(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-511125
(P2023-511125A)
(43)公表日　令和5年3月16日(2023.3.16)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C12N	*15/33*	*(2006.01)*	C12N	15/33		4C084
C12N	*15/11*	*(2006.01)*	C12N	15/11	ZZNA	4C085
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13		4C087
C12N	*15/36*	*(2006.01)*	C12N	15/36		4H045
C12N	*15/40*	*(2006.01)*	C12N	15/40		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全78頁）　最終頁に続く

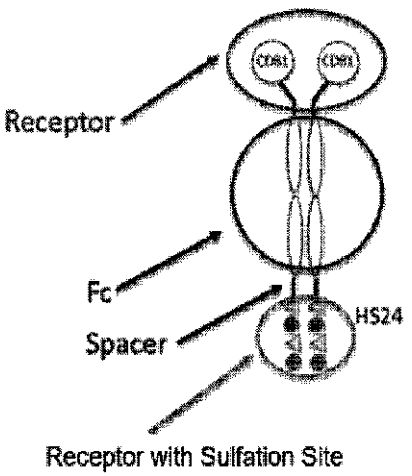
(21)出願番号　特願2022-544076(P2022-544076)
(86)(22)出願日　令和3年1月23日(2021.1.23)
(85)翻訳文提出日　令和4年9月15日(2022.9.15)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/014818
(87)国際公開番号　WO2021/151043
(87)国際公開日　令和3年7月29日(2021.7.29)
(31)優先権主張番号　62/965,033
(32)優先日　令和2年1月23日(2020.1.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/050,473
(32)優先日　令和2年7月10日(2020.7.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　522287134
アヴァイルス，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国，カリフォルニア州　９４５４９　ラファイエット　デル　マー　ドライブ　３２３８
(74)代理人　100079108
弁理士　稲葉　良幸
(74)代理人　100109346
弁理士　大貫　敏史
(74)代理人　100117189
弁理士　江口　昭彦
(74)代理人　100134120
弁理士　内藤　和彦
(72)発明者　ハン，チャン　ヒョン
アメリカ合衆国，カリフォルニア州　９
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ウイルス感染を治療及び予防するための方法及び組成物

(57)【要約】
本開示は、免疫グロブリンＦｃフラグメントと、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片とを含む、ウイルス感染を治療又は予防するための組換えポリペプチドを提供する。提供されるのはまた、対象又は患者にこうした組換えポリペプチドを投与することを含む、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法と共に、こうした組換えポリペプチドを含む、ＲＮＡ分子、治療用組成物、及び発現系である。
【選択図】図１

FIG. 1



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ａ）免疫グロブリンＦｃフラグメント及び硫酸化多糖と；
ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片と
を含む組換えポリペプチド。
【請求項２】
（ａ）及び（ｂ）が、少なくとも１つのウイルスエンベロープタンパク質の協同的結合の能力がある、請求項１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３】
前記硫酸化多糖が、ヘパラン硫酸（ＨＳ）である、請求項１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項４】
前記ＨＳが、プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）である、請求項３に記載の組換えポリペプチド。
【請求項５】
前記ＨＳＰＧが、２つ以上の硫酸化部位を含有する、請求項４に記載の組換えポリペプチド。
【請求項６】
前記硫酸化部位が、セリン－グリシン－アスパラギン酸（ＳＧＤ）モチーフを含む、請求項５に記載の組換えポリペプチド。
【請求項７】
前記ＳＧＤモチーフが、少なくとも１つの酸性アミノ酸残基から７、８、９、及び／又は１０残基以内にある、請求項６に記載の組換えポリペプチド。
【請求項８】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、フラビウイルス科(flaviviridae）、コロナウイルス科(coronaviridae）、及びヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)からなる群から選択されるウイルス科のためのものである、請求項１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項９】
前記ウイルス科が、フラビウイルス科(flaviviridae)である、請求項８に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１０】
前記フラビウイルス科(flaviviridae)ウイルスが、ＨＣＶ、ウエストナイル、及びデングからなる群から選択される、請求項９に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１１】
前記ウイルスが、ＨＣＶである、請求項１０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１２】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＣＤ８１及び／又はスカベンジャー受容体Ｂ－１（ＳＲＢ１）である、請求項１１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１３】
前記ウイルスが、ウエストナイル又はデングである、請求項１０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１４】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＸＬ及び／又はＴＩＭ－１及び／又はＴＩＭ－４である、請求項１３に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１５】
前記ウイルス科が、コロナウイルス科(coronaviridae)である、請求項８に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１６】
前記コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）

である、請求項１５に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１７】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＣＤ２６及び／又はＣＤ２６－Ｂｌａｄｅ４及び／又はＣＤ２６－Ｂ４Ｃである、請求項１６に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１８】
前記コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）である、請求項１５に記載の組換えポリペプチド。
【請求項１９】
前記重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルスが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項１８に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２０】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、及びＳＲＢ１からなる群から選択される、請求項１９に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２１】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＣＥ２である、請求項２０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２２】
前記硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、請求項２１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２３】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＣＤ１４７である、請求項２０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２４】
前記硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、請求項２１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２５】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、シアル酸である、請求項２０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２６】
前記硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、請求項２５に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２７】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＳＲＢ１である、請求項２０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２８】
前記硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、請求項２７に記載の組換えポリペプチド。
【請求項２９】
前記コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、セトラコウイルス(Setracovirus)である、請求項１５に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３０】
前記セトラコウイルス(Setracovirus)が、ヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３である、請求項２９に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３１】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＣＥ２である、請求項３０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３２】
前記硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、請求項３１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３３】
前記ウイルス科が、ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)である、請求項８に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３４】
前記ウイルスが、ＨＢＶである、請求項３３に記載の組換えポリペプチド。

【請求項３５】
前記少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＮＴＣＰ（ナトリウム・タウロコール酸共輸送ポリペプチド）である、請求項３４に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３６】
前記硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、請求項３５に記載の組換えポリペプチド。
【請求項３７】
請求項１～３６のいずれかに記載の組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【請求項３８】
それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の請求項３７に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。
【請求項３９】
前記ウイルス感染が、フラビウイルス科(flaviviridae）、コロナウイルス科(coronaviridae）、及びヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)からなる群から選択されるウイルス科の結果である、請求項３８に記載の方法。
【請求項４０】
前記ウイルス科が、フラビウイルス科(flaviviridae)である、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
前記フラビウイルス科(flaviviridae)ウイルスが、ＨＣＶ、ウエストナイル、及びデングからなる群から選択される、請求項４０に記載の方法。
【請求項４２】
前記ウイルス科が、コロナウイルス科(coronaviridae)である、請求項３９に記載の方法。
【請求項４３】
前記コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、ＭＥＲＳ、ＳＡＲＳ、又はｈＣｏＶ－ＮＬ６３である、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記ウイルス科が、ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)である、請求項３９に記載の方法。
【請求項４５】
前記ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)ウイルスが、ＨＢＶである、請求項４４に記載の方法。
【請求項４６】
ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；
ｂ）請求項１～３６のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列と
を含むＲＮＡ分子。
【請求項４７】
ａ）生ウイルス発現ベクターと；
ｂ）請求項１～３６のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列と
を含む治療用組成物。
【請求項４８】
前記発現ベクターが、アデノウイルスベクター又はワクシニアベクターである、請求項４７に記載の治療用組成物。
【請求項４９】
前記アデノウイルスベクターが、Ａｄ５、Ａｄ２６、及びアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）からなる群から選択される、請求項４８に記載の治療用組成物。
【請求項５０】

前記ワクシニアベクターが、カナリアポックス(Canary Pox)である、請求項４８に記載の治療用組成物。
【請求項５１】
請求項１～３６のいずれかに記載の組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現系。
【請求項５２】
配列番号３１、３７、又は４５として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を治療するための組換えポリペプチド。
【請求項５３】
配列番号２５～３０として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、請求項５２に記載の組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項５４】
配列番号２５、２８、３０、３４～３６、及び３８として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、請求項５２に記載の組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項５５】
配列番号２５、２８、３０、及び３９～４４として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、請求項５２に記載の組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項５６】
配列番号３１、３７、又は４５として記述したアミノ酸配列を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を治療するための組換えポリペプチド。
【請求項５７】
配列番号２５～３０を含む、請求項５６に記載の組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項５８】
配列番号２５、２８、３０、３４～３６、及び３８を含む、請求項５６に記載の組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項５９】
配列番号２５、２８、３０、及び３９～４４を含む、請求項５６に記載の組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項６０】
請求項５２～５９のいずれかに記載の組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【請求項６１】
それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の請求項６０に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。
【請求項６２】
前記ウイルス感染が、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルス科の結果である、請求項６１に記載の方法。
【請求項６３】
前記コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルス又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３である、請求項６２に記載の方法。
【請求項６４】
前記重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルスが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、請求項６３に記載の方法。
【請求項６５】
前記医薬組成物が、呼吸経路を介して又は静脈内に投与される、請求項６１に記載の方法。

【請求項６６】
前記呼吸経路を介する投与が、下気道のための吸入器、又は上気道のための鼻腔内スプレーの使用を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項６７】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３感染症の治療のためのヘパリンの投与をさらに含む、請求項６１に記載の方法。
【請求項６８】
前記ヘパリンが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３ウイルスの宿主細胞への侵入を防止する、請求項６７に記載の方法。
【請求項６９】
ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；
ｂ）ＡＣＥ２又はその断片である、第１のウイルス受容体；及び
ｃ）第２のウイルス受容体
を含む組換えポリペプチド。
【請求項７０】
前記第２のウイルス受容体が、ＨＳＰＧ、ＣＤ１４７、シアル酸、及びＳＲＢ１からなる群から選択される、請求項６９に記載の組換えポリペプチド。
【請求項７１】
前記第２のウイルス受容体が、ＨＳＰＧである、請求項７０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項７２】
前記第２のウイルス受容体が、ＣＤ１４７である、請求項７０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項７３】
前記第２のウイルス受容体が、シアル酸である、請求項７０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項７４】
前記第２のウイルス受容体が、ＳＲＢ１である、請求項７０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項７５】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３の治療のために使用される、請求項６９～７４のいずれかに記載の組換えポリペプチド。
【請求項７６】
請求項６９～７５のいずれかに記載の組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【請求項７７】
それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の請求項７６に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。
【請求項７８】
ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；
ｂ）請求項６９～７５のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列と
を含むＲＮＡ分子。
【請求項７９】
ａ）生ウイルス発現ベクターと；
ｂ）請求項６９～７５のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列と
を含む治療用組成物。

【請求項８０】
ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；
ｂ）ウイルス受容体又はその断片；及び
ｃ）ストレプトアビジン
を含む組換えポリペプチド。
【請求項８１】
前記ウイルス受容体が、ＨＳＰＧ、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＣＤ２６、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＮＰＣ１、及びＮＴＣＰからなる群から選択される、請求項８０に記載の組換えポリペプチド。
【請求項８２】
前記ウイルス受容体が、ＡＣＥ２である、請求項８１に記載の組換えポリペプチド。
【請求項８３】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３の治療のために使用される、請求項８０～８２のいずれかに記載の組換えポリペプチド。
【請求項８４】
請求項８０～８３のいずれかに記載の組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【請求項８５】
それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の請求項８４に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。
【請求項８６】
ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；
ｂ）請求項８０～８３のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列と
を含むＲＮＡ分子。
【請求項８７】
ａ）生ウイルス発現ベクターと；
ｂ）請求項８０～８３のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列と
を含む治療用組成物。
【請求項８８】
ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；
ｂ）第１のウイルス受容体；及び
ｃ）第２のウイルス受容体
を含む組換えポリペプチド。
【請求項８９】
前記第１のウイルス受容体が、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＴＩＭ－１、及びＮＰＣ１からなる群から選択される、請求項８８に記載の組換えポリペプチド。
【請求項９０】
前記第２のウイルス受容体が、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＴＩＭ－１、及びＮＰＣ１からなる群から選択される、請求項８９に記載の組換えポリペプチド。
【請求項９１】
ジカ(Zika)の治療のために使用される、請求項９０のいずれかの組換えポリペプチド。
【請求項９２】
エボラ(Ebola)の治療のために使用される、請求項９０のいずれかの組換えポリペプチド。

【請求項９３】
請求項８８～９２のいずれかに記載の組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【請求項９４】
それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の請求項９３に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。
【請求項９５】
ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；
ｂ）請求項８８～９２のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列と
を含むＲＮＡ分子。
【請求項９６】
ａ）生ウイルス発現ベクターと；
ｂ）請求項８８～９２のいずれかに記載の組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列と
を含む治療用組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の参照
本出願は、その内容が完全な形で本明細書に書かれているかのように参照によって組み込まれる、２０２０年１月２３日に出願された米国仮特許出願第６２／９６５，０３３号明細書、及び２０２０年７月１０日に出願された米国仮特許出願第６３／０５０，４７３号明細書の優先権の利益を主張する。
【０００２】
配列表の組み込み
「HAN0001-401-PCST25」という名称のファイルに含有され、Microsoft Windowsオペレーティングシステムで測定された場合に１０７キロバイトであり、２０２１年１月２１日に作成された配列表を、本明細書と共に電子出願し、参照によって本明細書に組み込む。
【背景技術】
【０００３】
背景
本開示は、ウイルス学に関する。より詳細には、本開示は、ウイルス感染を治療及び予防するための方法及び組成物に関する。
【０００４】
ウイルスによる宿主細胞への侵入は、宿主細胞の細胞表面受容体に結合するウイルスエンベロープ（Ｅｎｖ）タンパク質によって媒介される。ウイルスのその受容体への結合は、特異的ドメイン認識を必要とするが、ウイルスタンパク質に存在する正（＋）電荷と受容体に存在する負（－）電荷との間の電荷相互作用も要する。受容体は、酸性アミノ酸の伸長又はタンパク質硫酸化によって負に帯電する可能性がある。後者は、細胞において生理的ｐＨでSO_4基によって提供される大きいイオン化ポテンシャルに起因して、確実に強（－）電荷となる。この機構を使用するウイルスの一例は、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）であり、これは、世界的に、防ぎ得る死の主要原因の一つであり、毎年４００，０００人の死亡が推定される。ＨＣＶのための有効なワクチンは存在しないが、ＨＣＶに対する高価な治療薬が、現在、利用可能である。ＨＣＶ薬物治療は、大部分（約９０％）の患者において有効であるが、かなりの割合の患者が、治療できないままである。さらに、ＨＣＶ治療の長期の（＞約１０年）有効性は、今のところ不明である。同じ機構を使用するウイルスの別の例は、Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）であり、これは、ヘパドナウイルス科(Hepadnaviridae)のメンバーとして、２億５千万人において慢性感染症を引き起こし、

年間の死亡率は６００，０００人である。有効なＨＢＶワクチンが利用可能であるが、ウイルス感染症を効果的に治療するＨＢＶ治療薬は存在しない。現在のＨＢＶ薬は、ウイルスの複製を抑制するに過ぎず、大抵の人は生涯にわたってこれを継続することとなる。ＨＢＶ並びにＨＣＶは、世界的な健康問題にとどまっている。したがって、本開示は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメントと、ｂ）第１のリガンド結合部位としての硫酸化多糖；及びｃ）第２の結合部位としての少なくとも１つのウイルス受容体断片を含む、ウイルス感染を治療又は予防するための組換えポリペプチドを提供することによる、すべての型のウイルスに有効であり、及び治療を探している患者にとって費用対効果が高い、ＨＣＶ及びＨＢＶを含めたウイルスの治療を提供する。したがって、標的ウイルスは、組換え型Ｆｃの協同的結合性質によって、効率的に結合され、中和される。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

一態様では、本開示は、少なくとも１つのウイルス受容体に結合されたＩｇ　Ｆｃフラグメントを含む組換えポリペプチドを提供する。いくつかの実施形態では、組換えポリペプチドは、Ｆｃフラグメントと２つのウイルス受容体を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体は、ヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＣＤ２６、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＮＰＣ１、及びＮＴＣＰから選択される。いくつかの実施形態では、組換えポリペプチドは、Ｉｇ　Ｆｃフラグメントと、ストレプトアビジン（ＳＡ）又はＡｖｉＴａｇ（商標）又はＳｔｒｅｐ－Ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）を含む。いくつかの実施形態では、組換えポリペプチドは、組換えポリペプチドの複数のコピーを含み、それによって例えば二量体、三量体、四量体、八量体、十量体、又はそれ以上を形成する、複合体の一部である。いくつかの実施形態では、組換えポリペプチドの二量体は、二量体複合体の複数のコピーと複合体形成することができる。

【０００６】

一態様では、本開示は、ａ）免疫グロブリンＦｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片とを含む組換えポリペプチドを提供する。一実施形態では、（ａ）及び（ｂ）は、少なくとも１つのウイルスエンベロープタンパク質の協同的結合の能力がある。別の実施形態では、硫酸化多糖は、ヘパラン硫酸（ＨＳ）である。別の実施形態では、ＨＳは、プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）である。別の実施形態では、ＨＳＰＧは、２つ以上の硫酸化部位を含有する。別の実施形態では、硫酸化部位は、セリン－グリシン－アスパラギン酸（ＳＧＤ）モチーフを含む。別の実施形態では、ＳＧＤモチーフは、少なくとも１つの酸性アミノ酸残基から７、８、９、及び／又は１０残基以内にある。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、フラビウイルス科(flaviviridae)、コロナウイルス科(coronaviridae)、及びヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)からなる群から選択されるウイルス科のためのものである。別の実施形態では、ウイルス科は、フラビウイルス科(flaviviridae)である。別の実施形態では、フラビウイルス科(flaviviridae)ウイルスは、ＨＣＶ、ウエストナイル、及びデングからなる群から選択される。別の実施形態では、ウイルスは、ＨＣＶである。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＣＤ８１及び／又はスカベンジャー受容体Ｂ－１（ＳＲＢ１）である。別の実施形態では、ウイルスは、ウエストナイル又はデングである。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＡＸＬ及び／又はＴＩＭ－１及び／又はＴＩＭ－４である。別の実施形態では、ウイルス科は、コロナウイルス科(coronaviridae)である。別の実施形態では、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスは、中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）である。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＣＤ２６及び／又はＣＤ２６－Ｂｌａｄｅ４及び／又はＣＤ２６－Ｂ４Ｃである。別の実施形態では、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスは、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）

である。別の実施形態では、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、及びＳＲＢ１からなる群から選択される。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＡＣＥ２である。別の実施形態では、硫酸化多糖は、ＨＳＰＧである。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＣＤ１４７である。別の実施形態では、硫酸化多糖は、ＨＳＰＧである。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、シアル酸である。別の実施形態では、硫酸化多糖は、ＨＳＰＧである。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＳＲＢ１である。別の実施形態では、硫酸化多糖は、ＨＳＰＧである。別の実施形態では、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスは、セトラコウイルス(Setracovirus)である。別の実施形態では、セトラコウイルス(Setracovirus)は、ヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３である。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＡＣＥ２である。別の実施形態では、硫酸化多糖は、ＨＳＰＧである。別の実施形態では、ウイルス科は、ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)である。別の実施形態では、ウイルスは、ＨＢＶである。別の実施形態では、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片は、ＮＴＣＰ（ナトリウム・タウロコール酸共輸送ポリペプチド）である。別の実施形態では、硫酸化多糖は、ＨＳＰＧである。別の実施形態では、本開示は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを含む医薬組成物を提供する。別の実施形態では、本開示は、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の本明細書に記載した通りの医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。別の実施形態では、ウイルス感染は、フラビウイルス科(flaviviridae)、コロナウイルス科(coronaviridae)、及びヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)からなる群から選択されるウイルス科の結果である。別の実施形態では、ウイルス科は、フラビウイルス科(flaviviridae)である。別の実施形態では、フラビウイルス科(flaviviridae)ウイルスは、ＨＣＶ、ウエストナイル、及びデングからなる群から選択される。別の実施形態では、ウイルス科は、コロナウイルス科(coronaviridae)である。別の実施形態では、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスは、ＭＥＲＳ、ＳＡＲＳ、又はｈＣｏＶ－ＮＬ６３である。別の実施形態では、ウイルス科は、ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)である。別の実施形態では、ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)ウイルスは、ＨＢＶである。別の実施形態では、本開示は、ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子を提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物を提供する。別の実施形態では、発現ベクターは、アデノウイルスベクター又はワクシニアベクターである。別の実施形態では、アデノウイルスベクターは、Ａｄ５、Ａｄ２６、及びアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）からなる群から選択される。別の実施形態では、ワクシニアベクターは、カナリアポックス(Canary Pox)である。

【０００７】

別の実施形態では、本開示は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現系を提供する。別の実施形態では、本開示は、配列番号３１、３７、又は４５として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を治療するための組換えポリペプチドを提供する。一実施形態では、本開示は、配列番号２５～３０として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。別の実施形態では、本開示は、配列番号２５、２８、３０、３４～３６、及び３８として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。別の実施形態では、本開示は、配列番号２５、２８、３０、及び３９～４４

として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。別の実施形態では、本開示は、配列番号３１、３７、又は４５として記述したアミノ酸配列を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を治療するための組換えポリペプチドを提供する。別の実施形態では、本開示は、配列番号２５～３０を含む、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。別の実施形態では、本開示は、配列番号２５、２８、３０、３４～３６、及び３８を含む、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。別の実施形態では、本開示は、配列番号２５、２８、３０、及び３９～４４を含む、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。

【０００８】

別の実施形態では、本開示は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを含む医薬組成物を提供する。別の実施形態では、本開示は、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の本明細書に記載した通りの医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、ウイルス感染は、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルス科の結果である。別の実施形態では、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスは、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルス又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３である。別の実施形態では、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルスは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である。別の実施形態では、医薬組成物は、呼吸経路を介して又は静脈内に投与される。別の実施形態では、呼吸経路を介する投与は、下気道のための吸入器、又は上気道のための鼻腔内スプレーの使用を含む。別の実施形態では、こうした方法は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３感染症の治療のためのヘパリンの投与をさらに含む。別の実施形態では、ヘパリンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３ウイルスの宿主細胞への侵入を防止する。

【０００９】

別の態様では、本開示は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；ｂ）ＡＣＥ２又はその断片である、第１のウイルス受容体；及びｃ）第２のウイルス受容体を含む組換えポリペプチドを提供する。一実施形態では、第２のウイルス受容体は、ＨＳＰＧ、ＣＤ１４７、シアル酸、及びＳＲＢ１からなる群から選択される。別の実施形態では、第２のウイルス受容体は、ＨＳＰＧである。別の実施形態では、第２のウイルス受容体は、ＣＤ１４７である。別の実施形態では、第２のウイルス受容体は、シアル酸である。別の実施形態では、第２のウイルス受容体は、ＳＲＢ１である。別の実施形態では、本明細書に記載した通りのポリペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３の治療のために使用される。別の実施形態では、本開示は、本明細書に記載された組換えポリペプチドを含む医薬組成物を提供する。別の実施形態では、本開示は、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の本明細書に記載した通りの医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子を提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物を提供する。

【００１０】

別の態様では、本開示は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；ｂ）ウイルス受容体又はその断片；及びｃ）ストレプトアビジンを含む組換えポリペプチドを提供する。別の実施形態では、ウイルス受容体は、ＨＳＰＧ、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＣＤ２６、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、Ｐ

ｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＮＰＣ１、及びＮＴＣＰからなる群から選択される。別の実施形態では、ウイルス受容体は、ＡＣＥ２である。別の実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３の治療のために使用される、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチド。別の実施形態では、本開示は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを含む医薬組成物を提供する。別の実施形態では、本開示は、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の本明細書に記載した通りの医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子を提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物を提供する。

【００１１】

別の態様では、本開示は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；ｂ）第１のウイルス受容体；及びｃ）第２のウイルス受容体を含む組換えポリペプチドを提供する。一実施形態では、第１のウイルス受容体は、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＴＩＭ－１、及びＮＰＣ１からなる群から選択される。別の実施形態では、第２のウイルス受容体は、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＴＩＭ－１、及びＮＰＣ１からなる群から選択される。別の実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、ジカ(Zika)又はエボラ(Ebola)の治療のために使用される。別の実施形態では、本開示は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを含む医薬組成物を提供する。別の実施形態では、本開示は、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の本明細書に記載した通りの医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子を提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物を提供する。

【００１２】

実施形態１－少なくとも１つのウイルス受容体に結合されたＩｇ　Ｆｃフラグメントを含む組換えポリペプチド。

【００１３】

実施形態２－２つのウイルス受容体に結合されたＦｃフラグメントを含む組換えポリペプチド。

【００１４】

実施形態３－少なくとも１つのウイルス受容体が、ヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＣＤ２６、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＮＰＣ１、及びＮＴＣＰから選択される、実施形態１又は２の組換えポリペプチド。

【００１５】

実施形態４－ストレプトアビジン（ＳＡ）又はＡｖｉＴａｇ（商標）又はＳｔｒｅｐ－Ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）をさらに含む、実施形態１～３のいずれかの組換えポリペプチド。

【００１６】

実施形態５－組換えポリペプチドが、組換えポリペプチドの複数のコピーを含み、それによって例えば二量体、三量体、四量体、八量体、十量体、又はそれ以上を形成する、複

合体の一部である、実施形態１～４のいずれかの組換えポリペプチド。
【００１７】
実施形態６－組換えポリペプチドの二量体が、二量体複合体の複数のコピーと複合体形成することができる、実施形態１～５のいずれかの組換えポリペプチド。
【００１８】
実施形態７－ａ）免疫グロブリンＦｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片とを含む組換えポリペプチド。
【００１９】
実施形態８－（ａ）及び（ｂ）が、少なくとも１つのウイルスエンベロープタンパク質の協同的結合の能力がある、実施形態１～７のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２０】
実施形態９－硫酸化多糖が、ヘパラン硫酸（ＨＳ）である、実施形態１～８のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２１】
実施形態１０－ＨＳが、プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）である、実施形態１～９のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２２】
実施形態１１－ＨＳＰＧが、２つ以上の硫酸化部位を含有する、実施形態１～１０のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２３】
実施形態１２－硫酸化部位が、セリン－グリシン－アスパラギン酸（ＳＧＤ）モチーフを含む、実施形態１～１１のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２４】
実施形態１３－ＳＧＤモチーフが、少なくとも１つの酸性アミノ酸残基から７、８、９、及び／又は１０残基以内にある、実施形態１～１２のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２５】
実施形態１４－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、フラビウイルス科(flaviviridae)、コロナウイルス科(coronaviridae)、及びヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)からなる群から選択されるウイルス科のためのものである、実施形態１～１３のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２６】
実施形態１５－ウイルス科が、フラビウイルス科(flaviviridae)である、実施形態１～１４のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２７】
実施形態１６－フラビウイルス科(flaviviridae)ウイルスが、ＨＣＶ、ウエストナイル、及びデングからなる群から選択される、実施形態１～１５のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２８】
実施形態１７－ウイルスが、ＨＣＶである、実施形態１～１６のいずれかの組換えポリペプチド。
【００２９】
実施形態１８－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＣＤ８１及び／又はスカベンジャー受容体Ｂ－１（ＳＲＢ１）である、実施形態１～１７のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３０】
実施形態１９－ウイルスが、ウエストナイル又はデングである、実施形態１～１８のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３１】
実施形態２０－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＸＬ及び／又はＴＩＭ－１及び／又はＴＩＭ－４である、実施形態１～１９のいずれかの組換えポリペプチ

ド。
【００３２】
実施形態２１－ウイルス科が、コロナウイルス科(coronaviridae)である、実施形態１～２０のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３３】
実施形態２２－コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）である、実施形態１～２１のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３４】
実施形態２３－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＣＤ２６及び／又はＣＤ２６－Ｂｌａｄｅ４及び／又はＣＤ２６－Ｂ４Ｃである、実施形態１～２２のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３５】
実施形態２４－コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）である、実施形態１～２３のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３６】
実施形態２５－重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルスが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、実施形態１～２４のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３７】
実施形態２６－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、及びＳＲＢ１からなる群から選択される、実施形態１～２５のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３８】
実施形態２７－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＣＥ２である、実施形態１～２６のいずれかの組換えポリペプチド。
【００３９】
実施形態２８－硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、実施形態１～２７のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４０】
実施形態２９－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＣＤ１４７である、実施形態１～２８のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４１】
実施形態３０－硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、実施形態１～２９のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４２】
実施形態３１－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、シアル酸である、実施形態１～３０のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４３】
実施形態３２－硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、実施形態１～３１のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４４】
実施形態３３－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＳＲＢ１である、実施形態１～３２のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４５】
実施形態３４－硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、実施形態１～３３のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４６】
実施形態３５－コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、セトラコウイルス(Setracovirus)である、実施形態１～３４のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４７】
実施形態３６－セトラコウイルス(Setracovirus)が、ヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ

）－ＮＬ６３である、実施形態１～３５のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４８】
実施形態３７－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＡＣＥ２である、実施形態１～３６のいずれかの組換えポリペプチド。
【００４９】
実施形態３８－硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、実施形態１～３７のいずれかの組換えポリペプチド。
【００５０】
実施形態３９－ウイルス科が、ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)である、実施形態１～３８のいずれかの組換えポリペプチド。
【００５１】
実施形態４０－ウイルスが、ＨＢＶである、実施形態１～３９のいずれかの組換えポリペプチド。
【００５２】
実施形態４１－少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片が、ＮＴＣＰ（ナトリウム・タウロコール酸共輸送ポリペプチド）である、実施形態１～４０のいずれかの組換えポリペプチド。
【００５３】
実施形態４２－硫酸化多糖が、ＨＳＰＧである、実施形態１～４１のいずれかの組換えポリペプチド。
【００５４】
実施形態４３－実施形態１～４２のいずれかの組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【００５５】
実施形態４４－それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の実施形態１～４３のいずれかの医薬組成物を対象に投与することを含む方法。
【００５６】
実施形態４５－ウイルス感染が、フラビウイルス科(flaviviridae)、コロナウイルス科(coronaviridae)、及びヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)からなる群から選択されるウイルス科の結果である、実施形態１～４４のいずれかの方法。
【００５７】
実施形態４６－ウイルス科が、フラビウイルス科(flaviviridae)である、実施形態１～４５のいずれかの方法。
【００５８】
実施形態４７－フラビウイルス科(flaviviridae)ウイルスが、ＨＣＶ、ウエストナイル、及びデングからなる群から選択される、実施形態１～４６のいずれかの方法。
【００５９】
実施形態４８－ウイルス科が、コロナウイルス科(coronaviridae)である、実施形態１～４７のいずれかの方法。
【００６０】
実施形態４９－コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、ＭＥＲＳ、ＳＡＲＳ、又はｈＣｏＶ－ＮＬ６３である、実施形態１～４８のいずれかの方法。
【００６１】
実施形態５０－ウイルス科が、ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)である、実施形態１～４９のいずれかの方法。
【００６２】
実施形態５１－ヘパドナウイルス科(hepadnaviridae)ウイルスが、ＨＢＶである、実施形態１～５０のいずれかの方法。
【００６３】
実施形態５２－ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ

）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）実施形態１～５１のいずれかの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子。

【００６４】

実施形態５３－ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）実施形態１～５２のいずれかの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物。

【００６５】

実施形態５４－発現ベクターが、アデノウイルスベクター又はワクシニアベクターである、実施形態１～５３のいずれかの治療用組成物。

【００６６】

実施形態５５－アデノウイルスベクターが、Ａｄ５、Ａｄ２６、及びアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）からなる群から選択される、実施形態１～５４のいずれかの治療用組成物。

【００６７】

実施形態５６－ワクシニアベクターが、カナリアポックス(Canary Pox)である、実施形態１～５５のいずれかの治療用組成物。

【００６８】

実施形態５７－実施形態１～５６のいずれかの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現系。

【００６９】

実施形態５８－配列番号３１、３７、又は４５として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を治療するための組換えポリペプチド。

【００７０】

実施形態５９－配列番号２５～３０として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、実施形態１～５８のいずれかの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【００７１】

実施形態６０－配列番号２５、２８、３０、３４～３６、及び３８として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、実施形態１～５９のいずれかの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【００７２】

実施形態６１－配列番号２５、２８、３０、及び３９～４４として記述した配列との少なくとも９５％の配列同一性を含む、実施形態１～６０のいずれかの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【００７３】

実施形態６２－配列番号３１、３７、又は４５として記述したアミノ酸配列を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を治療するための組換えポリペプチド。

【００７４】

実施形態６３－配列番号２５～３０を含む、実施形態１～６２のいずれかの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【００７５】

実施形態６４－配列番号２５、２８、３０、３４～３６、及び３８を含む、実施形態１～６３のいずれかの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【００７６】

実施形態６５－配列番号２５、２８、３０、及び３９～４４を含む、実施形態１～６４のいずれかの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【００７７】

実施形態６６－実施形態１～６５のいずれかの組換えポリペプチドを含む医薬組成物。

【００７８】

実施形態６７－それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の実施形態１～６６のいずれかの医薬組成物を対象に投与す

ることを含む方法。
【００７９】
実施形態６８－ウイルス感染が、コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルス科の結果である、実施形態１～６７のいずれかの方法。
【００８０】
実施形態６９－コロナウイルス科(coronaviridae)ウイルスが、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルス又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３である、実施形態１～６８のいずれかの方法。
【００８１】
実施形態７０－重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）ウイルスが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２である、実施形態１～６９のいずれかの方法。
【００８２】
実施形態７１－医薬組成物が、呼吸経路を介して又は静脈内に投与される、実施形態１～７０のいずれかの方法。
【００８３】
実施形態７２－呼吸経路を介する投与が、下気道のための吸入器、又は上気道のための鼻腔内スプレーの使用を含む、実施形態１～７１のいずれかの方法。
【００８４】
実施形態７３－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３感染症の治療のためのヘパリンの投与をさらに含む、実施形態１～７２のいずれかの方法。
【００８５】
実施形態７４－ヘパリンが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３ウイルスの宿主細胞への侵入を防止する、実施形態１～７３のいずれかの方法。
【００８６】
実施形態７５－ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；ｂ）ＡＣＥ２又はその断片である、第１のウイルス受容体；及びｃ）第２のウイルス受容体を含む組換えポリペプチド。
【００８７】
実施形態７６－第２のウイルス受容体が、ＨＳＰＧ、ＣＤ１４７、シアル酸、及びＳＲＢ１からなる群から選択される、実施形態１～７５のいずれかの組換えポリペプチド。
【００８８】
実施形態７７－第２のウイルス受容体が、ＨＳＰＧである、実施形態１～７６のいずれかの組換えポリペプチド。
【００８９】
実施形態７８－第２のウイルス受容体が、ＣＤ１４７である、実施形態１～７７のいずれかの組換えポリペプチド。
【００９０】
実施形態７９－第２のウイルス受容体が、シアル酸である、実施形態１～７８のいずれかの組換えポリペプチド。
【００９１】
実施形態８０－第２のウイルス受容体が、ＳＲＢ１である、実施形態１～７９のいずれかの組換えポリペプチド。
【００９２】
実施形態８１－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３の治療のために使用される、実施形態１～８０のいずれかの組換えポリペプチド。
【００９３】
実施形態８２－実施形態１～８１のいずれかの組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【００９４】

実施形態８３－それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の実施形態１～８２のいずれかの医薬組成物を対象に投与することを含む方法。

【００９５】

実施形態８４－ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）実施形態１～８３のいずれかの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子。

【００９６】

実施形態８５－ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）実施形態１～８４のいずれかの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物。

【００９７】

実施形態８６－ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；ｂ）ウイルス受容体又はその断片；及びｃ）ストレプトアビジンを含む組換えポリペプチド。

【００９８】

実施形態８７－ウイルス受容体が、ＨＳＰＧ、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＣＤ２６、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＮＰＣ１、及びＮＴＣＰからなる群から選択される、実施形態１～８６のいずれかの組換えポリペプチド。

【００９９】

実施形態８８－ウイルス受容体が、ＡＣＥ２である、実施形態１～８７のいずれかの組換えポリペプチド。

【０１００】

実施形態８９－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、又はヒトコロナウイルス（ｈＣｏＶ）－ＮＬ６３の治療のために使用される、実施形態１～８８のいずれかの組換えポリペプチド。

【０１０１】

実施形態９０－実施形態１～８９のいずれかの組換えポリペプチドを含む医薬組成物。

【０１０２】

実施形態９１－それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の本明細書に記載される通りの医薬組成物を対象に投与することを含む方法。

【０１０３】

実施形態９２－ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）実施形態１～９１のいずれかの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子。

【０１０４】

実施形態９３－ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）実施形態１～９２のいずれかの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物。

【０１０５】

実施形態９４－ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント；ｂ）第１のウイルス受容体；及びｃ）第２のウイルス受容体を含む組換えポリペプチド。

【０１０６】

実施形態９５－第１のウイルス受容体が、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＴＩＭ－１、及びＮＰＣ１からなる群から選択される、実施形態１～９４のいずれかの組換えポリペプチド。

【０１０７】

実施形態９６－第２のウイルス受容体が、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＴＩＭ－１、及びＮＰＣ１からなる群から選択される、実施形態１～９５のいずれかの組換えポリペプチド。

【０１０８】

実施形態９７－ジカ(Zika)の治療のために使用される、実施形態１～９６のいずれかの組換えポリペプチド。
【０１０９】
実施形態９８－エボラ(Ebola)の治療のために使用される、実施形態１～９７のいずれかの組換えポリペプチド。
【０１１０】
実施形態９９－実施形態１～９８のいずれかの組換えポリペプチドを含む医薬組成物。
【０１１１】
実施形態１００－それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、治療又は予防有効量の実施形態１～９９のいずれかの医薬組成物を対象に投与することを含む方法。
【０１１２】
実施形態１０１－ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）実施形態１～１００のいずれかの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子。
【０１１３】
実施形態１０２－ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）実施形態１～１０１のいずれかの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物。
【図面の簡単な説明】
【０１１４】
【図１】Ｆｃ及びウイルス受容体断片を有する、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）の治療又は予防のための、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの模式図を示す。
【図２】ＨＣＶの治療又は予防のための、組換えポリペプチドのバリアントを示す。
【図３】ＨＣＶの治療又は予防のための、組換えポリペプチドのバリアントを示す。
【図４】Ｆｃ及びウイルス受容体断片を有する、中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）ウイルスの治療又は予防のための、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの模式図を示す。
【図５】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する受容体－Ｆｃバリアントの模式図を示す。
【図６】ヒトＳＲＢ１細胞外ドメイン（上）及び全長配列（下）の配列を示す。
【図７】ヒトＣＤ８１全長配列（上）及び細胞外ドメイン（下）の配列を示す。
【図８】ウサギ抗ヒトＩｇＧ　Ａｂ－ＨＲＰ、１：２０００を１時間使用する、２９３Ｔ細胞における種々のＲ－Ｉｇタンパク質の発現を示す。ゲルのレーンは、標識付けされ、それは次の通りである：（１）空(Mock)；（２）空(Mock)；（３）ＣＤ２６－Ｆｃ－ＨＳ；（４）ＣＤ２６－ＡＡ－Ｆｃ－ＨＳ；（５）ＳＲＢ１－ＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳ；（６）ＳＲＢ１－ＡＡ－ＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳ；（７）ＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳ。ＣＤ２６は、タンパク質のｂｌａｄｅ－４部分を指す。ＡＡは、分泌を増大させるための、シグナルペプチドのＮ末端の追加の２つのアラニン残基を指す。
【図９】精製されたＦｃ－ＨＳ及びＦｃ－Ｔ３タンパク質の発現を示すＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。
【図１０】ヘパリンの切断を示すＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。ヘパリンは、３０℃の酵素で２４時間消化させ、２０％　ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析し、アルシアンブルー／銀染色によって可視化した。
【図１１】空（対照）、ｐＦｃ－ＨＳ、ｐＦｃ－Ｔ３、ｐＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳ、及びｐＣＤ８１－Ｆｃ－Ｔ３のＧＡＧ－グリコシル化を示す。試料１：空；試料２：ｐＦｃ－ＨＳ；試料３：ｐＦｃ－Ｔ３；試料４：ｐＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳ；試料５：ｐＣＤ８１－Ｆｃ－Ｔ３。左側は、ウエスタンブロット分析を示す。ＤＮＡ試料を、２９３Ｔ細胞にトランスフェクションした。細胞溶解物（合計４００μｌのうちの５μｌ）及び条件培地（合計５０μｌのうちの５μｌ）を、プロテインＡビーズによって捕捉し、ＤＴＴを含むＳＤＳゲル緩衝液中で煮沸し、１０％　ＳＤＳ－ＰＡＧＥにかけた。ウエスタンブロット分析は、抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ－ＨＲＰを使用して実施した。右側は、アルシアンブルー／銀で

染色されたＧＡＧ－タンパク質を示す。ＤＮＡを、２９３Ｔ細胞にトランスフェクションした。細胞溶解物（合計４００μｌのうちの５μｌ）及び条件培地（合計５０μｌのうちの５μｌ）を、プロテインＡビーズによって捕捉し、ＤＴＴを含むＳＤＳゲル緩衝液中で煮沸し、１０％　ＳＤＳ－ＰＡＧＥにかけた。ゲルを、アルシアンブルー／銀染色で可視化した。ゆっくり移動する拡散したバンドは、ＧＡＧに相当する。青色の点は、グリコシル化されていないタンパク質のサイズを示し、両方向矢印は、ＧＡＧ－グリコシル化タンパク質を示す。それぞれのタンパク質は、細胞溶解物及び培養培地に見られる。分泌タンパク質のみが、ＧＡＧ－グリコシル化され；グリコシル化は、分泌経路と関連している。

【図１２】ヘパリナーゼＩ又はヘパリナーゼＩＩＩで消化させた２９３Ｔ細胞におけるＨＳの発現を示す。培地中の分泌タンパク質を、プロテインＡビーズに結合させ、ヘパリナーゼＩ又はヘパリナーゼＩＩＩで部分的に消化させた。消化させたタンパク質を、１０％ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析し、それに続いてアルシアンブルー／銀染色を行ってＧＡＧ糖タンパク質を可視化した。

【図１３】ＶｅｒｏＥ６細胞、ＡＣＥ２を発現するＢＨＫ細胞（ＢＨＫ／ＡＣＥ２）、及びＡＣＥ２を発現する２９３Ｔ細胞（左下）を感染させるために使用される、本明細書ではＭＬＶ種と称されるレトロウイルス（マウス白血病ウイルス、ＭＬＶ）をベースにするＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス粒子（ｐｐ）の発光を示す。

【図１４】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による、ＴＭＰＲＳＳ２を発現するＶｅｒｏＥ６細胞の高度に許容的な感染についての、安定な標的細胞株の選択を示す。

【図１５】モノクローナル抗体を中和することによる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス感染の阻害を示す。

【図１６Ａ】細胞培養培地中で２９３Ｔ細胞において発現されるタンパク質ＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳを示す、ウエスタンブロットのＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。漸増体積のタンパク質を、変性条件で電気泳動させた。抗ヒトＩｇＧ－Ｆｃを用いてウエスタンブロットで探索した。

【図１６Ｂ】図１６Ｂは、Ｈｕｈ７細胞において発現されるタンパク質ＡＣＥ２ｐ６－Ｆｃ、ＡＣＥ２－Ｆｃ、及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳの精製及び特性決定を示す、ウエスタンブロットのＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。漸増体積の精製されたタンパク質を、変性条件で電気泳動させた。抗ヒトＩｇＧ－Ｆｃを用いてウエスタンブロットで探索した。

【図１７Ａ】Ｌｕｃ活性によって測定される、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞でのＡＣＥ２－ＦｃによるＳＡＲＳ－ＣｏＶ疑似ウイルス侵入の阻害を示す。

【図１７Ｂ】Ｌｕｃ活性によって測定される、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞でのＡＣＥ２－ＦｃによるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス（Ｓｐｐ）侵入を示す。

【図１８Ａ】Ｌｕｃ活性によって測定される、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞でのＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳによるＳＡＲＳ－ＣｏＶ疑似ウイルス侵入の阻害を示す。

【図１８Ｂ】Ｌｕｃ活性によって測定される、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞でのＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳによるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス侵入の阻害を示す。

【図１９Ａ】配列番号２４（９６６ｂｐ）に相当し、（順に）ＩＬ－２リーダー（配列番号２５）、ＡＣＥ２（配列番号２６）、リンカー１（配列番号２７）、Ｆｃ部分（配列番号２８）、リンカー２（配列番号２９）、及びヘパラン硫酸（ＨＳ、配列番号３０）を含有する、Ｐ６Ｆｃ－ＨＳの配列（全配列）を示す。

【図１９Ｂ】配列番号３１に相当する、Ｐ６Ｆｃ－ＨＳのアミノ酸配列を示す。

【図２０Ａ】配列番号３２（３０６６ｂｐ）に相当し、（順に）ＩＬ－２リーダー（配列番号２５）、リンカー１（配列番号３４）、ＡＣＥ２（配列番号３５）、リンカー２（配列番号３６）、Ｆｃ（配列番号２８）、リンカー３（配列番号３８）、及びヘパラン硫酸（ＨＳ、配列番号３０）を含有する、ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳの配列（全配列）を示す。

【図２０Ｂ】配列番号３７に相当する、ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳのアミノ酸配列を示す。

【図２１Ａ】配列番号３８（１１２８ｂｐ）に相当し、（順に）ＩＬ－２リーダー（配列番号２５）、リンカー１（配列番号３９）、ＡＣＥ２－１部分（配列番号４０）、リンカー２（配列番号４１）、ＡＣＥ２－２部分（配列番号４２）、リンカー３（配列番号４３

）、Ｆｃ（配列番号２８）、リンカー４（配列番号４４）、及びヘパラン硫酸（ＨＳ、配列番号３０）を含有する、Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳの配列（全配列）を示す。
【図２１Ｂ】配列番号４５に相当する、Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳのアミノ酸配列を示す。
【図２２】漸増濃度のヘパリンと組み合わせた場合の、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭｍＰＲＳＳｐｒｓｓ２細胞へのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス侵入の阻害を示す。
【図２３】Ｌｕｃ活性によって測定される、漸増濃度のヘパリンと組み合わせた場合の、ＶｅｒｏＥ６細胞におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ疑似ウイルス感染（左）及びＨｕｈ７細胞におけるＭＥＲＳ－ＣｏＶ疑似ウイルス感染（右）の阻害を示す。
【図２４】ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチンを使用するＡＣＥ２－Ｆｃにおける
ＡＣＥ２の四量体化を表す模式図を示す。
【図２５】ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチンを使用するＡＣＥ２－Ｆｃにおける
ＡＣＥ２の八量体化を表す模式図を示す。
【図２６】ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）を使用する
ＡＣＥ２－ＦｃにおけるＡＣＥ２の四量体化を表す模式図を示す。
【図２７】ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）を使用する
ＡＣＥ２－ＦｃにおけるＡＣＥ２の八量体化を表す模式図を示す。
【図２８】ストレプトアビジン（ＳＡ）、及びヘパリンでビオチン化されたＡｖｉＴａｇ（商標）を使用するＡＣＥ２－ＦｃにおけるＡＣＥ２の四量体化を表す模式図を示す。
【図２９】ストレプトアビジン（ＳＡ）、及びヘパリンでビオチン化されたＡｖｉＴａｇ（商標）を使用するＡＣＥ２－ＦｃにおけるＡＣＥ２の八量体化を表す模式図を示す。
【図３０Ａ】ＳＤＳによって部分的に変性された、細胞における二量体及び四量体ＡＣＥ２でのＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡの発現を示す。
【図３０Ｂ】Ｌｕｃ活性によって測定される、ＡＣＥ２四量体でのＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡによるＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞でのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス感染の阻害を示す。
【図３１Ａ】ＡＣＥ２－Ｆｃ－ストレプトアビジン組換えポリペプチド（ＡＣＥ２Ｆｃ－ＳＡ）のＤＮＡ配列（配列番号４６に相当する）を示す。
【図３１Ｂ】タンパク質配列（配列番号４７に相当する）を示す。ＩＬ２リーダーは、大文字の下線付きテキストで示され；リンカーは、小文字の下線付き太字のテキストで示され；ヒトＡＣＥ２は、大文字の通常のテキストで示され；Ｆｃ領域は、大文字のイタリック体のテキストで示され；ストレプトアビジン（ＳＡ）は、小文字のイタリック体のテキストで示される。
【図３２Ａ】ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）組換えポリペプチド（ＡＣＥ２Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標））のＤＮＡ配列（配列番号４８に相当する）を示す。
【図３２Ｂ】タンパク質配列（配列番号４９に相当する）を示す。ＩＬ２リーダーは、大文字の下線付きテキストで示され；リンカーは、小文字の下線付き太字のテキストで示され；ヒトＡＣＥ２は、大文字の通常のテキストで示され；Ｆｃ領域は、大文字のイタリック体のテキストで示され；ＡｖｉＴａｇ（商標）は、小文字のイタリック体のテキストで示される。
【図３３Ａ】ＡＣＥ２－Ｆｃ－Ｓｔｒｅｐ－Ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）組換えポリペプチド（ＡＣＥ２Ｆｃ－Ｓｔｒｅｐ－Ｔａｇ（登録商標））のＤＮＡ配列（配列番号５０に相当する）を示す。
【図３３Ｂ】タンパク質配列（配列番号５１に相当する）を示す。ＩＬ２リーダーは、大文字の下線付きテキストで示され；リンカーは、小文字の下線付き太字のテキストで示され；ヒトＡＣＥ２は、大文字の通常のテキストで示され；Ｆｃ領域は、大文字のイタリック体のテキストで示され；Ｓｔｒｅｐ－Ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）は、小文字のイタリック体のテキストで示される。
【図３４】ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞でのＡＣＥ２四量体でのＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳによるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントＤ６１４Ｇの感染の阻害を示す。

【発明を実施するための形態】
【０１１５】
配列の簡単な説明
配列番号１－３つの硫酸化部位を含有するＨＳ２４ペプチドの配列。
配列番号２－２つの硫酸化部位を含有するＨＳ２１ペプチドの配列。
配列番号３－１つの硫酸化部位を含有するＨＳ１６ペプチドの配列。
配列番号４－ヒトＩｇ　ｋ鎖リーダーの配列。
配列番号５－ＩＬ－２リーダーの配列。
配列番号６－ｅＣＤ４－Ｉｇに使用される、ヒトＣＤ５リーダーペプチドの配列。
配列番号７－ヒトＩｇ　ｋ鎖リーダーの配列。
配列番号８－ＩＬ－２リーダーの配列。
配列番号９－ｅＣＤ４－Ｉｇに使用される、ヒトＣＤ５リーダーペプチドの配列。
配列番号１０－全長配列のアミノ酸３３～４４３に相当する、ヒトＳＲＢ１（ＣＤ３６）細胞外ドメインの配列（図６参照）。
配列番号１１－ヒトＳＲＢ１（ＣＤ３６）の全長配列の配列（図６参照）。
配列番号１２－ＩｇＧ－ｌ鎖Ｃ領域（ヒト(Homo sapiens)）の配列。
配列番号１３－上流に７アミノ酸を有するヒンジＦｃ（ｔ）を伴うヒトＩｇ－Ｆｃの配列。
配列番号１４－ＣＤ８１（ヒト、全長）の配列（図７参照）。
配列番号１５－ＣＤ８１細胞外ドメインの配列（アミノ酸１１３～２０１）（図７参照）。
配列番号１６－全長ＨＰＳＧ２の配列：受託番号Ｍ８５２８９；ＰＵＢＭＥＤ　１５６９１０２。
配列番号１７－ＨＣＶ－ＡＢ６８、抗ＨＶ－１　ｍＡｂ、Ｖｈ断片の配列。
配列番号１８－ＬＤＬＲ　Ａ１（アミノ酸１９８～２３５）を伴うヒトパールカン(perlecan)ＧＡＧ部位（アミノ酸５２～７９）の配列；ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｐ９８１６０（ＰＧＢＭヒト）。
配列番号１９－Ｔ７プロモーターの配列。
配列番号２０－パールカン(Perlecan)から得られる、Ｆｃ－ＨＳに存在するＨＳのアミノ酸配列。
配列番号２１－Ｆｃ－Ｔ３に存在するＴ３のアミノ酸配列。
配列番号２２－グリピカン(Glypican)５からのアミノ酸ＨＳペプチド。
配列番号２３－シンデカン(Syndecan)４からのアミノ酸ＨＳペプチド。
配列番号２４－（順に）ＩＬ－２リーダー（配列番号２５）、ＡＣＥ２（配列番号２６）、リンカー１（配列番号２７）、Ｆｃ（配列番号２８）、リンカー２（配列番号２９）、及びヘパラン硫酸（ＨＳ、配列番号３０）を含有する、Ｐ６Ｆｃ－ＨＳのヌクレオチド配列（全配列、９６６ｂｐ、図１９Ａに示される）。
配列番号２５－ＩＬ－２リーダーの配列。
配列番号２６－Ｐ６Ｆｃ－ＨＳ中のＡＣＥ２の配列。
配列番号２７－Ｐ６Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー１の配列。
配列番号２８－Ｆｃの配列。
配列番号２９－Ｐ６Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー２の配列。
配列番号３０－ヘパラン硫酸の配列。
配列番号３１－Ｐ６Ｆｃ－ＨＳのアミノ酸配列（配列番号２４に相当する、図１９Ｂに示される）。
配列番号３２－（順に）ＩＬ－２リーダー（配列番号２５）、リンカー１（配列番号３３）、ＡＣＥ２（配列番号３４）、リンカー２（配列番号３５）、Ｆｃ（配列番号２８）、リンカー３（配列番号３６）、及びヘパラン硫酸（ＨＳ、配列番号３０）を含有する、ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳのヌクレオチド配列（全配列、３０６６ｂｐ、図２０Ａに示される）。

配列番号３３－ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー１の配列。
配列番号３４－ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳ中のＡＣＥ２の配列。
配列番号３５－ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー２の配列。
配列番号３６－ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー３の配列。
配列番号３７－ＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳのアミノ酸配列（配列番号３２に相当する、図２０Ｂに示される）。
配列番号３８－（順に）ＩＬ－２リーダー（配列番号２５）、リンカー１（配列番号３９）、ＡＣＥ２－１部分（配列番号４０）、リンカー２（配列番号４１）、ＡＣＥ２－２部分（配列番号４２）、リンカー３（配列番号４３）、Ｆｃ（配列番号２８）、リンカー４（配列番号４４）、及びヘパラン硫酸（ＨＳ、配列番号３０）を含有する、Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳのヌクレオチド配列（全配列、１１２８ｂｐ、図２１Ａに示される）。
配列番号３９－Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー１の配列。
配列番号４０－Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳ中のＡＣＥ２－１部分の配列。
配列番号４１－Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー２の配列。
配列番号４２－Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳ中のＡＣＥ２－２部分の配列。
配列番号４３－Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー３の配列。
配列番号４４－Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳ中のリンカー４の配列。
配列番号４５－Ｐ６１Ｆｃ－ＨＳのアミノ酸配列（配列番号３８に相当する、図２１Ｂに示される）。
配列番号４６－ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡのヌクレオチド配列（図３１Ａに示される）。
配列番号４７－ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡのアミノ酸配列（図３１Ｂに示される）。
配列番号４８－ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）のヌクレオチド配列（図３２Ａに示される）。
配列番号４９－ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）のアミノ酸配列（図３２Ｂに示される）。
配列番号５０－ＡＣＥ２－Ｆｃ－Ｓｔｒｅｐ－Ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）のヌクレオチド配列（図３３Ａに示される）。
配列番号５１－ＡＣＥ２－Ｆｃ－Ｓｔｒｅｐ－Ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）のアミノ酸配列（図３３Ｂに示される）。

【０１１６】

詳細な説明

エンベロープウイルスは、宿主細胞の表面上の受容体と相互作用するスパイク（Ｓ）タンパク質又はエンベロープ（Ｅ又はＥｎｖ）タンパク質などのその表面タンパク質を使用する受容体介在性エンドサイトーシスによって細胞に侵入する。Ｅｎｖタンパク質と細胞表面受容体との間の相互作用は、「鍵と鍵穴(lock-and-key)」様式で作用する。Ｅｎｖタンパク質は、受容体内の結合ポケットによって認識される、１つ以上の立体構造的な受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）を有する。結合ドメインの３Ｄ構造は、アミノ酸配列によって決定される。ある種のウイルスは、１つのみの細胞受容体を使用するのに対して、他のウイルスは、２つ以上を使用する。２つ以上の受容体を利用するウイルスについては、協同的リガンド相互作用が、重要な役割を果たし、結合プロセスはおそらく連続的である、すなわち、第１のリガンドの結合が第２のリガンドの結合を誘発する。このプロセスが起こるウイルスの例には、ＨＩＶ（ここではＣＣＲ５の結合がＣＤ４結合のための結合部位を開く）、及びＨＣＶ（ここではＨＳＰＧ及び／又はＳＲＢ１の結合がＣＤ８１結合を可能にする）が含まれる。

【０１１７】

宿主細胞上のウイルス受容体へのウイルス結合の第２の機構は、電荷相互作用を介するものである。ウイルスのＥｎｖタンパク質は、進化的に保存される正に帯電したドメインを有することが公知である。細胞受容体の負に帯電したドメインは、このプロセスに関与する。これらの部位は、細胞を感染させるウイルスのための単独の受容体であり得るか、又は第２の受容体であり得る。結合ポケットの電荷は、酸性アミノ酸によって、又はタン

パク質の硫酸化によって、例えば宿主のハウスキーピング酵素によって供与され得る。タンパク質を硫酸化する公知の方式は２つ存在し、そのうちの１つは、（ＨＩＶがそうであるように）チロシン硫酸化を介して生じ、もう一つは、ヘパラン硫酸（ＨＳ）などの糖によって生じ、これはＨＣＶに当てはまる。本開示は、タンパク質がＨＳなどの糖によって硫酸化される事例を利用する。現在、いくつのエンベロープウイルスがその受容体介在性侵入プロセスのために糖をベースにする硫酸基を使用するかどうかは正確にはわからない。しかし、個別のウイルスの機構にかかわらず、本明細書に記載した通りのＩｇ－Ｆｃ分子に存在するＨＳ－硫酸化部位は、ウイルス中和のための協同的リガンド結合相互作用の促進のための主要決定要因であり得る。

【０１１８】

ｅＣＤ４－Ｉｇと低分子ＣＣＲ５模倣スルホペプチドとの融合タンパク質が、ＨＩＶ－１　Ｅｎｖタンパク質に貪欲且つ協同的に結合して、宿主細胞の感染を防止することが、当技術分野で公知である。しかし、対象における融合タンパク質の活性を長期阻害するために、ＣＣＲ５模倣ペプチドの硫酸化が必要とされる。受容体の硫酸化のレベルを維持するのを助けるために、対象におけるチロシルタンパク質スルホトランスフェラーゼ（ＴＰＳＴ２）と融合タンパク質との同時発現が報告されているが、これは、対象又は患者における複数の外来性配列の同時発現を必要とする。

【０１１９】

多くのウイルスは、肝疾患、癌、及び免疫不全を含めた慢性の状態をもたらす。Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）は、最も多様なヒトウイルスの一つであり、感染を予防又は治療するためのユニバーサルワクチンは利用可能ではない。世界中でおよそ１億７０００万人が持続的にＨＣＶに感染しているのに対して、米国及び欧州ではおよそ８百万人が慢性的に感染していると推定される。さらに、ＨＣＶに感染した人のおよそ３０％しか完全に回復せず、一方で、残りの７０％が末期の肝疾患又は原発性肝細胞癌を発症し、結果的にＨＣＶは、肝臓移植の主要原因となる。

【０１２０】

ＨＣＶは、ＨＳＰＧ及びＳＲＢ１を使用してそれ自体を肝細胞に接着させることによって肝臓に侵入し、ＣＤ８１、クローディン及びオクルディンを含めた複数の細胞表面受容体を使用して内部移行する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、細胞への侵入のために、ヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）と組み合わせてＡＣＥ２受容体を利用する。ＨＳＰＧのグリコサミノグリカン成分は、ヘパラン硫酸（ＨＳ）であり、その注目すべき一例は、ヘパリンである。ヘパリン結合時に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質受容体結合ドメインは、構造変化を受ける。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症は、肺、心臓、血管、肝臓、及び腎臓を含めた複数の器官の内側を覆う内皮におけるＡＣＥ２受容体を下方調節し、ＣＯＶＩＤ－１９患者における多臓器不全の原因である内皮の炎症及び血栓形成を引き起こす。上記に基づき、本発明者らは、効率的に硫酸化多糖を含有するように改変されている、第１のウイルス受容体と第２のウイルス受容体との両方に結合する組換えポリペプチドの構築が、融合タンパク質の硫酸化を維持し、及びその組換えポリペプチドとウイルス粒子との間の結合を亢進させて、ウイルスの宿主細胞への侵入を防止することを突き止めた。これは、本開示の組換えポリペプチドが、ウイルス感染に対する有効な、長期の、ほぼ普遍的な防御を提供することができたことを示す。他の実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドはまた、本明細書に記載した通りに中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）を治療するために有用であり得る。

【０１２１】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、世界中で病気と死をもたらしている、現在のＣＯＶＩＤ－１９世界的パンデミックの原因である。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、コロナウイルス科(Coronaviridae)のメンバーのウイルスである一本鎖プラス鎖ＲＮＡウイルスである。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、スパイク（Ｓ）受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）と、アンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）受容体内の特異的なアミノ酸残基との間の相互作用によって、ヒト細胞に感染する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を含めたコロナウイルスのＳタンパク質は、２

つの別のサブユニット、すなわちＳ１（受容体と結合する）とＳ２（ウイルスの膜と細胞との膜との融合を誘発する）に切断され、これらのサブユニットとして機能する。この切断は、ビリオン構築及び分泌中に、Ｓ１／Ｓ２フーリン切断部位で起こる。これとは対照的に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶのＳタンパク質は切断されず、たとえ２つのタンパク質がそれぞれの間におよそ７０％の相同性を有していたとしても、単一のタンパク質として機能する。さらに、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質は、Ｓ１／Ｓ２切断部位に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ　Ｓタンパク質中には存在しないＰＲＲＡＲペンタペプチド挿入を有する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓタンパク質の高いアルギニン（Ｒ）含有量は、ウイルスとＨＳＰＧＲとの予測される高い電荷相互作用をもたらす。

【０１２２】

本開示は、ウイルス感染を予防及び治療するための、組換えポリペプチド、医薬組成物、ＲＮＡ分子、及び関連する方法を提供する。好都合なことには、細胞へのウイルスの侵入を防止するために、組換えポリペプチドに、免疫グロブリン（Ｉｇ）又はその断片、可溶性若しくは膜結合受容体又はその断片、スペーサー領域、ある特定のウイルスに特異的な抗体の領域、及び／又は硫酸化多糖、若しくは硫酸化させることができる他の化合物を組み合わせることができる。本開示は、ウイルスの配列不均一性を飛び越えることができるので、対象又は患者を治療するための、本明細書に記載した通りのこうした組換えポリペプチド、並びにベクター、組成物、及び方法は、あらゆるウイルスの感染症の治療又は予防を可能にすることができる。したがって、すべてのウイルス遺伝子型を捕捉することが可能であり、感染性ウイルスに対する本開示の普遍性を示す。

【０１２３】

いくつかの実施形態では、本開示は、早期から後期のウイルス感染を治療するために広く有用である、タンパク質生成物、ＲＮＡ生成物、及び組換えアデノウイルスベクター生成物を記載する。例えば、本明細書に記載した通り、本開示の組換えポリペプチドは、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドであってもよいし、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳ組換えポリペプチドであってもよい。こうしたタンパク質生成物は、本明細書に記載した通りに哺乳類細胞培養液から発現及び精製することができ、例えば、限定はされないが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、及び風邪を引き起こすヒトコロナウイルスＮＬ６３（ＨＣｏＶ－ＮＬ６３）を含めた、本明細書に記載されたあらゆるウイルスの、静脈内（ＩＶ）注入による治療に有用である。他の実施形態では、本明細書に記載した通りのＲＮＡ生成物は、筋肉内（ＩＭ）又は皮下（ＳＣ）投与による本明細書に記載されたあらゆるウイルスの治療のための、カチオン性リポソームを用いて製剤化される、インビトロＴ７転写システムに使用するのに有用であるＲＮＡ分子又はその組成物であり得る。他の実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えアデノウイルスベクター生成物は、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、Ａｄ５、又はＡｄ２６ウイルス粒子又はその組成物であり得、これらは、鼻腔又はＩＭ投与による本明細書に記載されたあらゆるウイルスの治療のために、細胞培養液から発現及び精製することができる。これらの実施形態及び他の実施形態を、本明細書に詳細に記載する。

【０１２４】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されたタンパク質生成物、ＲＮＡ生成物、又は組換えアデノウイルスベクター生成物は、ＣＯＶＩＤ－１９世界的パンデミックなどの流行又はパンデミックに関与するウイルスの治療に使用するのに、又は、同じ細胞受容体を利用するあらゆる未来のウイルスに有効である。他の実施形態では、本明細書に記載されたタンパク質生成物、ＲＮＡ生成物、又は組換えアデノウイルスベクター生成物は、ワクチン及び／又はモノクローナル抗体（Ｍａｂ）をエスケープ又は回避するウイルスに有効である。これらのウイルスは、そのエスケープ変異が自殺的であるので、受容体によって捕捉される。本明細書に記載されたタンパク質生成物、ＲＮＡ生成物、又は組換えアデノウイルスベクター生成物は、ＡＣＥ２、すなわち多くの器官の内皮完全性を維持するための重要な酵素を提供する。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症は、ＡＣＥ２を低下させ、これは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染した患者における内皮の血栓形成の主な原因である。本

明細書に記載されたタンパク質生成物、ＲＮＡ生成物、又は組換えアデノウイルスベクター生成物はまた、エフェクター機能、例えば、相補性調整又はＴ細胞応答（抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ））も提供する。

【０１２５】

多くのウイルスについては、ウイルスエンベロープの可変性が原因で、表面抗原検査は利用可能ではない。したがって、いくつかの実施形態では、本開示は、現在の感染を測定するための、ウイルス感染についての迅速なポイントオブケア検査を提供する。したがって、本開示は、細胞表面受容体を使用して細胞を感染させる能力がある、あらゆるウイルスの診断、治療、及び予防を包含することを意図する。こうしたウイルスには、エンベロープウイルスと非エンベロープウイルスの両方が含まれる。エンベロープウイルスには、例えば、限定はされないが、ＨＣＶ、ＭＥＲＳなどを含めた、カプシドを取り囲んでいるウイルスエンベロープを有するあらゆるウイルスが含まれ得る。他の実施形態では、ウイルスは、ウイルスカプシド周囲のウイルスエンベロープを欠く可能性があり、細胞表面受容体を使用して細胞を感染させることが可能であり得る。非エンベロープウイルスの、ある非限定的な例は、ピコルナウイルスであり、これは、限定はされないが、ライノウイルス、エンテロウイルス、ヘパドナウイルスなどを含めた、小さい細胞質ウイルスの大きなファミリーを包含する。

【０１２６】

本明細書で他に指定されない限り、組換えポリペプチド、医薬組成物、ＲＮＡ分子又は組成物、及び関連する方法は、すべて、本明細書に例示された手順又は当技術分野で周知の慣例的に実施される方法に従って産生又は実施することができる。例えば、Methods in Enzymology,Volume 289:Solid-Phase Peptide Synthesis,J.N.Abelson,M.I.Simon,G.B.Fields(Editors),Academic Press;1st edition(1997)(ISBN-13: 978-0121821906);米国特許第４，９６５，３４３号及び第５，８４９，９５４号;Sambrook et al.,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press,N.Y.,(3rd ed.,2000);Brent et al.,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,Inc.(2003);Davis et al.,Basic Methods in Molecular Biology,Elsevier Science Publishing,Inc.,New York,USA(1986);又はMethods in Enzymology:Guide to Molecular Cloning Techniques Vol.152,S.L.Berger and A.R.Kimmel Eds.,Academic Press Inc.,San Diego,USA(1987); Current Protocols in Protein Science(CPPS)(John E.Coligan,et al.,ed.,John Wiley and Sons,Inc.),Current Protocols in Cell Biology(CPCB)(Juan S.Bonifacino et al.ed.,John Wiley and Sons,Inc.),及びCulture of Animal Cells:A Manual of Basic Technique by R.Ian Freshney,Publisher:Wiley-Liss; 5th edition (2005),Animal Cell Culture Methods(Methods in Cell Biology,Vol.57,Jennie P.Mather and David Barnes editors,Academic Press, 1st edition,1998)を参照のこと。

【０１２７】

本開示の実施形態は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体断片とを含む組換えポリペプチドを提供する。別の実施形態では、本開示は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体断片とを含む組換えポリペプチドを含む医薬組成物を提供する。他の実施形態は、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体断片とを含む組換えポリペプチドを含む医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。他の実施形態は、ａ）５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；ｂ）ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体断片とを含む組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列とを含むＲＮＡ分子を提供する。他の実施形態は、ａ）生ウイルス発現ベクターと；ｂ）ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少

なくとも１つのウイルス受容体断片とを含む組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列とを含む治療用組成物を提供する。他の実施形態は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体断片とを含む組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現系を提供する。

【０１２８】

ウイルス感染の予防のための組換えポリペプチド

いくつかの実施形態では、本開示は、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体断片とを含む組換えポリペプチドを提供する。こうした組換えポリペプチドは、宿主細胞上の細胞表面受容体へのウイルスの結合を模倣して、ウイルス受容体断片を介して、ウイルス粒子上に存在するタンパク質に結合する。いくつかの実施形態では、組換えポリペプチドは、組換えタンパク質が２つ以上のウイルスタンパク質に協同的に結合することを可能にする、２つ以上のウイルス受容体断片を有することができる。この組換えポリペプチドによって捕捉されたウイルス粒子は、これらの作用の機構がウイルスタンパク質を塞ぐという条件でＩｇ　Ｆｃフラグメントのエフェクター機能によって循環から除去され、宿主細胞上の細胞表面受容体へのウイルスの結合は防止又は遮断され、細胞へのウイルスの侵入は有効に予防され、ウイルスの感染力は低下する。

【０１２９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの抗体融合分子は、１つ以上のＦｃ領域、１つ以上のC_H領域、１つ以上のC_H領域、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、単鎖Ｆｖ（ＳｃＦｖ）及び／又はＦｖ断片、ヒンジ領域、並びにこれらの断片又は部分、及び所望される標的エピトープ（単数）又はエピトープ（複数）に対する特異性を有する抗体のいずれかの部分を含むことができる。本明細書に記載した通り、Ｉｇ　Ｆｃ又はその断片は、抗体又は抗体断片であってもよいし、単鎖、二本鎖、及び／又は複数鎖タンパク質、及び／又はポリクローナル、モノクローナル、キメラ、二重特異性、及び／又はヘテロ免疫グロブリンの分類に属する糖タンパク質であってもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りのＩｇ　Ｆｃフラグメントは、モノクローナル抗体を指すことができる。いくつかの実施形態では、これらの免疫グロブリンの合成の及び／又は遺伝子操作されたバリアントが、本開示の範囲に包含される。

【０１３０】

これらを含むあらゆる組換えポリペプチド又は組成物の活性又は半減期を増大させるために、本明細書に記載した通りのウイルス受容体断片を、より大きな分子又は担体に融合又は結合させることができる。例えば、本明細書に記載した通りのウイルス受容体を、免疫グロブリン（Ｉｇ）Ｆｃ－ドメインのすべて又は一部に融合させることができる。こうした融合は、ウイルス受容体断片融合抗体に、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害を媒介する能力、粘膜区画に到達する能力、及び胎盤を通過して輸送する能力を含めたエフェクター機能を与える。

【０１３１】

したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、ウイルス受容体断片に加えて、免疫グロブリンのＦｃ結合領域を含有することができる。いくつかの実施形態では、本開示の組換えポリペプチドは、例えば、限定はされないが、Ｉｇの定常重鎖、可変重鎖、定常軽鎖、可変軽鎖、ヒンジ領域、及び／又はＦｃドメイン、並びにそのバリアントのすべて又は部分を含めた、免疫グロブリン分子又は抗体の一部分を含有することもできる。例えば、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、ヒトＩｇＧの一部分と組み合わせることができる。必要に応じて、例えば、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、及びそのバリアントを含めた、あらゆる型の免疫グロブリンを使用することができる。

【０１３２】

例えば、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、Ｉｇ－ＦｃフラグメントのＮ末端又はＣ末端の片方又は両方でウイルス受容体断片を連結することによって構築する

ことができる。１つ以上のウイルス受容体断片を、あらゆる配置で直接的に結びつけてもよいし、スペーサー領域によって隔ててもよい。こうしたスペーサー領域は、いくつかの実施形態において、ウイルス受容体断片の適切な配置（これらがウイルスエンベロープタンパク質に連続的又は協同的に結合することができる、及び／又は構成要素のそれぞれの適切な機能を確実にすることができるような）にとって有益であり得る。本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの要素は、任意の順序で連結することができる。いくつかの実施形態では、ＨＣＶの治療のために、図１～３に示す通り、ＳＲＢ１受容体断片をＣＤ８１受容体断片に連結し、スペーサーによって隔てることができる。他の実施形態では、中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）の治療のために、図４に示す通り、ＣＤ２６又はその断片ＣＤ２６－Ｂ４Ｃを組み合わせて、組換えポリペプチドにすることができる。次いで、これらの構築物、又は本開示の範囲に包含される他のものを、Ｉｇ－Ｆｃ領域に結合させることができる。いくつかの実施形態では、低分子量ヘパラン硫酸などの硫酸化多糖を、Ｆｃに結合させて、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドに負電荷を与えることができる。当業者によって理解されるであろう通り、本開示に従って組換えポリペプチド又は融合タンパク質への包含に有用であると特定されている本明細書の構成要素は、本明細書に開示されたあらゆるウイルスに対するあらゆる細胞表面受容体を有するバリアント、及び免疫グロブリン（Ｉｇ）又はＦｃ領域のあらゆる有用な領域が含まれるように、いくつかの方式で変更することができる。こうした組換えポリペプチド及びそのバリアントも、本開示の範囲に包含される。

【０１３３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、単量体形態であってもよいし、多量体形態、例えば、二量体、三量体、四量体、六量体、八量体、十量体などであってもよい。図２４～２９は、本開示の組換えポリペプチドのこうした多量体形態についての可能な組み合わせ方を示す。以下に詳細に記載されるいくつかの実施形態では、単量体を、別の単量体に連結させて、二量体を形成し、次いで、これを、さらに多量体化させて、本明細書に記載した通りの四量体又は八量体にすることができる。本開示の単量体を、Ｆｃ－Ｆｃ統合という理由で同時翻訳によって二量体化させ、次いでさらにストレプトアビジン（ＳＡ）によって四量体にし、次いでビオチン－ＳＡ相互作用によって八量体にする。これらの実施形態及び他の実施形態を、本明細書に詳細に記載する。

【０１３４】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示された組換えポリペプチドは、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体断片を有することができ、本明細書に開示した通りのヒンジドメイン、リンカー、又はスペーサーをさらに含むことができる。少なくとも１つのウイルス受容体断片は、例えば、限定はされないが、特に、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＨＳＰＧ、ＣＤ２６、ＣＤ２６－Ｂｌａｄｅ４、ＣＤ２６－Ｂ４Ｃ、ＡＣＥ２、ＣＤ１４７、シアル酸、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＮＰＣ１、ＮＴＣＰなどの、下の表１に列挙されるウイルス受容体を含めた、本明細書に開示されたあらゆるウイルス受容体又はその断片、又はウイルス受容体又はその断片の組み合わせであり得る。当業者は、ウイルスの治療のために他のウイルス受容体を使用することができ、これらは、本開示の範囲内に包含されることが意図されることを認識するであろう。いくつかの実施形態では、２つ以上のウイルス受容体が、本明細書に記載された組換えポリペプチドに含まれ得る。いくつかの実施形態では、ウイルス受容体は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症の治療又は予防のためのＡＣＥ２受容体である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された組換えポリペプチドは、２つの同一のポリペプチド鎖を有する二量体である。いくつかの実施形態では、ポリペプチド二量体上の各ウイルス受容体は、同一である。いくつかの実施形態では、ウイルス受容体は、ＡＣＥ２受容体である。

【０１３５】

いくつかの実施形態では、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドの四量体化は、図２４に

表される、ビオチン結合部位を有するストレプトアビジン（ＳＡ）を使用して、細胞培養において実施することができる。組換えポリペプチドへのＳＡの付加は、それぞれが二量体形態の２つの個々のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えタンパク質のＳＡ基の結合の結果としての、四量体（本明細書ではＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡと称される）の自然形成をもたらして、ＡＣＥ２－Ｆｃ四量体－ＳＡが形成されることとなる（図２４）。得られた四量体の組換えタンパク質は、細胞培養において発現及び分泌される。

【０１３６】

いくつかの実施形態では、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドの八量体化は、ＳＡ及びＳｔｒｅｐ－ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）を使用して、インビトロで実施することができる。ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体について上に記載した通り、それぞれが二量体形態の２つの個々のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えタンパク質のＳＡ基の結合は、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体の自然形成をもたらし、次いで、これは、例えばＳｔｒｅｐ－ｔａｇ　ＩＩペプチドを使用してさらに多量体化され、これが、ＳＡ上のビオチン結合部位に結合して、図２５に示す通り、Ｆｃ八量体が形成されることとなる。

【０１３７】

他の実施形態では、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドの四量体化は、ビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）と、ビオチン結合部位を有するＳＡを使用して、インビトロで実施することができる。ＳＡは、末端のＡｖｉＴａｇ（商標）基を伴うＡＣＥ２－Ｆｃ二量体（すなわち、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標））に付加され、各ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）二量体のビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）の、ビオチン結合部位への結合の結果としての、四量体の自然形成がもたらされる（図２６）。

【０１３８】

いくつかの実施形態では、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドの八量体化は、先の段落に記載した通りのＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）二量体を使用して、インビトロで実施することができる。ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）二量体が、四量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡと組み合わせられて、ビオチン結合部位での、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体への、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）の末端のビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）の結合の結果として、図２７に示す通りに、八量体の組換えポリペプチドを形成する。

【０１３９】

他の実施形態では、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドの四量体化は、ヘパリンでビオチン化され、及びビオチン結合部位を伴うＳＡと組み合わせられた、二量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）を使用して、インビトロで実施することができる。ヘパリンでビオチン化されたＡｖｉＴａｇ（商標）基は、ＳＡ上のビオチン結合部位に結合して、図２８に示す通りに四量体組換えポリペプチドを形成する。

【０１４０】

いくつかの実施形態では、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドの八量体化は、先の段落に記載した通りのヘパリンでビオチン化されたＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）二量体を使用して、インビトロで実施することができる。ヘパリンでビオチン化されたＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）二量体が、四量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡと組み合わせられて、ビオチン結合部位での、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体への、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）の末端のビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）の結合の結果として、図２９に示す通りに、八量体の組換えポリペプチドを形成する。

【０１４１】

したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載された組換えポリペプチドは、１つ以上の二量体を含むことができ、これらはそれぞれ、少なくとも２つのウイルス受容体又はその断片を含むことができる。本明細書に記載した及び少なくとも図２４～３０に示した通り、本開示によれば有用な組換えポリペプチドは、四量体又は八量体を構成するための１つ以上の同一の二量体を含むことができる。二量体は、本明細書に記載した通りに同一であってもよいし、互いに異なっていてもよい。いくつかの実施形態では、本明細

書に記載された二量体上のウイルス受容体又はその断片は両方とも、ＡＣＥ２である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された組換えポリペプチドは、四量体又は八量体である。こうした四量体又は八量体は、１つ以上のストレプトアビジン、１つ以上のＡｖｉＴａｇ（商標）、及び／又は１つ以上のＳｔｒｅｐ－Ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）を使用して、例えば、これらを含むように、本明細書に記載した通りに生成することができる。本明細書に記載した通り、ストレプトアビジンは、本明細書に記載した通りの多量体の生成のために使用される、１つ以上のビオチン結合部位を含むことができる。本明細書に記載した通りのＡｖｉＴａｇ（商標）は、例えばヘパリンで、ビオチン化することができる。こうした多量体組換えポリペプチドの構造は、本明細書に、少なくとも図２４～２９に記載されており、また、配列番号４６～５１として記述されている。こうした多量体組換えポリペプチドについて、多量体、例えば、二量体、四量体、又は八量体の各ポリペプチドは、配列番号４７、４９、又は５１として記述した配列を含む。

【０１４２】

上の四量体化及び八量体化方法は、本明細書に開示された又は当技術分野で公知のあらゆるウイルス受容体－したがってあらゆるウイルス－で有用であり得る。有用な実施形態は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、及び／又はＣｏＶ－ＮＬ６３などの感染のための細胞受容体としてＡＣＥ２受容体を使用するあらゆるウイルスを含むことができる。したがって、本開示は、本明細書に及び実施例に記載した通りの、ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドと、ストレプトアビジン（ＳＡ）、ＡｖｉＴａｇ（商標）、及び／又はＳｔｒｅｐ－ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）の組み合わせとの使用を含む、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの多量体を作製する方法を包含する。

【０１４３】

ウイルス受容体

本明細書に記載した通り、ウイルスは、ウイルス上に存在するタンパク質を用いる細胞表面受容体への結合によって、宿主細胞に侵入する。いくつかのウイルスは、単一の宿主細胞表面受容体に結合することができ、いくつかのウイルスは、２つ以上の宿主細胞表面受容体に結合することができる。このような場合、ウイルスのその受容体への結合は、連続的であり得るか又は協同的であり得る。いくつかの実施形態では、細胞表面受容体へのウイルスの結合は、第２の宿主細胞表面受容体への第２のウイルスタンパク質の結合を引き起こす、可能にする、又は開始することができる。本明細書に記載した通りのウイルス受容体断片は、ウイルスタンパク質への結合のための天然の受容体と競合することができるあらゆる分子又はペプチド配列を含んでいることが意図される。こうしたペプチド又は模倣体の例は、当技術分野で周知である。

【０１４４】

いくつかの場合では、宿主細胞へのウイルスの侵入は、宿主細胞表面受容体の近接性又は空間配置に依存することが知られている。ウイルスの宿主細胞受容体は、当技術分野で公知であり、各ウイルスファミリーによって、又は個々のウイルス株によって異なる可能性がある。表１は、いくつかのウイルスについての受容体を提供する。

【０１４５】

【表１】

表１– ウイルス受容体

ウイルス	受容体
HCV	HSPG, CD81, SRB1
MERS CoV	HSPG, CD26,
SARS CoV & CoV-NL63	HSPG, ACE2
SARS CoV-2	HSPG, ACE2, CD147, シアル酸, SRB1
ジカ	DC-SIGN (CD209), AXL, Tyro3, TIM-1, PtdSer R (CD300a)
エボラ	TIM-1, NPC1
HBV	HSPG, NTCP

SRB1, スカベンジャー受容体 B-1; HSPG, ヘパラン硫酸プロテオグリカン

【０１４６】
いくつかの実施形態では、ウイルス受容体又はその断片は、ウイルスによって認識され、及びウイルスが結合するであろう、宿主細胞表面受容体のあらゆる断片であり得る。例えば、表に示される及び本明細書に記載される通り、本開示に従うウイルス受容体断片には、限定はされないが、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＨＳＰＧ、ＣＤ２６、ＣＤ２６－Ｂｌａｄｅ４、ＣＤ２６－Ｂ４Ｃ、ＡＣＥ２、ＤＣ－ＳＩＧＮ（ＣＤ２０９）、ＡＸＬ、Ｔｙｒｏ３、ＴＩＭ－１、ＰｔｄＳｅｒ　Ｒ（ＣＤ３００ａ）、ＮＰＣ１、ＮＴＣＰなどが含まれ得る。いくつかの実施形態では、ＨＣＶによって認識されるウイルス受容体又はその断片には、限定はされないが、ＣＤ８１及び／又はＳＲＢ１が含まれる。いくつかの実施形態では、ウエストナイル又はデングウイルスによって認識されるウイルス受容体又はその断片には、限定はされないが、ＡＸＬ及び／又はＴＩＭ－１、及び／又はＴＩＭ－４が含まれる。いくつかの実施形態では、ジカウイルスによって認識されるウイルス受容体又はその断片には、限定はされないが、ＡＸＬ及び／又はＴｙｒｏ３が含まれる。
【０１４７】
いくつかの実施形態では、ＭＥＲＳによって認識されるウイルス受容体又はその断片には、限定はされないが、ＣＤ２６及び／又はＣＤ２６－Ｂｌａｄｅ４及び／又はＣＤ２６－Ｂ４Ｃが含まれる。いくつかの実施形態では、ＳＡＲＳによって認識されるウイルス受容体又はその断片には、限定はされないが、ＡＣＥ２及び／又はＨＳＰＧが含まれる。
【０１４８】
いくつかの実施形態では、エボラ(Ebola)によって認識されるウイルス受容体又はその断片には、限定はされないが、ＮＰＣ１及び／又はＴＩＭ－１が含まれる。
【０１４９】
いくつかの実施形態では、ＨＢＶによって認識されるウイルス受容体又はその断片には、限定はされないが、ＮＴＣＰが含まれる。本開示に有用な断片は、ウイルスに結合して宿主細胞へのウイルスの侵入を防止することとなる、宿主細胞上に見られる受容体の断片であろう。当業者によって理解されるであろう通り、本明細書に記載した通りの組換えポ

リペプチドは、適切と判断される場合、ウイルスに結合し、及びウイルスへの結合を維持することとなる、あらゆるウイルス受容体又はその断片で修飾することができる。

【０１５０】

多くのウイルス及び／又はウイルスファミリーは、第１の又は第２のウイルス受容体として、異なる組み合わせの宿主細胞受容体を使用する。例えば、上の表に示す通り、限定はされないが、ＨＣＶ、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、及びＨＢＶを含めたいくつかのウイルスは、すべて、第２のウイルス受容体としてＨＳＰＧを使用する。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰＧ依存性のウイルスは、参照によって本明細書に組み込まれるCagno et al.(Viruses 11(7):596,2019)によって記載されているいくつかのカテゴリーにグループ分けすることができる。例えば、ＨＳＰＧへの依存性は、限定はされないが、単純ヘルペスウイルス、デングウイルス、エコーウイルス５、エコーウイルス６、及び北アメリカ(North American)東部ウマ脳炎ウイルスを含めた、ウイルスの天然の分離株で判明している。ＨＳＰＧへの依存性は、限定はされないが、サイトメガロウイルス、仮性狂犬病ウイルス、メルケル細胞ポリオーマウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス／デルタ肝炎ウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス２（Ｄ型が含まれる）、ノロウイルス遺伝子型群ＩＩ、シュマレンベルク(Schmallenburg)ウイルス、狂犬病ウイルス、ブタ水疱病ウイルス、タイラーマウス脳脊髄炎ウイルス、ヒトパレコウイルス１、ブタ繁殖・呼吸障害症候群ウイルス、ブタサーコウイルス２、ヒトヘルペスウイルス－８（カポジ肉腫ヘルペスウイルス）、ヒトパピローマウイルス、Ｃ型肝炎ウイルス、アデノ随伴ウイルス２、ヒト免疫不全ウイルス、フィロウイルス、アカバネウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ライノウイルス５４、エンテロウイルス７１、コクサッキーウイルスＡ９、ヘンドラ及びニパウイルス、ヒトＴ細胞白血病ウイルス１型、及びＥ型肝炎ウイルスを含めた、ウイルスの実験株で判明している。ＨＳＰＧへの依存性は、限定はされないが、口蹄疫ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、シンドビスウイルス、セムリキ森林ウイルス、ライノウイルスＣ１５、ライノウイルス８、ライノウイルス８９、コクサッキーウイルスＢ３、コクサッキーウイルスＡ２４、黄熱病ウイルス、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、コロナウイルス１群、コロナウイルスＯＣ４３、チクングニアウイルス、及びマレー渓谷脳炎ウイルスを含めたウイルスの細胞培養適応から判明している。ＨＳＰＧへの依存性は、限定はされないが、ジョン・カニンガムポリオーマウイルス、エンテロウイルス７０、エンテロウイルス７１、及びレオウイルスを含めたウイルスのヒト宿主内適応から判明している。さらに、限定はされないが、ＲＳウイルス、パラインフルエンザウイルス３、パラインフルエンザウイルスＡ１１、ヒトメタニューモウイルス、ジカウイルス、アデノウイルス５（Ｄ型が含まれる）、及びコロナウイルスＮＬ６３を含めたウイルスも、受容体としてのＨＳＰＧに依存し得る。

【０１５２】

いくつかの実施形態では、他のウイルス、例えばジカ及びエボラは、同じＨＳＰＧを厳密には使用しないが、それでも負に帯電した受容体ポケットを使用する。いくつかの実施形態では、ＨＳＰＧは、受容体として作用せずに、受容体ポケットに電荷を単に提供することだけができる。いくつかの実施形態では、本開示は、受容体としてＨＳＰＧを使用するウイルスを認識してこれに結合する、組換えポリペプチドを提供する。他の実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、電荷提供者としてのＨＳＰＧと、離れた別の受容体を使用するウイルスを認識し、これに結合する。いくつかの実施形態では、ＨＢＶは、低親和性ＨＢＶ受容体としてのＨＳＰＧと、受容体としてのＮＴＣＰを使用する（Hu J.and Liu K.,Viruses 2017,9.56:doi:10.3390/v90300056）。

【０１５３】

いくつかの実施形態では、本開示の組換えポリペプチドのウイルス受容体又はその断片の、特定のウイルスへの結合は、ウイルスエンベロープ中又はウイルスエンベロープ上に存在する特定のタンパク質だけでなく、ウイルス受容体又はその断片の特定のアミノ酸配列によって形成される結合ポケットの電荷にも依存する可能性がある。いくつかの実施形

態では、ウイルスタンパク質又はそれに結合する細胞表面受容体の正味電荷は、ウイルスと宿主細胞表面受容体との間の結合を促進又は阻害することができる。ある種のウイルスは、宿主細胞表面タンパク質のある特定のドメインによって形成される、負に帯電した結合ポケットに結合することが、当技術分野で公知である。この件については、本明細書に記載した通り、硫酸化糖又は多糖の添加によって、本開示の組換えポリペプチドに、負電荷を提供することができる。こうした修飾は、ウイルスの、その宿主細胞受容体への結合を亢進するために提供することができる。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを、本明細書に記載した通りの１つ以上のウイルス受容体又はその断片上に硫酸化糖を含有するように修飾することができる。

【０１５４】

いくつかの実施形態では、本開示の硫酸化多糖は、あらゆる硫酸化糖又は多糖であり得る。硫酸化多糖は、例えば、限定はされないが、ヘパラン硫酸（ＨＳ）及びコンドロイチン硫酸（ＣＳ）を含めた、グリコサミノグリカン、グリコネクチン(glyconectin)、プロテオグリカン、フコイダンを含むことができる。本開示に従って有用な多糖は、直鎖でも分枝でもよく、また、天然に存在するものであっても人工的に合成又は改変されてもよい。いくつかの具体的実施形態では、本明細書に記載した通りの硫酸化糖は、プロテオグリカン上に存在し得るか又はその一部であり得る。プロテオグリカンは、あらゆる数の多糖分子（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個以上の多糖分子が含まれる）でグリコシル化することができる。例えば、いくつかの実施形態では、本開示に有用なプロテオグリカンは、ヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）であり得る。

【０１５５】

３つの主なクラスのＨＳＰＧ（すなわち、シンデカン、グリピカン、及びパールカン）が存在する。例えば、限定はされないがシンデカン及びグリピカンを含めた、大抵のＨＳＰＧは、真核細胞の原形質膜に固定されているが、限定はされないがパールカン、アグリン、及びコラーゲンＸＶＩＩＩを含めた他のものは、細胞外マトリックス（ＥＣＭ）中に見られる。本開示によれば、例えば、限定はされないがシンデカン、グリピカン、及びパールカンを含めた、あらゆるＨＳＰＧを、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドに使用することができる。

【０１５６】

本明細書で使用する場合、「硫酸化」は、糖又は多糖へのスルホ基の付加を指す。硫酸化は、細胞へのウイルス侵入、解毒、ホルモン調節、分子調節、分子認識、及び細胞内シグナル伝達、特にタンパク質－タンパク質相互作用を強化することにおける役割を果たすものを含めた、様々な生物学的プロセスに関与する。いくつかのウイルス株は、その宿主細胞表面受容体へのウイルス受容体の結合のための硫酸化を必要とする。いくつかの実施形態では、細胞受容体は、負に帯電した結合ポケットを作り出すために、多糖の硫酸化のための様々な機構を使用することができる。例えば、本明細書に記載した通りの、ヘパラン硫酸プロテオグリカン受容体（ＨＳＰＧＲ）は、硫酸化の部位として、末端の六炭糖糖鎖を用いる。このようにして、多くのウイルスは、細胞への侵入のための受容体として、この負に帯電したドメインを使用する。

【０１５７】

細胞表面受容体に加えて、いくつかのウイルスは、認識及び／又は細胞への侵入のための第２のウイルス受容体を、さらに使用する。例えば、本明細書に記載した通り、ＨＳＰＧは、宿主細胞への結合及び感染のための補助因子として、いくつかのウイルスによって使用される。いくつかの実施形態では、ＨＳ又はＨＳＰＧは、細胞内に遍在し、多くのウイルスによって補助因子として使用され得る。これらの化合物は、いくつかの実施形態では、受容体への結合を容易にすることができる。限定はされないが、フラビウイルス、コロナウイルス、及び／又はフィロウイルスを含めた、多くの異なるウイルスが、こうした受容体を使用することが公知である。したがって、いくつかの実施形態では、本開示は、これらのウイルスの感染を予防するための方法及び組成物を提供する組換えポリペプチドを提供する。

【０１５８】
本明細書に記載した通りの多糖又はプロテオグリカンは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０個の硫酸化部位などの１つ以上の硫酸化部位を含有することができる。同様に、ＨＳＰＧなどのいずれの特定のプロテオグリカンも、本明細書に記載した通りの１つ以上の硫酸化部位を含有することができる。本開示によれば、糖又は多糖の硫酸化は、糖又は多糖内のあらゆる位置で起こり得る。例えば、本明細書に記載した通り、本開示の組換えポリペプチドは、硫酸化の部位としての、又は硫酸化を多糖内の特定の位置に誘導するための手段として働く、特異的なアミノ酸モチーフを有することができる。本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドについての、硫酸化部位として働く、あるこうした例示的モチーフは、セリン－グリシン－アスパラギン酸（ＳＧＤ）モチーフである。しかし、代わりに、他のアミノ酸モチーフ又は配列も、硫酸化及びウイルス認識のための部位として働き、本開示に包含される。本開示によれば、適切な二次、三次、又は四次タンパク質構造により形成されるタンパク質又はポリペプチド中に存在する、タンパク質若しくはポリペプチド、又はあらゆるドメインのあらゆるアミノ酸配列は、硫酸化及びウイルス結合の部位として働くことができ、本開示に包含される。

【０１５９】
いくつかの実施形態では、本開示による硫酸化及びウイルス結合の部位として働くアミノ酸モチーフは、タンパク質又はポリペプチドのあらゆる位置に存在することができる。例えば、本明細書に記載した通り、ＳＧＤモチーフは、タンパク質又はポリペプチド中の特定のアミノ酸残基から一定の距離に位置することができる。アスパラギン酸及びグルタミン酸などのある種のアミノ酸は、酸性アミノ酸であり、負電荷を示すのに対して、アルギニン、ヒスチジン、及びリジンなどの他のアミノ酸は、塩基性アミノ酸であり、正電荷を示す。本開示によれば、ＳＧＤモチーフは、少なくとも１つの酸性アミノ酸から一定の数のアミノ酸残基内に位置することができる。例えば、ＳＧＤモチーフは、少なくとも１つの酸性アミノ酸から１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、又はそれ以上のアミノ酸内に位置することができる。具体的実施形態では、本明細書に記載した通りのＳＧＤモチーフは、少なくとも１つの酸性アミノ酸から７、８、９、及び／又は１０個のアミノ酸残基内に位置することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りのＳＧＤモチーフは、硫酸化のための認識部位として働くことができ、硫酸化及びウイルス結合のための位置として働くこともできる。いくつかの具体的実施形態では、ＳＧＤモチーフは、細胞のハウスキーピング酵素（これは、ＳＧＤモチーフのセリン残基にスルホ基を付加することができる）によって認識され得る。

【０１６０】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片を有する。本明細書に記載した通り、こうしたウイルス受容体又はその断片は、それによって宿主細胞上の細胞表面受容体を模倣する、組換えポリペプチドのウイルスへの結合を可能にする。いくつかの実施形態では、本開示の組換えポリペプチドは、組換えタンパク質を２つ以上のウイルスタンパク質に協同的に結合させることを可能にする、２つ以上のウイルス受容体又はその断片を有することができる。この作用機序は、ウイルスタンパク質を塞ぎ、宿主細胞上の細胞表面受容体へのウイルスの結合を防止又は遮断し、ウイルスの細胞への侵入を有効に防止し、ウイルスの感染力を低下させる。

【０１６１】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、細胞への侵入のために１つ以上の特異的な細胞表面受容体を利用するあらゆるウイルス科又は株の感染を予防することができる。他の実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、細胞への侵入のための受容体としてＨＳＰＧを利用するあらゆるウイルス科又は株の感染を予防することができる。例えば、本開示の組換えポリペプチドは、フラビウイルス科(Flaviviridae)、コロナウイルス科(Coronaviridae)、ヘパドナウイル

ス科(Hepadnaviridae)及び／又はフィロウイルス科(Filoviridae)のウイルスに結合することとなるウイルス受容体を含有することができる。当業者は、本開示の組換えポリペプチドが、特異的な細胞表面受容体に結合する、あらゆる特異的なウイルス科、株、又は分離株に結合できることを認識するであろう。本開示の組換えポリペプチドは、本明細書に記載した通りの特定のウイルスの感染を阻害するようにカスタマイズすることができる。

【０１６２】

いくつかの実施形態では、本開示の組換えポリペプチドに特に適している可能性があるウイルスには、限定はされないが、黄熱病ウイルス、ウエストナイルウイルス、デングウイルス、日本脳炎ウイルス、ジカウイルス、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）、ペギウイルスなどを含めた、フラビウイルス科(Flaviviridae)ウイルスが含まれる。いくつかの実施形態では、本開示の組換えポリペプチドに特に適している可能性があるウイルスには、限定はされないが、コロナウイルス、重症急性呼吸器症候群関連のコロナウイルス（ＳＡＲＳ　ＣｏＶ）、中東呼吸器症候群関連のコロナウイルス（ＭＥＲＳ）などを含めた、コロナウイルス科(Coronaviridae)ウイルスが含まれる。いくつかの実施形態では、本開示の組換えポリペプチドに特に適している可能性があるウイルスには、限定はされないが、エボラウイルスなどを含めた、フィロウイルス科(Filoviridae)ウイルスが含まれる。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、図１～３に示す通りの構造を有する融合タンパク質として、対象又は患者に投与することができる。他の実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、図４に示す通りの構造を有する融合タンパク質として、対象又は患者に投与することができる。或いは、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、細胞への侵入を妨げるようにウイルスタンパク質に別々に結合する、２つ以上のポリペプチド、ペプチド、構成成分、又はサブユニットを含むことができる。いくつかの実施形態では、異なる構成成分、例えばペプチド又はポリヌクレオチド鎖は、対象又は患者への投与の前に、共有結合的又は非共有結合的に結合させることができる。生ウイルスベクターが提供される本開示の実施形態については、こうしたベクターは、単一の実体としての組換え融合タンパク質をコードすることもできるし、本明細書に記載した通りの組換え融合タンパク質へとインビボで構築させることができる離れた別の構成成分又はサブユニットをコードすることもできる。

【０１６４】

ヘパリンは、ブタの腸から単離され、酵素で消化され、ＨＰＬＣによってサイズ分画が行われる、１７～１９ｋＤａの多糖である。本明細書に及び実施例に記載した通り、ヘパリンが、付着阻害剤として、標的細胞へのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の侵入を阻害することが判明した。ヘパリンは、ウイルス結合ポケットにおける負電荷に寄与する、ヘパラン硫酸と呼ばれる多糖のグループのメンバーである。本明細書に記載した通り、正に帯電したウイルスエンベロープタンパク質は、標的宿主細胞上の負に帯電した結合ポケットに結合する。ヘパラン硫酸プロテオグリカン（ＨＳＰＧ）を介する宿主細胞へのウイルスの付着は、ＡＣＥ２受容体を介するウイルスの侵入に必要である。

【０１６５】

本明細書に記載した通り、本発明者らは、本明細書ではＭＬＶ種と称されるレトロウイルス（マウス白血病ウイルス、ＭＬＶ）をベースにするＳＡＲＳ－ＣｏＶ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、及びＭＥＲＳ－ＣｏＶ疑似ウイルス粒子（ｐｐ）を合成した。これらの実験から、ヘパリンが、標的細胞（ＶｅｒｏＥ６又はＶｅｒｏＥ６／Ｔｍｐｒｓｓ２）において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症のための効果的な阻害剤であること、また、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＭＥＲＳ－ＣｏＶに対する阻害よりもＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する阻害の方が強いことが決定された。

【０１６６】

組換えポリペプチドをコードする発現系及びベクター

本明細書に詳述する通り、本開示は、ウイルス感染に対する長期のインビボでの防御又はウイルス感染の治療を必要とする哺乳類対象に投与することができる医薬組成物及び治療用組成物を提供する。こうした組成物は、典型的には、発現系、例えば、本明細書に記載した通りの組換えポリヌクレオチドをコードする又は発現する、ポリヌクレオチド配列、発現ベクター、又はウイルスベクターを含有する。本開示の組成物は、本明細書に記載した通りのウイルスの感染に対する強力且つ長期の防御を提供する、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの、対象又は患者（例えば、ヒト又は非ヒト霊長類）における最適なインビボ活性又は同時発現を可能にする。

【０１６７】

本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの最適発現は、種々の機構を介して達成することができる。こうした最適発現は、組換えポリペプチドをコードする発現ベクターの所望される構造設計を使用して、又は、発現ベクター中の適切な調節エレメントの使用によって、達成することができる。さらに、本開示の組換えポリペプチドのインビボでの最適発現は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの細胞内レベルの測定によって、さらに最適化することができる。ポリペプチドの適切なレベルの決定のためのあらゆる定量法を、必要に応じて使用することができる。こうした試験は、すべて、当技術分野で周知の標準の定量法又はプロトコルを介して容易に実施することができる。

【０１６８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの硫酸化は、慣例的に実施される方法、例えば、$^{35}SO_4$取り込み、及びＧＡＧ特異的アルシアンブルー／銀染色と組み合わせられるゲルアッセイによって評価することができる。他の実施形態では、ウイルスの中和活性を、中和アッセイなどの当技術分野で公知のあらゆるアッセイを使用して評価することができる。

【０１６９】

いくつかの好ましい実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列は、本明細書に記載されたウイルスベースの発現ベクター又は発現系中で、発現制御配列（例えば、プロモーター配列）に、動作可能に連結される。本開示に適したウイルスベクターのいくつかの例には、レトロウイルスベースのベクター、例えばレンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、及びワクシニアベクターが含まれる。いくつかの実施形態では、本開示に有用であり得るアデノウイルスベクターは、Ａｄ５、Ａｄ２６であり得る。いくつかの実施形態では、本開示の組成物は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現する組換えＡＡＶベクター（ｒＡＡＶ）又はベクターを内部に有するウイルス粒子を含有することができる。いくつかの実施形態では、本開示に有用なワクシニアベクターは、カナリアポックス(Canary Pox)ベクターであり得る。いくつかの実施形態では、ベクターの構造は、例えば発現制御エレメント（例えば、プロモーター又はエンハンサー配列）を含めた組換えポリペプチドの、発現の最適化のために又は所望される細胞内レベルを達成するために、必要に応じて改変することができる。

【０１７０】

当技術分野で周知の種々のプロモーター配列を、本開示に従って使用することができる。これには、限定はされないが、例えば、ＣＭＶプロモーター、伸長因子－Ｉ（短）（ＥＦＳ）プロモーター、ニワトリアクチン（ＣＢＡ）プロモーター、ＥＦ－ｌａプロモーター、ヒトデスミン（ＤＥＳ）プロモーター、Ｍｉｎｉ　ＴＫプロモーター、及びヒトチロキシン結合グロブリン（ＴＢＧ）プロモーターが含まれる。さらに、本開示の発現ベクターは、組換えポリペプチドの最適発現を達成するために、いくつかの調節エレメントを含むことができる。例えば、組換えポリペプチドの発現を上昇させるために、５’－エンハンサーエレメント及び／又は５’－ＷＰＲＥエレメントを含めることができる。ＷＰＲＥは、ウッドチャックＢ型肝炎ウイルス（ＷＨＹＳ）ゲノムの塩基対１０９３～１６８４との１００％相同性を有する転写後応答エレメントである。これは、哺乳類発現カセットの３’ＵＴＲにおいて使用される場合、ｍＲＮＡ安定性及びタンパク質収量を有意に増大さ

せることができる。本明細書で使用する場合、「発現カセット」は、動作可能に連結された第２のポリヌクレオチド配列の転写を開始することが可能な少なくとも１つの第１のポリヌクレオチド配列と、任意に、第２のポリヌクレオチド配列に動作可能に連結された転写終結配列とを含むポリヌクレオチド配列を指す。本明細書で使用する場合、発現カセットは、本明細書に記載した通りのプロモーターに動作可能に連結された本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードする外来性核酸を含むことができる。

【０１７１】

対象又は患者において、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現させることによって、ヒトなどの対象における、ウイルス感染に対する有効且つ長期のインビボでの防御及び／又はウイルス感染の治療。こうした方法については、対象に、治療的に又は薬学的に有効な量の、本開示の組換えポリペプチド又は治療用組成物又は発現系を含有する医薬組成物を投与することができる。いくつかの関連する実施形態では、本開示は、対象において本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを最適に発現させるための発現系を含有する治療用組成物を提供する。発現系は、ポリヌクレオチド配列又は発現ベクター、並びに、宿主細胞又は対象へのポリヌクレオチド配列の送達を媒介することが可能なリポソーム又は他の脂質含有複合体、及び他の巨大分子複合体であり得る。対象への投与時に、本開示の組換えポリペプチドを発現させるために、種々の発現ベクター又は系を用いることができる。いくつかの実施形態では、発現ベクター又は発現系は、ウイルスベクターをベースにすることができる。いくつかの他の実施形態では、発現系は、デオキシリボ核酸及びリボ核酸配列を含めた、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドのためのコード配列を内部に有するポリヌクレオチド配列から構成される。いくつかの実施形態では、発現ベクター又は系は、組換えウイルスの形態で、対象に投与される。例えば、組換えウイルスは、組換えアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、例えば、自己相補的なアデノ随伴ウイルス（ｓｃＡＡＶ）ベクターであり得る。こうしたウイルス送達方法は、高レベルのタンパク質治療薬の安全な、目立たない、持続される発現を可能にする。

【０１７２】

上に記載した通り、対象におけるウイルス感染を予防又は治療するために、本開示の治療用組成物を使用する場合、組換えポリペプチドの発現レベルを、治療プロセス中に検査することができる。いくつかの実施形態では、投与された組換えポリペプチド又は組成物は、対象の血漿中で検出可能なウイルスＲＮＡのコピーの数を、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００倍、７５０、１０００、又はそれ以上減少させるのに十分である量の、対象における組換えポリペプチドの発現をもたらす。いくつかの好ましい実施形態では、本開示の組換えポリペプチド又は治療薬又は医薬組成物での対象又は患者の治療は、ウイルスＲＮＡの、治療される対象の血液又は血漿中で検出不可能なレベルへの低下をもたらす。こうした検出不可能なレベルは、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（リアルタイムＲＴ　ＰＣＲ）アッセイにおける、１ｍＬの血漿あたり５０コピーよりも少ないウイルスのＲＮＡと定義することができる。

【０１７３】

本明細書に記載した通りの発現ベクターは、コード配列と、遺伝子送達及び／又は遺伝子発現をさらに調節する、又は有益な性質を別の方法で提供する、他の構成要素又は機能性とを含有することができる。こうした他の構成要素には、例えば、細胞への結合又はターゲティングに影響を与える構成要素（細胞型又は組織特異的結合）を媒介する構成要素が含まれる）；細胞によるベクターの取り込みに影響を与える構成要素；取り込み後の細胞内の導入された遺伝子の局在性に影響を与える構成要素（核内局在性を媒介する薬剤など）；及び遺伝子の発現に影響を与える構成要素が含まれる。こうした構成要素には、マーカー、例えば、ベクターによって送達された核酸を担っている及び発現している細胞を検出又は選択するために使用することができる検出可能な及び／又は選択可能なマーカーも含まれるであろう。こうした構成要素を、ベクターの天然の特徴として提供するとも

できるし（結合及び取り込みを媒介する構成要素又は機能性を有するある種のウイルスベクターの使用など）、ベクターを、こうした機能性を提供するように改変することもできる。選択可能なマーカーは、ポジティブ、ネガティブ、又は二機能性であり得る。ポジティブ選択可能なマーカーが、マーカーを有する細胞の選択を可能にするのに対し、ネガティブ選択可能なマーカーは、マーカーを有する細胞が、選択的に除去されるようにする。こうした様々なマーカー遺伝子は、二機能性（すなわち、ポジティブ／ネガティブ）マーカーを含めて、記載されている（例えば、国際公開第９２／０８７９６号；及び国際公開第９４／２８１４３号を参照のこと）。こうしたマーカー遺伝子は、遺伝子治療の状況において好都合であり得る、制御の追加的な尺度を提供することができる。非常に様々なこうしたベクターが、当技術分野で公知であり、一般に入手可能である。

【０１７４】

本開示に適した発現ベクター又は系には、限定はされないが、単離されたポリヌクレオチド配列、例えば、染色体外で維持することができるプラスミドベースのベクター、及びウイルスベクター、例えば、組換えアデノウイルス、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、パピローマウイルス、又はアデノ随伴ウイルス（リポソーム、例えば、中性又はカチオン性リポソーム、例えばＤＯＳＰＡ／ＤＯＰＥ、ＤＯＧＳ／ＤＯＰＥ、又はＤＭＲＩＥ／ＤＯＰＥリポソーム中に存在する、及び／又はカチオン性脂質（ＤＯＴＭＡ／ＤＯＰＥ）複合体などの他の分子と結合させた、ウイルスベクター及び非ウイルスベクター及びＲＮＡが含まれる）が含まれる。例示的な遺伝子ウイルスベクターは、当技術分野で公知であり、また、以下に記載される。ベクターは、限定はされないが、筋肉内、頬側、直腸内、静脈内、又は冠内投与を含めた、あらゆる経路を介して投与することができ、細胞への移行は、電気穿孔及び／又はイオン導入を使用して促進することができる。

【０１７５】

いくつかの実施形態は、対象又は患者において本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを最適に発現させるためのアデノ随伴ウイルスベクター又はアデノウイルスベクターを用いることができる。アデノウイルスベクターは、ゲノムからのウイルスの遺伝子発現を担う初期（Ｅｌ　Ａ及びＥｌ　Ｂ）遺伝子を欠失させることによって、複製不全にすることができる。これは、染色体外形態で、宿主細胞まで安定的に維持され得る。これらのベクターは、複製する細胞と複製しない細胞の両方にトランスフェクションする能力を有する。アデノ随伴ウイルスベクターは、非病原性のパルボウイルスから得られる、組換え型のアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）を指す。これは、細胞性免疫応答を基本的に誘発せず、大抵の系において数か月持続する導入遺伝子発現をもたらす。アデノ随伴ウイルスベクターはまた、アデノウイルスのように、複製する細胞と複製しない細胞に感染する能力を有し、また、ヒトに対して非病原性であると考えられる。

【０１７６】

ウイルス感染を予防するための医薬組成物又は治療用組成物

いくつかの実施形態では、本開示は、生ウイルス発現ベクターと、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現するポリヌクレオチド配列（ＤＮＡ、ＲＮＡ）とを含む、治療用組成物又は医薬組成物を提供する。ウイルスベクターは、上に詳細に記載されており、また、当業者に公知であろう。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの発現ベクターは、アデノウイルスベクター又はワクシニアベクターであり得る。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、対象又は患者に投与されることとなる医薬組成物又は治療用組成物として提供することができる。本開示の組成物は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを単一の単位で含むこともできるし、或いは、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、細胞への侵入を防止するためにウイルスタンパク質と別々に結合する２つ以上の構成要素又はサブユニットを含むこともできる。いくつかの実施形態では、異なる構成要素、例えばペプチド又はポリヌクレオチド鎖を、対象又は患者への投与の前に、共有

結合によって又は非共有結合によって結合させることができる。

【０１７８】

本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、そのうちの１つの鎖が１つ以上の硫酸化部位を含有するが、宿主細胞表面受容体に結合するために１つ又は複数の他のポリペプチド鎖を必要とする、複数の異なるポリペプチド鎖（例えば、免疫グロブリン重鎖及び軽鎖）を含有することができる。

【０１７９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、十分に構築された融合タンパク質として、対象又は患者に提供する又は投与することができる。或いは、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、細胞への侵入を防止するためにウイルスタンパク質に別々に結合する２つ以上の構成要素又はサブユニットを含むことができる。いくつかの実施形態では、異なる構成要素、例えばペプチド又はポリヌクレオチド鎖を、対象又は患者への投与の前に、共有結合によって又は非共有結合によって結合させることができる。生ウイルスベクターが提供される本開示の実施形態については、こうしたベクターは、単一の実体としての組換え融合タンパク質をコードすることもできるし、本明細書に記載した通りの組換え融合タンパク質へとインビボで構築させることができる離れた別の構成成分又はサブユニットをコードすることもできる。

【０１８０】

本開示は、ウイルス感染を阻害する、予防する、又は治療するための、治療用組成物又は発現系を使用する医薬組成物及び関連する方法を提供する。提供されるのはまた、ウイルス感染を予防又は治療するための医薬品の製造のための、本明細書に記載されたポリヌクレオチド（ＤＮＡ、ＲＮＡ）、ポリペプチド、及び発現ベクター又は系の使用である。医薬組成物は、治療的製剤又は予防的製剤のいずれかであり得る。典型的には、医薬組成物は、１つ以上の活性成分と、任意にいくつかの不活性な成分を含有することができる。いくつかの実施形態では、活性成分は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチド、発現ベクター、又は発現系であり得る。いくつかの他の実施形態では、活性成分には、本開示の発現系に加えて、他の抗ウイルス剤が含まれ得る。この組成物は、１つ以上の薬学的に許容し得る賦形剤、及び任意に他の治療成分（例えば、抗生物質又は抗ウイルス薬）をさらに含むことができる。薬学的に許容し得る様々な添加剤も、こうした組成物において使用することができる。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの医薬組成物中の発現系は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを最適に発現することができる、発現ベクター又はある種のウイルス粒子を含有することができる。一般に、特定の結果を達成するために投与されるベクター又はウイルスの粒子の量は、限定はされないが、選択される遺伝子及びプロモーター、状態、患者固有のパラメータ、例えば、身長、体重、及び年齢、及び予防又は治療が達成されることとなるかどうかを含めた様々な因子に応じて変動することとなる。本開示のベクター又はウイルス粒子は、好都合には、例えば血流への（例えば、冠動脈内）投与に適した製剤の形態で提供することができる。適切な投与様式は、最良には、標準の手順に従って、各患者について個別に、医師(medical practitioner)又は臨床医(clinician)によって決定することができる。

【０１８２】

本開示の医薬組成物は、当技術分野で周知の標準の手順に従って調製することができる。例えば、Remingtons Pharmaceutical Sciences,19th Ed.,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1995；Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson, ed.,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978；米国特許第４，６５２，４４１号；第４，９１７，８９３号；第４，６７７，１９１号；第４，７２８，７２１号；及び第４，６７５，１８９号を参照のこと。本開示の医薬組成物は、ウイルス感染を予防又は治療するために、様々な治療的又は予防的用途で容易に用いるこ

とができる。ウイルス感染にかかるリスクがある対象については、ウイルス感染に対する予防的防御を提供するために、本開示の組換えポリペプチド又は組成物を投与することができる。具体的な対象及び状態に応じて、タンパク質生成物（例えば、組換えポリペプチド）、ＲＮＡ生成物（例えば、ＲＮＡ分子又はその組成物）、又は組換えアデノベクター生成物（例えば、ウイルス、アデノウイルス、又はアデノ随伴ウイルスをベースにする生成物）、その組成物、又は本開示に記載された医薬品を、当業者に公知の様々な投与様式、例えば、筋肉内、皮下、静脈内、動脈内、関節内、腹腔内、鼻腔内、又は非経口経路によって、対象又は患者に投与することができる。いくつかの実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ又はＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の治療のための本明細書に記載した通りの組成物を、経鼻又は呼吸経路を介して、例えば、吸入器、ネブライザー、インフューザー(infuser)、又は人工呼吸器を使用して投与することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組成物は、選択された疾患又は状態又はその１つ以上の症状を予防する、阻害する、及び／又は改善するのに十分な時間及び条件で、こうした治療を必要とする対象に投与することができる。治療的適用については、組成物は、本明細書に記載された治療有効量の発現系を含有することができる。予防的適用については、本明細書に記載した通りの組成物は、本明細書に記載した通りの予防有効量の発現系を含有することができる。発現系（発現ベクター又はウイルス粒子）の適切な量は、治療又は予防されることとなる具体的な疾患又は状態、重症度、対象の年齢、及び具体的な対象の他の個人属性（例えば、対象の一般的健康状態及び対象の免疫系の頑健性）に基づいて決定することができる。有効な投薬量の決定は、動物モデル研究（すなわち、霊長類、イヌなど）、それに続くヒト臨床試験、及び対象における標的とされる疾患症状又は状態の出現又は重症度を有意に低下させる投与プロトコルを用いてさらに導くことができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチド、組成物、又は薬物の投薬量は、臨床医(clinician)又は医師(physician)によって適切と判断されるあらゆる投薬量であり得る。いくつかの実施形態では、ヘパリンの投薬量は、例えば、限定はされないが、約０．１μＭ、約１μＭ、又は約１０μＭの濃度を含めた、患者に使用するのに適したあらゆる臨床用量であり得る。いくつかの実施形態では、１０～１００μＭ、又は２０～５０μＭ、又は２０～１００μＭ、又は１０～５０μＭなどの投薬量を使用することができる。いくつかの実施形態では、ヘパリンは、例えば、５，０００～１０，０００単位、又は１０，０００～２０，０００単位、又は２０，０００～３０，０００単位、又は３０，０００～４０，０００単位、又は４０，０００～５０，０００単位などの投薬量で投与することができる。いくつかの実施形態では、ヘパリンの投薬量は、０～１５単位、又は１０～２０単位、又は１８～２５単位、又は２０～３０単位、又は２５～４０単位、又は３０～５０単位、又は４０～７０単位、又は７５～１００単位、又は９０～１５０単位、又は１２５～５５０単位、又は５００～７５０単位、又は７００～１，０００単位、又は１，０００～３，０００単位、又は２，５００～５，０００単位、又は５，０００～７，５００単位、又は７，５００～１，０００単位であり得る。

【０１８３】

予防的適用については、あらゆる症状に先立って、例えば、感染に先立って、本明細書に記載した通りの組成物を提供することができる。免疫原性組成物の予防的投与は、あらゆるその後の感染を予防又は改善するように作用することができる。したがって、いくつかの実施形態では、治療されることとなる対象は、例えばウイルスへの曝露又は曝露の可能性が原因で、ウイルス感染を有する又はウイルス感染にかかるリスクがある対象である。治療有効量の開示された治療用組成物の投与後に、対象又は患者を、ウイルス感染、ウイルス感染に伴う症状、又はこれらの両方について観察することができる。

【０１８４】

治療的適用については、疾患又は感染症の症状の発症時又は発症後に、例えば、ウイルス感染の症状の出現後に、又は感染症の診断後に、本明細書に記載した通りの組成物を提供することができる。したがって、本明細書に記載した通りの組成物は、感染症の予測される重症度、期間、又は程度、及び／又は随伴する疾患症状を減弱させるようにウイルス

への予測される曝露の前に、又はウイルスへの曝露又は曝露の疑いの後に、又は感染症の実際の開始後に、提供することができる。

【０１８５】

いくつかの実施形態では、本開示のベクター又はウイルス粒子は、単回又は反復投与に有効な量のベクターを含有する剤形で提供することができる。ウイルスベクターについては、有効な用量は、臨床医(clinician)又は開業医(practitioner)によって適切と判断されるあらゆる範囲であり得る。組換えポリペプチド、ベクター、ウイルス粒子、発現系、又は組成物の投与は、リン酸緩衝生理食塩水などの緩衝液、又は他の適切な緩衝液又は希釈剤中であり得る。緩衝液又は希釈剤の量は、変動する可能性があり、臨床医又は開業医によって決定されるであろう。ＲＮＡ、プラスミドＤＮＡ単独、又は他の巨大分子との複合体中のプラスミドＤＮＡの送達については、投与されることとなるＤＮＡの量は、レシピエントに有益な効果をもたらす量であろう。例えば、０．０００１～１ｍｇ又はそれ以上、例えば最大１ｇ（個々の又は分割用量で）、例えば０．００１～０．５ｍｇ、又は０．０１～０．１ｍｇのＤＮＡを投与することができる。本開示の組換えポリペプチドの送達については、投与される量は、レシピエントに有益な効果をもたらす量であろう。例えば、０．０００１～１００ｇ又はそれ以上、例えば最大１ｇ（個々の又は分割用量で）、例えば０．００１～０．５ｇ、又は０．０１～０．１ｇの組換えポリペプチドを投与することができる。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、本開示の組成物は、ウイルス感染を治療又は予防するための、当技術分野で公知の他の薬剤と組み合わせることができる。これらには、ウイルス感染を治療するための、当技術分野で公知又は利用可能なあらゆる薬物、例えば、レプリカーゼ阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、及び融合タンパク質阻害剤などの、抗体又は他の抗ウイルス剤が含まれ得る。組成物と１つ以上の公知の抗ウイルス剤との投与は、同時又は連続的であり得る。

【０１８７】

本明細書で使用する場合、用語「配列同一性」、「配列類似性」、又は「相同性」は、２つ以上のヌクレオチド配列間の配列の関係性を説明するために使用される。２つの配列間の「配列同一性」のパーセンテージは、特定の数のヌクレオチドにわたって、２つの最適に整列された配列を比較することによって決定される。ここでは、比較域(comparison window)における配列の一部は、参照配列と比較した場合に付加又は欠失（すなわち、ギャップ）を含む可能性がある。２つの配列は、あらゆる位置でヌクレオチドが同じであるならば、同一であると言われる。ヌクレオチド配列は、５’から３’方向に観察される場合、第１のヌクレオチド配列が第２のヌクレオチド配列又は参照配列との完全な相補性を呈するならば、３’から５’方向に観察される第２のヌクレオチド配列を「補完する」、又は第２のヌクレオチド配列に対して相補的であると言われる。本明細書で使用する場合、核酸配列分子は、配列リード５’から３’のうちの１つのあらゆるヌクレオチドが、３’から５’に読み取る場合の他の配列のあらゆるヌクレオチドと相補的である場合、「完全な相補性」を示すと言われる。参照ヌクレオチド配列と相補的であるヌクレオチド配列は、参照ヌクレオチド配列の逆相補配列と同一の配列を示すこととなる。

【０１８８】

対象の開示の範囲内に企図されるポリヌクレオチド及びポリペプチドはまた、本明細書に具体的に例示された本開示の配列を用いて、より詳細な同一性及び／又は類似性範囲に関して定義することができる。配列同一性は、典型的には６０％超、好ましくは７５％超、より好ましくは８０％超、さらにいっそう好ましくは９０％超となり、９５％超であってもよい。配列の同一性及び／又は類似性は、本明細書に例示された配列と比較した場合に、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、又は９９％であり

得る。他に指定されない限り、本明細書で使用する場合、２つの配列の配列同一性及び／又は類似性（パーセント）は、Karlin and Altschul(1993)にある通りに改変されたKarlin and Altschul(1990)のアルゴリズムを使用して決定することができる。こうしたアルゴリズムは、Altschul et al.(1990)のＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴプログラムに組み込まれる。ＢＬＡＳＴ検索を、ＮＢＬＡＳＴプログラム、ｓｃｏｒｅ＝１００、ｗｏｒｄｌｅｎｇｔｈ＝１２を用いて実施して、所望される配列同一性（パーセント）を有する配列を得ることができる。比較目的のギャップ付きアライメントを得るために、Ｇａｐｐｅｄ　ＢＬＡＳＴを、Altschul et al.(1997)に記載されている通りに使用することができる。ＢＬＡＳＴ及びＧａｐｐｅｄ　ＢＬＡＳＴプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（ＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴ）のデフォルトパラメータを使用することができる。ＮＣＢＩ／ＮＩＨウェブサイトを参照のこと。

【０１８９】

ウイルス感染を予防するためのＲＮＡ分子／組成物

いくつかの実施形態では、本開示は、ウイルス感染の治療又は予防のためのＲＮＡ分子を提供する。こうしたＲＮＡ分子は、５’－キャップを有する又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を発現する第１のリボヌクレオチド配列と；本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを発現する第２のリボヌクレオチド配列を含むことができる。

【０１９０】

本明細書で使用する場合、「５’－キャップ」又は「５’キャップ」は、転写後に新たに転写されたｍＲＮＡの５’末端の最初に組み込まれたヌクレオチド上に存在する遊離の三リン酸基の代わりのＧＴＰ「キャップ」構造の組み込みを指す。５’－キャップは、グアニルトランスフェラーゼによって触媒される、ＲＮＡ転写物の転写後プロセシングの一部であり、ＲＮＡ転写物の５’末端とＧＴＰ分子との間の反応を含む。５’－キャップは、ｍＲＮＡのタンパク質への翻訳中に、ｍＲＮＡのリボソーム認識における役割を果たす。

【０１９１】

本明細書で使用する場合、「ＩＲＥＳ」は、真核生物のリボソームをｍＲＮＡに動員することができる、ＲＮＡ要素、又はＲＮＡ分子の領域を指す。ＩＲＥＳは、開始複合体の構築のために５’－キャップを必要とせずに、タンパク質翻訳の開始を可能にする。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りのＲＮＡ分子へのＩＲＥＳの導入は、タンパク質合成のより大きなプロセスの一部としての、キャップ非依存性方式での、本開示の組換えポリペプチドの産生を可能にする。真核生物の翻訳では、タンパク質翻訳の開始は、典型的には、ｍＲＮＡ分子の５’末端で起こる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りのＲＮＡ分子に含まれるＩＲＥＳは、組換えポリペプチドが、こうした分子が投与される対象又は患者の細胞によって翻訳されることを可能にする。Ｔ７プロモーター（配列番号１９に提供されるものなど）は、ＩＲＥＳの上流に付加することができる。大規模ＲＮＡ産生は、例えばＴ７ポリメラーゼを使用して、インビトロで達成することができる。ＲＮＡは、リポソームを伴って又は伴わずに生理食塩水に入れて皮下注射することができる。注射されたＲＮＡは、患者の細胞内で翻訳されることとなり、得られた翻訳された組換えポリペプチドは、分泌される。

【０１９２】

本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドは、そのうちの１つの鎖が本明細書に記載した通りの硫酸化部位を含有するが、宿主細胞表面受容体タンパク質又はその断片に結合するために１つ又は複数の他のポリペプチド鎖を必要とする、複数の異なるポリペプチド鎖（例えば、免疫グロブリン重鎖及び軽鎖）を含有することができる。

【０１９３】

ウイルス感染を予防又は治療するための方法

いくつかの実施形態では、本開示は、それを必要とする対象におけるウイルス感染を予防又は治療する方法であって、本明細書に記載した通りの治療又は予防有効量の医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。こうした方法は、対象又は患者への、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの投与を含むこともできるし、こうした組換

えポリペプチドをコードするベクター又は発現系の投与を含むこともできる。他の実施形態では、本開示の方法は、本開示の組換えポリペプチドを含む組成物などの、本明細書に記載した通りの組成物の投与を含むことができる。

【０１９４】

本開示の方法は、本明細書に記載した通りに、フラビウイルス科(flaviviridae)又はコロナウイルス科(coronaviridae)ウイルス科のウイルスによる対象又は患者の感染を治療又は予防することができる。これらの科のあらゆるウイルスを、本明細書に記載した通りに、本開示の方法で治療することができる。いくつかの実施形態では、本開示の方法で好都合に治療又は予防することができる特定のウイルスには、限定はされないが、ＨＣＶ及びＭＥＲＳが含まれる。本明細書に記載した通りの組成物又は組換えポリペプチドの投与は、本明細書に記載した通りの臨床設定であってもよいし、臨床医(clinician)又は開業医(practitioner)によって適切と判断される代わりの設定であってもよい。こうした化合物又はポリペプチドの投与のためのさらなる実施形態は、本明細書の他の場所に記載されている。

【０１９５】

核酸の発現

本開示に有用なポリヌクレオチドは、発現コンストラクト中に提供することができる。本開示の発現コンストラクトには、一般に、発現コンストラクトが発現されることとなる意図される宿主細胞において機能性である調節エレメントが含まれる。したがって、当業者は、例えば、細菌宿主細胞、酵母宿主細胞、哺乳類宿主細胞、及びヒト宿主細胞に使用するために、調節エレメントを選択することができる。核内遺伝子の発現のために使用される調節エレメントには、プロモーター、転写終結配列、翻訳終結配列、エンハンサー、及びポリアデニル化要素が含まれる。本明細書で使用する場合、用語「発現コンストラクト」は、転写をもたらす核酸配列と、動作可能に連結された核酸配列との組み合わせを指す。本明細書で使用する場合、用語「動作可能に連結された」は、構成要素が、その意図される方式で機能することを可能にする関係である、記載された構成要素の並置を指す。一般に、動作可能に連結された構成要素は、隣接する関係である。

【０１９６】

本開示の発現コンストラクトは、本開示のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモーター配列を含むことができる。プロモーターを、当技術分野で公知の標準の技術を使用して、ポリヌクレオチドに組み込むことができる。プロモーターの複数のコピー又は複数のプロモーターを、本開示の発現コンストラクト内に使用することができる。好ましい実施形態では、プロモーターは、その天然の遺伝子環境での転写開始点からの距離とほぼ同じ、発現コンストラクト中の転写開始点からの距離に配置することができる。プロモーター活性の実質的低下がなければ、この距離のいくらかの変動は許容される。転写開始点は、典型的には、発現コンストラクトに含まれる。

【０１９７】

本開示の核内発現コンストラクトは、転写終結配列、翻訳終結配列、シグナルペプチドをコードする配列、及び／又はエンハンサーエレメントを任意に含有することができる。転写終結領域は、典型的には、真核生物又はウイルスの遺伝子配列の３’非翻訳領域から得ることができる。転写終結配列は、効率的な終結をもたらすように、コード配列の下流に配置することができる。シグナルペプチド配列は、動作可能に連結された成熟したポリペプチドの、特定の細胞小器官区画からタンパク質作用の部位及び細胞外環境までの範囲にわたる広範な翻訳後の細胞の目的地への再配置を担う、タンパク質のアミノ末端に典型的には存在する、短いアミノ酸配列である。本開示のポリペプチドとの使用については、動作可能に連結されたシグナルペプチド配列の使用を介して、遺伝子産物を、意図される細胞内及び／又は細胞外の目的地に標的化することが企図される。古典的なエンハンサーは、遺伝子転写を増大させるシス作用性エレメントであり、発現コンストラクト内に含めることもできる。古典的なエンハンサーエレメントは、当技術分野で公知であり、限定はされないが、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）初期プロモーターエンハンサーエレメント

、及びＳＶ４０エンハンサーエレメントが含まれる。遺伝子発現を亢進するイントロン介在性エンハンサーエレメントも、当技術分野で公知である。これらのエレメントは、転写される領域内に存在しなければならず、また、方向依存性である。

【０１９８】

ＳＶ４０ポリＡシグナルなどの、発現コンストラクトから転写されるｍＲＮＡのポリアデニル化を誘導するＤＮＡ配列も、発現コンストラクトに含めることができ、限定はされないが、オクトピンシンターゼ又はノパリンシンターゼシグナルが含まれる。

【０１９９】

本開示のポリヌクレオチドは、ＲＮＡ又はＤＮＡ、又はそのハイブリッドから構成され得る。本開示はまた、本明細書に開示されたポリヌクレオチドと配列において相補的であるポリヌクレオチドを包含する。本開示のポリヌクレオチド及びポリペプチドは、精製された又は単離された形態で提供することができる。

【０２００】

核酸

ＤＮＡ分子を単離及び操作するために、当業者に周知のいくつもの方法を使用することができる。例えば、以前に記載されている通り、ＰＣＲ技術を使用して、特定の出発ＤＮＡ分子を増幅する及び／又は出発ＤＮＡ分子のバリアントを生成することができる。ＤＮＡ分子又はその断片はまた、化学的手段によって断片を直接的に合成することを含めた、当技術分野で公知のあらゆる技術によって得ることができる。したがって、本明細書に記載した通りの核酸のすべて又は一部を合成することができる。

【０２０１】

本明細書で使用する場合、用語「核酸」及び「ポリヌクレオチド」は、一本鎖又は二本鎖形態の、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、又はデオキシリボヌクレオチドとリボヌクレオチドポリマーの混合を指し、他に限定されない限り、天然に存在するヌクレオチドと同様の方式で機能することができる、天然のヌクレオチドの公知の類似体を包含するであろう。ポリヌクレオチド配列には、ＲＮＡに転写されるＤＮＡ鎖配列、及び転写されるＤＮＡ鎖に対して相補的である鎖配列が含まれる。ポリヌクレオチド配列には、全長配列と、全長配列から得られるより短い配列との両方も含まれる。ポリヌクレオチド配列には、それぞれの鎖としての又は二本鎖での、センス鎖とアンチセンス鎖との両方が含まれる。

【０２０２】

キット

本開示は、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを含む１つ以上の単回使用容器を含むキットをさらに提供する。いくつかの実施形態では、本開示のキットは、対象又は患者への投与のためのウイルスベクターを提供することができる。いくつかの実施形態では、キットは、対象又は患者への投与のための、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドを含む医薬組成物を提供することができる。他の実施形態では、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチド、ＲＮＡ、ウイルスベクター、及び／又は医薬組成物の投与のための無菌の試薬及び／又は供給物を、必要に応じて提供することができる。キットは、細胞形質転換及び／又はトランスフェクションのための試薬、ウイルス及び／又は細胞培養液、又はこれらの両方をさらに含むことができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されたキットは、ｍＲＮＡを合成するために、例えばインビトロ転写キット中に、転写をインビトロで実施するための試薬及び材料、例えば、当技術分野で公知及び利用可能な構成要素を含むことができる。

【０２０３】

本開示のキット中に提供される構成要素には、例えば、本明細書に記載した通りの方法を実施するのに有用なあらゆる出発材料が含まれ得る。こうしたキットは、例えば、核酸アッセイ、例えば、ＰＣＲ又はＲＴ－ＰＣＲアッセイ、ルシフェラーゼ（Ｌｕｃ）アッセイ、細胞形質転換／トランスフェクション、ウイルス／細胞培養液、血液アッセイ、すなわち、全血球計算（ＣＢＣ）、ウイルス力価／ウイルス負荷アッセイ、抗体アッセイ、ウ

イルス抗原検出アッセイ、ウイルスＤＮＡ又はＲＮＡ検出アッセイ、ウイルス中和アッセイ、遺伝的相補性アッセイ、又は本開示に従って有用なあらゆるアッセイを含めた様々なアッセイに使用するための、１つ以上のこうした試薬又は構成成分を含むことができる。レトロウイルスなどの、ウマにおいて遺伝子又はゲノム変化又は変異をもたらすウイルス株については、ウイルス配列の特定のための、宿主ゲノム内のある種のジェノタイピング解析が有用であり得、本開示内に包含される。構成成分は、必要に応じて、凍結乾燥させた、乾燥させた、又は乾いた形態で提供することもできるし、本開示による使用に適した水溶液又は他の液体媒体中で提供することもできる。

【０２０４】

本開示に有用なキットはまた、追加の試薬、例えば、本明細書に記載した通りの、緩衝液、基質、抗体、リガンド、検出試薬、培地構成成分、（$MgCl_2$を含めた塩など）、ポリメラーゼ酵素、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、発現ベクターなど、ＤＮＡ単離、ＤＮＡ／ＲＮＡトランスフェクションのための試薬なども含むことができる。こうした試薬又は構成成分は、当技術分野で周知である。適切な場合には、こうしたキットに含まれる試薬は、プライマー対又は複数のプライマー対と同じ容器又は培地中に提供することができる。いくつかの実施形態では、こうした試薬は、第２の又は追加の別の容器（これには、追加の組成物又は試薬を入れる及び適切には分注することができる）に入れることができる。或いは、試薬は、単一の容器手段で提供することができる。本開示のキットはまた、必要に応じて個々の構成成分の保管に必要とされるものを含めて、包装構成要素、使用のための説明書も含むことができる。本明細書に記載した通りのこうしたキットは、病院、治療センター、又は臨床現場などの臨床現場で使用するために製剤化することもできるし、必要に応じて個人使用のために製剤化することもできる。

【０２０５】

定義

提供される定義及び方法は、本開示を定義し、当分野の技術者を本開示の実施に導く。他に記述されない限り、用語は、関連技術の技術者による通常の用法に従って理解されるべきである。分子生物学における一般用語の定義は、Alberts et al.,Molecular Biology of The Cell,5th Edition,Garland Science Publishing,Inc.:New York,2007;Rieger et al.,Glossary of Genetics:Classical and Molecular,5th edition,Springer-Verlag:New York,1991;King et al,A Dictionary of Genetics,6th ed.,Oxford University Press:New York,2002;and Lewin,Genes IX,Oxford University Press:New York,2007において参照することもできる。37 CFR§1.822に記述されている通りのＤＮＡ塩基についての命名法を使用する。

【０２０６】

本明細書で使用する場合、用語「抗原」又は「免疫原」は、対象における免疫応答を誘発することが可能な物質、典型的にはタンパク質を指すために互換的に使用される。この用語はまた、（直接的に、又はタンパク質をコードするヌクレオチド配列又はベクターを対象に投与することによって）対象に一度投与されると、そのタンパク質に向けられる体液性及び／又は細胞性型の免疫応答を誘発することができるという意味で、免疫学的に活性なタンパク質を指す。

【０２０７】

機能的に同様のアミノ酸をもたらす保存的アミノ酸置換は、当技術分野で周知である。次の６つの群それぞれは、互いに保存的置換であるアミノ酸を含有する：１）アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）；２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）；３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）；アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）；５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）；及び６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）。タンパク質内のすべての残基位置が、他の「保存的」置換を許容することにはならない。例えば、あるアミノ酸残基が、タンパク質の機能にとって不可欠であるならば、他の保存的置換は、その活性を崩壊させる可能性がある。例えば、抗体の標的エピトープへの特異的な結合は、標的エピ

トープ内の保存的変異によって崩壊する可能性がある。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、保存的アミノ酸置換、例えば、ある酸性又は塩基性アミノ酸を別のものと置換することは、多くの場合、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドの生物活性に影響を与えずに行うことができる。この類の配列の小さい変更は、これらの変化が、ペプチド又は融合ポリペプチドがレンチウイルスのその宿主細胞への侵入を中和する能力を実質的に（例えば、１５％以上）低下させないという条件で、本明細書に開示されたペプチドのいずれかにおいて行うことができる。

【０２０９】

本明細書で使用する場合、「ＡＣＥ２」又は「ＡＣＥ２Ｒ」は、ウイルス受容体としてしばしば使用されるアンジオテンシン変換酵素２（ＡＣＥ２）受容体を指す。

【０２１０】

本明細書で使用する場合、「エピトープ」は、抗原決定基又は受容体結合ドメインを指す。エピトープは、特定の免疫応答を誘発するような、抗原性である、分子上の特定の化学基又はペプチド配列である。例えば、エピトープは、Ｂ及び／又はＴ細胞がそれに応答するウイルスＥｎｖタンパク質又は抗原の領域である。エピトープは、隣接アミノ酸と、タンパク質の三次フォールディングによって並置された非隣接アミノ酸の両方から形成され得る。

【０２１１】

本明細書で使用する場合、組換えタンパク質、組成物、化合物、薬物、核酸分子、又は他の薬剤の「有効量」は、所望される反応をもたらす、例えば状態又は疾患の徴候又は症状を軽減又は除去するのに十分である量を指す。例えば、本明細書に記載した通り、有効量は、宿主細胞へのウイルスの侵入を阻害する、又はウイルスの複製を阻害する、又はウイルス感染の外面的な症状を測定できる程度変化させるのに必要な量であり得る。一般に、この量は、ウイルス複製又は感染力を測定できる程度阻害するのに十分となる。対象に投与される場合、ウイルスの侵入又は複製の阻害をインビトロで達成することが示されている標的組織（例えば、リンパ球の）濃度が得られることとなる投薬量が、一般に、使用されることとなる。いくつかの例では、「有効量」は、障害又は疾患のいずれかの１つ以上の症状及び／又は根本的原因を治療する（予防が含まれる）量である。一例では、有効量は、治療有効量である。一例では、有効量は、特定の疾患又は状態の１つ以上の徴候又は症状が出現するのを妨げる量である。

【０２１２】

本明細書で使用する場合、「融合タンパク質」は、ペプチド結合を介して共に連結されて単一のタンパク質が作製されている、少なくとも２つの関連しないタンパク質由来のアミノ酸配列を含有する組換えポリペプチド又はタンパク質を指す。関連しないアミノ酸配列は、互いに直接連結させることもできるし、リンカー配列を使用して連結させることもできる。本明細書で使用する場合、そのアミノ酸配列が、その天然の環境（例えば、細胞内部）で、ペプチド結合を介して通常には共に連結されないならば、タンパク質は関連しない。例えば、本明細書に記載した通り、ＣＤ８１、ＡＣＥ２、ＨＳＰＧ、及び／又はＳＲＢ１などの１つ以上の宿主細胞表面受容体のアミノ酸配列は、ペプチド結合を介して共に連結されることが通常には見られない。

【０２１３】

本明細書で使用する場合、「遺伝子送達」は、遺伝子導入のための、外来性ポリヌクレオチドの細胞への導入を指し、ターゲティング、結合、取り込み、輸送、局在化、レプリコン組み込み、及び発現を包含することができる。

【０２１４】

本明細書で使用する場合、「遺伝子導入」は、外来性ポリヌクレオチドの細胞への導入を指し、これは、ターゲティング、結合、取り込み、輸送、局在化、及びレプリコン組み込みを包含することができるが、遺伝子のその後の発現とは異なり、これは意味しない。

【０２１５】

本明細書で使用する場合、「遺伝子発現」又は「発現」は、遺伝子転写、翻訳、及び翻訳後修飾のプロセスを指す。

【０２１６】

本明細書で使用する場合、「対象」又は「患者」は、哺乳類と分類されるあらゆる動物、例えば、ヒト及び非ヒト哺乳類を指す。非ヒト動物の例としては、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウサギなどが挙げられる。他に記述されない限り、用語「患者」又は「対象」は、本明細書では互換的に使用される。いくつかの実施形態では、本開示の治療的適用に適している対象は、霊長類、例えばヒト及び非ヒト霊長類であり得る。

【０２１７】

本明細書で使用する場合、ポリヌクレオチド又はベクターの、宿主細胞又は対象への投与は、あらゆる慣例的に実施される方法を介する、細胞又は対象への導入を指す。これには、当技術分野で周知の通りの「形質導入」、「トランスフェクション」、「形質転換」、又は「形質導入すること」が含まれる。これらの用語はすべて、外来性ポリヌクレオチド、例えばｒＡＡＶベクター中の導入遺伝子の、ポリヌクレオチド、例えば細胞中の導入遺伝子の発現をもたらす宿主細胞への導入のための標準のプロセスを指し、外来性ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための組換えウイルスの使用が含まれる。細胞中のポリヌクレオチドの形質導入、トランスフェクション、又は形質転換は、限定はされないが、例えばＥＬＩＳＡ、フローサイトメトリー、及びウエスタンブロットによるタンパク質発現（定常状態レベルが含まれる）、アッセイ、例えばノーザンブロット、サザンブロット、レポーター機能（Ｌｕｃ）アッセイによるＤＮＡ及びＲＮＡの測定、及び／又はゲルシフト移動度アッセイを含めて、当業者に周知である方法によって決定することができる。外来性ポリヌクレオチドの導入のために使用される方法には、ウイルス感染又はトランスフェクション、リポフェクション、形質転換、及び電気穿孔、並びに他の非ウイルス遺伝子送達技術などの、周知の技術が含まれる。導入されたポリヌクレオチドは、宿主細胞中で安定的に又は一過性に維持され得る。

【０２１８】

本開示で使用される転写調節配列には、一般に、少なくとも１つの転写プロモーターが含まれ、また、転写の１つ以上のエンハンサー及び／又はターミネーターも含まれ得る。「動作可能に連結された」は、そのように記載された構成要素が、協調的に機能することを可能にする関係である、２つ以上の構成要素の配置を指す。実例として、転写調節配列又はプロモーターは、ＴＲＳ又はプロモーターがコード配列の転写を促進するならば、コード配列に動作可能に連結される。動作可能に連結されたＴＲＳは、一般に、コード配列とシスで連結されるが、必ずしも直接的に隣接している必要はない。

【０２１９】

用語「治療すること」又は「緩和すること」には、疾患（例えばウイルス感染）の症状、合併症、若しくは生化学的徴候の発症を予防する若しくは遅延させる、症状を緩和する、又は疾患、状態、若しくは障害のさらなる出現を抑止若しくは阻害するための、対象への化合物又は薬剤の投与が含まれる。治療を必要とする対象には、疾患又は障害を既に患っている対象、並びに障害を発症するリスクがある対象が含まれる。治療は、予防的（疾患の発症を予防若しくは遅延させること、又は臨床症状若しくはその無症候性症状の顕在化を予防すること）、又は疾患の顕在化後の症状の治療的抑制若しくは緩和であり得る。

【０２２０】

「ベクター」は、細胞に導入することができる、担体を伴う又は伴わない核酸である。１つ以上のポリペプチドをコードする遺伝子の発現を誘導することが可能なベクターは、「発現ベクター」と称される。本開示に適したベクターの例には、例えば、ウイルスベクター、プラスミドベクター、リポソーム、及び他の遺伝子送達ビヒクルが含まれる。

【０２２１】

本明細書で使用する場合、「ＡＡＶ」は、アデノ随伴ウイルスであり、天然に存在する野生型のウイルスそれ自体又はその誘導体を指すために使用することができる。この用語は、他の意味に解釈すべき場合を除き、すべてのサブタイプ、血清型、及びシュードタイ

プ、及び天然に存在する形態と組換え型の両方を包含する。本明細書で使用する場合、用語「血清型」は、定義された抗血清とのカプシドタンパク質反応性に基づいて、特定され、他のＡＡＶと区別されるＡＡＶ、例えば、ＡＡＶ－１～ＡＡＶ－８を含めた血清型を指す。例えば、血清型ＡＡＶ－２は、ＡＡＶ－２のキャップ遺伝子からコードされるカプシドタンパク質、及び同じＡＡＶ－２血清型からの５’及び３’ＵＴＲ配列を含有するゲノムを含有するＡＡＶを指すために使用される。シュードタイプ化ＡＡＶは、ある血清型からのカプシドタンパク質、及び第２の血清型の５’－３’ＵＴＲを含めたウイルスゲノムを含有するＡＡＶを指す。シュードタイプ化ｒＡＡＶは、カプシド血清型の細胞表面結合特性及びＴＰＳ血清型と一致する遺伝的特性を有することが予測されるであろう。略語「ｒＡＡＶ」は、組換えアデノ随伴ウイルス粒子又は組換えＡＡＶベクター（又は「ｒＡＡＶベクター」）を指す。「ＡＡＶウイルス」又は「ＡＡＶウイルス粒子」は、少なくとも１つのＡＡＶカプシドタンパク質（好ましくは、野生型ＡＡＶのカプシドタンパク質のすべて）及びカプシド封入されたポリヌクレオチドから構成されるウイルス粒子を指す。この粒子が、異種性のポリヌクレオチド（すなわち、哺乳類細胞に送達されることとなる導入遺伝子などの、野生型のＡＡＶゲノム以外のポリヌクレオチド）を含むならば、これは、典型的には、「ｒＡＡＶ」と称される。

【０２２２】

本明細書で使用する場合、「ドメイン」は、ポリペプチド全体又はポリペプチドの機能性部分のアミノ酸配列を含むポリペプチドを指す。ある種の機能性サブ配列(subsequence)は公知であり、これらが公知でないならば、公知の配列を切断し、切断された配列が機能性ポリペプチドを産生するかどうかを決定することによって決定することができる。

【０２２３】

本明細書で使用する場合、「発現コンストラクト」は、これが投与されたレシピエントにおいて機能するために転写及び翻訳させることができる、コードされる外来性核酸タンパク質を含む核酸構築物を指す。いくつかの実施形態では、こうした発現コンストラクトは、ＤＮＡ配列、ＲＮＡ配列、又はその組み合わせを含むことができる。いくつかの実施形態では、こうしたコンストラクトを、遺伝子操作して、ヒト患者などの対象又は患者における投与に適したベクターに入れることができる。例えば、本明細書に記載した通り、本開示のコンストラクトは、ａ）Ｉｇ　Ｆｃフラグメント及び硫酸化多糖と；ｂ）少なくとも１つのウイルス受容体又はその断片とを含む組換えポリペプチドをコードする核酸配列を含むことができる。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、発現コンストラクトは、ウイルスベクターとして、対象又は患者に提供することができる。ウイルスベクターは、当技術分野で周知であり、また、本開示に適したあらゆるウイルスベクターであり得る。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した通りのコンストラクトは、アデノウイルスベクターであり得る。当業者は、ヒト対象などの対象又は患者への投与に適したウイルスベクターを特定することができるであろう。

【０２２５】

本明細書で使用する場合、「外来性配列」は、宿主細胞の外側に起源をもつ核酸配列を指す。外来性配列は、ＤＮＡ配列、ＲＮＡ配列、又はその組み合わせであり得る。当技術分野で利用可能なあらゆる種類の核酸を、当業者によって理解されるであろう通り、本開示に従って使用することができる。こうした核酸配列は、それが送達されることとなる細胞と異なる種、又は同じ種から得ることができる。いくつかの実施形態では、本開示による外来性核酸配列は、対象は患者への投与に適した本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードすることができる。こうした組換えポリペプチドは、ウイルス感染を治療又は予防するために、対象又は患者に投与することができる。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、本開示のある種の実施形態を説明及び主張するために使用さ

れる成分、特性、例えば分子量、反応条件などの量を表す数は、場合によっては、用語「約」によって修飾されるものと理解するべきである。いくつかの実施形態では、用語「約」は、ある値が、その値を決定するために用いられている装置又は方法に対する平均値の標準偏差を含むことを示すために使用される。いくつかの実施態様では、明細書及び添付の特許請求の範囲に記述する数値パラメータは、概数であり、これは、特定の実施形態によって得られることが求められる所望される特性に応じて変動し得る。いくつかの実施形態では、数値パラメータは、報告された有効桁数に照らして、また、通常の丸め技術を適用することによって解釈されるべきである。本開示の広範にわたるいくつかの実施形態を記述する数値範囲及びパラメータは概数であるが、具体的な例において記述される数値は、可能な限り正確に報告される。本開示のいくつかの実施形態において示される数値は、そのそれぞれの試験測定において見られる標準偏差に必然的に起因する、いくらかの誤差を含有する可能性がある。本明細書の値の範囲の記述は、単に、範囲内にあるそれぞれ別の値を個々に言及する簡便表記方法としての役割を果たすことを意図するに過ぎない。本明細書で他に指定されない限り、それぞれ個々の値は、あたかもそれが本明細書に個々に列挙されるかのように本明細書に組み込まれる。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、特定の実施形態を説明する状況で（特に、以下の特許請求の範囲のうちのいくつかの状況で）使用される用語「ａ」及び「ａｎ」及び「ｔｈｅ」及び同様の言及は、他に具体的に記述されない限り、単数と複数の両方を包含すると解釈することができる。いくつかの実施形態では、特許請求の範囲を含めて本明細書で使用される用語「又は」は、代替のみを指すことを明示的に示すのでなければ又は代替が相互排他的でなければ、「及び／又は」を意味するために使用される。

【０２２８】

用語「を含む(comprise)」、「を有する(have)」、「が含まれる(include)」、及び「を含有すること」は、制約のない連結動詞である。「を含む(comprises)」、「を含むこと」、「を有する(has)」、「を有すること」、「が含まれる(includes)」、及び「が含まれること」などの、これらの動詞の１つ以上のあらゆる形態又は時制も、制約がない。例えば、１つ以上のステップ「を含む(comprises)」、「を有する(has)」、「が含まれる(includes)」あらゆる方法は、その１つ以上のステップのみを有することに限定されず、他の列挙されていないステップも包含することができる。同様に、１つ以上の特徴「を含む(comprises)」、「を有する(has)」、「が含まれる(includes)」あらゆる組成物又は装置は、その１つ以上の特徴は、その１つ以上の特徴のみを有することに限定されず、他の列挙されていない特徴を包含することができる。

【０２２９】

本明細書に記載されたすべての方法は、本明細書で他に指定される又は文脈によってそうではないと明確に否定されるのではない限り、あらゆる好適な順序で実施することができる。本明細書のある種の実施形態に関して提供される、ありとあらゆる例、又は例示的な言葉（例えば「などの」）の使用は、単に、本開示をより明らかにするためのものであり、別に主張される本開示の範囲に対する制限を与えない。本明細書内のどの言葉も、本開示の実施に不可欠ないずれかの非請求の要素を示すと解釈されるべきではない。

【０２３０】

本明細書に開示された本開示の代替要素又は実施形態のグループ分けは、限定と解釈されるべきではない。各グループのメンバーは、個々に、又はグループの他のメンバー又は本明細書に見られる他の要素とのあらゆる組み合わせで、言及及び主張することができる。あるグループの１つ以上のメンバーは、便宜又は特許性という理由で、グループに含めることも、グループから削除することもできる。

【０２３１】

本開示を詳細に記載しており、添付の特許請求の範囲で定義された本開示の範囲を逸脱せずに、改変、変更、及び等価な実施形態が可能であることは明らかであろう。さらに、本開示におけるすべての例が、非限定的な例として提供されることを理解するべきである

。
【実施例】
【０２３２】
実施例
本開示の実施形態の例を、以下の実施例に提供する。以下の実施例は、例示目的でのみ、また、本開示を使用する当業者を援助するために示される。これらの実施例は、決して本開示の範囲を他に限定することを意図するものではない。
【０２３３】
実施例１．ＨＳＰＧＲの硫酸化のための最小ドメイン。
硫酸化部位を有するＨＳＰＧは、天然に、硫酸化部位で、ある種のウイルスに対する受容体として作用する。１、２、又は３個のＳＧＤ硫酸化部位を有するヘパラン硫酸の断片を作製した。ＨＳｍｉｎは、次の通りに、１、２、又は３個の硫酸化部位を有する認識シグナルを含有する、１６、２１、又は２４個のアミノ酸の低分子ペプチドを指す：
【化１】

HS24: DDEYMLADSISGDDLGSGDLGSGD (配列番号1)

HS21: DDEYMLADSISGDDLGSGDLG (配列番号2)

Hs16: DDEYMLADSISGDDLG (配列番号3)

【０２３４】
内在性の細胞内酵素は、各ＳＧＤモチーフの各セリン残基にスルホ基を付加する。上述の配列はすべて、各ＳＧＤモチーフの各セリン残基で硫酸化されて、モノ－、ジ－、又はトリ－硫酸化ペプチドが生成される。これらのペプチドを使用して、Ｆｃ－ＳＯ$_4$と呼ばれる硫酸化されたＦｃ領域を有する、硫酸化された融合タンパク質を構築した。
【０２３５】
ｃＤＮＡ配列を、Ｆｃコード配列の３’末端にクローニングし、細胞中で発現させた。
【０２３６】
ヒトＨＳＰＧ２遺伝子の配列は、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｐ９８１６０（ＰＧＢＭ＿ＨＵＭＡＮ）に相当する。
【０２３７】
種々のＲ－Ｉｇタンパク質の発現を、１時間、ウサギ抗ヒトＩｇＧ　Ａｂ－ＨＲＰ、１：２０００を使用して、２９３Ｔ細胞において評価した（図８参照）。レーン３は、Ｉｇ－Ｆｃ及びヘパラン硫酸と結合させたＣＤ２６受容体断片の発現を示す。レーン４は、同じコンストラクトであるが、組換えポリペプチドの分泌を増大させるための、シグナルペプチドのＮ末端に含まれる２つのアラニン残基を有するものを示す。レーン５は、ＣＤ８１受容体断片、Ｉｇ－Ｆｃ、及びヘパラン硫酸と結合させたＳＲＢ１受容体断片を示す。レーン６は、レーン５と同じであるが、分泌を増大させるための上に記載した同じ２つのアラニン残基を有するものを示す。レーン７は、Ｉｇ－Ｆｃ及びヘパラン硫酸と結合させたＣＤ８１受容体断片を示す。この実施例について、ＣＤ２６は、タンパク質のｂｌａｄｅ－４部分を指す。
【０２３８】
実施例２．コード配列。
受容体コード領域（例えば、ＣＤ８１、ＳＲＢ１、ＨＳＰＧ、ＣＤ２６）を含有するヒトＤＮＡ配列は、ＧｅｎＢａｎｋから入手した。そこから膜貫通型ドメインを除去したこれらのタンパク質の細胞外ドメインを使用して、コード配列を合成した。ＨＳ２４は、ＨＳＰＧの５’－近位末端から取得される、小さいペプチド配列である。この合成ＤＮＡを、ＰＣＲによって増幅させ、プラスミドＤＮＡにクローニングした。ヒトＩｇＧ１－Ｆｃ、ヒンジ領域、及び種々のシグナルペプチド配列のコード配列を、同様に得、ＰＣＲによって増幅した。

【０２３９】
実施例３．コード配列。
次のコンストラクト：５’－シグナルペプチドＭＣＳ（マルチクローニングサイト）－ヒンジ－ヒトＩｇＦｃ－ＭＣＳ－ＨＳ２４ペプチド－３’をコードするインフレームのＤＮＡカセットを、オーバーラップＰＣＲによって産生した。このカセットを、ハイブリッドプロモーターとしてのｈＥＦ１／ＨＴＬＶ　Ｒ－Ｕ５配列（Kim et al.,Gene 91:217-23,1990;Takebe,Mol Cell Biol 9:4248-58,1988）及びＳＶ４０ポリＡ部位を利用するヒト伸長因子プロモーター、ｐＦＵＳＥＮ－ｈＧ１Ｆｃ（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎによる）を有する発現ベクター；又はＳＶ４０ポリＡ部位を伴うＣＭＶ　Ｌ．Ｅ．エンハンサー／プロモーターを使用するＣＭＶプロモーター、ｐＣｌ（Ｐｒｏｍｅｇａによる）を有する発現ベクターに挿入した。この新規発現ベクターの配列を確立し、ｐＦｃ－ＨＳと名付けた。ＣＤ８１配列の細胞外ドメインを合成し、インフレームで５’ＭＣＳに付加して、ｐＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳを作製した。ＳＲＢ１の細胞外ドメインを、オーバーラップＰＣＲによってＣＤ８１の上流に付加して、ｐＳＲＢ１－ＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳを作製した。ＣＤ２６の細胞外ドメインを、ｐＦｃ－ＨＳの５’ＭＣＳに挿入して、ｐＣＤ２６－Ｆｃ－ＨＳを作製した。
【０２４０】
実施例４．細胞。
ヒト胎児腎臓細胞株ＨＥＫ２９３Ｔ、ヒト肝細胞癌細胞株Ｈｕｈ７細胞、及びアフリカミドリザル腎臓細胞株ＣＯＳ細胞を、１０％　ＦＣＳを含有するダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ）中５％CO_2中で３７℃で維持した。
【０２４１】
実施例５．インビトロでのトランスフェクション及び発現。
ペトリ皿上の完全培地中で一晩増殖させたサブコンフルエントの細胞を、（Ｏｐｔｉｏｎｓ－ＭＥＭ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で洗浄した。トランスフェクションの前に、ＤＮＡを、Ｏｐｔｉ－ＭＥＭ中のＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　２０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）と混合し、室温で３０分間インキュベートし、次いで、洗浄した細胞に添加した。細胞を、６時間インキュベートし、完全培地中で、さらに最大４８時間増殖させた。
【０２４２】
実施例６．精製。
組換え受容体－Ｆｃ－ＨＳタンパク質を、プロテインＡ又はプロテインＧアガロースカラムクロマトグラフィーによって、条件培地から、又は細胞溶解物から精製した。
【０２４３】
実施例７．ウエスタンブロット分析。
組換えタンパク質を、還元条件下でＳＤＳ－Ｐａｇｅにかけ、硝酸セルロースフィルターに移した。タンパク質を、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）と共役させたウサギ抗ヒトＩｇＧ１を使用して可視化した。
【０２４４】
実施例８．ＥＬＩＳＡアッセイ。
９６ウェルプレートのウェルを、ＭＥＲＳスパイクタンパク質又はＨＣＶ　Ｅ１Ｅ２タンパク質でコーティングした。コーティングされたプレートを、でブロックし（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ｃａ）、段階希釈した受容体－Ｆｃ－ＨＳタンパク質と共にＲＴで２時間インキュベートし、１／１０００希釈の西洋ワサビペルオキシダーゼ共役ヤギ－抗ヒトＦｃ（ＬＳＢｉｏ，Ｉｎｃ）と共にＲＴで１時間インキュベートし、洗浄し、次いで、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を添加した。反応を２Ｎ　H_2SO_4で停止させ、吸光度を４５０ｎＭで読み取った。
【０２４５】
実施例９．ウイルス中和抗体価の決定。
ＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳタンパク質がＨＣＶ感染を中和する能力は、米国特許出願公開２０１０／０２２７３１１　Ａ１号に記載されている通りに生ＨＣＶウイルス（ＪＦＨ１）

を使用することによって測定されることとなる。ＣＤ２６－Ｆｃ－ＨＳの能力は、記載されている通りに（Jung et al.,Vaccine 36:3468-76,2018.）生ＭＥＲＳ－ＣｏＶウイルスを使用することによって測定されることとなる。

【０２４６】

実施例１０．ウイルス感染を予防するための融合タンパク質の構築。

組換えポリペプチド（すなわち、融合タンパク質）は、例えば、免疫グロブリン（Ｉｇ）Ｆｃフラグメント、宿主細胞表面受容体の断片、例えばＣＤ８１、及び第２の受容体の断片、例えばＳＲＢ１、及びＨＳ２４（配列番号１）などの硫酸化多糖を有するペプチドを使用して構築する。融合タンパク質の受容体断片は、ウイルスエンベロープタンパク質と結合し、第２の受容体の結合をもたらす又は可能にする。結合は、協同的であり、いずれかの分子単独よりも安定である。組換えポリペプチドが細胞表面受容体と結合する能力を分析する。

【０２４７】

実施例１１．組換えポリペプチドのインビトロ／インビボ阻害活性。

組換えポリペプチドの活性を、インビトロ及びインビボで様々な条件において評価する。組換えポリペプチドの所与のウイルスエンベロープへの親和性を、ウイルスの精製されたエンベロープタンパク質を使用する定量的ＥＬＩＳＡによって測定して、結合定数を求める。組換えポリペプチドのウイルス中和能を、インビトロで細胞培養を使用して測定する。このアッセイでは、複数用量のウイルスを、細胞培養液と共にインキュベートして、感染量を決定する。次いで、測定された量の試験タンパク質を、細胞培養液の感染の前に、試験ウイルスと共にプレインキュベートして、組換えタンパク質のウイルス中和抗体価を確認する。この中和抗体価の、値が分かっているモノクローナル抗体の中和抗体価との比較により、組換えタンパク質の力価という第１の指標が提供されることとなる。組換えタンパク質の有効性は、小動物モデルにおいて試験されるであろう。例えば、ＨＣＶは、重症複合免疫不全（ＳＣＩＤ）を有するマウスがヒト肝臓を移植された、又はマウスＣＤ８１遺伝子がノックアウトされてＣＤ８１などのヒト受容体が発現されている、トランスジェニックマウスモデルにおいて試験されるであろう。これらのマウスをＨＣＶに感染させ、評価することができる。同様に、ＭＥＲＳは、ヒトＣＤ２６でトランスフェクションされた（これらのマウスはマウスＣＤ２６の発現を保持し、ヒトＣＤ２６を一過的にのみ発現する）トランスジェニックマウスにおいて試験されるであろう。これらの動物は、予防的適用について試験されるであろう。ここでは、動物を試験タンパク質で前治療し、その後、負荷用量のウイルスを静脈内に投与して、ウイルス制御を観察する。治療的適用では、既に試験ウイルスに感染させた動物に、試験タンパク質を投与して、ウイルス血症及びウイルスクリアランスの変化を測定する。チンパンジーは、ＨＣＶに感染する唯一の動物である。実験を受けたことがないチンパンジーを使用して、ＨＣＶ組換えポリペプチドの予防能を試験することができるのに対して、既にＨＣＶに感染させた動物大腿を使用して、試験タンパク質の治療的適用を試験することができる。

【０２４８】

実施例１２．ＲＮＡ発現ベクター。

ＲＮＡ発現ベクターを使用して、本明細書に記載した通りの組換えポリペプチドをコードするＲＮＡを発現させることができる。翻訳のための５’－キャップ又はＩＲＥＳと共に、所望されるＲＮＡ転写物のためのＤＮＡコード配列を使用することによって、コンストラクトを調製することができる。本明細書に記載した通りのＲＮＡ分子に含まれる５’－キャップ又はＩＲＥＳは、組換えポリペプチドが、こうしたベクターが投与される対象又は患者の細胞によって翻訳されるのを可能にする。いくつかの実施形態では、およそ２０ヌクレオチドのＴ７プロモーター（配列番号１９）も、タンパク質コード配列の上流に付加することができる。大規模ＲＮＡ産生は、例えば、Ｔ７ポリメラーゼ及び５’－キャップ類似体を使用して、インビトロで達成することができる。得られたＲＮＡを、リポソームを伴って又は伴わずに生理食塩水に入れて筋肉内又は皮下に注射することができる。５’－キャップを伴う注射されたＲＮＡは、患者の細胞内で翻訳されることとなり、得ら

れた翻訳された組換えポリペプチドは、分泌される。

【０２４９】

実施例１３．２４アミノ酸ＨＳペプチドをパールカンからＦｃに移行させることによるＦｃ－ＨＳタンパク質の作製。

ヘパラン硫酸（ＨＳ）及びコンドロイチン硫酸（ＣＳ）は、硫酸化ＧＡＧ（グリコサミノグリカン）の２つの主な形態である。ＨＳとＣＳはどちらも、ＨＳＰＧ生合成経路中に、アミノ酸セリン（Ｓｅｒ）に付着された四糖を有し、これらは、以下である：（Ｓｅｒ）－キシロース（Ｘｙｌ）－ガラクトース（Ｇａｌ）－ガラクトース（Ｇａｌ）－グルクロン酸（ＧｌｃＡ）。ＨＳについては、第５の糖が、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）であるのに対し、ＣＨは、Ｎ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）を有する。さらに、第６の糖は、ＧｌｃＡである。ＨＳとＣＨの両方において、第５の糖と第６の糖は、その後、複数回繰り返される。

【０２５０】

ＨＳについては、繰り返し二糖単位内のＧｌｃＡ残基は、残存する可能性もあるし、エピマー化されてイズロン酸（ＩｄｏＡ）になる可能性もある。次いで、硫酸（SO_4）が、ＧｌｃＮＡｃに（炭素２、３、及び６に、３個もの数）、またＩｄｏＵに（炭素２に１個）付加される。ある注目すべきＨＳは、ヘパリンであり、これは、ブタの腸から精製され、サイズ分画が行われて低い分子量（ＭＷ、１５ｋＤａ）種になる、抗血液凝固薬である。

【０２５１】

精製されたＦｃ－ＨＳ及びＦｃ－Ｔ３タンパク質の発現及び可視化を、図９に示す。Ｆｃ－ＨＳ中に存在するＨＳのアミノ酸配列は、次の通りである：

【化２】

DDEDMADSISGDDLGSGDLGSGD (配列番号20)

【０２５２】

Ｆｃ－Ｔ３中に存在するＴ３のアミノ酸配列は、次の通りである：

【化３】

DDEDMADSITGDDLGTGDLGTGD (配列番号21)

【０２５３】

Ｆｃ－ＨＳは、太字の３つのＳｅｒ残基を含む、２３アミノ酸のＨＳペプチドを有する。これは、ＧＡＧ－グリコシル化部位であることが予想される。Ｆｃ－Ｔ３は、３つのＳｅｒ残基がＴｈｒと置き換えられた２３アミノ酸のペプチドを有する。

【０２５４】

Ｆｃ－ＨＳ及びＦｃ－Ｔ３を、２９３Ｔ細胞において発現させ、培養培地から分泌タンパク質を精製した。タンパク質を、還元条件下で１０％　ＳＤＳ－ＰＡＧＥにかけ、クーマシーブルー染色によって可視化した。

【０２５５】

実施例１４．ヘパリナーゼによるヘパリンの切断。

ヘパリンを、示された酵素で３０℃で２４時間消化し、２０％　ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析し、アルシアンブルー／銀染色によって可視化した（図１０）。ヘパリンを、ヘパリナーゼによって切断し、ＧＡＧ特異的染料、アルシアンブルー／銀によって染色した。ヘパリナーゼ－Ｉは、ＧｌｃＮＡｃ－ＩｄｏＵを加水分解し、ヘパリナーゼＩＩＩは、ＧｌｃＮＡｃ－ＧｌｃＡを消化する。アルシアンブルーは、ＨＳ中に存在する硫酸基と相互作用するアニオン性染料である。これは、銀と組み合わせて、プロテオグリカン中に存在するＧＡＧ鎖を選択的に検出する（Min et al.,Anal Biochem 209(1):169-75,1993)。

【０２５６】
実施例１５．Ｆｃ－ＨＳタンパク質はＧＡＧ－グリコシル化される。
ゲルが、ＨＳ特異的な染料、アルシアンブルー／銀で染色された場合、ＥＨＳバンドが検出可能であった。アルシアンブルー／銀バンド（図１１）は、Ｆｃ－ＨＳ中の３個のＳｅｒがＦｃ－Ｔ３中の３個のＴｈｒに変異した場合には消失する。各タンパク質は、細胞溶解物及び培養培地中に見られた。分泌タンパク質のみがＧＡＧ－グリコシル化され、グリコシル化は、分泌経路と関連している。
【０２５７】
実施例１６．Ｆｃ－タンパク質において作られたヘパラン硫酸はＨＳペプチドと結合した。
タンパク質は、２９３Ｔ細胞において発現させた。培地中の分泌タンパク質を、プロテインＡビーズに結合させ、ヘパリナーゼＩ又はヘパリナーゼＩＩＩで部分的に消化させた。消化されたタンパク質を、１０％　ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析し、それに続いてアルシアンブルー／銀染色を行って、ＧＡＧ糖タンパク質を可視化した（図１２）。
【０２５８】
ＧＡＧ－グリコシル化は、Ｆｃ－ＨＳ及びＣＤ８１－Ｆｃ－ＨＳ試料におけるゆっくり移動するスメアなバンドの存在によって明らかになる。これらのスメアなバンドを、ヘパリナーゼによってラダーに変換した。スメアなバンド／ラダーは、ＨＳペプチドをコードしないＣＤ８１－Ｆｃでは欠損している。ＨＳは、主にＧｌｃＡ形態（ヘパリナーゼ－ＩＩ感受性）で、いくらかはＩｄＵ形態（ヘパリナーゼ－Ｉ）で作られる。
【０２５９】
ＨＳ　ＧＡＧ－鎖の３つの異なる起原は、次の通りである（予想されるＯ－結合型ＧＡＧ－グリコシル化部位のアミノ酸残基は、太字で示される）：
【０２６０】
パールカンからの２３アミノ酸ＨＳペプチド：
【化４】

DDEDMADSISGDDLGSGDLGSGD (配列番号20)

【０２６１】
グリピカン５からの３０アミノ酸ＨＳペプチド：
【化５】

GSGGGMVEQVSGDCDDEDGCGGSGSGEVKR (配列番号22)

【０２６２】
シンデカン４からの２６アミノ酸ＨＳペプチド：
【化６】

PGQESDDFELSGSGDLDDLEDSMIGP (配列番号23)

【０２６３】
実施例１７．レトロウイルスベースのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス粒子の産生。
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２シュードタイプ化（すなわち、疑似ウイルス)粒子（Ｓｐｐ）を、記載されている通りに（Ｊ Visualized Expt,2019 145,1-9)、マウス白血病ウイルス（ＭＬＶ）コアとルシフェラーゼレポーターを用いて産生した。この目的のために、ＭＬＶ　ｇａｇ及びｐｏｌを発現するパッケージング細胞株（Ｐｔ－ｇｐ）（Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌａｂｓ、＃ＲＴＶ　００３）、及び５’－及び３’－隣接ＭＬＶ末端反復配列（ＬＴＲ）領域と共に、ＧＦＰレポーター遺伝子とＭＬＶ　Ψ－ＲＮＡパッケージングシグナルをコードするトランスファーベクタープラスミドｐＢａｂｅ（Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌａｂ

＃ＲＴＶ－００１）を入手した。このベクターを、ｐＧＦＰ－ＦＬｕｃを作製するために、ＧＦＰと共にショウジョウバエルシフェラーゼ（ＦＬｕｃ）を含むように改変した。対象となるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質をコードする第２のプラスミドも使用した。これらの２つのプラスミドを、製造者のプロトコルに従ってリポフェクタミン３０００（Ｔｈｅｒｍｏ）を使用して、パッケージング細胞に同時導入した。同時導入時に、ウイルスＲＮＡ及びタンパク質が、導入された細胞内に発現され、シュードタイプ化粒子（ｐｐ）の産生が可能になった。これらのｐｐ内で、ルシフェラーゼ遺伝子レポーターとパッケージングシグナルを含有するＲＮＡは、その表面にＳタンパク質を有する、細胞から培養培地に出芽する新生粒子に封入される。培地を回収し、感染力アッセイに使用するために、遠心分離（２９０ｇ×７分）によって清澄化した。標的細胞における感染時に、ルシフェラーゼレポーター及び隣接ＬＴＲを含有するウイルスＲＮＡは、次いで、細胞内に放出され、レトロウイルスポリメラーゼ活性により、ＤＮＡへのその逆転写、及び宿主細胞ゲノムへの組み込みが可能になる。次いで、感染した細胞におけるｐｐの感染力の定量化を、簡単なルシフェラーゼ活性アッセイを用いて実施する。宿主細胞ゲノムに組み込まれたＤＮＡ配列は、ルシフェラーゼ遺伝子を含有するだけで、ＭＬＶ又はコロナウイルスタンパク質をコードする遺伝子をまったく含有しないので、本質的に、より安全である。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓｐｐは、宿主細胞へのウイルスの侵入を研究するための、天然のビリオンの優れた代替物である。個々の細胞型の発光結果について、図１３を参照のこと。

【０２６４】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓｐｐ感染のための高度に許容的な細胞株を得た。この目的のために、ＶｅｒｏＥ６細胞を、［０２１３］に記載されたプラスミドＤＮＡ　ｐＣＭＶ－ＴＭＰＲＳＳ２でトランスフェクションし、Ｓｐｐ感染アッセイによって複数のクローンをスクリーニングすることによって、安定なＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞株として、１つの細胞クローン（クローン７）を選択した（図１４）。

【０２６５】

コンストラクト及びプラスミド。

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ及びＭＥＲＳ－ＣｏＶスパイク糖タンパク質配列は、それぞれ、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＡＹ３０１２０及びＡＧＮ７０９６２から取得し、各ｃＤＮＡを合成するために使用した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ糖タンパク質配列は、ＧｅｎＢａｎｋ（受託番号ＭＮ９０８９４７．３）から取得した。ｐＣＭＶプラスミドにクローニングされたコドン最適化Ｓタンパク質ｃＤＮＡ配列は、Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ（ＶＧ４０５８９－ＵＴ）から購入し、ｐＳと称する。Ｃ末端の１９アミノ酸欠失（ｄ１９）を有するＳタンパク質ｃＤＮＡは、ＰＣＲによって作製し、ｐＣＭＶ１４に再挿入して、ｐＳ－ｄ１９を作製した。細胞質側末端がＨＩＶ　Ｅｎｖ糖タンパク質末端（ＣＣＳＣＧＳＣＣ）と置き換えられたＳタンパク質ｃＤＮＡを作製し、ｐＣＭＶ１４に再挿入して、ｐＳ－ＨＩＶを作製した。ＡＣＥ２は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のための侵入受容体であり、その配列は、ＧｅｎＢａｎｋ（受託番号ＡＦ２４１２５４）から得た。この配列をコードするプラスミドは、Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ（ＨＧ１０１０８－Ｍ）から購入し、ｐＣＭＶ１４にクローニングして、ｐＣＭＶ－ＡＣＥ２を作製した。３つのコンストラクトを、本明細書に記載した通りに生成した。ＡＣＥ２のエクトドメイン（アミノ酸１８～７３８）を、ＰＣＲによって増幅し、ｐＦｃに挿入して、ｐＡｃｅ－２Ｆｃを作製するか、又はｐＦｃ－ＨＳに挿入して、ｐＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳを作製した（図２０Ａ及び図２０Ｂに示される配列、並びに図５における模式図）。どちらのコンストラクトも、タンパク質の細胞培養培地への分泌を増大させるための、タンパク質のＮ末端での２アミノ酸（Ａｌａ－Ａｌａ）挿入を有する。細胞へのＳＡＲＳ－ＣｏＶ侵入を阻害することが報告された（Virology 2006,350,15-25)、ＡＣＥ２の最小ドメイン（アミノ酸２２～４４及びアミノ酸３５１～３５７）を、ｐＦｃに挿入して、ｐＡＣＥ２ｐ６－Ｆｃを生成した（図１９Ａ及び図１９Ｂに示される配列）。おそらくＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質との接触に関与する、受容体ドメイン（３つのグリシ

ン残基と連結されたアミノ酸１９～４４及びアミノ酸３２５～３５５）を、ｐＦｃに挿入して、ｐ６１－Ｆｃを生成した（図２１Ａ及び図２１Ｂに示される配列）。セリンプロテアーゼＴＭＰＲＳＳ２をコードするｃＤＮＡ発現プラスミドは、Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌから購入し、ｐＣＭＶ－Ｔｍｐｒｓｓ２と称する。

【０２６６】

２９３Ｔ細胞において発現させたＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳを、培養培地に分泌させる。図１６Ａに示す通り、漸増体積の条件培地中のタンパク質を、変性条件で電気泳動させた。抗ヒトＩｇＧ－Ｆｃを用いてウエスタンブロットで探索し、タンパク質を、ゲルに含まれる、分かっている量のＦｃタンパク質を使用して決定した。Ｈｕｈ７細胞において発現されるタンパク質の精製及び特性決定を図１６Ｂに示す。示された通り、ＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳは、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞へのＳＡＲＳ－ＣｏＶ（それぞれ図１７Ａ及び図１８Ａ）及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（それぞれ図１７Ｂ及び図１８Ｂ）疑似ウイルス侵入を阻害した。コンストラクトＰ６Ｆｃ－ＨＳの配列を、配列番号２５～３０として提供する。コンストラクトＡＣＥ２Ｆｃ－ＨＳの配列を、配列番号２５、２８、３０、３４～３６、及び３８として提供する。コンストラクトＰ６１ＦｃＨＳの配列を、配列番号２５、２８、３０、及び３９－４４として提供する。

【０２６７】

Ｓｐｐ調製：

（１）Ｐｔ－ｇｐ細胞を、１０ｃｍディッシュ内のＤＭＥＭ完全培地中に6×10^{6}細胞で播種し、３７℃の５％CO_2を用いる細胞培養インキュベーター中で一晩（１６～１８時間）インキュベートした。

（２）細胞培養培地を除去し、５μｇ　ｐＧＦＰ－Ｌｕｃ、２．５μｇ　ｐＳ、２０μｌのリポフェクタミン３０００を含有する２５０μｌのＯｐｔｉ－ＭＥＭ培地を添加した。細胞を６時間インキュベートした。

（３）細胞を洗浄し、１０ｍｌの完全培地中で４８時間培養した。

（４）Ｓｐｐを含有する培地を、遠心分離によって細胞破壊片について取り除き、分割量で凍結した。

【０２６８】

Ｓｐｐ感染：

９４ウェルプレートの１０％　ＦＣＳを含有する１００μｌ　ＤＭＥＭ完全培地中に、1×10^{4}細胞／ウェルを播種した。

（１）このプレートをインキュベートした。

（２）細胞培養上清を除去した。ｐｐを、４０μｌ体積の完全培地中で、３７℃で１時間、示された通りの試験試料と共にプレインキュベートした。

（３）細胞を、４０μｌのプレインキュベートされたｐｐ溶液に接種した。

（４）細胞を、３７℃、５％CO_2の細胞培養インキュベーター中で、２時間インキュベートした。

（５）６０μｌのあらかじめ温めた（３７℃）ＤＭＥＭ－Ｃ培地を、各ウェルに添加して、１００μｌの体積を調整した。

（６）細胞を、３７℃、５％CO_2の細胞培養インキュベーター中で、４８時間インキュベートした。

【０２６９】

感染力定量化：

感染力定量化のために、ルシフェラーゼアッセイシステム(Luciferase Assay System)（Luciferase Assay system、Promega E4030）を使用した。

（１）ルシフェリン基質及び５×ルシフェラーゼアッセイ溶解緩衝液を、室温に達するまで解凍した。

（２）ルシフェラーゼアッセイ溶解緩衝液を、滅菌水で１×に希釈した。

（３）細胞の吸引上清を、シュードタイプ化粒子に感染させた。

（４）２０μｌの１×ルシフェラーゼアッセイ溶解緩衝液を、各ウェルに添加した。
（５）プレートを揺動機に置き、室温で揺動しながら１５分間インキュベートした。
（６）各チューブに２０μｌのルシフェリン基質を添加することによって、各ウェルについてマイクロ遠心チューブを調製した。
（７）ルミノメーターを作動させ、２μｌの溶解物を４μｌのルシフェリン基質を含有する１本のチューブに移すことによって、ルシフェラーゼ活性測定を、１回に１つのウェルで実施した。
（８）チューブの壁面上の液体を転置させないように、チューブを軽くはじいて内容物を混合した。
（９）チューブをルミノメーター装置に入れ、ふたを閉めた。
（１０）チューブの発光を測定し、相対発光量(relative light unit)の測定値を記録した。

【０２７０】

データ分析：

ｐｐを生成するためのパッケージング細胞へのダブルトランスフェクションの時に、スパイクコード配列をコードする第２のプラスミドを欠失させる空の(mock)トランスフェクションを実施した。このトランスフェクションは、ｐｐを生成しないこととなり、したがって、これらの標的細胞から測定できるルシフェラーゼ活性は、バックグラウンドの測定値を表す。この値は、ｄＥｎｖと称され、標準化のために、試料からのＬｕｃ値から引いた。ｐｐ単独を有する形質導入された細胞からの標準化されたＬｕｃ値は、１００％の感染とみなされた。

【０２７１】

実施例１８．ヘパリンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の効果的な阻害剤である。

ヘパリンは、標的細胞（ＶｅｒｏＥ６、又はＴＭＰＲＳＳ２を恒常的に発現するＶｅｒｏＥ６細胞）において、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染に対する効果的な阻害剤であると特定された。ＴＭＰＲＳＳ２は、インビトロ及びインビボで、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２をタンパク質分解的に活性化し、したがって、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞は、ウイルスの感染力を定量するのに有用である。図２２に示す通り、ヘパリンは、１μＭ範囲未満のＴＣＩＤ５０で、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染を遮断する。さらに、ヘパリンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ及びＭＥＲＳ　ＣｏＶに対する阻害よりも効率的に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を阻害する。

【０２７２】

実施例１９．モノクローナル抗体を中和することによる、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス感染の阻害

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクＳ１を中和するマウスモノクローナル抗体（Ｍａｂ）を、ＳｉｎｏＢｉｏｌｏｇｉｃａｌから購入し、これを、細胞のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を予防するために使用できるかどうかを試験するために使用した。図１５に示す通り、マウスＭａｂは、およそ２ｎＭで、ウイルス感染を中和（阻害）することが可能であり、これは、販売会社（ＳｉｎｏＢｉｏｌｏｇｉｃａｌ）によって報告されていることと一致する。したがって、このデータは、本明細書に上で記載されたｐｐアッセイが、ウイルス中和を測定する信頼できる方式を提供することを示す。

【０２７３】

実施例２０．２９３Ｔ細胞におけるＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳの発現

本明細書に記載された、２９３Ｔ細胞で発現させる組換えポリペプチドの精製及び特性決定を、実施例１７に記載された通りに実施した。結果を図１６Ｂに示す。漸増体積の還元又は非還元タンパク質を、変性条件で電気泳動させた。抗ヒトＩｇＧ－Ｆｃを用いて、ウエスタンブロットで探索した。図１６Ｂは、２９３Ｔ細胞において発現される、タンパク質ＡＣＥ２－Ｆｃ（左）及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳ（右）の、対照のＦｃ単独と比較される精製及び特性決定を示す、ウエスタンブロットのＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを示す。

【０２７４】

実施例２１．ヘパリンは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ及びＭＥＲＳ感染の効果的な阻害剤である。
上の実施例１８と同様に、ヘパリンはまた、ＶｅｒｏＥ６細胞におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ疑似ウイルス感染と、Ｈｕｈ７細胞におけるＭＥＲＳ－ＣｏＶ疑似ウイルス感染の両方に対する効果的な阻害剤であると特定された。図２３に示す通り、ヘパリンは、約１～２．５μＭのＴＣＩＤ５０で、ＳＡＲＳ－ＣｏＶウイルス感染及びＭＥＲＳ－ＣｏＶウイルス感染を遮断する。

【０２７５】

実施例２２．ＡＣＥ２－Ｆｃ組換えタンパク質の多量体化

組換えＡＣＥ２－Ｆｃポリペプチドは、多量体形態、例えば二量体、三量体、四量体、六量体、八量体、十量体などで調製することができる。図２４～２９は、本開示の組換えポリペプチドのこうした多量体形態についての可能な組み合わせ方を示す。

【０２７６】

ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチンを使用する四量体ＡＣＥ２－Ｆｃ：

細胞培養において四量体形態のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドを作製するために、ビオチン結合部位を有するストレプトアビジン（ＳＡ）を、二量体ＡＣＥ２－Ｆｃ分子の、ＡＣＥ２ウイルス受容体基の逆の端に付加して、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ二量体を形成する。これらの二量体は、培養液中で共に組み合わせられると、自然に四量体を形成することとなり、ＳＡ基が共に結合すると、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体が形成される。このプロセスを、図２４に表す。各ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ二量体のＳＡ基の結合は、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ二量体の端と端が連結された四量体をもたらすこととなる。得られた四量体組換えタンパク質を、細胞培養において発現及び分泌させる。

【０２７７】

ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチンを使用する八量体のＡＣＥ２－Ｆｃ：

八量体のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドをインビトロで作製するために、上に記載した通りのＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ二量体を、インビトロで四量体を形成させる。次いで、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体を、Ｓｔｒｅｐ－ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）を有する二量体ＡＣＥ２－Ｆｃと、ＡＣＥ２ウイルス受容体基の逆の端で組み合わせる。二量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－Ｓｔｒｅｐ－ｔａｇ　ＩＩ（登録商標）は、ＳＡ基上のビオチン結合部位に結合して、図２５に示す通り、八量体構造を形成することとなる。

【０２７８】

ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）を使用する四量体のＡＣＥ２－Ｆｃ：

細胞培養において四量体形態のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドを作製するために、ＡＣＥ２ウイルス受容体基の逆の端にビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）を有する二量体ＡＣＥ２－Ｆｃを、ビオチン結合部位を有するＳＡと組み合わせる。図２６に示す通り、二量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）上に存在するビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）基は、ＳＡ基上のビオチン結合部位に結合して、ＡＣＥ２－Ｆｃ－Ａｖｉｔａｇ（商標）二量体の端と端が連結された四量体構造を形成することとなる。

【０２７９】

ストレプトアビジン（ＳＡ）及びビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）を使用する八量体のＡＣＥ２－Ｆｃ：

八量体のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドをインビトロで作製するために、上に記載した通りのＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）二量体を、四量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡと組み合わせる。図２７に示す通り、二量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）上に存在するビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）基は、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体のＳＡ基上のビオチン結合部位に結合して、八量体構造を形成することとなる。

【０２８０】

ストレプトアビジン（ＳＡ）、及びヘパリンでビオチン化されたＡｖｉＴａｇ（商標）を使用する、四量体のＡＣＥ２－Ｆｃ：

細胞培養において四量体形態のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドを作製するために、

ＡＣＥ２ウイルス受容体基の逆の端にヘパリンでビオチン化されたＡｖｉＴａｇ（商標）を有する二量体ＡＣＥ２－Ｆｃを、ビオチン結合部位を有するＳＡと組み合わせる。図２８に示す通り、二量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）上に存在するヘパリン－ビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）基は、ＳＡ基上のビオチン結合部位に結合して、ＡＣＥ２－Ｆｃ－Ａｖｉｔａｇ（商標）二量体の端と端が連結された四量体構造を形成することとなる。

【０２８１】

ストレプトアビジン（ＳＡ）、及びヘパリンでビオチン化されたＡｖｉＴａｇ（商標）を使用する、八量体のＡＣＥ２－Ｆｃ：

八量体のＡＣＥ２－Ｆｃ組換えポリペプチドをインビトロで作製するために、上に記載した通りのＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）二量体を、四量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡと組み合わせる。図２９に示す通り、二量体ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＡｖｉＴａｇ（商標）上に存在するビオチン化ＡｖｉＴａｇ（商標）基は、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体のＳＡ基上のビオチン結合部位に結合して、八量体構造を形成することとなる。

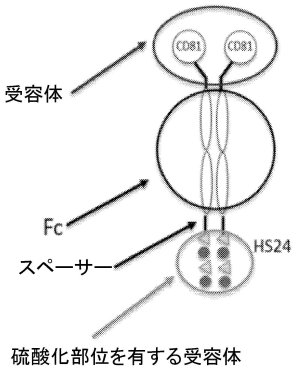
【０２８２】

実施例２３．Ｌｕｃ活性によって測定される、ＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡによる、ＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス感染の阻害。

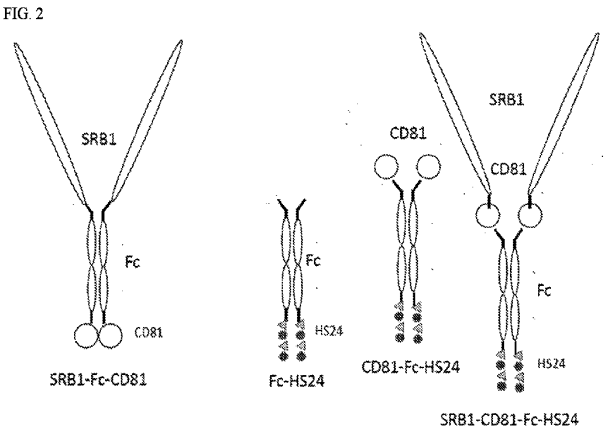
先の実施例に記載されたＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡコンストラクトを使用して、ＭＬＶ－Ｓ１９ｐｐ疑似ウイルス粒子のＶｅｒｏＥ６／ＴＭＰＲＳＳ２細胞への感染力を試験し、また、感染（％）を、本明細書に記載した通りのルシフェラーゼ（Ｌｕｃ）アッセイによって決定した。ＳＤＳによって部分的に変性された、細胞におけるＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡ四量体の発現を、図３１Ａに示す。図３０Ｂは、ＡＣＥ２－ＦｃとＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡの両方が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２疑似ウイルス粒子の感染（％）を低下させたことを示す。さらに、ＡＣＥ２－Ｆｃ－ＳＡは、感染（％）を、ＡＣＥ２－Ｆｃよりもかなり迅速に低下させたことを示す。ＡＣＥ２－Ｆｃ及びＡＣＥ２－Ｆｃ－ＨＳはまた、スパイクタンパク質の変異を有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の特定のバリアント（Ｄ６１４Ｇ）の感染も阻害した（図３４）。

【図面】

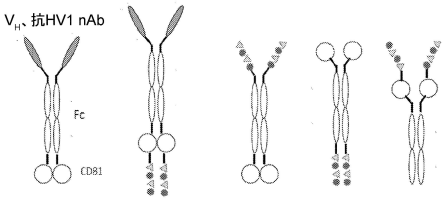
【図１】


CD81
CD81
受容体
Fc
スペーサー
HS24
硫酸化部位を有する受容体

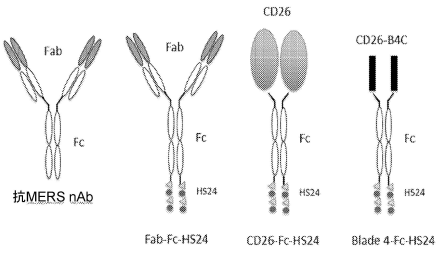
【図２】


FIG. 2
SRB1
Fc
CD81
SRB1-Fc-CD81
Fc
HS24
Fc-HS24
CD81
CD81
CD81-Fc-HS24
SRB1
CD81
Fc
HS24
SRB1-CD81-Fc-HS24

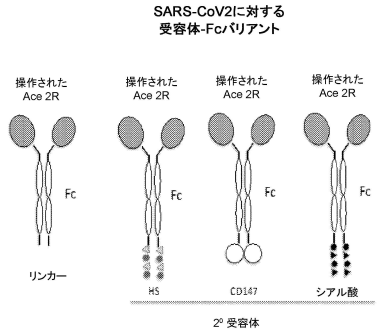
【図３】


V_H、抗HV1 nAb
Fc
CD81

【図４】


Fab
Fc
抗MERS nAb
Fab
Fc
HS24
Fab-Fc-HS24
CD26
Fc
HS24
CD26-Fc-HS24
CD26-B4C
Fc
HS24
Blade 4-Fc-HS24

【図５】



【図６】

ヒトSRB1
代替名:CD36

ヒトSRB1細胞外ドメイン配列:アミノ酸33-443、411アミノ酸

```
                                  PSLIKQQV LKNVRIDPSS LSFNMWKEIP
IPFYLSVYFF DVMNPSEILK GEKPQVREBG FYVYREFRHK SNITFNNNDT VSFLEYRTFQ
FQPSKSHGSE SDYIVMPNIL VLGAAVMMEN KPMTLKLIMT LAPTTLGERA FMNRTVGEIM
WGYKDPLVNL INKYFPGMFP FKDKPGLFAE LNNSDSGLFT VFTGVQNISR IHLVDKWNGL
SKVDFWHSDQ CNMINGTSGQ MWPPFMTPES SLEFYSPEAC RSMKLMYKES GVFEGIPTYR
FVAPKTLFAN GSIYPPNEGF CPCLESGIQN VSTCRFSAPL FLSHPHFLNA DFVLAEAVTG
LHPNQEAHSL FLDIHPVTGI PMNCSVKLQL SLYMKSVAGI GQTGKIEFVV LPLLWFAESG
AMEGETLHTF YTQLVLMPKV MHY
```

全長配列:552アミノ酸、6078 MW

```
MGCSAKARWA AGALGVAGLL CAVLGAVMIV MVPSLIKQQV LKNVRIDPSS LSFNMWKEIP
IPFYLSVYFF DVMNPSEILK GEKPQVREBG FYVYREFRHK SNITFNNNDT VSFLEYRTFQ
FQPSKSHGSE SDYIVMPNIL VLGAAVMMEN KPMTLKLIMT LAPTTLGERA FMNRTVGEIM
WGYKDPLVNL INKYFPGMFP FKDKPGLFAE LNNSDSGLFT VFTGVQNISR IHLVDKWNGL
SKVDFWHSDQ CNMINGTSGQ MWPPFMTPES SLEFYSPEAC RSMKLMYKES GVFEGIPTYR
FVAPKTLFAN GSIYPPNEGF CPCLESGIQN VSTCRFSAPL FLSHPHFLNA DFVLAEAVTG
LHPNQEAHSL FLDIHPVTGI PMNCSVKLQL SLYMKSVAGI GQTGKIEFVV LPLLWFAESG
AMEGETLHTF YTQLVLMPKV MHYAQVVLLA LGCVLLLVPV ICQIRSQVGA GQRAARADSH
SLACWGKGAS DRTLWFTAAW SPPPAAVLRL CRSGSGHCWG LRSTLASFAC RVATTLPVLE
GLGPSLGGGT GS
```

【図７】

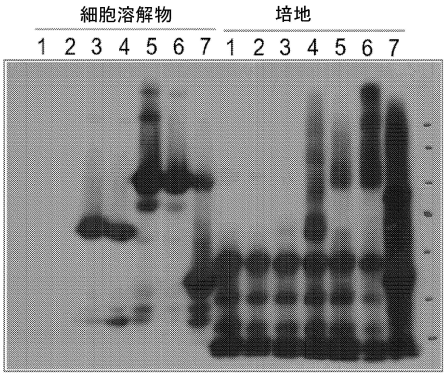
ウェブアーカイブ:uniprot
CD81ヒト、全長、236アミノ酸

```
       10         20         30         40         50
MGVEGCTKCI KYLLFVFNFV FWLAGGVILG VALWLRHDPQ TTNLLYLELG
       60         70         80         90        100
DKPAPNTFYV GIYILIAVGA VMMFVGFLGC YGAIQESQCL LGTFFTCLVI
      110        120        130        140        150
LFACEVAAGI WGFVNKDQIA KDVKQFYDQA LQQAVVDDDA NNAKAVVKTF
      160        170        180        190        200
HETLDCCGSS TLTALTTSVL KNNLCPSGSN IISNLFKEDC HQKIDDLFSG
      210        220        230
KLYLIGIAAI VVAVIMIFEM ILSMVLCCGI RNSSVY
```

CD81細胞外ドメイン(EC-2)、89アミノ酸;(アミノ酸#: 113-201)

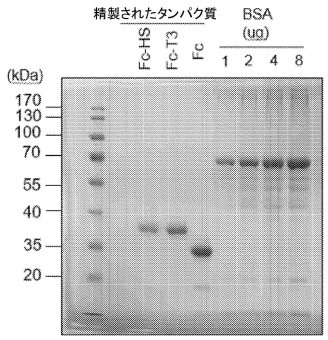
```
      110        120        130        140        150
             FVNKDQIA KDVKQFYDQA LQQAVVDDDA NNAKAVVKTF
      160        170        180        190        200
HETLDCCGSS TLTALTTSVL KNNLCPSGSN IISNLFKEDC HQKIDDLFSG
      210        220        230
K
```

【図８】

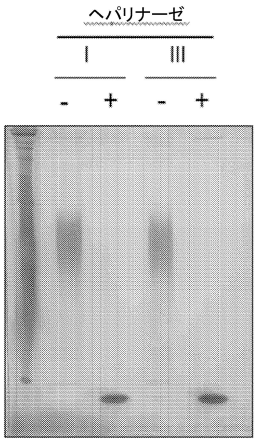


ウサギ抗ヒトIgG Ab-HRP、1:2,000、1時間

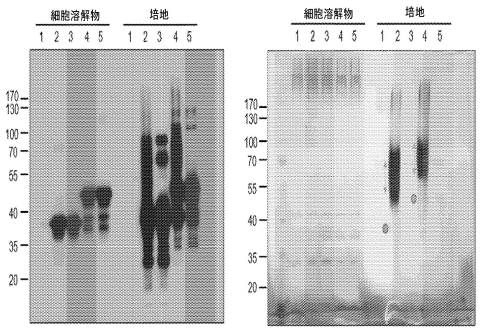
【図９】



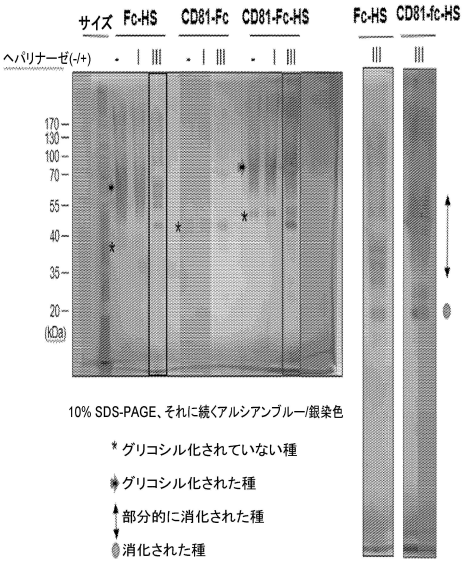
【図１０】



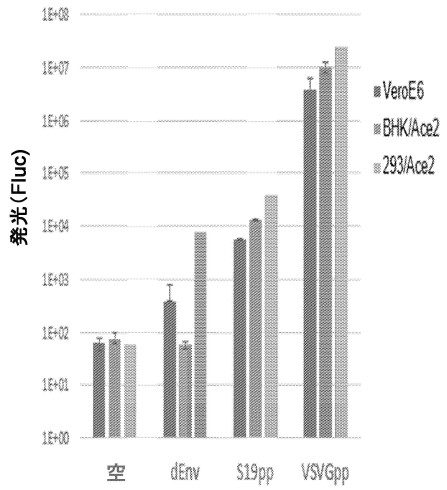
【図１１】



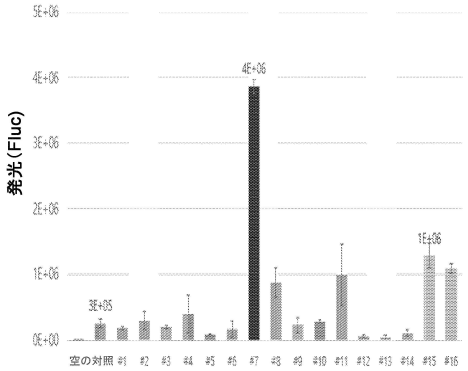
【図１２】



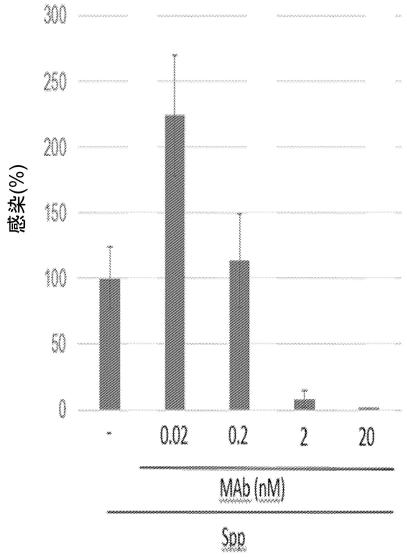
【図１３】



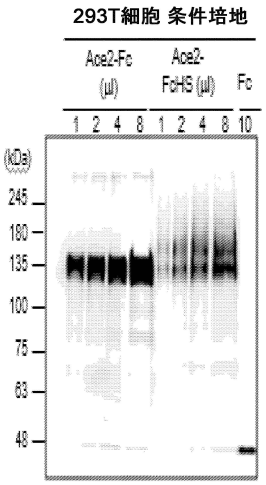
【図１４】



【図１５】

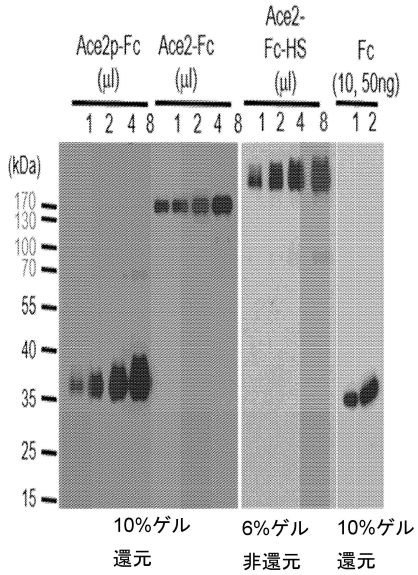


【図１６Ａ】

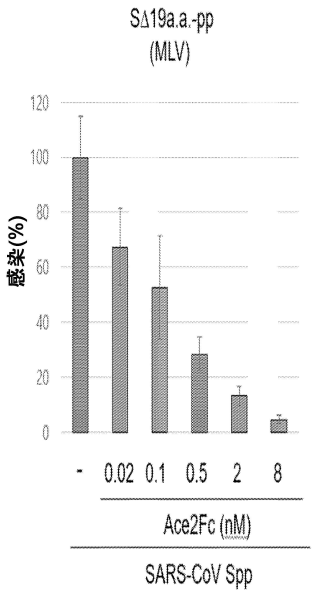


6% 還元SDS-PAGE、
抗ヒトIgG Fc

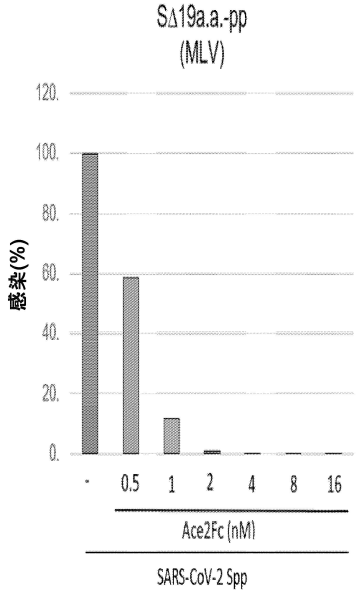
【図１６Ｂ】



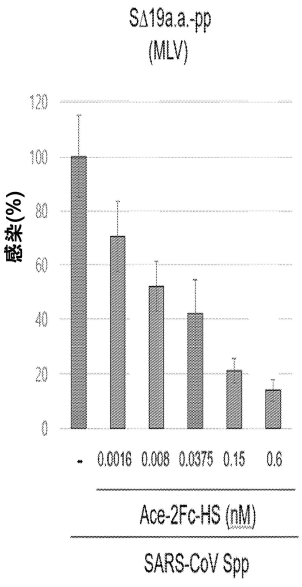
【図１７Ａ】



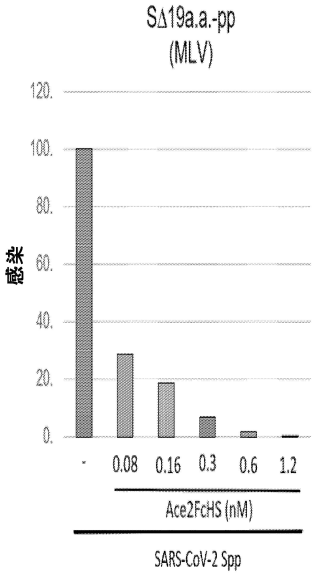
【図１７Ｂ】



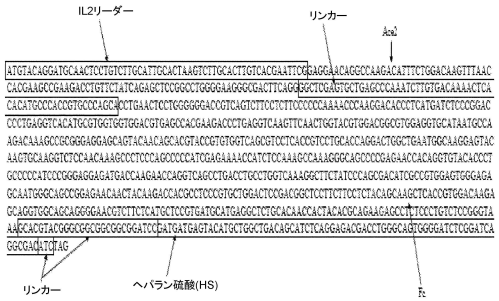
【図１８Ａ】



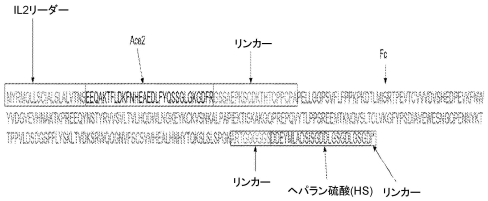
【図１８Ｂ】



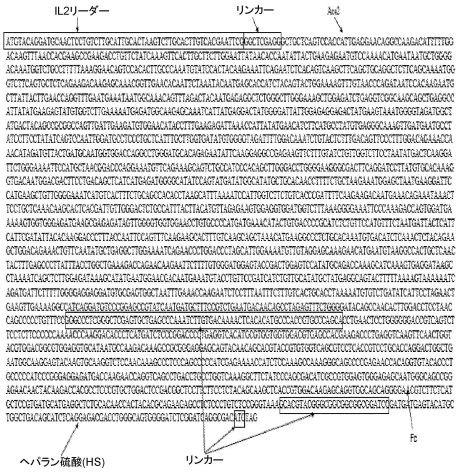
【図１９Ａ】



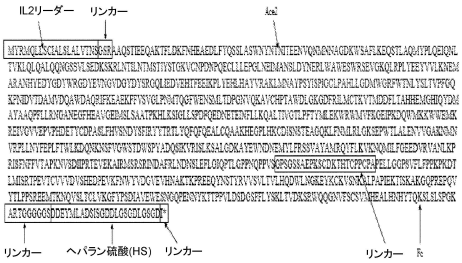
【図１９Ｂ】



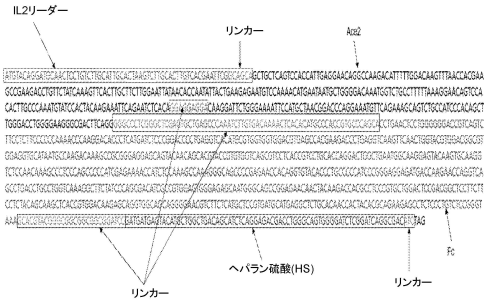
【図２０Ａ】



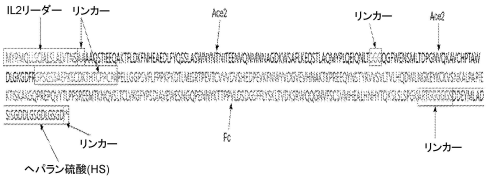
【図２０Ｂ】



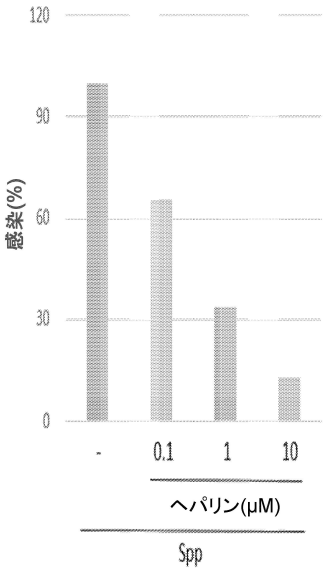
【図２１Ａ】



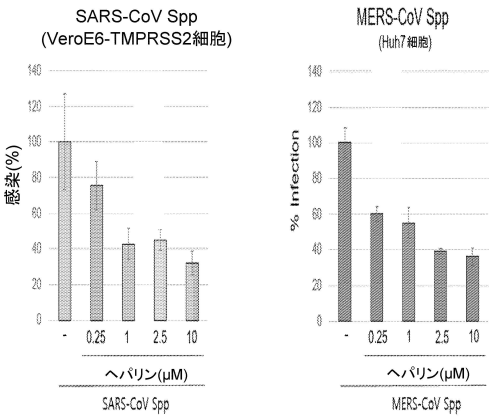
【図２１Ｂ】



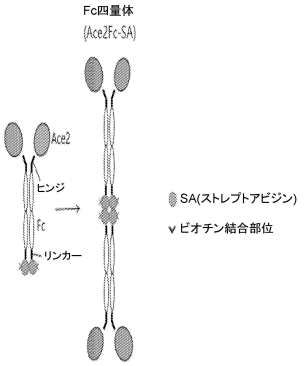
【図２２】



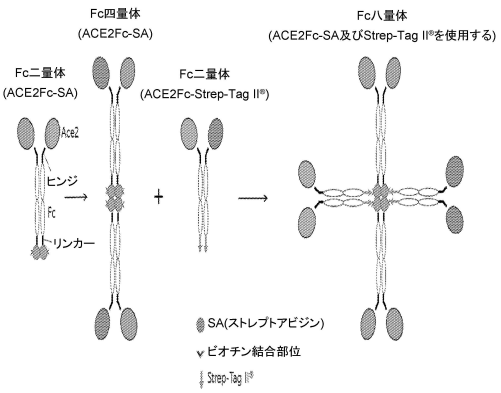
【図２３】



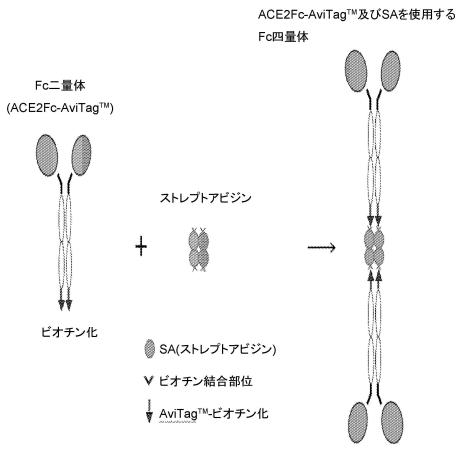
【図２４】



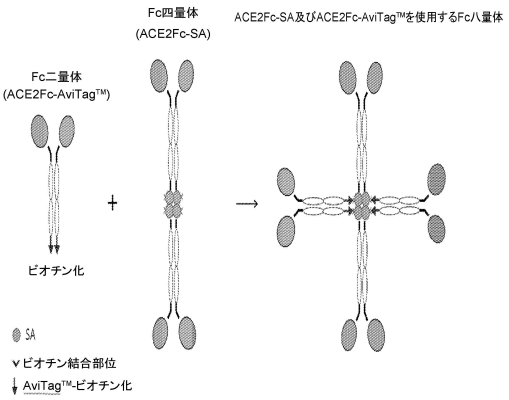
【図２５】



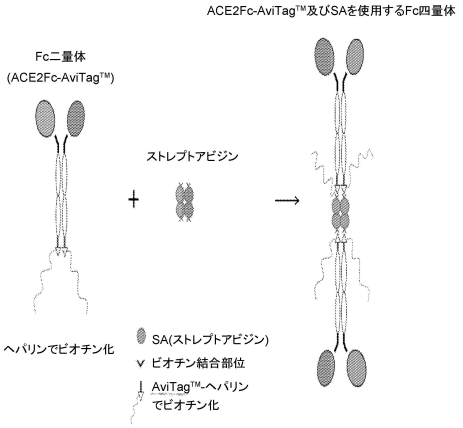
【図２６】



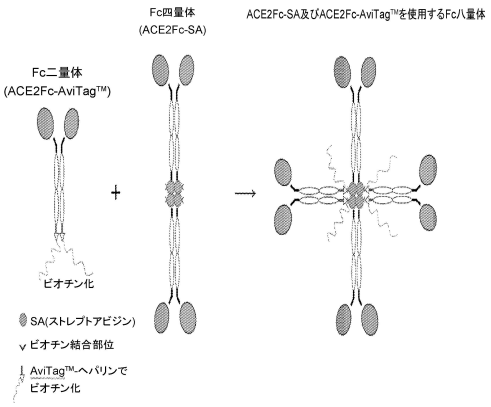
【図２７】



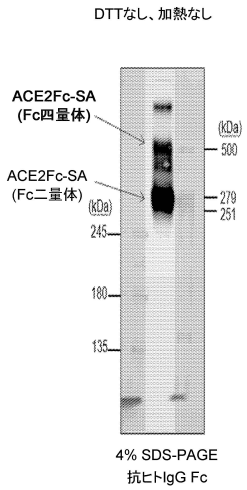
【図２８】



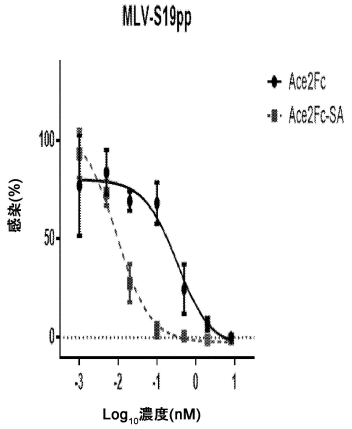
【図２９】



【図３０Ａ】



【図３０Ｂ】



【図３１Ａ】

ACE2-Fc-SA、ヌクレオチド配列(3369bp)、IL2リーダー(大文字 下線付き)、リンカー(小文字、下線付き、太字)、ACE2(大文字の通常のテキスト)、*Fc*(大文字、*イタリック体*)、ストレプトアビジン(SA、小文字、*イタリック体*)

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACGAATTCGgggtcgagtGCTGCTCAGTCCACCATTGAGGAACAGGCCAAGCAGATTTTT
GGACAAGTTTAACCAGGAAGCCGAAGACCTGTTCTATCAAAGTTCACTTGCTTCTTTGGAATATAACACCAATATTACTGAAGAGAATGTCCAAAACATGAATAATGCT
GGGGACAAATGGTCTGCCTTTTAAAGGAACAGTCCACACTTGCCCAAATGTATCCACTACAGAAATTCAGAATCTCACAGTCAAGCTTCAGCTGCAGGCTCTTCAGCAA
CAAAATGGGTCTTCAGTGCTCTCAGAAGACAAGAGCAAACGGTTGAACACAATTCTAAATACAATGAGCACCATCTACAGTACTGGAAAAGTTTGTAACCCAGATAA
CCACAAGAATGCTTATTACTTGAACCAGGTTTGAATGAAATAATGGCAAACAGTTTAGACTACAATGAGAGGCTCTGGGCTTGGGAAAGCTGGAGATCTGAGGTCGGC
AAGCAGCTGAGGCCATTATATGAAGATGTGGTCTTGAAAAATGAGATGGCAAGAGCAAATCATTATGAGGACTATGGGGATTATTGGAGAGGAGACTATGAAGTA
AATGGGGTAGATGGCTATGACTACGCCGCGGCCAGTTGATTGAAGATGTGGAACATACCTTTGAAGAGATTAAACCATTATATGAACATCTTCATGCCTATGTGAGGCC
AAAGTTGATGAATGCCTATCCTTCCTATATCAGTCCAATTGGATGCCTCCCTGCTCATTTGCTTGGTGATATGTGGGGTAGATTTTGGACAAATCTGTACTCTTTGACAGT
TCCCTTTGGACAGAAACCAAACATAGATGTTACTGATGCAATGGTGGACCAGGCCTGGGATGCACAGAGATATTCAAGGAGCCGAGAAGTTCTTTGTATCTGTTGG
TCTTCCTATATAGACTCAAGGATTCTGCGGAAAATCCATGCTAAGCGACCCAGGAAATGTTCAGAAAGCAGTGTCCATCCACAGCTTGGGACCTGCGGGAAGGGCCA
CTTCAGGATCCTTATGTGCACAAAGGTGACAATGGACGACTTCCTGACAGCTCCATCATGAGATGGGGCATATCCAGTATGATGGCATATGCTGCACAACCTTTTCTGC
TAAGAAATGGAGCTAATGAAGGATTCCATGAAGCTGTTGGGGAAATCATGTCACTTTCTGCAGCCACACCTAAGCATTTAAAATCCATTGGTCTTCTGTCACCCGATTTT
CAAGAAGACAATGAAACAGAAATAAACTTCCTGCTCAAACAAGCACTCACGATTGTTGGGACTCTGCCATTTACTTACATGTTACAGAAGTGGAGGTGGATGGTCTTT
AAAGGGGAAATTCCCAAAGACCAGTGGATGAAAAAGTGGTGGGAGATGAAGCGAGATAGTTGGGGTGGTGGAACCTGTGCCCATGATGAAACATACTGTGACC
CCGCATCTCTGTTCCAGTTTCTAATGATACTCATTCATTCGATATACACAAGGACCCTTTACCAATTCAGTTTCAAGAACGCACTTTATCAAGCAGCTAAACATGAA
GGCCCTCTGCACAAATGTGACATCTCAAACTCTACACGAAGCTGGACAGAAATCTGTTCATATGCTGAGGTTGGAAATCAGAACCCTGGACCTAGCATTGGAAAAT
GTTGTAGGAGCAAGAACATGAATGTAAGGCCACTGCTCAACTACTTTGAGCCCTTATTTACCTGGCTGAAAGACCAGAACAAGAATCTTTTGTGGGATGGAGTACC
GACTGGAGTCCATATGCAGACCAAGCATCAAAGTGAGGATAAGCCTAAAATCAGCTCTTGGAGATAAAGCATATGAATGGAACGACAATGAAATGTACCTGATTCCGA
TCATCTGTTGCATATGCTATGAGGCAGTACTTTTAAAAGTAAAAATCAGATGATTCTTTTTGGGGAGGAGGATGTGCGAGTTGGCTAATTTGAAACCAAGAATCTCCTT
TAATTTCTTTGTCACTGCACCTAAAAATGTGCTGATATCATTCCTAGAACTGAAGTTGAAAAGGCCATCAGGATGTCCCGGAGCCGTATCAATGATGCTTTCCGTCTGA
ATGACAACAGCCTAGAGTTTCTGGGGATACAGCCAACACTTGGACCTCCTAACCAGCCCCCTGTTTCCGgggtcgagtggtgatgatggcaaaatctgtgtgacaaaactcacac
atgcccaccgtgcccagcaCCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGG
TGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG
TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAG
CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGAC
AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAgcagtacagcggcg
gcggcgggcggtggcgaaggcggtggcgctctatcagcgcgcagtgaacgccaggaccaggtctacctcctggccagcagcaagctgacgtccgtgtcctgcacgtggttcacgg
catttccgaagccacagcgaaaatgcgatggcgctgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcg
agcctggttttaccacgcgaggtgcacttacttagcggcacctacgaggcgatcgcgctgcacctgccgcgtcgcgaggatgaagaaaccatctgcgtgaacgagtgcaccgatgt TAG

【図３１Ｂ】

ACE2-Fc-SAアミノ酸配列、IL2リーダー(大文字 下線付き)、リンカー(小文字、下線付き、太字)、ACE2(大文字の通常のテキスト)、Fc(大文字、イタリック体)、ストレプトアビジン(SA、小文字、*イタリック体*)。

MYRMQLLSCIALSLALVTNSgsrAAQSTIEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQSSLASWNYNTNITEENVQNMNNAGDK
WSAFLKEQSTLAQMYPLQEIQNLTVKLQLQALQQNGSSVLSEDKSKRLNTILNTMSTIYSTGKVCNPDNPQECLLL
EPGLNEIMANSLDYNERLWAWESWRSEVGKQLRPLYEEYVVLKNEMARANHYEDYGDYWRGDYEVNGVDGYD
YSRGQLIEDVEHTFEEIKPLYEHLHAYVRAKLMNAYPSYISPIGCLPAHLLGDMWGRFWTNLYSLTVPFGQKPNIDV
TDAMVDQAWDAQRIFKEAEKFFVSVGLPNMTQGFWENSMLTDPGNVQKAVCHPTAWDLGKGDFRILMCTKVTM
DDFLTAHHEMGHIQYDMAYAAQPFLLRNGANEGFHEAVGEIMSLSAATPKHLKSIGLLSPDFQEDNETEINFLLKQA
LTIVGTLPFTYMLEKWRWMVFKGEIPKDQWMKKWWEMKREIVGVVEPVPHDETYCDPASLFHVSNDYSFIRYYTR
TLYQFQFQEALCQAAKHEGPLHKCDISNSTEAGQKLFNMLRLGKSEPWTLALENVVGAKNMNVRPLLNYFEPLFT
WLKDQNKNSFVGWSTDWSPYADQSIKVRISLKSALGDKAYEWNDNEMYLFRSSVAYAMRQYFLKVKNQMILFGE
EDVRVANLKPRISFNFFVTAPKNVSDIIPRTEVEKAIRMSRSRINDAFRLNDNSLEFLGIQPTLGPPNQPPVSgpsgss
aepkscdkthtcppcpaPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGKartgggggseagitgtwyrqlgstfivtagadgaltglyesavgnaesryvltgrydsapatdgsgtalgwtvawknnyrnahsattwsgqyvggae
arintqwiltsgtteanawkstfvghdtffkvkpsaas[4]

【図３２Ａ】

ACE2Fc-Avitag、ヌクレオチド配列(3036bp)、IL2リーダー(大文字 下線付き)、リンカー(小文字、下線付き、太字)、ACE2(大文字の通常のテキスト)、Fc(大文字、*イタリック体*)、*AviTag*™ (小文字、*イタリック体*)。

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACGAATTCGgggtcgagtGCTGCTCAGTCCACCATTGAGGAACAGGCCAAGCAGATTTTG
GACAAGTTTAACCAGGAAGCCGAAGACCTGTTCTATCAAAGTTCACTTGCTTCTTTGGAATATAACACCAATATTACTGAAGAGAATGTCCAAAACATGAATAATGCTGG
GGACAAATGGTCTGCCTTTTAAAGGAACAGTCCACACTTGCCCAAATGTATCCACTACAGAAATTCAGAATCTCACAGTCAAGCTTCAGCTGCAGGCTCTTCAGCAA
AATGGGTCTTCAGTGCTCTCAGAAGACAAGAGCAAACGGTTGAACACAATTCTAAATACAATGAGCACCATCTACAGTACTGGAAAAGTTTGTAACCCAGATAACCAC
AAGAATGCTTATTACTTGAACCAGGTTTGAATGAAATAATGGCAAACAGTTTAGACTACAATGAGAGGCTCTGGGCTTGGGAAAGCTGGAGATCTGAGGTCGGCAAGC
AGCTGAGGCCATTATATGAAGATGTGGTCTTGAAAAATGAGATGGCAAGAGCAAATCATTATGAGGACTATGGGGATTATTGGAGAGGAGACTATGAAGTAAATGG
GGTAGATGGCTATGACTACGCCGCGGCCAGTTGATTGAAGATGTGGAACATACCTTTGAAGAGATTAAACCATTATATGAACATCTTCATGCCTATGTGAGGCCAAAGT
TGATGAATGCCTATCCTTCCTATATCAGTCCAATTGGATGCCTCCCTGCTCATTTGCTTGGTGATATGTGGGGTAGATTTTGGACAAATCTGTACTCTTTGACAGTTCCCTT
TGGACAGAAACCAAACATAGATGTTACTGATGCAATGGTGGACCAGGCCTGGGATGCACAGAGATATTCAAGGAGCCGAGAAGTTCTTTGTATCTGTTGGTCCTTCCT
AATATAGACTCAAGGATTCTGCGGAAAATTCCATGCTAAGCGACCCAGGAAATGTTCAGAAAGCAGTGTCCATCCACAGCTTGGGACCTGCGGGAAGGGCCACTTCAGG
ATCCTTATGTGCACAAAGGTGACAATGGACGACTTCCTGACAGCTCATCATGAGATGGGGCATATCCAGTATGATGGCATATGCTGCACAACCTTTTCTGCTAAGAAAT
GGAGCTAATGAAGGATTCCATGAAGCTGTTGGGGAAATCATGTCACTTTCTGCAGCCACACCTAAGCATTTAAAATCCATTGGTCTTCTGTCACCCGATTTTCAAGAAGA
CAATGAAACAGAAATAAACTTCCTGCTCAAACAAGCACTCACGATTGTTGGGACTCTGCCATTTACTTACATGTTACAGAAGTGGAGGTGGATGGTCTTTAAAGGGGAA
ATTCCCAAAGACCAGTGGATGAAAAAGTGGTGGGAGATGAAGCGAGATAGTTGGGGTGGTGGAACCTGTGCCCATGATGAAACATACTGTGACCCCGCATCTCTG
TTCCAGTTTCTAATGATACTCATTCATTCGATATACACAAGGACCCTTTACCAATTCAGTTTCAAGAACGCACTTTATCAAGCAGCTAAACATGAAGGCCCTCTGCACAA
AGTTGTGGGGATACAGCCAACAACTTGGACCTCCTAACCAGCCCCCTGTTTCCgggccgcgcgcgtgctgacgaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcaCCTGAA
CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA
CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA
CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG
AGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAgcagtacagcggcggcgggcgcggtggcgaaggcggtggcgctctatcagcgcgcagtgaacgccaggaccaggtctacctcctggccagcagcaagctgacgtccgtgtcctgcacgtggttcacgg
catttccgaagccacagcgaaaatgcgatggcgctgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcg
agcctggttttaccacgcgaggtgcacttacttagcggcacctacgaggcgatcgcgctgcacctgccgcgtcgcgaggatgaagaaaccatctgcgtgaacgagtgcaccgatgt TAG

【図３２Ｂ】

ACE2Fc-Avitagアミノ酸配列:IL2リーダー(大文字 下線付き)、リンカー(小文字、下線付き、太字)、ACE2(大文字の通常のテキスト)、Fc(大文字、イタリック体)、AviTag™ 小文字、イタリック体)。

MYRMQLLSCIALSLALVTNSgsrAAQSTIEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQSSLASWNYNTNITEENVQNMNNAGDKW
SAFLKEQSTLAQMYPLQEIQNLTVKLQLQALQQNGSSVLSEDKSKRLNTILNTMSTIYSTGKVCNPDNPQECLLLEP
GLNEIMANSLDYNERLWAWESWRSEVGKQLRPLYEEYVVLKNEMARANHYEDYGDYWRGDYEVNGVDGYDYSR
GQLIEDVEHTFEEIKPLYEHLHAYVRAKLMNAYPSYISPIGCLPAHLLGDMWGRFWTNLYSLTVPFGQKPNIDVTDAM
VDQAWDAQRIFKEAEKFFVSVGLPNMTQGFWENSMLTDPGNVQKAVCHPTAWDLGKGDFRILMCTKVTMDDFLTA
HHEMGHIQYDMAYAAQPFLLRNGANEGFHEAVGEIMSLSAATPKHLKSIGLLSPDFQEDNETEINFLLKQALTIVGTL
PFTYMLEKWRWMVFKGEIPKDQWMKKWWEMKREIVGVVEPVPHDETYCDPASLFHVSNDYSFIRYYTRTLYQFQF
QEALCQAAKHEGPLHKCDISNSTEAGQKLFNMLRLGKSEPWTLALENVVGAKNMNVRPLLNYFEPLFTWLKDQNK
NSFVGWSTDWSPYADQSIKVRISLKSALGDKAYEWNDNEMYLFRSSVAYAMRQYFLKVKNQMILFGEEDVRVANLK
PRISFNFFVTAPKNVSDIIPRTEVEKAIRMSRSRINDAFRLNDNSLEFLGIQPTLGPPNQPPVSgpsgssaepkscdkthtc
ppcpa*PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKartgggggg
s*glndifeaqkiewhe*^

【図３３Ａ】

ACE2-Fc-Strep-Tag II®ヌクレオチド配列(2994bp)、IL2リーダー(大文字 下線付き)、リンカー(小文字、下線付き、太字)、ACE2(大文字の通常のテキスト)、Fc(大文字、イタリック体)、Strep-Tag II® 小文字、イタリック体)。

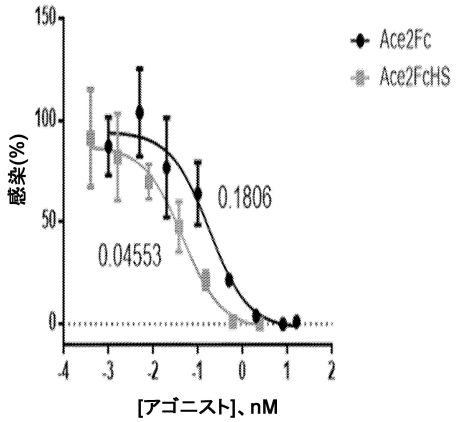


【図３３Ｂ】

ACE2-Fc-Strep-Tag II®アミノ酸配列 IL2リーダー(大文字 下線付き)、リンカー(小文字、下線付き、太字)、ACE2(大文字の通常のテキスト)、Fc(大文字、イタリック体)、Strep-Tag II® 小文字、イタリック体)。

MYRMQLLSCIALSLALVTNSgsrAAQSTIEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQSSLASWNYNTNITEENVQNMNNAGDKW
SAFLKEQSTLAQMYPLQEIQNLTVKLQLQALQQNGSSVLSEDKSKRLNTILNTMSTIYSTGKVCNPDNPQECLLLEPG
LNEIMANSLDYNERLWAWESWRSEVGKQLRPLYEEYVVLKNEMARANHYEDYGDYWRGDYEVNGVDGYDYSRG
QLIEDVEHTFEEIKPLYEHLHAYVRAKLMNAYPSYISPIGCLPAHLLGDMWGRFWTNLYSLTVPFGQKPNIDVTDAMV
DQAWDAQRIFKEAEKFFVSVGLPNMTQGFWENSMLTDPGNVQKAVCHPTAWDLGKGDFRILMCTKVTMDDFLTAH
HEMGHIQYDMAYAAQPFLLRNGANEGFHEAVGEIMSLSAATPKHLKSIGLLSPDFQEDNETEINFLLKQALTIVGTLPF
TYMLEKWRWMVFKGEIPKDQWMKKWWEMKREIVGVVEPVPHDETYCDPASLFHVSNDYSFIRYYTRTLYQFQFQE
ALCQAAKHEGPLHKCDISNSTEAGQKLFNMLRLGKSEPWTLALENVVGAKNMNVRPLLNYFEPLFTWLKDQNKNSF
VGWSTDWSPYADQSIKVRISLKSALGDKAYEWNDNEMYLFRSSVAYAMRQYFLKVKNQMILFGEEDVRVANLKPRIS
FNFFVTAPKNVSDIIPRTEVEKAIRMSRSRINDAFRLNDNSLEFLGIQPTLGPPNQPPVSgpsgssaepkscdkthtcppcp
a*PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKaawshpqfek^

【図３４】



【配列表】
20235111125000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/14818

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - C07K 14/705; C12N 15/79; C12N 15/86; A61P 31/12; C07K 14/18 (2021.01)
CPC - A61K 38/177; C07K 14/705; C12N 15/79; C12N 15/86; A61P 31/12; C07K 14/1833; C07K 14/165

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)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LANG et al. Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans. PLoS One. 22 August 2011, Vol 6, No 8, Pages e23710 1-11. Especially abstract, pg 1 col 1 para 2 continued to pg 1 col 2 para 1, pg 8 col 2 para 2.	1-12, (46-51)/(1-12)
Y	LIU et al. Novel ACE2-Fc chimeric fusion provides long-lasting hypertension control and organ protection in mouse models of systemic renin angiotensin system activation. Kidney Int. July 2018, Vol 94, No 1, Pages 114-125. Especially abstract.	1-12, (46-51)/(1-12)
Y	US 2004/0063619 A1 (CARSON et al.) 1 April 2004 (01.04.2004) para [0013], [0020], [0022], SEQ ID NO: 1	1-12, (46-51)/(1-12)
Y	DREUX et al. Receptor complementation and mutagenesis reveal SR-BI as an essential HCV entry factor and functionally imply its intra- and extra-cellular domains. PLoS Pathog. February 2009, Vol 5, No 2, Pages e1000310 1-17. Especially abstract.	9-12, (46-51)/(9-12)
Y	US 6,511,832 B1 (GAURINO et al.) 28 January 2003 (28.01.2003) col 16 ln 10-12, claims 1-2.	46/(1-12)
Y	US 2002/0141974 A1 (JOLLY et al.) 3 October 2002 (03.10.2002) para [0020], claim 22.	(47-51)/(1-12)

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

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 May 2021	JUL 09 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Lee Young Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/14818

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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/14818

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.: 76-79, 84-87
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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:
------Go to Extra Sheet for continuation------

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 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.:
Claims 1-12, (46-51)(in part), limited to virus family flaviviridae, flaviviridae virus HCV, viral receptor CD81

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/14818

Continuation of Box III: Observations where Unity of Invention is lacking.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+: Claims 1-37, 46-51, drawn to a recombinant polypeptide comprising (a) an immunoglobulin Fc fragment (Ig Fc), a sulfated polysaccharide and (b) at least one viral receptor.
The recombinant polypeptide will be searched to the extent that the viral receptor is for the first named viral family, Flaviviridae (Claim 8), and its first named species, HCV (claim 10), and the viral receptor is CD81 (claim 12). It is believed that claims 1-12, (46-51)(in part) read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass Flaviviridae, HCV and CD81. Additional virus families, specific species of virus and viral receptors will be searched upon payment of additional fees. Applicant must specify the claims that encompass any additional elected virus families, specific species of virus and viral receptors. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be: Flaviviridae, Dengue virus, viral receptor AXL (claims 1-10, 13, 14, (46-51)(in part)).

Group II: Claims 38-45, 61-68, 94, drawn to a method of preventing or treating a viral infection.

Group III+: Claims 52-60, drawn to a recombinant polypeptide of defined sequence for treating SARS-CoV2 infection.
Group III+ will be searched upon payment of additional fee(s). The composition may be searched, for example, to the extent that the recombinant polypeptide for treating SARS-CoV-2 infection comprising an amino acid sequence having at least 95% sequence identity to SEQ ID NO: 37. It is believed that claims 52-60 read on this exemplary invention. Additional amino acid sequences will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must indicate, if applicable, which claims read on this named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the '+' group(s) will result in only the first named invention to be searched/examined. An exemplary election would be an amino acid sequence having at least 95% sequence identity to SEQ ID NO: 45 (claims 52-60).

Group IV+: Claims 69-75, 88-93, 95-96, drawn to a recombinant polypeptide comprising (a) an immunoglobulin Fc fragment (Ig Fc), (b) a first viral receptor and (c) a second viral receptor.
Group IV+ will be searched upon payment of additional fee(s). The composition may be searched, for example, to the extent that the first viral receptor is ACE2 and the second viral receptor is CD147, for an additional fee and election as such. It is believed that claims 69-72, 75(in part) read on this exemplary invention. Additional first and second viral receptors will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must indicate, if applicable, which claims read on this named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the '+' group(s) will result in only the first named invention to be searched/examined. An exemplary election would be the first viral receptor Tyro-3 and second viral receptor AXL (claims 88-93, 95-96).

Group V: Claims 80-83, drawn to a recombinant polypeptide comprising an (a) Ig Fc, (b) a viral receptor and (c) a streptavidin.

The inventions listed as Groups I+, II, III+, IV+, V do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Technical Features:

Group I+ has the special technical feature of a recombinant polypeptide comprising a sulfated polysaccharide, not required by Groups II, III+, IV+, V.

Group II has the special technical feature of a method of administering a pharmaceutical composition to prevent or treat a viral infection, not required by Groups I+, III+, IV+, V.

Group III+ has the special technical feature of a recombinant polypeptide for treating SARS-CoV2 infection comprising a specific sequence, not required by Groups I+, II, IV+, V.

Group IV+ has the special technical feature of a recombinant polypeptide comprising a second viral receptor, not required by Groups I+, II, III+, V.

Group V has the special technical feature of a recombinant polypeptide comprising a streptavidin. not required by Groups I+, II, III+, IV+.

-----continued on next sheet-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/14818

---continued from previous sheet----

Among the inventions listed as Groups I+ are the specific families of virus and virus species and viral receptor. Each invention requires a specific viral family and a species and viral receptor, not required by any other inventions.

Among the inventions listed in Group IV+ are the specific first and second viral receptors cited therein. Each invention requires a specific first viral receptor and a specific second viral receptor therein, not required by any other inventions.

No technical features are shared between the polypeptide sequences of Group III+, and, accordingly, this group lacks unity a priori.

Additionally, even if Groups I+, II, III+, IV+, V were considered to share the technical features of:

1. Group I+ inventions ultimately depend from claim 1.

2. Group II claims ultimately depend from Group I+ claim 1 and Group III+ claim 56.

3. Group III+ inventions share the technical feature of a recombinant polypeptide for treating SARS-CoV2 infection.

4. Group IV+ inventions share the technical features of claim 69 and 88.

5. Groups I+, IV+ and V share the technical feature of a recombinant polypeptide comprising an Fc fragment and at least one viral receptor.

However, said shared technical features do not represent a contribution over the prior art, and are disclosed by the publication titled "Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans" by Lang et al. (hereinafter "Lang")(published in PLoS One. 22 August 2011 Vol 6 No 8 Pages e23710 1-11], the publication titled "Novel ACE2-Fc chimeric fusion provides long-lasting hypertension control and organ protection in mouse models of systemic renin angiotensin system activation" by Liu et al. (hereinafter "Liu") [published in Kidney Int. July 2018 Vol 94 No 1 Pages 114-125], US 2004/0063619 A1 to Carson et al. (hereinafter "Carson") and US 2011/0159001 A1 (Lanzavecchia).

As to shared technical feature #1 (claim 1) and #2 (claim 1), Lang discloses that SARS-Cov-1 uses both the ACE2 receptor and a sulfated polysaccharide site, heparan sulfate proteoglycan (HSPG) for entry into cells (abstract; "our results suggest that, in addition to ACE2, HSPGs are essential cell-surface molecules involved in SARS-CoV cell entry"; pg 1 col 1 para 2 continued to pg 1 col 2 para 1; "Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), a metallopeptidase, has been identified as one of the functional receptors of SARS-CoV and is responsible for binding to spike protein and mediating SARS-CoV entry into host cells"; pg 8 col 2 para 2; "Our results suggest that the efficient entry of SARS-CoV into host cells requires the involvement of HSPGs in concert with ACE2. Increased infectivity of SARS pseudovirus was associated with binding to HS. Elimination of cell-surface HS by heparinase or the addition of exogenous heparin reduced the ability of the virus to bind to the cell surface and increased cellular resistance to infection").

Lang does not disclose the specific limitations of claim 1, A recombinant polypeptide comprising:
a) an immunoglobulin Fc fragment and a sulfated polysaccharide; and b) at least one viral receptor or fragment thereof.

However, Lui discloses a recombinant polypeptide comprising an immunoglobulin Fc fragment fused to ACE2 (abstract; "we generated a chimeric fusion of rACE2 and the immunoglobulin fragment Fc segment"). Liu does not disclose that the recombinant Fc polypeptide further comprises a sulfated polysaccharide [e.g., HSPG].

However, Carson discloses (para [0013]; "The proteoglycan of the invention is derived from domain I of perlecan"; para [0020]; Preferred embodiments of the invention involve a proteoglycan of preferably of ... about 8 to 10 kDa in molecular weight, comprising the core protein of domain I of a mammalian perlecan to which at least one glycosaminoglycan chain is attached. More preferably, the proteoglycan is substituted with two or three glycosaminoglycan chains"; para [0022]; "Further preferred embodiments involve a proteoglycan comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1").

Based on the disclosure of Lang that both ACE2 and HSPG are important sites for SARS-Cov-1 entry into a cell, it would have been obvious for one of ordinary skill in the art to use well-known molecular biology skills to construct a Fc-ACE2-HSPG recombinant construct, based on the resources disclosed by both Liu and Carson, in order to construct an effective inhibitor of SARS-CoV-1 entry into a cell.

As to shared technical feature #4 (claim 69: 69. A recombinant polypeptide comprising:
a) an Ig Fc fragment; b) a first viral receptor, wherein the receptor is ACE2 or fragment thereof;
and c) a second viral receptor.) is comprised by Group I+ claim 1, because HSPG is a viral receptor, as disclose by Lang, and ACE2 is a viral receptor as disclosed by Lang.

Furthermore, as the additional shared feature #4 (claim 88: 88. A recombinant polypeptide comprising:
a) an Ig Fc fragment; b) a first viral receptor, and c) a second viral receptor, because HSPG is a viral receptor, as disclose by Lang, ACE2 is a viral receptor as disclosed by Lang, and a fusion between IgFc and ACE2 is disclosed by Liu.

-----continued on next sheet----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/14818

----continued from previous sheet------

As to shared technical feature #5, a recombinant polypeptide comprising an Fc fragment and at least one viral receptor, the shared technical feature is comprised by Group I+ claim 1, as already disclosed.

As to shared technical feature #3, a recombinant polypeptide for treating SARS-CoV-2 infection, Lanzavecchia discloses a monoclonal antibody directed to angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), well-known in the art as the receptor for SARS-Cov-2, SARS-Cov-1, and MERS, (para [0005]; "Several studies have shown that the SARS-CoV spike glycoprotein binds to the receptor Angiotensin 1 converting enzyme 2 (ACE-2), mediating viral entry (24, 54). A total of 18 amino acids in ACE2 have been identified that are in contact with 14 residues in the receptor-binding domain (RBD) of SARS-CoV (23). Two of these amino acids, 479 and 487, have been shown to be critical in binding of the RBD to human ACE2 and linked to cross species transmission into humans during the epidemic"; claim 1: "1. A monoclonal antibody that cross neutralizes at least three strains of SARS-CoV").

As to shared technical feature #2, Group II claim 60 depends from Group III+ claim 56, the claim is defeated by Lanzavecchia, as disclosed in shared technical feature #3, above.

As the shared technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered shared special technical features that would otherwise unify the groups. The inventions lack unity with one another.

Therefore, Groups I+, II, III+, IV+, V lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued): Claims 76-79, 84-87 are multiple dependent claims and are not drafted according to the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N	*15/50 (2006.01)*	C12N	15/50		
C07K	*14/02 (2006.01)*	C07K	14/02		
C07K	*14/165 (2006.01)*	C07K	14/165		
C07K	*14/18 (2006.01)*	C07K	14/18		
C12N	*15/861 (2006.01)*	C12N	15/861	Z	
C12N	*15/863 (2006.01)*	C12N	15/863	Z	
C12N	*15/864 (2006.01)*	C12N	15/864	１００Ｚ	
C12N	*15/62 (2006.01)*	C12N	15/62	Z	
A61P	*31/12 (2006.01)*	A61P	31/12		
A61P	*31/14 (2006.01)*	A61P	31/14		
A61K	*35/761 (2015.01)*	A61K	35/761		
A61K	*35/76 (2015.01)*	A61K	35/76		
A61K	*48/00 (2006.01)*	A61K	48/00		
A61K	*39/215 (2006.01)*	A61K	39/215		
A61K	*39/12 (2006.01)*	A61K	39/12		
A61K	*39/29 (2006.01)*	A61K	39/29		
A61P	*31/20 (2006.01)*	A61P	31/20		

,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,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

４６４９ ラファイエット デル マー ドライブ ３２３８

(72)発明者 ラター，ビル

アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９４１５８ サンフランシスコ オーウェンズ ストリート １７００ ナンバー５１５ シナージェニクス エルエルシー内

(72)発明者 セオ，ミ－ヨン

大韓民国，ソウル ０８８３３ ソウル クァナク－グ クァナク－ロ ４２ ５－ギル １０１－１１０３

Ｆターム（参考） 4C084 AA02 AA03 AA13 MA57 MA66 NA14 ZB331 ZB332
4C085 AA03 BA71 BA89 BA92 BB12 BB24 EE01 GG02 GG10
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 MA57 MA66 NA14 ZB33
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA41 CA01 CA02 DA50 EA29 FA74