

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391354** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.08.15

(22) Дата подачи заявки
2021.11.03

(51) Int. Cl. *A61K 39/215* (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
C07K 16/08 (2006.01)
C07K 16/10 (2006.01)

(54) **ДНК-КОДИРОВАННЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ И СПОСОБ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ВАКЦИНЫ ОТ КОРОНАВИРУСНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ 2019 (COVID-19)**

(31) **63/109,123**

(32) **2020.11.03**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/057859**

(87) **WO 2022/098728 2022.05.12**

(71) Заявитель:

**ДЗЕ УИСТАР ИНСТИТУТ ОФ
ЭНЭТОМИ ЭНД БАЙОЛОДЖИ (US)**

(72) Изобретатель:

**Калп Дэниел, Сюй Цзыян, Уэйнер
Дэвид (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В настоящем изобретении раскрыты наночастицы, содержащие один или более антигенов рецептор-связывающего домена (RBD) шиповидного белка коронавируса SARS 2 (SARS-CoV-2), и молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие их. Также в настоящем изобретении раскрыт способ лечения у пациента инфекции SARS-CoV-2 или лечения или предотвращения заболевания или расстройства, ассоциированного с ней, путем введения пациенту наночастиц или кодирующих молекул нуклеиновой кислоты.

A1

202391354

202391354

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578175EA/071

ДНК-КОДИРОВАННЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ И СПОСОБ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ВАКЦИНЫ ОТ КОРОНАВИРУСНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ 2019 (COVID-19)

Перекрестные ссылки на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании Временной заявки № 63/109,123, поданной 3 ноября 2020 г., которая включена в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

Уровень техники

Коронавирусы (CoV) - это семейство вирусов, распространенных во всем мире и вызывающих у людей целый ряд заболеваний от обычной простуды до тяжелого острого респираторного синдрома (SARS). Коронавирусы также могут вызывать ряд заболеваний у животных. Коронавирусы человека 229E, OC43, NL63 и HKU1 являются эндемичными для человеческой популяции.

COVID-19, ранее известный как пневмония или болезнь 2019-nCoV, быстро превратился в глобальный кризис общественного здравоохранения, присоединившись к тяжелому острому респираторному синдрому (SARS) и ближневосточному респираторному синдрому (MERS) в растущем числе заболеваний, связанных с коронавирусом, которые перешли с животных на людей. Известно по меньшей мере семь коронавирусов, которые заражают людей. В декабре 2019 года город Ухань в Китае стал эпицентром вспышки нового коронавируса SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 был выделен и секвенирован из эпителиальных клеток дыхательных путей человека инфицированных пациентов (Zhu et al., 2020 N Engl J Med, 382:727-733; Wu et al., 2020, Nature, 579:265-269). Симптомы заболевания могут варьироваться от легких гриппоподобных до тяжелых случаев с опасной для жизни пневмонией (Huang et al., 2020, Lancet, 395:497-506). Ситуация в мире динамично развивается, и 30 января 2020 года Всемирная организация здравоохранения объявила COVID-19 чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение (PHEIC), а 11 марта 2020 года - глобальной пандемией. По состоянию на 1 апреля 2020 г. инфицировано 932605 человек, умерло 46809 человек (gisaid.org/epiflu-applications/global-cases-covid-19). Инфекции распространились на несколько континентов. Передача от человека к человеку наблюдалась во многих странах, нехватка средств индивидуальной защиты и длительное время выживания коронавирусов на неодушевленных поверхностях (Hulkower et al., 2011, Am J Infect Control 39, 401-407), усугубили и без того деликатную ситуацию и повысили риск внутрибольничных инфекций. Параллельно необходимо проводить передовые исследования, чтобы продвигать методы защиты в попытке защитить миллиарды уязвимых людей во всем мире. В настоящее время для COVID-19 не существует лицензированной профилактической вакцины или специфической противовирусной терапии.

Соответственно, в данной области сохраняется потребность в разработке безопасной и эффективной вакцины для лечения инфекции SARS-CoV-2 или лечения или предотвращения заболевания или расстройства, связанного с инфекцией SARS-CoV-2, такой как COVID-19.

Сущность Изобретения

В одном варианте осуществления изобретение относится к иммуногенной композиции, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует пептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует по меньшей мере две из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8.

В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность содержит SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует по меньшей мере два пептида, где каждая из кодирующих последовательностей имеет по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере две из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно кодирует домен олигомеризации. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует пептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует пептид, содержащий SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере

примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17. или SEQ ID NO:19. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:19.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую фрагмент, содержащий по меньшей мере 60% полноразмерной аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67. В одном варианте

осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит фрагмент, содержащий по меньшей мере 60% полноразмерной нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит экспрессирующий вектор.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты встроена в вирусную частицу.

В одном варианте осуществления иммуногенная композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В одном варианте осуществления иммуногенная композиция дополнительно содержит адъювант.

В одном варианте осуществления изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей рецептор-связывающий домен шиповидного белка SARS-CoV-2 (RBD). В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует пептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует по меньшей мере две из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8.

В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность содержит SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность кодирует по меньшей мере два пептида, где каждая из кодирующих последовательностей содержит по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере две из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно кодирует домен олигомеризации. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует пептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует пептид, содержащий SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17. или SEQ ID NO:19. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:19.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую фрагмент, содержащий по меньшей мере 60% полноразмерной аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ

ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит фрагмент, содержащий по меньшей мере 60% полноразмерной нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67.

В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит экспрессирующий вектор.

В одном варианте осуществления изобретение относится к пептиду, содержащему аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления пептид содержит SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления изобретение относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления полипептид содержит по меньшей мере две из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8.

В одном варианте осуществления пептид дополнительно содержит домен олигомеризации. В одном варианте осуществления пептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO: 18 или SEQ ID NO:20. В одном варианте осуществления пептид содержит SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20.

В одном варианте осуществления изобретение относится к самособирающейся наночастице, содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ

ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность содержит SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность содержит фрагмент, содержащий по меньшей мере 60% полноразмерной аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против коронавируса SARS 2 (SARS-CoV-2) у пациента, включающему введение пациенту иммуногенной композиции, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка вируса SARS-CoV-2, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка вируса SARS-CoV-2 или пептид, содержащий рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка вируса SARS-CoV-2.

В одном варианте осуществления способ введения включает по меньшей мере одно из электропорации и инъекции.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу защиты пациента от инфекции SARS-CoV-2, способу, включающему введение пациенту иммуногенной композиции, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2, или пептид, содержащий рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2.

В одном варианте осуществления способ введения включает по меньшей мере одно из электропорации и инъекции.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения пациента против SARS-CoV-2, способу, включающему введение пациенту иммуногенной композиции, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2, или пептид, содержащий рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2 (RBD), где пациент, таким образом, устойчив к одному или нескольким

штаммам SARS-CoV-2.

В одном варианте осуществления способ введения включает по меньшей мере одно из электропорации и инъекции.

Краткое описание чертежей

на Фигуре 1 представлены данные, демонстрирующие, что RBD-димеры SARS-CoV-2 кажутся более стабильными структурно.

На Фигуре 2 показана конструкция наночастиц для формирования каркаса RBD-димеров для улучшения иммунной активности. Для каждой конструкции применяли однократную вакцинацию мышей BALB/c 2 мкг ДНК.

На Фигуре 3 представлены данные, демонстрирующие, что нановакцина D1 (запущенная ДНК) (RBD-48мер) вызывает быстрые ответы нейтрализующих антител через 7 дней после иммунизации.

На Фигура 4 представлен дизайн и тестирование дополнительных конструкций ДНК-наночастиц.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к иммуногенной композиции или вакцине, содержащей самособирающуюся наночастицу, содержащую один или более антигенов коронавируса SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 - это высокопатогенный вирус, появившийся в 2019 году. Антигеном SARS-CoV-2 может быть шиповидный белок SARS-CoV-2 или его фрагмент. В одном варианте осуществления антиген SARS-CoV-2 содержит рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного антигена SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления иммуногенная композиция содержит самособирающуюся наночастицу, содержащую димер RBD антигена шиповидного белка SARS-CoV-2.

В одном варианте осуществления изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей наночастицу, содержащую один или более антигенов коронавируса SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2). В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую рецептор-связывающий домен (RBD) антигена шиповидного белка SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую димер RBD антигена шиповидного белка SARS-CoV-2.

Вакцину можно использовать для лечения инфекции SARS-CoV-2 или для предотвращения или лечения заболевания или расстройства, ассоциированного с инфекцией SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления заболевание или расстройство, ассоциированное с инфекцией SARS-CoV-2, представляет собой COVID-19. Вакцина может вызывать как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ, нацеленный на антиген шиповидного белка SARS-CoV-2. Вакцина может индуцировать появление нейтрализующих антител и антител иммуноглобулина G (IgG), которые реактивны в отношении антигена шиповидного белка SARS-CoV-2. Вакцина также может вызывать ответы Т-клеток CD8⁺ и CD4⁺, которые реактивны в отношении антигена шиповидного белка SARS-CoV-2 и продуцируют гамма-интерферон (IFN- γ), фактор некроза опухоли

альфа (TNF- α) и интерлейкин-2 (IL-2).

Определения

Если иное не определено, все технические и научные термины, использованные в настоящем описании, имеют тот же смысл, который вкладывается в них обычным специалистом в данной области. В случае конфликта настоящий документ, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Предпочтительные способы и материалы описаны ниже, хотя способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным здесь, могут быть использованы на практике или при тестировании настоящего изобретения. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие источники, упомянутые в настоящем описании, включены ссылкой в полном объеме. Материалы, способы и примеры, раскрытые в настоящем описании, являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Термины «содержит», «включает», «имеющий», «имеет», «может», «содержит» и их варианты, при использовании в настоящем описании, представляют собой открытые переходные фразы, термины или слова, которые не исключают возможности дополнительных действий или структур. Формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если контекст явно не требует иного. Настоящее описание также рассматривает другие варианты осуществления, «содержащие», «состоящие из» и «по существу состоящие из» вариантов осуществления или элементов, представленных в настоящем описании, независимо от того, изложены они явно или нет.

«Адьювант», используемый в настоящем описании, означает любую молекулу, добавленную к вакцине, описанной в настоящем описании, для повышения иммуногенности антигена.

Термин «антитело», используемый в настоящем описании, означает антитело классов IgG, IgM, IgA, IgD или IgE или его фрагменты, фрагменты или производные, включая Fab, F(ab')₂, Fd, и одноцепочечные антитела, диантитела, биспецифические антитела, бифункциональные антитела и их производные. Антитело может представлять собой антитело, выделенное из образца сыворотки млекопитающего, поликлональное антитело, аффинно очищенное антитело или их смесь, которые обладают достаточной специфичностью связывания с желаемым эпитопом или полученной из него последовательностью.

«Кодирующая последовательность» или «кодирующая нуклеиновая кислота», используемые в настоящем описании, означают нуклеиновые кислоты (молекулы РНК или ДНК), которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую белок. Кодирующая последовательность может дополнительно включать сигналы инициации и терминации, функционально связанные с регуляторными элементами, включая промотор и сигнал полиаденилирования, способные направлять экспрессию в клетках индивидуума или млекопитающего, которому вводят нуклеиновую кислоту.

«Комплемент» или «комплементарный», используемые в настоящем описании, означают спаривание оснований Уотсона-Крика (например, А-Т/У и С-Г) или Хугстина

между нуклеотидами или аналогами нуклеотидов молекул нуклеиновых кислот.

«Консенсус» или «консенсусная последовательность», используемые в настоящем описании, могут означать синтетическую последовательность нуклеиновой кислоты или соответствующую полипептидную последовательность, сконструированную на основе анализа выравнивания нескольких подтипов конкретного антигена. Последовательность может быть использована для индукции широкого иммунитета против множества подтипов, серотипов или штаммов конкретного антигена. Синтетическими антигенами, такими как слитые белки, можно манипулировать для создания консенсусных последовательностей (или консенсусных антигенов).

«Электропорация», «электропермеабилитация» или «электрокинетическое усиление» («EP»), используемые здесь взаимозаменяемо, означают использование импульса трансмембранного электрического поля для индукции микроскопических путей (пор) в биомембране; их присутствие позволяет биомолекулам, таким как плазмиды, олигонуклеотиды, миРНК, лекарственные средства, ионы и вода, проходить с одной стороны клеточной мембраны на другую.

«Фрагмент», используемый в настоящем описании, означает последовательность нуклеиновой кислоты или ее часть, которая кодирует полипептид, способный вызывать иммунный ответ у млекопитающего. Фрагменты могут быть ДНК-фрагментами, выбранными по меньшей мере из одной из различных нуклеотидных последовательностей, которые кодируют белковые фрагменты, указанные ниже.

«Фрагмент» или «иммуногенный фрагмент» в отношении полипептидных последовательностей означает полипептид, способный вызывать иммунный ответ у млекопитающего, который перекрестно реактивен с полноразмерным антигеном штамма SARS-CoV-2 дикого типа. Фрагменты консенсусных белков могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% консенсусного белка. В некоторых вариантах осуществления фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 20 аминокислот или более, по меньшей мере 30 аминокислот или более, по меньшей мере 40 аминокислот или более, по меньшей мере 50 аминокислот или более, по меньшей мере 60 аминокислот или более, по меньшей мере 70 аминокислот и более, по меньшей мере 80 аминокислот и более, по меньшей мере 90 аминокислот и более, по меньшей мере 100 аминокислот и более, по меньшей мере 110 аминокислот и более, по меньшей мере 120 аминокислот и более, по меньшей мере 130 аминокислот и более, по меньшей мере 140 аминокислот и более, по меньшей мере 150 аминокислот и более, по меньшей мере 160 аминокислот и более, по меньшей мере 170 аминокислот и более, по меньшей мере 180 аминокислот и более, по меньшей мере 190 аминокислот или более, по меньшей мере 200 аминокислот или более, по меньшей мере 210 аминокислот или более, по меньшей мере 220 аминокислот или более, по меньшей мере 230 аминокислот или более или по меньшей мере 240 аминокислот или более консенсусного белка.

Используемый в настоящем описании термин «генетическая конструкция» относится к молекулам ДНК или РНК, которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую белок. Кодирующая последовательность включает сигналы инициации и терминации, функционально связанные с регуляторными элементами, включая промотор и сигнал полиаденилирования, способные направлять экспрессию в клетках индивидуума, которому вводят молекулу нуклеиновой кислоты. Используемый в настоящем описании термин «экспрессируемая форма» относится к генным конструкциям, которые содержат необходимые регуляторные элементы, функционально связанные с кодирующей последовательностью, кодирующей белок, так что при наличии в клетке индивидуума кодирующая последовательность будет экспрессироваться.

Термин «идентичный» или «идентичность», используемый в настоящем описании в контексте двух или более последовательностей нуклеиновых кислот или полипептидов, означает, что последовательности имеют определенный процент остатков, которые являются одинаковыми в указанной области. Процент можно рассчитать путем оптимального выравнивания двух последовательностей, сравнения двух последовательностей в указанной области, определения количества положений, в которых идентичный остаток встречается в обеих последовательностях, для получения количества совпадающих положений, деления количества совпадающих положений на общее количество положений в указанной области и умножение результата на 100, чтобы получить процент идентичности последовательности. В случаях, когда две последовательности имеют разную длину или выравнивание дает один или более смещенных концов, а указанная область сравнения включает только одну последовательность, остатки одной последовательности включают в знаменатель, но не в числитель расчета. При сравнении ДНК и РНК тимин (Т) и урацил (У) можно считать эквивалентными. Идентификацию можно выполнить вручную или с помощью компьютерного алгоритма последовательности, такого как BLAST или BLAST 2.0.

«Иммунный ответ» в данном контексте означает активацию иммунной системы хозяина, например, млекопитающего, в ответ на введение антигена. Иммунный ответ может быть в форме клеточного или гуморального ответа, или и то и другое.

«Нуклеиновая кислота», или «олигонуклеотид», или «полинуклеотид», используемые в настоящем описании, означают по меньшей мере два нуклеотида, ковалентно связанные друг с другом. Изображение одной цепи также определяет последовательность комплементарной цепи. Таким образом, нуклеиновая кислота также включает комплементарную цепь изображенной одиночной цепи. Многие варианты нуклеиновой кислоты можно использовать для той же цели, что и данную нуклеиновую кислоту. Таким образом, нуклеиновая кислота также включает по существу идентичные нуклеиновые кислоты и их комплементарные варианты. Одна цепь обеспечивает зонд, который может гибридизоваться с последовательностью-мишенью в жестких условиях гибридизации. Таким образом, нуклеиновая кислота также включает зонд, который

гибридируется в жестких условиях гибридизации.

Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными или двухцепочечными или могут содержать части как двухцепочечной, так и одноцепочечной последовательности. Нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК, как геномную, так и кДНК, РНК или гибридную, где нуклеиновая кислота может содержать комбинации дезоксирибо- и рибонуклеотидов и комбинации оснований, включая урацил, аденин, тимин, цитозин, гуанин, инозин, ксантин гипоксантин, изоцитозин и изогуанин. Нуклеиновые кислоты могут быть получены методами химического синтеза или рекомбинантными методами.

Используемый в настоящем описании термин «функционально связанный» означает, что экспрессия гена находится под контролем промотора, с которым он пространственно связан. Промотор может быть расположен 5' (выше) или 3' (ниже) относительно гена, находящегося под его контролем. Расстояние между промотором и геном может быть примерно таким же, как расстояние между этим промотором и геном, который он контролирует в гене, из которого происходит промотор. Как известно в данной области техники, изменение этого расстояния можно компенсировать без потери функции промотора.

«Пептид», «белок» или «полипептид», используемые в настоящем описании, могут означать связанную последовательность аминокислот и могут быть природными, синтетическими или модификацией или комбинацией природного и синтетического.

Используемый в настоящем описании термин «промотор» означает молекулу синтетического или природного происхождения, которая способна придавать, активировать или усиливать экспрессию нуклеиновой кислоты в клетке. Промотор может содержать одну или более специфических регуляторных последовательностей транскрипции для дополнительного усиления экспрессии и/или изменения их пространственной экспрессии и/или временной экспрессии. Промотор также может содержать дистальные энхансерные или репрессорные элементы, которые могут располагаться на расстоянии до нескольких тысяч пар оснований от стартового сайта транскрипции. Промотор может быть получен из источников, включая вирусы, бактерии, грибы, растения, насекомых и животных. Промотор может регулировать экспрессию генного компонента конститутивно или дифференцированно в зависимости от клетки, ткани или органа, в котором происходит экспрессия, или в отношении стадии развития, на которой происходит экспрессия, или в ответ на внешние стимулы, такие как физиологические стрессы, патогены, ионы металлов или индуцирующие агенты. Типичные примеры промоторов включают промотор бактериофага T7, промотор бактериофага T3, промотор SP6, промотор lac оператора, промотор tac, поздний промотор SV40, ранний промотор SV40, промотор RSV-LTR, промотор CMV IE, ранний промотор SV40 или поздний промотор SV40 и промотор CMV IE.

«Сигнальный пептид» и «лидерная последовательность» используются в настоящем описании взаимозаменяемо и относятся к аминокислотной последовательности, которая может быть связана на амино-конце белка SARS-CoV-2,

указанного в настоящем описании. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности обычно определяют локализацию белка. Используемые в настоящем описании сигнальные пептиды/лидерные последовательности предпочтительно облегчают секрецию белка из клетки, в которой он продуцируется. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности часто отщепляются от остатка белка, часто называемого зрелым белком, при секреции из клетки. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности связаны на N-конце белка.

«Объект» в данном контексте может означать млекопитающее, которое хочет или нуждается в иммунизации описанной в настоящем документе вакциной. Млекопитающим может быть человек, шимпанзе, собака, кошка, лошадь, корова, мышь или крыса.

«По существу идентичные» в данном контексте могут означать, что первая и вторая аминокислотные последовательности составляют по меньшей мере 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% в области из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 или более аминокислот. По существу идентичные также могут означать, что первая последовательность нуклеиновой кислоты и вторая последовательность нуклеиновой кислоты составляют по меньшей мере 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% в области из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 или более нуклеотидов.

Термин «лечение», используемый в настоящем описании, может означать защиту животного от заболевания посредством средств предотвращения, супрессии, подавления или полного устранения заболевания. Предотвращение заболевания включает введение вакцины по настоящему изобретению животному до начала заболевания. Супрессия заболевания включает введение вакцины по настоящему изобретению животному после индукции заболевания, но до его клинического проявления. Подавление заболевания включает введение вакцины по настоящему изобретению животному после клинического проявления заболевания.

Используемый в настоящем описании термин «вариант» по отношению к нуклеиновой кислоте означает (i) часть или фрагмент эталонной нуклеотидной последовательности; (ii) комплементарную последовательность эталонной нуклеотидной последовательности или ее части; (iii) нуклеиновую кислоту, по существу идентичную эталонной нуклеиновой кислоте или ее комплементарной последовательности; или (iv) нуклеиновую кислоту, которая гибридизуется в жестких условиях с эталонной нуклеиновой кислотой, комплементарной ей последовательностью или последовательностями, по существу идентичными им.

Вариант можно дополнительно определить как пептид или полипептид, который отличается аминокислотной последовательностью за счет вставки, делеции или консервативной замены аминокислот, но сохраняет по меньшей мере одну биологическую

активность. Репрезентативные примеры «биологической активности» включают способность связываться со специфическим антителом или стимулировать иммунный ответ. Вариант также может означать белок с аминокислотной последовательностью, которая по существу идентична эталонному белку с аминокислотной последовательностью, сохраняющей по меньшей мере одну биологическую активность. Консервативная замена аминокислоты, то есть замена аминокислоты другой аминокислотой с аналогичными свойствами (например, гидрофильностью, степенью и распределением заряженных областей), признается в данной области техники как обычно включающая незначительное изменение. Эти незначительные изменения можно частично идентифицировать, рассматривая индекс гидрофобности аминокислот, как это понимается в данной области. Kyte et al., *J. Mol. Biol.*, 157: 105-132 (1982). Индекс гидрофобности аминокислоты основан на учете ее гидрофобности и заряда. В данной области известно, что аминокислоты с аналогичными индексами гидрофобности могут быть заменены и все еще сохраняют функцию белка. В одном аспекте заменены аминокислоты, имеющие индекс гидрофобности ± 2 . Гидрофильность аминокислот также может быть использована для выявления замен, которые могут привести к сохранению биологической функции белков. Рассмотрение гидрофильности аминокислот в контексте пептида позволяет рассчитать максимальную локальную среднюю гидрофильность этого пептида, полезную меру, которая, как сообщается, хорошо коррелирует с антигенностью и иммуногенностью. Замена аминокислот, имеющих аналогичные значения гидрофильности, может привести к сохранению биологической активности пептидов, например иммуногенности, как это понимается в данной области. Замены могут быть выполнены аминокислотами, имеющими значения гидрофильности в пределах ± 2 друг относительно друга. И на индекс гидрофобности, и на значение гидрофильности аминокислот влияет конкретная боковая цепь этой аминокислоты. В соответствии с этим наблюдением, аминокислотные замены, совместимые с биологической функцией, должны зависеть от относительного сходства аминокислот и, в частности, боковых цепей этих аминокислот, что определяется гидрофобностью, гидрофильностью, зарядом, размером и другими свойствами.

Вариантом может быть последовательность нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична по всей длине полной последовательности гена или его фрагмента. Последовательность нуклеиновой кислоты может быть на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична по всей длине последовательности гена или его фрагмента. Вариантом может быть аминокислотная последовательность, которая по существу идентична по всей длине аминокислотной последовательности или ее фрагмента. Аминокислотная последовательность может быть на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична по всей длине аминокислотной последовательности или ее фрагмента.

Используемый в настоящем описании термин «вектор» означает последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую точку начала репликации. Вектор

может быть вирусным вектором, бактериофагом, бактериальной искусственной хромосомой или дрожжевой искусственной хромосомой. Вектор может быть ДНК- или РНК-вектором. Вектор может представлять собой самореплицирующийся внехромосомный вектор и предпочтительно представляет собой ДНК-плазмиду.

Для перечисления здесь числовых диапазонов явно предполагается каждое промежуточное число между ними с одинаковой степенью точности. Например, для диапазона 6-9 предполагаются числа 7 и 8 в дополнение к 6 и 9, а для диапазона 6-7 явно предполагаются числа 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7.

Вакцина

В настоящем описании предложены иммуногенные композиции, такие как вакцины, содержащие антиген коронавируса SARS 2 (SARS-CoV-2), его фрагмент, его вариант или их комбинацию. Вакцину можно использовать для лечения инфекции SARS-CoV-2, тем самым подвергая лечению, предотвращая и/или защищая от патологий, вызванных SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления патология на основе SARS-CoV-2, представляет собой COVID-19. Вакцина может в значительной степени индуцировать иммунный ответ у пациента, которому вводили вакцину, тем самым защищая и излечивая инфекцию SARS-CoV-2.

В одном варианте осуществления антиген SARS-CoV-2 содержит рецептор-связывающий домен шиповидного белка SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления антиген SARS-CoV-2 содержит димер рецептор-связывающего домена шиповидного белка SARS-CoV-2.

Вакцина может представлять собой ДНК-вакцину, пептидную вакцину или комбинированную ДНК-вакцину и пептидную вакцину. ДНК-вакцина может включать последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антиген SARS-CoV-2. Последовательность нуклеиновой кислоты может представлять собой ДНК, РНК, кДНК, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Последовательность нуклеиновой кислоты может также включать дополнительные последовательности, кодирующие линкерную, лидерную последовательности или последовательность метки, которые связаны с антигеном SARS-CoV-2 пептидной связью. Пептидная вакцина может включать антигенный пептид SARS-CoV-2, антигенный белок SARS-CoV-2, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Комбинированная ДНК-пептидная вакцина может включать описанную выше последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антиген SARS-CoV-2 и антигенный пептид или белок SARS-CoV-2, в которой антигенный пептид или белок SARS-CoV-2 и кодируемый SARS CoV-2 антиген имеют одинаковую аминокислотную последовательность.

В одном варианте осуществления один или более антигенов SARS-CoV-2 включены в вирусную частицу из самособирающихся пептидных наночастиц (SAPN) для использования в вакцине по изобретению. Самособирающиеся белковые наночастицы (SAPN) могут быть образованы путем сборки одной или более полипептидных цепей, содержащих по меньшей мере один антиген и по меньшей мере один домен

олигомеризации белка. Без ограничения SAPN по изобретению может самособираться в тетраэдр, куб, октаэдр, додекаэдр или икосаэдр. SAPN по изобретению можно использовать в качестве эффективного средства для презентации одного или более антигенов SARS-CoV-2.

В одном варианте осуществления SAPN по изобретению содержит рецептор-связывающий домен шиповидного белка SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления SAPN по изобретению содержит димер рецептор-связывающего домена шиповидного белка SARS-CoV-2.

Вакцина может индуцировать гуморальный иммунный ответ у пациента, которому вводили вакцину. Индуцированный гуморальный иммунный ответ может быть специфичным для антигена SARS-CoV-2. Индуцированный гуморальный иммунный ответ может реагировать на антиген SARS-CoV-2. Гуморальный иммунный ответ может быть индуцирован у пациента, которому вводили вакцину, примерно 1,5-16-кратно, примерно 2-12-кратно или примерно 3-10-кратно. Гуморальный иммунный ответ может быть индуцирован у пациента, которому вводили вакцину, по меньшей мере примерно 1,5-кратно, по меньшей мере примерно 2-кратно, по меньшей мере примерно 2,5-кратно, по меньшей мере примерно 3-кратно, по меньшей мере примерно 3,5-кратно, по меньшей мере примерно 4-кратно, по меньшей мере примерно 4,5-кратно, по меньшей мере примерно 5 раз, по меньшей мере примерно 5,5-кратно, по меньшей мере примерно 6-кратно, по меньшей мере примерно 6,5-кратно, по меньшей мере примерно 7-кратно, по меньшей мере примерно 7,5-кратно, по меньшей мере примерно 8-кратно, по меньшей мере примерно 8,5-кратно, по меньшей мере примерно 9-кратно, по меньшей мере примерно 9,5-кратно, по меньшей мере примерно 10-кратно, по меньшей мере примерно 10,5-кратно, по меньшей мере примерно 11-кратно, по меньшей мере примерно 11,5-кратно, по меньшей мере примерно 12-кратно, по меньшей мере примерно 12,5-кратно, по меньшей мере примерно 13-кратно, по меньшей мере примерно 13,5-кратно, по меньшей мере примерно 14-кратно, по меньшей мере примерно 14,5-кратно, по меньшей мере примерно 15-кратно, по меньшей мере примерно 15,5-кратно или по меньшей мере примерно 16-кратно.

Гуморальный иммунный ответ, индуцированный вакциной, может включать повышенный уровень нейтрализующих антител, связанных с пациентом, которому вводили вакцину, по сравнению с пациентом, которому вакцину не вводили. Нейтрализующие антитела могут быть специфичными к антигену SARS-CoV-2. Нейтрализующие антитела могут быть реактивны с антигеном SARS-CoV-2. Нейтрализующие антитела могут обеспечивать защиту и/или лечение инфекции SARS-CoV-2 и связанных с ней патологий у пациента, которому вводили вакцину.

Гуморальный иммунный ответ, индуцированный вакциной, может включать повышенный уровень антител IgG, связанных с пациентом, которому вводили вакцину, по сравнению с пациентом, которому вакцину не вводили. Эти антитела IgG могут быть специфичными для антигена SARS-CoV-2. Эти антитела IgG могут быть реактивны с

антигеном SARS-CoV-2. Предпочтительно гуморальный ответ является перекрестно-реактивным против двух или более штаммов SARS-CoV-2. Уровень антител IgG, связанных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть повышен примерно в 1,5-16 раз, примерно в 2-12 раз или примерно в 3-10 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину. Уровень антител IgG, связанных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть повышен по меньшей мере примерно в 1,5 раза, по меньшей мере примерно в 2 раза, по меньшей мере примерно в 2,5 раза, по меньшей мере примерно в 3 раза, по меньшей мере примерно в 3,5 раза, по меньшей мере примерно в 4 раза, по меньшей мере примерно в 4,5 раза, по меньшей мере примерно в 5 раз, по меньшей мере примерно в 5,5 раза, по меньшей мере примерно в 6 раз, по меньшей мере примерно в 6,5 раза, по меньшей мере примерно в 7 раз, по меньшей мере примерно в 7,5 раз, по меньшей мере примерно в 8 раз, по меньшей мере примерно в 8,5 раза, по меньшей мере примерно в 9 раз, по меньшей мере примерно в 9,5 раза, по меньшей мере примерно в 10 раз, по меньшей мере примерно в 10,5 раза, при по меньшей мере примерно в 11 раз, по меньшей мере примерно в 11,5 раз, по меньшей мере примерно в 12 раз, по меньшей мере примерно в 12,5 раза, по меньшей мере примерно в 13 раз, по меньшей мере примерно в 13,5 раза, по меньшей мере примерно в 14 раз, по меньшей мере примерно в 14 раз примерно в 14,5 раз, по меньшей мере примерно в 15 раз, по меньшей мере примерно в 15,5 раз или по меньшей мере примерно в 16 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Вакцина может индуцировать клеточный иммунный ответ у пациента, которому вводили вакцину. Индуцированный клеточный иммунный ответ может быть специфичным для антигена SARS-CoV-2. Индуцированный клеточный иммунный ответ может быть реактивным к антигену SARS-CoV-2. Предпочтительно клеточный ответ является перекрестно-реактивным против двух или более штаммов SARS-CoV-2. Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать в себя индукцию CD8+ Т-клеточного ответа. Вызванный CD8+ Т-клеточный ответ может быть реактивным с антигеном SARS-CoV-2. Вызванный CD8+ Т-клеточный ответ может быть полифункциональным. Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать в себя индукцию CD8+ Т-клеточного ответа, при котором CD8+ Т-клетки продуцируют интерферон-гамма (IFN- γ), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкин-2 (IL-2) или комбинацию IFN- γ и TNF- α .

Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенный ответ Т-клеток CD8+, связанный с пациентом, которому вводили вакцину, по сравнению с пациентом, которому вакцину не вводили. Ответ CD8+ Т-клеток, связанный с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличен примерно в 2-30 раз, примерно в 3-25 раз или примерно в 4-20 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину. CD8+ Т-клеточный ответ, связанный с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличен по меньшей мере примерно в 1,5 раза, по меньшей мере примерно в 2 раза, по меньшей мере примерно в 3 раза, по меньшей мере примерно в 4 раза, по меньшей мере

примерно в 5 раз, по меньшей мере примерно в 6 раз, по меньшей мере примерно в 6,5 раза, по меньшей мере примерно в 7 раз, по меньшей мере примерно в 7,5 раза, по меньшей мере примерно в 8 раз, по меньшей мере примерно в 8,5 раза, по меньшей мере примерно в 9 раз, по меньшей мере примерно в 9,5 раз, по меньшей мере примерно в 10 раз, по меньшей мере примерно в 10,5 раза, по меньшей мере примерно в 11 раз, по меньшей мере примерно в 11,5 раза, по меньшей мере примерно в 12 раз, по меньшей мере примерно в 12,5 раза, по меньшей мере примерно в 13 раз, по меньшей мере примерно в 13,5 раз, по меньшей мере примерно в 14 раз, по меньшей мере примерно в 14,5 раза, по меньшей мере примерно в 15 раз, по меньшей мере примерно в 16 раз, по меньшей мере примерно в 17 раз, по меньшей мере примерно в 18 раз, по меньшей мере примерно в 19 раз, по меньшей мере примерно в 20 раз, по меньшей мере примерно в 21 раз, по меньшей мере примерно в 22 раза, по меньшей мере примерно в 23 раза, по меньшей мере примерно в 24 раза, по меньшей мере примерно в 25 раз, по меньшей мере примерно в 26 раз, по меньшей мере примерно в 27 раз, по меньшей мере примерно в 28 раз, по меньшей мере примерно в 29 раз или по меньшей мере примерно в 30 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Индукцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD8+T-клеток, продуцирующих IFN- γ . Частота встречаемости CD3+CD8+IFN- γ +T-клеток, ассоциированных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 11 раз, 12 раз, 13 раз, 14 раз, 15 раз, 16 раз, 17 раз, 18 раз, 19 раз или в 20 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Индукцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD8+T-клеток, которые продуцируют TNF- α . Частота CD3+CD8+TNF- α +T-клеток, связанных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 11 раз, 12 раз, 13 раз или 14 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Индукцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD8+T-клеток, продуцирующих IL-2. Частота встречаемости CD3+CD8+IL-2+T-клеток, ассоциированных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 0,5 раз, в 1 раз, в 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, в 3,5, раза, в 4 раза, в 4,5 раза или в 5 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Индукцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD8+T-клеток, которые продуцируют как IFN- γ , так и TNF- α . Частота встречаемости CD3+CD8+IFN- γ +TNF- α +T-клеток, ассоциированных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 25 раз, 30 раз, 35 раз, 40 раз, 45 раз, 50 раз, 55 раз, 60 раз, 65 раз, 70 раз, 75 раз, 80 раз, 85 раз, 90 раз, 95 раз, 100 раз, 110 раз, 120 раз, 130 раз, 140 раз, 150 раз, 160 раз, 170 раз или

180 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Клеточный иммунный ответ, индуцированный вакциной, может включать в себя индукцию ответа CD4+T-клеток. Индуцированный CD4+T-клеточный ответ может быть реактивен с антигеном SARS-CoV-2. Индуцированный CD4+T-клеточный ответ может быть полифункциональным. Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать в себя индукцию CD4+T-клеточного ответа, при котором CD4+T-клетки продуцируют IFN- γ , TNF- α , IL-2 или комбинацию IFN- γ и TNF- α .

Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD4+T-клеток, которые продуцируют IFN- γ . Частота встречаемости CD3+CD4+IFN- γ +T-клеток, ассоциированных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 11 раз, 12 раз, 13 раз, 14 раз, 15 раз, 16 раз, 17 раз, 18 раз, 19 раз или в 20 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD4+T-клеток, которые продуцируют TNF- α . Частота CD3+CD4+TNF- α +T-клеток, ассоциированных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 11 раз, 12 раз, 13 раз, 14 раз, 15 раз, 16 раз, 17 раз, 18 раз, 19 раз, 20 раз, 21 раз или 22 раза по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD4+T-клеток, продуцирующих IL-2. Частота встречаемости CD3+CD4+IL-2+T-клеток, ассоциированных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 11 раз, 12 раз, 13 раз, 14 раз, 15 раз, 16 раз, 17 раз, 18 раз, 19 раз, 20 раз, 21 раз, 22 раза, 23 раза, 24 раз, 25 раз, 26 раз, 27 раз, 28 раз, 29 раз, 30 раз, 31 раз, 32 раза, 33 раза, 34 раза, 35 раз, 36 раз, 37 раз, 38 раз, 39 раз, 40 раз, 45 раз, 50 раз, 55 раз или 60 раз, как по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать повышенную частоту встречаемости CD3+CD4+T-клеток, которые продуцируют как IFN- γ , так и TNF- α . Частота встречаемости CD3+CD4+IFN- γ +TNF- α +клеток, ассоциированных с пациентом, которому вводили вакцину, может быть увеличена по меньшей мере примерно в 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 5,5 раз, 6 раз, 6,5 раз, 7 раз, 7,5 раз, 8 раз, 8,5 раз, 9 раз, 9,5 раз, 10 раз, 10,5 раз, 11 раз, 11,5 раз, 12 раз, 12,5 раз, 13 раз, 13,5 раз, 14 раз, 14,5 раз, 15 раз, 15,5 раз, 16 раз, 16,5 раз, 17 раз, 17,5 раз, 18 раз, 18,5 раз, 19 раз, 19,5 раз, 20 раз, 21 раз, 22 раза, 23 раза, 24 раза, 25 раз, 26 раз, в 27 раз, 28 раз, 29 раз, 30 раз, 31 раз, 32 раз, 33 раз, 34 раз или 35 раз по сравнению с пациентом, которому не вводили вакцину.

Вакцина по настоящему изобретению может обладать свойствами, необходимыми для эффективных вакцин, такими как безопасность, так что сама вакцина не вызывает болезни или смерти; защищает от болезней, возникающих в результате воздействия

живых патогенов, таких как вирусы или бактерии; индуцирует нейтрализующие антитела для предотвращения образования клеток; индуцирует защитные Т-клетки против внутриклеточных патогенов; и обеспечивает простоту введения, небольшое количество побочных эффектов, биологическую стабильность и низкую стоимость дозы.

Вакцина может дополнительно индуцировать иммунный ответ при введении в различные ткани, такие как мышцы или кожа. Вакцина может дополнительно индуцировать иммунный ответ при введении с помощью электропорации, инъекции, подкожного или внутримышечного введения.

Антиген коронавируса SARS 2 (SARS-CoV-2)

Как описано выше, в одном варианте осуществления изобретение относится к вакцине, содержащей антиген SARS-CoV-2, его фрагмент, его вариант или их комбинацию. Коронавирусы, в том числе SARS-CoV-2, инкапсулированы мембраной и имеют мембранный гликопротеин типа 1, известный как шиповидный белок (S), который образует выступающие шипы на поверхности коронавируса. Шиповидный белок способствует связыванию коронавируса с белками, расположенными на поверхности клетки, например, с металлопротеазой-аминопептидазой N, и опосредует слияние клеточно-вирусной мембраны. В частности, шиповидный белок содержит субъединицу S1, которая способствует связыванию коронавируса с белками клеточной поверхности, и, таким образом, содержит рецептор-связывающий домен (RBD). Соответственно, субъединица S1 шиповидного белка контролирует, какие клетки инфицируются коронавирусом. В одном варианте осуществления антиген SARS-CoV-2 по изобретению может содержать один или более RBD шиповидного белка SARS-CoV-2.

Антиген SARS-CoV-2 может представлять собой RBD шиповидного белка SARS-CoV-2, его фрагмент, его вариант или их комбинацию. В одном варианте осуществления композиция по изобретению содержит димер RBD шиповидного белка SARS-CoV-2.

В одном варианте осуществления композиция по изобретению способна вызывать у млекопитающих иммунный ответ против одного или более штаммов SARS-CoV-2. Антиген SARS-CoV-2 может содержать эпитоп(ы), которые делают его особенно эффективным в качестве иммуногена, против которого можно индуцировать иммунный ответ против SARS-CoV-2.

RBD шиповидного белка SARS-CoV-2 может представлять собой консенсусную последовательность, полученную из двух или более штаммов SARS-CoV-2. Антиген шиповидного белка SARS-CoV-2 может содержать консенсусную последовательность и/или модификацию (модификации) для улучшения экспрессии. Модификация может включать оптимизацию кодонов, оптимизацию РНК, добавление последовательности Козака для усиления инициации трансляции и/или добавление лидерной последовательности иммуноглобулина для повышения иммуногенности одного или более RBD шиповидного белка SARS-CoV-2. Один или более RBD шиповидного белка SARS-CoV-2 могут содержать сигнальный пептид, такой как сигнальный пептид иммуноглобулина, например, но не ограничиваясь ими, сигнальный пептид

иммуноглобулина E (IgE) или иммуноглобулина (IgG).

RBD SARS-CoV-2 может иметь аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления RBD SARS-CoV-2 может представлять собой аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8.

Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антиген RBD SARS-CoV-2, может содержать последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:1, которая кодирует SEQ ID NO:2. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антиген RBD SARS-CoV-2, может содержать последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:3, которая кодирует SEQ ID NO:4. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антиген RBD SARS-CoV-2, может содержать последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:5, которая кодирует SEQ ID NO:6. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антиген RBD SARS-CoV-2, может содержать последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:7, которая кодирует SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антиген RBD SARS-CoV-2, может содержать нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антиген RBD SARS-CoV-2, может содержать нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине указанной последовательности нуклеиновой кислоты в SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антиген RBD SARS-CoV-2 может быть функционально связан с лидерной последовательностью IgE.

Могут быть предложены иммуногенные фрагменты SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. Иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% SEQ ID NO:2 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты включают лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты не содержат лидерной последовательности.

Могут быть предложены иммуногенные фрагменты белков с последовательностями аминокислот, гомологичными иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. Такие иммуногенные фрагменты могут иметь по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты включают лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты не содержат лидерной последовательности.

Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. Иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% полной длины SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. Иммуногенные фрагменты могут иметь по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с фрагментами SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты включают последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидер IgE. В некоторых вариантах осуществления фрагменты не содержат кодирующих последовательностей, которые кодируют лидерную последовательность.

Димер RBD шиповидного белка SARS-CoV-2

Антиген SARS-CoV-2 может представлять собой димер антигена RBD SARS-CoV-2, его фрагмент или его вариант. Димерный антиген RBD SARS-CoV-2 может содержать линкерную последовательность между двумя антигенами RBD. Димерный антиген RBD SARS-CoV-2 может содержать консенсусную последовательность и/или модификацию (модификации) для улучшения экспрессии. Модификация может включать оптимизацию кодонов, оптимизацию РНК, добавление последовательности Козака для усиления инициации трансляции и/или добавление лидерной последовательности иммуноглобулина для повышения иммуногенности антигена шиповидного белка SARS-CoV-2. Димерный антиген RBD SARS-CoV-2 может содержать сигнальный пептид, такой как сигнальный пептид иммуноглобулина, например, но не ограничиваясь ими, сигнальный пептид иммуноглобулина Е (IgE) или иммуноглобулина (IgG). Димерный антиген RBD SARS-CoV-2 можно сконструировать так, чтобы он вызывал более сильный клеточный и/или гуморальный иммунный ответ, чем мономерный антиген RBD SARS-CoV-2.

Димерный антиген RBD SARS-CoV-2 может содержать по меньшей мере две последовательности RBD SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления димерный антиген RBD SARS-CoV-2 содержит две копии одной и той же последовательности RBD SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления димерный антиген RBD SARS-CoV-2 содержит две разные последовательности RBD SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления димерный антиген RBD SARS-CoV-2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления димерный антиген RBD SARS-CoV-2 содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, кодирует по меньшей мере две последовательности RBD SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, содержит по меньшей мере SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 или SEQ ID NO:7. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, кодирует две копии одной и той же последовательности RBD SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, кодирует две разные последовательности RBD SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая димерный антиген RBD SARS-CoV-2, содержит нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления димерный антиген RBD SARS-CoV-2 может быть функционально связан с лидерной последовательностью IgE.

Могут быть предложены иммуногенные фрагменты 10. Иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по

меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты включают лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты не содержат лидерной последовательности.

Могут быть предложены иммуногенные фрагменты белков с последовательностями аминокислот, гомологичными иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:10. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% гомологичны SEQ ID NO:10. Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам, которые имеют 96% гомологии с иммуногенными фрагментами белковых последовательностей настоящего описания. Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам, которые имеют 97% гомологии с иммуногенными фрагментами белковых последовательностей настоящего описания. Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам, которые имеют 98% гомологии с иммуногенными фрагментами белковых последовательностей настоящего описания. Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам, которые имеют 99% гомологии с иммуногенными фрагментами белковых последовательностей настоящего описания. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты включают лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты не содержат лидерной последовательности.

Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:9. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% SEQ ID NO:9. Иммуногенные фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичными фрагментам SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные фрагменты включают последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидер IgE. В некоторых вариантах осуществления фрагменты не содержат кодирующих последовательностей, которые кодируют лидерную последовательность.

Самособирающиеся наночастицы

В одном варианте осуществления изобретение относится к вакцине, содержащей

самособирающуюся наночастицу, содержащую домен олигомеризации и дополнительно содержащую антиген SARS-CoV-2, его фрагмент, его вариант или их комбинацию. В одном варианте осуществления изобретение использует ферритин, широко представленный запасной белок железа, который самособирается в сферические наночастицы и служит каркасом для экспрессии гетерологичного белка. Следовательно, в одном варианте осуществления домен олигомеризации содержит ферритин или его фрагмент или вариант.

В одном варианте осуществления домен олигомеризации содержит последовательность SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. В некоторых вариантах осуществления домен олигомеризации содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20.

В одном варианте осуществления изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей самособирающуюся наночастицу, содержащую домен олигомеризации и дополнительно содержащую антиген SARS-CoV-2, его фрагмент, вариант или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая домен олигомеризации, может содержать нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая домен олигомеризации, может содержать нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:19. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая домен олигомеризации, может быть функционально связана с последовательностью, кодирующей по меньшей мере одну линкерную последовательность, такую как линкерная последовательность LS3 или GGS.

Могут быть предложены иммуногенные фрагменты SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. Иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. Могут быть предложены иммуногенные

фрагменты белков с последовательностями аминокислот, гомологичными иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20. Такие иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 или SEQ ID NO:20.

Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:19. Иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% полной длины SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:19. Иммуногенные фрагменты могут иметь по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности фрагментам SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:19.

В одном варианте осуществления самособирающаяся наночастица, содержащая домен олигомеризации и дополнительно содержащая по меньшей мере один домен RBD SARS-CoV-2, именуемая здесь RBD-NP, содержит последовательность SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В некоторых вариантах осуществления RBD-NP содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68.

В одном варианте осуществления изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей RBD-NP, ее фрагменту, варианту или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая RBD-NP, может содержать нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%

идентичности по всей длине аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая RBD-NP, может содержать нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности по всей длине последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая домен олигомеризации, может быть функционально связана с последовательностью, кодирующей по меньшей мере одну линкерную последовательность, такую как линкерная последовательность LS3 или GGS.

Могут быть предложены иммуногенные фрагменты SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. Иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. Могут быть предложены иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68. Такие иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%,

по меньшей мере 96%, идентичность по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере 99% SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 или SEQ ID NO:68.

Некоторые варианты осуществления относятся к иммуногенным фрагментам SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67. Иммуногенные фрагменты могут составлять по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% полной длины SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67. Иммуногенные фрагменты могут иметь по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с фрагментами SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:67.

Лидерная последовательность

В некоторых вариантах осуществления последовательности RBD или RBD-NP шиповидного белка SARS-CoV-2 по изобретению функционально связаны по меньшей мере с одной лидерной последовательностью или ее фармацевтически приемлемой солью. В некоторых вариантах осуществления молекулы нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, кодирующие последовательности RBD или RBD-NP шиповидного белка SARS-CoV-2, функционально связаны по меньшей мере с одной нуклеотидной последовательностью, кодирующей лидерную последовательность или ее фармацевтически приемлемую соль. «Сигнальный пептид» и «лидерная последовательность» используются в настоящем описании взаимозаменяемо и относятся к аминокислотной последовательности, которая может быть связана на amino-конце белка настоящего описания. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности обычно определяют локализацию белка. Используемые в настоящем описании сигнальные пептиды/лидерные последовательности предпочтительно облегчают секрецию белка из

клетки, в которой он продуцируется. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности часто отщепляются от остатка белка, часто называемого зрелым белком, при секреции из клетки. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности связаны на N-конце белка.

В одном варианте осуществления лидерная последовательность представляет собой лидерную последовательность IgE, содержащую аминокислотную последовательность MDWTWILFLVAAATRVHS (SEQ ID NO: 69). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления лидерная последовательность в раскрытой экспрессируемой последовательности нуклеиновой кислоты содержит последовательность, кодирующую SEQ ID NO:69.

Линкерная последовательность

В некоторых вариантах осуществления последовательности RBD или RBD-NP шиповидного белка SARS-CoV-2 по изобретению функционально связаны по меньшей мере с одной линкерной последовательностью. Например, в некоторых вариантах осуществления последовательности RBD или RBD-NP шиповидного белка SARS-CoV-2 содержат линкер между лидерной последовательностью и последовательностью RBD шиповидного белка SARS-CoV-2. В некоторых вариантах осуществления последовательности RBD-NP содержат линкер между последовательностью RBD шиповидного белка SARS-CoV-2 и доменом олигомеризации. Линкер может быть либо гибким, либо жестким, либо их комбинацией. В одном варианте осуществления линкер представляет собой повтор (GGS)*n*, где GGS повторяется по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более 10 раз.

В некоторых вариантах осуществления экспрессируемая последовательность нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере одну последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую линкер, последовательность которого по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:70 или ее фармацевтически приемлемой соли. SEQ ID NO:70 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты GGAGGCTCCGGAGGATCTGGAGGGAGTGGAGGCTCAGGAGGAGGC, кодирующую аминокислотную последовательность GGSGGSGGSGGSGGG (SEQ ID NO: 71). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая линкер, кодирует последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:71, или ее фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая линкер, содержит последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:70, или ее фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления экспрессируемая последовательность нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере одну последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую линкер LS3, последовательность которого по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO:72, или ее фармацевтически приемлемой соли. SEQ ID NO:72

представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты TTGCGATTTGGTATTGTTCGCTTCCCGCGCAAACCATGCGCTCGTGGGTGGTTCCGGTGGC, кодирующую аминокислотную последовательность LRFGIVASRANHALVGGSGG (SEQ ID NO: 73). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая линкер, кодирует последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:73, или ее фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая линкер, содержит последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO.:72, или его фармацевтически приемлемую соль.

Вектор

Вакцина может содержать один или более векторов, которые включают нуклеиновую кислоту, кодирующую RBD-NP. Один или более векторов могут быть способны экспрессировать RBD-NP. Вектор может иметь последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую последовательность точки начала репликации. Вектор может представлять собой плазмиду, бактериофаг, бактериальную искусственную хромосому или искусственную хромосому дрожжей. Вектор может быть либо самореплицирующимся внехромосомным вектором, либо вектором, который интегрируется в геном хозяина.

Один или более векторов могут представлять собой экспрессирующую конструкцию, которая обычно представляет собой плазмиду, используемую для введения определенного гена в клетку-мишень. Как только экспрессирующий вектор оказывается внутри клетки, белок, кодируемый геном, продуцируется рибосомными комплексами клеточной транскрипции и трансляции. Плазмиду часто конструируют так, чтобы она содержала регуляторные последовательности, которые действуют как энхансерные и промоторные области и приводят к эффективной транскрипции гена, переносимого экспрессирующим вектором. Векторы по настоящему изобретению экспрессируют большие количества стабильной матричной РНК и, следовательно, белков. Векторы могут иметь сигналы экспрессии, такие как сильный промотор, сильный кодон терминации, регулировка расстояния между промотором и клонированным геном и вставку последовательности терминации транскрипции и PTIS (переносимая последовательность инициации трансляции).

(1) Экспрессирующие Векторы

Вектор может быть замкнутой плазмидой или линейной нуклеиновой кислотой. Замкнутая плазида и линейная нуклеиновая кислота способны управлять экспрессией конкретной нуклеотидной последовательности в подходящей клетке объекта. Вектор может иметь промотор, функционально связанный с кодирующей антиген нуклеотидной последовательностью, которая может быть функционально связана с сигналами

терминации. Вектор также может содержать последовательности, необходимые для корректной трансляции нуклеотидной последовательности. Вектор, содержащий интересующую нуклеотидную последовательность, может быть химерным, что означает, что по меньшей мере один из его компонентов является гетерологичным по отношению к по меньшей мере одному из его других компонентов. Экспрессия нуклеотидной последовательности в экспрессирующей кассете может находиться под контролем конститутивного промотора или индуцируемого промотора, который инициирует транскрипцию только тогда, когда клетка-хозяин подвергается воздействию какого-либо конкретного внешнего стимула. В случае многоклеточного организма промотор также может быть специфичным для конкретной ткани или органа или стадии развития.

(2) Замкнутые и линейные векторы

Вектор может представлять собой замкнутую плазмиду, которая может трансформировать клетку-мишень путем интеграции в клеточный геном или существовать вне хромосомы (например, автономно реплицирующаяся плазида с точкой начала репликации).

Вектор может представлять собой pVAX, pcDNA3.0 или pGroX или любой другой экспрессирующий вектор, способный экспрессировать ДНК, кодирующую антиген, и позволять клетке транслировать последовательность в антиген, распознаваемый иммунной системой.

Также в настоящем документе предложена вакцина с линейной нуклеиновой кислотой или линейная экспрессирующая кассета («ЛЕС»), которая способна эффективно доставляться объекту посредством электропорации и экспрессировать один или более желаемых антигенов. ЛЕС может представлять собой любую линейную ДНК, лишенную какого-либо фосфатного остова. ДНК может кодировать один или более антигенов. ЛЕС может содержать промотор, интрон, стоп-кодон и/или сигнал полиаденилирования. Экспрессия антигена может контролироваться промотором. ЛЕС может не содержать генов устойчивости к антибиотикам и/или фосфатного остова. ЛЕС может не содержать другие последовательности нуклеиновых кислот, не связанные с желаемой экспрессией гена антигена.

(3) Промотор, интрон, стоп-кодон и сигнал полиаденилирования

Вектор может содержать промотор. Промотор может быть любым промотором, способным управлять экспрессией гена и регулировать экспрессию выделенной нуклеиновой кислоты. Такой промотор представляет собой цис-действующий элемент последовательности, необходимый для транскрипции посредством ДНК-зависимой РНК-полимеразы, которая транскрибирует описанную здесь антигенную последовательность. Выбор промотора, используемого для прямой экспрессии гетерологичной нуклеиновой кислоты, зависит от конкретного применения. Промотор может быть расположен примерно на таком же расстоянии от старта транскрипции в векторе, как и от сайта старта транскрипции в его естественных условиях. Однако изменение этого расстояния можно компенсировать без потери функции промотора.

Промотор может быть функционально связан с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей антиген и сигналы, необходимые для эффективного полиаденилирования транскрипта, сайтов связывания рибосом и терминации трансляции. Промотор может представлять собой промотор CMV, ранний промотор SV40, более поздний промотор SV40, промотор металлотионеина, промотор вируса опухоли молочной железы мышей, промотор вируса саркомы Рауса, промотор полиэдрина или другой промотор, который показал свою эффективность для экспрессии в эукариотических клетках.

Вектор может включать энхансер и интрон с функциональными донорными и акцепторными сайтами сплайсинга. Вектор может содержать область терминации транскрипции ниже структурного гена для обеспечения эффективной терминации. Область терминации может быть получена из того же гена, что и промоторная последовательность, или может быть получена из разных генов.

Вспомогательные вещества и другие компоненты вакцины

Вакцина может дополнительно содержать фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может представлять собой функциональные молекулы, такие как носители или разбавители. Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может представлять собой агент, облегчающий трансфекцию, который может включать поверхностно-активные агенты, такие как иммуностимулирующие комплексы (ISCOMS), неполный адъювант Фрейнда, аналог LPS, включая монофосфориллипид А, мурамиловые пептиды, аналоги хинона, везикулы, такие как сквален, и сквален, гиалуроновую кислоту, липиды, липосомы, ионы кальция, вирусные белки, полианионы, поликатионы или наночастицы или другие известные агенты, облегчающие трансфекцию.

Агент, облегчающий трансфекцию, представляет собой полианион, поликатион, включая поли-L-глутамат (LGS), или липид. Агент, облегчающий трансфекцию, представляет собой поли-L-глутамат, и поли-L-глутамат может присутствовать в вакцине в концентрации менее 6 мг/мл. Агент, облегчающий трансфекцию, может также включать поверхностно-активные агенты, такие как иммуностимулирующие комплексы (ISCOMS), неполный адъювант Фрейнда, аналог LPS, включая монофосфориллипид А, мурамиловые пептиды, аналоги хинона и везикулы, такие как сквален, и сквален, и гиалуроновая кислота могут также использоваться для введения в сочетании с генетической конструкцией. ДНК-плазмидные вакцины могут также включать агент, облегчающий трансфекцию, такой как липиды, липосомы, включая лецитиновые липосомы или другие липосомы, известные в данной области техники, в виде смеси ДНК-липосомы (см., например, WO 9324640), ионы кальция, вирусные белки, полианионы, поликатионы, или наночастицы, или другие известные агенты, облегчающие трансфекцию. Агент, облегчающий трансфекцию, представляет собой полианион, поликатион, включая поли-L-глутамат (LGS), или липид. Концентрация агента трансфекции в вакцине составляет по меньшей мере 4 мг/мл, менее 2 мг/мл, по меньшей мере 1 мг/мл, по меньшей мере 0,750

мг/мл, по меньшей мере 0,500 мг/мл, по меньшей мере 0,250 мг/мл, по меньшей мере 0,100 мг/мл, по меньшей мере 0,050 мг/мл или по меньшей мере 0,010 мг/мл.

Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может представлять собой адъювант. Адъювантом могут быть другие гены, которые экспрессируются в альтернативной плазмиде или доставляются в виде белков в комбинации с указанной выше плазмидой в вакцине. Адъювант может быть выбран из группы, состоящей из: α -интерферона (IFN- α), β -интерферона (IFN- β), γ -интерферона, тромбоцитарного фактора роста (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, эпидермального фактор роста (EGF), хемокина кожи, рекрутирующего Т-клетки (STACK), хемокина, экспрессируемого эпителиальными клетками тимуса (TECK), эпителиального хемокина, ассоциированного со слизистыми оболочками (MEC), IL-12, IL-15, MHC, CD80, CD86, включая IL-15 с удаленной сигнальной последовательностью и необязательно включающим сигнальный пептид из IgE. Адъювантом может быть IL-12, IL-15, IL-28, STACK, TECK, тромбоцитарный фактор роста (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, эпидермальный фактор роста (EGF), IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18 или их комбинацию.

Другие гены, которые можно использовать в качестве адъювантов, включают гены, кодирующие: MCP-1, MIP-1a, MIP-1p, IL-8, RANTES, L-селектин, P-селектин, E-селектин, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150,95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-4, мутантные формы IL-18, CD40, CD40L, фактор роста сосудов, фактор роста фибробластов, IL-7, IL-22, фактор роста нервов, фактор роста эндотелия сосудов, Fas, рецептор TNF, Flt, Apo-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, каспазу ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, I κ B, неактивный NIK, SAP K, SAP-1, JNK, интерферон-отвечающие гены, NF κ B, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK LIGAND, O \times 40, O \times 40 LIGAND, NKG2D, MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 и их функциональные фрагменты.

Вакцина может дополнительно содержать агент, способствующий генетической вакцине, как описано в патенте США No. 021579, поданном 1 апреля 1994 г., который включен посредством ссылки в полном объеме.

Вакцина может быть приготовлена в соответствии с используемым способом введения. Фармацевтическая композиция вакцины для инъекций может быть стерильной, апиrogenной и свободной от твердых частиц. Можно использовать изотонический состав или раствор. Добавки для изотоничности могут включать хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу. Вакцина может содержать сосудосуживающий агент. Изотонические растворы могут включать фосфатно-солевой буфер. Вакцина может дополнительно содержать стабилизаторы, включая желатин и альбумин. Стабилизаторы могут обеспечить стабильность состава при комнатной температуре или температуре окружающей среды в течение продолжительных периодов времени, включая LGS, поликатионы или полианионы.

Метод вакцинации

Также в настоящем описании предложен способ лечения, защиты от и/или предотвращения заболевания у пациента путем введения вакцины пациенту. Введение вакцины пациенту может индуцировать или вызывать иммунный ответ у пациента. Индуцированный иммунный ответ можно использовать для лечения, предотвращения и/или защиты от заболеваний, например патологий, связанных с инфекцией SARS-CoV-2. В одном варианте осуществления патология, связанная с инфекцией SARS-CoV-2, представляет собой COVID-19.

Индуцированный иммунный ответ может включать индуцированный гуморальный иммунный ответ и/или индуцированный клеточный иммунный ответ. Гуморальный иммунный ответ можно индуцировать примерно 1,5-16-кратно, примерно 2-12-кратно или примерно 3-10-кратно. Индуцированный гуморальный иммунный ответ может включать антитела IgG и/или нейтрализующие антитела, которые реактивны к RBD шиповидного белка SARS-CoV-2. Индуцированный клеточный иммунный ответ может включать CD8+T-клеточный ответ, который индуцируется примерно 2-30-кратно, примерно 3-25-кратно или примерно 4-20-кратно.

Доза вакцины может составлять от 1 мкг до 10 мг активного компонента/кг массы тела/время и может составлять от 20 мкг до 10 мг компонента/кг массы тела/время. Вакцину можно вводить каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или 31 день. Количество доз вакцины для эффективного лечения может быть 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

Введение

Вакцина может быть приготовлена в соответствии со стандартными методами, хорошо известными специалистам в области фармацевтики. Такие композиции можно вводить в дозах и способами, хорошо известными специалистам в области медицины, принимая во внимание такие факторы, как возраст, пол, масса и состояние конкретного объекта, а также способ введения. Объектом может быть млекопитающее, такое как человек, лошадь, корова, свинья, овца, кошка, собака, крыса или мышь.

Вакцину можно вводить профилактически или терапевтически. При профилактическом введении вакцины можно вводить в количестве, достаточном для индукции иммунного ответа. В терапевтических целях вакцины вводят пациенту в количестве, достаточном для достижения терапевтического эффекта. Количество, достаточное для достижения этого, определяется как «терапевтически эффективная доза». Количество, эффективные для такого применения, будут зависеть, например, от конкретного состава вводимой схемы вакцинации, способа введения, стадии и тяжести заболевания, общего состояния здоровья пациента и решения лечащего врача.

Вакцину можно вводить способами, хорошо известными в данной области, как описано у Donnelly et al. (Ann. Rev. Immunol. 15:617-648 (1997)); Felgner et al. (Пат. США № 5580859, выданный в 3 декабря 1996 г.); Felgner Пат. США № 5703055, выданный 30 декабря 1997 г.); и Carson et al. (Пат. США № 5679647, выданный 21 октября 1997), содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки в

полном объеме. ДНК вакцины может быть объединена в комплекс с частицами или гранулами, которые можно вводить индивидууму, например, с помощью вакцинного пистолета. Специалисту в данной области должно быть известно, что выбор фармацевтически приемлемого носителя, включая физиологически приемлемое соединение, зависит, например, от пути введения экспрессирующего вектора.

Вакцина может быть доставлена различными путями. Типичные способы доставки включают парентеральное введение, например внутривенное, внутримышечное или подкожное введение. Другие пути включают пероральное введение, интраназальный и интравaginaльный пути. В частности, ДНК вакцины может быть доставлена в интерстициальное пространство тканей индивидуума (Felgner et al., Пат. США No. 5580859 и 5703055, содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме). Вакцину также можно вводить в мышцу или можно вводить с помощью внутривенных или подкожных инъекций или чрескожно, например, с помощью ионофореза. Можно также использовать эпидермальное введение вакцины. Эпидермальное введение может включать механическое или химическое раздражение наружного слоя эпидермиса для стимуляции иммунного ответа на раздражитель (Carson et al., Пат. США № 5679647, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме).

Вакцина также может быть приготовлена для введения через носовые ходы. Составы подходящие для назального введения, где носитель является твердым веществом, могут содержать грубый порошок, имеющий размер частиц, например, в диапазоне примерно от 10 примерно до 500 микрон, который вводят также как и нюхательный табак, т. е. быстрым вдыханием через носовые ходы из содержащего порошок контейнера, который держат близко к носу. Лекарственная форма может представлять собой назальный спрей, назальные капли или аэрозольное введение с помощью небулайзера. Состав может включать водные или масляные растворы вакцины.

Вакцина может представлять собой жидкий препарат, такой как суспензия, сироп или эликсир. Вакцина также может представлять собой препарат для парентерального, подкожного, внутривенного, внутримышечного или внутривенного введения (например, инъекционного введения), такой как стерильная суспензия или эмульсия.

Вакцина может быть включена в липосомы, микросферы или другие полимерные матрицы (Felgner et al., Пат. США No. 5703055; Gregoriadis, Liposome Technology, Vols. I to III (2nd ed. 1993), содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме). Липосомы могут состоять из фосфолипидов или других липидов и могут быть нетоксичными, физиологически приемлемыми и метаболизируемыми носителями, которые относительно просто изготавливать и вводить.

Вакцину можно вводить с помощью электропорации, например, способом, описанным в Патенте США № 7664545, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки. Электропорация может быть осуществлена способом и/или устройством, описанным в Патентах США № 6302874; 5676646; 6241701; 6233482;

6216034; 6208893; 6192270; 6181964; 6150148; 6120493; 6096020; 6068650; и 5702359, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Электропорацию можно проводить с помощью минимально инвазивного устройства.

Устройство для минимально инвазивной электропорации («MID») может представлять собой устройство для инъекции вакцины, описанной выше, и связанной с ней жидкости в ткани организма. Устройство может содержать полую иглу, ДНК-кассету и средство доставки жидкости, где устройство приспособлено для приведения в действие средств доставки жидкости при использовании, чтобы одновременно (например, автоматически) вводить ДНК в ткань тела во время введения иглы в указанную ткань тела. Это имеет то преимущество, что возможность постепенного введения ДНК и связанной с ней жидкости во время введения иглы приводит к более равномерному распределению жидкости по тканям тела. Боль, возникающая во время инъекции, может быть уменьшена за счет распределения вводимой ДНК по большей площади.

MID может вводить вакцину в ткани без использования иглы. MID может вводить вакцину в виде небольшой струи или струи с такой силой, что вакцина прокалывает поверхность ткани и проникает в нижележащие ткани и/или мышцы. Сила позади небольшого потока или струи может быть обеспечена расширением сжатого газа, такого как диоксид углерода, через микроотверстие в течение доли секунды. Примеры минимально инвазивных устройств для электропорации и способы их использования описаны в публикации заявки на патент США № 20080234655; в Патенте США № 6472157; в Патенте США № 7171264; в Патенте США № 6208893; в Патенте США №. 6009347; в Патенте США № 6120493; в Патенте США № 7245963; в Патенте США №7328064; и в Патенте США № 6763264, содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

MID может содержать инжектор, создающий высокоскоростную струю жидкости, безболезненно проникающую в ткань. Такие безыгольные инжекторы имеются в продаже. Примеры безыгольных инжекторов, которые могут быть использованы в настоящем документе, включают описанные в патентах США № 3805783; 4447223; 5505697; и 4342310, содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

Желаемая вакцина в форме, подходящей для прямого или непрямого электротранспорта, может быть введена (например, инъекционно) с помощью безыгольного инжектора в ткань, подлежащую лечению, обычно путем контакта поверхности ткани с инжектором, чтобы активировать доставку струи агента с достаточной силой, чтобы вызвать проникновение вакцины в ткань. Например, если тканью, подлежащей лечению, является слизистая оболочка, кожа или мышцы, агент проецируется на слизистую оболочку или поверхность кожи с достаточной силой, чтобы вызвать проникновение агента через роговой слой в слои кожи или в подлежащие ткани и мышцы, соответственно.

Безыгольные инъекторы хорошо подходят для введения вакцин во все типы тканей, особенно в кожу и слизистые оболочки. В некоторых вариантах осуществления можно использовать безыгольный инъектор для подачи жидкости, содержащей вакцину, на поверхность и в кожу или слизистую оболочку объекта. Репрезентативные примеры различных типов тканей, которые можно лечить с использованием способов по изобретению, включают поджелудочную железу, гортань, носоглотку, гортаноглотку, ротоглотку, губу, горло, легкое, сердце, почку, мышцу, молочную железу, толстую кишку, предстательную железу, тимус, яичко, кожу, слизистую оболочку, яичник, кровеносные сосуды или любую их комбинацию.

MID может иметь игольчатые электроды, которые электропорировать ткань. Путем подачи импульсов между несколькими парами электродов в массиве из нескольких электродов, например, с прямоугольной или квадратной структурой, можно получить улучшенные результаты по сравнению с импульсами между парой электродов. Например, в Патенте США № 5702359, озаглавленном «Needle Electrodes for Mediated Delivery of Drugs and Genes», раскрыт набор игл, в котором во время терапевтического лечения может пульсировать множество пар игл. В этой заявке, которая включена сюда в качестве ссылки, как если бы она была полностью изложена, иглы были расположены в виде кругового массива, но имели соединители и переключающее устройство, обеспечивающее пульсацию между противоположными парами игольчатых электродов. Можно использовать пару игольчатых электродов для доставки рекомбинантных экспрессирующих векторов в клетки. Такое устройство и система описаны в патенте США № 6763264, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки. В качестве альтернативы можно использовать устройство с одной иглой, которое позволяет проводить инъекцию ДНК и электропорацию с помощью одной иглы, напоминающей обычную иглу для инъекций, и подавать импульсы более низкого напряжения, чем те, которые доставляют используемые в настоящее время устройства, тем самым уменьшая электрические ощущения, испытываемые пациентом.

MID может содержать один или более массивов электродов. Массивы могут содержать две или более игл одинакового диаметра или разных диаметров. Иглы могут быть расположены на равном или неравномерном расстоянии друг от друга. Иглы могут быть от 0,005 дюйма до 0,03 дюйма, от 0,01 дюйма до 0,025 дюйма; или от 0,015 дюйма до 0,020 дюйма. Игла может иметь диаметр 0,0175 дюйма. Расстояние между иглами может составлять 0,5 мм, 1 мм, 1,5 мм, 2 мм, 2,5 мм, 3 мм, 3,5 мм, 4 мм или более.

MID может состоять из генератора импульсов и инъекторов вакцины с двумя или более иглами, которые доставляют вакцину и импульсы электропорации за одну стадию. Генератор импульсов может обеспечивать гибкое программирование параметров импульса и инъекции с помощью персонального компьютера с флэш-картой, а также всестороннюю запись и хранение данных электропорации и данных пациента. Генератор импульсов может подавать различные импульсы напряжения в течение коротких периодов времени. Например, генератор импульсов может выдавать три 15-вольтовых

импульса длительностью 100 мс. Примером такого MID является система Elgen 1000 от Inovio Biomedical Corporation, описанная в патенте США № 7328064, содержание которого включено в настоящее описание в качестве ссылки.

MID может представлять собой устройство и систему CELLECTRA (Inovio Pharmaceuticals, Blue Bell PA), которая представляет собой модульную электродную систему, облегчающую введение макромолекулы, такой как ДНК, в клетки выбранной ткани организма или растения. Модульная электродная система может содержать множество игольчатых электродов; иглу для подкожных инъекций; электрический разъем, обеспечивающий проводящую связь от программируемого контроллера импульсов постоянного тока к множеству игольчатых электродов; и источник питания. Оператор может захватить множество игольчатых электродов, установленных на опорной конструкции, и прочно вставить их в выбранную ткань тела или растения. Затем макромолекулы доставляются через иглу для подкожных инъекций в выбранную ткань. Активируется программируемый контроллер импульсов постоянного тока, и электрический импульс постоянного тока подается на множество игольчатых электродов. Приложенный электрический импульс постоянного тока облегчает введение макромолекулы в клетку между множеством электродов. Гибель клеток из-за перегрева клеток сводится к минимуму за счет ограничения рассеивания мощности в ткани за счет импульсов постоянного тока. Устройство и система Collectra описаны в Патенте США № 7245963, содержание которого включено в настоящее описание в качестве ссылки.

MID может представлять собой систему Elgen 1000 (Inovio Pharmaceuticals). Система Elgen 1000 может включать устройство с полый иглой; и средства доставки жидкости, где устройство приспособлено для приведения в действие средств доставки жидкости при использовании, чтобы одновременно (например, автоматически) вводить жидкость, описанную здесь вакцину, в ткань тела во время введения иглы в указанную ткань тела. Преимущество заключается в возможности постепенного введения жидкости во время введения иглы, что приводит к более равномерному распределению жидкости по тканям тела. Также считается, что боль, возникающая во время инъекции, уменьшается за счет распределения объема вводимой жидкости по большей площади.

Кроме того, автоматическая инъекция жидкости облегчает автоматический контроль и регистрацию фактической дозы вводимой жидкости. При желании эти данные могут быть сохранены блоком управления для документирования.

Следует понимать, что скорость инъекции может быть как линейной, так и нелинейной, и что инъекцию можно проводить после введения игл через кожу объекта, подлежащего лечению, и во время их дальнейшего введения в ткани тела.

Подходящие ткани, в которые может быть введена жидкость с помощью устройства по настоящему изобретению, включают опухолевую ткань, кожу или ткань печени, но могут быть и мышечной тканью.

Устройство дополнительно содержит средство для введения иглы, направляющее введение иглы в ткань тела. Скорость введения жидкости регулируется скоростью

введения иглы. Преимущество этого состоит в том, что введением иглы и введением жидкости можно управлять так, чтобы скорость введения можно было согласовать со скоростью введения по желанию. Это также упрощает работу с устройством для пользователя. При желании могут быть предусмотрены средства для автоматического введения иглы в ткани тела.

Пользователь может выбирать, когда начинать закачку жидкости. В идеале, однако, инъекцию начинают, когда кончик иглы достигает мышечной ткани, и устройство может включать средства для определения момента введения иглы на достаточную глубину для начала инъекции жидкости. Это означает, что инъекция жидкости может начаться автоматически, когда игла достигнет желаемой глубины (обычно это глубина, на которой начинается мышечная ткань). Глубина, на которой начинается мышечная ткань, может быть принята, например, как заданная глубина введения иглы, такая как значение 4 мм, которое считается достаточным для того, чтобы игла прошла через слой кожи.

Средство обнаружения может содержать ультразвуковой датчик. Средства измерения могут содержать средства обнаружения изменения импеданса или сопротивления. В этом случае средство само по себе может не регистрировать глубину проникновения иглы в ткань тела, а скорее будет приспособлено для определения изменения импеданса или сопротивления при перемещении иглы из другого типа ткани тела в мышцу. Любой из этих вариантов обеспечивает относительно точное и простое в эксплуатации средство обнаружения начала инъекции. Глубина введения иглы может быть дополнительно записана, если это необходимо, и может быть использована для управления введением жидкости таким образом, что объем вводимой жидкости определяется по мере регистрации глубины введения иглы.

Устройство может дополнительно содержать: основание для поддержки иглы; и корпус для размещения в нем основания, где основание выполнено с возможностью перемещения относительно корпуса, так что игла втягивается внутрь корпуса, когда основание находится в первом заднем положении относительно корпуса, и игла выходит из корпуса, когда основание находится во втором переднем положении внутри корпуса. Это выгодно для пользователя, так как корпус можно выровнять на коже пациента, а затем иглы можно ввести в кожу пациента, перемещая корпус относительно основания.

Как указывалось выше, желательно достичь регулируемой скорости введения жидкости, чтобы жидкость равномерно распределялась по длине иглы, когда она вводится в кожу. Средство подачи жидкости может содержать средство привода поршня, выполненное с возможностью впрыскивания жидкости с регулируемой скоростью. Средство привода поршня может, например, приводиться в действие серводвигателем. Однако средство привода поршня может приводиться в действие за счет перемещения основания в осевом направлении относительно корпуса. Следует понимать, что могут быть предоставлены альтернативные средства для доставки жидкости. Так, например, вместо системы шприц-поршень может быть предусмотрен закрытый контейнер, который можно сжимать для доставки жидкости с контролируемой или неконтролируемой

скоростью.

Описанное выше устройство можно использовать для инъекций любого типа. Однако предполагается, что оно будет особенно полезно в области электропорации, и поэтому оно может дополнительно содержать средства подачи напряжения на иглу. Это позволяет использовать иглу не только для инъекций, но и в качестве электрода во время электропорации. Это особенно выгодно, поскольку означает, что электрическое поле прикладывается к той же области, что и нагнетаемая жидкость. Традиционно с электропорацией существовала проблема, заключающаяся в том, что очень трудно точно выровнять электрод с ранее введенной жидкостью, и поэтому пользователи, как правило, вводят больший объем жидкости, чем требуется, на большую площадь и прикладывают электрическое поле к более высокой площади, чтобы попытаться гарантировать перекрытие между введенным веществом и электрическим полем. Используя настоящее изобретение, можно уменьшить как объем нагнетаемой текучей среды, так и величину приложенного электрического поля при одновременном достижении хорошего соответствия между электрическим полем и текучей средой.

Набор

В настоящем документе предложен набор, который можно использовать для лечения объекта с использованием способа вакцинации, описанного выше. В одном варианте осуществления набор может содержать вакцину. В другом варианте осуществления набор может содержать молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую RBD-NP по изобретению.

Набор может также содержать инструкции по осуществлению способа вакцинации, описанного выше, и/или инструкции по использованию набора. Инструкции, включенные в комплект, могут быть прикреплены к упаковочному материалу или могут быть включены в виде листка-вкладыша. Хотя инструкции обычно представляют собой письменные или печатные материалы, они не ограничиваются ими. Любая среда, способная хранить инструкции и передавать их конечному пользователю, рассматривается в настоящем описании. Такие носители включают, но не ограничиваются ими, электронные носители данных (например, магнитные диски, ленты, картриджи), оптические носители (например, CD-ROM) и т. п. Используемый в настоящем описании термин «инструкции» может включать адрес интернет-сайта, который предоставляет инструкции.

Настоящее изобретение имеет множество аспектов, проиллюстрированных следующими неограничивающими примерами.

Примеры

Пример 1

Представленные в настоящем описании данные демонстрируют разработку вакцин против SARS-CoV2 с повышенной эффективностью. Были разработаны каркасы, объединяющие связывающие домены RBD с поливалентными самособирающимися ДНК-запускаемыми наночастицами (Фигура 1 и Фигура 4). Данные демонстрируют, что

вакцины приводят к быстрой индукции сероконверсии иммуногенами, быстрой индукции нейтрализующих титров (Фигура 3) и общей более высокой иммунной активности (Фигура 2).

Последовательности:

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Тип последовательности</u>	<u>Описание</u>
1	нуклеотид	SARS-CoV-2_RBD
2	аминокислота	SARS-CoV-2_RBD
3	Нуклеотид	SARS-CoV-2_RBD_2
4	Аминокислота	SARS-CoV-2_RBD_2
5	Нуклеотид	SARS-CoV-2_RBD_3
6	Аминокислота	SARS-CoV-2_RBD_3
7	Нуклеотид	SARS-CoV-2_RBD_4
8	Аминокислота	SARS-CoV-2_RBD_4
9	Нуклеотид	SARS-CoV-2_RBD димер
10	Аминокислота	SARS-CoV-2_RBD димер
11	Нуклеотид	180
12	Аминокислота	180
13	Нуклеотид	FR
14	Аминокислота	FR
15	Нуклеотид	IMX
16	Аминокислота	IMX
17	Нуклеотид	IMX_2
18	Аминокислота	IMX_2
19	Нуклеотид	LS
20	Аминокислота	LS
21	Нуклеотид	LS3_RBD_gJohn_180_pVAX
22	Аминокислота	LS3_RBD_gJohn_180_pVAX
23	Нуклеотид	LS3_RBD_gKylie_180_pVAX
24	Аминокислота	LS3_RBD_gKylie_180_pVAX
25	Нуклеотид	LS3_RBD_gDan_180_pVAX
26	Аминокислота	LS3_RBD_gDan_180_pVAX
27	Нуклеотид	LS3_RBD_gPenta_180_pVAX
28	Аминокислота	LS3_RBD_gPenta_180_pVAX
29	Нуклеотид	LS3_RBD_gJohn_FR_pVAX
30	Аминокислота	LS3_RBD_gJohn_FR_pVAX
31	Нуклеотид	LS3_RBD_gKylie_FR_pVAX
32	Аминокислота	LS3_RBD_gKylie_FR_pVAX
33	Нуклеотид	LS3_RBD_gDan_FR_pVAX
34	Аминокислота	LS3_RBD_gDan_FR_pVAX
35	Нуклеотид	LS3_RBD_gPenta_FR_pVAX
36	Аминокислота	LS3_RBD_gPenta_FR_pVAX
37	Нуклеотид	LS3_RBD_gJohn_IMX_pVAX
38	Аминокислота	LS3_RBD_gJohn_IMX_pVAX
39	Нуклеотид	LS3_RBD_gKylie_IMX_pVAX
40	Аминокислота	LS3_RBD_gKylie_IMX_pVAX
41	Нуклеотид	LS3_RBD_gDan_IMX_pVAX
42	Аминокислота	LS3_RBD_gDan_IMX_pVAX
43	Нуклеотид	LS3_RBD_gPenta_IMX_pVAX
44	Аминокислота	LS3_RBD_gPenta_IMX_pVAX

45	Нуклеотид	LS3_RBD_gPenta_IMX_6His_pVAX
46	Аминокислота	LS3_RBD_gPenta_IMX_6His_pVAX
47	Нуклеотид	RBD_gPenta димер_IMX_pVAX
48	Аминокислота	RBD_gPenta димер_IMX_pVAX
49	Нуклеотид	RBDg5_IMX_RBDg5_pVAX
50	Аминокислота	RBDg5_IMX_RBDg5_pVAX
51	Нуклеотид	RBD_gJohn_LS_pVAX
52	Аминокислота	RBD_gJohn_LS_pVAX
53	Нуклеотид	RBD_gKylie_LS_pVAX
54	Аминокислота	RBD_gKylie_LS_pVAX
55	Нуклеотид	RBD_gDan_LS_pVAX
56	Аминокислота	RBD_gDan_LS_pVAX
57	Нуклеотид	RBD_gPenta_LS_pVAX
58	Аминокислота	RBD_gPenta_LS_pVAX
59	Нуклеотид	RBD_gPenta_LS_short_pVAX
60	Аминокислота	RBD_gPenta_LS_short_pVAX
61	нуклеотид	NTD_gTri4_LS3_RBD_gPenta_pVAX
62	аминокислота	NTD_gTri4_LS3_RBD_gPenta_pVAX
63	нуклеотид	NTD_LS3_RBD_gPenta_pVAX
64	аминокислота	NTD_LS3_RBD_gPenta_pVAX
65	нуклеотид	NTD_gTri4_LS3_RBD_g5_IMX_pVAX
66	аминокислота	NTD_gTri4_LS3_RBD_g5_IMX_pVAX
67	нуклеотид	RBD_g5 димер_LS_pVAX
68	аминокислота	RBD_g5 димер_LS_pVAX

Понятно, что приведенное выше подробное описание и сопровождающие примеры являются просто иллюстративными и не должны рассматриваться как ограничения объема изобретения, который определяется исключительно прилагаемой формулой изобретения и ее эквивалентами.

Специалистам в данной области техники будут очевидны различные изменения и модификации раскрытых вариантов осуществления. Такие изменения и модификации, в том числе, без ограничений, относящиеся к химическим структурам, заместителям, производным, промежуточным продуктам, синтезам, композициям, составам или способам применения изобретения, могут быть сделаны без отклонения от его сущности и объема.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Иммуногенная композиция, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2, где молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(a) нуклеотидной последовательности, кодирующей пептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8;

(b) нуклеотидной последовательности, кодирующей пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8;

(c) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8; и

(d) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8.

2. Иммуногенная композиция по п. 1, где молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(a) нуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7;

(b) последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7;

(c) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждая из кодирующих последовательностей имеет по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7; и

(d) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждая из кодирующих последовательностей содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7.

3. Иммуногенная композиция по п. 1, где молекула нуклеиновой кислоты дополнительно кодирует домен олигомеризации, выбранный из группы, состоящей из:

(a) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной

последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 и SEQ ID NO:20; и

(b) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 и SEQ ID NO:20.

4. Иммуногенная композиция по п. 3, где нуклеотидная последовательность, кодирующая домен олигомеризации, выбрана из группы, состоящей из:

(a) нуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 и SEQ ID NO:19; и

(b) нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 и SEQ ID NO:19.

5. Иммуногенная композиция по п. 1, где молекула нуклеиновой кислоты кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(a) аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68;

(b) аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68; и

(c) фрагмента, содержащего по меньшей мере 60% полноразмерной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68.

6. Иммуногенная композиция по п. 5, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(a) нуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90%

идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:67;

(b) нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:67; и

(c) фрагмента, содержащего по меньшей мере 60% полноразмерной нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:67.

7. Иммуногенная композиция по п. 1, где молекула нуклеиновой кислоты содержит экспрессирующий вектор.

8. Иммуногенная композиция по п. 1, где молекула нуклеиновой кислоты встроена в вирусную частицу.

9. Иммуногенная композиция по п. 1, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

10. Иммуногенная композиция по п. 1, дополнительно содержащая адъювант.

11. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую рецептор-связывающий домен (RBD) шиповидного белка SARS-CoV-2, где молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(a) нуклеотидной последовательности, кодирующей пептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8;

(b) нуклеотидной последовательности, кодирующей пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8;

(c) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID

NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8; и

(d) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO: 8.

12. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 11, где молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(a) нуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7;

(b) последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7;

(c) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждая из кодирующих последовательностей имеет по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7; и

(d) нуклеотидной последовательности, кодирующей по меньшей мере два пептида, где каждая из кодирующих последовательностей содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:7.

13. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 11, где молекула нуклеиновой кислоты дополнительно кодирует домен олигомеризации, выбранный из группы, состоящей из:

(a) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 и SEQ ID NO:20; и

(b) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 и SEQ ID NO:20.

14. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 13, где нуклеотидная последовательность, кодирующая домен олигомеризации, выбрана из группы, состоящей из:

(a) нуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 и SEQ ID NO:19; и

(b) нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17 и SEQ ID NO:19.

15. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 11, где нуклеотидная последовательность кодирует самособирающуюся наночастицу, содержащую аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(а) аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68;

(b) аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68; и

(с) фрагмента, содержащего по меньшей мере 60% полноразмерной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68.

16. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 15, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая самособирающуюся наночастицу, содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(а) нуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:67;

(b) нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:67; и

(с) фрагмента, содержащего по меньшей мере 60% полноразмерной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:31, SEQ ID

NO:33, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:67.

17. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 11, где молекула нуклеиновой кислоты содержит экспрессирующий вектор.

18. Пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(а) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8;

(b) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8;

(с) аминокислотной последовательности, содержащей по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8; и

(d) аминокислотной последовательности, содержащей по меньшей мере два пептида, где каждый из по меньшей мере двух пептидов содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 и SEQ ID NO:8.

19. Пептид по п. 18, дополнительно содержащий домен олигомеризации, выбранный из группы, состоящей из:

(а) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 и SEQ ID NO:20; и

(b) пептида, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18 и SEQ ID NO:20.

20. Пептид по п. 18, содержащий самособирающуюся наночастицу, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(а) аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере примерно 90% идентичности по всей длине аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ

ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68;

(b) аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68; и

(c) фрагмента, содержащего по меньшей мере 60% полноразмерной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66 и SEQ ID NO:68

21. Способ индукции иммунного ответа против коронавируса SARS 2 (SARS-CoV-2) у пациента, включающий введение пациенту иммуногенной композиции по п. 1, молекулы нуклеиновой кислоты по п. 11 или пептида по п. 18.

22. Способ по п. 21, где введение включает по меньшей мере одно из электропорации и инъекции.

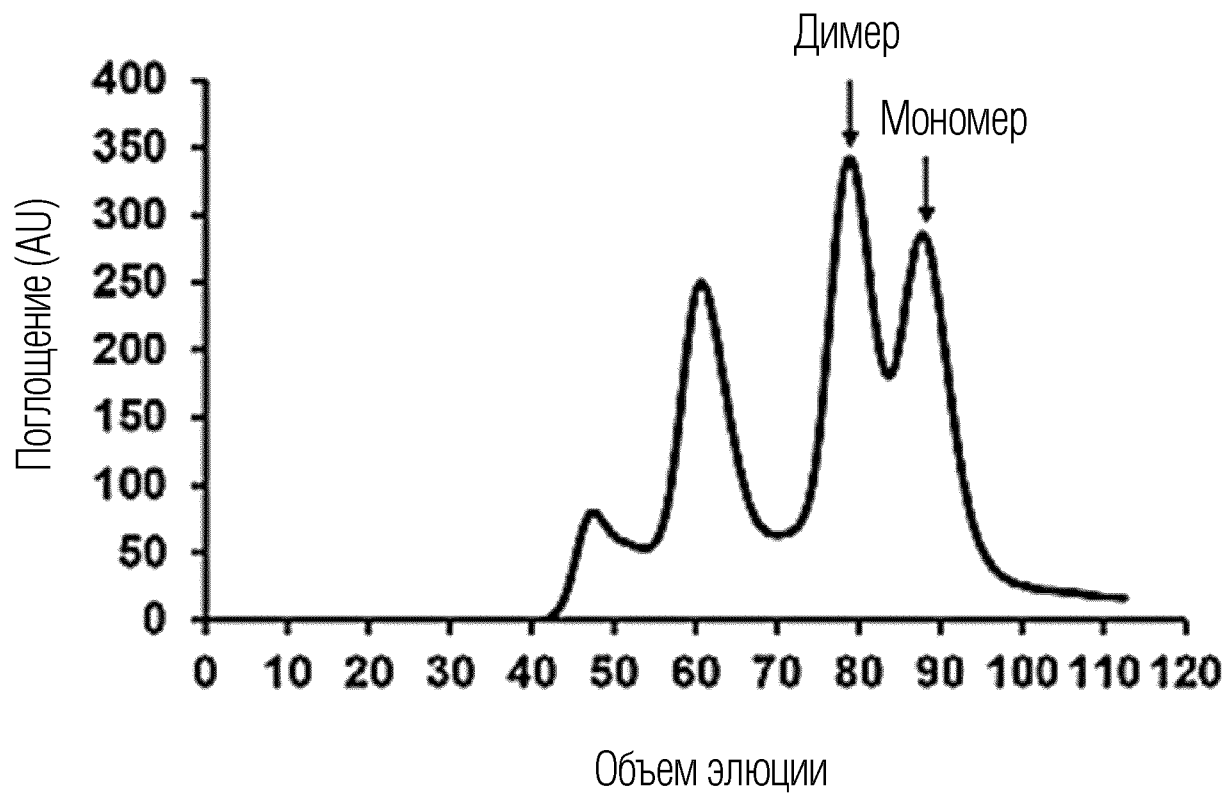
23. Способ защиты пациента от инфекции SARS-CoV-2, включающий введение пациенту иммуногенной композиции по п. 1, молекулы нуклеиновой кислоты по п. 11 или пептида по п. 18.

24. Способ по п. 23, где введение включает по меньшей мере одно из электропорации и инъекции.

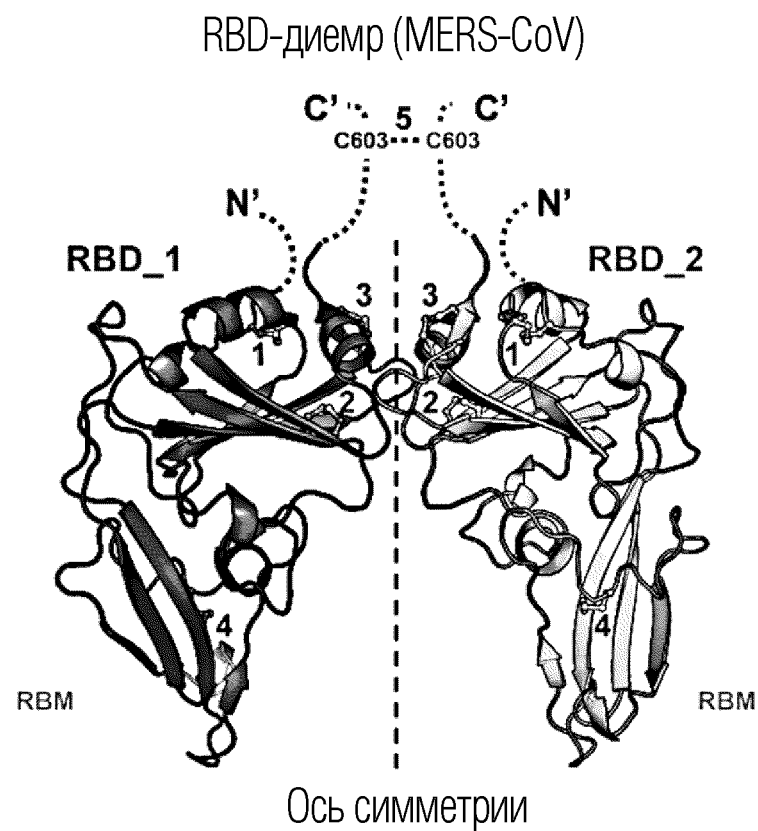
25. Способ лечения пациента от SARS-CoV-2, включающий введение пациенту иммуногенной композиции по п. 1, молекулы нуклеиновой кислоты по п. 11 или пептида по п. 18, где пациент в результате устойчив к одному или более штаммам SARS-CoV-2.

26. Способ по п. 25, где введение включает по меньшей мере одно из электропорации и инъекции.

По доверенности

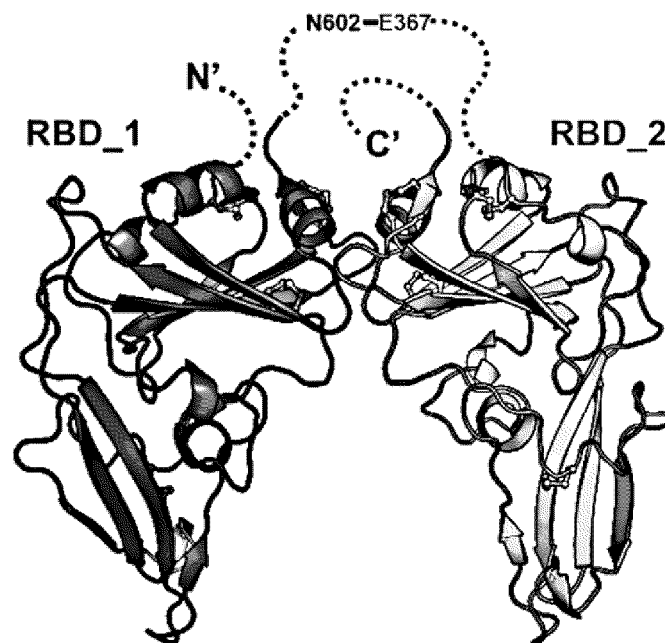


ФИГ. 1



Одноцепочечный димер RBD (MERS-CoV)

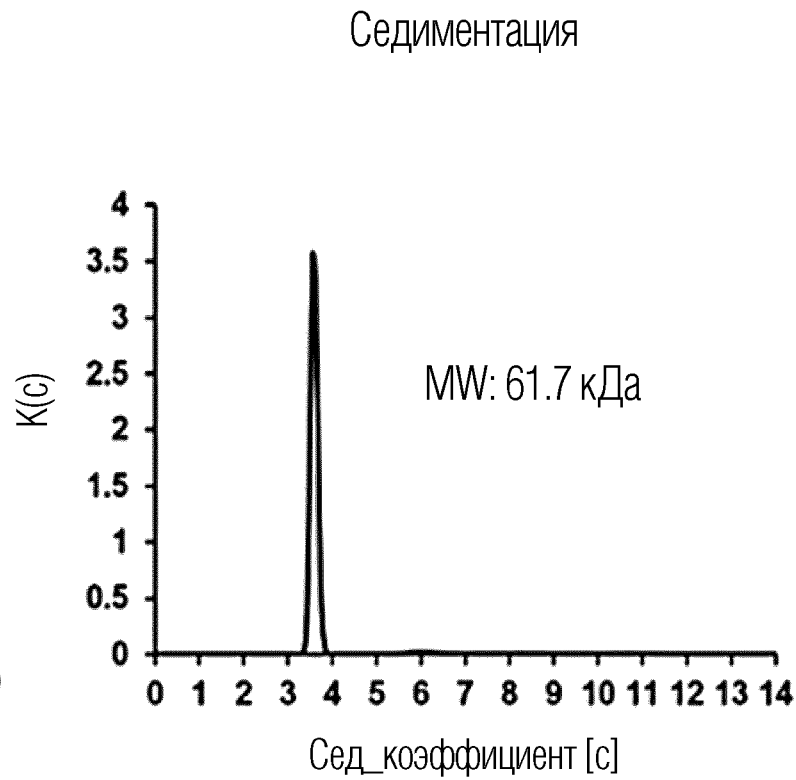
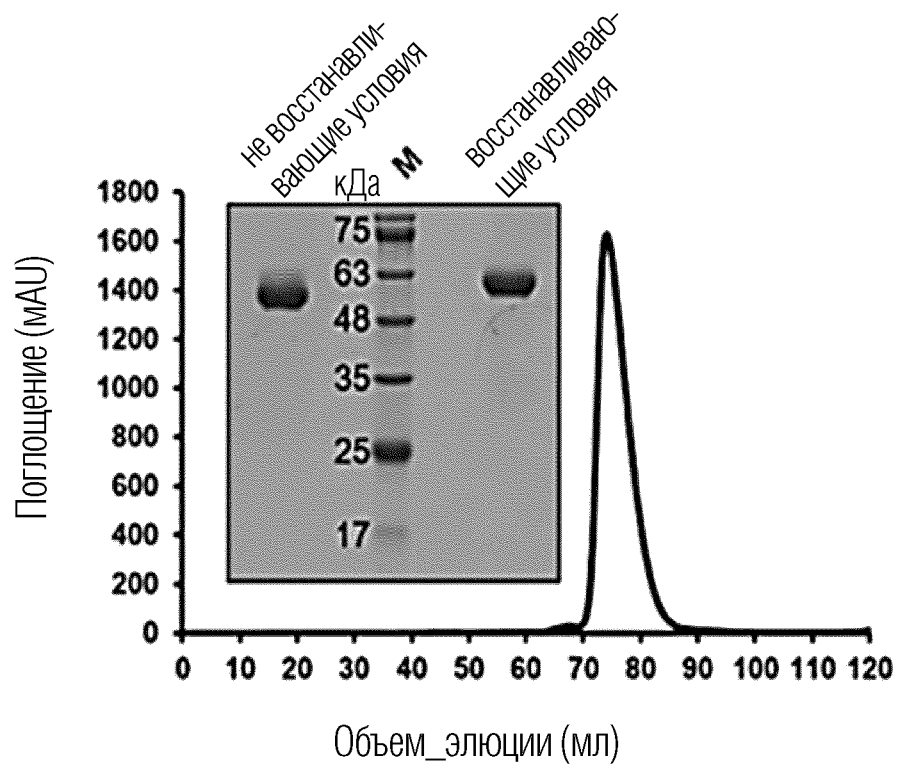
SP	RBD_1 (E367-N602)	RBD_2 (E367-N602)
----	-------------------	-------------------



ФИГ. 1 (продолжение)

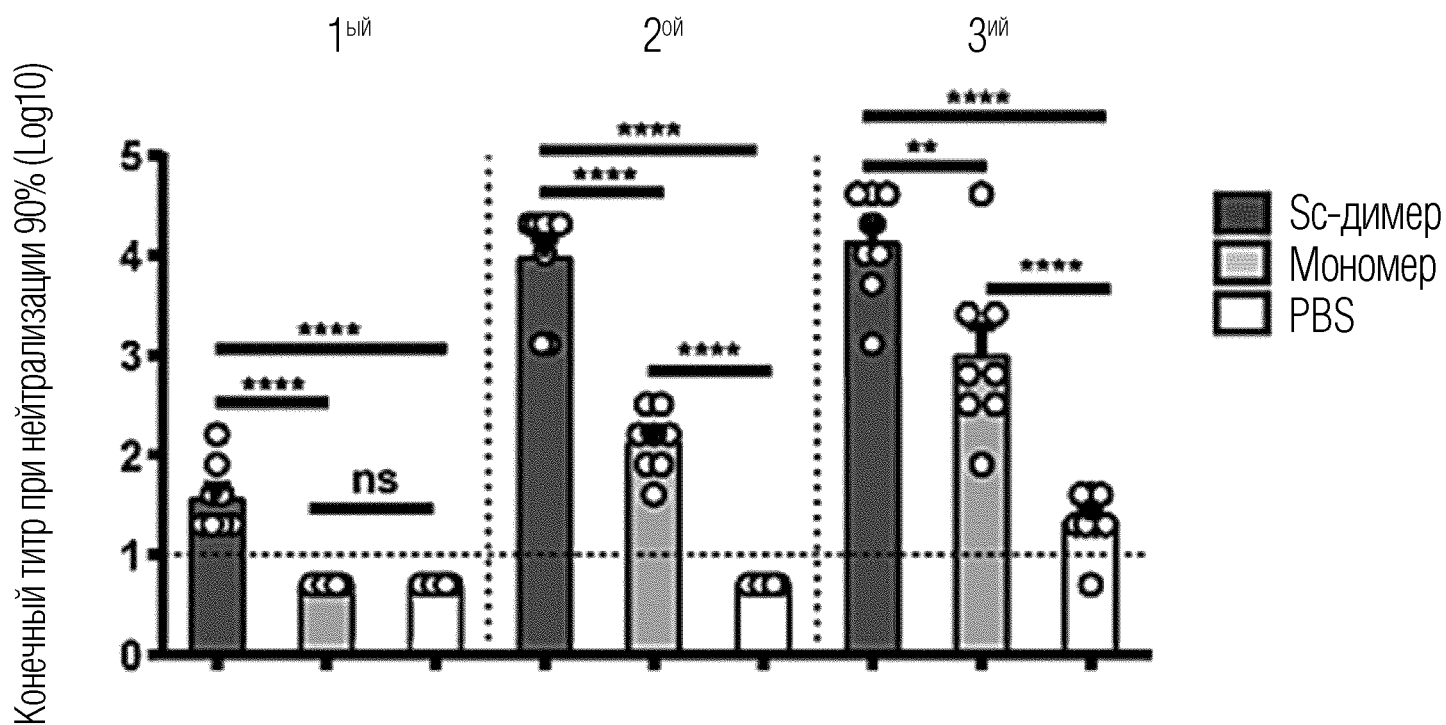
RBD-sc-димер (SARS-CoV)

SP	RBD_1 (R319-K537)	RBD_2 (R319-K537)
----	-------------------	-------------------



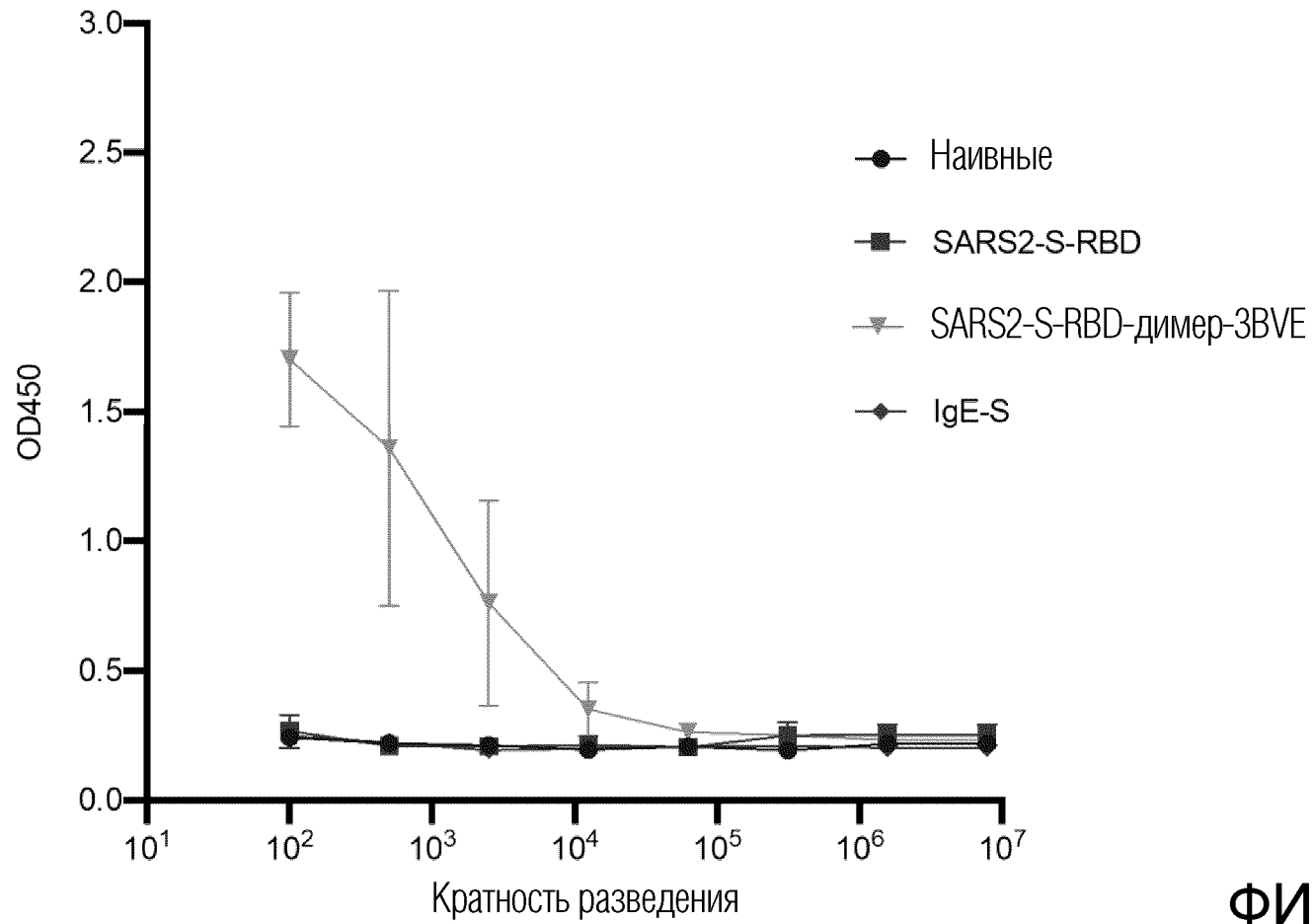
ФИГ. 1 (продолжение)

Нейтрализация псевдовируса (SARS-CoV-2)



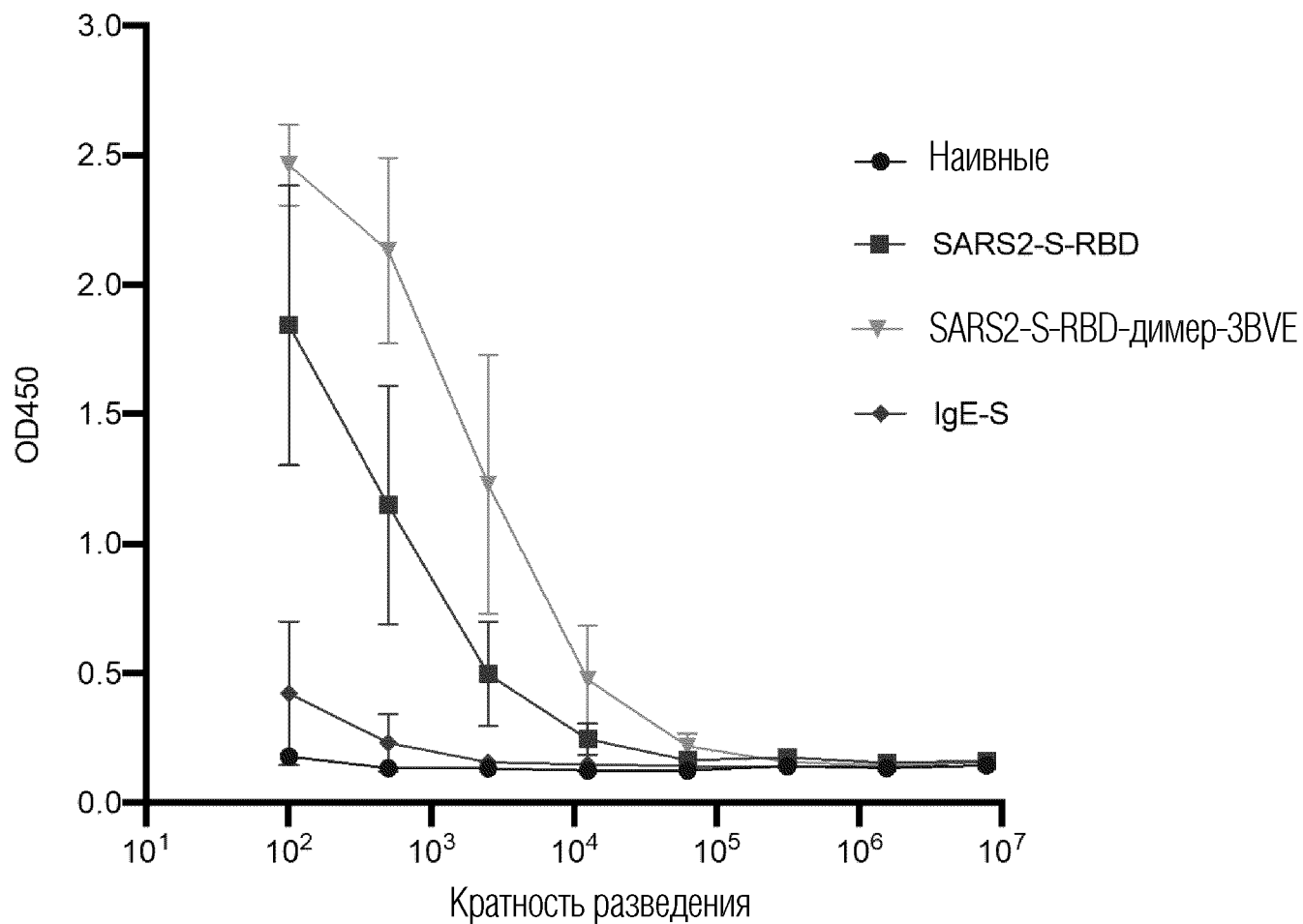
ФИГ. 1 (продолжение)

RBD-димер NP связывание Нед.1 (конденсированные)



ФИГ. 2

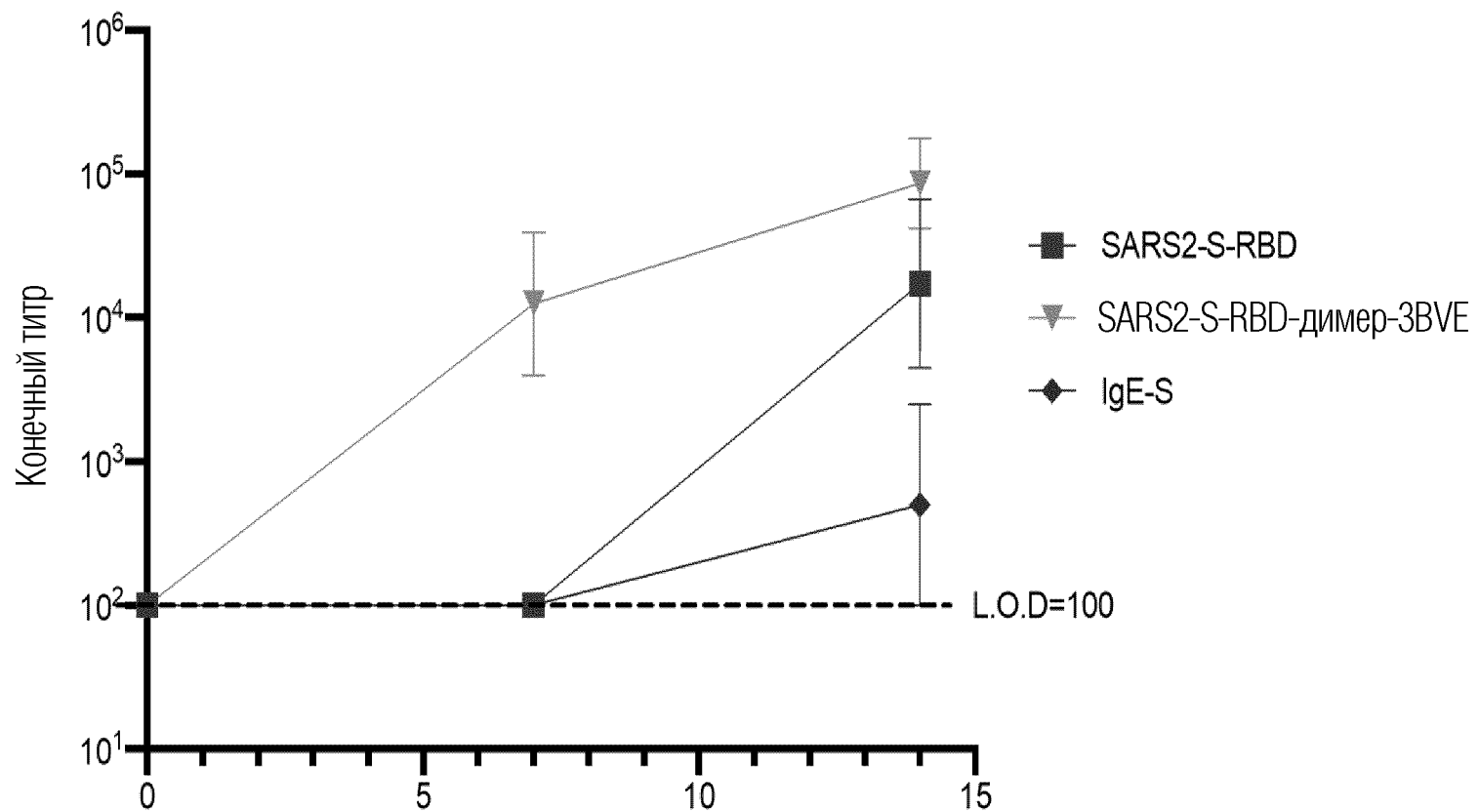
RBD-димер NP связывание Нед.2 (конденсированные)



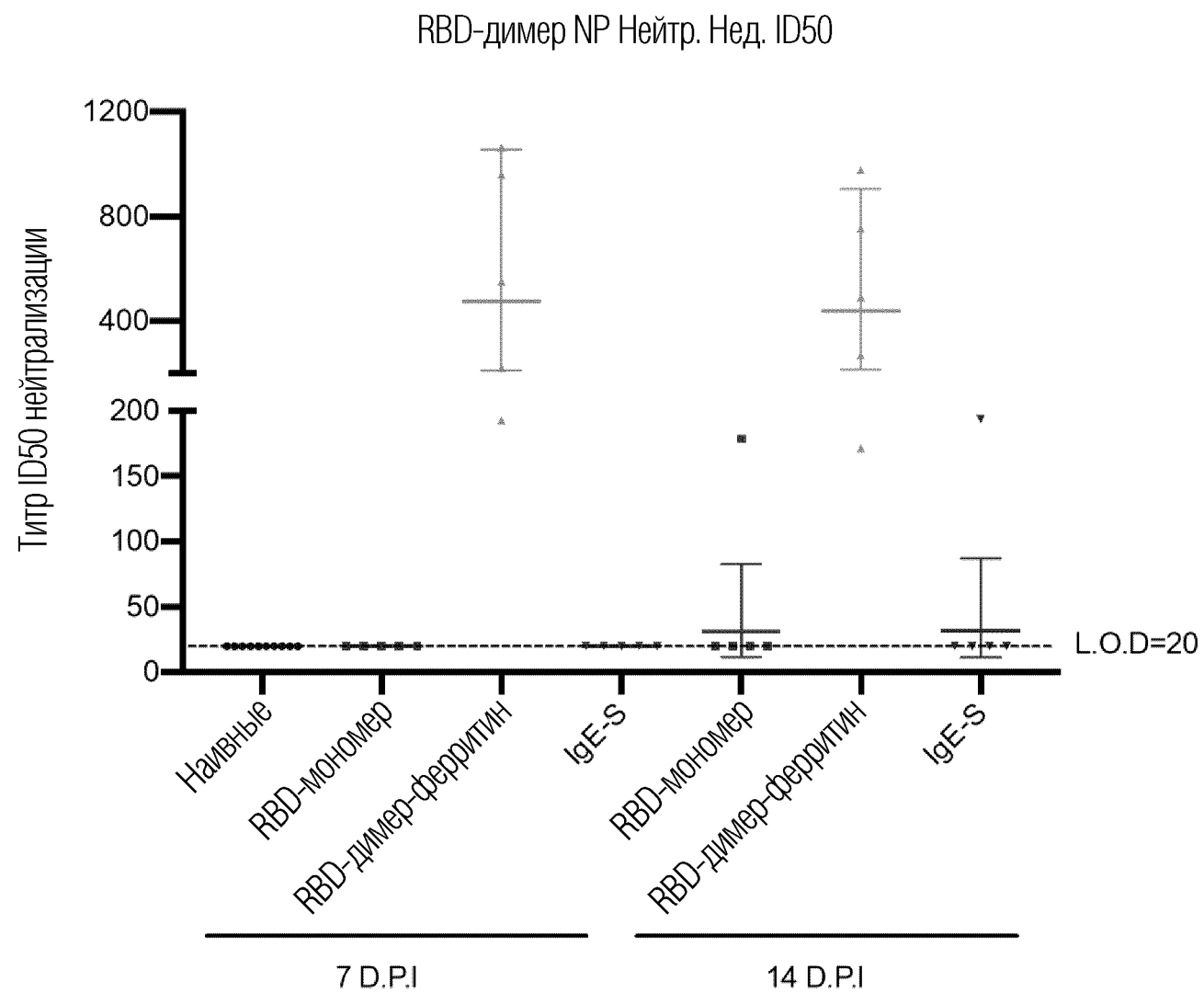
ФИГ. 2 (продолжение)

Конечный титр RBD

Конечный титр в зависимости от времени

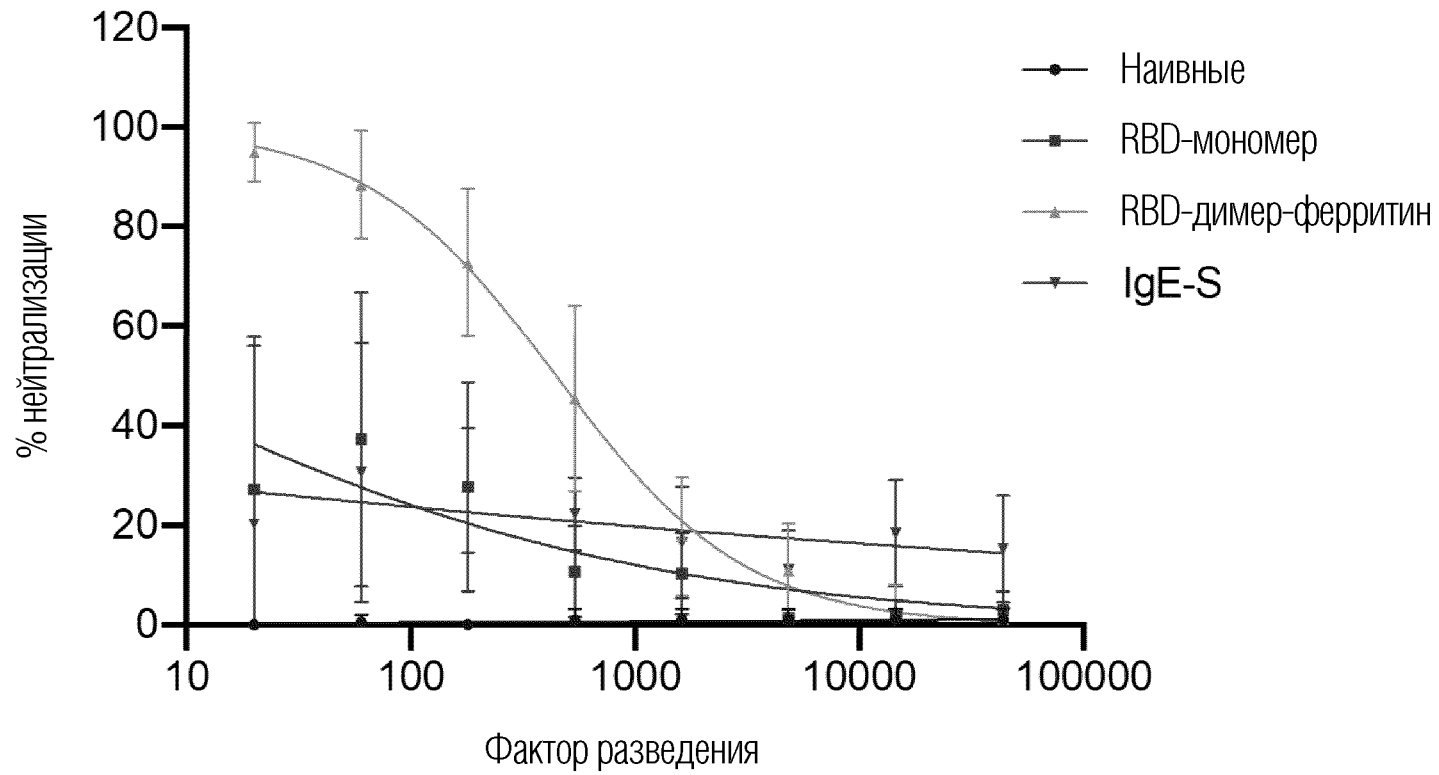


ФИГ. 2 (продолжение)



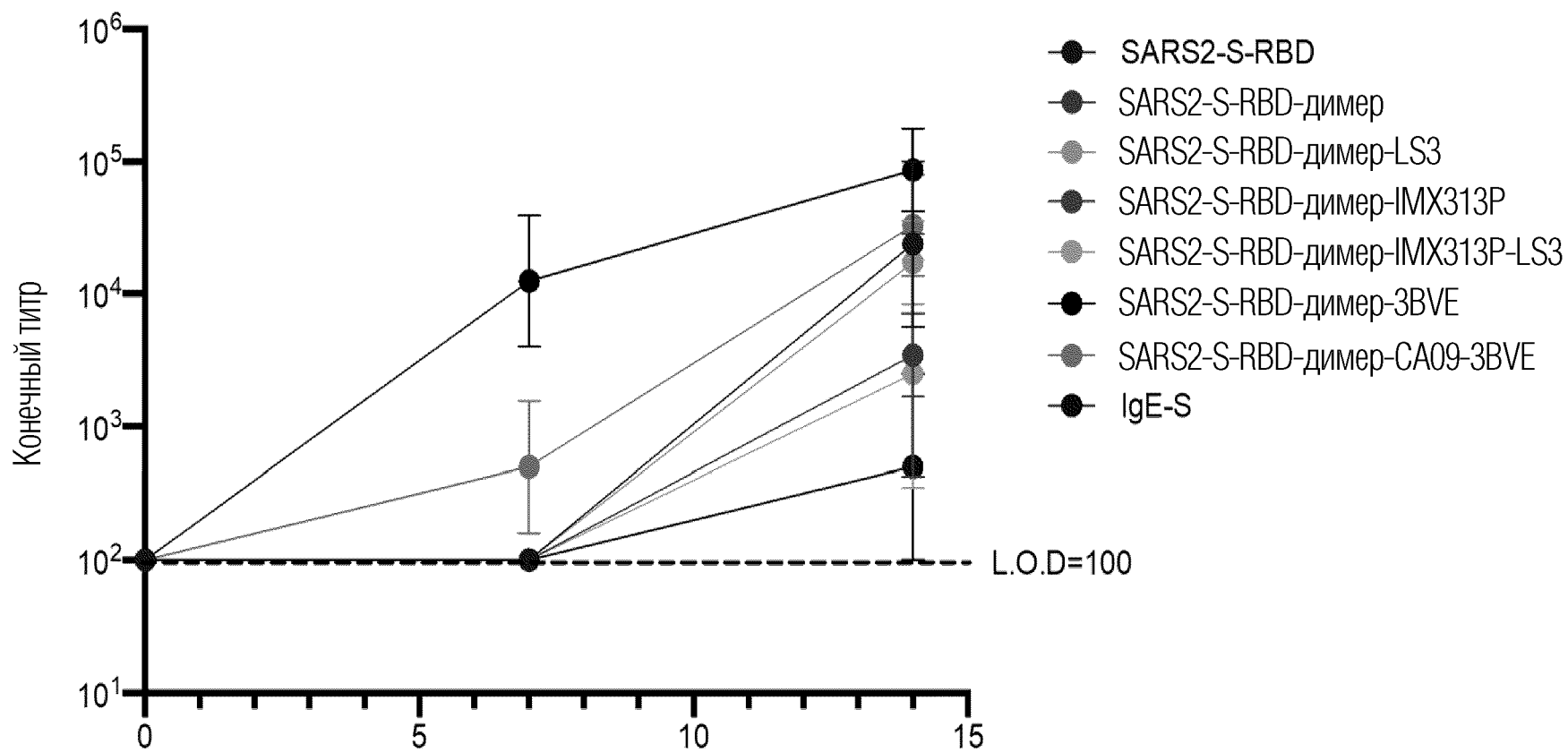
ФИГ. 3

RBD-димер NP Нейтр. Нед.2 (%Нейтр.)



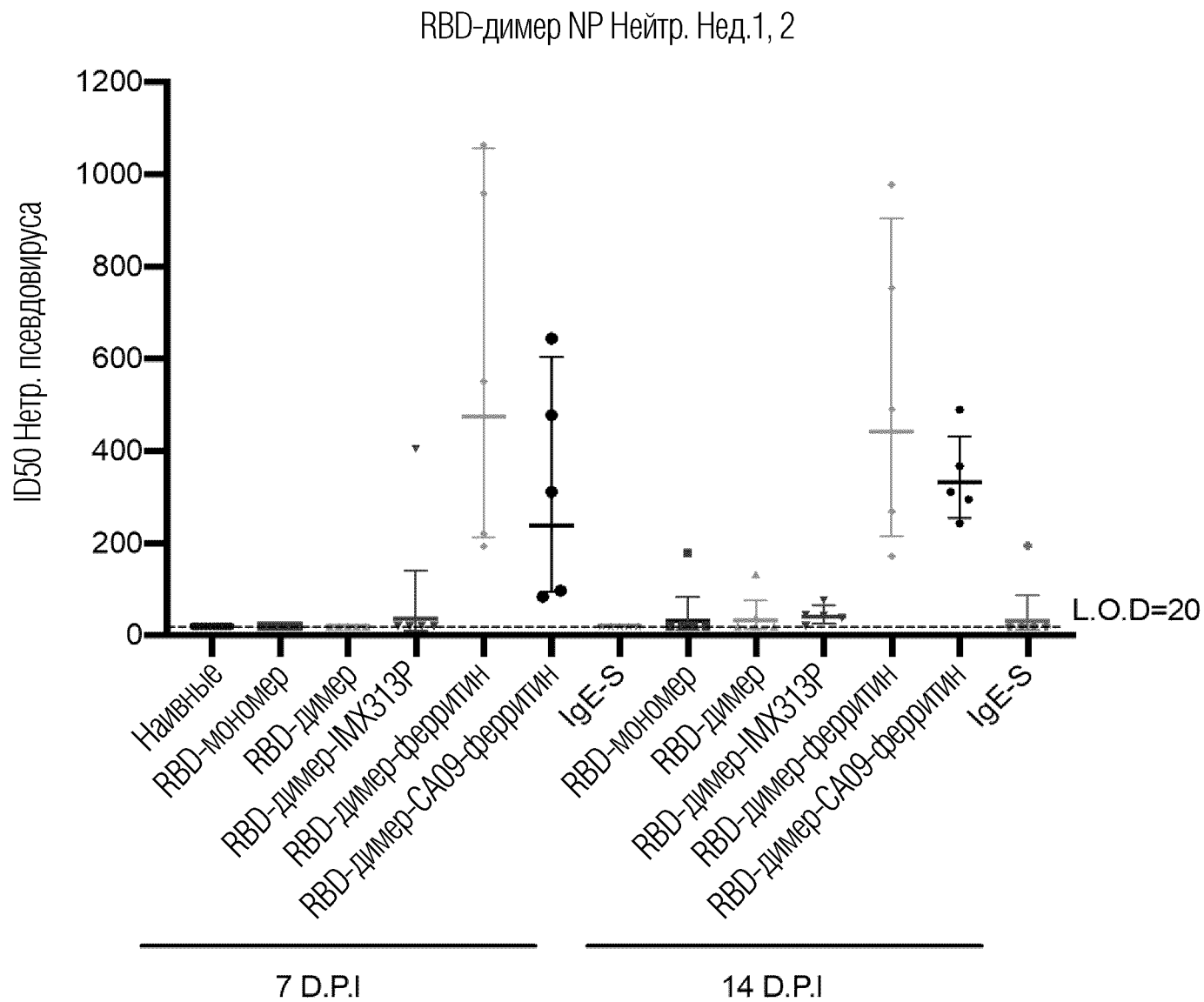
ФИГ. 3 (продолжение)

Конечный титр в зависимости от времени



10/11

ФИГ. 4



ФИГ. 4 (продолжение)