(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0104640
(43) 공개일자 2023년07월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/12 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/145 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/12 (2013.01)
A61K 39/0011 (2023.05)
(21) 출원번호 10-2023-7017850
(22) 출원일자(국제) 2021년11월03일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년05월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/057825
(87) 국제공개번호 WO 2022/098701
국제공개일자 2022년05월12일
(30) 우선권주장
63/108,980 2020년11월03일 미국(US)

(71) 출원인
유니버시티 오브 휴스턴 시스템
미국 77204 텍사스주 휴스턴 이. 컬렌 빌딩 316
(72) 발명자
바라다라잔 나빈
미국 77004 텍사스 휴스턴 칼훈 로드 4800 유니버시티 오브 휴스턴 시스템 내
리우 신리
미국 77004 텍사스 휴스턴 칼훈 로드 4800 유니버시티 오브 휴스턴 시스템 내
(74) 대리인
김진희, 김태홍

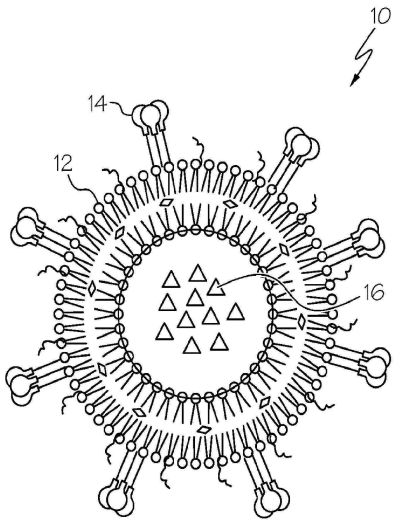
전체 청구항 수 : 총 96 항

(54) 발명의 명칭 **호흡기 질환과 관련된 병태의 치료 및 예방**

(57) 요 약

본원에는, 동물(예를 들어, 대상체)에서 병태와 같은 병원체의 예방을 위한 조성물 및 방법이 기재된다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법은 하나 이상의 STING 작용제를 캡슐화하는 데 사용될 수 있는 리포좀을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법의 리포좀은 리포좀의 리포좀 막에 부착, 통합 또는 회합된 하나 이상의 항원을 포함할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 39/145 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)
A61P 31/16 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
A61K 2039/543 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
A61K 2039/55555 (2013.01)
A61K 2039/575 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

항원 및 조절제를 포함하는 지질 기반 입자

를 포함하는, 동물에서 질환의 예방에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 조절제가 패턴 인식 수용체 작용제인 조성물.

청구항 2

항원 및 조절제를 포함하는 지질 기반 입자

를 포함하는, 대상체에서 질환의 치료에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 조절제가 패턴 인식 수용체 작용제인 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 지질 기반 입자가 리포좀인 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 기반 입자가 DPPG(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)), DPPE(1,2-비스(디페닐포스피노)에탄), DPPC(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DPPE-PEG2000(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000]), 콜레스테롤, 또는 이들의 조합을 포함하는 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 기반 입자가 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함하는 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 지질 기반 입자가 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 각각 10:1:1:1의 비율로 포함하는 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 지질 기반 입자의 외부 표면과 회합되는 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 항원의 적어도 일부가 지질 기반 입자의 막 내로 통합되는 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 항원의 적어도 일부가 지질 기반 입자 내에 캡슐화되는 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 질환에 대한 면역 반응을 유발하는 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 스파이크 단백질 또는 이의 일부를 포함하는 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 뉴클레오캡시드 단백질 또는 이의 일부를 포함하는 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 조절제가 대상체에서 인터페론 유전자의 자극인자(stimulator of interferon genes: STING) 경로를 활성화 또는 억제할 수 있는 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 조절제가 STING 경로의 작용제인 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 병원체에 의해 유발된 감염을 포함하는 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 병원체가 호흡기 병원체인 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 호흡기 병원체가 바이러스인 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 바이러스가 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스, 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, DNA 바이러스, RNA 바이러스 또는 이들의 조합에서 선택되는 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 인플루엔자 바이러스가 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스인 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 호흡기 질환인 조성물.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 암을 포함하는 조성물.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 복강내 투여, 피하 투여, 스프레이 기반 투여, 에어로졸 기반 투여, 난내(in ovo) 투여, 경구 투여, 안내 투여, 기관내 투여, 비강내 투여, 흡입 투여 또는 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 투여 방식에 적절한 조성물.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 동결건조되는 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 동결건조된 조성물이 임의로 부형제를 함유하는 멸균 용액에 재구성되는 조성물.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 용량으로 투여하기 위한 단위 용량 제형으로 제형화되는 조성물.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서 질환에 대한 면역을 발달시키기에 적절한 조성물.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서 질환에 대한 선천적 면역 반응을 유발하는 조성물.

청구항 28

제27항에 있어서, 선천적 면역 반응이 인터페론 조절 인자(IRF)의 활성화를 유도하는 조성물.

청구항 29

제27항에 있어서, 선천적 면역 반응이 핵 인자 κB(NF-κB)의 활성화를 유도하는 조성물.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 서열번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 조성물.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 서열번호 3과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 조성물.

청구항 32

대상체에서 질환을 예방하는 방법으로서, 상기 방법이 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 33

대상체에서 질환을 치료하는 방법으로서, 상기 방법이 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서, 조성물이 대상체에서 질환에 대한 면역을 발달시키기에 적절한 방법.

청구항 35

제32항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물을 대상체에게 투여하는 것이 대상체에서 질환에 대한 면역 반응을 유발하는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 조성물을 투여하는 것이 대상체에서 질환에 대한 선천적 면역 반응을 유발하는 방법.

청구항 37

제32항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 선천적 면역 반응이 대상체에서 인터페론 조절 인자(IRF)의 활성화를 유도하는 방법.

청구항 38

제32항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 선천적 면역 반응이 핵 인자 κB(NF-κB)의 활성화를 유도하는 방법.

청구항 39

제32항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 선천적 면역 반응이 I형 및 III형 인터페론의 합성과 분비 및 후속적인 IFN 자극된 유전자(ISG)의 상향조절을 유도하는 방법.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 선천적 면역 반응이 관련 적응 면역을 유도하는 방법.

청구항 41

제32항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 병원체에 의해 유발되는 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 병원체가 호흡기 병원체인 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 호흡기 병원체가 바이러스인 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 바이러스가 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스(SARS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(SARSr-CoV), 인간 코로나바이러스 229E(HCoV-229E), 인간 코로나바이러스 NL63(HCoV-NL63), 인간 코로나바이러스 OC43(HCoV-OC43), 인간 코로나바이러스 HKU1(HCoV-HKU1), 중동 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(MERS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2), SARS-CoV-2의 변종 또는 이들의 조합에서 선택되는 방법.

청구항 45

제32항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 정맥내 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 복강내 투여, 피하 투여, 스프레이 기반 투여, 에어로졸 기반 투여, 난내 투여, 경구 투여, 안내 투여, 기관내 투여, 비강내 투여, 흡입 투여, 또는 이들의 조합에 의해 대상체에게 투여되는 방법.

청구항 46

제32항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 대상체에게 단일 용량으로 투여되는 방법.

청구항 47

제32항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 적어도 2회 용량으로 대상체에게 투여되고, 상기 적어도 2회 용량의 제1 용량 및 제2 용량이 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 12시간, 적어도 24시간, 적어도 36시간, 적어도 2일, 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 14일, 또는 적어도 28일의 간격으로 투여되는 방법.

청구항 48

제32항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 포유동물인 방법.

청구항 49

제32항 또는 제34항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 대상체에서 질환의 확립을 예방하기 위해 사용되는 방법.

청구항 50

제32항 또는 제34항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 대상체에서 질환의 진행을 예방하기 위해 사용되는 방법.

청구항 51

제32항 또는 제34항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 제2 대상체로의 질환 전파를 예방하기 위해 사용되는 방법.

청구항 52

제32항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 서열번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 방

법.

청구항 53

제32항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 서열번호 3과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 방법.

청구항 54

조절제를 포함하는 지질 기반 입자를 포함하는, 대상체에서 질환 또는 병태의 예방에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 조절제가 면역계의 활성화제인 조성물.

청구항 55

조절제를 포함하는 지질 기반 입자를 포함하는, 대상체에서 질환 또는 병태의 치료에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 조절제가 면역계의 활성화제인 조성물.

청구항 56

제54항 또는 제55항에 있어서, 조절제가 인터페론 유전자의 자극인자(STING) 경로 활성화제인 조성물.

청구항 57

제54항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 입자가 폴리(에틸렌글리콜)-지질(PEG-지질)을 함유하는 조성물.

청구항 58

제54항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 기반 입자가 DPPG(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)), DPPE(1,2-비스(디페닐포스피노)에탄), DPPC(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DPPEPEG2000(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N--메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000]), 콜레스테롤, 또는 이들의 조합을 포함하는 조성물.

청구항 59

제58항에 있어서, 지질 기반 입자가 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함하는 조성물.

청구항 60

제59항에 있어서, 지질 기반 입자가 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 각각 10:1:1:1 비율로 포함하는 조성물.

청구항 61

제54항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 3 마이크로그램의 조절제를 포함하는 조성물.

청구항 62

제54항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 30 마이크로그램의 조절제를 포함하는 조성물.

청구항 63

제54항 내지 제560항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 120 마이크로그램의 조절제를 포함하는 조성물.

청구항 64

제64항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 작용제가 지질 나노입자에 캡슐화되는 조성물.

청구항 65

제54항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 작용제가 지질 입자의 표면 상에 흡착되거나, 공유 결합되거나, 정전기적으로 상호작용하거나, 제형화되는 조성물.

청구항 66

제54항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 2가 양이온이 추가로 지질 나노입자에 캡슐화되거나, 흡착되거나, 공유 결합되거나, 정전기적으로 상호작용하거나, 제형화되는 조성물.

청구항 67

제54항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 병원체에 의해 유발되는 감염을 포함하는 조성물.

청구항 68

제67항에 있어서, 병원체가 호흡기 병원체인 조성물.

청구항 69

제68항에 있어서, 호흡기 병원체가 바이러스인 조성물.

청구항 70

제69항에 있어서, 바이러스가 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스, 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, DNA 바이러스, RNA 바이러스 또는 이들의 조합에서 선택되는 조성물.

청구항 71

제70항에 있어서, 인플루엔자 바이러스가 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스인 조성물.

청구항 72

제54항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 호흡기 질환인 조성물.

청구항 73

제54항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 암을 포함하는 조성물.

청구항 74

제54항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 복강내 투여, 피하 투여, 스프레이 기반 투여, 에어로졸 기반 투여, 난내 투여, 경구 투여, 안내 투여, 기관내 투여, 비강내 투여, 흡입 투여, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 투여 방식에 적절한 조성물.

청구항 75

제54항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 동결건조되는 조성물.

청구항 76

제54항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 동결건조 제형이 사용 전에 임의로 부형제를 함유하는 멸균 용액에 재구성되는 조성물.

청구항 77

STING 경로 활성화제를 포함하는, 동물에서 질환 또는 병태의 예방에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 활성화제가 비강내로 전달되는 조성물.

청구항 78

STING 경로 활성화제를 포함하는, 동물에서 질환 또는 병태의 치료에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 활성화제가 비강내로 전달되는 조성물.

청구항 79

제77항 또는 제78항에 있어서, 적어도 3 마이크로그램의 조절제를 포함하는 조성물.

청구항 80

제77항 또는 제78항에 있어서, 적어도 30 마이크로그램의 조절제를 포함하는 조성물.

청구항 81

제77항 또는 제78항에 있어서, 적어도 120 마이크로그램의 조절제를 포함하는 조성물.

청구항 82

제77항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스, 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, DNA 바이러스, RNA 바이러스, 또는 이들의 조합에서 선택되는 바이러스에 의해 유발되는 조성물.

청구항 83

제82항에 있어서, 인플루엔자 바이러스가 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스인 조성물.

청구항 84

제77항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 박테리아인 조성물.

청구항 85

제77항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 암을 포함하는 조성물.

청구항 86

제54항 내지 제85항 중 어느 한 항의 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 조성물이 대상체에게 단일 용량으로 투여되는 방법.

청구항 87

제54항 내지 제86항 중 어느 한 항의 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법으로서, 상기 조성물이 적어도 2회 용량으로 대상체에게 투여되며, 상기 적어도 2회 용량의 제1 용량 및 제2 용량이 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 12시간, 적어도 24시간, 적어도 36시간, 적어도 2일, 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 14일, 또는 적어도 28일의 간격으로 투여되는 방법.

청구항 88

제87항에 있어서, 조성물이 대상체에게 4회 용량으로 투여되는 방법.

청구항 89

제88항에 있어서, 제2, 제3 및 제4 용량이 이전 용량 후 12 내지 36시간에 투여되는 방법.

청구항 90

제86항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각 용량이 적어도 3 마이크로그램의 STING 경로 활성화제를 포함하는 방법.

청구항 91

제86항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각 용량이 적어도 30 마이크로그램의 STING 경로 활성화제를 포함하는 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 각 용량이 적어도 120 마이크로그램의 STING 경로 활성화제를 포함하는 방법.

청구항 93

제86항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 선천적 면역 반응이 I형 및 III형 인터페론(IFN)의 합성과 분비 및 후속적인 IFN 자극된 유전자(ISG)의 상향조절을 유도하는 방법.

청구항 94

제86항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 포유동물인 방법.

청구항 95

제86항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 대상체에서 질환의 확립 또는 진행을 예방하기 위해 사용되는 방법.

청구항 96

제86항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 또 다른 대상체로의 질환의 전파를 예방하기 위해 사용되는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **연방정부 지원 연구에 관한 진술**

[0002] 본 발명은 미국 국립 보건원(National Institutes of Health)이 수여한 U01AI148118 하의 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에 대해 일정 권리를 갖는다.

[0003] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0004] 본 출원은 2020년 11월 3일에 출원된 미국 가특허 출원 제63/108,980호의 이익을 주장한다. 전술한 출원 전체는 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0005] 병원체에 의해 유발되는 감염 및 다양한 유형의 암과 같은 다양한 질환에 대처하기 위해 안전하고 견고한 예방용 및 치료용 조성물이 절실히 요구되고 있다. 본 개시내용의 수많은 실시양태는 전술한 요구를 다룬다.

발명의 내용

[0006] 다양한 양상에서, 동물에서 질환을 예방하는 데 사용하기 위한 조성물은 항원 및 조절제(modulator)를 포함하는 지질 기반 입자를 포함하며, 여기서 조절제는 패턴 인식 수용체 작용제이다. 다양한 양상에서, 대상체에서 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 조성물은 항원 및 조절제를 포함하는 지질 기반 입자를 포함하며, 여기서 조절제는 패턴 인식 수용체 작용제이다. 용어 "NanoSTING"은 본원에 기재된 조성물의 다양한 실시양태를 설명하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들어, "NanoSTING"은 조절제(예를 들어, STING 작용제와 같은 패턴 인식 수용체 작용제) 및 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자)를 포함하는 조성물을 지칭할 수 있다. 일부 경우에, "NanoSTING"은 회합된 항원 분자를 갖지 않는 입자 및 조절제를 포함하는 조성물을 지칭한다. 일부 경우에, 용어 NanoSTING은 조절제, 2가 양이온(이에 제한되지는 않지만 Mn2+, Mg2+, Ca2+, Zn2+와 같은) 및 입자를 포함하는 조성물을 지칭한다. 일부 경우에, 용어 "NanoSTING"은 예를 들어, 항원 분자의 포함과 관련하여 기재될 때 항원 본자를 포함하는 본원에 기재된 조성물을 지칭하기 위해 사용되고/되거나 상기 용어는 항원 분자를 포함하는 실시양태(예를 들어, "NanoSTING-단량체", "NanoSTING-삼량체", "NanoSTING-RSV", "NanoSTING-S", "NanoSTING-varS", "NanoSTING-ChimS", NanoSTING-N," "NanoSTING-N10" 또는 "NanoSTING-N20")를 반영하도록 수식된다. 일부 경우에, 지질 기반 입자는 리포좀이다. 일부 경우에, 지질 기반 입자는 DPPG(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)), DPPE(1,2-비스(디페닐포스피노)에탄), DPPC(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DPPE-PEG2000(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000]), 콜레스테롤, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 지질 기반 입자는 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함한다. 일부 경우에, 지질 기반 입자는 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 각각 10:1:1:1 비율로 포함한다. 일부 경우에, 항원은 지질 기반 입자의 외부 표면

과 회합된다. 일부 경우에, 항원은 지질 기반 입자의 외부 표면에 공유 또는 비공유 결합된다. 일부 경우에, 항원의 적어도 일부는 지질 기반 입자의 막 내로 통합된다. 일부 경우에, 항원의 적어도 일부는 지질 기반 입자 내에 캡슐화된다. 일부 경우에, 항원은 질환에 대한 면역 반응을 유발한다. 일부 경우에, 항원은 약독화된 병원체 또는 이의 일부를 포함한다. 일부 경우에, 항원은 사멸된 병원체 또는 이의 일부를 포함한다. 일부 경우에, 항원은 병원체의 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 일부 경우에, 항원은 스파이크 단백질 또는 이의 일부를 포함한다. 일부 경우에, 항원은 뉴클레오캡시드 단백질 또는 이의 일부를 포함한다. 일부 경우에, 항원은 키메라 단백질을 포함한다. 일부 경우에, 항원은 삼량체이다. 일부 경우에, 항원은 종양 세포의 약독화되거나 사멸된 버전을 포함한다. 일부 경우에, 종양 세포는 암과 관련된다. 일부 경우에, 항원은 암세포와 관련된 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 일부 경우에, 조절제는 대상체에서 인터페론 유전자의 자극인자(stimulator of interferon genes; STING) 경로를 활성화하거나 억제할 수 있다. 일부 경우에, 조절제는 STING 경로의 작용제이다. 일부 경우에, 조절제는 비스-(3',5')-사이클릭 이량체 구아노신 모노포스페이트(c-디-GMP), 사이클릭 구아노신 모노포스페이트-아데노신 모노포스페이트(cGAMP), 아미도벤즈이미다졸, 아미도벤즈이미다졸의 유도체, 뉴클레오티드 조절제, 플라스미드 DNA 조절제 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 경우에, 조절제는 STING 경로의 길항제이다. 일부 경우에, 질환은 병원체에 의해 유발된 감염을 포함한다. 일부 경우에, 병원체는 호흡기 병원체이다. 일부 경우에, 호흡기 병원체는 바이러스이다. 일부 경우에, 바이러스는 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스, 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, DNA 바이러스, RNA 바이러스 또는 이들의 조합에서 선택된다. 일부 경우에, 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스이다. 일부 경우에, 바이러스는 호흡기 세포융합 바이러스이다. 일부 경우에, 바이러스는 코로나 바이러스이다. 일부 경우에, 코로나바이러스는 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스(SARS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(SARSr-CoV), 인간 코로나바이러스 229E(HCoV-229E), 인간 코로나바이러스 NL63(HCoV-NL63), 인간 코로나바이러스 OC43(HCoV-OC43), 인간 코로나바이러스 HKU1(HCoV-HKU1), 중동 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(MERS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2), SARS-CoV-2의 변종 또는 이들의 조합에서 선택된다. 일부 경우에, 질환은 호흡기 질환이다. 일부 경우에, 질환은 암을 포함한다. 일부 경우에, 암은 기관암, 폐암, 기관지암, 상피암, 혈액암, 유방암, 흑색종, 난소암, 부인암, 백혈병, 림프종, 전립선암, 방광암, 결장암, 신경아교종, 육종, 교모세포종 또는 이들의 조합에서 선택된다. 일부 경우에, 암은 폐암이다. 일부 경우에, 조성물은 백신 형태이다. 일부 경우에, 조성물은 정맥내 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 복강내 투여, 피하 투여, 스프레이 기반 투여, 에어로졸 기반 투여, 난내(in ovo) 투여, 경구 투여, 안내 투여, 기관내 투여, 비강내 투여, 흡입 투여 또는 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 투여 방식에 적절하다. 일부 경우에, 조성물은 동결건조된다. 일부 경우에, 동결건조된 조성물은 임의로 부형제를 함유하는 멸균 용액에 재구성된다. 일부 경우에, 조성물은 단일 요법으로서 단위 용량 제형으로 제형화된다. 일부 경우에, 조성물은 하나 이상의 용량으로 투여하기 위한 단위 용량 제형으로 제형화된다. 일부 경우에, 조성물은 애주번트(adjuvant)를 포함한다. 일부 경우에, 조성물은 대상체에서 질환에 대한 면역을 발달시키기에 적절하다. 일부 경우에, 조성물은 질환에 대한 면역 반응을 유발한다. 일부 경우에, 조성물은 대상체에서 질환에 대한 선천적 면역 반응을 유도한다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 인터페론 조절 인자(IRF)의 활성화를 유도한다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 핵 인자 κB(NF-κB)의 활성화를 유도한다. 일부 경우에, 항원은 서열번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 일부 경우에, 항원은 서열번호 3과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 I형 및 III형 인터페론의 합성과 분비 및 후속적인 IFN 자극된 유전자(ISG)의 상향조절을 유도한다.

[0007] 다양한 양상에서, 대상체에서 질환을 예방하는 방법은 상기 또는 본원에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 다양한 양상에서, 대상체에서 질환을 치료하는 방법은 상기 또는 본원에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 경우에, 조성물은 대상체에서 질환에 대한 면역을 발달시키기에 적절하다. 일부 경우에, 대상체에게 조성물을 투여하는 것은 대상체에서 질환에 대한 면역 반응을 유발한다. 일부 경우에, 조성물의 투여는 대상체에서 질환에 대한 선천적 면역 반응을 유발한다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 대상체에서 인터페론 조절 인자(IRF)의 활성화를 유도한다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 핵 인자 κB(NF-κB)의 활성화를 유도한다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 I형 및 III형 인터페론의 합성과 분비 및 후속적인 IFN 자극된 유전자(ISG)의 상향조절을 유도한다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 관련 적응 면역을 유도한다. 일부 경우에, 질환은 병원체에 의해 유발한다. 일부 경우에, 병원체는 호흡기 병원체이다. 일부 경우에, 호흡기 병원체는 바이러스이다. 일부 경우에, 바이러스는 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스(SARS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(SARSr-CoV), 인간 코로나바이러스 229E(HCoV-229E), 인간 코로나바이러스 NL63(HCoV-NL63), 인간 코로나바이러스 OC43(HCoV-OC43), 인간 코로나바이러스 HKU1(HCoV-

HKU1), 중동 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(MERS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2), SARS-CoV-2의 변종 또는 이들의 조합에서 선택된다. 일부 경우에, 질환은 암이다. 일부 경우에, 암은 기관암, 폐암, 기관지암, 상피암, 혈액암, 유방암, 흑색종, 난소암, 부인암, 백혈병, 림프종, 전립선암, 방광암, 결장암, 신경아교종, 육종, 교모세포종 또는 이들의 조합에서 선택된다. 일부 경우에, 암은 폐암이다. 일부 경우에, 조성물은 정맥내 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 복강내 투여, 피하 투여, 스프레이 기반 투여, 에어로졸 기반 투여, 난내 투여, 경구 투여, 안내 투여, 기관내 투여, 비강내 투여, 흡입 투여, 또는 이들의 조합에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 조성물은 비강내 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 조성물은 흡입 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 조성물은 단일 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 조성물은 적어도 2회 용량으로 대상체에게 투여되며, 상기 적어도 2회 용량의 제1 용량 및 제2 용량은 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 12시간, 적어도 24시간, 적어도 36시간, 적어도 2일, 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 14일, 또는 적어도 28일의 간격으로 투여된다. 일부 경우에, 조성물은 하나 이상의 애주번트 조성물 또는 치료와 함께 투여된다. 일부 경우에, 하나 이상의 애주번트 치료는 면역요법, 바이러스요법, 표적화 억제, 방사선요법, 화학요법 또는 이들의 조합에서 선택된다. 일부 경우에, 대상체는 포유동물이다. 일부 경우에, 대상체는 호흡기 감염 또는 암에 걸릴 위험이 있다. 일부 경우에, 방법은 대상체에서 질환의 확립을 예방하기 위해 사용된다. 일부 경우에, 대상체에서 질환의 진행을 예방하기 위해 방법이 사용된다. 일부 경우에, 방법은 제2 대상체에게 질환이 전파되는 것을 예방하기 위해 사용된다. 일부 경우에, 항원은 서열번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 일부 경우에, 항원은 서열번호 3과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0008] 다양한 양상에서, 대상체에서 질환 또는 병태를 예방하는데 사용하기 위한 조성물은 조절제를 포함하는 지질 기반 입자를 포함하며, 여기서 조절제는 면역계의 활성화제이다. 다양한 양상에서, 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는데 사용하기 위한 조성물은 조절제를 포함하는 지질 기반 입자를 포함하고, 여기서 조절제는 면역계의 활성화제이다. 일부 경우에, 조절제는 인터페론 유전자의 자극인자(STING) 경로 활성화제이다. 일부 경우에, 지질 입자는 폴리(에틸렌글리콜)-지질(PEG-지질)을 포함한다. 일부 경우에, 지질 기반 입자는 DPPG(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)), DPPE(1,2-비스(디페닐포스피노)에탄), DPPC(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DPPEPEG2000(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N--메톡시(폴리에틸렌글리콜)-2000]), 콜레스테롤 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 지질 기반 입자는 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함한다. 일부 경우에, 지질 기반 입자는 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 각각 10:1:1:1 비율로 포함한다. 일부 경우에, 조성물은 적어도 30 마이크로그램의 조절제를 포함한다. 일부 경우에, 조성물은 적어도 120 마이크로그램의 조절제를 포함한다. 일부 경우에, 작용제는 지질 나노입자 내에 캡슐화된다. 일부 경우에, 작용제는 지질 입자의 표면 상에 흡착되거나, 공유 결합되거나, 정전기적으로 상호작용하거나, 제형화된다. 일부 경우에, 2가 양이온은 추가로 지질 나노입자 내에 캡슐화되거나, 흡착되거나, 공유결합되거나, 정전기적 상호작용되거나, 제형화된다. 일부 경우에, 질환은 병원체에 의해 유발된 감염을 포함한다. 일부 경우에, 병원체는 호흡기 병원체이다. 일부 경우에, 호흡기 병원체는 바이러스이다. 일부 경우에, 바이러스는 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스, 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, DNA 바이러스, RNA 바이러스 또는 이들의 조합에서 선택된다. 일부 경우에, 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스이다. 일부 경우에, 질환은 호흡기 질환이다. 일부 경우에, 질환은 암을 포함한다. 일부 경우에, 조성물은 정맥내 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 복강내 투여, 피하 투여, 스프레이 기반 투여, 에어로졸 기반 투여, 난내 투여, 경구 투여, 안내 투여, 기관내 투여, 비강내 투여, 흡입 투여 또는 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 투여 방식에 적절하다. 일부 경우에, 조성물은 동결건조된다. 일부 경우에, 동결건조 제형은 사용 전에 임의로 부형제를 함유하는 멸균 용액에 재구성된다.

[0009] 다양한 양상에서, 동물에서 질환 또는 병태를 예방하는데 사용하기 위한 조성물은 STING 경로 활성화제를 포함하고, 여기서 상기 활성화제는 비강내로 전달된다. 다양한 양상에서, 동물에서 질환 또는 병태를 치료하는데 사용하기 위한 조성물은 STING 경로 활성화제를 포함하고, 여기서 상기 활성화제는 비강내로 전달된다. 일부 경우에, 조성물은 적어도 30 마이크로그램의 조절제를 포함한다. 일부 경우에, 조성물은 적어도 120 마이크로그램의 조절제를 포함한다. 일부 경우에, 질환은 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스, 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, DNA 바이러스, RNA 바이러스 또는 이들의 조합에서 선택되는 바이러스에 의해 유발된다. 일부 경우에, 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스이다. 일부 경우에, 질환은 박테리아이다. 일부 경우에, 질환은 암을 포함한다.

[0010] 다양한 양상에서, 방법은 상기 또는 본원에 기재된 임의의 실시양태의 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게

투여하는 것을 포함하며, 여기서 상기 조성물은 대상체에게 단일 용량으로 투여된다. 다양한 양상에서, 방법은 상기 또는 본원에 기재된 임의의 실시양태의 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 조성물은 대상체에게 적어도 2회 용량으로 투여되고, 상기 적어도 2회 용량의 제1 용량 및 제2 용량은 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 12시간, 적어도 24시간, 적어도 36시간, 적어도 2일, 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 14일, 또는 적어도 28일의 간격으로 투여된다. 일부 경우에, 조성물은 4회 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 제2, 제3 및 제4 용량은 이전 용량 12 내지 36시간 후에 투여된다. 일부 경우에, 각 용량은 적어도 30 마이크로그램의 STING 경로 활성화제를 포함한다. 일부 경우에, 각 용량은 적어도 120 마이크로그램의 STING 경로 활성화제를 포함한다. 일부 경우에, 선천적 면역 반응은 I형 및 III형 인터페론(IFN)의 합성과 분비 및 후속적인 IFN 자극된 유전자(ISG)의 상향조절을 유도한다. 일부 경우에, 대상체는 포유동물이다. 일부 경우에, 방법은 대상체에서 질환의 확립 또는 진행을 예방하기 위해 사용된다. 일부 경우에, 방법은 또 다른 대상체에게 질환이 전파되는 것을 예방하기 위해 사용된다.

도면의 간단한 설명

[0011] 본 주제 대상의 특징 및 이점에 대한 더 나은 이해는 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 실시양태를 제시하는 하기 상세한 설명 및 첨부 도면을 참조하여 얻어질 것이며, 첨부 도면에서:

도 1은 본 개시내용의 다양한 실시양태에 따라, 질환을 치료 또는 예방하기 위한 리포좀, 페이로드(payload) 및 항원을 포함하는 조성물의 묘사를 제공한다.

도 2a는 병원체에 노출되기 전에 대상체(예를 들어, 포유동물과 같은 동물)에게 본 개시내용의 하나 이상의 치료용 조성물을 투여함으로써 대상체에서 질환을 예방하는 방법을 예시한다. **도 2b**는 병원체에 노출된 후 대상체에게 본 개시내용의 하나 이상의 치료용 조성물을 투여함으로써 대상체에서 질환을 치료하는 방법을 예시한다.

도 3은 실시양태에 따라, 질환을 치료 또는 예방하기 위한 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물의 투여 또는 삼량체 항원 및 STING 작용제가 결여된 대조군 조성물의 투여의 개략도를 나타낸다.

도 4a는 실시양태에 따라, 질환을 치료하거나 예방하기 위한 조성물에 혼입된 삼량체 S-단백질의 개략도를 나타낸다. **도 4b**는 실시양태에 따라, **도 4a**에 나타낸 정제된 삼량체 S-단백질에서 수행된 변성 나트륨 도데실-설페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE) 겔 검정으로부터의 이미지를 나타낸다.

도 5a는 실시양태에 따라, 대상체에서 질환을 치료하거나 예방하기 위해 본원에 기재된 조성물을 사용한 동물 대상체의 생체내 테스트를 위한 방법 단계의 타임라인을 나타낸다.

도 5b는 실시양태에 따라, 질환을 치료하거나 예방하기 위해 본원에 기재된 조성물을 사용한 생체내 마우스 대상체 테스트에 대한 체중 측정의 타임라인을 나타낸다.

도 5c는 실시양태에 따라, 삼량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물을 사용한 생체내 마우스 대상체 테스트에 대한 체중 측정의 타임라인을 나타낸다.

도 5d 및 **도 5e**는 실시양태에 따라, 리포좀, 삼량체 항원 및 삼량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물을 투여한 후 7일차(**도 5d**) 및 15일차(**도 5e**)에 혈청의 항원 기반 IgG ELISA 분석을 사용한 체액성 면역 반응의 평가를 나타낸다.

도 5f는 실시양태에 따라, 삼량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물을 투여한 후 15일차에 마우스로부터 얻은 기관지폐포 세척액의 항원-기반 IgG ELISA 분석을 사용한 체액성 면역 반응의 평가를 나타낸다.

도 5g는 실시양태에 따라, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물의 투여 후 7일, 15일, 21일 및 24일차에 수집된 혈청의 항체 역가를 사용한, 처리된 마우스에서의 체액성 면역 반응의 시간 의존적 동역학을 나타낸다. **도 5h**는 **도 5g**에 제시된 각각의 마우스 대상체에 대한 데이터의 종단 분석을 나타낸다.

도 5i는 실시양태에 따라, 삼량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포

좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 비장으로부터 수집된 샘플에서 검출된 IgA를 분비하는 항체 분비 세포(ASC)의 정량화를 나타낸다. **도 5j**는 실시양태에 따라, 삼량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 후 비장으로부터 수집된 샘플에서 검출된 S-단백질 특이적 IgA를 분비하는 항체 분비 세포(ASC)의 정량화를 나타낸다.

도 5k는 실시양태에 따라, 삼량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 24일차에 동물 대상체의 혈청에서 검출된 S-단백질 특이적 IgA 수준의 정량화를 나타낸다.

도 5l은 실시양태에 따라, 삼량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 마우스로부터 수득된 기관지폐포 세척액에서 검출된 S-단백질 특이적 IgA 수준의 정량화를 나타낸다.

도 5m은 실시양태에 따라, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 마우스로부터의 혈청의 슈도바이러스 중화 검정 측정으로부터 결정된 항체 반응에 대한 ID50 수준을 나타낸다.

도 5n은 실시양태에 따라, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터의 기관지폐포 세척액(BALF)의 슈도바이러스 중화 검정 측정으로부터 결정된 기관지폐포 세척액 항체 반응에 대한 ID50 수준을 나타낸다.

도 5o는 실시양태에 따라, 리포좀, 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 비장으로부터 얻은 샘플에서 검출된 인터페론 감마(IFNγ) 수준의 ELISpot 검정 데이터를 나타낸다. **도 5p**는 실시양태에 따라, ELISpot 인터페론 감마 정량화 검정에 사용된 보존된 펩티드(15량체)의 단백질 수준 매핑을 나타낸다.

도 6a는 실시양태에 따라, 비강 관련 림프 조직(NALT)으로부터 얻은 샘플에서 단일 세포 RNA(scRNA) 시퀀싱(scRNA-seq)을 수행하기 위한 실험 방법을 나타낸다.

도 6b, 도 6c 및 도 6d는 실시양태에 따라, 단일 세포 RNA 시퀀싱(scRNA-seq) 검정에 사용하기 위한 살아있는 세포의 단리를 위한 유세포분석 게이팅 전략을 나타낸다. 일부 경우에, 세포는 **도 6b**에 도시된 바와 같이 유세포분석 게이트를 사용하여 식별되고, 단일 세포는 **도 6c**의 게이트를 사용하여 **도 6b**에 도시된 게이트로 얻은 세포 집단으로부터 식별되고, 살아있는 단일 세포는 **도 6d**의 게이트를 사용하여 **도 6c**에 도시된 게이트로 얻은 단일 세포 집단으로부터 얻어진다.

도 7a는 실시형태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체의 비강 관련 림프 조직(NALT)에서 면역 세포의 균일 다양체 근사화 및 투영(uniform manifold approximation and projection: UMAP) 분석을 나타낸다. **도 7b, 도 7c, 도 7d**는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 면역 세포 집단에서의 B-세포 마커 CD19, Ms4a1 및 CD79a 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 나타낸다. **도 7e, 도 7f** 및 **도 7g**는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 면역 세포 집단에서의 T-세포 마커 CD3d, CD3e 및 CD3g 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 나타낸다. **도 7h, 도 7i** 및 **도 7j**는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 면역 세포 집단에서의 NK-세포 마커 GzmB, Ncr1 및 Ccl5 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 나타낸다. **도 7k, 도 7l 및 도 7m**은 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 면역 세포 집단에서의 골수 세포 마커 CD14, S100a9 및 IL-1b 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 나타낸다.

도 8a는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀, 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체에서 수행된 scRNA-seq 검정의 균일 다양체 근사화 및 투영(UMAP) 분석에 기초한 B 세포 하위집단의 식별을 나타낸다.

도 8b는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체에서 수행된 scRNA-seq 검정의 UMAP 분석을 사용하여 식별된 B 세포 하위집단의 상대적 빈도의 정량화를 나타낸다.

도 8c, 도 8d, 도 8e, 도 8f, 도 8g 및 **도 8h**는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본

원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 B-세포 하위집단에서의 CD69, CD38, CD83, CXCR4, Zfp36 및 Erg1 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 나타낸다. **도 9a, 도 9b, 도 9c, 도 9d, 도 9e, 도 9f, 도 9g, 도 9h, 도 9i, 도 9j, 도 9k, 도 9l** 및 **도 9m**은 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 세포를 사용하는 UMAP 분석을 사용하여 식별된 B-세포 하위집단에서의 CD19, Ms4a1, Ighm, Irf4, Pax5, Sec61b, Fosb, Jun, Tram1, Igha, EGR3, Casp3 및 Fos 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 나타낸다.

도 10a는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체에서 수행된 scRNA-seq 검정의 균일 다양체 근사화 및 투영(UMAP) 분석에 기초한 T 세포 하위집단의 식별을 나타낸다.

도 10b는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체에서 수행된 scRNA-seq 검정의 UMAP 분석을 사용하여 식별된 T 세포 하위집단의 상대적 빈도의 정량화를 나타낸다.

도 10c, 도 10d, 도 10e, 도 10f, 도 10g 및 **도 10h**는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 T-세포 하위집단에서의 CD69, I16ra, CD27, Nr4a1, Tcf7 및 Lef1 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 도시한다. **도 11a, 도 11b, 도 11c, 도 11d, 도 11e, 도 11f** 및 **도 11g**는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터 얻은 세포를 사용한 UMAP 분석을 사용하여 식별된 T-세포 하위집단에서의 CD4, CD8a, CD28, IL7R, Npm1, Fos, 및 Jun 각각의 상대적 발현의 바이올린 플롯을 나타낸다.

도 12a는 실시양태에 따라, 항원, 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체의 비강 관련 림프 조직으로부터 얻은 세포의 scRNA-seq 분석으로부터 얻은 데이터를 사용하여 생성된 세포-세포 상호작용 네트워크를 나타낸다. **도 12b**는 비강 관련 림프 조직(NALT) 내의 GC B 세포 하위집단 세포와 Tfh 하위 집단 세포 사이의 예측된 리간드-수용체 상호작용(좌측에서 우측으로: TNFRSF13C 대 TNFSF13B; ICOSLG 대 ICOS; BTLA 대 TNFSF14; CD40 대 CD40LG; IL-21 수용체 대 IL-21; CXCL12 대 CXCR4; CD28 대 CD86; CD28 대 CD80)을 나타낸다.

도 13a는 실시형태에 따라, 동물 대상체의 면역화(예를 들어, 백신접종)에 유용할 수 있는 본원에 기재된 조성물에 혼입된 단량체 S-단백질의 개략도를 나타낸다. **도 13b**는 실시양태에 따라, 도 13a에 도시된 단량체 S-단백질을 특성규명하는 데 사용된 변성 SDS-PAGE 겔의 이미지를 나타낸다.

도 13c는 실시형태에 따라, 단량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 단량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 15일차("d15")에 동물 대상체로부터 얻은 혈청에서의 체액성 면역 반응의 IgG ELISA 정량화를 나타낸다.

도 13d는 실시양태에 따라, 리포좀, 단량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 동물 대상체로부터의 혈청의 슈도바이러스 중화 검정 측정으로부터 결정된 항체 반응에 대한 ID50 수준을 나타낸다(검출 한계(LoD는 점선으로 도시되고; 수평선은 데이터 포인트 평균을 나타내고; p-값은 만-위트니(만-위트니) 통계 분석을 사용하여 계산된다).

도 13e는 실시양태에 따라, 리포좀, 단량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 동물 대상체의 비장 또는 폐로부터 얻은 샘플에서 검출된 인터페론 감마(IFNɣ) 수준의 ELISpot 검정 데이터를 나타낸다.

도 13f는 실시양태에 따라, 리포솜, 단량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리된 2마리의 동물 대상체의 비강 세척액에서 단량체 단백질 특이적 IgA가 검출 가능하다는 것을 보여준다(검출 한계(LoD)는 점선으로 도시되고; 수평선은 데이터 포인트 평균을 나타냄).

도 14는 실시형태에 따라, 리포솜, 단량체 항원 및 STING 항원을 포함하는 본원에 기재된 조성물로 치료된 동물 대상의 평균 체중을 나타낸다(오차 막대는 표준 오차를 나타냄).

도 15는 실시형태에 따라, 단량체 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 단량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 동물 대상체의 비장으로부터 수집된 샘플에서 검출된 S-단백질 특이적 IgA를 분비하는 항체 분비 세포(ASC)의 정량화를 나타낸다(수평선은 평균을 나타내고; 오차 막대는 표준 오차를 나타냄).

도 16은 실시형태에 따라, 질환을 치료 또는 예방하기 위한 리포솜, 뉴클레오캡시드 단백질 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물의 동물 대상체로의 투여 또는 뉴클레오캡시드 단백질 항원 및 STING 작용제가 결여된 대조군 조성물의 투여를 포함하는 방법 단계의 개략도를 나타낸다.

도 17은 실시양태에 따라, 리포좀, 뉴클레오캡시드 단백질 및 cGAMP를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 6시간, 12시간 또는 24시간에 동물 대상체로부터 단리된 THP-1 세포에서 인터페론 반응 인자(IRF) 반응의 유도를 나타낸다.

도 18은 실시양태에 따라, 동물 대상체에서 질환을 치료 또는 예방하기 위한 조성물에서 유용한 SARS-Cov2 뉴클레오캡시드 단백질의 개략도를 나타낸다. **도 19**는 실시양태에 따라, **도 18**에 나타낸 정제된 SARS-Cov2 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질)에서 수행된 변성 나트륨 도데실-설페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE) 겔 검정으로부터의 이미지를 나타낸다.

도 20a는 실시양태에 따라, 0 μM, 0.1 μM, 0.5 μM의 뉴클레오캡시드 농도에서 도 18에 나타낸 뉴클레오캡시드 단백질의 존재 하에 DNA-결합된 DiYO-1의 형광 방출 스펙트럼을 나타낸다. **도 20b**는 실시양태에 따라, DNA 결합 양성 대조군(PEI 질소 대 DNA 포스페이트의 다양한 몰비(R)에서 분지쇄 폴리에틸렌이민(PEI))의 존재 하에 DNA 결합된 DiYO-1의 형광 방출 스펙트럼을 나타낸다.

도 21a는 실시양태에 따라, 마우스 대상체의 비강내 처리 또는 백신접종 및 샘플 수집을 위한 단계의 타임라인을 나타낸다.

도 21b는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물("대조군")을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리한 후 27일차("D27")에 동물 대상체로부터 얻은 혈청에서의 체액성 면역 반응의 IgG ELISA 정량화를 나타낸다. **도 21c**는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물("대조군")을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리한 후 27일차("D27")에 동물 대상체로부터 얻은 기관지폐포 세척액(BALF)에서의 체액성 면역 반응의 IgG ELISA 정량화를 나타낸다. **도 21d**는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리한 후 27일차("D27")에 동물 대상체로부터 얻은 혈청에서의 체액성 면역 반응의 IgA ELISA 정량화를 나타낸다. 도 21b, 21c 및 21d의 막대 및 컬럼은 중앙값을 나타내고, 유의성은 만-위트니 테스트를 사용하여 *p < 0.05; **p < 0.01에서 주장되었다.

도 22는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리한 후 비장 및 폐 샘플로부터 얻은 세포에 대한 인터페론 감마(IFNɣ) 및 인터루킨-4(IL4)의 ELISpot 분석의 정량화를 나타낸다. 막대 및 컬럼은 중앙값을 나타내고, 유의성은 만-위트니 검정을 사용하여 *p < 0.05; **p < 0.01에서 주장되었다.

도 23은 실시양태에 따라, 리포좀, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 처리한 후 동물 대상체로부터 얻은 CD8-양성 세포에서의 추가 마커 발현의 정량화를 위한 유세포분석 게이팅 전략을 나타낸다.

도 24a는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리된 동물 대상체로부터의 CD8-양성($CD8^+$)인 비장 세포에서의 CD137 발현의 유세포분석 정량화를 나타낸다. 막대 및 컬럼은 중앙값을 나타내고, 유의성은 만-위트니 검정을 사용하여 *p < 0.05에서 주장되었다. **도 24b**는 실시양태에 따라, 뉴클레오캡시드 단백질 항원이 결여된 리

포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로 처리한 후 동물 대상체로부터 얻은 CD8-양성 비장 세포에서의 CD137 발현의 유세포분석 데이터를 나타낸다. **도 24c**는 실시양태에 따라, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리한 후 동물 대상체로부터 얻은 CD8 양성 비장 세포에서의 CD137 발현의 유세포분석 데이터를 나타낸다. **도 24d**는 실시양태에 따라, 뉴클레오캡시드 단백질 항원 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질)) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로 처리한 후 동물 대상체로부터 얻은 CD8 양성 비장 세포에서의 CD137 발현의 유세포분석 데이터를 나타낸다.

도 25a는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리된 동물 대상체로부터의 CD8-양성($CD8^+$)인 비장 세포에서의 그랜자임 B(GrB) 발현의 유세포분석 발현을 나타낸다. 막대 및 컬럼은 중앙값을 나타내고, 유의성은 만-위트니 검정을 사용하여 $*p < 0.05$에서 주장되었다. **도 25b**는 실시양태에 따라, 뉴클레오캡시드 단백질 항원이 결여된 리포좀 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로 처리한 후 동물 대상체로부터 얻은 CD8-양성 비장 세포에서의 그랜자임 B 발현의 유세포분석 데이터를 나타낸다. **도 25c**는 실시양태에 따라, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리한 후 동물 대상체로부터 얻은 CD8 양성 비장 세포에서의 그랜자임 B 발현의 유세포분석 데이터를 나타낸다. **도 25d는** 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로 처리한 후 동물 대상체로부터 얻은 CD8 양성 비장 세포에서의 그랜자임 B 발현의 유세포분석 데이터를 나타낸다.

도 26a는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리된 동물 대상체로부터의 CD8-양성($CD8^+$)인 폐 T 세포에서의 그랜자임 B(GrB) 발현의 유세포분석 정량화를 나타낸다. **도 26b**는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리된 동물 대상체로부터, 또한 CD8-양성($CD8^+$)인 폐 T 세포에서의 CD137 발현의 유세포분석 정량화를 나타낸다. **도 26c**는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리된 동물 대상체로부터의 CD8-양성($CD8^+$)인 폐 T 세포에서의 CD103 발현의 유세포분석 정량화를 나타낸다. **도 26d**는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리 및 뉴클레오캡시드 단백질 항원 또는 STING 작용제가 없는 조성물을 사용한 대조군 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리된 동물 대상체로부터 CD69와 CD103 둘 다를 또한 발현하는 CD8 양성($CD8^+$) 폐 T 세포의 유세포분석 정량화를 나타낸다.

도 27은 실시양태에 따라, 양이온성 지질 기반 형질감염 시약 LyoVec™(InvivoGen)와 복합체화된 I형 인터페론 유도제 폴리(dA:dT)("폴리(dA:dT)/LV")에 대한 반응으로 THP-1 이중 세포에서의 인터페론 반응 인자(IRF) 반응의 정량화를 나타낸다. 막대는 상대적 광 단위(RLU)로 도시된다.

도 28은 실시양태에 따라, NanoSTING-N10 및 NanoSTING-N20 조성물이 비강내 투여된 동물 대상체의 체중 측정치를 나타낸다.

도 29는 실시양태에 따라, 리포좀, 20 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N20")로의 처리와 비교한, 리포좀, 10 ㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질)

항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-N10")로 처리한 후 7일차("d7"), 14일차("d14"), 21일차("d21") 및 27일차("d27")에 동물 대상체로부터 얻은 혈청에서의 체액성 면역 반응의 뉴클레오캡시드 단백질-반응성 IgG ELISA 정량화를 나타낸다.

도 30a는 실시양태에 따라, 키메라 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제가 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 리포좀, 키메라 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-ChimS")로 처리한 후 28일차에 동물 대상체로부터 얻은 혈청 샘플을 사용한, 키메라 스파이크 단백질 삼량체의 알파("α"), 베타("β") 및 감마("ɣ") 변이체에 대한 또는 알파 또는 감마 변이체의 수용체 결합 도메인에 대한 IgG 반응성의 ELISA 정량화를 나타낸다. **도 30b**는 실시양태에 따라, 키메라 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제가 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 리포좀, 키메라 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-ChimS")로 처리한 후 28일차에 동물 대상체로부터 얻은 혈청 샘플을 사용한, 키메라 스파이크 단백질 삼량체의 알파 변이체에 대한 IgA 반응성의 정량화를 나타낸다.

도 31a는 실시양태에 따라, 키메라 스파이크 단백질이 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 각각 펩티드 풀의 상이한 스파이크 단백질(S-단백질) 변이체를 포함하고 함께 모든 S-단백질 유래 펩티드 풀을 나타내는 NanoSTING-ChimS 조성물로 처리된 동물 대상체의 폐 샘플에서 ELISpot 검정을 사용하여 정량화한 인터페론 감마(IFNγ) 반응을 나타낸다. **도 31b**는 실시양태에 따라, 키메라 스파이크 단백질이 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 리포좀, 감마 변이체 키메라 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 NanoSTING-ChimS 조성물로 처리된 동물 대상체의 폐 샘플에서 ELISpot 검정을 사용하여 정량화한 인터페론 감마(IFNγ) 반응을 나타낸다. 막대 및 컬럼은 중앙값을 나타내며, 유의성은 만-위트니 검정을 사용하여 $*p < 0.05$; $**p < 0.01$에서 주장되었다.

도 32a 및 **도 32b**는 실시양태에 따라, 키메라 스파이크 단백질이 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 리포좀, RSV-F 유래 항원, 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-RSV")로 처리한 후 각각 7일차 및 14일차에 동물 대상체로부터 얻은 혈청을 사용하여 수행된 ELISA 검정에서 B1 스트레인(strain) 호흡기 세포융합 바이러스 F 단백질(RSV-F)에 대한 IgG의 반응성을 나타낸다.

도 33a, 도 33b 및 **도 33c**는 실시양태에 따라, 동적 광 산란(DLS)에 의해 측정된 리포좀 입자 크기의 분포를 나타낸다.

도 33d, 도 33e 및 **도 33f**는 실시양태에 따라, 전기 영동 광 산란(ELS)에 의해 측정된 리포좀의 제타 전위를 나타낸다.

도 34a 및 **도 34c**는 실시양태에 따라, 4℃에서 조성물을 보관한 후 동적 광 산란(DLS)에 의해 측정된 리포좀 입자 크기의 분포를 나타낸다.

도 34b 및 **도 34d**는 실시양태에 따라, 4℃에서 조성물을 보관한 후 전기 영동 광 산란(ELS)에 의해 측정된 리포좀의 제타 전위를 나타낸다.

도 35a 및 도 35b는 실시양태에 따라, 항원이 용액 중에 보관되거나(**도 35a**) 동결건조된 고체로서 보관되는(**도 35b**) 경우 동적 광 산란(DLS)에 의해 측정된 리포좀 입자 크기의 분포를 나타낸다.

도 36a는 실시예에 따른 cGAMP(STING 작용제) 조성물의 UV-가시 흡수 스펙트럼을 나타낸다.

도 36b는 실시양태에 따라 유리 STING 작용제의 농도를 계산하는 데 사용된표준 곡선을 나타낸다.

도 37a는 실시양태에 따라 감염성 질환의 효과의 예방에 대한 시간경과를 나타낸다.

도 37b는 **도 37a**에 나타낸 실험 시간경과 동안의 동물의 체중 변화를 나타낸다.

도 37c 및 **도 37d**는 실시양태에 따라, 30 마이크로그램 또는 120 마이크로그램의 STING 작용제를 포함하는 지질 기반 나노입자를 포함하는 조성물로의 전처리가 (각각) 폐 및 비강 조직에서 바이러스 감염을 유의하게 감소시킨다는 것을 나타낸다.

도 38a는 실시양태에 따라, 이전에 감염성 질환에 노출된 동물의 치료 효과에 대한 시간경과를 나타낸다.

도 38b는 **도 38a**에 나타낸 실험 시간경과 동안 동물의 체온 변화를 나타낸다.

도 38c는 **도 38a**에 나타낸 실험 시간경과 동안 동물의 체중 변화를 나타낸다.

도 39a는 실시양태에 따라, 지질 기반 나노입자 및 STING 작용제를 포함하는 조성물 2.5 마이크로그램, 5 마이크로그램 또는 10 마이크로그램과 함께 인큐베이션된 THP-1 세포에서 인터페론 자극 유전자 경로의 활성화를 나타낸다. **도 39b**는 실시양태에 따라 양성 대조군 루시퍼라제 벡터와 함께 인큐베이션된 THP-1 세포에서의 발광을 나타낸다.

도 40은 본원에 개시된 조성물 및 방법의 다양한 실시양태를 사용한 처리에 의해 의해 유발될 수 있는 일부 생물학적 반응의 다이어그램을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 호흡기 질환 또는 암과 같은 대상체(예를 들어, 포유동물과 같은 동물)의 질환 또는 병리학적 상태의 예방 및/또는 치료를 위한 조성물 및 방법이 본원에 개시된다. 일부 경우에, 질환 또는 병리학적 상태의 예방은 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태의 확립을 예방하는 것을 포함한다. 일부 경우에, 질환 또는 병리학적 상태의 예방은 (예를 들어, 대상체가 병원체에 노출된 후) 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태의 확립을 예방하는 것을 포함한다. 일부 경우에, 질환 또는 병리학적 상태의 예방은 (예를 들어, 예를 들어, 병원체에 의한 감염을 통한 대상체에서 질환의 확립 후) 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태(예를 들어, 제1 상태로부터 제2의 더 중증 또는 진행된 상태로)의 발달(예를 들어, 진행)을 예방하는 것을 포함한다. 일부 경우에, 질환 또는 병리학적 상태의 예방은 제1 대상체로부터 제2 대상체로의 질환 또는 병리학적 상태의 전파를 예방하는 것을 포함한다. 개체의 질환 또는 병리학적 상태를 예방하거나 치료하는 데 유용한 조성물(**10**)은 입자(**12**), 조절제(**16**) 및/또는 항원(**14**)(예를 들어, **도 1**에 도시된 바와 같음)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물은 지질 기반 리포좀 입자, 조절제(예컨대, 패턴 인식 수용체 작용제, 예를 들어 STING 작용제), 및 리포좀 입자와 회합된 적용 특이적 항원(예컨대, 코로나바이러스 스파이크 단백질("S-단백질"), 뉴클레오캡시드 단백질("N-단백질") 또는 키메라 항원 단백질)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 조절제 페이로드를 캡슐화하는 리포좀 입자와 적용 특이적 항원(예를 들어, 이의 외부 표면)의 회합은 관심대상의 표적 조직(예를 들어, 대상체의 비강내 구획 및/또는 폐 구획)으로의 조절제 페이로드의 표적화 및/또는 전달을 유의하게 증가시킬 수 있다. 일부 경우에, 적용 특이적 항원과 리포좀 입자의 회합(예를 들어, 리포좀 막으로의 혼입 또는 리포좀 막 표면과의 커플링을 통한 것과 같은 직접적 회합)은 예를 들어, 조성물의 항원 및 조절인자를 (예를 들어, 표적 조직에) 공간적으로 집중시킴으로써, 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태의 예방 및/또는 치료에서 조성물의 효능을 증가시킬 수 있다.

[0013] **조성물**

[0014] 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태를 예방 또는 치료하기 위한 조성물(예를 들어, 치료용 조성물)은 전달 비히클(예를 들어, 입자)을 포함할 수 있다. 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태를 예방하거나 치료하는 데 유용한 조성물의 전달 비히클은 입자, 예컨대 지질 기반 입자일 수 있다. 예를 들어, 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태를 예방하거나 치료하는 데 유용한 조성물은 리포좀(예를 들어, 외부 표면 및 내부 공간을 갖는 막을 가짐)과 같은 지질 기반 입자를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 하나 이상의 조절제(예를 들어, 한 가지 이상의 유형의 조절제)를 포함한다. 일부 경우에, 조절제는 소분자, 단백질 또는 이의 단편, 및/또는 폴리뉴클레오티드 또는 이의 단편을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 조절제(예를 들어, STING 작용제) 또는 조절제들의 조합은 대상체에서 신호전달 경로 및/또는 전신 반응 경로(예를 들어, 인터페론 유전자의 자극인자(STING) 경로)의 활성화 또는 억제를 유도하는 능력에 대해 본원에 기재된 조성물에서의 사용을 위해 선택될 수 있다. 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태(또는 제2 대상체로의 전파)를 예방하거나 치료하는 데 유용한 조성물은 하나 이상의 항원을 포함할 수 있다. 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태(또는 제2 개체로의 전파)를 예방하거나 치료하는 데 유용한 조성물은 복수의 항원을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 항원은 대상체에서 면역 반응을 유발할 수 있으며, 이는 대상체에서 질환(예를 들어, 호흡기 질환) 또는 병리학적 상태(예를 들어, 암)를 예방하거나 제거하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체에서 질환 또는 병리학적 상태를 예방하거나 치료하기 위한 조성물은 입자(예를 들어, 리포좀) 내에 캡슐화된 조절제(예를 들어, cGAMP와 같은 STING 작용제)를 포함할 수 있으며, 여기서 항원은 (예를 들어, 리포좀 막 내로의 혼입을 통해) 리포좀 또는 이의 일부와 회합된다.

[0015] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물은 대상체(예를 들어, 인간과 같은 포유동물)에서 질환 또는 병리학적 상태를 치료 또는 예방하는 방법에서 사용될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물은 병원체(예를 들어, 호흡기 질환 또는 암을 유발하는 병원체)에 노출되기 전에 대상체에게 투여되어, 예를 들어 대상체가 병원체(예를 들어, **도 2a**에 예시된 바와 같음) 노출(예를 들어, 병원체에 의한 감염)과 관련된 질환 또는 병태를 획득하는 것을 예방할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 개시된 조성물은 백신의 형태로 투여될 수 있다. 일부 경우에,

본원에 기재된 조성물은 병원체(예를 들어, 호흡기 질환 또는 암을 유발하는 병원체)에 노출된 후 대상체에게 투여되어, 예를 들어 대상체가 병원체(예를 들어, **도 2b**에 예시된 바와 같음) 노출로 인해 병원체와 관련된 질환 또는 병태를 획득한 후 병원체 노출과 관련된 질환 또는 병태를 치료(예를 들어, 개선하거나 일부 경우에 치유)할 수 있다.

[0016] **입자**

[0017] 본 개시내용의 조성물은 입자와 같은 전달 비히클을 포함할 수 있다. 입자는 페이로드(예를 들어, 조절제 페이로드) 및/또는 하나 이상의 항원(예를 들어, 막 또는 외부 표면과 같은 입자의 일부와 회합된 항원)을 운반하는 수단을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 막 또는 벽을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자의 막 또는 벽은 내부 공간을 한정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 입자의 내부 공간은 하나 이상의 조절제를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 항원은 입자의 막 또는 벽(예를 들어, 입자의 막 또는 벽의 외부 표면)과 회합될 수 있다. 입자는 지질 기반 입자, 탄소 기반 입자, 금속 기반 입자 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0018] 본원에 기재된 조성물의 입자는 지질 기반 입자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 지질 기반 입자는 리포좀일 수 있다. 본원에 기재된 조성물은 폐 계면활성화제-생체모방 입자를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 조성물의 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)는 예를 들어 막으로 조립된 복수의 분자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자) 또는 이의 일부는 음이온성일 수 있다(예를 들어, 음이온성 막 또는 하나 이상의 음이온성 지질을 포함할 수 있음). 예를 들어, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)는 음이온성 지질(예를 들어, DPPE, DPPE-PEG2000, DPPC, DPPG) 또는 중성 지질(예를 들어, 콜레스테롤)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 지질 기반 나노입자를 포함하는 NanoSTING 조성물)의 입자는 양이온성 지질을 포함하지 않을 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자) 또는 이의 일부는 양이온성일 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자는 양쪽이온성일 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자) 또는 이의 일부는 순 제로 전하를 가질 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자) 또는 이의 일부는 하전되지 않을 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 입자(예를 들어, 리포좀)는 디팔미토일포스파티딜콜린, 디팔리미토일포스파티딜글리세롤, 1,2-비스(디페닐포스피노)에탄(DPPE), 콜레스테롤 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 입자(예를 들어, 리포좀)는 폴리(에틸렌글리콜)-지질(예를 들어, PEG-지질)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물의 입자(예를 들어, 리포좀)는 DPPC(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DPPG(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포)-(1'-rac-글리세롤)), DPPE-PEG2000(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌글리콜)-2000]), 콜레스테롤, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 입자는 예를 들어 약 10:1의 몰비로 DPPC와 DPPG의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 예를 들어 약 10:1의 몰비로 DPPC와 콜레스테롤의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 예를 들어 약 10:1의 몰비로 DPPC와 DPPE-2000의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 예를 들어 약 1:1의 몰비로 DPPG와 콜레스테롤의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 예를 들어 약 1:1의 몰비로 콜레스테롤과 DPPE-PEG2000의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 예를 들어 약 1:1의 몰비로 DPPG와 DPPE-PEG2000의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 10:1:1:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 20:1:1:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 5:1:1:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 10:2:1:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 10:1:2:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 10:1:1:2 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 10:2:2:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 10:1:2:2 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자는 각각 10:2:1:2 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분자 대 입자를 포함하는 제2 분자의 몰비는 1:100 내지 1:1, 1:50 내지 1:2, 1:25 내지 1:3, 1:10 내지 1:5, 1:50 내지 1:1, 1:25 내지 1:1, 1:10 내지 1:1, 1:5 내지 1:1, 1:3 내지 1:1, 1:25 내지 1:10, 1:50 내지 1:25, 1:100 내지 1:50, 또는 1:100 초과일 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분자 대 입자를 포함하는 제2 분자의 몰비는 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:50, 1:100, 또는 그 사이의 임의의 범위일 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분자의 몰비는 1:5일 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분자의 몰비는 1:10일 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분

자의 몰비는 1:20일 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분자의 몰비는 1:50일 수 있다. 일부 경우에, 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분자는 1:100일 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제1 분자는 디팔미토일포스파티딜콜린, 디팔리미토일포스파티딜글리세롤, 1,2-비스(디페닐포스피노)에탄(DPPE), 콜레스테롤, 또는 이들의 조합일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물의 입자(예를 들어, 지질 기반 입자)를 포함하는 제2 분자는 DPPC(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DPPG(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)), DPPE-PEG2000(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000]), 또는 콜레스테롤일 수 있다.

[0019] 본원에 기재된 조성물의 입자는 나노입자일 수 있다. 작은 입자 직경(예를 들어, 300 나노미터(nm) 미만, 200 nm 미만, 150 nm 미만, 120 nm 미만, 115 nm 미만, 111 nm 미만, 110 nm 미만, 105 nm 미만, 100 nm 미만, 95 nm 미만, 90 nm 미만, 85 nm, 또는 80 nm 미만의 평균 유체역학적 입자 직경) 및/또는 낮은 다분산성(예를 들어, 0.25 미만, 0.24 미만, 0.23 미만, 0.22 미만, 0.21, 또는 0.20 미만의 다분산 지수)의 유지는 입자 안정성 및/또는 전달 효율을 개선할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 1 나노미터 내지 500 나노미터, 1 나노미터 내지 750 나노미터 또는 1 나노미터 내지 1,000 나노미터의 외경을 가질 수 있다. 일부 경우에, 입자는 1 나노미터 내지 10 나노미터, 1 나노미터 내지 15 나노미터, 1 나노미터 내지 20 나노미터, 1 나노미터 내지 30 나노미터, 1 나노미터 내지 50 나노미터, 1 나노미터 내지 75 나노미터, 1 나노미터 내지 100 나노미터, 1 나노미터 내지 150 나노미터, 1 나노미터 내지 200 나노미터, 1 나노미터 내지 250 나노미터, 1 나노미터 내지 300 나노미터, 1 나노미터 내지 400 나노미터, 1 나노미터 내지 500 나노미터, 10 나노미터 내지 15 나노미터, 10 나노미터 내지 20 나노미터, 10 나노미터 내지 30 나노미터, 10 나노미터 내지 50 나노미터, 10 나노미터 내지 75 나노미터, 10 나노미터 내지 100 나노미터, 10 나노미터 내지 150 나노미터, 10 나노미터 내지 200 나노미터, 10 나노미터 내지 250 나노미터, 10 나노미터 내지 300 나노미터, 15 나노미터 내지 20 나노미터, 15 나노미터 내지 30 나노미터, 15 나노미터 내지 50 나노미터, 15 나노미터 내지 75 나노미터, 15 나노미터 내지 100 나노미터, 15 나노미터 내지 150 나노미터, 15 나노미터 내지 200 나노미터, 15 나노미터 내지 250 나노미터, 15 나노미터 내지 300 나노미터, 20 나노미터 내지 30 나노미터, 20 나노미터 내지 50 나노미터, 20 나노미터 내지 75 나노미터, 20 나노미터 내지 100 나노미터, 20 나노미터 내지 150 나노미터, 20 나노미터 내지 200 나노미터, 20 나노미터 내지 250 나노미터, 20 나노미터 내지 300 나노미터, 30 나노미터 내지 50 나노미터, 30 나노미터 내지 75 나노미터, 30 나노미터 내지 100 나노미터, 30 나노미터 내지 150 나노미터, 30 나노미터 내지 200 나노미터, 30 나노미터 내지 250 나노미터, 30 나노미터 내지 300 나노미터, 50 나노미터 내지 75 나노미터, 50 나노미터 내지 100 나노미터, 50 나노미터 내지 150 나노미터, 50 나노미터 내지 200 나노미터, 50 나노미터 내지 250 나노미터, 50 나노미터 내지 300 나노미터, 75 나노미터 내지 100 나노미터, 75 나노미터 내지 150 나노미터, 75 나노미터 내지 200 나노미터, 75 나노미터 내지 250 나노미터, 75 나노미터 내지 300 나노미터, 100 나노미터 내지 150 나노미터, 100 나노미터 내지 200 나노미터, 100 나노미터 내지 250 나노미터, 100 나노미터 내지 300 나노미터, 150 나노미터 내지 200 나노미터, 150 나노미터 내지 250 나노미터, 150 나노미터 내지 300 나노미터, 200 나노미터 내지 250 나노미터, 200 나노미터 내지 300 나노미터 또는 250 나노미터 내지 300 나노미터의 외경을 가질 수 있다. 일부 경우에, 입자는 1 나노미터, 10 나노미터, 15 나노미터, 20 나노미터, 30 나노미터, 50 나노미터, 75 나노미터, 100 나노미터, 150 나노미터, 200 나노미터, 250 나노미터, 300 나노미터, 400 나노미터 또는 500 나노미터의 외경을 가질 수 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 1 나노미터, 10 나노미터, 15 나노미터, 20 나노미터, 30 나노미터, 50 나노미터, 75 나노미터, 100 나노미터, 150 나노미터, 200 나노미터, 250 나노미터, 300 나노미터, 400 나노미터 또는 500 나노미터의 외경을 가질 수 있다. 일부 경우에, 입자는 최대 1 나노미터, 10 나노미터, 15 나노미터, 20 나노미터, 30 나노미터, 50 나노미터, 75 나노미터, 100 나노미터, 150 나노미터, 200 나노미터, 250 나노미터, 300 나노미터, 400 나노미터, 500 나노미터, 750 나노미터 또는 1,000 나노미터의 외경을 가질 수 있다.

[0020] 본 개시내용의 조절제 및/또는 항원은 본 개시내용의 입자와 회합될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항원 및 STING 조절제는 본 개시내용의 입자의 상이한 영역에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조절제(예를 들어, STING 조절제)는 입자에 캡슐화될 수 있다(예를 들어, 도 1에 예시된 바와 같이 입자(**12**)에 캡슐화된 STING 조절제(**16**)). 일부 경우에, 본 개시내용의 항원의 전부 또는 일부는 입자의 표면(예를 들어, **도 1**에 예시된 바와 같은 입자(**12**)의 표면 상의 항원(**14**))과 회합(예를 들어, 부착, 접착, 흡착, 정전기적 상호작용, 공유 결합, 비공유 결합, 통합, 또는 제형화)될 수 있다. 일부 경우에, 항원의 전부 또는 일부는 지질 기반 입자 내에 캡슐화된다. 일부 실시양태에서, 항원과 입자의 표면의 회합(예를 들어, 흡착)은 투여 후 입자의 안정성을 증가시키고/시키거나 (예를 들어, 표적 조직으로의) 전달 효율을 증가시킬 수

있다.

[0021] 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자 내에 캡슐화될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함함)는 입자의 외부 표면과 회합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 (예를 들어, 지질 기반) 입자 내에 캡슐화될 수 있는 반면, 본 개시내용의 하나 이상의 조절제(들)(예를 들어, STING 조절제를 포함함)는 입자의 외부 표면과 회합된다. 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자의 외부 표면과 회합될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함함)는 입자 내에 캡슐화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자의 외부 표면과 회합될 수 있는 반면, 본 개시내용의 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함함)는 입자 내에 캡슐화된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항원 및 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함함)는 둘 다 (예를 들어, 지질 기반) 입자 내에 캡슐화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항원 및 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함)는 둘 다 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자의 표면과 회합될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자의 막 내로 통합될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함)는 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자의 막 내로 통합될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자 내에 캡슐화될 수 있는 반면, 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함)는 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자의 막 내로 통합된다. 일부 경우에, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 (지질 기반) 입자의 외부 표면과 회합될 수 있는 반면, 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함함)는 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자 내에 캡슐화된다. 일부 경우에, 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함)는 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자 내에 캡슐화될 수 있는 반면, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 입자의 막 내로 통합된다. 일부 경우에, 하나 이상의 조절제(예를 들어, STING 조절제를 포함)는 본 개시내용의 (예를 들어, 지질 기반) 입자의 외부 표면과 회합될 수 있는 반면, 본 개시내용의 하나 이상의 항원은 입자의 막 내로 통합된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 항원 및 조절제(예를 들어, STING 조절제) 둘 다를 (예를 들어, 지질 기반) 입자 내에 혼입하는 것은 조율된 세포질 전달을 용이하게 할 수 있다.

[0022] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물은 2가 양이온과 같은 2가 이온을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 조성물은 본원에 기재된 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자)의 막(예를 들어, 막 표면) 내에 캡슐화되거나, 이에 흡착되거나, 이에 공유 커플링되거나, 이와 정전기적으로 상호작용하거나, 이로 제형화되는 2가 양이온을 포함한다. 일부 경우에, 조성물은 Mn^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+} 및 Zn^{2+}로부터 선택된 2가 양이온을 포함할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 조절제(예를 들어, STING 작용제), 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자) 및 Mn^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, 또는 Zn^{2+}와 같은 2가 양이온을 포함할 수 있다.

[0023] **항원**

[0024] 대상체에서 호흡기 질환 또는 병리학적 상태를 예방하거나 치료하는데 유용한 조성물은 항원을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 항원(또는 이의 일부)은 입자(예를 들어, 리포좀과 같은 지질 기반 입자)와 회합된(예를 들어, 부착, 접착, 흡착, 정전기적으로 상호작용, 공유 결합, 비공유 결합, 통합 또는 제형화)될 수 있다. 일부 경우에, 항원은 대상체에서 질환에 대한 면역을 발달시키는데 적절할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물 중의 하나 이상의 항원은 대상체에서 질환에 대한 면역 반응을 유발할 수 있다.

[0025] 본원에 기재된 조성물의 항원은 질환(예를 들어, 본원에 기재된 하나 이상의 병원체)을 유발하는 병원체 또는 이의 일부의 약독화되거나 사멸된 버전을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 병원체와 관련된 펩티드 또는 단백질, 또는 이의 일부를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 병원체의 표면 단백질(예를 들어, 수용체 단백질) 또는 이의 일부를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 예를 들어 제2 항원(예를 들어, 제2 항원을 발현하는 플라스미드 DNA 분자)을 발현하는 데 사용될 수 있는 폴리뉴클레오티드의 형태일 수 있다.

[0026] 본원에 기재된 조성물의 항원은 스파이크 단백질 또는 이의 일부를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 항원은 코로나바이러스 스파이크 단백질(S-단백질)의 적어도 하나의 성분을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 항원은 코로나바이러스 스파이크 단백질(S-단백질)의 단량체 형태를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 항원은 코로나바이러스 스파이크 단백질(S-단백질)의 다량체 형태

를 포함할 수 있다.

[0027] 일부 경우에, 본 개시내용의 항원은 SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 단량체 형태, SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 수용체 결합 도메인(RBD)의 단량체 형태, SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 다량체 형태, SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 수용체 결합 도메인(RBD)의 다량체 형태, SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 이량체 형태, SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 수용체 결합 도메인(RBD)의 이량체 형태, SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 삼량체 형태, SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 수용체 결합 도메인(RBD)의 삼량체 형태, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 조성물의 항원은 키메라 단백질(예를 들어, 키메라 스파이크 단백질)을 포함할 수 있다.

[0028] 일부 경우에, 항원은 D614G 돌연변이, A222V 돌연변이, S477N 돌연변이, D80Y 돌연변이, S98F 돌연변이 또는 이들의 조합을 함유하는 SARS-CoV2 스파이크 단백질(S)의 단량체 또는 다량체 형태를 포함할 수 있다.

[0029] 일부 실시양태에서, 항원은 상이한 돌연변이를 포함하는 SARS-CoV2 스파이크 단백질의 혼합물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 뉴클레오캡시드 단백질의 단량체 또는 다량체 형태를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 항원은 SARS-CoV2 뉴클레오캡시드(N) 단백질의 단량체 또는 다량체 형태를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 A220V 돌연변이를 함유하는 SARS-CoV2 뉴클레오캡시드(N) 단백질의 단량체 또는 다량체 형태일 수 있다.

[0030] 일부 실시양태에서, 항원은 인플루엔자 바이러스 항원 또는 이의 일부, 인플루엔자 A 바이러스 항원 또는 이의 일부, 인플루엔자 B 바이러스 항원 또는 이의 일부, 파라인플루엔자 바이러스 항원 또는 이의 일부, 아데노바이러스 항원 또는 이의 일부, 엔테로바이러스 항원 또는 이의 일부, 코로나바이러스 항원 또는 이의 일부, 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) 항원 또는 이의 일부, 리노바이러스 항원 또는 이의 일부, DNA 바이러스 항원 또는 이의 일부, RNA 바이러스 항원 또는 이의 일부, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스(SARS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(SARSr-CoV), 인간 코로나바이러스 229E(HCoV-229E), 인간 코로나바이러스 NL63(HCoV-NL63), 인간 코로나바이러스 OC43(HCoV-OC43), 인간 코로나바이러스 HKU1(HCoV-HKU1), 중동 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(MERS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스 2 (SARS-CoV-2), SARS-CoV-2의 변종(예를 들어, 20A.EU1 또는 스파이크 변종 D614G) 또는 이들의 조합의 항원을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 항원은 (예를 들어, 코로나바이러스) 알파 변이체 스파이크 단백질 단량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 알파 변이체 스파이크 단백질 삼량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 베타 변이체 스파이크 단백질 단량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 베타 변이체 스파이크 단백질 삼량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 감마 변이체 스파이크 단백질 단량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 감마 변이체 스파이크 단백질 삼량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 델타 변이체 스파이크 단백질 단량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 델타 변이체 스파이크 단백질 삼량체, (예를 들어, 코로나바이러스) 알파 변이체 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD) 부분, (예를 들어, 코로나바이러스) 베타 변이체 스파이크 단백질의 RBD 부분, (예를 들어, 코로나바이러스) 감마 변이체 스파이크 단백질의 RBD 부분, 및/또는 (예를 들어, 코로나바이러스) 델타 변이체 스파이크 단백질의 RBD 부분을 포함할 수 있다.

[0031] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드(N) 단백질을 포함하는 항원)은 서열번호 1에 따른 아미노산 서열을 가질 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질을 포함하는 항원)은 서열번호 1과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가질 수 있다. 일부 경우에, 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질을 포함하는 항원)은 서열번호 2에 따른 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다. 일부 경우에, 항원은 서열번호 2와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 99% 초과, 또는 100% 서열 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법의 항원(예를 들어, 스파이크(S) 단백질을 포함하는 항원)은 서열번호 3의 아미노산 서열을 가질 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법의 항원(예를 들어, 스파이크(S) 단백질을 포함하는 항원)은 서열번호 3과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가질 수 있다. 일부 경우에, 항원(예를 들어, 스파이크(S) 단백질을 포함하는 항원)은 서열번호 4에 따른 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다. 일부 경우에, 항원(예를 들어, 스파이크(S) 단백질을 포함하는 항원)은 서열번호 4와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 99% 초과 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0032] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 조성물은 본원에 기재된 방법에서 이용됨)이 N-단백질과 S-단백질 둘 다를 포함하는 것이 유리할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물은 서열번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 N-단백질 및 서열번호 3과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 S-단백질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물은 서열번호 1과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 N-단백질 및 서열번호 3과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 S-단백질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물은 서열번호 1과 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 N-단백질 및 서열번호 3과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 S-단백질을 포함할 수 있다.

[0033] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물이 동량의 N-단백질 및 S-단백질을 포함하는 것이 유익할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법은 조성물이 동등하지 않은 양의 N-단백질 및 S-단백질을 포함하도록 N-단백질 대 S-단백질의 비율을 조정함으로써 이익을 얻을 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물은 S-단백질보다 더 많은 N-단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물이 N-단백질보다 더 많은 S-단백질을 포함하는 것이 유익할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물은 1:1,000 미만, 1:1,000 내지 1:500, 1:500 내지 1:200, 1:200 내지 1:100, 1:100 내지 1:50, 1:50 내지 1:25, 1:25 내지 1:20, 1:20 내지 1:10, 1:10 내지 1:5, 1:5 내지 1:4, 1:4 내지 1:3, 1:3 내지 1:2, 1:2 내지 2:3, 2:3 내지 3:4, 3:4 내지 4:5, 4:5 내지 1:1, 1:1 내지 5:4, 5:4 내지 4:3, 4:3 내지 3:2, 3:2 내지 2:1, 2:1 내지 3:1, 3:1 내지 4:1, 4:1 내지 5:1, 5:1 내지 10:1, 10:1 내지 20:1, 20:1 내지 25:1, 25:1 내지 50:1, 50:1 내지 100:1, 100:1 내지 200:1, 200:1 내지 500:1, 500:1 내지 1,000:1, 또는 1,000:1 초과의 N-단백질 대 S-단백질의 질량비(예를 들어, N-단백질:S-단백질의 질량비)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 스파이크 단백질 대 조성물의 뉴클레오캡시드 단백질의 질량비는 1:2이다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물은 1:1,000 미만, 1:1,000 내지 1:500, 1:500 내지 1:200, 1:200 내지 1:100, 1:100 내지 1:50, 1:50 내지 1:25, 1:25 내지 1:20, 1:20 내지 1:10, 1:10 내지 1:5, 1:5 내지 1:4, 1:4 내지 1:3, 1:3 내지 1:2, 1:2 내지 2:3, 2:3 내지 3:4, 3:4 내지 4:5, 4:5 내지 1:1, 1:1 내지 5:4, 5:4 내지 4:3, 4:3 내지 3:2, 3:2 내지 2:1, 2:1 내지 3:1, 3:1 내지 4:1, 4:1 내지 5:1, 5:1 내지 10:1, 10:1 내지 20:1, 20:1 내지 25:1, 25:1 내지 50:1, 50:1 내지 100:1, 100:1 내지 200:1, 200:1 내지 500:1, 500:1 내지 1,000:1, 또는 1,000:1 초과의 N-단백질 대 S-단백질의 몰비(예를 들어, N-단백질:S-단백질의 몰비)를 포함할 수 있다.

[0034] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법은 (예를 들어, 지질 기반) 나노입자의 막과 회합되는(예를 들어, 이에 매립되거나, 공유 커플링되거나, 비공유 커플링되는) N-단백질 및 나노입자의 막과 회합되지 않은(예를 들어, (예를 들어, 병행치료(co-treatment)에서) 나노입자 내에 포함되거나 나노입자 외부에 있고 나노입자에 커플링되지 않은) S-단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법은 (예를 들어, 지질 기반) 나노입자의 막과 회합되는(예를 들어, 이에 매립되거나, 이에 공유 커플링되거나, 이에 비공유 커플링되는) S-단백질 및 나노입자의 막과 회합되지 않은(예를 들어, (예를 들어, 병행치료에서) 나노입자 내에 포함되거나 나노입자 외부에 있고 나노입자에 커플링되지 않은) N-단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법은 (예를 들어, 지질 기반) 나노입자의 막과 회합되는(예를 들어, 이에 매립되거나, 공유 커플링되거나, 비공유 커플링되는) N-단백질 및 나노입자의 막과 회합되는 S-단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법은 (예를 들어, 지질 기반) 나노입자의 막과 회합되지 않은(예를 들어, (예를 들어, 공동-처리에서) 나노입자 내에 포함되거나 나노입자 외부에 있고 나노입자에 커플링되지 않은) N-단백질 및 나노입자의 막과 회합되지 않은 S-단백질을 포함할 수 있다.

[0035] 일부 실시양태에서, 항원은 SARS-CoV2 스파이크 단백질과 뉴클레오캡시드 단백질의 혼합물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 상이한 돌연변이를 갖는 SARS-CoV2 스파이크 단백질과 뉴클레오캡시드 단백질의 혼합물일 수 있다.

[0036] 일부 경우에, 항원은 인플루엔자 바이러스 항원 또는 이의 일부, 인플루엔자 A 바이러스 항원 또는 이의 일부, 인플루엔자 B 바이러스 항원 또는 이의 일부, 파라인플루엔자 바이러스 항원 또는 이의 일부, 아데노바이러스 항원 또는 이의 일부, 엔테로바이러스 항원 또는 이의 일부, 코로나바이러스 항원 또는 이의 일부, 호흡기 세포 융합 바이러스(RSV) 항원 또는 이의 일부, 리노바이러스 항원 또는 이의 일부, DNA 바이러스 항원 또는 이의 일부, RNA 바이러스 항원 또는 이의 일부, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0037] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 대상체에서 암에 대한 면역을 발달시키기에 적절하다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물의 항원은 대상체에서 암에 대한 면역을 발달시키기에 적절하다. 예를 들어, 일부

실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물 중의 항원은 대상체에서 암(예를 들어, 이전에 기재된 암)에 대한 면역 반응을 유도할 수 있다.

[0038] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물의 항원은 암과 관련된 종양 세포(또는 이의 일부)의 약독화되거나 사멸된 버전일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 암과 관련된 펩티드 또는 단백질을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 암 세포의 표면 단백질(예를 들어, 수용체 단백질)을 포함할 수 있다.

[0039] 일부 실시양태에서, 항원은 암 세포의 돌연변이된 단백질을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 암 돌연변이를 표적화하는 긴 합성 펩티드일 수 있다.

[0040] 본 개시내용의 조성물의 항원은 다양한 형태일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항원은 재조합 펩티드 또는 단백질, 또는 T-세포에 의해 인식되는 펩티드 에피토프일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 조성물의 항원은 탠덤 미니유전자를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원은 항원을 발현하는 뉴클레오티드(예를 들어, 항원을 발현하는 플라스미드 DNA 분자)의 형태일 수 있다.

[0041] **조절제**

[0042] 대상체에서 질환을 예방 또는 치료하기 위한 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 지질 기반 입자와 같은 입자 및 임의로 항원을 포함함)은 조절제를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 조성물의 조절제는 STING 조절제(예를 들어, STING 경로 조절제)와 같은 패턴 인식 수용체 조절제일 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 조절제는 패턴 인식 수용체 작용제일 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 조절제는 패턴 인식 수용체 길항제일 수 있다. 본 개시내용의 조성물은 다양한 유형의 STING 조절제를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, STING 조절제는 STING 경로의 길항제이다. 일부 실시양태에서, STING 조절제는 STING 경로의 작용제이다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 조절제는 대상체(예를 들어, 조성물이 투여되는 대상체)에서 STING 경로를 활성화할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 조절제는 대상체(예를 들어, 조성물이 투여되는 대상체)에서 STING 경로를 억제할 수 있다.

[0043] 본원에 기재된 조성물의 STING 조절제는 비스-(3',5')-사이클릭 이량체 구아노신 모노포스페이트(c-디-GMP), 사이클릭 구아노신 모노포스페이트-아데노신 모노포스페이트(cGAMP), 아미도벤즈이미다졸, 아미도벤즈이미다졸의 유도체, 뉴클레오티드 조절제, 플라스미드 DNA 조절제, 핵산 조절제 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다

[0044] 일부 실시양태에서, STING 조절제는 STING 경로의 길항제일 수 있다. 일부 경우에, STING 길항제는, 예를 들어, 질환을 유발하는 병원체(예를 들어, 리노바이러스와 같은 RNA 바이러스)가 바이러스 복제를 촉진하기 위해 STING 경로를 이용하는 경우, 질환의 치료 및/또는 예방에 특히 효과적일 수 있다. 일부 경우에, STING 길항제는 STING 경로에 대한 바이러스 접근을 감소시킴으로써 바이러스 복제를 억제하는 데 이용될 수 있다. 일부 실시양태에서, STING 길항제는 비제한적으로 C-178, H-151 및 이들의 조합을 포함한다.

[0045] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 조절제는 조성물 입자의 내부 공간 내에 배치될 수 있다. 예를 들어, 조절제는 본원에 기재된 조성물의 입자(예를 들어, 리포좀과 같은 지질 기반 입자) 내에 캡슐화될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 조절제는 조성물의 입자의 표면(예를 들어, 막의 외부 표면)과 회합될 수 있다. 일부 경우에, 입자의 표면과 회합된 조절제는 입자의 표면에 공유 또는 비공유 결합됨으로써 회합된다. 일부 경우에, 입자의 표면과 회합되는 조절제는 입자의 표면(예를 들어, 막)으로 통합됨으로써 회합된다.

[0046] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 항원의 핵산 서열 및 조성물의 조절제의 핵산 서열은 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물의 항원의 핵산 서열의 일부는 조성물의 조절제의 핵산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조절제의 핵산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하는 항원은 본원에 기재된 조성물의 입자(예를 들어, 지질 기반 입자) 내에 캡슐화될 수 있다(예를 들어, 여기서 조절제도 지질 기반 입자 내에 캡슐화된다). 일부 경우에, 본원에 기재된 항원 및 조절제(예를 들어, 여기서 항원 및 조절제는 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함한다)는 둘 다 본원에 기재된 지질 기반 입자 내에 캡슐화된다. 일부 경우에, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 항원 및 조절제를 조성물은 비강내로 전달될 수 있다.

[0047] **사용 방법**

[0048] 추가 실시양태에서, 본 개시내용은 대상체에게 본 개시내용의 치료용 조성물을 투여함으로써 대상체에서 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. **도 2a**에 예시된 보다 구체적인 실시양태에서. 본 개시내용의 방법은

대상체의 질환을 치료 또는 예방하기 위해(단계 22) 대상체에게 치료용 조성물을 투여하는 단계(단계 20)를 포함한다.

[0049] 본원에 보다 상세히 기재된 바와 같이, 본 개시내용의 치료용 조성물 및 방법은 다수의 실시양태를 가질 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 치료용 조성물은 다양한 유형의 STING 조절제 및 항원을 포함할 수 있다. 또한, 본 개시내용의 방법은 다양한 방식으로 다양한 질환을 치료 또는 예방하기 위해 다수의 대상체에게 본 개시내용의 치료용 조성물을 투여하는 데 이용될 수 있다.

[0050] **적용**

[0051] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 및/또는 방법은 인플루엔자, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스와 관련된 호흡기 질환 또는 병태와 같은 호흡기 질환 또는 병태를 예방하거나 치료하는 데 유용할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 및/또는 방법은 중증 급성 호흡기 증후군(SARS), 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS) 및/또는 과사이토카인혈증(hypercytokinemia)(예를 들어, 사이토카인 폭풍)을 예방하거나 치료하는 데 유용할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 및/또는 방법은 폐암과 같은 암을 예방 및/또는 치료하는 데 유용할 수 있다.

[0052] 호흡기 질환 및 암에 대한 안전하고 효과적인 백신이 절실히 요구된다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물은 체액성 면역, T-세포 면역, 전신 면역 및/또는 점막 면역을 가능하게 하는 인터페론 유전자의 자극인자(STING) 경로의 작용제를 함유하는 리포좀을 함유하는 백신 또는 치료적 처치(예를 들어, 비강내로 전달됨)를 포함할 수 있다.

[0053] 선천적 면역은 병원체 침입에 대한 제1 방어선이다. (각 병원체별로 맞춤화될 수 있는 적응 면역과 달리) 선천적 면역은 보존된 병원체 관련 분자 패턴(PAMP)1을 인식하는 숙주 세포 상의 패턴 인식 수용체(PRR)에 의해 촉발될 수 있다. 이러한 인식 방식은 맞춤화가 필요하지 않은 즉각적인 반응이 있음을 보장할 수 있다.

[0054] RNA 바이러스의 맥락에서, 바이러스 특이적 RNA 분자의 인식 및 활성화는 인터페론 조절 인자(IRF) 및 핵 인자 κB(NF-κB)의 활성화로 이어질 수 있다. 함께, 이들 전사 조절인자는 I형 및 III형 인터페론의 합성과 분비 및 후속적인 IFN 자극된 유전자(ISG)의 상향조절을 포함하는 광범위한 항바이러스 프로그램을 시작한다.

[0055] 이러한 포괄적인 항바이러스 프로그램은 바이러스 복제에 강력한 선택 압력을 가할 수 있다. 바이러스는 인터페론 신호전달을 방해하는 정교한 대책을 발전시켰다. 인터페론 매개 반응과 바이러스 대책 간의 상호작용은 불균일하며 인간에서 나타난 이환율과 사망률의 불균일성에 대한 설명이 될 수 있다.

[0056] 1형 인터페론 반응은 병원체 감염(예를 들어, 코로나바이러스 또는 다른 호흡기 병원체)에서 억제될 수 있고, 후속적으로 ISG와 NF-κB에 의해 매개되는 염증촉진 반응 사이의 균형은 조절되지 않을 수 있다. 결과적으로, 병원체 감염(예를 들어, 호흡기 병원체 감염) 시 질환이 진행된 환자는 인터페론 신호전달이 낮지만, 종양 괴사 인자(TNF) 및 인터루킨-6(IL-6) 분비가 과대할 수 있다. 실제로, 인터페론 기능을 중화시키는 인터페론에 대한 자가항체를 갖는 인간은 진행된 질환이 발생할 위험이 높을 수 있다.

[0057] 유사하게, I형 IFN 면역의 선천적 오류를 갖는 인간은 이러한 오류가 없는 인간보다 더 높은 비율로 생명을 위협하는 COVID-19가 발생할 수 있다. 일부 경우에, 1형 인터페론으로의 세포주 전처리는 그 밖의 감수성 세포에서 바이러스 복제를 억제할 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, 이러한 고려사항은 강력한 I형 IFN 반응의 결여가 진행된 COVID-19의 기저가 될 수 있음을 설명하는 데 도움이 될 수 있다.

[0058] 인터페론 유전자의 자극인자(STING) 경로는 사이클릭 DNA 디뉴클레오티드를 감지하고 IRF3 및 NF-κB를 활성화하여 ISG의 합성을 야기하는 PRR이다. 주로 박테리아 및 DNA 바이러스를 감지하는 데 중요하다고 사료되지만, RNA 바이러스 매개 I형 IFN 및 사이토카인 생산에서 STING의 역할은 더 상세한 연구가 필요하다. 본원에 나타낸 바와 같이, RNA 바이러스 매개 I형 IFN 및 사이토카인 생산에서 STING의 역할은 바이러스 및 세포 유형 특이적일 수있다.

[0059] 인간 세포의 세포질 내에서 코로나바이러스와 같은 바이러스로부터 유래된 이중 가닥 RNA의 감지는 레티노산 유도성 유전자 1(RIG-1) 및 흑색종 분화 유전자 5(MDA5)를 포함하는 RIG-I 유사 수용체에 의해 달성될 수 있다. 일부 경우에, 이들 수용체의 감지 경로 하류는 2가지 IKK 관련 키나제인 TANK 결합 키나제 1(TBK1) 및 유도성 IκB 키나제(IKKi)의 활성화를 유도한다. 일부 경우에, 이들 키나제는 또한 활성화된 STING 경로에 의해 이용되며, 이는 PRR이 상이한 분자를 감지하도록 진화하였지만 하류 반응에서 수렴할 수 있음을 시사한다.

[0060] 치료제로서 STING 작용제를 사용하는 것은 SARS-CoV2 감염의 맥락에서도 I형 인터페론의 균형 잡힌 활성화를 촉

진하기 위해 이러한 보존된 하류 효과기 반응을 이용할 수 있다. RIG-1 유사 수용체와 독립적인 STING 작용제로 I형 인터페론의 방출을 가능하게 하는 것은 이것이 바이러스에 의해 진화된 대책에 영향을 받지 않을 가능성을 높인다.

[0061] 인터페론의 방출은 바이러스 복제를 제한하는 광범위한 항바이러스 프로그램을 가능하게 하여 질환 중증도를 완화시킬 수 있다. 반면, 리노바이러스와 같은 RNA 바이러스는, 일부 경우에, STING 경로를 가로채서 바이러스 복제를 촉진할 수 있다. 이와 관련하여, STING 길항제를 사용하여 염증을 약화시킴으로써 바이러스 복제를 억제하는 것이 유용할 수 있다.

[0062] 이론에 얽매이지 않고, 본 개시내용의 치료용 조성물은 다양한 작용 메커니즘을 통해 질환을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 대상체에서 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 대상체에서 질환을 예방하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 대상체에서 질환을 치료 및 예방하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 대상체에서 질환에 대한 면역을 발달시킴으로써 대상체에서 질환을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다.

[0063] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 대상체에서 질환에 대한 면역 반응을 유발할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 선천적 면역, 점막 면역, 전신 면역, 세포성 면역, 체액성 면역, T-세포 면역, 전신 중화 항체의 생성, IgG 반응의 유도, IgA 반응의 유도, IgM 반응의 유도, T 세포 반응의 유도, 폐 및 비강 구획에서 점막 IgA 반응의 유도, Th1 T 세포 반응의 유도, CD8+ T 세포 반응의 유도, CD4+ T 세포 반응의 유도, NK 세포 반응의 유도, 인터페론 유전자의 자극인자(STING) 경로의 활성화 또는 억제, 또는 이들의 조합 중 적어도 하나를 통해 이러한 면역을 유발할 수 있다.

[0064] 일부 경우에, 본원에 개시된 조성물은 대상체의 혈청에서 적어도 1:25, 1:25 초과의 평균 희석 역가(예를 들어, 병원체 항원 또는 이의 일부에 특이적인 IgG 또는 IgA의)를 유발할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 개시된 조성물은 대상체의 기관지폐포 세척액(BALF)에서 1:25 내지 1:50, 1:30 내지 1:50, 1:40 내지 1:50, 1:50 내지 1:60, 또는 적어도 1:25, 1:25 초과, 또는 1:60 미만의 평균 희석 역가(예를 들어, 병원체 항원 또는 이의 일부에 특이적인 IgG 또는 IgA의)를 유발할 수 있다.

[0065] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은, 예를 들어 대상체에서 질환에 대한 선천적 면역 반응을 유발함으로써 대상체에서 질환에 대한 면역의 발달을 일으키거나 도울 수 있다. 일부 실시양태에서, 유발된 선천적 면역 반응은 인터페론 조절 인자(IRF), 핵 인자 κB(NF-κB) 또는 이들의 조합의 활성화를 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, 유발된 선천적 면역 반응은 I형 및 III형 인터페론(IFN)의 합성과 분비 및 후속적인 IFN 자극된 유전자(ISG)의 상향조절을 초래할 수 있다.

[0066] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 예를 들어, 점막 면역 및/또는 전신 면역을 통해 대상체에서 질환에 대한 면역을 발달시키기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 점막 면역, 전신 면역 및 세포성 면역을 통해 대상체에서 면역 발달을 도울 수 있다. 일부 실시양태에서, 전신 면역은 항원에 대한 중화 항체의 생산을 통해 발달될 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포성 면역은 비장 세포 및/또는 폐 세포에서 발달될 수 있다. 일부 실시양태에서, 점막 면역은 비강 구획 및 폐에서의 IgA 및 비장에서의 IgA 분비 세포의 생산을 통해 발달될 수 있다.

[0067] 본 개시내용의 방법 및 치료용 조성물은 다양한 실시양태에서 다수의 이점을 제공할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 대규모 임상 시설을 필요로 하지 않고 대규모 집단에 투여될 수 있다.

[0068] 더욱이, 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 초기 바이러스 저장소(예를 들어, 비강 구획에서)의 확립을 방지할 수 있고 개체 간의 바이러스 전파 및/또는 개체 내 전파를 제어하는 것을 도울 수 있다.

[0069] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 호흡기 바이러스에 의해 매개되는 주요 탈출 메커니즘 중 하나일 수 있는 인터페론 활성화의 결핍을 교정할 수 있다. 추가로, 예를 들어 본 개시내용의 치료용 조성물은 대상체에서 IgM, IgG, IgA 및 T-세포 반응 중 하나 이상을 유발하기 위해 일부 실시양태에서 이용될 수 있기 때문에, 본 개시내용의 치료용 조성물은 코로나바이러스 또는 다른 호흡기 병원체(다른 바이러스 호흡기 병원체를 포함)와 같은 다수의 병원체에 대한 광범위한 스펙트럼 치료용 조성물을 개발하기 위한 범용 점막 애주번트를 제공할 수 있다.

[0070] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법 및 치료용 조성물은 수의학적 적용을 가질 수 있다. 일부

실시양태에서, 수의학적 적용은 상이한 유형의 동물 및 다른 유사한 적용에서 질환의 치료 또는 예방을 포함한다.

[0071] **제형 및 투여**

[0072] 본 개시내용의 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물은 가용화된 액체로서 전달될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 대상체에게 비강내 및/또는 흡입 투여하기에 적절하다. 일부 경우에, 본원에 개시된 조성물의 비강내 전달은 비강내 구획 조직을 표적화하는 데 사용될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 개시된 조성물의 흡입 투여는 폐 구획 조직을 표적화하는 데 사용될 수 있다.

[0073] 일부 경우에, 주사기 또는 액체 점적기를 사용하여 본원에 기재된 조성물을 대상체에게 비강내로 투여할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 것은 스프레이 노즐, 네뷸라이저 및/또는 분무기의 사용을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 자가 투여될 수 있다.

[0074] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 또한 하나 이상의 안정화제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안정화제는 비제한적으로 항산화제, 격리제(sequestrant), 자외선 안정화제, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0075] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 또한 하나 이상의 계면활성화제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 계면활성화제는 비제한적으로 음이온성 계면활성화제, 당, 양이온성 계면활성화제, 양쪽이온성 계면활성화제, 비이온성 계면활성화제 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0076] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 또한 하나 이상의 부형제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 부형제는, 비제한적으로, 락토스, 수크로스, 전분 분말, 알칸산의 셀룰로스 에스테르, 트레할로스, 셀룰로스 알킬 에스테르, 활석, 스테아르산, 마그네슘 스테아레이트, 산화마그네슘, 인산 및 황산의 나트륨 및 칼슘 염, 젤라틴, 아카시아 검, 트레할로스, 나트륨 알기네이트, 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐 알코올 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0077] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 동결건조(예를 들어, 냉동건조)될 수 있다. 본 개시내용의 조성물(또는 이의 성분)의 동결건조는 본원에 기재된 조성물의 보관 안정성(예를 들어, 저장 안정성)을 증가시킬 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물의 하나 이상의 성분은 동결건조될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물(또는 이의 성분)의 동결건조는 조성물의 용이한 제조를 허용하여, 예를 들어 재료 준비 시설에 용이하게 접근할 수 없는 지역에서의 사용(예를 들어, 대상체에게 투여)을 허용할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조절제, 지질 기반 입자 및/또는 항원을 동결건조시킨 다음, 재수화 및 혼합하여(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이), 영구적인 의료 또는 제약 시설에서 멀리 떨어져 있는 대상체에 대한 투여 위치에서 본원에 기재된 조성물을 제형화할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 동결건조된 조성물(또는 이의 일부, 예컨대 동결건조된 입자 또는 동결건조된 항원 또는 동결건조된 조절제)은 4℃에서 보관될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 동결건조된 조성물(또는 이의 일부)은 4℃에서 보관될 수 있고 최대 1주, 최대 2주, 최대 3주, 최대 1개월, 최대 2개월, 최대 3개월, 최대 4개월, 최대 5개월, 최대 6개월, 최대 7개월, 최대 8개월, 최대 9개월, 최대 10개월 또는 최대 12개월 동안 사용될 수 있다.

[0078] 본 개시내용의 조성물은 다양한 방법으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 투여는 비제한적으로 정맥내 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 복강내 투여, 피하 투여, 스프레이 기반 투여, 에어로졸 기반 투여, 난내 투여, 경구 투여, 안내 투여, 기관내 투여, 비강내 투여, 흡입 투여 또는 이들의 조합을 포함하는 방법에 의해 발생한다.

[0079] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 단일 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 치료용 조성물은 다중 용량으로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에서 질환을 치료하거나 예방하는 방법은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 15 내지 20, 20 내지 25, 25 내지 30, 30 내지 40, 40 내지 50회, 또는 50회 초과의 용량으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 복수의 시점(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회, 또는 10회 초과의 시점)에서 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 대상체에게 본 개시내용의 조성물을 포함하는 제1 용량 및 본 개시내용의 조성물을 포함하는 제2 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 제1 용량의 조성은 제2 용량의 조성과 동일하다. 일부 경우에, 제1 용량의 조성은 제2 용량의 조성은 상이하다. 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 제1 용량 및 제2 용량을 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 12시간, 적어도 24시간, 적어도 36시간, 적어도 2일, 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 14일, 또는 적어도 28일의 간격으로 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에게 투여하는

것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 제1 용량 및 제2 용량을 최대 6시간, 최대 12시간, 최대 24시간, 최대 36시간, 최대 2일, 최대 3일, 최대 4일, 최대 5일, 최대 6일, 최대 7일, 최대 14일, 또는 최대 28일의 간격으로 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 제1 용량 및 제2 용량을 6시간, 12시간, 24시간, 36시간, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 14일, 또는 28일의 간격으로 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 이전 용량의 투여 후 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 12시간, 적어도 24시간, 적어도 36시간, 적어도 2일, 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 적어도 6일, 적어도 7일, 적어도 14일, 또는 적어도 28일차에 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에게 복수의 용량 중 제1 용량(예를 들어, 여기서 복수의 용량의 각 용량은 본 개시내용의 하나 이상의 조성물을 포함함)에 후속하여 각 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 이전 용량의 투여 후 최대 6시간, 최대 12시간, 최대 24시간, 최대 36시간, 최대 2일, 최대 3일, 최대 4일, 최대 5일, 최대 6일, 최대 7일, 최대 14일, 또는 최대 28일차에 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에게 복수의 용량 중 제1 용량(예를 들어, 여기서 복수의 용량의 각 용량은 본 개시내용의 하나 이상의 조성물을 포함함)에 후속하여 각 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 이전 용량의 투여 후 6시간, 12시간, 24시간, 36시간, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 14일, 또는 28일차에 대상체(예를 들어, 동물 대상체)에게 복수의 용량 중 제1 용량(예를 들어, 여기서 복수의 용량의 각 용량은 본 개시내용의 하나 이상의 조성물을 포함함)에 후속하여 각 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 조성물은 2회, 3회, 4회, 5회 또는 5회 초과의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 제2, 제3 및 제4 용량(예를 들어, 4회 용량 치료의)은 이전 용량 후 12 내지 36시간에 투여된다. 일부 경우에, 제2, 제3 및 제4 용량(예를 들어, 4회 용량 치료의)은 이전 용량 후 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30 또는 36시간에 투여된다.

[0080] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 지질 기반 입자, 조절제 및 항원을 포함하는 "NanoSTING" 조성물)은 단일 요법(예를 들어, 예를 들어, 병원체에 노출된 결과로 발생한 대상체의 질환 또는 병태를 치료하기 위한)으로 제형화되고/되거나 투여될 수 있다.

[0081] 본원에 기재된 조성물 또는 방법(예를 들어, 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하기 위한, 대상체에서 질환 또는 병태를 예방하기 위한, 또는 제1 대상체로부터 제2 대상체로의 질환 또는 병태의 전파를 예방하기 위한)은 나노입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자) 및 조절제(예를 들어, STING 작용제와 같은 패턴 인식 수용체 작용제 단백질)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 나노입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자) 및 조절제를 포함하는 조성물 또는 방법은 항원이 결여될 수 있다(예를 들어, 도 33b, 도 33e, 도 34c, 도 34d에 도시된 바와 같음). 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물 또는 방법의 조절제는 나노입자 내에 캡슐화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물은 본원에 기재된 용량, 투여 형태, 및/또는 치료 또는 백신접종 시간 코스로 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물은 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)가 감염원(예를 들어, 바이러스, 예컨대 코로나바이러스, 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스 또는 리노바이러스와 같은 호흡기 바이러스)에 노출되기 전에 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물은 대상체가 호흡기 질환 또는 병태(예를 들어, 호흡기 바이러스와 관련됨), 또는 일부 경우에, 폐암과 같은 암에 걸리고/거나 이의 증상이 나타나기 전에 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물은 대상체가 감염원(예를 들어, 바이러스, 예컨대 코로나바이러스, 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스 또는 리노바이러스와 같은 호흡기 바이러스)에 노출된 후 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물은 대상체가 호흡기 질환 또는 병태(예를 들어, 호흡기 바이러스와 관련됨), 또는 일부 경우에, 폐암과 같은 암에 걸리고/거나 이의 증상이 나타난 후에 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물을 대상체에게 비강내로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물 및 방법은 제조, 보관 및/또는 준비하기에 비교적 저렴하거나 논리적으로 복잡하지 않을 수 있다. 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물은 단일 치료 또는 백신접종 요법의 일부로서 나노입자, 조절제 및 항원을 포함하는 조성물과 함께, 예를 들어 동시에, 순차적으로 또는 개별적으로 대상체에게 투여될 수 있다.

[0082] 본원에 기재된 조성물 또는 방법(예를 들어, 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하기 위한, 대상체에서 질환 또는 병태를 예방하기 위한, 또는 제1 대상체로부터 제2 대상체로의 질환 또는 병태의 전파를 방지하기 위한)은

본원에 기재된 조절제(예를 들어, STING 작용제와 같은 패턴 인식 수용체 작용제 단백질)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 조절제를 포함하는 조성물 또는 방법은 항원 및 나노입자(예를 들어, 리포좀)가 결여될 수 있다. 일부 경우에, 조절제는 항원 또는 나노입자 없이 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)에게 투여되어, 예를 들어 대상체에서 질환 또는 병태(예를 들어, 호흡기 바이러스 또는 호흡기 질환과 관련된 암 또는 질환 또는 병태)를 치료하거나 예방할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조절제를 포함하지만 항원 또는 나노입자가 결여된 조성물은 본원에 기재된 용량, 투여 형태, 및/또는 치료 또는 백신접종 시간 코스로 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 조절제를 포함하지만 항원 또는 나노입자가 결여된 조성물은 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)가 감염원(예를 들어, 바이러스, 예컨대 코로나바이러스, 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스 또는 리노바이러스와 같은 호흡기 바이러스)에 노출되기 전에 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 조절제를 포함하지만 항원 또는 나노입자가 결여된 조성물은 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)가 호흡기 질환 또는 병태(예를 들어, 호흡기 바이러스와 관련됨), 또는 일부 경우에, 폐암과 같은 암에 걸리고/거나 이의 증상이 나타나기 전에 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 조절제를 포함하지만 항원 또는 나노입자가 결여된 조성물은 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)가 감염원(예를 들어, 바이러스, 예컨대 코로나바이러스, 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스 또는 리노바이러스와 같은 호흡기 바이러스)에 노출된 후 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 조절제를 포함하지만 항원 또는 나노입자가 결여된 조성물은 대상체(예를 들어, 인간 대상체 또는 비인간 포유동물 대상체)가 호흡기 질환 또는 병태(예를 들어, 호흡기 바이러스와 관련됨), 또는 일부 경우에, 폐암과 같은 암에 걸리고/거나 이의 증상이 나타난 후에 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 경우에, 조절제를 포함하지만 항원 또는 나노입자가 결여된 조성물은 대상체에게 비강내로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 조절제를 포함하지만 항원 또는 나노입자가 결여된 조성물 및 방법은 제조, 보관 및/또는 준비하기에 비교적 저렴하거나 논리적으로 복잡하지 않을 수 있다. 일부 경우에, 나노입자 및 조절제를 포함하지만 항원이 결여된 조성물은 단일 치료 또는 백신접종 요법의 일부로서 나노입자, 조절제 및 항원을 포함하는 조성물과 함께, 예를 들어 동시에, 순차적으로 또는 개별적으로 대상체에게 투여될 수 있다.

[0083] 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물(예를 들어, 호흡기 질환과 같은 질환 또는 병태를 대상체를 치료하거나, 대상체가 상기 질환 또는 병태에 걸리거나 상기 질환 또는 병태가 제2 대상체에게 전파되는 것을 예방하기 위한)은 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 120 마이크로그램,

100 마이크로그램 내지 200 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 적어도 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 최대 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다.

[0084] 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물(예를 들어, 호흡기 질환과 같은 질병 또는 상태를 갖는 대상체를 치료하거나, 대상체가 상기 질환 또는 병태에 걸리거나 상기 질환 또는 병태이 다른 사람에게 전파되는 것을 예방하기 위한 것)은 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 200 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 적어도 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 최대 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200

마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함할 수 있다.

[0085] 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물(예를 들어, 호흡기 질환과 같은 질환 또는 병태를 갖는 대상체를 치료하거나, 대상체가 상기 질환 또는 병태에 걸리거나 상기 질환 또는 병태가 제2 대상체에게 전파되는 것을 예방하기 위한)은 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 200 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 적어도 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 최대 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다.

[0086] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 복수의 상이한 항원을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 조성물은 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 및 S-단백질(예를 들어, 코로나바이러스 스파이크 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 단일 부류의 항원의 복수 유형을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 조성물은 단량체 항원(예를 들어, 단량체 S-단백질), 삼량체 항원(예를 들어, 삼량체 S-단백질),

키메라 항원(예를 들어, 키메라 S-단백질), 및/또는 항원의 변이체(예를 들어, 변이체 S-단백질)를 포함할 수 있다.

[0087] 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물(예를 들어, 호흡기 질환과 같은 질환 또는 병태를 갖는 대상체를 치료하거나, 대상체가 상기 질환 또는 병태에 걸리거나 상기 질환 또는 병태가 제2 대상체에게 전파되는 것을 예방하기 위한)은 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 200 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 적어도 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조성물은 최대 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))을 포함하는 본 개시내용의 조성물(예를 들어, 호흡기 질환과 같은 질환 또는 병태를 갖는 대상체를 치료하거나, 대상체가 상기 질환 또는 병태에 걸리거나 상기 질환 또는 병태가 제2 대상체에게 전파되는 것을 예방하기 위한)은 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로

그램, 0.1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 200 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 적어도 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀))를 포함하는 본 개시내용의 조성물은 최대 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 항원(예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질), 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 RSV 항원 단백질)을 포함할 수 있다.

[0088] 일부 경우에, 적어도 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀)) 및 적어도 4 마이크로그램의 항원을 포함하는 본 개시내용의 조성물(예를 들어, 호흡기 질환과 같은 질환 또는 병태를 갖는 대상체를 치료하거나, 대상체가 상기 질환 또는 병태에 걸리거나 상기 질환 또는 병태가 제2 대상체에게 전파되는 것을 예방하기 위한)은 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 적어도 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀)) 및 적어도 4 마이크로그램의 항원을 포함하는 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 2 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 1

마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 3 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 2 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 3 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 30 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 20 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 50 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 30 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 100 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 50 마이크로그램 내지 200 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 120 마이크로그램, 100 마이크로그램 내지 200 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 내지 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 적어도 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀)) 및 적어도 4 마이크로그램의 항원을 포함하는 본 개시내용의 조성물은 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 적어도 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀)) 및 적어도 4 마이크로그램의 항원을 포함하는 본 개시내용의 조성물은 적어도 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 적어도 20 마이크로그램의 입자(예를 들어, 지질 기반 나노입자와 같은 지질 기반 입자(예를 들어, 리포좀)) 및 적어도 4 마이크로그램의 항원을 포함하는 본 개시내용의 조성물은 최대 0.1 마이크로그램, 1 마이크로그램, 2 마이크로그램, 3 마이크로그램, 5 마이크로그램, 10 마이크로그램, 20 마이크로그램, 30 마이크로그램, 50 마이크로그램, 100 마이크로그램, 120 마이크로그램 또는 200 마이크로그램의 조절제(예를 들어, STING 경로 활성화제(예를 들어, STING 작용제))를 포함할 수 있다.

[0089] 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법에 따라 대상체에게 투여되는 용량은 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램의 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 조절제 및 입자를 포함하거나, 조절제, 입자 및 항원을 포함함)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법에 따라 대상체에게 투여되는 용량은 0.1 마이크로그램 내지 0.5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 2.5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 7.5 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 9.3 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 0.1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 1 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 2.5 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 7.5 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 9.3 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 0.5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 2.5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 7.5 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 9.3 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 1 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 2.5 마이크로그램 내지 5 마이크로그램, 2.5 마이크로그램 내지 7.5 마이크로그램, 2.5 마이크로그램 내지 9.3 마이크로그램, 2.5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 2.5 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 2.5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 7.5 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 9.3 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 7.5 마이크

로그램 내지 9.3 마이크로그램, 7.5 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 7.5 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 7.5 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 9.3 마이크로그램 내지 10 마이크로그램, 9.3 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 9.3 마이크로그램 내지 20 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 15 마이크로그램, 10 마이크로그램 내지 20 마이크로그램 또는 15 마이크로그램 내지 20 마이크로그램의 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 조절제 및 입자를 포함하거나, 조절제, 입자 및 항원을 포함함)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법에 따라 대상체에게 투여되는 용량은 0.1 마이크로그램, 0.5 마이크로그램, 1.0 마이크로그램, 1.2 마이크로그램, 2.3 마이크로그램, 2.5 마이크로그램, 4.7 마이크로그램, 5.0 마이크로그램, 7.5 마이크로그램, 9.3 마이크로그램, 10 마이크로그램, 15 마이크로그램 또는 20 마이크로그램의 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 조절제 및 입자를 포함하거나, 조절제, 입자 및 항원을 포함함)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법에 따라 대상체에게 투여되는 용량은 적어도 0.1 마이크로그램, 0.5 마이크로그램, 1.0 마이크로그램, 1.2 마이크로그램, 2.3 마이크로그램, 2.5 마이크로그램, 4.7 마이크로그램, 5.0 마이크로그램, 7.5 마이크로그램, 9.3 마이크로그램, 10 마이크로그램, 15 마이크로그램 또는 20 마이크로그램의 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 조절제 및 입자를 포함하거나, 조절제, 입자 및 항원을 포함함)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 또는 방법에 따라 대상체에게 투여되는 용량은 최대 0.1 마이크로그램, 0.5 마이크로그램, 1.0 마이크로그램, 1.2 마이크로그램, 2.3 마이크로그램, 2.5 마이크로그램, 4.7 마이크로그램, 5.0 마이크로그램, 7.5 마이크로그램, 9.3 마이크로그램, 10 마이크로그램, 15 마이크로그램 또는 20 마이크로그램의 본원에 기재된 조성물(예를 들어, 조절제 및 입자를 포함하거나, 조절제, 입자 및 항원을 포함함)을 포함할 수 있다.

[0090] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 다른 치료적 처치와 함께 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 다른 치료적 처치는 비제한적으로 면역요법, 바이러스요법, 표적화 억제, 방사선요법, 화학요법 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물은 애주번트(예를 들어, 하나 이상의 항체, 하나 이상의 항바이러스 치료, 하나 이상의 백신, 하나 이상의 소분자, 하나 이상의 핵산, 및/또는 하나 이상의 펩티드 또는 단백질, 예컨대 인터루킨(예를 들어, IL-21))를 포함할 수 있고/있거나 이와 함께 치료 요법에서 투여(예를 들어, 동시 또는 비동시에 투여)될 수 있다.

[0091] **대상체**

[0092] 본 개시내용의 치료용 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 대상체는 포유동물(예를 들어, 인간)이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 가축이다. 예를 들어, 대상체는 개 또는 고양이일 수 있다. 일부 경우에, 대상체는 소, 말, 비인간 영장류, 마우스, 래트, 토끼, 기니피그, 염소, 양, 기린, 얼룩말, 사자, 호랑이, 또는 곰일 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간일 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 호흡기 감염에 취약하거나 이를 앓을 수 있다. 일부 경우에, 대상체는 호흡기 바이러스에 의해 유발된 병태에 취약하거나 이를 앓는다. 예를 들어, 조성물 또는 방법은 호흡기 바이러스, 예를 들어 호흡기 RNA 바이러스, 예컨대 코로나바이러스, 인플루엔자 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 메타뉴모바이러스, 파라인플루엔자 바이러스 또는 리노바이러스에 노출되었거나 이로 감염된 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암에 취약하거나 암을 앓을 수 있다. 일부 경우에, 대상체는 병원체에 의한 감염 또는 질환에 걸림(예를 들어, 호흡기 병원체에 의한 감염 또는 호흡기 질환에 걸림)의 하나 이상의 증상을 나타내는 결과로서 치료를 위해 선택될 수 있다. 예를 들어, 대상체는 지속적인 기침, 상승된 체온(예를 들어, 이마 피부 측정에 의해 100.4℃ 초과), 오한, 관절 통증, 호흡 곤란 또는 호흡 정지, 폐 내의 체액, 피로, 두통, 미각 또는 후각 상실, 또는 PCR 테스트와 같은 양성 진단 테스트를 포함하는 하나 이상의 증상을 갖는 것에 기초하여 치료를 위해 선택될 수 있다. 일부 경우에, 대상체는 비만, 고령(예를 들어, 65세 이상), 면역 손상 또는 임신과 같은 인구학적 위험 인자에 기초하여 본원에 개시된 조성물을 이용한 치료를 위해 선택될 수 있다. 일부 경우에, 예를 들어, 대상체가 고객과의 긴밀한 상호작용, 위험에 처한 집단과의 빈번한 상호작용, 생물학적 샘플의 취급 또는 잠재적으로 감염된 개체와의 긴밀한 접촉을 수반하는 직업을 가지고 있는 경우, 대상체는 병원체에 의한 감염 또는 질환에 걸릴(예를 들어, 호흡기 병원체에 의한 감염 또는 호흡기 질환에 걸릴) 위험에 기초하여 치료를 위해 선택될 수 있다.

[0093] **질환의 치료 또는 예방**

[0094] 병원체 및 암은 심각한 건강 및 경제적 문제를 야기하였다. 예를 들어, 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2)에 의해 유발된 바이러스 감염은 현재 전세계에서 가장 시급한 건강 및 경제 위기인 COVID-19 팬데믹을 초래하였다. 게다가, 폐암과 같은 암은 사망률이 높다.

[0095] 또한, 암 및 병원체에 의해 유발된 감염을 효과적으로 치료하고 예방하기 위한 매우 제한된 치료 옵션이 존재한다. 예를 들어, 현재 SARS-CoV-2에 의해 유발된 바이러스 감염을 치료하거나 예방할 수 있는 약제는 없다.

[0096] 또한, 병원체에 의해 유발되는 감염을 예방하는 것을 목표로 하는 많은 백신은 점막 면역 또는 광범위한 T-세포 면역과 같은 선천적 면역을 부여하지 않고 전신 면역을 유발하도록 설계된 근육내 백신이다. 이러한 근육내 백신은 비강 구획이 폐로 전파되기 전에 병원체에 의해 돌파되어야할 필요가 있는 첫 번째 장벽이기 때문에 한계가 있다.

[0097] 게다가, 백신 제형의 유효성에는 높은 수준의 예측불가능성이 존재한다. 1상 시험에 들어가는 백신의 경우 약 1/3만이 최종 FDA 승인을 얻을 수 있다. 이러한 성공률은 면역계를 초회감작(prime)하는 기존 기술을 사용하더라도, 모든 병원체에 대한 효과적인 면역의 발달이 올바른 항원과 애주번트의 설계 및 최적화를 필요로 함을 의미한다.

[0098] FDA 승인을 달성하는 것조차 백신이 효과적이라는 것을 의미하지는 않는다. 백신 개발은 긴 과정이며 COVID19 팬데믹의 상황에서도 많은 난제가 있다.

[0099] 대부분의 플랫폼이 항원으로서 스파이크 단백질을 표적화하더라도, 백신의 효능을 보장하기 위해 항원 설계를 최적화하는 것이 바람직하다. 적절한 백신 설계 선택의 어려움은 HIV-1, C형 간염 및 말라리아의 경우에 강조되었으며, 수십 년의 노력과 다수의 후보에도 불구하고 백신은 여전히 파악하기 어렵다.

[0100] 더욱이, 호흡기 병원체와 관련하여, 비강 구획은 폐로 전파되기 전에 병원체에 의해 돌파될 필요가 있는 첫 번째 장벽이다. 그러나, 현재의 근육내 백신은 점막 면역과 같은 선천적 면역을 부여하지 않으면서 전신 면역을 유발하도록 설계되어 있다.

[0101] 따라서, 병원체에 의해 유발된 감염 및 다양한 유형의 암과 같은 다양한 질환의 치료 및 예방을 위한 안전하고 견고한 치료용 조성물이 절실히 요구된다. 예를 들어, 호흡기 병원체에 의해 유발되는 팬데믹(예를 들어, SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스에 의해 유발되는 바이러스 감염)을 치료 또는 예방하기 위해 안전하고 견고한 치료용 조성물이 절실히 요구된다. 본 개시내용의 다수의 실시양태는 전술한 요구를 다룬다.

[0102] 본 개시내용의 치료용 조성물 및 방법은 질환 또는 병태(예를 들어, 병원체와 관련된 질환 또는 병태)를 치료하거나 예방하기 위해 이용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 질환은 병원체에 의해 유발되는 감염일 수 있다. 일부 경우에, 질환은 호흡기 질환일 수 있다. 일부 실시양태에서, 병원체는 호흡기 병원체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 호흡기 병원체는 바이러스일 수 있다. 일부 실시양태에서, 바이러스는 인플루엔자 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스, 엔테로바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, DNA 바이러스, RNA 바이러스 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0103] 일부 실시양태에서, 병원체는 코로나바이러스이다. 일부 실시양태에서, 코로나바이러스는, 비제한적으로, 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스(SARS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(SARSr-CoV), 인간 코로나바이러스 229E(HCoV-229E), 인간 코로나바이러스 NL63(HCoV-NL63), 인간 코로나바이러스 OC43(HCoV-OC43), 인간 코로나바이러스 HKU1(HCoV-HKU1), 중동 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스(MERS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 관련 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2), SARS-CoV-2의 변종(예를 들어, 20A.EU1 또는 스파이크 변종 D614G) 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0104] 도 40은 본 개시내용의 일부 실시양태의 개요를 제공한다. 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 대상체(예를 들어, 인간, 마우스, 햄스터, 개, 고양이 또는 비인간 영장류와 같은 포유동물 대상체)는 단일 용량 또는 다중 용량 요법의 일부로서 본원에 기재된 조성물(예를 들어, STING 작용제와 같은 조절제 및 지질 기반 나노입자를 포함함) 및 항원(예를 들어, 지질 기반 나노입자의 외부 표면과 회합되거나, 이에 매립되거나, 커플링된 스파이크 단백질)의 비강내 전달에 의해 바이러스 감염(예를 들어, SARS- CoV-2 코로나바이러스)으로부터 보호하기 위해 예방적으로 치료될 수 있다. 일부 경우에, 조성물을 사용한 치료는 혈액, 비장, 폐 및/또는 비강 구획을 포함하는 하나 이상의 신체 구획에서 대상체의 면역 반응을 유발할 수 있다. 도 40에 요약된 바와 같이, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 일부 실시양태에서 대상체의 폐 조직(예를 들어, BALF) 또는 혈액(예를 들어, 혈청)에서 검출 가능한 증가된 항-항원 IgG(예를 들어, 항-스파이크 단백질 IgG) 및/또는 항-항원 IgA(예를 들어, 항-스파이크 단백질 IgA)를 유발할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물 및 방법은, 예를 들어, 비장에서 IgA-분비 B 세포의 수 및/또는 항원 특이적 T 세포(예를 들어, 스파이크 단백질 특이적 T 세포)의 수를 증가시킬 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물을 대상체에게 투여한 후 폐에서 항원 특이적 T 세포의 증가가

검출될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조성물을 대상체에게 투여한 후 증가된 항-항원 IgA 및/또는 배중심(GC) B 세포 또는 T 여포 헬퍼(Tfh) 세포의 증가된 존재 및/또는 활성이 비강 구획에서 검출될 수 있다.

[0105] 일부 실시양태에서, 대상체에서 치료 또는 예방될 질환은 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 기관암, 폐암, 기관지암, 상피암, 혈액암, 유방암, 흑색종, 난소암, 부인암, 백혈병, 림프종, 전립선암, 방광암, 결장암, 신경아교종, 육종, 교모세포종 또는 이들의 조합일 수 있다. 일부 경우에, 암은 폐암일 수 있다.

[0106] **실시예**

[0107] **실시예 1. 다음을 포함하는 지질 기반 입자의 제조 및 특성규명**

[0108] 본 실시예는 대상체에서 질환(예를 들어, 호흡기 질환)을 치료하거나 예방하기 위한 조성물에 유용한, STING 작용제 조절제 및 스파이크 단백질 항원을 포함하는 지질 기반 입자의 제조 및 특성규명을 설명한다. 호흡 구획 내에서 면역계의 효율적인 초회감작을 용이하게 하기 위해, STING 작용제를 음으로 하전된 리포좀 내에 캡슐화하여, 리포좀, STING 작용제 조절제 및 리포좀 표면과 회합된 항원을 포함하는 조성물("NanoSTING")을 생성하였다(**도 1** 참조).

[0109] 리포좀은 10:1:1:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성되었다. 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)(DPPG) 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000](DPPE-PEG2000)은 Avanti Polar Lipids(앨라배마주 앨러배스터)에서 구입하였다. 콜레스테롤은 Sigma Aldrich(미주리주 세인트 루이스)에서 구입하였다. 리포좀을 제조하기 위해, 지질을 클로로포름($CHCl_3$) 및 메탄올(CH_3OH)에서 혼합하고, 용액을 45℃에서 약 80분(min) 동안 진공 회전 증발기에 의해 증발시켰다. 생성된 지질 박막을 모든 유기 용매가 증발할 때까지 건조시켰다. 사전 가온된 cGAMP 용액(pH 7.4의 PBS 완충액 중 0.3 mg/ml cGAMP)을 첨가하여 지질 필름을 수화시켰다. STING 작용제인 2'-3''사이클릭 구아노신 모노포스페이트 아데노신 모노포스페이트(cGAMP)는 Chemietek(인디애나주 인디애나폴리스)에서 구입하였다.

[0110] 수화된 지질을 추가 30분 동안 숭온 65℃에서 혼합한 다음, 동결-해동 사이클을 거치게 하였다. 혼합물을 Branson 초음파처리기를 사용하여 40 kHz에서 60분 동안 초음파 처리하였다. 포획되지 않은 유리 cGAMP를 10 kDa의 분자량 컷오프를 사용하여 Amicon 초여과 유닛에 의해 제거하였다. cGAMP-리포좀을 PBS 완충액을 사용하여 3회 세척하였다. 여액 중의 cGAMP 농도를 Cytation 5(BioTek)의 Take3 Micro-Volume 흡광도 분석기에 의해 260nm에서 cGAMP의 보정 곡선에 대해 측정하였다(도 36a). 리포좀 캡슐화된 cGAMP의 최종 농도 및 캡슐화 효율을 여액 중 유리 약물의 농도를 공제하여 계산하였다(표준 곡선은 **도 36b**에 도시됨).

[0111] 새로 수화된 동결건조된 형태의 SARS-CoV-2 스파이크 단백질("S-단백질") 단량체 또는 대안적으로 삼량체를 실온에서 10분 동안 STINGa-리포좀 현탁액과 혼합하여 단백질이 리포좀에 흡착되도록 하였다. 제형화된 조성물을 4℃에서 보관하고 최대 2개월 동안 사용하였다. 안정성 측정을 위해, STING 작용제-리포좀 현탁액을 4℃에서 11개월 동안 보관하였다. 평균 입자 직경, 다분산 지수 및 제타 전위를 실온에서 Litesizer 500에 의해 특성규명하였다. 동적 광 산란(DLS) 분석은 리포좀 및 STING 작용제("STINGa") 조절제, cGAMP를 포함하는 NanoSTING 조성물의 평균 입자 직경이 81 nm이고 다분산 지수가 0.21(**도 33b**)인 반면, STING 작용제 조절제 또는 스파이크 단백질 항원이 결여된 블랭크 리포좀의 크기는 110 nm였음을 보여주었다(**도 33a**). STING 작용제 조절제를 캡슐화하고 리포좀의 외부 표면과 회합된 S-단백질 삼량체를 포함하는 리포좀을 포함하는 NanoSTING 조성물의 평균 입자 직경은 105nm이고, 다분산 지수는 0.24였다(**도 33c**). 리포좀의 평균 제타 전위는 캡슐화된 STING 작용제의 존재(-35 mV)(**도 33e**) 및 부재(-68 mV)(**도 33d**) 모두에서 음성이었다. STING 작용제 조절제를 캡슐화하고 리포좀의 외부 표면과 회합된 S-단백질 삼량체를 포함하는 리포좀을 포함하는 NanoSTING 조성물의 경우, 리포좀의 평균 제타 전위는 -30 mV였다(**도 33f**). NanoSTING의 안정성을 테스트하였고, 데이터는 입자 크기의 보존 및 응집체의 부재로 입증되는 바와 같이(**도 34c**) 이들이 4℃에서 2개월 동안(**도 34b**) 및 4℃에서 11개월을 초과하여 보관한 후 안정하였음을 보여주었다. 리포좀의 표면 전하는 또한 4℃에서 2개월 후(**도 34b**) 및 4℃에서 11개월 후(**도 34d**) 변경되지 않았다(-55 mV). 종합적으로, 이러한 결과는 음으로 하전된 리포좀이 STINGa를 효율적으로 캡슐화하고 우수한 안정성을 갖는다는 것을 입증하였다.

[0112] 푸린(furin) 절단 부위의 돌연변이를 함유하는 S-단백질의 동결건조된 재조합 삼량체 세포외 도메인을 면역원으로서 사용하였다(**도 4a**). S-단백질의 광범위한 글리코실화로 예상되는 바와 같이, 환원 조건 하의 SDS-PAGE는 단백질이 180 내지 250 kDa에서 이동하였음을 확인시켜 주었다(**도 4b**).

[0113] 삼량체 S-단백질 및 STING 조절제를 캡슐화하는 리포좀을 포함하는 NanoSTING 삼량체 S-단백질 조성물

(NanoSTING-삼량체) 제형을 제조하기 위해 단일 단계 혼합 및 면역화 접근법을 사용하였다. NanoSTING 현탁액을 상온에서 부드럽게 교반하면서 새로 재수화된 삼량체 S-단백질과 부드럽게 혼합하여 단백질이 리포좀에 흡착되도록 하였다. 흡착된 삼량체 S 단백질(NanoSTING-삼량체)은 105 nm의 평균 입자 직경(**도 33c**) 및 -30 mV의 평균 제타 전위(**도 33f**)를 나타냈고, 다분산 지수는 0.24였고 NanoSTING(81nm, -35mV)보다 약간 더 크고 덜 음성이었다. 종합적으로, 이러한 결과는 조성물의 성분이 안정하고 안정한 나노입자 콜로이드 형태로 쉽게 제형화됨을 나타냈다.

[0114] S-단백질의 삼량체 형태는 일부 경우에 용액 중에서 응집될 수 있기 때문에, 삼량체 S-단백질의 2가지 상이한 제형, 즉 동결건조된 형태 및 -20℃에서 보관된 용액 형태를 테스트하였다. 동결건조된 형태는 6개월 동안(25℃에서 1개월 동안 및 -20℃에서 5개월 동안) 보관되었을 때에도 일단 수화되고 DLS에 의해 즉시 측정 시 응집의 증거를 나타내지 않은 반면(**도 35b**), 용액 형태의 삼량체 S-단백질은 -20℃에서 1주 후에도 응집된 단백질의 존재를 나타냈다(100 nm 초과의 제2 입자 피크의 존재, 다분산 지수=0.28)(**도 35a**). 이러한 결과는 동결건조된 단백질이 응집되지 않고 안정한 제형의 기초를 형성할 수 있음을 예시한다.

[0115] **실시예 2. NanoSTING-S 조성물의 정량적 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA) 분석**

[0116] 본 실시예는 NanoSTING 조성물의 리포좀 입자 상의 S-단백질 흡착을 측정하기 위한 S-단백질 정량적 ELISA의 사용을 보여준다.

[0117] 혈청 또는 다른 생물학적 체액 중의 항-S-단백질 항체 역가를 ELISA를 사용하여 측정하였다. 간략하게, 1 μg/ml 스파이크 단백질(Sino Biological, 미국 펜실베니아주)을 4℃에서 밤새 또는 37℃에서 2시간 동안 PBS에서 ELISA 플레이트(Corning, 미국 뉴욕주)에 코팅하였다. 플레이트를 실온에서 2시간 동안 PBS + 1% BSA(Fisher Scientific, 미국 펜실베니아주) + 0.1% 폴리소르베이트 20(Sigma-Aldrich(미국 메릴랜드주)의 Tween20™)으로 차단하였다. 세척 후, 실시예 1에서와 같이 제조된 샘플을 상이한 희석도로 첨가하였다. 포획된 항체는 호스래디시 퍼옥시다제(HRP) 접합된 항-마우스 IgG(Jackson ImmunoResearch Laboratories, 1/ 5,000; 미국 펜실베니아주), 항-마우스 IgA(Bethyl Laboratories, 1/10,000; 미국 텍사스주) 및 Invitrogen(미국 캘리포니아주)의 마우스 총 IgA ELISA 키트로부터 마우스 IgA(1/250)에 대한 검출 항체에 의해 검출하였다. 양성 대조군(항-S IgG)은 Abeomics(미국 캘리포니아주)에서 입수하였다.

[0118] 리포좀에 흡착된 단백질의 분율을 추정하기 위해, 삼량체 S-단백질(10 μl, 1μg/μl)을 NanoSTING(20μg)과 부드럽게 혼합하고 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 혼합물을 20,000 x g에서 40분 동안 원심분리하여 펠렛을 분리하고, 상청액을 제거하였다. 펠렛을 PBS(25 μl)에 재현탁시키고 다시 원심분리하여 펠렛을 수집하였다. 모든 상청액을 합하고 용적을 측정하였다. 총 S-단백질, S-단백질과 침강된 애주번트의 펠렛 분획 및 합한 상청액 분획을 정량적 S-단백질 ELISA를 사용하여 정량화하였다. S-단백질 정량적 ELISA 결과는 S-단백질의 61.5%(2개의 독립적인 단백질 제제의 평균)가 리포좀에 흡착되었음을 확인시켜 주었다.

[0119] **실시예 3. 생체내 독성 시험**

[0120] 본 실시예는 실시예 1에 기재된 바와 같이 제조된 조성물로 처리된 마우스에서 체중, 이환율 및 과염증 증상에 미치는 효과의 분석을 보여준다.

[0121] 7 내지 9주령의 암컷 BALB/c 마우스를 Charles River Laboratories에서 구입하였다. 단일 용량을 투여하기 전에 마우스를 하기 계획에 따라 케타민 및 자일라진을 복강내 주사하여 마취시켰다: (1) 비히클 단독 군에 스파이크 단백질 항원 없이 20μg 리포좀 및 조절제를 투여하고; (2) 대조군에 10μg 삼량체 스파이크 단백질(S-단백질)을 투여하고; (3) NanoSTING-삼량체 군에 본원에 기재된 바와 같이 제형화된 STING 작용제 cGAMP를 캡슐화하는 20μg의 리포좀과 회합된 20 μg 삼량체 스파이크 단백질을 포함하는 NanoSTING-삼량체 조성물을 투여하고; (4) 단량체-STINGa 군에 본원에 기재된 바와 같이 제형화된 STING 작용제 cGAMP를 캡슐화하는 20 μg의 리포좀과 회합된 4 μg 단량체 스파이크 단백질을 포함하는 NanoSTING-단량체 조성물을 투여하였다(**도 3** 및 **도 5a** 참조). 스파이크 단백질 항원 없이 리포좀 및 조절제만을 포함하는 조성물이 투여된 마우스(**도 5b**), 스파이크 단백질 항원 단독이 투여된 마우스(**도 5c**, 검은색 박스) 또는 조절제 및 항원을 갖는 리포좀을 포함하는 조성물이 투여된 마우스(**도 5c**, 클로버 잎 데이터 포인트)의 경우 14일 동안 체중 감소가 관찰되지 않았다.

[0122] **실시예 4. NanoSTING-삼량체 조성물의 투여에 대한 생체내 반응**

[0123] 본 실시예는 본원에 기재된 바와 같은 NanoSTING-삼량체 조성물의 투여 후 생체내 IgG, IgA 및 T-세포 반응을 보여준다.

[0124] 두 마우스 군을, **도 5a**에 도시된 방법에 따라, STING 작용제 조절제를 캡슐화하는 리포좀 상에 흡착된 스파이크 단백질 삼량체 항원의 조합(NanoSTING-삼량체, 실시예 1에 따라 제조됨) 또는 스파이크 단백질 삼량체 항원 단독(대조군)의 비강내 투여에 의해 처리하였다. 어떤 동물도 체중 감소를 포함한 임상 증상을 나타내지 않았다. 면역화 후 7일차(d7)에, NanoSTING-삼량체를 투여받은 마우스의 100%가 혈청전환되었고, 1:640의 평균 희석 역가에서 강력한 항-S IgG 수준이 검출되었다(**도 5d**). 15일차(d15)까지, 항-S IgG 항체의 혈청 농도가 증가하였고, 1:4,400의 평균 희석 역가가 검출되었다(**도 5e**). 혈청 항-S 항체는 GFP-리포터 기반 슈도바이러스 중화 검정으로 측정 시 1:414의 평균 50% 억제 용량(ID50)으로 중화되고 있는 것으로 확인되었다(**도 5m**).

[0125] SARS-CoV-2 스파이크 단백질 발현 리포터 바이러스를 다음과 같이 생성하였다. 면역화된 마우스의 혈청에서 중화 항체의 역가를 결정하기 위해, SARS-CoV-2-S 슈도타이핑된(pseudotyped) 렌티바이러스 시스템을 SARS-CoV-2 감염의 대리지표(surrogate)로서 사용하였다. 슈도타이핑된 바이러스(PsV) 스톡은 안정한 ACE-2 및 TMPRSS2 발현 293 T 세포를 pLVX-AcGFP1-C1, pMDLg/pRRE, pRSV-Rev, 및 SARS-CoV-2, 우한-Hu-1 스파이크 당단백질 유전자를 함유하는 바이러스 엔벨로프 단백질 발현 플라스미드 pCAGGS 또는 VSV-G 엔벨로프 발현 플라스미드 pMD2.G로 공동 형질감염시켜 PsV 입자를 생성함으로써 생성하였다. SARS-CoV-2 수용체 인간 안지오텐신 전환 효소 II(ACE2) 및 원형질막 관련 II형 막관통 세린 프로테아제, TMPRSS2(293 T/ACE2-TMPRSS2)를 안정하게 발현하는 293T 세포를 10% 태아 소 혈청이 보충된 둘베코 변형 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle's medium: DMEM)에서 배양하였다. SARS-CoV-2, 우한-Hu-1 스파이크 당단백질 유전자를 포함하는 SARS-CoV-2 S-단백질 pCAGGS의 발현 플라스미드는 BEI Resources(미국 버지니아주 머내서스)에서 입수하였다. GFP를 코딩하는 플라스미드 발현 렌티바이러스 벡터, 헬퍼 플라스미드 pMDLg/pRRE, pRSV-Rev 및 VSV-G 단백질-코딩 플라스미드 pMD2.G는 Addgene(미국 메사추세츠주 워터타운)에서 입수하였다. 상청액 중의 PsV 입자를 형질감염 48시간 후 수거하고 여과하여 -80℃에서 보관하였다. PsV의 용량 역가는 ACE-2 및 TMPRSS2 발현 293T 세포를 48시간 동안 감염시키고 바이러스 감염된 형광 세포의 이미지화 및 계수를 위한 Celigo 이미지화 시스템을 사용하여 결정하였다. 바이러스 역가는 형광 초점 형성 단위(FFU)/웰로서 표현하였다.

[0126] SARS-CoV-2에 대한 중화 항체(Nab) 적정 검정을 다음과 같이 수행하였다. ACE2-TMPRSS2 발현 293 T 세포를 Nexcelom Celigo 이미저와 호환되는 절반 영역 96웰 플레이트에서 100 μl의 완전 배지에서 웰당 1 x 10^4개 세포의 농도로 밤새 배양하였다. 검정 당일에, 마우스로부터의 열 불활성화 혈청을 해동하고 무혈청 DMEM에서 6포인트, 2배 시리즈로 1:20 내지 1:640으로 희석하였다. 96웰 플레이트에서, 50 μl의 희석된 혈청을 50 μl의 GFP 발현 SARS-CoV-2 스파이크 발현 PsV(150 내지 300 FFU/웰)와 혼합하고 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 1시간 후, 이 혼합물을 ACE2-TMPRSS2 발현 293 T 세포에 첨가하고 48시간 동안 인큐베이션하였다. 표적 세포의 감염은 Celigo 이미지화 시스템을 사용하여 FFU/웰을 이미지화하고 계수함으로써 결정하였다. 각 샘플을 3중 웰에서 테스트하였다. SARS-CoV-2 스파이크 S1 토끼 Mab(클론 #007, Sino Biological, 펜실베니아주 웨인)를 중화 활성에 대한 양성 대조군으로 사용하였고 VSV-G 발현 PsV를 중화 기능의 특이성에 대한 음성 대조군으로 사용하였다. NAb의 50% 억제 용량(ID50) 역가는 비선형 회귀(GraphPad Prism, 미국 캘리포니아주)를 사용하여 계산하였다.

[0127] IgA 매개 보호는 호흡기 병원체에 대한 점막 면역의 성분일 수 있기 때문에, d15에서 비장의 항체-분비 세포(ASC)에서의 IgA 반응을 ELISpot 검정으로 분석하였다. Immunospot(미국 오하이오주)로부터의 마우스 IgG/IgA Double-Color ELISpot을 제조업체의 지시에 따라 사용하여 IgA 분비 세포를 검출하였다. 비장 내의 총 IgA-분비 세포의 경우, 비장 세포를 해동하고 포획 항체 코팅된 ELISPOT 플레이트에 즉시 접종하였다. 세포를 37℃에서 16 내지 18시간 동안 인큐베이션한 후, 발달시켰다. 항-S IgA 생산 세포의 경우, 해동된 비장 세포를 완전 배지[RPMI-1640(Corning, 미국 뉴욕주) +10% 태아 소 혈청(R&D System, 미국 미네소타주), 100 ㎍/ml Normocin™ (InvivoGen, 미국 캘리포니아주), 2mM L-글루타민, 1mM 나트륨 피루베이트, 10mM HEPES] 및 B-Poly-S™(1:1000 희석)에서 4백만 세포/ml로 배양하였다. 웰을 4℃에서 10 ㎍/ml의 스파이크 단백질(Sino Biological, 미국 펜실베니아주)로 밤새 코팅하였다. 비장 세포를 세척하고 37℃에서 16 내지 18시간 동안 플레이트에 시딩하였다. **도 5i** 및 **도 5j**는 ELISpot(효소 결합 면역 흡수 스팟) 검정을 사용하여 검출된 IgA 및 S-단백질 특이적 IgA를 각각 분비하는 항체 분비 세포(ASC)의 정량화를 나타낸다. NanoSTING-삼량체로 처리된 마우스는 대조군에 비해 총 IgA 분비(**도 5i**) 및 S-단백질 특이적 IgA 분비(**도 5j**) ASC의 수가 증가한 것으로 나타났다.

[0128] T-세포 반응이 항체 반응과 독립적인 보호에 기여할 수 있기 때문에, 처리된 마우스의 T-세포 반응을 SARS-CoV와 SARS-CoV-2 사이에 S-단백질의 고도로 보존된 영역을 표적화하는 15량체의 풀을 사용하여 평가하였다(**도 5p**). IFNɣ ELISpot 검정을 제조업체의 지침(Mabtech, 미국 버지니아주)에 따라 마우스 IFN-ɣ ELISpot 기본 키트(ALP)를 사용하여 수행하였다. 동결된 비장 세포 또는 폐 세포를 해동하고 추가 배양 없이 ELISPOT 플레이

트(웰당 1 x 10^5 내지 3 x 10^5 세포)에 시딩하였다. 비장 세포를 1.5 ㎍/ml/펩티드(Miltenyi Biotec, 독일)의 스파이크 단백질 펩티드 풀과 함께 37℃에서 16 내지 18시간 동안 인큐베이션하였다. ELISpot 플레이트를 ImmunoSpot® S6 MICRO 분석기를 사용하여 판독하였다. d15에서, NanoSTING-삼량체로 면역화된 모든 5마리의 동물이 평균 144개 IFNɣ 스팟/106 세포로 비장 T 세포 반응을 나타냈다(**도 5o**). 종합적으로, 이러한 결과는 NanoSTING-삼량체를 사용한 단일 비강내 투여가 강력한 혈청 중화 항체 및 T-세포 반응을 유발하였다는 것을 보여준다.

[0129] 이들 실험을 삼량체 S-단백질로 반복하여 시간 경과에 따른 면역 반응의 동역학을 추적하였다. 마우스의 군을 S-단백질의 삼량체 버전 또는 애주번트 단독으로 백신접종하고 24일 동안 7일마다 혈청을 샘플링하였다. 이전 실험과 일치하게, 1:1440의 평균 희석 역가를 갖는 항-S IgG 수준에서 조기 혈청전환이 관찰되었다. 항-S IgG 반응은 14일차에 1:8000이었고 24일에차 약간만 변화하였다(1:12,000)(**도 5g** 및 **도 5h**). 기관지폐포 세척액(BALF) 중의 IgG 농도도 24일차에 면역화된 동물에서 상승하였다(중간값 1:40)(**도 5f**).

[0130] IgA 농도를 혈액 및 폐에서 평가하였다. 1:80의 평균 희석 역가에서 혈청 항-S IgA 농도(마우스에서 이량체)가 관찰되었다(**도 5k**). IgA의 농도는 BALF에서도 상승하였다(**도 5l**). 마지막으로 폐의 항체도 1:213의 평균 50% 억제 용량(ID50)으로 중화되고 있다는 것이 확인되었다(**도 5n**). 종합적으로, 이러한 결과는 NanoSTING-삼량체가 포괄적인 세포, 전신 및 점막 면역을 유발한다는 것을 입증하였다.

[0131] **실시예 4. SARS-CoV-2에 대한 중화 항체(Nab) 적정 검정**

[0132] 본 실시예는 흡입된 병원체에 대한 견고한 국소 면역으로 이어지는 기도 내의 국소 유도 반응을 조사하는 실험을 보여준다.

[0133] 비강 관련 림프 조직(NALT)을 NanoSTING-삼량체("삼량체-STINGa")로 처리된 동물 및 스파이크 단백질 삼량체로만 처리된 동물로부터 안락사 시점에 수거하였다. 비강 관련 림프 조직(NALT)을 안락사 후 마우스로부터 단리하고, 적혈구를 ACK 용해 완충액(Thermo Fisher Scientific, 매사추세츠주 월섬)에서 3분 동안 인큐베이션하여 용해시켰다. NALT 샘플을 단일 세포 현탁액으로 전환시키고 유세포분석을 사용하여 살아있는 단일 세포 집단으로 분류하고 scRNA-seq 분석을 수행하였다(**도 6a**). 후속적으로, 단일 세포 현탁액을 PBS로 세척하고, PBS + 2% FBS에 재현탁시키고, 살아있는/사멸된 세포의 검출을 위해 50nM Helix NP Blue(BioLegend, 캘리포니아주 샌디에고)에 노출시켰다.

[0134] BD FACSMelody 세포 분류기(BD Biosciences, 캘리포니아주 산호세)를 사용하여 살아있는 세포를 분류하였다. 이 방법에 사용된 유세포분석 게이팅 전략은 **도 6b, 도 6c** 및 **도 6d**에 도시되어 있다. NALT 세포의 각 군을 프로토콜에 따라 BD 마우스 면역 단일-세포 다중화 키트(BD Biosciences, 캘리포니아주 산호세)의 샘플-태그로 개별적으로 표지하였다. 그 다음, 약 6000개 세포(각 군에서 3000개 세포)의 혼합물로 라이브러리 제조를 시작하였다. 전체 전사체는 BD "mRNA 전체 전사체 분석(WTA) 및 샘플 태그 라이브러리 제조 프로토콜"에 따라 BD Rhapsody 시스템을 사용하여 제조하였다. 최종 라이브러리의 품질 및 양은 각각 Agilent High Sensitivity D5000 ScreenTape(Agilent Technologies, 캘리포니아주 산타클라라)를 사용하는 Agilent 4200 TapeStation 시스템 및 Qubit dsDNA HS 검정을 사용하는 Qubit 형광계로 평가하였다. 최종 라이브러리를 3 nM 농도로 희석하고 HiSeq PE150 시퀀서(Illumina, 캘리포니아주 샌디에고)를 사용하여 시퀀싱을 수행하였다. 필터링 후, 총 1,398개의 scRNA-seq 프로파일을 얻었다.

[0135] 균일 다양체 근사화 및 투영(UMAP)를 이용하여, B 세포, T 세포, NK 세포 및 골수 하위집단을 식별하였다(**도 7a**). 하위집단은 B-세포 하위집단(**도 7b, 도 7c, 도 7d**), T-세포 하위집단(**도 7e, 도 7f, 도 7g**), NK-세포 하위집단(**도 7h, 도 7i, 도 7j**) 및 골수 하위집단(**도 7k, 도 7l, 도 7m**)에 대한 확립된 계통 마커를 사용하여 확인하였다. 대조군과 NanoSTING-삼량체 군 둘 다에서 95%를 초과하는 scRNA-seq 결과가 T 및 B 세포에 해당하였다. 이러한 면역 세포 하위세트에 대해 상세한 분석을 수행하였다.

[0136] **도 8a, 도 8b** 및 **도 8c** 내지 **도 9m**에 도시된 바와 같이, 4개의 B 세포 클러스터가 식별되었다: Cd19(**도 9a** 참조), Ms4a1(CD20)(**도 9b** 참조), Ighm(**도 9c** 참조)을 발현하는 나이브(naive) B 세포; Cd69(**도 8c** 참조), Cd38(**도 8d** 참조), Cd83(**도 8e** 참조), Cxcr4(**도 8f** 참조), Zfp36(**도 8g** 참조), Erg1(**도 8h** 참조), Egr3(**도 9k** 참조), Irf4(**도 9d** 참조), Fosb(**도 9g** 참조), Jun(**도 9h** 참조) 및 Fos(**도 9m** 참조)를 발현하는 배중심 B 세포; Cd38을 발현하는 활성화된 B 세포를 포함하는 중간 B 세포 클러스터(**도 8d** 참조); 및 Sec61b(**도 9f** 참조), Casp3(**도 9l** 참조) 및 Tram1(**도 9i** 참조)을 발현하지만 Ms4a1(CD20)(**도 9b** 참조)의 발현이 결여된 ASC(형질모세포). 효과기 부위가 아닌 유도성으로서의 NALT의 역할과 일치하여, IgA(Igha) 발현 세포의 매우 작은 하위집

단만이 투여 후 15일차에 검출되었다(**도 9j** 참조). 대조군과 NanoSTING-삼량체 군의 비교는 GC B 세포 빈도의 강력한 증가와 함께 수반된 나이브 B 세포 감소를 보여주었다(**도 8b**). 이러한 결과는 성공적인 비강내 백신접종이 B 세포와 같은 GC의 분화를 촉진하였음을 시사한다.

[0137] 다음으로, NALT 내의 T 세포가 B 세포 분화를 지원하였는지 여부를 조사하였다. T 세포 내에서 3개의 클러스터가 식별되었다: Cd8a를 발현하는 하나의 CD8+ T 세포 하위집단(**도 11b** 참조) 및 2개의 CD4+ T 세포 하위집단(**도 10a** 참조). CD4+ T 세포는 Cd4(**도 11a** 참조) 및 Npm1(**도 11e** 참조)을 발현하는 나이브 T 세포(나이브); 및 Cd69(**도 10c** 참조), Il6ra(**도 10d** 참조), Nr4a1(Nur77)(**도 10f** 참조), Tcf7(TCF1)(**도 10g** 참조), Lef1(**도 10h** 참조), Il7r(**도 11d** 참조), Fos(**도 11f** 참조) 및 Jun(**도 11g** 참조), 및 또한 기억 마커 Cd27(**도 10e** 참조) 및 Cd28(**도 11c** 참조)을 발현하는 T 난포 헬퍼 유사(Tfh)로서 분류되었다. 대조군과 NanoSTING-삼량체 군의 현저한 차이는 Tfh/나이브 CD4+ T 세포 비율의 증가였다(**도 10b**).

[0138] GC B 세포 및 Tfh 세포가 NanoSTING-삼량체 NALT에서 우세한 클러스터를 나타냈기 때문에, 이들 세포 간의 상호작용의 성질을 더 자세히 조사하였다. 첫째, NALT에서 상이한 B 및 T 세포 클러스터들 사이의 세포-세포 상호작용을 가시화하였다. Tfh 세포는 우세한 상호작용 세포 유형이었으며 GC B 세포 클러스터와 강력하게 상호작용하였다(**도 12a**). 분자 수준에서 상호작용을 조사하기 위해, 마우스 유전자를 이의 인간 유전자 대응물로 전환하고 상호작용하는 단백질 쌍을 CellPhoneDB를 사용하여 조사하였다. 간략하게, T 세포 및 B 세포를 이들의 하위집단 및 군(처리된 또는 삼량체-STINGa)에 의해 14가지 세포 유형으로 분류하였다. CellPhoneDB에서 계산된 통계 검정에 따라, p 값이 0.05을 초과하는 리간드-수용체 쌍을 필터링하고, 유의한 쌍을 가진 상이한 세포 유형들 간의 관계를 평가하였다. GC B 세포와 Tfh 세포 간의 상호작용을 촉진하는 것으로 알려진 잘 입증된 여러 수용체-리간드 쌍, BAFFR (TNFRSF13C)-BAFF(TNFSF13B); ICOSLG-ICOS; CD40-CD40L; 및 IL21-IL21R이 NALT 내에서 B 세포 및 Tfh 세포 상에서 상호적으로 검출되었다(**도 12b**). 이러한 결과는 NanoSTING-삼량체로 면역화 시 NALT가 GC 유사 T 세포 의존적 활성화 및 B 세포의 분화를 촉진하여 결국 호흡 구획에서 장기간 지속되는 면역을 촉진할 수 있음을 보여주었다.

[0139] 이러한 결과는 비강내 서브유닛 백신을 포함할 수 있는 항원을 포함하는 NanoSTING 조성물이 전신 중화 항체, 폐 및 비강 구획에서의 점막 IgA 반응, 및 마우스의 폐에서의 Th1 T-세포 반응을 유도할 수 있음을 보여준다. 단일 세포 RNA 시퀀싱은 비강 관련 림프 조직(NALT) 내에서 배중심 유사 방식으로 수반된 T 및 B 세포 반응 활성화를 확인시켜 주고, 면역을 위한 유도 부위로서의 역할을 확인시켜 준다. 호흡기에서 면역을 유발하는 능력은 개체의 초기 감염 확립을 예방하고 인간들 간의 질환 전파를 예방할 수 있는 잠재력을 갖는다.

[0140] **실시예 5. NanoSTING-S 투여에 대한 폐 및 비강 구획의 반응**

[0141] 본 실시예는 본원에 개시된 NanoSTING 조성물의 생체내 투여에 대한 반응으로 폐 구획의 T-세포 반응 및 비강 구획의 IgA 반응을 보여준다.

[0142] 단량체 스파이크 단백질(S-단백질)이 포괄적인 면역 반응도 유발할 수 있는지 여부를 조사하기 위해, 푸린 결합 부위의 돌연변이 및 한 쌍의 안정화 돌연변이(Lys986Pro 및 Val987Pro)를 함유하는 S-단백질의 단량체 버전을 사용하였다(**도 13a**). 단량체 단백질의 SDS-PAGE는 130 내지 180 kDa의 밴드를 나타냈다(**도 13b**). 4마리의 마우스 각각을 단량체 스파이크 단백질(S-단백질), 또는 STING 작용제 cGAMP를 캡슐화하는 리포좀과 회합된 단량체 스파이크 단백질을 포함하는 나노스팅-단량체 조성물로 처리하였다. NanoSTING 단량체 조성물은 삼량체 스파이크 단백질 대신 단량체 스파이크 단백질을 사용하여 실시예 1에 기재된 것과 동일한 프로토콜을 사용하여 제형화하였다. 어떤 동물에서도 체중 감소가 관찰되지 않았다(**도 14**). d15에서, 동물의 100%가 혈청전환되었고, 항-S-단백질("항-S") IgG 항체의 평균 혈청 농도는 1:1000이었다(**도 13c**). 혈청 항-S-단백질("항-S") 항체는 1:188의 평균 ID50으로 중화되고 있는 것으로 확인되었다(**도 13d**).

[0143] 2마리 동물로부터의 비강 구획에서의 항체 반응 및 비강 세척액에서의 총 IgA를 ELISA로 측정하였다. 두 비강 세척액은 모두 7 ng/ml의 평균 농도에서 검출가능한 항-S IgA 항체를 또한 가졌다(**도 13f**). 점막 면역 반응을 유발하는 단량체-STINGa의 능력과 일치하여, 이들 마우스의 비장에서 S 특이적 IgA 분비 ASC의 검출도 확인되었다(**도 15**). 이러한 결과는 단량체-STINGa를 사용한 백신접종이 전신 면역, 폐 및 비장의 T 세포 반응 및 점막 IgA 반응을 유발한다는 것을 입증하였다.

[0144] 동물 모델은 호흡기 병원체에 의한 폐 감염으로부터 보호하기 위해 폐의 T 세포가 필요하다는 것을 보여주었다. 따라서, 백신접종된 동물의 폐에서 S-단백질 특이적 T-세포 반응을 보존된 펩티드 풀로 평가하였다(**도 5p**). T-세포 반응은 평균 100개 IFNɣ 스팟/10^6 세포로 비장에서 검출되었고, 처리 후 15일차에는 평균 206개 IFNɣ 스

팟/106 세포로 폐에서 검출되었다(**도 13e**).

[0145] 종합적으로, 이러한 결과는 NanoSTING-단량체를 사용하는 비강내 투여가 폐와 비장 둘 다에서 강력한 혈청 중화 항체 및 T-세포 반응을 유도한다는 것을 입증하였다.

[0146] **실시예 6: NanoSTING-N 조성물의 제조 및 특성규명**

[0147] 본 실시예는 대상체에서 질환(예를 들어, 호흡기 질환)을 치료하거나 예방하기 위한 조성물에 유용한, STING 작용제 조절제 및 뉴클레오캡시드 항원을 포함하는 지질 기반 입자의 제조 및 특성규명을 설명한다. 호흡 구획 내에서 면역계의 효율적인 초회감작을 용이하게 하기 위해, STING 작용제를 음으로 하전된 리포좀 내에 캡슐화하여 리포좀, 조절제 및 리포좀 표면과 회합된 뉴클레오캡시드 항원을 포함하는 조성물("NanoSTING-N")을 생성하였다(**도 16** 참조).

[0148] 리포좀은 10:1:1:1 몰비의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000으로 구성되었다. 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)(DPPG) 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000](DPPE-PEG2000)은 Avanti Polar Lipids(앨라배마주 앨러배스터)에서 구입하였다. 콜레스테롤은 Sigma Aldrich(미주리주 세인트 루이스)에서 구입하였다. 리포좀을 제조하기 위해, 지질을 클로로포름($CHCl_3$) 및 메탄올(CH_3OH)에서 혼합하고, 용액을 45℃에서 약 80분(min) 동안 진공 회전 증발기에 의해 증발시켰다. 생성된 지질 박막을 모든 유기 용매가 증발할 때까지 건조시켰다. 사전 가온된 cGAMP 용액(pH 7.4의 PBS 완충액 중 0.3 mg/ml cGAMP)을 첨가하여 지질 필름을 수화시켰다. STING 작용제인 2'-3''사이클릭 구아노신 모노포스페이트 아데노신 모노포스페이트(cGAMP)는 Chemietek(인디애나주 인디애나폴리스)에서 구입하였다.

[0149] 수화된 지질을 추가 30분 동안 승온 65℃에서 혼합한 다음, 동결-해동 사이클을 거치게 하였다. 혼합물을 Branson 초음파처리기를 사용하여 40 kHz에서 60분 동안 초음파 처리하였다. SARS-CoV-2(2019-nCoV) 뉴클레오캡시드 재조합 단백질(N-단백질)은 BEI Resources(VA, USA #NR-53797)에서 구입하여 STING-리포좀 현탁액과 조합하여 2가지 상이한 용량(10㎍ 및 20㎍)으로 테스트하였다. 재조합 N-단백질을 cGAMP를 캡슐화하는 NanoSTING 리포좀과 혼합하여 단백질을 리포좀에 흡착시켰다. 포획되지 않은 유리 cGAMP를 10 kDa의 분자량 컷오프를 사용하여 Amicon 초여과 유닛에 의해 제거하였다. cGAMP-리포좀을 PBS 완충액을 사용하여 3회 세척하였다. 여액 중의 cGAMP 농도를 Cytation 5(BioTek)의 Take3 Micro-Volume 흡광도 분석기에 의해 260nm에서 cGAMP의 보정 곡선에 대해 측정하였다(**도 36a**). 리포좀 캡슐화된 cGAMP의 최종 농도 및 캡슐화 효율을 여액 중 유리 약물의 농도를 공제하여 계산하였다(표준 곡선은 **도 36b**에 도시됨). NanoSTING-N 조성물은 단백질이 리포좀에 흡착될 수 있도록 실온에서 유지하였다. 제형화된 NanoSTING-N 조성물을 4℃에서 보관하고 최대 2개월 동안 사용하였다. 이러한 결과는 제형화된 N-단백질 STING-리포좀 백신이 나노입자 콜로이드 형태로 존재함을 시사한다.

[0150] **도 18**은 SARS-CoV-2 N-단백질이 핵산(RNA) 결합 도메인, C-말단 이량체화 도메인 및 핵산과의 상분리를 촉진할 수 있는 3개의 내재적으로 불규칙화된 도메인(intrinsically disordered domains)으로 구성됨을 보여주는 SARS-CoV-2 N-단백질의 개략도를 나타낸다(**도 18**). 곤충 세포 유래의 재조합 N-단백질을 면역원으로서 사용하였으며, SDS-PAGE는 47 kD 크기를 갖는 우세한 밴드를 확인시켜 주었다(**도 19**).

[0151] **실시예 7: 시험관내 인터페론 반응에 미치는 NanoSTING 조성물의 효과**

[0152] 본 실시예는 NanoSTING이 IRF 반응성 프로모터 하류에서 분비형 루시퍼라제를 안정하게 발현하는 THP-1 단핵구 세포를 사용하여 인터페론 조절 인자(IRF) 반응을 유도한다는 실험적 확인을 보여준다.

[0153] THP-1 DUAL 세포주 세포(Invivogen)를 37℃ 및 5% CO2에서 가습 인큐베이터에서 배양하고 RPMI/10% FCS(Corning, 미국 뉴욕주)에서 성장시켰다. THP-1 DUAL 세포주 배양물을 각각의 선택제(100 ㎍/ml 제오신 + 10 ㎍/ml 블라스티시딘) 및 Invivogen의 상응하는 선택 세포증식억제제로 보충하였다.

[0154] THP-1 DUAL 세포를 루시퍼라제 리포터 효소 검출을 포함하는 세포 자극 실험의 초기에 96웰 플레이트에서 180㎕ 성장 배지에서 1 x 10^5개 세포/웰로 배양하였다. 세포를 1.2 ㎍(마이크로그램), 2.3 ㎍, 4.7 ㎍ 및 9.3 ㎍의 농도의 NanoSTING-N의 존재 하에 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하기 전에, NanoSTING-N의 연속 희석액을 성장 배지에서 제조하였다. IRF 활성 검출을 위해, 6시간, 12시간 및 24시간 시점에서 웰당 10 μl의 배양 상청액을 수집하고 백색(불투명한) 96웰 플레이트로 옮겼다. 50μl QUANTI-Luc™(Invivogen) 기질 용액을 웰당 첨가한 후, 즉시 Cytation 7 기기(Cytation 7, Bio-Tek Instruments, Inc.)를 사용하여 발광 측정(상대적 광 단위(RLU))을 수행하였다. **도 27**은 1 ㎍ 폴리(dA:dT)/LV에 노출된 후 6시간, 12시간 및 24시간에 양이온성 지질 기

반 형질감염 시약 LyoVec™(InvivoGen)과 복합체화된 I형 인터페론 유도제 폴리(dA:dT)("폴리(dA:dT))/LV")에 대한 반응으로 THP-1 이중 세포에서의 인터페론 반응 인자(IRF) 반응의 정량화를 나타낸다.

[0155] THP-1 이중 세포를 접촉시키고 상청액에서 루시퍼라제 활성을 측정함으로써 24시간 동안 동역학 측정을 수행하였다(**도 27**). 루시퍼라제의 THP-1 분비는 6시간에 낮은 수준에서만 관찰되었고, 12시간에 NanoSTING-N의 모든 농도에서 한 자릿수를 초과하여 증가하여 24시간에 가장 높은 관찰 수준에 도달하였다(**도 17**). 24시간에, NanoSTING-N의 모든 농도는 유사한 THP-1 루시퍼라제 분비를 나타냈다.

[0156] **실시예 8: 시험관내 뉴클레오캡시드 DNA 결합 검정**

[0157] 본 실시예는 플라스미드 DNA와의 기능적 회합에 대한 N-단백질 뉴클레오캡시드 능력을 결정하기 위해 수행된 DNA 결합 연구를 보여준다.

[0158] 분지쇄 PEI를 양성 대조군으로서 사용하였다(Sigma Chemical Co., 미주리주 세인트 루이스 # 408727). DiYO-1(AAT Biorequest #17579) 및 플라스미드(pMB57.6)-DNA 복합체를 (20 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH = 7.4 중에서) ds-DNA에 결합 시 양자 수율이 몇 자릿수 증가하는 비스-인터칼레이팅(bis-intercalating) 형광단인 DiYO-1와 DNA의 동등한 용적으로 혼합하여, 각각 400 nM 및 8 nM의 최종 농도를 달성하였다. 사용 전에 용액을 RT에서 5시간 동안 정치시켰다. 다음으로, PEI를 상이한 농도(R = 0,1,2,5, 여기서 R은 PEI 질소 대 DNA 포스페이트의 몰비이다)로 DNA-DiYO-1 용액에 첨가하고 1분 동안 와류시키고 2시간 동안 정치시켜 평형화하였다. 용액의 형광 강도를 각각 470 nm 및 510 nm의 여기 및 방출 파장에서 측정하였다(**도 20b**). PEI 대신 SARS-CoV2 뉴클레오캡시드(N-단백질)를 사용하여 절차를 반복하였다(**도 20a**). 이들 실험에서, 뉴클레오캡시드(N-단백질)를 0.1 및 0.5 μM의 농도로 DNA-DiYO-1 용액에 첨가하였다.

[0159] N-단백질은 DNA-DiYO-1 복합체의 형광을 농도 의존적 방식으로 소광(quench)시킬 수 있었다(**도 20a**). 0.5 μM의 농도에서 N-단백질은 알려진 합성 폴리양이온 DNA 축합제인 폴리에틸렌이민(PEI) R=5와 동일한 정도로(예를 들어, 96.3%) 형광 강도를 감소시켰다(**도 20b**). 이러한 결과는 재조합 N-단백질이 dsDNA의 결합제에 대해 강력하다는 것을 확인시켜 주었다.

[0160] **실시예 9: NanoSTING-N 조성물을 사용한 체액성 반응의 유도**

[0161] 본 실시예는 마우스에서 체액성 반응에 미치는 NanoSTING-N 조성물 효과의 생체내 테스트를 보여준다.

[0162] 7 내지 9주령의 암컷 BALB/c 마우스를 Charles River Laboratories에서 구입하였다. 조성물을 투여하기 전에, 케타민 및 자일라진을 복강내 주사하여 마우스를 마취시켰다. 동물을 면역화를 위한 20㎍의 리포좀-STING 애주번트 및 10㎍ 또는 20㎍ 뉴클레오캡시드 단백질(각각 NanoSTING-N10 및 NanoSTING-N20)을 포함하는 NanoSTING-N 조성물의 2가지 농도 중 하나로 단일 비강내 투여를 통해 처리하였다.

[0163] NanoSTING-N 조성물을 투여한 후 4주 동안 7일마다 동물의 체중을 측정하였다. NanoSTING-N10 또는 NanoSTING-N20으로 처리된 동물 중 어느 것도 27일 동안 체중 감소 또는 육안적 이상을 겪는 것으로 관찰되지 않았다(**도 28**).

[0164] 체액성 면역 반응의 검출을 위해 투여 후 7일, 14일, 21일 및 27일차에 대상체로부터 혈청을 수집하였다(**도 21a**). 혈청 샘플을 2000g에서 5분 동안 원심분리하기 전에, 응고를 촉진하기 위해 혈액을 실온에서 10분 동안 유지시켰다. 혈청을 원심분리된 샘플로부터 수집하여 -80℃에서 보관하고 나중에 ELISA 검정에 사용하였다. 기관지폐포 세척액(BALF), 폐 및 비장을 비강내 투여 후 27일차에 대상체로부터 수거하였다. 혈청 및 기타 수집된 생물학적 샘플은 장기간 보관을 위해 프로테아제 억제제의 존재 하에 -80℃에서 유지시켰다. 해리 후, 비장 세포 및 폐 림프구를 FBS+10% DMSO에서 동결시키고 추가 사용시까지 액체 질소 증기상에 보관하였다.

[0165] **실시예 10: NanoSTING-N 조성물을 사용한 체액성 반응의 유도**

[0166] 본 실시예는 NanoSTING-N 조성물로 처리함으로써 대상체에서 유도된 뉴클레오캡시드 특이적 IgG 및 IgA 반응을 보여준다.

[0167] 혈청 또는 다른 생물학적 체액 중의 항-N-단백질 항체 역가를 ELISA를 사용하여 측정하였다. 간략하게, 1 ㎍/ml N-단백질(Sino Biological, 미국 펜실베니아주)을 4℃에서 밤새 또는 37℃에서 2시간 동안 PBS에서 ELISA 플레이트(Corning, 미국 뉴욕주)에 코팅하였다. 그 다음, 플레이트를 RT에서 2시간 동안 PBS + 1% BSA(Fisher Scientific, 미국 펜실베니아주) + 0.1% Tween20TM(Sigma-Aldrich(미국 메릴랜드주)으로 차단하였다. 세척 후, 샘플을 상이한 희석도로 첨가하였다. 포획된 항체는 HRP-접합된 항-마우스 IgG(Jackson ImmunoResearch

Laboratories, 1/5,000; 미국 펜실베니아주), 항-마우스 IgA(Bethyl Laboratories, 1:10,000; 미국 텍사스주) 및 Invitrogen(미국 캘리포니아주)의 마우스 총 IgA ELISA 키트로부터 마우스 IgA(1/250)에 대한 검출 항체에 의해 검출하였다. 양성 대조군(항-N IgG)은 Abeomics(미국 캘리포니아주)에서 입수하였다.

[0168] 면역화 후 14일차(D14)에, NanoSTING-N을 투여받은 마우스의 100%가 혈청전환되었고, 1:640의 평균 희석 역가에서 강력한 항-N IgG 수준이 검출되었다(**도 29**). 처리 후 27일차(D27)까지, 혈청 샘플에서 항-N IgG 항체의 혈청 농도가 증가하였고, 1:4,400의 평균 희석 역가가 검출되었다(**도 21b**). 두 용량 모두에서의 IgG 반응은 테스트된 모든 시점에서 유사하였고, NanoSTING-N20에 의해 유발된 IgG 역가가 NanoSTING-N10보다 높았지만, 그 차이는 유의하지 않았다(**도 21b**). 삼량체 NanoSTING-S를 사용한 백신접종(7일차 초기 반응)과 달리, IgG 반응의 동역학은 지연되었고 반응은 14일차에만 관찰되었다. 면역화된 마우스의 기관지폐포 세척액(BALF) 중의 SARS-CoV-2 특이적 항체 반응을 또한 평가하였다. NanoSTING-N10 및 NanoSTING-N20로부터의 BALF 샘플은 각각 1:15 및 1:86의 평균 IgG 역가를 나타냈다(**도 21c**).

[0169] IgA 매개 보호는 호흡기 병원체에 대한 점막 면역의 필수 성분이다. 혈청 중의 IgA 반응을 테스트하였다. NanoSTING-N10 백신접종된 마우스는 1:40의 평균 희석 역가에서 혈청 IgA 수준을 산출하였고, Nano-STING-N20 백신접종된 동물은 1:53의 평균 희석 역가에서 혈청 IgA 수준을 산출하였다(**도 21d**). 종합적으로, 이러한 결과는 N-단백질을 사용한 면역화가 혈청 및 폐에서 강력한 체액성 면역을 생성한다는 것을 입증하였다.

[0170] **실시예 11: ELISPOT 및 유세포분석을 위한 비장 및 폐의 가공처리**

[0171] 본 실시예는 NanoSTING 조성물로 처리된 대상체로부터 비장 및 폐 조직을 수거하고 가공처리하는 방법을 설명한다.

[0172] 폐 림프구의 단리를 위해, 우심실에 주사된 Ca^{2+} 또는 Mg^{2+} 없는 PBS 중의 5ml의 1mM EDTA로 폐 맥관구조를 관류시켰다. 각 폐는 메스를 사용하여 100 내지 300 mm^2 조각으로 절단하였다. 다진 조직을 10분마다 와동이 수행되는 수조에서 37℃에서 1시간 30분 동안 5ml의 RPMI 중의 콜라게나제 D(2mg/ml, Roche #11088858001) 및 DNase(0.125 mg/ml, Sigma #DN25)를 함유하는 5ml의 분해 완충액을 함유하는 튜브로 옮겼다. 나머지 온전한 조직은 21-게이지 바늘에 통과시켜(6 내지 8회) 파괴하였다. 세포를 90분 동안 인큐베이션하고 500㎕의 빙냉 정지 완충액(1x PBS, 0.1M EDTA)을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 조직 단편 및 사멸된 세포를 40 μm 일회용 세포 스트레이너(cell strainer)(Falcon)를 사용하여 제거하고 원심분리 후 세포를 수집하였다. 세포 펠렛을 3ml의 ACK 용해 완충액(Invitrogen)에 재현탁시켜 적혈구를 용해하고 실온(RT)에서 3분 동안 인큐베이션한 후, 원심분리하였다. 상청액을 버리고 세포 펠렛을 5ml의 완전 RPMI 배지(Corning, 미국 뉴욕주)에 재현탁시켰다. 다음으로, 비장을 RPMI 배지에서 수집하고 주사기 플런저의 단단한 끝을 사용하여 40 ㎛ 세포 스트레이너를 통해 균질화하였다. 그 후, 비장 세포를 3ml의 ACK 용해 완충액에서 RT에서 3분 동안 인큐베이션하여 적혈구(RBC)를 제거한 다음, 40 ㎛ 스트레이너에 통과시켜 단일 세포 현탁액을 얻었다. 폐 림프구 및 비장 세포를 트리판 블루 배제법으로 계수하였다.

[0173] **실시예 12: 생체내 T 세포 반응에 미치는 SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드 단백질의 효과**

[0174] 본 실시예는 전신 T 세포 반응에 미치는 SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드 단백질의 비강내 투여 효과의 평가를 보여준다.

[0175] 본원에 개시된 N-단백질 기반 조성물(예를 들어, NanoSTING-N 조성물)을 대상체에게 투여하는 이점 중 하나는 T 세포 반응을 유발하는 능력이다. Th1/Tc1 분극화된 반응(예를 들어, IFN-γ 분비를 포함)은 보호 반응을 나타내는 지표일 수 있는 반면, Th2 분극화된 반응(예를 들어, IL-4 분비 포함)은 바이러스 감염에 대한 항체 의존적 증강(antibody dependent enhancement: ADE)을 유발하는 잠재성을 가질 수 있다. 백신 유도된 N 특이적 T 세포 반응을 평가하기 위해, SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질)로 처리한지 27일 후에 실시예 12에 설명된 바와 같이 대상체로부터 비장 세포 및 폐 림프구를 수거하고 가공처리하였다.

[0176] 비장 및 폐로부터 유래된 T 세포를 IFN-γ 및 IL-4 ELISPOT 검정을 사용하여 15량체 펩티드 및 정량화된 항원 특이적 T 세포의 풀로 자극하였다. IFN-γ 및 IL-4 ELISpot 검정을 마우스 IFN-γ ELISPOT 기본 키트(ALP) 및 마우스 IL-4 ELISPOT 기본 키트를 사용하여 수행하였다. 세포 활성화 대조군의 경우, 배양물을 10 ng/ml 포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트 PMA(Sigma, 미국 미주리주 세인트 루이스) 및 1 ㎍/ml의 이오노마이신(Sigma, 미국 미주리주 세인트 루이스)으로 처리하였다. 완전 배지(10% FBS가 보충된 RPMI)를 음성 대조군으로서 사용하였다. 비장 세포 및 폐 림프구(3×10^5 세포)를, AN18 IFN-γ(1 ㎍/ml, Mabtech #3321-3-250;) 및 11B11 IL-

4(1 ㎍/ml, Mabtech #3311-3-250) 코팅 항체로 코팅된 사전코팅된 ELISpot 플레이트(Millipore로부터의 MSIPS4W10) 내에서 37℃에서 16 내지 18시간 동안 1.5 ㎍/ml/펩티드(Miltenyi Biotec; 130-126-699, 독일)의 농도로 SARS-코로나바이러스의 뉴클레오캡시드 인단백질("N")의 완전한 서열을 포함하는 11개의 아미노산 중첩이 있는 15량체 서열로 주로 구성된 펩티드의 풀로 시험관내에서 자극하였다. 다음날, 세포를 세척하고, 각각 비오티닐화 R4-6A2 항-IFNɣ(Mabtech #3321-6-250) 및 BVD6-24G2 항-IL-4(Mabtech #3311-6-250) 검출 항체를 사용하여 플레이트를 발색시켰다. 웰을 세척하고 RT에서 1시간 동안 1:30,000 희석된 엑스트라비딘-ALP 항체(Sigma, 미국 미주리주 세인트 루이스)로 처리하였다. 세척 후, 70 μL/웰의 BCIP/NBT-플러스 기질(Mabtech #3650-10)을 웰에 첨가하여 스팟을 발색시켰다. 발색을 위해 플레이트를 20 내지 30분 동안 인큐베이션하고 후속적으로 물로 세척하였다. 스팟을 Cytation 7(Bio-Tek Instruments, Inc.)을 사용하여 정량화하였다. 각 스팟은 개별 사이토카인 분비 세포에 해당한다. 값은 측정된 삼중물의 배경 빼기 평균으로 나타낸다.

[0177] Nano-STING-N10 및 NanoSTING-N20 면역화된 마우스는 각각 평균 143개 및 176개 IFN-ɣ 스팟/10^6 세포로 강력하고 유의한 비장 T 세포 반응을 나타냈다(**도 22**, 점선 좌측의 회색 및 검은색 막대). NanoSTING-N10 및 NanoSTING-N20으로 면역화된 동물은 각각 평균 102개 및 154개 IFN-ɣ 스팟/10^6으로 폐에서 상승된 T 세포 반응을 나타냈다(**도 22**, 점선 우측의 회색 및 검은색 막대). IFN-ɣ(Th1/Tc1) 반응과 대조적으로, 비장 또는 폐 세포의 경우에 NanoSTING-N10 및 NanoSTING-N20으로 처리 시 측정 가능한 IL-4(Th2) 반응이 관찰되지 않았다(**도 22**). 종합적으로, 이러한 결과는 비강내 백신접종이 Th2 반응의 증거 없이 강력한 Th1 반응을 유발하였다는 것을 입증하였다.

[0178] **실시예 13: NanoSTING-N 조성물로 처리된 T 세포에서 뉴클레오캡시드 특이적 기억의 결정**

[0179] 본 실시예는 후속 유세포분석을 위해 NanoSTING-N 조성물로 처리된 대상체로부터의 비장 세포 및 폐 림프구의 세포 표면 및 세포내 사이토카인 염색을 보여준다.

[0180] CD8+ T-세포 반응은 항체 매개 반응을 보완할 수 있고 항체 반응과 독립적인 보호를 제공할 수 있다. 폐 기도, 폐 실질 및 비장에서 N-단백질 특이적 기억 CD8+ T 세포의 활성화 및 기능을 이들 실험에서 조사하였다. NanoSTING-N 처리된 동물 및 대조군 처리된 동물로부터의 비장 및 폐 림프구를 37℃에서 16 내지 18시간 동안 1.5 ㎍/ml/펩티드(Miltenyi Biotec; 130-126-699, 독일) 농도의 뉴클레오캡시드 단백질-펩티드 풀로 자극하여, NanoSTING-N 조성물에 노출된 후 18시간차의 뉴클레오캡시드 단백질 특이적 CD8+ T 세포 반응을 결정하였다. 브레펠딘 A(5 ㎍/ml BD Biosciences #BD 555029)를 인큐베이션의 마지막 5시간 동안 첨가하였다. 10 ng/ml PMA(Sigma, 미국 미주리주 세인트 루이스) 및 1 ㎍/ml 이오노마이신(Sigma, 미국 미주리주 세인트 루이스)을 양성 대조군으로서 사용하였다. 뉴클레오캡시드 펩티드가 없는 자극은 배경 대조군 역할을 하였다. 세포를 수집하고 PBS 중의 살아있는/사멸된 Aqua(Thermo Fisher #L34965)로 염색한 후, 항-CD16/CD32(Thermo Fisher #14-0161-85)로 Fc-수용체를 차단한 다음, 얼음 위에서 유세포분석 염색 완충액(FACS) 중의 하기 항체로 30분 동안 염색하였다: 항-CD4 AF589(클론 GK1.5; Biolegend # 100446), 항-CD8b(클론 YTS156.7.7; Biolegend #126609), 항-CD69(클론 H1.2F3; Biolegend # 104537), 항-CD137(클론 1AH2; BD; # 740364), 항-CCR7(클론 4B12; Biolegend # 120124), 항-CD45(클론 30-F11; BD; #564279). 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척한 다음, RT에서 30분 동안 100 μl IC 고정 완충액(eBioscience)으로 고정시켰다. 세포를 200 μl 투과화 완충액(BD Cytofix 용액 키트)으로 10분 동안 투과화하였다. 세포내 염색은 4℃에서 항체 Alexa Fluor 488 인터페론(IFN) 감마(클론 XMG1.2; BD; #557735) 및 그랜자임 B(클론 GB11; Biolegend; #515407)를 사용하여 밤새 수행하였다. 다음으로, 세포를 FACS 완충액으로 세척하고 FlowJo™ 소프트웨어 버전 10.8(Tree Star Inc, 미국 오리건주 애슐랜드) 및 도 23에 예시된 유세포분석 게이팅 전략을 사용하여 LSR-Fortessa 유세포분석기(BD Bioscience)에서 분석하였다. 결과는 배경을 공제한 사이토카인 양성 세포의 총 수로서 계산하였다. 항체 농도는 적정에 의해 최적화하였다.

[0181] 효과기 분자 그랜자임 B(GzB) 및 활성화 유도된 마커 CD137을 이용하여 비장 및 폐에서 N-단백질-반응성 CD8+ T 세포를 식별하였다. 상기 설명한 N 펩티드 풀로 생체외 재자극한 결과, NanoSTING-N10 및 NanoSTING-N20 둘 다가 백신접종된 마우스의 비장에서 활성화된(CD8+CD137+) 및 세포독성(CD8+GzB+) T 세포의 빈도가 크게 증가하였고, 폐에서는 더 적은 정도로 증가하였다(**도 22**).

[0182] CD137-양성 $CD8^+$ 세포의 백분율은 대조군 처리된 세포와 비교하여 NanoSTING-N10으로 처리된 비장 세포에서 증가하였다(**도 24a, 도 24b, 도 24c** 및 **도 24d** 참조). GzB-양성 $CD8^+$ 세포의 백분율도 대조군 처리된 세포와 비교하여 NanoSTING-N10으로 처리된 비장 세포에서 증가하였다(**도 25a, 도 25b, 도 25c** 및 **도 25d** 참조). 폐 상주

$CD103^{+}CD69^{+}CD8^{+}$ T 세포의 전체 빈도는 면역화된 동물과 대조군 사이에 차이가 없었다(**도 26a**, **도 26b**, **도 26c** 및 **도 26d** 참조). 종합하면, 이러한 결과는 폐 및 비장에서 비강내 면역화 세포독성 T-세포 반응을 입증하였다.

[0183] **실시예 14: 키메라 스파이크 단백질 또는 RSV 항원 단백질을 포함하는 NanoSTING 조성물을 사용한 면역 반응의 유도**

[0184] 본 실시예는 키메라 스파이크 단백질 항원을 포함하는 NanoSTING 조성물(NanoSTING-ChimS)로 처리된 대상체 및 RSV 항원을 포함하는 NanoSTING 조성물(NanoSTING-RSV)로 처리된 대상체에게 부여된 포괄적인 면역을 예시한다.

[0185] C-말단 히스티딘 태그를 함유하는 호흡기 세포융합 바이러스 B1로부터의 융합 당단백질의 재조합 형태를 곤충 유충에서 트리코플루시아(Trichoplusia)의 배큘로바이러스 감염에 의해 생산하고 크로마토그래피 방법에 의해 정제하였다.

[0186] cGAMP 조절제를 캡슐화하는 리포좀 및 알파 변이체 스파이크 단백질 삼량체, (2) 베타 변이체 스파이크 단백질 삼량체, (3) 감마 변이체 스파이크 단백질 삼량체("NanoSTING-varS"), (4) 알파 변이체 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인(RBD) 부분, 또는 (5) 감마 변이체 스파이크 단백질의 RBD 부분을 포함하는 NanoSTING 조성물(NanoSTING-ChimS)로 처리된 대상체로부터 혈청을 수집하였다. 각각의 군 (1) 내지 (5)의 조성물로 처리한 후 28일차에 대상체로부터 얻은 샘플은 애주번트 없이 항원으로 면역화된 대조군 동물의 처리와 비교하여 증가된 항원 특이적 IgG 역가를 나타낸다(**도 30a**). **도 30b**는 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제가 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 리포좀, 알파 변이체 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 NanoSTING-ChimS 조성물로 처리한 후 28일차에 대상체로부터 얻은 혈청 샘플을 사용하는 키메라 스파이크 단백질 삼량체의 알파 변이체에 대한 혈청 유래 IgA 반응성의 ELISA 정량화를 나타낸다. IgA 역가는 대조군 처리된 대상체의 샘플과 비교하여 NanoSTING-ChimS 조성물로 처리된 대상체의 샘플에서 증가한다.

[0187] **도 31a**는 키메라 스파이크 단백질이 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 각각 펩티드 풀의 상이한 스파이크 단백질(S-단백질) 변이체를 포함하고 함께 모든 S-단백질 유래 펩티드 풀을 나타내는 NanoSTING-ChimS 조성물로 처리된 동물 대상체의 폐 샘플에서 ELISpot 검정을 사용하여 정량화한 인터페론 감마(IFNγ) 반응을 나타낸다. **도 31b**는 키메라 스파이크 단백질이 결여된 리포좀을 포함하는 대조군 조성물로 처리된 대상체의 샘플과 비교한, 리포좀, 감마 변이체 키메라 스파이크 단백질 삼량체 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 NanoSTING-ChimS 조성물로 처리된 대상체의 폐 샘플에서 ELISpot 검정을 사용하여 정량화한 인터페론 감마 반응을 나타낸다. 인터페론 감마 수준은 대조군 처리된 동물의 폐 샘플과 비교하여 NanoSTING 처리된 동물의 폐 샘플에서 유의하게 증가하였으며, 이는 대상체 면역 반응에 미치는 NanoSTING 조성물의 효과가 또한 개별 항원 변이체에 대해 특이적임을 예시한다.

[0188] **도 32a** 및 **도 32b**는 키메라 스파이크 단백질이 결여된 리포좀을 포함하는 본원에 기재된 대조군 조성물로의 처리와 비교한, 리포좀, RSV-F 유래 항원 및 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물("NanoSTING-RSV")로 처리한 후 각각 7일차 및 14일차에 동물 대상체로부터 얻은 혈청을 사용하여 수행된 ELISA 검정에서 B1 계통 호흡기 세포융합 바이러스 F 단백질(RSV-F)에 대한 IgG의 반응성을 나타낸다. RSV 항원 특이적 IgG 수준은 대조군 처리된 동물의 샘플과 비교하여 7일차 및 14일차 둘 다에서 증가되었으며, 이는 항원을 포함하는 NanoSTING 조성물로 처리한 후 대상체에게 포괄적인 면역이 부여되었음을 나타낸다.

[0189] **실시예 15. 지질-나노입자 및/또는 조절제 단백질을 포함하는 조성물의 안정성**

[0190] 본 실시예는 조절제 단백질과 지질-나노입자 또는 조절제 단백질 단독을 포함하는 본원에 기재된 조성물의 관찰된 안정성을 보여준다.

[0191] 조절제 단백질(예를 들어, STING 작용제와 같은 패턴 인식 수용체 작용제 단백질)은 보관을 위해 동결건조될 수 있다. 동결건조된 조절제 단백질(예를 들어, 본원에 기재된 STING 작용제와 같은 패턴 인식 수용체 작용제 단백질)은 4℃에서 보관될 때 적어도 11개월 동안 본원에 기재된 조성물 및 방법에서 효능(예를 들어, 재수화 후)을 유지한다. 본원에 기재된 동결건조된 지질 기반 나노입자 조성물(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같음)도 본원에 기재된 조성물 및 방법에서 효능(예를 들어, 재수화 후)을 유지한다. 많은 적용에서, 동결건조된 조성물 또는 이의 동결건조된 성분은 사용 전에 멸균 용액에 재구성(예를 들어, 수화)된다. 일부 경우에, 동결건조된 조성물 또는 이의 동결건조된 성분은 하나 이상의 부형제(예를 들어, 약학적으로 허용되는 부형제)를 포함하는 멸균 용액에 재구성된다.

[0192] 일부 실시양태에서, NanoSTING 조성물은 (예를 들어, 성분들이 동결건조된 경우 재수화 후) 조절 단백질과 지질 기반 나노입자를 혼합하여 제형화된다. 일부 실시양태에서, 조절제 단백질 및 지질 기반 나노입자를 포함하지만 항원 단백질(예를 들어, N-단백질 또는 S-단백질)을 포함하지 않는 NanoSTING 조성물은 현탁액으로 제형화되고 4℃에서 저장될 때 적어도 11개월 동안 안정하다.

[0193] **실시예 16. NanoSTING 조성물을 사용한 포유동물의 호흡기 바이러스 감염에 대한 예방적 처리**

[0194] 본 실시예는 나노입자 내에 캡슐화된 STING 작용제를 포함하는 본원에 기재된 조성물로 예방적으로 처리된 포유동물 대상체에서 바이러스 존재량(viral load)의 감소를 보여준다.

[0195] 햄스터를 10,000 TCID50 B.1.1.7(알파 변이체) 바이러스 챌린지(viral challenge)로의 감염 전 24시간(1일) 및 6시간에 각각 10:1:1:1 비율의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함하는 나노입자 내에 캡슐화된 cGAMP STING 작용제(조절제)를 포함하는 NanoSTING 조성물로 비강내 처리하였다. NanoSTING 제형을 단독요법 처리로서 투여하였고, NanoSTING 조성물에는 항원 성분이 결여되어 있었다.

[0196] **도 37b**에 도시된 바와 같이, 바이러스 챌린지를 받지 않는 대상체(원형), 모의(sham) 포스페이트 완충 식염수(PBS) 챌린지를 받는 대상체, 각 투여 시점에서 나노입자 내에 캡슐화된 STING 작용제 조절제를 포함하는 30 마이크로그램(30 μg)의 NanoSTING 조성물을 투여받은 대상체 및 각 투여 시점에서 나노입자 및 나노입자 내에 캡슐화된 STING 작용제 조절제를 포함하는 120 마이크로그램(120 μg)의 NanoSTING 조성물을 투여받은 대상체에 대해 챌린지부터 챌린지 후 5일차까지 매일 대상체 체중을 측정하였다. NanoSTING 조성물(30 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 용량)을 투여받은 대상체의 체중은 바이러스 챌린지를 받지 않은 대상체와 유의하게 상이하지 않은 것으로 밝혀졌다. NanoSTING 조성물(30 마이크로그램 또는 120 마이크로그램 용량)을 투여받은 대상체는 바이러스 챌린지 및 PBS 처리를 받은 대상체와 비교하여 4일차 및 5일차에 유의하게 더 높은 체중을 가졌다. 30 마이크로그램 용량의 NanoSTING 조성물을 투여받은 대상체는 3일차에도, 바이러스로 챌린지되고 PBS로 처리된 대상체보다 유의하게 더 높은 체중을 가졌다.

[0197] 햄스터 대상체가 NanoSTING 조성물로 사전처리된 후에는 바이러스 챌린지 동안 체중을 유지하였다는 사실은 유사한 결과가 인간 대상체에서도 얻어질 수 있음을 강력하게 시사한다. 이들 데이터는 예방적 처리 햄스터 코로나바이러스 챌린지 모델에서 체중 감소의 예방에 있어 동급 최상의 결과를 나타낸다.

[0198] TCID50 수준을 또한 폐 조직(BALT, 도 37c) 및 비강 조직(NALT, 도 37d)에서 2일차에 측정하고 정량화하였다. 결과는, 도 37c에 도시된 바와 같이, 폐 조직 내의 감염성 바이러스 존재량(밀리그램당 50% 조직-배양물 감염성 용량("TCID50/mg")으로서 정량화됨)이 바이러스로 챌린지되고 PBS로 처리된 대상체와 비교하여 30 마이크로그램 NanoSTING 조성물($p = 0.05$) 또는 120 마이크로그램($p = 0.02$)으로 처리된 대상체에서 유의하게 감소되었음을 보여준다. 결과는 또한 도 37d에 도시된 바와 같이, 비강 조직 내의 감염성 바이러스 존재량이 바이러스로 챌린지되고 PBS로 처리된 대상체와 비교하여 30 마이크로그램 NanoSTING 조성물($p = 0.03$) 또는 120 마이크로그램 NanoSTING 조성물($p = 0.03$)로 처리된 대상체에서 유의하게 감소되었음을 보여준다.

[0199] **실시예 17. NanoSTING 조성물의 다중 투여**

[0200] 본 실시예는 본원에 기재된 NanoSTING 조성물을 사용한 반복 처리가 대상체에 의해 잘 용인된다(well-tolerated)는 것을 보여준다.

[0201] 햄스터를 각각 10:1:1:1 비율의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함하는 나노입자 내에 캡슐화된 cGAMP STING 작용제(조절제)를 포함하는 NanoSTING 조성물로 4일 연속해서 1일 1회 비강내 처리하였다(도 38a). NanoSTING 제형은 단독요법 처리(1일당 60 마이크로그램의 NanoSTING 조성물)로서 투여하였고, NanoSTING 조성물에는 항원 성분이 결여되어 있었다.

[0202] 도 37b에 도시된 바와 같이, 대상체의 체온은 NanoSTING 조성물의 최초 투여 후 1, 2, 3 또는 4일차에 NanoSTING 조성물을 투여받지 않은 대상체와 비교하여 유의하게 상이하지 않았다. 도 38c에 도시된 바와 같이, NanoSTING 조성물을 투여받은 대상체의 체중(정사각형 데이터 포인트)은 NanoSTING 조성물을 투여받지 않은 대조군 대상체(원형 데이터 포인트)와 유의하게 상이하지 않았다. 이러한 결과는 햄스터 대상체가 NanoSTING 조성물을 사용한 반복 처리를 잘 용인하였고 인간 대상체에서도 유사한 결과를 얻을 수 있음을 보여준다.

[0203] **실시예 18. NanoSTING 조성물에 의한 인터페론 자극 유전자의 활성화**

[0204] 본 실시예는 NanoSTING 조성물로의 처리가 생체내에서 인터페론 자극 유전자를 활성화시킨다는 것을 보여준다.

[0205] THP-1 이중 세포를 각각 10:1:1:1 비율의 DPPC, DPPG, 콜레스테롤 및 DPPE-PEG2000을 포함하는 나노입자 내에 캡슐화된 cGAMP STING 작용제(조절제)를 포함하는 10 마이크로그램, 5 마이크로그램 또는 2.5 마이크로그램의 NanoSTING 조성물과 함께 배양하고, 발광(상대적 발광 단위, RLU)을 세포에서 측정하여 인터페론 자극 유전자의 활성화를 정량화하였다(도 39a). NanoSTING 제형은 단독요법 처리로서 투여하였고, NanoSTING 조성물에는 항원성분이 결여되어 있었다. 24시간에, 10 마이크로그램의 NanoSTING 조성물을 투여받은 THP-1 세포에서 95,000 RLU 초과의 발광 값이, 5 마이크로그램의 NanoSTING 조성물을 투여받은 THP-1 세포에서 85,000 RLU 초과의 발광 값이 그리고 2.5 마이크로그램의 NanoSTING 조성물을 투여받은 THP-1 세포에서 50,000 RLU 미만의 발광 값이 관찰되었다. 발광은 NanoSTING 조성물을 세포에 적용한 시점(0시간 시점)에서 모든 NanoSTING 처리된 THP-1 세포군에 대해 <50 RLU에서 기록되었다. NanoSTING 조성물을 투여받지 않은 세포는 모의 처리 후 24시간에 <50 RLU의 발광을 나타냈다. 도 39b에 도시된 바와 같이, 양성 대조군 벡터(폴리(dA:dT)/LyoVec™ 벡터)로 처리된 THP-1 세포는 양성 대조군 벡터 적용 후 6시간 및 12시간에 5,000 RLU 미만을 나타내고 양성 대조군 벡터의 적용 후 24시간에 40,000 RLU 미만을 나타냈다.

[0206] 이러한 결과는 NanoSTING 조성물이 5 마이크로그램 및 10 마이크로그램의 농도에서 시험관내에서 인터페론 자극 유전자를 활성화시킨다는 것을 보여준다.

[0207] **실시양태**

[0208] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 조성물 또는 방법은 뉴클레오캡시드 단백질(N-단백질) 또는 이의 단편 및/또는 스파이크 단백질(S-단백질) 또는 이의 단편을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 N-단백질 또는 이의 단편은 SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드 단백질의 알파 스트레인에 기반할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 S-단백질 또는 이의 단편은 SARS-CoV-2 스파이크 단백질의 베타 스트레인에 기반할 수 있다.

[0209] 일부 경우에, N-단백질은 서열번호 1의 전부 또는 일부와 동일한(예를 들어, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100%) 아미노산 서열을 가질 수 있고, 여기서 서열번호 1은 다음과 같다(예를 들어 국제 순수응용화학 연합(IUPAC)이 사용하는 아미노산 코드 및 국제 뉴클레오티드 서열 데이터베이스와 일치하는 단일 문자 아미노산 약어를 사용함):

[0210] mslngpqnqrnapritfggpsdstgsnqngersgarskqrrpqglpnntaswftaltqhgkedlkfprgqgvpintnsspddqigyyrratrri
rggdgkmkdlsprwyfyylgtgpeaglpygankdgiiwvategalntpkdhigtrnpannaaivlqlpqgttlpkgfyaegsrggsqassrs
ssrsrnssrnstpgsskrtsparmagnggdaalalllldrlnqleskmfgkgqqqqgqtvtkksaaeaskkprqkrtatkaynvtqafgrrgpe
qtqgnfgdqelirqgtdykhwpqiaqfapsasaffgmsrigmevtpsgtwltytgaikldddkdpnfkdqvillnkhidayktfpptepkkdk
kkkadetqalpqrqkkqqtvtllpaadlddfskqlqqsmssadstqa.

[0211] 일부 경우에, N-단백질은 서열번호 2의 전부 또는 일부와 동일한(예를 들어, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100%) 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있고, 여기서 서열번호 2는 다음과 같다(4문자 뉴클레오티드 코드(예를 들어, 아데닌(A), 시토신(C), 티민(T) 및 구아닌(T))을 사용함):

[0212] atgagcctgaacggcccgcagaaccagcgcaacgcgccgcgcattacctttggcggcccgagcgatagcaccggcagcaaccagaacggc
gaacgcagcggcgcgcgcagcaaacagcgccgcccgcagggcctgccgaacaacaccgcgagctggtttaccgcgctgacccagcatggc
aaagaagatctgaaatttccgcgcggccagggcgtgccgattaacaccaacagcagcccggatgatcagattggctattatcgccgcgcgaccc
gccgcattcgcggcggcgatggcaaaatgaaagatctgagcccgcgctggtatttttattatctgggcaccggcccggaagcgggcctgccgta
tggcgcgaacaaagatggcattatttgggtggcgaccgaaggcgcgctgaacaccccgaaagatcatattggcacccgcaacccggcgaaca
acgcggcgattgtgctgcagctgccgcagggcaccaccctgccgaaaggcttttatgcggaaggcagccgcggcggcagccaggcgagcag

ccgcagcagcagccgcagccgcaacagcagccgcaacagcaccccgggcagcagcaaacgcaccagcccggcgcgcatggcgggcaac
ggcggcgatgcggcgctggcgctgctgctggatcgcctgaaccagctggaaagcaaaatgtttggcaaaggccagcagcagcagggcc
agaccgtgaccaaaaaaagcgcggcggaagcgagcaaaaaaccgcgccagaaacgcaccgcgaccaaagcgtataacgtgacccaggcg
tttggccgccgcggcccggaacagacccagggcaactttggcgatcaggaactgattcgccagggcaccgattataaacattggccgcagattg
cgcagtttgcgccgagcgcgagcgcgtttttggcatgagccgcattggcatggaagtgaccccgagcggcacctggctgacctataccggcg
cgattaaactggatgataaagatccgaactttaaagatcaggtgattctgctgaacaaacatattgatgcgtataaaaccttccgccgaccgaacc
gaaaaaagataaaaaaaaaaaaagcggatgaaacccaggcgctgccgcagcgccagaaaaaacagcagaccgtgaccctgctgccggcggc
ggatctggatgattttagcaaacagctgcagcagagcatgagcagcgcggatagcacccaggcg.

[0213]

[0214] 일부 경우에, S-단백질은 서열번호 3의 전부 또는 일부와 동일한(예를 들어, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100%) 아미노산 서열을 가질 수 있고, 여기서 서열번호 3은 다음과 같다(단일 문자 아미노산 약어를 사용함):

vnfttrtqlppaytnsftrgvyypdkvfrssvlhstqdlflpffsnvtwfhaihvsgtngtkrfanpvlpfndgvyfasteksniirgwifgttlds
ktqsllivnnatnvvikvcefqfcndpflgvyyhknnkswmesefrvyssannctfeyvsqpflmdlegkqgnfknlrefvfknidgyfki
yskhtpinlvrglpqgfsaleplvdlpiginitrfqtlhisyltpgdsssgwtagaaayyvgylqprtfllkynengtitdavdcaldplsetkctlk
sftvekgiyqtsnfrvqptesivrfpnitnlcpfgevfnatrfasvyawnrkrisncvadysvlynsasfstfkcygvsptklndlcftnvyadsf
virgdevrqiapgqtgniadynyklpddftgcviawnsnnldskvggnynylyrlfrksnlkpferdisteiyqagstpcngvkgfncyfplq
sygfqptygvgyqpyrvvvlsfellhapatvcgpkkstnlvknkcvnfnfnglтgtgvltesnkkflpfqqfgrdiadttdavrdpqtleilditp
csfggvsvitpgtntsnqvavlyqgvnctevpvaihadqltptwrvystgsnvfqtragcligaehvnnsyecdipigagicasyqtqtnspra
aasvasqsiiaytmslgvensvaysnnsiaiptnftisvtteilpvsmtktsvdctmyicgdstecsnlllqygsfctqlnraltgiaveqdkntqe
vfaqvkqiyktppikdfggfnfsqilpdpskpskrspiedllfnkvtladagfikqygdclgdiaardlicaqkfngltvlppllтdemiaqytsa
llagtitsgwtfgagpalqipfpmqmayrfngigvtqnvlyenqklianqfnsaigkiqdslsstpsalgklqdvvnqnaqalntlvkqlssnf
gaissvlndilsrldppeaevqidrlitgrlqslqtyvtqqliraaeirasanlaatkmsecvlgqskrvdfcgkgyhlmsfpqsaphgvvflhvt
yvpaqeknfttapaichdgkahfpregvfvsngthwfvtqrnfyepqiittdntfvsgncdvvigivnntvydplqpeldsfkeeldkyfknh
tspdvdlgdisginasvvniqkeidrlnevaknlneslidlqelgkyeqyikwp.

[0215]

[0216] 일부 경우에, S-단백질은 서열번호 4의 전부 또는 일부와 동일한(예를 들어, 적어도 70%, 서열번호 4의 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100%) 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있고, 여기서 서열번호 4는 다음과 같다(4문자 뉴클레오티드 코드(예를 들어, 아데닌(A), 시토신(C), 티민(T) 및 구아닌(T))을 사용함):

gtgaactttaccacccgcacccagctgccgccggcgtataccaacagctttacccgcggcgtgtattatccggataaagtgtttcgcagcagcgtg
ctgcatagcacccaggatctgtttctgccgtttttagcaacgtgacctggtttcatgcgattcatgtgagcggcaccaacggcaccaaacgctttgc
gaacccggtgctgccgtttaacgatggcgtgtattttgcgagcaccgaaaaaagcaacattattcgcggctggatttttggcaccaccctggatag
caaaacccagagcctgctgattgtgaacaacgcgaccaacgtggtgattaaagtgtgcgaatttcagttttgcaacgatccgtttctgggcgtgtatt
atcataaaaacaacaaaagctggatggaaagcgaatttcgcgtgtatagcagcgcgaacaactgcacctttgaatatgtgagccagccgtttctga
tggatctggaaggcaaacagggcaactttaaaaacctgcgcgaatttgtgtttaaaaacattgatggctatttaaaatttatagcaaacataccccg
attaacctggtgcgcggcctgccgcagggctttagcgcgctggaaccgctggtggatctgccgattggcattaacattacccgctttcagaccctg
catattagctatctgaccccgggcgatagcagcagcggctggaccgcgggcgcggcggcgtattatgtgggctatctgcagccgcgcacctttc
tgctgaaatataacgaaaacggcaccattaccgatgcggtggattgcgcgctggatccgctgagcgaaaccaaatgcaccctgaaaagctttacc
gtggaaaaaggcatttatcagaccagcaactttcgcgtgcagccgaccgaaagcattgtgcgctttccgaacattaccaacctgtgcccgtttggc
gaagtgtttaacgcgacccgctttgcgagcgtgtatgcgtggaaccgcaaacgcattagcaactgcgtggcggattatagcgtgctgtataacag
cgcgagctttagcacctttaaatgctatggcgtgagcccgaccaaactgaacgatctgtgctttaccaacgtgtatgcggatagctttgtgattcgcg
gcgatgaagtgcgccagattgcgccgggccagaccggcaacattgcggattataactataaactgccggatgattttaccggctgcgtgattgcg
tggaacagcaacaacctggatagcaaagtgggcggcaactataactatctgtatcgcctgtttcgcaaaagcaacctgaaaccgtttgaacgcga
tattagcaccgaaatttatcaggcgggcagcaccccgtgcaacggcgtgaaaggctttaactgctattttccgctgcagagctatggctttcagccg
acctatggcgtgggctatcagccgtatcgcgtggtggtgctgagctttgaactgctgcatgcgccggcgaccgtgtgcggcccgaaaaaaagca
ccaacctggtgaaaaacaaatgcgtgaactttaactttaacggcctgaccggcaccggcgtgctgaccgaaagcaacaaaaaatttctgccgtttc
agcagtttggccgcgatattgcggataccaccgatgcggtgcgcgatccgcagaccctggaaattctggatattaccccgtgcagctttggcggc
gtgagcgtgattaccccgggcaccaacaccagcaaccaggtggcggtgctgtatcagggcgtgaactgcaccgaagtgccggtggcgattcat
gcggatcagctgaccccgacctggcgcgtgtatagcaccggcagcaacgtgtttcagacccgcgcgggctgcctgattggcgcggaacatgtg
aacaacagctatgaatgcgatattccgattggcgcgggcatttgcgcgagctatcagacccagaccaacagcccgcgcgcggcggcgagcgt
ggcgagccagagcattattgcgtataccatgagcctgggcgtggaaaacagcgtggcgtatagcaacaacagcattgcgattccgaccaacttta
ccattagcgtgaccaccgaaattctgccggtgagcatgaccaaaaccagcgtggattgcaccatgtatatttgcggcgatagcaccgaatgcagc
aacctgctgctgcagtatggcagcttttgcacccagctgaaccgcgcgctgaccggcattgcggtggaacaggataaaaacacccaggaagtgt
ttgcgcaggtgaaacagatttataaaaccccgccgattaaagattttggcggctttaactttagccagattctgccggatccgagcaaaccgagcaa
acgcagcccgattgaagatctgctgtttaacaaagtgaccctggcggatgcgggctttattaaacagtatggcgattgcctgggcgatattgcggc
gcgcgatctgatttgcgcgcagaaatttaacggcctgaccgtgctgccgccgctgctgaccgatgaaatgattgcgcagtataccagcgcgctgc
tggcgggcaccattaccagcggctggacctttggcgcgggcccggcgctgcagattccgtttccgatgcagatggcgtatcgctttaacggcatt
ggcgtgacccagaacgtgctgtatgaaaaccagaaactgattgcgaaccagtttaacagcgcgattggcaaaattcaggatagcctgagcagca
ccccgagcgcgctgggcaaactgcaggatgtggtgaaccagaacgcgcaggcgctgaacaccctggtgaaacagctgagcagcaactttgg

[0217]

cgcgattagcagcgtgctgaacgatattctgagccgcctggatccgccggaagcggaagtgcagattgatcgcctgattaccggccgcctgcag
agcctgcagacctatgtgacccagcagctgattcgcgcggcggaaattcgcgcgagcgcgaacctggcggcgaccaaaatgagcgaatgcgt
gctgggccagagcaaacgcgtggatttttgcggcaaaggctatcatctgatgagctttccgcagagcgcgccgcatggcgtggtgtttctgcatgt
gacctatgtgccggcgcaggaaaaaaactttaccaccgcgccggcgatttgccatgatggcaaagcgcattttccgcgcgaaggcgtgtttgtga
gcaacggcacccattggtttgtgacccagcgcaacttttatgaaccgcagattattaccaccgataacacctttgtgagcggcaactgcgatgtggt
gattggcattgtgaacaacaccgtgtatgatccgctgcagccggaactggatagctttaaagaagaactggataaatattttaaaaaccataccagc
ccggatgtggatctgggcgatattagcggcattaacgcgagcgtggtgaacattcagaaagaaattgatcgcctgaacgaagtggcgaaaaacc
tgaacgaaagcctgattgatctgcaggaactgggcaaatatgaacagtatattaaatggccg.

[0218]

[0219] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 용어는 본 주제 대상이 속하는 기술 분야의 숙련자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 전술한 일반적인 설명 및 하기 상세한 설명은 모두 예시적이

고 설명적이며 청구된 주제 대상을 제한하지 않는 것으로 이해해야 한다.

[0220] 본원에 사용된 섹션 표제는 단지 구조적 목적을 위한 것으로 설명된 주제 대상을 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 특허, 특허 출원, 기사, 서적 및 논문을 포함하나 이에 한정되지 않는, 본 출원에서 인용된 모든 문헌, 또는 문헌의 일부는 그 전문이 임의의 목적을 위해 본원에 참조로 명확하게 포함된다. 인용된 문헌 및 유사 자료 중 하나 이상이 하나의 용어를 본 출원에서 사용된 용어의 정의와 모순되는 방식으로 정의할 경우, 본 출원이 우선한다.

[0221] 본원에 사용된 바와 같이, 단수 형태 "a," "an" 및 "the"는, 문맥이 명확하게 달리 표시하지 않는 한, 복수 형태도 역시 포함하는 것을 의도한다. 예를 들어, 용어 "a" 또는 "an"는 "적어도 하나"를 의미하고, "또는"의 사용은 달리 구체적으로 언급되지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 열거된 관련 항목들 중 하나 이상의 임의의 조합 및 모든 조합을 포함한다. 용어 "포함한다(comprise)" 및/또는 "포함하는(comprising)" 또는 "포함되다(include)", 및/또는 "포함되는(including)"은 본 명세서에서 사용될 때, 진술된 특징, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소 및/또는 성분의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 다른 특징, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소, 성분 및/또는 이들의 군의 존재 또는 추가를 배제하는 것은 아님을 추가로 이해할 것이다. 또한, "요소" 또는 "성분"과 같은 용어는, 달리 구체적으로 언급하지 않는 한, 하나의 단위를 포함하는 요소 또는 성분 및 하나 초과의 단위를 포함하는 요소 또는 성분 모두를 포함한다.

[0222] 본원에 사용된 바와 같이, A 및/또는 B는 A 또는 B 중 하나 이상, 및 A 및 B와 같은 이들의 조합들을 포함한다. 용어 "제1", "제2", "제3" 등이 다양한 요소, 성분, 영역 및/또는 섹션을 기재하기 위해 본원에서 사용될 수 있지만, 이러한 요소, 성분, 영역 및/또는 섹션이 이러한 용어들에 의해 반드시 제한되지 않아야 한다는 것이 이해될 것이다. 이러한 용어들은 하나의 요소, 성분, 영역 또는 섹션을 다른 요소, 성분, 영역 또는 섹션과 구별하기 위해서만 사용된다. 따라서, 본원에서 논의되는 제1 요소, 성분, 영역 또는 섹션은 일부 경우에 본 개시내용의 교시에서 벗어나지 않으면서 제2 요소, 성분, 영역 또는 섹션으로 명명될 수 있다.

[0223] 본원에서 사용되는 용어 "대상체"는 포유동물을 포함한다. 포유동물은 래트, 마우스, 비인간 영장류 및 인간을 포함한 영장류를 포함한다.

[0224] 본 개시내용 전체에 걸쳐, 다양한 실시양태가 범위 형식으로 제시된다. 범위 형식의 기재는 단지 편의와 간결성을 위한 것이며, 임의의 실시양태의 범위에 대한 불가변적 제한으로서 해석되지 않아야 한다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 문맥이 달리 명시하지 않은 한, 범위의 기재는 모든 가능한 하위범위뿐만 아니라, 그 범위 내의 개별 수치 값도 하한의 단위의 10분의 1까지 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 예를 들면, 1 내지 6과 같은 범위의 기재는 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등과 같은 하위범위뿐만 아니라, 그 범위 내의 개별 값, 예를 들면 1.1, 2, 2.3, 5 및 5.9도 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 이것은 범위의 폭과 관계없이 적용된다. 이들 개재 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 더 작은 범위 내에 포함될 수 있고, 언급된 범위 내에서 임의의 특별히 배제된 한계가 있음을 조건으로, 본 발명 내에도 포함된다. 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우, 문맥이 달리 명시하지 않은 한, 포함된 한계 중 어느 하나 또는 둘 다를 배제하는 범위도 본 발명 내에 포함된다.

[0225] 본 명세서 및 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 달리 언급되지 않는 한, 용어 "약" 및 "대략" 또는 "실질적으로"는 실시양태에 따라 수치 값의 +/- 0.1%, +/- 1%, +/- 2%, +/- 3%, +/- 4%, +/- 5%, +/- 6%, +/- 7%, +/- 8%, +/- 9%, +/- 10%, +/- 11%, +/- 12%, +/- 14%, +/- 15%, 또는 +/- 20% 이하의 변동(그 안의 증분을 포함)을 지칭한다. 비제한적인 예로서, 약 100 나노미터(nm)는 실시양태에 따라 (100 나노미터의 +/- 5%인) 95 나노미터 내지 105 나노미터, (100 나노미터의 +/- 10%인) 90 나노미터 내지 110 나노미터, 또는 (100 나노미터의 +/- 15%인) 85 나노미터 내지 115 나노미터의 범위를 나타낸다.

[0226] 특정 실시양태 및 실시예가 전술한 설명에 제공되어 있지만, 본 발명의 주제 대상은 구체적으로 개시된 실시양태를 넘어 다른 대안적인 실시양태 및/또는 용도, 그리고 이의 변형 및 등가물로 확장된다. 본원에 개시된 임의의 방법 또는 공정에서, 방법 또는 공정의 행위 또는 동작은 임의의 적절한 순서로 수행될 수 있고, 반드시 임의의 특정한 개시된 순서로 제한되지는 않는다. 다양한 동작들이 청구된 주제를 이해하는데 가장 도움이 되는 방식으로, 다수의 별개의 동작들로서 차례로 설명될 수 있다; 그러나, 설명의 순서는 이들 동작들이 반드시 순서 의존적임을 의미하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 추가적으로, 본원에 설명된 구조, 시스템, 및/또는 디바이스는 통합된 성분으로서 또는 별도의 성분으로서 구현될 수 있다.

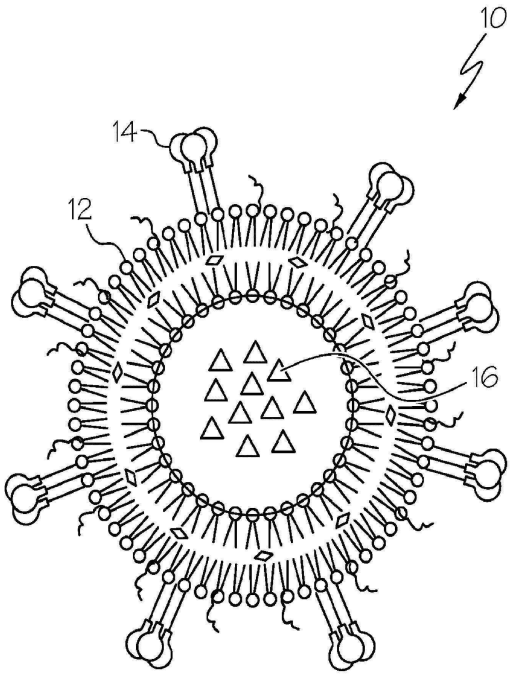
[0227] 다양한 실시양태를 비교하기 위해, 이들 실시양태의 특정 양상 및 이점이 설명된다. 이러한 모든 양상 또는 이

점이 임의의 특정한 실시양태에 의해 반드시 달성되는 것은 아니다. 따라서, 예를 들어, 다양한 실시양태는 본원에 교시되거나 제안될 수도 있는 다른 양상 또는 이점을 반드시 달성하지 않으면서 본원에 교시된 하나의 이점 또는 이점들의 군을 달성하거나 최적화하는 방식으로 수행될 수 있다.

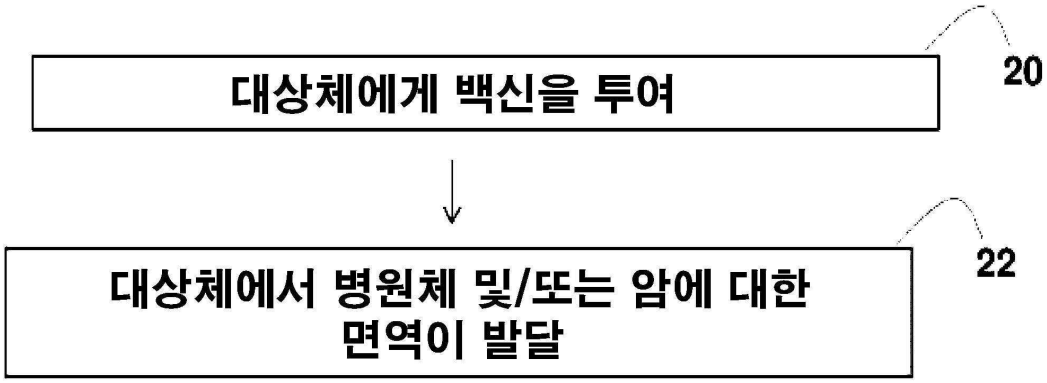
[0228] 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 도시되고 설명되었지만, 이러한 실시양태가 단지 예로서 제공된다는 것이 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명에서 벗어나지 않으면서 다양한 변형, 변경, 및 대체가 당업자에게 안출될 것이다. 본원에 설명된 본 발명의 실시양태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 이용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 하기 청구범위가 본 발명의 범위를 한정하고, 이러한 청구범위 내의 방법 및 구조 및 그 등가물이 그에 의해 커버되는 것으로 의도된다.

도면

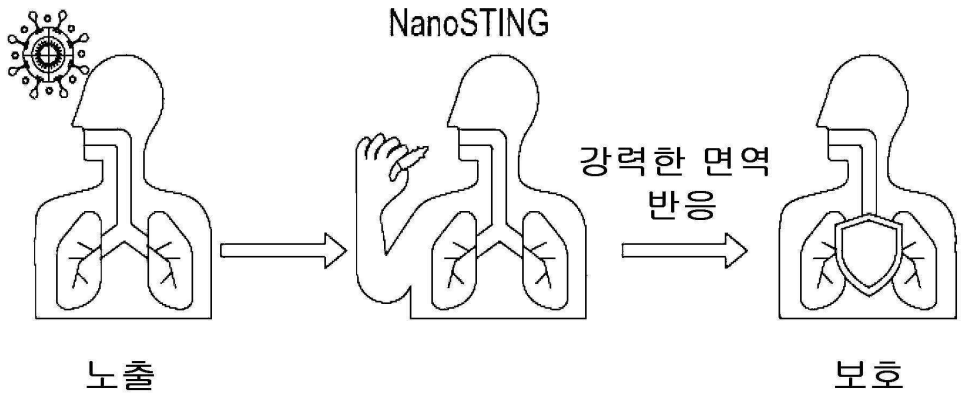
도면1



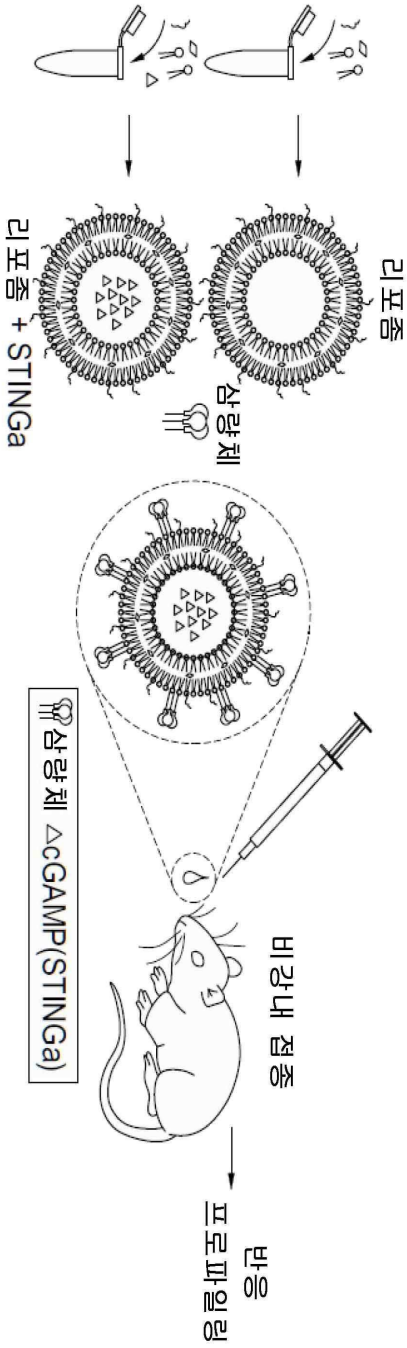
도면2a



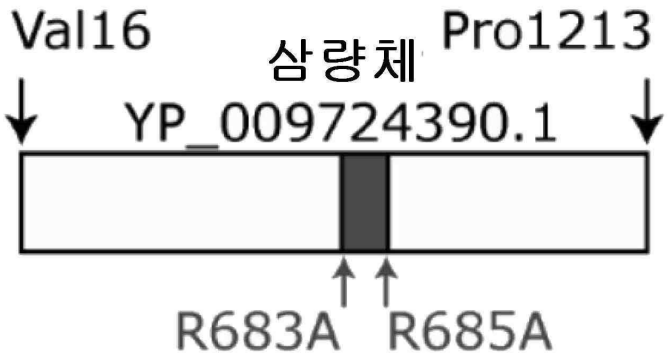
도면2b



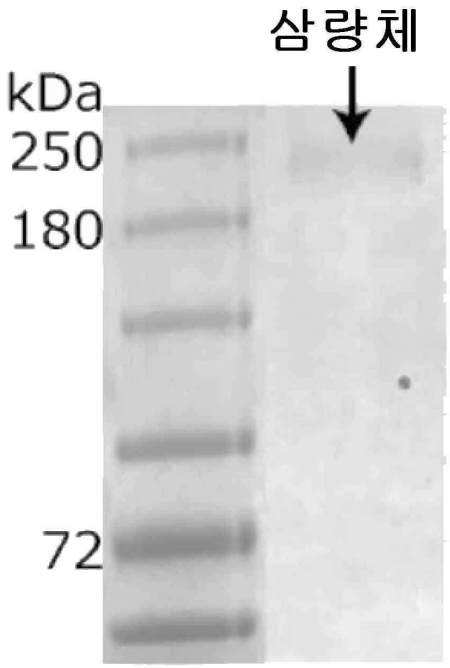
도면3



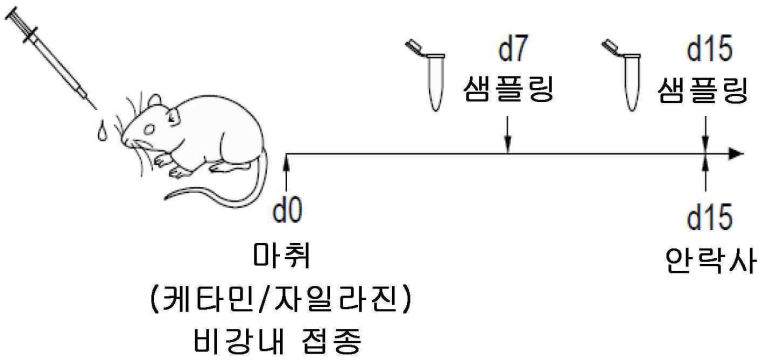
도면4a



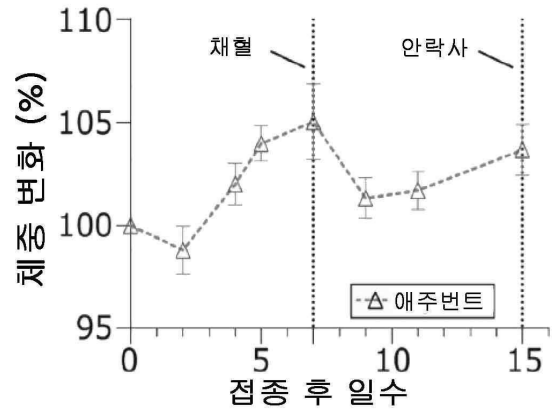
도면4b



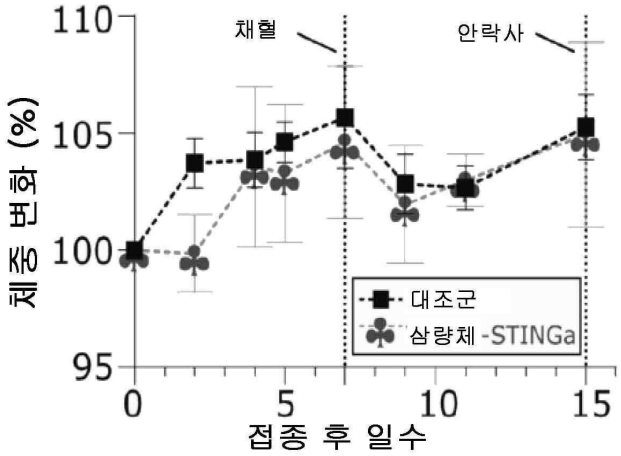
도면5a



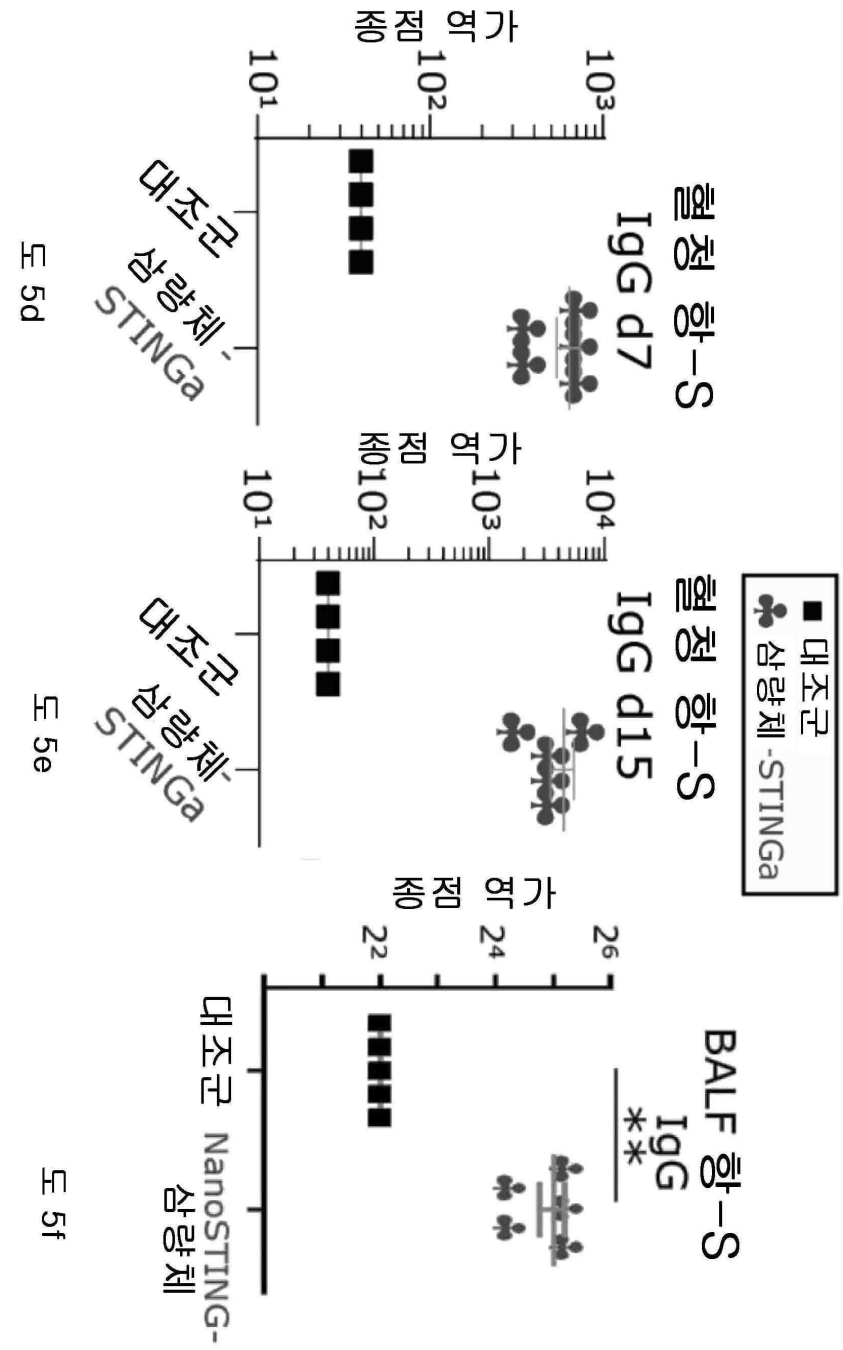
도면5b


110
105
100
95
체중 변화 (%)
채혈
안락사
애주번트
0
5
10
15
접종 후 일수

도면5c


110
105
100
95
체중 변화 (%)
채혈
안락사
대조군
삼량체 -STINGa
0
5
10
15
접종 후 일수

도면5d

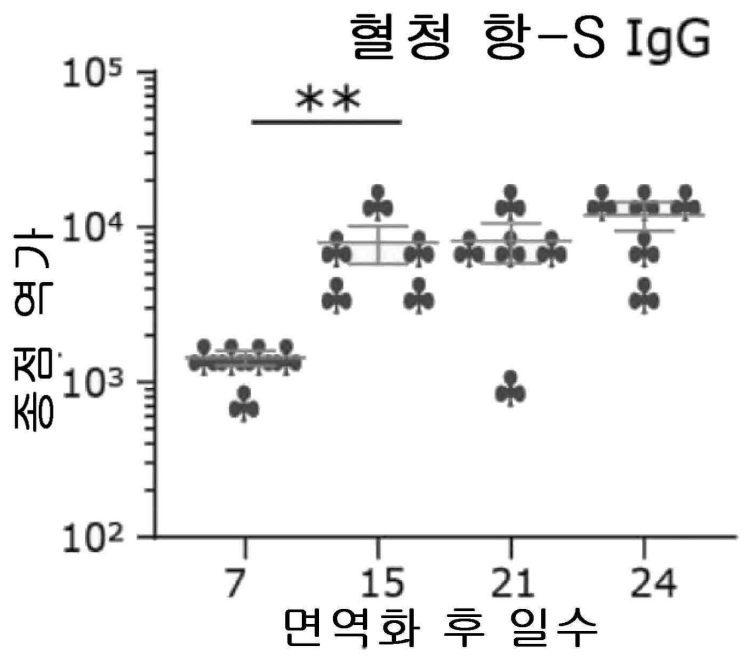


도 5d

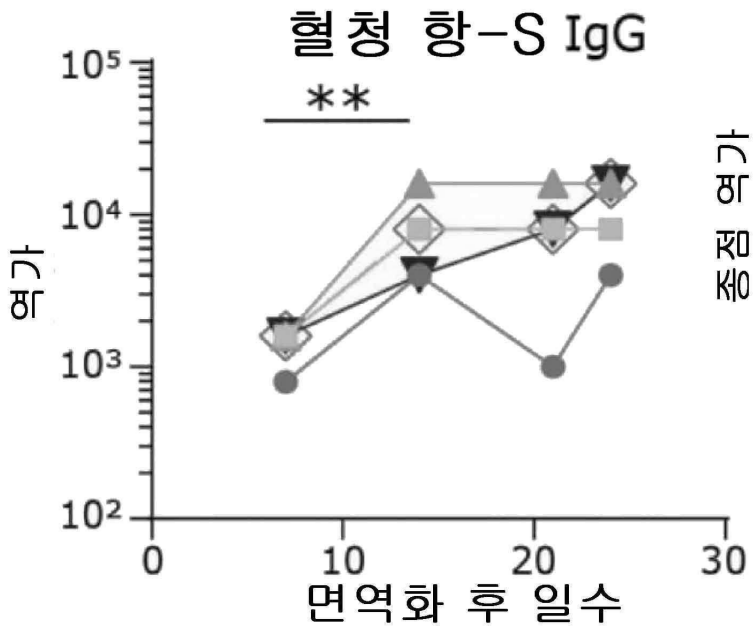
도 5e

도 5f

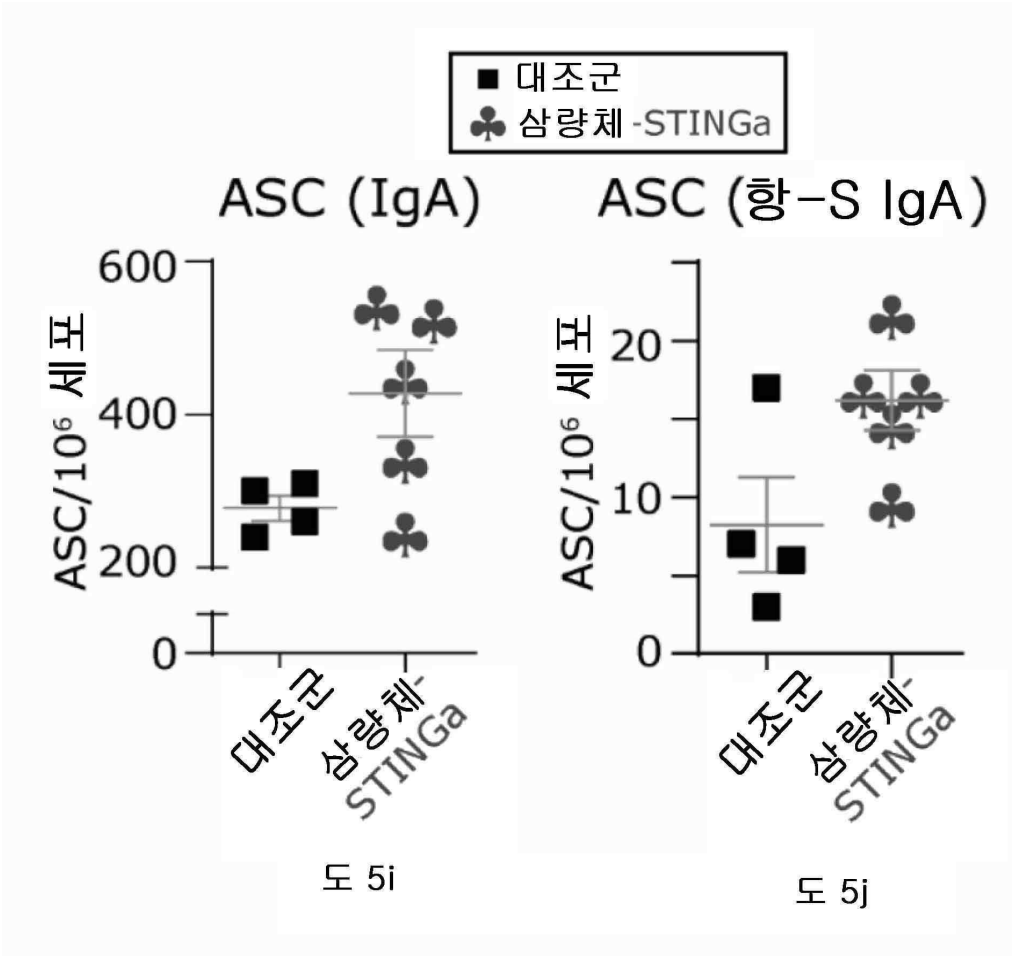
도면5g


혈청 항-S IgG
**
10^5
10^4
10^3
10^2
역가
7
15
21
24
면역화 후 일수

도면5h


혈청 항-S IgG
**
10^5
10^4
10^3
10^2
역가
역가
0
10
20
30
면역화 후 일수

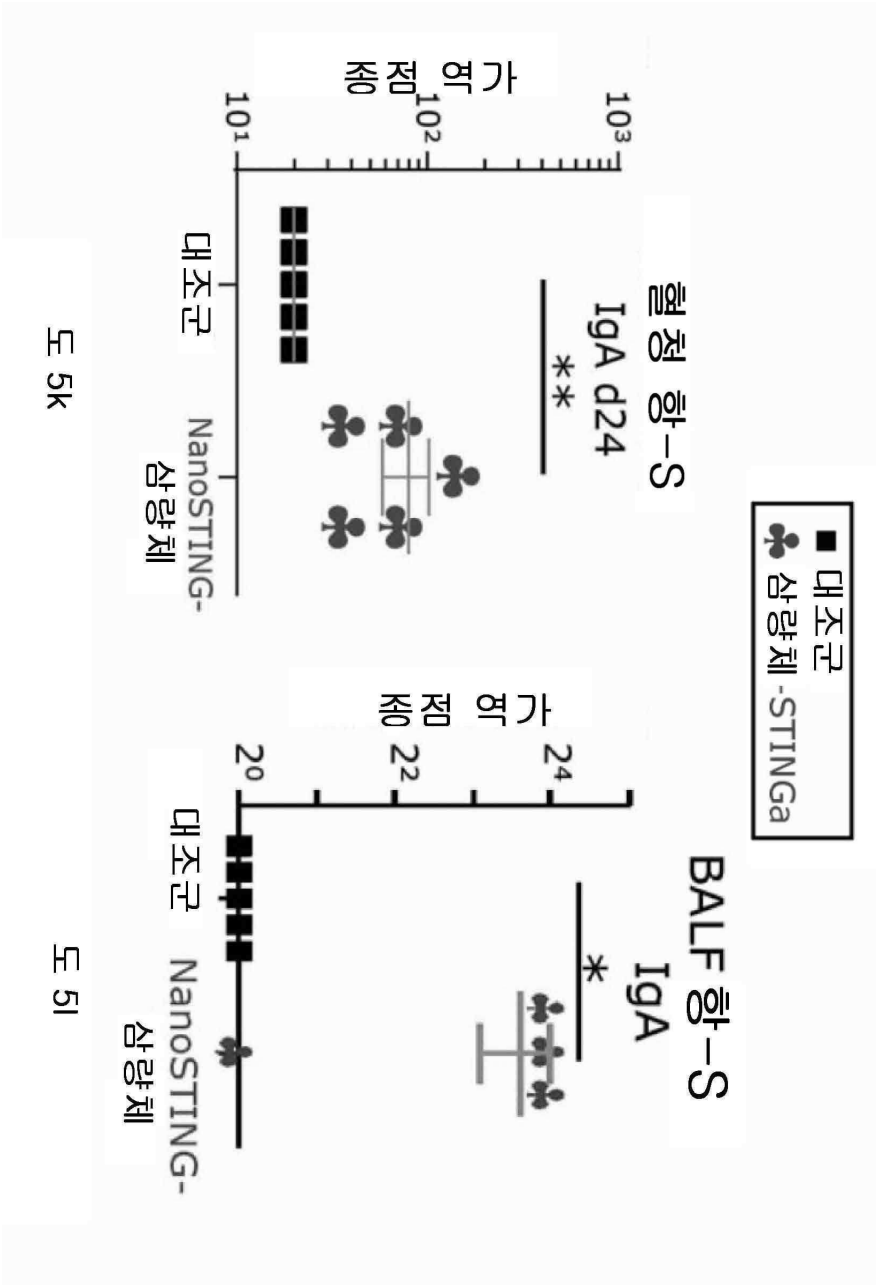
도면5i


대조군
삼량체-STINGa
ASC (IgA)
ASC (항-S IgA)
ASC/10⁶ 세포
600
400
200
0
20
10
대조군
삼량체-STINGa

도 5i

도 5j

도면5k

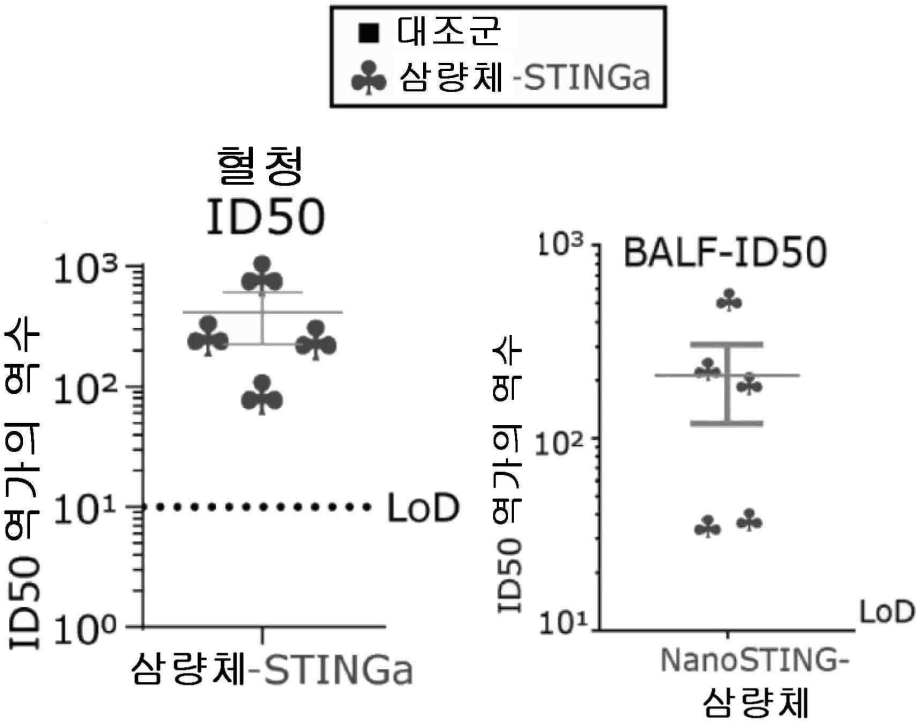


■ 대조군
삼량체 -STINGa
혈청 항-S
IgA d24
**
종점 역가
10^1
10^2
10^3
대조군
NanoSTING-
삼량체
BALF 항-S
IgA
*
종점 역가
2^0
2^2
2^4
대조군
NanoSTING-
삼량체

도 5k

도 5l

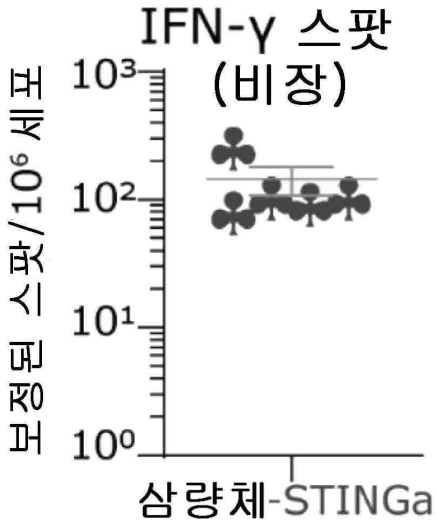
도면5m



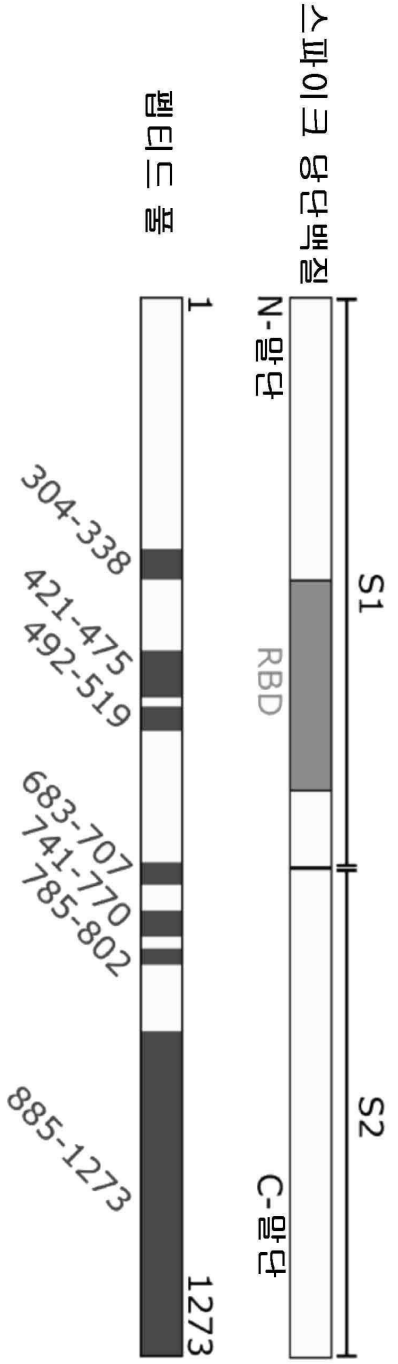
도 5m

도 5n

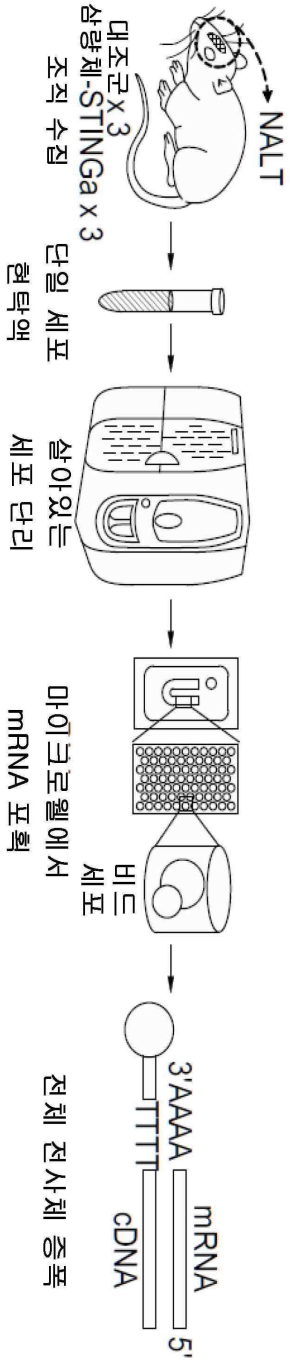
도면5o



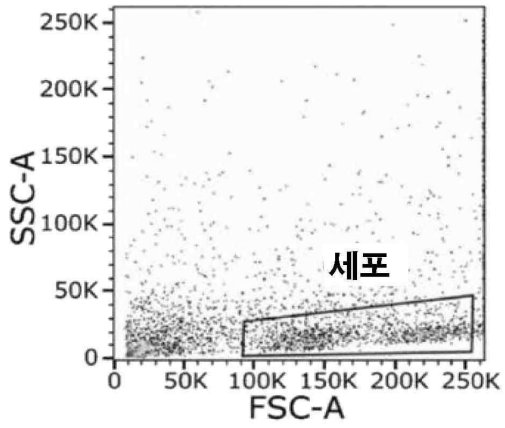
도면5p


스파이크 당단백질
펩티드 풀
N-말단
RBD
S1
S2
C-말단
1
1273
304-338
421-475
492-519
683-707
741-770
785-802
885-1273

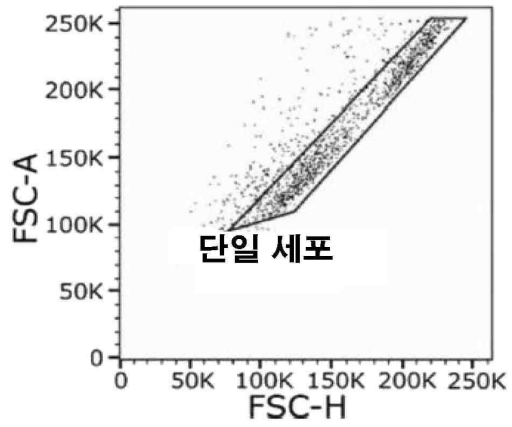
도면6a


NALT
대조군x 3
삼량체-STINGa x 3
조직 수집
단일 세포
혈탁액
살아있는
세포 단리
마이크로웰에서
mRNA 포획
비드
세포
3'AAAA
TTTT
cDNA
mRNA
5'
전체 전사체 증폭

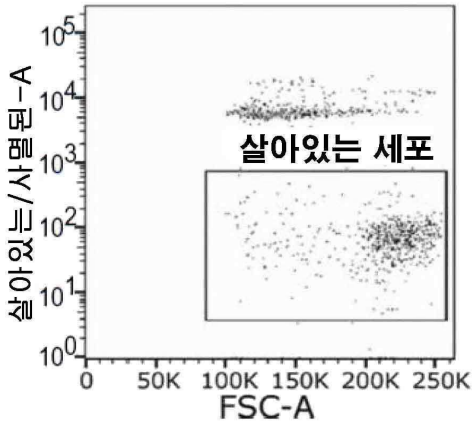
도면6b



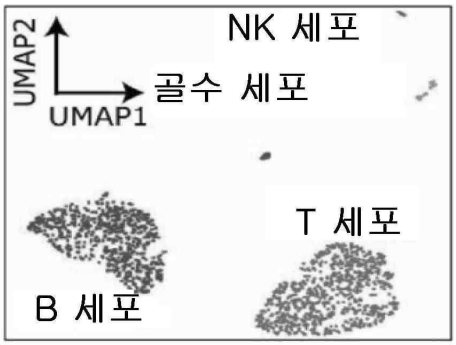
도면6c



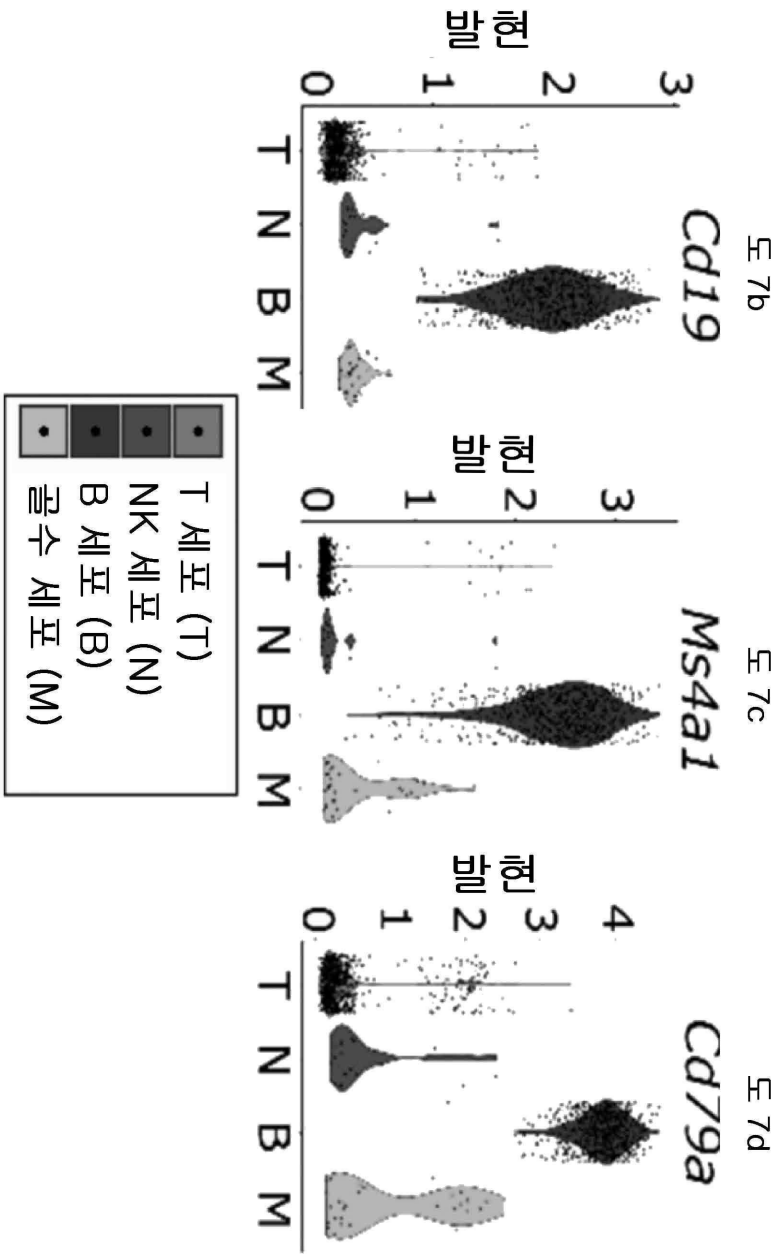
도면6d



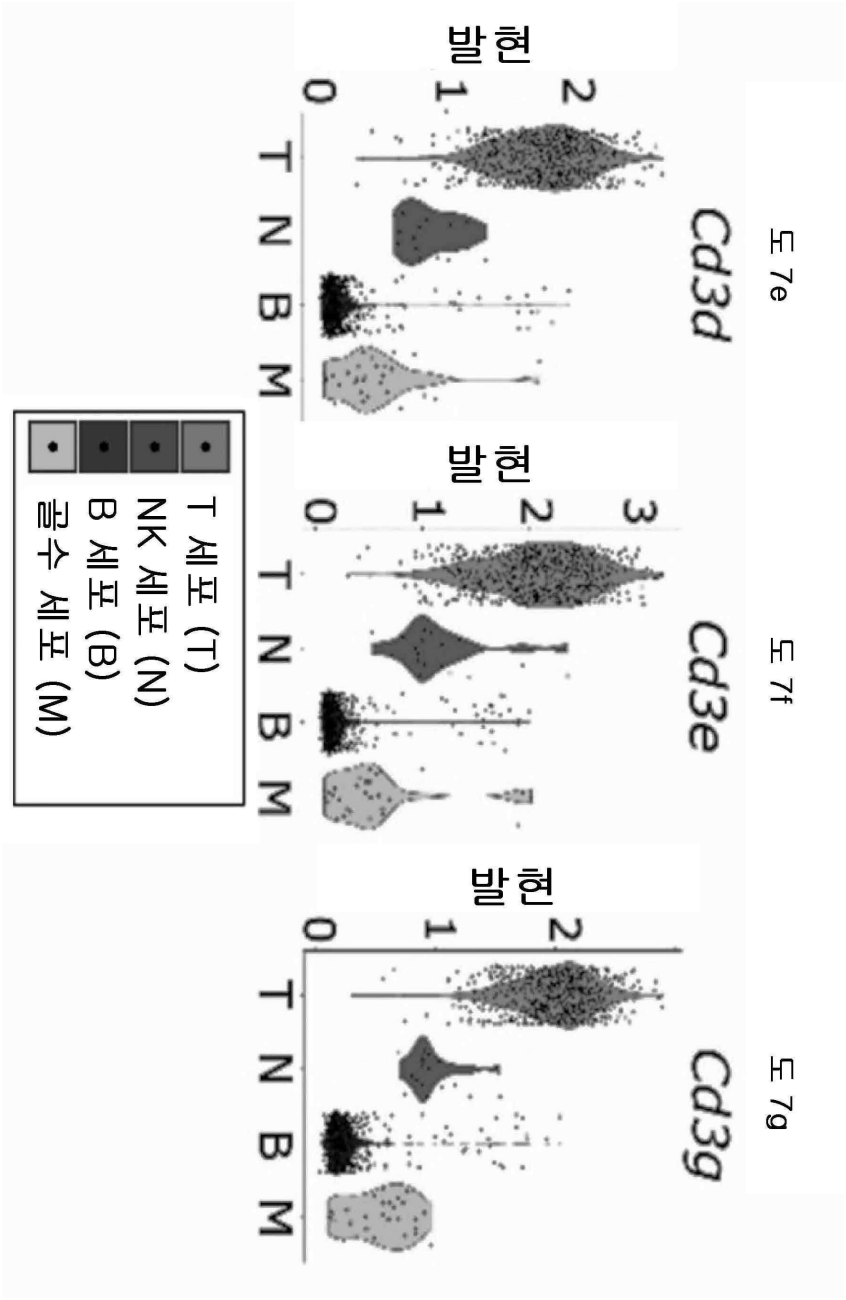
도면7a


UMAP2
UMAP1
NK 세포
골수 세포
T 세포
B 세포

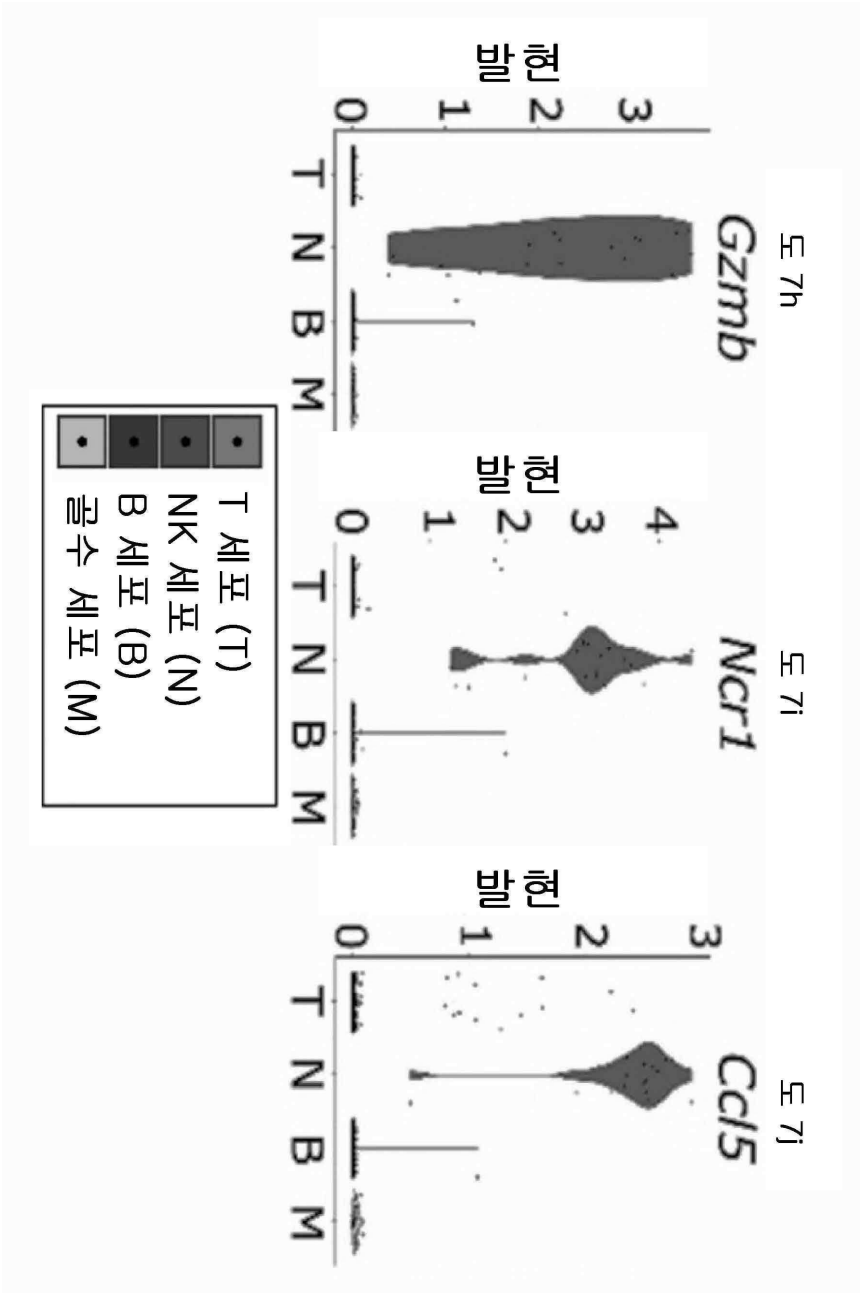
도면7b


발현
0
1
2
3
T
N
B
M
Cd19
도 7b
발현
0
1
2
3
T
N
B
M
Ms4a1
도 7c
발현
0
1
2
3
4
T
N
B
M
Cd79a
도 7d
T 세포 (T)
NK 세포 (N)
B 세포 (B)
골수 세포 (M)

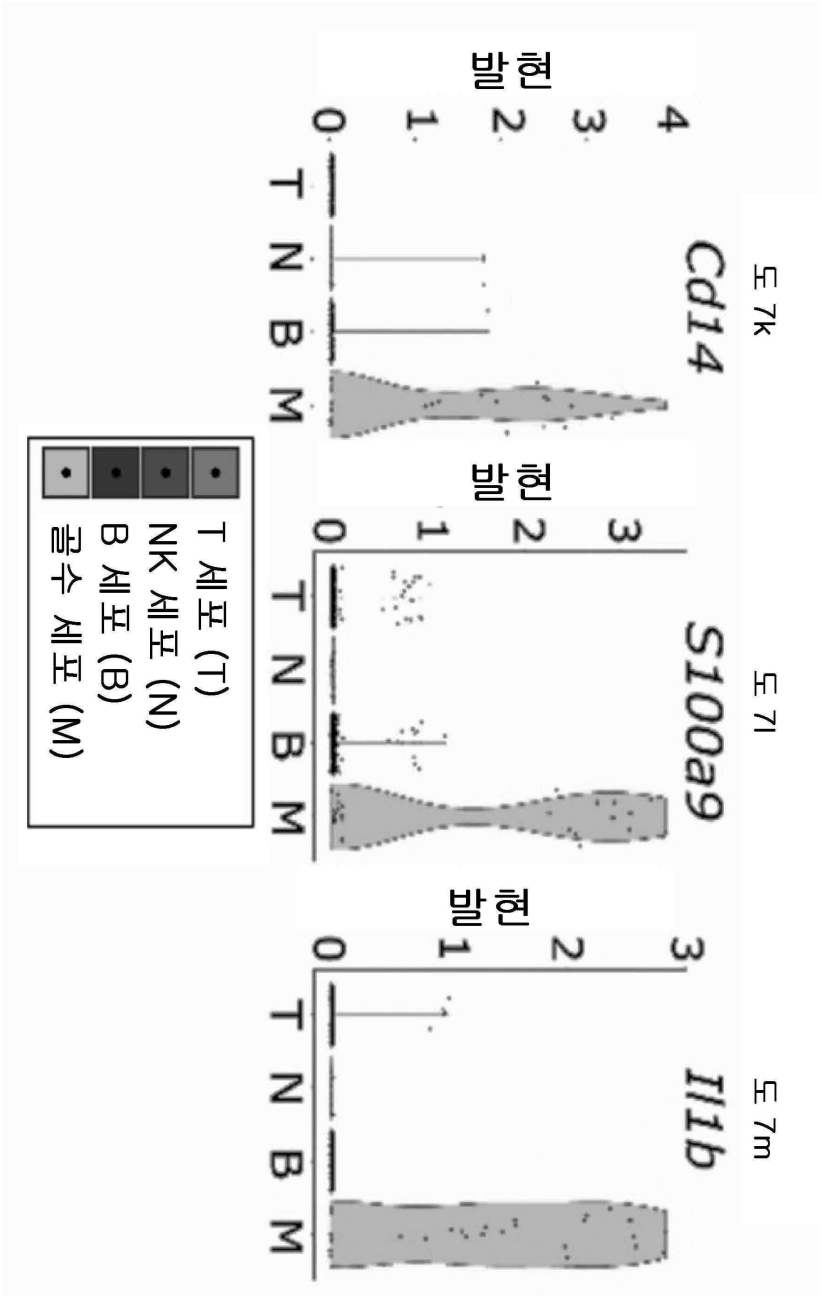
도면7e


발현
Cd3d
T N B M
도 7e
발현
Cd3e
T N B M
도 7f
발현
Cd3g
T N B M
도 7g
T 세포 (T)
NK 세포 (N)
B 세포 (B)
골수 세포 (M)

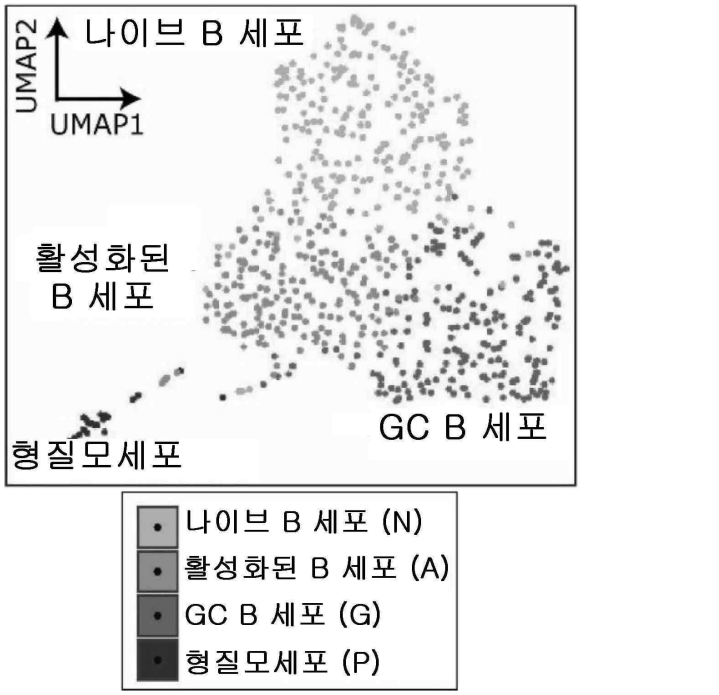
도면7h


도 7h
Gzmb
발현
0
1
2
3
T N B M
도 7i
Ncr1
발현
0
1
2
3
4
T N B M
도 7j
Ccl5
발현
0
1
2
3
T N B M
T 세포 (T)
NK 세포 (N)
B 세포 (B)
골수 세포 (M)

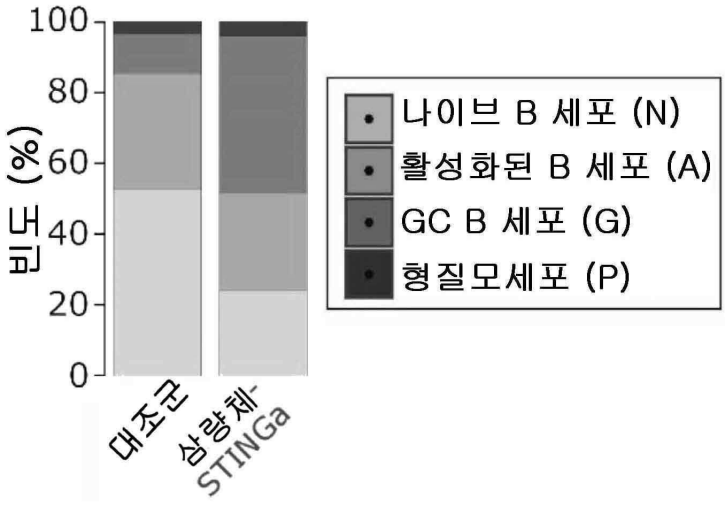
도면7k


발현
0
1
2
3
4
T N B M
Cd14
도 7k
발현
0
1
2
3
T N B M
S100a9
도 7l
발현
0
1
2
3
T N B M
Il1b
도 7m
T 세포 (T)
NK 세포 (N)
B 세포 (B)
골수 세포 (M)

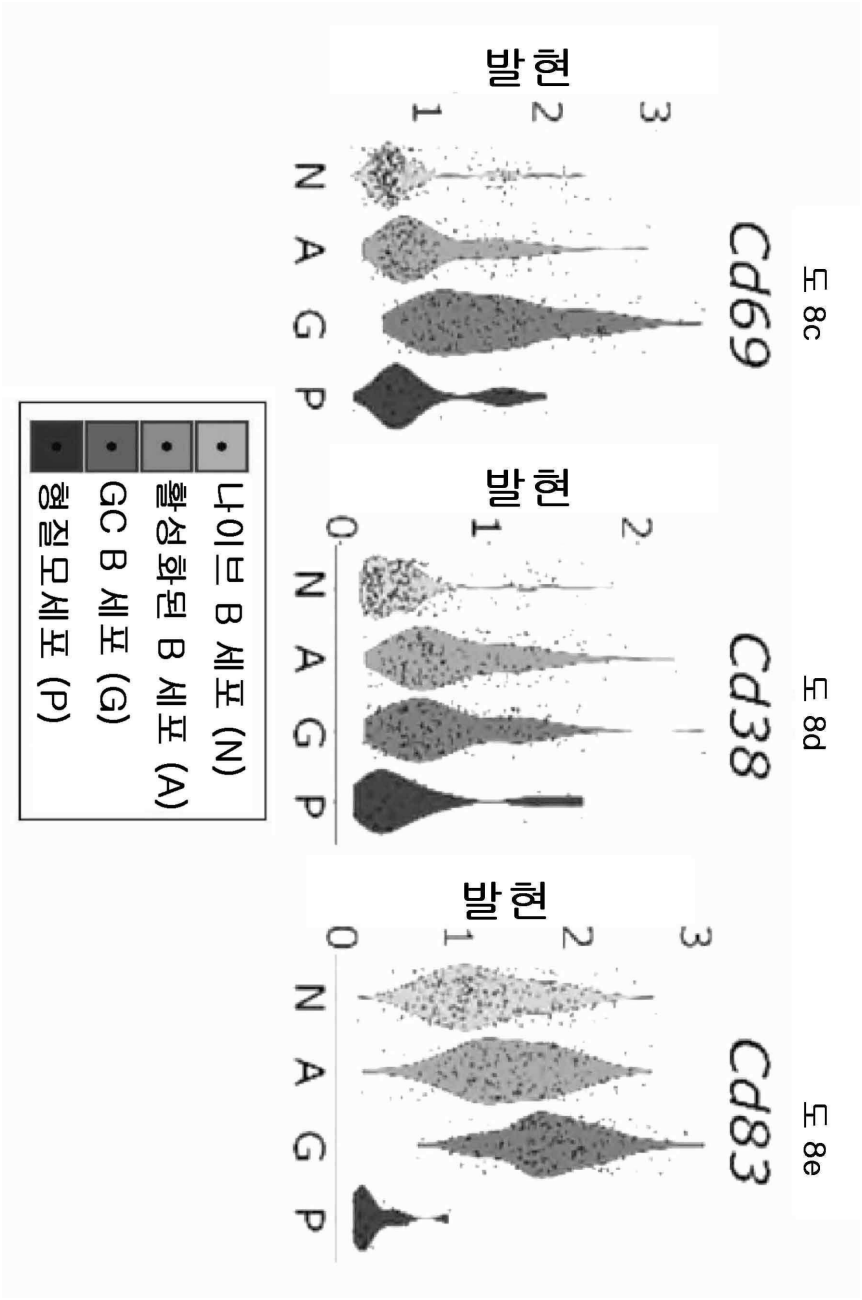
도면8a


UMAP2
UMAP1
나이브 B 세포
활성화된
B 세포
GC B 세포
형질모세포
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)

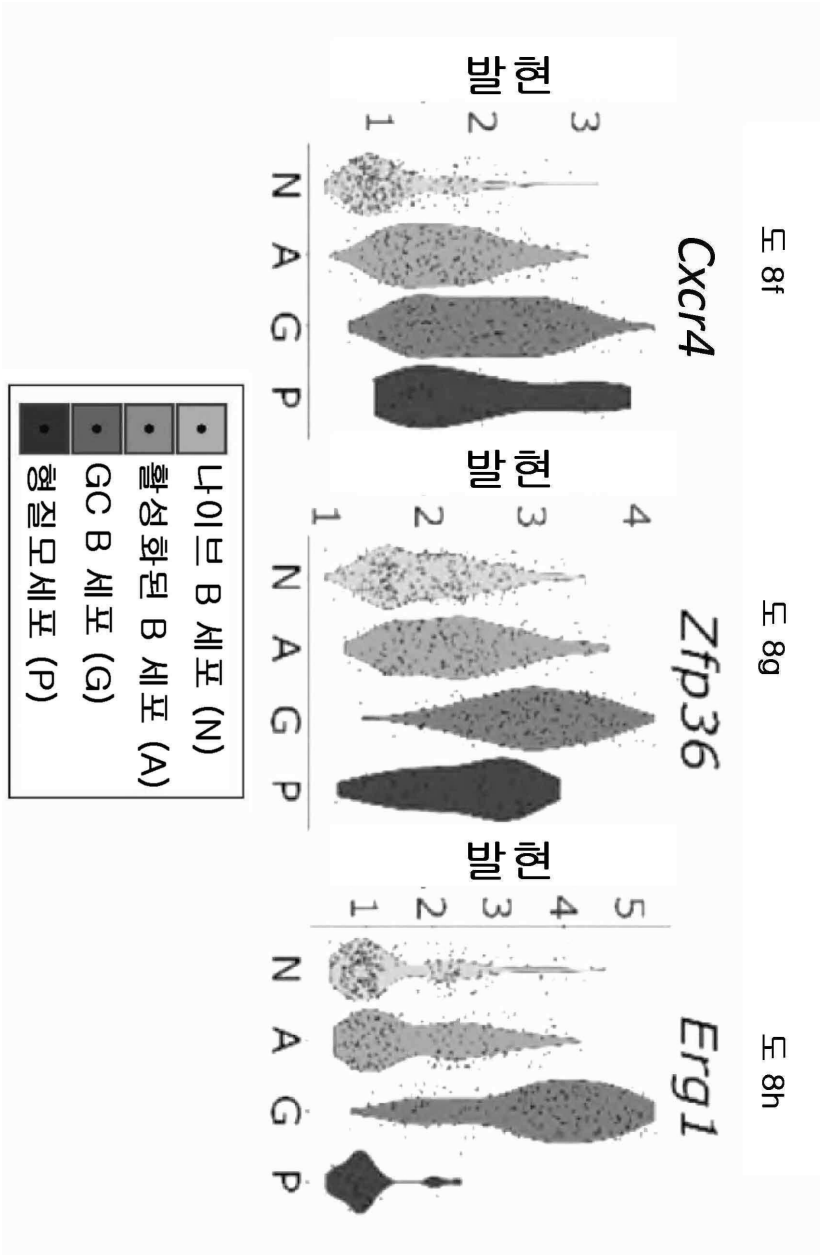
도면8b


100
80
60
40
20
0
비율 (%)
대조군
삼량체-STINGa
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)

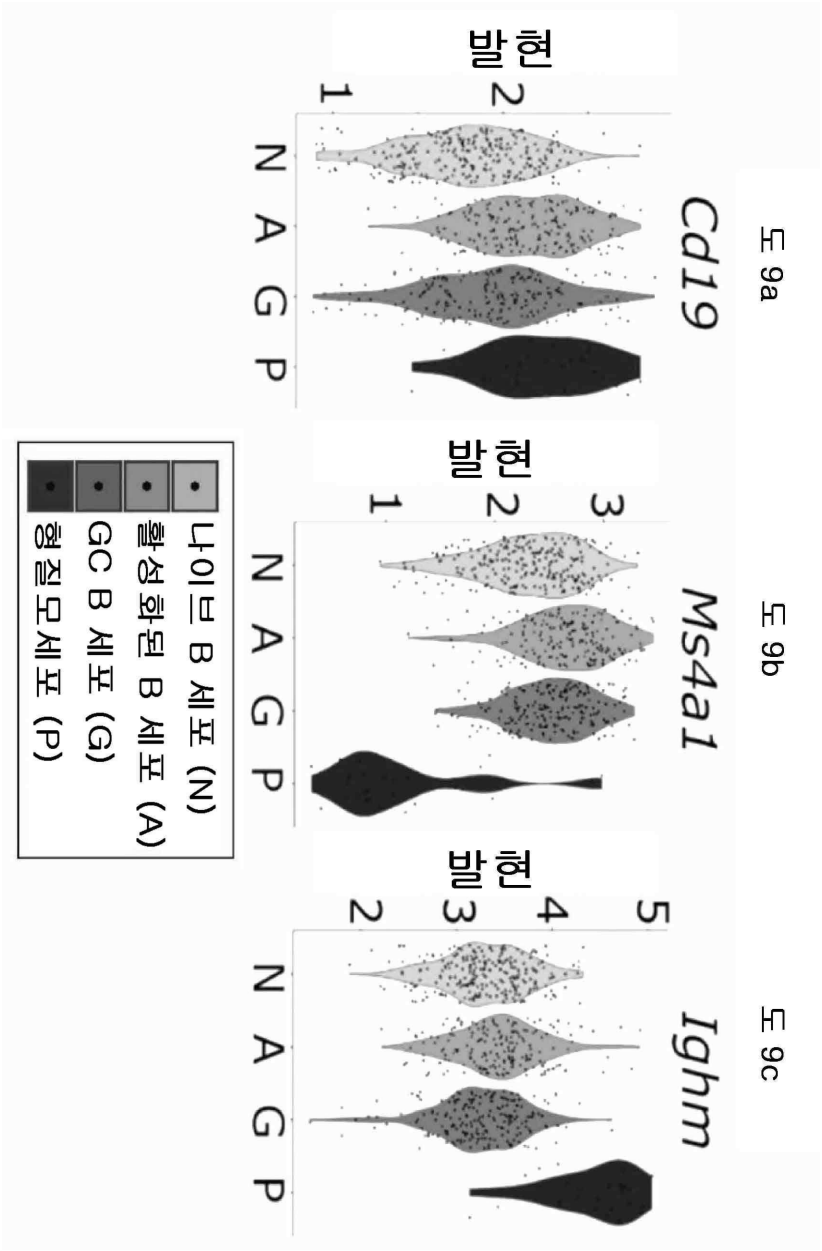
도면8c


발현
Cd69
N A G P
도 8c
발현
Cd38
N A G P
도 8d
발현
Cd83
N A G P
도 8e
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)

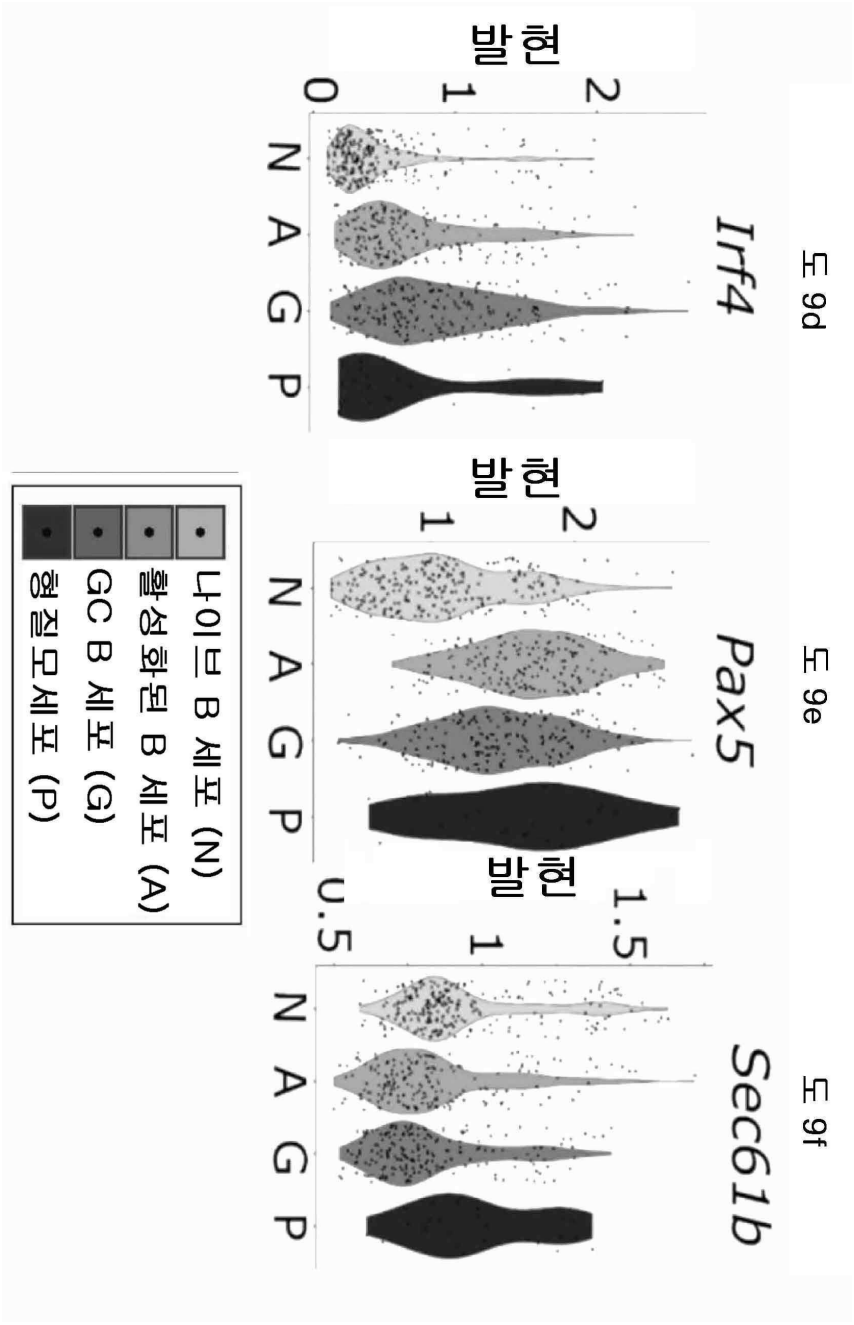
도면8f


발현
Cxcr4
N A G P
1 2 3
도 8f
발현
Zfp36
N A G P
1 2 3 4
도 8g
발현
Erg1
N A G P
1 2 3 4 5
도 8h
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)

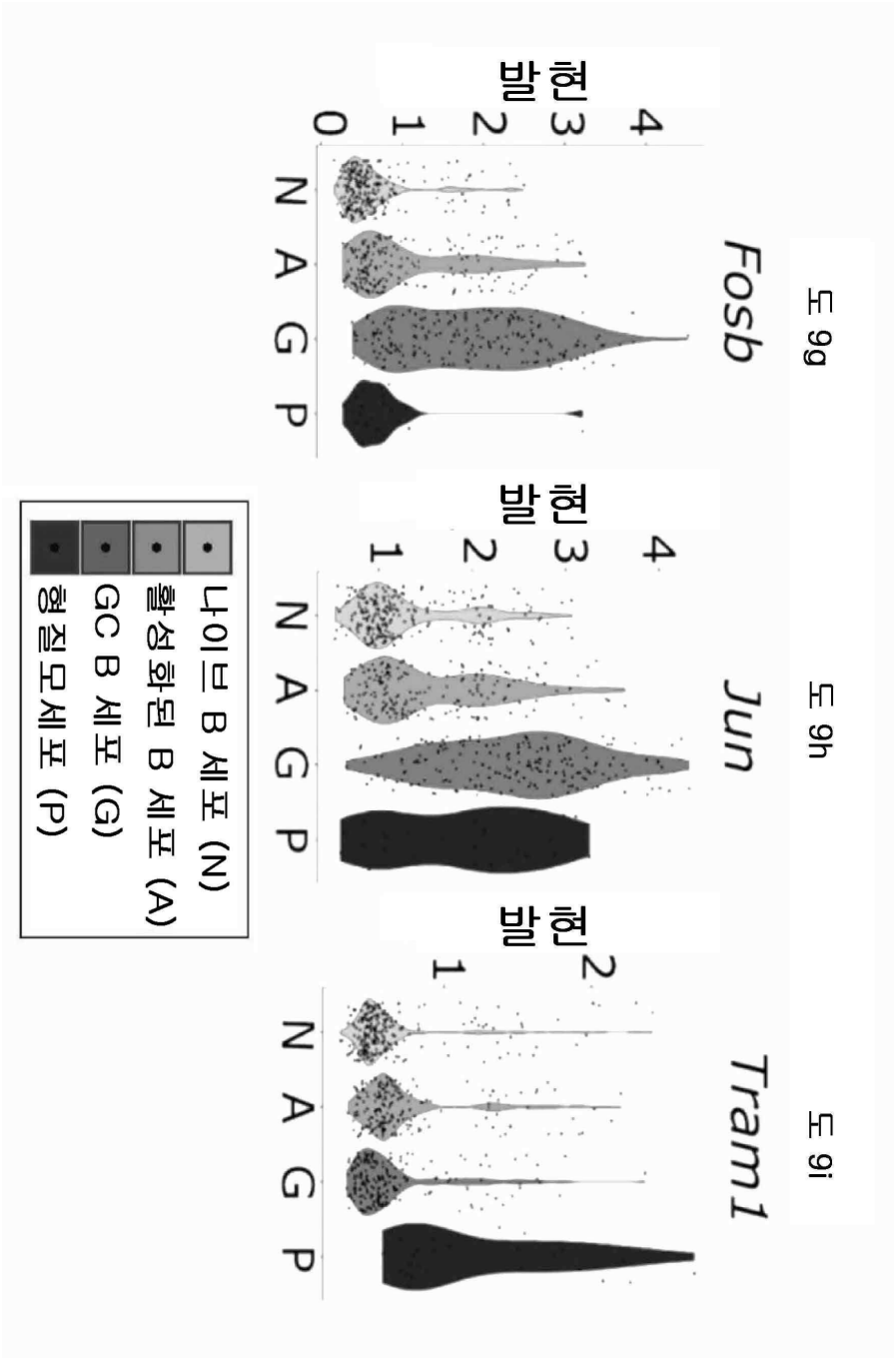
도면9a


발현
1
2
N
A
G
P
Cd19
도 9a
발현
1
2
3
N
A
G
P
Ms4a1
도 9b
발현
2
3
4
5
N
A
G
P
Ighm
도 9c
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)

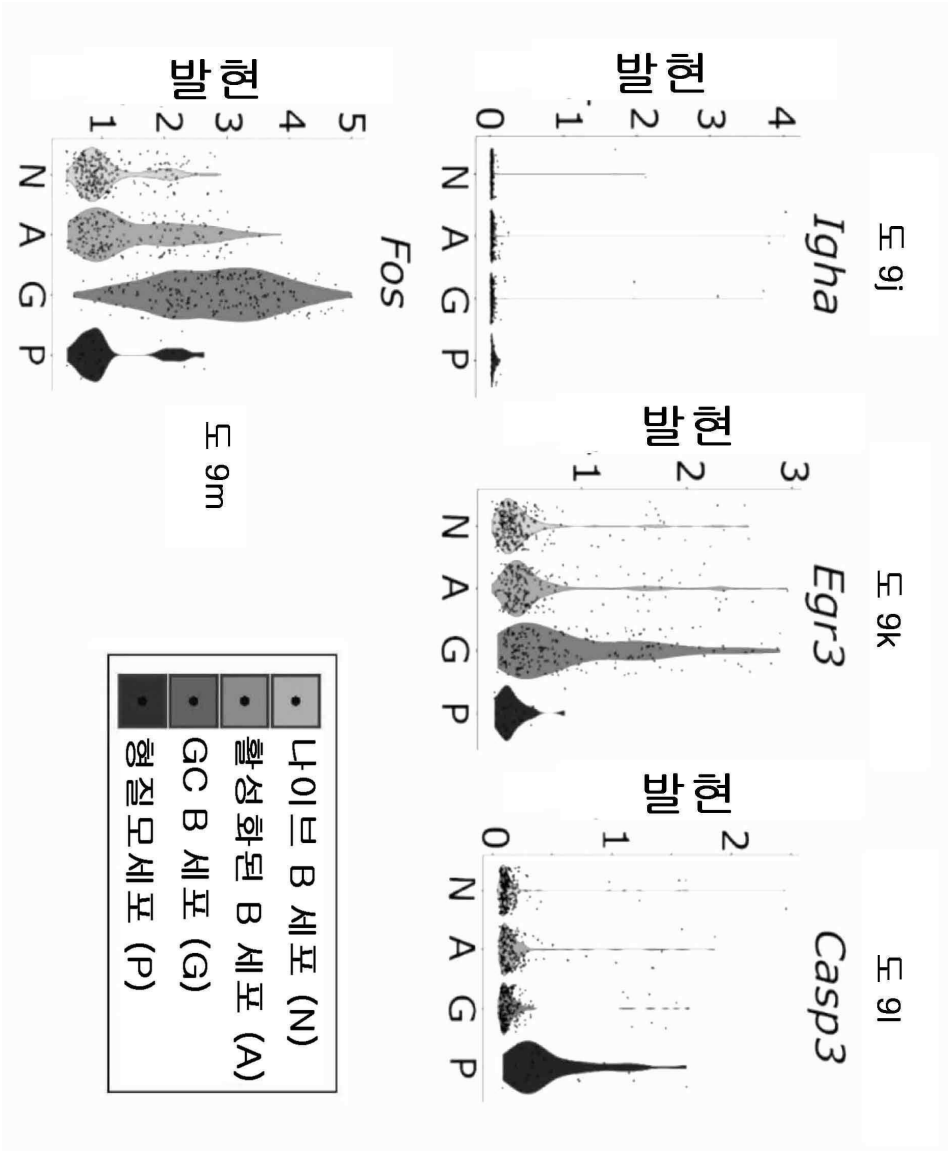
도면9d


발현
Irf4
N A G P
도 9d
발현
Pax5
N A G P
도 9e
발현
Sec61b
N A G P
도 9f
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)

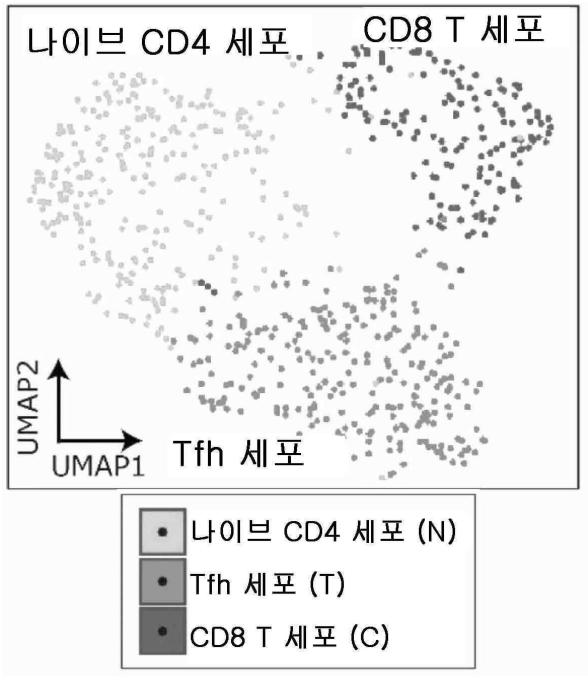
도면9g


Fosb
Jun
Tram1
발현
N A G P
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)
도 9g
도 9h
도 9i

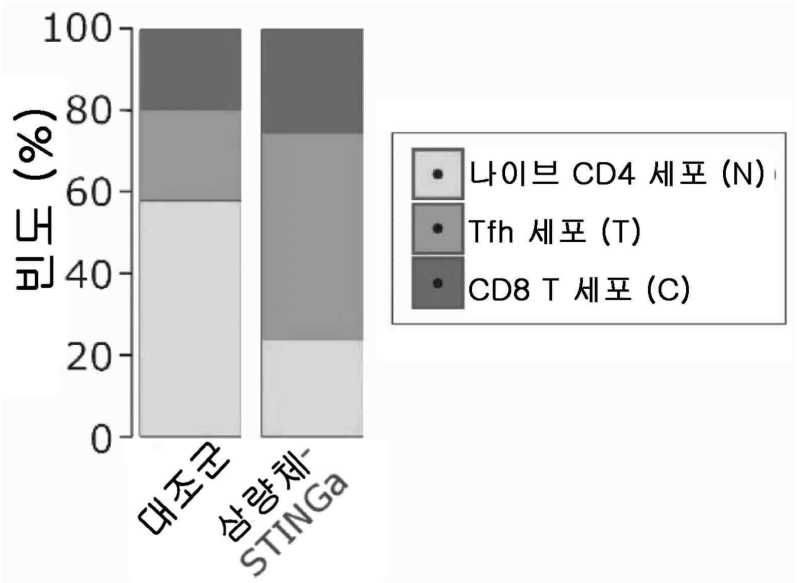
도면9j


도 9i
Igha
발현
0
1
2
3
4
N
A
G
P
도 9k
Egr3
발현
1
2
3
N
A
G
P
도 9l
Casp3
발현
0
1
2
N
A
G
P
도 9m
Fos
발현
1
2
3
4
5
N
A
G
P
나이브 B 세포 (N)
활성화된 B 세포 (A)
GC B 세포 (G)
형질모세포 (P)

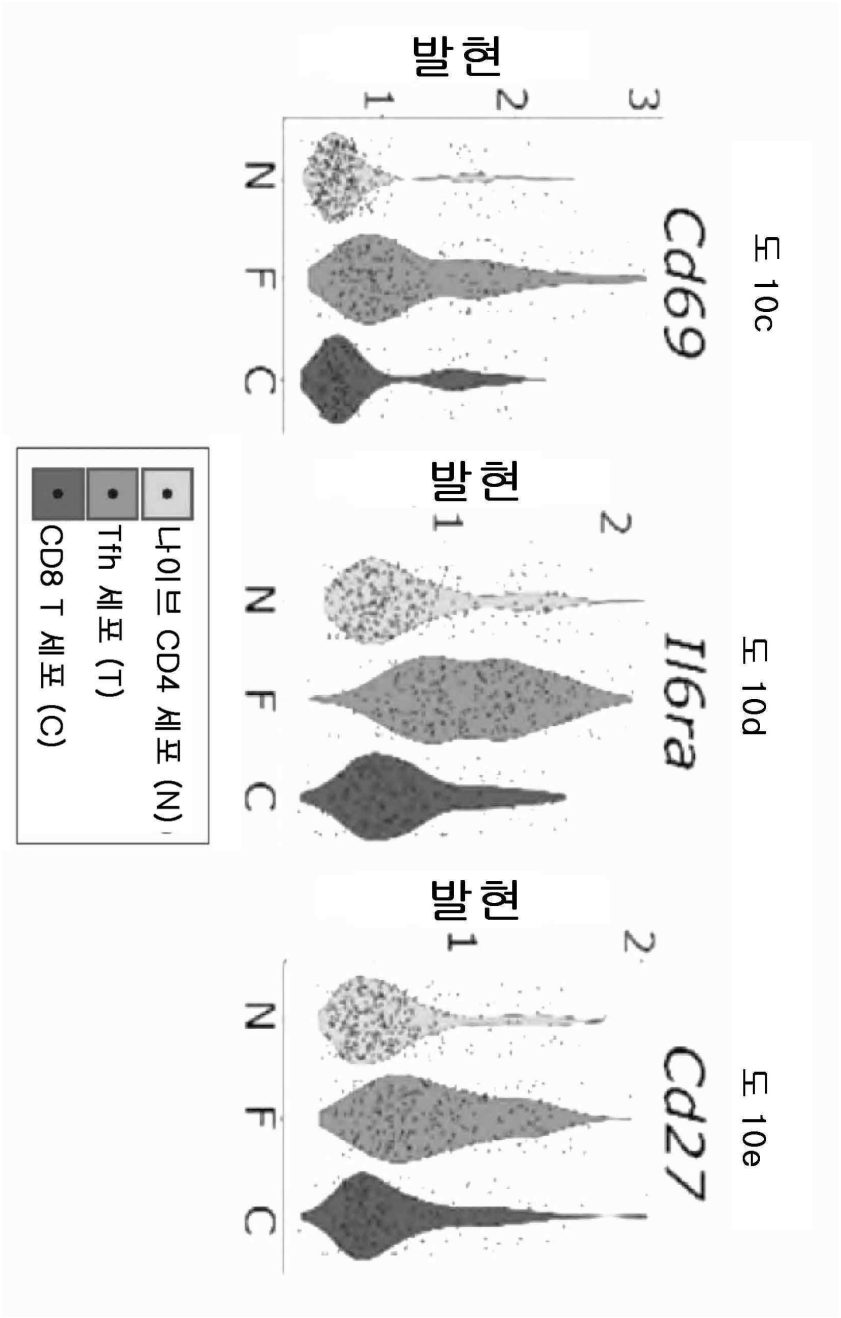
도면10a


나이브 CD4 세포
CD8 T 세포
UMAP2
UMAP1
Tfh 세포
나이브 CD4 세포 (N)
Tfh 세포 (T)
CD8 T 세포 (C)

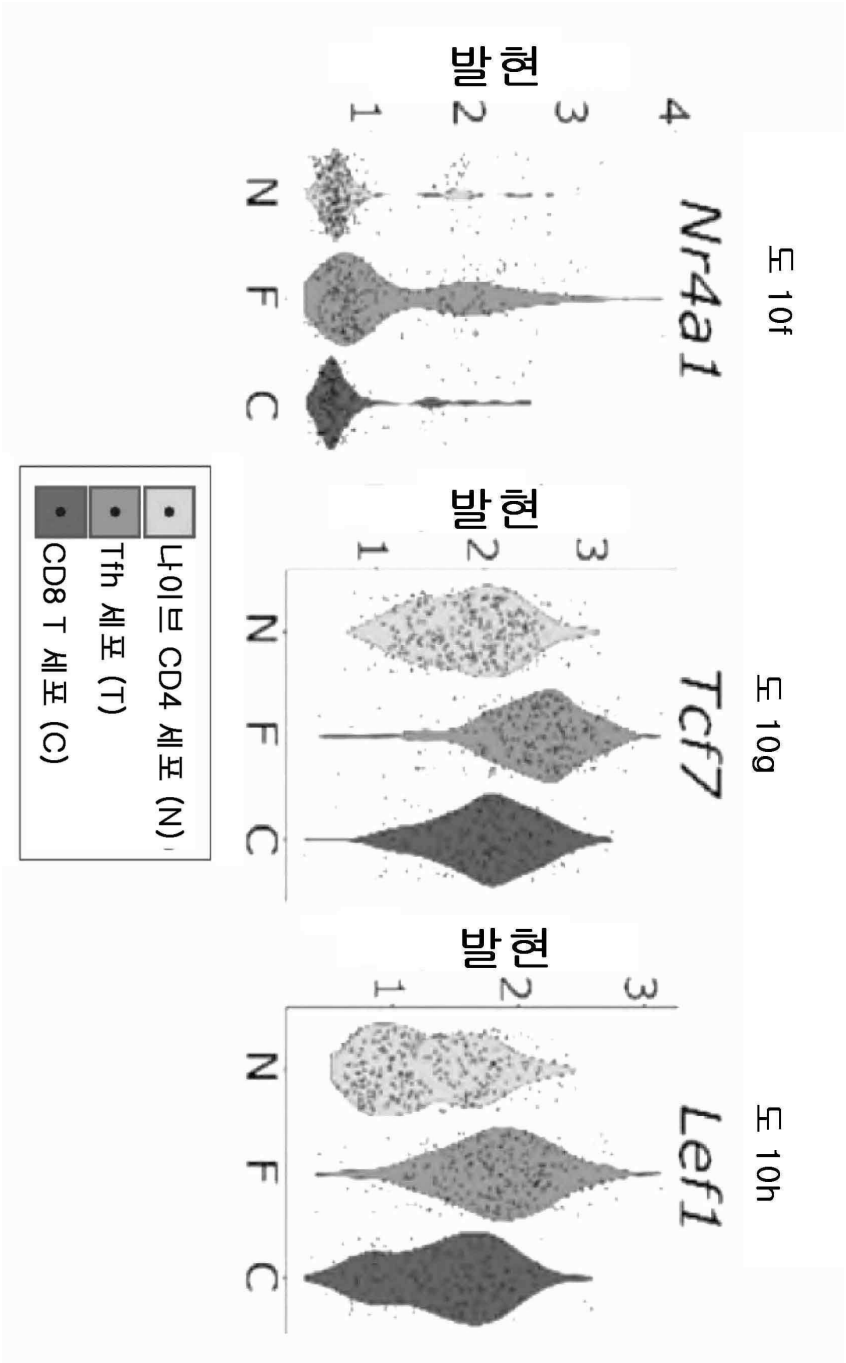
도면10b


100
80
60
40
20
0
빈도 (%)
대조군
삼량체-STINGa
나이브 CD4 세포 (N)
Tfh 세포 (T)
CD8 T 세포 (C)

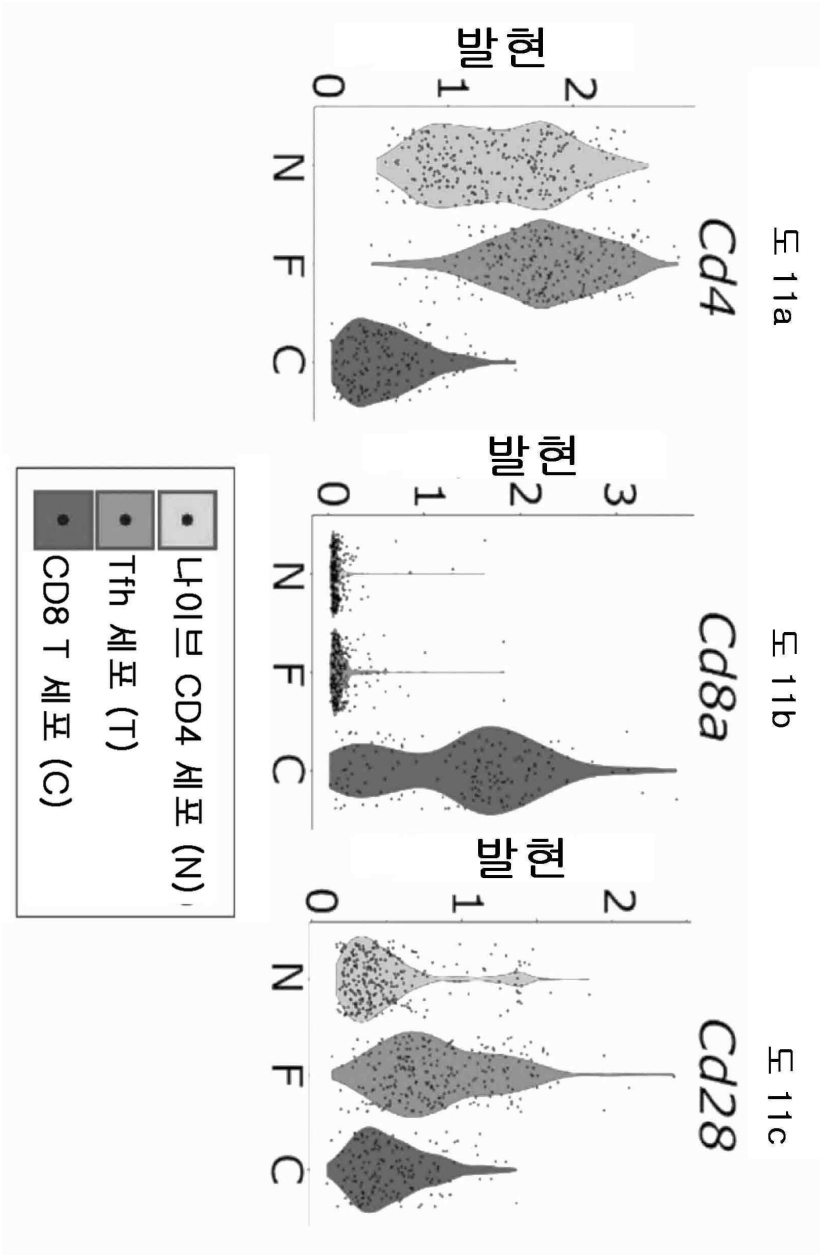
도면10c


발현
1
2
3
N
F
C
Cd69
도 10c
발현
1
2
N
F
C
Il6ra
도 10d
발현
1
2
N
F
C
Cd27
도 10e
나이브 CD4 세포 (N)
Tfh 세포 (T)
CD8 T 세포 (C)

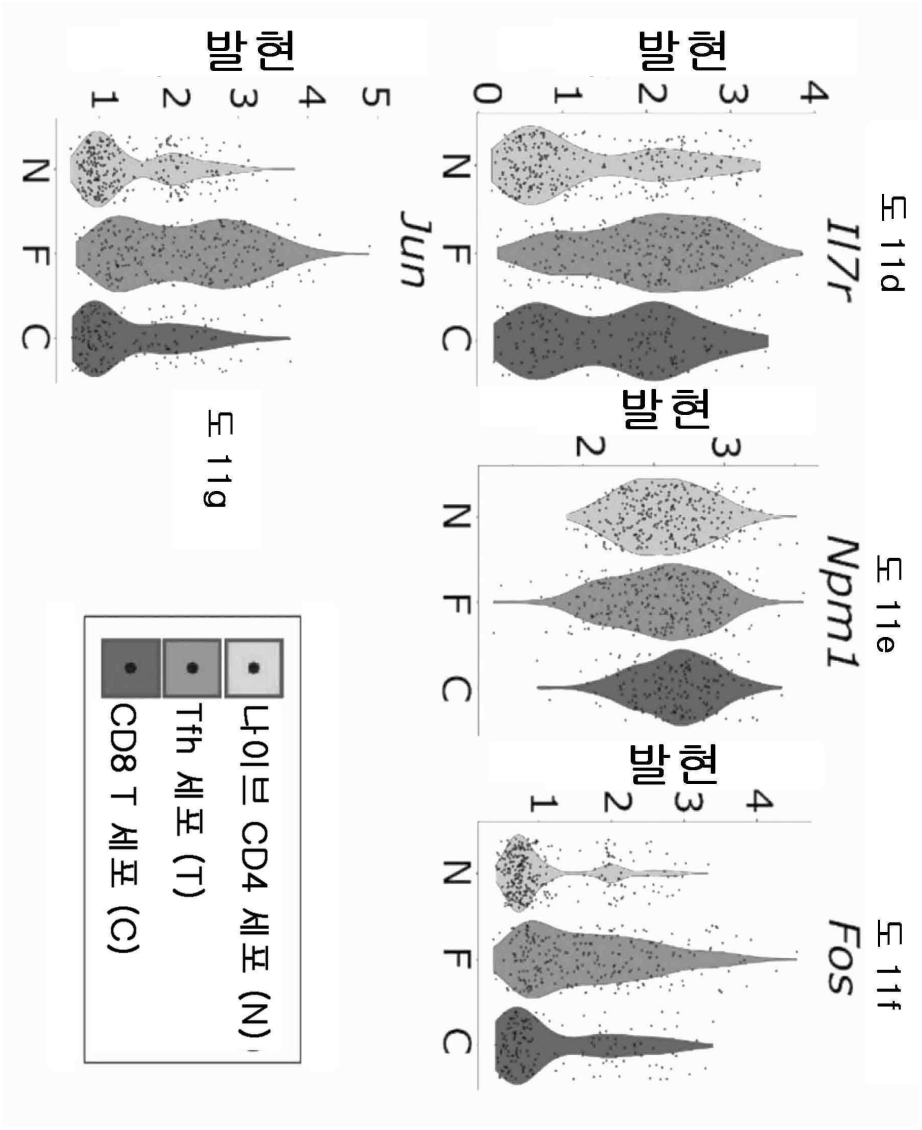
도면10f


발현
1
2
3
4
N
F
C
Nr4a1
도 10f
나이브 CD4 세포 (N)
Tfh 세포 (T)
CD8 T 세포 (C)
발현
1
2
3
N
F
C
Tcf7
도 10g
발현
1
2
3
N
F
C
Lef1
도 10h

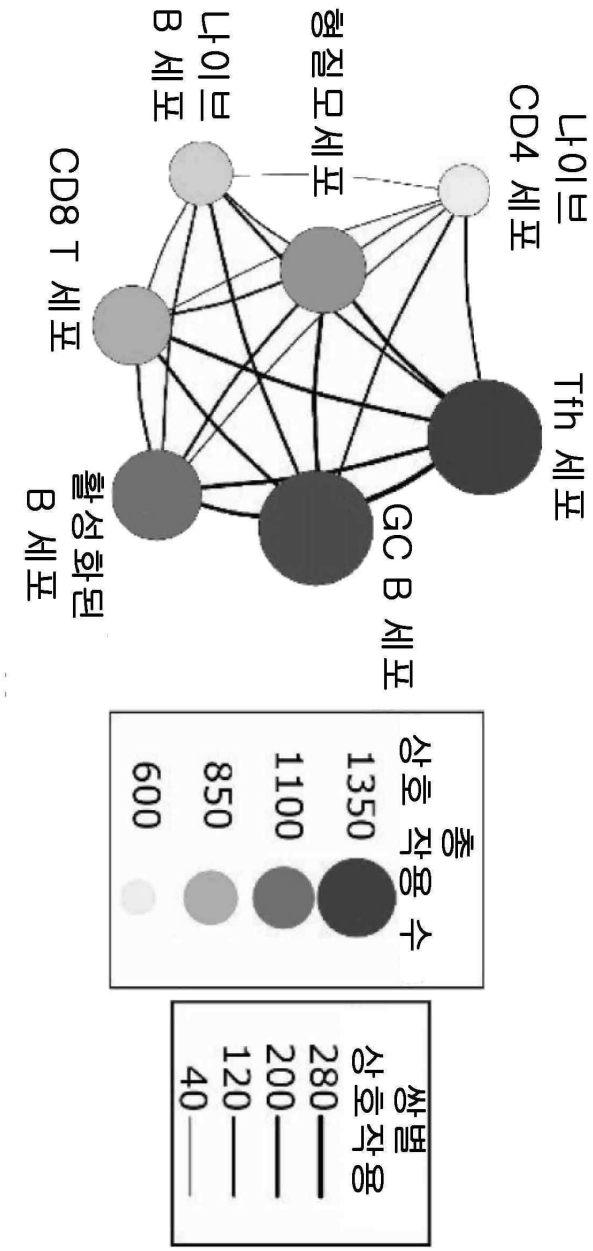
도면11a


발현
Cd4
N
F
C
도 11a
발현
Cd8a
N
F
C
도 11b
발현
Cd28
N
F
C
도 11c
나이브 CD4 세포 (N)
Tfh 세포 (T)
CD8 T 세포 (C)

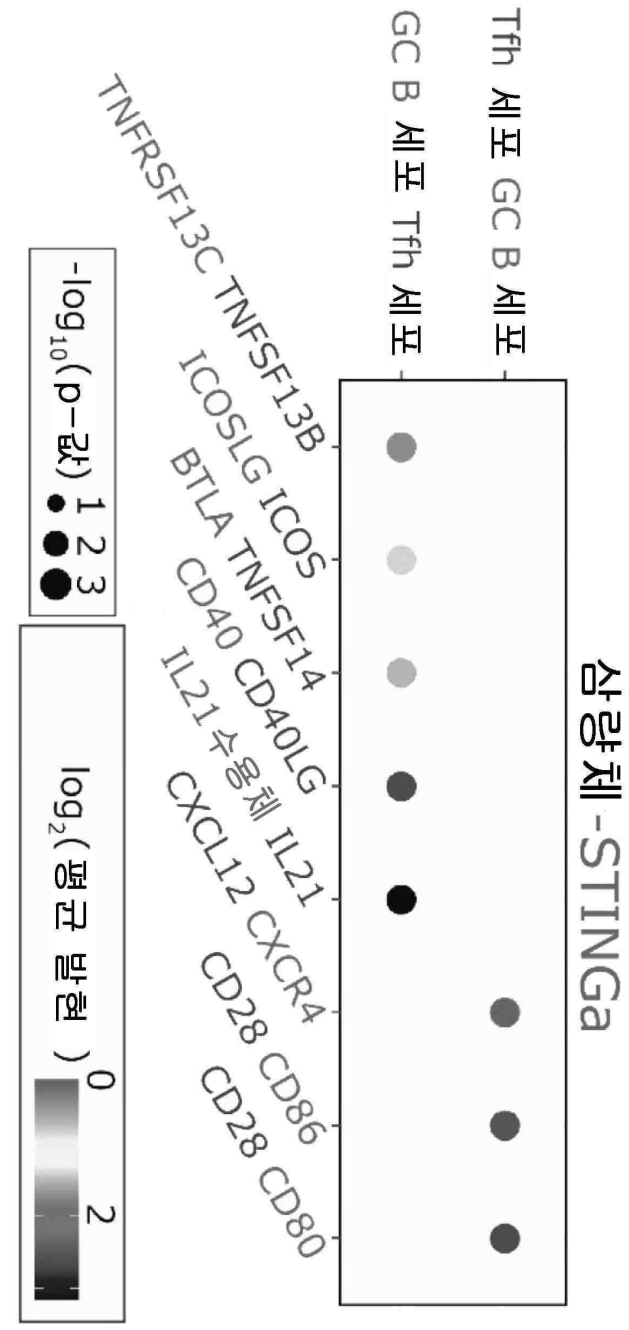
도면11d


도 11d
Il7r
발현
0
1
2
3
4
N
F
C
도 11e
Npm1
발현
2
3
N
F
C
도 11f
Fos
발현
1
2
3
4
N
F
C
도 11g
Jun
발현
1
2
3
4
5
N
F
C
나이브 CD4 세포 (N)
Tfh 세포 (T)
CD8 T 세포 (C)

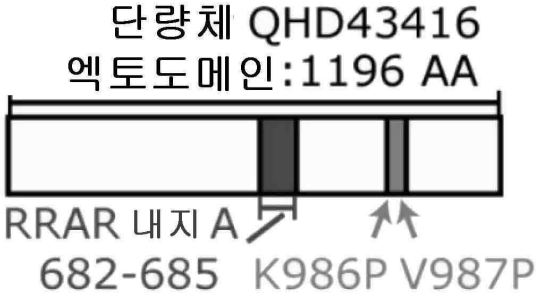
도면12a


나이브
CD4 세포
Tfh 세포
형질모세포
나이브
B 세포
CD8 T 세포
GC B 세포
활성화된
B 세포
출
상호 작용 수
1350
1100
850
600
쌍별
상호작용
280
200
120
40

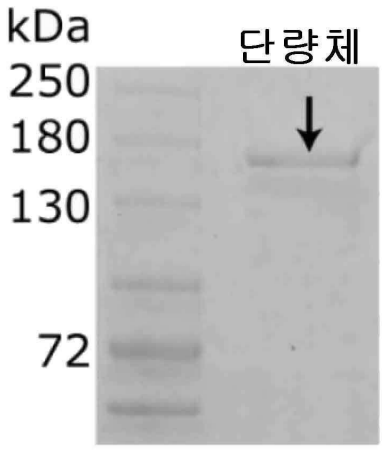
도면12b


삼량체 -STINGa
Tfh 세포 GC B 세포
GC B 세포 Tfh 세포
TNFRSF13C TNFSF13B
ICOSLG ICOS
BTLA TNFSF14
CD40 CD40LG
IL21 수용체 IL21
CXCL12 CXCR4
CD28 CD86
CD28 CD80
-log10(p-값) 1 2 3
log2(표준화 발현량) 0 2

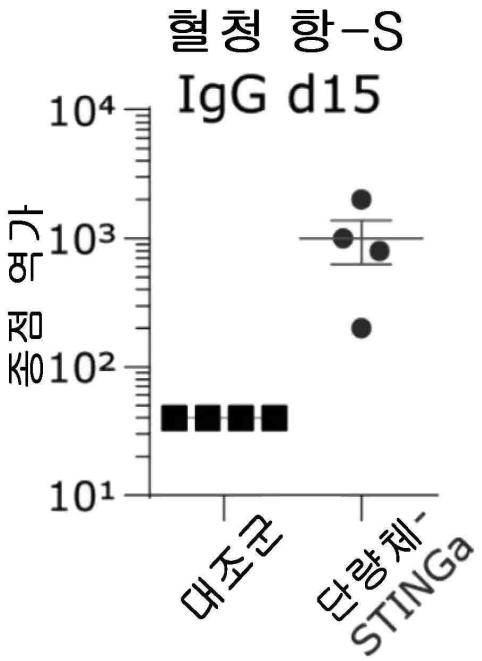
도면13a


단량체 QHD43416
헥토도메인:1196 AA
RRAR 내지 A
682-685
K986P V987P

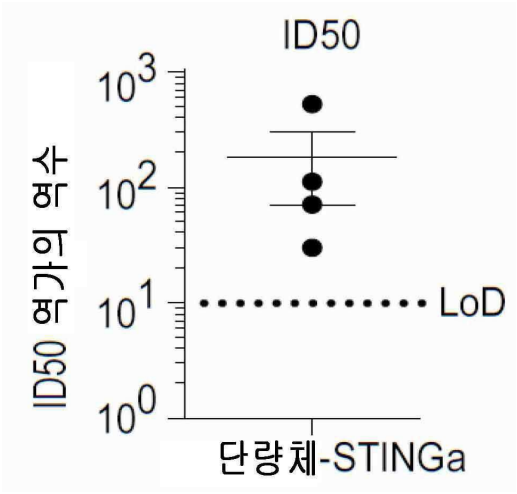
도면13b


kDa
250
180
130
72
단량체

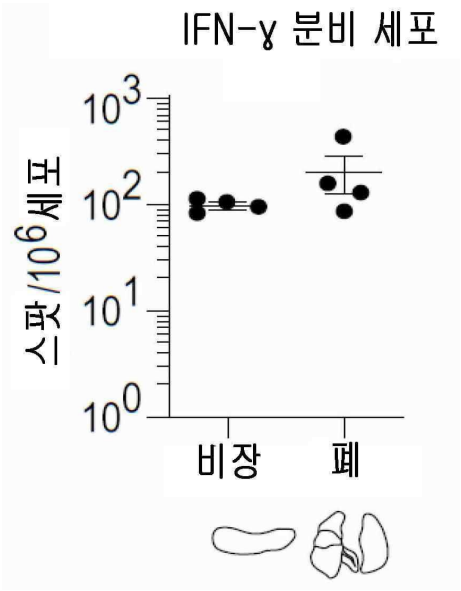
도면13c


혈청 항-S
IgG d15
10⁴
10³
10²
10¹
역가
대조군
단량체-
STINGa

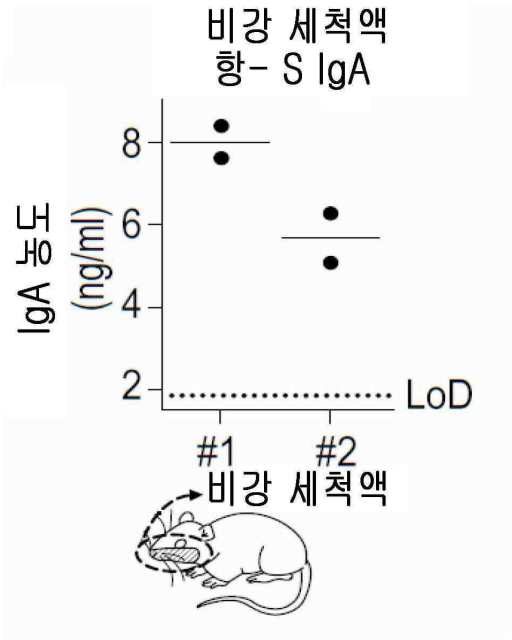
도면13d


ID50
ID50 역가의 역수
10^3
10^2
10^1
10^0
LoD
단량체-STINGa

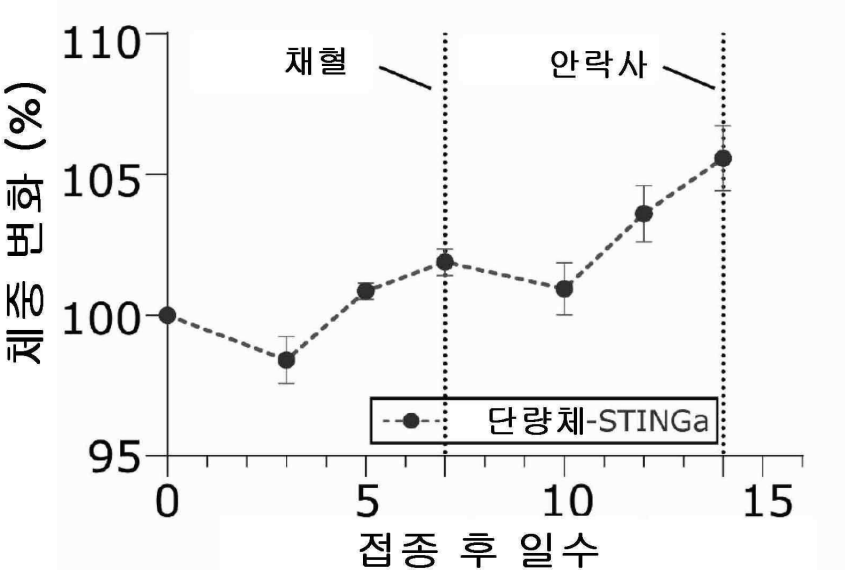
도면13e


IFN-γ 분비 세포
스팟/10^6세포
10^3
10^2
10^1
10^0
비장
폐

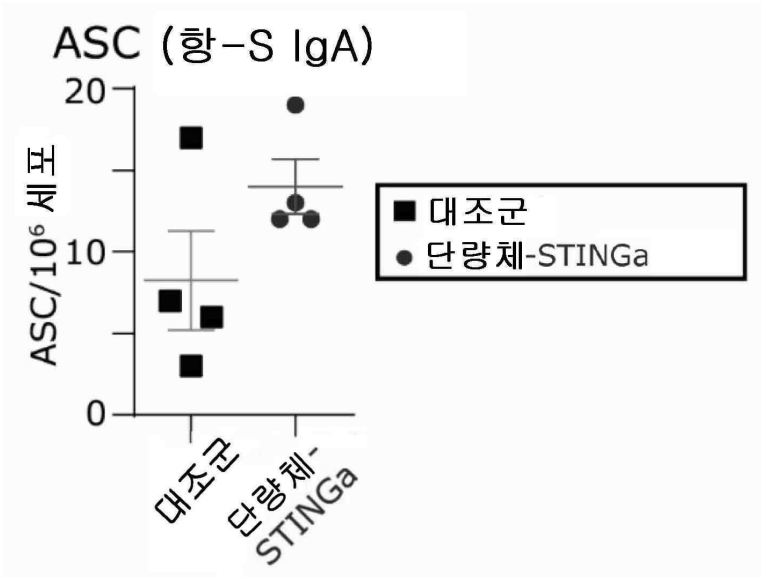
도면13f


비강 세척액
항- S IgA
IgA 농도 (ng/ml)
8
6
4
2
LoD
#1
#2
비강 세척액

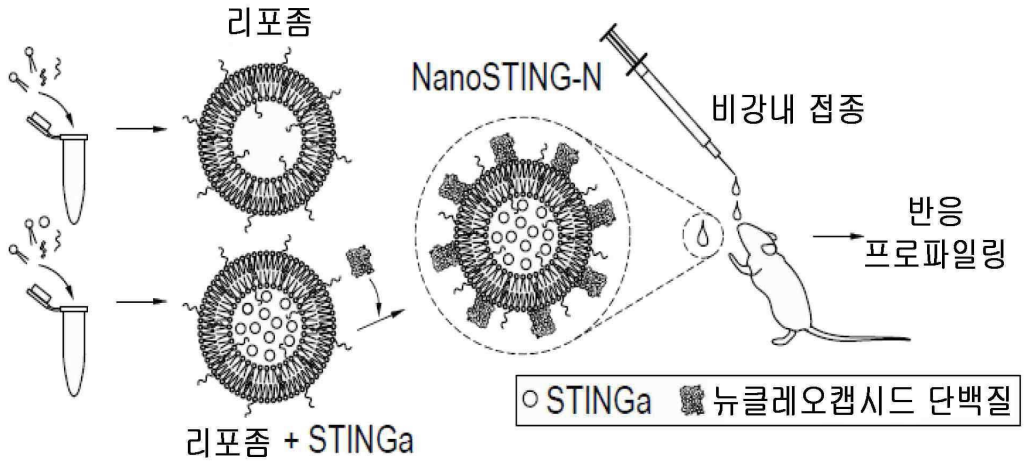
도면14


체중 변화 (%)
110
105
100
95
채혈
안락사
단량체-STINGa
0
5
10
15
접종 후 일수

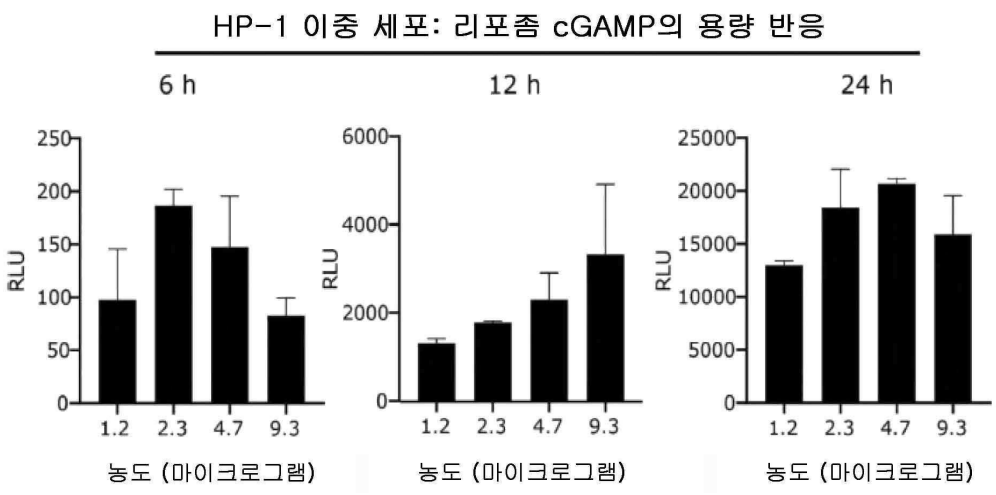
도면15



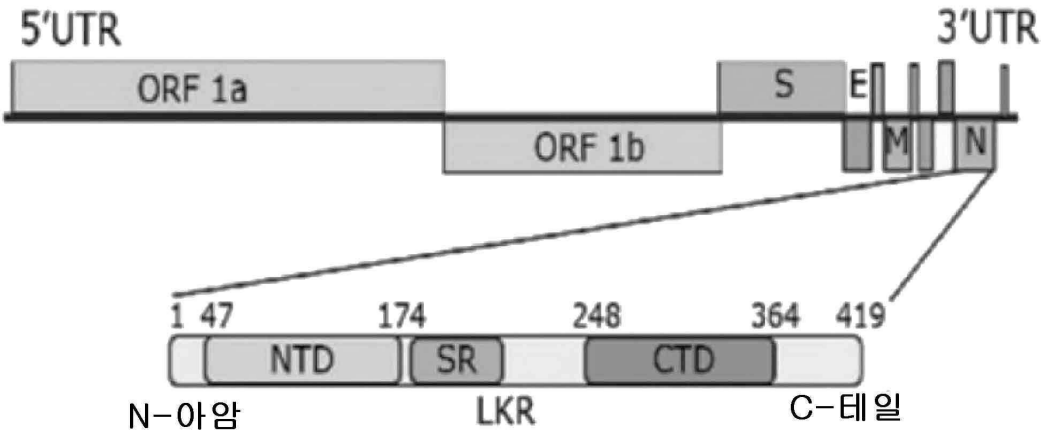
도면16



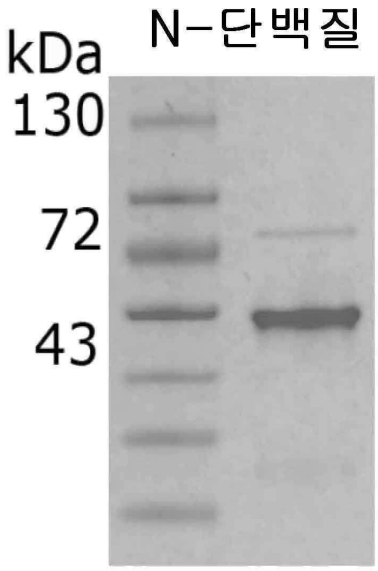
도면17



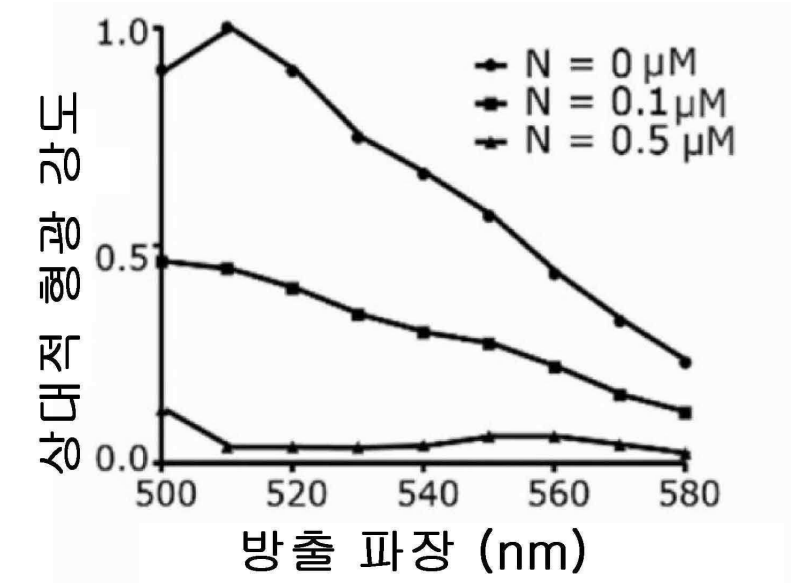
도면18


5'UTR
3'UTR
ORF 1a
S
E
M
N
ORF 1b
1 47
174
248
364
419
NTD
SR
CTD
N-아암
LKR
C-테일

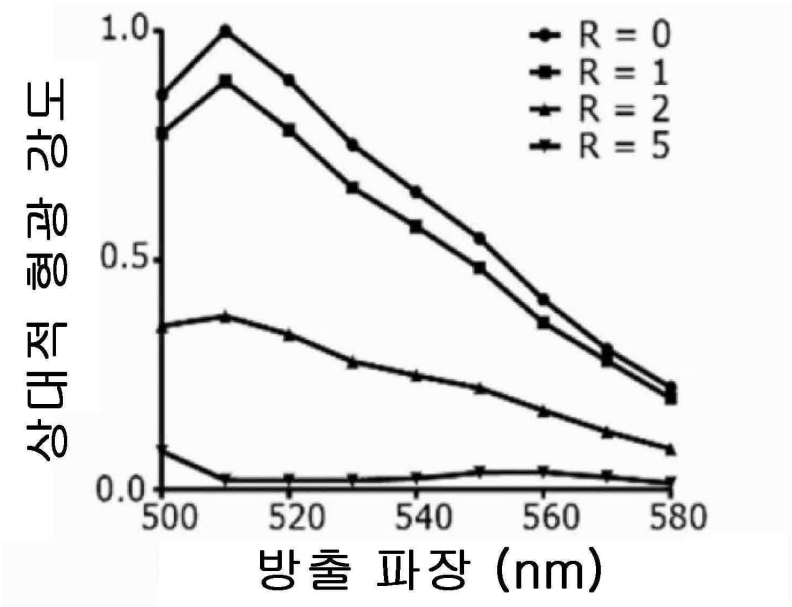
도면19


N-단백질
kDa
130
72
43

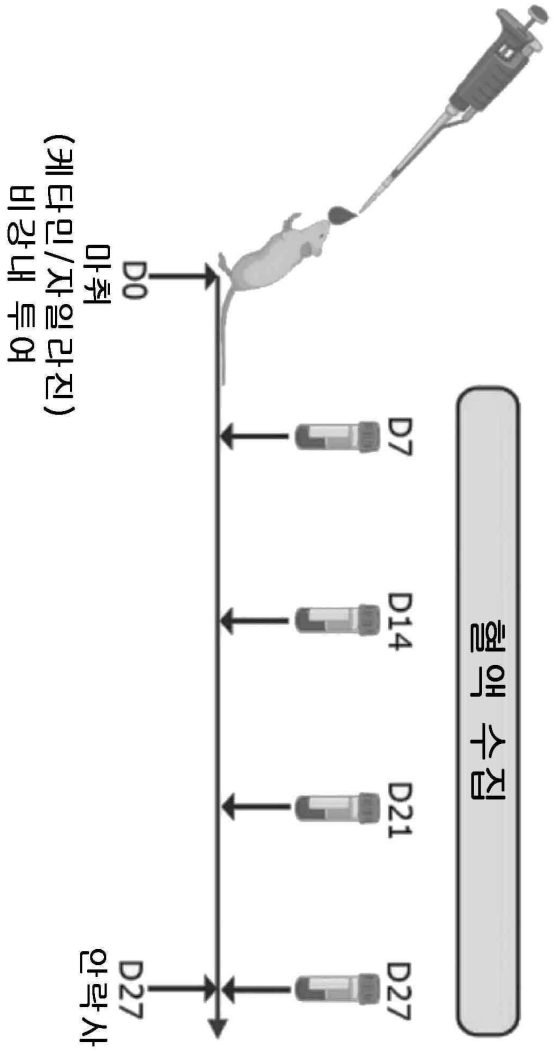
도면20a


1.0
0.5
0.0
상대적 형광 강도
500
520
540
560
580
방출 파장 (nm)
N = 0 μM
N = 0.1 μM
N = 0.5 μM

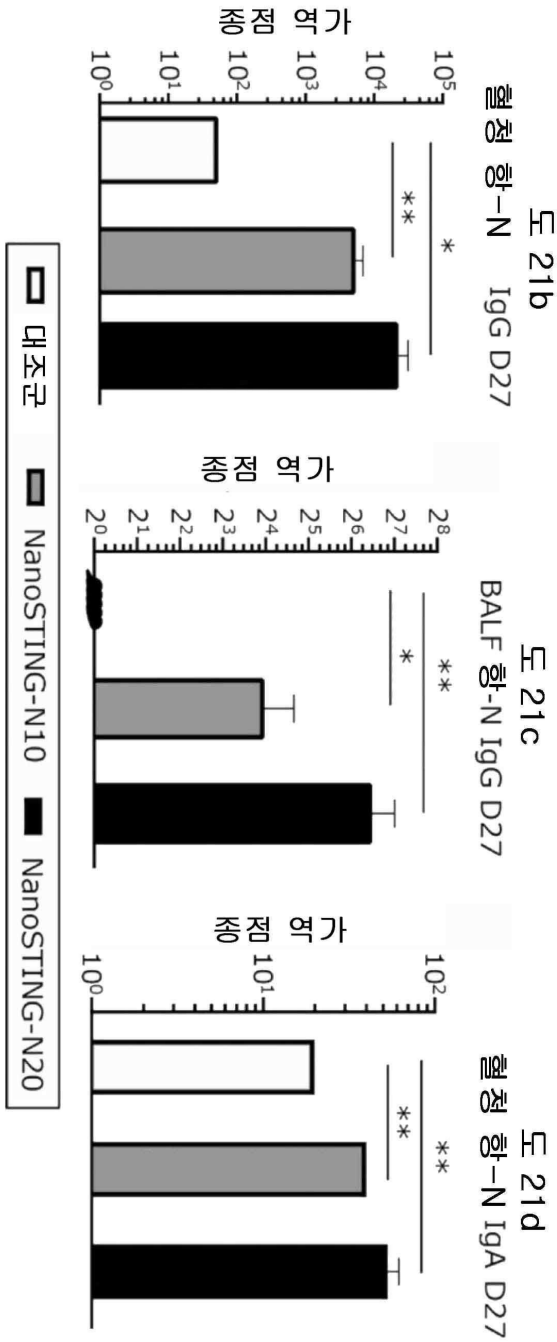
도면20b


1.0
0.5
0.0
상대적 형광 강도
500
520
540
560
580
방출 파장 (nm)
R = 0
R = 1
R = 2
R = 5

도면21a



도면21b

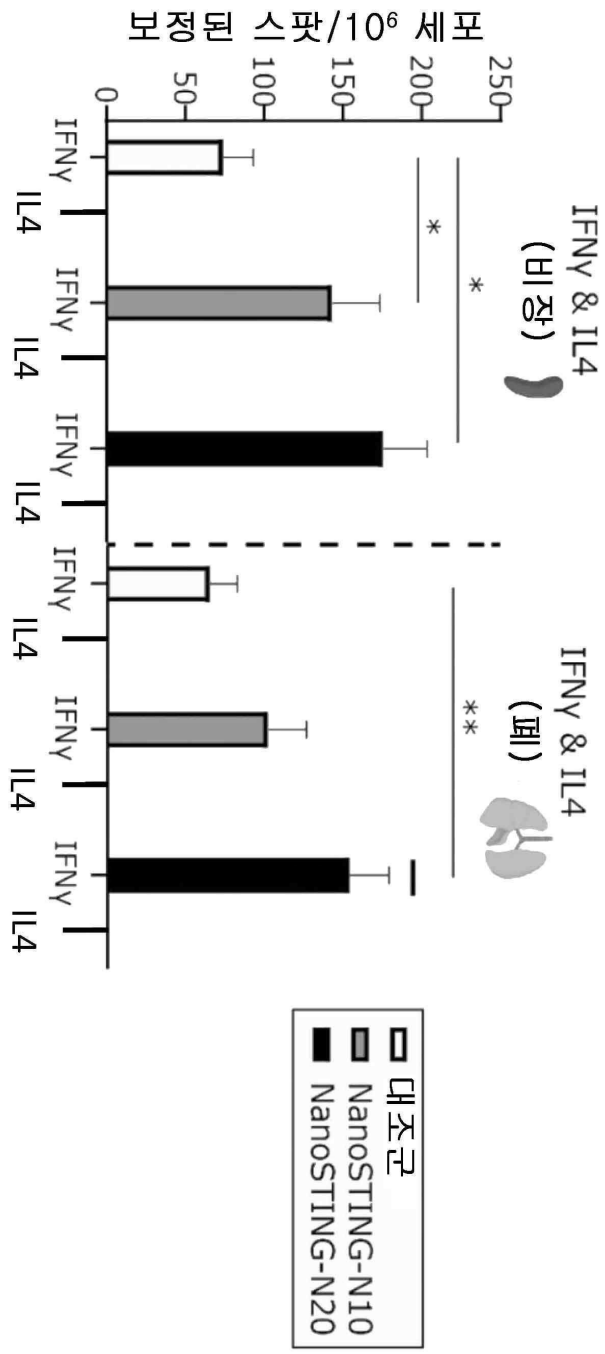


도 21b

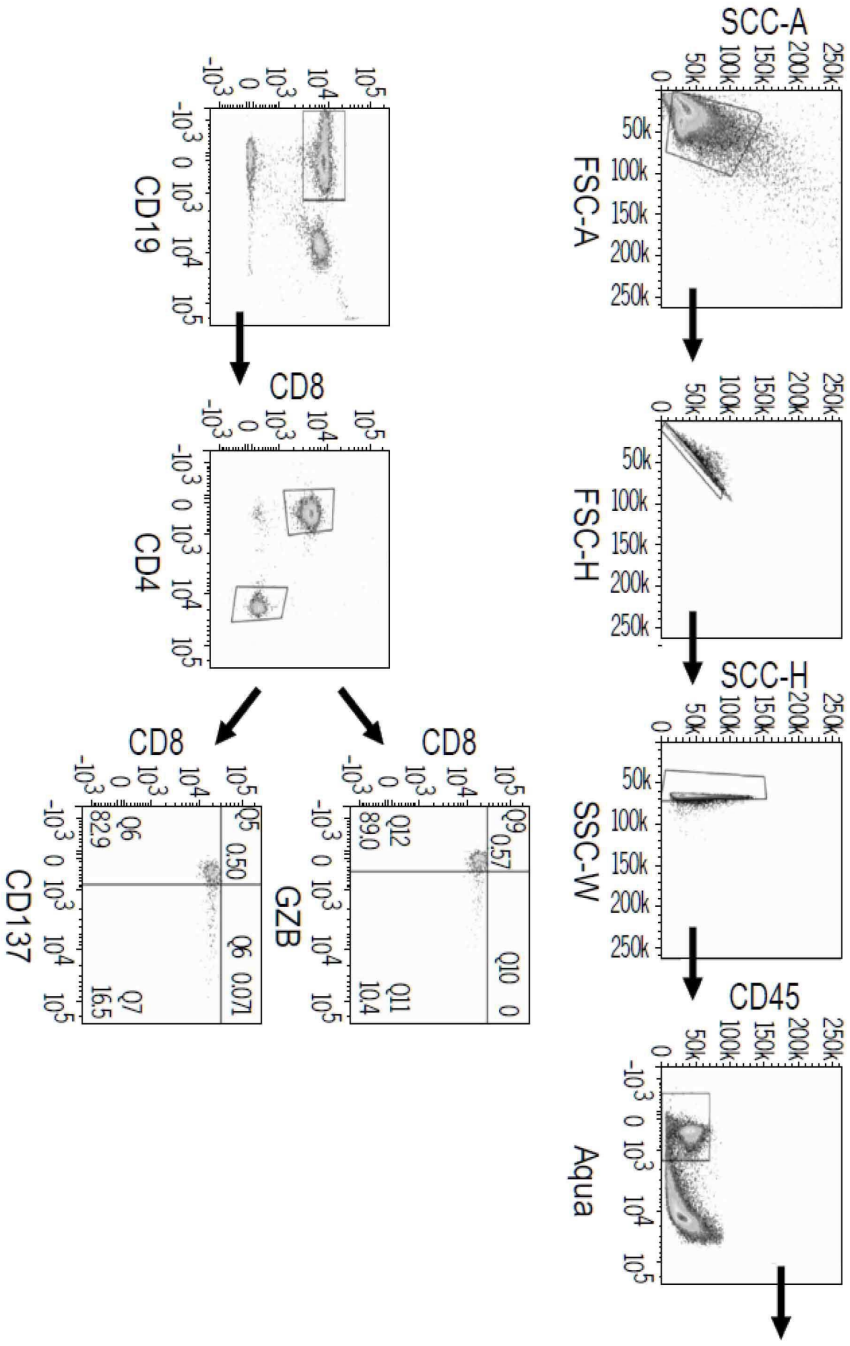
도 21c

도 21d

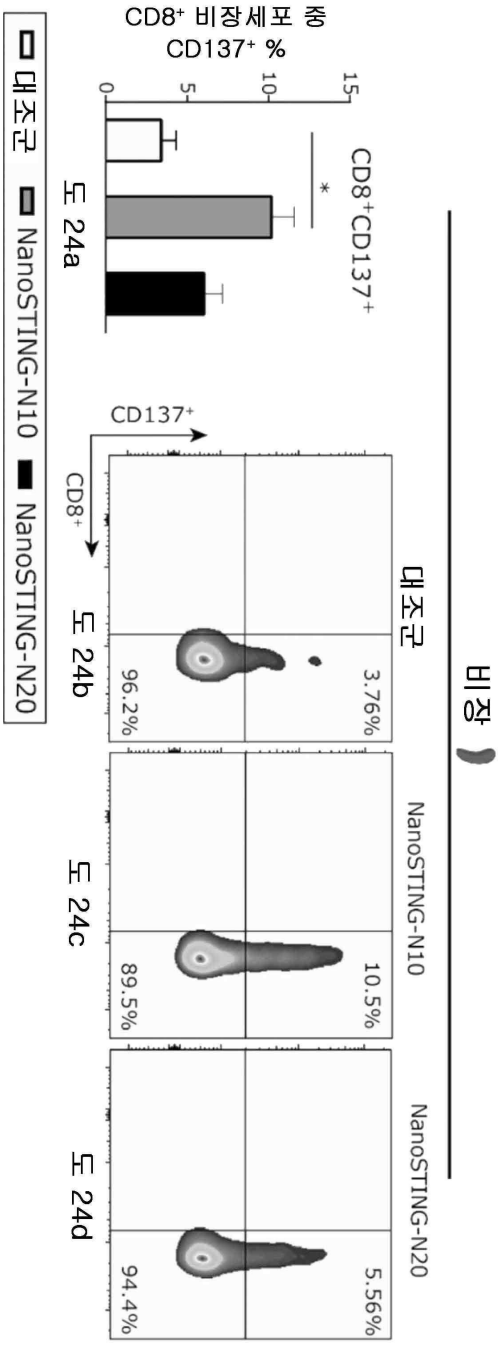
도면22


보정된 스팟/10⁶ 세포
0
50
100
150
200
250
IFNγ
IL4
IFNγ & IL4 (비장)
IFNγ & IL4 (폐)
*
**
대조군
NanoSTING-N10
NanoSTING-N20

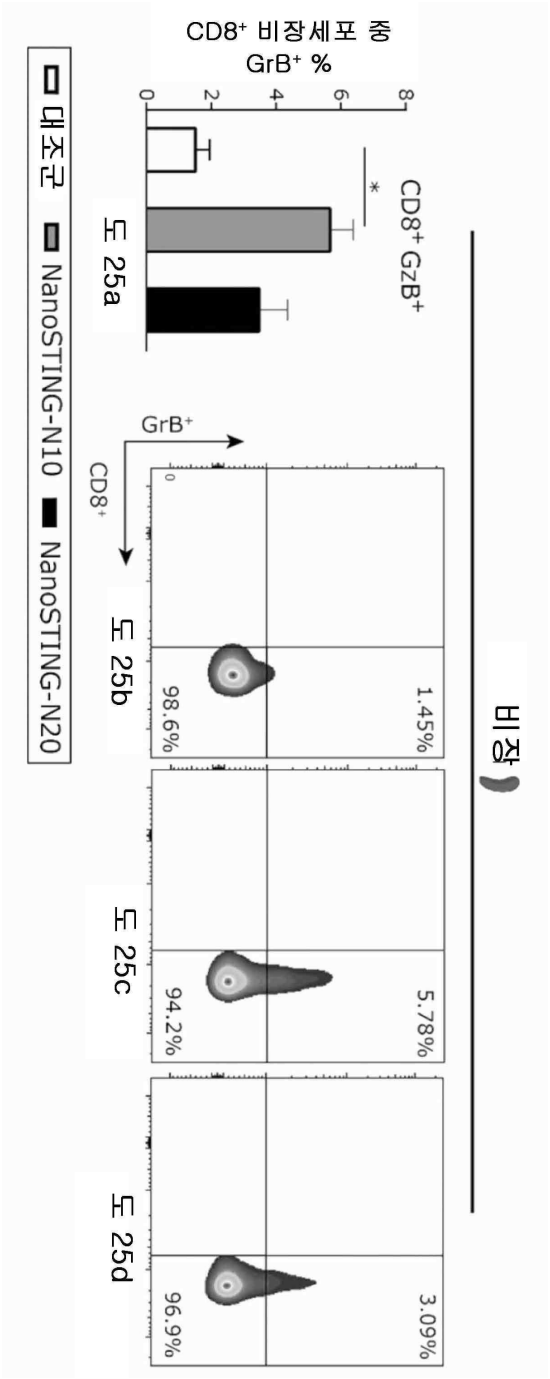
도면23


SCC-A
FSC-A
FSC-H
SCC-H
SSC-W
CD45
Aqua
CD19
CD8
CD4
CD8
CD8
CD137
GZB
Q6
82.9
Q5
0.50
Q7
16.5
Q6
0.071
Q12
89.0
Q9
0.57
Q11
10.4
Q10
0

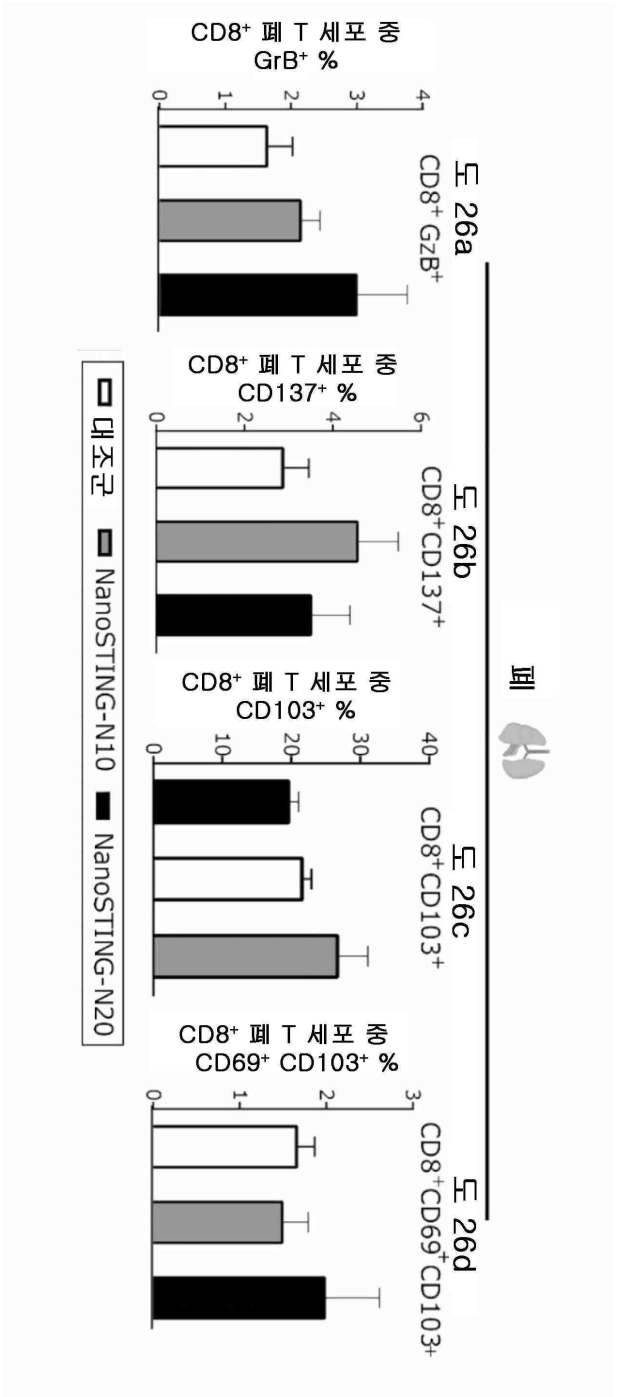
도면24


CD8⁺ 비장세포 중
CD137⁺ %
0
5
10
15
CD8⁺CD137⁺
*
도 24a
대조군
NanoSTING-N10
NanoSTING-N20
CD137⁺
CD8⁺
96.2%
3.76%
89.5%
10.5%
94.4%
5.56%
도 24b
도 24c
도 24d
비장

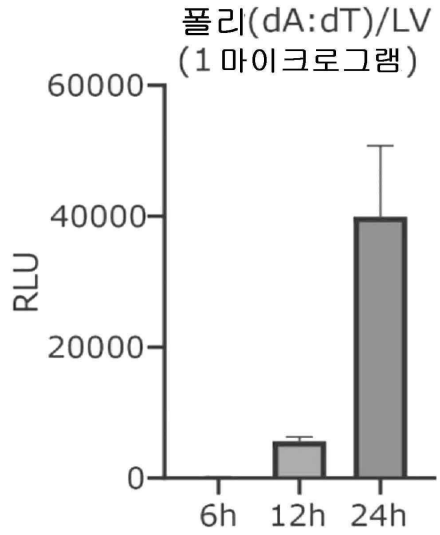
도면25


대조군
NanoSTING-N10
NanoSTING-N20
비장
CD8⁺ 비장세포 중
GrB⁺ %
CD8⁺ GzB⁺
도 25a
GrB⁺
CD8⁺
98.6%
1.45%
도 25b
94.2%
5.78%
도 25c
96.9%
3.09%
도 25d

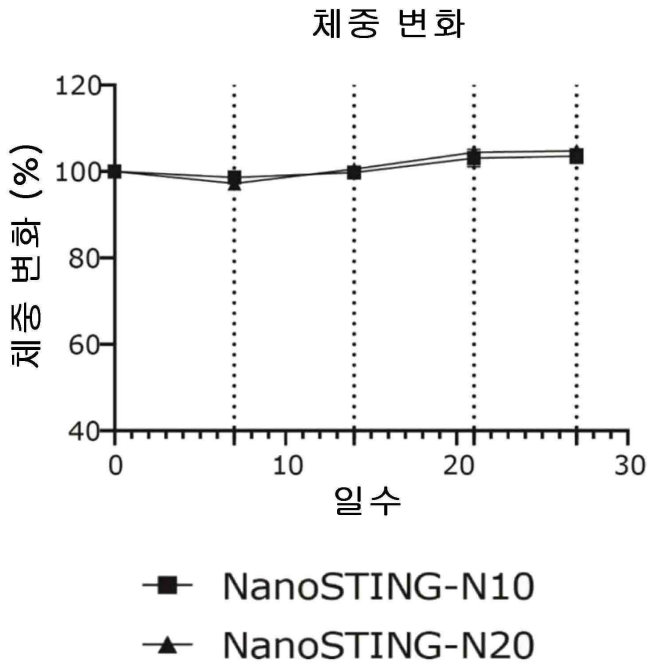
도면26


CD8+ 폐 T 세포 중 GrB+ %
CD8+ GzB+
도 26a
CD8+ 폐 T 세포 중 CD137+ %
CD8+CD137+
도 26b
CD8+ 폐 T 세포 중 CD103+ %
CD8+CD103+
도 26c
CD8+ 폐 T 세포 중 CD69+ CD103+ %
CD8+CD69+CD103+
도 26d
폐
대조군
NanoSTING-N10
NanoSTING-N20

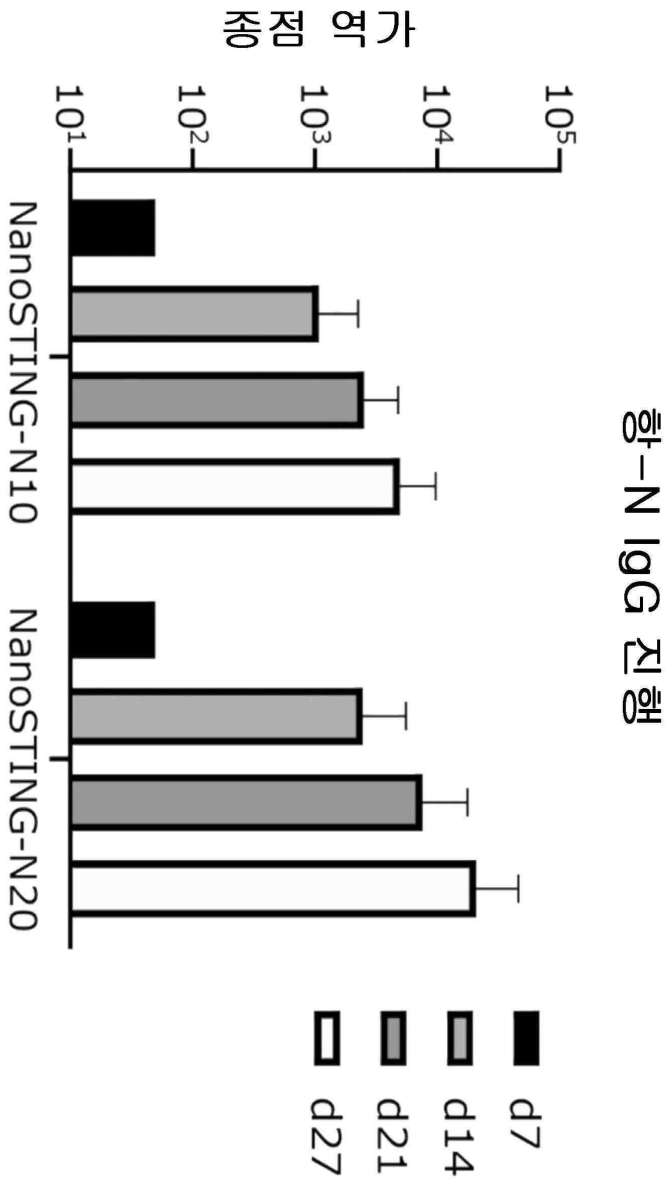
도면27


폴리(dA:dT)/LV
(1 마이크로그램)
60000
40000
20000
0
RLU
6h
12h
24h

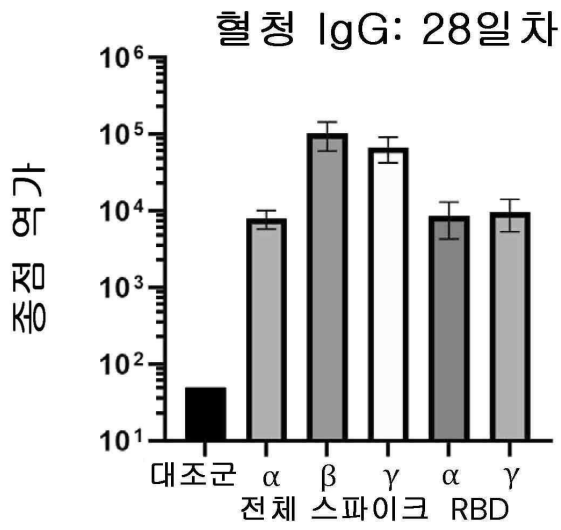
도면28


체중 변화
120
100
80
60
40
체중 변화 (%)
0
10
20
30
일수
NanoSTING-N10
NanoSTING-N20

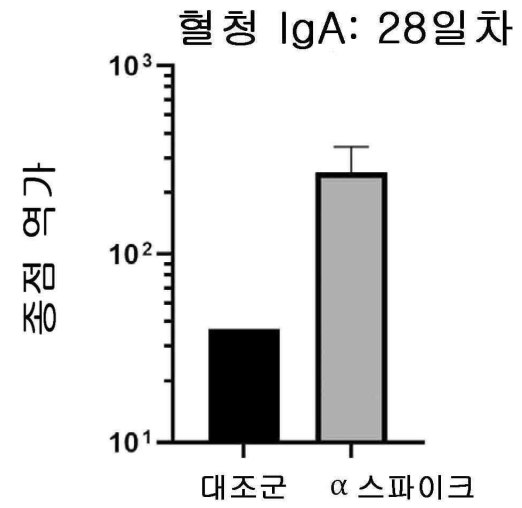
도면29


종점 역가
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
NanoSTING-N10
NanoSTING-N20
항-N IgG 진행
d7
d14
d21
d27

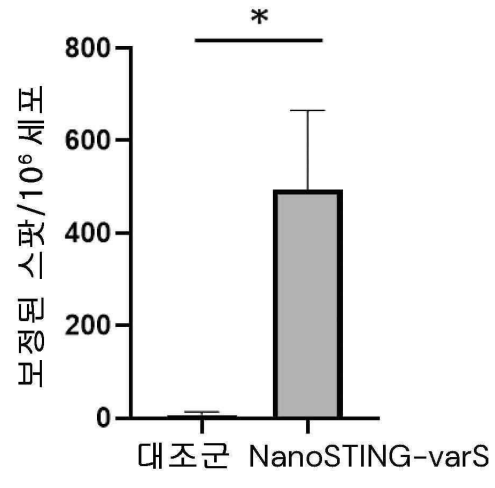
도면30a



도면30b

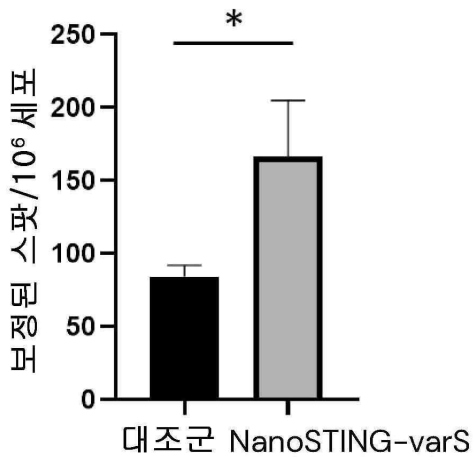


도면31a



폐: 모든 펩티드

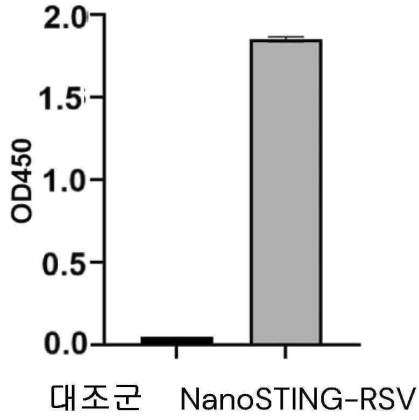
도면31b



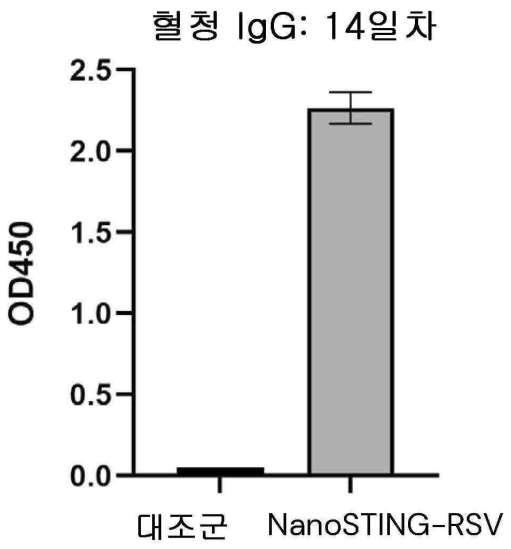
폐: 돌연변이 특이적 펩티드

도면32a

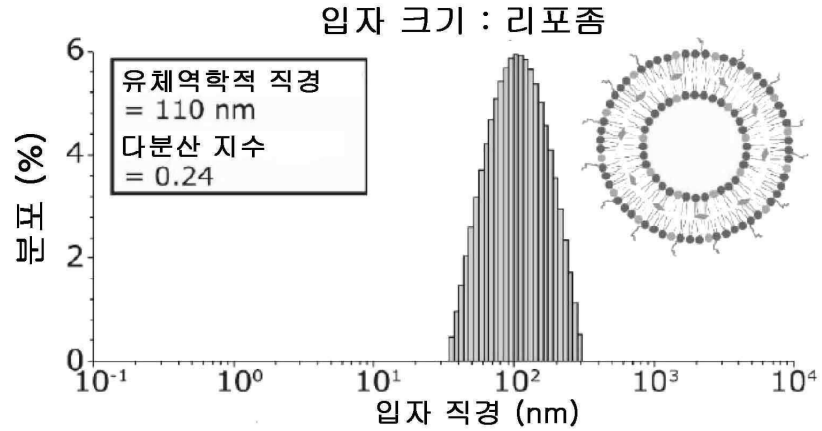
혈청 IgG: 7일차



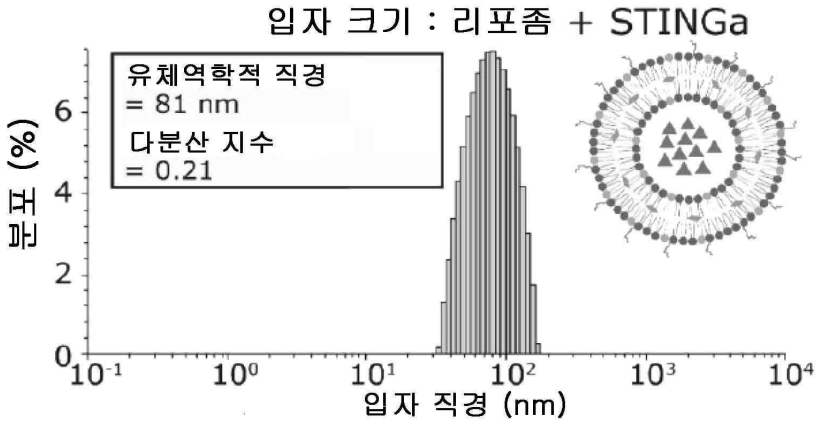
도면32b



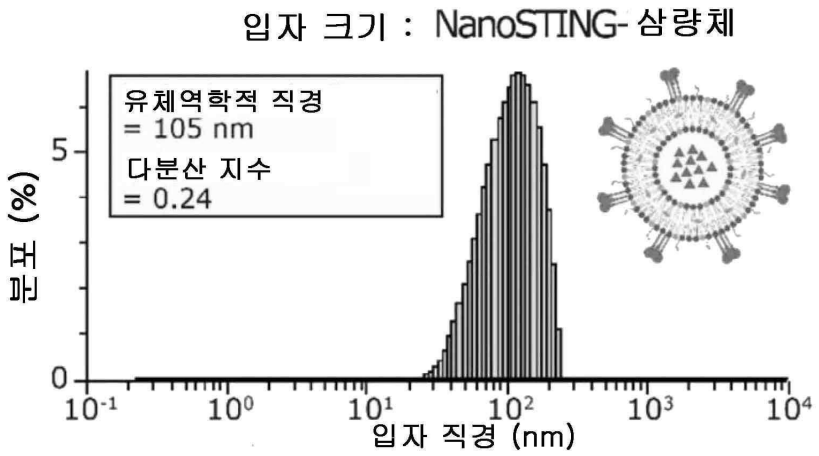
도면33a



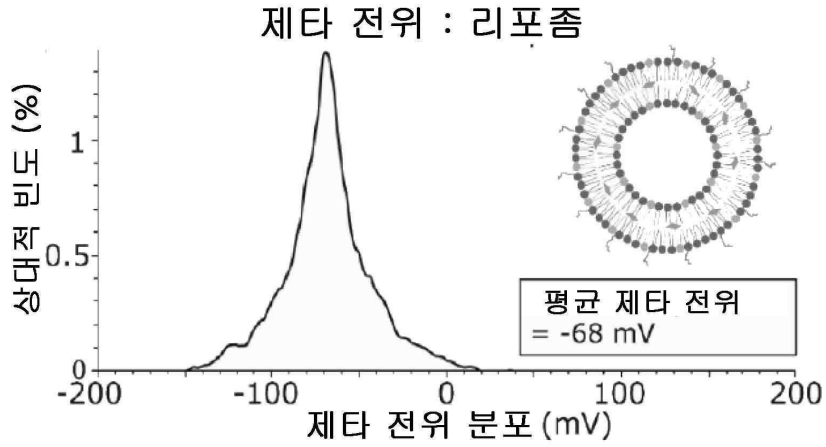
도면33b



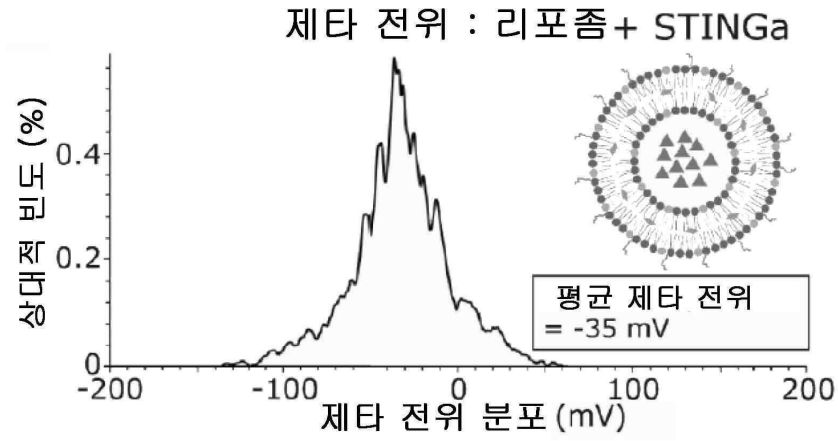
도면33c



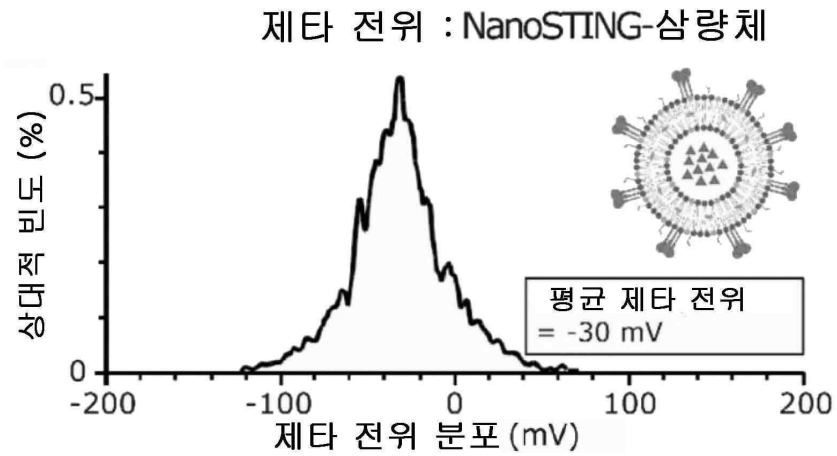
도면33d



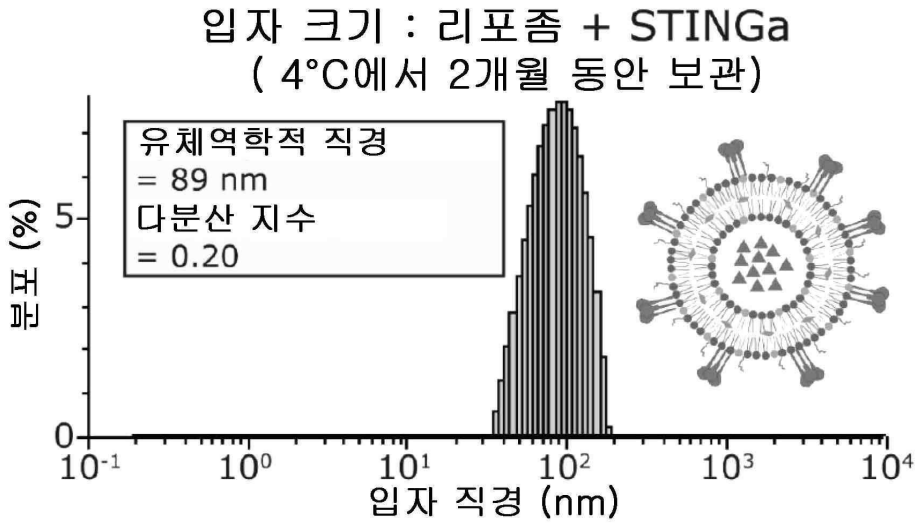
도면33e



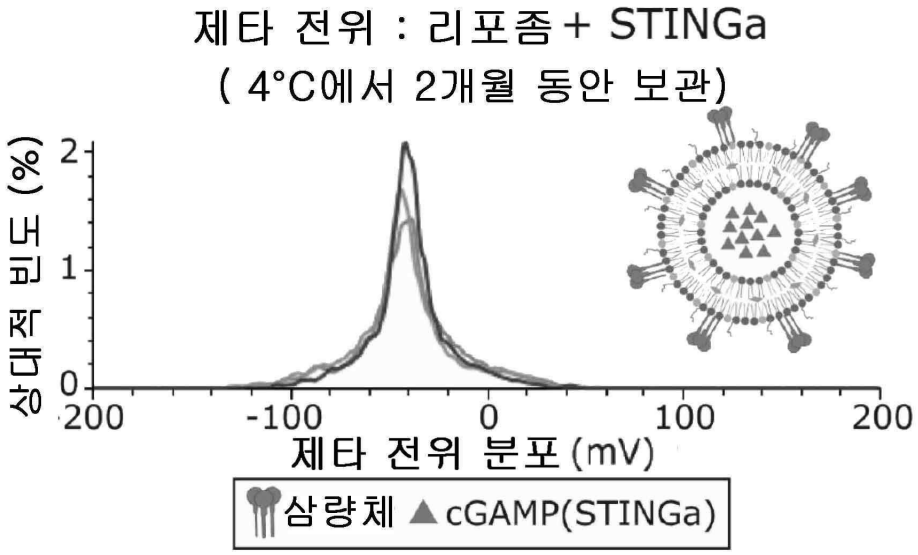
도면33f



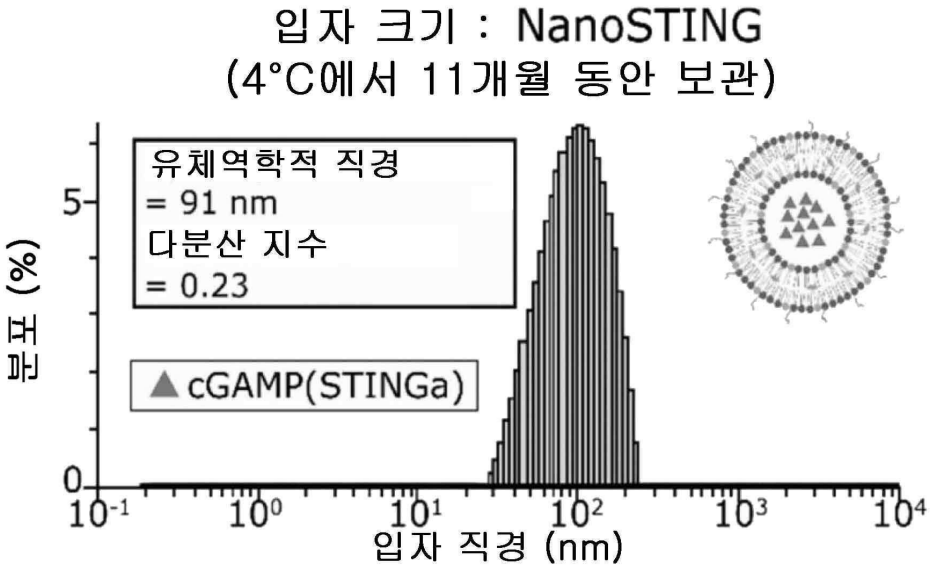
도면34a



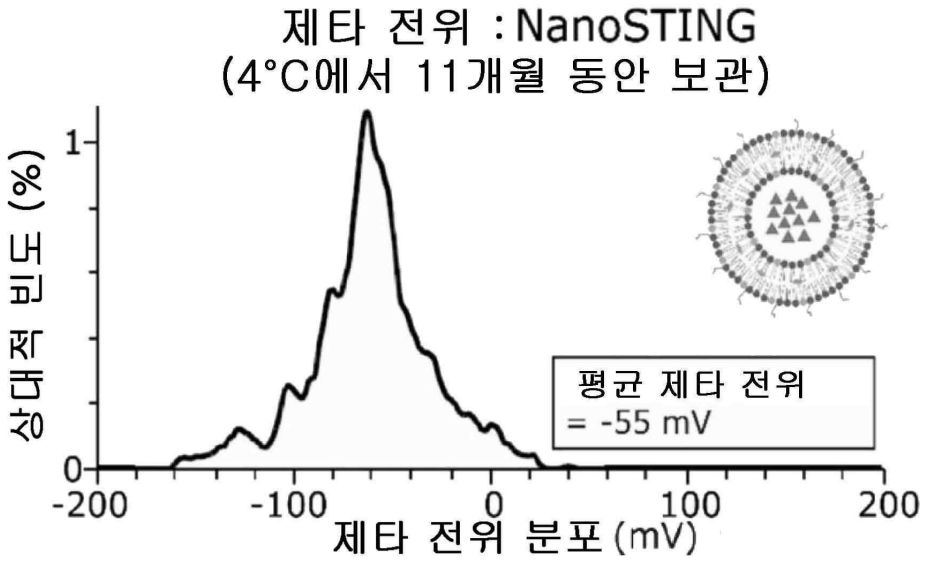
도면34b



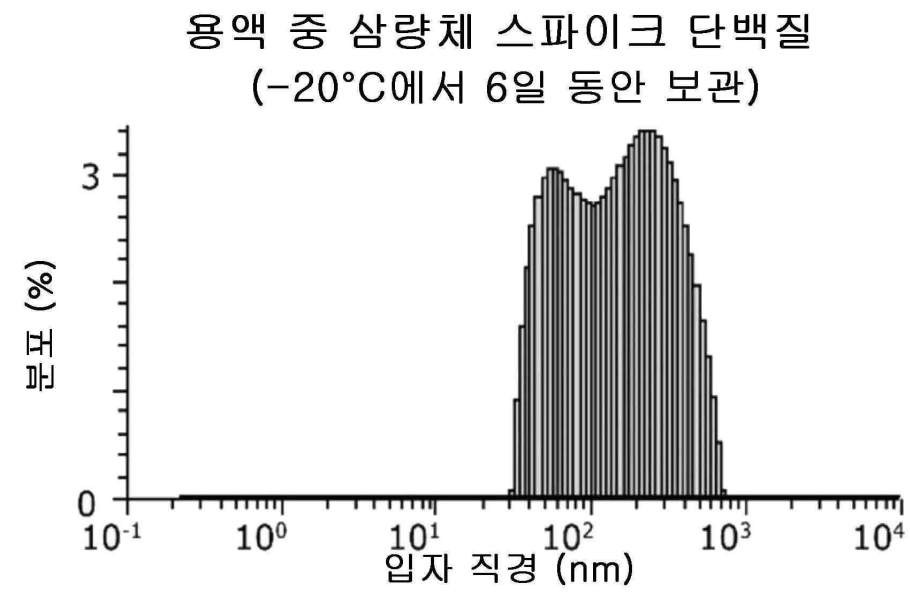
도면34c


입자 크기 : NanoSTING
(4°C에서 11개월 동안 보관)
유체역학적 직경
= 91 nm
다분산 지수
= 0.23
▲ cGAMP(STINGa)
분포 (%)
5
0
10-1
100
101
102
103
104
입자 직경 (nm)

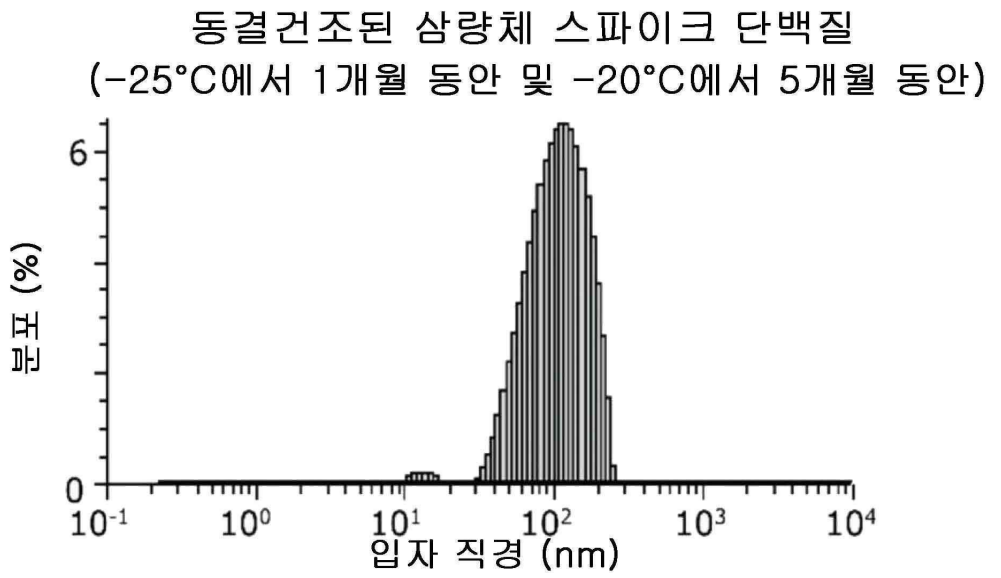
도면34d


제타 전위 : NanoSTING
(4°C에서 11개월 동안 보관)
상대적 빈도 (%)
1
0
-200
-100
0
100
200
평균 제타 전위
= -55 mV
제타 전위 분포 (mV)

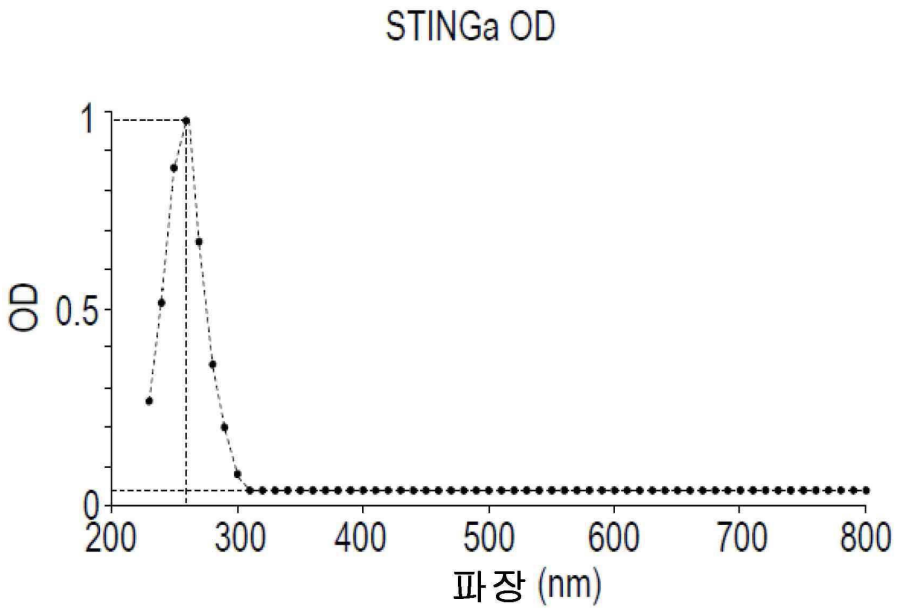
도면35a


용액 중 삼량체 스파이크 단백질
(-20°C에서 6일 동안 보관)
분포 (%)
3
0
10-1
100
101
102
103
104
입자 직경 (nm)

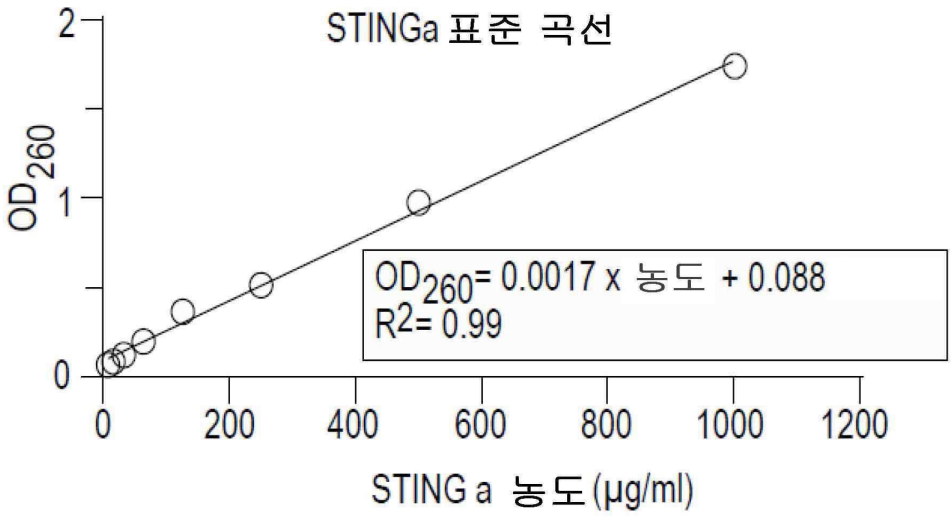
도면35b


동결건조된 삼량체 스파이크 단백질
(-25°C에서 1개월 동안 및 -20°C에서 5개월 동안)
분포 (%)
6
0
10-1
100
101
102
103
104
입자 직경 (nm)

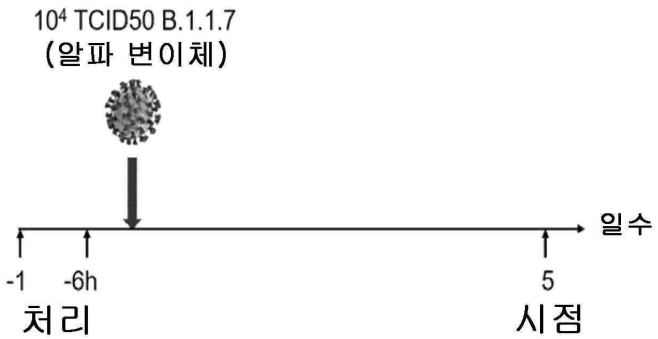
도면36a



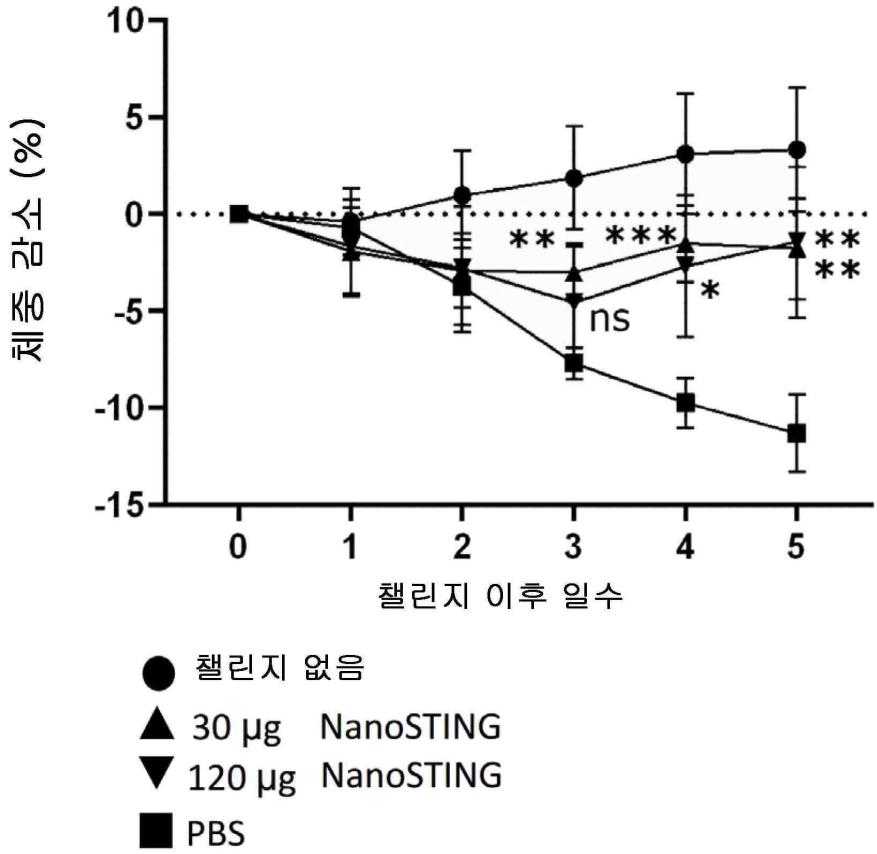
도면36b



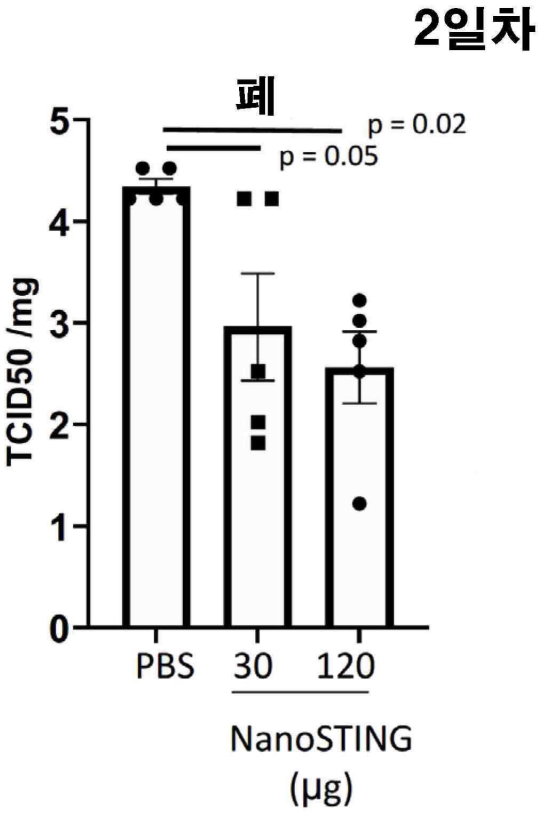
도면37a



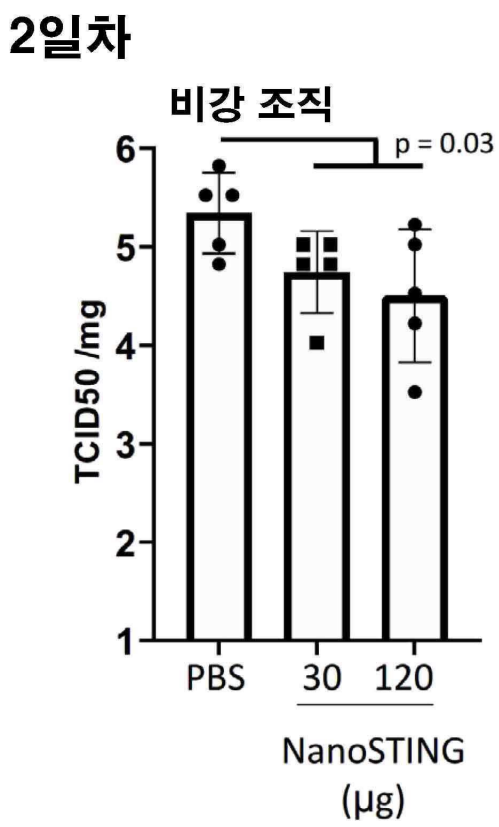
도면37b


10
5
0
-5
-10
-15
체중 감소 (%)
0
1
2
3
4
5
챌린지 이후 일수
**
***
*
ns
**
**
챌린지 없음
30 μg NanoSTING
120 μg NanoSTING
PBS

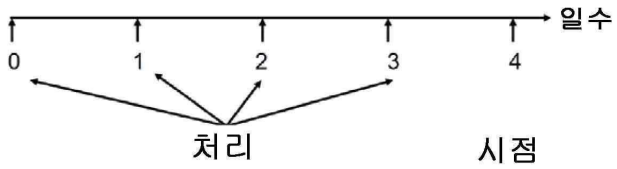
도면37c


2일차
폐
p = 0.02
p = 0.05
TCID50 /mg
5
4
3
2
1
0
PBS
30
120
NanoSTING
(μg)

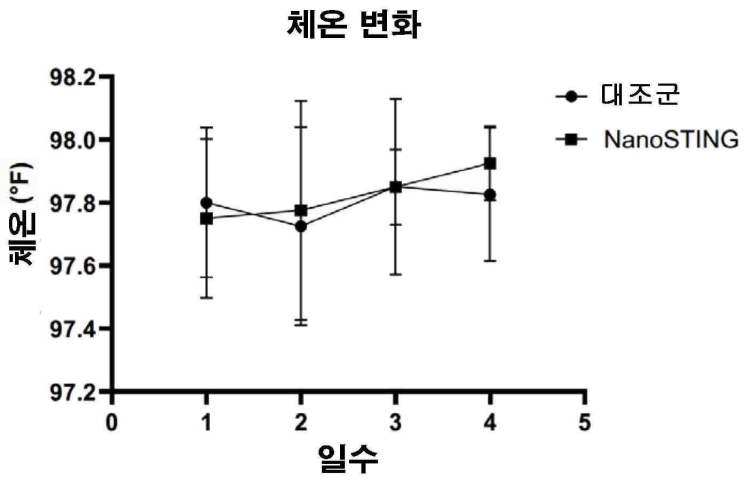
도면37d



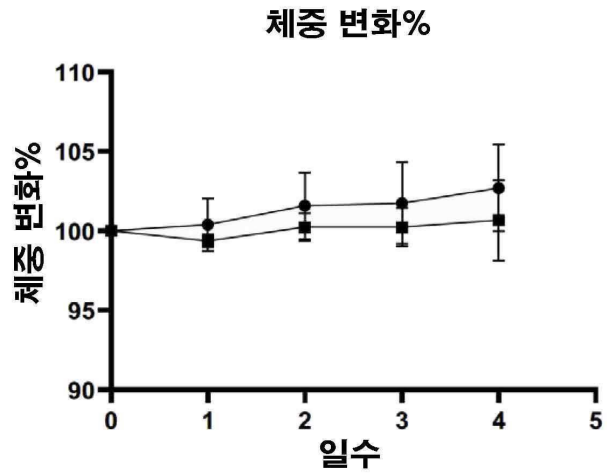
도면38a



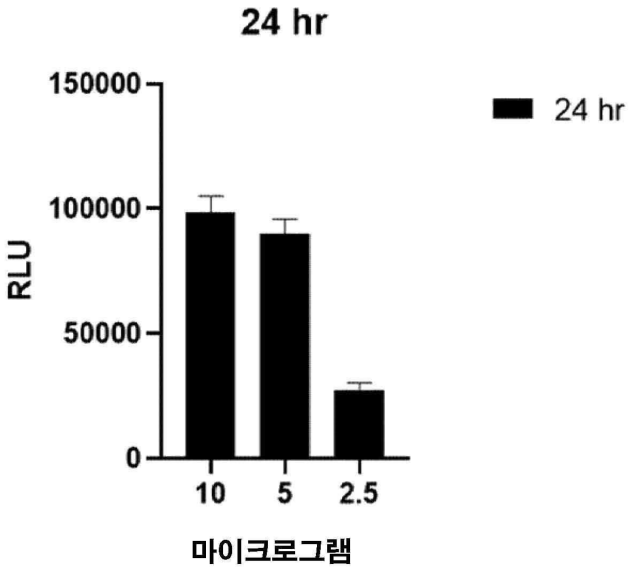
도면38b



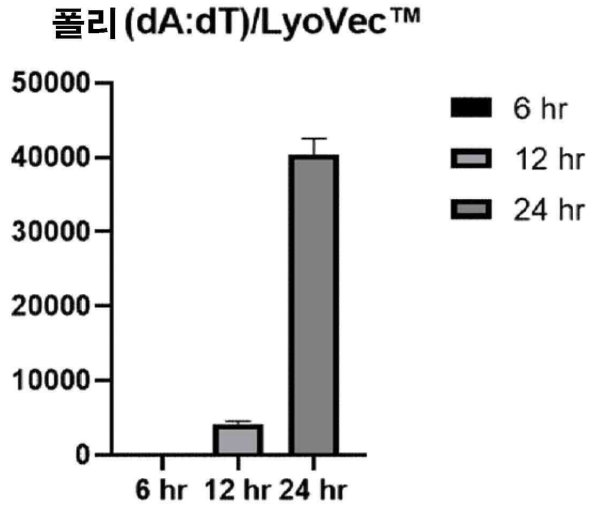
도면38c



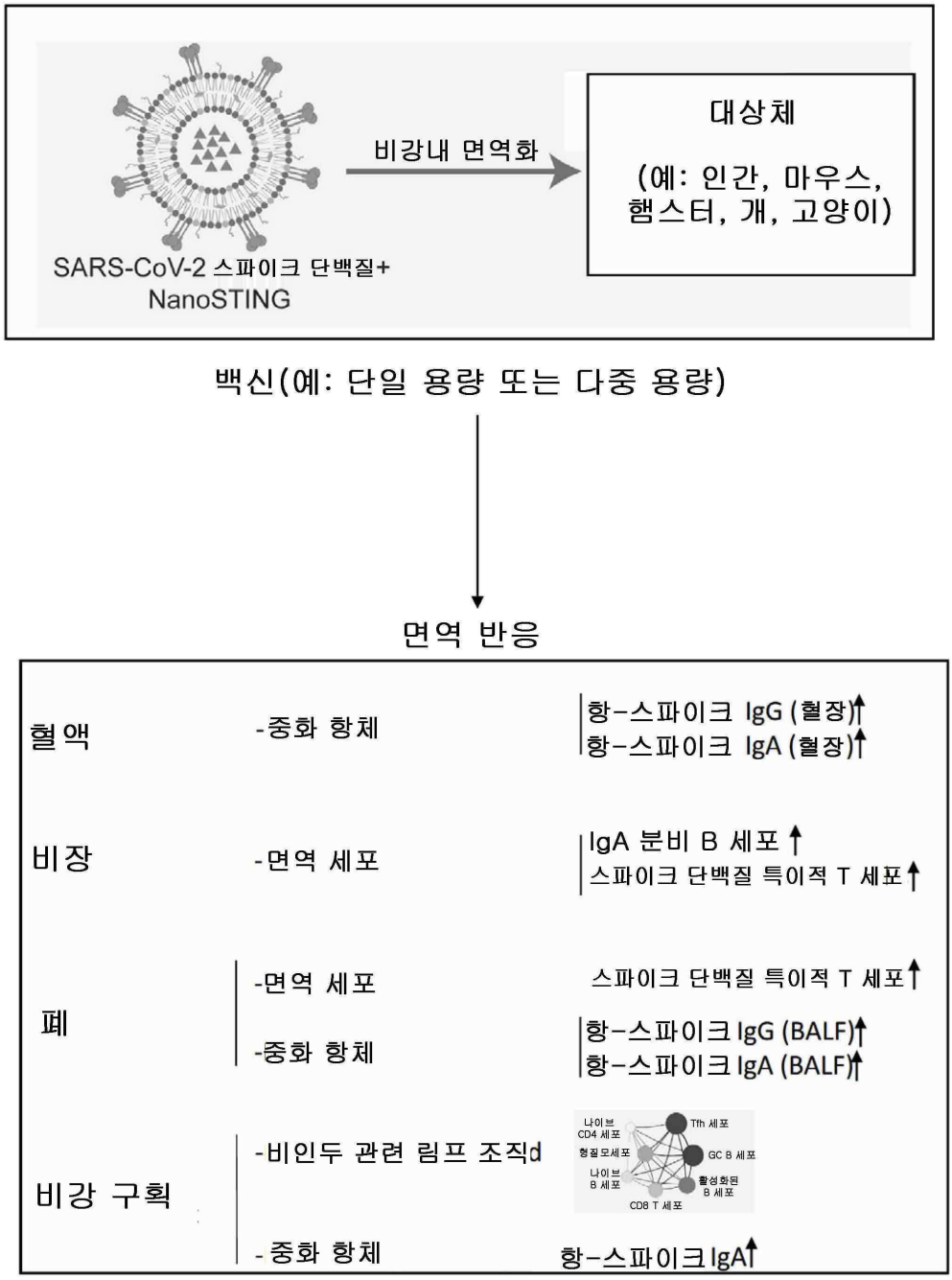
도면39a



도면39b



도면40



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> UNIVERSITY OF HOUSTON SYSTEM

VARADARAJAN, Navin

<120> TREATMENT AND PREVENTION OF CONDITIONS ASSOCIATED WITH RESPIRATORY DISEASES

<130> 59384-701.602

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 419

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: N protein

<400> 1

Met Ser Leu Asn Gly Pro Gln Asn Gln Arg Asn Ala Pro Arg Ile Thr
1 5 10 15

Phe Gly Gly Pro Ser Asp Ser Thr Gly Ser Asn Gln Asn Gly Glu Arg
20 25 30

Ser Gly Ala Arg Ser Lys Gln Arg Arg Pro Gln Gly Leu Pro Asn Asn
35 40 45

Thr Ala Ser Trp Phe Thr Ala Leu Thr Gln His Gly Lys Glu Asp Leu
50 55 60

Lys Phe Pro Arg Gly Gln Gly Val Pro Ile Asn Thr Asn Ser Ser Pro
65 70 75 80

Asp Asp Gln Ile Gly Tyr Tyr Arg Arg Ala Thr Arg Arg Ile Arg Gly
85 90 95

Gly Asp Gly Lys Met Lys Asp Leu Ser Pro Arg Trp Tyr Phe Tyr Tyr
100 105 110

Leu Gly Thr Gly Pro Glu Ala Gly Leu Pro Tyr Gly Ala Asn Lys Asp
115 120 125

Gly Ile Ile Trp Val Ala Thr Glu Gly Ala Leu Asn Thr Pro Lys Asp
130 135 140

His Ile Gly Thr Arg Asn Pro Ala Asn Asn Ala Ala Ile Val Leu Gln
145 150 155 160

Leu Pro Gln Gly Thr Thr Leu Pro Lys Gly Phe Tyr Ala Glu Gly Ser
165 170 175

Arg Gly Gly Ser Gln Ala Ser Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Arg Asn
180 185 190

Ser Ser Arg Asn Ser Thr Pro Gly Ser Ser Lys Arg Thr Ser Pro Ala
195 200 205
Arg Met Ala Gly Asn Gly Gly Asp Ala Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu

210 215 220
Asp Arg Leu Asn Gln Leu Glu Ser Lys Met Phe Gly Lys Gly Gln Gln
225 230 235 240
Gln Gln Gly Gln Thr Val Thr Lys Lys Ser Ala Ala Glu Ala Ser Lys
245 250 255
Lys Pro Arg Gln Lys Arg Thr Ala Thr Lys Ala Tyr Asn Val Thr Gln
260 265 270
Ala Phe Gly Arg Arg Gly Pro Glu Gln Thr Gln Gly Asn Phe Gly Asp

275 280 285
Gln Glu Leu Ile Arg Gln Gly Thr Asp Tyr Lys His Trp Pro Gln Ile
290 295 300
Ala Gln Phe Ala Pro Ser Ala Ser Ala Phe Phe Gly Met Ser Arg Ile
305 310 315 320
Gly Met Glu Val Thr Pro Ser Gly Thr Trp Leu Thr Tyr Thr Gly Ala
325 330 335
Ile Lys Leu Asp Asp Lys Asp Pro Asn Phe Lys Asp Gln Val Ile Leu

340 345 350
Leu Asn Lys His Ile Asp Ala Tyr Lys Thr Phe Pro Pro Thr Glu Pro
355 360 365
Lys Lys Asp Lys Lys Lys Lys Ala Asp Glu Thr Gln Ala Leu Pro Gln
370 375 380
Arg Gln Lys Lys Gln Gln Thr Val Thr Leu Leu Pro Ala Ala Asp Leu
385 390 395 400
Asp Asp Phe Ser Lys Gln Leu Gln Gln Ser Met Ser Ser Ala Asp Ser

405 410 415
Thr Gln Ala

<210> 2

<211> 1257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: N protein

<400> 2

atgagcctga acggcccgca gaaccagcgc aacgcgccgc gcattacctt tggcggcccg 60

agcgatagca ccggcagcaa ccagaacggc gaacgcagcg gcgcgcgcag caaacagcgc 120

cgcccgcagg gcctgccgaa caacaccgcg agctggttta ccgcgctgac ccagcatggc 180

aaagaagatc tgaaatttcc gcgcggccag ggcgtgccga ttaacaccaa cagcagcccg 240

gatgatcaga ttggctatta tcgccgcgcg acccgccgca ttcgcggcgg cgatggcaaa 300

atgaaagatc tgagcccgcg ctggtatttt tattatctgg gcaccggccc ggaagcgggc 360

ctgccgtatg gcgcgaacaa agatggcatt atttgggtgg cgaccgaagg cgcgctgaac 420

accccgaaag atcatattgg cacccgcaac ccggcgaaca acgcggcgat tgtgctgcag 480

ctgccgcagg gcaccaccct gccgaaaggc ttttatgcgg aaggcagccg cggcggcagc 540

caggcgagca gccgcagcag cagccgcagc cgcaacagca gccgcaacag cacccgggc 600

agcagcaaac gcaccagccc ggcgcgcatg gcgggcaacg gcggcgatgc ggcgctggcg 660

ctgctgctgc tggatcgcct gaaccagctg gaaagcaaaa tgtttggcaa aggccagcag 720

cagcagggcc agaccgtgac caaaaaaagc gcggcggaag cgagcaaaaa accgcgccag 780

aaacgcaccg cgaccaaagc gtataacgtg acccaggcgt ttggccgccg cggcccggaa 840

cagacccagg gcaactttgg cgatcaggaa ctgattcgcc agggcaccga ttataaacat 900

tggccgcaga ttgcgcagtt tgcgccgagc gcgagcgcgt tttttggcat gagccgcatt 960

ggcatggaag tgaccccgag cggcacctgg ctgacctata ccggcgcgat taaactggat 1020

gataaagatc cgaactttaa agatcaggtg attctgctga acaaacatat tgatgcgtat 1080

aaaaacctttc cgccgaccga accgaaaaaa gataaaaaaa aaaaagcgga tgaaacccag 1140

gcgctgccgc agcgccagaa aaaacagcag accgtgaccc tgctgccggc ggcggatctg 1200

gatgatttta gcaaacagct gcagcagagc atgagcagcg cggatagcac ccaggcg 1257

<210> 3

<211> 1195

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: S protein

<400> 3

Val Asn Phe Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser
1 5 10 15
Phe Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val

20 25 30
Leu His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr
35 40 45
Trp Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe
50 55 60
Ala Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr
65 70 75 80
Glu Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp

85 90 95
Ser Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val
100 105 110
Ile Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val
115 120 125
Tyr Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val
130 135 140
Tyr Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe

145 150 155 160
Leu Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu
165 170 175
Phe Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His
180 185 190
Thr Pro Ile Asn Leu Val Arg Gly Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu
195 200 205
Glu Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln

210 215 220
Thr Leu His Ile Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly Trp
225 230 235 240
Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg Thr

245 250 255

Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val Asp

260 265 270

Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser Phe

275 280 285

Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln Pro

290 295 300

Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe

305 310 315 320

Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn

325 330 335

Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn

340 345 350

Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys

355 360 365

Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile

370 375 380

Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Asn Ile

385 390 395 400

Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile

405 410 415

Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn

420 425 430

Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg

435 440 445

Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly

450 455 460

Val Lys Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln

465 470 475 480

Pro Thr Tyr Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser

485 490 495

Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys Ser
500 505 510
Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly Leu
515 520 525
Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro Phe

530 535 540
Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg Asp
545 550 555 560
Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly Gly
565 570 575
Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala Val
580 585 590
Leu Tyr Gln Gly Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His Ala

595 600 605
Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn Val
610 615 620
Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn Asn
625 630 635 640
Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser Tyr
645 650 655
Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Ala Ala Ala Ser Val Ala Ser Gln

660 665 670
Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Val Glu Asn Ser Val Ala
675 680 685
Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser Val
690 695 700
Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp Cys
705 710 715 720
Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu Leu

725 730 735
Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly Ile

740 745 750

Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val Lys

755 760 765

Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn Phe

770 775 780

Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Pro Ile

785 790 795 800

Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe Ile

805 810 815

Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu Ile

820 825 830

Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu Thr

835 840 845

Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr Ile

850 855 860

Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Pro Ala Leu Gln Ile Pro Phe

865 870 875 880

Pro Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn

885 890 895

Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala

900 905 910

Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Pro Ser Ala Leu Gly

915 920 925

Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu

930 935 940

Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn

945 950 955 960

Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp

965 970 975

Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr Gln

980 985 990

Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala

995 1000 1005

Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp

1010 1015 1020

Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ser Ala

1025 1030 1035

Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ala Gln

1040 1045 1050

Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp Gly Lys

1055 1060 1065

Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly Thr His

1070 1075 1080

Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile Ile Thr

1085 1090 1095

Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val Val Ile Gly

1100 1105 1110

Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu Asp

1115 1120 1125

Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His Thr Ser

1130 1135 1140

Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala Ser Val

1145 1150 1155

Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys

1160 1165 1170

Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr

1175 1180 1185

Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro

1190 1195

<210> 4

<211> 3585

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: S protein

<400> 4

gtgaacttta ccacccgcac ccagctgccg ccggcgtata ccaacagctt tacccgcggc 60

gtgtattatc cggataaagt gtttcgcagc agcgtgctgc atagcaccca ggatctgttt 120

ctgccgtttt ttagcaacgt gacctggttt catgcgattc atgtgagcgg caccaacggc 180

accaaacgct ttgcgaaccc ggtgctgccg tttaacgatg gcgtgtattt tgcgagcacc 240

gaaaaaagca acattattcg cggctggatt tttggcacca ccctggatag caaaacccag 300

agcctgctga ttgtgaacaa cgcgaccaac gtggtgatta aagtgtgcga atttcagttt 360

tgcaacgatc cgtttctggg cgtgtattat cataaaaaca acaaaagctg gatggaaagc 420

gaatttcgcg tgtatagcag cgcgaacaac tgcacctttg aatatgtgag ccagccgttt 480

ctgatggatc tggaaggcaa acagggcaac tttaaaaacc tgcgcgaatt tgtgtttaaa 540

aacattgatg gctattttaa aatttatagc aaacataccc cgattaacct ggtgcgcggc 600

ctgccgcagg gctttagcgc gctggaaccg ctggtggatc tgccgattgg cattaacatt 660

acccgctttc agaccctgca tattagctat ctgaccccgg gcgatagcag cagcggctgg 720

accgcgggcg cggcggcgta ttatgtgggc tatctgcagc cgcgcacctt tctgctgaaa 780

tataacgaaa acggcaccat taccgatgcg gtggattgcg cgctggatcc gctgagcgaa 840

accaaatgca ccctgaaaag ctttaccgtg gaaaaaggca tttatcagac cagcaacttt 900

cgcgtgcagc cgaccgaaag cattgtgcgc tttccgaaca ttaccaacct gtgcccgttt 960

ggcgaagtgt ttaacgcgac ccgctttgcg agcgtgtatg cgtggaaccg caaacgcatt 1020

agcaactgcg tggcggatta tagcgtgctg tataacagcg cgagctttag cacctttaaa 1080

tgctatggcg tgagcccgac caaactgaac gatctgtgct ttaccaacgt gtatgcggat 1140

agctttgtga ttcgcggcga tgaagtgcgc cagattgcgc cgggccagac cggcaacatt 1200

gcggattata actataaact gccggatgat tttaccggct gcgtgattgc gtggaacagc 1260

aacaacctgg atagcaaagt gggcggcaac tataactatc tgtatcgcct gtttcgcaaa 1320

agcaacctga aaccgtttga acgcgatatt agcaccgaaa tttatcaggc gggcagcacc 1380

ccgtgcaacg gcgtgaaagg ctttaactgc tattttccgc tgcagagcta tggctttcag 1440

ccgacctatg gcgtgggcta tcagccgtat cgcgtggtgg tgctgagctt tgaactgctg 1500

catgcgccgg cgaccgtgtg cggcccgaaa aaaagcacca acctggtgaa aaacaaatgc 1560

gtgaacttta actttaacgg cctgaccggc accggcgtgc tgaccgaaag caacaaaaaa 1620

tttctgccgt ttcagcagtt tggccgcgat attgcggata ccaccgatgc ggtgcgcgat 1680

ccgcagaccc tggaaattct ggatattacc ccgtgcagct ttggcggcgt gagcgtgatt 1740

accccgggca ccaacaccag caaccaggtg gcggtgctgt atcagggcgt gaactgcacc 1800

gaagtgccgg tggcgattca tgcggatcag ctgaccccga cctggcgcgt gtatagcacc 1860
ggcagcaacg tgtttcagac ccgcgcgggc tgcctgattg gcgcggaaca tgtgaacaac 1920
agctatgaat gcgatattcc gattggcgcg ggcatttgcg cgagctatca gacccagacc 1980
aacagcccgc gcgcggcggc gagcgtggcg agccagagca ttattgcgta taccatgagc 2040
ctgggcgtgg aaaacagcgt ggcgtatagc aacaacagca ttgcgattcc gaccaacttt 2100
accattagcg tgaccaccga aattctgccg gtgagcatga ccaaaaccag cgtggattgc 2160
accatgtata tttgcggcga tagcaccgaa tgcagcaacc tgctgctgca gtatggcagc 2220

ttttgcaccc agctgaaccg cgcgctgacc ggcattgcgg tggaacagga taaaaacacc 2280
caggaagtgt ttgcgcaggt gaaacagatt tataaaaccc cgccgattaa agattttggc 2340
ggctttaact ttagccagat tctgccggat ccgagcaaac cgagcaaacg cagcccgatt 2400
gaagatctgc tgtttaacaa agtgaccctg gcggatgcgg gctttattaa acagtatggc 2460
gattgcctgg gcgatattgc ggcgcgcgat ctgatttgcg cgcagaaatt taacggcctg 2520
accgtgctgc cgccgctgct gaccgatgaa atgattgcgc agtataccag cgcgctgctg 2580
gcgggcacca ttaccagcgg ctggaccttt ggcgcgggcc cggcgctgca gattccgttt 2640

ccgatgcaga tggcgtatcg ctttaacggc attggcgtga cccagaacgt gctgtatgaa 2700
aaccagaaac tgattgcgaa ccagtttaac agcgcgattg gcaaaattca ggatagcctg 2760
agcagcaccc cgagcgcgct gggcaaactg caggatgtgg tgaaccagaa cgcgcaggcg 2820
ctgaacaccc tggtgaaaca gctgagcagc aactttggcg cgattagcag cgtgctgaac 2880
gatattctga gccgcctgga tccgccggaa gcggaagtgc agattgatcg cctgattacc 2940
ggccgcctgc agagcctgca gacctatgtg acccagcagc tgattcgcgc ggcggaaatt 3000
cgcgcgagcg cgaacctggc ggcgaccaaa atgagcgaat gcgtgctggg ccagagcaaa 3060

cgcgtggatt tttgcggcaa aggctatcat ctgatgagct ttccgcagag cgcgccgcat 3120
ggcgtggtgt ttctgcatgt gacctatgtg ccggcgcagg aaaaaaactt taccaccgcg 3180
ccggcgattt gccatgatgg caaagcgcat tttccgcgcg aaggcgtgtt tgtgagcaac 3240
ggcacccatt ggtttgtgac ccagcgcaac ttttatgaac cgcagattat taccaccgat 3300
aacacctttg tgagcggcaa ctgcgatgtg gtgattggca ttgtgaacaa caccgtgtat 3360
gatccgctgc agccggaact ggatagcttt aaagaagaac tggataaata ttttaaaaac 3420
cataccagcc cggatgtgga tctgggcgat attagcggca ttaacgcgag cgtggtgaac 3480

attcagaaag aaattgatcg cctgaacgaa gtggcgaaaa acctgaacga aagcctgatt 3540

gatctgcagg aactgggcaa atatgaacag tatattaaat ggccg 3585