

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-502210

(P2024-502210A)

(43)公表日 令和6年1月17日(2024.1.17)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/50 (2006.01)	C 1 2 N 15/50	Z N A 4 C 0 7 6
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/7088(2006.01)	A 6 1 K 31/7088	4 C 0 8 6
A 6 1 K 39/215(2006.01)	A 6 1 K 39/215	
A 6 1 K 31/7115(2006.01)	A 6 1 K 31/7115	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全257頁) 最終頁に続く		

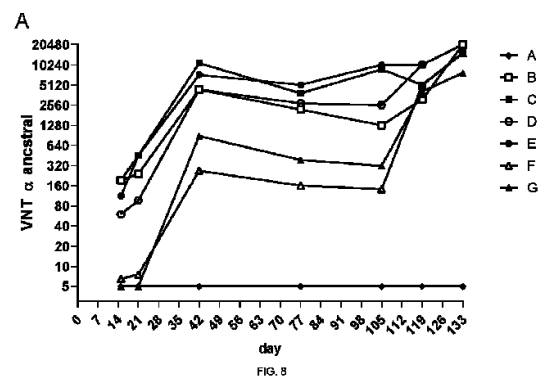
(21)出願番号	特願2023-561934(P2023-561934)	(71)出願人	509014386
(86)(22)出願日	令和3年12月21日(2021.12.21)		キュアバック エスイー
(85)翻訳文提出日	令和5年8月18日(2023.8.18)		CureVac SE
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/062127		ドイツ連邦共和国 7 2 0 7 6 テュービ
(87)国際公開番号	WO2022/137133		ンゲン フリードリッヒ-ミエッシャー
(87)国際公開日	令和4年6月30日(2022.6.30)		-シュトラッセ 15
(31)優先権主張番号	63/129,395		Friedrich-Miescher
(32)優先日	令和2年12月22日(2020.12.22)		-Strasse 15, 7 2 0 7 6 T
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		uebingen, Germany
(31)優先権主張番号	PCT/EP2021/052455	(71)出願人	305060279
(32)優先日	令和3年2月3日(2021.2.3)		グラクソスミスクライン バイオロジカ
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		ルズ ソシエテ アノニム
(31)優先権主張番号	PCT/EP2021/069626		ベルギー ベー-1 3 3 0 リクセンサー
	最終頁に続く	(74)代理人	110002572
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 SARS-CoV-2 バリエントに対するRNAワクチン

(57)【要約】

本発明は、コロナウイルス、好ましくは、コロナウイルスSARS-CoV-2の感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害の処置又は予防における使用に好適な核酸を対象とする。本発明はまた、組成物、ポリペプチド、及びワクチンを対象とする。組成物及びワクチンは、好ましくは、前記核酸配列、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)と会合した核酸配列のうちの少なくとも1つを含む。本発明はまた、核酸、組成物、ポリペプチド、組み合わせ、ワクチン、並びにキットの第一及び第二の医学的使用、並びにコロナウイルス(coronavirus)感染、好ましくは、コロナウイルス(Coronavirus)感染を処置又は予防する方法を対象とする。

【選択図】 図 8 A



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、K986、V987、A67、H69、V70、T95、G142、V143、Y144、Y145、N211、L212、214、G339、S371、S373、S375、S477、T478、E484、Q493、G496、Q498、N501、Y505、T547、D614、H655、N679、P681、N764、D796、N856、Q954、N969、L981に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、RNA。

10

【請求項 2】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、N212del、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、RNA。

20

【請求項 3】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、K986、V987、A67、H69、V70、T95、G142、V143、Y144、Y145、N211、L212、214、G339、S371、S373、S375、S477、T478、E484、Q493、G496、Q498、N501、Y505、T547、D614、H655、N679、P681、N764、D796、N856、Q954、N969、L981に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列;並びに

30

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、

L452、E484、P681、E154、D614、及びQ1071;又は

L452、P681、T19、E156、F157、R158、T478、D614、及びD950

に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列を含む、RNA。

【請求項 4】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列;並びに

40

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、

L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;又は

50

L452R、P681R、T19R、E156G、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N
に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列
を含む、RNA。

【請求項5】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号28540～28588、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列の少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

10

【請求項6】

スパイクタンパク質(S)が、スパイクタンパク質フラグメントS1、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項7】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号28540～28588、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも95%同一であるアミノ酸配列の少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

20

【請求項8】

スパイクタンパク質(S)が、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含む融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_stab)である、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項9】

少なくとも1つの融合前の安定化変異が、以下のアミノ酸置換:K986P及びV987Pを含む、請求項8に記載のRNA。

【請求項10】

少なくとも1つのコード配列が、シグナルペプチド、リンカー、ヘルパーエピトープ、抗原クラスター形成エレメント、三量体化エレメント、膜貫通型エレメント、及び/又はVLP形成配列から選択される1つ以上の異種ペプチド又はタンパク質エレメントをさらにコードする、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

30

【請求項11】

少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメントが、異種抗原クラスター形成エレメント、異種三量体化エレメント、及び/又はVLP形成配列である、請求項10に記載のRNA。

【請求項12】

少なくとも1つのコード配列が、コドン修飾されたコード配列であり、少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列によりコードされるアミノ酸配列が、好ましくは、対応する野生型又は参照コード配列によってコードされるアミノ酸配列と比較して、修飾されていない、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

40

【請求項13】

少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、C最大化コード配列、CAI最大化コード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、G/C含有量が修飾されたコード配列、及びG/Cが最適化されたコード配列、又はそれらの任意の組み合わせから選択される、請求項12に記載のRNA。

【請求項14】

少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、G/Cが最適化されたコード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、又はG/C含有量が修飾されたコード配列である、請求項12又は13に記載のRNA。

50

【請求項 15】

少なくとも1つのコード配列が、少なくとも約50%、55%、又は60%のG/C含有量を有する、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 16】

少なくとも1つのコード配列が、融合前の安定化K986P及びV987P変異を含むSタンパク質をコードし、コード配列が、配列番号28589~28637、28921~28924と少なくとも95%同一である核酸配列を含むG/Cが最適化されたコード配列を含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 17】

好ましくは、30~200個のアデノシンヌクレオチド及び/又は少なくとも1つのポリ(C)配列を含む、好ましくは、10~40個のシトシンヌクレオチドを含む、少なくとも1つのポリ(A)配列を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。 10

【請求項 18】

少なくとも1つのヒストンステムループを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 19】

RNAが、30~200個のアデノシンヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリ(A)配列を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドが、アデノシンである、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 20】

少なくとも1つの異種3'UTRが、PSMB3、ALB7、CASP1、COX6B1、GNAS、NDUFA1及びRPS9から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。 20

【請求項 21】

少なくとも1つの異種5'UTRが、HSD17B4、RPL32、ASAH1、ATP5A1、MP68、NDUFA4、NOSIP、RPL31、SLC7A3、TUBB4B及びUBQLN2から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。 30

【請求項 22】

HSD17B4由来の5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種5'UTR及びPSMB3の3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種3'UTRを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 23】

5'から3'に:

i) 5'キャップ1構造;

ii) HSD17B4遺伝子の5'UTRから誘導される、好ましくは配列番号232に記載の5'UTR

iii) 少なくとも1つのコード配列;

iv) PSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは配列番号254に記載の3'UTR;

v) 場合により、ヒストンステムループ配列;及び

vi) 約100個のAヌクレオチドを含むポリ(A)配列

を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドがアデノシンである、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。 40

【請求項 24】

mRNA、自己複製RNA、環状RNA、又はレプリコンRNAである、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 25】

mRNAである、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。 50

【請求項 26】

mRNAが、レプリコンRNA又は自己複製RNAではない、請求項25に記載のRNA。

【請求項 27】

5'キャップ構造、好ましくは、m7G、キャップ0、キャップ1、キャップ2、修飾されたキャップ0又は修飾されたキャップ1構造、好ましくは、5'キャップ1構造を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 28】

1-メチルシュードウリジン置換を含まない、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 29】

化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 30】

シュードウリジン又は1-メチルシュードウリジン置換を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 31】

RNAが、in vitroで転写されたRNAであり、RNA in vitro転写が、配列が最適化されたヌクレオチド混合物及びキャップアナログの存在下で行われ、好ましくは、配列が最適化されたヌクレオチド混合物が、化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 32】

精製されたRNA、好ましくは、RP-HPLC及び/又はTFFにより精製されたRNAである、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 33】

RP-HPLC及び/又はTFFにより精製されたRNAであり、RP-HPLC及び/又はTFFを用いて精製されていないRNAとして約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 34】

RP-HPLC及び/又はTFFにより精製された精製されたRNAであり、オリゴdT精製、沈殿、濾過及び/又はアニオン交換クロマトグラフィーを用いて精製されたRNAとして約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項 35】

先行する請求項のいずれか一項に記載のRNAを含む組成物であって、場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体を含む、組成物。

【請求項 36】

請求項1から34のいずれか一項に記載のRNAに加えて、複数又は少なくとも1つのさらなるRNAを含む多価組成物である、請求項35に記載の組成物。

【請求項 37】

多価組成物の複数又は少なくとも1つより多くのRNAそれぞれが、異なるスパイクタンパク質、好ましくは、融合前の安定化されたスパイクタンパク質をコードする、請求項36に記載の組成物。

【請求項 38】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、異なるSARS-CoV-2ウイルスバリエーション/分離株から誘導される、請求項37に記載の組成物。

【請求項 39】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ

10

20

30

40

50

共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)又はB.1.1.621バリエーションから誘導される、請求項38に記載の組成物。

【請求項40】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、少なくともB.1.1.529、BA.1_v1、BA.1_v0、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、及び/又はBA.1_v5並びにB.1.617.2バリエーションから誘導される、請求項38又は39に記載の組成物。

【請求項41】

70%以上のRNA完全性を有するRNAを含む、請求項35から40のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項42】

組成物が、70%以上のキャッピング程度を有するRNAを含み、好ましくは、RNA種の少なくとも70%、80%、又は90%が、キャップ1構造を含む、請求項35から40のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項43】

RNAが、1つ以上のカチオン性又はポリカチオン性化合物、好ましくは、カチオン性若しくはポリカチオン性ポリマー、カチオン性若しくはポリカチオン性多糖、カチオン性若しくはポリカチオン性脂質、カチオン性若しくはポリカチオン性タンパク質、カチオン性若しくはポリカチオン性ペプチド、又はそれらの任意の組み合わせと複合体化されるか、若しくは会合するか、又は少なくとも部分的に複合体化されるか、若しくは部分的に会合する、請求項35から40のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項44】

RNAが、1つ以上の脂質又は脂質ベースの担体と複合体化するか、又は会合し、これにより、好ましくは少なくとも1つのRNAを封入する、リボソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポソームを形成する、請求項43に記載の組成物。

【請求項45】

RNAが、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子を形成する、請求項43又は44に記載の組成物。

【請求項46】

LNPが、式III-3:_(III-3)によるカチオン性脂質を含む、請求項44又は45に記載の組成物。

30

【請求項47】

LNPが、式(IVa):_(IVa)
(式中、nは、30~60の範囲にある平均値を有し、好ましくは、nは、約45、46、47、48、49、50、51、52、53、54の平均値を有し、最も好ましくは、nは49又は45の平均値を有する)のPEG脂質を含む、請求項44から45のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項48】

LNPが、式(IVa):_(IVa)
(式中、nは、PEG脂質の平均分子量が約2500g/molであるように選択される整数である)のPEG脂質を含む、請求項44から47のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項49】

LNPが、1つ以上の中性脂質及び/又は1つ以上のステロイド若しくはステロイドアナログを含む、請求項44から48のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項50】

中性脂質が、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)であり、好ましくは、カチオン性脂質とDSPCとのモル比が、約2:1~約8:1の範囲にある、請求項49に記載の組成物。

【請求項51】

ステロイドが、コレステロールであり、好ましくは、カチオン性脂質とコレステロール

50

とのモル比が、約2:1～約1:1の範囲にある、請求項49に記載の組成物。

【請求項52】

LNPが、

(i)少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii)少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

(iii)少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv)少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、n=49)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、請求項44から51のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項53】

LNPが、

(i)少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii)少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

(iii)少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv)少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、n=45)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、請求項44から51のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項54】

(i)～(iv)が、約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.4:10:40.9:1.7のモル比にある、請求項52又は53に記載の組成物。

【請求項55】

約20%未満の遊離(複合体化されていないか、又は封入されていない)RNA、好ましくは、約15%未満の遊離RNA、より好ましくは、約10%未満の遊離RNAを含む、請求項45から54のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項56】

脂質とRNAとのwt/wt比が、約10:1～約60:1、好ましくは、約20:1～約30:1、例えば、約25:1である、請求項45から55のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項57】

RNAを封入するLNPのn/p比が、約1～約10の範囲、好ましくは、約5～約7の範囲、より好ましくは、約6である、請求項45から56のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項58】

約0.4未満、好ましくは、約0.3未満、より好ましくは、約0.2未満、最も好ましくは、約0.1未満の多分散指数(PDI)値を有する、請求項45から57のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項59】

LNPが、

(a)約60nm～約120nmの範囲、好ましくは、約120nm未満、より好ましくは、約100nm未満、最も好ましくは、約80nm未満のZ-平均サイズを有し;

10

20

30

40

50

(b) 約500nmを超える粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含み;及び/又は

(c) 約20nmより小さい粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含む、請求項44から58のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項60】

脂質ベースの担体の少なくとも約80%、85%、90%、95%が、好ましくは固体コア又は部分的に固体のコアを含む、球状形態を有する、請求項44から59のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項61】

約150FNU～約0.0FNUの範囲、好ましくは、約50FNU以下、より好ましくは、約25FNU以下の濁度を有する、請求項44から60のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項62】

(a) 約50～約300mMの濃度の糖、好ましくは、約150mMの濃度のスクロース;
(b) 約10mM～約200mMの濃度の塩、好ましくは、約75mMの濃度のNaCl;及び/又は
(c) 濃度1mM～約100mMの緩衝剤、好ましくは、約10mMの濃度のNa₃PO₄をさらに含む、請求項35から61のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項63】

約pH7.0～約pH8.0の範囲にある、好ましくは、約pH7.4のpHを有する、請求項35から62のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項64】

凍結乾燥された組成物である、請求項35から60のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項65】

凍結乾燥された組成物が、約10%未満の水含有量を有し、好ましくは、凍結乾燥された組成物が、約0.5%～5%の水含有量を有する、請求項64に記載の組成物。

【請求項66】

RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後少なくとも約2週間未変化である、請求項35から63のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項67】

RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後約2週間～約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間又は1年間未変化である、請求項66に記載の組成物。

【請求項68】

RNAの少なくとも80%が、約5℃の温度で液体として約2週間の保存後未変化である、請求項66に記載の組成物。

【請求項69】

RNA及びRNAを封入する脂質ベースの担体が、少なくとも1つの精製工程により、好ましくは、TFFの少なくとも1つの工程及び/又は清澄化の少なくとも1つの工程及び/又は濾過の少なくとも1つの工程によって精製されている、請求項35から68のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項70】

請求項1から34のいずれか一項に記載のRNA及び/又は請求項35から69のいずれか一項に記載の組成物を含む、ワクチン。

【請求項71】

コロナウイルスに対する、好ましくは、コロナウイルスSARS-CoV-2に対する、適応免疫応答、好ましくは、防御的適応免疫応答を誘発する、請求項70に記載のワクチン。

【請求項72】

請求項1から34のいずれか一項に記載のRNAの複数若しくは少なくとも1つより多く、又は請求項35から69のいずれか一項に記載の組成物の複数若しくは少なくとも1つより多くを含む多価ワクチンである、請求項70又は71に記載のワクチン。

10

20

30

40

50

【請求項 73】

請求項1から34のいずれか一項に記載のRNA及び/又は請求項35から69のいずれか一項に記載の組成物、及び/又は請求項70から72のいずれか一項に記載のワクチンを含み、場合により、溶解のための液体ビヒクルを含み、場合により、成分の投与及び投薬量についての情報を提供する技術指示書を含む、キット又はパーツのキット(kit of parts)。

【請求項 74】

医薬としての使用のための、請求項1から34のいずれか一項に記載のRNA、請求項35から69のいずれか一項に記載の組成物、請求項70から72のいずれか一項に記載のワクチン、請求項73に記載のキット又はパーツのキット。

【請求項 75】

コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害の処置又は予防における使用のための、請求項1から34のいずれか一項に記載のRNA、請求項35から69のいずれか一項に記載の組成物、請求項70から72のいずれか一項に記載のワクチン、請求項73に記載のキット又はパーツのキット。

【請求項 76】

障害を処置又は予防する方法であって、それを必要とする対象に、請求項1から34のいずれか一項に記載のRNA、請求項35から69のいずれか一項に記載の組成物、請求項70から72のいずれか一項に記載のワクチン、請求項73に記載のキット又はパーツのキットを適用するか、又は投与することを含む、方法。

【請求項 77】

障害が、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害である、請求項76に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項 78】

SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害を予防する方法としてさらに定義される、請求項76又は77に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項 79】

SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)及びB.1.1.621から選択されるSARS-CoV-2分離株によるものである、請求項76に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項 80】

SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、請求項1から4のいずれか一項に記載のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むSARS-CoV-2分離株によるものである、請求項76に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項 81】

必要とする対象が、哺乳類対象、好ましくは、ヒト対象である、請求項76から80のいずれか一項に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項 82】

ヒト対象が、好ましくは、少なくとも50、60、65、又は70歳の年齢の、高齢ヒト対象である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項 83】

ヒト対象が、好ましくは、3歳以下、2歳以下、1.5歳以下、1歳(12カ月)以下、9カ月以下、6カ月以下若しくは3カ月以下の年齢、又は6カ月～2歳の年齢の、新生児又は幼児である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項84】

ヒト対象が、18～60歳の年齢である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項85】

ヒト対象が、60歳未満、55歳未満、50歳未満、45歳未満又は40歳未満の年齢である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項86】

ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、請求項85に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項87】

ヒト対象が、約18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の年齢である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項88】

ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項89】

ヒト対象が、約18～60歳;18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の年齢である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項90】

ヒト対象が、約18～50歳の年齢である、請求項81に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項91】

COVID-19疾患の1つ以上の症状の重症度を低減する、請求項82に記載の方法。

【請求項92】

対象が、入院、集中治療室への入院、酸素の補給を用いた処置及び/又は人工呼吸器を用いた処置を必要とする可能性を低減する、請求項91に記載の方法。

【請求項93】

対象が、重篤又は中程度のCOVID-19疾患を発症する可能性を低減する、請求項91に記載の方法。

【請求項94】

少なくとも約6カ月間、対象における重篤なCOVID-19疾患を予防する、請求項91に記載の方法。

【請求項95】

対象が、発熱、呼吸困難;嗅覚の喪失及び/又は味覚の喪失を発症する可能性を低減する、請求項91に記載の方法。

【請求項96】

対象における抗体、CD4+T細胞応答又はCD8+T細胞応答を刺激する方法としてさらに定義される、請求項81から95のいずれか一項に記載の方法。

【請求項97】

対象における中和抗体応答を刺激する方法としてさらに定義される、請求項81から96のいずれか一項に記載の方法。

【請求項98】

対象が、約1μg～約50μgのRNA;約2μg～約50μgのRNA;約2μg～約25μgのRNA;約5μg～約50μgのRNA;約5μg～約25μgのRNA;約10μg～約50μgのRNA;約10μg～約30μgのRNA;又は約12μgのRNAを含む組成物を投与される、請求項81から97のいずれか一項に記載の方法。

【請求項99】

10

20

30

40

50

投与が、組成物が投与される対象の100%においてセロコンバージョンをもたらす、請求項98に記載の方法。

【請求項100】

対象が、SARS CoV-2に以前に感染した、請求項81から97のいずれか一項に記載の方法。

【請求項101】

対象が、少なくとも第一のSARS CoV-2ワクチン組成物で以前に処置された、請求項81から97のいずれか一項に記載の方法。

【請求項102】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、mRNAワクチンであった、請求項101に記載の方法。

【請求項103】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、CVnCoV;BNT162;及び/又はmRNA-1273であった、請求項102に記載の方法。

【請求項104】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、タンパク質サブユニットワクチンであった、請求項102に記載の方法。

【請求項105】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、NVX-CoV2373又はCOVAXであった、請求項102に記載の方法。

【請求項106】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、アデノウイルスベクターワクチンであった、請求項102に記載の方法。

【請求項107】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、ADZ1222又はAd26.COV-2.Sであった、請求項106に記載の方法。

【請求項108】

対象が、検出可能なSARS CoV-2 Sタンパク質結合抗体を有する、請求項81から97のいずれか一項に記載の方法。

【請求項109】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;R158;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;W258;T19;V126;H245;S12;A899;G142;E156;K558;及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含み、RNAが、少なくとも1つの異種非翻訳領域(UTR)を含む、RNA。

【請求項110】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505

W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;V1176F;T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;F157del;R158del;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N;及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項109に記載のRNA。

10

【請求項111】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;及び/又はQ506に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項109に記載のRNA。

20

【請求項112】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;及び/又はQ506Hに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項111に記載のRNA。

【請求項113】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;又はV1176に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項109に記載のRNA。

30

【請求項114】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;及び/又はV1176Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求

40

50

項113に記載のRNA。

【請求項115】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、T859;R246;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;F157;R158;W258;T19;H245;S12;A899;G142;E156;K558及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項109に記載のRNA。

【請求項116】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;F157del;R158del;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項115に記載のRNA。

【請求項117】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、D614;H49;V367;P1263;V483;S939;S943;L5;L8;S940;C1254;Q239;M153;V1040;A845;Y145;A831;及び/又はM1229に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入をさらに含む、請求項109に記載のRNA。

【請求項118】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、D614G;H49Y;V367F;P1263L;V483A;S939F;S943P;L5F;L8V;S940F;C1254F;Q239K;M153T;V1040F;A845S;Y145H;A831V;及び/又はM1229Iに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入をさらに含む、請求項117に記載のRNA。

【請求項119】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、RBDドメイン(アミノ酸位置aa319～aa541;参照配列番号1によるアミノ酸位置)又はCNDドメイン(アミノ酸位置aa329～aa529;参照配列番号1によるアミノ酸位置)に位置する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項120】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換又は欠失を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項121】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、K417、E484、N501、及び/又はL452に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、請求項109に記載のRNA。

【請求項122】

K417に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、S、T、Q又はN置換

である、請求項121に記載のRNA。

【請求項123】

K417に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、K417N置換である、請求項122に記載のRNA。

【請求項124】

E484に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、K、P、Q、A、又はD置換である、請求項121に記載のRNA。

【請求項125】

E484に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、E484K又はE484Q置換である、請求項124に記載のRNA。

【請求項126】

E484に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、E484K置換である、請求項125に記載のRNA。

【請求項127】

N501に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、Y、T、又はS置換である、請求項121に記載のRNA。

【請求項128】

N501に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、N501Y置換である、請求項127に記載のRNA。

【請求項129】

L452に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、R又はQ置換である、請求項121に記載のRNA。

【請求項130】

L452に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、L452R置換である、請求項129に記載のRNA。

【請求項131】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、N501及びE484に対応する位置にアミノ酸置換、好ましくは、N501Y及びE484K置換を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項132】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、フューリン切断部位領域に位置する少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項133】

フューリン切断部位におけるアミノ酸置換が、配列番号1に対してP681に対応する位置に位置する、請求項132に記載のRNA。

【請求項134】

P681に対応する位置のアミノ酸置換が、R又はH置換である、請求項133に記載のRNA。

【請求項135】

P681に対応する位置のアミノ酸置換が、P681R置換である、請求項134に記載のRNA。

【請求項136】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、L452及びP681に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換、好ましくは、L452R及びP681Rを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項137】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、L452、T478及びP681に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換、好ましくは、L452R、T478K及びP681Rを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項138】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、以下のSARS CoV-2分離株:B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)及びB.1.1.621から選択される少なくとも1個のさらなるアミノ酸置換又は欠失を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項139】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、

- ・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;
- ・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V;
- ・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、及びT1027I;
- ・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、T1027I、及びV1176F;
- ・L452R、P681R、及びD614G;
- ・L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;
- ・L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N;
- ・T19R、L452R、E484Q、D614G、P681R及びD950N;
- ・G75V、T76I、S247del、Y248del、L249del、T250del、P251del、G252del、D253del、L452Q、F490S、D614G、及び/又はT859N;
- ・T95I、Y145N、R346K、E484K、N501Y、D614G、P681H、及びD950N;
- ・T95I、Y144T、Y145S、ins145N、R346K、E484K、N501Y、D614G、P681H、及びD950N;
- ・H69del、V70del、Y144del、E484K、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、及びD1118H;
- ・S13I、W152C、L452R、及びD614G;
- ・L452R;及びD614G;
- ・69del;70del;N439K;D614G;
- ・T95I;E484K;D614G;及びA701V;
- ・L5F、T95I、D253G、E484K、D614G、及びA701V;
- ・L5F、T95I、D253G、S477N、D614G、及びQ957R;
- ・F157L、V367F、Q613H、及びP681R;
- ・S254F、D614G、P681R、及びG769V;
- ・T478K、D614G、P681H、及びT732A;
- ・P26S、H69del、V70del、V126A、Y144del、L242del、A243del、L244del、H245Y、S477N、E484K、D614G、P681H、T1027I及びD1118H;
- ・ins214TDR、Q414K、N450K、D614G、及びT716I;
- ・S12F、H69del、V70del、W152R、R346S、L452R、D614G、Q677H及びA899S;
- ・E484K、D614G及びV1176F;
- ・Q52R、A67V、H69del、V70del、F157del、R158del、E484K、D614G、Q677H及びF888L;
- ・Q52R、A67V、H69del、V70del、Y144del、E484K、D614G、Q677H及びF888L;
- ・A67V、H69del、V70del、Y144del、E484K、D614G、Q677H及びF888L;
- ・T19R、T95I、G142D、E156G、F157del、R158del、W258L、K417N、L45

2R、T478K、K558N、D614G、P681R、及びD950N；
 ・ T19R、V70F、G142D、E156G、F157del、R158del、A222V、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R、及びD950N；
 ・ T19R、T95I、F157del、R158del、W258L、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R、及びD950N；
 ・ T19R、V70F、F157del、R158del、A222V、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R、及びD950N；
 ・ H69del、V70del及びD614G；
 ・ D614G及びM1229I；
 ・ A222V及びD614G；
 ・ S477N及びD614G；
 ・ N439K及びD614G；
 ・ H69del、V70del、Y453F、D614G及びI692I；
 ・ Y453F及びD614G；
 ・ D614G及びI692V；
 ・ H69del、V70del、A222V、Y453F、D614G及びI692I；
 ・ N501Y及びD614G；
 ・ K417N、E484K、N501Y及びD614G；並びに
 ・ E484K及びD614G

10

から選択されるアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

20

【請求項140】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、
 ・ E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V；並びに
 ・ E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V

から選択されるアミノ酸置換、又は欠失を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

30

【請求項141】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、以下の
 ・ K986P、V987P、E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V；並びに
 ・ K986P、V987P、E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V

から選択されるアミノ酸置換、又は欠失を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項142】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、
 ・ L452R、P681R、及びD614G；
 ・ L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H；
 ・ L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N；
 並びに
 ・ T19R、L452R、E484Q、D614G、P681R及びD950N

40

から選択されるアミノ酸置換、又は欠失を含む、請求項109から139のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項143】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少な

50

くとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項144】

スパイクタンパク質(S)が、スパイクタンパク質フラグメントS1、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる、請求項129から143のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項145】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109のいずれか1つと同一であるか、又は95%同一であるアミノ酸配列の少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項146】

スパイクタンパク質(S)が、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含む融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_stab)である、請求項129から145のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項147】

少なくとも1つの融合前の安定化変異が、以下のアミノ酸置換:K986P及びV987Pを含む、請求項146に記載のRNA。

【請求項148】

少なくとも1つのコード配列が、シグナルペプチド、リンカー、ヘルパーエピトープ、抗原クラスター形成エレメント、三量体化エレメント、膜貫通型エレメント、及び/又はVLP形成配列から選択される1つ以上の異種ペプチド又はタンパク質エレメントをさらにコードする、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項149】

少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメントが、異種抗原クラスター形成エレメント、異種三量体化エレメント、及び/又はVLP形成配列である、請求項148に記載のRNA。

【請求項150】

少なくとも1つのコード配列が、コドン修飾されたコード配列であり、少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列によりコードされるアミノ酸配列が、好ましくは、対応する野生型又は参照コード配列によりコードされるアミノ酸配列と比較して修飾されていない、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項151】

少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、C最大化コード配列、CAI最大化コード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、G/C含有量が修飾されたコード配列、及びG/Cが最適化されたコード配列、又はそれらの任意の組み合わせから選択される、請求項150に記載のRNA。

【請求項152】

少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、G/Cが最適化されたコード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、又はG/C含有量が修飾されたコード配列である、請求項150又は151に記載のRNA。

【請求項153】

少なくとも1つのコード配列が、配列番号136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である配列又はこれらの配列

10

20

30

40

50

のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項154】

少なくとも1つのコード配列が、配列番号136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも90%同一である配列を含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項155】

少なくとも1つのコード配列が、少なくとも約50%、55%、又は60%のG/C含有量を有する、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項156】

少なくとも1つのコード配列が、融合前の安定化K986P及びV987P変異を含むSタンパク質をコードし、コード配列が、配列番号136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247と少なくとも95%同一である核酸配列を含むG/Cが最適化されたコード配列を含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項157】

好ましくは、30～200個のアデノシンヌクレオチド及び/又は少なくとも1つのポリ(C)配列を含む、好ましくは、10～40個のシトシンヌクレオチドを含む、少なくとも1つのポリ(A)配列を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項158】

少なくとも1つのヒストンステムループを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項159】

RNAが、30～200個のアデノシンヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリ(A)配列を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドがアデノシンである、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項160】

少なくとも1つの異種3'UTRが、PSMB3、ALB7、CASP1、COX6B1、GNAS、NDUFA1及びRPS9から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項161】

少なくとも1つの異種5'UTRが、HSD17B4、RPL32、ASAHI1、ATP5A1、MP68、NDUFA4、NOSIP、RPL31、SLC7A3、TUBB4B及びUBQLN2から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項162】

HSD17B4由来の5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種5'UTR及びPSMB3の3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種3'UTRを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項163】

5'から3'に:

i) 5'キャップ1構造;

ii) HSD17B4遺伝子の5'UTRから誘導される、好ましくは配列番号232に記載の5'UTR

iii) 少なくとも1つのコード配列;

10

20

30

40

50

iv) PSMB3 遺伝子の 3'UTR から誘導される、好ましくは配列番号 254 に記載の 3'UTR;
v) 場合により、ヒストンステムループ配列; 及び
vi) 約 100 個の A ヌクレオチドを含むポリ(A)配列
を含み、前記 RNA の 3'末端のヌクレオチドがアデノシンである、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 164】

mRNA、自己複製 RNA、環状 RNA、又はレプリコン RNA である、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 165】

mRNA である、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 166】

mRNA が、レプリコン RNA 又は自己複製 RNA ではない、請求項 165 に記載の RNA。

【請求項 167】

5'キャップ構造、好ましくは、m7G、キャップ 0、キャップ 1、キャップ 2、修飾されたキャップ 0 又は修飾されたキャップ 1 構造、好ましくは、5'キャップ 1 構造を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 168】

1-メチルシュードウリジン置換を含まない、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 169】

化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 170】

シュードウリジン又は 1-メチルシュードウリジン置換を含む、請求項 109 から 167 のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 171】

RNA が、in vitro で転写された RNA であり、RNA in vitro 転写が、配列が最適化されたヌクレオチドの混合物及びキャップアナログの存在下で行われ、好ましくは、配列が最適化されたヌクレオチドの混合物が、化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 172】

精製された RNA、好ましくは、RP-HPLC 及び/又は TFF により精製された RNA である、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 173】

RP-HPLC 及び/又は TFF により精製された精製された RNA であり、RP-HPLC 及び/又は TFF で精製されていない RNA として約 5%、10%、又は 20% 少ない二本鎖 RNA 副産物を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 174】

RP-HPLC 及び/又は TFF により精製された精製された RNA であり、オリゴdT 精製、沈殿、濾過及び/又はアニオン交換クロマトグラフィーで精製された RNA として約 5%、10%、又は 20% 少ない二本鎖 RNA 副産物を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の RNA。

【請求項 175】

請求項 1 から 66 のいずれか一項に記載の RNA を含む組成物であって、場合により、少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体を含む、組成物。

【請求項 176】

請求項 1 から 56 のいずれか一項に記載の複数又は少なくとも 1 つより多い RNA を含む多価組成物である、請求項 175 に記載の組成物。

【請求項 177】

多価組成物の複数又は少なくとも 1 つより多い RNA がそれぞれ、異なるスパイクタンパ

10

20

30

40

50

ク質、好ましくは、融合前の安定化されたスパイクタンパク質をコードする、請求項176に記載の組成物。

【請求項178】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、異なるSARS-CoV-2ウイルスバリエーション/分離株から誘導される、請求項177に記載の組成物。

【請求項179】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)又はB.1.1.621バリエーションから誘導される、請求項178に記載の組成物。

10

【請求項180】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、少なくともB.1.1.7、B.1.351、P.1、CAL.20C、B.1.1.519、B.1.621又はC.37から誘導される、請求項178又は179に記載の組成物。

【請求項181】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質の少なくとも1つが、配列番号1の配列と比較して、E484、N501、P681、D614及び/又はL452に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、請求項178に記載の組成物。

20

【請求項182】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質の少なくとも1つが、配列番号1の配列と比較して、E484K、N501Y、P681R、D614G及び/又はL452Rに対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、請求項181に記載の組成物。

【請求項183】

異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質の少なくとも1つが、配列番号1の配列と比較して、L452R、P681R、及びD614Gに対応する位置にアミノ酸置換を含む、請求項182に記載の組成物。

【請求項184】

70%以上のRNA完全性を有するRNAを含む、請求項175から180のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項185】

組成物が、70%以上のキャッピング程度を有するRNAを含み、好ましくは、RNA種の少なくとも70%、80%、又は90%が、キャップ1構造を含む、請求項175から184のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項186】

RNAが、1つ以上のカチオン性若しくはポリカチオン性化合物、好ましくは、カチオン性若しくはポリカチオン性ポリマー、カチオン性若しくはポリカチオン性多糖、カチオン性若しくはポリカチオン性脂質、カチオン性若しくはポリカチオン性タンパク質、カチオン性若しくはポリカチオン性ペプチド、又はそれらの任意の組み合わせと複合体化されるか、若しくは会合するか、又は少なくとも部分的に複合体化されるか、若しくは部分的に会合する、請求項175から185のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項187】

RNAが、1つ以上の脂質又は脂質ベースの担体と複合体化されるか、又は会合し、これにより、好ましくは少なくとも1つのRNAを封入する、リボソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リボプレックス、及び/又はナノリボソームを形成する、請求項186に記載の組成物。

【請求項188】

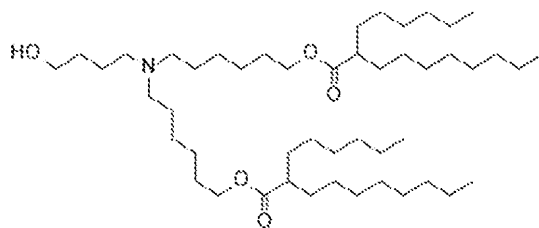
RNAが、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子を形成する、請求項186又は187に記載の組成物。

50

【請求項 189】

LNPが、式III-3:

【化 1】



(III-3)

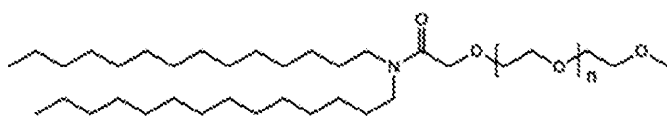
10

によるカチオン性脂質を含む、請求項187又は188に記載の組成物。

【請求項 190】

LNPが、式(IVa):

【化 2】



(IVa)

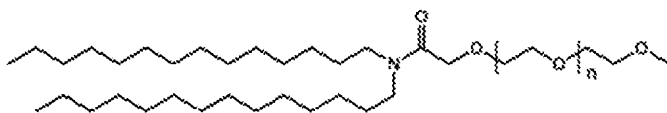
20

(式中、nは、30～60の範囲にある平均値を有し、好ましくは、nは、約45、46、47、48、49、50、51、52、53、54の平均値を有し、最も好ましくは、nは49又は45の平均値を有する)のPEG脂質を含む、請求項187から189のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 191】

LNPが、式(IVa):

【化 3】



(IVa)

30

(式中、nは、PEG脂質の平均分子量が約2500g/molであるように選択される整数である)のPEG脂質を含む、請求項187から189のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 192】

LNPが、1つ以上の中性脂質及び/又は1つ以上のステロイド若しくはステロイドアナログを含む、請求項187から191のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 193】

中性脂質が、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)であり、好ましくは、カチオン性脂質とDSPCとのモル比が、約2:1～約8:1の範囲にある、請求項192に記載の組成物。

40

【請求項 194】

ステロイドが、コレステロールであり、好ましくは、カチオン性脂質とコレステロールとのモル比が、約2:1～約1:1の範囲にある、請求項192に記載の組成物。

【請求項 195】

LNPが、

(i)少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii)少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

50

(iii) 少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv) 少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、 $n=49$)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、請求項187から194のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項196】

LNPが、

(i) 少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii) 少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

(iii) 少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv) 少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、 $n=45$)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、請求項187から194のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項197】

(i)～(iv)が、約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.4:10:40.9:1.7のモル比にある、請求項195又は196に記載の組成物。

【請求項198】

約20%未満の遊離(複合体化されていないか、又は封入されていない)RNA、好ましくは、約15%未満の遊離RNA、より好ましくは、約10%未満の遊離RNAを含む、請求項188から197のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項199】

脂質とRNAとのwt/wt比が、約10:1～約60:1、好ましくは、約20:1～約30:1、例えば、約25:1である、請求項188から198のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項200】

RNAを封入するLNPの n/p 比が、約1～約10の範囲、好ましくは、約5～約7の範囲、より好ましくは、約6である、請求項188から199のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項201】

約0.4未満、好ましくは、約0.3未満、より好ましくは、約0.2未満、最も好ましくは、約0.1未満の多分散指数(PDI)値を有する、請求項188から200のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項202】

LNPが、

(a) 約60nm～約120nmの範囲、好ましくは、約120nm未満、より好ましくは、約100nm未満、最も好ましくは、約80nm未満のZ-平均サイズを有し;

(b) 約500nmを超える粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含み;及び/又は

(c) 約20nmより小さい粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含む、請求項187から201のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項203】

脂質ベースの担体の少なくとも約80%、85%、90%、95%が、好ましくは固体のコア又は部分的に固体のコアを含む球状形態を有する、請求項187から202のいずれか一項

10

20

30

40

50

に記載の組成物。

【請求項 96】

約150FNU～約0.0FNUの範囲、好ましくは、約50FNU以下、より好ましくは、約25FNU以下の濁度を有する、請求項187から203のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 204】

(a)約50～約300mMの濃度の糖、好ましくは、約150mMの濃度のスクロース;
(b)約10mM～約200mMの濃度の塩、好ましくは、約75mMの濃度のNaCl;及び/又は
(c)濃度1mM～約100mMの緩衝剤、好ましくは、約10mMの濃度のNa₃PO₄
をさらに含む、請求項175から204のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 205】

約pH7.0～約pH8.0の範囲、好ましくは、約pH7.4のpHを有する、請求項175から204のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 206】

凍結乾燥された組成物である、請求項175から200のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 207】

凍結乾燥された組成物が、約10%未満の水含有量を有し、好ましくは、凍結乾燥された組成物が、約0.5%～5%の水含有量を有する、請求項206に記載の組成物。

【請求項 208】

RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後少なくとも約2週間未変化である、請求項187から205のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 209】

RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後約2週間～約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間又は1年間未変化である、請求項208に記載の組成物。

【請求項 210】

RNAの少なくとも80%が、約5℃の温度で液体として約2週間の保存後未変化である、請求項208に記載の組成物。

【請求項 211】

RNA及びRNAを封入する脂質ベースの担体が、少なくとも1つの精製工程により、好ましくは、TFFの少なくとも1つの工程及び/又は清澄化の少なくとも1つの工程及び/又は濾過の少なくとも1つの工程によって精製されている、請求項187から210のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 212】

請求項109から174のいずれか一項に記載のRNA及び/又は請求項165から200のいずれか一項に記載の組成物を含む、ワクチン。

【請求項 213】

コロナウイルスに対する、好ましくは、コロナウイルスSARS-CoV-2に対する、適応免疫応答、好ましくは、防御的適応免疫応答を誘発する、請求項212に記載のワクチン。

【請求項 214】

請求項109から181のいずれか一項に記載のRNAの複数若しくは少なくとも1つより多く、又は請求項182から104のいずれか一項に記載の組成物の複数若しくは少なくとも1つより多くを含む多価ワクチンである、請求項212又は213に記載のワクチン。

【請求項 215】

請求項109から174のいずれか一項に記載のRNA及び/又は請求項182から104のいずれか一項に記載の組成物、及び/又は請求項105から107のいずれか一項に記載のワクチンを含み、場合により、溶解のための液体ビヒクルを含み、場合により、成分の投与及び投薬量についての情報を提供する技術指示書を含む、キット又はパーツのキット。

【請求項 216】

医薬としての使用のための、請求項109から174のいずれか一項に記載のRNA、請求

10

20

30

40

50

項175から211のいずれか一項に記載の組成物、請求項212から214のいずれか一項に記載のワクチン、請求項215に記載のキット又はパーツのキット。

【請求項217】

コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害の処置又は予防における使用のための、請求項109から174のいずれか一項に記載のRNA、請求項175から211のいずれか一項に記載の組成物、請求項212から214のいずれか一項に記載のワクチン、請求項215に記載のキット又はパーツのキット。

【請求項218】

障害を処置又は予防する方法であって、それを必要とする対象に、請求項109から174のいずれか一項に記載のRNA、請求項175から211のいずれか一項に記載の組成物、請求項212から214のいずれか一項に記載のワクチン、及び／又は請求項215に記載のキット若しくはパーツのキットを適用するか、又は投与することを含む、方法。

【請求項219】

障害が、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害である、請求項218に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項220】

SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害を予防する方法としてさらに定義される、請求項218又は219に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項221】

SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)及びB.1.1.621から選択されるSARS-CoV-2分離株によるものである、請求項212に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項223】

SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、請求項1から33のいずれか一項に記載のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むSARS-CoV-2分離株によるものである、請求項212に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項224】

必要とする対象が、哺乳類対象、好ましくは、ヒト対象である、請求項218から219のいずれか一項に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項225】

ヒト対象が、好ましくは、少なくとも50歳、60歳、65歳、又は70歳の年齢の、高齢ヒト対象である、請求項224に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項226】

ヒト対象が、好ましくは、3歳以下、2歳以下、1.5歳以下、1歳(12カ月)以下、9カ月以下、6カ月以下若しくは3カ月以下の年齢の、又は6カ月～2歳の年齢の、新生児又は幼児である、請求項224に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項227】

ヒト対象が、18～60歳の年齢である、請求項224に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項228】

ヒト対象が、60歳未満、55歳未満、50歳未満、45歳未満又は40歳未満の年齢である

10

20

30

40

50

、請求項224に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項229】

ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、請求項228に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項230】

ヒト対象が、約18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の年齢である、請求項228に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項231】

ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、請求項224に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項232】

ヒト対象が、約18～60歳;18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の年齢である、請求項224に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項233】

ヒト対象が、約18～50歳の年齢である、請求項224に記載の障害を処置又は予防する方法。

【請求項234】

COVID-19疾患のうちの1つ以上の症状の重症度を低減する、請求項225に記載の方法。

【請求項235】

対象が、入院、集中治療室への入院、酸素の補給を用いた処置及び/又は人工呼吸器を用いた処置を必要とする可能性を低減する、請求項234に記載の方法。

【請求項236】

対象が、重篤又は中程度のCOVID-19疾患を発症する可能性を低減する、請求項234に記載の方法。

【請求項237】

少なくとも約6カ月間、対象における重篤なCOVID-19疾患を予防する、請求項234に記載の方法。

【請求項238】

対象が、発熱、呼吸困難;嗅覚の喪失及び/又は味覚の喪失を発症する可能性を低減する、請求項234に記載の方法。

【請求項239】

対象における抗体、CD4+T細胞応答又はCD8+T細胞応答を刺激する方法としてさらに定義される、請求項218から238のいずれか一項に記載の方法。

【請求項240】

対象における中和抗体応答を刺激する方法としてさらに定義される、請求項218から238のいずれか一項に記載の方法。

【請求項241】

対象が、約1 μ g～約50 μ gのRNA;約2 μ g～約50 μ gのRNA;約2 μ g～約25 μ gのRNA;約5 μ g～約50 μ gのRNA;約5 μ g～約25 μ gのRNA;約10 μ g～約50 μ gのRNA;約10 μ g～約30 μ gのRNA;又は約12 μ gのRNAを含む組成物を投与される、請求項218から240のいずれか一項に記載の方法。

【請求項242】

投与が、組成物が投与される対象の100%においてセロコンバージョンをもたらす、請求項241に記載の方法。

【請求項243】

対象が、SARS CoV-2に以前に感染した、請求項218から240のいずれか一項に記載の方法。

【請求項244】

対象が、少なくとも第一のSARS CoV-2ワクチン組成物で以前に処置された、請求項2

10

20

30

40

50

18から240のいずれか一項に記載の方法。

【請求項245】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、mRNAワクチンであった、請求項244に記載の方法。

【請求項246】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、CVnCoV;BNT162;及び/又はmRNA-1273であった、請求項245に記載の方法。

【請求項247】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、タンパク質サブユニットワクチンであった、請求項244に記載の方法。

【請求項248】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、NVX-CoV2373又はCOVAXであった、請求項247に記載の方法。

【請求項249】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、アデノウイルスベクターワクチンであった、請求項244に記載の方法。

【請求項250】

第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、ADZ1222又はAd26.COV-2.Sであった、請求項249に記載の方法。

【請求項251】

対象が、検出可能なSARS CoV-2 Sタンパク質結合抗体を有する、請求項218から240のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2020年12月22日に出願された米国仮出願第63/129,395号;2021年2月3日に出願されたPCT出願第PCT/EP2021/052455号;2021年7月14日に出願されたPCT出願第PCT/EP2021/069626号、及び2021年7月14日に出願されたPCT出願第PCT/EP2021/069632号に基づく優先権を主張する。前述の出願のそれぞれが、参照により本明細書に取り込まれる。

【背景技術】

【0002】

本発明は、とりわけ、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/若しくはB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2バリエントの感染、又はこのような感染に関連する障害の処置又は予防における使用に適したRNAを対象とする。本発明はまた、組成物、ポリペプチド、及びワクチンに関する。組成物及びワクチンは、前記RNA配列、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)と会合したRNAの少なくとも1つを好ましくは含む。

【0003】

リスト

本発明はまた、RNA、組成物、ワクチン、及びキットの第一及び第二の医学的使用、並びに限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)

10

20

30

40

50

リカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2バリエーションによって引き起こされるSARS-CoV-2感染を処置又は予防する方法を対象とする。

10

【0004】

コロナウイルスは、コロナウイルス科の強い伝染性のエンベロープ型のプラスの一本鎖人畜共通感染性RNAウイルスである。

【0005】

コロナウイルスは、遺伝子が非常に変わりやすく、個々のウイルス種は、種の障壁を乗り越えることによって、いくつかの宿主種に感染する潜在能力を有する。2019年の後期に、新規コロナウイルス株によって引き起こされた呼吸器系疾患の大流行が、中国湖北省武漢市で報告された。新規コロナウイルスは、「重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2」(SARS-CoV-2)と命名された。COVID-19疾患とも称される、SARS-CoV-2によって引き起こされるウイルス感染の典型的な症状は、発熱、咳、息切れ、及び肺炎を含み、高齢者集団における高い死亡率を伴う。2020年3月に、WHOは、SARS-CoV-2大流行をパンデミックであると宣言した。さらに、一部の個人は、感染後数週～数カ月の間COVID-19感染の影響に苦しむ。この集団は、「ロングコビット」と称される。時間が経っても残っている一般的な徴候及び症状は、疲労、息切れ又は呼吸困難、咳、関節痛、胸痛、記憶力、集中力又は睡眠の問題、筋痛又は頭痛、速い又は激しい動悸、嗅覚又は味覚の喪失、うつ病又は不安、発熱、起立時の目眩、身体活動又は精神活動後に悪化する症状を含む。

20

【0006】

パンデミックの間、しばしば、オリジナルのSARS-CoV-2株よりも伝染性であるか、又は病原性である、新たなSARS-CoV-2バリエーション株が出現していた。このような新たに出現したSARS-CoV-2株は、潜在的には、オリジナルのSARS-CoV-2株に対して開発された第一世代のワクチンの効率の低減を導き得る。さらに、オリジナルのSARS-CoV-2株に対してワクチン接種された対象における、新たに出現したSARS-CoV-2株に対して特異的に設計されたワクチンを用いたブーストワクチン接種が、新たに出現したSARS-CoV-2株に対する防御的免疫応答を導くかどうかは、不明である。

30

【発明の概要】

【0007】

したがって、SARS-CoV-2感染、特に、新規に出現したSARS-CoV-2バリエーション株によって引き起こされるSARS-CoV-2感染のためのRNAベースのワクチンを提供することが、根本的な本発明の1つの目的である。このような新規に出現した株は、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、

40

50

フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含む。RNAベースのワクチン接種は、新たに出現したSARS-CoV-2ウイルスに対する新たなワクチンの最も有望な技術の1つを表す。RNAを、遺伝子操作し、新たに出現したSARS-CoV-2株に適合させ、ヒト対象に投与することができ、ここで、トランスフェクトされた細胞は、免疫学的応答をもたらす、RNAによってもたらされるコードされた抗原を直接産生する。

【0008】

特許請求の範囲及び根本的な説明においてさらに定義される通り、これらの目的は、とりわけ、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株から誘導された少なくとも1つの変異を含む、SARS-CoV-2から誘導された少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAを提供することによって解決される。

【0009】

本発明の好ましい実施形態では、RNA及びRNAベースのワクチンは、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株から誘導されたスパイクタンパク質を含む、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から誘導された少なくとも1つの抗原性ペプチドをコードするRNAを含む。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1-1】共にLNP中に製剤化した、mRNAワクチンCV2CoV及びCV2CoV.351を用いてワクチン接種した群について、14日目(図1A~D)及び21日目(図1E~H)の、先祖SARS-CoV-2の受容体結合ドメイン(RBD)及びB.1.351バリエーションのRBDに対する有意なIgG1及びIgG2a結合抗体応答を示す。14日目、図1Aは、すべての群(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティング)について同等のIgG1応答を示し、図1Bは、すべてのワクチン接種設計(先祖RBDタンパク質コーティング)について同等のIgG2a力価を示す。14日目、図1Cは、すべてのワクチン接種設計(RBD B.1.351バリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)について同等のIgG1応答を示し、図1Dは、すべてのワクチン接種設計(RBD B.1.351バリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)について同等のIgG2a力価を示す。21日目、図1Eは、すべてのワクチン接種設計(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティング)について同等のIgG1応答を示し、図1Fは、すべてのワクチン接種設計(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティング)について同等のIgG2a力価を示す。21日目、図1Gは、すべてのワクチン接種設計(RBD B.1.351バリエーション

トK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)について同等のIgG1応答を示し、図1Hは、すべてのワクチン接種設計(RBD B.1.351バリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)について同等のIgG2a力価を示す。

【図1-2】図1-1の続き。

【図1-3】図1-2の続き。

【図1-4】図1-3の続き。

【図2-1】先祖SARS-CoV-2を使用した細胞変性効果(CPE)ベースのアッセイにおいて評価したウイルス中和力価(VNT)の有意な誘導を示す。図2Aは14日目及び図2Bは21日目に、すべての群B~HについてVNTの増加を示す。mRNAワクチンCV2CoVとCV2CoV.351の同じ脚(群F及びG)又は異なる脚(群H)への同時送達は、14日目及び21日目に両方のワクチンバリエーションに対する応答を生じることができる。図2Cは42日目に、すべての群(群B~H)についてVNTレベルの増加を示す。両方のワクチンバリエーションの同じ脚(群F及びG)又は異なる脚(群H)への同時送達は、42日目に両方のバリエーションに対する応答を生じることができる。

10

【図2-2】図2-1の続き。

【図3-1】B.1.351バリエーションSARS-CoV-2を使用したCPEベースのアッセイにおいて評価したVNTの有意な誘導を示す。図3Aは14日目及び図3Bは21日目に、すべての群B~HについてVNTの増加を示す。mRNAワクチンCV2CoVとCV2CoV.351の同じ脚(群F及びG)又は異なる脚(群H)への同時送達は、14日目及び21日目に両方のワクチンバリエーションに対する応答を生じることができる。図3Cは42日目に、すべての群(群B~H)についてVNTレベルの増加を示す。両方のワクチンバリエーションの同じ脚(群F及びG)又は異なる脚(群H)への同時送達は、42日目に両方のバリエーションに対する応答を生じることができる。

20

【図3-2】図3-1の続き。

【図4】B.1.1.7バリエーションSARS-CoV-2(図4A)又はP.1(B.1.1.28)(図4B)を使用したCPEベースのアッセイにおいて評価したVNTの有意な誘導を示す。図4Aは42日目に、すべての群(群B~H)について、B.1.1.7バリエーションを使用したVNTレベルの増加を示す。両方のワクチンバリエーションの同じ脚(群F及びG)又は異なる脚(群H)への同時送達は、42日目に両方のバリエーションに対する応答を生じることができる。図4Bは42日目に、すべての群(群B~H)についてB.1.1.28 P.1バリエーションを使用したVNTレベルの増加を示す。両方のワクチンバリエーションの同じ脚(群F及びG)又は異なる脚(群H)への同時送達は、42日目に両方のバリエーションに対する応答を生じることができる。

30

【図5-1】CV2CoV及びCV2CoV.351をワクチン接種した群について、14日目(図5A~D)及び21日目(図5E~H)の、有意なIgG1及びIgG2a結合抗体応答を示す。14日目、図5A(IgG1力価)及び5B(IgG2a力価)は、用量0.5 µg、2 µg、8 µg及び40 µgを使用して結合抗体力価の用量依存性レベルを示し、40 µg(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティング)を用いてワクチン接種した群において飽和に達した。14日目、図5C(IgG1力価)及び5D(IgG2a力価)は、用量0.5 µg、2 µg、8 µg及び40 µgを使用して結合抗体力価の用量依存性レベルを示し、40 µg(RBD B.1.351バリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)を用いてワクチン接種した群において飽和に達した。21日目、図5E(IgG1力価)及び5F(IgG2a力価)は、すべての量についてのCV2CoV.351ワクチン接種について結合抗体力価の用量依存性レベル並びに飽和IgG1力価及びIgG2a力価、並びにCV2CoV(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティング)について量> 8 µg(群I)での飽和を示す。21日目、図5G(IgG1力価)及び5H(IgG2a力価)は、すべての量について、CV2CoV.351を用いたワクチン接種の際の結合抗体力価の用量依存性レベル、並びに飽和IgG1及びIgG2a力価、並びにmRNAワクチンCV2CoV(RBD B.1.351バリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)について量> 8 µg(群I)での飽和を示す。

40

【図5-2】図5-1の続き。

【図5-3】図5-2の続き。

50

【図5-4】図5-3の続き。

【図6-1】14日目、21日目及び42日目に先祖SARS-CoV-2(CV2CoV、図6A、6C及び6E)又はB.1.351バリエーションSARS-CoV-2(CV2CoV.351、図6B、6D及び6F)を使用してCPEベースのアッセイにおいて評価したVNTの有意な誘導を示す。図6はまた、42日目にB.1.1.7バリエーションSARS-CoV-2(図6G)又はB.1.1.28 P.1バリエーション(図6H)を使用してCPEベースにおいて評価したVNTの有意な誘導を示す。図6Aは、B.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351が、すべての用量群において14日目に先祖SARS-CoV-2に対して用量依存性VNT(異種応答)を誘導することを示す。CV2CoVを用いたワクチン接種の際の応答(同種応答)と比較して、CV2CoV.351をワクチン接種した群におけるVNTは、14日目に約2分の1に減少する。図6Bは、CV2CoV.351が、すべての用量群において14日目にB.1.351 SARS-CoV-2(同種応答)に対して用量依存性VNTを誘導することを示す。CV2CoV.351ワクチン接種は、先祖ウイルスに対する異種VNTと比較して、14日目に45倍増加した同種ウイルスに対する高レベルのVNTを誘導した(すべての用量群の平均差)。CV2CoVを用いたワクチン接種と比較して、CV2CoV.351によって誘導されたVNTは、14日目に41倍増加した(すべての用量群の平均差)。図6Cは、B.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351が、すべての用量群において21日目に先祖SARS-CoV-2(異種応答)に対して用量依存性VNTを誘導することを示す。CV2CoV(同種応答)を用いたワクチン接種の際の応答と比較して、CV2CoV.351をワクチン接種した群におけるVNTは、21日目に約2分の1に減少する。図6Dは、CV2CoV.351が、すべての用量群において21日目に、B.1.351 SARS-CoV-2(同種応答)に対してわずかに用量依存性のVNTを誘導することを示す。CV2CoV.351ワクチン接種は、同種ウイルスに対して高レベルのVNTを誘導し、これは、先祖ウイルスに対する異種VNTと比較して、21日目に35倍増加した(すべての用量群の平均差)。CV2CoVを用いたワクチン接種と比較して、CV2CoV.351によって誘導されたVNTは、21日目に42倍増加した(すべての用量群の平均差)。図6Eは、B.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351が、すべての用量群において42日目に、先祖SARS-CoV-2(異種応答)に対して用量依存性VNTを誘導したことを示す。0.5 µgを用いたすべてのワクチン接種(群F)を除き、わずかに高い応答を、CV2CoV(同種応答)を用いたワクチン接種の際に示した。図6Fは、CV2CoV.351が、すべての用量群において42日目に、B.1.351 SARS-CoV-2(同種応答)に対して用量依存性VNTを誘導することを示す。CV2CoVを用いたワクチン接種と比較して、CV2CoV.351によって誘導されたVNTは、42日目に増加した。図6Gは、B.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351が、すべての用量群において42日目に、B.1.1.7バリエーションSARS-CoV-2(異種応答)に対して用量依存性VNTを誘導することを示す。0.5 µgを用いたワクチン接種(群F)を除き、群Hについての同様の応答を、CV2CoV(同種応答)を用いたワクチン接種の際に示した。図6Hは、CV2CoV.351が、すべての用量群において42日目に、B.1.1.28 P.1バリエーションSARS-CoV-2(同種応答)に対して用量依存性VNTを誘導することを示す。より低い応答を、CV2CoV(同種応答)を用いたワクチン接種の際に観察した。

【図6-2】図6-1の続き。

【図6-3】図6-2の続き。

【図6-4】図6-3の続き。

【図7-1】LNP中に製剤化した二価のmRNAワクチン組成物CV2CoV+CV2CoV.351を用いてワクチン接種した群についての、14日目(図7A~D)の有意なIgG1及びIgG2a結合抗体応答を示す。14日目に、図7A(IgG1力価)及び7B(IgG2a力価)は、用量0.5 µg、2 µg及び8 µg(SARS-CoV-2先祖受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティング)を使用して、用量依存性レベルの結合抗体力価を示す。14日目に、図7C(IgG1力価)及び7D(IgG2a力価)は、用量0.5 µg、2 µg及び8 µg(B.1.351 RBDバリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)を使用して、用量依存性レベルの結合抗体力価を示す。先祖SARS-CoV-2(図7E、7F及び7I)又はB.1.351バリエーションSARS-CoV-2(図7G、7H及び7J)を使用した、それぞれ、14日目、21日目及び42日目の、CPE

ベースのアッセイにおいて評価したVNTの有意な誘導を示す。図7K及び7Lはまた、42日目に、1.1.7バリエーションSARS-CoV-2(図7K)又はB.1.1.28 P.1バリエーション(図7L)を使用して、CPEベースのアッセイにおいて評価したVNTの有意な誘導を示す。

【図7-2】図7-1の続き。

【図7-3】図7-2の続き。

【図8A】先祖SARS-CoV-2(図8A)を使用して又はB.1.351バリエーションSARS-CoV-2(図8B)を使用して、CPEベースのアッセイにおいて評価したVNTを示す。CV2CoV又はB.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351を用いたブーストは、同種及び異種応答において、先祖SARS-CoV-2及びB.1.351バリエーションSARS-CoV-2に対する強いブースト能を示す。同種応答を、群B、D及びFについて図8Aに、群C、E及びGについて図8Bに示す。異種応答を、群C、E及びGについて図8Aに、群B、D及びFについて図8Bに示す。先祖SARS-CoV-2に対する、並びにSARS-CoV-2 B.1.1.7(アルファ)、B.1.351(ベータ)及びP.1(ガンマ)バリエーションに対するウイルス中和応答を、ブーストの14日後、119日目に試験した(図8C~8F)(先祖SARS-CoV-2(図8C)、SARS-CoV-2 B.1.351(図8D)、SARS-CoV-2 B.1.1.7(図8E)及びP.1(図8F)に対するVNT)。

【図8B】図8Aの続き。

【図8C】図8Bの続き。

【図8D】図8Cの続き。

【図8E】図8Dの続き。

【図8F】図8Eの続き。

【図9-1】すべての群について、14日目の先祖SARS-CoV-2 RBD(図9A)及びB.1.351 RBDバリエーションK417N、E484K、N501Y(図9B)に対する有意な総IgGスパイク結合抗体応答を示す。経時的な異なるSARS-CoV-2バリエーションに対するVNTの誘導を、図9C~F(図9C:先祖;図9D:B.1.1.7;図9E:B.1.351;図9F:P.1)に示す。図9G~Jは、細胞内サイトカイン染色アッセイを使用した、先祖SARS-CoV-2ペプチドライブラリーの混合物(図9G及びH)を用いて刺激した又はB.1.351 SARS-CoV-2ペプチドライブラリーの混合物(図9I及びJ)を用いて刺激したマウスにおけるCD8(図9G及び9I)並びにCD4(図9H及び9J)陽性T細胞の細胞免疫応答を示す。

【図9-2】図9-1の続き。

【図9-3】図9-2の続き。

【図9-4】図9-3の続き。

【図9-5】図9-4の続き。

【図10】細胞内サイトカイン染色アッセイを使用した、先祖SARS-CoV-2ペプチドライブラリーの混合物を用いて刺激したマウスにおけるCD8(図10B)及びCD4(図10A)陽性T細胞の細胞免疫応答を示す。

【図11-1】第一のワクチン接種の133日後までの経時的な、ラットにおけるCVnCoV又はCV2CoVを用いたプライム及びブーストワクチン接種並びに二価のCV2CoV+CV2CoV.351ワクチン組成物を用いた第三のワクチン接種の際のVNTを示す(図11A:先祖SARS-CoV-2に対するVNT、図11B:SARS-CoV-2 B.1.351に対するVNT)。119日目の強く高いVNTが、先祖及びB.1.351 SARS-CoV-2に対してばかりでなく、B.1.1.7及びP.1 SARS-CoV-2バリエーションに対しても誘導された(図11C:先祖、図11D:B.1.351、図11E:B.1.1.7、図11F:P.1)。

【図11-2】図11-1の続き。

【図12-1】ラットにおけるデルタバリエーションSARS-CoV-2 B.1.617.2の安定化したスパイク(S_{stab} pp)の異なるmRNAフォーマットをコードするワクチン組成物を用いたワクチン接種の際の抗体応答を示す(図12A及び12B:それぞれ、14日目及び42日目にデルタB.1.617.2バリエーションRBDに対するELISAを介して検出したスパイク結合抗体;図12C、12D、12E:それぞれ、14日目、21日目、及び42日目のSARS-CoV-2 B.1.617.2に対するVNT)。同種SARS-CoV-2バリエーション(B.1.617.2)に対してばかりでなく、異種SARS-CoV-2先祖並びにSARS-CoV-2バリエーションB.1.351及びP.1に対しても強い

10

20

30

40

50

VNTが誘導された(図12F:先祖、図G:B.1.351、図12H:P.1)。

【図12-2】図12-1の続き。

【図12-3】図12-2の続き。

【図13】ラットにおける異なるバリエーションSARS-CoV-2のS_{stab} ppをコードする異なるmRNA構築物をコードするワクチン組成物を用いたワクチン接種の際の14日目の初期抗体応答(総IgG)を示す。さらに、二価のアプローチは、化学的に修飾したmRNAを修飾していないmRNAと比較する(図13A:先祖RBD;図13B:デルタRBD(L452R、T478K);図13C:ベータRBD(K417N、E484K、N501Y))。

【図14-1】SARS-CoV-2バリエーションB.1.351又はSARS CoV-2バリエーションB.1.617.2のいずれかをマウスにチャレンジすることによる、ワクチン有効性を示す。チャレンジしたマウスの生存を、図14A:B.1.351を用いたチャレンジ及び図14B:B.1.617.2を用いたチャレンジ、に示す。平均パーセンテージ体重変化を、図14C:B.1.351を用いたチャレンジ及び図14D:B.1.617.2を用いたチャレンジ、に示す。唾液中のウイルスRNA量を、図14E:B.1.351チャレンジ群、及び図14F:B.1.617.2チャレンジ群に示す。上気道(URT)(甲介)中のウイルス量は、B.1.351チャレンジ群についての図14G及びB.1.617.2チャレンジ群についての図14Hを示し、下気道(LRT)(肺)中のウイルス量は、図14I(B.1.351を用いたチャレンジ)及びJ(B.1.617.2を用いたチャレンジ)に示す。脳中のウイルス量を、図14K~図Nに示す(小脳について図14K及びL、大脳について図14M及びN(チャレンジ群B.1.351について:図14K及びM、B.1.617.2について:図14L及びN))。抗RBD総免疫グロブリンの誘導を、図14O:チャレンジ群B.1.351及び図14P:チャレンジ群B.1.617.2に示し、VNTを、図14Q:チャレンジ後の群B.1.351、図14R:チャレンジ前の群B.1.617.2、及び図14S:チャレンジ後の群B.1.617.2に示す。

【図14-2】図14-1の続き。

【図14-3】図14-2の続き。

【図14-4】図14-3の続き。

【図14-5】図14-4の続き。

【図15-1】SARS-CoV-2バリエーションB.1.351をチャレンジしたハムスターにおけるワクチン有効性を示す。図15Aは、チャレンジ感染後の日数でのパーセンテージ体重変化を示す。唾液中のウイルスRNA量を図15Bに、肺組織中のウイルスRNA量を図15Cに示す。図15Dは、抗RBD総免疫グロブリン(Ig)の誘導を示し、図15Eは、VNTを示す。

【図15-2】図15-1の続き。

【図15-3】図15-2の続き。

【発明を実施するための形態】

【0011】

定義

明確かつ読みやすくするために、以下の定義が提供される。これらの定義について述べられている任意の技術的特色は、本発明のあらゆる実施形態で読み取ることができる。追加の定義及び説明は、これらの実施形態の文脈で具体的に提供され得る。

【0012】

数字の文脈でのパーセンテージは、それぞれの項目の総数に対する相対であると理解されるべきである。他の場合、文脈が別段示さない限り、パーセンテージは、重量パーセント(wt.-%)と理解されるべきである。

【0013】

約:用語「約」は、決定要因又は値が、同一である、すなわち、100%同じである必要がない場合、使用される。したがって、「約」は、決定要因又は値が、0.1%~20%、又は0.1%~10%、これらの範囲内の任意のポイント;例えば、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%を含む、離れ得ることを意味する。当業者は、例えば、ある特定のパラメーター又は決定要因は、パラメーターが決定される方法に基づき、わずかに変動し得ることを知っている。例えば

、ある特定の決定要因又は値が、例えば、「約1000ヌクレオチド」長を有すると本明細書で定義される場合、長さは、0.1%~20%、又は0.1%~10%、これらの範囲内の任意のポイント;例えば、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%を含む、離れ得る。したがって、当業者は、その特定の例では、長さは、1~200ヌクレオチド、若しくは1~100ヌクレオチド、特に、1、2、3、4、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200ヌクレオチド、又は範囲内の任意の整数値、離れ得ることを知っている。

【0014】

適応免疫応答:本明細書で使用される場合、用語「適応免疫応答」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、免疫系(適応免疫系)の抗原特異的応答を指すことが意図される。抗原特異性により、特定の病原体又は病原体が感染した細胞に合わせた応答が生じる。これらの合わせた応答を開始する能力は、通常、「メモリー細胞」(B細胞)によって体内で維持される。本発明の文脈では、抗原は、SARS-CoV-2、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株から誘導された少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードするRNAによってもたらされる。好ましくは、抗原は、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株から誘導されたスパイクタンパク質を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質から誘導された少なくとも1つの抗原性ペプチドをコードするRNAによってもたらされる。

【0015】

抗原:本明細書で使用される場合、用語「抗原」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、免疫系によって、好ましくは、適応免疫系によって認識され得、例えば、適応免疫応答の一部として抗体及び/又は抗原特異的T細胞の形成によって、抗原特異的免疫応答を誘発する能力がある物質を指すことが意図される。典型的には、抗原は、MHCによってT細胞に提示され得る、ペプチド又はタンパク質であってもよく、それを含んでもよい。また、例えば、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質(S)、例えば、限定するものではないが、少なくとも1つのエピトープを含むC.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.

4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株のスパイクタンパク質(S)から誘導されたペプチド又はタンパク質のフラグメント、バリエーション及び誘導体は、本発明の文脈で抗原として理解される。本発明の文脈では、抗原は、本明細書で特定される提供されるRNAの翻訳の産物であってもよい。

10

【0016】

抗原性ペプチド又はタンパク質:用語「抗原性ペプチド又はタンパク質」又は「免疫原性ペプチド又はタンパク質」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、体の適応免疫系を刺激して、適応免疫応答をもたらす、(抗原性又は免疫原性)タンパク質から誘導されるペプチド、タンパク質を指すことが意図される。したがって、抗原性/免疫原性ペプチド又はタンパク質は、(例えば、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質(S))から誘導される、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株由来のスパイクタンパク質(S)から誘導される、タンパク質の少なくとも1つのエピトープ又は抗原を含む。

20

【0017】

カチオン性:異なる意味が、特定の文脈から明らかでない限り、用語「カチオン性」は、それぞれの構造が、恒常的又は非恒常的のいずれかで、しかし、ある特定の条件、例えば、pHに応答して、正電荷を帯びることを意味する。したがって、用語「カチオン性」は、「恒常的なカチオン性」と「カチオン化可能」の両方をカバーする。

30

【0018】

カチオン化可能:本明細書で使用される場合、用語「カチオン化可能」は、化合物、又は基若しくは原子が、より低いpHで正に荷電され、その環境のより高いpHで荷電されないことを意味する。また、pH値を決定することができない非水性環境では、カチオン化可能な化合物、基又は原子は、高い水素イオン濃度で正に荷電され、低い濃度又は活性の水素イオンで荷電されない。それは、荷電されるか、又は荷電されていない、pH又は水素イオン濃度での、カチオン化可能又はポリカチオン化可能な化合物の個々の特性、特に、それぞれのカチオン化可能な基又は原子のpKaに依存する。希釈水性環境において、正電荷を帯びたカチオン化可能な化合物、基又は原子の割合は、当業者に周知である、いわゆる、ヘンダーソン・ハッセルバルヒ式を使用して推定され得る。例えば、一部の実施形態では、化合物又は部分が、カチオン化可能である場合、それは、約1~9、好ましくは、4~9、5~8又はさらに6~8のpH値で、より好ましくは、9以下、8以下、7以下のpH値で、最も好ましくは、生理学的pH値、例えば、約7.3~7.4、すなわち、生理学的条件下、特に、in vivoでの細胞の生理学的塩条件下で、正に荷電されることが好ましい。他の実施形態では、カチオン化可能な化合物又は部分は、生理学的pH値、例えば、約7.0~7.4で主に中性であるが、より低いpH値で正に荷電されることが好ましい。一部の実施形態では、カチオン化可能な化合物又は部分のpKaの好ましい範囲は、約5~約7であ

40

50

る。

【0019】

コード配列/コード領域:本明細書で使用される場合、用語「コード配列」又は「コード領域」及び対応する略語「c ds」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、ペプチド又はタンパク質に翻訳され得る、いくつかのヌクレオチドトリプレットの配列を指すことが意図される。本発明の文脈でのコード配列は、3で割ることができる数のヌクレオチドからなるRNA配列であってもよく、これは、開始コドンで始まり、好ましくは、終始コドンで終わる。

【0020】

から誘導される:核酸の文脈、すなわち、(別の)核酸「から誘導された」核酸について、本明細書全体で使用される場合、用語「から誘導される」は、(別の)核酸から誘導される核酸が、例えば、それが誘導される核酸と、少なくとも60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を共有することを意味する。当業者は、配列同一性が、典型的には、同じタイプの核酸、すなわち、DNA配列又はRNA配列について計算されることを理解している。したがって、DNAが、RNA「から誘導される」場合、又はRNAが、DNA「から誘導される」場合、第一の工程で、RNA配列は、対応するDNA配列に変換される(特に、配列全体でウラシル(U)をチミジン(T)で置き換えることによって)か、又は逆も真なりで、DNA配列は、対応するRNA配列に変換される(特に、配列全体でTをUで置き換えることによって)ことは、理解される。その後、DNA配列の配列同一性又はRNA配列の配列同一性が決定される。好ましくは、核酸「から誘導される」核酸はまた、それが、例えば、さらにもっと及び/若しくは長くRNA安定性を増加させる、並びに/又はタンパク質産生を増加させるために誘導される核酸と比較して修飾されている核酸を指す。アミノ酸配列(例えば、抗原性ペプチド又はタンパク質)の文脈では、用語「から誘導される」は、(別の)アミノ酸配列から誘導されるアミノ酸配列が、例えば、それが誘導されるアミノ酸配列と、少なくとも60%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を共有することを意味する。

【0021】

エピトープ:本明細書で使用される場合、用語「エピトープ」(当該技術分野で「抗原決定基」とも呼ばれる)は、当業者によって認識され、理解され、例えば、T細胞エピトープ及びB細胞エピトープを指すことが意図される。抗原性ペプチド又はタンパク質のT細胞エピトープ又は部分は、好ましくは、約6~約20以上のアミノ酸長を有するフラグメント、例えば、好ましくは、約8~約10アミノ酸長、例えば、8、9、又は10、(又はさらに11、又は12アミノ酸)長を有する、MHCクラスI分子によって処理され、提示されるフラグメント、或いは好ましくは、約13~約20以上のアミノ酸長を有する、MHCクラスI分子によって処理され提示されるフラグメントを含み得る。これらのフラグメントは、典型的には、ペプチドフラグメント及びMHC分子からなる複合体の形態で、T細胞によって認識され、すなわち、フラグメントは、典型的には、それらの天然の形態では認識されない。B細胞エピトープは、典型的には、好ましくは、5~15個のアミノ酸を有する、より好ましくは、5~12個のアミノ酸を有する、なおより好ましくは、6~9個のアミノ酸を有する、(天然の)タンパク質又はペプチド抗原の外表面に位置するフラグメントであり、すなわち、その天然の形態で抗体によって認識され得る。タンパク質又はペプチドのこのようなエピトープは、さらに、このようなタンパク質又はペプチドの本明細書で述べられるバリエーションのいずれかから選択されてもよい。この文脈では、エピトープは、本明細書において定義されるタンパク質又はペプチドのアミノ酸配列において不連続であるが、単一のポリペプチド鎖から構成される3次元構造又は連続又は直鎖のエピトープで一緒になってもたらされる、本明細書において定義されるタンパク質又はペプチドのセグメントから構成される立体構造又は不連続エピトープであることができる。

【0022】

フラグメント:核酸配列(例えば、RNA又はDNA)又はアミノ酸配列の文脈で本明細書全体で使用される場合、用語「フラグメント」は、典型的には、その意図される機能を依然として保持している、例えば、核酸配列又はアミノ酸配列の全長配列のより短い部分であってもよい。したがって、フラグメントは、典型的には、全長配列内の対応する区画と同一である配列からなる。本発明の文脈での配列の好ましいフラグメントは、実体の連続する区画、例えば、フラグメントが誘導される分子中の実体の連続する区画に対応するヌクレオチド又はアミノ酸からなり、これは、フラグメントが誘導される総(すなわち、全長)分子の少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%に相当する(例えば、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質(S)、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株のスパイクタンパク質(S))。タンパク質又はペプチドの文脈で本明細書全体で使用される場合、用語「フラグメント」は、典型的には、本明細書において定義されるタンパク質又はペプチドの配列を含んでもよく、そのアミノ酸配列に関して、オリジナルのタンパク質のアミノ酸配列と比較して、N末端及び/又はC末端で切断されている。したがって、このようなトランケーションは、アミノ酸レベル又は対応して核酸レベルのいずれかで生じ得る。したがって、本明細書において定義されるこのようなフラグメントに関する配列同一性は、好ましくは、本明細書において定義されるタンパク質若しくはペプチド全体、又はこのようなタンパク質若しくはペプチドの(コード)核酸分子全体を指し得る。タンパク質又はペプチドのフラグメントは、これらのタンパク質又はペプチドの少なくとも1つのエピトープを含んでもよい。

10

20

30

【0023】

異種:核酸配列又はアミノ酸配列の文脈で本明細書全体で使用される場合、用語「異種」又は「異種配列」は、別の遺伝子、別の対立遺伝子、又は例えば、別の種若しくはウイルスから誘導される配列と理解されなければならない配列(例えば、RNA、DNA、アミノ酸)を指す。2つの配列は、典型的には、それらが同じ遺伝子又は同じ対立遺伝子から誘導可能でない場合、「異種」であると理解される。すなわち、異種配列は、本質的に、同じ生物又はウイルスから誘導可能であり得るが、それらは、同じ核酸又はタンパク質で生じない。

【0024】

液性免疫応答:用語「液性免疫」又は「液性免疫応答」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、B細胞介在性抗体産生、場合により抗体産生に伴う副次的プロセスを指すことが意図される。液性免疫応答は、典型的には、例えば、Th2活性化及びサイトカイン産生、胚中心形成及びアイソタイプスイッチング、親和性成熟並びにメモリー細胞生成によって特徴付けられ得る。液性免疫はまた、抗体のエフェクター機能を指してもよく、病原体及び毒素中和、古典的補体活性化、並びに食作用及び病原体除去のオプソニン促進を含む。

40

【0025】

(配列の)同一性:核酸配列又はアミノ酸配列の文脈で本明細書全体で使用される場合、用語「同一性」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、2つの配列が、その完全/全体の長さにわたり、又はその特定の指定された部分、領域若しくはドメインにわた

50

り同一である、パーセンテージを指すことが意図される。例えば、その完全/全体の長さにわたり、又はその特定の指定された部分、領域若しくはドメインにわたり少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%の同一性が存在する。2つの配列、例えば、本明細書において定義される核酸配列又はアミノ酸(aa)配列、好ましくは、本明細書において定義される核酸配列によってコードされるaa配列又はaa配列自体が同一であるパーセンテージを決定するために、配列は、整列されて、その後、互いに比較され得る。したがって、例えば、第一の配列の位置は、第二の配列の対応する位置と比較されてもよい。第一の配列中の位置が、第二の配列中の位置での場合と同じ残基によって占められている場合、2つの配列は、この位置で同一である。そうではない場合、配列は、この位置で異なる。挿入が、第一の配列と比較して第二の配列で生じる場合、ギャップを第一の配列に挿入して、さらなる整列が可能になり得る。欠失が、第一の配列と比較して第二の配列で生じる場合、ギャップを第二の配列に挿入して、さらなる整列が可能になり得る。次いで、2つの配列が同一であるパーセンテージは、1つの配列においてのみ占められるそれらの位置を含む、位置の総数によって割った同一位置の数の関数である。2つの配列が同一であるパーセンテージは、アルゴリズム、例えば、BLASTプログラムに統合されたアルゴリズムを使用して決定することができる。

【0026】

免疫原、免疫原性:用語「免疫原」又は「免疫原性」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、免疫応答を刺激/誘導することができる化合物を指すことが意図される。好ましくは、免疫原は、ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質であってもよい。本発明の意味での免疫原は、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質から誘導されたタンパク質、例えば、限定するものではないが、本明細書において定義されるC.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、B.1.1.529_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株のスパイクタンパク質から誘導されたタンパク質である少なくとも1つの抗原性ペプチドをコードする少なくとも1つのコード配列を含む提供されるRNAの翻訳の産物である。典型的には、免疫原は、適応免疫応答を誘発する。

【0027】

免疫応答:用語「免疫応答」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、特定の抗原に対する適応免疫系の特異的な反応(いわゆる、特異的若しくは適応免疫応答)又は自然免疫系の非特異的反応(いわゆる、非特異的若しくは自然免疫応答)、或いはその組み合わせを指すことが意図される。好適なワクチンは、ワクチンが投与される正常な健康レシピエントにおいて効率的な免疫応答を誘導する。効率的な免疫応答を伴う、1回のワクチン接種は、ウイルス中和抗体力価をもたらす。さらに、又は代わりに、効率的な免疫応答は、適応免疫応答を誘発する。一部の実施形態では、効率的な免疫応答は、ワクチン接種されていない対照対象の中和抗体力価と比べて、少なくとも50%コロナウイルス感染を低減する。一部の実施形態では、効率的な免疫応答は、中和抗体力価及び/又はT細胞免疫応答が、ワクチン接種されていない対照対象の中和抗体力価と比べて、無症候性ウイルス感染の割合を低減するのに十分であるものである。効率的な免疫応答はまた、中和抗体力価及び/若しくはT細胞免疫応答が、対象におけるウイルス潜伏期を予防するのに十分であり、並びに/又は中和抗体力価が、ウイルスの対象の上皮細胞との融合を遮断するの

に十分であるものであってもよい。一部の実施形態では、効率的な免疫応答は、治療有効量の核酸、組成物、ポリペプチド、又はワクチンの対象への投与が、対象においてコロナウイルスに対するT細胞免疫応答を誘導するものである。好ましい実施形態では、T細胞免疫応答は、CD4+T細胞免疫応答及び/又はCD8+T細胞免疫応答を含む。さらなる態様では、効率的な免疫応答は、免疫応答が、少なくとも約6カ月間、重篤なCOVID-19疾患から対象を保護し、及び/又はワクチン接種されていない人と比較して、入院の頻度を低減するものである。効率的な免疫応答はまた、ウイルスが感染したワクチン接種されていない人からの伝播と比較して、ウイルスの伝播を低減し得る。効率的な免疫応答はまた、異種免疫応答に起因したバリエーションに対する一部の保護をもたらすものとみなされ得る。

【0028】

10

免疫系:用語「免疫系」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、感染から生物を保護し得る生物の系を指すことが意図される。病原体が、生物の物的障壁を越えるのに成功し、この生物に侵入する場合、自然免疫系が、即時だが、特異的でない応答をもたらす。病原体が、この自然応答を逃れる場合、脊椎動物は、防御の第二の層である適応免疫系を有する。ここで、免疫系は、感染中にその応答を適応させて、病原体のその認識を改善する。次いで、この改善された応答は、病原体が排除された後、免疫記憶の形態で保持され、適応免疫系が、この病原体が遭遇するそれぞれの時に、より迅速でより強い攻撃を開始するのを可能にする。これにより、免疫系は、自然及び適応免疫系を含む。これらの2つのパートのそれぞれは、典型的には、いわゆる、液性及び細胞成分を含有する。

【0029】

20

自然免疫系:用語「自然免疫系」(特異的でない、又は非特異的免疫系としても知られている)は、当業者によって認識され、理解され、例えば、典型的には、特異的でない様式で他の生物による感染から宿主を防御する細胞及び機序を含む系を指すことが意図される。これは、自然系の細胞が、一般的な方法で、病原体を認識し、応答し得るが、適応免疫系と異なり、それは、宿主に持続性又は防御的免疫を付与しないことを意味する。自然免疫系は、パターン認識受容体、例えば、Toll様受容体、NOD様受容体、又はRIG-I様受容体などのリガンドによって活性化され得る。

【0030】

リポイド化合物:リポイドとも称されるリポイド化合物は、脂質様化合物、すなわち、脂質様の物性を有する両親媒性化合物である。本発明の文脈では、脂質という用語は、リポイド化合物を包含するとみなされる。

30

【0031】

恒常的カチオン性:本明細書で使用される場合、用語「恒常的カチオン性」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、それぞれの化合物、又は基、又は原子は、その環境の任意のpH値又は水素イオン活性で正に荷電されることを意味する。典型的には、正電荷は、四級窒素原子の存在から生じる。化合物が、複数のこのような正電荷を有する場合、それは、恒常的ポリカチオン性と称され得る。

【0032】

RNA配列:用語「RNA配列」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、そのリボヌクレオチドの連続の特定及び個々の順序を指す。

40

【0033】

安定化されたRNA:用語「安定化されたRNA」は、このような修飾を有さないRNAと比較して、例えば、環境因子又は酵素消化による、例えば、エキソヌクレアーゼ又はエンドヌクレアーゼ分解による、崩壊又は分解により安定であるように、修飾されているRNAを指す。好ましくは、本発明の文脈での安定化されたRNAは、細胞、例えば、原核生物又は真核生物の細胞、好ましくは、哺乳類細胞、例えば、ヒト細胞において安定化される。安定化効果はまた、例えば、安定化されたRNAを含む組成物の保存のため、例えば、緩衝液などにおいて細胞の外側で発揮されてもよい。

【0034】

T細胞応答:本明細書で使用される場合、用語「細胞免疫」又は「細胞免疫応答」又は

50

「細胞性T細胞応答」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、マクロファージ、ナチュラルキラー細胞(NK)、抗原特異的細胞傷害性Tリンパ球の活性化、及び抗原に対する応答における様々なサイトカインの放出を指すことが意図される。より一般論としては、細胞免疫は、抗体に基づかないが、免疫系の細胞の活性化に基づく。典型的には、細胞免疫応答は、例えば、細胞、例えば、樹状細胞又は他の細胞などの特異的な免疫細胞においてアポトーシスを誘導することができる抗原特異的細胞傷害性Tリンパ球を活性化すること、それらの表面に外来抗原のエピトープを提示することによって、特徴付けられてもよい。

【0035】

UTR:用語「非翻訳領域」又は「UTR」又は「UTRエレメント」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、典型的には、コード配列の5'に位置するか、又は3'に位置する核酸分子の一部を指すことが意図される。UTRは、タンパク質に翻訳されない。UTRは、核酸、例えば、DNA又はRNAの一部であってもよい。UTRは、調節エレメントとも呼ばれる、遺伝子発現を制御するためのエレメントを含んでもよい。このような調節エレメントは、例えば、リボソーム結合部位、miRNA結合部位などであってもよい。

10

【0036】

3'UTR:用語「3'非翻訳領域」又は「3'UTR」又は「3'UTRエレメント」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、コード配列の3'(すなわち、下流)に位置し、タンパク質に翻訳されない核酸分子の一部を指すことが意図される。3'UTRは、コード配列と(任意の)ポリ(A)配列の間に位置するRNAの一部であってもよい。3'UTRは、調節エレメントとも呼ばれる、遺伝子発現を制御するためのエレメントを含んでもよい。このような調節エレメントは、例えば、リボソーム結合部位、miRNA結合部位などであってもよい。

20

【0037】

5'UTR:用語「5'非翻訳領域」又は「5'UTR」又は「5'UTRエレメント」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、コード配列の5'(すなわち、上流)に位置し、タンパク質に翻訳されない核酸分子の一部を指すことが意図される。5'UTRは、コード配列と(任意の)5'キャップの間に位置するRNAの一部であってもよい。5'UTRは、調節エレメントとも呼ばれる、遺伝子発現を制御するためのエレメントを含んでもよい。このような調節エレメントは、例えば、リボソーム結合部位、miRNA結合部位などであってもよい。

30

【0038】

(配列の)バリエーション:核酸配列の文脈で本明細書全体で使用される場合、用語「バリエーション」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、別の核酸配列から誘導される核酸配列のバリエーションを指すことが意図される。例えば、核酸配列のバリエーションは、バリエーションが誘導される核酸配列と比較して、1個以上のヌクレオチド欠失、挿入、付加及び/又は置換を示し得る。核酸配列のバリエーションは、バリエーションが誘導される核酸配列と少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%同一であってもよい。バリエーションは、それが誘導される配列の機能の少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%以上を保持していたという意味で、機能的バリエーションである。一実施形態では、核酸配列の「バリエーション」は、このような核酸配列の少なくとも10、20、30、50、75又は100個のヌクレオチドの区画にわたり、少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%のヌクレオチド同一性を有してもよい。

40

【0039】

タンパク質又はペプチドの文脈での本明細書全体で使用される場合、用語「バリエーション」は、例えば、1個以上の変異/置換、例えば、1個以上の置換、挿入及び/又は欠失され

50

たアミノ酸でオリジナルの配列と異なるアミノ酸配列を有するタンパク質又はペプチドバリエーションを指すことが意図される。例えば、一部の態様では、タンパク質配列中の挿入は、1~10個のアミノ酸、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10個の連続するアミノ酸の挿入を含む。好ましくは、これらのフラグメント及び/又はバリエーションは、同じ、又は同等の特異的な抗原特性(免疫原性バリエーション、抗原性バリエーション)を有してもよい。挿入及び置換は、特に、3次元構造に修飾を引き起こさないか、又は結合領域に影響しないその配列位置で可能である。挿入又は欠失による3次元構造への修飾は、例えば、CDスペクトル(円二色性スペクトル)を使用して容易に決定することができる。タンパク質又はペプチドの「バリエーション」は、少なくとも10、20、30、50、75若しくは100個のアミノ酸の区画にわたり、又はこのようなタンパク質若しくはペプチドの長さ全体にわたり、少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%のアミノ酸同一性を有してもよい。好ましくは、タンパク質のバリエーションは、タンパク質の機能的バリエーションを含んでもよく、それは、本発明の文脈で、バリエーションは、それが誘導されるタンパク質と本質的に同じ、又は少なくとも40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%以上の免疫原性を発揮することを意味する。

10

【0040】

発明の簡単な説明

本発明は、SARS-CoV-2バリエーションから誘導されたスパイクタンパク質をコードするRNAが、ヒト細胞において効率的に発現され、異なるSARS-CoV-2バリエーション、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株を広く中和する動物において抗体応答を誘導することができるという知見に一部基づく。さらに、異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質バリエーションをコードするRNAの混合物はまた、広範なSARS-CoV-2バリエーションに対する中和抗体を産生するのに有効であることが示されている。これらの知見は、新たなRNAベースのコロナウイルスワクチンの基礎をもたらす。

20

30

【0041】

本明細書に記載されるRNA配列、組成物、又はワクチンは、以下の有利な特色の少なくとも一部を有する。

- ・注射/ワクチン接種の部位(例えば、筋肉)でのRNAの翻訳
- ・非常に少ない投薬量及び投薬レジメンでのコードされるSARS-CoV-2タンパク質に対する抗原特異的免疫応答の非常に効率的な誘導
- ・乳児及び/又は新生児又は高齢者、特に、高齢者のワクチン接種の適合性
- ・筋肉内投与用の組成物/ワクチンの適合性
- ・SARS-CoV-2バリエーションに対する特異的かつ機能的な液性免疫応答の誘導
- ・SARS-CoV-2バリエーションに対する広範な機能的細胞性T細胞応答の誘導
- ・SARS-CoV-2バリエーションに対する特異的なB細胞メモリーの誘導
- ・SARS-CoV-2ウイルスバリエーションを有効に中和することができる機能的抗体の誘導
- ・オリジナルのSARS-CoV-2ウイルスも有効に中和することができる機能的抗体の誘導
- ・粘膜IgA抗体の誘導による粘膜IgA免疫の誘発

40

50

- ・ バランスのとれたB細胞及びT細胞応答の誘導
- ・ SARS-CoV-2バリエーションに対する防御的免疫の誘導
- ・ SARS-CoV-2バリエーションに対する免疫防御の早期開始
- ・ SARS-CoV-2バリエーションに対する誘導された免疫応答の長命
- ・ ワクチン接種又は免疫病理学的効果に起因したSARS-CoV-2感染の増強なし
- ・ RNAベースのSARS-CoV-2ワクチンによって引き起こされる抗体依存性増強(ADE)なし
- ・ ワクチン接種の際の望ましくない高い反応性を導き得る、ワクチン適用後の全身性サイトカイン又はケモカイン応答の過剰な誘導なし
- ・ ワクチンの十分な忍容性、副作用なし、無毒性
- ・ RNAベースのワクチンの有利な安定性特徴
- ・ SARS-CoV-2バリエーションワクチン産生の速度、適応性、単純さ及びスケーラビリティ
- ・ 十分な防御のため1又は2回のワクチン接種のみを必要とする有利なワクチン接種レジメン
- ・ 十分な防御のため低用量のワクチンのみを必要とする有利なワクチン接種レジメン
- ・ 多価ワクチンのためのRNAをもたらし異なる抗原の組み合わせを可能にする、十分な防御のための低用量の組成物/ワクチンのみを必要とする有利なワクチン接種レジメン
- ・ 好ましくは、SARS-CoV-2バリエーションに対するさらなる免疫応答を誘導する、SARS-CoV-2に対する既存の免疫のブースト能
- ・ 異なる株に曝露されたか、又は異なる株に対するワクチンでワクチン接種された対象における異なるSARS-CoV-2株特異的免疫応答の誘導
- ・ 様々なSARS-CoV-2バリエーションにわたる広範な免疫応答の誘導

10

20

30

40

50

【0042】

第一の態様では、本発明は、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードするRNAを提供し、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;R158;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;W258;T19;V126;H245;S12;A899;G142;E156;K558;及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含み、RNAは、少なくとも1つの異種非翻訳領域を含む。ある特定の実施形態では、RNAは、SARS-CoV-2バリエーションスパイクタンパク質(例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2株由来)の位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードする。

【0043】

第二の態様では、本発明は、第一の態様の少なくとも1つのRNAを含む、組成物、好ま

しくは、免疫原性組成物を提供する。好適には、組成物は、脂質ベースの担体、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された第一の態様の少なくとも1つのRNAを含む。好ましい実施形態では、第二の態様は、多価組成物、例えば、異なるアミノ酸コード配列(例えば、1つより多くのSARS-CoV-2バリエーション株、例えば、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含む1つより多くのSARS-CoV-2株由来のスパイクタンパク質を含む、1つより多くのSARS-CoV-2株由来のスパイクタンパク質)を有するSARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNAを含む、組成物に関する。

10

20

30

40

50

【0044】

第三の態様では、本発明は、SARS-CoV-2バリエーションワクチンを提供し、ワクチンは、第一の態様の少なくとも1つのRNA、又は第二の態様の少なくとも1つの組成物を含む。好ましい実施形態では、第二の態様は、多価SARS-CoV-2ワクチンに関する。好ましい実施形態では、第三の態様は、SARS-CoV-2バリエーションブースターワクチンに関する。SARS-CoV-2バリエーションブースターワクチンは、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含む1つ以上のSARS-CoV-2株用のものであってもよい。

【0045】

第四の態様では、本発明は、第一の態様の少なくとも1つのRNA、及び/又は第二の態様の少なくとも1つの組成物、及び/又は第三の態様の少なくとも1つのSARS-CoV-2バリエーションワクチンを含む、キット又はパーツのキット(kit of parts)を提供する。

【0046】

第五の態様では、本発明は、少なくとも2つの別々の成分を含む組み合わせを提供し、少なくとも2つの別々の成分は、第一の態様のRNA種、及び/又は第二の態様の組成物、及び/又は第三の態様のSARS-CoV-2バリエーションワクチンそれぞれであり、すなわち、それぞれの成分は、異なるSARS-CoV-2を対象とするRNA種、組成物及び/又はSARS-CoV-2バリエーションワクチンであり、前記2つの別々の成分は、それぞれ、限定するものではないが、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ

、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)を含むSARS-CoV-2バリエントを対象としていてもよい。

【0047】

本発明のさらなる態様は、対象におけるSARS-CoV-2感染を処置又は予防する方法、並びに核酸、組成物、及びワクチンの第一及び第二の医学的使用に関する。核酸、組成物、又はワクチンを製造する方法もまた提供される。

【0048】

発明の詳細な説明

本出願は、本出願の説明の一部である、電氣的フォーマットの配列表と一緒に出願されている(WIPO標準ST.25)。配列表に含まれる情報は、その全体が参照により本明細書に取り込まれる。本明細書において「配列番号」に言及する場合、それぞれの識別子を有する配列表中の対応する核酸配列又はアミノ酸(aa)配列を言及する。多くの配列について、配列表はまた、例えば、ある特定の構造特色、配列最適化、GenBank(NCBI)若しくはGISAID(epi)識別子に関するさらなる詳細な情報、又はそのコード能力に関するさらなる詳細な情報を提供する。特に、このような情報は、WIPO標準ST.25配列表中の数値識別子〈223〉下に提供される。したがって、前記数値識別子〈223〉下に提供される情報は、その全体が本明細書に明示的に含まれ、根本的な本発明の説明の不可欠な部分として理解されなければならない。

【0049】

SARS-CoV-2バリエントワクチンに適したRNA:

第一の態様では、本発明は、SARS-CoV-2バリエントワクチンに適したRNAに関する。

【0050】

本発明の第一の態様、すなわち、本発明のRNAの文脈で記載される特定の特色及び実施形態は、第二の態様(本発明の組成物)、第三の態様(本発明のワクチン)、第四の態様(本発明のキット若しくはパーツのキット)、第五の態様(本発明の組み合わせ)、又は医学的使用及び処置方法を含むさらなる態様に同様に適用可能であることは、留意すべきである。

【0051】

第一の態様のRNAは、RNAベースの組成物又はワクチンの基礎を形成する。一般的に、タンパク質ベースのワクチン、又は弱毒生ワクチンは、それらの高い生産コストに起因して、開発途上国での使用に最適以下である。さらに、タンパク質ベースのワクチン、又は弱毒生ワクチンは、長い開発時間を必要とし、パンデミックウイルス大流行、例えば、2019/2020年のSARS-CoV-2大流行の迅速な応答に適していない。対照的に、本発明によるRNAベースのワクチンは、非常に迅速かつコスト効率の高い生産を可能にする。したがって、公知のワクチンと比較して、本発明のRNAに基づくワクチンは、大幅により安くかつより迅速に生産することができ、これは、特に、開発途上国での使用に非常に有利である。RNAに基づくワクチンの1つのさらなる利点は、タンパク質又はペプチドベースのワクチンと比較した、その温度安定性であり得る。

【0052】

特に好ましい実施形態では、本発明の第一の態様は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエント由来の少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAに関し、RNAは、少なくとも1つの異種非翻訳領域(UTR)を含み、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、SARS-CoV-2バリエント及び場合により、SARS-Co-2株の安定化変異から選択される少なくとも1個のアミノ酸置換を含む。

【0053】

用語「SARS-CoV-2スパイクタンパク質由来の抗原性ペプチド又はタンパク質」は、本明細書において、(i)SARS-CoV-2バリエントタンパク質(若しくはそのフラグメント)

と同一である抗原性ペプチド又はタンパク質(若しくはそのフラグメント)のアミノ酸配列を有するSARS-CoV-2スパイクタンパク質である抗原、或いは(ii)対応するSARS-CoV-2バリエーションタンパク質(若しくはそのフラグメント)と同一でない抗原性ペプチド又はタンパク質(若しくはそのフラグメント)のアミノ酸配列を有するSARS-CoV-2スパイクタンパク質から誘導される抗原を意味する。例えば、それぞれのSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、SARS-CoV-2バリエーション及び/又は少なくとも1つの融合前の安定化変異から選択される少なくとも1個のアミノ酸置換、挿入又は欠失を含んでもよい。

【0054】

用語「免疫原性フラグメント」又は「免疫原性バリエーション」は、本明細書において、対象において免疫応答を生じさせる能力がある対応するSARS-CoV-2抗原の任意のフラグメント/バリエーションを意味する。好ましくは、第一の態様のRNAの筋肉内又は皮内投与は、対象においてコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質の発現をもたらす。

10

【0055】

本明細書で使用される場合、用語「発現」は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の産生を指し、前記SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、第一の態様のRNAのコード配列によって提供される。例えば、RNAの「発現」は、SARS-CoV-2コロナウイルスであるか、又はSARS-CoV-2コロナウイルスから誘導される、RNAのポリペプチド、例えば、ペプチド又はタンパク質への翻訳を介したタンパク質(例えば、前記RNAの細胞又は対象への投与後)の産生を指す。用語「発現」及び用語「産生」は、本明細書において互換的に使用され得る。さらに、用語「発現」は、好ましくは、RNAの細胞又は生物への投与の際のある特定のペプチド又はタンパク質の産生に関する。

20

【0056】

好ましい実施形態では、本発明のRNAは、SARS-CoV-2バリエーションワクチンに適している。

【0057】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、頭部(S1)及び幹(S2)からなるそれぞれのモノマーとともに、ウイルス表面に三量体として存在するI型ウイルス融合タンパク質である。個々の前駆体Sポリペプチドは、ホモ三量体を形成し、ゴルジ体内でのグリコシル化並びにシグナルペプチドを除去するための処理を受け、細胞タンパク質分解酵素によって切断されて、別々のS1及びS2ポリペプチド鎖を生じ、ホモ三量体内のS1/S2プロモーターとして会合したままであり、したがって、ヘテロ二量体の三量体である。スパイク糖タンパク質のS1ドメインは、アンギオテンシン変換酵素2受容体と係合し(最も可能性が高い)、宿主細胞へのウイルス融合を介在する受容体結合ドメイン(RBD)、標的細胞と最初に接触し得るN末端ドメイン、及び2つのサブドメインを含み、そのすべてが、中和抗体に感受性である。S2ドメインは、宿主エンドソーム膜との膜融合に関与する6つのヘリックス束融合コアからなり、中和の標的でもある。S2サブユニットは、2つの7アミノ酸繰り返し配列(HR1及びHR2)並びに融合糖タンパク質に典型的な中心ヘリックス、膜貫通型ドメイン、並びにサイトゾル側末端ドメインをさらに含む。

30

【0058】

本発明の文脈では、SARS-CoV-2バリエーションから選択されるか、又は誘導され、配列番号1と比較した場合、少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、任意のスパイクタンパク質が、使用されてもよく、第一の態様のコード配列又はRNAによって適当にコードされてもよい。さらに、少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質が、合成的に作出された、又は人工SARS-CoV-2スパイクタンパク質を含むか、又はそれからなり得ることは、根本的な本発明の範囲内にある。用語「合成的に作出された」SARS-CoV-2スパイクタンパク質、又は用語「人工SARS-CoV-2スパイクタンパク質」又は用語「組換え」SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、天然で生じないタンパク質に関する。したがって、「人工SARS-CoV-2スパイクタンパク質」又は「合成的に作出されたSARS-CoV-2スパイクタンパク質」又は用語「組換え」SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、例えば、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質と比較して、少なくとも

40

50

1つのアミノ酸が異なってもよく(例えば、天然に存在するSARS-CoV-2スパイクタンパク質と比較して、1つ以上の異種/導入されたアミノ酸を含む)、及び/又はさらなる異種ペプチド若しくはタンパク質エレメントを含んでもよく、及び/又はN末端若しくはC末端で伸長若しくは切断されていてもよい。

【0059】

以下で、本発明のRNAによってもたらされる好ましい抗原性ペプチド又はタンパク質配列が、詳細に記載される。

【0060】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質(S)におけるアミノ酸(aa)残基及びそれらの位置に言及する場合、本明細書で使用される任意のナンバリングは、別段指定されない限り、配列番号1によるオリジナルのSARS-CoV-2コロナウイルス分離株EPI_ISL_402128の対応するスパイクタンパク質(S)におけるそれぞれのアミノ酸残基の位置に関することに注意されるべきである。それぞれのアミノ酸位置は、本開示全体で、オリジナルのSARS-CoV-2コロナウイルス分離株EPI_ISL_402128(配列番号1)のスパイクタンパク質(S)について例示的に示される。

【0061】

本明細書で使用される場合、タンパク質アノテーションは、参照タンパク質としての配列番号1に関する。オリジナルのSARS-CoV-2コロナウイルス参照タンパク質の全長スパイクタンパク質(S)は、1273個のアミノ酸残基を有し、以下のエレメントを含む。

- 分泌型シグナルペプチド：アミノ酸位置aa1～aa15(配列番号28を参照)
- スパイクタンパク質フラグメントS1：アミノ酸位置aa1～aa681(配列番号27を参照)
- S1-N末端ドメイン(S1-NTD)：アミノ酸位置aa13～aa303(配列番号26992を参照)
- 受容体結合ドメイン(RBD)：アミノ酸位置aa319～aa541(配列番号13243を参照)
- 重要な中和ドメイン(CND)：アミノ酸位置aa329～aa529(配列番号13310を参照)
- スパイクタンパク質フラグメントS2：アミノ酸位置aa682～aa1273(配列番号30を参照)
- 膜貫通型ドメイン(TM)：アミノ酸位置aa1212～aa1273(配列番号49を参照)
- 膜貫通型ドメイン(TMflex)：アミノ酸位置aa1148～aa1273(配列番号13176を参照)
- フューリン切断部位領域(S1/S2)：アミノ酸位置aa681～aa685(配列番号26994を参照)

【0062】

アミノ酸レベルの変動は、異なるSARS-CoV-2分離株又はSARS-CoV-2バリエーションから誘導されるスパイクタンパク質間で天然に生じることは、注意されるべきである。本発明の文脈では、このようなアミノ酸変動は、本明細書に記載されるスパイクタンパク質から誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質に適用することができる。好適には、アミノ酸変動又は変異は、1)置換/変異が誘導されたSARS-CoV-2ウイルスバリエーションに対する免疫応答を誘導するような、及び/又は(2)免疫応答を誘導するのに望ましい抗原性ペプチド若しくはタンパク質(例えば、スパイクタンパク質から誘導され、融合前の形態である抗原性ペプチド若しくはタンパク質)を産生するような方法で選択される。

【0063】

したがって、特に好ましい実施形態では、本発明のRNAは、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含み、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、SARS-CoV-2バリエーションから選択される少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失、又は挿入を含む。

【0064】

その文脈で、用語「SARS-CoV-2バリエーションから選択される少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失、又は挿入」は、本明細書において、オリジナルのSARS-CoV-2スパイクタンパク質(配列番号1の参照株による)と異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(若し

くはそのフラグメント)における少なくとも1つのアミノ酸位置を意味する。

【0065】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2バリエーションは、以下のSARS-CoV-2系統:C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)から選択されるか、又は誘導される。

【0066】

特に好ましい実施形態では、SARS-CoV-2バリエーションは、以下のSARS-CoV-2系統:B.1.351(南アフリカ)、P.1(ブラジル)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)から選択されるか、又は誘導される。

【0067】

したがって、本明細書において提供され、本発明の文脈で好適な抗原として企図されるそれぞれのスパイクタンパク質は、リスト1において提供される以下のアミノ酸変動又は変異(参照配列番号1によるアミノ酸位置)のうちの1個以上を有してもよい。以下で提供される変動又は変異は、新たに出現したSARS-CoV-2ウイルスバリエーションから誘導され、本発明のRNAによってコードされるスパイクタンパク質に組み込まれてもよい。

【0068】

リスト1A:置換、欠失及び/又は挿入のアミノ酸位置

H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;R158;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;W258;T19;V126;H245;S12;A899;G142;E156;K558;G339;P9;C136;Y449;L24;P25;P26;A27;V213;S371;T376;D405;A701;I210;D936;S939;R357;R682;R683;A684;R685;V143;Y144;Y145;N211;L212;R214;E241;G339;S371;S373;S375;N440;G496;Q498;Y505;T547;D614;N679;P681;N764;D796;N856;Q954;N969;L981又はQ52(配列番号1の配列に対する)。

【0069】

リスト1B:アミノ酸置換、欠失又は挿入

H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L4

52R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;V1176F;T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;F157del;R158del;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;W258L;V70F;T19R;T19I;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N;P9L;C136F;Y449H;L24del;P25del;P26del;A27S;V213G;S371F;T376A;D405N;D253N;Y144S;I210T;D936N;S939F;W152L;T20I;R357K;D796H;Y145H;R682del;R683del;A684del;R685del;A701V;V143del;Y144del;Y145del;Y145N;N211del;L212del;L212I;ins214EPE;E241del;G339D;S371L;S373P;S375F;N440K;G496S;Q498R;Y505H;T547K;D614G;N679K;P681H;N764K;D796Y;N856K;Q954H;N969K;L981F又はQ52R(配列番号1の配列に対する)。

10

20

30

40

50

【0070】

好ましい実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;R158;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;W258;T19;V126;H245;S12;A899;G142;E156;K558;及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含み、RNAは、少なくとも1つの異種非翻訳領域を含む。ある特定の態様では、RNAは、配列番号268の配列を含む3'UTRを含まない。ある特定の態様では、RNAは、配列番号268の配列を含む3'UTRを含む。

【0071】

特に好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;V1176F;T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;F157del;R158del;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N;及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくと

も1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。

【0072】

ある特定の実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;及び/又はQ506に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;及び/又はQ506Hに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。

10

【0073】

さらなる実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;又はV1176に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;及び/又はV1176Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。

20

30

40

【0074】

さらなる好ましい実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してT859;R246;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;F157;R158;W258;T119;H245;S12;A899;G142;E156;K558及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してT859N;S247del;Y248de

50

l;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;F157del;R158del;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。

【0075】

またさらなる実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してD614;H49;V367;P1263;V483;S939;S943;L5;L8;S940;C1254;Q239;M153;V1040;A845;Y145;A831;及び/又はM1229に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してD614G;H49Y;V367F;P1263L;V483A;S939F;S943P;L5F;L8V;S940F;C1254F;Q239K;M153T;V1040F;A845S;Y145H;A831V;及び/又はM1229Iに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。

【0076】

またさらなる実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してH69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換又は欠失を含む。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;V1176F;T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;F157del;R158del;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;R346K;R346S;V126A;H245Y;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N;及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換又は欠失を含む。

【0077】

好ましい実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してT19I;L24del;P25del;P26del;A27S;A67V;H69del;V70del;T95I;G142D;V143del;Y144del;Y145del;N211del;L212I;V213G;ins214EPE;G339D;S371L;S371F;S373P;S375F;T376A;D405N;K417N;N440K;G446S;S477N;T478K;E484A;Q493R;G496S;Q498R;N501Y;Y505H;T547K;D614G;H655Y;N679K;P681H;A701V;N764K;D796Y;N856K;Q954H;N969K;L981Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列に対してT19I;L24del;P25del;P26del;A27S;A67V;H69del;V70del;T95I;G142D;V143del;Y144del;Y145del;N211del;L212I;V213G;ins214EPE;G339D;S371L;S371F;S373P;S375F;T376A;D405N;K417N;N440K;G446S;S477N;T478K;E484A;Q493R;G496S;Q498R;N501Y;Y505H;T547K;D614G;H655Y;N679K;P681H;A701V;N764K;D796Y;N856K;Q954H;N969K;L981Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号10のアミノ酸配列と90%同一であり、配列番号1の配列に対してT19I;L24del;P25del;P26del;A27S;A67V;H69del;V70del;T95I;G142D;V143del;Y144del;Y145del;N211del;L212I;V213G;ins214EPE;G339D;S371L;S371F;S373P;S375F;T376A;D405N;K417N;N440K;G446S;S477N;T478K;E484A;Q493R;G496S;Q498R;N501Y;Y505H;T547K;D614G;H655Y;N679K;P681H;A701V;N764K;D796Y;N856K;Q954H;N969K;L981Fからなる群から選択されるアミノ酸置換、欠失又は挿入のうちの少なくとも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又は40個を含む。

10

20

【0078】

なおさらなる実施形態では、少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメントをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAが提供され、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K及びL981Fに対応する少なくとも1個のアミノ酸置換、挿入又は欠失を含む。

30

【0079】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、RBDドメイン(アミノ酸位置aa319～aa541;参照配列番号1によるアミノ酸位置)又はCNDドメイン(アミノ酸位置aa329～aa529;参照配列番号1によるアミノ酸位置)に位置する位置におけるアミノ酸置換を含む。理論に束縛されることを望むものではなく、CNDドメインにおけるアミノ酸置換又は変異は、新たに出現したSARS-CoV-2バリエーションが、第一世代のワクチン(オリジナルのSARS-CoV-2株に対して設計された)を用いてワクチン接種された対象において誘導されるか、又はオリジナルのSARS-CoV-2株の感染後の対象において誘導される、いくつかのタイプの抗体の抗体検出を逃れるのを助け得る。

40

【0080】

したがって、好ましい実施形態では、本発明の第一の態様は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーション由来の少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAに関し、RNAは、少なくとも1つの異種非翻訳領域(UTR)を含み、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、RBDドメイン(アミノ酸位置aa319～aa541;参照配列番号1によるアミノ酸位置)又はCNDドメイン(アミノ酸位置aa329～aa529、参照配列番号1によるア

50

ミノ酸位置)に位置する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換を含む。

【0081】

ある特定の好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、以下の位置：R346;V367、P384;R403;K417;N437;N439;V445;G446;G447;N450;L452;Y453;L455;F456;A475;G476;S477;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;G502;V503;G504;Y505;Q506;A522(参照配列番号1によるアミノ酸位置)の少なくとも1つにおいてアミノ酸置換、挿入又は欠失を含む。

【0082】

したがって、ある特定の好ましい実施形態では、本発明の第一の態様は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーション由来の少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAに関し、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、K417;L452;T478;E484;N501及び/又はP681(参照配列番号1によるアミノ酸位置)から選択される位置において少なくとも1個のアミノ酸置換を含み、RNAは、少なくとも1つの異種非翻訳領域(UTR)を含む。

【0083】

理論に束縛されることを望むものではなく、位置E484におけるアミノ酸置換は、SARS-CoV-2ウイルスバリエーションが、第一世代のワクチン(オリジナルのSARS-CoV-2株に対して設計された)を用いてワクチン接種された対象において誘導されるか、又はオリジナルのSARS-CoV-2株の感染後の対象において誘導される、いくつかのタイプの抗体の抗体検出を逃れるのを助け得る。N501における変異/置換は、コロナウイルススパイクの頂上近くで生じ、ここで、それは、タンパク質の形状を変更させ得、いくつかのタイプのコロナウイルス抗体を逃れるのを助け得る。このようなSARS-CoV-2は、本発明全体でSARS-CoV-2 E484バリエーションと呼ばれ、例えば、SARS-CoV-2 B.1.351(南アフリカ)、SARS-CoV-2 B.1.617(インド)、P.1(ブラジル)又はB.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)を含む。

【0084】

したがって、一部の実施形態では、本発明のRNAが、ウイルスSARS-CoV-2 E484バリエーションに対する効率的な免疫応答の誘導を可能にするための位置E484における置換を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質を提供することは、有利であり得る。

【0085】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置E484におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸E484は、K、P、Q、A、又はD(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、E484K、E484P、E484Q、E484A、E484Dアミノ酸置換を含む。

【0086】

特に好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置E484におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸E484は、K又はQ(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、E484K又はE484Qアミノ酸置換を含む。ある特定の好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、E484Kアミノ酸置換を含む。

【0087】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置N501におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸N501は、異なるアミノ酸で置換されている(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

【0088】

10

20

30

40

50

理論に束縛されることを望むものではなく、位置N501におけるアミノ酸置換は、SARS-CoV-2ウイルスバリエーションが、第一世代のワクチン(オリジナルのSARS-CoV-2株に対して設計された)を用いてワクチン接種された対象において誘導されるか、又はオリジナルのSARS-CoV-2株の感染後の対象において誘導される、いくつかのタイプの抗体の抗体検出を逃れるのを助け得る。N501における変異/置換は、コロナウイルススパイクの頂上近くで生じ、ここで、それは、タンパク質の形状を変更させ得、いくつかのタイプのコロナウイルス抗体を逃れるのを助け得る。このようなSARS-CoV-2は、本発明全体でSARS-CoV-2 N501バリエーションと呼ばれ、例えば、SARS-CoV-2 B.1.351(南アフリカ)、SARS-CoV-2 B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、又はB.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)を含む。

10

【0089】

したがって、本発明のRNAが、ウイルスSARS-CoV-2 N501バリエーションに対する効率的な免疫応答の誘導を可能にするための、位置N501における置換を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質を提供することは、有利であり得る。

【0090】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置N501においてアミノ酸置換を含み、アミノ酸N501は、Y、T、S(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、N501Y、N501T、N501Sアミノ酸置換を含む。

20

【0091】

特に好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置N501におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸N501は、Y(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、N501Yアミノ酸置換を含む。

【0092】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置K417におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸K417は、異なるアミノ酸で置換されている(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

30

【0093】

理論に束縛されることを望むものではなく、位置K417におけるアミノ酸置換は、SARS-CoV-2ウイルスバリエーションが、配列番号1を使用してオリジナルのSARS-CoV-2株に対して設計されたワクチンを用いてワクチン接種された対象において誘導されるか、又は配列番号1を含むオリジナルのSARS-CoV-2株の感染後の対象において誘導される、いくつかのタイプの抗体の抗体検出を逃れるのを助け得る。K417における変異/置換は、コロナウイルススパイクの頂上近くで生じ、ここで、それは、タンパク質の形状を変更させ得、いくつかのタイプのコロナウイルス抗体を逃れるのを助け得る。このようなSARS-CoV-2は、本発明全体でSARS-CoV-2 K417バリエーションと呼ばれ、例えば、SARS-CoV-2 B.1.351(南アフリカ)、SARS-CoV-2 B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、AY.1/AY.2又はB.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)を含む。

40

【0094】

したがって、本発明のRNAが、ウイルスSARS-CoV-2 K417バリエーションに対する効率的な免疫応答の誘導を可能にするための、位置K417における置換を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質を提供することは、有利であり得る。

【0095】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置K417におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸N501は、S、T、Q又はN(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか

50

、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、K417S、K417T、K417Q又はK417Nアミノ酸置換を含む。

【0096】

特に好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置N501におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸K417は、T又はN(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、K417T又はK417Nアミノ酸置換を含む。ある特定の好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、K417Nアミノ酸置換を含む。

10

【0097】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置L452におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸L452は、異なるアミノ酸(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。

【0098】

理論に束縛されることを望むものではなく、位置L452におけるアミノ酸置換は、SARS-CoV-2ウイルスバリエーションが、配列番号1に基づくオリジナルのSARS-CoV-2株に対して設計されたワクチンを用いてワクチン接種された対象において誘導されるか、又は配列番号1を有するオリジナルのSARS-CoV-2株の感染後の対象において誘導される、いくつかのタイプの抗体の抗体検出を逃れるのを助け得る。L452における変異/置換は、コロナウイルススパイクの頂上近くで生じ、ここで、それは、タンパク質の形状を変更させ得、いくつかのタイプのコロナウイルス抗体を逃れるのを助け得る。このようなSARS-CoV-2は、本発明全体でSARS-CoV-2 L452バリエーションと呼ばれ、例えば、SARS-CoV-2 B.1.617.1(インド)、SARS-CoV-2 B.1.617.2(インド)、又はSARS-CoV-2 B.1.617.3(インド)を含む。

20

【0099】

したがって、本発明のRNAが、ウイルスSARS-CoV-2 L452バリエーションに対する効率的な免疫応答の誘導を可能にするための、位置L452における置換を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質を提供することは、有利であり得る。

【0100】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置L452におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸L452は、R又はQ(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、L452R又はL452Qアミノ酸置換を含む。

30

【0101】

特に好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置L452におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸L452は、R(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、L452Rアミノ酸置換を含む。

【0102】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、フューリン切断部位に位置する位置(アミノ酸位置aa681~685;参照配列番号1によるアミノ酸位置)においてアミノ酸置換を含む。この配列区画(配列番号1におけるPRRAR)は、フューリン切断のための認識部位として働くと考えられている。理論に束縛されることを望むものではなく、フューリン切断部位におけるアミノ酸置換又は変異は、新たに出現したSARS-CoV-2バリエーションが、増加した膜融合を有し、したがって、増加した感染力を引き起こすことを助け得る。

40

【0103】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、フューリン切断部位における位置P681においてアミノ酸置換を含む。好適には、アミノ酸P681は、異なるア

50

ミノ酸(参照配列番号1によるアミノ酸位置)、好ましくは、フューリン切断を改善するアミノ酸で置換されている。このようなSARS-CoV-2は、本発明全体でSARS-CoV-2 P681バリエーションと呼ばれ、例えば、SARS-CoV-2 B.1.617.1(インド)、SARS-CoV-2 B.1.617.2(インド)、又はSARS-CoV-2 B.1.617.3(インド)、SARS-CoV-2 B.1.1.7(英国)、SARS-CoV-2 A.23.1(ウガンダ)、又はB.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)を含む。

【0104】

したがって、本発明のRNAが、ウイルスSARS-CoV-2 P681バリエーションに対する効率的な免疫応答の誘導を可能にするための、位置P681における置換を含むSARS-CoV-2スパイクタンパク質を提供することは、有利であり得る。

10

【0105】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置P681におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸P681は、R又はH(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、P681R又はP681Hアミノ酸置換を含む。

【0106】

特に好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、位置P681におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸P681は、R(参照配列番号1によるアミノ酸位置)で置換されている。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質は、P681Rアミノ酸置換を含む。

20

【0107】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、本明細書において定義される位置L452におけるアミノ酸置換、好ましくは、L452R、及び本明細書において定義される位置P681におけるアミノ酸置換、好ましくは、P681Rを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

【0108】

別の特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、本明細書において定義される位置L452におけるアミノ酸置換、好ましくは、L452R、及び本明細書において定義される位置P681におけるアミノ酸置換、好ましくは、P681Rを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。さらに好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、本明細書において定義される位置L452におけるアミノ酸置換、好ましくは、L452R、本明細書において定義される位置P681におけるアミノ酸置換、好ましくは、P681R、及び本明細書において定義される位置D614における、好ましくは、D614Gを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

30

【0109】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、本明細書において定義される位置N501におけるアミノ酸置換、好ましくは、N501Y、及び本明細書において定義される位置E484におけるアミノ酸置換、好ましくは、E484Kを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

40

【0110】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、本明細書において定義される位置L452におけるアミノ酸置換、好ましくは、L452R、及び本明細書において定義される位置E484におけるアミノ酸置換、好ましくは、E484Qを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

【0111】

好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、上で定義された置換(位置E484、N501、L452及び場合により、P681における)に加えて、リスト1A又はリスト1Bから選択される少なくとも1個、特に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個

50

のさらなるアミノ酸置換、挿入又は欠失を含む。

【0112】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、本明細書において定義される位置H69におけるアミノ酸置換又は欠失、好ましくは、H69del、及び本明細書において定義される位置V70におけるアミノ酸置換又は欠失、好ましくは、V70delを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。さらに好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、H69とV70の両方において欠失を含む。

【0113】

好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、以下のSARS-CoV-2分離株:C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)から選択される少なくとも1個のさらなるアミノ酸置換又は欠失を含む。

【0114】

好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、(配列番号1に対して):

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、L981F(SA、BA.1_v1);

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、K417N、N440K、G446S、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、L981F(SA、BA.1_v0);

・K986P、V987P、A67V、T95I、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、D796Y、N856K、Q954H、N969K、L981F(SA、B.1.1.529);

・K986P、V987P、T19I、L24del、P25del、P26del、A27S、G142D、V213G、G339D、S371F、S373P、S375F、T376A、D405N、S477N、T478K、E484A、Q493R、Q498R、N501Y、Y505H、D614G、H655Y、N679K、P681H、D796Y、Q954H、N969K(SA、BA.2);

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、N440K、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、L981F(SA、BA.1_v2);

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T5

10

20

30

40

50

47K、D614G、H655Y、N679K、P681H、D796Y、N856K、Q954H、N969K、L981F(SA、BA.1_v3);

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、A701V、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、L981F(SA、BA.1_v4);

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、G446S、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、L981F(SA、BA.1_v5);

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;(SA;B.1.351)

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V;(SA;B.1.351)

・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、及びT1027I;(ブラジル;P1)

・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、T1027I、及びV1176F;(ブラジル P1)

・L452R、P681R、及びD614G;(B.1.617.1;インド)

・L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;(B.1.617.2;インド)

・L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N;(B.1.617.2;インド)

・T19R、L452R、E484Q、D614G、P681R及びD950N;(B.1.617.3;インド)

・G75V、T76I、S247del、Y248del、L249del、T250del、P251del、G252del、D253del、L452Q、F490S、D614G、及びT859N;(C.37.1;ペルー)

・T95I、Y145N、R346K、E484K、N501Y、D614G、P681H、及びD950N;(B.1.1.621)

・T95I、Y144T、Y145S、ins145N、R346K、E484K、N501Y、D614G、P681H、及びD950N;(B.1.1.621)

・H69del、V70del、Y144del、E484K、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、及びD1118H;(B.1.1.7 - E484K)

・S13I、W152C、L452R、及びD614G;(B.1.429)

・L452R;及びD614G;(B.1.429)

・H69del;V70del;N439K;D614G;(B.1.258)

・T95I;E484K;D614G;及びA701V;(B.1.526)

・L5F、T95I、D253G、E484K、D614G、及びA701V;(B.1.526)

・L5F、T95I、D253G、S477N、D614G、及びQ957R;(B.1.526)

・F157L;V367F;Q613H;及びP681R(A.23.1)

・S254F;D614G;P681R;及びG769V(A.23.1)

・T478K;D614G;P681H;及びT732A(B.1.1.519;メキシコ)

・P26S、H69del、V70del、V126A、Y144del、L242del、A243del、L244del、H245Y、S477N、E484K、D614G、P681H、T1027I及びD1118H;(B.1.620;アフリカ)

・ins214TDR、Q414K、N450K、D614G、及びT716I;(B.1.214.2)

・S12F、H69del、V70del、W152R、R346S、L452R、D614G、Q677H及びA899S;(C.36.3;タイ)

・E484K、D614G及びV1176F;(P2)

・Q52R;A67V;H69del;V70del;F157del;R158del;E484K;D614G;Q677H及びF

888L;(B.1.525)

- ・ Q52R;A67V;H69del;V70del;Y144del;E484K;D614G;Q677H及びF888L;(B.1.525)
- ・ A67V;H69del;V70del;Y144del;E484K;D614G;Q677H及びF888L;(B.1.525)
- ・ T19R;T95I;G142D;E156G;F157del;R158del;W258L;K417N;L452R;T478K;K558N;D614G;P681R;及びD950N;(AY.1)
- ・ T19R;V70F;G142D;E156G;F157del;R158del;A222V;K417N;L452R;T478K;D614G;P681R;及びD950N;(AY.2)
- ・ T19R;T95I;F157del;R158del;W258L;K417N;L452R;T478K;D614G;P681R;及びD950N;又は(AY.1)
- ・ T19R;V70F;F157del;R158del;A222V;K417N;L452R;T478K;D614G;P681R;及びD950N;(AY.2)
- ・ H69del、V70del及びD614G;
- ・ D614G及びM1229I;
- ・ A222V及びD614G;
- ・ S477N及びD614G;
- ・ N439K及びD614G;
- ・ H69del;V70del;Y453F;D614G及びI692I;
- ・ Y453F及びD614G;
- ・ D614G及びI692V;
- ・ H69del;V70del;A222V;Y453F;D614G及びI692I;
- ・ N501Y及びD614G;
- ・ K417N;E484K;N501Y及びD614G;又は
- ・ E484K及びD614G

から選択されるアミノ酸置換又は欠失を含む。

【0115】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、以下のアミノ酸置換又は欠失(配列番号1に対して):

- ・ E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;
- ・ E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V;
- ・ E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、及びT1027I;
- ・ E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、T1027I、及びV1176F;
- ・ L452R、P681R、及びD614G;
- ・ L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;又は
- ・ L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950Nを含む。

【0116】

なおより好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、以下のアミノ酸置換又は欠失(配列番号1に対して):

- ・ E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;又は
- ・ E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V

を含む。

【0117】

さらに特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2

10

20

30

40

50

スパイクタンパク質は、以下のアミノ酸置換又は欠失(配列番号1に対して):

- ・L452R、P681R、及びD614G;
- ・L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;
- ・L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N;

又は

- ・T19R、L452R、E484Q、D614G、P681R及びD950N

を含む。

【0118】

なおより好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、又は28917～28920のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、又は28917～28920のいずれか1つと同一である。前記アミノ酸配列に関するさらなる情報はまた、表1及びそれぞれの配列の配列番号のST25配列表の〈223〉識別子下に提供される。

【0119】

一部の実施形態では、本明細書において定義されるスパイクタンパク質(S)のフラグメントは、本発明のRNAによってコードされてもよく、前記フラグメントは、N末端で切断されて、全長SARS-CoV-2バリエーションタンパク質のN末端のアミノ酸1～最大100を欠いてもよく、及び/又は前記フラグメントは、C末端で切断されて、全長SARS-CoV-2バリエーションタンパク質のC末端のアミノ酸(aa)531～最大aa1273を欠いてもよい。このような「スパイクタンパク質(S)のフラグメント」は、アミノ酸置換(本明細書に記載される)をさらに含んでもよく、少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメント(本明細書に記載される)をさらに含んでもよい。好ましい実施形態では、スパイクタンパク質(S)のフラグメントは、C末端で切断されて、これにより、C末端の膜貫通型ドメインを欠いてもよい(すなわち、aa1212～aa1273を欠くか、又はaa1148～aa1273を欠く)(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

【0120】

他の実施形態では、SARS-CoV-2から誘導されるコードされるスパイクタンパク質(S)は、膜貫通型ドメイン(TM)(参照配列番号1によるアミノ酸位置aa1212～aa1273)を欠く。実施形態では、SARS-CoV-2から誘導されるコードされるスパイクタンパク質(S)は、膜貫通型ドメインの伸長された部分(TMflex)(参照配列番号1によるアミノ酸位置aa1148～aa1273)を欠く。理論に束縛されることを望むものではなく、本明細書において定義される膜貫通型ドメイン(TM又はTMflex)を欠くスパイクタンパク質(S)は、ワクチンに適することができ、したがって、タンパク質は、可溶性であり、細胞膜に固定されない。したがって、可溶性タンパク質は、対象への投与の際により高い濃度で産生され(すなわち、翻訳され)、改善された免疫応答を導き得る。

【0121】

理論に束縛されることを望むものではなく、アミノ酸位置について配列番号1を用いて参照される、RBD(aa319～aa541)及びCND(aa329～aa529)ドメインは、免疫原性に重要であり得る。両方の領域は、スパイクタンパク質のS1フラグメントに位置する。

したがって、本発明の文脈で、抗原性ペプチド又はタンパク質が、スパイクタンパク質のS1フラグメント又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなることは、好適であり得る。好適には、このようなS1フラグメントは、上で定義された少なくともRBD及び/又はCNDドメインを含んでもよい。ある特定の実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質CNDドメインは、配列番号27051~27086のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質CNDドメインは、配列番号27051~27086のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質CNDドメインは、配列番号27051~27086のいずれか1つと同一である。前記アミノ酸配列に関するさらなる情報はまた、表1及びそれぞれの配列の配列番号のST25配列表の〈223〉識別子下に提供される。

10

20

30

40

50

【0122】

好ましい実施形態では、コードされる少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質は、受容体結合ドメイン(RBD;aa319~aa541)を含むか、又はそれからなり、RBDは、スパイクタンパク質フラグメント、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質RBDドメインは、配列番号27007~27046のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質RBDドメインは、配列番号27007~27046のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質RBDドメインは、配列番号27007~27046のいずれか1つと同一である。前記アミノ酸配列に関するさらなる情報はまた、表1及びそれぞれの配列の配列番号のST25配列表の〈223〉識別子下に提供される。

【0123】

さらに好ましい実施形態では、コードされる少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質は、切断された受容体結合ドメイン(truncRBD;aa334~aa528)を含むか、又はそれからなり、RBDは、スパイクタンパク質フラグメント、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる。

【0124】

このような「スパイクタンパク質(S)のフラグメント」(RBD;aa319~541又はtruncRBD、aa334~aa528)は、アミノ酸置換(本明細書に記載される)をさらに含んでもよく、少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメント(本明細書に記載される)をさらに含んでもよい。

【0125】

特に好ましい実施形態では、コードされる少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質は、スパイクタンパク質(S)を含むか、又はそれからなり、スパイクタンパク質(S)は、スパイクタンパク質フラグメントS1、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる。

【0126】

好ましい実施形態では、コードされる少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質は、スパイクタンパク質フラグメントS1を含み、スパイクタンパク質フラグメントS2(aa682~aa1273)の少なくとも70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99

%又は100%を欠く。このような実施形態は、S1フラグメントが、中和エピトープを含むため、有益であり得る。

【0127】

理論に束縛されることを望むものではなく、免疫原性スパイクタンパク質の形成が促進され得るため、抗原性ペプチド又はタンパク質が、スパイクタンパク質フラグメントS1及びスパイクタンパク質フラグメントS2(の少なくともフラグメント)を含むか、又はそれからなることは、好適であり得る。

【0128】

したがって、特に好ましい実施形態では、コードされる少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質は、スパイクタンパク質(S)を含むか、又はそれからなり、スパイクタンパク質(S)は、スパイクタンパク質フラグメントS1又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーション、及びスパイクタンパク質フラグメントS2又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる。

【0129】

代替りの好ましい実施形態では、コードされる少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質は、全長スパイクタンパク質又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる。

【0130】

用語「全長スパイクタンパク質」は、本質的に完全なスパイクタンパク質に対応するアミノ酸配列を有するSARS-CoV-2から誘導されるスパイクタンパク質と理解されなければならない。したがって、「全長スパイクタンパク質」は、aa1~aa1273(参照タンパク質:配列番号1)を含んでもよい。したがって、全長スパイクタンパク質は、典型的には、分泌型シグナルペプチド、スパイクタンパク質フラグメントS1、スパイクタンパク質フラグメントS2、受容体結合ドメイン(RBD)、及び重要な中和ドメインCND、及び膜貫通型ドメインを含んでもよい。特にまた、ある特定のアミノ酸置換(例えば、Sタンパク質の融合前の安定化を可能にする)又は天然で生じるアミノ酸欠失を含むバリエーションは、用語「全長スパイクタンパク質」によって包含される。

【0131】

特に好ましい実施形態では、第一の態様のRNAによってコードされるスパイクタンパク質(S)を設計又は適合して、融合前の立体構造の抗原を安定化する。中和抗体のいくつかの可能性のあるエピトープは、単に、前記融合前のタンパク質立体構造にアクセス可能であり得るため、融合前の立体構造は、効率的なコロナウイルスワクチンの文脈で特に有利である。さらに、融合前の立体構造のタンパク質の残りは、例えば、亢進疾患及び/又は抗体依存性増強(ADE)のような、免疫病理学的効果を回避することを目的とする。

【0132】

好ましい実施形態では、融合前の安定化されたスパイクタンパク質をコードするRNA(又は組成物若しくはワクチン)の対象への投与は、スパイクタンパク質中和抗体を誘発し、疾患亢進抗体を誘発しない。特に、融合前の安定化されたスパイクタンパク質をコードする核酸(又は組成物若しくはワクチン)の対象への投与は、例えば、亢進疾患及び/又は抗体依存性増強(ADE)のような、免疫病理学的効果を誘発しない。

【0133】

したがって、好ましい実施形態では、本発明のRNAは、SARS-CoV-2スパイクタンパク質(S)から選択されるか、又は誘導される少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする少なくとも1つのコード配列を含み、SARS-CoV-2スパイクタンパク質(S)は、融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_{stab})である。好適には、前記融合前の安定化されたスパイクタンパク質は、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含む。

【0134】

本明細書で使用される場合、用語「融合前の立体構造」は、分泌系での成熟SARS-CoV-2 Sタンパク質への処理後、SARS-CoV-2 Sの融合後の立体構造への移行を導く膜融

10

20

30

40

50

合現象の誘発前に、SARS-CoV-2 Sタンパク質の外部ドメインにがとる構造上の立体構造に関する。

【0135】

本明細書に記載される「融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_{stab})」は、対応する天然のSARS-CoV-2 S配列から形成されたSARS-CoV-2 S外部ドメイン三量体と比較して、融合前の立体構造の増加した保持をもたらす、天然のSARS-CoV-2 S配列と比較して1個以上のアミノ酸置換、欠失、又は挿入を含む。1個以上のアミノ酸置換、欠失、又は挿入による融合前の立体構造の「安定化」は、例えば、エネルギー安定化(例えば、融合後の開放性立体構造と比べて、融合前の立体構造のエネルギーを低減すること)及び/又は動態学的安定化(例えば、融合前の立体構造から融合後の立体構造への移行の速度を低減すること)であり得る。加えて、融合前の立体構造のSARS-CoV-2 S外部ドメイン三量体の安定化は、対応する天然のSARS-CoV-2 S配列と比較して、変性に対する抵抗性の増加を含み得る。

10

【0136】

したがって、好ましい実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、融合前の立体構造のSタンパク質を安定化する1個以上のアミノ酸置換、例えば、融合前の立体構造のSタンパク質(N末端領域を含む)の膜遠位部分を安定化する置換を含む。

【0137】

SARS-CoV-2コロナウイルススパイクタンパク質の安定化は、位置K986及び/又はV987における少なくとも1つのアミノ酸を、融合前の立体構造のスパイクタンパク質を安定化するアミノ酸で置換することによって得ることができる(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

20

【0138】

好ましい実施形態では、融合前の安定化変異は、位置K986及びV987におけるアミノ酸置換を含み、アミノ酸K986及び/又はV987は、A、I、L、M、F、V、G、又はPから選択されるアミノ酸で置換されている(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

【0139】

好ましくは、融合前の立体構造の安定化は、スパイクタンパク質中の残基K986及びV987において2つの連続するプロリン置換を導入することによって得られる(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

30

【0140】

したがって、好ましい実施形態では、融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_{stab})は、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含み、少なくとも1つの融合前の安定化変異は、以下のアミノ酸置換:K986P及びV987Pを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

【0141】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、少なくとも1つの融合前の安定化K986P及びV987P変異を含み、さらに、以下のアミノ酸置換又は欠失(参照配列番号1によるアミノ酸位置):

- ・E484K、N501Y、及び場合により、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、A701V;
- ・E484K、N501Y、及び任意に、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、A701V;
- ・N501Y、P681H、及び任意に、H69del、V70del、Y144del、A570D、D614G、T716I、S982A、D1118H;
- ・N501Y、P681H、E484K、及び任意に、H69del、V70del、Y144del、A570D、D614G、T716I、S982A、D1118H;
- ・E484K、N501Y、及び任意に、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、T1027I;
- ・E484K、N501Y、及び任意に、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T

40

50

、D614G、H655Y、T1027I、V1176F;
・N501Y、P681H、E484K、及び任意に、H69del、V70del、Y144del、A570D、D614G、T716I、S982A、D1118H;
・L452R、及び任意に、S13I、W152C、D614G;
・L452R、D614D及び任意に、P681R;
・L452R、D614D、P681R及び任意に、E484Q、E154K、Q1071H;
・L452R、D614D、P681R及び任意に、T19R、L452R、D950N;
・L452R、D614D、P681R及び任意に、T19R、F157del、T478K、D950N;
・E484K、及び任意に、Q52R、A67V、H69del、V70del、delY144、D614G、Q677H、F888L;
・E484K、及び任意に、A67V、H69del、V70del、Y144del、D614G、Q677H、F888L;
・E484K、及び任意に、L5F、T95I、D253G、D614G、A701V;
・P681R、及び任意に、F157L、V367F、Q613H;
・P681R、及び任意に、S254F、D614G、G769V;
・L452R、P681R、及び任意に、D614G;
・L452R、E484Q、P681R、及び任意に、E154K、D614G、Q1071H;
・L452R、P681R、及び任意に、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、D950N;
・E484K、及び任意に、D614G、V1176F;
・L452Q、及び任意に、G75V、T76I、R246del、S247del、Y248del、L249del、T250del、P251del、G252del、F490S、D614G、T859N;
・K417N、及び任意に、P681R;
・K417N、P681R、及び任意に、D614G;
・K417N、L452R、P681R、及び任意に、D614G;
・K417N、T478K、P681R、及び任意に、D614G;
・K417N、D950N、P681R、及び任意に、D614G;
・K417N、D614G、P681R、及び任意に、T478K;
・K417N、D614G、P681R、及び任意に、L452R;
・K417N、D614G、P681R、L452R及び任意に、T478K;
・S247del、Y248del、L249del、T250del、P251del、G252del、D253del及び任意に、D614G;
・S247del、Y248del、L249del、T250del、P251del、G252del、D253del及び任意に、L452Q、D614G;
・H69del、V70del及び任意に、D614G;
・H69del、V70del、E484K及び任意に、D614G;
・H69del、V70del、N501Y及び場合により、D614G;又は
・H69del、V70del、N501Y、E484K及び場合により、P681Hを含む、融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_{stab})である。

10

20

30

40

【0142】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、少なくとも1つの融合前の安定化K986P及びV987P変異を含み、さらに、以下のアミノ酸置換又は欠失(参照配列番号1によるアミノ酸位置):

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;
・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V;
・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、及びT1027I;
・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H

50

655Y、T1027I、V1176F;

・L452R、P681R、及びD614G;

・L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;又は

・L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N

を含む、融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_stab)(又はそのフラグメント若しくはバリエーション)である。

【0143】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、

・K986P、V987P、E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;又は

・K986P、V987P、E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V

から選択されるアミノ酸置換又は欠失(参照配列番号1によるアミノ酸位置)を含む融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_stab)(又はそのフラグメント若しくはバリエーション)である。

【0144】

本発明の文脈の実施形態では、本明細書において定義される任意のSARS-CoV-2コロナウイルススパイクタンパク質を上記の通り変異させて(参照タンパク質配列番号1について例証される)、融合前の立体構造のスパイクタンパク質を安定化し得ることは、強調されなければならない。

【0145】

様々な実施形態によると、本発明のRNAは、本明細書において定義される少なくとも1つの抗原性SARS-CoV-2スパイクタンパク質、さらに、少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメントをコードする。

【0146】

好適には、少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメントは、コードされる抗原性SARS-CoV-2スパイクタンパク質の分泌(例えば、分泌型シグナル配列を介した)を促進するか、若しくは改善し、形質膜におけるコードされる抗原性SARS-CoV-2スパイクタンパク質の固定(例えば、膜貫通型エレメントを介した)を促進するか、若しくは改善し、抗原複合体の形成(例えば、多量体化ドメイン又は抗原クラスター形成エレメントを介した)を促進するか、若しくは改善し、又はウイルス様粒子形成(VLP形成配列)を促進するか、若しくは改善し得る。さらに、第一の態様のRNAは、ペプチドリンカーエレメント、自己切断ペプチド、免疫性アジュバント配列又は樹状細胞標的化配列をさらにコードしてもよい。

【0147】

好適な多量体化ドメインは、W02017/081082の配列番号1116~1167に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。好適な膜貫通型エレメントは、W02017/081082の配列番号1228~1343に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。好適なVLP形成配列は、特許出願のW02017/081082の配列番号1168~1227に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。好適なペプチドリンカーは、特許出願のW02017/081082の配列番号1509~1565に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。好適な自己切断ペプチドは、特許出願のW02017/081082の配列番号1434~1508に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。好適な免疫性アジュバント配列は、特許出願のW02017/081082の配列番号1360~1421に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。好適な樹状細胞(DC)標的化配列は、特許出願のW02017/081082の

配列番号1344～1359に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。好適な分泌型シグナルペプチドは、公開されたPCT特許出願W02017/081082の配列番号1～1115及び配列番号1728に記載のアミノ酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択されてもよい。

【0148】

好ましい実施形態では、少なくとも1つの抗原性SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNAは、少なくとも1つの異種分泌型シグナル配列及び/又は三量体化エレメント、及び/又は抗原クラスター形成エレメント、及び/又はVLP形成配列をさらにコードする。

【0149】

したがって、好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、又は28917～28920のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、又は28917～28920のいずれか1つと同一である。前記アミノ酸配列に関するさらなる情報はまた、表1及びそれぞれの配列の配列番号のST25配列表の〈223〉識別子下に提供される。

【0150】

したがって、好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27093～27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27093～27095、28552～28558のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27093～27095、28552～28558のいずれか1つと同一である。

【0151】

さらに好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27095、28552～28557のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27095、28552～28557のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27095、28552～28557のいずれか1つと同一である。

【0152】

さらに好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパ

10

20

30

40

50

イクタンパク質は、配列番号27095のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27095のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27095のいずれか1つと同一である。

【0153】

さらに好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号23090、23091、22960、22961、28540のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列若しくはアミノ酸コード配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号23090、23091、22960、22961、28540のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号23090、23091、22960、22961、28540のいずれか1つと同一である。

10

【0154】

依然としてさらに好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27096、28545のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号27096、28545のいずれか1つと同一である。

20

【0155】

依然としてさらに好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号22959のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号22959のいずれか1つと同一である。

30

【0156】

さらなる好ましい実施形態では、本発明のRNAによってコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号28541~28544、28917~28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列、又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる。したがって、一部の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号28541~28544、28917~28920のいずれか1つと少なくとも95%同一である。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号28541~28544、28917~28920のいずれか1つと同一である。

40

【0157】

本明細書において定義されるSARS-CoV-2から誘導される好ましい抗原性ペプチド又

50

はタンパク質が、表1に提供される。そこで、それぞれの列は、好適なSARS-CoV-2スパイクタンパク質構築物に対応する。表1のカラムAは、好適な抗原構築物の簡単な説明を提供する。表1のカラムBは、それぞれの抗原構築物のタンパク質(アミノ酸)の配列番号を提供する。表1のカラムCは、対応するG/C最適化核酸コード配列(opt1、gc)の配列番号を提供する。表1のカラムDは、対応するG/C含有量が修飾された核酸コード配列(opt10、gc mod)の配列番号を提供する(「コード配列」の詳細な説明について、段落「好適なコード配列」を参照)。

【0158】

特に、発明の説明は、本出願のST25配列表の〈223〉識別子下で提供される情報を明示的に含む。表1のコード配列を含む好ましいRNA構築物、例えば、表1のコード配列を含むmRNA配列が、表2に提供される。

【0159】

10

20

30

40

50

【表 1】

表1:好ましいSARS-CoV-2構築物(アミノ酸配列及び核酸コード配列):

列	A	B	C	D
1	全長スパイクタンパク質; S - WT	1	136	
2	安定化スパイクタンパク質;S_stab_PP;S-stab_PPをコードするがwtコドン使用を伴うRNA配列が、配列番号28916によって提供される	10, 22738, 22740, 22742, 22744, 22746, 22748, 22750, 22752, 22754, 22756, 22758, 22959- 22964, 27087- 27109, 28540- 28588	137, 22765, 22767, 22769, 22771, 22773, 22775, 22777, 22779, 22781, 22783, 22785, 23089- 23148, 27110- 27201, 28589- 28637	146, 23150- 23184, 27202- 27247
3	スパイクタンパク質受容体結合ドメイン; RBD	13243, 22917, 22923, 27007- 27046		
4	スパイクタンパク質 重要な中和ドメイン; CND	13310, 27047- 27086		
5	A222V_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_A222V_D614G)	22740	22767	23151
6	N439K_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_N439K_D614G)	22742	22769	23152
7	S477N_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_S477N_D614G)	22744	22771	23153
8	N501Y_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_N501Y_D614G)	22746	22773	23154
9	H69del_V70del_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_D614G)	22748	22775	23155

10

20

30

40

50

10	Y453F_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_Y453F_D614G)	22750	22777	23156
11	I692V_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_D614G_I692V)	22752	22779	23157
12	M1229I_D614G S_stab_PP(K986P_V987P_D614G_M1229I)	22754	22781	23158
13	MINK1 (w/oM1229I) S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_A222V_Y453F_S477N_D614G_I692V)	22756	22783	23159
14	MINK2 S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y453F_D614G_I692V_M1229I)	22758	22785	23160
15	B.1.1.7 (英国) S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y144del_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_D1118H)	22959	23089	23161
16	minSA (B.1.351) S_stab_PP(K986P_V987P_K417N_E484K_N501Y_D614G)	22960	23090	23162
17	fullSA (B.1.351) S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_R246I_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	22961	23091	23163
18	E484K S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_D614G)	22962	23092	23164
19	P.1 (ブラジル) S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I)	22963	23093	23165
20	B.1.429 (カリフォルニア) S_stab_PP(K986P_V987P_S13I_W152C_L452R_D614G)	22964	23094	23166
21	B.1.1.7+E484K S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y144del_E484K_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_D1118H)	27087	27110	27202
22	fullSAminuSI246R S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	27088	27111	27203
23	B.1.525 (ナイジェリア) S_stab_PP(K986P_V987P_Q52R_A67V_H69del_V70del_Y144del_E484K_D614G_Q677H_F888L)	27089	27112	27204
24	B.1.525_v2 (ナイジェリア) S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_Y144del_E484K_D614G_Q677H_F888L)	27090	27113	27205

10

20

30

40

50

25	P.1+V1176F (ブラジル) S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I_V1176F)	27091	27114	27206
26	P.2 (ブラジル) S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_D614G_V1176F)	27092	27115	27207
27	B.1.617 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_D614G_P681R)	27093	27116	27208
28	B.1.617.1 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484Q_D614G_P681R_Q1071H)	27094	27117	27209
29	B.1.617.2 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	27095	27118	27210
30	C.37.1 (ペルー) S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I_R246del_S247del_Y248del_L249del_T250del_P251del_G252del_L452Q_F490S_D614G_T859N)	27096	27119	27211
31	B.1.258 (チェコ共和国) S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_N439K_D614G)	27097	27120	27212
32	B.1.526 (ニューヨーク) S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_E484K_D614G_A701V)	27098	27121	27213
33	B.1.526.2 (ニューヨーク) S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_S477N_D614G_Q957R)	27099	27122	27214
34	A.23.1_v1 (ルワンダ/ウガンダ) S_stab_PP(K986P_V987P_F157L_V367F_Q613H_P681R)	27100	27123	27215
35	A.23.1_v2 (ルワンダ/ウガンダ) S_stab_PP(K986P_V987P_S254F_D614G_P681R_G769V)	27101	27124	27216
36	B.1.620 (不明/アフリカ) S_stab_PP(K986P_V987P_P26S_H69del_V70del_V126A_Y144del_L242del_A243del_L244del_H245Y_S477N_E484K_D614G_P681H_T1027I_D1118H)	27102	27125	27217
37	B.1.621 (コロンビア) S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144T_Y145S_ins145N_R346K_E484K_N501Y_D614G_P681H_D950N)	27103	27126	27218
38	B.1.214.2 (不明) S_stab_PP(K986P_V987P_ins214TDR_Q414K_N450K_D614G_T716I)	27104	27127	27219
39	B.1.1.519 (メキシコ) S_stab_PP(K986P_V987P_T478K_D614G_P681H_T732A)	27105	27128	27220
40	P.3 (フィリピン) S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_N501Y_D614G_P681H_E1092K_H1101Y_V1176F)	27106	27129	27221

10

20

30

40

50

41	B.1.616 (フランス) S_stab_PP(K986P_V987P_H66D_G142V_Y144del_Y145del_D215G_V483 A_D614G_H655Y_G669S_Q949R_N1187D)	27107	27130	27222
42	v1 (ベトナム) S_stab_PP(K986P_V987P_Y144del_L452R_T478K_P681R)	27108	27131	27223
43	v2 (ベトナム) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_Y144del_Y145del_L452R_T478K_D614G _P681R)	27109	27132	27224
44	C.1.2 (南アフリカ2) S_stab_PP(K986P_V987P_P9L_C136F_Y144del_R190S_D215G_L242del_ A243del_Y449H_E484K_N501Y_D614G_H655Y_N679K_T716I_T859N)	28540	28589	
45	BA.1_v1 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y 144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375 F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_ D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L9 81F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v1)	28541	28590	
46	S_stab_PP(K986P_BA.1_v0 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y 144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375 F_K417N_N440K_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_ N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N8 56K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v0)	28542	28591	
47	B.1.1.529 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_ A67V_T95I_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_ _G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_D 796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_B.1.1.529)	28543	28592	
48	BA.2 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_ T19I_L24del_P25del_P26del_A27S_G142D_V213G_G339D_S371F_S373P _S375F_T376A_D405N_S477N_T478K_E484A_Q493R_Q498R_N501Y_Y 505H_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_Q954H_N969K); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.2)	28544	28593	
49	C.37_v2 (ペルー/リマ) S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I_R246del_S247del_Y248del_L249d el_T250del_P251del_G252del_D253N_L452Q_F490S_D614G_T859N)	28545	28594	

10

20

30

40

50

50	B.1.621_v2 (コロンビア) S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144S_Y145N_R346K_E484K_N501Y_D614G_P681H_D950N)	28546	28595	
51	C.36.3 (タイ) S_stab_PP(K986P_V987P_S12F_H69del_V70del_W152R_R346S_L452R_D614G_Q677H_A899S)	28547	28596	
52	B.1.619 (カメルーン) S_stab_PP(K986P_V987P_I210T_N440K_E484K_D614G_D936N_S939F_T1027I)	28548	28597	
53	R.1 (ケンタッキー) S_stab_PP(K986P_V987P_W152L_E484K_D614G_G769V)	28549	28598	
54	B.1.1.176 (カナダ) S_stab_PP(K986P_V987P_T20I_R357K_D614G)	28550	28599	
55	AZ.3 S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144del_E484K_D614G_P681H_D796H)	28551	28600	
56	B.1.617.2_v2 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28552	28601	
57	AY.1 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28553	28602	
58	AY.2 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28554	28603	
59	AY.4_v1 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28555	28604	
60	AY.4_v2 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28556	28605	
61	AY.4.2 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28557	28606	
62	B.1.617.3 (インド) S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484Q_D614G_P681R_D950N)	28558	28607	
63	B.1.617 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del)	28559	28608	

10

20

30

40

50

64	B.1.617.1 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484Q_D614G_P681R_R682de L_R683del_A684del_R685del_Q1071H)	28560	28609	
65	B.1.617.2 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G _P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28561	28610	
66	B.1.617.2_v2 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452 R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28562	28611	
67	AY.1 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_ W258L_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del _R685del_D950N)	28563	28612	
68	AY.2 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del _A222V_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684de L_R685del_D950N)	28564	28613	
69	AY.4_v1 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_ L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950 N)	28565	28614	
70	AY.4_v2 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K _D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28566	28615	
71	AY.4.2 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R 158del_A222V_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del _R685del_D950N)	28567	28616	
72	B.1.617.3 (インド)_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484Q_D614G_P681R_R682del _R683del_A684del_R685del_D950N)	28568	28617	
73	B.1.617 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_E484K_D614G_P681R)	28569	28618	
74	B.1.617.1 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484K_D614G_P681R_Q1071H)	28570	28619	
75	B.1.617.2 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K _D614G_P681R_D950N)	28571	28620	

10

20

30

40

50

76	B.1.617.2_v2 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28572	28621	
77	AY.1 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28573	28622	
78	AY.2 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28574	28623	
79	AY.4_v1 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28575	28624	
80	AY.4_v2 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28576	28625	
81	AY.4.2 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28577	28626	
82	B.1.617.3 (インド)_E484K有 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484K_D614G_P681R_D950N)	28578	28627	
83	B.1.617 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del)	28579	28628	
84	B.1.617.1 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_Q1071H)	28580	28629	
85	B.1.617.2 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28581	28630	
86	B.1.617.2_v2 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28582	28631	
87	AY.1 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28583	28632	
88	AY.2 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del	28584	28633	

10

20

30

40

50

	_A222V_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)			
89	AY.4_v1 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28585	28634	
90	AY.4_v2 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28586	28635	
91	AY.4.2 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28587	28636	
92	B.1.617.3 (インド)_E484K有_FCS無 S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28588	28637	
93	BA.1_v2 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_N440K_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v2)	28917	28921	
94	BA.1_v3 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v3)	28918	28922	
95	BA.1_v4 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_A701V_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v4)	28919	28923	
96	BA.1_v5 (南アフリカ3) S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_	28920	28924	

10

20

30

40

T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v5)			
---	--	--	--

FCS無:フューリン切断部位欠失

【 0 1 6 0 】

好適なコード配列:

50

好ましい実施形態によると、本発明のRNAは、好ましくは、上で定義されたSARS-CoV-2スパイクタンパク質から選択されるか、又は誘導される少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質又はそのフラグメント及びバリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含む。その文脈では、本明細書において定義される少なくとも1つの抗原性タンパク質SARS-CoV-2スパイクタンパク質、又はそのフラグメント及びバリエーションをコードする任意のコード配列は、好適なコード配列として理解され得、したがって、本発明のRNAに含まれ得る。

【0161】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、少なくとも1つの本明細書において定義されるSARS-CoV-2由来の抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする、好ましくは、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、28917～28920又はそのフラグメント若しくはバリエーションのいずれか1つをコードする、少なくとも1つのコード配列を含むか、又はそれからなり得る。核酸レベルで、配列番号116、136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247、28589～28637、28916、28921～28924のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、アミノ酸配列をコードする任意のRNA配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションが本発明の好適なコード配列として選択され得、したがって、理解され得ることは、理解されなければならない。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号116、136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247、28589～28637、28916、又は28921～28924のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

【0162】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、本明細書において定義されるSARS-CoV-2由来の少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする、好ましくは、配列番号10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、28917～28920又はそのフラグメント若しくはバリエーションのいずれか1つをコードする少なくとも1つのコード配列を含むか、又はそれからなり得る。核酸レベルで、配列番号137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、23095～23112、27110～27247、28589～28637、28921～28924のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、アミノ酸配列をコードする任意のRNA配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションが本発明の好適なコード配列として選択され得、したがって、理解され得ることは、理解されなければならない。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247、28589～28637、又は28921～28924のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

【0163】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、本明細書において定義されるSARS-CoV-2由来の少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする、好ましくは、配列番号10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28

588、28917～28920又はそのフラグメント若しくはバリエーションのいずれか1つをコードする少なくとも1つのコード配列を含むか、又はそれからなり得る。核酸レベルで、配列番号137、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、27110～27201、28589～28637、28921～28924のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、アミノ酸配列をコードする任意のRNA配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションが、本発明の好適なコード配列として選択され得、したがって、理解され得ることは、理解されなければならない。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号137、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、27110～27201、28589～28637、又は28921～28924のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

10

【0164】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、本明細書において定義されるSARS-CoV-2由来の少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする、好ましくは、配列番号10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、28917～28920又はそのフラグメント若しくはバリエーションのいずれか1つをコードする少なくとも1つのコード配列を含むか、又はそれからなり得る。核酸レベルで、配列番号146、23150～23184、27202～27247のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、アミノ酸配列をコードする任意のRNA配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションは、本発明の好適なコード配列として選択され得、したがって、理解され得ることは理解されなければならない。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号146、23150～23184又は27202～27247のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

20

【0165】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247、28589～28637、28921～28924に記載の配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションの少なくとも1つを含むコード配列を含む。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247、28589～28637、又は28921～28924のいずれか1つと少なくとも95%同一である。これらの好適な核酸配列のそれぞれに関するさらなる情報はまた、配列表、特に、識別子〈223〉の下そこで提供される詳細からもたらされ得る。

30

40

【0166】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23094、27110～27132、28589～28637、若しくは28921～28924に記載の配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションの少なくとも1つを含むコード配列を含む。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質

50

をコードするRNA配列は、配列番号22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23094、27110～27132、28589～28637、又は28921～28924のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

【0167】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号23150～23166若しくは27202～27224に記載の配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションの少なくとも1つを含むコード配列を含む。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号23150～23166又は27202～27224のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

10

【0168】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号23150～23166、27202～27224、23114～23130若しくは27156～27178に記載の配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションの少なくとも1つを含むコード配列を含む。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号23114～23130又は27156～27178のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

20

【0169】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号23150～23166、27202～27224、23167～23184若しくは27225～27247に記載の配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションの少なくとも1つを含むコード配列を含む。ある特定の実施形態では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNA配列は、配列番号23167～23184又は27225～27247のいずれか1つと少なくとも95%同一である。

30

【0170】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、人工RNAである。

【0171】

本明細書で使用される場合、用語「人工RNA」は、天然で生じないRNAを指すことが意図される。言い換えると、人工RNAは、非天然のRNA分子として理解され得る。このようなRNA分子は、その個々の配列(例えば、G/C含有量が修飾されたコード配列、UTR)に起因して、及び/又はヌクレオチドの他の修飾、例えば、構造修飾に起因して非天然であり得る。典型的には、人工RNAは、ヌクレオチドの所望される人工配列に対応させるための遺伝子操作によって、設計され、及び/又は生成され得る。この文脈では、人工RNAは、天然で生じ得ない配列、すなわち、野生型配列/天然に存在する配列とは少なくとも1ヌクレオチド異なる配列である。用語「人工RNA」は、「1つの単一RNA分子」を意味することに限定されないが、本質的に同一のRNA分子のアンサンブルを含むことが理解される。したがって、それは、複数の本質的に同一のRNA分子に関し得る。

40

【0172】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、修飾された及び/又は安定化されたRNA、好ましくは、修飾された及び/又は安定化された人工RNAである。

【0173】

したがって、好ましい実施形態によると、本発明のRNAは、「安定化された人工RNA」又は「安定化されたコードRNA」として提供され得、すなわち、in vivo分解に対する改善された抵抗性を示すRNA及び/又はin vivoでの改善された安定性を示すRNA、及

50

び/又はin vivoでの改善された翻訳可能性を示すRNAを言う。以下で、RNAを「安定化する」のに適している、この文脈での特定の好適な修飾/適合が記載される。好ましくは、本発明のRNAは、「安定化されたRNA」又は「安定化されたコードRNA」として提供され得る。

【0174】

このような安定化は、以下でさらに特定される、「乾燥させたRNA」及び/又は「精製されたRNA」をもたらすことによって影響され得る。その代わりに、又は加えて、このような安定化は、例えば、本発明のRNAの修飾されたリン酸骨格によって影響され得る。本発明に関して骨格修飾は、核酸に含有されるヌクレオチドの骨格のリン酸が、化学的に修飾されている、修飾である。これに関連して使用され得るヌクレオチドは、例えば、ホスホロチオエート修飾されたリン酸骨格、好ましくは、硫黄原子によって置き換えられているリン酸骨格に含有されるリン酸酸素の少なくとも1つを含有する。安定化されたRNAは、例えば、非イオン性リン酸アナログ、例えば、アルキル及びアリールホスホネートをさらに含んでもよく、ここで、荷電したホスホネート酸素は、アルキル若しくはアリール基、又はホスホジエステル及びアルキルホスホトリエステルによって置き換えられ、荷電した酸素残基は、アルキル化形態で存在する。このような骨格修飾は、典型的には、いかなる制限も意味することなく、メチルホスホネート、ホスホルアミデート及びホスホロチオエート(例えば、シチジン-5'-O-(1-チオホスフェート))からなる群からの修飾を含む。

10

【0175】

以下で、本発明のRNAを「安定化する」能力がある、好適な修飾が記載される。

20

【0176】

好ましい実施形態では、RNAは、少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列を含む。

【0177】

好ましい実施形態では、RNAの少なくとも1つのコード配列は、コドン修飾されたコード配列であり、ここで、少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列によってコードされるアミノ酸配列は、好ましくは、対応する野生型コード配列又は参照コード配列によってコードされるアミノ酸配列と比較して修飾されていない。

【0178】

用語「コドン修飾されたコード配列」は、対応する野生型又は参照コード配列と比較して、少なくとも1つのコドン(1つのアミノ酸をコードするヌクレオチドのトリプレット)が異なるコード配列に関する。好適には、本発明の文脈で、コドン修飾されたコード配列は、in vivoでの分解に対して改善された抵抗性及び/又はin vivoでの改善された安定性、及び/又はin vivoでの改善された翻訳可能性を示し得る。広義でのコドン修飾は、遺伝子コードの縮重を使用し、ここで、複数のコドンは、同じアミノ酸をコードし得、互換的に使用されて、in vivoでの適用のためコード配列が最適化/修飾され得る。

30

【0179】

用語「参照コード配列」は、修飾され、及び/又は最適化されるべき起源の配列であったコード配列に関する。

40

【0180】

好ましい実施形態では、RNAの少なくとも1つのコード配列は、コドン修飾されたコード配列であり、ここで、コドン修飾されたコード配列は、C最大化コード配列、CAI最大化コード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、G/C含有量が修飾されたコード配列、及びG/Cが最適化されたコード配列、又はそれらの任意の組み合わせから選択される。

【0181】

好ましい実施形態では、RNAの少なくとも1つのコード配列は、少なくとも約50%、55%、又は60%のG/C含有量を有する。特定の実施形態では、成分AのRNAの少なくとも1つのコード配列は、少なくとも約50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、

50

又は70%のG/C含有量を有する。

【0182】

哺乳類宿主細胞にトランスフェクトされる場合、コドン修飾されたコード配列を含むRNAは、12～18時間、又は18時間より長く、例えば、24、36、48、60、72、若しくは72時間より長い安定性を有し、哺乳類宿主細胞(例えば、筋肉細胞)によって発現される能力がある。

【0183】

哺乳類宿主細胞にトランスフェクトされる場合、コドン修飾されたコード配列を含むRNAは、タンパク質に翻訳され、ここで、タンパク質の量は、哺乳類宿主細胞にトランスフェクトされた天然に存在する又は野生型又は参照コード配列によって得られるタンパク質の量と少なくとも同等、又は好ましくは、それよりも少なくとも10%多い、若しくは少なくとも20%多い、若しくは少なくとも30%多い、若しくは少なくとも40%多い、若しくは少なくとも50%多い、若しくは少なくとも100%多い、若しくは少なくとも200%以上である。

【0184】

一部の実施形態では、RNAは、修飾されていてもよく、ここで、少なくとも1つのコード配列のC含有量は、対応する野生型又は参照コード配列のC含有量と比較して、増加し、好ましくは、最大化され得る(本明細書において、「C最大化コード配列」と称される)。C最大化核酸配列の生成は、好適には、WO2015/062738に記載の修飾方法を使用して行われてもよい。この文脈で、WO2015/062738の開示は、参照により本明細書に

10

20

【0185】

好ましい実施形態では、RNAは、修飾されていてもよく、ここで、少なくとも1つのコード配列のG/C含有量は、対応する野生型又は参照コード配列のG/C含有量と比較して、最適化され得る(本明細書において、「G/C含有量が最適化されたコード配列」と称される)。その文脈における「最適化」は、コード配列を指し、ここで、G/C含有量は、好ましくは、可能性のある本質的に最大のG/C含有量まで増加する。G/C含有量が最適化されたRNA配列の生成は、WO2002/098443に記載の方法を使用して行われてもよい。この文脈で、WO2002/098443の開示は、本発明においてその全範囲で含まれる。配列表の〈223〉識別子を含む説明全体で、G/Cが最適化されたコード配列は、略語「opt1」又は「gc」によって示される。

30

【0186】

好ましい実施形態では、RNAは、修飾されていてもよく、ここで、少なくとも1つのコード配列中のコドンは、ヒトコドン使用に適合され得る(本明細書において、「ヒトコドン使用適合コード配列」と称される)。同じアミノ酸をコードするコドンは、ヒトにおいて異なる頻度で生じる。したがって、同じアミノ酸をコードするコドンの頻度が、ヒトコドン使用によるそのコドンの天然に存在する頻度に対応するように、核酸のコード配列は、好ましくは修飾される。例えば、アミノ酸Alaの場合、野生型又は参照コード配列は、コドン「GCC」が、0.40の頻度で使用され、コドン「GCT」が、0.28の頻度で使用され、コドン「GCA」が、0.22の頻度で使用され、コドン「GCG」が、0.10の頻度で使用されるなどの方法で、好ましくは適合される。したがって、このような手法(Alaについて例示される)を、核酸のコード配列がコードするそれぞれのアミノ酸に適合して、ヒトコドン使用に適合した配列を得る。配列表の〈223〉識別子を含む説明全体で、ヒトコドン使用適合コード配列は、略語「opt3」又は「ヒト」によって示される。

40

【0187】

一部の実施形態では、RNAは、修飾されていてもよく、ここで、少なくとも1つのコード配列のG/C含有量は、対応する野生型又は参照コード配列のG/C含有量と比較して修飾され得る(本明細書において、「G/C含有量が修飾されたコード配列」と称される)。この文脈では、用語「G/C最適化」又は「G/C含有量修飾」は、対応する野生型又は参照コード配列と比較して、修飾された、好ましくは増加した数のグアノシン及び/又はシトシン

50

ヌクレオチドを含む核酸に関する。このような増加した数は、アデノシン又はチミジンヌクレオチドを含有するコドンの、グアノシン又はシトシンヌクレオチドを含有するコドンによる置換によって生成されてもよい。有利には、増加したG/C含有量を有する核酸配列は、増加したA/Uを有する配列よりも安定であるか、又は良好な発現を示す。好ましくは、核酸のコード配列のG/C含有量は、対応する野生型又は参照核酸配列のコード配列のG/C含有量と比較して、少なくとも10%、20%、30%、好ましくは、少なくとも40%増加する(本明細書において、「opt 10」又は「gc mod」と称される)。例えば、核酸のコード配列のG/C含有量は、配列番号28916のG/C含有量と比べて、好ましくは、少なくとも10%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%又は25%増加する。

10

【0188】

一部の実施形態では、RNAは、修飾されていてもよく、ここで、コドン適合指標(CAI)は、少なくとも1つのコード配列で増加されるか、又は好ましくは最大化され得る(本明細書において、「CAI最大化コード配列」と称される)。例えば、ヒトにおいて比較的稀である野生型又は参照核酸配列のすべてのコドンが、例えば、ヒトにおいて頻繁であるそれぞれのコドンに交換されることが好ましく、ここで、頻繁なコドンは、比較的稀なコドンと同じアミノ酸をコードする。好適には、最も頻繁なコドンは、コードされるタンパク質のそれぞれのアミノ酸に使用される。好適には、RNAは、少なくとも1つのコード配列を含み、ここで、少なくとも1つのコード配列のコドン適合指標(CAI)は、少なくとも0.5、少なくとも0.8、少なくとも0.9又は少なくとも0.95である。最も好ましくは、少なくとも1つのコード配列のコドン適合指標(CAI)は、1(CAI=1)である。例えば、アミノ酸Alaの場合、野生型又は参照コード配列は、最も頻繁なヒトコドン「GCC」が、常に、前記アミノ酸に使用される方法で適合されてもよい。したがって、このような手法(Alaについて例示される)を、核酸のコード配列によってコードされるそれぞれのアミノ酸に適合して、CAI最大化コード配列を得てもよい。

20

【0189】

特に好ましい実施形態では、核酸の少なくとも1つのコード配列は、コドン修飾されたコード配列であり、ここで、コドン修飾されたコード配列は、G/Cが最適化されたコード配列である。

【0190】

特に好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号137、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089~23148、27110~27201、28589~28637、28921~28924からなる群から選択されるG/Cが最適化された核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原をコードするG/Cが最適化されたコード配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つのコード配列を含む。

30

【0191】

特に好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号146、23150~23184、27202~27247からなる群から選択されるG/Cが最適化された核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原をコードするG/Cが最適化されたコード配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つのコード配列を含む。

40

【0192】

なおより好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号23090、23108、23126、23144、23162、23180、23091、23109、23127、23145、23163、

50

23181、28589(B.1.315;C.1.2)からなる群から選択されるコドンが修飾された核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原をコードするG/Cが最適化されたコード配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つのコード配列を含む。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号23090、23108、23126、23144、23162、23180、23091、23109、23127、23145、23163、23181又は28589と少なくとも95%同一である。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号23090～23091、23162～23163又は28589と少なくとも95%同一である。

10

【0193】

なおより好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号27116、27139、27162、27185、27208、27231、27117、27140、27163、27186、27209、27232、27118、27141、27164、27187、27210、27233、28601～28607(B.1.617;B.1.617.1;B.1.617.2;AY.1;AY.2;AY.4;AY.4.2;B.1.617.3)からなる群から選択されるコドンが修飾された核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原をコードするG/Cが最適化されたコード配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つのコード配列を含む。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号27116、27139、27162、27185、27208、27231、27117、27140、27163、27186、27209、27232、27118、27141、27164、27187、27210、27233、又は28601～28607と少なくとも95%同一である。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号27116～27118、27208～27210又は28601～28607と少なくとも95%同一である。

20

【0194】

なおより好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号27118、27141、27164、27187、27210、27233若しくは28601～28606(B.1.617.2;AY.1;AY.2;AY.4;AY.4.2)からなる群から選択されるコドンが修飾された核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原をコードするG/Cが最適化されたコード配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つのコード配列を含む。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号27118、27141、27164、27187、27210、27233又は28601～28606と少なくとも95%同一である。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号27118、27210又は28601～28606と少なくとも95%同一である。

30

40

【0195】

なおより好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号27118、27141、27164、27187、27210若しくは27233(B.1.617.2)からなる群から選択されるコドンが修飾された核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原をコードするG/Cが最適化されたコード配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つのコード配列を含む。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号27118、27141、27164、27187、27210又は27233と少なくとも95%同一である。一部の態様で

50

は、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号27118又は27210と少なくとも95%同一である。

【0196】

さらに好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、配列番号28590～28593、28921～28924(B.1.1.529、オミクロン)からなる群から選択されるコドンが修飾された核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原をコードするG/Cが最適化されたコード配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つのコード配列を含む。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号28590～28593と少なくとも95%同一である。一部の態様では、SARS-CoV-2抗原をコードする少なくとも1つのコード配列は、配列番号28590～28593、28921～28924と少なくとも95%同一である。

10

【0197】

UTR:

好ましい実施形態では、本発明のRNAは、本明細書において定義される少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含み、ここで、RNAは、少なくとも1つの異種非翻訳領域(UTR)を含む。一部の態様では、実施形態のRNAは、配列番号268の配列を含む3'UTRを含まない。ある特定の態様では、実施形態のRNAは、配列番号268の配列を含む3'UTRを含む。

20

【0198】

好ましい実施形態では、本発明のRNAは、タンパク質コード領域(「コード配列」又は「cds」)、並びに5'UTR及び/又は3'UTRを含む。特に、UTRは、核酸、例えば、RNAターナーオーバー、安定性、及び局在性を決定する調節配列エレメントを有し得る。さらに、UTRは、翻訳を強化する配列エレメントを有し得る。医薬適用では、RNAの少なくとも1つのペプチド又はタンパク質への翻訳は、治療有効性に最も重要なものである。3'UTR及び/又は5'UTRのある特定の組み合わせは、本発明のペプチド又はタンパク質をコードする作動可能に連結されたコード配列の発現を強化し得る。前記UTR組み合わせを有するRNA分子は、有利には、対象への投与後、好ましくは、筋肉内投与後に、抗原性ペプチド又はタンパク質の迅速かつ一過性の発現を可能にする。したがって、本明細書において提供される3'UTR及び/又は5'UTRのある特定の組み合わせを含むRNAは、特に、ワクチンとしての投与に適し、特に、対象の筋肉、真皮、又は表皮への投与に適する。

30

【0199】

好適には、本発明のRNAは、少なくとも1つの異種5'UTR及び/又は少なくとも1つの異種3'UTRを含む。前記異種5'UTR又は3'UTRは、天然に存在する遺伝子から誘導されてもよい、又は合成的に作出されてもよい。好ましい実施形態では、RNAは、少なくとも1つの(異種)3'UTR及び/又は少なくとも1つの(異種)5'UTRに作動可能に連結された本明細書において定義される少なくとも1つのコード配列を含む。

40

【0200】

好ましい実施形態では、RNAは、少なくとも1つの異種3'UTRを含み、RNAは、配列番号268の配列を含む3'UTRを含まない。好ましくは、RNAは、強化された半減期を有するRNAに関する(すなわち、安定なRNAをもたらす)遺伝子から誘導可能であり得る、3'UTRを含む。

【0201】

一部の実施形態では、3'UTRは、ポリアデニル化シグナル、細胞における核酸安定性若しくは位置に影響するタンパク質の結合部位、又は1つ以上のmiRNA若しくはmiRNAの結合部位のうちの1つ以上を含む。

【0202】

50

マイクロRNA(又はmiRNA)は、核酸分子の3'UTRに結合し、核酸分子安定性を低減することによって、又は翻訳を阻害することによってのいずれかで、遺伝子発現を下方調節する19~25ヌクレオチド長の非コードRNAである。例えば、マイクロRNAは、RNAを調節し、これにより、例えば、肝臓(miR-122)、心臓(miR-1d、miR-149)、内皮細胞(miR-17-92、miR-126)、脂肪組織(let-7、miR-30c)、腎臓(miR-192、miR-194、miR-204)、骨髄細胞(miR-142-3p、miR-142-5p、miR-16、miR-21、miR-223、miR-24、miR-27)、筋肉(miR-133、miR-206、miR-208)、及び肺上皮細胞(let-7、miR-133、miR-126)におけるタンパク質発現を調節することが知られている。RNAは、1つ以上のマイクロRNA標的配列、マイクロRNA配列、又はマイクロRNAシードを含んでもよい。このような配列は、例えば、任意の公知のマイクロRNA、例えば、US 2005/0261218及びUS 2005/0059005に教示されるものに対応し得る。

10

【0203】

したがって、上で定義されたmiRNA、又はmiRNAの結合部位は、RNAの発現を所望される細胞タイプ又は組織(例えば、筋肉細胞)に合わせるために、3'UTRから除去されるか、又は3'UTRに導入されてもよい。

【0204】

好ましい実施形態では、RNAは、PSMB3、ALB7、CASP1、COX6B1、GNAS、NDUFA1及びRPS9から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエントの3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種3'UTRを含む。一部の実施形態では、RNAは、少なくとも1つの異種3'UTRを含み、少なくとも1つの異種3'UTRは、好ましくは、配列番号253~266、22902~22905、22876~22895、26996~26999、28528~28539と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらのいずれかのフラグメント若しくはバリエントによる、PSMB3、ALB7、CASP1、COX6B1、GNAS、NDUFA1及びRPS9から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエントの3'UTRから誘導される核酸配列を含む。その文脈での特に好ましい核酸配列は、公開されたPCT出願WO2019/077001A1、特に、WO2019/077001A1の請求項9からもたらされ得る。WO2019/077001A1の請求項9の対応する3'UTR配列は、参照により本明細書に取り込まれる(例えば、WO2019/077001A1の配列番号23~34、又はそのフラグメント若しくはバリエント)。

20

30

【0205】

さらなる実施形態では、RNAは、RPS9遺伝子から誘導される3'UTRを含む。RPS9遺伝子から誘導される前記3'UTRは、配列番号263若しくは264、22894、22895、22904、22905と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなり得る。

【0206】

好ましい実施形態では、RNAは、PSMB3遺伝子から誘導される3'UTRを含む。PSMB3遺伝子から誘導される前記3'UTRは、配列番号253若しくは254、22892、22893、22902、22903、26996~26999、28528~28539と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなり得る。

40

【0207】

他の実施形態では、RNAは、配列番号22876~22891、28526、28527と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又は

50

そのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる3'UTRを含む。

【0208】

他の実施形態では、RNAは、WO2016/107877に記載される3'UTRを含んでもよく、3'UTR配列に関するWO2016/107877の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。好適な3'UTRは、WO2016/107877の配列番号1～24及び配列番号49～318、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションである。他の実施形態では、核酸は、WO2017/036580に記載される3'UTRを含み、3'UTR配列に関するWO2017/036580の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。好適な3'UTRは、WO2017/036580の配列番号152～204、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションである。他の実施形態では、核酸は、WO2016/022914に記載される3'UTRを含み、3'UTR配列に関するWO2016/022914の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。特に好ましい3'UTRは、WO2016/022914の配列番号20～36に記載の核酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションである。

10

【0209】

好ましい実施形態では、RNAは、少なくとも1つの異種5'UTRを含む。

【0210】

用語「5'非翻訳領域」又は「5'UTR」又は「5'UTRエレメント」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、コード配列の5' (すなわち、「上流」) に位置し、タンパク質に翻訳されないRNA分子の一部を指すことが意図される。5'UTRは、コード配列の5'に位置する核酸の一部であってもよい。典型的には、5'UTRは、転写開始部位で始まり、コード配列の開始コドン前で終わる。5'UTRは、調節エレメントとも呼ばれる、遺伝子発現を制御するためのエレメントを含んでもよい。このような調節エレメントは、例えば、リボソーム結合部位、miRNA結合部位などであってもよい。5'UTRは、例えば、5'キャップ構造 (例えば、mRNAのため) の酵素又は転写後付加によって、転写後修飾されてもよい。

20

【0211】

好ましくは、RNAは、強化された半減期を有するRNAに関する (すなわち、安定なRNAをもたらす) 遺伝子から誘導可能であり得る5'UTRを含む。

【0212】

一部の実施形態では、5'UTRは、細胞におけるRNA安定性若しくはRNA位置に影響するタンパク質の結合部位、又は1つ以上のmiRNA若しくはmiRNAの結合部位 (上で定義された通り) のうちの1つ以上を含む。

30

【0213】

したがって、上で定義されたmiRNA又はmiRNAの結合部位は、核酸の発現を所望される細胞タイプ又は組織 (例えば、筋肉細胞) に合わせるために、5'UTRから除去されるか、又は5'UTRに導入され得る。

【0214】

好ましい実施形態では、RNAは、少なくとも1つの異種5'UTRを含み、ここで、少なくとも1つの異種5'UTRは、配列番号231～252、22870～22875と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらのいずれかのフラグメント若しくはバリエーションによる、HSD17B4、RPL32、ASAH1、ATP5A1、MP68、NDUFA4、NOSIP、RPL31、SLC7A3、TUBB4B、及びUBQLN2から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相合体、フラグメント若しくはバリエーションからの5'UTRから誘導される核酸配列を含む。その文脈での特に好ましい核酸配列は、公開されたPCT出願WO2019/077001A1、特に、WO2019/077001A1の請求項9から選択することができる。WO2019/077001A1の請求項9の対応する5'UTR配列は、参照により本明細書に取り込まれる (例えば、WO2019/077001A1の配列番号1～20、又はそのフラグメント若しくはバリエーション)。

40

【0215】

50

好ましい実施形態では、RNAは、RPL31遺伝子から誘導される5'UTRを含み、RPL31遺伝子から誘導される前記5'UTRは、配列番号243、244、22872、22873と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。

【0216】

他の実施形態では、RNAは、SLC7A3遺伝子から誘導される5'UTRを含み、SLC7A3遺伝子から誘導される前記5'UTRは、配列番号245、246、22874、22875と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。

10

【0217】

特に好ましい実施形態では、RNAは、HSD17B4遺伝子から誘導される5'UTRを含み、HSD17B4遺伝子から誘導される前記5'UTRは、配列番号231、232、22870、22871と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。

【0218】

他の実施形態では、RNAは、配列番号22848～22867、28522～28525と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる5'UTRを含む。

20

【0219】

他の実施形態では、RNAは、WO2013/143700に記載される5'UTRを含み、5'UTR配列に関するWO2013/143700の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。特に好ましい5'UTRは、WO2013/143700の配列番号1～1363、配列番号1395、配列番号1421及び配列番号1422、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションから誘導される核酸配列である。他の実施形態では、核酸は、WO2016/107877に記載される5'UTRを含み、5'UTR配列に関するWO2016/107877の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。特に好ましい5'UTRは、WO2016/107877の配列番号25～30及び配列番号319～382に記載の核酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションである。他の実施形態では、核酸は、WO2017/036580に記載される5'UTRを含み、5'UTR配列に関するWO2017/036580の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。特に好ましい5'UTRは、WO2017/036580の配列番号1～151に記載の核酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションである。他の実施形態では、核酸は、2016/022914に記載される5'UTRを含み、5'UTR配列に関するWO2016/022914の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。特に好ましい5'UTRは、WO2016/022914の配列番号3～19に記載の核酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションである。

30

【0220】

好適には、好ましい実施形態では、RNAは、本明細書において定義される少なくとも1つの抗原性タンパク質をコードする、本明細書において特定される、好ましくは、以下の5'UTR/3'UTR組み合わせ(「UTR設計とも呼ばれる」):

a-1(HSD17B4/PSMB3)、a-2(NDUFA4/PSMB3)、a-3(SLC7A3/PSMB3)、a-4(NOSIP/PSMB3)、a-5(MP68/PSMB3)、b-1(UBQLN2/RPS9)、b-2(ASAHI/RPS9)、b-3(HSD17B4/RPS9)、b-4(HSD17B4/CASP1)、b-5(NOSIP/COX6B1)、c-1(NDUFA4/RPS9)、c-2(NOSIP/NDUFA1)、c-3(NDUFA4/COX6B1)、c-4(NDUFA4/NDUFA1)、c-5(ATP5A1/PSMB3)、d-1(Rpl31/PSMB3)、d-2(ATP5A1/CASP1)、d-3(SLC7A3/GNAS)、d-4(HSD17B4/NDUFA1)、d-5(Slc7a3/Ndufa1)、e-1(TUBB4B/RPS9)、e-2(RPL31/RPS9)、e-3(MP68/RPS9)、e-4(NOSIP/RPS9)

40

、e-5(ATP5A1/RPS9)、e-6(ATP5A1/COX6B1)、f-1(ATP5A1/GNAS)、f-2(ATP5A1/NDUFA1)、f-3(HSD17B4/COX6B1)、f-4(HSD17B4/GNAS)、f-5(MP68/COX6B1)、g-1(MP68/NDUFA1)、g-2(NDUFA4/CASP1)、g-3(NDUFA4/GNAS)、g-4(NOSIP/CASP1)、g-5(RPL31/CASP1)、h-1(RPL31/COX6B1)、h-2(RPL31/GNAS)、h-3(RPL31/NDUFA1)、h-4(SLC7A3/CASP1)、h-5(SLC7A3/COX6B1)、i-1(SLC7A3/RPS9)、i-2(RPL32/ALB7)、i-2(RPL32/ALB7)

から選択される3'UTR及び/又は5'UTRに作動可能に連結されたSARS-CoV-2から誘導される少なくとも1つのコード配列を含む。

【0221】

特に好ましい実施形態では、RNAは、SARS-CoV-2から誘導される少なくとも1つの抗原性タンパク質をコードする、本明細書において特定される少なくとも1つのコード配列を含み、前記コード配列は、HSD17B4 5'UTR及びPSMB3 3'UTR(HSD17B4/PSMB3(UTR設計a-1))に作動可能に連結されている。

【0222】

この実施形態は、SARS-CoV-2に対する免疫応答の誘導に特に有益であることが、本発明者らによって示されている。この文脈では、既に1回のワクチン接種が、ウイルス中和抗体力価を生じるのに十分であることが示された。

【0223】

さらに好ましい実施形態では、核酸は、好ましくは、SARS-CoV-2(nCoV-2019)コロナウイルスから誘導される、本明細書において定義される少なくとも1つの抗原性タンパク質をコードする、本明細書において特定される少なくとも1つのコード配列を含み、前記コード配列は、SLC7A3 5'UTR及びPSMB3 3'UTR(SLC7A3/PSMB3(UTR設計a-3))に作動可能に連結されている。

【0224】

さらに好ましい実施形態では、核酸は、好ましくは、SARS-CoV-2(nCoV-2019)コロナウイルスから誘導される、本明細書において定義される少なくとも1つの抗原性タンパク質をコードする、本明細書において特定される少なくとも1つのコード配列を含み、前記コード配列は、RPL31 5'UTR及びRPS9 3'UTR(RPL31/RPS9(UTR設計e-2))に作動可能に連結されている。

【0225】

一部の実施形態では、RNAは、モノシストロニック、バイシストロニック、又はマルチシストロニックであってもよい。

【0226】

用語「モノシストロニック」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、1つのコード配列のみを含む核酸を指すことが意図される。本明細書で使用される場合、用語「バイシストロニック」、又は「マルチシストロニック」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、2つ(バイシストロニック)又はそれ以上(マルチシストロニック)のコード配列を含み得る核酸を指すことが意図される。

【0227】

好ましい実施形態では、第一の態様のRNAは、モノシストロニックである。

【0228】

他の実施形態では、RNAは、モノシストロニックであり、前記核酸のコード配列は、SARS-CoV-2から誘導される少なくとも2つの異なる抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする。したがって、前記コード配列は、アミノ酸リンカー配列で結合されるか、又はなしで結合される、SARS-CoV-2から誘導された少なくとも2、3、4、5、6、7、8つ以上の抗原性ペプチド又はタンパク質をコードしてもよく、前記リンカー配列は、強固なリンカー、可動性リンカー、切断可能なリンカー、又はそれらの組み合わせを含むことができる。このような構築物は、本明細書において「複数の抗原構築物」と称される。

【0229】

さらなる実施形態では、RNAは、バイシストロニック又はマルチシストロニックであ

10

20

30

40

50

ってもよく、少なくとも2つのコード配列を含み、少なくとも2つのコード配列は、SARS-CoV-2から誘導される2つ以上の異なる抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする。したがって、バイシストロニック又はマルチシストロニック核酸中のコード配列は、好適には、本明細書において定義される別個の抗原性タンパク質若しくはペプチド又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする。好ましくは、前記バイシストロニック又はマルチシストロニック構築物中のコード配列は、少なくとも1つのIRES(配列内リボソーム進入部位)配列によって分けられ得る。したがって、用語「2つ以上の抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする」は、限定するものではないが、バイシストロニック又はマルチシストロニック核酸が、例えば、異なるSARS-CoV-2分離株の少なくとも2、3、4、5、6つ以上の(好ましくは、異なる)抗原性ペプチド又はタンパク質をコードすることを意味し得る。或いは、バイシストロニック又はマルチシストロニック核酸は、例えば、同じSARS-CoV-2から誘導される少なくとも2、3、4、5、6つ以上の(好ましくは、異なる)抗原性ペプチド又はタンパク質をコードしてもよい。その文脈では、好適なIRES配列は、特許出願WO2017/081082の配列番号1566~1662に記載の核酸配列、又はこれらの配列のフラグメント若しくはバリエーションのリストから選択される。この文脈では、IRES配列に関するWO2017/081082の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

10

【0230】

本発明の文脈で、コード配列のある特定の組み合わせは、本明細書において定義される複数の抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする核酸セットを得るための、モノシストロニック、バイシストロニック及びマルチシストロニックRNA構築物並びに/又は複数の抗原構築物の任意の組み合わせによって生成され得ることは理解されなければならない。

20

【0231】

好ましい実施形態では、RNAのリボソーム結合部位の環境におけるA/U(A/T)含有量は、そのそれぞれの野生型又は参照RNAのリボソーム結合部位の環境におけるA/U(A/T)含有量と比較して、増加してもよい。この修飾(リボソーム結合部位周囲の増加したA/U(A/T)含有量)は、RNAへのリボソーム結合の効率を増加させる。リボソームのリボソーム結合部位への有効な結合は、次に、効率的な翻訳RNAの効果を有する。

【0232】

したがって、特に好ましい実施形態では、RNAは、配列番号180、181、22845~22847の配列、又はそのフラグメント若しくはバリエーションのいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも80%、85%、90%、95%同一である、「コザック配列」としても称される、リボソーム結合部位を含む。

30

【0233】

好ましい実施形態では、RNAは、少なくとも1つのポリ(N)配列、例えば、少なくとも1つのポリ(A)配列、少なくとも1つのポリ(U)配列、少なくとも1つのポリ(C)配列、又はそれらの組み合わせを含む。

【0234】

好ましい実施形態では、本発明のRNAは、少なくとも1つのポリ(A)配列を含む。

【0235】

本明細書で使用される場合、用語「ポリ(A)配列」、「ポリ(A)テール」又は「3'ポリ(A)テール」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、典型的には、最大約1000個のアデノシンヌクレオチドの直鎖RNA(又は環状RNA中)の3'末端に位置する、アデノシンヌクレオチドの配列であることが意図される。好ましくは、前記ポリ(A)配列は、本質的にホモポリマー性であり、例えば、例えば100個のアデノシンヌクレオチドのポリ(A)配列は、本質的に100ヌクレオチド長を有する。他の実施形態では、ポリ(A)配列は、アデノシンヌクレオチドと異なる少なくとも1つのヌクレオチドによって中断され、例えば、例えば100個のアデノシンヌクレオチドのポリ(A)配列は、100より長いヌクレオチド長を有し得る(100個のアデノシンヌクレオチド及びさらに又はアデノシンヌクレオチドと異なる、前記少なくとも1つのヌクレオチド又はヌクレオチドの区画を含む)。

40

50

【0236】

ポリ(A)配列は、約10～約500個のアデノシンヌクレオチド、約10～約200個のアデノシンヌクレオチド、約40～約200個のアデノシンヌクレオチド、又は約40～約150個のアデノシンヌクレオチドを含んでもよい。好適には、ポリ(A)配列の長さは、少なくとも約10、50、64、75、100、200、300、400、若しくは500個のアデノシンヌクレオチド又はさらに約10、50、64、75、100、200、300、400、若しくは500個のアデノシンヌクレオチドより長くてもよい。ある特定の実施形態では、RNAは、30～200個のアデノシンヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリ(A)配列を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドは、アデノシンである。

【0237】

好ましい実施形態では、本発明のRNAは、約30～約200個のアデノシンヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリ(A)配列を含む。特に好ましい実施形態では、ポリ(A)配列は、約64個のアデノシンヌクレオチド(A64)を含む。特に好ましい実施形態では、ポリ(A)配列は、約100個のアデノシンヌクレオチド(A100)を含む。他の実施形態では、ポリ(A)配列は、約150個のアデノシンヌクレオチドを含む。

【0238】

さらなる実施形態では、本発明のRNAは、約100個のアデノシンヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリ(A)配列を含み、ポリ(A)配列は、非アデノシンヌクレオチドによって、好ましくは、10個の非アデノシンヌクレオチド(A30-N10-A70)によって中断される。

【0239】

本明細書において定義されるポリ(A)配列は、RNAの3'末端に直接、好ましくは、RNAの3'末端に直接位置してもよい。

【0240】

好ましい実施形態では、3'末端のヌクレオチド(ポリヌクレオチド鎖中の最後の3'末端のヌクレオチドである)は、少なくとも1つのポリ(A)配列の3'末端のAヌクレオチドである。用語「3'末端に直接位置する」は、3'末端に正確に位置すると理解されなければならない、言い換えると、核酸の3'末端は、ポリ(A)配列からなり、Aヌクレオチドで終結する。

【0241】

この実施形態は、SARS-CoV-2に対する免疫応答の誘導に特に有益であることは、本発明者らによって示されている。この文脈では、既に1回のワクチン接種が、ウイルス中和抗体力価を生じるのに十分であることが示された。

【0242】

特に好ましい実施形態では、RNA配列は、少なくとも70個のアデノシンヌクレオチドのポリ(A)配列を含み、ここで、3'末端のヌクレオチドは、アデノシンヌクレオチドである。

【0243】

この文脈では、アデノシンヌクレオチドで終わることは、RNAワクチンによるIFNアルファの誘導を減少することが示されている。IFNアルファの誘導は、もちろん、回避されなければならない、ワクチン接種された対象における発熱の誘導のための主要な要因であると考えられているため、これは特に重要である。

【0244】

好ましい実施形態では、RNAのポリ(A)配列は、RNA in vitro転写中にDNA鋳型から得られる。他の実施形態では、ポリ(A)配列は、必ずしもDNA鋳型から転写されるわけではなく、一般的な化学合成方法によってin vitroで得られる。他の実施形態では、ポリ(A)配列は、市販のポリアデニル化キット及び当該技術分野で公知の対応するプロトコールを使用した、RNAの酵素ポリアデニル化(RNA in vitro転写後)によって、又は代わりに、例えば、WO2016/174271に記載される方法及び手段を使用した、固定化ポリ(A)ポリメラーゼを使用することによって生成され、WO2016/174271の内容全体が、参

10

20

30

40

50

照により本明細書に取り込まれる。

【0245】

一部の実施形態では、RNAは、酵素ポリアデニル化によって得られるポリ(A)配列を含み、RNA分子の大部分は、約100(+/-20)～約500(+/-50)、好ましくは、約250(+/-20)個のアデノシンヌクレオチドを含む。

【0246】

他の実施形態では、RNAは、鋳型DNAから誘導されるポリ(A)配列及び例えば、WO2016/091391に記載される、酵素ポリアデニル化によって生成される少なくとも1つのさらなるポリ(A)配列を含み、WO2016/091391の内容全体が、参照により本明細書に取り込まれる。

【0247】

さらなる実施形態では、RNAは、少なくとも1つのポリ(C)配列を含む。

【0248】

本明細書で使用される場合、用語「ポリ(C)配列」は、最大約200個のシトシンヌクレオチドのシトシンヌクレオチドの配列であることが意図される。好ましい実施形態では、ポリ(C)配列は、約10～約200個のシトシンヌクレオチド、約10～約100個のシトシンヌクレオチド、約20～約70個のシトシンヌクレオチド、約20～約60個のシトシンヌクレオチド、又は約10～約40個のシトシンヌクレオチドを含む。特に好ましい実施形態では、ポリ(C)配列は、約30個のシトシンヌクレオチドを含む。

【0249】

好ましい実施形態では、本発明のRNAは、少なくとも1つのヒストンステムループ(hSL)を含む。

【0250】

用語「ヒストンステムループ」(例えば、配列表において「hSL」と略される)は、ヒストンmRNAで見られるステムループ二次構造を形成する核酸配列を指すことが意図される。

【0251】

ヒストンステム-ループ配列/構造は、好適には、WO2012/019780に開示されるヒストンステムループ配列から選択され得、WO2012/019780の内容全体が、参照により本明細書に取り込まれ、ヒストンステムループ配列/ヒストンステムループ構造に関する開示が、参照により本明細書に取り込まれる。本発明内で使用され得るヒストンステムループ配列は、好ましくは、WO2012/019780の式(I)又は(II)から誘導され得る。さらなる好ましい実施形態によると、RNAは、特許出願WO2012/019780の特定の式(Ia)又は(IIa)の少なくとも1つから誘導される少なくとも1つのヒストンステムループ配列を含む。

【0252】

好ましい実施形態では、本発明のRNAは、少なくとも1つのヒストンステムループを含み、前記ヒストンステムループ(hSL)は、配列番号178若しくは179、と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。

【0253】

他の実施形態では、RNAは、本明細書において定義されるヒストンステムループを含まない。

【0254】

様々な実施形態では、RNAは、3'末端の配列エレメントを含む。前記3'末端の配列エレメントは、ポリ(A)配列及び場合により、ヒストンステムループ配列を含む。したがって、本発明のRNAは、配列番号254、22893、22903、26997、26999、28529、28531、28533、28535、28537、28539と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一

10

20

30

40

50

である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つの3'末端の配列エレメントを含む。

【0255】

好ましい実施形態では、RNAは、3'末端の配列エレメントを含む。前記3'末端の配列エレメントは、ポリ(A)配列を含む。したがって、本発明の核酸は、配列番号254、22903、26999、28531、28525、28539と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つの3'末端の配列エレメントを含む。

【0256】

好ましい実施形態では、RNAは、3'末端の配列エレメントを含む。前記3'末端の配列エレメントは、ポリ(A)配列及びヒストンステムループ配列を含む。したがって、本発明の核酸は、配列番号254、22893、26997、28529、28533、28537と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる少なくとも1つの3'末端の配列エレメントを含む。

【0257】

様々な実施形態では、RNAは、配列番号176、177若しくは22840~22844に記載の5'末端の配列エレメント、又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含んでもよい。

【0258】

さらなる実施形態では、RNAは、配列番号176、177若しくは22840~22844に記載の5'末端の配列エレメント、又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含んでもよい。このような5'末端の配列エレメントは、例えば、T7 RNAポリメラーゼの結合部位を含む。さらに、前記5'末端の開始配列の第一のヌクレオチドは、好ましくは、2' Oメチル化、例えば、2' Oメチル化されたグアノシン又は2' Oメチル化されたアデノシンを含んでもよい。

【0259】

好ましい実施形態では、少なくとも1つの異種5'UTRは、HSD17B4由来の5'UTRから誘導された核酸配列を含むか、又はそれからなり、少なくとも1つの異種3'UTRは、PSMB3の3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、HSD17B4由来の5'UTRは、配列番号232と少なくとも約95%、96%、97%、98%~99%同一である。一部の実施形態では、PSMB3の3'UTRは、配列番号254と少なくとも約95%、96%、97%、98%~99%同一である。特に好ましい実施形態では、RNAは、5'から3'に、i) 5'キャップ1構造; ii) HSD17B4遺伝子の5'UTRから誘導された、好ましくは、配列番号232に記載の5'UTR; iii) 少なくとも1つのコード配列(実施形態のSARS-CoVスパイク抗原をコードする); iv) PSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号254に記載の3'UTR; v) 場合により、ヒストンステムループ配列; 及びvi) 約100個のAヌクレオチドを含むポリ(A)配列を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドは、アデノシンである。

【0260】

好ましくは、RNAは、約50~約20000個のヌクレオチド、又は約500~約10000個のヌクレオチド、又は約1000~約10000個のヌクレオチド、又は好ましくは、約1000~約5000個のヌクレオチド、又はなおより好ましくは、約2000~約5000個のヌクレオチドを含む。

【0261】

特に好ましい実施形態によると、RNAは、コードRNAである。好ましい実施形態では、コードRNAは、mRNA、(コード)自己複製RNA、(コード)環状RNA、(コード)ウイルスRNA、又は(コード)レプリコンRNAから選択され得る。

【0262】

他の実施形態では、コードRNAは、環状RNAである。本明細書で使用される場合、「

10

20

30

40

50

環状RNA」又は「circRNA」は、本明細書において定義される少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする環状ポリヌクレオチド構築物として理解されなければならない。好ましくは、このようなcircRNAは、一本鎖RNA分子である。好ましい実施形態では、前記circRNAは、SARS-CoV-2コロナウイルス由来の少なくとも1つの抗原性タンパク質、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含む。

【0263】

さらなる実施形態では、コードRNAは、レプリコンRNAである。用語「レプリコンRNA」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、最適化された自己複製RNAであることが意図される。このような構築物は、例えば、アルファウイルス(例えば、SFV、SIN、VEE、又はRRV)から誘導されるレプリカーゼエレメント及び構造ウイルスタンパク質の目的の核酸(すなわち、SARS-CoV-2コロナウイルスの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードするコード配列)での置換を含んでもよい。或いは、レプリカーゼは、非依存性コードRNA構築物又はコードDNA構築物において提供されてもよい。レプリカーゼの下流は、レプリコンRNAの複製を制御するサブゲノムプロモーターであってもよい。

【0264】

特に好ましい実施形態では、少なくとも1つの核酸は、レプリコンRNAでも自己複製RNAでもない。

【0265】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAは、mRNAである。

【0266】

好ましくは、mRNAは、レプリカーゼエレメント(例えば、レプリカーゼをコードする核酸)を含まない。

【0267】

用語「RNA」及び「mRNA」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、リボ核酸分子、すなわち、ヌクレオチドからなるポリマーであることが意図される。これらのヌクレオチドは、通常、いわゆる骨格に沿って互いに接続されている、アデノシン-ーリン酸、ウリジン-ーリン酸、グアノシン-ーリン酸及びシチジン-ーリン酸モノマーである。骨格は、隣接する第一のモノマーの糖、すなわちリボースと、第二のモノマーのリン酸部分の間のホスホジエステル結合によって形成される。モノマーの特定の連続は、RNA配列と呼ばれる。mRNA(メッセンジャーRNA)は、特定のペプチド又はタンパク質のアミノ酸配列に翻訳され得るヌクレオチドコード配列をもたらす。

【0268】

本発明の文脈では、RNA、好ましくは、mRNAは、投与後(例えば、対象、例えば、ヒト対象への投与後)(機能的)抗原に翻訳される、本明細書において定義されるSARS-CoV-2スパイクタンパク質由来の抗原性タンパク質をコードする少なくとも1つのコード配列をもたらす。

【0269】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、SARS-CoV-2ワクチン、好ましくは、以下のSARS-CoV-2分離株:C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)の少なくとも1つに対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0270】

特に好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、SARS-CoV-2ワクチン、好ましくは、B.1.351(南アフリカ)又はB.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)に対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0271】

好適には、RNAは、5'キャップ構造の付加によって修飾されてもよく、これにより好ましくは、RNAを安定化し、及び/又はコードされる抗原の発現を強化し、及び/又は自然免疫系(対象への投与後)の刺激を低減する。5'キャップ構造は、RNAが、直鎖コードRNA、例えば、直鎖mRNA又は直鎖コードレプリコンRNAである、実施形態において特に重要なものである。

10

【0272】

したがって、好ましい実施形態では、RNA、特に、mRNAは、5'キャップ構造、好ましくは、キャップ0、キャップ1、キャップ2、修飾されたキャップ0、又は修飾されたキャップ1構造を含む。

【0273】

本明細書で使用される場合、用語「5'キャップ構造」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、RNA、例えば、mRNAの5'末端に位置する、5'修飾されたヌクレオチド、特に、グアニンヌクレオチドを指すことが意図される。好ましくは、5'キャップ構造は、RNAへの5'-5'-三リン酸結合を介して接続される。

20

【0274】

本発明の文脈で好適であり得る5'キャップ構造は、キャップ0(第一の核酸塩基、例えば、m7GpppNのメチル化)、キャップ1(m7GpppNの隣接するヌクレオチドのリボースのさらなるメチル化)、キャップ2(m7GpppNの下流の2番目のヌクレオチドのリボースのさらなるメチル化)、キャップ3(m7GpppNの下流の3番目のヌクレオチドのリボースのさらなるメチル化)、キャップ4(m7GpppNの下流の4番目のヌクレオチドのリボースのさらなるメチル化)、ARCA(抗リバースキャップアナログ)、修飾されたARCA(例えば、ホスホチオエート修飾されたARCA)、イノシン、N1-メチル-グアノシン、2'-フルオロ-グアノシン、7-デアザ-グアノシン、8-オキソ-グアノシン、2-アミノ-グアノシン、LNA-グアノシン、及び2-アジド-グアノシンである。

30

【0275】

5'キャップ(キャップ0又はキャップ1)構造は、化学的RNA合成で、又はキャップアナログを使用したRNA in vitro転写(同時転写キャッピング)で形成することができる。

【0276】

本明細書で使用される場合、用語「キャップアナログ」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、それが、翻訳若しくは局在性を促進し、及び/又は核酸分子の5'末端で取り込まれた場合、核酸分子、特に、RNA分子の分解を予防するという点で、キャップ機能性を有する重合不可能なジ-ヌクレオチド又はトリ-ヌクレオチドを指すことが意図される。重合不可能は、キャップアナログは、5'三リン酸を有さず、したがって、鋳型依存性ポリメラーゼによって、特に、鋳型依存性RNAポリメラーゼによって、3'方向に伸長することができないため、5'末端でのみ取り込まれることを意味する。キャップアナログの例は、限定するものではないが、m7GpppG、m7GpppA、m7GpppC;非メチル化キャップアナログ(例えば、GpppG);ジメチル化キャップアナログ(例えば、m2,7GpppG)、トリメチル化キャップアナログ(例えば、m2,2,7GpppG)、ジメチル化対称キャップアナログ(例えば、m7Gpppm7G)、又は抗リバースキャップアナログ(例えば、ARCA;m7,2'OmeGpppG、m7,2'dGpppG、m7,3'OmeGpppG、m7,3'dGpppG及びそれらのテトラリン酸誘導体)からなる群から選択される化学構造を含む。さらなるキャップアナログは、以前に記載されている(WO2008/016473、WO2008/157688、WO2009/149253、WO2011/015347、及びWO2013/059475)。その文脈でのさらなる好適なキャップアナログは、WO2017/066793、WO2017/066781、WO

40

50

2017/066791、WO2017/066789、WO2017/053297、WO2017/066782、WO2018/075827及びWO2017/066797に記載され、キャップアナログに関する開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0277】

一部の実施形態では、修飾されたキャップ1構造は、WO2017/053297、WO2017/066793、WO2017/066781、WO2017/066791、WO2017/066789、WO2017/066782、WO2018/075827及びWO2017/066797に開示されるトリ-ヌクレオチドキャップアナログを使用して生成され、前述のPCT出願の内容全体が、参照により本明細書に取り込まれる。特に、WO2017/053297の請求項1～5に開示される構造から誘導可能な任意のキャップ構造を適当に使用して、修飾されたキャップ構造1を同時転写的に生成してもよい。さらに、WO2018/075827の請求項1又は請求項21に定義される構造から誘導可能な任意のキャップ構造を適当に使用して、修飾されたキャップ構造1を同時転写的に生成してもよい。

【0278】

好ましい実施形態では、RNA、特に、mRNAは、キャップ1構造を含む。

【0279】

好ましい実施形態では、5'キャップ構造は、好適には、本明細書において定義されるRNA *in vitro* 転写反応において、本明細書において定義されるトリ-ヌクレオチドキャップアナログを使用して同時転写的に付加されてもよい。

【0280】

好ましい実施形態では、本発明のコードRNAのキャップ1構造は、トリ-ヌクレオチドキャップアナログm7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG又はm7G(5')ppp(5')(2'OMeG)pGを使用した同時転写キャッピングを使用して形成される。その文脈での好ましいキャップ1アナログは、m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pGである。

【0281】

他の好ましい実施形態では、本発明のRNAのキャップ1構造は、トリ-ヌクレオチドキャップアナログ3'OMe-m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pGを使用した同時転写キャッピングを使用して形成される。

【0282】

他の実施形態では、本発明のRNAのキャップ0構造は、キャップアナログ3'OMe-m7G(5')ppp(5')Gを使用した同時転写キャッピングを使用して形成される。

【0283】

他の実施形態では、5'キャップ構造を、キャッピング酵素(例えば、ワクシニアウイルスキャッピング酵素及び/又はキャップ依存性2'-Oメチルトランスフェラーゼ)を使用した酵素キャッピングを介して形成して、キャップ0又はキャップ1又はキャップ2構造を生成する。5'キャップ構造(キャップ0又はキャップ1)は、WO2016/193226に開示される方法及び手段を使用した固定化キャッピング酵素及び/又はキャップ依存性2'-Oメチルトランスフェラーゼを使用して付加されてもよく、WO2016/193226の内容全体は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0284】

好ましい実施形態では、RNA(種)の約70%、75%、80%、85%、90%、95%は、キャッピングアッセイを使用して決定されたキャップ1構造を含む。好ましい実施形態では、RNA(種)の約20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%未満は、キャッピングアッセイを使用して決定されたキャップ1構造を含まない。他の好ましい実施形態では、RNA(種)の約70%、75%、80%、85%、90%、95%は、キャッピングアッセイを使用して決定されたキャップ0構造を含む。好ましい実施形態では、RNA(種)の約20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%未満は、キャッピングアッセイを使用して決定されたキャップ0構造を含まない。

【0285】

用語「RNA種」は、「1つの単一分子」を意味するよう限定されず、本質的に同一のR

10

20

30

40

50

NA分子のアンサンブルを含むと理解される。したがって、それは、複数の本質的に同一の(コード)RNA分子に関し得る。

【0286】

キャップ0又はキャップ1構造の存在/非存在を決定するため、内容全体が参照により本明細書に取り込まれる、公開されたPCT出願WO第2015/101416に記載される、特に、公開されたPCT出願WO2015/101416の請求項27〜46に記載されるキャッピングアッセイを使用することができる。RNAのキャップ0又はキャップ1構造の存在/非存在を決定するために使用され得る他のキャッピングアッセイは、PCT/EP2018/08667、又は公開されたPCT出願WO2014/152673及びWO2014/152659に記載され、前述のPCT出願の内容全体が、参照により本明細書に取り込まれる。

10

【0287】

好ましい実施形態では、RNAは、m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)キャップ構造を含む。このような実施形態では、コードRNAは、5'末端のm7Gキャップ、及びm7GpppNの隣接するヌクレオチドのリボースのさらなるメチル化、その場合では、2'OMeメチル化されたアデノシンを含む。好ましくは、RNA(種)の約70%、75%、80%、85%、90%、95%は、キャッピングアッセイを使用して決定されたこのようなキャップ1構造を含む。

【0288】

他の好ましい実施形態では、RNAは、m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)キャップ構造を含む。このような実施形態では、コードRNAは、5'末端のm7Gキャップ、及び隣接するヌクレオチドのリボースのさらなるメチル化、その場合では、2'OMeメチル化されたグアノシンを含む。好ましくは、コードRNA(種)の約70%、75%、80%、85%、90%、95%は、キャッピングアッセイを使用して決定されたこのようなキャップ1構造を含む。

20

【0289】

したがって、前記RNA又はmRNA配列の第一のヌクレオチド、すなわち、m7G(5')ppp構造の下流のヌクレオチドは、2'OMeメチル化されたグアノシン又は2'OMeメチル化されたアデノシンであってもよい。

【0290】

一部の実施形態によると、RNAは、修飾されたRNAであり、修飾は、骨格修飾並びに糖修飾又は塩基修飾を含む化学修飾を指す。

【0291】

修飾されたRNAは、ヌクレオチドアナログ/修飾、例えば、骨格修飾、糖修飾又は塩基修飾を含んでもよい。本発明の文脈での骨格修飾は、修飾であり、ここで、RNAのヌクレオチドの骨格のリン酸は、化学的に修飾されている。本発明の文脈での糖修飾は、RNAのヌクレオチドの糖の化学修飾である。さらに、本発明の文脈での塩基修飾は、RNAのヌクレオチドの塩基部分の化学修飾である。この文脈では、ヌクレオチドアナログ又は修飾は、好ましくは、転写及び/又は翻訳に適用可能であるヌクレオチドアナログから選択される。

30

【0292】

特に好ましい実施形態では、本明細書に記載される修飾されたRNAに取り込まれ得るヌクレオチドアナログ/修飾は、好ましくは、2-アミノ-6-クロロプリンリボシド-5'-三リン酸、2-アミノプリン-リボシド-5'-三リン酸;2-アミノアデノシン-5'-三リン酸、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン-三リン酸、2-チオシチジン-5'-三リン酸、2-チオウリジン-5'-三リン酸、2'-フルオロチミジン-5'-三リン酸、2'-O-メチル-イノシン-5'-三リン酸、4-チオウリジン-5'-三リン酸、5-アミノアリルシチジン-5'-三リン酸、5-アミノアリルウリジン-5'-三リン酸、5-プロモシチジン-5'-三リン酸、5-プロモウリジン-5'-三リン酸、5-プロモ-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、5-プロモ-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、5-ヨードシチジン-5'-三リン酸、5-ヨード-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、5-ヨードウリジン-5'-三リン酸、5-ヨード-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、5-メチルシチジン-5'-三リン酸、5-メチルウリジン-5'-三リン酸、5-プロピニル-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、5-プロピニル-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、6-アザ

40

50

シチジン-5'-三リン酸、6-アザウリジン-5'-三リン酸、6-クロロプリンリボシド-5'-三リン酸、7-デアザアデノシン-5'-三リン酸、7-デアザグアノシン-5'-三リン酸、8-アザアデノシン-5'-三リン酸、8-アジドアデノシン-5'-三リン酸、ベンゾイミダゾール-リボシド-5'-三リン酸、N1-メチルアデノシン-5'-三リン酸、N1-メチルグアノシン-5'-三リン酸、N6-メチルアデノシン-5'-三リン酸、O6-メチルグアノシン-5'-三リン酸、シュードウリジン-5'-三リン酸、又はピューロマイシン-5'-三リン酸、キサントシン-5'-三リン酸から選択される。5-メチルシチジン-5'-三リン酸、7-デアザグアノシン-5'-三リン酸、5-ブロモシチジン-5'-三リン酸、及びシュードウリジン-5'-三リン酸、ピリジン-4-オンリボヌクレオシド、5-アザ-ウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオウリジン、4-チオ-シュードウリジン、2-チオ-シュードウリジン、5-ヒドロキシウリジン、3-メチルウリジン、5-カルボキシメチル-ウリジン、1-カルボキシメチル-シュードウリジン、5-プロピニル-ウリジン、1-プロピニル-シュードウリジン、5-タウリノメチルウリジン、1-タウリノメチル-シュードウリジン、5-タウリノメチル-2-チオ-ウリジン、1-タウリノメチル-4-チオ-ウリジン、5-メチル-ウリジン、1-メチル-シュードウリジン、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、ジヒドロウリジン、ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-メトキシウリジン、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、及び4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、5-アザ-シチジン、シュードイソシチジン、3-メチル-シチジン、N4-アセチルシチジン、5-ホルミルシチジン、N4-メチルシチジン、5-ヒドロキシメチルシチジン、1-メチル-シュードイソシチジン、ピロロ-シチジン、ピロロ-シュードイソシチジン、2-チオ-シチジン、2-チオ-5-メチル-シチジン、4-チオ-シュードイソシチジン、4-チオ-1-メチル-シュードイソシチジン、4-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードイソシチジン、1-メチル-1-デアザ-シュードイソシチジン、ゼブラリン、5-アザ-ゼブラリン、5-メチル-ゼブラリン、5-アザ-2-チオ-ゼブラリン、2-チオ-ゼブラリン、2-メトキシ-シチジン、2-メトキシ-5-メチル-シチジン、4-メトキシ-シュードイソシチジン、及び4-メトキシ-1-メチル-シュードイソシチジン、2-アミノプリン、2,6-ジアミノプリン、7-デアザ-アデニン、7-デアザ-8-アザ-アデニン、7-デアザ-2-アミノプリン、7-デアザ-8-アザ-2-アミノプリン、7-デアザ-2,6-ジアミノプリン、7-デアザ-8-アザ-2,6-ジアミノプリン、1-メチルアデノシン、N6-メチルアデノシン、N6-イソペンテニルアデノシン、N6-(シス-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、2-メチルチオ-N6-(シス-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、N6-グリシニルカルバモイルアデノシン、N6-スレオニルカルバモイルアデノシン、2-メチルチオ-N6-スレオニルカルバモイルアデノシン、N6,N6-ジメチルアデノシン、7-メチルアデニン、2-メチルチオ-アデニン、及び2-メトキシ-アデニン、イノシン、1-メチル-イノシン、ワイオシン、ワイプトシン、7-デアザ-グアノシン、7-デアザ-8-アザ-グアノシン、6-チオ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-8-アザ-グアノシン、7-メチル-グアノシン、6-チオ-7-メチル-グアノシン、7-メチルイノシン、6-メトキシ-グアノシン、1-メチルグアノシン、N2-メチルグアノシン、N2,N2-ジメチルグアノシン、8-オキソ-グアノシン、7-メチル-8-オキソ-グアノシン、1-メチル-6-チオ-グアノシン、N2-メチル-6-チオ-グアノシン、及びN2,N2-ジメチル-6-チオ-グアノシン、5'-O-(1-チオホスフェート)-アデノシン、5'-O-(1-チオホスフェート)-シチジン、5'-O-(1-チオホスフェート)-グアノシン、5'-O-(1-チオホスフェート)-ウリジン、5'-O-(1-チオホスフェート)-シュードウリジン、6-アザ-シチジン、2-チオ-シチジン、アルファ-チオ-シチジン、シュードイソ-シチジン、5-アミノアリル-ウリジン、5-ヨード-ウリジン、N1-メチル-シュードウリジン、5,6-ジヒドロウリジン、アルファ-チオ-ウリジン、4-チオ-ウリジン、6-アザ-ウリジン、5-ヒドロキシ-ウリジン、デオキシ-チミジン、5-メチル-ウリジン、ピロロ-シチジン、イノシン、アルファ-チオ-グアノシン、6-メチル-グアノシン、5-メチル-シチジン、8-オキソ-グアノシン、7-デアザ-グアノシン、N1-メチル-アデノシン、2-アミノ-6-クロロ-プリン、N6-メチル-2-アミノ-プリン、シュード-イソ-シチジン、6-

10

20

30

40

50

クロロ-プリン、N6-メチル-アデノシン、アルファ-チオ-アデノシン、8-アジド-アデノシン、7-デアザ-アデノシンからなる塩基修飾されたヌクレオチドの群から選択される塩基修飾のためのヌクレオチドが特に好ましい。

【0293】

一部の実施形態では、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチドは、シュードウリジン、N1-メチルシュードウリジン、N1-エチルシュードウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、5-メチルウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、4-チオ-シュードウリジン、5-アザ-ウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メトキシウリジン及び2'-O-メチルウリジンから選択される。

10

【0294】

一部の実施形態では、本明細書において定義されるコード配列におけるウラシルの100%は、化学修飾を有し、好ましくは、化学修飾は、ウラシルの5'位置にある。

【0295】

本発明の文脈で、シュードウリジン(ψ)、N1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)、5-メチルシトシン、及び5-メトキシウリジンが、特に好ましい。

【0296】

しかしながら、一部の実施形態では、本発明のRNAは、N1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)置換された位置を含まない。さらなる態様では、実施形態のRNAは、シュードウリジン(ψ)、N1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)、5-メチルシトシン、及び5-メトキシウリジン置換された位置を含まない。依然としてさらなる実施形態では、本発明のRNAは、G、C、A及びUヌクレオチドのみからなるコード配列を含む。

20

【0297】

修飾されたヌクレオチド、例えば、シュードウリジン(ψ)、N1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)、5-メチルシトシン、及び/又は5-メトキシウリジンのRNAのコード配列への取り込みは、調整されるか、又は低減され得る(必要に応じて)不要な自然免疫応答(コードRNA又はワクチンの投与の際の)として有利であり得る。

【0298】

一部の実施形態では、RNAは、本明細書において定義されるSARS-CoV-2抗原性タンパク質をコードする少なくとも1つのコード配列を含み、ここで、前記コード配列は、シュードウリジン(ψ)及びN1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)から選択される少なくとも1つの修飾されたヌクレオチドを含み、好ましくは、ここで、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)ヌクレオチドによって置き換えられている。

30

【0299】

好ましい実施形態では、RNAは、N1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)置換された位置を含まない。さらなる実施形態では、RNAは、シュードウリジン(ψ)、N1-メチルシュードウリジン($m1\psi$)、5-メチルシトシン、及び5-メトキシウリジン置換された位置を含まない。

40

【0300】

好ましい実施形態では、RNAは、G、C、A及びUヌクレオチドのみからなるコード配列を含み、したがって、修飾されたヌクレオチド(5'末端のキャップ構造、例えば、キャップ1を除く)を含まない。

【0301】

コロナウイルスワクチンに好適な核酸、好ましくは、mRNA構築物:

様々な実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、好ましくは、5'から3'の方向に以下のエレメント:

A) 5'キャップ構造、好ましくは、本明細書において特定される5'キャップ構造;

50

- B) 5'末端の開始エレメント、好ましくは、本明細書において特定される5'末端の開始エレメント；
- C) 場合により、5'UTR、好ましくは、本明細書において特定される5'UTR；
- D) リボソーム結合部位、好ましくは、本明細書において特定されるリボソーム結合部位；
- E) 少なくとも1つのコード配列、好ましくは、本明細書において特定される少なくとも1つのコード配列；
- F) 3'UTR、好ましくは、本明細書において特定される3'UTR；
- G) 場合により、ポリ(A)配列、好ましくは、本明細書において特定されるポリ(A)配列；
- H) 場合により、ポリ(C)配列、好ましくは、本明細書において特定されるポリ(C)配列；
- I) 場合により、ヒストンステムループ、好ましくは、本明細書において特定されるヒストンステムループ；
- J) 場合により、3'末端の配列エレメント、好ましくは、本明細書において特定される3'末端の配列エレメントを含む。

10

【0302】

特に好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント：

- A) 本明細書において定義されるcap1構造；
- B) 本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR；
- C) 配列番号116、136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247、28589～28637、28916、28921～28924又はそのフラグメント若しくはバリエーションから選択されるコード配列；
- D) 本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR；
- E) 配列番号178又は179から選択されるヒストンステムループ；
- F) 約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

20

【0303】

さらなる好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント：

- A) 本明細書において定義されるキャップ1構造；
- B) 本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR；
- C) 配列番号116、136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089～23148、23150～23184、27110～27247、28589～28637、28916、28921～28924又はそのフラグメント若しくはバリエーションから選択されるコード配列；
- D) 本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR；
- F) 約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

30

40

【0304】

特に好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント：

- A) 本明細書において定義されるキャップ1構造；
- B) 本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR；
- C) 配列番号27118、27141、27164、27187、27210、27233、28601～28606

50

又はそのフラグメント若しくはバリエーションから選択されるコード配列;

D)本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254記載の3'UTR;

E)配列番号178又は179から選択されるヒストンステムループ;

F)約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

【0305】

さらなる好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント:

A)本明細書において定義されるキャップ1構造;

B)本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR;

C)配列番号27118、27141、27164、27187、27210、27233、28601~28606又はそのフラグメント若しくはバリエーションから選択されるコード配列;

D)本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR;

F)約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

【0306】

特に好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント:

A)本明細書において定義されるキャップ1構造;

B)本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR;

C)配列番号27118、27141、27164、27187、27210、27233又はそのフラグメント若しくはバリエーションから選択されるコード配列;

D)本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR;

E)配列番号178又は179から選択されるヒストンステムループ;

F)約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

【0307】

さらなる好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント:

A)本明細書において定義されるキャップ1構造;

B)本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR;

C)配列番号27118、27141、27164、27187、27210、27233又はそのフラグメント若しくはバリエーションから選択されるコード配列;

D)本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR;

F)約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

【0308】

特に好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント:

A)本明細書において定義されるキャップ1構造;

B)本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR;

C)配列番号28590~28593、28921~28924又はそのフラグメント若しくはバリエーションから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR;

ントから選択されるコード配列;

D)本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR;

E)配列番号178又は179から選択されるヒストンステムループ;

F)約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

【0309】

さらなる好ましい実施形態では、核酸、好ましくは、mRNAは、5'から3'の方向に以下のエレメント:

A)本明細書において定義されるキャップ1構造;

B)本明細書において定義されるHSD17B4遺伝子から誘導される、好ましくは、配列番号231又は232に記載の5'UTR;

C)配列番号28590~28593、28921~28924又はそのフラグメント若しくはバリエーションから選択されるコード配列;

D)本明細書において定義されるPSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは、配列番号253又は254に記載の3'UTR;

F)約100個のAヌクレオチドを含む、好ましくは、3'末端を表すポリ(A)配列を含む。

【0310】

本発明の好ましいRNA配列、好ましくは、mRNA配列は、表2において提供される。そこで、それぞれの列は、本発明の特定の好適なSARS-CoV-2構築物を表し、ここで、SARS-CoV-2骨格構築物の説明は、表2のカラムA(Col A)に示され、好ましいコード配列を含む対応するRNA配列、特に、mRNA配列は、カラムC~G(Col.C~G)に提供される。表2aは、HSD17B4/PSMB3-hSL-A100(a-1)を含むRNA配列を提供する。表2bは、HSD17B4/PSMB3-A100(a-1)を含むRNA配列を提供する。

【0311】

10

20

30

40

50

【表 2 a】

表2a: ワクチンに好適な核酸、好ましくは、mRNA構築物

Col A	Col B	Col C	Col D	Col E	Col F	Col G
S_stab_PP(K986P_V987P_D614G)	22792, 28737	23536	23554	23572	23590	23608
S_stab_PP(K986P_V987P_A222V_D614G)	22794, 28738	23537	23555	23573	23591	23609
S_stab_PP(K986P_V987P_N439K_D614G)	22796, 28739	23538	23556	23574	23592	23610
S_stab_PP(K986P_V987P_S477N_D614G)	22798, 28740	23539	23557	23575	23593	23611
S_stab_PP(K986P_V987P_N501Y_D614G)	22800, 28741	23540	23558	23576	23594	23612
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_D614G)	22802, 28742	23541	23559	23577	23595	23613
S_stab_PP(K986P_V987P_Y453F_D614G)	22804, 28743	23542	23560	23578	23596	23614
S_stab_PP(K986P_V987P_D614G_I692V)	22806, 28744	23543	23561	23579	23597	23615
S_stab_PP(K986P_V987P_D614G_M1229I)	22808, 28745	23544	23562	23580	23598	23616
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_A222V _Y453F_S477N_D614G_I692V)	22810, 28746	23545	23563	23581	23599	23617
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y453F _D614G_I692V_M1229I)	22812, 28747	23546	23564	23582	23600	23618
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y144d el_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_ D1118H)	23529, 28748	23547	23565	23583	23601	23619
S_stab_PP(K986P_V987P_K417N_E484K_N501Y _D614G)	23530, 28749	23548	23566	23584	23602	23620

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_R246I_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	23531, 28750	23549	23567	23585	23603	23621
S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_D614G)	23532, 28751	23550	23568	23586	23604	23622
S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I)	23533, 28752	23551	23569	23587	23605	23623
S_stab_PP(K986P_V987P_S13I_W152C_L452R_D614G)	23534, 28753	23552	23570	23588	23606	23624
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y144del_E484K_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_D1118H)	27386, 28754	27409	27432	27455	27478	27501
S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	27387, 28755	27410	27433	27456	27479	27502
S_stab_PP(K986P_V987P_Q52R_A67V_H69del_V70del_Y144del_E484K_D614G_Q677H_F888L)	27388, 28756	27411	27434	27457	27480	27503
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_Y144del_E484K_D614G_Q677H_F888L)	27389, 28757	27412	27435	27458	27481	27504
S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I_V1176F)	27390, 28758	27413	27436	27459	27482	27505
S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_D614G_V1176F)	27391, 28759	27414	27437	27460	27483	27506
S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_D614G_P681R)	27392, 28760	27415	27438	27461	27484	27507
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484Q_D614G_P681R_Q1071H)	27393, 28761	27416	27439	27462	27485	27508
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	27394, 28762	27417	27440	27463	27486	27509
S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I_R246del_S247del_Y248del_L249del_T250del_P251del_G252del_L452Q_F490S_D614G_T859N)	27395, 28763	27418	27441	27464	27487	27510
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_N439K_D614G)	27396, 28764	27419	27442	27465	27488	27511
S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_E484K_D614G_A701V)	27397, 28765	27420	27443	27466	27489	27512
S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_S477N_D614G_Q957R)	27398, 28766	27421	27444	27467	27490	27513

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_F157L_V367F_Q613H_P681R)	27399, 28767	27422	27445	27468	27491	27514
S_stab_PP(K986P_V987P_S254F_D614G_P681R_G769V)	27400, 28768	27423	27446	27469	27492	27515
S_stab_PP(K986P_V987P_P26S_H69del_V70del_V126A_Y144del_L242del_A243del_L244del_H245_Y_S477N_E484K_D614G_P681H_T1027I_D1118H)	27401, 28769	27424	27447	27470	27493	27516
S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144T_Y145S_ins145N_R346K_E484K_N501Y_D614G_P681H_D950N)	27402, 28770	27425	27448	27471	27494	27517
S_stab_PP(K986P_V987P_ins214TDR_Q414K_N450K_D614G_T716I)	27403, 28771	27426	27449	27472	27495	27518
S_stab_PP(K986P_V987P_T478K_D614G_P681H_T732A)	27404, 28772	27427	27450	27473	27496	27519
S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_N501Y_D614G_P681H_E1092K_H1101Y_V1176F)	27405, 28773	27428	27451	27474	27497	27520
S_stab_PP(K986P_V987P_H66D_G142V_Y144del_Y145del_D215G_V483A_D614G_H655Y_G669S_Q949R_N1187D)	27406, 28774	27429	27452	27475	27498	27521
S_stab_PP(K986P_V987P_Y144del_L452R_T478K_P681R)	27407, 28775	27430	27453	27476	27499	27522
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_Y144del_Y145del_L452R_T478K_D614G_P681R)	27408, 28776	27431	27454	27477	27500	27523
S_stab_PP(K986P_V987P_P9L_C136F_Y144del_R190S_D215G_L242del_A243del_Y449H_E484K_N501Y_D614G_H655Y_N679K_T716I_T859N)	28638, 28777					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F) ; S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v1)	28639, 28778					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F	28640, 28779					

10

20

30

40

50

_K417N_N440K_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v0)						
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_T95I_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_B.1.1.529)	28641, 28780					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19I_L24del_P25del_P26del_A27S_G142D_V213G_G339D_S371F_S373P_S375F_T376A_D405N_S477N_T478K_E484A_Q493R_Q498R_N501Y_Y505H_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_Q954H_N969K); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.2)	28642, 28781					
S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I_R246del_S247del_Y248del_L249del_T250del_P251del_G252del_D253N_L452Q_F490S_D614G_T859N)	28643, 28782					
S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144S_Y145N_R346K_E484K_N501Y_D614G_P681H_D950N)	28644, 28783					
S_stab_PP(K986P_V987P_S12F_H69del_V70del_W152R_R346S_L452R_D614G_Q677H_A899S)	28645, 28784					
S_stab_PP(K986P_V987P_I210T_N440K_E484K_D614G_D936N_S939F_T1027I)	28646, 28785					
S_stab_PP(K986P_V987P_W152L_E484K_D614G_G769V)	28647, 28786					
S_stab_PP(K986P_V987P_T20I_R357K_D614G)	28648, 28787					
S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144del_E484K_D614G_P681H_D796H)	28649, 28788					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28650, 28789					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28651, 28790					

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28652, 28791					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28653, 28792					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28654, 28793					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28655, 28794					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484Q_D614G_P681R_D950N)	28656, 28795					
S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del)	28657, 28796					
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484Q_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_Q1071H)	28658, 28797					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28659, 28798					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28660, 28799					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28661, 28800					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28662, 28801					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28663, 28802					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28664, 28803					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28665, 28804					

10

20

30

40

50

78K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)						
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484Q_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28666, 28805					
S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_E484K_D614G_P681R)	28667, 28806					
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484K_D614G_P681R_Q1071H)	28668, 28807					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28669, 28808					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28670, 28809					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28671, 28810					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28672, 28811					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28673, 28812					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28674, 28813					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28675, 28814					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484K_D614G_P681R_D950N)	28676, 28815					
S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del)	28677, 28816					
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_Q1071H)	28678, 28817					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28679, 28818					

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28680, 28819					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28681, 28820					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28682, 28821					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28683, 28822					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28684, 28823					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28685, 28824					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28686, 28825					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_N440K_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v2)	28925, 28933					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v3)	28926, 28934					

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_A701V_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v4)	28927, 28935					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v5)	28928, 28936					

10

20

30

40

50

【 0 3 1 2 】

【 表 2 b 】

表2b:コロナウイルスワクチンに好適な核酸、好ましくは、mRNA構築物

Col A	Col B	Col C	Col D	Col E	Col F	Col G
S_stab_PP(K986P_V987P_D614G)	24838, 28827	24856	24874	24892	24910	24928
S_stab_PP(K986P_V987P_A222V_D614G)	24839, 28828	24857	24875	24893	24911	24929
S_stab_PP(K986P_V987P_N439K_D614G)	24840, 28829	24858	24876	24894	24912	24930
S_stab_PP(K986P_V987P_S477N_D614G)	24841, 28830	24859	24877	24895	24913	24931
S_stab_PP(K986P_V987P_N501Y_D614G)	24842, 28831	24860	24878	24896	24914	24932
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_D614G)	24843, 28832	24861	24879	24897	24915	24933
S_stab_PP(K986P_V987P_Y453F_D614G)	24844, 28833	24862	24880	24898	24916	24934
S_stab_PP(K986P_V987P_D614G_I692V)	24845, 28834	24863	24881	24899	24917	24935
S_stab_PP(K986P_V987P_D614G_M1229I)	24846, 28835	24864	24882	24900	24918	24936
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_A222V_Y453F_S477N_D614G_I692V)	24847, 28836	24865	24883	24901	24919	24937

S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y453F_D614G_I692V_M1229I)	24848, 28837	24866	24884	24902	24920	24938
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y144del_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_D1118H)	24849, 28838	24867	24885	24903	24921	24939
S_stab_PP(K986P_V987P_K417N_E484K_N501Y_D614G)	24850, 28839	24868	24886	24904	24922	24940
S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_R246I_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	24851, 28840	24869	24887	24905	24923	24941
S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_D614G)	24852, 28841	24870	24888	24906	24924	24942
S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I)	24853, 28842	24871	24889	24907	24925	24943
S_stab_PP(K986P_V987P_S13I_W152C_L452R_D614G)	24854, 28843	24872	24890	24908	24926	24944
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y144del_E484K_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_D1118H)	27524, 28844	27547	27570	27593	27616	27639
S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	27525, 28845	27548	27571	27594	27617	27640
S_stab_PP(K986P_V987P_Q52R_A67V_H69del_V70del_Y144del_E484K_D614G_Q677H_F888L)	27526, 28846	27549	27572	27595	27618	27641
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_Y144del_E484K_D614G_Q677H_F888L)	27527, 28847	27550	27573	27596	27619	27642
S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I_V1176F)	27528, 28848	27551	27574	27597	27620	27643
S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_D614G_V1176F)	27529, 28849	27552	27575	27598	27621	27644
S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_D614G_P681R)	27530, 28850	27553	27576	27599	27622	27645
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484Q_D614G_P681R_Q1071H)	27531, 28851	27554	27577	27600	27623	27646
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	27532, 28852	27555	27578	27601	27624	27647

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I_R246del_S247del_Y248del_L249del_T250del_P251del_G252del_L452Q_F490S_D614G_T859N)	27533, 28853	27556	27579	27602	27625	27648
S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_N439K_D614G)	27534, 28854	27557	27580	27603	27626	27649
S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_E484K_D614G_A701V)	27535, 28855	27558	27581	27604	27627	27650
S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_S477N_D614G_Q957R)	27536, 28856	27559	27582	27605	27628	27651
S_stab_PP(K986P_V987P_F157L_V367F_Q613H_P681R)	27537, 28857	27560	27583	27606	27629	27652
S_stab_PP(K986P_V987P_S254F_D614G_P681R_G769V)	27538, 28858	27561	27584	27607	27630	27653
S_stab_PP(K986P_V987P_P26S_H69del_V70del_V126A_Y144del_L242del_A243del_L244del_H245Y_S477N_E484K_D614G_P681H_T1027I_D1118H)	27539, 28859	27562	27585	27608	27631	27654
S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144T_Y145S_ins145N_R346K_E484K_N501Y_D614G_P681H_D950N)	27540, 28860	27563	27586	27609	27632	27655
S_stab_PP(K986P_V987P_ins214TDR_Q414K_N450K_D614G_T716I)	27541, 28861	27564	27587	27610	27633	27656
S_stab_PP(K986P_V987P_T478K_D614G_P681H_T732A)	27542, 28862	27565	27588	27611	27634	27657
S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_N501Y_D614G_P681H_E1092K_H1101Y_V1176F)	27543, 28863	27566	27589	27612	27635	27658
S_stab_PP(K986P_V987P_H66D_G142V_Y144del_Y145del_D215G_V483A_D614G_H655Y_G669S_Q949R_N1187D)	27544, 28864	27567	27590	27613	27636	27659
S_stab_PP(K986P_V987P_Y144del_L452R_T478K_P681R)	27545, 28865	27568	27591	27614	27637	27660
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_Y144del_Y145del_L452R_T478K_D614G_P681R)	27546, 28866	27569	27592	27615	27638	27661
S_stab_PP(K986P_V987P_P9L_C136F_Y144del_R190S_D215G_L242del_A243del_Y449H_E484K_N501Y_D614G_H655Y_N679K_T716I_T859N)	28687, 28867					
S S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F	28688, 28868					

10

20

30

40

50

_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v1)						
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_K417N_N440K_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v0)	28689, 28869					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_T95I_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_B.1.1.529)	28690, 28870					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19I_L24del_P25del_P26del_A27S_G142D_V213G_G339D_S371F_S373P_S375F_T376A_D405N_S477N_T478K_E484A_Q493R_Q498R_N501Y_Y505H_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_Q954H_N969K); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.2)	28691, 28871					
S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I_R246del_S247del_Y248del_L249del_T250del_P251del_G252del_D253N_L452Q_F490S_D614G_T859N)	28692, 28872					
S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144S_Y145N_R346K_E484K_N501Y_D614G_P681H_D950N)	28693, 28873					
S_stab_PP(K986P_V987P_S12F_H69del_V70del_W152R_R346S_L452R_D614G_Q677H_A899S)	28694, 28874					
S_stab_PP(K986P_V987P_I210T_N440K_E484K_D614G_D936N_S939F_T1027I)	28695, 28875					
S_stab_PP(K986P_V987P_W152L_E484K_D614G_G769V)	28696, 28876					
S_stab_PP(K986P_V987P_T20I_R357K_D614G)	28697, 28877					

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144del_E484K_D614G_P681H_D796H)	28698, 28878					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28699, 28879					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28700, 28880					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28701, 28881					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28702, 28882					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28703, 28883					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	28704, 28884					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484Q_D614G_P681R_D950N)	28705, 28885					
S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del)	28706, 28886					
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484Q_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_Q1071H)	28707, 28887					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28708, 28888					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28709, 28889					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28710, 28890					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28711, 28891					

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28712, 28892					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28713, 28893					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28714, 28894					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484Q_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28715, 28895					
S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_E484K_D614G_P681R)	28716, 28896					
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484K_D614G_P681R_Q1071H)	28717, 28897					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28718, 28898					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28719, 28899					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28720, 28900					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28721, 28901					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28722, 28902					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28723, 28903					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_D950N)	28724, 28904					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484K_D614G_P681R_D950N)	28725, 28905					

10

20

30

40

50

S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del)	28726, 28906					
S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_Q1071H)	28727, 28907					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28728, 28908					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28729, 28909					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_W258L_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28730, 28910					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70F_G142D_E156G_F157del_R158del_A222V_K417N_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28731, 28911					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28732, 28912					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E156G_F157del_R158del_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28733, 28913					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28734, 28914					
S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484K_D614G_P681R_R682del_R683del_A684del_R685del_D950N)	28735, 28915					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212L_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_N440K_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681	28929, 28937					

10

20

30

40

50

H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v2)						
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_ T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del _L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F _S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N 501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P68 1H_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v3)	28930, 28938					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_ T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del _L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F _S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N 501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P68 1H_N701V_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K _L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v4)	28931, 28939					
S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_ T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del _L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F _G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q 498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N67 9K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K _L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v5)	28932, 28940					

10

20

【0313】

30

ある特定の実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号148、149、151、162、163、165、22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、22819、22821、22823、22825、22827、22829、22831、22833、22835、22837、22839、23309～23368、23370～23404、23529～23588、23590～23624、24837～24944、27248～27907、28638～28915、28925～28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

40

【0314】

ある特定の実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、表2a若しくは表2bのカラムB～Gで提供される配列番号からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1

50

ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

【0315】

ある特定の実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27256、27279、27302、27325、27348、27371、27394、27417、27440、27463、27486、27509、27532、27555、27578、27601、27624、27647、27688、27729、27770、27811、27852、27893、28650～28655、28699～28704、28762、28789～28794、28852、28879～28884からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

10

【0316】

ある特定の実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27256、27279、27302、27325、27348、27371、27394、27417、27440、27463、27486、27509、27532、27555、27578、27601、27624、27647、27688、27729、27770、27811、27852、27893、28762、28852からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

20

【0317】

ある特定の実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号28639～28642、28778～28781、28688～28691、28868～28871、28925～28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

30

【0318】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、23529～23534、27386～27408、23535～23552、27409～27431、23590～23606、27478～27500、28736～28776、28638～28686、28777～28825、28925～28928、28933～28936からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる。それぞれの核酸配列に関するさらなる情報は、配列表におけるそれぞれの配列番号の〈223〉識別子下、及び表2(特に、カラムB～Gを参照)において提供される。

40

【0319】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27394、27417、27486、28762、28650～28655、28789～28794からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核

50

酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。

【0320】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27394、27417、27486、28762からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。

【0321】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号28639～28642、28778～28781、28925～28928、28933～28936からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。

【0322】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号24837～24854、27524～27546、24855～24872、27547～27569、24909～24926、27616～27638、28827～28866、28687～28735、28867～28915、28929～28932、28937～28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。

【0323】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27532、27555、27624、28852、28699～28704、28879～28884からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。

【0324】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27532、27555、27624、28852からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。

【0325】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号28688～28691、28868～28871、28929～28932、28937～28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなる。

【0326】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、23529～23534、27386～27408、23535～23552、27409～27431、23590～23606、27478～27500、28736～28776、28638～28686、28777～28825、28925～28928、28933～28936からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92

10

20

30

40

50

%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

【0327】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27394、27417、27486、28762、28650~28655、28789~28794からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

10

【0328】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27394、27417、27486、28762からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

20

【0329】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号28639~28642、28778~28781、28925~28928、28933~28936からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

30

【0330】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号24837~24854、27524~27546、24855~24872、27547~27569、24909~24926、27616~27638、28827~28866、28687~28735、28867~28915、28929~28932、28937~28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

40

【0331】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27532、27555、27624、28852、28699~28704、28879~28884からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシル

50

ヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1 ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

【0332】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号27532、27555、27624、28852からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1 ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

10

【0333】

好ましい実施形態では、RNA、好ましくは、mRNAは、配列番号28688~28691、28868~28871、28929~28932、28937~28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエントを含むか、又はそれからなり、ここで、前記RNA配列中の少なくとも1つ、好ましくは、すべてのウラシルヌクレオチドは、シュードウリジン(ψ)ヌクレオチド及び/又はN1-メチルシュードウリジン(m1 ψ)ヌクレオチドによって置き換えられている。

20

【0334】

特定の実施形態では、本発明のRNAは、化学合成、例えば、固相RNA合成、並びにin vitro方法、例えば、RNA in vitro転写反応を含む当該技術分野で公知の任意の方法を使用して調製されてもよい。したがって、好ましい実施形態では、RNAは、RNA in vitro転写によって得られる。

【0335】

したがって、好ましい実施形態では、本発明のRNAは、好ましくは、in vitroで転写されたRNAである。

【0336】

用語「RNA in vitro転写」又は「in vitro転写」は、RNAが細胞を含まない系(in vitro)で合成されるプロセスに関する。RNAは、本発明による、直鎖状プラスミドDNA鋳型又はPCR増幅されたDNA鋳型である適切なDNA鋳型のDNA依存性in vitro転写によって得られてもよい。RNA in vitro転写を制御するためのプロモーターは、任意のDNA依存性RNAポリメラーゼのための任意のプロモーターであり得る。DNA依存性RNAポリメラーゼの具体例は、T7、T3、SP6、又はSyn5 RNAポリメラーゼである。本発明の好ましい実施形態では、DNA鋳型は、好適な制限酵素で直鎖状にされ、その後、それは、RNA in vitro転写に供される。

30

【0337】

RNA in vitro転写で使用される試薬は、典型的には、そのそれぞれのRNAポリメラーゼ、例えば、バクテリオファージにコードされるRNAポリメラーゼ(T7、T3、SP6、若しくはSyn5)に対して高い結合親和性を有するプロモーター配列を有するDNA鋳型(直鎖状プラスミドDNA若しくはPCR産物);4種の塩基(アデニン、シトシン、グアニン及びウラシル)のためのリボヌクレオチド三リン酸(NTP);場合により、本明細書において定義されるキャップアナログ;場合により、本明細書において定義されるさらに修飾されたヌクレオチド;DNA鋳型内のプロモーター配列に結合する能力があるDNA依存性RNAポリメラーゼ(例えば、T7、T3、SP6、若しくはSyn5 RNAポリメラーゼ);場合により、任意の可能性のあるコンタミしているRNaseを不活性化するためのリボヌクレアーゼ(RNase)阻害剤;場合により、RNA in vitro転写を阻害し得る、ピロリン酸を分解するためのピロホスファターゼ;ポリメラーゼのための補助因子として Mg^{2+} イオンを供給する、 $MgCl_2$;酸化防止剤(例えば、DTT)、及び/又はポリアミン、例えば、最適な濃度でのス

40

50

ペルミジン、例えば、WO2017/109161に開示されるTRISクエン酸塩を含む緩衝液系も含有し得る、好適なpH値を維持するための緩衝液(TRIS若しくはHEPES)を含む。

【0338】

好ましい実施形態では、本発明のRNAのキャップ1構造は、トリ-ヌクレオチドキャップアナログm7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG又はm7G(5')ppp(5')(2'OMeG)pGを使用した同時転写キャッピングを使用して形成される。本発明のコードRNAの製造に好適に使用され得る好ましいキャップ1アナログは、m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pGである。

【0339】

特に好ましい実施形態では、本発明のRNAのキャップ1構造は、トリ-ヌクレオチドキャップアナログ3'OMe-m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pGを使用した同時転写キャッピングを使用して形成される。

10

【0340】

他の実施形態では、本発明のRNAのキャップ0構造は、キャップアナログ3'OMe-m7G(5')ppp(5')Gを使用した同時転写キャッピングを使用して形成される。

【0341】

追加の実施形態では、RNA in vitro転写に使用されるヌクレオチド混合物は、さらに、本明細書において定義される修飾されたヌクレオチドを含んでもよい。その文脈では、好ましい修飾されたヌクレオチドは、シュドウリジン(Ψ)、N1-メチルシュドウリジン(m1 Ψ)、5-メチルシトシン、及び5-メトキシウリジンから選択され得る。特定の実施形態では、ヌクレオチド混合物中のウラシルヌクレオチドをシュドウリジン(Ψ)及び/又はN1-メチルシュドウリジン(m1 Ψ)によって置き換えて(部分的又は完全のいずれか)、修飾されたRNAを得る。

20

【0342】

好ましい実施形態では、RNA in vitro転写に使用されるヌクレオチド混合物は、本明細書において定義される修飾されたヌクレオチドを含まない。好ましい実施形態では、RNA in vitro転写に使用されるヌクレオチド混合物は、G、C、A及びUヌクレオチド、並びに場合により、本明細書において定義されるキャップアナログのみを含む。

【0343】

好ましい実施形態では、RNA in vitro転写反応のため使用されるヌクレオチド混合物(すなわち、混合物中のそれぞれのヌクレオチドの画分)は、所定のRNA配列、好ましくは、WO2015/188933に記載される所定のRNA配列に最適化されてもよく、WO2015/188933の内容全体は、参照により本明細書に取り込まれる。

30

【0344】

この文脈では、in vitro転写は、配列が最適化されたヌクレオチド混合物及び場合により、キャップアナログの存在下で行われ、好ましくは、ここで、配列が最適化されたヌクレオチド混合物は、化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない。

【0345】

この文脈では、配列が最適化されたヌクレオシド三リン酸(NTP)ミックスは、4種のヌクレオシド三リン酸(NTP)GTP、ATP、CTP及びUTPを含む所定の配列のRNA分子のin vitro転写反応における使用のためのヌクレオシド三リン酸(NTP)の混合物であり、ここで、配列が最適化されたヌクレオシド三リン酸(NTP)ミックス中の4種のヌクレオシド三リン酸(NTP)のそれぞれの画分は、前記RNA分子中のそれぞれのヌクレオチドの画分に対応する。リボヌクレオチドがRNA分子に存在しない場合、対応するヌクレオシド三リン酸も、配列が最適化されたヌクレオシド三リン酸(NTP)ミックスに存在しない。

40

【0346】

本明細書において定義される1個より多くの異なるRNAが生産されなければならない、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又はさらに多い異なるRNAが生産されなければならない(第二の態様を参照)実施形態では、WO2017/109134に記載される手法が、好適に使用されてもよい。

【0347】

50

RNAベースのワクチン生産の文脈では、GMPグレードの核酸、例えば、GMPグレードのRNAを用意することが要求され得る。GMPグレードのRNAは、規制当局によって承認された製造プロセスを使用して生産され得る。したがって、特に好ましい実施形態では、RNA生産は、DNA(鋳型)及びRNAレベルでの様々な品質管理工程、好ましくは、WO2016/180430に記載の品質管理工程を行う現行の優良医薬品製造基準(GMP)下で行われる。好ましい実施形態では、本発明のRNAは、GMPグレードのRNA、特に、GMPグレードのmRNAである。したがって、ワクチンのためのRNAは、好ましくは、GMPグレードのRNAである。

【0348】

得られたRNA産物は、好ましくは、Pure Messenger(登録商標)(CureVac、チュービンゲン、ドイツ;WO2008/077592に記載のRP-HPLC)及び/又はタンジェント流濾過(WO2016/193206に記載される)及び/又はオリゴd(T)精製(WO2016/180430を参照)を使用して精製される。

【0349】

さらなる好ましい実施形態では、RNAを凍結乾燥させて(例えば、WO2016/165831又はWO2011/069586に記載、両方のPCT出願の内容全体が、参照により本明細書に取り込まれる)、温度安定な乾燥させたRNA(粉末)を得る。RNAをまた、スプレー乾燥又はスプレー凍結乾燥を使用して乾燥させて(例えば、WO2016/184575又はWO2016/184576に記載)、本明細書において定義される温度安定なRNA(粉末)を得てもよい。したがって、核酸、特に、RNAの製造及び精製の文脈で、WO2017/109161、WO2015/188933、WO2016/180430、WO2008/077592、WO2016/193206、WO2016/165831、WO2011/069586、WO2016/184575、及びWO2016/184576の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0350】

したがって、好ましい実施形態では、RNAは、乾燥させたRNAである。

【0351】

本明細書で使用される場合、用語「乾燥させたRNA」は、温度安定な乾燥させたRNA(粉末)を得るために、上で定義された通り、凍結乾燥された、又はスプレー乾燥された、又はスプレー凍結乾燥されたRNAと理解されなければならない。

【0352】

好ましい実施形態では、本発明の核酸は、精製された核酸、特に、精製されたRNAである。

【0353】

本明細書で使用される場合、用語「精製された核酸」は、ある特定の精製工程後に、出発材料よりも高い純度を有する核酸と理解されるべきである。本質的には、精製された核酸に存在しない典型的な不純物は、ペプチド若しくはタンパク質、スペルミジン、BSA、不不全核酸配列、核酸フラグメント、遊離ヌクレオチド、細菌不純物、又は精製手法から誘導される不純物を含む。したがって、それは、これに関して、できるだけ100%に近い「核酸純度の程度」が望ましい。それはまた、全長核酸の量ができるだけ100%に近い核酸純度の程度が望ましい。したがって、本明細書で使用される場合、「精製された核酸」は、75%、80%、85%より高い、非常に具体的には、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%より高く、最も好ましくは99%以上の純度の程度を有する。純度の程度は、例えば、分析HPLCによって決定されてもよく、ここで、上でもたらされたパーセンテージは、標的核酸のピークの面積と副産物を表すすべてのピークの合計範囲の間の比に対応する。或いは、純度の程度は、例えば、分析アガロースゲル電気泳動又はキャピラリーゲル電気泳動によって決定されてもよい。

【0354】

好ましい実施形態では、本発明の核酸は、精製されたRNAである。

【0355】

本明細書で使用される場合、用語「精製されたRNA」又は「精製されたmRNA」は、

ある特定の精製工程(例えば、HPLC、TFF、オリゴd(T)精製、沈殿工程)後に出発材料(例えば、*in vitro*で転写されたRNA)よりも高い純度を有するRNAと理解されるべきである。本質的に精製されたRNAに存在しない典型的な不純物は、ペプチド又はタンパク質(例えば、DNA依存性RNA *in vitro*転写から誘導される酵素、例えば、RNAポリメラーゼ、RNase、ピロホスファターゼ、制限エンドヌクレアーゼ、DNase)、スペルミジン、BSA、不全RNA配列、RNAフラグメント(短い二本鎖RNAフラグメント、不全配列など)、遊離ヌクレオチド(修飾されたヌクレオチド、従来のNTP、キャップアナログ)、鋳型DNAフラグメント、緩衝液成分(HEPES、TRIS、MgCl₂)などを含む。例えば、発酵手法から誘導され得る他の可能性のある不純物は、細菌不純物(バイオーバーデン、細菌DNA)又は精製手法から誘導される不純物(有機溶媒など)を含む。したがって、それは、これに関して、できるだけ100%に近い「RNA純度の程度」が望ましい。それはまた、全長RNA転写物の量ができるだけ100%に近いRNA純度の程度が望ましい。したがって、本明細書で使用される場合、「精製されたRNA」は、75%、80%、85%より高い、非常に具体的には、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%より高い、最も好ましくは、99%以上の純度の程度を有する。純度の程度は、例えば、分析HPLCによって決定されてもよく、ここで、上でもたらされたパーセンテージは、標的RNAのピークの面積と副産物を表すすべてのピークの合計範囲の間の比に対応する。或いは、純度の程度は、例えば、分析アガロースゲル電気泳動又はキャピラリーゲル電気泳動によって決定されてもよい。

10

20

30

40

50

【0356】

特に好ましい実施形態では、RNAをRP-HPLC及び/又はTFFによって精製して、二本鎖RNA、キャッピングされていないRNA及び/又はRNAフラグメントが除去されている。

【0357】

例えば、RNA *in vitro*転写中の副産物としての二本鎖RNAの形成は、先天性免疫応答、特に、ワクチン接種された対象において発熱を誘導する主要な因子であるIFNアルファの誘導を導き得、それはもちろん望ましくない副作用である。dsRNAの免疫プロテイングの現行の技術(ドットプロット、血清学的特異的電子顕微鏡(SSEM)又はELISAなどを介した)は、核酸の混合物からdsRNA種を検出し、サイズ分類するため使用される。

【0358】

好適には、本発明のRNAを本明細書に記載されるRP-HPLC及び/又はTFFによって精製して、dsRNAの量が低減される。

【0359】

好ましくは、本発明によるRNAは、RP-HPLCを使用して、好ましくは、マクロ多孔性スチレン/ジビニルベンゼンカラム(例えば、粒子サイズ30 µm、孔サイズ4000 Å)を用いた逆相高圧液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)を使用して、さらに、約100 kDaの分子量カットオフを有するセルロースベースの膜を備えたフィルターカセットを使用して精製される。

【0360】

この文脈では、精製されたRNAがRP-HPLC及び/又はTFFによって精製され、RP-HPLC及び/又はTFFで精製されていないRNA中の副産物より約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物をもたらすことが特に好ましい。したがって、本発明のRNAは、RP-HPLC及び/又はTFFで精製されていないRNA中の副産物より約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物を含む。

【0361】

或いは、RP-HPLC及び/又はTFFによって精製された精製されたRNAは、オリゴdT精製、沈殿、濾過及び/又はアニオン交換クロマトグラフィーを用いて精製されたRNA中の副産物より約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物を含む。したがって、本発明のRP-HPLC及び/又はTFF精製されたRNAは、オリゴdT精製、沈殿、濾過及び/又はAEXを用いて精製されたRNA中の副産物より約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物を含む。

【0362】

実施形態では、RNA in vitro転写を行うための自動装置を使用して、本発明の核酸を生産し、精製してもよい。このような装置をまた使用して、組成物又はワクチンを生産してもよい(態様2及び3を参照)。好ましくは、WO2020/002598(その内容全体が、参照により本明細書に取り込まれる)に記載される装置、特に、WO2020/002598の請求項1～59並びに/又は68～76(及び図1～18)に記載される装置が好適に使用され得る。

【0363】

本明細書に記載される方法は、好ましくは、以下でさらに詳細に記載されるRNA組成物又はワクチンを生産する方法に適用され得る。

【0364】

組成物、医薬組成物:

第二の態様は、第一の態様の少なくとも1つのRNAを含む組成物に関する。

【0365】

特に、第二の態様の組成物に関する実施形態は、同様に、第三の態様のワクチンの好適な実施形態で読み取られ、理解されてもよい。また、第三の態様のワクチンに関する実施形態は、同様に、第二の態様の組成物(第一の態様の少なくとも1つのRNAを含む)の好適な実施形態で読み取られ、理解されてもよい。さらに、第一の態様(本発明のRNA)の文脈で記載される特色及び実施形態は、第二の態様の組成物の好適な実施形態として読み取られなければならない、理解されなければならない。

【0366】

好ましい実施形態では、組成物は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションであるか、又はそれから誘導される少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする第一の態様による少なくとも1つのRNAを含む。

【0367】

好ましい実施形態では、組成物は、第一の態様によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションから選択されるか、又は誘導される少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする少なくとも1つのRNAを含み、ここで、前記組成物は、好ましくは、筋肉内又は皮内投与されるものである。

【0368】

好ましくは、前記組成物の筋肉内又は皮内投与は、対象におけるコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質構築物の発現をもたらす。好ましい実施形態では、組成物の投与は、RNAの翻訳をもたらす、対象におけるコードされるSARS-CoV-2スパイクタンパク質の産生に至る。

【0369】

好ましくは、第二の態様の組成物は、ワクチンに適しており、特に、SARS-CoV-2ワクチン、好ましくは、以下のSARS-CoV-2分離株:C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)の少なくとも1つに対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0370】

特に好ましい実施形態では、第二の態様の組成物は、B.1.351(ベータ、南アフリカ)

10

20

30

40

50

に対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0371】

特に好ましい実施形態では、第二の態様の組成物は、B.1.617.2、AY.1、AY.2、AY.4又はAY.4.2に対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0372】

特に好ましい実施形態では、第二の態様の組成物は、B.1.617.2に対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0373】

特に好ましい実施形態では、第二の態様の組成物は、B.1.1.529、B.1.1.529.1/BA.1(オミクロン)及び/又はB.1.1.529.2/BA.2に対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

10

【0374】

特に好ましい実施形態では、第二の態様の組成物は、BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、及び/又はBA.1_v5に対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0375】

特に好ましい実施形態では、第二の態様の組成物は、B.1.1.529及びB.1.617.2に対するSARS-CoV-2ワクチンに適している。

【0376】

本発明の文脈では、「組成物」は、特定の成分(例えば、SARS-CoV-2から、例えば、脂質ベースの担体と関連して選択されるか、又は誘導される少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質をコードするRNA)が、場合により、任意のさらなる構成要素と共に、通常、少なくとも1つの薬学的に許容される担体又は賦形剤と共に取り込まれ得る、任意のタイプの組成物を指す。組成物は、乾燥組成物、例えば、粉末若しくは顆粒、又は固形単位、例えば、凍結乾燥された形態であってもよい。或いは、組成物は、液体形態であってもよく、それぞれの構成要素は、溶解又は分散された(例えば、懸濁されたか、若しくは乳化された)形態で独立して取り込まれてもよい。

20

【0377】

第二の態様の好ましい実施形態では、組成物は、第一の態様の少なくとも1つのRNA、及び場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む。

30

【0378】

本明細書で使用される場合、用語「薬学的に許容される担体」又は「薬学的に許容される賦形剤」は、好ましくは、投与のための組成物の液体又は非液体主成分を含む。組成物が液体形態で提供される場合、担体は、水、例えば、パイロジェンを含まない水;等張食塩水又は緩衝(水)溶液、例えば、リン酸塩、クエン酸塩など、緩衝溶液であってもよい。ナトリウム塩、好ましくは、少なくとも50mMのナトリウム塩、カルシウム塩、好ましくは、少なくとも0.01mMのカルシウム塩、及び場合により、カリウム塩、好ましくは、少なくとも3mMのカリウム塩を含有する、水又は好ましくは緩衝液、より好ましくは、水性緩衝液が使用されてもよい。好ましい実施形態によると、ナトリウム、カルシウム及び場合により、カリウム塩は、それらのハロゲン化物、例えば、塩化物、ヨウ化物、又は臭化物の形態、それらの水酸化物、炭酸塩、炭酸水素、若しくは硫酸塩の形態などで生じてよい。ナトリウム塩の例としては、NaCl、NaI、NaBr、Na₂CO₃、NaHCO₃、Na₂SO₄が挙げられ、場合によるカリウム塩の例としては、KCl、KI、KBr、K₂CO₃、KHCO₃、K₂SO₄が挙げられ、カルシウム塩の例としては、CaCl₂、CaI₂、CaBr₂、CaCO₃、CaSO₄、Ca(OH)₂が挙げられる。

40

【0379】

さらに、前述のカチオンの有機アニオンは、緩衝液中であってもよい。したがって、実施形態では、核酸組成物は、例えば、in vivoでの安定性を増加させ、細胞トランスフェクションを増加させ、持続性若しくは遅延性を可能にし、コードされるコロナウイルスタンパク質の翻訳を増加させ、及び/又はin vivoでのコードされるコロナウイルスタンパ

50

ク質の放出プロフィールを変更させるための1つ以上の薬学的に許容される担体又は賦形剤を使用した、薬学的に許容される担体又は賦形剤を含んでもよい。伝統的な賦形剤、例えば、任意及びすべての溶媒、分散媒、希釈剤、又は他の液体ビヒクルに加えて、本発明の分散又は懸濁助剤、表面活性剤、等張剤、増粘又は乳化剤、保存剤、賦形剤は、限定することなく、リポイド、リポソーム、脂質ナノ粒子、ポリマー、リポプレックス、コアシェルナノ粒子、ペプチド、タンパク質、ポリヌクレオチドでトランスフェクトされた細胞、ヒアルロニダーゼ、ナノ粒子模倣物及びそれらの組み合わせを含むことができる。実施形態では、1つ以上の適合性固体若しくは液体充填剤又は希釈剤又は封入化合物は、同様に使用されてもよく、それらは、対象への投与に好適である。本明細書で使用される場合、用語「適合性」は、組成物の構成要素が、典型的な使用条件(例えば、筋肉内又は皮内投与)下での組成物の生物学的活性又は医薬有効性を実質的に低減する相互作用が生じない様式で、組成物の少なくとも1つの核酸及び場合により複数の核酸と混合される能力があることを意味する。薬学的に許容される担体又は賦形剤は、処置されるべき対象への投与に適するように十分に高い純度及び十分に低い毒性を有さなければならない。薬学的に許容される担体又は賦形剤として使用され得る化合物は、糖、例えば、ラクトース、グルコース、トレハロース、マンノース、及びスクロース;デンプン、例えば、トウモロコシデンプン又はジャガイモデンプン;デキストロース;セルロース及びその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、酢酸セルロース;粉末トラガカント;麦芽;ゼラチン;獣脂;固体滑剤、例えば、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム;硫酸カルシウム塩;植物油、例えば、落花生油、綿実油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及びカカオ属由来の油;ポリオール、例えば、ポリプロピレングリコール、グリセロール、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコール;アルギン酸であってもよい。

10

20

30

40

50

【0380】

組成物の少なくとも1つの薬学的に許容される担体又は賦形剤は、好ましくは、前記組成物の筋肉内又は皮内送達/投与に好適であるよう選択されてもよい。したがって、組成物は、好ましくは、医薬組成物、好適には、筋肉内投与用の組成物である。

【0381】

組成物、好ましくは、医薬組成物の投与が企図される対象は、限定するものではないが、ヒト及び/若しくは他の霊長類;商業的に関連する哺乳動物、例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、イヌ、マウス、及び/若しくはラットを含む哺乳動物;並びに/又は商業的に関連する鳥類、例えば、家禽、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、及び/又は七面鳥を含む鳥類を含む。

【0382】

本発明の医薬組成物は、好適には、無菌及び/又はパイロジェンを含まないものであり得る。

【0383】

本発明の多価組成物:

実施形態では、本明細書において定義される組成物(例えば、多価組成物)は、本発明の第一の態様の文脈で定義されるRNA種の複数又は1つより多くを含んでもよい。好ましくは、本明細書において定義される組成物は、それぞれ第一の態様の文脈で定義される2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個の異なるRNA種を含み得る。

【0384】

実施形態では、組成物(例えば、多価組成物)は、それぞれ少なくとも1つの異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質(第一の態様の文脈で定義される)をコードする、第一の態様の文脈で定義される少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はさらに多い異なるRNA種を含む。

【0385】

この文脈で、異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、

・K986、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F;

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、K417N、N440K、G446S、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F;

10

・K986P、V987P、A67V、T95I、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F;

・K986P、V987P、T19I、L24del、P25del、P26del、A27S、G142D、V213G、G339D、S371F、S373P、S375F、T376A、D405N、S477N、T478K、E484A、Q493R、Q498R、N501Y、Y505H、D614G、H655Y、N679K、P681H、D796Y、Q954H、及びN969K;

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、N440K、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F;

20

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F;

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、A701V、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F;

30

・K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、G446S、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F;

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V;

40

・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、及びT1027I;

・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、T1027I、及びV1176F;

・L452R、P681R、及びD614G;

・L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;又は

・L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950Nを含むスパイクタンパク質におけるアミノ酸変化を有することが、さらに好ましい。

【0386】

50

この文脈で、異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;又は

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V

を含むスパイクタンパク質におけるアミノ酸変化を有することが、なおより好ましい。

【0387】

この文脈で、異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、

スパイクタンパク質における以下のアミノ酸変化:

K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981F

を有する少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質;並びに

スパイクタンパク質における以下のアミノ酸変化:

L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;若しくは

L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N

を有する少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質

を含むスパイクタンパク質におけるアミノ酸変化を有することが、なおより好ましい。

【0388】

好ましい実施形態では、組成物(例えば、多価組成物)は、2、3、4又は5個のRNA種及び場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体又は賦形剤を含み、ここで、前記RNA種は、配列番号22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、23529~23534、27386~27408、23535~23552、27409~27431、23590~23606、27478~27500、28736~28776、28638~28686、28777~28825、28925~28928、28933~28936からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列を含むか、又はそれからなり、ここで、2、3、4又は5個の核酸種のそれぞれは、異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードする。

【0389】

好ましい実施形態では、組成物(例えば、多価組成物)は、2、3、4又は5個のRNA種及び場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体又は賦形剤を含み、ここで、前記RNA種は、配列番号24837~24854、27524~27546、24855~24872、27547~27569、24909~24926、27616~27638、28827~28866、28687~28735、28867~28915、28937~28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列を含むか、又はそれからなり、ここで、2、3、4又は5個の核酸種のそれぞれは、異なるSARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードする。

【0390】

以下で、多価組成物の特に好ましい実施形態が提供される。

【0391】

好ましい実施形態では、多価組成物は、配列番号10のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、9

10

20

30

40

50

3%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1つのRNA種を含み、ここで、多価組成物は、さらに、

i) 配列番号27108～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

ii) 配列番号22960～22961、28540のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

iii) 配列番号27093～27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

iv) 配列番号27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

v) 配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

vi) 配列番号27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

vii) 配列番号27095のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

viii) 配列番号28541～28544、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種

から選択される少なくとも2、3、4個のさらなるRNA種を含む。

【0392】

好ましい実施形態では、多価組成物は、配列番号27093～27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種を含み、ここで、多価組成物は、さらに、

i) 配列番号27108～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

ii) 配列番号22960～22961、28540のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

iii) 配列番号10のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、

10

20

30

40

50

86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

iv) 配列番号27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

v) 配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

vi) 配列番号28541～28544、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種から選択される少なくとも2、3、4個のさらなるRNA種を含む。

【0393】

好ましい実施形態では、多価組成物は、配列番号27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種を含み、ここで、多価組成物は、さらに、

i) 配列番号27108～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

ii) 配列番号22960～22961、28540のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

iii) 配列番号10のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

iv) 配列番号27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

v) 配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

vi) 配列番号28541～28544、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種から選択される少なくとも2、3、4個のさらなるRNA種を含む。

【0394】

好ましい実施形態では、多価組成物は、配列番号27095のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%

10

20

30

40

50

、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種を含み、ここで、多価組成物は、さらに、

i) 配列番号27108～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

ii) 配列番号22960～22961、28540のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

iii) 配列番号10のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

iv) 配列番号27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

v) 配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

vi) 配列番号28541～28544、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種から選択される少なくとも2、3、4個のさらなるRNA種を含む。

【0395】

好ましい実施形態では、多価組成物は、配列番号22960～22961、28540のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種を含み、ここで、多価組成物は、さらに、

i) 配列番号27108～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

ii) 配列番号10のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

iii) 配列番号27093～27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

iv) 配列番号27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種;及び/又は

v) 配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%

10

20

30

40

50

、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

vi) 配列番号27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

vii) 配列番号27095のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

viii) 配列番号28541～28544、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種から選択される少なくとも2、3、4個のさらなるRNA種を含む。

【0396】

好ましい実施形態では、多価組成物は、配列番号28541～28544、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種を含み、ここで、多価組成物は、さらに、

i) 配列番号27108～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

ii) 配列番号10のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

iii) 配列番号27093～27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

iv) 配列番号27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

v) 配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

vi) 配列番号27095、28552～28558のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

vii) 配列番号27095のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種；及び/又は

10

20

30

40

50

viii) 配列番号22960～22961、28540のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個のRNA種から選択される少なくとも2、3、4個のさらなるRNA種を含む。

【0397】

好ましい実施形態では、組成物、好ましくは、多価組成物は、C.1.2(南アフリカ)、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、C.36.3(タイ)、B.1.619(カメルーン)、R.1(ケンタッキー、米国)、B.1.1.176(カナダ)、AZ.3、AY.1(インド)、AY.2(インド)、AY.4(インド)、AY.4.2(デルタプラス、インド)、B.1.617.3(インド)、B.1.351(ベータ、南アフリカ)、B.1.1.7(アルファ、英国)、P.1(ガンマ、ブラジル)、B.1.427/B.1.429(イプシロン、カリフォルニア、米国)、B.1.525(エータ、ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(イオタ、ニューヨーク、米国)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(カッパー、インド)、B.1.617.2(デルタ、インド)、P.2(ゼータ、ブラジル)、C37.1(ラムダ、ペルー)、P.3(シータ、フィリピン)、及び/又はB.1.621(ミュー、コロンビア)に対するワクチンに適している。

【0398】

実施形態では、組成物に含まれるRNAは、約100ng～約500μgの量で、約1μg～約200μgの量で、約1μg～約100μgの量で、約5μg～約100μgの量で、好ましくは、約10μg～約50μgの量で、具体的には、約1μg、2μg、3μg、4μg、5μg、6μg、7μg、8μg、9μg、10μg、11μg、12μg、13μg、14μg、15μg、20μg、25μg、30μg、35μg、40μg、45μg、50μg、55μg、60μg、65μg、70μg、75μg、80μg、85μg、90μg、95μg又は100μgの量で提供される。

【0399】

組成物が、本明細書において定義されるRNA種の複数又は少なくとも1個より多くを含む場合(多価組成物)、それぞれのRNA種についてのRNAの量は、約100ng～約500μgの量で、約1μg～約200μgの量で、約1μg～約100μgの量で、約5μg～約100μgの量で、好ましくは、約10μg～約50μgの量で、具体的には、約1μg、2μg、3μg、4μg、5μg、6μg、7μg、8μg、9μg、10μg、11μg、12μg、13μg、14μg、15μg、20μg、25μg、30μg、35μg、40μg、45μg、50μg、55μg、60μg、65μg、70μg、75μg、80μg、85μg、90μg、95μg又は100μgの量で提供される。

【0400】

一部の実施形態では、それぞれのRNA種についてのRNAの量は、本質的には質量が等しい。他の実施形態では、それぞれのRNA種についてのRNAの量は、等モルであるよう選択される。

【0401】

複合体化:

第二の態様の好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNA、好ましくは、少なくとも1つのmRNAを、さらなる化合物と複合体化するか、又は会合させて、複合体化された製剤化組成物が得られる。複合体化された製剤は、トランスフェクション剤の機能を有し得る。複合体化された製剤化組成物はまた、RNA及び/又はmRNAを分解から保護する機能を有し得る。

【0402】

第二の態様の好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNA、好ましくは、少なくとも1つのmRNA、及び場合により少なくとも1つのさらなるRNAは、1つ以上のカチオン性若しくはポリカチオン性化合物、好ましくは、カチオン性若しくはポリカチオン性ポリマー、カチオン性若しくはポリカチオン性多糖、カチオン性若しくはポリカチオン性脂質、カチオン性若しくはポリカチオン性タンパク質、カチオン性若しくはポリカチオン性ペプ

チド、又はそれらの任意の組み合わせと複合体化されるか、若しくは会合されるか、又は少なくとも部分的に複合体化されるか、若しくは部分的に会合される。

【0403】

本明細書で使用される場合、用語「カチオン性又はポリカチオン性化合物」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、約1~9の範囲にあるpH値で、約3~8の範囲にあるpH値で、約4~8の範囲にあるpH値で、約5~8の範囲にあるpH値で、より好ましくは、約6~8の範囲にあるpH値で、なおより好ましくは、約7~8の範囲にあるpH値で、最も好ましくは、例えば、約7.2~約7.5の範囲にある生理学的pHで正に荷電されている、荷電された分子を指すことが意図される。したがって、カチオン性成分、例えば、カチオン性ペプチド、カチオン性タンパク質、カチオン性ポリマー、カチオン性多糖、カチオン性脂質は、生理学的条件下で正に荷電されている任意の正に荷電された化合物又はポリマーであってもよい。「カチオン性若しくはポリカチオン性ペプチド又はタンパク質」は、例えば、Arg、His、Lys若しくはOrnから選択される少なくとも1個の正に荷電されたアミノ酸、又は1個より多くの正に荷電されたアミノ酸を含有してもよい。したがって、「ポリカチオン性」成分はまた、所定の条件下での1つより多くの正電荷を示す範囲内である。

10

【0404】

この文脈で特に好ましいカチオン性又はポリカチオン性化合物は、以下のリストのカチオン性若しくはポリカチオン性ペプチド又はタンパク質又はそのフラグメント:プロタミン、ヌクレオリン、スペルミン若しくはスペルミジン、又は他のカチオン性ペプチド若しくはタンパク質、例えば、ポリ-L-リジン(PLL)、ポリ-アルギニン、塩基性ポリペプチド、HIV結合ペプチド、HIV-1 Tat(HIV)、Tat誘導ペプチド、ペネトラチン、VP22誘導若しくはアナログペプチドを含む細胞透過性ペプチド(CPP)、HSV VP22(単純ヘルペス)、MAP、KALA若しくはタンパク質形質導入ドメイン(PTD)、PpT620、プロリンリッチなペプチド、アルギニンリッチなペプチド、リジンリッチなペプチド、MPGペプチド、Pep-1、L-オリゴマー、カルシトニンペプチド、アンテナペディヤ誘導ペプチド、pAntp、pIsI、FGF、ラクトフェリン、トランスポーター、ブホリン-2、Bac715-24、SynB、SynB(1)、pVEC、hCT誘導ペプチド、SAP、或いはヒストンから選択され得る。より好ましくは、核酸(例えば、DNA又はRNA)、例えば、コードRNA、好ましくは、mRNAは、1つ以上のポリカチオンと、好ましくはプロタミン又はオリゴフェクタミンと、最も好ましくはプロタミンと複合体化される。

20

30

【0405】

トランスフェクション又は複合体化剤として使用することができるさらに好ましいカチオン性又はポリカチオン性化合物は、カチオン性多糖、例えば、キトサン、ポリブレンなど;カチオン性脂質、例えば、DOTMA、DMRIE、ジ-C14-アミジン、DOTIM、SAINT、DC-Chol、BGTC、CTAP、DOPC、DODAP、DOPE;ジオレイルホスファチジルエタノール-アミン、DOSPA、DODAB、DOIC、DMEPC、DOGS、DIMRI、DOTAP、DC-6-14、CLIP1、CLIP6、CLIP9、オリゴフェクタミン;又はカチオン性若しくはポリカチオン性ポリマー、例えば、修飾されたポリアミノ酸、例えば、ベータ-アミノ酸-ポリマー若しくは逆性ポリアミドなど、修飾されたポリエチレン、例えば、PVPなど、修飾されたアクリレート、例えば、pDMAEMAなど、修飾されたアミドアミン、例えば、pAMAMなど、修飾されたポリベータアミノエステル(PBAE)、例えば、ジアミン末端が修飾された1,4ブタンジオールジアクリレート-co-5-アミノ-1-ペンタノールポリマーなど、 dendrimer、例えば、ポリプロピルアミン dendrimer若しくはpAMAMベースの dendrimerなど、ポリイミン、例えば、PEI、ポリ(プロピレンイミン)など、ポリアリルアミン、糖骨格ベースのポリマー、例えば、シクロデキストリンベースのポリマー、デキストランベースのポリマーなど、シラン骨格ベースのポリマー、例えば、PMOXA-PDMSコポリマーなど、1つ以上のカチオン性ブロック(例えば、上述のカチオン性ポリマーから選択される)と1つ以上の親水性若しくは疎水性ブロック(例えば、ポリエチレングリコール)の組み合わせからなるブロックポリマーなどを含んでもよい。

40

50

【0406】

様々な実施形態によると、本発明の組成物は、少なくとも1つのRNA、好ましくは、第一の態様の文脈で定義された少なくとも1つのmRNA、及びポリマー性担体を含む。

【0407】

本明細書で使用される場合、用語「ポリマー性担体」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、別の化合物(例えば、カーゴ核酸)の輸送及び/又は複合体化を促進する化合物を指すことが意図される。ポリマー性担体は、典型的には、ポリマーから形成される担体である。ポリマー性担体は、共有結合性又は非共有結合性相互作用によって、そのカーゴ(例えば、DNA、又はRNA)に会合されてもよい。ポリマーは、異なるサブユニット、例えば、コポリマーに基づいてもよい。

10

【0408】

その文脈での、好適なポリマー性担体は、例えば、ポリアクリレート、ポリアルキシアノアクリレート、ポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコリドコポリマー、ポリカプロラクトン、デキストラン、アルブミン、ゼラチン、アルギン酸塩、コラーゲン、キトサン、シクロデキストリン、プロタミン、ペグ化プロタミン、ペグ化PLL及びポリエチレンジイミン(PEI)、ジチオビス(スクシンイミジルプロピオン酸塩)(DSP)、ジメチル-3,3'-ジチオビスプロピオンイミデート(DTBP)、ポリ(エチレンジイミン)ビスカルバメート(PEIC)、ポリ(L-リジン)(PLL)、ヒスチジン修飾されたPLL、ポリ(N-ビニルピロリドン)(PVP)、ポリ(プロピレンジイミン)(PPI)、ポリ(アミドアミン)(PAMAM)、ポリ(アミドエチレンジイミン)(SS-PAEI)、トリエチレントトラミン(TETA)、ポリ(β -アミノエステル)、ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)(PHP)、ポリ(アリルアミン)、ポリ(α -[4-アミノブチル]-L-グリコール酸(PAGA)、ポリ(D,L-乳酸-co-グリコール酸)(PLGA)、ポリ(N-エチル-4-ビニルピリジニウムブロミド)、ポリ(ホスファゼン)(PPZ)、ポリ(ホスホエステル)(PPE)、ポリ(ホスホルアミデート)(PPA)、ポリ(N-2-ヒドロキシプロピルメタクリルアミド)(pHPMA)、ポリ(2-(ジメチルアミノ)エチルメタクリレート)(pDMAEMA)、ポリ(2-アミノエチルプロピレンホスフェート)PPE-EA)、ガラクトシル化キトサン、N-ドデシル化キトサン、ヒストン、コラーゲン及びデキストラン-スベルミンを含んでもよい。一実施形態では、ポリマーは、不活性なポリマー、例えば、限定するものではないが、PEGであってもよい。一実施形態では、ポリマーは、カチオン性ポリマー、例えば、限定するものではないが、PEI、PLL、TETA、ポリ(アリルアミン)、ポリ(N-エチル-4-ビニルピリジニウムブロミド)、pHPMA及びpDMAEMAであってもよい。一実施形態では、ポリマーは、生分解性PEI、例えば、限定するものではないが、DSP、DTBP及びPEICであってもよい。一実施形態では、ポリマーは、生分解性、例えば、限定するものではないが、ヒスチジン修飾されたPLL、SS-PAEI、ポリ(β -アミノエステル)、PHP、PAGA、PLGA、PPZ、PPE、PPA及びPPE-EAであってもよい。

20

30

【0409】

LNP中への封入/複合体化:

第二の態様の好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNA、好ましくは、少なくとも1つのmRNA、及び場合により、少なくとも1つのさらなるRNAは、1つ以上の脂質(例えば、カチオン性脂質及び/又は中性脂質)と複合体化され、封入され、部分的に封入されるか、又は会合されて、これにより、脂質ベースの担体、例えば、リポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポソームが形成される。

40

【0410】

リポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポソームに取り込まれたRNAは、脂質層/膜内の、リポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/若しくはナノリポソームの内部空間に完全若しくは部分的に位置するか、又は脂質層/膜の外部表面と会合し得る。

【0411】

RNAのリポソーム/LNPへの取り込みは、本明細書において、「封入」とも称され、ここで、RNAは、リポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポ

50

ソームの内部空間に完全に含有される。RNAをリポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポソームを取り込む目的は、核酸の迅速な排出を引き起こす核酸及び/又は系若しくは受容体を分解する酵素又は化学物質又は条件を含有し得る環境からRNAを保護することである。さらに、RNAをリポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポソームに取り込むことは、RNAの取り込みを促進し得、故に、抗原性SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするRNAの治療効果を強化し得る。したがって、少なくとも1つのRNAをリポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポソームに取り込むことは、SARS-CoV-2ワクチン、例えば、筋肉内及び/又は皮内投与に特に好適であり得る。

【0412】

10

この文脈では、用語「複合体化された」又は「会合された」は、共有結合なしでより大きい複合体又は集合体へのRNAの1つ以上の脂質との本質的に安定な組み合わせを指す。

【0413】

「LNP」とも称される、用語「脂質ナノ粒子」は、任意の特定の形態に限定されず、カチオン性脂質及び場合により1つ以上のさらなる脂質が例えば、水性環境中及び/又はRNAの存在下で合わされた場合に生じる任意の形態を含む。例えば、リポソーム、脂質複合体、リポプレックスなどは、脂質ナノ粒子(LNP)の範囲内にある。

【0414】

リポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リポプレックス、及び/又はナノリポソームは、異なるサイズ、例えば、限定するものではないが、直径が数百ナノメートルであり得、細い水性区画によって分けられた一連の同心円状二重層を含有し得る多重層小胞(MLV)、直径が50nmより短くてもよい小細胞性小胞(SUV)、及び直径50nm~500nmであり得る大きな単層小胞(LUV)のものであることができる。

20

【0415】

本発明のLNPは、好適には、1つ以上の二重層の膜によって外側の媒体から隔離された内部の水空間を有する顕微鏡レベルの小胞として特徴付けられる。LNPの二重層の膜は、典型的には、両親媒性分子、例えば、空間的に分けられた親水性及び疎水性ドメインを含む合成又は天然起源の脂質によって形成される。リポソームの二重層の膜はまた、両親媒性ポリマー及び界面活性剤(例えば、ポリマーソーム、ニオソームなど)によって形成することができる。本発明の文脈では、LNPは、典型的には、標的組織へ少なくとも1つのRNAを輸送するのに働く。

30

【0416】

したがって、第二の態様の好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子(LNP)が形成される。好ましくは、前記LNPは、筋肉内及び/又は皮内投与に特に適している。LNPは、典型的には、カチオン性脂質、並びに中性脂質、荷電された脂質、ステロイド及びポリマーコンジュゲートされた脂質(例えば、ペグ化脂質)から選択される1つ以上の賦形剤を含む。少なくとも1つのRNAは、LNPの脂質部分又はLNPの一部若しくは完全な脂質部分によって包膜された水性空間に封入されてもよい。RNA又はその部分はまた、LNPと会合し、複合体化されてもよい。LNPは、RNAが結合されるか、又は1つ以上のRNA種が封入される粒子を形成する能力がある任意の脂質を含み得る。好ましくは、RNAを含むLNPは、1つ以上のカチオン性脂質、及び1つ以上の安定化脂質を含む。安定化脂質は、中性脂質及びペグ化脂質を含む。

40

【0417】

好ましくは、本発明のLNPは、

(i) 少なくとも1つのカチオン性脂質;

(ii) 少なくとも1つの中性脂質;

(iii) 少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール; 及び

(iv) 少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、PEG脂質を含み

50

、
ここで、(i)～(iv)は、約20～60%カチオン性脂質、5～25%中性脂質、25～55%ステロール、及び0.5～15%ポリマーコンジュゲートされた脂質のモル比である。

【0418】

LNPのカチオン性脂質は、カチオン化可能であってもよく、すなわち、pHが、脂質のイオン化可能な基のpK未満に下がるとプロトン化され、より高いpH値で漸進的に中性になる。次いで、pK未満のpH値で、脂質は、負に荷電された核酸と会合することができる。ある特定の実施形態では、カチオン性脂質は、pH減少に対して正電荷を帯びる双性イオン脂質を含む。

【0419】

このような脂質は、限定するものではないが、DSDMA、N,N-ジオレイル-N,N-ジメチルアンモニウムクロリド(DODAC)、N,N-ジステアシル-N,N-ジメチルアンモニウムブロミド(DDAB)、1,2-ジオレオイルトリメチルアンモニウムプロパンクロリド(DOTAP)(N-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド及び1,2-ジオレイルオキシ-3-トリメチルアミノプロパンクロリド塩としても知られる)、N-(1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド(DOTMA)、N,N-ジメチル-2,3-ジオレイルオキシ)プロピルアミン(DODMA)、ckk-E12、ckk、1,2-ジリノレイルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン(DLinDMA)、1,2-ジリノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン(DLenDMA)、1,2-ジ-γ-リノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン(γ-DLenDMA)、98N12-5、1,2-ジリノレイルカルバモイルオキシ-3-ジメチルアミノプロパン(DLin-C-DAP)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-(ジメチルアミノ)アセトキシプロパン(DLin-DAC)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-モルホリノプロパン(DLin-MA)、1,2-ジリノレオイル-3-ジメチルアミノプロパン(DLinDAP)、1,2-ジリノレイルチオ-3-ジメチルアミノプロパン(DLin-S-DMA)、1-リノレオイル-2-リノレイルオキシ-3-ジメチルアミノプロパン(DLin-2-DMAP)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-トリメチルアミノプロパンクロリド塩(DLin-TMA.Cl)、ICE(イミダゾールベース)、HGT5000、HGT5001、DMDMA、CLinDMA、CpLinDMA、DMOBA、DOcarbDAP、DLincarbDAP、DLinCDAP、KLIn-K-DMA、DLin-K-XTC2-DMA、XTC(2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン)HGT4003、1,2-ジリノレイル-3-トリメチルアミノプロパンクロリド塩(DLin-TAP.Cl)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-(N-メチルピペラジノ)プロパン(DLin-MPZ)、若しくは3-(N,N-ジリノレイルアミノ)-1,2-プロパンジオール(DLinAP)、3-(N,N-ジオレイルアミノ)-1,2-プロパンジオ(DOAP)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-(2-N,N-ジメチルアミノ)エトキシプロパン(DLin-EG-DMA)、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノメチル-[1,3]-ジオキソラン(DLin-K-DMA)若しくはそのアナログ、(3aR,5s,6aS)-N,N-ジメチル-2,2-ジ((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエニル)テトラヒドロ-3aH-シクロペンタ[d][1,3]ジオキソール-5-アミン、(6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イル-4-(ジメチルアミノ)ブタノエート(MC3)、ALNY-100((3aR,5s,6aS)-N,N-ジメチル-2,2-ジ((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエニル)テトラヒドロ-3aH-シクロペンタ[d][1,3]ジオキソール-5-アミン)、1,1'-(2-(4-(2-((2-(ビス(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)エチルアザネジイル)ジドデカン-2-オール(C12-200)、2,2-ジリノレイル-4-(2-ジメチルアミノエチル)-[1,3]-ジオキソラン(DLin-K-C2-DMA)、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノメチル-[1,3]-ジオキソラン(DLin-K-DMA)、NC98-5(4,7,13-トリス(3-オキシ-3-(ウンデシルアミノ)プロピル)-N1,N16-ジウンデシル-4,7,10,13-テトラアザヘキサデカン-1,16-ジアミド)、(6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イル4-(ジメチルアミノ)ブタノエート(DLin-M-C3-DMA)、3-((6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イルオキシ)-N,N-ジメチルプロパン-1-アミン(MC3エーテル)、4-((6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イルオキシ)-N,N-ジメチルブタン-1-アミン(MC4エーテル)、LIPOFECTIN(登録商標)(GIB

10

20

30

40

50

CO/BRL、Grand Island、N.Y.からのDOTMA及び1,2-ジオレオイル-sn-3ホスホエタノールアミン(DOPE)を含む市販のカチオン性リポソーム);LIPOFECTAMINE(登録商標)(GIBCO/BRLからのN-(1-(2,3ジオレイルオキシ)プロピル)-N-(2-(スベルミンカルボキサミド)エチル)-N,N-ジメチルアンモニウムトリフルオロアセテート(DOSPA)及び(DOPE)を含む市販のカチオン性リポソーム);並びにTRANSFECTAM(登録商標)(Promega Corp.、Madison、Wis.からのエタノール中のジオクタデシルアミドグリシルカルボキシスベルミン(DOGS)を含む市販のカチオン性脂質)又は前述のいずれかの任意の組み合わせを含む。本発明の組成物及び方法において使用するためのさらなる好適なカチオン性脂質は、両方が参照により本明細書に取り込まれる、国際特許出願公開のWO2010/053572(及び特に、段落[00225]に記載されるCI 2-200)及びWO2012/170930に記載されるもの、HGT4003、HGT5000、HGT5001、HGT5001、HGT5002(US 2015/0140070A1を参照)を含む。

10

【0420】

実施形態では、カチオン性脂質は、アミノ脂質であってもよい。

【0421】

代表的なアミノ脂質は、限定するものではないが、1,2-ジリノレイオキシ-3-(ジメチルアミノ)アセトキシプロパン(DLin-DAC)、1,2-ジリノレイオキシ-3-モルホリノプロパン(DLin-MA)、1,2-ジリノレイオキシ-3-ジメチルアミノプロパン(DLinDAP)、1,2-ジリノレイルチオ-3-ジメチルアミノプロパン(DLin-S-DMA)、1-リノレイオキシ-2-リノレイルオキシ-3-ジメチルアミノプロパン(DLin-2-DMAP)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-トリメチルアミノプロパンクロリド塩(DLin-TMA.Cl)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-トリメチルアミノプロパンクロリド塩(DLin-TAP.Cl)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-(N-メチルピペラジノ)プロパン(DLin-MPZ)、3-(N,N-ジリノレイルアミノ)-1,2-プロパンジオール(DLinAP)、3-(N,N-ジオレイルアミノ)-1,2-プロパンジオール(DOAP)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-(2-N,N-ジメチルアミノ)エトキシプロパン(DLin-EG-DMA)、及び2,2-ジリノレイル-4-(2-ジメチルアミノメチル)-[1,3]-ジオキソラン(DLin-K-DMA)、2,2-ジリノレイル-4-(2-ジメチルアミノエチル)-[1,3]-ジオキソラン(DLin-KC2-DMA);ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート(DLin-MC3-DMA);MC3(US20100324120)を含む。

20

【0422】

実施形態では、カチオン性脂質は、アミノアルコールリピドイドであってもよい。

【0423】

本発明で使用され得るアミノアルコールリピドイドは、全体が参照により本明細書に取り込まれる、米国特許第8,450,298号に記載される方法によって調製されてもよい。好適な(イオン化可能な)脂質はまた、参照により本明細書に取り込まれるWO2017/075531A1の表1、2及び3に開示され、請求項1~24において定義される化合物であることもできる。

30

【0424】

別の実施形態では、好適な脂質はまた、全体が参照により本明細書に取り込まれる、WO2015/074085A1(すなわち、ATX-001~ATX-032又は請求項1~26において特定される化合物)、米国特許出願第61/905,724号及び第15/614,499号又は米国特許第9,593,077号及び第9,567,296号に開示される化合物であることもできる。

40

【0425】

他の実施形態では、好適なカチオン性脂質はまた、全体が参照により本明細書に取り込まれる、WO2017/117530A1(すなわち、脂質13、14、15、16、17、18、19、20、又は請求項において特定される化合物)において開示される化合物であることもできる。

【0426】

好ましい実施形態では、イオン化可能又はカチオン性脂質はまた、WO2018/078053A1(すなわち、WO2018/078053A1の式I、II、及びIIIから誘導される脂質、又は

50

WO2018/078053A1の請求項1～12において特定される脂質)において開示される脂質から選択されてもよく、WO2018/078053A1の開示は、その全体が参照により本明細書に取り込まれる。その文脈で、WO2018/078053A1の表7において開示される脂質(例えば、式I-1～I-41から誘導される脂質)及びWO2018/078053A1の表8において開示される脂質(例えば、式II-1～II-36から誘導される脂質)は、好適には、本発明の文脈で使用されてもよい。したがって、WO2018/078053A1の式I-1～式I-41及び式II-1～式II-36、並びにそれと関連する特定の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0427】

好ましい実施形態では、カチオン性脂質は、公開されたPCT特許出願WO2018/078053A1の式IIIから誘導されてもよい。したがって、WO2018/078053A1の式III、及びそれと関連する特定の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0428】

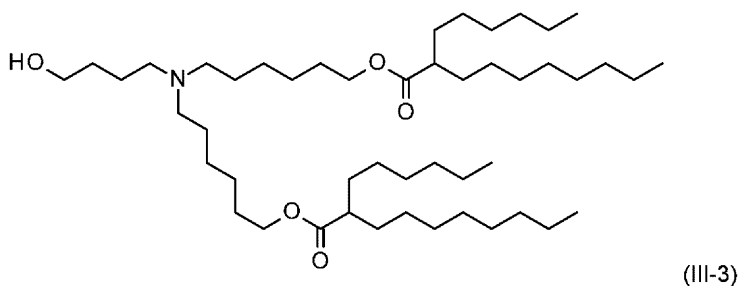
特に好ましい実施形態では、組成物の少なくとも1つのRNA、好ましくは、少なくとも1つのmRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、LNPが形成され、ここで、LNPのカチオン性脂質は、公開されたPCT特許出願WO2018/078053A1の表9の構造III-1～III-36から選択される。したがって、WO2018/078053A1の式III-1～III-36、及びそれと関連する特定の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0429】

第二の態様の特に好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNA、好ましくは、少なくとも1つのmRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、LNPが形成され、ここで、LNPは、式III-3:

【0430】

【化1】



のカチオン性脂質を含む。

【0431】

本明細書で好適に使用される式III-3の脂質は、ALC-0315とも称される、化学用語((4-ヒドロキシブチル)アザネジイル)ビス(ヘキサン-6,1-ジイル)ビス(2-ヘキシルデカノエート)を有する。

【0432】

ある特定の実施形態では、本明細書において定義されるカチオン性脂質、より好ましくは、カチオン性脂質化合物III-3は、LNPの総脂質含有量に対して、約30～約95モルパーセントの量でLNP中に存在する。1つより多くのカチオン性脂質が、LNP内に取り込まれる場合、このようなパーセンテージを合わせたカチオン性脂質に適用する。

【0433】

実施形態では、カチオン性脂質は、約30～約70モルパーセントの量でLNP中に存在する。一実施形態では、カチオン性脂質は、約40～約60モルパーセント、例えば、それぞれ、約40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59又は60モルパーセントの量でLNP中に存在する。実施形態では、カチオン性脂質は、約47～約48モルパーセント、例えば、それぞれ、約47.0、47.1、47.2、47.3、47.4、47.5、47.6、47.7、47.8、47.9、50.0モルパーセントの量

でLNP中に存在し、ここで、47.7モルパーセントが特に好ましい。

【0434】

一部の実施形態では、カチオン性脂質は、LNPに存在する総脂質の約20mol%～約70又は75mol%或いは約45～約65mol%又は約20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、若しくは約70mol%の比で存在する。さらなる実施形態では、LNPは、カチオン性脂質をモルベースで約25%～約75%、例えば、モルベースで約20～約70%、約35～約65%、約45～約65%、約60%、約57.5%、約57.1%、約50%又は約40%含む(脂質ナノ粒子中の脂質の100%総モルに基づく)。一部の実施形態では、カチオン性脂質とRNAとの比は、約3～約15、例えば、約5～約13又は約7～約11である。

【0435】

他の好適な(カチオン性又はイオン化可能な)脂質は、WO2009/086558、WO2009/127060、WO2010/048536、WO2010/054406、WO2010/088537、WO2010/129709、WO2011/153493、WO2013/063468、US2011/0256175、US2012/0128760、US2012/0027803、US8158601、WO2016/118724、WO2016/118725、WO2017/070613、WO2017/070620、WO2017/099823、WO2012/040184、WO2011/153120、WO2011/149733、WO2011/090965、WO2011/043913、WO2011/022460、WO2012/061259、WO2012/054365、WO2012/044638、WO2010/080724、WO2010/21865、WO2008/103276、WO2013/086373、WO2013/086354、米国特許第7,893,302号、第7,404,969号、第8,283,333号、第8,466,122号及び第8,569,256号並びに米国特許公開第US2010/0036115、US2012/0202871、US2013/0064894、US2013/0129785、US2013/0150625、US2013/0178541、US2013/0225836、US2014/0039032及びWO2017/112865に開示される。その文脈では、LNPに好適な(カチオン性)脂質に特に関するWO2009/086558、WO2009/127060、WO2010/048536、WO2010/054406、WO2010/088537、WO2010/129709、WO2011/153493、WO2013/063468、US2011/0256175、US2012/0128760、US2012/0027803、US8158601、WO2016/118724、WO2016/118725、WO2017/070613、WO2017/070620、WO2017/099823、WO2012/040184、WO2011/153120、WO2011/149733、WO2011/090965、WO2011/043913、WO2011/022460、WO2012/061259、WO2012/054365、WO2012/044638、WO2010/080724、WO2010/21865、WO2008/103276、WO2013/086373、WO2013/086354、米国特許第7,893,302号、第7,404,969号、第8,283,333号、第8,466,122号及び第8,569,256号並びに米国特許公開第US2010/0036115、US2012/0202871、US2013/0064894、US2013/0129785、US2013/0150625、US2013/0178541、US2013/0225836及びUS2014/0039032並びにWO2017/112865の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0436】

実施形態では、脂質が、生理学的pH(例えば、pH7.4)以下のpHで正に荷電され、第二のpH、好ましくは、生理学的pH以上で中性であるように、本明細書において定義されるアミノ又はカチオン性脂質は、少なくとも1つのプロトン化可能又は脱プロトン化可能な基を有する。もちろん、pHの機能としてのプロトンの付加又は除去は、平衡化プロセスであること、及び荷電された又は中性脂質への言及は、優勢な種の性質を指し、脂質のすべてが、荷電された又は中性の形態で存在しなければならないことを必要としないことは理解されるだろう。1つより多くのプロトン化可能又は脱プロトン化可能な基を有するか、又は双性イオンである脂質は、除外されず、同様に本発明の文脈で好適であり得る。一部の実施形態では、プロトン化可能な脂質は、約4～約11の範囲のプロトン化可能な基のpKa、例えば、約5～約7のpKaを有する。

【0437】

LNPは、本明細書において定義される2つ以上の(異なる)カチオン性脂質を含むことができる。異なる有利な特性に寄与するようにカチオン性脂質が選択されてもよい。例えば

10

20

30

40

50

、特性、例えば、アミンpKa、化学的安定性、循環中の半減期、組織での半減期、組織での正味の蓄積、又は毒性が異なるカチオン性脂質は、LNPにおいて使用することができる。特に、混合されたLNPの特性が、個々の脂質の単一のLNPの特性よりも望ましくあるように、カチオン性脂質を選択することができる。

【0438】

恒常的カチオン性脂質又はリポイドの量は、核酸カーゴの量を考慮して選択されてもよい。一実施形態では、これらの量は、例えば、約0.1～約20の範囲のナノ粒子又は組成物のN/P比をもたらすように選択される。この文脈では、N/P比は、脂質又はリポイドの塩基性窒素含有基の窒素原子(「N」)とカーゴとして使用される核酸のリン酸基(「P」)とのモル比として定義される。N/P比は、例えば、1 µg RNAが典型的には、約3 nmolリン酸残基を含有することに基づき計算されてもよく、但し、RNAは、塩基の統計学的分布を示す。脂質又はリポイドの「N」値は、その分子量並びに恒常的カチオン性及び存在する場合、カチオン化可能な基の相対的含有量に基づき計算されてもよい。

【0439】

LNPのin vivo特徴及び行動を親水性ポリマーコーティング、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)のLNP表面への付加によって修飾して、立体的な安定化を付与することができる。さらに、LNPは、リガンド(例えば、抗体、ペプチド、及び炭水化物)を結合されたPEG鎖のその表面又は末端に結合させること(例えば、ペグ化脂質又はペグ化コレステロールを介して)によって、特異的な標的化のため使用することができる。

【0440】

一部の実施形態では、LNPは、ポリマーコンジュゲートされた脂質を含む。用語「ポリマーコンジュゲートされた脂質」は、脂質部分とポリマー部分の両方を含む分子を指す。ポリマーコンジュゲートされた脂質の例は、ペグ化脂質である。用語「ペグ化脂質」は、脂質部分とポリエチレングリコール部分の両方を含む分子を指す。ペグ化脂質は、当該技術分野で公知であり、1-(モノメトキシ-ポリエチレングリコール)-2,3-ジミリスティルグリセロール(PEG-s-DMG)などを含む。

【0441】

本明細書において定義されるポリマーコンジュゲートされた脂質、例えば、PEG脂質は、凝集を低減する脂質として働き得る。

【0442】

ある特定の実施形態では、LNPは、ポリエチレングリコール-脂質(ペグ化脂質)である安定化脂質を含む。好適なポリエチレングリコール-脂質は、PEG修飾されたホスファチジルエタノールアミン、PEG修飾されたホスファチジン酸、PEG修飾されたセラミド(例えば、PEG-CerC14又はPEG-CerC20)、PEG修飾されたジアルキルアミン、PEG修飾されたジアシルグリセロール、PEG修飾されたジアルキルグリセロールを含む。代表的なポリエチレングリコール-脂質は、PEG-c-DOMG、PEG-c-DMA、及びPEG-s-DMGを含む。一実施形態では、ポリエチレングリコール-脂質は、N-[(メトキシポリ(エチレングリコール)2000)カルバミル]-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン(PEG-c-DMA)である。好ましい実施形態では、ポリエチレングリコール-脂質は、PEG-2000-DMGである。一実施形態では、ポリエチレングリコール-脂質は、PEG-c-DOMGである。他の実施形態では、LNPは、ペグ化ジアシルグリセロール(PEG-DAG)、例えば、1-(モノメトキシ-ポリエチレングリコール)-2,3-ジミリスティルグリセロール(PEG-DMG)、ペグ化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)、PEGスクシネートジアシルグリセロール(PEG-S-DAG)、例えば、4-O-(2',3'-ジ(テトラデカノイルオキシ)プロピル-1-O-(ω-メトキシ(ポリエトキシ)エチル)ブタンジオエート(PEG-S-DMG)、ペグ化セラミド(PEG-cer)、又はPEGジアルコキシプロピルカルバメート、例えば、ω-メトキシ(ポリエトキシ)エチル-N-(2,3ジ(テトラデカノキシ)プロピル)カルバメート又は2,3-ジ(テトラデカノキシ)プロピル-N-(ω-メトキシ(ポリエトキシ)エチル)カルバメートを含む。

【0443】

好ましい実施形態では、ペグ化脂質は、好ましくは、公開されたPCT特許出願WO201

10

20

30

40

50

8/078053A1の式(IV)から誘導される。したがって、公開されたPCT特許出願WO2018/078053A1の式(IV)から誘導されるペグ化脂質及びそれと関連するそれぞれの開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0444】

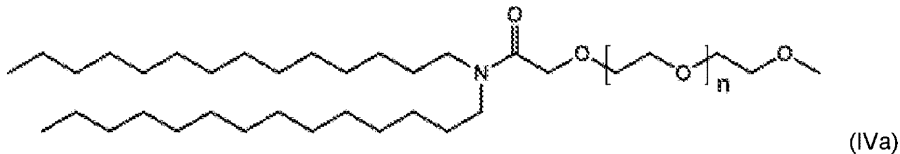
特に好ましい実施形態では、組成物の少なくとも1つのRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、LNPが形成され、ここで、LNPは、ペグ化脂質を含み、ここで、PEG脂質は、好ましくは、公開されたPCT特許出願WO2018/078053A1の式(IVa)から誘導される。したがって、公開されたPCT特許出願WO2018/078053A1の式(IVa)から誘導されるペグ化脂質及びそれと関連するそれぞれの開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0445】

特に好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子(LNP)が形成され、ここで、LNPは、ペグ化脂質/PEG脂質を含む。好ましくは、前記PEG脂質は、式(IVa)：

【0446】

【化2】



(式中、nは、30～60の範囲の、例えば、約 30 ± 2 、 32 ± 2 、 34 ± 2 、 36 ± 2 、 38 ± 2 、 40 ± 2 、 42 ± 2 、 44 ± 2 、 46 ± 2 、 48 ± 2 、 50 ± 2 、 52 ± 2 、 54 ± 2 、 56 ± 2 、 58 ± 2 、又は 60 ± 2 の平均値を有する)のものである。最も好ましい実施形態では、nは約49である。さらに好ましい態様では、前記PEG脂質は、式(IVa)(式中、nは、PEG脂質の平均分子量が、約2000g/mol～約3000g/mol又は約2300g/mol～約2700g/mol、なおより好ましくは、約2500g/molであるように、選択される整数である)のものである。

【0447】

本明細書において好適に使用される式IVaの脂質は、ALC-0159とも称される、化学用語2[(ポリエチレングリコール)-2000]-N,N-ジテトラデシルアセトアミドを有する。

【0448】

その文脈で好適なPEG-脂質のさらなる例は、US2015/0376115A1及びWO2015/199952において提供され、そのそれぞれが、その全体が参照により取り込まれる。

【0449】

一部の実施形態では、LNPは、LNP中の脂質の総モルに基づき、約3、2、又は1モルパーセント未満のPEG又はPEG修飾された脂質を含む。さらなる実施形態では、LNPは、モルベースで約0.1%～約20%のPEG修飾された脂質、例えば、モルベースで(LNP中の脂質の100%総モルに基づき)約0.5～約10%、約0.5～約5%、約10%、約5%、約3.5%、約3%、約2.5%、約2%、約1.5%、約1%、約0.5%、又は約0.3%を含む。好ましい実施形態では、LNPは、モルベースで約1.0%～約2.0%のPEG修飾された脂質、例えば、約1.2～約1.9%、約1.2～約1.8%、約1.3～約1.8%、約1.4～約1.8%、約1.5～約1.8%、約1.6～約1.8%、特に、約1.4%、約1.5%、約1.6%、約1.7%、約1.8%、約1.9%、最も好ましくは、1.7%(LNP中の脂質の100%総モルに基づき)を含む。様々な実施形態では、カチオン性脂質とペグ化脂質とのモル比は、約100:1～約25:1の範囲にある。

【0450】

好ましい実施形態では、LNPは、1つ以上の脂質を含み、それが、それらの形成中又は製造中に粒子の形成を安定化する(例えば、中性脂質及び/又は1つ以上のステロイド若し

くはステロイドアナログ)。

【0451】

第二の態様の好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子(LNP)が形成され、ここで、LNPは、1つ以上の中性脂質及び/又は1つ以上のステロイド若しくはステロイドアナログを含む。

【0452】

好適な安定化脂質は、中性脂質及びアニオン性脂質を含む。用語「中性脂質」は、生理学的pHで荷電されていない又は中性双性イオン形態のいずれかで存在するいくつかの脂質種のいずれか1つを指す。代表的な中性脂質は、ジアシルホスファチジルコリン、ジアシルホスファチジルエタノールアミン、セラミド、スフィンゴミエリン、ジヒドロスフィンゴミエリン、セファリン、及びセレブロシドを含む。

【0453】

第二の態様の実施形態では、LNPは、1つ以上の中性脂質を含み、ここで、中性脂質は、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)、ジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)、ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)、ジオレオイルホスファチジルグリセロール(DOPG)、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール(DPPG)、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン(DOPE)、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン(POPC)、パルミトイルオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン(POPE)及びジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1カルボキシレート(DOPE-mal)、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン(DPPE)、ジミリストイルホスホエタノールアミン(DMPE)、ジステアロイル-ホスファチジルエタノールアミン(DSPE)、16-O-モノメチルPE、16-O-ジメチルPE、18-1-トランスPE、1-ステアリオイル-2-オレオイルホスファチジエタノールアミン(SOPE)、及び1,2-ジエライドイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(トランスDOPE)、又はそれらの混合物を含む群から選択される。

【0454】

一部の実施形態では、LNPは、DSPC、DPPC、DMPC、DOPC、POPC、DOPE及びSMから選択される中性脂質を含む。様々な実施形態では、カチオン性脂質と中性脂質とのモル比は、約2:1～約8:1の範囲にある。

【0455】

好ましい実施形態では、中性脂質は、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)である。カチオン性脂質とDSPCとのモル比は、約2:1～約8:1の範囲にあり得る。

【0456】

好ましい実施形態では、ステロイドは、コレステロールである。カチオン性脂質とコレステロールとのモル比は、約2:1～約1:1の範囲にあり得る。一部の実施形態では、コレステロールは、PEG化されていてもよい。

【0457】

ステロールは、脂質粒子の約10mol%～約60mol%又は約25mol%～約40mol%であり得る。一実施形態では、ステロールは、脂質粒子に存在する総脂質の約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、又は約60mol%である。別の実施形態では、LNPは、ステロールのモルベースで約5%～約50%、例えば、モルベースで(脂質ナノ粒子中の脂質の100%総モルに基づき)約15%～約45%、約20%～約40%、約48%、約40%、約38.5%、約35%、約34.4%、約31.5%又は約31%を含む。

【0458】

好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)は、(a)第一の態様の少なくとも1つのRNA、(b)カチオン性脂質、(c)凝集低減剤(例えば、ポリエチレングリコール(PEG)脂質又はPEG修飾された脂質)、(d)場合により、非カチオン性脂質(例えば、中性脂質)、及び(e)場合によりステロールを含む。

【0459】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、カチオン性脂質(上で定義された)、非カチオン性脂質(上で定義された)、コレステロール(上で定義された)、及び/又はPEG修飾された脂質(上で定義された)は、様々な相対的モル比で合わされ得る。例えば、カチオン性脂質と非カチオン性脂質、コレステロールベースの脂質、ペグ化脂質との比は、それぞれ、約30~60:20~35:20~30:1~15、又は約40:30:25:5、50:25:20:5、50:27:20:3、40:30:20:10、40:32:20:8、40:32:25:3若しくは40:33:25:2の比、又は約50:25:20:5、50:20:25:5、50:27:20:3 40:30:20:10、40:30:25:5若しくは40:32:20:8、40:32:25:3若しくは40:33:25:2の比であってもよい。

【0460】

一部の実施形態では、LNPは、式(III)の脂質、本明細書において定義される少なくとも1つのRNA、中性脂質、ステロイド及びペグ化脂質を含む。好ましい実施形態では、式(III)の脂質は脂質化合物III-3(ALC-0315)であり、中性脂質はDSPCであり、ステロイドはコレステロールであり、ペグ化脂質は式(IVa)(ALC-0159)の化合物である。

【0461】

第二の態様の好ましい実施形態では、LNPは、約20~60%カチオン性脂質、5~25%中性脂質、25~55%ステロール、0.5~15%PEG-脂質のモル比で、(i)少なくとも1つのカチオン性脂質;(ii)中性脂質;(iii)ステロール、例えば、コレステロール;及び(iv)PEG-脂質、例えば、PEG-DMG又はPEG-cDMAから本質的になる。

【0462】

特に好ましい実施形態では、少なくともRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子(LNP)が形成され、ここで、LNPは、

- (i)本明細書において定義される少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3(ALC-0315);
- (ii)本明細書において定義される少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);
- (iii)本明細書において定義される少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び
- (iv)本明細書において定義される少なくとも1つのPEG-脂質、例えば、PEG-DMG又はPEG-cDMA、好ましくは、式(IVa)(ALC-0159)であるか、又はそれから誘導されるペグ化脂質を含む。

【0463】

特に好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子(LNP)が形成され、ここで、LNPは、約20~60%カチオン性脂質、5~25%中性脂質、25~55%ステロール、0.5~15%PEG-脂質のモル比で(i)~(iv)を含む。

【0464】

1つの好ましい実施形態では、脂質ナノ粒子は、式(III)を有するカチオン性脂質並びに/又は式(IV)を有するPEG脂質、場合により中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)及び場合によりステロイド、好ましくは、コレステロールを含み、ここで、カチオン性脂質とDSPCとのモル比は、場合により約2:1~8:1の範囲にあり、ここで、カチオン性脂質とコレステロールとのモル比は、場合により約2:1~1:1の範囲にある。

【0465】

特に好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNAを含む第二の態様の組成物は、脂質ナノ粒子(LNP)を含み、約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7以上、より好ましくは、47.4:10:40.9:1.7のモル比を有する(すなわち、カチオン性脂質(好ましくは、脂質III-3(ALC-0315))、DSPC、コレステロール及びPEG-脂質(好ましくは、n=49を有する式(IVa)のPEG-脂質、なおより好ましくは、n=45(ALC-0159)を有する式(IVa)のPEG-脂質)の割合(mol%);エタノール中に溶解される)。

【0466】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号24837~24854、27524~27546、24855~24872、27547~27569、24909~24926、27616~27638、28827~28866、28687~28735、28867~28915、28929~28932、28937~28940の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

10

【0467】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27532、27555、27624、28852、28699~28704、28879~28884の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

20

【0468】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27532、27555、27624、28852の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

【0469】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号28688~28691、28868~28871、28929~28932、28937~28940の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

30

【0470】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、23529~23534、27386~27408、23535~23552、27409~27431、23590~23606、27478~27500、28736~28776、28638~28686、28777~28825、28925~28928、28933~28936の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

40

【0471】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コ

50

レステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27394、27417、27486、28762、28650~28655、28789~28794の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

【0472】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27394、27417、27486、28762の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

【0473】

好ましくは、第二の態様の組成物は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号28639~28642、28778~28781、28925~28928、28933~28936の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含む。

【0474】

組成物が上で定義された多価組成物である実施形態では、多価組成物のRNA種、好ましくは、mRNA種は、別々に製剤化されてもよく、例えば、リポソーム又はLNPに別々に製剤化されてもよい。好適には、多価組成物のRNA種は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、LNP中に別々に製剤化される。上で定義された(セクション「本発明の多価組成物」を参照)多価組成物のための核酸種が、好ましくは選択される。

【0475】

その文脈では、組成物は、

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号149の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)PEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、23529~23534、27386~27408、23535~23552、27409~27431、23590~23606、27478~27500、28736~28776、28638~28686、28777~28825、28925~28928、28933~28936の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なく

とも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27394、27417、27486、28762、28650~28655、28789~28794の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27394、27417、27486、28762の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号28639~28642、28778~28781、28925~28928、28933~28936の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA

を含んでもよい。

【0476】

その文脈では、組成物は、

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45を有する(ALC-0159))のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号24837の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45を有する(ALC-0159))のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号24837~24854、27524~27546、24855~24872、27547~27569、24909~24926、27616~27638、28827~28866、28687~28735、28867~28915、28929~28932、28937~28940の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27532、27555、27624、28852、28699~28704、28879~28884の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)の

モル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27532、27555、27624、28852の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNA;並びに/或いは

- カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号28688~28691、28868~28871、28929~28932、28937~28940の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つのRNAを含んでもよい。

10

【0477】

組成物が上で定義された多価組成物である実施形態では、多価組成物の核酸種(例えば、DNA又はRNA)、好ましくは、RNA種は、共製剤化、好ましくは、リポソーム又はLNP中に共製剤化されてもよい。好適には、多価組成物のRNA種は、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、LNP中に共製剤化される。上で定義された(セクション「本発明の多価組成物」を参照)多価組成物のための核酸種が、好ましくは選択される。

20

【0478】

脂質ナノ粒子中のRNAの総量は、変動してもよく、例えば、核酸と総脂質とのw/w比に依存して定義される。本発明の一実施形態では、核酸、特に、RNAと総脂質との比は、0.06w/w未満、好ましくは、0.03w/w~0.04w/wである。

【0479】

一部の実施形態では、脂質ナノ粒子(LNP)は、3種の脂質成分、すなわち、イミダゾールコレステロールエステル(ICE)、1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(DOPE)、及び1,2-ジミリストイル-sn-グリセロール、メトキシポリエチレングリコール(DMG-PEG-2K)のみから構成される。

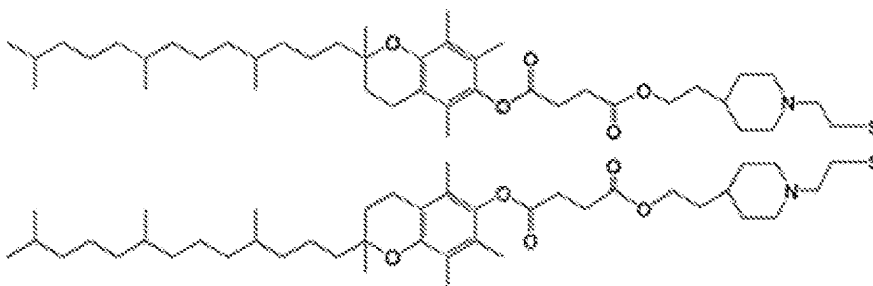
30

【0480】

一実施形態では、組成物の脂質ナノ粒子は、カチオン性脂質、ステロイド;中性脂質;及びポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、ペグ化脂質を含む。好ましくは、ポリマーコンジュゲートされた脂質は、ペグ化脂質又はPEG-脂質である。特定の実施形態では、脂質ナノ粒子は、以下の式

【0481】

【化3】



40

に従う、カチオン性脂質COATSOME(登録商標)SS-EC(旧名:SS-33/4PE-15;NOF Corporation、東京、日本)に似ているカチオン性脂質を含む。

【0482】

以下でさらに記載される通り、それらの脂質ナノ粒子は、「GN01」と呼ばれる。

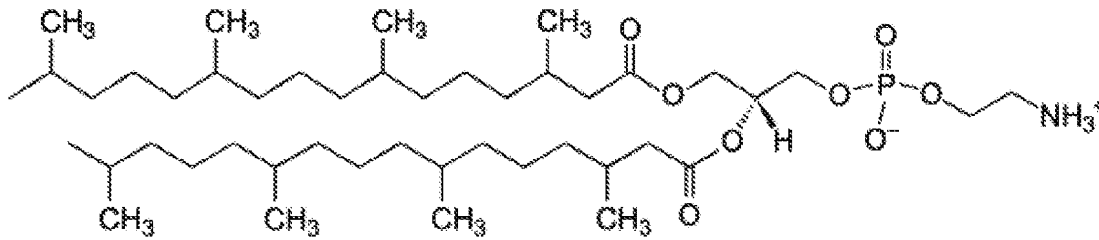
50

【0483】

さらに、特定の実施形態では、GN01脂質ナノ粒子は、構造1,2-ジフィタノイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(DPhyPE):

【0484】

【化4】



10

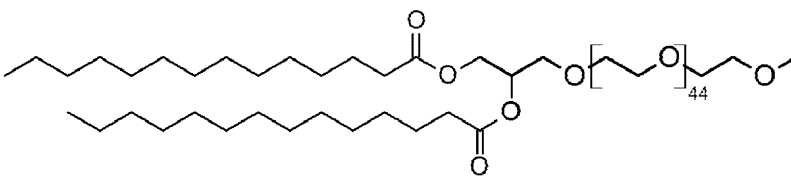
に似ている中性脂質を含む。

【0485】

さらに、特定の実施形態では、GN01脂質ナノ粒子は、ポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、以下の構造:

【0486】

【化5】



20

を有する1,2-ジミリストイル-rac-グリセロ-3-メトキシポリエチレングリコール2000(DMG-PEG2000)であるペグ化脂質を含む。

【0487】

当該技術分野で使用される場合、「DMG-PEG2000」は、約97:3の比の1,2-DMG-PEG2000と1,3-DMG-PEG 2000の混合物とみなされる。

30

【0488】

したがって、好ましい実施形態のうちの1つによるGN01脂質ナノ粒子(GN01-LNP)は、SS-ECカチオン性脂質、中性脂質DPhyPE、コレステロール、及びポリマーコンジュゲートされた脂質(ペグ化脂質)1,2-ジミリストイル-rac-グリセロ-3-メトキシポリエチレングリコール(PEG-DMG)を含む。

【0489】

好ましい実施形態では、GN01 LNPは、

(a)45~65mol%の量のカチオン性脂質SS-EC(旧名:SS-33/4PE-15;NOF Corporation、東京、日本);

(b)25~45mol%の量のコレステロール;

(c)8~12mol%の量のDPhyPE;及び

(d)1~3mol%の量のPEG-DMG2000

を含み、それぞれの量は、GN01脂質ナノ粒子のすべての脂質賦形剤の総モル量に対する。

40

【0490】

さらなる好ましい実施形態では、本明細書に記載されるGN01脂質ナノ粒子は、59mol%カチオン性脂質、10mol%中性脂質、29.3mol%ステロイド及び1.7mol%ポリマーコンジュゲート脂質、好ましくは、ペグ化脂質を含む。最も好ましい実施形態では、本明細書に記載されるGN01脂質ナノ粒子は、59mol%カチオン性脂質SS-EC、10mol% D PhyPE、29.3mol%コレステロール及び1.7mol% DMG-PEG2000を含む。

50

【0491】

GN01脂質ナノ粒子中の核酸の量に対するカチオン性脂質の量はまた、重量比(すなわち、「m/m」と略される)として表されてもよい。例えば、GN01脂質ナノ粒子は、ある量で、例えば、約20～約60、又は約10～約50の範囲の脂質とRNAとの重量比を達成するために、少なくとも1つの核酸、好ましくは、少なくとも1つのRNAを含む。他の実施形態では、カチオン性脂質と核酸又はRNAとの比は、約3～約15、例えば、約5～約13、約4～約8又は約7～約11である。本発明の非常に好ましい実施形態では、総脂質/RNA質量比は、RNA封入を確実にするために約40又は40、すなわち約40又は40倍質量が過剰である。別の好ましいRNA/脂質比は、約1～約10、約2～約5、約2～約4、又は好ましくは、約3である。

10

【0492】

さらに、カチオン性脂質の量は、核酸カーゴ、例えば、RNA化合物の量を考慮して選択されてもよい。一実施形態では、N/P比は、約1～約50の範囲にあることができる。別の実施形態では、範囲は、約1～約20、約1～約10、約1～約5である。1つの好ましい実施形態では、これらの量は、約10～約20の範囲内のGN01脂質ナノ粒子又は組成物のN/P比をもたらすように、選択される。さらに非常に好ましい実施形態では、N/Pは、14(すなわち、核酸封入を確実にするための14倍のモル過剰の正電荷)である。

【0493】

好ましい実施形態では、GN01脂質ナノ粒子は、59mol%カチオン性脂質COATSOME(登録商標)SS-EC(旧名:実施例セクションから明らかなSS-33/4PE-15;NOF Corporation、東京、日本)、ステロイドとして29.3mol%コレステロール、中性脂質/リン脂質として10mol% DPhyPE及びポリマーコンジュゲートされた脂質として1.7mol% DMG-PEG2000を含む。DPhyPEの使用と関連するさらなる本発明の利点は、その巨大な尾部に起因して、膜融合性の高い能力を有し、これにより、それは、エンドソーム脂質と高いレベルで融合することができる。「GN01」、N/P(脂質と核酸との、例えば、RNA mol比)は、好ましくは14であり、総脂質/RNA質量比は、好ましくは40(m/m)である。

20

【0494】

他の実施形態では、少なくとも1つのRNA、好ましくは、少なくとも1つのmRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子(LNP)が形成され、ここで、LNPは、

30

i 少なくとも1つのカチオン性脂質;

ii 少なくとも1つの中性脂質;

iii 少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ;及び

iiii 本明細書において定義される少なくとも1つのPEG-脂質を含み、

ここで、カチオン性脂質は、DLin-KC2-DMA(50mol%)又はDLin-MC3-DMA(50mol%)であり、中性脂質はDSPC(10mol%)であり、PEG脂質はPEG-DOMG(1.5mol%)であり、構造脂質はコレステロール(38.5mol%)である。

【0495】

他の実施形態では、少なくとも1つのRNA、好ましくは、少なくとも1つのmRNAは、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子(LNP)が形成され、ここで、LNPは、mol%50/38.5/10/1.5でSS15/Chol/DOPE(又はDOPC)/DSG-5000を含む。

40

【0496】

他の実施形態では、本発明のRNAは、リボソーム、例えば、WO2019/222424、WO2019/226925、WO2019/232095、WO2019/232097、又はWO2019/232208に記載されるリボソーム中で製剤化されてもよく、リボソーム又は脂質ベースの担体分子に関するWO2019/222424、WO2019/226925、WO2019/232095、WO2019/232097、又はWO2019/232208の開示は、参照により本明細書に取り込まれる。

【0497】

様々な実施形態では、本発明の少なくとも1つのRNAを好適に封入するLNPは、約50

50

nm～約200nm、約60nm～約200nm、約70nm～約200nm、約80nm～約200nm、約90nm～約200nm、約90nm～約190nm、約90nm～約180nm、約90nm～約170nm、約90nm～約160nm、約90nm～約150nm、約90nm～約140nm、約90nm～約130nm、約90nm～約120nm、約90nm～約100nm、約70nm～約90nm、約80nm～約90nm、約70nm～約80nm、又は約30nm、35nm、40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm、150nm、160nm、170nm、180nm、190nm、若しくは200nmの平均直径を有し、実質的に無毒性である。本明細書で使用される場合、平均直径は、当該技術分野で一般的に知られている動的光散乱によって決定されたz平均によって表されてもよい。

10

【0498】

ナノ粒子の多分散指数(PDI)は、典型的には、0.1～0.5の範囲にある。特定の実施形態では、PDIは、0.2未満である。典型的には、PDIは、動的光散乱によって決定される。

【0499】

本発明の別の好ましい実施形態では、脂質ナノ粒子は、それぞれ、約50nm～約300nm、又は約60nm～約250nm、約60nm～約150nm、若しくは約60nm～約120nmの範囲の流体力学的径を有する。

【0500】

本発明の別の好ましい実施形態では、脂質ナノ粒子は、それぞれ、約50nm～約300nm、又は約60nm～約250nm、約60nm～約150nm、若しくは約60nm～約120nmの範囲の流体力学的径を有する。

20

【0501】

本発明のRNA種の1つより多く又は複数、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15が組成物に含まれる実施形態では、本発明のRNA種の前記1つより多く又は前記複数、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15が、1つ以上の脂質内で複合体化され、これにより、異なるRNA種の1つより多く又は複数、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15を含むLNPが形成されてもよい。

【0502】

好ましい実施形態によると、好ましくは、RNAを封入するか、又は含むLNPは、少なくとも1つの精製工程によって、好ましくは、TFFの少なくとも1つの工程及び/又は清澄化の少なくとも1つの工程及び/又は濾過の少なくとも1つの工程によって精製される。この精製は、特に、脂質製剤のため使用されている、組成物中のエタノールの量の低減を導く。

30

【0503】

この文脈では、組成物が、精製後、約500ppm未満のエタノール、好ましくは、約50ppm未満のエタノール、より好ましくは、約5ppm未満のエタノールを含むことは、特に好ましい。

【0504】

実施形態では、本明細書に記載されるLNPは、製剤及び/又はRNAの保存安定性を改善するために凍結乾燥されてもよい。実施形態では、本明細書に記載されるLNPは、製剤及び/又は核酸の保存安定性を改善するためにスプレー乾燥されてもよい。凍結乾燥のためのリオプロテクタント及び又はスプレー乾燥は、トレハロース、スクロース、マンノース、デキストラン及びイヌリンから選択されてもよい。好ましいリオプロテクタントはスクロースであり、場合によりさらなるリオプロテクタントを含んでいる。さらなる好ましいリオプロテクタントはトレハロースであり、場合によりさらなるリオプロテクタントを含んでいる。

40

【0505】

したがって、組成物、例えば、LNPを含む組成物を凍結乾燥して(例えば、それぞれが

50

、全体が参照により本明細書に取り込まれる、WO2016/165831又はWO2011/069586による)、本明細書において定義される温度安定な乾燥核酸(粉末)組成物(例えば、RNA又はDNA)を得る。組成物、例えば、LNPを含む組成物をまた、スプレー乾燥又はスプレー凍結乾燥(例えば、WO2016/184575又はWO2016/184576による)を使用して乾燥させて、本明細書において定義される温度安定な組成物(粉末)を得てもよい。

【0506】

したがって、好ましい実施形態では、組成物は、乾燥された組成物である。

【0507】

本明細書で使用される場合、用語「乾燥された組成物」は、例えば、LNP複合体化RNA(上で定義された)を含む温度安定な乾燥された組成物(粉末)を得るために、上で定義された凍結乾燥、又はスプレー乾燥、又はスプレー凍結乾燥されている組成物と理解されなければならない。

【0508】

さらなる実施形態によると、第二の態様の組成物は、少なくとも1つのアジュバントを含んでもよい。

【0509】

好適には、アジュバントを好ましくは加えて、組成物の免疫刺激特性を強化する。

【0510】

本明細書で使用される場合、用語「アジュバント」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、他の薬剤の効果を修飾、例えば、強化し得るか、又は組成物の投与及び送達を支持するのに好適であり得る薬理学的及び/又は免疫学的薬剤を指すことが意図される。用語「アジュバント」は、広範なスペクトルの物質を指す。典型的には、これらの物質は、抗原の免疫原性を増加させることができる。例えば、アジュバントは、自然免疫系によって認識されてもよく、例えば、自然免疫応答(すなわち、特異的でない免疫応答)を誘発してもよい。「アジュバント」は、典型的には、適応免疫応答を誘発しない。本発明の文脈では、アジュバントは、核酸によって提供される抗原性ペプチド又はタンパク質の効果を強化し得る。その文脈では、少なくとも1つのアジュバントは、当業者に公知の任意のアジュバントから選択され、本場合、すなわち、対象、例えば、ヒト対象における免疫応答の誘導を支持するのに好適であり得る。

【0511】

したがって、第二の態様の組成物は、少なくとも1つのアジュバントを含んでもよく、ここで、少なくとも1つのアジュバントは、好適には、参照により本明細書に取り込まれる、WO2016/203025において提供される任意のアジュバントから選択されてもよい。WO2016/203025の請求項2~17のいずれかに開示されるアジュバント、好ましくは、WO2016/203025の請求項17に開示されるアジュバントが、特に好適であり、それと関連する具体的な内容は参照により本明細書に取り込まれる。アジュバントを第二の態様の組成物、又は第四の態様のワクチンにおいて好適に使用し、含んで、例えば、コードされるタンパク質に対する十分な免疫応答のため必要な核酸の量を低減し、及び/又は高齢者の処置/ワクチン接種のための組成物/ワクチンの有効性を改善してもよい。好適なアジュバントは、コロナウイルス組成物又はワクチン(特に、第三の態様のポリペプチドを含む組成物について)の文脈で、Toll様受容体9(TLR9)アゴニストアジュバントCpG 1018TMであってもよい。

【0512】

第二の態様の組成物は、本明細書において特定される成分に加えて、さらなる抗原(例えば、ペプチド若しくはタンパク質の形態、好ましくは、コロナウイルスから誘導される)又はさらなる抗原をコードする核酸(好ましくは、ペプチド若しくはタンパク質をコードする、好ましくは、コロナウイルスから誘導される);さらなる免疫治療剤;1つ以上の補助物質(サイトカイン、例えば、モノカイン、リンホカイン、インターロイキン又はケモカイン);或いはヒトToll様受容体へのその結合親和性(リガンドとして)に起因して免疫刺激性であることが知られている、任意のさらなる化合物;及び/或いはアジュバント核酸、好

ましくは、免疫刺激性RNA(isRNA)、例えば、CpG-RNAなどからなる群から選択され得る少なくとも1つのさらなる成分を含んでもよい。

【0513】

好ましい実施形態では、少なくとも1つのRNAを封入する脂質ベースの担体(例えば、LNP)を含む組成物は、液体としての保存後安定であり、例えば、少なくとも2週間、約5℃の温度で液体として保存後安定である。

【0514】

本明細書で使用される場合、様々な生理化学的パラメーターについて測定された値が、保存後の定義された範囲内にある場合、「安定な」は、RNAを封入する脂質ベースの担体(例えば、LNP)を含む液体組成物を指す。一実施形態では、RNAを封入する脂質ベースの担体を含む液体組成物を分析して、様々なパラメーターによる安定性が評価される。好適な安定性パラメーターは、限定することなく、RNA完全性、Z平均粒子サイズ、多分散指数(PDI)、液体組成物中の遊離のRNAの量、RNAの封入効率(脂質ベースの担体で取り込まれたRNAの割合、パーセント)、RNAを封入する脂質ベースの担体の形状及び形態、pH、浸透圧、又は濁度を含む。さらに、様々な機能的パラメーターについての測定された値が、保存後に定義された範囲内である場合、「安定な」は、RNAを封入する脂質ベースの担体を含む液体組成物を指す。一実施形態では、RNAを封入する脂質ベースの担体を含む液体組成物を分析して、例えば、コードされるペプチド又はタンパク質の発現、特異的な抗体力価の誘導、中和抗体力価の誘導、T細胞の誘導、例えば、自然免疫応答の誘導を含む液体組成物の反応源性などを含む液体組成物の効力が評価される。

【0515】

好ましい実施形態では、用語「安定な」は、RNA完全性を指す。

【0516】

用語「RNA完全性」は、一般的に、完全なRNA配列が液体組成物に存在するかどうかを記載する。低いRNA完全性は、中でも、RNA分解、RNA切断、RNAの不正確若しくは不完全な化学合成、不正確な塩基対形成、修飾されたヌクレオチドの組込み若しくは既に組込まれたヌクレオチドの修飾、キャッピングの欠如若しくは不完全なキャッピング、ポリアデニル化の欠如若しくは不完全なポリアデニル化、又は不完全なRNA in vitro転写に起因し得る。RNAは、容易に分解することができる脆弱な分子であり、それは、RNA完全性及び結果的にRNAの機能性を低減し得る、例えば、温度、リボヌクレアーゼ、pH又は他の要因(例えば、求核性攻撃、加水分解など)によって引き起こされ得る。

【0517】

好ましい実施形態では、組成物のRNAは、少なくとも約50%、好ましくは、少なくとも約60%、より好ましくは、少なくとも約70%、最も好ましくは、少なくとも約80%又は約90%のRNA完全性を有する。RNAは、好適には、分析HPLC、好ましくは、分析RP-HPLCを使用して決定される。

【0518】

当業者は、RNA完全性を決定するための様々な異なるクロマトグラフィー法又は電気泳動法から選択することができる。クロマトグラフィー法及び電気泳動法は、当該技術分野で周知である。クロマトグラフィーが使用される(例えば、RP-HPLC)場合、RNAの完全性の分析は、対応するクロマトグラムにおける全長RNAのピーク面積(又は「ピーク下面積」)の決定に基づいてもよい。ピーク面積は、検出器システムのシグナルを評価する任意の好適なソフトウェアによって決定されてもよい。ピーク面積を決定するプロセスはまた、統合とも呼ばれる。全長RNAを表すピーク面積は、典型的には、それぞれの試料中の総RNAのピーク面積に関連して設定される。RNA完全性は、%RNA完全性で表されてもよい。

【0519】

本発明の態様の文脈では、RNA完全性は、分析(RP)HPLCを使用して決定されてもよい。典型的には、RNAを封入する脂質ベースの担体を含む液体組成物の試験試料を界面活性剤(例えば、約2% Triton X100)を用いて処理して、脂質ベースの担体が解離され

、封入されたRNAが放出されてもよい。放出されたRNAは、本質的には製造元の指示に従い、好適な結合化合物、例えば、Agencourt AMPure XPビーズ(Beckman Coulter、Brea、CA、米国)を使用して捕獲されてもよい。RNA試料の調製後、分析(RP)HPLCを行い、RNAの完全性が決定されてもよい。典型的には、RNA完全性を決定するため、RNA試料は、例えば、注射用水(WFI)を使用して、0.1g/lの濃度に希釈されてもよい。約10μl希釈されたRNA試料は、HPLCカラム(例えば、一体化ポリ(スチレン-ジビニルベンゼン)マトリックス)に注入されてもよい。分析(RP)HPLCは、標準的な条件、例えば、勾配1:緩衝液A(0.1M TEAA(pH7.0));25%アセトニトリルを含有する緩衝液B(0.1M TEAA(pH7.0))を使用して行われてもよい。30%緩衝液B勾配で開始し、2分で32%緩衝液Bに拡大し、続いて流速1ml/分で15分かけて55%緩衝液Bに拡大する。HPLCクロマトグラムは、典型的には、波長260nmで記録される。得られたクロマトグラムは、ソフトウェアを使用して評価されてもよく、相対的ピーク面積は、当該技術分野で一般的に知られているパーセント(%)で決定されてもよい。相対的ピーク面積は、100%RNA完全性を有するRNAの量を示す。HPLCに注入されるRNAの量は典型的に知られているため、相対的ピーク面積の分析は、RNAの完全性についての情報をもたらす。したがって、例えば、100ng RNAが合計で注入され、100ngが相対的ピーク面積として決定される場合、RNA完全性は100%である。例えば、相対的ピーク面積が80ngに対応する場合、RNA完全性は80%である。したがって、RNA完全性は、本発明の文脈で、分析HPLC、好ましくは、分析RP-HPLCを使用して決定される。

10

【0520】

20

好ましい実施形態では、液体組成物に含まれるRNAの80%は封入され、好ましくは、組成物に含まれるRNAの85%は封入され、組成物に含まれるRNAの90%は封入され、最も好ましくは、組成物に含まれるRNAの95%以上は封入される。封入のパーセンテージは、当該技術分野で公知のRibogreenアッセイによって決定されてもよい。

【0521】

実施形態では、組成物は、パターン認識受容体を感知する少なくとも1つのRNAの少なくとも1つのアンタゴニストを含む。このようなアンタゴニストは、好ましくは、本明細書において定義される脂質ベースの担体中で共製剤化されてもよい。

【0522】

パターン認識受容体を感知する少なくとも1つのRNAの好適なアンタゴニストは、PCT特許出願PCT/EP2020/072516において開示され、完全な開示が参照により本明細書に取り込まれる。特に、PCT/EP2020/072516の請求項1~94のいずれか1つにおいて定義されるパターン認識受容体を感知する少なくとも1つのRNAの好適なアンタゴニストに関する開示が取り込まれる。

30

【0523】

好ましい実施形態では、組成物は、Toll様受容体、好ましくは、TLR7及び/又はTLR8から選択されるパターン認識受容体を感知する少なくとも1つのRNAの少なくとも1つのアンタゴニストを含む。

【0524】

実施形態では、パターン認識受容体を感知する少なくとも1つのRNAの少なくとも1つのアンタゴニストは、ヌクレオチド、ヌクレオチドアナログ、核酸、ペプチド、タンパク質、小分子、脂質、又はこれらのいずれかのフラグメント、バリエーション若しくは誘導体から選択される。

40

【0525】

好ましい実施形態では、パターン認識受容体を感知する少なくとも1つのRNAの少なくとも1つのアンタゴニストは、一本鎖オリゴヌクレオチド、好ましくは、一本鎖RNAオリゴヌクレオチドである。

【0526】

実施形態では、パターン認識受容体を感知する少なくとも1つのRNAのアンタゴニストは、PCT/EP2020/072516の配列番号85~212からなる群から選択される核酸配列と

50

同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメントを含むか、又はそれからなる一本鎖オリゴヌクレオチドである。

【0527】

好ましい実施形態では、パターン認識受容体を検知する少なくとも1つのRNAのアンタゴニストは、PCT/EP2020/072516の配列番号85~87、149~212からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメントを含むか、又はそれからなる一本鎖オリゴヌクレオチドである。

10

【0528】

パターン認識受容体を検知する少なくとも1つのRNAの特に好ましいアンタゴニストは、本発明の文脈で、5'-GAG CGmG CCA-3'(PCT/EP2020/072516の配列番号85)、又はそのフラグメントである。

【0529】

実施形態では、本明細書において定義されるパターン認識受容体を検知する少なくとも1つのRNAの少なくとも1つのアンタゴニストと少なくとも1つの核酸、好ましくは、本明細書において定義されるSRAS-CoV-2抗原性ペプチド又はタンパク質をコードするRNAとのモル比は、好適には、約1:1~約100:1の範囲にあるか、又は約20:1~約80:1の範囲にある。

20

【0530】

実施形態では、本明細書において定義されるパターン認識受容体を検知する少なくとも1つのRNAの少なくとも1つのアンタゴニストと少なくとも1つの核酸、好ましくは、本明細書において定義されるSRAS-CoV-2抗原性ペプチド又はタンパク質をコードするRNAとの重量と重量との比は、好適には、約1:1~約1:30の範囲にあるか、又は約1:2~約1:10の範囲にある。

【0531】

ワクチン:

第三の態様では、本発明は、ワクチン、例えば、COVID-19疾患を引き起こすSARS-CoV-2(以前は、nCoV-2019)コロナウイルスに対するワクチンを提供する。ワクチンは、複数のSARS-CoV-2コロナウイルスに対して有効であってもよい。ワクチンはまた、1つ以上のSARS-CoV-2コロナウイルスと1つ以上の非コロナウイルスの両方に対して有効であってもよい(例えば、ワクチンは、SARS-CoV-2ウイルスとインフルエンザウイルスの両方に対して有効であってもよい)。

30

【0532】

第四の態様の好ましい実施形態では、ワクチンは、少なくとも1つの核酸(例えば、DNA又はRNA)、好ましくは、第一の態様の少なくとも1つのRNA、又は第二の態様の組成物を含む。

【0533】

他の実施形態では、ワクチンは、第三の態様において定義される少なくとも1つのポリペプチドを含む。

40

【0534】

他の実施形態では、ワクチンは、第一の態様において定義される少なくとも1つのプラスミドDNA又はアデノウイルスDNAを含む。

【0535】

特に、第二の態様の組成物に関する実施形態も同様に読み取られ、第四の態様のワクチンの好適な実施形態と理解されてもよい。また、第四の態様のワクチンに関する実施形態も同様に読み取られ、第二の態様の組成物の好適な実施形態と理解されてもよい。さらに、第一の態様(本発明の核酸)の文脈で記載される特色及び実施形態は、第四の態様の組成

50

物の好適な実施形態として読み取られなければならない、理解されなければならない。

【0536】

用語「ワクチン」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、少なくとも1つのエпитープ又は抗原、好ましくは、免疫原をもたらす予防又は治療材料であることが意図される。本発明の文脈で、抗原又は抗原性機能は、好適には、第一の態様の本発明の核酸(SARS-CoV-2コロナウイルスから誘導される抗原性ペプチド又はタンパク質をコードするコード配列を含む前記核酸)又は第二の態様の組成物(第一の態様の少なくとも1つの核酸を含む)によってもたらされる。他の実施形態では、抗原又は抗原性機能は、第三の態様の本発明のポリペプチドによってもたらされる。

【0537】

好ましい実施形態では、ワクチン、又は第二の態様の組成物は、適応免疫応答、好ましくは、コロナウイルスに対する、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスに対する適応免疫応答を誘発する。

【0538】

特に好ましい実施形態では、ワクチン、又は第二の態様の組成物は、ウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスを有効に中和することができる機能的抗体を誘発する。

【0539】

さらに好ましい実施形態では、ワクチン、又は第二の態様の組成物は、粘膜IgA抗体を誘導することによって、粘膜IgA免疫を誘発する。

【0540】

特に好ましい実施形態では、ワクチン、又は第二の態様の組成物は、ウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスを有効に中和することができる機能的抗体を誘発する。

【0541】

さらに特に好ましい実施形態では、ワクチン、又は第二の態様の組成物は、コロナウイルスに対する、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスに対する広範な機能的細胞性T細胞応答を誘導する。

【0542】

さらに特に好ましい実施形態では、ワクチン、又は第二の態様の組成物は、コロナウイルスに対する、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスに対するバランスのとれたB細胞及びT細胞応答を誘導する。

【0543】

好ましい実施形態によると、本明細書において定義されるワクチンは、薬学的に許容される担体及び場合により、第二の態様の文脈で特定される少なくとも1つのアジュバントをさらに含んでもよい。

【0544】

好適なアジュバントは、その文脈で、WO2016/203025の請求項17において開示されるアジュバントから選択されてもよい。

【0545】

好ましい実施形態では、ワクチンは、一価のワクチンである。

【0546】

用語「一価(monovalent)ワクチン」、「一価(monovalent)組成物」、「一価(univalent)ワクチン」又は「一価(univalent)組成物」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、病原体由来の1つの抗原又は抗原構築物のみを含む組成物又はワクチンを指すことが意図される。したがって、前記ワクチン又は組成物は、単一生物の単一抗原又は抗原構築物をコードする1つの核酸種のみを含む。用語「一価ワクチン」は、単一の力価に対する免疫を含む。本発明の文脈では、一価のSARS-CoV-2コロナウイルスワクチン又は組成物は、1つの特定のSARS-CoV-2コロナウイルスから誘導される1つの単一の抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする少なくとも1つの核酸を含む。

10

20

30

40

50

【0547】

実施形態では、ワクチンは、第一の態様の文脈で定義される核酸種の複数又は少なくとも1つより多くを含む多価ワクチンである。第二の態様の文脈で開示される多価組成物に関する実施形態も同様に読み取られ、多価ワクチンの好適な実施形態と理解されてもよい。

【0548】

用語「多価(polyvalent)ワクチン」、「多価(polyvalent)組成物」、「多価(multivalent)ワクチン」又は「多価(multivalent)組成物」は、当業者によって認識され、理解され、例えば、1つより多くのウイルス由来の抗原(例えば、異なるSARS-CoV-2コロナウイルス分離株)を含むか、又は同じSARS-CoV-2コロナウイルスの異なる抗原若しくは抗原構築物、或いはその任意の組み合わせを含む組成物又はワクチンを指すことが意図される。用語は、前記ワクチン又は組成物が、1価より多くの力価を有することを記載する。本発明の文脈では、多価のSARS-CoV-2コロナウイルスワクチンは、いくつかの異なるSARS-CoV-2コロナウイルスから誘導される抗原性ペプチド若しくはタンパク質(例えば、異なるSARS-CoV-2コロナウイルス分離株)をコードする核酸配列を含むか、又は同じSARS-CoV-2コロナウイルス由来の異なる抗原若しくは抗原構築物をコードする核酸配列、或いはそれらの組み合わせを含む。

【0549】

好ましい実施形態では、多価(polyvalent)又は多価(multivalent)ワクチンは、第二の態様において定義される少なくとも1つの多価組成物を含む。セクション「本発明の多価組成物」において定義される多価組成物が、特に好ましい。

【0550】

一部の実施形態では、ワクチンは、第二の態様において定義されたパターン認識受容体を検知する少なくとも1つのRNAの少なくとも1つのアンタゴニストを含む。

【0551】

ワクチンは、典型的には、安全かつ有効な量の核酸(例えば、DNA又はRNA)、好ましくは、第一の態様のRNA又は第二の態様の組成物(又は第三の態様のポリペプチド)を含む。本明細書で使用される場合、「安全かつ有効な量」は、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染と関連する疾患又は障害の陽性修飾を有意に誘導するのに十分な核酸又は組成物の量を意味する。同時に、「安全かつ有効な量」は、重篤な副作用を回避するのに十分少ない。本発明の核酸、組成物、又はワクチンに関して、表現「安全かつ有効な量」は、好ましくは、過剰又は損傷する免疫反応(例えば、自然免疫応答)が達成されない様式で、コロナウイルスに対する適応免疫系を刺激するのに好適である核酸、組成物、又はワクチンの量を意味する。

【0552】

上で定義された核酸、組成物、又はワクチンの「安全かつ有効な量」は、処置されるべき特定の状態に関して、並びに当業者の知識及び経験内の、処置されるべき患者の年齢及び健康状態、状態の重症度、処置の持続期間、付随する療法の性質、又は使用される特定の薬学的に許容される担体、及び同様の要因にも関して変動するだろう。さらに、核酸、組成物、又はワクチンの「安全かつ有効な量」は、適用/送達経路(皮内、筋肉内、鼻腔内)、適用装置(ジェット注射、針注射、マイクロニードルパッチ、エレクトロポレーション装置)及び/又は複合体化/製剤(プロタミン複合体化若しくはLNP封入、DNA若しくはRNA)に依存し得る。さらに、核酸、組成物、又はワクチンの「安全かつ有効な量」は、処置される対象(幼児、妊婦、易感染性のヒト対象など)の健康状態に依存し得る。

【0553】

ワクチンは、ヒト医学の目的のため及び獣医学の目的(哺乳動物、脊椎動物、又はトリ種)のためにも、本発明に従い使用することができる。

【0554】

本明細書で使用される場合、薬学的に許容される担体は、好ましくは、ワクチンの液体又は非液体主成分を含む。ワクチンが液体形態で提供される場合、担体は、水、典型的に

は、パイロジェンを含まない水;等張食塩水又は緩衝(水)溶液、例えば、リン酸塩、クエン酸塩などで緩衝溶液である。好ましくは、乳酸リンゲル液が、参照により本明細書に取り込まれる、WO2006/122828、好適な緩衝溶液に関する開示において記載される通り、本発明によるワクチン又は組成物の液体主成分として使用される。ワクチン又は組成物、特に、LNPを含む組成物/ワクチンの液体主成分として使用される他の好ましい溶液は、スクロース及び/又はトレハロースを含む。

【0555】

本明細書において定義される薬学的に許容される担体の選択は、原則として、本発明による医薬組成物又はワクチンが投与される様式によって決定される。ワクチンは、好ましくは局所投与される。局所投与の経路は、一般的に、例えば、局部投与経路を含むが、皮内、経皮、皮下、若しくは筋肉内注射又は病巣内、頭蓋内、肺内、心臓内、関節内及び舌下注射もまた含む。より好ましくは、本発明による組成物又はワクチンは、皮内、皮下、又は筋肉内経路によって、好ましくは、針のない及び/又は針注射であってもよい、注射によって投与されてもよい。本発明の文脈で、筋肉内注射が好ましい。したがって、組成物/ワクチンは、好ましくは、液体又は固体形態で製剤化される。投与されるべき本発明によるワクチン又は組成物の好適な量は、慣習的な実験によって、例えば、動物モデルを使用することによって決定することができる。このようなモデルは、いかなる制限も意味することなく、ウサギ、ヒツジ、マウス、ラット、イヌ及び非ヒト霊長類モデルを含む。注射の好ましい単位投薬形態は、水、生理食塩水又はその混合物の無菌溶液を含む。このような溶液のpHは、約7.4に調整されるべきである。

【0556】

本明細書において定義されるワクチン又は組成物は、免疫原性をさらに増加させるために、上で定義された1つ以上の補助物質又はアジュバントを含んでもよい。場合により、上で記載されたワクチン又は組成物と共製剤化(又は別々に製剤化)され得る、組成物/ワクチンに含有される核酸と補助物質との相乗作用は、好ましくは、これにより達成される。このような免疫原性増加剤又は化合物は、別々に(ワクチンとも組成物とも共製剤化されない)提供され、個別に投与されてもよい。

【0557】

ワクチンは、好ましくは、凍結乾燥又はスプレー乾燥形態(第二の態様の文脈で記載された)で提供される。このような凍結乾燥又はスプレー乾燥ワクチンは、典型的には、トレハロース及び/又はスクロースを含み、対象への投与前に、好適な液体緩衝液中で再構成される。一部の態様では、実施形態の凍結乾燥ワクチンは、LNPと複合体化された実施形態のmRNAを含む。一部の態様では、凍結乾燥組成物は、約10%未満の水含有量を有する。例えば、凍結乾燥組成物は、約0.1%~10%、0.1%~7.5%、又は0.5%~7.5%の水含有量を有することができ、好ましくは、凍結乾燥組成物は、約0.5%~約5.0%の水含有量を有する。

【0558】

好ましい実施形態では、対象への治療有効量の核酸、組成物、ポリペプチド、ワクチンの投与は、対象におけるSARS-CoV-2コロナウイルスに対する中和抗体力価を誘導する。

【0559】

一部の実施形態では、中和抗体力価は、1ミリリットル当たり少なくとも100中和単位(NU/mL)、少なくとも500NU/mL、又は少なくとも1000NU/mLである。

【0560】

一部の実施形態では、検出可能なレベルのコロナウイルス抗原は、核酸、組成物、ポリペプチド、又はワクチンの投与の約1~約72時間後に対象において産生される。

【0561】

一部の実施形態では、少なくとも100NU/mL、少なくとも500NU/mL、又は少なくとも1000NU/mLの中和抗体力価(コロナウイルスに対する)は、核酸、組成物、ポリペプチド、又はワクチンの投与の約1日~約72日後に対象の血清において産生される。

【0562】

一部の実施形態では、中和抗体力価は、ワクチン接種されていない対照対象の中和抗体力価に比べて、又は弱毒生ウイルスワクチン、不活化ウイルスワクチン、若しくはタンパク質サブユニットウイルスワクチンでワクチン接種した対象の中和抗体力価に比べて少なくとも50%コロナウイルス感染を低減するのに十分である。

【0563】

一部の実施形態では、中和抗体力価及び/又はT細胞免疫応答は、ワクチン接種されていない対照対象の中和抗体力価に比べて、無症候性ウイルス感染の割合を低減するのに十分である。

【0564】

一部の実施形態では、中和抗体力価及び/又はT細胞免疫応答は、対象におけるウイルス潜伏期を予防するのに十分である。

【0565】

一部の実施形態では、中和抗体力価は、ウイルスの対象の上皮細胞との融合を遮断するのに十分である。

【0566】

一部の実施形態では、中和抗体力価は、核酸、組成物、ポリペプチド、若しくはワクチンの1 μ g~100 μ g1回用量後20日以内、又は核酸、組成物、ポリペプチド、若しくはワクチンの2回目の1 μ g~100 μ g用量後40日以内に誘導される。

【0567】

好ましい実施形態では、対象への治療有効量の核酸、組成物、ポリペプチド、又はワクチンの投与は、対象におけるコロナウイルスに対するT細胞免疫応答を誘導する。好ましい実施形態では、T細胞免疫応答は、CD4+T細胞免疫応答及び/又はCD8+T細胞免疫応答を含む。

【0568】

キット又はパーツのキット、適用、医学的使用、処置方法:

第四の態様では、本発明は、コロナウイルス感染を処置又は予防するのに好適なキット又はパーツのキットを提供する。好ましくは、前記キット又はパーツのキットは、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2(以前は、nCoV-2019)コロナウイルス感染を処置又は予防するのに好適である。

【0569】

特に、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、及び第四の態様のワクチンに関する実施形態も同様に読み取られ、本発明の第五の態様のキット又はパーツのキットの好適な実施形態と理解されてもよい。

【0570】

好ましい実施形態では、キット又はパーツのキットは、少なくとも1つの核酸(例えば、RNA若しくはDNA)、好ましくは、少なくとも1つの第一の態様のRNA、少なくとも1つの第二の態様の組成物、及び/又は少なくとも1つの第三の態様のポリペプチド、及び/又は少なくとも1つの第四の態様のワクチンを含む。

【0571】

実施形態では、キット又はパーツのキットは、第一の態様において定義される少なくとも1つのDNA、例えば、少なくとも1つのプラスミドDNA及び/又は少なくとも1つのアデノウイルスDNAを含む。

【0572】

実施形態では、キット又はパーツのキットは、第三の態様において定義される少なくとも1つのポリペプチドを含む。

【0573】

さらに、キット又はパーツのキットは、溶解のための液体ビヒクル並びに/又は成分の投与及び投薬量に関する情報をもたらすための技術指示書を含んでもよい。

【0574】

キットは、第二の態様の組成物及び/又は第四の態様のワクチンの文脈で記載されるさ

10

20

30

40

50

らなる成分をさらに含んでもよい。

【0575】

前記キットの技術指示書は、投与及び投薬量並びに患者群についての情報を含んでもよい。このようなキット、好ましくは、パーツのキットは、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスによって引き起こされる感染若しくは疾患、又はそれと関連する障害の処置又は予防のための、例えば、本明細書で述べられる適用又は使用のいずれか、好ましくは、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、又は第四の態様のワクチンの使用のため適用されてもよい。

【0576】

好ましくは、核酸、組成物、ポリペプチド、又はワクチンは、キットの別々の一部で提供され、ここで、核酸、組成物、ポリペプチド、又はワクチンは、好ましくは、凍結乾燥される。

【0577】

キットは、核酸、組成物、ポリペプチド、又はワクチンを溶解するためのビヒクル(例えば、緩衝液)を一部としてさらに含有してもよい。

【0578】

好ましい実施形態では、本明細書において定義されるキット又はパーツのキットは、乳酸リンゲル液を含む。

【0579】

好ましい実施形態では、本明細書において定義されるキット又はパーツのキットは、組成物/ワクチンの投与のための複数用量の容器を含む。

【0580】

上記のキットのいずれかは、本明細書において定義される処置又は予防において使用されてもよい。より好ましくは、上記のキットのいずれかは、ワクチン、好ましくは、コロナウイルスによって引き起こされる、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスによって引き起こされる感染に対するワクチンとして使用されてもよい。

【0581】

好ましい実施形態では、キット又はパーツのキットは、以下の成分:

- a) 本明細書において定義される組成物又はSARS-CoV-2ワクチンを含む少なくとも1つの容器又はバイアル、ここで、組成物又はSARS-CoV-2ワクチンは、核酸濃度、好ましくは、約100 µg/ml～約1mg/mlの範囲、好ましくは、約100 µg/ml～約500 µg/mlの範囲、例えば、約270 µg/mlのRNA濃度を有する;
 - b) 無菌希釈緩衝液、好適には、NaClを含み、場合により保存剤を含む緩衝液を含む、少なくとも1つの希釈容器又はバイアル;
 - c) 組成物又はワクチンを保存容器から希釈容器に移行させるための少なくとも1つの手段;及び
 - d) 最終の希釈された組成物又はワクチンを対象に投与するための、好ましくは、ヒト対象への筋肉内投与のため構成された少なくとも1つのシリンジ、ここで、最終の希釈された組成物又はワクチンは、核酸濃度、好ましくは、約10 µg/ml～約100 µg/mlの範囲、好ましくは、約10 µg/ml～約50 µg/mlの範囲、例えば、約24 µg/mlのRNA濃度を有する
- を含む。

【0582】

一実施形態では、キット又はパーツのキットは、1つより多くのmRNAベースのSARS-CoV-2組成物/ワクチン、好ましくは、

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのワクチン、ここで、ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)

10

20

30

40

50

中に製剤化された配列番号163、149又は24837の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、23529~23534、27386~27408、23535~23552、27409~27431、23590~23606、27478~27500、28736~28776、28638~28686、28777~28825、28925~28928、28933~28936の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27394、27417、27486、28762、28650~28655、28789~28794の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27394、27417、27486、28762の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)(n=49を有するか、又はn=45(ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号28639~28642、28778~28781、28925~28928、28933~28936の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されないを含む。

【0583】

10

20

30

40

50

一実施形態では、キット又はパーツのキットは、1つより多くのmRNAベースのSARS-CoV-2組成物/ワクチン、好ましくは、

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのワクチン、ここで、ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号163、149又は24837の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号24837~24854、27524~27546、24855~24872、27547~27569、24909~24926、27616~27638、28827~28866、28687~28735、28867~28915、28929~28932、28937~28940の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27532、27555、27624、28852、28699~28704、28879~28884の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号27532、27555、27624、28852の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されず;並びに/或いは

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのさらなるワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、カチオン性脂質III-3(ALC-0315)、DSPC、コレステロール及び式(IVa)($n=49$ を有するか、又は $n=45$ (ALC-0159)を有する)のPEG-脂質の約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.5:10:40.8:1.7又はより好ましくは、47.4:10:40.9:1.7の割合(mol%)のモル比を有する、好ましくは、脂質ナノ粒子(LNP)中に製剤化された配列番号28688~28691、28868~28871、2892

10

20

30

40

50

9～28932、28937～28940の核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である少なくとも1つの核酸、好ましくは、RNAを含む。好ましくは、核酸、好ましくは、mRNAは、化学的に修飾されないを含む。

【0584】

一実施形態では、キット又はパーツのキットは、プライムワクチン接種及びブーストワクチン接種のための2つの異なるSARS-CoV-2ワクチンを含む：

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのプライムワクチン、ここで、ワクチンは、本明細書において定義されるmRNAベースのSARS-CoV-2ワクチンであり；及び
- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのブーストワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、本明細書において定義されるアデノウイルスベースのSARS-CoV-2ワクチンである。

【0585】

一実施形態では、キット又はパーツのキットは、プライムワクチン接種及びブーストワクチン接種のための2つの異なるSARS-CoV-2ワクチンを含む：

- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのブーストワクチン、ここで、ワクチンは、本明細書において定義されるmRNAベースのSARS-CoV-2ワクチンであり；及び
- 第一のバイアル又は容器において提供される、本明細書において定義される少なくとも1つのプライムワクチン、ここで、組成物/ワクチンは、本明細書において定義されるアデノウイルスベースのSARS-CoV-2ワクチンである。

【0586】

組み合わせ：

第五の態様は、第一の態様において定義される少なくとも2つの核酸配列、第二の態様の文脈で定義される少なくとも2つの組成物、第三の態様において定義される少なくとも2つのポリペプチド、第四の態様の文脈で定義される少なくとも2つのワクチン、又は第五の態様において定義される少なくとも2つのキットの組み合わせに関する。

【0587】

本発明の文脈では、用語「組み合わせ」は、好ましくは、少なくとも2つの成分、好ましくは、第一の態様において定義される少なくとも2つの核酸配列、第二の態様の文脈で定義される少なくとも2つの組成物、第三の態様において定義される少なくとも2つのポリペプチド、第四の態様の文脈で定義される少なくとも2つのワクチン、又は第五の態様において定義される少なくとも2つのキットの合わせた存在を意味する。このような組み合わせの成分は、別々の実体として生じてもよい。したがって、組み合わせの成分の投与は、同じ部位の投与又は異なる部位の投与のいずれかで、同時又は時間をずらして生じてもよい。

【0588】

特に、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、及び第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキットに関する実施形態も同様に読み取られ、第六の態様の組み合わせの成分の好適な実施形態として理解され得る。

【0589】

実施形態では、組み合わせは、核酸種、例えば、本発明の第一の態様の文脈で定義されるRNA種の複数又は少なくとも1つより多くを含んでもよい、ここで、核酸種は、別々の成分として提供される。

【0590】

好ましくは、本明細書において定義される組み合わせは、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個以上の異なる核酸、例えば、本発明の第一の態様の文脈で定義されるRNA種；

10

20

30

40

50

2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個の本発明の第二の態様の文脈で定義される異なる組成物;2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個の本発明の第三の態様の文脈で定義される異なるポリペプチド;2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個の本発明の第三の態様の文脈で定義される異なるワクチンを含んでもよく、ここで、核酸種、組成物、ポリペプチド、ワクチンは、別々の成分として提供される。

【0591】

実施形態では、組み合わせは、別々の成分に含まれる2、3、4又は5個のRNA、好ましくは、RNA種、及び場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体又は賦形剤を含み、ここで、前記核酸種は、配列番号149、22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、23529～23534、27386～27408、23535～23552、27409～27431、23590～23606、27478～27500、28736～28776、28638～28686、28777～28825、28925～28928、28933～28936からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列を含むか、又はそれからなり、2、3、4又は5個の核酸種のそれぞれは、SARS-CoV-2コロナウイルスの異なる抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする。

【0592】

実施形態では、組み合わせは、別々の成分に含まれる2、3、4又は5個のRNA、好ましくは、RNA種、及び場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体又は賦形剤を含み、ここで、前記核酸種は、配列番号24837～24854、27524～27546、24855～24872、27547～27569、24909～24926、27616～27638、28827～28866、28687～28735、28867～28915、28929～28932、28937～28940からなる群から選択される核酸配列と同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列を含むか、又はそれからなり、2、3、4又は5個の核酸種のそれぞれは、SARS-CoV-2コロナウイルスの異なる抗原性ペプチド又はタンパク質をコードする。

【0593】

以下で、特に好ましい実施形態の組み合わせが提供され、ここで、組み合わせのそれぞれの成分は、別々の実体として提供される。

【0594】

好ましくは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はなおさらに異なる核酸種、組成物、ワクチンの組み合わせはそれぞれ、異なる融合前の安定化されたスパイクタンパク質(第一の態様において定義される)をコードする。好ましくは、融合前の立体構造の安定化は、スパイクタンパク質における残基K986及びV987において2つの連続するプロリン置換を導入することによって得られる(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。したがって、好ましい実施形態では、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個の融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_stab)はそれぞれ、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含み、ここで、少なくとも1つの融合前の安定化変異は、以下のアミノ酸置換:K986P及びV987Pを含む(参照配列番号1によるアミノ酸位置)。

【0595】

したがって、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はなおさらに異なる核酸種、組成物、ワクチンの組み合わせはそれぞれ、異なる融合前の安定化されたスパイクタンパク質をコードし、ここで、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はなおさらに安定化されたスパイクタンパク質は、配列番号10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959～22964、27087～27109、28540～28588、28917～28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配

列又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションから選択される。

【0596】

好ましい実施形態では、組み合わせは、配列番号10のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1つの核酸種、組成物、ワクチンを含み、ここで、多価組成物は、さらに、

i) 配列番号22961のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；及び/或いは

ii) 配列番号22960のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；及び/或いは

iii) 配列番号22963のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；及び/或いは

iv) 配列番号22959のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；

v) 配列番号27070、27093のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；

vi) 配列番号27071、27094のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；

vii) 配列番号27072、27095のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；

viii) 配列番号27073、27096、28545のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；及び/或いは

ix) 配列番号22964のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種；

x) 配列番号28541~28544、28917~28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列をコードするコード配列を含む1個の核酸種

から選択される少なくとも2、3、4個のさらなるRNA種を含む。

【0597】

好ましくは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はさらに多くの異なる核酸種、組成物、ワクチンの組み合わせは、それぞれ異なる融合前の安定化されたスパイク

タンパク質をコードする核酸コード配列を含み、ここで、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はさらに多くの核酸コード配列は、配列番号116、136、137、146、148、149、151、162、163、165、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、22792、22794、22796、22798、22800、22802、22804、22806、22808、22810、22812、22819、22821、22823、22825、22827、22829、22831、22833、22835、22837、22839、28916、23089～23148、23150～23184、23309～23368、23370～23404、23529～23588、23590～23624、24837～24944、27110～27907、28589～28915、28916、28921～28940のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である核酸配列又はこれらのいずれかのフラグメント若しくはバリエーションから選択される。好ましくは、mRNA種のそれぞれは、キャップ1構造を含み、場合により、mRNA種のそれぞれは、修飾されたヌクレオチドを含まない。

10

【0598】

特定の実施形態では、組み合わせの第一の成分は、ウイルスベクターワクチン/組成物、例えば、アデノウイルスベクターベースのワクチン、例えば、ADZ1222又はAd26.COV-2.Sを含み、第二の成分は、核酸ベースのワクチン/組成物、好ましくは、本明細書において定義されるmRNAベースのワクチンを含む。

20

【0599】

第一及び第二の/さらなる医学的使用:

さらなる態様は、提供される核酸、組成物、ワクチン、キット、又は組み合わせの第一の医学的使用に関する。

【0600】

特に、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、及び第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキット、或いは組み合わせに関する実施形態も同様に読み取られ、本発明の医学的使用の好適な実施形態として理解され得る。

【0601】

したがって、本発明は、少なくとも1つの核酸(例えば、DNA若しくはRNA)、好ましくは、医薬として使用するための第一の態様において定義されるRNA、医薬として使用するための第二の態様において定義される組成物、医薬として使用するための第三の態様において定義されるポリペプチド、医薬として使用するための第四の態様において定義されるワクチン、及び医薬として使用するための第五の態様において定義されるキット又はパーツのキット、並びに組み合わせを提供する。

30

【0602】

本発明はさらに、核酸、組成物、ポリペプチド、ワクチン、若しくはキット、又は組み合わせのいくつかの適用及び使用を提供する。

【0603】

特に、核酸(好ましくは、RNA)、組成物、ポリペプチド、ワクチン、若しくはキット、又は組み合わせは、ヒト医学の目的のため及び獣医学の目的、好ましくは、ヒト医学の目的のためにも使用され得る。

40

【0604】

特に、核酸(好ましくは、RNA)、組成物、ポリペプチド、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキット或いは組み合わせは、ヒト医学の目的のための医薬としての使用のためであり、ここで、前記核酸(好ましくは、RNA)、組成物、ポリペプチド、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキットは、幼児、新生児、易感染性(immunocompromised)レシピエント、並びに妊婦及び授乳中の女性並びに高齢者に好適であり得る。特に、核酸(好ましくは、RNA)、組成物、ポリペプチド、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキットは、ヒト医学の目的のための医薬としての使用のためであり、ここで、前記

50

核酸(好ましくは、RNA)、組成物、ポリペプチド、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキットは、高齢ヒト対象に特に適している。

【0605】

前記核酸(好ましくは、RNA)、組成物、ポリペプチド、ワクチン、若しくはキット又は組み合わせは、ヒト医学の目的のための医薬としての使用のためであり、ここで、前記RNA、組成物、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキットは、筋肉内注射又は皮内注射に特に適し得る。

【0606】

なお別の態様では、本発明は、提供される核酸、組成物、ポリペプチド、ワクチン、若しくはキット又は組み合わせの第二の医学的使用に関する。

【0607】

したがって、本発明は、少なくとも1つの核酸、好ましくは、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、例えば、COVID-19と関連する障害若しくは疾患の処置又は予防のための、第一の態様において定義されたRNA;コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、例えば、COVID-19と関連する障害若しくは疾患の処置又は予防のための、第二の態様において定義される組成物;コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、例えば、COVID-19と関連する障害若しくは疾患の処置又は予防のための、第三の態様において定義されるポリペプチド;コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、例えば、COVID-19と関連する障害若しくは疾患の処置又は予防のための、第四の態様において定義されるワクチン;コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、例えば、COVID-19と関連する障害若しくは疾患の処置又は予防のための、第五の態様において定義されるキット又はパーツのキット;コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、例えば、COVID-19と関連する障害若しくは疾患の処置又は予防のための、第六の態様において定義される組み合わせを提供する。

【0608】

実施形態では、第一の態様の核酸、好ましくはRNA、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキット、或いは第六の態様の組み合わせは、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染の処置又は予防における使用のためのものである。

【0609】

特に、第一の態様の核酸、好ましくはRNA、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキット、或いは第六の態様の組み合わせは、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスによって引き起こされる感染の予防(曝露前の予防若しくは曝露後の予防)及び/又は治療的処置の方法において使用され得る。

【0610】

特に、第一の態様の核酸、好ましくはRNA、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキット、或いは第六の態様の組み合わせは、SARS-CoV-2コロナウイルス感染によって引き起こされるCOVID-19疾患の予防(曝露前の予防若しくは曝露後の予防)及び/又は治療的処置の方法において使用され得る。

【0611】

核酸、組成物、ポリペプチド、若しくはワクチン、又は組み合わせは、好ましくは、局所投与され得る。特に、組成物若しくはポリペプチド若しくはワクチン又は組み合わせは、皮内、皮下、鼻腔内、又は筋肉内経路によって投与され得る。実施形態では、本発明の核酸、組成物、ポリペプチド、ワクチンは、従来の針注射又は針のないジェット注射によって投与され得る。その文脈では、筋肉内注射が好ましい。

【0612】

プラスミドDNAが組成物若しくはワクチン又は組み合わせにおいて使用され、含まれる実施形態では、組成物/ワクチン/組み合わせは、エレクトロポレーション装置、例えば、皮内又は筋肉内送達のためのエレクトロポレーション装置を使用したエレクトロポレーションによって投与されてもよい。好適には、米国特許第7,245,963B2号に記載される装置、特に、米国特許第7,245,963B2号の請求項1〜68によって定義される装置が使用され得る。

【0613】

アデノウイルスDNAが組成物若しくはワクチン又は組み合わせにおいて使用され、含まれる実施形態では、組成物/ワクチン/組み合わせは、鼻腔内投与によって投与され得る。

10

【0614】

実施形態では、本明細書において定義される組成物若しくはワクチン又は組み合わせにおいて含まれる核酸は、約100ng〜約500μgの量で、約1μg〜約200μgの量で、約1μg〜約100μgの量で、約5μg〜約100μgの量で、好ましくは、約10μg〜約50μgの量で、具体的には、約1μg、2μg、3μg、4μg、5μg、8μg、9μg、10μg、11μg、12μg、13μg、14μg、15μg、16μg、20μg、25μg、30μg、35μg、40μg、45μg、50μg、55μg、60μg、65μg、70μg、75μg、80μg、85μg、90μg、95μg又は100μgの量で提供される。

【0615】

20

一部の実施形態では、核酸を含むワクチン、又は核酸を含む組成物は、対象において抗原特異的免疫応答を生じさせるための有効量で製剤化される。一部の実施形態では、核酸の有効量は、1μg〜200μg、1μg〜100μg、又は5μg〜100μgの総用量である。

【0616】

核酸が脂質ベースの担体、例えば、LNP中に提供される実施形態では、1用量に含まれる本明細書において定義されるPEG-脂質の量は、約50μgより少ないPEG脂質、好ましくは、約45μgより少ないPEG脂質、より好ましくは約40μgより少ないPEG脂質である。

【0617】

1用量中に少ない量のPEG脂質を有することは、有害効果(例えば、アレルギー)のリスクを低減し得る。

30

【0618】

特に好ましい実施形態では、1用量に含まれるPEG-脂質の量は、約3.5μgPEG脂質〜約35μgPEG脂質の範囲である。

【0619】

核酸が脂質ベースの担体、例えば、LNP中に提供される実施形態では、1用量に含まれる本明細書において定義されるカチオン性脂質の量は、約400μgより少ないカチオン性脂質、好ましくは、約350μgより少ないカチオン性脂質、より好ましくは、約300μgより少ないカチオン性脂質である。

【0620】

40

1用量中に少ない量のカチオン性脂質を有することは、有害効果(例えば、発熱)のリスクを低減し得る。

【0621】

特に好ましい実施形態では、1用量に含まれるカチオン性脂質の量は、約30μgPEG脂質〜約300μgPEG脂質の範囲である。

【0622】

一実施形態では、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスに対する対象の処置又は予防のための免疫プロトコルは、1回用量の組成物又はワクチンを含む。

【0623】

50

一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される1 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される2 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される3 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される4 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される5 μ gの用量である。1回のワクチン接種において対象に投与される6 μ g。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される7 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される8 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される9 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される10 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される11 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される12 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される13 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される14 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される16 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される20 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される25 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される30 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される40 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される50 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される100 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、1回のワクチン接種において対象に投与される200 μ gの用量である。この文脈での「用量」は、核酸、好ましくは、本明細書において定義されるmRNAの有効量に関する。

10

20

30

40

50

【0624】

好ましい実施形態では、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルス感染の処置又は予防のための免疫プロトコールは、一連の1回用量又は投薬量の組成物又はワクチンを含む。本明細書で使用される場合、1回投薬量は、それぞれ、開始/第一の用量、免疫反応を「ブーストする」ために好ましくは投与される第二の用量又は任意のさらなる用量を指す。

【0625】

一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される1 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される2 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される3 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される4 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される5 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される6 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される7 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される8 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される9 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される10 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される11 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される12 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される13 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される14 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される16 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される20 μ gの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される25 μ gの用量である。一部の実施形態では、有

効量は、計2回で対象に投与される30 µgの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される40 µgの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される50 µgの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される100 µgの用量である。一部の実施形態では、有効量は、計2回で対象に投与される200 µgの用量である。その文脈での「用量」は、核酸、好ましくは、本明細書において定義されるmRNAの有効量に関する。

【0626】

好ましい実施形態では、ワクチン/組成物/組み合わせは、少なくとも1年間、好ましくは、少なくとも2年間、コロナウイルスに対して、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルス感染に対して(本明細書において定義される投与の際に)対象を免疫する。好ましい実施形態では、ワクチン/組成物/組み合わせは、2年より長い間、より好ましくは、3年より長い間、なおより好ましくは、4年より長い間、なおより好ましくは、5~10年より長い間、コロナウイルスに対して、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスに対して対象を免疫する。

10

【0627】

処置方法及び使用、診断方法及び使用:

別の態様では、本発明は、障害を処置又は予防する方法に関する。

【0628】

特に、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、及び第四の態様のワクチン、第五の態様のキット若しくはパーツのキット、第六の態様の組み合わせ、又は医学的使用に関する実施形態は同様に読み取られ、本明細書において提供される処置方法の好適な実施形態として理解され得る。さらに、本明細書において提供される処置方法に関する特定の特徴及び実施形態はまた、本発明の医学的使用に適用し得る。

20

【0629】

疾患、特に、コロナウイルス感染の予防(阻害)又は処置は、例えば、疾患、例えば、コロナウイルス感染のリスクのある対象における疾患又は状態の完全な発症の阻害に関する。「処置」は、疾患又は病態が発症し始めた後、その徴候又は症状を回復させる治療的介入を指す。疾患又は病態に関して、用語「回復させること」は、処置の任意の観察可能な有益な効果を指す。疾患の阻害は、疾患のリスクの予防又は低減、例えば、ウイルス感染のリスクの予防又は低減を含むことができる。有益な効果は、例えば、感受性の対象における疾患の臨床症状の発症の遅延、疾患の一部若しくはすべての臨床症状の重症度の低減、疾患の進行をゆっくりにすること、ウイルス量の低減、対象の全体的な健康若しくは幸福の改善によって、又は特定の疾患に特異的である他のパラメーターによって証明することができる。「予防的」処置は、病状を発症するリスクを減少させる目的のため、疾患の徴候を示さないか、又は早期の徴候のみを示す対象に投与される処置である。

30

【0630】

好ましい実施形態では、本発明は、障害を処置又は予防する方法に関し、ここで、方法は、それを必要とする対象に、少なくとも1つの、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキット、或いは第六の態様の組み合わせを適用するか、又は投与することを含む。

40

【0631】

好ましい実施形態では、障害は、コロナウイルスの感染、又はこのような感染に関連する障害、特に、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染に関連する障害、例えば、COVID-19である。

【0632】

好ましい実施形態では、本発明は、上で定義された障害を処置又は予防する方法に関し、ここで、方法は、それを必要とする対象に、少なくとも1つの、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキット、或いは第六の態様の組み合わせを適用するか、又は投

50

与することを含み、ここで、必要とする対象は、好ましくは、哺乳類対象である。

【0633】

ある特定の実施形態では、それを必要とする対象に、少なくとも1つの、第一の態様の核酸、第二の態様の組成物、第三の態様のポリペプチド、第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキット、或いは第六の態様の組み合わせを適用又は投与することによって、疾患を処置又は予防する方法は、対象における疾患の負担を低減する方法としてさらに定義される。例えば、方法は、好ましくは、COVID-19疾患の1つ以上の症状の重症度及び/又は持続期間を低減する。一部の態様では、方法は、対象が、入院、集中治療室への入院、酸素の補給を用いた処置及び/又は人工呼吸器を用いた処置を必要とする可能性を低減する。さらなる態様では、方法は、対象が、発熱、呼吸困難、嗅覚の喪失及び/又は味覚の喪失を発症する可能性を低減する。好ましい態様では、方法は、対象が、重篤又は中程度のCOVID-19疾患を発症する可能性を低減する。ある特定の態様では、実施形態の方法は、対象が実施形態の組成物を投与された後、約2週間～1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、1年間又は2年間、対象における重篤又は中程度のCOVID-19疾患を予防する。好ましい態様では、実施形態の方法は、症候性COVID-19疾患を予防する。さらなる態様では、実施形態の方法は、対象が実施形態の組成物を投与された後、約2週間～1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、1年間又は2年間、対象における検出可能なレベルのSARS-CoV-2核酸を予防する。さらなる態様では、実施形態の方法は、対象におけるコロナウイルス感染(例えば、SARS-CoV-2感染)に対する防御的免疫を提供する方法として定義される。なおさらなる態様では、実施形態の方法は、処置される対象の少なくとも80%、85%、90%又は95%における中程度及び重篤なCOVID-19疾患を予防する。なおさらなる態様では、実施形態の方法は、第二又は続く免疫原性組成物(例えば、ブースター投与)の投与の約2週間～約1年後、処置された対象の少なくとも80%、85%、90%又は95%における中程度及び重篤なCOVID-19疾患を予防する。なおさらなる態様では、実施形態の方法は、第二又は続く組成物の投与の約2週間～約3カ月、6カ月、9カ月、1年、1.5年、2年又は3年後、処置された対象の少なくとも80%、85%、90%又は95%における中程度及び重篤なCOVID-19疾患を予防する。

【0634】

さらなる態様では、実施形態の方法は、(i)実施形態の組成物(例えば、ワクチン組成物)を得ること、ここで、組成物は凍結乾燥されている;(ii)薬学的に許容される液体担体において凍結乾燥された組成物を溶解して、液体組成物を生成すること;及び(iii)有効量の液体組成物を対象に投与することを含む。一部の態様では、凍結乾燥された組成物は、約10%未満の水含有量を含む。例えば、凍結乾燥された組成物は、好ましくは、約0.1%～約10%、0.5%～7.5%又は0.5%～5.0%水を含むことができる。

【0635】

なおさらなる態様では、実施形態の方法は、対象に、それぞれのmRNAが、それぞれが配列番号10(例えば、LNPとの複合体中)と少なくとも約95%同一である異なるSARS-CoV-2スパイクポリペプチドをコードする、少なくとも2つの異なるmRNAを含むワクチン組成物を投与することを含む。さらなる態様では、このような方法は、少なくとも約6カ月間、対象を重篤なCOVID-19疾患から保護するために対象において十分な免疫応答をもたらす。例えば、一部の態様では、対象は、約6カ月間～約1年間、1.5年間、2年間、2.5年間、3年間、4年間又は5年間、重篤なCOVID-19疾患から保護される。したがって、一部の態様では、実施形態の方法は、対象に重篤な疾患からの防御の延長(例えば、6カ月間より長い)をもたらし得る1回用量のワクチン組成物を提供する。

【0636】

本明細書で使用される場合、重篤なCOVID-19疾患は、以下:

- ・重篤な全身性の病気の指標である安静時の臨床徴候(呼吸数 $\geq$ 1分当たり30回の呼吸、心拍数 $\geq$ 1分当たり125、SpO₂ $\leq$ 海面、室内気で93%又はPaO₂/FIO₂ $<$ 300mm Hg(高度により調整))

- ・呼吸不全(高流量の酸素、非侵襲的人工呼吸、機械的人工呼吸又はECMOの必要として定義される)
- ・ショック状態の証拠(SBP <90mmHg、DBP <60mmHg、又は昇圧剤が必要)
- ・顕著な腎臓、肝臓、又は神経機能障害
- ・ICUへの入院
- ・死亡

のうちの1つ以上を示す対象と定義される。

【0637】

本明細書で使用される場合、中程度のCOVID-19疾患は、以下:

- ・息切れ又は呼吸困難
- ・呼吸数 $\geq$ 1分当たり20回の呼吸
- ・異常なSpO₂だが、依然として>海面、室内気で93%(高度により調整)
- ・下気道疾患の臨床又はX線検査の証拠
- ・深部静脈血栓症(DVT)のX線検査の証拠

のうちの1つ以上を示す対象と定義される。

【0638】

本明細書で使用される場合、軽度COVID-19疾患は、以下:

- ・症候性AND
- ・息切れも呼吸困難ANDもなし
- ・低酸素血症(高度により調整)ANDなし
- ・中程度又は重篤なCOVID-19疾患の症例定義に合致しない

のすべてを示す対象と定義される。

【0639】

特に好ましい実施形態では、必要な対象は、哺乳類対象、好ましくは、ヒト対象、例えば、新生児、妊婦、易感染性、及び/又は高齢者である。一部の実施形態では、対象は、6カ月~100歳、6カ月~80歳、1歳~80歳、1歳~70歳、2歳~80歳又は2歳~60歳の年齢である。他の実施形態では、対象は、3歳以下、2歳以下、1.5歳以下、1歳(12カ月)以下、9カ月、6カ月又は3カ月以下の新生児又は幼児である。ある特定の実施形態では、ヒト対象は、高齢ヒト対象である。一部の他の実施形態では、対象は、少なくとも50、60、65、又は70歳の年齢の高齢者の対象である。さらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、61歳以上の年齢である。なおさらなる態様では、対象は、18歳~60歳である。

【0640】

さらなる実施形態では、哺乳類対象は、60歳以下のヒト対象である。ある特定の実施形態では、ヒト対象は、55歳、50歳、45歳又は40歳以下のヒト対象である。したがって、一部の実施形態では、ヒト対象は約12歳~60歳、12歳~55歳、12歳~50歳、12歳~45歳、又は12歳~40歳である。さらなる実施形態では、ヒト対象は、約18歳~60歳、18歳~55歳、18歳~50歳、18歳~45歳、又は18歳~40歳である。一部の実施形態では、ヒト対象は、18歳~50歳又は18歳~40歳である。

【0641】

ある特定の実施形態では、実施形態による処置のための対象は、妊娠中の対象、例えば、妊娠中のヒトである。一部の態様では、対象は、約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月又は8カ月より長い間妊娠中である。

【0642】

ある特定の態様では、実施形態による処置のための対象は、ネイティブアメリカン、アフリカ、アジア又はヨーロッパの遺伝形質を有する。一部の態様では、対象は、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%又は90%のネイティブアメリカン、アフリカ、アジア又はヨーロッパの遺伝形質を有する。ある特定の態様では、対象は、ネイティブアメリカンの遺伝形質、例えば、少なくとも約10%、25%又は50%のネイティブアメリカンの遺伝形質を

10

20

30

40

50

有する。さらなる態様では、対象は、ネイティブアメリカンの遺伝形質を有する高齢者の対象、例えば、少なくとも55、60、65又は70歳の年齢である対象である。

【0643】

さらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、疾患を有するか、又は免疫無防備状態である。一部の態様では、対象は、肝臓疾患、腎臓疾患、糖尿病、高血圧、心疾患又は肺疾患を有する。さらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、アレルギー反応の既往歴を有する対象、例えば、食物アレルギーを有する対象である。一部の態様では、対象は、ワクチンに対する従前のアレルギー反応、例えば、アナフィラキシー性反応を有していた。なおさらなる態様では、方法による処置のための対象は、血清中に検出可能な抗PEG抗体、例えば、検出可能な抗PEG IgEを有する対象である。

10

【0644】

さらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、以下から選択される少なくとも1つの共存症を有する。

(i)慢性腎疾患:腎機能は、ここ3~6カ月以内の血清クレアチニン測定値から確認され、慢性腎臓病疫学共同研究(CKD-EPI)の方程式を使用して推定糸球体濾過量(eGFR)に変換され、腎機能の損傷は $eGFR < 60 \text{ mL/分/}1.73 \text{ m}^2$ として定義される。

- 軽度の慢性腎疾患は、 $eGFR 60 \sim 89 \text{ mL/分/}1.73 \text{ m}^2$ として定義される。
- 中程度の慢性腎疾患は、 $eGFR 31 \sim 59 \text{ mL/分/}1.73 \text{ m}^2$ として定義され、少なくとも6カ月間にわたる、安定な療法及び良好な維持を伴う(Clinical Practice Clinical Guidelines for Chronic Kidney Disease:Am J Kidney Dis、2002から改変)。

20

(ii)COPD(肺気腫及び慢性気管支炎を含む)。

- 咳又は痰の生成を伴うか、又は伴わない軽度のCOPDは、1秒間の努力呼気量/努力肺活量($FEV1/FVC$) < 0.7 及び $FEV1 \geq$ 推定80%として定義される。

- 咳又は痰の生成を伴うか、又は伴わない中程度のCOPDは、安定な処置(COPD重症度の黄金基準)を用いて $FEV1/FVC < 0.7$ 及び $FEV1 \geq 50\%$ だが、 $<$ 推定80%として定義される。

(iii)肥満度指数(BMI) $> 32 \text{ kg/m}^2$ を有する肥満-任意の極度の病的肥満も含まれる。

(iv)以下を含む慢性心血管状態(心不全、冠動脈疾患、心筋症、動脈性高血圧)。

- 機能的又は構造的な心障害のない、将来的に心不全を発症する高いリスクの可能性を有するクラスIの心不全。

30

- クラスIIの心不全:身体活動性のわずかな制限をもたらす心疾患を有する対象。安静時に快適。

- 従来身体活動性が疲労、動悸、呼吸困難、又は狭心痛を生じる。

- 身体活動性の顕著な制限を伴うが、安静時に快適であるが、従来活動未満で症状を生じる、クラスIIIの心不全。

- いずれのステージの症状もない構造的な心障害。

- 通常、あまり臨床的な徴候を生じない、軽度の左心室収縮期又は拡張機能障害。

- 医薬を用いて安定な、ニューヨーク心臓病学会(NYHA)による労作性呼吸困難又は起座呼吸困難又は発作性夜間呼吸困難を伴う中程度の左心室不全(クラスII~III)。

- 医薬を用いて安定な、2以上の代謝相当量域値(MET)から中程度の冠動脈疾患。(METは、安静時の座位で消費される酸素量として定義され、体重 1 kg 当たり $3.5 \text{ mL O}_2 \times \text{分}$ と等しく、正常である4は、階段を上ったり、坂道を歩いたりすることができ、その他の激しい活動に参加することができ、1は、自分のことは自分でできるが、自分を管理することができず、労作に制約を受けることがある。)

40

- 医薬を用いて、2~3のMETの非感染性及び代謝性起源の心筋症。

- 医薬を用いて安定かつ制御された、ステージ1の高血圧又はステージ2の高血圧。

(v)登録前12カ月以内に採取された血液試料によって証明された、安定なウイルス血症(< 50 コピー/mL)及びCD4カウント $> 350/\text{mL}$ を伴う慢性HIV感染。(50~350コピー/mLの一過性の変化を伴うウイルス量 < 50 コピー/mLが許容される。)

(vi)医薬を用いて制御されている[ヘモグロビンA1c(HbA1c) $< 58 \text{ mmol/mol}$ (7.45%)

50

]か、又は最近のHbA1c> 58mmol/mol(7.45%)を有する、制御されていない;[(HbA1c%-2.15)×10.929=HbA1c mmol/mol]2型糖尿病、制御されていないDMでは、HbA1cは<10%以内の変動であるべきであり、過去3カ月以内の、糖尿病性ケトアシドーシス又は重篤な症候性低血糖のエピソードの既往歴を有するべきではない。

(vii)拒絶反応リスクが低いと分類される、医薬を用いて少なくとも6カ月間安定な状態下の、少なくとも1年前に腎移植を受けた対象。

【0645】

なおさらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、過去6カ月間で14日より長い間、免疫抑制薬を用いて処置されていない。一部の態様では、実施形態による処置のための対象は、投与前少なくとも28日間、生ワクチンを受けておらず、及び/又は投与前少なくとも14日間、不活化ワクチンを受けていない。さらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、以下を有さない。

- ウイルス学的に確認されたCOVID-19病を有していた;
- 女性について、実施形態の組成物の投与前の1カ月以内に妊娠又は授乳を経験した;
- 実施形態の組成物の投与に先立ち28日以内に、治験又は登録されていない製品(例えば、ワクチン若しくは薬物)を用いた処置を有した;
- 実施形態の組成物の投与前28日以内(生ワクチンについて)又は14日以内(不活化ワクチンについて)に許可されたワクチンを受けた;
- いずれかの治験SARS-CoV-2ワクチン又は別のコロナウイルス(SARS-CoV、MERS-CoV)ワクチンを用いて以前又は現在処置されている;
- 実施形態の組成物の投与に先立ち6カ月間以内に計> 14日間、免疫抑制剤又は他の免疫修飾薬(例えば、コルチコステロイド、生物製剤及びメトトレキサート)を用いて処置されている;
- ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、B型肝炎ウイルス(HBV)又はC型肝炎ウイルス(HCV)の既知の感染を含む医学既往歴及び身体検査;白血病、リンパ腫、ホジキン病、多発性骨髄腫、又は全身性悪性腫瘍を含むがんの現在の診断又は処置;慢性腎不全又はネフローゼ症候群;及び器官若しくは骨髄移植を受けることに基づき、いずれかの医学的に診断されたか、又は疑われる免疫抑制又は免疫不全状態を有していた。
- 血管浮腫(遺伝性若しくは特発性)の既往歴、又はいずれかのアナフィラキシー性反応若しくはpIMDの既往歴を有していた。
- CVnCoVワクチンのいずれかの成分に対するアレルギーの既往歴。
- 実施形態の組成物の投与前3カ月以内に、免疫グロブリン又は任意の血液生成物が投与されている;
- 顕著な急性又は慢性の医学的又は精神の病気を経験した;並びに/或いは
- 重篤な及び/又は制御されていない心血管疾患、胃腸疾患、肝疾患、腎疾患、呼吸器系疾患、内分泌障害、並びに神経学的及び精神の病気を経験した。

【0646】

ある特定の態様では、実施形態の方法による処置のための対象は、いかなる免疫介在性疾患(pIMD)も有さない。さらなる態様では、実施形態の処置方法は、処置される対象においていかなるpIMDも誘導しない。本明細書で使用される場合、pIMDは、セリアック病;クローン病;潰瘍性大腸炎;潰瘍性直腸炎;自己免疫性胆管炎;自己免疫性肝炎;原発性胆汁性肝硬変;原発性硬化性胆管炎;アジソン病;自己免疫性甲状腺炎(橋本病の甲状腺炎を含む);1型糖尿病;グレーブス病又はバセドウ病;抗シンテターゼ症候群;皮膚筋炎;若年性慢性関節炎(スチル病を含む);混合型結合組織障害;リウマチ性多発筋痛症;多発性筋炎;乾癬性関節炎;再発性多発軟骨炎;関節リウマチ;強皮症(例えば、びまん性全身性形態及びCREST症候群を含む);脊椎関節炎(例えば、強直性脊椎炎、反応性関節炎(ライター症候群)及び未分化型脊椎関節炎を含む);全身性エリテマトーデス;全身性硬化症;急性散在性脳脊髄炎(部位特異的なバリエーション(例えば、非感染性脳炎、脳脊髄炎、脊髄炎、骨髄根髄炎)を含む);脳神経障害(例えば、麻痺/不完全麻痺(例えば、ベル麻痺)を含む);ギラン・バレー症候群(例えば、ミラー・フィッシャー症候群及び他のバリエーションを含む);免疫介在性末梢

神経障害、パーソンージ・ターナー症候群並びに神経叢障害(例えば、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、多巣性運動ニューロパチー、及び単クローン性免疫グロブリン血症と関連する多発ニューロパチーを含む);多発性硬化症;ナルコレプシー;視神経炎;横断性脊髄炎;円形脱毛症;天疱瘡、類天疱瘡及び疱疹状皮膚炎を含む、自己免疫性水疱性皮膚疾患;皮膚エリテマトーデス;結節性紅斑;モルフェア;扁平苔癬;乾癬;スイート症候群;白斑;大血管炎(例えば、巨細胞性動脈炎、例えば、高安動脈炎及び側頭動脈炎を含む);中サイズ及び/又は小さい血管炎(例えば、結節性多発性動脈炎、川崎病、顕微鏡的多発血管炎、ウェゲナー肉芽腫症、チャージ・ストラウス症候群(アレルギー性肉芽腫性血管炎)、バージャー病、閉塞性血栓性血管炎、壊死性血管炎及び抗好中球細胞質抗体(ANCA)陽性脈管炎(非特定型)、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、パーチェット症候群、白血球破壊性血管炎を含む);抗リン脂質症候群;自己免疫性溶血性貧血;自己免疫性糸球体腎炎(IgAネフロパシー、急速進行性糸球体腎炎、膜性糸球体腎炎、膜性増殖性糸球体腎炎、及びメサンギウム増殖性糸球体腎炎を含む);自己免疫性心筋炎/心筋症;自己免疫性血小板減少症;グッドパスチャー症候群;特発性肺線維症;悪性貧血;レイノー症状;サルコイドーシス;シェーグレン症候群;スティーブンス・ジョンソン症候群;ぶどう膜炎)として定義される。

10

【0647】

ある特定の態様では、実施形態のワクチン接種法は、任意の特に関心のある有害事象(AESI)を経験している対象において行わない。本明細書で使用される場合、AESIは、上で列挙されたpIMD;アナフィラキシー;血管炎;免疫後の亢進した疾患;小児の多系統炎症症候群;急性呼吸促迫症候群;COVID-19疾患;急性心外傷;細小血管症;心不全及び心原性ショック;ストレス性心筋症;冠動脈疾患;不整脈;心筋炎、心膜炎;血小板減少症;深部静脈血栓症;肺塞栓症;脳血管発作;下肢虚血;出血性疾患;急性腎障害;肝損傷;全身痙攣;ギラン・バレー症候群;急性散在性脳脊髄炎;嗅覚脱失、味覚消失;髄膜脳炎;凍瘡様病変;単一臓器血管炎;多形性紅斑;免疫後の重篤な局所/全身性ARとして定義される。

20

【0648】

特に、このような処置方法は、

- a)少なくとも1つの核酸(例えば、DNA又はRNA)、好ましくは、少なくとも1つの第一の態様のRNA、少なくとも1つの第二の態様の組成物、少なくとも1つの第三の態様のポリペプチド、少なくとも1つの第四の態様のワクチン、又は第五の態様のキット若しくはパーツのキットを用意する工程;
- b)前記核酸、組成物、ポリペプチド、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキットを対象に第一の用量で適用するか、又は投与する工程
- c)場合により、前記核酸、組成物、ポリペプチド、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキットを対象に第二の用量又はさらなる用量として、好ましくは、第一の用量の少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12カ月後に適用するか、又は投与する工程を含んでもよい。

30

【0649】

本明細書で使用される場合、1回投薬量は、それぞれ、開始/第一の用量、免疫反応を「ブーストする」ために好ましくは投与される第二の用量又は任意のさらなる用量を指す。ある特定の態様では、ワクチン/組成物は、対象に、1回、2回、3回、4回以上投与される。一部の態様では、ワクチン/組成物は、対象に、少なくとも1回目及び2回目(例えば、プライム及びブースト)で投与される。一部の態様では、届けられる投与は、1回目の投与の少なくとも10日、14日、21日、28日、35日、42日、49日又は56日後である。一部の態様では、第一の投与と第二の投与の間の期間は、約7日間~約56日間、約14日間~約56日間、約21日間~約56日間、又は約28日間~約56日間である。さらなる態様では、ワクチン/組成物は、対象に3回以上投与される。ある特定の態様では、ワクチン/組成物のそれぞれの投与の間に、少なくとも10日間、14日間、21日間、28日間、35日間、42日間、49日間又は56日間存在する。

40

【0650】

一部の態様では、実施形態による処置のための対象は、SARS-CoV-2に以前に感染し

50

ているか、又は少なくとも第一のSARS-CoV-2ワクチン組成物を用いて以前に処置されている。一部の態様では、対象は、1、2、3回以上の用量の第一のSARS-CoV-2ワクチン組成物を用いて処置された。一部の態様では、対象を処置するために使用される実施形態の組成物は、対象を処置するために以前に使用された組成物と異なるタイプのワクチン組成物である。一部の態様では、対象は、mRNAワクチン、例えば、BNT162又はmRNA-1273を用いて以前に処置された。さらなる態様では、対象は、タンパク質サブユニットワクチン、例えば、スパイクタンパク質ベースのワクチン、例えば、NVX-CoV2373又はCOVAXを用いて以前に処置された。ある特定の好ましい態様では、タンパク質サブユニットワクチン組成物は、アジュバントを含む。さらなる態様では、対象は、ウイルスベクターワクチン、例えば、アデノウイルスベクターベースのワクチン、例えば、ADZ1222又はAd26.COV-2.Sを用いて以前に処置された。なおさらなる態様では、対象は、SARS-CoV-2に対する不活化ウイルスワクチン、例えば、CoronaVac、BBIBP-CorV又はBBV152を用いて以前に処置された。さらなる態様では、ワクチン組成物を用いて以前に処置された対象は、検出可能なSARS-CoV-2結合抗体、例えば、SARS-CoV-2 Sタンパク質結合抗体又はSARS-CoV-2 Nタンパク質結合抗体を有する。さらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、少なくとも約3カ月、6カ月、9カ月、1年、1.5年、2年又は3年前、第一のSARS-CoV-2ワクチン組成物を用いて処置された。なおさらなる態様では、実施形態による処置のための対象は、約3カ月～2年前又は約6カ月～2年前、第一のSARS-CoV-2ワクチン組成物を用いて処置された。一部の態様では、実施形態のさらなるワクチン組成物で処置される対象は、処置される対象の少なくとも80%、85%、90%又は95%において中程度及び重篤なCOVID-19疾患から保護される。例えば、処置される対象は、さらなる組成物の投与後約2週間～約1年間、処置される対象の少なくとも80%、85%、90%又は95%において中程度及び重篤なCOVID-19疾患から保護することができる。なおさらなる態様では、実施形態のさらなるワクチン組成物の投与は、前記投与後約2週間～約3カ月間、6カ月間、9カ月間、1年間、1.5年間、2年間又は3年間、処置される対象の少なくとも80%、85%、90%又は95%において中程度及び重篤なCOVID-19疾患を予防する。このような組み合わせワクチン接種戦略の例は、以下に示される：

用量1のmRNAワクチン-T1-用量2のmRNAワクチン-T2-用量3のmRNAワクチン

用量1のmRNAワクチン-T1-用量2のmRNAワクチン-T2-用量3のタンパク質サブユニットワクチン

用量1のmRNAワクチン-T1-用量2のmRNAワクチン-T2-用量3のウイルスベクターワクチン

用量1のmRNAワクチン-T1-用量2のmRNAワクチン-T2-用量3の不活化ウイルスワクチン

用量1のタンパク質サブユニットワクチン-T1-用量2のタンパク質サブユニットワクチン-T2-用量3のmRNAワクチン

用量1の不活化ウイルスワクチン-T1-用量2の不活化ウイルスワクチン-T2-用量3のmRNAワクチン

用量1のウイルスベクターワクチン-T1-用量2のウイルスベクターワクチン-T2-用量3のmRNAワクチン

用量1のウイルスベクターワクチン-T2-用量2のmRNAワクチン

用量1のタンパク質サブユニットワクチン-T2-用量2のmRNAワクチン

用量1の不活化ウイルスワクチン-T2-用量2のmRNAワクチン

用量1のmRNAワクチン-T2-用量2のmRNAワクチン

例では、上記の期間1(T1)は、典型的には、2～6週間、好ましくは、3～4週間である。期間2(T2)は、ある場合では、約3カ月間、6カ月間、9カ月間、1年間、1.5年間、2年間又は3年間である。

【0651】

一部の態様では、実施形態の方法は、複数用量のワクチン組成物を対象に投与すること

を含む。さらなる態様では、SARS-CoV-2ブースターワクチン組成物の反応性を低減する方法が提供される。一部の態様では、開始ワクチン接種後、高レベルの反応性を示している対象は、開始ワクチン組成物と異なるブースターワクチンが投与される。例えば、一部の態様では、開始ワクチンは、BNT162又はmRNA-1273であり、ブースターワクチンは、実施形態のmRNAワクチン組成物である。一部の態様では、高い反応性を有する対象のためのブースターワクチン組成物は、以前に投与されたワクチン組成物と比較して、低い濃度のPEG又はPEGコンジュゲートを有することに基づき選択される。一部の態様では、高い反応性を有する対象のためのブースターワクチン組成物は、以前に投与されたワクチン組成物と比較して、低い濃度のmRNA又はLNPに基づき選択される。

【0652】

ある特定の態様では、実施形態による処置のための対象は、ブースターワクチンとしてワクチン組成物が投与され、コロナウイルスワクチン組成物の1回以上の投与で以前に処置されている。ある特定の態様では、以前にブースターワクチンを用いて処置されている対象は、スパイクタンパク質抗原又はスパイクタンパク質抗原をコードする核酸分子を含んだワクチン組成物を用いて処置された。一部の態様では、ブースターワクチンを用いた処置のため選択される対象は、ブースターワクチンのスパイクタンパク質と異なるアミノ酸配列を有するスパイクタンパク質を含むか、又はコードするワクチン組成物を以前に投与された。ある特定の態様では、以前に投与されたワクチン組成物は、ブースターワクチン組成物と比べて少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個のアミノ酸が異なるスパイク(例えば、SARS-CoV-2スパイク)タンパク質を含んでいたか、又はコードしていた。ある特定の態様では、ブースターワクチン組成物は、以前に投与されたワクチン組成物と比べて約1~50;約3~30;約5~30又は約10~25個のアミノ酸が異なるスパイクタンパク質をコードするRNAを含む。なおさらなる態様では、ブースターワクチン組成物は、異なるアミノ酸配列を有する2、3、4つ以上の別個のスパイクタンパク質をコードするRNAを含む。

【0653】

さらなる態様では、実施形態の方法は、2つ以上のブースターワクチン組成物を対象に投与することを含み、ここで、それぞれのブースターワクチン組成物は、異なるアミノ酸配列を有する別個のスパイクタンパク質をコードするRNAを含む。一部の態様では、このような別個のブースターワクチン組成物は、本質的に同時又は約10分、20分、30分、1時間若しくは2時間未満離して投与される。一部の態様では、別個のブースターワクチン組成物は、同じ部位に投与され、例えば、対象の同じ腕に筋肉内注射される。さらなる態様では、別個のブースターワクチン組成物は、異なる部位に投与され、例えば、異なる腕又は一方若しくは両方の腕及びもう一方の足の筋肉に筋肉内注射される。

【0654】

ある特定の態様では、実施形態の方法は、対象における抗体又はCD8+T細胞応答を刺激する方法としてさらに定義される。一部の態様では、方法は、対象における中和抗体応答を刺激する方法として定義される。さらなる態様では、方法は、対象における防御的免疫応答を刺激する方法として定義される。なおさらなる態様では、方法は、対象におけるTH2指向性免疫応答を刺激する方法として定義される。

【0655】

さらなる態様では、実施形態のワクチン/組成物/組み合わせの投与は、対象においてコロナウイルス中和抗体毎に約10~約500のコロナウイルススパイクタンパク質結合抗体を生じる抗体応答を刺激する。例えば、投与は、コロナウイルス中和抗体毎に約200以下のスパイクタンパク質結合抗体を生じる抗体応答を刺激することができる。さらなる態様では、投与は、コロナウイルス中和抗体毎に約10~約300、約20~約300、約20~約200、約30~約100、又は約30~約80のコロナウイルススパイクタンパク質結合抗体を生じる抗体応答を刺激する。なおさらなる態様では、平均回復期患者血清(コロナウイルス感染から回復した対象由来)において見られるスパイクタンパク質結合抗体とコロナウイルス中和抗体との比の20%、15%、10%又は5%を伴う、スパイクタンパク質結

10

20

30

40

50

合抗体とコロナウイルス中和抗体との比を含む、実施形態の組成物の投与は、対象における抗体応答を刺激する。

【0656】

なおさらなる態様では、実施形態のワクチン/組成物/組み合わせの投与は、対象においてコロナウイルス中和抗体毎に約1～約500のコロナウイルススパイクタンパク質受容体結合ドメイン(RBD)結合抗体を生じる抗体応答を刺激する。さらなる態様では、投与は、コロナウイルス中和抗体毎に約50以下のスパイクタンパク質RBD結合抗体を生じる抗体応答を刺激する。なおさらなる態様では、コロナウイルス中和抗体毎に約1～約200、約2～約100、約3～約200、約5～約100、約5～約50、又は約5～約20のスパイクタンパク質RBD結合抗体を生じる抗体応答を刺激する。なおさらなる態様では、平均回復期患者血清(コロナウイルス感染から回復した対象由来)において見られるスパイクタンパク質RBD結合抗体とコロナウイルス中和抗体との比の20%、15%、10%又は5%を伴う、スパイクタンパク質RBD結合抗体とコロナウイルス中和抗体との比を含む、実施形態の組成物の投与は、対象における抗体応答を刺激する。

10

【0657】

なおさらなる態様では、実施形態のワクチン/組成物/組み合わせの投与は、対象におけるIL-4、IL-13、TNF及び/又はIL-1 β の増加を本質的に誘導しない。さらなる態様では、実施形態のワクチン/組成物の投与は、対象における血清IL-4、IL-13、TNF及び/又はIL-1 β における増加を本質的に誘導しない。一部の態様では、実施形態のワクチン/組成物の投与は、対象における注射部位(例えば、筋肉内注射部位)でのIL-4、IL-13、TNF及び/又はIL-1 β の増加を本質的に誘導しない。

20

【0658】

なおさらなる態様では、実施形態の方法は、疾患を有するヒト対象への実施形態のワクチン/組成物の投与を含む。ある特定の態様では、対象は、心血管疾患、腎疾患、肺疾患又は自己免疫疾患を有する。一部の態様では、実施形態のワクチン/組成物は、抗凝固療法を受けている対象に投与される。

【0659】

なおさらなる態様では、ヒト対象へ実施形態のワクチン/組成物/組み合わせを投与することにより、対象の20%、15%、10%、7.5%又は5%以下がグレード3の局所有害事象を経験することとなる(以下の表3aを参照)。例えば、一部の態様では、対象の10%以下が、組成物の第一の又は第二の用量後に、グレード3の局所有害事象を経験する。好ましい態様では、ヒト対象へ実施形態の組成物を投与することにより、対象の40%、30%、25%、20%、15%、10%、7.5%又は5%以下がグレード2のより酷い局所有害事象を経験することとなる。例えば、一部の態様では、対象の30%以下が、組成物の第一の又は第二の用量後に、グレード2以上の局所有害事象を経験する。一部の態様では、ヒト対象へ実施形態の組成物を投与することにより、対象の10%以下が注射部位でグレード3の疼痛、発赤、腫脹及び/又は痒みを経験することとなる。

30

【0660】

さらなる態様では、ヒト対象へ実施形態のワクチン/組成物/組み合わせを投与することにより、対象の30%、25%、20%、15%、10%又は5%以下がグレード3の全身性有害事象を経験することとなる(以下の表Bを参照)。例えば、一部の態様では、組成物の第一の用量後に、対象の25%以下が、グレード3の全身性有害事象を経験する。一部の態様では、組成物の第二の用量後に、対象の40%以下が、グレード3の全身性有害事象を経験する。一部の態様では、ヒト対象へ実施形態の組成物を投与することにより、対象の30%、25%、20%、15%、10%又は5%以下がグレード3の発熱、頭痛、疲労、悪寒、筋肉痛、関節痛、悪心及び/又は下痢を経験することとなる。

40

【0661】

50

【表 3 a】

表3a:規定された局所有害事象についての強度グレーディング*

AE	グレード	定義
注射部位での疼痛	0	存在なし
	1	活動を妨げない
	2	活動を妨げ、及び/又は非麻薬性鎮痛剤の繰り返し使用>24時間
	3	日常活動を妨げ、及び/又は麻薬性鎮痛剤の繰り返し使用
発赤	0	< 2.5 cm
	1	2.5～5cm
	2	5.1～10cm
	3	> 10 cm
腫脹	0	< 2.5 cm
	1	2.5～5cm及び活動を妨げない
	2	5.1～10cm又は活動を妨げる
	3	>10cm又は日常活動を妨げる
痒み	0	存在なし
	1	軽度、通常の活動を妨げない
	2	中程度、通常の活動を一部妨げる
	3	顕著、通常の活動を妨げる

10

20

【 0 6 6 2 】

30

40

50

【表 3 b】

表3b:規定された全身有害事象についての強度グレーディング*

有害事象	グレード	定義
発熱	0	<38°C
	1	≥ 38.0~38.4°C
	2	≥ 38.5~38.9°C
	3	≥ 39°C
頭痛	0	存在なし
	1	軽度、通常の活動を妨げない
	2	中程度、通常の活動を一部妨げる及び/又は非麻薬性鎮痛剤の繰り返し使用>24時間
	3	有意;麻薬性鎮痛剤の任意の使用及び/又は日常活動を妨げる
疲労	0	存在なし
	1	軽度、通常の活動を妨げない
	2	中程度、通常の活動を一部妨げる
	3	有意、通常の活動を妨げる
悪寒	0	存在なし
	1	軽度、通常の活動を妨げない
	2	中程度、通常の活動を一部妨げる
	3	有意、通常の活動を妨げる
筋肉痛	0	存在なし
	1	軽度、通常の活動を妨げない
	2	中程度、通常の活動を一部妨げる
	3	有意、通常の活動を妨げる
関節痛	0	存在なし
	1	軽度、通常の活動を妨げない
	2	中程度、通常の活動を一部妨げる
	3	有意、通常の活動を妨げる
悪心/嘔吐	0	存在なし
	1	軽度、活動を妨げない及び/又は1~2回のエピソード/24時間
	2	中程度、活動を一部妨げる及び/又は>2回のエピソード/24時間
	3	有意、日常活動を妨げ、外来でのIV水分補給を必要とする
下痢	0	存在なし
	1	24時間にわたる2~3回の軟便
	2	24時間にわたる4~5回の糞便
	3	24時間にわたる6回以上の水様便又は外来でのIV水分補給を必要とする

*FDA毒性グレーディングスケール(米国保健社会福祉省。食品医薬品局(FDA)。産業用ガイダンス。予防ワクチンの臨床試験に登録した健康な成人及び青年ボランティアについての毒性グレーディングスケール。2007年。

fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Vaccines/ucm091977.pdfのワールドワイドウェブ上;2019年3月にアクセス、参照により本明細書に取り込まれる);IV=静脈内。

【0 6 6 3】

さらなる態様によると、本発明はまた、コロナウイルスから誘導される少なくとも1つのペプチド若しくはタンパク質、又はそのフラグメント若しくはバリエーションを含む少なくとも1つのポリペプチドを発現させる方法を提供し、ここで、方法は、好ましくは、以下の:

a) 少なくとも1つの第一の態様の核酸又は少なくとも1つの第二の態様の組成物を用意する工程;及び

b) 発現系(細胞)、組織、生物に、前記核酸又は組成物を適用するか、又は投与する工程を含む。ポリペプチド(本発明の核酸によってコードされる)を発現するのに適した細胞は

、ショウジョウバエ(*Drosophila*)S2昆虫細胞株であってもよい。
を含む。

【0664】

発現方法は、検査用、研究用、診断用、ペプチド若しくはタンパク質の商業生産用及び/又は治療目的のために適用されてもよい。方法はさらに、特定の疾患の処置、特に、感染性疾患、特にコロナウイルス感染、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルス感染及び疾患COVID-19の処置の文脈で行われてもよい。

【0665】

同様に、別の態様によると、本発明はまた、好ましくは、診断又は治療目的のため、例えば、コードされるコロナウイルス抗原性ペプチド若しくはタンパク質の発現のための、核酸、組成物、ポリペプチド、ワクチン、又はキット若しくはパーツのキットの使用を提供する。

【0666】

特定の実施形態では、前記核酸、ポリペプチド、組成物、ワクチン、組み合わせの組織又は生物への適用又は投与には、例えば、誘導されたコロナウイルス抗体、例えば、SARS-CoV-2コロナウイルス特異的(モノクローナル)抗体を得る工程又は生成されたSARS-CoV-2コロナウイルスタンパク質構築物(Sタンパク質)を得る工程が続いてもよい。

【0667】

使用は、(診断)検査用、研究用、診断用、ペプチド、タンパク質、若しくはSARS-CoV-2コロナウイルス抗体の商業生産用及び/又は治療目的のため適用されてもよい。使用は、*in vitro*、*in vivo*又は*ex vivo*で行われてもよい。使用はさらに、特定の疾患の処置、特に、コロナウイルス感染(例えば、COVID-19)又は関連する障害の処置の文脈で行われてもよい。

【0668】

さらなる態様によると、本発明はまた、組成物又はワクチンを製造する方法であって、
a)好ましくは、表2において提供される核酸配列を有するキャップされたmRNAを得るためのキャップアナログの存在下でDNA鋳型を使用した、RNA *in vitro*転写工程；
b)RP-HPLC、及び/若しくはTFF、及び/若しくはオリゴ(dT)精製を使用した、並びに/又はAEX、好ましくは、RP-HPLCを使用した、工程a)の得られたキャッピングされたRNAを精製する工程；
c)工程b)の精製されたキャッピングされたRNAを含む第一の液体組成物を用意する工程；
d)少なくとも1つの、本明細書において定義されるカチオン性脂質、本明細書において定義される中性脂質、本明細書において定義されるステロイド又はステロイドアナログ、及び本明細書において定義されるPEG-脂質を含む第二の液体組成物を用意する工程；
e)第一の液体組成物及び第二の液体組成物を少なくとも1つの混合手段に導入して、キャッピングされたRNAを含むLNPの形成を可能にする工程；
f)得られたキャッピングされたRNAを含むLNPを精製する工程；
g)場合により、精製されたキャッピングされたRNAを含むLNPを凍結乾燥させる工程を含む方法を提供する。

【0669】

好ましくは、工程e)の混合手段は、Tピースコネクタ又は微少流体混合装置である。好ましくは、精製工程f)は、沈殿工程、透析工程、濾過工程、TFF工程から選択される少なくとも1つの工程を含む。場合により、酵素ポリアデニル化工程は、工程a)又はb)の後に行われてもよい。場合により、さらなる精製工程を行って、例えば、残るDNA、緩衝液、小さいRNA副産物などが除去されてもよい。場合により、RNA *in vitro*転写は、キャップアナログの非存在下で行われ、酵素キャッピング工程は、RNA *in vitro*転写後に行われる。場合により、RNA *in vitro*転写は、少なくとも1つの本明細書において定義される修飾されたヌクレオチドの存在下で行われる。

【0670】

実施形態では、工程a、好ましくは、工程a～c、より好ましくは、上で概説されたすべ

ての工程(a～g)は、RNA in vitro転写用の自動装置において行われる。このような装置をまた使用して、組成物又はワクチンを生成してもよい(態様2及び3を参照)。好ましくは、W02020/002598に記載される装置、特に、W02020/002598の請求項1～59並びに/又は68～76(及び図1～18)に記載される装置が、好適に使用されてもよい。

【0671】

リスト及び表の簡単な説明

リスト1a:置換、欠失及び/又は挿入についてのアミノ酸位置

リスト1b:アミノ酸置換、欠失又は挿入

表1:好ましいコロナウイルス構築物(アミノ酸配列及び核酸コード配列)

表2a:コロナウイルスワクチンに適したRNA構築物

表2b:コロナウイルスワクチンに適したRNA構築物

表3a:規定された(solicited)局所有害事象についての強度グレーディング

表3b:規定された全身有害事象についての強度グレーディング

表4:異なるSARS-CoV-2 S抗原設計をコードするRNA構築物(実施例において使用される)

表5:実施例の脂質ベースの担体組成物

表6:ワクチン接種レジメン

表7:VNT中央値(42日目)

表8:ワクチン接種レジメン(実施例3)

表9:ワクチン接種レジメン(実施例4)

表10:ワクチン接種レジメン(実施例5)

表11:ワクチン接種レジメン(実施例6)

表12:ワクチン接種レジメン(実施例7)

表13:ワクチン接種レジメン(実施例8)

表14A:ワクチン接種レジメン(実施例9A)

表14B:ワクチン接種レジメン(実施例9B)

表15:ワクチン接種レジメン(実施例10)

表16:ワクチン接種レジメン(実施例11)

表17:ワクチン接種レジメン(実施例12)

表18:ワクチン接種レジメン(実施例13)

表19:ワクチン接種レジメン(実施例14)

【実施例】

【0672】

以下の実施例は、本発明の様々な実施形態及び態様を説明する。本発明は、本明細書において記載される特定の実施形態によって範囲が決して限定されることを意図されない。以下の調製物及び実施例は、当業者が、当業者が本発明をより明確に理解し、実施することを可能にするために提供される、しかしながら、本発明は、本発明の単一の態様の説明のみが意図される例示される実施形態によって範囲が限定されず、機能的に均等である方法は、本発明の範囲内である。実際、本発明の様々な改変は、本明細書に記載される改変に加えて、前述の説明、添付の図面及び以下の実施例から当業者にとって容易に明らかになるであろう。このような改変すべてが、添付の特許請求の範囲内である。

【0673】

[実施例1]

DNA及びRNA構築物、組成物、及びワクチンの調製

本実施例は、本発明のRNAを得る方法並びに本発明の組成物又はワクチンを生成する方法を提供する。

【0674】

1.1.DNA及びRNA構築物の調製:

異なるSARS-CoV-2 Sタンパク質設計物をコードするDNA配列を調製し、続くRNA in vitro転写反応に使用した。DNA配列を、安定化及び発現の最適化のため、G/C最適化又は修飾したコード配列(例えば、「cds opt1」)を導入することによって、DNA配列

をコードする野生型又は参照を修飾することによって調製した。配列をpUC駆動DNAベクターに導入して、アデノシン(例えば、A64又はA100)の区画、及び場合により、ヒストンステムループ(hSL)構造、及び場合により、30シトシン(例えば、C30)の区画をさらに有する安定化3'UTR配列及び5'UTR配列を生成した(表4を参照、コロナウイルス抗原設計の概要については、リスト1又は表1を参照)。

【0675】

得られたプラスミドDNA構築物を、当該技術分野で公知の一般的なプロトコルを使用して、細菌において形質転換し、増やした。プラスミドDNA構築物を抽出し、精製し、続くRNA in vitro転写に使用した(セクション1.2.を参照)。

【0676】

或いは、DNAプラスミドをPCR増幅のための鋳型として使用することができる(セクション1.3.を参照)。

【0677】

1.2. プラスミドDNA鋳型からのRNA in vitro転写:

セクション1.1により調製したDNAプラスミドを、制限酵素を使用して酵素的に直鎖状にし、好適な緩衝液条件下、ヌクレオチド混合物(ATP/GTP/CTP/UTP)及びキャップアナログ(例えば、m7GpppG、m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG、m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)pG)、又は3'OMe-m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG)の存在下でT7 RNAポリメラーゼを使用したDNA依存性RNA in vitro転写に使用した。得られたRNA構築物を、RP-HPLC(PureMessenger(登録商標)、CureVac AG、テュービンゲン、ドイツ;WO2008/077592)を使用して精製し、in vitro及びin vivo実験に使用した。DNA鋳型をまたPCRを使用して生成してもよい。このようなPCR鋳型を、本明細書において概説する通り、RNAポリメラーゼを使用したDNA依存性RNA in vitro転写に使用することができる。

【0678】

化学的に修飾されたmRNAを得るために、RNA in vitro転写を、ウラシルの代わりにN(1)-メチルシュードウリジン(m1ψ)又はシュードウリジン(ψ)を含む修飾したヌクレオチド混合物の存在下で行った。得られたm1ψ又はψによって化学的に修飾したRNAを、RP-HPLC(PureMessenger(登録商標)、CureVac AG、テュービンゲン、ドイツ;WO2008/077592)を使用して精製し、さらなる実験に使用した。

【0679】

酵素キャッピングを使用したキャッピングされたRNAの生成(予想):

一部のRNA構築物を、キャップアナログの非存在下でin vitroで転写する。次いで、キャップ構造(キャップ0又はキャップ1)を、当該技術分野で一般的に知られているキャッピング酵素を使用して酵素的に加える。in vitroで転写させたRNAをキャッピングキットを使用してキャッピングして、キャップ0-RNAを得る。キャップ0-RNAをキャップ特異的2'-O-メチルトランスフェラーゼを使用してさらに修飾して、キャップ1-RNAを得る。キャップ1-RNAを、例えば、上で説明した通り精製し、さらなる実験に使用する。

【0680】

臨床開発のためのRNAを、例えば、DNA及びRNAレベルで様々な品質管理工程を行うWO2016/180430に記載の現行の優良医薬品製造基準の下で生成する。

【0681】

実施例のRNA構築物:

コードされる抗原性タンパク質及びそこに示すそれぞれのUTRエレメントを含む生成したRNA配列/構築物を、表4に提供する。別段示していない場合、表4のRNA配列/構築物を、m7GpppG、m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pGの存在下でRNA in vitro転写を使用して生成し、したがって、RNA配列/構築物は、5'キャップ1構造を含む。別段示していない場合、表4のRNA配列/構築物を、化学的に修飾されたヌクレオチド(例えば、シュードウリジン(ψ)又はN(1)-メチルシュードウリジン(m1ψ))の非存在下で生成した。

【0682】

1.3.PCR増幅したDNA鋳型からのRNA in vitro転写(予想):

段落1.1に従い調製した、精製したPCR増幅したDNA鋳型を、好適な緩衝液条件下でヌクレオチド混合物(ATP/GTP/CTP/UTP)及びキャップアナログ(m⁷GpppG又は3'-O-Me-m⁷G(5')ppp(5')G))の存在下でDNA依存性T7 RNAポリメラーゼを使用してin vitroで転写する。或いは、PCR増幅したDNAを、好適な緩衝液条件下、修飾したヌクレオチド混合物(ATP、GTP、CTP、N¹-メチルシュードウリジン(m¹ψ)又はシュードウリジン(ψ))及びキャップアナログ(m⁷GpppG、m⁷G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG又はm⁷G(5')ppp(5')(2'OMeG)pG)の存在下でDNA依存性T7 RNAポリメラーゼを使用してin vitroで転写する。一部のRNA構築物を、キャップアナログの非存在下でin vitroで転写し、キャップ構造(キャップ0又はキャップ1)を、当該技術分野で一般的に知られているキャッピング酵素を使用して酵素的に加える。得られたRNAを、例えば、上で説明した通り精製し、さらなる実験に使用する。得られたmRNAを、例えば、RP-HPLC(PureMessenger(登録商標)、CureVac AG、チュービンゲン、ドイツ;WO2008/077592)を使用して精製し、in vitro及びin vivo実験に使用する。

10

20

30

40

50

【0683】

【表 4】

表4:異なるSARS-CoV-2S抗原設計をコードするRNA構築物

RNA ID	短い名前	CDS opt.	5'-UTR/ 3'-UTR; UTR 設計	3'末端	タンパク質 配列番号	CDS 配列番号	RNA 配列番号
R9488, R9492,	S	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	1	136	148
R9487, R9491, R9709, R10159**, R10160, R10727**, R10820**, R10821**	S_stab_PP (K986P_V987P)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	10	137	149, 28736
R10166, R10812**, R10813**	S_stab_PP (K986P_V987P_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22738	22765	22792, 28737
R10811, R10814**, R10815**	S_stab_PP(K986P_V987P_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	22738	22765	24838, 28827
R10279	S_stab_PP (K986P_V987P _A222V_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22740	22767	22794
R10299	S_stab_PP (K986P_V987P _N439K_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22742	22769	22796
R10286	S_stab_PP (K986P_V987P _S477N_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22744	22771	22798
	S_stab_PP(K986P_V987P_N501Y_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22746	22773	22800
R10275	S_stab_PP (K986P_V987P _H69del_V70del_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22748	22775	22802
R10283	S_stab_PP (K986P_V987P _Y453F_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22750	22777	22804

10

20

30

40

50

R10291	S_stab_PP (K986P_V987P_D614G_I692V)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22752	22779	22806
	S_stab_PP(K986P_V987P_D614G_M1229I)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22754	22781	22808
R10295	S_stab_PP (K986P_V987P_H69del_V70del_A222V_Y453F_S477N_D614G_I692V)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22756	22783	22810
	S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_Y453F_D614G_I692V_M1229I)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22758	22785	22812
R10162**	S_stab_PP (K986P_V987P)	opt10 (gc mod)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	10	146	151
R10357	S_stab_PP (K986P_V987P_H69del_V70del_Y144del_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_D1118H)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22959	23089	23529
R10361	S_stab_PP (K986P_V987P_K417N_E484K_N501Y_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22960	23090	23530
R10384	S_stab_PP (K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_R246I_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22961	23091	23531
R10385	S_stab_PP (K986P_V987P_L18F_T20N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22963	23093	23533
R10410	S_stab_PP (K986P_V987P_H69del_V70del_Y144del_N501Y_A570D_D614G_P681H_T716I_S982A_D1118H_E484K)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	*	*	*
R10452	S_stab_PP (K986P_V987P_L18F_D80A_D215G_L242del_A243del_L244del_R246I_K417N_E484K_N501Y_D614G_A701V)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	22961	23091	*

10

20

30

40

50

R9515	S_stab_PP (K986P_V987P)	opt1 (gc)	-/muag; i-3	A64-N5- C30-hSL- N5	10	137	163
R10385	S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20 N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484 K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22963	23093	23533
R10616	S_stab_PP(K986P_V987P_L18F_T20 N_P26S_D138Y_R190S_K417T_E484 K_N501Y_D614G_H655Y_T1027I_V11 76F)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27091	27114	27390
P5335	S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_D6 14G_V1176F)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27092	27115	27391
R10614	S_stab_PP(K986P_V987P_S13I_W152 C_L452R_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22964	23094	23534
R10520	S_stab_PP(K986P_V987P_Q52R_A67 V_H69del_V70del_Y144del_E484K_D6 14G_Q677H_F888L)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27089	27112	27388
R10577	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69 del_V70del_Y144del_E484K_D614G_ Q677H_F888L)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27090	27113	27389
R10598	S_stab_PP(K986P_V987P_L452R_D6 14G_P681R)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27093	27116	27392
P5333	S_stab_PP(K986P_V987P_E154K_L45 2R_E484Q_D614G_P681R_Q1071H)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27094	27117	27393
R10630, R10827**, R10828**, R11043, R11160**, R11161**	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F15 7del_R158del_L452R_T478K_D614G_ P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27095	27118	27394, 28762
R10824, R10825**, R10826**	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_F15 7del_R158del_L452R_T478K_D614G_ P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	27095	27118	27532, 28852
P5336, R10800	S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I _R246del_S247del_Y248del_L249del_	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27096	27119	27395

10

20

30

40

50

	T250del_P251del_G252del_L452Q_F490S_D614G_T859N)						
R10575	S_stab_PP(K986P_V987P_H69del_V70del_N439K_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27097	27120	27396
R10579	S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_E484K_D614G_A701V)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27098	27121	27397
R10581	S_stab_PP(K986P_V987P_L5F_T95I_D253G_S477N_D614G_Q957R)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27099	27122	27398
R10592	S_stab_PP(K986P_V987P_F157L_V367F_Q613H_P681R)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27100	27123	27399
R10615	S_stab_PP(K986P_V987P_S254F_D614G_P681R_G769V)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27101	27124	27400
P5418	S_stab_PP(K986P_V987P_P26S_H69del_V70del_V126A_Y144del_L242del_A243del_L244del_H245Y_S477N_E484K_D614G_P681H_T1027I_D1118H)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27102	27125	27401
R10679	S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144T_Y145S_ins145N_R346K_E484K_N501Y_D614G_P681H_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27103	27126	27402
P5420	S_stab_PP(K986P_V987P_ins214TDR_Q414K_N450K_D614G_T716I)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27104	27127	27403
P5416	S_stab_PP(K986P_V987P_T478K_D614G_P681H_T732A)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27105	27128	27404
	S_stab_PP(K986P_V987P_E484K_N501Y_D614G_P681H_E1092K_H1101Y_V1176F)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27106	27129	27405
	S_stab_PP(K986P_V987P_H66D_G142V_Y144del_Y145del_D215G_V483A_D614G_H655Y_G669S_Q949R_N1187D)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27107	27130	27406
	S_stab_PP(K986P_V987P_Y144del_L452R_T478K_P681R)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27108	27131	27407

10

20

30

40

50

	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_Y144del_Y145del_L452R_T478K_D614G_P681R)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27109	27132	27408
R10922	S_stab_PP(K986P_V987P_P9L_C136F_Y144del_R190S_D215G_L242del_A243del_Y449H_E484K_N501Y_D614G_H655Y_N679K_T716I_T859N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28540	28589	28638
R11175, R11176, R11177**, R11178**	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v1)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28541	28590	28639, 28778
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v1)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28541	28590	28688, 28868
R11113, R11114, R11115**, R11116**	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_K417N_N440K_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v0)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28542	28591	28640, 28779
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_K417N_N440K_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v0)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28542	28591	28689, 28869

10

20

30

40

50

	44del_Y145del_N211del_L212L_ins214 EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_K 417N_N440K_G446S_S477N_T478K_ E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501 Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N67 9K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q9 54H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v0)						
	S_stab_PP(K986P_V987P_ A67V_T95I_G339D_S371L_S373P_S3 75F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G 496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_ D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y _N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_B.1.1.529)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28543	28592	28641, 28780
	S_stab_PP(K986P_V987P_ A67V_T95I_G339D_S371L_S373P_S3 75F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G 496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_ D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y _N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_B.1.1.529)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28543	28592	28690, 28870
	S_stab_PP(K986P_V987P_ T19I_L24del_P25del_P26del_A27S_G 142D_V213G_G339D_S371F_S373P_ S375F_T376A_D405N_S477N_T478K _E484A_Q493R_Q498R_N501Y_Y505 H_D614G_H655Y_N679K_P681H_D79 6Y_Q954H_N969K); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.2)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28544	28593	28642, 28781
	S_stab_PP(K986P_V987P_ T19I_L24del_P25del_P26del_A27S_G 142D_V213G_G339D_S371F_S373P_ S375F_T376A_D405N_S477N_T478K _E484A_Q493R_Q498R_N501Y_Y505 H_D614G_H655Y_N679K_P681H_D79 6Y_Q954H_N969K); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.2)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28544	28593	28691, 28871
P5508	S_stab_PP(K986P_V987P_G75V_T76I _R246del_S247del_Y248del_L249del_	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28545	28594	28643

10

20

30

40

50

	T250del_P251del_G252del_D253N_L4 52Q_F490S_D614G_T859N)						
P5453	S_stab_PP(K986P_V987P_S12F_H69 del_V70del_W152R_R346S_L452R_D 614G_Q677H_A899S)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28547	28596	28645
P5507	S_stab_PP(K986P_V987P_I210T_N44 0K_E484K_D614G_D936N_S939F_T1 027I)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28548	28597	28646
P5509	S_stab_PP(K986P_V987P_W152L_E4 84K_D614G_G769V)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28549	28598	28647
P5572	S_stab_PP(K986P_V987P_T20I_R357 K_D614G)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28550	28599	28648
P5664	S_stab_PP(K986P_V987P_T95I_Y144 del_E484K_D614G_P681H_D796H)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28551	28600	28649
R10884	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_G14 2D_E156G_F157del_R158del_L452R_ T478K_D614G_P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28552	28601	28650
R10801, R10832**, R10833**	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I _G142D_E156G_F157del_R158del_W 258L_K417N_L452R_T478K_D614G_ P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28553	28602	28651, 28790
R10829, R10830**, R10831**	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I _G142D_E156G_F157del_R158del_W 258L_K417N_L452R_T478K_D614G_ P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28553	28602	28700, 28880
R10802	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_V70 F_G142D_E156G_F157del_R158del_A 222V_K417N_L452R_T478K_D614G_ P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28554	28603	28652
P5662	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I _G142D_E156G_F157del_R158del_L4 52R_T478K_D614G_P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28555	28604	28653
P5663	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_E15 6G_F157del_R158del_L452R_T478K_ D614G_P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28556	28605	28654

10

20

30

40

50

R11036	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_T95I_G142D_Y145H_E156G_F157del_R158del_A222V_L452R_T478K_D614G_P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28557	28606	28655
P5454	S_stab_PP(K986P_V987P_T19R_L452R_E484Q_D614G_P681R_D950N)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28558	28607	28656
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_N440K_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v2)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28917	28921	28927, 28935
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_N440K_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v2)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28917	28921	28929, 28937
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v3)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28918	28922	28926, 28934
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28918	28922	28930, 28938

10

20

30

40

50

	Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v3)						
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_A701V_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v4)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28919	28923	28927, 28935
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_A701V_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v4)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28919	28923	28931, 28939
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v5)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	28920	28924	28928, 28936
	S_stab_PP(K986P_V987P_A67V_H69del_V70del_T95I_G142D_V143del_Y144del_Y145del_N211del_L212I_ins214EPE_G339D_S371L_S373P_S375F_G446S_S477N_T478K_E484A_Q493R_G496S_Q498R_N501Y_Y505H_T547K_D614G_H655Y_N679K_P681H_N764K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v5)	opt1 (gc)	HSD17B4/ PSMB3; a-1	A100	28920	28924	28932, 28940

10

20

30

40

50

	K_D796Y_N856K_Q954H_N969K_L981F); S_stab_PP(K986P_V987P_BA.1_v5)						
--	---	--	--	--	--	--	--

**mRNA

R10159、R10162、R10157、R10712、R10813、R10815、R10821、R10823、R10826、R10828、R10831、R10833、R11116、R11120、R11161、R11178をN(1)-メチルシュドウリジン(m1ψ)を用いて生産し;
R10727、R10728、R10812、R10814、R10820、R10822、R10825、R10827、R10830、R10832、R11115、R11119、R11160、R11177をシュドウリジン(ψ)を用いて生産した。
スパイク融合前の安定化タンパク質(=S_stab)、スパイクタンパク質(=S)

10

【0684】

1.4.LNP製剤化mRNA組成物の調製:

LNPを、カチオン性脂質、構造脂質、PEG-脂質、及びコレステロールを使用して調製した。脂質溶液(エタノール中)を、微量流体混合装置を使用してRNA溶液(水性緩衝液)と混合した。得られたLNPを透析を介して炭水化物緩衝液中で再緩衝し、超遠心分離管を使用して標的濃度まで濃縮した。LNP製剤化mRNAを、in vitro又はin vivo実験において使用するまで-80℃で保存した。

【0685】

脂質ナノ粒子を、完全な開示が参照により本明細書に取り込まれるPCT公開であるWO 2015/199952、WO2017/004143及びWO2017/075531に記載される一般的な手法に従い調製し、試験した。脂質ナノ粒子(LNP)製剤化mRNAを、イオン化可能なアミノ脂質(カチオン性脂質)、リン脂質、コレステロール及びペグ化脂質を使用して調製した。LNPを以下の通り調製した。式III-3(ALC-0315)によるカチオン性脂質、DSPC、コレステロール及び式IVa(ALC-0159)によるPEG-脂質を、約47.5:10:40.8:1.7のモル比でエタノール中に溶解した(表5を参照)。化合物III-3を含む脂質ナノ粒子(LNP)を、mRNAの比(配列、表4を参照)で総脂質0.03~0.04w/wに調製した。簡単に言うと、mRNAを、10~50mMクエン酸緩衝液、pH4中0.05~0.2mg/mLに希釈した。シリンジポンプを使用して、15ml/分より速い総流速で、約1:5~1:3(vol/vol)の比でエタノール性脂質溶液をmRNA水溶液と混合した。次いで、エタノールを除去し、外部緩衝液を透析によってPBSで置き換えた。最後に、脂質ナノ粒子を0.2µm孔の無菌フィルターを通して濾過した。脂質ナノ粒子の粒子径は、Malvern Zetasizer Nano(Malvern、英国)を使用した準弾性光散乱によって決定して60~90nmであった。

20

30

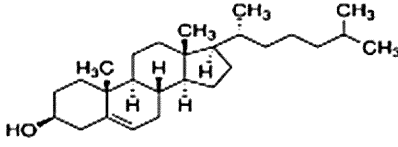
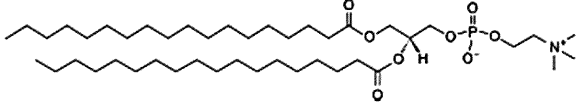
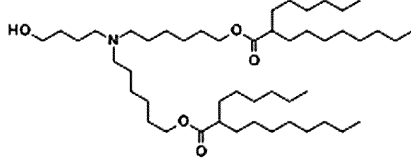
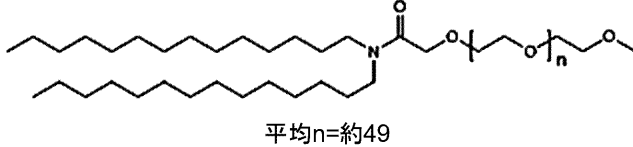
【0686】

40

50

【表 5】

表5:実施例の脂質ベースの担体組成物

	化合物	比 (mol%)	構造	質量
1	コレステロール	40.9		386.4
2	1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DSPC)	10		789.6
3	カチオン性脂質	47.4		765.7
4	PEG脂質	1.7	 平均n=約49	2010.1

10

20

【0687】

1.5. 抗原組み合わせを含む組み合わせmRNAワクチンの調製(二価又は多価のワクチン組成物):

組み合わせmRNAワクチンを、別々又は共製剤化方法のいずれかでLNPを用いて製剤化した。別々に混合又は製剤化したmRNAワクチンについては、それぞれのmRNA成分を調製し、別々に、実施例1.4に記載した通りLNP製剤化し、続いて、異なるLNP製剤化成分を混同した。共製剤化したmRNAワクチンについては、異なるmRNA成分を一緒にまず混合し、続いて実施例1.4に記載した通り、LNP中に共製剤化する。

30

【0688】

[実施例2]

ラットにおける多価の力価研究:ウィスターラットにおけるi.m.投与の際の二価のCV2CoV(R9709)及びCV2CoV.351(R10384)ワクチンの免疫原性

本研究では、LNP製剤化二価mRNAワクチンCV2CoV/CV2CoV.351(R9709/R10384)が誘導した液性免疫原性を、CV2CoV(R9709)又はCV2CoV.351(R10384)と比較して、ウィスターラットにおいて評価した。

40

【0689】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖SARS-CoV-2 SをコードするCV2CoV-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン及び全長の融合前の安定化されたSARS-CoV-2 B.1.351 SをコードするCV2CoV.351-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を、実施例1.2(RNA in vitro転写)において記載した通り調製した。HPLC精製したmRNAを、in vivoワクチン接種実験において使用する前に実施例1.4及び実施例1.5に従いLNPを用いて製剤化した(二価のmRNAワクチン(群F、G、H)については別々に混合したか、又は製剤化した「混合した2つのLNP」又は共製剤化した「混合した1つ

50

のLNP」)。

【0690】

免疫:

ラットに、表6に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i.m.)注射した。緩衝液をワクチン接種した動物を陰性対照(群A)とした。すべての動物に0日目及び21日目にワクチン接種した。血液試料を、液性免疫応答の決定のため14日目、21日目及び42日目に採取した。

【0691】

【表6】

表6: ワクチン接種レジメン(実施例2)

群	動物	1回目のワクチン接種	2回目のワクチン接種	免疫スケジュール	血清の単離
A	N = 4	NaCl	NaCl		
B	ウイスター系 メス N = 6	CV2CoV 8μg	CV2CoV 8μg	D0, D21	D14 D21 D42
C		CV2CoV.351 8μg	CV2CoV.351 8μg		
D		CV2CoV 8μg	CV2CoV.351 8μg		
E		CV2CoV.351 8μg	CV2CoV 8μg		
F		CV2CoV+ CV2CoV.351 混合1 LNP 8μg	CV2CoV + CV2CoV.351 混合1 LNP 8μg		
G		CV2CoV + CV2CoV.351 混合2 LNP 8μg	CV2CoV+CV2CoV.351: 混合2 LNP 8μg		
H		CV2CoV (左脚) 4μg CV2CoV.351 (右脚) 4μg	CV2CoV (左脚) 4μg CV2CoV.351 (右脚) 4μg		

CV2CoVは表4においてR9709として示され、CV2CoV.351は表4においてR10384として示される

【0692】

ELISAを使用したIgG1及びIgG2スパイク結合抗体力価の決定:

IgG1及びIgG2aについてのエンドポイント力価として示される抗SARS-CoV-2スパイクRBDタンパク質特異的結合抗体を、14日目及び21日目に単離した血清において決定した。組換えSARS-CoV-2スパイクRBDタンパク質又は組換えSARS-CoV-2 B.1.351スパイクタンパク質RBD(K417N、E484K、N501Y)を、コーティングのため使用した。コーティングしたプレートを、それぞれの血清希釈液を使用してインキュベートし、特異的な抗体のRBDへの結合を、ビオチン化抗体を用いて検出した。

【0693】

VNTの決定

ラット血清のVNTの分析のため、1:10の希釈で開始し、続いて1:2連続希釈した二重で試験した熱不活化血清(56℃、30分間)の連続希釈液を、SARS-CoV-2の100 TCID50とインキュベートした。このために、異なるウイルスを利用した:

- ・先祖SARS-CoV-2:EVAgから誘導した株2019-nCov/Italy-INMI
- ・B.1.351バリエーションSARS-CoV-2:株hCoV-19/Netherlands/NoordHolland_10159/2021、南アフリカバリエーション、次の株のクレード20H、EVAgが供給した系統B.1.351
- ・B.1.1.7バリエーションSARS-CoV-2:先祖ウイルスと比較して以下の変異:N501Y、A570D、T572I、D614G、P681H、T716I、S735L、S982A、D1118Hを含有する、VisMederi Researchが単離した株14484ヒトスワブ。注目すべきことに、これらの変異は、バリエーション4のコンセンサス配列と異なり、すなわち、欠失dH69/V70及びdY144を欠き、T572I及びS735Lはさらなる変異を表す。
- ・P.1バリエーションSARS-CoV-2株:野生型SARS-CoV-2(EVAgから誘導した株2019-nC

ov/Italy-INMI)又はB.1.351バリエーションSARS-CoV-2(株hCoV-19/Netherlands/N
oordHolland_10159/2021、南アフリカバリエーション、次の株のクレード20H、EVA
gが供給した系統B.1.351)の以下の変異:L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K
417T、E484K、N501Y、D614G、H655Y、T1027I及びV1176Fを含有する、シエ
ナ大学が単離したPG_253。

【0694】

ウイルスを、1時間、37℃でインキュベートした。すべてのプレートは、細胞及び培
地のみを含有する、細胞対照のための専用の列(8ウェル)、並びに細胞及びウイルスのみ
を含有する、ウイルス対照のための専用の列を含有していた。コンフルエントな層のVer
o E6細胞(ATCC、カタログ1586)を含む100µlのウイルス-血清混合物のインキュベ
ーション、続いて37℃での3日間(先祖SARS-CoV-2)又は4日間(SARS-CoV-2 B.1.351
、B.1.1.7及びP.1)のインキュベーション、及びCPE形成のための顕微鏡スコアリング
の際、感染性ウイルスを定量した。正しい範囲のTCID50の機能するウイルス溶液を検証
するために、それぞれの実行についてバックタイレーションを行った。Reed及びMue
nchが記載した方法に従い、VN力価を計算した。中和を観察しなかった場合(MNt < 10)
、任意の値である5を報告した。分析を、VisMederi srl(Siena、イタリア)で行った。

【0695】

結果:

図1に示す通り、14日目(図1A~D)及び21日目(図1E~H)で先祖SARS-CoV-2の受容
体結合ドメイン(RBD)及びB.351バリエーションのRBDへの有意なIgG1及びIgG2a結合抗体
応答を、CV2CoV及びCV2CoV.351をワクチン接種した群について検出した。14日目
に、図1Aに示す通り、すべての群(先祖受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティ
ング)について同等のIgG1応答及びすべての群について同等のIgG2a力価(図1B)を検出
した(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コーティング)。14日目に、
図1Cに示す通り、すべてのワクチン接種設計物(RBD B.1.351バリエーションK417N、E4
84K、N501Yタンパク質コーティング)について同等のIgG1応答及びすべてのワクチン
接種設計物についての同等のIgG2a力価(図1D)を検出した(RBD B.1.351バリエーションK
417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)。21日目に、図1Eに示す通り、す
べてのワクチン接種設計物(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コー
ティング)について同等のIgG1応答及びすべてのワクチン接種設計物について同等のIgG
2a力価(図1F)を検出した(先祖SARS-CoV-2受容体結合ドメイン(RBD)タンパク質コー
ティング)。21日目に、図1Gに示す通り、すべてのワクチン接種設計物(RBD B.1.351
バリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)について同等のIgG1応
答及びすべてのワクチン接種設計物について同等のIgG2a力価(図1H)を示した(RBD B.
1.351バリエーションK417N、E484K、N501Yタンパク質コーティング)。全体的に、単
独で(群B~C)、逐次的な組み合わせで(群D~E)、並びに同じ脚又は異なる脚に注射する
1つ及び2つのLNP中の両方のワクチンバリエーション(二価のワクチンCV2CoV/CV2CoV.
351)の同時送達として(群F~H)投与されたCV2CoV及びCV2CoV.351は、先祖SARS-
CoV-2 RBD及びB.1.351バリエーションのRBDに対する同等のレベルの結合抗体を誘導し
た。

【0696】

図2A(14日目)及び2B(21日目)に示す通り、CV2CoV及びCV2CoV.351を用いたワ
クチン接種は、ラットにおける先祖SARS-CoV-2に対する有意なレベルのVNTを誘導し
た(群B~H)。全体的に、ワクチン単独又は組み合わせ(群B~H)のいずれかでのワクチン
接種は、高いVNTレベルを生じた。特に、群BでのCV2CoVを用いた2回のワクチン接種
、群DにおけるCV2CoV及びCV2CoV.351を用いた逐次的なワクチン接種並びに異なる
脚への両方のワクチンバリエーション(二価のワクチンCV2CoV/CV2CoV.351)の同時送達
(群H)は、これらの早い時点での増加したVNTを示した。42日目に、増加したレベルのV
NTを、すべての群(群B~H)について検出した(図2C)。二価のワクチン(群F~H)は、よ
り低い用量のそれぞれのワクチンを使用したにも関わらず、42日目に一価ワクチン(群B

～E)と同等である応答を誘導した。

【0697】

図3A(14日目)及び3B(21日目)に示す通り、CV2CoV及びCV2CoV.351を用いたワクチン接種は、B.1.351バリエーションSARS-CoV-2に対して有意なレベルのVNTを誘導した(群B～H)。全体として、ワクチン単独又は組み合わせ(群B～H)のいずれかを用いたワクチン接種は、十分なVNTレベルを生じた。群CにおけるCV2CoV.351を用いた2回のワクチン接種、群EにおけるCV2CoV.351及びCV2CoVを用いた逐次的なワクチン接種並びに異なる脚への両方のワクチンバリエーション(二価のワクチンCV2CoV/CV2CoV.351)の同時送達(群H)は、早い時点での増加したVNTを示した。42日目に、増加したレベルのVNTを、すべての群(群B～H)について示した(図3C)。二価のワクチン(群F～H)は、より低い用量のそれぞれのワクチンを使用したにも関わらず、42日目に一価ワクチン(群B～E)と同等である応答を誘導した。

10

【0698】

図4に示す通り、B.1.1.7バリエーションSARS-CoV-2(図4A)又はB.1.1.28 P.1(図4B)を使用したすべての群(群B～H)についてCPEベースのアッセイにおいて評価したVNTの有意な誘導を、42日目に検出した。両方のワクチンバリエーションの同じ脚(群F及びG)又は異なる脚(群H)への同時送達は、42日目に両方のバリエーションに対する応答を生じることができる。表7に、42日目の先祖、B.1.1.7、B.1.351及びP1 SARS-CoV-2バリエーションに対するVNT中央値をまとめる。

20

【0699】

【表7】

表7:VNT中央値(42日目)

群	VNT 先祖	VNT B.1.1.7	VNT B.1.351	VNT P.1
A	5	5	5	5
B	3620	4370	2185	4370
C	1065	1225	13860	9801
D	1970	2263	4526	4526
E	1545	3090	8740	8740
F	2560	2560	9801	8740
G	4370	5120	12361	14481
H	4370	6180	12361	14481

30

【0700】

全体として、二価のワクチンは、強固なレベルのRBD結合抗体並びに両方の先祖及びB.1.351 SARS-CoV-2並びにバリエーションB.1.1.7及びB.1.1.28 P.1を中和することができるウイルス中和抗体の両方を誘発した。

【0701】

[実施例3]

40

用量応答研究:ウィスターラットにおけるi.m.投与の際のCV2CoVと比較したCV2CoV.351の免疫原性

この研究の目的は、用量応答研究におけるラットでのCV2CoV.351ワクチンの免疫原性及び早期自然刺激を評価することであった。

【0702】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖SARS-CoV-2 SをコードするCV2CoV-LNP製剤化mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン及び全長の融合前の安定化されたSARS-CoV-2 B.1.351 SをコードするCV2CoV.351-LNP製剤化mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製

50

した。in vivo ワクチン接種実験において使用する前に、実施例 1.4 に従い、HPLC 精製した mRNA を LNP を用いて製剤化した。

【0703】

免疫:

ラットに、表 8 に示す mRNA ワクチン組成物及び用量を用いて、筋肉内 (i.m.) 注射した。緩衝液をワクチン接種した動物を陰性対照 (群 A) とした。すべての動物に 0 日目及び 21 日目にワクチン接種した。血液試料を、抗体力価の決定のため 14 日目、21 日目及び 42 日目に採取した。

【0704】

【表 8】

表 8: ワクチン接種レジメン (実施例 3)

群	動物	ワクチン	mRNA 用量	i.m. ワクチン接種	血液採取
A	ウィスター系 メス N = 4	陰性対照 (緩衝液)	/	D0, D21	D14, D21, D42
B	ウィスター系 メス N = 6	CV2CoV.351 (B.1.351 バリエーション)	0.5 µg		
C			2 µg		
D			8 µg		
E			40 µg		
F		CV2CoV (先祖 S)	0.5 µg		
G			2 µg		
H			8 µg		
I			40 µg		

CV2CoV は表 4 において R9709 として示され、CV2CoV.351 は表 4 において R10384 として示される

【0705】

実施例 2 に記載した通り、ELISA を使用した IgG1 及び IgG2 スパイク結合抗体力価の決定並びに VNT の決定を行った。

【0706】

結果:

先祖と B.1.351 SARS-CoV-2 の両方に対する抗原特異的結合抗体力価 (ELISA を介して分析した) 及び VNT は、両方のワクチンでワクチン接種した動物において用量依存的に検出可能であった。結合抗体並びに中和抗体は、経時的に用量の増加に伴い増加した。

【0707】

図 5A (IgG1) 及び 5B (IgG2a) (先祖 SARS-CoV-2 RBD コーティング) 及び 5C (IgG1) 及び 5D (IgG2a) (B.1.351 バリエーション RBD K417N、E484K、N501Y コーティング) に示す通り、CV2CoV (群 B~E) 及び CV2CoV.351 (群 F~I) を用いたワクチン接種は、14 日目に、ラットにおける用量 0.5 µg、2 µg、8 µg 及び 40 µg を使用して、スパイク結合抗体力価を誘導した。図 5E (IgG1)、図 5F (IgG2a) (先祖 SARS-CoV-2 RBD コーティング) 及び図 5G (IgG1) 及び 5H (IgG2a) (B.1.351 バリエーション RBD K417N、E484K、N501Y コーティング) に示す通り、CV2CoV (群 B~E) 及び CV2CoV.351 (群 F~I) を用いたワクチン接種は、21 日目に、用量 0.5 µg、2 µg 及び 8 µg 及び 40 µg を使用して、ラットにおいてスパイク結合抗体力価を誘導した。

【0708】

図 6A に示す通り、B.1.351 バリエーション ワクチン CV2CoV.351 (群 B~E) は、すべての用量群において 14 日目に先祖 SARS-CoV-2 (異種応答) に対する用量依存性 VNT を誘導した。CV2CoV (同種応答) を用いたワクチン接種の際の応答と比較して、CV2CoV.351 ワクチン接種群における VNT は、14 日目に、約 2 分の 1 に減少する。図 6B は、CV2CoV.351 (群 B~E) が、すべての用量群において 14 日目に B.1.351 SARS-CoV-2 (同種応答) に

10

20

30

40

50

対して用量依存性VNTを誘導することを示す。CV2CoV.351ワクチン接種は、先祖ウイルスに対する異種VNTと比較して、14日目に45倍増加した同種ウイルスに対する高レベルのVNTを誘発した(すべての用量群の平均差)。CV2CoV(群F~I)を用いたワクチン接種と比較して、CV2CoV.351が誘導したVNTは、14日目に、41倍増加した(すべての用量群の平均差)。

【0709】

図6Cに示す通り、B.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351(群B~E)は、すべての用量群において21日目に先祖SARS-CoV-2(異種応答)に対して用量依存性VNTを誘導した。CV2CoV(同種応答)を用いたワクチン接種の際の応答と比較して、CV2CoV.351ワクチン接種群におけるVNTは、21日目に約2分の1に減少する。図6Dに示す通り、CV2CoV.351は、すべての用量群において21日目にB.1.351 SARS-CoV-2(同種応答)に対してわずかに用量依存性のVNTを誘導する。CV2CoV.351ワクチン接種は、先祖ウイルスに対する異種VNTと比較して、21日目に35倍増加した同種ウイルスに対する高レベルのVNTを誘発した(すべての用量群の平均差)。CV2CoVを用いたワクチン接種と比較して、CV2CoV.351により誘導されたVNTは、21日目に42倍増加した(すべての用量群の平均差)。図6Eに示す通り、B.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351は、すべての用量群において41日目に、先祖SARS-CoV-2(異種応答)に対するVNTを誘導した。0.5 µg用量群(群F)を除き、わずかに高い応答を、CV2CoV(同種応答)を用いたワクチン接種の際に示した。図6Fに示す通り、CV2CoV.351は、すべての用量群において42日目にB.1.351 SARS-CoV-2(同種応答)に対するVNTを誘導した。CV2CoVを用いたワクチン接種と比較して、CV2CoV.351により誘導されたVNTは、42日目に増加した。図6Gに示す通り、B.1.351バリエーションワクチンCV2CoV.351は、すべての用量群において42日目にB.1.1.7バリエーションSARS-CoV-2(異種応答)に対するVNTを誘導した。同様の応答が、CV2CoV(異種応答)を用いたワクチン接種の際に示された。図6Hに示す通り、CV2CoV.351は、すべての用量群において42日目にB.1.1.28 P.1 SARS-CoV-2(同種応答)に対するVNTを誘導した。より低い応答を、CV2CoV(異種応答)を用いたワクチン接種で検出した。

【0710】

全体として、SARS-CoV-2 B.1.351バリエーションmRNAワクチン候補CV2CoV.351は、結合抗体力価及びウイルス中和抗体力価によって決定して、ラットにおいて強固な液性免疫応答を誘導した。B.1.351に対するウイルス中和力価は、CV2CoVを用いたワクチン接種と比較して、CV2CoV.351を用いたワクチン接種で実質的に増加した。

【0711】

[実施例4]

拡大した多価の力価のワクチン接種研究:ウィスターラットにおけるi.m.投与の際の二価のCV2CoV及びCV2CoV.351ワクチンの免疫原性(予想)

本研究の目的は、ラットにおける第三のワクチン接種における二価のCV2CoV/CV2CoV.351ワクチンの免疫原性及び早期自然刺激を評価することである。

【0712】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖SARS-CoV-2 SをコードするCV2CoV-LNP製剤化mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン及び全長の融合前の安定化されたSARS-CoV-2 B.1.351 SをコードするCV2CoV.351-LNP製剤化mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製する。in vivoワクチン接種実験における使用の前に、実施例1.4及び実施例1.5(二価のmRNAワクチンについて、別々に混合又は製剤化)に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化する。

【0713】

免疫:

ラットに、表9に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて、筋肉内(i.m.)注射する

。緩衝液をワクチン接種した動物を陰性対照(群A)とする。すべての動物を、0週目、3週目(21日目)にワクチン接種し、群Bについては、15週目(105日目)にさらにワクチン接種する。血液試料を、抗体力価の決定のため0日目、14日目、21日目、42日目、77日目、105日目、119日目及び133日目に採取する。

【0714】

【表9】

表9:ワクチン接種レジメン(実施例4)

群	動物	1回目のワクチン接種 0週目	2回目のワクチン接種 3週目	3回目のワクチン接種 15週目	血清の単離
A	N = 4	NaCl	NaCl	NaCl	D0 (18時間),
B	ウイスター系 メス N = 6	CV2CoV 8μg	CV2CoV 8μg	CV2CoV + CV2CoV.351 8μg (混合2 LNP)	2週目 (D14) 3週目 (D21) 6週目 (D42)
C		CV2CoV.351 8μg	CV2CoV.351 8μg		11週目 (D77) 15週目 (D105)
D		CV2CoV 8μg	CV2CoV.351 8μg		17週目 (D119) 19週目 (D133)
E		CV2CoV.351 8μg	CV2CoV.351 8μg		
F		CV2CoV+ CV2CoV.351 混合1 LNP 8μg	CV2CoV + CV2CoV.351 混合1 LNP 8μg		
G		CV2CoV + CV2CoV.351 混合2 LNP 8μg	CV2CoV+ CV2CoV.351: 混合2 LNP 8μg		
H		CV2CoV (左脚) 4μg CV2CoV.351 (右脚) 4μg	CV2CoV (左脚) 4μg CV2CoV.351 (右脚) 4μg		

CV2CoVは表4IにおいてR9709として示され、CV2CoV.351は表4IにおいてR10384として示される

【0715】

実施例2に記載した通り、ELISAを使用したIgG1及びIgG2スパイク結合抗体力価の決定並びにVNTの決定を行う。

【0716】

[実施例5]

ワクチンの同時送達:先祖SARS-CoV2抗原(CV2CoV)及びバリエントB.1.351のSARS-CoV2抗原(CV2CoV.351)をコードするmRNAを用いたラットのワクチン接種

本研究内において、先祖とB.1.351 SARS-CoV-2の両方に対する抗体応答を測定した。

【0717】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖SARS-CoV-2 SをコードするCV2CoV-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン及び全長の融合前の安定化されたSARS-CoV-2 B.1.351 Sをコードす

るCV2CoV.351-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製した。in vivoでの使用前に、実施例1.4及び実施例1.5(二価のmRNAワクチンについて別々に混合又は製剤化)に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化した。

【0718】

免疫:

ラットに、表10に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて、筋肉内(i.m.)注射した。陰性対照として、1つの群のラットを、緩衝液を用いてワクチン接種した(群A)。すべての動物に、0週目及び3週目(21日目)にワクチン接種した。血液試料を、抗体力価の決定のため0日目、14日目、21日目、及び42日目に採取した。

【0719】

【表10】

表10:ワクチン接種レジメン(実施例5)

群	動物	1回目のワクチン接種 0週目	2回目のワクチン接種 3週目	免疫スケジュール	血清の単離
A	ウィスター系 メス N = 4	NaCl	NaCl	0週目 3週目	D0 (18時間), 2週目 (D14) 3週目 (D21) 6週目 (D42)
B	ウィスター系 メス N = 6	CV2CoV + CV2CoV.351 8µg	CV2CoV + CV2CoV.351 8µg		
C		CV2CoV + CV2CoV.351 2µg	CV2CoV + CV2CoV.351 2µg		
D		CV2CoV + CV2CoV.351 0.5µg	CV2CoV + CV2CoV.351 0.5µg		

表4においてCV2CoVはR9709として、CV2CoV.351はR10384として示す

【0720】

実施例2に記載した通り、ELISAを使用したIgG1及びIgG2aスパイク結合抗体力価の決定並びにVNTの決定を行った。

【0721】

結果:

全体として、二価のワクチン組成物CV2CoV+CV2CoV.351は、14日目に、先祖及びB.1.351バリエーションRBDに対する同等のレベルのスパイク結合抗体を誘導した(図7A~7D)。有意なレベルのスパイク結合抗体が、注射後14日目に、2µg又は8µgの二価のワクチン組成物CV2CoV+CV2CoV.351をワクチン接種したすべての動物において検出可能であった。用量依存性レベルのIgG1及びIgG2aスパイク結合抗体力価を、0.5µg、2µg又は8µgの二価のワクチン組成物CV2CoV+CV2CoV.351を注射したすべての群において誘導した。IgG1とIgG2a抗体の間の比は、2µgの用量について、IgG1と比較してわずかに低いIgG2a抗体の誘導を示した。図7A及び7Bは、先祖SARS-CoV-2 RBDに対する結合抗体を示し、図7C及び7Dは、B.1.351バリエーションRBDに対する結合抗体を示す。強固なVNTが、2及び8µgの群について用量依存性の様式で、先祖SARS-CoV-2に対して(図7E(14日目)、7F(21日目)、及び7I(42日目))、及びB.1.351バリエーションSARS-CoV-2に対して(図7G(14日目)、7H(21日目)、及び7J(42日目))経時的に誘導された。図7K及び7Lは、2µg及び8µgの用量群についての、それぞれ、バリエーションB.1.1.7及びP.1に対するVNTの用量依存性誘導を示す。

【0722】

【実施例6】

ブースト研究:ウィスターラットにおけるi.m.投与の際の二価のCVnCoV及びCVnCoV.351ワクチンを用いたラットのワクチン接種

同種ブーストが異種バリエーション(B.1.351)に対する免疫応答の有意な増加を誘発することができるかどうかを決定するよう、本研究を設計した。

【0723】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖SARS-CoV-2 SをコードするCV2CoV-LNP製剤化mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン及び全長の融合前の安定化されたSARS-CoV-2 B.1.351 SをコードするCV2CoV.351-LNP製剤化mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製した。表4及び11に示す通り、一部の構築物において、ウリジンを1-メチルシュドウリジンで置き換えた。in vivoでの使用前に、実施例1.4に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化した。

10

【0724】

免疫:

ラットに、表11に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて、筋肉内(i.m.)注射した。陰性対照として、1つの群のラットを、緩衝液を用いてワクチン接種した(群A)。すべての動物に、0週目(1日目)及び3週目(21日目)に同じワクチン組成物を用いてワクチン接種した。15週目に、動物に、一部異なるワクチン組成物を用いて3回目のワクチン接種をした。血液試料を、VNTの決定のため0日目、15日目、21日目、42日目、77日目、105日目、119日目、及び133日目に採取した。

20

【0725】

【表11】

表11:ワクチン接種レジメン(実施例6)

群	動物	1回目の ワクチン接種 0週目	2回目の ワクチン接種 3週目	3回目の ワクチン接種 15週目	用量	免疫スケジュール	血清の単離
A	N = 4	NaCl	NaCl	NaCl	/	D0, D21, D105 (3M)	D0, D15 D21 D42 D119 D105 D133
B	ウィスター系 メス N = 6	m1ψ 先祖S (R10162)	m1ψ 先祖S (R10162)	CV2CoV 先祖S	8μg		
C		m1ψ 先祖S (R10162)	m1ψ 先祖S (R10162)	CV2CoV 351 バリエントS			
D		CV2CoV 先祖S	CV2CoV 先祖S	CV2CoV 先祖S			
E		CV2CoV 先祖S	CV2CoV 先祖S	CV2CoV.351 バリエントS			
F			CVnCoV 先祖S	CVnCoV 先祖S			
G		CVnCoV 先祖S	CVnCoV 先祖S	CV2CoV.351 バリエントS			

30

40

CV2CoVは表4においてR9709として示され、CV2CoV.351は表4においてR10384として示される

【0726】

実施例2に記載した通り、VNTの決定を行った。

【0727】

結果:

全体として、CVnCoV、CV2CoV又は「m1ψ先祖S」(R10162)を用いた2回のプラ

50

イムワクチン接種の3カ月後のCV2CoV又はCV2CoV.351のいずれかを用いたブーストは、先祖とB.1.351 SARS-CoV-2の両方に対するウイルス中和抗体の有意な増加を誘導した(それぞれ、図8A及び8B)。CV2CoVとCV2CoV.351の両方を用いたブーストは、先祖SARS-CoV-2並びにSARS-CoV-2 B.1.351、B.1.1.7及びP.1バリエントを中和することができるVNTを誘導した(図8C～8F)。

【0728】

先祖SARS-CoV-2に対するVNT(図8A):

CVnCoVは、ラットにおける2回のワクチン接種後に、先祖SARS-CoV-2に対して強固なVNTを誘導した(群G及びF)。力価は、経時的に測定して少し減少したが、d105にブーストするまで容易に検出可能なままであった。

【0729】

CV2CoV(同種ワクチン)は、CVnCoVプライムワクチン接種(群F)のバックグラウンドに対する高いブースト能を示し、先祖SARS-CoV-2に対するVNTは、CV2CoVのブーストの際に、109倍(d105対d119)有意に増加した。

【0730】

CV2CoVを用いたブーストの際の応答と比較して、先祖SARS-CoV-2に対するCV2CoV.351(異種ワクチン)を用いたブーストにより誘導した力価は低かった(群G)。d105とd119に検出した力価間の観察された差は、6倍の増加に達した。しかしながら、差は統計上有意ではなかった。

【0731】

同様の結果を、CV2CoV又は「m1ψ先祖S」(R10162)を用いたプライムワクチン接種で達成することができ、これにより、105日目の第三の(「ブースト」)ワクチン接種前の力価は、CVnCoV誘導性VNTと比較して有意に増加する。

【0732】

SARS-CoV-2 B.1.351に対するVNT(図8B):

CVnCoVは、ラットにおける2回のワクチン接種後に、SARS-CoV-2 B.1.351に対して強固なVNTを誘導した。しかしながら、力価は、全体として、先祖SARS-CoV-2に対するものよりも低かった(図8Bを図8Aと比較する)。CV2CoV.351(同種ワクチン)を用いたブーストは、d105対d119(群G)に検出したVNTと比較して109倍の有意な増加を誘導した。

【0733】

CV2CoV(異種ワクチン)は、CVnCoVプライムワクチン接種(群F)のバックグラウンドに対して高いブースト能を示し、SARS-CoV-2 B.1.351に対するVNTは、CV2CoVブーストの際に、256倍有意に増加した(d105対d119)。

【0734】

同様の結果を、CV2CoV又は「m1ψ先祖S」(R10162)を用いたプライムワクチン接種で達成することができ、これにより、第三の(「ブースト」)ワクチン接種前の力価は、CVnCoV誘導性VNTと比較して有意に増加する。

【0735】

先祖SARS-CoV-2に対するウイルス中和応答並びにSARS-CoV-2 B.1.1.7(アルファ)、B.1.351(ベータ)及びP.1(ガンマ)バリエントに対するウイルス中和応答を、ブーストの14日後に試験した(図8C～8F)。

【0736】

CV2CoV.351(同種ワクチン、群C、E、及びG)を用いたブーストは、d119(図8D)に、SARS-CoV-2 B.1.351に対してだけでなく、先祖SARS-CoV-2(図8C)、SARS-CoV-2 B.1.1.7(図8E)及びP.1(図8F)(異種ワクチン)に対しても強いVNTを誘導した。

【0737】

[実施例7]

SARS-CoV-2バリエントをコードするmRNAワクチンを用いたマウスのワクチン接種

本研究を、SARS-CoV-2バリエントをコードするmRNAワクチンを用いたワクチン接

10

20

30

40

50

種が、交差中和能を有する免疫原性を誘導するかどうかを決定するために設計した。

【0738】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、全長の融合前の安定化された先祖又はバリエーションSARS-CoV-2をコードするSARS-CoV-2 mRNA構築物CV2CoV-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチンを調製した。HPLC精製したmRNAを、in vivoでの使用の前に、実施例1.4に従いLNPで製剤化した。

【0739】

免疫:

マウスを、表12に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i.m.)注射した。陰性対照として、1つの群のマウスを、緩衝液を用いてワクチン接種した(群1)。すべての動物を0日目及び21日目にワクチン接種した。血液試料を、抗体力価の決定のため0日目、14日目、21日目、及び42日目に採取した。

【0740】

【表12】

表12:ワクチン接種レジメン(実施例7)

群	動物	mRNA	用量	免疫スケジュール	血清の単離
1	N = 8 Balb/c メス	陰性対照: NaCl	/	D0, D21	D0 D14 D21 D42
2		R9709 CV2CoV (先祖)	1µg		
3		R10357 B1.1.7 (アルファ)			
4		R10384 B1.351 (ベータ) CV2CoV.351			
5		R10410 B.1.1.7 + E484K			
6		R10385 P.1 (ガンマ)			
7		R10452 B.1.351 (ベータ)			

【0741】

ELISAを使用したIgG1抗体力価の決定:

コーティングのため組換えSARS-CoV-2 Sタンパク質(先祖SARS-CoV-2 RBD又はB.1.351 RBDバリエーション(K427N、E484K、N501Y))を使用してELISAを行った。コーティングしたプレートを、それぞれの血清希釈液を使用してインキュベートし、特異的な抗体のSARS-CoV-2 RBD又はRBDバリエーションへの結合を、ビオチン化アイソタイプ特異的抗マウス抗体、続いて基質としてのAmplexと共にストレプトアビジン-HRP(セイヨウサビバロキシダーゼ)を使用して検出した。抗体のエンドポイント力価を、プライムワクチン接種後14日目、ELISAにより測定した。

【0742】

VNTの決定:

実施例2に記載した通り、CPEベースのアッセイにおいて評価したVNTの決定を行った。SARS-CoV-2デルタバリエーションに対するVNTの検出のため、以下の変異:T19R、E156G、d157F、d158R、L452R、T478K、D614G、P681R、D950Nを含むウイルス株hCoV-19/France/IDF-APHP-HEGP-20-23-2131905084/2021 | EPI_ISL_2029113 | 2021-04-27を使用した。

【0743】

細胞内サイトカイン染色:

当該技術分野で公知の標準的なプロトコルに従い、42日目に、ワクチン接種したマウスから脾細胞を単離した。簡単に言うと、単離した脾臓を細胞濾過器を通して細かくし、PBS/1%FBSにおいて洗浄し、続いて赤血球細胞を溶解した。PBS/1%FBSを用いた大規模洗浄工程後、脾細胞を96ウェルプレート(1ウェル当たり 2×10^6 細胞)に播種した。タンパク質輸送阻害剤の存在下、37°Cで6時間、2.5 µg/mlの抗CD28抗体(BD Biosciences)の存在下のSARS-CoV-2先祖Sタンパク質特異的ペプチド(1 µg/ml)の混合物を

用いて細胞を刺激した。同じ手法を、SARS-CoV-2 B.1.351 Sタンパク質特異的ペプチドの混合物を用いて脾細胞を刺激するため繰り返した。刺激後、細胞を洗浄し、製造元の指示に従い、Cytotfix/Cytoperm試薬(BD Biosciences)を使用して細胞内サイトカインについて染色した。以下の抗体:Thy1.2-FITC(1:200)、CD8-APC-Cy7(1:200)、TNF-PE(1:100)、IFN γ -APC(1:100)(eBioscience)、CD4-BD Horizon V450(1:200)(BD Biosciences)を染色のため使用し、1:100希釈したFc γ -ブロックと共にインキュベートした。Aqua Dyeを使用して、生/死細胞を区別した(Invitrogen)。ZE5フローサイトメーター(Bio-Rad)を使用して、細胞を取得した。FlowJoソフトウェアパッケージ(Tree Star, Inc.)を使用して、フローサイトメリーのデータを分析した。

10

【0744】

結果:

14日目、全長の融合前の安定化された先祖又はバリエーションSARS-CoV-2をコードする、すべての試験したSARS-CoV-2 mRNAワクチン構築物は、先祖SARS-CoV-2 RBD(図9A)及びB.1.351バリエーションRBD(K417N、E484K、N501Y)に対して高いIgG抗体応答を誘導した、図9B。

【0745】

試験したmRNAワクチン構築物のすべてが、42日目にVNTの強い誘導を示し、これは、最も突出しており、同種中和(図9C:群2、先祖;図9D:群3、B.1.1.7;図9E:群4及び7、B.1.351;図9F:群6、P1)についてはより早い時点(d14、d21)で検出可能である。

20

【0746】

図9G~Jに示す通り、異なるバリエーション全長S安定化されたタンパク質をコードするmRNAを用いたワクチン接種は、先祖(図9G及びH)又はB.1.351(図9I及びJ)ペプチドライブラリーを用いた脾細胞の刺激の際と同様の程度まで、2回のワクチン接種後の42日目に強固なレベルの抗原特異的CD4⁺及びCD8⁺IFN/TNF二重陽性T細胞を誘導した。

【0747】

[実施例8]

SARS-CoV-2バリエーションをコードするmRNAワクチンを用いたマウスのワクチン接種

本研究を、SARS-CoV-2バリエーションをコードするmRNAワクチンを用いたワクチン接種が、交差中和能を有する免疫原性を誘導するかどうかを決定するために設計した。

30

【0748】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖又はバリエーションSARS-CoV-2 S(S_{stab})をコードするCV2 CoV-LNP製剤化mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製した。HPLC精製したmRNAを、in vivoでの使用の前に、実施例1.4に従いLNPを用いて製剤化した。

【0749】

免疫:

マウスに、表13に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i.m.)注射した。陰性対照として、1つの群のマウスに、緩衝液を用いてワクチン接種した(群13)。すべての動物に0日目及び21日目にワクチン接種した。血液試料を、抗体価の決定のため0日目、14日目、21日目、及び42日目に採取した。

40

【0750】

【表 1 3】

表13:ワクチン接種レジメン(実施例8)

群	動物	mRNA	用量	免疫スケジュール	血清の単離
1	N = 8 Balb/c メス	R9709	1μg	D0, D21	D0 D14 D21 D42
2		R10384 B.1.351 (ベータ、南アフリカ)			
3		R10631 E484K, D614G			
4		R10614 B.1.429 (イプシロン、米国)			
5		R10520 B.1.525 (エータ、複数)			
6		R10577 B.1.525_v2 (エータ、複数)			
7		R10575 B.1.258 (チェコ共和国)			
8		R10579 B.1.526_v1 (イオタ、米国)			
9		R10581 B.1.526_v2 (イオタ、米国)			
10		R10592 A.23.1_v1 (ルワンダ/ウガンダ)			
11		R10616 P.1_v2 (ガンマ、ブラジル)			
12		R10360 B.1.617_v2 8 (デルタ、インド)			
13		陰性対照: NaCl	-		

10

【0 7 5 1】

20

実施例2に記載した通り、同種及び異種バリエーションを用いたVNTの決定を行うことができる。T細胞分析のため、脾細胞を42日目に単離した。

【0 7 5 2】

細胞内サイトカイン染色(ICS)によるT細胞分析:

当該技術分野で公知の標準的なプロトコルに従い、ワクチン接種したマウスから脾細胞を単離した。簡単に言うと、単離した脾臓を細胞濾過器を通して細かくし、PBS/1%FBSにおいて洗浄し、続いて赤血球を溶解した。PBS/1%FBSを用いた広範な洗浄工程後、脾細胞を96ウェルプレートに播種した(1ウェル当たり 2×10^6 細胞)。タンパク質輸送阻害剤の存在下、37℃で6時間、2.5 μg/mlの抗CD28抗体(BD Biosciences)の存在下のSARS-CoV-2先祖Sタンパク質特異的ペプチド(1 μg/ml)の混合物を用いて細胞を刺激した。刺激後、細胞を洗浄し、Cytofix/Cytoperm試薬(BD Biosciences)を製造元の指示に従い使用して細胞内サイトカインについて染色した。以下の抗体:Thy1.2-FITC(1:200)、CD8-APC-Cy7(1:200)、TNF-PE(1:100)、IFNγ-APC(1:100)(eBioscience)、CD4-BD Horizon V450(1:200)(BD Biosciences)を染色のため使用し、1:100希釈したFcγ-ブロックと共にインキュベートした。Aqua Dyeを使用して、生/死細胞を区別した(Invitrogen)。ZE5フローサイトメーター(Bio-Rad)を使用して、細胞を取得した。FlowJoソフトウェアパッケージ(Tree Star, Inc.)を使用して、フローサイトメトリーのデータを分析した。

30

【0 7 5 3】

結果:

40

図10に示す通り、異なるバリエーション全長S安定化されたタンパク質をコードするmRNAを用いたワクチン接種は、先祖ペプチドライブラリーを用いた脾細胞の刺激の際、2回のワクチン接種後の42日目に強固なレベルの抗原特異的CD4⁺及びCD8⁺IFNγ/TNF二重陽性T細胞を誘導した(それぞれ、図10A及びB)。液性応答(ELISA又はVNT)は、実施例7(表13のワクチン構築物についてはまだ試験していない)に示したのと同様に挙動するように思われる。

【0 7 5 4】

[実施例9A]

SARS-CoV-2バリエーションをコードするmRNAワクチンを用いたマウスのワクチン接種(予想)

50

本研究内において、SARS-CoV-2バリエントをコードするmRNAワクチンを用いたワクチン接種が、交差中和能を有する免疫原性を誘導するかどうかを決定することができる。

【0755】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖又はバリエントSARS-CoV-2 S(S_stab)をコードするCV2CoV-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製する。in vivoでの使用前に、実施例1.4に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化する。

【0756】

免疫:

マウスに、表14Aに示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i.m.)注射する。陰性対照として、1つの群のマウスに、緩衝液を用いてワクチン接種する(群1)。すべての動物に0日目及び21日目にワクチン接種する。血液試料を、抗体価の決定のため0日目、14日目、21日目、及び42日目に採取する。

【0757】

【表14A】

表14A:ワクチン接種レジメン

群	動物	mRNA	用量	免疫スケジュール	血清の単離
1	N = 8 Balb/c メス	陰性対照: 0.9% NaCl	-		
2		R9709 (先祖)	1µg	D0 D21	D0 D14 D21 D42
3		R10800 C37.1 (ラムダ、ペルー)			
4		R10679 B.1.621 (ミュー、コロンビア)			
5		R10630 B.1.617.2 (デルタ)			
6		R10884 B.1.617.2.v2 (デルタ)			
7		R10801 AY.1			
8		R10802 AY.2			
9		R11036 AY.4.2			

【0758】

実施例2及び実施例7に記載した通り、同種及び異種バリエントを用いてVNTの決定を行う。T細胞分析のため、42日目に脾細胞を単離する。実施例8に記載した通り、細胞内サイトカイン染色(ICS)によるT細胞分析を行う。同様の方法で、新たに現れるバリエントをコードするさらなる構築物を試験することができる。

【0759】

[実施例9B]

SARS-CoV-2バリエントをコードするmRNAワクチンを用いたラットのワクチン接種(予想)

本研究内において、SARS-CoV-2バリエントをコードするmRNAワクチンを用いたワクチン接種が、交差中和能を有する免疫原性を誘導するかどうかを決定することができる。

【0760】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化されたオミクロンバリエントSARS-CoV-2 S(S_stab)をコードするCV2CoV-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製する。in vivoでの使用前に、実施例1.4に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化する。

【0761】

免疫:

ウィスターラットに、表14Bに示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i. m.)注射する。陰性対照として、1つの群のラットに、緩衝液を用いてワクチン接種する(群1)。すべての動物に0日目及び21日目にワクチン接種する。血液試料を、抗体力価の決定のため0日目、14日目、21日目、及び42日目に採取する。

【0762】

【表14B】

表14B:ワクチン接種レジメン

群	動物	mRNA	mRNA 用量	免疫スケジュール	血清の単離
1	ウィスター系 メス N = 6	陰性対照: 0.9% NaCl	-	D0 D21	D0 D14 D21 D42
2	ウィスター系 メス N = 8	CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) nat Nt	2 µg		
3		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) nat Nt	8 µg		
4		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) nat Nt	20 µg		
5		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) ψ	2 µg		
6		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) ψ	8 µg		
7		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) ψ	20 µg		
8		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) m1ψ	2 µg		
9		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) m1ψ	8 µg		
10		CV2CoV.529 (オミクロンバリエーション) m1ψ	20 µg		

CV2CoV.529は例えば、表4においてR11175、R11176、R11177**、R11178**として示される。

【0763】

実施例2に記載した通り、同種及び異種SARS-CoV-2バリエーションを用いてVNTの決定を行う。T細胞分析のため、42日目に脾細胞を単離する。実施例8に記載した通り、細胞内サイトカイン染色(ICS)によるT細胞分析を行う。同様の方法で、新たに現れるバリエーションをコードするさらなる構築物を試験することができる。

【0764】

[実施例10]

多価ワクチン接種の拡大研究:ウィスターラットにおけるi. m.投与の際の二価のCV2CoV及びCV2CoV.351ワクチンの免疫原性

本研究の目的は、多価CV2CoV/CV2CoV.351を用いた3回目のワクチン接種の際のCVnCoVワクチン接種後のブースト応答を評価することである。

【0765】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化された先祖SARS-CoV-2 SをコードするCV2CoV-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン及び全長の融合前の安定化されたSARS-CoV-2 B.1.351 SをコードするCV2CoV.351-mRNAベースのSARS-CoV-2ワクチン)を調製した。in vivoワクチン接種実験での使用前に、実施例1.4及び実施例1.5(二価mRNAワクチンのため別々に混合するか、又は製剤化した)に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化した。

【0766】

免疫:

ラットに、表14に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i. m.)注射した。緩衝液でワクチン接種した動物は、陰性対照(群C)とした。すべての動物に0週目、3週目(21日目)及び15週目(105日目)にワクチン接種した。血液試料を、抗体力価の決定のため0日目、14日目、21日目、42日目、77日目、105日目、119日目及び133日目に採取した。

【 0 7 6 7 】

【 表 1 5 】

表15:ワクチン接種レジメン(実施例10)

群	動物	1回目の ワクチン接種 0週目	2回目の ワクチン接種 3週目	3回目の ワクチン接種 15週目	血清の単離
A	N = 4	NaCl	NaCl	NaCl	D0(18時間),
B	ウィスター系 メス N = 6	CVnCoV 16 µg	CVnCoV 16 µg	CV2CoV + CV2CoV.351 8µg (混合2 LNP)	2週目(D14) 3週目(D21) 6週目(D42)
C		CV2CoV 8µg	CV2CoV 8µg	CV2CoV + CV2CoV.351 8µg (混合2 LNP)	11週目(D77) 15週目(D105) 17週目(D119) 19週目(D133)

表4においてCVnCoVはR9515として、CV2CoVはR9709として、CV2CoV.351はR10384として示される。

【 0 7 6 8 】

実施例2に記載した通り、VNTの決定を行った。

【 0 7 6 9 】

結果:

図11Aに示す通り、CVnCoV及びCV2CoVは、ラットにおいて2回のワクチン接種後に、先祖SARS-CoV-2に対して強固なVNTを誘導した。力価は、CVnCoVについて経時的に測定して少し減少したが、d105にブーストするまで容易に検出可能なままであった。

【 0 7 7 0 】

二価のCV2CoV+CV2CoV.351ワクチン組成物は、CVnCoVプライムワクチン接種のバックグラウンドに対する高いブースト能を示し、先祖SARS-CoV-2に対するVNTは、CV2CoV+CV2CoV.351ブーストの際、30倍(d105対d119)及び45倍(d105対d133)有意に増加した(群B)。CV2CoVプライムワクチン接種のバックグラウンドに対し、二価のCV2CoV+CV2CoV.351ワクチン組成物は、105日目に既に高いVNTであるさらなるブースト能を示した。

【 0 7 7 1 】

図11Bに示す通り、CVnCoVは、ラットにおいて2回のワクチン接種後にSARS-CoV-2 B.1.351に対する強固なVNTを誘導した。B.1.351に対する力価は、先祖ウイルスに対する力価よりも全体的に低かった。力価は、CVnCoV及びCV2CoVワクチン接種した動物について、経時的に測定したVNTが少し減少したが、105日目にブーストするまで容易に検出可能なままであった。二価のCV2CoV+CV2CoV.351ワクチン組成物は、CVnCoVプライムワクチン接種のバックグラウンドに対する高いブースト能を示し、SARS-CoV-2 B.1.351に対するVNTは、CV2CoV+CV2CoV.351ブーストの際、19倍(d105対d119)及び75倍(d105対d133)有意に増加した。CV2CoVプライムワクチン接種のバックグラウンドに対し、二価のCV2CoV+CV2CoV.351ワクチン組成物は、105日目にSARS-CoV-2 B.1.351に対する既に高いVNTであるさらなるブースト能を示した。

【 0 7 7 2 】

B.1.351に対して検出した中和力価は、実験の105日目まで、先祖SARS-CoV-2に対して誘導した力価よりも低いままである一方、CV2CoV+CV2CoV.351ワクチン組成物を用いたブーストの際に測定した両方のウイルスに対するVNTは、133日目までに同等のレベルに達した(図11A対図11B)。

【 0 7 7 3 】

図11C～11Fに示す通り、両方の群B及びCにおいて、119日目に、先祖及びB.1.351

10

20

30

40

50

SARS-CoV-2に対してだけでなく、B.1.1.7及びP.1 SARS-CoV-2バリエーションに対して
も強固かつ高いVNTが誘導された(図11C:先祖、図11D:B.1.351、図11E:B.1.1.7、
図11F:P.1)。

【0774】

結論として、CVnCoV又はCV2CoVを用いた2回のプライムワクチン接種の3カ月後の
二価のCV2CoV+CV2CoV.351ワクチン組成物を用いたブーストは、先祖SARS-CoV-2
並びにSARS-CoV-2 B.1.351に対するVNTの有意な増加を誘導し、B.1.1.7及びP.1バ
リエーションに対する高レベルのVNTを誘発した。

【0775】

[実施例11]

SARS-CoV-2バリエーションB.1.617.2 S_{stab}抗原をコードするmRNAを用いたラットの
ワクチン接種

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、デルタバリエーション(B.1.617.2)の安
定化されたスパイク(S_{stab})をコードするmRNA構築物を調製した。表4及び11に示す
通り、一部の構築物において、ウリジンを、シュドウリジン(ψ)又は1-メチルシュ
ドウリジン(m 1ψ)で置き換えた。in vivoワクチン接種実験での使用前に、実施例1.4
に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化した。

【0776】

免疫:

ウィスターラット(n=8)に、表13に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉
内(i.m.)注射した。陰性対照として、1つの群のラットに、緩衝液を用いてワクチン接種
した(群1、n=6)。すべての動物に0日目及び21日目にワクチン接種した。血液試料を、
抗体力価の決定のため21日目(プライム後)及び42日目(ブースト後)に採取した。

【0777】

【表16】

表16:ワクチン接種レジメン(実施例11):

群	ワクチン組成物	mRNA ID	CDS opt.	タンパク質 配列番号	RNA 配列番号	用量
1	緩衝液		--	--	--	--
2	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS)	R10630	opt1	27095	27394	2 μ g
3	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS)	R10630	opt1	27095	27394	8 μ g
4	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS)	R10630	opt1	27095	27394	20 μ g
5	CVCov.617.2 hsl無(デルタバリエーションS)	R10824	opt1	27095	27532	2 μ g
6	CVCov.617.2 hsl無(デルタバリエーションS)	R10824	opt1	27095	27532	8 μ g
7	CVCov.617.2 hsl無(デルタバリエーションS)	R10824	opt1	27095	27532	20 μ g
8	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS) ψ	R10827	opt1	27095	28762	2 μ g
9	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS) ψ	R10827	opt1	27095	28762	8 μ g
10	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS) ψ	R10827	opt1	27095	28762	20 μ g
11	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS) m 1ψ	R10828	opt1	27095	28762	2 μ g
12	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS) m 1ψ	R10828	opt1	27095	28762	8 μ g
13	CV2CoV.617.2 (デルタバリエーションS) m 1ψ	R10828	opt1	27095	28762	20 μ g

表4においてCV2CoV.617.2はR10630として、CVCov.617.2 hsl無はR10824として、CV2CoV.617.2 ψ はR10827として
及びCV2CoV.617.2 m 1ψ はR10828として示される。R10827ではウリジンは ψ (シュドウリジン)によって置き換えられ、
R10828ではウリジンはm 1ψ (1-メチルシュドウリジン)によって置き換えられている。

【0778】

実施例2に記載した通り、ELISAを使用した総IgGスパイク結合抗体力価の決定及びV

NTの決定を行った。組換えSARS-CoV-2スパイクB.1.617.2 RBDタンパク質(L452R、T478K、デルタバリエント)を、ELISA IgG決定のため使用した。(デルタB.1.617.2に対するVNTのため、以下の株:系統:デルタ-B.1.617.2、株:hCoV-19/France/IDF-APHP-HEGP-20-23-2131905084/2021 | EPI_ISL_2029113 | 2021-04-27(T19R、E156G、d157F、d158R、L452R、T478K、D614G、P681R、D950Nを使用した)。

【0779】

結果:

図12A及びBに示す通り、LNP中に製剤化した全長S安定化されたタンパク質(デルタバリエントB1.617.2)をコードする異なるmRNAフォーマットを用いたワクチン接種は、ラットにおいて、用量2 µg、8 µg、及び20 µgを使用して、14日目及び42日目に有意なレベルのスパイク結合抗体価を誘導した。2回目のワクチン接種は、抗体価のさらなる増加を導いた。

10

【0780】

2、8、及び20 µgの群について用量依存性の様式でSARS-CoV-2バリエントB1.617.2に対して強固なVNTが誘導され、これは、経時的に増加した。VNTは、2 µg用量(図12A、14日目)、図12B(21日目)、及び図12C(42日目)を含むすべての群について、1回目の注射後d14に早くも検出可能であった。先祖SARS-CoV-2(図12F)に対する、SARS-CoV-2バリエントB.1.351(図12G)に対する、及びSARS-CoV-2バリエントP.1(図12H)に対する強固な異種VNTも誘導された。

20

【0781】

結果は、天然のヌクレオチド(群2~7)又は化学的に修飾したヌクレオチド((ψ(シュードウリジン、群8~10)又はm1ψ(1-メチルシュードウリジン、群11~13))のmRNA構築物への導入が、42日目に異なるバリエントに対して同等のレベルのVNTを誘導し、これは、化学的に修飾したヌクレオチド(群8~13)を使用することによってVNTを改善する傾向があることを示す。

【0782】

[実施例12]

ラットにおける多価力価研究:ウィスターラットにおけるi.m.投与の際の二価ワクチン組成物の免疫原性

30

本研究において、異なるLNP製剤化の二価mRNAワクチン組成物によって誘導される液性免疫原性を、ウィスターラットにおいて評価した。

【0783】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 mRNA構築物(全長の融合前の安定化されたバリエントSARS-CoV-2 SをコードするmRNAベースのSARS-CoV-2)を調製した。in vivoワクチン接種実験での使用前に、実施例1.4及び実施例1.5(二価mRNAワクチンのため、別々に混合するか、又は製剤化した)に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化した。

【0784】

40

免疫:

ラットに、表6に示す二価のmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i.m.)注射した。緩衝液を用いてワクチン接種した動物は、陰性対照とした(群1)。すべての動物に0日目及び21日目にワクチン接種した。血液試料を、液性免疫応答の決定のため14日目、21日目及び42日目に採取した。

【0785】

50

【表 17】

表17:ワクチン接種レジメン(実施例12)

群	動物	ワクチン組成物	mRNA ID	タンパク質 配列番号	RNA 配列番号	用量	免疫 スケジュール	血清の 単離
1	N = 4	陰性対照(緩衝液)		--	--	--	D0 D21	D1 D14 D21 D42
2	ウイスター系 メス	CV2CoV.617.2	R10630	27095	27394	8μg		
3		CV2CoV.617.2 m1ψ	R10828	27095	28762	8μg		
4		CV2CoV + CV2CoV.617.2	R9709 + R10630	10 + 27095	149 + 27394	8μg		
5		CV2CoV m1ψ. + CV2CoV.617.2 m1ψ	R10159 + R10828	10 + 27095	149 + 28762	8μg		
6		CV2CoV.351 + CV2CoV.617.2	R10384 + R10630	22961 + 27095	23531 + 27394	8μg		
7		CV2CoV D614G + CV2CoV.617.2	R10166 + R10630	22738 + 27095	22792 + 27394	8μg		
8	N = 6	CV2CoV D614G m1ψ + CV2CoV.617.2 m1ψ	R10813 + R10828	22738 + 27095	28737 + 28762	8μg		

一部の構築物について、ウリジンはm1ψ(1-メチルシュードウリジン)によって置き換えられている: R10828、R10159、R10813。

【0786】

実施例2に記載した通り、ELISAを使用した、総IgGスパイク結合抗体力価の決定を行った。コーティングのため、先祖SARS-CoV-2の組換えスパイクRBDタンパク質、バリエーションB.1.617.2のRBD(L452R、T478K:デルタ)、又はB.1.351のRBD(K417N、E484K、N501Y:ベータ)を使用した。

【0787】

結果:

LNP中に製剤化した、異なるバリエーション(さらなる詳細については、表17を参照)の全長の安定化されたスパイクタンパク質をコードする、天然又は化学的に修飾したヌクレオチド(m1ψ(1-メチルシュードウリジン))を含む異なるmRNAフォーマットを含む二価のワクチン組成物を用いたワクチン接種は、ラットにおいて、14日目に強固かつ高レベルのスパイク結合抗体力価を誘導した。図13は、同種並びに異種応答を示す(図13A:先祖SARS-CoV-2 RBD; 図13B:B.1.617.2 RBD(L452R、T478K、デルタ); 図13C:B.1.351 RBD(K417N、E484K、N501Y、ベータ)。修飾したヌクレオチドを含む構築物は、同種応答について、並びに異種応答について、天然のヌクレオチドを含む構築物よりも高い総IgG力価を誘導する。

【0788】

[実施例13]

SARS-CoV-2 B.1.351及びB.1.617.2を用いたk18-hACE2マウスにおけるチャレンジ研究

一般に、マウスは、SARS-CoV-2の感染に対して感受性でないが、K18プロモーター下でのウイルスの宿主細胞への侵入に必要なヒト受容体ACE2(hACE2)を発現する遺伝子操作したマウスモデルを開発した。モデルは、元々、SARS(SARS-CoV)の原因物質を調べるために開発された(MCCRAY, Paul B., et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. Journal of virology, 2007, 81. Jg., Nr. 2, S. 813-821)が、現在では、COVID-19の好適な小動物モデルとしても使用されている。以前に、hACE2マウスは、SARS-CoV-2に対して感受性であり、体重減少、肺の病態、及びヒトにおける症状と類似の症状を伴った疾患経過を示すことが示されている(例えば、BAO, Linlin, et al. The pa

thogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. Nature, 2020, 583 . Jg., Nr. 7818, S. 830-833、又はYINDA, Claude Kwe, et al. K18-hACE2 mice develop respiratory disease resembling severe COVID-19. PLoS pathogens, 2021, 17. Jg., Nr. 1, S. e1009195; DE ALWIS, Ruklanthi M., et al. A Single Dose of Self-Transcribing and Replicating RNA Based SARS-CoV-2 Vaccine Produces Protective Adaptive Immunity In Mice. BioRxiv, 2020.)。原則として、K18-hACE2マウスは、SARS-CoV-2若しくはSARS-CoV-2バリエーションの感染の予防又はウイルス量の低減を調べ、同時に、一般に、マウスモデルについて利用可能である十分に確立した免疫学的方法を用いたCOVID-19に対するmRNAワクチンの防御的効果の相関及び原因を調べるためのワクチン研究に適している。

10

【0789】

本実施例は、SARS-CoV-2バリエーションS mRNAワクチンが、SARS-CoV-2ウイルスチャレンジからK18-hACE2マウスを防御することができることを示し、これは、例えば、感染した動物のウイルス量を測定することによって、体重減少、肺の病態及び他の症状を含む疾患の進行をモニタリングすることによって、又は病理組織学及び生存によって示すことができる。

【0790】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1.2(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2ワクチンのためのmRNA構築物を調製した。in vivoワクチン接種実験での使用前に、実施例1.4及び実施例1.5(二価のmRNAワクチンのため、別々に混合するか、又は製剤化した)に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化した。

20

【0791】

免疫及びチャレンジ:

K18-hACE2トランスジェニックマウス(メス、 $n=2 \times 10$)に、表18に示すmRNAワクチン組成物を用いて筋肉内(i.m.)注射した(群1~4)。陰性対照として、1つの群のマウスに緩衝液を用いて処置した(群5)。体積20 μ lの示した用量を用いて、0日目及び28日目に、動物にワクチン接種した。血液試料を、抗体力価の決定のため0日目、28日目(プライム後)、56日目(ブースト後)及び66日目(チャレンジ後)に採取した。動物に、56日目に、SARS-CoV-2ウイルス((オリジナルの物質のバックタイトレーションから計算して、マウス当たりSARS-CoV-2 B.1.351の $10^{4.375}$ TCID₅₀及びSARS-CoV-2 B.1.617.2の $10^{4.375}$ TCID₅₀)をi.n.でチャレンジ/感染させ、体重、一般的な健康及び生存の変化を10日間モニタリングし、それが、チャレンジからの防御を示す。防御のさらなるパラメーターは、肺及び他の器官におけるウイルス量の低減並びに肺の病態の低減を含む。Hoffmannら、2021年(Hoffmann, D., Corleis, B., Rauch, S. et al. CVnCoV and CV2CoV protect human ACE2 transgenic mice from ancestral B BavPat1 and emerging B.1.351 SARS-CoV-2. Nat Commun 12, 4048 (2021))に記載の通り、RNA抽出並びにRT-qPCR及びsgRNA RT-PCRを行った。

30

【0792】

40

【表 18】

表18:ワクチン接種レジメン(実施例13):

群	ワクチン組成物	mRNA ID	5'-UTR/ 3'-UTR; UTR設計	3'末端	タンパク質 配列番号	RNA 配列番号	用量
1	CV2CoV	R9709	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	10	149	0,5 µg
2	CV2CoV.351	R10384	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22961	23531	0,5 µg
3	CV2CoV.617.2	R10630	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	27095	27394	0,5 µg
4	CV2CoV.351 + CV2CoV.617.2	R10384 + R10630	HSD17B4/ PSMB3; a-1	hSL-A100	22961 + 27095	23531 + 27394	0,25 µg + 0,25 µg
5	NaCl緩衝液						

10

【0793】

RBD抗体酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)

SARS-CoV-2のRBD(先祖)に基づく間接的複数種ELISAを使用して、血清を分析した。このため、ELISAプレート(Greiner Bio-One GmbH)を、0.1M炭酸緩衝液(1.59gの Na_2CO_3 及び2.93gの NaHCO_3 を1Lの蒸留水に混合、pH9.6)中、4℃で一晩、100ng/ウェルRBDを用いてコーティングするか、又はコーティング緩衝液のみで処理した。その後、PBS中の5%スキムミルクを使用して、37℃で1時間、プレートをブロッキングした。血清をTBS-Tween(TBST)中1/100に予め希釈し、室温で1時間、コーティングしたウェル及びコーティングしていないウェル上でインキュベートした。複数種のコンジュゲート(SBVMILK;ID Screen(登録商標) Schmallenberg virus Milk Indirect ELISAから得た;IDvet)を1/80希釈し、次いで室温で1時間加えた。テトラメチルベンジジン基質(IDEXX)の添加後、Tecan Spectra Mini装置(Tecan Group Ltd.)において波長450nmでELISAを読み取った。それぞれの工程の間で、TBSTを用いてプレートを3回洗浄した。それぞれの試料について、タンパク質コーティングしたウェルから得た値から、コーティングしていないウェル上で測定した光学密度を引くことによって、吸光度を計算した。注目すべきことは、ELISAは、抗RBD Igレベルの相対量を決定し、したがって、異なる研究間の直接的な比較は可能でない。

20

30

【0794】

ウイルス中和試験(VNT)

96ウェルの深ウェルマスタープレートにおいて、血清をDMEMで1/16又は1/32に予め希釈した。3回のレプリケート研究において、100µlのこの予め希釈した試料を、96ウェルプレートに移した。50µlのDMEM中に50µlの血清希釈液を継代し、それぞれのウェルに50µlの血清希釈液を残すことによって、log2希釈を行った。続いて、50µlのそれぞれのSARS-CoV-2(B.1.351又はB.1.617.2)ウイルス希釈液(100 TCID50/ウェル)をそれぞれのウェルに加え、37℃で1時間インキュベートした。最後に、1%ペニシリン/ストレプトマイシン添加物を含むDMEM中のトリプシン処理したVeroE6細胞(100ml当たり1つのコンフルエントなTC175フラスコの細胞)100µlをそれぞれのウェルに加えた。37℃で72時間のインキュベーション後、ウェルを、光学顕微鏡によって評価した。特異的なCPEが見えない場合、血清希釈を中和としてカウントした。ウイルス力価を、ウイルスタイトレーションにより確認し、陽性及び陰性血清試料が含まれていた。

40

【0795】

結果:

SARS-CoV-2バリエントB.1.351又はSARS-CoV-2バリエントB.1.627.2のいずれ

50

かをマウスにチャレンジすることによって、ワクチン有効性を試験した。図14に示す通り、すべてのワクチン接種群(群1~4)のマウスは、SARS-CoV-2先祖又はバリエーションスパイクタンパク質をコードするmRNAを含む組成物を用いたワクチン接種の恩恵を受ける。図14A及びBは、感染/チャレンジ後の日数におけるチャレンジしたマウスの生存を示す(図14A:B.1.351でチャレンジ、図14B:B.1.617.2でチャレンジ)。すべての試験したmRNAワクチンを用いたワクチン接種は、コードされるスパイクバリエーションに関係なく、両方の試験したSARS-CoV-2バリエーションに対してマウスの完全な防御(100%の生存)をもたらした(群1:先祖、群2:B.1.351、群3:B.1.617.2、群4:B.1.351+3 B.1.617.2)。図14C及びDは、感染/チャレンジ後の日数における体重変化パーセンテージを示す(図14C:B.1.351でチャレンジ、図14D:B.1.617.2でチャレンジ、平均パーセンテージ体重)。すべてのワクチン接種群(群1~4)のマウスは、有意な体重減少を示さなかった。

10

【0796】

ワクチン接種が、複製しているSARS-CoV-2の増殖性感染又は播種を予防するかどうかを調べるために、感染後4日目に、経口スワブを採取して、唾液中のウイルスRNA量をモニタリングした。偽群において、8/9又は6/9試料は、それぞれ、SARS-CoV-2バリエーションB.1.351又はSARS-CoV-2 B.1.617.2の感染後に、ウイルスゲノムについて陽性であった(図14E:B.1.351チャレンジ群、図14F:B.1.617.2チャレンジ群)。対照的に、mRNAワクチン接種後、ワクチン群に関係なく、いずれのチャレンジ群の経口スワブにおいても、ウイルスゲノムを検出しなかった(CV2CoVワクチン接種群の1匹のマウスにおいてのみ、ウイルスゲノムを検出した、図14E、群1)。チャレンジ後のウイルス複製の予防をさらに調査するために、上気道(URT)(甲介)及び下気道(LRT)(肺)、並びに中枢神経系(脳、小脳/大脳)におけるウイルス量を、感染後10日目に分析した。SARS-CoV-2 B.1.351でチャレンジしたマウスにおいて、ワクチン接種していないマウス(群5)と比較して、すべてのワクチン接種群において、URT中の検出可能なウイルス複製の低減を観察した(図14G)。この効果は、SARS-CoV-2バリエーションB.1.617.2をチャレンジしたマウスについてより顕著であった(図14H)。SARS-CoV-2スパイクバリエーションB.1.617.2をコードするLNP-mRNAを用いてワクチン接種したマウス(群3)は、同種ウイルスチャレンジ後、甲介において複製を示さなかった(図14H)。LRTにおけるSARS-CoV-2 RNAについて低レベルで陽性な動物はおらず、これは、すべての群におけるSARS-CoV-2バリエーションB.1.351及びSARS-CoV-2バリエーションB.1.617.2による感染からの防御を示している(それぞれ、図14I及びJ)。脳について、類似の結果を得た(小脳について図14K及びL、大脳について図14M及びN(チャレンジ群B.1.351について:図14K及びM、B.1.617.2について:図14L及びN))。

20

30

【0797】

二価のワクチン(群4)は、より低い用量のそれぞれのワクチンを使用したにも関わらず、一価ワクチン(群1~3)と同等の、両方のウイルスバリエーション(B.1.351及びB.1.617.2)に対する防御を誘導した。

【0798】

28日目(チャレンジ群B.1.351についてのみ試験した)及び56日目(両方の群について)に、すべてのワクチン接種したマウスから採取した血清は、mRNAがどのバリエーションスパイクをコードしているかに関係なく、抗RBD総免疫グロブリン(Ig)の強い誘導を示した(図14O:チャレンジ群B.1.351、図14P:チャレンジ群B.1.617.2)。高いウイルス中和力価(VNT)は、mRNAワクチン群における抗RBD抗体の強い誘導を反映していた(図14Q:チャレンジ後の群B.1.351、図14R:チャレンジ前の群B.1.617.2、図14S:チャレンジ後の群B.1.617.2)。全体として、試験したmRNAワクチンは、in vitroでSARS-CoV-2バリエーションB.1.351とSARS-CoV-2 B.1.617.2の両方を効率的に中和する能力があり、プライム-ブーストレジームにおいて強固な抗体応答を誘導した。

40

【0799】

[実施例14]

50

CV2CoV又はCV2CoV.351を用いてワクチン接種したハムスターのチャレンジ研究

LNP中に製剤化したバリエーションB.1.351 S_{stab}をコードするLNP-mRNAの防御的有効性(CV2CoV.351)を、シリアンハムスターにおいて取り組んだ。このモデルは、軽度から中程度のヒト肺疾患の病態を表し、ヒト関連の免疫原性及び病原性を調べるための認められており、許容されるモデルの1つである(Munoz-Fontela et al, PMID 32967005)。ハムスターは、野生型SARS-CoV-2感染に感受性であり、その結果、高レベルのウイルス複製及びウイルス標的器官における病理組織学的変化が生じる。

【0800】

LNP製剤化mRNAワクチンの調製:

実施例1(RNA in vitro転写)に記載した通り、SARS-CoV-2 S mRNA構築物を調製した。in vivoワクチン接種実験での使用前に、実施例1.4に従い、HPLC精製したmRNAをLNPを用いて製剤化した。

【0801】

免疫及びチャレンジ:

シリアンゴールデンハムスター(n=9/群)に、表19に示すmRNAワクチン組成物及び用量を用いて筋肉内(i.m.)注射した。陰性対照として、1つの群のハムスターを処置せず、偽感染させ(緩衝液)(群A)、別の群に、緩衝液対照としてNaClを注射した。56日目に、ハムスター当たり $10^{5.25}$ TCID₅₀を使用して(オリジナルの物質のバックタイトレーションから計算した)、70 µlのSARS-CoV-2バリエーションB.1.351を用いた短期の吸入麻酔下で、動物に鼻腔内チャレンジした。感染後の日数について、日常的な身体検査及び体重測定ルーティンに加えて、ウイルス排出をモニタリングした。ウイルス排出を評価するために、短期のイソフルラン麻酔下でそれぞれのハムスターから鼻の洗浄液を個々に採取した。血液試料を、抗体力価の決定のため28日目(プライム後)、55日目(ブースト後)及び60日目(チャレンジ感染後)に採取した。

【0802】

【表19】

表19:ワクチン接種レジメン(実施例14):

群	ワクチン組成物	mRNA ID	用量	ワクチン接種	タンパク質配列番号	RNA配列番号
1	NaCl	-	-	d0, d28		
2	CV2CoV.351	R10384	1 µg	d0, d28	22961	23531
3	CV2CoV.351	R10384	4 µg	d0, d28	22961	23531
4	CV2CoV.351	R10384	12 µg	d0, d28	22961	23531

【0803】

抗体分析

血液試料を、ELISAを介した総IgG抗体の決定のため0、28、55、及び60日目に採取した。37°Cで4~5時間、1 µg/mlのSARS-CoV-2 S先祖RBDを用いてプレートをコーティングした。プレートを、10%ミルクにおいて一晩ブロッキングし、洗浄し、室温で2時間、血清と共にインキュベートした。検出のため、ハムスター血清を、ビオチンヤギ抗ハムスター(Syrian)IgG抗体(BioLegend、カタログ:405601)とインキュベートし、続いてHRP-ストレプトアビジン(BD、カタログ:554066)とインキュベートした。励起530/25、放出検出590/35及び感度45を用いて、BioTek SynergyHTXプレートリーダーにおいて特異的なシグナルを検出した。

【0804】

SARS-CoV-2ウイルスバリエーションB.1.351のみを使用することによって、実施例13に記載した通り、ハムスター血清試料のウイルス中和抗体力価(VNT)を分析した。

【0805】

気道におけるウイルス量

経時的な鼻の洗浄液、及びチャレンジ感染後4日目の肺組織試料(頭側、中側、尾側)から、RNAを単離した。Hoffmannら、2021年(Hoffmann, D., Corleis, B., Rauch, S. et al. CVnCoV and CV2CoV protect human ACE2 transgenic mice from ancestral B BavPat1 and emerging B.1.351 SARS-CoV-2. Nat Commun 12, 4048 (2021))に記載された通り、RNA抽出、続いてRT-qPCRによるサブゲノムRNA(sgRNA)の検出を行った。

【0806】

結果

SARS-CoV-2バリエントB.1.351の $10^{5.25}$ TCID₅₀用量/ハムスターを用いてハムスターにチャレンジすることによって、ワクチン有効性を試験した。図15Aは、チャレンジ後の日数における体重変化パーセンテージを示す。すべてのワクチン接種群(群2~4)のマウスは、有意な体重減少を示さなかった。処置していないマウスの体重は、経時的に体重の90%まで減少した(群1)。

10

【0807】

ワクチン接種が、SARS-CoV-2の増殖性感染を予防したかどうかを調べるために、鼻の洗浄液を、感染後2、4、8、及び12日目に分析して、感染した動物のウイルスRNA量をモニタリングした。ワクチン接種群(群2~4)において、sgRNAを検出することによって決定したウイルス量は、処置していない対照(群1)と比較して、わずかに低減した(図15B)。より顕著な有意に低減したウイルスゲノム(sgRNAを検出することによる)を、mRNAワクチン接種後、下気道(LRT)(頭側、中側、尾側の肺葉の)において検出した。1匹の動物のみが、12 µgのCV2CoV.351ワクチン群(群4)におけるSARS-CoV-2 B.1.351 RNAについて低レベルで陽性であり、これは、SARS-CoV-2バリエントB.1.351による感染からの防御を示している(図15C)。

20

【0808】

28日目、55日目及び60日目に採取したマウス由来の血清は、抗RBD総免疫グロブリン(Ig)の強い誘導を示した(図15D)。強固なウイルス中和力価(VNT)は、mRNAワクチン群における抗RBD抗体のこの誘導を反映した(図15E参照(塗りつぶしていない記号はチャレンジ前(55日目)、塗りつぶした記号はチャレンジ後60日目)。全体として、試験したmRNAワクチンは、SARS-CoV-2バリエントB.1.351を効率的に中和する能力があり、プライム-ブーストレジームにおいて強固な抗体応答を誘導した。

30

【0809】

[実施例15(予想)]

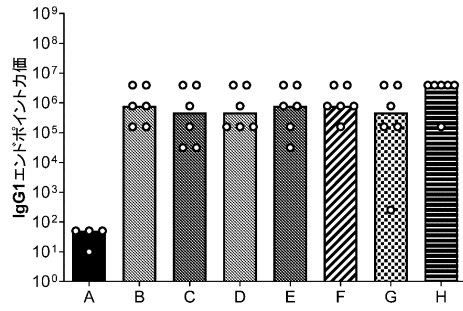
mRNAワクチン組成物の安全性及び効果を示すために、臨床試験(フェーズI)を開始する。臨床試験において、ヒトボランティアのコホートに、本発明によるLNP中に製剤化したバリエントSARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするmRNAを少なくとも2回(例えば、0日目及び28日目)筋肉内注射する。本発明によるワクチン組成物の安全性プロファイルを評価するために、対象を投与後モニタリングする(バイタルサイン、ワクチン接種部位の忍容性評価、血液学的分析)。ワクチン接種した対象由来の血清中のウイルス中和力価(VNT)の決定により、免疫の有効性を分析する。血液試料を、ベースラインとして0日目、及びワクチン接種完了後に採取する。血清を、ウイルス中和抗体について分析する。

40

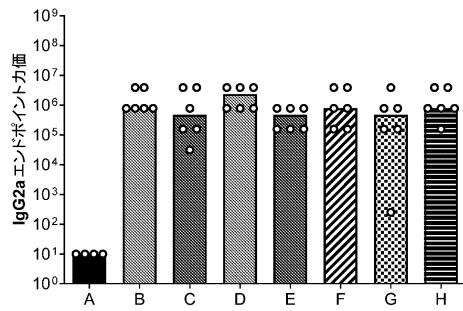
【図面】

【図 1 - 1】

A

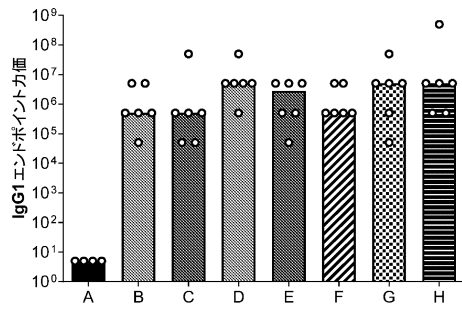


B

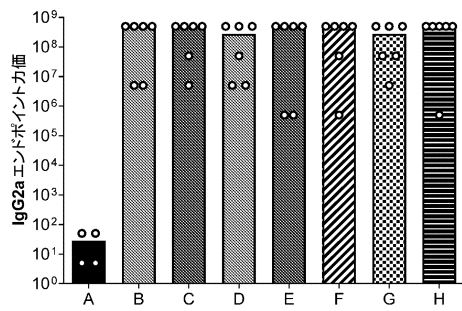


【図 1 - 3】

E

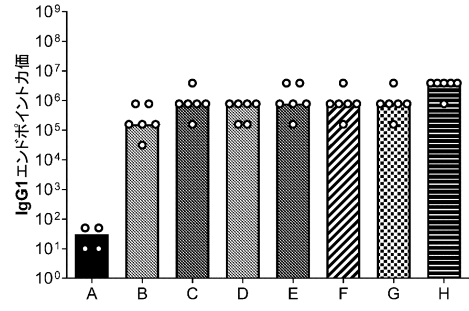


F

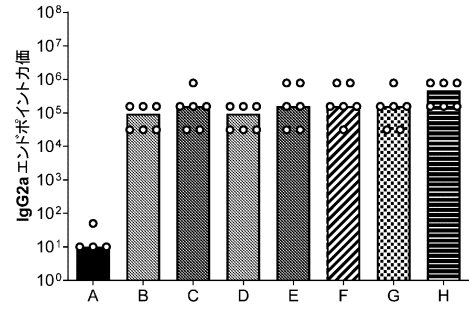


【図 1 - 2】

C

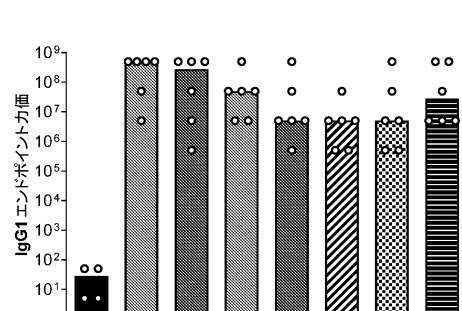


D

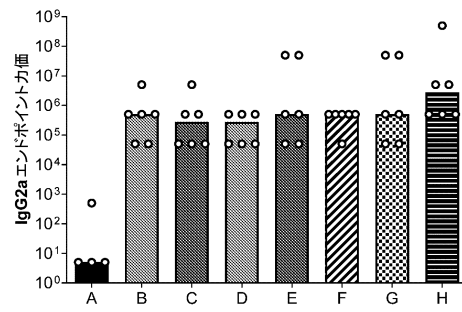


【図 1 - 4】

G



H



10

20

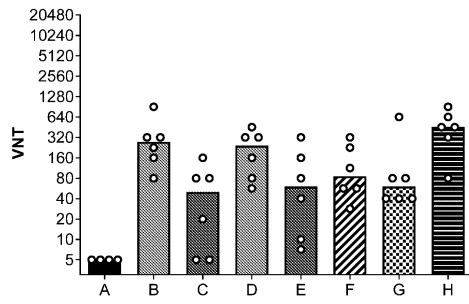
30

40

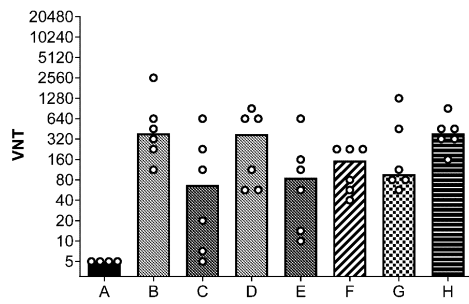
50

【図 2 - 1】

A



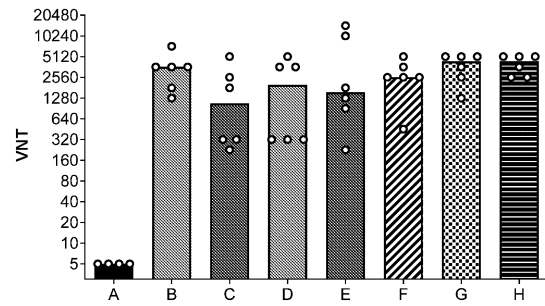
B



10

【図 2 - 2】

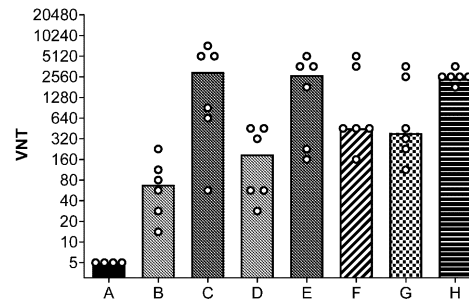
C



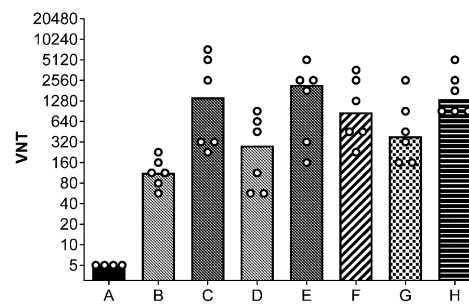
20

【図 3 - 1】

A

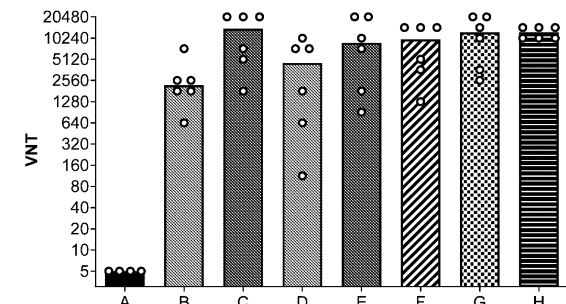


B



【図 3 - 2】

C



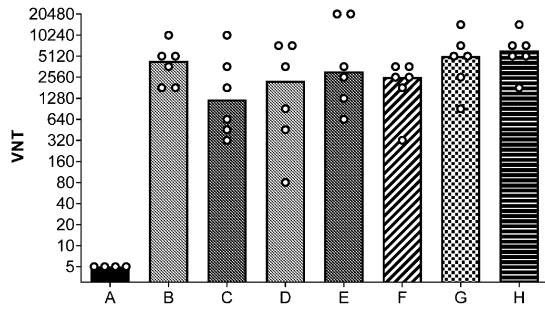
30

40

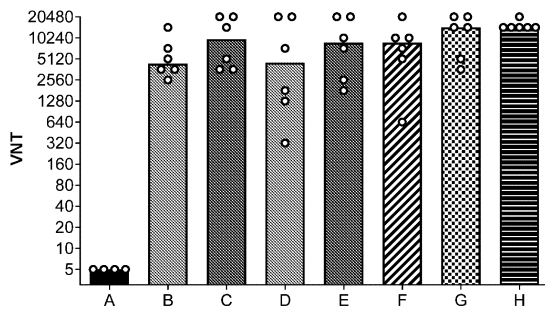
50

【図 4】

A

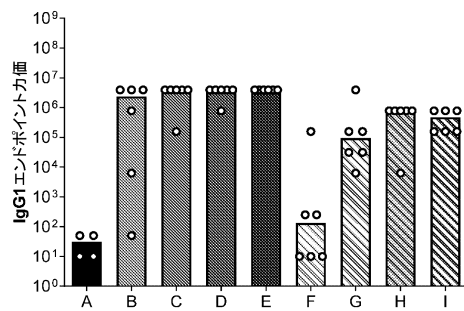


B

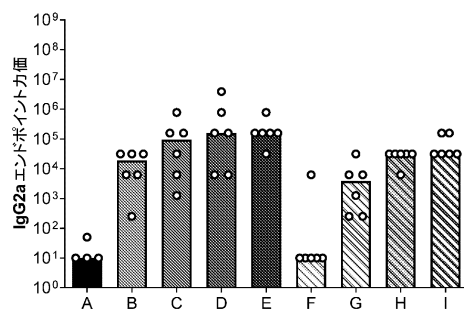


【図 5 - 2】

C

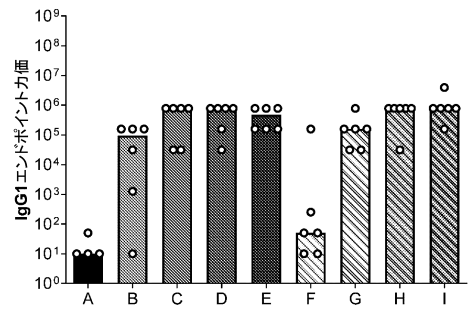


D

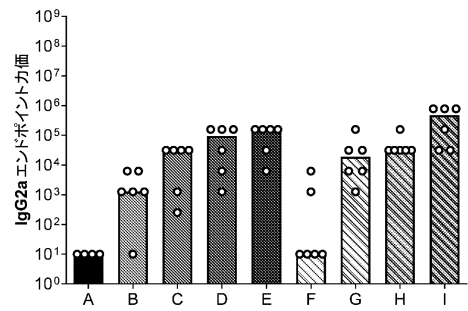


【図 5 - 1】

A

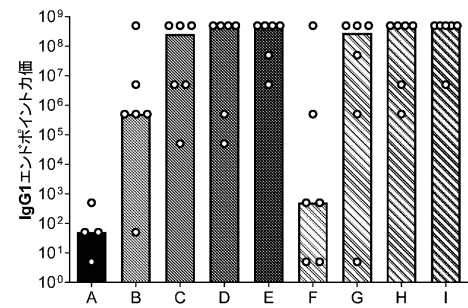


B

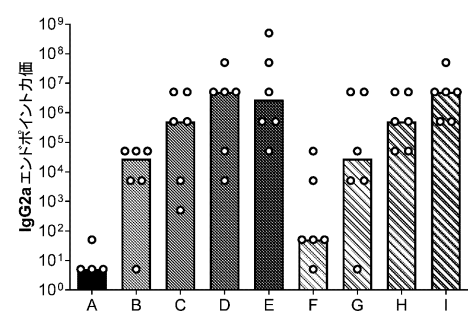


【図 5 - 3】

E



F



10

20

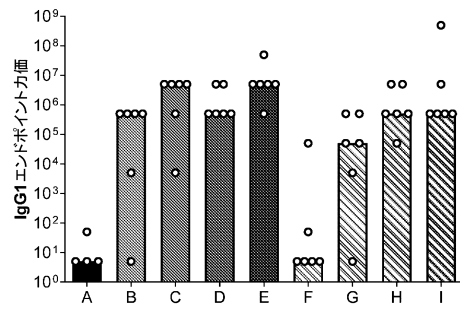
30

40

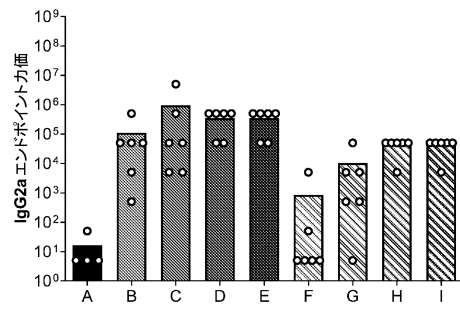
50

【図 5 - 4】

G

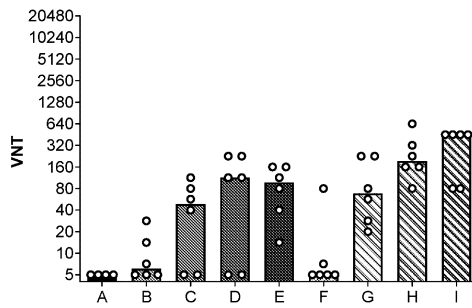


H

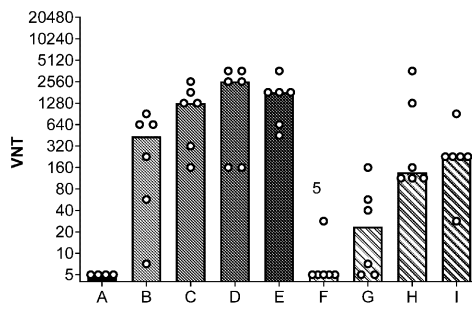


【図 6 - 2】

C

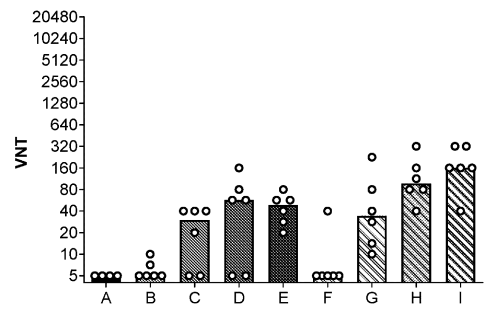


D

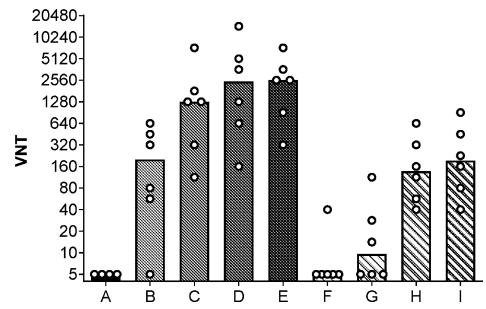


【図 6 - 1】

A

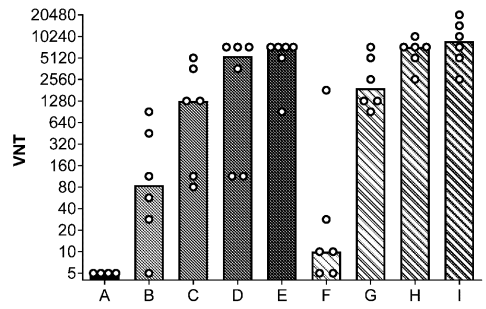


B

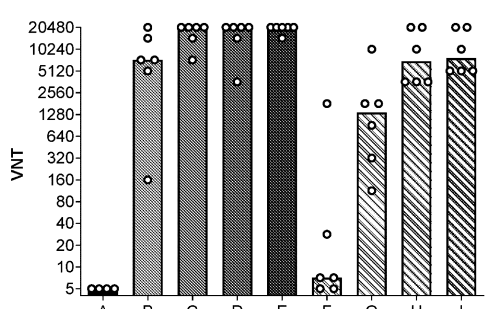


【図 6 - 3】

E



F



10

20

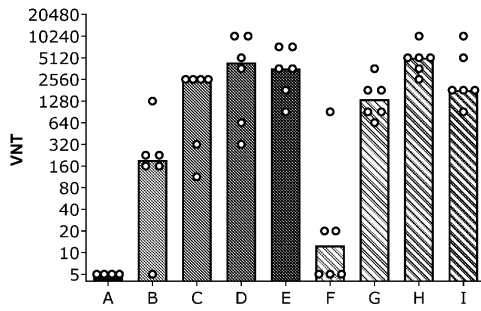
30

40

50

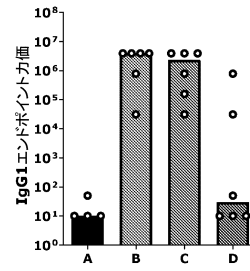
【図 6 - 4】

G

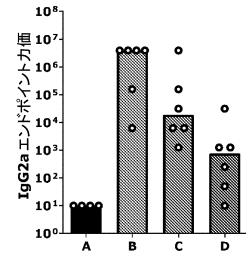


【図 7 - 1】

A

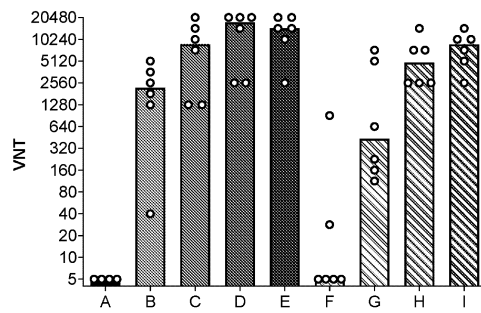


B

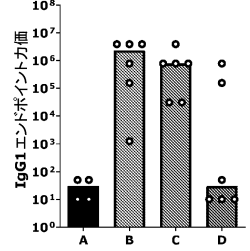


10

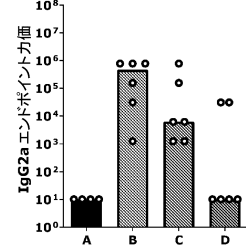
H



C



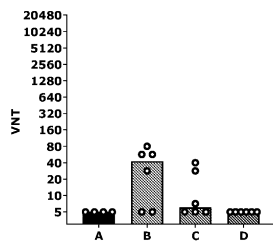
D



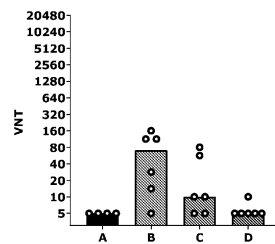
20

【図 7 - 2】

E

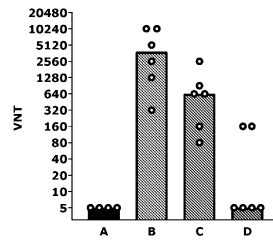


F

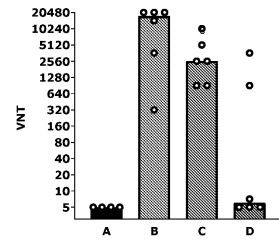


【図 7 - 3】

I

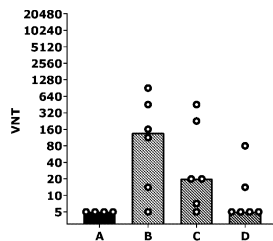


J

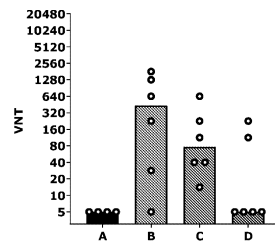


30

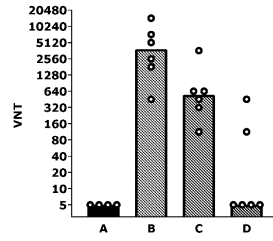
G



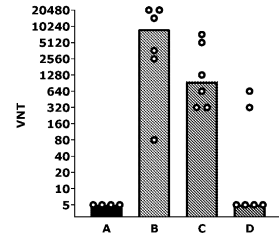
H



K



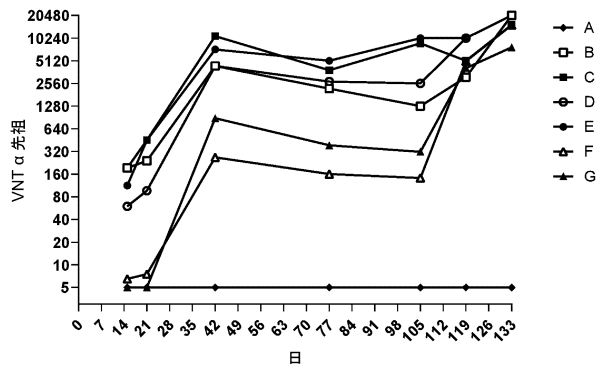
L



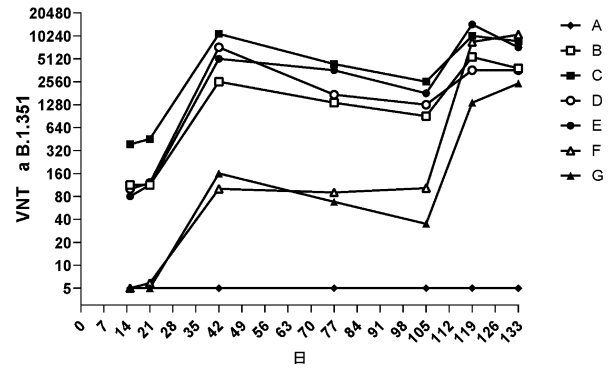
40

50

【図 8 A】

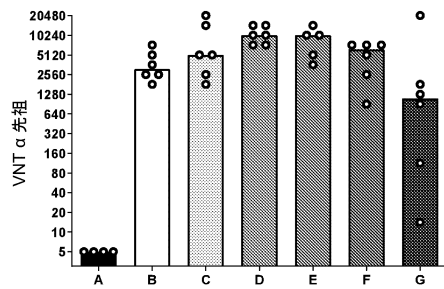


【図 8 B】

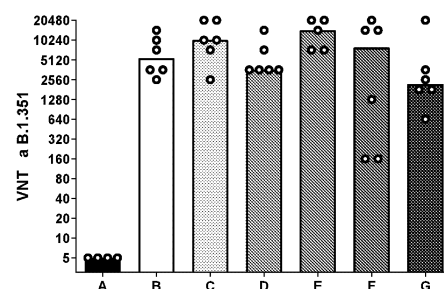


10

【図 8 C】

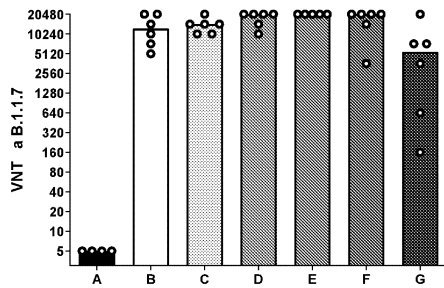


【図 8 D】

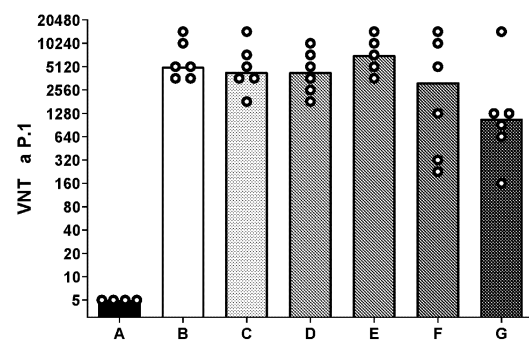


20

【図 8 E】



【図 8 F】

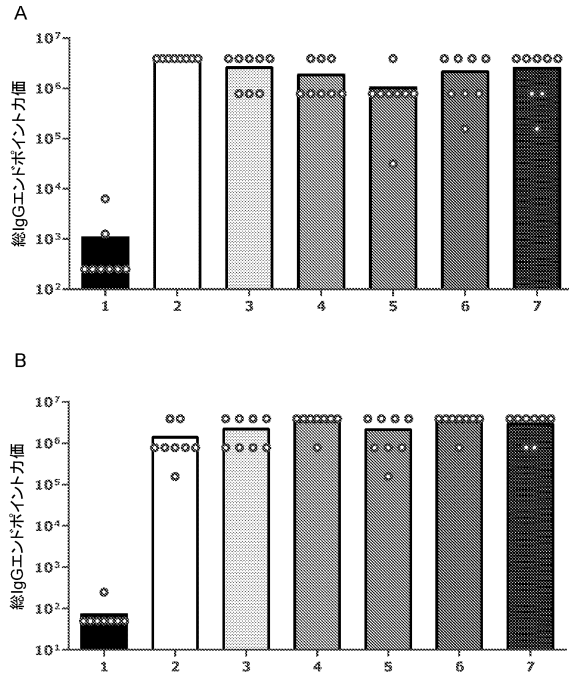


30

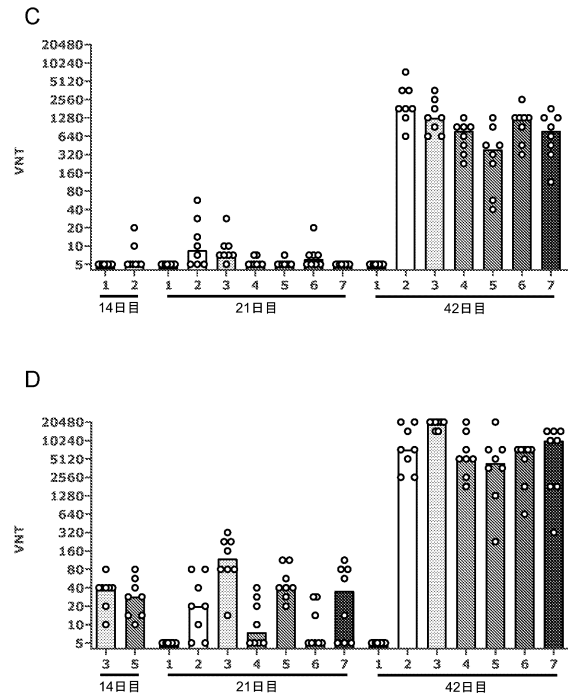
40

50

【図 9 - 1】



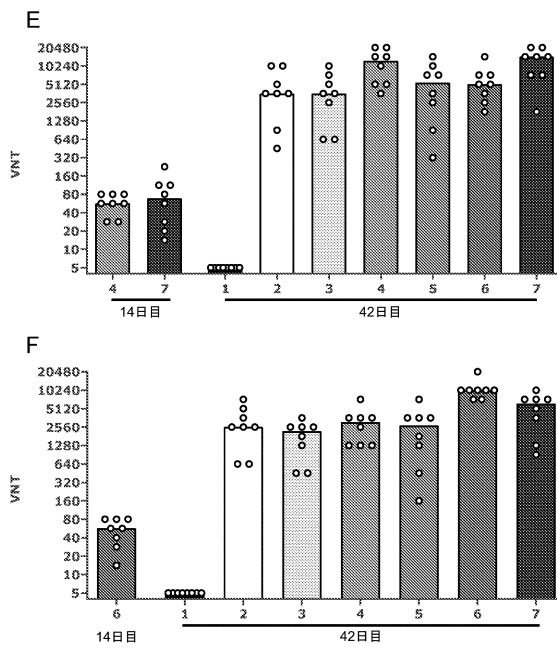
【図 9 - 2】



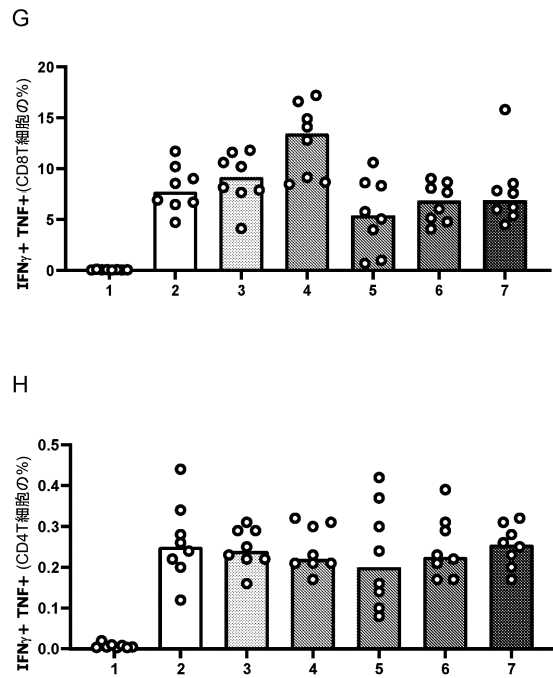
10

20

【図 9 - 3】



【図 9 - 4】

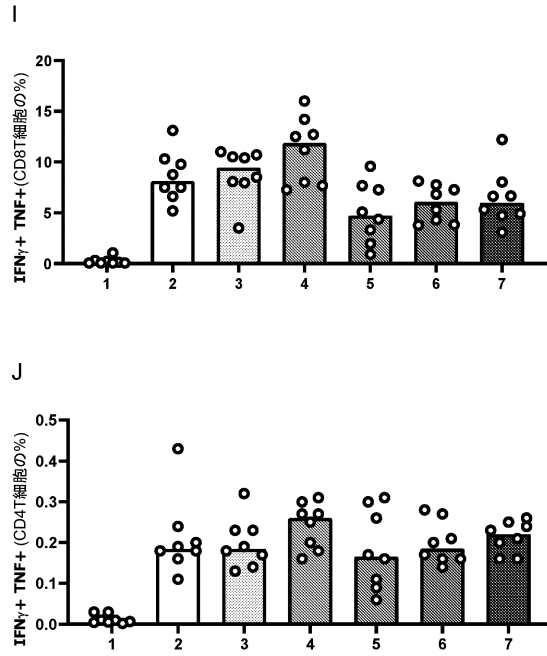


30

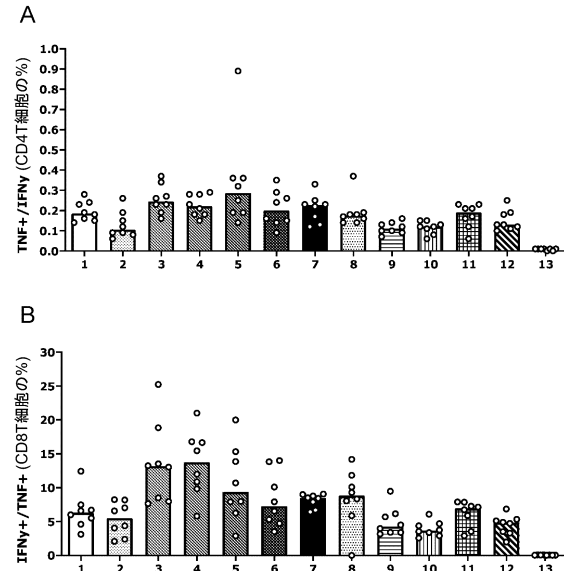
40

50

【図 9 - 5】



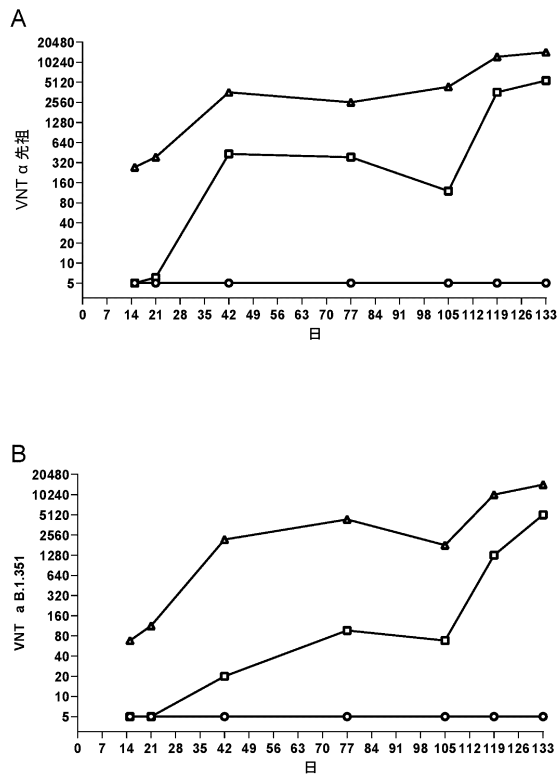
【図 10】



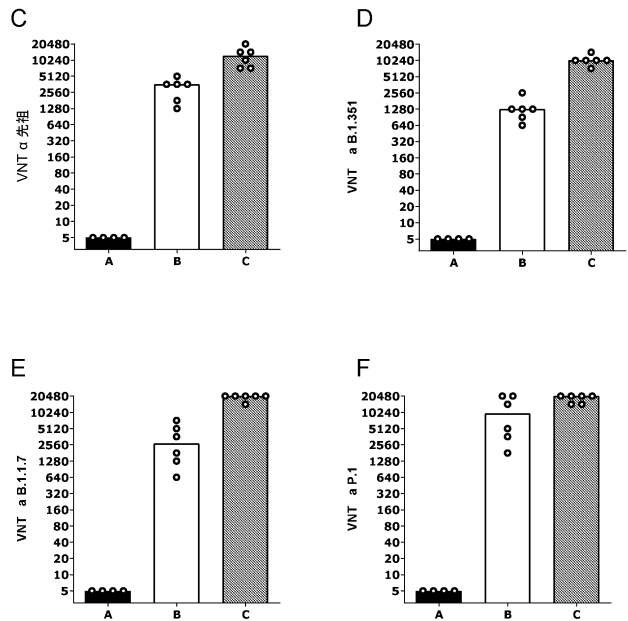
10

20

【図 11 - 1】



【図 11 - 2】

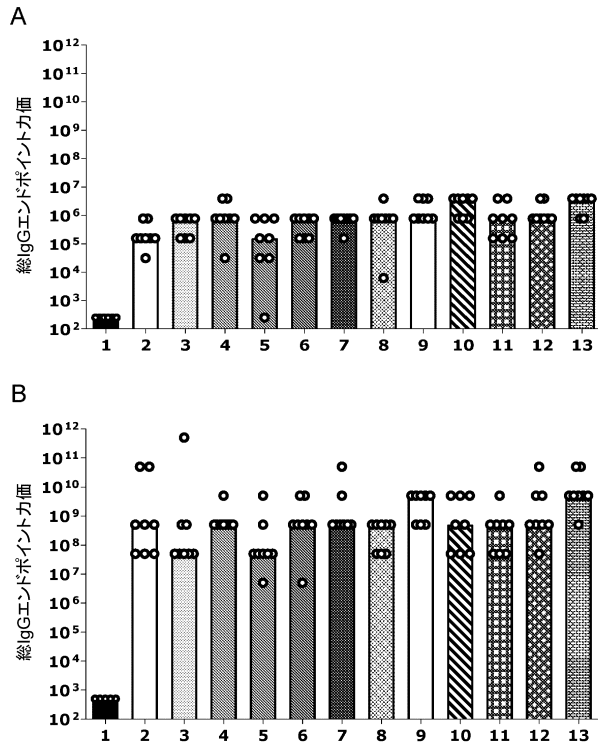


30

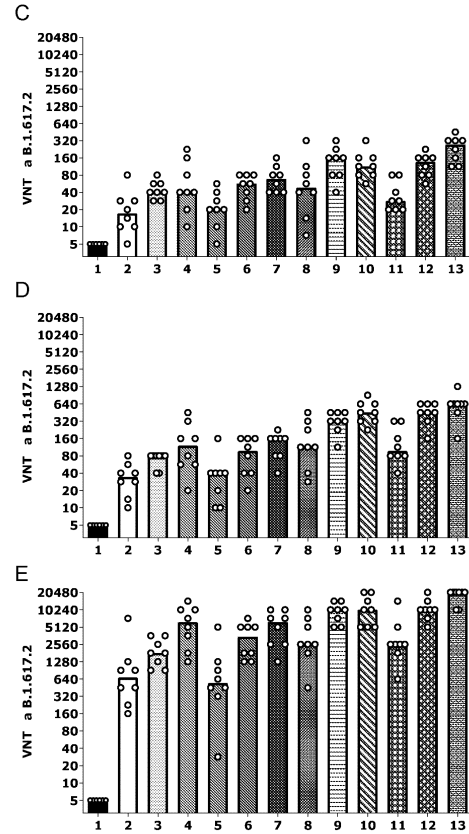
40

50

【図 12-1】



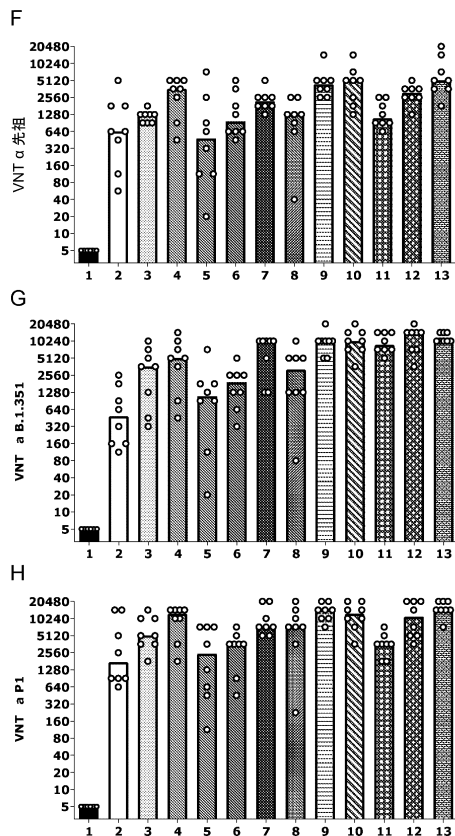
【図 12-2】



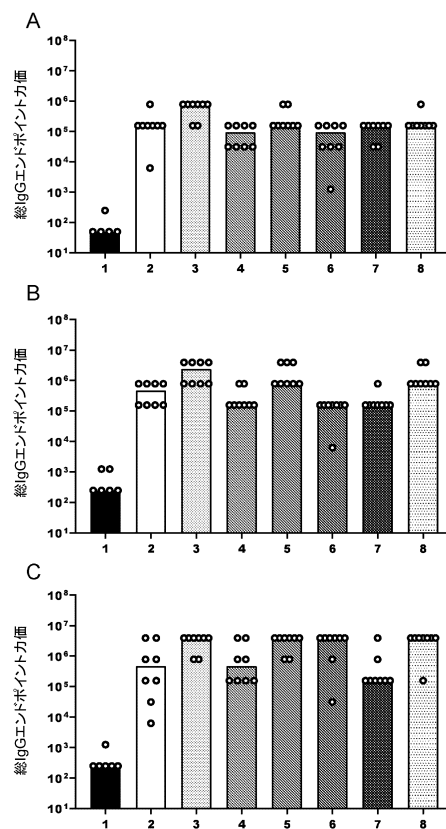
10

20

【図 12-3】



【図 13】

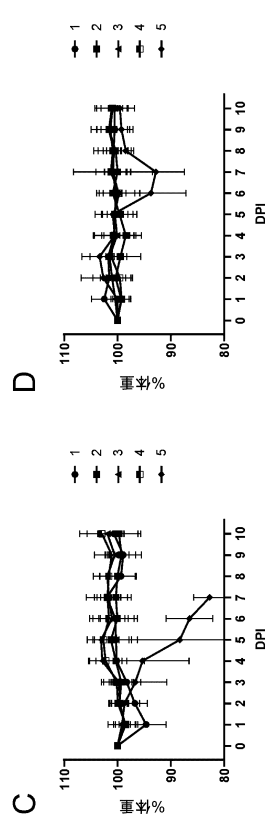
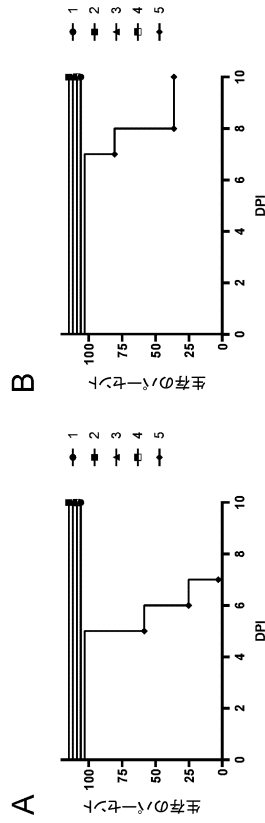


30

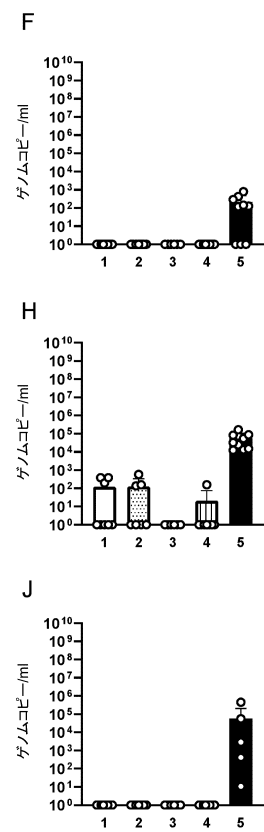
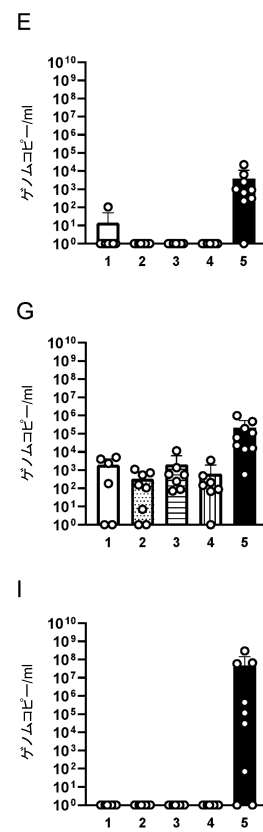
40

50

【図 14-1】



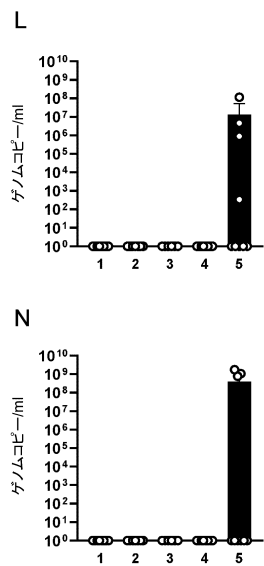
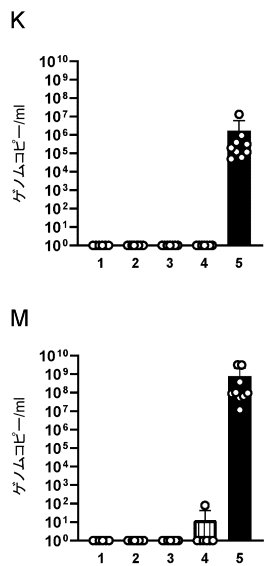
【図 14-2】



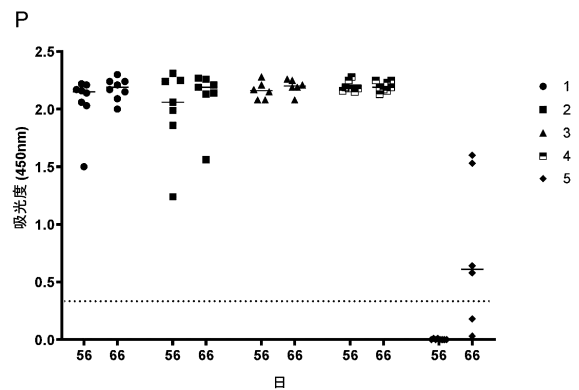
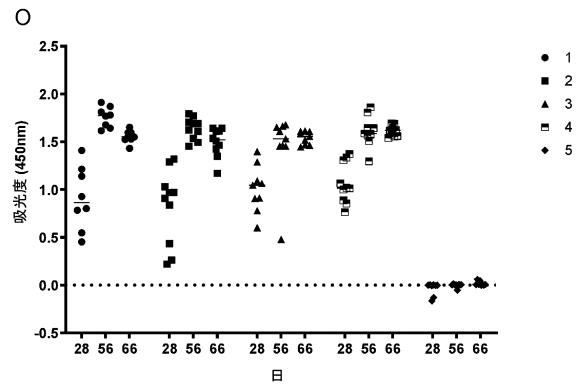
10

20

【図 14-3】



【図 14-4】

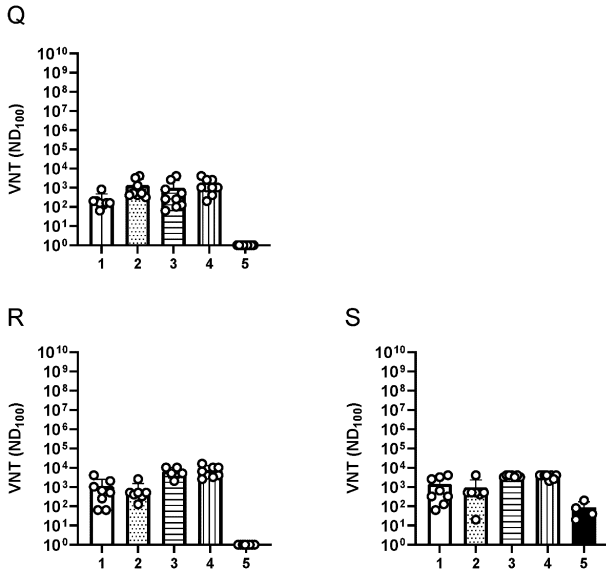


30

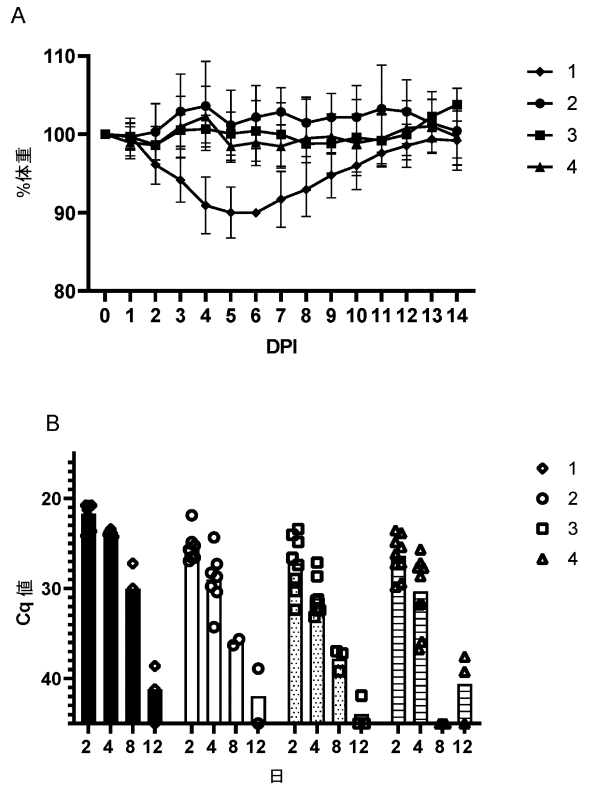
40

50

【図 1 4 - 5】



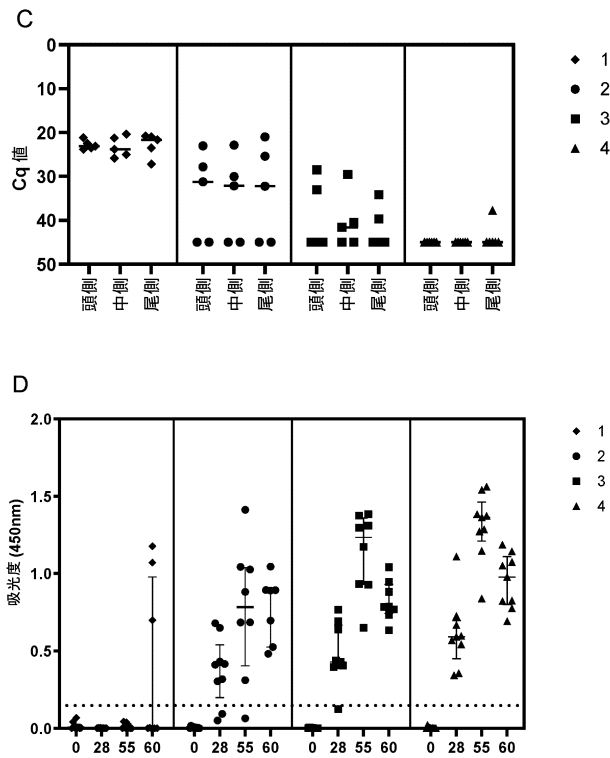
【図 1 5 - 1】



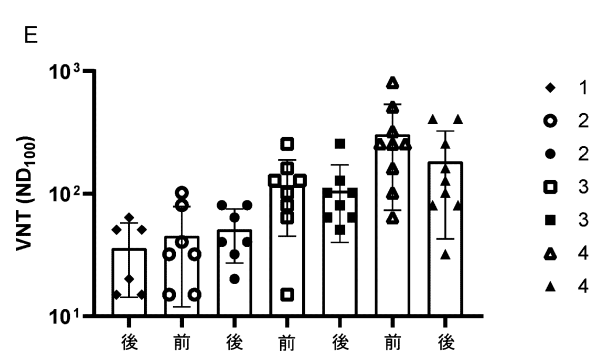
10

20

【図 1 5 - 2】



【図 1 5 - 3】



30

40

50

【配列表】

2024502210000001.app

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】 令和5年8月29日(2023.8.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】 全文

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;R158;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;W258;T19;V126;H245;S12;A899;G142;E156;K558;及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含み、RNAが、少なくとも1つの異種非翻訳領域(UTR)を含む、RNA。

10

20

【請求項2】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;V1176F;T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;F157del;R158del;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N;及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項1に記載のRNA。

30

40

【請求項3】

SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、RBDドメイン(アミノ酸位置aa319~aa541;参照配列番号1によるアミノ酸位置)又はCNDドメイン(アミノ酸位置aa329~aa529;参照配列番号1によるアミノ酸位置)に位置する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、請求項1又は2に記載のRNA。

【請求項4】

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、2

50

2758、22959～22964、27087～27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、請求項1から3のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項5】

スパイクタンパク質(S)が、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含む融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_{stab})であり、好ましくは以下のアミノ酸置換:K986P及びV987Pを含む、請求項1から4のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項6】

mRNA、自己複製RNA、環状RNA、又はレプリコンRNAであり、好ましくはmRNAである、請求項1から5のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項7】

シュドウリジン又は1-メチルシュドウリジン置換を含む、請求項1から6のいずれか一項に記載のRNA。

【請求項8】

請求項1から7のいずれか一項に記載のRNAを含む組成物であって、場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体を含む、組成物。

【請求項9】

請求項1から7のいずれか一項に記載のRNAに加えて、複数又は少なくとも1つのさらなるRNAを含む多価組成物である、請求項8に記載の組成物。

【請求項10】

RNAが、1つ以上のカチオン性又はポリカチオン性化合物、好ましくは、カチオン性若しくはポリカチオン性ポリマー、カチオン性若しくはポリカチオン性多糖、カチオン性若しくはポリカチオン性脂質、カチオン性若しくはポリカチオン性タンパク質、カチオン性若しくはポリカチオン性ペプチド、又はそれらの任意の組み合わせと複合体化されるか、若しくは会合するか、又は少なくとも部分的に複合体化されるか、若しくは部分的に会合する、請求項8又は9に記載の組成物。

【請求項11】

RNAが、1つ以上の脂質又は脂質ベースの担体と複合体化するか、又は会合し、これにより、好ましくは少なくとも1つのRNAを封入する、リポソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リボプレックス、及び/又はナノリポソームを形成する、請求項10に記載の組成物。

【請求項12】

RNAが、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子を形成する、請求項10又は11に記載の組成物。

【請求項13】

請求項1から7のいずれか一項に記載のRNA及び/又は請求項8から12のいずれか一項に記載の組成物を含む、ワクチン。

【請求項14】

請求項1から7のいずれか一項に記載のRNAの複数若しくは少なくとも1つより多く、又は請求項8から12のいずれか一項に記載の組成物の複数若しくは少なくとも1つより多くを含む多価ワクチンである、請求項13に記載のワクチン。

【請求項15】

請求項1から7のいずれか一項に記載のRNA及び/又は請求項8から12のいずれか一項に記載の組成物、及び/又は請求項13若しくは14に記載のワクチンを含み、場合により、溶解のための液体ビヒクルを含み、場合により、成分の投与及び投薬量についての情報を提供する技術指示書を含む、キット又はパーツのキット(kit of parts)。

【請求項16】

医薬としての使用のための、請求項1から7のいずれか一項に記載のRNA、請求項8から12のいずれか一項に記載の組成物、請求項13若しくは14に記載のワクチン、請求項1

10

20

30

40

50

5に記載のキット又はパーツのキット。

【請求項17】

コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害の処置又は予防における使用のための、請求項1から7のいずれか一項に記載のRNA、請求項8から12のいずれか一項に記載の組成物、請求項13若しくは14に記載のワクチン、請求項15に記載のキット又はパーツのキット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0809

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0809】

[実施例15(予想)]

mRNAワクチン組成物の安全性及び効果を示すために、臨床試験(フェーズI)を開始する。臨床試験において、ヒトボランティアのコホートに、本発明によるLNP中に製剤化したバリエーションSARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードするmRNAを少なくとも2回(例えば、0日目及び28日目)筋肉内注射する。本発明によるワクチン組成物の安全性プロファイルを評価するために、対象を投与後モニタリングする(バイタルサイン、ワクチン接種部位の忍容性評価、血液学的分析)。ワクチン接種した対象由来の血清中のウイルス中和力価(VNT)の決定により、免疫の有効性を分析する。血液試料を、ベースラインとして0日目、及びワクチン接種完了後に採取する。血清を、ウイルス中和抗体について分析する。

本発明は以下を提供する。

1. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、K986、V987、A67、H69、V70、T95、G142、V143、Y144、Y145、N211、L212、214、G339、S371、S373、S375、S477、T478、E484、Q493、G496、Q498、N501、Y505、T547、D614、H655、N679、P681、N764、D796、N856、Q954、N969、L981に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、RNA。

2. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、N212del、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、H655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、RNA。

3. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、K986、V987、A67、H69、V70、T95、G142、V143、Y144、Y145、N211、L212、214、G339、S371、S373、S375、S477、T478、E484、Q493、G496、Q498、N501、Y505、T547、D614、H655、N679、P681、N764、D796、N856、Q954、N969、L981に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列;並びに

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若

10

20

30

40

50

しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、

L452、E484、P681、E154、D614、及びQ1071;又は

L452、P681、T19、E156、F157、R158、T478、D614、及びD950

に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列を含む、RNA。

4. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、K986P、V987P、A67V、H69del、V70del、T95I、G142D、V143del、Y144del、Y145del、N211del、L212I、ins214EPE、G339D、S371L、S373P、S375F、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y、Y505H、T547K、D614G、655Y、N679K、P681H、N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969K、及びL981Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列;並びに

10

少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列であって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質は、配列番号1の配列と比較して、

L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;又は

L452R、P681R、T19R、E156G、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N

20

に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むコード配列を含む、RNA。

5. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号28540~28588、28917~28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列の少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、上記のいずれか一項に記載のRNA。

6. スパイクタンパク質(S)が、スパイクタンパク質フラグメントS1、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

30

7. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号28540~28588、28917~28920のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも95%同一であるアミノ酸配列の少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

8. スパイクタンパク質(S)が、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含む融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_stab)である、上記のいずれかに記載のRNA。

9. 少なくとも1つの融合前の安定化変異が、以下のアミノ酸置換:K986P及びV987Pを含む、上記8に記載のRNA。

10. 少なくとも1つのコード配列が、シグナルペプチド、リンカー、ヘルパーエプトープ、抗原クラスター形成エレメント、三量体化エレメント、膜貫通型エレメント、及び/又はVLP形成配列から選択される1つ以上の異種ペプチド又はタンパク質エレメントをさらにコードする、上記のいずれかに記載のRNA。

40

11. 少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメントが、異種抗原クラスター形成エレメント、異種三量体化エレメント、及び/又はVLP形成配列である、上記10に記載のRNA。

12. 少なくとも1つのコード配列が、コドン修飾されたコード配列であり、少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列によりコードされるアミノ酸配列が、好ましくは、対応する野生型又は参照コード配列によってコードされるアミノ酸配列と比較して、修飾されていない、上記のいずれかに記載のRNA。

50

13. 少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、C最大化コード配列、CAI最大化コード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、G/C含有量が修飾されたコード配列、及びG/Cが最適化されたコード配列、又はそれらの任意の組み合わせから選択される、上記12に記載のRNA。

14. 少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、G/Cが最適化されたコード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、又はG/C含有量が修飾されたコード配列である、上記12又は13に記載のRNA。

15. 少なくとも1つのコード配列が、少なくとも約50%、55%、又は60%のG/C含有量を有する、上記のいずれかに記載のRNA。

16. 少なくとも1つのコード配列が、融合前の安定化K986P及びV987P変異を含む5タンパク質をコードし、コード配列が、配列番号28589~28637、28921~28924と少なくとも95%同一である核酸配列を含むG/Cが最適化されたコード配列を含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

17. 好ましくは、30~200個のアデノシンヌクレオチド及び/又は少なくとも1つのポリ(C)配列を含む、好ましくは、10~40個のシトシンヌクレオチドを含む、少なくとも1つのポリ(A)配列を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

18. 少なくとも1つのヒストンステムループを含む、上記のいずれかに記載のRNA。

19. RNAが、30~200個のアデノシンヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリ(A)配列を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドが、アデノシンである、上記のいずれかに記載のRNA。

20. 少なくとも1つの異種3'UTRが、PSMB3、ALB7、CASP1、COX6B1、GNAS、NDUFA1及びRPS9から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

21. 少なくとも1つの異種5'UTRが、HSD17B4、RPL32、ASAH1、ATP5A1、MP68、NDUFA4、NOSIP、RPL31、SLC7A3、TUBB4B及びUBQLN2から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

22. HSD17B4由来の5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種5'UTR及びPSMB3の3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種3'UTRを含む、上記のいずれかに記載のRNA。

23. 5'から3'に:

i) 5'キャップ1構造;

ii) HSD17B4遺伝子の5'UTRから誘導される、好ましくは配列番号232に記載の5'UTR

iii) 少なくとも1つのコード配列;

iv) PSMB3遺伝子の3'UTRから誘導される、好ましくは配列番号254に記載の3'UTR;

v) 場合により、ヒストンステムループ配列;及び

vi) 約100個のAヌクレオチドを含むポリ(A)配列

を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドがアデノシンである、上記のいずれかに記載のRNA。

24. mRNA、自己複製RNA、環状RNA、又はレプリコンRNAである、上記のいずれかに記載のRNA。

25. mRNAである、上記のいずれかに記載のRNA。

26. mRNAが、レプリコンRNA又は自己複製RNAではない、上記25に記載のRNA。

27. 5'キャップ構造、好ましくは、m7G、キャップ0、キャップ1、キャップ2、修飾されたキャップ0又は修飾されたキャップ1構造、好ましくは、5'キャップ1構造を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

28. 1-メチルシュードウリジン置換を含まない、上記のいずれかに記載のRNA。

29. 化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない、上記のいずれかに記載のRNA。

10

20

30

40

50

30. シュードウリジン又は1-メチルシュードウリジン置換を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

31. RNAが、in vitroで転写されたRNAであり、RNA in vitro転写が、配列が最適化されたヌクレオチド混合物及びキャップアナログの存在下で行われ、好ましくは、配列が最適化されたヌクレオチド混合物が、化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない、上記のいずれかに記載のRNA。

32. 精製されたRNA、好ましくは、RP-HPLC及び/又はTFFにより精製されたRNAである、上記のいずれかに記載のRNA。

33. RP-HPLC及び/又はTFFにより精製されたRNAであり、RP-HPLC及び/又はTFFを用いて精製されていないRNAとして約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

34. RP-HPLC及び/又はTFFにより精製された精製されたRNAであり、オリゴdT精製、沈殿、濾過及び/又はアニオン交換クロマトグラフィーを用いて精製されたRNAとして約5%、10%、又は20%少ない二本鎖RNA副産物を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

35. 上記のいずれかに記載のRNAを含む組成物であって、場合により、少なくとも1つの薬学的に許容される担体を含む、組成物。

36. 上記1から34のいずれかに記載のRNAに加えて、複数又は少なくとも1つのさらなるRNAを含む多価組成物である、上記35に記載の組成物。

37. 多価組成物の複数又は少なくとも1つより多くのRNAそれぞれが、異なるスパイクタンパク質、好ましくは、融合前の安定化されたスパイクタンパク質をコードする、上記36に記載の組成物。

38. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、異なるSARS-CoV-2ウイルスバリエント/分離株から誘導される、上記37に記載の組成物。

39. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)又はB.1.1.621バリエントから誘導される、上記38に記載の組成物。

40. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、少なくともB.1.1.529、BA.1_v1、BA.1_v0、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、及び/又はBA.1_v5並びにB.1.617.2バリエントから誘導される、上記38又は39に記載の組成物。

41. 70%以上のRNA完全性を有するRNAを含む、上記35から40のいずれかに記載の組成物。

42. 組成物が、70%以上のキャッピング程度を有するRNAを含み、好ましくは、RNA種の少なくとも70%、80%、又は90%が、キャップ1構造を含む、上記35から40のいずれかに記載の組成物。

43. RNAが、1つ以上のカチオン性又はポリカチオン性化合物、好ましくは、カチオン性若しくはポリカチオン性ポリマー、カチオン性若しくはポリカチオン性多糖、カチオン性若しくはポリカチオン性脂質、カチオン性若しくはポリカチオン性タンパク質、カチオン性若しくはポリカチオン性ペプチド、又はそれらの任意の組み合わせと複合体化されるか、若しくは会合するか、又は少なくとも部分的に複合体化されるか、若しくは部分的に会合する、上記35から40のいずれかに記載の組成物。

44. RNAが、1つ以上の脂質又は脂質ベースの担体と複合体化するか、又は会合し、これにより、好ましくは少なくとも1つのRNAを封入する、リボソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リボプレックス、及び/又はナノリボソームを形成する、上記43に記載の組成物。

10

20

30

40

50

45. RNAが、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子を形成する、上記43又は44に記載の組成物。

46. LNPが、式III-3:_(III-3)によるカチオン性脂質を含む、上記44又は45に記載の組成物。

47. LNPが、式(IVa):_(IVa)

(式中、nは、30～60の範囲にある平均値を有し、好ましくは、nは、約45、46、47、48、49、50、51、52、53、54の平均値を有し、最も好ましくは、nは49又は45の平均値を有する)のPEG脂質を含む、上記44から45のいずれかに記載の組成物。

48. LNPが、式(IVa):_(IVa)

(式中、nは、PEG脂質の平均分子量が約2500g/molであるように選択される整数である)のPEG脂質を含む、上記44から47のいずれかに記載の組成物。

49. LNPが、1つ以上の中性脂質及び/又は1つ以上のステロイド若しくはステロイドアナログを含む、上記44から48のいずれかに記載の組成物。

50. 中性脂質が、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)であり、好ましくは、カチオン性脂質とDSPCとのモル比が、約2:1～約8:1の範囲にある、上記49に記載の組成物。

51. ステロイドが、コレステロールであり、好ましくは、カチオン性脂質とコレステロールとのモル比が、約2:1～約1:1の範囲にある、上記49に記載の組成物。

52. LNPが、

(i)少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii)少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

(iii)少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv)少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、n=49)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、上記44から51のいずれかに記載の組成物。

53. LNPが、

(i)少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii)少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

(iii)少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv)少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、n=45)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、上記44から51のいずれかに記載の組成物。

54. (i)～(iv)が、約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.4:10:40.9:1.7のモル比にある、上記52又は53に記載の組成物。

55. 約20%未満の遊離(複合体化されていないか、又は封入されていない)RNA、好ましくは、約15%未満の遊離RNA、より好ましくは、約10%未満の遊離RNAを含む、上記45から54のいずれかに記載の組成物。

56. 脂質とRNAとのwt/wt比が、約10:1～約60:1、好ましくは、約20:1～約30:

10

20

30

40

50

1、例えば、約25:1である、上記45から55のいずれかに記載の組成物。

57. RNAを封入するLNPのn/p比が、約1～約10の範囲、好ましくは、約5～約7の範囲、より好ましくは、約6である、上記45から56のいずれかに記載の組成物。

58. 約0.4未満、好ましくは、約0.3未満、より好ましくは、約0.2未満、最も好ましくは、約0.1未満の多分散指数(PDI)値を有する、上記45から57のいずれかに記載の組成物。

59. LNPが、

(a)約60nm～約120nmの範囲、好ましくは、約120nm未満、より好ましくは、約100nm未満、最も好ましくは、約80nm未満のZ-平均サイズを有し;

(b)約500nmを超える粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含み;及び/又は

(c)約20nmより小さい粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含む、上記44から58のいずれかに記載の組成物。

60. 脂質ベースの担体の少なくとも約80%、85%、90%、95%が、好ましくは固体コア又は部分的に固体のコアを含む、球状形態を有する、上記44から59のいずれかに記載の組成物。

61. 約150FNU～約0.0FNUの範囲、好ましくは、約50FNU以下、より好ましくは、約25FNU以下の濁度を有する、上記44から60のいずれかに記載の組成物。

62. (a)約50～約300mMの濃度の糖、好ましくは、約150mMの濃度のスクロース;

(b)約10mM～約200mMの濃度の塩、好ましくは、約75mMの濃度のNaCl;及び/又は

(c)濃度1mM～約100mMの緩衝剤、好ましくは、約10mMの濃度のNa₃PO₄

をさらに含む、上記35から61のいずれかに記載の組成物。

63. 約pH7.0～約pH8.0の範囲にある、好ましくは、約pH7.4のpHを有する、上記35から62のいずれかに記載の組成物。

64. 凍結乾燥された組成物である、上記35から60のいずれかに記載の組成物。

65. 凍結乾燥された組成物が、約10%未満の水含有量を有し、好ましくは、凍結乾燥された組成物が、約0.5%～5%の水含有量を有する、上記64に記載の組成物。

66. RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後少なくとも約2週間未変化である、上記35から63のいずれかに記載の組成物。

67. RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後約2週間～約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間又は1年間未変化である、上記66に記載の組成物。

68. RNAの少なくとも80%が、約5℃の温度で液体として約2週間の保存後未変化である、上記66に記載の組成物。

69. RNA及びRNAを封入する脂質ベースの担体が、少なくとも1つの精製工程により、好ましくは、TFFの少なくとも1つの工程及び/又は清澄化の少なくとも1つの工程及び/又は濾過の少なくとも1つの工程によって精製されている、上記35から68のいずれかに記載の組成物。

70. 上記1から34のいずれかに記載のRNA及び/又は上記35から69のいずれかに記載の組成物を含む、ワクチン。

71. コロナウイルスに対する、好ましくは、コロナウイルスSARS-CoV-2に対する、適応免疫応答、好ましくは、防御的適応免疫応答を誘発する、上記70に記載のワクチン。

72. 上記1から34のいずれかに記載のRNAの複数若しくは少なくとも1つより多く、又は上記35から69のいずれかに記載の組成物の複数若しくは少なくとも1つより多くを含む多価ワクチンである、上記70又は71に記載のワクチン。

73. 上記1から34のいずれかに記載のRNA及び/又は上記35から69のいずれかに記載の組成物、及び/又は上記70から72のいずれかに記載のワクチンを含み、場合により、溶解のための液体ビヒクルを含み、場合により、成分の投与及び投薬量についての情報

10

20

30

40

50

を提供する技術指示書を含む、キット又はパーツのキット(kit of parts)。

。

74. 医薬としての使用のための、上記1から34のいずれかに記載のRNA、上記35から69のいずれかに記載の組成物、上記70から72のいずれかに記載のワクチン、上記73に記載のキット又はパーツのキット。

75. コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害の処置又は予防における使用のための、上記1から34のいずれかに記載のRNA、上記35から69のいずれかに記載の組成物、上記70から72のいずれかに記載のワクチン、上記73に記載のキット又はパーツのキット。

10

76. 障害を処置又は予防する方法であって、それを必要とする対象に、上記1から34のいずれかに記載のRNA、上記35から69のいずれかに記載の組成物、上記70から72のいずれかに記載のワクチン、上記73に記載のキット又はパーツのキットを適用するか、又は投与することを含む、方法。

77. 障害が、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害である、上記76に記載の障害を処置又は予防する方法。

78. SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害を予防する方法としてさらに定義される、上記76又は77に記載の障害を処置又は予防する方法。

20

79. SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)及びB.1.1.621から選択されるSARS-CoV-2分離株によるものである、上記76に記載の障害を処置又は予防する方法。

80. SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、上記1から4のいずれかに記載のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むSARS-CoV-2分離株によるものである、上記76に記載の障害を処置又は予防する方法。

30

81. 必要とする対象が、哺乳類対象、好ましくは、ヒト対象である、上記76から80のいずれかに記載の障害を処置又は予防する方法。

82. ヒト対象が、好ましくは、少なくとも50、60、65、又は70歳の年齢の、高齢ヒト対象である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

83. ヒト対象が、好ましくは、3歳以下、2歳以下、1.5歳以下、1歳(12カ月)以下、9カ月以下、6カ月以下若しくは3カ月以下の年齢、又は6カ月～2歳の年齢の、新生児又は幼児である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

84. ヒト対象が、18～60歳の年齢である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

40

85. ヒト対象が、60歳未満、55歳未満、50歳未満、45歳未満又は40歳未満の年齢である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

86. ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、上記85に記載の障害を処置又は予防する方法。

87. ヒト対象が、約18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の年齢である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

88. ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

89. ヒト対象が、約18～60歳;18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の

50

年齢である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

90. ヒト対象が、約18～50歳の年齢である、上記81に記載の障害を処置又は予防する方法。

91. COVID-19疾患の1つ以上の症状の重症度を低減する、上記82に記載の方法。

92. 対象が、入院、集中治療室への入院、酸素の補給を用いた処置及び/又は人工呼吸器を用いた処置を必要とする可能性を低減する、上記91に記載の方法。

93. 対象が、重篤又は中程度のCOVID-19疾患を発症する可能性を低減する、上記91に記載の方法。

94. 少なくとも約6カ月間、対象における重篤なCOVID-19疾患を予防する、上記91に記載の方法。

95. 対象が、発熱、呼吸困難、嗅覚の喪失及び/又は味覚の喪失を発症する可能性を低減する、上記91に記載の方法。

96. 対象における抗体、CD4+T細胞応答又はCD8+T細胞応答を刺激する方法としてさらに定義される、上記81から95のいずれかに記載の方法。

97. 対象における中和抗体応答を刺激する方法としてさらに定義される、上記81から96のいずれかに記載の方法。

98. 対象が、約1 µg～約50 µgのRNA;約2 µg～約50 µgのRNA;約2 µg～約25 µgのRNA;約5 µg～約50 µgのRNA;約5 µg～約25 µgのRNA;約10 µg～約50 µgのRNA;約10 µg～約30 µgのRNA;又は約12 µgのRNAを含む組成物を投与される、上記81から97のいずれかに記載の方法。

99. 投与が、組成物が投与される対象の100%においてセロコンバージョンをもたらす、上記98に記載の方法。

100. 対象が、SARS CoV-2に以前に感染した、上記81から97のいずれかに記載の方法。

101. 対象が、少なくとも第一のSARS CoV-2ワクチン組成物で以前に処置された、上記81から97のいずれかに記載の方法。

102. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、mRNAワクチンであった、上記101に記載の方法。

103. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、CVnCoV;BNT162;及び/又はmRNA-1273であった、上記102に記載の方法。

104. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、タンパク質サブユニットワクチンであった、上記102に記載の方法。

105. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、NVX-CoV2373又はCOVAXであった、上記102に記載の方法。

106. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、アデノウイルスベクターワクチンであった、上記102に記載の方法。

107. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、ADZ1222又はAd26.COV-2.Sであった、上記106に記載の方法。

108. 対象が、検出可能なSARS CoV-2 Sタンパク質結合抗体を有する、上記81から97のいずれかに記載の方法。

109. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションをコードする少なくとも1つのコード配列を含むRNAであって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;R158;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949

10

20

30

40

50

;Q1071;E1092;H1101;N1187;W258;T19;V126;H245;S12;A899;G142;E156;K558;及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含み、RNAが、少なくとも1つの異種非翻訳領域(UTR)を含む、RNA。

110. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;V1176F;T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;F157del;R158del;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N;及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記109に記載のRNA。

10

20

111. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;及び/又はQ506に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記109に記載のRNA。

112. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;及び/又はQ506Hに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記111に記載のRNA。

30

113. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;又はV1176に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記109に記載のRNA。

40

114. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69del;V70del;A222V;Y453F;S477N;I692V;R403K;K417N;N437S;N439K;V445A;V445I;V445F;G446V;G446S;G446A;L455F;F456L;K458N;A475V;G476S;G476A;S477I;S477R;S477G;S477T;T478I;T478K;T478R;T478A;E484Q;E484K;E484A;E484D;G485R;G485S;F486L;N487I;Y489H;F490S;F490L;Q493L;Q493K;S494P;S494L;P499L;T500I;N501Y;N501T;N501S;V503F;V503I;G504D;Y505W;Q506K;Q506H;Y144del;A570D;P681H;T716I;S982A;D1118H;L

50

18F;D80A;D215G;L242del;A243del;L244del;L242del;A243del;L244del;R246I;A701V;T20N;P26S;D138Y;R190S;H655Y;T1027I;S13I;W152C;L452R;R346T;P384L;L452M;F456A;F456K;F456V;E484P;K417T;G447V;L452Q;A475S;F486I;F490Y;Q493R;S494A;P499H;P499S;G502V;T748K;A522S;及び/又はV1176Fに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記113に記載のRNA。

115. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、T859;R246;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187;F157;R158;W258;T19;H245;S12;A899;G142;E156;K558及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記109に記載のRNA。

10

116. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、T859N;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;R246del;S247del;Y248del;L249del;T250del;P251del;G252del;G75V;T76I;G75V;T76I;D950N;P681R;E154K;G769V;S254F;Q613H;F157L;Q957R;D253G;T95I;F888L;Q677H;A67V;Q414K;N450K;V483A;G669S;T732A;Q949R;Q1071H;E1092K;H1101Y;N1187D;F157del;R158del;W258L;V70F;T19R;Y144T;Y145S;ins145N;R346K;R346S;V126A;H245Y;ins214TDR;S12F;W152R;A899S;G142D;E156G;K558N及び/又はQ52Rに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記115に記載のRNA。

20

117. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、D614;H49;V367;P1263;V483;S939;S943;L5;L8;S940;C1254;Q239;M153;V1040;A845;Y145;A831;及び/又はM1229に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入をさらに含む、上記109に記載のRNA。

118. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、D614G;H49Y;V367F;P1263L;V483A;S939F;S943P;L5F;L8V;S940F;C1254F;Q239K;M153T;V1040F;A845S;Y145H;A831V;及び/又はM1229Iに対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入をさらに含む、上記117に記載のRNA。

119. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、RBDドメイン(アミノ酸位置aa319~aa541;参照配列番号1によるアミノ酸位置)又はCNDドメイン(アミノ酸位置aa329~aa529;参照配列番号1によるアミノ酸位置)に位置する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

30

120. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、H69;V70;A222;Y453;S477;I692;R403;K417;N437;N439;V445;G446;L455;F456;K458;A475;G476;T478;E484;G485;F486;N487;Y489;F490;Q493;S494;P499;T500;N501;V503;G504;Y505;Q506;Y144;A570;P681;T716;S982;D1118;L18;D80;D215;L242;A243;L244;R246;A701;T20;P26;D138;R190;H655;T1027;S13;W152;L452;R346;P384;G447;G502;T748;A522;V1176;T859;S247;Y248;L249;T250;P251;G252;G75;T76;D950;E154;G769;S254;Q613;F157;Q957;D253;T95;F888;Q677;A67;Q414;N450;V483;G669;T732;Q949;Q1071;E1092;H1101;N1187及び/又はQ52に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換又は欠失を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

40

121. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、K417、E484、N501、及び/又はL452に対応する位置において少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、上記109に記載のRNA。

122. K417に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、S、T、Q又はN置換である、上記121に記載のRNA。

123. K417に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、K417N置換である、上記122に記載のRNA。

50

124. E484に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、K、P、Q、A、又はD置換である、上記121に記載のRNA。
125. E484に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、E484K又はE484Q置換である、上記124に記載のRNA。
126. E484に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、E484K置換である、上記125に記載のRNA。
127. N501に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、Y、T、又はS置換である、上記121に記載のRNA。
128. N501に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、N501Y置換である、上記127に記載のRNA。
129. L452に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、R又はQ置換である、上記121に記載のRNA。
130. L452に対応する位置における少なくとも1個のアミノ酸置換が、L452R置換である、上記129に記載のRNA。
131. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、N501及びE484に対応する位置にアミノ酸置換、好ましくは、N501Y及びE484K置換を含む、上記のいずれかに記載のRNA。
132. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、フューリン切断部位領域に位置する少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、上記のいずれかに記載のRNA。
133. フューリン切断部位におけるアミノ酸置換が、配列番号1に対してP681に対応する位置に位置する、上記132に記載のRNA。
134. P681に対応する位置のアミノ酸置換が、R又はH置換である、上記133に記載のRNA。
135. P681に対応する位置のアミノ酸置換が、P681R置換である、上記134に記載のRNA。
136. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、L452及びP681に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換、好ましくは、L452R及びP681Rを含む、上記のいずれかに記載のRNA。
137. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、L452、T478及びP681に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換、好ましくは、L452R、T478K及びP681Rを含む、上記のいずれかに記載のRNA。
138. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、以下のSARS CoV-2分離株:B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)及びB.1.1.621から選択される少なくとも1個のさらなるアミノ酸置換又は欠失を含む、上記のいずれかに記載のRNA。
139. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、
- ・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;
 - ・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V;
 - ・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、及びT1027I;
 - ・E484K、N501Y、L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、D614G、H655Y、T1027I、及びV1176F;
 - ・L452R、P681R、及びD614G;
 - ・L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;
 - ・L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N;

10

20

30

40

50

- T19R、L452R、E484Q、D614G、P681R及びD950N;
- G75V、T76I、S247del、Y248del、L249del、T250del、P251del、G252del、D253del、L452Q、F490S、D614G、及び/又はT859N;
- T95I、Y145N、R346K、E484K、N501Y、D614G、P681H、及びD950N;
- T95I、Y144T、Y145S、ins145N、R346K、E484K、N501Y、D614G、P681H、及びD950N;
- H69del、V70del、Y144del、E484K、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、及びD1118H;
- S13I、W152C、L452R、及びD614G;
- L452R;及びD614G;
- 69del;70del;N439K;D614G;
- T95I;E484K;D614G;及びA701V;
- L5F、T95I、D253G、E484K、D614G、及びA701V;
- L5F、T95I、D253G、S477N、D614G、及びQ957R;
- F157L、V367F、Q613H、及びP681R;
- S254F、D614G、P681R、及びG769V;
- T478K、D614G、P681H、及びT732A;
- P26S、H69del、V70del、V126A、Y144del、L242del、A243del、L244del、H245Y、S477N、E484K、D614G、P681H、T1027I及びD1118H;
- ins214TDR、Q414K、N450K、D614G、及びT716I;
- S12F、H69del、V70del、W152R、R346S、L452R、D614G、Q677H及びA899S;
- E484K、D614G及びV1176F;
- Q52R、A67V、H69del、V70del、F157del、R158del、E484K、D614G、Q677H及びF888L;
- Q52R、A67V、H69del、V70del、Y144del、E484K、D614G、Q677H及びF888L;
- A67V、H69del、V70del、Y144del、E484K、D614G、Q677H及びF888L;
- T19R、T95I、G142D、E156G、F157del、R158del、W258L、K417N、L452R、T478K、K558N、D614G、P681R、及びD950N;
- T19R、V70F、G142D、E156G、F157del、R158del、A222V、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R、及びD950N;
- T19R、T95I、F157del、R158del、W258L、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R、及びD950N;
- T19R、V70F、F157del、R158del、A222V、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R、及びD950N;
- H69del、V70del及びD614G;
- D614G及びM1229I;
- A222V及びD614G;
- S477N及びD614G;
- N439K及びD614G;
- H69del、V70del、Y453F、D614G及びI692I;
- Y453F及びD614G;
- D614G及びI692V;
- H69del、V70del、A222V、Y453F、D614G及びI692I;
- N501Y及びD614G;
- K417N、E484K、N501Y及びD614G;並びに
- E484K及びD614G

から選択されるアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

140. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;並びに

・E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V

から選択されるアミノ酸置換、又は欠失を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

141. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、以下の

・K986P、V987P、E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、R246I、K417N、D614G、及びA701V;並びに

・K986P、V987P、E484K、N501Y、L18F、D80A、D215G、L242del、A243del、L244del、K417N、D614G、及びA701V

から選択されるアミノ酸置換、又は欠失を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

142. SARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1の配列と比較して、

・L452R、P681R、及びD614G;

・L452R、E484Q、P681R、E154K、D614G、及びQ1071H;

・L452R、P681R、T19R、F157del、R158del、T478K、D614G、及びD950N;

並びに

・T19R、L452R、E484Q、D614G、P681R及びD950N

から選択されるアミノ酸置換、又は欠失を含む、上記109から139のいずれかに記載のRNA。

143. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959~22964、27087~27109のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるアミノ酸配列又はこれらのいずれかの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションの少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

144. スパイクタンパク質(S)が、スパイクタンパク質フラグメントS1、又はその免疫原性フラグメント若しくは免疫原性バリエーションを含むか、又はそれからなる、上記129から143のいずれかに記載のRNA。

145. 少なくとも1つのSARS-CoV-2スパイクタンパク質が、配列番号1、10、22738、22740、22742、22744、22746、22748、22750、22752、22754、22756、22758、22959~22964、27087~27109のいずれか1つと同一であるか、又は95%同一であるアミノ酸配列の少なくとも1つを含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

146. スパイクタンパク質(S)が、少なくとも1つの融合前の安定化変異を含む融合前の安定化されたスパイクタンパク質(S_stab)である、上記129から145のいずれかに記載のRNA。

147. 少なくとも1つの融合前の安定化変異が、以下のアミノ酸置換:K986P及びV987Pを含む、上記146に記載のRNA。

148. 少なくとも1つのコード配列が、シグナルペプチド、リンカー、ヘルパーエピトープ、抗原クラスター形成エレメント、三量体化エレメント、膜貫通型エレメント、及び/又はVLP形成配列から選択される1つ以上の異種ペプチド又はタンパク質エレメントをさらにコードする、上記のいずれかに記載のRNA。

149. 少なくとも1つの異種ペプチド又はタンパク質エレメントが、異種抗原クラスター形成エレメント、異種三量体化エレメント、及び/又はVLP形成配列である、上記148に記載のRNA。

150. 少なくとも1つのコード配列が、コドン修飾されたコード配列であり、少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列によりコードされるアミノ酸配列が、好ましくは、対応する野生型又は参照コード配列によりコードされるアミノ酸配列と比較して修飾されていない、上記のいずれかに記載のRNA。

10

20

30

40

50

151. 少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、C最大化コード配列、CAI最大化コード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、G/C含有量が修飾されたコード配列、及びG/Cが最適化されたコード配列、又はそれらの任意の組み合わせから選択される、上記150に記載のRNA。

152. 少なくとも1つのコドン修飾されたコード配列が、G/Cが最適化されたコード配列、ヒトコドン使用適合コード配列、又はG/C含有量が修飾されたコード配列である、上記150又は151に記載のRNA。

153. 少なくとも1つのコード配列が、配列番号136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089~23148、23150~23184、27110~27247のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一である配列又はこれらの配列のいずれかのフラグメント若しくはバリエーションを含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

10

154. 少なくとも1つのコード配列が、配列番号136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089~23148、23150~23184、27110~27247のいずれか1つと同一であるか、又は少なくとも90%同一である配列を含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

155. 少なくとも1つのコード配列が、少なくとも約50%、55%、又は60%のG/C含有量を有する、上記のいずれかに記載のRNA。

20

156. 少なくとも1つのコード配列が、融合前の安定化K986P及びV987P変異を含むSタンパク質をコードし、コード配列が、配列番号136、137、146、22765、22767、22769、22771、22773、22775、22777、22779、22781、22783、22785、23089~23148、23150~23184、27110~27247と少なくとも95%同一である核酸配列を含むG/Cが最適化されたコード配列を含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

157. 好ましくは、30~200個のアデノシンヌクレオチド及び/又は少なくとも1つのポリ(C)配列を含む、好ましくは、10~40個のシトシンヌクレオチドを含む、少なくとも1つのポリ(A)配列を含む、上記のいずれかに記載のRNA。

30

158. 少なくとも1つのヒストンステムループを含む、上記のいずれかに記載のRNA。

159. RNAが、30~200個のアデノシンヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリ(A)配列を含み、前記RNAの3'末端のヌクレオチドがアデノシンである、上記のいずれかに記載のRNA。

160. 少なくとも1つの異種3'UTRが、PSMB3、ALB7、CASP1、COX6B1、GNAS、NDUFA1及びRPS9から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

161. 少なくとも1つの異種5'UTRが、HSD17B4、RPL32、ASAH1、ATP5A1、MP68、NDUFA4、NOSIP、RPL31、SLC7A3、TUBB4B及びUBQLN2から選択される遺伝子、又はこれらの遺伝子のいずれか1つの相同体、フラグメント若しくはバリエーションの5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる、上記のいずれかに記載のRNA。

40

162. HSD17B4由来の5'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種5'UTR及びPSMB3の3'UTRから誘導される核酸配列を含むか、又はそれからなる少なくとも1つの異種3'UTRを含む、上記のいずれかに記載のRNA。

163. 5'から3'に:

i) 5'キャップ1構造;

ii) HSD17B4遺伝子の5'UTRから誘導される、好ましくは配列番号232に記載の5'UTR

iii) 少なくとも1つのコード配列;

50

iv) PSMB3 遺伝子の 3'UTR から誘導される、好ましくは配列番号 254 に記載の 3'UTR;
v) 場合により、ヒストンステムループ配列; 及び
vi) 約 100 個の A ヌクレオチドを含むポリ(A)配列
を含み、前記 RNA の 3'末端のヌクレオチドがアデノシンである、上記のいずれかに記載
の RNA。

164. mRNA、自己複製 RNA、環状 RNA、又はレプリコン RNA である、上記のい
ずれかに記載の RNA。

165. mRNA である、上記のいずれかに記載の RNA。

166. mRNA が、レプリコン RNA 又は自己複製 RNA ではない、上記 165 に記載の RN
A。

167. 5'キャップ構造、好ましくは、m7G、キャップ 0、キャップ 1、キャップ 2、
修飾されたキャップ 0 又は修飾されたキャップ 1 構造、好ましくは、5'キャップ 1 構造を
含む、上記のいずれかに記載の RNA。

168. 1-メチルシュードウリジン置換を含まない、上記のいずれかに記載の RNA。

169. 化学的に修飾されたヌクレオチドを含まない、上記のいずれかに記載の RNA。

170. シュードウリジン又は 1-メチルシュードウリジン置換を含む、上記 109 から 1
67 のいずれかに記載の RNA。

171. RNA が、in vitro で転写された RNA であり、RNA in vitro 転写が、配列が
最適化されたヌクレオチドの混合物及びキャップアナログの存在下で行われ、好ましくは
、配列が最適化されたヌクレオチドの混合物が、化学的に修飾されたヌクレオチドを含ま
ない、上記のいずれかに記載の RNA。

172. 精製された RNA、好ましくは、RP-HPLC 及び/又は TFF により精製された RN
A である、上記のいずれかに記載の RNA。

173. RP-HPLC 及び/又は TFF により精製された精製された RNA であり、RP-HPLC
及び/又は TFF で精製されていない RNA として約 5%、10%、又は 20% 少ない二本鎖 RNA
副産物を含む、上記のいずれかに記載の RNA。

174. RP-HPLC 及び/又は TFF により精製された精製された RNA であり、オリゴdT
精製、沈殿、濾過及び/又はアニオン交換クロマトグラフィーで精製された RNA として約
5%、10%、又は 20% 少ない二本鎖 RNA 副産物を含む、上記のいずれかに記載の RNA。

175. 上記 1 から 66 のいずれかに記載の RNA を含む組成物であって、場合により、
少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体を含む、組成物。

176. 上記 1 から 56 のいずれかに記載の複数又は少なくとも 1 つより多い RNA を含む
多価組成物である、上記 175 に記載の組成物。

177. 多価組成物の複数又は少なくとも 1 つより多い RNA がそれぞれ、異なるスパイ
クタンパク質、好ましくは、融合前の安定化されたスパイクタンパク質をコードする、上
記 176 に記載の組成物。

178. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、
異なる SARS-CoV-2 ウイルスバリエント/分離株から誘導される、上記 177 に記載の組成
物。

179. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、
B.1.351 (南アフリカ)、B.1.1.7 (英国)、P.1 (ブラジル)、B.1.429 (カリフォルニア)、
B.1.525 (ナイジェリア)、B.1.258 (チェコ共和国)、B.1.526 (ニューヨーク)、A.23.
1 (ウガンダ)、B.1.617.1 (インド)、B.1.617.2 (インド)、B.1.617.3 (インド)、P.2 (ブ
ラジル)、C37.1 (ペルー) 又は B.1.1.621 バリエントから誘導される、上記 178 に記載
の組成物。

180. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質が、
少なくとも B.1.1.7、B.1.351、P.1、CAL.20C、B.1.1.519、B.1.621 又は C.37 か
ら誘導される、上記 178 又は 179 に記載の組成物。

181. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質の少
なくとも 1 つが、配列番号 1 の配列と比較して、E484、N501、P681、D614 及び/又

10

20

30

40

50

はL452に対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、上記178に記載の組成物。

182. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質の少なくとも1つが、配列番号1の配列と比較して、E484K、N501Y、P681R、D614G及び/又はL452Rに対応する位置に少なくとも1個のアミノ酸置換を含む、上記181に記載の組成物。

183. 異なるスパイクタンパク質又は融合前の安定化されたスパイクタンパク質の少なくとも1つが、配列番号1の配列と比較して、L452R、P681R、及びD614Gに対応する位置にアミノ酸置換を含む、上記182に記載の組成物。

184. 70%以上のRNA完全性を有するRNAを含む、上記175から180のいずれかに記載の組成物。

185. 組成物が、70%以上のキャッピング程度を有するRNAを含み、好ましくは、RNA種の少なくとも70%、80%、又は90%が、キャップ1構造を含む、上記175から184のいずれかに記載の組成物。

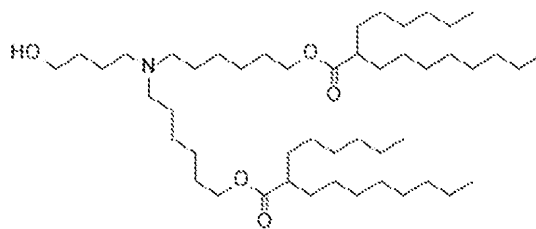
186. RNAが、1つ以上のカチオン性若しくはポリカチオン性化合物、好ましくは、カチオン性若しくはポリカチオン性ポリマー、カチオン性若しくはポリカチオン性多糖、カチオン性若しくはポリカチオン性脂質、カチオン性若しくはポリカチオン性タンパク質、カチオン性若しくはポリカチオン性ペプチド、又はそれらの任意の組み合わせと複合体化されるか、若しくは会合するか、又は少なくとも部分的に複合体化されるか、若しくは部分的に会合する、上記175から185のいずれかに記載の組成物。

187. RNAが、1つ以上の脂質又は脂質ベースの担体と複合体化されるか、又は会合し、これにより、好ましくは少なくとも1つのRNAを封入する、リボソーム、脂質ナノ粒子(LNP)、リボプレックス、及び/又はナノリボソームを形成する、上記186に記載の組成物。

188. RNAが、1つ以上の脂質と複合体化され、これにより、脂質ナノ粒子を形成する、上記186又は187に記載の組成物。

189. LNPが、式III-3:

【化6】

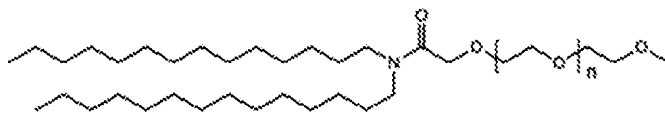


(III-3)

によるカチオン性脂質を含む、上記187又は188に記載の組成物。

190. LNPが、式(IVa):

【化7】



(IVa)

(式中、nは、30~60の範囲にある平均値を有し、好ましくは、nは、約45、46、47、48、49、50、51、52、53、54の平均値を有し、最も好ましくは、nは49又は45の平均値を有する)のPEG脂質を含む、上記187から189のいずれかに記載の組成物。

191. LNPが、式(IVa):

10

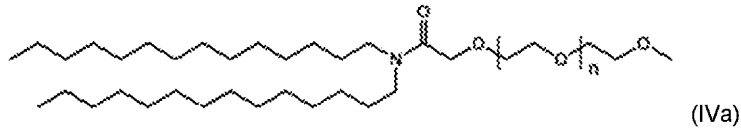
20

30

40

50

【化 8】



(式中、 n は、PEG脂質の平均分子量が約2500g/molであるように選択される整数である)のPEG脂質を含む、上記187から189のいずれかに記載の組成物。

192. LNPが、1つ以上の中性脂質及び/又は1つ以上のステロイド若しくはステロイドアナログを含む、上記187から191のいずれかに記載の組成物。

193. 中性脂質が、1,2-ジステアロイル- sn -グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)であり、好ましくは、カチオン性脂質とDSPCとのモル比が、約2:1～約8:1の範囲にある、上記192に記載の組成物。

194. ステロイドが、コレステロールであり、好ましくは、カチオン性脂質とコレステロールとのモル比が、約2:1～約1:1の範囲にある、上記192に記載の組成物。

195. LNPが、

(i)少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii)少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル- sn -グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

(iii)少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv)少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、 $n=49$)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、上記187から194のいずれかに記載の組成物。

196. LNPが、

(i)少なくとも1つのカチオン性脂質、好ましくは、式(III)の脂質、より好ましくは、脂質III-3;

(ii)少なくとも1つの中性脂質、好ましくは、1,2-ジステアロイル- sn -グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC);

(iii)少なくとも1つのステロイド又はステロイドアナログ、好ましくは、コレステロール;及び

(iv)少なくとも1つのポリマーコンジュゲートされた脂質、好ましくは、式(IVa、 $n=45$)から誘導されるPEG-脂質

を含み、

(i)～(iv)が、約20～60%のカチオン性脂質、5～25%の中性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG-脂質のモル比にある、上記187から194のいずれかに記載の組成物。

197. (i)～(iv)が、約50:10:38.5:1.5、好ましくは、47.4:10:40.9:1.7のモル比にある、上記195又は196に記載の組成物。

198. 約20%未満の遊離(複合体化されていないか、又は封入されていない)RNA、好ましくは、約15%未満の遊離RNA、より好ましくは、約10%未満の遊離RNAを含む、上記188から197のいずれかに記載の組成物。

199. 脂質とRNAとのwt/wt比が、約10:1～約60:1、好ましくは、約20:1～約30:1、例えば、約25:1である、上記188から198のいずれかに記載の組成物。

200. RNAを封入するLNPの n/p 比が、約1～約10の範囲、好ましくは、約5～約7の範囲、より好ましくは、約6である、上記188から199のいずれかに記載の組成物。

201. 約0.4未満、好ましくは、約0.3未満、より好ましくは、約0.2未満、最も好ましくは、約0.1未満の多分散指数(PDI)値を有する、上記188から200のいずれかに記載の組成物。

202. LNPが、

(a)約60nm～約120nmの範囲、好ましくは、約120nm未満、より好ましくは、約100nm未満、最も好ましくは、約80nm未満のZ-平均サイズを有し;

(b)約500nmを超える粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含み;及び/又は

(c)約20nmより小さい粒子サイズを有する約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満のLNPを含む、上記187から201のいずれかに記載の組成物。

10

203. 脂質ベースの担体の少なくとも約80%、85%、90%、95%が、好ましくは固体のコア又は部分的に固体のコアを含む球状形態を有する、上記187から202のいずれかに記載の組成物。

96. 約150FNU～約0.0FNUの範囲、好ましくは、約50FNU以下、より好ましくは、約25FNU以下の濁度を有する、上記187から203のいずれかに記載の組成物。

204. (a)約50～約300mMの濃度の糖、好ましくは、約150mMの濃度のスクロース;

(b)約10mM～約200mMの濃度の塩、好ましくは、約75mMの濃度のNaCl;及び/又は

(c)濃度1mM～約100mMの緩衝剤、好ましくは、約10mMの濃度の Na_3PO_4

をさらに含む、上記175から204のいずれかに記載の組成物。

20

205. 約pH7.0～約pH8.0の範囲、好ましくは、約pH7.4のpHを有する、上記175から204のいずれかに記載の組成物。

206. 凍結乾燥された組成物である、上記175から200のいずれかに記載の組成物。

207. 凍結乾燥された組成物が、約10%未満の水含有量を有し、好ましくは、凍結乾燥された組成物が、約0.5%～5%の水含有量を有する、上記206に記載の組成物。

208. RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後少なくとも約2週間未変化である、上記187から205のいずれかに記載の組成物。

209. RNAの少なくとも70%、75%、80%、85%、90%又は95%が、約5℃の温度で液体として保存後約2週間～約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間又は1年間未変化である、上記208に記載の組成物。

30

210. RNAの少なくとも80%が、約5℃の温度で液体として約2週間の保存後未変化である、上記208に記載の組成物。

211. RNA及びRNAを封入する脂質ベースの担体が、少なくとも1つの精製工程により、好ましくは、TFFの少なくとも1つの工程及び/又は清澄化の少なくとも1つの工程及び/又は濾過の少なくとも1つの工程によって精製されている、上記187から210のいずれかに記載の組成物。

212. 上記109から174のいずれかに記載のRNA及び/又は上記165から200のいずれかに記載の組成物を含む、ワクチン。

213. コロナウイルスに対する、好ましくは、コロナウイルスSARS-CoV-2に対する、適応免疫応答、好ましくは、防御的適応免疫応答を誘発する、上記212に記載のワクチン。

40

214. 上記109から181のいずれかに記載のRNAの複数若しくは少なくとも1つより多く、又は上記182から104のいずれかに記載の組成物の複数若しくは少なくとも1つより多くを含む多価ワクチンである、上記212又は213に記載のワクチン。

215. 上記109から174のいずれかに記載のRNA及び/又は上記182から104のいずれかに記載の組成物、及び/又は上記105から107のいずれかに記載のワクチンを含み、場合により、溶解のための液体ビヒクルを含み、場合により、成分の投与及び投薬量についての情報を提供する技術指示書を含む、キット又はパーツのキット。

216. 医薬としての使用のための、上記109から174のいずれかに記載のRNA、上

50

記175から211のいずれかに記載の組成物、上記212から214のいずれかに記載のワクチン、上記215に記載のキット又はパーツのキット。

217. コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害の処置又は予防における使用のための、上記109から174のいずれかに記載のRNA、上記175から211のいずれかに記載の組成物、上記212から214のいずれかに記載のワクチン、上記215に記載のキット又はパーツのキット。

218. 障害を処置又は予防する方法であって、それを必要とする対象に、上記109から174のいずれかに記載のRNA、上記175から211のいずれかに記載の組成物、上記212から214のいずれかに記載のワクチン、及び／又は上記215に記載のキット若しくはパーツのキットを適用するか、又は投与することを含む、方法。

219. 障害が、コロナウイルス、好ましくは、SARS-CoV-2コロナウイルスの感染、又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害である、上記218に記載の障害を処置又は予防する方法。

220. SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染、好ましくは、COVID-19と関連する障害を予防する方法としてさらに定義される、上記218又は219に記載の障害を処置又は予防する方法。

221. SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、B.1.1.529(オミクロン、南アフリカ)(BA.1_v1、BA.1_v0、B.1.1.529、BA.2、BA.1_v2、BA.1_v3、BA.1_v4、BA.1_v5を含む)、B.1.351(南アフリカ)、B.1.1.7(英国)、P.1(ブラジル)、B.1.429(カリフォルニア)、B.1.525(ナイジェリア)、B.1.258(チェコ共和国)、B.1.526(ニューヨーク)、A.23.1(ウガンダ)、B.1.617.1(インド)、B.1.617.2(インド)、B.1.617.3(インド)、P.2(ブラジル)、C37.1(ペルー)及びB.1.1.621から選択されるSARS-CoV-2分離株によるものである、上記212に記載の障害を処置又は予防する方法。

223. SARS-CoV-2コロナウイルス感染又はこのような感染と関連する障害を予防する方法としてさらに定義され、感染が、上記1から33のいずれかに記載のアミノ酸置換、欠失又は挿入を含むSARS-CoV-2分離株によるものである、上記212に記載の障害を処置又は予防する方法。

224. 必要とする対象が、哺乳類対象、好ましくは、ヒト対象である、上記218から219のいずれかに記載の障害を処置又は予防する方法。

225. ヒト対象が、好ましくは、少なくとも50歳、60歳、65歳、又は70歳の年齢の、高齢ヒト対象である、上記224に記載の障害を処置又は予防する方法。

226. ヒト対象が、好ましくは、3歳以下、2歳以下、1.5歳以下、1歳(12カ月)以下、9カ月以下、6カ月以下若しくは3カ月以下の年齢の、又は6カ月～2歳の年齢の、新生児又は幼児である、上記224に記載の障害を処置又は予防する方法。

227. ヒト対象が、18～60歳の年齢である、上記224に記載の障害を処置又は予防する方法。

228. ヒト対象が、60歳未満、55歳未満、50歳未満、45歳未満又は40歳未満の年齢である、上記224に記載の障害を処置又は予防する方法。

229. ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、上記228に記載の障害を処置又は予防する方法。

230. ヒト対象が、約18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の年齢である、上記228に記載の障害を処置又は予防する方法。

231. ヒト対象が、約12～60歳;12～55歳;12～50歳;12～45歳;又は12～40歳の年齢である、上記224に記載の障害を処置又は予防する方法。

232. ヒト対象が、約18～60歳;18～55歳;18～50歳;18～45歳;又は18～40歳の年齢である、上記224に記載の障害を処置又は予防する方法。

233. ヒト対象が、約18～50歳の年齢である、上記224に記載の障害を処置又は予防する方法。

234. COVID-19疾患のうちの1つ以上の症状の重症度を低減する、上記225に記載の方法。

235. 対象が、入院、集中治療室への入院、酸素の補給を用いた処置及び/又は人工呼吸器を用いた処置を必要とする可能性を低減する、上記234に記載の方法。

236. 対象が、重篤又は中程度のCOVID-19疾患を発症する可能性を低減する、上記234に記載の方法。

237. 少なくとも約6カ月間、対象における重篤なCOVID-19疾患を予防する、上記234に記載の方法。

238. 対象が、発熱、呼吸困難;嗅覚の喪失及び/又は味覚の喪失を発症する可能性を低減する、上記234に記載の方法。

239. 対象における抗体、CD4+T細胞応答又はCD8+T細胞応答を刺激する方法としてさらに定義される、上記218から238のいずれかに記載の方法。

240. 対象における中和抗体応答を刺激する方法としてさらに定義される、上記218から238のいずれかに記載の方法。

241. 対象が、約1 μ g~約50 μ gのRNA;約2 μ g~約50 μ gのRNA;約2 μ g~約25 μ gのRNA;約5 μ g~約50 μ gのRNA;約5 μ g~約25 μ gのRNA;約10 μ g~約50 μ gのRNA;約10 μ g~約30 μ gのRNA;又は約12 μ gのRNAを含む組成物を投与される、上記218から240のいずれかに記載の方法。

242. 投与が、組成物が投与される対象の100%においてセロコンバージョンをもたらす、上記241に記載の方法。

243. 対象が、SARS CoV-2に以前に感染した、上記218から240のいずれかに記載の方法。

244. 対象が、少なくとも第一のSARS CoV-2ワクチン組成物で以前に処置された、上記218から240のいずれかに記載の方法。

245. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、mRNAワクチンであった、上記244に記載の方法。

246. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、CVnCoV;BNT162;及び/又はmRNA-1273であった、上記245に記載の方法。

247. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、タンパク質サブユニットワクチンであった、上記244に記載の方法。

248. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、NVX-CoV2373又はCOVAXであった、上記247に記載の方法。

249. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、アデノウイルスベクターワクチンであった、上記244に記載の方法。

250. 第一のSARS CoV-2ワクチン組成物が、ADZ1222又はAd26.COV-2.Sであった、上記249に記載の方法。

251. 対象が、検出可能なSARS CoV-2 Sタンパク質結合抗体を有する、上記218から240のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/IB2021/062127						
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/12 A61K39/215 A61P11/00 A61P31/14 ADD.								
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC								
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P C12N								
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched								
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data								
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td> HUANG CHAOLIN ET AL: "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China", THE LANCET, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 395, no. 10223, 24 January 2020 (2020-01-24), pages 497-506, XP086050317, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5 [retrieved on 2020-01-24] *** pages 497, 504, Table 3 *** ----- -/- </td> <td> 1, 2, 5-108, 153-251 </td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	HUANG CHAOLIN ET AL: "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China", THE LANCET, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 395, no. 10223, 24 January 2020 (2020-01-24), pages 497-506, XP086050317, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5 [retrieved on 2020-01-24] *** pages 497, 504, Table 3 *** ----- -/-	1, 2, 5-108, 153-251
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.						
Y	HUANG CHAOLIN ET AL: "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China", THE LANCET, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 395, no. 10223, 24 January 2020 (2020-01-24), pages 497-506, XP086050317, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5 [retrieved on 2020-01-24] *** pages 497, 504, Table 3 *** ----- -/-	1, 2, 5-108, 153-251						
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.								
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family								
Date of the actual completion of the international search 8 April 2022		Date of mailing of the international search report 13/06/2022						
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Heder, Andreas						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2021/062127

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DATABASE EMBL [Online] EBI; 15 January 2020 (2020-01-15), Zhang Y.-Z. ET AL: "Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1, complete genome.", XP055796635, Database accession no. MN908947 abstract -----	1,2, 5-108, 153-251
Y	US 2019/351048 A1 (RAUCH SUSANNE [DE]) 21 November 2019 (2019-11-21) *** para. 148-150, 166, 227, 343, 351,372-374, 382, 407-456, 584-586, Table XI *** -----	1,2, 5-108, 153-251
A	ROBERT N. KIRCHDOERFER ET AL: "Stabilized coronavirus spikes are resistant to conformational changes induced by receptor recognition or proteolysis", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 8, no. 1, 24 October 2018 (2018-10-24), XP055734535, DOI: 10.1038/s41598-018-34171-7 -----	1,2, 5-108, 153-251
A	US 2019/240317 A1 (CIARAMELLA GIUSEPPE [US] ET AL) 8 August 2019 (2019-08-08) -----	1,2, 5-108, 153-251
A	US 2020/061185 A1 (GRAHAM BARNEY [US] ET AL) 27 February 2020 (2020-02-27) -----	1,2, 5-108, 153-251
Y,P	DAO THI LOI ET AL: "SARS-CoV-2 Infectivity and Severity of COVID-19 According to SARS-CoV-2 Variants: Current Evidence", JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE, vol. 10, no. 12, 15 June 2021 (2021-06-15) , page 2635, XP055871401, DOI: 10.3390/jcm10122635 *** TABLE 1, Figure 2 *** -----	1,2, 5-108, 153-251
X,P	US 10 953 089 B1 (SMITH GALE [US] ET AL) 23 March 2021 (2021-03-23)	1,2
Y,P	*** SEQ ID NO: 84 *** -----	5-108, 153-251

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/062127

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/062127**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 2, 5-108, 153-251(all partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

50

International Application No. PCT/IB2021/062127

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1, 2, 5-108, 153-251(all partially)

RNA coding for SARS-CoV-2 spike protein, mutated at position K986 and/or V987 relative to SEQ ID NO: 1, composition comprising it, vaccine comprising said composition, kit comprising any of the former, medical use thereof

2-35. claims: 1, 2, 5-108, 153-251(all partially)

Like invention 1 but mutated in position A67, H69, V70, T95, G142, V143, Y144, Y145, N211, L212, 214, G339, S371, S373, S375, S477, T478, E484, Q493, G496, Q498, N501, Y505, T547, D614, H655, N679, P681, N764, D796, N856, Q954, N969, or L981 relative to SEQ ID NO: 1

36-70. claims: 3-108, 153-251(all partially)

Like inventions 1-35, but comprising additional mutations at the positions corresponding to L452, E484, P681, E154, D614, and Q1071, or L452, P681, T19, E156, F157, R158, T478, D614, and D950, relative to the sequence of SEQ ID NO. 1.

71. claims: 1-108, 153-251(all partially)

Group of inventions, like inventions 1-70, but relating to immunogenic fragments or variants of said SARS-CoV-2 spike proteins

72. claims: 109-152(completely); 153-174, 212-251(partially)

Group of inventions relating to RNA coding for SARS-CoV-2 spike protein mutant, or immunogenic fragment or variant, and comprising heterologous UTR, composition comprising it, vaccine comprising said composition, kit comprising any of the former, medical use thereof

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2021/062127

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2019351048	A1	21-11-2019	EP 3558356 A2	30-10-2019
			US 2019351048 A1	21-11-2019
			US 2021401971 A1	30-12-2021
			WO 2018115527 A2	28-06-2018

US 2019240317	A1	08-08-2019	DE 20164728 T1	30-09-2021
			EP 3364983 A2	29-08-2018
			EP 3718565 A1	07-10-2020
			EP 4011451 A1	15-06-2022
			MA 47016 A	29-08-2018
			MA 52645 A	24-03-2021
			TW 201729835 A	01-09-2017
			US 2017340725 A1	30-11-2017
			US 2018326045 A1	15-11-2018
			US 2019216917 A1	18-07-2019
			US 2019240317 A1	08-08-2019
			US 2020197510 A1	25-06-2020
			US 2020282046 A1	10-09-2020
			US 2020405844 A1	31-12-2020
			WO 2017070626 A2	27-04-2017

US 2020061185	A1	27-02-2020	EP 3532095 A1	04-09-2019
			US 2020061185 A1	27-02-2020
			US 2021275664 A1	09-09-2021
			WO 2018081318 A1	03-05-2018

US 10953089	B1	23-03-2021	US 10953089 B1	23-03-2021
			US 2021228708 A1	29-07-2021
			US 2021228709 A1	29-07-2021
			US 2022125914 A1	28-04-2022

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 9/127(2006.01)	A 6 1 K 9/127	
A 6 1 K 9/51 (2006.01)	A 6 1 K 9/51	
C 1 2 N 15/88 (2006.01)	C 1 2 N 15/88	Z

(32)優先日 令和3年7月14日(2021.7.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

(31)優先権主張番号 PCT/EP2021/069632

(32)優先日 令和3年7月14日(2021.7.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

2. T W E E N

弁理士法人平木国際特許事務所

(72)発明者 ロート, ニコル

ドイツ連邦共和国 7 2 0 7 6 テュービンゲン, フリードリッヒ-ミーツシャー-シュトラッセ 1 5, キュアバック アーゲー, アイピー デパートメント

(72)発明者 モレノ, ディエゴ チャベス

ドイツ連邦共和国 7 2 0 7 6 テュービンゲン, フリードリッヒ-ミーツシャー-シュトラッセ 1 5, キュアバック アーゲー, アイピー デパートメント

(72)発明者 グロース, ハンス ヴォルフガング

ドイツ連邦共和国 7 2 0 7 6 テュービンゲン, フリードリッヒ-ミーツシャー-シュトラッセ 1 5, キュアバック アーゲー, アイピー デパートメント

(72)発明者 ファーレンホルスト, ドミニク

ドイツ連邦共和国 7 2 0 7 6 テュービンゲン, フリードリッヒ-ミーツシャー-シュトラッセ 1 5, キュアバック アーゲー, アイピー デパートメント

(72)発明者 ラウホ, スザンネ

ドイツ連邦共和国 7 2 0 7 6 テュービンゲン, フリードリッヒ-ミーツシャー-シュトラッセ 1 5, キュアバック アーゲー, アイピー デパートメント

F ターム (参考) 4C076 AA19 AA65 CC06

4C085 AA03 BA71 CC08 CC21 EE01

4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA05 NA14 ZB33