 후 1개월까지 전신 장애 및 투여 부위 상태가 BNT162b1 그룹에서 가장 일반적으로 보고된 SOC였으며 총 6명의 참가자에서 보고되었다: 10μg 용량 그룹에서 참가자 1명(8.3%), 10μg 용량 그룹에서 참가자 2명(16.73%), 및 30μg 용량 그룹에서 참가자 3명(25.0%). PT에 의한 모든 AE는 용량 그룹당 1명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1836] **BNT162b2**

[1837] 저연령 그룹에서는 일반적인 장애 및 투여 부위 상태가 가장 일반적으로 보고된 SOC였다. 이러한 반응에는 주사 부위 통증 및 주사 부위 홍반이 포함되었다. PT에 의한 모든 AE는 용량 그룹당 1명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1838] 고령자 그룹에서 신경계 장애는 가장 일반적으로 보고된 SOC였으며, 30μg 그룹(좌골신경통)과 위약 그룹(신경근병증)에서 각각 1명의 참가자에게서 보고되었다. PT에 의한 모든 AE는 용량 그룹당 1명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1839] **관련 이상사례 - 1상**

[1840] 전반적으로, 일반 장애 및 투여 부위 상태는 젊은 그룹과 고령자 BNT162b1 그룹 및 젊은 BNT162b2 그룹에서 가장 일반적으로 보고된 SOC였다. 고령자 BNT162b2 그룹에서는 1명(8.3%)의 참가자에서 보고된 메스꺼움이 유일하게 관련된 AE였다.

[1841] **BNT162b1**

[1842] 저연령군에서 일반적인 장애 및 투여 부위 상태가 가장 일반적으로 보고된 SOC(주사 부위 통증, 발열, 오한, 피로 및 주사 부위 부기)였다. 30μg 용량 그룹에서 각각 2명(16.7%)의 참가자가 각각 빈맥 및 발열과 관련된 AE를 보고하였다. 다른 모든 관련 AE는 용량 그룹당 2명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1843] 100μg BNT162b1 그룹에서 정신 장애가 가장 일반적으로 보고된 SOC였다. 3명(25.0%)의 참가자가 정신 장애로 수면 장애를 보고하였다. 다른 모든 관련 AE는 각각 2명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1844] 고령자 그룹에서는 일반적인 장애 및 투여 부위 상태가 가장 일반적으로 보고된 SOC(피로, 주사 부위 타박상, 주사 부위 통증 및 말초 부기)였다. PT에 의한 모든 관련 AE는 용량 그룹당 1명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1845] **BNT162b2**

[1846] 저연령 그룹에서 일반적인 질환 및 투여 부위 상태가 가장 흔하게 보고된 SOC(주사 부위 통증 및 주사 부위 홍반)였다. PT에 의한 모든 관련 AE는 위약 그룹의 참가자를 포함하여 용량 그룹당 1명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[1847] 고령자 그룹에서는 20μg 용량 그룹에서 1명(8.3%)의 참여자만이 메스꺼움과 관련된 AE를 보고하였다.

[1848] **즉각적인 이상사례 - 1상**

[1849] **BNT162b1**

[1850] 저연령 그룹에서 1명의 참가자는 20μg BNT162b1의 1차 투여 후 감각이상의 즉각적인 AE를 보고하였다. 100μg 그룹에서는 1차 투여 후 즉각적인 AE를 보고한 참가자가 없었다.

[1851] 고령자 그룹에서 1명의 참가자는 10μg BNT162b1 1차 투여 후 즉각적인 안구 감각이상 AE를 보고하였다.

[1852] BNT162b1 2차 투여 후 즉각적인 AE를 보고한 참가자는 어느 연령대에도 없었다.

[1853] BNT162b2

[1854] 저연령군에서 BNT162b2 1차 투여 후 즉각적인 AE를 보고한 참가자는 3명이었다: 주사 부위 홍반(10㎍ 용량 그룹), 미각(20㎍ 용량 그룹), 주사 부위 통증(30㎍ 용량 그룹). BNT162b2의 2차 투여 후 미각 장애의 즉각적인 AE를 보고한 참가자가 1명 있었다(20 ㎍ 용량 그룹).

[1855] BNT162b2 투여 후 즉각적인 AE를 보고한 고령 그룹의 참가자는 없었다.

[1856] **심각한 이상사례 - 1상**

[1857] BNT162b1

[1858] 저연령 그룹에서 2차 투여(30㎍ 용량 그룹) 2일 후 심각한 발열(102.4도에프) AE를 보고한 참가자 1명과 1차 투여 1일 후 심각한 수면 장애 AE를 보고한 참가자 1명이 있었다(100㎍ 용량 그룹). 두 AE 모두 연구 개입와 관련된 것으로 연구자에 의해 결정되었다.

[1859] 고연령 그룹에서 2명의 참가자가 심각한 AE를 보고하였다: 대상포진은 1차 투여 2일 후(20㎍ 용량 그룹, BNT162b1과 관련이 없는 것으로 간주됨) 발생했고 피로는 2차 투여 1일 후(30㎍ 용량 그룹, BNT162b1과 관련이 있는 것으로 간주됨)에 발생하였다.

[1860] BNT162b2

[1861] 저연령 그룹에서 편두통 이력이 있는 1명의 참가자는 1차 투여 후 7일째 심각한 편두통을 보고하였다(30㎍ 투여 그룹, 관련이 없는 것으로 간주됨). 고연령 그룹에서 2명의 참가자가 중증 AE를 보고하였다: 2차 투여(30㎍ 투여 그룹, BNT162b2와 관련 없는 것으로 간주됨) 2일 후 근육 경련 및 1차 투여(위약)(연구 개입과 관련 없는 것으로 간주됨) 3일 후 신경근병증.

[1862] **사망, 심각한 이상사례, 안전성-관련 참가자 철회 및 기타 중대한 이상사례 - 1상**

[1863] **사망 - 1상**

[1864] 이 중간 CSR에서 컷오프 날짜인 2020년 8월 24일까지 사망한 1상 참가자는 없었다.

[1865] **심각한 이상사례 - 1상**

[1866] 이 중간 CRS에서 커버된 기간 동안 SAE를 보고한 1상 참가자는 없었다.

[1867] **안전성-관련 참가자 철회 - 1상**

[1868] 이 중간 CSR에서 컷오프 날짜인 2020년 8월 24일까지 연구로부터 철회로 이어지는 AE가 있는 1상 참가자는 없었다.

[1869] **기타 심각한 이상사례 - 1상**

[1870] 특별한 관심대상 AE는 이 연구의 1상에 대해 정의되지 않았다.

[1871] **기타 안전성 평가 - 1상**

[1872] **중증 COVID-19 질병 - 1상**

[1873] 2020년 8월 24일의 데이터 컷오프 날짜까지 1상 참가자에서 보고된 COVID-19 사례는 없었다.

[1874] **임신 - 1상**

[1875] 2020년 8월 24일 데이터 컷오프 날짜까지 임상 1상 참가자에게서 임신이 보고되지 않았다.

[1876] **사망, 중증 이상사례, 안전성-관련 관련 참가자 철회 및 기타 심각한 이상사례에 대한 분석 및 논의 - 1상**

[1877] 이 중간 CSR에서 다루는 기간 동안 SAE, 철회로 이어지는 AE 또는 두 연령대에서 보고된 사망은 없었다.

[1878] **임상 실험실 평가 - 1상**

[1879] 전반적으로 1차 투여 후 1~3일에 림프구의 일시적인 감소(<0.8 × LLN)가 있었고, 젊은 그룹과 고령자 BNT162b1 및 BNT162b2 그룹에서 1차 투여 후 6~8일에 정상으로 돌아왔다. 대부분의 변화는 정상 또는 1등급에서 1, 2 또는 3등급으로의 림프구 수 감소였으며, 1차 투여 후 6-8일에 정상으로 돌아왔고 모든 연령 및 용량 그룹에서 관찰되었다. 정상에서 1등급(젊은 BNT162b1 그룹) 또는 2등급(고령자 BNT162b2 그룹)으로의 호중구 감소도 관찰되

었지만 드물었다.

[1880] 전반적으로, 보고된 다른 임상 화학 이상 또는 실험실 결과의 변화는 드물었다. 감소된 림프구 수의 발생률은 BNT162b1 접종자에 비해 BNT162b2 접종자에서 더 낮았다. 어떠한 실험실 이상도 임상 소견과 연관되지 않았다.

[1881] BNT162b1

[1882] 저연령 그룹에서 림프구의 일시적인 감소(<0.8 × LLN)의 실험실 이상이 BNT162b1 10μg, 20μg, 30μg의 1차 투여 후 1 내지 3일에 각각 1명(8.3%), 4명(33.3%), 및 6명 (54.5%)의 참가자에서 관찰되었으며, 1차 투여 6 내지 8일 후에 정상으로 돌아왔다. 10μg 및 30μg 용량 그룹 및 20μg 용량 그룹의 2명(16.7%)에서 각각 1명의 참가자에게서 림프구 수가 정상에서 3등급으로 감소하는 것이 관찰되었다. 1차 투여 후 6~8일까지 림프구 수의 3등급 감소가 관찰되지 않았다. 1차 투여 후, 위약 그룹 참가자 1명(11.1%)에서 정상에서 2등급 호중구 감소로의 변화가 관찰되었으며, 이는 1차 투여 후 19~23일까지 관찰되지 않았다. 2차 투여 후 6~8일에 10μg 용량 그룹(1등급~2등급)과 30μg 용량 그룹(정상에서 2등급)에서 각각 1명의 참가자에서 호중구 감소의 변화가 관찰되었다. 두 참가자 모두 2차 투여로부터 약 1개월 후 계획되지 않은 방문에서 1등급으로 전환되었다.

[1883] 100-μg BNT162b1 그룹에서 1차 투여 후 1~3일에 9명(75.0%)의 참가자에서 일시적인 림프구 감소(<0.8 × LLN)의 실험실 이상이 관찰되었으며 1차 투여 후 6~8일에 정상으로 돌아왔다. 1차 투여 후 1~3일에 4명(33.3%)의 참가자에서 림프구 수가 정상에서 3등급으로 감소했으며, 1차 투여 후 6~8일에 정상으로 돌아왔다. 정상에서 1등급 호중구 감소로의 변화가 1차 투여 후 6~8일에 3명(25.0%)의 참가자에서 관찰되었으며, 1차 투여 후 19~23일에 정상으로 돌아왔다.

[1884] 고연령 그룹에서는 림프구의 일시적인 감소(<0.8 × LLN)의 실험실 이상이 BNT162b1 10 μg, 20 μg, 30 μg의 1차 접종 후 1~3일에 각각 참가자 1명(8.3%), 3명(25.0%), 2명(16.7%)에서도 관찰되었으며, 1차 투여 후 6~8일에 정상으로 돌아왔다. BNT162b1 1차 투여 후 1~3일에 정상에서 3등급 또는 4등급으로의 림프구 수 감소가 각각 30μg 및 10μg 용량 그룹에서 각각 1명(8.3%)씩서 관찰되었으며 모두 1차 투여 후 6~8일까지 정상으로 돌아왔다.

[1885] 전반적으로, 보고된 다른 임상 화학 이상 또는 실험실 결과의 변화는 드물었다. 어떤 이상도 임상 소견과 연관되지 않았다.

[1886] BNT162b2

[1887] 저연령군에서는 20μg 및 30μg 용량 그룹에서 BNT162b2 1차 투여 후 1~3일에 각각 1명(8.3%)의 참가자에서 일시적인 림프구 감소(<0.8 × LLN)의 실험실 이상이 관찰되었으며, 1차 투여 후 6 내지 8일까지 정상으로 돌아왔다. BNT162b2의 Dos 1 후 1~3일에 정상에서 1등급으로의 림프구 수 감소가 10μg, 20μg, 30μg 용량 그룹에서 각각 3명(25.0%), 2명(16.7%), 4명(33.3%)의 참가자에서 관찰되었고, 정상에서 2등급으로의 림프구 감소가 20-μg 및 30-μg 용량 그룹에서 각 1명씩(8.3%) 관찰되었다. 1차 투여 후 6~8일까지 림프구 수의 2등급 또는 3등급 감소는 관찰되지 않았다.

[1888] 고연령 그룹에서는 모든 용량 수준에 걸쳐 BNT162b2 1차 투여 후 1~3일에 각각 1명(8.3%)의 참가자에게서 일시적인 림프구 감소(<0.8 × LLN)의 실험실 이상이 관찰되었으며, 이는 1차 투여 6 내지 8일 후에 정상으로 돌아왔다. 정상에서 3등급(10μg 용량군)으로의 변화와 1등급에서 3등급(30μg 용량군)으로의 림프구 수 감소가 각각 1명(8.3%)의 참가자에게서 관찰되었다. 1차 투여 후 1~3일에 20 μg 용량 그룹의 참가자 2명(16.7%)에서 정상에서 2등급으로의 호중구 감소 변화가 관찰되었으며, 1차 투여 6~8일 후까지 2등급으로의 변화는 관찰되지 않았다. 1차 투여 후 6~8일에 10μg 용량 그룹의 참가자 1명(8.3%)에서 정상에서 2등급으로의 호중구 감소 변화가 관찰되었다. 1차 투여 후 19~23일까지 모든 용량 그룹에서 2등급으로의 호중구 감소는 관찰되지 않았다.

[1889] 전반적으로, 보고된 다른 임상 화학 이상 또는 실험실 결과의 변화는 드물었다. 감소된 림프구 수의 발생률은 BNT162b1 접종자에 비해 BNT162b2 접종자에서 더 낮았다. 어떠한 검사실 이상도 임상 소견과 연관되지 않았다.

[1890] **신체 검사 소견 - 1상**

[1891] 전반적으로 두 연령 그룹 모두에서 BNT162b1 이후보다 BNT162b2 이후 신체 검사에서 발견된 이상이 더 적었다. 이상은 일반적으로 1차 투여 후 1~3일에 관찰되었으며 대부분 사지, 근골격계 또는 피부에서 관찰되었다.

[1892] BNT162b1

[1893] 저연령군에서는 기본 신체 검사에서 이상 징후가 관찰되지 않았다. 전반적으로, 무작위 배정 후 대부분의 이상

은 BNT162b1 10㎍, 20㎍ 또는 30㎍의 1차 투여 후 1~3일(참가자 9명 [20.0%]), 2차 투여 후 6~8일(참가자 7명[15.6%])에 관찰되었다. 30㎍ 용량 그룹에서 최대 6명(50.0%)의 참가자가 1차 투여 투여 후 1~3일 후에 이상이 나타났으며 대부분의 이상은 사지에 있었다.

[1894] 100㎍ 용량 그룹에서는 1명(8.3%)만이 베이스라인에서 이상이 있었다. 1차 투여 투여 후 1차 투여~3주까지 BNT162b1 투여 1~3일 후 9명(75.0%)의 참가자에서 이상이 나타났으며, 대부분의 이상은 사지에 나타났다.

[1895] 고연령 그룹에는 기본 신체 검사에서 이상이 발견된 참가자가 5명(11.1%)이었으며 모든 용량 그룹에는 참가자가 2명 이하였다. 전반적으로 무작위 배정 후 BNT162b1 1차 투여 후 1~3일에 대부분의 이상이 관찰되었다(참가자 15명[33.3%]). 20㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 6명(50.0%) 및 4명(33.3%)의 참가자가 1차 투여 후 1~3일에 이상이 있었고 대부분의 이상이 근골격계 또는 사지와 관련되었다.

[1896] 신체검사에서 임상적으로 중요한 소견은 없었다.

[1897] **BNT162b2**

[1898] 저연령 그룹에서는 기본 신체 검사에서 이상이 발견된 참가자가 5명(11.1%)이었으며 모든 용량 그룹에 참가자가 2명 이하였다. 전반적으로, 무작위 배정 후 대부분의 이상이 10㎍, 20㎍ 또는 30㎍ BNT162b2(5명[11.1%] 참가자)의 1차 투여 후 1~3일 및 2차 투여 후 6~8일(4명[8.9%]명 참가자)에 관찰되었다. 대부분은 사지 또는 피부의 이상이었다.

[1899] 고연령 그룹에서는 30㎍ 용량 그룹에 1명(8.3%)의 참가자가 기본 신체 검사 중에 이상이 발견되었다. 무작위화 후, 모든 용량 그룹에서 모든 방문 기간 동안 신체 검사에서 이상을 보인 참가자는 2명 이하였다.

[1900] 베이스라인에서 신체 검사에서 임상적으로 중요한 소견은 없었다.

[1901] **BNT162b1 및 BNT162b2를 평가하는 1상 안전성 결과 요약**

[1902] 전반적으로, 반응원성 사례는 잘 관용되고 그 기간이 짧았다(중간값 지속 기간 1.0~4.0일). 모든 참가자는 제2용량을 받기 위해 돌아 왔다. 반응원성 사례의 결과로서의 모든 AE는 후유증 없이 해소되었다.

[1903] 두 연령군 모두 국소반응으로 BNT162b1 용량 그룹에서 주사부위 통증(58.3%~100.0%), 발적(0%~16.7%), 부기(0%~25.0%)가 보고됐으며 이는 BNT162b2 접종자보다 더 빈도가 높았다: 주사 부위 통증(33.3% ~ 91.7%), 발적(0% ~ 8.3%) 및 부기(0% ~ 16.7%). 일반적으로 국소 반응의 빈도는 용량 수준이 증가함에 따라 높아지는 것으로 관찰되었다.

[1904] 국소반응의 빈도는 저연령군에 비해 고령자 그룹에서 더 낮았다. 가장 빈번하게 보고된 국소 반응인 주사 부위 통증 빈도는, 젊은 그룹에서의 BNT162b1 30㎍ 투여 후(1차 투여 후와 2차 투여 후 모두 100.0%) 및 BNT162b2 30㎍ 투여 후(1차 투여 후 및 2차 투여 후 각각 91.7% 및 83.3%)에 비해, 고령자 그룹에서 BNT162b1 30㎍ 투여 후(91.7% 및 75.0%) 및 BNT162b2 30㎍ 투여 후(1차 투여 후 및 2차 투여 후 각각 75.0% 및 66.7%) 더 높았다.

[1905] 고령자 그룹의 BNT162b2 접종자는 고령자 그룹의 BNT162b1 접종자와 비교하여 국소 반응 빈도가 더 낮았다고 보고하였다. 고령자 30㎍ BNT162b2 그룹에서 1차 투여(75.0%) 및 2차 투여(66.7%) 후 주사 부위 통증은 1차 투여(91.7%) 및 2차 투여(75.0%) 후 고령자 30㎍ BNT162b1 그룹보다 낮았다.

[1906] 1차 투여 또는 2차 투여 후 두 연령군에서 공통적인 전신 반응에는 30 ㎍까지의 BNT162b1 접종자의 경우 피로(16.7%~83.3%), 두통(25.0%~100%), 오한(8.3%~66.7%), 발열(0%~75.0%) 및 근육통(8.3%~75.0%)이 포함되었으며, 이는 30 ㎍까지의 BNT162b2 접종자의 경우보다 더 빈번하였다: 피로(8.3%~75.0%), 두통(0%~66.7%), 오한 (0% ~ 58.3%), 발열(0% ~ 16.7%), 근육통(0% ~ 58.3%). 일반적으로, 전신 반응의 빈도는 용량 수준이 증가함에 따라 더 높은 것으로 관찰되었다.

[1907] 전신 반응의 빈도는 저연령군에 비해 고령자 그룹에서 더 낮았다. 피로 빈도는 고령자 그룹에서 BNT162b1 30㎍ 투여 후(50.0%, 66.7%) 및 BNT162b2 30㎍ 투여 후(1차 투여과 2차 투여 각각 25.0%, 41.7%)로 저연령 그룹에서보다 더 낮았으며 저연령 그룹의 경우 각각 1차 투여 및 2차 투여로 BNT162b1 30㎍ 1차 투여 후(50.0% 및 83.3%) 및 BNT162b2 30㎍ 투여 후(41.7% 및 75.0%)였다.

[1908] 고령자 그룹의 BNT162b2 접종자는 고령자 그룹의 BNT162b1 접종자에 비해 전신 사건의 빈도가 더 낮았다고 보고하였다. 피로 빈도는 고령자 30㎍ BNT162b1 그룹(1차 투여 및 2차 투여시 각각 50.0% 및 66.7%)에 비해 고령자

30㎍ BNT162b1 그룹(1차 투여 및 2차 투여시 각각 25.0% 및 41.7%)에서 더 낮았다.

[1909] 대부분의 AE는 중증도가 경미하거나 중간 정도였다. 대부분의 관련된 AE는 e-diary에 보고된 지원요청된(solicited) 반응원성 사례와 유사하였다. 중증 AE는 거의 보고되지 않았지만 연구 개입와 관련이 없는 것으로 간주되었다.

[1910] AE로 인한 SAE, 사망 또는 중단은 없었다.

[1911] 1차 투여 후 1~3일에 모든 연령 및 용량 그룹에서 림프구의 일시적인 감소가 관찰되었으며 1차 투여 후 6~8일에 해소되었다.

[1912] 신체검사에서 임상적으로 중요한 소견은 없었다.

[1913] BNT162b2는 BNT162b1과 비교하여 유리한 반응원성 및 안전성 프로파일을 보여 2/3상 개발을 위한 BNT162b2 선택에 기여하였다.

[1914] **1상 안전성 결론**

[1915] BNT162b1 및 BNT162b2(10㎍, 20㎍ 및 30㎍)에 대해 테스트된 모든 용량은 반응원성 프로필로 인해 1차 투여 후 중단된, 100㎍의 BNT162b1을 제외하고 안전하고 내약성이 양호하였다.

[1916] 반응원성은 일반적으로 1차 투여보다 2차 투여 후에 더 높았다.

[1917] 국소 및 전신 반응원성의 빈도는 특히 두 번째 투여 후 BNT162b1에 비해 BNT162b2에서 일반적으로 더 낮았다.

[1918] 고령자의 BNT162b1 및 BNT162b2에 대한 각 투여 후 반응원성 사례는 젊은 성인에서 관찰된 것보다 경미하고 덜 빈번하였다. 대부분의 반응원성 사례는 경증 또는 중등도였다.

[1919] 대부분의 AE는 약하거나 중간 정도였다. AE로 인한 SAE 또는 중단은 없었다.

[1920] 전반적으로, BNT162b1을 투여받은 참가자에 비해 BNT162b2를 투여받은 참가자는 AE를 덜 경험했으며, BNT162b2 고연령 그룹에서 AE를 경험한 참가자 수가 가장 적었다. BNT162b2 투여 후 고령자 그룹에서 심각한 AE가 거의 관찰되지 않았으며 모두 연구 개입과 관련이 없는 것으로 간주되었다.

[1921] 임상 실험실 평가는 1차 투여 이후 모든 연령 및 투여량 그룹에서 관찰된 림프구의 일시적인 감소를 보여주었으며, 이는 며칠 내에 해결되었고 다른 임상 후유증과 연관되지 않았으며 임상적으로 관련이 없는 것으로 간주되었다.

[1922] 30㎍의 BNT162b2는 연구의 2/3상 부분으로 진행하기 위해 선택되었는데, 이 용량과 작제물이 유리한 반응성 프로필과 강력한 면역 반응의 최적 조합을 제공했기 때문이다.

[1923] **2상**

[1924] 안전성 데이터는 데이터 컷오프 날짜(2020년 9월 2일)까지 이용가능하며 2상 참가자 360명의 데이터 컷오프 날짜까지 요약된다. 2상의 모든 참가자는 e-일기를 사용하여 국소 반응과 전신 반응을 보고하였다.

[1925] **국소 반응 - 2상**

[1926] BNT162b2의 1차 및 2차 투여 후와 두 연령군에서 대부분의 국소 반응은 경증 또는 중등도였으며 4등급(잠재적으로 생명을 위협하는) 국소 반응은 보고되지 않았다.

[1927] BNT162b2 그룹에서 주사 부위 통증은 고령자 그룹(도 93)보다 저연령군(도 92)에서 더 자주 보고되었으며, BNT162b2의 1차 투여화 2차 투여 후의 빈도는 저연령 그룹(각각 85.2% 대 80.2%)과 고령자 그룹(각각 70.7% 대 72.5%)에서 유사하였다. 위약 그룹에서 주사 부위 통증은 1회 투여와 2회 투여 후 저연령 그룹과 고연령 그룹에서 비슷한 빈도(7.8%~10.2%)로 보고되었다.

[1928] BNT162b2 용량 그룹에서 1차 투여 후 젊은층과 노년층의 발적 및 부기 정도는 유사하였다. 2차 투여후 저연령 그룹(각각 3.5% 및 3.5%)보다 고령자 그룹(7.7% 및 12.1%, 각각)에서 발적과 부기의 빈도가 약간 더 높았다. 위약 그룹에서는 고령자 그룹의 참가자 1명만이 1차 투여 후 발적을 보고했으며 부기는 보고되지 않았다.

[1929] BNT162b2 그룹(고령자 그룹)의 한 참가자는 1차 투여 후에 심각한 주사 부위 통증을 보고했고, 저연령 그룹의 한 참가자는 2차 투여 후에 심각한 주사 부위 통증을 보고하였다. BNT162b2 그룹(고령자 그룹)의 한 참가자는 2차 투여 후 중증 발적을 보고하였다.

[1930] 전반적으로 연령대에 걸쳐 주사 부위의 통증이 가장 빈번한 국소 반응이었고 2차 투여 후에는 증가하지 않았으며 발적과 부기는 1차 투여와 2차 투여 후에 빈도가 일반적으로 유사하였다.

[1931] 연령대에 걸쳐 모든 접종 후 BNT162b2 그룹에 대한 국소 반응의 발병일 중앙값은 제1.0일과 제3.0일 사이(제1.0일은 백신접종 당일임) 사이였고, 범위는 일반적으로 저연령군과 고령자 그룹에서 유사하였다. 연령대에 걸쳐 BNT162b2 투여 후 국소 반응은 지속기간 중앙값 1.0~3.0일 후에 해소되었으며, 일반적으로 저연령층과 고령층에서 유사하였다.

[1932] **전신 반응 - 2상**

[1933] BNT162b2 그룹에서, 전신 반응은 고령자 그룹(도 95)에 비해 젊은 그룹에서 일반적으로 더 자주 그리고 더 위중하게 보고되었고(도 94), 빈도와 심각도는 투여 횟수(1차 투여 대 2차 투여)에 따라 증가하였다. 구토와 설사는 예외였으며, 구토는 드물고 두 연령대에서 비슷했으며 각 투여 후 구토와 설사는 비슷하였다. 저연령 및 고연령된 BNT162b2 그룹(1차 대 2차 투여)의 전신 반응 빈도는 다음과 같다:

[1934] 피로: 고령자 그룹(35.9% vs 52.7%)에 비해 젊은 그룹(50.0% vs 59.3%)

[1935] 두통: 고령자 그룹(27.2% vs 36.3%)에 비해 젊은 그룹(31.8% vs 51.2%)

[1936] 근육통: 고령자 그룹(14.1% vs 28.6%)에 비해 젊은 그룹(23.9% vs 45.3%)

[1937] 오한: 고령자 그룹(7.6% vs 20.9%)에 비해 젊은 그룹(9.1% vs 40.7%)

[1938] 관절통: 고령자 그룹(4.3% vs 16.5%)에 비해 젊은 그룹(9.1% vs 17.4%)

[1939] 발열: 젊은 그룹(3.4% vs 17.4%)과 고령자 그룹(0.0% vs 11.0%) 비교.

[1940] 구토: 두 연령 그룹에서 그리고 두 용량 모두에서 비슷한다.

[1941] 설사: 고령자 그룹에서 덜 빈번하게 보고되었으며 각 용량 투여 후 비슷하였다.

[1942] 일부 예외를 제외하고는 더 연령군과 용량 모두에서 BNT162b2 그룹보다 위약 그룹에서 일반적으로 전신 반응이 덜 자주 보고되었다. 저연령 그룹에서, 1차 투여 후 발열, 두통, 오한, 구토 및 설사가, 2차 투여 후 구토가 위약 그룹과 BNT162b2 그룹 모두에서 비슷한 빈도로 보고되었다(도 94). 고령자 그룹에서는 1차 투여 후 구토, 설사, 근육통 및 관절통, 2차 투여 후 구토 및 설사가 위약 및 BNT162b2 그룹에서 유사한 빈도로 보고되었다(도 95).

[1943] 해열제/진통제의 사용은 2 투여 후 고령자 그룹에서 약간 덜 빈번했지만, 1차 투여 후와 비교하여 2차 투여 후 전체적으로 두 연령군에서 증가하였다. 해열제/진통제의 사용은 BNT162b2 그룹보다 위약 그룹에서 덜 빈번하였다.

[1944] 1차 및 2차 투여 후 및 두 연령군에서 대부분의 전신 반응은 경미하거나 중등도였으며 4등급(잠재적으로 생명을 위협하는) 전신 반응은 보고되지 않았다. 연령대 전체에서 중증 전신 반응은 BNT162b2 2차 투여 후에만 보고되었으며 발열(1.1%), 피로(4.0%), 두통(2.8%), 오한(2.3%) 및 근육통(1.7%)이 포함되었다.

[1945] 연령대 전체에서 BNT162b2 두 용량 투여 후 전신 반응의 발병일 중앙값은 제2.0일에서 제3.0일(1.0일은 백신접종일) 사이였으며 범위는 저연령층과 고령층에서 비슷하였다. 연령 그룹 전체에서 어느 한 용량을 투여한 후 이 그룹에 대한 전신 반응은 지속기간 중앙값 1일에 해결되었으며, 이는 저연령 그룹과 고령자 그룹에서 유사하였다. 2차 투여 후에 발생한 것과 비교하여 1차 투여 후에 발생한 전신 반응의 기간에는 명확한 차이가 없었다.

[1946] **이상사례 - 2상**

[1947] **이상사례의 요약 - 2상**

[1948] 최소 1건의 AE를 보고한 참가자의 수는 위약 그룹과 비교하여 BNT162b2 그룹에서 유사했으며, 일반적으로 저연령군과 고령자 군에서 2개의 백신군에서 유사하였다(각각 표 10 및 표 11).

[1949] BNT162b2 저연령 그룹의 2명의 참가자에게서 두 가지 중증 반응이 보고되었다: 근육통(AE) 및 위 선암(SAE). 위 선암의 SAE는 1차 투여 후 23일에 발생하였다. 조사관은 두 사례 모두 연구 개입과 관련이 없는 것으로 평가하였다.

[1950] 2차 투여 후 7일부터 데이터 컷오프 날짜(2020년 9월 2일)까지 AE를 보고한 추가 참가자는 없었다.

표 10. 1차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 최소 1건의 이상사례를 보고한 대상체의 수(%), 연령 그룹별 – 2상 – 안전성 모집단 연령 그룹: 18-55세

	백신 그룹(투여된 대로)	
	BNT162b2(30μg) (N[a] =88)	위약 (N[a] =90)
부작용	n[b](%)	n[b](%)
모든 사례	8(9.1)	10(11.1)
관련[c]	3(3.4)	6(6.7)
중증	2(2.3)	0
생명을 위협하는	0	0
심각한 이상사례	1(1.1)	0
관련 [c]	0	0
중증	1(1.1)	0
생명을 위협하는	0	0
철회로 이어지는 모든 이상사례	1(1.1)	0
관련 [c]	0	0
중증	1(1.1)	0
생명을 위협하는	0	0
사망	0	0

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.
b. n = 특정 이상사례 범주의 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례(any event)"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수.
c. 조사자가 조사 제품과 관련된 것으로 평가함.

[1951]

표 11. 1차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 최소 1건의 이상사례를 보고한 대상체의 수(%), 연령 그룹별 – 2상 – 안전성 모집단 연령 그룹: 56-85세

	백신 그룹(투여된 대로)	
	BNT162b2(30μg) (N[a] =92)	위약 (N[a] =90)
이상사례	n[b](%)	n[b](%)
모든 사례	4(4.3)	8(8.9)
관련 [c]	2(2.2)	2(2.2)
중증	0	0
생명을 위협하는	0	0
심각한 이상사례	0	0
관련 [c]	0	0
중증	0	0
생명을 위협하는	0	0
철회로 이어지는 모든 이상사례	0	0
관련 [c]	0	0
중증	0	0
생명을 위협하는	0	0
사망	0	0

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.
b. n = 특정 이상사례 범주의 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수.
c. 조사자가 조사 제품과 관련된 것으로 평가함.

[1952]

[1953] **이상사례의 분석 – 2상**

[1954] **신체 기관 분류(SOC) 및 우선순위 용어(PT)에 따른 이상사례 – 2상**

[1955] 표 12는 SOC 및 PT에 의해 1차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 최소 1건의 AE를 보고한 참가자의 수를 나타낸다.

[1956] 최소 1건의 AE를 보고한 참가자의 수는 1차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 위약 그룹과 비교하여 BNT162b2 그룹에서 비슷하였다.

[1957] 저연령 그룹에서는 BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 8명(9.1%)과 10명(11.1%)의 참가자가 최소 1건의 AE를 보고하였다. 고령자 그룹에서는 BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 4명(4.3%)과 8명(8.9%)의 참가자가 최소 1건의 AE를 보고하였다.

[1958] 전반적으로 2차 투여 후 최대 7일까지 보고된 대부분의 AE는 위장 장애(BNT162b2 그룹에서 3명[1.7%], 위약 그룹에서 2명[1.1%]), 전신 장애 및 투여 부위 상태(BNT162b2 그룹에서 3명[1.7%], 위약 그룹에서 7명[3.9%]), 및 근골격계 및 결합조직질환(BNT162b2 그룹에서 3명[1.7%] 및 위약 그룹에서 1명[0.6%])이었다.

[1959] PT에 의해 가장 빈번하게 보고된 AE는 젊은 BNT162b2 그룹에서 주사 부위 통증(3[3.4%])이었으며, 이는 모두 국소 반응에 대한 보고 기간 동안 1차 투여로 백신 접*한 날에 발생하였다. 2개의 사례는 3일 이내에 해결되었고 1개의 사례는 11일 후에 해결되었다. PT에 의한 다른 모든 AE는 각 백신 그룹의 참가자 2명 이하에서 보고되었다.

[1960] 고령자 BNT162b2 그룹의 한 참가자는 왼쪽 상완 삼각근 부위에 좌상 AE가 있었으며, 조사자는 이를 연구 개입와 관련하여 평가하였다.

표 12. 1차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 최소 1건의 이상사례를 보고한 대상체의 수(%), 신체 기관 분류 및 우선순위 용어 - 2상 - 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)							
	BNT162b2(30μg)						위약	
	18-55세 (N[a] =88)		56-85세 (N[a] =92)		18-85세 (N[a] =180)		18-85세 (N[a] =180)	
신체 기관 분류 우선순위 용어	n[b] (%)	(95% CI[c])	nb (%)	(95% CI[c])	n[b] (%)	(95% CI[c])	n[b] (%)	(95% CI[c])
모든 이벤트	8(9.1)	(4.0, 17.1)	4 (4.3)	(1.2, 10.8)	12 (6.7)	(3.5, 11.4)	18 (10.0)	(6.0, 15.3)
혈액 및 림프계 장애	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
림프절 병증	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
위장 장애	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	2 (2.2)	(0.3, 7.6)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)
설사	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
삼킴곤란	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
혀 불편	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
일반 장애 및 투여 부위 상태	3 (3.4)	(0.7, 9.6)	0	(0.0, 3.9)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	7 (3.9)	(1.6, 7.8)
주사 부위 홍반	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)

[1961]

주사 부위 통증	3 (3.4)	(0.7, 9.6)	0	(0.0, 3.9)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	0	(0.0, 2.0)
피로	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)
오한	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
주사 부위 변색	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
주사 부위 부종	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
감염 및 감염	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
외음질 진균 감염	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
부상, 중독 및 절차상 합병증	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)
타박상	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
떨어지다	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
근육 파열	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
힘줄 파열	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
조사	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
백혈구 수가 증가함.	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
근골격계 및 결합 조직 장애	2 (2.3)	(0.3, 8.0)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
근육통	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
관절통	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
목 통증	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
양성, 악성 및 상세불명의 신생물(낭포 및 용종 포함)	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
위 샘암종	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
신경계 장애	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)

[1962]

두통	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
호흡기, 흉부 및 종격 장애	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)
구인두 통증	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
생산적인 기침	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
콧물	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
피부 및 피하 조직 장애	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
피부염	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
거스러미	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
황반	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
황반 발진	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)

참고: MedDRA (v23.0) 코딩 사전이 적용되었습니다.
a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모입니다.
b . n = 특정 이상사례 범주의 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수.

c. Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 한 2-sided CI.

[1963]

[1964] **신체 기관 분류(SOC) 및 우선순위 용어(PT)에 의한 관련 이상사례 - 2상**

[1965] 1차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 연구 개입과 관련하여 조사관이 평가한 AE를 가진 참가자의 수는 BNT162b2

그룹과 위약 그룹에서 빈도가 낮았고 유사하였다. BNT162b2 그룹 내에서 젊은 그룹과 고령자 그룹에서 유사한 비율로 참가자가 관련 AE를 보고하였다. 조사자가 평가한 대부분의 관련 AE는 일반 장애 및 투여 부위 상태의 SOC에서 반응원성 사례였으며, 위약 그룹과 비교하여 전반적으로 BNT162b2 그룹 참가자의 비슷한 비율로 보고되었으며, 주사 부위 통증은 BNT162b2 저연령 그룹에서 자주 그리고 독점적으로 PT에서 가장 많이 보고되었다.

[1966] **즉각적인 이상사례 - 2상**

[1967] BNT162b2 30㎍ 또는 위약 투여 후 즉각적인 AE는 없었다.

[1968] **중증 또는 생명을 위협하는 이상사례 - 2상**

[1969] 2명의 참가자(모두 BNT162b2 젊은 어린 연령 그룹)는 중증 근육통(AE) 및 위선암종(SAE) 사례를 보고하였다. 근육통을 보고한 참가자는 견갑골 근육 통증이 있었고, 이는 2차 투여 2일 후 시작되었고 데이터 컷오프 시점에 지속되었다. 두 사례 모두 연구 개입와 관련이 없는 것으로 조사자에 의해 평가되었다.

[1970] **사망, 중증 이상사례, 안전성-관련 참가 철회 및 기타 심각한 이상사례 - 2상**

[1971] **사망 - 2상**

[1972] 이 중간 CSR에서 데이터 컷오프 날짜인 2020년 9월 2일까지 사망한 2상 참가자는 없었다.

[1973] **심각한 이상사례 - 2상**

[1974] 한 참가자는 1차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 SAE를 가졌다(표 13). BNT162b2 저연령 그룹에 속하는 한 참가자는 1차 투여 후 23일에 위 선암종의 SAE를 가졌고, 이는 연구 개입과 관련이 없는 것으로 조사관에 의해 평가되었다(표 13). 데이터 컷오프 시점에 SAE가 진행 중이었고 참가자는 SAE로 인해 연구에서 철회하였다.

[1975] 2차 투여 후 7일부터 데이터 컷오프 날짜(2020년 9월 2일)까지 SAE를 보고한 추가 참가자는 없었다.

표 13. 1차 투여부터 2차 투여 후 7일 사이에 최소 1건의 심각한 이상사례를 보고한 대상체의 수(%), 기관계 등급 및 선호 용어 - 2상 - 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)							
	BNT162b2(30µg)						위약	
	18-55세 (N [a] =88)		56-85세 (N [a] =92)		18-85세 (N [a] =180)		18-85세 (N [a] =180)	
기관계 클래스 선호 용어	nb (%)	(95% CI [c])	nb (%)	(95% CI [c])	nb (%)	(95% CI [c])	nb (%)	(95% CI [c])
모든 사례	1(1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1(0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
양성, 악성 및 상세불명의 신생물(낭포 및 용종 포함)	1(1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1(0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
위 샘암종	1(1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1(0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)

참고: MedDRA(v23.0) 코딩 사전이 적용되었습니다.
a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.
b . n = 특정 유해 사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수.
c. Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 한 정확한 양면 CI.

[1976]

[1977] **안전성-관련 참가자 철회 - 2상**

[1978] 위 선암종의 SAE를 보고한 BNT162b2 저연령 그룹의 참가자는 BNT162b2 1차 투여 후 제23일에 연구를 중단하였다

[1979] **안전성-관련 참가자 철회에 대한 설명 - 2상**

[1980] 데이터 컷오프 날짜(2020년 9월 2일)까지 SAE로 인해 연구에서 제외된 2상 참가자에 대한 설명이 제공되었다.

[1981] **기타 심각한 부작용 - 2상**

[1982] 특별한 관심 대상 AE는 이 연구의 2상에 대해 정의되지 않았다: 그러나 표적이 되는 의료 사례는 연구 전반에 걸쳐 모니터링되었다.

[1983] **사망, 중증 이상사례, 안전성-관련 참가자** 철회, **및 기타 심각한 이상사례의 분석 및 논의 - 2상**

[1984] 2020년 9월 2일 데이터 컷오프 날짜까지 조사자가 연구 개입과 관련이 없다고 평가한 위 선암종의 SAE로 인해 연구에서 제외된 저연령 그룹(BNT162b2 그룹)에 1명의 참가자가 있었다.

[1985] **2상 안전성 결론**

[1986] 연령 그룹 전체에서 국소 반응은 일반적으로 각 투여 후 빈도가 비슷했고, 전신 반응은 일반적으로 1차 투여에 비해 2차 투여 후에 빈도와 중증도가 증가하였다. 국소 및 전신 반응원성 사례는 내약성이 우수하고 기간이 짧았다.

[1987] 고령자에서 BNT162b2의 각 투여 후 반응원성 사례는 일반적으로 젊은 성인에서 관찰된 것보다 경미하고 덜 빈번하였다. 대부분의 반응원성 사례는 경증 또는 중등도였다. 4등급 이벤트는 보고되지 않았다.

[1988] 참가자의 AE는 빈도가 낮았고 대부분의 AE는 경증 또는 중증도였다. 연구자에 의해 관련된 것으로 평가된 AE로 인한 SAE 또는 중단은 없었다.

[1989] 360명의 참가자를 대상으로 평가한 BNT162b2 30μg 투여 후의 반응원성 및 AE 프로파일은 임상 1상에서 BNT162b2 30μg 투여 후 관찰된 안전성 프로파일과 일치하였다.

[1990] 30μg의 BNT162b2는 2차 투여 후 최대 7일까지 안전하고 내약성이 우수하였다.

[1991] **2/3상**

[1992] 이 중간 CSR에서 3상에 대한 안전성 결과에는 2020년 10월 6일의 안전성 데이터 컷오프 날짜까지 36,855명의 청소년 및 성인 참가자(16~91세)가 포함되었다. AE 요약에는 참가자가 2차 투여 1개월 후 방문을 완료했는지 여부와 관계 없이, 보고된 모든 AE가 포함되었다. 처음 6610명의 성인 참가자(18~85세, 2상 참가자 360명 포함)는 e-diary를 사용하여 국소 반응 및 전신 반응을 보고했으며 2차 투여로부터 적어도 1개월간 안전성 데이터를 요약하였다.

[1993] 연구의 2/3상 부분 동안, 백신 강화 질병의 이론적 우려에 대한 중지 규칙은 동일하거나 더 심한 불리한 중증 사례 분할을 관찰할 일방적 확률이 5% 이하인 경우 촉발되었다. 백신 및 위약 접종자에 대해 동일한 실제 발생률 및 이 확률이 11% 미만인 경우 경고 기준이 트리거되었다. 또한 아암당 ~18,000개로 연구에서 최소 1개의 이상사례를 감지할 확률이 83%를 초과한다.

[1994] **국소 반응 - 2/3상**

[1995] BNT162b2 그룹에서 주사부위 통증은 고령자 그룹(도 97)보다 저연령군(도 96)에서 더 자주 보고되었으며, 저연령군(각각 85.3% vs. 79.5%)과 고령자 그룹(각각 71.7% vs. 66.6%,)에서 BNT162b2의 2차 투여에 비해 1차 투여 후 빈도가 유사하였다. 위약 그룹에서는 1차 및 2차 투여 후 주사 부위의 통증은 고령자 그룹(각각 8.8% 및 7.7%)보다 저연령군(각각 13.8% 및 11.9%)에서 약간 더 높은 빈도로 보고되었다.

[1996] BNT162b2 용량 그룹에서 1차 투여 및 2차 투여 후 젊은층과 고령층에서 발적 및 부기의 빈도가 유사하였다. BNT162b2의 1차 투여 후 및 2차 투여 후의 발적의 빈도는 젊은층(각각 4.3% vs 5.4%)과 고령자 그룹(각각 4.5% vs 6.6%)에서 비슷하였다. BNT162b2의 1차 투여 후 및 2차 투여 후의 부기의 빈도는 저연령 그룹(각각 5.5% 대 5.9%)과 고령자 그룹(각각 6.5% 대 7.0%)에서 유사하였다. 위약 그룹에서 발적과 부기는 1차 및 2차 투여 후 저연령군(≤0.8%) 및 고연령군(≤1.3%)에서 드물게 보고되었다.

[1997] 전반적으로 연령대에 걸쳐 2차 투여 후 주사 부위의 통증은 증가하지 않았으며, 발적 및 부기는 1차 투여과 2차 투여 후에 대체적으로 비슷한 빈도로 나타났다. 중증 국소 반응(≤0.8%)은 BNT162b2 용량 그룹에서는 전반적으로 어느 투여 후건 드물게 보고되었지만 젊은 그룹에서 더 자주 발생하였다. 1차 및 2차 투여 후 및 두 연령군 모두에서 대부분의 국소 반응은 경증 또는 중등도였으며 4등급 국소 반응은 보고되지 않았다.

[1998] **서브그룹 분석**

[1999] 국가, 성별, 인종 또는 민족별로 임상적으로 의미 있는 국소 반응의 차이는 관찰되지 않았다.

[2000] 연령대에 걸쳐 어느 하나의 투여 후 BNT162b2 그룹에 대한 국소 반응의 발병일 중앙값은 제1.0일과 제3.0일 사이(제1.0일은 백신접종일)였고, 범위는 저연령층과 고령층에서 유사하였다. 연령 그룹 전체에서 어느 한 용량 후 이 그룹에 대한 국소 반응은 지속 기간 중앙값 1.0일에서 2.0일에 해결되었으며, 이는 저연령 그룹과 고령 그룹에서 유사하였다.

[2001] **전신 반응 - 2/3상**

[2002] 전신 반응은 일반적으로 고령자 그룹(도 99)과 비교하여 젊은 그룹(도 98)에서 빈도와 중증도가 증가했으며 빈도와 중증도는 투여 횟수(1차 투여 대 2차 투여)에 따라 증가하였다. 구토와 설사는 예외였는데 두 연령군 모두에서 구토는 유사하게 드물게 보고되었으며 각 투여 후 구토와 설사 모두 유사하였다. 젊은 그룹과 고령자 BNT162b2 그룹(1차 투여 대 2차 투여)의 전신 반응 빈도는 다음과 같다.

[2003] 피로: 고령자 그룹(34.3% vs 51.2%)에 비해 젊은 그룹(49.0% vs 61.6%)

[2004] 두통: 고령자 그룹(25.4% vs 39.5%)에 비해 젊은 그룹(42.9% vs 53.1%)

[2005] 근육통: 고령자 그룹(14.0% vs. 28.5%)에 비해 젊은 그룹(22.0% vs. 38.6%)

[2006] 오한: 고령자 그룹(6.2% vs 22.8%)에 비해 젊은 그룹(14.4% vs 36.5%)

[2007] 관절통: 고령자 그룹(8.3% vs 18.9%)에 비해 젊은 그룹(10.9% vs 22.4%)

[2008] 발열: 고령자 그룹(1.4% vs 11.5%)에 비해 젊은 그룹(3.7% vs 16.6%)

[2009] 구토: 두 연령 그룹에서 그리고 두 투여 모두에서 비슷한다.

[2010] 설사: 고령자 그룹에서 덜 빈번하게 보고되었으며 각 투여 후 비슷하였다.

[2011] 일부 예외를 제외하고는 두 가지 연령군과 용량 모두에서 BNT162b2 그룹보다 위약 그룹에서 일반적으로 전신 반응이 덜 자주 보고되었다. 저연령군에서는 위약 그룹과 BNT162b2 그룹에서 유사한 빈도로 발열 및 관절통(1차 투여 후)과 구토 및 설사(1차 투여 및 2차 투여 후)가 보고되었다(도 98). 고연령 그룹에서는 위약 그룹과 BNT162b2 그룹에서 유사한 빈도로 발열 및 관절통(1차 투여 후)과 구토 및 설사(1차 투여 및 2차 투여 후)가 보고되었다(도 99).

[2012] 해열제/진통제 사용은 두가지 투여 후 모두 저연령군(28.1%~45.8%)보다 고령자군(20.1%~37.4%)에서 약간 덜 자주 사용되었으며, 1차 투여에 비해 2차 투여 후 두 연령군에서 약물 사용이 증가하였다. 해열제/진통제의 사용은 BNT162b2 그룹보다 위약 그룹에서 덜 빈번했고 젊은 위약 그룹과 고령자 위약 그룹에서 1차 투여 후 및 2차 투여 후에 유사하였다(9.8% 대 13.7%).

[2013] BNT162b2 1차 투여 후 연령대에 걸친 중증 전신 반응은 일반적으로 2차 투여 후보다 빈도가 더 낮았다: 발열(0.1% 대 0.8%), 피로(0.8% 대 3.7%), 두통(0.5% 대 1.9%), 오한(0.2% vs 1.7%), 근육통(0.3% vs. 1.6%), 관절통(0.1% vs 0.6%). 설사와 구토 빈도는 일반적으로 비슷하였다.

[2014] 위약 그룹에서는 1차 투여와 2차 투여 후 비슷한 빈도(0.1%)로 심한 발열이 보고되었다. 젊은 BNT162b2 그룹의 한 참가자는 2회 투여 후 2일에만 41.2℃의 발열이 보고되었으며 보고 기간의 다른 모든 날에는 발열이 없었다.

[2015] 1차 및 2차 투여 후, BNT162b2 그룹에서 제1일에 1명의 참가자(41.2℃)에서 발열이 있었던 것을 제외하고, 두 연령군에서 대부분의 전신 반응은 경증 또는 중등도였으며, 4등급(잠재적으로 생명을 위협하는) 전신 반응은 보고되지 않았다.

[2016] **서브그룹 분석**

[2017] 국가, 민족, 성별 또는 인종별로 전신 반응에서 임상적으로 의미 있는 차이는 관찰되지 않았다.

[2018] 연령대 전체에서 BNT162b2 투여 후 대부분의 전신 반응 발병일 중앙값은 제2.0일(제1.0일은 백신접종일)이었으며 범위는 저연령층과 고령층에서 비슷하였다. 전체 연령대에서 모든 전신 사건은 제1.0일의 지속기간 중앙값으로 해소되었으며, 이는 저연령층과 노년층에서 유사하였다.

[2019] **이상사례 - 2/3상**

[2020] 이 중간 CSR에서 처음 6610명의 성인 참가자(2단계 참가자 360명 포함)는 2차 투여 후 최소 1개월 동안 안전성

데이터를 요약하였다. 컷오프 날짜(2020년 10월 6일)까지 전체 36,855명의 참가자에 대한 AE 요약에는 참가자가 2차 투여 후 1개월에 방문을 완료했는지 여부에 관계없이 보고된 모든 사례가 포함되었다. 데이터 컷오프 시점에서 적은 비율(≤0.7%)의 참가자가 최소 1개의 코드화되지 않은 용어를 가졌다.

[2021] **이상사례의 요약 - 2상/3**

[2022] **처음 6610명의 참가자 - 2상/3**

[2023] 표 14는 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 최소 1건의 AE를 보고한 처음 6610명의 참가자에 대한 요약을 제시한다.

[2024] 적어도 1건의 AE를 보고한 참가자의 수는 위약 그룹과 비교하여 BNT162b2 그룹에서 유사하였다. 중증 AE, SAE 및 철회로 이어지는 AE는 두 그룹에서 각각 ≤1.1%, 0.5% 및 0.2%로 보고되었다.

[2025] 저연령군과 고령군에서 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 최소 1건의 이상반응을 보고한 참가자의 수는 BNT162b2 그룹과 해당 위약 그룹에서 유사하였다. 관련 AE, 중증 AE, SAE 및 철회로 이어지는 이어지는 AE의 비율도 저연령 그룹과 고연령 그룹에서 대응하는 위약 그룹과 유사하였다.

[2026] BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 AE를 보고한 최초 6610명의 참가자는 2차 투여 1개월 후 대응하는 그룹의 참가자와 유사하였다(표 14). 2차 투여 후 1개월부터 데이터 컷오프 날짜까지 저연령 그룹의 추가 참가자 4명(BNT162b2에 3명, 위약에 1명)과 고연령 그룹의 추가 참가자 10명(BNT162b2에 3명 및 위약에 7명)이 최소 1건의 AE를 보고하였다. 추가 관련 AE, 중증 AE, SAE, 철회로 이어지는 AE는 어떤 그룹에서도 보고되지 않았다.

표 14. 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 최소 1건의 이상사례를 보고한 대상체의 수(%) – 2/3상 분석을 위한 약 6000명의 대상체 – 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)	
	BNT162b2(30μg) (N[a] =3314)	위약 (N[a] =3296)
이상사례	n[b] (%)	n[b] (%)
모든 이벤트	374 (11.3)	316 (9.6)
관련 [c]	135 (4.1)	68 (2.1)
중증	35 (1.1)	19 (0.6)
생명을 위협하는	4(0.1)	7 (0.2)
심각한 이상사례	18 (0.5)	17 (0.5)
관련 [c]	0	0
중증	9 (0.3)	8 (0.2)
생명을 위협하는	4(0.1)	7 (0.2)
철회로 이어지는 모든 이상사례	6 (0.2)	5 (0.2)
관련 [c]	2(0.1)	1(0.0)
중증	2(0.1)	1(0.0)
생명을 위협하는	1(0.0)	2(0.1)
사망	0	0

[2027]

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.
b. n = 특정 이상사례 범주의 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수.
c. 조사자가 조사 제품과 관련된 것으로 평가함.

[2028]

[2029] **모든 참가자-2/3상**

[2030] 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 AE를 보고한 전체 참가자의 수가 위약 그룹에 비해 BNT162b2 그룹에서 더 많았다. 중증 AE, SAE 및 철회로 이어지는 AE는 두 그룹에서 각각 ≤0.8%, 0.3% 및 0.1%로 보고되었다. 관련 AE로 인한 중단은 BNT162b2 그룹 참가자 6명과 위약 그룹 참가자 4명에서 보고되었다.

[2031] 3상 임상 참가자 3명이 사망하였다: BNT162b2 그룹 참가자 1명과 위약 그룹 참가자 2명. 사망한 BNT162b2 그룹의 참가자는 조사자가 연구 개입과 관련이 없는 것으로 평가한 동맥경화증의 SAE를 경험하였다.

[2032] 저연령군에서 최소 1건의 AE를 보고한 참가자 수는 BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 1920명(18.1%)과 880명(8.3%)이었다. 고연령 그룹에서 최소 1건의 AE를 보고한 참가자 수는 BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 1166

명(14.9%)과 582명(7.4%)이었다.

[2033] **이상사례의 분석 - 2/3상**

[2034] **신체 기관 분류(SOC) 및 우선순위 용어(PT)에 의한 이상사례 - 2/3상**

[2035] **처음 6610명의 참가자들 - 2/3상**

[2036] 이 프로그램에 대해 식별된 티어 1 AE는 없다.

[2037] 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 보고된 티어 2 AE(모든 백신 그룹에서 사건 발생률 ≥1.0%로 정의됨[PT 수준])는 없었다.

[2038] 2차 투여 후 1개월까지 보고된 대부분의 AE는 전반적으로 반응원성이었고 일반적인 장애 및 투여 부위 상태의 SOC(BNT162b2 그룹에서 81[2.4%], 위약 그룹에서 57[1.7%]), 근골격계 및 결합 조직(BNT162b2 그룹에서81 [2.4%] 및 위약 그룹에서 56 [1.7%]), 감염 및 침입(BNT162b2 그룹에서 56[1.7%], 위약 그룹에서 48[1.5%]), 위장 장애(BNT162b2 그룹에서 54[1.6%] 및 위약 그룹에서 41[1.2%])(표 15)였다. 젊은 BNT162b2 그룹에서 이러한 SOC의 AE 비율은 다음과 같다: 일반 장애 및 투여 부위 상태(54[3.0%]), 근골격계 및 결합 조직 장애(53[3.0%]), 감염 및 침입(31[1.7%])), 위장 장애(32[1.8%]). 고령자 BNT162b2 그룹에서 이러한 SOC의 AE 비율은 다음과 같다: 일반 장애 및 투여 부위 상태(27[1.8%]), 근골격계 및 결합 조직 장애(28[1.8%]), 감염 및 침입(25[1.6%])), 위장 장애(22[1.4%]).

[2039] BNT162b2 그룹에서 PT 전체적으로 가장 많이 보고된 AE는 주사 부위 통증(30[0.9%]), 두통(30[0.9%]), 피로(27[0.8%])였으며(표 15), 이 기간(1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지) 이들 AE의 대부분은 e-다이어리 1주 보고 기간 동안 보고되었다. 이러한 PT의 대부분은 저연령 그룹에서 보고되었다: 두통(21[1.2%]) 및 피로(17[1.0%]). 주사 부위 통증은 저연령층(16[0.9%]) 및 고연령 그룹(14[0.9%])에서 비슷한 빈도로 보고되었다.

[2040] BNT162b2 그룹에서 림프절 병증의 AE를 보고한 참가자는 10명(0.3%)이었다: 위약 그룹에서는 없는데 비해 저연령 그룹에서 6명, 고연령 그룹에서 4명이었다; 1명(0.1%)은 남성이었고 9명(0.5%)은 여성이었다. 림프절병증의 AE는 팔과 목 부위(겨드랑이, 왼쪽 겨드랑이, 왼쪽 쇄골주위, 왼쪽 쇄골위, 양측 경부 또는 불특정 림프절)에서 발생하였다. 대부분의 림프절병증 사례는 백신접종 후 2~4일 이내에 보고되었다(2건의 사례는 백신접종 후 8일에 보고됨). 이들 사례 중 5개는 ≤4일 동안 지속되었고, 3개의 사례는 12~16일 동안 지속되었으며, 2개의 사례는 데이터 컷오프 날짜에 진행 중이었다.

[2041] 저연령 그룹에서, 1차 투여(양쪽 눈) 13일 후 혈관 부기의 AE 및 과민증(알레르기 발작[이 보고 시점에 이용 가능한 추가 정보 없음], 연구 개입과 관련 없음)이 각각 1명의 참가자에게서 보고되었고(BNT162b2 그룹), 약물 과민성(경구 페니실린 반응)의 AE가 1명의 참가자(위약)에서 보고되었다. 연구 개입와 관련된 것으로 조사자가 평가한 이러한 사건은 없었다. 저연령 BNT162b2 그룹의 3명의 참가자는 천공성 충수염이 있는 고연령 위약 그룹의 1명의 참가자와 비교하여 맹장염을 보고하였다; 조사자는 이들 모두 연구 개입과 관련이 없는 것으로 평가하였다.

표 15. 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 최소 1건의 이상사례를 보고한 대상체의 수(%), 기관 분류 및 선호 기간별 – 2/3상 분석을 위한 ~ 6000명의 대상체 – 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)			
	BNT162b2(30μg) (N [a] =3314)		위약 (N [a] =3296)	
기관계 클래스 선호 용어	nb([%])	(95% CI [c])	nb([%])	(95% CI [c])
모든 사례	374(11.3)	(10.2, 12.4)	316(9.6)	(8.6, 10.6)
혈액 및 림프계 장애	14(0.4)	(0.2, 0.7)	0	(0.0, 0.1)
림프절 병증	10(0.3)	(0.1, 0.6)	0	(0.0, 0.1)
빈혈증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
철결핍성 빈혈	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
림프절 통증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
심장 장애	6(0.2)	(0.1, 0.4)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
심방세동	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
승모판 부전	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
심계항진	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
급성관상동맥증후군	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
급성 심근 경색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
협심증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
협심증 불안정	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
심방 조동	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
심부전 울혈	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상동맥 질환	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상 동맥 해부	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상 동맥 폐색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
좌심방 확대	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
좌심실 비대	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
승모판 탈출증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
빈맥	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
선천성, 가족성 및 유전적 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

[2042]

선천성 남성 신장 질환	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
귀 및 미로 장애	7(0.2)	(0.1, 0.4)	6(0.2)	(0.1, 0.4)
선회	2(0.1)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
현기증 위치	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
귀 불편	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
편측성 난청	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
귀 통증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
이명	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
고막 천공	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
내분비 장애	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
갑상선종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
성선기능저하증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
눈 장애	8(0.2)	(0.1, 0.5)	6(0.2)	(0.1, 0.4)
백내장	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
산립종	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
시야가 흐려짐	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
안검염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
결막 충혈	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
눈물샘 협착증 획득	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
복시	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
눈 통증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
눈물이 증가했습니다.	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
망막 박리	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
유리체 박리	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
위장 장애	54(1.6)	(1.2, 2.1)	41(1.2)	(0.9, 1.7)
설사	17(0.5)	(0.3, 0.8)	15(0.5)	(0.3, 0.7)
메스꺼움	12(0.4)	(0.2, 0.6)	5(0.2)	(0.0, 0.4)
치통	5(0.2)	(0.0, 0.4)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
구토	4(0.1)	(0.0, 0.3)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
복통	3(0.1)	(0.0, 0.3)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
변비	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
소화불량	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
위식도 역류질환	0	(0.0, 0.1)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
삼킴곤란	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)

[2043]

충치	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
서혜부 탈장	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
소장 폐쇄	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
복부 유착	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
복통 상부	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
복부 경직	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
각 구순염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
대장염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
게실 천공	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
부드러운 대변	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
위궤양 출혈	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
위장 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
치은 불편	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혈변	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
열공 탈장	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
감각 저하 구강	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
장폐색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
과민성 대장 증후군	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
구강 궤양	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
이하선 폐쇄	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
직장 출혈	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
침샘 결석	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혀 불편	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혀 궤양	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
일반 장애 및 투여 부위 상태	81(2.4)	(1.9, 3.0)	57(1.7)	(1.3, 2.2)
피로	27(0.8)	(0.5, 1.2)	17(0.5)	(0.3, 0.8)
주사 부위 통증	30(0.9)	(0.6, 1.3)	14(0.4)	(0.2, 0.7)
오한	15(0.5)	(0.3, 0.7)	7(0.2)	(0.1, 0.4)
주사 부위 홍반	10(0.3)	(0.1, 0.6)	6(0.2)	(0.1, 0.4)
파이렉시아	13(0.4)	(0.2, 0.7)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
주사 부위 부종	4(0.1)	(0.0, 0.3)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
통증	4(0.1)	(0.0, 0.3)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
불쾌	3(0.1)	(0.0, 0.3)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
주사 부위 멍	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
주사 부위 반응	3(0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)

[2044]

무력증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
주사 부위 소양증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
가슴 불편	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
가슴 통증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
얼굴 부종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
염증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
주사 부위 변색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
주사 부위 불편	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
주사부위 감각과민	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
비심장성 흉통	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
부종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
평가할 수 없는 사례	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
예방 접종 부위 결절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
혈관 스텐트 폐색	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
간담도 장애	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
담석증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
급성 담낭염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
면역계 장애	4(0.1)	(0.0, 0.3)	6(0.2)	(0.1, 0.4)
계절성 알레르기	1(0.0)	(0.0, 0.2)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
음식 알레르기	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
백신에 대한 알레르기	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
아나필락시스 반응	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
약물 과민증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
과민증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
우유 알레르기	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
감염 및 감염	56(1.7)	(1.3, 2.2)	48(1.5)	(1.1, 1.9)
요로 감염	10(0.3)	(0.1, 0.6)	7(0.2)	(0.1, 0.4)
정맥 두염	8(0.2)	(0.1, 0.5)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
게실염	3(0.1)	(0.0, 0.3)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
치아 감염	2(0.1)	(0.0, 0.2)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
중이염	0	(0.0, 0.1)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
상기도 감염	3(0.1)	(0.0, 0.3)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
충수염	3(0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
봉와직염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)

[2045]

귀 염증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
대상포진	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
폐렴	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
편도염	0	(0.0, 0.1)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
결막염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
위장염	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
감염된 물린	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
외이도염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
급성 중이염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
피부 감염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
치아 농양	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
급성 부비동염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
맹장염 천공	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
방광염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
피부염 감염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
눈 감염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
모낭염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
곰팡이 감염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
곰팡이 피부 감염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
생식기 포진	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
생식기 단순 포진	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
치은염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
Hordeolum	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
신장 감염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
하부 호흡기 감염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
구강 칸디다증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
구강 곰팡이 감염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
이하선염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
복막농양	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
복막염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
인두염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
인두염 연쇄상 구균	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
호흡기 감염 바이러스	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
비염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
부패	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

[2046]

피부 세균 감염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
연조직 감염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
피하농양	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
외음질 칸디다증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
외음질 진균 감염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
부상, 중독 및 절차상 합병증	28(0.8)	(0.6, 1.2)	42(1.3)	(0.9, 1.7)
떨어지다	8(0.2)	(0.1, 0.5)	16(0.5)	(0.3, 0.8)
절지 동물 물린	5(0.2)	(0.0, 0.4)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
근육 긴장	4(0.1)	(0.0, 0.3)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
타박상	2(0.1)	(0.0, 0.2)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
피부 마모	1(0.0)	(0.0, 0.2)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
피부 열상	0	(0.0, 0.1)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
발목 골절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
관절 탈구	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
치아 골절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
비골 골절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
발 골절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
관절 부상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
인대 염좌	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
사지 부상	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
반월판 부상	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
근육 파열	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
갈비뼈 골절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
뼈 타박상	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
가슴 부상	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
각막 찰과상	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
두개 뇌 손상	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
팔뚝 골절	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
손 골절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
상완골 골절	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
요추 골절	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
근육 부상	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
수술 후 장폐색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
시술 통증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
요골 골절	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)

[2047]

교통사고	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
햇볕에 탐	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
힘줄 파열	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
열화상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
조사	9(0.3)	(0.1, 0.5)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
체온 상승	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혈당 증가	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
혈중 콜레스테롤 증가	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
혈압 상승	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혈중 트리글리세리드 증가	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
심장 스트레스 테스트 비정상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
심전도 QT 연장	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
심박수 증가	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
체중 감소	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
백혈구 수가 증가했습니다.	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
대사 및 영양 장애	12(0.4)	(0.2, 0.6)	7(0.2)	(0.1, 0.4)
식욕 감소	3(0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
고콜레스테롤혈증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
제2형 당뇨병	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
탈수	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
당뇨병 불충분한 통제	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
이상지질혈증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
포도당 내성 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
고지혈증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
고중성지방혈증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
저혈당증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
저칼륨혈증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
철분 결핍	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
비만	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
비타민 D 결핍	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
근골격계 및 결합 조직 장애	81(2.4)	(1.9, 3.0)	56(1.7)	(1.3, 2.2)
관절통	20(0.6)	(0.4, 0.9)	15(0.5)	(0.3, 0.7)
근육통	20(0.6)	(0.4, 0.9)	12(0.4)	(0.2, 0.6)
허리 통증	8(0.2)	(0.1, 0.5)	8(0.2)	(0.1, 0.5)

[2048]

말단 통증	10(0.3)	(0.1, 0.6)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
목 통증	5(0.2)	(0.0, 0.4)	5(0.2)	(0.0, 0.4)
근육 경련	4(0.1)	(0.0, 0.3)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
근골격계 통증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
골관절염	3(0.1)	(0.0, 0.3)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
건염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
관절염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
옆구리 통증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
관절삼출액	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
족저근막염	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
활액낭염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
외골증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
사지 불편	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
근육 경련	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
근육 약화	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
근골격계 불편함	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
근골격계 경직	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
골염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
골감소증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
턱 통증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
회전근개 증후군	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
건초염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
사경	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
양성, 악성 및 상세불명의 신생물(낭포 및 용종 포함)	4(0.1)	(0.0, 0.3)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
기저 세포 암	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
위 샘암종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
유방암	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
지루성 각화증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
자궁근종	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
질 신생물	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
신경계 장애	44(1.3)	(1.0, 1.8)	32(1.0)	(0.7, 1.4)
두통	30(0.9)	(0.6, 1.3)	24(0.7)	(0.5, 1.1)
현기증	3(0.1)	(0.0, 0.3)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
편두통	3(0.1)	(0.0, 0.3)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
감각 이상	3(0.1)	(0.0, 0.3)	1(0.0)	(0.0, 0.2)

[2049]

졸도	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
불타는 감각	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
경추 신경근병증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
미각 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
감각저하	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
신경근병증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
좌골 신경통	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
일시적 허혈 발작	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
떨림	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
정신 장애	13(0.4)	(0.2, 0.7)	13(0.4)	(0.2, 0.7)
불안	4(0.1)	(0.0, 0.3)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
우울증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
불안 장애	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
짜증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
정신 상태 변화	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
양극성 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
우울한 기분	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
방향 감각 상실	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
위장관 신체 증상 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
불명증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
정신 이상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
기분 변화	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
공황 반응	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
수면 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
자살 생각	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
신장 및 비뇨기 질환	3(0.1)	(0.0, 0.3)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
급성 신장 손상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
만성 신장 질환	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
배뇨곤란	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
혈뇨	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
신장결석증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
요폐	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
생식기 및 유방 장애	4(0.1)	(0.0, 0.3)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
월경통	3(0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)

[2050]

자궁 경부 이형성증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
월경과다	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
전립선염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
호흡기, 흉부 및 종격 장애	21(0.6)	(0.4, 1.0)	26(0.8)	(0.5, 1.2)
구인두 통증	4(0.1)	(0.0, 0.3)	7(0.2)	(0.1, 0.4)
기침	5(0.2)	(0.0, 0.4)	5(0.2)	(0.0, 0.4)
비염 알레르기	3(0.1)	(0.0, 0.3)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
콧물	1(0.0)	(0.0, 0.2)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
코 막힘	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
호흡곤란	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
호흡곤란	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
상기도 기침 증후군	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
급성 호흡 부전	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
알레르기성 호흡기 질환	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
천식	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
기관지경련	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
만성 폐쇄성 폐질환	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
생산적인 기침	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
폐 색전증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
부비동 혼잡	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
인후 자극	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
피부 및 피하 조직 장애	32(1.0)	(0.7, 1.4)	19(0.6)	(0.3, 0.9)
피부염 접촉	10(0.3)	(0.1, 0.6)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
발진	7(0.2)	(0.1, 0.4)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
홍진	3(0.1)	(0.0, 0.3)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
두드러기	2(0.1)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
피부염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
소양증	3(0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
다한증	0	(0.0, 0.1)	2(0.1)	(0.0, 0.2)
홍반	1(0.0)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혈관부종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
아토피 피부염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
수포성 피부염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
약물 발진	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
반상 출혈	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)

[2051]

거스러미	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
구진	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
홍반성 발진	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
반구진 발진	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
주사	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
피부 변색	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
피부궤양	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
외과 및 의료 절차	5(0.2)	(0.0, 0.4)	4(0.1)	(0.0, 0.3)
치과 치료	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
치과 수술	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
치은 수술	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
엉덩이 수술	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
서혜부 탈장 수리	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
후두 수술	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
수술 후 관리	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
경화 요법	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
발치	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혈관 장애	8(0.2)	(0.1, 0.5)	15(0.5)	(0.3, 0.7)
고혈압	5(0.2)	(0.0, 0.4)	6(0.2)	(0.1, 0.4)
혈종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	3(0.1)	(0.0, 0.3)
대 동맥류	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
심부정맥 혈전증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
본태성 고혈압	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
저혈압	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
림프부종	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
림프구	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
기립 성 저혈압	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
레이노 현상	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)

참고: MedDRA(v23.0) 코딩 사전이 적용되었습니다.
a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.
b. n = 지정된 사건이 최소 1번 발생했다고 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 사례의 적어도 1회 발생을 보고하는 대상체의 수.
c. Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 한 정확한 양면 CI.

[2052]

[2053] **모든 참가자 - 2/3상**

[2054] 데이터 컷오프 날짜까지 총 36,855명의 참가자 중 BNT162b2 그룹에 총 121명(0.7%)의 참가자가 있었고 위약 그룹에 코드화되지 않은 용어를 갖는 1명을 포함하여 51명(0.3%)의 참가자가 있었다. 결과적으로 코드화되지 않은 용어는 SOC 및 PT로 요약된 다른 AE 테이블에도 존재한다.

[2055] 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 이상반응을 보고한 전체 참가자의 수는 위약 그룹(1462명[7.9%])에 비해 BNT162b2 그룹(3086명[16.8%])에서 더 높았다. 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 모든 참가자에서 보고된 대부분의 AE는 반응원성이었고 일반 장애 및 투여 부위 상태의 SOC(BNT162b2 그룹에서 1941[10.5%], 위약 그룹에서 438[2.4%]), 근골격계 결합 조직 장애(BNT162b2 그룹 742[4.0%], 위약 그룹 227[1.2%]), 및 신경계 장애(BNT162b2 그룹 567[3.1%], 위약 그룹 251[1.4%])이었다.

[2056] BNT162b2 그룹에서 PT에 의해 가장 빈번하게 보고된 AE는 주사 부위 통증(1222[6.6%]), 발열(504[2.7%]), 피로(481[2.6%]), 두통(470[2.6%]), 오한(458[2.5%]), 및 근육통(454[2.5%])이었다. 이러한 PT의 대부분은 저연령층에서 보고되었다: 주사 부위 통증(787[7.4%]), 발열(351[3.3%]), 피로(309[2.9%]), 두통(303[2.9%]), 오한(316[3.0%]), 및 근육통(304[2.9%]).

[2057] 처음 6,610명의 참가자를 넘어서 반응원성 관련 사례는 더 이상 e-diary를 사용하여 보고되지 않고 대신 AE로서 보고된다. 따라서 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 전체 참가자에서 관찰되었지만 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 처음 6610명의 참가자에서 관찰되지 않은 AE의 불균형이 반응원성 사례에 기인한 것인지 평가하기 위해 사후검정 분석을 수행하였다. 이 분석은 반응원성 보고 기간을 나타내는 각 투여 후 7일 이내에 보고된 AE를 조사하였다. 반응원성 사례와 일치하는 이상사례를 포함하는 일반 장애 및 투여 부위 상태, 근골격계 및 결합 조직 장애, 신경계 장애의 SOC에서 많은 AE가 보고되었기 때문에 이 기간을 선택했으며, 각 복용량에서 최대한 달까지 발생하는 것과는 반대로 이 기간 동안 발생할 경우 면역원성에만 기인하는 것으로 볼 수 있었다.

[2058] 1차 투여부터 1차 투여 후 7일까지(데이터 컷오프 날짜 기준), 1494명(8.1%)의 참가자가 BNT162b2 그룹에서 최소 1건의 AE를 보고했으며 이는 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 AE를 보고한 총 3086명[16.8%]의 참가자 수의 약 절반에 해당한다. 위약 그룹에서는 555명(3.0%)의 참가자가 1차 투여부터 1차 투여 후 7일까지 최소 1건의 AE를 보고했으며, 이는 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 이상반응을 보고한 참가자가 총 1462명(7.9%)인 것과 대비된다.

[2059] 2차 투여부터 2차 투여 후 7일까지(데이터 컷오프 날짜 기준) 1,165명(6.3%)의 참가자가 BNT162b2 그룹에서 최소 1건의 AE를 보고했으며, 이는 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 AE를 보고한 총 3,086건[16.8%]의 참가자 수의 약 38%를 나타낸다. 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 AE를 보고한 참가자. 2차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 BNT162b2 그룹보다 위약 그룹에서 더 적은 참가자가 AE를 보고하였다. 위약 그룹에서는 268명(1.5%)의 참가자가 2차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 최소 1건의 이상반응을 보고했으며, 이는 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 이상반응을 보고한 참가자기 총 1462명(7.9%)인 것과 대비된다.

[2060] AE는 일반 질환 및 투여 부위 상태의 SOC에서 1차 투여부터 1차 투여 후 7일까지 보고되었으며(BNT162b2 그룹에서 1127건[6.1%], 위약 그룹에서 251건[1.4%]), 이는 데이터 컷오프 날짜까지 이 SOC에서 최소 1개의 AE를 보고한 참가자의 총 수(BNT162b2 그룹에서 1941[10.5%] 및 위약 그룹에서 438[2.4%])의 절반 이상을 차지하였다. 근골격계 및 결합조직 장애(BNT162b2 그룹 252건[1.4%], 위약 그룹 76건[0.4%]) 및 신경계 장애(BNT162b2 그룹 220건[1.2%], 위약 그룹 115건[0.6%])도 일반적으로 보고되었으며, 이는 이러한 SOC에 대한 AE를 보고한 참가자의 총 수 비율이 더 적음을 나타낸다.

[2061] BNT162b2 그룹에서 1차 투여부터 1차 투여 후 7일까지 가장 빈번하게 보고된 PT에 의한 AE는 주사 부위 통증(881[4.8%]), 피로(231[1.3%]), 두통(181[1.0%])이었다. , 근육통(147[0.8%]), 발열(110[0.6%]), 오한(100[0.5%])이었다. 이러한 PT의 대부분은 저연령층에서 보고되었다: 주사 부위 통증(566[5.3%]), 피로(153[1.4%]), 두통(118[1.1%]), 근육통(99[0.9%]), 발열(82[0.8%]), 및 오한(75[0.7%]). 1차 투여부터 1차 투여 후 7일까지 보고된 주사 부위 통증(881[4.8%])은 이 PT에 대한 AE를 보고한 전체 참가자(1222[6.6%])의 큰 비율을 나타낸다.

[2062] AE는 2차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 일반 장애 및 투여 부위 상태의 (BNT162b2 그룹에서 828[4.5%], 위약 그룹에서 93[0.5%]), 근골격계 및 결합 조직 장애(BNT162b2 그룹에서 377[2.0%], 위약 그룹에서 38[0.2%]), 신경계 장애(BNT162b2 그룹에서 294[1.6%], 위약 그룹에서 40명[0.2%])의 SOC로 보고되었다. 2차 투여부터 2차 투여 후 7일까지 보고된 근골격계 및 결합 조직 장애 및 신경계 장애는 이러한 SOC에서 최소 1건의 AE를 보고한 총 참가자 수의 최소 절반을 나타낸다.

[2063] BNT162b2 그룹에서 2차 투여부터 2차 투여 이후 7일까지 가장 빈번하게 보고된 PT에 의한 AE는 발열(375[2.0%]), 오한(327[1.8%]), 주사 부위 통증(313[1.7%]), 근육통(282[1.5%]), 두통(258[1.4%]), 피로(227[1.2%])였다. 이러한 PT의 대부분은 저연령층에서 보고되었다: 발열(251[2.4%]), 오한(216[2.0%]), 근육통(185[1.7%]), 주사 부위 통증(183[1.7%]), 두통(154[1.5%]), 및 피로(134[1.3%]). 2차 투여부터 2차 투여 이후 7일까지 보고된 대부분의 이들 PT에 대한 AE는 이들 PT에 대해 AE를 보고한 총 참가자 수의 절반 이상을 나타낸다: 발열(504[2.7%]), 오한(458[2.5%])), 근육통(454[2.5%]), 두통(470[2.6%]), 및 피로(481[2.6%]).

[2064] 전반적으로, 1차 투여에서 1차 투여 후 7일까지 및 2차 투여에서 2차 투여 후 7일까지 보고된 AE는 주로 반응원성 사례에 기인하였다. 이 관찰은 위약 그룹과 비교하여 BNT162b2 그룹에서 전반적으로 관찰된 AE의 더 높은 비율에 대한 합리적인 설명을 제공한다.

[2065] 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지, 처음 6610명의 참가자에서 보고된 참가자(10[0.3%])를 포함하여, BNT162b2 그룹에서 총 44명(0.2%)의 참가자가 림프절병증의 AE를 보고하였다. 데이터 컷오프 날짜까지 BNT162b2 그룹의 추가 참가자 34명과 위약 그룹의 추가 참가자 4명이 림프절병증의 AE를 보고하였다. 림프절병증은

BNT162b2 그룹에서 저연령군 34명(0.3%), 고연령군 10명(0.1%)에서 보고된 데 비해 위약 그룹에서는 4명(0.0%)(저연령군 3명 및 고연령 그룹에서 1명))에서 보고됐다. 림프절병증은 주로 팔과 목 부위에서 발생했으며 대부분의 사례는 왼쪽 겨드랑이 림프절에서 보고되었다. 대부분의 림프절병증 사건은 2차 투여 후, 1차 또는 2차 투여 후 ≤3일 후에 발생했으며, 중증도는 1등급 또는 2등급이었고, 48건 중 32건은 데이터 컷오프 날짜까지 해결되었다. 저연령 BNT162b2 그룹의 1명의 참가자에서 1등급 림프절병증(오른쪽 액와 림프절 부음)은 즉각적인 AE였으며, 이는 1차 투여 후에 발생했으며 데이터 컷오프 날짜에 진행중이었다.

[2066] 저연령 그룹에는 BNT162b2(SAE) 및 위약 그룹에서 COVID-19 의심 AE가 있는 참가자가 각각 1명 있었다.

[2067] BNT162b2 그룹에서 6명의 참가자가 연구 개입과 관련된 것으로 평가된 면역 반응(백신 반응 또는 전신 백신 반응[이 보고서 작성 시점에 현재 이용 가능한 추가 정보 없음])을 보고하였다. 세 명의 참가자가 BNT162b2 그룹에서 약물 과민증을 보고했으며 위약 그룹 참가자의 약물 과민증도 보고하였다. 약물 과민성(알레르기 반응)은 BNT162b2 그룹의 1명의 참가자와 관련된 것으로 평가되었고 약물 과민성(약물 알레르기 또는 디피론에 대한 알레르기 반응)은 BNT162b2 그룹의 2명의 참가자에서 연구 개입과 관련이 없는 것으로 평가되었다.

[2068] BNT162b2 그룹의 19명(0.1%) 참가자(저연령 그룹에서 14명, 고연령 그룹에서 5명이 최소 1개의 백신 합병증(대부분 반응원성 사례를 설명함)을 보고한 반면 위약 그룹에서는 없었다. 모두가 연구 개입과 관련된 것으로 평가되었고 다음을 포함하였다: 백신접종 후 근육통, 발열, 몸살, 두통, 오한, 메스꺼움, 부작용, 관절통, 피로, 통증, 근육통, 권태감, 왼쪽 어깨 통증. 대부분의 사례는 1등급이었으며, 백신접종 3일 이내에 개시되어, 1~3일 지속되었다.

[2069] 최초 6,610명의 참가자 중 충수염이 있는 참가자 4명(위약 그룹에서 천공된 충수염 1명 포함)에 더해, 1차 투여부터 모든 참가자의 데이터 컷오프 날짜까지 BNT162b2 그룹에서 충수염이 있는 참가자가 3명 더 있었다(천공된 충수염이 있는 1명의 참가자 포함). 따라서 BNT162b2 그룹에서는 총 6명의 참가자가 충수염(천공성 충수염 1명 포함)을 보고했으며 저연령군은 4명, 고연령군은 2명, 위약 그룹(고연령군)에서는 1명의 참가자가 맹장염(천공성 충수돌기염)을 보고했다. 모든 사건은 중증이거나 생명을 위협했으며 연구 개입과 관련된 것으로 평가된 사례는 없었다.

[2070] **신체 기관 분류(SOC) 및 우선순위 용어(PT)에 의한 관련 이상사례 - 2/3상**

[2071] **최초 6610명 -2/3상**

[2072] 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지, 135명(4.1%)의 참가자가 BNT162b2 그룹에서 조사관이 관련된 것으로 평가한 최소 1건의 AE를 보고했고, 68명(2.1%)의 참가자가 위약 그룹에서 최소 1건의 관련 AE를 보고하였다. 대부분의 관련 AE는 반응원성 사례 및 일반적인 장애 및 투여 부위 상태의 SOC(BNT162b2 그룹에서 69[2.1%] 및 위약 그룹에서 40[1.2%])였다.

[2073] 참가자 10명 중 8명에서 보고된 림프절병증의 AE는 조사자가 연구 개입과 관련된 것으로 평가하였다.

[2074] **모든 참가자 - 2상/3**

[2075] 1차 투여터 데이터 컷오프 날짜까지, BNT162b2 그룹의 참가자 2,303명(12.5%)과 위약 그룹의 참가자 593명(3.2%)이, 처음 6610명 참가자에서 관련된 AE를 포함하여, 조사자가 관련 있다고 평가한 최소 1건의 AE를 보고하였다. 대부분의 관련 AE는 반응성 사건 및 일반적인 장애 및 투여 부위 상태의 SOC(BNT162b2 그룹에서 1869[10.1%] 및 위약 그룹에서 365[2.0%])였다.

[2076] BNT162b2 그룹의 참가자 44명 중 30명과 위약 그룹의 참가자 4명 중 2명에서 보고된 림프절병증의 AE는 조사관이 연구 개입과 관련된 것으로 평가하였다.

[2077] BNT162b2 그룹에서 이 보고서 작성 시점에 현재 사용 가능한 모든 정보를 기반으로:

[2078] 6명의 참가자가 연구 개입과 관련된 것으로 평가된 면역 반응(백신 반응 또는 전신 백신 반응)을 보고하였다. 대부분의 참가자에서 면역화 반응은 2차 투여 후 1~2일에 발생했고 2~3일 동안 지속되었으며(1명의 참가자는 데이터 컷오프 날짜에 회복 중) 중증도는 1등급 또는 2등급이었다. 1명의 참가자에서 면역화 반응(전신 백신 반응)이 1차 투여(1등급) 후 2일에 발생하여 2일 동안 지속되었고, 2차 투여(3등급) 후 1일에 발생하여 4일 동안 지속되었다.

[2079] 한 참가자는 각각 약물 과민성(알레르기 반응), 두드러기(알레르기 반응) 및 두통의 AE를 보고했으며, 이들은 모두 2등급이었고 연구 개입과 관련된 것으로 조사관에 의해 평가되었다. 약물 과민증 및 두드러기의 AE는 둘

다 1차 투여 후 1일 이내에 발생했고 같은 날 해소되었다. 두통의 AE는 백신접종 후 다음 날 발생하여 4일 동안 지속되었다.

[2080] **즉각적인 이상사례 - 2상/3**

[2081] **처음 6610 참가자 - 2상/3**

[2082] 1차 투여 후 참가자의 ≤0.3%가 즉각적인 AE를 보고하였다. 대부분의 즉각적인 AE는 일반 장애 및 투여 부위 상태의 SOC에 속했고 주사 부위 반응(주사 부위 통증, 주사 부위 홍반 및 주사 부위 종창)과 관련된 사례였다.

[2083] 2차 투여 후, 각 그룹 참가자의 0.1%가 즉각적인 AE를 보고하였다. 대부분의 즉각적인 AE는 일반 장애 및 투여 부위 상태의 SOC에 속했고 주사 부위 반응(주사 부위 통증, 주사 부위 감각과민 및 주사 부위 가려움증)과 관련된 사례였다.

[2084] BNT162b2 투여 후, 어떤 참가자도 백신에 대한 즉각적인 알레르기 반응을 보고하지 않았다.

[2085] **모든 참가자 - 2/3상**

[2086] 1차 투여 후, 각 그룹 참가자의 0.3%가 즉각적인 AE를 보고하였다. 대부분의 즉각적인 AE는 일반 장애 및 투여 부위 상태의 SOC에 속했고, 대부분의 이상반응은 가장 자주 보고된 주사 부위 통증을 동반한 주사 부위 반응과 관련이 있었다(BNT162b2 그룹에서 40[0.2%] 참가자 및 위약 그룹에서 27(0.1%) 참가자). 1명의 참가자는 1차 투여 후 림프절병증의 즉각적인 AE를 보였다. 다른 모든 즉각적인 AE는 BNT162b2 그룹에서 각각 3명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[2087] 2차 투여 후, 각 그룹 참가자의 0.1%가 즉각적인 AE를 보고하였다. 가장 즉각적인 AE는 일반 장애 및 투여 부위 상태의 SOC에 속했고, 대부분의 사례는 가장 자주 보고된 주사 부위 통증을 동반한 주사 부위 반응이었다(BNT162b2 그룹에서 10[0.1%] 참가자 및 위약 그룹에서 7[0.0%] 참가자). 다른 모든 즉각적인 AE는 각각 2명 이하의 참가자에 의해 보고되었다.

[2088] BNT162b2 투여 후 어떤 참가자도 백신에 대한 즉각적인 알레르기 반응을 보고하지 않았다.

[2089] **중증 또는 생명을 위협하는 이상사례 - 2/3상**

[2090] **최초 6610명 - 2/3상**

[2091] 1차 투여부타 2차 투여 후 1개월까지 보고된 중증 AE는 BNT162b2 그룹의 35명(1.1%)과 위약 그룹의 19명(0.6%)에서 보고되었다.

[2092] BNT162b2 그룹의 참가자 4명(0.1%)과 위약 그룹의 참가자 7명(0.2%)은 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 최소 1번의 생명을 위협하는 AE를 가졌다. 이들 사례 중 어느 것도 연구 개입과 관련된 것으로 조사관에 의해 평가되지 않았다.

[2093] BNT162b2 그룹에서:

[2094] 2상의 한 참가자는 이전 섹션에서 논의된 위 선암종(SAE)의 중증 사례를 겪었다.

[2095] 2명의 참가자는 충수염의 중증 사례를 가졌다. 1건은 1차 투여 후 9일에 시작되었고 다른 한 건은 2차 투여 후 15일에 시작되었으며(SAE) 조사관은 이들이 연구 개입과 관련이 없는 것으로 평가하였다.

[2096] 한 참가자는 1차 투여 후 7일째 충수염 및 복막 농양이라는 생명을 위협하는 두 가지 AE(둘 다 SAE)를 가졌고; 두 사례 모두 연구 개입과 관련이 없는 것으로 조사관에 의해 평가되었다.

[2097] 한 참가자는 빈혈, 울혈성 심부전, 복부 유착, 패혈증, 저칼륨혈증, 정신 상태 변화, 급성 신장 손상 및 급성 호흡 부전(모든 SAE)의 8가지 중증 사례를 경험하였다. 이들 사례 중 어떤 것도 연구 개입과 관련이 있는 것으로 조사관에 의해 평가되지 않았다.

[2098] **모든 참가자 - 2상/3**

[2099] 최초 6,610명의 참가자에 대해 논의된 것을 포함하여 데이터 컷오프 날짜까지 보고된 중증 AE는 BNT162b2 그룹에서 142명[0.8%], 위약 그룹에서 70명(0.4%)이 었다. 추가 사례는 다음을 포함하였다:

[2100] BNT162b2 그룹의 2명의 참가자는 각각 충수염의 중증 사례를 겪었다: 한 사례는 1차 투여 후 17일에 시작되었고 다른 사례는 1차 투여 후 11일에 시작되었으며(SAE) 조사관은 이들을 연구 개입과 관련이 없는 것으로 평가하였

다.

[2101] BNT162b2 그룹의 한 참가자는 1차 투여 후 같은 날 천공성 충수돌기염의 중증 사례(SAE)를 겪었는데, 이는 연구 개입과 관련이 없는 것으로 조사관이 평가하였다.

[2102] BNT162b2 그룹의 참가자 9명(0.0%)과 위약 그룹의 참가자 12명(0.1%)은 처음 6610명의 참가자에 대해 논의된 것을 포함하여 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 생명을 위협하는 AE를 보였다. 이들 사례 중 연구 개입과 관련된 것으로 조사자가 평가한 것은 없었다.

[2103] **사망, 중증 이상사례, 안전성-관련 참가자 철회 및 기타 중요한 이상사례 - 2/3상**

[2104] **사망 - 2/3상**

[2105] 2020년 10월 6일의 데이터 컷오프 날짜까지 3명의 3상 참가자가 사망하였다(BNT162b2 그룹에 1명, 위약 그룹에 2명). 이러한 사망은 처음 6610명의 참가자(표 14)에 포함되지 않았으며 조사자에 의해 어느 것도 연구 개입과 관련이 있다고 평가받지 않았다.

[2106] 고연령 BNT162b2 그룹의 한 참가자는 1차 투여 4일 후 4등급 SAE 동맥경화증을 경험했으며 1차 투여 후 15일에 사망하였다.

[2107] 저연령 위약 그룹의 한 참가자는 1차 투여 후 8일째 평가불가한 사례(원인 불명[본 보고서 작성 시점 현재 이용 가능한 추가 정보 없음)]의 4등급 SAE를 경험했고 같은 날 사망하였다.

[2108] 고연령 위약 그룹의 한 참가자는 2차 투여 후 15일에 출혈성 뇌졸중의 4등급 SAE를 경험했고 2차 투여 후 35일에 사망하였다.

[2109] **사망 설명**

[2110] 데이터 컷오프 날짜(2020년 10월 6일)까지 사망한 참가자에 대한 설명이 제공되었다.

[2111] **중증 이상사례 - 2상/3**

[2112] **최초 6610명 참가자 - 2상/3**

[2113] 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지, 최소 1건의 SAE를 보고한 참가자의 수는 BNT162b2 그룹(18(0.5%))과 위약 그룹(17[0.5%])에서 유사하였다(표 16). SAE 중 어느 것도 연구 개입과 관련된 것으로 조사관에 의해 평가되지 않았다. SAE에 대한 대부분의 PT는 1명의 참가자에 의해서만 보고되었다(3명의 참가자는 충수염의 SAE를 보고함).

[2114] 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 저연령 그룹과 고연령 그룹에서 최소 1 SAE를 보고한 참가자의 수는 비슷하였다.

[2115] BNT162b2 그룹에서:

[2116] 2명의 참가자는 각각 충수염의 SAE를 받았다: 1 사례는 1차 투여 후 9일에 시작되었고 다른 한 사례는 2차 투여 후 15일에 시작되었다.

[2117] 한 참가자는 1차 투여 후 7일째에 충수염과 복막농양의 SAE를 가졌으며 이는 생명을 위협하는 것으로 간주되었다. 두 사례 모두 17일 동안 지속되었다.

[2118] 한 참가자는 1차 투여 후 17일에 8가지 SAE를 나타냈다: 빈혈, 울혈성 심부전, 복부 유착, 패혈증, 저칼륨혈증, 정신 상태 변화, 급성 신장 손상 및 급성 호흡 부전(모두 중증). 복부 유착 및 급성 호흡 부전의 SAE는 각각 2일 및 14일 동안 지속되었다. 다른 모든 SAE는 19일 동안 지속되었다.

[2119] 한 참가자는 생명을 위협하는 것으로 간주되는 벌에 쏘인 결과로 2차 투여 로부터 9일 후 아나필락시스 반응의 SAE를 보였다. 이 사례는 같은 날 해소되었다.

[2120] 위약 그룹에서, 1명의 참가자는 2차 투여 후 각각 13일 및 15일(둘 다 중증)에 천공 충수염 및 복막염의 SAE를 보였다. 두 사례는 각각 4일과 5일 동안 지속되었다.

[2121] 2차 투여 후 1개월부터 데이터 컷오프 날짜까지 처음 6610명의 참가자에 대해 추가 SAE는 보고되지 않았다.

표 16. 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 최소 1건의 심각한 이상사례를 보고한 피험자의 수(%), 신체 기관 분류 및 우선순위 용어 – 2/3상 분석을 위한 ~ 6000명의 대상체 – 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)			
	BNT162b2 (30μg) (N[a] =3314)		위약 (N[a] =3296)	
신체 기관 분류 우선순위 용어	n[b] (%)	(95% CI[c])	n[b] (%)	(95% CI[c])
모든 이벤트	18(0.5)	(0.3, 0.9)	17 (0.5)	(0.3, 0.8)
혈액 및 림프계 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
빈혈증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
심장 장애	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
급성관상동맥증후군	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
심방세동	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
심부전 울혈	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상동맥 질환	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상 동맥 해부	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상 동맥 폐색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
귀 및 미로 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
선회	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
눈 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
복시	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
위장 장애	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
복부 유착	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

[2122]

대장염	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
설사	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
게실 천공	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
장폐색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
소장 폐쇄	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
일반 장애 및 투여 부위 상태	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
가슴 통증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
비심장성 흉통	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
평가할 수 없는 이벤트	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
혈관 스텐트 폐색	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
간담도 장애	2(0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
담석증	2(0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
급성 담낭염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
면역계 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
아나필락시스 반응	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
감염 및 감염	4(0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
충수염	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
맹장염 천공	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
복막농양	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
복막염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
폐렴	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
부패	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
요로 감염	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
부상, 중독 및 절차상 합병증	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
팔뚝 골절	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
피부 열상	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
조사	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

[2123]

심장 스트레스 테스트 비정상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
대사 및 영양 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
저칼륨혈증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
양성, 악성 및 상세불명의 신생물(낭포 및 용종 포함)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
위 샘암종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
유방암	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
질 신생물	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
신경계 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
졸도	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
정신 장애	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
양극성 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
정신 이상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
정신 상태 변화	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
자살 생각	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
신장 및 비뇨기 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
급성 신장 손상	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
호흡기, 흉부 및 종격 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
급성 호흡 부전	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
혈관 장애	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
심부정맥 혈전증	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
기립 성 저혈압	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)

[2124]

참고: MedDRA(v23.0) 코딩 사전이 적용되었다.
a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.

b. n = 특정 이상사례 범주의 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 적어도 1회 보고한 대상체의 수.

c. Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 한 exact 2-sided CI.

[2125]

[2126] **모든 참가자 - 2상/3**

[2127] 최초 6610명의 참가자에 대해 논의된 것을 포함하여 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 최소 1건의 SAE를 보고한 참가자의 수는 BNT162b2 그룹(63[0.3%])과 위약 그룹(49[0.3%])에서 유사하였다(표 17). 추가 사례는 다음을 포함하였다:

[2128] BNT162b2 그룹에는 연구 개입과 관련된 것으로 연구자가 평가한 각각의 SAE가 있는 저연령 그룹에 2명의 참가자가 있었다:

[2129] 한 참가자는 1차 투여 13일 후 림프절병증(오른쪽 겨드랑이)의 SAE를 보였고 데이터 컷오프 시점에 해소되지 않았다. 이 참가자는 왼쪽 삼각근에 BNT162b2 백신을 투여하고 오른쪽 겨드랑이 통증과 림프절 병증이 있는 습진 및 국소 크리사보롤 사용의 관련 병력이 있는 48세 여성이었다. 이 여성은 오른팔 부상도 없었고 발열도 없었으

며 유사한 사건의 병력도 없었다. 이 여성의 WBC는 정상적인 림프구 수로 정상이었고 오른쪽 겨드랑이 초음파에서 4개의 림프절 비대(가장 큰 것이 2.5 × 1.1 × 2.4 cm)를 보였다. 생검이 수행 결과 정상이었고 림프종 또는 다른 암에 대한 마커가 없는 것으로 보고되었다. 종양학과의 후속 방문(및 가능한 초음파 검사 반복)이 3개월 동안 계획되었다.

[2130] 한 참가자는 2차 투여 후 백신 투여와 관련된 어깨 부상(SIRVA, 어깨 관절 캡슐 내 또는 근처에 잘못 투여됨)의 SAE가 있었으며 데이터 컷오프 시점에 회복 중이었다.

[2131] 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 BNT162b2 그룹의 총 6명의 참가자가 충수염의 SAE를 보고하였다. 충수염의 이러한 SAE 중 3건은 처음 6610명의 참가자에서 발생하였다. 충수염의 3가지 추가 SAE는 BNT162b2 그룹에서 연구 개입과 관련이 없는 것으로 평가된 다른 특정 SAE와 함께 아래에 설명되어 있다:

[2132] 2명의 참가자에게 각각 충수염의 SAE가 있었다: 1건은 1차 투여 17일 후에 시작되어 3일 동안 지속되었고(저연령 그룹), 또 다른 건은 1차 투여 11일 후에 시작되어 5일 동안 지속되었다(고령자 그룹).

[2133] 고연령 그룹의 한 참가자는 1차 투여 후 같은 날 천공된 충수염의 SAE가 있었고 데이터 컷오프 시점에 해소되었다.

[2134] 저연령 그룹의 한 참가자는 2차 투여 후 같은 날에 6일 동안 지속된 COVID-19 의심 SAE가 있었다. 비강 면봉 결과는 음성이었다.

표 17. 투여 1부터 데이터 마감일(2020년 10월 6일)까지 최소 1건의 심각한 이상사례를 보고한 대상체의 수(%), 신체기관 분류 및 우선순위 용어 – 2/3상(모든 참가자) – 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)			
	BNT162b2(30μg) (N[a] =18419)		위약 (N[a] =18436)	
신체 기관 분류 우선순위 용어	n[b] (%)	(95% CI[c])	n[b] (%)	(95% CI[c])
모든 이벤트	63 (0.3)	(0.3, 0.4)	49 (0.3)	(0.2, 0.4)
혈액 및 림프계 장애	2(0.0)	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
빈혈증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
백혈구 증가증	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
림프절 병증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
호중구감소증	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
혈소판증	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
심장 장애	10(0.1)	(0.0, 0.1)	6 (0.0)	(0.0, 0.1)
심부전 울혈	2(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
급성관상동맥증후군	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
심방세동	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
급성 심근 경색	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
협심증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
부정맥	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
심실상성 부정맥	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
관상 동맥 경련	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)

[2135]

관상동맥 질환	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
관상 동맥 해부	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
관상 동맥 폐색	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
심근 경색증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
귀 및 미로 장애	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
선회	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
눈 장애	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
복시	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
망막 동맥 폐색	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
위장 장애	7 (0.0)	(0.0, 0.1)	5 (0.0)	(0.0, 0.1)
소장 폐쇄	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
복부 유착	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
대장염	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
설사	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
게실 천공	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
위장관 출혈	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
장폐색	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
폐쇄성 췌장염	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
식도 음식 매복	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
췌장염	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
침샘 결석	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
일반 장애 및 투여 부위 상태	3(0.0)	(0.0, 0.0)	3(0.0)	(0.0, 0.0)
평가할 수 없는 이벤트	0	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
가슴 통증	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
인플루엔자 유사 질병	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
비심장성 흉통	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
백신 투여와 관련된 어깨 부상	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)

혈관 스텐트 폐색	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
간담도 장애	3(0.0)	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
급성담낭염	0	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
담석증	2(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
담관 결석	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
면역계 장애	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
아나필락시스 반응	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
감염 및 침입	15(0.1)	(0.0, 0.1)	9 (0.0)	(0.0, 0.1)
충수염	5 (0.0)	(0.0, 0.1)	0	(0.0, 0.0)
폐렴	1(0.0)	(0.0, 0.0)	4(0.0)	(0.0, 0.1)
맹장염 천공	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
봉와직염	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
게실염	2(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
신우신염	2(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
골수염	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
복막농양	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
복막염	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
인두염 연쇄상 구균	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
부패	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
COVID-19 의심	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
요로 감염	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
요로패증	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
부상, 중독 및 절차상 합병증	2(0.0)	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
팔뚝 골절	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
머리 부상	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
고관절 골절	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
피부 열상	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)

[2136]

조사	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
심장 스트레스 테스트 비정상	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
간 효소 증가	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
대사 및 영양 장애	3(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
체액 저류	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
고혈당증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
저혈당증	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
저칼륨혈증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
근골격계 및 결합 조직 장애	1(0.0)	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
근골격계 흉통	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
골관절염	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
골연골염	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
양성, 악성 및 상세불명의 신생물(낭포 및 용종 포함)	3(0.0)	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
위 샘암종	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
유방암	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
중추신경계로의 전이	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
자궁근종	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
질 신생물	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
신경계 장애	5 (0.0)	(0.0, 0.1)	7 (0.0)	(0.0, 0.1)
졸도	0	(0.0, 0.0)	3(0.0)	(0.0, 0.0)
지주막하 출혈	2(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
뇌혈관 사고	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
이중마비	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
출혈성 뇌졸중	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
허혈성 뇌졸중	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
의식 소실	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)

[2137]

감각 이상	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
일시적 허혈 발작	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
임신, 산욕기 및 주산기 상태	0	(0.0, 0.0)	3(0.0)	(0.0, 0.0)
임신	0	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
낙태 자발적 불완전	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
정신 장애	3(0.0)	(0.0, 0.0)	3(0.0)	(0.0, 0.0)
자살 생각	0	(0.0, 0.0)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
양극성 장애	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
정신 이상	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
정신 상태 변화	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
정신병적 장애	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
신장 및 비뇨기 질환	4(0.0)	(0.0, 0.1)	0	(0.0, 0.0)
신장결석증	2(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
급성 신장 손상	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
신장산통	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
호흡기, 흉부 및 종격 장애	2(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
급성 호흡 부전	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
폐렴	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
폐 색전증	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
외과 및 의료 절차	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
유방 보존 수술	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
코드화되지 않은 용어	3(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
침윤성 유관 암종 1B기, 왼쪽 가슴@@	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
왼쪽 난소 낭종, 양성 종양@@	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
MRSA 감염 오른쪽 그루터기@@	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)

[2138]

자궁 탈출@@	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
STEMI: ST 상승 심근 경색@@	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
혈관 장애	4(0.0)	(0.0, 0.1)	2(0.0)	(0.0, 0.0)
심부정맥 혈전증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)
동맥 경화증	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
고혈압	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
고혈압 긴급	1(0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
기립 성 저혈압	0	(0.0, 0.0)	1(0.0)	(0.0, 0.0)

참고: MedDRA(v23.0) 코딩 사전이 적용되었다. a.
a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.

b. n = 특정 이상사례 범주의 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수.

c. Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 한 정확한 양면 CI.

[2139]

[2140] **중증 이상사례 설명 - 2/3상**

[2141] 2차 투여 후 1개월에 데이터 컷오프 날짜(2020년 10월 6일)까지 방문을 완료한 조사관이 연구 개입과 관련된 것으로 평가한 SAE를 보고한 3상 참가자에 대한 설명이 제공되었다.

[2142] **안전성-관련 참가자 철회 - 2/3상**

[2143] **최초 6610명 - 2/3상**

[2144] 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지, BNT162b2 그룹의 6명(0.2%) 및 위약 그룹의 참가자 5명(0.2%)이 AE로 인해 철회했으며(표 18), 2차 투여 후 1개월부터 데이터 컷오프 날짜까지 이들 참가자에 있어서 추가 철회는 보고되지 않았다.

[2145] BNT162b2 그룹에 대한 관심 철회:

[2146] 연구 개입과 관련된 것으로 조사자가 평가한 AE로 인해 2명의 참가자가 철회하였다. 저연령 그룹의 한 참가자는 1차 투여 후 8일에 데이터 컷오프 시점에 회복되고 있던 근육통의 AE를 가졌다. 고연령 그룹의 한 참가자는 1차 투여 2일 후 소양증 AE 및 빈맥 AE를 나타냈다. 두 사례 모두 1일의 기간이 있었고 둘 다 중증이었다.

[2147] 3명의 참가자는 각각 SAE를 가졌고 연구를 철회하였다: 저연령 그룹(위 선암종) 및 고연령 그룹(관상 동맥 질환 및 관상 동맥 박리)에서.

[2148] 위약 그룹에 대한 관심 철회:

[2149] 한 참가자(저연령 그룹)는 백신에 대한 알레르기(연구 개입)의 AE 및 1차 투여 2일 후 홍반성 발진의 AE로 인해 연구를 철회하였다; 두 AE는 모두 18일 후에 해소되었고, 둘 다 연구 개입과 관련된 것으로 조사자에 의해 평가되었다.

[2150] 고연령 그룹의 한 참가자는 관련이 없는 것으로 조사관이 평가한 SAE(관상 동맥 폐색)가 있었고 연구를 철회하였다.

[2151] 고연령 그룹의 한 참가자는 1차 투여 10일 후에 두드러기의 AE로 인해 연구를 철회하였다. 이 사례는 같은 날에 해소되었고 연구 개입과 관련이 없는 것으로 조사관에 의해 평가되었다.

표 18. 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지 이상사례로 인해 철회한 대상체의 수(%), 신체기관 분류 및 우선순위 용어 – 2/3상 분석을 위한 ~ 6000명의 대상체 – 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)			
	BNT162b2(30μg) (N[a] =3314)		위약 (N[a] =3296)	
신체 기관 분류 우선순위 용어	n[b] (%)	(95% CI[c])	n[b] (%	(95% CI[c])
모든 이벤트	6 (0.2)	(0.1, 0.4)	5 (0.2)	(0.0, 0.4)
심장 장애	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
심방세동	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
관상동맥 질환	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상 동맥 해부	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
관상 동맥 폐색	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
좌심실 비대	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
빈맥	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
위장 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
게실 천공	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
면역계 장애	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
백신에 대한 알레르기	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
부상, 중독 및 절차상 합병증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
발목 골절	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
떨어지다	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
근골격계 및 결합 조직 장애	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
근육 약화	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

[2152]

근육통	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
양성, 악성 및 상세불명의 신생물(낭포 및 용종 포함)	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
위 샘암종	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
신경계 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
일시적 허혈 발작	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
피부 및 피하 조직 장애	1(0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
소양증	1(0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
홍반성 발진	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)
두드러기	0	(0.0, 0.1)	1(0.0)	(0.0, 0.2)

참고: MedDRA(v23.0) 코딩 사전이 적용되었다.
a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모입니다.

b. n = 특정 이상사례 범주의 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수. "모든 사례"에 대해, n = 모든 이상사례 발생을 1회 이상 보고한 대상체의 수.

c. Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 한 exact 2-sided CI.

[2153]

[2154] **모든 참가자 - 2/3상**

[2155] 1차 투여부터 데이터 컷오프 날짜까지 BNT162b2 그룹의 참가자 18명(0.1%)과 위약 그룹의 참가자 14명(0.1%)이 AE로 인해 철회하였다. 처음 6610명의 참가자에 대해 논의된 철회 외에도 다음과 같은 다른 철회가 포함되었다:

[2156] 저연령 BNT162b2 그룹의 한 참가자는 조사자가 연구 개입과 관련된 것으로 평가한 1차 투여 후 13일에 림프절병증(오른쪽 겨드랑이)의 SAE를 보여 연구를 철회하였고, 이는 데이터 컷오프 시점에 해결되지 않았다.

[2157] 저연령 그룹의 참가자 3명(BNT162b2 1명 및 위약 2명)이 1차 투여 후 임신하여 철회하였다.

[2158] 저연령 위약 그룹의 한 참가자는 1차 투여 후 39일에 임신 테스트(임신 중 노출) 양성 반응을 보여 철회하였다.

[2159] **안전성-관련 참가자 철회에 대한 설명 - 2/3상**

[2160] 데이터 컷오프 날짜(2020년 10월 6일)까지 연구에서 철회로 이어지는 AE가 있는 2/3상 참가자를 위한 설명이 제공되었다.

[2161] **기타 중대한 부작용 - 2/3상**

[2162] 이 연구의 2/3상에 대해 특별히 관심 있는 AE가 정의되지 않았다; 그러나 대상 의료 사건은 연구 전반에 걸쳐 모니터링되었다.

[2163] **기타 안전성 평가 - 2/3상**

[2164] **중증 COVID-19 질병 - 2/3상**

[2165] 효능 중간 분석 컷오프 날짜인 2020년 11월 4일 당시 위약 그룹에서 7건의 중증 COVID 19 사례가 모두 보고되었다.

[2166] **임신 - 2/3상**

[2167] 2020년 10월 6일 데이터 컷오프 날짜까지 5명의 3상 참가자에서 임신이 보고되었다: BNT162b2 그룹 참가자 1명과 위약 그룹 참가자 4명. 위약 그룹의 참가자 1명에서 불완전 자연 유산이 발생하였다.

[2168] 임신에 대한 설명이 제공되었다.

[2169] **사망, 중증 이상사례, 안전성-관련 참가자 철회, 및 기타 중요한 이상사례에 대한 분석 및 논의 - 2/3상**

[2170] 2020년 10월 6일 데이터 컷오프 날짜까지 SAE의 수는 BNT162b2 그룹(63[0.3%])과 위약 그룹(49[0.3%])에서 비슷하였다. BNT162b2 그룹의 두 참가자는 조사자가 연구 개입과 관련있는 것으로 평가한 SAE를 보고하였다.

[2171] BNT162b2 그룹(18[0.1%])과 위약 그룹(14[0.1%])의 참가자 중 AE로 인해 참여를 철회한 사람은 거의 없었다.

[2172] 3명이 사망하였다(BNT162b2 그룹에서 1명, 위약 그룹에서 2명). 연구 개입과 관련된 것으로 조사관이 평가한 사망은 없었다.

[2173] **2/3상 안전성 결론**

[2174] 연령군 전체에서 국소 반응은 일반적으로 각 투여 후 빈도가 비슷했고, 전신 반응은 일반적으로 1차 투여에 비해 2차 투여 후에 빈도와 중증도가 증가하였다. 국소 및 전신 반응원성 사례는 잘 관용되었고 기간이 짧았다(지속기간 중앙값 1.0 내지 2.0일)

[2175] 고령자에서 BNT162b2의 각 투여 후 반응원성 사례는 일반적으로 젊은 성인에서 관찰된 것보다 경미하고 덜 빈번하였다. 대부분의 반응원성 사례는 경증 또는 중등도였다. BNT162b2 그룹의 참가자 1명에서 2차 투여 1일 후 시작되어 1일 동안 지속된 발열 이외에 4등급 사례는 보고되지 않았다.

[2176] 6,610명의 참가자를 대상으로 평가한 BNT162b2 30㎍ 투여 후 반응원성 및 AE 프로필은 임상 1상 및 2상에서 BNT162b2 30㎍ 투여 후 관찰된 안전성 프로필과 일치하였다.

[2177] AE는 BNT162b2 그룹 참가자의 16.8%에서 보고되었으며 대부분의 AE는 경미하거나 중등도였다. 데이터 컷오프 날짜에 BNT162b2 그룹에서 AE를 가진 참가자의 수는 위약 그룹(7.9%)에 비해 더 많았으며, 분석 시 각 투여 후 7일 이내에 AE로 보고된 반응원성 사례에 기인하였다.

[2178] 데이터 컷오프 날짜 당시 BNT162b2 그룹에서 2건의 관련 SAE(백신 투여와 관련된 림프절병증 및 어깨 부상(SIRVA, 어깨 관절낭 내 또는 근처에 잘못 투여됨))가 있었고 관련 AE로 인해 6건의 중단이 있었다. BNT162b2 그룹(동맥경화증)에서 1명의 사망과 위약 그룹에서 2명의 사망이 발생하였는데, 연구 개입과는 관련이 없는 것으로 평가되었다.

[2179] 전반적으로 30㎍의 BNT162b2는 투여요법에 따라 2차 투여 후 최대 1개월까지 측정했을 때 내약성이 우수하였다.

[2180] **실시예 16: 모든 1차 효능 종점을 충족하는 COVID-19 백신의 3상 연구 결론**

[2181] 진행 중인 3상 연구에서 최종 효능 분석을 수행한 후 mRNA 기반 COVID-19 백신인 BNT162b2는 연구의 모든 주요 효능 종점을 충족하였다. 데이터 분석 결과 이전에 SARS-CoV-2에 감염되지 않은 참가자(첫 번째 주요 목표)와 이전 SARS-CoV-2 감염 여부에 관계없이 참가자(두 번째 주요 목표)에서 백신 효능이 95%($p<0.0001$)인 것으로 나타났으며, 각각의 경우 첫 번째 투여 후 28일 후부터, 두 번째 투여 후 7일 후부터 측정되었다. 첫 번째 1차 객관적 분석은 170건의 COVID-19 사례를 기반으로 하며, 그 중 162건은 위약 그룹에서, 8건은 BNT162b2 그룹에서 관찰되었다. 효능은 연령, 성별, 인종 및 민족 인구 통계에 걸쳐 일관되었다. 65세 이상의 성인에서 관찰된 효능은 94%를 상회하였다.

[2182] 임상시험에서 10건의 중증 COVID-19 사례가 관찰되었으며, 그 중 9건은 위약 그룹에서, 1건은 BNT162b2 백신접종 그룹에서 발생하였다. 백신과 관련된 심각한 안전 문제는 보고되지 않았다. 임상 2/3상 연구에서 최소 8,000명의 18세 이상 참가자로 구성된 무작위 하위 집합으로 구성된 최종 분석의 비맹검 반응성 데이터를 검토한 결과 백신의 내약성이 우수했으며 대부분의 지원요청된 이상사례는 백신 접* 직후 해소되었다. 1차 또는 2차 투여 후 빈도가 2% 이상인 유일한 3등급(중증) 지원요청된 이상사례는 2차 투여 후 피로 3.8%, 두통 2.0%였다. 백신 접종 후 지원요청된 이상사례가 더 적고 더 경미한다. SARS-CoV-2 양성 참가자의 국소 반응원성 프로필은 전반적인 반응원성 서브세트와 일치하였다; 마찬가지로, AE 데이터를 '모든 피험자'의 AE 데이터를 비교하자, 베이스라인 양성 참가자에서 더 나쁜 안전성 프로필의 징후는 없었다. 실제로, 베이스라인 양성 참가자에서 더 나쁜 안전성 프로파일의 징후는 없다; 따라서 BNT162b2는 COVID-19 병력 또는 SARS-CoV-2 혈청학적 상태와 관계없이 사용할 수 있다.

[2183] 또한 미국 식품의약국(FDA)에서 요구하는 긴급 사용 승인(EUA)에 대한 안전성 이정표를 달성하였다.

[2184] 최종 효능 분석 마크에 도달하기 위한 이 첫 번째 글로벌 임상시험의 결과는 COVID-19에 대한 높은 보호율이 첫

30㎍ 투여 후 매우 빠르게 달성될 수 있음을 보여주어, BNT162가 조기 보호를 제공할 수 있는 잠재력을 강조하였다.

[2185] 요약하면:

[2186] ● 1차 효능 분석에서 BNT162b2는 첫 투여 후 28일부터 COVID-19에 대해 95% 효과적인 것으로 입증되었다. 170건의 COVID-19 확인 사례가 평가되었으며, 위약 그룹에서 162건, 백신 그룹에서 8건이 관찰되었다.

[2187] ● 효능은 연령, 성별, 인종 및 민족 인구통계 전반에 걸쳐 일관되었다. 65세 이상의 성인에서 관찰된 효능은 94%를 상회하였다.

[2188] ● 긴급 사용 승인(EUA)을 위해 미국 식품의약국(FDA)에서 요구하는 안전성 데이터 이정표를 달성하였다.

[2189] ● 데이터에 따르면 43,000명 이상의 참가자가 등록되어 있는 모든 집단에서 백신은 잘 관용되었다. 심각한 안전 문제는 관찰되지 않았다. 빈도가 2%를 초과하는 유일한 3등급 부작용은 피로 3.8%, 두통 2.0%였다.

[2190] **실시예 17: 1차 투여 후 COVID-19의 모든 확진 사례**

[2191] 다수의 COVID-19 확진 사례가 평가 가능한 효능 모집단에 대한 첫 번째 1차 평가변수 분석에서 포착되지 않았는데, 이는 이들 확진 사례가 2차 투약 후 7일 이내에 발생했거나 또는 평가 가능한 효능 모집단에서 배제된 참가자 또는 백신접종 전 또는 백신접종 용법 동안 감염 증거가 있는 참가자에서 발생하였기 때문이다.

[2192] 1차 투여 후 어느 시점에서든 발병한 COVID-19의 모든 보고는 표 19에 설명되어 있으며, 이는 백신접종 요법 전 또는 동안 감염 증가와 무관하게, 전체 이용가능한 1차 투여 효능(수정된 치료 의도) 집단의 모든 참가자에 대한 사례 요약을 제공한다. 이 참가자들 중 50건의 COVID-19 사례는 BNT162b2 그룹에서 1차 투여 후 발생했는데 이는 위약 그룹의 275건과 대비된다(표 19). 특히, BNT162b2 그룹에서 대부분의 사례는 2차 투여 전에 발생하였다. 1차 투여 후 그러나 2차 투여 전 발생한 확진된 COVID-19에 대해, 1차 투여 후 발생한 COVID-19 확진자에 대한 추정 VE는 82%(2-sided 95% CI: 75.6%, 86.9%), 추정 VE는 52.4% (2-sided 95% CI: 29.5%, 68.4%)였다.

표 19. 1차 투여 후 COVID-19 발생 – 1차 투여 전유효 효능 모집단

효능 종점	BNT162b2(30μg) (N[a] =21669) n[b] -	위약 (N[a] =21686) n[b] -
1차 투여 후 COVID-19 발생	50	275
1차 투여부터 2차 투여 전	39	82
2차 투여부터 2차 투여 7일 후	2	21
2차 투여 후 7일 이후	9	172

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수.
b. n1 = 종점 정의를 충족하는 대상체의 수.

[2193]

[2194] 보호의 조기 시작은 도 100에서 쉽게 알 수 있으며, 여기에는 이용가능한 모든 1차 투여 효능(수정된 치료 의도) 모집단을 기반으로 백신접종된 모든 참가자 중 1차 투여 후 첫 번째 COVID-19 발생에 대한 누적 발생률이 표시된다. 질병 발병은 1차 투여 후 약 14일까지 BNT162b2와 위약에 대해 함께 추적하는 것으로 보이며, 이 시점에서 곡선이 갈라져, 위약 그룹에서는 사례가 꾸준히 축적되는 반면 BNT162b2 그룹에서는 거의 평평하게 유지된다.

[2195] 시간이 지남에 따라 위약과 백신접종자 사이에서 COVID-19 사례의 누적 발생률은 1차 투여 후 14일, 즉 5일의 예상 중간 잠복기간 후 약 9일에 차이가 나기 시작하여, 백신접종의 부분적 보호 효과가 조기에 시작되었음을 나타낸다. 1차 투여와 2차 투여 2 간의 인터벌에서, 관찰된 백신 효능은 2차 투여 후 첫 7일 동안 91%였으며 2

차 투여 후 최소 7일 후에 시작하여 COVID-19에 대해 완전한 효능에 도달하였다.

[2196] **실시예 18: 2차 효능 결과 - 최종 분석**

[2197] **2차 접종 후 14일 이내에 발생하는 COVID-19에 대한 백신 효능 - 최종 분석**

[2198] **백신접종 전 감염 증거가 없는 참가자**

[2199] 이 효능 종점의 경우, 2차 투여 후 14일 이전에 질병 방문에서 긍정적이거나 알려지지 않은 NAAT 결과를 가진 참가자는 효능 평가에 포함되지 않았다.

[2200] 백신접종 전과 도중에 SARS-CoV-2 감염의 증거가 없는 참가자 중 2차 투여 후 최소 14일 후에 발생하는 확인된 COVID-19에 대한 VE는 94.2%였으며 BNT162b2 및 위약 그룹에서 각각 8건 및 139건이었다. 30%보다 큰 실제 VE에 대한 >99.99%의 사후 확률은 이 종점에 대해 미리 정해진 성공 기준 >98.6%를 충족하였다. 백신 효능에 대한 95% 신뢰 구간은 88.7%에서 97.2%였으며, 이는 실제 VE가 가용한 데이터에서 97.5% 확률로 88.7% 이상임을 나타낸다.

[2201] **백신접종 전 감염 증거가 있거나 없는 참가자**

[2202] 백신접종 전과 도중에 SARS-CoV-2 감염 증거가 있거나 없는 참가자 중 2차 접종 후 최소 14일 후에 발생하는 확인된 COVID-19에 대한 VE는 94.4%였으며, BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 8건과 144건이 발생하였다. 30%보다 큰 실제 VE에 대한 >99.99%의 사후 확률은 이 종점에 대해 미리 정해진 성공 기준 >98.6%를 충족하였다. 백신 효능에 대한 95% 신뢰 구간은 89.1%에서 97.3%였으며, 이는 실제 VE가 가용한 데이터에서 97.5% 확률로 89.1% 이상임을 나타낸다.

[2203] **중증 COVID-19 사례에 대한 백신 효능 - 최종 분석**

[2204] **중증 COVID-19에 대한 효능(2차 투여 후 ≥7일)**

[2205] 백신접종 **요법 전과 도중에 감염 증거가 없는 참가자**

[2206] 이 효능 종점의 경우, 2차 투여 후 7일 이전의 질병 방문에서 양성 또는 알려지지 않은 NAAT 결과를 가진 참가자는 효능 평가에 포함되지 않았다.

[2207] 백신접종 전과 도중에 중증 SARS-CoV-2 감염의 증거가 없는 참가자 중 2차 투여 후 최소 7일 후에 발생하는 중증 COVID-19에 대한 추정 VE는 66.4%였으며, BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 1건과 3건이 발생하였다. 30%를 초과하는 실제 백신 효능에 대한 사후 확률은 74.29%이며, 이는 이 연구에서 2차 투여 후 관찰된 소수의 중증 사례로 인해 이 종점에 대해 사전 지정된 성공 기준 >98.6%를 충족하지 못하였다.

[2208] 백신접종 **요법 전과 도중에 감염 증거가 있거나 없는 참가자**

[2209] 2차 투여 후 7일 이전에 중증 SARS-CoV-2 감염 증거가 있거나 없는 참가자 중 2차 투여 후 최소 7일 후에 발생하는 중증 COVID-19에 대한 VE는 66.3%였으며, BNT162b2 및 위약 그룹에서 1건 및 3건이 발생하였다. 30%보다 큰 진정한 백신 효능에 대한 사후 확률은 74.19%이다.

[2210] **1차 투여 후 모든 중증 COVID-19 확진 사례 - 모든 이용 가능 집단**

[2211] 모든 이용 가능한 효능 모집단 참가자 중 BNT162b2 그룹에서는 1차 투여 후 COVID-19 사례 1건이 발생한 반면 위약 그룹에서는 9건이 발생하였다. 1차 투여 후에 발생하는 중증 COVID-19에 대한 추정 VE는 88.9%(2-sided 95% CI: 20.1%, 99.7%)였으며, 2차 투여 후 최소 7일 후에 발생하는 중증 COVID-19에 대한 추정 VE는 75.0%였다.

[2212] **중증 COVID-19에 대한 효능(2차 투여 후 ≥14일)**

[2213] 백신접종 **전과 접종 중 감염 증거가 없는 참가자(14일) - 중증**

[2214] 백신접종 전과 도중에 중증 SARS-CoV-2 감염의 증거가 없는 참가자 중 2차 투여 후 최소 14일 후에 발생하는 중증 COVID-19에 대한 추정 VE는 66.4%였으며, BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 1건과 3건이 발생하였다. 30%보다 큰 진정한 백신 효능에 대한 사후 확률은 74.32%이다.

[2215] 백신접종 **요법 전과 백신접종 요법(14일) 중 감염 증거가 있거나 없는 참가자(14일) - 중증**

[2216] 백신접종 전과 도중 중증 SARS-CoV-2 감염의 증거가 있거나 없는 참가자 중 2차 접종 후 최소 14일 후에 발생하

는 중증 COVID-19에 대한 VE는 66.3%였으며, BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 1건과 3건이 발생하였다. 30% 보다 큰 실제 백신 효능에 대한 사후 확률은 74.18%이다.

[2217] **CDC 정의에 따른 COVID-19 사례에 대한 백신 효능 - 최종 분석**

[2218] **CDC 정의 증상에 기반한 COVID-19에 대한 효능(2차 투여 후 7일 이상)**

[2219] 백신접종 **전과 도중에 감염 증거가 없는 참가자 - CDC 정의 - 7일**

[2220] 백신접종 전과 도중에 SARS-CoV-2 감염 증거가 없는 참가자 중 2차 접종 후 최소 7일 후에 발생하는 CDC 정의에 따른 COVID-19에 대한 VE는 95.1%였고(2-sided 95% CI: 90.2%, 97.9%), BNT162b2 및 위약 그룹에서 각각 8건 및 165건이었다.

[2221] 백신접종 **전과 도중에 감염 증거가 있거나 없는 참가자 - CDC 정의 - 7일**

[2222] 백신접종 전과 도중에 SARS-CoV-2 감염 증거가 있거나 없는 참가자 중 2차 접종 후 최소 7일 후에 발생하는 CDC 정의에 따른 COVID-19에 대한 VE는 94.7%였습고(2-sided 95% CI: 89.8% - 97.6 %), BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 9건과 172건이었다.

[2223] **CDC 정의 증상에 기반한 COVID-19에 대한 효능(2차 투여 후 ≥14일)**

[2224] 백신접종 전과 도중에 SARS-CoV-2 감염의 증거가 있거나 없는 참가자 중에서, 2차 투여 후 최소 14일 후에 발생하는 CDC 정의에 따른 COVID-19에 대한 VE는 2차 투여 후 최소 7일 후에 발생하는 것과 유사하였다.

[2225] **실시예 19: 효능 결론 - 최종 분석**

[2226] 최종 효능 분석에서 백신접종 전과 접종 중 SARS-CoV-2 감염 증거가 없는 참가자 중 2차 투여 후 최소 7일 후에 발생하는 확인된 COVID-19에 대한 VE는 95.0%였으며, BNT162b2에서 8건의 COVID-19 사례가 있었고, 이와 대조적으로 위약 그룹에서는 162건의 COVID-19 사례가 있었다. 백신 효능에 대한 95% 신뢰 구간은 90.3%에서 97.6%였다. 두 번째 1차 종점의 경우 백신접종 전과 도중에 SARS-CoV-2 감염 증거가 있거나 없는 참가자에서 2차 투여 후 최소 7일 후에 발생하는 확인된 COVID-19에 대한 VE는 94.6%였으며 BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 각각 9건과 169건이 발생하였다. 30%보다 큰 실제 VE에 대한 >99.99%의 사후 확률은 이 종점에 대해 미리 지정된 성공 기준 >98.6%를 충족하였다. 백신 효능에 대한 95% 신뢰 구간은 89.9% ~ 97.3%였으며, 이는 실제 VE가 89.9% 이상이고 97.5% 확률로 이용 가능한 데이터임을 나타낸다.

[2227] 관찰된 VE는 연령, 성별, 인종/민족 및 국가의 하위 그룹에 걸쳐 첫 번째 1차 효능 종점에 대해 매우 높았는데, VE는 "기타 모든" 인종 그룹(89.3% VE) 및 브라질(87.7% VE)을 제외하고 모든 서브그룹에서 >93%였기 때문이다.

[2228] 총 10건의 중증 COVID-19 사례가 BNT162b2 그룹에서 1차 투여 후 발생하였으며, 이에 대해 위약 그룹에서는 9건이었다.

[2229] 모든 참가자 중(백신접종 전 또는 도중에 감염 증거에 관계없이) 50건의 COVID-19 사례가 BNT162b2 그룹에서 1회 투여 후 발생했으며, 이에 비해 위약 그룹에서는 275건이 발생하여 1차 투여 후 발생하는 COVID-19 확진자에 대한 추정 VE가 82%(95% CI: 75.6%, 86.9%)임을 나타낸다.

[2230] 조기 보호 개시는 BNT162b2 및 위약에 대해 질병 개시가 1차 투여 후 약 14일까지 공동으로 추적함을 보여주는 누적 발병률 곡선에서 쉽게 알 수 있는데 이 시점에서, 곡선이 분기하여 위약 그룹에서는 사례가 꾸준히 누적되고, BNT162b2에서는 실제로 평평하게 유지된다.

[2231] 결론적으로, 최종 효능 결과는 30㎍의 BNT162b2가 SARS-CoV-2에 대한 사전 감염 증거가 없는 참여자(인구학적 하위 그룹 포함)에서 COVID-19에 대한 보호를 제공했으며 위약 그룹에서 주로 중증 사례가 관찰되었음을 보여준다.

[2232] 평가된 인구 통계학적 집단의 세부 사항을 다음 표 20 및 21에 나타내었다.

표 20. 인구통계학적 특성 - 2/3상 분석 대상 ~38000명 - 안전성 모집단

	백신 그룹(투여된 대로)		
	BNT162b2(30μg) (N [a] =18860) n[b] (%)	위약 (N[a] =18846) n[b] (%)	합계 (N[a] =37706) n[b] (%)
성별			
남성	9639 (51.1)	9436 (50.1)	19075 (50.6)
여성	9221 (48.9)	9410 (49.9)	18631 (49.4)
경주			
하얀색	15636 (82.9)	15630 (82.9)	31266 (82.9)
흑인 또는 아프리카계 미국인	1729 (9.2)	1763 (9.4)	3492 (9.3)
아메리칸 인디언 또는 알래스카 원주민	102 (0.5)	99 (0.5)	201 (0.5)
아시아 사람	801 (4.2)	807 (4.3)	1608 (4.3)
하와이 원주민 또는 기타 태평양 섬 주민	50 (0.3)	26 (0.1)	76 (0.2)
다인종	449 (2.4)	406 (2.2)	855 (2.3)
보고되지 않음	93 (0.5)	115 (0.6)	208 (0.6)
민족성			
히스패닉/라티노	5266 (27.9)	5277 (28.0)	10543 (28.0)
비 히스패닉/비 라틴계	13482 (71.5)	13459 (71.4)	26941 (71.5)
보고되지 않음	112 (0.6)	110 (0.6)	222 (0.6)
국가			
아르헨티나	2883 (15.3)	2881 (15.3)	5764 (15.3)
브라질	1145 (6.1)	1139 (6.0)	2284 (6.1)

[2233]

남아프리카	372 (2.0)	372 (2.0)	744 (2.0)
미국	14460 (76.7)	14454 (76.7)	28914 (76.7)
연령대			
16-55세	10889 (57.7)	10896 (57.8)	21785 (57.8)
>55년	7971 (42.3)	7950 (42.2)	15921 (42.2)
예방 접종 연령(세)			
평균(SD)	50.5 (15.65)	50.3 (15.72)	50.4 (15.68)
중앙값	52.0	52.0	52.0
최소 최대	(16, 89)	(16, 91)	(16, 91)
체질량지수(BMI)			
저체중(<18.5kg/m^2)	201 (1.1)	235 (1.2)	436 (1.2)
정상 체중(≥18.5kg/m^2 - 24.9kg/m^2)	5517 (29.3)	5460 (29.0)	10977 (29.1)
과체중(≥25.0kg/m^2 - 29.9kg/m^2)	6578 (34.9)	6481 (34.4)	13059 (34.6)
비만(≥30.0 kg/m^2)	6556 (34.8)	6662 (35.3)	13218 (35.1)
없어진	8 (0.0)	8 (0.0)	16 (0.0)

참고: HIV 양성 대상체는 이 요약에 포함되지만 전체 연구 목적의 분석에는 포함되지 않습니다.

a. N = 지정된 그룹 또는 전체 샘플의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.

b. n = 지정된 특성을 가진 대상체의 수.

[2234]

표 21. 베이스라인 찰슨 동반이환 – 2/3상 분석 대상 ~38000명 – 안전성 모집단

찰슨 동반이환 인덱스 범주	백신 그룹(투여된 대로) BNT162b2(30μg) (N^a =18860) n^b (%)	위약 (N^a =18846) n^b (%)	합계 (N^a =37706) n^b (%)
Charlson 동반이환이 있는 대상체	3934 (20.9)	3809 (20.2)	7743 (20.5)
에이즈/HIV	59 (0.3)	62 (0.3)	121 (0.3)
모든 악성 종양	733 (3.9)	662 (3.5)	1395 (3.7)
뇌혈관 질환	195 (1.0)	166 (0.9)	361 (1.0)
만성폐질환	1478 (7.8)	1453 (7.7)	2931 (7.8)
울혈 성 심부전증	88 (0.5)	83 (0.4)	171 (0.5)
백치	7 (0.0)	11 (0.1)	18 (0.0)
만성 합병증이 있는 당뇨병	99 (0.5)	113 (0.6)	212 (0.6)
만성 합병증이 없는 당뇨병	1473 (7.8)	1478 (7.8)	2951 (7.8)
편마비 또는 하반신 마비	13 (0.1)	21 (0.1)	34 (0.1)
백혈병	12 (0.1)	10(0.1)	22 (0.1)
림프종	22 (0.1)	32 (0.2)	54 (0.1)
전이성 고형 종양	4(0.0)	3(0.0)	7 (0.0)
가벼운 간 질환	125 (0.7)	89 (0.5)	214 (0.6)
중등도 또는 중증 간 질환	1(0.0)	2(0.0)	3(0.0)

[2235]

심근 경색증	194 (1.0)	188 (1.0)	382 (1.0)
펩틱 위궤양	52 (0.3)	71 (0.4)	123 (0.3)
말초 혈관 질환	124 (0.7)	117 (0.6)	241 (0.6)
신장 질환	123 (0.7)	133 (0.7)	256 (0.7)
류마티스 질환	62 (0.3)	56 (0.3)	118 (0.3)

참고: MedDRA(v23.1) 코딩 사전이 적용되었다.
참고: HIV 양성 대상체는 이 요약에 포함되지만 전체 연구 목적의 분석에는 포함되지 않습니다.

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수. 이 값은 백분율 계산의 분모이다.

b. n = 지정된 특성을 가진 대상체의 수. 각 범주 내의 사례가 여러 번 발생하는 대상체는 한 번만 계산된다. '찰슨 동반이환이 있는 대상체'의 경우 n = 찰슨 동반이환이 1회 이상 발생했다고 보고한 대상체의 수이다.

[2236]

[2237] **실시예 20: BNT162b2를 사용한 면역화에 대한 어린 청소년 집단의 반응에 관한 특정 관찰**

[2238] 실시예 13 내지 19에 기술된 임상 시험에서, 어린 청소년 집단에서 다음이 관찰되었다.

[2239] *어린 청소년의 국소 반응*

[2240] 12세에서 15세 사이의 어린 청소년(N=100, BNT162b2 그룹에서 49명, 위약 그룹에서 51명)들이 반응원성 서브세트에 대한 예비 데이터를 제공했으며 이들을 별도로 분석하였다. 이 연령대에서 주사 부위 통증은 BNT162b2 그룹에서 가장 빈번하게 유발된 국소 반응으로, 1차 투여 후 참가자의 71.4%에서 보고된 반면 위약 그룹에서는 17.6%로 보고되었다. 통증 발생률은 2차 투여 후 BNT162b2 그룹과 위약 그룹에서 감소하였다(58.7% vs 8.7%로 감소). 1차 투여 후 BNT162b2 그룹의 참가자 1명과 2차 투여 후 2명의 참가자에게서 발적이 보고되었으며, 위약 그룹에서는 어느 투여 후에도 보고되지 않았다. BNT162b2 그룹의 참가자 2명은 1차 투여 후, 참가자 3명은 2차 투여 이후 부기를 보고하였고, 위약 그룹에서는 1차 투여 후 1명이 부기를 보고하였으나 2차 투여 후에는 부기가 보고되지 않았다. 대부분의 국소 반응은 경미하거나 중등도였다. BNT162b2 그룹에서 두 가지 중증 반응이 보고되었다: 주사 부위의 심한 발적 및 심한 통증.

[2241] *어린 청소년의 전신 반응*

[2242] 12세에서 15세 사이의 젊은 청소년(N=100, BNT162b2 그룹에서 49명, 위약 그룹에서 51명)은 반응원성 서브세트에 대한 예비 데이터를 제공했으며 별도로 분석되었다. 대부분의 전신 반응(그룹 간 발생률이 낮은 구토 및 설사 제외)은 위약 그룹보다 BNT162b2 그룹에서 더 높은 발생률로 보고되었다. 그러나 2차 투여 후에 비해 1차 투여 후 발생률 또는 위중도가 증가하는 명확한 경향은 없었다. 이 연령대에서 2차 투여와 비교하여 1차 투여 후에 가장 빈번하게 유발된 전신 반응은 다음과 같다(1차 투여 vs 2차 투여):

[2243] ● 피로: 위약(25.5% vs 6.5%) 대비 BNT162b2(49.0% vs 50.0%)

[2244] ● 두통: 위약(35.3% vs 21.7%) 대비 BNT162b2(42.9% vs 45.7%)

[2245] ● 근육통: 위약(13.7% vs 4.3%) 대비 BNT162b2(22.4% vs 30.4%)

[2246] ● 오한: 위약(7.8% vs 8.7%) 대비 BNT162b2(30.6% vs 28.3%)

[2247] ● 관절통: 위약(9.8% vs 6.5%) 대비 BNT162b2(12.2% vs 17.4%)

[2248] ● 발열: 위약(0% vs 0%) 대비 BNT162b2(14.3% vs 19.6%)

[2249] ● 구토: 두 그룹에서 비슷한 빈도로 보고되었으며 각 투여 후 비슷한 빈도로 보고되었다.

[2250] ● 설사: 두 그룹에서 비슷한 빈도로 보고되었으며 각 투여 후 비슷한 빈도로 보고되었다.

[2251] 어린 청소년의 대부분의 전신 반응은 경증에서 중등도였다. 중증 사례는 두 그룹 모두에서 상대적으로 드물었으며, 두 투여 후 1명 또는 2명의 참가자에서발생하였다.

[2252] 젊은 청소년 그룹의 해열제/진통제 사용은 1차 투여(30.6% 대 41.3%)과 비교하여 2차 투여 이후 완만하게 증가했으며 위약 그룹(9.8% 대 13%)의 사용량보다 더 컸다.

[2253] 요약하면, 고연령 그룹(예를 들어, 16-85세와 같은 16세 초과)에서 관찰된 바와 같이, 반응성은 12-15세의 젊은 청소년에 대한 투여 후 대부분 경증 내지 중등도이고 수명이 짧았다. 이상사례 프로파일은 심각한 안전성 문제를 시사하지 않았다.

[2254] 하기 실시예 21-24는 중화 항체 반응 및/또는 세포-매개 면역 반응이 예를 들어 투여 요법을 포함하는 본원에 기재된 다양한 투여요법에 따라 투여된 본원에 기재된 mRNA 조성물(예를 들어, BNT162b1 및 BNT162b2 포함)로 달성될 수 있음을 추가로 확인해주며, 여기서 상기 투여요법은 예를 들어, 20 ug, 10 ug, 3 ug 등을 포함하는 30 ug 미만의 하나 이상의 용량의 용량을 투여하는 것을 포함한다. 특히, 본원에 기술된 특정 mRNA 조성물(예를 들어, BNT162b1 및 BNT162b2 포함)을 3ug 이상의 1회 이상의 용량으로 투여 시 SARS-CoV-2에 대해 면역 반응이 유도된다는 것이 추가로 확인된다.

[2255] 본 개시내용을 읽는 당업자는 무엇보다도, 본원에 기술된 다양한 mRNA 조성물의 투여가 SARS-CoV-2에 대한 중화 항체를 포함하는 면역 반응을 유도할 수 있음을 이해할 것이고; 또한 이러한 특정 조성물(즉, 중화 항체를 유도하고/하거나 T 세포 반응과 같은 세포 매개 면역 반응을 유도하는 조성물)이 생명체, 구체적으로 그러한 중화 항체 및/또는 세포-매개 면역 반응을 유도한 영장류 및 추가로 인간에서 SARS-CoV-2 감염 및/또는 COVID19 질병 발생률을 감소시키는 보호 면역 반응을 유도할 수 있음을 이해할 것이다. 일부 실시양태에서, 이는 또한 그러한 특정 조성물(예를 들어, 본원에 기재된 것)이, 예를 들어, 1차 투여 후 관찰된 중증 COVID-19의 10건의 사례 중 단지 1건에 의해 입증된 바와 같이, 백신-매개 질병 증강을 유의하게 유도하지 않는다는 것을 확인한다. 실제로, 본 개시내용은 그러한 조성물이 예를 들어 중증 COVID-19 질병에 대해 인간을 효과적으로 백신접종할 수 있음을 문서화한다(예를 들어, 실시예 13-19에 포함된 임상 시험 결과 참조).

[2256] **실시예 21: 기능적 항체 반응에 대한 면역원성 연구**

[2257] 실시예 7에 기술된 임상 시험에서, BNT162b1 또는 BNT162b2 백신접종 후 건강한 젊은 성인(18-55세) 및 고령자(56-85세)에서 다음이 관찰되었다. 젊은 성인에게 21일 간격으로 1μg, 3μg, 10μg, 20μg 또는 30μg을 2회 투여하였다. 고령자에게는 21일 간격으로 20 μg을 2회 투여하였다. 젊은 성인 코호트에 대한 기능적 항체 데이터는 1μg 및 3μg 용량군에 대해 초기 용량 투여 후 50일까지, 10, 20 및 30μg 용량군에 대해 85일까지 결정되었다. BNT162b2를 투여한 고령자의 경우 초기 투여 후 29일까지 데이터를 확인할 수 있다.

[2258] BNT162b1 투여 후 18세에서 55세 사이의 참가자에 대한 바이러스 중화 항체 GMT(중화 GMT) 및 95% 신뢰 구간은 도 40을 참조하면 된다.

[2259] 바이러스 중화 항체 GMT(중화 GMT) 및 BNT162b2 투여 후 18~55세의 젊은 참가자와 56~85세의 고령 참가자에 대한 95% 신뢰 구간은 도 101(50% 중화 역가)에 나타내었다.

[2260] 기능적 항체 역가 데이터의 기하 평균 배수 증가(GMFI)를 도 102(BNT162b1) 및 도 103(BNT162b2)에 나타내었다.

[2261] BNT162b1을 투여한 참가자들은 강한 용량-의존성 항체 반응을 보였다. 1차 투여 후 21일, 즉 제22일에 바이러스 중화 항체 GMT는 1, 10, 30 및 50μg 용량 그룹에서 용량 의존적 방식으로 증가하였다. 제29일(2차 투여 후 7일)에 중화 GMT는 강력한 용량 수준 의존적 부스터 반응을 보였다. 단일 60μg 용량 그룹에서 중화 GMT가 더 낮은 수준으로 유지되어, 기능적 항체 역가를 높이려면 추가 용량이 필요함을 나타낸다.

[2262] 제43일(BNT162b1 2차 투여 후 21일)에 중화 GMT가 감소하였다(1μg 용량 수준 제외). 제43일에 바이러스 중화 GMT는 COVID-19 HCS 패널의 0.7배(1μg)에서 3.6배(50μg)였다.

[2263] COVID-19 HCS 패널은 진단 확진으로부터 최소 14일, 및 개체가 무증상일 때, 18세에서 85세 사이의 개인에서 채취된 38개의 인간 COVID-19 HCS 혈청으로 구성된다. 혈청 공여자는 주로 증상이 있는 감염(35/38)이 있었고 한 명은 입원하였다. 혈청은 Sanguine Biosciences(Sherman Oaks, CA), MT Group(Van Nuys, CA) 및 Pfizer Occupational Health and Wellness(Pearl River, NY)에서 구입하였다.

[2264] BNT162b2를 투여받은 참가자는 BNT162b2에 의해 유도된 강력한 항체 반응을 보였다. 바이러스 중화 GMT는 1차

접종 후 21일(제22일)에 검출되었으며 BNT162b2 3μg 이상으로 백신접종을 받은 젊은 참가자(18~55세)와 20μg의 BNT162b2로 면역화된 고령 참가자(56~85세)에서 2차 투여 후 7일(제29일)까지 실질적으로 증가하였다. 제29일 바이러스 중화 GMT는 젊은 성인과 고령자 성인 20μg 용량 수준 코호트 사이에서 비슷하였다. 1μg BNT162b2의 가장 낮은 치료 용량은 18세에서 55세 사이의 참가자에서 최소한의 중화 반응을 이끌어 냈다.

[2265] 제43일(BNT162b2 2차 투여 후 21일), 젊은 성인 코호트에서 바이러스 중화 GMT가 3, 20 및 30μg 용량 수준에서 감소하였다. 그 후 제29일과 제43일 사이에 중화 GMT는 젊은 성인 용량 그룹 10, 20 및 30μg에서 제85일(2차 투여 후 63일)까지 안정적으로 유지되었으며 COVID-19 HCS 패널의 1.3배 내지 1.9배였다.

[2266] 이러한 맥락에서 혈청전환은 베이스라인과 비교하여 항체 GMT의 최소 4배 증가로 정의된다. 혈청전환이 있는 참가자의 빈도는 도 104(BNT162b1) 및 105(BNT162b2)에 나타내었다.

[2267] 30μg 이상의 BNT162b1 또는 BNT162b2가 1차 투여된 모든 참가자는 2차 투여로부터 7일 또는 21일(제29일 또는 제43일)까지 혈청전환되었다. 30μg BNT162b2가 투여된 모든 참가자는 제85일까지 후속 조치 내내 혈청 양성 반응을 유지하였다.

[2268] **실시예 22: 결합 항체 농도에 대한 면역원성 연구**

[2269] 실시예 7에 기술된 임상 시험에서, BNT162b1 또는 BNT162b2 백신접종 후 건강한 젊은 성인(18-55세) 및 고령자(56-85세)에서 다음이 관찰되었다. 결합 항체 농도 데이터는 제1일(모든 용량 수준) 및 제22일(60 μg을 제외한 모든 용량 수준)에 1, 10, 30, 50 또는 60μg의 BNT162b1이 투여된한 18~55세의 젊은 참가자에 대해 제43일까지 이용가능하다(그룹당 n=12).

[2270] BNT162b2 투여 참가자의 경우 제1일 및 제22일에 20μg을 투여한 56~85세의 고령 참가자와 1, 3, 10, 20 또는 30μg을 투여한 18~55세의 젊은 참가자에 대해 데이터가 이용가능하다(n = 그룹당 12명). 젊은 참가자 용량 그룹에 대한 결합 항체 농도 데이터는 1μg 및 3μg 용량 그룹의 경우 제50일까지, 10, 20 및 30μg 용량 그룹의 경우 제85일까지 이용가능하다. BNT162b2를 투여한 고령 참가자의 경우 제29일까지 데이터를 사용할 수 있다.

[2271] BNT162b1 및 BNT162b2 투여 후 결합 항체 농도의 베이스라인으로부터 배수 증가는 각각 도 106 및 도 107에 제시되어 있다.

[2272] BNT162b1을 투여한 참가자는 1차 투여 후 21일차(제22일)에 SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질 S1 서브유닛에 대해 강력한 용량 의존적 항체 반응을 보였다. 2차 투여 후 7일(제29일)에 S1-결합 면역글로불린(IgG) GMC는 강력한 용량 의존적 부스터 반응을 보였다. 1회만 접종된 60μg 용량 그룹에서는 S1 결합 IgG GMC가 낮은 수준으로 남아 있어 항체 농도를 높이려면 부스터 용량이 필요함을 시사한다.

[2273] BNT162b1 2차 투여 후 21일(제43일)에, S1 결합 IgG GMC는 감소했지만(1μg 용량 그룹 제외), 테스트한 모든 투여량에서 COVID-19 HSC 패널보다 분명히 높았다.

[2274] BNT162b2 투여 참가자는 1차 투여 후 21일(제22일)에 강력한 BNT162b2 유도 S1 결합 IgG 반응을 보였으며, 1μg과 10μg 용량 수준 사이에서만 용량 의존적 반응의 증거가 나타났다. S1-결합 IgG GMC는 2차 투여 후 7일(제29일)까지 상당한 부스터 반응을 보였다. 제29일 S1-결합 IgG GMC는 20μg 용량 수준에서 젊은 참가자와 고령 참가자 간에 필적하였다.

[2275] 모든 용량 수준 코호트에 걸쳐 항체 수준은 시간이 지남에 따라 감소했지만 S1 결합 항체 GMC는 제85일에 COVID-19 HCS 패널에서 관찰된 것보다 훨씬 높았다(2차 투여 후 63일; 10~30μg 용량 수준)(도 107).

[2276] 거의 모든 BNT162b1 및 BNT162b2 면역 참가자는 S1 결합 항체 반응과 관련하여 빠르면 1회 투여 후 21일(제22일)에 혈청 전환되었다. BNT162b1 투약 후 혈청전환이 있는 참가자의 빈도는 도 108에 제시되어 있고 BNT162b2 투약 후의 경우는 도 109에 제시되어 있다. 표적 항원으로서 RBD 도메인만을 사용하여 유사한 관찰이 이루어졌다.

[2277] **실시예 23: 예시적인 세포 매개형 면역 반응: SARS-CoV-2-특이적 CD4+ 및 CD8+ T-세포 반응**

[2278] 실시예 7에 기술된 임상 시험에서, BNT162b1 또는 BNT162b2 백신접종 후 건강한 젊은 성인(18-55세) 및 고령자(56-85세)에서 다음이 관찰되었다. CD4+ 및 CD8+ T 세포 반응 데이터는 BNT162b1을 투여받은 97명의 연구 참가자(1, 3, 10, 20, 30, 50 또는 60μg(참조: 60 μg 용량 그룹에서는 2차 투여가 행해지지 않았다) 용량 수준의 70명의 젊은 참가자, 및 10, 20, 30 μg 용량 수준의 고령 참가자 27명), 및 1, 3, 10, 20, 30 μg 용량 수준에서 BNT162b2를 투여받은 참가자 76명(젊은 참가자 47명), 또는 10, 20 또는 30μg(고령자 참가자)로부터 입수

가능하였다.

[2279] BNT162b1은 모든 고령자 참가자(27명 중 27명[100%])를 포함하여 1회 용량과 2회 용량을 모두 투여한 참가자 대다수(88명 중 86명[97.7%])에서 강력한 RBD 특이 CD4+ T 세포 반응을 유도하였다. CD8+ 반응은 젊은 참가자 61명 중 47명(77.0%)과 고령자 참가자 27명 중 21명(77.7%)에서 유도되었다. 이와 대조적으로, T 세포 반응은 60 μg 용량 그룹에서 1차 접종만 받은 9명의 젊은 참가자에서 더 자주 검출되지 않았고 강도도 더 낮았는데, 이는 부스터 용량 용량의 중요성을 나타낸다.

[2280] BNT162b2는 투여된 모든 젊은 참가자 또는 고령 참가자(76명 중 76명 [100%])에서 강력한 SARS CoV 2 S 단백질 특이 CD4+ T 세포 반응을 유도하였다. CD8+ T 세포 반응은 젊은 참가자의 45/47(95.7%)과 고령 참가자의 24/29(82.8%)에서 유도되었다. 고령 참가자의 CD8+ 면역원성 비율이 약간 낮았음에도 불구하고, BNT162b2에 의해 유도된 반응의 크기는 BNT162b2 30μg을 투여받은 젊은 참가자에서 유도된 것과 비슷하였다. 이러한 T 세포 반응은 비-RBD 서열을 포함하여 항원의 다른 부분에 대해 지시되었으며, 이는 두 연령 그룹 모두에서 BNT162b2에 의한 다중 에피토프 반응이 유도됨을 가리킨다.

[2281] BNT162b1 또는 BNT162b2를 2회 투여하면 BNT162b1의 모든 용량 수준에서 두 연령대 모두에서 T 세포 반응의 발생률과 크기가 상당히 증가하였다. BNT162b2에 의해 유도된 CD4+ T 세포 반응의 크기는 다른 용량 수준에서도 유사했지만 CD8+ T 세포 반응의 크기는 30μg 용량 수준에서 가장 높았다. CD4+ T 세포 반응이 가장 강한 참가자는 같은 참가자의 거대 세포 바이러스, 엡스타인 바 바이러스, 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 톡소이드의 면역우세 펩타이드에 대해 동일한 참가자에서 관찰된 기억 반응의 10배 이상을 보였다. 동일한 참가자는 또한 위에서 언급한 바이러스 항원에 대한 기억 반응에 필적하는 강력한 CD8+ T 세포 반응을 보였다.

[2282] 백신접종 후 관찰된 RBD- 및 S 단백질 특이적 CD4+ T 세포 반응은 참여자의 97.5%에서 BNT162b1에 의해 그리고 참여자의 100%에서 BNT162b2에 의해 De novo 유도되었다. 백신접종 후 관찰된 RBD- 및 S 단백질 특이적 CD8+ T 세포 반응은 참가자의 95.5%에서 BNT162b1에 의해 그리고 참가자의 96.6%에서 BNT162b2에 의해 De novo 유도되었다.

[2283] **실시예 24: 예시적인 세포-매개 면역 반응: 기능적 및 전염증성 CD4+/CD8+ T-세포 반응**

[2284] 실시예 7에 기술된 임상 시험에서, BNT162b1 또는 BNT162b2 백신접종 후 건강한 젊은 성인(18-55세) 및 고령자(56-85세)에서 다음이 관찰되었다. SARS-CoV-2 S 단백질 또는 RBD 단백질 지향된 T 세포의 De novo 유도는 세포내 사이토카인 염색(ICS)을 사용하여 확인되었다. BNT162b1의 경우 실시예 7에 기술된 바와 같이, BNT162b2에서도 유사한 세포 매개 면역 반응이 관찰되었다.

[2285] 예를 들어, SARS-CoV-2 S 단백질 또는 RBD에 대한 IFNγ-생성 CD4+ 및 CD8+ T 세포는 BNT162b1 및 BNT162b2 모두에 의해 강력하게 유도되었다. BNT162b1과 BNT162b2 모두 명확한 용량 의존성은 관찰되지 않았다. 고령 참가자에서 BNT162b1 또는 BNT162b2를 투여한 후 도출된 사이토카인 반응은 젊은 참가자에서의 그것과 반응 패턴 및 강도가 대부분 동일하였다.

[2286] BNT162b1 및 BNT162는 거의 모든 참가자에서 다기능성 및 전염증성 CD4+/CD8+ T 세포 반응을 유도하였다. 인터페론(IFN)γ, IL-4가 아닌 인터루킨(IL)-2의 검출은 바람직한 Th1 프로파일과 잠재적으로 유해한 Th2 면역 반응의 부재를 나타낸다.

[2287] BNT162b2와 관련하여 베이스라인(1차 투여 전: pre-1차 투여) 및 1차 투여 BNT162b2 후 29±3일에 수집된 연구 참가자의 혈액에서 분리된 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 분획을 분석하였다. 여기에는 총 74명의 연구 참가자에 대한 데이터가 포함된다.

[2288] ● 용량 그룹당 18~55세의 젊은 참가자: 1μg(n=8), 3μg(n=9), 10μg(n=10), 20μg(n=9), 30μg(n=10)).

[2289] ● 용량 그룹당 56~85세의 고령 참가자: 10μg(n=11), 20μg(n=8), 30μg(n=9).

[2290] 백신-유도된 SARS-CoV-2 S 특이적 T 세포의 기능성 및 분극화는 백신-인코딩된 RBD 및 야생형 SARS CoV-2 단백질 각각의 전장 서열을 나타내는 중복 펩타이드에 의한 자극에 대한 반응으로 사이토카인 IFN-감마, IL-2 및 IL-4의 세포내 축적에 의해 평가되었다. 대조군으로는 코로나19 회복기 바이러스 확진 환자 18명의 PMBC를 사용했다.

[2291] BNT162b2(용량 범위 1~30μg)의 2회 투여는 분석된 두 연령대에서 백신 특이적 T 세포 반응을 유도하였다(도 110 및 111). SARS-CoV-2 S 단백질 특이적 T 세포 반응에 대한 테스트는 두 개의 서로 다른 펩타이드 풀, 즉 S

단백질의 N-말단 영역(구조적 도메인과 동등하지 않음)에서 중복되는 펩타이드를 포함하는 S 풀 1과 S 단백질의 C-말단 영역을 포함하는 S 풀 2를 이용하여 수행되었다. BNT162b2를 투여한 74명의 참가자에서 분석한 S 특이 CD4+ T 세포 반응은 IFN-감마 또는 IL-2 또는 둘 모두를 분비하는 Th1 사이토카인 프로필을 특징으로 하였다.

[2292] S 펩타이드 서브풀 자극에 대해 반응하는 Th2 사이토카인 IL-4 분비 T 세포는 거의 검출되지 않았다(평균 분율: 20 및 30 μg 성인 코호트에서 각각 항원 특이적 순환 CD4+ T 세포의 0.01% 및 0.02%; 별도의 S 단백질 하위 풀 1 및 하위 풀 2로 자극). S-특이 CD8+ T 세포는 74명의 분석 참가자 중 61명(성인: 46명 중 40명, 고령자: 28명 중 21명)에서 IFNγ를 분비했으며 IL-2를 분비하는 CD8+ T 세포도 검출 가능하였다. S 단백질의 N-말단 도메인을 표적으로 하는 S-특이적 IFNγ+ CD8+ T 세포의 분획은 20 및 30 μg 젊은 참가자 용량 그룹에서 총 말초 혈액 CD8+ T 세포의 최대 1%에 도달했고 30 μg 고령 참여자 용량 그룹의 최대 2.4%에 달하였다. 접종된 참가자 74명 중 17명에서 S 단백질의 C-말단 영역에 대한 기존 CD8+ T 세포 반응이 검출되었다(범위: 0.07~5.59% IFNγ-생성 CD8+ T 세포). 17명의 참가자 중 6명의 참가자에서 이러한 기존 반응은 BNT162b2 투여 시 약간 증폭되었다.

[2293] 전반적으로 S 특이 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 평균 분획은 COVID-19에서 회복된 18명의 환자에서 관찰된 것보다 상당히 높았다(예: 30μg 투여 참가자의 S 단백질 풀 1 IFNγ CD8+ 반응은 12.5배 더 높았음). 중요한 것은, 고령 참가자에서 임상적으로 표적화된 30 μg 용량 그룹의 경우, BNT162b2로 백신접종 후 유도된 사이토카인 반응이 젊은 참가자의 경우와 반응 패턴 및 강도에서 대부분 동일하다는 것이다.

[2294] BNT162b2에 의해 유도된 T 세포 반응, 특히 CD8+ T 세포에 대한 반응은 RBD에 국한되지 않으며 S 단백질의 비-RBD 영역에 대해서도 뚜렷하고 강한 T 세포 인식이 관찰되었다.

[2295] BNT162b2는 거의 모든 참가자에서 다기능성 및 염증촉발성 CD4+/CD8+ T 세포 반응을 유도하였다. 헬퍼 반응의 Th1 양극화는 왕성한 IFNγ/IL-2 및 항원 특이적(야생형 SARS CoV 2 S 단백질 펩타이드 풀) 재자극 시 단지 소량의 IL-4 생성을 특징으로 한다.

[2296] **실시예 25: BNT162b2에 의해 유도된 특정 T 세포 반응**

[2297] 독일 시험(연구 BNT162-01; NCT04380701)에서 관찰된 바와 같이 BNT162b2로 면역화에 의해 유도된 특정 T 세포 반응을 기술하는 실시예 23 및 24에 더하여, 본 실시예는 예를 들어 여기에 설명된 COVID-19 백신에 의해 유도된 CD8+ T 세포에 의해 인식되는 에피토프의 최초 식별과 같은 T 세포 반응의 상세한 특성 분석을 포함하여, 1, 10, 20 및 30μg BNT162b2로 프라임-부스트 백신접종된 19-55세 참가자의 면역원성을 추가로 입증한다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 그에 대해 대상체에서 반응이 일어나는 에피토프의 정체 및/또는 특정 에피토프 또는 에피토프 조합에 대한 반응 정도가, 투여된 백신에 의해 제공되는 면역 반응 및/또는 면역 보호의 하나 이상의 특징(예를 들어, 유효성 및/또는 기간)에 영향을 미칠 수 있다. 일부 구체예에서, 투여요법은 예를 들어 하나 이상의 특정 에피토프를 인식하는 (예컨대 T 세포 및/또는 항체의) 반응의 존재 여부 및/또는 수준을 포함하여, 면역 반응의 하나 이상의 특징을 모니터링하는 하나 이상의 단계를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 후속 용량의 필요성, 시기 및/또는 크기는 이러한 모니터링에 비추어 결정될 수 있다.

[2298] 아래에서 추가로 기술되는 바와 같이, 본 실시예는 빈번한 MHC 대립유전자 상에 제시될 때 여러 BNT162b2-유도된 CD8+ T 세포에 의해 인식되는 에피토프가 펩타이드 MHC 다량체를 사용하여 동정되었다는 것; 그리고 CD8+ T 세포는 순환하는 CD8+ T 세포의 0.01-3%에 도달하는 단일 특이성을 갖는 조기 분화 이펙터-기억 표현형인 것으로 나타났음을 부분적으로 입증한다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, "이펙터-기억" 표현형을 나타내는 세포는 장기간 보호를 제공할 수 있는 것으로 주목된다.

[2299] 본 실시예는 또한 BNT162b2를 투여받은 특정 참여자가 기존의 T 세포 반응을 가졌다는 것을 문서화한다. 따라서 무엇보다도 이 실시예는 여기에 설명된 조성물, 및 특히 BNT162b2가, 심지어 잠재적으로 동일한 바이러스(즉, SARS-CoV-2)를 포함하여 하나 이상의 관련 바이러스에 이미 노출된 피험자 및/또는 이의 항원 또는 SARS-CoV2 스파이크 단백질과 하나 이상의 에피토프를 공유하는 또 다른 항원에 노출된 대상체에서도 마찬가지로 유용할 수 있음을 확인해준다.

[2300] **백신 유발 T 세포 반응의 유병률 및 규모**

[2301] 충분한 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)가 입수가능한 37명의 BNT162b2 면역 참가자의 T 세포 반응을 직접 생체 외 IFNγ 효소 연결 면역 흡착 스폿(ELISpot) 분석에 의해 백신접종 전(1일) 및 추가 투여 7일 후(29일)에 분석하였다(도 112 및 도 113). 당업자는 SARS-CoV-2 S 단백질이 신호 펩타이드(aa 1-13), N-말단 S1 프로테아제 단

편(aa 14-685) 및 C-말단 S2 프로테아제 단편(aa 686-1273)으로 구성되어 있다는 것; S1은 숙주 수용체에 결합하는 RBD(aa 319-541)를 포함하고 S2는 바이러스 외피와 세포막 사이의 융합을 매개한다는 것을 이해할 것이다. S 단백질에 대한 반응성을 분리(deconvolute)하기 위해 SARS-CoV-2 S의 야생형 서열의 다른 부분, 즉 N-말단 풀 'S 풀 1'(aa 1- 643) 및 'RBD'(S의 AA 327-528에 융합된 AA 1-16), 및 C-말단 'S 풀 2'(AA 633-1273)을 나타내는 중복 펩타이드로 S 단백질, $CD4^{+}$ 또는 $CD8^{+}$ T 세포 이펙터를 밤새 자극하였다.

[2302] BNT162b2를 지정된 용량으로 부스트한 지 7일 후, 강력하게 확장된 SARS-CoV-2 S 특이 CD4+ T 세포가 37명의 참가자 모두에서 검출되었다(도 112a, 도 113a). 이 참가자 중 34명은 백신접종 전 PBMC와 비교가 가능하였다. 34명의 피험자 중 30명(88.2%)은 SARS-CoV-2의 S 풀 1과 S 풀 2 모두에 대해 de novo(베이스라인에는 존재하지 않음) CD4+ T 세포 반응을 보였다. 한 참가자는 풀 2에 대해서만 de novo 반응을 보였다. 나머지 3명의 참가자는 S 풀 1 및 소수의 기존 S 풀 2 반응성 CD4+ T 세포에 대해 de novo 반응을 보였다. 이 3명의 참가자 중 2명에서 S 풀 2에 대한 기존 반응이 백신접종에 의해 증폭된 반면(백신접종 전 91개 및 188개 스팟/10^{6}개 세포에서 백신접종 후 각각 1391개 및 965개 스팟으로), 3명의 참가자 중 한 명은, S 풀 2에 대한 기존 반응이 안정적으로 유지되었다(53~140개 스팟/10^{6}개 세포). 이 데이터는 참가자의 94.1%(32/34)에서 BNT162b2의 2회 용량이 S의 N- 및 C-말단 부분 모두에 대해 지시된 폴리-에피토프 CD4+ T 세포 반응(de novo 또는 증폭된)을 유도함에 따라 RBD 외부의 에피토프에 대해 유도한다는 것을 입증한다(도 113b).

[2303] 용량 수준이 10㎍ 이상인 경우 CD4+ T 세포 반응의 크기는 용량 의존적이지 않은 것으로 보이지만 이는 개체마다 다르다. 가장 강력한 반응자에서 S-특이적 CD4+ T 세포 반응은 일반 바이러스 및 리콜(recall) 항원(사이토메갈로바이러스, 엡스타인 바 바이러스, 인플루엔자 바이러스 및 파상풍 톡소이드의 항원)에 대한 개별 기억 반응의 10배 이상이었다(도 112b,c).

[2304] 백신 유도된 S-특이 CD8+ T 세포 반응은 37명의 백신접종 참가자 중 34명(91.9%)에서 검출되었다. 대부분은 사이토메갈로바이러스(CMV), 엡스타인 바 바이러스(EBV) 및 인플루엔자 바이러스(도 112b,c)에 대한 개별 기억 반응에 필적하는 강한 반응(도 112a, 도 113a)이었다. De novo S-특이적 CD8+ T 세포 반응은 33명의 참가자에서 유도되었으며, 이들은 S 풀 두 개 모두(참가자 22명) 또는 S 풀 중 하나(10명의 참가자에서 S 풀 1 및 2명의 참가자에서 S 풀 2)에 대해 지시되는데, 이는, 비-RBD S-특이적 T 세포를 포함하는 폴리-에피토프 반응의 우세를 가리킨다(도 113b). 7명의 참가자에서 S pool 2에 대한 기존 CD8+ T 세포 반응이 검출되었으며 백신접종에 의해 더 이상 증가되지 않았다. 이 7명의 참가자 중 6명은 S의 풀 1에 대한 동시 e novo 응답을 가졌고, 이는 S 풀 2에 대한 기존 응답이 없는 개인에서 관찰된 것과 강도에서 크게 다르지 않았다(도 113c). 주목할 점은 CD8+ T 세포 반응이 검출가능한 34명의 참가자 중 S pool 1에 대한 가장 강한 반응(3사분위보다 높음)이 기존 S pool 2 특정 반응이 없는 참가자에서 관찰되었다는 것이다.

[2305] S-특이적 CD4+ T 세포 반응의 크기는 S1-결합 IgG와 양의 상관관계가 있었고(도 114a), 분자내 도움의 개념과 일치하며(예: 항원에서 하나의 에피토프에 대한 CD4 반응은 동일한 항원의 에피토프에 대한 CD8의 발달을 지원할 수 있다), 또한 S-특이적 CD8+ T 세포 반응의 강도와도 일치한다(도 114b). S-특이 CD8+ T 세포 반응은 또한 S1-결합 IgG와 양의 상관관계가 있었으며(도 114c), 이는 체액성 및 세포성 적응 면역의 수렴적 발달을 나타낸다.

[2306] **백신-유도된 T 세포 반응의 분극화**

[2307] S-특이적 T 세포의 기능 및 분극화를 평가하기 위해, S 풀 1, S 풀 2 및 RBD 풀에 의한 자극에 반응하여 분비된 사이토카인을, 서로 다른 용량이 접종된 37명의 BNT162b2 면역 참가자의 백신접종 전후의 PBMC에서의 IFNɣ, IL-2 및 IL-4 특이 반응에 대한 세포내 염색(ICS)에 의해 결정하였다. 백신-유도된 S-특이적 CD4+ T 세포의 상당 부분이 IFNɣ, IL-2 또는 둘 모두를 분비한 반면, T_H2 사이토카인 IL-4를 분비하는 T 세포는 거의 검출되지 않았다(도 115a-c, 도 113d-e). 백신-유도된 S-특이적 CD8+ T 세포는 S 풀 1 및 S 풀 2 자극에 반응하여 주로 IFNɣ 및 더 낮은 수준의 IL-2를 분비하였다. S 풀 1에 특이적인 IFNɣ+ CD8+ T 세포의 분획은 전체 말초 혈액 CD8+ T 세포의 약 1%를 구성하였다(도 115d). 주목할 점은 분석된 참가자 중 몇 명(20㎍ 용량 코호트에서 n=3, 30㎍ 용량 코호트에서 n=3)이 기존 S pool 2 특이적인 CD8+ T 세포 반응을 나타냈으며, 6명의 참가자 중 5명에서는 백신 접* 후 더 이상 증폭되지 않았다는 것이다. 강력한 기존 S 풀 2 특이적 IFNɣ+ CD4+ T 세포 반응이 한 참가자(20㎍ 용량 코호트)에서 검출가능했다(도 115c).

[2308] 두 분석 시스템 모두에서, 전체 SARS-CoV-2 S를 포함하는 펩타이드 풀에 대한 반응에서 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 사이토카인 생산은 RBD 펩타이드 풀에 대한 반응을 초과했으며, 이는 BNT162b2에 의해 유도된 T 세포 반응의 폴

리-에피토프적인 속성을 추가로 확인해준다. 총 순환 T 세포 내 BNT162b2-유도된 S-특이적 IFNɣ+ 또는 IL-2+ CD4+ 및 CD8+ T 세포의 평균 분획은 COVID-19(HCS)에서 회복된 18명의 대조군 피험자에서 검출된 것보다 높았다(도 115c, d).

[2309] **BNT162b2에 의한 면역화에서 관찰된 CD8+ T 세포의 에피토프 특이성 및 표현형**

[2310] CD8+ T 세포 반응을 21일 간격으로 2회 용량(예: 10㎍/용량 또는 30㎍/용량)을 투여하는 2회 용량 요법으로 백신을 접종한 3명의 참가자의 에피토프 수준에서 특징화하였다.

[2311] 참가자로부터 수집한 백신접종 전 및 후 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 유세포 분석을 위해 개별화된 펩타이드/MHC 다량체 염색 칵테일로 염색하였다. 23개(HLA-B*0702의 경우 4개, HLA-A*2402의 경우 19개), 14개(HLA-B*3501) 및 23개(HLA-B*4401의 경우 7개, HLA-A*0201의 경우 16개)의 다양한 펩타이드/MHC 대립유전자 쌍을 참가자 1, 2 및 3에 대해 각각 사용하여, 폴리-에피토프 T 세포 반응을 포괄적으로 포착하기보다는 잠재적인 반응성의 선택된 세트를 프로브하였다. 각 참가자에 대해 다중 에피토프에 대해 de novo 유도된 CD8+ T 세포 반응성을 전체 길이의 S 단백질에 걸쳐 분포된 총 8개의 상이한 에피토프/MHC 쌍을 합함으로써 동정하였다(도 116a, c). 에피토프 특이적 T 세포 반응의 크기는 말초 CD8+ T 세포의 0.01-3.09% 범위였으며 가장 심한 확장이 HLA-A*0201 YLQPRTFLL (3.09% $CD8^+$의 다량체$^+$), HLA-A*2402 QYIKWPWYI (1.27% $CD8^+$의 다량체$^+$) 및 HLA-B*3501 QPTESIVRF (0.17% $CD8^+$의 다량체$^+$)에 대해 관찰되었다. ELISpot 및 세포내 염색(ICS)에 의해 결정된 이들 개체에서 전체 S 단백질에 대한 벌크 IFNɣ+ CD8+ T 세포 반응과의 비교 결과, pMHC 기술이 세포 면역 반응의 실제 정도를 평가하는 데 더 유용할 수 있는 것으로 나타났다(도 113f).

[2312] 식별된 pMHC 다량체+ S 항원-경험된 CD8+ T 세포 특이성의 표현형 분석 결과, CCR7 및 CD45RA의 낮은 발현 및 공동자극 분자 CD28 및 CD27의 높은 발현을 특징으로 하는 초기 분화된 이펙터 기억 표현형이 밝혀졌다. CD8+ T 세포는 또한 CD38, HLA-DR 및 PD-1과 같은 동족 활성화와 관련된 마커를 발현하였다(도 116b).

[2313] ***논의***

[2314] 적응 면역 체계의 이펙터는 바이러스 감염 방어에 있어 상보적인 역할을 한다. 중화 항체가 첫 번째 방어선인 반면, CD8+ 세포독성 T 림프구(CTL)는 중화 항체에 접근할 수 없는 세포내 구획에서 바이러스 제거에 기여한다. 항원 특이적 CD4+ T 세포는 B 세포 및 CD8+ T 세포에 대한 동족 도움, 기억 생성 지원, 간접적(예: IFNɣ를 통한) 또는 직접적(MHC 클래스 II 발현 표적 세포에 대한) 세포독성 활성의 제공을 포함한, 면역 조율 기능을 갖는다.

[2315] 이 실시예는 BNT162b2를 사용한 백신접종이 SARS-CoV-2 S-특이적 중화 항체(다른 실시예에서 설명한 바와 같음), CD4+ T 세포, CD8+ T 세포 및 면역 조절 사이토카인(예: IFNɣ)에 의해 조율된 면역 반응을 유도함을 보여준다.

[2316] BNT162b2로 백신접종된 모든 참가자는 de novo S-특이적 CD4+ T 세포 반응을 일으켰고 생체외 ELISpot 분석에 의해 감지되는 바와 같이, 참가자의 거의 92%가 CD8+ T 세포 반응을 일으켰다. T 세포 반응의 크기는 개인 간 다양했으며 명확한 용량 의존성을 나타내지 않았다. BNT162b2를 1㎍라는 가장 낮은 용량으로 백신접종한 경우에도 대부분의 백신접종된 참가자는 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 강력한 확장을 보여주었다. T 세포 반응은 S 단백질의 RBD, S1 및 S2 영역에 대해 지시되었으며, 이는 복수의 독립적인 MHC I 및 II 에피토프의 면역 인식을 나타낸다.

[2317] BNT162b2로 유도된 CD4+ T 세포에서 IFNɣ 및 IL-2의 발현과 IL-4의 경우 단지 낮은 수준의 발현은 TH1 프로필과 잠재적으로 유해한 TH2 면역 반응의 부재를 가리켰다.

[2318] S 단백질의 S1 서브유닛에 대한 모든 CD8+ T 세포 반응은 새로운 것이었으며(de novo) 베이스라인에서 검출되지 않았지만, S2 서브유닛에 대한 기존 면역 반응은 여러 개체에서 확인되었다. S1 단편은 S2 단편에 비해 대응하는 계절성 코로나바이러스 서열과의 서열 유사성이 낮다; 이론에 얽매이지 않고, 이 발견은 기존의 교차 반응성 CD8+ T 세포가 검출되었을 수 있음을 시사하는 것으로 제안된다.

[2319] 펩타이드 MHC(pMHC) 멀티머 기술을 통해 백신 유도 CD8+ T 세포가 인식하는 S 단백질 에피토프를 식별할 수 있을 뿐만 아니라 각 에피토프 특이적 T 세포를 직접 정량화할 수 있다. 각 참가자의 누적 T 세포 빈도는 ELISpot 및 ICS 분석에서 측정된 전체 T 세포 반응을 초과했으며, 이는 이러한 분석이 폴리-에피토프 반응의 실제 크기를 과소평가함을 나타낸다. 당업자는 다수의 면역원성 에피토프가 경쟁하는 펩타이드 풀로 자극하는 기능적 T

세포 검정과 비교하여 단일 펩타이드 분석이 더 높은 T 세포 빈도를 산출하는 것으로 알려져 있음을 이해할 것이다. 유도된 CD8+ T 세포의 높은 비율은 초기 분화된 효과기 기억 세포였다. 이 유리한 표현형은 빠르게 반응할 가능성이 있지만 IFNɣ를 생산하는 능력이 제한되어 있어 기능적 T 세포 분석에서 검출될 가능성이 적다. 감염된 개인이 CD8+ T 세포를 생성하는 SARS-CoV-2 S의 에피토프가 확인되어 당업계에 알려져 있었지만(예컨대, Shomuradova et al., Immunity (2020) doi:10.1016/j.immuni.2020.11.004; 및 Peng et al. Nat. Immunol. 21, 1336-1345 (2020) 참조), 본원에 제시된 데이터는 COVID-19 백신에 의해 유도된 T 세포에 의해 인식되는 에피토프를 최초로 입증한 것이다. 주목할 점은 이 연구에서 확인된 면역우성 HLA-A*02:01 제한된 펩타이드 YLQPRTFLL이 회복기 COVID-19 환자에서 이전에 기술된 바 있다는 것이다. *ID.*

[2320] **재료 및 방법**

[2321] **단백질 및 펩타이드.**

[2322] 11개의 아미노산(aa)이 겹치고 함께 야생형 SARS-CoV-2 S의 전체 서열을 포함하는 15량체 펩타이드 풀 2개(aa 1-643을 특징으로 하는 S 풀 1, aa 633-1273을 특징으로 하는 S 풀 2) 및 N-말단에 융합된 S의 신호 펩타이드(aa 1-16)를 갖는 SARS-CoV-2 RBD(aa 327-528)를 포함하는 1개의 풀을, 유세포 분석 및 IFNɣ ELISpot을 위한 PBMC의 생체외 자극에 사용하였다. CEF(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스; 인간 백혈구 항원[HLA] 클래스 I 에피토프 펩타이드 풀) 및 CEFT(CMV, EBV, 인플루엔자 바이러스, 파상풍 톡소이드; HLA 클래스 II 에피토프 펩타이드 풀)를 일반 T-세포 반응성에 대한 대조군으로 사용하여 기억 T 세포 반응의 크기를 벤치마킹한다. 모든 펩타이드는 JPT Peptide Technologies에서 구입하였다.

[2323] **인간 회복기 혈청 및 PBMC 패널.**

[2324] 인간 SARS-CoV-2 감염/COVID-19 회복기 혈청(n=38)은 PCR로 확인된 진단 후 최소 14일 후 및 참가자가 무증상일 때 18~83세의 기증자로부터 채취하였다. 기증자의 평균 연령은 45세였다. 기증자 서브그룹의 중화 GMT는 다음과 같다: 증상이 있는 감염, 90(n=35); 무증상 감염, 156(n=3); 입원, 618(n=1). 혈청은 Sanguine Biosciences(Sherman Oaks, CA), MT Group(Van Nuys, CA) 및 Pfizer Occupational Health and Wellness(Pearl River, NY)에서 구입하였다. 인간 SARS-CoV-2 감염/COVID-19 회복기 PBMC 샘플(n=18)은 기증자가 무증상일 때 PCR 확인 진단 후 30~62일에 22~79세 기증자로부터 수집되었다. PBMC 기증자는 무증상 또는 경미한 감염(n=16, 임상 점수 1 및 2)이 있거나 입원 경험이 있었다(n=2, 임상 점수 4 및 5). 혈액 샘플은 프랑크푸르트 대학 병원에서 얻었다.

[2325] **1차 세포 분리.**

[2326] PBMC는 Ficoll-Paque™ PLUS(Cytiva) 밀도 구배 원심분리에 의해 분리되었고 분석 전에 동결보존되었다.

[2327]

[2328] **IFNɣELISpot.**

[2329] CD4+가 고갈되고 CD8+ T 세포가 강화된 PBMC(CD8+ 이펙터) 또는 CD8+가 고갈되고 CD4+ T 세포가 강화된 PBMC(CD4+ 이펙터)를 사용하여 IFNɣ ELISpot 분석을 생체 외(확장을 위한 시험관내 추가 배양 없이) 수행하였다. 시험은 양성 대조군(항-CD3 모노클로날 항체 CD3-2[1:1,000; Mabtech])으로 이중으로 수행되었다. IFNɣ-특이적 항체(ELISpotPro kit, Mabtech)로 사전 코팅된 멀티스크린 필터 플레이트(Merck Millipore)를 PBS로 세척하고 2% 인간 혈청 알부민(CSL-Behring)을 함유하는 X-VIVO 15 배지(Lonza)로 1-5 시간 차단시켰다. 웰당 3.3 x 10^5 이펙터 세포를 SARS-CoV-2 S의 야생형 서열의 서로 다른 부분을 나타내는 3개의 중첩 펩타이드 풀로 16-20시간 동안 자극하였다(N-말단 풀 S 풀 1 [aa 1-643] 및 RBD [aa 327-528에 융합된 aa1-16] 및 C-말단 S 풀 2 [aa 633-1273]). 결합된 IFNɣ는 알칼리 포스파타제에 직접 접합된 2차 항체를 사용하여 시각화된 후 5-브로모-4-클로로-3'-인돌릴 포스페이트(BCIP)/니트로 블루 테트라졸륨(NBT) 기질(ELISpotPro 키트, Mabtech)과 함께 인큐베이션되었다. AID Classic Robot ELISPOT 판독기를 사용하여 플레이트를 스캔하고 AID ELISPOT 7.0 소프트웨어(AID Autoimmun Diagnostika)로 분석하였다. 스팟 카운트는 각 중복의 평균값으로 표시되었다. 펩타이드에 의해 자극된 T-세포 반응은 거짓 양성에 대한 제어를 유지하면서 민감도를 제공하기 위해 두 가지 통계 테스트(무배포 리샘플링)를 기반으로 인하우스 ELISpot 데이터 분석 도구(EDA)를 사용하여 음성 대조군으로서 배지와만 함께 배양된 이펙터와 비교되었다.

[2330] 항-CD3 항체 자극에 대한 반응으로 스팟의 수에 반영된 다양한 샘플 품질을 설명하기 위해, 개체 간 스팟 수 및 반응 강도를 직접 비교할 수 있도록 정규화 방법을 적용하였다. 이 종속성은 노이즈 구성 요소(미공개)를 포함

하는 베이지안 모델을 사용하여 로그 선형 방식으로 모델링되었다. 강력한 정규화를 위해 각 정규화는 모델에서 1000번 샘플링되었으며 중앙값은 정규화된 스팟 카운트 값으로 사용되었다. 모델의 우도: $\log \lambda_E = \alpha \log \lambda_p + \log \beta_j + \sigma\varepsilon$, 여기서 λ_E는 샘플의 정규화된 스팟 수이고 α는 모든 양성 대조군 λ_p, β_j는 샘플 j 특이적 성분 샘플(정규 분포됨) 및 σε는 노이저 성분이고 여기서 σ는 Cauchy 분포이고 ε는 Student's-t 분포이다. β_j는 각 샘플이 다른 배치로 취급되도록 한다.

[2331] **유세포 분석**

[2332] 세포내 사이토카인 염색으로 사이토카인 생성 T 세포를 확인하였다. 해동하여 2μg/mL DNase I(Roche)이 보충된 OpTmizer 배지에서 4시간 동안 휴지시킨 PBMC를, GolgiPlug(BD) 존재 하에 37℃에서 18시간 동안 ELISpot 섹션(2 μg/mL/펩타이드, JPT Peptide Technologies)에 설명된 펩타이드 풀의 SARS-CoV-2 S의 야생형 서열의 여러 상이한 부분으로 재자극시켰다. 대조군은 DMSO 함유 배지로 처리하였다. 세포는 유동 완충액(2% FBS[Biochrom], 2mM 에틸렌디아민테트라아세트산[EDTA; Sigma-Aldrich])이 보충된 DPBS[Gibco])에서 생존력 및 표면 마커(CD3 BV421, 1:250; CD4 BV480, 1:50; CD8 BB515, 1:100; 모두 BD Biosciences)에 대해 4℃에서 20분 동안 염색되었다. 그 후, 제조업체의 지침(BD Biosciences)에 따라 Cytofix/Cytoperm 키트를 사용하여 샘플을 고정하고 투과성화하였다. 세포내 염색(CD3 BV421, 1:250; CD4 BV480, 1:50; CD8 BB515, 1:100; IFNɣ PE-Cy7, 1:50[HCS의 경우]; IFNɣ BB700, 1:250[참가자의 경우]; IL- 2 PE, 1:10; IL-4 APC, 1:500; 모두 BD Biosciences)을 4℃에서 30분 동안 Perm/Wash 완충액에서 수행하였다. 형광 활성화 세포 분류기(FACS) VERSE 기기(BD Biosciences)에서 샘플을 수집하고 FlowJo 소프트웨어 버전 10.6.2(FlowJo LLC, BD Biosciences)로 분석하였다. S- 및 RBD-특이적 사이토카인 생성은 DMSO(dimethyl sulfoxide) 함유 배지로 얻은 값을 빼서 백그라운드에 대해 보정하였다. 음수 값은 0으로 설정되었다. 도 116b의 사이토카인 생산은 IFNɣ, IL-2 또는 IL-4에 대해 양성인 모든 CD4+ T 세포의 분율을 합산하고, 이 합계를 100%로 설정하여 각각의 특정 사이토카인 생성 서브세트의 분율을 계산하여 계산되었다. 슈도컬러 플롯 축은 log10 스케일이다.

[2333] **펩타이드/MHC 다량체 염색**

[2334] 다량체 분석을 위한 MHC-클래스 I 에피토프를 선택하기 위해, 질량 분석 기반 결합 및 제시 예측자(예: Abelin et al., Immunity 46, 315-326 (2017); 및 Poran et al., Genome Med. 12, 70 (2020)에 설명된 바와 같음)를 SARS-CoV-2에 대한 GenBank 참조 서열(수탁: NC_045512.2, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_045512) 에서 파생된 스파이크 당단백질의 8-12개 아미노산 길이 펩타이드 서열에 적용하고 유럽 인구에서 >5% 빈도의 18개의 MHC-클래스-I 대립유전자와 페어링하였다. 상위 예측 에피토프는 임계값을 결합 백분율 순위(≤1%) 및 제시 점수($\geq 10^{-2.2}$)로 설정하여 식별하고 >90% 순도의 펩타이드 합성을 고려하였다. pMHC 복합체는 easYmer 기술(easYmer® 키트, ImmuneAware Aps)로 리폴딩되었으며, 복합체 형성은 제조업체의 지침에 따라 비드 기반 유세포 분석에서 검증되었다. 샘플당 최대 10개의 상이한 T 세포 집단을 검출할 수 있도록 5개의 상이한 형광 표지의 2색 조합을 사용하여 T 세포의 항원 특이성을 해부하기 위해 조합 표지화를 사용하였다. 사량화를 위해 SA BV421, SA BV711, SA PE, SA PE-Cy7, SA APC(모두 BD Biosciences)와 같은 스트렙타비딘(SA)-형광색소 접합체가 추가되었다. 3명의 BNT162b2 백신접종 참가자에 대해 개별화된 pMHC 멀티머 염색 칵테일에는 최대 10개의 pMHC 복합체가 포함되었으며 각 pMHC 복합체는 고유한 2색 조합으로 인코딩되었다. PBMC($2x10^6$)는 Brilliant Staining Buffer Plus(BSB Plus [BD Horizon™])에서 최종 농도 4nM의 각 pMHC 멀티머 칵테일로 실온에서 20분 동안 생체외 염색되었다. 표면 및 생존력 염색은 4℃(CD3 BUV395, 1:50)에서 30분 동안 BSB Plus가 보충된 유동 완충액(2% FBS[Biochrom], 2mM EDTA[Sigma-Aldrich] 포함 DPBS[Gibco])에서 수행되었다(CD3 BUV395, 1:50; CD45RA BUV563, 1:200; CD27 BUV737, 1:200; CD8 BV480, 1:200; CD279 BV650, 1:20; CD197 BV786, 1:15; CD4 BB515, 1:50; CD28 BB700, 1:100; CD38 PE-CF594, 1:600; HLA-DR APC-R700, 1:150; 모두 BD Biosciences; DUMP 채널: CD14 APC-eFluor780, 1:100; CD16 APC-eFluor780, 1:100; CD19 APC-eFluor780, 1:100; 고정형 생존력 염색 eFluor780, 1:1,667; all ThermoFisher Scientific). 세포를 FACSymphony™ A3 유세포 분석기(BD Biosciences)에서 획득한 1x Stabilization Fixative(BD)에서 4℃에서 15분 동안 고정하고 FlowJo 소프트웨어 버전 10.6.2(FlowJo LLC, BD Biosciences)로 분석하였다. CD8+ T 세포 반응성은 단 2개의 pMHC 다량체 색상으로 표지된 군집화된 집단이 관찰되었을 때 양성으로 간주되었다.

[2335] **실시예 26: 재감염 가능성을 시사하는 증거**

[2336] 1차 종점은 COVID-19 질병의 사전 증거가 없는 개인에서 평가되었으며, 백신 접* 전에 감염 증거가 있는 참가자

중에서 COVID-19 확진 사례는 거의 발생하지 않았다(백신 그룹에 비해 위약 그룹에서 더 많은 사례가 발생했지만). 그러나 표 22-23에 나와 있는 것처럼 이용가능한 데이터는 비록 제한적이긴 하지만, 이전에 감염된 개인이 COVID-19(즉, 재감염) 위험에 처할 수 있으며 백신접종을 통해 혜택을 받을 수 있음을 시사한다.

표 22. 백신 효능 – 2차 접종 7일 후 첫 COVID-19 발생, 테스트 상태별 – 2차 접종 7일 이전에 감염 증거가 있거나 없는 대상체 – 평가 가능한 효능(7일) 모집단

	백신 그룹	**대조군**	**백신 효능 %**
RT-PCR NP 면봉 결과 및 혈청 상태: 시점	N[a] = 19965 케이스 n[1b] 감시 기간[c] (n[2d])	N[a]=20172 케이스 n[1b] 감시 기간[c] (n[2d])	**(95% C [e])**
1차 투여 전 SARS-CoV-2 RT -PCR(NP 면봉)			
양성	0 0.013(119)	0 0.015(137)	NE(NE, NE)
음성	9 2.301(18259)	166 2.314(18410)	94.5 (89.4, 97.6)
알려지지 않음	0 0.017(181)	3 0.016(161)	100.0 (-126.2, 100.0)
2차 투여 전 SARS-CoV-2 RT -PCR(NP 면봉)			

[2337]

양성	0 0.009(83)	1 0.012(106)	100(-4916.4, 100.0)
음성	9 2.301(18263)	167 2.315(18408)	94.6 (89.5, 97.6)
알려지지 않음	0 0.022(213)	1 0.018(194)	100.0 (-3173.8, 100.0)
1차 투여 전 음성 RT-PCR 및 2차 투여 전 양성 RT-PCR인 대상체			
1차와 2차 투여 사이에 문서화된 COVID-19 증상이 있는 대상체	0 0.000(0)	0 0.000(1)	--
1차와 2차 투여 사이에 문서화된 COVID-19 증상이 없는 대상체	0 0.004(44)	1 0.006(52)	--
1차 투여 전 혈청상태 [f]			
양성	1 0.052(488)	1 0.056(525)	-8.0 (-8378.1, 98.6)

[2338]

음성	8 2.255(17823)	167 2.260(17894)	95.2 (90.3, 98.0)
알려지지 않음	0 0.025(248)	1 0.030(289)	100.0 (-4527.0, 100.0)
2차 투여 1개월 후(방문 3) 혈청형*	**데이터 미표시**		
양성			
음성			
1차 투여와 2차 투여 1개월 후 사이에 혈청전환된 대상체**	**데이터 미표시**		
일정 기간 동안 문서화된 COVID-19 증상이 있는 대상체			
일정 기간 동안 문서화된 COVID-19 증상이 없는 대상체(무증상 감염에 대한 프로토콜 정의 백신 효능)			

[2339]

약어: N-결합 = SARS-CoV-2 핵단백질-결합; RT-PCR = 역전사-중합 효소 연쇄 반응; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2; VE = 백신 효능; NP = 비인두; NE = 추정할 수 없음.

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수.

b. n1 = 종점 정의를 충족하는 대상체의 수.

c. 종점에 대한 위험이 있는 각 그룹 내의 모든 대상체에 대한 주어진 종점에 대한 1000인년의 총 감시 기간. COVID-19 사례 발생 기간은 2차 투여 후 7일부터 감시 기간 종료까지이다.

d. n2 = 종점에 대한 위험에 처한 대상체 수.

e형. VE에 대한 신뢰 구간(CI)은 감시 기간 에 대해 조정된 Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 도출됩니다.

f. N-바인딩 테스트 결과를 기반으로 합니다.

[2340]

표 23. 백신 효능 – 2차 접종 후 7일 후 첫 COVID-19 발생, 테스트 상태별 – 2차 접종 후 7일 이전에 감염 증거가 있거나 없는 대상체 – 유효한 모든 효능 모집단

RT-PCR NP 면봉 결과 및 혈청 상태: 시점	백신 그룹 [Na] 20488 케이스 n1b - 감시 기간 [c(n2d)]	대조군 [Na] 20459 케이스 n1b - 감시 기간 [c (n2d)]	백신 효능 % (95% CI[e])
1차 투여 전SARS-CoV-2 RT-PCR (NP 면봉)			
양성	0 0.014(122)	0 0.015(138)	NE(NE, NE)
음성	9 2.358(18740)	169 2.338(18668)	94.7(89.7, 97.6)
알려지지 않음	0 0.018(187)	3 0.016(165)	100.0(-125.3, 100.0)
2차 투여 전 SARS-CoV-2 RT-PCR(NP 면봉)			

[2341]

양성	0 0.010(86)	1 0.012(107)	100.0 (-4739.5, 100.0)
음성	9 2.357(18743)	170 2.339(18660)	94.7 (89.8, 97.6)
알려지지 않음	0 0.022(220)	1 0.019(204)	100.0 (-3290.7, 100.0)
1차 투여 전 음성 RT-PCR 및 2차 투여 전 양성 RT-PCR인 대상체			
1 차와 2 차 투여 사이에 문서화된 COVID-19 증상이 있는 대상체	0 0.000(0)	0 0.000(1)	--
1 차와 2 차 투여 사이에 문서화된 COVID-19 증상이 없는 대상체	0 0.005(47)	1 0.006(53)	--
1차 투여 전 혈청상태 [f]			
양성	1 0.053(500)	1 0.057(537)	-7.5(-8335.1, 98.6)

[2342]

음성	8 2.308(18278)	170 2.283(18144)	95.3(90.6, 98.0)
알려지지 않음	0 0.028(271)	1 0.030(290)	100.0(-4081.4, 100.0)
2차 투여 1개월 후(방문 3) 혈청형*	**데이터 미표시**		
양성			
음성			
1차 투여와 2차 투여 후 1개월 사이에 혈청전환된 대상체**	**데이터 미표시**		
일정 기간 동안 문서화된 COVID-19 증상이 있는 대상체			
일정 기간 동안 문서화된 COVID-19 증상이 없는 대상체(무증상 감염에 대한 프로토콜 정의 백신 효능)			

[2343]

약어: N-결합 = SARS-CoV-2 핵단백질-결합; RT-PCR = 역전사-중합 효소 연쇄 반응; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2; VE = 백신 효능; NP = 비인두; NE = 추정할 수 없음.

a. N = 지정된 그룹의 대상체 수.

b. n1 = 종점 정의를 충족하는 대상체의 수.

c. 종점에 대한 위험이 있는 각 그룹 내의 모든 대상체에 대한 주어진 종점에 대한 1000인년의 총 감시 기간. COVID-19 사례 발생 기간은 2차 투여 후 7일부터 감시 기간 종료까지이다.

d. n2 = 종점에 대한 위험에 처한 대상체 수.

e. VE에 대한 신뢰 구간(CI)은 감시 기간 에 대해 조정된 Clopper 및 Pearson 방법을 기반으로 도출됨.

f. N-바인딩 테스트 결과에 기반함.

[2344]

[2345] **실시예 27: 특정 지질 부형제의 약동학(PK) 및 흡수, 분포, 대사 및 배설(ADME) 분석**

[2346] 본 실시예는 본원에 기재된 바와 같은 백신 조성물에 사용된 지질의 다양한 평가된 특성(예를 들어, PK/ADME 특성)을 기재한다. 임의의 특정 이론에 구애됨이 없이, 이러한 지질 성분의 특성은 일반적으로 효능 및/또는 특정 상황(예를 들어, 특정 요법 및/또는 특정 집단 등에 따라 투여될 때)을 포함하여, 투여되는 백신의 관련 특징(예컨대 분포, 발현 등)에 기여할 수 있다.

[2347] **흡수**

[2348] 지질 부형제 ALC-0315 및 ALC-0159의 PK 및 대사를 평가하기 위해 래트에서 나노입자 제형의 정맥내(IV) 볼루스 주사 후 ALC-0315 및 ALC-0319의 단일 용량 PK 연구를 수행하였다. 이 연구는 ALC-0159 및 ALC-0315의 생체내 배치를 조사하기 위해 지질 조성이 BNT162b2와 동일한 대체 루시퍼라제 RNA를 포함하는 LNP를 사용하였다.

[2349] ALC-0159의 농도는 이 2주간의 연구 동안 혈장과 간에서 각각 약 8000배 및 >250배 떨어졌다. ALC-0315의 경우, 혈장과 간에서 분자 제거 속도가 더 느렸지만 농도는 혈장과 간에서 각각 2주 만에 약 7000배와 4배 떨어졌다. 전반적으로, 혈장 및 간의 겉보기 말단 t½은 두 조직 모두에서 유사하였고 ALC-0159 및 ALC-0315에 대해 각각 2-3일 및 6-8일이었다. 혈장의 겉보기 말단 t½은 지질이 LNP로 분포된 조직에서 제거된 혈장으로 되돌아가는 각각의 지질의 재분배를 나타내는 것 같다.

[2350] **대사**

[2351] ALC-0315 및 ALC-0159의 시험관내 대사는 마우스, 래트, 원숭이 및 인간의 혈액, 간 마이크로솜, S9 분획 및 간세포에서 평가되었다. PK 연구의 래트 혈장, 소변, 대변 및 간 샘플에서 생체내 대사를 검사하였다. ALC-0315 및 ALC-0159의 대사는 시험관내 및 생체내에서 비교적 느리게 일어나는 것으로 보인다. ALC-0315 및 ALC-0159는 각각 에스테르 및 아미드 작용기의 가수분해 대사에 의해 분명히 대사되며, 이 가수분해 대사는 평가된 종 전체에서 관찰된다.

[2352] **배설**

[2353] 배설 연구는 ALC-0159의 50%가 대변에서 변화 없이 제거되었으며, 소변이나 대변에서 변하지 않은 물질이 거의 또는 전혀 검출되지 않음에 따라 대사가 ALC-0315 제거에 중요한 역할을 했다는 것을 입증하는 것으로 나타났다.

[2354] 래트 PK 연구에서 소변, 대변 및 혈장을 조사한 결과 일련의 ALC-0315 에스테르 분해 생성물이 확인되었다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 이는 생체내에서 이 분자에 작용하는 1차 클리어런스 메카니즘을 나타내는 것으로 제안된다. 시험관 내에서 ALC-0159는 아미드 작용기의 가수분해 대사에 의해 천천히 대사되었다.

[2355] **실시예 28: 투여된 백신 조성물의 분포 분석**

[2356] COVID-19 mRNA 백신 BNT162b2의 생체내 생체 분포는 마우스를 모델 시스템으로 사용하고 루시퍼라제 발현을 대체 리포터로 평가하여 평가하였다. BNT162b2와 같은 LNP 제제에서 루시파라제를 인코딩하는 RNA를 마우스에 IM 주사한 후 단백질 발현이 주사 부위에서 그리고 더 적은 정도로 그리고 더 일시적으로 간에서 입증되었다. 루시퍼라제 발현은 주사 후 6시간에 주사 부위에서 확인되었고 9일째에 거의 베이스라인 수준에 가깝게 감소하였다. 간에서의 발현도 주사 후 6시간에 존재했고 주사 후 48시간까지 감지되지 않았다. 평가된 간 이외의 다른 모든 조직은 용량의 1% 이하를 포함한다.

[2357] **실시예 29: 다양한 투여요법의 반복-투여 독성 연구**

[2358] BNT162b2를 포함한 COVID-19 mRNA 백신의 면역원성과 독성을 평가하기 위해 래트에서 수행된 GLP 준수 반복 투여 연구.

[2359] 특정 연구에서, 수컷 및 암컷 Wistar Han 래트에게 본원에 기재된 바와 같은 백신 조성물을 제공하였다; 다양한 RNA 플랫폼(예를 들어, BNT162b2)에 기반한 조성물을 매주 1회씩 3주 동안(접종일 1, 8 및 15) 뒷다리에 IM 주사(들)로서 시험하였다. 다양한 용량(10, 30 및 100㎍)을 테스트하였다; 저용량은 20-70 ㎕의 단일 주사로 제공되는 반면 최고 용량(100 ㎍)과 대조군은 각각 100 ㎕의 2회 주사(각 뒷다리에 하나씩)로 제공되었다. 대조군은 백신 제품의 저장 완충액에 해당하는 인산염 완충 식염수/300mM 수크로스였다. 각 그룹에는 18마리의 수컷 쥐와 18마리의 암컷 쥐가 있었고, 10마리는 본 연구에, 5마리는 회복군에, 3마리는 사이토카인 분석을 위한 추가 동물로 지정되었다. 회복 기간은 마지막 투여 후 3주였다. 부검은 연구 17일, 마지막 투여 후 ~48시간 및 3주 회복 기간 후에 수행되었다.

[2360] 예정되지 않은 사망은 관찰되지 않았다.

[2361] 투약은 내약성이 좋은 것으로 간주되었으며 전신 독성의 어떠한 징후도 나타내지 않았다; 투여 후 몇 시간 동안 체온이 약간 상승했고 같은 기간 동안 체중이 약간 감소했지만 부작용으로 간주할 정도는 아니었다.

[2362] 근육 주사 부위에서 국소 염증 반응이 관찰되었다. 주목된 주사 부위 변화는 부기, 홍반 및 경결(induration)이었고, 1차에 비해 2차 및/또는 3차 투여 후 더 심하고 더 빈번하였다; 그러나 이들은 후속 투여 전에 해결되었고 3주 회복 기간이 끝날 때 완전히 회복되었다.

[2363] 주사 부위의 거시적 소견에는 경결 또는 두꺼워짐이 포함되었으며, 때때로 거의 모든 래트에서 관찰되는 껍질이 동반되었다. 이것은 염증 및 가변성 섬유증, 부기 및 근섬유 변성과 현미경적으로 상관관계가 있다. 주사 부위의 염증은 순환하는 백혈구 및 급성기 단백질(피브리노겐, 알파-2 마크로글로불린 및 알파-1 산성 당단백질)의 상승을 동반하였다.

[2364] 염증은 때때로 주입 부위에 인접한 조직으로 확장되는 것이 분명하였다. 투약 종료 시 배액(장골) 림프절이 커졌다. 이것은 배 중심의 증가된 세포성 및 배액(장골) 림프절의 증가된 형질 세포와 관련이 있으며 투여된 백신에 대한 예상되는 면역 반응이다.

[2365] 비장의 확대 및 증가된 비장 무게는 조혈 증가와 미세하게 상관관계가 있었고 조혈 증가는 골수에서도 분명하였다. 이러한 발견은 백신에 대한 면역/염증 반응에 이차적인 것일 수 있다.

[2366] 회복 기간 말기에 주사 부위는 정상이었고 임상 병리 소견과 육안 관찰이 해결되었으며 현미경 검사에서 주사 부위 염증이 회복되었다는 증거가 있었다.

[2367] 투약 단계 후에 문맥 간세포의 미시적 액포형성이 있었다. 이 현상은 회복 기간 후에는 관찰되지 않았다. 알라닌 아미노전이효소(ALAT)의 상승은 없었다. 백신을 접종한 모든 래트에서 감마-글루타밀트랜스펩티다제(GGT)의 상승이 있었지만 증가된 감마-GT 활성(3주간의 회복 기간 말기에 완전히 회복됨)을 설명하는 담즙정체 또는 간담도 손상과 일치하는 거시적 또는 미시적 소견은 없었다. 액포형성은 LNP에서 페길화된 지질의 간 분포와 관련이 있을 수 있다. 혈청 사이토카인 농도에는 변화가 관찰되지 않았다.

[2368] 안과 및 청각 평가, 외모 또는 행동에 대해 언급된 영향은 없었다. 특히 걸음걸이는 정상이어서 관찰된 변화가 쥐의 이동성에 영향을 미치지 않는다는 것을 의미하였다. 혈청 사이토카인 농도에서 백신과 관련된 변화는 관찰

되지 않았다.

[2369] 면역원성 테스트 결과 COVID-19 mRNA 백신(예: BNT162b2 v8과 같은 BNT162b2 포함)이 S1 단편 및 수용체 결합 도메인에 대한 SARS CoV-2 스파이크 단백질에 대한 특정 IgG 항체 반응을 유도하는 것으로 나타났다. 슈도바이러스 중화 분석에서 백신에 대한 중화 항체 반응도 관찰되었다.

[2370] ELISA 분석의 결과를 도 117 및 118(도면에 표시된 대로 제17일 또는 제10일)에 나타내었으며, 여기서 맨 위 트레이스는 COVID-19 mRNA 백신 BNT162b2에 대한 것이고 다른 트레이스는 본원에 기재된 바와 같은 상이한 작제물을 사용하는 다른 COVID-19 mRNA 백신에 대한 것이다: 유사한 결과가 제38일에 나타났다(여기에 나타내지 않음). 이들은 Vero 76 세포를 사용한 VSV/SARS-CoV2-S 슈도바이러스 중화 테스트에서 볼 수 있는 중화 활성으로 변환되었다(도 119). 유사한 결과가 제38일에 제시되었다(여기에는 표시되지 않음). 이 연구에서 테스트한 백신 전체에서 항원 특이적 항체 역가가 더 높은 백신도 더 뚜렷한 바이러스 중화 효과를 나타냈다.

[2371] COVID-19 mRNA 백신(예: BNT162b2)은 내약성이 우수했으며 주사 부위와 배액 림프절에서 염증 변화, 골수 및 비장에서 조혈 증가, 주사 부위에서 면역 반응 또는 염증과 일치하는 임상 병리학적 변화를 일으켰다.

[2372] 본 개시내용을 읽는 당업자는 본 실시예에서의 발견이 본원에 기재된 바와 같은 다양한 mRNA 작제물 및/또는 지질 나노입자의 투여로 예상되는 것의 전형적인 것으로 간주될 수 있음을 이해할 것이다.

[2373] **실시예 30: 3회 투여요법의 독성 및 면역원성 연구**

[2374] COVID-19 mRNA 백신(예: BNT162b2)을 투여한 래트에서의 독성을 평가하기 위한 연구가 수행되었다. 이 연구는 Good Laboratory Practice를 준수하였다.

[2375] 수컷 및 암컷 Wistar Han 쥐에게 BNT162b2를 뒷다리에 IM 주사로 3회, 각각 일주일 간격으로 투여하였다(투약일 1, 8 및 15). 부검은 연구 17일, 마지막 투여 후 ~48시간 후, 그리고 3주 회복 기간 후에 수행되었다. COVID-19 mRNA 백신 BNT162b2는 0.5mg/ml로 공급되었고 용량 부피는 60μl였으며 용량당 30μg을 제공하였다. 대조군 래트에게는 식염수를 투여하였다.

[2376] 평가 동안, 투약 전 및 동안, 그리고 회복 동안 다양한 시점에서 혈액을 채취하고 백신 성분에 대한 항체 반응을 평가하였다.

[2377] COVID-19 mRNA 백신(예: BNT162b2)을 투여한 모든 래트는 예정된 부검일까지 생존하였다. 임상 징후 또는 체중 변화에 주목된 변화는 없었다. 음식 섭취량의 감소는 제4일과 제11일(대조군의 0.83배)에 나타났고 투여 후 평균 체온은 대조군과 비교하여 제1일(최대 0.5℃), 제8일(최대 0.98℃) 제15일(최대 1.03℃)에 증가하였다.

[2378] 주사 부위에서, 제1일(최대 경미한 부기 및 매우 경미한 홍반), 제8일(최대 중등도 부기 및 매우 경미한 홍반) 및 제15일(최대 중등도 부기 및 매우 경미한 홍반)에 부기 및 홍반 사례가 있었으나 완전히 해소되었고 제8일 및 제15일에 투여하기 전에는 감지되지 않았다.

[2379] 혈액학적 검사 결과 제4일과 제17일에 더 높은 백혈구(최대 2.95x 대조군), 주로 호중구(최대 6.80x 대조군), 단핵구(최대 3.30x 대조군) 및 염색되지 않은 거대 세포(LUC)(최대 13.2x 대조군) 및 약간 높은 호산구와 호염기구를 나타냈다. 백혈구는 제4일에 비해 제17일에 더 높았다. 양성 모두에서 4일에 일시적으로 더 낮은 망상적혈구(0.27x 대조군)와 암컷에서만 제17일에 더 높은 망상적혈구가 관찰되었다(최대 1.31x 대조군). 제4일과 제17일에는 더 낮은 적혈구 질량 매개변수(~ 0.90x 대조군)가 나타났다. 제4일과 제17일에는 A:G 비율이 더 낮았다(~0.82x). 제17일에는 대조군과 비교하여 더 높은 피브리노겐(최대 2.49x)이 관찰되었으며 이는 급성기 반응과 일치하였다. 급성기 단백질 알파-1-산 당단백질(17일에 최대 39x) 및 알파-2 마크로글로불린(17일에 최대 71x)은 제4일과 제17일에 증가했으며 수컷에서 더 높은 농도를 보였다. 요분석 매개변수에는 변화가 없었다.

[2380] 사후 부검에서 백신접종된 래트의 절대 및 상대적 비장 무게가 더 높았다(수컷은 최대 1.42배, 암컷은 최대 1.62배). 장기 무게에는 다른 변화가 없었다. 육안으로 관찰한 소견에는 배액 림프절 확대와 백신접종을 받은 소수의 래트에서 주사 부위가 창백하고 어두웠다. 용량은 염증 반응 및 면역 활성화와 일치하는 모든 변화와 함께 어떠한 전신 독성도 유발하지 않고 관용되었다: 이러한 발견은 일반적으로 지질 나노입자 캡슐화된 mRNA 백신의 용량과 관련된 것과 일치한다.

[2381] **실시예 31: 생식 독성**

[2382] BNT162b2를 포함하여 COVID-19 mRNA 백신을 투여한 암컷 래트의 생식 독성을 평가하기 위한 연구가 수행되었다. 암컷 래트에게 짝짓기 시작 전 2회, 임신 중 2회 인간 임상 용량(예: 30μg RNA/투여일)으로 COVID-19 mRNA 백

신(예: BNT162b2)을 투여하였다. COVID-19 mRNA 백신은 F0 암컷 Wistar 래트에게 교배 시작 21일 및 14일 전(각각 M-21 및 M-14)에 근육내(IM) 투여한 다음 임신일(GD) 9일 및 GD20에 총 4회 분량을 투여하였다. 하위 그룹은 GD21에 종료되었고 또 다른 (새끼) 그룹은 출생 후 21일에 종료되었다. SARS-CoV-2 중화 항체 역가는 대부분의 암컷에서 짝짓기 직전(M-14), 대부분의 암컷에서 그리고 임신 말기의 태아(GD21), 수유 말기의 대부분의 자손(PND21)에서 발견되었다. 각 투여 후 일시적인 체중 증가 및 음식 소비 감소가 있었다. 발정 주기 또는 생식력 지수에 대한 영향은 관찰되지 않았다. (대조군과 비교하여) 착상 전 손실이 증가(~2x)한 반면, 백신접종 그룹에서 관찰된 착상 전 손실 퍼센트는 과거 대조군 데이터 범위(5.1%-11.5%) 내에 있었다. 태아(총 n=21 어미/새끼) 중에서 위벽파열증, 입/턱 기형, 우측 대동맥궁 및/또는 경추 이상 발생률은 매우 낮았다. 골격 소견과 관련하여, 노출된 그룹은 천골 전추궁 여분의 요골, 여분의 짧은 갈비뼈, 꼬리 척수 <5의 대조군 수준과 비슷하였다. 출생 후 새끼(PND21에서 종료됨)에 대한 부작용의 징후는 없었다.

[2383] 이 연구는 생식력과 초기 배아 발생에 심각한 부작용이 없음을 보여준다.

[2384] **실시예 32: 중국의 젊은 성인 및 고령자에 대한 SARS-COV-2 BNT162b1 mRNA 백신의 안전성 및 면역원성: 무작위, 위약 대조, 관찰자 맹검 1상 연구**

[2385] 본 실시예는 144명의 건강한 중국인 참가자에서 BNT162b1을 테스트하는 1상 시험의 초기 결과를 보고한다. BNT162b1은 SARS-CoV-2 스파이크 당단백질 수용체 결합 도메인(RBD)을 인코딩하고 여기에 설명된 여러 RNA 기반 SARS-CoV-2 백신 후보 중 하나이다.

[2386] 본 실시예는 관찰된 안전성 프로필에 대해 구체적으로 보고하며, 보고된 유일한 3등급 이상 반응은 >39℃의 발열이었다. 10μg 또는 30μg BNT162b1로 프라임 부스트 백신을 접종하자 젊은(18~59세) 및 고령자(65~85세) 중국 성인 모두에서 강력한 항체 및 T 세포 반응이 유도되었다. 두 용량 수준 모두 41일 후 혈청전환을 유도하였다: 10μg 및 30μg 용량 그룹의 젊은 참가자에서 SARS-CoV-2 혈청 중화 항체의 기하 평균 역가는 회복된 COVID-19 환자의 회복기 혈청의 1.9배 및 2.1배였고; 고령 참가자의 경우 0.7배 및 1.3배였다. RBD 항원 챌린지에 대한 인터페론-γ T 세포 반응은 위약 그룹보다 BNT162b1을 투여받은 참가자에서 유의하게 더 높았다.

[2387] 중국의 젊은 성인과 고령자 모두에서 반응원성 증가 및 보다 유리한 백신 유도 바이러스 중화 반응은 30μg 용량의 BNT162b1과 관련이 있었다.

[2388] BNT162b1에 대한 현재 실시예에서 제공된 안전성 및 면역원성 데이터는 특히 건강한 중국의 젊은 참가자와 고령 참가자의 백신접종과 관련하여 BNT162b1 백신의 10㎍ 및 30㎍ 용량 수준을 사용한 프라임-부스트 백신접종이 및 18세에서 55세 사이의 젊은 성인과 65세에서 85세 사이의 고령자 모두에서 강력한 체액성 및 세포 면역원성 반응을 유도하고, 프라임-부스트 백신접종으로부터 최소 28일 이내에 두 연령대의 참가자 모두에서 강력한 RBD 특이 항체 및 T 세포 반응을 나타냈다. 이 연구의 특정 결과는 BNT162b1에 대한 내약성 프로파일의 측면을 추가로 확인했으며, 이는 예를 들어 미국과 독일 집단에서도 관찰되었다.

[2389] 방법

[2390] 중국 장쑤성 타이저우에서 18~59세의 건강한 청년 144명과 65~85세의 고령자를 대상으로 무작위, 위약 대조, 관찰자 맹검 1상 시험을 실시하였다. 적격 참가자는 21일 간격으로 BNT162b1 10μg 또는 30μg 또는 위약을 근육주사로 2회 투여하도록 무작위 배정되었다. 연구 참가자, 조사자 및 실험실 직원은 맹검 방식으로 치료 관리를 하였다. 1차 안전성 종점은 주사 부위의 국소 반응 또는 백신접종 후 14일 이내의 전신 이상 반응 및 부스트 백신접종 후 최대 28일 동안 발생하는 이상사례였다. 바이러스 중화 항체의 면역원성 종점, 백신에 의해 유도된 항원 특이적 결합 항체 및 세포 면역 반응을 예정된 시점에서 측정하였다.

[2391] ***결과***

[2392] **연구 설계 및 분석 세트**

[2393] 18~55세 또는 65~85세 사이의 총 296명의 성인이 중국 장쑤성에 있는 타이저우 백신 임상 연구 센터에서 검사를 받았다. 144명의 적격 참가자가 시험 참여에 동의했으며 1:1:1로 무작위 배정되어 10μg 또는 30μg의 BNT162b1 프라임 및 부스트 용량 또는 위약 2회 용량을 21일 간격으로 투여 받았다. 프라이밍 투여 후, 65세에서 85세 사이의 2명의 참가자가 부스트 용량 투여를 철회하였다(10μg에서 1명, 30μg에서 1명). 참가자의 인구통계학적 특성은 표 24에 나와 있다. 치료군에서 젊은 참가자의 평균 연령은 37.9~42.0세, 고령 참가자의 평균 연령은 68.5~70.7세였으며, 치료군에 걸쳐 성별 분포는 동일하였다. 참가자의 병력 또는 기존의 기저 질환은 베이스라인에서 고령 참가자에서 주목된 고혈압을 제외하고 치료군 전체에서 유사하였다.

[2394] **관찰된 안전성 및 내약성 데이터**

[2395] 투여 완료 후 14일 이내에 10㎍ BNT162b1 용량 그룹의 젊은 참가자 21명(88%)과 30㎍ BNT162b1 용량 그룹의 젊은 참가자 24명(100%)이 최소 1건의 이상반응을 보고한 반면 위약 그룹에서는 젊은 참가자의 17%(표 25A-25B)가 이상 반응을 보고하였다(표 25A-25B). 반응원성은 용량 수준에 따라 다르며 30㎍ BNT162b1 용량 그룹에서 가장 분명하였다. 가장 흔하게 보고된 이상반응은 주사 부위 통증, 발열, 두통, 피로, 권태감, 관절통, 근육통 오한이었다. 이상사례는 일시적이었고 단순한 치료 관리 표준으로 관리되거나 자발적으로 해결되었다. 보고된 이상반응의 대부분은 경미하거나 중등도였으며 각 BNT162b1 투여 후 처음 7일 이내에 해결되었다. 중증(3등급)으로 등급이 매겨진 주사 부위 반응은 없었다. 백신접종과 관련된 모든 3등급 전신 이상반응은 발열이었으며 주로 젊은 참여자에서 관찰되었다. 고연령 그룹의 한 남성 참가자는 30㎍의 BNT162b1 주요 용량을 투여한 후 주사 부위에 통증과 가려움증을 동반한 간헐적인 3등급 발열을 경험했으며 부스트 백신접종 투여를 선택적으로 철회하였다.

[2396] 연구 중에 미리 지정된 시험 중단 규칙은 충족되지 않았다. 오직 한 건의 중증 이상사례가 67세의 참가자(자동차 사고로 인한 상완골 골절, 참가자가 부스트 용량을 받지 못함)에서 보고되었으며 이는 백신 또는 연구 절차와 관련이 없는 것으로 간주되었다. 백신접종 후 주사 부위 이상 반응의 전체 빈도는 BNT162b1 프라임 및 부스트 투여 후 비슷하였다. 발열, 두통, 피로, 권태감과 같은 일부 신체 이상반응은 젊은 성인에서 일차 투여 후보다 BNT162b1 추가 투여 후에 더 흔하게 발생하였다. 젊은 참가자와 달리, 고령 참가자는 BNT162b1 부스트 투여 후 증가된 반응원성을 나타내지 않았다.

[2397] BNT162b1 투여 전후에 서로 다른 치료 그룹에 걸쳐 참가자들 사이에서 혈압과 호흡수에 보고된 변화는 없었다. 백신접종 24시간 후 체온과 맥박의 일시적인 증가는 특히 30㎍ 용량 그룹에서 젊은 참가자와 고령자 참가자 모두에서 나타났다. 베이스라인에서 실험실 값의 가장 일반적인 이상은 림프구 및 혈소판 수의 일시적인 감소와 C-반응 단백질의 증가였다. 모든 검사실 이상은 자가 제한적이었고 임상 증상 없이 단기간에 해결되었다. 이러한 데이터는 다른 모집단에서 보고된 특정 결과와 일치한다(예: 본 문서의 다른 곳에서 설명한 대로).

[2398] **백신-유도된 항체 반응**

[2399] 모든 참가자는 베이스라인(1일차, 백신접종 전)에서 혈청 음성이었으며 SARS-CoV-2 중화 항체와 RBD 및 S1 단백질 결합 항체 분석을 통해 8일, 22일, 29일, 43일에 혈청 전환을 모니터링하였다. 백신접종 참가자의 BNT162b1 유도 항체 반응을 28명의 COVID-19 환자로부터 PCR 확인 진단 후 최소 14일 후에 얻은 인간 COVID-19 회복기 혈청 패널과 비교하였다. 가장 높은 중화 역가는 43일(즉, BNT162b1 추가 투여 후 21일)에 관찰되었으며, 이는 29일 이후 이 아시아인 참가자 그룹에서 지속적인 상승 추세를 나타내며, 43일에 이 아시아 집단의 고령 참가자에서 추가로 증가하는 것으로 보이는데, 이는 피크 역가가 초기에 발생하다가 이후에 가라앉는, 다른 집단의 보고와 비교되는 것이다. 43일째, 10㎍ 및 30㎍ BNT162b1 용량 수준은 두 번째 BNT162b1 용량에 의해 강화된 BNT162b1 프라임 용량 이후 유의한 바이러스 중화 항체 반응을 유도했으며, 기하 평균 역가(GMT)는 10㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 젊은 참가자의 경우 각각 232.9(95% CI 151.3~358.5) 및 254.0(184.6 내지 349.4), 고령 참가자에서 각각 80.0(49.2 내지 130.2) 및 160.0(96.7 내지 264.6)이었다(도 120). 10㎍ 및 30㎍ 용량 그룹의 젊은 참가자의 바이러스 중화 반응은 회복기 혈청 패널의 GMT의 1.9배 및 2.1배였다(GMT, 119.9; 95% CI, 70.4~203.9). 고령 참가자의 경우 해당 비율은 10㎍ 및 30㎍ 용량 그룹에서 각각 0.7배 및 1.3배였다. 모든 젊은 접종자들은 43일에 양성 혈청전환을 보였고, 혈청전환율은 43일에 고령 접종자에서 각각 10㎍ 용량에서 91%, 30㎍ 용량에서 96%였다. 30㎍ 용량을 받은 참가자는 10㎍ 용량을 받은 참가자보다 바이러스 중화 항체 반응이 다소 높은 것으로 나타났다. 그러나 65세에서 85세 사이의 고령 참가자는 일반적으로 18세에서 55세 사이의 젊은 참가자보다 바이러스 중화 반응이 더 느리고 피크 반응이 더 낮았다.

[2400] 마찬가지로, BNT162b1의 두 용량은 프라임-부스트 요법 후 참여자에서 높은 수준의 S1- 및 RBD-결합 IgG를 유도하였다. 백신접종자의 모든 시점에 걸쳐 백신접종 후 S1- 및 RBD-결합 IgG 수준은 연령 및 용량군에 관계없이 중화역가와 높은 상관관계를 보였고, 상관계수는 각각 0.85, 0.79(p<0·0001)였다.

[2401] **백신-유도된 T-세포 반응**

[2402] 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 사용한 직접 생체외 IFNγ 효소 결합 면역흡착점(ELISpot) 분석을 이용하여 BNT162b1로 면역화된 개인의 백신 유도 CD8+ T 세포 반응을, 프라이밍 백신접종 전(1일), 29일(추가 백신접종 후 7일) 및 43일(추가 백신 접* 후 21일)에 특성화하였다. 29일째에, Sp1 펩타이드 풀(RBD 포함)에 대한 특정 IFN-γ ELISpot 반응은 위약 그룹의 참가자보다 BNT162b1을 투여받은 참가자에서 상당히 더 높았다(도 121). 18

세에서 55세 사이의 젊은 참가자들은 10^5 PBMC 당 10㎍ 백신접종을 받은 사람들에서 평균 227.5(95%CI, 146.5~308.5), 30㎍ 백신 접Á을 받은 사람들에서 223.5(181.2~265.9)의 평균 반점 형성 세포를 가졌다. 65세에서 85세 사이의 고령 참가자의 경우 두 용량 그룹에 걸쳐 평균 156.5(84.1에서 229.0) 및 171.9(113.4에서 230.3)의 약간 더 낮은 반점 형성 세포가 백신접종 후 나타났다. 43일에 프라임-부스트 BNT162b1 요법을 받는 젊은 참가자는 29일에 나타난 것과 비교하여 S1 특이 IFN-ɣ ELISpot 반응이 약간 감소하는 경향이 있었다. 이 시점에서 이전 참가자로부터 혈액 샘플을 수집하지 않았으므로 이 데이터는 이용가능하지 않다. Sp2 펩타이드 풀(BNT162b1에 의해 인코딩된 RBD의 펩타이드는 포함하지 않음)에 대한 IFN-ɣ ELISpot 반응에 대해 BNT162b1과 위약 그룹 간에 차이가 관찰되지 않았으며 CD8+ T 세포에 대한 약간의 비특이적 반응이 두 용량 모두에서 관찰되었다.

[2403] ***논의***

[2404] 이 예에 설명된 시험은 여러 지역에서 다른 BNT162 백신 후보와 동시에 중국에서 수행되었다[14]. 연구의 초점 중 하나는 아시아인 집단에서 mRNA 백신의 안전성 및 면역원성에 관한 데이터를 확립하는 것이었다. 이 실시예는 중국인 집단, 더 나아가 더 젊고 나이 든 중국인 집단에서 이러한 mRNA 백신의 안전성 및 면역원성 프로필 모두의 첫 번째 평가를 보고한다.

[2405] 이것은 건강한 성인 중국 인구에게 투여된, SARS-CoV-2 RBD를 인코딩하는 변형된 RNA 기반 SARS-CoV-2 백신 후보 BNT162b1의 임상 시험에 대한 예비 보고서이다. BNT162b1은 BNT162b2(동일한 뉴클레오사이드 변형 플랫폼에서 파생된 S 단백질을 인코딩하는 modRNA)와 마찬가지로 강력한 백신 유도 항체 반응과 강력한 T 세포 반응을 유도한다. BNT162b1 및 BNT162b2 후보에 대한 임상적 안전성 및 면역원성은 독일인(젊은 성인, BNT162-01) 및 미국인(젊은 성인 및 65세에서 85세 사이의 고령자, BNT162-02) 집단 모두의 건강한 성인을 대상으로 평가되었다. 젊은 성인 그룹에서 7일 이내의 중증 국소 반응원성 AE는 독일 연구(BNT162-01)에 비해 미국 연구(BNT162-02)와 본 연구(BNT162-03)에서 더 적었다. 7일 이내의 전신 반응원성 AE는 연구 전반에 걸쳐 광범위하게 유사하였다. 2차 투여 후 28일 이내의 전신 AE(관련성과 무관함)는 BNT162-01 연구와 비교하여 BNT162-02 및 BNT162-03 연구에서 약간 더 높았다.

[2406] 고령자 그룹에서 7일 이내의 심각한 국소 반응성 AE는 연구 전반에 걸쳐 유사하였다. 7일 이내의 전신 반응원성 AE는 BNT162-01 및 BNT162-02 연구와 비교하여 BNT162-03 연구에서 약간 더 낮았다. 2차 투여 후 28일 이내에 전신 AE(관련성과 무관함)는 BNT162-02 연구와 비교하여 BNT162-03 연구에서 약간 더 높았지만, 중증 AE는 더 낮았다. 요약하면, 30㎍에서 BNT162-01, BNT162-02 및 BNT162-03 연구 간의 BNT162b1 안전성 프로필 비교 분석은 일반적으로 유사한 프로필을 보여주었고, 전신 반응성/고령자 집단에서는 비아시아인 집단에 비해 아시아인 집단에서 더 나은 안전성 프로필을 보였다. 따라서 여기에 보고된 발견은 독일과 미국에서 수행된 임상 시험에서 BNT162b1 및 기타 RNA 기반 백신 후보에 대한 보고를 보완하고 확장한다[7,8,15].

[2407] 이 연구의 이론적 근거는 독일인과 중국인 인구 사이의 내인성 및 외인성 차이가 이 새로운 유형의 백신에 대한 내약성 또는 면역 반응에 어떤 영향을 미치는지 여부를 평가하는 것이었다. 우리 연구에서 관찰된 건강한 중국 성인의 백신 후보 BNT162b1의 안전성 프로필은 국소 및 전신 반응에 의한 심각한 반응성 측면에서 다른 집단에서 보고된 것보다 더 나은 것으로 보이다[7,15]. 체질, 내인성 항체 레퍼토리가 영향을 미칠 수 있다. BNT162b1의 반응원성은 용량 의존적이었다. 프라임 백신접종 이후에 비해 부스트 백신접종 이후 이상사례 빈도가 증가했으며, 특히 젊은 참가자에서 그러했다. 고령자는 젊은 참가자보다 이상반응 발생률이 낮았다. 3등급 발열은 30㎍ 용량을 투여받은 젊은 참가자의 17%와 나이든 참가자의 8%에서 각각 보고되었다. 거의 모든 중증 발열 반응은 일시적이고 자가 제한적이었다. 한 참가자는 초기 용량 투여 후 반응으로 인해 부스트 백신 접Á을 중단했으며, 체온 기록이 있거나 없는 간헐적 열 또는 감기 불내성이 주사 부위 통증, 가려움증 및 가려움증을 동반했으며, 이는 2주 이상 지속되었고 하이드로코르티손 부티레이트 연고 사용 후 해소되었다. BNT162b1의 30㎍ 용량 수준에서 젊은 수용자에서 약력학 마커로서 림프구 수의 일시적인 감소가 주로 관찰되었으며, 이는 선천성 면역 자극에 의해 림프구 조직으로 림프구가 재분배되는 것과 관련이 있다[16].

[2408] 백신 후보 BNT162b1의 두 용량 모두 특정 체액성 및 세포성 면역 반응을 유도하는 데 효과적이었으며, 젊은 성인과 고령자 모두에서 발견되는 항체 역가에 대한 두 번째 백신접종의 명확한 부스트 효과가 있었다. 프라임-부스트 요법에 따라 30㎍ 용량으로 투여된 BNT162b1은 SARS-CoV-2에 대한 바이러스 중화 항체 측면에서 최적 수

준의 면역 반응을 유도했으며, 이는 나이를 불문하고 인간 회복기 혈청 샘플 패널보다 높았다. 중국 참가자의 체액 반응은 독특한 시간적 패턴을 보였고 두 연령대 모두에서 43일에 최고조에 달하였다. 참가자 수가 적고 발생할 수 있는 측정의 방법론적 차이가 관찰된 결과에 영향을 미칠 수 있지만 여기에 보고된 결과는 백신에 대한 반응에 인구 집단의 차이가 있을 수 있음을 시사한다.

[2409] 백신 후보 BNT162b1은 RBD의 삼량체 버전을 인코딩하는 변형된 RNA 백신이기 때문에, 본 실시예에서 보고된 연구에서 백신 수용자는 S1 펩타이드 풀(인간 SARS-CoV-2 바이러스의 166개의 15-mer S1 펩타이드 함유)에 특이적인 유의한 T 세포 반응을 입증하였으나, S2 펩타이드 풀에 대해서는 그렇지 않았다. 이러한 결과는 BNT162b1에 의해 유발된 세포 반응이 항원 특이적임을 시사하였다. 이와 대조적으로, 백신 후보 BNT162b2 스펙트럼은 다른 RNA 기반 SARS-CoV-2 백신과 다르며, T 세포 반응 유도는 S1 및 S2 펩타이드 풀을 모두 인식할 수 있다[15]. 그럼에도 불구하고, 데이터는 30㎍ 용량의 BNT162b1이 건강한 중국 성인에서 강한 체액 및 세포 매개 반응을 이끌어낼 수 있는 고도의 면역원성임을 보여주었다.

[2410] 당업자는 작은 샘플 크기 및 18세 이상의 연령 제한이 본 실시예에서 관찰된 발견의 결정적인 엄격함을 제한할 수 있음을 인식한다. 그럼에도 불구하고, 본원에 기술된 바와 같은 예방적 RNA 백신이 백신접종에 대한 새로운 접근법을 나타낸다는 점에서, 특정 집단(예를 들어, 어린이 및 청소년 집단)을 포함하는 안전성 평가는 특히 가치가 있다. 또한, 여기에 기술된 백신 후보에 의해 유도된 혈청 중화 반응과 인간 회복기 혈청 패널의 비교가 백신에 대한 의미 있는 평가를 제공하지만 COVID-19로부터 보호하는 데 필요한 혈청학적 면역 수준은 아직 엄격하게 확립되지 않았다[17]. 당업자는 또한 상이한 임상시험에서 사용된 인간 회복기 혈청 패널이 실험실 간에 표준화되지 않았음과, 따라서 환자 특성 및 수집 시점의 분포가 다를 수 있으므로 결과를 직접 비교(예: 다른 백신 후보의 특징 및/또는 다른 회복기 혈청과 관련된 백신 후보의 특징)하는 것이 유익하지 않을 수 있음을 인식할 것이다.

[2411] 요약하면, 본 실시예에 기술된 결과는 RNA 기반 SARS-CoV-2 백신 후보 BNT162b1의 용량 의존성 안전성과 우수한 면역원성 프로파일을 확인했으며 독일 및 미국 시험에서 BNT162b1에 대한 이전 연구 결과를 더욱 확장한다[7,8,15]. BNT162b1 30㎍과 젊은 성인과 노인 모두에서 증가된 반응성 및 보다 유리한 백신 유발 바이러스 중화 반응이 발견되었다. 이와 대조적으로, 동일한 플랫폼에서 제조된 또 다른 백신 후보 BNT162b2는 보다 유리한 안전성 프로필을 보여주었다[8]. BNT162b1은 전장 스파이크 면역원을 인코딩하는 BNT162b2와 비교하여 SARS-CoV-2의 잠재적인 항원 드리프트에 대해 덜 강력한 중화 항체의 좁은 스펙트럼을 유도할 수 있는 상대적으로 작은 RBD 면역원을 인코딩한다[18]. 후보 BNT162b2가 65세 이상에서 효능 감소 없이 참가자의 COVID-19 예방에 95% 이상 효과적인 것으로 밝혀졌다는 점은 주목할 가치가 있다[19].

[2412] ***방법***

[2413] **연구 설계 및 참가자**

[2414] 이 무작위, 위약 대조, 관찰자 맹검 1상 시험은 중국 장쑤성 타이저우에서 18세에서 59세 사이의 건강한 청년과 65세에서 85세 사이의 고령자를 대상으로 수행되었다. 참가자는 스크리닝 방문 시 병력, 신체 검사 및 실험실 검사를 통해 확립된 전반적으로 양호한 건강 상태였다. 남성과 여성 모두 포함되었으며 시험 기간 동안 피임을 사용하는 데 동의하였다. 임신 중이거나 모유 수유 중인 참가자는 제외하였다. SARS-CoV-2에 대한 IgM/IgG 항체에 대한 상용 신속 진단 키트(중국 주하이 소재 Livzon Diagnostics Inc. 제조) 또는 인두 면봉 핵산 진단 검사를 통해 SARS-CoV-2 양성 반응을 보인 참가자 테스트(Fosun pharma, Shanghai, China 제조)를 통해 SARS-CoV-2 양성으로 진단된 참가자는 제외되었다. 흉부 CT 스캔에 존재하는 COVID-19의 영상 특징은 추가적인 제외 기준이었다. 당뇨병, 고혈압, 인간면역결핍바이러스, B형 간염, C형 간염 등 심각한 심혈관 질환이나 만성 질환이 있는 참가자는 제외됐다. 연구 시작 전에 각 참가자로부터 서면 동의서를 얻었다.

[2415] 이 연구는 헬싱키 선언 및 임상 윤리 지침에 따라 수행되었다. 시험 프로토콜은 중국 국립 의약품 관리국과 장쑤성 질병 통제 예방 센터의 기관 검토 위원회에서 검토 및 승인되었다.

[2416] **무작위화 및 맹검**

[2417] 18세에서 55세 사이의 적격 참가자는 저연령 그룹에 등록되었고 65세 이상 85세 이하의 고령 참가자는 고연령 그룹에 등록되었다. 참가자는 저용량 BNT126b1 또는 고용량 BNT126b1 또는 위약을 투여하기 위해 1:1:1의 비율로 무작위 배정되었다. 참가자들은 웹 기반 대화형 응답 기술(IRT) 시스템을 사용하여 성별로 계층화되었다. 차

단된 무작위 목록은 SAS 소프트웨어(버전 9.4)를 사용하여 독립적인 통계학자가 생성하였다.

[2418] 승인된 비맹검 약사가 IRT 시스템을 통해 참가자 할당에 따라 백신 또는 위약을 준비하고 간호사는 참가자에게 조사 제품을 투여하였다. 비맹검 스태프는 시험에 더 이상 관여하지 않았으며 할당 정보를 다른 사람에게 공개하는 것이 금지되었다. 다른 모든 조사자, 참가자, 실험실 직원 및 후원자는 시험 내내 맹검 관리되었다.

[2419] **백신 및 백신접종**

[2420] 투여된 BNT162b1은 삼량체 SARS-CoV-2 스파이크 당단백질 RBD 항원을 인코딩하는 GMP(Good Manufacturing Practice) 등급 mRNA 약물 물질로 구성되었으며 RNA-LNP 약물 제품을 얻기 위해 지질로 제형화되었다. 백신은 근육내 주사를 위한 완충 액체 용액으로 수송 및 공급되었고, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같이 -80℃에서 저장되었다.

[2421] 저용량 BNT126b1과 고용량 BNT126b1은 유효성분을 각각 10㎍, 30㎍ 함유했고 위약은 시판 식염수를 사용했다. 각 참가자는 21일 간격으로 10㎍/0.5ml 또는 30㎍/0.5ml의 백신 후보 BNT162b1를 프라임-부스트 투여요법으로 또는 0.5ml의 위약을 삼각근에 투여받았다.

[2422] **안전성 및 면역원성 모니터링**

[2423] 각 참가자는 프라임 백신접종 전 및 24시간 후 혈액 샘플을 기증하기 위해 백신 투여 후 최소 6시간 동안 연구 현장에 남아있기를 요청받았고 실험실 테스트를 위한 부스트 백신접종 전 및 8일 후에 다시 요청되었다. 체온, 혈압, 맥박, 호흡률을 포함한 활력 징후는 베이스라인과 백신접종 후 1시간, 3시간 및 6시간 후에 측정되었다. 백신접종 이후의 모든 이상사례는 부스트 용량 투여 후 28일까지 일지를 사용하여 참가자에 의해 기록되었다. 젊은 그룹 참가자가 등록되어 먼저 백신접종을 받았다. 고령자 그룹의 등록은 프라임 백신접종 후 첫 14일 동안 저연령 그룹의 예비 안전성 데이터를 평가한 후 시작하였다. 이상사례 및 실험실 이상 변화의 심각도를 중국 식품의약국[20] 및 미국 식품의약국(FDA)[21]에서 발행한 척도로 등급을 매겼다.

[2424] RBD 및 스파이크 당단백질 S1에 대한 특이적인 IgG 항체 반응, SARS-CoV-2에 대한 중화 항체 및 T 세포 반응의 측정을 용이하게 하기 위해 백신접종 전, 부스트 투여 후 8일 및/또는 22일에 혈청 및 PBMC를 수집하였다.

[2425] 보고된 모든 이상사례는 조사관이 검토하였다. 이상사례는 백신 후보와 관련이 있을 가능성이 있거나 가능성이 있거나 확실히 관련이 있는 것으로 분류되었다.

[2426] **인간 회복기 혈청**

[2427] 중화 역가는 세포 변성 효과로부터 세포의 50% 이상을 보호하는 가장 높은 샘플 희석의 역수이다. SARS-CoV-2 감염에서 회복된 18~70세(평균 연령, 45.8세)의 기증자로부터 24개의 회복기 인간 혈청 샘플 패널을 얻었다; 폴리머라제 연쇄반응 확인 진단 후 최소 14일 및 증상 해소 후 샘플을 채취하였다. 이들 환자의 질병 중증도는 무증상(n=3, 13%), 경증(n=8, 33%), 중등도(n=10, 42%) 또는 중증(n=3, 13%)으로 다양하였다.

[2428] 기증자 서브그룹의 중화 기하 평균 역가(GMT)는 다음과 같았다: 무증상 감염이 있는 3명의 기증자에 대해 40; 경미한 감염이 있는 8명의 기증자의 경우 91.9; 중등도 감염자의 경우 160; 및 중증 감염이 있는 3명의 기증자에서 226.3. 패널의 각 혈청 샘플은 다른 기증자들로부터 채취되었다. 따라서 대부분의 혈청 샘플은 중등도의 Covid-19를 가진 사람에게서 얻었다. 회복기 혈청 샘플을 이 시험 참가자로부터 얻은 혈청 샘플과 비교하여 나란히 테스트하였다.

[2429] **ELISA**

[2430] 본 발명자들은 ELISA(효소-결합 면역흡착 분석법)를 사용하여 SARS-CoV-2 RBD 및 S1에 대한 결합 항체 반응을 평가하였다.

[2431] **미세중화 분석**

[2432] 본 발명자들은 SARS-CoV-2 바이러스 균주 BetaCoV/JS02/human/2020(EPI_ISL_411952)을 사용하여 생물안전성 레벨 3 실험실(BSL-3)에서 관찰된 세포병증에 기반한 미세중화 분석을 통해 혈청에서 SARS-CoV-2 특이적 중화 항체를 검출하였다.

[2433] **ELISpot**

[2434] 펩타이드에 대한 특정 T 세포 반응은 Mabtech(Nacka Strand, Stockholm, Sweden)에서 제조한 상업용 ex-vivo

interferon-γ(INF-γ) 효소 연결 Immunospot(ELISpot) 키트를 사용하여 평가하였다. PBMC는 신선한 혈액 샘플에서 분리되었고, 측정 전에 서로 다른 겹치는 펩타이드 풀로 자극되었다. RBD를 포함하여 SARS-CoV-2 스파이크의 N-말단 절반을 커버하는 S1 펩타이드 풀과 RBD를 포함하지 않고 SARS-CoV-2 스파이크의 C-말단을 커버하는 S2 펩타이드 풀을 연구에서 사용하였다[23]. 인간 사이토메갈로바이러스, 엡스타인-바 바이러스 및 인플루엔자 바이러스(CEF 펩타이드 풀)의 32개 MHC 클래스 I 제한 바이러스 펩타이드로 구성된 펩타이드 풀(CEF 펩타이드 풀)은 일반적인 T 세포 반응성을 평가하기 위해 CD8+ T 세포를 자극하는 데 사용되었다(SARS-CoV-2에 특이적이지 않음[224]).

[2435] **결과**

[2436] 이 실험의 1차 및 2차 목표는 건강한 중국 성인을 대상으로 후보 백신 BNT162b1의 안전성과 면역원성을 평가하는 것이었다. 안전성 평가를 위한 1차 종점은 백신접종 후 14일 이내에 주사 부위에서 요청된 국소 반응 또는 전신 이상 반응의 발생률과 부스트 용량을 투여받은 후 28일까지 면역화 후 이상사례였다. 베이스라인부터 백신접종 후 24시간 또는 7일까지의 모든 임상 실험실 이상 및 발생한 모든 심각한 이상사례(SAE)도 기록되었다.

[2437] 면역원성에 대한 2차 종점은 각 백신접종 후 8일, 22일에 측정된 기하 평균 역가(GMT), 혈청전환율, 바이러스 중화 항체의 배수 증가 및 S1 또는 RBD에 대한ELISA IgG 항체 결합이었다. 혈청전환은 베이스라인 또는 베이스라인 역가가 검출 한계 미만인 경우 하한값보다 항체 역가가 4배 이상 증가한 것으로 정의된다. ELISA의 혈청 희석은 1:100에서 시작했고, 미세 중화 분석의 혈청 희석은 1:10에서 시작하였다.

[2438] 부스트 투여 후 8일 및 22일에 1 x 10^5/웰의 농도로 PBMC 중에서 인터페론 감마(IFN-γ)를 분비하는 양성 세포의 수 측면에서 세포 면역 반응을 탐색적 종료점으로서 조사하였다.

[2439] **통계 분석**

[2440] 이 연구의 총 검체 크기는 144명의 참가자였으며 각 치료 그룹에는 각 연령 그룹의 24명의 참가자가 포함되었다. 백신접종 후 이상반응 발생률이 8%라는 가정에 기초하여, 각 용량 그룹의 24명의 참가자에게서 적어도 하나의 사례가 관찰될 확률은 86.5%였다.

[2441] 최소 1회 용량의 조사용 백신을 투여받은 모든 무작위 참가자가 안전성 분석에 포함되었다. 안전성 종점은 관찰 기간 동안 이상반응 또는 이상사례의 95% 신뢰구간(CI)을 갖는 빈도(%)로 기술되었다. 본 발명자들은 Chi-square 또는 Fisher exact를 사용하여 그룹 전체에서 이상반응 또는 이상사례가 발생한 참가자의 비율을 비교하였다. 최소 1회 이상의 백신접종을 받고 백신접종 전 또는 후에 혈청학적 측정 결과를 얻은 모든 참가자가 면역원성 분석에 포함되었다. 면역학적 종점은 지정된 시점에서 기술적으로 요약되었고 로그 변환된 항체 역가에 대한 ANOVA 또는 비정규 데이터에 대한 Wilcoxon 순위 합계 테스트를 사용하여 그룹 간에 비교되었다. 각 용량 그룹 참가자의 중화 항체 반응을 PCR 확진된 SARS-CoV-2 감염 환자의 반응과 비교하였다. 검출 하한 미만의 모든 혈청학적 값은 그 값의 절반(ELISA의 경우 1:50 및 미세중화 분석의 경우 1:5)으로 설정한 반면, 가장 높은 희석 역가 이상 보다 큰 값은 계산을 위해 가장 높은 희석 값으로 할당되었다. RBD 또는 S1 특이적 ELISA 항체 및 중화 항체의 Pearson 상관관계 분석을 수행하여 다양한 분석에 대한 반응 간의 관계를 평가하였다.

[2442] **참고문헌**

[2443] 1. Gudbjartsson, D.F., *et al.* Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population. *The New England journal of medicine* **382**, 2302-2315 (2020); see also WHO factsheet: https://covid19.who.int/.

[2444] 2. Huang, C., *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London, England)* **395**, 497-506 (2020).

[2445] 3. Jackson, L.A., *et al.* An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. *The New England journal of medicine* **383**, 1920-1931 (2020).

[2446] 4. World Health Organization. DRAFT landscape of COVID-19 candidate vaccines -3 November 2020. Vol. 2020 (2020).

[2447] 5. Corbett, K.S., *et al.* SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. *Nature* **586**, 567-571 (2020).

[2448] 6. Anderson, E.J., *et al.* Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older

Adults. *The New England journal of medicine* (2020).

[2449] 7. Mulligan, M.J., *et al.* Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature* **586**, 589-593 (2020).

[2450] 8. Walsh, E.E., *et al.* Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. *The New England journal of medicine* (2020).

[2451] 9. Wrapp, D., *et al.* Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science (New York, N.Y.)* **367**, 1260-1263 (2020).

[2452] 10. Guthe, S., *et al.* Very fast folding and association of a trimerization domain from bacteriophage T4 fibritin. *Journal of molecular biology* **337**, 905-915 (2004).

[2453] 11. Krammer, F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature* **586**, 516-527 (2020).

[2454] 12. O'Callaghan, K.P., Blatz, A.M. & Offit, P.A. Developing a SARS-CoV-2 Vaccine at Warp Speed. *Jama* **324**, 437-438 (2020).

[2455] 13. Poland, G.A., Ovsyannikova, I.G. & Kennedy, R.B. SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. *Lancet (London, England)* **396**, 1595-1606 (2020).

[2456] 14. Deming, M.E., Michael, N.L., Robb, M., Cohen, M.S. & Neuzil, K.M. Accelerating Development of SARS-CoV-2 Vaccines - The Role for Controlled Human Infection Models. *The New England journal of medicine* **383**, e63 (2020).

[2457] 15. Sahin, U., *et al.* COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and T(H)1 T cell responses. *Nature* **586**, 594-599 (2020).

[2458] 16. Kamphuis, E., Junt, T., Waibler, Z., Forster, R. Kalinke, U. Type I interferons directly regulate lymphocyte recirculation and cause transient blood lymphopenia. Blood 108, 3253-61 (2006).

[2459] 17. Hodgson, S.H., *et al.* What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. *The Lancet. Infectious diseases* (2020).

[2460] 18. Lan, J., *et al.* Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* **581**, 215-220 (2020).

[2461] 19. Pfizer Inc. Pfizer and BioNTech Announce Vaccine Candidate Against COVID-19 Achieved Success in First Interim Analysis from Phase 3 Study. Vol. 2020 (2020).

[2462] 20. Center For Drug Evaluation, NMPA. Guidances for grading adverse reactions in clinical trials of preventive vaccines. Vol. 2020 (2008).

[2463] 21. US Food and Drug Administration. Toxicity Grading Scale for Healthy Adult and Adolescent Volunteers Enrolled in Preventive Vaccine Clinical Trials. Vol. 2020 (2007).

[2464] 22. Slota, M., Lim, J.B., Dang, Y. & Disis, M.L. ELISpot for measuring human immune responses to vaccines. *Expert review of vaccines* **10**, 299-306 (2011).

[2465] 23. Buchan, S.A., *et al.* Effectiveness of Live Attenuated vs Inactivated Influenza Vaccines in Children During the 2012-2013 Through 2015-2016 Influenza Seasons in Alberta, Canada: A Canadian Immunization Research Network (CIRN) Study. *JAMA pediatrics* **172**, e181514 (2018).

[2466] 24. Victor, J.C., *et al.* Efficacy of a Russian-backbone live attenuated influenza vaccine among children in Senegal: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet. Global health* **4**, e955-e965 (2016).

표 24. 연령대별 참가자의 기본 특성.

	18~55세의 젊은 참가자			65-85세의 고령 참가자		
특성	10㎍	30㎍	위약	10㎍	30㎍	위약
참가자 수	24	24	24	24	24	24
연령, 평균(SD), 년	37.9(9.6)	39.7(9.0)	42.0(8.7)	70.5(5.0)	68.5(3.0)	70.7(4.4)
성별(여성)	12(50%)	12(50%)	12(50%)	12(50%)	12(50%)	12(50%)
체질량 지수, kg/m²	24.7(3.2)	23.0(2.7)	24.3(3.4)	24.0(3.0)	24.8(2.9)	23.5(2.5)
병력 또는 기존 장애						
심장 허혈	2(8%)	2(8%)	2(8%)	0	0	0
부비동 서맥	0	2(8%)	1(4%)	0	0	0
고요산혈증	3(13%)	1(4%)	1(4%)	3(13%)	2(8%)	2(8%)
비인두염	2(8%)	0	0	0	0	0

[2467]

혈액 요산 증가	2(8%)	1(4%)	1(4%)	0	0	0
고혈압	3(13%)	0	1(4%)	12(50%)	9(38%)	7(29%)
당뇨병	0	0	0	1(4%)	2(8%)	1(4%)
위 염증	0	0	0	0	0	2(8%)
기타*	3(13%)	5(21%)	1(4%)	3(13%)	3(13%)	4(17%)

데이터는 평균(SD) 또는 n(%)이다. * "기타" 는 편도염, 헬리코박터 감염, 인유두종 바이러스 감염, 치주염, 고전압 심전도, 림프절병증, 빈혈, 간낭종, 구강인두 불쾌감, 갑상선기능항진증, 비감염성 치은염, 고지혈증, 양성 전립선 비대증, 전립선염, 일측성 실명, 뇌경색, 사지 손상, 척추 기형, 요로 결석 및 림프절 병증을 포함한다.

[2468]

표 25A 연령 그룹별로 백신 접종 후 14일 이내에 요청된 이상사례 및 43일까지 요청되지 않은 이상사례.

	18~55세의 젊은 참가자				65-85세의 고령 참가자			
이상사례	10㎍ (n=24)	30㎍ (n=24)	위약 (n=24)	P 값	10㎍ (n=24)	30㎍ (n=24)	위약 (n=24)	P 값
14일 이내에 요청된 이상사례								
모든	21(88%)	24(100%)	4(17%)	<0.0001	21(88%)	23(96%)	2(8%)	<0.0001
3등급	3(13%)	9(38%)	0	0.0015	0	2(8%)	0	0.3239
주사부위 이상반응								
모든	21(88%)	24(100%)	2(8%)	<0.0001	18(75%)	21(88%)	0	<0.0001
3등급	0	0	0	-	0	0	0	-
통증	21(88%)	23(96%)	2(8%)	<0.0001	16(67%)	21(88%)	0	<0.0001
홍반	6(25%)	8(33%)	0	0.0059	3(13%)	4(17%)	0	0.1492
부종	5(21%)	7(29%)	0	0.0137	0	5(21%)	0	0.0091
경화	0	3(13%)	0	0.1018	0	1(4%)	0	1.0000

[2469]

전신 이상반응									
모든	17(71%)	22(92%)	3(13%)	<0.0001		9(38%)	19(79%)	2(8%)	<0.0001
3등급	3(13%)	9(38%)	0	0.0015		0	2(8%)	0	0.3239
발열*	14(58%)	21(88%)	1(4%)	<0.0001		7(29%)	19(79%)	1(4%)	<0.0001
3등급	3(13%)	9(38%)	0	0.0015		0	2(8%)	0	0.3239
두통	11(46%)	19(79%)	3(13%)	<0.0001		1(4%)	2(8%)	0	0.7682
피로	12(50%)	16(67%)	0	<0.0001		3(13%)	8(33%)	0	0.0045
불쾌	8(33%)	9(38%)	0	0.0013		2(8%)	4(17%)	1(4%)	0.4858
관절 통증	4(17%)	10(42%)	1(4%)	0.0067		0	1(4%)	0	1.0000
근육통	2(8%)	10(42%)	0	<0.0001		0	1(4%)	0	1.0000
오한	4(17%)	7(29%)	0	0.0118		1(4%)	4(17%)	0	0.1185
메스꺼움	3(13%)	3(13%)	0	0.2330		0	0	0	-
신경성 식욕 부진증	1(4%)	4(17%)	0	0.1185		0	3(13%)	1(4%)	0.3143
설사	2(8%)	1(4%)	1(4%)	1.0000		0	0	0	1.0000

[2470]

구토	0	2(8%)	0	0.3239		0	0	0	-

[2471]

표 25B(수정됨) "위약-보정된" AE 비율을 포함하는 연령군별 백신 접종 후 14일 이내에 요청된 이상사례 및 43일까지 요청되지 않은 이상사례.

	18~55세의 젊은 참가자							65-85세의 고령 참가자					
이상사례	10μg (n=24)	10μg (위약-AE 제외)	30μg (n=24)	30μg (위약-AE 제외)	위약 (n=24)	P 값		10μg (n=24)	10μg (위약-AE 제외)	30μg (n=24)	30μg 위약 - AE 제외)	위약 (n=24)	P 값
14일 이내에 요청된 이상사례													
모든	21 (88%)	17 (71%)	24 (100%)	20 (83%)	4 (17%)	<0.0001		21 (88%)	19 (79%)	23 (96%)	21 (88%)	2 (8%)	<0.0001
3등급	3(13%)	3(13%)	9(38%)	9(38%)	0	0.0015		0	0	2(8%)	2(8%)	0	0.3239
주사 부위 이상반응													
모든	21(88%)	19(79%)	24(100%)	22(92%)	2(8%)	<0.0001		18(75%)	18(75%)	21(88%)	21(88%)	0	<0.0001
3등급	0	0	0	0	0	-		0	0	0	0	0	-

[2472]

통증	21(88%)	19(79%)	23(96%)	21(88%)	2(8%)	<0.0001		16(67%)	16(67%)	21(88%)	21(88%)	0	<0.0001
홍반	6(25%)	6(25%)	8(33%)	8(33%)	0	0.0059		3 (13%)	3 (13%)	4 (17%)	4 (17%)	0	0.1492
부종	5(21%)	5(21%)	7(29%)	7(29%)	0	0.0137		0	0	5(21%)	5 (21%)	0	0.0091
경화	0	0	3(13%)	3(13%)	0	0.1018		0	0	1(4%)	1(4%)	0	1.0000
전신 이상반응													
모든	17(71%)	14(58%)	22(92%)	19(79%)	3(13%)	<0.0001		9(38%)	7(29%)	19(79%)	17(71%)	2(8%)	<0.0001
3등급	1(4%)	1(4%)	4(17%)	4(17%)	0	0.0015		0	0	2(8%)	2(8%)	0	0.3239
발열*	14(58%)	13(54%)	21(88%)	20(83%)	1(4%)	<0.0001		7(29%)	6(25%)	19(79%)	18(75%)	1(4%)	<0.0001
3등급	1(4%)	1(4%)	4(17%)	4(17%)	0	0.0015		0	0	2(8%)	2(8%)	0	0.3239
NMPA 기준 3등급	3(13%)	3(13%)	9(38%)	9(38%)	0	0.0015		0	0	2(8%)	2(8%)	0	0.3239
두통	11(46%)	8(33%)	19(79%)	16(67%)	3(13%)	<0.0001		1(4%)	1(4%)	2(8%)	2(8%)	0	0.7682

[2473]

[2474]

피로	12(50%)	12(50%)	16(67%)	16(67%)	0	<0.0001	3(13%)	3(13%)	8(33%)	8(33%)	0	0.0045
불쾌	8(33%)	8(33%)	9(38%)	9(38%)	0	0.0013	2(8%)	1(4%)	4(17%)	3(13%)	1(4%)	0.4858
관절 통증	4(17%)	3(13%)	10(42%)	9(38%)	1(4%)	0.0067	0	0	1(4%)	1(4%)	0	1.0000
근육통	2(8%)	2(8%)	10(42%)	10(42%)	0	<0.0001	0	0	1(4%)	1(4%)	0	1.0000
오한	4(17%)	4(17%)	7(29%)	7(29%)	0	0.0118	1(4%)	1(4%)	4(17%)	4(17%)	0	0.1185
메스꺼움	3(13%)	3(13%)	3(13%)	3(13%)	0	0.2330	0	0	0	0	0	-
신경성 식욕 부진증	1(4%)	1(4%)	4(17%)	4(17%)	0	0.1185	0	-1	3(13%)	2(8%)	1(4%)	0.3143
설사	2(8%)	1(4%)	1(4%)	0	1(4%)	1.0000	0	0	0	0	0	1.0000
구토	0	0	2(8%)	2(8%)	0	0.3239	0	0	0	0	0	-
28일 이내의 원치 않는 부작용												
모든	9(38%)	8(33%)	10(42%)	9(38%)	1(4%)	0.0046	4(17%)	2(8%)	9(38%)	7(29%)	2(8%)	0.0590
발열†	0	0	0	0	0	-	0	0	1(4%)	1(4%)	0	1.0000

[2475]

온도 불내성	2(8%)	2(8%)	6(25%)	6(25%)	0	0.0230	0	0	4(17%)	4(17%)	0	-
주사 부위 불편	3(13%)	3(13%)	4(17%)	4(17%)	0	0.1492	2(8%)	2(8%)	3(13%)	3(13%)	0	0.3580
주사 부위 소양증	2(8%)	2(8%)	3(13%)	3(13%)	0	0.3580	0	0	1(4%)	1(4%)	0	1.0000
주사 부위가 아닌 통증	1(4%)	1(4%)	1(4%)	1(4%)	0	1.0000	0	0	0	0	0	-
현기증	3(13%)	3(13%)	1(4%)	1(4%)	0	0.3142	0	0	3(13%)	3(13%)	0	0.1018
혈액 요산 증가	1(4%)	1(4%)	1(4%)	1(4%)	0	1.0000	2(8%)	0	1(4%)	-1	2(8%)	1.0000

데이터는 사례가 있는 참여자 수(%)로 표시된다. 3등급은 중증 반응(즉, 활동 방지)였다. SAE = 심각한 이상사례. 참가자는 특정 반응 범주에서 한 번만 계산되었으며 이상사례가 두 번 이상 발생하였다. 2명 이상의 참가자가 보고한 원치 않는 부작용만 나열하였다. * 해당 발열 참가자는 미국 식품의약국(FDA)의 지침에 따라 등급을 매겼다. 발열은 또한 겨드랑이 온도 ≥38.5 ℃ 로 3등급 열을 정의하는 중국 국립 의료 제품 관리국(National Medical Products Administration, NMPA)에서 발행한 백신 임상 시험에서의 부작용에 대한 등급 가이드라인에 따라 등급을 매겼다. †참가자 1명은 프라임 접종 후 주사 부위에 통증, 가려움증, 가려움증을 동반한 3등급 발열을 경험했고 선택적으로 부스트 접종을 중단하였다.

[2476] **실시예 33: BNT162b2 백신 유발 혈청에 의한 SARS-CoV-2 계통 B.1.1.7 슈도바이러스의 중화**

[2477] 2020년 9월 영국에서 SARS-CoV-2 변종 B.1.1.7이 발견되었으며 이후 유병률이 증가하고 전파력이 증가되어 다른 국가와 대륙으로 확산하였다. B1.1.7은 스파이크 단백질에 다음과 같은 일련의 돌연변이를 갖는다: ΔH69/V70, ΔY144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A 및 D1118H. 이들 중 하나인 N501Y는 수용체 결합 부위에 위치하기 때문에 특히 우려되었다. 이 돌연변이가 있는 스파이크는 세포 수용체인 ACE-2에 더 단단히 결합한다. 이 돌연변이가 있는 바이러스는 마우스를 포함하는 숙주 범위가 증가하였다. 순환 균주에서 발견된 다른 돌연변이가 있는 SARS-CoV-2 S를 각각 보유하고 있는 19개의 슈도바이러스는 BNT162b2-면역 혈청에 의해 비돌연변이 슈도바이러스만큼 효율적으로 중화되었다. 다음 연구는 영국 변형 스파이크에서 전체 돌연변이 세트를 가진 바이러스가 BNT162b2-면역 혈청에 의해 효율적으로 중화됨을 보여준다.

[2478] 본 발명자들은 우한 참조 변종 또는 계통 B.1.1.7 변종 스파이크 단백질을 포함하는 VSV-SARS-CoV-2-S 슈도바이러스를 생성하였다. 30 μg BNT162b2로 부스트 면역화 21일 후 8명의 저연령 성인(18-55세) 및 8명의 고령자(56-85세)로부터 채취된, 이전에 보고된 시험(Sahin U. et al., medRxiv 2020.12.09.20245175; doi: https://doi.org/10.1101/2020.12.09.20245175)에서의 16명의 참가자 혈청을, SARS-CoV-2 Wuhan 및 계통 B.1.1.7 스파이크 슈도타입 VSV의 중화에 대한 50% 슈도바이러스 중화 분석($pVNT_{50}$, 도 122)으로 시험하였다.

SARS-CoV-2 혈통 B.1.1.7 스파이크 슈도타입 VSV에 대한 혈청의 50% 중화 GMT 대 우한 참조 스파이크 슈도타입 VSV의 비율은 0.79로서, 이는 두 가지 슈도바이러스들에 대한 중화 활성에 생물학적으로 유의미한 차이가 없음을 가리킨다.

[2479] BNT162b2-면역 혈청에 의한 B.1.1.7 스파이크가 있는 슈도바이러스의 보존된 중화는 영국 변종 바이러스가 BNT162b2-매개 보호를 벗어나지 않을 것임을 시사한다. 또한 슈도타입 중화와 SARS-CoV-2 중화 분석 사이에 일치성이 높기 때문에 비복제 슈도바이러스 시스템의 사용이 이 연구에 대한 잠재적인 제한요소가 될 것으로 예상

되지는 않는다.

[2480] **재료 및 방법**

[2481] **VSV-SARS-CoV-2 S 변종 슈도바이러스 생성**

[2482] VSV-당단백질(VSV-G) 대신 녹색 형광 단백질(GFP)과 루시페라제를 인코딩하는 재조합 복제 결핍 수포성 구내염 바이러스(VSV) 벡터가, 간행된 슈도타이핑 프로토콜(도 123)(PMID: 21998709)에 따라 우한 참조 균주(NCBI Ref: 43740568) 또는 우려 변종(VOC)-202012/01(SARS-CoV-2 계통 B.1.1.7이라고도 함)으로부터 유래된 SARS-CoV-2 스파이크(S)에 슈도타이핑되었다. 요약하면, SARS-CoV-2 S를 발현하도록 형질감염된 HEK293T/17 단층에 VSV-G 보완 VSVΔG 벡터를 접종하였다. 37℃에서 1시간 동안 배양한 후, 접종물을 제거하였다. 잔류 VSV-G 보완 입력 바이러스를 중화하기 위해 항-VSV-G 항체(클론 8G5F11, Kerafast Inc.)가 보충된 배지를 첨가하기 전에 세포를 PBS로 세척하였다. VSV-SARS-CoV-2-S 슈도타입 함유 배지는 접종 20시간 후 수확하고 0.2μm 여과하여 -80℃에 보관하였다. 중화 시험에 사용하기 전에 슈도바이러스 뱃치를 Vero 76 세포에서 적정하고 감염 세포 백분율을 유세포 분석기로 구하였다(도 124). 개별 역가는 mL당 변환 유닛(TU)으로 계산되었다. 우한 참조 균주 또는 계통 B.1.1.7 균주 스파이크 단백질을 포함하는 VSV-SARS-CoV-2-S 슈도바이러스의 생산은 유사한 역가를 산출하였다(표 26).

표 26 . SARS-CoV-2 우한 참조 균주 및 계통 B.1.1.7 스파이크 슈도형 VSV의 역가(변환 단위(TU)/mL).

VSV 슈도바이러스 베어링	역가 [TU/mL]
우한 균주 SARS-CoV-2 S	1.59×10^5
계통 B.1.1.7 SARS-CoV-2 S	1.30×10^5

[2483]

[2484] **혈청 검체 및 중화 분석**

[2485] 면역화 및 혈청 수집 요법은 도 125에 도식적으로 예시되어 있다. 중화 역가를 측정하기 위해, 각각의 혈청을 배양 배지에서 1:20의 1차 희석으로 2배 연속 희석하였다(희석 범위 1:20 내지 1:2560). 분석에서 100TU를 얻기 위해 VSV-SARS-CoV-2-S 입자를 배양 배지에 희석하였. 혈청 희석액을 실온에서 30분 동안 슈도바이러스와 1:1로 혼합한 후 96-웰 플레이트의 Vero 76 세포 단층에 첨가하여 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 상등액을 제거하고 세포를 루시퍼라제 시약(Promega)으로 용해시켰다. 발광을 기록하고 중화 역가를 GraphPad Prism 버전 9에서 각 연속 혈청 희석에서 퍼센트 중화의 4-매개변수 물류(4PL) 맞춤을 생성하여 계산하였다. 50% 슈도바이러스 중화 역가($pVNT_{50}$)는 50% 발광 감소를 일으키는 희석의 보간 역수로서 보고되었다. 중화 역가의 표가 제공된다(표 27). SARS-CoV-2 계통 B.1.1.7 및 우한 참조 균주 스파이크 슈도타입 VSV에 대한 $pVNT_{50}$의 각 혈청에 대한 비율을 도 126에 나타내었다.

표 27 . SARS-CoV-2 우한 참조 균주 스파이크-유사형 및 계통 B.1.1.7 스파이크-유사형 VSV에 대한 16개의 BNT162b2 면역화 후 혈청의 $pVNT_{50}$ 값.

혈청 ID	$pVNT_{50}$		$pVNT_{50}$ 비율
	우한 참조	B.1.1.7	(B.1.1.7/우한 참조)
1	160	161.2	1.01
2	114.1	85.8	0.75
3	223.2	128.6	0.58
4	193	268.4	1.39
5	111.9	64.3	0.57
6	128	99.1	0.77
7	278.1	226.8	0.82
8	203.6	185	0.91
9	94.9	58.4	0.62
10	209.7	126.8	0.60
11	50.8	41.7	0.82
12	241.3	486.1	2.01
13	174	84.8	0.49
14	292.5	136.7	0.47
15	186.7	121.6	0.65
16	86.3	116.2	1.35

[2486]

[2487] **실시예 34: 임산부에서 SARS-CoV-2 RNA 백신 투여를 위한 예시적인 요법**

[2488] 본 실시예는 임산부(예: 18세 이상의 건강한 임산부)에서 본원에 기술된 SARS-CoV-2 RNA 백신(구체적으로, 본 실시예에서 BNT162b2)을 투여하기 위한 예시적인 요법을 설명한다.

[2489] 임산부는 SARS-CoV-2 감염 및 COVID-19에 걸릴 위험이 있다. 임신은 호흡기 감염에 대한 감수성을 증가시키고 이후 호흡 부전으로 빠르게 진행될 수 있는 임신 중 생리적 변화로 인해 중증 COVID-19의 위험이 증가할 수 있다. 또한 COVID-19에 걸린 임산부는 조산, 제왕절개, 태아 고통, 신생아 집중 치료가 필요한 영아의 비율이 더 높은 것으로 보고되었다.

[2490] 본 실시예는 BNT162b2가 임산부 및/또는 그러한 임산부에게서 태어난 영아에게 투여될 수 있는 특정 프로토콜을 기술하고, 또한 수행될 수 있는 특정 평가 및/또는 달성될 수 있는 결과를 기술한다. 예를 들어, 이 실시예는 임산부와 영아에서 BNT162b2의 안전성을 평가할 연구를 설명한다; 또한 임산부에서 BNT162b2의 면역원성, 영아에게 항체 전달, 영아에서 항체 전달 동역학을 평가할 것이다.

[2491] 무엇보다도, 본 실시예는 임신 24주 내지 34주에 백신을 접종한 18세 이상의 모계 참가자에게 투여했을 때 예방적 BNT162b2의 안전성 및 내약성을 평가할 연구를 설명한다. 특정 이론에 얽매이지 않고, 본 실시예는 이 기간 내에 시작하는 백신접종이 특별한 이점을 제공할 수 있음을 제안한다. 임신 중 언제든지 백신접종해도 된다는 제안(예: "Israel Recommends COVID Vaccination in All Stages of Pregnancy, Updating Guidelines" Haaretz February 1, 2021 참조)이 있는 반면 다른 이들은 임신 중 백신접종을 자제할 것을 제안했음을 인식하고(예:

예, WHO Strategic Advisory Group 권고), 본 실시예는 임산부가 임신 약 24주 내지 약 34주 사이, 또는 일부 실시예에서 약 27주 내지 약 34주 사이에 백신의 첫 번째 용량을 받고 21일 후, 이상적으로는 분만 전에 두 번째 백신 용량을 받는 특정 요법을 설명한다.

[2492] 임의의 특정 이론에 구애됨이 없이, 본 실시예는 이러한 요법에 따른 백신접종이 예를 들어 임신 초기에 면역화된 모체 면역 반응에 대한 노출로부터 야기될 수 있는 바와 같은 태아에 대한 위험을 감소시킬 수 있음을 제안한다. 또한, 여전히 특정 이론에 얽매이지 않고, 본 실시예는 제공된 백신접종 일정이 아기를 분만하기 전에 적어도 2회 용량이 투여될 때 특정 이점을 제공할 수 있음을 제안한다. 무엇보다도, 본 실시예는 제공된 요법이 특히 유리한 위험/이득 균형을 제공할 수 있음을 제안한다. 무엇보다도, 본 개시내용은 임산부의 면역화, 특히 본 실시예에 기재된 투여요법에 따른 이러한 면역화에 의해 제공될 수 있는 이점이, 일부 구체예에서 아기에게 면역력을 부여할 수 있다는 것, 분만 후 적어도 수일, 수주일, 수개월 또는 수년간(예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 이상, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 개월 이상, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5년 이상) 아기의 면역화 필요성을 감소시킬 수 있음을 시사한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같이, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 특정 요법에 따라 임신 중에 백신접종된 어머니로부터 태어난 영아는 출생 후 일정 기간(예컨대 본문에 명시된) 동안 추가 백신접종이 필요하지 않거나 백신접종 필요성이 감소될 수 있다(예를 들어, 더 낮은 용량 및/또는 더 적은 횟수).

[2493] 예를 들어, 각 백신 그룹에서 최소 1회 용량의 연구 개입을 받은 산모 참가자에서: (i) 각 투여 후 최대 7일 동안의 국소 반응 (ii) 각 투여 후 최대 7일 동안의 전신 반응 (iii) 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지의 AE (iv) 1차 투여부터 분만 후 1개월까지의 SAE를 보고한 산모 참가자의 비율을 평가한다. 대안적으로 또는 추가로, 특정 주요 프로토콜 기준(평가 가능한 산모 참가자)을 준수하고 과거 SARS-CoV-2 감염에 대한 혈청학적 또는 바이러스학적 증거(2차 투여 후 최대 1개월)가 없는 산모 참가자에서: (v) 임신한 여성에서의 SARS-CoV-2 중화 역가의 기하 평균 대 비임신 여성에서의 기하 평균의 비율에 의해 추정되는 GMR이 평가될 수 있다.

[2494] 또 다른 대안적 또는 추가적인 예에서, 주요 프로토콜 기준을 준수하고/하거나 과거 SARS-CoV-2 감염의 혈청학적 또는 바이러스학적 증거(2차 투여 후 7일 이내)가 있거나 없는(예컨대, 그러한 증거가 개별적으로 있거나 없는, 또는 독립적인) 산모 참가자(평가 가능한 참가자)에서: (vi) 100 × (1 - IRR) [위약에 대한 활성 백신의 비율]을 평가할 수 있다.

[2495] 대안적으로 또는 추가로, 다음 중 하나 이상이 평가될 수 있다.

[2496] - 각 백신 그룹의 주요 프로토콜 기준을 준수하는 산모 참가자(평가 가능한 산모 참가자)에서: (a) 베이스라인(1차 투여 전), 2차 투여 후 2주, 2차 투여 후 1개월, 및 분만 후 6개월에서의 GMC/GMT (b) 베이스라인부터 2차 투여 후 2주, 2차 투여 후 1개월 및 분만 후 6개월까지의 GMFR;

[2497] - 각 백신 그룹에서 최소 1회 용량의 연구 개입을 받은 산모 참가자에게서 태어난 영아 중: (a) 특정 출생 결과 (b) 출생부터 생후 1개월까지 AE (c) 6개월까지의 SAE 및 AESI(주요 선천성 기형, 발달 지연)을 갖는 영아의 비율;

[2498] - 각 백신 그룹의 평가 가능한 산모 참가자에게서 태어난 영아에서: (a) 출생시 및 분만 후 6개월의 GMC 및 GMFR;

[2499] - BNT162b2를 투여받은 산모 참가자(초기 무작위 배정 및 분만 후 1개월)에서: (a) 후속 조치의 1000인-년당 발생률;

[2500] - 이전의 SARS-CoV-2 감염 증거 없고 초기에 무작위로 BNT162b2를 투여 받은 산모 참가자들 중: (a) 후속 조치의 1000인-년당 발생률;

[2501] - 각 백신 그룹의 평가 가능한 산모 참가자의 각 하위 집합에서: (a) COVID-19 확진 (b) 중증 COVID-19 확진 (c) SARS-CoV-2 감염이지만 확인된 COVID-19 없음 (d) 베이스라인, 2차 투여 후 1개월 및 분만 후 6개월에서의 GMC/GMT;

[2502] - 평가가능한 산모 참가자 중: (a) 베이스라인 및 2차 투여 전 GMC/GMT (b) 베이스라인부터 2차 투여 전까지 GMFR;

[2503] - 각 백신 그룹의 산모 참여자에게서 태어난 영아에서, 모유수유 상태에 기초하여: (a) 출생시 및 분만 후 6개월의 GMC/GMT;

[2504] - 각 백신 그룹의 연구 개입 적어도 1차 투여를 받은 산모 참가자에게서 태어난 영아에서, 모유수유 상태에 기초하여: (a) 출생부터 생후 1개월까지 AE (b) 6개월까지의 SAE 및 AESI(주요 선천성 기형, 발달 지연)을 갖는 영아의 비율;

[2505] - 각 백신 그룹의 산모 참여자에게서 태어난 영아에서: (a) COVID-19가 확진된 영아 참가자의 발생률;

[2506] - 각 백신 그룹의 산모 참여자에게서 태어난 영아에서: (a) MIS-C의 발생률.

[2507] 일부 실시양태에서, 제1 용량은 임신 27주 내지 34주 동안 임산부에게 투여되고, 이어서 대략 21일 후에 제2 용량이 투여될 것이다. 일부 실시양태에서, 제1 용량은 임신 24주 내지 34주 동안 임산부에게 투여되고, 이어서 대략 21일 후에 제2 용량이 투여될 것이다. 일부 실시양태에서, 참가자 어머니는 최대 약 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18개월 또는 그 이상의 기간 동안 평가된다(예컨대 연구 개시 후, 제1 용량 투여 후, 제2 용량 투여 후, 및/또는 영아 출생 후).

[2508] 일부 실시양태에서, 1회 이상(예를 들어, 2회)의 백신 용량이 투여된(예를 들어, 임신 중에 2회 용량이 투여된) 산모에게서 태어난 영아는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 개월 이상(예컨대 연구 개시 후, 제1 용량 투여 후, 제2 용량 투여 후, 및/또는 영아 출생 후)의 기간 동안 평가된다.

[2509] 일부 구체예에서, 용량은 본원에 기술된 바와 같이 30㎍의 BNT162b2일 것이다.

[2510] 일부 실시양태에서, 백신 성능의 평가는 임의 연령 또는 특정 연령 범위(예를 들어, 18세 이상)의 임산부 집단에서 이루어진다. 일부 실시양태에서, 백신 성능의 평가는 단태 임신을 하는 여성 집단에서 이루어진다.

[2511] 일부 구체예에서, 재태 연령은 마지막 월경 기간, 초음파 검사, 신체 검사 및/또는 이들의 조합 중 하나 이상에 의해 평가된다. 일부 구체예에서, 재태 연령은 초음파에 의해 결정된다. 일부 구체예에서, 재태 연령은 2회 이상의 평가(예를 들어, 임신의 상이한 3분기와 같이 상이한 시기에 수행된 2회 이상의 초음파)를 고려하여 결정된다.

[2512] 일부 실시양태에서, 백신 성능의 평가는 다음 중 하나 이상을 특징으로 하는 집단에서 이루어진다: 유의한 태아 이상이 관찰되지 않는 임신 18주 이상에 수행되는 초음파 검사(예를 들어, 면허가 있는 조사관에 의한 평가시); 기록된 음성 HIV, 매독 및/또는 HBV 검사 또는 이들의 조합; 임신 전 BMI $\leq 40 kg/m^2$.

[2513] 일부 실시양태에서, 백신 성능의 평가는 다음 중 하나 이상을 특징으로 하는 대상체를 포함하지 않는 집단에서 수행된다: 백신접종의 위험을 증가시킬 수 있는 의학적 또는 정신과적 상태를 앓고 있거나 그렇지 않으면, 면허가 있는 조사자의 합리적인 판단에 따라 백신을 받기에 부적합한 것으로 판단된 피험자; COVID-19의 프레보피스(prevopis) 임상 또는 미생물학적 진단; 백신과 관련된 심각한 부작용 및/또는 백신 성분에 대한 심한 알레르기 반응(예: 아나필락시스)의 병력; 알려져 있거나 의심되는 면역결핍증; 출혈 체질 또는 장기 출혈과 관련된 상태, 임신성 고혈압 또는 자간전증-자간증, 태반 이상, 양수다한증 또는 양수과소증, 심각한 출혈 또는 혈액응고 장애, 임신성 당뇨병, 현재 임신 중 하나 이상의 조산 징후 또는 진행 중인 중재(의료 /외과적) 현재 임신에서 조산, 사산 또는 신생아 사망 이전, 저체중 출생 또는 조산 이전, 최소 3번의 유산 이전 병력, 5번 이상의 이전 임신, 알려진 유전 질환이 있는 이전 영아 또는 주요 선천성 기형, 이전에 코로나바이러스 백신접종, COVID-19 예방을 위한 의약품 수령, 연구 중재 시행 60일 전부터 혈액/혈장 제품 또는 면역글로불린 수령 또는 출산을 통한 계획 수령(1가지 예외, 언제든 투여가능한 항-D-면역글로불린(예: RhoGAM)), 현재 알코올 남용 또는 불법 약물 사용, 면역억제 요법으로 치료를 받는 참가자(예: 암 또는 자가면역 질환에 대한 세포독성제 또는 전신 코르티코스테로이드 포함, 또는 백신접종 후 채혈을 통해 계획된 수령), 연구 등록 및/또는 연구 참가 28일 전에 연구 개입을 포함하는 다른 연구에 참가, LNP를 포함하는 연구 개입과 관련된 다른 연구에 이전 참여, 현재 열성 질환, COVID-19 감염의 현재 증상, 지난 14일 동안 임의의 계절성 또는 범유행성 인플루엔자 백신접종, 연구 개입 투여 후 7일 이내에 예상되는 계절성 또는 대유행 인플루엔자 백신접종, 이전 14일 동안 파상풍, 디프테리아 및/또는 백일해 함유 백신접종, 연구 개입 투여 후 7일 이내에 예상되는 파상풍, 디프테리아, 및/또는 백일해 함유 백신접종, 투약 전 28일 미만의 단기(<14일) 전신 코르티코스테로이드 투여(흡입/분무, 관절내, 점액낭 내 또는 국소(피부 또는 눈) 코르티코스테로이드가 허용됨).

[2514] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같이 백신접종된 산모는 예를 들어 백신접종과 관련된 증상을 치료하기 위해 해열제 또는 기타 진통제를 복용 중이거나 복용을 시작할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 일부 실시예에서, 산모는 기존의 안정 상태의 치료 및/또는 코르티코스테로이드의 흡입, 국소 또는 국부 주사에 필요한 약물을 복용 중이거나 복용을 시작할 수 있다.

[2515] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같이 백신접종된 산모는 특히 임신이 조산의 위험이 있는 경우 하나 이상의 산전 코르티코스테로이드를 투여받을 수 있다. 일부 구체예에서, 코르티코스테로이드는 글루코코르티코이드이다. 일부 구체예에서, 코르티코스테로이드는 베타메타손 또는 프로게스테론, 또는 이들의 혼합물이다.

[2516] 일부 실시양태에서, 본 실시예에 기재된 바와 같은 백신접종은 백신을 접종하지 않은(예: 위약을 투여받은) 모집단에서 관찰된 것과 비교하여, 예를 들어 산모 및/또는 그들에게서 태어난 영아에서 COVID-19 질환(및/또는 문서화된 SARS-CoV-2 감염) 또는 중증 COVID-19 질환의 발병률을 감소시킨다. 일부 구체예에서, 산모는 다음 중 적어도 하나의 COVID-19 질병의 증상(발열, 새로운 또는 증가된 기침, 새로운 또는 증가된 숨가쁨, 새로운 또는 증가된 근육통, 새로운 미각 상실 또는 증가된 후각, 인후염, 설사, 구토 및/또는 일부 실시예에서 피로, 두통, 코막힘 또는 콧물, 메스꺼움)이 있고 중앙 검사실 또는 지역 검사 시설(허용 가능한 검사 사용)에서 증상 기간 도중 또는 그 이전 4일 이내 또는 이후에 SARS-CoV-2 NAAT 양성 검사가 나온 경우, COVID-19 질병에 걸린 것으로 간주된다. 일부 구체예에서, 어머니가 COVID-19가 확진되고 다음 중 하나 이상이 존재하는 경우 어머니는 중증 COVID-19 질환이 있는 것으로 간주된다:

[2517] - 안정 중에 심각한 전신 질환을 나타내는 임상 징후(RR ≥30 호흡/분, HR ≥125회/분, SpO2 ≤93% 해수면 기준 실내 공기, 또는 PaO2/FiO2 <300mmHg);

[2518] - 호흡 부전(고유량 산소, 비침습적 환기, 기계 환기 또는 ECMO);

[2519] - 쇼크의 증거(SBP <90mmHg, DBP <60mmHg 또는 승압제 필요)

[2520] - 심각한 급성 신부전, 간부전 또는 신경학적 기능부전*;

[2521] - ICU 입원

[2522] - 사망.

[2523] 일부 구체예에서, 영아는 적어도 하나의 증상(발열, 신규 또는 증가된 기침, 신규 또는 증가된 숨가쁨, 설사, 구토; 및/또는 일부 구체예에서 코막힘 또는 콧물, 식욕 부진 또는 수유 불량, 복통/배앓이 중 하나 이상)이 있고, 중앙 검사실 또는 지역 검사 시설(허용 가능한 검사 사용)에서 증상 기간 도중 또는 그 이전 4일 이내 또는 이후에 SARS-CoV-2 NAAT 양성 검사가 나온 경우, COVID-19 질병에 걸린 것으로 간주된다. 일부 구체예에서, 영아는 COVID-19가 확진되고 다음 중 하나 이상이 존재하는 경우 어머니는 중증 COVID-19 질환이 있는 것으로 간주된다:

[2524] (i)안정 중에 심각한 전신 질환을 나타내는 임상 징후:

[2525] - RR(호흡/분): 생후 1주~1주 사이에 >50, 생후 1주~1개월에 ≥40, 1개월에서 6개월 사이의 ≥34;

[2526] - HR(비트/분): >180;

[2527] - 실내 공기의 SpO2 ≤92% 또는 ≥92%를 유지하기 위한 >50% FiO2 또는 PaO2/FiO2 <300 mm Hg24;

[2528] (ii) 호흡 부전(비강 CPaP/BiPaP, 비침습적 환기, 기계 환기 또는 ECMO를 필요로 하는 것으로 정의됨);

[2529] (iii) 쇼크 또는 심부전의 증거:

[2530] - SBP(mmHg)(연령에 대한 5 백분위수 미만):

[2531] + 출생부터 1주까지 <65, 1주부터 1개월까지 <75, 1개월부터 6개월까지 <100;

[2532] 또는

[2533] -혈압을 정상 범위로 유지하기 위해 혈관 작용 약물 필요

[2534] (iv) 유의한 급성 신부전: 혈청 크레아티닌 > 연령에 비해 ULN가 2배 또는 베이스라인 크레아티닌이 2배 증가;

[2535] (v) 심각한 GI/간부전: 총 빌리루빈 >4 mg/dL 또는 연령에 비해 ALT 2배 ULN;

[2536] (vi) 심각한 신경학적 기능 장애: Glasgow Coma Scale 점수 <11 또는 Glasgow Coma Scale 점수가 비정상 베이스라인으로부터 3점 이상 감소한 정신 상태의 급성 변화;

[2537] (vii) ICU 입원;

[2538] (viii) 사망

[2539] 일부 실시양태에서, 다기관 염증 증후군의 발병률은 기재된 바와 같이 어머니가 백신접종된 경우인 영아에서 (예를 들어, 어머니가 백신접종되지 않은, 및/또는 본원에 기재된 프로토콜에 따라 백신접종되지 않은 비교 집단에 비해) 유의하게 증가하지 않는다. 일부 구체예에서, 영아는 다음과 같은 경우 다기관 염증 증후군이 있는 것으로 간주된다:

[2540] - 영아가 발열(≥24시간 동안 ≥38.0℃ 또는 ≥24시간 지속되는 주관적 발열); **및**

[2541] - 비제한적인 예로서 다음 중 하나 이상을 포함하는 실험실 염증 증거(현지 검사실 범위 기준): 증가된 CRP, ESR, 피브리노겐, 프로칼시토닌, D-다이머, 페리틴, LDH 또는 IL-6, 증가된 호중구, 감소된 림프구 및 낮은 알부민; **및**

[2542] - 다기관(≥2) 장기 침범과 함께 입원이 필요한 임상적으로 심각한 질병의 증거가 있는 경우(중증 질병에 대해 위에서 언급한 정의):

[2543] o 심장(예: 쇼크, 상승된 트로포닌, 상승된 BNP, 비정상적인 심초음파, 부정맥);

[2544] o 신장(예: 급성 신장 손상 또는 신부전);

[2545] o 호흡기(예: 폐렴, ARDS, 폐색전증);

[2546] o 혈액학적(예: 상승된 D-이량체, 혈전성향증 또는 혈소판감소증);

[2547] o GI/간(예: 상승된 빌리루빈, 상승된 간 효소 또는 설사);

[2548] o 피부과(예: 발진, 피부 점막 병변);

[2549] o 신경학적(예: CVA, 무균성 수막염, 뇌병증); **및**

[2550] - 그럴듯한 대체 진단이 없는 경우; **및**

[2551] - 영아가 RT-PCR, 혈청학 또는 항원 검사를 통해 현재 또는 최근 SARS-CoV-2 감염에 대해 양성 판정을 받은 경우 **또는**

[2552] - 영아는 증상이 나타나기 전 4주 이내에 COVID-19에 노출된 경우.

[2553] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 산모의 백신접종은 영아 이환율의 조산 발생률을 실질적으로 증가시키지 않는다.

[2554] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같이 어머니가 백신접종을 받은 영아의 COVID-19 질환(및/또는 기록된 SARS-CoV-2 감염)의 발생률은 어머니가 백신접종을 받지 않은 영아의 발생률에 비해 감소한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같이 어머니가 백신접종을 받은 유아의 COVID-19 질환(및/또는 기록된 SARS-CoV-2 감염)의 발병률은 분만 후 직접 백신접종을 받은 유아의 발병률에 필적한다.

[2555] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 백신접종은 하기 1차 또는 2차 결과 척도 중 하나 이상을 달성한다:

[2556] **주요 결과 척도:**

[2557] 1. 국소 반응을 보고한 산모 참가자의 비율:

[2558] 주사 부위의 통증, 발적, 부종은 전자 다이어리에 자가 보고

[2559] [기간: 1차 및 2차 투여 후 7일간]

[2560] 2. 전신 반응을 보고한 산모 참여자의 비율

[2561] 발열, 피로, 두통, 오한, 구토, 설사, 새로운 또는 악화된 근육통, 새로운 또는 악화된 관절통이 전자 다이어리에 자가 보고됨

[2562] [기간: 1차 및 2차 투여 후 7일간]

[2563] 3. 이상사례를 보고한 산모 참가자의 비율

[2564] 조사 현장 직원이 도출한 바와 같음

[2565] [기간: 1차 투여부터 2차 투여 후 1개월까지]

[2566] 4. 심각한 부작용을 보고한 산모 참여자의 비율

[2567] 조사 현장 직원이 도출한 바와 같음

[2568] [기간: 1차 투여부터 출산 후 6개월까지]

[2569] 5. 과거 SARS-CoV-2 감염의 증거가 없는 C4591001 연구에서 임신하지 않은 여성 참가자와 비교하여 임산부의 면역 반응이 열등하지 않음을 입증.

[2570] GMR, 임산부의 SARS CoV 2 중화 역가 대 임신하지 않은 여성 참가자의 기하 평균 비율로 추정

[2571] [기간: 2차 투여 후 1개월]

[2572] 6. 이전 SARS-CoV-2 감염 증거 유무에 관계없이 C4591001 연구에서 임신하지 않은 여성 참가자와 비교하여 임산부의 면역 반응이 열등하지 않음을 입증

[2573] GMR, 임산부의 SARS CoV 2 중화 역가 대 임신하지 않은 여성 참가자의 기하 평균 비율로 추정

[2574] [기간: 2차 투여 후 1개월]

[2575] 2차 결과 측정:

[2576] 7. 백신접종 전 감염 증거가 없는 참여자를 대상으로 코로나19 확진에 대한 효능 평가

[2577] 1000인년의 후속 조치[기간: 2차 투여 후 7일]

[2578] 8. 사전 감염 증거가 없는 참가자의 COVID 19 확인에 대한 효능을 평가한다.

[2579] 1000인년의 후속 조치

[2580] [기간: 2차 투여 후 7일]

[2581] **실시예 35: BNT162b2 백신 유발 인간 혈청에 의한 SARS-CoV-2 계통 B.1.1.298(덴마크 균주; 일명 SARS-CoV-2/hu/DK/CL-5/1(클러스터 5)) 및 B.1.351(남아프리카 계균주: 일명, 20H/501Y.V2 (501.V2)) 슈도바이러스의 중화**

[2582] 이전에 보고된 독일 1/2상 시험에서 30㎍ BNT162b2로 추가 접종 후 7일 또는 21일에 추출된 12명의 젊은 성인 참가자의 혈청을, 50% 중화 분석(pVNT50)에 의해, SARS-CoV-2 우한 Hu-1(참조), 남아프리카 계통 B.1.351(SA-균주) 및 덴마크 밍크 관련 계통 B.1.1.298(DNK-변종) 스파이크 단백질 슈도타입 VSV의 중화에 대해 시험하였다. SA-균주 스파이크 단백질은 우한 참조와 비교하여 다음의 아미노산 변화를 갖는다: L18F, D80A, D215G, L242-244, R246I, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V. DNK-균주 스파이크 단백질은 우한 참조와 비교하여 다음과 같은 아미노산 변화를 수반한다: Y453F, D614G, I692V, M1229I.

[2583] BNT162b2-면역 혈청은 SARS-CoV-2 Wuhan Hu-1 슈도타입 참조만큼 효율적으로 DNK-균주 슈도바이러스를 중화하였다. SARS-CoV-2 계통 B.1.351 유사 바이러스에서 중화 역가가 감소(5배)된 것으로 측정되었다. 중요한 것은, 시험된 모든 BNT162b2-면역 혈청이 완전한 탈출 없이 여전히 중화가능하다는 것이었다(도 127).

[2584] 재료 및 방법:

[2585] VSV-당단백질(VSV-G) 대신에 녹색 형광 단백질(GFP)과 루시페라제(Luc)를 인코딩하는 재조합 복제 결핍 VSV 벡터를, 공개된 슈도타이핑 프로토콜에 따라, Wuhan-Hu-1 분리 SARS-CoV-2 스파이크(S)(GenBank: QHD43416.1), 덴마크 밍크 관련 계통 B.1.1.298의 S 단백질에서 발견된 4가지 돌연변이(Y453F, D614G, I692V, M1229I)를 포함하는 변종, 또는 남아프리카 계통 B.1.351 S 단백질에서 발견되는 10개의 돌연변이(L18F, D80A, D215G, R246I, Δ242/243/244, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V)를 포함하는 변종으로, 슈도타이핑시켰다. 요약하면, C-말단 세포질의 19개 아미노산의 절단된 각각의 SARS-CoV-2 S(SARS-CoV-2-S(CΔ19))를 발현하도록 형질감염된 HEK293T/17 단층에 VSVΔG-GFP/Luc 벡터를 접종하였다. 37℃에서 1시간 동안 배양한 후, 접종물을 제거하고 세포를 PBS로 세척한 후 항-VSV-G 항체(클론 8G5F11, Kerafast)가 보충된 배지를 첨가하여 잔류 입력 바이러스를 중화시켰다. VSV-SARS-CoV-2 슈도바이러스 함유 배지는 접종 20시간 후 수집하여 0.2㎛ 여과하고 -80℃에서 보관하였다.

[2586] 슈도바이러스 중화 분석을 위해 40,000개의 Vero 76 세포를 96-웰당 시딩하였다. 혈청을 1:10 희석(1:10 내지

1:2,560의 희석 범위)으로 시작하여 배양 배지에서 1:2로 연속 희석하였다. VSV-SARS-CoV-2-S 슈도입자는 이 분석에서 ~1,000 TU의 형광 초점 단위(ffu) 카운트를 위해 배양 배지에서 희석되었다. 혈청 희석액을 96-웰 플레이트의 Vero 76 세포 단층에 첨가하기 전에 슈도바이러스와 1:1로 실온에서 30분간 혼합하고 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 상등액을 제거하고 세포를 루시퍼라제 시약(Promega)으로 용해시켰다. 발광을 기록하고 중화 역가를 GraphPad Prism 버전 9에서 각 연속 혈청 희석에서 퍼센트 중화의 4-매개변수 물류(4PL) 맞춤을 생성하여 계산하였다. 50% 슈도바이러스 중화 역가(pVNT50)는 50% 발광 감소를 일으키는 희석의 보간 역수로서 보고되었다.

[2587] **실시예 36: BNT162b2 백신 유발 혈청에 의한 N501Y 돌연변이 SARS-CoV-2의 중화**

[2588] 빠르게 확산되는 SARS-CoV-2 변종이 영국과 남아프리카에서 발생하였다(Volz E. et al. Report 42 - Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. https://www.imperial.ac.uk/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-42-sars-cov-2-variant/; Tegally H. et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Afric. medRxiv 2020. https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640). 이러한 변이체는 바이러스 중화 항체의 주요 표적인 S 당단백질에 다중 돌연변이를 가지고 있다. 빠르게 확산되는 이들 변종은 스파이크 N501Y 치환을 공유한다. 이 돌연변이는 세포 진입을 위한 바이러스 수용체 결합 부위에 위치하고, 수용체(안지오텐신 전환 효소 2)에 대한 결합을 증가시키고, 바이러스가 마우스를 감염시키기 위해 숙주 범위를 확장할 수 있게 하기 때문에 특히 우려된다(Gu H. et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. Science 2020;369:1603-7; Chan K.K. et al. An engineered decoy receptor for SARS-CoV-2 broadly binds protein S sequence variants. Cold Spring Harbor Laboratory 2020.doi: 10.1101/2020.10.18.344622).

[2589] 본 발명자들은 N501 임상 균주 USA-WA1/2020의 유전적 배경에서 동종원성(isogenic) 유전자 Y501 SARS-CoV-2를 생성했으며, 이는 BNT162b2로 인코딩된 스파이크 항원의 유전적 배경도 제공하였다. 이전에 보고된 임상시험(Walsh E.E. et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. N Engl J Med 2020; Polack F.P. et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. N Eng. J Med 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa2034577) 참가자 20명의 혈청을 3주 간격으로 2회 30㎍ 용량의 BNT162b2로 면역화 후 2주 또는 4주에 채취하여 50% 플라크 감소 중화 분석($PRNT_{50}$; 도 128)에 의해 N501 및 Y501 바이러스의 중화에 대해 테스트하였다. Y501 바이러스에 대한 혈청의 50% 중화 GMT 대 N501 바이러스에 대한 그것의 비율은 1.46이었으며, 이는 Y501 스파이크가 있는 바이러스에 대한 중화 활성의 감소가 없음을 나타낸다.

[2590] **재료 및 방법**

[2591] **동종원성 바이러스의 작제**

[2592] 본 발명자들은 N501 또는 Y501 스파이크 단백질을 포함하는 SARS-CoV-2의 동종원성 유전자 쌍을 준비하였다(도 129). N501Y 돌연변이는 임상 균주 WA1(2019-nCoV/USA_WA1/2020)의 감염성 cDNA 클론을 사용하여 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 23,063에서 A에서 T로의 치환에 의해 생성되었다(Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3). 이전에 보고된 돌연변이 유발 프로토콜(Plante J.A. et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020)에 따라 N501 및 Y501 바이러스를 ml당 $>10^7$ PFU(플라크 형성 유닛)의 역가로 회수하였다. 이들 두 가지 바이러스는 Vero E6 세포에서 유사한 플라크 형태를 발달시켰다(도 130).

[2593] **혈청 검체 및 중화 분석**

[2594] 면역화 및 혈청 수집 요법을 도 131에 도식적으로 나타내었다. 중화 역가를 측정하기 위해, 각각의 혈청을 배양 배지에서 1:40의 1차 희석(희석 범위 1:40 내지 1:1280)으로 2배 연속 희석하였다. 희석된 혈청을 100 PFU의 N501 또는 Y501 바이러스와 함께 37℃에서 1시간 동안 배양한 후 혈청-바이러스 혼합물을 6-웰 플레이트의 Vero E6 세포 단층에 접종하였다. 이전에 보고된 바와 같이 (Muruato A.E. et al. A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. Nat Commun 2020;11:4059) 혈청 매개 바이러스 억제를 정량화하기 위해 기존의(비형광) 플라크 감소 중화 분석을 수행하였다. 바이러스 플라크의 >50%를 억제하는 최소 혈청 희석이 $PRNT_{50}$으로 정의된다. 중화 역가 표가 제공된다(표 28). N501 및 Y501 바이러스에 대한 $PRNT_{50}$의 각 혈청에 대한 비율을 도 132에 나타내었다.

표 28 . N501 및 Y501 SARS-CoV-2에 대한 20개의 BNT162b2 면역화 후 혈청의 $PRNT_{50}$ 값.

혈청 ID	$PRNT_{50}$		$PRNT_{50}$ 비율 (Y501/N501)
	N501	Y501	
1	160	640	4
2	160	320	2
3	320	640	2
4	80	160	2
5	160	160	1
6	320	320	1
7	640	640	1
8	160	160	1
9	640	640	1
10	640	1280	2
11	160	640	4
12	320	320	1
13	640	1280	2
14	640	320	0.5
15	320	640	2
16	320	640	2
17	640	640	1
18	640	1280	2
19	640	640	1
20	640	640	1

[2595]

[2596] **실시예 37: BNT162b2 백신 유발 혈청에 의한 스파이크 69/70 결실, E484K 및 N501Y SARS-CoV-2의 중화**

[2597] 빠르게 확산되는 SARS-CoV-2 변종이 영국(UK), 남아프리카(SA) 및 기타 지역에서 발생하였다(Volz E. et al. CMe. Report 42 - Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. https://wwwimperialacuk/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-42-sars-cov-2-variant/ 2021; Tegally H. et al. e. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa medRxiv 2020. :https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640). 이들 변종은 바이러스 중화 항체의 핵심 표적인 스파이크 당단백질에 다중 돌연변이를 가지고 있다. 출현한 스파이크 돌연변이는 이러한 새로운 변종에 대한 백신 효능에 대한 우려를 낳고 있다. 이 연구의 목표는 BNT162b2 백신 유발 중화에 대한 영국 및 SA 균주의 몇 가지 주요 스파이크 돌연변이의 영향을 조사하는 것이다.

[2598] 본 발명자들은 새로 출현한 영국(UK) 및 남아프리카(SA) 변종으로부터 주요 스파이크 돌연변이를 포함하는 다음의 3개의 SARS-CoV-2를 설계하였다: 영국 및 SA의 N501Y; 영국의 69/70-결실+N501Y+D614G; 및 SA의 E484K+N501Y+D614G. 3개의 돌연변이 바이러스에 대한 20개의 BTN162b2-백신접종된 인간 혈청의 중화 기하 평균 역가(GMT)는 모친 바이러스에 대해 GMT의 0.81 내지 1.46배였으며, 이는 2 BNT162b2 용량에 의해 유발된 혈청에 의한 중화에 대해 작은 돌연변이 효과가 있음을 가리킨다.

[2599] SARS-CoV-2의 감염성 cDNA 클론(Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3)을 사용하여 우리는 임상 균주 USA-WA1/2020의 유전적 배경에 3 가지 스파이크 돌연변이 바이러스를 조작하였다. (i) 돌연변이 N501Y 바이러스는 UK 및 SA 변이체 모두에 의해 공유되는 N501Y 돌연변이를 포함한다. 이 돌연변이는 세포 진입을 위해 바이러스 수용체 결합 도메인(RBD)에 위치하며 수용체(안지오텐신 전환 효소 2)에 대한 결합을 증가시키고 바이러스가 숙주 범위를 확장하여 마우스를 감염시킬 수 있게 한다(Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3; Wrapp D. et al.

Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science 2020;367:1260-3). (ii) 돌연변이 Δ69/70+N501Y+D614G 바이러스는 UK 변종에 대해 2개의 추가적인 변화를 포함한다: 아미노산 69 및 70 결실(Δ69/70) 및 D614G 치환. 아미노산 69와 70은 스파이크 S1 단편의 N-말단 도메인에 존재한다; 이들 잔기의 결실은 스파이크의 형태를 알로스테릭하게 변경할 수 있다(Wrapp D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science 2020;367:1260-3). D614G 돌연변이는 전 세계 순환 변종에서 지배적이다(Plante JA et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020; Korber B. et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. Cell 2020). (iii) 돌연변이 E484K+N501Y+D614G 바이러스는 바이러스 RBD에도 위치한 E484K 치환을 포함한다. E484K 치환만으로 여러 모노클로날 항체에 대한 내성이 부여되다(Ku Z. et al. Molecular determinants and mechanism for antibody cocktail preventing SARS-CoV-2 escape. Nat Commun 2021;12:469; Baum A. et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. Science 2020;369:1014-8). 야생형 USA-WA1/2020 균주와 비교하여, 이들 3 가지 돌연변이 바이러스는 Vero E6 세포에서 유사한 플라크 형태를 보였다(도 134).

[2600] 본 발명자들은 이전에 보고된 임상 시험(Walsh EE et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. N Engl J Med 2020; Polack FP et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. N Engl J Med 2020)에 따라 20명의 참가자로부터 3주 간격으로 BNT162b2의 2회 30-μg 투여량으로 면역화 후 2주 또는 4주에 채취한, 인간 혈청 패널을 테스트하였다(도 135). 각각의 혈청을 50% 플라크 감소 중화 검정($PRNT_{50}$; 표 29 및 30)에 의해 야생형 USA-WA1/2020 균주 및 3개의 돌연변이 바이러스의 중화에 대해 시험하였다.

표 29 . 야생형(USA-WA1/2020) 및 돌연변이 N501Y SARS-CoV-2에 대한 20개의 BNT 162b2 면역화 후 혈청의 $PRNT_{50}$

혈청 ID	$PRNT_{50}$		$PRNT_{50}$ 비율
	WT	N501Y	(N501Y/WT)
1	160	640	4
2	160	320	2
3	320	640	2
4	80	160	2
5	160	160	1
6	320	320	1
7	640	640	1
8	160	160	1
9	640	640	1
10	640	1280	2
11	160	640	4
12	320	320	1
13	640	1280	2
14	640	320	0.5
15	320	640	2
16	320	640	2
17	640	640	1
18	640	1280	2
19	640	640	1
20	640	640	1

[2601]

표 30. 야생형(USA-WA1/2020), Δ69/70+N501Y+D614G 및 E484K+N501Y+D614G SARS-CoV-2에 대한 20개의 BNT162b2 면역화 후 혈청의 $PRNT_{50}$

혈청 ID	$PRNT_{50}$			$PRNT_{50}$ 비율	
	WT	Δ69/70+N501Y+D614G	E484K+N501Y+D614G	Δ69/70+N501Y+D614G/WT	E484K+N501Y+D614G/WT
1	320	640	320	2	1
2	160	160	80	1	0.5
3	640	1280	640	2	1
4	160	160	80	1	0.5
5	320	320	320	1	1
6	640	640	640	1	1
7	640	1280	320	2	0.5
8	320	320	160	1	0.5
9	1280	1280	1280	1	1
10	640	1280	640	2	1
11	320	320	320	1	1
12	640	1280	320	2	0.5
13	1280	2560	1280	2	1
14	320	320	320	1	1
15	320	640	320	2	1
16	640	640	640	1	1
17	640	1280	640	2	1
18	320	640	320	2	1
19	640	640	320	1	0.5
20	640	1280	640	2	1

[2602]

[2603] 모든 혈청은 야생형과 돌연변이 바이러스 사이에 4배 이하의 차이로 동등한 중화 역가를 나타냈다(도 136). 특히, 20개의 혈청 중 10개의 돌연변이 Δ69/70+N501Y+D614G 바이러스에 대한 중화 역가는 야생형 바이러스에 대한 역가의 2배였고(도 136b), 20개의 혈청 중 6개의 E484K+N501Y+D614G 바이러스 돌연변이에 대한 중화 역가는 야생형 바이러스에 대한 역가의 절반이었다(도 136c). USA-WA1/2020 바이러스에 대한 GMT에 대한 N501Y, Δ69/70+N501Y+D614G 및 E484K+N501Y+D614G 바이러스에 대한 혈청의 중화 GMT의 비율은 각각 1.46, 1.41 및 0.81이었다(도 137). 회복기 또는 면역화 후 혈청에 의한 변형 SARS-CoV-2 또는 해당 유사 바이러스의 중화에 대한 다른 최근 보고서(Wibmer CK et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. bioRxiv 2021:doi: https://doi.org/10.1101/2021.01.18.427166; Wang Z. et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. bioRxiv 2021:doi: https://doi.org/10.1101/2021.01.15.426911)와 일치되게, SA 변이체(E484K+N501Y+D614G)로부터 3개의 돌연변이가 있는 바이러스에 대한 혈청 패널의 중화 GMT는 N501Y 바이러스 또는 영국 변이체로부터 3개의 돌연변이가 있는 바이러스(Δ69/70+N501Y+D614G)에 대한 중화 GMT보다 약간 낮았다. 그러나 인플루엔자 백신의 균주 변경에 대한 잠재적 필요성을 알리기 위해 사용된 적혈구 응집 억제 역가의 4배 차이에 비해 이 연구에서 바이러스에 대한 중화 GMT의 차이 크기는 작았다(Smith DJ et al. Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. Science 2004;305:371-6).

[2604]

[2605] **방법**

[2606] **동종원성 바이러스의 작제**. 이전에 보고된 PCR 기반 돌연변이 유발 프로토콜(Plante JA et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020)에 따라 3개의 재조합 SARS-CoV-2 돌연변이체(스파이크 단백질의 N501Y, Δ69/70-N501Y+D614G, E484K+N501Y+D614G)를 임상 균주 WA1(2019-nCoV/USA_WA1/2020)에서 파생된 감염성 cDNA 클론의 유전적 배경에서 준비하였다(Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3). 전체 길이의 감염성 cDNA를 시험관 내에서 결찰하고 전체 길이의 바이러스

RNA를 전사하기 위한 주형으로 사용하였다. 돌연변이 바이러스(P0)는 체외 RNA 전사체의 전기천공 후 Vero E6 세포에서 2일째에 회수되었다. P1 바이러스는 Vero E6 세포에서 P0 바이러스를 한 번 계대 배양하여 스톡으로 수확하였다. P1 바이러스의 역가는 Vero E6 세포에 대한 플라크 분석으로 결정되었다. P1 바이러스의 게놈 서열은 Sanger 시퀀싱으로 검증되었다. 상세한 프로토콜은 최근에 보고되었다 (Xie X. et al. Engineering SARS-CoV-2 using a reverse genetic system. Nature Protocols 2021:https://doi.org/10.1038/s41596-021-00491-8).

[2607] **혈청 검체 및 중화 분석.** 면역화 및 혈청 수집법은 도 135에 개략적으로 예시되어 있다. 이전에 보고된 바와 같이(Muruato AE et al. A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. Nat Commun 2020;11:4059), 혈청-매개 바이러스 억제를 정량화하기 위해 통상적인 (비형광) 플라크 감소 중화 검정을 수행하였다. 간략하게, 각 혈청은 1:40의 첫 번째 희석(1:40 내지 1:1280의 희석 범위)으로 배양 배지에서 2배 연속 희석되었다. 희석된 혈청을 야생형 또는 돌연변이 바이러스의 100 플라크 형성 유닛과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양한 후 혈청-바이러스 혼합물을 6-웰 플레이트의 Vero E6 세포 단층에 접종하였다. 37℃에서 1시간 감염 후, 2% 소 태아 혈청(FBS) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(P/S)을 함유하는 Dulbecco's 변형 Eagle 배지(DMEM)에 2% Seaplaque 한천(Lonza) 2ml를 세포에 첨가하였다. 배양 2일 후, 2% FBS, 1% P/S 및 0.01% 뉴트럴 레드(Sigma)를 포함하는 DMEM에 2% Seaplaque 한천(Lonza) 2ml를 첫 번째 층 위에 추가하였다. 37℃에서 16시간 더 배양한 후 플라크 수를 세었다. 플라크 수의 50%를 억제하는 최소 혈청 희석은 50% 플라크 감소 중화 역가($PRNT_{50}$)로 정의된다. 각각의 혈청을 이중으로 테스트하였다. $PRNT_{50}$ 분석은 University of Texas Medical Branch의 생물안전성 레벨 3 시설에서 수행되었다.

[2608] **실시예 38: BNT162b2-유도 혈청의 중화 활성**

[2609] 영국(B.1.1.7 계통), 남아프리카(B.1.351 계통), 브라질(P.1 계통)에서 처음 발견된, S 유전자에 돌연변이가 있는 새로운 고전염성 SARS-CoV-2 변종이 전 세계적으로 확산되고 있다. BNT162b2에 의해 유발된 중화에 대한 효과를 분석하기 위해, 본 발명자들은 2020년 1월부터 바이러스의 비교적 초기 분리주인 USA-WA1/2020으로 이들 세 가지 새로운 계통 각각의 S 돌연변이를 조작하였다(도 138). 이후 본 발명자들은 5종의 재조합 바이러스를 생산하였다. 첫 번째는 B.1.1.7 계통의 S 유전자에서 발견된 모든 돌연변이를 가지고 있었고(B.1.1.7-스파이크), 두 번째는 P.1 계통의 S 유전자에서 발견된 모든 돌연변이를 가졌으며(P.1-스파이크), 세 번째는 B.1.351 계통의 S 유전자에서 발견된 모든 돌연변이를 가지고 있었고(B.1.351-spike), 네 번째는 B.1.351 계통에서 발견된 N-말단 도메인 결실과 세계적으로 우세한 D614G 치환을 가지고 있었으며(B.1.351-Δ242-244+D614G), 다섯 번째는 수용체 결합 부위에 B.1.351 계통의 세 가지 돌연변이(K417N, E484K 및 N501Y)와 D614G 치환을 가졌다(B.1.351- RBD+D614G). B.1.351-RBD+D614G 바이러스에서 돌연변이된 아미노산 잔기는 또한 P.1 계통 바이러스에서 돌연변이된 것 중 하나이지만, P.1 계통 바이러스에서는 K417이 아스파라긴이 아닌 트레오닌으로 돌연변이되었다. 모든 돌연변이 바이러스는 밀리리터당 10^7 플라크 형성 단위를 초과하는 감염성 바이러스 역가를 산출하였다. B.1.1.7-스파이크 및 B.1.351-스파이크 바이러스는 다른 바이러스보다 작은 플라크를 형성하였다(도 139).

[2610] 본 발명자들은 30 ㎍의 BNT162b2를 2차 투여(1차 투여로부터 3주 후에 실시)한지 2주 또는 4주 후 중추적 임상시험(Polack FP et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. N Engl J Med 2020; 383: 2603-15; Walsh EE et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. N Engl J Med 2020; 383: 2439-50)에 참가한 15명의 참가자로부터 수득한 20개의 혈청 샘플을 이용하여 50% 플라크 감소 중화 테스트($PRNT_{50}$)를 수행하였다(도 140). 모든 혈청 샘플은 USA-WA1/2020을 효율적으로 중화했으며 거의 모든 샘플의 역가가 1:40보다 높았다. USA-WA1/2020, B.1.1.7-스파이크, P.1-스파이크, B.1.351-스파이크, B.1.351-242-244+D614G, 및 B.1.351-RBD+D614G 바이러스에 대한 기하 평균 중화 역가는 각각 532, 663, 437, 194, 485 및 331이었다(도 141 및 표 31). 따라서 USA-WA1/2020의 중화와 비교할 때 B.1.1.7-스파이크 및 P.1-스파이크 바이러스의 중화는 거의 동일했으며 B.1.351-스파이크 바이러스의 중화는 여전히 왕성하였으나 ~2.7배 더 낮았다. 본 발명자들의 데이터는 또한 돌연변이의 서브세트가 있는 바이러스보다 B.1.351 스파이크 돌연변이의 전체 세트가 있는 바이러스에 대한 중화 역가가 더 낮다는 것과도 일치하며 수용체 결합 부위의 돌연변이(K417N, E484K 및 N501Y)가, 스파이크 단백질의 N-말단 도메인의 242-244 결실보다 더 중화에 영향을 미친다는 것을 시사한다.

[2611] BNT162b2 유도 혈청에 의한 B.1.1.7-스파이크 및 P.1-스파이크 바이러스의 중화는 대략 USA-WA1/2020의 중화와 동등하기 때문에 이 중화 데이터는 BNT162b2가 영국이나 브라질에서 처음 발견된 변이체에 대한 보호를 지속할

것임을 강력히 시사한다. B.1.351 계통 바이러스에 대한 보호도 예상되는데, 이는 강력한 효능이 중추적인 C4591001 효능 시험(Polack FP et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. N Engl J Med 2020;383:2603-15; Walsh EE et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. N Engl J Med 2020;383:2439-50; Sahin U et al. BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans. December 11, 2020 (https://www.-medrxiv.-org/-content/-10.-1101/-2020.-12.-09.-20245175v1) preprint.)에서 이미 관찰된 경우 이 변이체에 대한 중화 역가가 다소 낮지만 BNT162b2 1회 투여 후 관찰된 간신히 감지할 수 있는 역가보다 여전히 견고하고 훨씬 높기 때문이다. 또한, T 세포 면역은 보호에도 관여할 수 있으며(Liao M et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. Nature Medicine 2020/), BNT162b2 면역화는 여러 변종을 인식하는 CD8+ T 세포 반응을 유도한다(Skelly DT et al. Vaccine-induced immunity provides more robust heterotypic immunity than natural infection to emerging SARS-CoV-2 variants of concern. Research Square 2021).

[2612] **재료 및 방법**

[2613] **동종원성 바이러스의 작제**. 스파이크 돌연변이가 있는 모든 재조합 SARS-CoV-2(도 138)를 임상 균주 USA-WA1/2020(Xie X et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3)에서 유래된 감염성 cDNA 클론의 유전적 배경에서 준비하였다. 돌연변이를 앞서 보고된 바와 같이(Plante JA et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2895-3; Xie X et al. Neutralization of SARS-CoV-2 spike 69/70 deletion, E484K and N501Y variants by BNT162b2 vaccine-elicited sera. Nat Med 2021. doi: 10.1038/s41591-021-01270-4) PCR 기반 돌연변이 유발 프로토콜을 사용하여 스파이크 유전자에 도입하였다. 전체 길이의 감염성 cDNA를 결찰하고 시험관 내에서 전체 길이의 바이러스 RNA를 전사하기 위한 주형으로 사용하였다. 원래의 바이러스 스톡(P0)은 시험관 내에서 전사된 RNA의 전기천공 후 2일째에 Vero E6 세포로부터 회수되었다. P0 바이러스는 중화 분석을 위한 P1 바이러스를 생산하기 위해 다른 라운드 동안 Vero E6 세포에서 증식되었다. P1 바이러스의 역가는 Vero E6 세포에 대한 플라크 분석에 의해 측정되었다(도 139). P1 바이러스의 완전한 스파이크 서열은 USA-WA1/2020 서열로부터 의도된 뉴클레오타이드 변화만을 갖는 것으로 Sanger 시퀀싱에 의해 확인되었다. 상기 실험의 상세한 프로토콜이 최근에 보고되었다 A detailed protocol of the above experiments was recently reported (Xie X et al. Engineering SARS-CoV-2 using a reverse genetic system. Nature Protocols 2021:https://doi.org/10.1038/s41596-021-00491-8).

[2614] **혈청 검체 및 중화 분석**. 도 140은 면역화 및 혈청 수집 계획을 예시한다. 이전에 보고된 바와 같이(Muruato AE et al. A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. Nat Commun 2020;11:4059) 혈청 매개 바이러스 억제를 정량화하기 위해 통상적인 50% 플라크 감소 중화 시험($PRNT_{50}$)을 수행하였다. 간략하게, 개별 혈청을 1:40의 시작 희석(희석 범위 1:40 내지 1:1280)으로 배양 배지에서 2배 연속 희석하였다. 희석된 혈청을 100 PFU의 USA-WA1/2020 또는 돌연변이 SARS-CoV-2와 함께 배양하였다. 37℃에서 1시간 배양 후 혈청-바이러스 혼합물을 전날 6-웰 플레이트에 미리 접종된 Vero E6 세포의 단일층에 접종하였다. 바이러스 플라크의 >50%를 억제하는 최소 혈청 희석이 $PRNT_{50}$으로 정의된다. 중화 역가는 표 31에 제시되어 있다.

표 31. USA-WA1/2020 및 돌연변이 SARS-CoV-2에 대한 20개의 BNT162b2 면역화 후 혈청의 $PRNT_{50}$

혈청 ID	*$PRNT_{50}$												
	USA-WA1/2020				B.1.1.7 스파이크	P.1 스파이크			B.1.315-스파이크			B.1.351-Δ242-244 + D614G	B.1.351-RBD +D614G
	Exp1	Exp2	Exp3	GMT		Exp1	Exp2	GMT	Exp1	Exp2	GMT		
1	320	320	320	320	640	320	320	320	160	160	160	320	320
2	160	160	160	160	160	80	80	80	40	40	40	160	80
3	640	640	640	640	640	640	640	640	320	320	320	640	640
4	160	320	320	254	320	320	320	320	80	160	113	160	80
5	320	320	320	320	640	320	320	320	160	160	160	320	320
6	320	640	640	508	320	640	320	453	160	160	160	320	160
7	1280	640	640	806	1280	640	1280	905	320	320	320	1280	1280
8	320	320	320	320	320	160	160	160	80	80	80	160	160
9	1280	1280	1280	1280	1280	1280	640	905	640	640	640	1280	1280
10	640	640	1280	806	1280	640	320	453	640	320	453	1280	640
11	320	320	320	320	640	320	320	320	80	160	113	320	160
12	640	640	640	640	640	640	320	453	160	160	160	320	320
13	1280	1280	1280	1280	1280	640	640	640	160	320	226	1280	640
14	320	320	640	403	320	320	160	226	160	80	113	320	160
15	640	640	640	640	640	1280	640	905	320	320	320	640	320
16	320	320	640	403	1280	640	320	453	160	320	226	640	320
17	1280	1280	1280	1280	1280	1280	640	905	320	320	320	1280	640
18	640	640	640	640	640	640	320	453	160	320	226	320	320
19	640	640	640	640	640	1280	640	905	320	320	320	640	640
20	640	640	640	640	1280	640	320	453	160	160	160	640	320
† GMT	502	520	577	532	663	520	368	437	184	204	194	485	331
# 95% CI	371-680	401-674	443-751	409-693	497-884	372-726	275-491	325-589	133-255	151-276	144-261	345-681	228-480

[2615]

*USA-WA1/2020의 데이터는 세 가지 실험에서 얻은 것이다. B.1.1.7-스파이크, B.1.351-Δ242-244+D614G 및 B.1.351-RBD-D614G 바이러스에 대한 데이터는 각각 하나의 실험에서 얻은 것이다; P.1-스파이크 및 B.1.351-스파이크 바이러스에 대한 데이터는 두 가지 실험에서 얻은 것이다. 각각의 독립적인 Exp에 대해 개별 $PRNT_{50}$ 값은 중복 플라크 분석 결과의 기하 평균이다. 중복 분석 간에는 차이가 관찰되지 않았다.

† 기하 평균 중화 역가.

[2616] # GMT에 대한 95% 신뢰 구간(95% CI).

[2617] **실시예 39: BNT162b2-유도된 CD4+ 및 CD8+ T-세포 반응의 지속성**

[2618] BNT162b2에 의해 유도된 T 세포 반응의 지속성을 결정하기 위해 10~30㎍의 용량 수준에 걸쳐 24명의 피험자 서브세트에서 제85일과 제184일(각각 부스트 접종후 9주 및 23주 후)에 수집된 샘플을 분석하였다. 184일째 및 초기 수축 후, CD4+ 및 CD8+ T-세포 반응 모두 테스트된 세 가지 용량 수준에 걸쳐 대부분의 개체에서 검출 가능하였다. 10㎍ BNT162b2로 백신을 접종한 4명의 고령자 피험자에게서 관찰된 CD4+ 및 CD8+ 반응의 동역학은 젊은 성인 피험자와 필적하였으며, S 단백질 특이적 CD4+ T 세포는 부스트 접종 23주 후 4명의 피험자 모두에서 여전히 검출되었다. BNT162b2 유도된 CD4+ 및 CD8+ 반응은 회상 항원 기억 반응보다 더 높거나 그 반응 범위 내에 있었다(도 142).

[2619] **실시예 40: BNT162b2에 의해 유도된 CD8 T-세포에 의해 인식되는 MHC-1 결합 에피토프**

[2620] MHC-클래스 I 다량체 기술을 사용하여 S 단백질의 전체 길이에 걸쳐 퍼져 있고 공통의 HLA-A 및 HLA-B 대립유전자의 조합으로 제시된 여러 에피토프가 BNT162-b2에 의해 유도된 CD8+ T 세포에 의해 인식되는 것으로 확인되었다(부스트 접종 7일 후 측정됨). 일부 펩타이드/HLA 조합은 두 명 이상의 피험자에게서 발견되었다.

표 32 . BNT162b2에 의해 유도된 CD8 T-세포에 의해 인식되는 MHC-I 결합 에피토프

HLA	에피토프	S단백질에서의 위치	확인된 대상체 수
B35:01	LPFNDGVYF	84-92	1
A03:01	GVYFASTEK	89-97	1
A02:01	YLQPRTFLL	269-277	3
B35:01	QPTESIVRF	321-329	1
A26:01	CVADYSVLY	361-369	1
B15:01	CVADYSVLY	361-369	1
A03:01	KCYGVSPTK	378-386	2
A24:02	NYNYLYRLF	448-456	3
B15:01	FQPTNGVGY	497-505	1
B35:01	IPFAMQMAY	896-904	1
A02:01	RLQSLQTYV	1000-1008	2
A68:01	GTHWFVTQR	1099-1108	1
C04:01	VYDPLQPEL	1137-1145	1
A24:02	QYIKWPWYI	1208-1216	3
A24:02	KWPWYIWLGF	1211-1220	1

[2621]

[2622] **실시예 41: BNT162b2 투여 후 조직학적 소견**

[2623] 주사 후 6시간 및 6일에 마우스 조직에서 BNT162b2의 생체분포를 조사하기 위해 고전적 발색 면역조직화학(IHC) 및 발색 이중 IHC-ISH(in situ hybridization) 실험을 수행하였다.

[2624] 프로토콜

[2625] 채취 후 조직을 4% RotiHistofix에 밤새 4℃에서 고정하고 Leica Tissue Processor에서 탈수 후 파라핀 왁스에 포매한다. Chromogenic IHC를 수행한다. 스파이크 단백질은 항-스파이크2 마우스 모노클로날 항체(Genetex)로 검출된다. 이중 IHC-ISH 분석은 회사 키트 및 시약을 사용하여 Advanced Cell Diagnostics의 문서 MK 51-149를 기반으로 자체 확립된 프로토콜에 따라 수행된다. ISH용 BNT162b2 프로브(modV9)는 TRON에서 제공한 시퀀스를 기반으로 Advanced Cell Diagnostics에서 맞춤 설계하였다. 면역 세포 마커 CD11c(Cell Signaling), CD19(Cell Signaling), CD169(Thermo Fisher) 및 F4/80(Cell Signaling)에 대한 IHC 프로토콜이 TRON에 있었고 이를 프로젝트를 위한 이중 IHC-ISH 분석에 적용하였다. Vectra Polaris Multispectral Slide Scanner 현미경(Akoya Bioscience)을 사용하여 이미지를 획득하고 PhenoChart 소프트웨어(Akoya Bioscience)로 분석하였다.

[2626] 결과

[2627] 도 143에서 볼 수 있는 바와 같이, 이중 IHC-ISH 검정에서 modV9 프로브를 사용하여 주입 6시간 후 림프절(LN)에서 특정 백신 mRNA 신호(적색)가 검출된다. 백신은 대부분 피막하동(LN 9번 및 5번 위치) 및 B 세포 소낭(LN 12번 및 1번 위치)에 국한된다. 수지상 세포는 CD11c 염색(청록색, 위 이미지)으로 가시화되며 일부만이 백신을 흡수한다. 대부분의 CD169+ 대식세포(낭하 부비동 대식세포, 청록색, 중간 이미지)는 백신에 대해 양성이다. B 세포(CD19+, 청록색, 하단 이미지)는 백신 신호를 나타내는 두 번째 주요 집단이다.

[2628] 특이적인 백신 mRNA 신호가 이중 IHC-ISH 분석에서 modV9 프로브를 사용하여 주사 후 LN 6d에서 여전히 검출 가능하지만, 매우 소량이다(데이터는 표시되지 않음). 일부 CD11c+ DC와 피막하 부비동 대식세포는 백신에 대해 양성이다. 검출된 대부분의 백신 신호는 B 세포(CD19+)에 있다.

[2629] 도 144에서 볼 수 있는 바와 같이, 이중 IHC-ISH 검정에서 modV9 프로브를 사용하여 주사 6시간 후 비장에서 특정 백신 mRNA 신호(적색)가 검출된다. 대부분의 백신 신호는 백색 펄프에서 검출된다. 수지상 세포는 CD11c 염색(청록색, 위 이미지)으로 가시화되며 일부만이 백신을 흡수한다. F4/80+ 대식세포(청록색, 중간 이미지)의 작은 부분이 백신을 흡수한다. B 세포(CD19+, 청록색, 하단 이미지)는 백신 신호를 나타내는 주요 집단이다.

[2630] 특이적인 백신 mRNA 신호가 이중 IHC-ISH 분석에서 modV9 프로브를 사용하여 주입 후 6d에 비장에서 여전히 검

출 가능하지만 매우 소량이다(데이터는 표시되지 않음). 검출된 백신 신호는 B 세포(CD19+)에만 존재한다. DC 및 대식세포는 주사 6일 후 백신 신호를 나타내지 않는다.

[2631] 6시간 후, 마우스 항-S2 마우스 단클론 항체를 사용하여 본 발명자들은 근육, 특히 일부 근육 섬유와 결합 조직 주변 조직에서 신호를 감지하였다. LN에서 우리는 T 세포 구역에서 스파이크 단백질을 발현하는 세포를 검출하였다(데이터는 표시되지 않음).

[2632] 6일 후, 마우스 항-S2 마우스 단클론 항체를 사용하자, 근육에서 스파이크 발현이 검출되지 않는다. 이와 반대로 LN은 백신을 발현하는 세포로 가득 차 있다(데이터는 표시되지 않음).

[2633] 발색성 IHC 실험에서 S2 마우스 단클론 항체로는 비특이적 염색이 검출되지 않았다.

[2634] 요약

[2635] 주사 6시간 후에 배액 LN과 비장에서 매우 강력한 백신 신호가 보이다. LN에서 백신은 대부분 B 세포 여포와 피막하동에서 검출되며 일부 신호는 T 세포 영역에서도 나타난다. 이중 IHC-ISH를 통해 우리는 실제로 B 세포(CD19+)와 피막하 부비동 대식세포(CD169+)가 백신을 흡수하는 주요 세포임을 보여주었다. T 세포 영역과 중간 부비동의 수지상 세포(CD11c+)도 백신을 흡수한다. 6d 이후에도 일부 백신 mRNA는 배액 LN에서 여전히 볼 수 있다. 6일 후 T 세포 영역에서 관찰된 신호는 수지상 세포(CD11c+)에 있다. 일부 B 세포와 LN 대식세포도 그 단계에서 일부 백신을 보유한다.

[2636] 주사 후 6시간에 채취한 비장을 분석한 결과, 백신은 이미 6시간 이내에 비장에 도달했으며, 아마도 대부분 혈액 순환을 통해 도달한 것으로 나타났다. 신호는 B 세포와 T 세포가 주요 집단을 형성하는 백색 펄프에 위치하고, T 세포에 대한 항원 제시는 백색 펄프에서 일어난다. 이중 IHC-ISH 분석을 통해 우리는 대부분의 B 세포가 백신을 흡수한다는 것을 보여주었다. B 세포를 둘러싼 많은 DC(CD11c+)도 양성이다. 6일 후 신호는 B 세포로 국한된다.

[2637] IHC 프로토콜은 백신 유무에 관계없이 처리된 세포 펠릿에서 항-스파이크 S2 마우스 단일클론 항체를 사용하여 스파이크 단백질 발현을 검출하기 위해 확립되었다. BNT162b2를 처리한 세포에서만 특이적인 신호가 검출된다. 테스트한 나이브 조직에서는 비특이적 염색이 보이지 않았다. 근육에서 스파이크 발현은 근육 섬유 및 결합 조직 근주막에서 주사 후 6시간에 검출된다. 6일 이후에는 근육에서 염색이 감지되지 않는다. 반대로, 대규모 스파이크 발현은 LN, 특히 T 세포 영역에서 주입 후 6일에 볼 수 있다.

[2638] **실시예 42: 안정성 연구.**

[2639] 다양한 농도(예: 0.5mg/mL, 1mg/mL 및 2mg/mL)에서 BNT162b2 제형의 안정성 평가가 수행되었으며 다양한 온도(예: -70°C [예컨대, -70 ± 10℃], -20°C [예컨대, -20 ± 5℃], +5°C [예컨대, 5 ± 3℃], 또는 +25°C [예컨대, 25 ± 2℃])에서 및/또는 다양한 기간(예: 0.5개월, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월 및 경우에 따라 하나 이상의 중간 시점(예: 1.5개월, 2.5개월 등)) 동안 보관된, 조성물의 평가가 이루어졌다.

[2640] 예시적인 연구에서, 마우스에게 제0일에 20uL의 관련 제제를 주사(한쪽 다리)하였다. 투여 후 14일, 21일 및 28일에 혈액을 수집하고 혈청을 생성하였다; 비장은 28일째에 분리되었다.

[2641] S1 단백질, 또는 구체적으로 RBD 도메인에 결합하는 혈청 내 항체의 존재를 검출하기 위해 ELISA를 수행하였다. 도 145는 표시된 기간 동안 표시된 온도 조건 하에 저장된 표시된 제형을 주사한 마우스로부터 28일 혈청으로 얻은 예시적인 S1 ELISA 결과를 나타낸다. 도 145를 참조하여 알 수 있는 바와 같이, 모든 저장된 샘플은 1개월의 저장 후에 잘 수행되었고 합리적으로 필적하였다. 보관 2개월 또는 3개월 후, +25℃에서 보관된 샘플에서 약간의 활성 감소가 관찰되었지만 -70°C, -20°C, +5°C에서 보관된 샘플은 상당한 성능을 유지하였다.

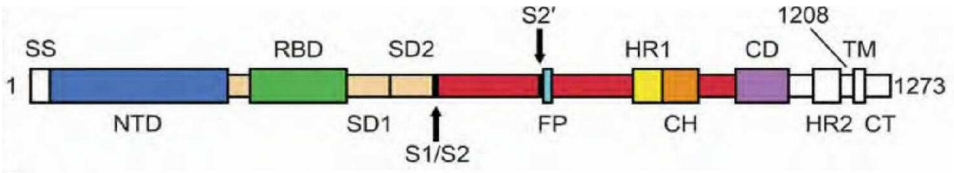
[2642] 일부 시점에서, 외관, RNA 함량, RNA 무결성, RNA 캡슐화, 지질 함량(전체 및/또는 개별 성분 및/또는 이의 비율), 입자 크기, 입자 다분산 지수, 시험관내 발현 가능성, 등)을 평가하였다; 추가 또는 대체 매개변수가 평가되었거나 평가되었을 수 있다.

[2643] 예시적인 관찰에는 무엇보다도 +25°C에서의 보관은 약 2주 이상, 바람직하게는 약 1주 이상 보관은 권장되지 않는다는 것이 포함되는데, 이는 무엇보다도 RNA 무결성이 크게 감소하는 것으로 관찰되었기 때문이다. 또한, 적어도 몇몇 경우에서 시험관내 발현성이 실질적으로 감소된 경우에도 상당한 항체 유도 능력이 유지됨이 관찰되었다. 특히 약 3개월 보관 후 또는 약 4개월 보관 후 다분산 지수의 변화는 저온 보관된 제형에 비해 +5°C 이상

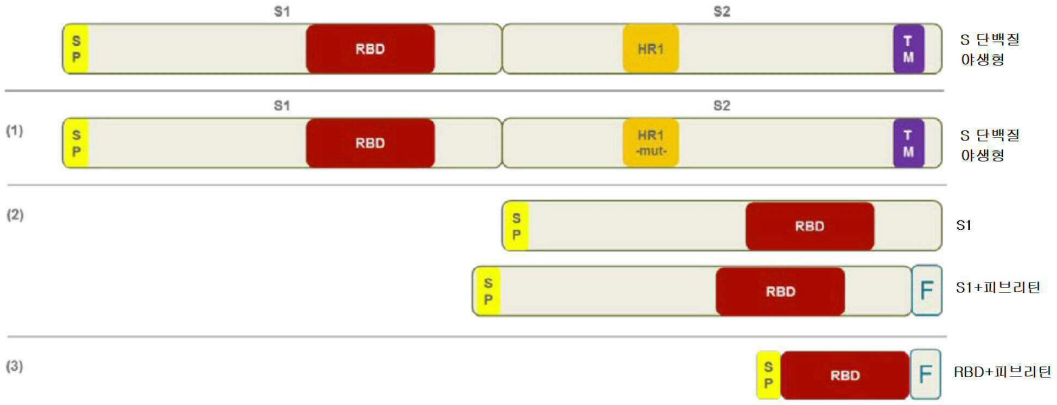
에서 보관된 제제에서 더 큰 것으로 관찰되었다.

도면

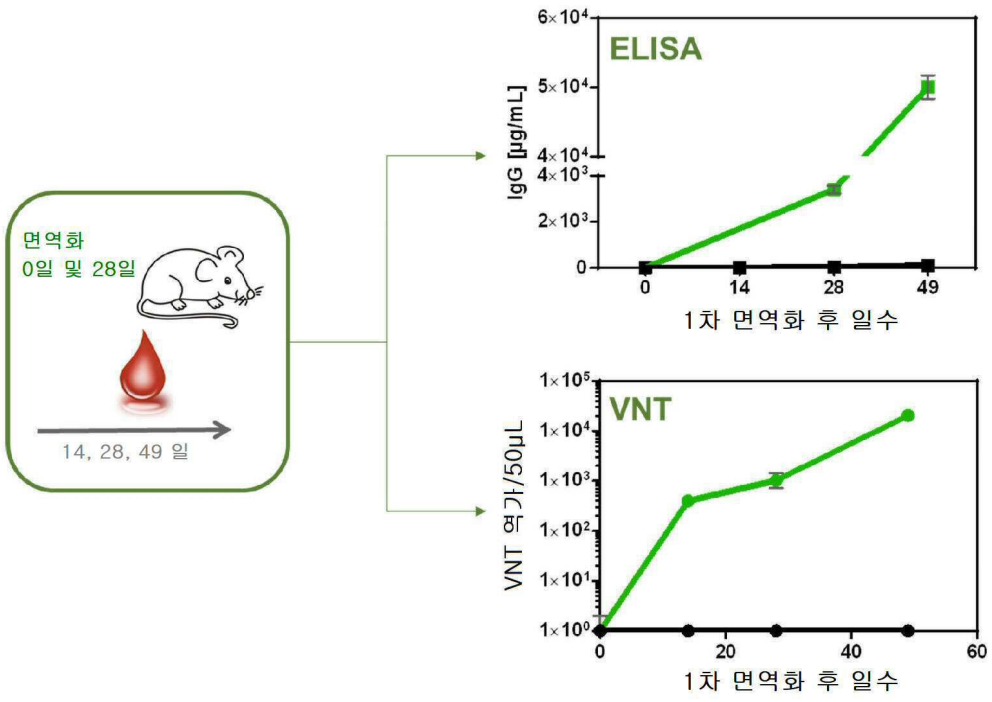
도면1



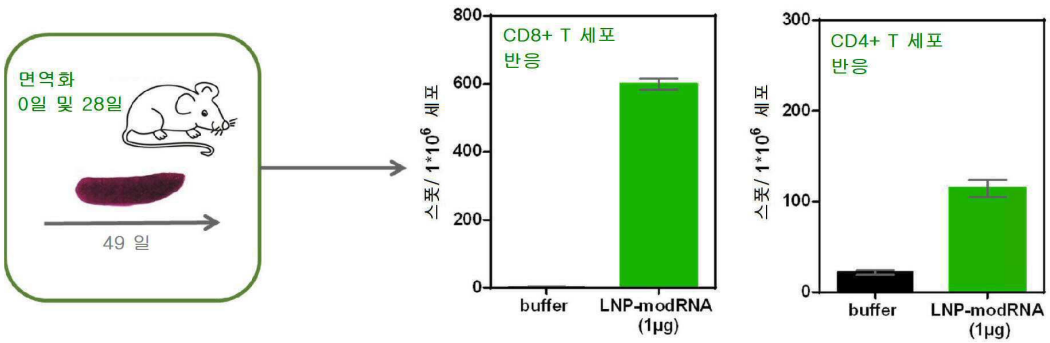
도면2



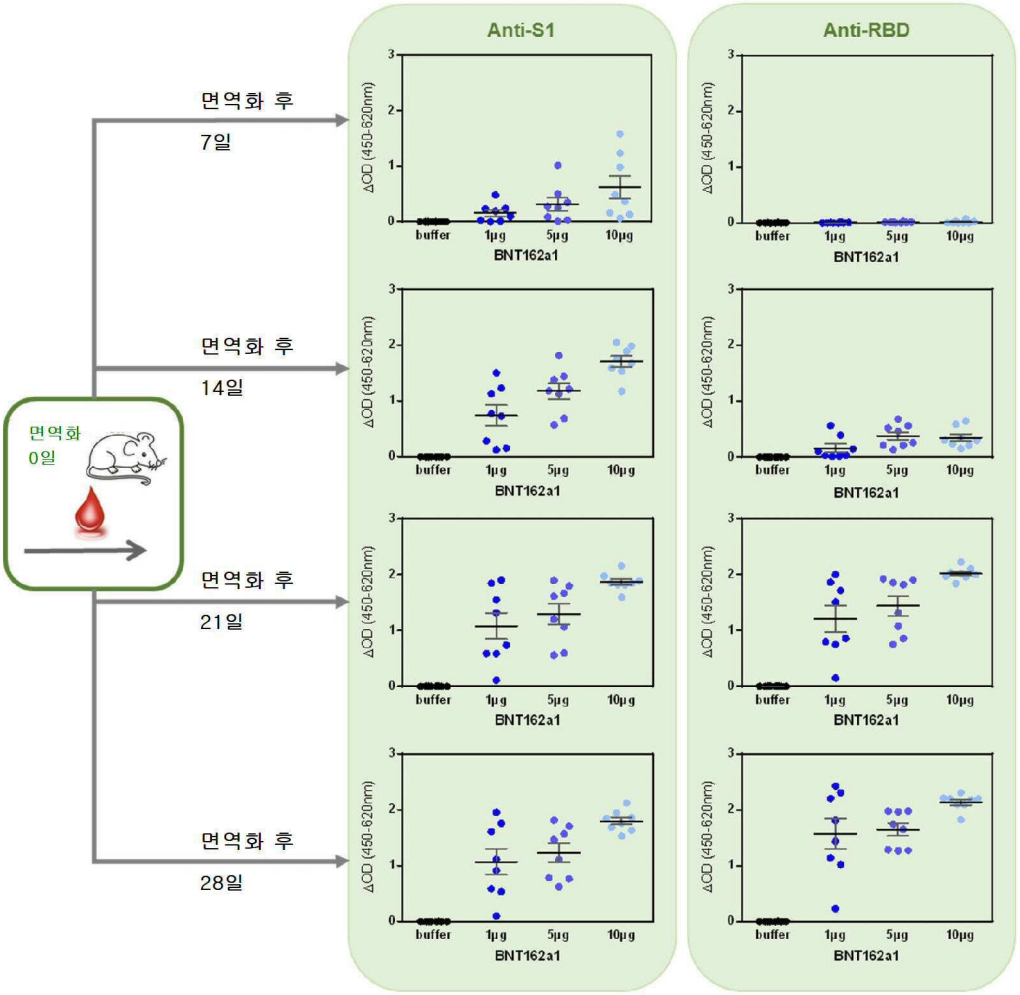
도면3



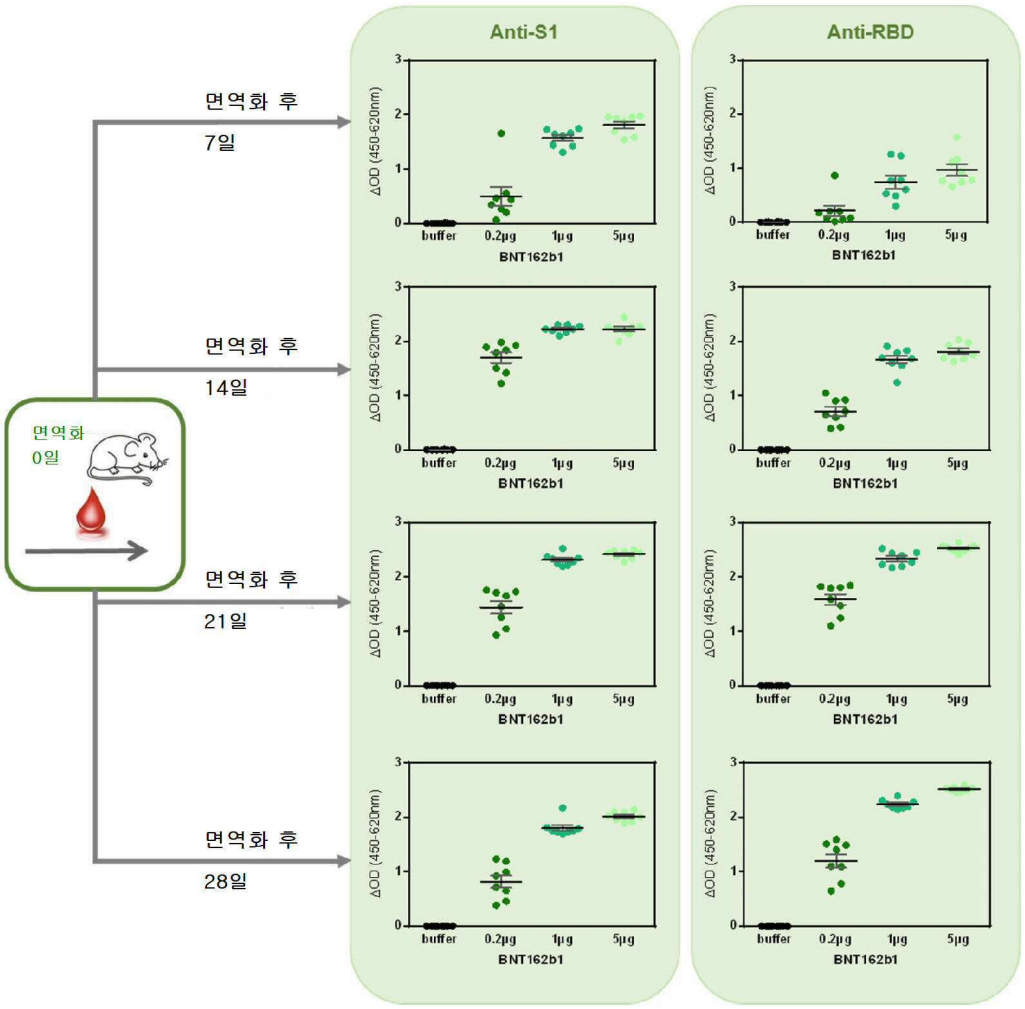
도면4


면역화
0일 및 28일
49 일
CD8+ T 세포
반응
스폿/ 1*10^6 세포
800
600
400
200
0
buffer
LNP-modRNA
(1μg)
CD4+ T 세포
반응
스폿/ 1*10^6 세포
300
200
100
0
buffer
LNP-modRNA
(1μg)

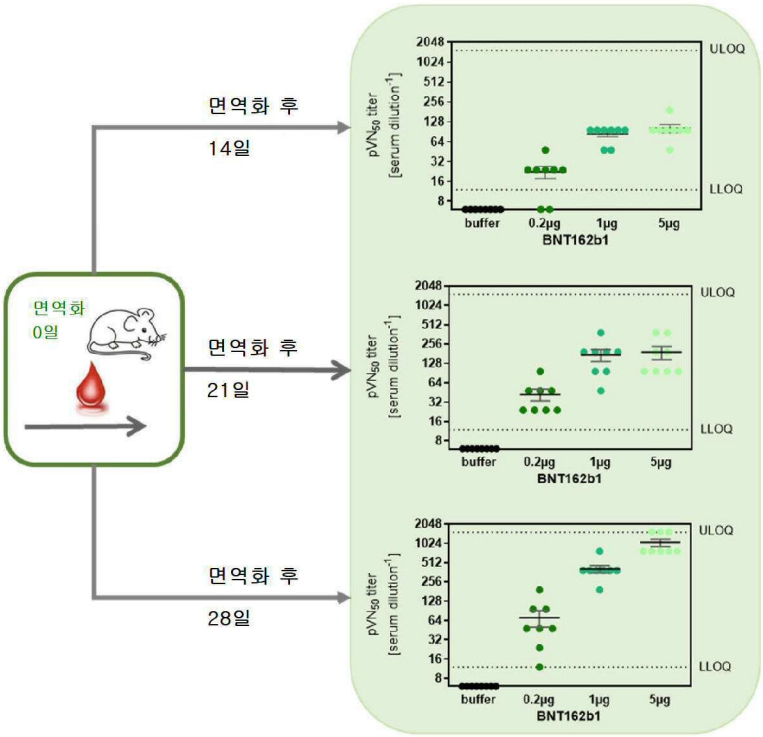
도면5


면역화
0일
면역화 후
7일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
면역화 후
28일
Anti-S1
Anti-RBD
ΔOD (450-620nm)
buffer
1μg
5μg
10μg
BNT162a1

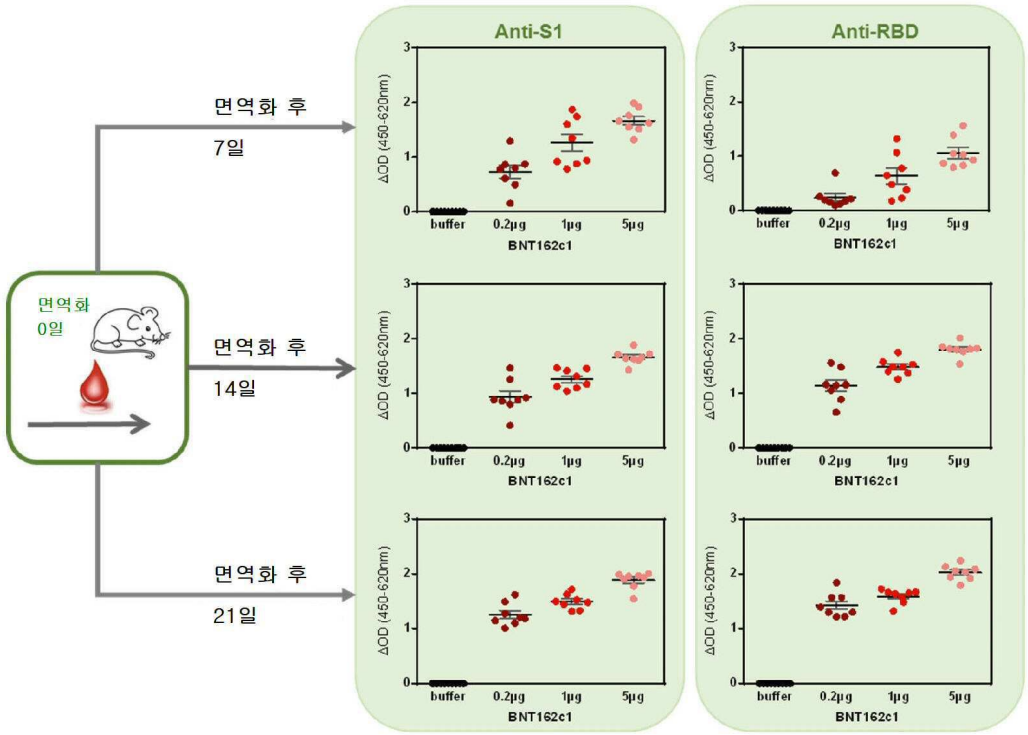
도면6


Anti-S1
Anti-RBD
면역화 후
7일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
면역화 후
28일
면역화
0일
ΔOD (450-620nm)
buffer
0.2μg
1μg
5μg
BNT162b1

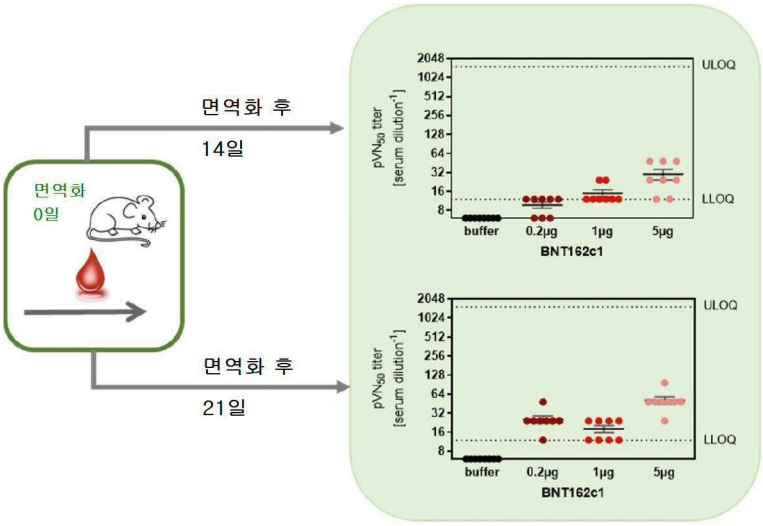
도면7


면역화 후
14일
면역화 후
21일
면역화 후
28일
면역화
0일
pVN50 titer
[serum dilution-1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
buffer
0.2μg
1μg
5μg
BNT162b1

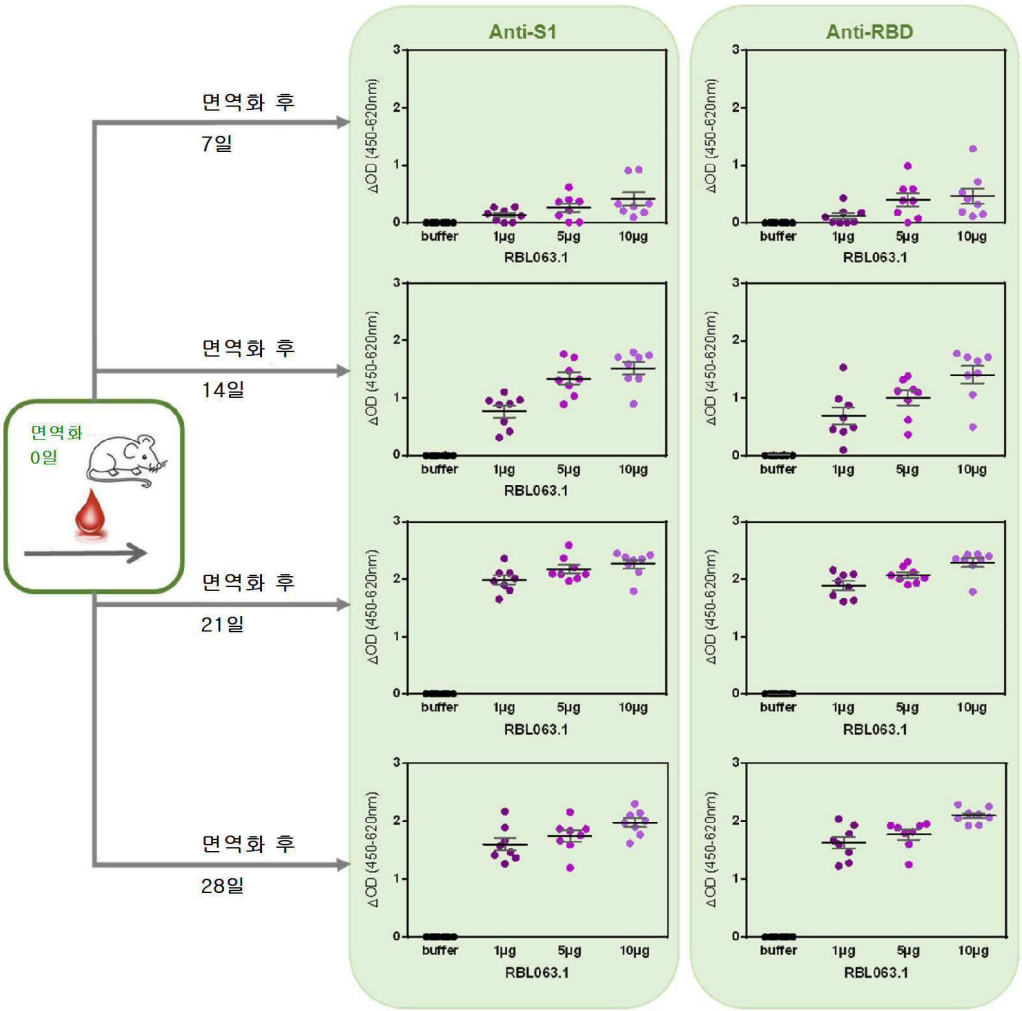
도면8


Anti-S1
Anti-RBD
면역화 후
7일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
면역화
0일
ΔOD (450-620nm)
buffer
0.2μg
1μg
5μg
BNT162c1

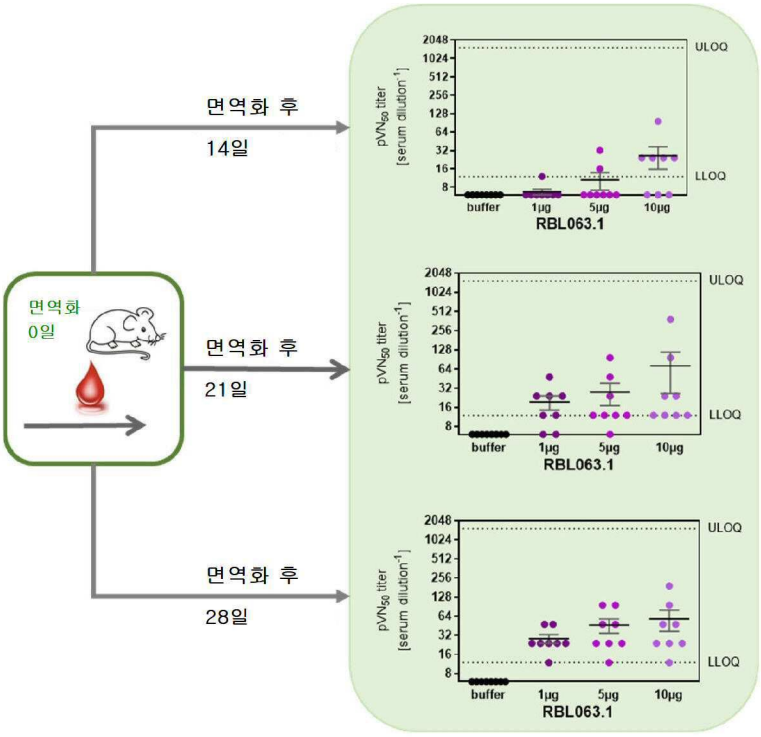
도면9


면역화 후
14일
면역화
0일
면역화 후
21일
pVN50 titer
[serum dilution-1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
buffer
0.2μg
1μg
5μg
BNT162c1

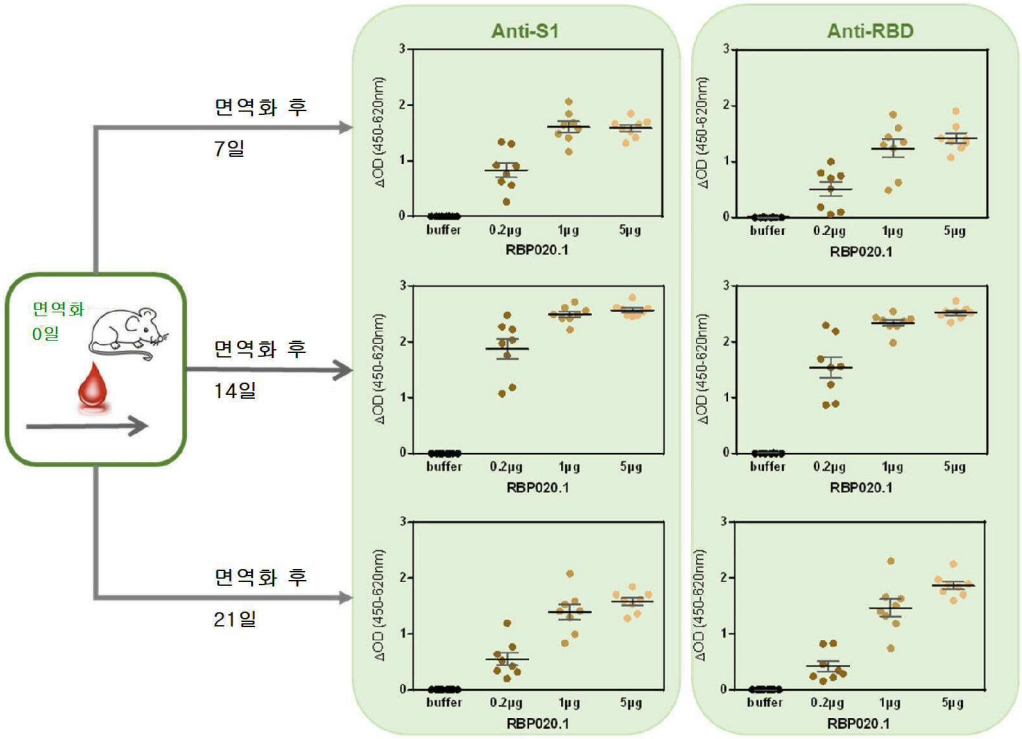
도면10


Anti-S1
Anti-RBD
면역화 후
7일
면역화 후
14일
면역화
0일
면역화 후
21일
면역화 후
28일
ΔOD (450-620nm)
buffer
1μg
5μg
10μg
RBL063.1

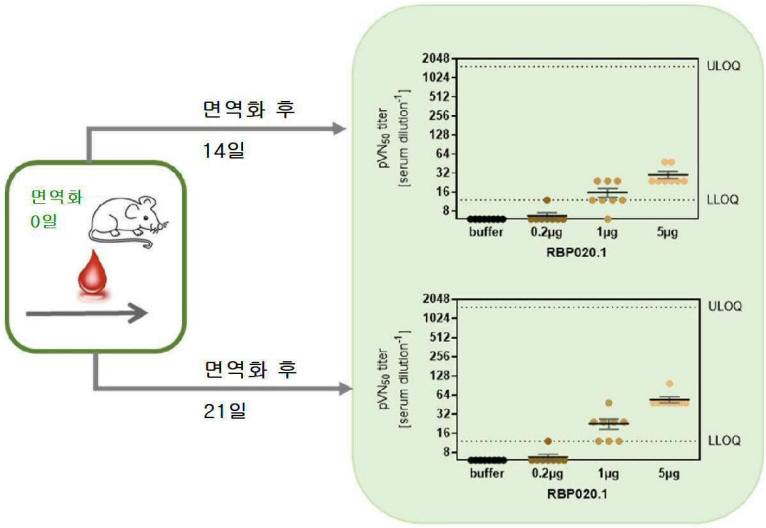
도면11


면역화
0일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
면역화 후
28일
pVN50 titer
[serum dilution-1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
buffer
1μg
5μg
10μg
RBL063.1

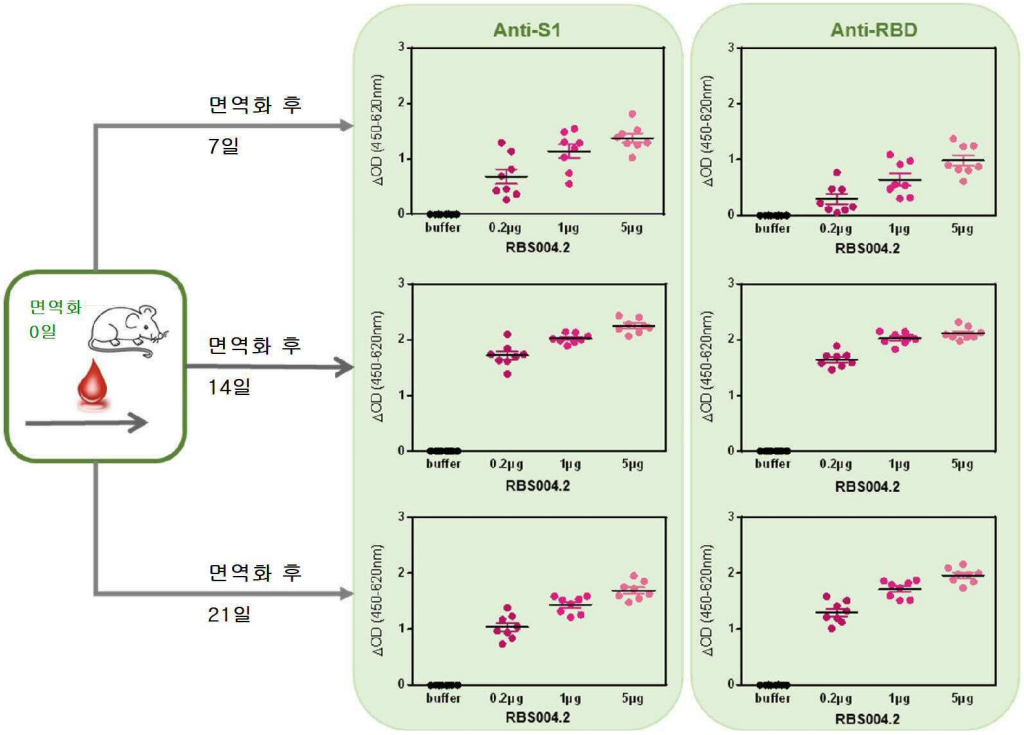
도면12


면역화
0일
면역화 후
7일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
Anti-S1
Anti-RBD
ΔOD (450-620nm)
buffer
0.2μg
1μg
5μg
RBP020.1

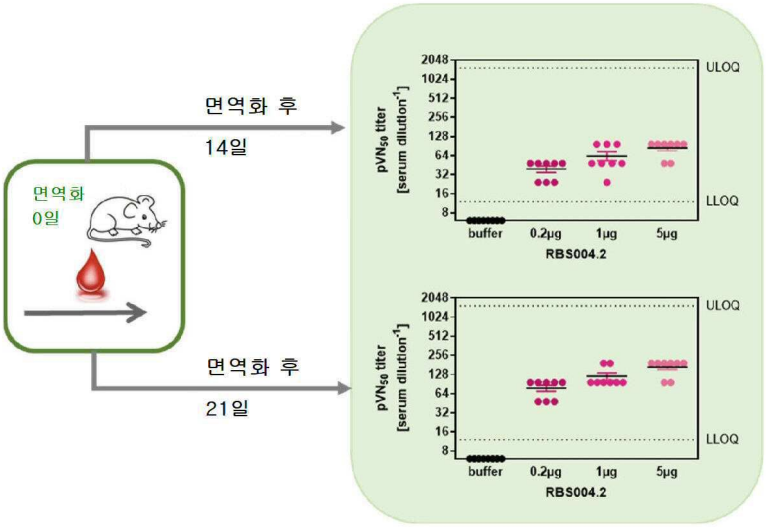
도면13


면역화
0일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
pVNs0 titer
[serum dilution-1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
buffer
0.2μg
1μg
5μg
RBP020.1

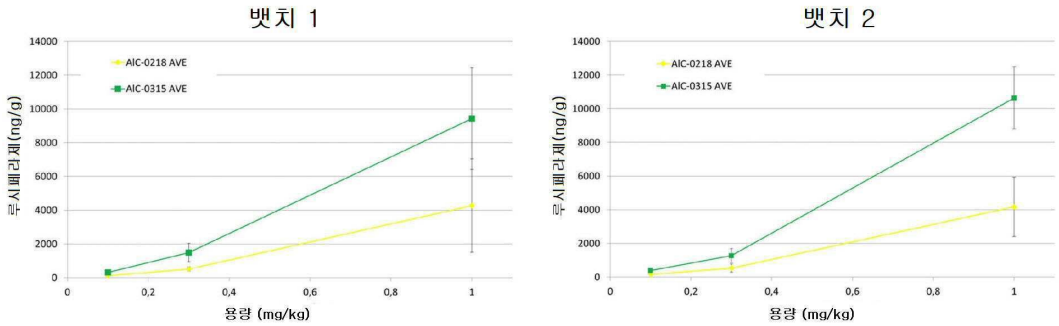
도면14


Anti-S1
Anti-RBD
면역화
0일
면역화 후
7일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
ΔOD (450-620nm)
buffer
0.2μg
1μg
5μg
RBS004.2

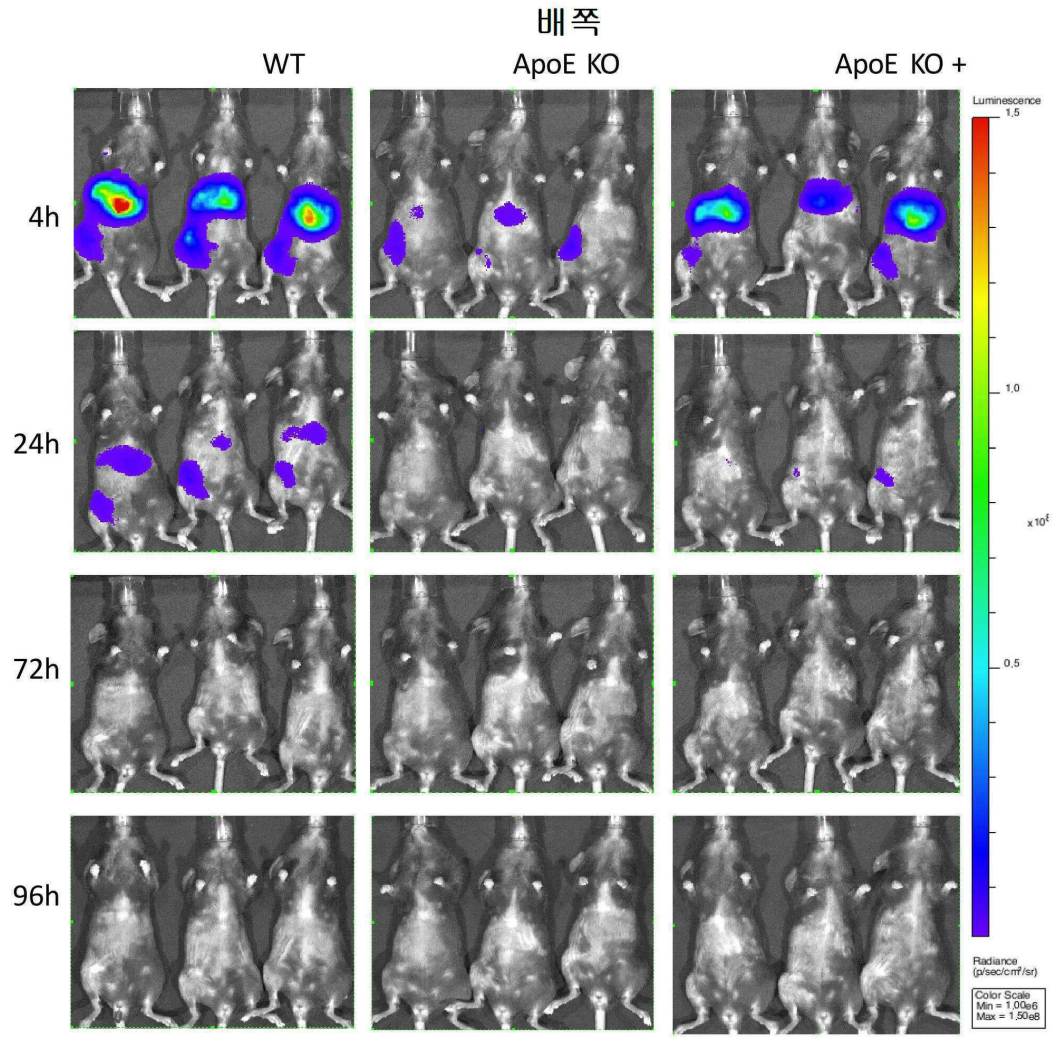
도면15


면역화 후
14일
면역화
0일
면역화 후
21일
pVN50 titer
[serum dilution-1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
buffer
0.2μg
1μg
5μg
RBS004.2

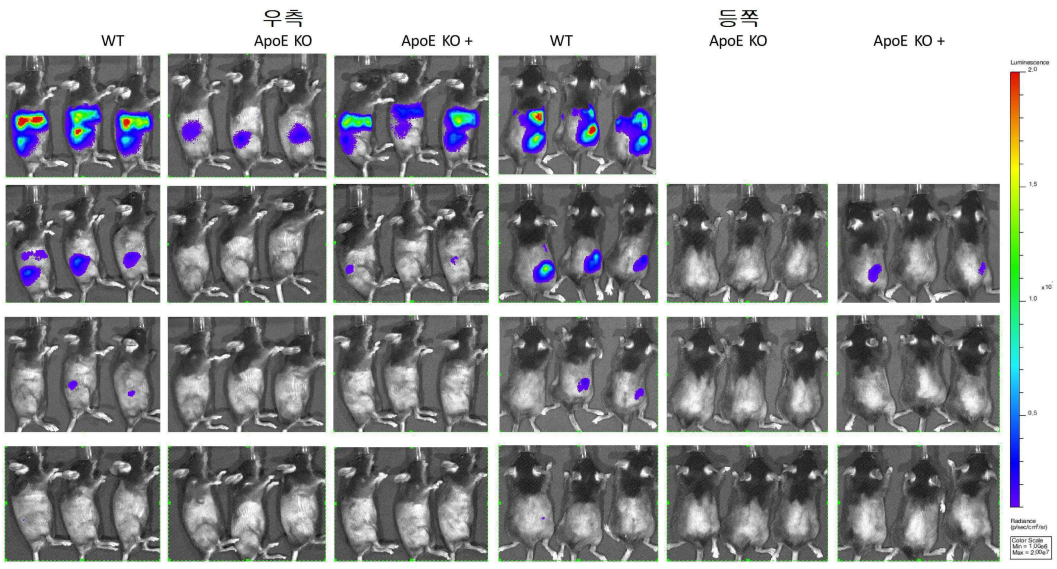
도면16


뱃치 1
뱃치 2
AIC-0218 AVE
AIC-0315 AVE
루시페라제(ng/g)
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1
용량 (mg/kg)

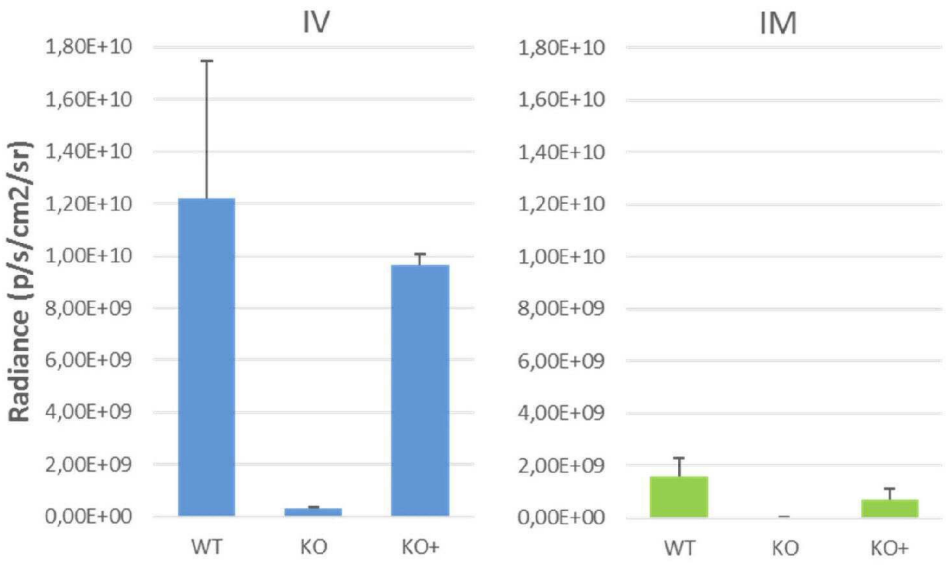
도면17a


배쪽
WT
ApoE KO
ApoE KO +
4h
24h
72h
96h
Luminescence
1,5
1,0
0,5
x10⁶
Radiance
(p/sec/cm²/sr)
Color Scale
Min = 1.00e6
Max = 1.50e6

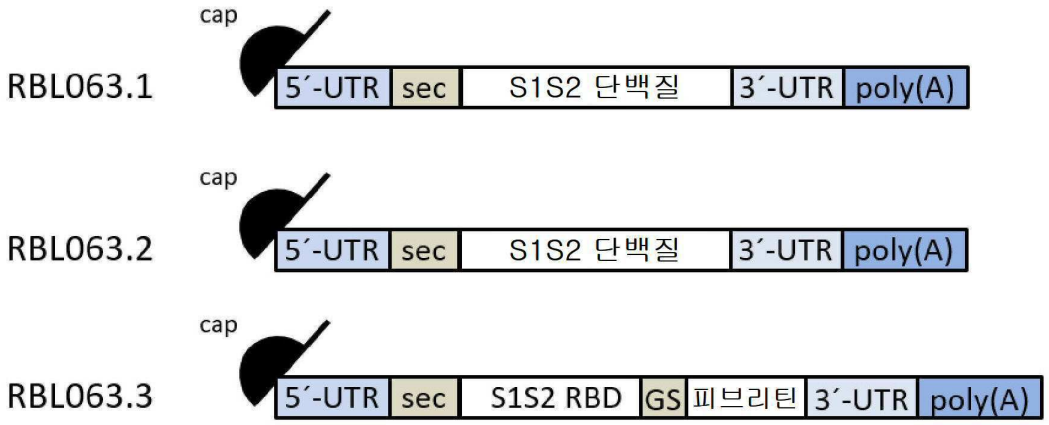
도면17b


우측
등쪽
WT
ApoE KO
ApoE KO +
WT
ApoE KO
ApoE KO +

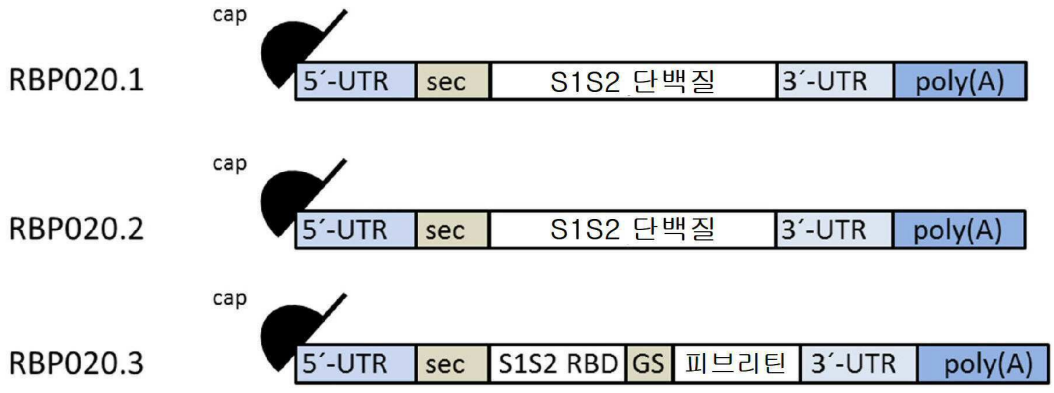
도면18



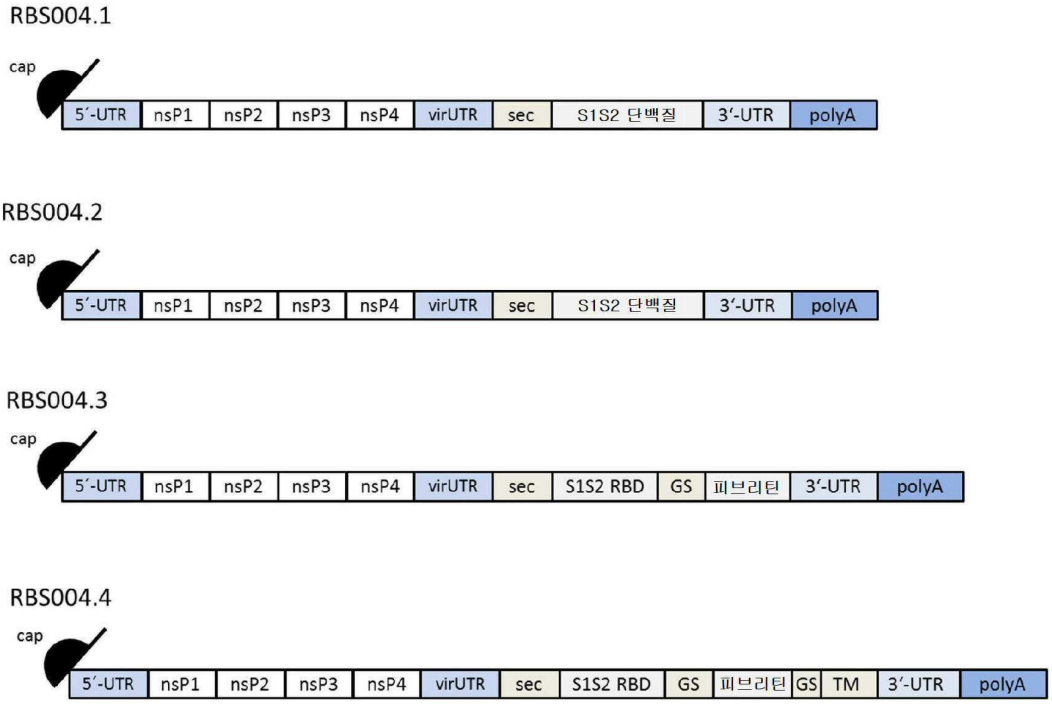
도면19



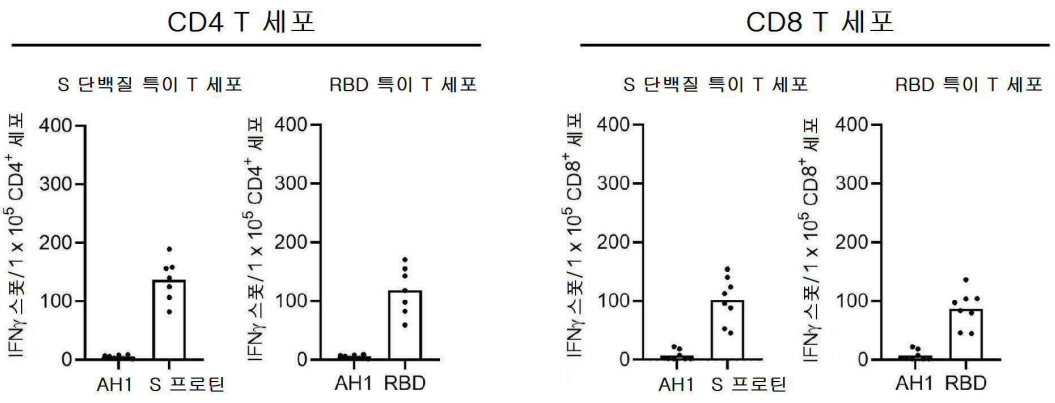
도면20



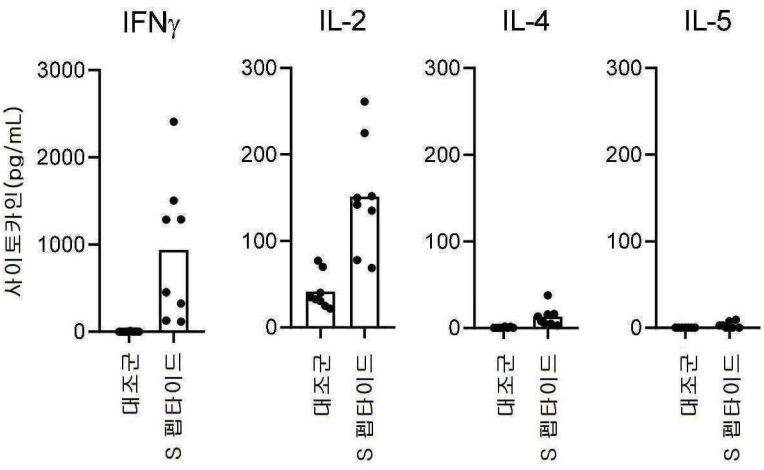
도면21



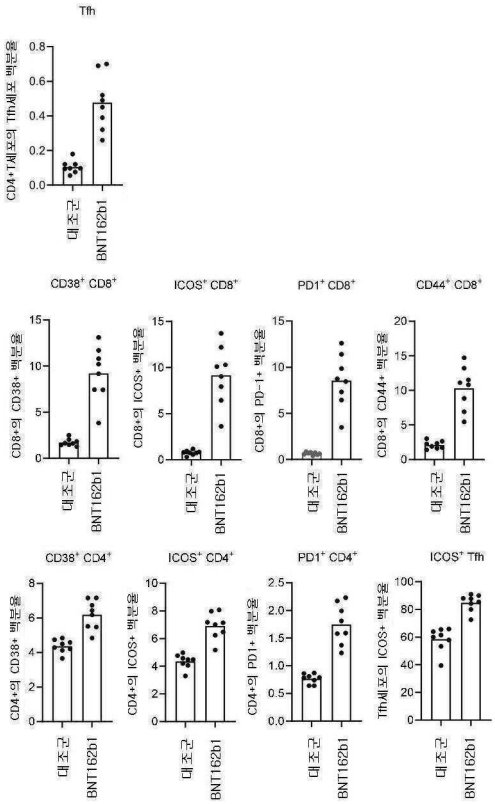
도면22



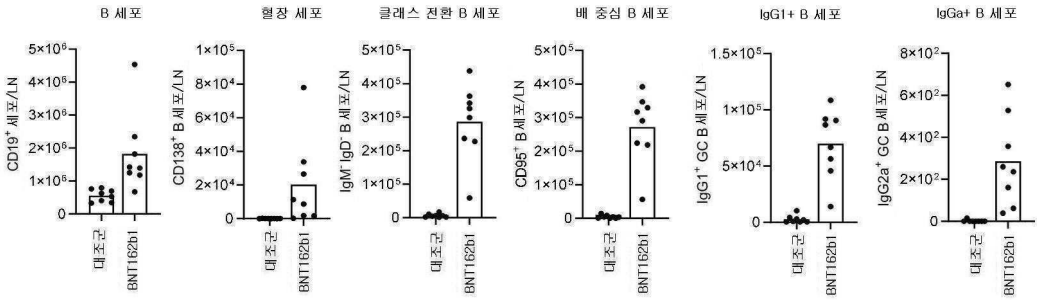
도면23



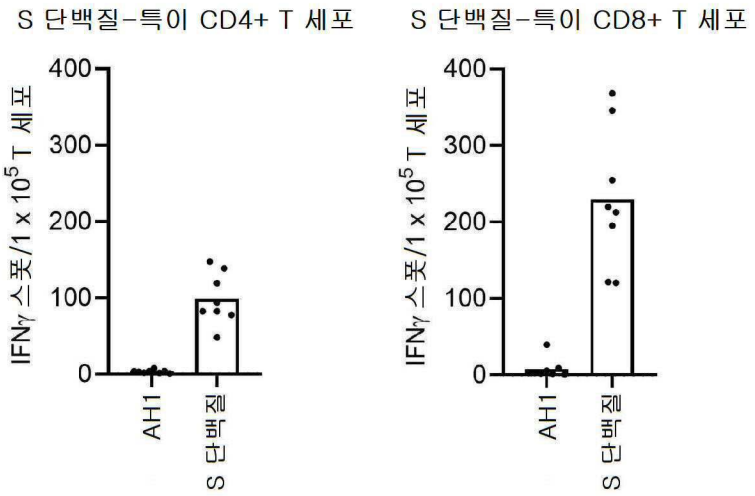
도면24


Tfh
CD4+T세포의 Tfh세포 백분율
대조군
BNT162b1
CD38+ CD8+
CD8+의 CD38+ 백분율
ICOS+ CD8+
CD8+의 ICOS+ 백분율
PD1+ CD8+
CD8+의 PD-1+ 백분율
CD44+ CD8+
CD8+의 CD44+ 백분율
CD38+ CD4+
CD4+의 CD38+ 백분율
ICOS+ CD4+
CD4+의 ICOS+ 백분율
PD1+ CD4+
CD4+의 PD1+ 백분율
ICOS+ Tfh
Tfh세포의 ICOS+ 백분율

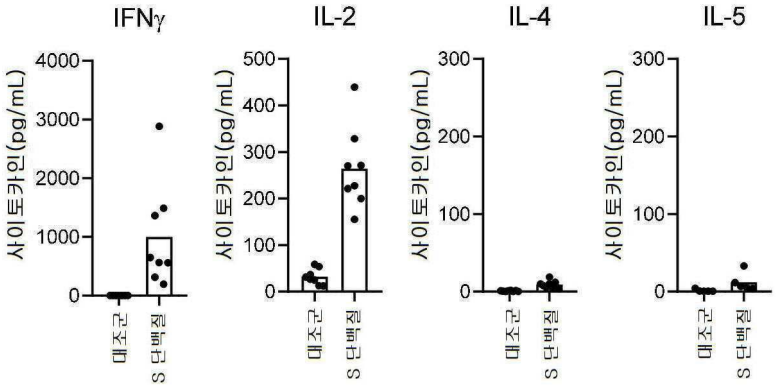
도면25


B 세포
CD19+ 세포/LN
혈장 세포
CD138+ B세포/LN
클래스 전환 B 세포
IgM-IgD- B세포/LN
베 중심 B 세포
CD95+ B세포/LN
IgG1+ B 세포
IgG1+ GC B세포/LN
IgGa+ B 세포
IgG2a+ GC B세포/LN
대조군
BNT162b1

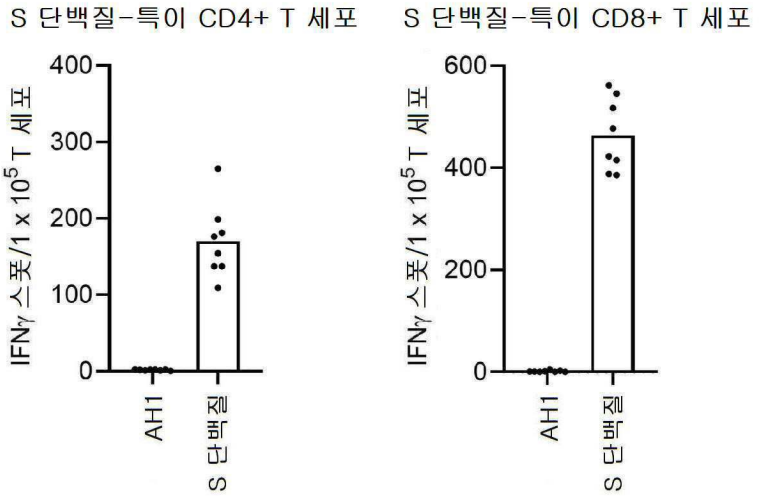
도면26



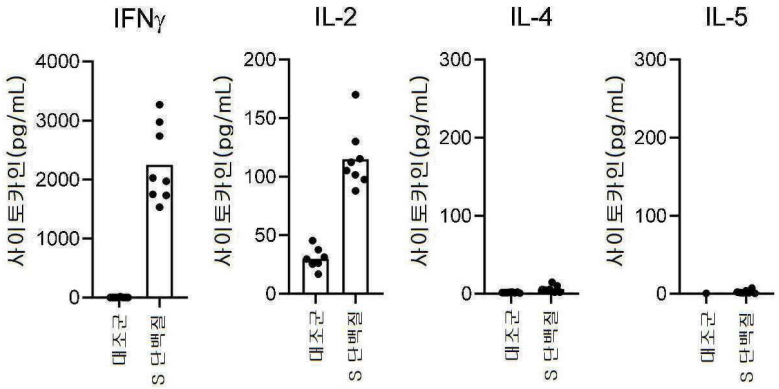
도면27



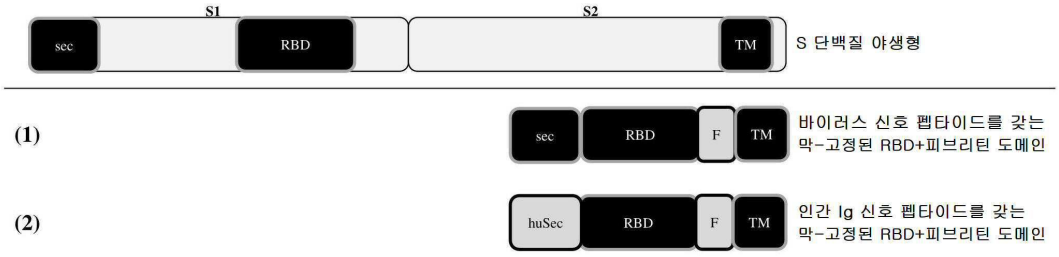
도면28



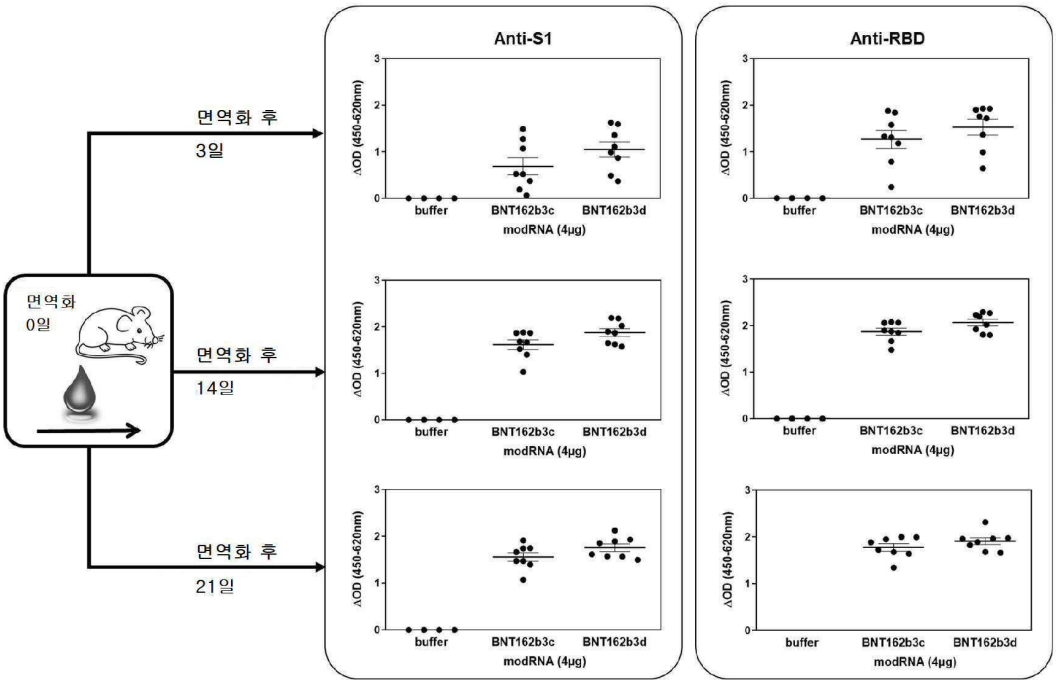
도면29



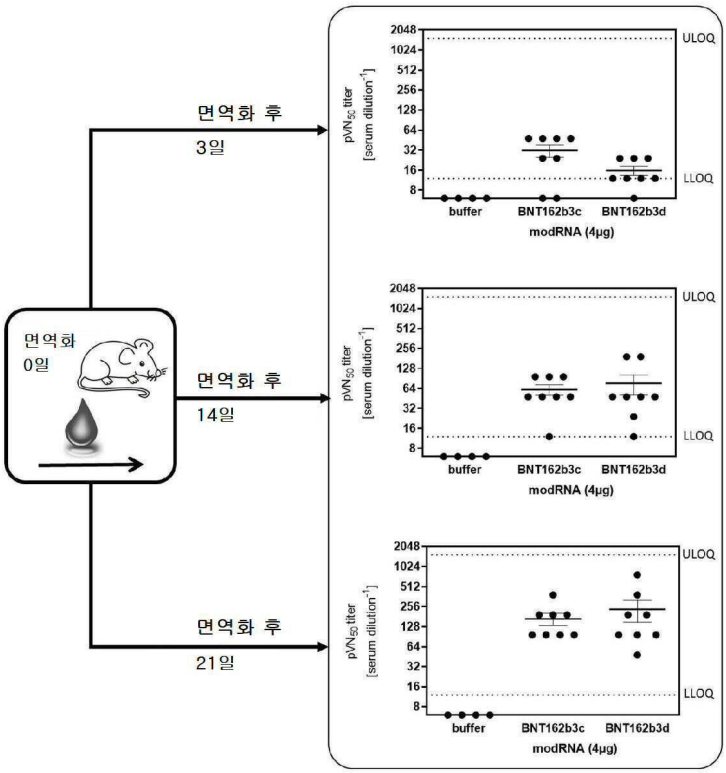
도면30



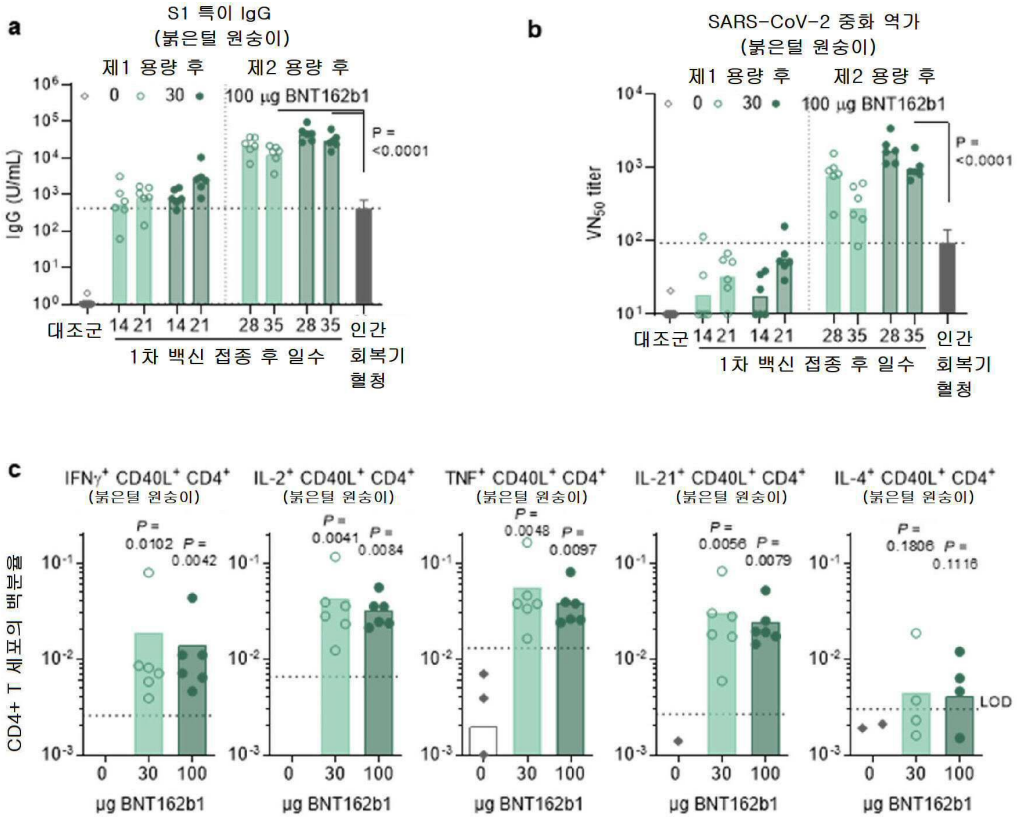
도면31



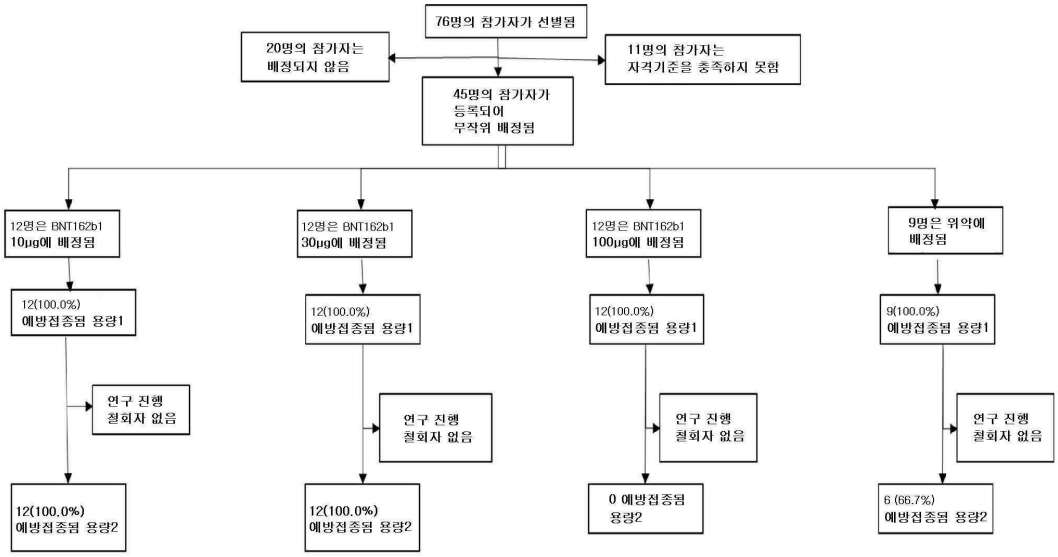
도면32


면역화
0일
면역화 후
3일
면역화 후
14일
면역화 후
21일
pVN50 titer
[serum dilution-1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
buffer
BNT162b3c
BNT162b3d
modRNA (4μg)

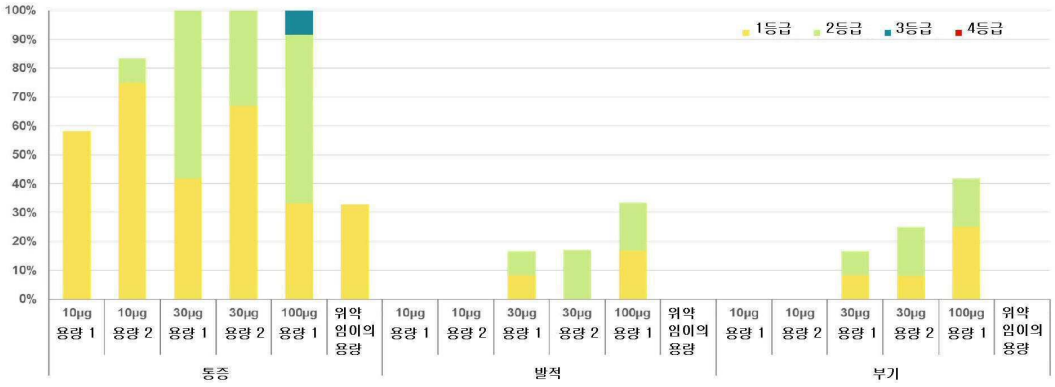
도면33


a
S1 특이 IgG
(붉은털 원숭이)
제1 용량 후
제2 용량 후
0
30
100 μg BNT162b1
P =
<0.0001
IgG (U/mL)
대조군
14 21
14 21
28 35
28 35
인간
회복기
혈청
1차 백신 접종 후 일수
b
SARS-CoV-2 중화 역가
(붉은털 원숭이)
제1 용량 후
제2 용량 후
0
30
100 μg BNT162b1
P =
<0.0001
VN50 titer
대조군
14 21
14 21
28 35
28 35
인간
회복기
혈청
1차 백신 접종 후 일수
c
IFNγ+ CD40L+ CD4+
IL-2+ CD40L+ CD4+
TNF+ CD40L+ CD4+
IL-21+ CD40L+ CD4+
IL-4+ CD40L+ CD4+
(붉은털 원숭이)
CD4+ T 세포의 백분율
P = 0.0102
P = 0.0042
P = 0.0041
P = 0.0084
P = 0.0048
P = 0.0097
P = 0.0056
P = 0.0079
P = 0.1806
P = 0.1116
LOD
0
30
100
μg BNT162b1

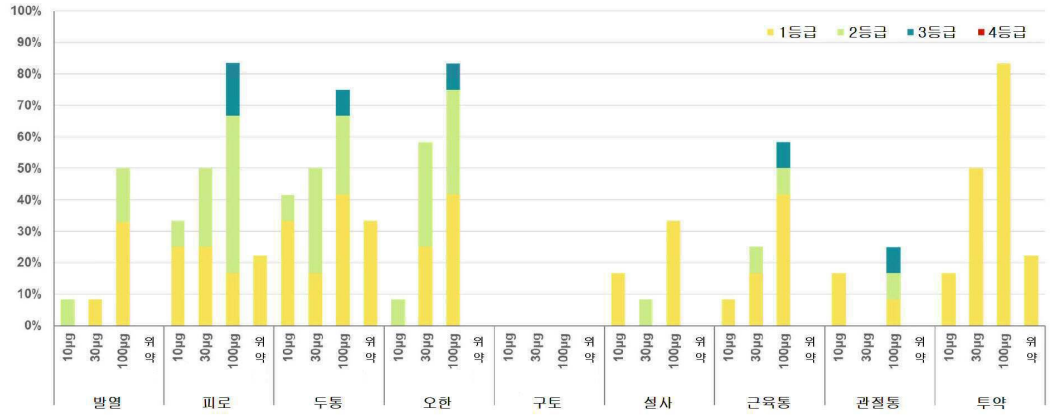
도면34



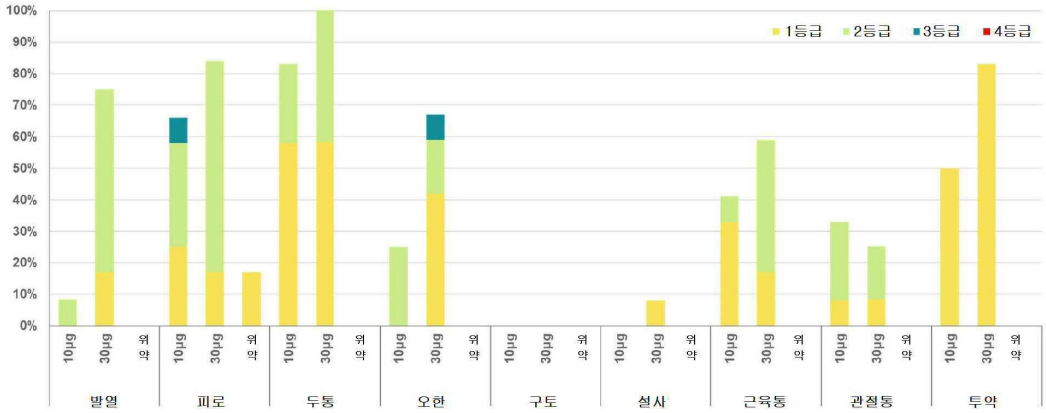
도면35



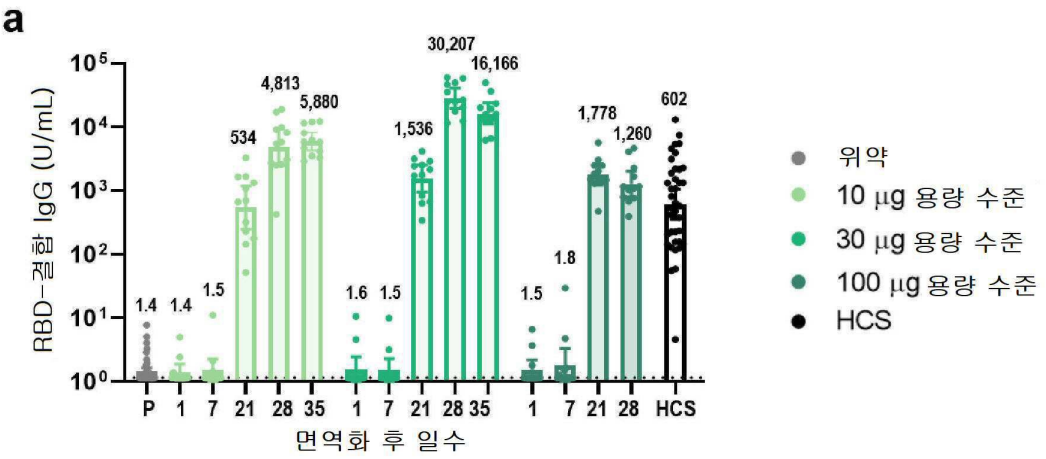
도면36a



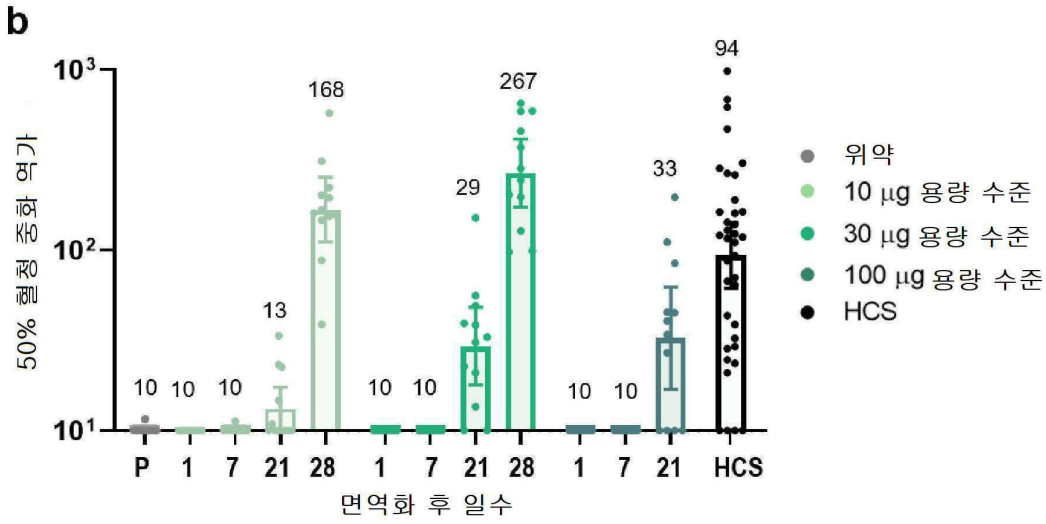
도면36b



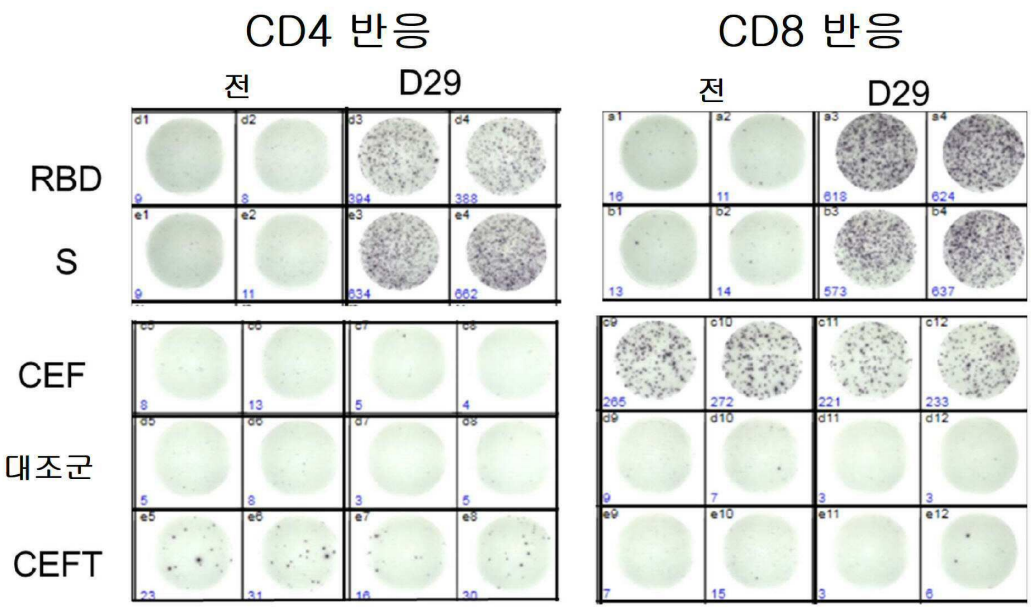
도면37a



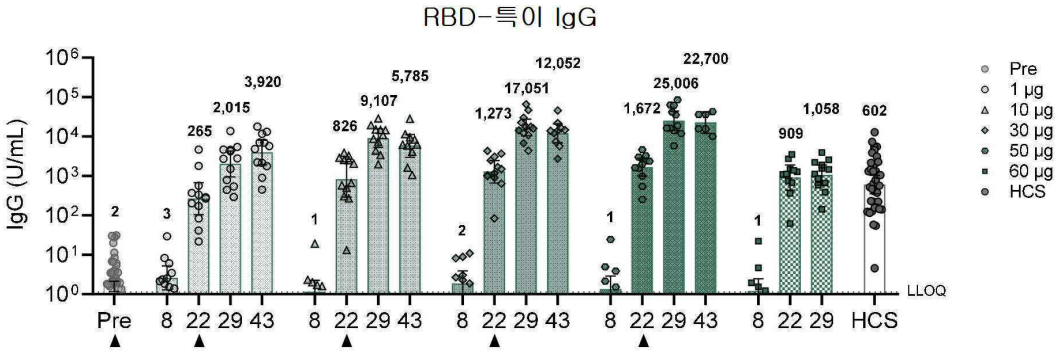
도면37b



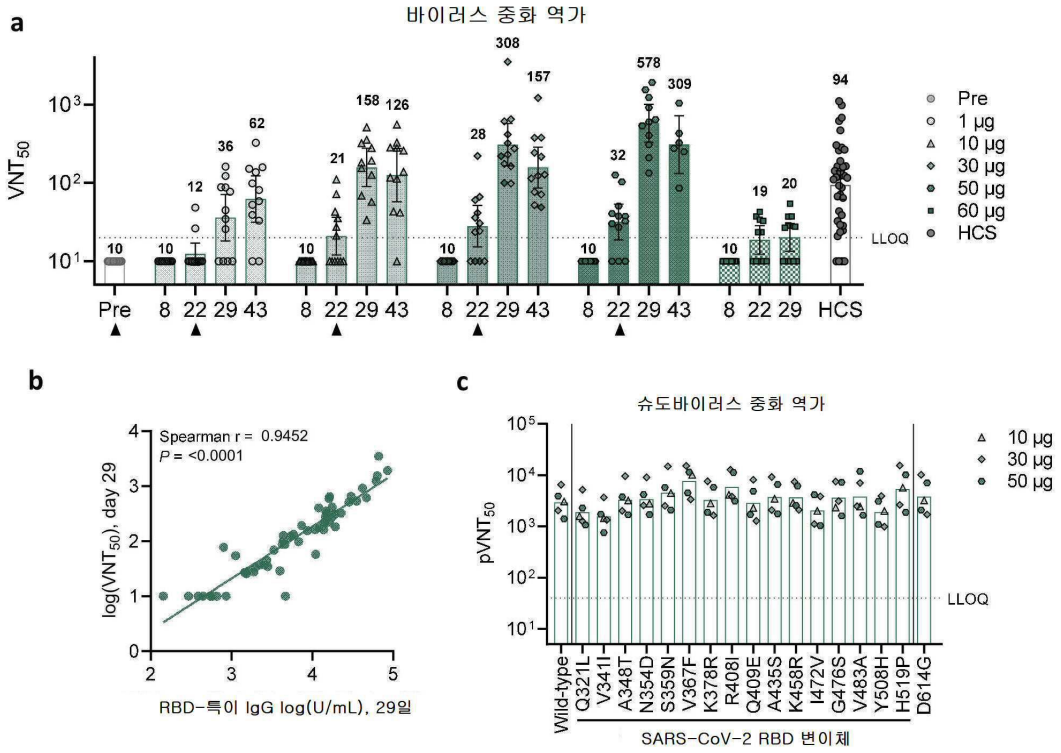
도면38


CD4 반응
CD8 반응
전
D29
전
D29
RBD
S
CEF
대조군
CEFT

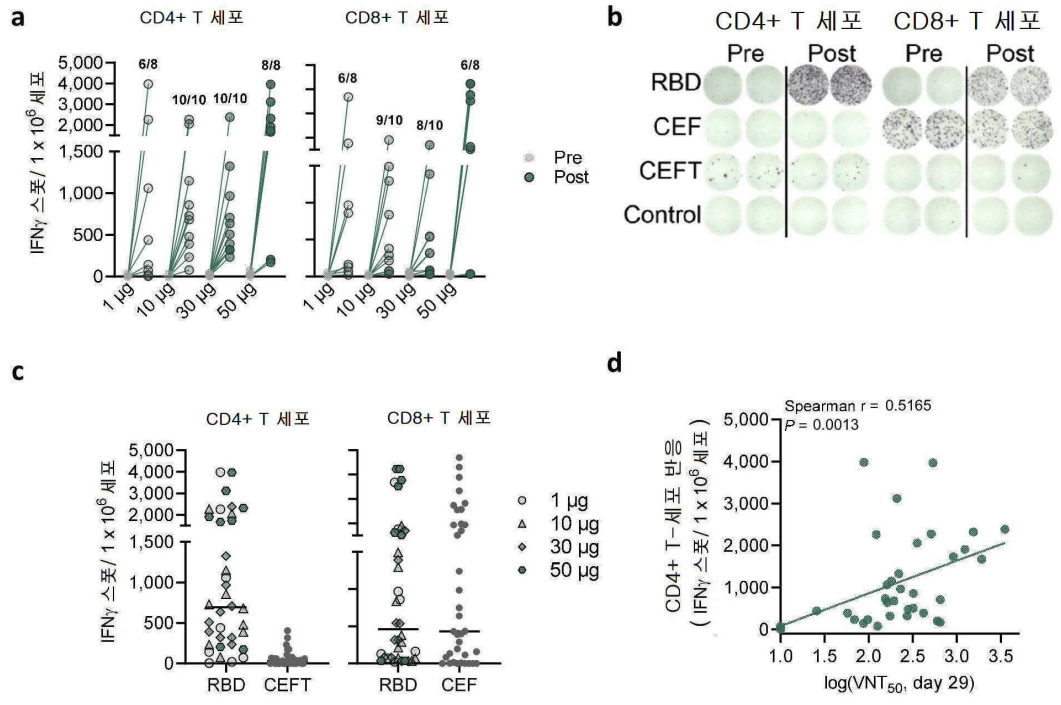
도면39


RBD-특이 IgG
IgG (U/mL)
Pre
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
60 μg
HCS
LLOQ
Pre 8 22 29 43 8 22 29 43 8 22 29 43 8 22 29 43 8 22 29 HCS

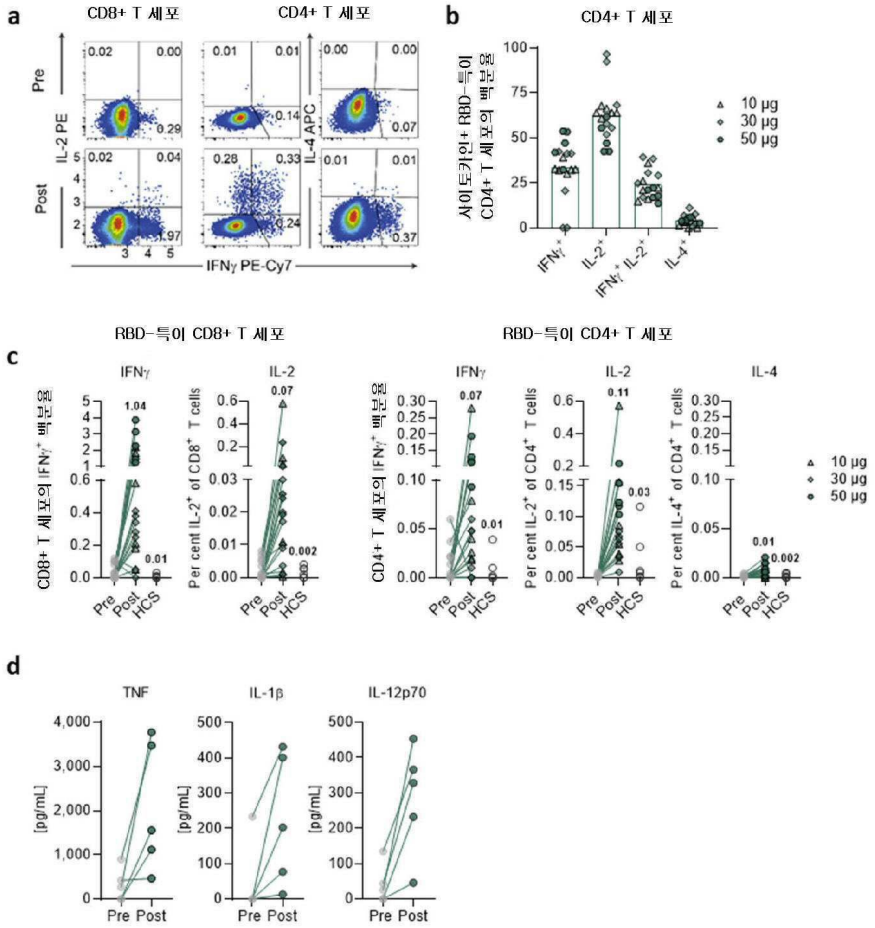
도면40


a
바이러스 중화 역가
VNT50
LLOQ
Pre
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
60 μg
HCS
b
Spearman r = 0.9452
P = <0.0001
log(VNT50), day 29
RBD-특이 IgG log(U/mL), 29일
c
슈도바이러스 중화 역가
pVNT50
LLOQ
Wild-type
Q321L
V341I
A348T
N354D
S359N
V367F
K378R
R408I
Q409E
A435S
K458R
I472V
G476S
V483A
Y508H
H519P
D614G
SARS-CoV-2 RBD 변이체

도면41


a
CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
IFNγ 스폿 / 1 x 10^6 세포
Pre
Post
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
b
CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
Pre
Post
RBD
CEF
CEFT
Control
c
CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
IFNγ 스폿 / 1 x 10^6 세포
RBD
CEFT
CEF
d
Spearman r = 0.5165
P = 0.0013
CD4+ T-세포 반응
(IFNγ 스폿 / 1 x 10^6 세포)
log(VNT50, day 29)

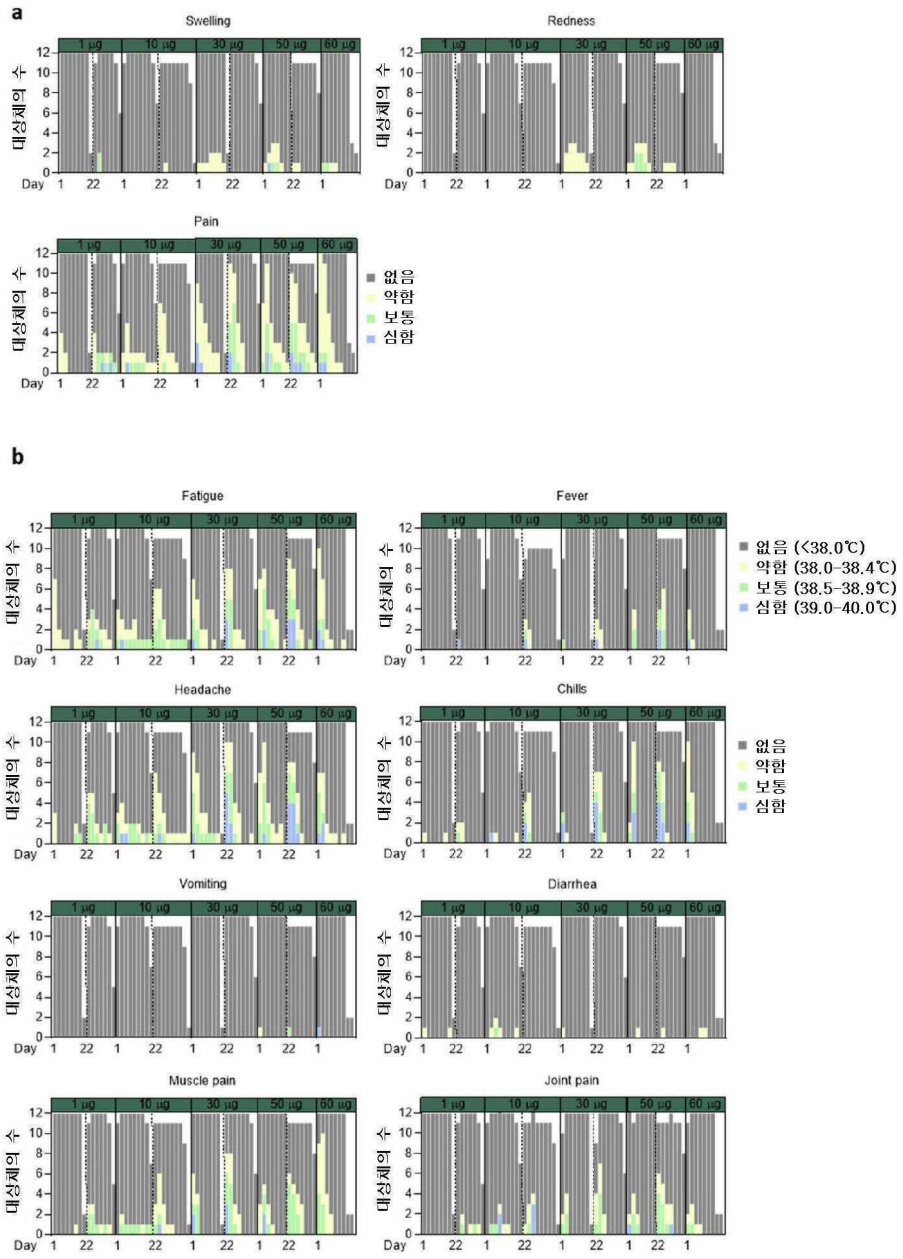
도면42


a
CD8+ T 세포
CD4+ T 세포
Pre
Post
IL-2 PE
IL-4 APC
IFNγ PE-Cy7
b
CD4+ T 세포
사이토카인+ RBD-특이 CD4+ T 세포 응답 빈도
10 μg
30 μg
50 μg
IFNγ+
IL-2+
IFNγ+ IL-2+
IL-4+
c
RBD-특이 CD8+ T 세포
RBD-특이 CD4+ T 세포
IFNγ
IL-2
IL-4
CD8+ T 세포의 IFNγ+ 백분율
CD4+ T 세포의 IFNγ+ 백분율
Per cent IL-2+ of CD8+ T cells
Per cent IL-2+ of CD4+ T cells
Per cent IL-4+ of CD4+ T cells
Pre
Post
HCS
10 μg
30 μg
50 μg
d
TNF
IL-1β
IL-12p70
[pg/mL]
Pre Post

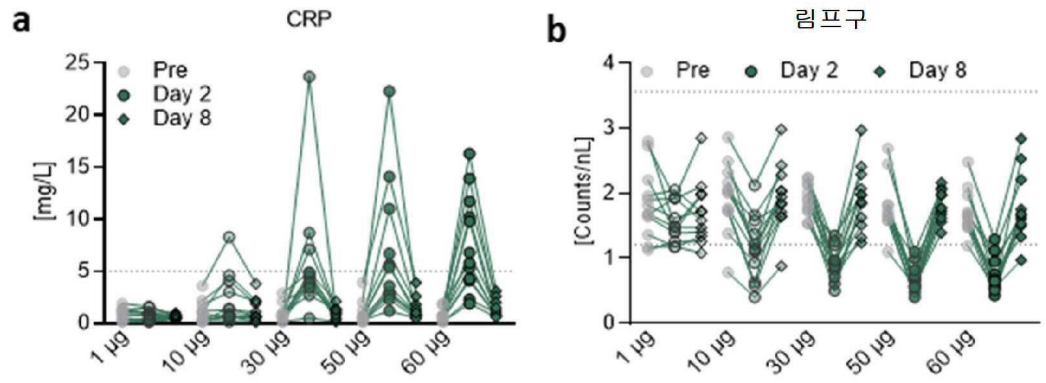
도면43


프라임
부스트
-30 -1 1 7 8 9 20 22 24 26 29 32 39 43 47
스크리닝
항체 분석
T 세포 분석

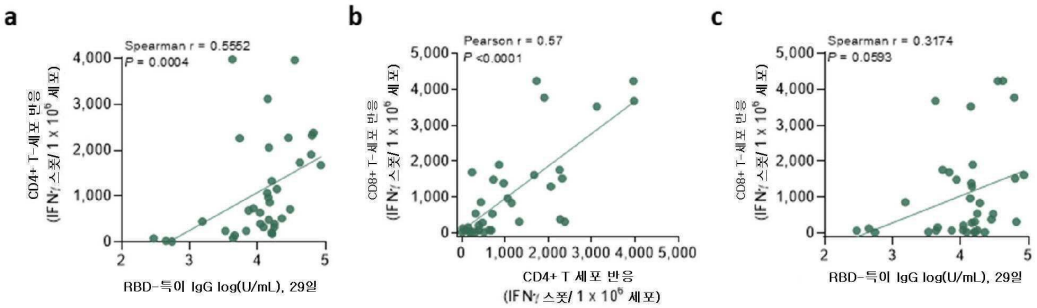
도면44


a
Swelling
Redness
Pain
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
60 μg
대상체의 수
Day
없음
약함
보통
심함
b
Fatigue
Fever
Headache
Chills
Vomiting
Diarrhea
Muscle pain
Joint pain
없음 (<38.0℃)
약함 (38.0-38.4℃)
보통 (38.5-38.9℃)
심함 (39.0-40.0℃)

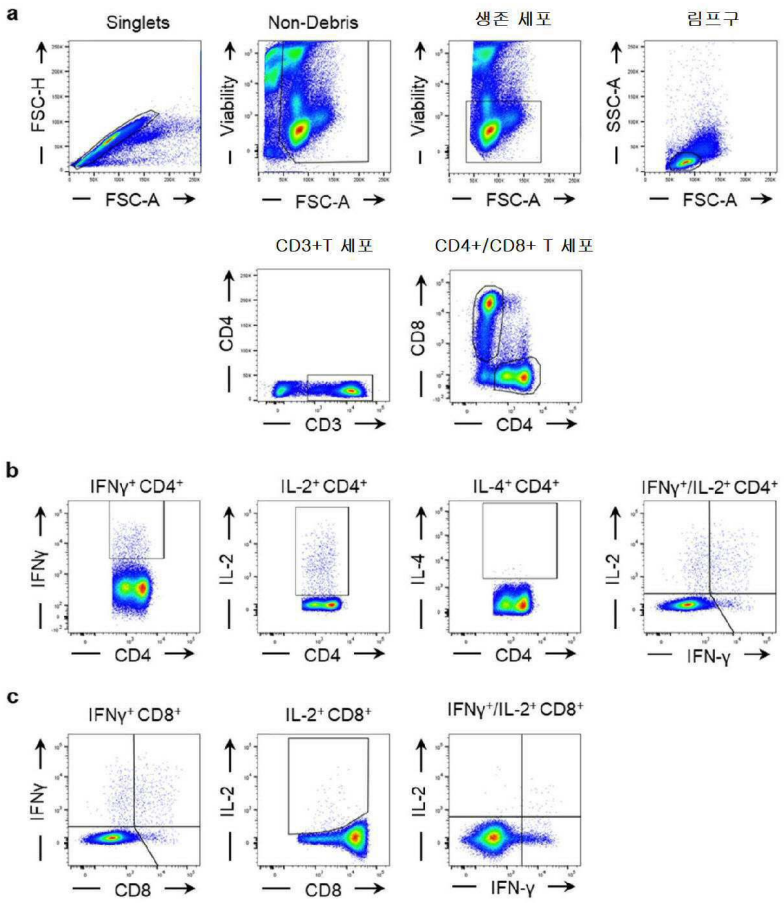
도면45


a
CRP
[mg/L]
Pre
Day 2
Day 8
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
60 μg
b
림프구
[Counts/nL]
Pre
Day 2
Day 8

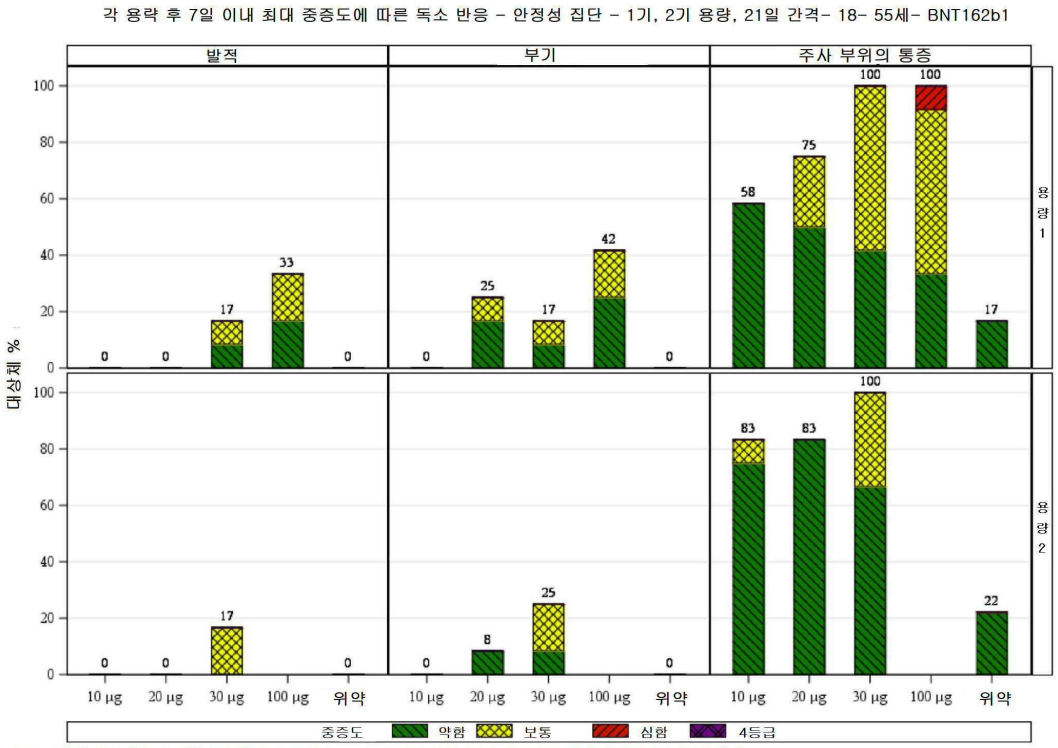
도면46


a
Spearman r = 0.5552
P = 0.0004
CD4+ T-세포 반응 (IFNγ 스폿/ 1 x 10^6 세포)
RBD-특이 IgG log(U/mL), 29일
b
Pearson r = 0.57
P <0.0001
CD8+ T-세포 반응 (IFNγ 스폿/ 1 x 10^6 세포)
CD4+ T 세포 반응 (IFNγ 스폿/ 1 x 10^6 세포)
c
Spearman r = 0.3174
P = 0.0593
CD8+ T-세포 반응 (IFNγ 스폿/ 1 x 10^6 세포)
RBD-특이 IgG log(U/mL), 29일

도면47

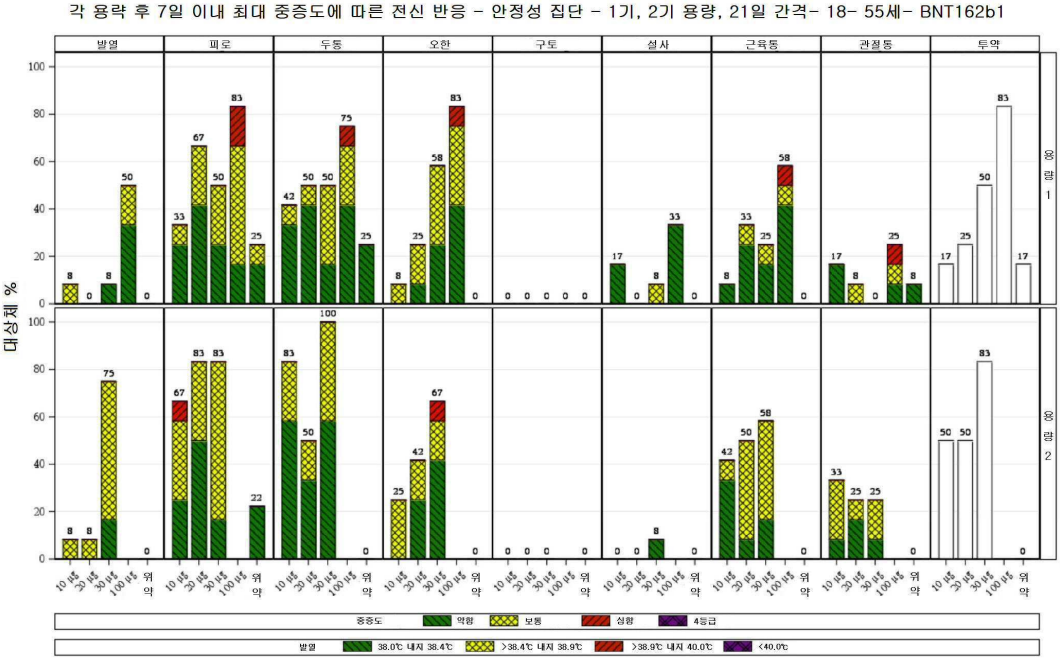

a
Singlets
FSC-H
FSC-A
Non-Debris
Viability
FSC-A
생존 세포
Viability
FSC-A
림프구
SSC-A
FSC-A
CD3+T 세포
CD4
CD3
CD4+/CD8+ T 세포
CD8
CD4
b
IFNγ+ CD4+
IFNγ
CD4
IL-2+ CD4+
IL-2
CD4
IL-4+ CD4+
IL-4
CD4
IFNγ+/IL-2+ CD4+
IL-2
IFN-γ
c
IFNγ+ CD8+
IFNγ
CD8
IL-2+ CD8+
IL-2
CD8
IFNγ+/IL-2+ CD8+
IL-2
IFN-γ

도면48



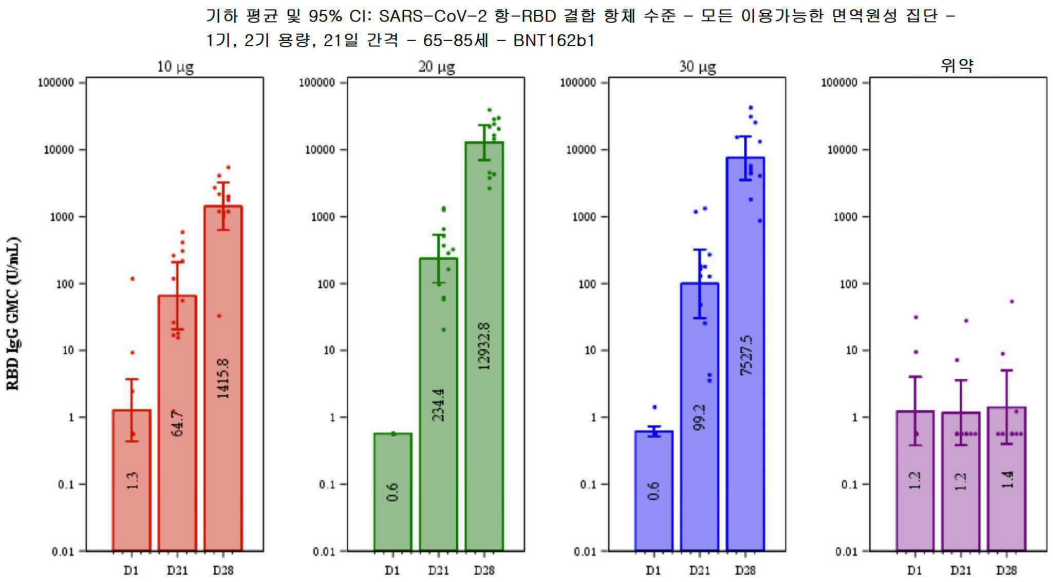
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면49



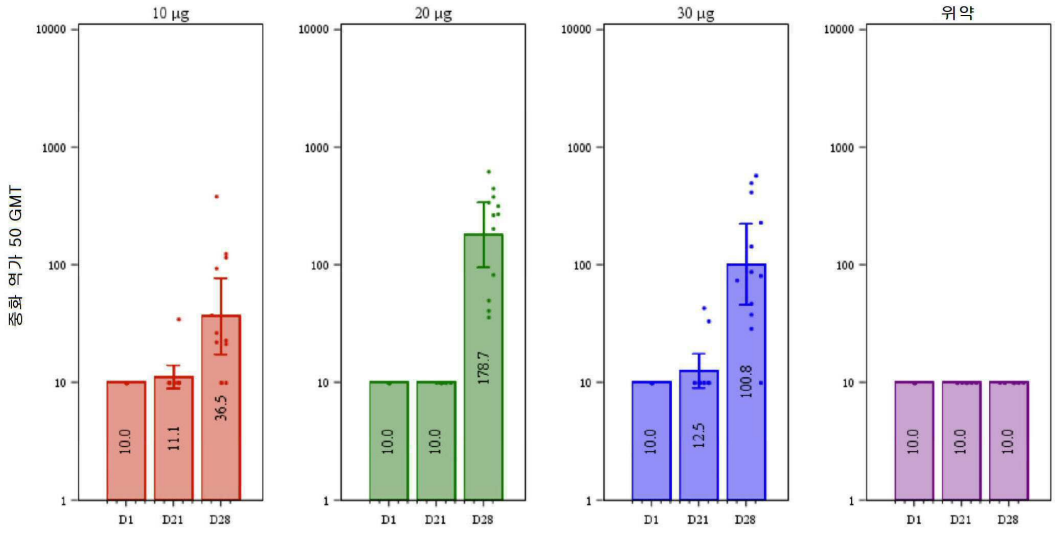
참고: 해열제 또는 진통제 사용에 대한 중증도는 수집되지 않았습니다.
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면50



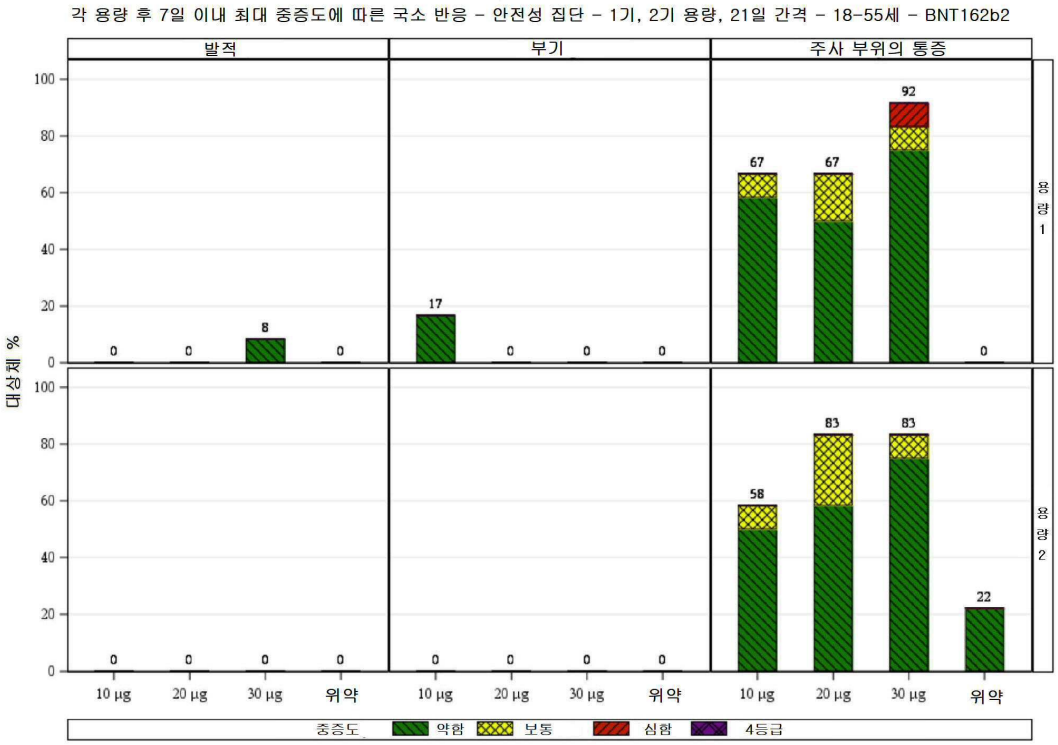
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면51



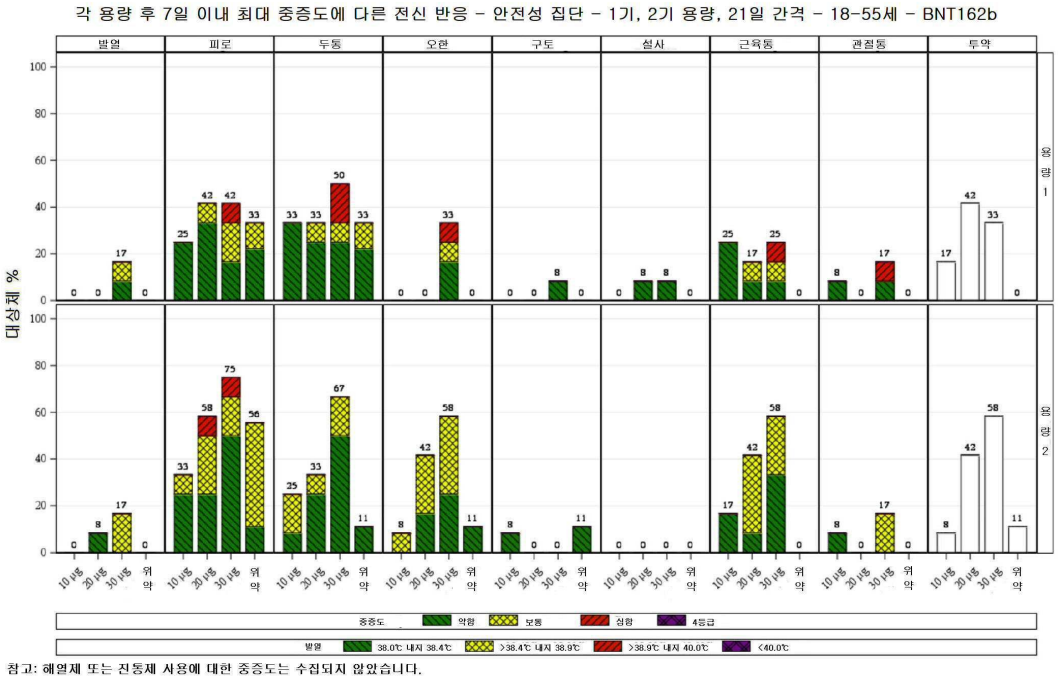
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면52



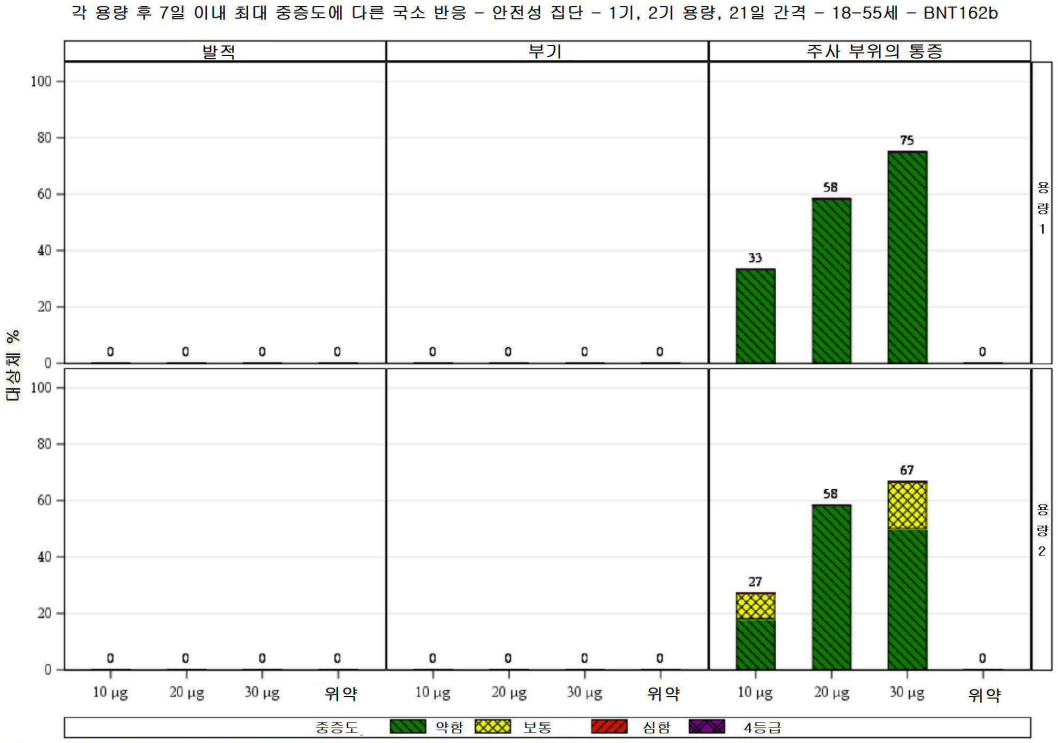
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면53



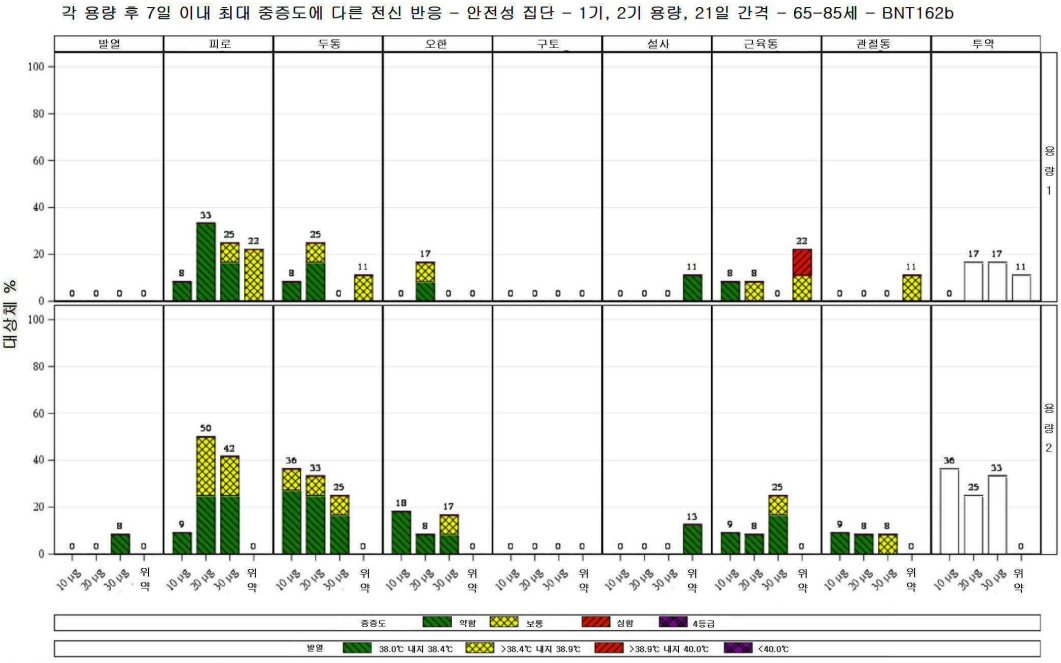
참고: 해열제 또는 진통제 사용에 대한 중증도는 수집되지 않았습니다.
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면54



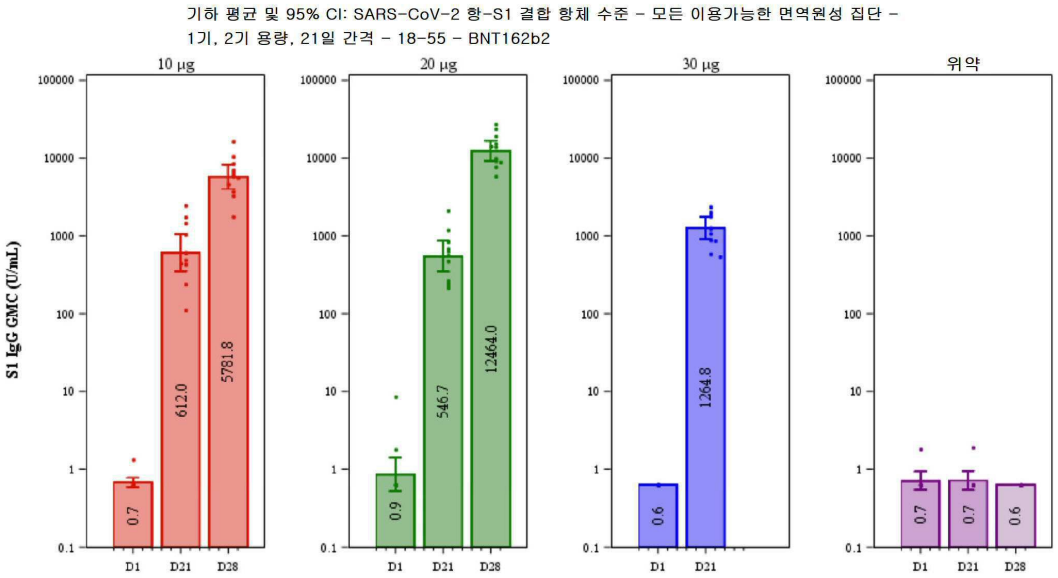
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면55



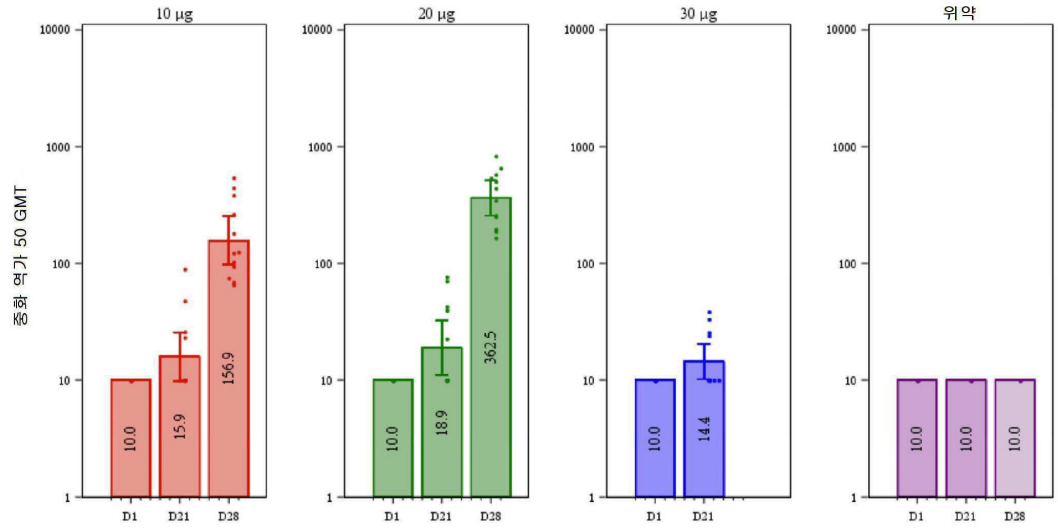
참고: 해열제 또는 진통제 사용에 대한 중증도는 수집되지 않았습니다.
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면56



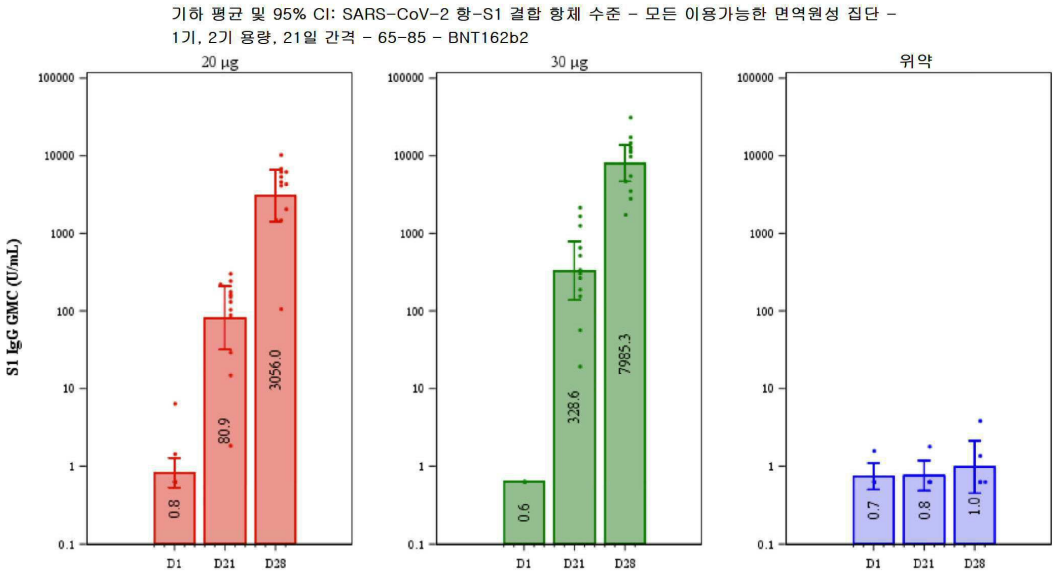
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면57



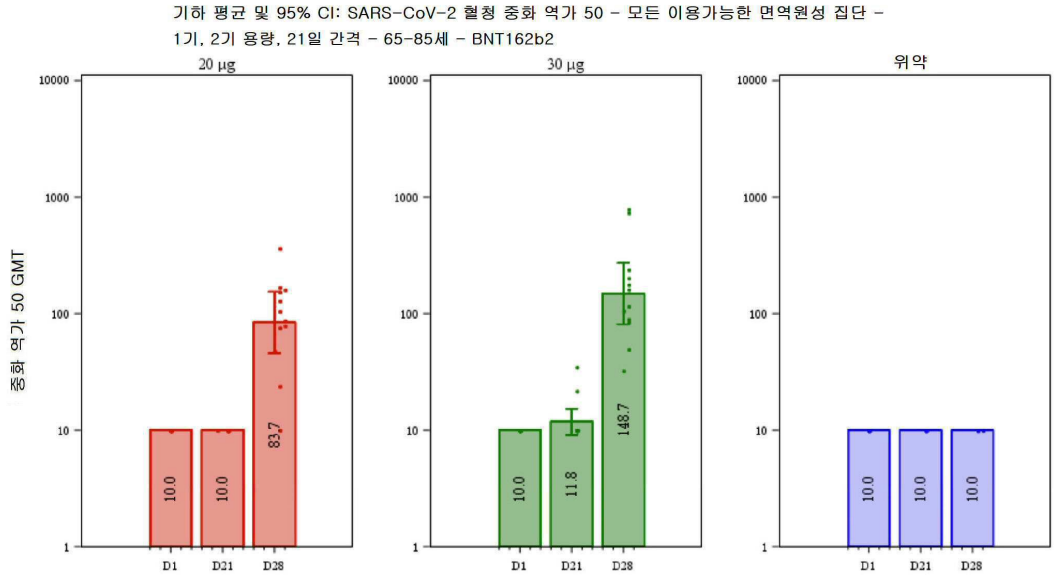
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면58



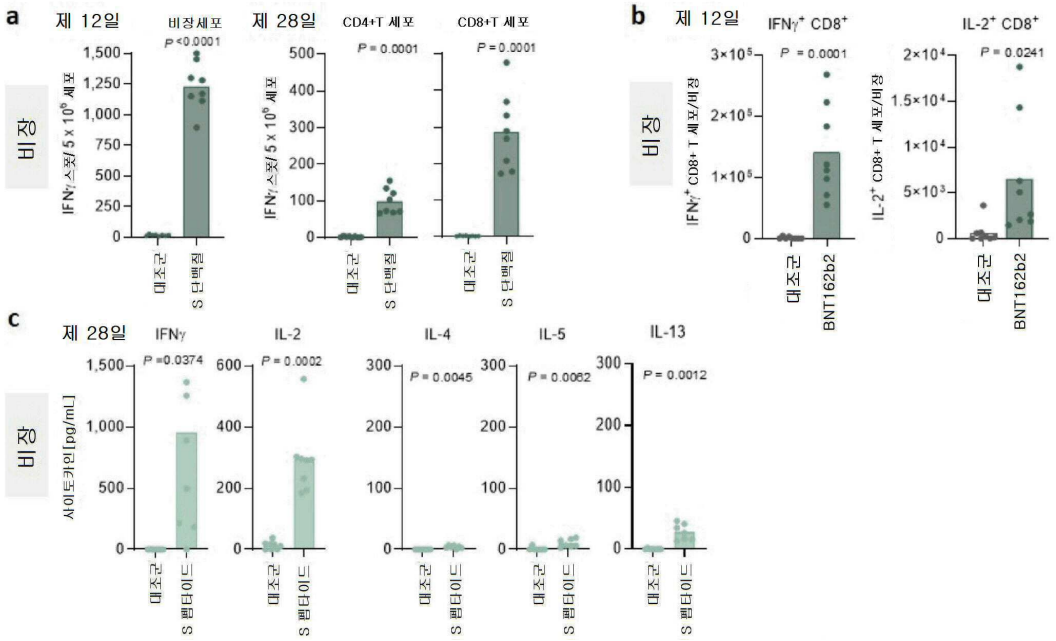
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면59

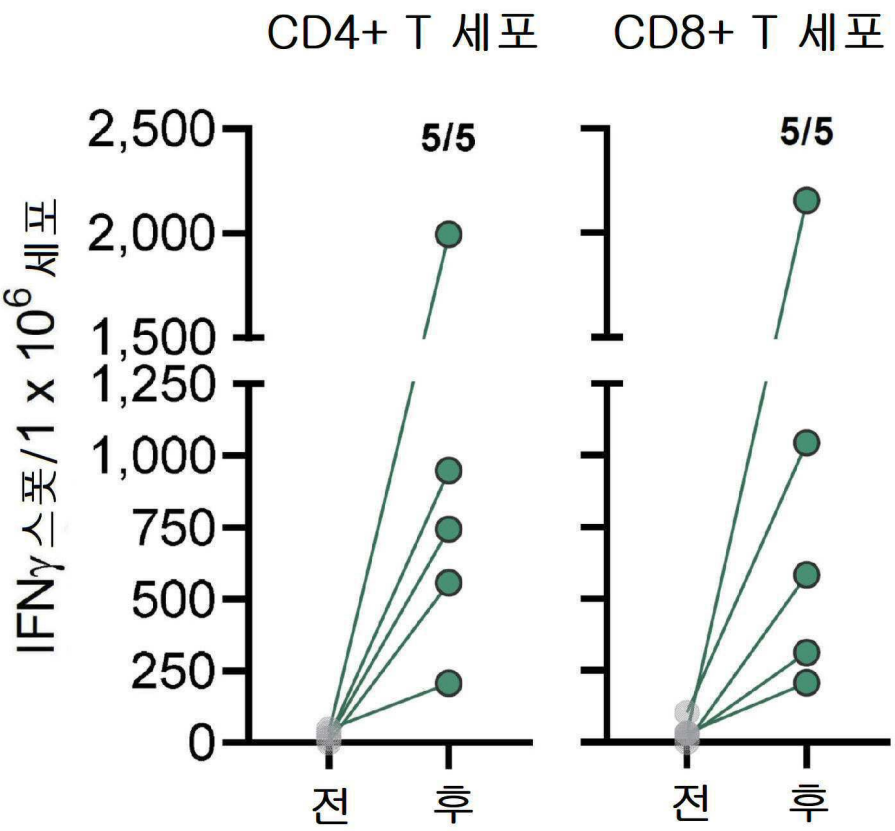


참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

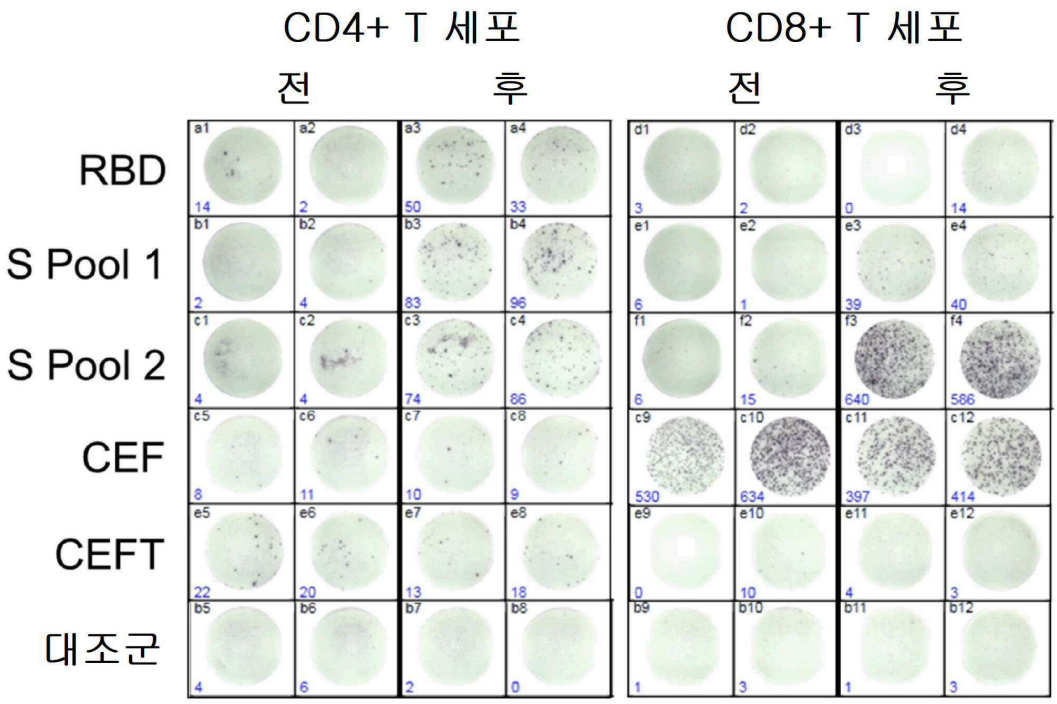
도면60


a
제 12일
비장세포
제 28일
CD4+T 세포
CD8+T 세포
비장
IFNγ 스폿/ 5 x 10^6 세포
P <0.0001
P = 0.0001
P = 0.0001
대조군
S 단백질
b
제 12일
IFNγ+ CD8+
IL-2+ CD8+
비장
IFNγ+ CD8+ T 세포/비장
IL-2+ CD8+ T 세포/비장
P = 0.0001
P = 0.0241
대조군
BNT162b2
c
제 28일
IFNγ
IL-2
IL-4
IL-5
IL-13
비장
사이토카인 [pg/mL]
P =0.0374
P = 0.0002
P = 0.0045
P = 0.0062
P = 0.0012
대조군
S 펩타이드

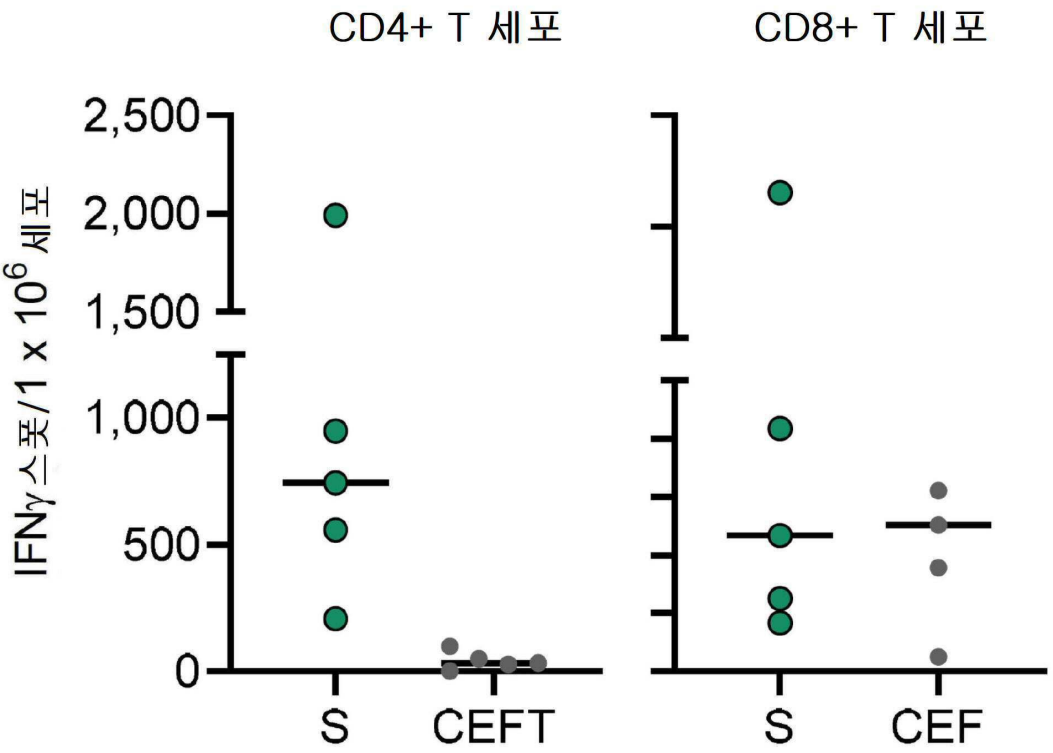
도면61


CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
IFNγ 스폿/1 x 10^6 세포
5/5
5/5
전
후
전
후

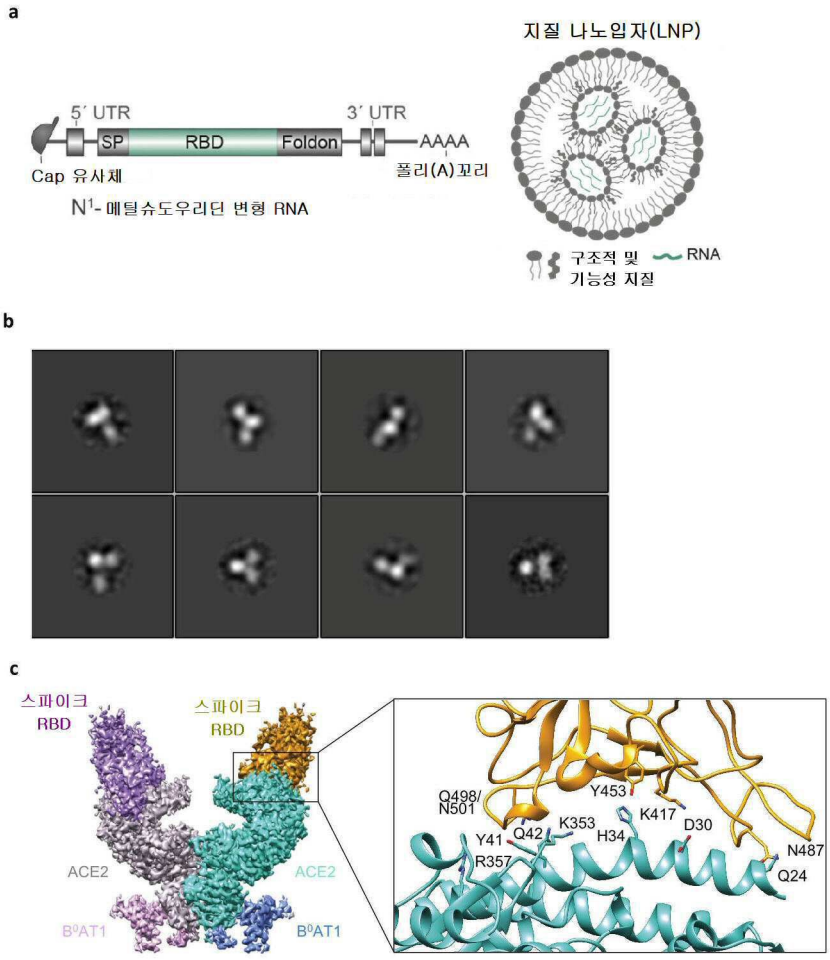
도면62


CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
전
후
전
후
RBD
S Pool 1
S Pool 2
CEF
CEFT
대조군

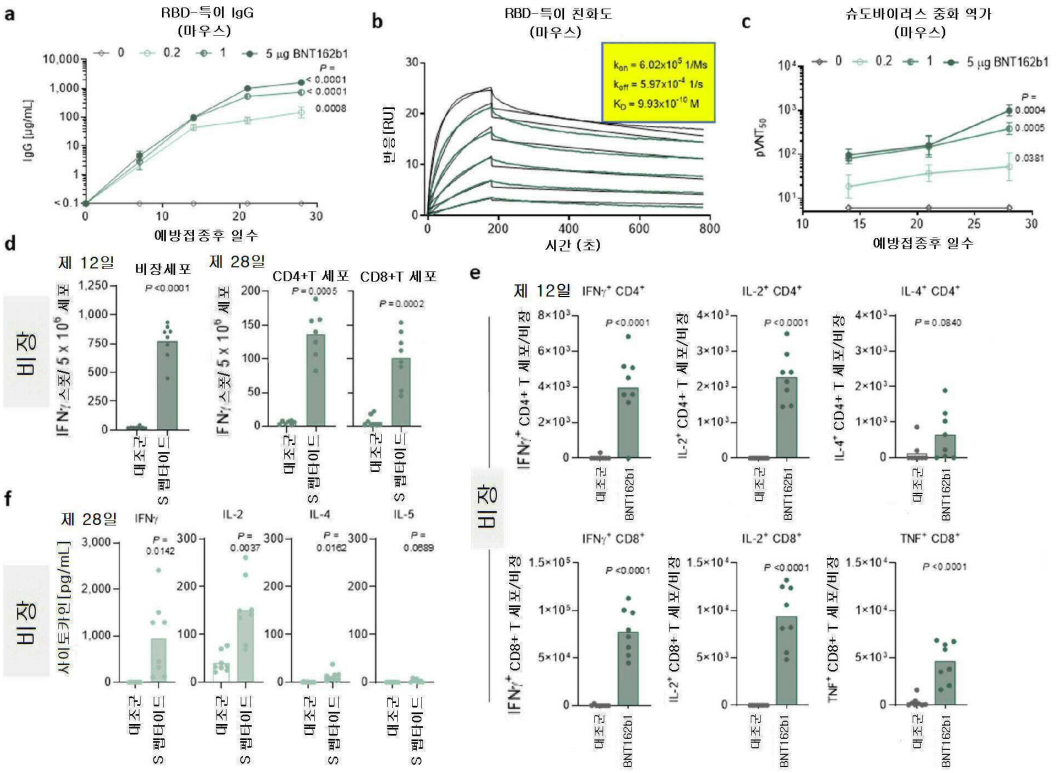
도면63


CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
IFNγ 스폿/1 x 10^6 세포
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
S
CEFT
S
CEF

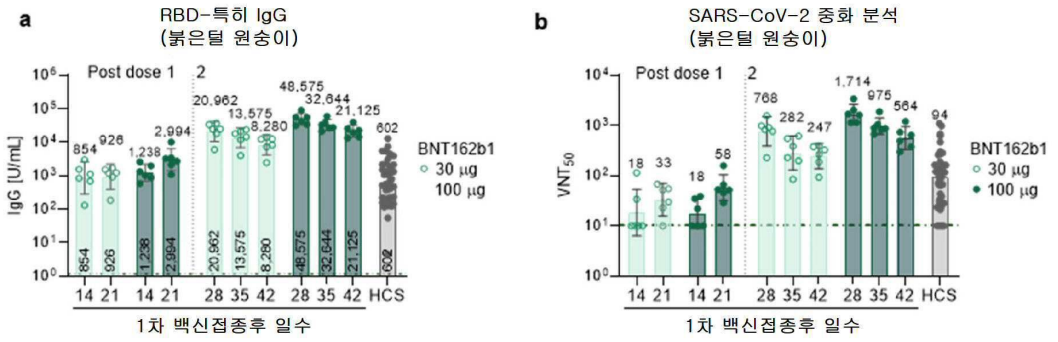
도면64


a
지질 나노입자(LNP)
5′ UTR
SP
RBD
Foldon
3′ UTR
AAAA
Cap 유사체
폴리(A)꼬리
N1-메틸슈도우리딘 변형 RNA
구조적 및
기능성 지질
RNA
b
c
스파이크
RBD
스파이크
RBD
ACE2
ACE2
B0AT1
B0AT1
Q498/
N501
Y453
K417
K353
D30
Y41
Q42
H34
N487
R357
Q24

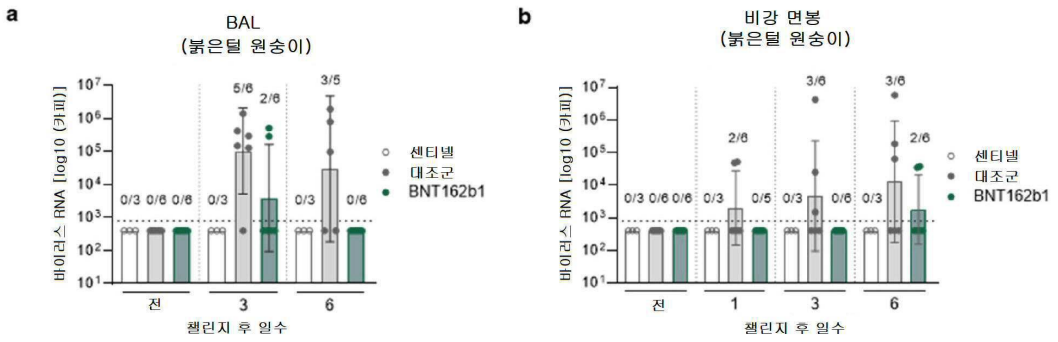
도면65



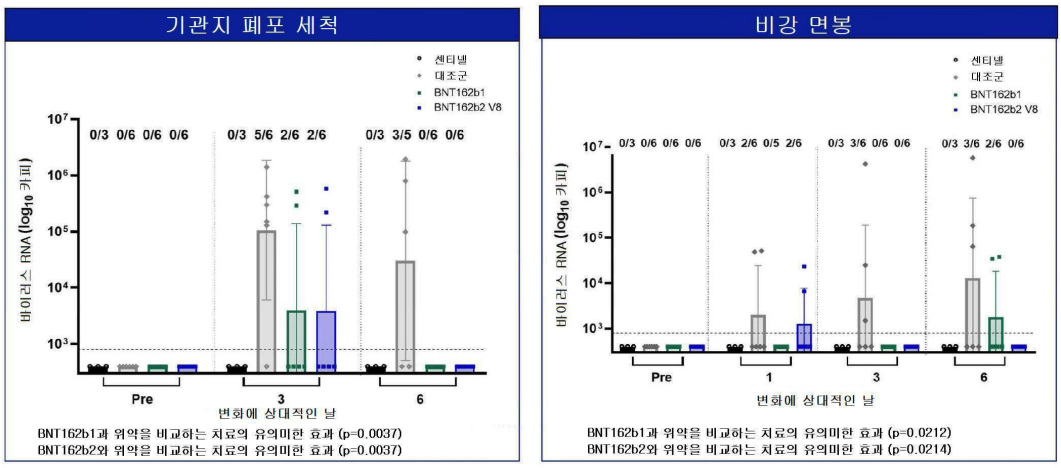
도면66



도면67



도면68



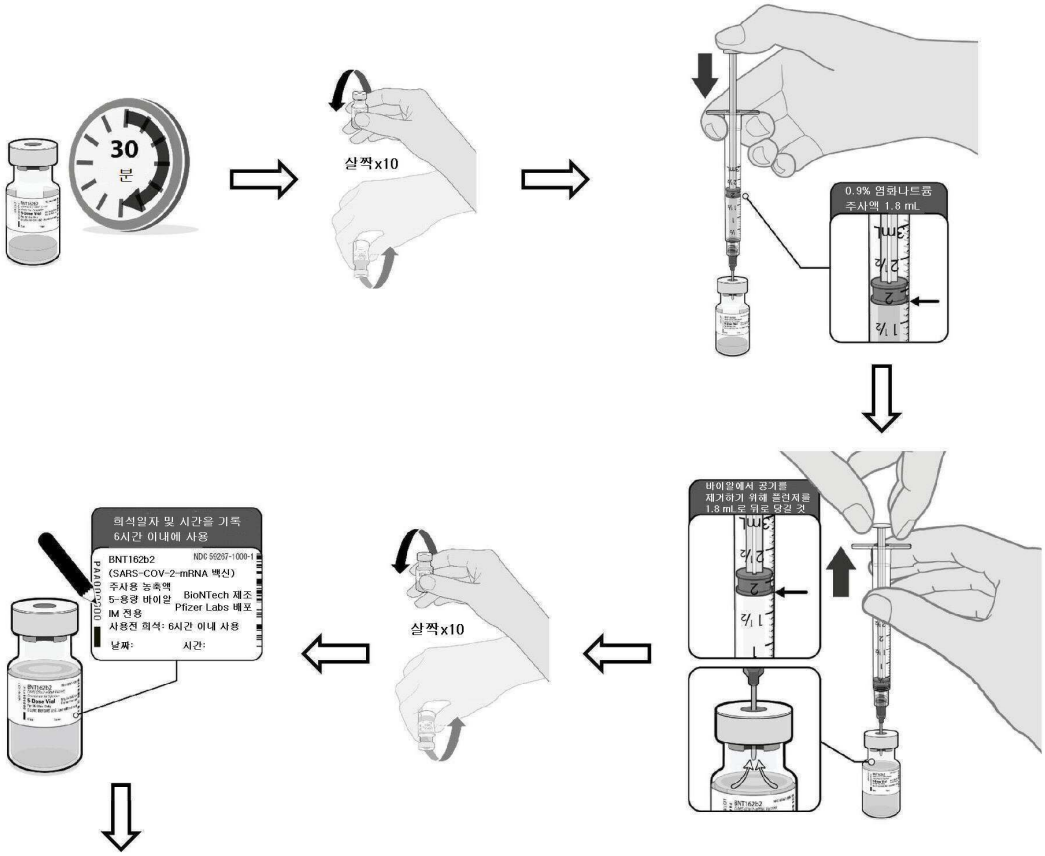
도면69



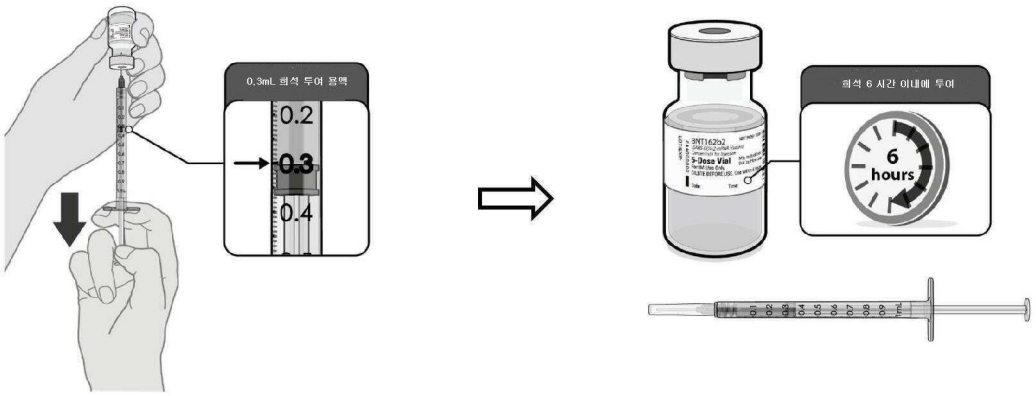
도면70



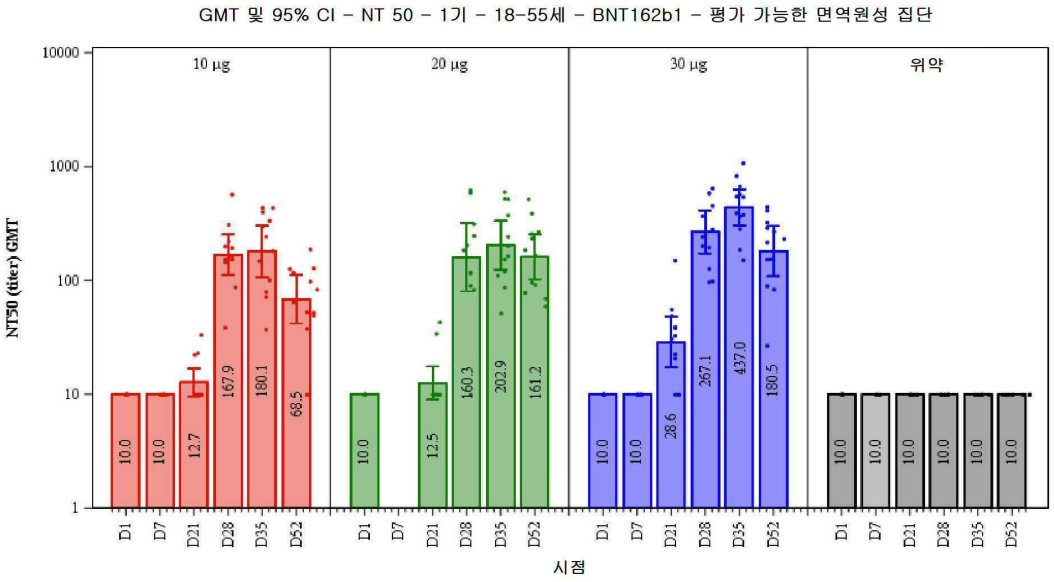
도면71a


30
분
살짝x10
0.9% 염화나트륨
주사액 1.8 mL
바이알에서 공기를
제거하기 위해 플런저를
1.8 mL로 뒤로 당길 것
살짝x10
희석일자 및 시간을 기록
6시간 이내에 사용
BNT162b2
(SARS-COV-2-mRNA 백신)
주사용 농축액
5-용량 바이알
BioNTech 제조
Pfizer Labs 배포
IM 전용
사용전 희석: 6시간 이내 사용
날짜:
시간:

도면71b

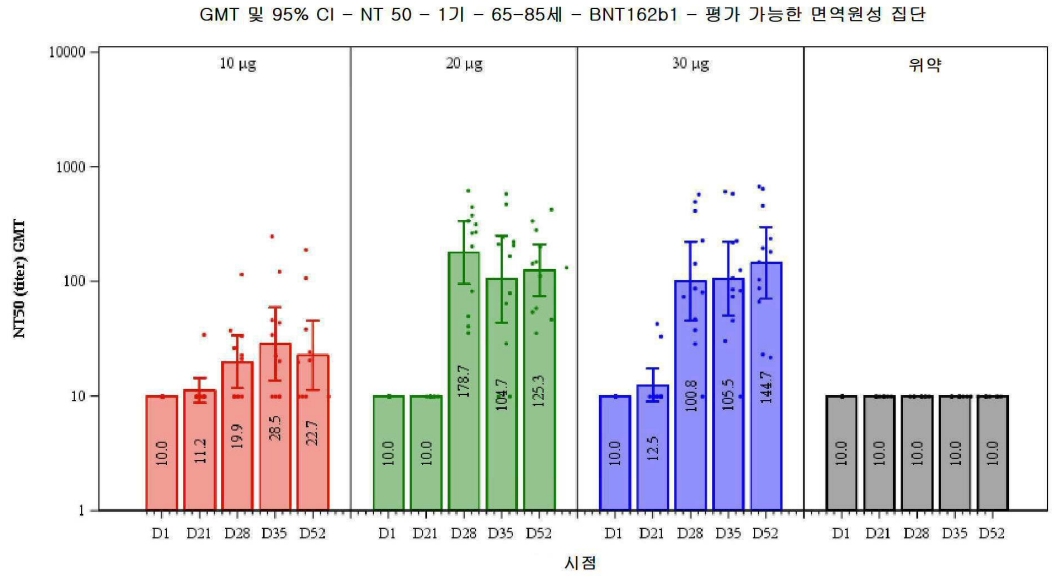

0.3mL 희석 투여 용액
0.2
0.3
0.4
희석 6 시간 이내에 투여
6
hours

도면72



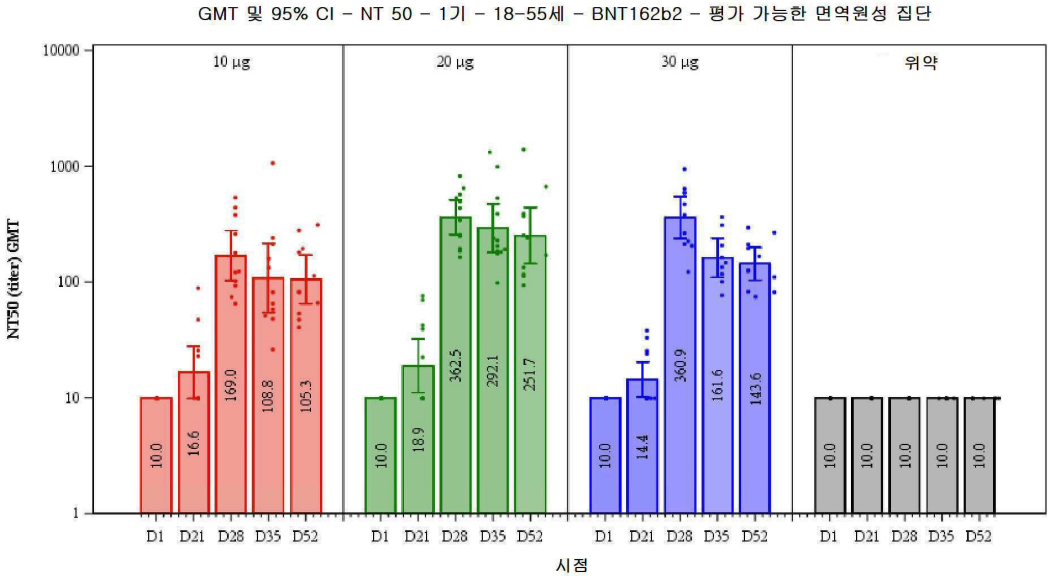
약어: GMT = 기하 평균 역가; NT 50 = 50% 중화 역가; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기 증후군 코로나바이러스 2.
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면73



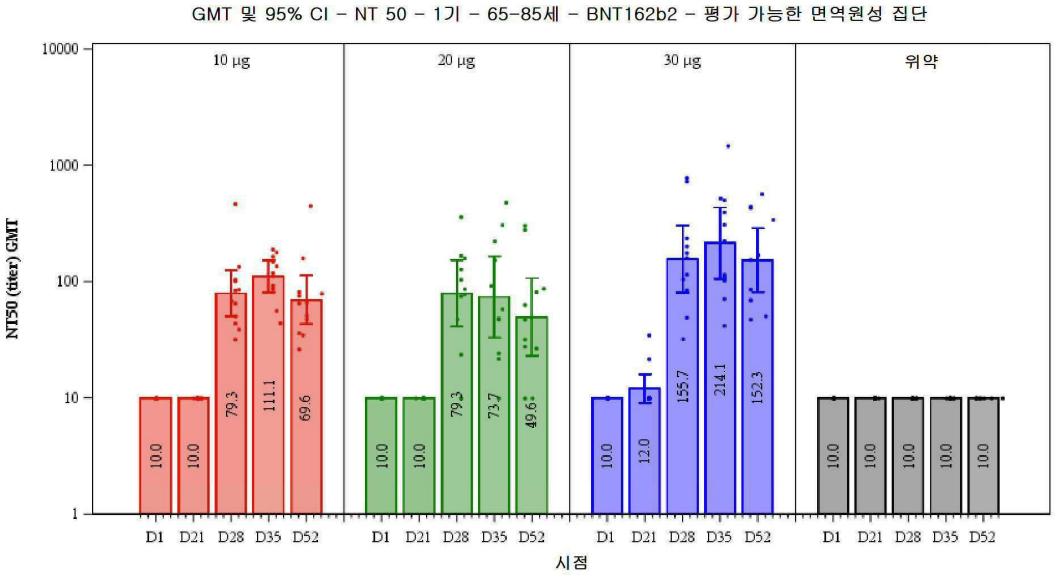
약어: GMT = 기하 평균 역가; NT 50 = 50% 중화 역가; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기 증후군 코로나바이러스 2.
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면74



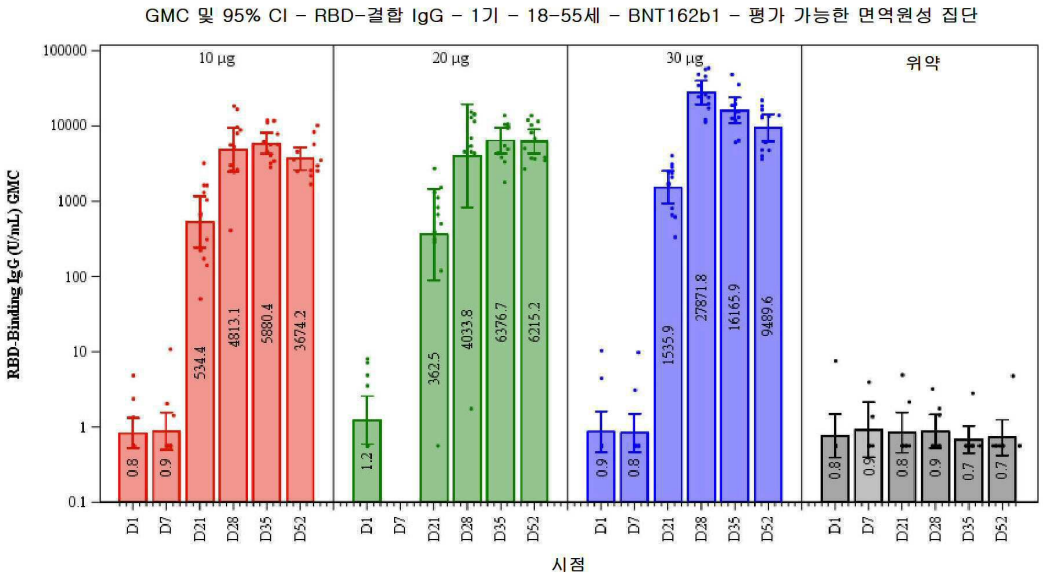
약어: GMT = 기하 평균 역가; NT 50 = 50% 중화 역가; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기 증후군 코로나바이러스 2.
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면75



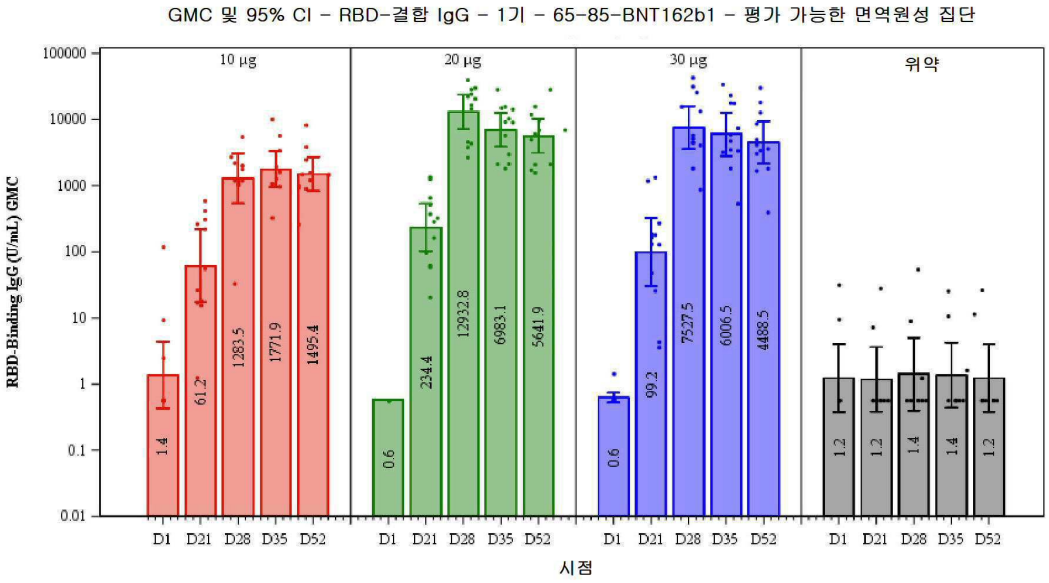
약어: GMT = 기하 평균 역가; NT 50 = 50% 중화 역가; SARS-CoV-2 = 중증급성호흡기 증후군 코로나바이러스 2.
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면76



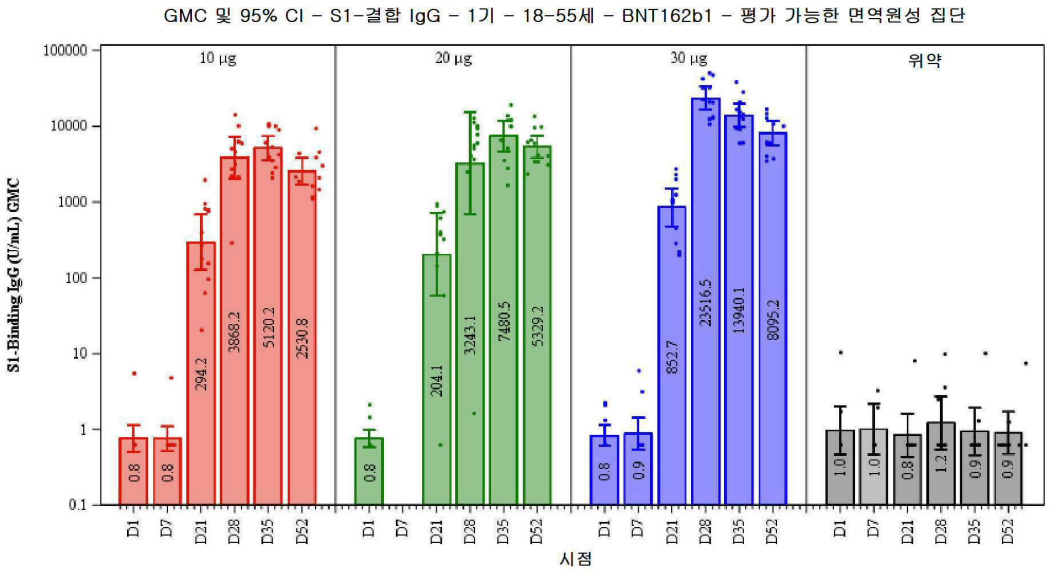
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; RBD = 수용체-결합 도메인
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면77



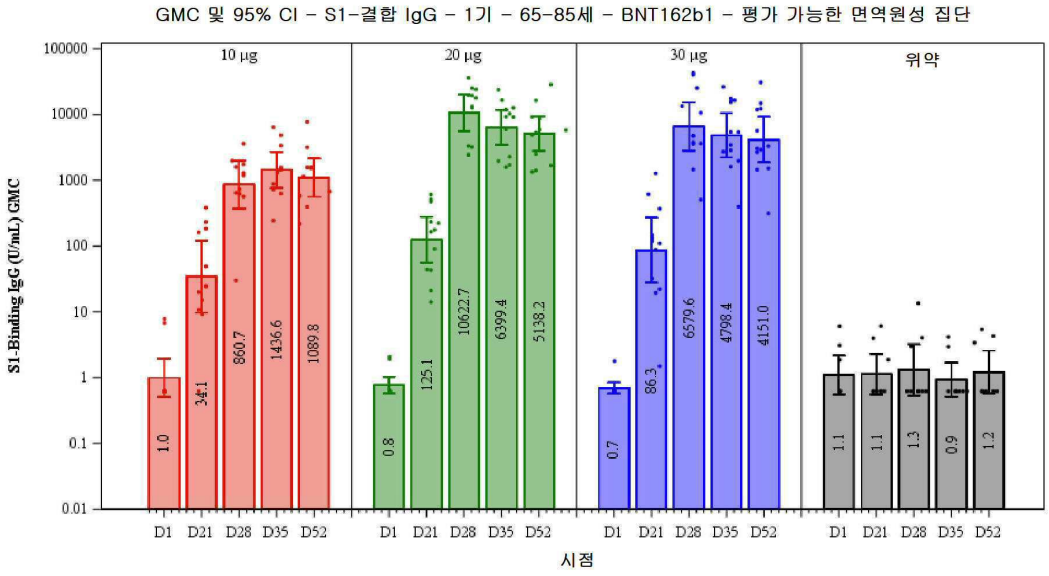
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; RBD = 수용체-결합 도메인
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면78



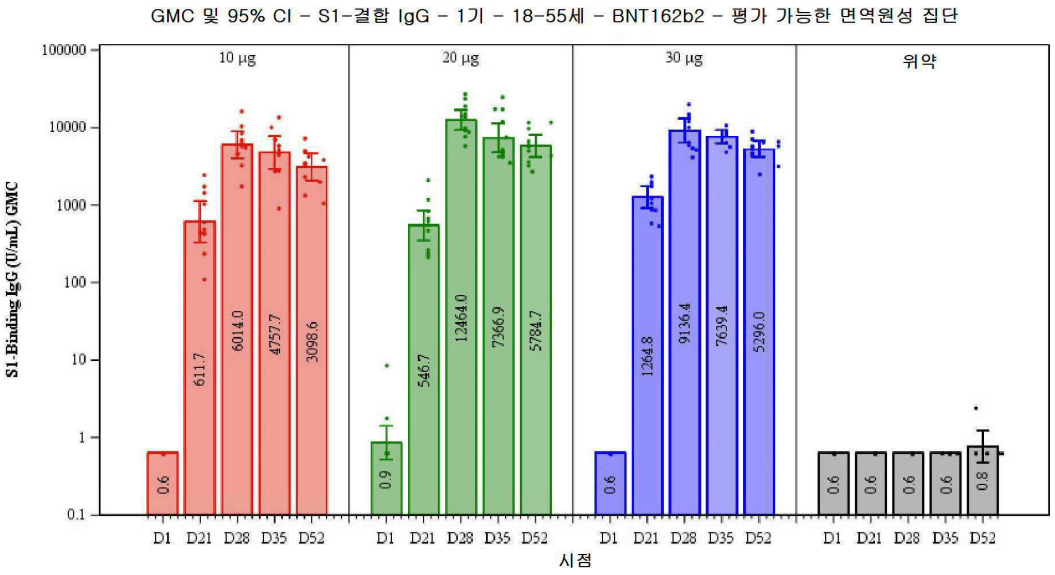
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; S1 = 스파이크 단백질 S1 서브유닛
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면79



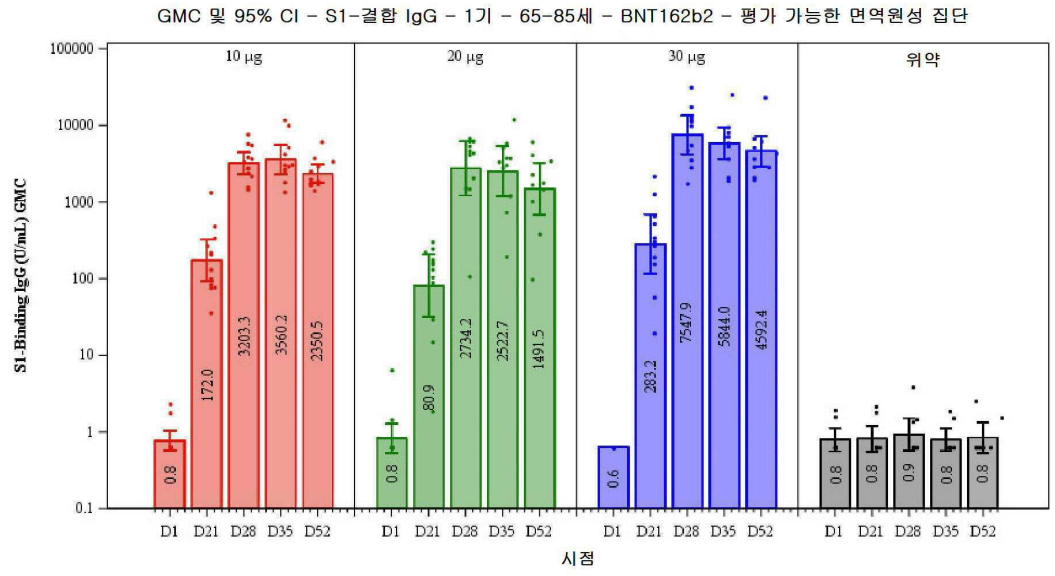
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; S1 = 스파이크 단백질 S1 서브유닛
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면80



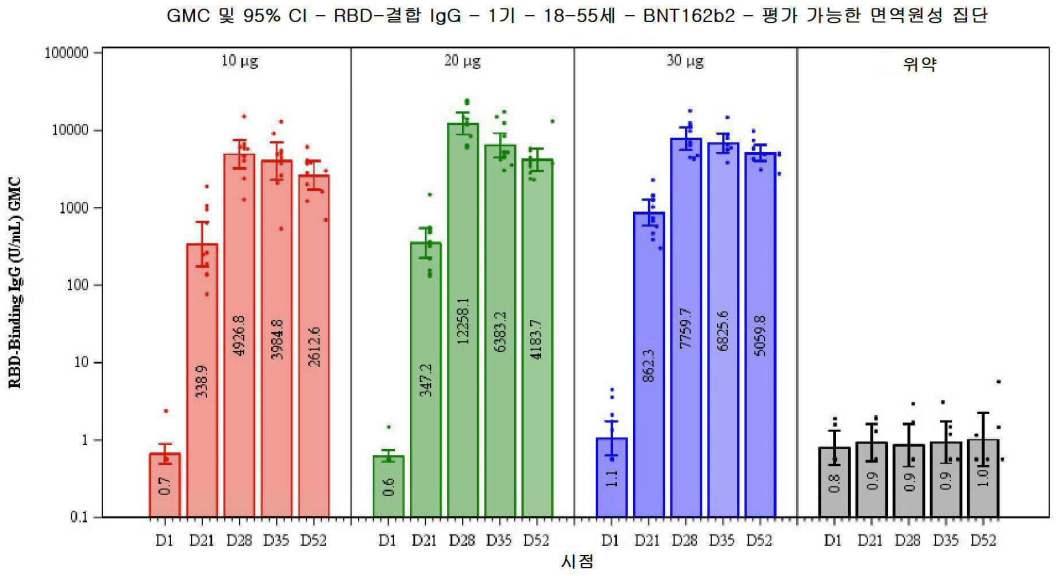
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; S1 = 스파이크 단백질 S1 서브유닛
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면81



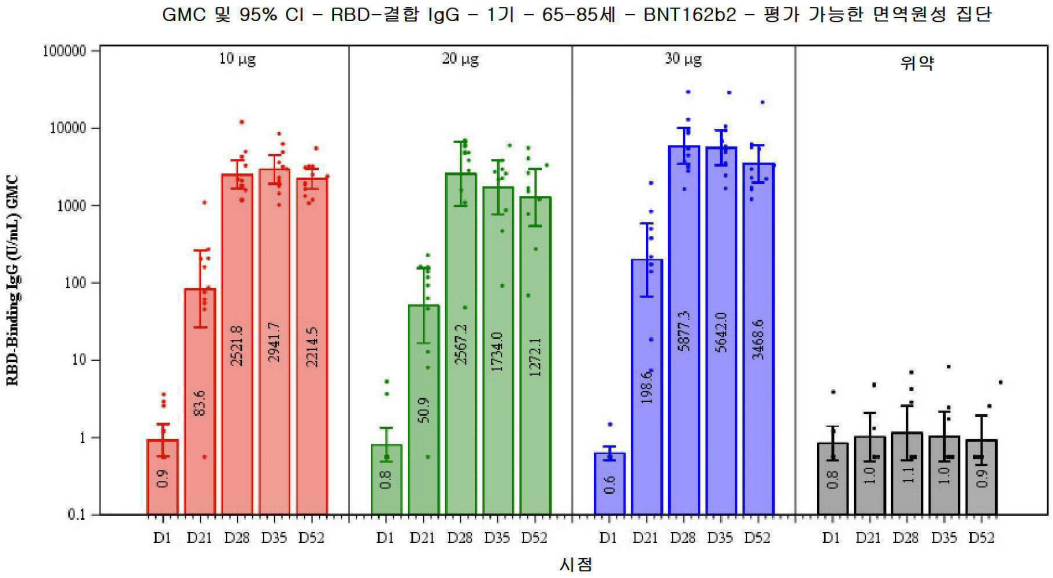
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; S1 = 스파이크 단백질 S1 서브유닛
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면82



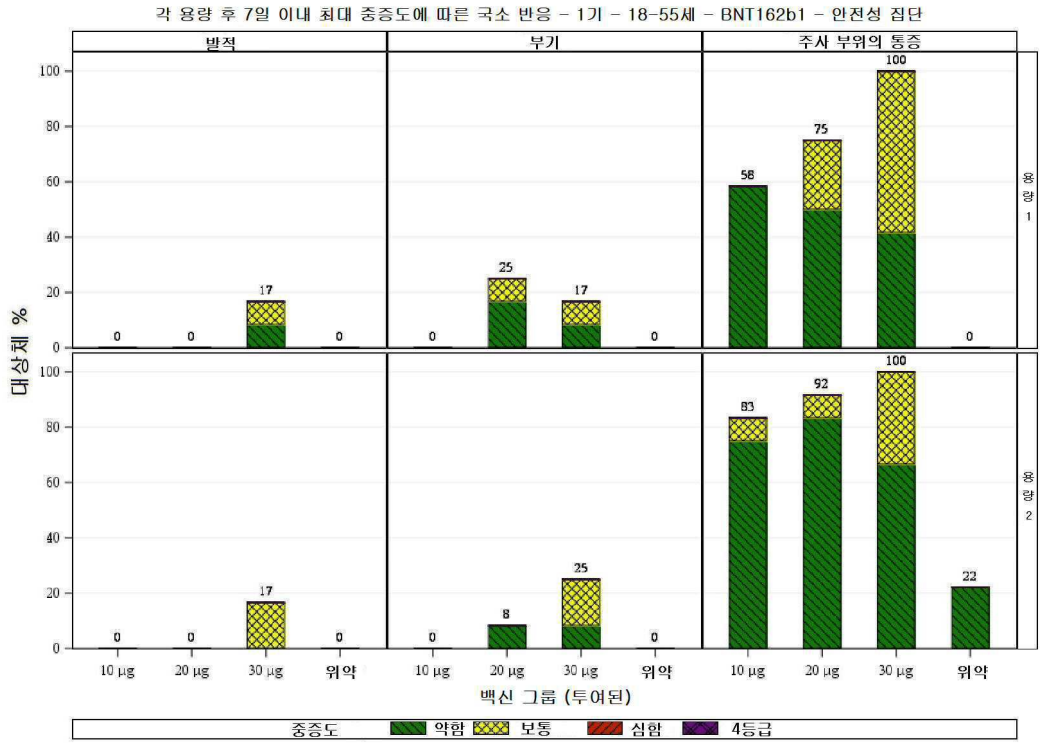
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; RBD = 수용체-결합 도메인
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면83



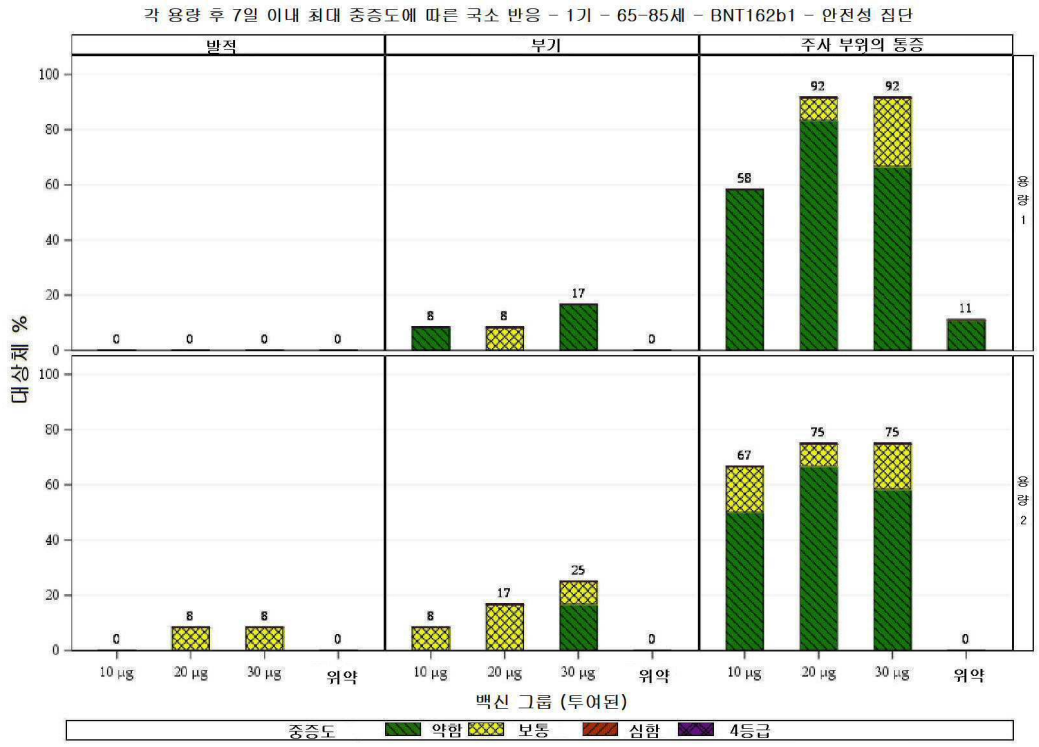
약어: GMC = 기하 평균 농도; IgG = 면역글로불린 G; RBD = 수용체-결합 도메인
참고: 점은 개별 항체 수준을 나타낸다.
참고: 각 막대 내의 숫자는 기하 평균을 나타낸다.

도면84



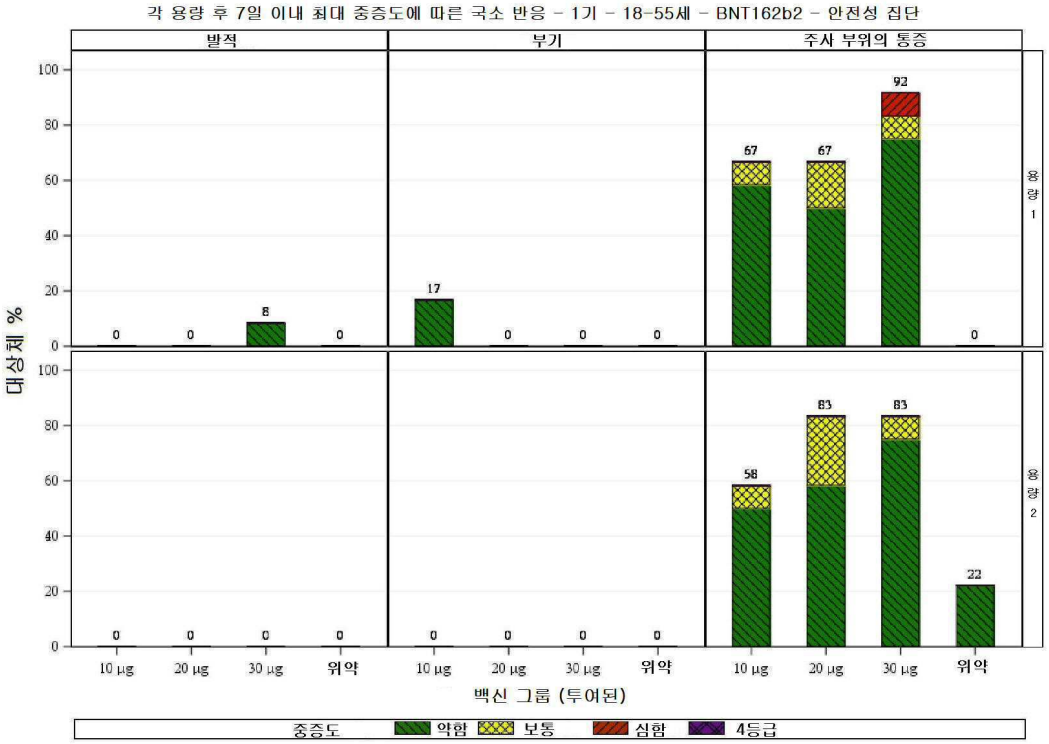
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면85



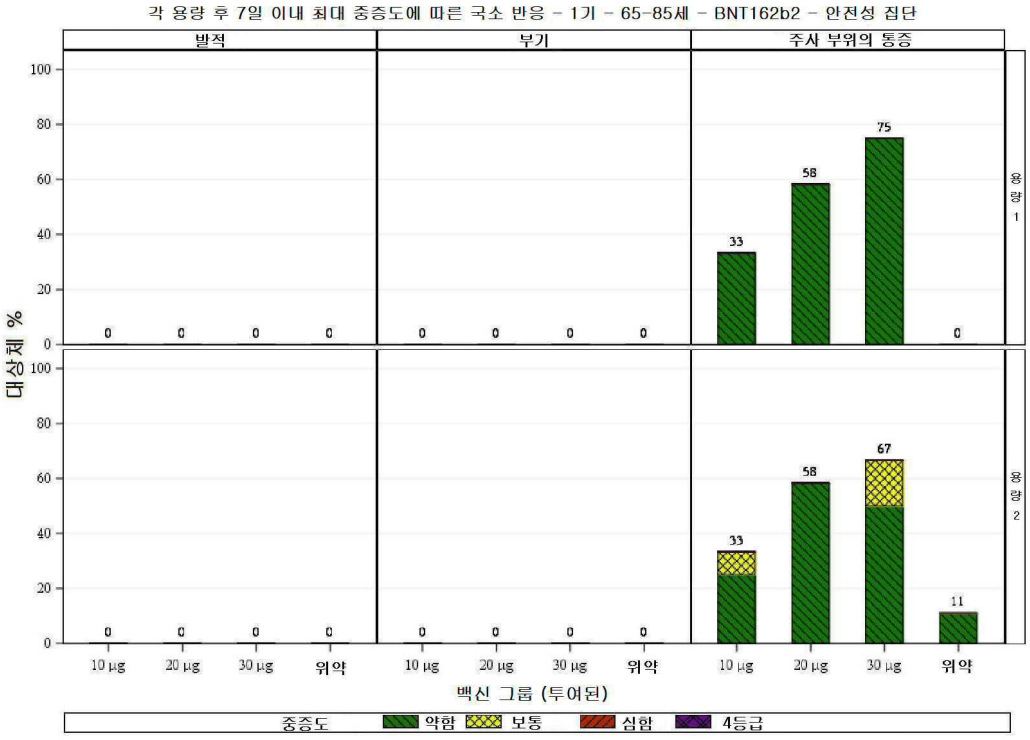
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면86



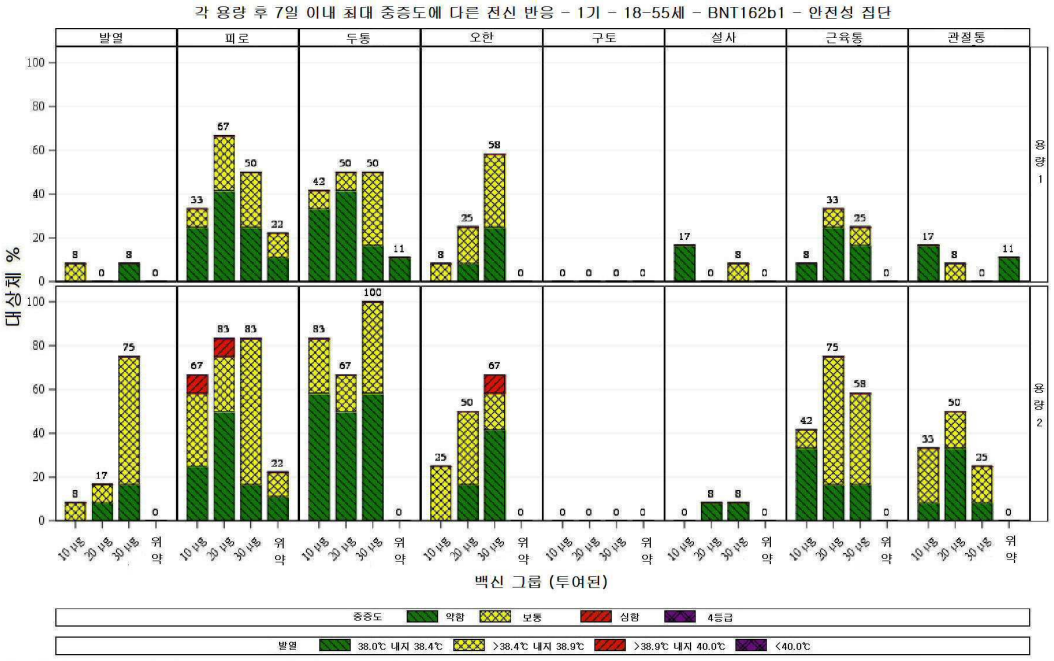
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면87



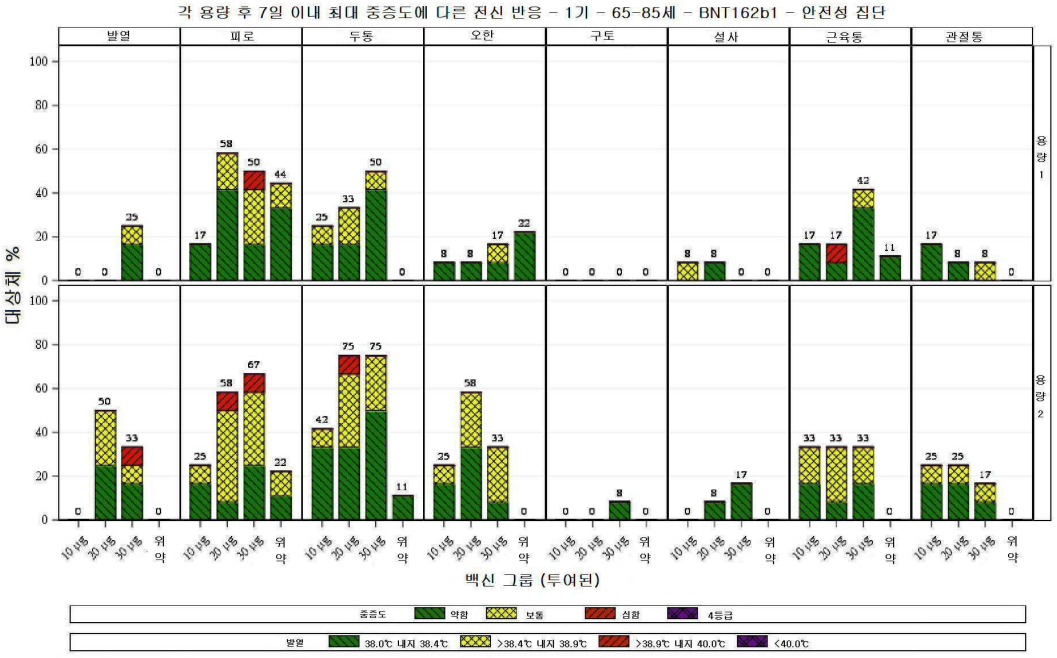
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면88



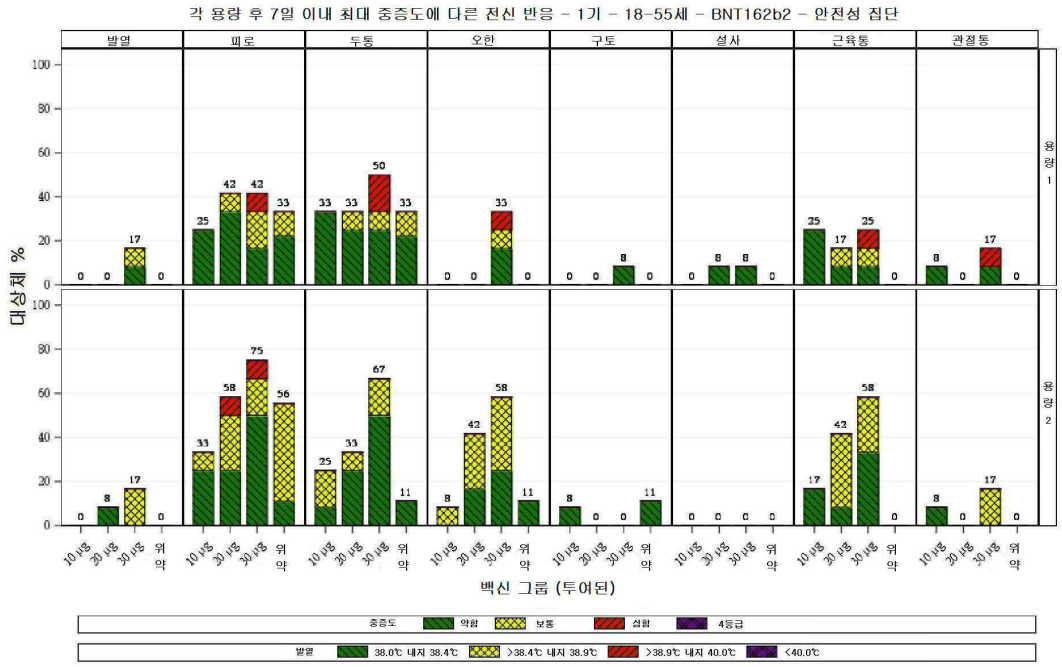
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면89



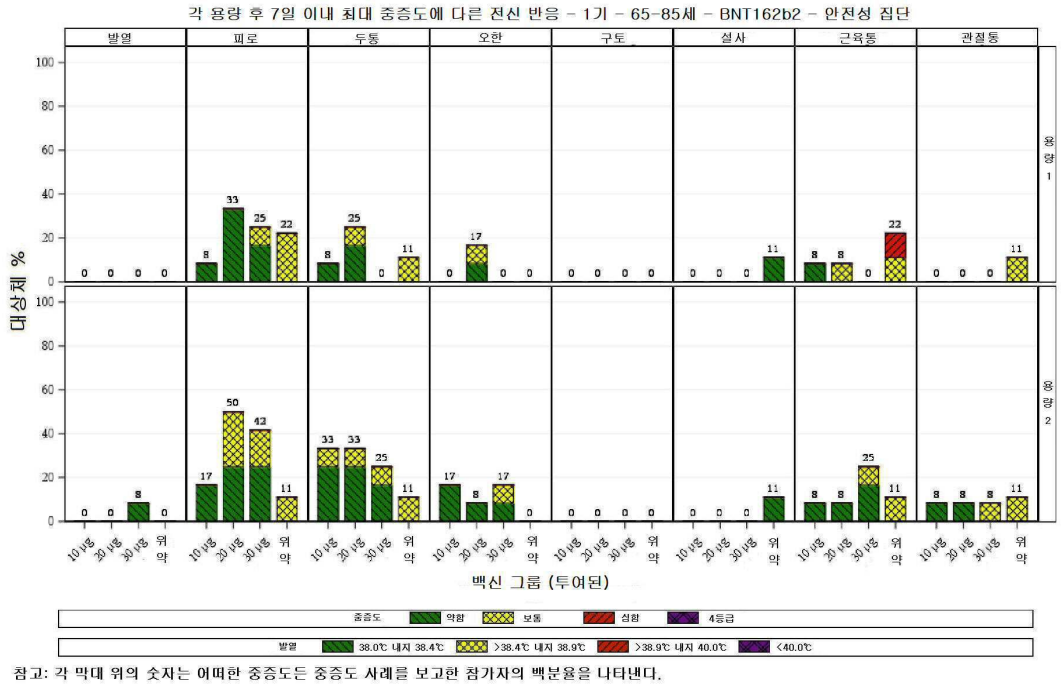
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면90



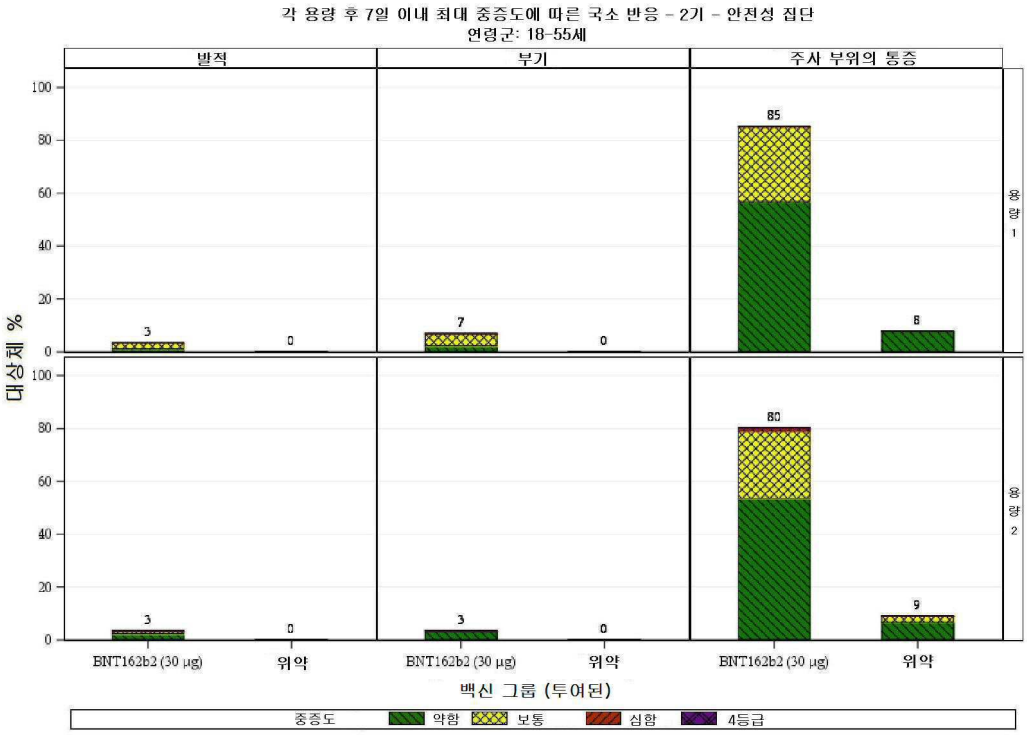
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면91



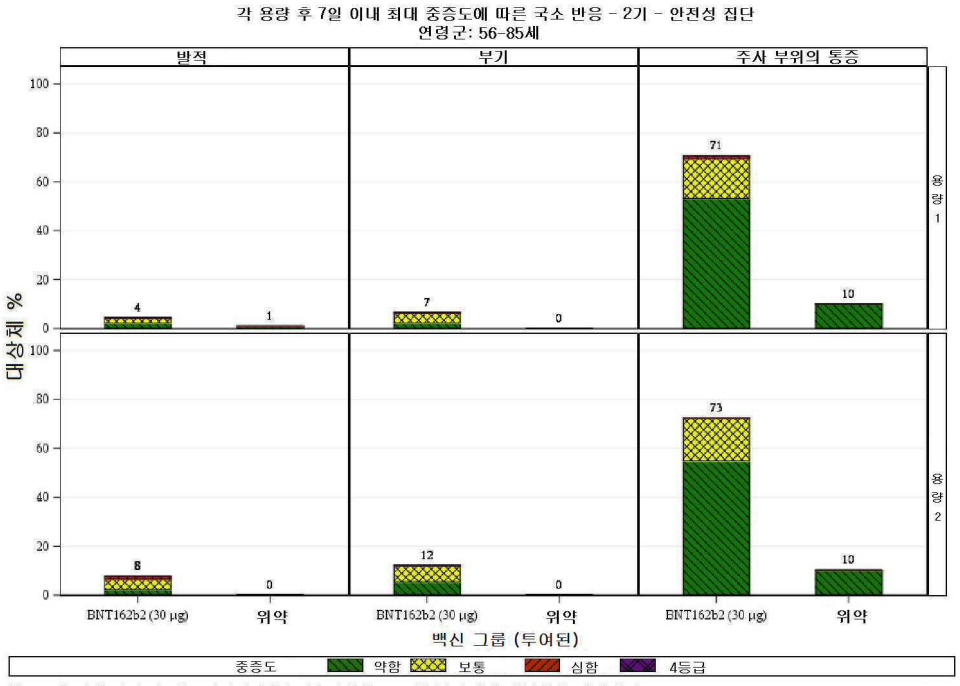
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면92



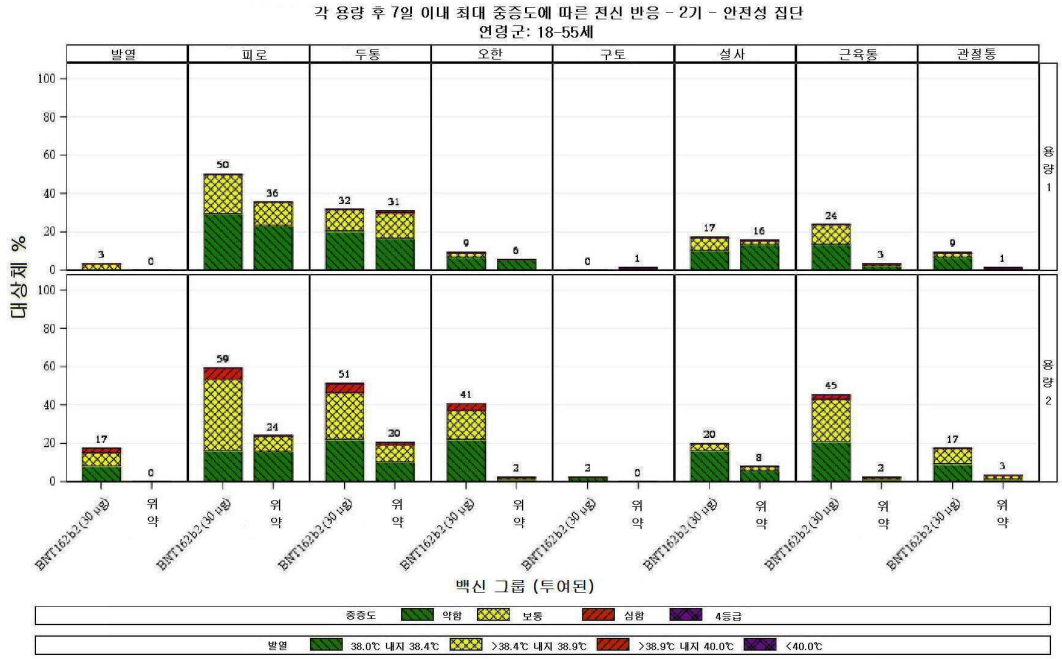
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 반응을 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면93



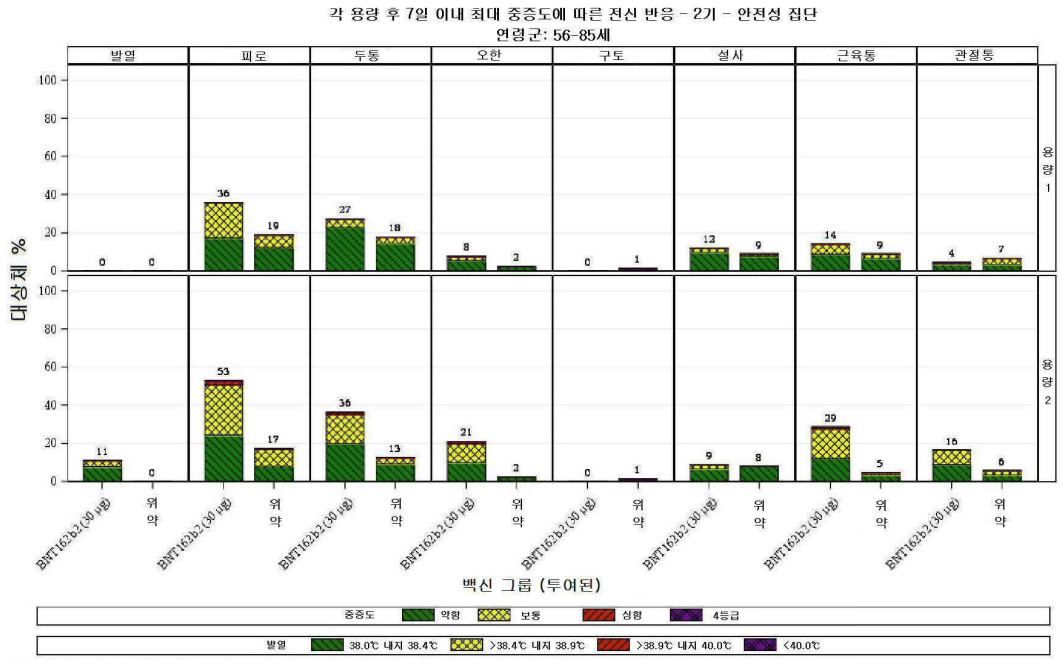
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 반응을 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면94



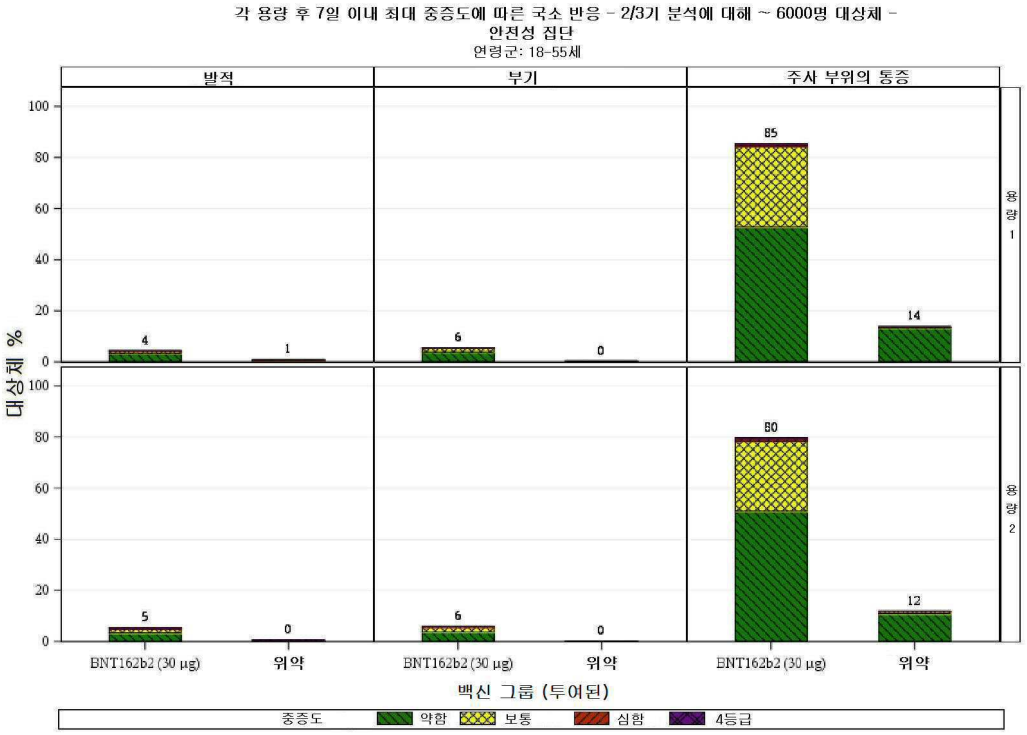
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면95



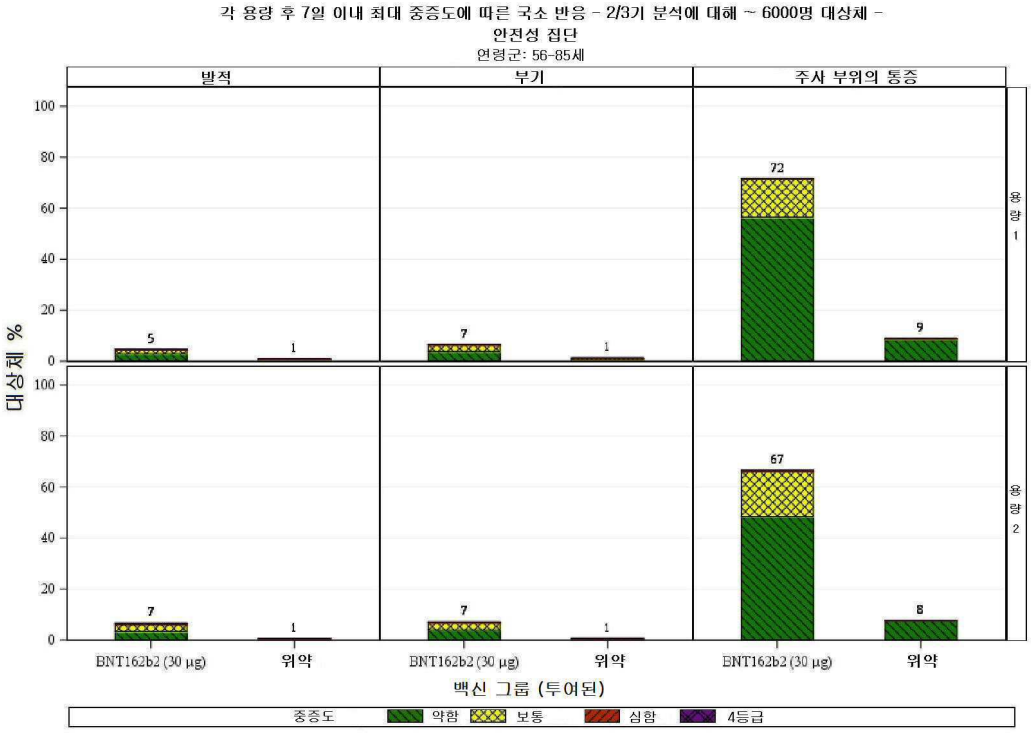
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면96



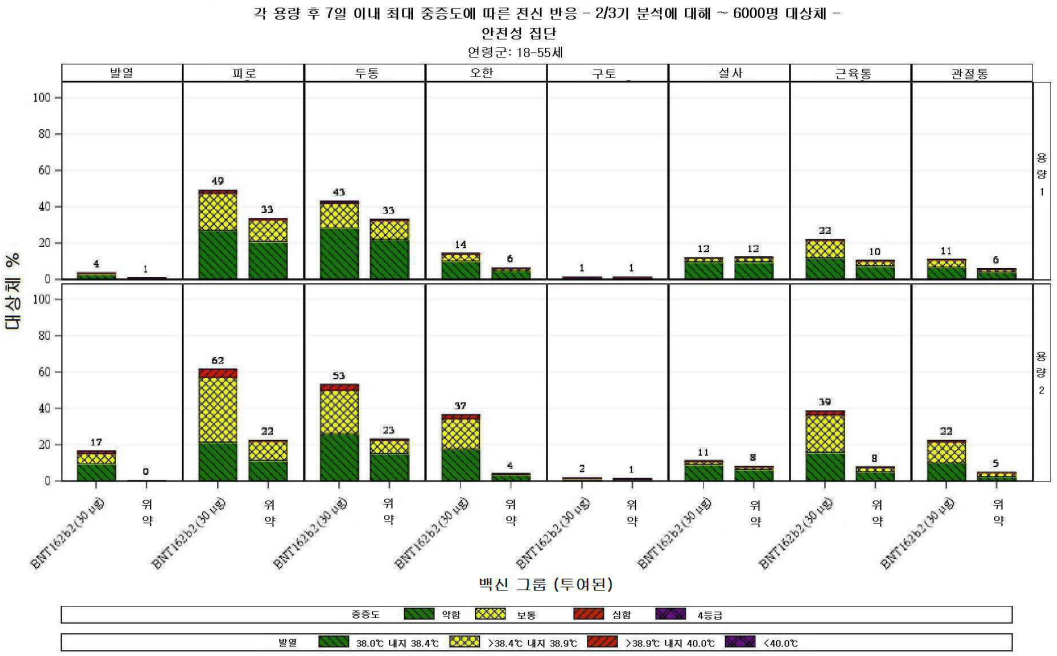
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 반응을 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면97



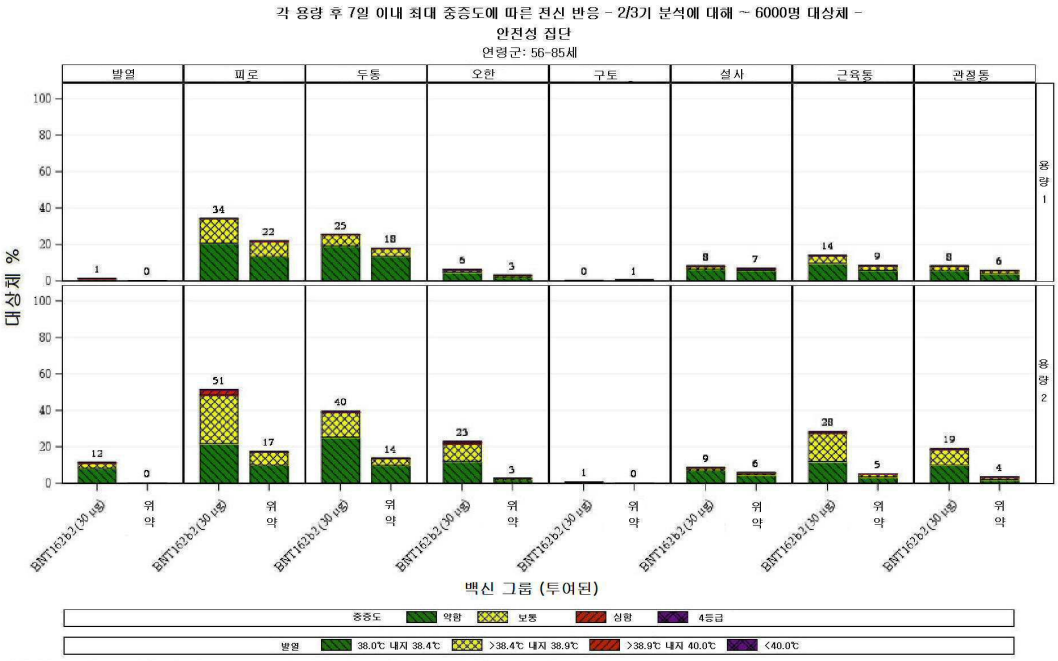
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 반응을 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면98



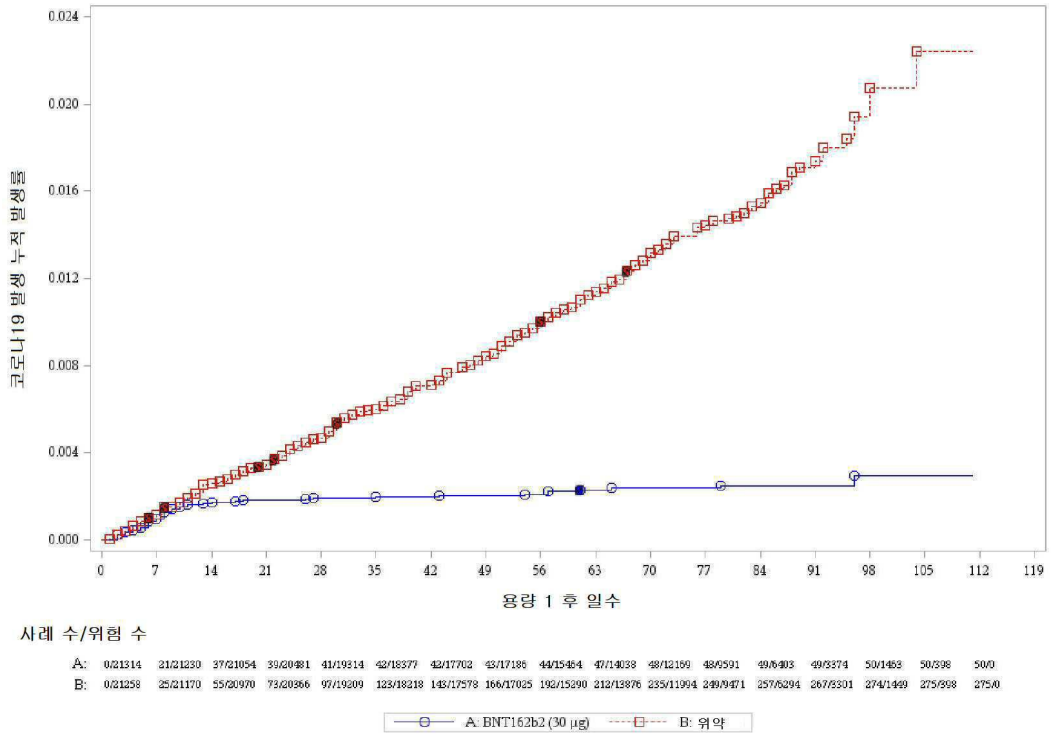
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면99



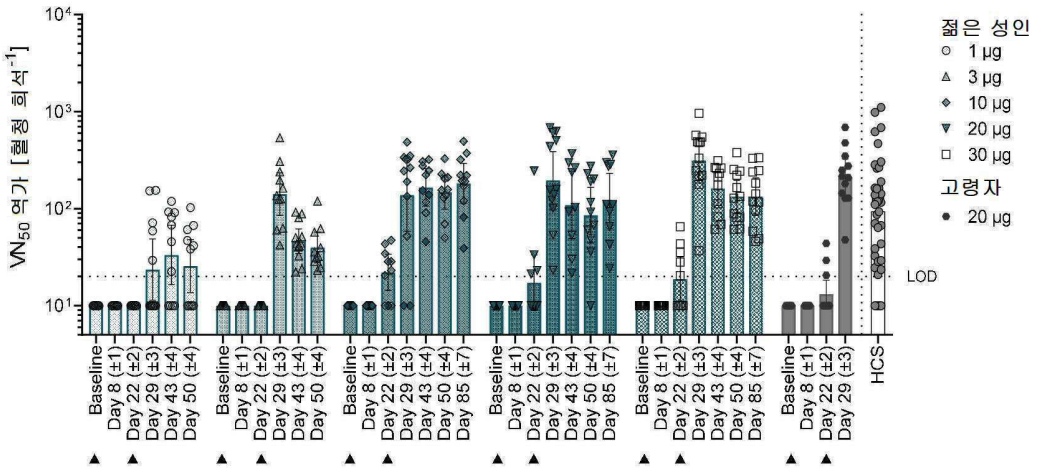
참고: 각 막대 위의 숫자는 어떠한 중증도든 중증도 사례를 보고한 참가자의 백분율을 나타낸다.

도면100

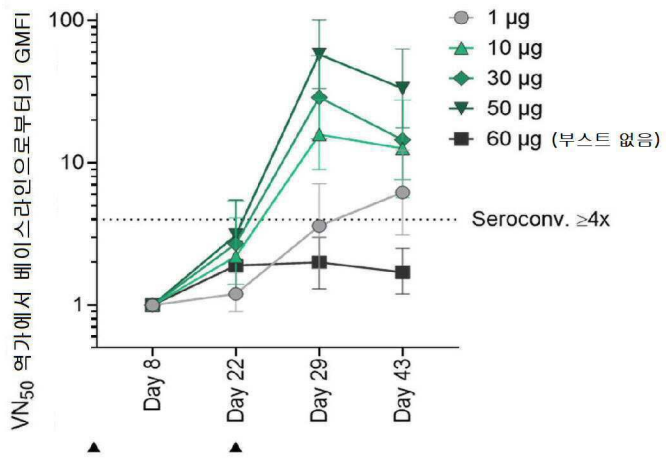


"S"는 심각한 COVID-19 또는 입원으로 이어지는 COVID-19에 걸린 대상체를 나타낸다.

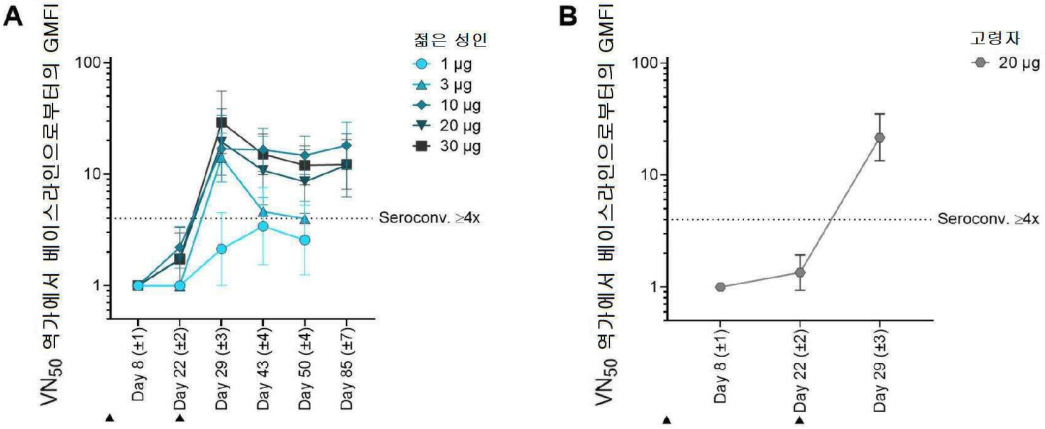
도면101



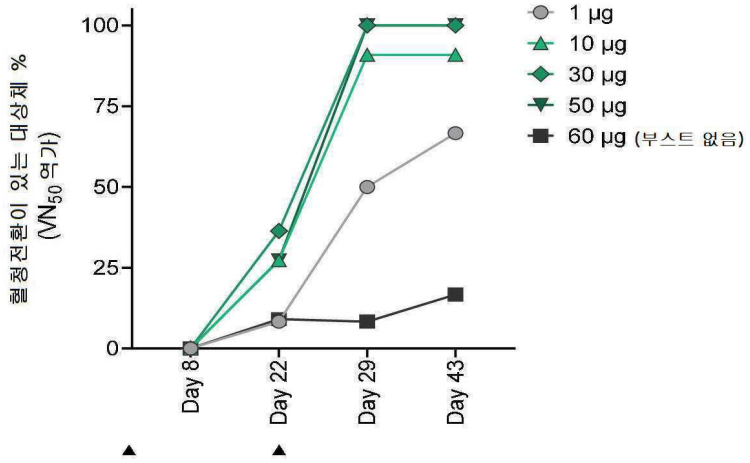
도면102



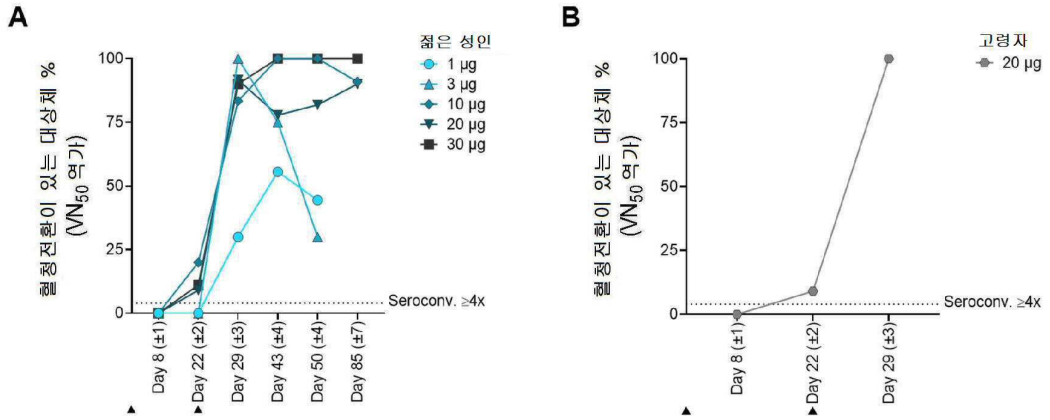
도면103



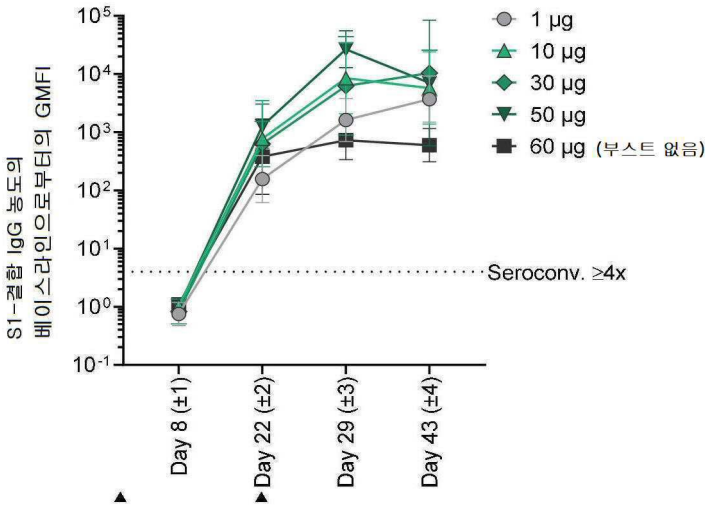
도면104



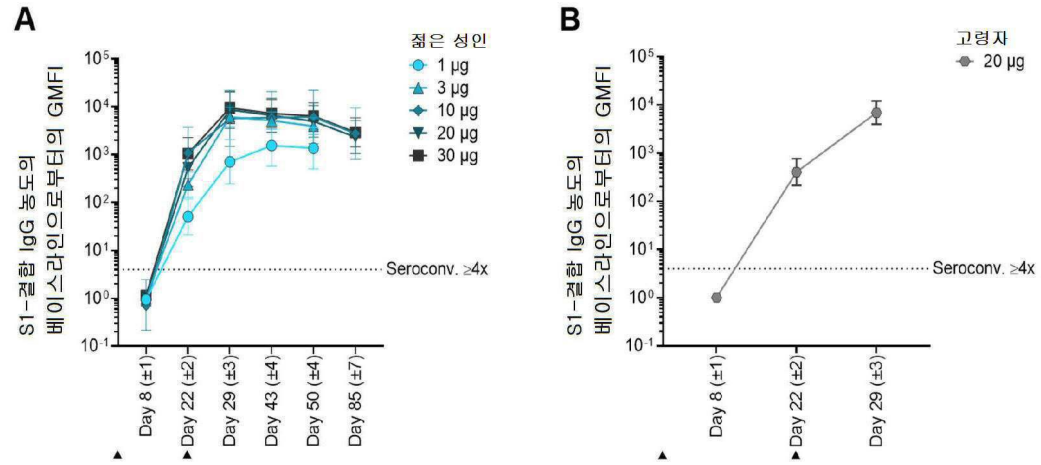
도면105



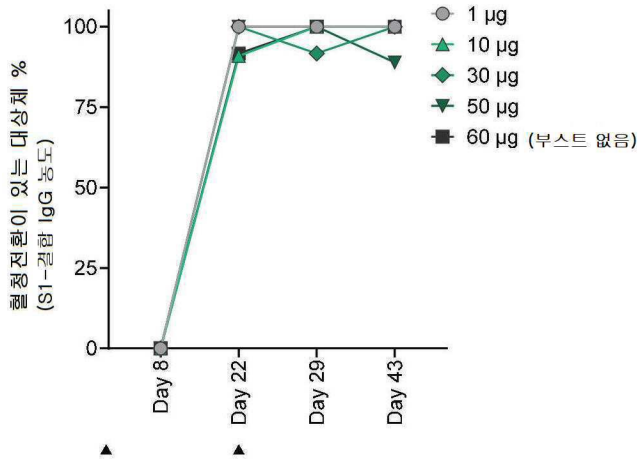
도면106



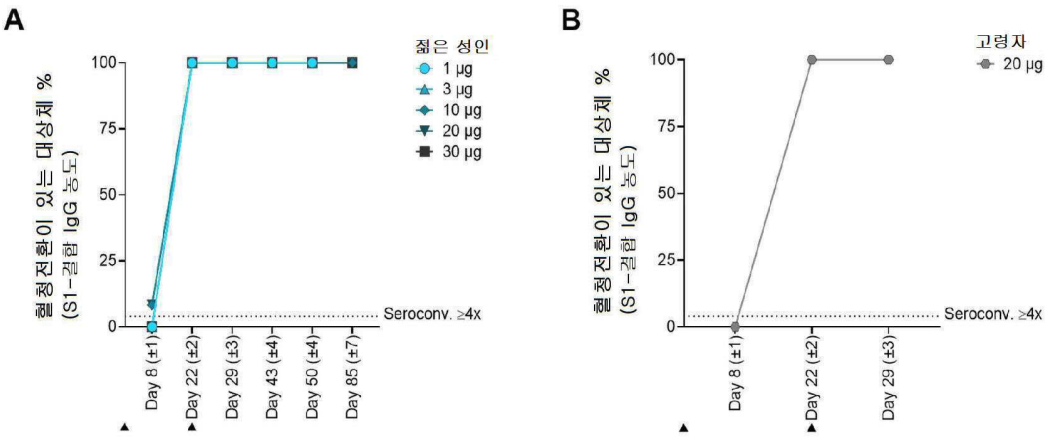
도면107



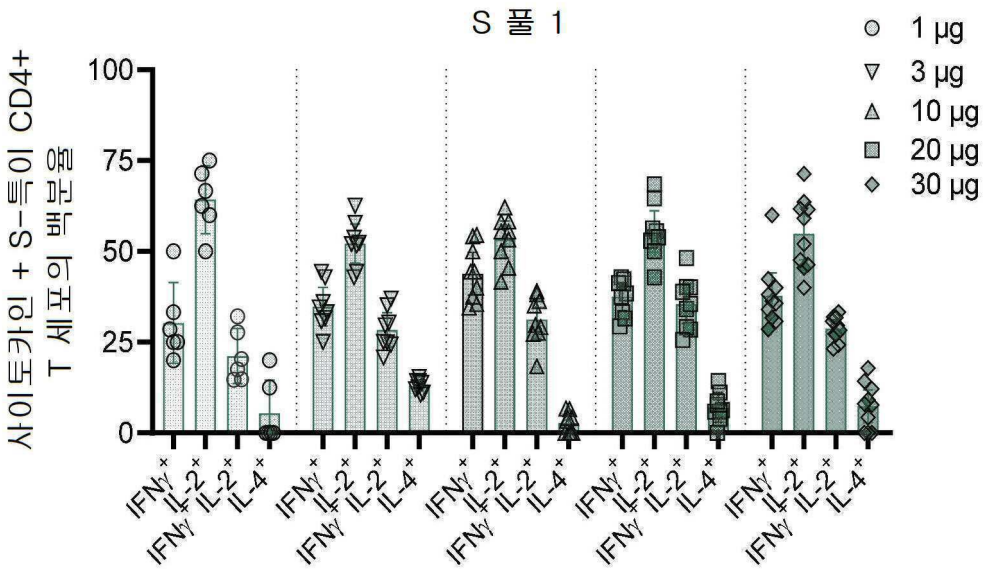
도면108



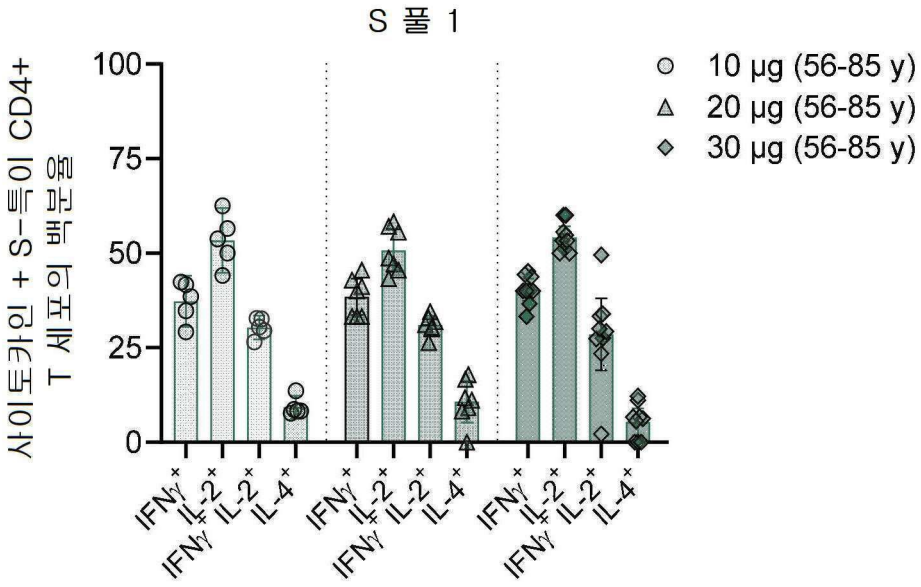
도면109



도면110

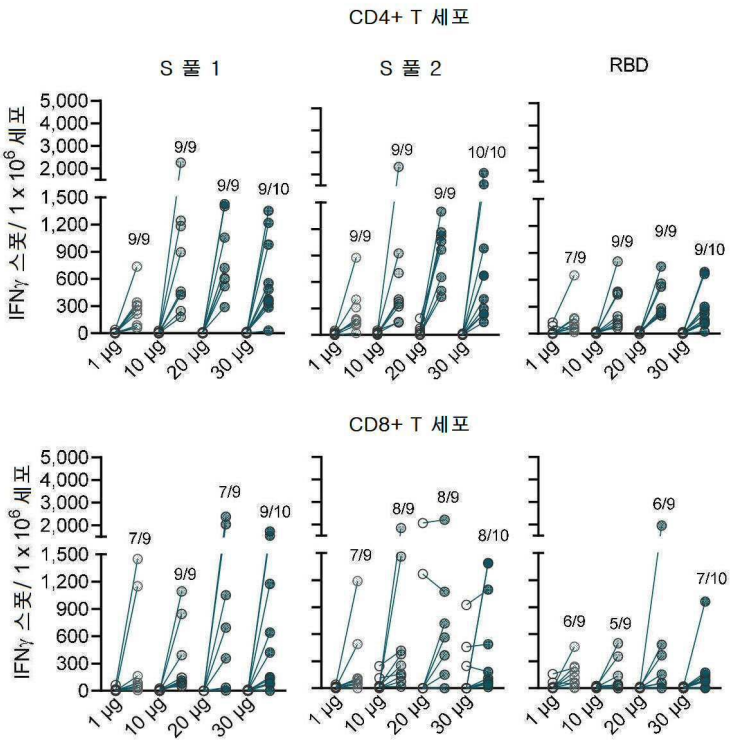


도면111

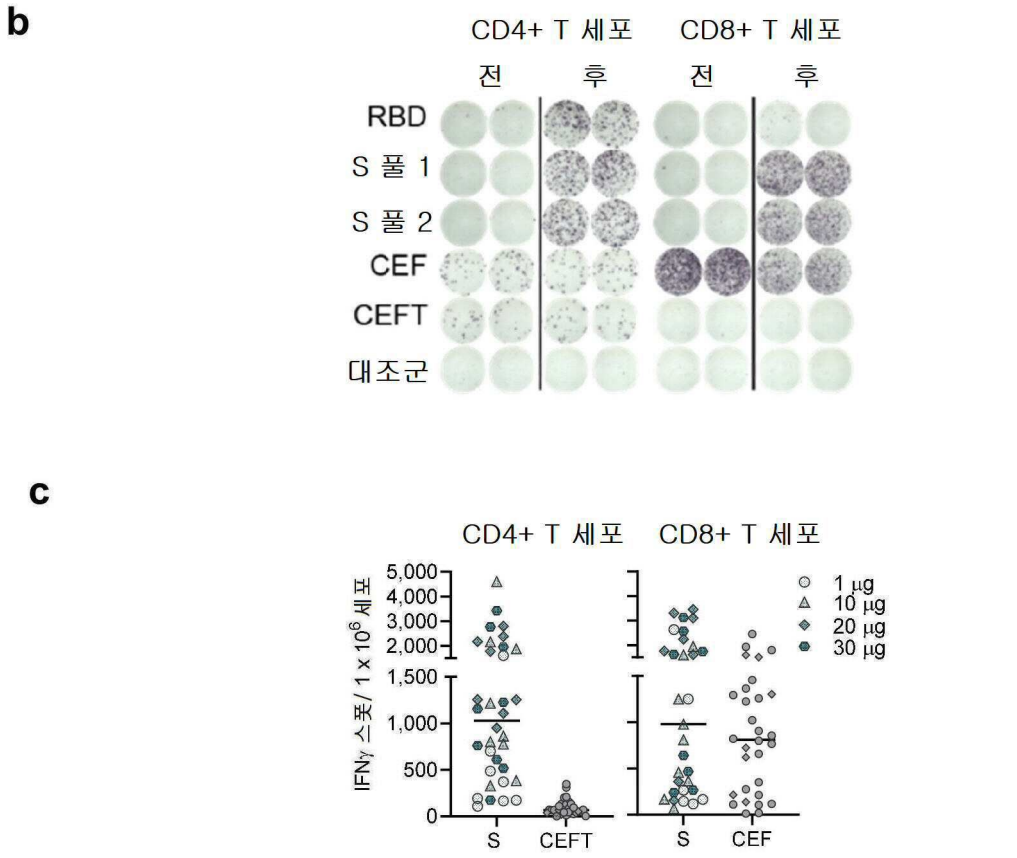


도면112a

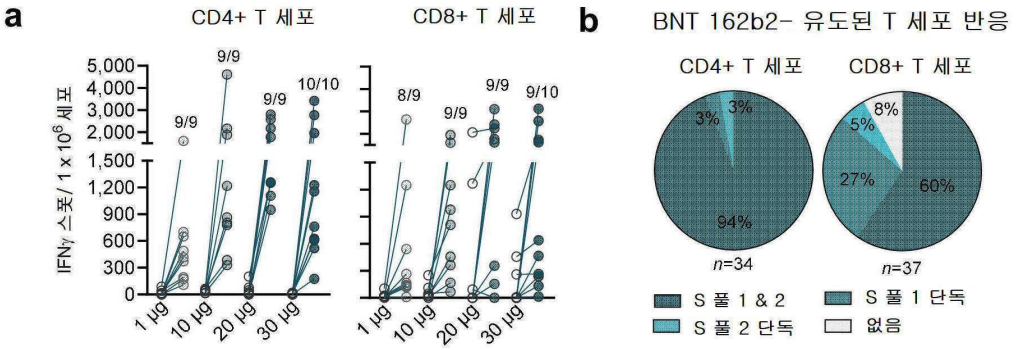
a



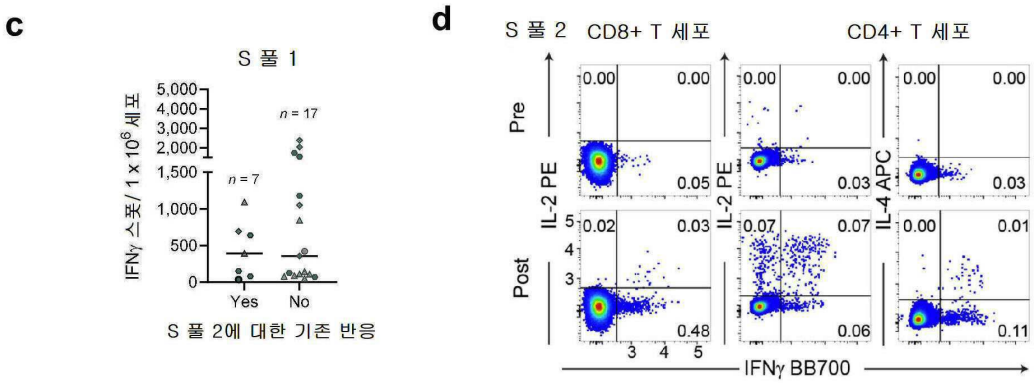
도면112bc



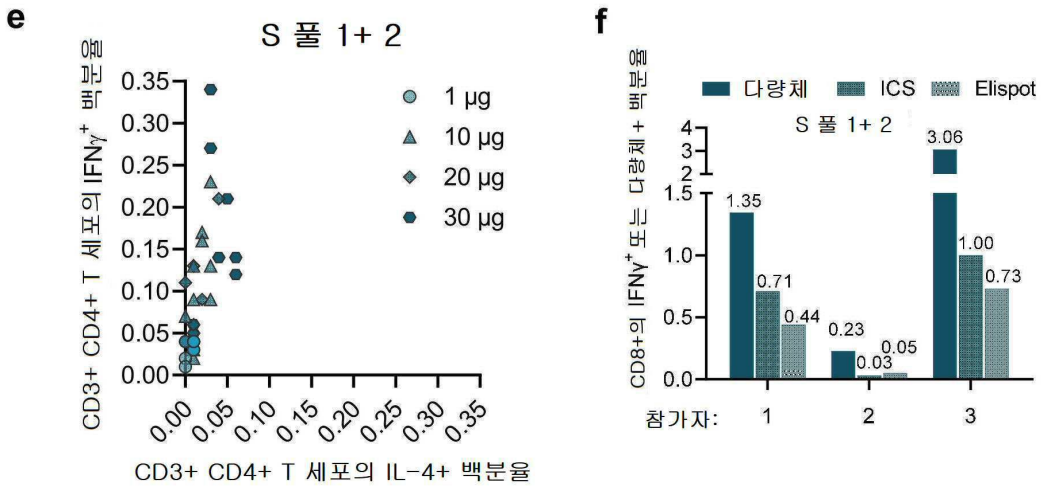
도면113ab



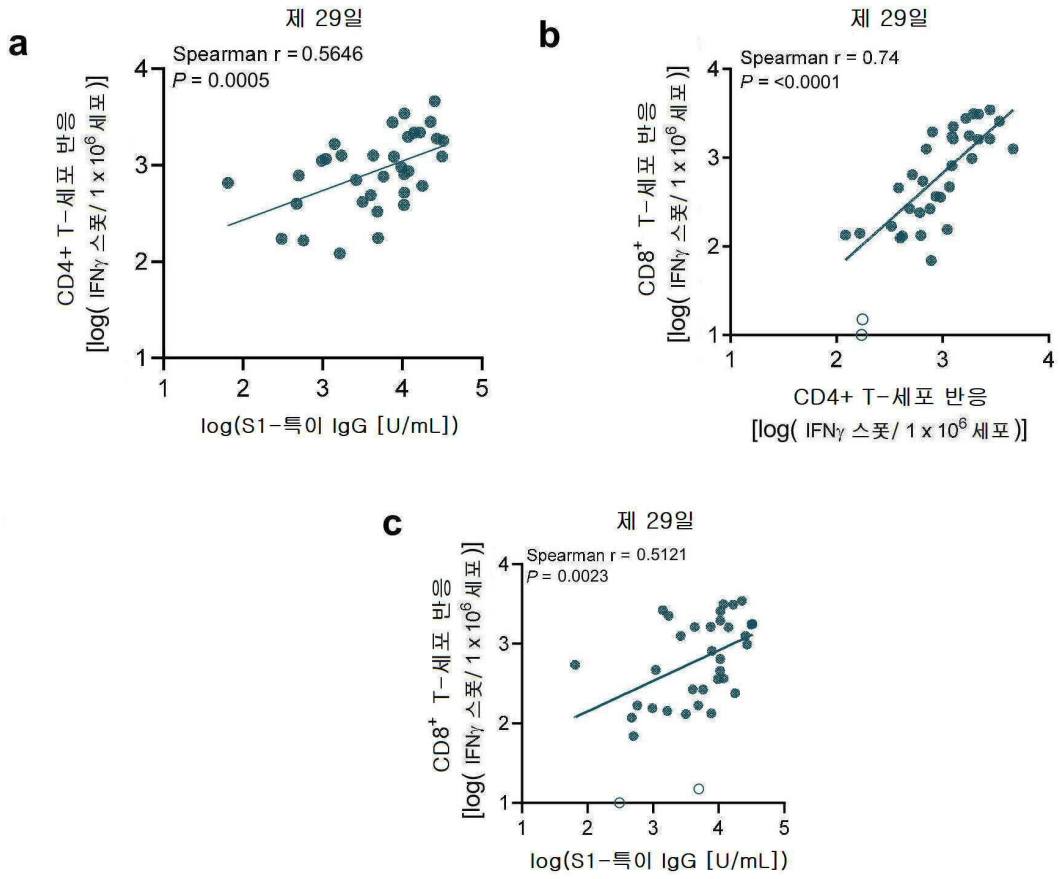
도면113cd



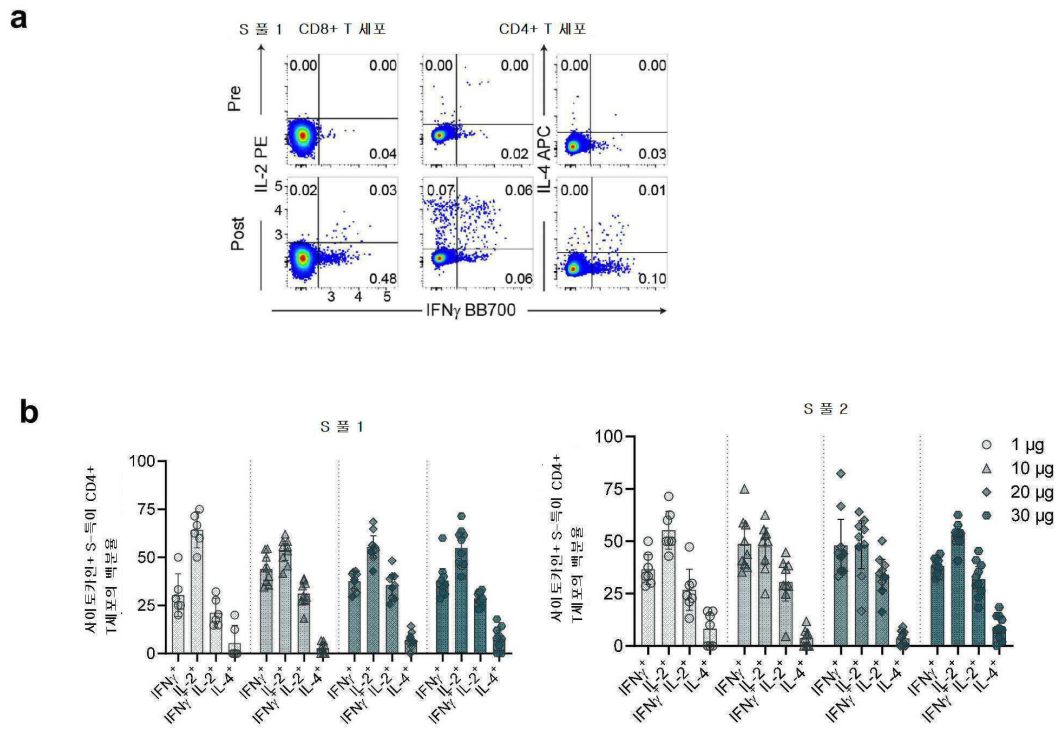
도면113ef



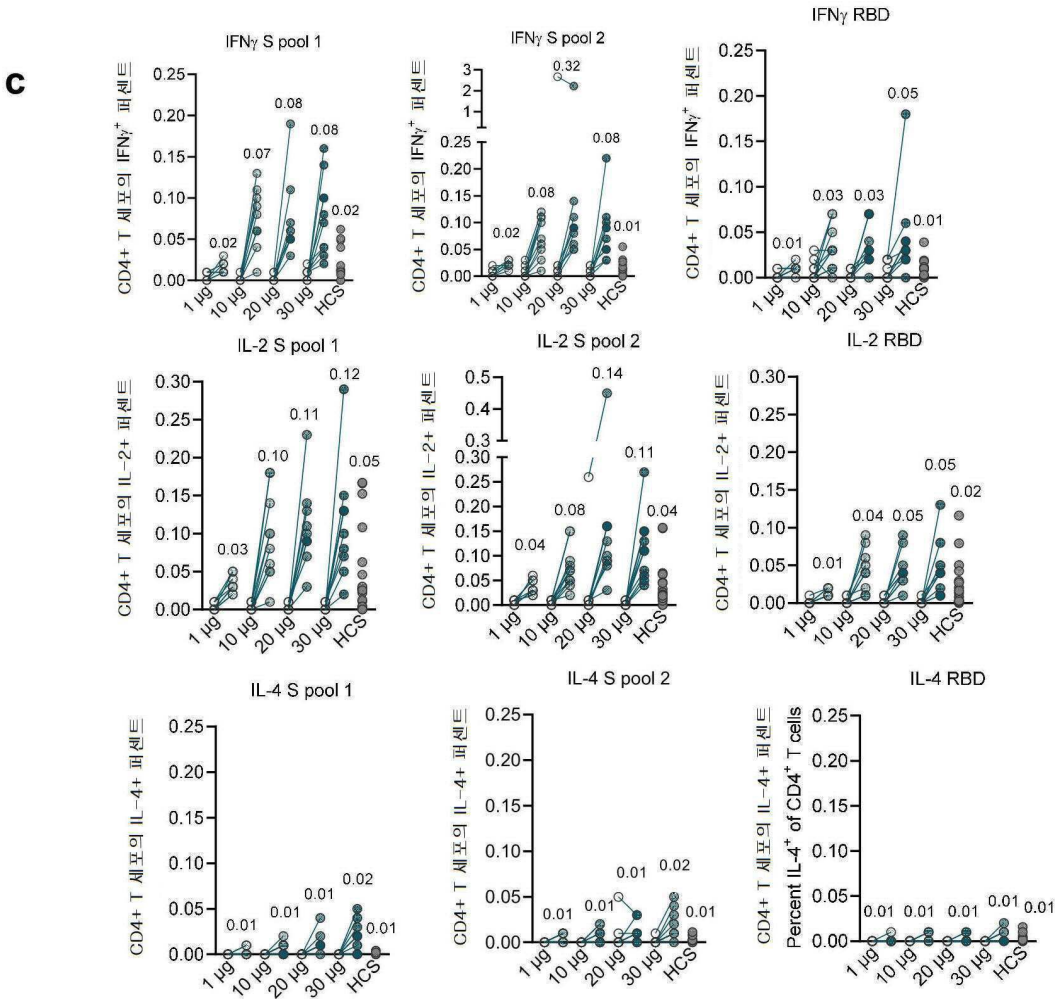
도면114



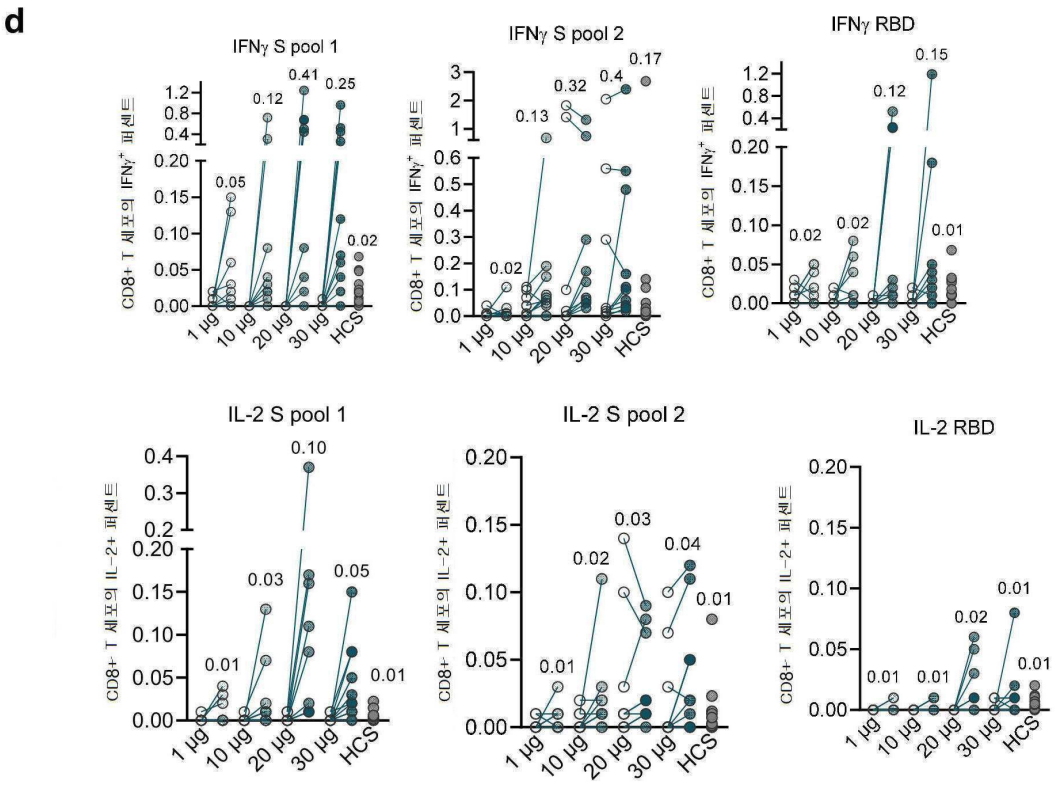
도면15ab



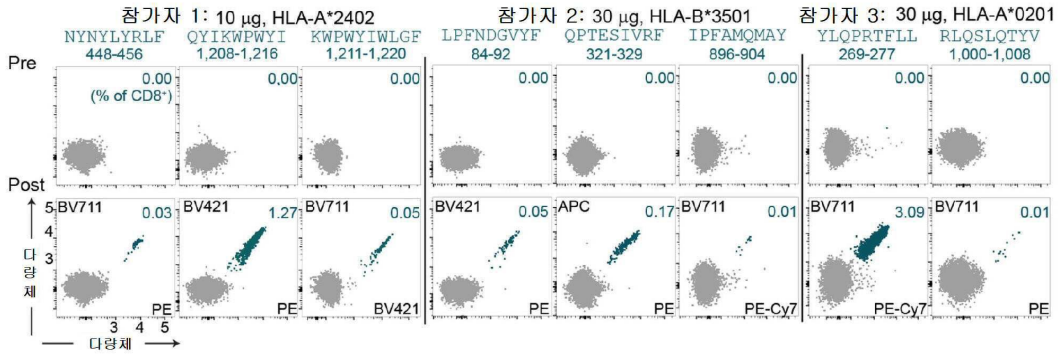
도면115c


c
IFNγ S pool 1
IFNγ S pool 2
IFNγ RBD
IL-2 S pool 1
IL-2 S pool 2
IL-2 RBD
IL-4 S pool 1
IL-4 S pool 2
IL-4 RBD
CD4+ T 세포의 IFNγ+ 퍼센트
CD4+ T 세포의 IL-2+ 퍼센트
CD4+ T 세포의 IL-4+ 퍼센트
Percent IL-4+ of CD4+ T cells
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg
HCS

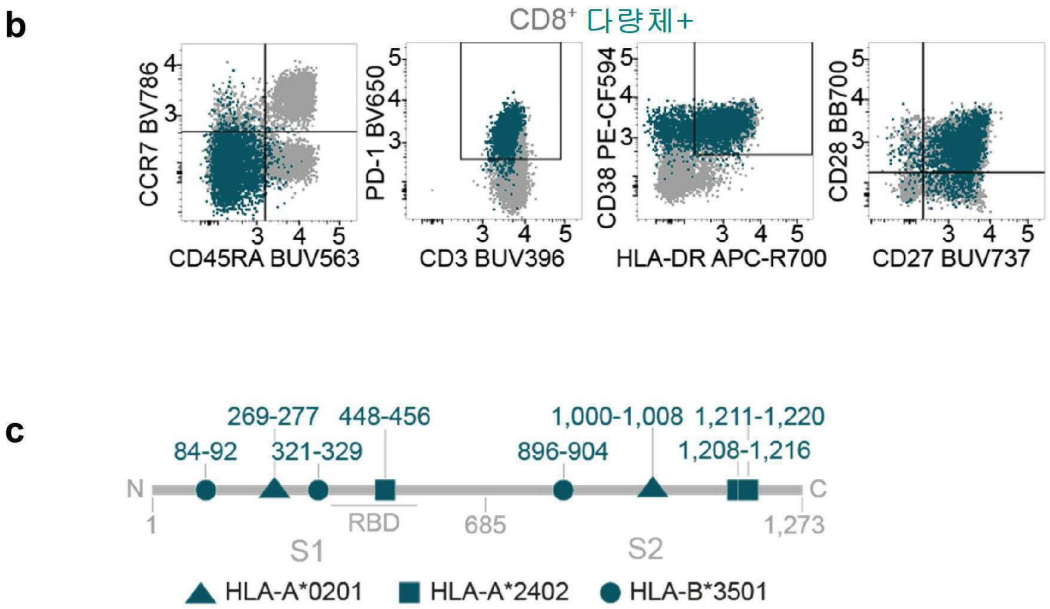
도면115d



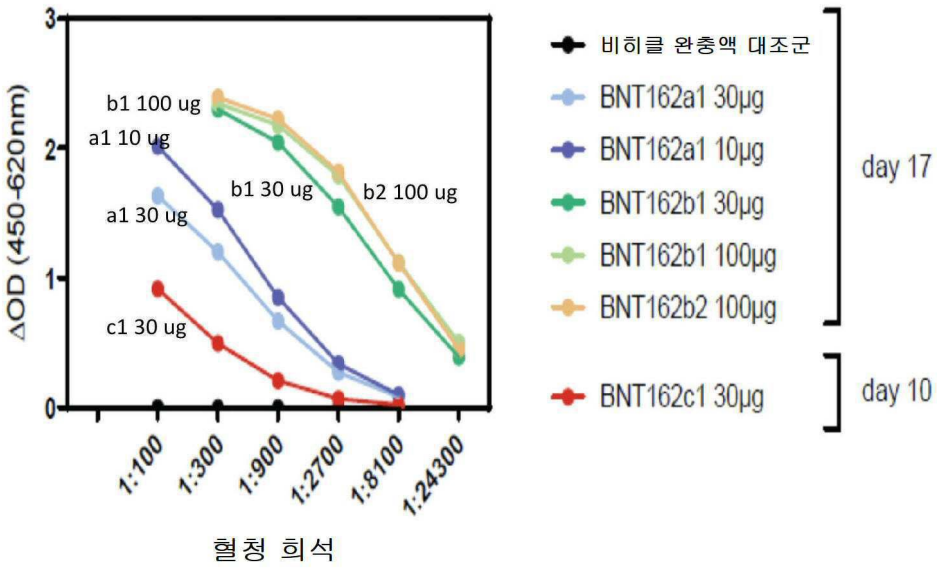
도면116a



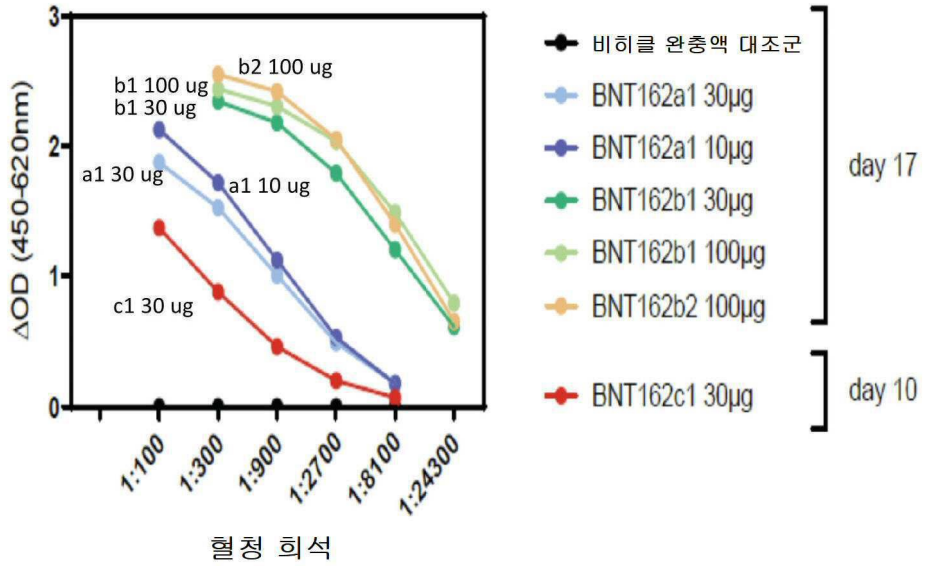
도면116bc



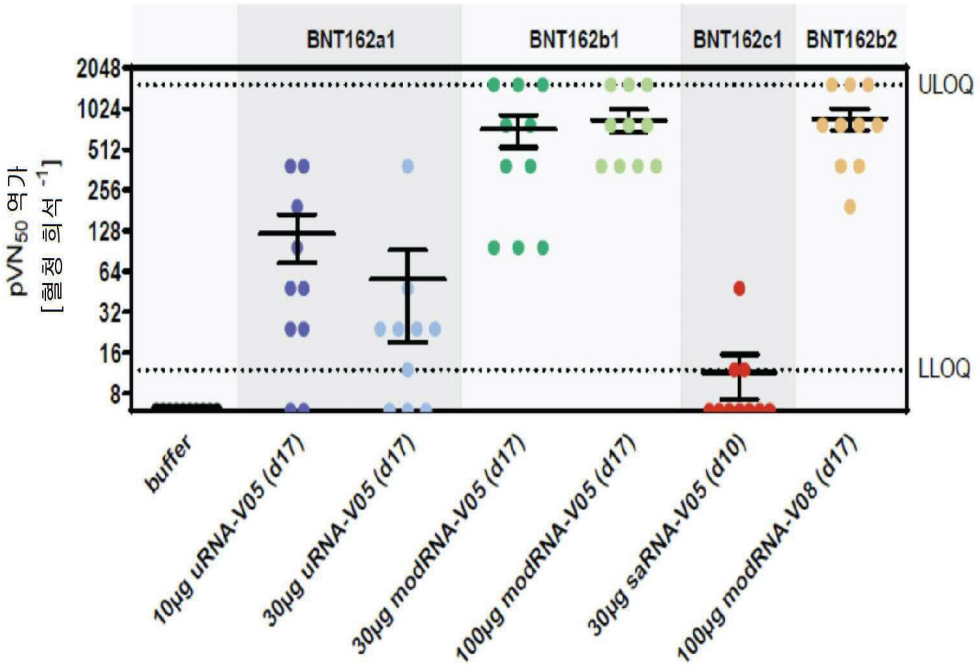
도면117



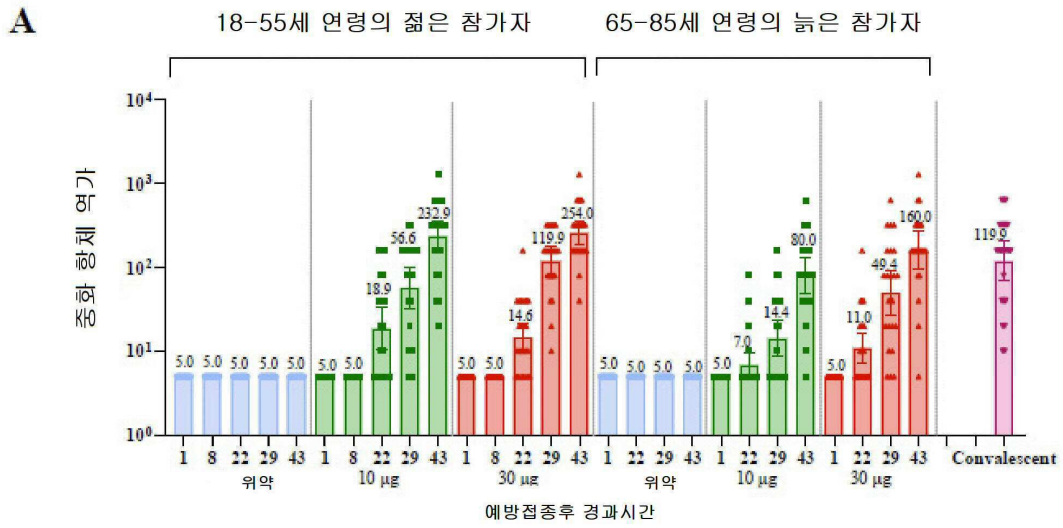
도면118


ΔOD (450-620nm)
3
2
1
0
b2 100 ug
b1 100 ug
b1 30 ug
a1 30 ug
a1 10 ug
c1 30 ug
1:100
1:300
1:900
1:2700
1:8100
1:24300
혈청 희석
비히클 완충액 대조군
BNT162a1 30μg
BNT162a1 10μg
BNT162b1 30μg
BNT162b1 100μg
BNT162b2 100μg
day 17
BNT162c1 30μg
day 10

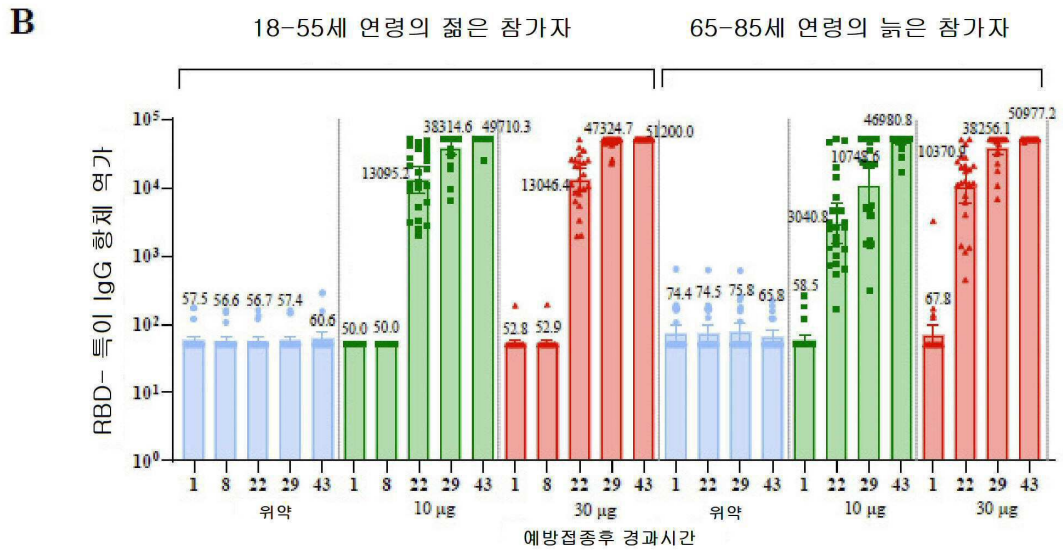
도면119


BNT162a1
BNT162b1
BNT162c1
BNT162b2
pVN50 역가 [혈청 희석 -1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
buffer
10μg uRNA-V05 (d17)
30μg uRNA-V05 (d17)
30μg modRNA-V05 (d17)
100μg modRNA-V05 (d17)
30μg saRNA-V05 (d10)
100μg modRNA-V08 (d17)

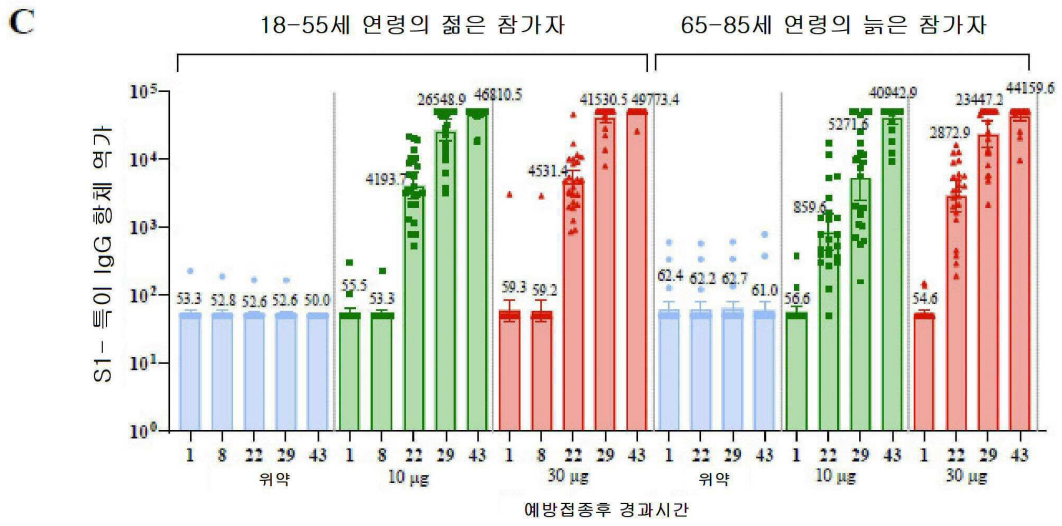
도면120a



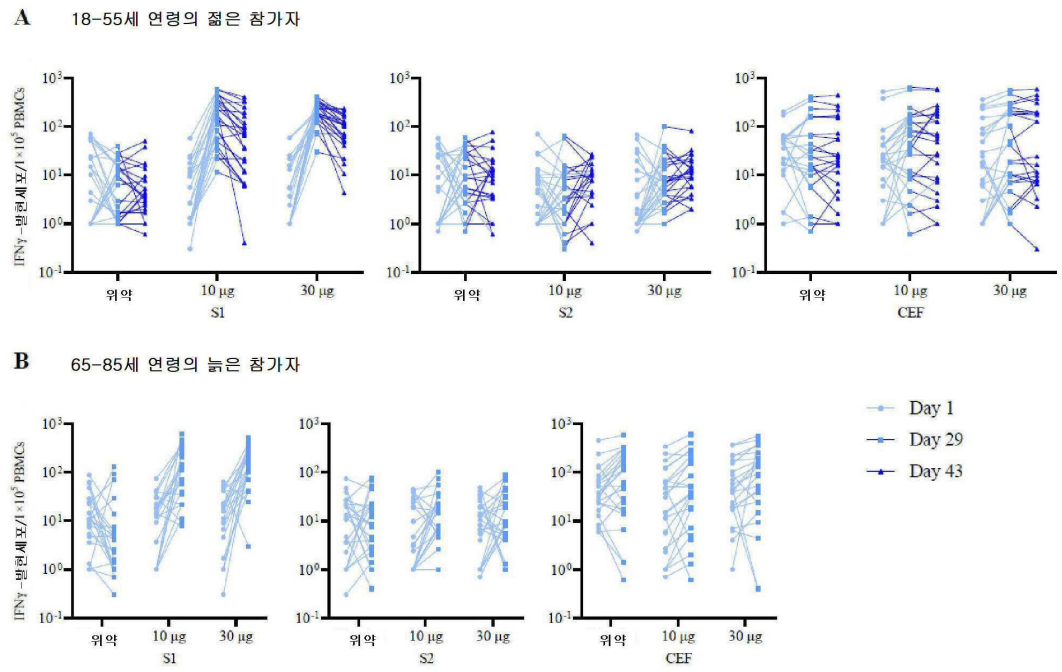
도면120b



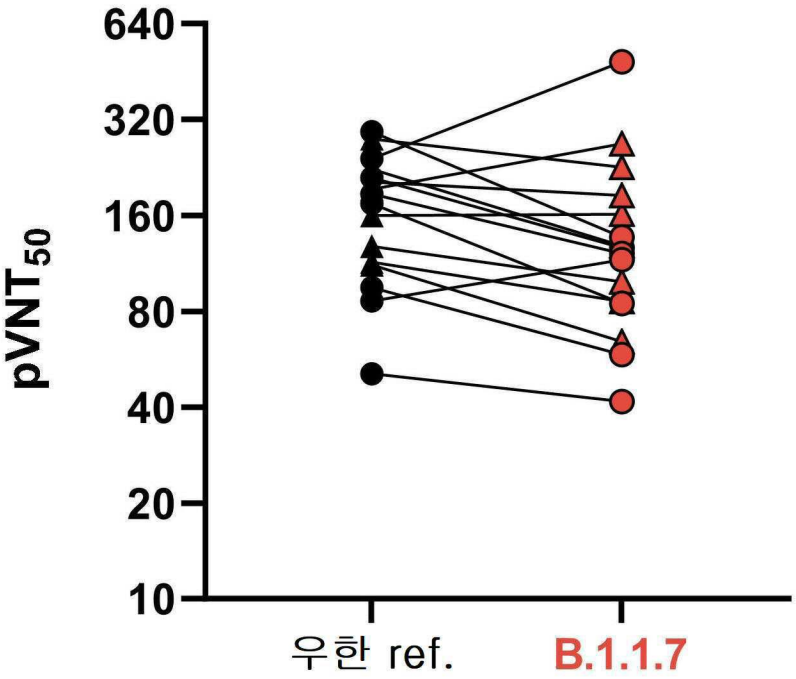
도면120c



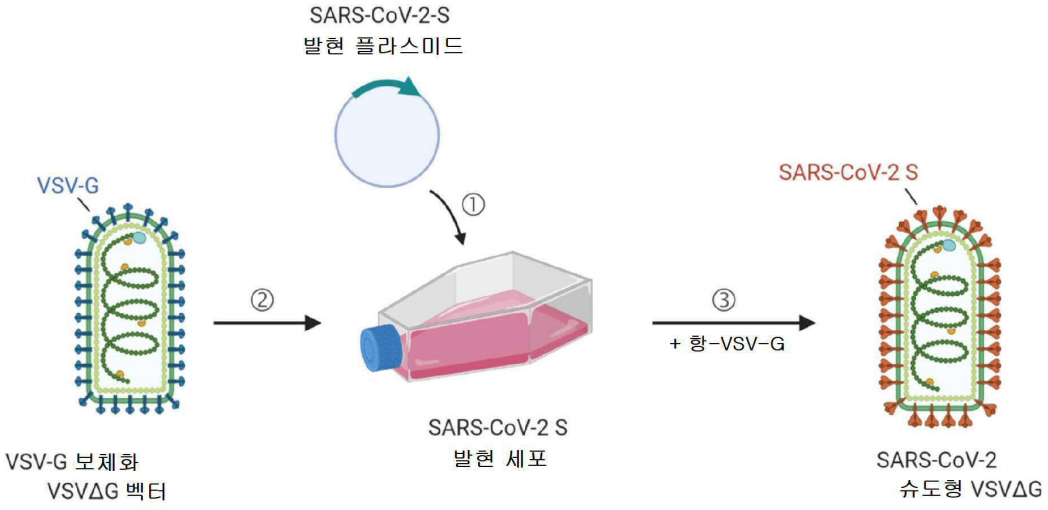
도면121



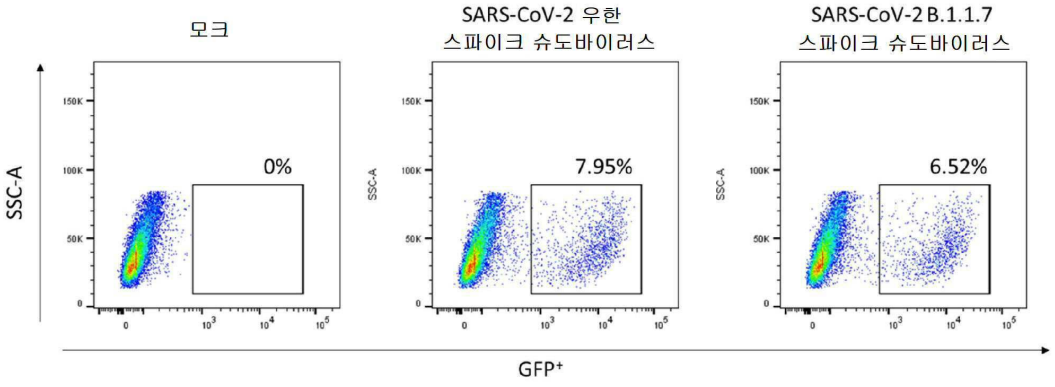
도면122



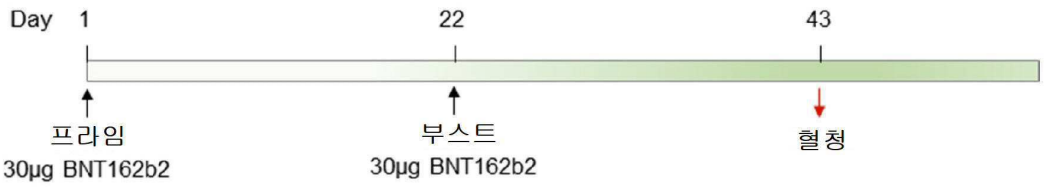
도면123



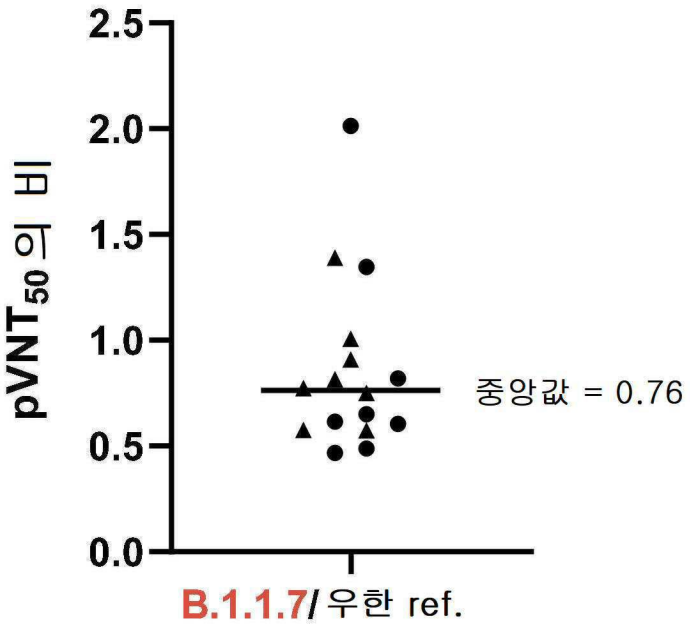
도면124



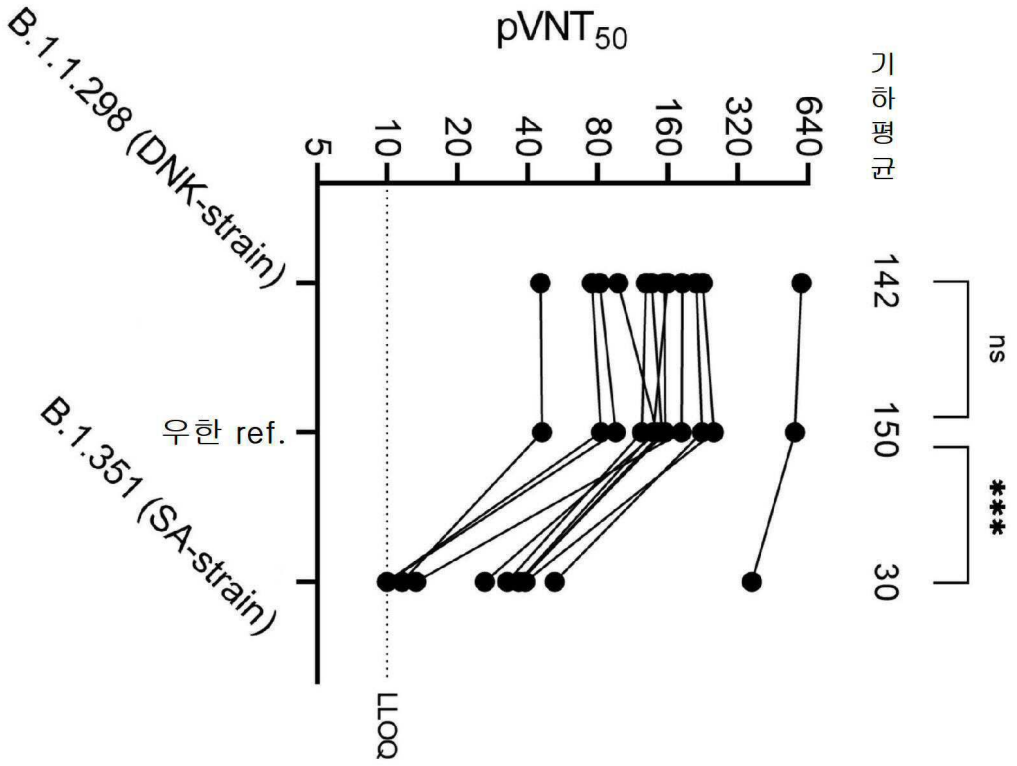
도면125


Day 1
22
43
프라임
30μg BNT162b2
부스트
30μg BNT162b2
혈청

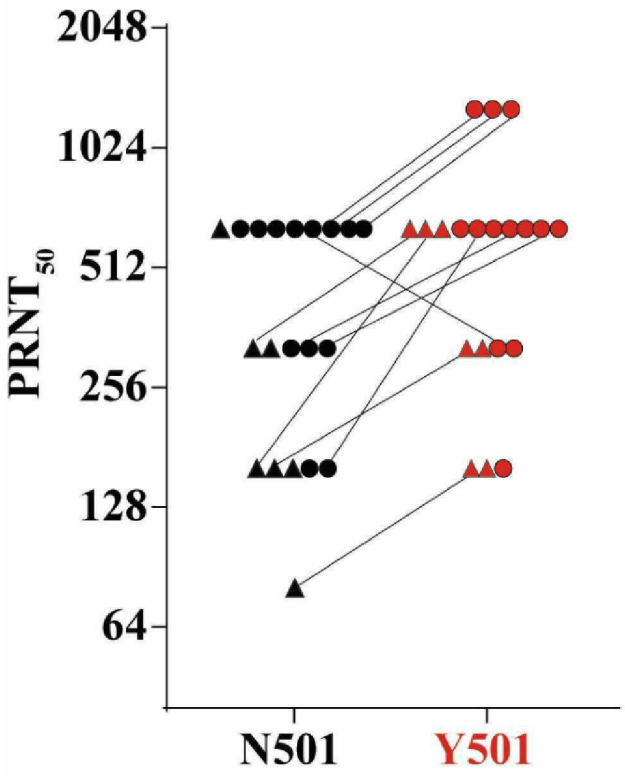
도면126


2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
pVNT50의 비
중앙값 = 0.76
B.1.1.7/ 우한 ref.

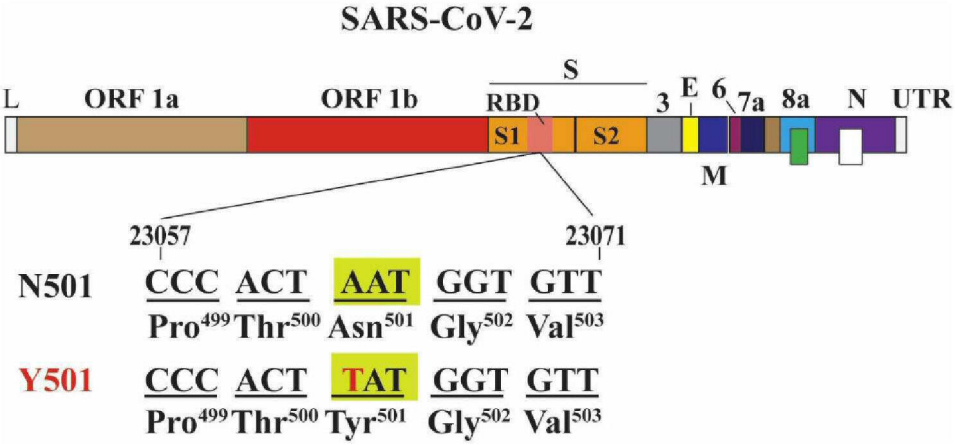
도면127


pVNT50
5
10
20
40
80
160
320
640
B.1.1.298 (DNK-strain)
우한 ref.
B.1.351 (SA-strain)
LLOQ
기하평균
142
150
30
ns
***

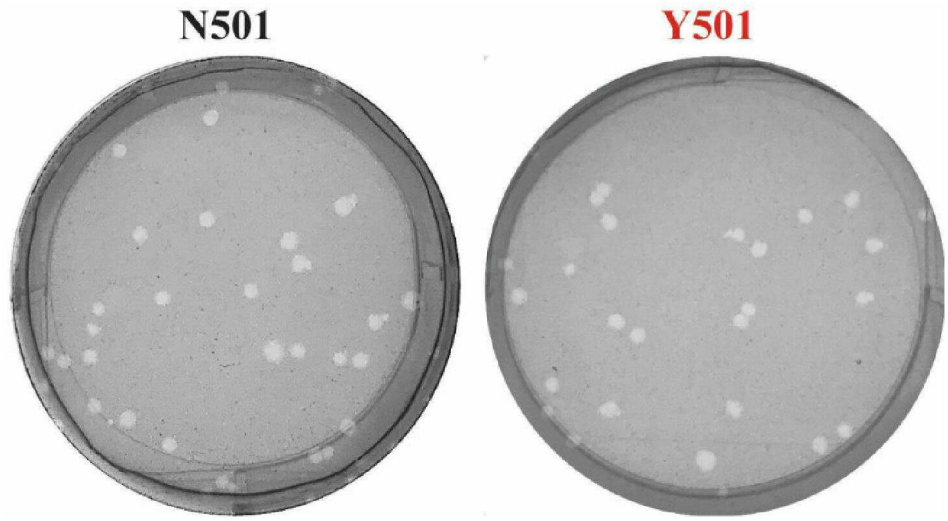
도면128


2048
1024
512
256
128
64
PRNT50
N501
Y501

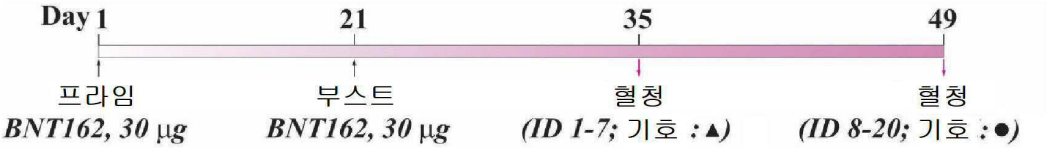
도면129



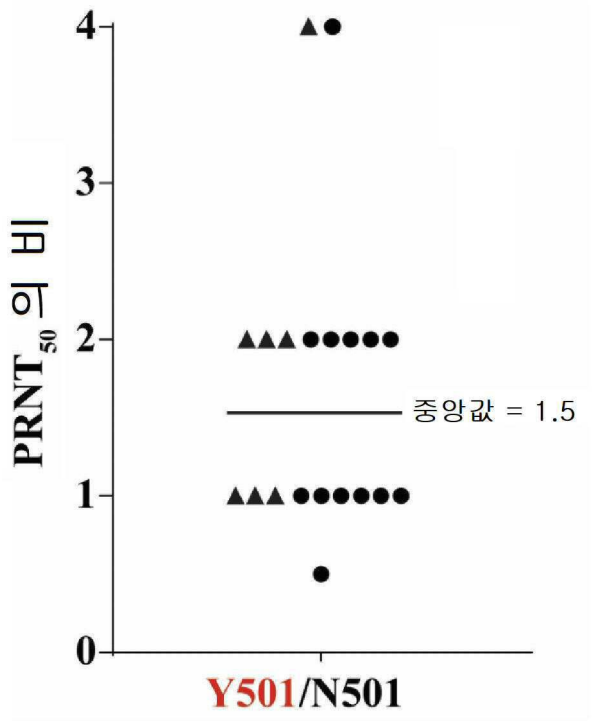
도면130



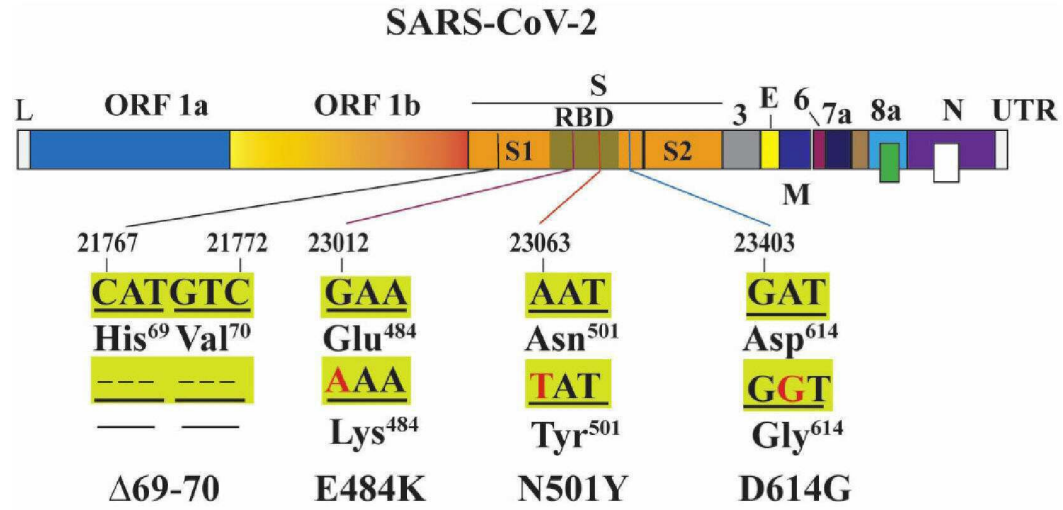
도면131



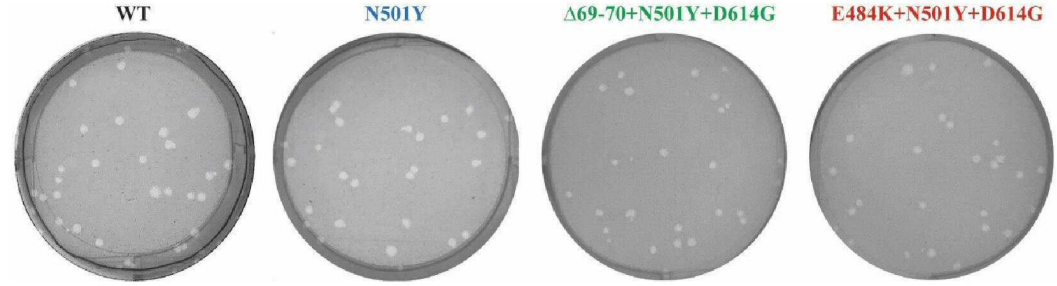
도면132



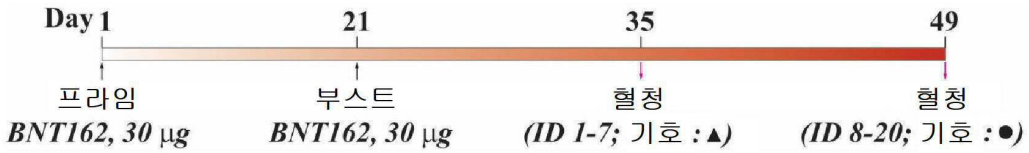
도면133



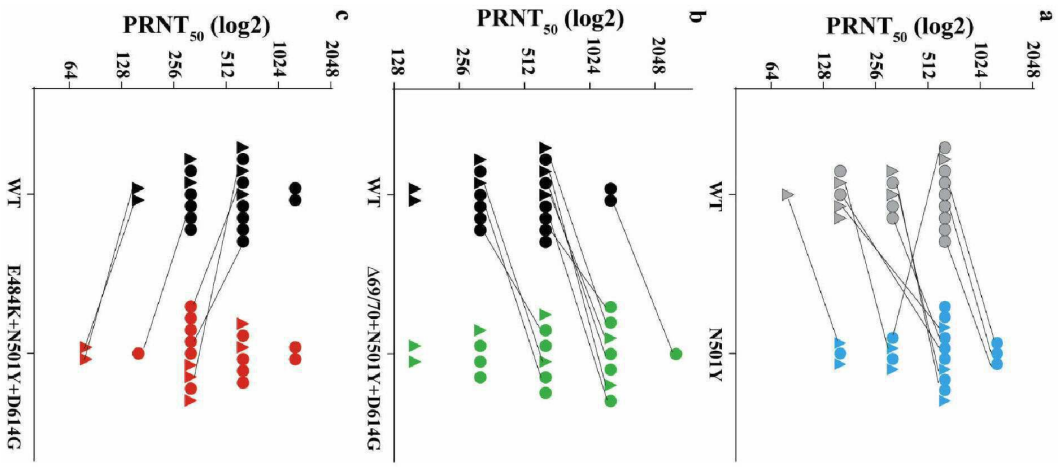
도면134



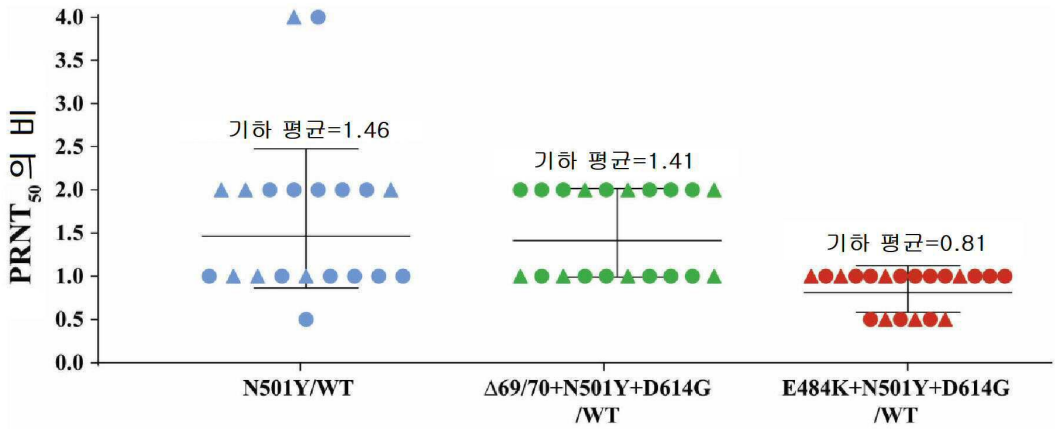
도면135



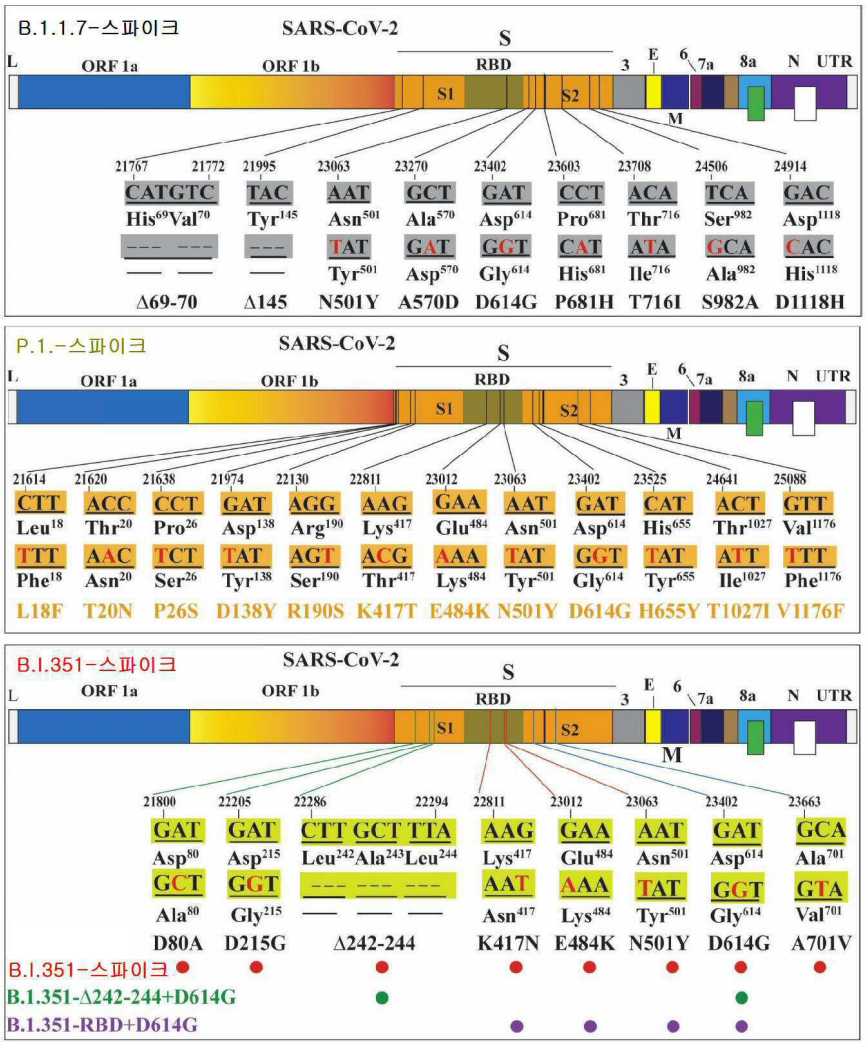
도면136



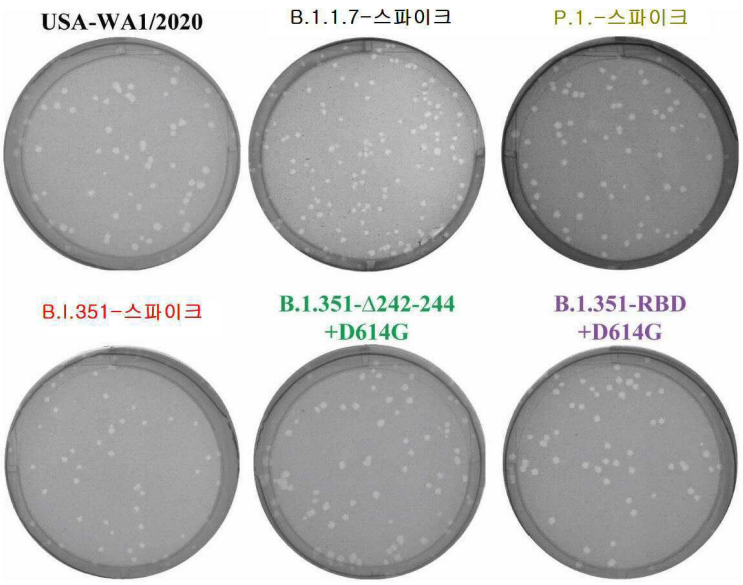
도면137



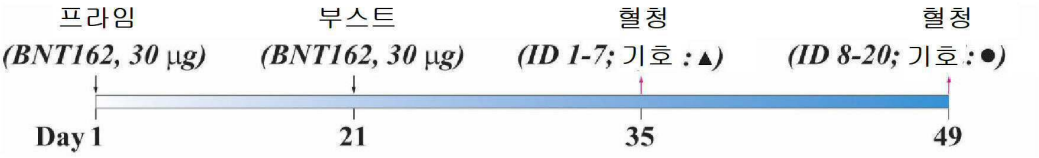
도면138


B.1.1.7-스파이크
SARS-CoV-2
S
L
ORF 1a
ORF 1b
RBD
S1
S2
3
E
6
7a
8a
N
UTR
M
21767 21772 21995 23063 23270 23402 23603 23708 24506 24914
CATGTC TAC AAT GCT GAT CCT ACA TCA GAC
His69Val70 Tyr145 Asn501 Ala570 Asp614 Pro681 Thr716 Ser982 Asp1118
--- --- --- TAT GAT GGT CAT ATA GCA CAC
Tyr501 Asp570 Gly614 His681 Ile716 Ala982 His1118
Δ69-70 Δ145 N501Y A570D D614G P681H T716I S982A D1118H
P.1.-스파이크
SARS-CoV-2
21614 21620 21638 21974 22130 22811 23012 23063 23402 23525 24641 25088
CTT ACC CCT GAT AGG AAG GAA AAT GAT CAT ACT GTT
Leu18 Thr20 Pro26 Asp138 Arg190 Lys417 Glu484 Asn501 Asp614 His655 Thr1027 Val1176
TTT AAC TCT TAT AGT ACG AAA TAT GGT TAT ATT TTT
Phe18 Asn20 Ser26 Tyr138 Ser190 Thr417 Lys484 Tyr501 Gly614 Tyr655 Ile1027 Phe1176
L18F T20N P26S D138Y R190S K417T E484K N501Y D614G H655Y T1027I V1176F
B.I.351-스파이크
SARS-CoV-2
21800 22205 22286 22294 22811 23012 23063 23402 23663
GAT GAT CTT GCT TTA AAG GAA AAT GAT GCA
Asp80 Asp215 Leu242Ala243Leu244 Lys417 Glu484 Asn501 Asp614 Ala701
GCT GGT --- --- --- AAT AAA TAT GGT GTA
Ala80 Gly215 Asn417 Lys484 Tyr501 Gly614 Val701
D80A D215G Δ242-244 K417N E484K N501Y D614G A701V
B.I.351-스파이크
B.1.351-Δ242-244+D614G
B.1.351-RBD+D614G

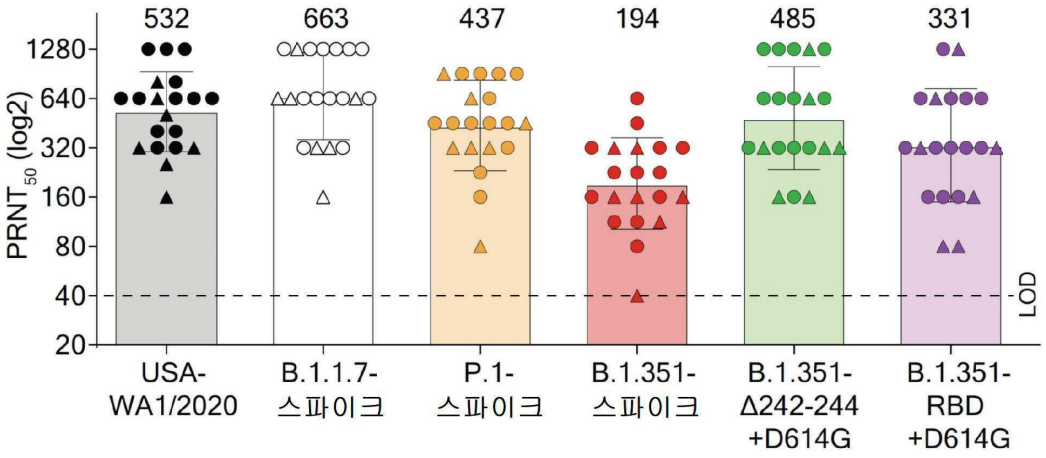
도면139


USA-WA1/2020
B.1.1.7-스파이크
P.1.-스파이크
B.I.351-스파이크
B.1.351-Δ242-244
+D614G
B.1.351-RBD
+D614G

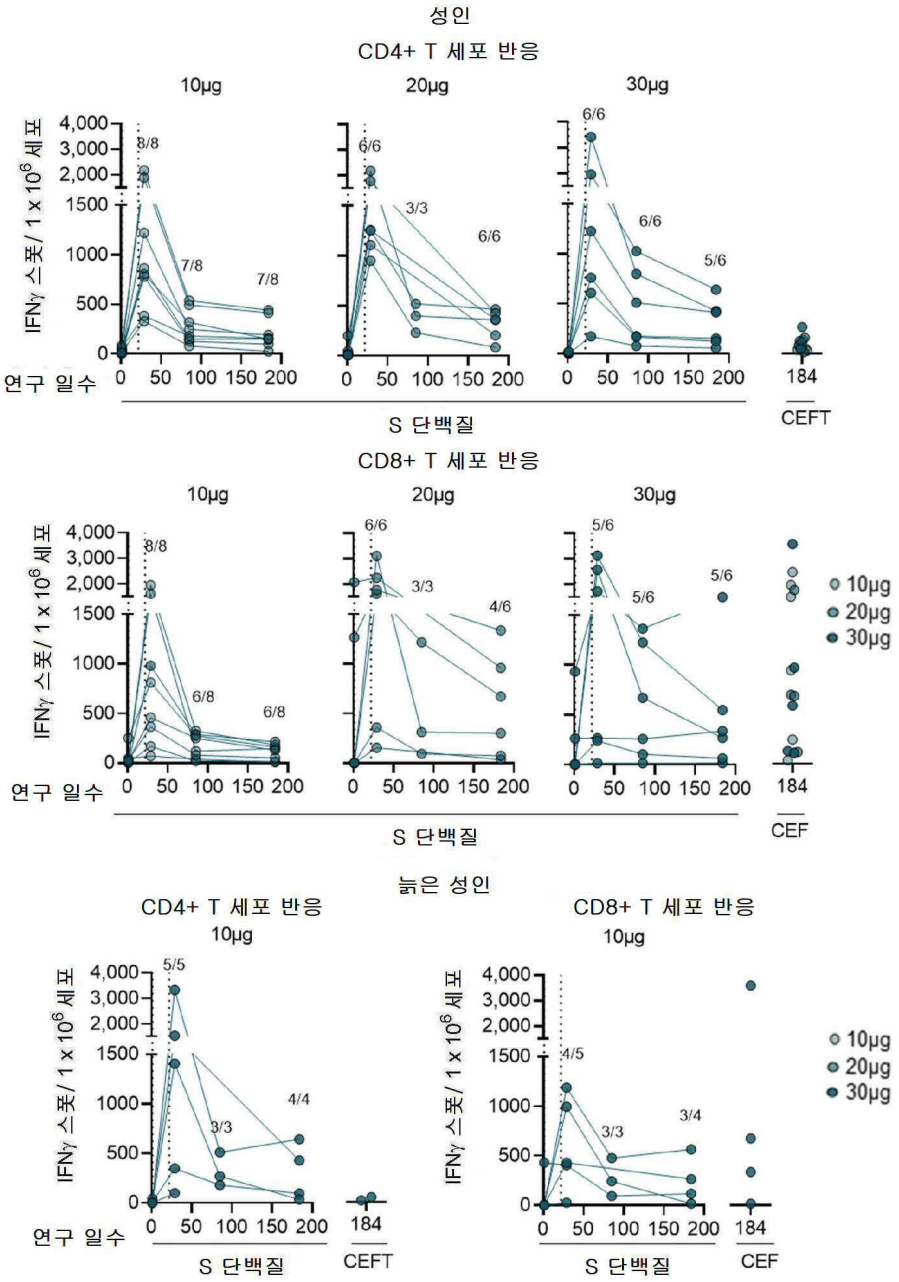
도면140


프라임
(BNT162, 30 μg)
부스트
(BNT162, 30 μg)
혈청
(ID 1-7; 기호 : ▲)
혈청
(ID 8-20; 기호 : ●)
Day 1
21
35
49

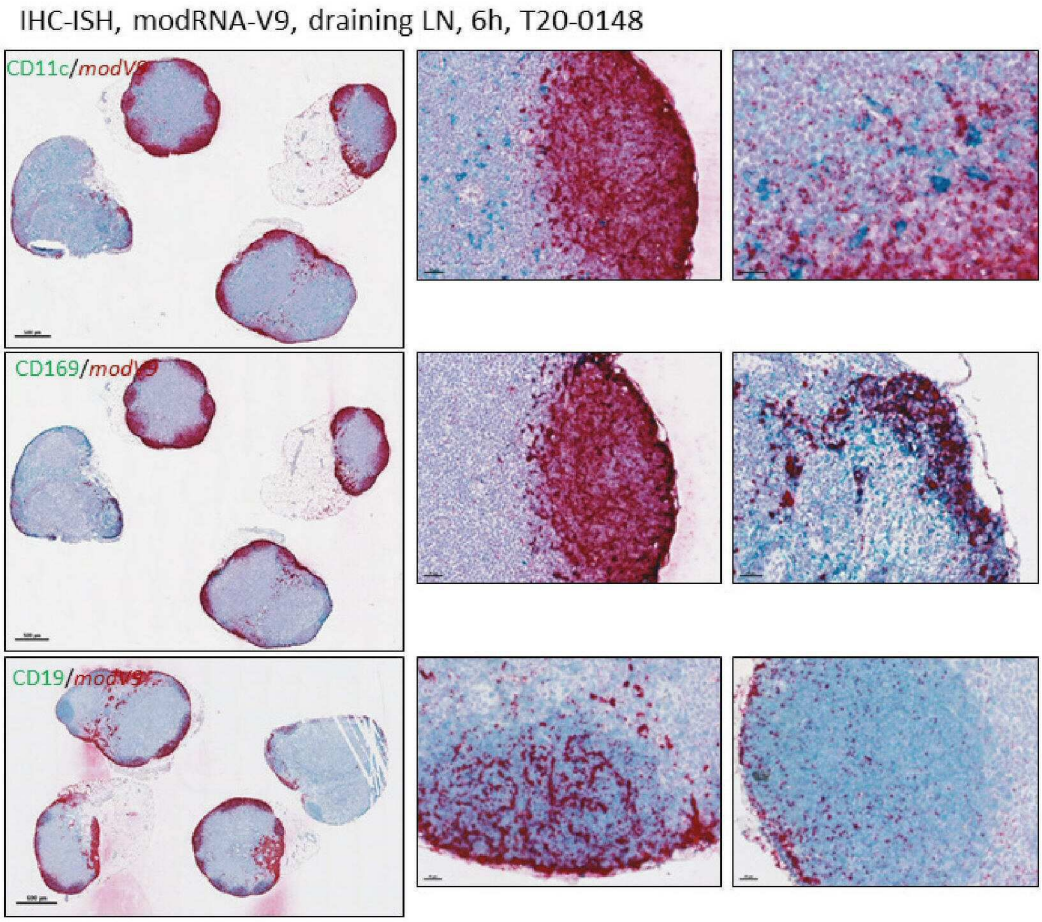
도면141


532
663
437
194
485
331
1280
640
320
160
80
40
20
PRNT50 (log2)
LOD
USA-WA1/2020
B.1.1.7-스파이크
P.1-스파이크
B.1.351-스파이크
B.1.351-Δ242-244 +D614G
B.1.351-RBD +D614G

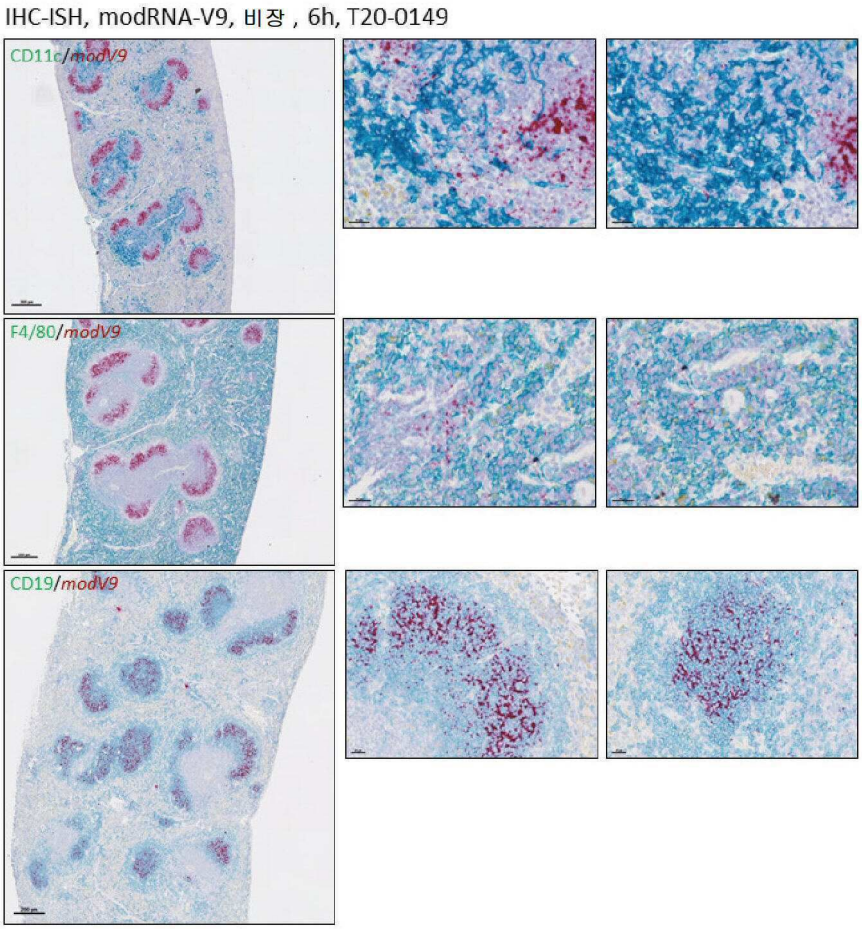
도면142


성인
CD4+ T 세포 반응
10μg
20μg
30μg
IFNγ 스폿/ 1 x 10^6 세포
연구 일수
S 단백질
CEFT
CD8+ T 세포 반응
CEF
10μg
20μg
30μg
늙은 성인
CD4+ T 세포 반응
CD8+ T 세포 반응

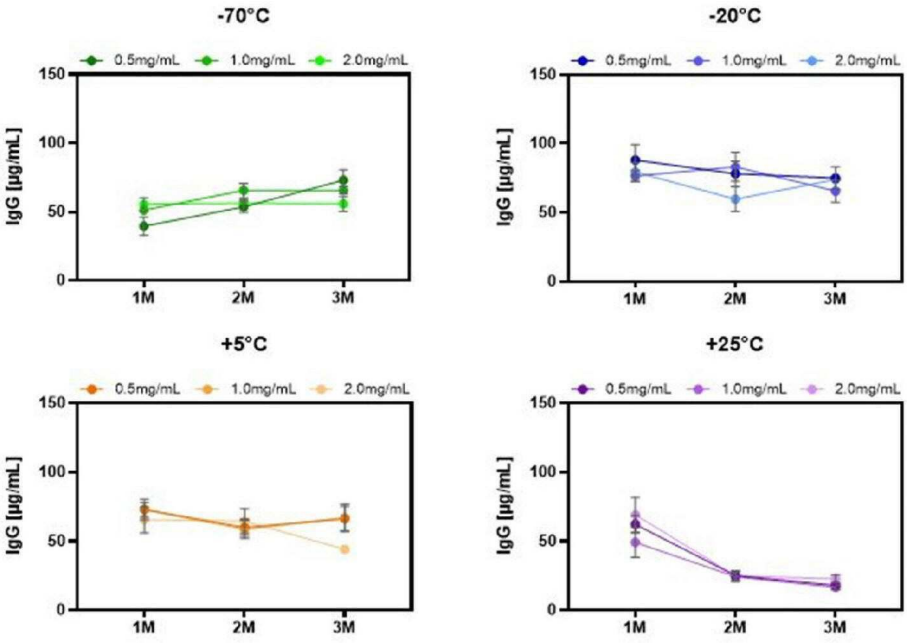
도면143


IHC-ISH, modRNA-V9, draining LN, 6h, T20-0148
CD11c/modV9
CD169/modV9
CD19/modV9

도면144



도면145



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbH

<120> CORONAVIRUS VACCINE

<130> 674-332 PCT2

<150> PCT/EP2020/061239

<151> 2020-04-22

<150> PCT/EP2020/066968

<151> 2020-06-18

<150> PCT/EP2020/068174

<151> 2020-06-26

<150> PCT/EP2020/069805

<151> 2020-07-13

<150> PCT/EP2020/071733

<151> 2020-07-31

<150> PCT/EP2020/071839

<151> 2020-08-03

<150> PCT/EP2020/073668

<151> 2020-08-24

<150> PCT/EP2020/081544

<151> 2020-11-09

<150> PCT/EP2020/081981

<151> 2020-11-12

<150> PCT/EP2020/082601

<151> 2020-11-18

<150> PCT/EP2020/082989

<151> 2020-11-20

<150> PCT/EP2020/083435

<151> 2020-11-25

<150> PCT/EP2020/084342

<151> 2020-12-02

<150> PCT/EP2020/085145

<151> 2020-12-08

<150> PCT/EP2020/085653

<151> 2020-12-10

<150> PCT/EP2020/087844

<151> 2020-12-23

<150> PCT/EP2021/050027

<151> 2021-01-04

<150> PCT/EP2021/050874

<151> 2021-01-15

<150> PCT/EP2021/050875

<151> 2021-01-15

<150> PCT/EP2021/051772

<151> 2021-01-26

<150> PCT/EP2021/052572

<151> 2021-02-03

<150> PCT/EP2021/052716

<151> 2021-02-04

<150> PCT/EP2021/054622

<151> 2021-02-24

<160> 57

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1273

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S protein

<400> 1

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val
1 5 10 15

Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe
20 25 30

Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu
35 40 45

His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp
50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu

85 90 95

Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser

100 105 110

Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile

115 120 125

Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr

130 135 140

Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr

145 150 155 160

Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu

165 170 175

Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe

180 185 190

Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr

195 200 205

Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu

210 215 220

Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr

225 230 235 240

Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser

245 250 255

Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro

260 265 270

Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala

275 280 285

Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys

290 295 300

Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val

305 310 315 320

Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys
325 330 335
Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala
340 345 350

Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu
355 360 365
Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro
370 375 380
Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe
385 390 395 400
Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
405 410 415

Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
420 425 430
Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
435 440 445
Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
450 455 460
Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys
465 470 475 480

Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
485 490 495
Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
500 505 510
Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
515 520 525
Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn
530 535 540

Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu
545 550 555 560
Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val

565 570 575

Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe

580 585 590

Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val

595 600 605

Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile

610 615 620

His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser

625 630 635 640

Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val

645 650 655

Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala

660 665 670

Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala

675 680 685

Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser

690 695 700

Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile

705 710 715 720

Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val

725 730 735

Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu

740 745 750

Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr

755 760 765

Gly Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln

770 775 780

Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe

785 790 795 800

Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser

805 810 815

Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly
820 825 830
Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp
835 840 845
Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu
850 855 860

Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly
865 870 875 880
Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile
885 890 895
Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr
900 905 910
Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn
915 920 925

Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala
930 935 940
Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn
945 950 955 960
Thr Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val
965 970 975
Leu Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln
980 985 990

Ile Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val
995 1000 1005
Thr Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn
1010 1015 1020
Leu Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys
1025 1030 1035
Arg Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro
1040 1045 1050

Gln Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val

1055 1060 1065

Pro Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His

1070 1075 1080

Asp Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn

1085 1090 1095

Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln

1100 1105 1110

Ile Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val

1115 1120 1125

Val Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro

1130 1135 1140

Glu Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn

1145 1150 1155

His Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn

1160 1165 1170

Ala Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu

1175 1180 1185

Val Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu

1190 1195 1200

Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu

1205 1210 1215

Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met

1220 1225 1230

Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys

1235 1240 1245

Ser Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro

1250 1255 1260

Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr

1265 1270

<210> 2

<211> 3819

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 2

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaaca 60

agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau 120

aaaguguuua gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc 180

aaugugacau gguuucaugc aauucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau 240

aauccugugc ugccuuuuaa ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaauauu 300

auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug 360

aauaaugcaa caaauguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugauccuuuu 420

cugggagugu auuaucacaa aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguau 480

uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa 540

ggaaaacagg gcaauuuuaa aaaucugaga gaauuugugu uuaaaaauau ugauggauau 600

uuuaaaauuu auucuaaaca cacaccaauu aauuuaguga gagaucugcc ucagggauuu 660

ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauua auauuacaag auuucagaca 720

cugcuggcuc ugcacagauc uuaucugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc 780

ggagcugcag cuuauuaugu gggcuaucug cagccaagaa cauuucugcu gaaauauaau 840

gaaaauggaa caauuacaga ugcuguggau ugugcucugg auccucuguc ugaaacaaaa 900

uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug 960

cagccaacag aaucuauugu gagauuucca aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa 1020

guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau 1080

uguguggcug auuauucugu gcuguauaau agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau 1140

ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu 1200

gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccccggac agacaggaaa aauugcugau 1260

uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau 1320

uuagauucua aagugggagg aaauuacaau uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau 1380

cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu 1440

aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc 1500

aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca 1560

ccugcaacag uguguggacc uaaaaaaucu acaaauuuag ugaaaaauaa augugugaau 1620

uuuaauuuua auggauuaac aggaacagga gugcugacag aaucuaauaa aaaauuucug 1680

ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag 1740

acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu ucuuuugggg gugugucugu gauuacaccu 1800
ggaacaaaua caucuaauca gguggcugug cuguaucagg augugaauug uacagaagug 1860
ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauuc uacaggaucu 1920
aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag aacaugugaa uaauucuuau 1980
gaaugugaua uuccaauugg agcaggcauu ugugcaucuu aucagacaca gacaaauucc 2040
ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuauug cauacaccau gucucuggga 2100
gcagaaaauu cuguggcaua uucuaauaau ucuauugcua uuccaacaaa uuuuaccauu 2160

ucugugacaa cagaaauuuu accugugucu augacaaaaa caucugugga uuguaccaug 2220
uacauuugug gagauucuac agaauguucu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuugu 2280
acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaaa uacacaggaa 2340
guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccaccaa uuaaagauuu uggaggauuu 2400
aauuuuagcc agauucugcc ugauccuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau 2460
cugcuguuua auaaagugac acuggcagau gcaggauuua uuaaacagua uggagauugc 2520
cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aauuuaaugg acugacagug 2580

cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga 2640
acaauuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug 2700
cagauggcuu acagauuuaa uggaauugga gugacacaga auguguuaua ugaaaaucag 2760
aaacugauug caaaucaguu uaauucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu 2820
acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggcacugaau 2880
acucugguga aacagcuguc uagcaauuuu ggggcaauuu cuucugugcu gaaugauauu 2940
cugucuagac uggauaaagu ggaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga 3000

cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu 3060
ucugcuaauc uggcugcuac aaaaaugucu gaaugugugc ugggacaguc aaaaagagug 3120
gauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug 3180
guguuuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca 3240
auuugucaug auggaaaagc acauuuucca agagaaggag uguuuguguc uaauggaaca 3300
cauugguuug ugacacagag aaauuuuuau gaaccucaga uuauuacaac agauaauaca 3360
uuugugucag gaaauuguga uguggugauu ggaauuguga auaauacagu guaugaucca 3420

cugcagccag aacuggauuc uuuuaaagaa gaacuggaua aauauuuuaa aaaucacaca 3480

ucuccugaug uggauuuagg agauauuucu ggaaucaaug caucuguggu gaauauucag 3540

aaagaaauug auagacugaa ugaaguggcc aaaaaucuga augaaucucu gauugaucug 3600

caggaacuug gaaaauauga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu 3660

auugcaggau uaauugcaau ugugauggug acaauuaugu uauguuguau gacaucaugu 3720

uguucuuguu uaaaaggaug uuguucuugu ggaagcuguu guaaauuuga ugaagaugau 3780

ucugaaccug uguuaaaagg agugaaauug cauuacaca 3819

<210> 3

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S Protein RBD Fusion

<400> 3

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val

1 5 10 15

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe

20 25 30

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile

35 40 45

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe

50 55 60

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu

65 70 75 80

Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu

85 90 95

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn

100 105 110

Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser

115 120 125

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg

130 135 140

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr

145 150 155 160

Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe

165 170 175

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly

180 185 190

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu

195 200 205

His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys

210 215

<210> 4

<211> 654

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 4

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc aguguggugg gagauuucca 60

aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug 120

uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau uguguggcug auuauucugu gcuguauaau 180

agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua 240

uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu gugaucagag gugaugaagu gagacagauu 300

gcccccggac agacaggaaa aauugcugau uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca 360

ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau uuagauucua aagugggagg aaauuacaau 420

uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca 480

gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu 540

ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc aauggugugg gauaucagcc auauagagug 600

guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca ccugcaacag uguguggacc uaaa 654

<210> 5

<211> 266

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S Protein RBD Fusion

<400> 5

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val
1 5 10 15
Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe
20 25 30

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile
35 40 45
Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe
50 55 60
Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu
65 70 75 80
Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu
85 90 95

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn
100 105 110
Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser
115 120 125
Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg
130 135 140
Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr
145 150 155 160

Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe
165 170 175
Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly
180 185 190
Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu
195 200 205
His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
225 230 235 240
Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Arg

245 250 255

Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly

260 265

<210> 6

<211> 798

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 6

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugguggu gagauuucca 60

aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug 120

uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau uguguggcug auuauucugu gcuguauaau 180

agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua 240

uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu gugaucagag gugaugaagu gagacagauu 300

gccccggac agacaggaaa aauugcugau uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca 360

ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau uuagauucua aaguggggagg aaauuacaau 420

uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca 480

gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu 540

ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc aauggugugg gauaucagcc auauagagug 600

guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca ccugcaacag uguguggacc uaaaggcucc 660

cccggcuccg gcuccggauc ugguuauauu ccugaagcuc caagagaugg gcaagcuuac 720

guucguaaag auggcgaaug gguauuacuu ucuaccuuuu uaggccgguc ccuggaggug 780

cuguuccagg gccccggc 798

<210> 7

<211> 1273

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S Protein Variant

<400> 7

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val

1 5 10 15

Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe

20 25 30

Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu

35 40 45

His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu

85 90 95

Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser

100 105 110

Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile

115 120 125

Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr

130 135 140

Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr

145 150 155 160

Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu

165 170 175

Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe

180 185 190

Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr

195 200 205

Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu

210 215 220

Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr

225 230 235 240

Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser

245 250 255

Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro

260 265 270

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

Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys
325 330 335
Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala
340 345 350
Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu
355 360 365
Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro
370 375 380

Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe
385 390 395 400
Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
405 410 415
Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
420 425 430
Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
435 440 445

Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
450 455 460
Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys
465 470 475 480
Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
485 490 495
Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
500 505 510

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

515 520 525

Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn

530 535 540

Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu

545 550 555 560

Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val

565 570 575

Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe

580 585 590

Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val

595 600 605

Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile

610 615 620

His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser

625 630 635 640

Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val

645 650 655

Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala

660 665 670

Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala

675 680 685

Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser

690 695 700

Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile

705 710 715 720

Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val

725 730 735

Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu

740 745 750

Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr

755 760 765

Gly Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln
770 775 780
Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe
785 790 795 800
Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser
805 810 815
Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly
820 825 830

Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp
835 840 845
Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu
850 855 860
Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly
865 870 875 880
Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile
885 890 895

Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr
900 905 910
Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn
915 920 925
Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala
930 935 940
Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn
945 950 955 960

Thr Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val
965 970 975
Leu Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln
980 985 990
Ile Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val
995 1000 1005
Thr Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn

1010 1015 1020

Leu Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys
1025 1030 1035
Arg Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro
1040 1045 1050
Gln Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val
1055 1060 1065
Pro Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His
1070 1075 1080

Asp Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn
1085 1090 1095
Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln
1100 1105 1110
Ile Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val
1115 1120 1125
Val Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro
1130 1135 1140

Glu Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn
1145 1150 1155
His Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn
1160 1165 1170
Ala Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu
1175 1180 1185
Val Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu
1190 1195 1200

Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu
1205 1210 1215
Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met
1220 1225 1230
Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys
1235 1240 1245

Ser Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro
1250 1255 1260

Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

<210> 8

<211> 3819

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 8

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaaca 60

agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau 120

aaaguguuua gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc 180

aaugugacau gguuucaugc aauucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau 240

aauccugugc ugccuuuuaa ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaauauu 300

auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug 360

aauaaugcaa caaauguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugauccuuuu 420

cugggagugu auuaucacaa aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguau 480

uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa 540

ggaaaacagg gcaauuuuaa aaaucugaga gaauuugugu uuaaaaauau ugauggauau 600

uuuaaaauuu auucuaaaca cacaccaauu aauuuaguga gagaucugcc ucagggauuu 660

ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauua auauuacaag auuucagaca 720

cugcuggcuc ugcacagauc uuaucugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc 780

ggagcugcag cuuauuaugu gggcuaucug cagccaagaa cauuucugcu gaaauauaau 840

gaaaauggaa caauuacaga ugcuguggau ugugcucugg auccucuguc ugaaacaaaa 900

uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug 960

cagccaacag aaucuauugu gagauuucca aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa 1020

guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau 1080

uguguggcug auuauucugu gcuguauaau agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau 1140

ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu 1200

gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa aauugcugau 1260

uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau 1320

uuagauucua aagugggagg aaauuacaau uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau 1380

cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu 1440

aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc 1500

aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca 1560

ccugcaacag uguguggacc uaaaaaaucu acaaauuuag ugaaaaauaa augugugaau 1620

uuuaauuuua auggauuaac aggaacagga gugcugacag aaucuaauaa aaaauuucug 1680

ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag 1740

acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu ucuuuugggg gugugucugu gauuacaccu 1800

ggaacaaaua caucuaauca gguggcugug cuguaucagg augugaauug uacagaagug 1860

ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauuc uacaggaucu 1920

aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag aacaugugaa uaauucuuau 1980

gaaugugaua uuccaauugg agcaggcauu ugugcaucuu aucagacaca gacaaauucc 2040

ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuauug cauacaccau gucucuggga 2100

gcagaaaauu cuguggcaua uucuaauaau ucuauugcua uuccaacaaa uuuuaccauu 2160

ucugugacaa cagaaauuuu accugugucu augacaaaaa caucugugga uuguaccaug 2220

uacauuugug gagauucuac agaauguucu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuugu 2280

acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaaa uacacaggaa 2340

guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccaccaa uuaaagauuu uggaggauuu 2400

aauuuuagcc agauucugcc ugauccuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau 2460

cugcuguuua auaaagugac acuggcagau gcaggauuua uuaaacagua uggagauugc 2520

cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aauuuaaugg acugacagug 2580

cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga 2640

acaauuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug 2700

cagauggcuu acagauuuaa uggaauugga gugacacaga auguguuaua ugaaaaucag 2760

aaacugauug caaaucaguu uaauucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu 2820

acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggcacugaau 2880

acucugguga aacagcuguc uagcaauuuu ggggcaauuu cuucugugcu gaaugauauu 2940

cugucuagac uggauccucc ugaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga 3000

cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu 3060

ucugcuaauc uggcugcuac aaaaaugucu gaaugugugc ugggacaguc aaaaagagug 3120

gauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug 3180

guguuuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca 3240

auuugucaug auggaaaagc acauuuucca agagaaggag uguuuguguc uaauggaaca 3300

cauugguuug ugacacagag aaauuuuuau gaaccucaga uuauuacaac agauaauaca 3360

uuugugucag gaaauuguga uguggugauu ggaauuguga auaauacagu guaugaucca 3420

cugcagccag aacuggauuc uuuuaaagaa gaacuggaua aauauuuuaa aaaucacaca 3480

ucuccugaug uggauuuagg agauauuucu ggaaucaaug caucuguggu gaauauucag 3540

aaagaaauug auagacugaa ugaaguggcc aaaaaucuga augaaucucu gauugaucug 3600

caggaacuug gaaaauauga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu 3660

auugcaggau uaauugcaau ugugauggug acaauuaugu uauguuguau gacaucaugu 3720

uguucuuguu uaaaaggaug uuguucuugu ggaagcuguu guaaauuuga ugaagaugau 3780

ucugaaccug uguuaaaagg agugaaauug cauuacaca 3819

<210> 9

<211> 3819

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 9

auguucgugu uccuggugcu gcugccucug guguccagcc agugugugaa ccugaccacc 60

agaacacagc ugccuccagc cuacaccaac agcuuuacca gaggcgugua cuaccccgac 120

aagguguuca gauccagcgu gcugcacucu acccaggacc uguuccugcc uuucuucagc 180

aacgugaccu gguuccacgc cauccacgug uccggcacca auggcaccaa gagauucgac 240

aaccccgugc ugcccuucaa cgacggggug uacuuugcca gcaccgagaa guccaacauc 300

aucagaggcu ggaucuucgg caccacacug gacagcaaga cccagagccu gcugaucgug 360

aacaacgcca ccaacguggu caucaaagug ugcgaguucc aguucugcaa cgaccccuuc 420

cugggcgucu acuaccacaa gaacaacaag agcuggaugg aaagcgaguu ccggguguac 480

agcagcgcca acaacugcac cuucgaguac gugucccagc cuuuccugau ggaccuggaa 540

ggcaagcagg gcaacuucaa gaaccugcgc gaguucgugu uuaagaacau cgacggcuac 600

uucaagaucu acagcaagca caccccuauc aaccucgugc gggaucugcc ucagggcuuc 660

ucugcucugg aacccccuggu ggaucugccc aucggcauca acaucacccg guuucagaca 720

cugcuggccc ugcacagaag cuaccugaca ccuggcgaua gcagcagcgg auggacagcu 780

ggugccgccg cuuacuaugu gggcuaccug cagccuagaa ccuuccugcu gaaguacaac 840

gagaacggca ccaucaccga cgccguggau ugugcucugg auccucugag cgagacaaag 900

ugcacccuga aguccuucac cguggaaaag ggcaucuacc agaccagcaa cuuccgggug 960

cagcccaccg aauccaucgu gcgguucccc aauaucacca aucugugccc cuucggcgag 1020

guguucaaug ccaccagauu cgccucugug uacgccugga accggaagcg gaucagcaau 1080

ugcguggccg acuacuccgu gcuguacaac uccgccagcu ucagcaccuu caagugcuac 1140

ggcguguccc cuaccaagcu gaacgaccug ugcuucacaa acguguacgc cgacagcuuc 1200

gugauccggg gagaugaagu gcggcagauu gccccuggac agacaggcaa gaucgccgac 1260

uacaacuaca agcugcccga cgacuucacc ggcuguguga uugccuggaa cagcaacaac 1320

cuggacucca aagucggcgg caacuacaau uaccuguacc ggcuguuccg gaaguccaau 1380

cugaagcccu ucgagcggga caucuccacc gagaucuauc aggccggcag caccccuugu 1440

aacggcgugg aaggcuucaa cugcuacuuc ccacugcagu ccuacggcuu ucagcccaca 1500

aauggcgugg gcuaucagcc cuacagagug guggugcuga gcuucgaacu gcugcaugcc 1560

ccugccacag ugugcggccc uaagaaaagc accaaucucg ugaagaacaa augcgugaac 1620

uucaacuuca acggccugac cggcaccggc gugcugacag agagcaacaa gaaguuccug 1680

ccauuccagc aguuuggccg ggauaucgcc gauaccacag acgccguuag agauccccag 1740

acacuggaaa uccuggacau caccccuugc agcuucggcg gagugucugu gaucaccccu 1800

ggcaccaaca ccagcaauca gguggcagug cuguaccagg acgugaacug uaccgaagug 1860

cccguggcca uucacgccga ucagcugaca ccuacauggc ggguguacuc caccggcagc 1920

aauguguuuc agaccagagc cggcugucug aucggagccg agcacgugaa caauagcuac 1980

gagugcgaca uccccaucgg cgcuggaauc ugcgccagcu accagacaca gacaaacagc 2040

ccucggagag ccagaagcgu ggccagccag agcaucauug ccuacacaau gucucugggc 2100

gccgagaaca gcguggccua cuccaacaac ucuaucgcua uccccaccaa cuucaccauc 2160

agcgugacca cagagauccu gccugugucc augaccaaga ccagcgugga cugcaccaug 2220

uacaucugcg gcgauuccac cgagugcucc aaccugcugc ugcaguacgg cagcuucugc 2280

acccagcuga auagagcccu gacagggauc gccguggaac aggacaagaa cacccaagag 2340

guguucgccc aagugaagca gaucuacaag accccuccua ucaaggacuu cggcggcuuc 2400

aauuucagcc agauucugcc cgauccuagc aagcccagca agcggagcuu caucgaggac 2460

cugcuguuca acaaagugac acuggccgac gccggcuuca ucaagcagua uggcgauugu 2520

cugggcgaca uugccgccag ggaucugauu ugcgcccaga aguuuaacgg acugacagug 2580

cugccuccuc ugcugaccga ugagaugauc gcccaguaca caucugcccu gcuggccggc 2640

acaaucacaa gcggcuggac auuuggagca ggcgccgcuc ugcagauccc cuuugcuaug 2700

cagauggccu accgguucaa cggcaucgga gugacccaga augugcugua cgagaaccag 2760

aagcugaucg ccaaccaguu caacagcgcc aucggcaaga uccaggacag ccugagcagc 2820

acagcaagcg cccugggaaa gcugcaggac guggucaacc agaaugccca ggcacugaac 2880

acccugguca agcagcuguc cuccaacuuc ggcgccauca gcucugugcu gaacgauauc 2940

cugagcagac uggacccucc ugaggccgag gugcagaucg acagacugau cacaggcaga 3000

cugcagagcc uccagacaua cgugacccag cagcugauca gagccgccga gauuagagcc 3060

ucugccaauc uggccgccac caagaugucu gagugugugc uggggccagag caagagagug 3120

gacuuuugcg gcaagggcua ccaccugaug agcuucccuc agucugcccc ucacggcgug 3180

guguuucugc acgugacaua ugugcccgcu caagagaaga auuucaccac cgcuccagcc 3240

aucugccacg acggcaaagc ccacuuuccu agagaaggcg uguucguguc caacggcacc 3300

cauugguucg ugacacagcg gaacuucuac gagccccaga ucaucaccac cgacaacacc 3360

uucgugucug gcaacugcga cgucgugauc ggcauuguga acaauaccgu guacgacccu 3420

cugcagcccg agcuggacag cuucaaagag gaacuggaca aguacuuuaa gaaccacaca 3480

agccccgacg uggaccuggg cgauaucagc ggaaucaaug ccagcgucgu gaacauccag 3540

aaagagaucg accggcugaa cgagguggcc aagaaucuga acgagagccu gaucgaccug 3600

caagaacugg ggaaguacga gcaguacauc aaguggcccu gguacaucug gcugggcuuu 3660

aucgccggac ugauugccau cgugaugguc acaaucaugc uguguugcau gaccagcugc 3720

uguagcugcc ugaagggcug uuguagcugu ggcagcugcu gcaaguucga cgaggacgau 3780

ucugagcccg ugcugaaggg cgugaaacug cacuacaca 3819

<210> 10

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Foldon Sequence

<400> 10

Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val

1 5 10 15

Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Arg Ser

20 25 30

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly

35 40

<210> 11

<211> 123

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Coding Sequence

<400> 11

ggaucugguu auauuccuga agcuccaaga gaugggcaag cuuacguucg uaaagauggc 60

gaauggguau uacuuucuac cuuuuuaggc cggucccugg aggugcuguu ccagggcccc 120

ggc 123

<210> 12

<211> 47

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5'-UTR

<400> 12

aacuaguauu cuucuggucc ccacagacuc agagagaacc cgccacc 47

<210> 13

<211> 278

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 3'-UTR

<400> 13

cugguacugc augcacgcaa ugcuagcugc cccuuucccg uccuggguac cccgagucuc 60

ccccgaccuc gggucccagg uaugcuccca ccuccaccug ccccacucac caccucugcu 120

aguuccagac accucccaag cacgcagcaa ugcagcucaa aacgcuuagc cuagccacac 180

ccccacggga aacagcagug auuaaccuuu agcaauaaac gaaaguuuaa cuaagcuaua 240

cuaaccccag gguuggucaa uuucgugcca gccacacc 278

<210> 14

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A30L70

<400> 14

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa gcauaugacu aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 110

<210> 15

<211> 4282

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBL063.1

<400> 15

gggcgaacua guauucuucu gguccccaca gacucagaga gaacccgcca ccauguuugu 60

guuucuugug cugcugccuc uugugucuuc ucagugugug aauuugacaa caagaacaca 120

gcugccacca gcuuauacaa auucuuuuac cagaggagug uauuauccug auaaaguguu 180

uagaucuucu gugcugcaca gcacacagga ccuguuucug ccauuuuuua gcaaugugac 240

augguuucau gcaauucaug ugucuggaac aaauggaaca aaaagauuug auaauccugu 300

gcugccuuuu aaugauggag uguauuuugc uucaacagaa aagucaaaua uuauuagagg 360

auggauuuuu ggaacaacac uggauucuaa aacacagucu cugcugauug ugaauaaugc 420

aacaaaugug gugauuaaag ugugugaauu ucaguuuugu aaugauccuu uucugggagu 480

guauuaucac aaaaauaaua aaucuuggau ggaaucugaa uuuagagugu auuccucugc 540

aaauaauugu acauuugaau augugucuca gccuuuucug auggaucugg aaggaaaaca 600

gggcaauuuu aaaaaucuga gagaauuugu guuuaaaaau auugauggau auuuuaaaau 660

uuauucuaaa cacacaccaa uuaauuuagu gagagaucug ccucagggau uuucugcucu 720

ggaaccucug guggaucugc caauuggcau uaauauuaca agauuucaga cacugcuggc 780

ucugcacaga ucuuaucuga caccuggaga uucuucuucu ggauggacag ccggagcugc 840

agcuuauuau gugggcuauc ugcagccaag aacauuucug cugaaauaua augaaaaugg 900

aacaauuaca gaugcugugg auugugcucu ggauccucug ucugaaacaa aauguacauu 960

aaaaucuuuu acaguggaaa aaggcauuua ucagacaucu aauuuuagag ugcagccaac 1020

agaaucuauu gugagauuuc caaauauuac aaaucugugu ccauuuggag aaguguuuaa 1080

ugcaacaaga uuugcaucug uguaugcaug gaauagaaaa agaauuucua auuguguggc 1140

ugauuauucu gugcuguaua auagugcuuc uuuuuccaca uuuaaauguu auggaguguc 1200

uccaacaaaa uuaaaugauu uauguuuuac aaauguguau gcugauucuu uugugaucag 1260

aggugaugaa gugagacaga uugccccccgg acagacagga aaaauugcug auuacaauua 1320

caaacugccu gaugauuuua caggaugugu gauugcuugg aauucuaaua auuuagauuc 1380

uaaaguggga ggaaauuaca auuaucugua cagacuguuu agaaaaucaa aucugaaacc 1440

uuuugaaaga gauauuucaa cagaaauuua ucaggcugga ucaacaccuu guaauggagu 1500

ggaaggauuu aauuguuauu uuccauuaca gagcuaugga uuucagccaa ccaauggugu 1560

gggauaucag ccauauagag ugguggugcu gucuuuugaa cugcugcaug caccugcaac 1620

agugugugga ccuaaaaaau cuacaaauuu agugaaaaau aaauguguga auuuuaauuu 1680

uaauggauua acaggaacag gagugcugac agaaucuaau aaaaaauuuc ugccuuuuca 1740

gcaguuuggc agagauauug cagauaccac agaugcagug agagauccuc agacauuaga 1800

aauucuggau auuacaccuu guucuuuugg gggugugucu gugauuacac cuggaacaaa 1860

uacaucuaau cagguggcug ugcuguauca ggaugugaau uguacagaag ugccaguggc 1920

aauucaugca gaucagcuga caccaacaug gagaguguau ucuacaggau cuaauguguu 1980

ucagacaaga gcaggauguc ugauuggagc agaacaugug aauaauucuu augaauguga 2040

uauuccaauu ggagcaggca uuugugcauc uuaucagaca cagacaaauu ccccaaggag 2100

agcaagaucu guggcaucuc agucuauuau ugcauacacc augucucugg gagcagaaaa 2160

uucuguggca uauucuaaua auucuauugc uauuccaaca aauuuuacca uuucugugac 2220

aacagaaauu uuaccugugu cuaugacaaa aacaucugug gauuguacca uguacauuug 2280

uggagauucu acagaauguu cuaaucugcu gcugcaguau ggaucuuuuu guacacagcu 2340

gaauagagcu uuaacaggaa uugcugugga acaggauaaa aauacacagg aaguguuugc 2400

ucaggugaaa cagauuuaca aaacaccacc aauuaaagau uuuggaggau uuaauuuuag 2460

ccagauucug ccugauccuu cuaaaccuuc uaaaagaucu uuuauugaag aucugcuguu 2520

uaauaaagug acacuggcag augcaggauu uauuaaacag uauggagauu gccuggguga 2580

uauugcugca agagaucuga uuugugcuca gaaauuuaau ggacugacag ugcugccucc 2640

ucugcugaca gaugaaauga uugcucagua cacaucugcu uuacuggcug gaacaauuac 2700

aagcggaugg acauuuggag cuggagcugc ucugcagauu ccuuuugcaa ugcagauggc 2760

uuacagauuu aauggaauug gagugacaca gaauguguua uaugaaaauc agaaacugau 2820

ugcaaaucag uuuaauucug caauuggcaa aauucaggau ucucugucuu cuacagcuuc 2880

ugcucuggga aaacugcagg auguggugaa ucagaaugca caggcacuga auacucuggu 2940

gaaacagcug ucuagcaauu uuggggcaau uucuucugug cugaaugaua uucugucuag 3000

acuggauccu ccugaagcug aagugcagau ugauagacug aucacaggaa gacugcaguc 3060

ucugcagacu uaugugacac agcagcugau uagagcugcu gaaauuagag cuucugcuaa 3120

ucuggcugcu acaaaaaugu cugaaugugu gcugggacag ucaaaaagag uggauuuuug 3180

uggaaaagga uaucaucuga ugucuuuucc acagucugcu ccacauggag ugguguuuuu 3240

acaugugaca uaugugccag cacaggaaaa gaauuuuacc acagcaccag caauuuguca 3300

ugauggaaaa gcacauuuuc caagagaagg aguguuugug ucuaauggaa cacauugguu 3360

ugugacacag agaaauuuuu augaaccuca gauuauuaca acagauaaua cauuuguguc 3420

aggaaauugu gaugugguga uuggaauugu gaauaauaca guguaugauc cacugcagcc 3480

agaacuggau ucuuuuaaag aagaacugga uaaauauuuu aaaaaucaca caucuccuga 3540

uguggauuua ggagauauuu cuggaaucaa ugcaucugug gugaauauuc agaaagaaau 3600

ugauagacug aaugaagugg ccaaaaaucu gaaugaaucu cugauugauc ugcaggaacu 3660

uggaaaauau gaacaguaca uuaaauggcc uugguacauu uggcuuggau uuauugcagg 3720

auuaauugca auugugaugg ugacaauuau guuauguugu augacaucau guuguucuug 3780

uuuaaaagga uguuguucuu guggaagcug uuguaaauuu gaugaagaug auucugaacc 3840

uguguuaaaa ggagugaaau ugcauuacac augaugacuc gagcugguac ugcaugcacg 3900

caaugcuagc ugccccuuuc ccguccuggg uaccccgagu cuccccccgac cucggguccc 3960

agguaugcuc ccaccuccac cugccccacu caccaccucu gcuaguucca gacaccuccc 4020

aagcacgcag caaugcagcu caaaacgcuu agccuagcca cacccccacg ggaaacagca 4080

gugauuaacc uuuagcaaua aacgaaaguu uaacuaagcu auacuaaccc caggguuggu 4140

caauuucgug ccagccacac ccuggagcua gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aagcauauga cuaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4282

<210> 16

<211> 4282

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBL063.2

<400> 16

gggcgaacua guauucuucu gguccccaca gacucagaga gaacccgcca ccauguucgu 60

guuccuggug cugcugccuc ugguguccag ccagugugug aaccugacca ccagaacaca 120

gcugccucca gccuacacca acagcuuuac cagaggcgug uacuaccccg acaagguguu 180

cagauccagc gugcugcacu cuacccagga ccuguuccug ccuuucuuca gcaacgugac 240

cugguuccac gccauccacg uguccggcac caauggcacc aagagauucg acaaccccgu 300

gcugcccuuc aacgacgggg uguacuuugc cagcaccgag aaguccaaca ucaucagagg 360

cuggaucuuc ggcaccacac uggacagcaa gacccagagc cugcugaucg ugaacaacgc 420

caccaacgug gucaucaaag ugugcgaguu ccaguucugc aacgaccccu uccugggcgu 480

cuacuaccac aagaacaaca agagcuggau ggaaagcgag uuccgggugu acagcagcgc 540

caacaacugc accuucgagu acguguccca gccuuuccug auggaccugg aaggcaagca 600

gggcaacuuc aagaaccugc gcgaguucgu guuuaagaac aucgacggcu acuucaagau 660

cuacagcaag cacaccccua ucaaccucgu gcgggaucug ccucagggcu ucucugcucu 720

ggaaccccug guggaucugc ccaucggcau caacaucacc cgguuucaga cacugcuggc 780

ccugcacaga agcuaccuga caccuggcga uagcagcagc ggauggacag cuggugccgc 840

cgcuuacuau gugggcuacc ugcagccuag aaccuuccug cugaaguaca acgagaacgg 900

caccaucacc gacgccgugg auugugcucu ggauccucug agcgagacaa agugcacccu 960

gaaguccuuc accguggaaa agggcaucua ccagaccagc aacuuccggg ugcagcccac 1020

cgaauccauc gugcgguucc ccaauaucac caaucugugc cccuucggcg agguguucaa 1080

ugccaccaga uucgccucug uguacgccug gaaccggaag cggaucagca auugcguggc 1140

cgacuacucc gugcuguaca acuccgccag cuucagcacc uucaagugcu acggcguguc 1200

cccuaccaag cugaacgacc ugugcuucac aaacguguac gccgacagcu ucgugauccg 1260

gggagaugaa gugcggcaga uugccccugg acagacaggc aagaucgccg acuacaacua 1320

caagcugccc gacgacuuca ccggcugugu gauugccugg aacagcaaca accuggacuc 1380

caaagucggc ggcaacuaca auuaccugua ccggcuguuc cggaagucca aucugaagcc 1440

cuucgagcgg gacaucucca ccgagaucua ucaggccggc agcaccccuu guaacggcgu 1500

ggaaggcuuc aacugcuacu ucccacugca guccuacggc uuucagccca caaauggcgu 1560

gggcuaucag cccuacagag ugguggugcu gagcuucgaa cugcugcaug ccccugccac 1620

agugugcggc ccuaagaaaa gcaccaaucu cgugaagaac aaaugcguga acuucaacuu 1680

caacggccug accggcaccg gcgugcugac agagagcaac aagaaguucc ugccauucca 1740

gcaguuuggc cgggauaucg ccgauaccac agacgccguu agagaucccc agacacugga 1800

aauccuggac aucaccccuu gcagcuucgg cggagugucu gugaucaccc cuggcaccaa 1860

caccagcaau cagguggcag ugcuguacca ggacgugaac uguaccgaag ugcccguggc 1920

cauucacgcc gaucagcuga caccuacaug gcggguguac uccaccggca gcaauguguu 1980

ucagaccaga gccggcuguc ugaucggagc cgagcacgug aacaauagcu acgagugcga 2040

cauccccauc ggcgcuggaa ucugcgccag cuaccagaca cagacaaaca gcccucggag 2100

agccagaagc guggccagcc agagcaucau ugccuacaca augucucugg gcgccgagaa 2160

cagcguggcc uacuccaaca acucuaucgc uaucccccacc aacuucacca ucagcgugac 2220

cacagagauc cugccugugu ccaugaccaa gaccagcgug gacugcacca uguacaucug 2280

cggcgauucc accgagugcu ccaaccugcu gcugcaguac ggcagcuucu gcacccagcu 2340

gaauagagcc cugacaggga ucgccgugga acaggacaag aacacccaag agguguucgc 2400

ccaagugaag cagaucuaca agaccccucc uaucaaggac uucggcggcu ucaauuucag 2460

ccagauucug cccgauccua gcaagcccag caagcggagc uucaucgagg accugcuguu 2520

caacaaagug acacuggccg acgccggcuu caucaagcag uauggcgauu gucugggcga 2580

cauugccgcc agggaucuga uuugcgccca gaaguuuaac ggacugacag ugcugccucc 2640

ucugcugacc gaugagauga ucgcccagua cacaucugcc cugcuggccg gcacaaucac 2700

aagcggcugg acauuuggag caggcgccgc ucugcagauc cccuuugcua ugcagauggc 2760

cuaccgguuc aacggcaucg gagugaccca gaaugugcug uacgagaacc agaagcugau 2820

cgccaaccag uucaacagcg ccaucggcaa gauccaggac agccugagca gcacagcaag 2880

cgcccuggga aagcugcagg acguggucaa ccagaaugcc caggcacuga acacccuggu 2940

caagcagcug uccuccaacu ucggcgccau cagcucugug cugaacgaua uccugagcag 3000

acuggacccu ccugaggccg aggugcagau cgacagacug aucacaggca gacugcagag 3060

ccuccagaca uacgugaccc agcagcugau cagagccgcc gagauuagag ccucugccaa 3120

ucuggccgcc accaagaugu cugagugugu gcugggccag agcaagagag uggacuuuug 3180

cggcaagggc uaccaccuga ugagcuuccc ucagucugcc ccucacggcg ugguguuucu 3240

gcacgugaca uaugugcccg cucaagagaa gaauuucacc accgcuccag ccaucugcca 3300

cgacggcaaa gcccacuuuc cuagagaagg cguguucgug uccaacggca cccauugguu 3360

cgugacacag cggaacuucu acgagcccca gaucaucacc accgacaaca ccuucguguc 3420

uggcaacugc gacgucguga ucggcauugu gaacaauacc guguacgacc cucugcagcc 3480

cgagcuggac agcuucaaag aggaacugga caaguacuuu aagaaccaca caagccccga 3540

cguggaccug ggcgauauca gcggaaucaa ugccagcguc gugaacaucc agaaagagau 3600

cgaccggcug aacgaggugg ccaagaaucu gaacgagagc cugaucgacc ugcaagaacu 3660

ggggaaguac gagcaguaca ucaaguggcc cugguacauc uggcugggcu uuaucgccgg 3720

acugauugcc aucgugaugg ucacaaucau gcuguguugc augaccagcu gcuguagcug 3780

ccugaagggc uguuguagcu guggcagcug cugcaaguuc gacgaggacg auucugagcc 3840

cgugcugaag ggcgugaaac ugcacuacac augaugacuc gagcugguac ugcaugcacg 3900

caaugcuagc ugccccuuuc ccguccuggg uaccccgagu cucccccgac cucggguccc 3960

agguaugcuc ccaccuccac cugccccacu caccaccucu gcuaguucca gacaccuccc 4020

aagcacgcag caaugcagcu caaaacgcuu agccuagcca cacccccacg ggaaacagca 4080

gugauuaacc uuuagcaaua aacgaaaguu uaacuaagcu auacuaaccc caggguuggu 4140

caauuucgug ccagccacac ccuggagcua gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aagcauauga cuaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4282

<210> 17

<211> 1261

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBL063.3

<400> 17

gggcgaacua guauucuucu ggucccccaca gacucagaga gaacccgcca ccauguuugu 60

guuucuugug cugcugccuc uugugucuuc ucagugugug gugagauuuc caaauauuac 120

aaaucugugu ccauuuggag aaguguuuaa ugcaacaaga uuugcaucug uguaugcaug 180

gaauagaaaa agaauuucua auuguguggc ugauuauucu gugcuguaua auagugcuuc 240

uuuuuccaca uuuaaauguu auggaguguc uccaacaaaa uuaaaugauu uauguuuuac 300

aaauguguau gcugauucuu uugugaucag aggugaugaa gugagacaga uugccccggg 360

acagacagga aaaauugcug auuacaauua caaacugccu gaugauuuua caggaugugu 420

gauugcuugg aauucuaaua auuuagauuc uaaaguggga ggaaauuaca auuaucugua 480

cagacuguuu agaaaaucaa aucugaaacc uuuugaaaga gauauuucaa cagaaauuua 540

ucaggcugga ucaacaccuu guaauggagu ggaaggauuu aauuguuauu uuccauuaca 600

gagcuaugga uuucagccaa ccaauggugu gggauaucag ccauauagag ugguggugcu 660

gucuuuugaa cugcugcaug caccugcaac aguguguggа ccuaaaggcu cccccggcuc 720

cggcuccgga ucugguuaua uuccugaagc uccaagagau gggcaagcuu acguucguaa 780

agauggcgaa uggguauuac uuucuaccuu uuuaggccgg ucccuggagg ugcuguucca 840

gggccccggc ugaugacucg agcugguacu gcaugcacgc aaugcuagcu gccccuuucc 900

cguccugggu accccgaguc ucccccgacc ucgggуccca gguaugcucc caccuccacc 960

ugccccacuc accaccucug cuaguuccag acaccuccca agcacgcagc aaugcagcuc 1020

aaaacgcuua gccuagccac acccccacgg gaaacagcag ugauuaaccu uuagcaauaa 1080

acgaaaguuu aacuaagcua uacuaacccc aggguugguc aauuucgugc cagccacacc 1140

cuggagcuag caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcauaugac uaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

a 1261

<210> 18

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S Protein RBD Fusion

<400> 18

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe
1 5 10 15

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile
20 25 30

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe
35 40 45

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu
50 55 60

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

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn
85 90 95

Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser
100 105 110

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg
115 120 125

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr
130 135 140

Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe
145 150 155 160

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly
165 170 175

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu

180 185 190

His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
210 215 220

Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Arg
225 230 235 240

Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly
245 250

<210> 19

<211> 4283

<212>

RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBP020.1

<400> 19

agaauaaacu aguauucuuc uggucccccac agacucagag agaacccgcc accauguuug 60

uguuucuugu gcugcugccu cuugugucuu cucagugugu gaauuugaca acaagaacac 120

agcugccacc agcuuauaca aauucuuuua ccagaggagu guauuauccu gauaaagugu 180

uuagaucuuc ugugcugcac agcacacagg accuguuucu gccauuuuuu agcaauguga 240

caugguuuca ugcaauucau gugucuggaa caaauggaac aaaaagauuu gauaauccug 300

ugcugccuuu uaaugaugga guguauuuug cuucaacaga aaagucaaau auuauuagag 360

gauggauuuu uggaacaaca cuggauucua aaacacaguc ucugcugauu gugaauaaug 420

caacaaaugu ggugauuaaa gugugugaau uucaguuuug uaaugauccu uuucugggag 480

uguauuauca caaaaauaau aaaucuugga uggaaucuga auuuagagug uauuccucug 540

caaauaauug uacauuugaa uaugugucuc agccuuuucu gauggaucug gaaggaaaac 600

agggcaauuu uaaaaaucug agagaauuug uguuuaaaaa uauugaugga uauuuuaaaa 660

uuuauucuaa acacacacca auuaauuuag ugagagaucu gccucaggga uuuucugcuc 720

uggaaccucu gguggaucug ccaauuggca uuaauauuac aagauuucag acacugcugg 780

cucugcacag aucuuaucug acaccuggag auucuucuuc uggauggaca gccggagcug 840

cagcuuauua ugugggcuau cugcagccaa gaacauuucu gcugaaauau aaugaaaaug 900

gaacaauuac agaugcugug gauugugcuc uggauccucu gucugaaaca aaauguacau 960

uaaaaucuuu uacaguggaa aaaggcauuu aucagacauc uaauuuuaga gugcagccaa 1020

cagaaucuau ugugagauuu ccaaauauua caaaucugug uccauuugga gaaguguuua 1080

augcaacaag auuugcaucu guguaugcau ggaauagaaa aagaauuucu aauugugugg 1140

cugauuauuc ugugcuguau aauagugcuu cuuuuuccac auuuaaaugu uauggagugu 1200

cuccaacaaa auuaaaugau uuauguuuua caaaugugua ugcugauucu uuugugauca 1260

gaggugauga agugagacag auugccccccg gacagacagg aaaaauugcu gauuacaauu 1320

acaaacugcc ugaugauuuu acaggaugug ugauugcuug gaauucuaau aauuuagauu 1380

cuaaaguggg aggaaauuac aauuaucugu acagacuguu uagaaaauca aaucugaaac 1440

cuuuugaaag agauauuuca acagaaauuu aucaggcugg aucaacaccu uguaauggag 1500

uggaaggauu uaauuguuau uuuccauuac agagcuaugg auuucagcca accaauggug 1560

ugggauauca gccauauaga gugguggugc ugucuuuuga acugcugcau gcaccugcaa 1620

cagugugugg accuaaaaaa ucuacaaauu uagugaaaaa uaaaugugug aauuuuaauu 1680

uuaauggauu aacaggaaca ggagugcuga cagaaucuaa uaaaaaauuu cugccuuuuc 1740

agcaguuugg cagagauauu gcagauacca cagaugcagu gagagauccu cagacauuag 1800

aaauucugga uauuacaccu uguucuuuug gggguguguc ugugauuaca ccuggaacaa 1860

auacaucuaa ucagguggcu gugcuguauc aggaugugaa uuguacagaa gugccagugg 1920

caauucaugc agaucagcug acaccaacau ggagagugua uucuacagga ucuaaugugu 1980

uucagacaag agcaggaugu cugauuggag cagaacaugu gaauaauucu uaugaaugug 2040

auauuccaau uggagcaggc auuugugcau cuuaucagac acagacaaau uccccaagga 2100

gagcaagauc uguggcaucu cagucuauua uugcauacac caugucucug ggagcagaaa 2160

auucuguggc auauucuaau aauucuauug cuauuccaac aaauuuuacc auuucuguga 2220

caacagaaau uuuaccugug ucuaugacaa aaacaucugu ggauuguacc auguacauuu 2280

guggagauuc uacagaaugu ucuaaucugc ugcugcagua uggaucuuuu uguacacagc 2340

ugaauagagc uuuaacagga auugcugugg aacaggauaa aaauacacag gaaguguuug 2400

cucaggugaa acagauuuac aaaacaccac caauuaaaga uuuuggagga uuuaauuuua 2460

gccagauucu gccugauccu ucuaaaccuu cuaaaagauc uuuuauugaa gaucugcugu 2520

uuaauaaagu gacacuggca gaugcaggau uuauuaaaca guauggagau ugccugggug 2580

auauugcugc aagagaucug auuugugcuc agaaauuuaa uggacugaca gugcugccuc 2640

cucugcugac agaugaaaug auugcucagu acacaucugc uuuacuggcu ggaacaauua 2700

caagcggaug gacauuugga gcuggagcug cucugcagau uccuuuugca augcagaugg 2760

cuuacagauu uaauggaauu ggagugacac agaauguguu auaugaaaau cagaaacuga 2820

uugcaaauca guuuaauucu gcaauuggca aaauucagga uucucugucu ucuacagcuu 2880

cugcucuggg aaaacugcag gaugugguga aucagaaugc acaggcacug aauacucugg 2940
ugaaacagcu gucuagcaau uuuggggcaa uuucuucugu gcugaaugau auucugucua 3000
gacuggaucc uccugaagcu gaagugcaga uugauagacu gaucacagga agacugcagu 3060
cucugcagac uuaugugaca cagcagcuga uuagagcugc ugaaauuaga gcuucugcua 3120
aucuggcugc uacaaaaaug ucugaaugug ugcugggaca gucaaaaaga guggauuuuu 3180
guggaaaagg auaucaucug augucuuuuc cacagucugc uccacaugga gugguguuuu 3240
uacaugugac auaugugcca gcacaggaaa agaauuuuac cacagcacca gcaauuuguc 3300

augauggaaa agcacauuuu ccaagagaag gaguguuugu gucuaaugga acacauuggu 3360
uugugacaca gagaaauuuu uaugaaccuc agauuauuac aacagauaau acauuugugu 3420
caggaaauug ugauguggug auuggaauug ugaauaauac aguguaugau ccacugcagc 3480
cagaacugga uucuuuuaaa gaagaacugg auaaauauuu uaaaaaucac acaucuccug 3540
auguggauuu aggagauauu ucuggaauca augcaucugu ggugaauauu cagaaagaaa 3600
uugauagacu gaaugaagug gccaaaaauc ugaaugaauc ucugauugau cugcaggaac 3660
uuggaaaaua ugaacaguac auuaaauggc cuugguacau uuggcuugga uuuauugcag 3720

gauuaauugc aauugugaug gugacaauua uguuauguug uaugacauca uguuguucuu 3780
guuuaaaagg auguuguucu uguggaagcu guuguaaauu ugaugaagau gauucugaac 3840
cuguguuaaa aggagugaaa uugcauuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac 3900
gcaaugcuag cugccccuuu cccguccugg guaccccgag ucucccccga ccucgggucc 3960
cagguaugcu cccaccucca ccugccccac ucaccaccuc ugcuaguucc agacaccucc 4020
caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc 4080
agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg 4140

ucaauuucgu gccagccaca cccuggagcu agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200
aaagcauaug acuaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 4283

<210> 20
<211> 4283
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> RBP020.2
<400> 20

agaauaaacu aguauucuuc ugguccccac agacucagag agaacccgcc accauguucg 60

uguuccuggu gcugcugccu cuggugucca gccagugugu gaaccugacc accagaacac 120

agcugccucc agccuacacc aacagcuuua ccagaggcgu guacuacccc gacaaggugu 180

ucagauccag cgugcugcac ucuacccagg accuguuccu gccuuucuuc agcaacguga 240

ccugguucca cgccauccac guguccggca ccaauggcac caagagauuc gacaaccccg 300

ugcugcccuu caacgacggg guguacuuug ccagcaccga gaaguccaac aucaucagag 360

gcuggaucuu cggcaccaca cuggacagca agacccagag ccugcugauc gugaacaacg 420

ccaccaacgu ggucaucaaa gugugcgagu uccaguucug caacgacccc uuccugggcg 480

ucuacuacca caagaacaac aagagcugga uggaaagcga guuccgggug uacagcagcg 540

ccaacaacug caccuucgag uacguguccc agccuuuccu gauggaccug gaaggcaagc 600

agggcaacuu caagaaccug cgcgaguucg uguuuaagaa caucgacggc uacuucaaga 660

ucuacagcaa gcacaccccu aucaaccucg ugcgggaucu gccucagggc uucucugcuc 720

uggaaccccu gguggaucug cccaucggca ucaacaucac ccgguuucag acacugcugg 780

cccugcacag aagcuaccug acaccuggcg auagcagcag cggauggaca gcuggugccg 840

ccgcuuacua ugugggcuac cugcagccua gaaccuuccu gcugaaguac aacgagaacg 900

gcaccaucac cgacgccgug gauugugcuc uggauccucu gagcgagaca aagugcaccc 960

ugaaguccuu caccguggaa aagggcaucu accagaccag caacuuccgg gugcagccca 1020

ccgaauccau cgugcgguuc cccaauauca ccaaucugug ccccuucggc gagguguuca 1080

augccaccag auucgccucu guguacgccu ggaaccggaa gcggaucagc aauugcgugg 1140

ccgacuacuc cgugcuguac aacuccgcca gcuucagcac cuucaagugc uacggcgugu 1200

ccccuaccaa gcugaacgac cugugcuuca caaacgugua cgccgacagc uucgugaucc 1260

ggggagauga agugcggcag auugccccug gacagacagg caagaucgcc gacuacaacu 1320

acaagcugcc cgacgacuuc accggcugug ugauugccug gaacagcaac aaccuggacu 1380

ccaaagucgg cggcaacuac aauuaccugu accggcuguu ccggaagucc aaucugaagc 1440

ccuucgagcg ggacaucucc accgagaucu aucaggccgg cagcaccccu uguaacggcg 1500

uggaaggcuu caacugcuac uucccacugc aguccuacgg cuuucagccc acaaauggcg 1560

ugggcuauca gcccuacaga gugguggugc ugagcuucga acugcugcau gccccugcca 1620

cagugugcgg cccuaagaaa agcaccaauc ucgugaagaa caaaugcgug aacuucaacu 1680

ucaacggccu gaccggcacc ggcgugcuga cagagagcaa caagaaguuc cugccauucc 1740

agcaguuugg ccgggauauc gccgauacca cagacgccgu uagagauccc cagacacugg 1800

aaauccugga caucaccccu ugcagcuucg gcggaguguc ugugaucacc ccuggcacca 1860

acaccagcaa ucagguggca gugcuguacc aggacgugaa cuguaccgaa gugcccgugg 1920
ccauucacgc cgaucagcug acaccuacau ggcgggugua cuccaccggc agcaaugugu 1980
uucagaccag agccggcugu cugaucggag ccgagcacgu gaacaauagc uacgagugcg 2040
acauccccau cggcgcugga aucugcgcca gcuaccagac acagacaaac agcccucgga 2100
gagccagaag cguggccagc cagagcauca uugccuacac aaugucucug ggcgccgaga 2160
acagcguggc cuacuccaac aacucuaucg cuaucccCac caacuucacc aucagcguga 2220
ccacagagau ccugccugug uccaugacca agaccagcgu ggacugcacc auguacaucu 2280

gcggcgauuc caccgagugc uccaaccugc ugcugcagua cggcagcuuc ugcacccagc 2340
ugaauagagc ccugacaggg aucgccgugg aacaggacaa gaacacccaa gagguguucg 2400
cccaagugaa gcagaucuac aagaccccuc cuaucaagga cuucggcggc uucaauuuca 2460
gccagauucu gcccgauccu agcaagccca gcaagcggag cuucaucgag gaccugcugu 2520
ucaacaaagu gacacuggcc gacgccggcu ucaucaagca guauggcgau ugucugggcg 2580
acauugccgc cagggaucug auuugcgccc agaaguuuaa cggacugaca gugcugccuc 2640
cucugcugac cgaugagaug aucgcccagu acacaucugc ccugcuggcc ggcacaauca 2700

caagcggcug gacauuugga gcaggcgccg cucugcagau ccccuuugcu augcagaugg 2760
ccuaccgguu caacggcauc ggagugaccc agaaugugcu guacgagaac cagaagcuga 2820
ucgccaacca guucaacagc gccaucggca agauccagga cagccugagc agcacagcaa 2880
gcgcccuggg aaagcugcag gacgugguca accagaaugc ccaggcacug aacacccugg 2940
ucaagcagcu guccuccaac uucggcgcca ucagcucugu gcugaacgau auccugagca 3000
gacuggaccc uccugaggcc gaggugcaga ucgacagacu gaucacaggc agacugcaga 3060
gccuccagac auacgugacc cagcagcuga ucagagccgc cgagauuaga gccucugcca 3120

aucuggccgc caccaagaug ucugagugug ugcugggcca gagcaagaga guggacuuuu 3180
gcggcaaggg cuaccaccug augagcuucc cucagucugc cccucacggc gugguguuuc 3240
ugcacgugac auaugugccc gcucaagaga agaauuucac caccgcucca gccaucugcc 3300
acgacggcaa agcccacuuu ccuagagaag gcguguucgu guccaacggc acccauuggu 3360
ucgugacaca gcggaacuuc uacgagcccc agaucaucac caccgacaac accuucgugu 3420
cuggcaacug cgacgucgug aucggcauug ugaacaauac cguguacgac ccucugcagc 3480
ccgagcugga cagcuucaaa gaggaacugg acaaguacuu uaagaaccac acaagccccg 3540

acguggaccu gggcgauauc agcggaauca augccagcgu cgugaacauc cagaaagaga 3600

ucgaccggcu gaacgaggug gccaagaauc ugaacgagag ccugaucgac cugcaagaac 3660

uggggaagua cgagcaguac aucaaguggc ccugguacau cuggcugggc uuuaucgccg 3720

gacugauugc caucgugaug gucacaauca ugcuguguug caugaccagc ugcuguagcu 3780

gccugaaggg cuguuguagc uguggcagcu gcugcaaguu cgacgaggac gauucugagc 3840

ccgugcugaa gggcgugaaa cugcacuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac 3900

gcaaugcuag cugccccuuu cccguccugg guaccccgag ucucccccga ccucgggucc 3960

cagguaugcu cccaccucca ccugccccac ucaccaccuc ugcuaguucc agacaccucc 4020

caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc 4080

agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg 4140

ucaauuucgu gccagccaca cccuggagcu agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaagcauaug acuaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 4283

<210> 21

<211> 1262

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBP020.3

<400> 21

agaauaaacu aguauucuuc uggucccCac agacucagag agaacccgcc accauguuug 60

uguuucuugu gcugcugccu cuugugucuu cucagugugu ggugagauuu ccaaauauua 120

caaaucugug uccauuugga gaaguguuua augcaacaag auuugcaucu guguaugcau 180

ggaauagaaa aagaauuucu aauugugugg cugauuauuc ugugcuguau aauagugcuu 240

cuuuuuccac auuuaaaugu uauggagugu cuccaacaaa auuaaaugau uuauguuuua 300

caaaugugua ugcugauucu uuugugauca gaggugauga agugagacag auugccccCg 360

gacagacagg aaaaauugcu gauuacaauu acaaacugcc ugaugauuuu acaggaugug 420

ugauugcuug gaauucuaau aauuuagauu cuaaaguggg aggaaauuac aauuaucugu 480

acagacuguu uagaaaauca aaucugaaac cuuuugaaag agauauuuca acagaaauuu 540

aucaggcugg aucaacaccu uguaauggag uggaaggauu uaauuguuau uuuccauuac 600

agagcuaugg auuucagcca accaauggug ugggauauca gccauauaga gugguggugc 660

ugucuuuuga acugcugcau gcaccugcaa cagugugugg accuaaaggc ucccccggcu 720

ccggcuccgg aucugguuau auuccugaag cuccaagaga ugggcaagcu uacguucgua 780

aagauggcga auggguauua cuuucuaccu uuuuaggccg gucccuggag gugcuguucc 840

agggccccgg cugaugacuc gagcugguac ugcaugcacg caaugcuagc ugccccuuuc 900
ccguccuggg uaccccgagu cucccccgac cucggguccc agguaugcuc ccaccuccac 960
cugccccacu caccaccucu gcuaguucca gacaccuccc aagcacgcag caaugcagcu 1020
caaaacgcuu agccuagcca cacccccacg ggaaacagca gugauuaacc uuuagcaaua 1080
aacgaaaguu uaacuaagcu auacuaaccc caggguuggu caauuucgug ccagccacac 1140
ccuggagcua gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aagcauauga cuaaaaaaaa 1200
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aa 1262

<210> 22

<211> 1879

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Viral Protein

<400> 22

Met Glu Lys Val His Val Asp Ile Glu Glu Asp Ser Pro Phe Leu Arg
1 5 10 15

Ala Leu Gln Arg Ser Phe Pro Gln Phe Glu Val Glu Ala Lys Gln Val
20 25 30

Thr Asp Asn Asp His Ala Asn Ala Arg Ala Phe Ser His Leu Ala Ser
35 40 45

Lys Leu Ile Glu Thr Glu Val Asp Pro Ser Asp Thr Ile Leu Asp Ile
50 55 60

Gly Ser Ala Pro Ala Arg Arg Met Tyr Ser Lys His Lys Tyr His Cys
65 70 75 80

Ile Cys Pro Met Arg Cys Ala Glu Asp Pro Asp Arg Leu Tyr Lys Tyr
85 90 95

Ala Thr Lys Leu Lys Lys Asn Cys Lys Glu Ile Thr Asp Lys Glu Leu
100 105 110

Asp Lys Lys Met Lys Glu Leu Ala Ala Val Met Ser Asp Pro Asp Leu
115 120 125

```
Glu Thr Glu Thr Met Cys Leu His Asp Asp Glu Ser Cys Arg Tyr Glu
    130                 135                 140
Gly Gln Val Ala Val Tyr Gln Asp Val Tyr Ala Val Asp Gly Pro Thr
145                 150                 155                 160
Ser Leu Tyr His Gln Ala Asn Lys Gly Val Arg Val Ala Tyr Trp Ile

                165                 170                 175
Gly Phe Asp Thr Thr Pro Phe Met Phe Lys Asn Leu Ala Gly Ala Tyr
            180                 185                 190
Pro Ser Tyr Ser Thr Asn Trp Ala Asp Glu Thr Val Leu Thr Ala Arg
        195                 200                 205
Asn Ile Gly Leu Cys Ser Ser Asp Val Met Glu Arg Ser Arg Arg Gly
    210                 215                 220
Met Ser Ile Leu Arg Lys Lys Tyr Leu Lys Pro Ser Asn Asn Val Leu

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

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

        355                 360                 365
Asn Gly Arg Thr Gln Arg Asn Thr Asn Thr Met Lys Asn Tyr Leu Leu
```

370 375 380

Pro Val Val Ala Gln Ala Phe Ala Arg Trp Ala Lys Glu Tyr Lys Glu

385 390 395 400

Asp Gln Glu Asp Glu Arg Pro Leu Gly Leu Arg Asp Arg Gln Leu Val

405 410 415

Met Gly Cys Cys Trp Ala Phe Arg Arg His Lys Ile Thr Ser Ile Tyr

420 425 430

Lys Arg Pro Asp Thr Gln Thr Ile Ile Lys Val Asn Ser Asp Phe His

435 440 445

Ser Phe Val Leu Pro Arg Ile Gly Ser Asn Thr Leu Glu Ile Gly Leu

450 455 460

Arg Thr Arg Ile Arg Lys Met Leu Glu Glu His Lys Glu Pro Ser Pro

465 470 475 480

Leu Ile Thr Ala Glu Asp Val Gln Glu Ala Lys Cys Ala Ala Asp Glu

485 490 495

Ala Lys Glu Val Arg Glu Ala Glu Glu Leu Arg Ala Ala Leu Pro Pro

500 505 510

Leu Ala Ala Asp Val Glu Glu Pro Thr Leu Glu Ala Asp Val Asp Leu

515 520 525

Met Leu Gln Glu Ala Gly Ala Gly Ser Val Glu Thr Pro Arg Gly Leu

530 535 540

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

545 550 555 560

Val Leu Ser Pro Gln Ala Val Leu Lys Ser Glu Lys Leu Ser Cys Ile

565 570 575

His Pro Leu Ala Glu Gln Val Ile Val Ile Thr His Ser Gly Arg Lys

580 585 590

Gly Arg Tyr Ala Val Glu Pro Tyr His Gly Lys Val Val Val Pro Glu

595 600 605

Gly His Ala Ile Pro Val Gln Asp Phe Gln Ala Leu Ser Glu Ser Ala

610 615 620

Thr Ile Val Tyr Asn Glu Arg Glu Phe Val Asn Arg Tyr Leu His His
625 630 635 640
Ile Ala Thr His Gly Gly Ala Leu Asn Thr Asp Glu Glu Tyr Tyr Lys
645 650 655
Thr Val Lys Pro Ser Glu His Asp Gly Glu Tyr Leu Tyr Asp Ile Asp
660 665 670
Arg Lys Gln Cys Val Lys Lys Glu Leu Val Thr Gly Leu Gly Leu Thr

675 680 685
Gly Glu Leu Val Asp Pro Pro Phe His Glu Phe Ala Tyr Glu Ser Leu
690 695 700
Arg Thr Arg Pro Ala Ala Pro Tyr Gln Val Pro Thr Ile Gly Val Tyr
705 710 715 720
Gly Val Pro Gly Ser Gly Lys Ser Gly Ile Ile Lys Ser Ala Val Thr
725 730 735
Lys Lys Asp Leu Val Val Ser Ala Lys Lys Glu Asn Cys Ala Glu Ile

740 745 750
Ile Arg Asp Val Lys Lys Met Lys Gly Leu Asp Val Asn Ala Arg Thr
755 760 765
Val Asp Ser Val Leu Leu Asn Gly Cys Lys His Pro Val Glu Thr Leu
770 775 780
Tyr Ile Asp Glu Ala Phe Ala Cys His Ala Gly Thr Leu Arg Ala Leu
785 790 795 800
Ile Ala Ile Ile Arg Pro Lys Lys Ala Val Leu Cys Gly Asp Pro Lys

805 810 815
Gln Cys Gly Phe Phe Asn Met Met Cys Leu Lys Val His Phe Asn His
820 825 830
Glu Ile Cys Thr Gln Val Phe His Lys Ser Ile Ser Arg Arg Cys Thr
835 840 845
Lys Ser Val Thr Ser Val Val Ser Thr Leu Phe Tyr Asp Lys Lys Met
850 855 860
Arg Thr Thr Asn Pro Lys Glu Thr Lys Ile Val Ile Asp Thr Thr Gly

865 870 875 880

Ser Thr Lys Pro Lys Gln Asp Asp Leu Ile Leu Thr Cys Phe Arg Gly

885 890 895

Trp Val Lys Gln Leu Gln Ile Asp Tyr Lys Gly Asn Glu Ile Met Thr

900 905 910

Ala Ala Ala Ser Gln Gly Leu Thr Arg Lys Gly Val Tyr Ala Val Arg

915 920 925

Tyr Lys Val Asn Glu Asn Pro Leu Tyr Ala Pro Thr Ser Glu His Val

930 935 940

Asn Val Leu Leu Thr Arg Thr Glu Asp Arg Ile Val Trp Lys Thr Leu

945 950 955 960

Ala Gly Asp Pro Trp Ile Lys Thr Leu Thr Ala Lys Tyr Pro Gly Asn

965 970 975

Phe Thr Ala Thr Ile Glu Glu Trp Gln Ala Glu His Asp Ala Ile Met

980 985 990

Arg His Ile Leu Glu Arg Pro Asp Pro Thr Asp Val Phe Gln Asn Lys

995 1000 1005

Ala Asn Val Cys Trp Ala Lys Ala Leu Val Pro Val Leu Lys Thr

1010 1015 1020

Ala Gly Ile Asp Met Thr Thr Glu Gln Trp Asn Thr Val Asp Tyr

1025 1030 1035

Phe Glu Thr Asp Lys Ala His Ser Ala Glu Ile Val Leu Asn Gln

1040 1045 1050

Leu Cys Val Arg Phe Phe Gly Leu Asp Leu Asp Ser Gly Leu Phe

1055 1060 1065

Ser Ala Pro Thr Val Pro Leu Ser Ile Arg Asn Asn His Trp Asp

1070 1075 1080

Asn Ser Pro Ser Pro Asn Met Tyr Gly Leu Asn Lys Glu Val Val

1085 1090 1095

Arg Gln Leu Ser Arg Arg Tyr Pro Gln Leu Pro Arg Ala Val Ala

1100 1105 1110

Thr Gly Arg Val Tyr Asp Met Asn Thr Gly Thr Leu Arg Asn Tyr

1115 1120 1125

Asp Pro Arg Ile Asn Leu Val Pro Val Asn Arg Arg Leu Pro His

1130 1135 1140

Ala Leu Val Leu His His Asn Glu His Pro Gln Ser Asp Phe Ser

1145 1150 1155

Ser Phe Val Ser Lys Leu Lys Gly Arg Thr Val Leu Val Val Gly

1160 1165 1170

Glu Lys Leu Ser Val Pro Gly Lys Met Val Asp Trp Leu Ser Asp

1175 1180 1185

Arg Pro Glu Ala Thr Phe Arg Ala Arg Leu Asp Leu Gly Ile Pro

1190 1195 1200

Gly Asp Val Pro Lys Tyr Asp Ile Ile Phe Val Asn Val Arg Thr

1205 1210 1215

Pro Tyr Lys Tyr His His Tyr Gln Gln Cys Glu Asp His Ala Ile

1220 1225 1230

Lys Leu Ser Met Leu Thr Lys Lys Ala Cys Leu His Leu Asn Pro

1235 1240 1245

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

1250 1255 1260

Ser Glu Ser Ile Ile Gly Ala Ile Ala Arg Gln Phe Lys Phe Ser

1265 1270 1275

Arg Val Cys Lys Pro Lys Ser Ser Leu Glu Glu Thr Glu Val Leu

1280 1285 1290

Phe Val Phe Ile Gly Tyr Asp Arg Lys Ala Arg Thr His Asn Pro

1295 1300 1305

Tyr Lys Leu Ser Ser Thr Leu Thr Asn Ile Tyr Thr Gly Ser Arg

1310 1315 1320

Leu His Glu Ala Gly Cys Ala Pro Ser Tyr His Val Val Arg Gly

1325 1330 1335

Asp Ile Ala Thr Ala Thr Glu Gly Val Ile Ile Asn Ala Ala Asn

1340 1345 1350

Ser Lys Gly Gln Pro Gly Gly Gly Val Cys Gly Ala Leu Tyr Lys

1355 1360 1365

Lys Phe Pro Glu Ser Phe Asp Leu Gln Pro Ile Glu Val Gly Lys

1370 1375 1380

Ala Arg Leu Val Lys Gly Ala Ala Lys His Ile Ile His Ala Val

1385 1390 1395

Gly Pro Asn Phe Asn Lys Val Ser Glu Val Glu Gly Asp Lys Gln

1400 1405 1410

Leu Ala Glu Ala Tyr Glu Ser Ile Ala Lys Ile Val Asn Asp Asn

1415 1420 1425

Asn Tyr Lys Ser Val Ala Ile Pro Leu Leu Ser Thr Gly Ile Phe

1430 1435 1440

Ser Gly Asn Lys Asp Arg Leu Thr Gln Ser Leu Asn His Leu Leu

1445 1450 1455

Thr Ala Leu Asp Thr Thr Asp Ala Asp Val Ala Ile Tyr Cys Arg

1460 1465 1470

Asp Lys Lys Trp Glu Met Thr Leu Lys Glu Ala Val Ala Arg Arg

1475 1480 1485

Glu Ala Val Glu Glu Ile Cys Ile Ser Asp Asp Ser Ser Val Thr

1490 1495 1500

Glu Pro Asp Ala Glu Leu Val Arg Val His Pro Lys Ser Ser Leu

1505 1510 1515

Ala Gly Arg Lys Gly Tyr Ser Thr Ser Asp Gly Lys Thr Phe Ser

1520 1525 1530

Tyr Leu Glu Gly Thr Lys Phe His Gln Ala Ala Lys Asp Ile Ala

1535 1540 1545

Glu Ile Asn Ala Met Trp Pro Val Ala Thr Glu Ala Asn Glu Gln

1550 1555 1560

Val Cys Met Tyr Ile Leu Gly Glu Ser Met Ser Ser Ile Arg Ser

1565 1570 1575

Lys Cys Pro Val Glu Glu Ser Glu Ala Ser Thr Pro Pro Ser Thr

1580 1585 1590

Leu Pro Cys Leu Cys Ile His Ala Met Thr Pro Glu Arg Val Gln

1595 1600 1605

Arg Leu Lys Ala Ser Arg Pro Glu Gln Ile Thr Val Cys Ser Ser

1610 1615 1620

Phe Pro Leu Pro Lys Tyr Arg Ile Thr Gly Val Gln Lys Ile Gln

1625 1630 1635

Cys Ser Gln Pro Ile Leu Phe Ser Pro Lys Val Pro Ala Tyr Ile

1640 1645 1650

His Pro Arg Lys Tyr Leu Val Glu Thr Pro Pro Val Asp Glu Thr

1655 1660 1665

Pro Glu Pro Ser Ala Glu Asn Gln Ser Thr Glu Gly Thr Pro Glu

1670 1675 1680

Gln Pro Pro Leu Ile Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Arg Thr Pro

1685 1690 1695

Glu Pro Ile Ile Ile Glu Glu Glu Glu Glu Asp Ser Ile Ser Leu

1700 1705 1710

Leu Ser Asp Gly Pro Thr His Gln Val Leu Gln Val Glu Ala Asp

1715 1720 1725

Ile His Gly Pro Pro Ser Val Ser Ser Ser Ser Trp Ser Ile Pro

1730 1735 1740

His Ala Ser Asp Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser Ile Leu Asp Thr

1745 1750 1755

Leu Glu Gly Ala Ser Val Thr Ser Gly Ala Thr Ser Ala Glu Thr

1760 1765 1770

Asn Ser Tyr Phe Ala Lys Ser Met Glu Phe Leu Ala Arg Pro Val

1775 1780 1785

Pro Ala Pro Arg Thr Val Phe Arg Asn Pro Pro His Pro Ala Pro

1790 1795 1800

Arg Thr Arg Thr Pro Ser Leu Ala Pro Ser Arg Ala Cys Ser Arg

1805 1810 1815

Thr Ser Leu Val Ser Thr Pro Pro Gly Val Asn Arg Val Ile Thr

1820 1825 1830

Arg Glu Glu Leu Glu Ala Leu Thr Pro Ser Arg Thr Pro Ser Arg

1835 1840 1845

Ser Val Ser Arg Thr Ser Leu Val Ser Asn Pro Pro Gly Val Asn

1850 1855 1860

Arg Val Ile Thr Arg Glu Glu Phe Glu Ala Phe Val Ala Gln Gln

1865 1870 1875

Gln

<210> 23

<211> 613

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Viral Protein

<400> 23

Arg Phe Asp Ala Gly Ala Tyr Ile Phe Ser Ser Asp Thr Gly Gln Gly

1 5 10 15

His Leu Gln Gln Lys Ser Val Arg Gln Thr Val Leu Ser Glu Val Val

20 25 30

Leu Glu Arg Thr Glu Leu Glu Ile Ser Tyr Ala Pro Arg Leu Asp Gln

35 40 45

Glu Lys Glu Glu Leu Leu Arg Lys Lys Leu Gln Leu Asn Pro Thr Pro

50 55 60

Ala Asn Arg Ser Arg Tyr Gln Ser Arg Lys Val Glu Asn Met Lys Ala

65 70 75 80

Ile Thr Ala Arg Arg Ile Leu Gln Gly Leu Gly His Tyr Leu Lys Ala

85 90 95

Glu Gly Lys Val Glu Cys Tyr Arg Thr Leu His Pro Val Pro Leu Tyr

100 105 110

Ser Ser Ser Val Asn Arg Ala Phe Ser Ser Pro Lys Val Ala Val Glu

115 120 125

Ala Cys Asn Ala Met Leu Lys Glu Asn Phe Pro Thr Val Ala Ser Tyr

130 135 140

Cys Ile Ile Pro Glu Tyr Asp Ala Tyr Leu Asp Met Val Asp Gly Ala

145 150 155 160

Ser Cys Cys Leu Asp Thr Ala Ser Phe Cys Pro Ala Lys Leu Arg Ser

165 170 175

Phe Pro Lys Lys His Ser Tyr Leu Glu Pro Thr Ile Arg Ser Ala Val

180 185 190

Pro Ser Ala Ile Gln Asn Thr Leu Gln Asn Val Leu Ala Ala Ala Thr

195 200 205

Lys Arg Asn Cys Asn Val Thr Gln Met Arg Glu Leu Pro Val Leu Asp

210 215 220

Ser Ala Ala Phe Asn Val Glu Cys Phe Lys Lys Tyr Ala Cys Asn Asn

225 230 235 240

Glu Tyr Trp Glu Thr Phe Lys Glu Asn Pro Ile Arg Leu Thr Glu Glu

245 250 255

Asn Val Val Asn Tyr Ile Thr Lys Leu Lys Gly Pro Lys Ala Ala Ala

260 265 270

Leu Phe Ala Lys Thr His Asn Leu Asn Met Leu Gln Asp Ile Pro Met

275 280 285

Asp Arg Phe Val Met Asp Leu Lys Arg Asp Val Lys Val Thr Pro Gly

290 295 300

Thr Lys His Thr Glu Glu Arg Pro Lys Val Gln Val Ile Gln Ala Ala

305 310 315 320

Asp Pro Leu Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Ile His Arg Glu Leu Val

325 330 335

Arg Arg Leu Asn Ala Val Leu Leu Pro Asn Ile His Thr Leu Phe Asp

340 345 350

Met Ser Ala Glu Asp Phe Asp Ala Ile Ile Ala Glu His Phe Gln Pro

355 360 365

Gly Asp Cys Val Leu Glu Thr Asp Ile Ala Ser Phe Asp Lys Ser Glu

370 375 380

Asp Asp Ala Met Ala Leu Thr Ala Leu Met Ile Leu Glu Asp Leu Gly

385 390 395 400

Val Asp Ala Glu Leu Leu Thr Leu Ile Glu Ala Ala Phe Gly Glu Ile

405 410 415

Ser Ser Ile His Leu Pro Thr Lys Thr Lys Phe Lys Phe Gly Ala Met

420 425 430

Met Lys Ser Gly Met Phe Leu Thr Leu Phe Val Asn Thr Val Ile Asn

435 440 445

Ile Val Ile Ala Ser Arg Val Leu Arg Glu Arg Leu Thr Gly Ser Pro

450 455 460

Cys Ala Ala Phe Ile Gly Asp Asp Asn Ile Val Lys Gly Val Lys Ser

465 470 475 480

Asp Lys Leu Met Ala Asp Arg Cys Ala Thr Trp Leu Asn Met Glu Val

485 490 495

Lys Ile Ile Asp Ala Val Val Gly Glu Lys Ala Pro Tyr Phe Cys Gly

500 505 510

Gly Phe Ile Leu Cys Asp Ser Val Thr Gly Thr Ala Cys Arg Val Ala

515 520 525

Asp Pro Leu Lys Arg Leu Phe Lys Leu Gly Lys Pro Leu Ala Ala Asp

530 535 540

Asp Glu His Asp Asp Asp Arg Arg Arg Ala Leu His Glu Glu Ser Thr

545 550 555 560

Arg Trp Asn Arg Val Gly Ile Leu Ser Glu Leu Cys Lys Ala Val Glu

565 570 575

Ser Arg Tyr Glu Thr Val Gly Thr Ser Ile Ile Val Met Ala Met Thr

580 585 590

Thr Leu Ala Ser Ser Val Lys Ser Phe Ser Tyr Leu Arg Gly Ala Pro

595 600 605

Ile Thr Leu Tyr Gly

610

<210> 24

<211> 11917

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBS004.1

<400> 24

gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60

guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120

gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100

gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160

acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220

ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280

aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340

gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400

auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520

cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580

cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640

acgacgaauc cgaaagagac uaagauugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700

caggacgauc ucauucucac uuguuucaga ggguggguga agcaguugca aauagauuac 2760

aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa agguguguau 2820

gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940

auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000

gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060

cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120

auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180

ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240

ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360

ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420

cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480

guccuccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540

ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600

uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660

gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200

cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260

ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320

aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380

aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440

gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500

gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560

gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620

acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680

gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740

auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800

gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860

agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920

uugccgaagu auagaaucac uggugugcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980

ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040

gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100

ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160

gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220

gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280
uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340
agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400
cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460
agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520
ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580
ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640

auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700
gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760
acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820
cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880
aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940
auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000
cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120
auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180
acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240
cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300
gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360
gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420
uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540
auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600
aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660
gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720
aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780
uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840
gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560

agacuaguau guuuguguuu cuugugcugc ugccucuugu gucuucucag ugugugaauu 7620

ugacaacaag aacacagcug ccaccagcuu auacaaauuc uuuuaccaga ggaguguauu 7680

auccugauaa aguguuuaga ucuucugugc ugcacagcac acaggaccug uuucugccau 7740

uuuuuagcaa ugugacaugg uuucaugcaa uucauguguc uggaacaaau ggaacaaaaa 7800

gauuugauaa uccugugcug ccuuuuaaug auggagugua uuuugcuuca acagaaaagu 7860

caaauauuau uagaggaugg auuuuuggaa caacacugga uucuaaaaca cagucucugc 7920

ugauugugaa uaaugcaaca aaugugguga uuaaagugug ugaauuucag uuuuguaaug 7980

auccuuuucu gggaguguau uaucacaaaa auaauaaauc uuggauggaa ucugaauuua 8040

gaguguauuc cucugcaaau aauuguacau uugaauaugu gucucagccu uuucugaugg 8100

aucuggaagg aaaacagggc aauuuuaaaa aucugagaga auuuguguuu aaaaauauug 8160

auggauauuu uaaaauuuau ucuaaacaca caccaauuaa uuuagugaga gaucugccuc 8220

agggauuuuc ugcucuggaa ccucuggugg aucugccaau uggcauuaau auuacaagau 8280

uucagacacu gcuggcucug cacagaucuu aucugacacc uggagauucu ucuucuggau 8340

ggacagccgg agcugcagcu uauuaugugg gcuaucugca gccaagaaca uuucugcuga 8400

aauauaauga aaauggaaca auuacagaug cuguggauug ugcucuggau ccucugucug 8460

aaacaaaaug uacauuaaaa ucuuuuacag uggaaaaagg cauuuaucag acaucuaauu 8520

uuagagugca gccaacagaa ucuauuguga gauuuccaaa uauuacaaau cuguguccau 8580

uuggagaagu guuuaaugca acaagauuug caucugugua ugcauggaau agaaaaagaa 8640

uuucuaauug uguggcugau uauucugugc uguauaauag ugcuucuuuu uccacauuua 8700

aauguuaugg agugucucca acaaaauuaa augauuuaug uuuuacaaau guguaugcug 8760

auucuuuugu gaucagaggu gaugaaguga gacagauugc ccccggacag acaggaaaaa 8820

uugcugauua caauuacaaa cugccugaug auuuuacagg augugugauu gcuuggaauu 8880

cuaauaauuu agauucuaaa gugggaggaa auuacaauua ucuguacaga cuguuuagaa 8940

aaucaaaucu gaaaccuuuu gaaagagaua uuucaacaga aauuuaucag gcuggaucaa 9000

caccuuguaa uggaguggaa ggauuuaauu guuauuuucc auuacagagc uauggauuuc 9060

agccaaccaa ugguguggga uaucagccau auagaguggu ggugcugucu uuugaacugc 9120

ugcaugcacc ugcaacagug uguggaccua aaaaaucuac aaauuuagug aaaaauaaau 9180

gugugaauuu uaauuuuaau ggauuaacag gaacaggagu gcugacagaa ucuaauaaaa 9240

aauuucugcc uuuucagcag uuuggcagag auauugcaga uaccacagau gcagugagag 9300

auccucagac auuagaaauu cuggauauua caccuuguuc uuuugggggu gugucuguga 9360

uuacaccugg aacaaauaca ucuaaucagg uggcugugcu guaucaggau gugaauugua 9420

cagaagugcc aguggcaauu caugcagauc agcugacacc aacauggaga guguauucua 9480

caggaucuaa uguguuucag acaagagcag gaugucugau uggagcagaa caugugaaua 9540

auucuuauga augugauauu ccaauuggag caggcauuug ugcaucuuau cagacacaga 9600

caaauucccc aaggagagca agaucugugg caucucaguc uauuauugca uacaccaugu 9660

cucugggagc agaaaauucu guggcauauu cuaauaauuc uauugcuauu ccaacaaauu 9720

uuaccauuuc ugugacaaca gaaauuuuac cugugucuau gacaaaaaca ucuguggauu 9780

guaccaugua cauuugugga gauucuacag aauguucuaa ucugcugcug caguauggau 9840

cuuuuuguac acagcugaau agagcuuuaa caggaauugc uguggaacag gauaaaaaua 9900

cacaggaagu guuugcucag gugaaacaga uuuacaaaac accaccaauu aaagauuuug 9960

gaggauuuaa uuuuagccag auucugccug auccuucuaa accuucuaaa agaucuuuua 10020

uugaagaucu gcuguuuaau aaagugacac uggcagaugc aggauuuauu aaacaguaug 10080

gagauugccu gggugauauu gcugcaagag aucugauuug ugcucagaaa uuuaauggac 10140

ugacagugcu gccuccucug cugacagaug aaaugauugc ucaguacaca ucugcuuuac 10200

uggcuggaac aauuacaagc ggauggacau uuggagcugg agcugcucug cagauuccuu 10260

uugcaaugca gauggcuuac agauuuaaug gaauuggagu gacacagaau guguuauaug 10320

aaaaucagaa acugauugca aaucaguuua auucugcaau uggcaaaauu caggauucuc 10380

ugucuucuac agcuucugcu cugggaaaac ugcaggaugu ggugaaucag aaugcacagg 10440

cacugaauac ucuggugaaa cagcugucua gcaauuuugg ggcaauuucu ucugugcuga 10500

augauauucu gucuagacug gauccuccug aagcugaagu gcagauugau agacugauca 10560

caggaagacu gcagucucug cagacuuaug ugacacagca gcugauuaga gcugcugaaa 10620

uuagagcuuc ugcuaaucug gcugcuacaa aaaugucuga augugugcug ggacagucaa 10680

aaagagugga uuuuugugga aaaggauauc aucugauguc uuuuccacag ucugcuccac 10740
auggaguggu guuuuuacau gugacauaug ugccagcaca ggaaaagaau uuuaccacag 10800
caccagcaau uugucaugau ggaaaagcac auuuuccaag agaaggagug uuugugucua 10860
auggaacaca uugguuugug acacagagaa auuuuuauga accucagauu auuacaacag 10920
auaauacauu ugugucagga aauugugaug uggugauugg aauugugaau aauacagugu 10980
augauccacu gcagccagaa cuggauucuu uuaaagaaga acuggauaaa uauuuuaaaa 11040
aucacacauc uccugaugug gauuuaggag auauuucugg aaucaaugca ucugugguga 11100

auauucagaa agaaauugau agacugaaug aaguggccaa aaaucugaau gaaucucuga 11160
uugaucugca ggaacuugga aaauaugaac aguacauuaa auggccuugg uacauuuggc 11220
uuggauuuau ugcaggauua auugcaauug ugauggugac aauuauguua uguuguauga 11280
caucauguug uucuuguuua aaaggauguu guucuugugg aagcuguugu aaauuugaug 11340
aagaugauuc ugaaccugug uuaaaaggag ugaaauugca uuacacauga ugacucgagc 11400
ugguacugca ugcacgcaau gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc ccgagucucc 11460
cccgaccucg ggucccaggu augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua 11520

guuccagaca ccucccaagc acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc 11580
cccacgggaa acagcaguga uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac 11640
uaaccccagg guuggucaau uucgugccag ccacaccgcg gccgcaugaa uacagcagca 11700
auuggcaagc ugcuuacaua gaacucgcgg cgauuggcau gccgccuuaa aauuuuuauu 11760
uuauuuuuuc uuuucuuuuc cgaaucggau uuuguuuuua auauuucaaa aaaaaaaaaa 11820
aaaaaaaaaa aaaaaaagca uaugacuaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 11880
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 11917

<210> 25
<211> 11917
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> RBS004.2
<400> 25
gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60
guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120
gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100
gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160
acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220
ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280
aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340
gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400
auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520
cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580
cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640
acgacgaauc cgaaagagac uaagauugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700
caggacgauc ucauucucac uuguuucaga gggugggguga agcaguugca aauagauuac 2760
aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa aggugugguau 2820
gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940
auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000
gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060
cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120
auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180
ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240
ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360
ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420
cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480
guccuccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540
ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600
uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660
gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200

cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260

ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320

aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380

aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440

gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500

gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560

gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620

acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680

gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740

auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800

gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860

agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920

uugccgaagu auagaaucac ugggugugcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980

ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040

gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100

ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160

gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220

gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280

uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340

agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400

cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460

agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520

ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580

ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640

auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700

gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760

acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820

cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880

aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940

auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000

cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120

auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180

acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240

cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300

gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360

gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420

uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540

auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600

aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660

gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720

aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780

uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840

gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560
agacuaguau guucguguuc cuggugcugc ugccucuggu guccagccag ugugugaacc 7620
ugaccaccag aacacagcug ccuccagccu acaccaacag cuuuaccaga ggcguguacu 7680
accccgacaa gguguucaga uccagcgugc ugcacucuac ccaggaccug uuccugccuu 7740
ucuucagcaa cgugaccugg uuccacgcca uccacguguc cggcaccaau ggcaccaaga 7800
gauucgacaa ccccgugcug cccuucaacg acggggugua cuuugccagc accgagaagu 7860
ccaacaucau cagaggcugg aucuucggca ccacacugga cagcaagacc cagagccugc 7920

ugaucgugaa caacgccacc aacgugguca ucaaagugug cgaguuccag uucugcaacg 7980
accccuuccu gggcgucuac uaccacaaga acaacaagag cuggauggaa agcgaguucc 8040
ggguguacag cagcgccaac aacugcaccu ucgaguacgu gucccagccu uuccugaugg 8100
accuggaagg caagcagggc aacuucaaga accugcgcga guucguguuu aagaacaucg 8160
acggcuacuu caagaucuac agcaagcaca ccccuaucaa ccucgugcgg gaucugccuc 8220
agggcuucuc ugcucuggaa ccccuggugg aucugcccau cggcaucaac aucacccggu 8280
uucagacacu gcuggccccug cacagaagcu accugacacc uggcgauagc agcagcggau 8340

ggacagcugg ugccgccgcu uacuaugugg gcuaccugca gccuagaacc uuccugcuga 8400
aguacaacga gaacggcacc aucaccgacg ccguggauug ugcucuggau ccucugagcg 8460
agacaaagug cacccugaag uccuucaccg uggaaaaggg caucuaccag accagcaacu 8520
uccgggugca gcccaccgaa uccaucgugc gguuccccaa uaucaccaau cugugccccu 8580
ucggcgaggu guucaaugcc accagauucg ccucugugua cgccuggaac cggaagcgga 8640
ucagcaauug cguggccgac uacuccgugc uguacaacuc cgccagcuuc agcaccuuca 8700
agugcuacgg cgugucccu accaagcuga acgaccugug cuucacaaac guguacgccg 8760

acagcuucgu gauccgggga gaugaagugc ggcagauugc cccuggacag acaggcaaga 8820
ucgccgacua caacuacaag cugcccgacg acuucaccgg cugugugauu gccuggaaca 8880
gcaacaaccu ggacuccaaa gucggcggca acuacaauua ccuguaccgg cuguuccgga 8940
aguccaaucu gaagcccuuc gagcgggaca ucuccaccga gaucuaucag gccggcagca 9000
ccccuuguaa cggcguggaa ggcuucaacu gcuacuuccc acugcagucc uacggcuuuc 9060
agcccacaaa uggcgugggc uaucagcccu acagaguggu ggugcugagc uucgaacugc 9120
ugcaugcccc ugccacagug ugcggcccua agaaaagcac caaucucgug aagaacaaau 9180

gcgugaacuu caacuucaac ggccugaccg gcaccggcgu gcugacagag agcaacaaga 9240

aguuccugcc auuccagcag uuuggccggg auaucgccga uaccacagac gccguuagag 9300

auccccagac acuggaaauc cuggacauca ccccuugcag cuucggcgga gugucuguga 9360

ucaccccugg caccaacacc agcaaucagg uggcagugcu guaccaggac gugaacugua 9420

ccgaagugcc cguggccauu cacgccgauc agcugacacc uacauggcgg guguacucca 9480

ccggcagcaa uguguuucag accagagccg gcugucugau cggagccgag cacgugaaca 9540

auagcuacga gugcgacauc cccaucggcg cuggaaucug cgccagcuac cagacacaga 9600

caaacagccc ucggagagcc agaagcgugg ccagccagag caucauugcc uacacaaugu 9660

cucugggcgc cgagaacagc guggccuacu ccaacaacuc uaucgcuauc cccaccaacu 9720

ucaccaucag cgugaccaca gagauccugc cuguguccau gaccaagacc agcguggacu 9780

gcaccaugua caucugcggc gauuccaccg agugcuccaa ccugcugcug caguacggca 9840

gcuucugcac ccagcugaau agagcccuga cagggaucgc cguggaacag gacaagaaca 9900

cccaagaggu guucgcccaa gugaagcaga ucuacaagac cccuccuauc aaggacuucg 9960

gcggcuucaa uuucagccag auucugcccg auccuagcaa gcccagcaag cggagcuuca 10020

ucgaggaccu gcuguucaac aaagugacac uggccgacgc cggcuucauc aagcaguaug 10080

gcgauugucu gggcgacauu gccgccaggg aucugauuug cgcccagaag uuuaacggac 10140

ugacagugcu gccuccucug cugaccgaug agaugaucgc ccaguacaca ucugcccugc 10200

uggccggcac aaucacaagc ggcuggacau uuggagcagg cgccgcucug cagaucccu 10260

uugcuaugca gauggccuac cgguucaacg gcaucggagu gacccagaau gugcuguacg 10320

agaaccagaa gcugaucgcc aaccaguuca acagcgccau cggcaagauc caggacagcc 10380

ugagcagcac agcaagcgcc cugggaaagc ugcaggacgu ggucaaccag aaugcccagg 10440

cacugaacac ccuggucaag cagcuguccu ccaacuucgg cgccaucagc ucugugcuga 10500

acgauauccu gagcagacug gacccuccug aggccgaggu gcagaucgac agacugauca 10560

caggcagacu gcagagccuc cagacauacg ugacccagca gcugaucaga gccgccgaga 10620

uuagagccuc ugccaaucug gccgccacca agaugucuga gugugugcug ggccagagca 10680

agagagugga cuuuugcggc aagggcuacc accugaugag cuucccucag ucugccccuc 10740

acggcguggu guuucugcac gugacauaug ugcccgcuca agagaagaau uucaccaccg 10800

cuccagccau cugccacgac ggcaaagccc acuuuccuag agaaggcgug uucgugucca 10860

acggcaccca uugguucgug acacagcgga acuucuacga gccccagauc aucaccaccg 10920

acaacaccuu cgugucuggc aacugcgacg ucgugaucgg cauugugaac aauaccgugu 10980

acgacccucu gcagcccgag cuggacagcu ucaaagagga acuggacaag uacuuuaaga 11040

accacacaag ccccgacgug gaccugggcg auaucagcgg aaucaaugcc agcgucguga 11100

acauccagaa agagaucgac cggcugaacg agguggccaa gaaucugaac gagagccuga 11160

ucgaccugca agaacugggg aaguacgagc aguacaucaa guggcccugg uacaucuggc 11220

ugggcuuuau cgccggacug auugccaucg ugauggucac aaucaugcug uguugcauga 11280

ccagcugcug uagcugccug aagggcuguu guagcugugg cagcugcugc aaguucgacg 11340

aggacgauuc ugagcccgug cugaagggcg ugaaacugca cuacacauga ugacucgagc 11400

ugguacugca ugcacgcaau gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc ccgagucucc 11460

cccgaccucg ggucccaggu augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua 11520

guuccagaca ccucccaagc acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc 11580

cccacgggaa acagcaguga uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac 11640

uaaccccagg guuggucaau uucgugccag ccacaccgcg gccgcaugaa uacagcagca 11700

auuggcaagc ugcuuacaua gaacucgcgg cgauuggcau gccgccuuaa aauuuuuauu 11760

uuauuuuuuc uuuucuuuuc cgaaucggau uuuguuuuua auauuucaaa aaaaaaaaaa 11820

aaaaaaaaaa aaaaaaagca uaugacuaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 11880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 11917

<210> 26

<211> 8896

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBS004.3

<400> 26

gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60

guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120

gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100

gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160

acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220

ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280

aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340

gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400

auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520

cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580

cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640

acgacgaauc cgaaagagac uaagauuugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700

caggacgauc ucauucucac uuguuucaga gggugggguga agcaguugca aauagauuac 2760

aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa aggugugguau 2820

gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940

auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000

gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060

cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120

auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180

ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240

ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360

ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420

cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480

guccuccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540

ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600

uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660

gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200

cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260

ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320

aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380
aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440
gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500
gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560
gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620
acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680
gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740

auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800
gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860
agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920
uugccgaagu auagaaucac ugguguгcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980
ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040
gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100
ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160

gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220
gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280
uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340
agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400
cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460
agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520
ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580

ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640
auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700
gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760
acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820
cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880
aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940
auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000

cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120

auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180

acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240

cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300

gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360

gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420

uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540

auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600

aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660

gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720

aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780

uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840

gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560

agacuaguau guuuguguuu cuugugcugc ugccucuugu gucuucucag ugugugguga 7620

gauuuccaaa uauuacaaau cuguguccau uuggagaagu guuuaaugca acaagauuug 7680

caucugugua ugcauggaau agaaaaagaa uuucuaauug uguggcugau uauucugugc 7740

uguauaauag ugcuucuuuu uccacauuua aauguuaugg agugucucca acaaaauuaa 7800

augauuuaug uuuuacaaau guguaugcug auucuuuugu gaucagaggu gaugaaguga 7860

gacagauugc ccccggacag acaggaaaaa uugcugauua caauuacaaa cugccugaug 7920

auuuuacagg augugugauu gcuuggaauu cuaauaauuu agauucuaaa gugggaggaa 7980

auuacaauua ucuguacaga cuguuuagaa aaucaaaucu gaaaccuuuu gaaagagaua 8040

uuucaacaga aauuuaucag gcuggaucaa caccuuguaa uggaguggaa ggauuuaauu 8100

guuauuuucc auuacagagc uauggauuuc agccaaccaa uggugugga uaucagccau 8160

auagaguggu ggugcugucu uuugaacugc ugcaugcacc ugcaacagug uguggaccua 8220

aaggcucccc cggcuccggc uccggaucug guuauauucc ugaagcucca agagaugggc 8280

aagcuuacgu ucguaaagau ggcgaauggg uauuacuuuc uaccuuuuua ggccgguccc 8340

uggaggugcu guuccagggc cccggcugau gacucgagcu gguacugcau gcacgcaaug 8400

cuagcugccc cuuuccguc cuggguaccc cgagucuccc ccgaccucgg gucccaggua 8460

ugcucccacc uccaccugcc ccacucacca ccucugcuag uuccagacac cucccaagca 8520

cgcagcaaug cagcucaaaa cgcuuagccu agccacaccc ccacgggaaa cagcagugau 8580

uaaccuuuag caauaaacga aaguuuaacu aagcuauacu aaccccaggg uuggucaauu 8640

ucgugccagc cacaccgcgg ccgcaugaau acagcagcaa uuggcaagcu gcuuacauag 8700

aacucgcggc gauuggcaug ccgccuuaaa auuuuuauuu uauuuuuucu uuucuuuucc 8760

gaaucggauu uuguuuuuaa uauuucaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcau 8820

augacuaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 8880

aaaaaaaaaa aaaaaa 8896

<210> 27

<211> 9079

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RBS004.4

<400> 27

gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60

guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120

gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100

gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160

acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220

ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280

aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340

gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400

auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520

cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580

cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640

acgacgaauc cgaaagagac uaagauugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700

caggacgauc ucauucucac uuguuucaga ggguggguga agcaguugca aauagauuac 2760

aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa agguguguau 2820

gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940

auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000

gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060

cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120

auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180

ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240

ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360

ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420

cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480

guccuccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540

ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600

uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660

gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200
cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260
ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320
aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380
aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440
gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500
gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560

gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620
acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680
gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740
auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800
gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860
agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920
uugccgaagu auagaaucac uggugugcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980

ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040
gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100
ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160
gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220
gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280
uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340
agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400

cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460
agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520
ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580
ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640
auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700
gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760
acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820

cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880

aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940

auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000

cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120

auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180

acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240

cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300

gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360

gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420

uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540

auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600

aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660

gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720

aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780

uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840

gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560

agacuaguau guuuguguuu cuugugcugc ugccucuugu gucuucucag ugugugguga 7620

gauuuccaaa uauuacaaau cuguguccau uuggagaagu guuuaaugca acaagauuug 7680

caucugugua ugcauggaau agaaaaagaa uuucuaauug uguggcugau uauucugugc 7740

uguauaauag ugcuucuuuu uccacauuua aauguuaugg agugucucca acaaaauuaa 7800

augauuuaug uuuuacaaau guguaugcug auucuuuugu gaucagaggu gaugaaguga 7860

gacagauugc ccccggacag acaggaaaaa uugcugauua caauuacaaa cugccugaug 7920

auuuuacagg augugugauu gcuuggaauu cuaauaauuu agauucuaaa gugggaggaa 7980

auuacaauua ucuguacaga cuguuuagaa aaucaaaucu gaaaccuuuu gaaagagaua 8040

uuucaacaga aauuuaucag gcuggaucaa caccuuguaa uggaguggaa ggauuuaauu 8100

guuauuuucc auuacagagc uauggauuuc agccaaccaa ugguguggga uaucagccau 8160

auagaguggu ggugcugucu uuugaacugc ugcaugcacc ugcaacagug uguggaccua 8220

aaggcucccc cggcuccggc uccggaucug guuauauucc ugaagcucca agagaugggc 8280

aagcuuacgu ucguaaagau ggcgaauggg uauuacuuuc uaccuuuuua ggaagcggca 8340

gcggaucuga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu auugcaggau 8400

uaauugcaau ugugauggug acaauuaugu uauguuguau gacaucaugu uguucuuguu 8460

uaaaaggaug uuguucuugu ggaagcuguu guaaauuuga ugaagaugau ucugaaccug 8520

uguuaaaagg agugaaauug cauuacacau gaugacucga gcugguacug caugcacgca 8580

augcuagcug ccccuuuccc guccugggua ccccgagucu cccccgaccu cgggucccag 8640

guaugcuccc accuccaccu gccccacuca ccaccucugc uaguuccaga caccucccaa 8700

gcacgcagca augcagcuca aaacgcuuag ccuagccaca cccccacggg aaacagcagu 8760

gauuaaccuu uagcaauaaa cgaaaguuua acuaagcuau acuaacccca ggguugguca 8820

auuucgugcc agccacaccg cggccgcaug aauacagcag caauuggcaa gcugcuuaca 8880

uagaacucgc ggcgauuggc augccgccuu aaaauuuuua uuuuauuuuu ucuuuucuuu 8940

uccgaaucgg auuuuguuuu uaauauuuca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaag 9000

cauaugacua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 9060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 9079

<210> 28

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Vaccine Antigen

<400> 28

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val

1 5 10 15

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe

20 25 30

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile

35 40 45

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe

50 55 60

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu

65 70 75 80

Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu

85 90 95

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn

100 105 110

Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser

115 120 125

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg

130 135 140

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr

145 150 155 160

Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe

165 170 175

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly

180 185 190

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu

195 200 205

His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly Ser Gly

210 215 220

Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr

225 230 235 240

Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Ser

245 250 255

Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu
260 265 270

Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu
275 280 285

Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys
290 295 300

Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys
305 310 315 320

Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
325

<210> 29

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BNT162b3c

<400> 29

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val
1 5 10 15

Asn Leu Thr Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly
20 25 30

Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg
35 40 45

Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser
50 55 60

Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu
65 70 75 80

Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg
85 90 95

Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala
100 105 110

Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala
115 120 125

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

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

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

Cys Ser Cys Gly Ser Cys Cys
305 310

<210> 30

<211> 1397

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BNT162b3c

<400> 30

agaauaaacu aguauucuuc uggucccCac agacucagag agaacccgcc accauguuug 60

uguuucuugu gcugcugccu cuuugucuu cucagugugu gaauuugaca gugagauuuc 120

caaauauuac aaaucugugu ccauuuggag aaguguuuaa ugcaacaaga uuugcaucug 180

uguaugcaug gaauagaaaa agaauuucua auuguguggc ugauuauucu gugcuguaua 240

auagugcuuc uuuuuccaca uuuaaauguu auggaguguc uccaacaaaa uuaaaugauu 300

uauguuuuac aaauguguau gcugauucuu uugugaucag aggugaugaa gugagacaga 360

uugccccgg acagacagga aaaauugcug auuacaauua caaacugccu gaugauuuua 420

caggaugugu gauugcuugg aauucuaaua auuuagauuc uaaaguggga ggaaauuaca 480

auuaucugua cagacuguuu agaaaaucaa aucugaaacc uuuugaaaga gauauuucaa 540

cagaaauuua ucaggcugga ucaacaccuu guaauggagu ggaaggauuu aauuguuauu 600

uuccauuaca gagcuaugga uuucagccaa ccaauggugu gggauaucag ccauauagag 660

ugguggugcu gucuuuugaa cugcugcaug caccugcaac agugugugga ccuaaaggcu 720

cccccggcuc cggcuccgga ucugguuaua uuccugaagc uccaagagau gggcaagcuu 780

acguucguaa agauggcgaa uggguauuac uuucuaccuu uuuaggaagc ggcagcggau 840

cugaacagua cauuaaaugg ccuugguaca uuuggcuugg auuuauugca ggauuaauug 900

caauugugau ggugacaauu auguuauguu guaugacauc auguuguucu uguuuaaaag 960

gauguuguuc uuguggaagc uguuguugau gacucgagcu gguacugcau gcacgcaaug 1020

cuagcugccc cuuucccguc cuggguaccc cgagucuccc ccgaccucgg gucccaggua 1080

ugcucccacc uccaccugcc ccacucacca ccucugcuag uuccagacac cucccaagca 1140

cgcagcaaug cagcucaaaa cgcuuagccu agccacaccc ccacgggaaa cagcagugau 1200

uaaccuuuag caauaaacga aaguuuaacu aagcuauacu aaccccaggg uuggucaauu 1260

ucgugccagc cacacccugg agcuagcaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaagca 1320

uaugacuaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaa 1397

<210> 31

<211> 314

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BNT162b3d

<400> 31

Met Asp Trp Ile Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Gly Ala Ala Thr Gly

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Met Gln Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys

20 25 30

Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala

35 40 45

Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu

50 55 60

Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro

65 70 75 80

Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe

85 90 95

Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly

100 105 110

Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys

115 120 125

Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn

130 135 140

Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe

145 150 155 160

Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys

165 170 175

Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly

180 185 190

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val

195 200 205

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

210 215 220

Gly Ser Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro

225 230 235 240

Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu

245 250 255

Ser Thr Phe Leu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp

260 265 270

Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val

275 280 285

Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu

290 295 300

Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly Ser Cys Cys

305 310

<210> 32

<211> 1406

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BNT162b3d

<400

> 32

agaauaaacu aguauucuuc uggucccCac agacucagag agaacccgcc accauggauu 60

ggauuuggag aauccuguuc cucgugggag ccgcuacagg agcccacucc cagaugcagg 120

ugagauuucc aaauauuaca aaucuguguc cauuuggaga aguguuuaau gcaacaagau 180

uugcaucugu guaugcaugg aauagaaaaa gaauuucuaa uuguguggcu gauuauucug 240

ugcuguauaa uagugcuucu uuuuccacau uuaaauguua uggagugucu ccaacaaaau 300

uaaaugauuu auguuuuaca aauguguaug cugauucuuu ugugaucaga ggugaugaag 360

ugagacagau ugcccccgga cagacaggaa aaauugcuga uuacaauuac aaacugccug 420

augauuuuac aggaugugug auugcuugga auucuaauaa uuuagauucu aaagugggag 480

gaaauuacaa uuaucuguac agacuguuua gaaaaucaaa ucugaaaccu uuugaaagag 540

auauuucaac agaaauuuau caggcuggau caacaccuug uaauggagug gaaggauuua 600

auuguuauuu uccauuacag agcuauggau uucagccaac caauggugug ggauaucagc 660

cauauagagu gguggugcug ucuuuugaac ugcugcaugc accugcaaca gugugguggac 720

cuaaaggcuc ccccggcucc ggcuccggau cugguuauau uccugaagcu ccaagagaug 780

ggcaagcuua cguucguaaa gauggcgaau ggguauuacu uucuaccuuu uuaggaagcg 840

gcagcggauc ugaacaguac auuaaauggc cuugguacau uuggcuugga uuuauugcag 900

gauuaauugc aauugugaug gugacaauua uguuauguug uaugacauca uguuguucuu 960

guuuaaaagg auguuguucu uguggaagcu guuguugaug acucgagcug guacugcaug 1020

cacgcaaugc uagcugcccc uuucccgucc uggguacccc gagucucccc cgaccucggg 1080

ucccagguau gcucccaccu ccaccugccc cacucaccac cucugcuagu uccagacacc 1140

ucccaagcac gcagcaaugc agcucaaaac gcuuagccua gccacacccc cacgggaaac 1200

agcagugauu aaccuuuagc aauaaacgaa aguuuaacua agcuauacua accccagggu 1260

uggucaauuu cgugccagcc acacccugga gcuagcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaagcau augacuaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1406

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker

<400> 33

Gly Ser Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 34

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker

<400> 34

Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AH1

<400> 35

Ser Pro Ser Tyr Val Tyr His Gln Phe

1 5

<210> 36

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HuIgGk signal peptide

<400> 36

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly

20

<210> 37

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgE heavy chain epsilon-1signal peptide

<400> 37

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val

1 5 10 15

His Ser

<210> 38

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Japanese encephalitis PRM signal sequence

<400> 38

Met Leu Gly Ser Asn Ser Gly Gln Arg Val Val Phe Thr Ile Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Val Ala Pro Ala Tyr Ser

20

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VSVg protein signal sequence

<400> 39

Met Lys Cys Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Leu Phe Ile Gly Val Asn Cys

1 5 10 15

Ala

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 40

Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe Leu Leu

1 5

<

210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 41

Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 42

Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 43

Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe

1 5

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 44

Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe

1 5 10

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 45

Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 46

Ile Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 47

Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe

1 5

<210> 48

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic acid fragment

<400> 48

cccactaatg gtgtt 15

<210> 49

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Protein fragment

<400> 49

Pro Thr Asn Gly Val

1 5

<210> 50

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic acid fragment

<400> 50

cccacttatg gtgtt 15

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Protein fragment

<400> 51

Pro Thr Tyr Gly Val

1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 52

Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys

1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 53

Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 54

Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 55

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 56

Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg

1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Epitope

<400> 57

Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu

1 5