



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202203970 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 02 月 01 日

(21) 申請案號：110112995 (22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 04 月 12 日

(51) Int. Cl. : *A61K39/42 (2006.01)* *C07K14/165 (2006.01)*
C07K16/10 (2006.01) *C12N15/50 (2006.01)*
C12N15/861 (2006.01) *A61P31/14 (2006.01)*

(30) 優先權：2020/04/10 美國 63/008,298
 2021/04/09 世界智慧財產權組織 PCT/IB2021/052977

(71) 申請人：加拿大商 I G Y 免疫科技生命科學公司 (加拿大) IGY IMMUNE TECHNOLOGIES AND LIFE SCIENCES INC. (CA)
 加拿大

(72) 發明人：尼桂恩 桓胡 NGUYEN, HUAN HUU (US)；戴克 特里 N DYCK, TERRY N. (US)

(74) 代理人：閻啓泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：4 共 35 頁

(54) 名稱

靶向冠狀病毒的 IgY 免疫球蛋白、其製備方法、及其使用方法

(57) 摘要

本發明提供一種製備組成物或疫苗之方法，該等組成物或疫苗用於針對冠狀病毒對產蛋家禽，諸如母雞，進行免疫接種或疫苗接種。可收集蛋且可提取及純化冠狀病毒特異性 IgY 抗體。可使用冠狀病毒特異性 IgY 免疫球蛋白組成物來治療暴露於冠狀病毒、易患冠狀病毒或感染冠狀病毒的個體。

The present disclosure provides a method of preparing compositions or vaccines for immunizing or vaccinating egg-laying fowl such as hens against coronavirus. The eggs can be collected and the coronavirus-specific IgY antibodies can be extracted and purified. The coronavirus-specific IgY immunoglobulin composition can be used to treat individuals exposed to, susceptible to, or infected with coronavirus.

指定代表圖：

製備冠狀病毒特異性IgY組成物之方法

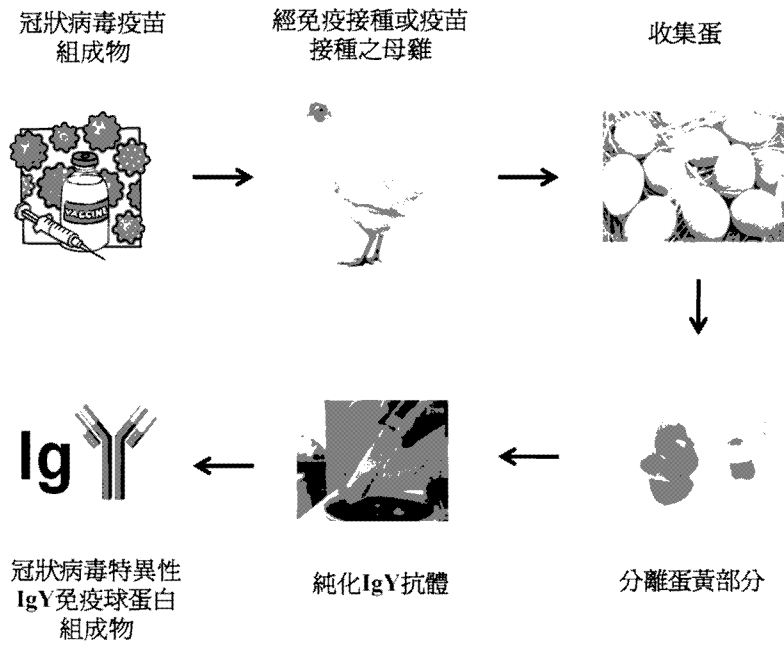


圖1



202203970

【發明摘要】

【中文發明名稱】 靶向冠狀病毒的IgY免疫球蛋白、其製備方法、及其使用方法

【英文發明名稱】 IGY IMMUNOGLOBULINS TARGETING
CORONAVIRUS, METHODS OF PREPARING SAME,
AND METHODS OF USING SAME

【中文】

本發明提供一種製備組成物或疫苗之方法，該等組成物或疫苗用於針對冠狀病毒對產蛋家禽，諸如母雞，進行免疫接種或疫苗接種。可收集蛋且可提取及純化冠狀病毒特異性IgY抗體。可使用冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物來治療暴露於冠狀病毒、易患冠狀病毒或感染冠狀病毒的個體。

【英文】

The present disclosure provides a method of preparing compositions or vaccines for immunizing or vaccinating egg-laying fowl such as hens against coronavirus. The eggs can be collected and the coronavirus-specific IgY antibodies can be extracted and purified. The coronavirus-specific IgY immunoglobulin composition can be used to treat individuals exposed to, susceptible to, or infected with coronavirus.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 靶向冠狀病毒的IgY免疫球蛋白、其製備方法、及其使用方法

【英文發明名稱】 IGY IMMUNOGLOBULINS TARGETING
CORONAVIRUS, METHODS OF PREPARING SAME,
AND METHODS OF USING SAME

【技術領域】

【0001】 本發明大體上係關於來自對冠狀病毒具有特異性之產蛋家禽的免疫球蛋白。本發明亦係關於免疫接種之方法及治療或預防冠狀病毒感染之方法。對本文所揭示之冠狀病毒具有特異性的免疫球蛋白對感染或易患冠狀病毒之個體提供廣譜免疫。

相關申請案之交叉參考

【0002】 本申請案主張2020年4月10日申請之美國臨時申請案63/008,298之權益，其以全文引用之方式併入本文中。

序列表

【0003】 本申請案含有序列表，該等序列表已以電子方式呈ASCII格式提交且以全文引用之方式併入本文中。該ASCII複本創建於2021年4月9日，係命名為1401870.00012.txt之序列表，且大小為8,192位元組。

【先前技術】

【0004】 冠狀病毒病19（COVID-19）為由嚴重急性呼吸道冠狀病毒症候

群2 (SARS-CoV-2) 引起之高度傳染性及病原性病毒感染，其起源於中國武漢且已在全世界擴散。基因體分析已展示SARS-CoV-2與嚴重急性呼吸症候群類 (SARS類) 蝙蝠病毒在系統發生學上相關，因此蝙蝠可為主要貯主。起源及轉移至人類之中間來源為未知的，但已廣泛確定人類向人類的快速傳播。當前沒有可獲得的臨床批准之針對COVID-19使用之抗病毒藥物或疫苗。然而，在臨床試驗中，很少有針對COVID-19評定會引起臨床恢復的廣譜抗病毒藥物。

【0005】 冠狀病毒屬於冠狀病毒科家族，為網巢病毒目(Nidovirales)。「冠狀 (corona)」表示病毒表面上的冠樣棘；因此，其命名為冠狀病毒。冠狀病毒尺寸微小 (直徑為65-125 nm) 且含有單股RNA作為核酸物質，長度尺寸在26至32 kb範圍內。(Anthony R. Fehr等人，在1頁)。冠狀病毒家族之子群係阿爾法 (α)、貝塔 (β)、伽瑪 (γ) 及德爾塔 (δ) 冠狀病毒。大部分冠狀病毒會在人類及脊椎動物中引起傳染性疾病。 α -CoV及 β -CoV主要感染人類及哺乳動物之呼吸道、胃腸道及中樞神經系統，而 γ -CoV及 δ -CoV主要感染鳥類 (Stanley Perlman等人，在1頁) (Yudong Yin等人，在132頁)。通常，數個冠狀病毒成員在人類中引起輕度呼吸道疾病；然而，分別在2002-2003年及2012年爆發之SARS-CoV及中東呼吸症候群冠狀病毒 (Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV) 引起致命的嚴重呼吸道疾病 (Kathryn V. Holmes等人，在1949頁)。SARS-CoV及MERS-CoV屬於 β -CoV。2019-nCoV根據基於病毒基因體之系統發生分析亦屬於 β -CoV (Fan Wu等人，在267頁)。儘管核苷酸序列相似性在2019-nCoV及SARS-CoV (約79%) 或MERS-CoV (約50%) 之間小於80%，但2019-nCoV亦可引起致命感染且比兩種其他冠狀病毒擴散更快 (Peng Zhou等人，在270頁)。

【0006】 起初，使用干擾素- α 噴霧、廣譜抗生素及抗病毒藥物來減少病毒負荷 (Chen Seng Ng等人，在2頁)、(Ben X Wnag等人，在1頁)、(Manli Wang等人，在269頁)，然而，僅瑞德西韋 (remdesivir) 對病毒展示出了有希望的效果

(Maria L. Agostini等人, 在1頁)。僅瑞德西韋以及與氯奎或干擾素 β 之組合顯著阻斷SARS-CoV-2複製, 且宣佈患者臨床恢復(Timothy P. Sheahan等人, 在10頁)、(Michelle L. Holshue等人, 在931頁)、(Manli Wang等人, 在270頁)。當前正在針對感染對多種其他抗病毒劑進行評估。當針對患者之感染及試管內臨床分離株測試萘莫司他(Nafamostat)、硝唑尼特(Nitazoxanide)、利巴韋林(Ribavirin)、噴昔洛韋(Penciclovir)、法匹拉韋(Favipiravir)、利托那韋(Ritonavir)、AAK1、巴瑞替尼(Baricitinib)及阿比朵爾(Arbidol)時, 該等藥物呈現出中等程度的結果(Timothy P. Sheahan等人, 在10頁)、(Peter Richardson等人, 在30頁)、(Manli Wang等人, 在270頁)。亦針對人類及小鼠中SARS-CoV-2誘導之感染評估若干組合, 諸如將抗病毒劑或抗生素與傳統中藥組合(Timothy P. Sheahan等人, 在3頁)。最近在上海, 醫生自臨床上COVID-19恢復之患者分離血漿且將其注射於展示陽性結果的受感染患者中, 得到快速恢復(Muhammad Adnam Shereen等人, 在94頁)。在近期研究中, 確定出單株抗體(CR3022)與SARS-CoV-2之棘RBD結合。此可能歸因於抗體之抗原決定基不與發散ACE2受體結合模體重疊。CR3022有可能單獨或與其他中和抗體組合作為治療候選物研發以用於預防及治療COVID-19感染(Muhammad Adnam Shereen等人, 在93頁)。

【發明內容】

【0007】 本發明人研發出一種使用編碼冠狀病毒抗原之腺病毒載體及/或包含冠狀病毒抗原或冠狀病毒重組蛋白之組成物生產冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白的方法。腺病毒載體編碼冠狀病毒抗原及/或組成物冠狀病毒抗原或重組蛋白且可單獨地或組合使用以對產蛋家禽, 諸如母雞, 進行免疫接種或疫苗接種, 以產生對冠狀病毒具有廣譜特異性之多株免疫球蛋白。IgY免疫球蛋白或抗體可自雞蛋蛋黃部分提取及純化。所產生之抗體可用於預防病毒黏附、病毒擴

散、治療冠狀病毒感染或預防冠狀病毒感染。來自家禽或鳥類之IgY同型抗體尤其適用於此等應用。

【0008】 可經鼻內及/或經口投予冠狀病毒特異性免疫球蛋白以用於治療感染冠狀病毒之個體。替代地或另外，免疫球蛋白可投予先前暴露於或在其他情況下易患冠狀病毒感染之個體。冠狀病毒特異性免疫球蛋白可呈液體或凍乾粉末形式，其在投予之前以以下劑量復原：可有效減少、緩解或消除被感染個體之症狀的劑量，或以可有效預防感染或降低先前暴露或易患冠狀病毒感染之個體的感染或症狀之嚴重程度的劑量。

【0009】 本文所揭示之一個具體實例中為一種治療患有冠狀病毒感染之個體之冠狀病毒感染的方法，該方法包含向產蛋家禽投予第一組成物，該第一組成物包含編碼一或多種冠狀病毒抗原之一或多種腺病毒載體；以及向患有冠狀病毒感染之個體提供第二組成物，該第二組成物包含來自被投予第一組成物之產蛋家禽的蛋黃之水溶性部分。

【0010】 本文亦揭示治療冠狀病毒感染之方法，其中該第二組成物以一定量向患有冠狀病毒感染之個體投予，該量提供患有冠狀病毒感染之個體每公斤體重約0.25 mg至約1.0 mg蛋黃之水溶性部分之劑量。

【0011】 在另一例示具體實例中，為治療冠狀病毒感染之方法，其中第二組成物係經鼻內投予。

【0012】 在一個態樣中，為治療冠狀病毒感染的方法，其中第二組成物向患有冠狀病毒感染的個體投予超過一次。

【0013】 在一個態樣中，為治療冠狀病毒感染之方法，其中向產蛋家禽投予第一組成物超過一次。

【0014】 在另一態樣中，為治療冠狀病毒感染之方法，其中在投予第一組成物之後至少14天，第二次向產蛋家禽投予第一組成物。

【0015】 在本文所揭示之一個具體實例中，為治療冠狀病毒感染之方法，其中在投予第一組成物之後至少14天，向產蛋家禽投予額外的組成物。

【0016】 在另一態樣中，為治療冠狀病毒感染之方法，額外組成物包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原的腺病毒載體、冠狀病毒重組蛋白及/或表現經錨定的棘蛋白的不活化新城雞瘟病毒。

【0017】 本文所揭示之一個具體實例為一種預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，該方法包含向產蛋家禽投予第一組成物，該第一組成物包含編碼一或多種冠狀病毒抗原之一或多種腺病毒載體；以及向該個體提供第二組成物，該第二組成物包含來自已被投予第一組成物之產蛋家禽的蛋黃之水溶性部分。

【0018】 在本文所揭示之另一具體實例中，預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，其中該第二組成物係以提供個體每公斤體重約0.25 mg至約1.0 mg蛋黃之水溶性部分之劑量的量投予個體。

【0019】 在本文所揭示之另一具體實例中，為預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，其中第二組成物係經鼻內投予。

【0020】 在另一態樣中，為預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，其中第二組成物向個體投予超過一次。

【0021】 在另一具體實例中，為預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病毒感染、減少其發病率及/或降低其嚴重程度的方法，其中第一組成物向產蛋家禽投予超過一次。

【0022】 在另一態樣中，為預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病

毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，其中在投予第一組成物之後至少14天，第二次向產蛋家禽投予第一組成物。

【0023】 在另一態樣中，為預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，其中在投予第一組成物之後至少14天，向產蛋家禽投予額外藥劑。

【0024】 在本文所揭示之另一具體實例中，為預防處於冠狀病毒感染風險下之個體之冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，其中該額外組成物包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原的腺病毒載體、冠狀病毒重組蛋白及/或表現經錨定的棘蛋白的不活化新城雞瘟病毒。

【0025】 亦應理解，本發明涵蓋一種生產可有效治療、預防被感染個體之冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的可經鼻內投予之組成物的方法，該方法包含將已自被投予編碼一或多種冠狀病毒抗原之一或多種腺病毒載體的產蛋家禽獲得的蛋黃之水溶性部分添加至溶液中，從而形成該組成物。

【0026】 本文所揭示之另一具體實例，為一種單位劑型，其包含治療或預防有效量之包含蛋黃之水溶性部分的組成物，該水溶性部分已自被投予編碼一或多種冠狀病毒抗原之一或多種腺病毒載體的產蛋家禽獲得。

【0027】 在另一態樣中，為特異性針對冠狀病毒之免疫球蛋白，其用於治療及/或預防處於冠狀病毒感染風險下之個體的該冠狀病毒感染。

【圖式簡單說明】

【0028】 **【圖1】**展示一種製成冠狀病毒疫苗組成物之方法的具體實例、一種對產蛋家禽（諸如母雞）進行免疫接種或疫苗接種以產生冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白之方法的具體實例，及一種用於收集及純化來自經免疫接種或疫苗接種之母雞所產之蛋的IgY免疫球蛋白之方法的具體實例。

【0029】 [圖2]展示一種治療暴露於冠狀病毒、易患冠狀病毒或感染冠狀病毒之個體的方法之具體實例。

【0030】 [圖3]展示與未經疫苗接種或對照母雞（食用蛋IgY）相比，來自經免疫接種或疫苗接種之母雞的冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白之特異性。

【0031】 [圖4]展示與未經疫苗接種或對照母雞（食用蛋IgY及核蛋白衣特異性IgY）相比，來自經免疫接種或疫苗接種之母雞的冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白（AdV-S誘導之IgY）之病毒中和活性。

【實施方式】

【0032】 定義

【0033】 下文提供一些定義。儘管如此，定義可位於下文之「具體實例」章節中，且以上標題「定義」不意謂「具體實例」章節中之此等揭示內容並非定義。

【0034】 如本文所用，「約（about）」、「大致（approximately）」及「實質上（substantially）」應理解為係指在數值範圍內的數字，例如，在參考數字之-10%至+10%、較佳參考數字之-5%至+5%、更佳參考數字之-1%至+1%、最佳參考數字之-0.1%至+0.1%範圍內的數字。

【0035】 本文中之所有數值範圍應理解為包括範圍內之所有整數、全部或分數。此外，此等數值範圍應解釋為對涉及該範圍內之任何數字或數字子集的技術方案提供支持。例如，1至10之揭示內容應解釋為支持1至8、3至7、1至9、3.6至4.6、3.5至9.9等之範圍。

【0036】 如本發明及隨附申請專利範圍中所用，除非上下文另外明確指示，否則單數形式「一（a）」、「一（an）」及「該（等）（the）」包括複數個指示物。因此，例如，參考組分「一組分（a component）」或「該組分（the component）」

包括兩個或更多個組分。

【0037】 詞語「包含 (comprise)」、「包含 (comprises)」及「包含 (comprising)」解譯為包括在內的而非排他性的。同樣地，除非上下文明確禁用此構造，否則術語「包括 (include)」、「包括 (including)」、「含有 (containing)」及「具有 (having)」應解釋為包括在內的。此外，在此方面，此等術語指定所陳述特徵之存在，但並不排除額外或其他特徵之存在。

【0038】 儘管如此，本文中所揭示之組成物及方法可能缺乏本文中未特定揭示之任何要素。因此，使用術語「包含 (comprising)」之具體實例之揭示內容為 (i) 具有經鑑別組分或步驟以及額外組分或步驟之具體實例之揭示內容，(ii) 「基本上由」經鑑別組分或步驟「組成 (consisting essentially of)」之具體實例之揭示內容，及 (iii) 「由」經鑑別組分或步驟「組成 (consisting of)」之具體實例之揭示內容。本文所揭示之任何具體實例可與本文所揭示之任何其他具體實例組合。

【0039】 用於「X及/或Y (X and/or Y)」之情形中的術語「及/或 (and/or)」應解釋為「X」或「Y」，或「X及Y (X and Y)」。類似地，「X或Y中之至少一者 (at least one of X or Y)」應解釋為「X」或「Y」，或「X及Y (X and Y)」。

【0040】 在本文中所使用的情況下，術語「實例 (example)」及「諸如 (such as)」尤其在繼之以術語清單時，僅僅為例示性及說明性的，且不應被視為排他性或全面的。

【0041】 「個體 (subject)」或「個體 (individual)」係哺乳動物，較佳地為人類。

【0042】 如本文所用，「有效量 (effective amount)」係一段時間內預防感染、治療個體之疾病或醫學病狀，或更一般而言，減少症狀、管理疾病進展或減輕病毒感染的量。

【0043】 術語「家禽 (fowl)」係指野生、家養或馴養產蛋家禽，諸如雞或母雞、鴨、天鵝、鵝、火雞、孔雀、母珠雞、駝鳥、鴿、鸚鵡、野雞、鴿子或其他家養產蛋家禽。術語「家禽 (fowl)」、「產蛋家禽 (egg-laying fowl)」、「雞 (chicken)」及/或「母雞 (hen)」在本文中可互換使用。

【0044】 術語「免疫球蛋白 (immunoglobulin)」或「抗體 (antibody)」係指產自於白血球及淋巴球的糖蛋白分子，該等白血球及淋巴球藉由特異性識別特定抗原及結合於特定抗原且輔助其中和而參與身體之免疫系統及免疫反應。術語「免疫球蛋白 (immunoglobulins)」、「抗體 (antibodies)」及「IgY」在本文中可互換使用。

【0045】 術語「抗原 (antigen)」、「免疫原 (immunogen)」或「半抗原 (hapten)」係指一種物質或結構或小分子，其對於身體而言為外來的或被感知為外來的，且單獨或在與較大分子形成複合物之後引起免疫反應。

【0046】 術語「被動免疫 (passive immunity)」或「被動免疫接種 (passive immunization)」係指由於將抗體自另一個人、動物、物種或其他外部來源引入個體中而引起的免疫。

【0047】 術語「主動免疫 (active immunity)」或「主動免疫接種 (active immunization)」係指由於將抗原天然及/或人工引入至個體中而引起的免疫。

【0048】 在本發明內，術語「免疫接種 (immunize)」或「疫苗接種 (vaccinate)」可互換使用。

【0049】 術語「佐劑 (adjuvant)」或「免疫佐劑 (immunologic adjuvant)」係指通常添加至疫苗中以刺激個體免疫系統反應之物質。

【0050】 術語「治療 (treatment)」及「治療 (treat)」包括預防性治療或預防治療（預防及/或減緩目標病理性病狀、感染、病症或疾病發展）及治癒性、治療性或疾病緩解性治療（包括治癒、減緩、減輕經診斷病理性病狀、感染、病

症或疾病之症狀及/或停止經診斷病理性病狀、感染、病症或疾病進程的治療措施)。治療處於感染疾病或受感染風險下或疑似已感染疾病或已受感染之個體以及患有或已診斷罹患病理性病狀、感染、病症或疾病之個體意欲包括在內。術語「治療 (treatment)」及「治療 (treat)」不一定意味著給個體進行治療直至完全恢復。術語「治療 (treatment)」及「治療 (treat)」亦指維持及/或促進未罹患病理性病狀、感染、病症或疾病但可能易患病理性病狀、感染、病症或疾病的個體的健康。術語「治療 (treatment)」及「治療 (treat)」亦意欲包括強化或以其他方式增強一或多種主要預防或治療措施。作為非限制性實例，可以由醫生、保健專家或其他人員進行治療。

【0051】 如本文所用，術語「單位劑型 (unit dosage form)」係指適合作為單位劑量用於個體之物理離散單元，各單元含有預定量之本文中所揭示之組成物，該量與醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或媒劑結合足以產生所需功效。單位劑型之規格視所用特定化合物、欲達成之功效及與宿主中之各化合物相關的藥力學而定。

【0052】 術語「無菌 (sterile)」應理解為意謂不含任何細菌或其他活微生物。

【0053】 如本文所用，術語「醫藥學上可接受 (pharmaceutically acceptable)」係指當向個體投予時不會引起實質上有害的過敏反應或免疫反應之物質。

【0054】 術語「食物 (food)」、「食品 (food product)」及「食物組成物 (food composition)」意謂意欲由動物攝取且向動物提供至少一種營養素的產品或組成物。食品之較佳具體實例包括蛋白質、碳水化合物、脂質、維生素或礦物質中之至少一者。食品可包括大量營養素及/或微量營養素。

【0055】 如本文所用，術語「mM」係指水溶液之莫耳濃度單位，其為

mmol/L。舉例而言，1.0 mM等於1.0 mmol/L。

【0056】 如參考特定組分所用，術語「實質上不 (substantially no)」、「基本上不含 (essentially free)」或「實質上不含 (substantially free)」意謂所存在組分中之任一者佔不超過約3.0重量%，諸如不超過約2.0重量%、不超過約1.0重量%、較佳不超過約0.5重量%或更佳不超過約0.1重量%。

【0057】 除非另外表示，否則本文中所表達之所有重量百分比均以組成物之總重量計。當在本文中提及pH時，值對應於用標準設備在約25°C下量測之pH。「環境溫度 (ambient temperature)」或「室溫 (room temperature)」在約15°C與約25°C之間，且環境壓力為約100 kPa。

【0058】 在本發明內，術語「免疫接種 (immunize)」或「疫苗接種 (vaccinate)」可互換使用。

【0059】 術語「分離 (isolated)」意謂自天然狀態變化或移除。舉例而言，天然存在於活動物中之蛋白質不被「分離」，而與其天然狀態之所有或一些共存物質部分或完全分開的相同蛋白質經「分離」。

【0060】 術語「肽 (peptide)」、「蛋白質 (protein)」或「多肽 (polypeptide)」係指藉由肽鍵共價連接之胺基酸殘基之聚合物。本文所用之術語「肽 (peptides)」、「蛋白質 (proteins)」或「多肽 (polypeptides)」亦可指胺基酸之聚合物，其中胺基酸中之一或多者可為經修飾殘基，諸如人工胺基酸模擬物或合成胺基酸殘基。術語「肽」、「蛋白質」或「多肽」可互換使用。

【0061】 本發明大體上係關於IgY組成物，其包含來自產蛋家禽之經純化多株IgY免疫球蛋白或抗體。組成物可在無菌緩衝液，諸如鹽水中稀釋。IgY組成物可用於預防或治療冠狀病毒感染及/或減少或消除冠狀病毒感染之症狀。

【0062】 IgY組成物之冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組分之一一些具體實例係藉由一種方法獲得，該方法包含收集先前針對冠狀病毒進行主動疫苗接種

或免疫接種之家禽所產之蛋，及自蛋之蛋黃部分分離抗體部分。產蛋家禽較佳為馴養家禽。馴養家禽較佳為馴養雞。可飼養馴養雞以用於生產蛋或肉。

【0063】 一些具體實例係關於一種製備待投予至產蛋家禽之第一組成物或疫苗的方法。第一組成物或疫苗可包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原之腺病毒載體及/或包含冠狀病毒抗原或冠狀病毒重組蛋白之組成物。第一組成物或疫苗可用於針對冠狀病毒對產蛋家禽進行主動疫苗接種或免疫接種。蛋可自免疫接種或疫苗接種之產蛋家禽收集，且IgY免疫球蛋白或抗體（亦即抗體部分）接著可自蛋黃提取且純化（**圖1**）。

【0064】 一些具體實例提供一種製備第一組成物或疫苗之方法，其包含出於使家禽免疫接種或疫苗接種以產生冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白或抗體之目的而製備待向產蛋家禽投予之冠狀病毒抗原或重組蛋白。腺病毒載體可使用嚴重急性呼吸症候群（Severe acute respiratory syndrome, SARS）冠狀病毒2棘蛋白之核苷酸序列（亦即冠狀病毒棘蛋白基因；Genbank寄存編號NC_045512.2；SEQ ID NO: 1）編碼冠狀病毒抗原。另外或替代地，不具有跨膜域（亦即SARS-Cov-2棘蛋白之胞外域）之冠狀病毒棘蛋白基因之核苷酸序列可經密碼子最佳化以便在家養雞中表現（Genscript）。所選核苷酸序列可選殖至pCI（Promega）中，介於來自巨細胞病毒（CMV）之立即早期強化子/啟動子與來自SV40之終止子/聚腺苷酸化信號之間。質體DNA可使用NoEndo JETSTAR質體套組（Genomed, Germany）或所屬技術領域中具有通常知識者已知之任何其他方法純化。經純化之DNA（亦即質體）可以懸浮於pH約7.4之適合的緩衝液（例如PBS）中。此經純化之DNA（亦即質體）可用於產生冠狀病毒抗原或冠狀病毒重組蛋白，或另外地或替代地，如下文所述，該經純化之DNA（亦即質體）可用作DNA疫苗以追加免疫接種或再免疫接種產蛋家禽。

【0065】 為產生冠狀病毒抗原或重組蛋白，大致62 µg至大致250 µg之經

純化DNA(亦即質體)可如製造商所建議的與Lipofectin轉染劑(Life Technologies, USA)組合,或該DNA可與任何可比的轉染劑組合。DNA可次選殖至pFastBacgp67轉移質體(GenScript)或任何其他可比方法或試劑中。所得桿狀病毒轉移載體可接著轉化為勝任型DH 10Bac重組大腸桿菌細胞,以產生重組桿狀病毒質體DNA(Bacmid DNA)。重組桿狀病毒質體可使用轉染試劑轉移至Sf9昆蟲細胞(例如但不限於草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*))或其他可比細胞上,且可收集、檢驗及純化所表現之冠狀病毒重組蛋白或冠狀病毒抗原。

【0066】 另一具體實例提供一種製備包含一或多種編碼冠狀病毒抗原之腺病毒載體的第一組成物或疫苗之方法,出於對母雞進行免疫接種或疫苗接種以產生冠狀病毒特異性免疫球蛋白之目的,該第一組成物或疫苗待投予至母雞或產蛋家禽。編碼冠狀病毒抗原的腺病毒載體可以使用SARS冠狀病毒2棘蛋白(SEQ ID NO: 1)的核苷酸序列產生。基因可選殖至pShuttle/CMV質體中以允許與編碼BJ5183大腸桿菌中之腺病毒主鏈的質體同源重組。重組腺病毒載體可藉由將含有編碼轉殖基因的經生物工程改造之腺病毒基因體的質體轉染至293細胞中產生。所得的所產生之載體(AdV-S)可根據AdEasy手動或所屬技術領域中具有通常知識者已知之類似方法純化及滴定。替代地,腺病毒載體可使用任何市售系統,諸如由Vector Biolabs研發之Ad-HQ系統構建。

【0067】 另一具體實例提供一種製備及儲存第一組成物或疫苗之方法,該第一組成物或疫苗包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原之腺病毒載體及/或包含冠狀病毒抗原或冠狀病毒重組蛋白之組成物,其與鹽水或相當的溶液呈等分試樣(例如約1 ml)形式,其濃度適合於經由肌肉內注射對母雞進行疫苗接種或免疫接種。

【0068】 本發明之另一態樣大體上係關於製備第一組成物或疫苗的方法,該第一組成物或疫苗包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原之腺病

毒載體及/或包含冠狀病毒抗原或重組蛋白之組成物，其與佐劑呈等分試樣乳化。

【0069】 另一具體實例提供一種向產蛋家禽投予第一組成物或冠狀病毒疫苗的方法，該第一組成物或疫苗包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原的腺病毒載體，及/或包含冠狀病毒抗原或冠狀病毒重組蛋白的組成物。組成物或冠狀病毒疫苗可肌肉投予至產蛋家禽或母雞中。在一些具體實例中，將第一組成物或冠狀病毒疫苗之至少一部分（最佳地，全部）注射至母雞之胸部中，例如母雞左胸中之第一部分及母雞右胸中之第二部分，視情況呈大致相等量，諸如約500 mL至右胸中及約500 mL至左胸中。可在初始免疫接種之後（例如在初始免疫接種之後約7天及/或在初始免疫接種之後約14天）對母雞進行再免疫接種。再免疫接種組成物可為最初用於對該等產蛋家禽或母雞進行免疫接種之相同組成物或疫苗，或用於再免疫接種之組成物或疫苗可為包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原之腺病毒載體及/或包含冠狀病毒抗原或重組蛋白之組成物的不同組成物。較佳地，免疫接種或重複免疫接種應相對於先前免疫接種在約7天至約28天內發生。初始免疫接種及任何再免疫接種之後（例如初始免疫接種之後約二十七天），可在一或多天內收集由經免疫接種之母雞所產的蛋，以純化冠狀病毒特異性IgY抗體。替代地，可在免疫接種時段期間連續收集蛋。

【0070】 另外或替代地，投予產蛋家禽之再免疫接種組成物可為不活化的表現經錨定的棘蛋白（NDV-S；SEQ ID NO: 1）之新城雞瘟病毒。

【0071】 一些具體實例提供一種自經免疫接種或疫苗接種之母雞所產之蛋收集、分離及純化冠狀病毒特異性IgY之方法。可自蛋黃或水溶性部分獲得冠狀病毒特異性IgY抗體。可收集一或多個蛋黃且用冷卻HCl（例如約3 mM HCl）稀釋約10倍，得到pH值約5之懸浮液（用大致10%乙酸調整）。懸浮液可經冷凍，例如在約-20°C下隔夜。在解凍至預定溫度後，混合物可在大致4°C下在約13,000×g下離心約15分鐘，且可收集含有IgY抗體之上清液。IgY抗體可藉由所屬

技術領域中具有通常知識者已知之各種沈澱方法，諸如使用硫酸銨或生物相容性氯化鈉進一步純化。(參見Hodek, P.等人, *Optimized Protocol of Chicken Antibody (IgY) Purification Providing Electrophoretically Homogenous Preparations*, 8 Int. J. Electrochem. Sci.113, 113-124 (2013))。

【0072】 在一些具體實例中，IgY純化進一步包含收集來自針對冠狀病毒經疫苗接種或免疫接種之母雞的蛋。可分離蛋黃部分且用諸如水之溶液稀釋。脂質可使用重力與水溶性蛋白質分離。水溶性部分可進一步用超過濾(UF)系統濃縮。接著可藉由離子交換分離水溶性蛋白質及IgY抗體。可使用較粗UF過濾進一步分離冠狀病毒特異性IgY抗體。

【0073】 在一些具體實例中，冠狀病毒特異性IgY組成物部分地包含蛋黃或其任何含IgY抗體之部分。蛋黃為蛋之較佳部分，因為蛋黃通常含有比蛋白更高濃度之IgY。然而，蛋白可含有足以用於一些應用之IgY之濃度。

【0074】 在一些具體實例中，IgY自蛋之成分濃縮、分離或純化。此可藉由多種方法，例如所屬技術領域中具有通常知識者已知之方法來實現。參見Schwarzkopf and Thiele, *Effectivity of Different Methods for the Extraction and Purification of IgY*, ALTEX 13, 35-39 (1996)，其以全文引用之方式併入本文中。視需要，IgY抗體之力價可藉由免疫分析，例如酶聯結免疫吸附分析(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)測定。

【0075】 在一些具體實例中，抗體組成物係藉由一種方法製備，該方法包含：針對冠狀病毒對母雞進行主動疫苗接種，在免疫接種時段之後收集來自母雞的蛋，及自蛋黃分離抗體部分。在一些具體實例中，自母雞收集蛋可在免疫接種時段之後連續進行。

【0076】 產生具有特異性目標之IgY的其他方法為所屬技術領域中具有通常知識者已知，但尚不知曉此等方法先前已成功用於產生針對冠狀病毒之抗體。

此章節中所揭示之抗體適用於本發明中所述之方法及組成物中之任一者。

【0077】 一些具體實例係關於冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物之醫藥學上可接受之組成物，其可投予暴露於冠狀病毒、易患冠狀病毒或感染冠狀病毒的個體。

【0078】 本發明之一個態樣大體上係關於一種以每公斤體重約0.25毫克至每公斤體重約1毫克之劑量投予有效量之冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白的方法。可向個體投予冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白超過一次。

【0079】 在一個具體實例中，此類抗體呈組成物形式，諸如但不限於醫藥組成物。所揭示之組成物可包含上文所揭示之此類抗體或免疫球蛋白組成物之一或多者以及醫藥學上可接受之載劑。此類載劑及調配方法之實例可見於 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (第20版, Lippincott, Williams & Wilkins, Daniel Limmer, 編輯，其以全文引用之方式併入本文中)。為形成適用於投予之醫藥學上可接受之組成物，此類組成物將含有治療有效量之抗體。治療有效量可為黏附抑制有效量。

【0080】 本發明之醫藥組成物可用於本發明之治療及預防方法中。此類組成物以足以遞送治療有效量之抗體以便在本文所揭示之治療及預防方法中有效的量投予給人類。治療有效量可根據各種因素而變化，該等因素諸如但不限於個體病狀、體重、性別及年齡。其他因素包括投予模式及部位。醫藥組成物可以所屬技術領域中已知之任何方法提供至個體。

【0081】 本發明之組成物可向個體投予一次或向個體投予超過一次。此外，當向個體投予組成物時，超過一次，較佳地少於兩個月。可使用多種方案，諸如但不限於每天一次、每週一次、每月一次或每年一次或其間的任何變化。組成物亦可每天投予個體超過一次。組成物、抗體之治療有效量及適當給藥方案可藉由常規測試鑑別，以便獲得最佳活性，同時使任何潛在副作用降至最低。另外，

可能需要共投予或依序投予其他藥劑。

【0082】 本發明之組成物可全身性投予，諸如藉由鼻內及/或經口投予(圖2)。較佳投予途徑包括鼻內及經口。在一些具體實例中，組成物以鼻內形式投予。在一些具體實例中，經口投予組成物。

【0083】 用於冠狀病毒特異性免疫球蛋白之經口投予方法另外包括，例如單獨或與蛋白組合，經口投予未經蒸煮的蛋黃或蛋黃部分。可例如藉由吃蛋黃部分進行生蛋黃或蛋黃部分之經口投予。蛋黃部分或水溶性蛋黃部分可與其他成分組合投予，使得其更可口或營養。因此，蛋黃部分可作為食品由個體 (subject/individual) 食用；或者，蛋黃部分可作為醫藥組成物之一部分食用。其較佳為不經蒸煮或經極輕度蒸煮之蛋黃部分，因為蒸煮會使抗體失活。

【0084】 在一些具體實例中，蛋黃之水溶性部分可容易與任何類型之食品或任何用於經口投予之可食用成分混合。組成物亦可經調配以含有或提供針對個體的多量養分及微量養分要求的一部分，且可作為對個體的常規飲食的替代物或補充劑提供。組成物可提供為以下、添加至以下或與以下混合：點心、飲料、食品或其他對正常攝入食品補充之補充劑。

【0085】 本發明之組成物可進一步包含改善抗體之可溶性、半衰期、吸收率等之額外藥劑。此外，本發明之組成物可進一步包含減輕非所需副作用及/或減少抗體之毒性的藥劑。此類試劑之實例描述於多種文本中，諸如但不限於 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (第20版, Lippincott, Williams & Wilkins, Daniel Limmer, 編輯，其以全文引用之方式併入本文中。

【0086】 本發明之組成物可以廣泛多種用於投予之劑型投予。舉例而言，組成物可以諸如但不限於可注射溶液、凍乾粉末及/或顆粒之形式投予。

【0087】 在一些具體實例中，醫藥組成物可進一步包含醫藥學上可接受之載劑。此類載劑包括但不限於媒劑、佐劑、懸浮劑、惰性填充劑、稀釋劑、賦形

劑、潤濕劑、黏合劑、緩衝劑、崩解劑及/或載劑。通常，醫藥學上可接受之載劑對活性抗體具有化學惰性且在使用條件下不具有有害副作用或毒性。醫藥學上可接受之載劑可包括聚合物及聚合物基質。醫藥學上可接受之載劑之性質可視所用特定劑型及組成物之其他特性而不同。

【0088】 舉例而言，對於以固體形式（諸如但不限於粉末或顆粒）經口投予，抗體可與經口無毒的醫藥學上可接受之惰性載劑（諸如但不限於惰性填充劑、適合的黏合劑、潤滑劑、崩解劑及/或輔助劑）組合。適合的黏合劑包括，例如但不限於澱粉、明膠、天然糖（諸如葡萄糖或 β -乳糖）、玉米甜味劑、天然及合成樹膠（諸如阿拉伯膠、黃芪或海藻酸鈉）、羧甲基纖維素、聚乙二醇、蠟及其類似物。用於此等劑型之潤滑劑包括，例如但不限於油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉及其類似物。崩解劑包括，例如但不限於澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨潤土、黃原膠及其類似物。

【0089】 適用於鼻內或經口投予之調配物包括可含有抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑及使調配物與個體血液等張之溶質的水性等張無菌注射溶液，及可包括懸浮劑、增溶劑、增稠劑、穩定劑及/或防腐劑之水性懸浮液。抗體可在生理學上可接受之稀釋劑（諸如無菌液體或液體混合物，包括水、鹽水、右旋糖水溶液及/或相關糖溶液）或所屬技術領域中具有通常知識者已知之任何其他溶液中投予。

【0090】 可用於鼻內或經口調配物中之油包括，例如但不限於石油、動物、蔬菜或合成油。油之特定實例包括花生油、大豆油、芝麻油、棉籽油、玉米油、橄欖油、石蠟脂及礦物油。適用於經鼻內或經口調配物中之脂肪酸包括聚乙烯脫水山梨糖醇脂肪酸酯，諸如脫水山梨糖醇單油酸酯及環氧乙烷與藉由環氧丙烷與丙二醇、油酸、硬脂酸及異硬脂酸縮合而形成之疏水性基質的高分子量加成物。油酸乙酯及十四烷酸異丙酯為適合的脂肪酸酯之實例。適用於經鼻內調配物

中之肥皂包括脂肪鹼金屬、銨及三乙醇胺鹽，且適合的清潔劑包括：(a) 陽離子清潔劑，諸如但不限於鹵化二甲基二烷基銨及鹵化烷基吡錠；(b) 陰離子清潔劑，諸如但不限於烷基、芳基及烯烴磺酸鹽、烷基、烯烴、醚及單甘油酸酯硫酸鹽；及磺基丁二酸鹽，(c) 非離子型洗滌劑，諸如但不限於脂肪胺氧化物、脂肪酸烷醇醯胺及聚氧乙炔聚丙炔共聚物；(d) 兩性洗滌劑，諸如但不限於烷基 β -胺基丙酸酯及2-烷基咪唑啉四級銨鹽；及(e) 其混合物。

【0091】 適合的防腐劑及緩衝劑可用於此類調配物中。為使注射部位處之刺激降至最低或消除，此類組成物可含有一或多種親水親油平衡值 (hydrophile-lipophile balance, HLB) 為約12至約17之非離子界面活性劑。

【0092】 本發明之抗體亦可與作為靶向藥物載劑之可溶性聚合物偶合。此類聚合物可包括但不限於聚乙炔吡咯啉酮、哌喃共聚物、聚羥丙基甲基丙烯酸醯胺苯酚、聚羥基乙基天冬醯胺或經軟脂醯基殘基取代之聚氧化乙炔聚離胺酸 (polyethyl-eneoxidepolylysine)。此外，抗體可與一類適用於達成藥物控制釋放之生物可降解聚合物偶合，該等聚合物例如聚乳酸、聚 ϵ 己內酯、聚羥基丁酸、聚原酸酯、聚縮醛、聚二氫哌喃、聚氰基丙烯酸酯及水凝膠之交聯或兩性嵌段共聚物。

【0093】 醫藥組成物可經修改以預防個體之不良反應。此類潛在不良反應包括宿主認知、全身性過敏反應、局部發炎及其他形式之過敏反應。在異源抗體治療中之不良反應比在同源抗體治療中更常見，但在此方面已解釋IgY抗體之優點。在醫藥組成物之一些具體實例中，抗體經修飾以改變分子之Fc區。在其他具體實例中，抗體經處理以防止抗體之Fc區與細胞之Fc受體之間的結合。

【0094】 在一些具體實例中，本發明之醫藥製劑可以任何醫藥學上可接受之形式儲存，包括水溶液、冷凍水溶液、凍乾粉末或本文所述之任何其他形式。

【0095】 醫藥學上可接受之冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物之非限

制性實例較佳進一步包含消炎。

【0096】 醫藥學上可接受之冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物之非限制性實例較佳進一步包含抗體之抗原結合片段，諸如Fab或Fab2片段，其可取代該抗體。舉例而言，抗原結合片段可為包括原始IgY之抗原結合區之任何片段。在組成物及方法之一些具體實例中，IgY抗體之經修飾版本可取代IgY抗體，只要IgY抗體之抗原結合區保留其識別冠狀病毒之能力即可。

【0097】 醫藥學上可接受之冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物之非限制性實例較佳進一步包含凍乾粉末之組成物，諸如用於長期儲存及/或輸送。凍乾組成物可在用於免疫接種、疫苗接種或治療之前復原成溶液，諸如生理食鹽水至約最初體積。

【0098】 如自圖4可見，IgY抗體適用作可中和病毒之病毒黏附抑制劑。來自家禽蛋之IgY抗體為病毒黏附抑制劑之便宜且充裕的來源。此類抗體結合至帶有抗原之病毒（諸如冠狀病毒）的表面，從而防止病毒與潛在宿主細胞之間的初始接觸階段。如本發明中其他地方所解釋，預防病毒與宿主細胞之間的初始黏附階段具有許多應用，包括病毒感染之治療及病毒感染之預防。

【0099】 在病毒黏附抑制劑之一些具體實例中，抑制劑包含家禽蛋之成分，其中家禽蛋包含黏附抑制有效量的對冠狀病毒具有特異性之IgY。家禽蛋之成分可為在本發明中作為適當抗體組成物描述的任何成分。

【0100】 一些方法提供用於預防病毒對細胞之黏附。藉由病毒感染細胞之第一步驟係病毒與細胞之間的接觸及黏附。儘管此步驟對於建立感染至關重要，但在此早期預防感染之方法極少。更典型地，病毒感染使用諸如主動疫苗接種之技術抗衡，該等技術使身體產生中和病毒之抗體。若主動疫苗接種不可行，則最通常的病毒疾病僅在症狀上治療。本文所描述之方法提供一種有效手段以預防感染過程中之此早期步驟，而不需要在個體暴露於病原體之前充分投予，如主動

疫苗接種所需。

【0101】 抗體可用以藉由結合至病毒且干擾病毒結合其目標膜受體之能力來防止病毒與細胞之間的黏附（亦即病毒黏附抑制劑）。來自產蛋家禽之免疫球蛋白，諸如IgY抗體，與本申請案中之哺乳動物抗體相比，尤其當個體為哺乳動物時具有明顯優勢。如上所述，IgY抗體之優點包括IgY抗體相比於哺乳動物抗體具有更特異性、更穩定且引起更少不合需要之免疫反應形式。IgY抗體亦可容易且便宜地自蛋獲得。

【0102】 在一些具體實例中，該方法包含向個體投予一定量的可有效抑制及/或預防冠狀病毒與個體細胞之間黏附的冠狀病毒特異性免疫球蛋白。在該方法之一些具體實例中，冠狀病毒特異性免疫球蛋白或病毒黏附抑制劑包含家禽蛋之組分，該組分包含黏附抑制有效量之對冠狀病毒具有特異性的IgY。成分可為本文揭示之作為適當抗體組成物的任何成分。

【0103】 在一些具體實例中，冠狀病毒特異性免疫球蛋白組成物為包含家禽蛋之內含物的醫藥，家禽蛋之內含物包含有效量的對冠狀病毒具有特異性之IgY。該醫藥可包含如本文所論述之額外組分。醫藥可藉由所屬技術領域中已知或如本文所述之任何方法投予。

【0104】 一些具體實例提供一種用於治療暴露於冠狀病毒、易患冠狀病毒或感染冠狀病毒之個體的方法。冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物可包含其他組分作為本發明中其他地方所論述之醫藥組分。可經口及/或經鼻內投予冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物。經口投予可預防或減少胃腸道內病毒的傳播或可消除來自胃腸道的病毒。

【0105】 此類經口投予方法另外包括，單獨或與蛋白組合經口投予未經蒸熟的蛋黃或蛋黃部分。可例如藉由吃蛋黃部分進行生蛋黃或蛋黃部分之經口投予。蛋黃部分可與其他成分組合投予，使得其更可口或有營養。因此，蛋黃部分

可作為食品由個體食用；或者，蛋黃部分可作為醫藥組成物之一部分食用。其較佳為不經蒸煮或經極輕度蒸煮之蛋黃部分，因為蒸煮會使抗體失活。

【0106】 治療方法之非限制性實例包括增加劑量的冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物經鼻內、經口或組合投予，或替代地，以增加之劑量及/或頻率投予。

【0107】 一些具體實例提供一種治療經冠狀病毒感染之個體的方法，該方法包含向受感染之個體投予一定濃度或劑量的冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物，該濃度或劑量對減少、緩解或消除與冠狀病毒感染相關之症狀有影響。

【0108】 一些具體實例提供一種治療先前暴露於冠狀病毒感染或以其他方式易患冠狀病毒感染之個體的方法，該方法包含向受感染之個體投予一定濃度或劑量的冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物，該濃度或劑量對預防冠狀病毒感染或降低冠狀病毒感染之嚴重程度有影響。

【0109】 可經鼻內及/或經口投予冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物。可向個體投予冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白組成物超過一次。

實施例

【0110】 以下非限制性實施例支持使用醫藥學上可接受之冠狀病毒疫苗組成物產生用於治療受感染人類或預防人類感染之抗體的概念。

實施例1

【0111】 三組雞（n=3/組）在第1天、第7天及在第14天用冠狀病毒或腺病毒抗原組成物免疫接種。第1組接受鹽水作為對照（無抗原組成物），第2組接受使用冠狀病毒抗原組成物或腺病毒抗原組成物的初次免疫接種，接著追加免疫接種，且第3組接受使用冠狀病毒抗原組成物的3次免疫接種。第二次及第三次免

疫接種之後，採集血液樣品，使用經抗原塗佈之ELISA盤評定抗體力價。實施例1證實抗原誘導之抗體池在14天及28天之後對冠狀病毒及腺病毒具有全面特異性。

【0112】 實施例2

【0113】 三十週齡產蛋母雞用編碼無跨膜域的SARS冠狀病毒2棘蛋白（SEQ ID NO: 1）的腺病毒載體化疫苗經肌內進行免疫接種。兩週後，對其追加免疫接種或再免疫接種相同疫苗。在再免疫接種之後兩週，對產蛋母雞用含有全長胞外域序列或具有CMV啟動子（DNA-S）之SEQ ID NO: 1之DNA疫苗（亦即質體）進行進一步追加免疫接種。

【0114】 收集第一次免疫接種之後5週所產之蛋。自彙集之蛋黃分離IgY免疫球蛋白且使用水稀釋方法純化，繼而用聚乙二醇（PEG）沈澱。

【0115】 藉由ELISA測定經純化之冠狀病毒特異性免疫球蛋白之特異性，與未經疫苗接種之對照母雞進行比較（圖3），且使用病毒中和分析評定病毒中和活性，與未經疫苗接種及對照組進行比較（圖4）。如圖4中所示，觀測到病毒中和時IgY之最低濃度為0.3 mg/ml。

實施例3

【0116】 可向個體提供包含冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白之組成物。包含冠狀病毒特異性IgY免疫球蛋白之組成物可經鼻內投予及/或經口投予以用於治療感染冠狀病毒之個體（圖2）。組成物可僅向個體投予一次或向個體投予超過一次。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> IGY免疫科技生命科學公司
(IGY Immune Technologies and Life Sciences Inc.)

<120> 靶向冠狀病毒的IgY免疫球蛋白、其製備方法、及其使用方法

<130> 1401870-00012

<160> 1

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 3822

<212> DNA

<213> 嚴重急性呼吸症候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2)

<400> 1

atgtttgttt ttcttgtttt attgccacta gctctagtc agtgtgttaa tcttacaacc 60

agaactcaat taccctgc atacactaat tctttcacac gtggtgttta ttaccctgac 120

aaagttttca gatcctcagt ttacattca actcaggact tgttcttacc tttcttttcc 180

aatgttactt ggttccatgc tatacatgtc tctgggacca atggtactaa gaggtttgat 240

aacctgtcc taccatttaa tgatggtgtt tattttgctt cactgagaa gtctaacata 300

ataagaggct ggatttttgg tactacttta gattcgaaga cccagtcctt acttattgtt 360

aataacgcta ctaatgttgt tattaagtc tgtgaatttc aattttgtaa tgatccattt 420

ttgggtgttt attaccacaa aaacaacaaa agttggatgg aaagtgagtt cagagtttat 480

tctagtgcga ataattgcac ttttgaatat gctctcagc cttttcttat ggacctgaa 540

ggaaaacagg gtaatttcaa aaatcttagg gaatttgtgt ttaagaatat tgatggttat 600

tttaaaatat attcfaagca cacgcctatt aatttagtgc gtgatctccc tcagggtttt 660

tcggctttag aaccattggt agatttgcca ataggtaita acatcactag gtttcaaact 720

ttacttgctt tacatagaag ttatttgact cctggtgatt ctcttcagg ttggacagct 780

ggtgctgcag cttattatgt gggttatctt caacctagga cttttctatt aaaatataat 840

gaaaatggaa ccattacaga tgctgtagac tgtgcacttg accctctctc agaaacaaag 900

tgtagcttga aatccttcac tftagaaaa ggaatctatc aaacttctaa ctttagagtc	960
caaccaacag aatctattgt tagatttctt aatattacaa acttgtgccc ttttggtgaa	1020
gtttttaacg ccaccagatt tgcactctgt tatgcttggg acaggaagag aatcagcaac	1080
tgtgttgctg attattctgt cctatataat tccgcatcat ttccacttt taagtgttat	1140
ggagtgtctc ctactaaatt aatgatctc tgccttacta atgtctatgc agattcattt	1200
gtaattagag gtgatgaagt cagacaaatc gctccagggc aaactggaaa gattgctgat	1260
tataattata aattaccaga tgattttaca ggctgctgta tagcttggaa ttctaacaat	1320
cttgattcta aggttgggtg taattataat tacctgtata gattgtttag gaagtctaata	1380
ctcaaacctt ttgagagaga tatttcaact gaaatctatc aggccggtag cacaccttgt	1440
aatgggtgtg aaggttttaa ttgttacttt cttttacaat catatggttt ccaaccact	1500
aatgggtgtg gttaccaacc atacagagta gtagtacttt cttttgaact tctacatgca	1560
ccagcaactg tttgtggacc taaaaagtct actaatttgg ttaaaaacaa atgtgtcaat	1620
ttcaacttca atggtttaac aggcacaggt gtcttactg agtctaacaa aaagtttctg	1680
cctttccaac aatttggcag agacattgct gacactactg atgtgtccg tgatccacag	1740
acacttgaga ttcttgacat tacaccatgt tcttttggtg gtgtcagtgt tataacacca	1800
ggaacaaata cttctaacca ggttgcctgt ctttatcagg atgttaactg cacagaagtc	1860
cctgttgcta ttcattgcaga tcaacttact cctacttggc gtgtttattc tacaggttct	1920
aatgtttttc aaacacgtgc aggcctgttta ataggggctg aacatgtcaa caactcatat	1980
gagtgtgaca taccattggg tgcaggfata tgcgctagtt atcagactca gactaattct	2040
cctcggcggg cacgtagtgt agctagtcaa tccatcattg cctacactat gtcacttggg	2100
gcagaaaatt cagttgctta ctctaataac tctattgcca taccacaaa ttttactatt	2160
agtgttacca cagaaattct accagtgtct atgaccaaga catcagtaga ttgtacaatg	2220
tacatttgtg gtgattcaac tgaatgcagc aatcttttgt tgcaatatgg cagtttttgt	2280
acacaattaa accgtgcttt aactggaata gctgttgaac aagacaaaa cacccaagaa	2340
gtttttgcac aagtcaaaca aatttacaaa acaccaccaa ttaaagattt tgggtggttt	2400

aatttttcac aaatattacc agatccatca aaaccaagca agaggtcatt tattgaagat 2460
ctacttttca acaaagtac acttgcagat gctggcttca tcaaacaata tggatgattgc 2520
cttggtgata ttgctgctag agacctcatt tgtgcacaaa agtttaacgg ccttactgtt 2580
ttgccacctt tgctcacaga tgaaatgatt gctcaatata ctctgcact gtttagcgggt 2640
acaatcactt ctggttggac ctttggtgca ggtgctgcat tacaataacc atttgcctatg 2700
caaatggctt ataggtttaa tggatattgga gttacacaga atgttctcta tgagaaccaa 2760
aaattgattg ccaaccaatt taatagtgtt attggcaaaa ttcaagactc actttcttcc 2820
acagcaagtg cacttggaaa acttcaagat gttgtcaacc aaaatgcaca agctttaaac 2880
acgcttgta aacaacttag ctccaatttt ggtgcaattt caagtgtttt aaatgatatc 2940
ctttcacgtc ttgacaaagt tgaggctgaa gtgcaaatg atagttgat cacaggcaga 3000
cttcaaagt tgcagacata tgtgactcaa caattaatta gagctgcaga aatcagagct 3060
tctgctaate ttgctgctac taaaatgtca gagtgtgtac ttggacaatc aaaaagagtt 3120
gatttttgtg gaaagggcta tcatcttatg tcttccctc agtcagcacc tcatggtgta 3180
gtcttcttgc atgtgactta tgtccctgca caagaaaaga acttcacaac tgctcctgcc 3240
atltgtcatg atggaaaagc acactttcct cgtgaagggt tctttgtttc aaatggcaca 3300
cactggtttg taacacaaag gaatttttat gaaccacaaa tcattactac agacaacaca 3360
tttgtgtctg gtaactgtga tgttgaata ggaattgtca acaacacagt ttatgatcct 3420
ttgcaacctg aattagactc attcaaggag gagttagata aatattttaa gaatcataca 3480
tcaccagatg ttgatttagg tgacatctct ggcattaatg cttcagttgt aaacattcaa 3540
aaagaaattg accgcctcaa tgaggttgcc aagaatttaa atgaatctct catcgatctc 3600
caagaacttg gaaagtatga gcagtatata aaatggccat ggtacatttg gctaggtttt 3660
atagctggct tgattgcat agtaatggtg acaattatgc tttgctgtat gaccagttgc 3720
ttagattgtc tcaagggctg ttgttcttgt ggatcctgct gcaaatttga tgaagacgac 3780
tctgagccag tgctcaaagg agtcaaatta cattacacat aa 3822

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種治療患有冠狀病毒感染之個體之該冠狀病毒感染的方法，該方法包含：

向產蛋家禽投予第一組成物，該第一組成物包含編碼一或多種冠狀病毒抗原之一或多種腺病毒載體；及

向該患有冠狀病毒感染之個體提供第二組成物，該第二組成物包含來自被投予該第一組成物之該產蛋家禽的蛋黃之水溶性部分。

【請求項2】如請求項1之方法，其中該第二組成物係以提供該患有冠狀病毒感染之個體每公斤體重約0.25 mg至約1.0 mg該蛋黃之水溶性部分之劑量的量向該患有冠狀病毒感染之個體投予。

【請求項3】如請求項1之方法，其中該第二組成物係經鼻內投予。

【請求項4】如請求項1之方法，其中該第二組成物向該患有冠狀病毒感染之個體投予超過一次。

【請求項5】如請求項1之方法，其中該第一組成物係向該產蛋家禽投予超過一次。

【請求項6】如請求項5之方法，其中在第一次投予該第一組成物之後至少14天，第二次向該產蛋家禽投予該第一組成物。

【請求項7】如請求項1之方法，其中在第一次投予該第一組成物之後至少14天，向該產蛋家禽投予額外的組成物。

【請求項8】如請求項7之方法，其中額外的組成物包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原的腺病毒載體、冠狀病毒重組蛋白及/或表現經錨定的棘蛋白的不活化新城雞瘟病毒。

【請求項9】一種預防處於冠狀病毒感染風險下之個體的冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的方法，該方法包含：

向產蛋家禽投予第一組成物，該第一組成物包含編碼一或多種冠狀病毒抗原之一或多種腺病毒載體；及

向該個體提供第二組成物，該第二組成物包含來自己被投予該第一組成物之該產蛋家禽的蛋黃之水溶性部分。

【請求項10】如請求項9之方法，其中該第二組成物係以提供該個體每公斤體重約0.25 mg至約1.0 mg該蛋黃之水溶性部分之劑量的量投予該個體。

【請求項11】如請求項9之方法，其中該第二組成物係經鼻內投予。

【請求項12】如請求項9之方法，其中該第二組成物係向該個體投予超過一次。

【請求項13】如請求項9之方法，其中該第一組成物係向該產蛋家禽投予超過一次。

【請求項14】如請求項13之方法，其中在投予該第一組成物之後至少14天，第二次向該產蛋家禽投予該第一組成物。

【請求項15】如請求項9之方法，其中在投予該第一組成物之後至少至少14天，向該產蛋家禽投予額外的組成物。

【請求項16】如請求項15之方法，其中該額外組成物包含活的或不活化的冠狀病毒、編碼冠狀病毒抗原的腺病毒載體、冠狀病毒重組蛋白及/或表現經錨定的棘蛋白的不活化新城雞瘟病毒。

【請求項17】一種生產可有效治療感染冠狀病毒之個體的冠狀病毒感染、預防冠狀病毒感染、減少其發生率及/或降低其嚴重程度的可經鼻內投予之組成物的方法，該方法包含將已獲自被投予編碼一或多種冠狀病毒抗原之一或多種腺病毒載體的產蛋家禽的蛋黃之水溶性部分添加至溶液中，從而形成該組成物。

【請求項18】一種單位劑型，其包含治療或預防有效量之包含蛋黃之水溶性部分的組成物，該蛋黃之水溶性部分已自被投予編碼一或多種冠狀病毒抗原之

一或多種腺病毒載體的產蛋家禽獲得。

【請求項19】一種特異性針對冠狀病毒之免疫球蛋白，其用於治療及/或預防處於冠狀病毒感染風險下之個體的冠狀病毒感染。

與種別不同者得與種別不同種成物之方法

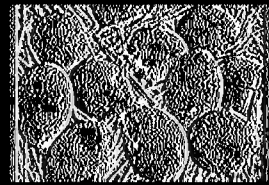
種別不同者得與種別不同種成物



種別不同者得與種別不同種成物之方法



收果



種別不同者得與種別不同種成物

種別不同者得與種別不同種成物

種別不同者得與種別不同種成物

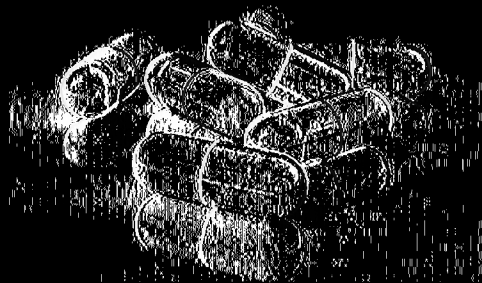


于被染虫的昆虫体内、尸体或尸体部分或感染昆虫体内之任何部分的方法。

昆虫体内或尸体或尸体部分内
被染虫



昆虫体内或尸体或尸体部分内
被染虫



被染虫

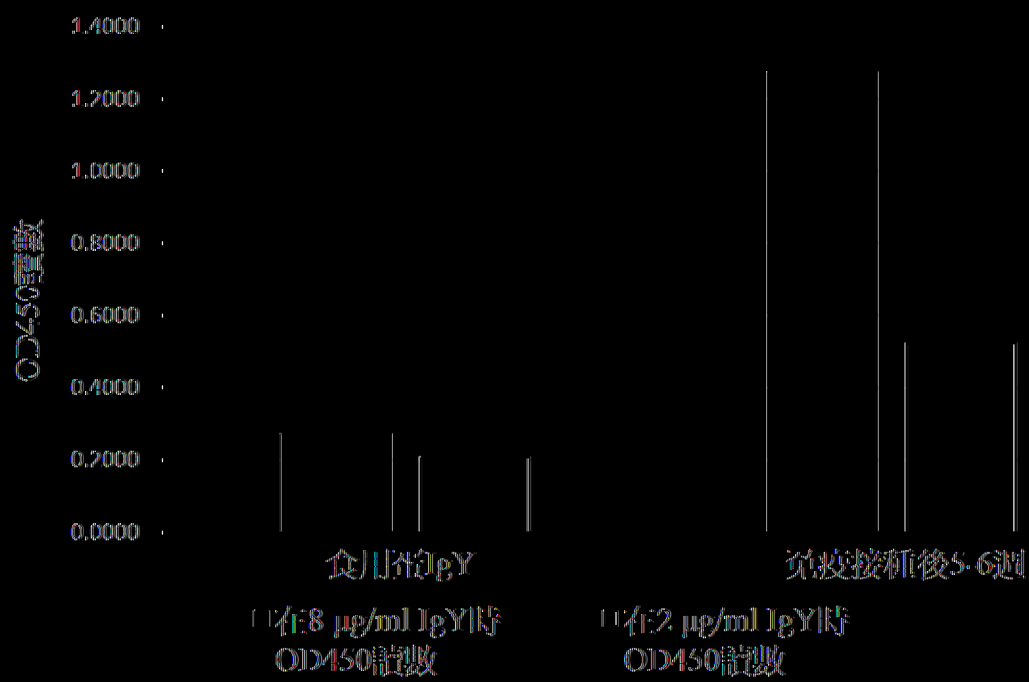


圖3

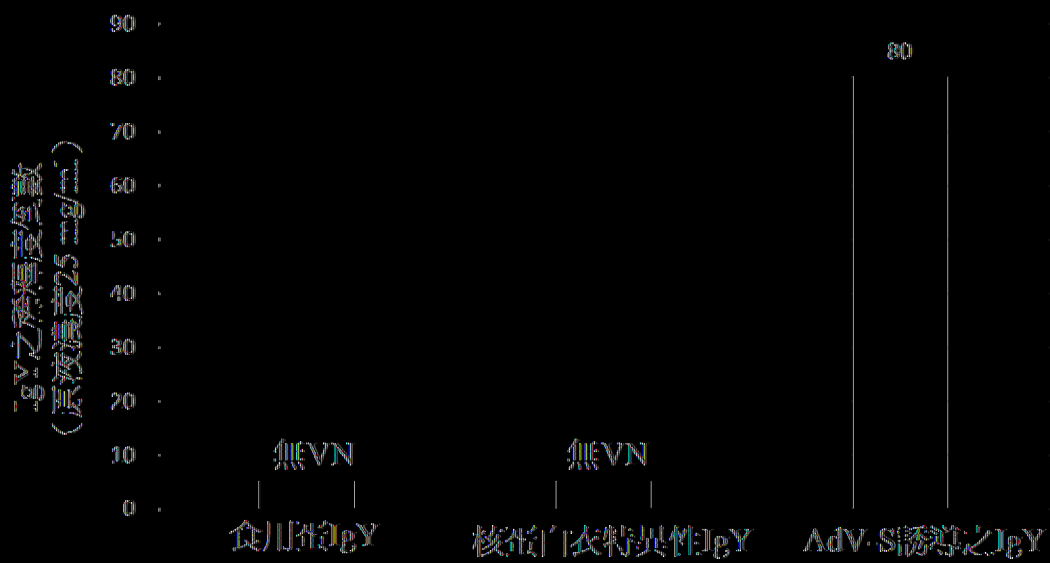


圖4