



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0108987
(43) 공개일자 2013년10월07일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/385 (2006.01) *A61K 39/39* (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-7030972
- (22) 출원일자(국제) 2011년05월26일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2012년11월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/038200
- (87) 국제공개번호 WO 2011/150249
 국제공개일자 2011년12월01일
- (30) 우선권주장
 61/348,713 2010년05월26일 미국(US)
 (뒷면에 계속)
- (71) 출원인
 셀렉타 바이오사이언시즈, 임크.
 미국 02472 매사추세츠주 워터타운 빌딩 원 아스
 날 스트리트 480
- (72) 발명자
 브래트즐러, 로버트, 엘.
 미국 01742 매사추세스 콘코드 반스 힐 로드 84
 존스톤, 로이드
 미국 02478 매사추세스 벨몬트 오클리 로드 24
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 양영준, 양영환

전체 청구항 수 : 총 132 항

(54) 발명의 명칭 다가 합성 나노담체 백신

(57) 요 약

본 발명은 적어도 부분적으로 상이한 세트의 항원을 포함하는 합성 나노담체의 집단을 포함하는 조성물뿐만 아니라 관련 방법에 관한 것이다.

(72) 발명자

립포드, 그레이슨, 비.

미국 02472 매사추세스 워터타운 그렌빌 로드 45

젭, 찰스

미국 01037 매사추세스 하드윅 피.오. 박스 347 노
스 로드 940

(30) 우선권주장

61/348,717 2010년05월26일 미국(US)

61/348,728 2010년05월26일 미국(US)

61/358,635 2010년06월25일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체;
 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체; 및
 약제학적으로 허용되는 부형제;
 를 포함하는 투여형을 포함하며,
 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원이 구조적으로 상이한, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 유형의 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 제2 세트의 표면 항원은 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 유형의 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 속으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 속으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 제1 감염성 속과 제2 감염성 속은 동일한, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 종으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 종으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 제1 감염성 종과 제2 감염성 종은 동일한, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 균주로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 균주로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 제1 감염성 균주와 제2 감염성 균주는 동일한, 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 아데노바이러스과(Adenoviridae), 피코나바이러스과(Picornaviridae), 포진바이러스과(Herpesviridae), 헤파드나바이러스과(Hepadnaviridae), 플라비바이러스과(Flaviviridae), 레트로바이러스과(Retroviridae), 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae), 파라믹소바이러스과(Paramyxoviridae), 파필로마바이러스과(Papillomaviridae), 라브도바이러스과(Rhabdoviridae), 토가바이러스과(Togaviridae) 또는 파로바이러스과(Paroviridae) 과(family)의 바

이러스로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 아데노바이러스(adenovirus), 콕사키 바이러스(coxsackievirus), A형 간염 바이러스, 폴리오바이러스(poliovirus), 리노바이러스(Rhinovirus), 단순 포진 바이러스, 수두-대상포진 바이러스(Varicella-zoster virus), 엠스탈인-바 바이러스(Epstein-barr virus), 사람 거대세포바이러스(Human cytomegalovirus), 사람 포진바이러스(Human herpesvirus), B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 황열병 바이러스(yellow fever virus), 뎅기 바이러스(dengue virus), 웨스트 나일 바이러스(West Nile virus), HIV, 인플루엔자 바이러스(Influenza virus), 홍역 바이러스(Measles virus), 볼거리 바이러스(Mumps virus), 파라인플루엔자 바이러스(Parainfluenza virus), 호흡기 세포융합 바이러스(Respiratory syncytial virus), 사람 메타뉴모바이러스(Human metapneumovirus), 사람 파필로마바이러스(Human papillomavirus), 광견병 바이러스(Rabies virus), 풍진 바이러스(Rubella virus), 사람 보카바이러스(Human bocavirus) 또는 파보바이러스(Parvovirus) B19로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 VI, VII, E1A, E3-19K, 52K, VP1, 표면 항원, 3A 단백질, 캡시드 단백질, 뉴클레오캡시드, 표면 돌기물, 막관통 단백질, UL6, UL18, UL35, UL38, UL19, 조기 항원, 캡시드 항원, Pp65, gB, p52, 잠복 핵항원-1, NS3, 외피 단백질, 외피 단백질 E2 도메인, gp120, p24, 리포펩타이드 Gag (17-35), Gag (253-284), Nef (66-97), Nef (116-145), Pol (325-355), 뉴라미니다제, 뉴클레오캡시드 단백질, 기질 단백질, 인단백질, 융합 단백질, 적혈구응집소(hemagglutinin), 적혈구응집소-뉴라미니다제, 당단백질, E6, E7, 외피 지질단백질 또는 비구조 단백질(non-structural protein, NS)로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 보르데텔라(Bordetella), 보렐리아(Borrelia), 브루셀라(Brucella), 캄필로박터(Campylobacter), 클라미디아(Chlamydia) 및 클라미도필라(Chlamydophila), 클로스트리듐(Clostridium), 코리네박테륨(Corynebacterium), 엔테로코쿠스(Enterococcus), 에세리키아(Escherichia), 프란시셀라(Francisella), 헤모필루스(Haemophilus), 헬리코박터(Helicobacter), 레지오넬라(Legionella), 렘토스피라(Leptospira), 리스테리아(Listeria), 미코박테륨(Mycobacterium), 미코플라스마(Mycoplasma), 나이세리아(Neisseria), 슈도모나스(Pseudomonas), 리케차(Rickettsia), 살모넬라(Salmonella), 시겔라(Shigella), 스타필로코쿠스(Staphylococcus), 스트렙토코쿠스(Streptococcus), 트레포네마 비브리오(Treponema Vibrio) 또는 예르시니아(Yersinia) 속의 세균으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 보르데텔라 페르투시스(Bordetella pertussis), 보렐리아 부르그도르페리(Borrelia burgdorferi), 브루셀라 아보르투스(Brucella abortus), 브루셀라 카니스(Brucella canis), 브루셀라 멜리텐시스(Brucella melitensis), 브루셀라 수이스(Brucella suis), 캄필로박터 제주니(Campylobacter jejuni), 클라미디아 뉴모니아(Chlamydia pneumoniae), 클라미디아 트라코마티스(Chlamydia trachomatis), 클라미도필라 시타시(Chlamydophila psittaci), 클로스트리듐 보툴리눔(Clostridium botulinum), 클로스트리듐 디퍼신레(Clostridium difficile), 클로스트리듐 페르프린젠스(Clostridium perfringens), 클로스트리듐 테타니(Clostridium tetani), 코리네박테륨 디프테리아(Corynebacterium diphtheriae), 엔테로코쿠스 페칼리스(Enterococcus faecalis), 엔테로코쿠스 페슘(Enterococcus faecium), 에세리키아 콜리(Escherichia coli), 프란시셀라 툴라렌시스(Francisella tularensis), 헤모필루스 인플루엔자(Haemophilus influenzae), 헬리코박터 펄로리(Helicobacter pylori), 레지오넬라 뉴모필라(Legionella pneumophila), 렘토스피라 인테로간스(Leptospira interrogans), 리스테리아 모노사이토제네스(Listeria monocytogenes), 미코박테륨 레프라(Mycobacterium leprae), 미코박테륨 투베르콜로시스(Mycobacterium tuberculosis), 미코박테륨 울세란스(Mycobacterium ulcerans), 미코플라스마 뉴모니아(Mycoplasma pneumoniae), 나이세리아 고노레아(Neisseria gonorrhoeae), 나이세리아 매닌기티데스(Neisseria meningitidis), 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 리케차 리케치(Rickettsia rickettsii),

살모넬라 티피(*Salmonella typhi*), 살모넬라 티피무륨(*Salmonella typhimurium*), 시겔라 소네이(*Shigella sonnei*), 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코쿠스 에피데르미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코쿠스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스트렙토코쿠스 아갈락타이아(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코쿠스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코쿠스 피오제네스(*Streptococcus pyogenes*), 트레포네마 팔리듐(*Treponema pallidum*), 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*) 또는 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*)로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 백일해 독소(*pertussis toxin*, PT), 섬모 적혈구응집소(*filamentous hemagglutinin*, FHA), 퍼타틴(*pertactin*, PRN), 펌브리아(*fimbriae*)(FIM 2/3), VlsE; DbpA, OspA, Hia, PrpA, MltA, L7/L12, D15, 0187, VirJ, Mdh, AfuA, L7/L12, 외막 단백질(*outer membrane protein*), LPS, 항원 A형, 항원 B형, 항원 C형, 항원 D형, 항원 E형, FliC, FliD, Cwp84, 알파-독소, 세타-독소, 프룩토스 1,6-비포스페이트-알돌라제(FBA), 글리세르알데하이드-3-포스페이트 테하이드로게나제(GPD), 퍼루베이트:페레독신 옥시도리덕타제(PFOR), 연장 인자-G(*elongation factor-G*, EF-G), 가상 단백질(*hypothetical protein*, HP), T 독소, 톡소이드 항원, 협막 다당류(*capsular polysaccharide*), 단백질 D, Mip, 핵단백질(NP), RD1, PE35, PPE68, EsxA, EsxB, RD9, EsxV, Hsp70, 지질다당류, 표면 항원, Sp1, Sp2, Sp3, 글리세로포스포디에스테르 포스포디에스테라제, 외막 단백질(*outer membrane protein*), 샤페론-어셔(chaperone-usher) 단백질, 협막 단백질(F1) 또는 V 단백질로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 칸디다(*Candida*), 아스페르길루스(*Aspergillus*), 크립토코쿠스(*Cryptococcus*), 히스토플라스마(*Histoplasma*), 뉴모시스티스(*Pneumocystis*) 또는 스타키보트리스(*Stachybotrys*) 속의 진균으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 *C. albicans*, 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 아스페르길루스 플라부스(*Aspergillus flavus*), 크립토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 크립토코쿠스 라우렌티(*Cryptococcus laurentii*), 크립토코쿠스 알비두스(*Cryptococcus albidus*), 크립토코쿠스 가티(*Cryptococcus gattii*), 히스토플라스마 카슬라툼(*Histoplasma capsulatum*), 뉴모시스티스 지로베시(*Pneumocystis jirovecii*) 또는 스타키보트리스 카르타룸(*Stachybotrys chartarum*)으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 표면 항원, 협막 당단백질, Yps3P, Hsp60, 주요 표면 단백질, MsgC1, MsgC3, MsgC8, MsgC9 또는 SchS34로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원은 남용 또는 중독성 물질로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 남용 또는 중독성 물질은 코카인 또는 니코틴인, 조성물.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 동일한 표면 항원을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 항원은 제2 세트의 표면 항원에서 제시된 것과 상이한 배향으로 제시되는, 조성물.

청구항 22

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 동일한 표면 항원을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 항원은 제2 세트의 표면 항원에서 제시된 것과 상이한 입체형태로 제시되는, 조성물.

청구항 23

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원의 문자 구조가 상이한, 조성물.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 문자량이 10,000Da 미만인, 조성물.

청구항 27

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 펩타이드를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 28

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 펩타이드를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 문자량이 10,000Da 미만인, 조성물.

청구항 30

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 단백질을 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 31

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 단백질을 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 문자량이 10,000Da 미만인, 조성물.

청구항 33

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 올리고당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 34

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 올리고당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인, 조성물.

청구항 36

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 37

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 38

제37항에 있어서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인, 조성물.

청구항 39

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 40

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 41

제40항에 있어서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인, 조성물.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 애주번트를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 43

제42항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 합성 나노담체에 커플링된 애주번트를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 44

제42항 또는 제43항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 합성 나노담체에 커플링된 애주번트를 추가로 포함하고, 상기 조성물은 하나 이상의 혼합 애주번트(admixed adjuvant)를 포함하는, 조성물.

청구항 45

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 애주번트 각각은 광물염(mineral salt), 명반, 엔테로박테리아(Enterobacteriа)의 모노포스포릴 지질(MPL) A와 조합된 명반, MPL[®] (AS04), AS15, 사포닌, QS-21, Quill-A, ISCOM, ISCOMATRIX[™], MF59[™], Montanide[®] ISA 51, Montanide[®] ISA 720, AS02, 리포솜 또는 리포솜형

제형, AS01, AS15, 합성된 또는 특이적으로 제조된 마이크로입자 및 마이크로담체, *N. 고노레아*(*N. gonorrhoeae*) 또는 클라미디아 트라코마티스의 세균 유도 외막 소포, 키토산 입자, 테포 형성체, Pluronic[®] 블록 공중합체, 특이적으로 개질된 또는 제조된 웨타이드, 뮤라밀 디펩타이드, 아미노알킬 글루코사미니드 4-포스페이트, RC529, 세균 특소이드, 독소 단편, 톨 유사 수용체(Toll-Like Receptor) 2, 3, 4, 5, 7, 8 또는 9의 작용제, 아데닌 유도체, 면역자극성 DNA, 면역자극성 RNA, 이미다조퀴놀린 아민, 이미다조피리딘 아민, 6,7-용합 사이클로알킬이미다조피리딘 아민, 1,2-가교 이미다조퀴놀린 아민, 이미퀴모드, 레시퀴모드, DC 표면 분자 CD40을 위한 작용제, 제1형 인터페론, 폴리 I:C, 세균성 지질다당류(LPS), VSV-G, HMGB-1, 플라제린 또는 이의 일부분 또는 유도체, CpG를 포함하는 면역자극성 DNA 문자, 괴사 세포로부터 방출된 염증촉진성 자극, 요산염 결정, 보체 연쇄반응의 활성화된 성분, 면역 복합체의 활성화된 성분, 보체 수용체 작용제, 사이토카인, 또는 사이토카인 수용체 작용제를 포함하는, 조성물.

청구항 46

제43항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 아주번트는 상이한, 조성물.

청구항 47

제43항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체에 커플링된 아주번트 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체에 커플링된 아주번트는 TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-8 또는 TLR-9 작용제를 포함하는, 조성물.

청구항 48

제47항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체에 커플링된 아주번트 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체에 커플링된 아주번트는 면역자극성 핵산, 이미다조퀴놀린, 옥소아데닌, MPL, 이미퀴모드 또는 레시퀴모드를 포함하는, 조성물.

청구항 49

제44항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 혼합 아주번트는 CpG, AS01, AS02, AS04, AS15, QS-21, 사포닌, 명반 또는 MPL을 포함하는 면역자극성 핵산인, 조성물.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및 제2 집단의 합성 나노담체는 대상에서 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양으로 존재하는, 조성물.

청구항 51

제50항에 있어서, 면역 반응은 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가의 발생인, 조성물.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단을 추가로 포함하며, 합성 나노담체의 각각의 추가의 집단은 조성물 내의 다른 세트들의 표면 항원과 구조적으로 상이한 한 세트의 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 53

제52항에 있어서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단 중 적어도 하나는 여기에 커플링된 아주번트를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 54

제53항에 있어서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단 중 적어도 하나에 커플링된 아주번트는 조성물 내의 기타 다른 아주번트들과 상이한, 조성물.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 세트의 표면 항원은 1가(monovalent) 또는 단가(oligovalent) 세트의 표면 항원인, 조성물.

청구항 56

제52항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체의 집단들은 각각의 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양으로 존재하는, 조성물.

청구항 57

제56항에 있어서, 면역 반응은 각각의 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가의 발생인, 조성물.

청구항 58

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 여기에 커플링된 만능 T 세포 항원을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 59

제58항에 있어서, 만능 T 세포 항원은 T 헬퍼 세포 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 60

제59항에 있어서, T 헬퍼 세포 항원은 오브알부민으로부터 얻어지거나 유래하는 웨타이드를 포함하는, 조성물.

청구항 61

제60항에 있어서, 오브알부민으로부터 얻어지거나 유래하는 웨타이드는 서열번호 1에 제시된 바와 같은 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 62

제58항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 만능 T 세포 항원은 캡슐화에 의해 커플링되는, 조성물.

청구항 63

제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체;

제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체; 및

약제학적으로 허용되는 부형제;

를 포함하는 투여형을 포함하며,

제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원이 면역학적으로 상이한, 조성물.

청구항 64

제63항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 유형의 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 65

제63항 또는 제64항에 있어서, 제2 세트의 표면 항원은 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 유형의 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 66

제63항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 속으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 속으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 67

제66항에 있어서, 제1 감염성 속과 제2 감염성 속은 동일한, 조성물.

청구항 68

제63항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 종으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 종으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 69

제68항에 있어서, 제1 감염성 종과 제2 감염성 종은 동일한, 조성물.

청구항 70

제63항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 균주로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 균주로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 71

제70항에 있어서, 제1 감염성 균주와 제2 감염성 균주는 동일한, 조성물.

청구항 72

제63항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 아데노바이러스과, 피코나바이러스과, 포진바이러스과, 헤파드나바이러스과, 플라비바이러스과, 레트로바이러스과, 오르토믹소바이러스과, 파라믹소바이러스과, 파필로마바이러스과, 라브도바이러스과, 토가바이러스과 또는 파로바이러스과의 바이러스로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 73

제72항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 아데노바이러스, 콕사키바이러스, A형 간염 바이러스, 폴리오바이러스, 리노바이러스, 단순 포진 바이러스, 수두-대상포진 바이러스, 앰스타인-바 바이러스, 사람 거대세포바이러스, 사람 포진바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 황열병 바이러스, 뎅기 바이러스, 웨스트 나일 바이러스, HIV, 인플루엔자 바이러스, 홍역 바이러스, 볼거리 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 사람 메타뉴모바이러스, 사람 파필로마바이러스, 광견병 바이러스, 풍진 바이러스, 사람 보카바이러스 또는 파보바이러스 B19로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 74

제73항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 VI, VII, E1A, E3-19K, 52K, VP1, 표면 항원, 3A 단백질, 캡시드 단백질, 뉴클레오캡시드, 표면 돌기물, 막관통 단백질, UL6, UL18, UL35, UL38, UL19, 조기 항원, 캡시드 항원, Pp65, gB, p52, 잠복 핵항원-1, NS3, 외피 단백질, 외피 단백질 E2 도메인, gp120, p24, 리포펩타이드 Gag (17-35), Gag (253-284), Nef (66-97), Nef (116-145), Pol (325-355), 뉴라미니다제, 뉴클레오캡시드 단백질, 기질 단백질, 인단백질, 융합 단백질, 적혈구융집소, 적혈구융집소-뉴라미니다제, 당단백질, E6, E7, 외피 지질단백질 또는 비구조 단백질(NS)로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 75

제63항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 보르데텔라, 보렐리아, 브루셀라, 캄필로박터, 클라미디아 및 클라미도필라, 클로스트리듐, 코리네박테륨, 엔테로코쿠스, 애세리키아, 프란시셀라, 헤모필루스, 헬리코박터, 레지오넬라, 렙토스피라, 리스테리아, 미코박테륨, 미코플라스마, 나이세리아, 슈도모나스, 리케차, 살모넬라, 시겔라, 스타필로코쿠스, 스트렙토코쿠스, 트레포네마 비브리오 또는 예르시니아 속의 세균으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 76

제75항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 보르데텔라 페르투시스, 보렐리아 부르그도르페리, 브루셀라 아보르투스, 브루셀라 카니스, 브루셀라 멜리텐시스, 브루셀라 수이스, 캄필로박터 제주니, 클라미디아 뉴모니아, 클라미디아 트라코마티스, 클라미도필라 시타시, 클로스트리듐 보툴리눔, 클로스트리듐 디피실레, 클로스트리듐 페르프린젠스, 클로스트리듐 테타니, 코리네박테륨 디프테리아, 엔테로코쿠스 페칼리스, 엔테로코쿠스 폐슘, 에세리키아 콜리, 프란시셀라 툴라렌시스, 헤모필루스 인플루엔자, 헬리코박터 필로리, 레지오넬라 뉴모필라, 렘토스피라 인테로간스, 리스테리아 모노사이토제네스, 미코박테륨 레프라, 미코박테륨 투베르클로시스, 미코박테륨 울세란스, 미코플라스마 뉴모니아, 나이세리아 고노레아, 나이세리아 메닌기티데스, 슈도모나스 아에루기노사, 리케차 리케치, 살모넬라 티피, 살모넬라 티피무롭, 시겔라 소네이, 스타필로코쿠스 아우레우스, 스타필로코쿠스 에피데르미디스, 스타필로코쿠스 사프로피티쿠스, 스트렙토코쿠스 아갈락티아, 스트렙토코쿠스 뉴모니아, 스트렙토코쿠스 피오제네스, 트레포네마 팔리듐, 비브리오 콜레라 또는 예르시니아 페스티스로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 77

제76항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 백일해 독소(PT), 섬모 적혈구응집소(FHA), 퍼탁틴(PRN), 핌브리아(FIM 2/3), V1sE; DbpA, OspA, Hia, PrpA, MltA, L7/L12, D15, 0187, VirJ, Mdh, AfuA, L7/L12, 외막 단백질(out membrane protein), LPS, 항원 A형, 항원 B형, 항원 C형, 항원 D형, 항원 E형, F1iC, F1iD, Cwp84, 알파-독소, 세타-독소, 프룩토스 1,6-비포스페이트-알돌라제(FBA), 글리세르알데하이드-3-포스페이트 데하이드로게나제(GPD), 퍼루베이트:페레독신 옥시도리덕타제(PFOR), 연장 인자-G(EF-G), 가상 단백질(HP), T 독소, 톡소이드 항원, 협막 다당류, 단백질 D, Mip, 핵단백질(NP), RD1, PE35, PPE68, EsxA, EsxB, RD9, EsxV, Hsp70, 지질다당류, 표면 항원, Sp1, Sp2, Sp3, 글리세로포스포디에스테르 포스포디에스테라제, 외막 단백질(outer membrane protein), 샤페론-어서 단백질, 협막 단백질(F1) 또는 V 단백질로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 78

제63항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 칸디다, 아스페르길루스, 크립토코쿠스, 히스토플라스마, 뉴모시스티스 또는 스타키보트리스 속의 진균으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 79

제78항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 C. 알비칸스, 아스페르길루스 푸미가투스, 아스페르길루스 플라부스, 크립토코쿠스 네오포르만스, 크립토코쿠스 라우렌티, 크립토코쿠스 알비두스, 크립토코쿠스 가티, 히스토플라스마 카피슬라툼, 뉴모시스티스 지로베시 또는 스타키보트리스 카르타룸으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 80

제79항에 있어서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 표면 항원, 협막 당단백질, Yps3P, Hsp60, 주요 표면 단백질, MsgC1, MsgC3, MsgC8, MsgC9 또는 SchS34로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 81

제63항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 애주번트를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 82

제81항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 합성 나노담체에 커플링된 애주번트를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 83

제81항 또는 제82항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 합성 나노담체에

커플링된 애주번트를 추가로 포함하고, 상기 조성물은 하나 이상의 혼합 애주번트를 포함하는, 조성물.

청구항 84

제81항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 애주번트 각각은 광물염, 명반, 엔테로박테리아의 모노포스포릴 지질(MPL) A와 조합된 명반, MPL[®] (AS04), AS15, 사포닌, QS-21, Quill-A, ISCOM, ISCOMATRIX[™], MF59[™], Montanide[®] ISA 51, Montanide[®] ISA 720, AS02, 리포솜 또는 리포솜형 제형, AS01, 합성된 또는 특이적으로 제조된 마이크로입자 및 마이크로담체, N. 고노레아 또는 클라미디아 트라코마티스의 세균 유래 외막 소포, 키토산 입자, 데포 형성제, Pluronic[®] 블록 공중합체, 특이적으로 개질된 또는 제조된 펩타이드, 뮤라밀 디펩타이드, 아미노알킬 글루코사미니드 4-포스페이트, RC529, 세균 톡소이드, 독소 단편, 톨 유사 수용체 2, 3, 4, 5, 7, 8 또는 9의 작용제, 아데닌 유도체, 면역자극성 DNA, 면역자극성 RNA, 이미다조퀴놀린 아민, 이미다조피리딘 아민, 6,7-용합 사이클로알킬이미다조피리딘 아민, 1,2-가교 이미다조퀴놀린 아민, 이미퀴모드, 레시퀴모드, DC 표면 분자 CD40을 위한 작용제, 제1형 인터페론, 폴리 I:C, 세균성 지질다당류(LPS), VSV-G, HMGB-1, 플라제린 또는 이의 일부분 또는 유도체, CpG를 포함하는 면역자극성 DNA 분자, 괴사 세포로부터 방출된 염증촉진성 자극, 요산염 결정, 보체 연쇄반응의 활성화된 성분, 면역 복합체의 활성화된 성분, 보체 수용체 작용제, 사이토카인, 또는 사이토카인 수용체 작용제를 포함하는, 조성물.

청구항 85

제82항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 애주번트는 상이한, 조성물.

청구항 86

제82항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트는 TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-8 또는 TLR-9 작용제를 포함하는, 조성물.

청구항 87

제86항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트는 면역자극성 핵산, 이미다조퀴놀린, 옥소아데닌, MPL, 이미퀴모드 또는 레시퀴모드를 포함하는, 조성물.

청구항 88

제83항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 혼합 애주번트는 CpG, AS01, AS02, AS04, AS15, QS-21, 사포닌, 명반 또는 MPL을 포함하는 면역자극성 핵산인, 조성물.

청구항 89

제63항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및 제2 집단의 합성 나노담체는 대상에서 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양으로 존재하는, 조성물.

청구항 90

제89항에 있어서, 면역 반응은 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가의 발생인, 조성물.

청구항 91

제63항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단을 추가로 포함하며, 합성 나노담체의 각각의 추가의 집단은 조성물 내의 다른 세트들의 표면 항원과 면역학적으로 상이한 한 세트의 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 92

제91항에 있어서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단 중 적어도 하나는 여기에 커플링된 애주번트를 추

가로 포함하는, 조성물.

청구항 93

제92항에 있어서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단 중 적어도 하나에 커플링된 애주번트는 조성물 내의 기타 다른 애주번트들과 상이한, 조성물.

청구항 94

제63항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 세트의 표면 항원은 1가 또는 단가 세트의 표면 항원인, 조성물.

청구항 95

제91항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체의 집단들은 각각의 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양으로 존재하는, 조성물.

청구항 96

제95항에 있어서, 면역 반응은 각각의 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가의 발생인, 조성물.

청구항 97

제63항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 여기에 커플링된 만능 T 세포 항원을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 98

제97항에 있어서, 만능 T 세포 항원은 T 헬퍼 세포 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 99

제98항에 있어서, T 헬퍼 세포 항원은 오브알부민으로부터 얻어지거나 유래하는 웨타이드를 포함하는, 조성물.

청구항 100

제99항에 있어서, 오브알부민으로부터 얻어지거나 유래하는 웨타이드는 서열번호 1에 제시된 바와 같은 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 101

제97항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 만능 T 세포 항원은 캡슐화에 의해 커플링되는, 조성물.

청구항 102

제1항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 부형제는 방부제, 완충제, 식염수, 인산염 완충 식염수, 착색제, 또는 안정제를 포함하는, 조성물.

청구항 103

제1항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체의 각각의 집단의 합성 나노담체는 지질 기반 나노입자, 중합체 나노입자, 금속 나노입자, 계면활성제 기반 에멀젼, 텐드리머, 베키볼(buckyball), 나노와이어, 바이러스 유사 입자, 웨타이드 또는 단백질 기반 입자, 지질-중합체 나노입자, 회전타원체형 나노입자, 입방체형 나노입자, 피라미드형 나노입자, 장방형 나노입자, 원통형 나노입자, 또는 환상면체형 나노입자를 포함하는, 조성물.

청구항 104

제103항에 있어서, 각각의 집단의 합성 나노담체는 하나 이상의 중합체를 포함하는, 조성물.

청구항 105

제104항에 있어서, 하나 이상의 중합체는 폴리에스테르를 포함하는, 조성물.

청구항 106

제104항 또는 제105항에 있어서, 하나 이상의 중합체는 친수성 중합체에 커플링된 폴리에스테르를 포함하거나 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 107

제105항 또는 제106항에 있어서, 폴리에스테르는 폴리(락트산), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산-코-글리콜산), 또는 폴리카프로락톤을 포함하는, 조성물.

청구항 108

제106항 또는 제107항에 있어서, 친수성 중합체는 폴리에테르를 포함하는, 조성물.

청구항 109

제108항에 있어서, 폴리에테르는 폴리에틸렌 글리콜을 포함하는, 조성물.

청구항 110

제1 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제1 합성 나노담체 수단;

제2 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제2 합성 나노담체 수단; 및

약제학적으로 허용되는 부형제;

를 포함하는 투여형을 포함하며,

제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원이 구조적으로 상이한, 조성물.

청구항 111

제110항에 있어서,

제1 세트의 표면 항원은 제1 세트의 1가 또는 단가 표면 항원을 포함하고;

제2 세트의 표면 항원은 제2 세트의 1가 또는 단가 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 112

제1 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제1 합성 나노담체 수단;

제2 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제2 합성 나노담체 수단; 및

약제학적으로 허용되는 부형제;

를 포함하는 투여형을 포함하며,

제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원이 면역학적으로 상이한, 조성물.

청구항 113

제112항에 있어서,

제1 세트의 표면 항원은 제1 세트의 1가 또는 단가 표면 항원을 포함하고;

제2 세트의 표면 항원은 제2 세트의 1가 또는 단가 표면 항원을 포함하는, 조성물.

청구항 114

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항의 조성물을 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 115

제114항에 있어서, 대상은 감염 또는 감염성 질환을 갖거나 가질 위험에 있는, 방법.

청구항 116

제114항에 있어서, 대상은 암을 갖거나 가질 위험에 있는, 방법.

청구항 117

제114항에 있어서, 대상은 중독을 갖거나 가질 위험에 있는, 방법.

청구항 118

제114항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 경구, 피하, 폐, 비강내, 진피내 또는 근육내 투여에 의해 투여되는, 방법.

청구항 119

제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계;

제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 및

제1 집단의 합성 나노담체와 제2 집단의 합성 나노담체를 투여형으로 조합하는 단계를 포함하며,

여기서 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이한, 방법.

청구항 120

제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계;

제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 및

제1 집단의 합성 나노담체와 제2 집단의 합성 나노담체를 투여형으로 조합하는 단계를 포함하며,

여기서 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이한, 방법.

청구항 121

제119항 또는 제120항에 있어서, 투여형을 대상에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 122

제121항에 있어서, 각각의 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응이 발생되는지의 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 123

제122항에 있어서, 면역 반응은 각각의 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가의 발생인, 방법.

청구항 124

제121항 내지 제123항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양을 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 125

제119항 내지 제124항 중 어느 한 항에 정의된 방법 단계를 포함하는, 조성물의 투여형의 제조 방법.

청구항 126

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 또는 예방에 사용하기 위한 조성물.

청구항 127

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 제114항 내지 제118항 및 제121항 내지 제124항 중 어느 한 항에

정의된 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 128

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 감염 또는 감염성 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 129

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 암을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 130

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 중독을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 131

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 방법은 경구, 피하, 폐, 비강내, 진피내 또는 근육내 투여에 의한 조성물의 투여를 포함하는, 조성물.

청구항 132

제114항 내지 제118항, 제121항 내지 제124항 및 제128항 내지 제131항 중 어느 한 항에 정의된 방법에 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서의 제1항 내지 제113항 중 어느 한 항의 조성물의 용도.

명세서

기술분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2010년 5월 26일자로 출원된 미국 가출원 제61/348713호, 2010년 5월 26일자로 출원된 미국 가출원 제61/348717호, 2010년 5월 26일자로 출원된 미국 가출원 제61/348728호, 및 2010년 6월 25일자로 출원된 미국 가출원 제61/358635호에 대하여 35 U.S.C. § 119에 의하여 이익을 주장하며, 이들 가출원 각각의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

배경기술

[0003] 다가 백신은 달리 바람직하게 강건(robust)해지지 않을 임의의 외래 물질에 대한 면역 반응을 발생시키는 유용한 방법이다. 예를 들어, 바이러스의 다수의 균주(strain)에 대한 백신접종은 1가 백신을 사용한 백신접종과 비교하여 그 바이러스의 다수의 균주에 대해 더 강건한 교차 보호를 제공할 수 있다.

[0004] 그러나, 현재의 다가 백신 및 이의 제조 방법은 개선을 필요로 한다. 예를 들어, 항원을 단백질 담체에 접합시키는 현재의 접근법은 복잡하며 낮은 수율을 제공한다. 추가적으로, 새로운 기술들은 흔히 새로운 항원을 담체 단백질에 접합시키도록 개발될 필요가 있는데, 그 이유는 종래의 기술이 종래의 담체 단백질의 상대적인 취약성(fragility)으로 인해 성공할 수 없기 때문이다.

[0005] 필요한 것은 개선된 다가 백신을 제공하는 조성물 및 방법이다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0006] 일 태양에서, 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단(population)의 합성 나노담체; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형(dosage form)을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이한, 조성물이 제공된다.

[0007] 다른 태양에서, 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형을 포함하며, 제1 세트의 표면

항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이한, 조성물이 또한 제공된다.

- [0008] 또 다른 태양에서, 제1 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제1 합성 나노담체 수단; 제2 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제2 합성 나노담체 수단; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이한, 조성물이 또한 제공된다.
- [0009] 또 다른 태양에서, 제1 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제1 합성 나노담체 수단; 제2 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제2 합성 나노담체 수단; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이한, 조성물이 제공된다.
- [0010] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 일 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 유형의 항원을 포함한다. 제공된 조성을 중 어느 한 조성물의 다른 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원은 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 유형의 항원을 포함한다.
- [0011] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 속(*infectious genus*)으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 속으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제1 감염성 속과 제2 감염성 속은 동일하다. 제공된 조성을 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 종(*infectious species*)으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 종으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제1 감염성 종과 제2 감염성 종은 동일하다. 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 감염성 균주(*infectious strain*)로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 감염성 균주로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제1 감염성 균주와 제2 감염성 균주는 동일하다.
- [0012] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 아데노바이러스과(Adenoviridae), 피코나바이러스과(Picornaviridae), 포진바이러스과(Herpesviridae), 헤파드나바이러스과(Hepadnaviridae), 플라비바이러스과(Flaviviridae), 레트로바이러스과(Retroviridae), 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae), 파라믹소바이러스과(Paramyxoviridae), 파필로마바이러스과(Papillomaviridae), 라브도바이러스과(Rhabdoviridae), 토가바이러스과(Togaviridae) 또는 파로바이러스과(Paroviridae) 과(family)의 바이러스로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 아데노바이러스(adenovirus), 콕사키바이러스(coxsackievirus), A형 간염 바이러스, 폴리오바이러스(poliovirus), 리노바이러스(Rhinovirus), 단순 포진 바이러스, 수두-대상포진 바이러스(Varicella-zoster virus), 앰스타인-바 바이러스(Epstein-barr virus), 사람 거대세포바이러스(Human cytomegalovirus), 사람 포진바이러스(Human herpesvirus), B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 황열병 바이러스(yellow fever virus), 뎅기 바이러스(dengue virus), 웨스트 나일 바이러스(West Nile virus), HIV, 인플루엔자 바이러스(Influenza virus), 홍역 바이러스(Measles virus), 볼거리 바이러스(Mumps virus), 파라인플루엔자 바이러스(Parainfluenza virus), 호흡기 세포융합 바이러스(Respiratory syncytial virus), 사람 메타뉴모바이러스(Human metapneumovirus), 사람 파필로마바이러스(Human papillomavirus), 광견병 바이러스(Rabies virus), 풍진 바이러스(Rubella virus), 사람 보카바이러스(Human bocavirus) 또는 파보바이러스(Parvovirus) B19로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 VI, VII, E1A, E3-19K, 52K, VP1, 표면 항원, 3A 단백질, 캡시드 단백질, 뉴클레오캡시드, 표면 돌기물(surface projection), 막관통 단백질, UL6, UL18, UL35, UL38, UL19, 조기 항원, 캡시드 항원, Pp65, gB, p52, 잠복 핵항원-1, NS3, 외피 단백질, 외피 단백질 E2 도메인, gp120, p24, 리포펩타이드 Gag (17-35), Gag (253-284), Nef (66-97), Nef (116-145), Pol (325-355), 뉴라미니다제, 뉴클레오캡시드 단백질, 기질 단백질, 인단백질, 융합 단백질, 적혈구응집소(hemagglutinin), 적혈구응집소-뉴라미니다제, 당단백질, E6, E7, 외피 지질단백질 또는 비구조 단백질(non-structural protein, NS)로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다.
- [0013] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 보르데텔라(Bordetella), 보렐리아(Borrelia), 브루셀라(Brucella), 캄필로박터(Campylobacter), 클라미디아(Chlamydia) 및 클라미도필라(Chlamydophila), 클로스트리듐(Clostridium), 코리네박테륨(Corynebacterium), 엔테로코쿠스(Enterococcus), 에세리키아(Escherichia), 프란시셀라(Francisella), 해모필루스(Haemophilus), 헬리코박터(Helicobacter), 레지오넬라(Legionella), 렙토스피라(Leptospira), 리스테리아

(Listeria), 미코박테륨(Mycobacterium), 미코플라스마(Mycoplasma), 나이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스(Pseudomonas), 리케차(Rickettsia), 살모넬라(Salmonella), 시겔라(*Shigella*), 스타필로코쿠스(*Staphylococcus*), 스트렙토코쿠스(*Streptococcus*), 트레포네마 비브리오(*Treponema Vibrio*) 또는 예르시니아(*Yersinia*) 속의 진균으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 보르데텔라 페르투시스(*Bordetella pertussis*), 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 브루셀라 아보르투스(*Brucella abortus*), 브루셀라 카니스(*Brucella canis*), 브루셀라 멜리텐시스(*Brucella melitensis*), 브루셀라 수이스(*Brucella suis*), 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 클라미디아 뉴모니아(*Chlamydia pneumoniae*), 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*), 클라미도필라 시타시(*Chlamydophila psittaci*), 클로스트리듐 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 클로스트리듐 디피실레(*Clostridium difficile*), 클로스트리듐 페르프린젠스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듐 테타니(*Clostridium tetani*), 코리네박테륨 디프테리아(*Corynebacterium diphtheriae*), 엔테로코쿠스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코쿠스 페슘(*Enterococcus faecium*), 에제리키아 콜리(*Escherichia coli*), 프란시셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*), 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 헬리코박터 필로리(*Helicobacter pylori*), 레지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*), 랩토스피라 인테로간스(*Leptospira interrogans*), 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*), 미코박테륨 레프라(*Mycobacterium leprae*), 미코박테륨 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 미코박테륨 울세란스(*Mycobacterium ulcerans*), 미코플라스마 뉴모니아(*Mycoplasma pneumoniae*), 나이세리아 고노레아(*Neisseria gonorrhoeae*), 나이세리아 메닌기티데스(*Neisseria meningitidis*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 리케차 리케치(*Rickettsia rickettsii*), 살모넬라 티피(*Salmonella typhi*), 살모넬라 티피무름(*Salmonella typhimurium*), 시겔라 소네이(*Shigella sonnei*), 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코쿠스 에피데르미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코쿠스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스트렙토코쿠스 아갈락티아(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코쿠스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코쿠스 피오제네스(*Streptococcus pyogenes*), 트레포네마 팔리듐(*Treponema pallidum*), 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*) 또는 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*)로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 백일해 독소(*pertussis toxin*, PT), 섬모 적혈구응집소(*filamentous hemagglutinin*, FHA), 퍼택틴(*pertactin*, PRN), 펌브리아(*fimbriae*)(FIM 2/3), VIse; DbpA, OspA, Hia, PrpA, M1tA, L7/L12, D15, 0187, VirJ, Mdh, AfuA, L7/L12, 외막 단백질(*outer membrane protein*), LPS, 항원 A형, 항원 B형, 항원 C형, 항원 D형, 항원 E형, F1iC, F1iD, Cwp84, 알파-독소, 세타-독소, 프록토스 1,6-비포스페이트-알돌라제(FBA), 글리세르알데하이드-3-포스페이트 테하이드로게나제(GPD), 과루베이트:페레독신 옥시도리덕타제(PFOR), 연장 인자- G(*elongation factor-G*, EF-G), 가상 단백질(*hypothetical protein*, HP), T 독소, 톡소이드 항원, 협막 다당류(*capsular polysaccharide*), 단백질 D, Mip, 핵단백질(NP), RD1, PE35, PPE68, EsxA, EsxB, RD9, EsxV, Hsp70, 지질다당류, 표면 항원, Sp1, Sp2, Sp3, 글리세로포스포디에스테르 포스포디에스테라제, 외막 단백질(*outer membrane protein*), 샤페론-어셔(chaperone-usher) 단백질, 협막 단백질(F1) 또는 V 단백질로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다.

[0014] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 칸디다(*Candida*), 아스페르길루스(*Aspergillus*), 크립토코쿠스(*Cryptococcus*), 히스토플라스마(*Histoplasma*), 뉴모시스티스(*Pneumocystis*) 또는 스타키보트리스(*Stachybotrys*) 속의 진균으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 C. 알비칸스(*C. albicans*), 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 아스페르길루스 플라부스(*Aspergillus flavus*), 크립토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 크립토코쿠스 라우렌티(*Cryptococcus laurentii*), 크립토코쿠스 알비두스(*Cryptococcus albidus*), 크립토코쿠스 가티(*Cryptococcus gattii*), 히스토플라스마 캡슐라툼(*Histoplasma capsulatum*), 뉴모시스티스 지로베시(*Pneumocystis jirovecii*) 또는 스타키보트리스 카르타룸(*Stachybotrys chartarum*)으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 표면 항원, 협막 당단백질, Yps3P, Hsp60, 주요 표면 단백질, MsgC1, MsgC3, MsgC8, MsgC9 또는 SchS34로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다.

[0015] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 본 명세서에 제공된 감염 인자(*infectious agent*), 바이러스, 세균, 단백질, 웹타이드, 폴리웹타이드, 소분자, 다당류 또는 올리고당류 중 임의의 것으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다.

- [0016] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원은 남용 또는 중독성 물질로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 남용 또는 중독성 물질은 코카인 또는 니코틴이다.
- [0017] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 동일한 표면 항원을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 항원은 제2 세트의 표면 항원에서 제시된 것과 상이한 배향으로 제시된다.
- [0018] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 동일한 표면 항원을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 항원은 제2 세트의 표면 항원에서 제시된 것과 상이한 입체형태(conformation)로 제시된다.
- [0019] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원의 문자 구조는 상이하다.
- [0020] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함한다.
- [0021] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다.
- [0022] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만이다.
- [0023] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 펩타이드를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함한다.
- [0024] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 펩타이드를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만이다.
- [0025] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 단백질을 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함한다.
- [0026] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 단백질을 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만이다.
- [0027] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 올리고당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함한다.
- [0028] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 올리고당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만이다.
- [0029] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함한다.
- [0030] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 펩타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만이다.
- [0031] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만인 표면 항원을 포함한다.
- [0032] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 소분자를 포함하는 표면

항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 웹타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 및/또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원 중 적어도 하나의 표면 항원은 분자량이 10,000Da 미만이다.

[0033] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 일 실시 형태에서, 조성물은 하나 이상의 애주번트를 추가로 포함한다. 일 실시 형태에서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 합성 나노담체에 커플링된 애주번트를 추가로 포함한다. 다른 실시 형태에서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 합성 나노담체에 커플링된 애주번트를 추가로 포함하고, 상기 조성물은 하나 이상의 혼합 애주번트(admixed adjuvant)를 포함한다.

[0034] 일 실시 형태에서, 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 하나 이상의 애주번트 각각은 광물염(mineral salt), 명반, 엔테로박테리아(Enterobacteria)의 모노포스포릴 지질(MPL) A와 조합된 명반, MPL[®] (AS04), AS15, 사포닌, QS-21, Quil-A, ISCOM, ISCOMATRIX[™], MF59[™], Montanide[®] ISA 51, Montanide[®] ISA 720, AS02, 리포솜 또는 리포솜형 제형, AS01, 합성된 또는 특이적으로 제조된 마이크로입자 및 마이크로담체, *N. 고노레아(N. gonorrhoeae)* 또는 클라미디아 트라코마티스의 세균 유래 외막 소포(vesicle), 키토산 입자, 데포 형성제(depot-forming agent), Pluronic[®] 블록 공중합체, 특이적으로 개질된 또는 제조된 웹타이드, 뮤라밀 디웹타이드, 아미노알킬 글루코사미니드 4-포스페이트, RC529, 세균 톡소이드, 독소 단편(toxin fragment), 톨 유사 수용체 (Toll-Like Receptor) 2, 3, 4, 5, 7, 8 또는 9의 작용제, 아데닌 유도체, 면역자극성 DNA, 면역자극성 RNA, 이미다조퀴놀린 아민, 이미다조피리딘 아민, 6,7-융합 사이클로알킬이미다조피리딘 아민, 1,2-가교 이미다조퀴놀린 아민, 이미퀴모드, 레시퀴모드, DC 표면 문자 CD40을 위한 작용제, 제1형 인터페론, 폴리 I:C, 세균성 지질다당류(LPS), VSV-G, HMGB-1, 플라젤판 또는 이의 일부분 또는 유도체, CpG를 포함하는 면역자극성 DNA 문자, 괴사 세포로부터 방출된 염증촉진성 자극(proinflammatory stimulus), 요산염 결정, 보체 연쇄반응의 활성화된 성분, 면역 복합체의 활성화된 성분, 보체 수용체 작용제, 사이토카인, 또는 사이토카인 수용체 작용제를 포함한다. 일 실시 형태에서, 애주번트는 상이하다. 다른 실시 형태에서, 제1 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트는 TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-8 또는 TLR-9 작용제를 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, 제1 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체에 커플링된 애주번트는 면역자극성 핵산, 이미다조퀴놀린, 옥소아데닌, MPL, 이미퀴모드 또는 레시퀴모드를 포함한다. 일 실시 형태에서, 혼합 애주번트는 CpG, AS01, AS02, AS04, AS15, QS-21, 사포닌, 명반 또는 MPL을 포함하는 면역자극성 핵산이다.

[0035] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 일 실시 형태에서, 제1 집단의 합성 나노담체 및 제2 집단의 합성 나노담체는 대상에서 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양으로 존재한다. 일 실시 형태에서, 면역 반응은 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가(antibody titer)의 발생이다.

[0036] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 다른 실시 형태에서, 조성물은 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단을 포함하며, 합성 나노담체의 각각의 추가의 집단은 조성물 내의 기타 다른 세트들의 표면 항원과 구조적으로 상이한 한 세트의 표면 항원을 포함한다. 일 실시 형태에서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단 중 적어도 하나는 여기에 커플링된 애주번트를 추가로 포함한다. 다른 실시 형태에서, 합성 나노담체의 하나 이상의 추가의 집단 중 적어도 하나에 커플링된 애주번트는 조성물 내의 기타 다른 애주번트들과 상이하다.

[0037] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 세트의 1가 (monovalent) 또는 단가(oligovalent) 표면 항원을 포함하고, 제2 세트의 표면 항원은 제2 세트의 1가 또는 단가 표면 항원을 포함한다.

[0038] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 또 다른 실시 형태에서, 각각의 세트의 표면 항원은 1가 또는 단가 세트의 표면 항원이다.

[0039] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 추가의 실시 형태에서, 합성 나노담체의 집단들은 각각의 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양으로 존재한다. 일 실시 형태에서, 면역 반응은 각각의 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가의 발생이다.

[0040] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 일 실시 형태에서, 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체는 여기에 커플링된 만능 T 세포 항원을 추가로 포함한다. 다른 실시 형태에서, 만능 T 세포 항원은 T 헬

퍼 세포 항원을 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, T 헬퍼 세포 항원은 오브알부민으로부터 얻어지거나 유래하는 펩타이드를 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, 오브알부민으로부터 얻어지거나 유래하는 펩타이드는 서열번호 1에 제시된 바와 같은 서열을 포함한다. 추가의 실시 형태에서, 만능 T 세포 항원은 캡슐화(encapsulation)에 의해 커플링된다.

- [0041] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 일 실시 형태에서, 약제학적으로 허용되는 부형제는 방부제, 완충제, 식염수, 인산염 완충 식염수, 착색제, 또는 안정제를 포함한다.
- [0042] 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 다른 실시 형태에서, 합성 나노담체의 각각의 집단의 합성 나노담체는 지질기반 나노입자, 중합체 나노입자, 금속 나노입자, 계면활성제 기반 에멀젼, 텐드리머, 벡키볼(buckyball), 나노와이어, 바이러스 유사 입자, 펩타이드 또는 단백질 기반 입자, 지질-중합체 나노입자, 회전타원체형 나노입자, 입방체형 나노입자, 피라미드형 나노입자, 장방형(oblóng) 나노입자, 원통형 나노입자, 또는 환상면체형 나노입자를 포함한다. 일 실시 형태에서, 합성 나노담체의 각각의 집단은 하나 이상의 중합체를 포함한다. 다른 실시 형태에서, 하나 이상의 중합체는 폴리에스테르를 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, 하나 이상의 중합체는 친수성 중합체에 커플링된 폴리에스테르를 포함하거나 추가로 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, 폴리에스테르는 폴리(락트산), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산-코-글리콜산), 또는 폴리카프로락톤을 포함한다. 추가의 실시 형태에서, 친수성 중합체는 폴리에테르를 포함한다. 또 다른 추가의 실시 형태에서, 폴리에테르는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다.
- [0043] 다른 태양에서, 제공된 조성물 중 어느 한 조성물을 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 일 실시 형태에서, 대상은 감염(infection) 또는 감염성 질환(infectious disease)을 갖거나 가질 위험에 있다. 다른 실시 형태에서, 대상은 암을 갖거나 가질 위험에 있다. 또 다른 실시 형태에서, 대상은 중독을 갖거나 가질 위험에 있다. 추가의 실시 형태에서, 조성물은 경구, 피하, 폐, 비강내, 진피내 또는 근육내 투여에 의해 투여된다.
- [0044] 또 다른 태양에서, 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 및 제1 집단의 합성 나노담체와 제2 집단의 합성 나노담체를 투여형으로 조합하는 단계를 포함하며, 여기서 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이한, 방법이 제공된다.
- [0045] 추가의 태양에서, 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 및 제1 집단의 합성 나노담체와 제2 집단의 합성 나노담체를 투여형으로 조합하는 단계를 포함하며, 여기서 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이한, 방법이 제공된다. 일 실시 형태에서, 방법은 투여형을 대상에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 다른 실시 형태에서, 방법은 각각의 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응이 발생되는지의 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 일 실시 형태에서, 면역 반응은 각각의 세트의 표면 항원에 대해 특이적인 항체 역가의 발생이다. 추가의 실시 형태에서, 방법은 각각의 세트의 표면 항원에 대한 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양을 결정하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0046] 또 다른 추가의 태양에서, 본 명세서에 제공된 방법 중 어느 한 방법에 정의된 방법 단계를 포함하는, 조성물의 투여형의 제조 방법이 제공된다.
- [0047] 일 실시 형태에서, 제공된 조성물 중 어느 한 조성물은 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것이다. 다른 실시 형태에서, 제공된 조성물 중 어느 한 조성물은 본 명세서에 제공된 방법 중 어느 한 방법에 사용하기 위한 것이다. 또 다른 실시 형태에서, 제공된 조성물 중 어느 한 조성물은 감염 또는 감염성 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 것이다. 또 다른 실시 형태에서, 제공된 조성물 중 어느 한 조성물은 암을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 것이다. 추가의 실시 형태에서, 제공된 조성물 중 어느 한 조성물은 중독을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위한 것이다.
- [0048] 다른 실시 형태에서, 방법 중 어느 한 방법은 경구, 피하, 폐, 비강내, 진피내 또는 근육내 투여에 의한 조성물 중 어느 한 조성물의 투여를 포함한다.
- [0049] 또 다른 태양에서, 제공된 방법 중 어느 한 방법에 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서의 제공된 조성물 중 어느 한 조성물의 용도가 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0050] **도 1**은 비면역화된(unimmunized) 마우스 및 NC-Nic와 NC-OVA(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μ g, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항니코틴(암회색 막대) 및 항오브알부민(담회색 막대)의 항체 역가를 나타낸다.

도 2는 비면역화된 마우스 및 NC-Nic-OVA와 NC-L2(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μ g, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항니코틴, 항오브알부민, 및 항L2 웨بت아이드의 항체 역가를 나타낸다.

도 3은 비면역화된 마우스 및 NC-Nic-OVA와 NC-M2e-L2(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μ g, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항니코틴, 항오브알부민, 항M2e 웨بت아이드, 및 항L2 웨بت아이드의 항체 역가를 나타낸다.

도 4는 비면역화된 마우스 및 NC-M2e와 NC-L2(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μ g, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항M2e 웨بت아이드 및 항L2 웨بت아이드의 항체 역가를 나타낸다.

도 5는 비면역화된 마우스 및 NC-HA5와 NC-OVA(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μ g, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항HA5 단백질 및 항오브알부민 단백질의 항체 역가를 나타낸다.

도 6은 비면역화된 마우스 및 NC-HA5, NC-OVA와 NC-M2e-L2(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μ g, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항HA, 항오브알부민, 항M2e 웨بت아이드, 및 항L2 웨بت아이드의 항체 역가를 나타낸다.

도 7은 NC-M2e, NC-L2 웨بت아이드와 NC-니코틴-오브알부민의 조합으로 면역화된 마우스에서의 항체 역가를 나타낸다.

도 8은 NC-3'-니코틴과 NC-1'-니코틴의 조합으로 면역화된 마우스에서의 항체 역가를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0051] 본 발명을 상세히 설명하기 전에, 본 발명은, 구체적으로 예시된 재료 또는 공정 파라미터 그 자체가 물론 변할 수 있기 때문에 이들로 제한되지 않음이 이해되어야 한다. 본 명세서에 사용된 용어는 단지 본 발명의 특정 실시 형태를 설명하기 위한 목적이며, 본 발명을 설명하기 위한 대안적인 용어의 사용을 제한하고자 하지 않음이 또한 이해되어야 한다.

[0052] 본 명세서에 인용된 상기 또는 하기의 모든 간행물, 특히 및 특히 출원은 모든 목적을 위하여 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0053] 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에 사용되는 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the")은 그 내용이 명백하게 달리 지시하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다. 예를 들어, "중합체"에 대한 언급은 둘 이상의 그러한 분자의 혼합물을 포함하고, "용매"에 대한 언급은 둘 이상의 그러한 용매의 혼합물을 포함하며, "접착제"에 대한 언급은 둘 이상의 그러한 재료의 혼합물을 포함하는 등이다.

도입

[0055] 본 발명자들은, 상기 기재된 문제 및 제약이 본 명세서에 개시된 본 발명을 실시함으로써 극복될 수 있음을 예기치 않게 그리고 놀랍게도 발견하였다. 특히, 본 발명자들은 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이한, 조성물을 제공함으로써 당업계에서의 문제 및 제약에 대처하는 독창적인 조성물, 및 관련 방법을 제공할 수 있음을 예기치 않게 발견하였다.

[0056] 다른 태양에서, 본 발명은 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이한, 조성물을 제공한다.

[0057] 일 태양에서, 본 발명은 제1 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제1 합성 나노담체 수단; 제2 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제2 합성 나노담체 수단; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이한, 조성물을 제공한다.

- [0058] 일 태양에서, 본 발명은 제1 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제1 합성 나노담체 수단; 제2 세트의 표면 항원을 제시하기 위한 제2 합성 나노담체 수단; 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 투여형을 포함하며, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이한, 조성물을 제공한다.
- [0059] 다른 태양에서, 본 발명은 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 및 제1 집단의 합성 나노담체와 제2 집단의 합성 나노담체를 투여형으로 조합하는 단계를 포함하며, 여기서 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이한, 방법을 제공한다.
- [0060] 또 다른 태양에서, 본 발명은 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 및 제1 집단의 합성 나노담체와 제2 집단의 합성 나노담체를 투여형으로 조합하는 단계를 포함하며, 여기서 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이한, 방법을 제공한다.
- [0061] 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 조합되어 투여형을 형성할 수 있는, 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원을 각각 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체 및 제2 집단의 합성 나노담체를 생성할 수 있음을 발견하였다. 이 투여형은 임의의 실시 형태에서 다가 백신으로서 유용할 수 있다. 본 발명자들은, 특히 종래의 다가 백신에 대하여, 본 발명의 투여형의 형성에서의 특정 이점에 추가로 주목하였다. 이는 종래의 다가 백신에서의 문제인 백신 부피의 최소화, 및 비특이적 결합 및 침전으로 이어질 수 있는, 종래의 단백질 담체-합텐 다가 백신에 존재하는 단백질-단백질 상호작용의 최소화를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0062] 본 발명의 추가의 이점은, 표면 항원의 세트들을 포함하는 상이한 집단의 합성 나노담체의 조합이 상이한 세트의 표면 항원을 상이한 집단의 합성 나노담체에 커플링하는 데 상이한 방법을 사용할 수 있게 한다는 것이다. 이는 표면 항원의 세트들을 합성 나노담체의 집단들에 커플링하는 데 양립불가능한 커플링 방법을 필요로 하는 실시 형태에 대해 상당한 이점일 수 있다. 한 예로서, 스트렙토코쿠스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*)에 대한 백신(미국 특허 제6,132,723호(Alberta Research Council) 및 국제 특허 공개 WO 2008/143709호(Wyeth))은 다중 항원을 함유한다. 부착 화학(attachment chemistry) 조건이 다당류 항원(국제 특허 공개 WO 2008/143709호) 모두에 대해 동일한 것은 아니기 때문에, 표면 항원 모두를 단일 커플링 환경 내에서 단일 집단의 합성 나노담체에 부착시킬 커플링 방법은 바람직하지 않을 것이다. 상이한 집단의 합성 나노담체가 먼저 특정 세트의 표면 항원에 커플링되고, 이어서 조합되는 본 발명의 실시 형태의 실시는 본 기술분야에서 언급된 문제를 개선 할 수 있을 것이다.
- [0063] 본 발명의 이 실시 형태로부터 이득을 얻을 수 있는 다가 백신의 다른 예에는 *N. meningitidis*(*N. meningitidis*)에 대한 백신이 포함되는데, 이 백신은 다당류 기반이고 다가이다. 그러한 실시 형태는 *N. meningitidis* 그룹 A 및 C(2가) 또는 그룹 A, C, W135 및 Y(4가)를 겨냥할 수 있다.
- [0064] 이들 예는 본 발명에 따른 임의의 실시 형태를 예시하는데, 이들 실시 형태에서는 펩타이드, 다당류, 소분자 등을 제1 집단의 합성 나노담체 및/또는 제2 집단의 합성 나노담체에 접합시킨다. 이어서, 이들 집단을 조합시켜 본 발명에 따른 조성물을 형성한다.
- [0065] 본 발명을 이제 보다 상세하게 설명하겠다.

[0066] 정의

- [0067] "남용 물질"은 대상에 대해 지시된 것 이외의 목적으로, 또는 의사에 의해 지시된 이외의 방법으로 또는 양으로 대상(예: 사람)에 의해 섭취되는 임의의 물질이다. 남용 물질은 일부 실시 형태에서 중독성 물질이다. 일부 실시 형태에서, 나노담체 내에 포함시키기 위한 남용 물질은 완전한 분자, 이의 유사체 또는 일부분이다. "중독성 물질"은 강박사고(obsession), 강박행동(compulsion), 또는 신체 의존성 또는 정신 의존성을 일으키는 물질이다. 일부 실시 형태에서, 나노담체 내에 포함시키기 위한 중독성 물질은 완전한 분자, 이의 유사체 또는 일부분이다.
- [0068] "애주번트"는 특이적 항원을 구성하지는 않지만, 투여된 항원(예: 동시 투여된 항원)에 대한 면역 반응의 강도 및 수명을 증진시키는 제제를 의미한다. 그러한 애주번트는 패턴 인식 수용체(예를 들어 톨 유사 수용체, RIG-1 및 NOD 유사 수용체(NLR))의 자극제(stimulator), 광물염(예를 들어 명반, 에세리키아 콜리, 살모넬라 미네소타(*Salmonella minnesota*), 살모넬라 티피무름, 또는 시겔라 플렉스네리(*Shigella flexneri*)와 같은 엔테로박테

리아의 모노포스포릴 지질(MPL) A와 조합된 명반 또는 특히 별도로 상기 언급된 세균의 MPL A인 MPL[®](AS04)과 조합된 명반), 사포닌(예를 들어 QS-21, Quil-A, ISCOM, ISCOMATRIXTM), 에멀젼(예를 들어 MF59TM, Montanide[®] ISA 51 및 ISA 720, AS02(QS21+스쿠알렌+ MPL[®])), 리포솜 및 리포솜형 제형(예를 들어 AS01, AS15), 합성된 또는 특이적으로 제조된 마이크로입자 및 마이크로담체(예를 들어 N. 고노레아, 클라미디아 트라코마티스 및 기타의 세균 유래 외막 소포(OMV), 또는 키토산 입자), 데포 형성제(예를 들어 Pluronic[®] 블록 공중합체), 특이적으로 개질된 또는 제조된 웨타이드(예를 들어 뮤라밀 디웨타이드), 아미노알킬 글루코사미니드 4-포스페이트(예를 들어 RC529), 또는 단백질(예를 들어 세균 톡소이드 또는 독소 단편)을 포함할 수 있지만 이로 한정되지 않는다.

[0069] 실시 형태에서, 아주번트는 툴 유사 수용체(TLR), 특히 TLR 2, TLR 3, TLR 4, TLR 5, TLR 7, TLR 8, TLR 9 및/또는 이들의 조합을 포함하지만 이로 한정되지 않는 패턴 인식 수용체(PIR)를 위한 작용제를 포함한다. 다른 실시 형태에서, 아주번트는 툴 유사 수용체 3을 위한 작용제, 툴 유사 수용체 7 및 8을 위한 작용제, 또는 툴 유사 수용체 9를 위한 작용제를 포함하며, 바람직하게 인용된 아주번트는 이미다조퀴놀린, 예를 들어 R848; 아데닌 유도체, 예를 들어 미국 특허 제6,329,381호(Sumitomo Pharmaceutical Company), 미국 공개 특허 출원 제2010/0075995호(Biggadike et al.), 또는 국제 특허 공개 WO 2010/018132호(Campos et al.)에 개시된 것들; 면역자극성 DNA; 또는 면역자극성 RNA를 포함한다.

[0070] 특정 실시 형태에서, 합성 나노담체는 아주번트로서, 툴 유사 수용체(TLR) 7 및 8을 위한 작용제("TLR 7/8 작용제")인 화합물을 포함한다. 미국 특허 제6,696,076호(Tomai et al.)에 개시된 TLR 7/8 작용제 화합물이 유용한데, 이러한 화합물에는 이미다조퀴놀린 아민, 이미다조피리딘 아민, 6,7-융합 사이클로알킬이미다조피리딘 아민, 및 1,2-가교 이미다조퀴놀린 아민이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 바람직한 아주번트는 이미퀴모드 및 레시퀴모드(R848로도 알려짐)를 포함한다. 특정 실시 형태에서, 합성 나노담체는 툴 유사 수용체(TLR)-9를 위한 리간드, 예를 들어 CpG를 포함하는데, 이러한 CpG는 제1형 인터페론 생성을 유도하고, T 및 B 세포 활성화를 자극하여 증가된 항체 생성 및 세포독성 T 세포 반응으로 이어지게 한다(문헌[Krieg et al., CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B cell activation. *Nature*. 1995. 374:546-549]; 문헌[Chu et al. CpG oligodeoxynucleotides act as adjuvants that switch on T helper 1 (Th1) immunity. *J. Exp. Med.* 1997. 186:1623-1631]; 문헌[Lipford et al. CpG-containing synthetic oligonucleotides promote B and cytotoxic T cell responses to protein antigen: a new class of vaccine adjuvants. *Eur. J. Immunol.* 1997. 27:2340-2344]; 문헌[Roman et al. Immunostimulatory DNA sequences function as T helper-1-promoting adjuvants. *Nat. Med.* 1997. 3:849-854]; 문헌[Davis et al. CpG DNA is a potent enhancer of specific immunity in mice immunized with recombinant hepatitis B surface antigen. *J. Immunol.* 1998. 160:870-876]; 문헌[Lipford et al., Bacterial DNA as immune cell activator. *Trends Microbiol.* 1998. 6:496-500]; 미국 특허 제6,207,646호(Krieg et al.); 미국 특허 제7,223,398호(Tuck et al.); 미국 특허 제7,250,403호(Van Nest et al.); 또는 미국 특허 제7,566,703호(Krieg et al.)).

[0071] 특정 실시 형태에서, 아주번트는 DC 표면 분자 CD40을 위한 작용제일 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 내성보다는 면역을 자극하기 위하여, 합성 나노담체는 (미경험 T 세포(naive T cell)를 프라이밍하는 데 필요한) DC 성숙, 및 항체 면역 반응 및 항바이러스성 면역을 촉진시키는 제1형 인터페론과 같은 사이토카인의 생성을 촉진시키는 아주번트를 포함한다. 실시 형태에서, 아주번트는 또한 면역자극성 RNA 분자를 포함할 수 있는데, 이러한 분자는 dsRNA, ssRNA, 폴리 I:C 또는 폴리 I:폴리 C12U(Ampligen[®]으로서 입수가능함, 폴리 I:C 및 폴리 I:폴리 C12U 둘 모두는 TLR3 자극제로 알려짐), 및/또는 문헌[F. Heil et al., "Species-Specific Recognition of Single-Stranded RNA via Toll-like Receptor 7 and 8" *Science* 303(5663), 1526-1529 (2004)]; 문헌[J. Vollmer et al., "Immune modulation by chemically modified ribonucleosides and oligoribonucleotides" 국제 특허 공개 WO 2008033432호 A2]; 문헌[A. Forsbach et al., "Immunostimulatory oligoribonucleotides containing specific sequence motif(s) and targeting the Toll-like receptor 8 pathway" 국제 특허 공개 WO 2007062107호 A2]; 문헌[E. Uhlmann et al., "Modified oligoribonucleotide analogs with enhanced immunostimulatory activity" 미국 특허 출원 공개 제2006241076호]; 문헌[G. Lipford et al., "Immunostimulatory viral RNA oligonucleotides and use for treating cancer and infections" 국제 특허 공개 WO 2005097993호 A2]; 문헌[G. Lipford et al., "Immunostimulatory G,U-containing oligoribonucleotides, compositions, and screening methods" 국제 특허 공개 WO 2003086280호 A2]에 개시된

것들과 같은 것이지만 이로 한정되지 않는다.

[0072] 일부 실시 형태에서, 애주번트는 TLR-4 작용제, 예를 들어 세균성 지질다당류(LPS), VSV-G, 및/또는 HMGB-1일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 TLR-5 작용제, 예를 들어 플라겔린, 또는 이의 일부분 또는 유도체를 포함할 수 있는데, 이에는 미국 특허 제6,130,082호, 제6,585,980호, 및 제7,192,725호에 개시된 것들이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0073] 일부 실시 형태에서, 애주번트는 괴사 세포로부터 방출된 염증촉진성 자극(예: 요산염 결정)일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 보체 연쇄반응의 활성화된 성분(예: CD21, CD35 등)일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 면역 복합체의 활성화된 성분일 수 있다. 애주번트는 또한 보체 수용체 작용제, 예를 들어 CD21 또는 CD35에 결합하는 분자를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 보체 수용체 작용제는 합성 나노담체의 내인성 보체 옵소닌화를 유도한다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 사이토카인인데, 이는 세포에 의해 방출되고 기타 다른 세포들의 세포-세포 상호작용, 소통 및 거동에 대해 특이적 효과를 갖는 작은 단백질 또는 생물학적 인자(5kD 내지 20kD의 범위)이다. 일부 실시 형태에서, 사이토카인 수용체 작용제는 소분자, 항체, 융합 단백질, 또는 앱타머(aptamer)이다.

[0074] 실시 형태에서, 애주번트의 용량의 적어도 일부가 합성 나노담체에 커플링될 수 있으며, 바람직하게는 애주번트의 용량 전부가 합성 나노담체에 커플링된다. 다른 실시 형태에서, 애주번트의 용량의 적어도 일부가 합성 나노담체에 커플링되지 않는다. 실시 형태에서, 애주번트의 용량은 2종 이상의 애주번트를 포함한다. 예를 들어, 그리고 제한 없이, 상이한 TLR 수용체에 작용하는 애주번트가 조합될 수 있다. 한 예로서, 일 실시 형태에서, TLR 7/8 작용제는 TLR 9 작용제와 조합될 수 있다. 다른 실시 형태에서, TLR 7/8 작용제는 TLR 4 작용제와 조합될 수 있다. 또 다른 실시 형태에서, TLR 9 작용제는 TLR 3 작용제와 조합될 수 있다.

[0075] "투여하는" 또는 "투여"는 물질을 약리학적으로 유용한 방법으로 대상에게 제공하는 것을 의미한다.

[0076] "유효한 양"은 하나 이상의 원하는 면역 반응을 생성하는 조성물의 임의의 양이다. 이 양은 시험관내 또는 생체 내 목적을 위한 것일 수 있다. 생체내 목적을 위한 경우, 이 양은 건강요원(health practitioner)이 생각하기에 하나 이상의 항원에 대해 특이적인 항체 반응을 필요로 하는 대상에 대해 임상 이득을 가질 수 있는 양일 수 있다. "항체 반응"은 B 세포의 생성 또는 자극 및/또는 항체의 생성을 가져오는 임의의 면역 반응을 의미한다. 따라서, 실시 형태에서, 유효한 양은 건강요원이 생각하기에 본 명세서에 제공된 본 발명의 조성물의 표면 항원(들)에 대해 항체 반응을 발생시킬 수 있는 양이다. 유효한 양은 일상적 방법에 의해 모니터링될 수 있다. 하나 이상의 원하는 면역 반응을 생성시키기에 유효한 양은 또한, 원하는 치료 종점 또는 원하는 치료 결과를 생성하는, 본 명세서에 제공된 조성물의 양일 수 있다. 따라서, 다른 실시 형태에서, 유효한 양은 임상의가 생각하기에 치료 이득(예방 이득을 포함함)을 본 명세서에 제공된 대상에게 제공할 양이다. 그러한 대상은 암, 감염 또는 감염성 질환을 갖거나 가질 위험이 있는 대상을 포함한다.

[0077] 본 명세서에 제공된 본 발명의 조성물 중 어느 한 조성물의 항원(들)은 실시 형태에서 유효한 양으로 존재할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 유효한 양은 건강요원이 생각하기에 본 명세서에 제공된 조성물의 표면 항원의 세트들에 대해 항체 역가를 발생시킬 수 있는 양이다. "항체 역가"는 측정가능한 수준의 항체의 생성을 의미한다. 바람직하게, 항체 반응 또는 항체 역가의 발생은 사람에서이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 IgG 또는 이의 아급(subclass)과 같은 특정 동형(isotype)의 항체이다. 항체 역가의 측정 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 효소 결합 면역흡착 검사(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)를 포함한다. 항체 반응의 측정 방법은 또한 실시예에 다소 상세하게 기재되어 있다. 바람직하게, 항체 반응 또는 항체 역가는 한 세트의 표면 항원에 대해 특이적이다. 합성 나노담체가 또한 한 세트의 표면 항원(이에 대하여 특이적 면역 반응, 예를 들어 항체 반응 또는 항체 역가)에 더하여 만능 항원을 포함하는 일부 실시 형태에서, 면역 반응은 그 세트의 표면 항원에 대해서는 특이적이지만 만능 항원에 대해서는 그렇지 않다.

[0078] 유효한 양은 치료되는 특정 대상; 병태, 질환 또는 장애의 중증도; 연령, 신체 상태, 신장 및 체중을 포함한 개별 환자 파라미터; 치료의 지속기간; 병용 요법(만약 있다면)의 성질; 특정 투여 경로 및 건강요원의 지식 및 견해 내에서의 유사 인자에 따라 물론 좌우될 것이다. 이들 인자는 당업자에게 익히 공지되어 있으며, 단지 일상 실험만으로도 처리될 수 있다. "최대 용량", 즉 올바른 의학적 판단에 따른 최고 안전 용량이 사용되는 것이 일반적으로 바람직하다. 그러나, 환자가 의학적 이유로, 심리적 이유로, 또는 사실상 어떠한 기타 다른 이유로 더 낮은 용량 또는 내량(tolerable dose)을 주장할 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다.

[0079] "항원"은 B 세포 항원 또는 T 세포 항원을 의미한다. 실시 형태에서, 항원은 합성 나노담체에 커플링된다. 다른

실시 형태에서, 항원은 합성 나노담체에 커플링되지 않는다. 실시 형태에서, 항원은 합성 나노담체와 병용투여된다. 다른 실시 형태에서, 항원은 합성 나노담체와 병용투여되지 않는다. "항원의 유형(들)"은 동일한 또는 실질적으로 동일한 항원 특성을 공유하는 분자들을 의미한다.

[0080] "용량의 적어도 일부"는 용량의 적어도 어떤 부분을 의미하며, 이는 용량 전부를 포함하는 깃까지의 범위에 이른다.

[0081] "위험이 있는" 대상은 건강요원이 생각하기에, 감염, 감염성 질환, 암 또는 중독을 포함하지만 이로 한정되지 않는 본 명세서에 제공된 질환 또는 병태를 가질 가능성이 있는 대상이다.

[0082] "B 세포 항원"은 B 세포에 의해 인식되고 B 세포에서의 면역 반응을 유발하는 임의의 항원(예: B 세포 상의 B 세포 수용체에 의해 특이적으로 인식되는 항원)을 의미한다. 일부 실시 형태에서, T 세포 항원인 항원은 또한 B 세포 항원이다. 다른 실시 형태에서, T 세포 항원은 또한 B 세포 항원이 아니다. B 세포 항원은 단백질, 웨타이드, 소분자, 탄수화물, 올리고당류 및 다당류를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, B 세포 항원은 비단백질 항원(즉, 단백질 또는 웨타이드 항원이 아님)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, B 세포 항원은 감염 인자와 관련된 탄수화물, 올리고당류 또는 다당류를 포함한다. 일부 실시 형태에서, B 세포 항원은 감염 인자와 관련된 당단백질 또는 당웨타이드를 포함한다. 감염 인자는 세균, 바이러스, 진균, 원충(protozoan), 또는 기생충일 수 있다. 일부 실시 형태에서, B 세포 항원은 불량 면역원성 항원(poorly immunogenic antigen)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, B 세포 항원은 남용 또는 중독성 물질 또는 이의 일부분 또는 유사체를 포함한다. 중독성 물질은 니코틴, 마약, 기침 억제제, 신경안정제(tranquilizer), 및 진정제(sedative)를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, B 세포 항원은 독소, 예를 들어 화학 무기 또는 천연 공급원으로부터의 독소를 포함한다. B 세포 항원은 또한 위험한 환경 인자(hazardous environmental agent)를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, B 세포 항원은 자가 항원을 포함한다. 다른 실시 형태에서, B 세포 항원은 동종항원(alloantigen), 알러지원(allergen), 접촉 감작성 물질(contact sensitizer), 퇴행성 질환 항원, 합텐, 감염성 질환 항원, 암 항원, 아토피성 질환 항원, 자가면역 질환 항원, 중독성 물질, 이종항원(xenoantigen), 또는 대사성 질환 효소 또는 이의 효소 생성물을 포함한다.

[0083] "커플" 또는 "커플링된" 또는 "커플링시키다" (및 유사 형태)는 한 실체(entity; 예를 들어, 모이어티(moiet y))를 다른 실체와 화학적으로 회합시키는 것을 의미한다. 일부 실시 형태에서, 커플링은 공유결합성(covalent)인데, 이는 커플링이 두 실체 사이의 공유 결합의 존재라는 상황하에 일어나는 것을 의미한다. 비공유결합성 실시 형태에서, 비공유결합성 커플링은 전하 상호작용, 친화성 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 호스트-케스트 상호작용, 소수성 상호작용, TT 적층(stacking) 상호작용, 수소 결합 상호작용, 반 데르 벌스 상호작용, 자기 상호작용, 정전기 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 및/또는 이들의 조합을 포함하지만 이로 한정되지 않는 비공유결합성 상호작용에 의해 매개된다. 실시 형태에서, 캡슐화가 커플링의 한 형태이다.

[0084] "유래한(derived)"은 원래의 공급원으로부터 개조된(adapted) 또는 개질된(modified) 것을 의미한다. 예를 들어, 비제한적인 예로서, 감염성 균주로부터 유래한 웨타이드 항원은 감염성 균주에서 발견되는 원래의 항원에서 발견되는 천연 아미노산 잔기를 대체하는 수 개의 비천연 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 이러한 개조 또는 개질은 다양한 이유로 행해질 수 있는데, 이러한 이유에는 증가된 특이성, 더 용이한 항원 가공, 또는 개선된 안전성이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0085] 실시 형태에서, 천연 웨타이드 또는 핵산, 바람직하게는 천연 공통(consensus) 웨타이드 또는 핵산과의 동일성(identity)이 단지 50%인 서열을 갖는 웨타이드 또는 핵산은 천연 웨타이드 또는 핵산으로부터 유래한다고 할 것이다. 다른 실시 형태에서, 이러한 물질은 실질적으로 개질된다. 실질적으로 개질된 물질은 그 개질이 해당 물질의 화학적 또는 면역학적 특성에 상당한 영향을 주도록 개질된 물질을 의미한다. 유래한 웨타이드 및 핵산이 천연 웨타이드 또는 핵산과 비교하여 변경된 화학적 또는 면역학적 특성을 갖는다면, 상기 유래한 웨타이드 및 핵산은 또한 천연 웨타이드 또는 핵산 서열과의 동일성이 50% 초과인 서열을 갖는 것들을 포함할 수 있다. 이들 화학적 또는 면역학적 특성은 친수성, 안정성, 친화성, 및 합성 나노담체와 같은 담체와 커플링하는 능력을 포함한다.

[0086] "투여형"은 대상에게 투여하기에 적합한 매질, 담체, 비히클, 또는 장치 중의 약리학적으로 및/또는 면역학적으로 활성인 물질, 예를 들어 백신을 의미한다.

[0087] "캡슐화하다" 또는 "캡슐화된"은 합성 나노담체 내에 봉입하는 것, 바람직하게는 합성 나노담체 내에 완전히 봉입하는 것을 의미한다. 캡슐화된 물질의 대부분 또는 전부는 합성 나노담체의 외부의 국소 환경에 노출되지 않

는다. 캡슐화는, 물질의 대부분 또는 전부를 합성 나노담체의 표면 상에 위치시키고 물질을 합성 나노담체의 외부의 국소 환경에 노출된 채로 있게 하는 흡착과는 구별된다.

- [0088] "면역학적으로 상이한"은 면역화에 의해 발생되는 혈청이 특정 표면 항원 각각에 대해 상이한 항체 반응 스펙트럼을 발생시키는 경우라면 언급될 수 있는 특정 표면 항원 사이의 차이를 말한다. 표면 항원 특이적 항체는 특정 세트의 표면 항원만을 인식할 것이며, 구별가능한 결합 패턴으로 기타 다른 세트들의 표면 항원에 결합할 것이다. 예를 들어, 한 세트의 표면 항원 A로 면역화된다면, 발생된 항혈청은 표면 항원 세트 A에는 결합하겠지만, 표면 항원 세트 B에는 결합하지 않을 것이다. 둘 이상의 표면 항원이 단일 합성 나노담체 상에서 조합된다면, 두 세트의 표면 항원에 대해 혈청의 결합 패턴을 구별할 패닝 검정(panning assay)이 설계될 수 있다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 면역학적으로 상이하다. 다른 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과, 제2 세트의 표면 항원과 제3 세트의 표면 항원은 모두 면역학적으로 상이하다.
- [0089] "감염" 또는 "감염성 질환"은 미생물, 병원체 또는 기타 다른 인자, 예를 들어 세균, 진균, 프리온(prion) 또는 바이러스에 의해 야기되는 임의의 병태 또는 질환이다. 본 명세서에 제공된 본 발명의 조성물 내의 표면 항원은 본 명세서에 제공된 감염 또는 감염성 질환을 야기시킬 수 있는 것들과 같은 임의의 감염 인자로부터 얻어지거나 유래할 수 있다.
- [0090] "감염성 속"은 대상을 감염시킬 수 있는 유기체를 포함하는 속을 의미한다. 실시 형태에서, 표면 항원은 제1 감염성 속으로부터 얻어지거나 유래하거나, 제2 감염성 속으로부터 얻어지거나 유래할 수 있다. 실시 형태에서, 제1 감염성 속과 제2 감염성 속은 동일하다. 다른 실시 형태에서, 제1 감염성 속과 제2 감염성 속은 상이하다.
- [0091] "감염성 종"은 대상을 감염시킬 수 있는 유기체를 포함하는 종을 의미한다. 실시 형태에서, 표면 항원은 제1 감염성 종으로부터 얻어지거나 유래하거나, 제2 감염성 종으로부터 얻어지거나 유래할 수 있다. 실시 형태에서, 제1 감염성 종과 제2 감염성 종은 동일한 속의 것이다. 다른 실시 형태에서, 제1 감염성 종과 제2 감염성 종은 또한 동일하다. 일부 실시 형태에서, 제1 감염성 종과 제2 감염성 종은 상이하지만, 동일한 속의 것이다. 다른 실시 형태에서, 상이한 감염성 종은 상이한 속의 것이다.
- [0092] "감염성 균주"는 대상을 감염시킬 수 있는 유기체를 포함하는 균주를 의미한다. 실시 형태에서, 표면 항원은 제1 감염성 균주로부터 얻어지거나 유래하거나, 제2 감염성 균주로부터 얻어지거나 유래할 수 있다. 실시 형태에서, 제1 감염성 균주와 제2 감염성 균주는 동일한 종의 것이다. 다른 실시 형태에서, 제1 감염성 균주와 제2 감염성 균주는 또한 동일하다. 또 다른 실시 형태에서, 이들은 동일한 종의 것이지만, 상이한 균주의 것이다. 일부 실시 형태에서, 제1 감염성 균주와 제2 감염성 균주는 상이한 종이지만, 동일한 속의 것이다.
- [0093] "단리된 핵산"은 이의 자연 환경(native environment)으로부터 분리되고 이의 확인(identification) 또는 사용을 허용하기에 충분한 양으로 존재하는 핵산을 의미한다. 단리된 핵산은 (i) 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)에 의해 시험관내에서 증폭되거나; (ii) 클로닝에 의해 재조합적으로 생성되거나; (iii) 절단(cleavage) 또는 겔 분리에 의해 정제되거나; (iv) 예를 들어 화학적 합성에 의해 합성된 것일 수 있다. 단리된 핵산은 당업계에 익히 공지된 재조합 DNA 기술에 의해 용이하게 조작가능한 것이다. 따라서, 5' 및 3' 제한 부위(restriction site)가 공지되어 있거나 중합효소 연쇄 반응(PCR) 프라이머 서열이 개시된 벡터 내에 함유된 뉴클레오티드 서열은 단리된 것으로 여겨지지만, 이의 천연 숙주 내에서 이의 자연 상태로 존재하는 핵산 서열은 그렇지 않다. 단리된 핵산은 실질적으로 정제될 수 있지만, 그럴 필요는 없다. 예를 들어, 클로닝 또는 발현 벡터 내 단리된 핵산은, 정주하는 세포 내에 그 물질의 극히 작은 백분율만을 포함할 수 있다는 점에서 순수하지 않다. 그러나, 그러한 핵산은 이 용어가 본 명세서에 사용된 바와 같이, 이는 당업자에게 공지된 표준 기술에 의해 용이하게 조작가능하기 때문에, 단리된 상태이다. 본 명세서에 제공된 핵산 중 임의의 것은 단리된 상태일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물 내의 항원은 단리된 핵산의 형태로, 예를 들어 항원성 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질을 암호화하는 단리된 핵산의 형태로 존재한다.
- [0094] "단리된 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질"은 이의 자연 환경으로부터 분리되고 이의 확인 또는 사용을 허용하기에 충분한 양으로 존재하는 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질을 의미한다. 이는, 예를 들어, 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질이 (i) 발현 클로닝에 의해 선택적으로 생성될 수 있거나, (ii) 크로마토그래피 또는 전기영동에 의해 정제될 수 있음을 의미한다. 단리된 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질은 실질적으로 순수할 수 있지만, 그럴 필요는 없다. 단리된 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질은 약제학적 제제 내의 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합될 수 있기 때문에, 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질은 제제의 중량을 기준으로 단지 작은 백분율을 구성할 수 있다. 그렇더라도, 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질은, 이것이 생물계(living system) 내에서 회합될 수 있는 물질로부터, 즉 다른 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질로부터 분리되어 있다

는 점에서 단리된 상태이다. 본 명세서에 제공된 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질 중 임의의 것은 단리된 상태일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물 내의 항원은 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질이다.

[0095] "합성 나노담체의 최대 치수"는 합성 나노담체의 임의의 축을 따라 측정된 나노담체의 가장 큰 치수를 의미한다. "합성 나노담체의 최소 치수"는 합성 나노담체의 임의의 축을 따라 측정된 합성 나노담체의 가장 작은 치수를 의미한다. 예를 들어, 회전타원체형 합성 나노담체의 경우, 합성 나노담체의 최대 치수 및 최소 치수는 실질적으로 동일할 것이며, 이의 직경의 크기일 것이다. 유사하게, 입방체형 합성 나노담체의 경우, 합성 나노담체의 최소 치수는 이의 높이, 폭 또는 길이 중 가장 작은 치수일 것이며, 합성 나노담체의 최대 치수는 이의 높이, 폭 또는 길이 중 가장 큰 치수일 것이다. 일 실시 형태에서, 샘플 내의 합성 나노담체의 총수를 기준으로, 샘플 내의 합성 나노담체의 75% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상의 최소 치수는 100nm 초과이다. 일 실시 형태에서, 샘플 내의 합성 나노담체의 총수를 기준으로, 샘플 내의 합성 나노담체의 75% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상의 최대 치수는 5μm 이하이다. 바람직하게, 샘플 내의 합성 나노담체의 총수를 기준으로, 샘플 내의 합성 나노담체의 75% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상의 최소 치수는 110nm 이상, 더 바람직하게는 120nm 이상, 더 바람직하게는 130nm 이상, 그리고 더욱 더 바람직하게는 150nm 이상이다. 본 발명의 합성 나노담체의 최대 치수와 최소 치수의 종횡비는 실시 형태에 따라 변할 수 있다. 예를 들어, 합성 나노담체의 최대 치수 대 최소 치수의 종횡비는 1:1 내지 1,000,000:1, 바람직하게는 1:1 내지 100,000:1, 더 바람직하게는 1:1 내지 1000:1, 더욱 더 바람직하게는 1:1 내지 100:1, 그리고 더욱 더 바람직하게는 1:1 내지 10:1로 변할 수 있다. 바람직하게, 샘플 내의 합성 나노담체의 총수를 기준으로, 샘플 내의 합성 나노담체의 75% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상의 최대 치수는 3μm 이하, 더 바람직하게는 2μm 이하, 더 바람직하게는 1μm 이하, 더 바람직하게는 800nm 이하, 더 바람직하게는 600nm 이하, 그리고 더욱 더 바람직하게는 500nm 이하이다. 바람직한 실시 형태에서, 샘플 내의 합성 나노담체의 총수를 기준으로, 샘플 내의 합성 나노담체의 75% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상의 최대 치수는 100nm 이상, 더 바람직하게는 120nm 이상, 더 바람직하게는 130nm 이상, 더 바람직하게는 140nm 이상, 그리고 더욱 더 바람직하게는 150nm 이상이다. 합성 나노담체 크기의 측정은 합성 나노담체를 액체(통상 수성) 매질 중에 혼탁시키고 (예를 들어, Brookhaven ZetaPALS 기기를 사용하여) 동적 광산란을 사용함으로써 얻어진다.

[0096] "10,000 미만의 문자량"은 문자의 문자 구조를 기준으로 계산된 문자량이 10,000 미만임을 의미한다.

[0097] "얻어진(obtained)"은 실질적인 개질 없이 공급원으로부터 취해짐을 의미한다. 실질적인 개질은 해당 물질의 화학적 또는 면역학적 특성에 상당한 영향을 주는 개질이다. 예를 들어, 비제한적인 예로서, 천연 펩타이드 또는 뉴클레오티드 서열, 바람직하게는 천연 공통 펩타이드 또는 뉴클레오티드 서열과의 동일성이 90% 초과, 바람직하게는 95% 초과, 바람직하게는 97% 초과, 바람직하게는 98% 초과, 바람직하게는 99% 초과, 바람직하게는 100% 인 서열, 및 천연 펩타이드 또는 핵산과 크게 상이하지 않은 화학적 및/또는 면역학적 특성을 갖는 펩타이드 또는 핵산은 천연 펩타이드 또는 뉴클레오티드 서열로부터 얻어진다고 할 것이다. 이들 화학적 또는 면역학적 특성은 친수성, 안정성, 친화성, 및 합성 나노담체와 같은 담체와 커플링하는 능력을 포함한다. 실시 형태에서, 얻어진 물질은 원래의 공급원으로부터 취해지며 개조 또는 개질되어 있지 않다. 예를 들어, 실시 형태에서, 공급원으로부터 얻어진 항원은 그 공급원에서 발견되는 원래의 아미노산 잔기 서열을 포함할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 예를 들어, 공급원으로부터 얻어진 항원은 그 공급원에서 발견되는 원래의 문자 구조를 포함할 수 있다.

[0098] "올리고당류(들)"는 글리코시드 결합에 의해 결합된 소수(통상적으로 2개 내지 20개)의 당류 단위(saccharide unit)를 함유하는 당류 중합체(saccharide polymer)를 의미한다. 많은 수의 당류 단위에서, 올리고당류는 다당류를 포함할 수 있다.

[0099] "펩타이드(들)"는, 주로 인접한 아미노산 잔기의 카르복실 기와 아미노 기 사이의 펩타이드 결합에 의해 함께 결합된 아미노산 잔기를 포함하며, 100개 이하의 아미노산 잔기를 갖는 화합물을 의미한다. 펩타이드 내의 펩타이드 결합 중 일부는 안정화 또는 커플링과 같은 다양한 목적을 위하여 기타 다른 결합 유형으로 대체될 수 있다.

[0100] "약제학적으로 허용되는 부형제(또는 담체)"는 기재된 합성 나노담체와 함께 사용되어 본 발명의 조성물을 제형화하는 약리학적으로 불활성인 물질을 의미한다. 약리학적으로 불활성인 물질을 본 발명의 투여형에 첨가하여 조성물의 투여를 추가로 촉진시킬 수 있다. 약제학적으로 허용되는 부형제는 당업계에 공지된 다양한 물질을 포

함하는데, 이는 당류(예를 들어, 글루코스, 락토스 등), 방부제(예를 들어, 항균제), 재구성 보조제, 착색제, 식염수(예를 들어, 인산염 완충 식염수), 및 완충제를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 제한 없이, 약제학적으로 허용되는 부형제의 예는 탄산칼슘, 인산칼슘, 다양한 희석제, 다양한 당 및 여러 유형의 전분, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 식물성 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 방부제, 다양한 약제학적 담체, 멸균 식염수, 동결건조 안정제 등을 포함한다. 조성물은 유용한 투여형에 이르게 하는 종래의 약제학적 제조 및 배합 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 일 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 방부제와 함께 주사용 멸균 식염수 용액 중에 혼탁된다.

- [0101] "다당류(들)"는 글리코시드 결합에 의해 결합된 많은 당류 단위로 된 당류 중합체를 의미한다. 적은 수의 당류 단위에서, 다당류는 올리고당류를 포함할 수 있다.
- [0102] "집단(population)"은 하나 이상의 공통된 물리적 또는 화학적 특성을 공유하는, 한 군의 합성 나노담체를 의미한다. 공통된 물리적 또는 화학적 특성은 공통된 한 세트의 표면 항원, 공통된 커플링된 애주번트(들), 멀크 나노담체를 구성하는 공통된 물질, 공통된 형상, 공통된 입자 크기 등을 갖는 것을 포함할 수 있다. 다수 집단의 합성 나노담체는, 예를 들어 제1 집단, 제2 집단, 제3 집단, 제4 집단 등으로 확인될 수 있다. 일 실시 형태에서, 3개 이상의 집단의 합성 나노담체가 존재할 수 있으며, 바람직하게는 여기서 합성 나노담체의 각각의 집단은 한 세트의 표면 항원을 포함하며; 여기서 각각의 세트의 표면 항원은 구조적으로 또는 면역학적으로 서로 상이하다.
- [0103] "단백질(들)"은, 주로 인접한 아미노산 잔기의 카르복실 기와 아미노 기 사이의 웨타이드 결합에 의해 함께 결합된 아미노산 잔기를 포함하는, 통상적으로 분자량이 1000달톤 초과인 화합물을 의미한다. 단백질은 또한 2차 구조, 3차 구조 등과 같은 추가의 결합 구조를 포함할 수 있다. 단백질 내의 웨타이드 결합 중 일부는 안정화 또는 커플링과 같은 다양한 목적을 위하여 기타 다른 결합 유형으로 대체될 수 있다.
- [0104] "한 세트의 1가 표면 항원"은 표면 항원이 상이하지 않은, 바람직하게는 구조적으로 및/또는 면역학적으로 이들 어느 것으로도 상이하지 않은 한 세트의 표면 항원을 의미한다. 실시 형태에서, 한 세트의 1가 표면 항원은 구조적으로 또는 면역학적으로 상이하지 않은 1종의 표면 항원의 다수의 복제물(즉, 동일한 항원의 다수의 복제물)로 구성된다. 이 동일한 항원의 다수의 복제물은 일부 실시 형태에서, 미국 출원 공개 제2003/0223938호에 예시된 것과 같이, 함께 이어질 수 있다. 구조적으로 또는 면역학적으로 상이하지 않은 1종의 표면 항원의 다수의 복제물로 구성된 한 세트의 1가 표면 항원은 한 세트의 단가(또는 다가) 표면 항원이 아니다.
- [0105] "한 세트의 단가(또는 다가) 표면 항원"은 1을 초과하는 제한된 수의 상이한 유형의 표면 항원이 존재하는 한 세트의 표면 항원을 의미하는데, 바람직하게 여기서 상기 차이는 구조적 차이 및/또는 면역학적 차이를 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 한 세트 내의 제한된 수의 표면 항원은 2종 내지 15종의 표면 항원, 바람직하게는 2종 내지 10종의 표면 항원, 더 바람직하게는 2종 내지 8종의 표면 항원, 더 바람직하게는 2종 내지 7종의 표면 항원, 더 바람직하게는 2종 내지 6종의 표면 항원, 더 바람직하게는 2종 내지 5종의 표면 항원, 더 바람직하게는 2종 내지 4종의 표면 항원, 더 바람직하게는 2종 내지 3종의 표면 항원, 그리고 더욱 더 바람직하게는 2종의 표면 항원을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 한 세트의 단가(또는 다가) 표면 항원은 적어도 2종, 3종, 4종, 5종, 6종, 7종, 8종, 9종, 10종, 11종, 12종, 13종, 14종, 15종, 16종, 17종, 18종, 19종 또는 20종 또는 그 이상의 표면 항원을 포함한다.
- [0106] "한 세트의 표면 항원"은 이들의 특성, 바람직하게는 이들의 구조적 및/또는 이들의 면역학적 특성에 기초하여 확인되는, 바람직하게는 측정 및/또는 예측을 통해 확인되는 한 군의 표면 항원을 의미한다. 한 세트의 표면 항원은, 그 세트의 표면 항원 및/또는 그 세트의 표면 항원을 구성하는 그 집단의 합성 나노담체를 커플링하는 데 사용되는 화학적 방법과 함께, 이들을 합성하는 데 사용되는 화학적 합성 방법을 사용하여 예측에 기초하여 일부 또는 전부 확인될 수 있다. 다수 세트의 표면 항원이 확인될 수 있는데, 예를 들어 제1 세트, 제2 세트, 제3 세트 등이다.
- [0107] "구조적으로 상이한" 또는 "구조적 차이"는 B 세포 수용체와의 상호작용을 위한 상이한 문자 구조를 제시하는 것을 의미한다. 실시 형태에서, 이 차이는 한 세트의 표면 항원 내의 제시된 항원의 보유률(prevalence) 및 유형을 상이한 한 세트의 표면 항원 내의 제시된 항원의 보유률 및 유형에 대비함으로써 표현될 수 있다. 제시된 항원의 보유율 및/또는 유형이 이들 세트 사이에서 상이하다면, 이들 표면 항원 세트는 구조적으로 상이하다고 할 수 있다. 실시 형태에서, 제시된 항원의 보유율 및/또는 유형의 차이는, 표면 항원을 발생시키고/발생시키거나 표면 항원을 합성 나노담체의 표면에 커플링하는 데 사용되는 화학적 합성 전략 및 제형화 전략을 비교함으로써 알아낼 수 있다. 예를 들어, 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원을 특정 화학적 화합물 또는 화합물들을

사용하여 발생시키고, 또 다른 한 세트의 표면 항원을 상이한 화학적 화합물을 또는 화합물들을 사용하여 발생시켰다면, 이들 두 세트의 표면 항원은 상이하다는 것을 알아낼 수 있을 것이다. 상이한 실시 형태에서, 표면 항원을 3개의 화학적 화합물을 사용하여 발생시켜 한 세트의 3개의 표면 항원을 형성하고, 기타 다른 표면 항원을 2개의 화학적 화합물을 사용하여 발생시켜 한 세트의 2개의 표면 항원을 형성하였다면, 이들 두 세트의 표면 항원은 상이하다는 것을 알아낼 수 있을 것이다. 또 다른 실시 형태에서, 상이하지 않은 화학적 합성 전략 및 제형화 전략(이들 전략에서 상이하지 않은 양(실험 오차 내)의 물질을 사용하는 것을 포함함)을 사용하여 두 세트의 표면 항원을 발생시키고 (적절하게) 이들 두 세트의 표면 항원을 합성 나노담체의 표면에 커플링시키며, 이들 두 세트의 표면 항원은 동일한 입체형태 및 배향을 가졌다면, 이들 두 세트의 표면 항원은 구조적으로 상이하지 않을 것으로 예상된다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원 사이의 구조적 차이는 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원 사이에서 상이한 배향으로 제시되는 상이하지 않은 세트들의 문자를 포함한다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원 사이의 구조적 차이는 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원 사이에서 상이한 입체형태로 제시되는 상이하지 않은 세트들의 문자를 포함한다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원 사이의 구조적 차이는 문자 구조가 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원 사이에서 상이한 문자의 세트들을 포함한다.

- [0108] "대상"은 사람 및 영장류와 같은 온혈 포유류; 조류; 고양이, 개, 양, 염소, 소, 말 및 돼지와 같은 가정(domestic household) 또는 농장 동물; 마우스, 래트 및 기니아 피그와 같은 실험실 동물; 어류; 파충류; 동물원 및 야생 동물 등을 포함한 동물을 의미한다.
- [0109] "표면 항원(들)"은 합성 나노담체의 표면 상이나 주위에서 발견되는 항원을 의미한다. 바람직한 실시 형태에서, 표면 항원은 B 세포 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 표면 항원은 합성 나노담체의 표면에 커플링된다.
- [0110] "합성 나노담체(들)"는 자연계에서 발견되지 않고 크기가 5마이크로미터 이하인 적어도 하나의 치수를 갖는 개별적인 물체를 의미한다. 일부민 나노입자는 일반적으로 합성 나노담체로서 포함되지만, 임의의 실시 형태에서, 합성 나노담체는 일부민 나노입자를 포함하지 않는다. 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 키토산을 포함하지 않는다.
- [0111] 합성 나노담체는 하나 또는 복수의 지질 기반 나노입자(예: 리포솜)(본 명세서에서는 지질 나노입자(즉, 구조를 구성하는 물질의 대다수가 지질인 나노입자)라고도 함), 중합체 나노입자, 금속 나노입자, 계면활성제 기반 액 멀전, 텐드리머, 베키볼, 나노와이어, 바이러스 유사 입자(즉, 바이러스 구조 단백질로 주로 구성되지만 감염성을 나타내지 않거나 낮은 감염성을 갖는 입자), 웨타이드 또는 단백질 기반 입자(본 명세서에서는 단백질 입자(즉, 구조를 구성하는 물질의 대다수가 웨타이드 또는 단백질인 입자)라고도 함)(예를 들어, 일부민 나노입자) 및/또는 지질-중합체 나노입자와 같은 나노물질의 조합을 사용하여 개발된 나노입자일 수 있지만 이로 한정되지 않는다. 합성 나노담체는 다양한 상이한 형상일 수 있는데, 이러한 형상에는 회전타원체형, 입방체형, 피라미드형, 장방형, 원통형, 환상면체형 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 본 발명에 따른 합성 나노담체는 하나 이상의 표면을 포함한다. 본 발명의 실시에 사용하기에 적합할 수 있는 예시적인 합성 나노담체는 (1) 미국 특허 제5,543,158호(Gref et al.)에 개시된 생분해성 나노입자, (2) 미국 특허 출원 공개 제20060002852호(Saltzman et al.)의 중합체 나노입자, (3) 미국 특허 출원 공개 제20090028910호(DeSimone et al.)의 리소그래피적으로 제작된 나노입자, (4) 국제 특허 공개 WO 2009/051837호(von Andrian et al.)의 개시 내용, (5) 미국 특허 출원 공개 제2008/0145441호(Penades et al.)에 개시된 나노입자, (6) 미국 특허 출원 공개 제20090226525호(de los Rios et al.)에 개시된 단백질 나노입자, (7) 미국 특허 출원 공개 제20060222652호(Sebbel et al.)에 개시된 바이러스 유사 입자, (8) 미국 특허 출원 공개 제20060251677호(Bachmann et al.)에 개시된 핵산 커플링된 바이러스 유사 입자, (9) 국제 특허 공개 WO2010047839호 A1 또는 WO2009106999호 A2에 개시된 바이러스 유사 입자, 또는 (10) 문헌[P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" Nanomedicine. 5(6):843-853 (2010)]에 개시된 나노침전된 나노입자를 포함한다. 실시 형태에서, 합성 나노담체는 1:1, 1:1.2, 1:1.5, 1:2, 1:3, 1:5, 1:7 초과, 또는 1:10 초과의 종횡비를 가질 수 있다.
- [0112] 최소 치수가 약 100nm 이하, 바람직하게는 100nm 이하인 본 발명에 따른 합성 나노담체는 보체를 활성화하는 하이드록실 기를 갖는 표면을 포함하지 않거나, 대안적으로 보체를 활성화하는 하이드록실 기가 아닌 모이어티로 본질적으로 이루어진 표면을 포함한다. 바람직한 일 실시 형태에서, 최소 치수가 약 100nm 이하, 바람직하게는 100nm 이하인 본 발명에 따른 합성 나노담체는 보체를 실질적으로 활성화하는 표면을 포함하지 않거나, 대안적으로 보체를 실질적으로 활성화하지 않는 모이어티로 본질적으로 이루어진 표면을 포함한다. 더 바람직한 일 실시 형태에서, 최소 치수가 약 100nm 이하, 바람직하게는 100nm 이하인 본 발명에 따른 합성 나노담체는 보체를

활성화하는 표면을 포함하지 않거나, 대안적으로 보체를 활성화하지 않는 모이어티로 본질적으로 이루어진 표면을 포함한다. 실시 형태에서, 합성 나노담체는 바이러스 유사 입자를 제외한다. 실시 형태에서, 합성 나노담체가 바이러스 유사 입자를 포함할 때, 바이러스 유사 입자(VLP)는 비천연 애주번트를 포함한다(이러한 VLP는 VLP의 제조 동안 발생되는, 천연적으로 발생하는 RNA 이외의 애주번트를 포함하는 것을 의미함). 실시 형태에서, 합성 나노담체는 1:1, 1:1.2, 1:1.5, 1:2, 1:3, 1:5, 1:7 초과, 또는 1:10 초과의 종횡비를 가질 수 있다.

[0113] "T 세포 항원"은 T 세포에 의해 인식되고 T 세포에서의 면역 반응을 유발하는 임의의 항원(예: I형(Class I) 또는 II형(Class II) 주요 조직적합성 복합체 분자(major histocompatibility complex molecule, MHC)에 결합되거나, CD1 복합체에 결합된 항원 또는 이의 일부분의 제시를 통해 T 세포 또는 NKT 세포 상의 T 세포 수용체에 의해 특이적으로 인식되는 항원)을 의미한다. 일부 실시 형태에서, T 세포 항원인 항원은 또한 B 세포 항원이다. 다른 실시 형태에서, T 세포 항원은 또한 B 세포 항원이 아니다. T 세포 항원은 일반적으로 단백질 또는 펩타이드이다. T 세포 항원은 CD8+ T 세포 반응, CD4+ T 세포 반응, 또는 둘 모두를 자극하는 항원일 수 있다. 따라서, 나노담체는 일부 실시 형태에서 둘 모두의 반응 유형을 효과적으로 자극할 수 있다.

[0114] 일부 실시 형태에서, T 세포 항원은 '만능' T 세포 항원, 또는 T 세포 기억 항원(즉, 대상이 기존 기억을 가지며, T 세포를 증진시켜 비관련 항원, 예를 들어 비관련 B 세포 항원에 도움이 되는 데 사용될 수 있는 항원)이다. 만능 T 세포 항원은 과상풍 특소이드뿐만 아니라 과상풍 특소이드로부터 유래하는 하나 이상의 펩타이드, 엡스타인-바 바이러스, 또는 인플루엔자 바이러스를 포함한다. 만능 T 세포 항원은 또한 인플루엔자 바이러스의 구성요소, 예를 들어 적혈구응집소, 뉴라미니다제, 또는 핵 단백질, 또는 이들로부터 유래하는 하나 이상의 펩타이드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 만능 T 세포 항원은 MHC 분자와의 복합체 형태로 제시되는 항원이 아니다. 일부 실시 형태에서, 만능 T 세포 항원은 T 헬퍼 세포에 대한 제시를 위한 MHC 분자와 복합화되지 않는다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 만능 T 세포 항원은 T 헬퍼 세포 항원이 아니다. 그러나, 다른 실시 형태에서, 만능 T 세포 항원은 T 헬퍼 세포 항원이다.

[0115] 실시 형태에서, T 헬퍼 세포 항원은 과상풍 특소이드, 엡스타인-바 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 홍역 바이러스, 볼거리 바이러스, 풍진 바이러스, 거대세포바이러스, 아데노바이러스, 디프테리아 특소이드, 또는 PADRE 펩타이드(미국 특허 제7,202,351호(Sette et al.)의 문헌으로부터 알려짐)로부터 얻어지거나 유래하는 하나 이상의 펩타이드를 포함할 수 있다. 다른 실시 형태에서, T 헬퍼 세포 항원은 오브알부민 또는 이로부터 얻어지거나 유래하는 펩타이드를 포함할 수 있다. 바람직하게, 오브알부민은 수탁 번호(Accession No.) AAB59956, NP_990483.1, AAA48998, 또는 CAA2371에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 오브알부민으로부터 얻어지거나 유래하는 펩타이드는 아미노산 서열H-Ile-Ser-Gln-Ala-Val-His-Ala-Ala-His-Ala-Glu-Ile-Asn-Glu-Ala-Gly-Arg-OH(서열번호 1)를 포함한다. 다른 실시 형태에서, T 헬퍼 세포 항원은 하나 이상의 지질, 또는 당지질을 포함할 수 있는데, 이는 α -갈락토실세라미드(α -GalCer), α -결합 글리코스핑고지질(스핑고모나스 종(Sphingomonas spp.)으로부터 유래함), 갈락토실 디아실글리세롤(보렐리아 부르그도르페리(Borrelia burgdorferi)로부터 유래함), 리포포스포글리칸(리슈마니아 도노바니(Leishmania donovani)로부터 유래함), 및 포스파티딜이노시톨 테트라만노사이드(PIM4)(미코박테륨 레프라(Mycobacterium leprae)로부터 유래함)를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. T 헬퍼 세포 항원으로서 유용한 추가의 지질 및/또는 당지질에 대해서는 문헌[V. Cerundolo et al., "Harnessing invariant NKT cells in vaccination strategies." Nature Rev Immun, 9:28-38 (2009)]을 참조한다.

[0116] 실시 형태에서, CD4+ T 세포 항원은 공급원, 예를 들어 천연 공급원으로부터 얻어지는 CD4+ T 세포 항원의 유도체일 수 있다. 그러한 실시 형태에서, CD4+ T 세포 항원 서열, 예를 들어 MHC II에 결합하는 펩타이드는 그 공급원으로부터 얻어지는 항원과의 동일성이 70%, 80%, 90%, 또는 95% 이상일 수 있다. 실시 형태에서, T 세포 항원, 바람직하게는 만능 T 세포 항원 또는 T 헬퍼 세포 항원은 합성 나노담체에 커플링되거나 이로부터 분리될(uncoupled) 수 있다. 일부 실시 형태에서, 만능 T 세포 항원 또는 T 헬퍼 세포 항원은 본 발명의 조성물의 합성 나노담체 내에 캡슐화된다.

[0117] "표면 항원의 유형", "표면 항원 유형" 등은 하나 이상의 공통된 화학적 및/또는 면역학적 특성을 공유하는, 한정된 한 군의 표면 항원을 의미한다.

[0118] "백신"은 특정 병원체 또는 질환에 대한 면역 반응을 개선하는 물질의 조성물(composition of matter)을 의미한다. 백신은 통상적으로 대상의 면역계를 자극하여 특이적 항원을 이물질(foreign)로서 인식하고 이를 대상의 신체로부터 제거하는 인자(factor)를 함유한다. 백신은 또한 면역학적 '기억'을 확립하며, 따라서 사람이 재시험감염될(re-challenged) 경우 항원을 재빨리 인식하고 이에 반응할 것이다. 백신은 예방적(예를 들어, 임의의

병원체에 의한 미래의 감염을 방지하기 위하여), 또는 치료적(예를 들어, 암의 치료를 위한 종양 특이적 항원에 대한 백신)일 수 있다. 실시 형태에서, 백신은 본 발명에 따른 투여형을 포함할 수 있다.

[0119] **나노담체 집단 및 표면 항원의 세트**

[0120] 실시 형태에서, 합성 나노담체의 집단은 공통된 물리적 또는 화학적 특성을 공유한다. 실시 형태에서, 그러한 공통된 물리적 또는 화학적 특성은 공통된 한 세트의 표면 항원, 공통된 커플링된 애주번트(들), 벌크 나노담체를 구성하는 공통된 물질, 공통된 형상, 공통된 입자 크기, 공통된 표면 전하 등을 포함할 수 있다. 애주번트, 물질, 형상 및 입자 크기의 유형이 본 출원 전체에 걸쳐 논의된다.

[0121] 실시 형태에서, 집단은 한 세트의 공통된 표면 항원을 공유할 수 있다. 이러한 공통된 표면 항원은, 구조적 또는 면역학적 특성과 같은 것이지만 이로 한정되지 않는 공통된 물리적 또는 화학적 특성에 기초하여 함께 분류될 수 있다. 실시 형태에서, 공통된 특성은 공통된 배향 또는 입체형태, 공통된 문자 구조를 공유하는 문자의 세트, 또는 상기 모두를 포함할 수 있다. 실시 형태에서, 공통된 표면 항원은 문자량이 10,000 미만인 것들을 포함할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 공통된 표면 항원은 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류, 또는 소분자인 것들을 포함할 수 있다. 또 다른 실시 형태에서, 공통된 표면 항원은 문자량이 10,000 미만이고 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류, 또는 소분자인 것들을 포함할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 공통된 표면 항원은 이들이 얻어지거나 유래하는 감염성 유기체에 기초하여 함께 분류될 수 있으며, 공통된 속, 종, 및/또는 균주를 공유하는 것으로서 분류될 것이다. 표면 항원이 10,000 미만의 문자량을 갖는 실시 형태에서, 공통된 표면 항원은 화학 작용제, 환경 독소, 중독성 또는 남용 물질, 및 호르몬, 지질 및 신경전달물질을 포함하지만 이로 한정되지 않는 생리학적으로 내인성인 문자와 같은 문자의 부류에 기초하여 함께 분류될 수 있다. 실시 형태에서, 공통된 표면 항원의 세트는 이들이 생체내에서 항체 반응을 유도할 수 있는 능력의 강도에 따라 정의될 수 있다. 예를 들어, 한 세트의 표면 항원은 생체내에서 고친화성 항체 생성을 유도할 수 있는 능력을 가질 수 있으며, 또 다른 한 세트의 공통된 표면 항원은 생체내에서 저친화성 항체 생성을 유도할 수 있다.

[0122] 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 감염 인자로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 감염 인자는 세균, 진균, 바이러스, 원충, 또는 기생충이다. 다른 실시 형태에서, 바이러스는 폭스 바이러스, 두창(smallpox) 바이러스, 에볼라 바이러스, 마르부르그 바이러스, 홍역 바이러스(실시 형태에서, 항원은 적혈구응집소 단백질, 적혈구응집소 누스 에피토프(hemagglutinin noose epitope), 적혈구응집(hemagglutining) 아미노산 106-114 및/또는 519-550 등으로부터 얻어지거나 유래할 수 있다), 맹기열 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스(실시 형태에서, 항원은 HA 단백질, M2e 단백질 등으로부터 얻어지거나 유래할 수 있다), 인플루엔자 H5N1 바이러스, 인플루엔자 H1N1 바이러스, 감염성 연어 빈혈 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 루베올라(rubeola) 바이러스, 사람 면역결핍 바이러스, 사람 파필로마바이러스, 수두-대상포진 바이러스, 단순 포진 바이러스, 거대세포바이러스, 웹스타인-바 바이러스, JC 바이러스, 라브도바이러스, 로타바이러스, 리노바이러스, 아데노바이러스, 파필로마바이러스(실시 형태에서, 항원은 L1 또는 L2 단백질로부터 얻어지거나 유래할 수 있다), 파보바이러스, 피코나바이러스, 폴리오바이러스, 볼거리리를 일으키는 바이러스, 광견병을 일으키는 바이러스, 레오바이러스, 풍진 바이러스, 토가바이러스, 오르토믹소바이러스, 레트로바이러스, 헤파드나바이러스, 콕사카이바이러스, 말 뇌염(equine encephalitis) 바이러스, 진드기 매개 뇌염(tick-borne encephalitis), 일본 뇌염 바이러스, 황열병 바이러스, 리프트 밸리(Rift Valley) 열 바이러스, A형 간염 바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, D형 간염 바이러스, 또는 E형 간염 바이러스이다.

[0123] 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 하기 표 1에 나타낸 바이러스 과(family)의 바이러스를 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다. 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 표 1에 제공된 종의 바이러스를 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다. 또 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 표 1에 제공된 항원을 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다.

표 1

[0124]

바이러스성 감염 인자

과	예시적인 종	예시적인 항원
아데노바이러스과	아데노바이러스	VI, VII, E1A, E3-19K, 52K
피코나바이러스과	콕사키바이러스	VP1
	A형 간염 바이러스	표면 항원
	폴리오바이러스	3A 단백질, 캡시드 단백질
	리노바이러스 (예: 제16형)	뉴클레오캡시드, 표면 돌기물, 및 막관통 단백질
포진바이러스과	단순 포진(제1형 및 제2형)	캡시드 단백질(예: UL6, UL18, UL35, UL38, 및 UL19)
	수두-대상포진 바이러스	조기 항원
	엡스타인-바 바이러스	조기 항원, 캡시드 항원
	사람 거대세포바이러스	Pp65, gB, p52
	사람 포진바이러스 (예: 제8형)	감복 핵항원-1
헤파드나바이러스과	B형 간염 바이러스	표면 항원
플라비바이러스과	C형 간염 바이러스, 황열병 바이러스, 텅기 바이러스, 웨스트 나일 바이러스	NS3, 외피 단백질(예: E2 도메인)
레트로바이러스과	HIV	gp120, p24, 및 리포펩타이드 Gag(17-35), Gag(253-284), Nef(66-97), Nef(116-145), 및 Pol(325-355); 문헌[Roberts et al., J. Immunol. Methods, 365(1-2):27-37, 2011] 참조
오르토믹소바이러스과	인플루엔자 바이러스	뉴라미니다제, 표면 항원
파라미소바이러스과	홍역 바이러스	뉴클레오캡시드 단백질, 기질 단백질, 인단백질, 융합 단백질, 적혈구응집소, 적혈구응집소-뉴라미니다제, 당단백질,
	볼거리 바이러스	
	파라인플루엔자 바이러스	
	호흡기 세포융합 바이러스	
	사람 메타뉴모바이러스	
파필로마바이러스과	사람 파필로마바이러스 (예: 제16형 및 제18형)	E6, E7, 캡시드 항원
라브도바이러스과	광견병 바이러스	외피 지질단백질
토가바이러스과	풍진 바이러스	캡시드 단백질
파로바이러스과	사람 보카바이러스, 파보바이러스B19	캡시드 단백질, 비구조 단백질(NS)

[0125]

다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 보렐리아 종, 바실루스 안트라시스(*Bacillus anthracis*), 보렐리아 부르그도르페리, 보르데텔라 페르투시스, 보르데텔라 파라페르투시스(*Bordetella parapertussis*), 캄필로박터 제주니, 클라미디아 종, 클라미디아 시타시(*Chlamydial psittaci*), 클라미디아 트라코마티스, 클로스트리듐 종, 클로스트리듐 테타니, 클로스트리듐 보툴리눔, 클로스트리듐 페르프린젠스, 코리네박테륨 디프테리아, 콕시엘라(*Coxiella*) 종, 엔테로코쿠스 종, 에를리키아(*Erlichia*) 종, 에세리키아 콜리, 프란시셀라 틀라렌시스, 헤모필루스 종, 헤모필루스 인플루엔자, 헤모필루스 파라인플루엔자, 락토바실루스(*Lactobacillus*) 종, 레지오넬라 종, 레지오넬라 뉴모필라, 렘토스피로시스 인데로간스(*Leptospirosis interrogans*), 리스테리아 종, 리스테리아 모노사이토제네스, 미코박테륨종, 미코박테륨 투베르콜로시스, 미코박테륨 레프라, 미코플라스마종, 미코플라스마 뉴모니아, 나이세리아종, 나이세리아 메닌기티디스, 나이세리아 고노레아, 뉴모코쿠스(*Pneumococcus*) 종(예: 제6A형, 제6B형, 제3형, 제4형, 제14형, 제19F형 등), 슈도모나스종, 슈도모나스 아에루기노사, 살모넬라 종, 살모넬라 티피, 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*), 리케차 종, 리케차 리케치, 리케차 티피(*Rickettsia typhi*), 시겔라 종, 스타필로코쿠스 종, 스타필로코쿠스 아우레우스, 스트렙토코쿠스 종, 스트렙토코쿠스 뉴모니아, 스트렙토코쿠스 피오제네스, 스트렙토코쿠스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*), 트레포네마 종, 트레포네마 팔리듐, 비브리오 종, 비브리오 콜레라, 예르시니아 페스티스 등과 같은 세균성 유기체로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함할 수 있다.

[0126]

실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 하기 표 2에 나타낸 세균 속의 세균을 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다. 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원

(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 표 2에 제공된 세균 종을 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다. 또 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 표 2에 제공된 항원을 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다.

표 2

세균성 감염 인자

[0127]

병원성 세균 속	예시적인 종	예시적인 항원
보르데텔라	보르데텔라 페르투시스	페르투시스 독소(PT), 섬모 적혈구응집소(FHA), 퍼탁틴(PRN), 및 펌브리아(FIM 2/3)
보렐리아	보렐리아 부르그도르페리	VlsE; DbpA 및 OspA
브루셀라	브루셀라 아보르투스	Hia, PrpA, MltA, L7/L12, D15, 0187, VirJ, Mdh, AfuA
	브루셀라 카니스	L7/L12
	브루셀라 멜리텐시스	외막 단백질(Out membrane protein), 예를 들어 Omp28
	브루셀라 수이스	
캄필로박터	캄필로박터 제주니	LPS, 100-kD 항원
클라미디아 및 클라미도필라	클라미디아 뉴모니아	문헌[Richard et al., J. Infectious Diseases. 181:S521 (2000)] 참조
	클라미디아 트라코마티스	
	클라미도필라 시타시	
클로스트리듐	클로스트리듐 보톨리눔	항원 유형 A, B, C, D, 및 E
	클로스트리듐 디피실레	FliC, FliD, 및 Cwp84
	클로스트리듐 페르프린젠스	알파-독소, 세타-독소, 프록토스 1,6-비포스페이트-알돌라제(FBA), 글리세르알데하이드-3-포스페이트 데하이드로게나제(GPD), 피루베이트:페레독신 옥시도리덕타제(PFOR), 연장 인자-G(EF-G), 가상 단백질(HP)
	클로스트리듐 테타니	T 독소
코리네박테륨	코리네박테륨 디프테리아	특소이드 항원
엔테로코쿠스	엔테로코쿠스 페칼리스	협막 다당류
	엔테로코쿠스 페슘	
에세리키아	에세리키아 콜리	문헌[Moriel et al., PNAS 107(20):9072-9077 (2010)] 참조
프란시셀라	프란시셀라 툴라렌시스	문헌[Havlasova et al., Proteomics 2(7):857-867, 2002] 참조
헤모필루스	헤모필루스 인플루엔자	협막 다당류, 단백질 D
헬리코박터	헬리코박터 필로리	문헌[Bumann et al., Proteomics 4(10):2843-2843, 2004] 참조
레지오넬라	레지오넬라 뉴모필라	Mip
렙토스피라	렙토스피라 인테로간스	문헌[Brown et al., Infect Immun 59(5):1772-1777, 1991] 참조
리스테리아	리스테리아 모노사이토제네스	핵단백질(NP)
미코박테륨*	미코박테륨 래프라	
	미코박테륨 투베르콜로시스	RD1, PE35, PPE68, EsxA, EsxB, RD9, 및 EsxV
	미코박테륨 올세란스	
미코플라스마	미코플라스마 뉴모니아	Hsp70
나이세리아	나이세리아 고노레아	
	나이세리아 메닌기티디스	문헌[Litt et al., J. Infectious Disease 190(8):1488-1497, 2004] 참조
슈도모나스	슈도모나스 아에루기노사	지질다당류
리케차	리케차 리케치	표면 항원
살모넬라	살모넬라 티피	
	살모넬라 티피무롭	
시겔라	시겔라 소네이	
스타필로코쿠스	스타필로코쿠스 아우레우스	문헌[Vytvtska et al., Proteomics 2(5):580-590, 2002]; 문헌[Etz et al., PNAS 99(10):6573-6578, 2002] 참조
	스타필로코쿠스 에피데르미디스	
	스타필로코쿠스 사프로피티쿠스	

스트렙토코쿠스	스트렙토코쿠스 아갈락티아	
	스트렙토코쿠스 뉴모니아	Sp1, Sp2, Sp3
	스트렙토코쿠스 피오체네스	문헌[Lei et al., J. Infectious Disease 189(1):79-89, 2004]
트레포네마	트레포네마 팔리듐	글리세로포스포디에스테르 포스포디에스테라제
비브리오	비브리오 콜레라	외막 단백질(Outer membrane protein), 예를 들어 OmpK
예르시니아	예르시니아 페스티스	しゃ페론-어서 단백질, 협막 단백질(F1), 및 V 단백질

[0128] 또 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 아스페르길루스 종, 칸디다 종, 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 칸디다 트로피칼리스(*Candida tropicalis*), 크립토코쿠스 종, 크립토코쿠스 네오포르만스, 엔타메바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*), 히스토플라스마 캡슐라툼, 리슈마니아 종, 노카르디아 아스테로이데스(*Nocardia asteroides*), 플라스모듐 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*), 톡소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondii*), 트리코모나스 바지날리스(*Trichomonas vaginalis*), 톡소플라스마 종, 트리파노소마 브루세이(*Trypanosoma brucei*), 시스토소마 만소니(*Schistosoma mansoni*) 등과 같은 진균성, 원충성, 및/또는 기생충성 유기체의 항원으로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함할 수 있다.

[0129] 또 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 0-알킬(C10 미만, 사이클로알킬을 포함함) 알킬(Me, Et, n-Pr 또는 i-Pr)-포스포노플루오리데이트(예: 사린(Sarin): 0-이소프로필 메틸포스포노플루오리데이트, 소만(Soman): 0-피나콜릴 메틸포스포노플루오리데이트), 0-알킬(C10 미만, 사이클로알킬을 포함함) N,N-디알킬(Me, Et, n-Pr 또는 i-Pr) 포스포르아미도시아니데이트(예: 타분(Tabun): 0-에틸 N,N-디메틸포스포르아미도시아니데이트), 0-알킬(H 또는 C10 미만, 사이클로알킬을 포함함) S-2-디알킬(Me, Et, n-Pr 또는 i-Pr)-아미노에틸 알킬(Me, Et, n-Pr 또는 i-Pr) 포스포노티올레이트 및 상응하는 알킬화 또는 양성자화 염(예: VX: 0-에틸 S-2-디이소프로필아미노에틸 메틸포스포노티올레이트), 황 머스타드: 2-클로로에틸클로로메틸설파이드, 머스타드 가스: 비스(2-클로로에틸)설파이드, 비스(2-클로로에틸티오)메탄, 세스퀴머스타드(Sesquimustard): 1,2-비스(2-클로로에틸티오)에탄, 1,3-비스(2-클로로에틸티오)-n-프로판, 1,4-비스(2-클로로에틸티오)-n-부탄, 1,5-비스(2-클로로에틸티오)-n-펜탄, 비스(2-클로로에틸티오메틸)에테르, 0-머스타드: 비스(2-클로로에틸티오에틸)에테르, 루이사이트(Lewisite): 루이사이트 1: 2-클로로비닐디클로로아르신, 루이사이트 2: 비스(2-클로로비닐)클로로아르신, 루이사이트 3: 트리스(2-클로로비닐)아르신, 질소 머스타드: HN1: 비스(2-클로로에틸)에틸아민, HN2: 비스(2-클로로에틸)메틸아민, HN3: 트리스(2-클로로에틸)아민, 삭시톡신(Saxitoxin), 리신(Ricin), 아미تون(Amiton): 0,0-디에틸 S-(2-(디에틸아미노)에틸)포스포로티올레이트 및 상응하는 알킬화 또는 양성자화 염, PFIB: 1,1,3,3,3-펜타플루오로-2-(트리플루오로메틸)-1-프로펜, 3-퀴누클리디닐 벤질레이트(BZ), 포스겐: 카보닐 디클로라이드, 염화시아노겐, 시안화수소 및 클로로파크린: 트리클로로니트로메탄과 같은 독소로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함할 수 있다.

[0130] 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 하기 표 3에 나타낸 진균 속의 진균을 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다. 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 표 3에 제공된 진균 종을 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다. 또 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 표 3에 제공된 항원을 포함하거나 이로부터 얻어지거나 유래한다.

표 3

진균성 감염 인자

속	예시적인 종	예시적인 항원
칸디다	C. 알비칸스	표면 항원, 또한 문헌[Thomas et al., Proteomics 6(22):6033-6041, 2006] 참조
아스페르길루스	아스페르길루스 푸미가투스 및 아스페르길루스 틀라부스	문헌[Stevens et al., Medical Mycology 49 (Suppl. 1):S170-S176, 2011]

크립토코쿠스	크립토코쿠스 네오포르만스, 크립토코쿠스 라우렌티 및 크립토코쿠스 알비두스, 크립토코쿠스 가티	협막 당단백질
히스토플라스마	히스토플라스마 카풀라툼	Yps3P, Hsp60
뉴모시스티스	뉴모시스티스 지로베시	주요 표면 단백질(Msg), 예를 들어 MsgC1, MsgC3, MsgC8, 및 MsgC9
스타키보트리스	스타키보트리스 카르타룸	SchS34

- [0132] 또 다른 추가의 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원(예: 제1 세트의 표면 항원 및/또는 제2 세트의 표면 항원)은 남용 또는 중독성 물질로부터 얻어지거나 유래하는 항원을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 남용 또는 중독성 물질은 약물, 예를 들어 불법 약물(illegal drug), 일반 의약품(over-the-counter drug) 또는 처방 약물이다. 다른 실시 형태에서, 남용 또는 중독성 물질은 기분 전환 효과(mood-altering effect)를 가지며, 따라서 흡입제(inhalant) 및 용제(solvent)를 포함한다. 다른 실시 형태에서, 남용 또는 중독성 물질은 기분 전환 효과 또는 도취(intoxication) 특성을 갖지 않는 것이며, 따라서 단백동화 스테로이드를 포함한다. 남용 또는 중독성 물질은 카나비노이드(예: 해시시, 마리화나), 억제제(depressant)(예: 바르비투르산염, 벤조디아제핀, 플루니트라제팜(Rohypnol), GHB, 메타칼론(quaaludes)), 해리성 마취제(예: 케타민, PCP), 할루시노겐(예: LSD, 메스칼린, 실로시빈), 오피오이드 및 모르핀 유도체(예: 코데인, 펜타닐, 헤로인, 모르핀, 아편), 자극제(암페타민, 코카인, 엑스타시(MDMA), 메탐페타민, 메틸페니데이트(Ritalin), 니코틴), 단백동화 스테로이드, 및 흡입제를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 실시 형태에서, 항원은 코카인 유사체, 예를 들어 노르코카인(norcocaine)을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 항원은 코티닌을 포함한다.
- [0133] 본 발명의 실시 형태에서, 각각이 한 세트의 표면 항원을 포함하는 상이한 집단의 합성 나노담체는 조합될 수 있다. 이들 집단 사이의 차이는 표면 항원의 세트들 사이의 차이에 기초한다.
- [0134] 임의의 실시 형태에서, 이들 차이는 구조적 또는 면역학적 특성과 같은 것이지만 이로 한정되지 않는 물리적 또는 화학적 특성의 차이를 포함할 수 있다. 실시 형태에서, 이들 차이는 표면 항원의 배향 또는 입체형태의 차이, 또는 표면 항원의 세트들 사이의 문자 구조의 차이를 포함할 수 있다. 또 다른 실시 형태에서, 표면 항원의 차이는 이들이 얻어지거나 유래하는 감염성 유기체에 기초할 수 있으며, 상이한 속, 종, 및/또는 균주로부터 유래한 것으로서 분류될 것이다. 표면 항원이 10,000 미만의 분자량을 갖는 실시 형태에서, 표면 항원은 화학작용제, 중독성 또는 남용 약물, 및 호르몬, 지질 및 신경전달물질을 포함하지만 이로 한정되지 않는 내인성 분자와 같은 화학적 분류에 기초하여 상이할 수 있다.
- [0135] 실시 형태에서, 이들 차이는 표면 항원의 배향 또는 입체형태의 차이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 합성 나노담체에 대한 표면 항원의 상이한 부착점은 그 표면 항원의 상이한 제시를 일으킬 것이다. 이러한 상이한 제시는 표면 항원의 상이한 에피토프를 인식하는 항체를 생성할 수 있다. 표면 항원은 상이한 입체형태로 제시될 수 있으며, 표면 항원은 그러한 입체형태를 달성하도록 합성되거나 개질될 수 있다. 예를 들어, 웨타이드 또는 단백질 절단(truncation)이 수행될 수 있는데, 여기서 상기 절단은 관심의 웨타이드 또는 단백질 항원의 개질된 입체형태 변화를 가져온다. 대안적으로, 웨타이드 또는 단백질 항원 노출을 변경시키는 특정 배향을 안정화하거나 길이를 추가하기 위하여 아미노산 또는 화학적 링커(chemical linker)가 첨가될 수 있다. 유사하게, 분자량이 10,000 미만인 것들과 같은 항원, 또는 올리고당류 또는 다당류는 화학적 링커의 첨가, 또는 화학적 개질에 의해 변경될 수 있다.
- [0136] 다른 실시 형태에서, 합성 나노담체의 집단들 사이의 차이는 항원의 상이한 문자 구조 및/또는 보유율에 기초한 표면 항원의 세트들 사이의 차이에 기초할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 이들 차이는 이들 세트 사이의 표면 항원의 유형들 중 하나 이상의 보유율의 차이를 포함할 수 있다.
- [0137] 한 집단이 한 세트의 1가 표면 항원을 포함하는 실시 형태에서, 이의 표면 항원 세트의 문자 구조, 바람직하게 항원 유형은 또 다른 한 집단 또는 다른 집단들의 한 세트의 1가 표면 항원의 문자 구조와 상이할 수 있다. 한 집단이 한 세트의 1가 표면 항원을 포함하는 임의의 실시 형태에서, 이의 표면 항원 세트를 구성하는 표면 항원의 보유율은 또 다른 한 집단 또는 다른 집단들의 한 세트의 1가 표면 항원을 구성하는 표면 항원의 보유율과 상이할 수 있다.
- [0138] 한 집단의 합성 나노담체가 한 세트의 단가(또는 다가) 표면 항원을 포함하는 실시 형태에서, 상이한 보유율의 다양한 항원 유형이 그 세트 내에서 조합되어 그러한 표면 항원 유형의 조합을 형성할 수 있다. 따라서, 합성

나노담체의 적어도 하나의 집단이 한 세트의 단가(또는 다가) 표면 항원을 포함하는 실시 형태에서, 그 세트의 단가(또는 다가) 표면 항원의 문자 구조(이는 각각의 항원 유형의 문자 구조 및, 이와 함께 그 세트 내의 이들의 보유율 둘 모두의 함수로서 표현될 수 있다)는 또 다른 한 집단 또는 다른 집단들의 표면 항원의 세트의 문자 구조와 상이할 수 있다. 실시 형태에서, 이는 또 다른 한 집단이 한 세트의 1가 표면 항원(여기서, 표면 항원의 세트들은 정의에 의해 상이할 것이다)을 포함하기 때문에, 또는 또 다른 한 집단이 한 세트의 단가(또는 다가) 표면 항원을 포함하기 때문일 수 있는데, 여기서 두 세트의 표면 항원의 문자 구조(각각의 항원 유형의 문자 구조 및/또는 그 세트 내의 각각의 항원 유형의 보유율로서 표현됨)는 상이하다.

[0139] 예를 들어, 이들 표면 항원 세트는 (R) 및 (S) 니코틴과 같은 한 세트의 에난티오머로 구성될 수 있다. 이들 에난티오머는 동일하거나 상이한 나노담체 상에 동일한 양으로 존재할 수 있으며, 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노 담체 상에 동일하지 않은 양으로 존재할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원은 광학적으로 순수하거나 라세미체인 코티닌 및 니코틴과 같은 구조적으로 상이하지만 관련된 두 분자를 포함할 수 있다. 코티닌 및 니코틴은 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일한 양으로 존재할 수 있으며, 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일하지 않은 양으로 존재할 수 있다. 게다가, 표면 항원의 세트들은 스트렙토코쿠스 뉴모니아 혈청형(serotype) 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 및 23F로부터의 협막 항원성 다당류와 같은 수 개의 혈청형으로 구성된 단일 유기체로부터의 항원으로 구성될 수 있다. 이들 다양한 항원은 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일한 양으로 존재할 수 있으며, 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일하지 않은 양으로 존재할 수 있다. 실시 형태에서, 표면 항원의 세트들은 사람 파필로마 바이러스의 캡시드 단백질 L1 및 L2와 같은 단일 유기체로부터의 한 부류(family)의 상이한 항원을 포함할 수 있다. 이를 표면 항원 세트는 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일한 양으로 존재할 수 있으며, 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일하지 않은 양으로 존재할 수 있다. 실시 형태에서, 표면 항원의 세트들은 전쟁용 가스 VX, 사린 및 소만과 같은 다양한 구조의 수 개의 소분자를 포함할 수 있다. 이를 상이한 화합물은 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일한 양으로 존재할 수 있으며, 동일하거나 상이한 집단의 합성 나노담체 상에 동일하지 않은 양으로 존재할 수 있다. 예를 들어, 일 실시 형태에서, 한 세트의 표면 항원은 50%의 VX 및 50% 사린을 포함할 수 있고, 한편 또 다른 한 세트의 표면 항원은 80%의 VX 및 20%의 사린을 포함할 수 있으며, 여기서 표면 항원의 백분율은 중량% 또는 몰%일 수 있으며, 표면 항원의 총 중량 또는 총 몰수를 기준으로 할 수 있다.

[0140] 실시 형태에서, 표면 항원의 세트들의 차이는, 문자량이 10,000 미만이고/미만이거나 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류, 또는 소분자인 것과 같은 유형 또는 유형들로부터의 한 세트의 표면 항원을 포함하는 한 집단의 합성 나노담체를 제공하고, 이어서 문자량이 10,000 미만이고/미만이거나 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류, 또는 소분자인 것과 같은 유형 또는 유형들로부터의 상이한 한 세트의 표면 항원을 포함하는 또 다른 한 집단의 합성 나노입자를 제공하는 것을 포함할 수 있다.

[0141] 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원이 문자량이 10,000 미만인 표면 항원을 포함할 때, (단, 이들 세트가 구조적으로 또는 면역학적으로 상이하다는 조건에서) 제2 세트의 표면 항원은 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 또는 소분자를 포함한다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원이 웨타이드를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 단백질, 올리고당류, 다당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원이 단백질을 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웨타이드, 올리고당류, 다당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원이 올리고당류를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웨타이드, 단백질, 다당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원이 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웨타이드, 단백질, 올리고당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제1 세트의 표면 항원이 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, (단, 이들 세트가 구조적으로 또는 면역학적으로 상이하다는 조건에서) 제2 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웨타이드, 단백질, 올리고당류 또는 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함한다.

[0142] 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원이 문자량이 10,000 미만인 표면 항원을 포함할 때, (단, 이들 세트가 구조적으로 또는 면역학적으로 상이하다는 조건에서) 제1 세트의 표면 항원은 웨타이드, 단백질, 올리고당류, 다당류 또는 소분자를 포함한다. 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원이 웨타이드를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제1 세트의 표면 항원은 문자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 단백질, 올리고당류, 다당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다.

류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원이 단백질을 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제1 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웹타이드, 올리고당류, 다당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원이 올리고당류를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제1 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웹타이드, 단백질, 다당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원이 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, 제1 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웹타이드, 단백질, 올리고당류 또는 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함한다. 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원이 소분자를 포함하는 표면 항원을 포함할 때, (단, 이들 세트가 구조적으로 또는 면역학적으로 상이하다는 조건에서) 제1 세트의 표면 항원은 분자량이 10,000 미만인 것들을 포함하고/포함하거나 웹타이드, 단백질, 올리고당류 또는 다당류를 포함하는 표면 항원을 포함한다.

[0143] 합성 나노담체의 집단들 사이의 기타 다른 차이는 항원의 공급원에 기초한 표면 항원의 세트들 사이의 차이에 기초할 수 있다. 예를 들어, 일 실시 형태에서, 그러한 차이는 표면 항원이 얻어지거나 유래하는 감염성 속, 종 및/또는 균주의 차이에 기초할 수 있다. 예를 들어, 한 집단의 합성 나노담체는 E. 콜리, 미코박테륨 투베르쿨로시스, 클로스트리듐 테타니 또는 바실루스 안트라시스와 같은 세균 공급원으로부터 얻어지거나 유래하는 한 세트의 표면 항원을 포함할 수 있으며, 한편 또 다른 한 집단은 인플루엔자 바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 및 사람 포진바이러스와 같은 바이러스 공급원으로부터 얻어지거나 유래하는 한 세트의 표면 항원을 포함할 수 있다. 실시 형태에서, 한 집단의 합성 나노담체는 상기 기재된 것들과 같은 세균 공급원으로부터 얻어지거나 유래하는 한 세트의 표면 항원을 포함할 수 있으며, 한편 또 다른 한 집단은 칸디다 알비칸스, 또는 뉴모시스티스 지로베시와 같은 진균으로부터 얻어지거나 유래하는 한 세트의 표면 항원을 포함할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 한 집단의 합성 나노담체는 바이러스 공급원으로부터 얻어지거나 유래하는 한 세트의 표면 항원을 포함할 수 있으며, 한편 또 다른 한 집단은 플라스모듐 팔시파룸과 같은 기생충으로부터 얻어지거나 유래하는 한 세트의 표면 항원을 포함할 수 있다. 상기 예시와 유사한 방식으로의 다른 기타 조합 및 하위조합이 본 발명의 범주 내인 것으로 고려된다.

[0144] 다른 실시 형태에서, 다양한 세트의 표면 항원은 상이하지 않은 감염성 속, 종 또는 균주로부터 얻어지거나 유래할 수 있다. 실시 형태에서, 그러한 차이는 감염성 속, 종 또는 균주 내의 상이한 항원의 선택으로부터 일어날 수 있다. 예를 들어, 한 세트의 표면 항원은 한 바이러스 외피 단백질로부터 얻어지거나 유래할 수 있으며, 한편 또 다른 한 세트의 표면 항원은 동일한 것으로부터의 상이한 에피토프로부터, 또는 동일한 바이러스로부터의 또 다른 한 바이러스 외피 단백질로부터 얻어지거나 유래할 수 있다. 일 실시 형태에서, 상이한 세트의 표면 항원은 한 바이러스성 단백질, 예를 들어 거대세포바이러스(CMV) 캡시드 단백질, 또는 다른 CMV 단백질로부터 얻어지거나 유래할 수 있는데, 이는 수 개의 개별적인 에피토프를 포함할 수 있다. 마찬가지로, 상이한 세트의 표면 항원이 디프테리아 또는 파상풍 독소의 상이한 에피토프로부터 얻어지거나 유래할 수 있다.

[0145] 다른 실시 형태에서, 합성 나노담체의 집단들 사이의 차이는 항원의 상이한 화학적 분류에 기초한 표면 항원의 세트들 사이의 차이에 기초할 수 있다. 예를 들어, 분자가 10,000 미만의 분자량을 갖는 경우에, 그러한 차이는 화학적 골격(chemical scaffold), 또는 전체 분자 구조, 또는 그러한 분자에 의해 나타나는 활성의 차이에 기초할 수 있다. 예를 들어, 상이한 표면 항원의 세트들은 모르핀과 헤로인과 같은 오피오이드와 같이 상이한 구조이지만 유사한 활성을 갖는 표면 항원의 세트들로부터 얻어지거나 유래할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 상이한 세트의 표면 항원은 (R) 및 (S) 리탈린, 또는 (R) 및 (S) 니코틴과 같은 에난티오머에 의해 예시되는 유사한 구조를 갖지만 상이한 활성을 갖는 분자로 구성될 수 있다. 실시 형태에서, 표면 항원의 세트들 사이의 차이는 화합물 및 이의 대사산물, 예를 들어 테르페나딘과 펙소페나딘 또는 아스테마졸과 노르아스테마졸을 포함할 수 있다. 표면 항원의 세트들의 차이는 또한 니코틴과 메탐페타민과 같은 화합물의 구조의 비관련성(unrelatedness)에 기초할 수 있다.

[0146] 다른 실시 형태에서, 합성 나노담체의 집단들 사이의 차이는 표면 항원의 세트들 사이의 면역학적 차이에 기초한 표면 항원의 세트들 차이에 기초할 수 있다. 실시 형태에서, 표면 항원의 세트들은 이들이 생체내에서 면역반응을 유도할 수 있는 능력에 의해 정의될 수 있다. 예를 들어, 한 세트의 표면 항원은 생체내에서 관심의 항원에 대해 고수준의 고친화성 항체 생성을 유도할 수 있는 능력을 가질 수 있으며, 한편 제2 세트의 표면 항원은 그 항원에 대해 생체내에서 고수준의 고친화성 항체 생성을 유도하지 않을 수 있다. 다른 예로서, 제1 세트의 표면 항원은 제1 세트의 표면 항원의 항원에 대해 특이적인 항체 역가를 발생시킬 수 있는 능력을 가질 수 있으며, 한편 제2 세트의 표면 항원은 제2 세트의 표면 항원의 항원에 대해 특이적인 항체 역가를 발생시킬 수 있는 능력을 가질 수 있다. 실시 형태에서, 제2 세트의 표면 항원은 제2 세트의 표면 항원의 항원에 대해서는

특이적인 항체 역할을 발생시키지만, 제1 세트의 항원에 대해서는 그렇지 않다.

[0147] **본 발명의 조성을 및 관련 방법**

[0148] 합성 나노담체는 당업계에 공지된 매우 다양한 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 합성 나노담체는 나노침전, 유체 채널을 사용하는 유동 집속(flow focusing), 분무 건조, 단일 및 이중 에멀젼 용매 증발, 용매 추출, 상분리, 밀링(milling), 마이크로에멀젼 절차, 마이크로가공, 나노가공, 회생층, 단순 및 복합코아세르베이션, 및 당업자에게 익히 공지된 기타 다른 방법과 같은 방법에 의해 형성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 단분산 반도체, 전도성, 자기성, 유기, 및 기타 다른 나노물질을 위한 수성 및 유기 용매 합성이 기재되어 있다(문헌[Pellegrino et al., 2005, Small, 1:48]; 문헌[Murray et al., 2000, Ann. Rev. Mat. Sci., 30:545]; 및 문헌[Trindade et al., 2001, Chem. Mat., 13:3843]). 추가의 방법이 문헌에 기재되어 있다(예를 들어, 문헌[Doubrow, Ed., "Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy," CRC Press, Boca Raton, 1992]; 문헌[Mathiowitz et al., 1987, J. Control. Release, 5:13]; 문헌[Mathiowitz et al., 1987, Reactive Polymers, 6:275]; 및 문헌[Mathiowitz et al., 1988, J. Appl. Polymer Sci., 35:755]과, 또한 미국 특허 제5578325호 및 제6007845호; 문헌[P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" Nanomedicine. 5(6):843-853 (2010)] 참조).

[0149] 실시 형태에서, 본 발명은 표면 항원의 세트들, 바람직하게는 1가 또는 단가 표면 항원의 세트들을 제시하기 위한 합성 나노담체 수단을 포함한다. 본 발명의 특정 실시 형태는 제1 세트의 표면 항원, 바람직하게는 제1 세트의 1가 또는 단가 표면 항원을 제시하기 위한 제1 합성 나노담체 수단; 및 제2 세트의 표면 항원, 바람직하게는 제2 세트의 1가 또는 단가 표면 항원을 제시하기 위한 제2 합성 나노담체 수단을 포함한다. 표면 항원을 제시하기 위한 그러한 합성 나노담체 수단이 본 개시 내용 전체에 걸쳐 개시되어 있으며, 이는 본 명세서에 개시된 실시 형태를 포함한다.

[0150] 다양한 물질이 요망에 따라 다양한 방법을 사용하여 합성 나노담체 내로 캡슐화될 수 있는데, 이러한 방법에는 문헌[C. Astete et al., "Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles" J. Biomater. Sci. Polymer Edn, Vol. 17, No. 3, pp. 247-289 (2006)]; 문헌[K. Avgoustakis "Pegylated Poly(Lactide) and Poly(Lactide-Co-Glycolide) Nanoparticles: Preparation, Properties and Possible Applications in Drug Delivery" Current Drug Delivery 1:321-333 (2004)]; 문헌[C. Reis et al., "Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles" Nanomedicine 2:8- 21 (2006)]; 문헌[P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" Nanomedicine. 5(6):843-853 (2010)]의 방법이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 올리고뉴클레오티드와 같은 물질을 합성 나노담체 내로 캡슐화하기에 적합한 기타 다른 방법이 사용될 수 있는데, 이러한 방법은 미국 특허 제6,632,671호(Unger, 2003년 10월 14일자)에 개시된 방법을 제한 없이 포함한다.

[0151] 임의의 실시 형태에서, 합성 나노담체는 나노침전 공정 또는 분무 건조에 의해 제조된다. 합성 나노담체를 제조하는 데 사용되는 조건을 변경시켜 원하는 크기 또는 특성(예: 소수성, 친수성, 외적 형태(external morphology), "점착성(stickiness)", 형상 등)을 갖는 입자를 생성할 수 있다. 사용되는 합성 나노담체의 제조 방법 및 조건(예: 용매, 온도, 농도, 공기 유량 등)은 합성 나노담체에 커플링될 물질 및/또는 중합체 매트릭스의 조성에 따라 좌우될 수 있다.

[0152] 상기 방법 중 임의의 것에 의해 제조되는 입자가 원하는 범위 밖의 크기 범위를 가질 경우, 입자는 예를 들어 체, 분획 원심분리 또는 침강을 사용하여 크기에 따라 분류할 수 있다.

[0153] 면역특징(immunofeature) 표면을 구성하는 모이어티, 표적 모이어티(targeting moiety), 중합체 매트릭스, 항원, 애주번트 등과 같은 본 발명의 합성 나노담체의 요소는, 예를 들어 하나 이상의 공유 결합에 의해 합성 나노담체에 커플링될 수 있거나, 하나 이상의 링커에 의해 커플링될 수 있다. 합성 나노담체를 작용화하는 추가의 방법이 미국 특허 출원 공개 제2006/0002852호(Saltzman et al.), 미국 특허 출원 공개 제2009/0028910호(DeSimone et al.), 또는 국제 특허 출원 공개 WO/2008/127532호 A1(Murthy et al.)로부터 조정될 수 있다.

[0154] 대안적으로 또는 추가적으로, 합성 나노담체는 면역특징 표면을 구성하는 모이어티, 표적 모이어티, 애주번트, 항원 및/또는 기타 다른 요소에 비공유결합성 상호작용을 통해 간접적으로 또는 직접적으로 커플링될 수 있다.

비공유결합성 실시 형태에서, 비공유결합성 커플링은 전하 상호작용, 친화성 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 호스트-게스트 상호작용, 소수성 상호작용, TT 적층 상호작용, 수소 결합 상호작용, 반 데르 발스 상호작용, 자기 상호작용, 정전기 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 및/또는 이들의 조합을 포함하지만 이로 한정되지 않는 비공유결합성 상호작용에 의해 매개된다. 그러한 커플링은 본 발명의 합성 나노담체의 외부 표면 또는 내부 표면 상에 있도록 배열될 수 있다. 실시 형태에서, 캡슐화 및/또는 흡수가 커플링의 한 형태이다.

- [0155] 매우 다양한 합성 나노담체가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 구체 또는 회전타원체이다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 편평(flat)하거나 판형(plate-shaped)이다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 입방체 또는 입방체형이다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 난형 또는 타원형이다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 원통형, 원추형, 또는 피라미드형이다.
- [0156] 일부 실시 형태에서, 크기, 형상, 및/또는 조성 면에서 상대적으로 균일한 한 집단의 합성 나노담체를 사용하여 각각의 합성 나노담체가 유사한 특성을 갖게 하는 것이 바람직하다. 예를 들어, 합성 나노담체의 총수를 기준으로 합성 나노담체의 80% 이상, 90% 이상, 또는 95% 이상이 합성 나노담체의 평균 직경 또는 평균 치수의 5%, 10%, 또는 20% 이내에 속하는 최소 치수 또는 최대 치수를 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, 한 집단의 합성 나노담체는 크기, 형상, 및/또는 조성에 대하여 불균일할 수 있다.
- [0157] 합성 나노담체는 중실 또는 중공일 수 있으며, 하나 이상의 층을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 각각의 층은 다른 층(들)에 대하여 특유의 조성 및 특유의 특성을 갖는다. 그러나, 한 예를 들자면, 합성 나노담체는 코어/셀 구조를 가질 수 있는데, 여기서는 코어가 한 층(예: 중합체 코어)이고, 셀이 제2 층(예: 지질 이중층 또는 단층)이다. 합성 나노담체는 복수의 상이한 층을 포함할 수 있다.
- [0158] 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 선택적으로 하나 이상의 지질을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 리포솜을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 지질 이중층을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 지질 단층을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 미셀을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 지질층(예: 지질 이중층, 지질 단층 등)에 의해 둘러싸인 중합체 매트릭스를 포함하는 코어를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 지질층(예: 지질 이중층, 지질 단층 등)에 의해 둘러싸인 비중합체 코어(예: 금속 입자, 양자점(quantum dot), 세라믹 입자, 골 입자, 바이러스 입자, 단백질, 핵산, 탄수화물 등)를 포함할 수 있다.
- [0159] 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 하나 이상의 중합체를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 그러한 중합체는 코팅층(예: 리포솜, 지질 단층, 미셀 등)에 의해 둘러싸일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체의 다양한 요소가 중합체와 커플링될 수 있다.
- [0160] 일부 실시 형태에서, 면역특징 표면, 표적 모이어티, 항원, 애주번트, 및/또는 올리고뉴클레오티드는 중합체 매트릭스와 공유결합적으로 회합될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 공유결합성 회합은 링커에 의해 매개된다. 일부 실시 형태에서, 면역특징 표면, 표적 모이어티, 항원, 애주번트, 및/또는 올리고뉴클레오티드는 중합체 매트릭스와 비공유결합적으로 회합될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 면역특징 표면, 표적 모이어티, 항원, 애주번트, 및/또는 올리고뉴클레오티드는 중합체 매트릭스 내에 캡슐화되고/되거나, 이에 의해 둘러싸이고/둘러싸이거나, 이 전체에 걸쳐 분산될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 면역특징 표면, 표적 모이어티, 항원, 애주번트, 및/또는 뉴클레오티드는 소수성 상호작용, 전하 상호작용, 반 데르 발스 힘 등에 의해 중합체 매트릭스와 회합될 수 있다.
- [0161] 중합체 매트릭스를 형성하기 위한 매우 다양한 중합체 및 방법이 종래적으로 공지되어 있다. 일반적으로, 중합체 매트릭스는 하나 이상의 중합체를 포함한다. 중합체는 천연 또는 비천연(합성) 중합체일 수 있다. 중합체는 단독중합체이거나 둘 이상의 단량체를 포함하는 공중합체일 수 있다. 배열 면에서, 공중합체는 랜덤 또는 블록이거나, 또는 랜덤 배열과 블록 배열의 조합을 포함할 수 있다. 통상적으로, 본 발명에 따른 중합체는 유기 중합체이다.
- [0162] 본 발명에 사용하기에 적합한 중합체의 예에는 폴리에틸렌, 폴리카보네이트(예: 폴리(1,3-디옥산-2온)), 폴리무수물(예: 폴리(세바스산 무수물)), 폴리프로필푸머레이트, 폴리아미드(예: 폴리카프로락탐), 폴리아세탈, 폴리에테르, 폴리에스테르(예: 폴리락타이드, 폴리글리콜라이드, 폴리락타이드-코-글리콜라이드, 폴리카프로락톤, 폴리하이드록시산(예: 폴리(β -하이드록시알카노에이트))), 폴리(오르토에스테르), 폴리시아노아크릴레이트, 폴리비닐 알코올, 폴리우레탄, 폴리포스파젠, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리우레아, 폴리스티렌, 폴리아민, 폴리리신, 폴리리신-PEG 공중합체, 폴리(에틸렌 이민), 폴리(에틸렌 이민)-PEG 공중합체, 및 폴리포스

파진이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

- [0163] 일부 실시 형태에서, 본 발명에 따른 중합체는 21 C.F.R. § 177.2600에 의하여 미국 식품의약청(U.S. Food and Drug Administration, FDA)에 의해 사람에서의 사용에 대해 승인된 중합체를 포함하는데, 이는 폴리에스테르(예: 폴리락트산, 폴리(락트산-코-글리콜산), 폴리카프로락톤, 폴리발레로락톤, 폴리(1,3-디옥산-2 온)); 폴리무수물(예: 폴리(세바스산 무수물)); 폴리에테르(예: 폴리에틸렌 글리콜); 폴리우레탄; 폴리메타크릴레이트; 폴리아크릴레이트; 및 폴리시아노아크릴레이트를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0164] 일부 실시 형태에서, 중합체는 친수성일 수 있다. 예를 들어, 중합체는 음이온성 기(예: 포스페이트 기, 설페이트 기, 카복실레이트 기); 양이온성 기(예: 4차 아민 기); 또는 극성 기(예: 하이드록실 기, 티올 기, 아민 기)를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 친수성 중합체 매트릭스를 포함하는 합성 나노담체는 합성 나노담체 내에 친수성 환경을 발생시킨다. 일부 실시 형태에서, 중합체는 소수성일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 소수성 중합체 매트릭스를 포함하는 합성 나노담체는 합성 나노담체 내에 소수성 환경을 발생시킨다. 중합체의 친수성 또는 소수성의 선택은 합성 나노담체 내에 혼입되는(예를 들어, 커플링되는) 물질의 성질에 영향을 줄 수 있다.
- [0165] 일부 실시 형태에서, 중합체는 하나 이상의 모이어티 및/또는 작용기로 개질될 수 있다. 다양한 모이어티 또는 작용기가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 중합체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 탄수화물, 및/또는 다당류로부터 유래한 비고리형 폴리아세탈(문헌[Papisov, 2001, ACS Symposium Series, 786:301])로 개질될 수 있다. 미국 특허 제5543158호(Gref et al.), 또는 WO 공개 WO2009/051837호(Von Andrian et al.)의 일반적 교시 내용을 이용하여 임의의 실시 형태가 이루어질 수 있다.
- [0166] 일부 실시 형태에서, 중합체는 지질 기 또는 지방산 기로 개질될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 지방산 기는 부티르산, 카프로산, 카프릴산, 카프르산, 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 아라키드산, 베렌산, 또는 리그노세르산 중 하나 이상일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 지방산 기는 팔미톨레산, 올레산, 바센산, 리놀레산, 알파-리놀레산, 감마-리놀레산, 아라키돈산, 가돌레산, 아라키돈산, 에이코사펜타엔산, 도코사헥사엔산, 또는 에루스산 중 하나 이상일 수 있다.
- [0167] 일부 실시 형태에서, 중합체는 폴리에스테르일 수 있는데, 이는 락트산 및 글리콜산 단위를 포함하는 공중합체, 예를 들어 폴리(락트산-코-글리콜산) 및 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(이들은 본 명세서에서 "PLGA"로 총칭됨); 및 글리콜산 단위를 포함하는 단독중합체(본 명세서에서 "PGA"로 지칭됨), 및 락트산 단위를 포함하는 단독중합체, 예를 들어 폴리-L-락트산, 폴리-D-락트산, 폴리-D,L-락트산, 폴리-L-락타이드, 폴리-D-락타이드, 및 폴리-D,L-락타이드(본 명세서에서 "PLA"로 총칭됨)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 예시적인 폴리에스테르는, 예를 들어 폴리하이드록시산; PEG 공중합체와 락타이드 및 글리콜라이드의 공중합체(예: PLA-PEG 공중합체, PGA-PEG 공중합체, PLGA-PEG 공중합체, 및 이들의 유도체)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 폴리에스테르는, 예를 들어 폴리(카프로락톤), 폴리(카프로락톤)-PEG 공중합체, 폴리(L-락타이드-코-L-리신), 폴리(세린 에스테르), 폴리(4-하이드록시-L-프롤린 에스테르), 폴리[α -(4-아미노부틸)-L-글리콜산], 및 이들의 유도체를 포함한다.
- [0168] 일부 실시 형태에서, 중합체는 PLGA일 수 있다. PLGA는 락트산 및 글리콜산의 생체적합성 및 생분해성 공중합체이며, 다양한 형태의 PLGA가 락트산:글리콜산의 비에 의해 특징지어진다. 락트산은 L-락트산, D-락트산, 또는 D,L-락트산일 수 있다. PLGA의 분해율은 락트산:글리콜산 비를 변경시킴으로써 조정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명에 따라 사용될 PLGA는 약 85:15, 약 75:25, 약 60:40, 약 50:50, 약 40:60, 약 25:75, 또는 약 15:85의 락트산:글리콜산 비에 의해 특징지어진다.
- [0169] 일부 실시 형태에서, 중합체는 하나 이상의 아크릴 중합체일 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 아크릴 중합체는, 예를 들어 아크릴산 및 메타크릴산 공중합체, 메틸 메타크릴레이트 공중합체, 에톡시에틸 메타크릴레이트, 시아노에틸 메타크릴레이트, 아미노알킬 메타크릴레이트 공중합체, 폴리(아크릴산), 폴리(메타크릴산), 메타크릴산 알킬아미드 공중합체, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(메타크릴산 무수물), 메틸 메타크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리(메틸 메타크릴레이트) 공중합체, 폴리아크릴아미드, 아미노알킬 메타크릴레이트 공중합체, 글리시딜 메타크릴레이트 공중합체, 폴리시아노아크릴레이트, 및 상기 중합체 중 하나 이상을 포함하는 조합을 포함한다. 아크릴 중합체는 저함량의 4차 암모늄 기를 갖는 아크릴산 및 메타크릴산 에스테르의 완전히 중합된 공중합체를 포함할 수 있다.
- [0170] 일부 실시 형태에서, 중합체는 양이온성 중합체일 수 있다. 일반적으로, 양이온성 중합체는 핵산(예: DNA, 또는

이의 유도체)의 음으로 하전된 가닥을 응축 및/또는 보호할 수 있다. 아민-합유 중합체, 예를 들어 폴리(리신) (문헌[Zauner et al., 1998, *Adv. Drug Del. Rev.*, 30:97]; 및 문헌[Kabanov et al., 1995, *Bioconjugate Chem.*, 6:7]), 폴리(에틸렌 이민)(PEI; 문헌[Boussif et al., 1995, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1995, 92:7297]), 및 폴리(아미도아민) 텐드리머(문헌[Kukowska-Latallo et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:4897]; 문헌[Tang et al., 1996, *Bioconjugate Chem.*, 7:703]; 및 문헌[Haensler et al., 1993, *Bioconjugate Chem.*, 4:372])는 생리학적 pH에서 양으로 하전되고, 핵산과 이온쌍을 형성하며, 다양한 세포주에서의 형질감염을 막개한다. 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 양이온성 중합체를 포함하지 않을 수 있다(또는 제외시킬 수 있다).

[0171] 일부 실시 형태에서, 중합체는 양이온성 측쇄를 갖는 분해가능한 폴리에스테르일 수 있다(문헌[Putnam et al., 1999, *Macromolecules*, 32:3658]; 문헌[Barrera et al., 1993, *J. Am. Chem. Soc.*, 115:11010]; 문헌[Kwon et al., 1989, *Macromolecules*, 22:3250]; 문헌[Lim et al., 1999, *J. Am. Chem. Soc.*, 121:5633]; 및 문헌[Zhou et al., 1990, *Macromolecules*, 23:3399]). 이들 폴리에스테르의 예는 폴리(L-락타이드-코-L-리신)(문헌[Barrera et al., 1993, *J. Am. Chem. Soc.*, 115:11010]), 폴리(세린 에스테르)(문헌[Zhou et al., 1990, *Macromolecules*, 23:3399]), 폴리(4-하이드록시-L-프롤린 에스테르)(문헌[Putnam et al., 1999, *Macromolecules*, 32:3658]; 및 문헌[Lim et al., 1999, *J. Am. Chem. Soc.*, 121:5633]), 및 폴리(4-하이드록시-L-프롤린 에스테르)(문헌[Putnam et al., 1999, *Macromolecules*, 32:3658]; 및 문헌[Lim et al., 1999, *J. Am. Chem. Soc.*, 121:5633])를 포함한다.

[0172] 이들 및 기타 다른 중합체의 특성 및 이들의 제조 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다(예를 들어, 미국 특허 제6,123,727호; 제5,804,178호; 제5,770,417호; 제5,736,372호; 제5,716,404호; 제6,095,148호; 제5,837,752호; 제5,902,599호; 제5,696,175호; 제5,514,378호; 제5,512,600호; 제5,399,665호; 제5,019,379호; 제5,010,167호; 제4,806,621호; 제4,638,045호; 및 제4,946,929호; 문헌[Wang et al., 2001, *J. Am. Chem. Soc.*, 123:9480]; 문헌[Lim et al., 2001, *J. Am. Chem. Soc.*, 123:2460]; 문헌[Langer, 2000, *Acc. Chem. Res.*, 33:94]; 문헌[Langer, 1999, *J. Control. Release*, 62:7]; 및 문헌[Uhrich et al., 1999, *Chem. Rev.*, 99:3181] 참조). 보다 전반적으로, 임의의 적합한 중합체를 합성하기 위한 다양한 방법이 문헌[Concise Encyclopedia of Polymer Science and Polymeric Amines and Ammonium Salts, Ed. by Goethals, Pergamon Press, 1980]; 문헌[Principles of Polymerization by Odian, John Wiley & Sons, Fourth Edition, 2004]; 문헌[Contemporary Polymer Chemistry by Allcock et al., Prentice-Hall, 1981]; 문헌[Deming et al., 1997, *Nature*, 390:386]; 및 미국 특허 제6,506,577호, 제6,632,922호, 제6,686,446호, 및 제6,818,732호에 기재되어 있다.

[0173] 일부 실시 형태에서, 중합체는 선형 또는 분지형 중합체일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 중합체는 텐드리머일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 중합체는 서로에 대해 실질적으로 가교결합될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 중합체는 가교결합이 실질적으로 없을 수 있다. 일부 실시 형태에서, 중합체는 본 발명에 따라 가교결합 단계를 거치지 않고서 사용될 수 있다. 추가로, 본 발명의 합성 나노담체는 상기 및 기타 다른 중합체 중 임의의 것의 블록 공중합체, 그래프트 공중합체, 블렌드, 혼합물, 및/또는 부가물(adduct)을 포함할 수 있음이 이해되어야 한다. 당업자는 본 명세서에 열거된 중합체가 본 발명에 따라 유용할 수 있는 중합체의 포괄적이지 않은 예시적인 목록을 나타냄을 인식할 것이다.

[0174] 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 하나 이상의 중합체를 포함한다. 따라서, 중합체 합성 나노담체는 또한 WO 공개 WO2009/051837호(Von Andrian et al.)에 기재된 것들을 포함할 수 있는데, 이러한 기재된 것에는 하나 이상의 친수성 성분을 갖는 것들이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 바람직하게, 하나 이상의 중합체는 폴리에스테르, 예를 들어 폴리(락트산), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산-코-글리콜산), 또는 폴리카프로락톤을 포함한다. 더 바람직하게, 하나 이상의 중합체는 폴리에테르와 같은 친수성 중합체에 커플링된 폴리에스테르를 포함하거나 추가로 포함한다. 실시 형태에서, 폴리에테르는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 더욱 더 바람직하게, 하나 이상의 중합체는 폴리에스테르, 및 폴리에테르와 같은 친수성 중합체에 커플링된 폴리에스테르를 포함한다. 다른 실시 형태에서, 하나 이상의 중합체는 하나 이상의 항원 및/또는 하나 이상의 애주번트에 커플링된다. 실시 형태에서, 이들 중합체 중 적어도 일부는 항원(들)에 커플링되고/커플링되거나 이들 중합체 중 적어도 일부는 애주번트(들)에 커플링된다. 바람직하게, 2종 이상의 중합체가 있을 때, 이들 중합체 중 중 하나는 항원(들)에 커플링된다. 실시 형태에서, 기타 다른 중합체 종들 중 하나는 애주번트(들)에 커플링된다. 예를 들어, 실시 형태에서, 나노담체가 폴리에스테르, 및 폴리에테르와 같은 친수성 중합체에 커플링된 폴리에스테르를 포함할 때, 폴리에스테르는 애주번트에 커플링되고, 한편 폴리에테르와 같은 친수성 중합체에 커플링된 폴리에스테르는 항

원(들)에 커플링된다. 실시 형태에서, 나노담체가 만능 T 세포 항원, 예를 들어 T 헬퍼 세포 항원을 포함할 경우, 만능 T 세포 항원은 나노담체 내에 캡슐화될 수 있다.

[0175] 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 중합체 성분을 포함하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 금속 입자, 양자점, 세라믹 입자 등을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 비중합체 합성 나노담체는 비중합체 성분의 응집체(aggregate), 예를 들어 금속 원자(예: 금 원자)의 응집체이다.

[0176] 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 선택적으로 하나 이상의 양친매성 실체를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 양친매성 실체는 증가된 안정성, 개선된 균일성, 또는 증가된 점도를 갖는 합성 나노담체의 생성을 촉진시킬 수 있다. 일부 실시 형태에서, 양친매성 실체는 지질막(예: 지질 이중층, 지질 단층 등)의 내부 표면과 회합될 수 있다. 당업계에 공지된 많은 양친매성 실체가 본 발명에 따라 합성 나노담체를 제조하는 데 사용하기에 적합하다. 그러한 양친매성 실체에는 포스포글리세라이드; 포스파티딜콜린; 디팔미토일 포스파티딜콜린(DPPC); 디올레일포스파티딜 에탄올아민(DOPE); 디올레일옥시프로필트리에틸암모늄(DOTMA); 디올레오일포스파티딜콜린; 콜레스테롤; 콜레스테롤 에스테르; 디아실글리세롤; 디아실글리세롤석시네이트; 디포스파티딜 글리세롤(DPPG); 헥산데칸올; 지방 알코올, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜(PEG); 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르; 표면 활성 지방산, 예를 들어 팔미트산 또는 올레산; 지방산; 지방산 모노글리세라이드; 지방산 디글리세라이드; 지방산 아미드; 소르비탄 트리올레이트(Span[®] 85) 글리코콜레이트; 소르비탄 모노라우레이트(Span[®] 20); 폴리소르베이트 20(Tween[®] 20); 폴리소르베이트 60(Tween[®] 60); 폴리소르베이트 65(Tween[®] 65); 폴리소르베이트 80(Tween[®] 80); 폴리소르베이트 85(Tween[®] 85); 폴리옥시에틸렌 모노스테아레이트; 서팩틴(surfactin); 폴록소머; 소르비탄 지방산 에스테르, 예를 들어 소르비탄 트리올레이트; 레시틴; 리소레시틴; 포스파티딜세린; 포스파티딜이노시톨; 스팽고미엘린; 포스파티딜에탄올아민(세팔린); 카르디오리핀; 포스파티드산; 세레브로사이드; 디세틸포스페이트; 디팔미토일포스파티딜글리세롤; 스테아릴아민; 도데실아민; 헥사데실-아민; 아세틸 팔미테이트; 글리세롤 리시놀레이트; 헥사데실 스테아레이트; 이소프로필 미리스테이트; 티록사풀; 폴리(에틸렌 글리콜)5000-포스파티딜에탄올아민; 폴리(에틸렌 글리콜)400-모노스테아레이트; 인지질; 높은 계면활성 특성을 갖는 합성 및/또는 천연 세제; 데옥시콜레이트; 사이클로덱스트린; 카오트로픽 염(chaotropic salt); 이온쌍 형성제; 및 이들의 조합이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 양친매성 실체 성분은 상이한 양친매성 실체의 혼합물일 수 있다. 당업자는 이것이 계면활성을 갖는 물질의 포괄적이지 않은 예시적인 목록임을 인식할 것이다. 임의의 양친매성 실체가 본 발명에 따라 사용될 합성 나노담체의 제조시에 사용될 수 있다.

[0177] 일부 실시 형태에서, 합성 나노담체는 선택적으로 하나 이상의 탄수화물을 포함할 수 있다. 탄수화물은 천연 또는 합성일 수 있다. 탄수화물은 유도체화된 천연 탄수화물일 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 탄수화물은 단당류 또는 이당류를 포함하는데, 이러한 당류에는 글루코스, 프룩토스, 갈락토스, 리보스, 락토스, 수크로스, 말토스, 트레할로스, 셀로비오스, 만노스, 자일로스, 아라비노스, 글루코론산, 갈락토론산, 만누론산, 글루코사민, 갈락토사민, 및 뉴라민산이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 임의의 실시 형태에서, 탄수화물은 다당류인데, 이에는 폴루란, 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC), 하이드록시셀룰로스(HC), 메틸셀룰로스(MC), 텍스트란, 사이클로덱스트란, 글리코겐, 하이드록시에틸 전분, 카라기난, 글리콘, 아밀로스, 키토산, N,0-카복실메틸키토산, 알긴 및 알긴산, 전분, 키틴, 이눌린, 곤약, 글루코만난, 푸출란(pustulan), 헤파린, 히알루론산, 커들란, 및 잔탄이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 탄수화물, 예를 들어 다당류를 포함하지 않는다(또는 구체적으로 말하면 제외시킨다). 임의의 실시 형태에서, 탄수화물은 당 알코올과 같은 탄수화물 유도체를 포함할 수 있는데, 이러한 당 알코올에는 만니톨, 소르비톨, 자일리톨, 에리트리톨, 말티톨, 및 락티톨이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0178] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 허용되는 부형제, 예를 들어 방부제, 완충제, 식염수 또는 인산염 완충식염수와 조합하여 본 발명의 합성 나노담체를 포함한다. 조성물은 유용한 투여형에 이르게 하는 종래의 약제학적 제조 및 배합 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 일 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 방부제와 함께 주사용 멸균 식염수 용액 중에 혼탁된다.

[0179] 실시 형태에서, 백신에 사용하기 위한 항원 및/또는 애주번트를 위한 담체로서의 합성 나노담체를 제조할 때, 항원 및/또는 애주번트를 합성 나노담체에 커플링하는 방법이 유용할 수 있다. 항원 및/또는 애주번트가 소분자일 경우에는, 항원 및/또는 애주번트를 합성 나노담체의 조립(assembly) 전에 중합체에 부착시킬 것이 유리할 수 있다. 실시 형태에서, 항원 및/또는 애주번트를 중합체에 부착시킨 후 이 중합체 접합체를 합성 나노담체의 작제시에 사용하기보다는, 표면 기의 사용을 통해 항원 및/또는 애주번트를 합성 나노담체에 커플링하는 데 사

용되는 표면 기를 갖는 합성 나노담체를 제조하는 것이 또한 유리할 수 있다.

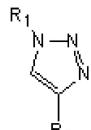
[0180] 표면 항원은 다양한 방법에 의해 합성 나노담체에 커플링될 수 있다. 실시 형태에서, 표면 항원은 합성 나노담체의 외부 표면에 공유결합적으로 또는 비공유결합적으로 커플링된다.

[0181] 임의의 실시 형태에서, 커플링은 공유결합성 링커를 통할 수 있다. 실시 형태에서, 본 발명에 따른 표면 항원 및/또는 애주번트는, 나노담체의 표면 상의 아지도 기와 알킨 기를 함유하는 표면 항원 및/또는 애주번트의 1,3-쌍극성 부가환화 반응에 의해, 또는 나노담체의 표면 상의 알킨과 아지도 기를 함유하는 표면 항원 및/또는 애주번트의 1,3-쌍극성 부가환화 반응에 의해 형성된 1,2,3-트리아졸 링커를 통해 외부 표면에 공유결합적으로 커플링될 수 있다. 그러한 부가환화 반응은 바람직하게 적합한 Cu(I)-리간드와 함께 Cu(I) 촉매 및 Cu(II) 화합물을 촉매 활성 Cu(I) 화합물로 환원시키는 환원제의 존재하에 수행된다. 이 Cu(I) 촉매에 의한 아지도-알킬 부가환화(CuAAC)는 또한 클릭 반응(click reaction)으로 지칭될 수 있다.

[0182] 추가적으로, 공유결합성 커플링은 아미드 링커, 디설파이드 링커, 티오에테르 링커, 하이드라존 링커, 하이드라지드 링커, 이민 또는 옥심 링커, 우레아 또는 티오우레아 링커, 아미딘 링커, 아민 링커, 및 셀폰아미드 링커를 포함하는 공유결합성 링커를 포함할 수 있다.

[0183] 아미드 링커는 한 성분, 예를 들어 웨타이드 상의 아민과 제2 성분, 예를 들어 나노담체의 카복실산 기 사이의 아미드 결합을 통해 형성된다. 이 링커 내의 아미드 결합은 적합하게 보호된 아미노산 또는 웨타이드와 활성화된 카복실산, 예를 들어 N-하이드록시석신아미드가 활성화된 에스테르에 의한 종래의 아미드 결합 형성 반응 중 임의의 것을 사용하여 제조될 수 있다.

[0184] 디설파이드 링커는, 예를 들어 $R_1-S-S-R_2$ 형태의 2개의 황 원자 사이의 디설파이드(S-S) 결합의 형성을 통해 제조된다. 디설파이드 결합은 티올/메르캅탄 기(-SH)를 함유하는 표면 항원 및/또는 애주번트의, 중합체 또는 나노담체 상의 다른 활성화된 티올 기에 의한 티올 교환에 의해, 또는 티올/메르캅탄 기를 함유하는 나노담체의, 활성화된 티올 기를 함유하는 항원 및/또는 애주번트에 의한 티올 교환에 의해 형성될 수 있다.



[0185] 트리아졸 링커, 특히 형태(여기서, R_1 및 R_2 는 임의의 화학적 실체일 수 있음)의 1,2,3-트리아졸은 제1 성분, 예를 들어 나노담체에 부착된 아지도와 제2 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트에 부착된 말단 알킨의 1,3-쌍극성 부가환화 반응에 의해 제조된다. 이러한 1,3-쌍극성 부가환화 반응은 촉매와 함께 또는 촉매 없이, 바람직하게는 Cu(I)-촉매와 함께 수행되는데, 이는 두 성분을 1,2,3-트리아졸 작용체(function)를 통해 결합시킨다. 이 화학은 문헌[Sharpless et al., Angew. Chem. Int. Ed. 41(14), 2596, (2002)] 및 문헌[Meldal, et al, Chem. Rev., 2008, 108(8), 2952-3015]에 상세하게 기재되어 있으며, 흔히 "클릭" 반응 또는 CuAAC로 지칭된다.

[0186] 실시 형태에서, 중합체 사슬에 대해 말단에 아지도 또는 알킨 기를 함유하는 중합체가 제조된다. 이어서, 이 중합체를 사용하여, 복수의 알킨 또는 아지도 기가 그 나노담체의 표면 상에 위치되도록 하는 방법으로 합성 나노담체를 제조한다. 대안적으로, 합성 나노담체는 다른 경로에 의해 제조되고, 이어서 알킨 또는 아지도 기로 작용화될 수 있다. 항원 및/또는 애주번트는 알킨(중합체가 아지도를 함유할 경우) 또는 아지도(중합체가 알킨을 함유할 경우) 기가 존재하도록 제조된다. 이어서, 항원 및/또는 애주번트는 촉매와 함께 또는 촉매 없이 1,3-쌍극성 부가환화 반응을 통해 나노담체와 반응되게 하는데, 이 반응은 항원 및/또는 애주번트를 1,4-이치환된(disubstituted) 1,2,3-트리아졸 링커를 통해 그 입자에 공유결합적으로 커플링시킨다.

[0187] 티오에테르 링커는, 예를 들어 R_1-S-R_2 형태의 황-탄소(티오에테르) 결합의 형성을 의해 제조된다. 티오에테르는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 티올/메르캅탄(-SH) 기의, 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 할라이드 또는 에폭사이드와 같은 알킬화 기에 의한 알킬화에 의해 제조될 수 있다. 티오에테르 링커는 또한 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 티올/메르캅탄 기의, 제2 성분, 예를 들어 마이클 억셉터로서의 말레이이미드 기 또는 비닐 셀폰 기를 함유하는 중합체 상의 전자 부족 알켄 기에 대한 마이클 부가에 의해 형성될 수 있다. 다른 방법으로, 티오에테르 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 티올/메르캅탄 기와 제2 성분, 예를 들어 중합체 또는 나노담체 상의 알켄 기의 라디칼 티올-엔 반응에 의해 제조될 수 있다.

[0188] 하이드라존 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 하이드라지드 기와 제2 성분, 예를 들어 나

노담체 상의 알데하이드/케톤 기의 반응에 의해 제조된다.

- [0189] 하이드라지드 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 하이드라진 기와 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 카복실산 기의 반응에 의해 형성된다. 일반적으로 그러한 반응은, 카복실산이 활성화 시약에 의해 활성화되는 아미드 결합의 형성과 유사한 화학을 사용하여 수행된다.
- [0190] 이민 또는 옥심 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 아민 또는 N-알콕시아민(또는 아미노옥시) 기와 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 알데하이드 또는 케톤 기의 반응에 의해 형성된다.
- [0191] 우레아 또는 티오우레아 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 아민 기와 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 이소시아네이트 또는 티오이소시아네이트 기의 반응에 의해 제조된다.
- [0192] 아미딘 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 아민 기와 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 이미도에스테르 기의 반응에 의해 제조된다.
- [0193] 아민 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 아민 기와 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 할라이드, 에폭사이드, 또는 설포네이트 에스테르 기와 같은 알킬화 기의 알킬화 반응에 의해 제조된다. 대안적으로, 아민 링커는 또한 시아노수소화붕소 나트륨 또는 트리아세톡시수소화붕소 나트륨과 같은 적합한 환원제를 사용하여 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 아민 기와 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 알데하이드 또는 케톤 기의 환원적 아미노화에 의해 제조될 수 있다.
- [0194] 설폰아미드 링커는 한 성분, 예를 들어 항원 및/또는 애주번트 상의 아민 기와 제2 성분, 예를 들어 나노담체 상의 설포닐 할라이드(예를 들어, 설포닐 클로라이드 또는 설포닐 플루오라이드) 기의 반응에 의해 제조된다.
- [0195] 설폰 링커는 친핵체의 비닐 설폰에 대한 마이클 부가에 의해 제조된다. 비닐 설폰 또는 친핵체 중 어느 하나는 나노입자의 표면 상에 있거나 항원 또는 애주번트에 부착될 수 있다.
- [0196] 항원 또는 애주번트는 또한 비공유결합성 접합 방법을 통해 나노담체에 접합될 수 있다. 예를 들어, 음으로 하전된 항원 또는 애주번트가 정전기 흡착을 통해 양으로 하전된 나노담체에 접합될 수 있다. 금속 리간드를 함유하는 항원 또는 애주번트가 또한 금속-리간드 착물을 통해 금속 착물을 함유하는 나노담체에 접합될 수 있다.
- [0197] 실시 형태에서, 항원 또는 애주번트는 합성 나노담체의 조립 전에 중합체, 예를 들어 폴리락트산-블록-폴리에틸렌 글리콜에 부착될 수 있거나, 합성 나노담체는 이의 표면 상에 반응성 또는 활성가능한 기를 갖도록 형성될 수 있다. 후자의 경우에, 항원 또는 애주번트는 합성 나노담체의 표면에 의해 제시되는 부착 화학(attachment chemistry)과 양립가능한 기를 갖도록 제조될 수 있다. 다른 실시 형태에서, 웨타이드 항원이 적합한 링커를 사용하여 VLP 또는 리포솜에 부착될 수 있다. 링커는 2개의 분자를 함께 커플링시킬 수 있는 화합물 또는 시약이다. 일 실시 형태에서, 링커는 문헌[Hermanson 2008]에 기재된 바와 같은 호모이작용성(homobifunctional) 또는 혜테로이작용성(heterobifunctional) 시약일 수 있다. 예를 들어, 표면 상에 카복실 기를 함유하는 VLP 또는 리포솜 합성 나노담체는 EDC의 존재하에 호모이작용성 링커인 아디프산 디하이드라지드(ADH)로 처리되어 ADH 링커를 갖는 상응하는 합성 나노담체를 형성할 수 있다. 이어서, 생성된 ADH 결합 합성 나노담체는 NC 상의 ADH 링커의 다른 한 말단을 통해 산 기를 함유하는 웨타이드 항원 및/또는 애주번트와 접합되어 상응하는 VLP 또는 리포솜 웨타이드 접합체를 생성한다.
- [0198] 이용가능한 접합 방법의 상세한 설명에 대해서는, 문헌[Hermanson G T "Bioconjugate Techniques", 2nd Edition, Published by Academic Press, Inc., 2008]을 참조한다. 공유결합성 부착에 더하여, 항원 및/또는 애주번트는 흡착에 의해 사전형성된 합성 나노담체에 커플링될 수 있거나 이는/이들은 합성 나노담체의 형성 동안 캡슐화에 의해 커플링될 수 있다.
- [0199] 실시 형태에서, 표면 항원은 전하 상호작용, 친화성 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 호스트-게스트 상호작용, 소수성 상호작용, TT 적층 상호작용, 수소 결합 상호작용, 반 테르 발스 상호작용, 자기 상호작용, 정전기 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 및/또는 이들의 조합을 포함하지만 이로 한정되지 않는 다양한 비공유결합성 상호작용을 사용하여 합성 나노담체에 비공유결합적으로 커플링될 수 있다. 실시 형태에서, 캡슐화가 커플링의 형태이다. 하전된 표면 항원을 커플링시킬 때, 합성 나노담체는 합성 나노담체의 표면에 흡착되게 되는 계면 활성제의 존재하에 생성될 수 있으며, 그렇게 할 때 이들은 합성 나노담체에 전하를 부여한다. 이어서, 하전된 표면 항원은 전하-전하 상호작용에 의해 하전된 합성 나노담체에 비공유결합적으로 부착될 수 있다(예를 들어, 국제 특허 공개 WO2000006123A1호(0물agen) 참조).
- [0200] 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 동일한 비허를 또는 전달 시스템 내에서 혼합함으로써 하나 이상의

애주번트와 조합될 수 있다. 그러한 애주번트에는 본 명세서에 제공된 애주번트, 예를 들어 광물염(예를 들어 명반, 에세리키아 콜리, 살모넬라 미네소타, 살모넬라 티피무롭, 또는 시겔라 플렉스네리와 같은 엔테로박테리아의 모노포스포릴 지질(MPL) A와 조합된 명반 또는 특히 별도로 상기 언급된 세균의 MPL A인 MPL[®](AS04)과 조합된 명반), 사포닌(예를 들어 QS-21, Quil-A, ISCOM, ISCOMATRIXTM), 에멀젼(예를 들어 MF59TM, Montanide[®] ISA 51 및 ISA 720, AS02(QS21+스쿠알렌+ MPL[®])), 리포솜 및 리포솜형 제형(예를 들어 AS01, AS15), 합성된 또는 특이적으로 제조된 마이크로입자 및 마이크로담체(예를 들어 N. 고노레아, 클라미디아 트라코마티스 및 기타의 세균 유도 외막 소포(OMV), 또는 키토산 입자), 데포 형성제(예를 들어 Pluronic[®] 블록 공중합체), 특이적으로 개질된 또는 제조된 펩타이드(예를 들어 뮤라밀 디펩타이드), 아미노알킬 글루코사미니드 4-포스페이트(예를 들어 RC529), 또는 단백질(예를 들어 세균 톡소이드 또는 독소 단편)이 포함될 수 있지만 이로 한정되지 않는다. 그러한 기타 다른 애주번트의 용량은 종래의 용량 범위결정(dose ranging) 연구를 사용하여 결정될 수 있다.

- [0201] 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 상이한 시점에 및/또는 상이한 신체 부위에 및/또는 상이한 면역화 경로에 의해 별개로 투여되는 (다른 전달 비하를 이용하거나 이용하지 않고서 애주번트를 갖거나 갖지 않는) 나노담체에 커플링된 것들과 상이하거나 유사하거나 동일한 기타 다른 항원과 조합되거나, 또는 상이한 시점에 및/또는 상이한 신체 부위에 및/또는 상이한 면역화 경로에 의해 별개로 투여되는 다른 항원 및/또는 애주번트 담지 합성 나노담체와 조합될 수 있다.
- [0202] 합성 나노담체의 집단들은 전통적인 약제학적 혼합 방법을 사용하여 조합되어 본 발명에 따른 투여형을 형성할 수 있다. 이러한 방법은, 각각이 나노담체의 하나 이상의 하위세트를 함유하는 둘 이상의 혼탁액이 직접 조합되거나 희석제가 들어 있는 하나 이상의 용기를 통해 합쳐지는 액체-액체 혼합을 포함한다. 합성 나노담체가 또한 분말 형태로 제조되거나 저장될 수 있기 때문에, 공통된 매질 중의 둘 이상의 분말의 재현성이 수행될 수 있는 바와 같이 분말-분말 견식 혼합이 수행될 수 있을 것이다. 나노담체의 특성 및 이들의 상호작용 포텐셜에 따라, 어떤 혼합 경로이든 이에 대해 제공되는 이점이 있을 수 있다.
- [0203] 합성 나노담체를 포함하는 통상적인 본 발명의 조성물은 무기 또는 유기 완충제(예: 포스페이트, 카보네이트, 아세테이트, 또는 시트레이트의 나트륨 또는 칼륨 염) 및 pH 조정제(예: 염산, 수산화나트륨 또는 수산화칼륨, 시트레이트 또는 아세테이트의 염, 아미노산 및 이의 염), 산화방지제(예: 아스코르브산, 알파-토코페롤), 계면 활성제(예: 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 폴리옥시에틸렌9-10 노닐 페놀, 나트륨 데스옥시콜레이트), 용액 및/또는 저온/동결(cryo/lyo) 안정제(예: 수크로스, 락토스, 만니톨, 트레할로스), 삼투압 조정제(예: 염 또는 설탕), 항세균제(예: 벤조산, 페놀, 젠타미신), 소포제(예: 폴리디메틸실로존), 방부제(예: 티메로살, 2-페녹시에탄올, EDTA), 중합체 안정제 및 점도 조정제(예: 폴리비닐피롤리돈, 폴록사미 488, 카복시메틸셀룰로스) 및 공용매(예: 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜, 에탄올)를 포함할 수 있다.
- [0204] 본 발명에 따른 조성물은 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체와 배합하여 본 발명의 합성 나노담체를 포함한다. 조성물은 유용한 투여형에 이르게 하는 종래의 약제학적 제조 및 배합 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 본 발명을 실시하는 데 사용하기에 적합한 기술은 문헌[*Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice*, Edited by Edward L. Paul, Victor A. Atiemo-Obeng, and Suzanne M. Kresta, 2004 John Wiley & Sons, Inc.]; 및 문헌[*Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*, 2nd Ed. Edited by M. E. Auten, 2001, Churchill Livingstone]에서 찾아볼 수 있다. 일 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 방부제와 함께 주사용 멸균 식염수 용액 중에 혼탁된다.
- [0205] 투여형의 용량은 본 발명에 따른 합성 나노담체의 집단들의 다양한 양을 함유한다. 본 발명의 투여형에 존재하는 합성 나노담체의 양은 표면 항원의 세트들의 성질, 완수될 치료 이득, 및 기타 다른 그러한 파라미터에 따라 변할 수 있다. 실시 형태에서, 투여형에 존재하게 될 합성 나노담체의 최적 치료량을 확립하기 위하여 용량 범위결정 연구가 수행될 수 있다. 실시 형태에서, 제1 집단 및 제2 집단은 대상에게 투여시 제1 세트의 표면 항원 및 제2 세트의 표면 항원에 대해 면역 반응을 발생시키기에 유효한 양으로 존재한다. 대상에서 종래의 용량 범위결정 연구 및 기술을 사용하여 면역 반응을 발생시키기에 유효한 제1 집단, 제2 집단, 및/또는 후속 집단의 양을 결정하는 것이 가능할 수 있다. 본 발명의 투여형은 다양한 빈도로 투여될 수 있다. 일 바람직한 실시 형태에서, 투여형의 적어도 1회의 투여가 약리학적으로 관련있는 반응을 발생시키기에 충분하다. 더 바람직한 실시 형태에서, 약리학적으로 관련있는 반응을 보장하기 위하여 투여형의 적어도 2회의 투여, 적어도 3회의 투여, 또는 적어도 4회의 투여가 이용된다.

- [0206] 본 발명의 조성물이 임의의 적합한 방법으로 제조될 수 있으며, 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법을 사용하여 생성될 수 있는 조성물로 어떠한 식으로든 제한되지 않음이 이해되어야 한다. 적절한 방법의 선택은 회합되는 특정 모이어티의 특성에 대한 주의를 필요로 할 수 있다. 실시 형태에서, 제조 방법은 제1 세트의 표면 항원을 포함하는 제1 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 제2 세트의 표면 항원을 포함하는 제2 집단의 합성 나노담체를 제조하는 단계; 및 제1 집단의 합성 나노담체 및 제2 집단의 합성 나노담체를 약제학적 투여형으로 조합하는 단계를 포함하며, 여기서 제1 세트의 표면 항원과 제2 세트의 표면 항원은 구조적으로 또는 면역학적으로 상이하다.
- [0207] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 멸균 조건 하에서 제조되거나 최종적으로(terminally) 멸균된다. 이는 생성된 조성물이 멸균성이고 비감염성이며, 따라서 비멸균성 조성물과 비교할 때 안전성을 개선함을 보장할 수 있다. 이는, 특히 합성 나노담체를 받는 대상이 면역 결함을 갖고/갖거나, 감염을 앓고/앓거나 감염 되기 쉬울 때, 가치있는 안전 대책을 제공한다. 일부 실시 형태에서, 본 발명의 합성 나노담체는 동결건조되고, 활성을 손실시킴 없이 연장된 기간 동안 제형 전략에 따라 혼탁 상태로 또는 동결건조된 분말로서 저장될 수 있다.
- [0208] 본 발명의 조성물은 비경구(예를 들어, 피하, 근육내, 정맥내, 또는 진피내); 경구; 경비(transnasal), 비강내, 경점막, 설하, 직장, 눈(ophthalmic), 경진피, 경피를 포함되지만 이로 한정되지 않는 다양한 투여 경로에 의해, 또는 이들 경로의 조합에 의해 투여될 수 있다.
- [0209] 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법은 면역 반응을 유도, 향상, 조절, 자극, 억제, 지시(direct) 또는 재지시(redirect)하는 데 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법은 암, 감염성 질환, 대사성 질환, 퇴행성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환, 면역학적 질환과 같은 병태, 또는 기타 다른 장애 및/또는 병태의 진단, 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법은 또한 중독, 예를 들어 니코틴 또는 마약에 대한 중독의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법은 또한 독소, 위험한 물질, 환경 독소, 또는 기타 다른 유해 인자에 대한 노출로부터 발생되는 병태의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다.
- [0210] 본 명세서에 제공된 대상은 남용 또는 중독성 물질에 대한 중독을 갖거나 가질 위험에 있을 수 있다.
- [0211] 본 명세서에 제공된 대상은 암을 갖거나 가질 위험에 있을 수 있다. 암에는 유방암; 담도암; 방광암; 교모세포종 및 수모세포종을 포함한 뇌암; 자궁경부암; 융모막암종; 결장암; 자궁내막암; 식도암; 위암; 급성 림프구성 및 골수성 백혈병, 예를 들어 B 세포 CLL을 포함한 혈액학적 종양; T 세포 급성 림프모세포성 백혈병/림프종; 모발상 세포 백혈병; 만성 골수성 백혈병, 다발성 골수종; AIDS 관련 백혈병 및 성인 T 세포 백혈병/림프종; 보엔병 및 파제트병을 포함한 상피내 종양; 간암; 폐암; 호지킨병 및 림프구성 림프종을 포함한 림프종; 신경모세포종; 편평 세포 암종을 포함한 구강암; 상피 세포, 간질 세포, 배아 세포 및 간엽 세포로부터 발생된 것들을 포함한 난소암; 췌장암; 전립선암; 직장암; 평활근육종, 횡문근육종, 지방육종, 섬유육종, 및 골육종을 포함한 육종; 흑색종, 메르켈 세포 암종, 카포시 육종, 기저 세포 암종, 및 편평 세포 암을 포함한 피부암; 고환종, 비고환종(기형종, 융모막암종)과 같은 배아성 종양, 간질성 종양, 및 배아 세포 종양을 포함한 고환암; 갑상선 선암종 및 수질성 암종을 포함한 갑상선암; 및 선암종 및 월름즈 종양을 포함한 신장암이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.
- [0212] 본 명세서에 제공된 대상은 감염 또는 감염성 질환을 갖거나 가질 위험에 있을 수 있다. 감염 또는 감염성 질환에는 바이러스성 감염성 질환, 예를 들어 AIDS, 수두(Chickenpox)(바리셀라(Varicella)), 보통 감기, 거대세포 바이러스 감염, 콜로라도 진드기열, 냉기열, 애볼라 출혈열, 수족구병, 간염, 단순 포진, 대상 포진, HPV, 인플루엔자(Flu), 라사열(Lassa fever), 홍역, 마르부르크 출혈열, 감염성 단핵구증, 볼거리, 노로바이러스, 회백질 척수염, 진행성 다초점성 백색질뇌병증, 광견병, 풍진, SARS, 두창(바리올라(Variola)), 바이러스성 뇌염, 바이러스성 위장염, 바이러스성 수막염, 바이러스성 폐렴, 웨스트 나일병 및 황열병; 세균성 감염성 질환, 예를 들어 탄저병, 세균성 수막염, 보툴리눔증, 브루셀라증, 캄필로박터증, 묘소병, 클레라, 디프테리아, 발진 티푸스, 임질, 농가진, 레지오넬라증, 나병(한센병), 웹토스파리아증, 리스테리아증, 라임병, 유비저(Melioidosis), 류마티스성 열, MRSA 감염, 노카르디아증(Nocardiosis), 백일해(우핑 코프(Whooping Cough)), 흑사병, 폐렴구균성 폐렴, 앙무새병, 큐열(Q fever), 록키산 반점열(Rocky Mountain Spotted Fever, RMSF), 살모넬라증, 성홍열, 시겔라증, 매독, 과상풍, 트라코마, 결핵, 야토병, 장티푸스 열, 티푸스 및 요로 감염; 기생충성 감염성 질환, 예를 들어 아프리카 트리파노소마증, 아메바증, 회충증, 바베시아증, 샤가스병, 간흡충증, 크립토스포리듐증, 낭미충증, 열두총충증, 용선충증, 포충증, 요충증, 간질증, 비대흡충증, 사상충증, 자유생활 아메바성 감염, 편

모충증, 악구충증, 막양조충증, 이소스포라증, 칼라-아자르, 리슈만편모충증, 말라리아, 요코가와흡충증, 구더기증, 회선사상충증, 이감염증, 요충 감염, 옴, 주혈흡충증, 조충증, 톡소카라증, 톡소플라스마증, 트라키넬라증, 선모충증, 편충증, 트리코모나스증 및 트리파노소마증; 진균성 감염성 질환, 예를 들어 아스페르길루스증, 블라스토미세스증, 칸디다증, 콕시디오이데스 진균증, 크립토코쿠스증, 히스토플라스마증, 발 백선증(운동선수발(Athlete's Foot)) 및 완선; 프리온 감염성 질환, 예를 들어 알파스병, 치명적 가족성 불면증(Fatal Familial Insomnia), 게르스트만-슈트로이슬러-샤인커 증후군(Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome), 쿠루(Kuru) 및 변종 크로이츠펠트-야콥병이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0213] 실시예

[0214] 본 발명은 하기 실시예를 참고하여 더 용이하게 이해될 것인데, 이들 실시예는 단지 본 발명의 임의의 태양 및 실시 형태의 예시 목적으로 포함되고 제한으로서 포함되는 것은 아니다.

[0215] 당업자는 지금 설명한 실시 형태의 다양한 개작 및 변형이 본 발명의 범주 및 사상으로부터 벗어남 없이 구성될 수 있음을 이해할 것이다. 당업계에 공지된 기타 다른 적합한 기술 및 방법이 당업자에 의해 그리고 본 명세서에 기재된 본 발명의 설명을 고려하여 다수의 특정 양식으로 적용될 수 있다.

[0216] 따라서, 본 발명이 본 명세서에 구체적으로 설명된 것과 다르게도 실시될 수 있음이 이해되어야 한다. 상기의 설명은 예시적이고 비제한적이고자 한다. 상기의 설명을 검토하고 나서 많은 다른 실시 형태가 당업자에게 명백 할 것이다. 따라서, 본 발명의 범주는 첨부된 특허청구범위를 참고하여 결정되어야 하는데, 이때 그러한 특허청구범위에 의해 자격이 부여되는 등가물의 전 범주도 함께 참고한다.

[0217] 실시예 1: 제1 집단의 나노담체를 위한 제형화(예언적(prophetic))

[0218] PLGA-R848 접합체(애주번트), PLA-PEG-N₃ 접합체(링커-펩타이드 항원) 및 ova 웨პ타이드(T 세포 항원)를 포함하는 합성 나노담체를 이중 에멀젼 방법을 통해 제조하는데, 이 방법에서는 ova 웨პ타이드가 합성 나노담체 내에 캡슐화된다. 이 합성 나노담체의 혼탁액(PBS(pH 7.4 완충제) 중 10mg/mL, 5mL, 약 12.5mg(MW: 20,000; 0.000625mmol)의 PLA-PEG-N₃을 함유함)에 온화한 교반 하에서 아세틸렌 링커(33mg)를 포함하는 HPV L1-펩타이드를 첨가한다. 아스코르브산나트륨의 용액(H₂O 중 100mM, 0.3mL)을 첨가하고, 이어서 CuSO₄ 용액(물 중 10mM, 0.6mL)을 첨가한다. 생성된 담황색 혼탁액을 15시간 동안 20°C에서 교반하고, 추가의 CuSO₄ 용액(0.3mL) 및 아스코르브산나트륨 용액(0.15mL)을 첨가한다. 이 혼탁액을 20°C에서 5시간 동안 교반하고 PBS 완충제(pH 7.4)로 10mL로 희석시키고 원심분리하여 상청액을 제거한다. 잔류하는 나노담체 펠릿을 PBS 완충제로 2회 세척한다. 이어서, 세척된 NC를 5mL의 PBS 완충제 중에 재현탁시키고 냉동 저장한다. 합성 나노담체의 표면 상에의 L1 웨პ타이드의 접합이 소화된 합성 나노담체의 HPLC 분석에 의해 그리고 생물학적 검정(bioassay)에 의해 확인된다.

[0219] 실시예 2: 제2 집단의 나노담체를 위한 제형화(예언적)

[0220] 상기 실시예 1에서의 일반적 절차의 개요를 사용하여, PLA-R848, PLA-PEG-N₃ 및 캡슐화된 ova 웨პ타이드를 포함하는 합성 나노담체를 제조하고 HPV L2 웨პ타이드와 접합시켜 L2 웨პ타이드 접합된 합성 나노담체를 제공한다.

[0221] 실시예 3: 제1 집단의 나노담체와 제2 집단의 나노담체를 조합하는 제형화(예언적)

[0222] 상기 실시예 1 및 실시예 2로부터의 합성 나노담체 제조물을 해동시키고 PBS 중에 5mg 나노담체/mL의 최종 농도로 희석시킨다. 각각의 동일한 분취량(0.5mL)을 조합하여 HPV L1 및 L2 웨პ타이드 둘 모두를 함유하는 한 집단의 나노담체를 제공한다.

[0223] 실시예 4: 나노담체의 제조

[0224] NC-Nic-OVA의 제조

[0225] 약 8.5% w/w의 접합된 레시퀴모드 함량을 가지며 3:1의 락타이드 대 글리콜라이드 비의 PLGA로부터 제조된 약 7,000Da의 4-아미노-2-(에톡시메틸)-α, α-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-에탄을 아미드인 폴리-D/L-락타이드-코-글리콜라이드, PLGA-R848을 Princeton Global Synthesis(미국 펜실베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 약 5,000Da의 PEG 블록 및 약 21,000Da의 PLA 블록을 갖는 폴리-D/L 락타이드-블록-폴리(에틸렌 글리콜)-(±)-트랜스-3'-하이드록시메틸니코틴 에테르인 PLA-PEG-니코틴(S-642)을 Princeton Global Synthesis(미국 펜실베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 말레이미드 작용기에 의해 종결된 약 22000Da의 폴리-D/L-락타이드(PLA) 블록 및 약 2900Da의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 블록으로 이루어진 블록 공중합체인 PLA-PEG-말레이미드를 시판되는 출발 재료로부터 dl-락타이드와 HO-PEG-말레이미드를 개환 중합시켜 PLA 블록을 발생시킴으로써 합성하였다. 폴리비닐 알코올 PhEur, USP(85% 내지 89%가 가수분해됨, 점도 3.4mPa.s 내지 4.6mPa.s)를 EMD Chemicals Inc.(미국 뉴저지주 08027 킵스타운 480 사우스 데모크래트 로드. 파트 번호 4-88)로부터 구매하였다.

[0226] 용액을 하기와 같이 제조하였다:

[0227] 용액 1: 정제수 중 0.13N HCl.

[0228] 용액 2: PLGA-R848, PLA-PEG-니코틴, 및 PLA-PEG-말레이미드 각각의 중합체를 개별적으로 디클로로메탄 중에 100mg/mL로 용해시키고, 이어서 2부의 PLGA-R848 용액을 1부의 각각의 PLA-PEG-니코틴 용액 및 PLA-PEG-말레이미드 용액에 합함으로써 디클로로메탄 중의 50mg/mL의 PLGA-R848, 25mg/mL의 PLA-PEG-니코틴, 및 25mg/mL의 PLA-PEG-말레이미드를 제조하였다.

[0229] 용액 3: 100mM 인산염 완충제(pH 8) 중 50mg/mL의 폴리비닐 알코올.

[0230] 용액 4: 70mM 인산염 완충제(pH 8).

[0231] 용액 1 및 용액 2를 사용하여 1차(W1/0) 에멀젼을 먼저 형성하였다. 용액 1(0.2mL)과 용액 2(1.0mL)를 소형 유리 압력관 내에서 합하고 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 50% 진폭으로 초음파 처리하였다. 이어서, 용액 3(2.0mL)을 1차 에멀젼에 첨가하고 와동(vortexing)시켜 조대 분산액을 형성하며, 이어서 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 30% 진폭으로 초음파 처리함으로써 2차(W1/0/W2) 에멀젼을 형성하였다.

[0232] 2차 에멀젼을 70mM 인산염 완충제 용액(30mL)이 들어 있는 개방된 50mL 비커에 첨가하고 2시간 동안 실온에서 교반하여 디클로로메탄이 증발되게 하고 나노담체가 혼탁 상태로 형성되게 하였다. 나노담체 혼탁액을 원심분리관에 옮기고, 45분 동안 21,000rcf로 회전시키며, 상청액을 제거하고, 펠렛을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁 시킴으로써, 혼탁된 나노담체의 일부를 세척하였다. 이러한 세척 절차를 반복하고, 이어서 펠렛을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시켜 중합체 기준으로 공칭 농도가 10mg/mL인 나노담체 혼탁액을 달성하였다. 이 나노담체 혼탁액을 추가로 사용할 때까지 -20°C에서 냉동 저장하였다.

표 4

NC-Nic-OVA 특성화

나노담체	유효 직경(nm)	TLR 작용제, % w/w	T 세포 작용제, % w/w
NC-Nic-OVA	215	R848, 4.2	없음

[0234] (1) 상기에서와 같이 제조된 표면 상에 PEG-니코틴 및 PEG-MAL을 갖는 NC; PBS 완충제 중의 6.5mg/mL의 혼탁액.

[0235] (2) OVA 단백질(난백으로부터의 오브알부민): Worthington, 로트 번호 POK12101, MW: 46000.

[0236] (3) 트라우트(Traut) 시약(2-이미노티올란.HCl): MP Biomedical, 로트 번호 8830KA, MW: 137.6

[0237] (4) pH 8 완충제(0.5mM EDTA를 함유한 20mM 인산나트륨).

[0238] (5) pH 7 1x PBS 완충제.

[0239] OVA 단백질(10mg)을 1mL의 pH 8 완충제 중에 용해시켰다. pH 8 완충제 중의 트라우트 시약의 새로 제조된 용액(0.25mL, 2mg/mL)을 OVA 단백질 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 1.5시간 동안 암소(dark)에서 아르곤 하에서 교반하였다. 이 용액을 MWCO 3K 투석필터관(diafilter tube)을 사용하여 투석여과하고(diafilter) pH 8 완충제로 2회 세척하였다. 생성된 티올 기로 개질된 OVA를 아르곤 하에서 1mL의 pH 8 완충제 중에 용해시켰다. NC 혼

탁액(3mL, 6.5mg/mL)을 원심분리하여 상청액을 제거하였다. 이어서, 개질된 OVA 용액을 NC 펠릿과 혼합하였다. 생성된 혼탁액을 12시간 동안 암소에서 아르곤 하에서 실온에서 교반하였다. 이어서, NC 혼탁액을 pH 7 PBS를 사용하여 10mL로 희석시키고 원심분리하였다. 생성된 NC 펠릿을 2x10mL pH 7 PBS로 세척하였다. 이어서, NC-Nic-OVA 접합체를 pH 7 PBS 중에 재현탁시키고(약 6mg/mL, 3mL) 4°C에서 저장하였다.

[0240] NC-OVA의 제조

[0241] 약 8.5% w/w의 접합된 레시퀴모드 함량을 가지며 3:1의 락타이드 대 글리콜라이드 비의 PLGA로부터 제조된 약 7,000Da의 4-아미노-2-(에톡시메틸)-α, α-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-에탄을 아미드인 폴리-D/L-락타이드-코-글리콜라이드, PLGA-R848을 Princeton Global Synthesis(미국 웨인베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 말레이미드 작용기에 의해 종결된 약 22000Da의 폴리-D/L-락타이드(PLA) 블록 및 약 2900Da의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 블록으로 이루어진 블록 공중합체인 PLA-PEG-말레이미드를 시판되는 출발 재료로부터 dL-락타이드와 HO-PEG-말레이미드를 개활 중합시켜 PLA 블록을 발생시킴으로써 합성하였다. 폴리비닐 알코올 PhEur, USP(85% 내지 89%가 가수분해됨, 점도 3.4mPa.s 내지 4.6mPa.s)를 EMD Chemicals Inc.(미국 뉴저지주 08027 킵스타운 480 사우스 데모크래트 로드. 파트 번호 4-88)로부터 구매하였다.

[0242] 용액을 하기와 같이 제조하였다:

[0243] 용액 1: 정제수 중 0.13N HCl.

[0244] 용액 2: PLGA-R848 및 PLA-PEG-말레이미드 각각의 중합체를 개별적으로 디클로로메탄 중에 100mg/mL로 용해시키고, 이어서 1부의 PLGA-R848 용액을 1부의 PLA-PEG-말레이미드 용액에 협합으로써 디클로로메탄 중의 50mg/mL의 PLGA-R848 및 50mg/mL의 PLA-PEG-말레이미드를 제조하였다.

[0245] 용액 3: 100mM 인산염 완충제(pH 8) 중 50mg/mL의 폴리비닐 알코올

[0246] 용액 4: 70mM 인산염 완충제(pH 8).

[0247] 용액 1 및 용액 2를 사용하여 1차(W1/0) 에멀젼을 먼저 형성하였다. 용액 1(0.2mL)과 용액 2(1.0mL)를 소형 유리 압력관 내에서 합하고 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 50% 진폭으로 초음파 처리하였다. 이어서, 용액 3(2.0mL)을 1차 에멀젼에 첨가하고 와동시켜 조대 분산액을 형성하며, 이어서 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 30% 진폭으로 초음파 처리함으로써 2차(W1/0/W2) 에멀젼을 형성하였다.

[0248] 2차 에멀젼을 70mM 인산염 완충제 용액(30mL)이 들어 있는 개방된 50mL 비커에 첨가하고 2시간 동안 실온에서 교반하여 디클로로메탄이 증발되게 하고 나노담체가 혼탁 상태로 형성되게 하였다. 나노담체 혼탁액을 원심분리관에 옮기고, 45분 동안 21,000rcf로 회전시키며, 상청액을 제거하고, 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시킴으로써, 혼탁된 나노담체의 일부를 세척하였다. 이러한 세척 절차를 반복하고, 이어서 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시켜 중합체 기준으로 공칭 농도가 10mg/mL인 나노담체 혼탁액을 달성하였다. 이 나노담체 혼탁액을 추가로 사용할 때까지 -20°C에서 냉동 저장하였다.

표 5

NC-OVA 특성화

나노담체	유효 직경(nm)	TLR 작용제, % w/w	T 세포 작용제, % w/w
NC-OVA	208	R848, 4.3	없음

[0250] (1) 상기에서와 같이 제조된 표면 상에 PEG-MAL을 갖는 NC; PBS 완충제 중의 6mg/mL의 혼탁액.

[0251] (2) OVA 단백질(단백으로부터의 오브알부민): Worthington, 로트 번호 POK12101, MW: 46000.

[0252] (3) 트라우트 시약(2-օ)미노티울란.HCl): MP Biomedical, 로트 번호 8830KA, MW: 137.6

[0253] (4) pH 8 완충제(0.5mM EDTA를 함유한 20mM 인산나트륨).

[0254] (5) pH 7 1x PBS 완충제.

[0255] OVA 단백질(20mg)을 1mL의 pH 8 완충제 중에 용해시켰다. pH 8 완충제 중의 트라우트 시약의 새로 제조된 용액(0.5mL, 2mg/mL)을 OVA 단백질 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 1.5시간 동안 암소에서 아르곤 하에서 교반하였다. 이 용액을 MWCO 3K 투석필터관을 사용하여 투석여과하고 pH 8 완충제로 2회 세척하였다. 생성된 티올 기로 개질된 OVA를 아르곤 하에서 1mL의 pH 8 완충제 중에 용해시켰다. NC 혼탁액(4mL, 6mg/mL)을 원심분리하여 상청액을 제거하였다. 이어서, 개질된 OVA 용액을 NC 펠릿과 혼합하였다. 생성된 혼탁액을 12시간 동안 암소에서 아르곤 하에서 실온에서 교반하였다. 이어서, NC 혼탁액을 pH 7 PBS를 사용하여 10mL로 회석시키고 원심분리하였다. 생성된 NC 펠릿을 2x10mL pH 7 PBS로 세척하였다. 이어서, NC-OVA 접합체를 pH 7 PBS 중에 재현탁시키고(약 6mg/mL, 4mL) 4°C에서 저장하였다.

[0256] NC-HA5의 제조

[0257] 오브알부민 웨타이드 323-339 아미드 아세테이트 염을 Bachem Americas Inc.(미국 캘리포니아주 90505 토랜스 3132 카시와 스트리트. 제품 코드 4065609)로부터 구매하였다. 약 8.5% w/w의 접합된 레시퀴모드 함량을 가지며 3:1의 락타이드 대 글리콜라이드 비의 PLGA로부터 제조된 약 7,000Da의 4-아미노-2-(에톡시메틸)-α, α-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-에탄을 아미드인 폴리-D/L-락타이드-코-글리콜라이드, PLGA-R848을 Princeton Global Synthesis(미국 펜실베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 말레이미드 작용기에 의해 종결된 약 22000Da의 폴리-D/L-락타이드(PLA) 블록 및 약 2900Da의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 블록으로 이루어진 블록 공중합체인 PLA-PEG-말레이미드를 시판되는 출발 재료로부터 dl-락타이드와 HO-PEG-말레이미드를 개환 중합시켜 PLA 블록을 발생시킴으로써 합성하였다. 폴리비닐 알코올 PhEur, USP(85% 내지 89%가 가수분해됨, 점도 3.4mPa.s 내지 4.6mPa.s)를 EMD Chemicals Inc.(미국 뉴저지주 08027 킵스타운 480 사우스 데모크래트 로드. 파트 번호 4-88)로부터 구매하였다.

[0258] 용액을 하기와 같이 제조하였다:

[0259] 용액 1: 20mg/mL의 오브알부민 웨타이드 323-339를 실온에서 0.13N HCl 중에서 제조하였다.

[0260] 용액 2: PLGA-R848 및 PLA-PEG-말레이미드 각각의 중합체를 개별적으로 디클로로메탄 중에 100mg/mL로 용해시키고, 이어서 1부의 PLGA-R848 용액을 1부의 PLA-PEG-말레이미드 용액에 합함으로써 디클로로메탄 중의 50mg/mL의 PLGA-R848 및 50mg/mL의 PLA-PEG-말레이미드를 제조하였다.

[0261] 용액 3: 100mM 인산염 완충제(pH 8) 중 50mg/mL의 폴리비닐 알코올.

[0262] 용액 4: 70mM 인산염 완충제(pH 8).

[0263] 용액 1 및 용액 2를 사용하여 1차(W1/0) 에멀젼을 먼저 형성하였다. 용액 1(0.2mL)과 용액 2(1.0mL)를 소형 유리 압력관 내에서 합하고 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 50% 진폭으로 초음파 처리하였다. 이어서, 용액 3(2.0mL)을 1차 에멀젼에 첨가하고 와동시켜 조대 분산액을 형성하며, 이어서 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 30% 진폭으로 초음파 처리함으로써 2차(W1/0/W2) 에멀젼을 형성하였다.

[0264] 2차 에멀젼을 70mM 인산염 완충제 용액(30mL)이 들어 있는 개방된 50mL 비커에 첨가하고 2시간 동안 실온에서 교반하여 디클로로메탄이 증발되게 하고 나노담체가 혼탁 상태로 형성되게 하였다. 나노담체 혼탁액을 원심분리관에 옮기고, 45분 동안 21,000rcf로 회전시키고, 상청액을 제거하며, 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시킴으로써, 혼탁된 나노담체의 일부를 세척하였다. 이러한 세척 절차를 반복하고, 이어서 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시켜 중합체 기준으로 공청 농도가 10mg/mL인 나노담체 혼탁액을 달성하였다. 이 나노담체 혼탁액을 추가로 사용할 때까지 -20°C에서 냉동 저장하였다.

표 6

NC-HA5 특성화

나노담체	유효 직경(nm)	TLR 작용제, % w/w	T 세포 작용제, % w/w
NC-HA5	216	R848, 3.6	Ova 웨타이드 323-339, 2.0

[0266] (1) 상기에서와 같이 제조된 표면 상에 PEG-MAL을 갖는 NC; PBS 완충제 중의 6.7mg/mL의 혼탁액.

- [0267] (2) HA5 단백질: 재조합 적혈구응집소, A/Vietnam/1203/2004, MW: 72000, pH 7 PBS-tween 완충제 중의 용액(0.55mg/mL)으로서 제공됨.
- [0268] (3) 트라우트 시약(2-이미노티올란.HCl): MP Biomedical, 로트 번호 8830KA, MW: 137.6
- [0269] (4) pH 8 완충제(0.5mM EDTA를 함유한 20mM 인산나트륨).
- [0270] (5) pH 7 1x PBS 완충제.
- [0271] HA5 단백질(0.38mL의 pH 7.1 PBS-tween 완충제 중 0.21g)을 pH 8 완충제를 사용하여 0.5mL로 희석시켰다. pH 8 완충제 중의 트라우트 시약의 새로 제조된 용액(0.02mL, 2mg/mL)을 HA5 단백질 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 1.5시간 동안 암소에서 아르곤 하에서 교반하였다. 이 용액을 MWCO 3K 투석필터관을 사용하여 투석여과하고 pH 8 완충제로 2회 세척하였다. 생성된 티올 기로 개질된 HA5 단백질을 아르곤 하에서 0.5mL의 pH 8 완충제 중에 용해시켰다. NC 혼탁액(3mL, 6.7mg/mL)을 원심분리하여 상청액을 제거하였다. 이어서, 개질된 HA5 용액을 NC 펠릿과 혼합하였다. 생성된 혼탁액을 12시간 동안 암소에서 아르곤 하에서 실온에서 교반하였다. 이어서, NC 혼탁액을 pH 7 PBS를 사용하여 10mL로 희석시키고 원심분리하였다. 생성된 NC 펠릿을 2x10mL pH 7 PBS로 세척하였다. 이어서, NC-HA5 접합체를 pH 7 PBS 중에 재현탁시키고(약 6mg/mL, 3mL) 4°C에서 저장하였다.
- [0272] NC-L2, NC-M2e 또는 NC-M2e-L2의 제조
- [0273] 오브알부민 웨타이드 323-339 아미드 아세테이트 염을 Bachem Americas Inc.(미국 캘리포니아주 90505 토랜스 3132 카시와 스트리트. 제품 코드 4065609)로부터 구매하였다. 약 8.5% w/w의 접합된 레시퀴모드 함량을 가지며 3:1의 락타이드 대 글리콜라이드 비의 PLGA로부터 제조된 약 7,000Da의 4-아미노-2-(에톡시메틸)-α, α-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-에탄을 아미드인 폴리-D/L-락타이드-코-글리콜라이드, PLGA-R848을 Princeton Global Synthesis(미국 펜실베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 아미드 접합된 C₆H₁₂ 립커-아지드에 의해 종결된 약 23000Da의 폴리-D/L-락타이드(PLA) 블록 및 약 2000Da의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 블록으로 이루어진 블록 공중합체인 PLA-PEG-C₆-N₃을, HO-PEG-COOH를 아미노-C₆H₁₂-아지드에 접합시키고, 이어서 생성된 HO-PEG-C₆-N₃과 dl-락타이드의 개환 중합에 의해 PLA 블록을 발생시킴으로써 합성하였다. 폴리비닐 알코올 PhEur, USP(85% 내지 89%가 가수분해됨, 접도 3.4mPa.s 내지 4.6mPa.s)를 EMD Chemicals Inc.(미국 뉴저지주 08027 킵스타운 480 사우스 데모크래트 로드. 파트 번호 4-88)로부터 구매하였다.
- [0274] 용액을 하기와 같이 제조하였다:
- [0275] 용액 1: 20mg/mL의 오브알부민 웨타이드 323-339를 실온에서 0.13N HCl 중에서 제조하였다.
- [0276] 용액 2: PLGA-R848 및 PLA-PEG-C₆-N₃ 각각을 개별적으로 디클로로메탄 중에 100mg/mL로 용해시키고, 이어서 동일한 부피부로 조합함으로써 디클로로메탄 중의 50mg/mL의 PLGA-R848 및 50mg/mL의 PLA-PEG-C₆-N₃을 제조하였다.
- [0277] 용액 3: 100mM 인산염 완충제(pH 8) 중 50mg/mL의 폴리비닐 알코올.
- [0278] 용액 4: 70mM 인산염 완충제(pH 8).
- [0279] 용액 1 및 용액 2를 사용하여 1차(W1/0) 에멀젼을 먼저 형성하였다. 용액 1(0.2mL)과 용액 2(1.0mL)를 소형 유리 압력관 내에서 합하고 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 50% 진폭으로 초음파 처리하였다. 이어서, 용액 3(2.0mL)을 1차 에멀젼에 첨가하고 와동시켜 조대 분산액을 형성하며, 이어서 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 30% 진폭으로 초음파 처리함으로써 2차(W1/0/W2) 에멀젼을 형성하였다.
- [0280] 2차 에멀젼을 70mM 인산염 완충제 용액(30mL)이 들어 있는 개방된 50mL 비커에 첨가하고 2시간 동안 실온에서 교반하여 디클로로메탄이 증발되게 하고 나노담체가 혼탁 상태로 형성되게 하였다. 나노담체 혼탁액을 원심분리관에 옮기고, 45분 동안 21,000rcf로 회전시키며, 상청액을 제거하고, 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁 시킴으로써, 혼탁된 나노담체의 일부를 세척하였다. 이러한 세척 절차를 반복하고, 이어서 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시켜 중합체 기준으로 공칭 농도가 10mg/mL인 나노담체 혼탁액을 달성하였다. 2개의 동일한

배치(batch)를 형성하고, 이어서 합하여 단일 균질 혼탁액을 형성하였으며, 이것을 추가로 사용될 때까지 -20°C에서 냉동 저장하였다.

표 7

[0281]

NC-L2, NC-M2e 또는 NC-M2e-L2 특성화

나노담체	유효 직경(nm)	TLR 작용제, % w/w	항원, % w/w
NC-L2, NC-M2e 또는 NC-M2e-L2	209	R848, 4.2	Ova 323-339 웨타이드, 2.4

[0282] (1) 상기에서와 같이 제조된, PLGA-R848 및 Ova-웨타이드를 함유하는 표면 PEG-C₆-N₃을 갖는 나노담체; PBS 중의 7mg/mL의 혼탁액.

[0283] (2) C-말단 Lys 아미노 기에 부착된 알킨 링커로 개질된 HPV16 L2 웨타이드; Bachem Americas, Inc, 로트 B06055, MW 2595, TFA 염; 서열:

[0284] H-Ala-Thr-Gln-Leu-Tyr-Lys-Thr-Cys-Lys-Gln-Ala-Gly-Thr-Cys-Pro-Pro-Asp-Ile-Ile-Pro-Lys-Val-Lys(5-헥시노닐)-NH₂(Cys-Cys 디설파이드 결합을 가짐).

[0285] (3) 촉매: CuSO₄, 탈이온수(DI water) 중 100mM; THPTA 리간드, 탈이온수 중 200mM; 아스코르브산나트륨, 새로 제조된 탈이온수 중 200mM.

[0286] (4) pH 7.4 PBS 완충제

[0287] NC 혼탁액(7mg/mL, 4mL)을 원심분리에 의해 약 1mL의 부피로 농축시켰다. 2mL의 PBS 완충제 중의 L2 웨타이드(20mg)의 용액을 첨가하였다. 0.2mL의 CuSO₄(100mM) 및 0.2mL의 THPTA 리간드(200mM)의 예비혼합된 용액을 첨가하고, 이어서 0.4mL의 아스코르브산나트륨(200mM)을 첨가하였다. 생성된 담황색 혼탁액을 18시간 동안 주위 실온에서 암소에서 교반하였다. 이어서, 이 혼탁액을 PBS 완충제를 사용하여 10mL로 희석시키고 원심분리하여 상청액을 제거하였다. NC-L2 접합체 펠릿을 10mL의 PBS 완충제로 추가로 2회 세척하고, pH 7.4 완충제 중에 약 6mg/mL의 최종 농도(약 4mL)로 재현탁시키고 4°C에서 저장하였다.

[0288] (1) 상기에서와 같이 제조된, PLGA-R848 및 Ova-웨타이드를 함유하는 표면 PEG-C₆-N₃을 갖는 나노담체; PBS 중의 7mg/mL의 혼탁액.

[0289] (2) C-말단 Gly에 부착된 알킨 링커로 개질된 M2e 웨타이드; CS Bio Co, 카탈로그 번호 CS4956, 로트: H308, MW 2650, TFA 염; 서열:

[0290] H-Met-Ser-Leu-Leu-Thr-Glu-Val-Glu-Thr-Pro-Thy-Arg-Asn-Glu-Trp-Glu-Cys-Arg-Cys-Ser-Asp-Gly-Gly-NHCH₂CCH₃.

[0291] (3) 촉매: CuSO₄, 탈이온수 중 100mM; THPTA 리간드, 탈이온수 중 200mM; 아스코르브산나트륨, 새로 제조된 탈이온수 중 200mM.

[0292] (4) pH 7.4 PBS 완충제.

[0293] NC 혼탁액(7mg/mL, 4mL)을 원심분리에 의해 약 1mL의 부피로 농축시켰다. 2mL의 PBS 완충제 중의 M2e 웨타이드(20mg)의 용액을 첨가하였다. 0.2mL의 CuSO₄(100mM) 및 0.2mL의 THPTA 리간드(200mM)의 예비혼합된 용액을 첨가하고, 이어서 0.4mL의 아스코르브산나트륨(200mM)을 첨가하였다. 생성된 담황색 혼탁액을 18시간 동안 주위 실온에서 암소에서 교반하였다. 이어서, 이 혼탁액을 PBS 완충제를 사용하여 10mL로 희석시키고 원심분리하여 상청액을 제거하였다. NC-M2e 접합체 펠릿을 10mL의 PBS 완충제로 추가로 2회 세척하고, pH 7.4 완충제 중에 약 6mg/mL의 최종 농도(약 4mL)로 재현탁시키고 4°C에서 저장하였다.

[0294] (1) 상기에서와 같이 제조된, PLGA-R848 및 Ova-웨타이드를 함유하는 표면 PEG-C₆-N₃을 갖는 나노담체; PBS 중

의 7mg/mL의 혼탁액.

[0295] (2) C-말단 Lys 아미노 기에 부착된 알킨 링커로 개질된 HPV16 L2 웨타이드; Bachem Americas, Inc, 로트 B06055, MW 2595, TFA 염; 서열:

[0296] H-Ala-Thr-Gln-Leu-Tyr-Lys-Thr-Cys-Lys-Gln-Ala-Gly-Thr-Cys-Pro-Pro-Asp-Ile-Ile-Pro-Lys-Val-Lys(5-헥시노일)-NH₂(Cys-Cys 디설파이드 결합을 가짐).

[0297] (3) C-말단 Gly에 부착된 알킨 링커로 개질된 M2e 웨타이드; CS Bio Co, 카탈로그 번호 CS4956, 로트: H308, MW 2650, TFA 염; 서열:

[0298] H-Met-Ser-Leu-Leu-Thr-Glu-Val-Glu-Thr-Pro-Thy-Arg-Asn-Glu-Trp-Glu-Cys-Arg-Cys-Ser-Asp-Gly-Gly-NHCH₂CCH.

[0299] (4) 촉매: CuSO₄, 탈이온수 중 100mM; THPTA 리간드, 탈이온수 중 200mM; 아스코르브산나트륨, 새로 제조된 탈이온수 중 200mM.

[0300] (5) pH 7.4 PBS 완충제.

[0301] NC 혼탁액(7mg/mL, 2mL)을 원심분리에 의해 약 0.5mL의 부피로 농축시켰다. 1mL의 PBS 완충제 중의 L2 웨타이드(5mg) 및 M2e 웨타이드(5mg)의 혼합물을 첨가하였다. 0.2mL의 CuSO₄(100mM) 및 0.2mL의 THPTA 리간드(200mM)의 예비혼합된 용액을 첨가하고, 이어서 0.4mL의 아스코르브산나트륨(200mM)을 첨가하였다. 생성된 담황색 혼탁액을 18시간 동안 주위 실온에서 암소에서 교반하였다. 이어서, 이 혼탁액을 PBS 완충제를 사용하여 10mL로 희석시키고 원심분리하여 상청액을 제거하였다. NC-M2e-L2 접합체 웰릿을 10mL의 PBS 완충제로 추가로 2회 세척하고, pH 7.4 완충제 중에 약 6mg/mL의 최종 농도(약 2mL)로 재혼탁시키고 4°C에서 저장하였다.

[0302] **실시예 5: 2가지의 1가 항원 나노담체에 의한 면역화는 2가지 항원 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다**

[0303] 비면역화된 마우스 및 NC-Nic와 NC-OVA(실시예 4에서 제조됨)(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μg, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항니코틴(암회색 막대) 및 항오브알부민(담회색 막대)의 항체 역가를 측정하였다. NC로 면역화한 후 33일째에 대한 역가가 도 1에 나타내어져 있다(폴리리신-니코틴 또는 오브알부민 단백질에 대한 ELISA)(그룹 1: 비면역화됨; 그룹 2: NC-Nic와 NC-OVA로 면역화됨).

[0304] 마우스에 100 μg의 NC-Nic(외부 표면 상에 니코틴을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체) 및 100 μg의 NC-OVA(외부 표면 상에 오브알부민을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체)(피하, 뒷다리)를 3주 간격으로(0일과 21일째) 주사하였다. 혈청 항니코틴 및 항오브알부민의 항체 역가를 NC로 면역화한 후 33일째에 측정하였다. 폴리리신-니코틴 또는 오브알부민 단백질에 대한 ELISA에 의해 측정된 항니코틴 및 항오브알부민의 항체 역가(EC₅₀)가 나타내어져 있다(도 1). 대조 비면역화된 마우스에 대한 역가가 또한 나타내어져 있다. 이를 결과는 2가지의 1가 항원 나노담체의 조합(NC-Nic와 NC-OVA)으로 면역화된 마우스가 2가지 항원 모두에 대해 항체를 발생시킴을 입증한다.

[0305] **실시예 6: 1가 항원 나노담체와 2가 항원 나노담체에 의한 면역화는 3가지 항원 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다**

[0306] 비면역화된 마우스 및 NC-Nic-OVA와 NC-L2(실시예 4에서 제조됨)(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μg, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항니코틴, 항오브알부민, 및 항L2 웨타이드의 항체 역가를 측정하였다. NC로 면역화한 후 33일째에 대한 역가가 도 2에 나타내어져 있다(폴리리신-니코틴, 오브알부민 단백질, 또는 PLA-PEG-L2 웨타이드에 대한 ELISA)(그룹 1: 비면역화됨; 그룹 2: NC-Nic-OVA와 NC-L2로 면역화됨).

[0307] 마우스에 100 μg의 NC-Nic-OVA(외부 표면 상에 니코틴 및 오브알부민을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체) 및 100 μg의 NC-L2(외부 표면 상에 HPV L2 웨타이드(aa17-36)를 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체)(피하, 뒷다리)를 3주 간격으로(0일과 21일째) 주사하였다. 혈청 항니코틴, 항오브알부민, 및 항L2 웨타이드의 항체 역가를 NC로 면역화한 후 33일째

에 측정하였다. 폴리리신-니코틴, 오브알부민 단백질, 및 항L2 웨타이드에 대한 ELISA에 의해 측정된 항니코틴, 항오브알부민, 및 항L2 웨타이드의 항체 역가(EC₅₀)가 나타내어져 있다(도 2). 대조 비면역화된 마우스에 대한 역가가 또한 나타내어져 있다. 이를 결과는 1가지의 1가 항원 나노담체와 1가지의 2가 항원 나노담체의 조합(NC-Nic-OVA와 NC-L2)으로 면역화된 마우스가 3가지 항원 모두에 대해 항체를 발생시킴을 입증한다.

[0308] **실시예 7: 2가지의 2가 항원 나노담체에 의한 면역화는 4가지 항원 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다**

[0309] 비면역화된 마우스 및 NC-Nic-OVA와 NC-M2e-L2(실시예 4에서 제조됨)(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μg, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항니코틴, 항오브알부민, 항M2e 웨타이드, 및 항L2 웨타이드의 항체 역가를 측정하였다. NC로 면역화한 후 33일째에 대한 역가가 도 3에 나타내어져 있다(폴리리신-니코틴, 오브알부민 단백질, PLA-PEG-M2e 웨타이드, 또는 PLA-PEG-L2 웨타이드에 대한 ELISA)(그룹 1: 비면역화됨; 그룹 2: NC-Nic-OVA와 NC-M2e-L2로 면역화됨).

[0310] 마우스에 100 μg의 NC-Nic-OVA(외부 표면 상에 니코틴 및 오브알부민을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체) 및 100 μg의 NC-M2e-L2(외부 표면 상에 인플루엔자 M2e 웨타이드(aa2-27) 및 HPV L2 웨타이드(aa17-36)를 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체)(피하, 뒷다리)를 3주 간격으로(0일과 21일째) 주사하였다. 혈청 항니코틴, 항오브알부민, 항M2e 웨타이드, 및 항L2 웨타이드의 항체 역가를 NC로 면역화한 후 33일째에 측정하였다. 폴리리신-니코틴, 오브알부민 단백질, M2e 웨타이드, 및 L2 웨타이드에 대한 ELISA에 의해 측정된 항니코틴, 항오브알부민, 항M2e 웨타이드, 및 항L2 웨타이드의 항체 역가(EC₅₀)가 나타내어져 있다(도 3). 대조 비면역화된 마우스에 대한 역가가 또한 나타내어져 있다. 이를 결과는 2가지의 2가 항원 나노담체의 조합(NC-Nic-OVA와 NC-M2e-L2)으로 면역화된 마우스가 4가지 항원 모두에 대해 항체를 발생시킴을 입증한다.

[0311] **실시예 8: 2가지의 1가 웨타이드 항원 나노담체에 의한 면역화는 2가지 웨타이드 항원 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다**

[0312] 비면역화된 마우스 및 NC-M2e와 NC-L2(실시예 4에서 제조됨)(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μg, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항M2e 웨타이드 및 항L2 웨타이드의 항체 역가를 측정하였다. NC로 면역화한 후 33일째에 대한 역가가 도 4에 나타내어져 있다(PLA-PEG-M2e 웨타이드 또는 PLA-PEG-L2 웨타이드에 대한 ELISA)(그룹 1: 비면역화됨; 그룹 2: NC-M2e와 NC-L2로 면역화됨).

[0313] 마우스에 100 μg의 NC-M2e(외부 표면 상에 인플루엔자 M2e 웨타이드(aa2-27)를 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체) 및 100 μg의 NC-L2(외부 표면 상에 HPV L2 웨타이드(aa17-36)를 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체)(피하, 뒷다리)를 3주 간격으로(0일과 21일째) 주사하였다. 혈청 항M2e 웨타이드 및 항L2 웨타이드의 항체 역가를 NC로 면역화한 후 33일째에 측정하였다. M2e 웨타이드 및 L2 웨타이드에 대한 ELISA에 의해 측정된 항M2e 웨타이드 및 항L2 웨타이드의 항체 역가(EC₅₀)가 나타내어져 있다(도 4). 대조 비면역화된 마우스에 대한 역가가 또한 나타내어져 있다. 이를 결과는 2가지의 1가 웨타이드 항원 나노담체의 조합(NC-M2e와 NC-L2)으로 면역화된 마우스가 2가지 웨타이드 항원 모두에 대해 항체를 발생시킴을 입증한다.

[0314] **실시예 9: 2가지의 1가 단백질 항원 나노담체에 의한 면역화는 2가지 단백질 항원 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다**

[0315] 비면역화된 마우스 및 NC-HA5와 NC-OVA(실시예 4에서 제조됨)(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μg, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항HA5 단백질 및 항오브알부민 단백질의 항체 역가를 측정하였다. NC로 면역화한 후 33일째에 대한 역가가 도 5에 나타내어져 있다(H5N1 HA 단백질 또는 오브알부민 단백질에 대한 ELISA)(그룹 1: 비면역화됨; 그룹 2: NC-HA5와 NC-OVA로 면역화됨).

[0316] 마우스에 100 μg의 NC-HA5 단백질(외부 표면 상에 인플루엔자 H5N1 HA 단백질을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체) 및 100 μg의 NC-OVA(외부 표면 상에 오브알부민을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨타이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체)(피하, 뒷다리)를 3주 간격으로(0일과 21

일제) 주사하였다. 혈청 항HA5 및 항오브알부민의 항체 역가를 NC로 면역화한 후 33일째에 측정하였다. H5N1 HA 단백질 및 오브알부민 단백질에 대한 ELISA에 의해 측정된 항HA5 및 항오브알부민의 항체 역가(EC₅₀)가 나타내어져 있다(도 5). 대조 비면역화된 마우스에 대한 역가가 또한 나타내어져 있다. 이를 결과는 2가지의 1가 단백질 항원 나노담체의 조합(NC-HA5와 NC-OVA)으로 면역화된 마우스가 2가지 단백질 항원 모두에 대해 항체를 발생시킴을 입증한다.

- [0317] 실시예 10: 2가지의 1가 항원 나노담체와 1가지의 2가 항원 나노담체에 의한 면역화는 4가지 항원 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다
- [0318] 비면역화된 마우스 및 NC-HA5, NC-OVA와 NC-M2e-L2(실시예 4에서 제조됨)(5마리의 동물/그룹; s.c., 주사당 각각의 NC 100 μ g, 3주 간격으로 2회)가 주사된 마우스에서의 항HA, 항오브알부민, 항M2e 웨بت아이드, 및 항L2 웨بت아이드의 항체 역가를 측정하였다. NC로 면역화한 후 33일째에 대한 역가가 도 6에 나타내어져 있다(HA 단백질, 오브알부민 단백질, PLA-PEG-M2e 웨بت아이드, 또는 PLA-PEG-L2 웨بت아이드에 대한 ELISA)(그룹 1: 비면역화됨; 그룹 2: NC-HA5와 NC-OVA와 NC-M2e-L2로 면역화됨).
- [0319] 마우스에 100 μ g의 NC-HA5 단백질(외부 표면 상에 인플루엔자 H5N1 HA 단백질을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨بت아이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체), 100 μ g의 NC-OVA(외부 표면 상에 오브알부민을 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨بت아이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체), 및 100 μ g의 NC-M2e-L2(외부 표면 상에 인플루엔자 M2e 웨بت아이드(aa2-27) 및 HPV L2 웨بت아이드(aa17-36)를 나타내고 NC 내에 OP-II 헬퍼 웨بت아이드 및 R848 애주번트를 함유하는 나노담체)(피하, 뒷다리)를 3주 간격으로(0일과 21일째) 주사하였다. 혈청 항HA, 항오브알부민, 항M2e 웨بت아이드, 및 항L2 웨بت아이드의 항체 역가를 NC로 면역화한 후 33일째에 측정하였다. HA 단백질, 오브알부민 단백질, M2e 웨بت아이드, 및 L2 웨بت아이드에 대한 ELISA에 의해 측정된 항HA, 항오브알부민, 항M2e 웨بت아이드, 및 항L2 웨بت아이드의 항체 역가(EC₅₀)가 나타내어져 있다(도 6). 대조 비면역화된 마우스에 대한 역가가 또한 나타내어져 있다. 이를 결과는 2가지의 1가 항원 나노담체와 1가지의 2가 항원 나노담체의 조합(NC-HA5, NC-OVA와 NC-M2e-L2)으로 면역화된 마우스가 4가지 항원 모두에 대해 항체를 발생시킴을 입증한다.
- [0320] 실시예 11: 2가지의 1가 항원 나노담체와 1가지의 2가 항원 나노담체에 의한 면역화는 4가지 항원 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다
- [0321] NC-M2e, NC-L2 웨بت아이드와 NC-니코틴-오브알부민(실시예 4에서 제조됨)의 조합으로 면역화된 마우스에서의 항체 역가를 측정하였다. NC-M2e 및 NC-L2 웨بت아이드는 OP-II T 헬퍼 웨بت아이드(이들에 상응하여 2.0% 및 2.4%) 및 R848 애주번트(이들에 상응하여 3.6% 및 4.3%)를 함유하였으며, NC-니코틴-오브알부민은 R848 애주번트(4.2%)를 함유하였다. 도 7의 각각의 막대는 항원에 대한 역가를 나타낸다. 그룹당 5마리의 동물을 3주 간격으로 2회, 주사당 각각의 NC 120 μ g으로 s.c로 면역화하였다. 제1 면역화 후 33일째에 대한 역가가 나타내어져 있다(ELISA가 이들에 상응하여 PLA-PEG-M2e, PLA-PEG-L2, 오브알부민 및 폴리리신-니코틴에 대해 행해짐).
- [0322] 이들 결과는, 각각이 상이한 웨بت아이드 항원을 담지하는 2가지의 NC와 함께, 또 다른 2가지의 항원을 담지하는 1가지의 NC의 조합에 의한 면역화가 4가지 NC가 담지된 항원 모두에 대한 항체의 발생을 가져옴을 입증한다. 동일한 양의 3가지의 NC(제1 NC는 인플루엔자 A 바이러스로부터의 표면 M2e 웨بت아이드(M2 기질 단백질의 세포외 도메인(ectodomain), 아미노산 2-27)를 함유하고, 제2 NC는 HPV 바이러스로부터 표면 L2 웨بت아이드(HPV-16의 L2 캡시드 단백질로부터의 아미노산 17-36)를 함유하며, 제3 NC는 표면 니코틴 및 오브알부민 단백질을 담지함)를 동물 면역화에 사용했을 때, 4가지 NC가 커플링된 항원 모두에 대해 모든 동물에서 강한 체액성 반응을 유도하였다(도 7). 면역전(preimmune) 마우스의 혈청에서는 어떠한 반응성도 검출되지 않았다.
- [0323] 실시예 12: 상이한 입체 배향의 항원을 갖는 2가지의 1가 나노담체에 의한 면역화는 2가지 배향 모두에 대한 면역 반응으로 이어진다.
- [0324] NC-3'-니코틴의 제조
- [0325] 오브알부민 웨بت아이드 323-339 아미드 아세테이트 염을 Bachem Americas Inc.(미국 캘리포니아주 90505 토랜스

3132 카시와 스트리트. 제품 코드 4065609)로부터 구매하였다. 약 8.5% w/w의 접합된 레시퀴모드 함량을 가지며 3:1의 락타이드 대 글리콜라이드 비의 PLGA로부터 제조된 약 7,000Da의 4-아미노-2-(에톡시메틸)-α, α-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-에탄올 아미드인 폴리-D/L-락타이드-코-글리콜라이드, PLGA-R848을 Princeton Global Synthesis(미국 펜실베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 약 5,000Da의 PEG 블록 및 약 21,000Da의 PLA 블록을 갖는 폴리-D/L 락타이드-블록-폴리(에틸렌 글리콜)-(±)-트랜스-3'-하이드록시메틸니코틴 에테르인 PLA-PEG-니코틴(S-642)을 Princeton Global Synthesis(미국 펜실베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 폴리비닐 알코올 PhEur, USP(85% 내지 89%가 가수분해됨, 점도 3.4mPa.s 내지 4.6mPa.s)를 EMD Chemicals Inc.(미국 뉴저지주 08027 킵스타운 480 사우스 데모크래트 로드. 패트 번호 4-88)로부터 구매하였다.

[0326] 용액을 하기와 같이 제조하였다:

[0327] 용액 1: 20mg/mL의 오브알부민 웨타이드 323-339를 실온에서 0.13N HCl 중에서 제조하였다.

[0328] 용액 2: PLGA-R848, PLA-PEG-니코틴, 및 PLA 각각의 중합체를 개별적으로 디클로로메탄 중에 100mg/mL로 용해시키고, 이어서 2부의 PLGA-R848 용액을 1부의 각각의 PLA-PEG-니코틴 용액 및 PLA 용액에 함함으로써 디클로로메탄 중의 50mg/mL의 PLGA-R848, 25mg/mL의 PLA-PEG-니코틴, 및 25mg/mL의 PLA를 제조하였다.

[0329] 용액 3: 100mM 인산염 완충제(pH 8) 중 50mg/mL의 폴리비닐 알코올.

[0330] 용액 4: 70mM 인산염 완충제(pH 8).

[0331] 용액 1 및 용액 2를 사용하여 1차(W1/0) 에멀젼을 먼저 형성하였다. 용액 1(0.2mL)과 용액 2(1.0mL)를 소형 유리 압력관 내에서 합하고 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 50% 진폭으로 초음파 처리하였다. 이어서, 용액 3(2.0mL)을 1차 에멀젼에 첨가하고 와동시켜 조대 분산액을 형성하며, 이어서 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 30% 진폭으로 초음파 처리함으로써 2차(W1/0/W2) 에멀젼을 형성하였다.

[0332] 2차 에멀젼을 70mM 인산염 완충제 용액(30mL)이 들어 있는 개방된 50mL 비커에 첨가하고 2시간 동안 실온에서 교반하여 디클로로메탄이 증발되게 하고 나노담체가 혼탁 상태로 형성되게 하였다. 나노담체 혼탁액을 원심분리관에 옮기고, 45분 동안 21,000rcf로 회전시키며, 상청액을 제거하고, 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시킴으로써, 혼탁된 나노담체의 일부를 세척하였다. 이러한 세척 절차를 반복하고, 이어서 펠릿을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시켜 중합체 기준으로 공청 농도가 10mg/mL인 나노담체 혼탁액을 달성하였다. 이 나노담체 혼탁액을 추가로 사용할 때까지 -20°C에서 냉동 저장하였다.

표 8

[0333] NC-3'-니코틴 특성화

나노담체	유효 직경(nm)	TLR 작용제, % w/w	T 세포 작용제, % w/w
NC-3'-니코틴	193	R848, 4.2	Ova 323-339 웨타이드, 2.1

NC-1'-니코틴의 제조

[0335] 오브알부민 웨타이드 323-339 아미드 아세테이트 염을 Bachem Americas Inc.(미국 캘리포니아주 90505 토랜스 3132 카시와 스트리트. 제품 코드 4065609)로부터 구매하였다. 약 8.5% w/w의 접합된 레시퀴모드 함량을 가지며 3:1의 락타이드 대 글리콜라이드 비의 PLGA로부터 제조된 약 7,000Da의 4-아미노-2-(에톡시메틸)-α, α-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-에탄올 아미드인 폴리-D/L-락타이드-코-글리콜라이드, PLGA-R848을 Princeton Global Synthesis(미국 펜실베이니아주 19007 브리스톨 300 조지 패터슨 드라이브 #206)에서 주문 제조하였다. 니코틴 상의 1' 아미노 기에 대한 4-탄소 결합을 통해 니코틴에 접합된 약 23000Da의 폴리-D/L-락타이드(PLA) 블록 및 약 2000Da의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 블록으로 이루어진 블록 공중합체인 PLA-PEG-1'-Nic를 합성하였다. 간단하게 말하면, 1' 위치에 부틸-알코올 링커를 갖는 니코틴을 에틸렌 옥사이드와의 중합에 의해 HO-PEG-1'-Nic로 제조하고, 이어서 HO-PEG-1'-Nic와 d1-락타이드의 개환 중합에 의해 PLA 연장(extension)을 발생시켰다. 고유 점도가 0.22dL/g인 PLA를 SurModics Pharmaceuticals(미국 알라바마주 35211 베밍 험 756 톰 마틴 드라이브. 제품 코드 100 DL 2A)로부터 구매하였다. 폴리비닐 알코올 PhEur, USP(85% 내지 89%가 가수분해됨, 점도 3.4mPa.s 내지 4.6mPa.s)를 EMD Chemicals Inc.(미국 뉴저지주 08027 킵스타운 480 사우스 데모크래

트 로드, 파트 번호 4-88)로부터 구매하였다.

[0336] 용액을 하기와 같이 제조하였다:

[0337] 용액 1: 20mg/mL의 오브알부민 웨타이드 323-339를 실온에서 0.13N HCl 중에서 제조하였다.

[0338] 용액 2: PLGA-R848, PLA-PEG-1'-Nic, 및 PLA 각각의 중합체를 개별적으로 디클로로메탄 중에 100mg/mL로 용해시키고, 이어서 2부의 PLGA-R848 용액을 1부의 각각의 PLA-PEG-1'-Nic 용액 및 PLA 용액에 합함으로써 디클로로메탄 중의 50mg/mL의 PLGA-R848 및 25mg/mL의 PLA-PEG-1'-Nic, 및 25mg/mL의 PLA를 제조하였다.

[0339] 용액 3: 100mM 인산염 완충제(pH 8) 중 50mg/mL의 폴리비닐 알코올.

[0340] 용액 4: 70mM 인산염 완충제(pH 8).

[0341] 용액 1 및 용액 2를 사용하여 1차(W1/0) 에멀젼을 먼저 형성하였다. 용액 1(0.2mL)과 용액 2(1.0mL)를 소형 유리 압력관 내에서 합하고 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 50% 진폭으로 초음파 처리하였다. 이어서, 용액 3(2.0mL)을 1차 에멀젼에 첨가하고 와동시켜 조대 분산액을 형성하며, 이어서 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 60초 동안 30% 진폭으로 초음파 처리함으로써 2차(W1/0/W2) 에멀젼을 형성하였다.

[0342] 2차 에멀젼을 70mM 인산염 완충제 용액(30mL)이 들어 있는 개방된 50mL 비커에 첨가하고 2시간 동안 실온에서 교반하여 디클로로메탄이 증발되게 하고 나노담체가 혼탁 상태로 형성되게 하였다. 나노담체 혼탁액을 원심분리관에 옮기고, 45분 동안 21,000rcf로 회전시키며, 상청액을 제거하고, 펠렛을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시킴으로써, 혼탁된 나노담체의 일부를 세척하였다. 이러한 세척 절차를 반복하고, 이어서 펠렛을 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시켜 중합체 기준으로 공칭 농도가 10mg/mL인 나노담체 혼탁액을 달성하였다. 이 나노담체 혼탁액을 추가로 사용할 때까지 -20°C에서 냉동 저장하였다.

표 9

NC-1'-니코틴 특성화

나노담체	유효 직경(nm)	TLR 작용제, % w/w	T 세포 작용제, % w/w
NC-1'-니코틴	238	R848, 3.9	Ova 323-339 웨타이드, 2.8

면역화 및 결과

[0345] NC-3'-니코틴과 NC-1'-니코틴의 조합으로 면역화된 마우스에서의 항체 역가를 측정하였다. NC-3'-니코틴 및 NC-1'-니코틴은 OP-II T 헬퍼 웨타이드(2.1%) 및 R848 애주번트(4.2%)를 함유하였다. 도 8의 각각의 막대는 항원에 대한 역가를 나타낸다. 그룹당 5마리의 동물을 3주 간격으로 2회, 주사당 각각의 NC 120 μ g으로 s.c로 면역화하였다. 제1 면역화 후 33일째에 대한 역가가 나타내어져 있다(ELISA가 각각 폴리리신-니코틴에 대해 행해짐).

[0346] 이들 결과는, 각각이 동일하지만 입체 배향이 상이한 항원을 담지하는 2가지의 NC의 조합에 의한 면역화가 동일한 항원의 이들 상이한 배향 2가지 모두에 대한 항체의 발생을 가져옴을 입증한다. 동일한 양의 2가지의 NC(제1 NC는 3'-위치에서 NC에 부착된 표면 니코틴을 함유하고, 제2 NC는 1'-위치에서 NC에 부착된 표면 니코틴을 함유함)를 동물 면역화에 사용했을 때, 니코틴의 2가지 배향 모두에 대해 모든 동물에서 강한 체액성 반응을 유도하였다(도 8). 면역전 마우스의 혈청에서는 어떠한 반응성도 검출되지 않았다.

실시예 13: 중합체 및 나노담체의 제조

PLGA-R848의 제조

[0349] 하기와 같이 HBTU와 같은 커플링제의 존재하에 산 말단기를 함유하는 PLGA 중합체와 R848의 반응에 의해 PLGA-R848을 제조하였다. 무수 EtOAc(160mL) 중의 PLGA(Lakeshores Polymers, MW 약 5000, 7525DLG1A, 산가 0.7mmol/g, 10g, 7.0mmol) 및 HBTU(5.3g, 14mmol)의 혼합물을 50분 동안 아르곤 하에서 실온에서 교반하였다. 화합물을 R848(2.2g, 7mmol)을 첨가하고, 이어서 디이소프로필에틸아민(DIPEA)(5mL, 28mmol)을 첨가하였다. 이 혼합물을 6시간 동안 실온에서 교반하고, 이어서 하룻밤(약 16시간) 50°C 내지 55°C에서 교반하였다. 냉각시킨

후, 이 혼합물을 EtOAc(200mL)로 희석시키고, 포화 NH_4Cl 용액(2 x 40mL), 물(40mL) 및 염수 용액(40mL)으로 세척하였다. 이 용액을 Na_2SO_4 (20g) 상에서 건조시키고 젤상(gel-like) 잔류물로 농축시켰다. 이어서, 이소프로필알코올(IPA)(300mL)을 첨가하고, 중합체 접합체를 용액으로부터 침전시켰다. 이어서, 이 중합체를 IPA(4 x 50mL)로 세척하여 잔류 시약을 제거하고 3일 동안 35°C 내지 40°C에서 진공 하에서 백색 분말(10.26g, GPC에 따르면 MW가 5200임, R848 로딩률/loading은 HPLC에 따르면 12%임)로서 건조시켰다.

[0350] 유사한 방법으로, PLA- CO_2H (산 말단기를 갖는 폴리락타이드)와 R848의 반응에 의해 PLA-R848을 제조하였다.

[0351] PLA-PEG- CO_2H 의 제조

[0352] 100mL 등근바닥 플라스크 내에서 HO-PEG- CO_2H (MW: 2000, 1.0g, 0.5mmol), dl-락타이드(10.8g, 75mmol) 및 Na_2SO_4 (15g)의 혼합물을 2일 동안 60°C에서 진공 하에서 건조시켰다. 무수 톨루엔(30mL)을 첨가하고, 이 혼합물을 아르곤 하에서 가열 환류하였다. $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (0.162mL, 0.5mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 하룻밤 아르곤 하에서 환류하고 주위 실온으로 냉각시켰다. 이 혼합물을 CH_2Cl_2 (200mL)로 희석시키고 셀라이트(Celite) 패드를 통해 여과하였다. 이 여과액을 농밀한 끈적끈적한 잔류물로 농축시켰다. 격렬하게 교반하면서 디에틸 에테르 중 10% MeOH(200mL)를 첨가하여 중합체를 침전시켰다. 이 중합체를 에테르 중 10% MeOH(100mL)로 추가로 세척하고 30°C에서 진공 하에서 건조시켜 PLA-PEG- CO_2H 공중합체를 회백색(off-white) 포말성 고체(10.0g, CDCl_3 에서의 H NMR은 이 중합체의 MW가 21000임을 보여줌)로서 생성하였다.

[0353] PLA-PEG- NH_2 의 제조

[0354] 100mL 등근바닥 플라스크 내에서 HO-PEG- NH_2HCl (MW: 3500, 1.0g, 0.28mmol), dl-락타이드(6.1g, 42mmol) 및 Na_2SO_4 (10g)의 혼합물을 1일 동안 60°C에서 진공 하에서 건조시켰다. 무수 톨루엔(30mL)을 첨가하고, 이 혼합물을 아르곤 하에서 90°C로 가열하였다. $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (0.1mL, 0.28mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 하룻밤 아르곤 하에서 환류하고 주위 실온으로 냉각시켰다. 이 혼합물을 에틸 아세테이트(200mL)로 희석시키고 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 이 여과액을 농밀한 끈적끈적한 잔류물로 농축시켰다. 격렬한 교반과 함께 t-부틸 메틸 에테르(MTBE) 중 10% MeOH(200mL)를 첨가하여 중합체를 침전시켰다. 이 중합체를 MTBE 중 5% MeOH(50mL) 및 MTBE(50mL)로 추가로 세척하고 30°C에서 진공 하에서 건조시켜 PLA-PEG- NH_2HCl 공중합체를 회백색 포말성 고체(5.0g, CDCl_3 에서의 H NMR은 이 중합체의 MW가 18000임을 보여줌)로서 생성하였다.

[0355] PLA-PEG-PEG₃-N₃의 제조

[0356] 하기와 같이 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ 와 같은 촉매의 존재하에 HO-PEG-아지드와 dl-락타이드의 개환 중합에 의해 PLA-PEG-N₃ 중합체를 제조하였다. 무수 DCM(10mL) 중에서 DCC(MW 206, 0.117g, 0.57mmol) 및 NHS(MW 115, 0.066g, 0.57mmol)의 존재하에 HO-PEG- CO_2H (MW 3500, 1.33g, 0.38mmol)를 $\text{NH}_2\text{-PEG}_3\text{-N}_3$ (MW 218.2, 0.1g, 0.458mmol)으로 하룻밤 처리하였다. 여과하여 불용성 부산물(DCC-우레아)을 제거한 후에, 이 용액을 농축시키고, 이어서 에테르로 희석시켜 중합체, HO-PEG-PEG₃-N₃을 침전시켰다(1.17g). 건조시킨 후에, HO-PEG-PEG₃-N₃(MW 3700, 1.17g, 0.32mmol)을 100mL 플라스크 내에서 dl-락타이드(EtOAc로부터 재결정화됨, MW 144, 6.83g, 47.4mmol) 및 Na_2SO_4 (10g)와 혼합하였다. 이 고체 혼합물을 하룻밤 45°C에서 진공 하에서 건조시키고, 건조 톨루엔(30mL)을 첨가하였다. 생성된 혼탁액을 아르곤 하에서 110°C로 가열하고, $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (MW 405, 0.1mL, 0.32mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 18시간 동안 환류하에 가열하고 실온으로 냉각시켰다. 이 혼합물을 DCM(50mL)으로 희석시키고 여과하였다. 유성(oily) 잔류물로 농축시킨 후에, MTBE(200mL)를 첨가하여 중합체를 침전시켰으며, 이것을 MTBE 중 10% MeOH 100mL 및 MTBE 50mL로 1회 세척하였다. 건조시킨 후, PLA-PEG-PEG₃-N₃을 백색 포말(7.2g, 평균 MW: H NMR에 따르면 23,700)로서 수득하였다.

[0357] PLA-PEG-C₆-N₃의 제조

[0358] 건조 DCM(10mL) 중에서 DCC(MW 206, 0.118g, 0.57mmol) 및 NHS(MW 115, 0.066g, 0.57mmol)의 존재하에 HO-PEG-C₆-CO₂H(MW 3500, 1.00g, 0.29mmol)를 6-아지도-1-헥실아민(H₂N-C₆-N₃)(MW 142, 0.081g, 0.57mmol)으로 하룻밤 처리하였다. 여과하여 불용성 부산물(DCC-우레아)을 제거한 후에, 이 용액을 농축시키고, 이어서 MTBE로 희석시켜 중합체를 침전시키며, 이어서 이것을 MTBE로 2회 세척하고 하룻밤 30°C에서 진공 하에서 건조시켜 HO-PEG-C₆-N₃ 중합체를 생성하였다(1.1g). HO-PEG-C₆-N₃ 중합체(1.1g, 0.29mmol)와 dl-락타이드(6.5g, 45mmol)를 건조 톨루엔(60mL) 중에서 혼합하였다. 이 혼합물을 가열 환류하였으며, 이 동안에 공비 종류에 의해 30mL의 톨루엔을 제거하였다. 생성된 용액을 100°C로 냉각시키고 Sn(Oct)₂(0.095mL, 0.29mmol)를 첨가하였다. 이 용액을 하룻밤 아르곤 하에서 환류하여 가열하고 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 이 용액을 150mL의 2-프로판올에 첨가하여 중합체를 침전시켰으며, 이것을 2-프로판올(100mL)로 세척하고 2일 동안 30°C에서 진공 하에서 건조시켜 PLA-PEG-C₆-N₃ 공중합체를 회백색 고체(6.8g, GPC에 따르면 MW가 27000이며, 이때 DPI는 1.5임)로서 생성하였다.

[0359] PLA-PEG(5K)-CONH₂NH₂의 제조

[0360] 무수 DCM(15mL) 중의 HO-PEG(5k)-CO₂H(JenKem Technology, 미국)(MW: 5000, 1.0g, 0.2mmol), tert-부틸 카바제이트(Boc-하이드라지드)(MW: 132, 0.053g, 0.4mmol), DCC(MW 206, 0.083g, 0.4mmol) 및 N-하이드록시석신이미드(NHS)(MW 115, 0.05g, 0.4mmol)의 혼합물을 25시간 동안 실온에서 교반하였다. 불용성 DCC-우레아를 여과에 의해 제거하고 이 여과액을 농축시켰다. 이 잔류물을 50mL의 MTBE에 첨가하여 중합체를 침전시키고, 이것을 40mL의 MTBE로 2회 세척하며 2일 동안 진공 하에서 건조시켜 HO-PEG(5k)-CONHNHtBoc를 백색 분말로서 생성하였다(1.07g). HO-PEG(5k)-CONHNHtBoc 중합체(1.07g, 0.20mmol) 및 dl-락타이드(4.32g, 30mmol)를 무수 톨루엔(70mL) 중에서 혼합하였다. 이 혼합물을 가열 환류하였으며, 이 동안에 공비 종류에 의해 50mL의 톨루엔을 제거하였다. 생성된 용액을 100°C로 냉각시키고 Sn(Oct)₂(0.065mL, 0.20mmol)를 첨가하였다. 이 용액을 22시간 동안 아르곤 하에서 환류하여 가열하고 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 이 용액을 150mL의 2-프로판올에 첨가하여 중합체를 침전시켰으며, 이것을 2-프로판올(60mL)로 세척하고 2일 동안 30°C에서 진공 하에서 건조시켜 PLA-PEG(5k)-CONHNHtBoc 공중합체를 백색 고체 덩어리(chunk)로서 생성하였다. 이 중합체를 50mL의 무수 DCM 중에 용해시키고 냉수로 냉각시켰다. 트리플루오로아세트산(TFA)(15mL)을 첨가하고, 생성된 용액을 하룻밤 실온에서 교반하였다. 황색을 띤 용액을 농축 건조시켰다. 잔류물을 200mL의 2-프로판올에 첨가하여 중합체를 침전시켰으며, 이것을 100mL의 2-프로판올로 세척하였다. 이 중합체를 진공 하에서 30°C에서 건조시켜 원하는 중합체를 PLA-PEG(5k)-CONHNH₂(3.4g, NMR에 따르면 MW: 24000)로서 생성하였다.

[0361] PLA-PEG-MAL의 제조

[0362] HO-PEG(3K)-말레이미드(HO-PEG-MAL)(Laysan Bio, Inc)(MW: 3000, 0.6g, 0.2mmol)를 100mL 플라스크 내에서 dl-락타이드(EtOAc로부터 재결정화됨, MW 144, 4.32g, 30mmol) 및 Na₂SO₄(4g)와 혼합하였다. 이 고체 혼합물을 하룻밤 60°C에서 진공 하에서 건조시키고, 무수 톨루엔(20mL)을 첨가하였다. 생성된 혼탁액을 아르곤 하에서 110°C로 가열하고, Sn(Oct)₂(MW 405, 0.065mL, 0.2mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 20시간 동안 환류하여 가열하고 실온으로 냉각시켰다. 이 혼합물을 DCM(50mL)으로 희석시키고 여과하였다. 유성 잔류물로 농축시킨 후에, 에틸 에테르 중 10% MeOH(80mL)를 첨가하여 중합체를 침전시켰으며, 이것을 에테르 중 10% MeOH 80mL 및 에테르 60mL로 1회 세척하였다. 하룻밤 진공 하에서 30°C에서 건조시킨 후, PLA-PEG(3K)-MAL을 백색 포말(3.26g, 평균 MW: H NMR에 따르면 24,000)로서 수득하였다.

[0363] PLA-PEG-SH의 제조(예언적)

[0364] PLA-PEG-SH 공중합체를 문헌에 따라 제조한다(문헌[Nisha C. Kalarickal, et al; Macromolecules 2007,

40:1874-1880]). 간단하게 말하면, 하기의 단계를 수행한다.

[0365] 단계 1. tBuS-PEG의 제조: 무수 THF(22mL), 칼륨 나프탈렌(THF 중 0.2M 용액, 12mL), 및 tBu-SH(0.54mL, 4.8mmol)를 밀봉된 100mL 등근바닥 플라스크 내로 충전시킨다. 이를 성분을 15분 이상 동안 교반하여 티올레이트의 형성을 보장하며, 이 시점에서 2두 니들(two-headed needle)을 사용하여 액체 에틸렌 옥사이드(EO)(11.5mL, 0.230 mol)를 첨가한다. 중합 반응을 48시간 동안 수행하고, 생성물을 차가운 디에틸 에테르 중에서의 침전에 의해 회수한다. GPC에 따른 중합체의 MW는 약 2100이다.

[0366] 단계 2. (PEG-S)₂의 제조: 단계 1로부터의 tBu-S-PEG(1.0g)를 DMSO(19mL) 중에 용해시키고, 이어서 8mg/mL의 최종 중합체 농도를 위해 TFA(106mL, 15/85 v/v)를 첨가하였다. 반응물을 20분 동안 교반하고, 이후에 TFA를 회전 증발에 의해 제거한다. 이어서, 잔류물을 차가운 디에틸 에테르 중에서 2회 침전시켜 조(crude) PEG 디설파이드를 회수한다. 이 조 (PEG-S)₂를 분별 침전에 의해 추가로 정제한다. 그리고, 이 중합체(1.0g)를 디클로로메탄(100mL) 중에 용해시키고, 이어서 침전물이 출현할 때까지 차가운 디에틸 에테르를 교반하면서 적가한다. 이 용액을 30분 동안 추가로 교반하고, 침전된 덩어리를 여과에 의해 단리하고 진공 중에서 건조시킨다. 2회 내지 3회의 분별 침전의 종료 시점에서 PEG 디설파이드, (PEG-S)₂의 회수 수율은 55% 내지 60% 범위이다.

[0367] 단계 3. d1-락타이드의 개환 중합에 의한 (PLA-b-PEG-S)₂의 제조: (PEG-S)₂(0.4g, 0.10mmol)와 d1-락타이드(4.32g, 30mmol)를 건조 툴루엔(70mL) 중에서 혼합한다. 이 혼합물을 가열 환류하며, 이 동안에 공비 증류에 의해 50mL의 툴루엔을 제거한다. 생성된 용액을 100°C로 냉각시키고 Sn(Oct)₂(0.065mL, 0.20mmol)를 첨가하였다. 이 용액을 18시간 내지 20시간 동안 아르곤 하에서 환류하여 가열하고 실온으로 냉각시킨다. 이어서, 이 용액을 150mL의 2-프로판올에 첨가하여 중합체를 침전시키며, 이것을 2-프로판올(60mL) 및 에테르(60mL)로 세척하고 2일 동안 30°C에서 진공 하에서 건조시켜 (PLA-PEG-S)₂(약 4.0g, MW: 46000)를 생성한다.

[0368] 단계 4. (PLA-PEG-S)₂의 환원에 의한 PLA-PEG-SH의 제조: 단계 3으로부터의 (PLA-PEG-S)₂(3.2g, 0.07mmol)를 탈산소화된 THF(25mL) 중에 용해시키고, Bu₃P(1.7mL, 7.0mmol, 디설파이드 단위에 대하여 100 당량)를 첨가한다. 반응 혼합물을 하룻밤 실온에서 아르곤 하에서 교반한다. 환원된 티올화된 중합체를 차가운 디에틸 에테르 중에서 침전시키고, 이어서 아르곤 분위기 하에서 여과함으로써 회수하고 진공 하에서 추가로 건조시켜 PLA-PEG-SH를 회백색 덩어리 고체(약 3.0, MW: 23000)로서 생성한다.

[0369] 캡슐화된 Ova 웨타이드를 함유하는 표면 PEG-X를 갖는 나노담체의 제조

[0370] ova 웨타이드를 함유하는, PLGA-R848, PLA-PEG-X(여기서, X = 카복실산(CO₂H), 아민(NH₂), C₆-아지드(C₆-N₃) 또는 PEG₃-아지드(PEG₃-N₃), 하이드라지드(CONHNH₂), 말레이미드(MAL), 티올(SH) 및 니트릴로트리아세트산 기(NTA))를 포함하는 나노담체를 이중 에멀젼 방법을 통해 제조하였는데, 이 방법에서 ova 웨타이드를 나노담체 내에 캡슐화하였다. 폴리비닐 알코올(Mw = 11KD 내지 31KD, 87% 내지 89%가 부분 가수분해됨)을 JT Baker로부터 구매하였다. 오브알부민 웨타이드 323-339(서열: H-Ile-Ser-Gln-Ala-Val-His-Ala-Ala-His-Ala-Glu-Ile-Asn-Glu-Ala-Gly-Arg-NH₂, 아세테이트 염, 로트 번호 B06395)를 Bachem Americas Inc.(미국 캘리포니아주 90505 토랜스 3132 카시와 스트리트)로부터 입수하였고, 산 말단기를 갖는 PLA(100DL2A)를 SurModics Pharmaceuticals(미국 알라바마주 35211 버밍엄 756 톰 마틴 드라이브)로부터 입수하였으며, PLGA-R848, 및 PLA-PEG-X 접합체를 상기의 이와 동일한 예에서 기재된 바와 같이 제조하였다.

[0371] 상기 물질을 사용하여 하기의 용액을 제조하였다:

[0372] 1. 메틸렌 클로라이드 중 100mg/mL의 PLGA-R848 접합체,

[0373] 2. 메틸렌 클로라이드 중 100mg/mL의 PLA-PEG-X,

[0374] 3. 메틸렌 클로라이드 중 100mg/mL의 PLA(100DL2A),

[0375] 4. 0.13N HCl 중 70mg/mL의 오브알부민 웨타이드 323 - 339, 및

[0376] 5. 100mM pH 8 인산염 완충제 중 50mg/mL의 폴리비닐 알코올.

[0377] 소형 용기 내에서 용액 #1(0.50mL), 용액 #2(0.25mL)와 용액 #3(0.25mL)을 합하고 0.13N HCl 중 용액

#4(0.1mL)를 첨가하며, 이 혼합물을 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 50% 진폭으로 초음파 처리하였다. 이 에멀젼에 용액 #5(2.0mL)를 첨가하고, 제2 에멀젼에 대해 Branson Digital Sonifier 250을 사용하여 40초 동안 30% 진폭에서 초음파 처리를 수행하였다. 이어서, 이것을 70mM pH 8 인산염 완충제 용액(30mL)이 들어 있는 교반 비커에 첨가하고, 이 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반하여 나노담체를 형성하였다.

[0378] 나노담체를 세척하기 위하여, 나노담체 분산액의 일부(26.5mL)를 50mL 원심분리관에 옮기고 4°C에서 1시간 동안 9500rpm(13,800g)으로 회전시켰다. 상정액을 제거하고, 펠릿을 26.5mL의 인산염 완충 식염수 중에 재현탁시켰다. 이러한 원심분리 절차를 반복하였으며, 캡슐화된 ova 웨პ타이드를 함유하는 약 10mg/mL의 최종 나노담체 분산액을 위해 펠릿을 8.3g의 인산염 완충 식염수에 재현탁시켰다.

[0379] 캡슐화된 Ova 웨პ타이드를 갖지 않는 표면 PEG-X를 갖는 나노담체의 제조

[0380] 바로 위에서 기재된 절차와 유사한 방법으로, ova 웨პ타이드를 갖지 않는 나노담체를 제조하였는데, 여기서 용액 #4는 이 제조에서 제외시켰다.

[0381] 실시예 14: 얻어진 항원 대 유도된 항원을 갖는 나노담체(예언적)

[0382] PTH를 갖는 나노담체: 표면 PEG-CONHNH₂ 하이드라지드 기를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. PTH(부갑상선 호르몬) 단백질을 EDC의 존재하에 리신 아미노 기를 통해 4-포르밀-벤조산으로 아실화한다. HCl 및 NHS를 사용하여 벤즈알데하이드 기를 갖는 PTH를 발생시킨다. MWCO 1K 필터에 의한 투석여과를 통해 정제한 후에, 개질된 PTH를 PBS 완충제(pH 8 내지 9) 중에서 표면 상에 하이드라지드를 함유하는 NC와 접합시킨다. PBS 완충제로 펠릿 세척함으로써 정제한 후에, 생성된 NC가 개질된 PTH 접합체를 pH 7.4 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0383] 개질된 PTH를 갖는 나노담체: 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거한다. 이어서, 동일한 PBS 완충제 중에 용해된 개질된 PTH를 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC가 개질된 PTH 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0384] 이어서, 동일 분량의 2개의 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0385] 실시예 15: 감염 인자의 동일한 속(genus)으로부터의 항원을 갖는 1가 나노담체 및 2가 나노담체(예언적)

[0386] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 이어서, pH 6.0 완충제 중에 용해된 사람 인플루엔자 A 바이러스 HA 단백질 삼량체 및 HA M2e 단백질을 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-HA 단백질 삼량체/M2e 단백질 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0387] 동일한 방식으로, 단량체 사람 인플루엔자 A 바이러스 HA 단백질을 사용하여 NC-HA 단량체 단백질 접합체를 제조한다.

[0388] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0389] 실시예 16: 감염 인자의 상이한 속으로부터의 항원을 갖는 1가 나노담체 및 2가 나노담체(예언적)

[0390] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 이어서, pH 6.0 완충제 중에 용해된 사람 인플루엔자 A 바이러스 HA 단백질 삼량체 및 HA M2e 단백질을 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-HA 단백질 삼량체/M2e

단백질 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0391] 동일한 방식으로, 비활성화된 감염성 연어 빈혈 바이러스를 사용하여 NC-감염성 연어 빈혈 바이러스 접합체를 제조한다.

[0392] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0393] **실시예 17: 감염 인자의 동일한 종으로부터의 항원을 갖는 1가 나노담체(예언적)**

[0394] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 홍역 적혈구응집소 항원(홍역 적혈구응집소 면역우세 영역을 함유하는 재조합 단편, 아미노산 106-114 및 519-550)을 pH 6.0 완충제 중에 용해시키고, 이어서 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-홍역 적혈구응집소 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0395] 동일한 방식으로, 홍역 융합 단백질의 단편(홍역 거대 융합 단백질의 아미노산 399-525에 상응하는 재조합 단편)을 사용하여 NC-홍역 융합 항원 접합체를 제조한다.

[0396] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0397] **실시예 18: 감염 인자의 상이한 종으로부터의 항원을 갖는 1가 나노담체(예언적)**

[0398] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 사람 인플루엔자 A 바이러스 HA 단백질 삼량체를 pH 6.0 완충제 중에 용해시키고, 이어서 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-HA 단백질 삼량체 접합체를 추가 시험을 위해 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0399] 스트렙토코쿠스 뉴모니아 다당류(PnPs) 6B를 대표적인 PnPs 혈청형으로서 선택한다. 정제된 천연(즉, 정제 후 크기가 축소되지 않음) PnPs-6B를 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.0mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M 의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, 생성된 활성화된 PnPs-6B 용액을 pH 9 완충제 중에서, 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조된 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드) 기를 갖는 NC에 첨가한다. 생성된 NC 및 PnPs-6B 혼탁액을 1시간 동안 진탕하고, 2M 글리신 용액으로 급냉시킨다(quench). PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-PnPs-6B 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0400] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0401] **실시예 19: 감염 인자의 동일한 균주로부터의 항원을 갖는 1가 나노담체(예언적)**

[0402] 표면 상에 PEG-X를 갖는 나노담체를 하기와 같이 제조한다. ova 웨타이드를 함유하는, PLGA-R848, PLA-PEG-X(여기서, X = 카복실산(CO₂H), 아민(NH₂), C₆-아지드(C₆-N₃) 또는 PEG₃-아지드(PEG₃-N₃), 하이드라지드(CONHNH₂), 말레이미드(MAL) 및 티올(SH))를 포함하는 단분산 PRINT 나노담체(PRINT NC)를 문헌에 기재된 바와 같은 비습윤성 템플레이트에서의 입자 복제(Particle Replication in Non-wetting Template, PRINT) 방법에 의해 제조한다(문헌: (1) "Direct Fabrication and Harvesting of Monodisperse, Shape Specific Nano-Biomaterials"; Rolland, J. P.; Maynor, B. W.; Euliss, L. E.; Exner, A. E.; Denison, G. M.; DeSimone, J. M. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 10096; (2) "The Complex Role of Multivalency in Nanoparticles Targeting the Transferrin Receptor for Cancer Therapies" Jin Wang, Shaomin Tian, Robby A. Petros, Mary E. Napier and Joseph M. DeSimone; J. Am. Chem. Soc., 2010, 132 (32), pp 11306-11313). 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 PRINT-

NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 이어서, pH 6.0 완충제 중에 용해된 폐렴구균성 표면 단백질 A(PspA)를 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-PsPA 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0403] 정제된 천연 PnPs-6B를 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH_3CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.0mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et_3N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, 생성된 활성화된 PnPs-6B 용액을 pH 9 완충제 중에서, 상기에 기재된 바와 같이 제조된 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드) 기를 갖는 PRINT NC에 첨가한다. 생성된 NC 및 PnPs-6B 혼탁액을 1시간 동안 진탕하고, 2M 글리신 용액으로 급냉시킨다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-PnPs-6B 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0404] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0405] **실시예 20: 감염 인자의 상이한 균주로부터의 항원을 갖는 1가 나노담체(예언적)**

[0406] 정제된 천연 PnPs-6B를 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH_3CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.0mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et_3N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, 생성된 활성화된 PnPs-6B 용액을 pH 9 완충제 중에서, 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조된 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드) 기를 갖는 NC에 첨가한다. 생성된 NC 및 PnPs-6B 혼탁액을 1시간 동안 진탕하고, 2M 글리신 용액으로 급냉시킨다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-PnPs-6B 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0407] 정제된 천연 PnPs14를 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH_3CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.0mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et_3N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, 생성된 활성화된 PnPs14 용액을 pH 9 완충제 중에서, 상기에 기재된 바와 같이 제조된 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드) 기를 갖는 PRINT NC에 첨가한다. 생성된 PRINT NC 및 PnPs14 혼탁액을 1시간 동안 진탕하고, 2M 글리신 용액으로 급냉시킨다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 PRINT NC-PnPs14 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0408] 표면 PEG-X(여기서, X = 카복실산(CO_2H), 아민(NH_2), 아지드(N_3), 하이드라지드(CONHNH_2) 및 알데하이드(CHO))를 갖는 금 NC를 하기와 같이 제조한다.

[0409] 단계 1. 금 NC(AuNC)의 형성: 1mM HAuCl_4 의 500mL의 수용액을 응축기가 구비된 1L 동근바닥 플라스크 내에서 격렬하게 교반하면서 10분 동안 가열 환류한다. 이어서, 40mM 시트르산삼나트륨의 50mL의 용액을 교반 중인 용액에 신속히 첨가한다. 생성된 딥 와인 레드(deep wine red) 용액을 25분 내지 30분 동안 환류하에 유지하고 열을 빼내며 그 용액을 실온으로 냉각시킨다. 이어서, 이 용액을 0.8 μm 막 필터를 통해 여과하여 AuNC 용액을 생성한다. 가시 분광법 및 투과 전자 현미경법을 사용하여 AuNC 를 특성화한다. AuNC 는 직경이 약 20nm이고, 시트레이트에 의해 캐핑되어 있으며, 520nm에서 피크 흡수를 갖는다.

[0410] 단계 2. HS-PEG-X를 사용하여 PEG-X로 작용화된 AuNC : AuNC 를 하기와 같이 HS-PEG-X(MW 범위: 1500 내지 5000)(여기서, X = 카복실산(CO_2H), 아민(NH_2), 아지드(N_3), 하이드라지드(CONHNH_2) 및 알데하이드(CHO))로 작용화한다. HS-PEG-X(10mM pH 9.0 카보네이트 완충제 중 10 μM)의 150 μl 의 용액을 1mL의 20nm 직경의 시트레이트 캐핑된 금 나노담체(1.16nM)에 첨가하여 2500:1의 티올 대 금의 몰비를 생성한다. 이 혼합물을 1시간 동안 아르곤 하에서 실온에서 교반하여 금 나노담체 상의 시트레이트와 티올의 완전한 교환을 가능하게 한다. 이어서, 표면 상에 PEG-X를 갖는 AuNC 를 30분 동안 12,000g로 원심분리하여 정제한다. 상청액을 경사분리하고 (decant), AuNC-PEG-X 를 함유하는 펠릿을 생체분자와의 추가의 생접합(bioconjugation)을 위해 적절한 PBS 완충제 중에 재현탁시킨다. 정제된 천연 PnPs-19F를 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH_3CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.0mg/mg). 생성된 용액

액의 pH를 0.2M의 수성 Et_3N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, 생성된 활성화된 PnPs-19F 용액을 pH 9 완충제 중에서, 상기에 기재된 바와 같이 제조된 표면 PEG-CONHNH_2 (PEG-하이드라지드) 기를 갖는 AuNC 에 첨가한다. 생성된 AuNC 및 PnPs-19F 혼탁액을 1시간 동안 진탕하고, 2M 글리신 용액으로 급냉시킨다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 AuNC-PnPs-19F 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0411] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0412] 실시예 21: 동일하지만 배향이 상이한 항원을 갖는 1가 나노담체(예언적)

[0413] 3'-위치를 통해 부착된 표면 니코틴 유사체를 갖는 PRINT NC를 상기에 기재된 트랜스-3'-하이드록시메틸니코틴(3-HO-MeNic), PLGA-R848 및 ova 웨타이드로부터 유도된 PLA-PEG-3-HO-MeNic 공중합체로부터 제조한다. 표면 3'-치환된 니코틴 유사체를 함유하는 생성된 PRINT NC를 pH 7.4 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0414] 유사한 방법으로, 1'-위치를 통해 부착된 표면 니코틴 유사체를 갖는 PRINT NC를 상기에 기재된 1'-부틸 니코틴(1-부틸-Nic), PLGA-R848 및 ova 웨타이드로부터 유도된 PLA-PEG-1-부틸-Nic 공중합체로부터 제조한다. 표면 1'-치환된 니코틴 유사체를 함유하는 생성된 PRINT NC를 pH 7.4 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0415] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0416] 실시예 22: 동일하지만 입체형태가 상이한 항원을 갖는 1가 나노담체(예언적)

[0417] 표면 $\text{PEG-CO}_2\text{H}$ 기를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 이어서, pH 6.0 완충제 중에 용해된 홍역 바이러스 적혈구응집소 누스 에피토프(HNE, H379-410, 디설파이드 온전(intact))를 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-HNE 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0418] 홍역 바이러스의 고도로 보존된 적혈구응집소 누스 에피토프(HNE, H379-410)는 3개의 시스테인 잔기를 함유하는데, 이를 중 2개(Cys386과 Cys394)는 디설파이드 가교를 형성한다. 디설파이드 가교를 함유하는 HNE 웨타이드를 PBS 완충제 중에서 디티오트레이탈(DTT)을 사용하여 환원시켜 환원된 HNE를 생성한다. 표면 $\text{PEG-CO}_2\text{H}$ 기를 갖는 NC를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 이어서, pH 6.0 완충제 중에 용해된 환원된 HNE를 DTT의 존재하에 아르곤 하에서 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 아르곤 하에서 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-환원된 HNE 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0419] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0420] 실시예 23: 상이한 구조의 소분자 항원을 갖는 1가 나노담체 및 2가 나노담체(예언적)

[0421] 표면 $\text{PEG-CO}_2\text{H}$ 기를 갖는 AuNC 를 상기에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 AuNC 를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. pH 6.0 완충제 중에서 구매가능한 4-코티닌카복실산(미국 특허 출원 제2007/0129551호 A1)으로부터 제조된 트랜스-3'-아미노메틸니코틴을 활성화된 AuNC 에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 AuNC-니코틴 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0422] CuAAC 클릭 화학을 위한 아지드 또는 알킬과 같은 표면 작용기를 갖는 VLP를 문헌에 기재된 바와 같이 제조한다 (문헌["Surface Functionalization of Virus-Like Particles by Direct Conjugation Using Azide-Alkyne Click Chemistry", Kedar G. Patel and James R. Swartz]; 문헌[Bioconjugate Chem., 2011, 22 (3), pp 376-

387]). 알킨 또는 아지드 링커를 함유하는 코카인 유사체 및 알킨 또는 아지드 링커를 함유하는 메탐페타민 유사체를 표면 B 세포 항원 에피토프로서 문현 절차에 따라 제조한다. 아지드 링커를 갖는 코카인 유사체 및 메탐페타민 유사체의 등몰 혼합물을 표준 CuAAC 조건 하에서 표면 알킨 기를 함유하는 VLP로 처리하여 VLP-코카인-메탐페타민 접합체를 생성한다.

[0423] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0424] **실시예 24: 상이한 구조의 올리고당류 항원을 갖는 2가 나노담체(예언적)**

[0425] 정제된 PnPs-6B를 묽은산으로 또는 초음파 처리 하에서 크기를 감소시켜 올리고며 PnPs-6B를 생성하고, 이것을 2M NaCl 중에 용해시킨다. 유사하게, 정제된 PnPs-3을 묽은산으로 또는 초음파 처리 하에서 크기를 감소시켜 올리고며 PnPs-3을 생성하고, 이것을 2M NaCl 중에 용해시킨다. 올리고며 PnPs-6B 및 PnPs-3의 등몰 혼합된 용액을 이들 용액으로부터 제조한다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 혼합된 PnPs 용액에 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.5mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, 생성된 활성화된 올리고며 PnPs-6B/PnPs-3 용액을 pH 9 완충제 중에서, 상기에 기재된 바와 같이 제조된 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드) 기를 갖는 AuNC에 첨가한다. 생성된 AuNC 및 활성화된 PnPs-6B/PnPs-3 혼탁액을 1시간 동안 진탕하고, 2M 글리신 용액으로 급냉시킨다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 AuNC-PnPs-6B/3 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0426] 표면 상에 카복실산(CO₂H) 기를 함유하는 VLP를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 VLP 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 정제된 PnPs-4를 묽은산으로 또는 초음파 처리 하에서 크기를 감소시켜 올리고며 PnPs-4를 생성하고, 이것을 2M NaCl 중에 용해시킨다. 유사하게, 정제된 PnPs-19F를 묽은산으로 또는 초음파 처리 하에서 크기를 감소시켜 올리고며 PnPs-19F를 생성하고, 이것을 2M NaCl 중에 용해시킨다. 올리고며 PnPs-4 및 PnPs-19F의 등몰 혼합된 용액을 이들 용액으로부터 제조한다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 혼합된 PnPs 용액에 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.5mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, pH 9 완충제 중의 아디프산 디하이드라지드(ADH) 링커의 용액을 활성화된 혼합된 PnPs-4/19F 용액에 첨가한다. 생성된 용액을 1시간 동안 혼합하고 2M 글리신 용액으로 급냉시키며 투석에 의해 정제한다. 이어서, pH 6.0 완충제 중의 ADH 링커를 갖는 정제된 올리고며 PnPs-4/19F를 pH 6.0 완충제 중의 활성화된 VLP에 첨가하고, 생성된 혼탁액을 하룻밤 4°C에서 혼합하며 투석에 의해 정제하거나 펠릿을 세척하여 추가 시험을 위한 VLP-PnPs-4/19F 접합체를 생성한다.

[0427] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0428] **실시예 25: 상이한 구조의 다당류 항원을 갖는 2가 나노담체(예언적)**

[0429] 정제된 천연 PnPs-6B를 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.0mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, pH 9 완충제 중의 아디프산 디하이드라지드(ADH) 링커의 용액을 활성화된 PnPs-6B 용액에 첨가한다. 생성된 용액을 1시간 동안 혼합하고 투석에 의해 정제한다. ADH 링커를 갖는 정제된 PnPs-6B를 NC 접합을 위하여 pH 6.0 완충제 중에 용해시킨다.

[0430] 정제된 N. 메닌기티디스 수막구균성 다당류 혈청군 A(NmA)를 1M NaCl 중에 용해시킨다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/NmA의 비: 1.5mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, pH 9 완충제 중의 아디프산 디하이드라지드(ADH) 링커의 용액을 활성화된 NmA 용액에 첨가한다. 생성된 용액을 1시간 내지 2시간 동안 혼합하고 투석에 의해 정제한다. ADH 링커를 갖는 정제된 NmA를 NC 접합을 위하여 pH 6.0 완충제 중에 용해시킨다.

- [0431] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 NC를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. pH 6.0 완충제 중의 ADH 링커를 갖는 PnPs-6B 및 ADH 링커를 갖는 NmA의 등을 혼합된 용액을 활성화된 NC 용액에 첨가하고, 생성된 혼탁액을 하룻밤 4°C에서 혼합한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-PnPs6B/NmA 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.
- [0432] 정제된 천연 PnPs-19F를 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.0mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, pH 9 완충제 중의 아디프산 디하이드라지드(ADH) 링커의 용액을 활성화된 PnPs-19F 용액에 첨가한다. 생성된 용액을 1시간 동안 혼합하고 투석에 의해 정제한다. ADH 링커를 갖는 정제된 PnPs-19F를 NC 접합을 위하여 pH 6.0 완충제 중에 용해시킨다.
- [0433] 정제된 N. 메닌기티디스 수막구균성 다당류 혈청군 C(NmC)를 1M NaCl 중에 용해시킨다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/NmC의 비: 1.5mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, pH 9 완충제 중의 아디프산 디하이드라지드(ADH) 링커의 용액을 활성화된 NmC 용액에 첨가한다. 생성된 용액을 1시간 내지 2시간 동안 혼합하고 투석에 의해 정제한다. ADH 링커를 갖는 정제된 NmC를 NC 접합을 위하여 pH 6.0 완충제 중에 용해시킨다.
- [0434] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 NC를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. pH 6.0 완충제 중의 ADH 링커를 갖는 PnPs-19F 및 ADH 링커를 갖는 NmC의 등을 혼합된 용액을 활성화된 NC 용액에 첨가하고, 생성된 혼탁액을 하룻밤 4°C에서 혼합한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-PnPs-19F/NmC 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.
- [0435] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.
- [0436] **실시예 26: 상이한 배향의 소분자 항원을 갖는 2가 나노담체 및 1가 나노담체 (예언적)**
- [0437] 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드)를 갖는 나노담체를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조하고, 4°C에서 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 코카인 유사체 GNC(6-(2R,3S)-3-(벤조일옥시)-8-메틸-8-아자바이사이클로[3.2.1] 옥탄-2-카보닐옥시-헥산산)를 보고된 절차에 따라 제조한다(문헌["Cocaine Analog Coupled to Disrupted Adenovirus: A Vaccine Strategy to Evoke High-titer Immunity Against Addictive Drugs" Martin J Hicks, et al, Mol Ther 2011, 19: 612-619]). 이 화합물을 DMF 중에서 EDC/NHS로 활성화하고, 활성화된 GNC-NHS 에스테르를 단리하여 NC 접합을 위해 정제한다. 다른 코카인 유사체, AI1을 보고된 절차에 따라 제조하고(문헌["Positional linker effects in haptens for cocaine immunopharmacotherapy", Akira Ino, Tobin J. Dickerson, and Kim D. Janda]; 문헌[Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 17 (2007) 4280-4283]) 상기에서와 같이 EDC/NHS로 활성화한다. NC 표면 PEG-하이드라지드에 대해 과량으로 등을 분량의 각각의 활성화된 코카인 유사체를 pH 6.0 완충제 중에서 NC와 혼합한다. 생성된 혼탁액을 하룻밤 4°C에서 혼합한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-GNC/AI1 코카인 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.
- [0438] 노르코카인을 석신산 무수물로 처리하여 석신산 링커를 함유하는 코카인, SNC를 생성하고, 이어서 보고된 절차에 따라 EDC/NHS로 활성화한다(문헌[Fox BS, Kantak KM, Edwards MA et al. Efficacy of a therapeutic cocaine vaccine in rodent models. Nat. Med. 2(10), 1129-1132 (1996)]). 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드)를 갖는 NC를 상기 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조하고 4°C에서 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 과량의 활성화된 코카인 유사체, SNC를 이 NC에 첨가한다. 생성된 혼탁액을 하룻밤 4°C에서 혼합한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-SNC 코카인 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0439] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0440] 실시예 27: 상이한 부착을 갖는 웨타이드 항원을 갖는 2가 나노담체 및 1가 나노담체(예언적)

[0441] 표면 PEG-아지드(PEG-N₃)를 갖는 나노담체를 실시예 13에 따라 제조하고, 아르곤과 함께 탈기된 pH 완충제 중에 혼탁시킨다. C-말단 프로파르길 아미드 기(C-알킨 기)를 갖는 오브알부민(325-336) 웨타이드를 표준 고상 웨타이드 합성에 의해 제조하고, 생성된 정제된 Ova(325-336)-C-알킨 웨타이드를 아르곤 하에서 pH 7 완충제 중에서 용해시킨다. 5-헥신산으로 아실화된 N-말단 아민(N-말단 알킨 기)을 갖는 오브알부민(325-336) 웨타이드를 표준 고상 웨타이드 합성에 의해 제조하고, 생성된 정제된 Ova(325-336)-N-알킨 웨타이드를 아르곤 하에서 pH 7 완충제 중에서 용해시킨다. 표면 PEG-N₃을 갖는 NC를 아르곤 하에서 pH 7 완충제 중에서 등물량의 각각의 ova-C-알킨 및 ova-N-알킨 웨타이드와 혼합하고, 생성된 혼탁액을 보고된 프로토콜에 따라 CuAAC 클릭 반응시킨다(문헌 ["Analysis and optimization of copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition for bioconjugation", Hong V, Presolski SI, Ma C, Finn MG.]; 문헌[Angew Chem Int Ed Engl. 2009; 48(52):9879-83]). 생성된 NC-Ova 웨타이드-C-결합된/Ova 웨타이드-N-결합된 접합체 펠릿을 pH 7 완충제로 세척함으로써 정제하고 pH 7 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0442] 재조합 바이러스 유사 입자(VLP)를 표준 절차에 따라 제조한다. 특히, 토끼 출혈성 질환 바이러스로부터의 VLP를 제조하고, Matthew Peacey, et al.에 의해 기재된 바와 같이 설포석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트(설포-SMCC)와 같은 혜테로이작용성 링커를 통해 Ova(323-339) 웨타이드와 접합한다(문헌: (1) Peacey M, Wilson S, Baird MA, Ward VK. "Versatile RHDV virus-like particles: incorporation of antigens by genetic modification and chemical conjugation" Biotechnol Bioeng; 2007; 98:968-77; (2) Peacey M, Wilson S, Perret R, Ronchese F, Ward VK, Young V, Young S, Baird, MA. "Virus-like particles from rabbit hemorrhagic disease virus can induce an anti-tumor response" Vaccine; 2008; 26:5334-5337). 생성된 VLP-ova 웨타이드 접합체를 정제하고 pH 7 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0443] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0444] 실시예 28: 단백질 상의 상이한 부착점에서 커플링된 단백질 항원을 갖는 1가 나노담체(활성화 대 단백질 태그)(예언적)

[0445] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 나노담체를 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 이어서, pH 6.0 완충제 중에 용해된 홍역 적혈구응집소 단백질(MHP)을 생성된 NC 혼탁액에 첨가한다. 이 접합을 하룻밤 4°C에서 진행되게 한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-MHP 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0446] Ni-His 태그 복합체화(complexation)를 위한 표면 PEG-NTA 기를 갖는 나노담체를 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 결합 완충제(50mM 인산염 완충제 시스템, 300mM NaCl, 10mM 이미다졸, pH 8.0) 중의 NiCl₂의 용액으로 처리하여 표면 NTA-Ni 복합체를 갖는 NC를 형성한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC를 아르곤 하에서 결합 완충제 중에 혼탁시킨다. 결합 완충제 중의 His₆-태그부착된(tagged) 재조합 홍역 적혈구응집소 단백질의 용액을 이 NC 혼탁액에 첨가하고, 이 혼탁액을 아르곤 하에서 하룻밤 4°C에서 항온 처리한다. 생성된 NC-NTA-His₆-MHP 접합체 펠릿을 pH 7 완충제로 세척하고 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0447] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0448] 실시예 29: 상이한 부착점에서 커플링된 올리고당류 항원을 갖는 1가 나노담체(활성화된 하이드록실 기 대 링커)(예언적)

[0449] 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드) 기를 갖는 나노담체를 실시예 13에서와 같이 제조하고, 아르곤 하에서 pH 9 완충제 중에 혼탁시킨다. 정제된 PnPs-6B를 묽은산으로 또는 초음파 처리 하에서 크기를 감소시켜 올리고며

PnPs-6B를 생성하고, 이것을 2M NaCl 중에 용해시킨다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 PnPs-6B 용액에 첨가한다(CDAP/PnPs의 비: 1.5mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, 생성된 활성화된 올리고머 PnPs-6B 용액을 표면 PEG-CONHNH₂(PEG-하이드라지드) 기를 갖는 NC에 첨가한다. 생성된 NC 및 활성화된 PnPs-6B 혼탁액을 1시간 동안 진탕하고, 2M 글리신 용액으로 급냉시킨다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-PnPs-6B 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0450] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 나노담체를 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 3-아미노프로필 링커를 갖는 올리고머 PnPs-6B를 보고된 방법에 따라 제조한다(문헌["Synthetic 6B Di-, Tri-, and Tetrasaccharide-Protein Conjugates Contain Pneumococcal Type 6A and 6B Common and 6B- Specific Epitopes That Elicit Protective Antibodies in Mice", Jansen WTM, et al. Infect Immun. 2001; 69(2): 787-793]). pH 6 완충제 중의 올리고머 PnPs-6B-3-프로필아민을 활성화된 NC에 첨가한다. 생성된 혼탁액을 아르곤 하에서 하룻밤 4°C에서 혼합한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, NC-PnPs-6B 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0451] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

[0452] 실시예 30: 다당류 상의 상이한 부착점에서 커플링된 다당류 항원을 갖는 1가 나노담체(예언적)

[0453] NmA를 다중 부착점을 사용하여 CDAP 활성화된 하이드록실 기를 통해 NC에 부착시킨다. 정제된 N. 메닌기티디스 수막구균성 다당류 혈청균 A(NmA)를 1M NaCl 중에 용해시킨다. CH₃CN 중의 1-시아노-4-디메틸아미노페리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP)의 용액(100mg/mL)을 첨가한다(CDAP/ NmA의 비: 1.5mg/mg). 생성된 용액의 pH를 0.2M의 수성 Et₃N 또는 NaOH 용액의 희석물을 사용하여 9로 조정한다. 3분 내지 4분 후에, pH 9 완충제 중의 아디프산 디하이드라지드(ADH) 링커의 용액을 활성화된 NmA 용액에 첨가한다. 생성된 용액을 1시간 내지 2시간 동안 혼합하고 투석에 의해 정제한다. ADH 링커를 갖는 정제된 NmA를 NC 접합을 위하여 pH 6.0 완충제 중에 용해시킨다.

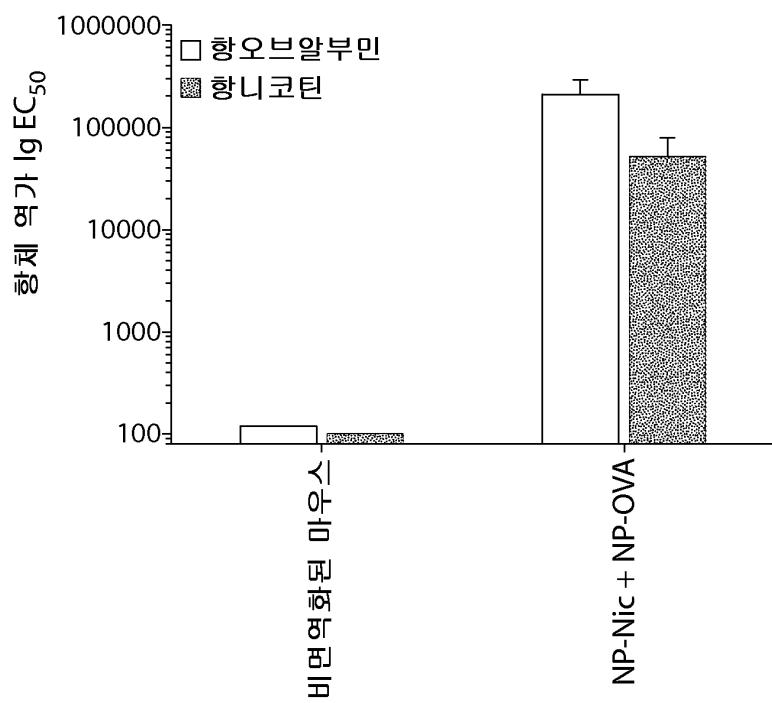
[0454] 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 NC를 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. pH 6.0 완충제 중의 ADH 링커를 갖는 NmA의 용액을 활성화된 NC 용액에 첨가하고, 생성된 혼탁액을 하룻밤 4°C에서 혼합한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-NmA 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

[0455] NmA를 말단 아미노 기를 통해 NC에 부착시킨다. 표면 PEG-CO₂H 기를 갖는 NC를 실시예 13에 기재된 바와 같이 제조한다. 이어서, 이 NC를 1시간 내지 2시간 동안 4°C에서 pH 6 PBS 완충제 중에서 과량의 EDC/NHS로 활성화한다. 이어서, 활성화된 NC 펠릿을 pH 6.0 완충제로 세척하여 미반응된 EDC/NHS를 제거하고 pH 6.0 완충제 중에 혼탁시킨다. 정제된 NmA를 보고된 절차에 따라 pH 7 완충제 중에서 NH₄Cl 및 시아노수소화붕소 나트륨(NaCNBH₃)을 사용하여 환원적 아미노화시켜 아미노-NmA를 생성한다(문헌["Development and phase 1 clinical testing of a conjugate vaccine against meningococcus A and C", Costantino P, Viti S, Podda A, Velmonte MA, Nencioni L, Rappuoli R. Vaccine. 1992;10(10):691-8]). 이어서, 아미노-NmA를 활성화된 NC 혼탁액에 첨가하고, 생성된 혼탁액을 하룻밤 4°C에서 혼합한다. PBS 완충제로 펠릿을 세척한 후에, 생성된 NC-NmA 접합체를 pH 7.4 PBS 완충제 중에 혼탁시킨다.

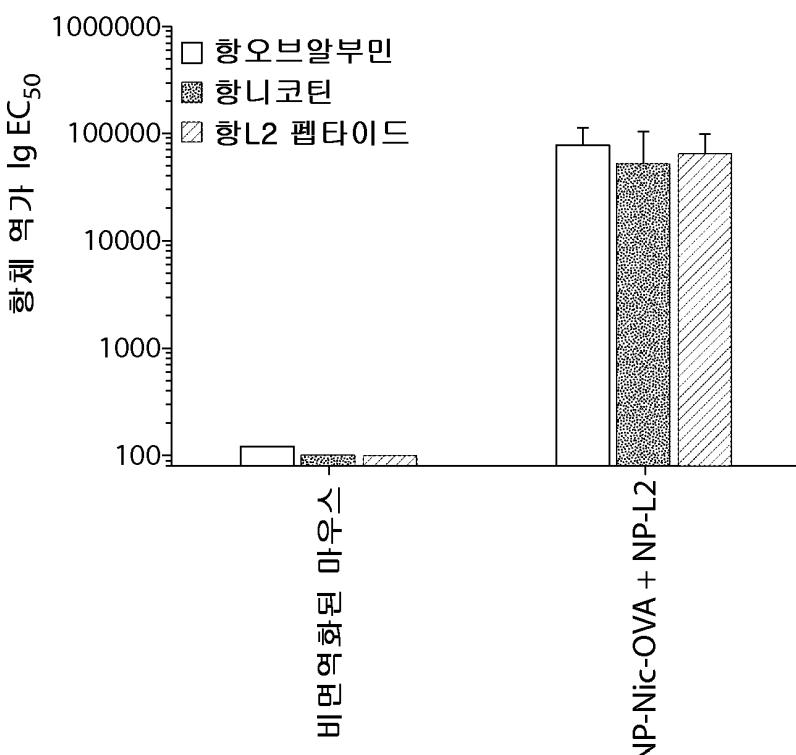
[0456] 이어서, 이들 나노담체를 합하여 추가 시험을 위한 NC 혼탁액을 형성할 수 있다.

도면

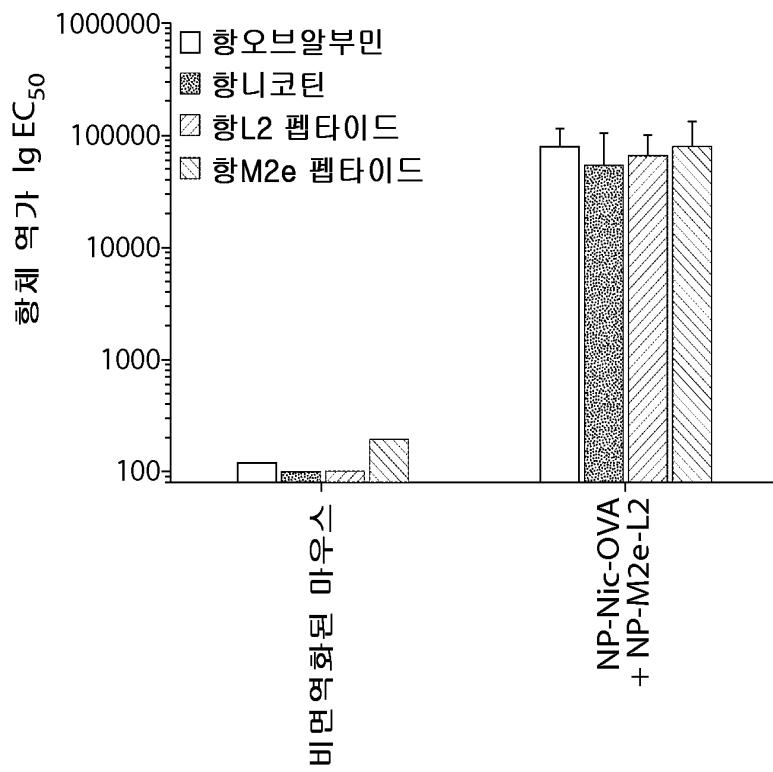
도면1



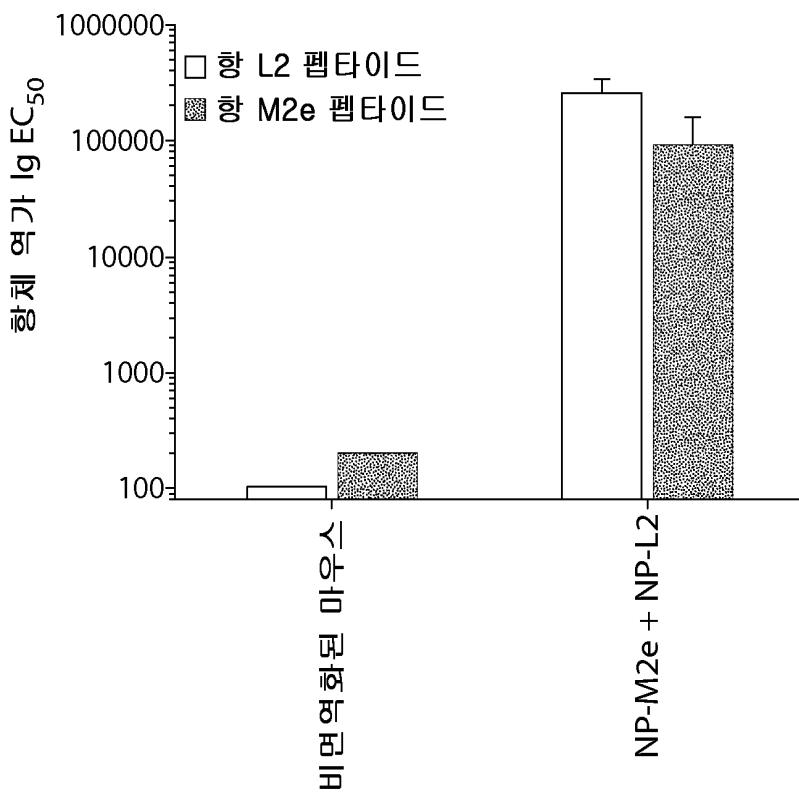
도면2



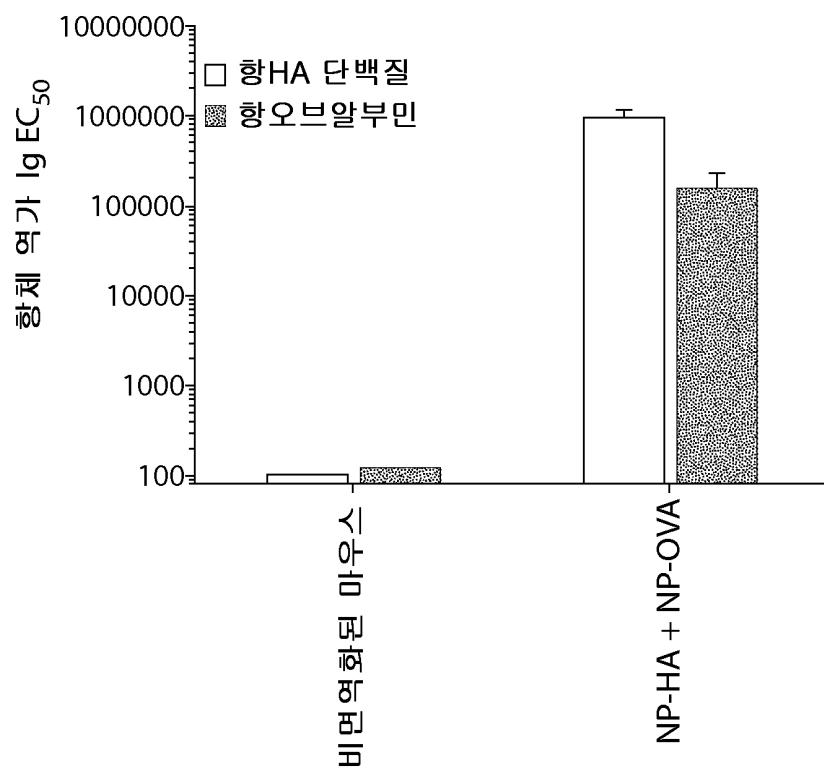
도면3



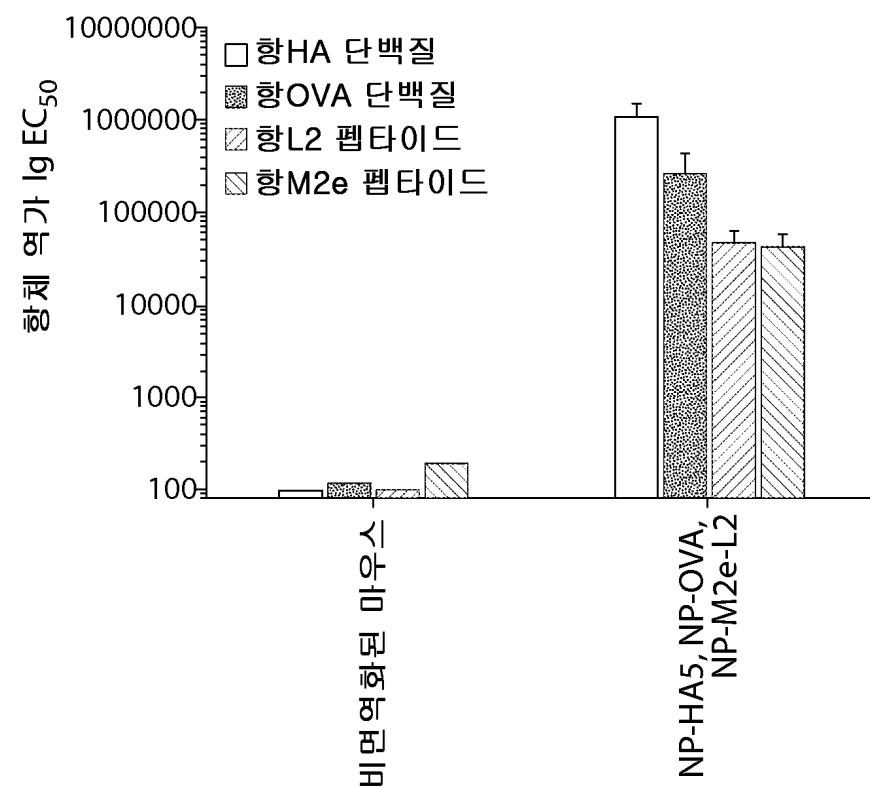
도면4



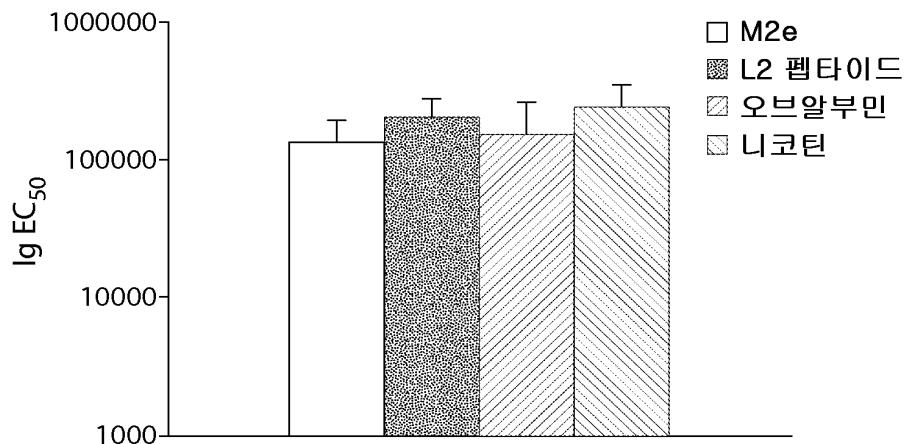
도면5



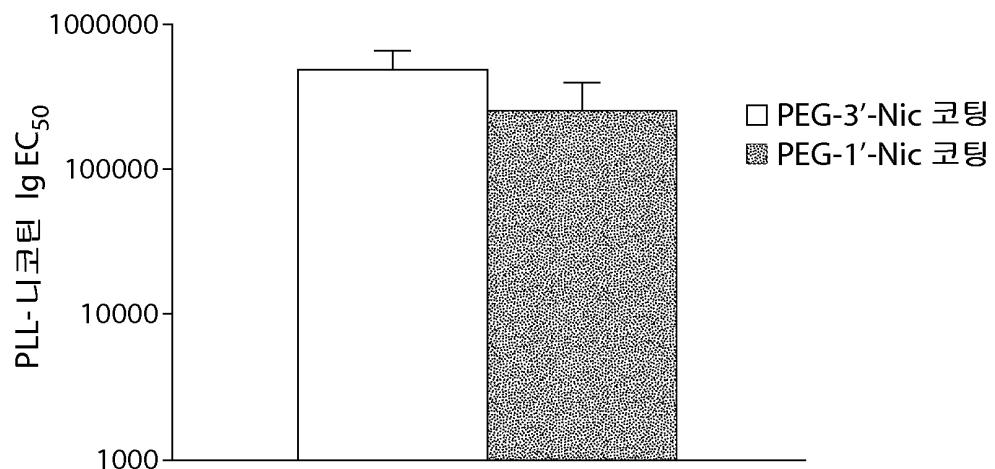
도면6



도면7



도면8



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Selecta Biosciences, Inc.

<120> MULTIVALENT SYNTHETIC NANOCARRIER VACCINES

<130> S1681.70014W000

<150> US 61/348,713

<151> 2010-05-26

<150> US 61/348,717

<151> 2010-05-26

<150> US 61/348,728

<151> 2010-05-26

<150> US 61/358,635

<151> 2010-06-25

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

<213> G. gallus

<400> 1

Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn Glu Ala Gly

1

5

10

15

Arg