(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-549675
(P2023-549675A)
(43)公表日　令和5年11月29日(2023.11.29)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/00	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*39/145 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/145	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*39/155 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/155	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*39/235 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/235	４Ｈ０４５
Ａ６１Ｋ	*39/215 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/215	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全90頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-526000(P2023-526000)
(86)(22)出願日　令和3年11月3日(2021.11.3)
(85)翻訳文提出日　令和5年6月14日(2023.6.14)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/057825
(87)国際公開番号　WO2022/098701
(87)国際公開日　令和4年5月12日(2022.5.12)
(31)優先権主張番号　63/108,980
(32)優先日　令和2年11月3日(2020.11.3)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　511248249
ユニバーシティー オブ ヒューストン システム
アメリカ合衆国 ７７２０４ テキサス州 ヒューストン カルフーン ロード ４８００
(74)代理人　100118902
弁理士　山本 修
(74)代理人　100106208
弁理士　宮前 徹
(74)代理人　100196508
弁理士　松尾 淳一
(74)代理人　100126985
弁理士　中村 充利
(72)発明者　バラダラジャン，ナビン
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　呼吸器疾患に関連する状態の治療および予防

(57)【要約】
動物（例えば、対象）における状態などの病原体の防止のための組成物および方法が本明細書に記載される。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法は、１種またはそれより多くのＳＴＩＮＧアゴニストを封入するのに使用することができるリポソームを含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法のリポソームは、リポソームのリポソーム膜に付着された、それに統合された、またはそれと会合した１種またはそれより多くの抗原を含んでいてもよい。
【選択図】図１

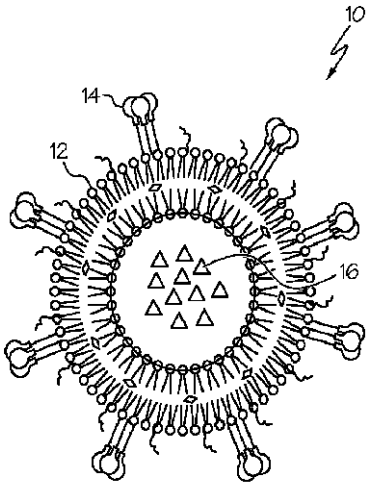


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗原およびモジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含む、動物における疾患の予防に使用するための組成物であって、
モジュレーターがパターン認識受容体アゴニストである、上記組成物。
【請求項２】
抗原およびモジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含む、対象における疾患の治療に使用するための組成物であって、
モジュレーターがパターン認識受容体アゴニストである、上記組成物。
【請求項３】
前記脂質ベースの粒子が、リポソームである、請求項１または２に記載の組成物。
【請求項４】
前記脂質ベースの粒子が、ＤＰＰＧ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール））、ＤＰＰＥ（１，２－ビス（ジフェニルホスフィノ）エタン）、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－［メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］）、コレステロール、またはそれらの組合せを含む、請求項１～３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項５】
前記脂質ベースの粒子が、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を含む、請求項１～４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６】
前記脂質ベースの粒子が、前記ＤＰＰＣ、前記ＤＰＰＧ、前記コレステロール、および前記ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を、それぞれ１０：１：１：１の比率で含む、請求項５に記載の組成物。
【請求項７】
前記抗原が、前記脂質ベースの粒子の外表面と会合している、請求項１～６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８】
前記抗原の少なくとも一部が、前記脂質ベースの粒子の膜に統合されている、請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項９】
前記抗原の少なくとも一部が、前記脂質ベースの粒子内に封入されている、請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１０】
前記抗原が、前記疾患に対して免疫応答を惹起する、請求項１～９のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１１】
前記抗原が、スパイクタンパク質またはその一部を含む、請求項１～１０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１２】
前記抗原が、ヌクレオカプシドタンパク質またはその一部を含む、請求項１～１０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１３】
前記モジュレーターが、対象におけるインターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路の刺激因子を活性化または阻害することが可能である、請求項１～１２のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１４】
前記モジュレーターが、前記ＳＴＩＮＧ経路のアゴニストである、請求項１３に記載の

組成物。
【請求項１５】
前記疾患が、病原体によって引き起こされる感染を含む、請求項１～１４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１６】
前記病原体が、呼吸器病原体である、請求項１５に記載の組成物。
【請求項１７】
前記呼吸器病原体が、ウイルスである、請求項１６に記載の組成物。
【請求項１８】
前記ウイルスが、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルス、ＤＮＡウイルス、ＲＮＡウイルス、またはそれらの組合せから選択される、請求項１７に記載の組成物。
【請求項１９】
前記インフルエンザウイルスが、インフルエンザＡウイルスまたはインフルエンザＢウイルスである、請求項１８に記載の組成物。
【請求項２０】
前記疾患が、呼吸器疾患である、請求項１～１９のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２１】
前記疾患が、がんを含む、請求項１～２０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２２】
静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、腹膜内投与、皮下投与、スプレーベースの投与、エアロゾルベースの投与、卵内投与、経口投与、眼球内投与、気管内投与、鼻腔内投与、吸入投与、またはそれらの組合せからなる群から選択される投与様式に好適である、請求項１～２１のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２３】
凍結乾燥されている、請求項１～２２のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２４】
凍結乾燥された組成物が、賦形剤を含有していてもよい滅菌溶液中で再構成される、請求項２３に記載の組成物。
【請求項２５】
前記組成物が、１つまたはそれより多くの用量での投与のための単位用量製剤の形態で製剤化される、請求項１～２４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２６】
前記疾患に対する前記対象における免疫を発生させるのに好適である、請求項１～２５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２７】
前記組成物が、前記疾患に対する前記対象における自然免疫応答を惹起する、請求項１～２６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２８】
前記自然免疫応答が、インターフェロン調節因子（ＩＲＦ）の活性化をもたらす、請求項２７に記載の組成物。
【請求項２９】
前記自然免疫応答が、核内因子κＢ（ＮＦ－κＢ）の活性化をもたらす、請求項２７に記載の組成物。
【請求項３０】
前記抗原が、配列番号１に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する、請求項１～２９のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３１】
前記抗原が、配列番号３に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する、請求項１～

３０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３２】
対象における疾患を予防する方法であって、請求項１～３１のいずれか一項に記載の組成物を該対象に投与することを含む、上記方法。
【請求項３３】
対象における疾患を治療する方法であって、請求項１～３１のいずれか一項に記載の組成物を該対象に投与することを含む、上記方法。
【請求項３４】
前記組成物が、前記疾患に対する前記対象における免疫を発生させるのに好適である、請求項３２または３３に記載の方法。
【請求項３５】
前記組成物を前記対象に投与することが、前記疾患に対する前記対象における免疫応答を惹起する、請求項３２～３４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３６】
前記組成物を投与することが、前記疾患に対する前記対象における自然免疫応答を惹起する、請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
前記自然免疫応答が、前記対象におけるインターフェロン調節因子（ＩＲＦ）の活性化をもたらす、請求項３２～３６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３８】
前記自然免疫応答が、核内因子κＢ（ＮＦ－κＢ）の活性化をもたらす、請求項３２～３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３９】
前記自然免疫応答が、Ｉ型およびＩＩＩ型インターフェロンの合成および分泌、ならびにそれに続くＩＦＮ刺激遺伝子（ＩＳＧ）の上方調節をもたらす、請求項３２～３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４０】
前記自然免疫応答が、関連する適応免疫をもたらす、請求項３６～３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４１】
前記疾患が、病原体によって引き起こされる、請求項３２～４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４２】
前記病原体が、呼吸器病原体である、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
前記呼吸器病原体が、ウイルスである、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記ウイルスが、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＳＡＲＳｒ－ＣｏＶ）、ヒトコロナウイルス２２９Ｅ（ＨＣｏＶ－２２９Ｅ）、ヒトコロナウイルスＮＬ６３（ＨＣｏＶ－ＮＬ６３）、ヒトコロナウイルスＯＣ４３（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３）、ヒトコロナウイルスＨＫＵ１（ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１）、中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＭＥＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の変異株、またはそれらの組合せから選択される、請求項４３に記載の方法。
【請求項４５】
前記組成物が、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、腹膜内投与、皮下投与、スプレーベースの投与、エアロゾルベースの投与、卵内投与、経口投与、眼球内投与、気管内投与、鼻腔内投与、吸入投与、またはそれらの組合せによって前記対象に投与される、請求項３２～４４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４６】

前記組成物が、単回用量で前記対象に投与される、請求項３２～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４７】
前記組成物が、少なくとも２つの用量で前記対象に投与され、該少なくとも２つの用量の第１の用量および第２の用量は、少なくとも４時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも１４日、または少なくとも２８日の間隔で投与される、請求項３２～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４８】
前記対象が、哺乳動物である、請求項３２～４７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４９】
前記対象における前記疾患の定着を防止するのに使用される、請求項３２または請求項３４～４８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５０】
前記方法が、前記対象における前記疾患の進行を防止するのに使用される、請求項３２または請求項３４～４８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５１】
前記方法が、疾患の第２の対象への伝播を防止するのに使用される、請求項３２または請求項３４～５０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５２】
前記抗原が、配列番号１に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する、請求項３２～５１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５３】
前記抗原が、配列番号３に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する、請求項３２～５１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５４】
対象における疾患または状態の予防に使用するための組成物であって、モジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含み、該モジュレーターは、免疫系の活性化剤である、組成物。
【請求項５５】
対象における疾患または状態の治療に使用するための組成物であって、モジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含み、該モジュレーターが、免疫系の活性化剤である、組成物。
【請求項５６】
前記モジュレーターが、インターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路活性化剤の刺激因子である、請求項５４～５５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項５７】
脂質粒子が、ポリ（エチレングリコール）－脂質（ＰＥＧ－脂質）を含有する、請求項５４～５６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項５８】
前記脂質ベースの粒子が、ＤＰＰＧ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール））、ＤＰＰＥ（１，２－ビス（ジフェニルホスフィノ）エタン）、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＥＰＥＧ２０００（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－－メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］）、コレステロール、またはそれらの組合せを含む、請求項５４～５７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項５９】
前記脂質ベースの粒子が、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－Ｐ

ＥＧ２０００を含む、請求項５８に記載の組成物。
【請求項６０】
前記脂質ベースの粒子が、前記ＤＰＰＣ、前記ＤＰＰＧ、前記コレステロール、および前記ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を、それぞれ１０：１：１：１の比率で含む、請求項５９に記載の組成物。
【請求項６１】
前記組成物が、少なくとも３μｇの前記モジュレーターを含む、請求項５４～６０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６２】
前記組成物が、少なくとも３０μｇの前記モジュレーターを含む、請求項５４～６０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６３】
少なくとも１２０μｇの前記モジュレーターを含む、請求項５４～５６０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６４】
前記アゴニストが、脂質ナノ粒子中に封入されている、請求項６４～６３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６５】
前記アゴニストが、脂質粒子の表面上に、吸着されているか、共有結合でカップリングされているか、静電的に相互作用しているか、または製剤化されている、請求項５４～６３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６６】
２価カチオンが、加えて、前記脂質ナノ粒子に、封入されているか、吸着されているか、共有結合でカップリングされているか、静電的に相互作用しているか、または製剤化される、請求項５４～６５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６７】
前記疾患が、病原体によって引き起こされる感染を含む、請求項５４～６６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６８】
前記病原体が、呼吸器病原体である、請求項６７に記載の組成物。
【請求項６９】
前記呼吸器病原体が、ウイルスである、請求項６８に記載の組成物。
【請求項７０】
前記ウイルスが、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルス、ＤＮＡウイルス、ＲＮＡウイルス、またはそれらの組合せから選択される、請求項６９に記載の組成物。
【請求項７１】
前記インフルエンザウイルスが、インフルエンザＡウイルスまたはインフルエンザＢウイルスである、請求項７０に記載の組成物。
【請求項７２】
前記疾患が、呼吸器疾患である、請求項５４～７１のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７３】
前記疾患が、がんを含む、請求項５４～７２のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７４】
前記組成物が、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、腹膜内投与、皮下投与、スプレーベースの投与、エアロゾルベースの投与、卵内投与、経口投与、眼球内投与、気管内投与、鼻腔内投与、吸入投与、またはそれらの組合せからなる群から選択される投与様式に好適である、請求項５４～７３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７５】

前記組成物が、凍結乾燥されている、請求項５４～７４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７６】
凍結乾燥製剤が、使用前に、賦形剤を含有していてもよい滅菌溶液中で再構成される、請求項５４～７５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７７】
動物における疾患または状態の予防に使用するための組成物であって、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含み、該活性化剤は、鼻腔内に送達される、上記組成物。
【請求項７８】
動物における疾患または状態の治療に使用するための組成物であって、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含み、該活性化剤は、鼻腔内に送達される、組成物。
【請求項７９】
前記組成物が、少なくとも３μｇの前記モジュレーターを含む、請求項７７～７８のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８０】
前記組成物が、少なくとも３０μｇの前記モジュレーターを含む、請求項７７～７８のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８１】
前記組成物が、少なくとも１２０μｇの前記モジュレーターを含む、請求項７７～７８のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８２】
前記疾患が、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルス、ＤＮＡウイルス、ＲＮＡウイルス、またはそれらの組合せから選択されるウイルスによって引き起こされる、請求項７７～８１のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８３】
前記インフルエンザウイルスが、インフルエンザＡウイルスまたはインフルエンザＢウイルスである、請求項８２に記載の組成物。
【請求項８４】
前記疾患が、細菌であるによって引き起こされる、請求項７７～８３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８５】
前記疾患が、がんを含む、請求項７７～８４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８６】
請求項５４～８５のいずれか一項に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む方法であって、前記組成物が、単回用量で該対象に投与される、方法。
【請求項８７】
請求項５４～８６のいずれか一項に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む方法であって、前記組成物が、少なくとも２つの用量で前記対象に投与され、該少なくとも２つの用量の第１の用量および第２の用量は、少なくとも４時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも１４日、または少なくとも２８日の間隔で投与される、上記方法。
【請求項８８】
前記組成物が、４つの用量で前記対象に投与される、請求項８７に記載の方法。
【請求項８９】
前記第２、第３、および第４の用量が、前の用量の後、１２～３６時間にわたり投与される、請求項８８に記載の方法。
【請求項９０】
各用量が、少なくとも３μｇの前記ＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含む、請求項８６～８９

のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９１】
各用量が、少なくとも３０μｇの前記ＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含む、請求項８６～８９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９２】
各用量が、少なくとも１２０μｇの前記ＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含む、請求項９１に記載の方法。
【請求項９３】
前記自然免疫応答が、Ｉ型およびＩＩＩ型インターフェロン（ＩＦＮ）の合成および分泌、それに続くＩＦＮによって刺激された遺伝子（ＩＳＧ）の上方調節をもたらす、請求項８６～８２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９４】
前記対象が、哺乳動物である、請求項８６～９３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９５】
前記方法が、前記対象における前記疾患の定着または進行を防止するのに使用される、請求項８６～９４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９６】
前記方法が、別の対象への前記疾患の伝播を防止するのに使用される、請求項８６～９５のいずれか一項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
<u>連邦政府による資金提供を受けた研究に関する陳述</u>
[0001]本発明は、国立衛生研究所によって付与されたＵ０１ＡＩ１４８１１８に基づく政府支援を受けてなされた。政府は、本発明において一定の権利を有する。
【０００２】
<u>関連出願の相互参照</u>
[0002]本出願は、２０２０年１１月３日に出願された米国仮特許出願第６３／１０８，９８０号の利益を主張する。前述の出願の全体が、参照により本明細書に組み入れられる。
【背景技術】
【０００３】
[0003]病原体によって引き起こされる感染症や様々な種類のがんなどの様々な疾患に対処するために、安全で長続きする防止用および治療用組成物が緊急に必要である。本発明の開示の多数の実施態様が、前述の必要性に対処している。
【発明の概要】
【０００４】
[0004]様々な形態において、動物における疾患を予防することにおける使用のための組成物は、抗原およびモジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含み、モジュレーターは、パターン認識受容体アゴニストである。様々な形態において、対象における疾患を処置することにおける使用のための組成物は、抗原およびモジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含み、モジュレーターは、パターン認識受容体アゴニストである。用語「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ」は、本明細書において、本明細書に記載される組成物の様々な実施態様を記載するのに使用される。例えば、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ」は、モジュレーター（例えば、パターン認識受容体アゴニスト、例えばＳＴＩＮＧアゴニスト）および粒子（例えば、脂質ベースの粒子、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む組成物を指すことができる。一部の場合において、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ」は、モジュレーターおよび粒子を含む組成物であって、関連する抗原分子を有さない、組成物を指す。一部の場合において、ＮａｎｏＳＴＩＮＧという用語は、モジュレーター、２価カチオン（例えば、これらに限定されないが、Ｍｎ２＋、Ｍｇ２＋、Ｃａ２＋、Ｚｎ２＋）および粒子を含む組成物を指す。一部の

場合において、用語「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ」は、本明細書において、例えば、抗原分子の包含に関する文脈に記載される場合に抗原分子を含む本明細書に記載される組成物を指すものとして使用され、および／またはこの用語は、抗原分子を含む実施態様を反映するために修飾される場合、そのような組成物を指すものとして使用される（例えば、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－単量体」、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体」、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＲＳＶ」、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｓ」、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ｖａｒＳ」、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ」、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ」、「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」、または「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）。一部の場合において、脂質ベースの粒子は、リポソームである。一部の場合において、脂質ベースの粒子は、ＤＰＰＧ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール））、ＤＰＰＥ（１，２－ビス（ジフェニルホスフィノ）エタン）、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－［メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］）、コレステロール、またはそれらの組合せを含む。一部の場合において、脂質ベースの粒子は、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を含む。一部の場合において、脂質ベースの粒子は、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を、それぞれ１０：１：１：１の比率で含む。一部の場合において、抗原は、脂質ベースの粒子の外表面と会合している。一部の場合において、抗原は、脂質ベースの粒子の外表面に、共有結合で、または非共有結合で結合している。一部の場合において、抗原の少なくとも一部は、脂質ベースの粒子の膜に統合されている。一部の場合において、抗原の少なくとも一部は、脂質ベースの粒子内に封入されている。一部の場合において、抗原は、疾患に対して免疫応答を惹起する。一部の場合において、抗原は、弱毒化した病原体またはその一部を含む。一部の場合において、抗原は、致死させた病原体またはその一部を含む。一部の場合において、抗原は、病原体のペプチドまたはタンパク質を含む。一部の場合において、抗原は、スパイクタンパク質またはその一部を含む。一部の場合において、抗原は、ヌクレオカプシドタンパク質またはその一部を含む。一部の場合において、抗原は、キメラタンパク質を含む。一部の場合において、抗原は、三量体である。一部の場合において、抗原は、腫瘍細胞の弱毒化した、または致死させた形態を含む。一部の場合において、腫瘍細胞は、がんに関連する。一部の場合において、抗原は、がん細胞に関連するペプチドまたはタンパク質を含む。一部の場合において、対象におけるモジュレーターは、インターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路の刺激因子を活性化または阻害することが可能である。一部の場合において、モジュレーターは、ＳＴＩＮＧ経路のアゴニストである。一部の場合において、モジュレーターは、ビス－（３’，５’）－環状二量体グアノシン一リン酸（ｃ－ジ－ＧＭＰ）、環状グアノシン一リン酸－アデノシン一リン酸（ｃＧＡＭＰ）、アミドベンズイミダゾール、アミドベンズイミダゾールの誘導体、ヌクレオチドモジュレーター、プラスミドＤＮＡモジュレーターまたはそれらの組合せからなる群から選択される。一部の場合において、モジュレーターは、ＳＴＩＮＧ経路のアンタゴニストである。一部の場合において、疾患は、病原体によって引き起こされる感染を含む。一部の場合において、病原体は、呼吸器病原体である。一部の場合において、呼吸器病原体は、ウイルスである。一部の場合において、ウイルスは、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルス、ＤＮＡウイルス、ＲＮＡウイルス、またはそれらの組合せから選択される。一部の場合において、インフルエンザウイルスは、インフルエンザＡウイルスまたはインフルエンザＢウイルスである。一部の場合において、ウイルスは、呼吸器系合胞体ウイルスである。一部の場合において、ウイルスは、コロナウイルスである。一部の場合において、コロナウイルスは、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＳＡＲＳｒ－ＣｏＶ）、ヒトコロナウイルス２２９Ｅ（ＨＣｏＶ－２２９Ｅ）、ヒトコロナウイルスＮＬ６３（ＨＣｏＶ－ＮＬ６３）、ヒトコロナウイルスＯＣ４３（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３）、ヒトコロナウイルスＨＫＵ１（

ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１）、中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＭＥＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の変異株、またはそれらの組合せから選択される。一部の場合において、疾患は、呼吸器疾患である。一部の場合において、疾患は、がんを含む。一部の場合において、がんは、気管がん、肺がん、気管支がん、上皮がん、血液のがん、乳がん、黒色腫、卵巣がん、婦人科系がん、白血病、リンパ腫、前立腺がん、膀胱がん、結腸がん、神経膠腫、肉腫、膠芽腫、またはそれらの組合せから選択される。一部の場合において、がんは、肺がんである。一部の場合において、組成物は、ワクチンの形態である。一部の場合において、組成物は、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、腹膜内投与、皮下投与、スプレーベースの投与、エアロゾルベースの投与、卵内投与、経口投与、眼球内投与、気管内投与、鼻腔内投与、吸入投与、またはそれらの組合せからなる群から選択される投与様式に好適である。一部の場合において、組成物は、凍結乾燥されている。一部の場合において、凍結乾燥された組成物は、賦形剤を含有していてもよい滅菌溶液中で再構成される。一部の場合において、組成物は、単独療法剤として、単位用量製剤の形態で製剤化される。一部の場合において、組成物は、１つまたはそれより多くの用量での投与のための単位用量製剤の形態で製剤化される。一部の場合において、組成物は、アジュバントを含む。一部の場合において、組成物は、疾患に対して対象における免疫を発生させるのに好適である。一部の場合において、組成物は、疾患に対して免疫応答を惹起する。一部の場合において、組成物は、疾患に対して対象における自然免疫応答を惹起する。一部の場合において、自然免疫応答は、インターフェロン調節因子（ＩＲＦ）の活性化をもたらす。一部の場合において、自然免疫応答は、核内因子κＢ（ＮＦ－κＢ）の活性化をもたらす。一部の場合において、抗原は、配列番号１に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する。一部の場合において、抗原は、配列番号３に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する。一部の場合において、自然免疫応答は、Ｉ型およびＩＩＩ型インターフェロンの合成および分泌、ならびにそれに続くＩＦＮ刺激遺伝子（ＩＳＧ）の上方調節をもたらす。

【０００５】

[0005]様々な形態において、対象における疾患を予防する方法は、上述した、または本明細書に記載の組成物を対象に投与することを含む。様々な形態において、対象における疾患を処置する方法は、上述した、または本明細書に記載の組成物を対象に投与することを含む。一部の場合において、組成物は、疾患に対して対象における免疫を発生させるのに好適である。一部の場合において、組成物を対象に投与することは、疾患に対して対象における免疫応答を惹起する。一部の場合において、組成物を投与することは、疾患に対して対象における自然免疫応答を惹起する。一部の場合において、自然免疫応答は、対象におけるインターフェロン調節因子（ＩＲＦ）の活性化をもたらす。一部の場合において、自然免疫応答は、核内因子κＢ（ＮＦ－κＢ）の活性化をもたらす。一部の場合において、自然免疫応答は、Ｉ型およびＩＩＩ型インターフェロンの合成および分泌、ならびにそれに続くＩＦＮ刺激遺伝子（ＩＳＧ）の上方調節をもたらす。一部の場合において、自然免疫応答は、関連する適応免疫をもたらす。一部の場合において、疾患は、病原体によって引き起こされる。一部の場合において、病原体は、呼吸器病原体である。一部の場合において、呼吸器病原体は、ウイルスである。一部の場合において、ウイルスは、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＳＡＲＳｒ－ＣｏＶ）、ヒトコロナウイルス２２９Ｅ（ＨＣｏＶ－２２９Ｅ）、ヒトコロナウイルスＮＬ６３（ＨＣｏＶ－ＮＬ６３）、ヒトコロナウイルスＯＣ４３（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３）、ヒトコロナウイルスＨＫＵ１（ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１）、中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＭＥＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の変異株、またはそれらの組合せから選択される。一部の場合において、疾患は、がんである。一部の場合において、がんは、気管がん、肺がん、気管支がん、上皮がん、血液のがん、乳がん、黒色腫、卵巣がん、婦人科系がん、白血病、リンパ腫、前立腺がん、膀胱がん、結腸がん、神経膠腫、肉腫、膠芽腫、またはそれらの組合せから選択される。一部の場合において、がんは、

肺がんである。一部の場合において、組成物は、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、腹膜内投与、皮下投与、スプレーベースの投与、エアロゾルベースの投与、卵内投与、経口投与、眼球内投与、気管内投与、鼻腔内投与、吸入投与、またはそれらの組合せによって対象に投与される。一部の場合において、組成物は、鼻腔内投与によって対象に投与される。一部の場合において、組成物は、吸入法投与によって対象に投与される。一部の場合において、組成物は、単回用量で対象に投与される。一部の場合において、組成物は、少なくとも２つの用量で対象に投与され、少なくとも２つの用量の第１の用量および第２の用量は、少なくとも４時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも１４日、または少なくとも２８日の間隔で投与される。一部の場合において、組成物は、１つまたはそれより多くのアジュバント組成物または処置と組み合わせて投与される。一部の場合において、１つまたはそれより多くのアジュバント処置は、免疫療法、ウイルス療法、標的化阻害、放射線療法、化学療法、またはそれらの組合せから選択される。一部の場合において、対象は、哺乳動物である。一部の場合において、対象は、呼吸器感染症またはがんを有するリスクがある。一部の場合において、本方法は、対象における疾患の定着を防止するのに使用される。一部の場合において、本方法は、対象における疾患の進行を防止するのに使用される。一部の場合において、本方法は、疾患の第２の対象への伝播を防止するのに使用される。一部の場合において、抗原は、配列番号１に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する。一部の場合において、抗原は、配列番号３に少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有する。

【０００６】

[0006]様々な形態において、対象における疾患または状態を予防することにおける使用のための組成物は、モジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含み、モジュレーターは、免疫系の活性化剤である。様々な形態において、対象における疾患または状態を処置することにおける使用のための組成物は、モジュレーターを含む脂質ベースの粒子を含み、モジュレーターは、免疫系の活性化剤である。一部の場合において、モジュレーターは、インターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路活性化剤の刺激因子である。一部の場合において、脂質粒子は、ポリ（エチレングリコール）－脂質（ＰＥＧ－脂質）を含有する。一部の場合において、脂質ベースの粒子は、ＤＰＰＧ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール））、ＤＰＰＥ（１，２－ビス（ジフェニルホスフィノ）エタン）、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＥＰＥＧ２０００（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－－メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］）、コレステロール、またはそれらの組合せを含む。一部の場合において、脂質ベースの粒子は、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を含む。一部の場合において、脂質ベースの粒子は、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を、それぞれ１０：１：１：１の比率で含む。一部の場合において、組成物は、少なくとも３０μｇのモジュレーターを含む。一部の場合において、組成物は、少なくとも１２０μｇのモジュレーターを含む。一部の場合において、アゴニストは、脂質ナノ粒子中に封入されている。一部の場合において、アゴニストは、脂質粒子の表面上に、吸着されているか、共有結合でカップリングされているか、静電的に相互作用しているか、または製剤化される。一部の場合において、２価カチオンは、加えて、封入されているか、脂質ナノ粒子に、吸着されているか、共有結合でカップリングされているか、静電的に相互作用しているか、または製剤化される。一部の場合において、疾患は、病原体によって引き起こされる感染を含む。一部の場合において、病原体は、呼吸器病原体である。一部の場合において、呼吸器病原体は、ウイルスである。一部の場合において、ウイルスは、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルス、ＤＮＡウイルス、ＲＮＡウイルス、またはそれらの組合せから選択される。一部の

場合において、インフルエンザウイルスは、インフルエンザＡウイルスまたはインフルエンザＢウイルスである。一部の場合において、疾患は、呼吸器疾患である。一部の場合において、疾患は、がんを含む。一部の場合において、組成物は、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、腹膜内投与、皮下投与、スプレーベースの投与、エアロゾルベースの投与、卵内投与、経口投与、眼球内投与、気管内投与、鼻腔内投与、吸入投与、またはそれらの組合せからなる群から選択される投与様式に好適である。一部の場合において、組成物は、凍結乾燥されている。一部の場合において、凍結乾燥製剤は、使用前に、賦形剤を含有していてもよい滅菌溶液中で再構成される。

【０００７】

[0007]様々な形態において、動物における疾患または状態を予防することにおける使用のための組成物は、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含み、活性化剤は、鼻腔内に送達される。様々な形態において、動物における疾患または状態を処置することにおける使用のための組成物は、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含み、活性化剤は、鼻腔内に送達される。一部の場合において、組成物は、少なくとも３０μｇのモジュレーターを含む。一部の場合において、組成物は、少なくとも１２０μｇのモジュレーターを含む。一部の場合において、疾患は、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルス、ＤＮＡウイルス、ＲＮＡウイルス、またはそれらの組合せから選択されるウイルスによって引き起こされる。一部の場合において、インフルエンザウイルスは、インフルエンザＡウイルスまたはインフルエンザＢウイルスである。一部の場合において、疾患は、細菌である。一部の場合において、疾患は、がんを含む。

【０００８】

[0008]様々な形態において、方法は、上述した、または本明細書に記載のいずれかの実施態様の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含み、組成物は、単回用量で対象に投与される。様々な形態において、上述した、または本明細書に記載のいずれかの実施態様の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む方法であって、組成物は、少なくとも２つの用量で前記対象に投与され、該少なくとも２つの用量の第１の用量および第２の用量は、少なくとも４時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも１４日、または少なくとも２８日の間隔で投与される、方法である。一部の場合において、組成物は、４つの用量で対象に投与される。一部の場合において、第２、第３、および第４の用量は、前の用量の後、１２～３６時間にわたり投与される。一部の場合において、各用量は、少なくとも３０μｇのＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含む。一部の場合において、各用量は、少なくとも１２０μｇのＳＴＩＮＧ経路活性化剤を含む。一部の場合において、自然免疫応答は、Ｉ型およびＩＩＩ型インターフェロン（ＩＦＮ）の合成および分泌、ならびにそれに続くＩＦＮによって刺激された遺伝子（ＩＳＧ）の上方調節をもたらす。一部の場合において、対象は、哺乳動物である。一部の場合において、本方法は、対象における疾患の定着または進行を防止するのに使用される。一部の場合において、本方法は、別の対象への疾患の伝播を防止するのに使用される。

【０００９】

[0009]本発明の主題の特徴および利点のよりよい知識は、本発明の原理が利用される例示的な実施態様を記載した以下の詳細な説明を参照することにより得られ、添付の図面は以下の通りである。

【図面の簡単な説明】

【００１０】

【図１】[0010]図１は、様々な本発明の開示の実施態様に従って、疾患を処置または防止するためのリポソーム、ペイロード、および抗原を含む組成物の描写を提供する。

【図２】[0011]図２Ａは、本発明の開示の１つまたはそれより多くの治療用組成物を、病原体への曝露の前に対象に投与することによって対象（例えば、動物、例えば哺乳動物

）における疾患を防止する方法を例示する。図２Ｂは、本発明の開示の１つまたはそれより多くの治療用組成物を、病原体への曝露の後に投与することによって対象における疾患を処置する方法を例示する。

【図３】[0012]図３は、実施態様による、疾患を処置または防止するためのリポソーム、三量体の抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物の投与、または三量体の抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストが欠如した対照組成物の投与の概略図を示す。

【図４】[0013]図４Ａは、実施態様による、疾患を処置または防止するための組成物に取り込まれた三量体Ｓ－タンパク質の概略図を示す。図４Ｂは、実施態様による、図４Ａに提示された精製された三量体Ｓ－タンパク質に実行された変性ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）ゲルアッセイからの画像を示す。

【図５－１】[0014]図５Ａは、実施態様による、対象における疾患を処置または防止するための本明細書に記載される組成物を使用した動物対象のインビボでの試験のための方法の工程のタイムラインを示す。 [0015]図５Ｂは、実施態様による、疾患を処置または防止するための本明細書に記載される組成物を用いたインビボでのマウス対象試験の体重測定値のタイムラインを示す。 [0016]図５Ｃは、実施態様による、三量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物を用いたインビボでのマウス対象試験の体重測定値のタイムラインを示す。

【図５－２】[0017]図５Ｄおよび図５Ｅは、実施態様による、三量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物の投与後の７日目（図５Ｄ）および１５日目（図５Ｅ）における血清の抗原ベースのＩｇＧ ＥＬＩＳＡ分析を使用した体液性免疫応答の評価を示す。 [0018]図５Ｆは、実施態様による、三量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物の投与後の１５日目にマウスから得た気管支肺胞洗浄液の抗原ベースのＩｇＧ ＥＬＩＳＡ分析を使用した、体液性免疫応答の評価を示す。

【図５－３】[0019]図５Ｇは、実施態様による、三量体抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物の投与後の７日目、１５日目、２１日目、および２４日目に収集された血清の抗体力価を使用して処置したマウスにおける体液性免疫応答の時間依存性の速度論を示す。図５Ｈは、図５Ｇに提示される各マウス対象のデータの縦モード解析を示す。

【図５－４】[0020]図５Ｉは、実施態様による、三量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物での処置後の脾臓から収集されたサンプル中で検出された抗体分泌細胞（ＡＳＣ）を分泌するＩｇＡの定量化を示す。図５Ｊは、実施態様による、三量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物での処置後の脾臓から収集されたサンプル中で検出された抗体分泌細胞（ＡＳＣ）を分泌するＳ－タンパク質特異的ＩｇＡの定量化を示す。

【図５－５】[0021]図５Ｋは、実施態様による、三量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物での処置後の２４日目に動物対象の血清で検出されたＳ－タンパク質特異的ＩｇＡのレベルの定量化を示す。 [0022]図５Ｌは、実施態様による、三量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置したマウスから得た気管支肺胞洗浄液で検出されたＳ－タンパク質特異的ＩｇＡのレベルの定量化を示す。

【図５－６】[0023]図５Ｍは、実施態様による、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴ

ＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置したマウスからの血清のシュードウイルス中和アッセイ測定から決定された抗体応答のＩＤ５０レベルを示す。 [0024]図５Ｎは、気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）のシュードウイルス中和アッセイ測定から決定された気管支実施態様による、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からの肺胞洗浄液の抗体応答のＩＤ５０レベルを示す。

【図５－７】[0025]図５－Ｏは、実施態様による、リポソーム、三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物での処置後の脾臓から得られたサンプルで検出されたインターフェロンガンマ（ＩＦＮγ）レベルのＥＬＩＳｐｏｔアッセイデータを示す。

【図５－８】図５Ｐは、実施態様による、ＥＬＩＳｐｏｔインターフェロンガンマ定量化アッセイに使用した保存されたペプチド（１５ｍｅｒ）のタンパク質レベルマッピングを示す。

【図６－１】[0026]図６Ａは、実施態様による、鼻咽頭関連リンパ組織（ＮＡＬＴ）から得られたサンプルでのシングルセルＲＮＡ（ｓｃＲＮＡ）シーケンシング（ｓｃＲＮＡ－ｓｅｑ）を実行するための実験的方法を示す。

【図６－２】[0027]図６Ｂ、図６Ｃおよび図６Ｄは、実施態様による、シングルセルＲＮＡシーケンシング（ｓｃＲＮＡ－ｓｅｑ）アッセイにおける使用のための生細胞の単離のためのフローサイトメトリーゲーティング戦略を示す。一部の場合において、細胞は、図６Ｂで示されるフローサイトメトリーゲートを使用して同定され、単一の細胞は、図６Ｃにおけるゲートを使用することによって図６Ｂに示されるゲートを用いて得られた細胞の集団から同定され、生きた単一の細胞は、図６Ｄにおけるゲートを使用することによって図６Ｃに示されるゲートを用いて得られた単一の細胞の集団から得られる。

【図７－１】[0028]図７Ａは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象鼻咽頭関連リンパ組織（ＮＡＬＴ）における免疫細胞の均一多様体近似および投影（ＵＭＡＰ）分析を示す。

【図７－２】図７Ｂ、図７Ｃ、図７Ｄは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた免疫細胞集団における、それぞれＢ細胞マーカーであるＣＤ１９、Ｍｓ４ａ１、およびＣＤ７９ａの相対発現のバイオリン図を示す。

【図７－３】図７Ｅ、図７Ｆおよび図７Ｇは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた免疫細胞集団における、それぞれＴ細胞マーカーであるＣＤ３ｄ、ＣＤ３ｅ、およびＣＤ３ｇの相対発現のバイオリン図を示す。

【図７－４】図７Ｈ、図７－Ｉおよび図７Ｊは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた免疫細胞集団における、それぞれＮＫ細胞マーカーであるＧｚｍＢ、Ｎｃｒ１、およびＣｃｌ５の相対発現のバイオリン図を示す。

【図７－５】図７Ｋ、図７Ｌおよび図７Ｍは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた免疫細胞集団における、それぞれ骨髄性細胞マーカーであるＣＤ１４、Ｓ１００ａ９、およびＩＬ－１ｂの相対発現のバイオリン図を示す。

【図８－１】[0029]図８Ａは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象に実行されたｓｃＲＮＡ－ｓｅｑアッセイの均一多様体近似および投影（ＵＭＡＰ）分析に基づくＢ細胞部分集団の同定を示す。 [0030]図８Ｂは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象に実行されたｓｃＲＮＡ－ｓｅｑアッセイのＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＢ細胞部分集団の相対的な頻度の定量化を示す。

【図８－２】[0031]図８Ｃ、図８Ｄ、図８Ｅ、図８Ｆ、図８Ｇおよび図８Ｈは、実施態

様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られたＢ細胞部分集団における、それぞれＣＤ６９、ＣＤ３８、ＣＤ８３、ＣＸＣＲ４、Ｚｆｐ３６、およびＥｒｇ１の相対発現のバイオリン図を示す。

【図８－３】[0031]図８Ｃ、図８Ｄ、図８Ｅ、図８Ｆ、図８Ｇおよび図８Ｈは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られたＢ細胞部分集団における、それぞれＣＤ６９、ＣＤ３８、ＣＤ８３、ＣＸＣＲ４、Ｚｆｐ３６、およびＥｒｇ１の相対発現のバイオリン図を示す。

【図９－１】図９Ａ、図９Ｂ、図９Ｃ、図９Ｄ、図９Ｅ、図９Ｆ、図９Ｇ、図９Ｈ、図９－Ｉ、図９Ｊ、図９Ｋ、図９Ｌおよび図９Ｍは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた細胞を使用してＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＢ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ１９、Ｍｓ４ａ１、Ｉｇｈｍ、Ｉｒｆ４、Ｐａｘ５、Ｓｅｃ６１ｂ、Ｆｏｓｂ、Ｊｕｎ、Ｔｒａｍ１、Ｉｇｈａ、ＥＧＲ３、Ｃａｓｐ３、およびＦｏｓの相対発現のバイオリン図を示す。

【図９－２】図９Ａ、図９Ｂ、図９Ｃ、図９Ｄ、図９Ｅ、図９Ｆ、図９Ｇ、図９Ｈ、図９－Ｉ、図９Ｊ、図９Ｋ、図９Ｌおよび図９Ｍは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた細胞を使用してＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＢ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ１９、Ｍｓ４ａ１、Ｉｇｈｍ、Ｉｒｆ４、Ｐａｘ５、Ｓｅｃ６１ｂ、Ｆｏｓｂ、Ｊｕｎ、Ｔｒａｍ１、Ｉｇｈａ、ＥＧＲ３、Ｃａｓｐ３、およびＦｏｓの相対発現のバイオリン図を示す。

【図９－３】図９Ａ、図９Ｂ、図９Ｃ、図９Ｄ、図９Ｅ、図９Ｆ、図９Ｇ、図９Ｈ、図９－Ｉ、図９Ｊ、図９Ｋ、図９Ｌおよび図９Ｍは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた細胞を使用してＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＢ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ１９、Ｍｓ４ａ１、Ｉｇｈｍ、Ｉｒｆ４、Ｐａｘ５、Ｓｅｃ６１ｂ、Ｆｏｓｂ、Ｊｕｎ、Ｔｒａｍ１、Ｉｇｈａ、ＥＧＲ３、Ｃａｓｐ３、およびＦｏｓの相対発現のバイオリン図を示す。

【図９－４】図９Ａ、図９Ｂ、図９Ｃ、図９Ｄ、図９Ｅ、図９Ｆ、図９Ｇ、図９Ｈ、図９－Ｉ、図９Ｊ、図９Ｋ、図９Ｌおよび図９Ｍは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた細胞を使用してＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＢ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ１９、Ｍｓ４ａ１、Ｉｇｈｍ、Ｉｒｆ４、Ｐａｘ５、Ｓｅｃ６１ｂ、Ｆｏｓｂ、Ｊｕｎ、Ｔｒａｍ１、Ｉｇｈａ、ＥＧＲ３、Ｃａｓｐ３、およびＦｏｓの相対発現のバイオリン図を示す。

【図１０－１】[0032]図１０Ａは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象に実行されたｓｃＲＮＡ－ｓｅｑアッセイの均一多様体近似および投影（ＵＭＡＰ）分析に基づくＴ細胞部分集団の同定を示す。 [0033]図１０Ｂは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象に実行されたｓｃＲＮＡ－ｓｅｑアッセイのＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＴ細胞部分集団の相対的な頻度の定量化を示す。

【図１０－２】[0034]図１０Ｃ、図１０Ｄ、図１０Ｅ、図１０Ｆ、図１０Ｇおよび図１０Ｈは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られたＴ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ６９、Ｉｌ６ｒａ、ＣＤ２７、Ｎｒ４ａ１、Ｔｃｆ７、およびＬｅｆ１の相対発現のバイオリン図を示す。

【図１０－３】[0034]図１０Ｃ、図１０Ｄ、図１０Ｅ、図１０Ｆ、図１０Ｇおよび図１

０Ｈは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られたＴ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ６９、Ｉｌ６ｒａ、ＣＤ２７、Ｎｒ４ａ１、Ｔｃｆ７、およびＬｅｆ１の相対発現のバイオリン図を示す。

【図１１－１】図１１Ａ、図１１Ｂ、図１１Ｃ、図１１Ｄ、図１１Ｅ、図１１Ｆおよび図１１Ｇは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた細胞を使用してＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＴ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ４、ＣＤ８ａ、ＣＤ２８、ＩＬ７Ｒ、Ｎｐｍ１、Ｆｏｓ、およびＪｕｎの相対発現のバイオリン図を示す。

【図１１－２】図１１Ａ、図１１Ｂ、図１１Ｃ、図１１Ｄ、図１１Ｅ、図１１Ｆおよび図１１Ｇは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象から得られた細胞を使用してＵＭＡＰ分析を使用して同定されたＴ細胞部分集団における、それぞれ、ＣＤ４、ＣＤ８ａ、ＣＤ２８、ＩＬ７Ｒ、Ｎｐｍ１、Ｆｏｓ、およびＪｕｎの相対発現のバイオリン図を示す。

【図１２Ａ】[0035]図１２Ａは、実施態様による、抗原、リポソーム、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象の鼻咽頭関連リンパ組織から得られた細胞のｓｃＲＮＡ－ｓｅｑ分析から得られたデータを使用して作成された細胞間相互作用ネットワークを示す。

【図１２Ｂ】図１２Ｂは、鼻咽頭関連リンパ組織（ＮＡＬＴ）中のＧＣ　Ｂ細胞部分集団の細胞とＴｆｈ部分集団の細胞との間の、予測されたリガンド－受容体相互作用（左から右へ：ＴＮＦＲＳＦ１３ＣからＴＮＦＳＦ１３Ｂ；ＩＣＯＳＬＧからＩＣＯＳ；ＢＴＬＡからＴＮＦＳＦ１４；ＣＤ４０からＣＤ４０ＬＧ；ＩＬ－２１受容体からＩＬ－２１；ＣＸＣＬ１２からＣＸＣＲ４；ＣＤ２８からＣＤ８６；ＣＤ２８からＣＤ８０）を示す。

【図１３－１】[0036]図１３Ａは、実施態様による、動物対象の免疫化（例えば、ワクチン接種）において有用な可能性がある本明細書に記載される組成物に取り込まれる単量体Ｓ－タンパク質の概略図を示す。図１３Ｂは、実施態様による、図１３Ａに描写された単量体Ｓ－タンパク質を特徴付けるのに使用された変性ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルの画像を示す。　[0037]図１３Ｃは、実施態様による、単量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対して、リポソーム、単量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した後の１５日目（「ｄ１５」）に動物対象から得られた血清における体液性免疫応答のＩｇＧ　ＥＬＩＳＡ定量化を示す。

【図１３－２】[0038]図１３Ｄは、実施態様による、リポソーム、単量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からの血清のシュードウイルス中和アッセイ測定から決定された抗体応答のＩＤ５０レベルを示す（検出限界（ＬｏＤ）は、点線で示され；水平線は、データポイント平均を表し；ｐ値は、マン－ホイットニー統計的分析を使用してコンピューターで計算された）。　[0039]図１３Ｅは、実施態様による、リポソーム、単量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物での処置後の動物対象の脾臓または肺から得られたサンプルで検出されたインターフェロンガンマ（ＩＦＮγ）レベルのＥＬＩＳｐｏｔアッセイデータを示す。　[0040]図１３Ｆは、単量体タンパク質特異的なＩｇＡが、実施態様による、リポソーム、単量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した２匹の動物対象の鼻洗浄液において検出可能であったことを示す（検出限界（ＬｏＤ）は、点線で示され；水平線は、データポイント平均を表す）。

【図１４】[0041]図１４は、実施態様による、リポソーム、単量体抗原、およびＳＴＩＮＧ抗原を含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象の平均体重を示す（エラーバーは平均標準誤差を意味する）。

【図１５】[0042]図１５は、実施態様による、単量体抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対して、リポソーム、単量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した後の動物対象の脾臓から収集されたサンプルで検出された抗体分泌細胞（ＡＳＣ）を分泌するＳ－タンパク質特異的

ＩｇＡの定量化を示す（水平線は、平均を示し；エラーバーは平均標準誤差を意味する）。

【図１６】[0043]図１６は、実施態様による、疾患を処置または防止するための、リポソーム、ヌクレオカプシドタンパク質抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物の動物対象への投与、またはヌクレオカプシドタンパク質抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストが欠如した対照組成物の投与を含む方法の工程の概略図を示す。

【図１７】[0044]図１７は、実施態様による、リポソーム、ヌクレオカプシドタンパク質、およびｃＧＡＭＰを含む本明細書に記載される組成物での処置後の６時間、１２時間、または２４時間に動物対象から単離されたＴＨＰ－１細胞におけるインターフェロン応答係数（ＩＲＦ）応答の誘導を示す。

【図１８】[0045]図１８は、実施態様による、動物対象における疾患を処置または防止するための組成物において有用なＳＡＲＳ－Ｃｏｖ２ヌクレオカプシドタンパク質の概略図を示す。

【図１９】図１９は、実施態様による、図１８に提示された精製されたＳＡＲＳ－Ｃｏｖ２ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）に実行された変性ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）ゲルアッセイからの画像を示す。

【図２０】[0046]図２０Ａは、実施態様による、０μＭ、０．１μＭ、０．５μＭのヌクレオカプシド濃度での図１８に提示されたヌクレオカプシドタンパク質の存在下におけるＤＮＡ結合ＤｉＹＯ－１の蛍光発光スペクトルを示す。図２０Ｂは、実施態様による、ＰＥＩ窒素対ＤＮＡリン酸の様々なモル比（Ｒ）でのＤＮＡ結合陽性対照（分岐鎖ポリエチレンイミン（ＰＥＩ））の存在下におけるＤＮＡ結合ＤｉＹＯ－１の蛍光発光スペクトルを示す。

【図２１－１】[0047]図２１Ａは、実施態様による、マウス対象の鼻腔内処置またはワクチン接種およびサンプル収集の工程のタイムラインを示す。

【図２１－２】[0048]図２１Ｂは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物（「対照」）を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の２７日目（「Ｄ２７」）における動物対象から得られた血清における体液性免疫応答のＩｇＧ　ＥＬＩＳＡ定量化を示す。図２１Ｃは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物（「対照」）を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の２７日目（「Ｄ２７」）における動物対象から得られた気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）における体液性免疫応答のＩｇＧ　ＥＬＩＳＡ定量化を示す。図２１Ｄは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対するリポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の２７日目（「Ｄ２７」）に動物対象から得られた血清における体液性免疫応答のＩｇＡ　ＥＬＩＳＡ定量化を示す。図２１Ｂ、２１Ｃ、および２１Ｄにおけるバーおよび柱は、中央値を示し、有意性は、マン－ホイットニー検定を使用して＊ｐ

＜０．０５；＊＊ｐ＜０．０１で仮定された。
【図２２】[0049]図２２は、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物で処置した後の、脾臓および肺サンプルから得られた細胞のインターフェロンガンマ（ＩＦＮγ）およびインターロイキン－４（ＩＬ４）のＥＬＩＳｐｏｔ分析の定量化を示す。バーおよび柱は、中央値を示し、有意性は、マン－ホイットニー検定を使用して＊ｐ＜０．０５；＊＊ｐ＜０．０１で仮定された。
【図２３】[0050]図２３は、実施態様による、リポソーム、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物での処置後に動物対象から得られたＣＤ８陽性細胞における追加のマーカー発現の定量化のためのフローサイトメトリーゲーティング戦略を示す。
【図２４】[0051]図２４Ａは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からのＣＤ８陽性（ＣＤ８＋）でもある脾細胞におけるＣＤ１３７発現のフローサイトメトリー定量化を示す。バーおよび柱は、中央値を示し、有意性は、マン－ホイットニー検定を使用して＊ｐ＜０．０５で仮定された。図２４Ｂは、実施態様による、リポソームを含み、ヌクレオカプシドタンパク質抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストが欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置後の動物対象から得られたＣＤ８陽性脾細胞におけるＣＤ１３７発現のフローサイトメトリーデータを示す。図２４Ｃは、実施態様による、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の動物対象から得られたＣＤ８陽性脾細胞におけるＣＤ１３７発現のフローサイトメトリーデータを示す。図２４Ｄは、実施態様による、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の動物対象から得られたＣＤ８陽性脾細胞におけるＣＤ１３７発現のフローサイトメトリーデータを示す。
【図２５】[0052]図２５Ａは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からのＣＤ８陽性（ＣＤ８＋）でもある脾細胞における、グランザイムＢ（ＧｒＢ）発現のフローサイトメトリー定量化を示す。バーおよび柱は、中央値を示し、有意性は、マン－ホイットニー検定を使用して＊ｐ＜０．０５で仮定された。図２５Ｂは、実施態様による、リポソームを含み、ヌクレオカプシドタンパク質抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストが欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置後の動物対象から得られたＣＤ８陽性脾細胞におけるグランザイムＢ発現のフローサイトメトリーデータを示す。図２５Ｃは、実施態様による、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（

「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の動物対象から得られたＣＤ８陽性脾細胞におけるグランザイムＢ発現のフローサイトメトリーデータを示す。図２５Ｄは、実施態様による、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後に動物対象から得られたＣＤ８陽性脾細胞におけるグランザイムＢ発現のフローサイトメトリーデータを示す。

【図２６】[0053]図２６Ａは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からのＣＤ８陽性（ＣＤ８＋）でもある肺Ｔ細胞におけるグランザイムＢ（ＧｒＢ）発現のフローサイトメトリー定量化を示す。図２６Ｂは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からのＣＤ８陽性（ＣＤ８＋）でもある肺Ｔ細胞におけるＣＤ１３７発現のフローサイトメトリー定量化を示す。図２６Ｃは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からのＣＤ８陽性（ＣＤ８＋）でもある肺Ｔ細胞におけるＣＤ１０３発現のフローサイトメトリー定量化を示す。図２６Ｄは、実施態様による、リポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置に対する、さらに、ヌクレオカプシドタンパク質抗原またはＳＴＩＮＧアゴニストを含まない組成物を使用した対照処置に対する、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象からのＣＤ６９およびＣＤ１０３の両方も発現するＣＤ８陽性（ＣＤ８＋）肺Ｔ細胞のフローサイトメトリー定量化を示す。

【図２７】[0054]図２７は、実施態様による、ポリ（ｄＡ：ｄＴ）／ＬＶへの曝露後の６時間、１２時間、および２４時間でカチオン脂質ベースのトランスフェクション試薬ＬｙｏＶｅｃ（商標）（インビボジェン（InvivoGen））（「ポリ（ｄＡ：ｄＴ）／ＬＶ」）と複合体化したＩ型インターフェロン誘導物質ポリ（ｄＡ：ｄＴ）に応答するＴＨＰ－１デュアル（dua）細胞におけるインターフェロン応答係数（ＩＲＦ）応答の定量化を示す。バーは、相対発光量（ＲＬＵ）で示される。

【図２８】[0055]図２８は、実施態様による、鼻腔内投与されたＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０組成物に供された動物対象の体重の測定を示す。

【図２９】[0056]図２９は、実施態様による、リポソーム、１０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴ

ＩＮＧ－Ｎ１０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の、ならびにリポソーム、２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質））抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０」）を含む本明細書に記載される組成物での処置の７日目（「ｄ７」）、１４日目（「ｄ１４」）、２１日目（「ｄ２１」）、および２７日目（「ｄ２７」）における動物対象から得られた血清における体液性免疫応答のヌクレオカプシドタンパク質－反応性ＩｇＧ　ＥＬＩＳＡ定量化を示す。

【図３０】[0057]図３０Ａは、実施態様による、リポソームを含み、キメラスパイクタンパク質三量体抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストが欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置に対する、リポソーム、キメラスパイクタンパク質三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の２８日目に動物対象から得られた血清サンプルを使用した、キメラスパイクタンパク質三量体のアルファ（「α」）、ベータ（「β」）、およびガンマ（「γ」）変異体、またはアルファまたはガンマ変異体の受容体結合ドメインに対するＩｇＧ反応性のＥＬＩＳＡ定量化を示す。図３０Ｂは、実施態様による、リポソームを含み、キメラスパイクタンパク質三量体抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストが欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置に対する、リポソーム、キメラスパイクタンパク質三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後の２８日目に動物対象から得られた血清サンプルを使用したキメラスパイクタンパク質三量体のアルファ変異体に対するＩｇＡ反応性のＥＬＩＳＡ定量化を示す。

【図３１】[0058]図３１Ａは、実施態様による、リポソームを含みキメラスパイクタンパク質が欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置に対する、それぞれペプチドプールの異なるスパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）変異体を含み、Ｓ－タンパク質由来のペプチドプールの全てを一緒に表すＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ組成物で処置した動物対象の肺サンプルにおける、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイを使用して定量化されたインターフェロンガンマ（ＩＦＮγ）応答を示す。図３１Ｂは、実施態様による、リポソームを含みキメラスパイクタンパク質が欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置に対する、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳリポソーム、ガンマ変異体キメラスパイクタンパク質三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で処置した動物対象の肺サンプルにおける、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイを使用して定量化されたインターフェロンガンマ（ＩＦＮγ）応答を示す。バーおよび柱は、中央値を示し、有意性は、マン－ホイットニー検定を使用して＊ｐ＜０．０５；＊＊ｐ＜０．０１で仮定された。

【図３２】[0059]図３２Ａおよび図３２Ｂは、実施態様による、リポソームを含みキメラスパイクタンパク質が欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置に対する、リポソーム、ＲＳＶ－Ｆ由来の抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＲＳＶ」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後のそれぞれ７日目および１４日目に動物対象から得られた血清を使用して実行されたＥＬＩＳＡアッセイにおけるＢ１株呼吸器系合胞体ウイルスＦタンパク質（ＲＳＶ－Ｆ）へのＩｇＧの反応性を示す。

【図３３－１】[0060]図３３Ａ、図３３Ｂおよび図３３Ｃは、実施態様による、動的光散乱（ＤＬＳ）によって測定したリポソーム粒度の分布を示す。

【図３３－２】[0061]図３３Ｄ、図３３Ｅおよび図３３Ｆは、実施態様による、電気泳動光散乱（ＥＬＳ）によって測定されたリポソームのゼータ電位を示す。

【図３４－１】[0062]図３４Ａおよび図３４Ｃは、実施態様による、４℃での組成物貯蔵後の動的光散乱（ＤＬＳ）によって測定されたリポソーム粒度の分布を示す。 [0063]図３４Ｂおよび図３４Ｄは、実施態様による、４℃での組成物貯蔵後の電気泳動光散乱（ＥＬＳ）によって測定されたリポソームのゼータ電位を示す。

【図３４－２】[0062]図３４Ａおよび図３４Ｃは、実施態様による、４℃での組成物貯蔵後の動的光散乱（ＤＬＳ）によって測定されたリポソーム粒度の分布を示す。 [0063]図３４Ｂおよび図３４Ｄは、実施態様による、４℃での組成物貯蔵後の電気泳動光散

乱（ＥＬＳ）によって測定されたリポソームのゼータ電位を示す。
【図３５】[0064]図３５Ａおよび図３５Ｂは、実施態様による、動的光散乱（ＤＬＳ）によって測定されたリポソーム粒度の分布を示し、この場合、抗原は、溶液中に（図３５Ａ）または凍結乾燥された固体の形態で（図３５Ｂ）貯蔵される。
【図３６】[0065]図３６Ａは、実施態様による、ｃＧＡＭＰ（ＳＴＩＮＧアゴニスト）組成物の紫外可視吸収スペクトルを示す。 [0066]図３６Ｂは、実施態様による、遊離のＳＴＩＮＧアゴニストの濃度の計算で使用される標準曲線を示す。
【図３７－１】[0067]図３７Ａは、実施態様による、感染性疾患の作用を防止することに関する時間経過を示す。 [0068]図３７Ｂは、図３７Ａに示される実験時間経過中の動物の体重の変化を示す。
【図３７－２】[0069]図３７Ｃおよび図３７Ｄは、実施態様により、３０μｇまたは１２０μｇのＳＴＩＮＧアゴニストを含む脂質ベースのナノ粒子を含む組成物での前処置が、肺組織および鼻組織（それぞれ）においてウイルス感染を有意に低減させることを示す。
【図３８】[0070]図３８Ａは、実施態様による、感染性疾患に前もって曝露させた動物の処置の作用の時間経過を示す。 [0071]図３８Ｂは、図３８Ａに示される実験の時間経過中の動物の体温における変化を示す。[0072]図３８Ｃは、図３８Ａに示される実験の時間経過中の動物の体重の変化を示す。
【図３９】[0073]図３９Ａは、実施態様による、２．５μｇ、５μｇ、または１０μｇの、脂質ベースのナノ粒子およびＳＴＩＮＧアゴニストを含む組成物と共にインキュベートしたＴＨＰ－１細胞におけるインターフェロン刺激遺伝子経路の活性化を示す。図３９Ｂは、実施態様による、陽性対照ルシフェラーゼベクターと共にインキュベートしたＴＨＰ－１細胞における発光を示す。
【図４０】[0074]図４０は、本明細書で開示された組成物および方法の様々な実施態様での処置によって惹起され得る一部の生体反応の図解を示す。
【発明を実施するための形態】
【００１１】
[0075]対象（例えば、動物、例えば哺乳動物）の疾患または病的な状態、例えば呼吸器疾患またはがんの予防（防止）および／または治療（処置）のための組成物および方法が本明細書で開示される。一部の場合において、疾患または病的な状態を防止することは、対象における疾患または病的な状態の定着を防止することを含む。一部の場合において、疾患または病的な状態を防止することは、対象における疾患または病的な状態の定着（例えば、病原体への対象の曝露の後に）を防止することを含む。一部の場合において、疾患または病的な状態を防止することは、対象における疾患または病的な状態の発症（例えば、進行）（例えば、第１の状況から、第２の、より重度の、または進行した状況への）（例えば、例えば、病原体からの感染を介した対象における疾患の定着の後に）を防止することを含む。一部の場合において、疾患または病的な状態を防止することは、第１の対象から第２の対象への疾患または病的な状態の伝播を防止することを含む。対象の疾患または病的な状態を防止または処置することに有用な組成物１０は、粒子１２、モジュレーター１６、および／または抗原１４を含んでいてもよい（例えば、図１で示される通り）。例えば、本明細書に記載される組成物は、脂質ベースのリポソーム粒子、モジュレーター（例えば、パターン認識受容体アゴニスト、例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト）、および適用に特定した抗原（例えばコロナウイルススパイクタンパク質（「Ｓ－タンパク質」）、リポソーム粒子と会合したヌクレオカプシドタンパク質（「Ｎ－タンパク質」）、またはキメラ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、適用に特定した抗原とモジュレーターペイロードを封入したリポソーム粒子（例えば、その外表面）との会合は、目的の標的組織（例えば、対象の鼻腔内区画および／または肺区画）へのモジュレーターペイロードの標的化および／または送達を有意に増加させることができる。一部の場合において、適用に特定した抗原とリポソーム粒子との会合（例えば、直接の会合、例えば、リポソームの膜への取り込みを介した、またはリポソームの膜表面へのカップリン

グを介した会合）は、対象における疾患または病的な状態を防止および／または処置することにおける組成物の効能を、例えば、組成物の抗原およびモジュレーターを空間的に濃縮すること（例えば、標的組織で）によって増加させることができる。

【００１２】

組成物

[0076]対象における疾患または病的な状態を予防（防止）または治療（処置）するための組成物（例えば、治療用組成物）は、送達媒体（例えば、粒子）を含んでいてもよい。対象における疾患または病的な状態を防止または処置することにおいて有用な組成物の送達媒体は、粒子、例えば脂質ベースの粒子であってもよい。例えば、対象における疾患または病的な状態を防止または処置することにおいて有用な組成物は、脂質ベースの粒子、例えばリポソーム（例えば、外表面および内部空間を有する膜を有する）を含んでいてもよい。一部の実施態様において、組成物は、１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、１種またはそれより多くのタイプのモジュレーター）を含む。一部の場合において、モジュレーターは、小分子、タンパク質もしくはそのフラグメント、および／またはポリヌクレオチドもしくはそのフラグメントを含んでいてもよい。一部の場合において、モジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト）またはモジュレーターの組合せは、対象におけるシグナル伝達経路および／または全身性応答経路（例えば、インターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路の刺激因子）の活性化または阻害を誘導するその能力に関して、本明細書に記載される組成物における使用のために選択することができる。対象における疾患または病的な状態（またはその第２の対象への伝播）を防止または処置することにおいて有用な組成物は、１種またはそれより多くの抗原を含んでいてもよい。対象における疾患または病的な状態（またはその第２の対象への伝播）を防止または処置することにおいて有用な組成物は、複数の抗原を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の抗原は、対象における免疫応答を惹起することができ、これは、対象における疾患（例えば、呼吸器疾患）または病的な状態（例えば、がん）を防止したり、または排除したりすることにおいて有用な場合がある。一部の実施態様において、対象における疾患または病的な状態を防止または処置するための組成物は、粒子（例えば、リポソーム）内に封入されたモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト、例えばｃＧＡＭＰ）を含んでいてもよく、この場合、抗原は、リポソームまたはその一部と会合している（例えば、リポソームの膜への取り込みを介して）。

【００１３】

[0077]一部の実施態様において、本明細書に記載される組成物は、対象（例えば、哺乳動物、例えばヒト）における疾患または病的な状態を処置または防止するための方法において使用することができる。一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、病原体（例えば、呼吸器疾患またはがんを引き起こす病原体）への曝露の前に、対象に投与してもよく、それにより、例えば、対象が、病原体への曝露に関連する疾患または状態（例えば、病原体による感染）に罹らないようにすることができる（例えば、図２Ａで例示される通り）。一部の場合において、本明細書で開示される組成物は、ワクチンの形態で投与してもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、例えば、病原体への曝露に関連する疾患または状態（例えば、それによる感染）を処置する（例えば、緩和する、または一部の場合において治癒させる）ために、病原体（例えば、呼吸器疾患またはがんを引き起こす病原体）への曝露の後に、例えば、対象が病原体への曝露から病原体に関連する疾患または状態に罹った後に、対象に投与することができる（例えば、図２Ｂで例示される通り）。

【００１４】

粒子

[0078]本発明の開示の組成物は、送達媒体、例えば粒子を含んでいてもよい。粒子は、ペイロード（例えば、モジュレーターペイロード）および／または１種またはそれより多くの抗原（例えば、粒子の一部、例えば膜または外表面に会合した抗原）を運搬する手段を含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、膜または壁を含んでいてもよい。

一部の場合において、粒子の膜または壁は、内部空間を画定することができる。一部の実施態様において、粒子の内部空間は、１種またはそれより多くのモジュレーターを含んでいてもよい。一部の実施態様において、１種またはそれより多くの抗原は、粒子の膜または壁（例えば、粒子の膜または壁の外表面）に会合していてもよい。粒子は、脂質ベースの粒子、炭素ベースの粒子、金属ベースの粒子、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。

【００１５】

[0079]本明細書に記載される組成物の粒子は、脂質ベースの粒子であってもよい。一部の実施態様において、脂質ベースの粒子は、リポソームであってもよい。本明細書に記載される組成物は、肺サーファクタントバイオミメティック粒子（pulmonary surfactant-biomimetic particle）を含んでいてもよい。本明細書で開示される組成物の粒子（例えば、脂質ベースの粒子）は、複数の分子、例えば、膜に集合化した複数の分子を含んでいてもよい。一部の場合において、粒子（例えば、脂質ベースの粒子）またはその一部は、アニオン性であってもよい（例えば、アニオン性の膜または１種もしくはそれより多くのアニオン性脂質を含んでいてもよい）。例えば、粒子（例えば、脂質ベースの粒子）は、アニオン性脂質（例えば、ＤＰＰＥ、ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ）または中性脂肪（例えば、コレステロール）を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の粒子（例えば、脂質ベースのナノ粒子を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物）は、カチオン脂質を含んでいなくてもよい。一部の場合において、粒子（例えば、脂質ベースの粒子）またはその一部は、カチオン性であってもよい。一部の場合において、粒子（例えば、脂質ベースの粒子）は、両性イオン性であってもよい。一部の場合において、粒子（例えば、脂質ベースの粒子）またはその一部は、正味のゼロ電荷を有していてもよい。一部の場合において、粒子（例えば、脂質ベースの粒子）またはその一部は、電荷を有していなくてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の粒子（例えば、リポソーム）は、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール（dipalymitoylphosphatidylglycerol）、１，２－ビス（ジフェニルホスフィノ）エタン（ＤＰＰＥ）、コレステロール、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の粒子（例えば、リポソーム）は、ポリ（エチレングリコール）－脂質（例えば、ＰＥＧ－脂質）を含んでいてもよい。一部の実施態様において、本明細書に記載される組成物の粒子（例えば、リポソーム）は、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＧ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール））、ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－［メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］）、コレステロール、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。一部の実施態様において、粒子は、ＤＰＰＣおよびＤＰＰＧの組合せを、例えば約１０：１のモル比で含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、ＤＰＰＣおよびコレステロールの組合せを、例えば約１０：１のモル比で含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、ＤＰＰＣおよびＤＰＰＥ－２０００の組合せを、例えば約１０：１のモル比で含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、ＤＰＰＧおよびコレステロールの組合せを、例えば約１：１のモル比で含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、コレステロールおよびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００の組合せを、例えば約１：１のモル比で含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、ＤＰＰＧおよびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００の組合せを、例えば約１：１のモル比で含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、ＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を含んでいてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ１０：１：１：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ２０：１：１：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ５：１：１：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレス

テロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ１０：２：１：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ１０：１：２：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ１０：１：１：２のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ１０：２：２：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ１０：１：２：２のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、粒子は、それぞれ１０：２：１：２のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていてもよい。一部の場合において、第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）の第２の分子を含む粒子に対するモル比は、１：１００～１：１、１：５０～１：２、１：２５～１：３、１：１０～１：５、１：５０～１：１、１：２５～１：１、１：１０～１：１、１：５～１：１、１：３～１：１、１：２５～１：１０、１：５０～１：２５、１：１００～１：５０であってもよいし、または１：１００より大きくてもよい。一部の場合において、本発明の開示の第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）の第２の分子を含む粒子に対するモル比は、１：１、１：２、１：３、１：４、１：５、１：１０、１：１５、１：２０、１：２５、１：５０、１：１００であってもよいし、またはそれらの間のあらゆる範囲であってもよい。一部の場合において、第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）のモル比は、１：５であってもよい。一部の場合において、第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）のモル比は、１：１０であってもよい。一部の場合において、第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）のモル比は、１：２０であってもよい。一部の場合において、第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）のモル比は、１：５０であってもよい。一部の場合において、第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）は、１：１００であってもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の第１の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）は、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール、１，２－ビス（ジフェニルホスフィノ）エタン（ＤＰＰＥ）、コレステロール、またはそれらの組合せであってもよい。一部の実施態様において、本明細書に記載される組成物の第２の分子を含む粒子（例えば、脂質ベースの粒子）は、ＤＰＰＣ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、ＤＰＰＧ（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール））、ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００（１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－［メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］）、またはコレステロールであってもよい。

【００１６】

[0080]本明細書に記載される組成物の粒子は、ナノ粒子であってもよい。小さい粒径（例えば、平均流体力学的粒径が、３００ナノメートル（ｎｍ）未満、２００ｎｍ未満、１５０ｎｍ未満、１２０ｎｍ未満、１１５ｎｍ未満、１１１ｎｍ未満、１１０ｎｍ未満、１０５ｎｍ未満、１００ｎｍ未満、９５ｎｍ未満、９０ｎｍ未満、８５ｎｍ未満、または８０ｎｍ未満である）、および／または低い多分散性（例えば、多分散性指数が、０．２５未満、０．２４未満、０．２３未満、０．２２未満、０．２１未満、または０．２０未満である）を維持することが、粒子の安定性および／または送達効率を改善することができる。一部の場合において、粒子は、１ｎｍ～５００ｎｍ、１ｎｍ～７５０ｎｍ、または１ｎｍ～１，０００ｎｍの外径を有していてもよい。一部の場合において、粒子は、１ｎｍ～１０ｎｍ、１ｎｍ～１５ｎｍ、１ｎｍ～２０ｎｍ、１ｎｍ～３０ｎｍ、１ｎｍ～５０ｎｍ、１ｎｍ～７５ｎｍ、１ｎｍ～１００ｎｍ、１ｎｍ～１５０ｎｍ、１ｎｍ～２００ｎｍ、１ｎｍ～２５０ｎｍ、１ｎｍ～３００ｎｍ、１ｎｍ～４００ｎｍ、１ｎｍ～５００ｎ

ｍ、１０ｎｍ～１５ｎｍ、１０ｎｍ～２０ｎｍ、１０ｎｍ～３０ｎｍ、１０ｎｍ～５０ｎｍ、１０ｎｍ～７５ｎｍ、１０ｎｍ～１００ｎｍ、１０ｎｍ～１５０ｎｍ、１０ｎｍ～２００ｎｍ、１０ｎｍ～２５０ｎｍ、１０ｎｍ～３００ｎｍ、１５ｎｍ～２０ｎｍ、１５ｎｍ～３０ｎｍ、１５ｎｍ～５０ｎｍ、１５ｎｍ～７５ｎｍ、１５ｎｍ～１００ｎｍ、１５ｎｍ～１５０ｎｍ、１５ｎｍ～２００ｎｍ、１５ｎｍ～２５０ｎｍ、１５ｎｍ～３００ｎｍ、２０ｎｍ～３０ｎｍ、２０ｎｍ～５０ｎｍ、２０ｎｍ～７５ｎｍ、２０ｎｍ～１００ｎｍ、２０ｎｍ～１５０ｎｍ、２０ｎｍ～２００ｎｍ、２０ｎｍ～２５０ｎｍ、２０ｎｍ～３００ｎｍ、３０ｎｍ～５０ｎｍ、３０ｎｍ～７５ｎｍ、３０ｎｍ～１００ｎｍ、３０ｎｍ～１５０ｎｍ、３０ｎｍ～２００ｎｍ、３０ｎｍ～２５０ｎｍ、３０ｎｍ～３００ｎｍ、５０ｎｍ～７５ｎｍ、５０ｎｍ～１００ｎｍ、５０ｎｍ～１５０ｎｍ、５０ｎｍ～２００ｎｍ、５０ｎｍ～２５０ｎｍ、５０ｎｍ～３００ｎｍ、７５ｎｍ～１００ｎｍ、７５ｎｍ～１５０ｎｍ、７５ｎｍ～２００ｎｍ、７５ｎｍ～２５０ｎｍ、７５ｎｍ～３００ｎｍ、１００ｎｍ～１５０ｎｍ、１００ｎｍ～２００ｎｍ、１００ｎｍ～２５０ｎｍ、１００ｎｍ～３００ｎｍ、１５０ｎｍ～２００ｎｍ、１５０ｎｍ～２５０ｎｍ、１５０ｎｍ～３００ｎｍ、２００ｎｍ～２５０ｎｍ、２００ｎｍ～３００ｎｍ、または２５０ｎｍ～３００ｎｍの外径を有していてもよい。一部の場合において、粒子は、１ｎｍ、１０ｎｍ、１５ｎｍ、２０ｎｍ、３０ｎｍ、５０ｎｍ、７５ｎｍ、１００ｎｍ、１５０ｎｍ、２００ｎｍ、２５０ｎｍ、３００ｎｍ、４００ｎｍ、または５００ｎｍの外径を有していてもよい。一部の場合において、粒子は、少なくとも１ｎｍ、１０ｎｍ、１５ｎｍ、２０ｎｍ、３０ｎｍ、５０ｎｍ、７５ｎｍ、１００ｎｍ、１５０ｎｍ、２００ｎｍ、２５０ｎｍ、３００ｎｍ、４００ｎｍ、または５００ｎｍの外径を有していてもよい。一部の場合において、粒子は、最大で、１ｎｍ、１０ｎｍ、１５ｎｍ、２０ｎｍ、３０ｎｍ、５０ｎｍ、７５ｎｍ、１００ｎｍ、１５０ｎｍ、２００ｎｍ、２５０ｎｍ、３００ｎｍ、４００ｎｍ、５００ｎｍ、７５０ｎｍ、または１，０００ｎｍの外径を有していてもよい。

【００１７】

[0081]本発明の開示のモジュレーターおよび／または抗原は、本発明の開示の粒子と会合していてもよい。例えば、一部の実施態様において、本発明の開示の抗原およびＳＴＩＮＧモジュレーターは、本発明の開示の粒子の異なる領域に位置していてもよい。一部の実施態様において、本発明の開示のモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーター）は、粒子に封入されていてもよい（例えば、図１で例示されるような、粒子１２に封入されたＳＴＩＮＧモジュレーター１６）。一部の場合において、本発明の開示の抗原の全部または一部は、粒子の表面と会合していてもよい（例えば、それに付着されている、それに接着している、その上に吸着している、それと静電的に相互作用している、それに共有結合している、それに非共有結合している、それに統合されている、またはその上に製剤化されている）（例えば、図１で例示されるように、粒子１２の表面上の抗原１４）。一部の場合において、抗原の全部または一部は、脂質ベースの粒子内に封入されている。一部の実施態様において、抗原の粒子の表面との会合（例えば、吸着）は、粒子の安定性を増加させることができ、および／または投与後の送達効率（例えば、標的組織への）を増加させることができる。

【００１８】

[0082]一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）内に封入されていてもよい。一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、粒子の外表面と会合していてもよい。一部の実施態様において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原が、粒子（例えば、脂質ベースの）に封入されていてもよく、一方で、本発明の開示の１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、粒子の外表面と会合している。一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、この開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の外表面と会合していてもよい。一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、粒

子内に封入されていてもよい。一部の実施態様において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、この開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の外表面と会合していてもよく、一方で、本発明の開示の１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、粒子内に封入されている。一部の実施態様において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原および１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、両方とも、粒子（例えば、脂質ベースの）内に封入されていいてもよい。一部の実施態様において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原および１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、両方とも、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の表面と会合していてもよい。一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の膜に統合されていてもよい。一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の膜に統合されていてもよい。一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）内に封入されていてもよく、一方で、１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の膜に統合されている。一部の場合において、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、粒子（脂質ベースの）の外表面と会合していてもよく、一方で、１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の膜に統合されている。一部の場合において、１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）内に封入されていてもよく、一方で、本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、粒子の膜に統合されている。一部の場合において、１種またはそれより多くのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーターなど）は、本発明の開示の粒子（例えば、脂質ベースの）の外表面と会合していてもよく、一方で本発明の開示の１種またはそれより多くの抗原は、粒子の膜に統合されている。一部の実施態様において、本発明の開示の抗原およびモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧモジュレーター）の両方の粒子（例えば、脂質ベースの）内への取り込みは、協調的なサイトゾルへの送達を容易にすることができる。

【００１９】

[0083]一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、２価イオン、例えば２価カチオンを含んでいてもよい。一部の場合において、組成物は、本明細書に記載される粒子（例えば、脂質ベースのナノ粒子）の膜（例えば、膜表面）内に封入された、その上に吸着した、それと共有結合でカップリングされている、それと静電的に相互作用している、上に製剤化された２価カチオンを含む。一部の場合において、組成物は、Mn^{2+}、Mg^{2+}、Ca^{2+}、およびZn^{2+}から選択される２価カチオンを含んでいてもよい。例えば、組成物は、モジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト）、粒子（例えば、脂質ベースのナノ粒子）、および２価カチオン、例えばMn^{2+}、Mg^{2+}、Ca^{2+}、またはZn^{2+}を含んでいてもよい。

【００２０】

抗原

[0084]対象における呼吸器疾患または病的な状態を予防（防止）または治療（処置）することにおいて有用な組成物は、抗原を含んでいてもよい。本発明の開示の抗原（またはその一部）は、粒子（例えば、脂質ベースの粒子、例えばリポソーム）の表面と会合していてもよい（例えば、それに付着されている、それに接着している、その上に吸着している、それと静電的に相互作用している、それに共有結合している、それに非共有結合している、それに統合されている、またはその上に製剤化されている）。一部の場合において、抗原は、疾患に対して対象における免疫を発生させることに好適であり得る。例えば、一部の実施態様において、本発明の開示の組成物中の１種またはそれより多くの抗原は

、疾患に対して対象における免疫応答を惹起することが可能であってもよい。
【００２１】
[0085]本明細書に記載される組成物の抗原は、疾患を引き起こす病原体（例えば、本明細書に記載される病原体の１種またはそれより多く）の弱毒化した、もしくは致死させた形態、またはその一部を含んでいてもよい。一部の実施態様において、抗原は、病原体と会合したペプチドもしくはタンパク質、またはその一部を含んでいてもよい。一部の実施態様において、抗原は、病原体の表面タンパク質（例えば、受容体タンパク質）、またはその一部を含んでいてもよい。一部の実施態様において、抗原は、ポリヌクレオチドの形態であってもよく、例えば、第２の抗原を発現させるのに使用され得るポリヌクレオチド（例えば、第２の抗原を発現するプラスミドＤＮＡ分子）であってもよい。
【００２２】
[0086]本明細書に記載される組成物の抗原は、スパイクタンパク質またはその一部を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の抗原は、コロナウイルススパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）の少なくとも１つの成分を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の抗原は、コロナウイルススパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）の単量体形態を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の抗原は、コロナウイルススパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）の多量体形態を含んでいてもよい。
【００２３】
[0087]一部の場合において、本発明の開示の抗原は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の単量体形態、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）の単量体形態、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の多量体形態、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）の多量体形態、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の二量体形態、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）の二量体形態、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の三量体形態、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）の三量体形態、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。一部の場合において、組成物の抗原は、キメラタンパク質（例えば、キメラスパイクタンパク質）を含んでいてもよい。
【００２４】
[0088]一部の場合において、抗原は、Ｄ６１４Ｇ突然変異、Ａ２２２Ｖ突然変異、Ｓ４７７Ｎ突然変異、Ｄ８０Ｙ突然変異、Ｓ９８Ｆ突然変異、またはそれらの組合せを含有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質（Ｓ）の単量体または多量体形態を含んでいてもよい。
【００２５】
[0089]一部の実施態様において、抗原は、異なる突然変異を包含するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質の混合物であってもよい。一部の実施態様において、抗原は、ヌクレオカプシドタンパク質の単量体または多量体形態を含んでいてもよい。例えば、本発明の開示の抗原は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ヌクレオカプシド（Ｎ）タンパク質の単量体または多量体形態を含んでいてもよい。一部の実施態様において、抗原は、Ａ２２０Ｖ突然変異を含有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ヌクレオカプシド（Ｎ）タンパク質の単量体または多量体形態であってもよい。
【００２６】
[0090]一部の実施態様において、抗原は、インフルエンザウイルス抗原もしくはその一部、インフルエンザＡウイルス抗原もしくはその一部、インフルエンザＢウイルス抗原もしくはその一部、パラインフルエンザウイルス抗原もしくはその一部、アデノウイルス抗原もしくはその一部、エンテロウイルス抗原もしくはその一部、コロナウイルス抗原もしくはその一部、呼吸器系合胞体ウイルス（ＲＳＶ）抗原もしくはその一部、ライノウイルス抗原もしくはその一部、ＤＮＡウイルス抗原もしくはその一部、ＲＮＡウイルス抗原もしくはその一部、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。一部の実施態様において

、抗原は、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＳＡＲＳｒ－ＣｏＶ）、ヒトコロナウイルス２２９Ｅ（ＨＣｏＶ－２２９Ｅ）、ヒトコロナウイルスＮＬ６３（ＨＣｏＶ－ＮＬ６３）、ヒトコロナウイルスＯＣ４３（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３）、ヒトコロナウイルスＨＫＵ１（ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１）、中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＭＥＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の変異株（例えば、２０Ａ．ＥＵ１、またはスパイク変異体Ｄ６１４Ｇ）、またはそれらの組合せの抗原を含んでいてもよい。一部の場合において、抗原は、（例えば、コロナウイルス）アルファ変異体スパイクタンパク質単量体、（例えば、コロナウイルス）アルファ変異体スパイクタンパク質三量体、（例えば、コロナウイルス）ベータ変異体スパイクタンパク質単量体、（例えば、コロナウイルス）ベータ変異体スパイクタンパク質三量体、（例えば、コロナウイルス）ガンマ変異体スパイクタンパク質単量体、（例えば、コロナウイルス）ガンマ変異体スパイクタンパク質三量体、（例えば、コロナウイルス）デルタ変異体スパイクタンパク質単量体、（例えば、コロナウイルス）デルタ変異体スパイクタンパク質三量体、（例えば、コロナウイルス）アルファ変異体スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）部分、（例えば、コロナウイルス）ベータ変異体スパイクタンパク質のＲＢＤ部分、（例えば、コロナウイルス）ガンマ変異体スパイクタンパク質のＲＢＤ部分、および／または（例えば、コロナウイルス）デルタ変異体スパイクタンパク質のＲＢＤ部分を含んでいてもよい。

【００２７】

[0091]一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法の抗原（例えば、ヌクレオカプシド（Ｎ）タンパク質を含む抗原）は、配列番号１に記載のアミノ酸配列を有していてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法の抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質を含む抗原）は、配列番号１と、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を有していてもよい。一部の場合において、抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質を含む抗原）は、配列番号２に記載のヌクレオチド配列によってコードされていてもよい。一部の場合において、抗原は、配列番号２と、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％同一な、９９％を超えて同一な、または１００％同一な配列であるヌクレオチド配列によってコードされていてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法の抗原（例えば、スパイク（Ｓ）タンパク質を含む抗原）は、配列番号３のアミノ酸配列を有していてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法の抗原（例えば、スパイク（Ｓ）タンパク質を含む抗原）は、配列番号３と、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有していてもよい。一部の場合において、抗原（例えば、スパイク（Ｓ）タンパク質を含む抗原）は、配列番号４に記載のヌクレオチド配列によってコードされていてもよい。一部の場合において、抗原（例えば、スパイク（Ｓ）タンパク質を含む抗原）は、配列番号４と、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、９９％より大きい、または１００％の配列同一性を有するヌクレオチド配列によってコードされていてもよい。

【００２８】

[0092]一部の場合において、本明細書に記載される組成物（例えば、本明細書に記載される方法で利用される組成物）にとって、Ｎ－タンパク質とＳ－タンパク質の両方を含むことが有利であり得る。例えば、本明細書に記載される組成物は、配列番号１と少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を有するＮ－タンパク質、および配列番号３と、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％

、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を有するＳ－タンパク質を含んでいてもよい。例えば、本明細書に記載される組成物は、配列番号１と少なくとも９５％同一なアミノ酸配列を有するＮ－タンパク質、および配列番号３と、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を有するＳ－タンパク質を含んでいてもよい。例えば、本明細書に記載される組成物は、配列番号１と１００％同一なアミノ酸配列を有するＮ－タンパク質、および配列番号３と、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を有するＳ－タンパク質を含んでいてもよい。

【００２９】

[0093]一部の場合において、等しい量のＮ－タンパク質とＳ－タンパク質を含むことが、本明細書に記載される組成物にとって有益であり得る。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法は、組成物が不均一な量のＮ－タンパク質およびＳ－タンパク質を含むように、Ｎ－タンパク質のＳ－タンパク質に対する比率を調整することによって利益を得ることができる。例えば、本明細書に記載される組成物は、Ｓ－タンパク質より多くのＮ－タンパク質を含んでいてもよい。一部の場合において、Ｎ－タンパク質より多くのＳ－タンパク質を含むことが、本明細書に記載される組成物にとって有益であり得る。一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、１：１，０００未満のＮ－タンパク質のＳ－タンパク質に対する質量比（例えば、Ｎ－タンパク質：Ｓ－タンパク質の質量比）を含んでいてもよく、１：１，０００～１：５００、１：５００～１：２００、１：２００～１：１００、１：１００～１：５０、１：５０～１：２５、１：２５～１：２０、１：２０～１：１０、１：１０～１：５、１：５～１：４、１：４～１：３、１：３～１：２、１：２～２：３、２：３～３：４、３：４～４：５、４：５～１：１、１：１～５：４、５：４～４：３、４：３～３：２、３：２～２：１、２：１～３：１、３：１～４：１、４：１～５：１、５：１～１０：１、１０：１～２０：１、２０：１～２５：１、２５：１～５０：１、５０：１～１００：１、１００：１～２００：１、２００：１～５００：１、５００：１～１，０００：１の、または１，０００：１より大きい上記質量比を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物のスパイクタンパク質の、組成物のヌクレオカプシドタンパク質に対する質量比は、１：２である。一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、１：１，０００未満のＮ－タンパク質のＳ－タンパク質に対するモル比（例えば、Ｎ－タンパク質：Ｓ－タンパク質のモル比）を含んでいてもよく、１：１，０００～１：５００、１：５００～１：２００、１：２００～１：１００、１：１００～１：５０、１：５０～１：２５、１：２５～１：２０、１：２０～１：１０、１：１０～１：５、１：５～１：４、１：４～１：３、１：３～１：２、１：２～２：３、２：３～３：４、３：４～４：５、４：５～１：１、１：１～５：４、５：４～４：３、４：３～３：２、３：２～２：１、２：１～３：１、３：１～４：１、４：１～５：１、５：１～１０：１、１０：１～２０：１、２０：１～２５：１、２５：１～５０：１、５０：１～１００：１、１００：１～２００：１、２００：１～５００：１、５００：１～１，０００：１の、または１，０００：１より大きい上記モル比を含んでいてもよい。

【００３０】

[0094]一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法は、ナノ粒子（例えば、脂質ベースの）の膜と会合する（例えば、そこに埋め込まれている、それと共有結合でカップリングされている、またはそれと非共有結合によってカップリングされている）Ｎ－タンパク質、およびナノ粒子の膜と会合していない（例えば、ナノ粒子内に含有されているか、またはナノ粒子の外側にあり、それとカップリングされていない（例えば、同時の処置において））Ｓ－タンパク質を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法は、ナノ粒子（例えば、脂質ベースの）の膜と会合している（例えば、そこに埋め込まれている、それと共有結合でカップリングされている、またはそれと非共有結合によってカップリングされている）Ｓ－タンパク質、およびナ

ノ粒子の膜と会合していない（例えば、ナノ粒子内に含有されているか、またはナノ粒子の外側にあり、それとカップリングされていない（例えば、同時の処置において））Ｎ－タンパク質を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法は、ナノ粒子（例えば、脂質ベースの）の膜と会合している（例えば、そこに埋め込まれている、それと共有結合でカップリングされている、またはそれと非共有結合によってカップリングされている）Ｎ－タンパク質、およびナノ粒子の膜と会合しているＳ－タンパク質を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法は、ナノ粒子（例えば、脂質ベースの）の膜と会合していない（例えば、ナノ粒子内に含有されているか、またはナノ粒子の外側にあり、それとカップリングされていない（例えば、同時の処置において））Ｎ－タンパク質、およびナノ粒子の膜と会合していないＳ－タンパク質を含んでいてもよい。

【００３１】

[0095]一部の実施態様において、抗原は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質の混合物およびヌクレオカプシドタンパク質であってもよい。一部の実施態様において、抗原は、異なる突然変異およびヌクレオカプシドタンパク質を包含するＳＡＲＳ－ＣｏＶ２スパイクタンパク質の混合物であってもよい。

【００３２】

[0096]一部の場合において、抗原は、インフルエンザウイルス抗原もしくはその一部、インフルエンザＡウイルス抗原もしくはその一部、インフルエンザＢウイルス抗原もしくはその一部、パラインフルエンザウイルス抗原もしくはその一部、アデノウイルス抗原もしくはその一部、エンテロウイルス抗原もしくはその一部、コロナウイルス抗原もしくはその一部、呼吸器系合胞体ウイルス（ＲＳＶ）抗原もしくはその一部、ライノウイルス抗原もしくはその一部、ＤＮＡウイルス抗原もしくはその一部、ＲＮＡウイルス抗原もしくはその一部、またはそれらの組合せであってもよい。

【００３３】

[0097]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物は、がんに対して対象における免疫を発生させるのに好適である。一部の実施態様において、本発明の開示の組成物の抗原は、がんに対して対象における免疫を発生させるのに好適である。例えば、一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物における抗原は、がん（例えば、上述したがん）に対して対象における免疫応答を惹起することが可能である。

【００３４】

[0098]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物の抗原は、がんに関連する腫瘍細胞（またはその一部）の弱毒化した、または致死させた形態であってもよい。一部の実施態様において、抗原は、がんに関連するペプチドまたはタンパク質を含んでいてもよい。一部の実施態様において、抗原は、がん細胞の表面タンパク質（例えば、受容体タンパク質）を含んでいてもよい。

【００３５】

[0099]一部の実施態様において、抗原は、がん細胞の突然変異したタンパク質を含んでいてもよい。一部の実施態様において、抗原は、がん突然変異を標的化する合成の長いペプチドであってもよい。

【００３６】

[00100]本発明の開示の組成物の抗原は、様々な形態であってもよい。例えば、一部の実施態様において、抗原は、組換えペプチドもしくはタンパク質、またはＴ細胞によって認識されるペプチドエピトープであってもよい。一部の実施態様において、本明細書で開示される組成物の抗原は、タンデムミニ遺伝子を含んでいてもよい。一部の実施態様において、抗原は、抗原を発現するヌクレオチド（例えば、抗原を発現するプラスミドＤＮＡ分子）の形態であってもよい。

【００３７】

<u>モジュレーター</u>

[00101]対象における疾患を予防（防止）または治療（処置）するための本明細書に

記載される組成物（例えば、粒子、例えば脂質ベースの粒子、および任意選択で抗原を含む）は、モジュレーターを含んでいてもよい。本明細書に記載される組成物のモジュレーターは、パターン認識受容体モジュレーター、例えばＳＴＩＮＧモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路モジュレーター）であってもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物のモジュレーターは、パターン認識受容体アゴニストであってもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物のモジュレーターは、パターン認識受容体アンタゴニストであってもよい。本発明の開示の組成物は、様々な種類のＳＴＩＮＧモジュレーターを含んでいてもよい。例えば、一部の実施態様において、ＳＴＩＮＧモジュレーターは、ＳＴＩＮＧ経路のアンタゴニストである。一部の実施態様において、ＳＴＩＮＧモジュレーターは、ＳＴＩＮＧ経路のアゴニストである。一部の場合において、本明細書に記載される組成物のモジュレーターは、対象（例えば、組成物が投与される対象）におけるＳＴＩＮＧ経路を活性化することが可能である。一部の場合において、本明細書に記載される組成物のモジュレーターは、対象（例えば、組成物が投与される対象）におけるＳＴＩＮＧ経路を阻害することが可能である。

【００３８】

[00102]本明細書に記載される組成物のＳＴＩＮＧモジュレーターは、ビス－（３’，５’）－環状二量体グアノシン一リン酸（ｃ－ジ－ＧＭＰ）、環状グアノシン一リン酸－アデノシン一リン酸（ｃＧＡＭＰ）、アミドベンズイミダゾール、アミドベンズイミダゾールの誘導体、ヌクレオチドモジュレーター、プラスミドＤＮＡモジュレーター、核酸モジュレーター、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。

【００３９】

[00103]一部の実施態様において、ＳＴＩＮＧモジュレーターは、ＳＴＩＮＧ経路のアンタゴニストであってもよい。一部の場合において、ＳＴＩＮＧアンタゴニストは、例えば、疾患を引き起こす病原体（例えば、ＲＮＡウイルス、例えばライノウイルス）がウイルス複製を促進するのにＳＴＩＮＧ経路を利用する疾患の処置および／または防止において特に有効であり得る。一部の場合において、ＳＴＩＮＧアンタゴニストは、ＳＴＩＮＧ経路へのウイルスのアクセスを低減させることによってウイルス複製を阻害するのに利用することができる。一部の実施態様において、ＳＴＩＮＧアンタゴニストとしては、これらに限定されないが、Ｃ－１７８、Ｈ－１５１、およびそれらの組合せが挙げられる。

【００４０】

[00104]一部の場合において、本明細書に記載される組成物のモジュレーターは、組成物の粒子の内部空間内に配置されていてもよい。例えば、モジュレーターは、本明細書に記載される組成物の粒子（例えば、脂質ベースの粒子、例えばリポソーム）内に封入されていてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物のモジュレーターは、組成物の粒子の表面（例えば、膜の外表面）と会合していてもよい。一部の場合において、粒子の表面と会合するモジュレーターは、粒子の表面に共有結合で、または非共有結合で結合することによって会合している。一部の場合において、粒子の表面と会合するモジュレーターは、粒子の表面（例えば、膜）に統合されることによって会合している。

【００４１】

[00105]一部の場合において、本明細書に記載される組成物の抗原の核酸配列および組成物のモジュレーターの核酸配列は、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同一であってもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物の抗原の核酸配列の一部は、組成物のモジュレーターの核酸配列と、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同一であってもよい。一部の場合において、本明細書に記載されるモジュレーターの核酸配列と、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同一な核酸配列を含む抗原は、本明細書に記載される組成物の粒子（例えば、脂質ベースの粒子）内に封入されていてもよい（例えば、この場合、モジュレーターも、脂質ベースの粒子内に封入される）。一部の場合において、本明細書に記載される抗原およびモジュレーター（例えば、抗原およびモジュレーターが、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、また

は１００％同一な核酸配列を含む場合）は両方とも、本明細書に記載される脂質ベースの粒子内に封入されている。一部の場合において、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同一な配列を含む抗原およびモジュレーターを含む組成物が、鼻腔内に送達されてもよい。

【００４２】

使用方法

[00106]追加の実施態様において、本発明の開示は、本発明の開示の治療用組成物を対象に投与することによって、対象における疾患を治療（処置）または予防（防止）する方法に関する。図２Ａで例示されるより具体的な実施態様において、本発明の開示の方法は、治療用組成物を対象に投与する工程（工程２０）、それにより、対象における疾患を処置または防止する工程（工程２２）を含む。

【００４３】

[00107]本明細書においてより詳細に記載される通り、本発明の開示の治療用組成物および方法は、多数の実施態様を有し得る。例えば、本発明の開示の治療用組成物は、様々な種類のＳＴＩＮＧモジュレーターおよび抗原を含んでいてもよい。さらに、本発明の開示の方法は、様々な疾患を様々な方式で処置または防止するために、本発明の開示の治療用組成物を多数の対象に投与するのに利用することができる。

【００４４】

応用／用途

[00108]一部の場合において、本明細書に記載される組成物および／または方法は、呼吸器疾患または状態、例えばインフルエンザ、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルスに関連する呼吸器疾患または状態を予防（防止）または治療（処置）することにおいて有用な場合もある。一部の場合において、本明細書に記載される組成物および／または方法は、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）、急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）、および／または高サイトカイン血症（例えば、サイトカインストーム）を防止または処置することにおいて有用な可能性がある。一部の場合において、本明細書に記載される組成物および／または方法は、がん、例えば肺がんを防止および／または処置することにおいて有用な可能性がある。

【００４５】

[00109]呼吸器疾患およびがんに対する安全で有効なワクチンへの緊急の必要性がある。一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、体液性免疫、Ｔ細胞免疫、全身性免疫および／または粘膜免疫を可能にするために、インターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路の刺激因子のアゴニストを含有するリポソームを含有するワクチンまたは治療的処置（例えば、鼻腔内に送達される）を含んでいてもよい。

【００４６】

[00110]自然免疫は、侵入する病原体に対する防御の最前線である。自然免疫（適応免疫とは異なり、各病原体につきカスタマイズできる）は、保存された病原体関連分子パターン（ＰＡＭＰ）１を認識する宿主細胞上のパターン認識受容体（ＰＲＲ）によって発生させることができる。この様式の認識は、カスタマイゼーションを必要としない即時の応答を確実に起こすことができる。

【００４７】

[00111]ＲＮＡウイルスの場合、ウイルス特異的なＲＮＡ分子の認識および活性化は、インターフェロン調節因子（ＩＲＦ）および核内因子κＢ（ＮＦ－κＢ）の活性化をもたらすことができる。まとめると、これらの転写調節因子は、Ｉ型およびＩＩＩ型インターフェロンの合成および分泌、ならびにそれに続くＩＦＮ刺激遺伝子（ＩＳＧ）の上方調節を含む広範な抗ウイルスプログラムを始動させる。

【００４８】

[00112]この包括的な抗ウイルスプログラムは、ウイルス複製に強い選択圧力を適用することができる。ウイルスは、インターフェロンシグナル伝達に干渉するための進化した精巧な対抗手段を有する。インターフェロン介在応答とウイルス対抗手段との間の相互

作用は、不均一であり、ヒトで見られる罹患率および死亡率における不均一性の説明となり得る。

【００４９】

[00113]１型インターフェロン応答は、病原体感染（例えば、コロナウイルスまたは他の呼吸器病原体）において抑制される可能性があり、その後、ＩＳＧとＮＦ－κＢが介在する炎症促進性応答とのバランスが、調節異常を起こす可能性がある。結果として、病原体感染（例えば、呼吸器病原体感染）において進行性疾患を有する患者は、低いインターフェロンシグナル伝達を有する可能性があるが、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）およびインターロイキン－６（ＩＬ－６）分泌が亢進している可能性がある。実際に、インターフェロン機能を中和するインターフェロンに対する自己抗体を有するヒトは、進行性疾患を進行させる高いリスクにある可能性がある。

【００５０】

[00114]同様に、Ｉ型ＩＦＮ免疫性の先天性異常を有するヒトは、このようなエラーがないヒトより高い割合で生命を脅かすＣＯＶＩＤ－１９を発症させる可能性がある。一部の場合において、１型インターフェロンでの細胞株の前処置は、そうしなければ感受性のある細胞において、ウイルス複製を阻害することができる。理論に縛られることはないが、これらの考察は、ロバストなＩ型ＩＦＮ応答の欠如が、進行性のＣＯＶＩＤ－１９の基礎になり得ることを説明するのに役立つ可能性がある。

【００５１】

[00115]インターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路の刺激因子は、環状ＤＮＡジヌクレオチドを感知し、ＩＲＦ３およびＮＦ－κＢを活性化して、ＩＳＧ合成をもたらすＰＲＲである。主として細菌およびＤＮＡウイルスの感知に重要であると考えられるが、ＲＮＡウイルス媒介Ｉ型ＩＦＮおよびサイトカイン生産におけるＳＴＩＮＧの役割は、より詳細な研究を必要とする。本明細書において示した通り、ＲＮＡウイルス媒介Ｉ型ＩＦＮおよびサイトカイン生産におけるＳＴＩＮＧの役割は、ウイルスおよび細胞型特異的であり得る。

【００５２】

[00116]ヒト細胞の細胞質内のコロナウイルスのようなウイルス由来の二本鎖ＲＮＡの感知は、レチノイン酸誘導性遺伝子１（ＲＩＧ－１）および黒色腫分化遺伝子５（ＭＤＡ５）などのＲＩＧ－Ｉ様受容体によって達成することができる。一部の場合において、これらの受容体の下流の感知経路は、２つのＩＫＫ関連キナーゼ、すなわちＴＡＮＫ結合キナーゼ１（ＴＢＫ１）および誘導性ＩκＢキナーゼ（ＩＫＫｉ）の活性化をもたらす。一部の場合において、これらのキナーゼは、活性化されたＳＴＩＮＧ経路とも関与することから、ＰＲＲは、異なる分子を感知するように進化してきたが、その下流応答において収束する可能性があることが示唆される。

【００５３】

[00117]ＳＴＩＮＧアゴニストを治療剤として利用することは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２感染の状況であってもＩ型インターフェロンのバランスのとれた活性化を促進するために、この保存された下流エフェクター応答を利用することができる。ＲＩＧ－１様受容体から独立してＳＴＩＮＧアゴニストを用いてＩ型インターフェロンの放出を可能にすることは、これがウイルスによって進化した対抗手段に供されない可能性を増加させる。

【００５４】

[00118]インターフェロンの放出は、ウイルス複製を制限する広範な抗ウイルスプログラムが可能になり、したがって疾患重症度を軽減する可能性がある。一方で、ＲＮＡウイルス様ライノウイルスは、一部の場合において、ＳＴＩＮＧ経路をハイジャックして、ウイルス複製を促進することができる。この状況において、ＳＴＩＮＧアンタゴニストを利用して炎症の勢いを失わせることによって、ウイルス複製を阻害することが有用な可能性がある。

【００５５】

[00119]理論に縛られることはないが、本発明の開示の治療用組成物は、様々な作用

メカニズムを介して疾患を処置または防止するのに使用することができる。例えば、一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、対象における疾患を処置するのに使用することができる。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、対象における疾患を防止するのに使用することができる。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、対象における疾患を処置および防止するのに使用することができる。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、疾患に対して対象における免疫を発生させることによって対象における疾患を処置または防止する使用することができる。

【００５６】

[00120]例えば、一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、疾患に対して対象における免疫応答を惹起することができる。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、自然免疫、粘膜免疫、全身性免疫、細胞性免疫、体液性免疫、Ｔ細胞免疫性、全身中和抗体の生産、ＩｇＧ応答の誘導、ＩｇＡ応答の誘導、ＩｇＭ応答の誘導、Ｔ細胞応答の誘導、肺および鼻区画における粘膜のＩｇＡ応答の誘導、Ｔｈ１Ｔ細胞応答の誘導、ＣＤ８＋Ｔ細胞応答の誘導、ＣＤ４＋Ｔ細胞応答の誘導、ＮＫ細胞応答の誘導、インターフェロン遺伝子（ＳＴＩＮＧ）経路の刺激因子の活性化もしくは阻害、またはそれらの組合せの少なくとも１つを介して、このような免疫を惹起することができる。

【００５７】

[00121]一部の場合において、本明細書で開示される組成物は、少なくとも１：２５、１：２５より大きい対象の血清中の平均希釈力価（例えば、病原体抗原またはその一部に特異的なＩｇＧまたはＩｇＡの）を惹起することができる。一部の場合において、本明細書で開示される組成物は、１：２５～１：５０、１：３０～１：５０、１：４０～１：５０、１：５０～１：６０の、または少なくとも１：２５の、１：２５より大きい、または１：６０未満の、対象の気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）中の平均希釈力価（例えば、病原体抗原またはその一部に特異的なＩｇＧまたはＩｇＡの）を惹起することができる。

【００５８】

[00122]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物は、例えば、疾患に対して対象における自然免疫応答を惹起することによって、対象における疾患に対して免疫の発生を引き起こすかまたはそれに役立つ可能性がある。一部の実施態様において、惹起された自然免疫応答は、インターフェロン調節因子（ＩＲＦ）、核内因子κＢ（ＮＦ－κＢ）、またはそれらの組合せの活性化をもたらすことができる。一部の実施態様において、惹起された自然免疫応答は、Ｉ型およびＩＩＩ型インターフェロンの合成および分泌（ＩＦＮ）ならびにそれに続くＩＦＮ刺激遺伝子（ＩＳＧ）の上方調節を生じさせることができる。

【００５９】

[00123]一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、例えば、粘膜免疫および／または全身性免疫を介して、疾患に対して対象における免疫を発生させるのに使用することができる。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、粘膜免疫、全身性免疫、および細胞性免疫を介して対象における免疫を発生させることに役立つ可能性がある。一部の実施態様において、全身性免疫は、抗原に対する中和抗体の生産を介して発生させてもよい。一部の実施態様において、細胞性免疫は、脾臓細胞および／または肺細胞で発生させてもよい。一部の実施態様において、粘膜免疫は、鼻区画および肺、および脾臓中のＩｇＡを分泌する細胞におけるＩｇＡの生産を介して発生させてもよい。

【００６０】

[00124]本発明の開示の方法および治療用組成物は、様々な実施態様において多数の利点を提供することができる。例えば、一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、大きい臨床的な施設を必要とすることなく大きい集団に投与することができる。

【００６１】
[00125]さらに、一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、初期のウイルスリザーバ（例えば、鼻区画中の）の定着を防止でき、個体間のウイルスの蔓延および／または個体内の蔓延の制御を助けることができる。
【００６２】
[00126]一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、インターフェロン活性化の欠乏を修正することができ、これは、呼吸器ウイルスが媒介する逃避の一次メカニズムの１つであり得る。加えて、本発明の開示の治療用組成物は、一部の実施態様において、対象においてＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＡおよびＴ細胞応答の１種またはそれより多くを惹起するのに利用することができるため、本発明の開示の治療用組成物は、例えば、多数の病原体、例えばコロナウイルスまたは他の呼吸器病原体（例えば他のウイルス呼吸器病原体など）に対する広域スペクトルの治療用組成物を開発するための、万能な粘膜アジュバントを提供することができる。
【００６３】
[00127]一部の実施態様において、本発明の開示の方法および治療用組成物は、動物に適用することができる。一部の実施態様において、動物への適用としては、様々なタイプの動物における疾患の処置または防止および他の類似の適用が挙げられる。
【００６４】
配合および投与
[00128]本発明の開示の組成物は、様々な形態であってもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、可溶化した液体として送達されてもよい。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、対象への鼻腔内および／または吸入投与に好適である。一部の場合において、本明細書で開示される組成物の鼻腔内送達は、鼻腔内区画の組織を標的化するのに使用することができる。一部の場合において、本明細書で開示される組成物の吸入投与は、肺区画の組織を標的化するのに使用することができる。
【００６５】
[00129]一部の場合において、シリンジまたは液体滴下装置を使用して、本明細書に記載される組成物を対象に鼻腔内投与することができる。一部の場合において、本明細書に記載される組成物を対象に投与することは、スプレーノズル、ネブライザー、および／またはアトマイザーの使用を含んでいてもよい。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、自己投与してもよい。
【００６６】
[00130]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物はまた、１種またはそれより多くの安定剤も含む。一部の実施態様において、安定剤としては、これらに限定されないが、抗酸化剤、金属イオン封鎖剤、紫外線安定剤、またはそれらの組合せが挙げられる。
【００６７】
[00131]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物はまた、１種またはそれより多くの界面活性剤も含む。一部の実施態様において、界面活性剤としては、これらに限定されないが、アニオン性界面活性剤、糖、カチオン性界面活性剤、双性イオン界面活性剤、非イオン界面活性剤、またはそれらの組合せが挙げられる。
【００６８】
[00132]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物はまた、１種またはそれより多くの賦形剤も含む。一部の実施態様において、賦形剤としては、これらに限定されないが、ラクトース、スクロース、デンプン粉末、アルカン酸のセルロースエステル、トレハロース、セルロースアルキルエステル、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、酸化マグネシウム、リン酸および硫酸のナトリウムおよびカルシウム塩、ゼラチン、アラビアゴム、トレハロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、またはそれらの組合せが挙げられる。
【００６９】

[００１３３]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物は、凍結乾燥されていてもよい（例えば、フリーズドライされている）。本発明の開示の組成物（またはその成分）の凍結乾燥は、本明細書に記載される組成物の貯蔵安定性（例えば、貯蔵性）を増加させることができる。一部の場合において、本発明の開示の組成物の１種またはそれより多くの成分は、凍結乾燥されていてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物（またはその成分）の凍結乾燥は、組成物の簡単な調製を可能にし、それにより、例えば、簡単に材料調製施設にアクセスできない地域での使用（例えば、対象への投与）が可能になる。例えば、本明細書に記載されるモジュレーター、脂質ベースの粒子、および／または抗原を凍結乾燥し、次いで再水和し、混合して（例えば、本明細書に記載されるように）、常設の医療または製薬施設から離れている対象への投与場所で本明細書に記載される組成物を配合することができる。一部の場合において、本明細書に記載される凍結乾燥された組成物（またはその一部、例えば凍結乾燥された粒子または凍結乾燥された抗原または凍結乾燥されたモジュレーター）は、４℃で貯蔵してもよい。一部の場合において、本明細書に記載される凍結乾燥された組成物（またはその一部）は、４℃で貯蔵し、１週間まで、２週間まで、３週間まで、１ヶ月まで、２ヶ月まで、３ヶ月まで、４ヶ月まで、５ヶ月まで、６ヶ月まで、７ヶ月まで、８ヶ月まで、９ヶ月まで、１０ヶ月まで、または１２ヶ月まで使用することができる。

【００７０】

[００１３４]本発明の開示の組成物は、様々な方法によって投与されてもよい。例えば、一部の実施態様において、投与は、これらに限定されないが、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与、腹膜内投与、皮下投与、スプレーベースの投与、エアロゾルベースの投与、卵内投与、経口投与、眼球内投与、気管内投与、鼻腔内投与、吸入投与、またはそれらの組合せなどの方法によって行われる。

【００７１】

[００１３５]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物は、単回用量で投与してもよい。一部の実施態様において、本発明の開示の治療用組成物は、複数回用量で投与してもよい。一部の場合において、対象における疾患（例えば、動物対象）を処置または防止する方法は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１５～２０、２０～２５、２５～３０、３０～４０、４０～５０回、または５０回より多くの用量を投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、複数のタイムポイント（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、または１０個より多くのタイムポイント）で対象（例えば、動物対象）に投与されてもよい。一部の場合において、本発明の開示の方法は、本発明の開示の組成物を含む第１の用量、および本発明の開示の組成物を含む第２の用量を対象に投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、第１の用量の組成物は、第２の用量の組成物と同じである。一部の場合において、第１の用量の組成物は、第２の用量の組成物と異なる。一部の場合において、本発明の開示の方法は、第１の用量および第２の用量を、少なくとも４時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも１４日、または少なくとも２８日の間隔で、対象（例えば、動物対象）に投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の方法は、第１の用量および第２の用量を、最大で６時間、最大で１２時間、最大で２４時間、最大で３６時間、最大で２日、最大で３日、最大で４日、最大で５日、最大で６日、最大で７日、最大で１４日、または最大で２８日の間隔で、対象（例えば、動物対象）に投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の方法は、第１の用量および第２の用量を、６時間、１２時間、２４時間、３６時間、２日、３日、４日、５日、６日、７日、１４日、または２８日の間隔で、対象（例えば、動物対象）に投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の方法は、複数回用量（例えば、複数回用量の各用量は、１種またはそれより多くの本発明の開示の組成物を含む）のうちの第１の用量の後に各用量を、前の用量の投与後、少なくとも４時間、少なくとも

６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも１４日、または少なくとも２８日に、対象（例えば、動物対象）に投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の方法は、複数回用量（例えば、複数回用量の各用量は、１種またはそれより多くの本発明の開示の組成物を含む）のうちの第１の用量の後に各用量を、前の用量の投与後、最大で６時間、最大で１２時間、最大で２４時間、最大で３６時間、最大で２日、最大で３日、最大で４日、最大で５日、最大で６日、最大で７日、最大で１４日、または最大で２８日に、対象（例えば、動物対象）に投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の方法は、複数回用量（例えば、複数回用量の各用量は、１種またはそれより多くの本発明の開示の組成物を含む）のうちの第１の用量の後に各用量を、前の用量の投与後、６時間、１２時間、２４時間、３６時間、２日、３日、４日、５日、６日、７日、１４日、または２８日に、対象（例えば、動物対象）に投与することを含んでいてもよい。一部の場合において、組成物は、２回用量、３回用量、４回用量、５回用量、または５回より多くの用量で対象に投与される。一部の場合において、第２、第３、および第４の用量（例えば、４回用量処置のうちの）は、前の用量の後、１２～３６時間にわたり投与される。一部の場合において、第２、第３、および第４の用量（例えば、４回用量処置の）は、前の用量の１、２、４、６、８、１０、１２、１８、２４、３０、または３６時間後に投与される。

【００７２】

[00136]一部の場合において、本明細書に記載される組成物（例えば、脂質ベースの粒子、モジュレーター、および抗原を含む「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ」組成物）は、単独療法剤として（例えば、対象における疾患または状態、例えば病原体への曝露が原因の疾患または状態を処置するための）製剤化および／または投与されてもよい。

【００７３】

[00137]本明細書に記載される組成物または方法（例えば、対象における疾患または状態を処置するための、対象における疾患または状態を防止するための、または第１の対象から第２の対象への疾患または状態の伝播を防止するための）は、ナノ粒子（例えば、脂質ベースのナノ粒子）およびモジュレーター（例えば、パターン認識受容体アゴニストタンパク質、例えばＳＴＩＮＧアゴニスト）を含んでいてもよい。一部の場合において、ナノ粒子（例えば、脂質ベースのナノ粒子）およびモジュレーターを含む組成物または方法は、抗原を欠如していてもよい（例えば、図３３Ｂ、図３３Ｅ、図３４Ｃ、図３４Ｄで示される通り）。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原を欠如した組成物または方法のモジュレーターが、ナノ粒子内に封入されていてもよい。一部の実施態様において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原を欠如した組成物は、本明細書に記載される用量、剤形、および／または処置もしくはワクチン接種の時間経過で、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。例えば、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物は、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）が感染因子（例えば、ウイルス、例えば、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、またはライノウイルスのような呼吸器ウイルス）に曝露される前に、対象に投与することができる。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物は、対象が呼吸器疾患または状態（例えば、呼吸器ウイルスに関連する）または一部の場合において、肺がんなどのがんにかかるか、および／またはその症状が現れる前に、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物は、対象が感染因子（例えば、ウイルス、例えば、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、またはライノウイルスのような呼吸器ウイルス）に曝露された後に、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物は、対象が呼吸器疾患または状態（例えば、呼吸器ウイルスに関連する）または一部の場合において、肺がんなどのがんにかかっ

たか、および／またはその症状が現れた後に、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物は、対象に鼻腔内投与することができる。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物および方法は、比較的廉価であるか、または製造、貯蔵、および／または調製が物流面で複雑ではない可能性がある。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物は、単一の処置またはワクチン接種レジメンの一部として、ナノ粒子、モジュレーター、および抗原を含む組成物と組み合わせて、例えば同時に、逐次的に、または別々に対象に投与することができる。

【００７４】

[00138]本明細書に記載される組成物または方法（例えば、対象における疾患または状態を処置するための、対象における疾患または状態を防止するための、または第１の対象から第２の対象への疾患または状態の伝播を防止するための）は、本明細書に記載されるモジュレーター（例えば、パターン認識受容体アゴニストタンパク質、例えばＳＴＩＮＧアゴニスト）を含んでいてもよい。一部の場合において、モジュレーターを含む組成物または方法は、抗原およびナノ粒子（例えば、リポソーム）を欠如していてもよい。一部の場合において、モジュレーターは、抗原またはナノ粒子なしで対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与して、例えば、対象における疾患または状態（例えば、がんまたは呼吸器ウイルスに関連する疾患または状態または呼吸器疾患）を処置または防止することができる。一部の実施態様において、モジュレーターを含むが抗原またはナノ粒子を欠如した組成物は、本明細書に記載される用量、剤形、および／または処置もしくはワクチン接種の時間経過で、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。例えば、モジュレーターを含むが抗原またはナノ粒子を欠如した組成物は、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）が感染因子（例えば、ウイルス、例えば、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、またはライノウイルスのような呼吸器ウイルス）に曝露される前に、対象に投与することができる。一部の場合において、モジュレーターを含むが抗原またはナノ粒子を欠如した組成物は、対象が呼吸器疾患または状態（例えば、呼吸器ウイルスに関連する）または一部の場合において、肺がんなどのがんにかかるか、および／またはその症状が現れる前に、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。一部の場合において、モジュレーターを含むが抗原またはナノ粒子を欠如した組成物は、対象が感染因子（例えば、ウイルス、例えば、コロナウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、またはライノウイルスのような呼吸器ウイルス）に曝露された後に、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。一部の場合において、モジュレーターを含むが抗原またはナノ粒子を欠如した組成物は、対象が呼吸器疾患または状態（例えば、呼吸器ウイルスに関連する）または一部の場合において、肺がんなどのがんにかかったか、および／またはその症状が現れた後に、対象（例えば、ヒト対象または非ヒト哺乳類対象）に投与することができる。一部の場合において、モジュレーターを含むが抗原またはナノ粒子を欠如した組成物は、対象に鼻腔内投与することができる。一部の場合において、モジュレーターを含むが抗原またはナノ粒子を欠如した組成物および方法は、比較的廉価であるか、または製造、貯蔵、および／または調製が物流面で複雑ではない可能性がある。一部の場合において、ナノ粒子およびモジュレーターを含むが抗原が欠如した組成物は、単一の処置またはワクチン接種レジメンの一部として、ナノ粒子、モジュレーター、および抗原を含む組成物と組み合わせて、例えば同時に、逐次的に、または別々に対象に投与することができる。

【００７５】

[00139]一部の場合において、本発明の開示の組成物（例えば、疾患または状態、例えば呼吸器疾患を有する対象を処置するための、または対象が前記疾患もしくは状態にかかったりもしくは前記疾患もしくは状態を第２の対象にうつしたりすることを防止するための）は、０．１μｇ～２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤

（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、０．１μｇ～１μｇ、０．１μｇ～２μｇ、０．１μｇ～３μｇ、０．１μｇ～５μｇ、０．１μｇ～１０μｇ、０．１μｇ～２０μｇ、０．１μｇ～３０μｇ、０．１μｇ～５０μｇ、０．１μｇ～１００μｇ、０．１μｇ～１２０μｇ、０．１μｇ～２００μｇ、１μｇ～２μｇ、１μｇ～３μｇ、１μｇ～５μｇ、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～２０μｇ、１μｇ～３０μｇ、１μｇ～５０μｇ、１μｇ～１００μｇ、１μｇ～１２０μｇ、１μｇ～２００μｇ、２μｇ～３μｇ、２μｇ～５μｇ、２μｇ～１０μｇ、２μｇ～２０μｇ、２μｇ～３０μｇ、２μｇ～５０μｇ、２μｇ～１００μｇ、２μｇ～１２０μｇ、２μｇ～２００μｇ、３μｇ～５μｇ、３μｇ～１０μｇ、３μｇ～２０μｇ、３μｇ～３０μｇ、３μｇ～５０μｇ、３μｇ～１００μｇ、３μｇ～１２０μｇ、３μｇ～２００μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～２０μｇ、５μｇ～３０μｇ、５μｇ～５０μｇ、５μｇ～１００μｇ、５μｇ～１２０μｇ、５μｇ～２００μｇ、１０μｇ～２０μｇ、１０μｇ～３０μｇ、１０μｇ～５０μｇ、１０μｇ～１００μｇ、１０μｇ～１２０μｇ、１０μｇ～２００μｇ、２０μｇ～３０μｇ、２０μｇ～５０μｇ、２０μｇ～１００μｇ、２０μｇ～１２０μｇ、２０μｇ～２００μｇ、３０μｇ～５０μｇ、３０μｇ～１００μｇ、３０μｇ～１２０μｇ、３０μｇ～２００μｇ、５０μｇ～１００μｇ、５０μｇ～１２０μｇ、５０μｇ～２００μｇ、１００μｇ～１２０μｇ、１００μｇ～２００μｇ、または１２０μｇ～２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、少なくとも０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、最大で０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。

【００７６】

[00140]一部の場合において、本発明の開示の組成物（例えば、疾患または状態、例えば呼吸器疾患を有する対象を処置するための、または対象が前記疾患もしくは状態にかかったりもしくは前記疾患もしくは状態を第２の対象にうつしたりすることを防止するための）は、０．１μｇ～２００μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、０．１μｇ～１μｇ、０．１μｇ～２μｇ、０．１μｇ～３μｇ、０．１μｇ～５μｇ、０．１μｇ～１０μｇ、０．１μｇ～２０μｇ、０．１μｇ～３０μｇ、０．１μｇ～５０μｇ、０．１μｇ～１００μｇ、０．１μｇ～１２０μｇ、０．１μｇ～２００μｇ、１μｇ～２μｇ、１μｇ～３μｇ、１μｇ～５μｇ、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～２０μｇ、１μｇ～３０μｇ、１μｇ～５０μｇ、１μｇ～１００μｇ、１μｇ～１２０μｇ、１μｇ～２００μｇ、２μｇ～３μｇ、２μｇ～５μｇ、２μｇ～１０μｇ、２μｇ～２０μｇ、２μｇ～３０μｇ、２μｇ～５０μｇ、２μｇ～１００μｇ、２μｇ～１２０μｇ、２μｇ～２００μｇ、３μｇ～５μｇ、３μｇ～１０μｇ、３μｇ～２０μｇ、３μｇ～３０μｇ、３μｇ～５０μｇ、３μｇ～１００μｇ、３μｇ～１２０μｇ、３μｇ～２００μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～２０μｇ、５μｇ～３０μｇ、５μｇ～５０μｇ、５μｇ～１００μｇ、５μｇ～１２０μｇ、５μｇ～２００μｇ、１０μｇ～２０μｇ、１０μｇ～３０μｇ、１０μｇ～５０μｇ、１０μｇ～１００μｇ、１０μｇ～１２０μｇ、１０μｇ～２００μｇ、２０μｇ～３０μｇ、２０μｇ～５０μｇ、２０μｇ～１００μｇ、２０μｇ～１２０μｇ、２０μｇ～２００μｇ、３０

μｇ～５０μｇ、３０μｇ～１００μｇ、３０μｇ～１２０μｇ、３０μｇ～２００μｇ、５０μｇ～１００μｇ、５０μｇ～１２０μｇ、５０μｇ～２００μｇ、１００μｇ～１２０μｇ、１００μｇ～２００μｇ、または１２０μｇ～２００μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、少なくとも０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、最大で０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含んでいてもよい。

【００７７】

[00141]一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物（例えば、疾患または状態、例えば呼吸器疾患を有する対象を処置するための、または対象が前記疾患もしくは状態にかかったりもしくは前記疾患もしくは状態を第２の対象にうつしたりすることを防止するための）は、０．１μｇ～２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、０．１μｇ～１μｇ、０．１μｇ～２μｇ、０．１μｇ～３μｇ、０．１μｇ～５μｇ、０．１μｇ～１０μｇ、０．１μｇ～２０μｇ、０．１μｇ～３０μｇ、０．１μｇ～５０μｇ、０．１μｇ～１００μｇ、０．１μｇ～１２０μｇ、０．１μｇ～２００μｇ、１μｇ～２μｇ、１μｇ～３μｇ、１μｇ～５μｇ、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～２０μｇ、１μｇ～３０μｇ、１μｇ～５０μｇ、１μｇ～１００μｇ、１μｇ～１２０μｇ、１μｇ～２００μｇ、２μｇ～３μｇ、２μｇ～５μｇ、２μｇ～１０μｇ、２μｇ～２０μｇ、２μｇ～３０μｇ、２μｇ～５０μｇ、２μｇ～１００μｇ、２μｇ～１２０μｇ、２μｇ～２００μｇ、３μｇ～５μｇ、３μｇ～１０μｇ、３μｇ～２０μｇ、３μｇ～３０μｇ、３μｇ～５０μｇ、３μｇ～１００μｇ、３μｇ～１２０μｇ、３μｇ～２００μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～２０μｇ、５μｇ～３０μｇ、５μｇ～５０μｇ、５μｇ～１００μｇ、５μｇ～１２０μｇ、５μｇ～２００μｇ、１０μｇ～２０μｇ、１０μｇ～３０μｇ、１０μｇ～５０μｇ、１０μｇ～１００μｇ、１０μｇ～１２０μｇ、１０μｇ～２００μｇ、２０μｇ～３０μｇ、２０μｇ～５０μｇ、２０μｇ～１００μｇ、２０μｇ～１２０μｇ、２０μｇ～２００μｇ、３０μｇ～５０μｇ、３０μｇ～１００μｇ、３０μｇ～１２０μｇ、３０μｇ～２００μｇ、５０μｇ～１００μｇ、５０μｇ～１２０μｇ、５０μｇ～２００μｇ、１００μｇ～１２０μｇ、１００μｇ～２００μｇ、または１２０μｇ～２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、少なくとも０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ

経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、最大で０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。

【００７８】

[00142]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物は、複数の異なる抗原を含んでいてもよい。例えば、本発明の開示の組成物は、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）およびＳ－タンパク質（例えば、コロナウイルススパイクタンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、複数のタイプの単一のクラスの抗原を含んでいてもよい。例えば、本発明の開示の組成物は、単量体抗原（例えば、単量体Ｓ－タンパク質）、三量体抗原（例えば、三量体Ｓ－タンパク質）、キメラ抗原（例えば、キメラＳ－タンパク質）、および／または抗原の変異体（例えば、変異Ｓ－タンパク質）を含んでいてもよい。

【００７９】

[00143]一部の場合において、本発明の開示の組成物（例えば、疾患または状態、例えば呼吸器疾患を有する対象を処置するための、または対象が前記疾患もしくは状態にかかったりもしくは前記疾患もしくは状態を第２の対象にうつしたりすることを防止するための）は、０．１μｇ～２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、０．１μｇ～１μｇ、０．１μｇ～２μｇ、０．１μｇ～３μｇ、０．１μｇ～５μｇ、０．１μｇ～１０μｇ、０．１μｇ～２０μｇ、０．１μｇ～３０μｇ、０．１μｇ～５０μｇ、０．１μｇ～１００μｇ、０．１μｇ～１２０μｇ、０．１μｇ～２００μｇ、１μｇ～２μｇ、１μｇ～３μｇ、１μｇ～５μｇ、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～２０μｇ、１μｇ～３０μｇ、１μｇ～５０μｇ、１μｇ～１００μｇ、１μｇ～１２０μｇ、１μｇ～２００μｇ、２μｇ～３μｇ、２μｇ～５μｇ、２μｇ～１０μｇ、２μｇ～２０μｇ、２μｇ～３０μｇ、２μｇ～５０μｇ、２μｇ～１００μｇ、２μｇ～１２０μｇ、２μｇ～２００μｇ、３μｇ～５μｇ、３μｇ～１０μｇ、３μｇ～２０μｇ、３μｇ～３０μｇ、３μｇ～５０μｇ、３μｇ～１００μｇ、３μｇ～１２０μｇ、３μｇ～２００μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～２０μｇ、５μｇ～３０μｇ、５μｇ～５０μｇ、５μｇ～１００μｇ、５μｇ～１２０μｇ、５μｇ～２００μｇ、１０μｇ～２０μｇ、１０μｇ～３０μｇ、１０μｇ～５０μｇ、１０μｇ～１００μｇ、１０μｇ～１２０μｇ、１０μｇ～２００μｇ、２０μｇ～３０μｇ、２０μｇ～５０μｇ、２０μｇ～１００μｇ、２０μｇ～１２０μｇ、２０μｇ～２００μｇ、３０μｇ～５０μｇ、３０μｇ～１００μｇ、３０μｇ～１２０μｇ、３０μｇ～２００μｇ、５０μｇ～１００μｇ、５０μｇ～１２０μｇ、５０μｇ～２００μｇ、１００μｇ～１２０μｇ、１００μｇ～２００μｇ、または１２０μｇ～２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、少なくとも０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、本発明の開示の組成物は、最大で０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μ

ｇ、１２０μｇ、または２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物（例えば、疾患または状態、例えば呼吸器疾患を有する対象を処置するための、または対象が前記疾患もしくは状態にかかったりもしくは前記疾患もしくは状態を第２の対象にうつしたりすることを防止するための）は、０．１μｇ～２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、０．１μｇ～１μｇ、０．１μｇ～２μｇ、０．１μｇ～３μｇ、０．１μｇ～５μｇ、０．１μｇ～１０μｇ、０．１μｇ～２０μｇ、０．１μｇ～３０μｇ、０．１μｇ～５０μｇ、０．１μｇ～１００μｇ、０．１μｇ～１２０μｇ、０．１μｇ～２００μｇ、１μｇ～２μｇ、１μｇ～３μｇ、１μｇ～５μｇ、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～２０μｇ、１μｇ～３０μｇ、１μｇ～５０μｇ、１μｇ～１００μｇ、１μｇ～１２０μｇ、１μｇ～２００μｇ、２μｇ～３μｇ、２μｇ～５μｇ、２μｇ～１０μｇ、２μｇ～２０μｇ、２μｇ～３０μｇ、２μｇ～５０μｇ、２μｇ～１００μｇ、２μｇ～１２０μｇ、２μｇ～２００μｇ、３μｇ～５μｇ、３μｇ～１０μｇ、３μｇ～２０μｇ、３μｇ～３０μｇ、３μｇ～５０μｇ、３μｇ～１００μｇ、３μｇ～１２０μｇ、３μｇ～２００μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～２０μｇ、５μｇ～３０μｇ、５μｇ～５０μｇ、５μｇ～１００μｇ、５μｇ～１２０μｇ、５μｇ～２００μｇ、１０μｇ～２０μｇ、１０μｇ～３０μｇ、１０μｇ～５０μｇ、１０μｇ～１００μｇ、１０μｇ～１２０μｇ、１０μｇ～２００μｇ、２０μｇ～３０μｇ、２０μｇ～５０μｇ、２０μｇ～１００μｇ、２０μｇ～１２０μｇ、２０μｇ～２００μｇ、３０μｇ～５０μｇ、３０μｇ～１００μｇ、３０μｇ～１２０μｇ、３０μｇ～２００μｇ、５０μｇ～１００μｇ、５０μｇ～１２０μｇ、５０μｇ～２００μｇ、１００μｇ～１２０μｇ、１００μｇ～２００μｇ、または１２０μｇ～２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、少なくとも０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。一部の場合において、２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）を含む本発明の開示の組成物は、最大で０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇの抗原（例えば、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）、スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＲＳＶ抗原タンパク質）を含んでいてもよい。

【００８０】

[00144]一部の場合において、少なくとも２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）および少なくとも４μｇの抗原を含む本発明の開示の組成物（例えば、疾患または状態、例えば呼吸器疾患を有する対象を処置するための、または対象が前記疾患もしくは状態にかかったりもしくは前記疾患

もしくは状態を第２の対象にうつしたりすることを防止するための）は、０．１μｇ～２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、少なくとも２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）および少なくとも４μｇの抗原を含む本発明の開示の組成物は、０．１μｇ～１μｇ、０．１μｇ～２μｇ、０．１μｇ～３μｇ、０．１μｇ～５μｇ、０．１μｇ～１０μｇ、０．１μｇ～２０μｇ、０．１μｇ～３０μｇ、０．１μｇ～５０μｇ、０．１μｇ～１００μｇ、０．１μｇ～１２０μｇ、０．１μｇ～２００μｇ、１μｇ～２μｇ、１μｇ～３μｇ、１μｇ～５μｇ、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～２０μｇ、１μｇ～３０μｇ、１μｇ～５０μｇ、１μｇ～１００μｇ、１μｇ～１２０μｇ、１μｇ～２００μｇ、２μｇ～３μｇ、２μｇ～５μｇ、２μｇ～１０μｇ、２μｇ～２０μｇ、２μｇ～３０μｇ、２μｇ～５０μｇ、２μｇ～１００μｇ、２μｇ～１２０μｇ、２μｇ～２００μｇ、３μｇ～５μｇ、３μｇ～１０μｇ、３μｇ～２０μｇ、３μｇ～３０μｇ、３μｇ～５０μｇ、３μｇ～１００μｇ、３μｇ～１２０μｇ、３μｇ～２００μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～２０μｇ、５μｇ～３０μｇ、５μｇ～５０μｇ、５μｇ～１００μｇ、５μｇ～１２０μｇ、５μｇ～２００μｇ、１０μｇ～２０μｇ、１０μｇ～３０μｇ、１０μｇ～５０μｇ、１０μｇ～１００μｇ、１０μｇ～１２０μｇ、１０μｇ～２００μｇ、２０μｇ～３０μｇ、２０μｇ～５０μｇ、２０μｇ～１００μｇ、２０μｇ～１２０μｇ、２０μｇ～２００μｇ、３０μｇ～５０μｇ、３０μｇ～１００μｇ、３０μｇ～１２０μｇ、３０μｇ～２００μｇ、５０μｇ～１００μｇ、５０μｇ～１２０μｇ、５０μｇ～２００μｇ、１００μｇ～１２０μｇ、１００μｇ～２００μｇ、または１２０μｇ～２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、少なくとも２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）および少なくとも４μｇの抗原を含む本発明の開示の組成物は、０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、少なくとも２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）および少なくとも４μｇの抗原を含む本発明の開示の組成物は、少なくとも０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。一部の場合において、少なくとも２０μｇの粒子（例えば、脂質ベースの粒子（例えば、リポソーム）、例えば脂質ベースのナノ粒子）および少なくとも４μｇの抗原を含む本発明の開示の組成物は、最大で０．１μｇ、１μｇ、２μｇ、３μｇ、５μｇ、１０μｇ、２０μｇ、３０μｇ、５０μｇ、１００μｇ、１２０μｇ、または２００μｇのモジュレーター（例えば、ＳＴＩＮＧ経路活性化剤（例えば、ＳＴＩＮＧアゴニスト））を含んでいてもよい。

【００８１】

[00145]一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法に従って対象に投与される用量は、０．１μｇ～２０μｇの本明細書に記載される組成物（例えば、モジュレーターおよび粒子を含む、またはモジュレーター、粒子、および抗原を含む組成物）を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法に従って対象に投与される用量は、０．１μｇ～０．５μｇ、０．１μｇ～１μｇ、０．１μｇ～２．５μｇ、０．１μｇ～５μｇ、０．１μｇ～７．５μｇ、０．１μｇ～９．３μｇ、０．１μｇ～１０μｇ、０．１μｇ～１５μｇ、０．１μｇ～２０μｇ、０．５μｇ～１μｇ、０．５μｇ～２．５μｇ、０．５μｇ～５μｇ、０．５μｇ～７．５μｇ、０．５μｇ～９．３μｇ、０．５μｇ～１０μｇ、０．５μｇ～１５μｇ、０．５μｇ～２０μｇ、１μｇ～２．５μｇ、１μｇ～５μｇ、１μｇ～７．５μｇ、１μｇ～９．３μｇ、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～１５μｇ、１μｇ～２０μｇ、２．５μｇ～５μｇ、

２．５μｇ～７．５μｇ、２．５μｇ～９．３μｇ、２．５μｇ～１０μｇ、２．５μｇ～１５μｇ、２．５μｇ～２０μｇ、５μｇ～７．５μｇ、５μｇ～９．３μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～１５μｇ、５μｇ～２０μｇ、７．５μｇ～９．３μｇ、７．５μｇ～１０μｇ、７．５μｇ～１５μｇ、７．５μｇ～２０μｇ、９．３μｇ～１０μｇ、９．３μｇ～１５μｇ、９．３μｇ～２０μｇ、１０μｇ～１５μｇ、１０μｇ～２０μｇ、または１５μｇ～２０μｇの本明細書に記載される組成物（例えば、モジュレーターおよび粒子を含む、またはモジュレーター、粒子、および抗原を含む組成物）を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法に従って対象に投与される用量は、０．１μｇ、０．５μｇ、１．０μｇ、１．２μｇ、２．３μｇ、２．５μｇ、４．７μｇ、５．０μｇ、７．５μｇ、９．３μｇ、１０μｇ、１５μｇ、または２０μｇの本明細書に記載される組成物（例えば、モジュレーターおよび粒子を含む、またはモジュレーター、粒子、および抗原を含む組成物）を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法に従って対象に投与される用量は、少なくとも０．１μｇ、０．５μｇ、１．０μｇ、１．２μｇ、２．３μｇ、２．５μｇ、４．７μｇ、５．０μｇ、７．５μｇ、９．３μｇ、１０μｇ、１５μｇ、または２０μｇの本明細書に記載される組成物（例えば、モジュレーターおよび粒子を含む、またはモジュレーター、粒子、および抗原を含む組成物）を含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載される組成物または方法に従って対象に投与される用量は、最大で０．１μｇ、０．５μｇ、１．０μｇ、１．２μｇ、２．３μｇ、２．５μｇ、４．７μｇ、５．０μｇ、７．５μｇ、９．３μｇ、１０μｇ、１５μｇ、または２０μｇの本明細書に記載される組成物（例えば、モジュレーターおよび粒子を含む、またはモジュレーター、粒子、および抗原を含む組成物）を含んでいてもよい。

【００８２】

[00146]一部の実施態様において、本発明の開示の組成物は、他の治療的処置と組み合わせて投与してもよい。一部の実施態様において、他の治療的処置としては、これらに限定されないが、免疫療法、ウイルス療法、標的化阻害、放射線療法、化学療法、またはそれらの組合せが挙げられる。一部の場合において、本明細書に記載される組成物は、アジュバント（例えば、１種もしくはそれより多くの抗体、１種もしくはそれより多くの抗ウイルス処置、１種もしくはそれより多くのワクチン、１種もしくはそれより多くの小分子、１種もしくはそれより多くの核酸、および／または１種もしくはそれより多くのペプチドまたはタンパク質、例えばインターロイキン（例えば、ＩＬ－２１））を含んでいてもよいし、および／またはそれを用いた処置レジメン（例えば、同時に投与されるかまたは同時に投与されない）で投与してもよい。

【００８３】

対象

[00147]本発明の開示の治療用組成物は、それを必要とする対象に投与することができる。例えば、一部の実施態様において、対象は、哺乳動物（例えば、ヒト）である。一部の実施態様において、対象は、家畜である。例えば、対象は、イヌまたはネコであってもよい。一部の場合において、対象は、ウシ、ウマ、非ヒト霊長類、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、ヤギ、ヒツジ、キリン、シマウマ、ライオン、トラ、またはクマであってもよい。一部の実施態様において、対象は、人間であってもよい。一部の実施態様において、対象は、呼吸器感染症になりやすいかまたはそれに罹っていてもよい。一部の場合において、対象は、呼吸器ウイルスによって引き起こされる状態になりやすいかまたはそれに罹っている。例えば、組成物または方法は、呼吸器ウイルス、例えば呼吸器ＲＮＡウイルス、例えばコロナウイルス、インフルエンザウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、メタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス、またはライノウイルスに曝露されたかまたはそれに感染した対象に投与することができる。一部の実施態様において、対象は、がんになりやすいかまたはそれに罹っていてもよい。一部の場合において、対象は、病原体による感染の１種もしくはそれより多くの症状を呈することまたは疾患の罹患（例えば、呼吸器病原体による感染または呼吸器疾患の罹患）の結果としての処置について選

択することができる。例えば、対象は、持続的な咳、体温の上昇（例えば、前頭の皮膚測定により１００．４℃より高い）、体の寒気、関節の痛み、呼吸困難または呼吸を整えるのが困難なこと、肺内の液体貯留、疲労、頭痛、味覚または嗅覚の喪失、または診断試験陽性、例えばＰＣＲ試験陽性などの１種またはそれより多くの症状を有することに基づき、処置について選択することができる。一部の場合において、対象は、人口統計上のリスク因子、例えば肥満症、高齢（例えば、６５歳またはそれより上）、免疫不全、または妊娠に基づき、本明細書で開示される組成物での処置について選択することができる。一部の場合において、例えば、対象が、客との近い相互作用、リスクにある集団との頻繁な相互作用、生物学的サンプルの取り扱い、または感染した可能性がある個体との近い接触を含む仕事を有する場合、対象は、病原体による感染のリスクまたは疾患の罹患（例えば、呼吸器病原体による感染または呼吸器疾患の罹患）に基づき、処置について選択することができる。

【００８４】

疾患の治療（処置）または予防（防止）

[00148]病原体およびがんは、重大な健康上および経済上の懸念を引き起こしてきた。例えば、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）が原因のウイルス感染症は、ＣＯＶＩＤ－１９パンデミックを引き起こし、これは現在、世界的に最も緊急の健康上および経済上の危機である。さらに、肺がんなどのがんは、高い死亡率を有する。

【００８５】

[00149]加えて、がん、および病原体によって引き起こされる感染を効果的に治療（処置）および予防（防止）するための治療選択肢は極めて限られている。例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２によって引き起こされるウイルス感染症を処置または防止するための利用可能な薬は現在のところ存在しない。

【００８６】

[00150]加えて、病原体によって引き起こされる感染を防止することを目的とする多くのワクチンは、粘膜免疫または広範なＴ細胞免疫などの自然免疫を付与することなく全身性免疫を惹起するように設計された筋肉内ワクチンである。肺へ蔓延する前に病原体が突破する必要がある最初の障壁が鼻区画であるため、このような筋肉内ワクチンは限界がある。

【００８７】

[00151]さらに、ワクチン製剤の有効性には高いレベルの予測不可能性が存在する。第Ｉ相試験まで進んだワクチンの場合、約３分の１しか、最終的なＦＤＡ承認を得ることができない。この成功率は、免疫系を刺激する既存の技術をもってしても、あらゆる病原体に対して有効な免疫の発生は、正しい抗原およびアジュバントの設計および最適化を必要とすることを意味する。

【００８８】

[00152]ＦＤＡの承認を得たとしても、ワクチンが有効であることを必ずしも意味しない。ワクチン開発は長期にわたるプロセスであり、ＣＯＶＩＤ１９パンデミックの状況下であっても多数の問題がある。

【００８９】

[00153]プラットフォームの大部分が抗原としてスパイクタンパク質を標的化するとしても、ワクチンの効能を確実にするには、抗原の設計を最適化することが望ましい。適切なワクチン設計を選定することにおける困難さは、ＨＩＶ－１、Ｃ型肝炎およびマラリアで強調されてきており、数十年の努力と複数の候補にもかかわらず、ワクチンは未だ入手困難である。

【００９０】

[00154]さらに、呼吸器病原体に関して、肺へ蔓延する前に病原体が突破する必要がある最初の障壁が鼻区画である。しかしながら、現在の筋肉内ワクチンは、粘膜免疫などの自然免疫を付与することなく全身性免疫を惹起するように設計されている。

【００９１】
[00155]したがって、例えば病原体によって引き起こされる感染症および様々な種類のがんなどの様々な疾患を処置および防止するために、安全で長続きする治療用組成物が緊急に必要である。例えば、呼吸器病原体によって引き起こされるパンデミック（例えば、コロナウイルス、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２によって引き起こされるウイルス感染症）を処置または防止するために、安全で長続きする治療用組成物が緊急に必要である。本発明の開示の多数の実施態様が、前述の必要性に対処するものである。
【００９２】
[00156]本発明の開示の治療用組成物および方法は、疾患または状態（例えば、病原体に関連する疾患または状態）を処置または防止するのに利用することができる。例えば、一部の実施態様において、疾患は、病原体によって引き起こされる感染症であってもよい。一部の場合において、疾患は、呼吸器疾患であってもよい。一部の実施態様において、病原体は、呼吸器病原体であってもよい。一部の実施態様において、呼吸器病原体は、ウイルスであってもよい。一部の実施態様において、ウイルスは、インフルエンザウイルス、インフルエンザＡウイルス、インフルエンザＢウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、呼吸器系合胞体ウイルス、ライノウイルス、ＤＮＡウイルス、ＲＮＡウイルス、またはそれらの組合せであってもよい。
【００９３】
[00157]一部の実施態様において、病原体は、コロナウイルスである。一部の実施態様において、コロナウイルスとしては、これらに限定されないが、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＳＡＲＳｒ－ＣｏＶ）、ヒトコロナウイルス２２９Ｅ（ＨＣｏＶ－２２９Ｅ）、ヒトコロナウイルスＮＬ６３（ＨＣｏＶ－ＮＬ６３）、ヒトコロナウイルスＯＣ４３（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３）、ヒトコロナウイルスＨＫＵ１（ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１）、中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（ＭＥＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の変異体（例えば、２０Ａ．ＥＵ１、またはスパイク変異体Ｄ６１４Ｇ）、またはそれらの組合せが挙げられる。
【００９４】
[00158]図４０は、本発明の開示の一部の実施態様の概要を提供する。組成物および方法の一部の実施態様において、単回用量の、または複数回投与レジメンの一部としての、本明細書に記載される組成物（例えば、モジュレーター、例えばＳＴＩＮＧアゴニストおよび脂質ベースのナノ粒子を含む）および抗原（例えば、脂質ベースのナノ粒子の外表面と会合した、そこに埋め込まれた、またはそれとカップリングされたスパイクタンパク質）の鼻腔内送達によって、対象（例えば、哺乳類対象、例えばヒト、マウス、ハムスター、イヌ科動物、ネコ科動物、または非ヒト霊長類）を予防的に処置して、ウイルス感染症（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２コロナウイルス）から保護することもできる。一部の場合において、組成物での処置は、１つまたはそれより多くの体の区画、例えば血液、脾臓、肺、および／または鼻区画などにおいて、対象における免疫応答を惹起することができる。図４０で要約した通り、本明細書に記載される組成物および方法は、一部の実施態様において、対象の肺組織（例えば、ＢＡＬＦ）または血液（例えば、血清）で検出可能な、抗抗原ＩｇＧ（例えば、抗スパイクタンパク質ＩｇＧ）および／または抗抗原ＩｇＡ（例えば、抗スパイクタンパク質ＩｇＡ）の増加を惹起することができる。一部の場合において、本明細書に記載される組成物および方法は、例えば脾臓中の、ＩｇＡ分泌Ｂ細胞の数および／または抗原特異的Ｔ細胞（例えば、スパイクタンパク質特異的Ｔ細胞）の数を増加させることができる。一部の場合において、抗原特異的Ｔ細胞における増加は、対象への本明細書に記載される組成物の投与後に、肺で検出することができる。一部の場合において、抗抗原ＩｇＡの増加および／または胚中心（ＧＣ）Ｂ細胞もしくはＴ濾胞性ヘルパー（Ｔｆｈ）細胞の存在および／活性の増加は、対象への本明細書に記載される組成物の投与後に、鼻区画で検出することができる。

【００９５】
[00159]一部の実施態様において、対象において処置または防止しようとする疾患は、がんである。一部の実施態様において、がんは、気管がん、肺がん、気管支がん、上皮がん、血液のがん、乳がん、黒色腫、卵巣がん、婦人科系がん、白血病、リンパ腫、前立腺がん、膀胱がん、結腸がん、神経膠腫、肉腫、膠芽腫、またはそれらの組合せであってもよい。一部の場合において、がんは、肺がんであってもよい。
【実施例】
【００９６】
実施例１．脂質ベースの粒子の調製および特徴付け
[00160]この実施例は、対象における疾患（例えば、呼吸器疾患）を治療（処置）または予防（防止）するための組成物において有用なＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターおよびスパイクタンパク質抗原を含む脂質ベースの粒子の調製および特徴付けを記載する。呼吸器区画内の免疫系の効率的なプライミングを容易にするために、ＳＴＩＮＧアゴニストを、負電荷を有するリポソーム内に封入して、リポソーム、ＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーター、およびリポソームの表面と会合した抗原を含む組成物（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ」）を得た（図１を参照）。
【００９７】
[00161]リポソームは、１０：１：１：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていた。１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＰＰＣ）、１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール）（ＤＰＰＧ）、および１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－［メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］（ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００）を、アバンティ・ポーラー・リピッド（Avanti Polar Lipids）（アラバマ州アラバスター）から得た。コレステロールを、シグマアルドリッチ（Sigma Aldrich）（ミズーリ州セントルイス）から得た。リポソームを調製するために、脂質を、クロロホルム（$CHCl_3$）およびメタノール（CH_3OH）中で混合し、溶液を、真空ロータリーエバポレーターによって、４５℃でおよそ８０分間（min）蒸発させた。得られた脂質薄膜を、全ての有機溶媒が蒸発するまで乾燥させた。脂質フィルムを、予め温めたｃＧＡＭＰ溶液（ｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液中の０．３ｍｇ／ｍｌのｃＧＡＭＰ）を添加することによって水和した。ＳＴＩＮＧアゴニスト、２’－３”環状グアノシン一リン酸アデノシン一リン酸（ｃＧＡＭＰ）を、ケミテック（Chemietek）（インディアナ州インディアナポリス）から得た。
【００９８】
[00162]水和した脂質を、温度を６５℃に上昇させて追加の３０分間混合し、次いで凍結融解サイクルに供した。混合物を、ブランソン（Branson）の超音波発生装置を使用して４０ｋＨｚで６０分間音波処理した。遊離のトラップされなかったｃＧＡＭＰを、アミコン（Amicon）限外ろ過ユニットによって、１０ｋＤａの分子量カットオフを使用して除去した。ｃＧＡＭＰ－リポソームを、ＰＢＳ緩衝液を使用して３回洗浄した。ろ液中のｃＧＡＭＰ濃度を、２６０ｎｍで、ｃＧＡＭＰの検量線に対して、サイテーション５（Cytation 5）（バイオテック（BioTek））のＴａｋｅ３マイクロボリューム（Take 3 Micro-Volume）吸光度分析器によって測定した（図３６Ａ）。リポソームに封入されたｃＧＡＭＰの最終濃度および封入効率を、ろ液中の遊離薬物の濃度を引くことによって計算した（標準曲線は図３６Ｂに示される）。
【００９９】
[00163]ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質（「Ｓ－タンパク質」）単量体、または代替として三量体の新たに水和した凍結乾燥形態を、ＳＴＩＮＧａ－リポソームの懸濁液と室温で１０分間混合して、リポソーム上にタンパク質を吸着させた。製剤化した組成物を４℃で貯蔵し、２ヶ月まで使用した。安定性の決定のために、ＳＴＩＮＧアゴニスト－リポソーム懸濁液を４℃で１１ヶ月貯蔵した。平均粒径、多分散性指数、およびゼータ電位を、Ｌｉｔｅｓｉｚｅｒ　５００によって室温で特徴付けた。動的光散乱（ＤＬ

Ｓ）分析から、リポソームおよびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＳＴＩＮＧａ」）モジュレーター、ｃＧＡＭＰを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の平均粒径は、８１ｎｍであり、多分散性指数は０．２１であり（図３３Ｂ）、一方でＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターまたはスパイクタンパク質抗原が欠如したブランクリポソームのサイズは１１０ｎｍであったことが示された（図３３Ａ）。ＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターを封入したリポソームを含む、およびリポソームの外表面と会合するＳ－タンパク質三量体を含む、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の平均粒径は１０５ｎｍであり、多分散性指数は０．２４であった（図３３Ｃ）。リポソームの平均ゼータ電位は、封入されたＳＴＩＮＧアゴニスト含有（－３５ｍＶ）（図３３Ｅ）および非含有（－６８ｍＶ）（図３３Ｄ）のいずれにおいても負であった。ＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターを封入したリポソームを含む、およびリポソームの外表面と会合するＳ－タンパク質三量体を含む、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の場合。リポソームの平均ゼータ電位は、－３０ｍＶであった（図３３Ｆ）。ＮａｎｏＳＴＩＮＧの安定性を試験したところ、データから、粒度の保存および凝集体の非存在によって証明された通り（図３４Ｃ）、それらは４℃で２ヶ月の貯蔵後（図３４Ａ）および４℃で１１ヶ月より長い貯蔵後、安定であったことが示された。リポソームの表面電荷も、４℃で２ヶ月の後（図３４Ｂ）および４℃で１１ヶ月の後（図３４Ｄ）、変わらなかった（－５５ｍＶ）。総合すると、これらの結果は、負電荷を有するリポソームがＳＴＩＮＧａを効率的に封入し、優れた安定性を有していたことを確立した。

【０１００】

[00164]フューリン切断部位に突然変異を含有するＳ－タンパク質の凍結乾燥された組換え三量体細胞外ドメインを、免疫原として使用した（図４Ａ）。Ｓ－タンパク質の大規模なグリコシル化によって予想された通り、還元条件下でのＳＤＳ－ＰＡＧＥから、タンパク質が１８０から２５０ｋＤａの間に移動したことが確認された（図４Ｂ）。

【０１０１】

[00165]単一工程の混合および免疫化アプローチを使用して、三量体Ｓ－タンパク質およびＳＴＩＮＧモジュレーターを封入したリポソームを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ三量体Ｓ－タンパク質組成物（ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体）配合物を調製した。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ懸濁液を、室温で穏やかにかき混ぜながら、新たに再水和した三量体Ｓ－タンパク質と穏やかに混合して、タンパク質をリポソームに吸着させた。吸着した三量体Ｓタンパク質（ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体）は、１０５ｎｍの平均粒径（図３３Ｃ）および－３０ｍＶの平均ゼータ電位（図３３Ｆ）を示し、多分散性指数は０．２４であり、これは、ＮａｎｏＳＴＩＮＧよりわずかに大きく、より負であった（８１ｎｍ、－３５ｍＶ）。総合すると、これらの結果から、組成物の成分は安定であり、安定なナノ微粒子のコロイド状の形態で容易に製剤化されたことが示された。

【０１０２】

[00166]一部の場合において、Ｓ－タンパク質の三量体形態は溶液中で凝集する可能性があるため、三量体Ｓ－タンパク質の２つの異なる配合物：凍結乾燥形態および－２０℃で貯蔵された溶液形態を試験した。凍結乾燥形態は、一旦水和させて、ＤＬＳによって即座に測定したところ、６ヶ月貯蔵された場合でも（２５℃で１ヶ月および－２０℃で５ヶ月）、凝集の証拠は示さなかったが（図３５Ｂ）、三量体Ｓ－タンパク質の溶液形態は、－２０℃で１週間後でも、凝集したタンパク質の存在を示した（＞１００ｎｍの第２の粒子ピークの存在、多分散性指数＝０．２８）（図３５Ａ）。これらの結果は、凍結乾燥されたタンパク質は凝集せず、安定な配合物の基礎を形成できることを例示する。

【０１０３】

実施例２．ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｓ組成物の定量的な酵素結合免疫吸着測定（ＥＬＩＳＡ）分析

[00167]この実施例は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物のリポソーム粒子へのＳ－タンパク質吸着を測定するためのＳ－タンパク質定量的ＥＬＩＳＡの使用を示す。

【０１０４】

[00168]血清または他の生体液中の抗Ｓ－タンパク質の抗体力価を、ＥＬＩＳＡを使

用して決定した。簡単に言えば、１μｇ／ｍｌのスパイクタンパク質（シノバイオロジカル（Sino Biological）、米国ペンシルベニア州）を、ＰＢＳ中で、４℃で一晩または３７℃で２時間、ＥＬＩＳＡプレート（コーニング（Corning）、米国ニューヨーク州）上にコーティングした。プレートを、ＰＢＳ＋１％ＢＳＡ（フィッシャーサイエンティフィック（Fisher Scientific）、米国ペンシルベニア州）＋０．１％ポリソルベート２０（シグマ－アルドリッチ、米国メリーランド州からのＴｗｅｅｎ２０（商標））で室温で２時間ブロックした。洗浄した後、実施例１の場合と同様にして調製されたサンプルを異なる希釈率で添加した。捕獲された抗体を、ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）結合抗マウスＩｇＧ（ジャクソンイムノリサーチラボラトリーズ（Jackson ImmunoResearch Laboratories）、１対５，０００；米国ペンシルベニア州）、抗マウスＩｇＡ（ベチルラボラトリーズ（Bethyl Laboratories）、１対１０，０００；米国テキサス州）、およびインビトロジェン（Invitrogen）（米国カリフォルニア州）からのマウス総ＩｇＡ　ＥＬＩＳＡキットからのマウスＩｇＡに対する検出抗体（１対２５０）によって検出した。陽性対照（抗Ｓ　ＩｇＧ）を、アベオミクス（Abeomics）（米国カリフォルニア州）から得た。

【０１０５】

[00169]リポソーム上に吸着したタンパク質の割合を推測するために、三量体Ｓ－タンパク質（１０μｌ、１μｇ／μｌ）を、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ（２０μｇ）と共に穏やかに混合し、室温で１０分間インキュベートした。混合物を、で２０，０００×ｇで４０分間遠心分離して、ペレットを分離し、上清を除去した。ペレットを、ＰＢＳ（２５μｌ）中に再懸濁し、再度遠心分離して、ペレットを収集した。全ての上清を合わせ、体積を測定した。総Ｓ－タンパク質、Ｓ－タンパク質を含む堆積したアジュバントのペレット画分、および合わせた上清画分を、定量的Ｓ－タンパク質ＥＬＩＳＡを使用して定量化した。Ｓ－タンパク質定量的ＥＬＩＳＡの結果から、Ｓ－タンパク質の６１．５％（２つの独立したタンパク質調製物の平均）がリポソーム上に吸着したことが確認された。

【０１０６】

<u>実施例３．インビボでの毒性試験</u>

[00170]この実施例は、実施例１に記載された通りに調製された組成物で処置したマウスにおける体重、罹患率、および過剰炎症症状に対する作用の分析を示す。

【０１０７】

[00171]雌７～９週齢のＢＡＬＢ／ｃマウスを、チャールス・リバー・ラボラトリーズ（Charles River Laboratories）から購入した。以下のスキームに従って、単回用量の投与の前に、マウスを、ケタミンおよびキシラジンの腹膜内注射によって麻酔した：（１）ビヒクルのみのグループには、スパイクタンパク質抗原なしで２０μｇのリポソームおよびモジュレーターが投与され；（２）対照グループには、１０μｇの三量体スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）が投与され；（３）ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体グループには、本明細書に記載した通りに製剤化された、２０μｇのＳＴＩＮＧアゴニストｃＧＡＭＰを封入したリポソームと会合した２０μｇの三量体スパイクタンパク質を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体組成物が投与され；（４）単量体－ＳＴＩＮＧａグループには、本明細書に記載した通りに製剤化された、２０μｇのＳＴＩＮＧアゴニストｃＧＡＭＰを封入したリポソームと会合した４μｇの単量体スパイクタンパク質を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ－単量体組成物が投与された（図３および図５Ａを参照）。１４日にわたり、スパイクタンパク質抗原なしでリポソームおよびモジュレーターのみを含む組成物が投与されたマウス（図５Ｂ）、スパイクタンパク質抗原単独が投与されたマウス（図５Ｃ、黒色のボックス）、またはモジュレーターおよび抗原と共にリポソームを含む組成物が投与されたマウス（図５Ｃ、クローバー型のデータポイント）で、体重の減少は観察されなかった。

【０１０８】

実施例４．ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体組成物の投与に対するインビボでの応答

[00172]この実施例は、本明細書に記載されるＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体組成物の投与後のインビボでのＩｇＧ、ＩｇＡ、およびＴ細胞応答を示す。

【０１０９】

[00173]マウスの２つのグループを、図５Ａに示される方法に従って、ＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターを封入したリポソーム上に吸着したスパイクタンパク質三量体抗原の組合せ（実施例１に従って調製されたＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体）またはスパイクタンパク質三量体抗原それ自体（対照）のいずれかでの鼻腔内投与によって処置した。体重減少などの何らかの臨床症状を示した動物はいなかった。免疫化の７日後（ｄ７）に、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体を受けたマウスの１００％がセロコンバージョンを起こし、１：６４０の平均希釈力価でのロバストな抗ＳＩｇＧレベルが検出された（図５Ｄ）。１５日目（ｄ１５）に、抗Ｓ　ＩｇＧ抗体の血清濃度が増加し、１：４，４００の平均希釈力価が検出された（図５Ｅ）。ＧＦＰ－レポーターベースのシュードウイルス中和アッセイ（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、武漢－Ｈｕ－１シュードタイプ）によって測定したところ、血清抗Ｓ抗体は１：４１４の平均５０％の阻害用量（ＩＤ５０）で中和されることが確認された（図５Ｍ）。

【０１１０】

[00174]ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質を発現するレポーターウイルスを以下の通りに生成した。免疫化されたマウスの中の中和抗体力価を決定するために、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｓシュードタイプ化したレンチウイルス系を、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染の代用として使用した。シュードタイプ化したウイルス（ＰｓＶ）ストックを、安定なＡＣＥ－２およびＴＭＰＲＳＳ２を発現する２９３Ｔ細胞を、ｐＬＶＸ－ＡｃＧＦＰ１－Ｃ１、ｐＭＤＬｇ／ｐＲＲＥ、ｐＲＳＶ－Ｒｅｖ、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を含有するウイルスエンベロープタンパク質発現プラスミドｐＣＡＧＧＳ、武漢－Ｈｕ－１スパイク糖タンパク質遺伝子またはＶＳＶ－Ｇエンベロープを発現するプラスミドｐＭＤ２．Ｇとコトランスフェクトすることによって生成して、ＰｓＶ粒子を生成した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２受容体ヒトアンジオテンシン変換酵素ＩＩ（ＡＣＥ２）および原形質膜結合型ＩＩ型膜貫通型セリンプロテアーゼ、ＴＭＰＲＳＳ２（２９３Ｔ／ＡＣＥ２－ＴＭＰＲＳＳ２）を安定して発現する２９３Ｔ細胞を、１０％ウシ胎児血清が補充されたダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ）中で培養した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２、武漢－Ｈｕ－１スパイク糖タンパク質遺伝子を含有するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ－タンパク質ｐＣＡＧＧＳの発現プラスミドを、ＢＥＩリソース（BEI Resources）（米国バージニア州マナサス）から得た。ＧＦＰを発現するレンチウイルスベクターをコードするプラスミド、ヘルパープラスミドｐＭＤＬｇ／ｐＲＲＥ、ｐＲＳＶ－Ｒｅｖ、およびＶＳＶ－Ｇタンパク質をコードするプラスミドｐＭＤ２．Ｇを、アドジーン（Addgene）（米国マサチューセッツ州ウォータータウン）から得た。上清中のＰｓＶ粒子を、トランスフェクション後の４８時間に回収し、ろ過し、－８０℃で貯蔵した。ウイルス感染した蛍光細胞をイメージングおよび計数するためのＣｅｌｉｇｏイメージングシステムを使用して、４８時間にわたり、ＡＣＥ－２およびＴＭＰＲＳＳ２を発現する２９３Ｔ細胞に感染させることによって、ＰｓＶの用量力価を決定した。ウイルス力価を、蛍光焦点形成単位（fluorescent focus forming unit；ＦＦＵ）／ウェルとして表した。

【０１１１】

[00175]ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の中和抗体（Ｎａｂ）滴定アッセイを以下の通りに実行した。ＡＣＥ２－ＴＭＰＲＳＳ２を発現する２９３Ｔ細胞を、ＮｅｘｃｅｌｏｍのＣｅｌｉｇｏイメージャーに適合する９６－ウェルプレートの半分の領域で、１００μｌの完全培地中、ウェル当たり細胞１×１０^{4}個の濃度で一晩培養した。アッセイの日に、マウスからの熱で不活性化した血清を融解させ、無血清ＤＭＥＭで１：２０から１：６４０に６ポイントで連続２倍希釈した。９６ウェルプレートにおいて、５０μｌの希釈した血清を、５０μｌのＧＦＰを発現するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクを発現するＰｓＶ（１５０～３００ＦＦＵ／ウェル）と混合し、３７℃で１時間インキュベートした。１時間後、この混合物をＡＣＥ２－ＴＭＰＲＳＳ２を発現する２９３Ｔ細胞に添加し、４８時間インキュベートした。標的細胞の感染を、Ｃｅｌｉｇｏイメージングシステムを使用してＦＦＵ／ウェルをイメージングおよび計数することによって決定した。各サンプルを、３連の

ウェルで試験した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクＳ１ウサギＭａｂ（クローン番号００７、シノバイオロジカル、ペンシルベニア州ウェイン）を、中和活性の陽性対照として使用し、ＶＳＶ－Ｇを発現するＰｓＶを、中和機能の特異性の陰性対照として使用した。ＮＡｂの５０％阻害用量（ＩＤ５０）力価を非線形回帰（グラフパッドプリズム（GraphPad Prism）、米国カリフォルニア州）を使用して計算した。

【０１１２】

[00176]ＩｇＡによって媒介される保護は、呼吸器病原体に対する粘膜免疫の要素であり得ることから、１５日目の脾臓中の抗体分泌細胞（ＡＳＣ）におけるＩｇＡ応答を、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイによって分析した。イムノスポット（Immunospot）（米国オハイオ州）からのマウスＩｇＧ／ＩｇＡデュアルカラーＥＬＩＳｐｏｔを製造元の説明書に従って使用して、ＩｇＡ分泌細胞を検出した。脾臓中の総ＩｇＡ分泌細胞の場合、脾細胞を融解させ、植え付けて、抗体がコーティングされたＥＬＩＳＰＯＴプレートを即座に捕獲した。細胞を３７℃で１６～１８時間インキュベートし、続いて発色させた。抗ＳＩｇＡを生産する細胞の場合、融解させた脾細胞を、完全培地［ＲＰＭＩ－１６４０（コーニング（Corning）、米国ニューヨーク州）＋１０％ウシ胎児血清（Ｒ＆Ｄシステム（R&D System）、米国ミネソタ州）、１００μｇ／ｍｌのＮｏｒｍｏｃｉｎ（商標）（インビボジェン、米国カリフォルニア州）、２ｍＭのＬ－グルタミン、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、１０ｍＭのＨＥＰＥＳ］、およびＢ－ポリ－Ｓ（B-Poly-S）（商標）（１：１０００希釈）中、細胞４００万個／ｍｌで培養した。ウェルを１０μｇ／ｍｌのスパイクタンパク質（シノバイオロジカル、米国ペンシルベニア州）で、４℃で一晩コーティングした。脾臓細胞を洗浄し、３７℃で１６～１８時間かけてプレート上に植え付けた。図５－Ｉおよび図５Ｊは、ＥＬＩＳｐｏｔ（酵素結合免疫吸着スポット）アッセイを使用して検出された、それぞれＩｇＡおよびＳ－タンパク質特異的ＩｇＡを分泌する抗体分泌細胞（ＡＳＣ）の定量化を示す。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体で処置したマウスは、対照グループと比較して、総ＩｇＡを分泌する（図５－Ｉ）およびＳ－タンパク質特異的なＩｇＡを分泌する（図５Ｊ）ＡＳＣの数の増加を示した。

【０１１３】

[00177]Ｔ細胞応答は、抗体応答から独立した保護に寄与する可能性がある可能性があるため、処置したマウスにおけるＴ細胞応答を、ＳＡＲＳ－ＣｏＶとＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２との間でＳ－タンパク質の高度に保存された領域を標的化する１５ｍｅｒのプールを使用して評価した（図５Ｐ）。ＩＦＮγＥＬＩＳｐｏｔアッセイを、マウスＩＦＮ－γＥＬＩＳｐｏｔベーシックキット（ＡＬＰ）を製造元の説明書に従って使用して（マブテック（Mabtech）、米国バージニア州）実行した。凍結した脾細胞または肺細胞を融解させ、それ以上培養せずにＥＬＩＳＰＯＴプレートに植え付けた（ウェル当たり細胞1×10^5～3×10^5個）。脾細胞を、スパイクタンパク質ペプチドプールと共に、１．５μｇ／ｍｌ／ペプチド（ミルテニーバイオテク（Miltenyi Biotec）、ドイツ）で、３７℃で１６～１８時間インキュベートした。ＥＬＩＳｐｏｔプレートを、イムノスポット（ImmunoSpot）（登録商標）Ｓ６マイクロ（S6 MICRO）アナライザーを使用して読んだ。１５日目に、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体で免疫化された５匹全ての動物が、脾臓Ｔ細胞応答を示し、細胞10^6個当たり１４４個のＩＦＮγスポットの平均であった（図５－Ｏ）。まとめると、これらの結果は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体を使用した単回鼻腔内投与が、ロバストな血清中和抗体およびＴ細胞応答を惹起したことを示す。

【０１１４】

[00178]これらの実験を三量体Ｓ－タンパク質を用いて繰り返して、長期にわたり免疫応答の反応速度を追跡した。マウスのグループにＳ－タンパク質の三量体形態またはアジュバント単独のいずれかでワクチン接種し、２４日間にわたり７日毎に血清をサンプリングした。以前の実験と一致して、１：１４４０の平均希釈力価の抗Ｓ　ＩｇＧレベルでの早期のセロコンバージョンが観察された。抗Ｓ　ＩｇＧ応答は、１４日目に１：８０００であり、２４日目（１：１２，０００）に極めてわずかに変化した（図５Ｇおよび図５Ｈ）。２４日目に免疫動物において気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）中のＩｇＧ濃度も上昇

した（中央値は１：４０）（図５Ｆ）。
【０１１５】
[00179]血液および肺におけるＩｇＡ濃度を評価した。１：８０の平均希釈力価で血清抗Ｓ　ＩｇＡ濃度（マウスにおいて二量体）が観察された（図５Ｋ）。ＢＡＬＦにおいてＩｇＡの濃度も上昇した（図５Ｌ）。最後に、肺における抗体も１：２１３の平均５０％の阻害用量（ＩＤ５０）で中和していることが確認された（図５Ｎ）。総合すると、これらの結果は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体が、総合的な細胞性、全身性および粘膜免疫を惹起することを確立した。
【０１１６】
実施例４．ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の中和抗体（Ｎａｂ）滴定アッセイ
[00180]この実施例は、気道内の局所的な誘導性応答が、吸入された病原体に対して長続きする局所的な免疫を引き起こすことを調査する実験を示す。
【０１１７】
[00181]ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体（「三量体－ＳＴＩＮＧａ」）で処置した動物およびスパイクタンパク質三量体のみで処置した動物から、安楽死のときに鼻咽頭関連リンパ組織（ＮＡＬＴ）を回収した。安楽死の後にマウスから鼻咽頭関連リンパ組織（ＮＡＬＴ）を単離し、細胞をＡＣＫ溶解緩衝液（サーモフィッシャーサイエンティフィック（Thermo Fisher Scientific）、マサチューセッツ州ウォルサム）中で３分間インキュベートすることによって赤血球を溶解させた。ＮＡＬＴサンプルを単一細胞懸濁液に変換し、フローサイトメトリーを使用して生きた単一細胞集団にソートし、ｓｃＲＮＡ－ｓｅｑ分析に供した（図６Ａ）。その後、単一細胞懸濁液をＰＢＳで洗浄し、ＰＢＳ＋２％ＦＢＳに再懸濁し、生細胞／死細胞の検出のために５０ｎＭのヘリックスＮＰブルー（Helix NP Blue）（バイオレジェンド（BioLegend）、カリフォルニア州サンディエゴ）に曝露した。
【０１１８】
[00182]ＢＤ　ＦＡＣＳＭｅｌｏｄｙセルソーター（ＢＤバイオサイエンス（BD Biosciences）、カリフォルニア州サンノゼ）を使用して、生細胞をソートした。この方法で利用されたフローサイトメトリーゲーティング戦略は、図６Ｂ、図６Ｃ、および図６Ｄに示される。ＮＡＬＴ細胞の各グループを、プロトコールに従って、ＢＤマウス免疫単一細胞マルチプレクシングキット（BD Mouse Immune Single-Cell Multiplexing Kit）（ＢＤバイオサイエンス、カリフォルニア州サンノゼ）からのサンプルタグ（Sample-Tag）を用いて別々に標識した。次いで約６０００個の細胞（各グループから３０００個の細胞）の混合物からライブラリー調製を始めた。ＢＤラプソディーシステム（BD Rhapsody System）を、ＢＤ「ｍＲＮＡ全トランスクリプトーム分析（ＷＴＡ）およびサンプルタグライブラリー調製プロトコール（mRNA Whole Transcriptome Analysis (WTA) and Sample Tag Library Preparation Protocol）」に従って使用して、全トランスクリプトームを調製した。最終的なライブラリーの品質および量を、それぞれ、アジレント（Agilent）高感度Ｄ５０００　ＳｃｒｅｅｎＴａｐｅを使用したアジレント４２００ＴａｐｅＳｔａｔｉｏｎシステム（アジレント・テクノロジーズ（Agilent Technologies）、カリフォルニア州サンタクララ）およびＱｕｂｉｔ　ｄｓＤＮＡ　ＨＳアッセイを使用したＱｕｂｉｔフルオロメーターによって評価した。最終的なライブラリーを３ｎＭ濃度に希釈し、ＨｉＳｅｑ　ＰＥ１５０シーケンサー（イルミナ（Illumina）、カリフォルニア州サンディエゴ）を使用して、シーケンシングを実行した。フィルタリング後、合計１，３９８個のｓｃＲＮＡ－ｓｅｑプロファイルを得た。
【０１１９】
[00183]均一多様体近似および投影（ＵＭＡＰ）を利用することによって、Ｂ細胞、Ｔ細胞、ＮＫ細胞および骨髄部分集団を同定した（図７Ａ）。Ｂ細胞部分集団（図７Ｂ、図７Ｃ、図７Ｄ）、Ｔ細胞部分集団（図７Ｅ、図７Ｆ、図７Ｇ）、ＮＫ細胞部分集団（図７Ｈ、図７－Ｉ、図７Ｊ）、および骨髄部分集団（図７Ｋ、図７Ｌ、図７Ｍ）の確立された系統マーカーを使用して、部分集団を確認した。ｓｃＲＮＡ－ｓｅｑの９５％より多く

が、ＴおよびＢ細胞に対応する対照およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体グループの両方をもたらす。免疫細胞のこれらのサブセットに対して詳細な分析を実行した。

【０１２０】

[00184]図８Ａ、図８Ｂ、および図８Ｃ～図９Ｍで示されるように、以下の４つのＢ細胞クラスターを同定した：Ｃｄ１９（図９Ａを参照）、Ｍｓ４ａ１（ＣＤ２０）（図９Ｂを参照）、Ｉｇｈｍ（図９Ｃを参照）を発現するナイーブＢ細胞；Ｃｄ６９（図８Ｃを参照）、Ｃｄ３８（図８Ｄを参照）、Ｃｄ８３（図８Ｅを参照）、Ｃｘｃｒ４（図８Ｆを参照）、Ｚｆｐ３６（図８Ｇを参照）、Ｅｒｇ１（図８Ｈを参照）、Ｅｇｒ３（図９Ｋを参照）、Ｉｒｆ４（図９Ｄを参照）、Ｆｏｓｂ（図９Ｇを参照）、Ｊｕｎ（図９Ｈを参照）、およびＦｏｓ（図９Ｍを参照）を発現する胚中心Ｂ細胞（ＧＣ　Ｂ細胞）；Ｃｄ３８を発現する活性化Ｂ細胞を含む中間Ｂ細胞クラスター（図８Ｄを参照）；ならびにＳｅｃ６１ｂ（図９Ｆを参照）、Ｃａｓｐ３（図９Ｌを参照）、およびＴｒａｍ１（図９－Ｉを参照）を発現するが、Ｍｓ４ａ１（ＣＤ２０）の発現が欠如したＡＳＣ（形質芽球）（図９Ｂを参照）。誘導性部位ではなくエフェクター部位としてのＮＡＬＴの役割と一致して、投与後の１５日目にＩｇＡ（Ｉｇｈａ）を発現する細胞のごく小さい部分集団（図９Ｊを参照）が検出された。対照およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体グループの比較は、ナイーブＢ細胞の減少を伴うＧＣ　Ｂ細胞の頻度のロバストな増加を示した（図８Ｂ）。これらの結果から、鼻腔内のワクチン接種の成功がＧＣ様Ｂ細胞の分化を促進したことが示唆された。

【０１２１】

[00185]次に、ＮＡＬＴ内のＴ細胞がＢ細胞分化を支持するかどうかを調査した。Ｔ細胞内の３つのクラスターを同定した：１つ目は、Ｃｄ８ａを発現するＣＤ８＋Ｔ細胞部分集団であり（図１１Ｂを参照）、２つ目は、ＣＤ４＋Ｔ細胞部分集団を発現するＣＤ８＋Ｔ細胞部分集団（図１０Ａを参照）である。ＣＤ４＋Ｔ細胞を、Ｃｄ４（図１１Ａを参照）およびＮｐｍ１（図１１Ｅを参照）を発現するナイーブＴ細胞（ナイーブ）；ならびにＣｄ６９（図１０Ｃを参照）、Ｉｌ６ｒａ（図１０Ｄを参照）、Ｎｒ４ａ１（Ｎｕｒ７７）（図１０Ｆを参照）、Ｔｃｆ７（ＴＣＦ１）（図１０Ｇを参照）、Ｌｅｆ１（図１０Ｈを参照）、Ｉｌ７ｒ（図１１Ｄを参照）、Ｆｏｓ（図１１Ｆを参照）、およびＪｕｎ（図１１Ｇを参照）を発現する、さらにメモリーマーカーＣｄ２７（図１０Ｅを参照）およびＣｄ２８（図１１Ｃを参照）も発現するＴ濾胞性ヘルパー様（Ｔｆｈ）として分類した。対照およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体グループにおける顕著な差は、Ｔｆｈ／ナイーブＣＤ４＋Ｔ細胞の比率の増加であった（図１０Ｂ）。

【０１２２】

[00186]ＧＣ　Ｂ細胞およびＴｆｈ細胞がＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体ＮＡＬＴにおける優勢なクラスターの代表であるため、これらの細胞間の相互作用の性質をより詳細に調査した。最初に、ＮＡＬＴにおける異なるＢおよびＴ細胞クラスター間の細胞間相互作用をを可視化した。Ｔｆｈ細胞は、優勢な相互作用する細胞型であり、ＧＣ　Ｂ細胞クラスターと強く相互作用した（図１２Ａ）。分子レベルでの相互作用を調査するために、マウス遺伝子を、そのヒト対応物に変換し、ＣｅｌｌＰｈｏｎｅＤＢを使用して相互作用するタンパク質対を照合した。簡単に言えば、Ｔ細胞およびＢ細胞を、それらの部分集団およびグループ（処置された、または三量体－ＳＴＩＮＧａ）によって１４種の細胞型に類別した。ＣｅｌｌＰｈｏｎｅＤＢで計算された統計的検定によれば、ｐ値＞０．０５のリガンド－受容体対をフィルタリングして除き、有意な対を有する異なる細胞型間の関係を評価した。ＧＣ　Ｂ細胞とＴｆｈ細胞との間の相互作用を促進することが公知のいくつかの十分に立証された受容体－リガンド対、ＢＡＦＦＲ（ＴＮＦＲＳＦ１３Ｃ）－ＢＡＦＦ（ＴＮＦＳＦ１３Ｂ）；ＩＣＯＳＬＧ－ＩＣＯＳ；ＣＤ４０－ＣＤ４０Ｌ；およびＩＬ２１－ＩＬ２１Ｒが、ＮＡＬＴ内のＢ細胞およびＴｆｈ細胞で相互に検出された（図１２Ｂ）。これらの結果から、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－三量体で免疫化されると、ＮＡＬＴは、ＧＣ様Ｔ細胞依存性の活性化およびＢ細胞の分化を促進し、これが順に、呼吸器区画における長続きする免疫を促進できることが示された。

【０１２３】
[00187]これらの結果は、抗原を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物は、鼻腔内サブユニットワクチンを含んでいてもよく、これは、全身中和抗体、肺および鼻区画における粘膜のＩｇＡ応答、ならびにマウス肺におけるＴｈ１　Ｔ細胞応答を誘導できることを示す。シングルセルＲＮＡ－シーケンシングは、鼻咽頭関連リンパ組織（ＮＡＬＴ）内で、胚中心のような方式でＴおよびＢ細胞応答の併存する活性化を確認し、免疫性のための誘導性部位としてのその役割を確認する。気道における免疫を惹起する能力は、個体における感染の初期の定着を防止し、ヒト全体に疾患が伝播することを防止する可能性を有する。
【０１２４】
実施例５．肺および鼻区画におけるＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｓ投与に対する応答
[00188]この実施例は、インビボにおける本明細書で開示されるＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の投与に応答した、肺区画におけるＴ細胞応答および鼻区画におけるＩｇＡ応答を示す。
【０１２５】
[00189]単量体スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）が総合的な免疫応答も惹起できるかどうかを調査するために、フューリン結合部位に突然変異および安定化する突然変異の対（Ｌｙｓ９８６ＰｒｏおよびＶａｌ９８７Ｐｒｏ）を含有するＳ－タンパク質の単量体形態を使用した（図１３Ａ）。単量体タンパク質のＳＤＳ－ＰＡＧＥは、１３０から１８０ｋＤａの間にバンドを示した（図１３Ｂ）。４つのマウスのそれぞれを、単量体スパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）、またはＳＴＩＮＧアゴニストｃＧＡＭＰを封入したリポソームと会合した単量体スパイクタンパク質を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ－単量体組成物で処置した。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ単量体組成物を、実施例１に記載したものと同じプロトコールを使用して、三量体スパイクタンパク質の代わりに単量体スパイクタンパク質を使用して製剤化した。いずれの動物でも体重の減少は観察されなかった（図１４）。１５日目に、動物の１００％においてセロコンバージョンが起こり、抗Ｓ－タンパク質（「抗Ｓ」）ＩｇＧ抗体の平均血清濃度は、１：１０００であった（図１３Ｃ）。血清抗Ｓ－タンパク質（「抗Ｓ」）抗体が１：１８８の平均ＩＤ５０で中和することが確認された（図１３Ｄ）。
【０１２６】
[00190]２匹の動物からの鼻区画における抗体応答および鼻洗浄液中の総ＩｇＡをＥＬＩＳＡによって測定した。両方の鼻洗浄液はまた、検出可能な抗Ｓ　ＩｇＡ抗体も７ｎｇ／ｍｌの平均濃度で有していた（図１３Ｆ）。単量体－ＳＴＩＮＧａの粘膜免疫応答を惹起する能力と一致して、これもまた、これらのマウスの脾臓におけるＳ－特異的ＩｇＡを分泌するＡＳＣの検出を確認した（図１５）。これらの結果から、単量体－ＳＴＩＮＧａでのワクチン接種は、全身性免疫、肺および脾臓におけるＴ細胞応答、ならびに粘膜ＩｇＡ応答を惹起することが確立された。
【０１２７】
[00191]動物モデルは、肺におけるＴ細胞が、呼吸器病原体による肺感染症からの保護に必要であることを示した。したがって、ワクチン接種した動物の肺におけるＳ－タンパク質特異的Ｔ細胞応答を、ペプチドの保存されたプールを用いて評価した（図５Ｐ）。Ｔ細胞応答が、脾臓において細胞10^6個当たり１００個のＩＦＮγスポットの平均で検出され、肺において、処置後の１５日目に細胞10^6個当たり２０６個のＩＦＮγスポットの平均で検出された（図１３Ｅ）。
【０１２８】
[00192]総合すると、これらの結果から、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－単量体を使用した鼻腔内投与も、肺と脾臓の両方においてロバストな血清中和抗体およびＴ細胞応答を惹起したことが確立された。
【０１２９】
実施例６：ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物の調製および特徴付け
[00193]この実施例は、対象における疾患（例えば、呼吸器疾患）を処置または防止

するための組成物において有用なＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターおよびヌクレオカプシド抗原を含むの調製および特徴付けを記載する。呼吸器区画内の免疫系の効率的なプライミングを容易にするために、ＳＴＩＮＧアゴニストを、負電荷を有するリポソーム内に封入して、リポソーム、モジュレーター、およびリポソームの表面と会合したヌクレオカプシド抗原を含む組成物（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ」）を得た（図１６を参照）。

【０１３０】

[00194]リポソームは、１０：１：１：１のモル比のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００で構成されていた。１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＰＰＣ）、１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－（１’－ｒａｃ－グリセロール）（ＤＰＰＧ）、および１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン－Ｎ－［メトキシ（ポリエチレングリコール）－２０００］（ＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００）を、アバンティ・ポーラー・リピッド（アラバマ州アラバスター）から得た。コレステロールを、シグマアルドリッチ（ミズーリ州セントルイス）から得た。リポソームを調製するために、脂質を、クロロホルム（ＣＨＣｌ$_3$）およびメタノール（ＣＨ$_3$ＯＨ）中で混合し、溶液を、真空ロータリーエバポレーターによって、４５℃でおよそ８０分間（ｍｉｎ）蒸発させた。得られた脂質薄膜を、全ての有機溶媒が蒸発するまで乾燥させた。脂質フィルムを、予め温めたｃＧＡＭＰ溶液（ｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液中の０．３ｍｇ／ｍｌのｃＧＡＭＰ）を添加することによって水和した。ＳＴＩＮＧアゴニスト、２’－３”環状グアノシン一リン酸アデノシン一リン酸（ｃＧＡＭＰ）を、ケミテック（インディアナ州インディアナポリス）から得た。

【０１３１】

[00195]水和した脂質を、温度を６５℃に上昇させて追加の３０分間混合し、次いで凍結融解サイクルに供した。混合物を、ブランソン（Branson）の超音波発生装置を使用して４０ｋＨｚで６０分間音波処理した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（２０１９－ｎＣｏＶ）ヌクレオカプシド組換えタンパク質（Ｎ－タンパク質）を、ＢＥＩリソース（米国バージニア州、番号ＮＲ－５３７９７）から購入し、２つの異なる用量（１０μｇおよび２０μｇ）で、ＳＴＩＮＧ－リポソーム懸濁液と組み合わせて試験した。組換えＮ－タンパク質を、ｃＧＡＭＰを封入したＮａｎｏＳＴＩＮＧリポソームと混合して、タンパク質をリポソームに吸着させた。遊離のトラップされなかったｃＧＡＭＰを、アミコン（Amicon）限外フィルタリングユニットによって、１０ｋＤａの分子量カットオフを使用して除去した。ｃＧＡＭＰ－リポソームを、ＰＢＳ緩衝液を使用して３回洗浄した。ろ液中のｃＧＡＭＰ濃度を、２６０ｎｍで、ｃＧＡＭＰの検量線に対して、サイテーション５（バイオテック）のＴａｋｅ３マイクロボリューム吸光度アナライザーによって測定した（図３６Ａ）。リポソームに封入されたｃＧＡＭＰの最終濃度および封入効率を、ろ液中の遊離薬物の濃度を引くことによって計算した（標準曲線は図３６Ｂに示される）。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物を室温で維持して、リポソーム上にタンパク質を吸着させた。製剤化したＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物を４℃で貯蔵し、２ヶ月まで使用した。これらの結果から、製剤化したＮ－タンパク質ＳＴＩＮＧ－リポソームワクチンが、ナノ微粒子のコロイド状の形態で存在することが示唆された。

【０１３２】

[00196]図１８は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎ－タンパク質の概略図を示し、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｎ－タンパク質が、核酸（ＲＮＡ）結合ドメイン、Ｃ末端二量体化ドメイン、および核酸との相分離を促進することができる３つの本質的に無秩序なドメインで構成されることを示す（図１８）。昆虫細胞由来の組換えＮ－タンパク質を免疫原として使用し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより、４７ｋＤのサイズを有する優勢なバンドを確認した（図１９）。

【０１３３】

実施例７：インビトロにおけるインターフェロン応答に対するＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の作用

[00197]この実施例は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧが、ＩＲＦ応答性プロモーターの下流で分泌されたルシフェラーゼを安定して発現するＴＨＰ－１単球細胞を使用してインターフェロン調節因子（ＩＲＦ）応答を誘導するという実験的な確認を示す。

【０１３４】

[00198]ＴＨＰ－１デュアル（ＤＵＡＬ）細胞株の細胞（インビボジェン）を、加湿したインキュベーター中、３７℃および５％ＣＯ２で培養し、ＲＰＭＩ／１０％ＦＣＳ（コーニング、米国ニューヨーク州）中で増殖させた。ＴＨＰ－１デュアル細胞株の培養物に、インビボジェンからのそれぞれの選択剤（１００μｇ／ｍｌのゼオシン＋１０μｇ／ｍｌのブラストサイジン）および対応する選択細胞増殖抑制剤を補充した。

【０１３５】

[00199]ルシフェラーゼレポーター酵素検出を含む細胞刺激実験の開始時に、ＴＨＰ－１デュアル細胞を、９６ウェルプレート中、１８０μｌの増殖培地中の細胞1×10^5個／ウェルで培養した。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎの連続希釈物を増殖培地で作製し、その後、細胞を、１．２μｇ（μｇ）、２．３μｇ、４．７μｇ、および９．３μｇの濃度のＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎの存在下で３７℃で２４時間インキュベートした。ＩＲＦ活性の検出のために、６時間、１２時間、および２４時間のタイムポイントでウェル当たり１０μｌの培養上清を収集し、白色の（不透明な）９６ウェルプレートに移した。ウェル当たり５０μｌのＱＵ抗Ｌｕｃ（商標）（インビボジェン）基質溶液を添加し、その後すぐに、サイテーション７装置（Cytation 7、バイオテック・インスツルメンツ社（Bio-Tek Instruments, Inc.））を使用して発光を測定した（相対発光量（ＲＬＵ）で）。図２７は、１μｇのポリ（ｄＡ：ｄＴ）／ＬＶへの曝露後の６時間、１２時間、および２４時間における、カチオン脂質ベースのトランスフェクション試薬であるＬｙｏＶｅｃ（商標）（インビボジェン）と複合体化したＩ型インターフェロン誘導物質であるポリ（ｄＡ：ｄＴ）（「ポリ（ｄＡ：ｄＴ）／ＬＶ」）に応答した、ＴＨＰ－１デュアル細胞におけるインターフェロン応答係数（ＩＲＦ）応答の定量化を示す。

【０１３６】

[00200]ＴＨＰ－１デュアル細胞を接触させ、上清中のルシフェラーゼ活性を測定することによって２４時間にわたり反応速度測定実行した（図２７）。ルシフェラーゼのＴＨＰ－１分泌は、６時間で低いレベルでのみ観察され、１２時間でＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎの全ての濃度で１桁を超えて増加し、２４時間で最大の観察されたレベルに到達した（図１７）。２４時間で、全ての濃度のＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎが、類似のＴＨＰ－１ルシフェラーゼ分泌を示した。

【０１３７】

<u>実施例８：インビトロでのヌクレオカプシドＤＮＡ結合アッセイ</u>

[00201]この実施例は、プラスミドＤＮＡとの機能的な会合に関するＮ－タンパク質ヌクレオカプシドの能力を決定するために実行されたＤＮＡ結合研究を示す。

【０１３８】

[00202]分岐鎖ＰＥＩを、陽性対照として使用した（シグマケミカル社（Sigma Chemical Co.）、ミズーリ州セントルイス、番号４０８７２７）。ＤｉＹＯ－１（ＡＡＴバイオリクエスト（AAT Biorequest）、番号１７５７９）およびプラスミド（ｐＭＢ５７．６）－ＤＮＡ複合体を、等量のＤＮＡと、ｄｓ－ＤＮＡに結合すると（２０ｍＭのＨＥＰＥＳ、１００ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ＝７．４中で）その量子効率が数桁増加するビスインターカレートフルオロフォアであるＤｉＹＯ－１との中で混合して、それぞれ４００ｎＭおよび８ｎＭの最終濃度を達成した。溶液を、使用前に、室温で５時間そのままにした。次に、ＰＥＩを、ＤＮＡ－ＤｉＹＯ－１溶液に異なる濃度で（Ｒ＝０、１、２、５であり、Ｒは、ＰＥＩ窒素のＤＮＡリン酸に対するモル比である）添加し、１分間ボルテックスで混合し、２時間そのままにして平衡化した。溶液の蛍光強度を、それぞれ４７０ｎｍおよび５１０ｎｍの励起および発光波長で測定した（図２０Ｂ）。この手順を、ＰＥＩの代わりにＳＡＲＳ－ＣｏＶ２ヌクレオカプシド（Ｎ－タンパク質）を用いて繰り返した（図２０Ａ）。これらの実験において、ヌクレオカプシド（Ｎ－タンパク質）は、ＤＮ

Ａ－ＤｉＹＯ－１溶液に０．１および０．５μＭの濃度で添加された。
【０１３９】
[00203]Ｎ－タンパク質は、ＤＮＡ－ＤｉＹＯ－１複合体の蛍光を濃度依存性の方式で消光させることができた（図２０Ａ）。０．５μＭの濃度で、Ｎ－タンパク質は、公知の合成ポリカチオンＤＮＡ縮合剤であるポリエチレンイミン（ＰＥＩ）のＲ＝５と同じ程度に（例えば、９６．３％）蛍光強度を減少させた（図２０Ｂ）。これらの結果から、組換えＮ－タンパク質は、ｄｓＤＮＡの結合剤として有力であることが確認された。
【０１４０】
実施例９：ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物を使用した体液性応答の誘導
[00204]この実施例は、マウスにおける体液性応答へのＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物の作用のインビボにおける試験を示す。
【０１４１】
[00205]雌７～９週齢ＢＡＬＢ／ｃマウスを、チャールス・リバー・ラボラトリーズから購入した。組成物の投与の前に、マウスを、ケタミンおよびキシラジンの腹膜内注射によって麻酔した。免疫化のための２０μｇのリポソーム－ＳＴＩＮＧアジュバント、および１０μｇまたは２０μｇのヌクレオカプシドタンパク質（それぞれＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０）のいずれかを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物の２つの異なる濃度のうち一方での単回の鼻腔内投与を介して、動物を処置した。
【０１４２】
[00206]ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物の投与後、４週間にわたり７日毎に動物の体重を測定した。２７日にわたり体重の減少または著しい異常を経たＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０またはＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０で処置した動物は観察されなかった（図２８）。
【０１４３】
[00207]血清を、体液性免疫応答の検出のために、投与後７日目、１４日目、２１日目、および２７日目に対象から収集した（図２１Ａ）。血液を室温で１０分間維持して凝固を促進し、その後、血清サンプルを２０００ｇで５分間遠心分離した。遠心分離したサンプルから血清を収集し、－８０℃で貯蔵し、これを後でＥＬＩＳＡアッセイに使用した。鼻腔内投与後の２７日に、気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）、肺、および脾臓を対象から回収した。血清および他の収集された生物学的サンプルを、長期間の貯蔵のために、プロテアーゼ阻害剤の存在下で、－８０℃で維持した。脾細胞および肺リンパ球を解離させた後にＦＢＳ＋１０％ＤＭＳＯ中で凍結し、さらなる使用まで液体窒素蒸気相中で貯蔵した。
【０１４４】
実施例１０：ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物を使用した体液性応答の誘導
[00208]この実施例は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物での処置により対象において誘導されたヌクレオカプシド特異的なＩｇＧおよびＩｇＡ応答を示す。
【０１４５】
[00209]血清または他の生体液における抗Ｎ－タンパク質の抗体力価を、ＥＬＩＳＡを使用して決定した。簡単に言えば、１μｇ／ｍｌのＮ－タンパク質（シノバイオロジカル、米国ペンシルベニア州）を、ＰＢＳ中で、４℃で一晩、３７℃２時間、ＥＬＩＳＡプレート（コーニング、米国ニューヨーク州）上にコーティングした。次いでプレートを、ＰＢＳ＋１％ＢＳＡ（フィッシャーサイエンティフィック、米国ペンシルベニア州）＋０．１％Ｔｗｅｅｎ２０（商標）（シグマ－アルドリッチ、米国メリーランド州）で室温で２時間ブロックした。洗浄した後、サンプルを異なる希釈率で添加した。捕獲された抗体を、ＨＲＰ結合抗マウスＩｇＧ（ジャクソンイムノリサーチラボラトリーズ、１対５，０００；米国ペンシルベニア州）、抗マウスＩｇＡ（ベチルラボラトリーズ、１：１０，０００；米国テキサス州）、およびインビトロジェン（米国カリフォルニア州）からのマウス総ＩｇＡ　ＥＬＩＳＡキットからのマウスＩｇＡに対する検出抗体（１：２５０）によ

って検出した。陽性対照（抗ＮＩｇＧ）を、アベオミクス（米国カリフォルニア州）から得た。

【０１４６】

[00210]免疫化後の１４日（Ｄ１４）に、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎを受けたマウスの１００％がセロコンバージョンされ、１：６４０の平均希釈力価のロバストな抗ＮＩｇＧレベルが検出された（図２９）。処置後の２７日目（Ｄ２７）に、血清サンプル中の抗ＮＩｇＧ抗体の血清濃度は増加し、１：４，４００の平均希釈力価が検出された（図２１Ｂ）。両方の用量におけるＩｇＧ応答は試験されたタイムポイントの全てにおいて類似しており、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０によって惹起されたＩｇＧ力価はＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０より高かったが、差は有意ではなかった（図２１Ｂ）。三量体ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｓでのワクチン接種（７日目に最初の応答）とは対照的に、ＩｇＧ応答の反応速度は遅くなり、応答は１４日目でのみ観察された。また免疫化されたマウスの気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬＦ）におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－特異的な抗体応答も評価した。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０からのＢＡＬＦサンプルは、それぞれ１：１５および１：８６の平均ＩｇＧ力価を示した（図２１Ｃ）。

【０１４７】

[00211]ＩｇＡによって媒介される保護は、呼吸器病原体に関する粘膜免疫の必須の要素である。血清中のＩｇＡ応答を試験した。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０をワクチン接種したマウスは、１：４０の平均希釈力価で血清ＩｇＡレベルを生じ、ナノ－ＳＴＩＮＧ－Ｎ２０をワクチン接種した動物は、１：５３の平均希釈力価で血清ＩｇＡレベルを生じた（図２１Ｄ）。総合すると、これらの結果から、Ｎ－タンパク質での免疫化は、血清および肺においてロバストな体液性免疫を生じたことが確立された。

【０１４８】

実施例１１：ＥＬＩＳＰＯＴおよびフローサイトメトリーのための脾臓および肺の処理

[00212]この実施例は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物で処置した対象から脾臓および肺組織を回収および処理するための方法を例示する。

【０１４９】

[00213]肺リンパ球の単離のために、Ca^{2+}またはMg^{2+}を右心室に注射せずに、５ｍｌのＰＢＳ中１ｍＭのＥＤＴＡで肺血管系を灌流した。メスを使用して各肺を１００～３００mm^2の断片に切断した。細かく刻んだ組織を、水浴中、３７℃で１時間および３０分間にわたり、５ｍｌのＲＰＭＩ中のコラゲナーゼＤ（２ｍｇ／ｍｌ、ロシュ（Ｒｏｃｈｅ）、番号１１０８８５８００１）およびＤＮアーゼ（０．１２５ｍｇ／ｍｌ、シグマ（Ｓｉｇｍａ）、番号ＤＮ２５）を含有する５ｍｌの消化緩衝液を含有する試験管に移し、１０分毎にボルテックス混合を実行した。残存した無傷の組織を、２１ゲージの針に通過（６～８回）させることによって崩壊させた。細胞を９０分間インキュベートし、５００μｌの氷冷した停止緩衝液（１×ＰＢＳ、０．１ＭのＥＤＴＡ）を添加して、反応を止めた。４０μｍの使い捨てのセルストレーナー（ファルコン（Ｆａｌｃｏｎ））を使用して組織片および死細胞を除去し、遠心分離の後に細胞を収集した。３ｍｌのＡＣＫ溶解緩衝液（インビトロジェン）に細胞ペレットを再懸濁することによって赤血球を溶解させ、室温で（ＲＴ）３分間インキュベートし、続いて遠心分離した。上清を捨て、細胞ペレットを５ｍｌの完全ＲＰＭＩ培地（コーニング、米国ニューヨーク州）に再懸濁した。次に、ＲＰＭＩ培地中に脾臓を収集し、４０μｍのセルストレーナーを介して、シリンジプランジャーの硬質な端部を使用してホモジナイズした。その後、脾細胞を、３ｍｌのＡＣＫ溶解緩衝液中で室温で３分間インキュベートして、赤血球（ＲＢＣ）を除去し、次いで４０μｍのストレーナーを通過させて、単一細胞懸濁液を得た。トリパンブルー排除方法によって肺リンパ球および脾細胞を計数した。

【０１５０】

実施例１２：インビボにおけるＴ細胞応答へのＳＡＲＳ‐ＣｏＶ‐２ヌクレオカプシドタンパク質の作用

[00214]この実施例は、全身性Ｔ細胞応答へのＳＡＲＳ‐ＣｏＶ‐２ヌクレオカプシ

ドタンパク質の鼻腔内投与の作用の評価を示す。

【０１５１】

[00215]本明細書で開示されるＮ－タンパク質ベースの組成物（例えば、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物）を対象に投与する利点の１つは、Ｔ細胞応答を惹起する能力である。Ｔｈ１／Ｔｃ１極性化応答（例えば、ＩＦＮ－γ分泌を含む）は、保護的応答の指標である可能性があり、それに対してＴｈ２極性化応答（例えば、ＩＬ－４分泌を含む）は、ウイルス感染に対する抗体依存性感染増強（ＡＤＥ）を引き起こす能力を有し得る。ワクチンで誘導されたＮ特異的Ｔ細胞応答を評価するために、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）で処置した後の２７日に、脾細胞および肺リンパ球を回収し、実施例１２に記載された通りに対象から加工した。

【０１５２】

[00216]脾臓および肺から得られたＴ細胞を１５－ｍｅｒペプチドのプールで刺激し、ＩＦＮ－γおよびＩＬ－４ＥＬＩＳＰＯＴアッセイを使用して抗原特異的Ｔ細胞を定量化した。ＩＦＮ－γおよびＩＬ－４ＥＬＩＳｐｏｔアッセイは、マウスＩＦＮ－γＥＬＩＳＰＯＴベーシックキット（ＡＬＰ）およびマウスＩＬ－４ＥＬＩＳＰＯＴベーシックキットを使用して実行された。細胞活性化の制御のために、培養物を、１０ｎｇ／ｍｌの１２－ミリスチン酸ホルボール１３－酢酸ＰＭＡ（シグマ、米国ミズーリ州セントルイス）および１μｇ／ｍｌのイオノマイシン（シグマ、米国ミズーリ州セントルイス）で処置した。完全培地（１０％ＦＢＳが補充されたＲＰＭＩ）を、陰性対照として使用した。インビトロで、脾細胞および肺リンパ球（細胞３×10^5個）を、ＡＮ１８　ＩＦＮ－γ（１μｇ／ｍｌ、マブテック（Ｍａｂｔｅｃｈ）、番号３３２１～３－２５０；）および１１Ｂ１１　ＩＬ－４（１μｇ／ｍｌ、マブテック、番号３３１１～３－２５０）コーティング抗体でコーティングされたプレコーティングされたＥＬＩＳｐｏｔプレート（ミリポア（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）からのＭＳＩＰＳ４Ｗ１０）において、１．５μｇ／ｍｌ／ペプチドの濃度で、ＳＡＲＳ－コロナウイルス２のヌクレオカプシドリンタンパク質（「Ｎ」）の完全配列をカバーする、１１アミノ酸のオーバーラップを有する、主として１５－ｍｅｒの配列からなるペプチドのプール（ミルテニーバイオテク（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）；１３０－１２６－６９９、ドイツ）で、３７℃で１６～１８時間刺激した。次の日、細胞を洗浄して落とし、プレートを、それぞれビオチン化Ｒ４－６Ａ２抗ＩＦＮγ（マブテック、番号３３２１～６－２５０）およびＢＶＤ６～２４Ｇ２抗ＩＬ－４（マブテック、番号３３１１～６－２５０）検出抗体を使用して顕出させた。ウェルを洗浄し、１：３０，０００希釈したＥｘｔｒａｖｉｄｉｎ－ＡＬＰ抗体（シグマ、米国ミズーリ州セントルイス）で室温で１時間処理した。洗浄した後、スポットを、ウェルに７０μＬ／ウェルのＢＣＩＰ／ＮＢＴ－プラス基質（マブテック、番号３６５０～１０）を添加することによって顕出させた。プレートを、発色のために２０～３０分間インキュベートし、その後水で洗浄した。サイテーション７（バイオテック・インスツルメンツ社）を使用してスポットを定量化した。各スポットは、個々のサイトカイン分泌細胞に対応する。値は、測定された３連のバックグラウンドを引いた平均として示される。

【０１５３】

[00217]ナノ－ＳＴＩＮＧ－Ｎ１０およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０免疫化マウスは、それぞれ細胞10^6個当たり平均１４３および１７６個のＩＦＮ－γスポットでロバストで著しい脾臓Ｔ細胞応答を示した（図２２、点線の左側の灰色および黒色のバー）。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０で免疫化された動物は、それぞれ10^6個当たり平均１０２および１５４個のＩＦＮ－γスポットで、肺において上昇したＴ細胞応答を示した（図２２、点線の右側の灰色および黒色のバー）。ＩＦＮ－γ（Ｔｈ１／Ｔｃ１）応答とは対照的に、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０での処置では、脾臓または肺細胞のいずれにおいても測定可能なＩＬ－４（Ｔｈ２）応答は観察されなかった（図２２）。総合すると、これらの結果から、鼻腔内ワクチン接種は、強いＴｈ１応答を惹起し、Ｔｈ２応答の証拠はなかったことが確立された。

【０１５４】

実施例１３：ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物で処置したＴ細胞におけるヌクレオカプシド特異的なメモリーの決定

[00218]この実施例は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物で処置した対象からの脾細胞および肺リンパ球の細胞表面および細胞内サイトカイン染色とそれに続くフローサイトメトリー分析を示す。

【０１５５】

[00219]ＣＤ８＋Ｔ細胞応答は、抗体媒介応答を補完することができ、抗体応答から独立して保護を提供することができる。これらの実験で、肺気道、肺実質、および脾臓におけるＮ－タンパク質特異的なメモリーＣＤ８＋Ｔ細胞の活性化および機能を調査した。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎで処置した動物および対照で処置した動物からの脾臓および肺リンパ球を、１．５μｇ／ｍｌ／ペプチドの濃度のヌクレオカプシドタンパク質－ペプチドプール（ミルテニーバイオテク；１３０－１２６－６９９、ドイツ）で３７℃で１６～１８時間刺激して、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ組成物への曝露後の１８時間におけるヌクレオカプシドタンパク質特異的なＣＤ８＋Ｔ細胞応答を決定した。インキュベーションの最後の５時間、ブレフェルジンＡ（５μｇ／ｍｌ、ＢＤバイオサイエンス、番号ＢＤ５５５０２９）を添加した。陽性対照として、１０ｎｇ／ｍｌのＰＭＡ（シグマ、米国ミズーリ州セントルイス）および１μｇ／ｍｌのイオノマイシン（シグマ、米国ミズーリ州セントルイス）を使用した。ヌクレオカプシドペプチドを用いない刺激は、バックグラウンド対照として利用した。細胞を収集し、ＰＢＳ中のライブ／デッドアクア（Live/Dead Aqua）（サーモフィッシャー（Thermo Fisher）、番号Ｌ３４９６５）で染色し、続いてＦｃ－受容体を抗ＣＤ１６／ＣＤ３２（サーモフィッシャー、番号１４－０１６１－８５）でブロックし、次いで、フローサイトメトリー染色緩衝液（ＦＡＣＳ）中の以下の抗体：抗ＣＤ４　ＡＦ５８９（クローンＧＫ１．５；バイオレジェンド、番号１００４４６）、抗ＣＤ８ｂ（クローンＹＴＳ１５６．７．７；バイオレジェンド、番号１２６６０９）、抗ＣＤ６９（クローンＨ１．２Ｆ３；バイオレジェンド、番号１０４５３７）、抗ＣＤ１３７（クローン１ＡＨ２；ＢＤ；番号７４０３６４）、抗ＣＣＲ７（クローン４Ｂ１２；バイオレジェンド、番号１２０１２４）、抗ＣＤ４５（クローン３０－Ｆ１１；ＢＤ；番号５６４２７９）を用いて、氷上で３０分間染色した。細胞をＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、次いで１００μｌのＩＣ固定緩衝液（eBioscience）で、室温で３０分間固定した。細胞を、２００μｌの透過化緩衝液（ＢＤサイトフィックス（BD Cytofix）溶解キット）を用いて１０分間、膜透過化した。細胞内染色を、抗体Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ４８８インターフェロン（ＩＦＮ）ガンマ（クローンＸＭＧ１．２；ＢＤ；番号５５７７３５）およびグランザイムＢ（クローンＧＢ１１；バイオレジェンド；番号５１５４０７）を４℃で一晩使用して実行した。次に、細胞をＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、ＬＳＲ－フォルテッサ（LSR-Fortessa）フローサイトメーター（ＢＤバイオサイエンス）で、ＦｌｏｗＪｏ（商標）ソフトウェアバージョン１０．８（ツリースター社（Tree Star Inc）、米国オレゴン州アシュランド）および図２３で例示したフローサイトメトリーゲーティング戦略を使用して、分析した。結果は、サイトカイン陽性細胞の総数からバックグラウンドを引いた値として計算された。抗体濃度を滴定によって最適化した。

【０１５６】

[00220]エフェクター分子であるグランザイムＢ（ＧｚＢ）および活性化誘導マーカーＣＤ１３７を利用して、脾臓および肺中のＮ－タンパク質反応性ＣＤ８＋Ｔ細胞を同定した。上述したようにＮペプチドのプールを用いたエクスビボでの再刺激は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０およびＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ２０を接種したマウスの両方において、脾臓において大幅な、それほどではないが肺において、活性化された（ＣＤ８＋ＣＤ１３７＋）および細胞傷害性の（ＣＤ８＋ＧｚＢ＋）Ｔ細胞の頻度の増加をもたらした（図２２）。ＣＤ１３７陽性ＣＤ８$^{+}$細胞のパーセンテージは、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０で処置した脾細胞において、対照で処置した細胞と比較して増加した（図２４Ａ、図２４Ｂ、図２４Ｃ、および図２４Ｄを参照）。ＧｚＢ陽性ＣＤ８$^{+}$細胞のパーセンテージも、Ｎ

ａｎｏＳＴＩＮＧ－Ｎ１０で処置した脾細胞において、対照で処置した細胞と比較して増加した（図２５Ａ、図２５Ｂ、図２５Ｃ、および図２５Ｄを参照）。肺に常在するＣＤ１０３＋ＣＤ６９＋ＣＤ８＋Ｔ細胞の全体的な頻度は、免疫動物と対照グループととの間に差がなかった（図２６Ａ、図２６Ｂ、図２６Ｃ、および図２６Ｄを参照）。総合すると、これらの結果から、肺および脾臓における鼻腔内免疫化による細胞傷害性Ｔ細胞応答が確立された。

【０１５７】

実施例１４：キメラスパイクタンパク質またはＲＳＶ抗原タンパク質を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を使用した免疫応答の誘導

[00221]この実施例は、キメラスパイクタンパク質抗原を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ）で処置した対象、およびＲＳＶ抗原を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＲＳＶ）で処置した対象に付与された包括的な免疫性を例示する。

【０１５８】

[00222]Ｃ末端ヒスチジンタグを含有する呼吸器系合胞体ウイルスＢ１からの融合糖タンパク質の組換え形態を、イラクサギンウワバ（Trichoplusia in）幼虫のバキュロウイルス感染によって生産し、クロマトグラフ法によって精製した。

【０１５９】

[00223]血清を、ｃＧＡＭＰモジュレーターおよびアルファ変異体スパイクタンパク質三量体を封入したリポソームを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ）、（２）ベータ変異体スパイクタンパク質三量体、（３）ガンマ変異体スパイクタンパク質三量体（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ｖａｒＳ」）、（４）アルファ変異体スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（ＲＢＤ）部分、または（５）ガンマ変異体スパイクタンパク質のＲＢＤ部分で処置した対象から収集した。グループ（１）～（５）のそれぞれの組成物で処置した後の２８日目に対象から得られたサンプルは、アジュバントなしで抗原で免疫化された対照グループの動物での処置と比較して、抗原特異的なＩｇＧ力価の増加を示す（図３０Ａ）。図３０Ｂは、スパイクタンパク質三量体抗原およびＳＴＩＮＧアゴニストが欠如したリポソームを含む本明細書に記載される対照組成物での処置と比べた、リポソーム、アルファ変異体スパイクタンパク質三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ組成物で処置した後の２８日目に対象から得られた血清サンプルを使用した、キメラスパイクタンパク質三量体のアルファ変異体への血清から得られたＩｇＡの反応性のＥＬＩＳＡ定量化を示す。ＩｇＡ力価は、対照で処置した対象からのサンプルと比較して、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ組成物で処置した対象からのサンプルで増加する。

【０１６０】

[00224]図３１Ａは、リポソームを含みキメラスパイクタンパク質が欠如した対照組成物での処置に対する、それぞれペプチドプールの異なるスパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）変異体を含み、Ｓ－タンパク質由来のペプチドプールの全てを一緒に表すＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ組成物で処置した対象の肺サンプルにおける、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイを使用して定量化されたインターフェロンガンマ（ＩＦＮγ）応答を示す。インターフェロンガンマレベルは、ＮａｎｏＳＴＩＮＧで処置した動物の肺サンプルにおいて、対照で処置した動物の肺からのサンプルと比較して有意に増加したことから、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の免疫刺激性作用は、ロバストであり、全ての抗原変異体にわたり全般的に有効であることが示される。図３１Ｂは、リポソームを含みキメラスパイクタンパク質が欠如した対照組成物で処置した対象のサンプルと比べた、リポソーム、ガンマ変異体キメラスパイクタンパク質三量体抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニストを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＣｈｉｍＳ組成物で処置した対象の肺サンプルにおける、ＥＬＩＳｐｏｔアッセイを使用して定量化されたインターフェロンガンマ応答を示す。インターフェロンガンマレベルは、ＮａｎｏＳＴＩＮＧで処置した動物の肺サンプルにおいて、対照で処置した動物の肺からのサンプルと比べて有意に増加したことから、対象の免疫応答へのＮａｎｏＳ

ＴＩＮＧ組成物の作用が個々の抗原変異体に特異的であることも例示される。

【０１６１】

[00225]図３２Ａおよび図３２Ｂは、リポソームを含みキメラスパイクタンパク質が欠如した本明細書に記載される対照組成物での処置に対する、リポソーム、ＲＳＶ－Ｆ由来の抗原、およびＳＴＩＮＧアゴニスト（「ＮａｎｏＳＴＩＮＧ－ＲＳＶ」）を含む本明細書に記載される組成物での処置後のそれぞれ７日目および１４日目における対象から得られた血清を使用して実行されたＥＬＩＳＡアッセイにおけるＢ１株呼吸器系合胞体ウイルスＦタンパク質（ＲＳＶ－Ｆ）へのＩｇＧの反応性を示す。ＲＳＶ抗原特異的なＩｇＧレベルは、対照で処置した動物からのサンプルと比較して７日目および１４日目の両方で増加していることから、抗原を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物で処置した後、対象に包括的な免疫性が付与されたことが示される。

【０１６２】

実施例１５．脂質－ナノ粒子および／またはモジュレータータンパク質を含む組成物の安定性

[00226]この実施例は、モジュレータータンパク質および脂質－ナノ粒子を含む本明細書に記載される組成物またはモジュレータータンパク質単独の安定性の観察を示す。

【０１６３】

[00227]モジュレータータンパク質（例えば、パターン認識受容体アゴニストタンパク質、例えばＳＴＩＮＧアゴニスト）は、貯蔵のために凍結乾燥されていてもよい。凍結乾燥されたモジュレータータンパク質（例えば、パターン認識受容体アゴニストタンパク質、例えば本明細書に記載されるＳＴＩＮＧアゴニスト）は、４℃で貯蔵される場合、少なくとも１１ヶ月間、本明細書に記載される組成物および方法において効能（例えば、再水和の後に）を保持する。本明細書に記載される凍結乾燥された脂質ベースのナノ粒子組成物（例えば、実施例１に記載されたもの）もまた、本明細書に記載される組成物および方法において効能を保持する（例えば、再水和の後）。多くの適用において、凍結乾燥された組成物または凍結乾燥されたその成分は、使用前に滅菌溶液中で再構成される（例えば、水和される）。一部の場合において、凍結乾燥された組成物または凍結乾燥されたその成分は、１種またはそれより多くの賦形剤（例えば、医薬的に許容される賦形剤）を含む滅菌溶液中で再構成される。

【０１６４】

[00228]一部の実施態様において、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物は、モジュレータータンパク質と脂質ベースのナノ粒子とを混合することによって（例えば、成分が凍結乾燥されている場合、再水和の後に）製剤化される。一部の実施態様において、モジュレータータンパク質および脂質ベースのナノ粒子を含むが抗原タンパク質（例えば、Ｎ－タンパク質またはＳ－タンパク質）を含まないＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物は、懸濁液中に製剤化し、４℃で貯蔵される場合、少なくとも１１ヶ月安定である。

【０１６５】

実施例１６．ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を使用した哺乳動物における呼吸器ウイルス感染のための予防的処置

[00229]この実施例は、ナノ粒子内に封入されたＳＴＩＮＧアゴニストを含む本明細書に記載される組成物で予防的に処置された哺乳類対象におけるウイルス負荷量の低減を示す。

【０１６６】

[00230]ハムスターの鼻腔内を、１０，０００ＴＣＩＤ５０のＢ．１．１．７（アルファ変異体）ウイルス負荷での感染の前にそれぞれ２４時間（１日）および６時間、１０：１：１：１の比率のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を含むナノ粒子内に封入されたｃＧＡＭＰ　ＳＴＩＮＧアゴニスト（モジュレーター）を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物で処置した（図３７Ａ）。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ配合物を単独療法処置として投与し、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物は抗原成分を欠如していた。

【０１６７】

[00231]図３７Ｂで示されるように、ウイルス負荷を受けていない対象（丸）、擬似のリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）負荷を受けている対象、各投与タイムポイントで３０μｇ（３０μｇ）のナノ粒子内に封入されたＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けている対象、および各投与タイムポイントで１２０μｇ（１２０μｇ）のナノ粒子およびナノ粒子内に封入されたＳＴＩＮＧアゴニストモジュレーターを含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けている対象について、負荷から負荷後の５日まで対象の体重を毎日測定した。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（３０μｇまたは１２０μｇ用量）を受けている対象の体重は、ウイルス負荷を受けなかった対象と有意に異なっていなかったことが見出された。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（３０μｇまたは１２０μｇ用量）を受けている対象は、４日目および５日目に、ウイルス負荷およびＰＢＳ処置を受けている対象と比較して、より有意に重い体重を有していた。３０μｇ用量のＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けている対象は、同様に、ウイルス負荷を受け、３日目にＰＢＳで処置された対象より有意に重い体重を有していた。

【０１６８】

[00232]ハムスター対象が、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物での前処置の後、ウイルス負荷中に体重を維持したという事実は、類似の結果がヒト対象でも達成される可能性があることを強く示唆するものである。これらのデータは、予防的処置のハムスターコロナウイルス負荷モデルにおける体重減少の防止におけるクラス最高の結果を表す。

【０１６９】

[00233]肺組織（ＢＡＬＴ、図３７Ｃ）および鼻組織（ＮＡＬＴ、図３７Ｄ）においてＴＣＩＤ５０レベルも測定し、２日目に定量化した。結果は、図３７Ｃで示されるように、肺組織における感染性ウイルス負荷量（１ミリグラム当たりの５０％組織培養物感染用量（tissue-culture infectious dose）（「ＴＣＩＤ５０／ｍｇ」）として定量化した）が、３０μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（ｐ＝０．０５）または１２０μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（ｐ＝０．０２）のいずれかで処置した対象において、ウイルス負荷を受けＰＢＳで処置された対象と比較して有意に低減したことを示す。結果もまた、図３７Ｄで示されるように、鼻組織における感染性ウイルス負荷量も、３０μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（ｐ＝０．０３）または１２０μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物（ｐ＝０．０３）のいずれかで処置した対象において、ウイルス負荷を受けＰＢＳで処置された対象と比較して有意に低減したことも示す。

【０１７０】

実施例１７．ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の複数回投与

[00234]この実施例は、本明細書に記載されるＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物での繰り返しの処置は対象によって十分に許容されることを示す。

【０１７１】

[00235]ハムスターの鼻腔内を、連続して４日間、１日１回、それぞれ１０：１：１：１の比率のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を含むナノ粒子内に封入されたｃＧＡＭＰ　ＳＴＩＮＧアゴニスト（モジュレーター）を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物で処置した（図３８Ａ）。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ配合物を単独療法処置（１日当たり６０μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物）として投与し、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物は抗原成分を欠如していた。

【０１７２】

[00236]図３７Ｂで示されるように、対象の体温は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物の最初の投与から１日目、２日目、３日目、または４日目のいずれにおいても、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けなかった対象と比較して有意に異なっていなかった。図３８Ｃで示されるように、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けている対象の体重（四角のデータポイント）は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けなかった対照対象（丸のデータポイント）と有意に異なっていなかった。これらの結果は、ハムスター対象がＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物での繰り返しの処置を十分許容したこと、および類似の結果がヒト対象でも得られるはずであることを示す。

【０１７３】

実施例１８．ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物でのインターフェロン刺激遺伝子の活性化

[00237]この実施例は、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物での処置がインビボでインターフェロン刺激遺伝子を活性化することを示す。

【０１７４】

[00238]ＴＨＰ－１デュアル細胞を、１０μｇ、５μｇ、または２．５μｇの、それぞれ１０：１：１：１の比率のＤＰＰＣ、ＤＰＰＧ、コレステロール、およびＤＰＰＥ－ＰＥＧ２０００を含むナノ粒子内に封入されたｃＧＡＭＰ　ＳＴＩＮＧアゴニスト（モジュレーター）を含むＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物と共に培養し、細胞における発光（相対発光単位、ＲＬＵ）を測定して、インターフェロン刺激遺伝子の活性化を定量化した（図３９Ａ）。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ配合物を単独療法処置として投与し、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物は抗原成分を欠如していた。２４時間に、１０μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けてるＴＨＰ－１細胞において９５，０００ＲＬＵより大きい発光値、５μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けているＴＨＰ－１細胞において８５，０００ＲＬＵより大きい発光値、および２．５μｇのＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けているＴＨＰ－１細胞において、５０，０００ＲＬＵ未満の発光値が観察された。全てのＮａｎｏＳＴＩＮＧで処置されたＴＨＰ－１細胞グループにおいて、＜５０ＲＬＵの発光が記録されたのは、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を細胞に適用したとき（ゼロ時間のタイムポイント）であった。ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物を受けていない細胞は、擬似処置後の２４時間で＜５０ＲＬＵの発光を示した。図３９Ｂで示されるように、陽性対照ベクター（ポリ（ｄＡ：ｄＴ）／ＬｙｏＶｅｃ（商標）ベクター）で処置されたＴＨＰ－１細胞は、陽性対照ベクターの適用後の６時間および１２時間で５，０００ＲＬＵ未満を示し、陽性対照ベクターの適用後の２４時間で４０，０００ＲＬＵ未満を示した。

【０１７５】

[00239]これらの結果は、インビトロで、ＮａｎｏＳＴＩＮＧ組成物が５μｇおよび１０μｇの濃度でインターフェロン刺激遺伝子を活性化することを示す。

実施態様

[00240]一部の実施態様において、本明細書で開示された組成物または方法は、ヌクレオカプシドタンパク質（Ｎ－タンパク質）もしくはそのフラグメントおよび／またはスパイクタンパク質（Ｓ－タンパク質）もしくはそのフラグメントを含んでいてもよい。一部の場合において、本明細書に記載されるＮ－タンパク質またはそのフラグメントは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシドタンパク質のアルファ株に基づいていてもよい。一部の場合において、本明細書に記載されるＳ－タンパク質またはそのフラグメントは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイクタンパク質のベータ株に基づいていてもよい。

【０１７６】

[00241]一部の場合において、Ｎ－タンパク質は、配列番号１の全部または一部に（例えば、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を有していてもよく、配列番号１は、以下の通りである（アミノ酸の一文字略号を使用、例えば、国際純正応用化学連合（ＩＵＰＡＣ）によって使用されるアミノ酸コードおよび国際ヌクレオチド配列データベース（International Nucleotide Sequence Database）と同様）。

mslngpqnqrnapritfggpsdstgsnqngersgarskqrrpqglpnntaswftaltqhgkedlkf
prgqgvpintnsspddqigyyrratrrirggdgkmkdlsprwyfyylgtgpeaglpygankdgiiw
vategalntpkdhigtrnpannaaivlqlpqgttlpkgfyaegsrggsqassrsssrsrnssrnstpg
sskrtsparmagnggdaalalllldrlnqleskmfgkgqqqqgqtvtkksaaeaskkprqkrtatka
ynvtqafgrrgpeqtqgnfgdqelirqgtdykhwpqiaqfapsasaffgmsrigmevtpsgtwltyt
gaikldddkdpnfkdqvillnkhidayktfpptepkkdkkkadetqalpqrqkkqqtvtllpaadld
dfskqlqqsmssadstqa

[00242]一部の場合において、Ｎ－タンパク質は、配列番号２の全部または一部に（

例えば、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、または１００％）同一なヌクレオチド配列によってコードされていてもよく（例えば、オリゴヌクレオチドまたはベクターにおいて、例えば細菌細胞、哺乳類細胞、またはプラスミドにおいて）、配列番号２は、以下の通りである（４文字のヌクレオチドコード、例えば、アデニン（Ａ）、シトシン（Ｃ）、チミン（Ｔ）、およびグアニン（Ｔ））を使用）。

atgagcctgaacggcccgcagaaccagcgcaacgcgccgcgcattacctttggcggcccgagcgata
gcaccggcagcaaccagaacggcgaacgcagcggcgcgcgcagcaaacagcgccgcccgcagggc
ctgccgaacaacaccgcgagctggtttaccgcgctgacccagcatggcaaagaagatctgaaatttcc
gcgcggccagggcgtgccgattaacaccaacagcagcccggatgatcagattggctattatcgccgc
gcgacccgccgcattcgcggcggcgatggcaaaatgaaagatctgagcccgcgctggtatttttatta
tctgggcaccggcccggaagcgggcctgccgtatggcgcgaacaaagatggcattatttgggtggcg
accgaaggcgcgctgaacaccccgaaagatcatattggcacccgcaacccggcgaacaacgcggcg
attgtgctgcagctgccgcagggcaccaccctgccgaaaggcttttatgcggaaggcagccgcggcg
gcagccaggcgagcagccgcagcagcagccgcagccgcaacagcagccgcaacagcaccccgggc
agcagcaaacgcaccagcccggcgcgcatggcggggcaacggcggcgatgcggcgctggcgctgctg
ctgctggatcgcctgaaccagctggaaagcaaaatgtttggcaaaggccagcagcagcagggccaga
ccgtgaccaaaaaaagcgcggcggaagcgagcaaaaaaccgcgccagaaacgcaccgcgaccaaa
gcgtataacgtgacccaggcgtttggccgccgcggcccggaacagacccagggcaactttggcgatc
aggaactgattcgccagggcaccgattataaacattggccgcagattgcgcagtttgcgccgagcgc
gagcgcgtttttggcatgagccgcattggcatggaagtgaccccgagcggcacctggctgacctata
ccggcgcgattaaactggatgataaagatccgaactttaaagatcaggtgattctgctgaacaaacat
attgatgcgtataaaaccttccgccgaccgaaccgaaaaaagataaaaaaaaaaaaagcggatgaaa
cccaggcgctgccgcagcgccagaaaaaacagcagaccgtgaccctgctgccggcggcggatctgg
atgattttagcaaacagctgcagcagagcatgagcagcgcggatagcacccaggcg

[００２４３]一部の場合において、Ｓ－タンパク質は、配列番号３の全部または一部に（例えば、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を有していてもよく、配列番号３は、以下の通りである（アミノ酸の一文字略号を使用）。

vnfttrtqlppaytnsftrgvyypdkvfrssvlhstqdlflpffsnvtwfhaihvsgtngtkrfanpvl
pfndgvyfasteksniirgwifgttldsktqsllivnnatnvvikvcefqfcndpflgvyyhknnksw
mesefrvyssannctfeyvsqpflmdlegkqgnfknlrefvfknidgyfkiyskhtpinlvrglpqgf
saleplvdlpiginitrfqtlhisyltpgdsssgwtagaaayyvgylqprtfllkynengtitdavdcal
dplsetkctlksftvekgiyqtsnfrvqptesivrfpnitnlcpfgevfnatrfasvyawnrkrisncv
adysvlynsasfstfkcygvsptklndlcftnvyadsfvirgdevrqiapgqtgniadynyklpddft
gcviawnsnnldskvggnynylyrlfrksnlkpferdisteiyqagstpcngvkgfncyfplqsygfq
ptygvgyqpyrvvvlsfellhapatvcgpkkstnlvknkcvnfnfngltgtgvltesnkkflpfqqfg
rdiadttdavrdpqtleilditpcsfggvsvitpgtntsnqvavlyqgvnctevpvaihadqltptwrv
ystgsnvfqtragcligaehvnnsyecdipigagicasyqtqtnspraaasvasqsiiaytmslgven
svaysnnsiaiptnftisvtteilpvsmtktsvdctmyicgdstecsnlllqygsfctqlnraltgiave
qdkntqevfaqvkqiyktppikdfggfnfsqilpdpskpskrspiedllfnkvtladagfikqygdcl
gdiaardlicaqkfngltvlpplltdemiaqytsallagtitsgwtfgagpalqipfpmqmayrfngig
vtqnvlyenqklianqfnsaigkiqdslsstpsalgklqdvvnqnaqalntlvkqlssnfgaissvlnd
ilsrldppeaevqidrlitgrlqslqtyvtqqliraaeirasanlaatkmsecvlgqskrvdfcgkgyhl
msfpqsaphgvvflhvtyvpaqeknfttapaichdgkahfpregvfvsngthwfvtqrnfyepqiit
tdntfvsgncdvvigivnntvydplqpeldsfkeeldkyfknhtspdvdlgdisginasvvniqkeid
rlnevaknlneslidlqelgkyeqyikwp

[００２４４]一部の場合において、Ｓ－タンパク質は、配列番号４の全部または一部に（例えば、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、

少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、または１００％）同一なヌクレオチド配列によってコードされていてもよく（例えば、オリゴヌクレオチドまたはベクターにおいて、例えば細菌細胞またはプラスミドにおいて）、配列番号４は、以下の通りである（４文字のヌクレオチドコード、例えば、アデニン（Ａ）、シトシン（Ｃ）、チミン（Ｔ）、およびグアニン（Ｔ））を使用）。

gtgaactttaccacccgcacccagctgccgccggcgtataccaacagctttacccgcggcgtgtattat
ccggataaagtgtttcgcagcagcgtgctgcatagcacccaggatctgtttctgccgtttttagcaac
gtgacctggtttcatgcgattcatgtgagcggcaccaacggcaccaaacgctttgcgaacccggtgct
gccgtttaacgatggcgtgtattttgcgagcaccgaaaaaagcaacattattcgcggctggatttttgg
caccaccctggatagcaaaacccagagcctgctgattgtgaacaacgcgaccaacgtggtgattaaa
gtgtgcgaatttcagttttgcaacgatccgtttctgggcgtgtattatcataaaaacaacaaaagctgg
atggaaagcgaatttcgcgtgtatagcagcgcgaacaactgcacctttgaatatgtgagccagccgtt
tctgatggatctggaaggcaaacagggcaacttttaaaaacctgcgcgaatttgtgtttaaaaacattga
tggctattttaaaatttatagcaaacataccccgattaacctggtgcgcggcctgccgcagggctttag
cgcgctggaaccgctggtggatctgccgattggcattaacattacccgctttcagaccctgcatattag
ctatctgaccccgggcgatagcagcagcggctggaccgcgggcgcggcggcgtattatgtgggctat
ctgcagccgcgcaccttctgctgaaatataacgaaaacggcaccattaccgatgcggtggattgcgc
gctggatccgctgagcgaaaccaaatgcaccctgaaaagctttaccgtggaaaaaggcatttatcaga
ccagcaactttcgcgtgcagccgaccgaaagcattgtgcgctttccgaacattaccaacctgtgcccg
tttggcgaagtgtttaacgcgacccgctttgcgagcgtgtatgcgtggaaccgcaaacgcattagcaa
ctgcgtggcggattatagcgtgctgtataacagcgcgagctttagcacctttaaatgctatggcgtgag
cccgaccaaactgaacgatctgtgctttaccaacgtgtatgcggatagctttgtgattcgcggcgatga
agtgcgccagattgcgccgggccagaccggcaacattgcggattataactataaactgccggatgatt
ttaccggctgcgtgattgcgtggaacagcaacaacctggatagcaaagtgggcggcaactataactat
ctgtatcgcctgtttcgcaaaagcaacctgaaaccgtttgaacgcgatattagcaccgaaatttatcag
gcgggcagcaccccgtgcaacggcgtgaaaggctttaactgctattttccgctgcagagctatggctt
tcagccgacctatggcgtgggctatcagccgtatcgcgtggtggtgctgagctttgaactgctgcatg
cgccggcgaccgtgtgcggcccgaaaaaaagcaccaacctggtgaaaaacaaatgcgtgaactttaa
ctttaacggcctgaccggcaccggcgtgctgaccgaaagcaacaaaaaatttctgccgtttcagcagt
ttggccgcgatattgcggataccaccgatgcggtgcgcgatccgcagaccctggaaattctggatatt
accccgtgcagctttggcggcgtgagcgtgattaccccgggcaccaacaccagcaaccaggtggcgg
tgctgtatcagggcgtgaactgcaccgaagtgccggtggcgattcatgcggatcagctgaccccgacc
tggcgcgtgtatagcaccggcagcaacgtgtttcagacccgcgcggggctgcctgattggcgcggaac
atgtgaacaacagctatgaatgcgatattccgattggcgcgggcatttgcgcgagctatcagacccag
accaacagcccgcgcgcgggcggcgagcgtggcgagccagagcattattgcgtataccatgagcctgg
gcgtggaaaacagcgtggcgtatagcaacaacagcattgcgattccgaccaactttaccattagcgtg
accaccgaaattctgccggtgagcatgaccaaaaccagcgtggattgcaccatgtatatttgcggcga
tagcaccgaatgcagcaacctgctgctgcagtatggcagcttttgcacccagctgaaccgcgcgctga
ccggcattgcggtggaacaggataaaaacacccaggaagtgtttgcgcaggtgaaacagatttataa
aaccccgccgattaaagattttggcggctttaactttagccagattctgccggatccgagcaaaccga
gcaaacgcagcccgattgaagatctgctgtttaacaaagtgaccctggcggatgcgggctttattaaa
cagtatggcgattgcctgggcgatattgcggcgcgcgatctgatttgcgcgcagaaatttaacggcct
gaccgtgctgccgccgctgctgaccgatgaaatgattgcgcagtataccagcgcgctgctggcgggc
accattaccagcggctggacctttggcgcgggcccggcgctgcagattccgtttccgatgcagatggc
gtatcgctttaacggcattggcgtgacccagaacgtgctgtatgaaaaccagaaactgattgcgaacc
agtttaacagcgcgattggcaaaattcaggatagcctgagcagcaccccgagcgcgctgggcaaact
gcaggatgtggtgaaccagaacgcgcaggcgctgaacaccctggtgaaacagctgagcagcaacttt
ggcgcgattagcagcgtgctgaacgatattctgagccgcctggatccgccggaagcggaagtgcaga
ttgatcgcctgattaccggccgcctgcagagcctgcagacctatgtgacccagcagctgattcgcgcg
gcggaaattcgcgcgagcgcgaacctggcggcgaccaaaatgagcgaatgcgtgctgggccagagc

aaacgcgtggatttttgcggcaaaggctatcatctgatgagctttccgcagagcgcgccgcatggcgt
ggtgtttctgcatgtgacctatgtgccggcgcaggaaaaaaactttaccaccgcgccggcgatttgcc
atgatggcaaagcgcattttccgcgcgaaggcgtgtttgtgagcaacggcacccattggtttgtgacc
cagcgcaacttttatgaaccgcagattattaccaccgataacacctttgtgagcggcaactgcgatgtg
gtgattggcattgtgaacaacaccgtgtatgatccgctgcagccggaactggatagctttaaagaaga
actggataaatattttaaaaaccataccagcccggatgtggatctgggcgatattagcggcattaacg
cgagcgtggtgaacattcagaaagaaattgatcgcctgaacgaagtggcgaaaaacctgaacgaaag
cctgattgatctgcaggaactgggcaaatatgaacagtatattaaatggccg

[00245]別段の指定がない限り、本明細書において使用される全ての専門用語は、この主題が属する分野の当業者により一般的に理解されるのと同じ意味を有する。前述の一般的な説明と以下の詳細な説明はいずれも例示的および説明的であり、特許請求された主題を限定しないことが理解されるであろう。

【０１７７】

[00246]本明細書において使用される章の見出しは系統化する目的のためであり、記載された主題を限定するものとして解釈されないものとする。本出願で引用された全ての文書または文書の一部、これらに限定されないが、特許、特許出願、論文、書籍、および専門書などは、それらの全体があらゆる目的で参照により明示的に本明細書に組み入れられる。組み入れられた文献および類似の資料の１つまたはそれより多くが、本出願に記載の用語の定義と矛盾するように用語を定義する場合は、本出願が優先される。

【０１７８】

[00247]単数形「１つの（a）」、「１つの（an）」、および「その（the）」は、本明細書で使用される場合、文脈上明らかに別段の指示がない限り、同様に複数形の形態も含むことが意図される。例えば、特に別段の規定がない限り、言葉「１つの（a）」または「１つの（an）」は、「少なくとも１つの」を意味し、「または」の使用は、「および／または」を意味する。用語「および／または」は、本明細書で使用される場合、列挙された関連する項目の１種またはそれより多くのありとあらゆる組合せを含む。用語「含む」および／もしくは「含むこと」、または「有する」および／もしくは「有すること」は、本明細書において使用される場合、述べられた特徴、領域、整数、工程、操作、要素および／または成分の存在を特定するが、１つまたはそれより多くの他の特徴、領域、整数、工程、操作、要素、成分、および／またはそれらの群の追加の存在を排除しないことがさらに理解されるであろう。また「要素」または「成分」などの用語は、特に別段の規定がない限り、１つの単位を含む要素または成分と、１つより多くの単位を含む要素または成分との両方も包含する。

【０１７９】

[00248]Ａおよび／またはＢは、本明細書で使用される場合、ＡまたはＢのうち一方またはそれより多く、およびそれらの組合せ、例えばＡおよびＢを包含する。本明細書において、様々な要素、成分、領域および／またはセクションを記載するために用語「第１の」、「第２の」、「第３の」などが使用される可能性があるが、これらの要素、成分、領域および／またはセクションは、必ずしもこれらの用語によって限定されないものとすることが理解されるであろう。これらの用語は、単に１つの要素、成分、領域またはセクションを別の要素、成分、領域、またはセクションから区別するために使用される可能性がある。したがって、本明細書で論じられる第１の要素、成分、領域またはセクションは、一部の場合において、本発明の開示の教示から逸脱することなく、第２の要素、成分、領域またはセクションと呼ばれる場合もある。

【０１８０】

[00249]用語「対象」は、本明細書で使用される場合、哺乳動物を含む。哺乳動物としては、ラット、マウス、非ヒト霊長類、およびヒトなどの霊長類が挙げられる。

[00250]この開示にわたり、様々な実施態様が範囲の様式で提示される。範囲の様式の記載は、単に便宜上と簡潔さのためであり、いずれの実施態様の範囲の融通性のない限定と解釈されるべきではないことが理解されるものとする。したがって、範囲の記載は、

文脈上明らかに別段の指示がない限り、具体的に開示された全ての可能性のある部分範囲に加えて、下限の単位の１０分の１までのその範囲内の個々の数値を含むとみなされるべきである。例えば、説明例えば１～６という範囲の記載は、具体的に開示された部分範囲、例えば１～３、１～４、１～５、２～４、２～６、３～６など、加えて、その範囲内の個々の値、例えば、１．１、２、２．３、５、および５．９を有するとみなされるべきである。これは、範囲の幅に関係なく適用される。これらの間にある範囲の上限および下限は、独立して、より小さい範囲に含めることができ、これらもまた発明に包含されるが、述べられた範囲内に、具体的に除外された限定が存在する場合もある。述べられた範囲が、限界値の一方または両方を含む場合、文脈上明らかに別段の指示がない限り、そのような含まれる限界値のいずれかまたは両方を排除した範囲も発明に含まれる。

【０１８１】

[００２５１]本明細書および特許請求の範囲で使用されるように、別段の指定がない限り、用語「約」、および「およそ」、または「実質的に」は、実施態様に応じて、数値の増加量を含めて±０．１％、±１％、±２％、±３％、±４％、±５％、±６％、±７％、±８％、±９％、±１０％、±１１％、±１２％、±１４％、±１５％、または±２０％以下の変動を指す。非限定的な例として、約１００ナノメートル（ｎｍ）は、実施態様に応じて、９５ナノメートル～１０５ナノメートルの範囲（１００ナノメートルの±５％である）、９０～１１０ナノメートルの範囲（１００ナノメートルの±１０％である）、または８５ナノメートル～１１５ナノメートルの範囲（１００ナノメートルの±１５％である）を表す。

【０１８２】

[００２５２]前述の説明に特定の実施態様および実施例が提供されるが、発明の主題は、具体的に開示された実施態様を超えて、他の代替の実施態様および／または使用に、さらにはそれらの代替物および均等物にも及ぶ。本明細書で開示されたあらゆる方法またはプロセスにおいて、本方法またはプロセスの動作または操作は、あらゆる好適な順番で実行することができ、いかなる特定の開示された順番にも必ずしも限定されない。様々な操作が、特定の実施態様の理解において有用な可能性がある方式で、複数の別個の操作として順に記載される場合があるが、説明の順番は、これらの操作が順番に依存することを意味すると必ずしも解釈されるべきではない。加えて、本明細書に記載される構造、システム、および／またはデバイスは、統合された別個の構成要素として、または別個の構成要素として具体化することができる。

【０１８３】

[００２５３]様々な実施態様を比較する目的のために、特定の形態およびこれらの実施態様の利点が記載される。必ずしもこのような全ての形態または利点が、いずれか特定の実施態様によって達成されるとは限らない。したがって、例えば、様々な実施態様は、本明細書において教示された通りに１つの利点または利点の群を達成または最適化する方式で行うことができ、本明細書において教示または示唆され得る他の形態または利点は必ずしも達成されなくてもよい。

【０１８４】

[００２５４]本発明の好ましい実施態様を本明細書に示し、説明してきたが、このような実施態様は単なる一例として提供されていることが当業者にとって明白であろう。当業者であればここで発明から逸脱することなく多数のバリエーション、変更、および置換を想定するであろう。本明細書に記載される発明の実施態様の様々な代替物が、発明の実施において採用できることが理解されるものとする。以下の特許請求の範囲は、発明の範囲を定義すること、さらに、これらの特許請求の範囲内の方法および構造およびそれらの均等物が、それによって網羅されることが意図される。

【図面】

【図１】

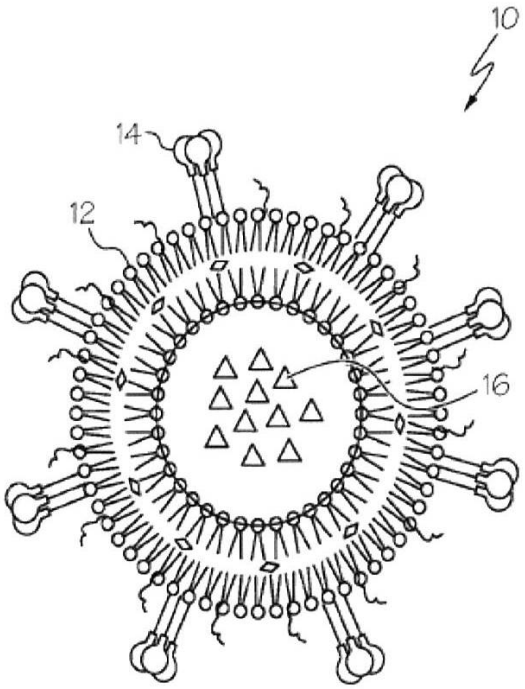


FIG. 1

【図２】

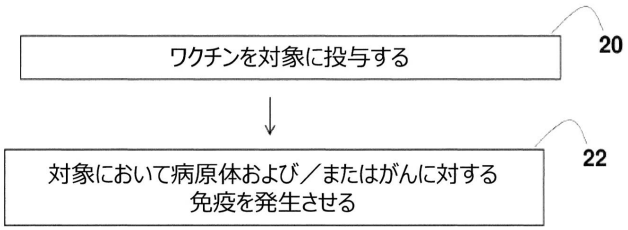


FIG. 2A

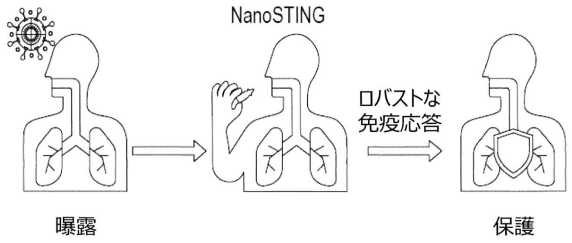


FIG. 2B

【図３】

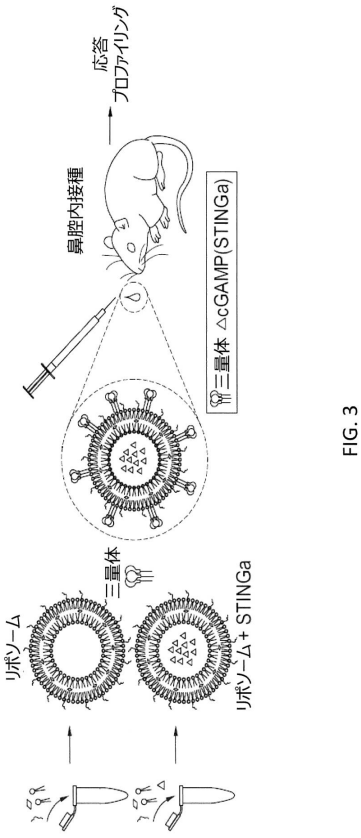


FIG. 3

【図４】

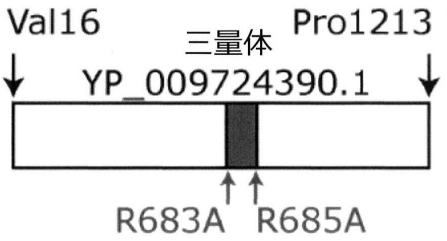


FIG. 4A

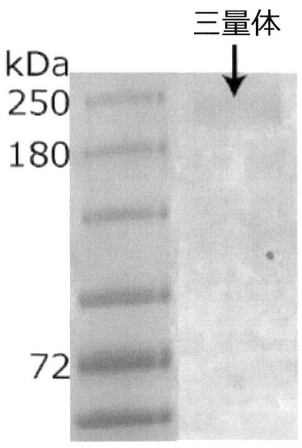


FIG. 4B

【図５－１】

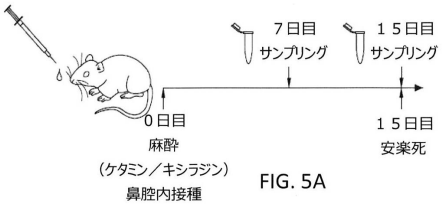


FIG. 5A

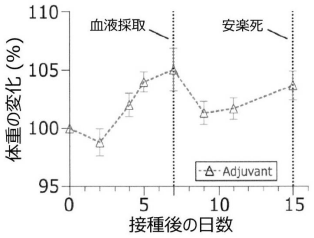


FIG. 5B

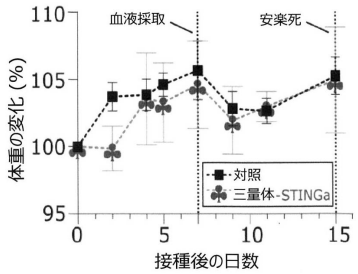
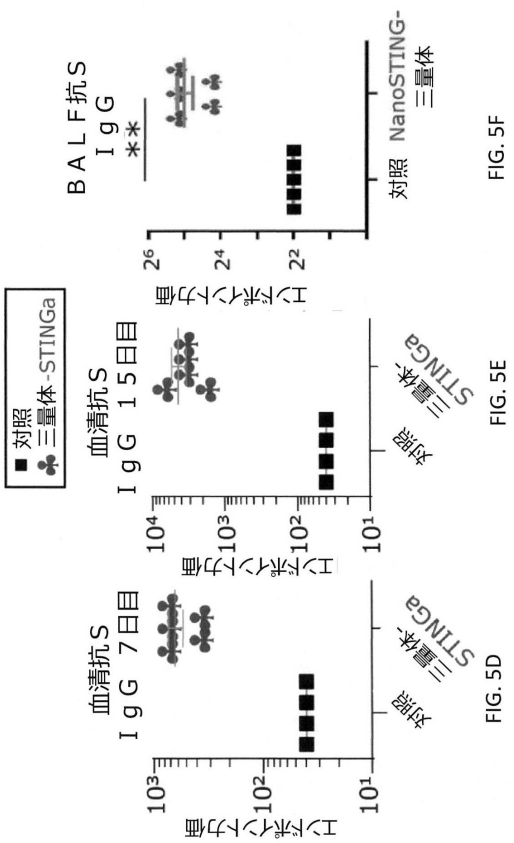


FIG. 5C

【図５－２】



【図５－３】

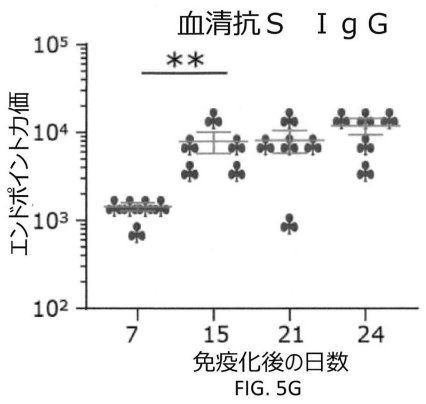


FIG. 5G

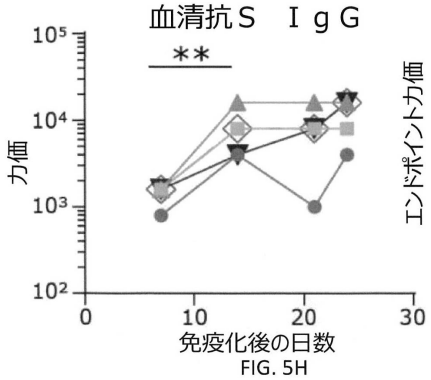
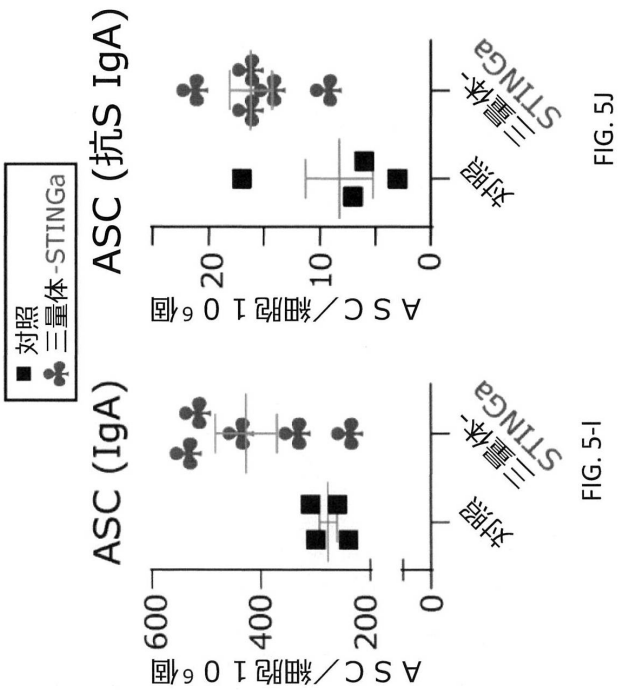


FIG. 5H

【図５－４】



【図５－５】

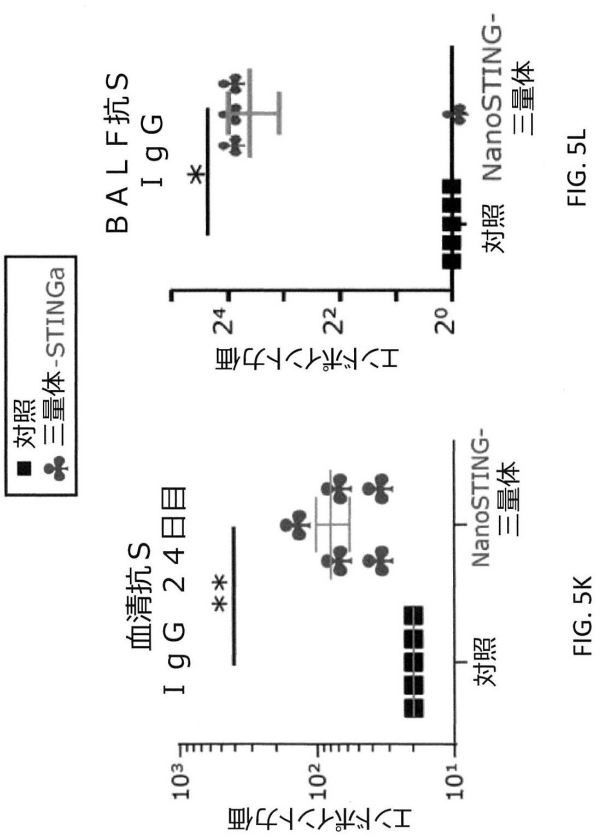


FIG. 5K

FIG. 5L

【図５－６】

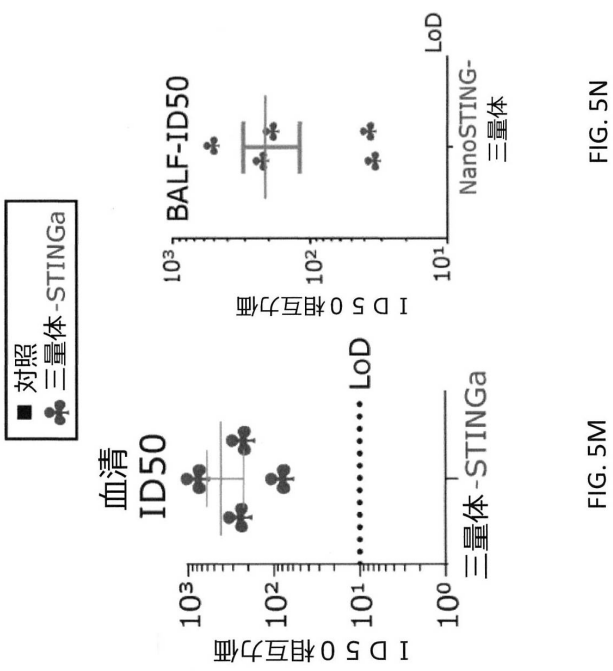


FIG. 5M

FIG. 5N

【図５－７】

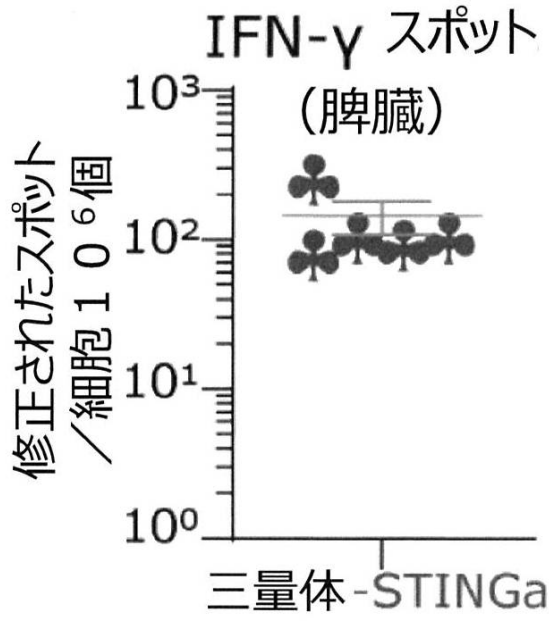


FIG. 5-O

【図５－８】

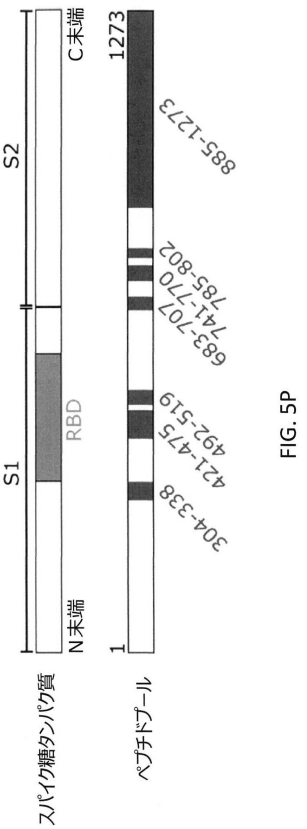


FIG. 5P

【図６－１】

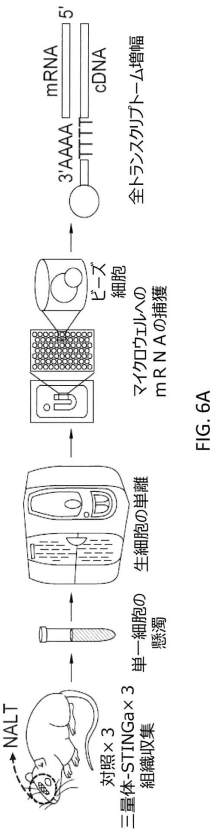


FIG. 6A

【図６－２】

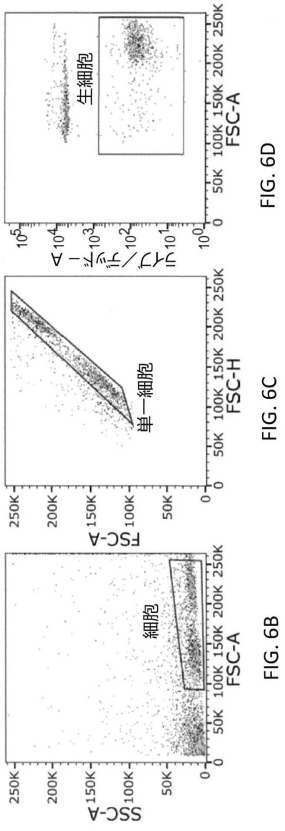


FIG. 6B

FIG. 6C

FIG. 6D

【図７－１】

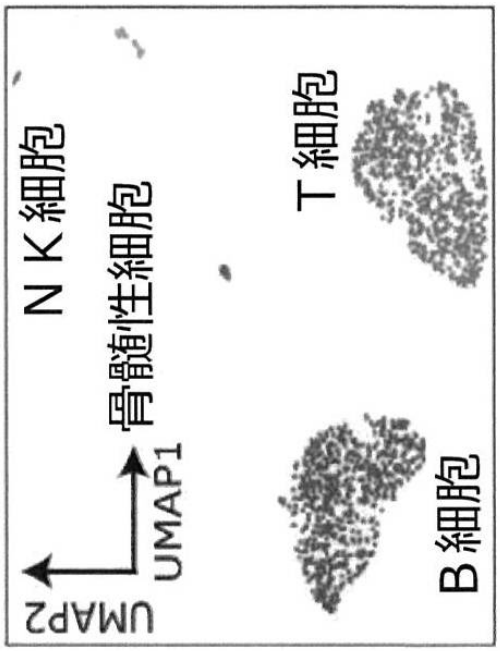
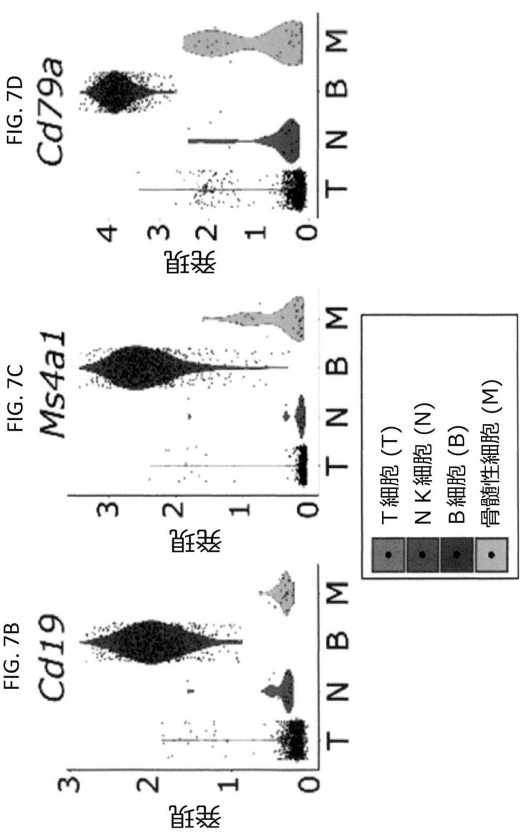
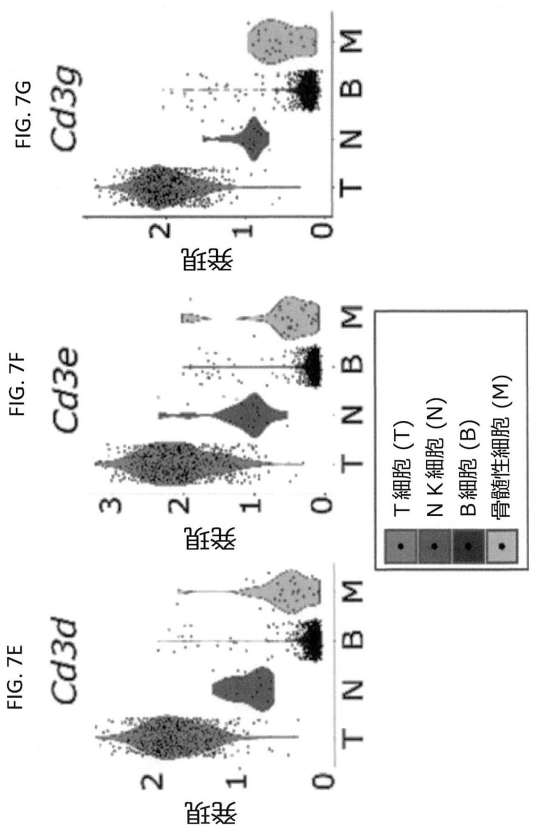


FIG. 7A

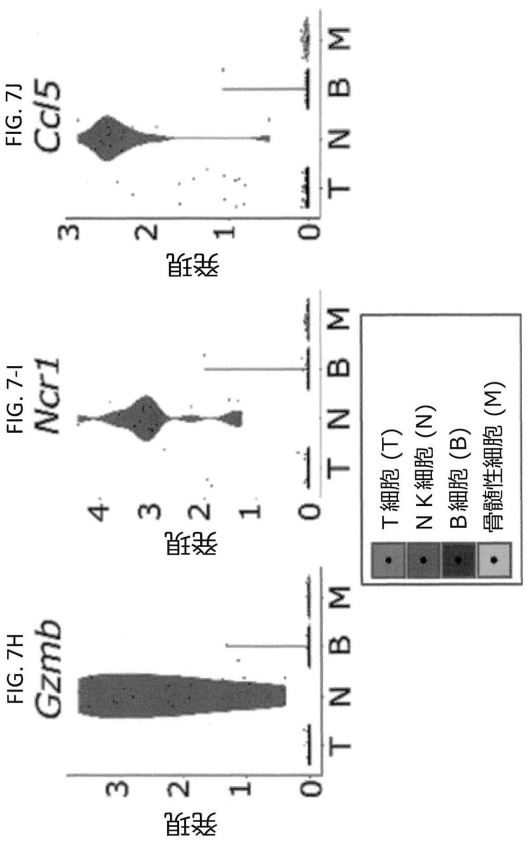
【図７－２】



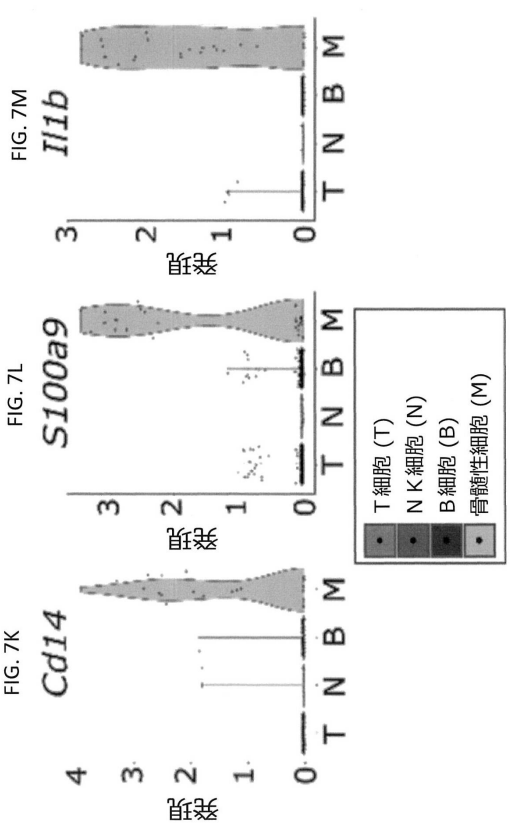
【図７－３】



【図７－４】



【図７－５】



【図８－１】

FIG. 8A

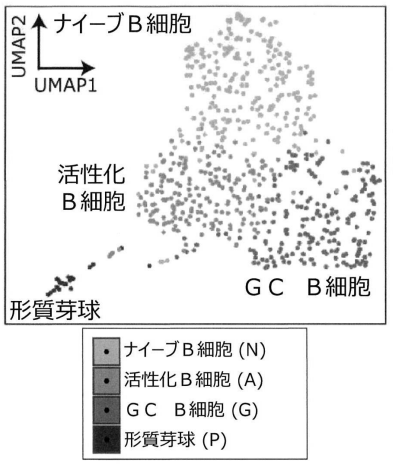
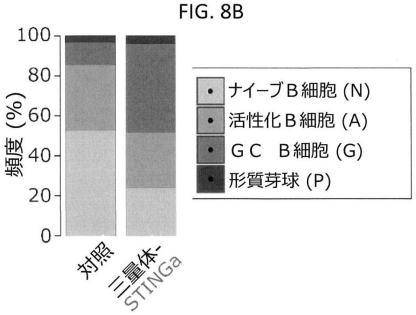
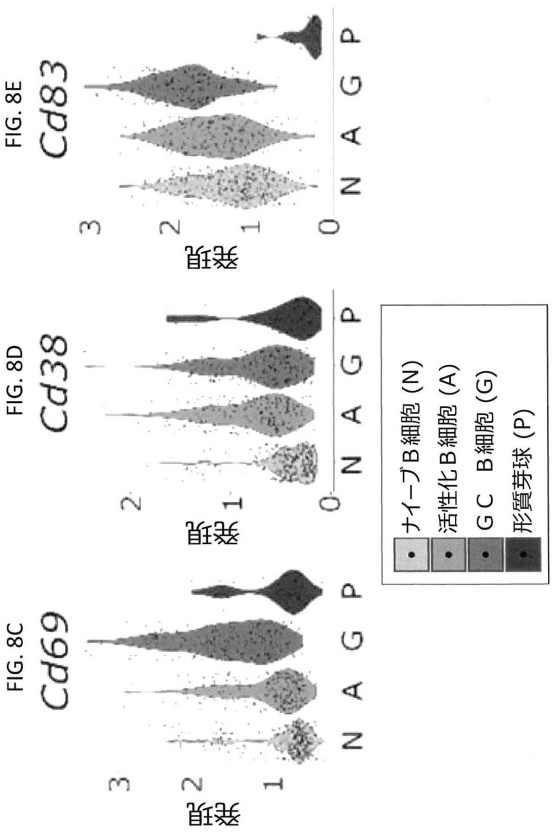


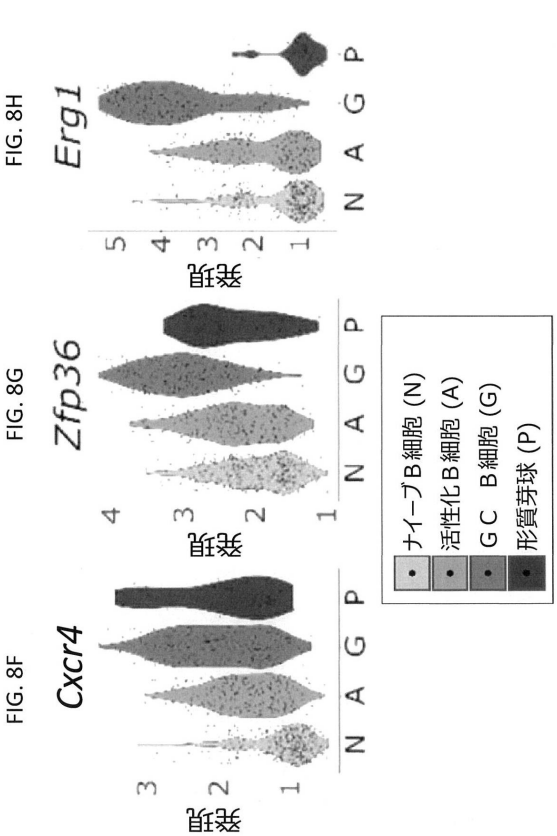
FIG. 8B



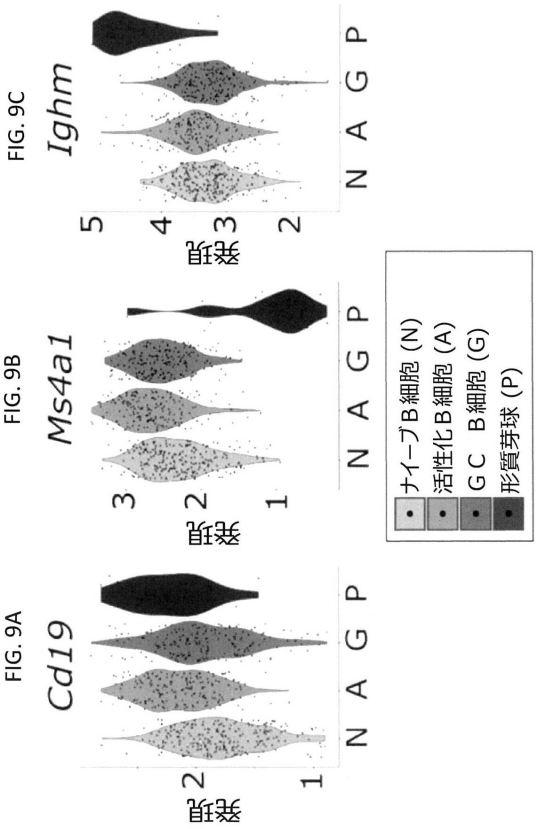
【図８－２】



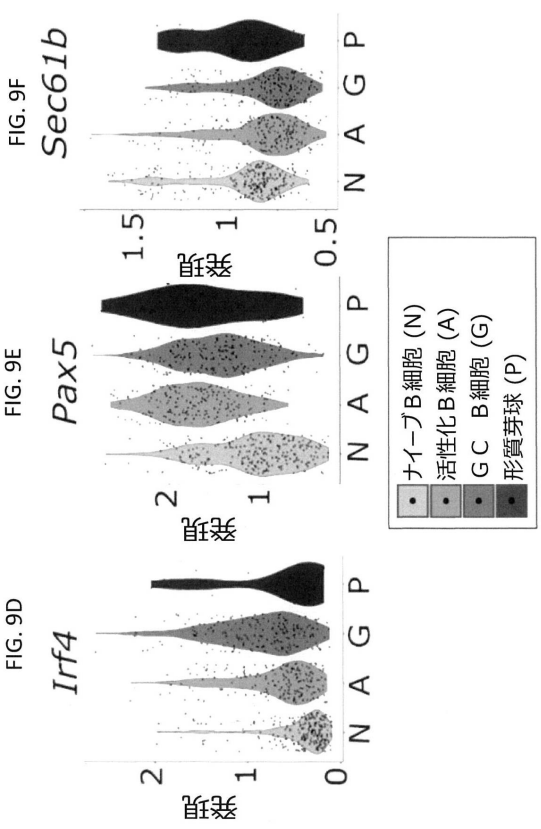
【図８－３】



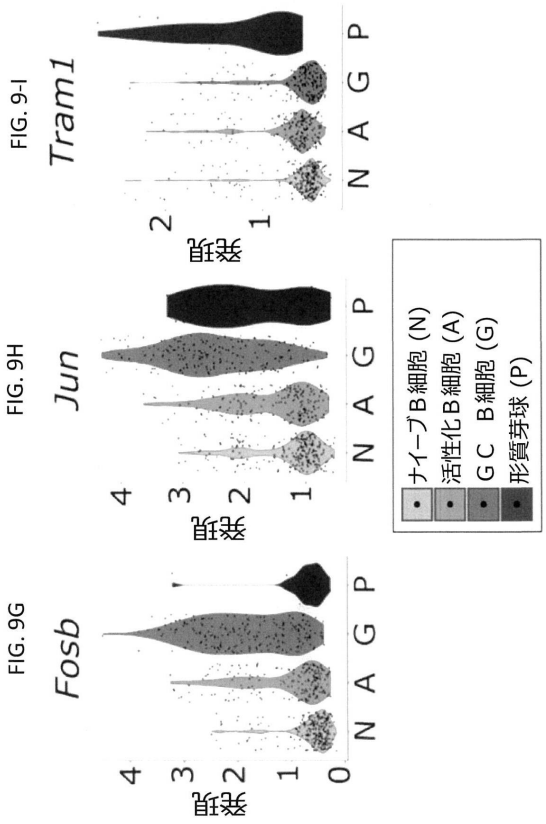
【図９－１】



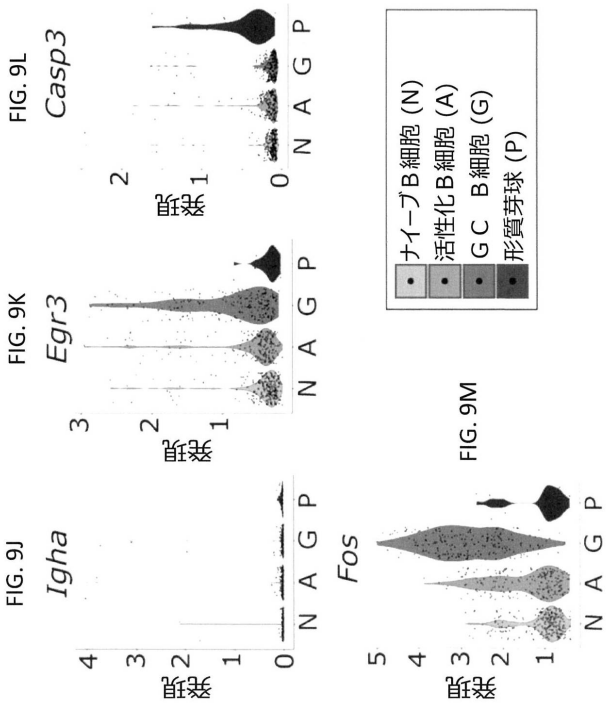
【図９－２】



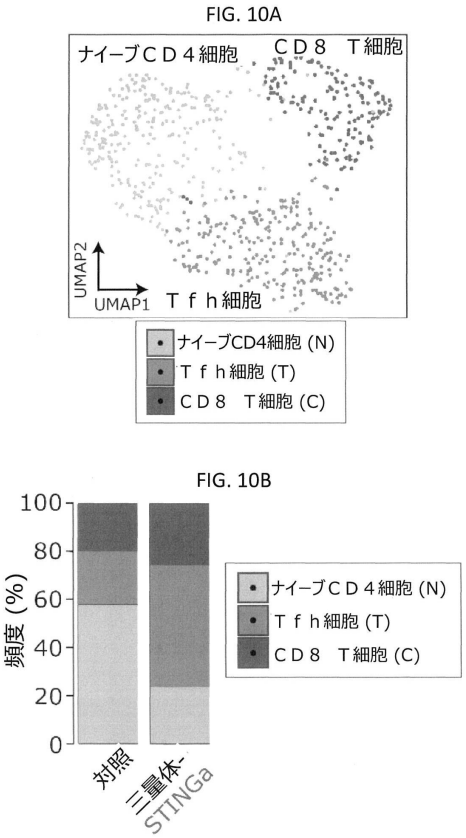
【図９－３】



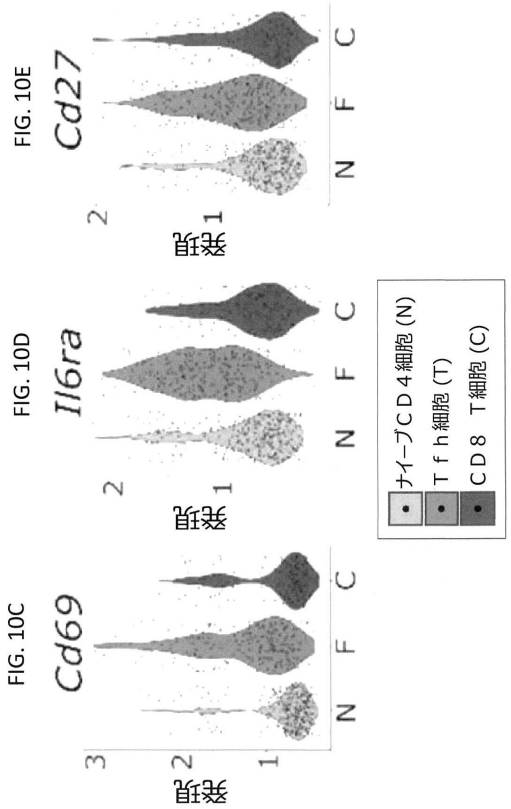
【図９－４】



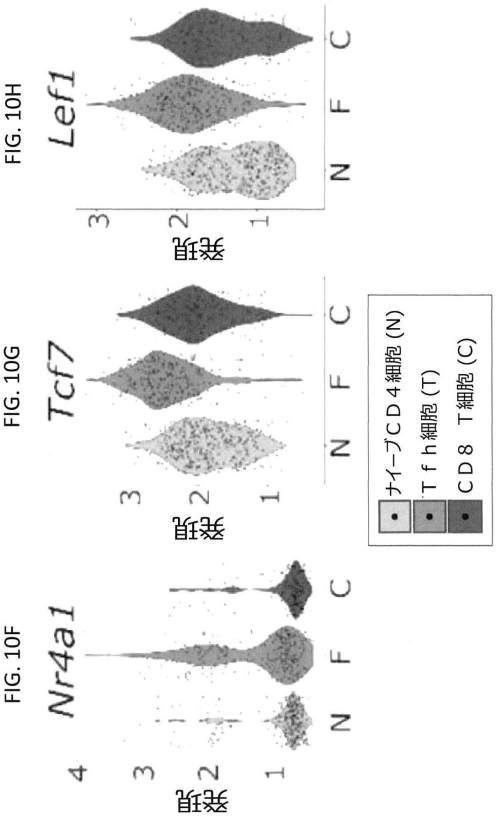
【図１０－１】



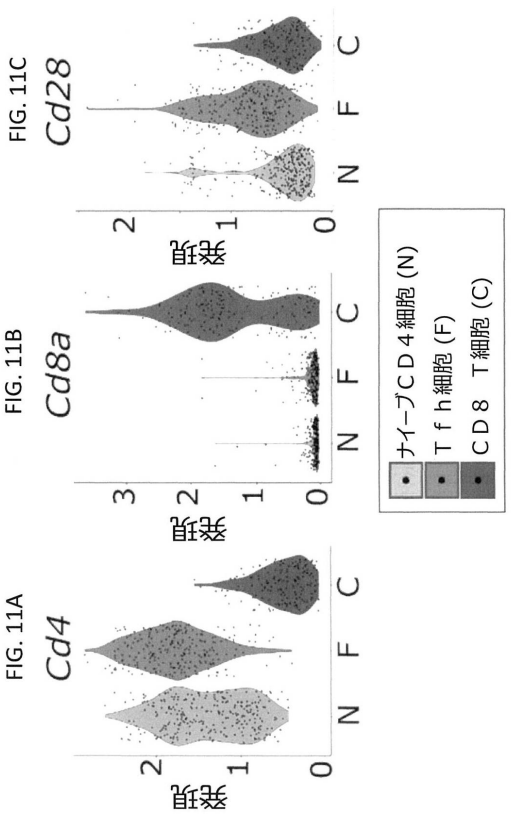
【図１０－２】



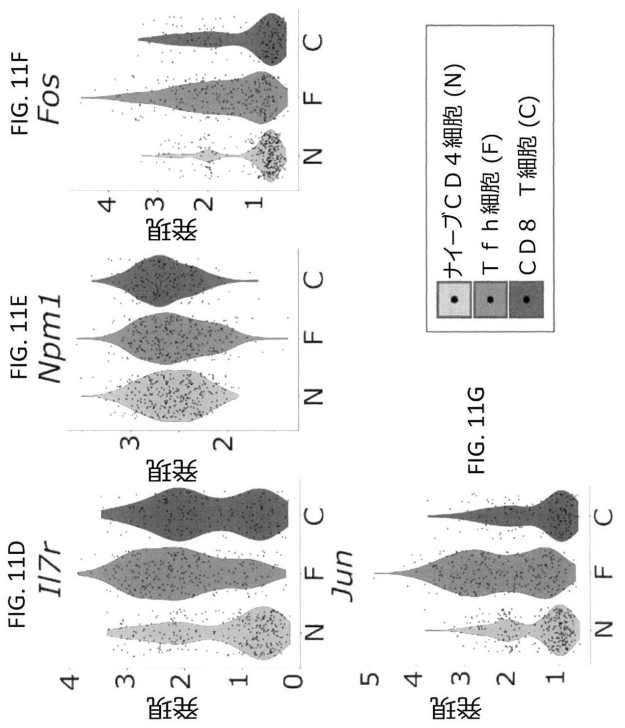
【図１０－３】



【図１１－１】



【図１１－２】



【図１２Ａ】

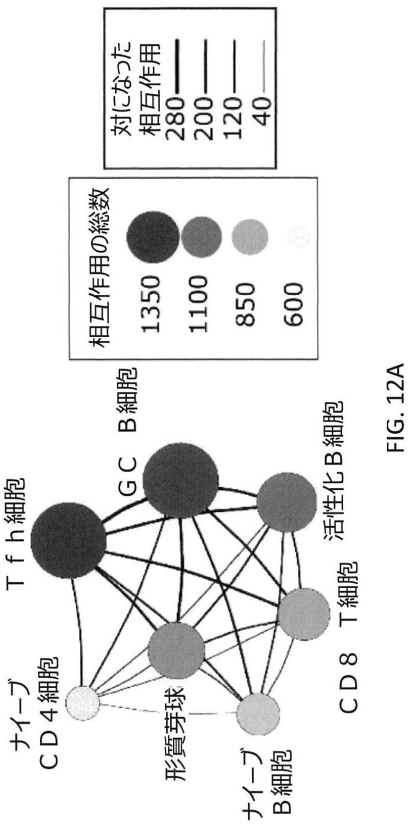


FIG. 12A

【図１２Ｂ】

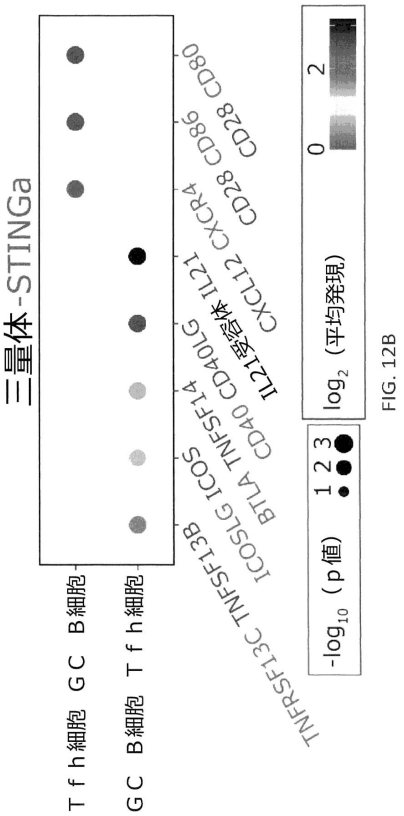


FIG. 12B

【図１３－１】

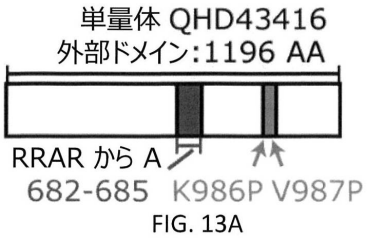


FIG. 13A

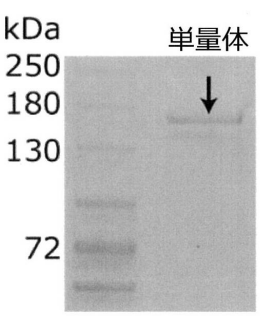


FIG. 13B

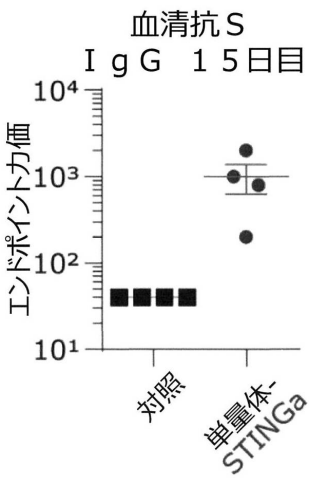


FIG. 13C

【図１３－２】

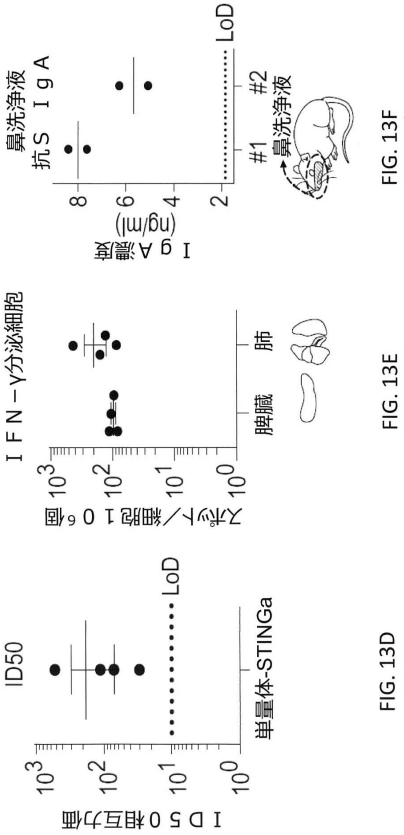


FIG. 13F

FIG. 13E

FIG. 13D

【図１４】

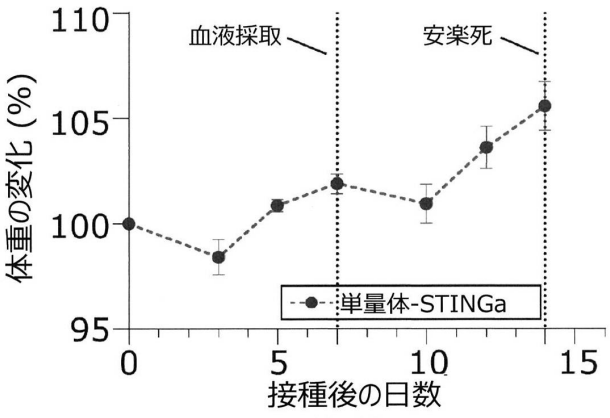


FIG. 14

【図１５】

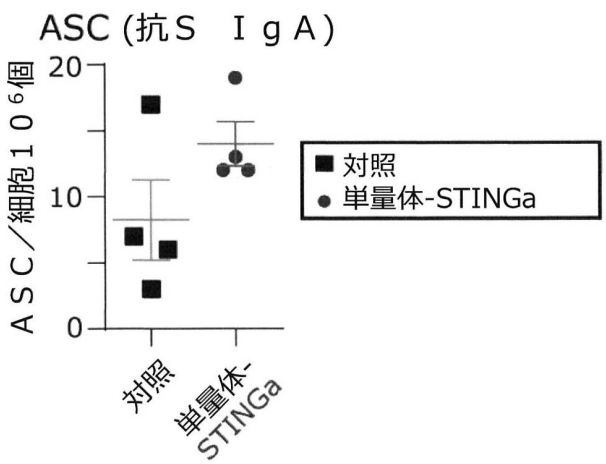


FIG. 15

【図１６】

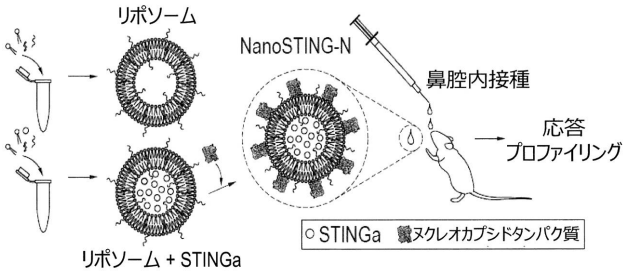


FIG. 16

【図１７】

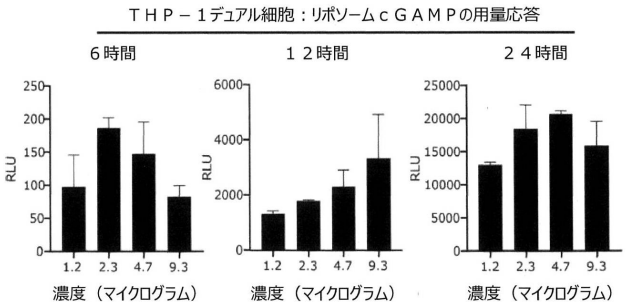


FIG. 17

【図１８】

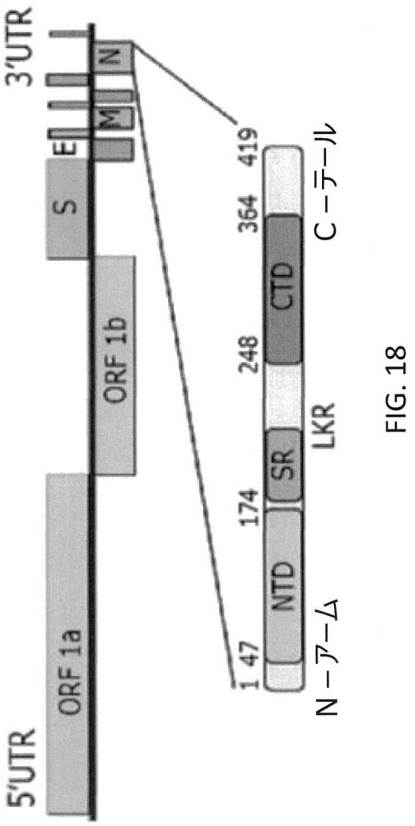


FIG. 18

【図１９】

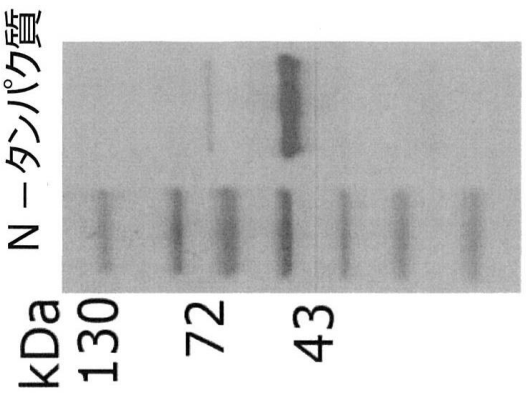


FIG. 19

【図２０】

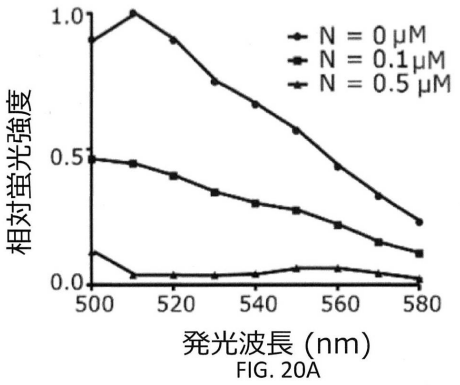


FIG. 20A

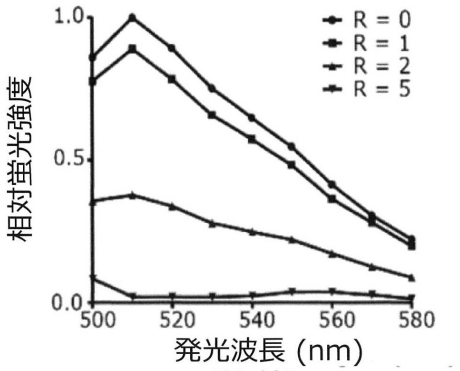


FIG. 20B

【図２１－１】

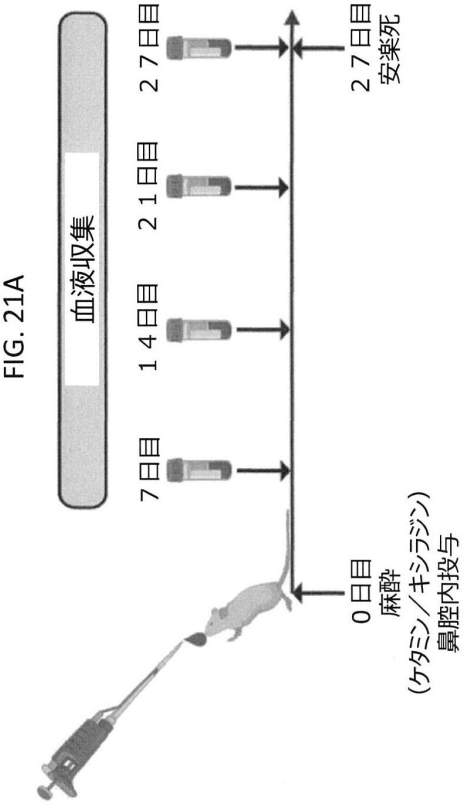
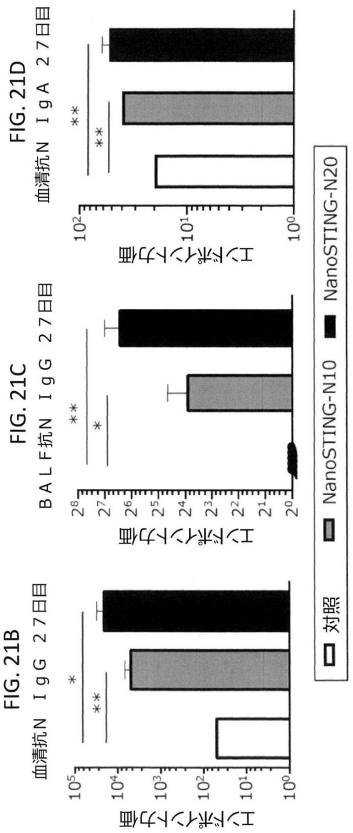
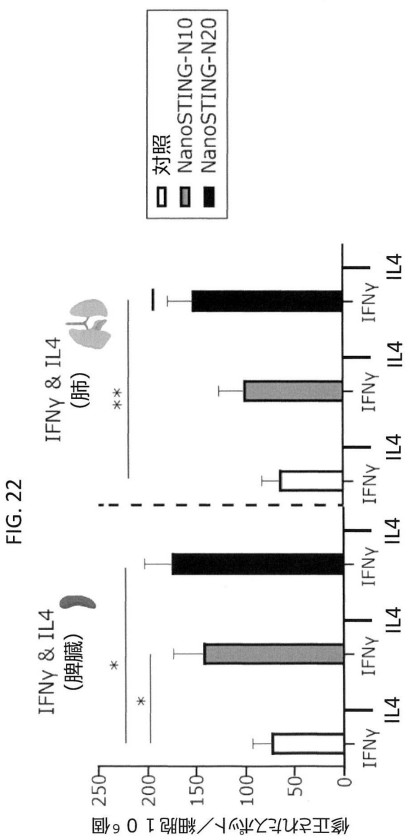


FIG. 21A

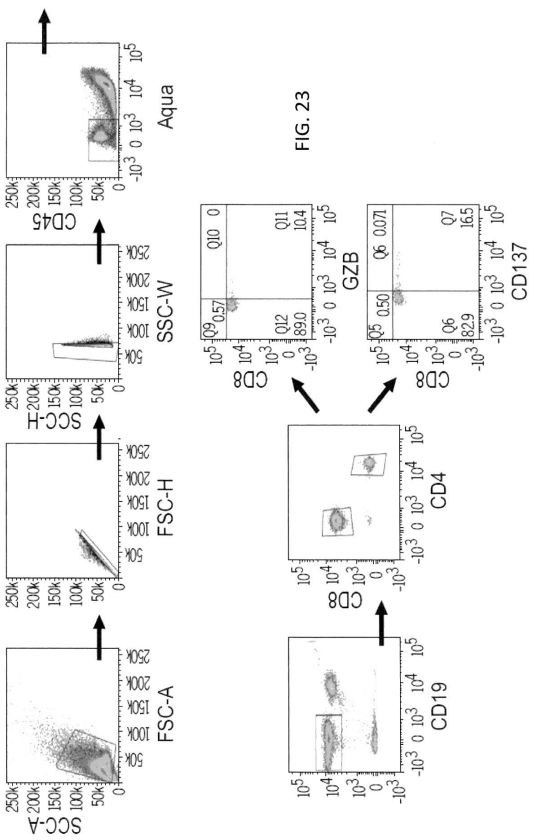
【図２１－２】



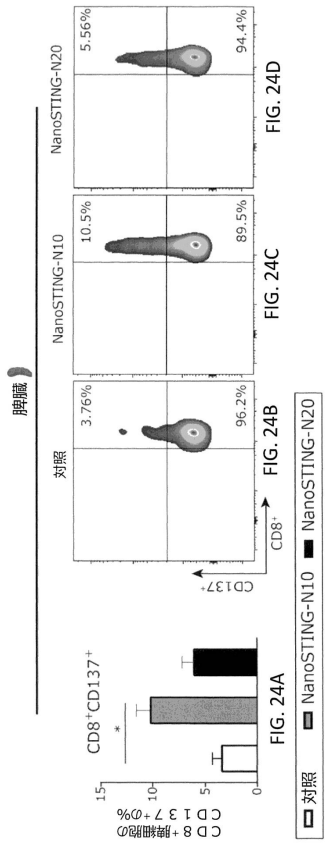
【図２２】



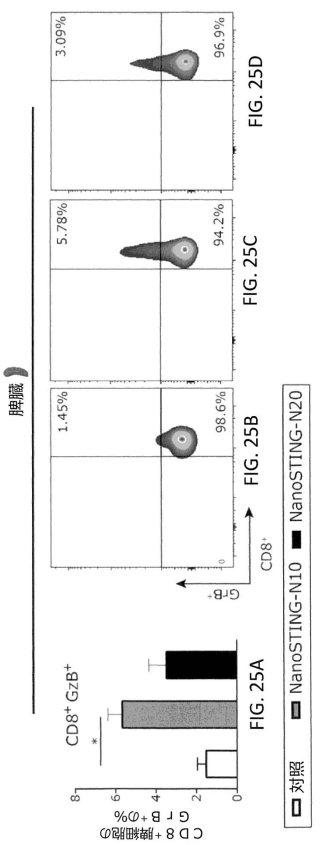
【図２３】



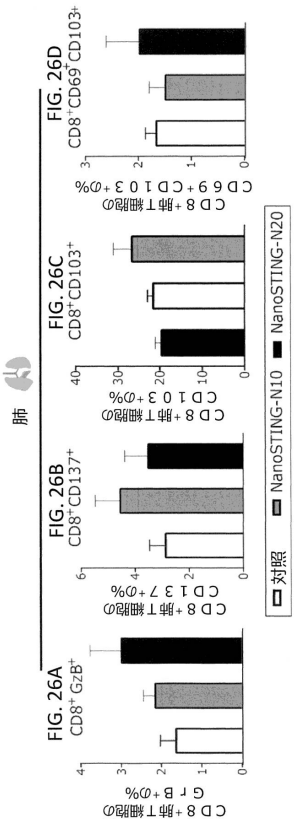
【図２４】



【図２５】



【図２６】



【図２７】

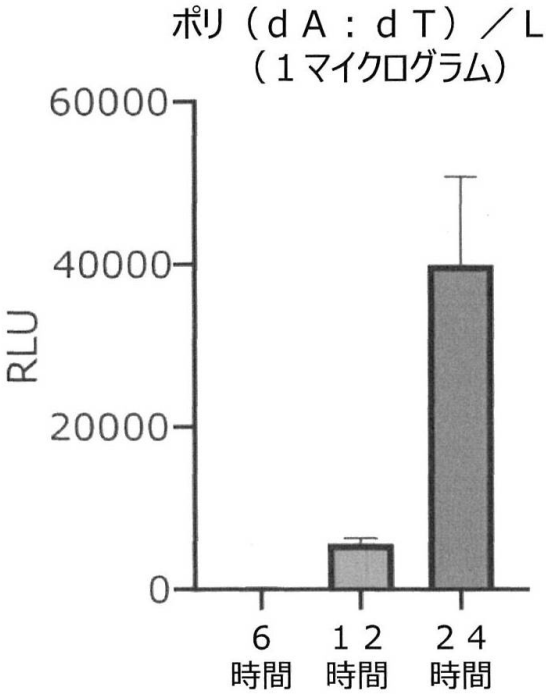


FIG. 27

【図２８】

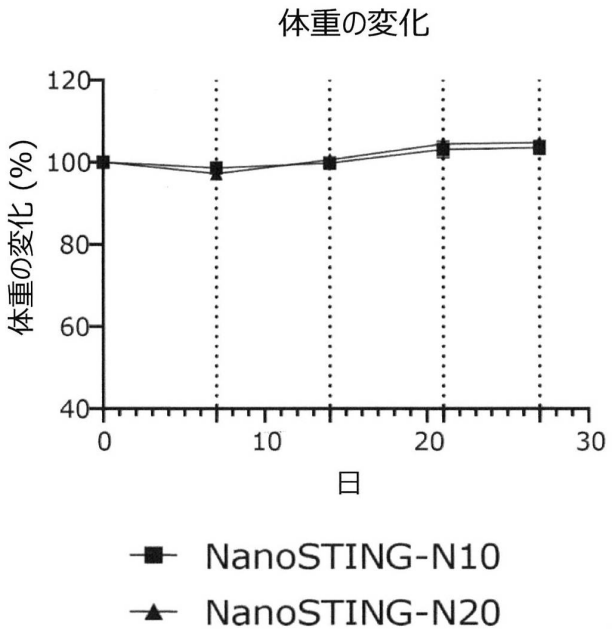


FIG. 28

【図２９】

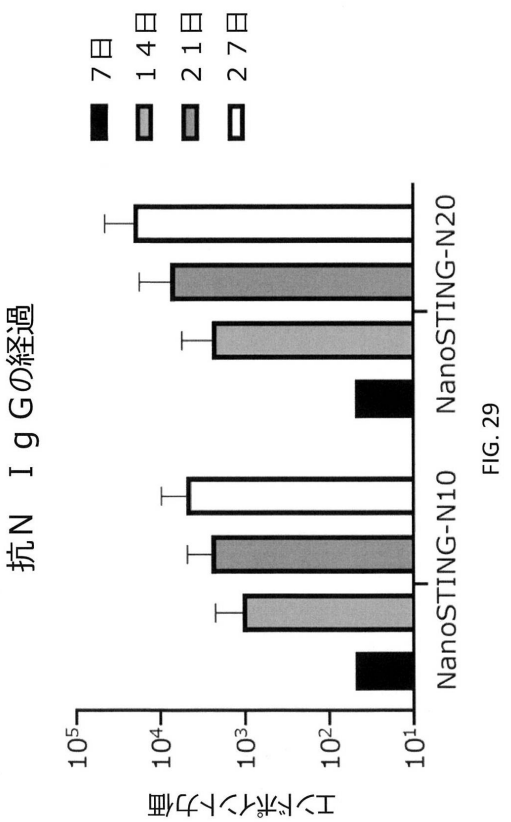
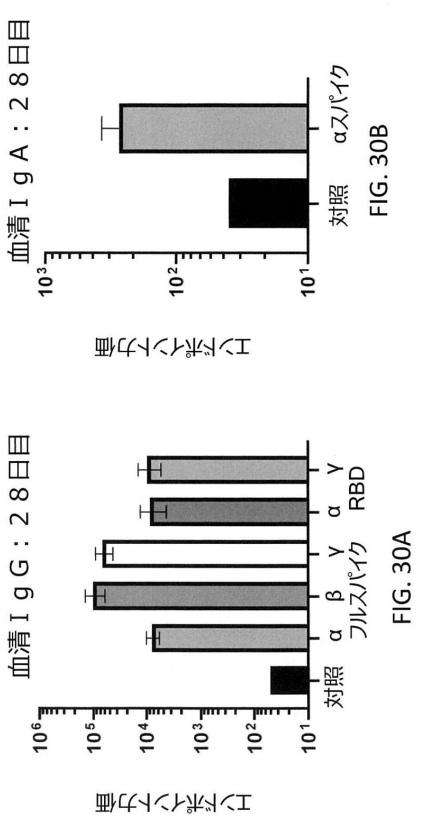
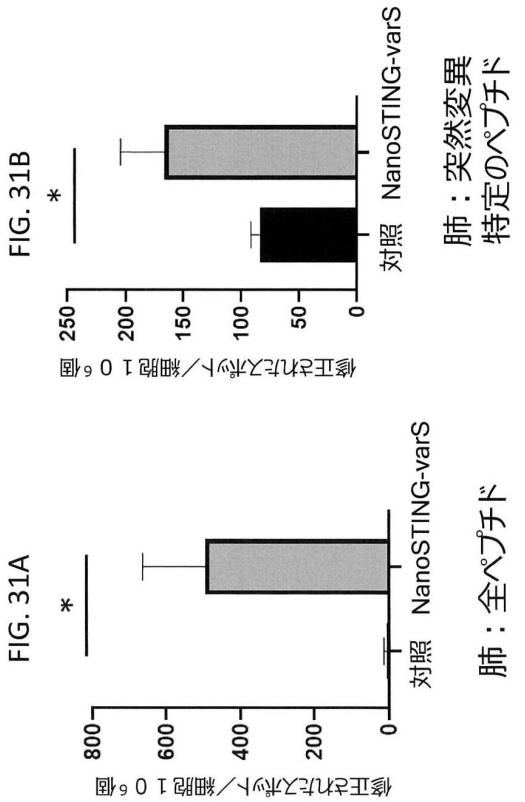


FIG. 29

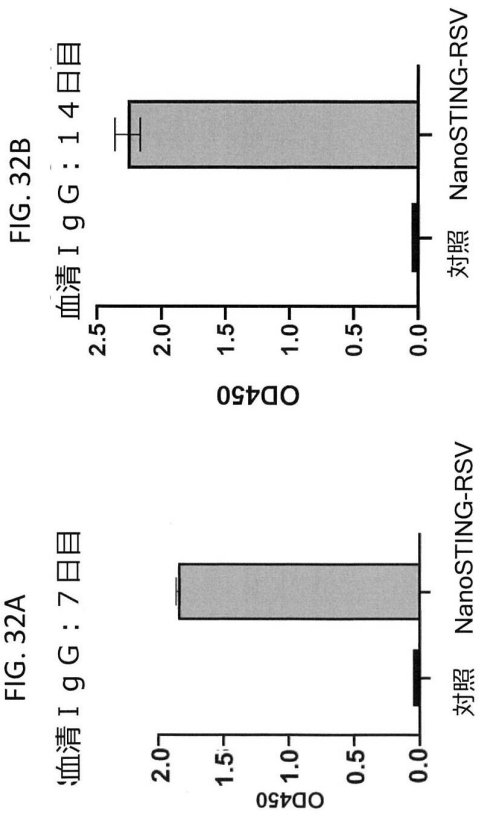
【図３０】



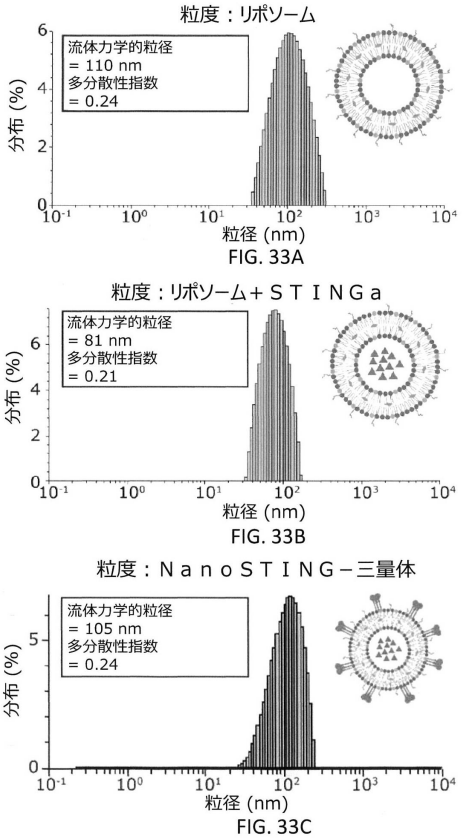
【図３１】



【図３２】



【図３３－１】



【図３３－２】

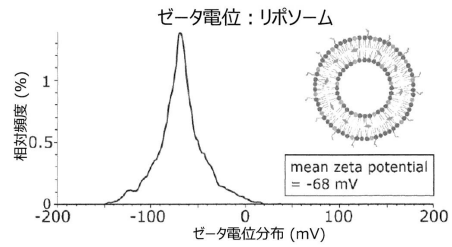


FIG. 33D

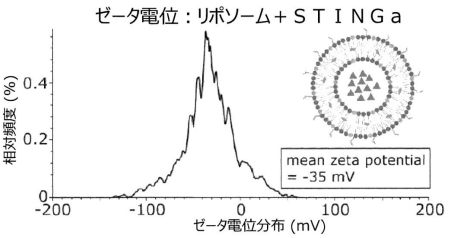


FIG. 33E

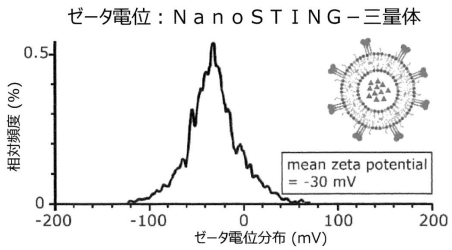


FIG. 33F

【図３４－１】

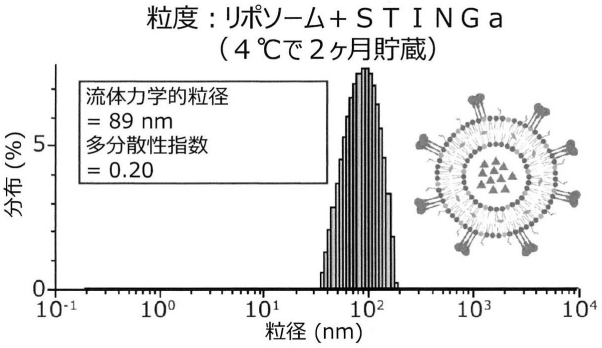


FIG. 34A

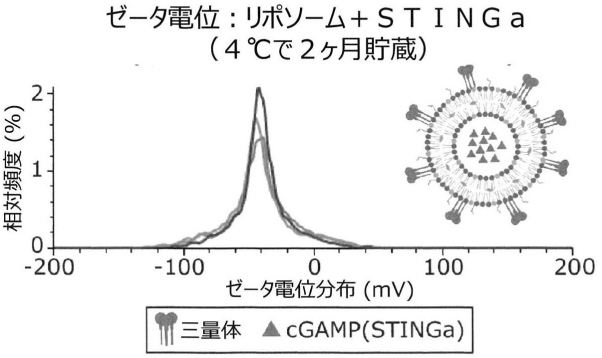


FIG. 34B

【図３４－２】

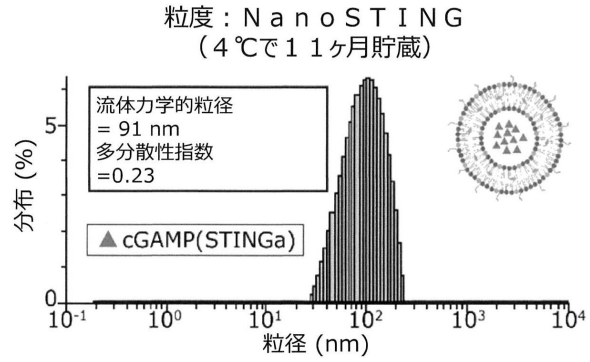


FIG. 34C

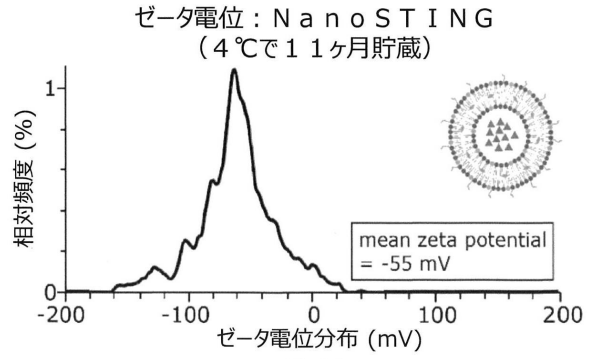


FIG. 34D

【図３５】

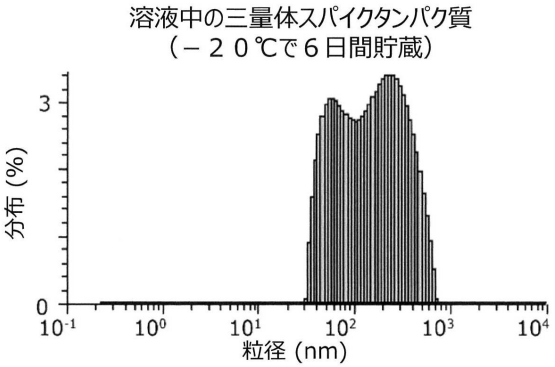


FIG. 35A

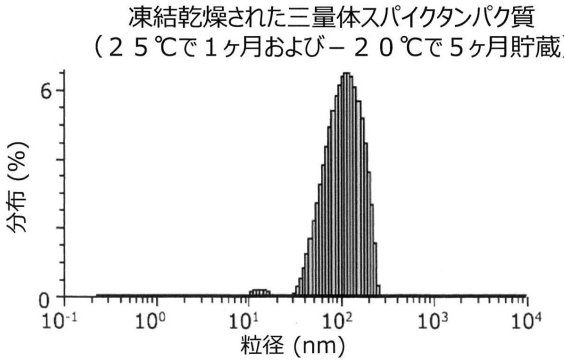


FIG. 35B

【図３６】

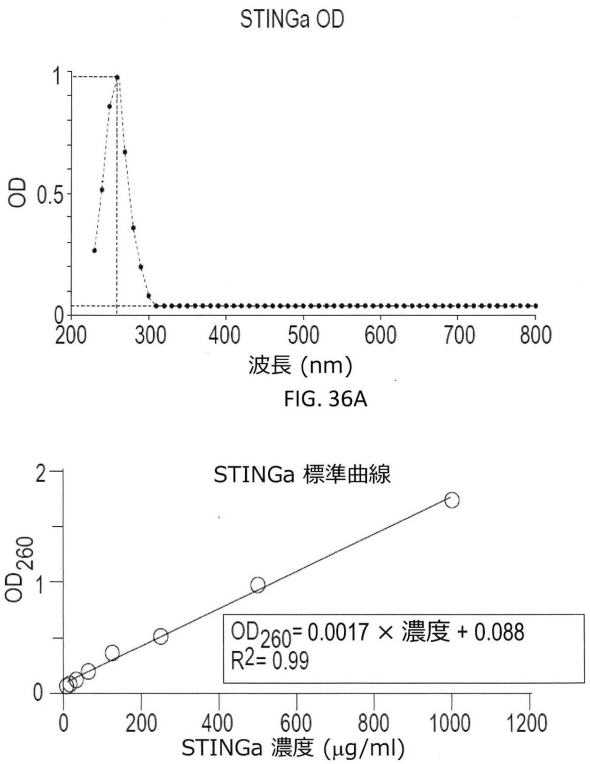


FIG. 36A

FIG. 36B

【図３７－１】

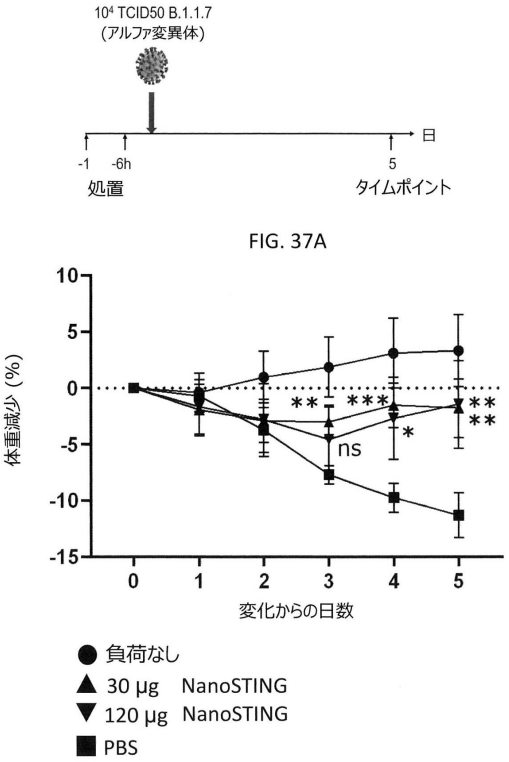


FIG. 37A

FIG. 37B

【図３７－２】

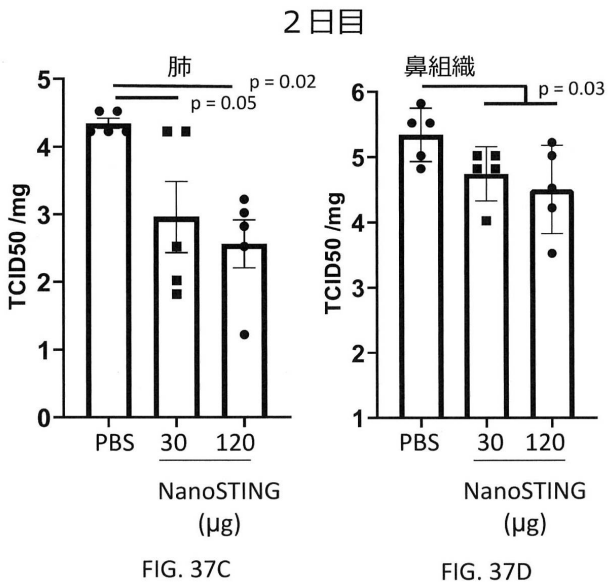


FIG. 37C

FIG. 37D

【図３８】

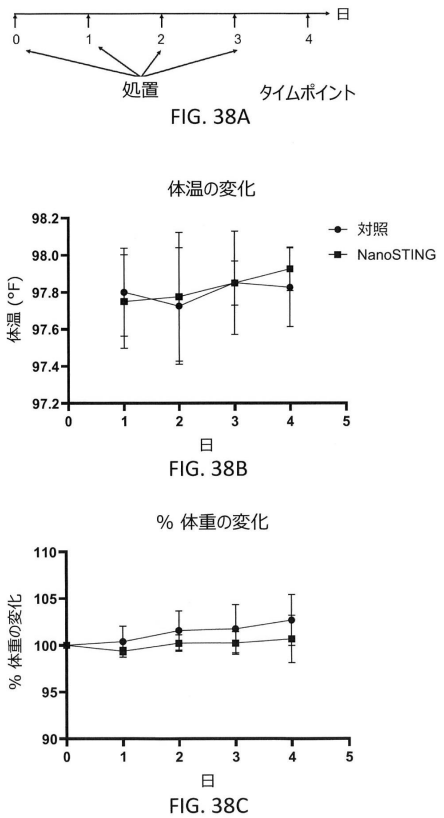


FIG. 38A

FIG. 38B

FIG. 38C

【図３９】

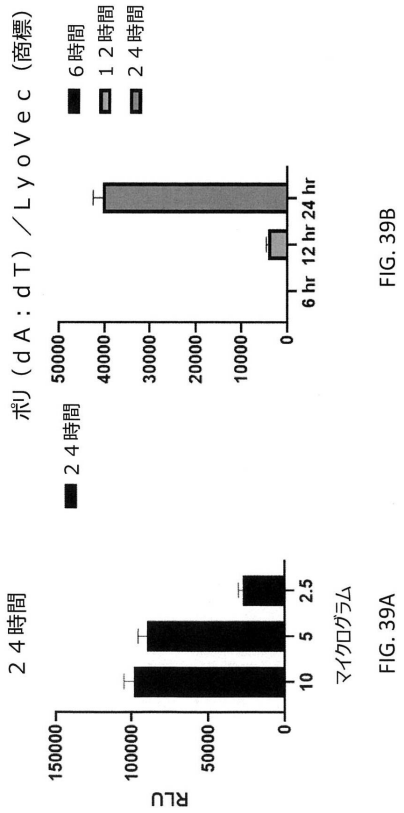


FIG. 39B

FIG. 39A

【図４０】

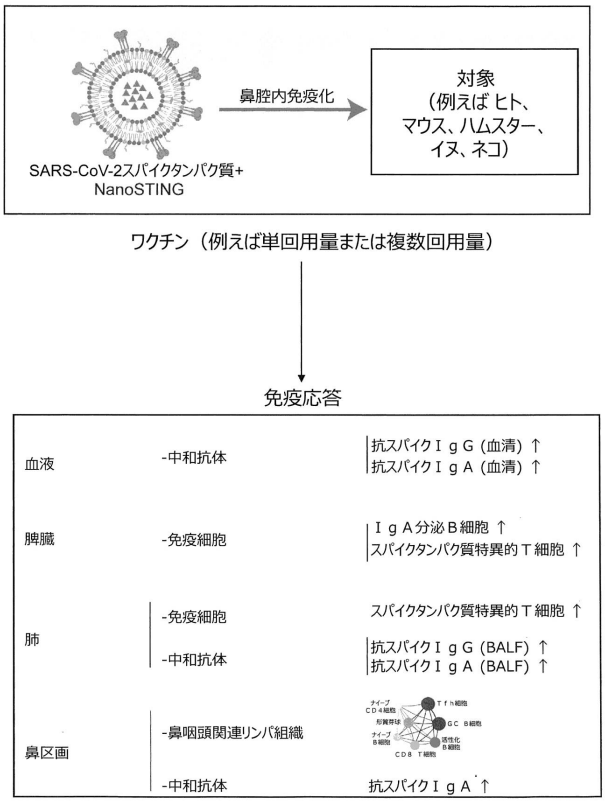


FIG. 40

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/057825

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/127(2006.01)i; **A61K 47/69**(2017.01)i; **A61K 39/145**(2006.01)i; **A61K 39/00**(2006.01)i; **A61K 39/215**(2006.01)i; **A61P 31/14**(2006.01)i; **A61P 31/16**(2006.01)i; **A61P 35/00**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 9/127(2006.01); A61K 31/352(2006.01); A61K 31/473(2006.01); A61K 39/39(2006.01); A61K 39/395(2006.01); A61K 48/00(2006.01); C12N 15/85(2006.01)

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

Korean utility models and applications for utility models
Japanese utility models and applications for utility models

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

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: liposome, particle, antigen, trimer, modulator, STING agonist, vaccine, prevetion, treatment, immune response

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017-223085 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN) 28 December 2017 (2017-12-28) abstract; page 102, 1st paragraph; claims 40, 52-56, 58	1-3,54-56,77-81
A	KR 10-2018-0106825 A (QURATIS INC.) 01 October 2018 (2018-10-01) the whole document	1-3,54-56,77-81
A	WO 2019-183578 A1 (CODIAK BIOSCIENCES, INC.) 26 September 2019 (2019-09-26) the whole document	1-3,54-56,77-81
A	KOSHY, S. T. et al., 'Liposomal delivery enhances immune activation by STING agonists for cancer immunotherapy', Advanced Biosystems, 2017, article number: 1600013, pp. 1-13 the whole document	1-3,54-56,77-81
A	NAKAMURA, T. et al., 'Liposomes loaded with a STING pathway ligand, cyclic di-GMP, enhance cancer immunotherapy against metastatic melanoma', Journal of controlled release, 2015, vol. 216, pp. 149-157 the whole document	1-3,54-56,77-81

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
03 March 2022	**03 March 2022**
Name and mailing address of the ISA/KR **Korean Intellectual Property Office** **189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon** **35208, Republic of Korea** Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Authorized officer **HEO, Joo Hyung** Telephone No. **+82-42-481-5373**

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/057825

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/057825

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☑ Claims Nos.: **32-53, 86-96**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 32-53, 86-96 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy(PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv)).

2. ☑ Claims Nos.: **6, 14, 16-19, 24, 28-29, 36, 42-44, 59-60, 68-71, 83, 88-89, 92**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claims 6, 14, 16-19, 24, 28-29, 36, 42-44, 59-60, 68-71, 83, 88-89, 92 are regarded to be unclear because they refer to claims which do not comply with PCT Rule 6.4(a).

3. ☑ Claims Nos.: **4-5, 7-13, 15, 20-23, 25-27, 30-35, 37-41, 45-53, 57-58, 61-67, 72-76, 82, 84-87, 90-91, 93-96**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2021/057825

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2017-223085 A2	28 December 2017	CA 3028721 A1	28 December 2017
		EP 3471778 A2	24 April 2019
		EP 3471778 A4	19 February 2020
		WO 2017-223085 A3	15 February 2018
KR 10-2018-0106825 A	01 October 2018	KR 10-1982710 B1	28 May 2019
		KR 10-2019-0050752 A	13 May 2019
		KR 10-2122955 B1	15 June 2020
WO 2019-183578 A1	26 September 2019	AR 115013 A1	18 November 2020
		AU 2019-237508 A1	01 October 2020
		BR 112020019089 A2	29 December 2020
		CA 3093849 A1	26 September 2019
		CL 2020002426 A1	19 February 2021
		CN 112118866 A	22 December 2020
		CO 2020013046 A2	18 January 2021
		EP 3768310 A1	27 January 2021
		JP 2021-518386 A	02 August 2021
		KR 10-2020-0141047 A	17 December 2020
		PH 12020551526 A1	17 May 2021
		SG 11202008636 A	29 October 2020
		TW 202003032 A	16 January 2020
		US 2021-0322327 A1	21 October 2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/12 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/12		
Ａ６１Ｋ	*39/125 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/125		
Ａ６１Ｐ	*31/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/14		
Ａ６１Ｐ	*31/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/16		
Ａ６１Ｐ	*11/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00		
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ａ６１Ｋ	*9/127 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｋ	*47/24 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/127		
Ａ６１Ｋ	*47/28 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/24		
Ａ６１Ｋ	*47/10 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/28		
Ａ６１Ｋ	*9/19 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/10		
Ａ６１Ｐ	*37/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/19		
Ｃ０７Ｋ	*17/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		
Ｃ０７Ｋ	*14/005 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	17/00		ＺＮＡ
		Ｃ０７Ｋ	14/005		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国テキサス州７７００４，ヒューストン，カルフーン ロード ４８００，ユニバーシティー オブ ヒューストン システム

(72)発明者 リウ，シンリ

アメリカ合衆国テキサス州７７００４，ヒューストン，カルフーン ロード ４８００，ユニバーシティー オブ ヒューストン システム

Ｆターム（参考） 4C076 AA19 AA29 BB01 BB13 BB15 BB16 BB21 BB24 BB25 BB27
CC06 CC15 CC27 CC35 DD63 DD70 EE23 EE48
4C084 AA19 MA24 NA05 NA14 ZC411 ZC751
4C085 AA03 BA51 BA52 BA55 BA57 BA71 BA77 EE03 EE05 GG01
GG02 GG03 GG04 GG05 GG06 GG08 GG10
4H045 AA11 AA30 BA10 BA55 BA60 CA01 DA86 EA20 FA74