(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-505964
(P2024-505964A)
(43)公表日　令和6年2月8日(2024.2.8)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		４Ｃ０７６
Ａ６１Ｐ	*37/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*37/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/02		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*31/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/12		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	

審査請求　未請求　予備審査請求　有　（全139頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-546426(P2023-546426)
(86)(22)出願日　令和4年2月2日(2022.2.2)
(85)翻訳文提出日　令和5年9月20日(2023.9.20)
(86)国際出願番号　PCT/EP2022/052508
(87)国際公開番号　WO2022/167497
(87)国際公開日　令和4年8月11日(2022.8.11)
(31)優先権主張番号　21154745.0
(32)優先日　令和3年2月2日(2021.2.2)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(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　520272743
エイシーエム バイオラブズ プライベート リミテッド
シンガポール共和国 ６３８０７５ シンガポール ナンヤング ドライブ ７１ エヌティーユー イノベーション センター ナンバー ０２エム－０２
(74)代理人　100102978
弁理士　清水 初志
(74)代理人　100205707
弁理士　小寺 秀紀
(74)代理人　100160923
弁理士　山口 裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部 俊
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　免疫応答を刺激するための、ポリマーソームと関連づけられたアジュバントの単独使用の方法

(57)【要約】
本発明は、アジュバントの単独投与によって対象における免疫応答を誘発することに関し、アジュバントは、ポリマーソームの集団と関連づけられる。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられたアジュバントの単独投与によって、対象における免疫応答を誘発する方法。
【請求項２】
前記単独投与が、抗原が前記アジュバントと組み合わされて前記対象に投与されないことを特徴とする投与である、請求項1記載の方法。
【請求項３】
前記単独投与が、以下:
（i）予防的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的予防のための予防的投与、
（ii）治療的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的処置のための治療的投与、
（iii）対象におけるストレスレベルを低減するための（例えば、運送中、ウシの輸送中、および/またはウシを他の動物と混在させる時の、ストレスレベルを低減するための）投与、
（iv）（i）～（iii）の任意の組合せ
のうちの1つまたは複数である、請求項1～2のいずれか一項記載の方法。
【請求項４】
前記アジュバントが、同じまたは異なるポリマーソーム集団と、独立して関連づけられ、好ましくは、該アジュバントが、クラスA、BまたはCのCpGオリゴヌクレオチドである、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。
【請求項５】
前記アジュバントが、（i）クラスA、BもしくはCのCpGオリゴヌクレオチド、または（ii）少なくとも1つのクラスA、BもしくはCのCpGオリゴヌクレオチドを含む混合物である、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。
【請求項６】
前記CpGオリゴヌクレオチドが、SEQ ID NO:18、62～64および67～77に示される配列を有するオリゴヌクレオチドの群から選択される、請求項5記載の方法。
【請求項７】
前記アジュバントが、1つまたは複数のポリマーソーム集団と、以下の手段:
（i）該1つもしくは複数のポリマーソーム集団内に該アジュバントを封入すること、
（ii）該1つもしくは複数のポリマーソーム集団の周囲膜中に該アジュバントを組み込むことおよび/もしくは包埋すること、
（iii）該1つもしくは複数のポリマーソーム集団の外表面に該アジュバントを共有結合によってコンジュゲートすること、
（iv）該1つもしくは複数のポリマーソーム集団の外表面に該アジュバントを非共有結合によってコンジュゲートすること、ならびに/または
（v）（i）～（iv）の任意の組合せ
のうちの1つまたは複数によって、独立して関連づけられている、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項８】
前記アジュバントが、
（i）CpGオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちCpG ODN）、好ましくは、CpGクラスA、BおよびCからなる群より選択されるCpGオリゴデオキシヌクレオチド、さらに好ましくは、SEQ ID NO:18、62～64および67～77を有するCpGオリゴデオキシヌクレオチドからなる群より選択されるCpGオリゴデオキシヌクレオチド、
（ii）細菌およびマイコバクテリアの細胞壁およびタンパク質に由来する、非抗原性構成要素
からなる群より独立して選択される、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項９】
前記ポリマーソームが酸化安定性ポリマーソームである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１０】
前記免疫応答が、1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは、該免疫応答が自然免疫応答である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１１】
前記免疫応答が、インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌を刺激することを含む1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌が、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌より優勢であり、さらに好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌が、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌を伴わない、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２】
前記単独投与の経路が、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、皮内投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与および筋肉内投与からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１３】
前記対象が、
（i）哺乳類動物、好ましくは、ヒト、ネコ、イヌ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、乳牛、ウマまたはブタである哺乳類動物、および
（ii）非哺乳類動物
からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１４】
がん（例えば、肉腫、線維肉腫）、アトピー性皮膚炎、アフリカブタ熱、トリインフルエンザ、ウシ海綿状脳症、ブルセラ症、オウシマダニ（Cattle Fever Tick）、慢性消耗性疾患、ブタ熱、ウマ伝染性子宮炎、ウマヘルペスウイルス、ウマ感染性貧血、ウマピロプラズマ病、ウマウイルス性動脈炎、口蹄疫、ヨーネ病、マイコプラズマ・オビニューモニエ（Mycoplasma ovipneumoniae）、ブタ流行性下痢ウイルス、仮性狂犬病、ウサギ出血性疾患ウイルス、シュマレンベルクウイルス、スクレイピー、コイ春ウイルス血症、ブタにおけるA型インフルエンザウイルス、結核、水疱性口内炎、ウエストナイルウイルス、ストレス関連疾患（例えば、パスツレラ症、マンヘミア・ヘモリチカ（Mannheimia haemolytica）およびコクシジウム症）、ウイルス性疾患（例えば、抗ウイルス的処置または予防）、免疫疾患（例えば、免疫調節的処置または予防）、ネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢、ウシ、ウマおよび/または子ネコの上部呼吸器疾患症候群、ネコ上部呼吸器感染症（URI）、ネコ上気道疾患（FeURTD）、ネコヘルペスウイルス（FHV）、イヌパルボウイルス（CPV）からなる群より選択される疾患に対する処置方法および/または予防方法である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５】
ポリマーソームが、以下の特性:
i）酸化安定性膜を含む、
ii）合成物である、
iii）封入された抗原および関連づけられた抗原を含まない、
iv）両親媒性ポリマーの膜を含む、
v）ベシクル膜を形成する両親媒性合成ブロック共重合体を含む、
vi）70nm超の直径を有し、好ましくは、該直径が、約100nm～約1μm、もしくは約100nm～約750nm、もしくは約100nm～約500nm、もしくは約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、もしくは

約２２０ｎｍ～約１８０ｎｍ、もしくは約１９０ｎｍ～約２１０ｎｍの範囲であり、最も好ましくは、該直径が約２００ｎｍである、
ｖｉｉ）ベシクルの形態を有する、
ｖｉｉｉ）自己集合性である、ならびに/または
ｉｘ）本質的に非免疫原性もしくは本質的に非抗原性であり、好ましくは、該ブロック共重合体もしくは両親媒性ポリマーが、非免疫原性もしくは非抗原性である
のうちの1つまたは複数を有する、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６】
（ｉ）前記1つもしくは複数のポリマーソーム集団が、ジブロックもしくはトリブロック（Ａ-Ｂ-Ａもしくは Ａ-Ｂ-Ｃ）共重合体を含む両親媒性ポリマーもしくは同共重合体からなる両親媒性ポリマーを含むか、または同両親媒性ポリマーから形成され、および/または
（ｉｉ）前記1つもしくは複数のポリマーソーム集団が、脂質ポリマーを含む、
前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１７】
（ａ）前記両親媒性ポリマーが、共重合体ポリ（Ｎ-ビニルピロリドン）-ｂ-ＰＬＡを含み、
（ｂ）前記両親媒性ポリマーが、ポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（ＰＢ-ＰＥＯ）ジブロック共重合体であるか、または前記両親媒性ポリマーが、ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（ＰＤＭＳ-ＰＥＯ）ジブロック共重合体もしくはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（ＰＤＭＳ-ＰＡＡ）であり、ＰＢ-ＰＥＯジブロック共重合体が、好ましくは5～５０ブロックＰＢおよび5～５０ブロックＰＥＯを含み、もしくはＰＢ-ＰＤＭＳジブロック共重合体が、好ましくは5～１００ブロックＰＤＭＳおよび5～１００ブロックＰＥＯを含み、
（ｃ）前記両親媒性ポリマーが、ポリ（ラクチド）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（ＰＬＡ-ＰＥＯ/ＰＯＰＣ）共重合体であり、好ましくは、ＰＬＡ-ＰＥＯ/ＰＯＰＣが、７５対２５（例えば75/25）のＰＬＡ-ＰＥＯ対ＰＯＰＣ（例えばＰＬＡ-ＰＥＯ/ＰＯＰＣ）の比を有し、
（ｄ）前記両親媒性ポリマーが、ポリ（カプロラクトン）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（ＰＣＬ-ＰＥＯ/ＰＯＰＣ）共重合体であり、好ましくは、ＰＣＬ-ＰＥＯ/ＰＯＰＣが、７５対２５（例えば75/25）のＰＣＬ-ＰＥＯ対ＰＯＰＣ（例えばＰＣＬ-ＰＥＯ/ＰＯＰＣ）の比を有し、
（ｅ）前記両親媒性ポリマーが、ポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（ＢＤ）であり、ならびに/または
（ｆ）前記ポリマーソームの第1集団および/もしくは第2集団が、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（ＢＤ21）および/もしくはトリブロック共重合体$PMOXA_{12}$-$PDMS_{55}$-$PMOXA_{12}$を含み、ならびに/または
（ｇ）前記ポリマーソームの第1集団および/もしくは第2集団が、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（ＢＤ21）およびＤＯＴＡＰ（例えば、８５モル％濃度のＢＤ21および15モル％濃度のＤＯＴＡＰ）を含む、
前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１８】
前記単独投与が、前記アジュバントを封入した前記ポリマーソームの第1集団および/または第2集団の1回または複数回の投与を含み、該アジュバントが、ＣｐＧオリゴヌクレオチドであり、該ＣｐＧオリゴヌクレオチドの単回投与量が、対象の体重1ｋｇあたり約7.5μｇ～約１２.５μｇのＣｐＧである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１９】
対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバントであって、該使用が、該アジュバントの単独投与を含み、該アジュバントが、1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられている、アジュバント。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本願は、２０２１年2月2日に欧州特許庁に出願された欧州特許出願第２１１５４７４５号の優先権を主張し、その内容は、参照によりその全体が、あらゆる目的で本明細書に組み入れられる。
【０００２】
配列表
本願はコンピュータ可読形式の配列表を含んでおり、これは参照により本明細書に組み入れられる。
【０００３】
技術分野
本発明は、アジュバントの単独使用によって対象における免疫応答を誘発する方法に関するものであって、アジュバントは、1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられる。
【背景技術】
【０００４】
発明の背景
免疫処置は確立したプロセスであるが、免疫原または抗原が異なると、誘発される応答も相違する。例えば膜タンパク質は低レベルの応答を生じる抗原の1クラスを形成するが、これは結果として、免疫応答を所望のレベルまで生成させまたは誘発するには、多量の膜タンパク質が必要であることを意味する。膜タンパク質は合成が難しいことで知られており、界面活性剤が存在しなければ水に不溶である。そのため、膜タンパク質は高価であり、免疫処置のために十分な量の膜タンパク質を得ることは困難である。さらにまた、膜タンパク質は、正しく機能するために、適正なフォールディングを必要とする。正しく折りたたまれたネイティブ膜タンパク質の免疫原性は、生理学的に意味のある形では折りたたまれていない可能性があるそれらの可溶化型よりも、通例、はるかに良好である。したがって、そのような可溶化抗原の免疫原性をブーストするためにアジュバントを使用することができるとしても、それは、あまり大きな利点のない非効率的な方法である（例えばＷＯ2014/077781A1）。
【０００５】
インビボで効率的でありうる抗体を単離するチャンスを増加させるために、膜タンパク質抗原の提示には、トランスフェクト細胞および脂質ベースの系が使用されてきたが、これらの系は、多くの場合、不安定（例えば酸化感受性）であり、手間とコストがかかる。そのうえ、そのような膜タンパク質抗原については、免疫処置のために不活性なウイルス様粒子を使用することが、現在の先端技術である。
【０００６】
一方、感染性疾患を主とする疾患を予防するには、ワクチンが最も効率のよい方法である［例えばLiu et al.,2016］。現時点では、認可されたワクチンの大半が、生ウイルスまたは死滅ウイルスのどちらかでできている。そのようなワクチンは、ウイルスの伝播および細胞への進入を防ぐ目的で体液性免疫（抗体媒介性応答）を生成させるには有効であるものの、そのようなワクチンの安全性には懸念が残る。過去数十年の間に、科学の進歩は、非複製組換えウイルスであるワクチンベクターを工学的に作出することにより、そのような問題を克服するのに役立ってきた。並行して、より安全な代替物として、タンパク質ベースの抗原またはサブユニット抗原が検討されている。しかし、そのようなタンパク質ベースのワクチンによって誘発される免疫は（体液性応答も細胞性応答も）典型的には不十分である。抗原の免疫原特性を改良するために、いくつかのアプローチが使用されてきた。例えば、ポリマーへの抗原のマイクロカプセル化は広範囲に研究されており、それにより免疫原性を強化することはできたものの、抗原の凝集および変性は未解決のまま

である［例えばHilbert et al.,1999］。さらにまた、より顕著な体液性応答および細胞性応答を誘発するために、アジュバント（例えば水中油型エマルションまたはポリマーエマルション）［例えばUS9636397B2、US2015/0044242A1］が、抗原と一緒に使用される。これらの進歩にもかかわらず、それらは取込みおよびクロスプレゼンテーションの効率が低い。クロスプレゼンテーションを促進するために、ウイルスによる感染時の免疫系の利用可能な情報に基づいて、そのような特性を模倣するウイルス様粒子が開発されている。抗原が封入されているリポソームなどの合成アーキテクチャは特に魅力的である。リポソームは脂質でできた自己集合性単層構造であり、カチオン性リポソームは、抗原提示細胞（APC）によって効率よく取り込まれることから、送達媒体として、より魅力的であり、有望である［例えばMaji et al.,2016］。さらにまた、リポソームには、受容体を介して免疫細胞を刺激するtoll様受容体（TLR）アゴニストである免疫調節物質、例えばモノホスホリルリピドA（MPL）、CpGオリゴデオキシヌクレオチドなどを組み込むこともできる。このような送達媒体にはこれらの有利な条件があるにも関わらず、限定要因の1つとなるのが、血清成分存在下でのリポソームの安定性である。リポソームの安定性の問題は、PEG化、高融点脂質のローディングによって、多少は低減する。よく特徴づけられたそのような例の1つは、脂質を連結する短い共有結合性架橋で多層ベシクルを安定化することによって形成される二重層間架橋多層ベシクル（interbilayered-crosslinked multilamellar vesicle）（ICMV）である［例えばMoon et al.,2011］。他のナノ粒子アーキテクチャも、ナノディスク［例えば、Kuai et al.,2017］またはpH感受性粒子［例えばLuo et al.,2017］を使った免疫処置の成功につながっている。しかし、そのような戦略は依然としてアジュバントを必要とするか、またはプロトタイプの卵白アルブミン（OVA）モデル以外では、あまり効率がよくない。

【０００７】

加えて、リポソームの安定代替物としてポリマーソームが提供され、膜タンパク質を組み込んで免疫応答を誘発するために使われてきた［例えばQuer et al.,2011,WO2014/077781A1］。抗原とアジュバントとを樹状細胞に放出するために、タンパク質抗原もまた、ポリマーソームの化学的に改変された膜（ただし酸化感受性の膜）に封入された［例えばStano et al.,2013］。

【０００８】

ポリマーの使用によってなされたこの進歩をもってしてもなお、とりわけ感染性疾患、がんおよび自己免疫疾患の処置および/または防止のために、免疫応答を誘発する代替的方法（例えば、抗原の不在下で）を提供する必要が、依然としてある。

【発明の概要】

【０００９】

本発明は、1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられた1種または複数種のアジュバントの単独投与によって対象における免疫応答を誘発する方法に関する。本発明はさらに、本発明の1種または複数種のアジュバントの単独投与の方法であって、該単独投与は、抗原が該1種または複数種のアジュバントと組み合わされて（例えば同時にまたは異なる時点で）該対象に投与（例えば共投与）されないことを特徴とする方法に関する。本発明はさらに、対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバントであって、該使用は該アジュバントの単独投与を含み、該アジュバントは1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられている、アジュバントに関する。

【００１０】

したがって本願は、本明細書において以下に記載し、特許請求の範囲において特徴づけ、添付の実施例および図面によって例示する、投与された場合に抗原の免疫原特性を改良する2つの別個のポリマーソーム集団、そのような2つのポリマーソーム集団の生産方法およびそのような2つのポリマーソーム集団を含む組成物を提供することによって、前記の需要を満たす。

【００１１】

配列表の概要

本明細書で述べるように、UniProtKBアクセッション番号（別段の表示がある場合、その他固有の場合を除き、http://www.uniprot.org/、例えばUniProtKB Release 2017_12で利用できるもの）に言及する。

【００１２】

SEQ ID NO:1は、大腸がんMC-38マウスモデルに由来する腫瘍ネオ抗原ポリペプチドReps1 P45Aのアミノ酸配列である。

【００１３】

SEQ ID NO:2は、大腸がんMC-38マウスモデルに由来する腫瘍ネオ抗原ペプチドAdpgk R304Mのアミノ酸配列である。

【００１４】

SEQ ID NO:3は、大腸がんMC-38マウスモデルに由来する腫瘍ネオ抗原ペプチドDpagt1 V213Lのアミノ酸配列である。

【００１５】

SEQ ID NO:4は、ニワトリ卵白アルブミン（OVA）、UniProtKBアクセッション番号P01012のアミノ酸配列である。

【００１６】

SEQ ID NO:5は、インフルエンザAウイルス（A/ニューヨーク/38/2016（H1N1））ヘマグルチニン、UniProtKBアクセッション番号A0A192ZYK0のアミノ酸配列である。

【００１７】

SEQ ID NO:6は、インフルエンザAウイルス（A/ブタ/4/メキシコ/2009（H1N1））ヘマグルチニン、UniProtKBアクセッション番号D2CE65のアミノ酸配列である。

【００１８】

SEQ ID NO:7は、インフルエンザAウイルス（A/プエルトリコ/8/1934（H1N1））ヘマグルチニンのアミノ酸配列である。

【００１９】

SEQ ID NO:8は、インフルエンザAウイルス（A/カリフォルニア/07/2009（H1N1））ヘマグルチニンのアミノ酸配列である。

【００２０】

SEQ ID NO:9は、黒色腫B16-F10マウスモデルに由来する腫瘍ネオ抗原ポリペプチドCD8 Trp2 173-196のアミノ酸配列である。

【００２１】

SEQ ID NO:10は、黒色腫B16-F10マウスモデルに由来する腫瘍ネオ抗原ポリペプチドCD4 M30 Kif18b K739Nのアミノ酸配列である。

【００２２】

SEQ ID NO:11は、黒色腫B16-F10マウスモデルに由来する腫瘍ネオ抗原ポリペプチドCD4 M44 Cpsf3l D314Nのアミノ酸配列である。

【００２３】

SEQ ID NO:12は、ブタ流行性下痢ウイルス（PEDv）スパイクタンパク質（Sタンパク質）（UniProtKBアクセッション番号V5TA78）の可溶性部分（アミノ酸残基19～1327）のアミノ酸配列である。

【００２４】

SEQ ID NO:13は、PEDvスパイクタンパク質（Sタンパク質）のS1領域（アミノ酸残基19～739）のアミノ酸配列である。

【００２５】

SEQ ID NO:14は、PEDvスパイクタンパク質（Sタンパク質）のS2領域（アミノ酸残基739～1327）のアミノ酸配列である。

【００２６】

SEQ ID NO:15は、高感度緑色蛍光タンパク質（eGFP）のアミノ配列である。

【００２７】

SEQ ID NO:16はCD8 T細胞ペプチドエピトープの配列（SIINFEKL）である。
【００２８】
SEQ ID NO:17はCD8 T細胞ペプチドエピトープの配列（SVYDFFVWL）である。
【００２９】
SEQ ID NO:18は、InvivoGenから入手することができるクラスB CpGオリゴデオキシヌクレオチドCpG ODN1826（5’-tccatgacgttcctgacgtt-3’）である。
【００３０】
SEQ ID NO:19は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３１】
SEQ ID NO:20は、GenBankアクセッション番号QII57278.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３２】
SEQ ID NO:21は、GenBankアクセッション番号YP＿009724390.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３３】
SEQ ID NO:22は、GenBankアクセッション番号QIO04367.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３４】
SEQ ID NO:23は、GenBankアクセッション番号QHU79173.2によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３５】
SEQ ID NO:24は、GenBankアクセッション番号QII87830.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３６】
SEQ ID NO:25は、GenBankアクセッション番号QIA98583.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３７】
SEQ ID NO:26は、GenBankアクセッション番号QIA20044.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３８】
SEQ ID NO:27は、GenBankアクセッション番号QIK50427.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００３９】
SEQ ID NO:28は、GenBankアクセッション番号QHR84449.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００４０】
SEQ ID NO:29は、GenBankアクセッション番号QIQ08810.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００４１】
SEQ ID NO:30は、GenBankアクセッション番号QIJ96493.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００４２】
SEQ ID NO:31は、GenBankアクセッション番号QIC53204.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００４３】
SEQ ID NO:32は、GenBankアクセッション番号QHZ00379.1によるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００４４】
SEQ ID NO:33は、GenBankアクセッション番号QHS34546.1によるSARS-CoV-

2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００４５】
SEQ ID NO:34は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の16～1213番目に対応するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００４６】
SEQ ID NO:35は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の14～1204番目に対応するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００４７】
SEQ ID NO:36は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００４８】
SEQ ID NO:37は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の16～685番目に対応するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００４９】
SEQ ID NO:38は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の686～1213番目に対応するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５０】
SEQ ID NO:39は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の646～1204番目に対応するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５１】
SEQ ID NO:40は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５２】
SEQ ID NO:41は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の318～524番目に対応するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５３】
SEQ ID NO:42は、UniProtKBアクセッション番号K0BRG7によるMERS-CoVスパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００５４】
SEQ ID NO:43は、UniProtKBアクセッション番号K0BRG7の1～1297番目に対応するMERS-CoVスパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５５】
SEQ ID NO:44は、UniProtKBアクセッション番号K0BRG7の18～725番目に対応するMERS-CoVスパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５６】
SEQ ID NO:45は、UniProtKBアクセッション番号K0BRG7の726～1296番目に対応するMERS-CoVスパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５７】
SEQ ID NO:46は、UniProtKBアクセッション番号K0BRG7の377～588番目に対応するMERS-CoVスパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００５８】
SEQ ID NO:47は、UniProtKBアクセッション番号P59594によるSARS-CoV-1スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。
【００５９】
SEQ ID NO:48は、UniProtKBアクセッション番号P59594の14～1195番目に対応するSARS-CoV-1スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００６０】
SEQ ID NO:49は、UniProtKBアクセッション番号P59594の14～667番目に対応するSARS-CoV-1スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。
【００６１】

SEQ ID NO:50は、UniProtKBアクセッション番号P59594の668～1195番目に対応するSARS-CoV-1スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。

【００６２】

SEQ ID NO:51は、UniProtKBアクセッション番号P59594の306～527番目に対応するSARS-CoV-1スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。

【００６３】

SEQ ID NO:52は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質のフューリン切断部位のアミノ酸配列である。

【００６４】

SEQ ID NO:53は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の変異型フューリン切断部位のアミノ酸配列である。

【００６５】

SEQ ID NO:54は、フォルドン（foldon）ドメインのアミノ酸配列である。

【００６６】

SEQ ID NO:55は、GCN4ドメインのアミノ酸配列である。

【００６７】

SEQ ID NO:56は、イムノサイレント化された（immunosilenced）GCN4ドメインのアミノ酸配列である。

【００６８】

SEQ ID NO:57は、ミツバチメリチンリーダー配列のアミノ酸配列である。

【００６９】

SEQ ID NO:58は、MERS-CoVスパイクタンパク質のフューリン切断部位のアミノ酸配列である。

【００７０】

SEQ ID NO:59は、MERS-CoVスパイクタンパク質の変異型フューリン切断部位のアミノ酸配列である。

【００７１】

SEQ ID NO:60は、SARS-CoV-1スパイクタンパク質のフューリン切断部位のアミノ酸配列である。

【００７２】

SEQ ID NO:61は、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の変異型フューリン切断部位のアミノ酸配列である。

【００７３】

SEQ ID NO:62は、CpGオリゴヌクレオチドODN2006のヌクレオチド配列である。

【００７４】

SEQ ID NO:63は、CpGオリゴヌクレオチドODN2007のヌクレオチド配列である。

【００７５】

SEQ ID NO:64は、CpGオリゴヌクレオチドODN2216のヌクレオチド配列である。

【００７６】

SEQ ID NO:65は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の19～1204番目に対応するが変異型フューリン切断部位を持つ、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントのアミノ酸配列である。

【００７７】

SEQ ID NO:66は、UniProtKBアクセッション番号P0DTC2の19～1273番目に対応するが変異型フューリン切断部位を持つ、SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸配列である。

【００７８】

SEQ ID NO:67はCpGオリゴヌクレオチドODN 2135のヌクレオチド配列である。

【００７９】

SEQ ID NO:68は例示的なCpGオリゴヌクレオチドODNのヌクレオチド配列である。

【００８０】
SEQ ID NO:69は例示的なCpGオリゴヌクレオチドODNのヌクレオチド配列である。
【００８１】
SEQ ID NO:70は例示的なCpGオリゴヌクレオチドODNのヌクレオチド配列である。
【００８２】
SEQ ID NO:71は、CpGオリゴヌクレオチドODNクラスAの例示的なヌクレオチド配列である（https://www.invivogen.com/cpg-odns-classesから引用して、図31に図示する）。
【００８３】
SEQ ID NO:72は、CpGオリゴヌクレオチドODNクラスBの例示的なヌクレオチド配列である（https://www.invivogen.com/cpg-odns-classesから引用して、図31に図示する）。
【００８４】
SEQ ID NO:73はCpGオリゴヌクレオチドODNクラスCの例示的なヌクレオチド配列である（https://www.invivogen.com/cpg-odns-classesから引用して、図31に図示する）。
【００８５】
SEQ ID NO:74はCpGオリゴヌクレオチドODNクラスBの例示的なヌクレオチド配列（ODN2007）である。
【００８６】
SEQ ID NO:75はCpGオリゴヌクレオチドODNクラスBの例示的なヌクレオチド配列（ODN2006）である。
【００８７】
SEQ ID NO:76はCpGオリゴヌクレオチドODNの例示的なヌクレオチド配列（ODN2014）である。
【００８８】
SEQ ID NO:77はCpGオリゴヌクレオチドODNの例示的なヌクレオチド配列（ODN2135）である。
【図面の簡単な説明】
【００８９】
【図１】抗原を封入した本発明のポリマーソームによる免疫処置ならびに体液性応答および細胞性応答の測定の模式図である。
【図２Ａ】本発明のポリマーソームに関する動的光散乱結果の結果を表す。図2Aは、173.1nm（直径）の単分散集団であるOVA封入ポリマーソームの動的光散乱プロットである。図2Bは、さまざまな抗原が封入されたさまざまなポリマーソームに関してDLSによって測定された平均直径（Z平均）の表である。括弧内に示す製剤の名前、例えば「ACM-OVA」、「ACM-CpG」、「ACM-OVA-CpG」および「ACM-Trp2」は、本願の他の項において使用される。
【図２Ｂ】図2Aの説明を参照。
【図３】サイズ排除クロマトグラフィーにおけるOVA封入ポリマーソームの溶出プロファイルを表す。
【図４】OVA封入ポリマーソームの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）を表す。
【図５Ａ】本発明のポリマーソームへの核酸（ここでは高感度緑色蛍光タンパク質（eGFP）のコード遺伝子）の封入および核酸が封入されているポリマーの細胞への取込みの結果を表す。図5Aは、細胞内部へのさまざまなポリマーソームの蛍光強度取込み、およびポリマーソームに封入されたDNAに基づくeGFP発現を表す。図5Bは、DNA封入ポリマーソームがトランスフェクトされた細胞の蛍光像を表す。図5Cは、DNA封入ポリマーソームがトランスフェクトされた細胞の蛍光像を表す。
【図５Ｂ】図5Aの説明を参照。

【図５Ｃ】図5Aの説明を参照。
【図６】PBS、OVAのみ、OVAとSASアジュバント、アジュバントなしのOVA封入ポリマーソームで免疫処置されたマウス血清からの抗体力価を表す。OVAを封入したACM（以下「ACM」とは本発明のポリマーソームを指す）だけがIgG力価を誘導することができた。
【図７】PBS、HAのみ、およびアジュバントなしのHA封入ポリマーソームで免疫処置されたマウス血清からの抗体力価を表す。HAを封入したACM（本発明のポリマーソーム）はIgG力価を誘導することができた。
【図８】MC-38マウス腫瘍モデルに関する結果を表す。遊離ペプチド（白抜きの丸）、ACMに封入されたペプチド（黒四角、本発明のポリマーソーム）または抗PD1抗体処置を伴うACMに封入されたペプチド（黒い三角）で免疫処置したマウスにおいて、腫瘍体積をモニターした。腫瘍の成長は、ACMに封入されたペプチド（本発明のポリマーソーム）により、遊離ペプチドと比較して改変された。また、それは抗PD1抗体の添加によってさらに増強される。どの群にもアジュバントは加えなかった。
【図９】PBSおよび本明細書に記載するように使用されるポリマーソームに封入されたPEDv Sタンパク質の可溶性フラグメント（「スパイクタンパク質が封入されたポリマーソーム」）で免疫処置されたマウス血清からの、ならびに比較対象として、死滅PEDウイルス（「死滅PEDv」）およびACMポリマーソームのみ（すなわち抗原なし、「ポリマーソームのみ」）で免疫処置されたマウス血清からの、IgG抗体力価およびウイルス中和反応（PEDv USA/コロラド/2013（CO/13）株に対するもの）を表す。図9のIgG力価から、ACMに封入されたPEDv Sタンパク質のフラグメントと死滅ウイルスが、どちらもIgG力価を誘導することは明白である。ウイルス中和反応データからは、ACMに封入されたPEDv Sタンパク質だけが有意な中和力価をもたらし、一方、陰性対照（抗原を一切含まないACMポリマーソーム）および死滅PEDウイルスは無視できる程度の中和反応しか示さなかったことがわかる。
【図１０】PBSおよびさまざまなポリマーソーム（例えば完全長可溶性PEDスパイクタンパク質（「可溶性Sタンパク質を含むBD21」）またはそのS1もしくはS2フラグメント（他のすべての場合）のいずれかを封入する、BD21（後述）、$PDMS_{46}$-PEO_{37}（図では単に「PDMS」と記す）、$PDMS_{46}$-PEO_{37}と添加された脂質としてのDSPE-PEG（ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン［DSPE］ポリエチレングリコール）、アゾレクチン脂質（大豆由来の市販のリン脂質）が添加されたポリエチレングリコール-ポリ乳酸（PLA-PEG））による免疫処置後にマウスから生成した血清からのウイルス中和反応データ（PEDv USA/コロラド/2013（CO/13）株に対するもの）を表す。PBS試料で免疫処置されたマウスの群がいかなるウイルス中和反応も示さないのに対し、ポリマーソーム製剤は、それらが完全長タンパク質を封入しているか、そのフラグメントを封入しているかとは関わりなく、すべてがさまざまな程度のウイルス中和反応を示すことは、図10から明らかである。
【図１１】アジュバントを使わずにACMに封入されたPEDv Sタンパク質で経口免疫処置されたブタからのIgA抗体力価を表す。力価は糞便スワブからの値である。図11に見られるように、力価は経時的に上昇する。これは、PEDv Sタンパク質を封入して経口投与された本発明のポリマーソームが、ブタにおける免疫応答を誘発できることを示している。
【図１２】ブタ流行性下痢ウイルス（PEDv）スパイクタンパク質（Sタンパク質）（UniProtKBアクセッション番号V5TA78）、ならびに本明細書に記載するようにポリマーソームへの可溶性Sタンパク質の封入とそれに続くマウスおよびブタの免疫処置/ワクチン接種に使用された、SEQ ID NO:12（アミノ酸残基19～1327）、SEQ ID NO:13（アミノ酸残基19～739）およびSEQ ID NO:14（アミノ酸残基739～1327）の可溶性フラグメントの模式的表現である。
【図１３】ACM OVA製剤の予防的ワクチン接種後の腫瘍増殖曲線を表す。異なるOVA製剤を投与した後に10^5個のB16-OVA細胞を接種したマウスについての腫瘍増殖曲線。

図13Aは、PBS群、遊離OVAおよびCpG投与群、ならびにACMに封入されたOVAおよび遊離CpG共投与群を表し、図13Bは、PBS群、共投与されたACMに封入されたOVAおよびACMに封入されたCpG、ならびにOVAとCpGとが一緒に封入されたACMを表す。

【図１４Ａ】ACM OVA製剤の治療的ワクチン接種後の腫瘍増殖曲線を表す。異なるACM OVA製剤をワクチン接種した後に10^5個のB16-OVA細胞を接種したマウスについての腫瘍増殖曲線。図14A）PBS群、遊離OVAおよびCpG投与群、ならびにACMに封入されたOVAおよび遊離CpGとの共投与群、B）PBS群、遊離OVAおよびCpG封入ACM、ならびに共投与されたACMに封入されたOVAおよびCpGが封入されたACM、C）CD8 T細胞SIINFEKL（SEQ ID NO:16）ペプチドエピトープに特異的なデキストラマー（dextramer）を使って定量されたOVA特異的CD8 T細胞。

【図１４Ｂ】図14Aの説明を参照。

【図１４Ｃ】図14Aの説明を参照。

【図１５Ａ】10^5個のB16F10細胞を接種したマウスのACM黒色腫B16F10製剤の治療的ワクチン接種の腫瘍成長曲線を表す。図15Aは、PBS群、共投与された遊離Trp2（SEQ ID NO:9）およびCpG、共投与されたTrp2が封入されたACMおよびCpG、共投与された遊離Trp2およびACMに封入されたCpG、ならびに一緒に共投与されたACMに封入されたTrp2およびACMに封入されたCpGを表し、図15Bは、CD8 T細胞SVYDFFVWL（SEQ ID NO:17）ペプチドエピトープに特異的なペンタマー（pentamer）を使って血中で定量されたTrp2特異的CD8特異的T細胞を表し、図15Cは腫瘍におけるCD8 T細胞浸潤を表す。

【図１５Ｂ】図15Aの説明を参照。

【図１５Ｃ】図15Aの説明を参照。

【図１６】OVAコンジュゲートACMの動的光散乱（DLS）スペクトルを表す。

【図１７】OVAコンジュゲートACMの特性解析を表し、図17AはOVAコンジュゲートACMのサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）プロファイルを表しており、図17Bは、SECピークからの試料をローディングして銀染色法を使って染色したSDS-PAGEを表している。

【図１８】HAコンジュゲートACMのDLSスペクトルを表す。

【図１９】ACMコンジュゲートHA試料のイムノブロットを表す。カップリングしたHAと遊離HAとでは移動度が異なる。

【図２０】すべての収集フラクションで実施したELISAシグナル（O.D.450、黒色のトレース）と重ね合わせた、HAコンジュゲートACMのSECプロファイル（mAU、薄灰色のトレース）を表す。

【図２１】PBS、遊離OVA、遊離OVAおよびSAS、BD21封入OVAおよびBD21コンジュゲートOVAで免疫処置されたC57Bl/6マウスの血清からの抗体力価を表す（$p<0.01$）。

【図２２】PBS、遊離HA、BD21封入HAおよびBD21コンジュゲートHAで免疫処置されたBalb/cマウスの血清からの抗体力価を表す。

【図２３Ａ】図23Aは、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（SARS-CoV-2）スパイクタンパク質（Sタンパク質）（UniProtKBアクセッション番号:P0DTC2）ならびにSEQ ID NO:34（アミノ酸残基16～1213）、SEQ ID NO:37（アミノ酸残基16～685）およびSEQ ID NO:38（アミノ酸残基685～1213）の可溶性フラグメントの模式的表現である。UniProtKBによれば、アミノ酸1214～1234は膜貫通領域を形成し、1235～1273番目はウイルス内領域を形成する。S1およびS2セグメントの端点、膜貫通領域、および/またはウイルス内領域は、予測ソフトウェアによって異なりうる。図23Bは、SARS-CoV-2スパイクタンパク質を封入しているACMによるマウスの免疫処置のためのプロトコールを表す。図23Cは、以下の製剤で免疫処置された35日目のBalb/cマウスにおいて測定されたIgG力価を表す:アジュバントと共投与されるBD21封入可溶性S1およびS2セグメント（第1群）、BD21封入可溶性S1およびS2セグメント（第2群）、封入アジュバントと共投与されるBD21封入可溶性S2セグメント（第3群）、および陰性

対照としてのPBS（第4群）。
【図２３Ｂ】図23Aの説明を参照。
【図２３Ｃ】図23Aの説明を参照。
【図２４】ACMに封入された完全長可溶性封入SARS-CoV-2スパイクタンパク質で免疫処置されたマウスのプロトコールとその結果を表す。図24Aは免疫処置プロトコールを表す。図24Bは、4つの群に関する第1免疫処置の28日後のSARS-CoV-2スパイクタンパク質に対するIgG抗体の力価を表す。以下の製剤を調製した:（i）遊離組換えスパイクタンパク質「fSpike」）、（ii）BD21ポリマーソーム封入スパイクタンパク質（「ACM-Spike」）、（iii）遊離スパイクタンパク質と遊離CpGアジュバントとの混合物（「fSpike fCpG」）、（iv）BD21ポリマーソーム封入スパイクタンパク質とBD21ポリマーソーム封入CpGとの混合物（「ACM-Spike ACM-CpG」）。
【図２５】異なる経路で投与された、CpGを封入しているACMと混合されたPEDv S2スパイクタンパク質を封入しているACMによるモルモットの免疫処置後の、ウイルス中和アッセイ（PEDv）の結果を表す。
【図２６】MERSスパイクタンパク質を封入しているACMで免疫処置されたマウスのプロトコールとその結果を表す。図26Aは免疫処置プロトコールを表し、図26BはMERS-CoVスパイクタンパク質S1ドメインに対するELISAの結果を表す。図26Cはウイルス中和アッセイ（MERS-CoV）の結果を表す。
【図２７】PEDvスパイクタンパク質のS1ドメインもしくはS2ドメインまたはS1およびS2ドメインの混合物のいずれかを封入しているACMで免疫処置されたマウスに関するウイルス中和アッセイ（PEDv）の結果を表す。
【図２８】CpG処置を実行した結果を表す。これは、自然免疫応答に基づくACM-CpGアジュバントによるサイトカインのインビトロ誘導が成功することを実証している。
【図２９】遊離CpGまたはACM-CpGによるcDCの活性化。a、b．cDC1およびcDC2におけるCD86およびCD80活性化マーカーの発現を表す代表的ヒストグラム。マウスに、PBS、空のACM、遊離CpGまたはACM-CpGをSC注射し、2日後に鼠径部リンパ節からのcDCを調べた。c、d．処置群間でのCD86^{+}およびCD80^{+}cDC1およびcDC2の比較。
【図３０】遊離CpG-BまたはACM封入CpG-Bのサイトカインプロファイル。a～c．遊離CpG-A、遊離CpG-BまたはACM-CpG-Bと共にインキュベートした後のヒトPBMCによるIL-6生産。d～f．IFNα生産。個々の用量応答曲線が示されている。健常ドナーの識別番号が右下に示されている。
【図３１】https://www.invivogen.com/cpg-odns-classesから引用して変更を加えた例示的なCpG ODNクラス。例示的なCpG-A ODNは、それらがPO中央CpG含有パリンドロームモチーフおよびPS修飾3'ポリGストリングを含むことを特徴とする。例示的なCpG-B ODNは、それらが、1つまたは複数のCpGジヌクレオチドを持つ完全PSバックボーンを含むことを特徴とする。例示的なCpG-C ODNは、それらがクラスAとクラスBの両方の特徴を併せ持つことを特徴とする。
【図３２】各CpG ODNに対する個々の種の反応性パターン（Rankin et al.,2001から採用）。[a]特定のODNと種の平均増殖応答が、その種に関して最大に刺激性であったODNに関する値の少なくとも50％であった場合に、その区画に陰をつけた。
【発明を実施するための形態】
【００９０】
発明の詳細な説明
以下の詳細な説明では添付の実施例と図面に言及するが、それらは本発明を実施する際にとりうる具体的詳細および態様を、例示のために示している。これらの態様は、当業者が本発明を実施することができるように、十分に詳しく記載されている。本発明の範囲から逸脱することなく、構造的、論理的および取捨選択的な変更を加えうるような形で、他の態様も利用しうる。本発明の局面は1つまたは複数の他の局面と組み合わされて本発明の新しい態様を形成することができるので、本明細書に記載する本発明のさまざまな局面は必ずしも相互排他的ではない。

【００９１】
本発明は、1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられた1種または複数種のアジュバントの単独投与によって対象における免疫応答（例えば自然免疫応答）を誘発する方法に関する。これは、本発明の1種または複数種のアジュバントを、例えば、1つまたは複数の本発明のポリマーソーム集団内に個別に封入することができ、それらのポリマーソームを対象に投与することができ、それによって免疫応答（例えば自然免疫応答）が誘発されることを、本質的に意味する。本発明に関して、1種または複数種のアジュバントの単独投与は、1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられた該1種または複数種のアジュバントと組み合わされて抗原（例えば免疫応答を、例えば抗体媒介性免疫応答を、誘発することができる抗原）が投与（例えば共投与）されないことを特徴としうる。したがって単独投与は、抗原が同時に（同じ時点で）または異なる時点で対象に投与されないことを特徴とすることができる。好ましい態様において、本発明の1種または複数種のアジュバントは、本発明のポリマーソームに封入される。別の好ましい一態様において、本発明のアジュバントは、CpGオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちCpG ODN、例えば本明細書に記載する任意の適切なCpG ODN）、または細菌およびマイクバクテリアの細胞壁およびタンパク質からなる群より選択される。

【００９２】
本発明は、ポリマーソームの第1集団が抗原のみと関連づけられ、ポリマーソームの第2集団がアジュバントのみと関連づけられた2つの別個のポリマーソーム集団が、一緒に投与された場合に、抗原に対する免疫応答を改良し、それによって、例えば感染性疾患またはがんなどに対する免疫処置または治療効果をもたらすという、驚くべき発見に基づく。（例えば本願の実施例7～9または実施例19を参照されたい。ここで、実施例8は、抗原を封入している第1ポリマーソーム集団を、CpG（アジュバント）を封入している別個の第2ポリマーソーム集団と一緒に投与すれば、マウスにおいて、腫瘍量とT細胞浸潤の両方に相関する免疫応答を生じることを示し、実施例9は、ポリマーソームの第1集団に封入された免疫原性腫瘍ネオ抗原Trp2ペプチドを、第2の（別個の）集団に封入されたCpGオリゴヌクレオチド（アジュバント）と一緒に投与すれば、例えば遊離Trp2ペプチドと比較して、はるかに強い抗腫瘍応答を示すことを示し、また実施例19は、Sars-CoV-2のスパイクタンパク質をポリマーソームの第1集団に封入し、CpGオリゴヌクレオチド（アジュバント）を第2の（別個の）集団に封入した場合に、Sars-CoV-2ウイルスのスパイクタンパク質に対する免疫応答が最も高いことを示している。そのような2つの別個のポリマーソーム集団が改良された免疫応答をもたらすという発見には、2つのポリマーソーム集団を互いに別々に/独立して生産することを可能にするという追加の利点がある。これは、結果として、例えば各ワクチン組成物または治療組成物のGMP生産を単純にする。というのも、ポリマーソームの第1集団、例えばポリマーソームに封入された抗原またはポリマーソームの表面にコンジュゲートされた抗原を含むものを、標準化されたGMP条件下で生産することができ、その一方で、ポリマーソームの第2集団、例えばポリマーソームに封入されたアジュバントまたはポリマーソームの表面にコンジュゲートされたアジュバントを含むものも、標準化された条件下で生産することができるからである。次に、これら2つの集団は、（共投与用に両ポリマーソーム集団を併せ持つ組成物を得るために）製造プロセスにおいて組み合わせるか、または対象に別々に投与することができる。そのような薬物/ワクチン製造プロセスは、例えば抗原とアジュバントの両方を同じポリマーソーム集団に封入することよりも、はるかに管理が容易である。

【００９３】
抗原は、抗原とポリマーソームの第1集団との考えうる任意の相互作用によって、ポリマーソームの第1集団と関連づけることができる。例えば抗原は、参照によりその内容全体が本明細書に組み入れられる2019年1月25日に出願された同時係属中のPCT出願PCT/EP2019/051853に記載されているように、ポリマーソームの第1集団内に封入されうる。あるいは、抗原は、国際出願WO2014/077781に記載されているように、ポリマーソームの第1集団のポリマーソームの周囲膜に組み込みうる。また、参照によりその

内容全体が本明細書に組み入れられる2018年9月12日に出願された同時係属中の欧州特許出願第18193946.3号に記載されているように、第1ポリマーソーム集団のポリマーソームの外表面に共有結合を介して抗原をコンジュゲートすることも可能である。

【００９４】

さらに、第1ポリマーソーム集団のポリマーソームの外表面に非共有結合を介して抗原をコンジュゲートすることも可能である。そのような非共有結合の例として、ポリマーソームの表面または抗原の表面に存在する正荷電残基と負荷電残基の間の塩橋などといった静電相互作用が挙げられる。例えば塩橋は正荷電アミノ基（NH_2基）と負荷電カルボン酸基（COOH）の間に形成させることができる。第1ポリマーソーム集団と抗原との間のそのような非共有結合相互作用のさらにもう一つの具体例は、ストレプトアビジンとビオチン、アビジンとビオチン、ストレプトアビジンとストレプトアビジン結合ペプチド、またはアビジンとアビジン結合ペプチドの間の結合ペアである。例えば、ビオチン基がポリマーソーム表面に配置されているポリマーソームは、Broz et al「Cell targeting by a generic receptor-targeted polymer nanocontainer platform」Journal of Controlled Release. 2005;102（2）:475-488に記載されているように調製することができ、ストレプトアビジンまたはアビジンにコンジュゲートされた抗原と反応させることができる。ポリマーソームと抗原との非共有結合的ビオチン-ストレプトアビジンコンジュゲートは、Egli et al「Functionalization of Block Copolymer Vesicle Surfaces Polymers」2011,3（1）,252-280に記載されているように調製することもできる。これに関連して、本明細書において使用される「ポリマーソームの第1集団と関連づけられた抗原」という用語は、1種の特定抗原だけがポリマーソームの第1集団と関連づけられていることを意味するのではなく、2種以上の、例えば2種またはそれ以上の抗原をポリマーソームの第1集団と関連づけることができることも包含する。具体的一例として、例えば2種またはそれ以上の免疫原性ペプチドを、本発明のポリマーソームの第1集団と関連づけることができる。また、1種または複数種の免疫原性ペプチドおよびそれらのペプチドをコードする各核酸分子を、本明細書にいうポリマーソームの第1集団と関連づけることも、可能である。本明細書において使用される「ポリマーソームの第1集団と関連づけられた抗原」という用語は、それぞれが異なる抗原を保持している2種またはそれ以上の第1ポリマーソーム集団を使用できることも意味する。例えば、2つの異なる抗原性ペプチドを使用し、それらのそれぞれを本発明の別個の第1ポリマーソーム集団と関連づけることが可能である。

【００９５】

アジュバントも、抗原とポリマーソームの第1集団との関連づけが起こりうるのと同じようにして、考えうる任意の相互作用により、ポリマーソームの第2集団と関連づけることができる。つまり、アジュバントは、参照によりその内容全体が本明細書に組み入れられる2019年1月25日に出願された同時係属中のPCT出願PCT/EP2019/051853に記載されているように、ポリマーソームの第1集団内に封入されうる。あるいは、アジュバントは、国際出願WO2014/077781に記載されているように、ポリマーソームの第1集団のポリマーソームの周囲膜に組み込みうる。（第2ポリマーソーム集団の）ポリマーソームの周囲膜に組み入れる/組み込むことができるアジュバントの具体例として、合成モノホスホリルリピドA（これについてはJean-Francois Jeannin編『Lipid A in Cancer Therapy』（2009,Landes Bioscience and Springer）のCluff著「Monophosphoryl Lipid A（MPL）as an Adjuvant for Anti-Cancer Vaccines:Clinical Results」を参照されたい）、ポリソルベート80、アルファ-DL-トコフェロール、ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウムプロパン（DOTAP）、カチオン性脂質1-［2-（オレオイルオキシ）エチル］-2-オレイル-3-（2-ヒドロキシエチル）イミダゾリニウムクロライド（DOTIM）（Bernstein et al「The Adjuvant CLDC Increases Protection of a Herpes Simplex Type 2 Glycoprotein D Vaccine in Guinea Pig」Vaccine. 2010 May 7;28（21）:3748-3753参照、または合成両親媒性物質ジメチルジオクタデシルアンモニウム（DDA）（Smith Korsholm et al「The adju

vant mechanism of cationic dimethyldioctadecylammonium liposomes」Immunology,121,216-226参照）が挙げられるが、これらはほんの一例に過ぎない。これに関連して、本明細書にいう第2ポリマーソーム集団のポリソームに1種または複数種のアジュバントが存在できることは明白である。例えば、第2ポリマーソーム集団は、CpGオリゴヌクレオチドなどの封入アジュバント、およびモノホスホリルリピドAまたはDOTAPなどの、ポリマーソームの周囲膜に組み込まれたアジュバントを含みうる（ただし上記の開示に従い、第2ポリマーソーム集団には抗原は含まれない。つまり、第2ポリマーソーム集団はいかなる抗原も含有しない）。

【００９６】

上記に沿って、参照によりその内容全体が本明細書に組み入れられる2018年9月12日に出願された同時係属中の欧州特許出願第18193946.3号に記載されているように、第1ポリマーソーム集団のポリマーソームの外表面に共有結合を介してアジュバントをコンジュゲートすることも当然ながら可能である。あるいは、ポリマーソームの外表面へのアジュバントのコンジュゲーションは、ビオチン-ストレプトアビジン相互作用などの非共有結合を介して行ってもよい。クラスB CpGオリゴデオキシヌクレオチドCpG ODN1826（5’-tccatgacgttcctgacgtt-3’、SEQ ID NO:18）などのCpGオリゴヌクレオチドは、ビオチン化された形態で入手することができ、したがって、前掲のBroz et al「Journal of Controlled Release. 2005に記載されているようにストレプトアビジンで「修飾」されたビオチン化ポリマーソームと容易に反応させることができる点に、ここでは留意されたい。またこの例から、第2ポリマーソーム集団が、2（種）以上のアジュバント、例えばポリマーソームの外表面に共有結合または非共有結合でコンジュゲートされたCpGオリゴヌクレオチドと、ポリマーソームの周囲膜に組み込まれたモノホスホリルリピドAまたはDOTAPなどのさらなるアジュバントとを保持しうることも明白である。同じアジュバントを異なる方法で第2ポリマーソーム集団と関連づけうること、例えばCpGオリゴヌクレオチドを、ポリマーソームに封入すると同時に、ポリマーソームの外表面に共有結合的または非共有結合的にコンジュゲートできることは、さらに明白である。そうすることにより、所望であれば、より多量のアジュバントを投与に供することができる。

【００９７】

上記の開示に沿って、抗原およびアジュバントが第1ポリマーソーム集団および第2ポリマーソーム集団にどのように関連づけられるかとは無関係に、あらゆる種類の第1ポリマーソーム集団を、あらゆる種類の第2ポリマーソーム集団と共に、投与のために使用することができる。例えば、ポリマーソームの第1集団は、ポリマーソーム内に封入された抗原を有し、そしてまた、ポリマーソームの第2集団は、ポリマーソーム内に封入されたアジュバントを有しうる。あるいは、ポリマーソームの第1集団は、ポリマーソームの外表面に共有結合または非共有結合によってコンジュゲートされた抗原を有することができ、一方、ポリマーソームの第2集団は、ポリマーソームの外表面に共有結合または非共有結合によってコンジュゲートされたアジュバントを有する。さらにもう一つの純粋に説明のための一例として、ポリマーソームの第1集団は、ポリマーソームの周囲膜に組み込まれた抗原を有し、そしてまた、ポリマーソームの第2集団は、ポリマーの周囲膜に組み込まれたアジュバントを有しうる。さらなる具体例として、ポリマーソームの第1集団は、ポリマーソーム内に封入された抗原を有し、一方、ポリマーソームの第2集団は、（a）ポリマーソームの外表面に共有結合または非共有結合によってコンジュゲートされたアジュバント、または（b）ポリマーソームの周囲膜に組み込まれたアジュバントを有しうる。さらにもう一つの具体例として、ポリマーソームの第1集団は、ポリマーソームの外表面に共有結合によってコンジュゲートされた抗原を有し、ポリマーソームの第2集団は、ポリマーソーム内に封入されたアジュバントを有しうる。

【００９８】

ここで、本発明の2つのポリマーソーム集団の投与について詳述すると、ポリマーソームの第1集団およびポリマーソームの第2集団は、同時に（すなわち同じ時点で）投与す

ることも、異なる時点で投与することもできる。2つの集団を同時に投与する場合、2つのポリマーソーム集団は一緒に（すなわち共投与によって）投与しうる。その場合、2つのポリマーソーム集団は、投与に先立って、一つに混和または混合されるので、同じ組成物、例えば薬学的に許容される担体（例えば生理緩衝液または経口投与に適した固形製剤）中に存在する。しかし、同じ時点で投与する場合、2つのポリマーソーム集団のそれぞれを個別に投与することも可能である。その場合、2つのポリマーソーム集団は、もちろん、投与に先立って互いに混和されず、例えば2回以上の別個の注射によって投与されうる。

【００９９】

2つのポリマーソーム集団は、対象における免疫応答を誘発することが知られており、所与の対象にポリマーソーム集団を投与するのに適した、任意の方法で、選ばれた対象に投与することができる。魚類またはニワトリ、ブタもしくはヒツジなどの農用動物が免疫処置される場合は、例えば経口投与を使用し、本発明の2つのポリマーソーム集団を含有する組成物を食品添加物として製剤化することが有利になりうる。あるいは、農用動物には注射銃またはジェットインジェクターを利用する皮内投与を使用しうる。ヒトの場合、侵襲的投与および非侵襲的投与を使用することができる。ヒトと非ヒト動物の両方に適した投与経路として、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与または筋肉内投与が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。

【０１００】

第1ポリマーソーム集団または第2ポリマーソーム集団のどちらかのポリマーソームの外表面への抗原および/またはアジュバントのコンジュゲーションについて詳述すると、共有結合は、抗原（例えば本発明の抗原）またはアジュバントを本発明のポリマーソームの外表面にコンジュゲートすることができる任意の適切な共有結合であることができる。本発明の共有結合を生じさせるコンジュゲーション反応は、当技術分野では周知である（例えばNHS-EDCコンジュゲーション、還元的アミノ化コンジュゲーション、スルフヒドリルコンジュゲーション、「クリック」および「光クリック」コンジュゲーション、ピラゾリンコンジュゲーションなど）。そのような共有結合とその生成方法の非限定的な例を、本明細書では以下に列挙する。したがっていくつかの局面において、本発明の抗原またはアジュバントを本発明のポリマーソームの外表面にコンジュゲートするための共有結合は、（i）アミド部分（例えば、本明細書の「実施例」に記載するもの）、および/または（ii）第二級アミン部分（例えば本明細書の「実施例」に記載するもの）、および/または（iii）1,2,3-トリアゾール部分（例えばvan Dongen et al.,2008,Macromol. Rapid Communications,2008,29,321-325頁に記載されているもの）、好ましくは1,2,3-トリアゾール部分は1,4-二置換［1,2,3］トリアゾール部分または1,5-二置換［1,2,3］トリアゾール部分（例えばBoren et al.,2008に記載されているもの）、および/または（iv）ピラゾリン部分（例えばde Hoog et al.,Polym. Chem.,2012,3,302-306に記載されているもの）、および/またはエーテル部分を含む。これに関連して、ポリマーソームの外表面と抗原との間のコンジュゲーション/共有結合の形成には、ポリマーソームと抗原、例えばタンパク質とを、どちらも修飾する必要があるかもしれないことに留意されたい。上述の古典的な化学的コンジュゲーションケミストリー（反応）だけでなく、酵素反応によってポリマーソームの外表面と抗原との間の共有結合を形成させることも可能である。

【０１０１】

いくつかの局面において、本発明は、本発明のポリマーソームに抗原をコンジュゲートする例示的代替方法のうちの1つであるNHS-EDCコンジュゲーション（すなわち、N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）と1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミド（EDC）に基づくコンジュゲーション））に関する。この方法では、カルボン酸基がEDCと反応して中間体O-アシルイソ尿素を生成し、次にそれが第一級アミンと反応して、該カルボキシル基とのアミド部分を形成する。

【０１０２】
いくつかの局面において、本発明は、本発明のポリマーソームに抗原またはアジュバントをコンジュゲートするもう一つの例示的代替方法である還元的アミノ化コンジュゲーションに関する。この方法では、アルデヒド含有化合物がアミン含有化合物にコンジュゲートされてシッフ塩基中間体を形成し、次にそれが還元を受けて、安定な第二級アミン部分を形成する。
【０１０３】
いくつかの局面において、本発明は、本発明のポリマーソームに抗原またはアジュバントをコンジュゲートするもう一つの例示的代替方法であるスルフヒドリルコンジュゲーションに関する。この方法では、スルフヒドリル（-SH）含有化合物（例えばシステインの側鎖中に存在するもの）が、アルキル化またはジスルフィド交換によってスルフヒドリル反応性化学基（例えばマレイミド）にコンジュゲートされて、それぞれチオエーテル結合またはジスルフィド結合を形成する。
【０１０４】
いくつかの局面において、本発明は、本発明のポリマーソームに抗原をコンジュゲートするもう一つの例示的代替方法であるポリマーソーム表面でのいわゆる「クリック」反応（「アジド-アルキン付加環化」としても公知である）（例えば前掲のvan Dongen et al.,2008に記載されているもの）に関する。この方法では、アジド官能化抗原（例えばポリペプチド）の水溶液をポリマーソームの分散系に加え、次に、結果として生じたポリマーソームの分散系に、前もって混合されたCu（II）SO_4・$5H_2O$とアスコルビン酸ナトリウムの水溶液およびバソフェナントロリンリガンドを加えてから、4℃で60時間放置し、次に該分散系を100nmカットオフで濾過し、遠心乾固することで、1,2,3-トリアゾール部分を生成させる。これに関連して、アジド-アルキン付加環化の銅触媒反応（CuAACとしても公知である）では特異的に1,4-二置換位置異性体の合成が可能になり、一方、アジド-アルキン付加環化のルテニウム触媒反応（RuAACとしても公知である）（例えば触媒としてCp＊RuCl（PPh_3）$_2$を使用するもの）では1,5-二置換トリアゾールの生産が可能になる（R.Johansson,Johan＆Beke-Somfai,Tamas＆Said Stalsmeden,Anna＆Kann,Nina.（2016）. Ruthenium-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition Reaction:Scope,Mechanism,and Applications. Chemical Reviews. 116.10.1021/acs.chemrev.6b00466参照）ことにも、留意されたい。
【０１０５】
いくつかの局面において、本発明は、本発明のポリマーソームに抗原をコンジュゲートするもう一つの例示的代替方法であるニトリルイミン中間体（例えばビスアリール-テトラゾールから生成するもの）の光誘起生成およびアルケンへのその付加環化（いわゆる光誘起付加環化または「光クリック」反応、例えば前掲のde Hoog et al.,2011に記載されているもの）に関する。この方法では、ABAブロックコポリマーを、ニトリルイミン中間体の光誘起生成により、テトラゾールで、メタクリレート（MA）末端化またはヒドロキシル末端化して、MA-ABAコポリマーおよびヒドロキシル末端化ABAコポリマーを含有するABAポリマーソームを生産し、次に該ポリマーソームをテトラゾール含有抗原（HRP）とUV照射下で反応させることで、ピラゾリン部分を生成させる。
【０１０６】
ポリマーソームの外表面に抗原またはアジュバントをコンジュゲートする共有結合は、ポリマーソームの周囲膜の（中に存在する）一部である両親媒性ポリマーなどの分子の原子/基との間に形成させることができる。あるいは、抗原または抗原とポリマーの外表面との間の共有結合は、ポリマーソームの周囲膜の（中に存在する）一部である分子に取り付けられたリンカー部分を介して形成される。リンカーは、任意の適切な長さを有してよく、1主鎖原子の長さを有することができる（例えばリンカーが、共有結合を形成するアミドまたはエステル部分をもたらす単純なカルボニル基（C＝O）である場合）。1主要原子の長さを持つそのような「1原子/リンカー部分」の具体例は、BD_{21}-CHO（すなわち末端アルデヒド基）を得るために「実施例」において実行されるデス-マーチン・ペル

ヨージナンによる両親媒性ポリマーBD21の修飾であり、これは次に、選択された抗原（実験項では純粋に説明のための抗原の一例としてヘマグルチニンが使用される）とのアミン結合を形成させるために使用される。あるいは、リンカー部分は、例えばポリペプチドと関心対象の分子とのコンジュゲーション（共有結合カップリング）によく使用されるポリエチレングリコール（PEG）などの部分であれば、数百個またはそれ以上の主鎖原子の長さを有しうる。純粋に説明のための一例として、後述し、本願の「実施例」において使用する、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン［DSPE］ポリエチレングリコール（DSPE-PEG）コンジュゲートを参照されたい。「実施例」において使用されるDSPE-PEG（3000）リンカー部分は、約65個のエチレンオキシド（CH_2-CH_2-O）サブユニット、したがってPEG部分だけで約325主鎖原子を有し、全体では約408主鎖原子の長さを有する。上記の例示的態様に沿って、リンカー部分は、1～約550個の主鎖原子、1～約500個の主鎖原子、1～約450個の主鎖原子、1～約350個の主鎖原子、1～約300個の主鎖原子、1～約250個の主鎖原子、1～約200個の主鎖原子、1～約150個の主鎖原子、1～約100個の主鎖原子、1～約50個の主鎖原子、1～約30個の主鎖原子、1～約20個の主鎖原子、1～約15個の主鎖原子、または1～約12個の主鎖原子、または1～約10個の主鎖原子を含んでよく、ここで、主鎖原子は、N、O、PおよびSからなる群より選択される1つまたは複数のヘテロ原子で置き換えられていてもよい炭素原子である。

【０１０７】

上記の開示によれば、リンカー部分は、ペプチドリンカーまたは直鎖もしくは分岐鎖炭化水素ベースのリンカーでありうる。リンカー部分は、異なるブロック長を持つコポリマーであってもよい。本発明において使用されるリンカー部分は、ポリマーソームの膜にリンカー部分を組み込む膜アンカードメイン（membrane anchoring domain）を含みうる。そのような膜アンカードメインは、リン脂質または糖脂質などの脂質を含みうる。膜アンカードメインに使用される糖脂質は、広く使用されている膜アンカードメインであるグリコホスファチジルイノシトール（GPI）を含みうる（例えば国際特許出願WO2009/127537およびWO2014/057128参照）。本発明のリンカーにおいて使用されるリン脂質はスフィンゴリン脂質またはグリセロリン脂質でありうる。そのようなリンカーの具体例において、スフィンゴリン脂質は、膜アンカードメインとして、ポリエチレングリコール（PEG）にコンジュゲートされたジステアロイルホスファチジルエタノールアミン［DSPE］（DSPE-PEG）を含みうる。そのようなコンジュゲートにおいて、DSPE-PEGは、任意の適切な数のエチレンオキシド、例えば2～約500個のエチレンオキシド単位を含みうる。具体例として、DSPE-PEG（1000）、DSPE-PEG（2000）またはDSPE-PEG（3000）が挙げられるが、これらはほんの一例に過ぎない。あるいは、リン脂質（スフィンゴリン脂質またはグリセロリン脂質）は、膜アンカードメインとしてコレステロールを含みうる。コレステロールベースの膜アンカードメインは、例えばAchalkumar et al,「Cholesterol-based anchors and tethers for phospholipid bilayers and for model biological membranes」Soft Matter,2010,6,6036-6051に記載されている。例示的態様において、そのような膜アンカードメインのリンカー部分は、1～約550個の主鎖原子、1～約500個の主鎖原子、1～約450個の主鎖原子、1～約350個の主鎖原子、1～約300個の主鎖原子、1～約250個の主鎖原子、1～約200個の主鎖原子、1～約150個の主鎖原子、1～約100個の主鎖原子、1～約50個の主鎖原子、1～約30個の主鎖原子、1～約20個の主鎖原子、1～約15個の主鎖原子、または1～約12個の主鎖原子、または1～約10個の主鎖原子を含んでよく、ここで、主鎖原子は、N、O、PおよびSからなる群より選択される1つまたは複数のヘテロ原子で置き換えられていてもよい炭素原子である。

【０１０８】

本発明では、関連づけられた抗原またはアジュバントにとって担体として機能することができるポリマーソームである限り、あらゆる種類のポリマーソームを使用することができる。ポリマーソームは、例えばStano et al.「Tunable T cell immunity towards a protein antigen using polymersomes vs. solid-core nanoparticles,Bio

materials 34（2013）:4339-4346」またはHubbelの米国特許第8,323,696号に記載の酸化感受性ポリマーソームであることができる。あるいは、ポリマーソームは酸化に対して非感受性であってもよい。化学的安定性（酸化に対して感受性または非感受性である可能性を含む）とは無関係に、本発明において、ポリマーソームとはポリマー膜を持つベシクルであり、これは、典型的には、ジブロックおよびトリブロック（A-B-AまたはA-B-C）などのさまざまなタイプであることができる1種または複数種の両親媒性ブロック共重合体の希薄溶液の自己集合によって形成されるが、必ずしもそうではない。本発明のポリマーソームはテトラブロック共重合体またはペンタブロック共重合体でも形成されうる。トリブロック共重合体の場合、中心ブロックはその隣接ブロックによって環境から遮蔽されることが多いが、ジブロック共重合体は二重層に自己集合して、2つの疎水性ブロックを尾-尾状に配置することで、ほぼ同じ効果を発揮する。ほとんどの場合、ベシクル膜は不溶性の中間層と可溶性の外側層とを有する。自己集合によるポリマーソーム形成の駆動力は、自らを水との接触から遮蔽するために会合する傾向を示す不溶性ブロックのミクロ相分離であると考えられる。本発明のポリマーソームは、構成共重合体の大きな分子量ゆえに、注目すべき特性を有する。ブロック共重合体の総分子量が増加するとベシクル形成が有利になる。結果として、（ポリマー状）両親媒性物質の拡散は、脂質および界面活性剤によって形成されるベシクルと比べて、極めて少ない。ベシクル構造に凝集したポリマー鎖の可動性はこのように低いため、安定したポリマーソーム形態を得ることが可能である。別段の明言がある場合を除き、本明細書において使用する「ポリマーソーム」および「ベシクル」という用語は、類似していると解釈され、相互可換的に使用されうる。重要なことに、本発明のポリマーソームは、1種類のブロック共重合体から形成させるか、2種類以上のブロック共重合体から形成させることができる。つまり、ポリマーソームは、ポリマーソームの混合物から形成させることもでき、したがって2種以上のブロック共重合体を含有することができる。いくつかの局面において、本発明のポリマーソームは酸化安定性である。

【０１０９】

いくつかの局面において、本発明は、対象における可溶性（例えば可溶化）封入抗原に対する免疫応答を誘発するための方法に関する。本方法は、両親媒性ポリマーの膜（例えば周囲膜）を有するポリマーソーム（例えば担体または媒体）を含む組成物を対象に注射するのに適している。組成物は、本発明のポリマーソームの両親媒性ポリマーの膜（例えば周囲膜）によって封入された可溶性（例えば可溶化）抗原を含む。抗原は以下のうちの1つまたは複数でありうる:（i）ポリペプチド、（ii）糖質、（iii）ポリヌクレオチド（例えばポリヌクレオチドはアンチセンスオリゴヌクレオチドではなく、好ましくはポリヌクレオチドはDNA分子またはメッセンジャーRNA（mRNA）分子である）、または（i）および/もしくは（ii）および/もしくは（iii）の組合せ。

【０１１０】

いくつかのさらなる局面において、本発明は、CD8（＋）T細胞媒介性免疫応答を誘発することができるポリマーソームに関する。

【０１１１】

いくつかの局面において、本発明は、リンパ節常在性マクロファージおよび/またはB細胞をターゲティングする能力を有するポリマーソームに関する。本発明によって想定される例示的な非限定的ターゲティング機序には、（i）T細胞活性化（CD4および/またはCD8）のための樹状細胞（DC）への封入抗原（例えばポリペプチドなど）の送達が含まれる。もう1つの機序は、（ii）DCへの経路となり、力価（B細胞）もトリガーするであろう、折りたたまれた抗原全体（例えばタンパク質など）の送達である。

【０１１２】

いくつかの局面において、本発明は、（i）自己抗原、（ii）非自己抗原、（iii）非自己免疫原および（iv）自己免疫原からなる群より選択される抗原を封入したポリマーソームに関する。したがって、本発明の産物および方法は、例えば自己免疫疾患を標的とする場合など、誘導性寛容の状況下（例えば臨床状況下）での使用に適している。

【０１１３】
いくつかの局面において、本発明は、脂質ポリマーを含む本発明のポリマーソームに関する。
【０１１４】
本発明のポリマーソームは、1種または複数種のアジュバントを共封入（すなわち抗原に加えて封入）していてもよい。アジュバントの具体例を少しだけ挙げると、Toll様受容体9を発現する細胞（ヒトの形質細胞様樹状細胞およびB細胞を含む）がTh1および炎症誘発性サイトカインの生産を特徴とする先天性免疫応答を開始するためのトリガーとなりうる非メチル化CpGモチーフを含有する合成オリゴデオキシヌクレオチド（ODN）、インターロイキン-1、インターロイキン-2またはインターロイキン-12などのサイトカイン、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）、血清アルブミン、ウシチログロブリン、または大豆トリプシンインヒビターなどがある。
【０１１５】
本発明のポリマーソームは、そのポリマーソームが免疫応答を誘発できる限り、任意のサイズであることができる。例えばポリマーソームは70nm超の直径を有してもよい。ポリマーソームの直径は約100nm～約1μm、または約100nm～約750nm、または約100nm～約500nmの範囲であってもよい。ポリマーソームの直径は、さらに、約125nm～約175nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲であってもよい。ポリマーソームの直径は、例えば約200nm、約205nmまたは約210nmであってもよい。免疫応答を誘発するために（第1および第2の）集団として使用する場合、ポリマーソームの集団は、典型的には単分散性の集団である。使用されるポリマーソームの集団の平均直径は、典型的には70nm超、または120nm超、または125nm超、または130nm超、または140nm超、または150nm超、または160nm超、または170nm超、または180nm超、または190nm超である（この点で図2も参照されたい）。ポリマーソームの集団の平均直径は、例えば、上述した個々のポリマーソームの範囲にあってもよい。つまり、ポリマーソームの集団の平均直径は、100nm～約1μmの範囲、または約100nm～約750nmの範囲、または約100nm～約500nmの範囲、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、もしくは約220nm～約180nm、もしくは約190nm～約210nmの範囲にあってもよい。ポリマーソームの集団の平均直径は、例えば約200nm、約205nmまたは約210nmであってもよい。直径は、例えば動的光散乱（DLS）計器により、好ましいDLSパラメータであるZ-平均（d,nm）を使って決定することができる。Z-平均サイズは強度加重調和平均粒径（intensity weighted harmonic mean particle diameter）である（実施例1および実施例2参照）。これに関連して、Hubbelらの米国特許第8,323,696号によれば、免疫応答を誘発することができるように、ポリマーソームの集合体/集団は70nm未満の平均直径を有するべきとされていることに留意されたい。同様に、前掲のStano et al,2013は、もっと小さなポリマーソームを使用することを望みつつも、技術的制約から、免疫応答を誘発するために125nm±15nmの直径を有するポリマーソームを使用した。このように、例えば150nm超の平均直径を持つ本発明のポリマーソームの集団/集合体が、細胞性免疫応答と体液性免疫応答をどちらも誘導できることは（「実施例」参照）、驚くべきことである。そのようなポリマーソームの集合体は、例えば注射または経口投与によって免疫応答を誘発するのに適した形態をとりうる。
【０１１６】
いくつかの局面において、本発明は、皮内、腹腔内、皮下、静脈内、もしくは筋肉内注射、または本発明の抗原の非侵襲的投与、例えば経口投与または吸入投与または経鼻投与に適した、本発明の組成物に関する。組成物は、両親媒性ポリマーの膜（例えば周囲膜）を有する本発明のポリマーソーム（例えば担体）を含みうる。組成物は、ポリマーソームの両親媒性ポリマーの膜によって封入された可溶性（例えば可溶化）抗原を、さらに含む

。本発明の組成物は、治療目的（例えば罹患している対象の処置、またはワクチン接種などによる罹患の防止）に使用するか、抗体の発見、ワクチンの発見、または標的送達に使用することができる。

【０１１７】

いくつかの局面において、本発明のポリマーソームはその表面にヒドロキシル基を有する。いくつかのさらなる局面において、本発明のポリマーソームはその表現にヒドロキシル基を有しない。

【０１１８】

本願に関して、「封入（された）」という用語は、膜（例えば本発明のポリマーソームの膜）に囲まれる（例えば該ポリマーソームの内腔内に包含される）ことを意味する。抗原に関して「封入（された）」という用語は、抗原が膜（例えば本発明のポリマーソームの膜）に組み込まれてもいないし、共有結合もしていないし、コンジュゲートもしていないことを、さらに意味する。本明細書に記載するポリマーソームのベシクル構造のコンパートメント化に関して、「封入（された）」という用語は、内側のベシクルが外側のベシクルの内部に完全に含まれ、外側ベシクルのベシクル膜に囲まれていることを意味する。外側ベシクルのベシクル膜に囲まれた閉鎖空間が1つのコンパートメントを形成する。内側ベシクルのベシクル膜に囲まれた閉鎖空間がもう1つのコンパートメントを形成する。

【０１１９】

本願に関して、「単独投与」という用語は、抗原が、本発明の1種または複数種のアジュバントと組み合わされて（例えば同時にまたは異なる時点で（例えば前および/または後に）投与（例えば共投与）されないことを特徴とする投与の一種を指しうる。好ましい態様において、本発明の1種または複数種のアジュバントの単独投与は、例えばインターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌を含む自然免疫応答を誘発する。

【０１２０】

本願に関して、本明細書において使用される「アジュバント」という用語は、抗原と共に、または抗原なしで、免疫応答を誘導し、強化しまたは改良することができる化合物または物質を指しうる。本発明のアジュバントには、抗原なしで免疫応答（例えば自然免疫応答）を誘導することができる免疫賦活薬が、さらに含まれる。例示的な本発明のアジュバントとしては、抗原の存在下で免疫応答を誘導し、強化しまたは改良することができる化合物または物質が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。

【０１２１】

本願に関して、本明細書において使用される「自然免疫応答」という用語は、ほんの一例に過ぎないが、Th1サイトカインおよび炎症性サイトカイン、インターロイキン-1、インターロイキン-2、インターロイキン-6もしくはインターロイキン-12などのサイトカインの生産、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）、血清アルブミン、ウシチログロブリン、または大豆トリプシンインヒビターなどを特徴とする、免疫応答を指しうる。

【０１２２】

本願に関して、「抗原」という用語は、免疫系成分によって特異的に結合されうる任意の物質を意味する。免疫応答を誘発（または惹起もしくは誘導）することができる抗原だけが免疫原性であるとみなされ、「免疫原」と呼ばれる。例示的な非限定的抗原は、タンパク質の可溶性部分に由来するポリペプチド、封入のために可溶性にされた疎水性ポリペプチド、ならびに凝集物として可溶性である凝集ポリペプチドである。抗原は、体内に起源を持つか（「自己抗原」）、または外部環境に起源を持ちうる（「非自己」）。

【０１２３】

膜タンパク質は、典型的には低レベルの免疫応答を生じる抗原の1クラスを形成する。特に興味深いことに、可溶性（例えば可溶化）膜タンパク質（MP）ならびに膜結合ペプチド（MAP）およびそのフラグメント（すなわち一部分）（例えば本明細書において言及する抗原）はポリマーソームによって封入され、そのことが、それらが生理学的に意味のある形で折りたたまれることを可能にしうる。これは、そのような抗原の免疫原性を強

くブーストするので、遊離の抗原と比較した場合、より少量の対応する抗原を使って、同じレベルの免疫応答を生じさせることができる。さらにまた、ポリマーソームのサイズが（遊離の膜タンパク質と比べて）大きいことは、それらが免疫系によってより容易に検出されることを可能にする。

【０１２４】

本願に関して、「B16ペプチド」という用語は、自然発生C57BL/6由来B16黒色腫モデル（例えば黒色腫B16-F10マウスモデル）に由来する任意のネオ抗原ポリペプチドを指す。その非限定的な例としてSEQ ID NO:9、10および11のペプチドが挙げられる。

【０１２５】

本願に関して、「MC38ペプチド」という用語は、大腸がんMC38マウスモデルに由来する任意のネオ抗原ポリペプチドを指す。その限定的な例としてSEQ ID NO:1、2および3のペプチドが挙げられる。

【０１２６】

本願に関して、「インフルエンザヘマグルチニン（HA）」という用語は、インフルエンザウイルスの表面に見出される糖タンパク質を指す。HAは少なくとも18種の異なる抗原を有し、それらはすべて本発明の範囲内である。これらのサブタイプはH1～H18と名付けられる。「インフルエンザヘマグルチニン（HA）」サブタイプH1の非限定的な例としてSEQ ID NO:5、6、7および8のポリペプチドが挙げられる。

【０１２７】

本願において「ブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）」という用語は、ブタに特有のインフルエンザウイルスのファミリーであるブタインフルエンザウイルスの表面に見出される糖タンパク質を指す。「ブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）」の非限定的な例として、SEQ ID NO:6のサブタイプH1が挙げられる。

【０１２８】

本願に関して、「コロナウイルス」という用語は、エンベロープを持つプラス-センス一本鎖RNAウイルスのファミリーであるコロナウイルス科の亜科のウイルスを指す。コロナウイルスは、哺乳動物および鳥類において疾患を引き起こしうる。この亜科には、アルファコロナウイルス、ベータコロナウイルス、ガンマコロナウイルスおよびデルタコロナウイルスという4つの属がある。ヒトにおいて、コロナウイルスは気道感染を引き起こしうる。これは軽症である場合もあるし、SARS、MERSおよびCOVID-19など、致死的である場合もある。ヒト病原性コロナウイルスは一般にアルファコロナウイルス属またはベータコロナウイルス属に属する。アルファコロナウイルス属に属するウイルスは、例えば、PEDv、伝染性胃腸炎ウイルス（TGEV）、ネコ腸コロナウイルス（FECV）およびネコ感染性腹膜炎ウイルス（FIPV）を含むネココロナウイルス（FCoV）、イヌコロナウイルス（CCoV）、またはヒト病原性コロナウイルスであるヒトコロナウイルス229E（HCoV-229E）およびヒトコロナウイルスNL63（HCoV-NL63）などである。ベータコロナウイルス属内では、サルベコウイルス亜属およびメルベコウイルス亜属が本開示に最も関連し、これらには種SARS-CoV-1、SARS-CoV-2およびMERS-CoVが含まれる。他のヒト病原性ベータコロナウイルスは、ヒトコロナウイルスOC43（HCoV-OC43）、ヒトコロナウイルスHKU1（HCoV-HKU1）である。ヒト病原性コロナウイルスについては、Corman VM,Muth D,Niemeyer D,Drosten C.,Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. Adv Virus Res. 2018;100:163-188に総説がある。

【０１２９】

本願に関して、「スパイクタンパク質」という用語は、ウイルスキャプシドまたはウイルスエンベロープの表面に存在する糖タンパク質をいう。スパイクタンパク質は、宿主細胞上の一定の受容体に結合するので、宿主特異性にとってもウイルスの感染性にとっても重要である。

【０１３０】

本願に関して、「PEDv Sタンパク質」という用語は、ブタにおけるコロナウイルスの

ファミリーであるブタ流行性下痢ウイルス（PEDV）の表面に存在するスパイク糖タンパク質を指す。本明細書において使用されうる可溶性「PEDv Sタンパク質」の非限定的な例としては、ブタ流行性下痢ウイルス（PEDv）スパイクタンパク質（Sタンパク質）（UniProtKBアクセッション番号V5TA78）の、SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を有するS1領域とS2領域とからなる可溶性フラグメント全体、SEQ ID NO:13のS1領域の可溶性フラグメント、またはSEQ ID NO:14のS2領域の可溶性フラグメントが挙げられる。S1領域およびS2領域の可溶性フラグメント全体の、またはS1領域もしくはS2領域のどちらか一方のみの、より短いフラグメントを使用することも、もちろん可能である（この点については図12参照）。本発明のポリマーソームにおいて、S1の一部とS2の一部とを含有するフラグメント、例えばスパイクタンパク質の寄託された配列のアミノ酸500～939を使用することも、もちろん可能である。本発明のポリマーソームが、スパイクタンパク質の1種または複数種の異なる可溶性フラグメント、例えばS1領域、S2領域ならびに/またはS1領域とS2領域の全体などを封入していてもよいことにも留意されたい。本発明のポリマーソームの例示的な態様では、本発明のポリマーソームは、その中に、1タイプの可溶性フラグメント（例えばS1領域のみ）、2つの異なるタイプの可溶性フラグメント（例えばS1領域およびS2領域）、3つの異なるタイプの可溶性フラグメント（S1領域、S2領域、およびSEQ ID NO:12のS1とS2の全可溶性フラグメント（アミノ酸残基19～1327））、さらには4つの異なるタイプのフラグメント（例えば、S1領域、S2領域、SEQ ID NO:12のS1とS2の全可溶性フラグメント（アミノ酸残基19～1327）、および4番目のタイプとして、S1の一部とS2の一部とを含有する上述のフラグメント、例えばスパイクタンパク質配列のアミノ酸500～939）を封入している。ここで、スパイクタンパク質の1つまたは複数の異なる可溶性フラグメントを封入している本発明のポリマーソームが、好ましい一態様では、ブタ流行性下痢ウイルスに対する経口ワクチンとして使用されることにも留意されたい。

【０１３１】

本願に関して、「MERS-CoV Sタンパク質」または「MERS-CoVスパイクタンパク質」という用語は、ヒト病原性コロナウイルスである中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（MERS-CoV）の表面に存在するスパイク糖タンパク質を指す。本開示のMERS-CoVスパイクタンパク質は、UniProtKBアクセッション番号:2020年2月26日のK0BRG7バージョン40（GenBankアクセッション番号AFS88936、バージョンAFS88936.1）またはSEQ ID NO:42に示される配列を有する。本発明において使用されうる可溶性「MERS-CoV Sタンパク質」の非限定的な例として、MERS-CoVスパイクタンパク質の1～1297番目に対応しうる、またはSEQ ID NO:43に示すアミノ酸配列を有する、MERS-CoVスパイクタンパク質（Sタンパク質）のS1およびS2領域の全可溶性フラグメントが挙げられる。本発明において使用されうる可溶性「MERS-CoV Sタンパク質」の非限定的な例としては、MERS-CoVスパイクタンパク質（Sタンパク質）の18～725番目に対応し、またはSEQ ID NO:44のアミノ酸配列を有する、S1領域も挙げられる。本発明において使用されうる可溶性「MERS-CoV Sタンパク質」の非限定的な例としては、MERS-CoVスパイクタンパク質（Sタンパク質）の726～1296番目に対応しうる、またはSEQ ID NO:45のアミノ酸配列を有する、S2領域の可溶性フラグメントも挙げられる。S1およびS2領域の全可溶性フラグメントの、またはS1領域もしくはS2領域のどちらか一方単独の、さらに短いフラグメントを使用することも、もちろん可能であり、例えばフラグメントは、MERS-CoVスパイクタンパク質の377～588番目に対応し、またはSEQ ID NO:46のアミノ酸配列を有する、受容体結合ドメイン（RBD）を含みうる。本発明のポリマーソームが、スパイクタンパク質の1種または複数種の異なる可溶性フラグメント、例えばS1領域、S2領域、もしくはそれらの可溶性フラグメント、S1およびS2領域の全可溶性フラグメント、ならびに/またはRBDなどを封入しうることにも、ここでは留意されたい。本発明のポリマーソームの例示的な態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、1タイプの可溶性フラグメント（例えばS1およびS2領域の全可溶性フラグメントのみ）、2つの異なるタイプの可溶性フラグメント（例えばS1およびS2領域の全可

溶性フラグメントならびにS1領域全体またはS2領域の可溶性フラグメント）、3つの異なるタイプの可溶性フラグメント（S1領域、S2領域の可溶性フラグメント、およびSEQ ID NO:42のS1とS2の全可溶性フラグメント（アミノ酸残基1～1297））、さらには4つの異なるタイプのフラグメント（例えば、S1領域、S2領域の可溶性フラグメント、SEQ ID NO:42のS1とS2の全可溶性フラグメント（アミノ酸残基1～1297）、および4番目のタイプとして、RBD）を封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長MERS-CoVスパイクタンパク質のアミノ酸残基18～725に対応するS1領域を含むか、同領域から本質的になるか、または同領域からなる可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長MERS-CoVスパイクタンパク質のアミノ酸残基726～1296に対応するS2領域の可溶性フラグメントを含むか、同可溶性フラグメントから本質的になるか、または同可溶性フラグメントからなる可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長MERS-CoVスパイクタンパク質のアミノ酸残基1～1297に対応するS1およびS2領域を含むか、同領域から本質的になるか、または同領域からなる可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長MERS-CoVスパイクタンパク質のアミノ酸残基1～1327に対応するS1およびS2領域を含むか、同領域から本質的になるか、または同領域からなるフラグメントを封入している。これに関連して、「から本質的になる」とは、フラグメントのN末端点および/またはC末端点が、限られた範囲内で、例えば25アミノ酸位置まで、例えば20アミノ酸位置まで、例えば15アミノ酸位置まで、10アミノ酸位置まで、5アミノ酸位置まで、4アミノ酸位置まで、3アミノ酸位置まで、2アミノ酸位置まで、または1アミノ酸位置までの範囲内で、変動しうることを意味する。一具体例として、完全長MERS-CoVスパイクタンパク質のアミノ酸726～1296から本質的になるフラグメントは、完全長MERS-CoVスパイクタンパク質の716～1296番目、736～1296番目、726～1286番目、または726～1306番目、716～1286番目、736～1286番目、736～1306番目、または716～1306番目からなりうる。

【０１３２】

本開示のMERS-CoVスパイクタンパク質は、上述した配列のバリアントも含みうる。このバリアントには、MERS-CoVの他の分離株の天然のバリアントも、MERS-CoV Sタンパク質の配列に導入することができる人工的修飾も含まれる。一具体例として、変異は、発現されるタンパク質の形成を変化させるために導入することができる。この目的のために、SEQ ID NO:42の754～757番目に位置するフューリン切断部位を変異させうる。発現後切断の低減は、このアミノ酸配列の塩基性を低減することによって達成されうる。例えば、残基アルギニン754および/または757を、それより塩基性の低いアミノ酸、例えばグリシン（位置番号はSEQ ID NO:42に示すアミノ酸配列に対応する）または他の低塩基性アミノ酸に変異させうる。したがって、RSVR（SEQ ID NO:58）というネイティブ配列を有するフューリン切断部位を、GSVG（SEQ ID NO:59）に変異させうる。さらなる修飾として、三量体化ドメインを、好ましくはタンパク質のC末に付加することを挙げることができ、これは、S1および/またはS2ドメインのネイティブなフォールドを増加させるのに役立ちうる。そのような三量体化ドメインとしては、フォルドンドメイン（例えばSEQ ID NO:54）、GCN4ベースの三量体化ドメイン（SEQ ID NO:55またはSEQ ID NO:56など）、または当業者に周知の他のモチーフを挙げることができる。さらに、分泌リーダー配列をタンパク質のN末に付加してもよく、これにより、生産ならびに/または後続の処理、例えば単離および精製が改良されうる。そのようなリーダー配列の一具体例はミツバチメリチンリーダー配列（SEQ ID NO:57）である。他にも有用なリーダー配列が当業者には周知である。したがって、本開示のスパイクタンパク質の可溶性フラグメントには、明細書において明示的または暗示的に開示するスパイクタンパク質の可溶性フラグメントの特定配列の、同一性の高いバリアントも含まれる。例えば、本開示のスパイクタンパク質の可溶性フラグメント、特に本開示のMERS-CoV Sタンパク質の可溶性フラグメントに対して、少なくとも約95％、少なくとも約96％、少なく

とも約97％、少なくとも約98％、または少なくとも約99％の配列同一性を有するバリアント。一具体例として、本開示のSフラグメントの可溶性フラグメントは、SEQ ID NO:43～46からなる群より選択される配列に対して少なくとも約95％、少なくとも約96％、少なくとも約97％、少なくとも約98％、または少なくとも約99％の配列同一性を有する配列を含むか、同配列から本質的になるか、または同配列からなりうる。

【０１３３】

上記に代えて、または上記に加えて、本開示のポリマーソームは、1種または複数種の核酸、例えば、本開示の1つまたは複数種のMERS-CoVスパイクタンパク質またはその可溶性フラグメントをコードするmRNA、自己増幅mRNA、DNAを封入していてもよい。

【０１３４】

好ましい一態様では、MERS-CoVスパイクタンパク質の1つまたは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長MERS-CoVスパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームが、ヒト疾患、特にヒト病原性コロナウイルスによる感染症、特に中東呼吸器症候群（MERS）に対するワクチンとして使用されることにも、ここでは留意されたい。したがって、MERS-CoVスパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長MERS-CoVスパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、発熱、咳、喀痰、息切れ、肺炎および/または急性呼吸窮迫症候群（ARDS）の処置（防止を含む）に使用されうる。

【０１３５】

好ましい一態様において、MERS-CoVスパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長MERS-CoVスパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、筋肉内に投与される。好ましい一態様において、MERS-CoVスパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長MERS-CoVスパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、鼻腔内に投与される。好ましい一態様において、MERS-CoVスパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長MERS-CoVスパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、吸入によって投与される。

【０１３６】

本願に関して、「SARS-CoV-2 Sタンパク質」または「SARS-CoV-2スパイクタンパク質」という用語は、ヒト病原性コロナウイルスである重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（SARS-CoV-2）の表面に存在するスパイク糖タンパク質を指す。本開示のSARS-CoV-2スパイクタンパク質は、UniProtKBアクセッション番号:2020年4月22日のP0DTC2バージョン1（GenBankアクセッション番号MN908947、バージョンMN908947.3）またはSEQ ID NO:19に示される配列を有する。本発明において使用されうる可溶性「SARS-CoV-2 Sタンパク質」の非限定的な例として、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の16～1213番目もしくは14～1204番目もしくは19～1204番目に対応し、またはSEQ ID NO:34もしくはSEQ ID NO:35もしくはSEQ ID NO:65に示すアミノ酸配列を有する、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（Sタンパク質）のS1およびS2領域からなる全可溶性フラグメントが挙げられる。本発明において使用されうる可溶性「SARS-CoV-2 Sタンパク質」の非限定的な例としては、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（Sタンパク質）の16～685番目に対応し、またはSEQ ID NO:37のアミノ酸配列を有する、S1領域も挙げられる。本発明において使用されうる可溶性「SARS-CoV-2 Sタンパク質」の非限定的な例としては、SARS-CoV-2スパイクタンパク質（Sタンパク質）の686～1213番目もしくは646～1204番目に対応し、またはSEQ ID NO:38もしくはSEQ ID NO:39のアミノ酸配列を有する、S2領域も挙げられる。S1およびS2領域の全可溶性フラグメントの、またはS1領域もしくはS2領域のどちらか一方単独の、さらに短いフラグメント、例えば、受容体結合ドメインとしてSARS-CoV-2　タンパク質の318～524のアミノ酸配列（SEQ ID NO:41、この点については図23Aを参照されたい）を使用す

ることも、もちろん可能である。一具体例として、S2領域のさらに短いフラグメントは、SEQ ID NO:19の686～1204番目に対応するアミノ酸を含むか、同アミノ酸から本質的になるか、または同アミノ酸からなる。一具体例において、スパイクタンパク質の可溶性フラグメントは、SEQ ID NO:19の646～1204番目に対応するアミノ酸を含むか、同アミノ酸から本質的になるか、または同アミノ酸からなる。一具体例において、スパイクタンパク質の可溶性フラグメントは、SEQ ID NO:34～36およびSEQ ID NO:65のいずれかに示す配列を含むか、同配列から本質的になるか、または同配列からなる。本発明のポリマーソームが、スパイクタンパク質の1種または複数種の異なる可溶性フラグメント、例えばS1領域もしくはそのフラグメント、S2領域もしくはそのフラグメントおよび/または全S1およびS2領域もしくはS1領域の一部とS2領域の一部とを含むそのフラグメントなどを封入しうることにも、ここでは留意されたい。本発明のポリマーソームの例示的な態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、1タイプの可溶性フラグメント（例えばS1領域のみまたはそのフラグメント）、2つの異なるタイプの可溶性フラグメント（例えばS1およびS2領域またはS1および/もしくはS2領域のフラグメント）、3つの異なるタイプの可溶性フラグメント（S1領域またはそのフラグメント、S2領域またはそのフラグメント、およびSEQ ID NO:19のS1とS2の全可溶性フラグメント、さらには4つの異なるタイプのフラグメント（例えば、S1領域またはそのフラグメント、S2領域またはそのフラグメント、SEQ ID NO:19のS1とS2の全可溶性フラグメントまたはS1領域の一部とS2領域の一部とを含むそのフラグメント、および4番目のタイプとして、S1の一部とS2の一部とを含有する上述のフラグメント、例えばスパイクタンパク質配列のアミノ酸14～1204）を封入している。

【０１３７】

SARS-CoV-2 Sタンパク質のバリアントは、例えばGeneBankアクセッション番号QII57278.1（SEQ ID NO:20）、GeneBankアクセッション番号YP__009724390.1（SEQ ID NO:21）、GeneBankアクセッション番号QIO04367.1（SEQ ID NO:22）、GeneBankアクセッション番号QHU79173.2（SEQ ID NO:23）、GeneBankアクセッション番号QII87830.1（SEQ ID NO:24）、GeneBankアクセッション番号QIA98583.1（SEQ ID NO:25）、GeneBankアクセッション番号QIA20044.1（SEQ ID NO:26）、GeneBankアクセッション番号QIK50427.1（SEQ ID NO:27）、GeneBankアクセッション番号QHR84449.1（SEQ ID NO:28）、GeneBankアクセッション番号QIQ08810.1（SEQ ID NO:29）、GeneBankアクセッション番号QIJ96493.1（SEQ ID NO:30）、GeneBankアクセッション番号QIC53204.1（SEQ ID NO:31）、GeneBankアクセッション番号QHZ00379.1（SEQ ID NO:32）、およびGeneBankアクセッション番号QHS34546.1（SEQ ID NO:33）など、当技術分野ではいくつか公知である。SEQ ID NO:19と比べて、これらのバリアントでは、28、49、74、145、157、181、221、307、408、528、614、655、797、930番目に対応する配列位置に、変異を見出すことができる。SARS-CoV-2 Sタンパク質の配列には、さらなる修飾を導入することができる。一具体例として、変異は、発現されるタンパク質の形成を変化させるために導入することができる。この目的のために、SEQ ID NO:19の679～685番目に位置するフューリン切断部位を変異させうる。発現後切断の低減は、このアミノ酸配列の塩基性を低減することによって達成されうる。例えば、残基Pro681、Arg682および/またはArg683を、それより塩基性の低いアミノ酸、例えばPro681→Asn、Arg682→Glnおよび/またはArg683→Ser（位置番号はSEQ ID NO:19に示すアミノ酸配列に対応する）または他の低塩基性アミノ酸に変異させうる。したがって、NSPRRAR（SEQ ID NO:52）というネイティブ配列を有するフューリン切断部位を、NSNQSAR（SEQ ID NO:53）という配列に変異させうる。変異型フューリン切断部位を有するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメントの一具体例をSEQ ID NO:65に示す。変異型フューリン切断部位を有するSARS-CoV-2スパイクタンパク質の一具体例をSEQ ID NO:66に示す。さらなる修飾として、三量体化ドメインを、好ましくはタンパク質のC末に付加することを挙げることができ、これは、S1および/また

はS2ドメインのネイティブなフォールドを増加させるのに役立ちうる。そのような三量体化ドメインとしては、フォルドンドメイン（例えばGuethe et al.,J. Mol. Biol.（2004）337,905-915に記載の
GYIPEAPRDG QAYVRKDGEW VLLSTFL, SEQ ID NO: 54

）、GCN4ベースの三量体化ドメイン、イムノサイレント化されたそのバリアントを含む（例えばSliepen et al. J. Biol. Chem.（2015）290（12）:7436-7442に記載の
GGGTGGGGTG RMKQIEDKIEE ILSKIYHIEN EIARIKKLIG ERGGR, SEQ ID NO: 55,
または GGGTGGNGTG RMKQIEDKIE NITSKIYNITN EIARIKKLIG NRTGGR, SEQ ID NO: 56

）、または当業者に周知の他のモチーフを挙げることができる。さらに、分泌リーダー配列をタンパク質のN末に付加してもよく、これにより、生産ならびに/または後続の処理、例えば単離および精製が改良されうる。そのようなリーダー配列の一具体例はミツバチメリチンリーダー配列
(MKFLVNVALV FMVVYISYIY A, SEQ ID NO: 57)

である。他にも有用なリーダー配列が当業者には周知である。したがって、本開示のスパイクタンパク質の可溶性フラグメントには、明細書において明示的または暗示的に開示するスパイクタンパク質の可溶性フラグメントの特定配列の、同一性の高いバリアントも含まれる。例えば、本開示のスパイクタンパク質の可溶性フラグメント、特に本開示のSARS-CoV-2 Sタンパク質の可溶性フラグメントに対して、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するバリアント。一具体例として、本開示のSフラグメントの可溶性フラグメントは、SEQ ID NO:19（SARS-CoV-2スパイクタンパク質）の16～1213番目、16～685番目、686～1213番目、686～1204番目、646～1204番目、または14～1204番目からなる群より選択される配列に対して少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有する配列を含むか、同配列から本質的になるか、または同配列からなりうる。もう一つの具体例として、本開示のSフラグメントの可溶性フラグメントは、SEQ ID NO:34～41およびSEQ ID NO:65からなる群より選択される配列に対して少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有する配列を有しうる。

【０１３８】

好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19に示す完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸残基16～685に対応するS1領域を含むか、同領域から本質的になるか、もしくは同領域からなり、またはSEQ ID NO:37のアミノ酸配列を有する、可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19に示す完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸残基686～1213に対応するS2領域を含むか、同領域から本質的になるか、もしくは同領域からなり、またはSEQ ID NO:38のアミノ酸配列を有する、可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19に示す完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸残基16～1213に対応するS1およびS2領域を含むか、同領域から本質的になるか、もしくは同領域からなり、またはSEQ ID NO:34のアミノ酸配列を有する、可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19に示す完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸残基686～1204に対応するアミノ酸配列を含むか、同アミノ酸配列から本質的になるか、または同アミノ酸配列からなる。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19に示す完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸残基646～1204に対応するアミノ酸配列を含むか、同アミノ酸配列から本質的になるか

、もしくは同アミノ酸配列からなり、またはSEQ ID NO:39のアミノ酸配列を有する、可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19に示す完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸残基14～1204に対応するアミノ酸配列を含むか、同アミノ酸配列から本質的になるか、もしくは同アミノ酸配列からなり、またはSEQ ID NO:35のアミノ酸配列を有する、可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19に示す完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸残基19～1204に対応するアミノ酸配列を含むか、同アミノ酸配列から本質的になるか、もしくは同アミノ酸配列からなり、またはSEQ ID NO:65のアミノ酸配列を有する、可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:19（SARS-CoV-2スパイクタンパク質）の16～1213番目、16～685番目、686～1213番目、686～1204番目、646～1204番目、14～1204番目、または19～1204番目に対応する配列からなる群より選択される配列に対して少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有する配列を含むか、同配列から本質的になるか、または同配列からなる可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、SEQ ID NO:36、40および/または65からなる群より選択される配列に対して少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有する配列を含むか、同配列から本質的になるか、または同配列からなる可溶性フラグメントを封入している。これに関連して、「から本質的になる」とは、フラグメントのN末端点および/またはC末端点が、限られた範囲内で、例えば25アミノ酸位置まで、例えば20アミノ酸位置まで、例えば15アミノ酸位置まで、10アミノ酸位置まで、5アミノ酸位置まで、4アミノ酸位置まで、3アミノ酸位置まで、2アミノ酸位置まで、または1アミノ酸位置までの範囲内で、変動しうることを意味する。一具体例として、完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質のアミノ酸646～1204から本質的になるフラグメントは、完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質の641～1204番目、651～1204番目、646～1209番目、または646～1199番目、641～1209番目、または651～1199番目からなりうる。

【０１３９】

上記に代えて、または上記に加えて、本開示のポリマーソームは、1種または複数種の核酸、例えば、本開示の1つまたは複数種のSARS-CoV-2スパイクタンパク質またはその可溶性フラグメントをコードするmRNA、自己増幅mRNA、DNAを封入していてもよい。

【０１４０】

好ましい一態様では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の1つまたは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/またはそれをコードする核酸を封入している本発明のポリマーソームが、ヒト疾患、特にヒト病原性コロナウイルスによる感染症、コロナウイルス疾患2019（COVID-19）に対するワクチンとして使用されることにも、ここでは留意されたい。したがって、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の1つまたは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/またはそれをコードする核酸を封入している本発明のポリマーソームは、発熱、咳、息切れ、肺炎、臓器不全、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）、疲労、筋肉痛、下痢、咽頭痛、嗅覚喪失および/または腹痛の処置（防止を含む）に使用されうる。

【０１４１】

好ましい一態様において、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、筋肉内に投与される。好ましい一態様において、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、鼻腔内に投与される。好ましい一態様において、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の1つもしくは複数の異

なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、吸入によって投与される。

【０１４２】

本願に関して、「SARS-CoV-1 Sタンパク質」または「SARS-CoV-1スパイクタンパク質」という用語は、ヒト病原性コロナウイルスである重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoVまたはSARS-CoV-1）の表面に存在するスパイク糖タンパク質を指す。本開示のSARS-CoV-1スパイクタンパク質は、UniProtKBアクセッション番号:2019年12月11日のP59594バージョン134またはSEQ ID NO:48に示される配列を有する。本発明において使用されうる可溶性「SARS-CoV-1 Sタンパク質」の非限定的な例として、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の14～1195番目に対応しうる、またはSEQ ID NO:48に示すアミノ酸配列を有する、SARS-CoV-1スパイクタンパク質（Sタンパク質）のS1およびS2領域の全可溶性フラグメントが挙げられる。本発明において使用されうる可溶性「SARS-CoV-1 Sタンパク質」の非限定的な例としては、SARS-CoV-1スパイクタンパク質（Sタンパク質）の14～667番目に対応し、またはSEQ ID NO:49のアミノ酸配列を有する、S1領域も挙げられる。本発明において使用されうる可溶性「SARS-CoV-1 Sタンパク質」の非限定的な例としては、SARS-CoV-1スパイクタンパク質（Sタンパク質）の668～1198番目に対応しうる、またはSEQ ID NO:50のアミノ酸配列を有する、S2領域の可溶性フラグメントも挙げられる。S1およびS2領域の全可溶性フラグメントの、またはS1領域もしくはS2領域のどちらか一方単独の、さらに短いフラグメントを使用することも、もちろん可能であり、例えばフラグメントは、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の306～527番目に対応し、またはSEQ ID NO:51のアミノ酸配列を有する、受容体結合ドメイン（RBD）を含みうる。本発明のポリマーソームが、スパイクタンパク質の1種または複数種の異なる可溶性フラグメント、例えばS1領域、S2領域、もしくはそれらの可溶性フラグメント、S1およびS2領域の全可溶性フラグメント、ならびに/またはRBDなどを封入しうることにも、ここでは留意されたい。本発明のポリマーソームの例示的な態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、1タイプの可溶性フラグメント（例えばS1およびS2領域の全可溶性フラグメントのみ）、2つの異なるタイプの可溶性フラグメント（例えばS1およびS2領域の全可溶性フラグメントならびにS1領域全体またはS2領域の可溶性フラグメント）、3つの異なるタイプの可溶性フラグメント（S1領域、S2領域の可溶性フラグメント、およびSEQ ID NO:47のS1とS2の全可溶性フラグメント（アミノ酸残基14～1195））、さらには4つの異なるタイプのフラグメント（例えば、S1領域、S2領域の可溶性フラグメント、SEQ ID NO:47のS1とS2の全可溶性フラグメント（アミノ酸残基14～1195）、および4番目のタイプとして、RBD）を封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質のアミノ酸残基14～667に対応するS1領域を含むか、同領域から本質的になるか、または同領域からなる可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質のアミノ酸残基668～1195に対応するS2領域の可溶性フラグメントを含むか、同可溶性フラグメントから本質的になるか、または同可溶性フラグメントからなる可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質のアミノ酸残基14～1195に対応するS1およびS2領域を含むか、同領域から本質的になるか、または同領域からなる可溶性フラグメントを封入している。好ましい一態様において、本発明のポリマーソームは、その中に、完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質のアミノ酸残基14～1255に対応するS1およびS2領域を含むか、同領域から本質的になるか、または同領域からなるフラグメントを封入している。これに関連して、「から本質的になる」とは、フラグメントのN末端点および/またはC末端点が、限られた範囲内で、例えば25アミノ酸位置まで、例えば20アミノ酸位置まで、例えば15アミノ酸位置まで、10アミノ酸位置まで、5アミノ酸位置まで、4アミノ酸位置まで、3アミノ酸位置まで、2アミノ酸位

置まで、または1アミノ酸位置までの範囲内で、変動しうることを意味する。

【０１４３】

本開示のSARS-CoV-1スパイクタンパク質は、上述した配列のバリアントも含みうる。このバリアントには、SARS-CoV-1の他の分離株の天然のバリアントも、SARS-CoV-1 Sタンパク質の配列に導入することができる人工的修飾も含まれる。一具体例として、変異は、発現されるタンパク質の形成を変化させるために導入することができる。この目的のために、SEQ ID NO:47の761～767番目に位置するフューリン切断部位を変異させうる。発現後切断の低減は、このアミノ酸配列の塩基性を低減することによって達成されうる。例えば、残基Arg764および/またはArg767を、それより塩基性の低いアミノ酸、例えばGly（位置番号はSEQ ID NO:47に示すアミノ酸配列に対応する）または他の低塩基性アミノ酸に変異させうる。したがって、EQDRNTR（SEQ ID NO:60）というネイティブ配列を有するフューリン切断部位を、EQDGNTG（SEQ ID NO:61）という配列に変異させうる。さらなる修飾として、三量体化ドメインを、好ましくはタンパク質のC末に付加することを挙げることができ、これは、S1および/またはS2ドメインのネイティブなフォールドを増加させるのに役立ちうる。そのような三量体化ドメインとしては、フォルドンドメイン（例えばSEQ ID NO:54）、GCN4ベースの三量体化ドメイン（SEQ ID NO:55またはSEQ ID NO:56など）、または当業者に周知の他のモチーフを挙げることができる。さらに、分泌リーダー配列をタンパク質のN末に付加してもよく、これにより、生産ならびに/または後続の処理、例えば単離および精製が改良されうる。そのようなリーダー配列の一具体例はミツバチメリチンリーダー配列（SEQ ID NO:57）である。他にも有用なリーダー配列が当業者には周知である。したがって、本開示のスパイクタンパク質の可溶性フラグメントには、明細書において明示的または暗示的に開示するスパイクタンパク質の可溶性フラグメントの特定配列の、同一性の高いバリアントも含まれる。例えば、本開示のスパイクタンパク質の可溶性フラグメント、特に本開示のSARS-CoV-1 Sタンパク質の可溶性フラグメントに対して、少なくとも約95％、少なくとも約96％、少なくとも約97％、少なくとも約98％、または少なくとも約99％の配列同一性を有するバリアント。一具体例として、本開示のSフラグメントの可溶性フラグメントは、SEQ ID NO:48～51からなる群より選択される配列に対して少なくとも約95％、少なくとも約96％、少なくとも約97％、少なくとも約98％、または少なくとも約99％の配列同一性を有する配列を含むか、同配列から本質的になるか、または同配列からなりうる。

【０１４４】

上記に代えて、または上記に加えて、本開示のポリマーソームは、1種または複数種の核酸、例えば、本開示の1つまたは複数種のSARS-CoV-1スパイクタンパク質またはその可溶性フラグメントをコードするmRNA、自己増幅mRNA、DNAを封入していてもよい。

【０１４５】

好ましい一態様では、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の1つまたは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームが、ヒト疾患、特にヒト病原性コロナウイルスによる感染症、特に重症急性呼吸器症候群（SARS）に対するワクチンとして使用されることにも、ここでは留意されたい。したがって、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、発熱、筋肉痛、嗜眠、咳、咽頭痛、息切れ、肺炎および/または急性呼吸窮迫症候群（ARDS）の処置（防止を含む）に使用されうる。

【０１４６】

好ましい一態様において、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質を封入しているポリマーソームは、筋肉内に投与される。好まし

い一態様において、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、鼻腔内に投与される。好ましい一態様において、SARS-CoV-1スパイクタンパク質の1つもしくは複数の異なる可溶性フラグメントおよび/もしくはそれをコードする核酸または完全長SARS-CoV-1スパイクタンパク質を封入している本発明のポリマーソームは、吸入によって投与される。

【０１４７】

本願に関して、「酸化安定性」という用語は、例えばScott et al.,2012が記載した方法を用いる、ポリマーソーム（または対応するポリマーもしくは膜）の酸化に対する耐性の尺度を指す。この方法では、封入抗原を持つポリマーソームが過酸化水素の0.5％溶液中でインキュベートされ、（放出された）遊離抗原の量をUV/蛍光HPLCで定量することができる。これらの酸化条件下で封入抗原の実質的部分またはすべてを放出するポリマーソームは、酸化感受性であるとみなされる。ブロック共重合体が、そしてそれゆえに結果として得られるポリマーソームが酸化安定性であるか酸化感受性であるかを決定する別の一方法は、米国特許第8,323,696号の第16カラムに記載されている。この方法によれば、酸化感受性の官能基を持つポリマーは温和な酸化剤によって化学的に改変されることになり、その試験手段は、インビトロで20時間での10％過酸化水素への溶解性の強化である。例えばポリ（プロピレンスルフィド）（PPS）は酸化感受性ポリマーである（例えば前掲のScott et al 2012およびUS8,323,696参照）。PPSは、関心対象のポリマーとそれぞれの関心対象のポリマーソームが酸化感受性であるか酸化安定性であるかを決定するための基準として役立ちうる。例えば、同じ抗原が封入されているPPSポリマーソームから放出される量と比べて、同じかそれ以上の量の抗原、または約90％以上の量、もしくは約80％以上、もしくは約70％以上、もしくは約60％以上が、関心対象のポリマーソームから放出されるのであれば、そのポリマーソームは酸化感受性とみなされる。同じ抗原が封入されているPPSポリマーソームから放出される量と比べて、約0.5％以下、または約1.0％以下、または約2％以下、または約5％以下、または約10％以下、または約20％以下、または約30％以下、または約40％以下、または約50％以下の抗原しか、関心対象のポリマーソームから放出されないのであれば、そのポリマーソームは酸化安定性であるとみなされる。したがってこれに沿って、米国特許第8,323,696号に記載のPPSポリマーソーム、またはPPS-bl-PEGポリマーソーム、例えばStano et alに記載されているように構成要素としてのポリ（プロピレンスルフィド）（PPS）とポリ（エチレングリコール）（PEG）とでできているものは、本発明の意味での酸化安定性ポリマーソームではない。同様に、PPS30-PEG17ポリマーソームも本発明の意味での酸化安定性ポリマーソームではない。酸化安定性測定の他の非限定的な例としては、血清成分（例えば哺乳動物血清、例えばヒト血清の成分）の存在下での安定性の測定、または例えばエンドソーム内部での安定性の測定が挙げられる。

【０１４８】

本願に関して、「還元安定性」という用語は、ポリマーソームの還元環境における還元に対する耐性の尺度を指す。

【０１４９】

本願において「血清」という用語は、凝固タンパク質が除去された血漿を指す。

【０１５０】

本願に関して、「酸化非依存的放出」という用語は、ポリマーソームを形成するポリマーの酸化を伴わない、または本質的に伴わない、ポリマーソーム内容物の放出を指す。

【０１５１】

「ポリペプチド」という用語は、本明細書では「タンパク質」という用語と等価に使用される。タンパク質（そのフラグメント、好ましくは生物学的に活性なフラグメント、およびペプチド、通常は30個未満のアミノ酸を有するものを含む）は、ペプチド共有結合を介して互いにカップリングされた（結果としてアミノ酸の鎖を生じる）、1つまたは複数のアミノ酸を含む。本明細書において使用する「ポリペプチド」という用語は、一群の

分子、例えば30個を上回るアミノ酸からなるものをいう。ポリペプチドは、二量体、三量体およびさらに高次のオリゴマーなどといった多量体、すなわち2つ以上のポリペプチド分子からなるものを、さらに形成しうる。そのような二量体、三量体などを形成するポリペプチド分子同士は同一であっても同一でなくてもよい。したがって、そのような多量体の対応する高次構造は、ホモ二量体またはヘテロ二量体、ホモ三量体またはヘテロ三量体などと呼ばれる。ヘテロ多量体の一例は抗体分子であり、これは、その天然型では、2つの同一軽ポリペプチド鎖と2つの同一重ポリペプチド鎖とからなる。「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語は、天然に修飾されたポリペプチド/タンパク質も指し、この場合、修飾は、例えばグリコシル化、アセチル化、リン酸化などのような翻訳後修飾によって達成される。そのような修飾は当技術分野では周知である。

【０１５２】

本願において「糖質」という用語は、化学量論式Cn（H2O）nを有する（例えばそれゆえに「炭水化物」である）アルドースおよびケトースなどの化合物を指す。「糖質」という総称には、単糖、オリゴ糖および多糖、ならびにカルボニル基の還元（アルジトール）、1つまたは複数の末端基のカルボン酸への酸化、または水素原子、アミノ基、チオール基などの基による1つもしくは複数のヒドロキシ基の置き換えによって、単糖から誘導される物質が包含されるが、それらに限定されるわけではない。これらの化合物の誘導体も包含される。

【０１５３】

本願に関して、「ポリヌクレオチド」（「核酸」ともいい、これは「ポリヌクレオチド」という用語と相互可換的に使用することができる）という用語は、例えば、一定のピリミジン塩基またはプリン塩基（通常はアデニン、シトシン、グアニン、チミン、ウラシル）、d-リボースまたは2-デオキシ-d-リボースおよびリン酸への加水分解が可能でありうるヌクレオチド単位で構成された高分子を指す。「ポリヌクレオチド」の非限定的な例として、DNA分子（例えばcDNAまたはゲノムDNA）、RNA（mRNA）、それらの組合せ、またはDNAとRNAとで構成されるハイブリッド分子が挙げられる。核酸は二本鎖または一本鎖であることができ、二本鎖フラグメントと一本鎖フラグメントとを同時に含有しうる。最も好ましいのは二本鎖DNA分子およびmRNA分子である。

【０１５４】

本願において「アンチセンスオリゴヌクレオチド」という用語は、核酸ポリマーであって、少なくともその一部分が正常細胞または罹患細胞中に存在する核酸に対して相補的であるものを指す。例示的な「アンチセンスオリゴヌクレオチド」として、アンチセンスRNA、siRNA、RNAiが挙げられる。

【０１５５】

本願において「CD8（＋）T細胞媒介性免疫応答」という用語は、細胞傷害性T細胞（TC、細胞傷害性Tリンパ球、CTL、Tキラー細胞、細胞溶解性T細胞、CD8（＋）T細胞またはキラーT細胞としても公知である）によって媒介される免疫応答を指す。細胞傷害性T細胞の例として抗原特異的エフェクターCD8（＋）T細胞が挙げられるが、それに限定されるわけではない。T細胞受容体（TCR）がクラスI MHC分子に結合するには、クラスI MHC分子の定常部分に結合するCD8と呼ばれる糖タンパク質が、TCRに付随していなければならない。それゆえにこれらのT細胞はCD8（＋）T細胞と呼ばれる。ひとたび活性化されると、TC細胞は、T細胞にとっての増殖分化因子であるサイトカイン・インターロイキン-2（IL-2）の助けを借りて、「クローン拡大」を起こす。これにより、標的抗原に特異的な細胞の数が増加し、次にそれらは抗原陽性体細胞を捜して体中を移動することができる。

【０１５６】

本願において「抗原特異的CD8（＋）T細胞のクローン拡大」という用語は、標的抗原に特異的なCD8（＋）T細胞の数の増加を指す。

【０１５７】

本願において「細胞性免疫応答」という用語は、抗体が関わるのではなく、食細胞の活

性化、抗原特異的細胞傷害性Tリンパ球、抗原に応答して起こるさまざまなサイトカインの放出が関わる、免疫応答を指す。

【０１５８】

本願において「抗原特異的ＣＤ８（＋）Ｔ細胞の細胞傷害性表現型」という用語は、抗原特異的ＣＤ８（＋）Ｔ細胞の細胞傷害性機能に関する同細胞の観察可能な一組の特徴を指す。

【０１５９】

本願において「リンパ節常在性マクロファージ」という用語は、全身にある小さなマメ状の腺であるリンパ節中に存在して、貪食というプロセスを使って粒子を飲み込み、次いでそれらを消化する、我々の免疫系の不可欠な一部である大きな白血球であるマクロファージを指す。

【０１６０】

本願において「体液性免疫応答」という用語は、分泌された抗体、補体タンパク質、および一定の抗微生物ペプチドなどといった、細胞外液中に見出される高分子によって媒介される免疫応答を指す。抗体が関与するその局面は、しばしば抗体媒介性免疫と呼ばれる。

【０１６１】

本願において「Ｂ細胞」という用語は、Ｂリンパ球としても公知であり、リンパ球サブタイプの白血球の一タイプである。それらは、抗体を分泌することにより、適応免疫系の体液性免疫成分において機能する。

【０１６２】

本明細書において使用する場合、「抗体」とは、実質的にまたは部分的に免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子のフラグメントによってコードされている、（１つまたは複数の結合ドメイン、好ましくは抗原結合ドメインを含む）１つまたは複数のポリペプチドを含むタンパク質である。「免疫グロブリン」（Ｉｇ）は本明細書では「抗体」と相互可換的に使用される。認識されている免疫グロブリン遺伝子には、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロンおよびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。特に、本明細書において使用される場合、「抗体」とは、典型的には、それぞれおよそ２５ｋＤａである２本の軽（Ｌ）鎖とそれぞれおよそ５０ｋＤａである２本の重（Ｈ）鎖とで構成される四量体型のグリコシル化されたタンパク質である。抗体にはラムダおよびカッパと呼ばれる２タイプの軽鎖を見出しうる。重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンはＡ、Ｄ、Ｅ、Ｇ、およびＭという５つの主要クラスに割り当てることができ、これらのうちのいくつかは、例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２などのサブクラス（アイソタイプ）にさらに分割しうる。本発明との関連ではＩｇＧが好ましい。本発明に関係する抗体として、Ｆｃイプシロン受容体Ｉによって結合されるＩｇＥ定常ドメインまたはその一部分を有するものも想定される。ＩｇＭ抗体は、５つの基本的ヘテロ四量体ユニットとＪ鎖と呼ばれる追加ポリペプチドとからなり、１０個の抗原結合部位を含有する。一方、ＩｇＡ抗体は２～５個の基本的４鎖ユニットを含み、それらは多量体化することでＪ鎖と組み合わされた多価集合物を形成することができる。ＩｇＧの場合、４鎖ユニットは一般に約１５０,０００ダルトンである。各軽鎖は、Ｎ末端の可変（Ｖ）ドメイン（ＶＬ）と定常（Ｃ）ドメイン（ＣＬ）とを含む。各重鎖は、Ｎ末端のＶドメイン（ＶＨ）、３つまたは４つのＣドメイン（ＣＨ）およびヒンジ領域を含む。定常ドメインは抗体を抗原に結合させることに直接的には関与しないが、抗体依存性細胞性細胞傷害（ＡＤＣＣ）への参加など、さまざまなエフェクター機能を呈することができる。抗体がＡＤＣＣを発揮すべき場合、その抗体はＩｇＧ１サブタイプであることが好ましく、ＩｇＧ４サブタイプはＡＤＣＣを発揮する能力を有しないだろう。

【０１６３】

「抗体」という用語には、モノクローナル抗体、単一特異性抗体、多特異性または多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、ヒト抗体、単鎖抗体、キメラ抗体、合成抗体、組換え抗体、ハイブリッド抗体、変異抗体、移植抗体、およびイ

ンビトロ生成抗体も包含されるが、それらに限定されるわけではなく、キメラ抗体またはヒト化抗体は好ましい。「ヒト化抗体」という用語は、一般に、HCおよびLCの特異性をコードしているCDRが適当なヒト可変フレームワークに移入（「CDR移植」）されている抗体に対して定義されている。「抗体」という用語は、scFv、一本鎖抗体、ダイアボディまたはテトラボディ、ドメイン抗体（dAb）およびナノボディも包含する。本発明に関して「抗体」という用語は、数個の抗原結合部位を有する二量体、三量体もしくは多量体型または二機能性、三機能性もしくは多機能性抗体も包含するものとする。

【０１６４】

さらにまた、本発明において使用される「抗体」という用語は、本明細書に記載する抗体の誘導体（フラグメントを含む）にも関係する。抗体の「誘導体」は、アミノ酸残基の置換、欠失または付加の導入によって改変されたアミノ酸配列を含む。加えて、誘導体には、抗体またはタンパク質に任意のタイプの分子が共有結合することによって修飾された抗体も包含される。そのような分子の例として、糖類、PEG、ヒドロキシル基、エトキシ基、カルボキシ基またはアミン基が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。要するに、共有結合による抗体の修飾は、グリコシル化、PEG化、アセチル化、リン酸化、アミド化などにつながるが、それらに限定されるわけではない。

【０１６５】

本発明に関係する抗体は好ましくは「単離された」抗体である。「単離された」とは、本明細書に開示する抗体を説明するために使用される場合は、その生産環境の構成要素から同定され、分離されかつ/または回収された抗体を意味する。好ましくは、単離された抗体は、その生産環境からの他のどの構成要素とも関連を持たない。その生産環境の夾雑構成要素、例えば組換えトランスフェクト細胞に起因するものは、当該ポリペプチドの診断または治療への使用を典型的には妨害するであろう材料であり、これには酵素、ホルモンおよび他のタンパク質性または非タンパク質性の溶質が含まれうる。好ましい態様において、抗体は、（1）スピニングカップシークエネーター（spinning cup sequenator）を利用して、N末端アミノ酸配列または内部アミノ酸配列のうちの少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで精製されるか、または（2）非還元条件下または還元条件下のSDS-PAGEにより、クーマシーブルー染色または好ましくは銀染色を使って、均一に精製されることになる。しかし通常は、単離された抗体は、少なくとも1つの精製工程によって調製されることになる。

【０１６６】

「本質的に非免疫原性」という用語は、本発明のブロック共重合体または両親媒性ポリマーが適応免疫応答を誘発しないこと、すなわち封入された免疫原と比較して、ブロック共重合体または両親媒性ポリマーは30％未満、好ましくは20％未満、より好ましくは10％未満、特に好ましくは9、8、7、6または5％未満の免疫応答を示すことを意味する。

【０１６７】

「本質的に非抗原性」という用語は、本発明のブロック共重合体または両親媒性ポリマーが、適応免疫性を有する一定の産物群（例えばT細胞受容体または抗体）と特異的に結合しないこと、すなわち封入された抗原と比較して、ブロック共重合体または両親媒性ポリマーは30％未満、好ましくは20％未満、より好ましくは10％未満、特に好ましくは9、8、7、6または5％未満の結合を示すことを意味する。

【０１６８】

典型的には、結合アフィニティーが10^{-6}Mより高い場合に、結合は特異的であるとみなされる。好ましくは、結合アフィニティーが約10^{-11}～10^{-8}M（KD）、好ましくは約10^{-11}～10^{-9}Mである場合に、結合は特異的であるとみなされる。必要であれば、結合条件を変化させることにより、特異的結合には実質的に影響を及ぼすことなく、非特異的結合を低減することができる。

【０１６９】

「アミノ酸」または「アミノ酸残基」という用語は、典型的には、当技術分野において認識されているその定義を有するアミノ酸、例えばアラニン（AlaまたはA）、アルギニ

ン（ArgまたはR）、アスパラギン（AsnまたはN）、アスパラギン酸（AspまたはD）、システイン（CysまたはC）、グルタミン（GlnまたはQ）、グルタミン酸（GluまたはE）、グリシン（GlyまたはG）、ヒスチジン（HisまたはH）、イソロイシン（HeまたはI）、ロイシン（LeuまたはL）、リジン（LysまたはK）、メチオニン（MetまたはM）、フェニルアラニン（PheまたはF）、プロリン（ProまたはP）、セリン（SerまたはS）、スレオニン（ThrまたはT）、トリプトファン（TrpまたはW）、チロシン（TyrまたはY）、およびバリン（ValまたはV）からなる群より選択されるアミノ酸を指すが、所望に応じて修飾アミノ酸、合成アミノ酸、または希少アミノ酸を使用してもよい。一般に、アミノ酸は、非極性側鎖を有するもの（例えばAla、Cys、He、Leu、Met、Phe、Pro、Val）、負荷電側鎖を有するもの（例えばAsp、Glu）、正荷電側鎖を有するもの（例えばArg、His、Lys）、または非荷電極性側鎖を有するもの（例えばAsn、Cys、Gln、Gly、His、Met、Phe、Ser、Thr、Trp、およびTyr）に分類することができる。

【０１７０】

「エフェクター細胞」、好ましくはヒトエフェクター細胞は、1つまたは複数のFcRを発現してエフェクター機能を履行する白血球である。好ましくはこれらの細胞は、少なくともFcγRmを発現し、ADCCエフェクター機能を履行する。ADCCを媒介するヒト白血球の例としては、末梢血単核球（PBMC）、ナチュラルキラー（NK）細胞、単球、細胞傷害性T細胞および好中球が挙げられる。エフェクター細胞は、ネイティブな供給源、例えば血液から単離することができる。

【０１７１】

「免疫処置する」という用語は、ヒト非ヒト動物に、その動物内で抗体が生じうるように、1つまたは複数の抗原を投与する1つまたは複数の工程を指す。

【０１７２】

具体的に述べると、非ヒト動物は、アジュバントと混合されていてもよいポリペプチド（抗原）で、好ましくは少なくとも2回、より好ましくは少なくとも3回、免疫処置される。「アジュバント」とは免疫応答の非特異的刺激剤である。アジュバントは、以下の構成要素のうちのどちらか一方または両方を含む組成物の形態をとりうる:（a）抗原を急速な異化作用から保護する付着物（deposit）を形成するように意図された物質（例えば鉱油、ミョウバン、水酸化アルミニウム、リポソームまたは界面活性剤（例えばプルロニックポリオール））;および（b）免疫処置された宿主動物の免疫応答を（例えばそこでのリンホカインレベルを増加させることなどによって）非特異的に刺激する物質。

【０１７３】

本明細書にいう「がん」は、身体における異常細胞の無制御な成長を特徴とする幅広い一群の疾患を指す。無秩序な細胞分裂は悪性腫瘍または隣接組織に侵入する細胞の形成をもたらし、リンパ系または血流を介して身体の遠隔部に転移しうる。

【０１７４】

がんの非限定的な例としては、扁平上皮がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、扁平非小細胞肺がん（NSCLC）、非NSCLC、神経膠腫、胃腸がん、腎がん（例えば明細胞がん）、卵巣がん、肝がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、腎がん（例えば腎細胞がん（RCC））、前立腺がん（例えばホルモン不応性前立腺腺がん）、甲状腺がん、神経芽細胞腫、膵がん、膠芽腫（多形性神経膠芽腫）、子宮頸がん、胃がん、膀胱がん、ヘパトーマ、乳がん、大腸がん、および頭頸部がん（またはがん）、胃がん、胚細胞性腫瘍、小児肉腫、副鼻腔ナチュラルキラー、黒色腫（例えば転移性悪性黒色腫、例えば皮下または眼内悪性黒色腫）、骨がん、皮膚がん、子宮がん、肛門部がん、精巣がん、ファロピウス管がん、子宮内膜がん、子宮頸部がん、膣がん、外陰がん、食道がん、小腸がん、内分泌系がん、副甲状腺がん、副腎がん、軟部組織肉腫、尿道がん、陰茎がん、小児の固形腫瘍、尿管がん、腎盂がん、中枢神経系（CNS）の新生物、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮がん、扁平上皮細胞がん、T細胞性リンパ腫、環境誘発がん、例えばアスベストによって誘発されるもの、ウイルス

関連がん（例えばヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）関連腫瘍）、２つの主要血液細胞系譜、すなわち骨髄細胞系（顆粒球、赤血球、血小板、マクロファージおよび肥満細胞を産生する）またはリンパ細胞系（Ｂ細胞、Ｔ細胞、ＮＫ細胞および形質細胞を産生する）のどちらか一方から派生する血液学的悪性疾患、例えばあらゆるタイプの白血病（luekemias）、リンパ腫および骨髄腫、例えば急性、慢性、リンパ球性および/または骨髄性白血病、例えば急性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、および慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、未分化ＡＭＬ（Ｍ０）、骨髄芽球性白血病（Ｍ１）、骨髄芽球性白血病（Ｍ２;細胞成熟を伴う）、前骨髄球性白血病（Ｍ３またはＭ３バリアント［Ｍ３Ｖ］）、骨髄性単球性白血病（Ｍ４または好酸球性を伴うＭ４バリアント［Ｍ４Ｅ］）、単球性白血病（Ｍ５）、赤白血病（Ｍ６）、巨核芽球性白血病（Ｍ７）、孤立性顆粒球肉腫、および緑色腫;リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫（ＨＬ）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、Ｂ細胞性リンパ腫、Ｔ細胞性リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、単球様Ｂ細胞性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織（ＭＡＬＴ）リンパ腫、未分化（例えばＫｉ１＋）大細胞リンパ腫、成人Ｔ細胞性リンパ腫/白血病、マントル細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性Ｔ細胞性リンパ腫、血管中心性リンパ腫、腸管Ｔ細胞性リンパ腫、原発性縦隔Ｂ細胞性リンパ腫、前駆Ｔリンパ芽球性リンパ腫、Ｔリンパ芽球性リンパ腫/白血病（Ｔ-Ｌbly/Ｔ-ＡＬＬ）、末梢性Ｔ細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫、移植後リンパ増殖性障害、組織球性リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫（ＬＢＬ）、リンパ系の造血器腫瘍、急性リンパ芽球性白血病、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性組織球性リンパ腫（ＤＨＬ）、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆Ｂリンパ芽球性リンパ腫、皮膚Ｔ細胞性リンパ腫（ＣＴＬＣ）（菌状息肉腫またはセザリー症候群とも呼ばれる）、およびワルデンストレーム・マクログロブリン血症を伴うリンパ形質細胞性リンパ腫（ＬＰＬ）、骨髄腫、例えばＩｇＧ型骨髄腫、軽鎖骨髄腫、非分泌性骨髄腫、くすぶり型骨髄腫（無症候性骨髄腫とも呼ばれる）、孤立性形質細胞腫、および多発性骨髄腫、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、ヘアリー細胞リンパ腫;骨髄系の造血器腫瘍、線維肉腫および横紋筋肉腫を含む間葉起源の腫瘍;精上皮腫、奇形がん、中枢神経系および末梢神経系の腫瘍、例えば星状細胞腫、シュワン腫;線維肉腫、横紋筋肉腫および骨肉腫を含む間葉起源の腫瘍;ならびに他の腫瘍、例えば黒色腫、色素性乾皮症、角化性棘細胞腫、精上皮腫、甲状腺濾胞がんおよび奇形がん、リンパ系の造血器腫瘍、例えばＴ細胞腫瘍およびＢ細胞腫瘍、限定するわけではないが、例えば小細胞型および大脳様細胞型（cerebriform cell type）を含むＴ前リンパ性白血病（Ｔ-ＰＬＬ）などのＴ細胞障害;大型顆粒リンパ球白血病（ＬＧＬ）、好ましくはＴ細胞型のもの;a/d Ｔ-ＮＨＬ肝脾リンパ腫;末梢性/胸腺後Ｔ細胞リンパ腫（多形性亜型および免疫芽細胞亜型）;血管中心性（鼻）Ｔ細胞性リンパ腫;頭頸部のがん、腎がん、直腸がん、甲状腺のがん;急性骨髄リンパ腫（acute myeloid lymphoma）、ならびに前記のがんの任意の組合せが挙げられる。本明細書に記載する方法は、転移がん、不応性がん（例えば以前の免疫治療、例えばＣＴＬＡ-４またはＰＤ-１またはＰＤ-Ｌ１遮断抗体によるものに不応性であるがん）および再発がんの処置に使用することもできる。

【０１７５】

「対象」という用語は生体を包含するものとする。対象の例として、哺乳動物、例えばヒト、イヌ、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、マウス、ウサギ、ラット、およびトランスジェニック非ヒト動物が挙げられる。ただし対象（動物）は鳥類または魚類などの非哺乳類動物であってもよい。本発明のいくつかの好ましい態様において対象はヒトであり、他のいくつかの好ましい態様では対象は農用動物であってもよく、農用動物は哺乳動物または非哺乳類動物のどちらかであることができる。そのような非哺乳類動物の例は、鳥類（例えばニワトリ、カモ、ガチョウまたはシチメンチョウなどの家禽）、魚類（例えばサケ、マス、またはティラピアなどの養殖魚）または甲殻類（シュリンプ（shrimp）またはプローン'（prawn）など）である。哺乳類（家畜）動物の例としては、ヤギ、ヒツジ、ウシ、ウマ、ブタまたはロバが挙げられる。他の哺乳動物には、例えばネコ、イヌ、マウスおよびウサギが含まれる。例示的態様において、本発明のポリマーソームは、

ウイルス感染に対する上記農用動物（哺乳類農用動物と非哺乳類農用動物（鳥類、魚類、甲殻類）の両方）のワクチン接種または免疫処置に使用される（これについては「実施例」を参照されたい）。したがってそのような場合、本発明のポリマーソームは、可溶性の完全長ウイルスタンパク質または完全長ウイルスタンパク質の可溶性フラグメントを、そこに封入しうる。

【０１７６】

ヒトおよび非ヒト動物のどちらのワクチン接種に使用する場合にも、本発明のポリマーソームまたは本発明のポリマーソームを含む組成物は、適切な（薬学的に許容される）緩衝液、例えばリン酸緩衝食塩水（PBS）または0.9％生理食塩水（オスモル濃度が308mOsm/Lである0.90％w/v NaClの等張液）に溶解して、それぞれの対象に経口投与しうる（ここでも「実施例」を参照されたい）。ポリマーソームはアジュバントとさらに混合されうる。経口投与した場合、アジュバントは、ポリマーソームを胃の酸性環境から保護するのに役立ちうる。そのようなアジュバントは、水混和性であるか、水-油エマルション、例えば水中油型エマルションまたは油中水型エマルションを形成する能力を有しうる。そのようなアジュバントの具体例は、水中油型エマルション、油中水型エマルション、モノホスホリルリピドA、および/またはトレハロースジコリノミコレートであり、ここで油は、好ましくは、鉱油、シメチコン、スパン（Span）80、スクアレン、およびそれらの組合せを含むか、それらから本質的になるか、またはそれらからなる。さらなる具体例は、水中油（スクアレンなど）型エマルションの形態をとりうるモノホスホリルリピドA（例えばサルモネラ・ミネソタ（Salmonella Minnesota）由来のもの）、トレハロースジコリノミコレート、またはそれらの混合物である。該エマルションは乳化剤（例えばポリソルベート、例えばポリソルベート80）を含みうる。あるいは、天然ポリマーでコーティングすることなどによってポリマーソームを修飾するか、アルギナートもしくはキトサンなどの天然ポリマーの粒子中に、またはポリ（d,l-ラクチド-co-グリコリド）（PLG）、ポリ（d,l-乳酸-co-グリコール酸）（PLGA）、ポリ（g-グルタミン酸）（g-PGA）［31,32］もしくはポリ（エチレングリコール）（PEG）などの合成ポリマーの粒子中に、ポリマーソームを処方することができる。これらの粒子は、マイクロメートル域の粒子（「マクロビーズ」）もしくはナノ粒子、またはマクロビーズに組み入れられたナノ粒子のいずれかであることができ、これらはいずれも当技術分野では周知である。例えばHari et al「Chitosan/calcium-alginate beads for oral delivery of insulin」Applied Polymer Science,Volume 59,Issue11,14 March 1996,1795-1801、Sosnikの総説「Alginate Particles as Platform for Drug Delivery by the Oral Route:State-of-the-Art」ISRN Pharmaceutics Volume 2014,Article ID 926157、Machado et al「Encapsulation of DNA in Macroscopic and Nanosized Calcium Alginate Gel Particles」Langmuir 2013,29,15926-15935、国際特許出願WO2015/110656、Liang Zhaoらの総説「Nanoparticle vaccines」Vaccine 32（2014）327-337またはLi et al「Chitosan-Alginate Nanoparticles as a Novel Drug Delivery System for Nifedipine」Int J Biomed Sci vol. 4 no. 3 September 2008,221-228を参照されたい。これらのポリマーソームおよび経口製剤の例示的態様において、ワクチン接種に使用されるポリマーソームは、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、VP1、VP2もしくはVP3コートタンパク質などの口蹄疫（FMD）ウイルスタンパク質（VP1コートタンパク質はFMDビリオンの主要抗原決定基を含有しているので、その配列の変化はこのウイルスの高い抗原多様性の原因となっているはずである）、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢（PED）ウイルススパイクタンパク質、MERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質などのヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質の可溶性部分を含むウイルス抗原を、そこに封入している。インフルエンザヘマグルチニンまたはVP1、VP2もしくはVP3コートタンパク質などの口蹄疫（FMD）ウイルスタンパク質の可溶性部分を含むポリマーソームの使用から明らかであるように、ウイルス疾患は鳥類お

よび哺乳動物を含む任意の動物を侵すことができ、哺乳動物はヒトであることもできる。
【０１７７】
「有効量」または「有効投薬量」という用語は、所望の効果を達成するのに十分な量または所望の効果を少なくとも部分的に達成するのに十分な量と定義される。「治療有効量」という用語は、既に疾患に侵されている患者における疾患およびその合併症を治癒させ、または少なくとも部分的に阻止するのに十分な量と定義される。この用途に有効な量は、感染症の重症度および対象自身の免疫系の一般的状態に依存するだろう。「患者」という用語は、予防的処置または治療的処置のいずれかを受けるヒトおよび他の哺乳動物対象を包含する。
【０１７８】
抗体またはその抗原結合部分の適当な投薬量または治療有効量は、処置される状態、状態の重症度、前治療、ならびに患者の臨床歴および治療剤に対する応答に依存するだろう。適正な用量は、主治医の判断に従って、患者に一度に、または一連の投与として投与することができるように、調節することができる。薬学的組成物は、唯一の治療薬として投与するか、必要に応じて追加の治療と組み合わせて投与することができる。
【０１７９】
薬学的組成物が凍結乾燥されている場合は、投与に先立って、その凍結乾燥材料をまず適当な液体に再構成する。凍結乾燥材料は、例えば静菌性注射用水（ＢＷＦＩ）、生理食塩水、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）、または凍結乾燥前にタンパク質が入っていたものと同じ製剤に再構成することができる。
【０１８０】
注射用の薬学的組成物は、単位剤形で、例えばアンプルに入れて、または保存剤が添加された多用量型容器に入れて、提示することができる。加えて、新しい薬物送達アプローチもいくつか開発されており、本発明の薬学的組成物は、これらの新しい方法、例えばInject-ease、Genject、GenenなどのペンMediJectorおよびBioJectorなどの無針デバイスを使った投与に適している。本薬学的組成物は、まだ発見されていない投与方法にも適合させることができる。Langer,1990,Science,249:1527-1533も参照されたい。
【０１８１】
薬学的組成物は、鼻腔内投与用または吸入投与用、例えば気道および/または肺への局所投与用に調製されうる。物質を吸入投与するための手段および装置は当業者には公知であり、例えばWO94/017784AおよびElphick et al.（2015）Expert Opin Drug Deliv,12,1375-87に開示されている。そのような手段およびデバイスとして、ネブライザー、定量吸入器、粉末吸入器、および鼻スプレーが挙げられる。薬物またはワクチンの吸入投与を指示するのに適した手段およびデバイスは当技術分野では他にも知られている。気道および/または肺への局所投与の好ましい経路はエアロゾル吸入によるものである。肺薬物送達、すなわちエアロゾルの吸入によるか（これは鼻腔内投与でも使用することができる）、気管内滴下によるものについては、例えばPatton,J. S.,et al.（2004）Proc. Amer. Thoracic Soc.,1,338-344に総説がある。ネブライザーは溶液からエアロゾルを生じさせるのに役立ち、一方、定量吸入器、乾燥粉末吸入器などは、小粒子エアロゾルを生成させるのに有効である。したがって、薬学的組成物は、エアロゾル（混合物）、スプレー、ミストまたは粉末の形態に製剤化されうる。
【０１８２】
粘膜病原体、例えばSARS-CoV-2、MERSまたはSARS-CoV1のような呼吸器コロナウイルスに対する薬学的組成物は、全身レベルでも粘膜レベルでも持続的な防御免疫を付与すべきである。したがって本開示の薬学的組成物は、好ましくは、吸入投与または鼻腔内投与などの粘膜投与用に調製されうる。実施例14に示すように、コロナウイルスワクチンの鼻腔内投与は、粘膜免疫応答だけでなく全身性免疫応答も誘発することができる。本開示の薬学的組成物は、筋肉内投与などの全身性投与用にも、好ましく調製されうる。
【０１８３】

ネブライザーは、肺に吸入されるミストの形態で投薬するために使用される薬物送達デバイスである。さまざまなタイプのネブライザーが当業者には公知であり、ジェットネブライザー、超音波ネブライザー、振動メッシュ技術、ソフトミスト吸入器などがある。一部のネブライザーは霧状溶液の連続流を与える。すなわち、それらは、対象がそれを吸入するかしないかにかかわらず、長期間にわたる連続噴霧をもたらすことになる。一方、他のネブライザーは呼吸作動式である。すなわち対象は、自身でそこから吸入した場合にのみ、何らかの投薬量を得る。本発明のワクチン、特にMERS、COVID-19、またはSARSなどのヒト病原性コロナウイルス感染症のワクチンは、ネブライザーでの使用のために調合され、ネブライザーに含まれるか、ネブライザーを使って投与されうる。

【０１８４】

定量吸入器（MDI）は、特定量の薬剤を、液体エアロゾル化医薬の短いバーストという形で肺に送達するデバイスである。そのような定量吸入器は一般に、投与される製剤を含むキャニスター、定量された量の製剤を作動ごとに分配することを可能にする計量バルブ、および患者によるデバイスの操作を可能にして液体エアロゾルを肺に向かわせるアクチュエータ（またはマウスピース）という3つの主要構成要素からなる。本発明のワクチン、特にMERS、COVID-19、またはSARSなどのヒト病原性コロナウイルス感染症のワクチンは、MDIでの使用のために調合され、MDIに、特にMDI用のキャニスターに含まれるか、MDIを使って投与されうる。

【０１８５】

乾燥粉末吸入器（DPI）は、薬剤を乾燥粉末の形態で肺に送達するデバイスである。乾燥粉末吸入器は、定量吸入器などといったエアロゾルベースの吸入器に代わる選択肢である。薬剤は一般に、用手装填用のカプセルに保持されるか、吸入器内部に配置された専用ブリスター包装に保持される。本発明のワクチン、特にMERS、COVID-19、またはSARSなどのヒト病原性コロナウイルス感染症のワクチンは、DPIでの使用のために調合され、DPIに、特にMDI用のカプセルまたはブリスター包装に含まれるか、MDIを使って投与されうる。

【０１８６】

鼻スプレーは、薬物を鼻から吹き入れる経鼻投与に使用することができる。本発明のワクチン、特にMERS、COVID-19、またはSARSなどのヒト病原性コロナウイルス感染症のワクチンは、鼻スプレーとして調合され、鼻スプレーボトルに含まれるか、鼻スプレーとして投与されうる。

【０１８７】

薬学的組成物をデポー調製物として製剤化することもできる。そのような長時間作用性製剤は、植込み（例えば皮下、靭帯内もしくは腱内、滑液膜下または筋肉内への植込み）、滑液膜下注射または筋肉内注射によって投与しうる。したがって例えば、製剤は、適切なポリマー材料もしくは疎水性材料（例えば許容される油中のエマルションとして）またはイオン交換樹脂で修飾するか、やや溶けにくい誘導体として、例えばやや溶けにくい塩として、修飾することができる。

【０１８８】

薬学的組成物は、反応性組成物を提供するための投与に使用される、さまざまな従来のデポー型であってもよい。それらには、例えば、溶液または懸濁液、スラリー、ゲル、クリーム、バーム、エマルション、ローション、粉末、スプレー、フォーム、ペースト、オイントメント（ointment）、サルブ（salve）、バームおよび液滴などの固形、半固形および液状剤形が含まれる。

【０１８９】

所望であれば薬学的組成物は、活性成分を含有する1または複数の単位剤形を含有しうる、バイアル、パックまたはディスペンサーデバイスに入れて提示することができる。一態様において、ディスペンサーデバイスは、すぐに注射できる液状製剤の単回用量を有するシリンジを含むことができる。シリンジには投与に関する説明書を添付することができる。

【０１９０】
薬学的組成物は薬学的に許容される追加の構成要素をさらに含みうる。本明細書に記載するタンパク質には、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition,Osol,A.Ed.（１９８０）に記載されているものなど、他の薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤も、それらが製剤の望ましい特徴に有害な影響を及ぼすのでない限り、含めることができる。本明細書にいう「薬学的に許容される担体」とは、薬学的投与と適合する、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤を意味する。薬学的に活性な物質のためのそのような媒質および作用物質の使用は当技術分野において周知である。許容される担体、賦形剤または安定剤は使用される投薬量および濃度においてレシピエントにとって無毒性であり、追加の緩衝剤;保存剤;共溶媒;酸化防止剤、例えばアスコルビン酸およびメチオニン;キレート剤、例えばEDTA;金属錯体（例えばZn-タンパク質錯体）;生分解性ポリマー、例えばポリエステル;塩形成対イオン、例えばナトリウム、多価糖アルコール;アミノ酸、例えばアラニン、グリシン、アスパラギン、2-フェニルアラニン、およびスレオニン;糖類または糖アルコール、例えばラクチトール、スタキオース、マンノース、ソルボース、キシロース、リボース、リビトール、ミオイニシトース（myoinisitose）、ミオイニシトール（myoinisitol）、ガラクトース、ガラクチトール、グリセロール、シクリトール（例えばイノシトール）、ポリエチレングリコール;含硫黄還元剤、例えばグルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、［アルファ］-モノチオグリセロール、およびチオ硫酸ナトリウム;低分子量タンパク質、例えばヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチン、または他の免疫グロブリン;および親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドンを含む。

【０１９１】
本明細書に記載の製剤は、それを必要とする患者における本明細書に記載の病態医学的状態の処置および/または防止において、薬学的組成物として有用である。「処置」という用語は、治療的処置と予防的もしくは防止的措置の両方を指す。処置には、ある疾患/障害、疾患/障害の症状、または疾患/障害の素因を有する患者の身体、単離された組織または細胞に、その疾患、疾患の症状または疾患の素因を治癒（cure、heal）させ、緩和し、軽減し、改変し、矯正し、改善し、改良し、またはそれらに影響を及ぼす目的で、製剤を適用または投与することが含まれる。

【０１９２】
本明細書において使用する「処置する」および「処置」という用語は、治療有効量の本発明の薬学的組成物を対象に投与することを指す。「治療有効量」とは、疾患または障害を処置または改善し、疾患の発症を遅延させ、または疾患の処置もしくは管理において何らかの治療的利益を得るのに十分な、薬学的組成物または抗体の量を指す。

【０１９３】
本明細書において使用する「予防」という用語は、疾患または障害の発症を防止するための作用物質の使用を指す。「予防有効量」は、疾患の発症または再発を防止するのに十分な活性構成要素または薬学的作用物質の量を規定する。

【０１９４】
本明細書において使用する「障害」および「疾患」という用語は、対象における状態を指すために、相互可換的に使用される。特に、「がん」という用語は「腫瘍」という用語と相互可換的に使用される。

【０１９５】
本明細書において使用される場合、「CpGオリゴヌクレオチド」という用語は、（例えばBode et al.,CpG DNA as a vaccine adjuvant.Expert Rev Vaccines.2011 April;10（4）:499-511に記載されているように）非メチル化CpGモチーフを含有する任意の合成または天然オリゴデオキシヌクレオチド（ODN）を指しうる。したがって本発明では、（例えばRankin et al.,2001（Antisense and nucleic acid drug development 11:333-340（2001）、とりわけそのTable1およびTable2に記載さ

れ、また本明細書の図32に記載されているように）任意の適切なCpGオリゴヌクレオチドを、例えば適切な動物と組み合わせて使用しうる。CpGオリゴヌクレオチドは、例えば、構造的特徴と、ヒト末梢血単核球（PBMC）、特にB細胞および形質細胞様樹状細胞（pDC）に対する活性とに基づいて同定された（刺激性）CpG ODNの3つの主要クラスのうちのどれに属してもよい。それら3つのクラスは、クラスA（例えばPS-PO（ホスホロチオエート化ホスホジエステル）バックボーン;D型としても公知である）、クラスB（例えばPS（ホスホロチオエート化）バックボーン;K型としても公知である）およびクラスC（例えばPS（ホスホロチオエート化）バックボーン）である。CpG-A ODNは、通常、PO（ホスホジエステル）中央CpGを含有するパリンドロームモチーフとPS修飾（すなわちホスホロチオエート化修飾）3'ポリGストリングとを特徴とし、一方、CpG-B ODNは、1つまたは複数のCpGジヌクレオチドを持つ完全PSバックボーンを含有する。CpG-C ODNは、クラスAとクラスBの両方のCpGオリゴヌクレオチドの特徴を併せ持つ。例示的な本発明のCpG ODNを、本明細書の図31に、さらに図示する（https://www.invivogen.com/cpg-odns-classesから引用して変更を加えたもの）。好ましい本発明のCpG-A ODNは、TLR9依存的NF-κBシグナル伝達および炎症性サイトカイン（例えばIL-6）生産を刺激することよりも、形質細胞様樹状細胞（pDC）からのIFN-α生産を、主として誘導することができる。好ましい本発明のCpG-B ODNは、IFN-α分泌を刺激することよりも、B細胞およびTLR9依存的NF-κBシグナル伝達を、主として活性化することができる。好ましい本発明のCpG-C ODNは、（i）TLR9依存的NF-κBシグナル伝達および炎症性サイトカイン（例えばIL-6）生産を刺激することよりも、形質細胞様樹状細胞（pDC）からのIFN-α生産を、主として誘導すると共に、（ii）IFN-α分泌を刺激することよりも、B細胞およびTLR9依存的NF-κBシグナル伝達を主として活性化することができる。

【０１９６】

本発明のキットは、典型的には、上述の容器と、例えば緩衝液、希釈剤、フィルター、針、シリンジおよび使用説明書を含む添付文書などといった商業的観点および使用者の観点から望ましい材料を含む1つまたは複数の他の容器とを含むであろう。

【０１９７】

本願に関して、「リポソーム」という用語は、少なくとも1つの脂質二重層を有する球場のベシクルを指す。

【０１９８】

本願に関して、「エンドソーム」という用語は、真核細胞内の膜で区切られたコンパートメント（すなわち液胞）を指し、エンドサイトーシスによって取り入れられた材料はそこに送達される。

【０１９９】

本願に関して、「後期エンドソーム」という用語は、内腔pHが低くタンパク質組成が異なることによって初期エンドソームとは区別される、プレリソソームエンドサイトーシス細胞小器官を指す。後期エンドソームは初期エンドソームよりも球形であり、大部分が核近傍にあって、微小管形成中心近くに濃縮されている。

【０２００】

本願に関して、「Tヘルパー細胞」（TH細胞または「エフェクターCD4（＋）T細胞」とも呼ばれる）という用語は、形質細胞およびメモリーB細胞へのB細胞の成熟や細胞傷害性T細胞およびマクロファージの活性化を含む免疫学的プロセスにおいて、他の白血球を支援するTリンパ球を指す。これらの細胞は、その表面にCD4糖タンパク質を発現するので、「CD4（＋）T細胞」としても公知である。ヘルパーT細胞は、抗原提示細胞（APC）の表面に発現したMHCクラスII分子によって、例えばペプチド抗原を提示されると、活性化される。

【０２０１】

本明細書において使用する「自己抗原」という用語は、ある生物の任意の分子または化学基であって、別の生物では抗体形成の誘導において抗原として作用するが、親生物の健

常な免疫系はそれに対して寛容であるものを指す。

【０２０２】

本明細書において使用する「％同一性」という用語は、www.clustal.orgから入手可能なClustalW法もしくはClustalX法またはそれらと等価な技法で例示されるような最適な配列アラインメントで2つのアミノ酸配列を比較した場合に、配列内の対応する位置における同一アミノ酸残基のパーセンテージを指す。したがって、両方の配列（リファレンス配列と関心対象の配列）をアラインメントし、両配列間の同一アミノ酸残基を同定し、同一アミノ酸の総数を、アミノ酸の総数（アミノ酸長）で割る。この割り算の結果がパーセント値、すなわちパーセント同一性値/パーセント同一度である。

【０２０３】

本発明の免疫処置法は、完全長可溶性封入抗原（例えばタンパク質）または前記タンパク質のフラグメントを、その適正なフォールディングを可能にする合成環境で使用することによって実行することができるので、インビボで対応する抗原（例えば膜タンパク質）を検出する能力を有する抗体が単離される確率は高くなるだろう。そのうえ、本免疫処置および抗体生成は、ペプチドベースの免疫処置アプローチを使用する場合には本来必要になるであろう膜タンパク質構造に関する知識が事前に何もなくても、実行することができる。

【０２０４】

さらに、他の技法と比べると、本発明の方法は、酸化安定性膜環境に封入された膜タンパク質の迅速で費用対効果の高い生産を可能にする。

【０２０５】

いくつかの局面において、本発明は、対象における抗原（例えば免疫原）に対する免疫応答を誘発するための方法に関する。本方法は、両親媒性ポリマーの膜（例えば周囲膜）を有する本発明のポリマーソームを含む組成物を対象に投与する工程を含みうる。本組成物は、本発明のポリマーソームの両親媒性ポリマーの膜によって封入された可溶性抗原を、さらに含む。免疫原は膜結合型タンパク質でありうる。いくつかのさらなる局面において、本発明のポリマーソームは脂質ポリマーを含む。投与は、例えば経口投与、外用投与、気道への局所投与、肺への局所投与、吸入投与、鼻腔内投与、または注射など、任意の適切な方法で実行されうる。

【０２０６】

当業者は、所望する応答のレベルに応じて、投与（例えば経口投与または注射）の頻度を決定し、調節することができる。例えば、対照（これは哺乳類動物を含みうる）には、本発明のポリマーソームの週1回または2週に1回の投与（例えば経口投与または注射による投与）を与えることができる。免疫応答は、本発明のポリマーソームに封入された抗原の初期量に対して哺乳類動物における抗体の血中濃度レベル（力価）を定量することによって測定することができる（「実施例」参照）。

【０２０７】

ポリマーソームの構造は、ベシクル状に自己集合してさまざまな抗原（例えば可溶性タンパク質など）を封入している両親媒性ブロック共重合体を含むことができ、抗原は、溶媒再水和（solvent re-hydration）の方法、直接的分散、または自発的自己集合によって封入される（例えば本明細書に記載の実施例1）。

【０２０８】

本願に関して、本明細書において使用する「可溶性抗原」という用語は、溶解することができるまたは液状にすることができる抗原を意味する。一具体例として、可溶性抗原は、膜タンパク質の細胞外領域および/または細胞内領域のアミノ酸からなりうる。ただし、可溶性抗原は、その抗原を依然として溶解または液化させることができる限り、膜タンパク質の細胞外領域および/または細胞内領域のアミノ酸と、膜タンパク質の膜貫通領域に属するさらに1つまたは複数のアミノ酸とを含むこともできる。一具体例として、SEQ ID NO:43のMERS-CoVスパイクタンパク質の可溶性フラグメントは、膜貫通領域に属するアミノ酸（1297番目）を1つ含んでいるが、本開示の意味での可溶性抗原である。

ただし可溶性抗原は、好ましくは、膜貫通領域の少なくとも一部分または膜貫通領域全体を欠くと想定される。「可溶性抗原」という用語は、「可溶化された」抗原、すなわち洗浄剤または他の薬剤の作用によって可溶性にされた、または特に水への、溶解度を増した抗原を包含する。例示的で非限定的な本発明の可溶性抗原としては、タンパク質の非可溶性部分に由来するポリペプチド、封入のために可溶性にされた疎水性ポリペプチド、ならびに凝集物として可溶性である凝集ポリペプチドが挙げられる。

【０２０９】

いくつかの局面において、本発明の抗原（例えば膜タンパク質）は、洗浄剤、界面活性剤、温度変化またはｐＨ変化を使って可溶化される。両親媒性ブロック共重合体によって提供されるベシクル構造は、抗原（例えば膜タンパク質）が生理的に正しく機能的な形で折りたたまれることを可能にすることで、標的哺乳類動物の免疫系が該抗原を検出し、それによって強い免疫応答を生じることを可能にする。

【０２１０】

いくつかの局面において、本発明の組成物の注射は、腹腔内注射、皮下注射もしくは静脈内注射、筋肉内注射、または非侵襲的投与を含みうる。他のいくつかの局面において、本発明の組成物の注射は皮内注射を含みうる。

【０２１１】

他のいくつかの局面では、本発明のポリマーソームを含む組成物にアジュバントを含めることによって、免疫応答レベルをさらに高め、またはブーストすることができる。アジュバントは封入アジュバントまたは非封入アジュバントでありうる。アジュバントは、本発明のポリマーソームまたは本発明の組合せと混合されていてもよい。アジュバントは水に可溶であるか、水-油エマルションの形態をとりうる。そのような局面において、ポリマーソームとアジュバントは対象に同時に投与することができる。

【０２１２】

いくつかの局面において、本発明のポリマーソームのブロック共重合体または両親媒性ポリマーは、免疫賦活加薬でもアジュバントでもない。

【０２１３】

他のいくつかの局面において、本発明のブロック共重合体または両親媒性ポリマーは免疫賦活薬および/またはアジュバントである。

【０２１４】

いくつかのさらなる局面において、本発明のポリマーソームは免疫原性である。

【０２１５】

いくつかのさらなる局面において、本発明のポリマーソームは非免疫原性である。

【０２１６】

いくつかの局面において、アジュバントは、本発明のポリマーソームを含む本発明の組成物の投与とは別個に投与しうる。アジュバントは、本発明の抗原を封入したポリマーソームを含む組成物を投与する前に、またはその投与と同時に、またはその投与後に、投与しうる。例えば、アジュバントは、本発明の抗原を封入したポリマーソームを含む組成物を注射した後に、対象に注射しうる。いくつかの局面において、アジュバントは、抗原と一緒にポリマーソームに封入することができる。他の好ましい局面において、アジュバントは、別個のポリマーソームに封入される。つまり、アジュバントは、抗原とは別々に封入されるので、抗原は1種類目のポリマーソームに封入され、アジュバントは2種類目のポリマーソームに封入されることになる。ここでは、アジュバントとポリマーソームを、同じ両親媒性ポリマーから形成されるポリマーソームに封入できることに留意されたい。各抗原と、例示的アジュバントとしてのＣｐＧオリゴデオキシヌクレオチド
(例えば, CpG ODN1826: 5’-tccatgacgttcctgacgtt-3’, SEQ ID

NO: 18 または CpG ODN 2007: 5’- TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT -3’, SEQ ID NO: 63)

が、どちらもＢＤ２１ポリマーソームに封入される、本願の実施例７～９または実施例１４または実施例１８を参照されたい。あるいは、抗原の封入に使用される両親媒性ポリマーは

、アジュバントの封入に使用される両親媒性ポリマーとは異なってもよい。純粋に説明のための一例として、抗原をBD21ポリマーソームに封入する一方で、アジュバントを$PDMS_{12}$-PEO_{46}ポリマーソームまたは$PDMS_{47}PEO_{36}$ポリマーソームに封入しうる。

【０２１７】

本発明では公知のアジュバントをどれでも使用することができ、注入されるアジュバントのタイプが、免疫応答を誘発するために使用される抗原のタイプに依存しうることは、当業者には容易に認識され、理解される。アジュバントは、細菌、ウイルスまたは真菌由来の抗原でありうる。アジュバントは、CpGオリゴデオキシヌクレオチド（「CpG ODN」としても公知であり、または本明細書では「CpG」ともいう）などの核酸でありうる。CpG分子は、特定の配列コンテキスト（CpGモチーフ）で非メチル化CpGジヌクレオチドを含有する細菌由来の天然オリゴヌクレオチドである。これらのCpGモチーフは、細菌DNA中には、哺乳動物DNAと比較して20倍高い頻度で存在する。CpG ODNはToll様受容体9（TLR9）によって認識されて強い免疫刺激効果をもたらし、広く市販されている。市販のCpG ODNの具体例としては、配列
TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT

を有する24マーであるODN2006（SEQ ID NO:62、Miltenyi Biotechからカタログ番号130-100-106として市販されている）、配列
5’- TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT -3’ (SEQ ID NO: 63)

を有する22マーであるODN2007、配列
5’-TCCATGACGTTCCTGACGTT-3’ (SEQ ID NO: 18)

を有する20マーである、先に挙げたODN1826、または配列
5’-GGGGGACGA:TCGTCGGGGGG-3’ (SEQ ID NO: 64)

を有する20マーであるODN2216が挙げられ、最後の3つはいずれもInvivoGenから市販されている。天然DNA分子であるから、塩基はホスホジエステル結合（PO_4）によって一つに連結されている。しかしこの結合はヌクレアーゼによる分解に対して感受性である。保護要素を何も伴わずにアジュバントとして使用した場合、体内での天然CpG分子の半減期は極めて短い。この短い半減期を避けるために、酸素原子の1つを硫黄原子に変えることによって、ホスホジエステル結合をホスホロチオエート結合で置き換えうる。この置換はヌクレアーゼによる分解を防止し、修飾されたCpGの半減期を延ばす。例えばCpG分子ODN2006、ODN2007またはODN1826は、それらをヌクレアーゼ耐性にするために、完全ホスホロチオエートバックボーン型で提供されている。あるいは、CpGは、ヌクレアーゼによる分解を避けるために、カチオン性リポソームに封入される。本発明では、CpGの他にも、ポリイノシン:ポリシチジン酸（ポリ（I:C））（TLR3）、リポ多糖（LPS）（TLR4）、モノホスホリルリピド（MPL）（TLR5）など、広く使用されている他の多くのToll様受容体アゴニストを、1つまたは複数のアジュバントとして使用することができる。さらにまた、細菌細胞またはマイコバクテリア細胞壁由来の構成要素、例えばSigma Adjuvant System中またはフロイントのアジュバント中に存在する構成要素、またはキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）などのタンパク質も、本発明において同様に使用することができるアジュバントのさらなる具体例である。本発明において使用することができる適切なアジュバントのさらなる具体例として、Sigma Adjuvant System（SAS）またはシメチコンまたはアルファ-トコフェロールが挙げられる。他の抗原-アジュバントペアも本発明の方法における使用に適している。

【０２１８】

これに関連して、本明細書において使用される「アジュバント」という用語は、（例えば上述のアジュバントがそうであるように）他の作用物質の効果を修飾する薬理学的または免疫学的作用物質に限定されるわけではなく、「免疫系の作用を刺激する任意の物質」

を意味する。したがって、免疫系の作用を刺激するチェックポイント阻害剤も、本明細書において使用するアジュバントという用語に包含される。例えば、細胞表面に存在するPD-L1は、免疫細胞活性を阻害する免疫細胞表面上のPD1に結合する。したがって、例えばPD-1またはPD-L1のどちらかに結合してPD1とPD-L1の相互作用を遮断する抗体は、T細胞が腫瘍を攻撃することを可能にしうるので、「そのような正のチェックポイント阻害剤」である。

【０２１９】

いくつかの局面において、本発明において抗原として使用される膜タンパク質は、膜貫通タンパク質のフラグメントまたは細胞外ドメインを含みうる。また抗原は、（完全長）膜貫通タンパク質、Gタンパク質共役受容体、神経伝達物質受容体、キナーゼ、ポリン、ABC輸送体、イオン輸送体、アセチルコリン受容体および細胞接着受容体であってもよい。膜タンパク質はタグに融合またはカップリングしてもよいし、タグを含まなくてもよい。膜タンパク質にタグ付けする場合、タグは、例えばVSV、His-タグ、Strep-tag（登録商標）、Flag-タグ、インテイン-タグまたはGST-タグなどの周知のアフィニティータグ、またはビオチンもしくはアビジンなどの抗アフィニティー結合ペアのパートナー、または蛍光ラベル、酵素ラベル、NMRラベルもしくは同位体ラベルなどのラベルから選択することができる。

【０２２０】

いくつかの局面において、膜タンパク質またはそのフラグメント（もしくは一部分）は、封入前に用意されてもよいし、無細胞発現系によるタンパク質の生産と同時に封入されてもよい。無細胞発現系はインビトロ転写・翻訳系であってよい。

【０２２１】

無細胞発現系は、ウサギ網状赤血球、小麦胚芽抽出物または昆虫抽出物に基づくTNT系などの真核無細胞発現系、原核無細胞発現系または古細菌無細胞発現系であることもできる。

【０２２２】

本開示の抗原またはそのフラグメント（もしくは一部分）はインビボで生産されうる。抗原またはそのフラグメント（もしくは一部分）は、例えば、細菌宿主生物または真核宿主生物において生産し、その宿主生物またはその培養物から単離することができる。抗原またはそのフラグメント（もしくは一部分）を、例えばインビトロ翻訳系を使用することなどによって、インビトロで生産することも可能である。好ましい発現系はバキュロウイルス発現系である。バキュロウイルスタンパク質発現系の利用は、遅くて高価であると見られているため、見過ごされることが多い。しかし、バキュロウイルス系の大きな利点の1つは、細胞株を生じさせて、ウイルスに依存せずに維持することができることである。これは、新しい細胞株について規制当局の承認を得る必要がない、新しいサブユニット抗原の迅速な生産を可能にし、MERS-CoVおよびSARS-CoV-1のようなウイルスの配列の迅速な変化を考えれば有用なツールである。そのうえ、バキュロウイルス系は哺乳動物系と比較して新規なグリコシル化プロファイルを持つ抗原を生産し、それは免疫応答を強化することが示されている。例えば、SARS-CoV-1およびMERS-CoVの場合、スパイクタンパク質の全可溶性（S1～S2）ドメインを、Sf9細胞で発現させることができる。これらのタンパク質は、Balb/cマウスに免疫処置されると、単独で投与されても、ミョウバンまたはMatrix M1アジュバントと共に投与されても、高いウイルス中和力価を示し、この中和は少なくとも45日間は持続しうる。したがって本開示の抗原は、好ましくは真核宿主細胞、好ましくは昆虫細胞、例えばSf9細胞を使って、または好ましくはバキュロウイルス発現系を使って、生産される。

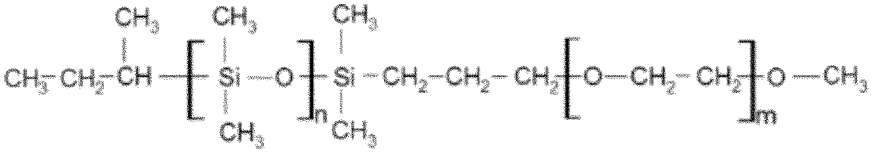
【０２２３】

上述のとおり、ポリマーソームは、両親媒性ジブロックまたはトリブロック共重合体で形成されうる。さまざまな局面において、両親媒性ポリマーは、カルボン酸、アミド、アミン、アルキレン、ジアルキルシロキサン、エーテルまたはアルキレンスルフィドのモノマー単位を少なくとも1つ含みうる。

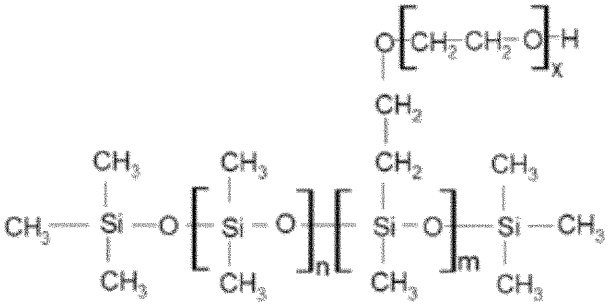
【０２２４】
いくつかの局面において、両親媒性ポリマーは、オリゴ（オキシエチレン）ブロック、ポリ（オキシエチレン）ブロック、オリゴ（オキシプロピレン）ブロック、ポリ（オキシプロピレン）ブロック、オリゴ（オキシブチレン）ブロックおよびポリ（オキシブチレン）ブロックからなる群より選択されるポリエーテルブロックでありうる。ポリマーに含まれうるブロックのさらなる例としては、ポリ（アクリル酸）、ポリ（メチルアクリレート）、ポリスチレン、ポリ（ブタジエン）、ポリ（2-メチルオキサゾリン）、ポリ（ジメチルシロキサン）、ポリ（e-カプロラクトン）、ポリ（プロピレンスルフィド）、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）、ポリ（2-ビニルピリジン）、ポリ（2-（ジエチルアミノ）エチルメタクリレート）、ポリ（2-ジイソプロピルアミノ）エチルメタクリレート）、ポリ（2-メタクリロイルオキシ）エチルホスホリルコリン、ポリ（イソプレン）、ポリ（イソブチレン）、ポリ（エチレン-co-ブチレン）およびポリ（乳酸）が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。適切な両親媒性ポリマーの例としては、ポリ（エチルエチレン）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PEE-b-PEO）、ポリ（ブタジエン）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PBD-b-PEO）、ポリ（スチレン）-b-ポリ（アクリル酸）（PS-PAA）、ポリ（ジメチルシロキサン-b-エチレンオキシド）としても公知であるポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（本明細書ではPDMS-PEOという）、ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）、例えばMay et al.,2013が使用した$PMOXA_{20}$-$PDMS_{54}$-$PMOXA_{20}$（ABA）などのトリブロック共重合体を含むポリ（2-メチルオキサゾリン）-b-ポリ（ジメチルシロキサン）-b-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PMOXA-bPDMS-bPMOXA）、ポリ（2-メチルオキサゾリン）-b-ポリ（ジメチルシロキサン）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PMOXA-b-PDMS-b-PEO）、ポリ（エチレンオキシド）-b-ポリ（プロピレンスルフィド）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PEO-b-PPS-b-PEO）およびポリ（エチレンオキシド）-ポリ（ブチレンオキシド）ブロック共重合体が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。ブロック共重合体は、共重合体中に含まれるそれぞれのブロックの平均ブロック長によってさらに指定することができる。したがって、PB_MPEO_Nは、長さMのポリブタジエンブロック（PB）と長さNのポリエチレンオキシド（PEO）ブロックとの存在を示す。MおよびNは、独立して選択される整数であり、これは例えば約6～約60の範囲内で選択されうる。したがって$PB_{35}PEO_{18}$は、平均長35のポリブタジエンブロックと平均長18のポリエチレンオキシドブロックとの存在を示す。一定の局面において、PB-PEOジブロック共重合体は、5～50ブロックPBと5～50ブロックPEOとを含む。同様に、$PB_{10}PEO_{24}$は、平均長10のポリブタジエンブロックと平均長24のポリエチレンオキシドブロックとの存在を示す。本発明において使用することができる適切なPB-PEOジブロック共重合体の具体例としては、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（市販もされている）および$[PBD]_{21}$-$[PEO]_{12}$（WO2014/077781A1およびNallani et al.,2011参照）が挙げられる。さらなる一例として、E_OB_Pは、長さOのエチレンオキシドブロック（E）と長さPのブタジエンブロック（B）の存在を示す。したがってOおよびPは独立して選択される整数であり、例えば約10～約120の範囲にある。したがって$E_{16}E_{22}$は平均長16のエチレンオキシドブロックと平均長22のブタジエンブロックとの存在を示す。

【０２２５】
次に、本発明のポリマーソームを形成させるために使用されるもう1つの好ましいブロック共重合体であるポリ（ジメチルシロキサン-b-エチレンオキシド）（PDMS-PEO）について考えると、ここでは線状PDMS-PEOとくし型PDMS-PEOをどちらも使用できることに留意されたい（PDMS-PEOから形成されたポリマーソームを記載しているGaspard et al「Mechanical Characterization of Hybrid Vesicles Based on Linear Poly（Dimethylsiloxane-b-Ethylene Oxide）and Poly（Butadiene-b-Ethylene Oxide）Block Copolymers」Sensors 2016,16（3）,390参照）。

【０２２６】
線状PDMS-PEOの構造を以下に式（I）：



として示し、くし型PDMS-PEOの構造を以下に式（II）：



として示す。構造式（I）に沿って、$PDMS_n$-PEO_mという術語は、長さnのポリジメチルシロキサン（PDMS）ブロックと長さmのポリエチレンオキシド（PEO）ブロックとの存在を示す。mおよびnは独立して選択される整数であり、それぞれ例えば約5もしくは約6～約100、約5～約60、または約6～約60、または約5～50の範囲で選択することができる。例えば、$PDMS_{12}$-PEO_{46}または$PDMS_{47}PEO_{36}$などの線状PDMS-PEOは、カナダ・ケベック州ドーバル（モントリオール）のPolymer Source Inc.から市販されている。したがってPDMS-PEOブロック共重合体は、5～100ブロックPDMSと5～100ブロックPEO、6～100ブロックPDMSと6～100ブロックPEO、5～100ブロックPDMSと5～60ブロックPEO、または5～60ブロックPDMSと5～60ブロックPEOを含みうる。

【０２２７】

上記に従って、本発明は、一局面において、対象における免疫応答を誘発する方法であって、抗原を担持するPDMS-PEOから形成されたポリマーソームを対象に投与する工程を含む方法に関する。抗原は任意の適切な形でPDMS-PEOポリマーソームと会合/物理的に連結することができる。例えばPDMS-PEOポリマーソームは、本発明に記載するように、その中に封入された可溶性抗原を有しうる。上記に代えて、または上記に加えて、ポリマーソームは、WO2014/077781A1に記載されているように、ポリマーソームの周囲膜に組み込まれた/組み入れられた抗原を有しうる。この場合、抗原は、PDMS-PEO-ポリマーソームの周囲膜にその（1つまたは複数の）膜貫通ドメインが組み込まれる膜タンパク質である。組込みは、WO2014/077781A1またはNallani et al「Proteopolymersomes:in vitro production of a membrane protein in polymersome membranes」Biointerphases,1 December 2011,page 153に記載されているように達成することができる。抗原がPDMS-PEOポリマーソームに封入される場合、それは、ポリペプチド、糖質、ポリヌクレオチドおよびそれらの組合せからなる群より選択される可溶性抗原でありうる。本発明はさらに、PDMS-PEOポリマーソーム中のそのような封入抗原の生産方法および該方法によって生産されたポリマーソームに関する。

【０２２８】

本発明はさらに、抗原を担持するPDMS-PEOポリマーソームを含む組成物に関する。ここでもやはり、これらの組成物において、抗原は任意の適切な形でPDMS-PEOポリマーソームと会合/物理的に連結することができる。例えばPDMS-PEOポリマーソームは、本発明に記載するように、その中に封入された可溶性抗原を有しうる。上記に代えて、または上記に加えて、ポリマーソームは、WO2014/077781A1に記載されているように、ポリマーソームの周囲膜に組み込まれた/組み入れられた抗原を有しうる。本発明は、抗原を担持するそのようなPDMS-PEOポリマーソームを含むワクチン、免疫応答を誘

発する方法、またはがん、自己免疫疾患もしくは感染性疾患を処置、改善、予防または診断するための方法であって、それを必要とする対象に抗原を担持するPDMS-PEOポリマーソームを与える工程を含む方法にも関係する。

【０２２９】

上記に従って、本発明は、免疫応答を誘発するのに適した形での、抗原を担持（または輸送）するPDMS-PEOポリマーソームのインビトロ使用およびインビボ使用にも関係する。抗原はPDMS-PEOポリマーソームに封入するか、例えばWO2014/077781A1に記載されているように、ポリマーソームの周囲膜に組み入れることができる。

【０２３０】

もう一つの好ましいブロック共重合体はポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）である。PDMS-PAAは、長さMのポリ（ジメチルシロキサン）（PDMS）ブロックと長さNのポリ（アクリル酸）（PAA）ブロックの存在を示す$PDMS_M$-PAA_Nでありうる。MとNは独立して選択される整数であり、それらは例えば約5～約100の範囲から選択されて、ブロックの平均長さを表す。PDMS-PAAは、好ましくは、5～100ブロックPDMSおよび5～100ブロックPAAを含む。好ましくは、PDMS-PAAは、5～50、好ましくは10～40ブロックのPDMSおよび/または5～30、好ましくは5～25、好ましくは5～20ブロックのPAAを含む。PDMS-PAAは、好ましくは、$PDMS_{30}$-PAA_{14}、$PDMS_{15}$-PAA_7または$PDMS_{34}$-PAA_{16}からなる群より選択される。

【０２３１】

一定の局面において、本発明のポリマーソームは、1つまたは複数のコンパートメント（「マルチコンパートメント」と別称される）を含有しうる。ポリマーソームのベシクル構造のコンパートメント化は、生きている細胞における複雑な反応経路の併存を可能にし、細胞内で多くの活動を空間的、時間的に分離するのに役立つ。したがって2タイプ以上の抗原を本発明のポリマーソームに封入しうる。異なる抗原は同じアイソフォームまたは異なるアイソフォームを有しうる。各コンパートメントも同じ両親媒性ポリマーまたは異なる両親媒性ポリマーで形成されうる。さまざまな局面において、2つ以上の異なる抗原は両親媒性ポリマーの周囲膜に組み込まれる。各コンパートメントはペプチド、タンパク質、および核酸のうちの少なくとも1つを封入しうる。ペプチド、タンパク質、ポリヌクレオチドまたは糖質は免疫原性でありうる。

【０２３２】

適切なマルチコンパートメント化ポリマーソームのさらなる詳細はWO2012101830 6に見出され、その内容は参照によりあらゆる目的でそのまま本明細書に組み入れられる。

【０２３３】

また、ポリマーソームは独立していてもよいし、例えばWO2010/1123462（その内容は参照によりあらゆる目的でそのまま本明細書に組み入れられる）に記載されているもののように、表面に固定化されていてもよい。

【０２３４】

ポリマーソーム担体が2つ以上のコンパートメントを含有する場合、それらのコンパートメントは、外側ブロック共重合体ベシクルと、外側ブロック共重合体ベシクルの内側に封入された少なくとも1つの内側ブロック共重合体ベシクルとを含みうる。いくつかの局面において、外側ベシクルおよび内側ベシクルのブロック共重合体のそれぞれは、ポリ（オキシエチレン）ブロック、ポリ（オキシプロピレン）ブロック、およびポリ（オキシブチレン）ブロックなどのポリエーテルブロックを含む。共重合体中に含まれうるブロックのさらなる例として、ポリ（アクリル酸）、ポリ（メチルアクリレート）、ポリスチレン、ポリ（ブタジエン）、ポリ（2-メチルオキサゾリン）、ポリ（ジメチルシロキサン）、ポリ（L-イソシアノアラニン（2-チオフェン-3-イル-エチル）アミド）、ポリ（e-カプロラクトン）、ポリ（プロピレンスルフィド）、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）、ポリ（2-ビニルピリジン）、ポリ（2-（ジエチルアミノ）エチルメタクリレート）、ポリ（2-（ジイソプロピルアミノ）エチルメタクリレート）、ポリ（2-（メタクリ

ロイルオキシ）エチルホスホリルコリン）およびポリ（乳酸）が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。適切な外側ベシクルおよび内側ベシクルの例としては、ポリ（エチルエチレン）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PEE-b-PEO）、ポリ（ブタジエン）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PBD-b-PEO）、ポリ（スチレン）-b-ポリ（アクリル酸）（PS-b-PAA）、ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（カプロラクトン）（PEO-b-PCL）、ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（乳酸）（PEO-b-PLA）、ポリ（イソプレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PI-b-PEO）、ポリ（2-ビニルピリジン）-ポリ（エチレンオキシド）（P2VP-b-PEO）、ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PEO-b-PNIPAm）、ポリ（エチレングリコール）-ポリ（プロピレンスルフィド）（PEG-b-PPS）、ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）、ポリ（メチルフェニルシラン）-ポリ（エチレンオキシド）（PMPS-b-PEO-b-PMPS-b-PEO-b-PMPS）、ポリ（2-メチルオキサゾリン）-b-ポリ-（ジメチルシロキサン）-b-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PMOXA-b-PDMS-b-PMOXA）、ポリ（2-メチルオキサゾリン）-b-ポリ（ジメチルシロキサン）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PMOXA-b-PDMS-b-PEO）、ポリ［スチレン-b-ポリ（L-イソシアノアラニン（2-チオフェン-3-イル-エチル）アミド）］（PS-b-PIAT）、ポリ（エチレンオキシド）-b-ポリ（プロピレンスルフィド）-b-ポリ（エチレンオキシド）（PEO-b-PPS-b-PEO）およびポリ（エチレンオキシド）-ポリ（ブチレンオキシド）（PEO-b-PBO）ブロック共重合体が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。ブロック共重合体は、共重合体中に含まれるそれぞれのブロックの平均数によってさらに指定することができる。したがって、PS_M-$PIAT_N$は、繰り返し単位数Mのポリスチレンブロック（PS）と繰り返し単位数Nのポリ（L-イソシアノアラニン（2-チオフェン-3-イル-エチル）アミド）（PIAT）ブロックとの存在を示す。したがってMおよびNは独立して選択される整数であり、それらは例えば約5～約95の範囲内で選択しうる。したがってPS_{40}-$PIAT_{50}$は、繰り返し単位数が平均で40のPSブロックと繰り返し単位数が平均で50のPIATブロックとの存在を示す。

【０２３５】

いくつかの局面において、本開示のポリマーソームは脂質を含み、それは好ましくはブロック共重合体または両親媒性ポリマーと混合されている。脂質の含量は、典型的には、ブロック共重合体または両親媒性ポリマーの量と比較して低い。典型的には、脂質は、ポリマーソーム膜を形成する構成要素の最大約50％、最大約45％、最大約40％、最大約35％、最大約30％、最大約20％、最大約15％、最大約10％、最大約5％、最大約2％、最大約1％、最大0.5％、最大約0.2％、最大約0.1％であるだろう（百分率は重量で与えられている）。脂質の添加は封入効率を向上させうる。脂質は、合成脂質、天然脂質、脂質混合物、または合成脂質と天然脂質の組合せでありうる。脂質の非限定的な例は、リン脂質、例えばホスファチジルコリン、例えばPOPC、レシチン、セファリン、またはホスファチジルイノシトール、またはリン脂質、例えば大豆リン脂質、例えばアゾレクチンを含む脂質混合物である。脂質のさらなる非限定的な例として、コレステロール、コレステロール硫酸、1,2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウムプロパン（DOTAP）が挙げられる。脂質は好ましくは非抗原性である。いくつかの局面において、本開示のポリマーソームは、約20％未満、約15％未満、約10％未満、約5％未満、約2％未満、約1％未満、約0.5％未満、約0.2％未満、約0.1％未満のサポニンを含むか、またはサポニンを本質的に含まない（百分率は重量で与えられている）。

【０２３６】

いくつかの局面において、本発明は、ポリマーソーム中の封入抗原を生産するための方法であって、（i）本発明の両親媒性ポリマーをクロロホルムに溶解する工程であって、好ましくは両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）である、工程、（ii）ポリマーフィルムを形成させるために、溶解した両親媒性ポリマーを乾燥させる工程、（iii）可溶化された抗原を工程（ii）の乾燥両親媒性ポリマーフィルムに加える工程であって、該抗原が、（a）ポリペプチド、好ましくは本発明の抗原であるポリペ

プチド、（b）糖質、（c）（a）および/または（b）および/または（c）の組合せからなる群より選択される、工程、（iv）ポリマーベシクルを形成させるために、工程（iii）のポリマーフィルムを再水和する工程、（v）任意で、ポリマーベシクル単分散ベシクルを精製するために、工程（iv）のポリマーベシクルを濾過する工程、および/または（vi）任意で、工程（iv）または工程（v）のポリマーベシクルを非封入抗原から単離する工程を含む、方法に関する。

【０２３７】

他のいくつかの局面において、本発明は、抗原の水性溶液へのポリマーの非水性溶液の混合、対応するポリマーと抗原との混合溶液の超音波処理、または対応するポリマーと抗原との混合溶液の押出しに基づく方法を含む、ポリマーソーム中の封入抗原を生産するための別の方法に関する。例示的な方法として、Rameez et al,Langmuir 2009およびNeil et al Langmuir 2009,25（16）,9025-9029に記載の方法が挙げられる。

【０２３８】

いくつかの局面において、本発明は、1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられた1種または複数種のアジュバントの単独投与によって対象における免疫応答を誘発する方法に関する。

【０２３９】

いくつかの局面において、単独投与は、抗原が該1種または複数種のアジュバントと組み合わされて該対象に投与されないことを特徴とする投与である。

【０２４０】

いくつかの局面において、本発明の単独投与は、以下のうちの1つまたは複数である:（i）予防的単独投与（例えば抗ウイルス的および/または免疫調節的予防のため）;（ii）治療的単独投与（例えば抗ウイルス的および/または免疫調節的処置のため）;（iii）対象におけるストレスレベルを低減するための（例えばウシの運送、輸送中の、および/またはウシを他の動物と混在させる時の、ストレスレベルを低減するための）単独投与;（iv）（i）～（iii）の任意の組合せ。

【０２４１】

いくつかの局面において、本発明の1種または複数種のアジュバントは、同じ本発明のポリマーソーム集団または異なる本発明のポリマーソーム集団と、独立して関連づけられる。

【０２４２】

いくつかの局面において、本発明の1種または複数種のアジュバントは、該1つまたは複数のポリマーソーム集団と、以下の手段のうちの1つまたは複数によって、独立して関連づけられる:（i）該1つまたは複数のポリマーソーム集団内に該1種または複数種のアジュバントを封入すること;（ii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の周囲膜中に該1種または複数種のアジュバントを組み込むことおよび/または包埋すること;（iii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該1種または複数種のアジュバントを共有結合によってコンジュゲートすること;（iv）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該1種または複数種のアジュバントを非共有結合によってコンジュゲートすること;および/または（v）（i）～（iv）の任意の組合せ。

【０２４３】

いくつかの局面において、1種または複数種のアジュバントは、（i）本明細書記載のCpGオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちCpG ODN）、（ii）細菌およびマイコバクテリアの細胞壁およびタンパク質に由来する非抗原性構成要素からなる群より、独立して選択される。

【０２４４】

いくつかの局面において、ポリマーソームは酸化安定性ポリマーソームである。

【０２４５】

いくつかの局面において、免疫応答は、1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは該免疫応答は自然免疫応答である。

【０２４６】
いくつかの局面において、免疫応答は、インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌を刺激することを含む1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌は、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌より優勢であり、さらに好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌は、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌を伴わない。
【０２４７】
いくつかの局面において、該単独投与の経路は、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、皮内投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与および筋肉内投与からなる群より選択される。
【０２４８】
いくつかの局面において、対象は、（i）哺乳類動物、好ましくは該哺乳類動物はヒト、ネコ、イヌ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、乳牛またはブタである、および（ii）非哺乳類動物からなる群より選択される。
【０２４９】
いくつかの局面において、本発明の方法は、がん（例えば肉腫、線維肉腫）、アトピー性皮膚炎、アフリカブタ熱、トリインフルエンザ、ウシ海綿状脳症、ブルセラ症、オウシマダニ（Cattle Fever Tick）、慢性消耗性疾患、ブタ熱、ウマ伝染性子宮炎、ウマヘルペスウイルス、ウマ感染性貧血、ウマピロプラズマ病、ウマウイルス性動脈炎、口蹄疫、ヨーネ病、マイコプラズマ・オビニューモニエ（Mycoplasma ovipneumoniae）、ブタ流行性下痢ウイルス、仮性狂犬病、ウサギ出血性疾患ウイルス、シュマレンベルクウイルス、スクレイピー、コイ春ウイルス血症（Spring viremia carp）、ブタにおけるA型インフルエンザウイルス、結核、水疱性口内炎、ウエストナイルウイルス、ストレス関連疾患（例えばパスツレラ症、マンヘミア・ヘモリチカ（Mannheimia haemolytica）およびコクシジウム症）、ウイルス性疾患（例えばネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢）、抗ウイルス的処置または予防、免疫疾患、免疫調節的処置または予防、ネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢、ウシ、ウマおよび/または子ネコの上部呼吸器疾患症候群（Upper respiratory disease complex）からなる群より選択される疾患に対する処置方法および/または予防方法である。
【０２５０】
既存の取込み・クロスプレゼンテーション媒体およびそれらに基づく方法と比較して、本発明のポリマーソームには、なかんずく以下の利点があり、それらも本発明の局面である:
・本ポリマーソームは取込みおよび免疫系へのクロスプレゼンテーションの効率が非常に高い、
・免疫応答が$CD8^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む、
・ポリマーソームが酸化安定性である、
・体液性応答が、アジュバントありまたはアジュバントなしの遊離抗原ベースの技法によって生じるものと比べて強い、
・本発明のポリマーソームによって誘導される免疫応答は、アジュバントを使ってより一層ブーストすることができる、
・本発明のポリマーソームのポリマーは本質的に頑強であり、体内での循環時間が増加するように適応させ、または官能基化することができる、
・本発明のポリマーソームは血清成分の存在下で安定である、
・ポリマーソームのポリマーは安価であり、迅速に合成される、
・本発明の方法によって免疫応答を誘発するのに必要な抗原の量は、アジュバントありまたはアジュバントなしの遊離抗原ベースの技法と比較して少ない。
・本発明の1種または複数種のアジュバントの単独投与によって対象における免疫応答

を誘発する方法は、（例えば抗ウイルス的および/または免疫調節的予防および/または処置のための）抗原非存在下での免疫応答の誘発の改良を可能にする。
・ＡＣＭ封入はＣｐＧの生物学的機能を強化した。
・ＡＣＭ-ＣｐＧは、遊離ＣｐＧと比べて、優れたアジュバント活性を呈した。
・ＡＣＭ-ＣｐＧは、遊離ＣｐＧよりも幅広いサイトカインプロファイルを誘導した。
・ＢＤ２１（８５モル％）とＤＯＴＡＰ（１５モル％）とからなる本発明のポリマーソームに封入されたＡＣＭ-ＣｐＧは、１ｋｇあたりＣｐＧ約７.５μｇ～約１２.５μｇの単回投与量で投与した場合に、ネコおよびイヌにおける高感染性病原体（例えば細菌および/またはウイルス、例えばカルシシウイルス（Ｃａｌｃｉｃｉ ｖｉｒｕｓ）および/またはＦＨＶ（ネコヘルペスウイルス））に対する治療的および/または予防的モダリティを含む有意な免疫応答を生じた（例えば本明細書の実施例２３～２４参照）。

【０２５１】

本発明は以下の項目も特徴とする。

１.ポリマーソーム（例えば可溶性封入抗原を含む酸化安定性ポリマーソーム）であって、
該可溶性封入抗原が、
（ｉ）ポリペプチド、
（ｉｉ）糖質、
（ｉｉｉ）好ましくはアンチセンスオリゴヌクレオチドではなく、さらに好ましくはＤＮＡ分子もしくはｍＲＮＡ分子である、ポリヌクレオチド、
（ｉｖ）（ｉ）および/または（ｉｉ）および/または（ｉｉｉ）の組合せ
からなる群より選択される、
ポリマーソーム。

２.ポリマーソームが、ＣＤ８$^{(+)}$Ｔ細胞媒介性免疫応答を誘発する能力を有し、好ましくは該誘発がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの誘発である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

３.抗原が膜タンパク質（ＭＰ）または膜結合ペプチド（ＭＡＰ）の可溶性部分を含み、好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（ＯＶＡ）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばＭＥＲＳ-ＣｏＶスパイクタンパク質、ＳＡＲＳ-ＣｏＶ-２スパイクタンパク質、またはＳＡＲＳ-ＣｏＶ-１スパイクタンパク質、Ｂ１６ペプチドまたはＭＣ３８ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは抗原がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:２、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:３、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:４、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:５、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:６、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:７、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:８、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:９、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１０、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１１、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１２～１４、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:４３～４６、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:３４～４１、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:４８～５１、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:６５からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも６０％以上（例えば少なくとも６５％、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９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％）同一であるポリペプチドを含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

４.ポリマーソームが血清成分の存在下で安定性であり、好ましくは該安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの安定性である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

５.ポリマーソームがエンドソーム内で安定であり、好ましくは該安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの安定性である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

６.ポリマーソームが、リポソームの対応する酸化安定性と比較して改良された酸化安定性を有し、好ましくは該改良された安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの改良された安定性である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

７.ポリマーソームが、可溶性封入抗原を含むその内容物を酸化非依存的に放出して、Ｃ

D8（＋）T細胞媒介性免疫応答をトリガーする能力を有し、好ましくは該放出がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの放出である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

8.ポリマーソームが、CD8（＋）T細胞媒介性免疫応答を含む細胞性免疫応答を誘発する能力を有し、好ましくは該免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの免疫応答である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

9.ポリマーソームが、細胞性免疫応答および/または体液性免疫応答を誘発する能力を有し、細胞性免疫応答がCD8（＋）T細胞媒介性免疫応答を含み、好ましくは免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの免疫応答である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

10.体液性免疫応答が特異的抗体の生産を含み、さらに好ましくは該免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの免疫応答である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

11.ポリマーソームが、エフェクターCD4（＋）T細胞の出現頻度を強化する能力を有し、好ましくは該強化がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの強化である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

12.細胞性免疫応答がT細胞媒介性免疫応答を含み、好ましくは該免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの免疫応答である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

13.ポリマーソームが、遊離の抗原と比較して抗原特異的CD8（＋）T細胞のクローン拡大を強化する能力を有し、好ましくは該拡大がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの拡大である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

14.ポリマーソームが、抗原特異的エフェクターCD8（＋）T細胞を誘導する能力を有し、好ましくは該誘導がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの誘導である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

15.ポリマーソームが、抗原特異的CD8（＋）T細胞の細胞傷害性表現型を強化する能力を有し、好ましくは該強化がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの強化である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

16.ポリマーソームが、リンパ節常在性マクロファージおよび/またはB細胞をターゲティングする能力を有し、好ましくは該ターゲティングがインビボ、エクスビボまたはインビトロでのターゲティングである、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

17.ポリマーソームが還元安定性であり、好ましくは該ポリマーソームが血清成分の存在下で還元安定性であり、さらに好ましくは該還元安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの還元安定性である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

18.ポリマーソームが、低減した透過性を有し、好ましくは該低減した透過性が、リポソームの対応する透過性との比較であり、さらに好ましくは該透過性がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの透過性である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

19.ポリマーソームが、エンドソーム内でその内容物を放出する能力を有し、好ましくは該エンドソームが後期エンドソームであり、さらに好ましくは該放出がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの放出である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

20.以下の能力のうちの1つまたは複数を有する、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム:

（i）細胞性免疫応答を誘発する能力であって、好ましくは該細胞性免疫応答がCD8（＋）T細胞媒介性免疫応答を含み、さらに好ましくは該細胞性免疫応答がCD8（＋）T細胞媒介性免疫応答であり、最も好ましくは該細胞性免疫応答がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタン

パク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する応答であり、さらに最も好ましくは該細胞性免疫応答が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドに対する応答である、細胞性免疫応答を誘発する能力;

（ii）エンドソーム内でポリマーソーム内容物を放出する能力であって、好ましくは該エンドソームが後期エンドソームであり、さらに好ましくは該内容物がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、最も好ましくは該内容物が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドを含む、エンドソーム内でポリマーソーム内容物を放出する能力;

（iii）ポリマーソーム内容物を酸化非依存的に放出してCD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答をトリガーする能力であって、好ましくは該内容物がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは該内容物が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドを含む、ポリマーソーム内容物を酸化非依存的に放出してCD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答をトリガーする能力;

（iv）抗原に対する免疫応答を刺激する能力であって、好ましくは該抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは該抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも

60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドを含む、抗原に対する免疫応答を刺激する能力;

（v）CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーする能力であって、好ましくは該応答がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する応答であり、さらに好ましくは該応答が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドに対する応答である、CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーする能力;

（vi）ペプチドまたはタンパク質を抗原提示細胞（APC）に送達する能力であって、好ましくは該ペプチドまたはタンパク質が、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含むか、または該可溶性部分に由来し、さらに好ましくは該ペプチドまたはタンパク質が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドを含むか、該ポリペプチドに由来する、ペプチドまたはタンパク質を抗原提示細胞に送達する能力;

（vii）CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答および/またはCD4$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む免疫応答をトリガーする能力であって、好ましくは該応答がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する応答であり、さらに好ましくは該応答が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドに対する応答である、CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答および/またはCD4$^{(+)}$T細胞

媒介性免疫応答を含む免疫応答をトリガーする能力;

（viii）対象における免疫応答を刺激する能力であって、好ましくは該応答がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する応答であり、さらに好ましくは該応答が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドに対する応答である、対象における免疫応答を刺激する能力;

（ix）非ヒト動物を免疫処置する能力であって、好ましくは該免疫処置がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する免疫処置であり、さらに好ましくは該免疫処置が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドに対する免疫処置である、非ヒト動物を免疫処置する能力;

（x）ポリマーソームが、該ポリマーソームなしでの抗原の対応する抗原性と比較して、改変された抗原性を有することであって、好ましくは該抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分であり、さらに好ましくは該抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドである、改変された抗原性を有すること;

（xi）ポリマーソームが、該ポリマーソームなしでの抗原の対応する免疫原性と比較して、改変された免疫原性を有することであって、好ましくは該免疫原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはM

C38ペプチドの可溶性部分であり、さらに好ましくは該免疫原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドである、改変された免疫原性を有すること。

21.以下の特性のうちの1つまたは複数を有する、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム:

（i）ポリマーソームが酸化安定性膜を含む、および/または

（ii）ポリマーソームが合成物である、および/または

（iii）ポリマーソームが非封入抗原を含まないか、または遊離の非封入抗原と混合されている、および/または

（iv）ポリマーソームが両親媒性ポリマーの膜を含む、および/または

（v）ポリマーソームが、ベシクル膜を形成する両親媒性合成ブロック共重合体を含む、および/または

（vi）ポリマーソームが70nm超の直径を有し、好ましくは該直径が約100nm～約1μm、または約120nm～約250nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲である、および/または

（vii）ポリマーソームがベシクルの形態を有する、

（viii）ポリマーソームが自己集合性である。

22.ポリマーソームがポリマーソームの集合体の形態にあり、ポリマーソームの集合体の平均直径が約100nm～約1μm、または約100nm～約750nm、または約100nm～約500nm、または約120nm～約250nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲にある、項目21記載のポリマーソーム。

23.抗原が免疫原である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

24.抗原が、（i）自己抗原、（ii）非自己抗原、（iii）非自己免疫原および（iv）自己免疫原からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

25.抗原が、以下:

（i）ウイルスポリペプチド配列と少なくとも80%以上（例えば少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドであって、好ましくは該ウイルスポリペプチド配列がインフルエンザヘマグルチニンまたはブタインフルエンザヘマグルチニンであり、さらに好ましくは該ウイルスポリペプチド配列が、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7およびSEQ ID NO:8からなる群より選択される、ポリペプチド;

（ii）細菌ポリペプチド配列と少なくとも80%以上（例えば少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチド;

（iii）哺乳類ポリペプチド配列または鳥類ポリペプチド配列と少なくとも80%以上（例えば少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドであって、好ましくは該哺乳類ポリペプチド配列または該鳥類ポリペプチド配列が、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質と少なくとも80%以上（例えば少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチド、B16ペプチドまた

はMC38ペプチドであり、さらに好ましくは該哺乳類ポリペプチド配列または該鳥類ポリペプチド配列が、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択される、ポリペプチド
からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

26.哺乳類ポリペプチド配列が、ヒト、齧歯類、ウサギおよびウマのポリペプチド配列からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

27.抗原が抗体またはそのフラグメントである、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

28.抗原が、以下:

（i）インフルエンザヘマグルチニン（HA）、好ましくはSEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7およびSEQ ID NO:8からなる群より選択されるもの、

（ii）ブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）、好ましくはSEQ ID NO:6、

（iii）卵白アルブミン（OVA）、好ましくはSEQ ID NO:4、

（iv）スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルス（PED）スパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、好ましくはSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65、

（v）B16ペプチド、好ましくはSEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10およびSEQ ID NO:11からなる群より選択されるもの、

（vi）MC38ペプチド、好ましくはSEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2およびSEQ ID NO:3からなる群より選択されるもの、

（vii）B16ペプチドおよびMC38ペプチド、好ましくは該ペプチドは、群:（i）SEQ ID NO:1～3および（ii）SEQ ID NO:9～11から独立して選択される、
からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

29.カチオン性、アニオン性およびノニオン性ポリマーソーム、ならびにそれらの混合物からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

30.ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが本質的に非免疫原性または本質的に非抗原性であり、好ましくはブロック共重合体または両親媒性ポリマーが非免疫原性または非抗原性である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

31.ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが酸化安定性である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

32.ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが免疫賦活薬でもアジュバントでもない、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

33.両親媒性ポリマーがジブロックまたはトリブロック（A-B-AまたはA-B-C）共重合体を含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

34.両親媒性ポリマーが共重合体ポリ（N-ビニルピロリドン）-b-PLAを含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

35.両親媒性ポリマーが、カルボン酸、アミド、アミン、アルキレン、ジアルキルシロキサン、エーテルまたはアルキレンスルフィドのモノマー単位を少なくとも1つ含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

36.両親媒性ポリマーが、オリゴ（オキシエチレン）ブロック、ポリ（オキシエチレン）ブロック、オリゴ（オキシプロピレン）ブロック、ポリ（オキシプロピレン）ブロック、オリゴ（オキシブチレン）ブロックおよびポリ（オキシブチレン）ブロックからなる群より選択されるポリエーテルブロックである、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

37.両親媒性ポリマーがポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PB-PEO）ジブロック共重合体である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

38.PB-PEOジブロック共重合体が5～50ブロックPBと5～50ブロックPEOとを含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

39.両親媒性ポリマーが、ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（PDMS-PEO）ジブロック共重合体であり、好ましくは該PB-PEOジブロック共重合体が、好ましくは、5～100ブロックPDMSと5～100ブロックPEOとを含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

40.ポリマーソームがブロック共重合体または両親媒性ポリマーだけで構成されるか、脂質と混合されたブロック共重合体または両親媒性ポリマーで構成されうる、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

41.脂質が、合成脂質もしくは天然脂質、または合成脂質混合物もしくは天然脂質混合物、または合成脂質と天然脂質との組合せで構成される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

42.両親媒性ポリマーがポリ（ラクチド）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PLA-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPLA-PEO/POPCが、50:50以上（例えば50/50または75/25または90/10）のPLA-PEO対POPC（例えばPLA-PEO/POPC）の比を有する、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

43.両親媒性ポリマーがポリ（カプロラクトン）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PCL-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPCL-PEO/POPCが50:50以上（例えば50/50または75/25または90/10）のPCL-PEO対POPC（例えばPCL-PEO/POPC）の比を有する、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

44.両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）またはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（PDMS-PEO）ジブロック共重合体またはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）ジブロック共重合体である、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

45.ポリマーソームが、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（本明細書では「BD21」という）、$PDMS_{47}$-PEO_{36}（PDMS-PEO）またはトリブロック共重合体$PMOXA_{12}$-$PDMS_{55}$-$PMOXA_{12}$を含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

46.1つまたは複数のコンパートメントを含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

47.ポリマーソームが1つまたは複数のコンパートメントを含み、該1つまたは複数のコンパートメントのそれぞれが、少なくとも1つのペプチド、タンパク質、および核酸を封入し、好ましくは該ペプチド、タンパク質、および核酸のうちの該少なくとも1つが免疫原性または抗原性であり、さらに好ましくは該1つまたは複数のコンパートメントのそれぞれが、同じ両親媒性ポリマーまたは異なる両親媒性ポリマーで構成される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

48. ポリマーソームが2つ以上のコンパートメントを含み、該コンパートメントは外側ブロック共重合体ベシクルと少なくとも1つの内側ブロック共重合体ベシクルとを含み、該少なくとも1つの内側ブロック共重合体ベシクルは外側ブロック共重合体ベシクルの内部に封入され、好ましくは外側ブロック共重合体ベシクルは、

（i）ポリ［スチレン-b-ポリ（L-イソシアノアラニン（2-チオフェン-3-イル-エチル）アミド）］（PS-PIAT）、

（ii）ポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PBD-PEO）、

（iii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（カプロラクトン）（PEO-PCL）、

（iv）ポリ（エチルエチレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PEE-PEO）、

（v）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（乳酸）（PEO-PLA）、

（vi）ポリ（イソプレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PI-PEO）、

（vii）ポリ（2-ビニルピリジン）-ポリ（エチレンオキシド）（P2VP-PEO）、

（viii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PEO-P

NIPAm）、
（ix）ポリ（スチレン）-ポリ（アクリル酸）（PS-PAA）、
（x）ポリ（エチレングリコール）-ポリプロピレンスルフィド）（PEG-PPS）、
（xi）ポリ（2-メチルオキサゾリン）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PMOXA-PDMS-PMOXA）、
（xii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PEO-PDMS-PMOXA）、
（xiii）ポリ（メチルフェニルシラン）-ポリ（エチレンオキシド）（PMPS-PEO-PMPS-PEO-PMPS）、および
（xiv）ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）
からなる群より独立して選択される共重合体で形成されたポリマーソームであり、さらに好ましくは該少なくとも1つの内側ブロック共重合体ベシクルは
（xv）ポリ［スチレン-b-ポリ（L-イソシアノアラニン（2-チオフェン-3-イル-エチル）アミド）］（PS-PIAT）、
（xvi）ポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PBD-PEO）、
（xvii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（カプロラクトン）（PEO-PCL）、
（xviii）ポリ（エチルエチレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PEE-PEO）、
（xix）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（乳酸）（PEO-PLA）、
（xx）ポリ（イソプレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PI-PEO）、
（xxi）ポリ（2-ビニルピリジン）-ポリ（エチレンオキシド）（P2VP-PEO）、
（xxii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PEO-PNIPAm）、
（xxiii）ポリ（スチレン）-ポリ（アクリル酸）（PS-PAA）、
（xxiv）ポリ（エチレングリコール）-ポリプロピレンスルフィド）（PEG-PPS）、
（xxv）ポリ（2-メチルオキサゾリン）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PMOXA-PDMS-PMOXA）、
（xxvi）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PEO-PDMS-PMOXA）、
（xxvii）ポリ（メチルフェニルシラン）-ポリ（エチレンオキシド）（PMPS-PEO-PMPS-PEO-PMPS）、および
（xxviii）ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）
からなる群より独立して選択される共重合体で形成されたポリマーソームである、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。
49.脂質ポリマーを含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。
50.封入されたアジュバントをさらに含む、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。
51.ポリマーソーム中の封入抗原を生産するための方法であって、以下の工程を含む、方法:
（i）両親媒性ポリマーをクロロホルムに溶解する工程であって、好ましくは両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）である、工程、
（ii）ポリマーフィルムを形成させるために、溶解した両親媒性ポリマーを乾燥させる工程、
（iii）可溶化された抗原を工程（ii）の乾燥両親媒性ポリマーフィルムに加える工程であって、抗原が、
（a）ポリペプチドであって、好ましくはポリペプチド抗原が前記項目のいずれか一項に記載のとおりであり、さらに好ましくはポリペプチド抗原が、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペ

プチドの可溶性部分を含み、最も好ましくはポリペプチド抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11およびSEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一である、ポリペプチド、

（b）糖質、

（c）アンチセンスオリゴヌクレオチドではなく、好ましくはDNA分子またはmRNA分子である、ポリヌクレオチド、

（d）（a）および/もしくは（b）および/もしくは（c）の組合せ

からなる群より選択される工程、

（iv）ポリマーベシクルを形成させるために、工程（iii）のポリマーフィルムを再水和する工程、

（v）任意で、ポリマーベシクル単分散ベシクルを精製するために、工程（iv）のポリマーベシクルを濾過する工程、ならびに/または

（vi）任意で、工程（iv）もしくは工程（v）のポリマーベシクルを非封入抗原から単離する工程。

52.ポリマーソームが前記項目のいずれか一項記載のポリマーソームである、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム中の封入抗原を生産するための方法。

53.前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム中の封入抗原を生産するための方法によって生産された、ポリマーソーム。

54.前記項目のいずれか一項記載のポリマーソームを含む、組成物。

55.薬学的組成物または診断組成物である、前記項目のいずれか一項記載の組成物。

56.免疫原性組成物、抗原性組成物または免疫治療組成物である、前記項目のいずれか一項記載の組成物。

57.1つまたは複数の免疫賦活薬および/または1つもしくは複数のアジュバントをさらに含む、前記項目のいずれか一項記載の組成物。

58.ワクチンである、前記項目のいずれか一項記載の組成物。

59.皮内、腹腔内、筋肉内、皮下、静脈内注射、または粘膜表面への非侵襲性投与のために製剤化された、前記項目のいずれか一項記載の組成物。

60.前記項目のいずれか一項記載のポリマーソームまたは組成物に曝露された、単離された抗原提示細胞またはハイブリドーマ細胞。

61.樹状細胞を含む、前記項目のいずれか一項記載の抗原提示細胞。

62.マクロファージを含む、前記項目のいずれか一項記載の抗原提示細胞。

63.B細胞を含む、前記項目のいずれか一項記載の抗原提示細胞。

64.前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞またはハイブリドーマを含み、かつ薬学的に許容される賦形剤または担体をさらに含む、ワクチン。

65.（i）抗原がインフルエンザヘマグルチニン（HA）を含み、ワクチンがインフルエンザワクチンであり、好ましくは該インフルエンザヘマグルチニン（HA）が、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7およびSEQ ID NO:8からなる群より選択されるポリペプチドと少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一である、

（ii）抗原がブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）を含み、ワクチンがブタインフルエンザワクチンであり、好ましくは該ブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）が、SEQ ID NO:6と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（iii）抗原が卵白アルブミン（OVA）を含み、ワクチンががんワクチンであり、好ましくは該卵白アルブミン（OVA）が、SEQ ID NO:4と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（iv）抗原がスパイクタンパク質（PEDv S）を含み、ワクチンがPEDワクチンであり、好ましくはブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質（Sタンパク質）が、SEQ ID NO:12～14のポリペプチドと少なくとも80％以上（例えば少なくとも85％、少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（v）抗原がB16ペプチドを含み、ワクチンががんワクチンであり、好ましくは該ペプチドがSEQ ID NO:9～11からなる群より選択される、

（vi）抗原がMC38ペプチドを含み、ワクチンががんワクチンであり、好ましくは該ペプチドがSEQ ID NO:1～3からなる群より選択される、

（vii）抗原がB16ペプチドおよびMC38ペプチドを含み、ワクチンががんワクチンであり、好ましくは該ペプチドが群:（i）SEQ ID NO:1～3および（ii）SEQ ID NO:9～11から独立して選択される、

（viii）抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であり、ワクチンががんワクチンである、

（ix）抗原が、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばSEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質を含み、ワクチンが、MERS-CoV、SARS-CoV-2またはSARS-CoV-1などのヒト病原性コロナウイルスに対するワクチンである、

前記項目のいずれか一項記載のワクチン。

66.前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンを含む、キット。

67.対象（例えばヒト）における免疫応答を誘発する方法であって、以下の工程を含む、方法:

（i）前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンを該対象に提供する工程、

（ii）該ポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンを該対象に投与する工程であって、好ましくは該投与が皮内、腹腔内、筋肉内、皮下、静脈内注射、または粘膜表面への非侵襲性投与である、工程。

68.免疫応答が広範な免疫応答である、前記項目のいずれか一項記載の免疫応答を誘発する方法。

69.免疫応答がCD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答および/またはCD4$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む、前記項目のいずれか一項記載の免疫応答を誘発する方法。

70.その必要がある対象（例えばヒト）において感染性疾患、がんまたは自己免疫疾患を処置または防止するための方法であって、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソー

ム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンの治療有効量を対象に投与する工程を含み、好ましくは感染性疾患がウイルス感染性疾患または細菌感染性疾患である、方法。

71.非ヒト動物を免疫処置するための方法であって、以下の工程を含む、方法:

（i）前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンを用意する工程、

（ii）該ポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンで非ヒト動物を免疫処置する工程。

72.抗体を調製するための方法であって、以下の工程を含む、方法:

（i）前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンで非ヒト哺乳動物を免疫処置する工程、

（ii）工程（i）で得られた抗体を単離する工程。

73.抗体がモノクローナル抗体（mAb）である、前記項目のいずれか一項記載の方法。

74.医薬として使用するための、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチン。

75. 以下の方法のうちの1つまたは複数において使用するための、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチン:

（i）抗体を発見および/またはスクリーニングおよび/または調製する方法、

（ii）ワクチンを発見および/またはスクリーニングおよび/または調製する方法、

（iii）免疫原性組成物または免疫賦活組成物を生産または調製する方法、

（iv）タンパク質および/またはペプチドの標的送達の方法であって、好ましくは標的送達が前記項目のいずれか一項記載の抗原性タンパク質および/またはペプチドの標的送達であり、さらに好ましくは抗原性タンパク質および/または抗原性ペプチドが膜タンパク質（MP）または膜結合ペプチド（MAP）の可溶性部分を含み、最も好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であり、さらに最も好ましくは標的送達が対象において実行される、方法、

（v）抗原に対する免疫応答を刺激する方法であって、好ましくは抗原が前記項目のいずれか一項記載の抗原であり、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%

、少なくとも99％または100％）同一であり、さらに最も好ましくは対象における該抗原に対する免疫応答の刺激に使用するための、方法、

（vi）CD8（＋）T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーする方法、好ましくは前記項目のいずれか一項記載の抗原に対するCD8（＋）T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーする方法であって、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、方法、

（vii）前記項目のいずれか一項記載の抗原提示細胞（APC）にペプチドおよび/またはタンパク質を送達する方法であって、好ましくはペプチドおよび/またはタンパク質が前記項目のいずれか一項記載の抗原であり、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、方法、

（viii）CD8（＋）T細胞媒介性免疫応答および/またはCD4（＋）T細胞媒介性免疫応答を含む免疫応答をトリガーする方法であって、好ましくは応答が前記項目のいずれか一項記載の抗原に対する応答であり、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは応答が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である抗原に対する応答である、方法、

（ix）感染性疾患の処置、改善、予防または診断のための方法、好ましくは感染性疾患がウイルス感染性疾患または細菌感染性疾患であり、さらに好ましくはウイルス感染性疾患が、インフルエンザ感染症、呼吸器合胞体ウイルス感染症、ヘルペスウイルス感染症

からなる群より選択される、方法、
（x）がんまたは自己免疫疾患の処置、改善、予防または診断のための方法、
（xi）がん細胞を化学治療に対して感作させるための方法、
（xii）がん細胞におけるアポトーシスを誘導するための方法、
（xiii）対象における免疫応答を刺激するための方法、
（xiv）非ヒト動物を免疫処置するための方法、
（xv）ハイブリドーマの調製方法、
（xvi）前記項目のいずれか一項記載の方法、
（xvii）インビボおよび/またはエクスビボおよび/またはインビトロでの方法である、前記（i）～（xvi）のいずれか一項記載の方法、
（xviii）抗原が、該抗原が使用される環境にとって異種である、前記（i）～（xvii）のいずれか一項記載の方法。
76.以下のうちの1つまたは複数のための、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム、組成物、抗原提示細胞、ハイブリドーマまたはワクチンの使用:
（i）抗体を発見および/またはスクリーニングおよび/または調製するため、
（ii）ワクチンを発見および/またはスクリーニングおよび/または調製するため、
（iii）免疫原性組成物または免疫賦活組成物を生産または調製するため、
（iv）タンパク質および/またはペプチドの標的送達のためであって、好ましくは標的送達が抗原性タンパク質および/または抗原性ペプチドの標的送達であり、さらに好ましくは標的送達が対象において実行される、標的送達のため、
（v）抗原に対する免疫応答を刺激するためであって、好ましくは対象における抗原に対する免疫応答を刺激するのに使用するため、
（vi）CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーするため、
（vii）抗原提示細胞（APC）にペプチドまたはタンパク質を送達するためであって、好ましくはペプチドまたはタンパク質が抗原であり、さらに好ましくはペプチドまたはタンパク質が免疫原性または免疫治療用である、送達のため、
（viii）CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答および/またはCD4$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む免疫応答をトリガーするため、
（ix）感染性疾患の処置、改善、予防または診断のための方法であって、好ましくは感染性疾患がウイルス感染性疾患または細菌感染性疾患であり、さらに好ましくはウイルス感染性疾患が、インフルエンザ感染症、呼吸器合胞体ウイルス感染症、ヘルペスウイルス感染症からなる群より選択される、感染性疾患の処置、改善、予防または診断のための方法において、
（x）がんまたは自己免疫疾患の処置、改善、予防または診断のため、
（xi）がん細胞を化学治療に対して感作させるため、
（xii）がん細胞におけるアポトーシスの誘導のため、
（xiii）対象における免疫応答を刺激するため、
（xiv）非ヒト動物を免疫処置するため、
（xv）ハイブリドーマの調製のため、
（xvi）前記項目のいずれか一項記載の方法において、
（xvii）インビボおよび/またはエクスビボおよび/またはインビトロでの使用である、前記（i）～（xvi）のいずれか一項記載の使用のため、
（xviii）抗原が、該抗原が使用される環境にとって異種である、前記（i）～（xvii）のいずれか一項記載の使用のため。
77.対象における免疫応答を誘発する方法であって、抗原を担持するPDMS-PEOから形成されたポリマーソームを対象に投与する工程を含む、方法。
78.抗原がPDMS-PEOポリマーソーム内に封入される、項目77記載の方法。
79.PDMS-PEOポリマーソームに封入される抗原が可溶性抗原である、項目78記載の方法。

80.抗原が、ポリペプチド、糖質、ポリヌクレオチドおよびそれらの組合せからなる群より選択される、項目79記載の方法。
81.抗原がPDMS-PEOポリマーソームの周囲膜に組み込まれる、項目77記載の方法。
82.抗原を担持する、PDMS-PEOポリマーソーム。
83.抗原がPDMS-PEOポリマーソーム内に封入される、項目82記載のポリマーソーム。
84.PDMS-PEOポリマーソームに封入される抗原が可溶性抗原である、項目83記載のポリマーソーム。
85.抗原が、ポリペプチド、糖質、ポリヌクレオチドおよびそれらの組合せからなる群より選択される、項目84記載のポリマーソーム。
86.抗原がPDMS-PEOポリマーソームの周囲膜に組み込まれる、項目85記載のポリマーソーム。
87.抗原が膜結合型タンパク質または脂質抗原である、項目86記載のポリマーソーム。
88.膜結合型タンパク質が、膜貫通タンパク質、Gタンパク質共役受容体、神経伝達物質受容体、キナーゼ、ポリン、ABC輸送体、イオン輸送体、アセチルコリン受容体および細胞接着受容体からなる群より選択される、項目87記載のポリマーソーム。
89.項目82～88のいずれか一項記載のポリマーソームを含む薬学的組成物。
90.免疫応答を誘発するための、項目82～88のいずれか一項記載のPDMS-PEOまたは項目89記載の薬学的組成物のインビトロおよびインビボでの使用。
91. 免疫応答を誘発するための、
（i）ポリペプチド、
（ii）糖質、
（iii）好ましくはアンチセンスオリゴヌクレオチドではなく、さらに好ましくはDNA分子もしくはmRNA分子である、ポリヌクレオチド、または
（iv）（i）および/もしくは（ii）および/もしくは（iii）の組合せ
からなる群より選択される可溶性封入抗原を含む、約120nm以上の直径を有するポリマーソーム、好ましくは項目1～50のいずれか一項記載のポリマーソームの使用。
92. ポリマーソームの直径が、約120nm～約1μm、または約140nm～約750nm、または約120nm～約500nm、または約140nm～約250nm、約120nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲にある、項目91記載の使用。
93. 免疫応答を誘発するための、
（i）ポリペプチド、
（ii）糖質、
（iii）好ましくはアンチセンスオリゴヌクレオチドではなく、さらに好ましくはDNA分子もしくはmRNA分子である、ポリヌクレオチド、または
（iv）（i）および/もしくは（ii）および/もしくは（iii）の組合せ
からなる群より選択される可溶性封入抗原を含む、約120nm以上の平均直径を有するポリマーソームの集合体、好ましくは項目1～50のいずれか一項に規定したポリマーソームの集合体の使用。
94. ポリマーソームの集合体の平均直径が、約120nm～約1μm、または約120nm～約750nm、または約120nm～約500nm、または約120nm～約250nm、約120nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲にある、項目93記載の使用。
95. 対象がウイルス感染症に対してワクチン接種される、項目91～94のいずれか一項記載の使用。
96. ポリマーソームまたはポリマーソームの集合体が、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、皮内投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与および筋肉内投与からなる群より選択される投与経路によって投与される、項目91～95のいずれか一項記載の使用。

97．対象が、ヒトを含む哺乳類動物、または非哺乳類動物である、項目91～96のいずれか一項記載の使用。

98．対象が哺乳類動物であり、がん、ウイルス感染症および細菌感染症からなる群より選択される疾患に対してワクチン接種される、項目97記載の使用。

99．対象がヒトであり、コロナウイルス感染症に対してワクチン接種される、項目98記載の使用。

100．コロナウイルスがヒト病原性である、項目99記載の使用。

101．コロナウイルスがベータ-コロナウイルスである、項目99または項目100記載の使用。

102．コロナウイルスがサルベコウイルスまたはメルベコウイルスである、項目99～101のいずれか一項記載の使用。

103．20．コロナウイルスがMERS-CoV、SARS-CoV-2またはSARS-CoV-1である、項目99記載の使用。

104．対象が非哺乳類動物であり、ウイルス感染症および細菌感染症からなる群より選択される疾患に対してワクチン接種される、項目97記載の使用。

105．非哺乳類動物が鳥類（例えばニワトリ、カモ、ガチョウまたはシチメンチョウなどの家禽）、魚類または甲殻類である、項目104記載の使用。

106．鳥類がニワトリ、カモ、ガチョウまたはシチメンチョウである、項目105記載の使用。

107．魚類がサケ、マスまたはティラピアである、項目105記載の使用。

108．甲殻類がシュリンプ、プローン、またはカニである、項目105記載の使用。

109．哺乳類動物がヤギ、ヒツジ、ウシ、またはブタである、項目97記載の使用。

110．動物がブタであり、ブタ流行性下痢ウイルスに対してワクチン接種される、項目109記載の使用。

111．動物が有蹄動物であり、口蹄疫ウイルスに対してワクチン接種される、項目109記載の使用。

112．ポリマーソームがジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）およびDOTAP（例えば85モル％濃度のBD21）およびDOTAP（15モル％濃度）を含み、該ポリマーソームが少なくとも1種のアジュバント、例えばCpGオリゴヌクレオチドを封入している、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

113．（i）該少なくとも1種のアジュバントが同じポリマーソーム集団または異なるポリマーソーム集団と独立して関連づけられ、好ましくは、該少なくとも1種のアジュバントはアジュバントの混合物であり、さらに好ましくは、該少なくとも1種のアジュバントはCpGオリゴヌクレオチド、例えば同じCpGクラスまたは異なるCpGクラスから選択されるもの、例えばSEQ ID NO:18、62～64および67～77に示される配列を有するCpGオリゴヌクレオチド、または本明細書記載の他の任意の適切なCpG ODN、またはCpGクラスA、BおよびCから選択されるCpGであり、および/または（ii）該CpGオリゴデオキシヌクレオチドは、CpG-A ODN、CpG-B ODNおよびCpG-C ODN（例えば本明細書の図31に図示するもの）からなる群より選択され、さらに好ましくは、該CpG-A ODNは、TLR9依存的NF-κBシグナル伝達および炎症性サイトカイン（例えばIL-6）生産を刺激することよりも形質細胞様樹状細胞（pDC）からのIFN-α生産を主として誘導することができ、および/またはCpG-B ODNは、IFN-α分泌を刺激することよりもB細胞およびTLR9依存的NF-κBシグナル伝達を主として活性化することができ、および/またはCpG-C ODNは、（a）TLR9依存的NF-κBシグナル伝達および炎症性サイトカイン（例えばIL-6）生産を刺激することよりも形質細胞様樹状細胞（pDC）からのIFN-α生産を主として誘導すると共に、（b）IFN-α分泌を刺激することよりもB細胞およびTLR9依存的NF-κBシグナル伝達を主として活性化することができる、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

114．医薬としておよび/または治療において使用するための、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

115. がん（例えば肉腫、線維肉腫）、アトピー性皮膚炎、アフリカブタ熱、トリインフルエンザ、ウシ海綿状脳症、ブルセラ症、オウシマダニ、慢性消耗性疾患、ブタ熱、ウマ伝染性子宮炎、ウマヘルペスウイルス、ウマ感染性貧血、ウマピロプラズマ病、ウマウイルス性動脈炎、口蹄疫、ヨーネ病、マイコプラズマ・オビニューモニエ、ブタ流行性下痢ウイルス、仮性狂犬病、ウサギ出血性疾患ウイルス、シュマレンベルクウイルス、スクレイピー、コイ春ウイルス血症、ブタにおけるA型インフルエンザウイルス、結核、水疱性口内炎、ウエストナイルウイルス、ストレス関連疾患（例えばパスツレラ症、マンヘミア・ヘモリチカおよびコクシジウム症）、ウイルス性疾患（例えば抗ウイルス的処置または予防）、免疫疾患（例えば免疫調節的処置または予防）、ネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢、ウシ、ウマおよび/または子ネコの上部呼吸器疾患症候群、ネコ上部呼吸器感染症（URI）、ネコ上気道疾患（FeURTD）、ネコヘルペスウイルス（FHV）、イヌパルボウイルス（CPV）からなる群より選択される疾患に対して、処置および/または予防を必要とする対象への該ポリマーソームの単独投与によって実行される処置および/または予防において使用するための、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

116. 対象における免疫応答の誘発に使用するための、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソームであって、該使用が、それを必要とする対象への該ポリマーソームの単独投与を含む、ポリマーソーム。

117. 単独投与が、CpGオリゴヌクレオチドを封入したポリマーソームの1回または複数回の投与を含み、該CpGオリゴヌクレオチドが、（例えば投与1回あたり）対象の体重1kgあたりCpG約7.5～約12.5μgの単回投与量で投与される、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

118. 単独投与が、少なくとも1種のCpGオリゴヌクレオチドを封入したポリマーソームの1回または複数回の投与を含み、（例えば投与1回あたりの）該CpGオリゴヌクレオチドの単回投与量は、該対象の体重1kgあたり約7.5μg～約12.5μgのCpGである、前記項目のいずれか一項記載のポリマーソーム。

119. 1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）の単独投与によって対象における免疫応答（例えば自然免疫応答）を誘発する方法であって、該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）が1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられる方法。

120. 単独投与が、抗原が該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）と組み合わされて（例えば同時にまたは異なる時点で）該対象に投与（例えば共投与）されない投与である、前記項目のいずれか一項記載の方法。

121. 単独投与が、以下:

（i）予防的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的予防のための予防的投与、

（ii）治療的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的処置のための治療的投与、

（iii）対象におけるストレスレベルを低減するための（例えばウシの運送および/または輸送中の、および/またはウシを他の動物と混在させる時の、ストレスレベルを低減するための）投与、

（iv）（i）～（iii）の任意の組合せ

のうちの1つまたは複数である、前記項目のいずれか一項記載の方法。

122. （i）該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）が同じポリマーソーム集団または異なるポリマーソーム集団と独立して関連づけられ、好ましくは、該1種または複数種のアジュバントは異なるアジュバントであり、さらに好ましくは、該異なるアジュバントは同じCpGクラスまたは異なるCpGクラスから選択される異なるCpG、例えばSEQ ID NO:18、62～64および67～77を有するCpG、または本明細書記載の他の任意の適切なCpG ODN、またはCpGクラスA、BおよびCから選択されるCpGであり、および/または

（ii）該CpGオリゴデオキシヌクレオチドが、CpG-A ODN、CpG-B ODNおよびCpG-C ODN（例えば本明細書の図31に図示するもの）からなる群より選択され、さらに好ましくは、CpG-A ODNは、TLR9依存的NF-κBシグナル伝達および炎症性サイトカイン（例えばIL-6）生産を刺激することよりも形質細胞様樹状細胞（pDC）からのIFN-α生産を主として誘導することができ、および/またはCpG-B ODNは、IFN-α分泌を刺激することよりもB細胞およびTLR9依存的NF-κBシグナル伝達を主として活性化することができ、および/またはCpG-C ODNは、（a）TLR9依存的NF-κBシグナル伝達および炎症性サイトカイン（例えばIL-6）生産を刺激することよりも形質細胞様樹状細胞（pDC）からのIFN-α生産を主として誘導すると共に、（b）IFN-α分泌を刺激することよりもB細胞およびTLR9依存的NF-κBシグナル伝達を主として活性化することができる、前記項目のいずれか一項記載の方法。

123．該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）が、該1つまたは複数のポリマーソーム集団と、以下の手段のうちの1つまたは複数によって、独立して関連づけられる、前記項目のいずれか一項記載の方法:

（i）該1つまたは複数のポリマーソーム集団内に該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）を封入すること、

（ii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の周囲膜中に該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）を組み込むことおよび/または包埋すること、

（iii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）を共有結合によってコンジュゲートすること、

（iv）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）を非共有結合によってコンジュゲートすること、および/または

（v）（i）～（iv）の任意の組合せ。

124．該1種または複数種のアジュバント（例えば少なくとも1種のアジュバント）が、

（i）CpGオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちCpG ODN、例えば本明細書記載の任意の適切なCpG ODN）、好ましくは、CpGクラスA、BおよびC、さらに好ましくは、SEQ ID NO:18、62～64および67～77を有するCpG、

（ii）細菌およびマイコバクテリアの細胞壁およびタンパク質に由来する、非抗原性構成要素

からなる群より独立して選択される、前記項目のいずれか一項記載の方法。

125．該ポリマーソームが酸化安定性ポリマーソームである、前記項目のいずれか一項記載の方法。

126．該免疫応答が1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含む、前記項目のいずれか一項記載の方法。

127．該免疫応答が、インターロイキン-6（IL-6、例えばUniProtKB-P08505）の生産および/または分泌を刺激することを含む1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌が、インターロイキン-12（IL-12、例えばUniProtKB-P43431および/またはQ3ZAX5）の生産および/または分泌より優勢であり、さらに好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌が、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌を伴わない、前記項目のいずれか一項記載の方法。

128．単独投与の経路が、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、皮内投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与および筋肉内投与からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項記載の方法。

129．対象が哺乳類動物、好ましくはヒト、ネコ（例えばSEQ ID NO:74、75、76または77のCpGとの組合せで）、イヌ（例えばSEQ ID NO:74、75、76または77のCpGとの組合せで）、ウシ、ヤギ、ヒツジ（例えばSEQ ID NO:74、75、76または77の

CpGとの組合せで）、乳牛、ブタ、ウマ（例えばSEQ ID NO:75、76または77のCpGとの組合せで）、または非哺乳類動物（他の適切なCpGは、例えばRankin et al.,2001または本明細書の図32から、当技術分野では公知である）である、前記項目のいずれか一項記載の方法。

130. がん（例えば肉腫、線維肉腫）、アトピー性皮膚炎、アフリカブタ熱、トリインフルエンザ、ウシ海綿状脳症、ブルセラ症、オウシマダニ、慢性消耗性疾患、ブタ熱、ウマ伝染性子宮炎、ウマヘルペスウイルス、ウマ感染性貧血、ウマピロプラズマ病、ウマウイルス性動脈炎、口蹄疫、ヨーネ病、マイコプラズマ・オビニューモニエ、ブタ流行性下痢ウイルス、仮性狂犬病、ウサギ出血性疾患ウイルス、シュマレンベルクウイルス、スクレイピー、コイ春ウイルス血症、ブタにおけるA型インフルエンザウイルス、結核、水疱性口内炎、ウエストナイルウイルス、ストレス関連疾患（例えばパスツレラ症、マンヘミア・ヘモリチカおよびコクシジウム症）、ウイルス性疾患（例えば抗ウイルス的処置または予防）、免疫疾患（例えば免疫調節的処置または予防）、ネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢、ウシ、ウマおよび/または子ネコの上部呼吸器疾患症候群、ネコ上部呼吸器感染症（URI）、ネコ上気道疾患（FeURTD）、ネコヘルペスウイルス（FHV）、イヌパルボウイルス（CPV）からなる群より選択される疾患に対する処置方法および/または予防方法である、前記項目のいずれか一項記載の方法。

131. 該ポリマーソームが、以下の特性のうちの1つまたは複数を有する、前記項目のいずれか一項記載の方法:

i）酸化安定性膜を含む、

ii）合成物である、

iii）封入された抗原および関連づけられた抗原を含まない、

iv）両親媒性ポリマーの膜を含む、および/または

v）ベシクル膜を形成する両親媒性合成ブロック共重合体を含む、および/または

vi）50nm超（例えば70nm超）の直径を有し、好ましくは該直径は約100nm～約1μm、または約100nm～約750nm、または約100nm～約500nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲であり、最も好ましくは該直径は約200nmである、および/または

vii）ベシクルの形態を有する、

viii）自己集合性である、

ix）本質的に非免疫原性または本質的に非抗原性であり、好ましくは該ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが非免疫原性または非抗原性である。

132. （i）該1つまたは複数のポリマーソーム集団が、ジブロックまたはトリブロック（A-B-AまたはA-B-C）共重合体を含む両親媒性ポリマーまたは同共重合体からなる両親媒性ポリマーを含むか、または同両親媒性ポリマーから形成され、および/または

（ii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団が脂質ポリマーを含む、

前記項目のいずれか一項記載の方法。

133. （a）両親媒性ポリマーが共重合体ポリ（N-ビニルピロリドン）-b-PLAを含み、

（b）両親媒性ポリマーがポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PB-PEO）ジブロック共重合体であるか、または両親媒性ポリマーがポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（PDMS-PEO）ジブロック共重合体もしくはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）であり、PB-PEOジブロック共重合体は好ましくは5～50ブロックPBおよび5～50ブロックPEOを含み、またはPB-PDMSジブロック共重合体は好ましくは5～100ブロックPDMSおよび5～100ブロックPEOを含み、

（c）両親媒性ポリマーがポリ（ラクチド）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PLA-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPLA-PEO/POPCは75対25（例えば75/25）のPLA-PEO対POPC（例え

ばPLA-PEO/POPC）の比を有し、
（d）両親媒性ポリマーがポリ（カプロラクトン）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PCL-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPCL-PEO/POPCは75対25（例えば75/25）のPCL-PEO対POPC（例えばPCL-PEO/POPC）の比を有し、
（e）両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）であり、および/または
（f）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）および/またはトリブロック共重合体$PMOXA_{12}$-$PDMS_{55}$-$PMOXA_{12}$を含む、
前記項目のいずれか一項記載の方法。
134．（g）該ポリマーソームの第1集団および/または第2集団がジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）およびDOTAP（例えばBD21（85モル%）およびDOTAP（15モル%）を含む。単独投与が、CpGオリゴヌクレオチドを封入したポリマーソームの1回または複数回の投与を含み、該CpGオリゴヌクレオチドが、（例えば投与1回あたり）該対象の体重1kgあたりCpG約7.5～約12.5μgの単回投与量で投与される、前記項目のいずれか一項記載の方法。
135．単独投与が、少なくとも1種のCpGオリゴヌクレオチドを封入した該ポリマーソームの第1集団および/または第2集団の1回または複数回の投与を含み、該CpGオリゴヌクレオチドの単回投与量は、（例えば投与1回あたり）該対象の体重1kgあたり約7.5μg～約12.5μgのCpGである、前記項目のいずれか一項記載の方法。
136．対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバントであって、該使用は該アジュバントの単独投与を含み、該アジュバントは1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられている、アジュバント。
137．該使用が前記請求項のいずれか一項による方法に従う、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
138．単独投与が、抗原が該1種または複数種のアジュバントと組み合わされて該対象に投与されないことを特徴とする投与である、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
139．単独投与が、以下:
（i）予防的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的予防のための予防的投与、
（ii）治療的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的処置のための治療的投与、
（iii）対象におけるストレスレベルを低減するための（例えばウシの運送、輸送中の、および/またはウシを他の動物と混在させる時の、ストレスレベルを低減するための）投与、
（iv）（i）～（iii）の任意の組合せ
のうちの1つまたは複数である、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
140．前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバントであって、該アジュバントは同じポリマーソーム集団または異なるポリマーソーム集団と独立して関連づけられ、好ましくは該アジュバントはクラスA、BまたはCのCpGオリゴヌクレオチドである、アジュバント。
141．（i）クラスA、BまたはCのCpGオリゴヌクレオチド、または（ii）少なくとも1つのクラスA、BまたはCのCpGオリゴヌクレオチドを含む混合物である、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
142．該CpGオリゴヌクレオチドが、SEQ ID NO:18、62～64および67～77に示される配列を有するオリゴヌクレオチドの群から選択される、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。

143. 該1つまたは複数のポリマーソーム集団と、以下の手段のうちの1つまたは複数によって、独立して関連づけられている、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント:
（i）該1つまたは複数のポリマーソーム集団内に該アジュバントを封入すること、
（ii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の周囲膜中に該アジュバントを組み込むことおよび/または包埋すること、
（iii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該アジュバントを共有結合によってコンジュゲートすること、
（iv）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該アジュバントを非共有結合によってコンジュゲートすること、および/または
（v）（i）～（iv）の任意の組合せ。
144. （i）CpGオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちCpG ODN）、好ましくは、CpGクラスA、BおよびCからなる群より選択されるCpGオリゴデオキシヌクレオチド、さらに好ましくは、SEQ ID NO:18、62～64および67～77を有するCpGオリゴデオキシヌクレオチドからなる群より選択されるCpGオリゴデオキシヌクレオチド、
（ii）細菌およびマイコバクテリアの細胞壁およびタンパク質に由来する、非抗原性構成要素
からなる群より独立して選択される、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
145. 該ポリマーソームが酸化安定性ポリマーソームである、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
146. 該免疫応答が、1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは、該免疫応答が自然免疫応答である、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
147. 該免疫応答が、インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌を刺激することを含む1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌は、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌より優勢であり、さらに好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌が、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌を伴わない、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
148. 単独投与の経路が、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、皮内投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与および筋肉内投与からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
149. 該対象が
（i）哺乳類動物（例えば適切なCpGは、例えばRankin et al.,2001または本明細書の図32から、当技術分野では公知である）、好ましくは該哺乳類動物はヒト、ネコ（例えばSEQ ID NO:74、75、76または77との組合せで）、イヌ（例えばSEQ ID NO:74、75、76または77との組合せで）、ウシ、ヤギ、ヒツジ（例えばSEQ ID NO:74、75、76または77との組合せで）、乳牛、ウマ（例えばSEQ ID NO:75、76または77との組合せで）またはブタである、および
（ii）非哺乳類動物
からなる群より選択される、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
150. 該使用が医薬としてのおよび/または治療における使用である、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
151. 該使用が、がん（例えば肉腫、線維肉腫）、アトピー性皮膚炎、アフリカブタ熱、トリインフルエンザ、ウシ海綿状脳症、ブルセラ症、オウシマダニ、慢性消耗性疾患、ブタ熱、ウマ伝染性子宮炎、ウマヘルペスウイルス、ウマ感染性貧血、ウマピロプラズマ病、ウマウイルス性動脈炎、口蹄疫、ヨーネ病、マイコプラズマ・オビニューモニエ、ブ

タ流行性下痢ウイルス、仮性狂犬病、ウサギ出血性疾患ウイルス、シュマレンベルクウイルス、スクレイピー、コイ春ウイルス血症、ブタにおけるA型インフルエンザウイルス、結核、水疱性口内炎、ウエストナイルウイルス、ストレス関連疾患（例えばパスツレラ症、マンヘミア・ヘモリチカおよびコクシジウム症）、ウイルス性疾患（例えば抗ウイルス的処置または予防）、免疫疾患（例えば免疫調節的処置または予防）、ネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢、ウシ、ウマおよび/または子ネコの上部呼吸器疾患症候群、ネコ上部呼吸器感染症（URI）、ネコ上気道疾患（FeURTD）、ネコヘルペスウイルス（FHV）、イヌパルボウイルス（CPV）からなる群より選択される疾患の処置方法および/または予防方法に使用するための使用である、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。

152. 該ポリマーソームが、以下の特性のうちの1つまたは複数を有する、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント:

i）酸化安定性膜を含む、

ii）合成物である、

iii）封入された抗原および関連づけられた抗原を含まない、

iv）両親媒性ポリマーの膜を含む、

v）ベシクル膜を形成する両親媒性合成ブロック共重合体を含む、

vi）70nm超の直径を有し、好ましくは該直径は約100nm～約1μm、または約100nm～約750nm、または約100nm～約500nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲であり、最も好ましくは該直径は約200nmである、

vii）ベシクルの形態を有する、

viii）自己集合性である、および/または

ix）本質的に非免疫原性または本質的に非抗原性であり、好ましくは該ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが非免疫原性または非抗原性である。

153.（i）該1つまたは複数のポリマーソーム集団が、ジブロックまたはトリブロック（A-B-AまたはA-B-C）共重合体を含む両親媒性ポリマーまたは同共重合体からなる両親媒性ポリマーを含むか、または同両親媒性ポリマーから形成され、および/または

（ii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団が脂質ポリマーを含む、

前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。

154.（a）両親媒性ポリマーが共重合体ポリ（N-ビニルピロリドン）-b-PLAを含み、

（b）両親媒性ポリマーがポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PB-PEO）ジブロック共重合体であるか、または両親媒性ポリマーがポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（PDMS-PEO）ジブロック共重合体もしくはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）であり、PB-PEOジブロック共重合体は好ましくは5～50ブロックPBおよび5～50ブロックPEOを含み、またはPB-PDMSジブロック共重合体は好ましくは5～100ブロックPDMSおよび5～100ブロックPEOを含み、

（c）両親媒性ポリマーがポリ（ラクチド）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PLA-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPLA-PEO/POPCは75対25（例えば75/25）のPLA-PEO対POPC（例えばPLA-PEO/POPC）の比を有し、

（d）両親媒性ポリマーがポリ（カプロラクトン）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PCL-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPCL-PEO/POPCは75対25（例えば75/25）のPCL-PEO対POPC（例えばPCL-PEO/POPC）の比を有し、

（e）両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）であり、およ

び/または
（f）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）および/またはトリブロック共重合体$PMOXA_{12}$-$PDMS_{55}$-$PMOXA_{12}$を含み、
（g）該ポリマーソームの第1集団および/または第2集団がジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）およびDOTAP（例えば85モル％のBD21および15モル％のDOTAP）を含む、
前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
155．単独投与が、少なくとも1つのCpGオリゴヌクレオチドを封入したポリマーソームの第1集団および/または第2集団（例えば前記項目のいずれか一項記載のポリマーソームの第1集団および/または第2集団）の1回または複数回の投与を含み、該CpGオリゴヌクレオチドの（例えば投与1回あたりの）単回投与量は、該対象の体重1kgあたり約7.5μg～約12.5μgである、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
156．（i）クラスA、BまたはCのCpGオリゴヌクレオチド、好ましくはSEQ ID NO: 18、62～64および67～77に示される配列を有するオリゴヌクレオチドの群から選択される該CpGオリゴヌクレオチド、または
（ii）少なくとも1つのクラスA、BまたはCのCpGオリゴヌクレオチドを含む混合物
である、前記項目のいずれか一項による対象における免疫応答の誘発に使用するためのアジュバント。
157．ポリマーソームが前記項目のいずれか一項記載のポリマーソームである、前記項目のいずれか一項記載の方法またはアジュバント。
158．アジュバントが前記項目のいずれか一項記載のアジュバントである、前記項目のいずれか一項記載の方法またはアジュバント。
159．がん（例えば肉腫、線維肉腫）、アトピー性皮膚炎、アフリカブタ熱、トリインフルエンザ、ウシ海綿状脳症、ブルセラ症、オウシマダニ、慢性消耗性疾患、ブタ熱、ウマ伝染性子宮炎、ウマヘルペスウイルス、ウマ感染性貧血、ウマピロプラズマ病、ウマウイルス性動脈炎、口蹄疫、ヨーネ病、マイコプラズマ・オビニューモニエ、ブタ流行性下痢ウイルス、仮性狂犬病、ウサギ出血性疾患ウイルス、シュマレンベルクウイルス、スクレイピー、コイ春ウイルス血症、ブタにおけるA型インフルエンザウイルス、結核、水疱性口内炎、ウエストナイルウイルス、ストレス関連疾患（例えばパスツレラ症、マンヘミア・ヘモリチカおよびコクシジウム症）、ウイルス性疾患（例えば抗ウイルス的処置または予防）、免疫疾患（例えば免疫調節的処置または予防）、ネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢、ウシ、ウマおよび/または子ネコの上部呼吸器疾患症候群、ネコ上部呼吸器感染症（URI）、ネコ上気道疾患（FeURTD）、ネコヘルペスウイルス（FHV）、イヌパルボウイルス（CPV）からなる群より選択される疾患の処置および/または予防のための医薬を製造するための、前記項目のいずれか一項記載のアジュバントの使用。
【０２５２】
本発明は以下の態様も特徴とする。
1．抗原とアジュバントとの投与によって対象における免疫応答を誘発する方法であって、抗原はポリマーソームの第1集団と関連づけられ、アジュバントはポリマーソームの第2集団と関連づけられ、それら2つのポリマーソーム集団が対象に投与される方法。
2．抗原が、ポリマーソームの第1集団内への抗原の封入によって、ポリマーソームの第1集団のポリマーソームの周囲膜への抗原の組込みによって、共有結合によるポリマーソームの外表面への抗原のコンジュゲーションによって、および/または非共有結合によるポリマーソームの外表面への抗原のコンジュゲーションによって、ポリマーソームの第1集団と関連づけられる、態様1記載の方法。
3．アジュバントが、ポリマーソームの第2集団内へのアジュバントの封入によって、

ポリマーソームの第2集団のポリマーソームの周囲膜へのアジュバントの組込みによって、共有結合によるポリマーソームの外表面へのアジュバントのコンジュゲーションによって、および/または非共有結合によるポリマーソームの外表面へのアジュバントのコンジュゲーションによって、ポリマーソームの第2集団と関連づけられる、態様1または態様2記載の方法。

4．ポリマーソームの第1集団がポリマーソーム内に封入された抗原を有し、ポリマーソームの第2集団が、ポリマーソーム内に封入されたアジュバントを有する、態様2または態様3記載の方法。

5．ポリマーソームの第1集団が、ポリマーソームの外表面に共有結合または非共有結合によってコンジュゲートされた抗原を有し、ポリマーソームの第2集団が、ポリマーソームの外表面に共有結合または非共有結合によってコンジュゲートされたアジュバントを有する、態様2または態様3記載の方法。

6．ポリマーソームの第1集団がポリマーソームの周囲膜に組み込まれた抗原を有し、ポリマーソームの第2集団がポリマーの周囲膜に組み込まれたアジュバントを有する、態様2または態様3記載の方法。

7．ポリマーソームの第1集団がポリマーソーム内に封入された抗原を有し、ポリマーソームの第2集団がポリマーソームの外表面に共有結合によってコンジュゲートされたアジュバントを有する、態様2または態様3記載の方法。

8．ポリマーソームの第1集団がポリマーソームの外表面に共有結合によってコンジュゲートされた抗原を有し、ポリマーソームの第2集団がポリマーソーム内に封入されたアジュバントを有する、態様2または態様3記載の方法。

9．ポリマーソームの第1集団とポリマーソームの第2集団が同時に（同じ時点で）または異なる時点で投与される、前記態様のいずれか一項記載の方法。

10．ポリマーソームの第1集団とポリマーソームの第2集団を同時に投与する工程が、それら2つのポリマーソーム集団を一緒に（共投与）すること、またはそれら2つのポリマーソーム集団のそれぞれを個別に投与することを含む、態様9記載の方法。

11．2つのポリマーソーム集団が別々に調製される、前記態様のいずれか一項記載の方法。

12．2つのポリマーソーム集団が投与に先立って一つに混合される、態様11記載の方法。

13．2つのポリマーソーム集団が、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、皮内投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与および筋肉内投与からなる群より選択される投与経路によって投与される、態様1～12のいずれか一項記載の方法。

14．対象が、ヒトを含む哺乳類動物、または非哺乳類動物である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

15．対象が哺乳類動物であり、がん、ウイルス感染症および細菌感染症からなる群より選択される疾患に対してワクチン接種される、態様14記載の方法。

16．対象がヒトであり、コロナウイルス感染症に対してワクチン接種される、態様15記載の方法。

17．コロナウイルスがヒト病原性である、態様16記載の方法。

18．コロナウイルスがベータコロナウイルスである、態様16または態様17記載の方法。

19．コロナウイルスがサルベコウイルスまたはメルベコウイルスである、態様16～18のいずれか一項記載の方法。

20．コロナウイルスがMERS-CoV、SARS-CoV-2またはSARS-CoV-1である、態様19記載の方法。

21．対象が非哺乳類動物であり、ウイルス感染症および細菌感染症からなる群より選択される疾患に対してワクチン接種される、態様14記載の方法。

22．非哺乳類動物が鳥類（例えばニワトリ、カモ、ガチョウまたはシチメンチョウなどの家禽）、魚類または甲殻類である、態様21記載の方法。

23. 鳥類がニワトリ、カモ、ガチョウまたはシチメンチョウである、態様21記載の方法。
24. 魚類がサケ、マスまたはティラピアである、態様21記載の方法。
25. 甲殻類がシュリンプ、プローン、またはカニである、態様1621記載の方法。
26. 哺乳類動物がヤギ、ヒツジ、ウシ、またはブタである、態様14記載の方法。
27. 動物がブタであり、ブタ流行性下痢ウイルスに対してワクチン接種される、態様26記載の方法。
28. 動物が有蹄動物であり、口蹄疫ウイルスに対してワクチン接種される、態様26記載の方法。
29. 封入抗原が可溶性のまたは可溶化された抗原である、前記態様のいずれか一項記載の方法。
30. 抗原、好ましくは可溶性のまたは可溶化された封入抗原が、
（i）ポリペプチド、
（ii）糖質、
（iii）アンチセンスオリゴヌクレオチドではなく、好ましくはDNA分子もしくはmRNA分子である、ポリヌクレオチド、
（iv）（i）および/または（ii）および/または（iii）の組合せ
からなる群より選択される、前記態様のいずれか一項記載の方法。
31. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、可溶性の封入抗原または封入アジュバントを含む酸化安定性ポリマーソームであるか、ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、可溶性の封入抗原または封入アジュバントを含む酸化感受性ポリマーソームである、態様14記載の方法。
32. アミド部分、および/または（ii）第二級アミン部分、および/または（iii）好ましくは1,4-二置換［1,2,3］トリアゾール部分もしくは1,5-二置換［1,2,3］トリアゾール部分である、1,2,3-トリアゾール部分、および/または（iv）ピラゾリン部分、および/または（vi）エステル部分、および/または（vii）カルバメート部分および/またはカーボネート部分、前記態様のいずれか一項記載の方法。
33. 第1ポリマーソーム集団および/または第2ポリマーソーム集団の外表面に抗原またはアジュバントをコンジュゲートする共有結合が、ポリマーソームの外表面に存在する反応性基を抗原またはアジュバントの反応性基と反応させることによって形成される、態様32記載の方法。
34. 共有結合が、（i）カルボキサミド結合、（ii）1,4-二置換［1,2,3］トリアゾールまたは1,5-二置換［1,2,3］トリアゾール結合、（iii）置換ピラゾリン結合からなる群より選択される、態様33記載の方法。
35. （i）ポリマーソームの外表面に存在する反応性基がアルデヒド基であり、抗原またはアジュバントの反応性基がアミン基であって、それによりカルボキサミド基を形成するか、または（ii）ポリマーソームの外表面に存在する反応性基がアルキン基であり、抗原またはアジュバントの反応性基がアジド基であって、それにより、好ましくは銅またはルテニウム触媒アジド-アルキン付加環化によって、1,2,3-トリアゾール基、さらに好ましくは1,4-二置換または1,5-二置換である1,2,3-トリアゾールを形成するか、または（iii）ポリマーソームの外表面に存在する反応性基がメタクリレートおよび/またはヒドロキシル基であり、抗原またはアジュバントの反応性基がテトラゾール基であって、それによりピラゾリン基を形成し、好ましくは該ピラゾリン基の形成がニトリルイミン中間体を含む、態様34記載の方法。
36. カルボキサミド結合を還元剤とさらに反応させることで第二級アミンが形成している、態様35記載の方法。
37. 共有結合がリンカー部分によって形成される、態様32～36のいずれか一項記載の方法。
38. リンカー部分Lが、ペプチドリンカーまたは直鎖もしくは分岐鎖炭化水素ベースのリンカーである、態様37記載の方法。

39．リンカー部分が、1～約550個の主鎖原子、1～約500個の主鎖原子、1～約450個の主鎖原子、1～約350個の主鎖原子、1～約300個の主鎖原子、1～約250個の主鎖原子、1～約200個の主鎖原子、1～約150個の主鎖原子、1～約100個の主鎖原子、1～約50個の主鎖原子、1～約30個の主鎖原子、1～約20個の主鎖原子、1～約15個の主鎖原子、または1～約12個の主鎖原子、または1～約10個の主鎖原子を含み、ここで、主鎖原子は、N、O、PおよびSからなる群より選択される1つまたは複数のヘテロ原子で置き換えられていてもよい炭素原子である、態様37または態様38記載の方法。

40．リンカー部分が、ポリマーソームの膜にリンカー部分を組み込む膜アンカードメインを含む、態様37～39のいずれか一項記載の方法。

41．膜アンカードメインが脂質を含む、態様40記載の方法。

42．脂質がリン脂質または糖脂質である、態様41記載の方法。

43．糖脂質がグリコホスファチジルイノシトール（GPI）を含む、態様42記載の方法。

44．リン脂質がスフィンゴリン脂質またはグリセロリン脂質である、態様42記載の方法。

45．スフィンゴリン脂質が、ポリエチレングリコール（PEG）にコンジュゲートされたジステアロイルホスファチジルエタノールアミン［DSPE］（DSPE-PEG）またはコレステロールベースのコンジュゲートを含む、態様44記載の方法。

46．DSPE-PEGが2～約500個のエチレンオキシド単位を含む、態様45記載の方法。

47．リンカーが生理的条件下で非加水分解性および/または非酸化性である、態様32～46のいずれか一項記載の方法。

48．ポリマーソームの周囲膜に組み込まれる抗原が膜結合型タンパク質または脂質抗原である、態様2～47のいずれか一項記載の方法。

49．膜結合型タンパク質が膜貫通タンパク質の細胞外フラグメントまたは細胞外ドメインを含む、態様48記載の方法。

50．膜結合型タンパク質が、膜貫通タンパク質、Gタンパク質共役受容体、神経伝達物質受容体、キナーゼ、ポリン、ABC輸送体、イオン輸送体、アセチルコリン受容体、または細胞接着受容体である、態様48または態様49記載の方法。

51．脂質抗原が合成脂質または天然脂質である、態様48～50のいずれか一項記載の方法。

52．抗原および/またはアジュバントを第1ポリマーソーム集団および/または第2ポリマーソーム集団のポリマーソームの外表面にコンジュゲートするための非共有結合が、ストレプトアビジンとビオチン、アビジンとビオチン、ストレプトアビジンとストレプトアビジン結合ペプチド、およびアビジンとアビジン結合ペプチドからなる群より選択される結合ペアを含むか、または静電相互作用である、態様2～51のいずれか一項記載の方法。

53．ポリマーソームの第1集団およびポリマーソームの第2集団が、同じ少なくとも1つの両親媒性ポリマーを含むか、または同じ少なくとも1つの両親媒性ポリマーから形成される、態様1～52のいずれか一項記載の方法。

54．ポリマーソームの第1集団およびポリマーソームの第2集団が、異なる少なくとも1つの両親媒性ポリマーを含むか、または異なる少なくとも1つの両親媒性ポリマーから形成される、態様1～52のいずれか一項記載の方法。

55．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が酸化安定性である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

56．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団の投与が、$CD8^{(+)}$ T細胞媒介性免疫応答を誘発する能力を有し、好ましくは該誘発がインビボ、エクスビボまたはインビトロ誘発である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

57．封入抗原が膜タンパク質（MP）または膜結合型ペプチド（MAP）の可溶性部分を含み、好ましくは抗原が、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白ア

ルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドを含む、前記態様のいずれか一項記載の方法。

58. 封入抗原がウイルススパイクタンパク質のフラグメントを含み、フラグメントが、スパイクタンパク質のS1部分、スパイクタンパク質のS2部分、スパイクタンパク質のS1部分とS2部分の組合せ、スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）、またはそれらの組合せを含むか、それらから本質的になるか、またはそれらからなる、前記態様のいずれか一項記載の方法。

59. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、血清構成要素の存在下で酸化安定性であり、好ましくは該酸化安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロ酸化安定性である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

60. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団がエンドソーム内で安定であり、好ましくは該安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロ安定性である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

61. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、対応するリポソームの酸化安定性と比較して改良された酸化安定性を有し、好ましくは該改良された安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロでの改良された安定性である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

62. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、可溶性封入抗原を含むその内容物を酸化非依存的に放出して、CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答をトリガーする能力を有し、好ましくは該放出がインビボ、エクスビボまたはインビトロ放出である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

63. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む細胞性免疫応答を誘発する能力を有し、好ましくは該免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロ免疫応答である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

64. 第1集団および/または第2集団ポリマーソームが、CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む細胞性免疫応答および/または体液性免疫応答を誘発する能力を有し、好ましくは免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロ免疫応答である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

65. 体液性免疫応答が特異的抗体の生産を含み、さらに好ましくは該免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロ免疫応答である、態様64記載の方法。

66. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、エフェクターCD4$^{(+)}$T細胞の頻度を強化する能力を有し、好ましくは該強化がインビボ、エクスビボまたはインビトロ強化である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

67. 細胞性免疫応答がT細胞媒介性免疫応答を含み、好ましくは該免疫応答がインビボ、エクスビボまたはインビトロ免疫応答である、態様64記載の方法。

68. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、遊離の抗原と比較して抗原特異的CD8$^{(+)}$T細胞のクローン拡大を強化する能力を有し、好ましくは該拡大がインビボ、エクスビボまたはインビトロ拡大である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

69. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、抗原特異的エフェクターCD8$^{(+)}$T細胞を誘導する能力を有し、好ましくは該誘導がインビボ、エクスビボまたはインビトロ誘導である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

70. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、抗原特異的CD8$^{(+)}$T細胞

の細胞傷害性表現型を強化する能力を有し、好ましくは該強化がインビボ、エクスビボまたはインビトロ強化である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

71. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、リンパ節常在性マクロファージおよび/またはB細胞のターゲティングを行う能力を有し、好ましくは該ターゲティングがインビボ、エクスビボまたはインビトロターゲティングである、前記態様のいずれか一項記載の方法。

72. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が還元安定性であり、好ましくはポリマーソームの第1集団および/または第2集団が血清構成要素の存在下で還元安定性であり、さらに好ましくは該還元安定性がインビボ、エクスビボまたはインビトロ還元安定性である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

73. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、低減した透過性を有し、好ましくは該低減した透過性が対応するリポソームの透過性との比較であり、さらに好ましくは該透過性がインビボ、エクスビボまたはインビトロ透過性である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

74. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、エンドソーム内でその内容物を放出する能力を有し、好ましくは該エンドソームが後期エンドソームであり、さらに好ましくは該放出がインビボ、エクスビボまたはインビトロ放出である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

75. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、以下の能力のうちの1つまたは複数を有する、前記態様のいずれか一項記載の方法:

（i）細胞性免疫応答を誘発する能力;好ましくは該細胞性免疫応答はCD8（+）T細胞媒介性免疫応答を含み、さらに好ましくは該細胞性免疫応答はCD8（+）T細胞媒介性免疫応答であり、最も好ましくは該細胞性免疫応答は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する細胞性免疫応答であり、さらに最も好ましくは該細胞性免疫応答は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドに対する細胞性免疫応答である;

（ii）ポリマーソームの内容物をエンドソーム内で放出する能力;好ましくは該エンドソームは後期エンドソームであり、さらに好ましくは該内容物は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、最も好ましくは該内容物は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドを含む;

（iii）ポリマーソームの内容物を酸化非依存的に放出してCD8（＋）T細胞媒介性免疫応答をトリガーする能力;好ましくは該内容物は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは該内容物は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドを含む;

（iv）該抗原に対する免疫応答を刺激する能力;好ましくは該抗原は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは該抗原は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドを含む;

（v）CD8（＋）T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーする能力;好ましくは該応答は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する応答であり、さらに好ましくは該応答は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、13および14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、ならびにSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドに対する応答である;

（vi）ペプチドまたはタンパク質を抗原提示細胞（APC）に送達する能力;好ましくは該ペプチドまたはタンパク質は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含むか、それに由来し、さらに好ましくは該ペプチドまたはタンパク質は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、13および14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、ならびにSEQ ID NO:65;からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なく

とも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドを含むか、それに由来する;

（vii）CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答および/またはCD4$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む免疫応答をトリガーする能力;好ましくは該応答は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、卵白アルブミン（OVA）、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する応答であり、さらに好ましくは該応答は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、13および14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、ならびにSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドに対する応答である;

（viii）対象における免疫応答を刺激する能力;好ましくは該応答は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する応答であり、さらに好ましくは該応答は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、13および14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、ならびにSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドに対する応答である;

（ix）非ヒト動物を免疫処置する能力;好ましくは該免疫処置は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分に対する免疫処置であり、さらに好ましくは該免疫処置は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチドに対する免疫処置である;

（x）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は、該ポリマーソームなしでの抗原の対応する抗原性と比較して、改変された抗原性を有する;好ましくは該抗原は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質

、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分であり、さらに好ましくは該抗原は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、13および14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、ならびにSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドである;

（xi）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は、該ポリマーソームなしでの抗原の対応する免疫原性と比較して、改変された免疫原性を有する;好ましくは該免疫原は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分であり、さらに好ましくは該免疫原は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であるポリペプチドである。

76. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が以下の特性のうちの1つまたは複数を有する、前記態様のいずれか一項記載の方法:

（i）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は酸化安定性膜を含む、および/または

（ii）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は合成物である、および/または

（iii）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は非封入抗原を含まないか、または非封入抗原と混合されている、および/または

（iv）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は両親媒性ポリマーの膜を含む、および/または

（v）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は、ベシクル膜を形成する両親媒性合成ブロック共重合体を含む、および/または

（vi）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は70nm超の直径を有し、好ましくは該直径は約100nm～約1μm、または約100nm～約750nm、または約100nm～約500nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲にあり、最も好ましくは該直径は約200nmである、および/または

（vii）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団はベシクルの形態を有する、

（viii）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団は自己集合性である。

77. ポリマーソームの第1集団および/または第2集団の平均直径が約100nm～約1μm、または約100nm～約750nm、または約100nm～約500nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲にある、前記態様のいずれか一項記載の方法。

78．抗原が免疫原である、前記態様のいずれか一項記載の方法。
79．抗原が、（i）自己抗原、（ii）非自己抗原、（iii）非自己免疫原および（iv）自己免疫原からなる群より選択される、前記態様のいずれか一項記載の方法。
80．抗原が、
（i）ウイルスポリペプチド配列と少なくとも80％以上（例えば少なくとも85％、少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチド;好ましくは該ウイルスポリペプチド配列は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、ブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、MERS-CoVスパイクタンパク質、またはSARS-CoV-2スパイクタンパク質であり、さらに好ましくは該ウイルスポリペプチド配列は、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7 およびSEQ ID NO:8、SEQ ID NO:12、13および14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、ならびにSEQ ID NO:65からなる群より選択される;
（ii）細菌ポリペプチド配列と少なくとも80％以上（例えば少なくとも85％、少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチド;
（iii）哺乳類ポリペプチド配列または鳥類ポリペプチド配列と少なくとも80％以上（例えば少なくとも85％、少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であるポリペプチド;好ましくは該哺乳類ポリペプチド配列または該鳥類ポリペプチド配列は卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドであり、さらに好ましくは該哺乳類ポリペプチド配列または該鳥類ポリペプチド配列は、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10およびSEQ ID NO:11からなる群より選択される、
からなる群より選択される、前記態様のいずれか一項記載の方法。
81．哺乳動物抗原が、ヒト、齧歯類動物、ウサギおよびウマのポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチド配列を含む、態様3～80のいずれか一項記載の方法。
82．抗原が抗体またはそのフラグメントである、前記態様のいずれか一項記載の方法。
83．抗原が
（i）インフルエンザヘマグルチニン（HA）、好ましくはSEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7およびSEQ ID NO:8からなる群より選択されるもの、
（ii）ブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）、好ましくはSEQ ID NO:6、
（iii）卵白アルブミン（OVA）、好ましくはSEQ ID NO:4、
（iv）B16ペプチド、好ましくはSEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10およびSEQ ID NO:11からなる群より選択されるもの、
（v）MC38ペプチド、好ましくはSEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2およびSEQ ID NO:3からなる群より選択されるもの、
（vi）B16ペプチドおよびMC38ペプチド、好ましくは該ペプチドは、群:（i）SEQ ID NO:1～3および（ii）SEQ ID NO:9～11から独立して選択される、
（vii）ブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質およびその可溶性フラグメント、好ましくはSEQ ID NO:12、13または14のフラグメント
（viii）MERS-CoVスパイクタンパク質およびその可溶性フラグメント、好ましくはSEQ ID NO:42～46のうちのいずれか一つのスパイクタンパク質（フラグメント）、
（ix）SARS-CoV-2スパイクタンパク質およびその可溶性フラグメント、好ましくはSEQ ID NO:19～41およびSEQ ID NO:65～66のうちのいずれか一つのスパイクタンパク質（フラグメント）;および
（x）SARS-CoV-1スパイクタンパク質およびその可溶性フラグメント、好ましくはSEQ ID NO:47～51のうちのいずれか一つのスパイクタンパク質（フラグメント）
からなる群より選択される、前記態様のいずれか一項記載の方法。
84．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、カチオン性ポリマーソーム

、アニオン性ポリマーソーム、非イオン性ポリマーソームおよびそれらの混合物からなる群より選択される、前記態様のいずれか一項記載の方法。

85．ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが本質的に非免疫原性または本質的に非抗原性であり、好ましくはブロック共重合体または両親媒性ポリマーが非免疫原性または非抗原性である、前記態様のいずれか一項記載の方法。

86．ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが免疫賦活薬でもアジュバントでもない、態様85記載の方法。

87．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、ジブロックまたはトリブロック（A-B-AまたはA-B-C）共重合体を含むか同共重合体からなる両親媒性ポリマーを含むか、または同両親媒性ポリマーから形成される、前記態様のいずれか一項記載の方法。

88．両親媒性ポリマーが共重合体ポリ（N-ビニルピロリドン）-b-PLAを含む、態様21～87のいずれか一項記載の方法。

89．両親媒性ポリマーが、カルボン酸、アミド、アミン、アルキレン、ジアルキルシロキサン、エーテルまたはアルキレンスルフィドのモノマー単位を少なくとも1つは含む、態様21～88のいずれか一項記載の方法。

90．両親媒性ポリマーが、オリゴ（オキシエチレン）ブロック、ポリ（オキシエチレン）ブロック、オリゴ（オキシプロピレン）ブロック、ポリ（オキシプロピレン）ブロック、オリゴ（オキシブチレン）ブロックおよびポリ（オキシブチレン）ブロックからなる群より選択されるポリエーテルブロックである、態様21～89のいずれか一項記載の方法。

91．両親媒性ポリマーがポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PB-PEO）ジブロック共重合体であるか、両親媒性ポリマーがポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（PDMS-PEO）ジブロック共重合体、またはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）である、態様21～90のいずれか一項記載の方法。

92．PB-PEOジブロック共重合体が5～50ブロックPBおよび5～50ブロックPEOを含むか、PB-PEOジブロック共重合体が好ましくは5～100ブロックPDMSおよび5～100ブロックPEOを含む、態様91記載の方法。

93．両親媒性ポリマーがポリ（ラクチド）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PLA-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくは該PLA-PEO/POPCが75対25（例えば75/25）のPLA-PEO対POPC（例えばPLA-PEO/POPC）の比を有する、態様21～92のいずれか一項記載の方法。

94．両親媒性ポリマーがポリ（カプロラクトン）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PCL-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくは該PCL-PEO/POPCが75対25（例えば75/25）のPCL-PEO対POPC（例えばPCL-PEO/POPC）の比を有する、態様21～93のいずれか一項記載の方法。

95．両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）である、態様21～94のいずれか一項記載の方法。

96．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）および/またはトリブロック共重合体$PMOXA_{12}$-$PDMS_{55}$-$PMOXA_{12}$を含む、態様21～95のいずれか一項記載の方法。

97．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が1つまたは複数のコンパートメントを含む、前記態様のいずれか一項記載の方法。

98．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が1つまたは複数のコンパートメントを含み、1つまたは複数のコンパートメントのそれぞれが少なくとも1つのペプチド、タンパク質、および核酸を封入し、好ましくは該ペプチド、タンパク質、および核酸のうちの該少なくとも1つが免疫原性または抗原性であり、さらに好ましくは1つまたは複数のコンパートメントのそれぞれが同じ両親媒性ポリマーまたは異なる両親媒性ポリマーで構成される、前記態様のいずれか一項記載の方法。

99．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が2つ以上のコンパートメントを含み、該コンパートメントは外側ブロック共重合体ベシクルと少なくとも1つの内側ブロック共重合体ベシクルとを含み、該少なくとも1つの内側ブロック共重合体ベシクルは外側ブロック共重合体ベシクルの内部に封入され、好ましくは外側ブロック共重合体ベシクルは、

（i）ポリ［スチレン-b-ポリ（L-イソシアノアラニン（2-チオフェン-3-イル-エチル）アミド）］（PS-PIAT）、

（ii）ポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PBD-PEO）、

（iii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（カプロラクトン）（PEO-PCL）、

（iv）ポリ（エチルエチレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PEE-PEO）、

（v）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（乳酸）（PEO-PLA）、

（vi）ポリ（イソプレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PI-PEO）、

（vii）ポリ（2-ビニルピリジン）-ポリ（エチレンオキシド）（P2VP-PEO）、

（viii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PEO-PNIPAm）、

（ix）ポリ（スチレン）-ポリ（アクリル酸）（PS-PAA）、

（x）ポリ（エチレングリコール）-ポリプロピレンスルフィド）（PEG-PPS）、

（xi）ポリ（2-メチルオキサゾリン）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PMOXA-PDMS-PMOXA）、

（xii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PEO-PDMS-PMOXA）、

（xiii）ポリ（メチルフェニルシラン）-ポリ（エチレンオキシド）（PMPS-PEO-PMPS-PEO-PMPS）、および

（xiv）ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）

からなる群より独立して選択される共重合体で形成されたポリマーソームであり、さらに好ましくは該少なくとも1つの内側ブロック共重合体ベシクルは

（i）ポリ［スチレン-b-ポリ（L-イソシアノアラニン（2-チオフェン-3-イル-エチル）アミド）］（PS-PIAT）、

（ii）ポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PBD-PEO）、

（iii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（カプロラクトン）（PEO-PCL）、

（iv）ポリ（エチルエチレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PEE-PEO）、

（v）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（乳酸）（PEO-PLA）、

（vi）ポリ（イソプレン）-ポリ（エチレンオキシド）（PI-PEO）、

（vii）ポリ（2-ビニルピリジン）-ポリ（エチレンオキシド）（P2VP-PEO）、

（viii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PEO-PNIPAm）、

（ix）ポリ（スチレン）-ポリ（アクリル酸）（PS-PAA）、

（x）ポリ（エチレングリコール）-ポリプロピレンスルフィド）（PEG-PPS）、

（xi）ポリ（2-メチルオキサゾリン）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PMOXA-PDMS-PMOXA）、

（xii）ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（2-メチルオキサゾリン）（PEO-PDMS-PMOXA）、

（xiii）ポリ（メチルフェニルシラン）-ポリ（エチレンオキシド）（PMPS-PEO-PMPS-PEO-PMPS）、および

（xiv）ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）

からなる群より独立して選択される共重合体で形成されたポリマーソームである、前記態様のいずれか一項記載の方法。

100．ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が脂質ポリマーを含む、前記態様のいずれか一項記載の方法。

101．ポリマーソームの第2集団と関連づけられたアジュバントが、CpGオリゴデオキ

シヌクレオチド（すなわちCpG ODN）、細菌およびマイコバクテリアの細胞壁由来の構成要素ならびにタンパク質からなる群より選択される、前記態様のいずれか一項記載の方法。

102．以下の工程を含む、ポリマーソーム中の封入抗原または封入アジュバントを生産するための方法:

（i）両親媒性ポリマーをクロロホルムに溶解する工程であって、好ましくは両親媒性ポリマーはポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）である工程、

（ii）溶解した両親媒性ポリマーを乾燥させることで、ポリマーフィルムを形成させる工程、

（iii）工程（ii）の両親媒性ポリマーフィルムに、可溶化された抗原または可溶性アジュバントを加える工程であって、該アジュバントは、好ましくは、CpGオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちCpG ODN）、細菌およびマイコバクテリアの細胞壁由来の構成要素ならびにタンパク質からなる群より選択され、該抗原は

（a）ポリペプチド、好ましくはポリペプチド抗原は前記態様のいずれか一項に従い、さらに好ましくはポリペプチド抗原は、インフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質もしくはSARS-CoV-2スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、最も好ましくはポリペプチド抗原は、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12～14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（b）糖質、

（c）アンチセンスオリゴヌクレオチドではなく、好ましくはDNA分子またはmRNA分子である、ポリヌクレオチド、

（d）（a）および/または（b）および/または（c）の組合せ

からなる群より選択される工程、

（iv）工程（iii）のポリマーフィルムを再水和することで、ポリマーベシクルを形成させる工程、

（v）任意で、工程（iv）のポリマーベシクルを濾過することで、ポリマーベシクル単分散ベシクルを精製する工程、および/または

（vi）任意で、工程（iv）または工程（v）のポリマーベシクルを非封入抗原から単離する工程。

103．態様1～101のいずれか一項に規定したポリマーソーム中の封入抗原または封入アジュバントを生産するための方法。

104．態様102または態様103に規定したポリマーソーム中の封入抗原または封入アジュバントを生産するための方法によって生産されるポリマーソーム。

105．態様1～102のいずれか一項に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団を含む組成物。

106．薬学的組成物または診断組成物である、態様105記載の組成物。

107．免疫原性組成物、抗原性組成物または免疫治療組成物である、態様105または態様106記載の組成物。

108．ワクチンである、態様105または態様106記載の組成物。

109．経口用、鼻腔内用、吸入用、皮内用、腹腔内用、筋肉内用、皮下用、静脈用、または粘膜表面への投与用に製剤化された、態様105～108のいずれか一項記載の組成物。

110．態様1～101のいずれか一項に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団または態様105～109に規定した組成物を含み、薬学的に許容される賦形剤または担体をさらに含むワクチン。

111．（i）抗原がインフルエンザヘマグルチニン（HA）を含み、ワクチンはインフルエンザワクチンであり、好ましくは該インフルエンザヘマグルチニン（HA）は、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7およびSEQ ID NO:8からなる群より選択されるポリペプチドと少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（ii）抗原がブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）を含み、ワクチンはブタインフルエンザワクチンであり、好ましくは該ブタインフルエンザヘマグルチニン（HA）は、SEQ ID NO:6と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（iii）抗原がブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質を含み、ワクチンはPEDワクチンであり、好ましくは該スパイクタンパク質は、SEQ ID NO:12、13または14のポリペプチドと少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（iv）抗原が卵白アルブミン（OVA）を含み、ワクチンはがんワクチンであり、好ましくは該卵白アルブミン（OVA）は、SEQ ID NO:4と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（v）抗原がB16ペプチドを含み、ワクチンはがんワクチンであり、好ましくは該ペプチドはSEQ ID NO:9～11からなる群より選択される、

（vi）抗原がMC38ペプチドを含み、ワクチンはがんワクチンであり、好ましくは該ペプチドはSEQ ID NO:1～3からなる群より選択される、

（vii）抗原がB16ペプチドおよびMC38ペプチドを含み、ワクチンはがんワクチンであり、好ましくは該ペプチドは群:（i）SEQ ID NO:1～3および（ii）SEQ ID NO:9～11から独立して選択される、

（viii）抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であり、ワクチンはがんワクチンである、

（ix）抗原がMERS-CoVスパイクタンパク質またはそのフラグメントを含み、ワクチンはMERSワクチンであり、好ましくは該スパイクタンパク質は、SEQ ID NO:42～46のいずれか一つのポリペプチドと少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

（x）抗原がSARS-CoV-2スパイクタンパク質またはそのフラグメントを含み、ワクチンはCOVID-19ワクチンであり、好ましくは該スパイクタンパク質はSEQ ID NO:19～41およびSEQ ID NO:65～66のいずれか一つのポリペプチドと少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、または

（xi）抗原がSARS-CoV-1スパイクタンパク質またはそのフラグメントを含み、ワクチンはCOVID-19ワクチンであり、好ましくは該スパイクタンパク質は、SEQ ID NO:19～41のいずれか一つのポリペプチドと少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である、

態様110記載のワクチン。

112．態様1～101に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団または態様105～109に規定した組成物を含むキット。

113．感染性疾患、がんまたは自己免疫疾患を処置または防止する必要がある対象（例えばヒト）において感染性疾患、がんまたは自己免疫疾患を処置または防止するための方法であって、態様1～101に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団または態様105～109に規定した組成物の治療有効量を対象に投与する工程を含み、好ましくは感染性疾患がウイルス感染性疾患または細菌感染性疾患である方法。

114．以下の工程を含む、ヒトまたは非ヒト動物を免疫処置するための方法:

i．態様1～101に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団または態様105～109に規定した組成物を用意する工程、

ii．非ヒト動物に該ポリマーソームの第1集団および第2集団または該組成物を投与する工程。

115．医薬として使用するための、態様1～101のいずれか一項に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団または態様105～109に規定した組成物。

116．以下の方法の1つまたは複数において使用するための、態様1～101のいずれか一項に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団または態様105～109に規定した組成物:

（i）抗体を発見および/またはスクリーニングおよび/または調製する方法、

（ii）ワクチンを発見および/またはスクリーニングおよび/または調製する方法、

（iii）免疫原性組成物または免疫賦活組成物を生産または調製する方法、

（iv）タンパク質および/またはペプチドの標的送達の方法であって、好ましくは標的送達が前記態様のいずれか一項記載の抗原性タンパク質および/またはペプチドの標的送達であり、さらに好ましくは抗原性タンパク質および/または抗原性ペプチドが膜タンパク質（MP）または膜結合ペプチド（MAP）の可溶性部分を含み、最も好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一であり、さらに最も好ましくは標的送達が対象において実行される、方法、

（v）抗原に対する免疫応答を刺激する方法であって、好ましくは抗原が前記態様のいずれか一項記載の抗原であり、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS

-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一であり、さらに最も好ましくは対象における該抗原に対する免疫応答の刺激に使用するための、方法、

（vi）CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーする方法、好ましくは前記態様のいずれか一項記載の抗原に対するCD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーする方法であって、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一である、方法、

（vii）前記態様のいずれか一項記載の抗原提示細胞（APC）にペプチドおよび/またはタンパク質を送達する方法であって、好ましくはペプチドおよび/またはタンパク質が前記態様のいずれか一項記載の抗原であり、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、最も好ましくは抗原が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、13、14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60%以上（例えば少なくとも65%、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一である、方法、

（viii）CD8$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答および/またはCD4$^{(+)}$T細胞媒介性免疫応答を含む免疫応答をトリガーする方法であって、好ましくは応答が前記態様のいずれか一項記載の抗原に対する応答であり、さらに好ましくは抗原がインフルエンザヘマグルチニン、ブタインフルエンザヘマグルチニン、スパイクタンパク質、例えばブタ流行性下痢ウイルススパイクタンパク質、ヒト病原性コロナウイルスのスパイクタンパク質、例えばMERS-CoVスパイクタンパク質、SARS-CoV-2スパイクタンパク質、またはSARS-CoV-1スパイクタンパク質、卵白アルブミン（OVA）、B16ペプチドまたはMC38ペプチドの可溶性部分を含み、さらに好ましくは応答が、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ

ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、13、14、SEQ ID NO:43～46、SEQ ID NO:34～41、SEQ ID NO:48～51、およびSEQ ID NO:65からなる群より選択されるポリペプチド配列と少なくとも60％以上（例えば少なくとも65％、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96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％または100％）同一である抗原に対する応答である、方法、

（ix）感染性疾患の処置、改善、予防または診断のための方法であって、好ましくは感染性疾患がウイルス感染性疾患または細菌感染性疾患であり、さらに好ましくはウイルス感染性疾患が、インフルエンザ感染症、PEDウイルス感染症、口蹄疫ウイルス感染症、呼吸器合胞体ウイルス感染症、ヘルペスウイルス感染症からなる群より選択される、方法、

（x）がんまたは自己免疫疾患の処置、改善、予防または診断のための方法、

（xi）がん細胞を化学治療に対して感作させるための方法、

（xii）がん細胞におけるアポトーシスを誘導するための方法、

（xiii）対象における免疫応答を刺激するための方法、

（xiv）ヒトまたは非ヒト動物を免疫処置するための方法、

（xv）ハイブリドーマの調製方法、

（xvi）前記態様のいずれか一項記載の方法、

（xvii）インビボおよび/またはエクスビボおよび/またはインビトロでの方法である、前記（i）～（xvi）のいずれか一項記載の方法、

（xviii）抗原が、該抗原が使用される環境にとって異種である、前記（i）～（xvii）のいずれか一項記載の方法。

117．以下のうちの1つまたは複数のための、態様1～101のいずれか一項に規定したポリマーソームの第1集団および第2集団または態様105～109のいずれか一項に規定した組成物の使用:

（i）抗体を発見および/またはスクリーニングおよび/または調製するため、

（ii）ワクチンを発見および/またはスクリーニングおよび/または調製するため、

（iii）免疫原性組成物または免疫賦活組成物を生産または調製するため、

（iv）タンパク質および/またはペプチドの標的送達のためであって、好ましくは標的送達が抗原性タンパク質および/または抗原性ペプチドの標的送達であり、さらに好ましくは標的送達が対象において実行される標的送達のため、

（v）抗原に対する免疫応答を刺激するためであって、好ましくは対象における抗原に対する免疫応答を刺激するのに使用するため、

（vi）$CD8^{(+)}$ T細胞媒介性免疫応答によって誘導される交差防御をトリガーするため、

（vii）抗原提示細胞（APC）にペプチドまたはタンパク質を送達するためであって、好ましくはペプチドまたはタンパク質が抗原であり、さらに好ましくはペプチドまたはタンパク質が免疫原性または免疫治療用である送達のため、

（viii）$CD8^{(+)}$ T細胞媒介性免疫応答および/または$CD4^{(+)}$ T細胞媒介性免疫応答を含む免疫応答をトリガーするため、

（ix）感染性疾患の処置、改善、予防または診断のための方法において、好ましくは感染性疾患がウイルス感染性疾患または細菌感染性疾患であり、さらに好ましくはウイルス感染性疾患が、インフルエンザ感染症、PEDウイルス感染症、呼吸器合胞体ウイルス化燃焼、ヘルペスウイルス感染症からなる群より選択される、感染性疾患の処置、改善、予防または診断のための方法において、

（x）がんまたは自己免疫疾患の処置、改善、予防または診断のため、

（xi）がん細胞を化学治療に対して感作させるため、

（xii）がん細胞におけるアポトーシスの誘導のため、

（xiii）対象における免疫応答を刺激するため、

（xiv）ヒトまたは非ヒト動物を免疫処置するため、
（xv）ハイブリドーマの調製のため、
（xvi）前記態様のいずれか一項記載の方法において、
（xvii）インビボおよび/またはエクスビボおよび/またはインビトロ使用である、前記（i）～（xvi）のいずれか一項記載の使用のため、
（xviii）抗原が、該抗原が使用される環境にとって異種である、前記（i）～（xvii）のいずれか一項記載の使用のため。
118．免疫応答を誘発するための、アジュバントのみまたは抗原のみと関連づけられた、好ましくはポリマーソーム内に可溶性封入アジュバントのみまたは可溶性封入抗原のみを封入している、約120nm以上の平均直径を有するポリマーソーム集団の使用であって、可溶性封入抗原は、好ましくは
（i）ポリペプチド、
（ii）糖質、
（iii）好ましくはアンチセンスオリゴヌクレオチドでなく、さらに好ましくはDNAもしくはmRNA分子である、ポリヌクレオチド、または
（iv）（i）および/もしくは（ii）および/もしくは（iii）の組合せ
からなる群より選択される、使用。
119．ポリマーソーム集団の平均直径が、約120nm～約1μm、または約140nm～約750nm、または約120nm～約500nm、または約140nm～約250nm、約120nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲にある、態様118記載の使用。
120．ポリマーソームが、カチオン性ポリマーソーム、アニオン性ポリマーソームおよびノニオン性ポリマーソームからなる群より選択される、態様118～119のいずれか一項記載の使用。
121．ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが本質的に非免疫原性または本質的に非抗原性であり、好ましくはブロック共重合体または両親媒性ポリマーは非免疫原性または非抗原性である、態様120記載の使用。
122．ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが免疫賦活薬でもアジュバントでもない態様118～121のいずれか一項記載の使用。
123．両親媒性ポリマーがジブロックまたはトリブロック（A-B-AまたはA-B-C）共重合体を含む、態様118～122のいずれか一項記載の使用。
124．両親媒性ポリマーが共重合体ポリ（N-ビニルピロリドン）-b-PLAを含む、態様118～123のいずれか一項記載の使用。
125．両親媒性ポリマーが、カルボン酸、アミド、アミン、アルキレン、ジアルキルシロキサン、エーテルまたはアルキレンスルフィドのモノマー単位を少なくとも1つは含む、態様118～124のいずれか一項記載の使用。
126．両親媒性ポリマーが、オリゴ（オキシエチレン）ブロック、ポリ（オキシエチレン）ブロック、オリゴ（オキシプロピレン）ブロック、ポリ（オキシプロピレン）ブロック、オリゴ（オキシブチレン）ブロックおよびポリ（オキシブチレン）ブロックからなる群より選択されるポリエーテルブロックである、態様118～124のいずれか一項記載の使用。
127．両親媒性ポリマーがポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PB-PEO）またはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（PDMS-PEO）ジブロック共重合体またはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）である、態様118～126のいずれか一項記載の使用。
128．PB-PEOジブロック共重合体が5～50ブロックPBおよび5～50ブロックPEOを含むか、好ましくはPB-PEOジブロック共重合体が好ましくは5～100ブロックPDMSおよび5～100ブロックPEOを含む、態様127記載の使用。
129．両親媒性ポリマーがポリ（ラクチド）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PLA-PEO/POPC）共重合体であり

、好ましくは該PLA-PEO/POPCが75対25（例えば75/25）のPLA-PEO対POPC（例えばPLA-PEO/POPC）の比を有する、態様118～128のいずれか一項記載の使用。

130．両親媒性ポリマーがポリ（カプロラクトン）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PCL-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくは該PCL-PEO/POPCが75対25（例えば75/25）のPCL-PEO対POPC（例えばPCL-PEO/POPC）の比を有する、態様118～129のいずれか一項記載の使用。

131．両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）である、態様118～130のいずれか一項記載の使用。

132．ポリマーソームがジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）または$PDMS_{47}$-PEO_{36}もしくはトリブロック共重合体$PMOXA_{12}$-$PDMS_{55}$-$PMOXA_{12}$を含む、態様118～131のいずれか一項記載の使用。

133．抗原とアジュバントとの投与によって対象における免疫応答を誘発する方法であって、抗原はポリマーソームの第1集団と関連づけられ、ポリマーソームの第2集団はアジュバントとして作用し、それら2つのポリマーソーム集団が対象に投与される方法。

134．1つまたは複数のポリマーソーム集団と関連づけられた1種または複数種のアジュバントの単独投与によって対象における免疫応答（例えば自然免疫応答）を誘発する方法。

135．単独投与が、抗原が該1種または複数種のアジュバントと組み合わされて（例えば同時にまたは異なる時点で）該対象に投与（例えば共投与）されない投与である、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

136．単独投与が、以下:

（i）予防的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的予防のための予防的投与、

（ii）治療的投与、好ましくは抗ウイルス的および/または免疫調節的処置のための治療的投与、

（iii）対象におけるストレスレベルを低減するための（例えばウシの運送および/または輸送中の、および/またはウシを他の動物と混在させる時の、ストレスレベルを低減するための）投与、

（iv）（i）～（iii）の任意の組合せ

のうちの1つまたは複数である、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

137．該1種または複数種のアジュバントが同じポリマーソーム集団または異なるポリマーソーム集団と独立して関連づけられ、好ましくは、該1種または複数種のアジュバントは異なるアジュバントであり、さらに好ましくは、該異なるアジュバントは同じCpGクラスまたは異なるCpGクラスから選択される異なるCpG、例えばSEQ ID NO:18、62～64または67～77を有するCpG、または本明細書記載の他の任意の適切なCpG ODN、またはCpGクラスA、BおよびCから選択されるCpGである、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

138．該1種または複数種のアジュバントが該1つまたは複数のポリマーソーム集団と、以下の手段:

（i）該1つまたは複数のポリマーソーム集団内に該1種または複数種のアジュバントを封入すること、

（ii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の周囲膜中に該1種または複数種のアジュバントを組み込むことおよび/または包埋すること、

（iii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該1種または複数種のアジュバントを共有結合によってコンジュゲートすること、

（iv）該1つまたは複数のポリマーソーム集団の外表面に該1種または複数種のアジュバントを非共有結合によってコンジュゲートすること、および/または

（v）（i）～（iv）の任意の組合せ

のうちの1つまたは複数によって、独立して関連づけられる、前記態様のいずれか一つに

記載の方法。

139. 該1種または複数種のアジュバントが、

（i）CpGオリゴデオキシヌクレオチド（すなわちCpG ODN、例えば本明細書記載の任意の適切なCpG ODN）、好ましくは、CpGクラスA、BおよびC、さらに好ましくは、SEQ ID NO:18、62～64および67～77を有するCpGから選択されるもの、

（ii）細菌およびマイコバクテリアの細胞壁およびタンパク質に由来する、非抗原性構成要素

からなる群より独立して選択される、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

140. 該ポリマーソームが酸化安定性ポリマーソームである、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

141. 該免疫応答が1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含む、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

142. 該免疫応答が、インターロイキン-6（IL-6、例えばUniProtKB-P08505）の生産および/または分泌を刺激することを含む1種または複数種のサイトカインの生産および/または分泌を刺激することを含み、好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌が、インターロイキン-12（IL-12、例えばUniProtKB-P43431および/またはQ3ZAX5）の生産および/または分泌より優勢であり、さらに好ましくは、該インターロイキン-6（IL-6）の生産および/または分泌が、インターロイキン-12（IL-12）の生産および/または分泌を伴わない、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

143. 単独投与の経路が、経口投与、鼻腔内投与、粘膜表面への投与、吸入、皮内投与、腹腔内投与、皮下投与、静脈内投与および筋肉内投与からなる群より選択される、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

144. 該対象が哺乳類動物、好ましくはヒト、ネコ、イヌ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、乳牛、ブタ、または非哺乳類動物である、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

145. がん（例えば肉腫、線維肉腫）、アトピー性皮膚炎、アフリカブタ熱、トリインフルエンザ、ウシ海綿状脳症、ブルセラ症、オウシマダニ、慢性消耗性疾患、ブタ熱、ウマ伝染性子宮炎、ウマヘルペスウイルス、ウマ感染性貧血、ウマピロプラズマ病、ウマウイルス性動脈炎、口蹄疫、ヨーネ病、マイコプラズマ・オビニューモニエ、ブタ流行性下痢ウイルス、仮性狂犬病、ウサギ出血性疾患ウイルス、シュマレンベルクウイルス、スクレイピー、コイ春ウイルス血症、ブタにおけるA型インフルエンザウイルス、結核、水疱性口内炎、ウエストナイルウイルス、ストレス関連疾患（例えばパスツレラ症、マンヘミア・ヘモリチカおよびコクシジウム症）、（例えば抗ウイルス的処置または予防）、免疫疾患（例えば免疫調節的処置または予防）、ネコカリシウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、イヌパルボウイルス、ブタ離乳後下痢、ウシ、ウマおよび/または子ネコ上部呼吸器疾患症候群からなる群より選択される疾患に対する処置方法および/または予防方法である、前記態様のいずれか一つに記載の方法。

146. 該ポリマーソームが、以下の特性のうちの1つまたは複数を有する、前記態様のいずれか一つに記載の方法:

i）酸化安定性膜を含む、

ii）合成物である、

iii）封入された抗原および関連づけられた抗原を含まない、

iv）両親媒性ポリマーの膜を含む、および/または

v）ベシクル膜を形成する両親媒性合成ブロック共重合体を含む、および/または

vi）50nm超（例えば70nm超）の直径を有し、好ましくは該直径は約100nm～約1μm、または約100nm～約750nm、または約100nm～約500nm、または約125nm～約250nm、約140nm～約240nm、約150nm～約235nm、約170nm～約230nm、または約220nm～約180nm、または約190nm～約210nmの範囲であり、最も好ましくは該直径は約200nmである、および/または

vii）ベシクルの形態を有する、

viii）自己集合性である、
ix）本質的に非免疫原性または本質的に非抗原性であり、好ましくは該ブロック共重合体または両親媒性ポリマーが非免疫原性または非抗原性である。
147．（i）該1つまたは複数のポリマーソーム集団が、ジブロックまたはトリブロック（A-B-AまたはA-B-C）共重合体を含む両親媒性ポリマーまたは同共重合体からなる両親媒性ポリマーを含むか、または同両親媒性ポリマーから形成され、および/または
（ii）該1つまたは複数のポリマーソーム集団が脂質ポリマーを含む、
前記態様のいずれか一つに記載の方法。
148．（a）両親媒性ポリマーが共重合体ポリ（N-ビニルピロリドン）-b-PLAを含み、
（b）両親媒性ポリマーがポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（PB-PEO）ジブロック共重合体であるか、または両親媒性ポリマーがポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（PDMS-PEO）ジブロック共重合体もしくはポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（アクリル酸）（PDMS-PAA）であり、PB-PEOジブロック共重合体は好ましくは5～50ブロックPBおよび5～50ブロックPEOを含み、またはPB-PDMSジブロック共重合体は好ましくは5～100ブロックPDMSおよび5～100ブロックPEOを含み、
（c）両親媒性ポリマーがポリ（ラクチド）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PLA-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPLA-PEO/POPCは75対25（例えば75/25）のPLA-PEO対POPC（例えばPLA-PEO/POPC）の比を有し、
（d）両親媒性ポリマーがポリ（カプロラクトン）-ポリ（エチレンオキシド）/1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（PCL-PEO/POPC）共重合体であり、好ましくはPCL-PEO/POPCは75対25（例えば75/25）のPCL-PEO対POPC（例えばPCL-PEO/POPC）の比を有し、
（e）両親媒性ポリマーがポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（BD）であり、および/または
（f）ポリマーソームの第1集団および/または第2集団が、ジブロック共重合体PBD_{21}-PEO_{14}（BD21）および/またはトリブロック共重合体$PMOXA_{12}$-$PDMS_{55}$-$PMOXA_{12}$を含む、
前記態様のいずれか一項記載の方法。
149．該ポリマーソームが前記態様のいずれか一つに記載のポリマーソームである、前記態様のいずれか一つに記載の方法。
【実施例】
【０２５３】
発明の実施例
本発明が容易に理解され、容易に実用化されうるように、本発明のいくつかの局面を、以下に非限定的な例を挙げて説明する。
【０２５４】
材料および方法
実施例1:ポリマーソームへの卵白アルブミン、アジュバント、ペプチド、可溶性HA、PEDvスパイクタンパク質およびeGFP DNAの封入
ポリブタジエン-ポリエチレンオキシド（本明細書では「BD21」という）の100mg/ml原液をクロロホルムに溶解する。次に、100μLの100mg/ml BD21原液を、ホウケイ酸（12×75mm）培養チューブに入れ、窒素ガスの気流下でゆっくり乾燥させることで、薄いポリマーフィルムを形成させる。そのフィルムを乾燥器中で6時間、減圧下でさらに乾燥した。次に、1×PBS緩衝液に溶解した1～5mg/mlの可溶化卵白アルブミン（OVA）タンパク質1mLを培養チューブに加えた。その混合物を600rpm、4℃で少なくとも18時間撹拌することで、フィルムを再水和し、ポリマーベシクルを形成させた。その濁った懸濁液を孔径200nmのWhatman Nucleoporeメンブレンを通して押出機（Avanti 1mLリポソーム押出機、21ストローク）で押し出すことにより、単分散ベシクル

を得た［例えばFu et al.,2011、Lim.S.K,et al.,2017］。その混合物を1Lの1×PBSに対して透析膜（300kDa MWCO、セルロースエステルメンブレン）を使って透析することにより、タンパク質含有BD21ポリマーベシクルを非封入タンパク質から精製した。

【０２５５】

最終ベシクル混合物を、サイズ排除クロマトグラフィーを使って非封入タンパク質について分析した。SECからのベシクルピークの画分を使って、タンパク質封入量をSDS-PAGEで定量した。ベシクルサイズおよび単分散性は動的光散乱計器（英国、Malvern）で特徴づけた（1×PBSで100倍希釈）。ポリマーソームに封入されたOVAを定量するために、試料を20％DMSOで前処理してから試料緩衝液で処理し、その後にSDS-PAGE分析にローディングした。

【０２５６】

ペプチドの封入（SEQ ID NO:1、2および3のMC38ネオ抗原ペプチドで例証）については、同様のプロトコールに従った。封入用にPBSに溶解したペプチド濃度は0.5～0.3mg/mlであった。透析後に、Cary Eclipse分光測光器（Agilent）を使用し、フェニルアラニン蛍光（励起波長270nm/蛍光波長310nm）を使って、封入されたペプチドの量を決定した。3種すべてのペプチドの封入を個別に行ったところ、濃度はすべてのペプチドについて20～30ug/mlと決定された。3種の封入ペプチドのそれぞれを等量ずつ、マウスへの注射の直前に、1つに混合した。

【０２５７】

Trp2ペプチドの封入については、共溶媒法またはナノ沈殿法に従った。10mMホウ酸緩衝液、125mM NaCl、10％グリセロール、pH8.5を含有する緩衝液1mlに、0.4mgのTrp2 173～196ペプチド
(QPQIANCSVYDFFVWLHYYSVRDT, SEQ ID NO: 9)

を希釈した。その溶液に、THFに溶解した4.25μmolのBD21/0.75μmolのジオレオイル-3-トリメチルアンモニウムプロパン（DOTAP脂質）の混合物を、4～5時間激しく撹拌しながらゆっくり加えた。押出しおよび透析は、透析工程にわずかな変更を加えて、上記のように行った。簡単に述べると、次にベシクルを0.22μmフィルター（PESメンブレン、Millipore）で濾過し、48時間にわたって緩衝液交換を3回行う透析に供した。封入されたTrp2の濃度をHPLCで決定した。Trp2の最終濃度は160μg/mlである。

【０２５８】

アジュバントCpG（InvivoGenから入手できるSEQ ID NO:18のクラスB CpG-オリゴデオキシヌクレオチドを使用）を封入するために、4.25μmolのBD21/0.75μmolのジオレオイル-3-トリメチルアンモニウムプロパン（DOTAP脂質）の混合物をクロロホルムに溶解した。次に、結果として得られた混合物を、ホウケイ酸（12×75mm）培養チューブに入れ、窒素ガスの気流下でゆっくり乾燥させることで、薄いポリマーフィルムを形成させた。そのフィルムを乾燥器中で6時間、減圧下でさらに乾燥した。100μgのCpGを、10mMホウ酸緩衝液、125mM NaCl、10％グリセロールに溶解した。試料を押し出し、次に、48時間にわたって透析し、緩衝液交換を3回行った。SYBR-Safe色素を使用し、既知量のCpGを使って標準曲線を作成することにより、CpGを定量した。ACM試料を破裂させ、RTで30分インキュベートし、定量用の黒色プレートに移した（Ex500nm:Em530nm）。封入CpG濃度は、通常、70～90μg/ml前後だった。

【０２５９】

HAの封入については、同様のプロトコールに従った。封入のために組換えHA（H1N1/A/プエルトリコ/8/1934株）を10ug/mlの濃度でPBSに溶解した。透析後に、封入されたペプチドの量をウェスタンブロットで決定した。封入後のHA濃度は1ug/ml前後と決定された。100ulをマウスに注射した。

【０２６０】

BD21ポリマーソームへのPEDvスパイクタンパク質の封入については、上述のように

、同様のプロトコールに従った。バキュロウイルス発現系を使ってPEDvスパイクタンパク質（さまざまなコンストラクト、SEQ ID NO:12～14）を発現させた。昆虫細胞から単離されたタンパク質を封入のために加えた。一方、ポリ（ジメチルシロキサン）-ポリ（エチレンオキシド）（カナダ・ケベックのPolymer Sourceから入手した$PDMS_{46}$-PEO_{37}）またはブロック共重合体と脂質との混合物、例えば$PDMS_{46}$-PEO_{37}/DSPE-PEG、PLA-PEG/POPC、PLA-PEG/アゾレクチンで作製されたポリマーソームへのPEDvスパイクタンパク質の封入については、本方法の普遍性を示すために異なるプロトコールに従った。ポリマーおよび/またはポリマー脂質混合物をエタノールまたは任意の水混和性溶媒に溶解し、タンパク質溶液に滴下することで自己集合させた。タンパク質は自己集合中にポリマーソームに封入される。非封入タンパク質をPBSを使った透析によって除去した。透析後に各ポリマーソーム試料封入タンパク質の量をデンシトメトリーによって決定した。封入後のタンパク質の濃度は、これらのポリマーソーム製剤のそれぞれについて1μg/ml前後と決定された。ポリマーソームに可溶性スパイクタンパク質（SEQ 12）またはスパイクタンパク質のS1領域（SEQ 13）およびスパイクタンパク質のS2領域（SEQ 14）のいずれかを封入した。マウスには100～200μlのポリマーソーム（可溶性スパイクタンパク質だけを含むか、ポリマーソームとスパイクタンパク質のS1領域およびS2領域との混合物を含むもの）を注射し、ブタには1mlの同ポリマーソームを経口投与した。

【０２６１】

eGFR DNA封入については、OVA封入と同様のプロトコールに従った。簡単に述べると、ブロック共重合体、例えばポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（BD21）、ポリ（エチレンオキシド）鎖の末端が官能基（例えばNH_2、COOH）で修飾されたポリ（ブタジエン）-ポリ（エチレンオキシド）（BD21-NH_2）、ブロック共重合体と脂質との混合物、例えばPLA-PEG/POPC、PLA-PEG/アゾレクチン、ジメチルアミノエタン-カルバモイル（DC）-コレステロール、1,2-ジオレイル-3-トリメチルアンモニウム-プロパン（DOTAP）をクロロホルムに溶解し、ガラス管に移し、窒素ガスの気流下でゆっくり乾燥させることで、薄いフィルムを形成させた。そのフィルムを乾燥器中で6時間、減圧下でさらに乾燥した。1μgのeGFP DNAをフィルムに加え、一晩、再水和させた。その後、試料を0.2umポリカーボネートフィルターで押し出し、HEPES緩衝液中で透析した。

【０２６２】

実施例2:HEK293T細胞を用いるeGFP DNA封入ポリマーソームのトランスフェクション

HEK293T細胞を50,000細胞/ウェルの密度で48ウェルプレートに播種した。トランスフェクション（Lipofectamine 2000トランスフェクション）のために、1,000μLのOpti-MEM I（Invitrogen）、2μLのLipofectamine 2000（Invitrogen）、および1μgのSF-GFP PC DNA（または1μgのSF-GFP PC DNAを含有するポリマーソーム製剤）を混合した。トランスフェクション複合体は、RTで20分間のインキュベーション中に形成された。トランスフェクションのために、lipofectamine複合体を細胞に加え、37Cおよび5％CO2で24時間～72時間インキュベートした。トランスフェクションの効率は、GFP蛍光（励起波長485nm、蛍光波長520nm）によって測定した。細胞取込みについては、蛍光を励起波長530nm、蛍光波長560nmで測定した。イメージング用に、細胞培地を吸引した後、細胞をDPBS（Ca2＋/Mg2＋含有）で洗浄し、4％p-ホルムアルデヒドで固定した。次に、ガラス製カバーグラスを取り出し、DAPIを含む20ulの封入剤1滴をのせたスライドガラスにはじき落とした。最後にカバーグラスをマニキュアでシールし、後のイメージングのために4Cで保存した。イメージングには蛍光顕微鏡法を使用した。

【０２６３】

実施例3:抗体力価のためのOVA封入ポリマーソームによる免疫処置

Sigma Adjuvant System（SAS）を含むまたは含まない遊離OVAおよびOVA封入ACM（ポリマーソーム）を使用し、プライムと21日後のブーストを行うことによって、C

57bl/6マウスを免疫処置した。すべての免疫処置は5～10ug OVA/注射/マウスの最終OVA量で行った。最終採血はプライムの42日後に行った。次に力価を評価するためにELISAを行った。すなわち、OVAをMaxiSorpプレート（1ug/ml）上に一晩コーティングした。プレートをPBS中の3％BSAを使ってRTで1時間ブロッキングした。すべての血清を1:100に希釈し、RTで1時間、プレート上でインキュベートした。PBS＋0.05％Tween 20による3回の洗浄後に、抗マウスIgG-HRP結合二次抗体を、RT（室温）において、1:10,000の希釈率で、1時間インキュベートした。PBS/Tween 20緩衝液で3回洗浄した後、TMB基質を加え、1M HClを使って反応を停止した。光学密度を450nmで定量した。

【０２６４】

実施例4:抗体力価のためのHA封入ポリマーソームによる免疫処置

同様に、PBS中の遊離HAタンパク質（SEQ ID NO:7）、ACMに封入されたHA（ポリマーソーム）またはPBS対照で、Balb/cマウスを免疫処置した。すべての免疫処置は100ng HA/注射/マウスの同じ最終HA量で行った。プライムの42日後に最終採血を行い、プレートのコーティングに1ug/ml HAを使ってELISAを上記のように行った。

【０２６５】

実施例5:細胞性応答のためのMC38ネオ抗原ペプチド封入ポリマーソームによる免疫処置

免疫処置後の特異的CD8 T細胞応答を観察するために、本発明者らはMC-38同系腫瘍モデルを使用した。腫瘍を発生させるために、C57bl/6マウスの右側腹部の皮下に0.1mlPBS中のMC-38腫瘍細胞（3×10^5個）を接種した。接種の日を0日目と定義する。動物を体重に基づいてランダム化し、接種後4日目に免疫処置を開始した。免疫処置は、遊離ペプチド、市販の抗PD-1抗体による同時処置ありおよびなしでのACMに封入されたペプチド（ポリマーソーム）からなった。ペプチドは、Reps1 P45A（SEQ ID NO:1）、Adpgk R304M（SEQ ID NO:2）およびDpagt1 V213L（SEQ ID NO:3）であり、Genscriptから入手した。4日目、11日目および18日目に200ulのペプチドおよびACM中のペプチドを皮下に免疫処置した。ACM中のペプチドの濃度は20～30μg/mlと決定された。一方、単独のペプチドについてはマウス1匹につき注射1回あたり10μgを使用した。抗PD1抗体は、5mg/kgの投薬量で、5、8、12、15、19および22日目に腹腔内注射した。腫瘍成長および処置が、移動性などの正常行動、食物および水の消費、体重増/体重減（体重は週に3回測定される）に何らかの効果を及ぼすかどうか、動物をチェックした。腫瘍サイズは、週に3回、カリパスを使って二次元で測定し、式:$V=0.5a\times b^2$（式中、aおよびbはそれぞれ腫瘍の長径および短径である）を使って体積をmm^3の単位で表した。

【０２６６】

実施例6:PEDvスパイクタンパク質封入ポリマーソームによるマウスおよびブタの免疫処置

マウスをACMに封入されたPEDvスパイクタンパク質（コロナウイルスに対するワクチンの説明的実例として）で免疫処置し、21日後に2回目の投与でブーストした。免疫処置にはPEDvスパイクタンパク質が封入された150ul～200μlのポリマーソームを使用した。最終採血から血清を収集し、ELISAに使用した。さらにこれらの血清を、従来のウイルス中和反応により、PEDV株USA/コロラド/2013（CO/13）を中和する能力について試験した。さらにまた、PEDスパイクタンパク質が封入された1mlのポリマーソームを、離乳ブタに経口ワクチン接種した（1日目のプライムおよび14日目のブースト後）。経口ワクチン接種には簡単な生理溶液を使用した。

【０２６７】

実施例7:B16-OVA腫瘍予防モデルとしての、OVAタンパク質封入ポリマーソームとアジュバントCpG（共注射）またはCpG封入ポリマーソームとによる、マウスの免疫処置

4つの異なるOVAタンパク質免疫処置プロトコールをマウスに実施した。C57BI/6マウスの皮下に7日の間隔を置いてプライムおよびブーストとして、1．遊離OVAと遊離CpGとの共投与、2．BD21ポリマーソームによって封入されたOVAと、遊離CpGとの共投

与、3．遊離OVAと、BD21ポリマーソームによって封入されたCpG、および、4．BD21ポリマーソームによって封入されたCpG（本発明において使用されるポリマーソームの第2集団に相当）と、BD21ポリマーソームによって封入されたOVA（本発明において使用されるポリマーソームの第1集団に相当）の共投与。次に、免疫処置と同じ側の右側腹部に、10^5個のB16-OVA細胞を接種した。腫瘍の発生を30日間モニターした。

【０２６８】

実施例8:B16-OVA腫瘍治療モデルとしての、OVAタンパク質封入ポリマーソームとアジュバントCpG（共注射）またはCpG封入ポリマーソームとによる、マウスの免疫処置

腫瘍成長のためのB16-OVA細胞10^5個をマウスに接種し、B16-OVA細胞の接種後に、3つの異なるOVAタンパク質製剤（1．遊離OVAとCpGの共投与、2．OVA封入BD21ポリマーソームと遊離CpGの共投与、3．OVA封入BD21ポリマーソーム（本発明において使用されるポリマーソームの第1集団に相当）と別個のCpG封入ポリマーソーム（本発明において使用されるポリマーソームの第2集団に相当）を、プライムおよび2回のブーストとして（5日目、10日目および14日目に）免疫処置した。免疫処置試料はいずれもマウス1匹あたり5～10μgのOVA、8μgのCpGからなる。腫瘍の発生を20日超にわたってモニターし、異なるOVA製剤についての腫瘍応答を直接相関させるために、デキストラマー染色用の血液試料を20日目に収集した。

【０２６９】

実施例9:黒色腫B16F10腫瘍治療モデルとしての、Trp2ペプチド封入ポリマーソームとアジュバントCpG（共注射）またはCpG封入ポリマーソームとによる、マウスの免疫処置

C57BI/6マウスにまず10^5個のB16F10細胞を接種し、次に、免疫処置のために異なるTrp2（抗原としてのチロシナーゼ関連タンパク質-2）製剤を投与した。製剤はいずれも、マウス1匹につき注射されるTrp2ペプチド16μgからなる。ワクチン接種後に、腫瘍成長をモニターし、異なるTrp2製剤についての腫瘍応答を直接相関させるために、動物（n＝4）を　　殺することによって腫瘍試料を17日目に収集し、腫瘍成長をモニターした動物については21日目に血液試料を収集した。

【０２７０】

実施例10:ACMポリマーソームへのCpGアジュバントのコンジュゲーション

CpG ODNは、5’端または3’端を介して官能基とコンジュゲートすることができる。5’端または3’端のどちらかにアミン（-NH_2）官能性および遊離チオール（-SH）官能性ODNをカスタム合成することができる。以下により詳しく説明する3つのコンジュゲーション戦略は、いずれも、CpG ODNなどのアジュバントを官能性ポリマーおよび表面官能性ACM粒子に効果的にコンジュゲートするために使用することができる。（1）SH-ODN/ACM-マレイミドコンジュゲーション、（2）NH_2-ODN/ACM-NHS（N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル）、（3）NH_2-ODN/ACM-アルデヒド。ACMへのODNの共有結合的コンジュゲーションに加えて、加水分解可能なリンカーまたは切断可能なリンカーを、ODNとポリマー鎖との間に導入することもできる。抗原提示細胞においてCpGを放出するために、酸切断可能リンカー（ヒドラゾン、オキシム）、酵素切断可能リンカー（ジペプチドベースのリンカーVal-Cit-PABCおよびPhe-Lys）またはグルタチオン切断可能ジスルフィドリンカーを導入することができる。

【０２７１】

SH-ODNとポリマー-マレイミド（ポリマー-MAL）を用いるACM-ODNコンジュゲーション戦略:

5’スルフヒドリルISS CpG-ODNまたは3’スルフヒドリルISS CpG-ODNへのジスルフィド前駆体を700mMトリス-（2-カルボキシエチル）ホスフィン（TCEP）溶液で処理した。これは、HBSE（1mM EDTAを含有する10mM HEPESで緩衝化した140mM NaCl緩衝液）pH7中に作って、5モル過剰に使用することで、ジスルフィド-ODNを40℃で2時間還元した。PD-10脱塩カラム（GE Healthcare）を使って残存TCEPを除去し、HBSE pH6.5で溶出させた。還元されたSH-ODNは直ちに使用するか、使用時まで-80℃で貯蔵した。予め、アミン官能性ポリマーとNHS-PEG-MALリンカー基とを使っ

て、ポリマー-MALを調製しておいた。ACM-ODN複合体は、ODNをポリマーに前もってコンジュゲートしてからACMを形成させるか、予め形成されたACMにODNをコンジュゲートすることによって、調製することができる。SH-ODNとポリマーMALの事前コンジュゲーションは、HBSE緩衝液pH7中、DMFの存在下、40℃、暗所で、4時間行うか、油中水型エマルション（HBSE緩衝液:エーテル、2:1比）により、40℃、暗所で、4時間行うことができる。有機溶媒および水は、ローターエバポレーターとそれに続く凍結乾燥によって除去した。乾燥ODN-ポリマーを使用し、非官能性ポリマーと混合して、ACMを形成させた。予め形成されたACM-MALは、10～20%の官能性ポリマー-MALを80～90%の非官能性ポリマーと共に使用し、薄膜再水和技法によって調製され、HBSE緩衝液pH7中で再水和させた。還元されたSH-ODNを、HBSE緩衝液pH7中、40℃で4時間、予め形成されたACM-MALとコンジュゲートした。コンジュゲートされていないSH-ODNは、Sepharose CL-4Bサイズ排除クロマトグラフィーまたは透析によって、ACM-ODNコンジュゲートから除去した。

【0272】

NH2-ODNとポリマー-N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル（ポリマー-NHS）を用いるACM-ODNコンジュゲーション戦略:

アミン官能性5’CpG-ODNまたは3’CpG-ODNをN-ヒドロキシスクシンイミジルエステル官能化ポリマー（ポリマー-NHS）とコンジュゲートした。予め、ヒドロキシル官能性ポリマーおよびN,N’-ジスクシンイミジルカーボネートから、DMAPの存在下、乾燥アセトン/ジオキサン混合物中で、ポリマー-NHSを調製しておいた。

【0273】

ACM-ODN複合体は、ODNをポリマーに前もってコンジュゲートしてからACMを形成させるか、予め形成されたACMにODNをコンジュゲートすることによって、調製することができる。NH2-ODNとポリマー-NHSの事前コンジュゲーションは、乾燥DMFの存在下、室温で8時間、行うことができる。有機溶媒は凍結乾燥によって除去した。乾燥ODN-ポリマーを使用し、非官能化ポリマーと混合して、薄膜再水和技法により、ACM-ODNを形成させた。

【0274】

予め形成されたACM-NHSは、20～30%の官能性ポリマー-NHSを70～80%の非官能性ポリマーと共に使用し、リン酸緩衝液pH6.8中で、薄膜再水和技法によって調製した。NH2-ODNを、PB緩衝液pH6.8中、4℃で、予め形成されたACM-NHSに加え、一晩反応させた。コンジュゲートされていないNH2-ODNは、Sepharose CL-4Bサイズ排除クロマトグラフィーまたは透析によって、ACM-ODNコンジュゲートから除去した。

【0275】

NH2-ODNとポリマー-アルデヒド（ポリマー-CHO）を用いるACM-ODNコンジュゲーション戦略:

アミン官能性5’CpG-ODNまたは3’CpG-ODNをアルデヒド官能化ポリマー（ポリマー-CHO）とコンジュゲートすることでイミン結合を形成させ、それを、シアノ水素化ホウ素ナトリウム（$NaCNBH_4$）処理により、さらに還元して安定なアミン結合を形成させた。予め、ヒドロキシル官能性ポリマーから、デス-マーチン・ペルヨージナン存在下での、アルコールのアルデヒドへの選択的酸化により、ポリマー-CHOを調製しておいた。

【0276】

ACM-ODN複合体は、ODNをポリマーに前もってコンジュゲートしてからACMを形成させるか、予め形成されたACMにODNをコンジュゲートすることによって、調製することができる。

【0277】

NH2-ODNとポリマー-CHOの事前コンジュゲーションは、乾燥DMFの存在下、室温で16時間行うことができる。これによりイミン結合形成が起こり、それは、$NaCNBH_4$により、アミンへとさらに還元される。PD-10脱塩カラム（GE Healthcare）を使って残存NaCNBH4を除去し、水/DMF混合物で溶出させた。有機溶媒は凍結乾燥によって除

去した。乾燥ODN-ポリマーを使用し、非官能性ポリマーと混合して、薄膜再水和技法により、ACM-ODNを形成させた。

【０２７８】

予め形成されたACM-CHOは、３０～４０％の官能性ポリマー-CHOを６０～７０％の非官能性ポリマーと共に使用し、薄膜再水和技法によって調製され、１０ｍＭホウ酸緩衝液pH8.2中で再水和させた。ホウ酸緩衝液pH8.2中でNH2-ODNを予め形成されたACM-CHOに加え、室温で一晩反応させることで、イミン結合を形成させた。さらに、４℃で一晩、$NaCNBH_4$で処理して、イミン結合を安定なアミン結合に還元した。コンジュゲートされていないNH2-ODNおよび遊離$NaCNBH_4$は、Sepharose CL-4Bサイズ排除クロマトグラフィーまたは透析によって、ACM-ODNコンジュゲートから除去した。

【０２７９】

卵白アルブミン（OVA）へのBD21ベシクルのコンジュゲーション:

BD_{21}＋５％DSPE-PEG（３０００）-マレイミドベシクル形成:

$CHCl_3$中のBD_{21}（１００mg/mL）１００μLを２５mLの一口RBF（丸底フラスコ）に移し、そこに８０.８９μLのDSPE-PEG-マレイミド（$CHCl_3$中、１０mg/mL）を加えた。溶媒を減圧下、３５℃でゆっくり蒸発させることで、拡がった薄膜を得て、デシケーター中、真空下で６時間、乾燥した。１mLの$NaHCO_3$緩衝液（１０mM、０.９％NaCl、pH６.５）を再水和のために薄膜に加え、２５℃で１６～２０時間、撹拌することで、乳状の均一溶液を形成させた。１６～２０時間の再水和後に、その溶液を２５℃において２００nm Whatmanメンブレンで２１回、押し出した。その溶液を透析バッグ（MWCO（質量カットオフ）:３００KD）に移し、$NaHCO_3$緩衝液（１０mM、０.９％NaCl、pH６.５）中で透析した（５００mL×２および１L×１;最初の２回の透析はそれぞれ３時間行い、最後の透析は１６時間行った）。ベシクルサイズおよび単分散性は動的光散乱計器（英国Malvern）で特徴づけた（１×PBSで１００倍希釈）。

【０２８０】

OVAへのBD_{21}＋DSPE-PEG（３０００）-マレイミド（５％）のコンジュゲーション:

OVA（０.５mg）を２００μLの$NaHCO_3$緩衝液（１０mM、０.９％NaCl、pH６.５）に溶解し、そこに２.５mgのTCEP-HCl（１００μLの同じ$NaHCO_3$緩衝液に溶解）を加え、２０分間インキュベートした。１N NaOH溶液（約１０μL）を使って反応のpHを約２.０から６～７へと調節した。次に、３５０μLのポリマーソーム（１０mg/mLのBD/DSPE-PEG（３０００）-マレイミド、１０Mm $NaHCO_3$中５％、０.９％NaCl緩衝液、pH７.０）をタンパク質混合物に加え、反応のpHをpH７.０に調節した（反応のpHが７でなかった場合）。遮光下で反応を２４℃で３時間インキュベートした。反応溶液（約６６０μL）を透析バッグ（MWCO:１０００KD）に移し、$NaHCO_3$緩衝液（１０mM、０.９％NaCl、pH７.０）中で透析した（１L×３;最初の２回の透析はそれぞれ３時間行い、最後の透析は１６時間行った）。透析された溶液１００μLをSECクロマトグラフィーによって精製し、９６ウェルプレートに収集した。対応するACMピークフラクションを合わせて、SDS-PAGEによる定量のために凍結乾燥した。

【０２８１】

比較のために、BD_{21}のみへのOVAの封入も行った。そのために、$CHCl_3$に溶解した１００μlの１００mg/ml BD_{21}原液を使って、上記のように薄膜を作った。次に、１×PBS緩衝液中の０.５mg/ml可溶化OVAタンパク質の溶液１mLを加えることによって再水和を行った。その混合物を、６００rpm、４℃で少なくとも１８時間撹拌することでポリマーベシクルを形成させ、上述のように押し出し、透析した。

【０２８２】

ヘマグルチニン（HA）へのBD_{21}ベシクルのコンジュゲーション:

BD_{21}からのBD_{21}-CHOの調製:

無水CH_2Cl_2（６mL）に溶解して一口RBF中で撹拌したBD_{21}（１００mg）の溶液に、デス-マーチン・ペルヨージナン（１０mg、０.４当量）を０℃で一度に加えた。反応を２５℃で４時間撹拌した。次に、飽和$NaHCO_3$および$Na_2S_2O_3$の１:１混合物（２０mL）を加

え、同じ温度で2時間撹拌した。有機層を分離し、水相をCH_2Cl_2（20mL）で抽出し、有機層を分離した。合わせた有機層を飽和$NaHCO_3$および$Na_2S_2O_3$の1:1混合物（20mL）、ブライン（20mL）で洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥し、減圧下で蒸発させることにより、無色の粘稠油状物（100mg、定量的）を得た。修飾収率はNMRで30%前後と見積もられた。

【0283】

HAへのBD-CHOのコンジュゲーション:

10mgの修飾BD_{21}-CHO（無色の粘稠油状物）を25mLの一口RBF中で0.5mLの$CHCl_3$に溶解し、Rotavapを使って35℃で10分間、減圧下でゆっくり溶媒を蒸発させることで、拡がった薄膜を得た。その膜をデシケーター中、真空下で6時間乾燥した。その膜を400μlのホウ酸緩衝液（ホウ酸10mM、150mM NaCl、pH7.5）中で30分間再水和させてから、0.5mgのHA（これを透析によってホウ酸緩衝液中で前もって平衡化することで、150μlのHAを調製した）を加えた。反応を25℃で16時間撹拌した。次に、その溶液に20μLの$NaCNBH_4$を加え（調製:126mgの$NaCNBH_4$を1mLのMillipore水に溶解し、その溶液を25℃で30分撹拌することにより、過剰のH_2ガスを脱気した）、25℃でさらに8～16時間、撹拌を続けた。200nm Whatmanメンブレンを使って25℃で21回、コンジュゲートされたポリマーソームを押し出した。反応溶液を透析バッグ（MWCO:1000KD）に移し、PBS緩衝液（1×、pH7.4）中で透析した（1L×3;最初の2回の透析はそれぞれ3時間行い、最後の透析は16時間行った）。透析後に、透析された溶液400μLをSECクロマトグラフィー（サイズ排除クロマトグラフィー）で精製し、96ウェルプレートに収集した。カップリングされたHAの存在は、ウェスタンブロットとELISAアッセイ（酵素結合免疫吸着アッセイ）の両方を使って検出した。ベシクルサイズおよび単分散性は動的光散乱法で特徴づけた（1×PBSで100倍希釈）。

【0284】

比較のために、BD_{21}のみへのHAの封入も行った。そのために、$CHCl_3$に溶解した100μlの100mg/ml BD_{21}原液を使って、上記のように薄膜を作った。次に、1×PBS緩衝液中に20μgのHAタンパク質を含有する1mLの溶液を加えることによって、再水和を行った。その混合物を、600rpm、4℃で少なくとも18時間撹拌することでポリマーベシクルを形成させ、上述のように押し出し、透析した。

【0285】

カップリングされたHAおよびOVAの定量:

カップリングされたタンパク質の存在を検出するために、いくつかの技法を使用した。100～300μlの透析された試料を、Sephacrylカラムを用いるサイズ排除クロマトグラフィー（SEC、Akta）にローディングした。ACMベシクルのピークに対応するSECフラクションを、SDS-PAGEおよび/またはELISAによって分析するために、プールするか、そのまま使用した。SDS-PAGEの場合、各フラクションのうち20～40μlをDMSOと混合し（20%v/v）、よくボルテックスしてから、ローディング緩衝液を加えた。定量のために、さまざまな量の遊離BSA（ウシ血清アルブミン）、HAまたはOVAを加えた。泳動後に、ゲルを銀染色法で染色するか（OVA）、メンブレン転写とウサギポリクローナル抗体による免疫ブロッティングに使用した（HA）。HAがポリマーにカップリングされていることをさらに保証するために、25ulの全SECフラクションをMaxisorp384ウェルプレートに、4℃で一晩コーティングした。3%BSAでブロッキングした後、ウサギポリクローナル抗HA抗体を一次抗体として使用し、次に、抗ウサギ抗体にカップリングされたHRP（セイヨウワサビペルオキシダーゼ）を二次抗体として使用した。TMB基質を加え、1M HClを使って反応を停止した。光学密度を450nmで定量した。

【0286】

マウス免疫処置および力価決定（mAb）:

さまざまなOVA製剤、すなわちPBS（陰性対照）、Sigma Adjuvant System（SAS）ありまたはSASなしの遊離OVA、OVA封入ACM またはOVAコンジュゲートACMで、C57bl/6マウスを免疫処置した。さまざまなHA製剤、すなわちPBS（陰性対照）、遊

離HA、HA封入ACMまたはHAコンジュゲートACMで、Balb/cマウスを免疫処置した。どちらの試行も、プライムを投与し、21日後にブーストを投与することによって、行った。免疫処置はすべて各試行内では同じ最終量の抗原、すなわち5～10μg OVA/注射/マウスまたは100～200ng HA/注射/マウスで行った。最終採血はプライムの42日後に収集した。次に、力価を評価するためにELISAを行った。すなわち、OVAまたはHAをMaxiSorpプレート上に一晩コーティングした（炭酸緩衝液中1μg/ml）。PBS中の3%BSAを使ってプレートをRTで1時間ブロッキングした。血清はすべて1:100希釈し、プレート上、RTで1時間インキュベートした。PBS＋0.05%Tween20で3回洗浄した後、二次抗体HRP結合抗マウスIgGを、1:10,000でRT（室温）で1時間インキュベートした。PBS/Tween20緩衝液で3回洗浄した後、TMB基質を加え、1M HClを使って反応を停止した。光学密度を450nmで定量した。

【０２８７】

実施例11:OVAへのACMポリマーソームのカップリング

5%DSPE-PEG（3000）-マレイミドで調製されたポリマーソーム（ACM（人工細胞膜）ともいう）を使用し、利用可能なシステインを介してOVAをカップリングした。少なくとも1つのシステインは溶媒にとってアクセス可能であることが示されている（Tatsumi et al.,1997）。カップリング条件はpH制御環境で達成された。

【０２８８】

実施例12:HAへのBD_{21}-CHOポリマーソームのカップリング

BD_{21}ポリマーを「方法」で述べたように修飾した。アルデヒド修飾百分率はNMRにより30～40%前後と見積もられた。BD_{21}に付加されたアルデヒド部分が、HAのリジン残基およびアルギニン残基の第一級アミンと反応することになる。カップリングを一晩行い、次に十分に透析を行った後、その結果得られたベシクルを特性解析した。

【０２８９】

実施例13:免疫処置および血清力価決定

以下の製剤でC57bl/6マウスを免疫処置した:陰性対照（PBS）、Sigma Adjuvant System（SAS）ありまたはSASなしの遊離OVA、BD_{21}封入OVAおよびBD_{21}コンジュゲートOVA。免疫処置はすべて、同量のOVA、すなわちマウス1匹あたり注射1回あたり4μgにした。ブーストの21日後に、ELISAによって力価を決定するために、血清を収集した。

【０２９０】

加えて、Balb/cマウスを以下の製剤で免疫処置した:陰性対照（PBS）、遊離HA、BD_{21}封入HAおよびBD_{21}コンジュゲートHA。十分に透析した後でもHAコンジュゲートポリマーソーム試料には多少の残存遊離HAが観察されたので、プールしたSECのフラクションを免疫処置に使用した。免疫処置はすべて、同量のHA、すなわちマウス1匹あたり注射1回あたり100～200ngにした。

【０２９１】

結果

実施例1のタンパク質およびDNAの封入:

OVA封入ポリマーソームを、透析およびサイズ排除カラム（SEC）で精製することで、非封入タンパク質を除去し、動的光散乱法で分析した。図2A、図3および図4に示すように、SECからのOVA封入ポリマーソームの溶出プロファイルおよび単分散集団が観察された。

【０２９２】

OVA、PEDvスパイクタンパク質またはeGFP DNAが封入されているさまざまなポリマーソームについて動的光散乱（DLS）データを図2Bに提示する。好ましいDLSパラメータであるZ-平均（d,nm）を使って測定すると、それらはいずれも平均直径120nm～180nmである。Z-平均サイズは強度加重調和平均粒径であり、それらの値は、ポリマーソームの以前のデータ［Fu et al.,2011、Lim.S.K,et al.,2017］とよく一致する。

【０２９３】

実施例2の封入eGFP DNAおよびトランスフェクションデータ:
HEK293T細胞を使ってeGFP DNA封入ポリマーソームをトランスフェクトし、トランスフェクション後に、ACMポリマーソームの取込みを蛍光プレートリーダーによって励起波長530nmおよび蛍光波長560nmで測定し、トランスフェクション効率はGFP蛍光（励起波長485nm、蛍光波長520nm）で測定した。図5に示すように、DNAを含むポリマーソームが細胞中に侵入し、DNAを放出してそのDNAをタンパク質に発現させうることは明らかであり、ポリマーソーム製剤はいずれも細胞に取り込まれてDNAを放出することができ、一方、ポリマーソーム放出対タンパク質発現の比は、その安定性および生分解性とよく相関する（図5A）。BD21などの非生分解性ポリマーソームは、生分解性ポリマーソームと比較して、取り込まれる量が少なく、発現レベルも低かった。同様の結果は細胞の蛍光像からも観察された（図5Bおよび図5C）。

【０２９４】

実施例3の封入OVAおよび力価:
プライムおよび21日後のブーストの投与によるC57bl/6マウスの免疫処置にOVA封入ポリマーソームを使用した。最後の採血を使ってELISAを行った。図6に示すように、遊離OVA、アジュバントを伴うOVA、または対照試料（PBSのみ）と比較して、OVA封入ポリマーソームが、力価をトリガーできる唯一の製剤であることは明らかである。SASを伴うOVAで力価が生じなかった理由は、治験に使用されたOVAの量が少なかったためかもしれない（1回の注射につき5ug前後）。したがってACMに封入されたOVAは、OVAに対するB細胞応答を、卵白アルブミンに特異的なIgG血清力価の形で、トリガーすることができた。

【０２９５】

実施例4の封入HAおよび力価:
プライムおよび21日後のブーストの投与によるBalb/cマウスの免疫処置にHA（H1N1/A/プエルトリコ/8/1934株、SEQ ID NO:7）封入ポリマーソームを使用した。最後の採血を使ってELISAを行った。図7に示すように、遊離HAまたは対照試料（PBSのみ）と比較して、HA封入ポリマーソームが、力価をトリガーできる唯一の製剤であることは明らかである。遊離HAで力価が生じなかった理由は、治験に使用されたHAの量が少なかったためかもしれない（1回の注射につき100ng前後）。したがってACMに封入されたHAは、HAに対するB細胞応答を、HAに特異的なIgG血清力価の形で、トリガーすることができた。

【０２９６】

実施例5の封入MC-38ネオ抗原ペプチドおよびCD8 T細胞応答:
ACMに封入された抗原がCD8 T細胞応答をトリガーできることを示すために、本発明者らは、公知のCD8抗原性ペプチドの送達に依拠する詳しく特徴づけられたMC-38同系マウス腫瘍モデルを使用した。アジュバントと組み合わされた大量のこれらのペプチドは、治療マウスモデルにおける腫瘍制御をトリガーすることが示されている（例えばKuai et al.,2017、Luo et al.,2017）。加えて、これらの効果は、マウス血中のペプチド特異的CD8 T細胞の存在と明らかに相関した。したがって、群間の腫瘍成長の相違はいずれも、CD8 T細胞のペプチド特異的プールの存在に直接的に起因すると考えることができるだろう。MC-38細胞株を接種した4日後に、本明細書の「材料および方法」で述べたように、遊離のペプチド、または抗PD1抗体処置ありおよび抗PD1抗体処置なしでのACMに封入されたペプチド（ポリマーソーム）のいずれかを使って、マウスを免疫処置した。図8に示すように、封入ペプチドによる免疫処置は、遊離のペプチドと比較して、腫瘍成長阻害効果をトリガーすることができた。この効果は、抗PD1抗体注射を加えると常に、劇的に増強された。このデータにより、ACMに封入されたペプチド（ポリマーソーム）は、おそらくは樹状細胞へのこれらのペプチドの送達によって、ペプチド特異的CD8 T細胞応答をトリガーでき、それが腫瘍制御をもたらすということが実証された。この効果は、抗PD1抗体などのチェックポイント阻害剤の添加によって増加した。事実、MC-38は、腫瘍内部でT細胞の殺傷活性を阻害することが公知であるPD-L1分子を

、その細胞表面に発現することが示されている。したがって、PD1/PD-L1相互作用を遮断する抗体によるそのような相互作用の阻害は、腫瘍特異的T細胞の存在をより一層明らかにすることが知られている。このデータは全体として、ACMに封入された抗原（ポリマーソーム）がアジュバントの添加なしで抗原特異的CD8 T細胞応答をトリガーできることを、明確に実証している。

【０２９７】

実施例6の封入PEDvスパイクタンパク質およびIgG、IgAおよびウイルス中和応答:

マウスをACMに封入されたPEDvスパイクタンパク質で免疫処置し、21日後に2回目の投与でブーストした。最終採決から血清を収集してELISAに使用した。図8に見られるように、ELISAプレートにコーティングされたスパイクタンパク質に結合する抗体および力価は、ACMワクチン接種マウスと比較して、死滅ウイルスをワクチン接種した動物に類似するレベルだった。さらにこれらの血清を、従来のウイルス中和反応実験により、PEDV株USA/コロラド/2013（CO/13）を中和する能力について試験した（図9）。ここでは、ACMワクチン（すなわちACMに封入されたPEDスパイクタンパク質）で免疫処置されたマウスからの血清だけにウイルス中和反応が見出されることが観察され、死滅ウイルスをワクチン接種したマウスからの血清では中和反応は観察されなかった。さらにまた、完全長可溶性タンパク質が封入されたさまざまなポリマーソーム（例えばBD21、$PDMS_{46}$-PEO_{37}（図10では「PDMS」とだけ記している）、$PDMS_{46}$-PEO_{37}/DSPE-PEG、PLA-PEG/アゾレクチン脂質）ならびにS1領域およびS2領域を含有するポリマーソーム混合物を免疫処置に使用し、血清をウイルス中和反応について試験した（図10）。PBS試料で免疫処置されたマウスの群がいかなるウイルス中和反応も示さないのに対し、他のポリマーソーム製剤はいずれも、さまざまな程度のウイルス中和反応を示すことは、図10から明らかである。さらにまた、離乳ブタにACMに封入されたPEDスパイクタンパク質を経口ワクチン接種したところ、（1日目のプライムおよび14日目のブースト後に）ウイルスに対する特異的IgA抗体の増加が、収集した糞便スワブから観察され、ELISAで測定された（図11参照）。

【０２９８】

封入OVAおよびCpG封入ポリマーソーム製剤ならびに実施例7のB16-OVA予防モデルにおける腫瘍成長に対するその効果

マウスに、プライムおよびブーストとして、C57BI/6マウスの皮下に、7日の間隔をあけてさまざまな製剤を投与した後、10^5個のB16-OVA細胞を免疫処置と同じ側の右側腹部に接種した。PBS対照群を除くすべての群において、CpGをアジュバントとして使用した。PBS対照で免疫処置されたマウスはすべて腫瘍を発生した（図13Aおよび図13B）。可溶性OVAを与えたマウスも、免疫処置の効果は明らかにあるものの、腫瘍を生じる傾向を示した。ACM-OVA群では、腫瘍の発生が、ACMのターゲティング効果ゆえに、さらに遅延した。より一層顕著なことに、OVAとCpGを同じポリマーソームに共封入した群、または別個に封入した群（すなわち2つの別個のBD21ポリマーソーム集団に封入してから、共投与した群）では、マウスが腫瘍を発生することは一切なかった（図13B）。ここで使用される図での説明（適用可能な場合は他の図でも同様）は以下のとおりである:「PBS」＝リン酸緩衝食塩水対照、「遊離OVA＋CpG」＝遊離CpGと共投与される遊離OVA、「ACM-OVA＋CpG」＝遊離CpGと共投与される、BD21ポリマーソームによって封入されたOVA、「ACM-OVA-CpG」＝BD21ポリマーソームによって共封入された遊離OVAとCpG、および「ACM-OVA＋ACM-CpG」＝BD21ポリマーソームによって封入されたCpGの別個の集団（本発明の第2ポリマーソーム集団に相当する）と一緒に共投与される、BD21ポリマーソームによって封入されたOVA（本発明の第1ポリマーソーム集団に相当する）。これらの結果は、ACMに製剤化された抗原（ACM formulated antigen）が、CpGなどのアジュバントと一緒に、またはCpGなどのアジュバントと並行して、腫瘍細胞を効率よく殺すことができるT細胞のはるかに大きなプールを作り出していることを示唆している。

【０２９９】

封入OVAおよびCpG封入ポリマーソーム製剤ならびに実施例8のB16-OVA治療モデルにおける腫瘍成長に対するその効果

マウスを実施例8で述べたように処置した。この実験では、PBS対照を除く群において、CpGをアジュバントとして使用した。可溶性OVAおよびACM-OVAの皮下免疫処置（図14Aおよび図14B）は、PBS対照群と比較して腫瘍の出現を遅延させることができたが、どちらの群もマウスの全生存を改良することはなかった。しかし、遊離OVAをACM-CpG（BD21ポリマーソームに封入されたCpG）と共投与した群、およびOVA封入ACM（BD21ポリマーソームに封入されたOVA、本発明の第1ポリマーソーム集団に相当する）をCpG封入ACM（本発明の第2ポリマーソーム集団に相当する）と共投与した群では、腫瘍の遅延が遅く、マウス8匹中4匹は39日間無腫瘍のままだった（データ省略）。これらの結果は、ACM中のCpGがACMに封入された抗原の免疫原性を改良したことを示している。上記のデータを、OVA特異的T細胞の存在と直接相関させるために、デキストラマー染色用の血液試料を20日目に収集した（図14C）。腫瘍量に関して得られた結果と相関して、ACMに封入されたOVAによる群またはACMに封入されたOVAとACMに封入されたCpGとの組合せによる群だけが、有意なデキストラマー染色を示す。さらにまた、ACMに封入されたOVA（BD21ポリマーソームに封入されたOVA）と別個のACMに封入されたCpG（BD21ポリマーソームに封入されたCpG）とが投与された群の場合にのみ、腫瘍量とデキストラマー染色の両方が相関する。図14における図での説明は、図13について説明したものと同じである。

【０３００】

封入Trp2およびCpG封入ポリマーソーム製剤ならびに実施例9の黒色腫B16F10治療モデルにおける腫瘍成長に対するその効果

B16F10腫瘍モデルにおいて、マウスをさまざまなACM製剤で処置した。このモデルでは、腫瘍原性が内在的に発現される腫瘍ペプチド抗原に依拠する。そこで、このモデルにおいて免疫原性であると既に記載されているSEQ ID NO:9のペプチド（チロシナーゼ関連タンパク質-2、Trp2）を、免疫処置用の抗原として選んだ。10^5個のB16F10細胞をまずC57Bl/6マウスに接種し、次に、以下のさまざまな製剤による免疫処置を行った:1．PBS、2．CpGと共投与される遊離Trp2（図での説明「遊離Trp2＋CpG」）、3．遊離CpGと共投与されるACM（BD21）封入Trp2（図での説明「ACM Trp2＋CpG」）、4．ACM（BD21）封入CpGと共投与される遊離Trp2（図での説明「遊離Trp2＋ACM-CpG」）および5．別個のACM（BD21）封入CpG集団と共投与されるACM（BD21）封入Trp2（図での説明「ACM-Trp2＋ACM-CpG」）。各群を腫瘍成長についてモニターした（図15A）。すべての群のうち、CpGと共投与される、ACMに封入されたTrp2で処置されたマウスと、別個のACMに封入されたCpGと共投与される、ACMに封入されたTrp2で処置されたマウスが、はるかに強い腫瘍応答を示した。これは、血液における17日目のCD8腫瘍細胞（図15B）および腫瘍におけるCD8 T細胞浸潤（図15C）とよく相関する。

【０３０１】

実施例11のOVAへのACMポリマーソームのカップリング:

図16は、本発明のこれらの例示的ポリマーソームの標準的特徴と合致しているOVA結合ポリマーソームからの動的光散乱（DLS）プロファイルを表している（ポリマーソームの集団/集合体の平均（average、mean）サイズ:152nm;pdi:0.229）。

【０３０２】

十分な透析後に、100μlの試料をSECを使って分離し（図17A）、180μl前後のフラクションを48個収集した。ピークに対応するプールしたフラクションを凍結乾燥し、500μlに再懸濁した。20ulをいくつかのBSA標準と一緒にSDS-PAGEにローディングした（図17B）。OVAタンパク質に対応するサイズのバンドが検出され、OVAはACMベシクルにうまくカップリングされたことが示唆された。カップリングされたOVAの量は20μg/ml前後と見積もられた。注目すべきことに、OVAタンパク質へのBD$_{21}$のカップリングは、HAに見られたようにその泳動性を修飾することはなかった（下記参照）。こ

れは、おそらく、OVAがOVAタンパク質1つにつき1つのシステインでしか修飾されず、他の5つのシステインはすべて埋没しているか、ジスルフィド結合に関わっている可能性が高いという事実によるのだろう。

【０３０３】

実施例12のHAへのBD_{21}-CHOポリマーソームのカップリング

DLSは、わずかに小さいサイズ（平均サイズ:104nm）および許容できるpdi（pdi:0.191）を示した（図18）。

【０３０４】

400μlの最終生成物を上記のようにSECで分離した（図19参照、薄灰色のトレース）。ピークに対応するフラクションをSDS-PAGEに個別にローディングした後、免疫ブロッティングのためにメンブレン転写を行った。高分子量のバンドが検出された。これはピーク外の後方のフラクションでは減少するようであったことから、このバンドはコンジュゲートHAに対応することが示唆された。観察された高分子量は、数多くのポリマー分子がHAにカップリングされてその分子量を増加させるからだろう。加えて、共有結合したポリマーは、ローディング緩衝液のSDSの結合と部分的に競合して、最終的な荷電状態を遊離HAと比べて減少させるかもしれない。負の電荷が少ないほど、コンジュゲートHAタンパク質の移動度は小さくなると予期され、その結果、見かけの分子量は大きくなるだろう。透析された試料（SECで分離されていないもの）は、おそらく透析されえなかった凝集HAから来る残存遊離HAを示す。コンジュゲートHAの濃度は1μg/ml前後と決定された。

【０３０５】

HAタンパク質が粒子の表面においてアクセス可能であることを確かめるために、BD_{21}ベシクルを捕捉することができるMaxisorpプレート上にコーティングされたすべての収集フラクションに対して、ELISAを行った。HAタンパク質がはっきり検出され、ELISAプロファイルをSECに重ね合わせると、両プロファイルはよく相関した（図20、黒いトレース）ことから、HAはBD_{21}にカップリングされ、抗体にとってアクセス可能であることが確認された。

【０３０６】

実施例13の免疫処置および血清力価決定:

図21に示すように、アジュバントありまたはアジュバントなしの遊離OVAは、IgG応答を誘発することができなかった。興味深いことに、類似する用量で、コンジュゲートOVAは、封入OVAよりもはるかに強い力価応答をトリガーすることができた。

【０３０７】

Balb/cマウスを以下の製剤で免疫処置した:陰性対照（PBS）、遊離HA、BD_{21}封入HAおよびBD_{21}コンジュゲートHA。十分に透析した後でもHAコンジュゲートポリマーソーム試料には多少の残存遊離HAが観察されたので、プールしたSECのフラクションを免疫処置に使用した。免疫処置はすべて、同量のHA、すなわちマウス1匹あたり注射1回あたり100～200ngにした。図22に示すように、遊離HAはIgG応答を誘発することができなかったが、これは、注射されたHAの量が少なかったことを考えると予想されることだった。コンジュゲートHAは、この場合は封入HAよりわずかに高い応答をトリガーすることができた。実施例7～9（アジュバント封入の場合）または実施例10（アジュバントコンジュゲーションの場合）に例示するように、アジュバントと関連づけられたポリマーソームの第2集団を加えれば、応答はさらに高くなるはずである。

【０３０８】

実施例14:さまざまな投与経路によるPEDvスパイクタンパク質封入ポリマーソームを使ったモルモットの免疫処置

バキュロウイルス系を使ってPEDvスパイクタンパク質を発現させた。細胞溶液を清澄化し、関心対象のタンパク質を封入するために、必要な添加剤と一緒に、ACMポリマーを加えた。封入は実施例1で述べたように行った。CpG ODN2007（5’-TCG TCG TTG TCG TTT TGT CGT T-3’、SEQ ID NO:63、InvivoGenからカタログ番号tlrl-200

7として市販されている）を使用して、CpGも、実施例1で述べたように封入した。

【０３０９】

モルモット（I.M.についてはN＝4;他の群についてはN＝5）を、経口、経鼻およびI.M.という3通りの方法で免疫処置した。各方法は、ACMに封入されたPEDvスパイクタンパク質とACMに封入されたCpGの1:1混合物40μlで投薬し、21日後に2回目の投薬でブーストした。血清を最終採血から収集し、ELISAに使用した（データ省略）。さらにこれらの血清を、従来のウイルス中和反応により、PEDV株USA/コロラド/2013（CO/13）を中和する能力について試験した（図25）。

【０３１０】

実施例15:MERSスパイクタンパク質封入ポリマーソームによるマウスの免疫処置

バキュロウイルス系を使ってMERS-CoVスパイクタンパク質の可溶性フラグメント（SEQ ID NO:43、UniProtKBアクセッション番号K0BRG7の1～1297番目に対応）を発現させ、精製した。BD21ポリマー10mgの薄膜を10ml丸底フラスコ中に形成させ、徹底的に乾燥した。その丸底フラスコに1mlのタンパク質溶液を加え、150rpmのロータリーエバポレーターで4時間回転させた。試料をフラスコから取り出し、400nmフィルターで押し出し、次に200nmフィルターで押し出した。ACM-タンパク質と遊離タンパク質とを含有する押し出された試料をサイズ排除クロマトグラフィーを使って分離した。ACM/タンパク質フラクションに対応するフラクションを収集し、マウスへの免疫処置に使用した。封入ACM-MERS-CoVおよび対照ACMを使用し、プライムと21日後のブーストとを投与することにより、C57bl/6マウスを免疫処置した。最終採血はプライムの42日後に収集した。次に力価を評価するためにELISAを行った。すなわち、MERS-CoVをMaxisorpプレート（1ug/ml）上に一晩コーティングした。3%BSAを使ってプレートをRTで1時間ブロッキングした。血清はすべて1:100希釈し、プレート上、RTで1時間インキュベートした。PBS＋0.05%Tween 20で3回洗浄した後、二次抗体抗マウスHRPを、1:10,000希釈で、RTにおいて1時間インキュベートした。TMB基質を加え、1M HClを使って反応を停止した。光学密度を450nmで定量した（図26A）。すべての血清試料をMERS-CoV中和抗体についてプラーク低減中和アッセイ（PRNT）を使って試験した（図26B）。

【０３１１】

実施例16:PEDvスパイクタンパク質の異なるドメインによるマウスの免疫処置

異なるスパイクタンパク質ドメインをバキュロウイルス系（Baculo）で発現させた。細胞培養物を清澄化し、その溶液をACM形成に使用した。PEDvスパイクタンパク質S1ドメイン、S2ドメイン、ならびにS1およびS2ドメインの混合物を使用し、アジュバントなしで、6～8週齢のBalb/c雌マウス（n＝5）に、用量200μlのI.M.で、免疫処置した。

【０３１２】

21日後に2回目の投薬で動物をブーストした。血清を最終採血から収集し、ELISAに使用した。さらにこれらの血清を、従来のウイルス中和反応により、PEDV株USA/コロラド/2013（CO/13）を中和する能力について試験した（図27）。

【０３１３】

実施例17:バキュロウイルス発現系を用いるスパイクタンパク質SARS-CoV-2の発現および精製

バキュロウイルス系を使ってSARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性フラグメント（SEQ ID NO:36、40および65）を発現させ、従来のNi-NTAアフィニティー精製を使って培地から精製した。BD21ポリマー10mgの薄膜を10ml丸底フラスコ中に形成させ、徹底的に乾燥した。その丸底フラスコに1mlのタンパク質溶液を加え、150rpmのロータリーエバポレーターで4時間回転させた。試料をフラスコから取り出し、400nmフィルターで押し出し、次に200nmフィルターで押し出した。ACM-タンパク質と遊離タンパク質とを含有する押し出された試料をサイズ排除クロマトグラフィーを使って分離した。

【０３１４】
実施例18:SARS-CoV-2スパイクタンパク質の異なるドメインによるマウスの免疫処置
最初の研究では、S1-S2領域（SEQ ID NO:36）が封入されているACMを、アジュバントと共に、またはアジュバントなしで、使用した。アジュバントありの場合は、ACMに封入されたスパイクタンパク質を、1:1の比のSigma Adjuvant System（水中油型エマルションは2％油（スクアレン）-Tween80-水中のサルモネラ・ミネソタ由来のモノホスホリルリピドA（無毒化エンドトキシン）0.5mgと合成トレハロースジコリノミコレート0.5mgとからなる）と混合した。アジュバントありまたはアジュバントなしでS1-S2領域（SEQ ID NO:36）が封入されているACMを、アジュバントありのS2領域（SEQ ID NO:40）が封入されているACM、およびPBS対照と比較した。

【０３１５】
封入ACM-SARS-CoV2および対照ACMを使用し、プライムと21日後のブーストとを投与することにより、マウスを免疫処置した。最終採血はプライムの35日後に収集した（図23B）。次に、SARS-CoV-2に対するIgG抗体力価を評価するために、ELISAを行った。図23Cは、以下の製剤で免疫処置された35日目のBalb/cマウスにおいて測定されたIgG力価を表す:アジュバントと共投与される、BD21ポリマーソーム封入可溶性S1およびS2セグメント（第1群）、BD21ポリマーソーム封入可溶性S1およびS2セグメント（第2群）、アジュバントと共投与される、BD21ポリマーソーム封入可溶性S2セグメント（第3群）、および陰性対照としてのPBS（第4群）。最も高いIgG1力価は、可溶性のS1およびS2セグメントが封入されているBD21ポリマーソームによるワクチン接種、またはアジュバントと共投与される可溶性S2セグメントが封入されているBD21ポリマーソームによるワクチン接種（それぞれ第1群および第3群）に観察され、一方、BD21ポリマーソームに封入された可溶性のS1およびS2セグメント（第2群）をアジュバントなしで単独で投与することによって誘導される免疫応答は、それより低かった。

【０３１６】
加えて、プラーク低減中和アッセイ（PRNT）を使ったSARS-CoV-2中和抗体の評価も行われるだろう。

【０３１７】
2つ目の研究では、単独での、またはACMに封入されたCpGと組み合わせた、S1-S2領域（SEQ ID NO:65）が封入されているACM、S2領域（SEQ ID NO:40）が封入されているACMの、異なる投与様式、すなわちIMおよびINを比較した。

【０３１８】
封入ACM-SARS-CoV2および対照ACMを使用し、プライムと14日後のブーストとを投与することにより、マウスを免疫処置した。最終採血はプライムの56日後に収集した。次に、SARS-CoV-2に対する抗体力価を評価するために、ELISAを行った。加えて、プラーク低減中和アッセイ（PRNT）を使ったSARS-CoV-2中和抗体の評価も行われるだろう。さらにまた、肺気道を洗浄することにより、気管支肺胞洗浄液（BALF）が収集されるだろう。BALFは分泌IgAおよび中和抗体を測定するために使用されるだろう。中和アッセイの場合は、SARS-CoV-2シュードウイルスが、連続希釈した血清またはBALFと共にインキュベートされる。

【０３１９】
実施例19:ACMに封入されたSARS-CoV-2スパイクタンパク質、およびACMに封入されたCpGアジュバントによる、マウスの免疫処置
この実験では、BD21封入SARS-CoV-2スパイクタンパク質を、CpGアジュバントを使用して、またはCpGアジュバントを使用することなく、ワクチンとして試験した。この実験には、バキュロウイルス/昆虫細胞系の場合と同様に生産された完全長可溶性SARS-CoV-2スパイクタンパク質（SEQ ID NO:65）を使用した。タンジェンシャルフロー濾過とイオン交換クロマトグラフィーを併用することで、タンパク質を培地から精製した。スパイクタンパク質抗原およびCpGアジュバントの免疫原性に対する封入の効果を決定するために、以下の製剤を調製した:（i）遊離組換えスパイクタンパク質（SEQ ID N

O:65、「fSpike）、（ii）BD21ポリマーソーム封入スパイクタンパク質（「ACM-Spike」）、（iii）遊離スパイクタンパク質と遊離CpGアジュバントとの混合物（「fSpike fCpG）、（iv）BD21ポリマーソーム封入スパイクタンパク質とBD21ポリマーソーム封入CpGとの混合物（ACM-Spike ACM-CpG）。

【０３２０】

その後、6～8週齢の雌C57BL/6マウスを、0日目および14日目に（図24A参照）、皮下経路により、4つの製剤で免疫処置した。SARS-CoV2スパイクタンパク質に対する抗体力価を評価するために、血液を28日目に収集した。PBS陰性対照と比較して、すべての免疫処置マウスに血清中IgGの明らかな増加が観察されて、セロコンバージョンを示した（図24B）。fSpike群とBD21ポリマーソーム封入スパイク群の間では、後者にIgG力価の増加傾向が見られ、スパイクタンパク質の免疫原性の改良に関するポリマーソーム封入の利益が示唆された。fSpikeとfCpGの共投与は、fSpike単独と比較して高いIgG力価をもたらしたが、図24Bは、抗体応答の規模および一様性に関するさらなる改良が、（ポリマーソームの第1集団としての）ポリマーソーム封入スパイクタンパク質とポリマーソーム封入CpG（ポリマーソームの第2集団としてのアジュバント）の共投与によって達成されたことを示している。全体として、これらのデータは、抗原としてのポリマーソーム封入スパイクタンパク質とアジュバントとしてのポリマーソーム封入CpGの共投与が、単独でまたは組み合わせて送達される非封入物と比較して、目に見える利益を付与したことを示唆している。

【０３２１】

実施例20:CpGを伴うACMポリマーソームのアジュバント活性の比較

CpGが、インビトロで、BALB/c脾細胞によるサイトカイン生産を誘導できることは公知である。この実験では、CpGを伴うACMポリマーソームのアジュバント効果を調べた。実験手順には次に挙げるものを含めた。

【０３２２】

1．3匹のC57BL/6マウスから摘出された脾臓。

【０３２３】

2．96ウェルプレートの各ウェルに加えた、完全RPMI中の脾細胞300万個。

【０３２４】

3．以下の処置群を使用した:無処置、遊離CpG、ACM-CpGおよび空のACM、これらを37℃、5％CO2で、およそ20時間インキュベートした。

【０３２５】

4．培養上清の収集ならびにアジュバント効果の指標であるIL-6およびIL-12p70の測定。

【０３２６】

5．三つ組で実行した測定（ms）には、以下の96ウェルプレートフォーマットを使用した（表1）。

【０３２７】

（表１）使用した96ウェルプレートフォーマット（Eq.concは等価濃度を意味する）

fCpG			ACM-CpG			ACM のみ		
Ms1	Ms2	Ms3	Ms1	Ms2	Ms3	Ms1	Ms2	Ms3
0μM	0μM	0μM						
0.125 μM	0.125 μM	0.125 μM	0.125 μM	0.125 μM	0.125 μM	Eq. conc (0.125 μM)		
0.25 μM	0.25 μM	0.25 μM	0.25 μM	0.25 μM	0.25 μM	Eq. conc (0.25μM)		
0.5 μM	0.5 μM	0.5 μM	0.5 μM	0.5 μM	0.5 μM	Eq. conc (0.5μM)		

【０３２８】
結果:
図28に示すように、IL-6生産は、遊離CpGまたはACM-CpGで処置した脾細胞（C57BL/6）にしか検出されず、ACMだけではIL-6がトリガーされなかったことから、ACMにアジュバント特性はないことが示唆された。驚いたことに、IL-6に関するシグナルが非常に強かったのに対し、IL-12は希釈なしの培養上清にさえ検出されなかった。
【０３２９】
結論:
BALB/c脾細胞が、CpG刺激後に、IL-6およびIL-12で迅速に応答するのに対し、IFNγ生産にはそれより時間がかかることは、先行技術から公知である。
【０３３０】
この試験では、IL-6生産は、遊離CpGまたはACM-CpGで処置した脾細胞（C57BL/6）にしか検出されず、ACMだけではIL-6がトリガーされなかったことから、ACMにアジュバント特性はないことが示唆された。
【０３３１】
BALB/c脾細胞とは異なり、C57BL/6脾細胞は刺激後にIL-12を放出しないようだった。
【０３３２】
実施例21:ACM封入はCpGの生物学的機能を強化し、ACM-CpGは遊離CpGと比べて優れたアジュバント活性を呈した
クラスB CpGは、エンドソームToll様受容体9（TLR9）に結合して、樹状細胞（DC）の活性化、炎症性サイトカインの生産、およびB細胞の分化と抗体分泌を含むいくつかの免疫学的効果を誘導する。クラスB CpGは、これらの属性ゆえに、ワクチンアジュバントとして貴重である。この試験では、C57BL/6マウスに5μgの遊離マウスCpG1826またはACM-CpG1826を皮下（SC）注射して、古典的樹状細胞（cDC）を活性化するそれらの相対的能力を比較した。2日後に、DC活性化を評価するために、鼠径部リンパ節（注射部位から流入するリンパ節）を摘出した。空のACMポリマーソームを注射したマウスは、PBS対照と比較した場合に、cDC1上（図29a、c）またはcDC2上（図29b、d）のCD86またはCD80活性化マーカーをアップレギュレートしなかったことから、ACMポリマーソームの非免疫原性が示された。遊離CpGの投与は、PBS対照または空のACM対照と比較して、cDC2におけるCD86およびCD80発現の有意な増加を誘導したが（図39b、d）、cDC1ではそうならなかった（図29a、c）。対照的に、ACM-CpGの投与は、cDC2上（図29b、d）およびcDC1上（図29a、c）のCD86およびCD80を有意にアップレギュレートした。総合すると、このデータは、遊離CpGの効果がcDC2に限定されるのに対して、ACM-CpGは両方のDCサブセットを活性化することができ、より優れたアジュバント活性を示すことを実証している。そのうえ、ACMポリマーソームだけで

は非免疫原性であることから、強化されたDC活性化は、エンドソームTLR9へのCpGの効率のよい送達によるものだった。

【０３３３】

実施例22:ACM-CpGは遊離CpGよりも幅広いサイトカインプロファイルを誘導した

CpGによるTLR9活性化のアウトカムはアゴニストのクラスに依存する。クラスA CpGは、IRF7経路によるシグナル伝達を可能にしてIL-6と並んでIFNαの生産をもたらす多量体構造を有する。マウスCpG1826およびヒトCpG7909を含むクラスB CpGは単量体型であり、上記とは異なり、NFκB経路を介してシグナル伝達することで、IL-6を生産するが、IFNαは生産しない。にもかかわらず、CpG-Bは、ACMポリマーソーム内での凝集によって再編成されてCpG-Aと類似することにより、両方の特性を獲得する。

【０３３４】

本エクスビボ実験では、6人の健常ドナーからの末梢血単核球（PBMC）を、増加する濃度（0.62、1.25、2.5および5μM）の遊離CpG-A、遊離CpG-B（7909）またはACM-CpG-Bで刺激した。培養上清中に分泌されたIL-6およびIFNαのレベルをELISAによって測定した。CpG-AまたはCpG-Bと共にインキュベートした後は、すべてのドナーにおいて、IL-6が低～中程度の量で検出され、そのレベルは1.25μM CpG前後ですぐに飽和した（図30a、b）。遊離CpG-BとACM-CpG-Bとでは、類似する用量応答プロファイルが観察された（図30b、c）。IFNαについては、CpG-Aによる強力な生産が見られたのに対し（図30d）、CpG-Bではほとんどまたは全く検出されなかった（図30e）。興味深いことに、ACMポリマーソーム内にCpG-Bを封入することで、0.62～1.25μM CpGの範囲内でIFNα生産を刺激する能力が付与された（図30f）。総合すると、このデータは、ACM-CpG-Bは、おそらくはポリマーソーム内でのCpG分子の凝集性により、ヒトPBMCにおいてIFNαおよびIL-6を誘導できることを示した。これらのサイトカインはそれぞれ、DCを刺激して成熟させ、またB細胞を刺激して増殖させ抗体を生産させるので、両方のサイトカインを誘導できることは有利であった。

【０３３５】

実施例23:ネコ上部呼吸器感染症（URI）の処置および予防における、BD21（85モル%）とDOTAP（15モル%）とからなる本発明のポリマーソームに封入されたCpG2007 (SEQ ID NO: 74: 5’-tcgtcgttgtcgttttgtcgtt-3’)

（以下「ACM CpG」）の治療特性およびメタフィラキシス特性の評価

ネコ上部呼吸器感染症（URI）は、1種または複数種のウイルス病原体または細菌病原体が引き起こす呼吸器感染症の一般用語である。この状態の同義語には、ネコ感染性呼吸器疾患およびネコ上部呼吸器疾患症候群（upper respiratory disease complex:URD）がある。この感染症は、ネコにおける疾患を引き起こすことができる1種または複数種のウイルス病原体および細菌病原体によって引き起こされうる。ネコにおける上部呼吸器感染症を引き起こす最も一般的なウイルスは、ネコヘルペスウイルス1型（ネコウイルス鼻気管炎またはFVRとしても公知である）およびネコカリシウイルス（FCV）であり、一方、ネコにおける上部呼吸器感染症を引き起こす最も一般的な細菌は、ボルデテラ・ブロンキセプチカ（Bordetella bronchiseptica:B.bronchiseptica）およびクラミドフィラ・フェリス（Chlamydophila felis:C.felis）である（例えばhttps://vcahospitals.com/know-your-pet/feline-upper-respiratory-infection参照）。

【０３３６】

安全性および投薬量:

この試験では、ACM CpGは、6～12週齢の子ネコ（体重約4kg）に、ネコ（体重約4kg）1匹あたり50μgのCpGを含有する0.5mlの単回1日量で、5日間続けて、1日1回皮下投与した場合に、6～12週齢の子ネコ20匹において、5日間の投与期間中および最後の投与後、さらに3日にわたって、局所反応も全身性反応も観察されないと結論された。

【０３３７】

ACM CpGの基本的特性:

本発明のACM CpGの免疫賦活特性を試験した。CpG2007は、TLR-9に結合した時にインターロイキン-6（IL-6）、IL-12および腫瘍壊死因子（TNF）を含む数種のサイトカインの生産をトリガーするジオリゴヌクレオチド（di-oligonucleotide）である。TLR-9活性化は樹状細胞およびNK応答も刺激する。これにより、さまざまな病原体に対する強い非特異的免疫応答をトリガーすることが可能になる。

【０３３８】

ACM-CpGは、飼育場における呼吸器疾患について大型動物（ここではネコ）で評価した場合、またさらに最近では、子ネコにおけるFeURTDの大流行時およびネコの呼吸器疾患症候群において、ある動物診療所がイヌおよびネコで評価した場合に、肯定的な結果を示したことが明らかになっている。予備的知見では、免疫応答の刺激による死亡率および臨床徴候の大きな低減が示された。

【０３３９】

試験の目的

この試験の主目的は、16週齢未満の子ネコでの臨床的ネコ上気道疾患（FeURTD）におけるACM CpGの治癒（治療）特性およびメタフィラキシス（感染の可能性が高い対象における疾患の予防）特性を評価することであった。

【０３４０】

試験の理由

FeURTDは、今もよく見られる臨床的存在であり、猫シェルターにおいて、主にワクチン接種を受けていない子ネコの高い罹病率および死亡率をもたらしている。

【０３４１】

集中的処置には費用がかさみ、金銭的制約と処置が奏功しにくいことから、そのような子ネコはシェルター環境では安楽死させられることも多い。

【０３４２】

収容されて間もない子ネコでの大流行時や、繁殖猫舎での大流行時には、FeURTDの罹病率は100％近くになりうる。

【０３４３】

FeURTDの管理における公知の処置プロトコールおよび予防措置の限界:

臨床的FeURTDの処置は費用がかさみ、今なお、容認できないほどに高い罹病率、長期間にわたる処置および高い再発率を伴う。大流行時に、さらなる罹患を防ぐためにシェルターの管理者がとりうる処置は、予防的接種プロトコールと衛生学的措置以外にない。免疫治療の利用は容易ではなく、費用もかさむ。

【０３４４】

この試験によって解決しようとする課題の陳述:

最近、子ネコにおけるFeURTD大流行時およびネコにおける呼吸器疾患症候群において、イヌおよびネコにおけるACM-CpGの効力が、ある動物診療所によって評価された。予備的知見では、死亡率および臨床徴候の大きな低減が示されている。

【０３４５】

仮説

ACM CpGは、既に感染していて、臨床疾患を呈している子ネコにおいて、臨床的FeURTDの重症度を改善することができる。ACM CpGは、安楽死による死亡率（以下、安楽死率という）を、低減することができる。ACM CpGは、FeURTDとの接触があった子ネコ（FeURTD in-contact kitten）における罹病率を低減することができる（メタフィラキシス）。

【０３４６】

この実験から生じる利益

この予備的試験の結果は、ACM CpGが疾患（FeURTD）を改善し死亡率を低減する強い潜在能力を有するかどうかの目安になる。この試験の結果は、ACM CpGが大流行下でのFeURTDへの罹病率を低減する強い潜在能力を有するかどうかの目安になる。

【０３４７】

この試験の目的
ＡＣＭ ＣｐＧが、猫コロニー（例えばシェルターおよび大規模繁殖業者）環境において、ＦｅＵＲＴＤ関連病原体に対する免疫応答を強化する一因になるかどうか、そして改良されたその免疫応答が、既に臨床的に罹患しているＦｅＵＲＴＤ子ネコの、より迅速な回復につながるかどうかを決定すること。臨床疾患および疾患進行の客観的臨床スコアリングは、以前にＪａｓら（２０１５）によって公表されたスコアリングの改変版で行われることになる。これをＦｅＵＲＴＤスコアリング（０～１５）と呼ぶことにする。
【０３４８】
ＡＣＭ ＣｐＧが、接触のあった子ネコの臨床疾患の重症度を低減するかどうか、または臨床疾患を完全に防止するかどうか（メタフィラキシス）を決定すること。
【０３４９】
材料および方法
モデル系
この試験には、街上病原体（ｓｔｒｅｅｔ ｐａｔｈｏｇｅｎ）に偶発的に感染したＦｅＵＲＴＤの通常の野外例（ｎｏｒｍａｌ ｆｉｅｌｄ ｃａｓｅ）だけを含めた。実験動物は、ＦｅＵＲＴＤ（鼻かぜ）を持つシェルター環境および単一大規模ネコ繁殖業者の両方に由来し、いずれも南アフリカのハウテン州に由来した。繁殖業者からの子ネコは純系ビルマネコの子どもであり、他の子ネコはすべて混血の短毛種のイエネコの子（ｄｏｍｅｓｔｉｃ ｓｈｏｒｔｈａｉｒ ｋｉｔｔｅｎ）であった。
【０３５０】
進行したＦｅＵＲＴＤを患っていると思われる（１２超のＦｅＵＲＴＤスコアを有する）子ネコは安楽死させ、治験には加えなかった。同様に、ＦｅＬＶ陽性またはＦＩＶ陽性の子ネコも、安楽死させた。ＦＰＬ陽性であるかまたはＦＰＬ陽性になった子ネコは、それぞれ治験から除外または排除した。これらの除外は、ＦｅＵＲＴＤに付随する併存疾患がない状態でのＡＣＭ ＣｐＧの効力の客観的評価を可能にするので、許容されるとみなした。
【０３５１】
実験動物（４～１６週齢、体重約４ｋｇ）
グループ１:臨床的に罹患したＦｅＵＲＴＤ例
２８匹の臨床的に罹患した４～１２週齢の子ネコをこの試験に含めた。これらのうち、２８匹中１２匹は繁殖業者に由来し、２８匹中１６匹は福祉施設に由来した。
【０３５２】
グループ２:接触はあるがまだ罹患していない健康な子ネコ
接触がある臨床的に健康な子ネコは１７匹いた。グループ３:ばく露のない健康な子ネコ。
【０３５３】
識別
繁殖業者からの子ネコはトランスポンダーで識別し、福祉施設からの子ネコは名札で識別した。
【０３５４】
収容
グループ１およびグループ２の実験動物はすべて、ラント・エン・ダル動物病院（ｒａｎｔｅｎ ｄａｌ Ａｎｉｍａｌ ｈｏｓｐｉｔａｌ）のネコ隔離病棟に収容された。グループ１およびグループ２はどちらも同じ病棟に収容され、齢が同じぐらいで同じ日に入院した同じ所有者（シェルターまたは繁殖業者）の子ネコはすべて、病気の有無とは無関係に、「リターコンテクスト」（“ｌｉｔｔｅｒ ｃｏｎｔｅｘｔ”）で一緒に飼育した。病気のネコまたは接触があったネコを隔離しようとはしなかった。隔離病棟の定員はネコ２０匹だった。
【０３５５】
実験デザイン
実験手順、データ収集ならびに臨床手順および臨床観察
データ収集
データ収集はハードコピー紙シートとｅｘｃｅｌシートに記録した。各子ネコについて、齢

、性別、品種、体重、個体識別をデータ収集シートに記録した。データ収集シートには、すべての手順、日付、その結果、およびなされた臨床観察を、経時的に記録した。これには、各事象が観察または実施された時の日付を含めた。収集された臨床データに加えて、収集された重要データは、滞在期間（Duration of stay）、認められた有害作用、罹病率、安楽死率または死亡率である。

【０３５６】

グループ1:臨床的に罹患したFeURTD例

組み入れは、FeURTDのごく典型的な徴候を示すことを必要とし、≦12のスコアと適当な齢（4～16週）に限定した。FeURTDに合致する症状を呈する所望の齢範囲内の子ネコはすべて、以下のように臨床的に検査し、データは組み入れ時にデータ収集シートに記録される。これらは、すべての病気の子ネコの一般臨床検査の一部を形成する。臨床観察の継続時間は、通常は来院後6～10日以内と予想される疾患の臨床的解消まで、または安楽死までの、どちらか早い方である。最終的に28匹の子ネコが選択された。

【０３５７】

＊一般臨床検査（毎日）には、食欲評価、体温、心拍数、粘膜の外観、体重の推移、鼻汁の存在、眼漏の存在、眼潰瘍の存在、鼻、口唇口腔粘膜および舌上の口腔内潰瘍形成の存在、下痢の存在、嘔吐の存在を含め、以下の表に示すとおり、（Jas et al,2015）から改変した特別なFeURTDスコアリングを使用した。

【０３５８】

臨床徴候	スコア
無関心	1
抑うつ	2
安楽死または死亡	15
鼻汁少量	1
鼻汁多量	2
眼漏少量	1
眼漏多量	2
潰瘍形成小（鼻または口）1～3㎜	1
潰瘍形成大（鼻または口）4㎜以上	2
咳	1
くしゃみあり	1
発作性のくしゃみ	2
結膜炎	1
角膜潰瘍	2

【０３５９】

含まれる具体的検査。全血スナップ検査（whole blood snap test）（Bionote labs）のFeLVおよびFIV検査を行った。スピロヘータ症、コクシジウム症、寄生虫症、ジアルジア症、トリコモナス症を除外するための糞便湿調製物（Feacal wet preparation）検査。臨床的に罹患したネコをFCV、FHV、クラミドフィラ（Chlamydophila）およびボルデテラ（Bordetella）について、グループごとに（in group context）、PCRによって検査した。これは、齢が同じぐらいの7匹の子ネコが同じ出所（福祉施設か繁殖業者か）から来院して、7匹中4匹の子ネコが病気であったとすると、その4匹の病気の子ネコのうちの少なくとも1匹は検査されるだろうということを意味する。ただし、試料は、病気のネコのそれぞれから、鼻腔スワブおよび眼スワブを使って収集した。スワブは直ちに、クーリエ便で（by courier）、molecular diagnostic services（MDS）に送った。ただし試料は、ドイツのIdexx reference laboratoryによる評価のために、摂氏-20℃で凍結状態に保った。臨床的鼻かぜにおける有害病原体に関して、一群のネコからの単一試料が他のネコを代表すると想定することは正当であると考えた。

【０３６０】

実験手順:

グループ1の子ネコはすべて、来院時にFeLVおよびFIVについて検査した。来院時に

ネコを外部寄生虫および内部寄生虫について処置した（子ネコ用Revolution（商標））。ACM CpGは、すべての子ネコに、50μgのCpG2007を含有する0.5mlの用量で（これは、ネコ1匹あたりの単回量が4kgのネコにつき50μgであったことを意味し、約12.5μg/kgの単回量ということになる）、試験への組み入れ時に開始して、5日間続けて、1日1回、皮下注射によって投与した。

【０３６１】

臨床的に罹患した各子ネコ（グループ1）には、5日間の12mg/kgジスロマイシン（zithromycin）POおよび2日間のメロキシカムPOを使った処置も行った。

【０３６２】

食欲が弱いかまたは食欲がない子ネコには1日に2回、強制食餌を行い、食品固形物および水を常時利用できるようにした。輸液療法は施さなかった。

【０３６３】

グループ2:接触はあるがまだ罹患していない健康な子ネコ

まだ健康に見えるが、同じ敷地内で病気の子ネコと直接接触している17匹の子ネコを、この治験のために選択した。それらを「リターコンテクスト」で飼育し、8日間の処置期間にわたって、同じ病棟で飼育した。来院時にネコを外部寄生虫および内部寄生虫について処置した（子ネコ用Revolution（商標））。ACM CpGは、すべての子ネコに、50μgのCpG2007を含有する0.5mlの用量で（これは、ネコ1匹あたりの用量が4kgのネコにつき50μgであったことを意味し、約12.5μg/kgの単回量ということになる）、試験への組み入れ時に開始して、5日間続けて、1日1回、皮下注射によって投与した。発病してしまったグループ2の子ネコは、別のグループに再割り当てせず、抗生物質または栄養サポートを使った処置も行わなかった。それらの子ネコはACM CpGによる処置だけを受けた。

【０３６４】

データ解析

MS Office excelを使ってデータ解析と簡単な統計を実施して、罹患率、安楽死率、滞在期間の影響、疾患重症度のステージ分類その他を算出する。

【０３６５】

FORAのシェルターで処置を受けた247例のFeURTD例の、処置に対する応答、入院期間、罹病率および死亡率（自然死または安楽死）の、直近3年間における過去データの簡単なメタ解析を、比較のために行った。

【０３６６】

この過去データは、電子形式で、またはハードコピーとして、入手可能であり、間接的対照として含めて使用した。

【０３６７】

結果

FORAシェルターからマイニングされた間接的対照

2018年9月から2021年8月までのFORAシェルターの記録からマイニングされたデータは、離乳期（4～9週齢前後）にあると判断された347匹の子ネコが、この期間内に入所して、FeURTDの典型的徴候を示す病気を持って訪れたか、または養子縁組を待ってシェルターに滞在している間にそのような病気になったことを示した。

【０３６８】

罹病率

接触のあったリター全体が安楽死させられることが多かったので、罹病率を正確に確認することは不可能だった。シェルターにおいて幼い子ネコの間に蔓延したFeURTDは、罹病率100％近くになって、罹患した子ネコおよび接触のあった子ネコはすべて安楽死させることがしばしば必要になるからである。4～16週齢の脆弱な年齢の子ネコにおいて罹患率は80％を超えていたことが多いと想定するのは正当であると考えた。この数字は、シェルター医学に関する文献で引用されている数字によって裏付けられる。

【０３６９】

死亡率
　死亡率（自然死または安楽死による死亡）は、処置が試みられたこのコホートでは、227/347＝65.4％だった。
【０３７０】
平均処置期間（入院期間）
　回復するまで処置した120匹の子ネコについての記録を入手することができた。これら120匹の子ネコには1411処置日を要した。したがって、これら120匹の子ネコの平均処置期間は、1411/120＝11.8日の平均入院であった。
【０３７１】
この試験における治験の結果
死亡率
　この治験では安楽死させた動物はなかった。グループ1の2匹は、FeURTDの結果として、処置5日目までに死亡した。これは2/28＝7.1％の死亡率に相当する。
【０３７２】
罹病率
　病気の子ネコと直接接触して処置期間中は病気の子ネコと一緒に飼育された17匹の子ネコのうちの3匹は、ネコ病棟への入院後8日の間に発病した。これは17.6％の罹病率に相当する。
【０３７３】
平均入院期間
　生き残った26/28の子ネコについて、回復するまでの平均入院期間は105/26＝4.03日だった。
【０３７４】
有害病原体（PCR結果）
　カルシシウイルスの一例とFHV（ネコヘルペスウイルス）の2例が、この治験ではこれまでに確認された。さらに多くの試料が別のリファレンス・ラボラトリー（reference laboratory）に送られているところである。これにより、少なくとも、上記2つの最も一般的な有害ウイルス病原体が、この治験において直面したFeURTDの疾病原因に関与していたことが確認される。これは、文献におけるFeURTDに関する総説と一致する。
【０３７５】
考察
　シェルター環境由来であれ繁殖業者環境由来であれ大きな猫コロニーにおいて、FeURTDは、今も、高い罹病率および死亡率をもたらす疾患の頻繁な大流行につながる大きな難題である。この治験では、ACM CpGの使用が、死亡率、罹病率および入院期間を、シェルター統計および文献と比較して、大幅に低減した。本治験におけるこれらの結果から、ACM CpGは、疾患の重症度を改善することにより、予想される死亡率を大幅に低減し（7％対60％）、入院期間を大幅に削減する（4日対11日）、治療特性を呈したことが確認される。加えて、罹病率の低減（17％対予想値80％）は、ACM CpGが補助的処置なしでFeURTDのメタフィラキシスに役立つと判明したことを示す。
【０３７６】
結論
　本試験における結果は、5日間連続して、50μgのCpG2007を含有する0.5mlの用量（これは、ネコ1匹あたりの単回量が4kgのネコ1匹あたり50μgであったことを意味し、約12.5μg/kgの用量ということになる）で投与されたACM CpGが、臨床的FeURTDに犯された子ネコの死亡率および入院期間を大幅に低減し、FeURTDと接触した子ネコの罹病率を大幅に低減したことを示している。ネコ1匹あたりCpG 30μgの単回投与も類似する結果を生じた（データ省略）。
【０３７７】
　したがって、4kgのネコ1匹につきACM CpGの形態で投与されるCpG約30～50μgの例示的単回投与（すなわち単独投与）、つまりACM CpGの形態で1kgあたりCpG約7.

5～約12.5μgの実例となる例示的投薬量は、高感染性病原体（例えば細菌および/またはウイルス、例えばカルシシウイルスおよび/またはFHV（ネコヘルペスウイルス））に対する治療的および予防的モダリティを含む有意な免疫応答をもたらすと、結論された。ネコにおいてURIを引き起こすウイルスおよび細菌は高度に伝染性であるため、この試験は、本発明のACM CpGの投与が免疫応答を誘発し、その免疫応答が、例えばウイルス、例えばカルシシウイルスおよび/またはFHVによって引き起こされるFeURTDにおいて、治療的または予防的に働くことを示している。

【0378】

実施例24:イヌ試験（BD21（85モル%）とDOTAP（15モル%）とからなるポリマーソーム（以下「ACM CpG」）を使って実行）、投薬量およびCpG（SEQ ID NO:74）は本明細書実施例23のネコの場合と全く同じである。）

この試験では、ロットワイラーにおけるパルボウイルス感染（急性感染性胃腸病）の大流行を調べた。イヌには、大流行の初期に（すなわち初期の疾患進行段階で）本発明のACM CpGで処置した場合は特に、治療的利益があることがわかった。すべてのイヌにPrimodogをワクチン接種してから、CpGを単独投与として与えた。大流行は迅速に止まった。しかし、処置がなされない大流行は、通常は、迅速な伝播を特徴とする。

【0379】

したがって、ACM CpGの形態で投与される1kgあたり約12.5μgのCpG（SEQ ID NO:74）の例示的単回投与（すなわち本明細書記載の単独投与）は、イヌにおける高感染性病原体（例えばイヌパルボウイルス感染）に対して、大流行の初期に処置した場合は特に、少なくとも治療的モダリティを含む有意な免疫応答を生じると結論された。

【0380】

本発明が、それを実行し、上述のそしてそこに内在する目的および利点を得るのに適していることは、当業者には容易に理解されるだろう。さらに、本発明の範囲および要旨から逸脱することなく、本明細書に開示された発明にさまざまな置換および変更を加えうることは、当業者には一目瞭然であるだろう。本明細書に記載された組成物、方法、手順、処置、分子および具体的化合物は、現時点において一定の態様を代表するものであり、例示的であって、本発明の範囲の限定を意図していない。そこでの改変および他の使用であって、本発明の要旨に包含され、請求項の範囲によって規定されるものを、当業者は思いつくであろう。以前に公開された文書の本明細書における一覧または考察は、必ずしも、その文書が技術水準の一部であることまたは共通一般知識であることの認知であると解釈されるべきではない。

【0381】

本明細書に例示的に記載された発明は、本明細書に具体的に開示されていない1つまたは複数の要素、1つまたは複数の制限が存在しなくても、適切に実施されうる。したがって、例えば「を含む」（comprising、including、containing）などの用語は、限定されることなく、拡張的に読解されるものとする。加えて、本明細書で使用される用語および表現は、限定ではなく説明の用語として使用されており、そのような用語および表現の使用に、表示され説明された特徴またはその一部分のいかなる等価物も除外する意図はなく、請求項に係る発明の範囲内でさまざまな変更が考えられると認識される。したがって、例示的な態様および随意の特徴によって本発明を具体的に開示したが、当業者であれば、本明細書に具体化された発明の改変および変形に頼ることができ、そのような変更および変形が本発明の範囲内とみなされることは、理解すべきである。

【0382】

本明細書では本発明を広く上位概念によって記載した。上位概念の開示に包含される下位概念および下位分類のそれぞれも、本開示の一部を形成する。これには、削除される事項が本明細書において具体的に言明されているか否かにかかわらず、上位概念からいずれかの対象事項を除外する但し書きまたは消極的限定を伴う、上位概念による本発明の説明が包含される。本明細書において言及する文書は、特許出願および科学的刊行物を含めてすべて、参照により、あらゆる目的で本明細書に組み入れられる。

【０３８３】

他の態様は添付の請求項の範囲内にある。加えて、本発明の特徴または局面がマーカッシュ群によって記載されている場合、本発明が、それにより、そのマーカッシュ群の任意の個々のメンバーまたはメンバーの部分群によっても記載されていることは、当業者には理解されるだろう。

【０３８４】

参考文献

Liu et al., Immune responses to vaccines delivered by encapsulation into and/or adsorption onto cationic lipid-PLGA hybrid nanoparticles, Journal of Controlled Release, 225 (2016): 230-239.

Hilbert et al., Biodegradable microspheres containing influenza A vaccine: immune response to mice, Vaccine 17 (1999): 1065-1073.

Miller et al., Adjuvant compositions and related methods, US9636397B2, Gerber et al., Adjuvant and vaccine compositions, US2015/0044242 A1.

Maji et al., A lipid based antigen delivery system efficiently facilitates MHC class-I Antigen Presentation in Dendritic Cells to Stimulate CD8+ T cells, Scientific Reports 6 (2016): 27206.

Moon et al., Interlayer-crosslinked multilamellar vesicles as synthetic vaccines for potent humoral and cellular responses, Nature Materials 10 (2011): 243-251.

May et al., “In Vitro Expressed GPCR Inserted in Polymersome Membranes for Ligand-Binding Studies” (2013) Angew. Chem. Int. Ed., 52, pages 749-753Kuai et al., Designer vaccine nanodiscs for personalized cancer immunotherapy, Nat Mater. (2017) 16(4):489-496.

Luo et al., A STING-activating nanovaccine for cancer immunotherapy, Nat Nanotechnol. (2017) 12(7):648-654.

Quer et al, "Polymersomes enhance the immunogenicity of influenza subunit vaccine", POLYMER CHEMISTRY, GB, (2012), vol. 2, no. 7, page 1482

Nallani et al., Method for eliciting an immune response to an immunogen, WO2014/077781A1.

Nallani et al., Proteopolymersomes: In vitro production of a membrane protein in polymersome membranes (2011), Biointerphases, 6(4), pages 153-157.

Neil et al, A Novel Method for the Encapsulation of Biomolecules into Polymersomes via Direct Hydration, Langmuir (2009), 25(16), 9025–9029.

Rameez et al. Large Scale Production of Vesicles by Hollow Fiber Extrusion: A Novel Method for Generating Polymersome Encapsulated Hemoglobin Dispersions Langmuir (2010) 26 (7), pp 5279–5285

Stano et al., Tunable T cell immunity towards a protein antigen using polymersomes vs. solid-core nanoparticles, Biomaterials 34 (2013): 4339-4346.

Fu et al., Multicompartmentalized polymersomes for selective encapsulation of biomacromolecules, Chemical Communication, 2011, 47, 2862-2864.

Lim. S.K, et al., Spontaneous formation of nanometer scale tubular vesicles in aqueous mixtures of lipid and block copolymer amphiphiles, Soft Matter 2017, 1107-1115.

Scott et al., Dendritic cell activation and T cell priming with adjuvant- and antigen-loaded oxidation-sensitive polymersomes, Biomaterials 33 (2012) 6211e6

Vasievich. E et al., Enantiospecific adjuvant activity of cationic lipid DOTAP in vancer vaccine, Cancer Immunol Immunother (2011) 60:629-638

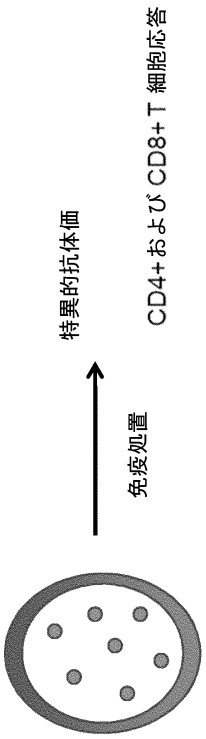
Watson. D et al., Design considerations for liposomal vaccines: Influence of formulation parameters on antibody and cell-mediated immune responses to liposome associated antigens, Vaccine (2012), 30: 2256-2272

De Titta A, et al., Nanoparticle condjugation of CpG enhances adjuvancy for cellular immunity and memory recall at low dose, PNAS (2013), 110 (49):19902-7

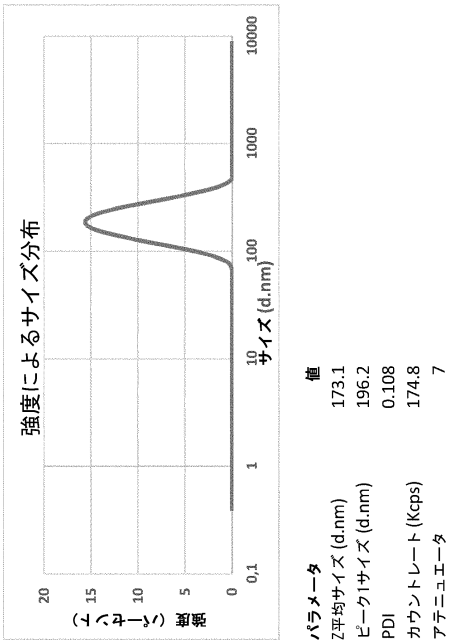
Gursel. I et al., Sterically Stabilized Cationic Liposomes Improve the Uptake and Immunostimulatory Activity of CpG Oligonucleotide, Journal of Immunology 2001, 167, 3324-3328.

【図面】

【図１】



【図２Ａ】

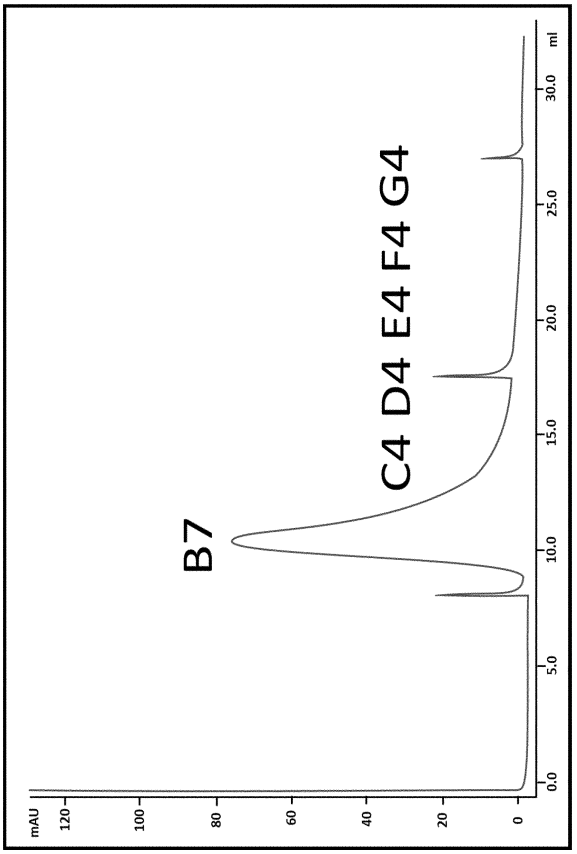


【図２Ｂ】

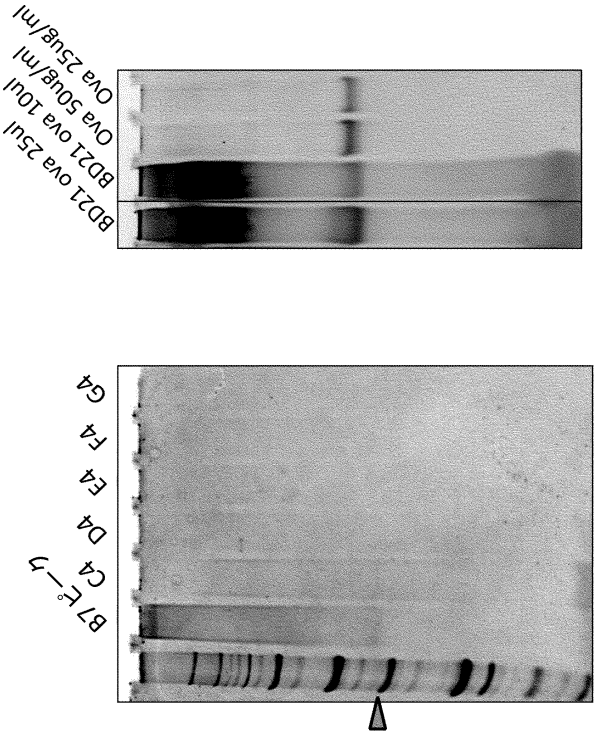
製剤	抗原/ペプチド/DNA	サイズ(d.nm)	PDI[1]
BD21 (ACM-OVA)	卵白アルブミン	173.1	0.108
PDMS-PEG	PEDv Sタンパク質	127.3	0.206
PDMS-PEG/DSPE-PEG	PEDv Sタンパク質	126.4	0.183
PLA-PEG/アゾレクチン脂質	PEDv Sタンパク質	131.2	0.185
BD21-NH2	eGFP-DNA	155.8	0.11
BD21-DOTAP-CpG (ACM-CpG)	CpG (ODN 1826)	143.3	0.069
BD21-DOTAP-OVA-CpG (ACM-OVA-CpG)	卵白アルブミン + CpG (ODN 1826)	133.8	0.105
BD21-DOTAP-Trp2 (ACM-Trp2)	Trp2 ペプチド	142.4	0.101

[1]PDI、動的光散乱 (DLS) からの多分散指数

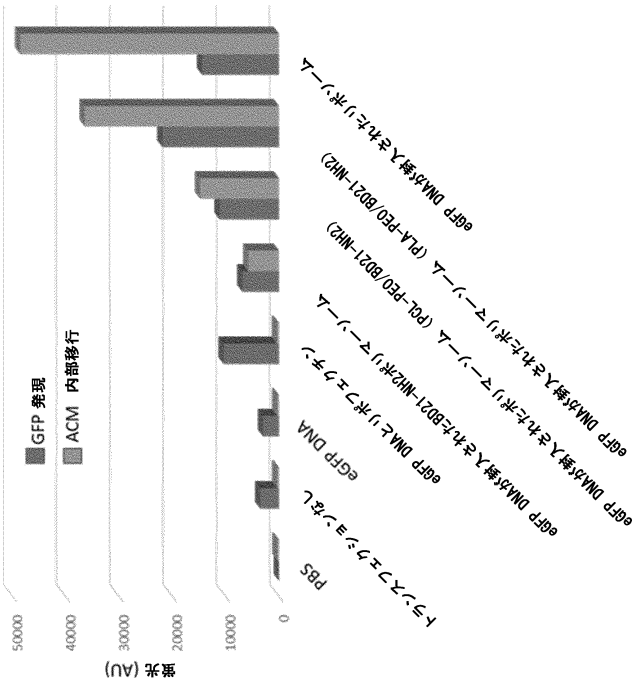
【図３】



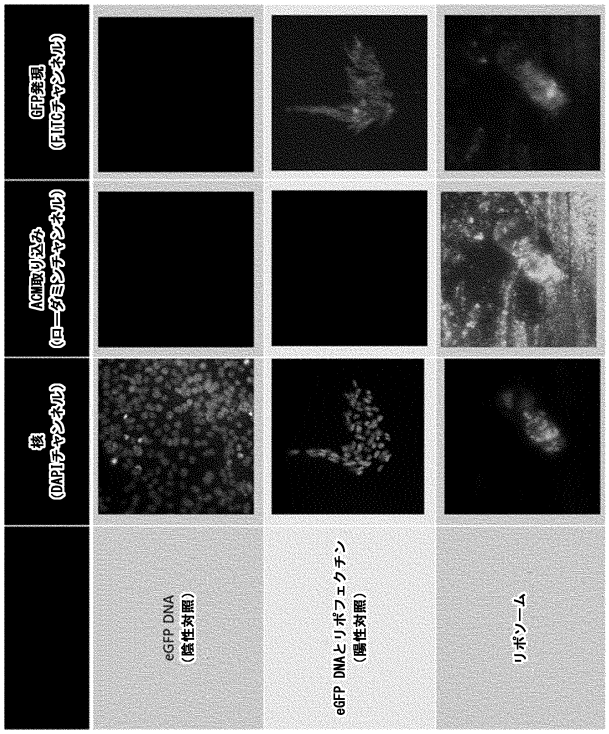
【図４】



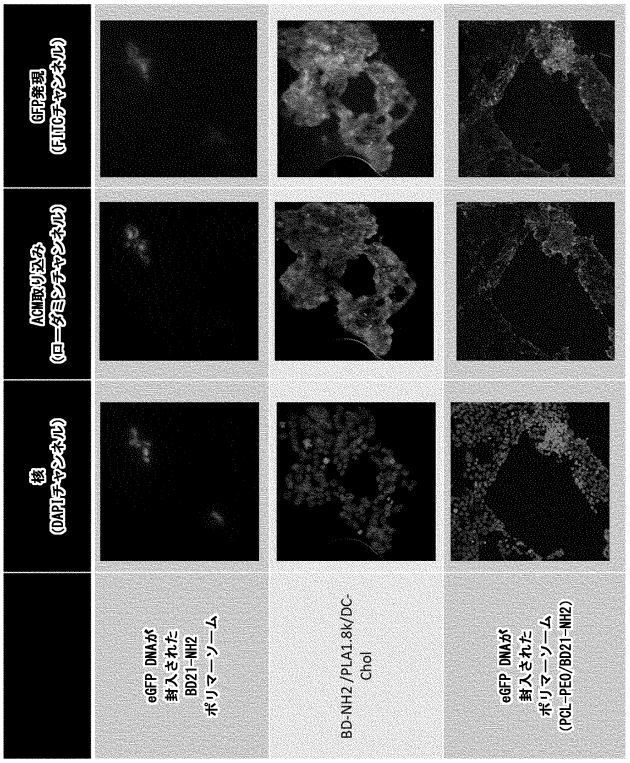
【図５Ａ】



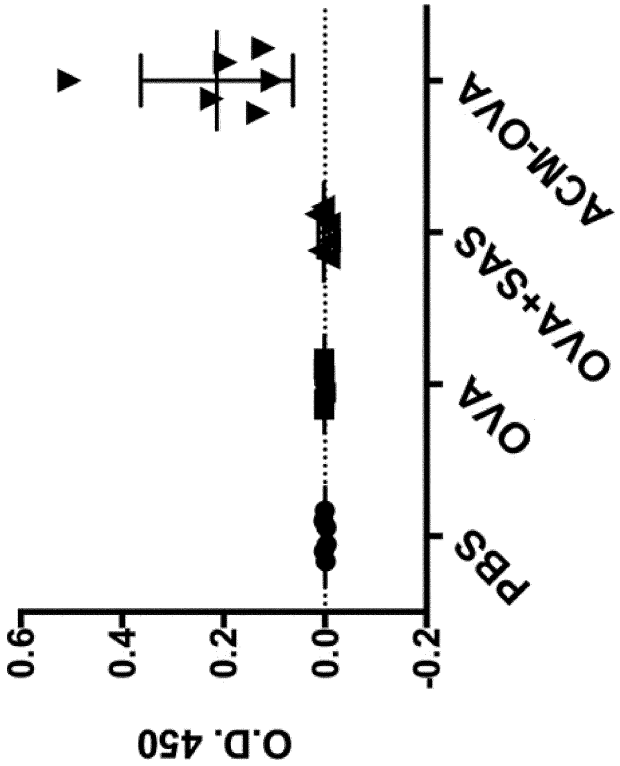
【図５Ｂ】


核
(DAPIチャンネル)
ACM取り込み
(ローダミンチャンネル)
GFP発現
(FITCチャンネル)
eGFP DNA
(陰性対照)
eGFP DNAとリポフェクチン
(陽性対照)
リポソーム

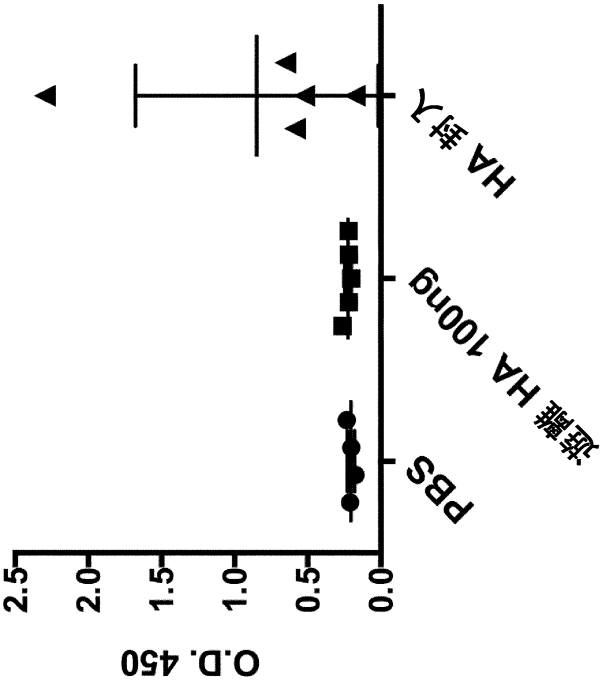
【図５Ｃ】


核
(DAPIチャンネル)
ACM取り込み
(ローダミンチャンネル)
GFP発現
(FITCチャンネル)
eGFP DNAが
封入された
BD21-NH2
ポリマーソーム
BD-NH2/PLA1.8k/DC-
Chol
eGFP DNAが
封入された
ポリマーソーム
(PCL-PEO/BD21-NH2)

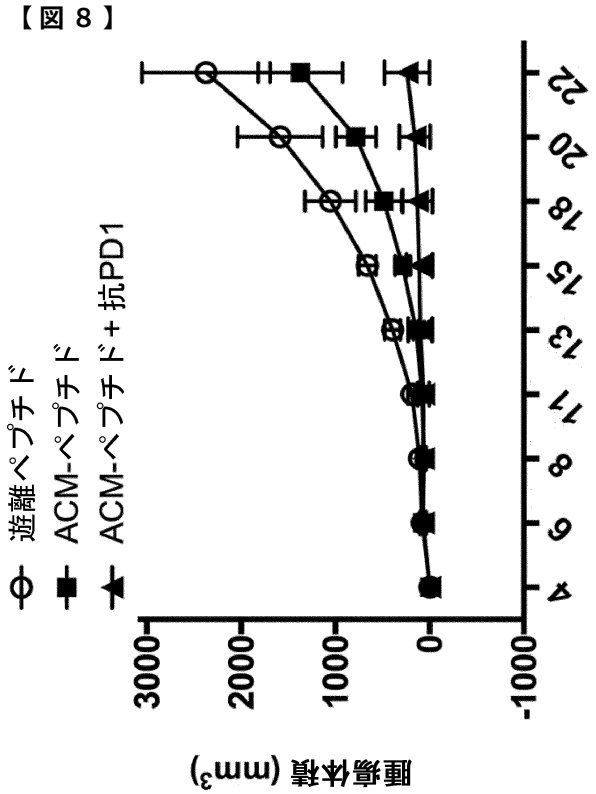
【図６】


O.D. 450
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
PBS
OVA
OVA+SAS
ACM-OVA

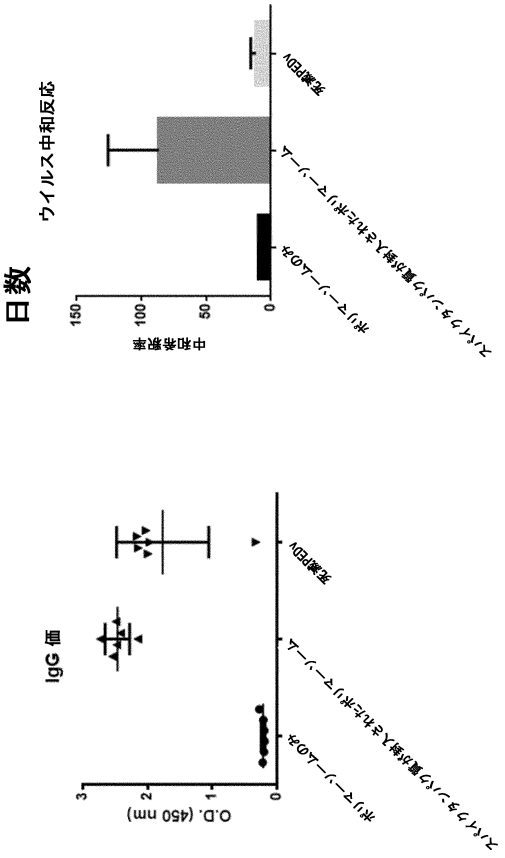
【図７】


O.D. 450
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
PBS
感染 HA 100ng
HA 封入

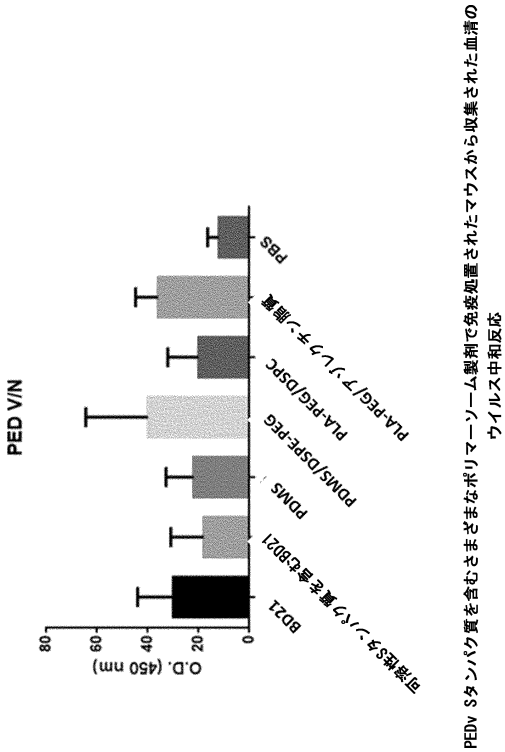
【図８】



【図９】

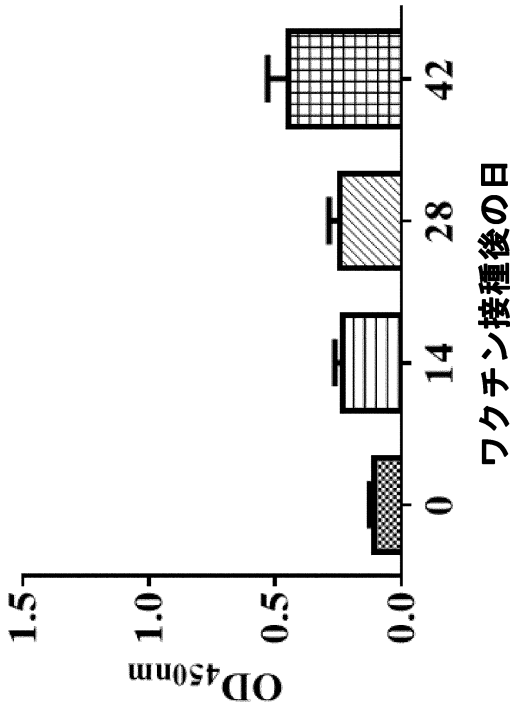


【図１０】

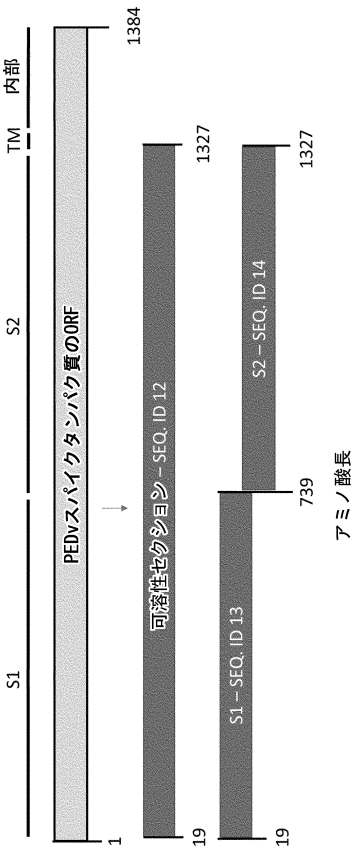


PEDv Sタンパク質を含むさまざまなポリマーソーム製剤で免疫処置されたマウスから収集された血清のウイルス中和反応

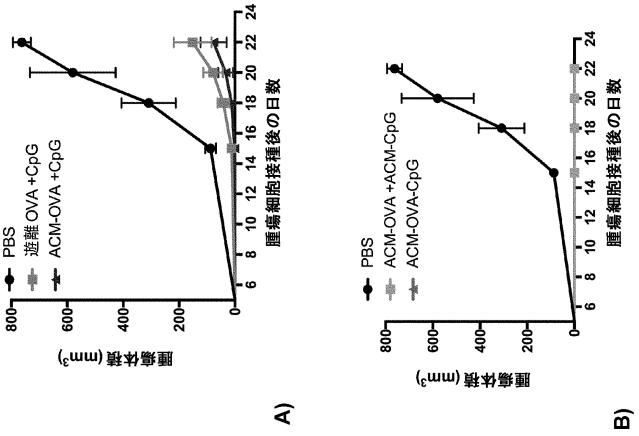
【図１１】



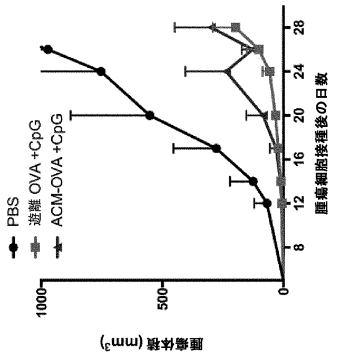
【図１２】



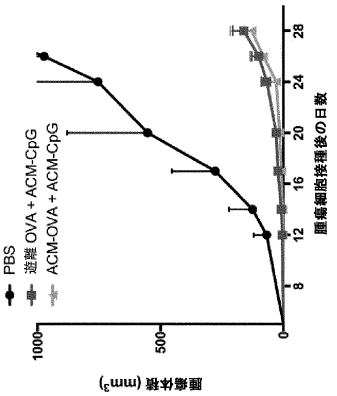
【図１３】



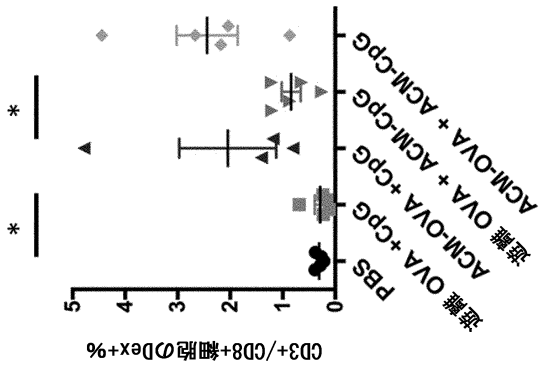
【図１４Ａ】



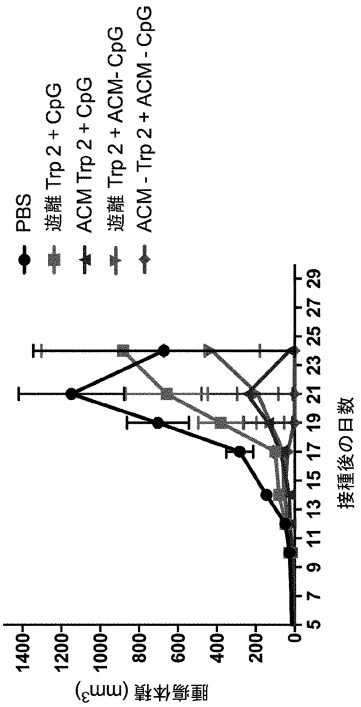
【図１４Ｂ】



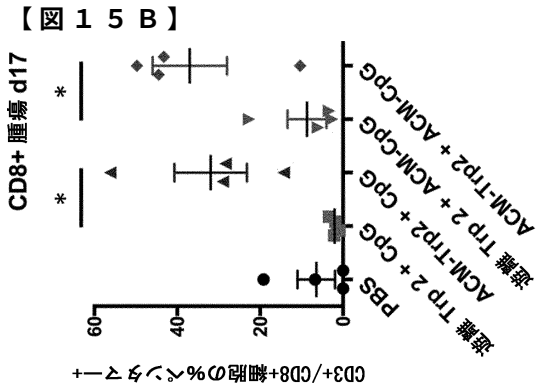
【図１４Ｃ】



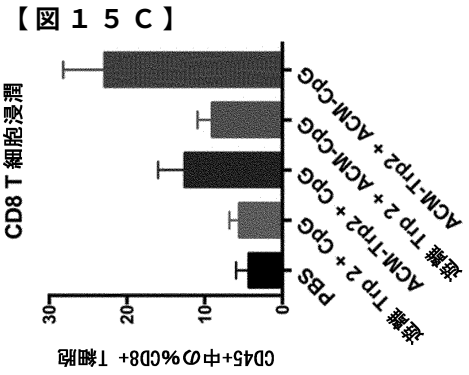
【図１５Ａ】



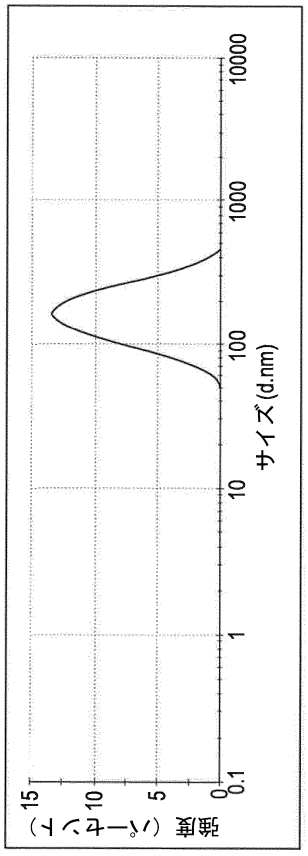
【図１５Ｂ】



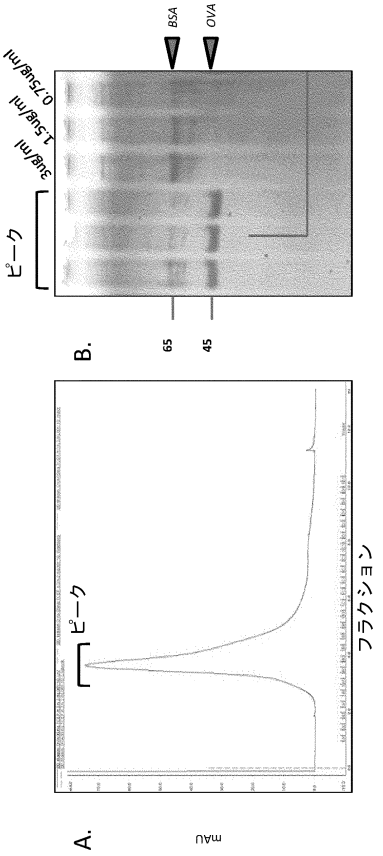
【図１５Ｃ】



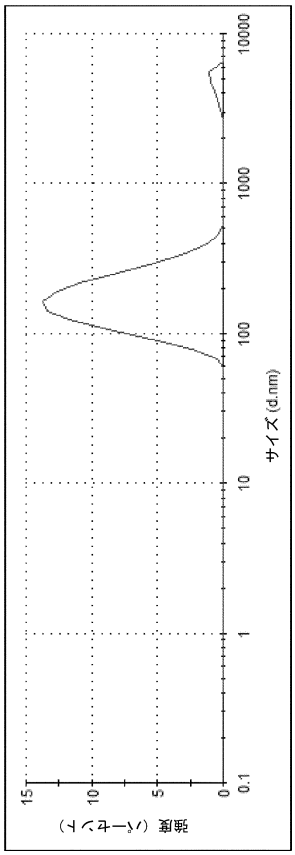
【図１６】



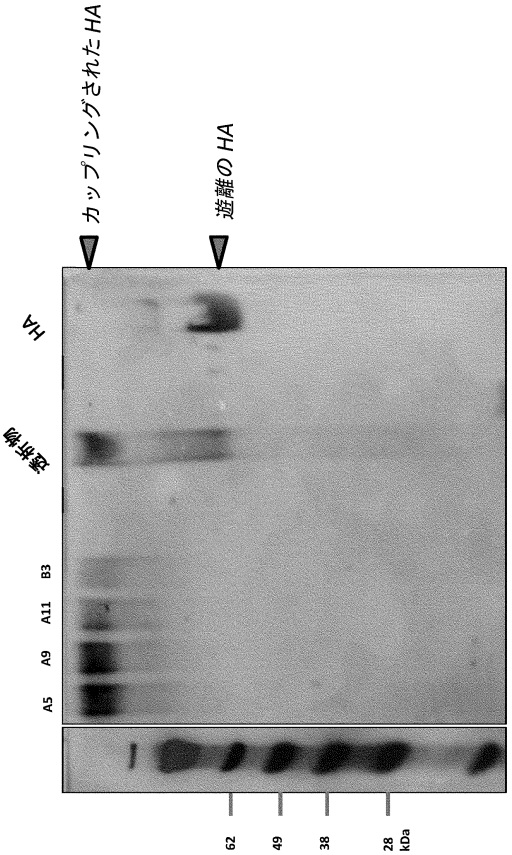
【図１７】



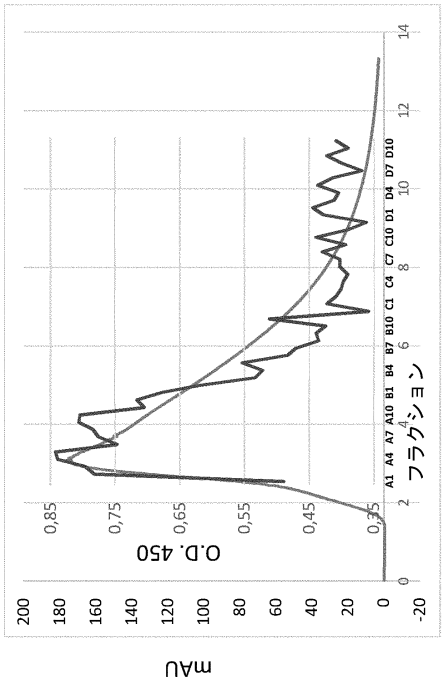
【図１８】



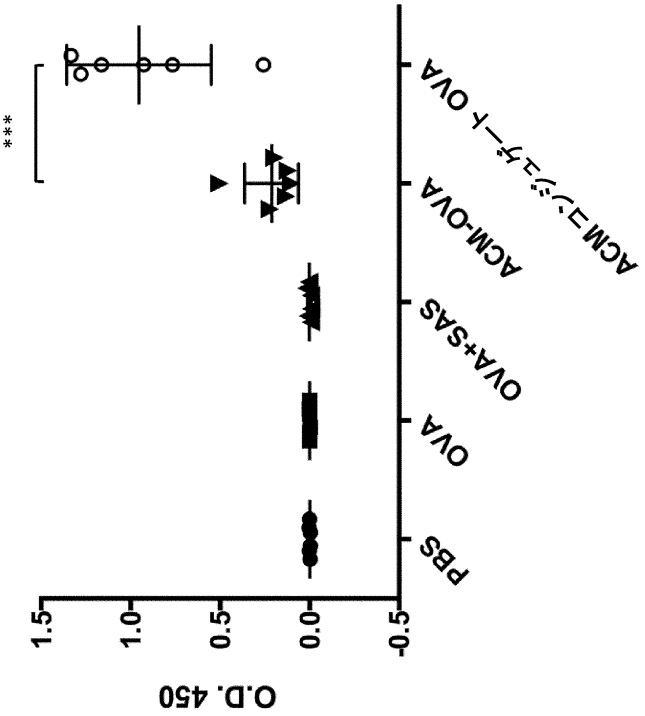
【図１９】



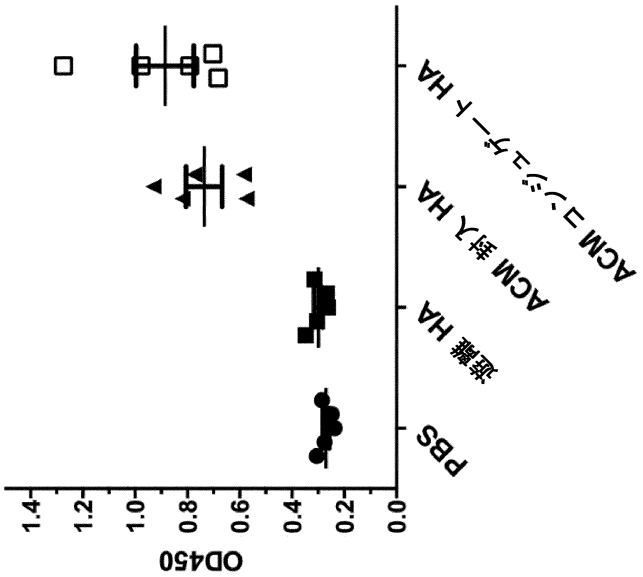
【図２０】



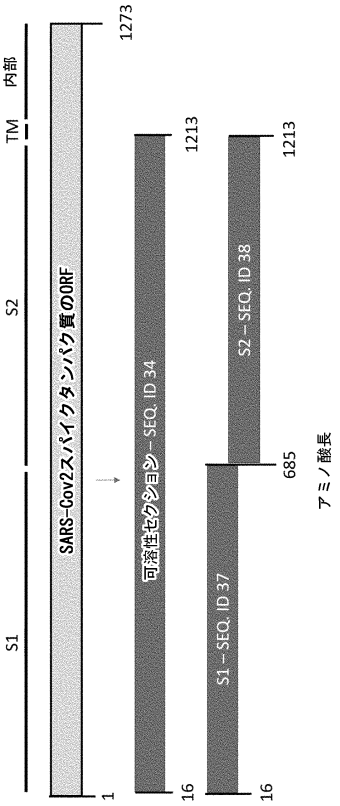
【図２１】



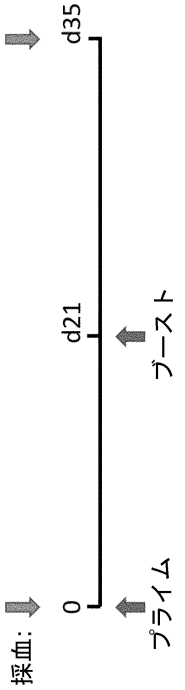
【図２２】



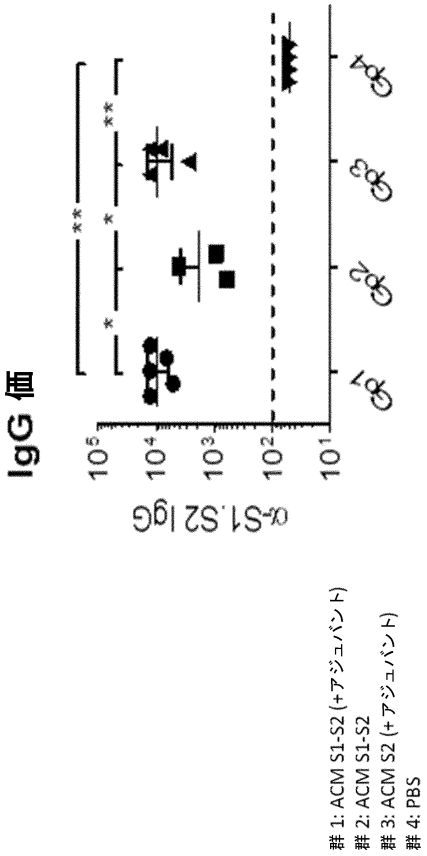
【図２３Ａ】



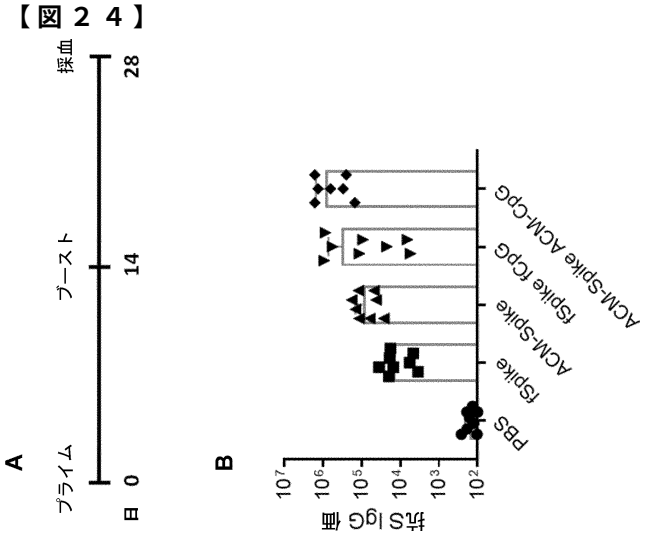
【図２３Ｂ】



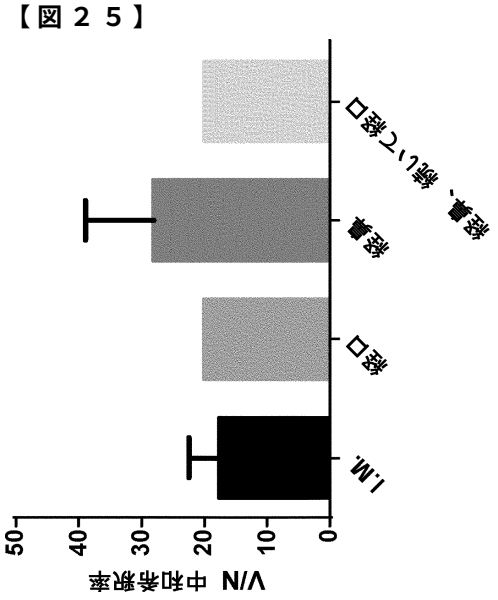
【図２３Ｃ】



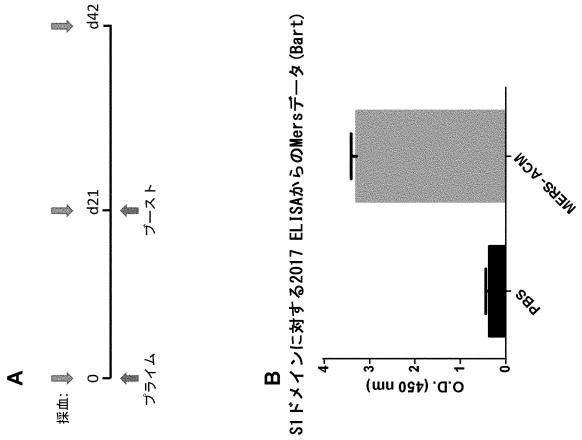
【図２４】



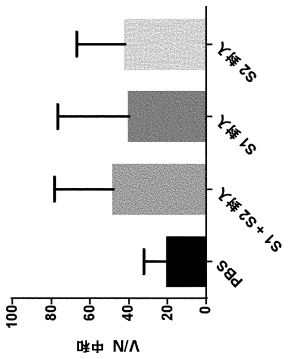
【図２５】



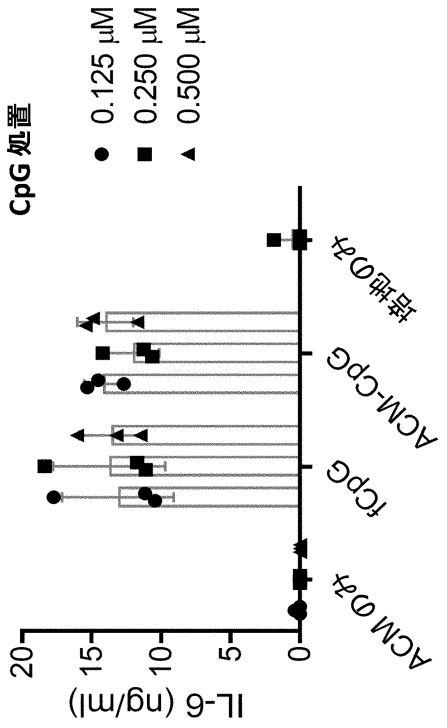
【図２６】



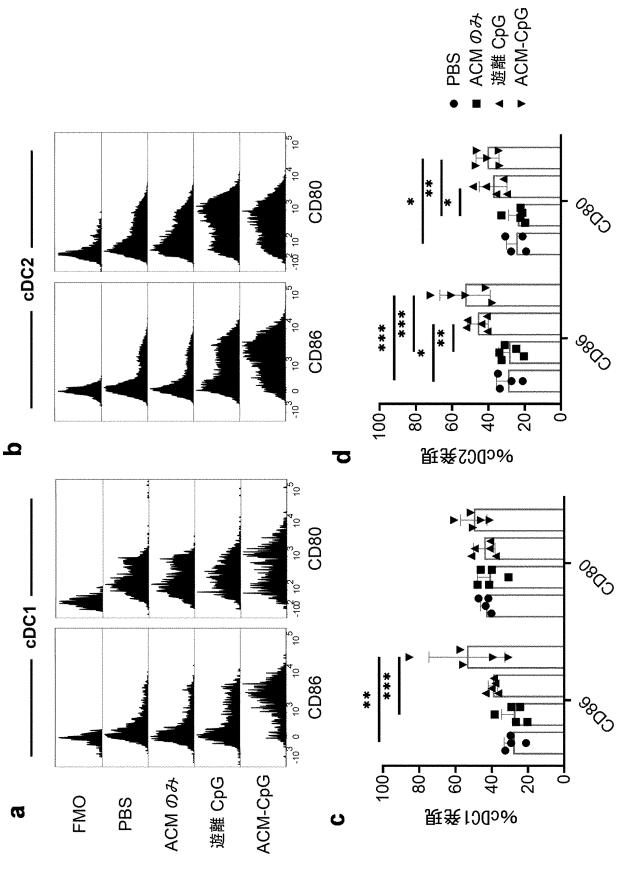
【図２７】



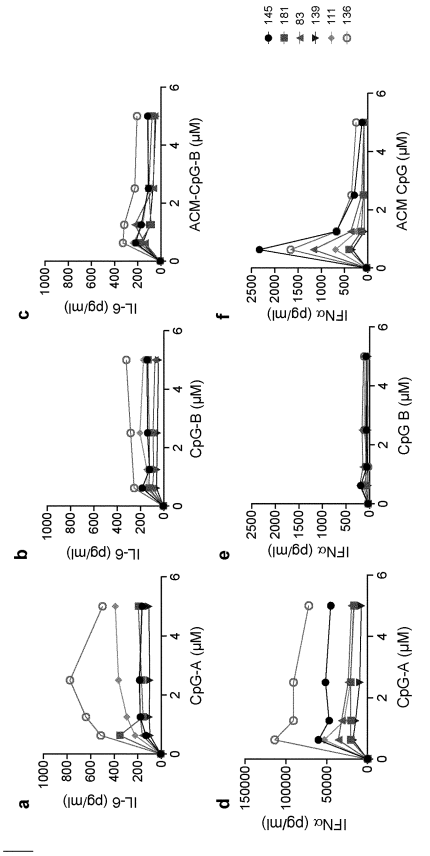
【図２８】



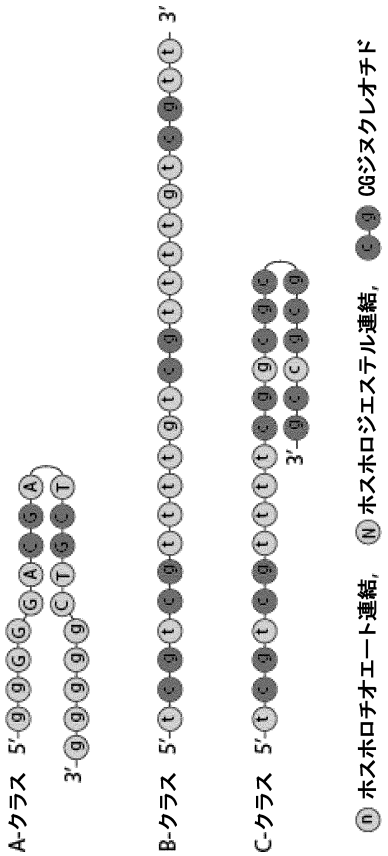
【図２９】



【図３０】



【図３１】



【図３２】

ODN[a]	1 5 8 5	2 0 0 5 1	2 0 3 7	2 0 3 8	2 0 4 9	2 0 7 0	2 0 8 2	2 0 8 6	2 0 9 0	2 0 9 2	2 0 9 7	2 0 9 8	2 1 0 0	2 1 0 2	2 1 0 6	2 1 1 0	2 1 1 2	2 1 2 5	2 1 2 6	2 1 2 7	2 1 3 4	2 1 3 5	2 1 3 6	2 1 4 3	2 1 4 4	2 1 4 5	2 1 4 6	2 1 5 1	2 1 5 2	2 1 5 3	2 1 5 4	2 1 5 5	2 1 5 6	2 1 5 7	2 1 5 8	2 1 5 9	2 1 6 0	2 1 6 1	2 1 6 2	2 1 6 3	2 1 6 4	2 1 6 5	2 1 6 6	2 1 6 7	2 1 6 8
ヒツジ																																														
ヤギ																																													
ウマ																																													
ブタ																																													
イヌ																																													
ネコ																																													
ニワトリ																																													
コットンラット																																													
ウサギ																																													
マウス																																													

【配列表】
2024505964000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/052508

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K9/127 A61K39/39 A61P37/04
ADD.

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 A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2015/297711 A1 (NALLANI MADHAVAN [SG] ET AL) 22 October 2015 (2015-10-22) cited in the application paragraphs [0030], [0044], [0045]; claim 1	1-19

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] 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
"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
10 May 2022	18/05/2022

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Konter, Jörg

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/052508

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JIAN HANG LAM ET AL: "Next generation vaccine platform: polymersome as stable nanocarriers for a highly immunogenic and durable SARS-CoV-2 spike protein subunit vaccine", INTERNET CITATION, 25 January 2021 (2021-01-25), XP002804320, Retrieved from the Internet: URL:https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.24.427729v1.full [retrieved on 2021-09-28] page 5, Results; figure 1	1-19
X	WO 2019/145475 A2 (ACM BIOLABS PTE LTD [SG]) 1 August 2019 (2019-08-01) cited in the application paragraph [0049]	1-19
X,P	WO 2021/019102 A2 (ACM BIOLABS PTE LTD [SG]) 4 February 2021 (2021-02-04) the whole document	1-19

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2022/052508

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. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] 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 13ter.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 13ter.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.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

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2022/052508

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2015297711 A1	22-10-2015	CN 104936579 A	23-09-2015
		CN 111450060 A	28-07-2020
		EP 2919758 A1	23-09-2015
		JP 6453757 B2	16-01-2019
		JP 6777705 B2	28-10-2020
		JP 2016500071 A	07-01-2016
		JP 2019011358 A	24-01-2019
		JP 2020183438 A	12-11-2020
		MY 175416 A	24-06-2020
		PH 12015501101 A1	27-07-2015
		SG 10201704135Q A	29-06-2017
		SG 11201503876Y A	29-06-2015
		US 2015297711 A1	22-10-2015
		US 2018214540 A1	02-08-2018
		US 2022133883 A1	05-05-2022
		WO 2014077781 A1	22-05-2014
WO 2019145475 A2	01-08-2019	BR 112020013405 A2	01-12-2020
		CN 111954541 A	17-11-2020
		EP 3743101 A2	02-12-2020
		JP 2021512142 A	13-05-2021
		US 2021251899 A1	19-08-2021
		WO 2019145475 A2	01-08-2019
WO 2021019102 A2	04-02-2021	AU 2020322107 A1	03-02-2022
		BR 112022001185 A2	15-03-2022
		CA 3143533 A1	04-02-2021
		WO 2021019102 A2	04-02-2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

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）
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00	
Ａ６１Ｐ	*37/08 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/08	
Ａ６１Ｐ	*17/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00	
Ａ６１Ｐ	*31/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/16	
Ａ６１Ｐ	*25/28 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28	
Ａ６１Ｐ	*33/10 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	33/10	
Ａ６１Ｐ	*31/22 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/22	
Ａ６１Ｐ	*7/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/06	
Ａ６１Ｐ	*9/10 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	
Ａ６１Ｐ	*33/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	33/02	
Ａ６１Ｐ	*31/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/06	
Ａ６１Ｐ	*11/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00	
Ａ６１Ｐ	*11/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/04	
Ａ６１Ｐ	*31/20 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/20	
Ａ６１Ｋ	*9/127(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/127	
Ａ６１Ｋ	*47/30 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/30	
Ａ６１Ｋ	*47/34 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/34	
Ａ６１Ｋ	*47/32 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/32	
Ａ６１Ｋ	*31/7088(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7088	
Ａ６１Ｐ	*35/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/02	
Ｃ１２Ｎ	*15/11 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/11	Ｚ
Ｃ０７Ｋ	*14/195(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/195	

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．プルロニック

２．ＴＷＥＥＮ

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100188433
弁理士 梅村 幸輔
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100214396
弁理士 塩田 真紀
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(74)代理人 100221741
弁理士 酒井 直子
(74)代理人 100114926

弁理士　枝松 義恵
(72)発明者　ナラーニ マドハバン
シンガポール共和国 ６３８０７５ シンガポール ナンヤング ドライブ ７１ エヌティーユー イノベーション センター ナンバー ２エム－０２ エイシーエム バイオラブズ プライベート リミテッド内
(72)発明者　ラム ジェン ハン
シンガポール共和国 ６３８０７５ シンガポール ナンヤング ドライブ ７１ エヌティーユー イノベーション センター ナンバー ２エム－０２ エイシーエム バイオラブズ プライベート リミテッド内
(72)発明者　コーネル トーマス アンドリュー
シンガポール共和国 ６３８０７５ シンガポール ナンヤング ドライブ ７１ エヌティーユー イノベーション センター ナンバー ２エム－０２ エイシーエム バイオラブズ プライベート リミテッド内
(72)発明者　ハン アミット クマール
シンガポール共和国 ６３８０７５ シンガポール ナンヤング ドライブ ７１ エヌティーユー イノベーション センター ナンバー ２エム－０２ エイシーエム バイオラブズ プライベート リミテッド内
(72)発明者　マーティン リアム トーマス
シンガポール共和国 ６３８０７５ シンガポール ナンヤング ドライブ ７１ エヌティーユー イノベーション センター ナンバー ２エム－０２ エイシーエム バイオラブズ プライベート リミテッド内

Ｆターム（参考）　4C076　AA09 AA11 AA16 AA17 AA19 AA22 AA24 AA29 BB01 BB11
BB13 BB15 BB16 BB21 BB25 CC01 CC07 CC11 CC14 CC15 CC18
CC27 CC29 CC34 CC35 EE23Q EE49Q FF36 FF63
4C084　AA17 AA27 MA05 MA13 MA17 MA21 MA22 MA23 MA24 MA28
MA43 MA52 MA56 MA59 MA66 NA03 NA14 ZA151 ZA152 ZA361 ZA362
ZA551 ZA552 ZA591 ZA592 ZA891 ZA892 ZB071 ZB072 ZB091 ZB092 ZB131
ZB132 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZB331 ZB332 ZB351 ZB352 ZB391 ZB392
ZC021 ZC022 ZC611 ZC612
4C086　AA01 AA02 EA16 MA02 MA05 MA13 MA17 MA21 MA22 MA23
MA24 MA28 MA43 MA52 MA56 MA59 MA66 NA14 ZA15 ZA36 ZA55
ZA59 ZA89 ZB07 ZB09 ZB13 ZB26 ZB27 ZB33 ZB35 ZB39 ZC02
ZC61
4H045　AA10 AA30 BA54 BA61 CA11 CA40 DA70 DA86 EA20 EA50
FA74