

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和4年11月7日(2022.11.7)

【国際公開番号】WO2020/102285

【公表番号】特表2022-507269(P2022-507269A)

【公表日】令和4年1月18日(2022.1.18)

【年通号数】公開公報(特許)2022-008

【出願番号】特願2021-525757(P2021-525757)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/33(2006.01)

C 1 2 N 15/41(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 15/113(2010.01)

A 6 1 K 9/14(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 K 47/18(2006.01)

A 6 1 K 47/24(2006.01)

A 6 1 K 31/7088(2006.01)

10

20

【F I】

C 1 2 N 15/33 Z N A

C 1 2 N 15/41

C 1 2 N 7/01

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/113 Z

A 6 1 K 9/14

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 31/7088

30

【手続補正書】

【提出日】令和4年10月27日(2022.10.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

40

【請求項1】

脂質ナノ粒子(LNP)であって、複製可能なウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチド配列を含む組換えDNA分子を含み、前記ポリヌクレオチド配列が、哺乳動物のRNAポリメラーゼII(Pol II)と結合できるプロモーター配列と作動可能に連結され、3'接合部切断配列及び5'接合部切断配列と隣接し、前記3'接合部切断配列及び前記5'接合部切断配列が、異なる種類である、前記脂質ナノ粒子(LNP)。

【請求項2】

前記3'接合部切断配列が、リボザイム配列を含み、前記5'接合部切断配列が、マイクロRNA(miR)標的配列、人工miR(AmiR)標的配列、ガイドRNA(gRNA)標的配列、pri-miR配列、siRNA標的配列、及びアプタザイム配列から選

50

択される配列を含む、請求項 1 に記載の L N P。

【請求項 3】

前記 3' 接合部切断配列が、リボザイム配列を含み、前記 5' 接合部切断配列が、人工 m i R ( A m i R ) 標的配列を含む、請求項 2 に記載の L N P。

【請求項 4】

前記 3' 接合部切断配列が、マイクロ RNA ( m i R ) 標的配列、人工 m i R ( A m i R ) 標的配列、ガイド RNA ( g R N A ) 標的配列、p r i - m i R 配列、アプタザイム配列、s i R N A 標的配列またはリボザイム配列から選択される配列を含む、請求項 1 に記載の L N P。

【請求項 5】

前記複製可能なウイルスゲノムが、一本鎖 RNA ( s s R N A ) ウイルスをコードする、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の L N P。

【請求項 6】

前記一本鎖 RNA ( s s R N A ) ウイルスが、ピコルナウイルスまたはアルファウイルスである、請求項 5 に記載の L N P。

【請求項 7】

前記ピコルナウイルスが、S e n e c a V a l l e y ウイルス ( S V V ) または C o x s a c k i e ウイルスである、請求項 6 に記載の L N P。

【請求項 8】

前記 L N P を細胞と接触させると、前記細胞によるウイルス粒子の産生がもたらされ、前記ウイルス粒子が、感染性及び溶解性である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の L N P。

【請求項 9】

前記組換え DNA 分子が、外因性ペイロードタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の L N P。

【請求項 10】

前記外因性ペイロードタンパク質が、蛍光タンパク質、酵素タンパク質、サイトカイン、ケモカイン、細胞表面受容体のリガンド、または細胞表面受容体と結合することができる抗原結合分子である、請求項 9 に記載の L N P。

【請求項 11】

( a ) 前記サイトカインが、I L - 1 8、I L - 3 6、L I G H T、及び I L - 2 から選択される；

( b ) 前記細胞表面受容体のリガンドが、F l t 3 リガンドである；

( c ) 前記ケモカインが、C C L 2 1、C C L 5、C X C L 1 0、及び C C L 4 から選択される；

( d ) 前記抗原結合分子が、P D 1 と結合して阻害することができる、もしくは D L L 3、E p C a m、及び C E A から選択される腫瘍関連抗原と結合することができる；または

( e ) 前記抗原結合分子が、腫瘍抗原に特異的な第 1 のドメイン及び T 細胞表面分子に特異的な第 2 のドメインを含む、二重特異性 T 細胞会合分子である、

請求項 1 0 に記載の L N P。

【請求項 12】

マイクロ RNA ( m i R N A ) 標的配列 ( m i R - T S ) カセットが、前記複製可能なウイルスゲノムをコードする核酸配列に挿入され、前記 m i R - T S カセットが、1 つ以上の m i R N A 標的配列を含み、細胞内の対応する m i R N A のうちの 1 つ以上の発現が、前記細胞内の前記複製可能なウイルスゲノムの複製を阻害する、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の L N P。

【請求項 13】

( a ) 前記 1 つ以上の m i R N A が、m i R - 1 2 4、m i R - 1、m i R - 1 4 3、m i R - 1 2 8、m i R - 2 1 9、m i R - 2 1 9 a、m i R - 1 2 2、m i R - 2 0 4、

10

20

30

40

50

mi R - 2 1 7、mi R - 1 3 7、mi R - 1 3 3、mi R - 1 4 5、mi R - 2 0 6、及びmi R - 1 2 6 から選択される；

( b ) 前記mi R - T Sカセットが、mi R - 1 2 4 標的配列の1つ以上のコピー、mi R - 1 標的配列の1つ以上のコピー、及びmi R - 1 4 3 標的配列の1つ以上のコピーを含む；

( c ) 前記mi R - T Sカセットが、mi R - 1 2 8 標的配列の1つ以上のコピー、mi R - 2 1 9 a 標的配列の1つ以上のコピー、及びmi R - 1 2 2 標的配列の1つ以上のコピーを含む；

( d ) 前記mi R - T Sカセットが、mi R - 1 2 8 標的配列の1つ以上のコピー、mi R - 2 0 4 標的配列の1つ以上のコピー、及びmi R - 2 1 9 標的配列の1つ以上のコピーを含む；または

( e ) 前記mi R - T Sカセットが、mi R - 2 1 7 標的配列の1つ以上のコピー、mi R - 1 3 7 標的配列の1つ以上のコピー、及びmi R - 1 2 6 標的配列の1つ以上のコピーを含む、

請求項 1 2 に記載の L N P。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の複数の脂質ナノ粒子 ( L N P ) を含む、治療用組成物。

【請求項 1 5】

前記複数の L N P が、約 5 0 n m ~ 約 2 0 0 n m、約 1 0 0 n m ~ 約 2 0 0 n m、約 1 5 0 n m ~ 約 2 0 0 n m、約 5 0 n m ~ 約 1 5 0 n m、約 1 0 0 n m ~ 約 1 5 0 n m、約 2 0 0 n m ~ 約 5 0 0 n m、約 3 0 0 n m ~ 約 5 0 0 n m、約 3 5 0 n m ~ 約 5 0 0 n m、約 4 0 0 n m ~ 約 5 0 0 n m、約 4 2 5 n m ~ 約 5 0 0 n m、約 4 5 0 n m ~ 約 5 0 0 n m、または約 4 7 5 n m ~ 約 5 0 0 n m の平均サイズを有する、請求項 1 4 に記載の治療用組成物。

【請求項 1 6】

前記複数の L N P が、約 - 2 0 m V 未満、約 - 3 0 m V 未満、約 3 5 m V 未満、または約 - 4 0 m V 未満の平均ゼータ電位を有する、請求項 1 4 または 1 5 に記載の治療用組成物。

【請求項 1 7】

がん性腫瘍の成長を阻害することを必要とする対象において、がん性腫瘍の成長の阻害における使用のための、請求項 1 4 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の治療用組成物。

【請求項 1 8】

前記投与が、腫瘍内または静脈内である、請求項 1 7 に記載の使用のための治療用組成物。

【請求項 1 9】

前記がんが、肺癌または肝臓癌である、請求項 1 7 または 1 8 に記載の使用のための治療用組成物。

【請求項 2 0】

組換え D N A 分子であって、複製可能なウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチド配列を含み、前記ポリヌクレオチド配列が、哺乳動物の R N A ポリメラーゼ I I ( P o l I I ) と結合できるプロモーター配列と作動可能に連結され、3 ' 接合部切断配列及び 5 ' 接合部切断配列と隣接し、前記 3 ' 接合部切断配列及び前記 5 ' 接合部切断配列が、異なる種類である、前記組換え D N A 分子。

【請求項 2 1】

前記 3 ' 接合部切断配列が、リボザイム配列を含み、前記 5 ' 接合部切断配列が、マイクロ R N A ( m i R ) 標的配列、人工 m i R ( A m i R ) 標的配列、ガイド R N A ( g R N A ) 標的配列、p r i - m i R 配列、s i R N A 標的配列、及びアプタザイム配列から選択される配列を含む、請求項 2 0 に記載の組換え D N A 分子。

【請求項 2 2】

10

20

30

40

50

前記 3' 接合部切断配列が、リボザイム配列を含み、前記 5' 接合部切断配列が、人工 miR (AmiR) 標的配列を含む、請求項 2.1 に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 2.3】

前記 3' 接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、リボザイム配列、人工 miR (AmiR) 標的配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、pri-miR 配列、siRNA 標的配列、及びアプタザイム配列から選択される配列を含む、請求項 2.0 に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 2.4】

前記複製可能なウイルスゲノムが、一本鎖RNA (ssRNA) ウイルスをコードする、請求項 2.0 ~ 2.3 のいずれか 1 項に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 2.5】

前記 ssRNA ウイルスが、ピコルナウイルスまたはアルファウイルスである、請求項 2.4 に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 2.6】

前記ピコルナウイルスが、Seneca Valley ウイルス (SVV) または Coxsackie ウイルスである、請求項 2.5 に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 2.7】

前記組換え DNA 分子が、非ウイルス送達ビヒクルによって細胞に導入されると、感染性の溶解性ウイルスを産生することができる、請求項 2.0 ~ 2.6 のいずれか 1 項に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 2.8】

前記組換え DNA 分子が、外因性ペイロードタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 2.0 ~ 2.7 のいずれか 1 項に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 2.9】

前記外因性ペイロードタンパク質が、蛍光タンパク質、酵素タンパク質、サイトカイン、ケモカイン、細胞表面受容体のリガンド、または細胞表面受容体と結合することができる抗原結合分子である、請求項 2.8 に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 3.0】

(a) 前記サイトカインが、IL-18、IL-36、LIGHT、及び IL-2 である；

(b) 前記細胞表面受容体のリガンドが、Flt3 リガンドである；

(c) 前記ケモカインが、CCL21、CCL5、CXCL10、及び CCL4 から選択される；

(d) 前記抗原結合分子が、PD1 と結合して阻害することができる、もしくは DLL3、EPCAM、及び CEA から選択される腫瘍関連抗原と結合することができる；または

(e) 前記抗原結合分子が、腫瘍抗原に特異的な第 1 のドメイン及び T 細胞表面分子に特異的な第 2 のドメインを含む、二重特異性 T 細胞会合分子である、

請求項 2.9 に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 3.1】

マイクロRNA (miRNA) 標的配列 (miR-TS) カセットが、前記複製可能なウイルスゲノムをコードする核酸配列に挿入され、前記 miR-TS カセットが、1 つ以上の miRNA 標的配列を含み、細胞内の対応する miRNA のうちの 1 つ以上の発現が、前記細胞内の前記コードされたウイルスの複製を阻害する、請求項 2.0 ~ 3.0 のいずれか 1 項に記載の組換え DNA 分子。

【請求項 3.2】

(a) 前記 1 つ以上の miRNA が、miR-124、miR-1、miR-143、miR-128、miR-219、miR-219a、miR-122、miR-204、miR-217、miR-137、miR-133、miR-145、miR-206、及び miR-126 から選択される；

10

20

30

40

50

( b ) 前記 m i R - T S カセットが、 m i R - 1 2 4 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 1 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 1 4 3 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む；

( c ) 前記 m i R - T S カセットが、 m i R - 1 2 8 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 2 1 9 a 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 1 2 2 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む；

( d ) 前記 m i R - T S カセットが、 m i R - 1 2 8 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 2 0 4 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 2 1 9 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む；または

( e ) 前記 m i R - T S カセットが、 m i R - 2 1 7 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 1 3 7 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 1 2 6 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む、

10

請求項 3 1 に記載の組換え D N A 分子。

【請求項 3 3】

前記組換え D N A 分子が、複製可能なウイルスゲノムをコードする前記ポリヌクレオチド配列を含むプラスミドまたは N a n o V である、請求項 2 0 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 2

20

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 2】

いくつかの実施形態では、マイクロRNA ( m i R N A ) 標的配列 ( m i R - T S ) カセットが、複製可能なウイルスゲノムをコードする核酸配列に挿入され、 m i R - T S カセットが、1 つ以上の m i R N A 標的配列を含み、細胞内の対応する m i R N A のうちの 1 つ以上の発現が、細胞内のコードされたウイルスの複製を阻害する。いくつかの実施形態では、1 つ以上の m i R N A が、 m i R - 1 2 4、 m i R - 1、 m i R - 1 4 3、 m i R - 1 2 8、 m i R - 2 1 9、 m i R - 2 1 9 a、 m i R - 1 2 2、 m i R - 2 0 4、 m i R - 2 1 7、 m i R - 1 3 7、及び m i R - 1 2 6 から選択される。いくつかの実施形態では、 m i R - T S カセットが、 m i R - 1 2 4 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 1 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 1 4 3 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む。いくつかの実施形態では、 m i R - T S カセットが、 m i R - 1 2 8 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 2 1 9 a 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 1 2 2 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む。いくつかの実施形態では、 m i R - T S カセットが、 m i R - 1 2 8 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 2 0 4 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 2 1 9 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む。いくつかの実施形態では、 m i R - T S カセットが、 m i R - 2 1 7 標的配列の 1 つ以上のコピー、 m i R - 1 3 7 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び m i R - 1 2 6 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む。いくつかの実施形態では、組換え D N A 分子が、複製可能なウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチド配列を含むプラスミドまたは N a n o V である。

30

40

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

( 項目 1 )

脂質ナノ粒子 ( L N P ) であって、複製可能なウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチド配列を含む組換え D N A 分子を含み、前記ポリヌクレオチド配列が、哺乳動物の R N A ポリメラーゼ I I ( P o l I I ) と結合できるプロモーター配列と作動可能に連結され、3' 接合部切断配列及び 5' 接合部切断配列と隣接し、前記 3' 接合部切断配列及び前記 5' 接合部切断配列が、異なる種類であり、前記複製可能なウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチドが、非ウイルスの起源である、前記脂質ナノ粒子 ( L N P ) 。

( 項目 2 )

50

前記 3' 接合部切断配列が、リボザイム配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、人工miR (AmiR) 標的配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、pri-miR 配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目 1 に記載の LNP。

(項目 3)

前記 3' 接合部切断配列が、リボザイム配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、人工miR (AmiR) 標的配列である、項目 2 に記載の LNP。

(項目 4)

前記 3' 接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、リボザイム配列、人工miR (AmiR) 標的配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、pri-miR 配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目 1 に記載の LNP。

10

(項目 5)

前記 3' 接合部切断配列が、人工miR (AmiR) 標的配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、リボザイム配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、pri-miR 配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目 1 に記載の LNP。

(項目 6)

前記 3' 接合部切断配列が、ガイドRNA (gRNA) 標的配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、人工miR (AmiR) 標的配列、リボザイム配列、pri-miR 配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目 1 に記載の LNP。

20

(項目 7)

前記 3' 接合部切断配列が、pri-miR 配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、人工miR (AmiR) 標的配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、リボザイム配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目 1 に記載の LNP。

(項目 8)

前記 3' 接合部切断配列が、アプタザイム配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、人工miR (AmiR) 標的配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、pri-miR 配列、及びリボザイム配列から選択される、項目 1 に記載の LNP。

30

(項目 9)

前記複製可能なウイルスゲノムが、一本鎖RNA (ssRNA) ウイルスである、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 10)

前記一本鎖RNA (ssRNA) ウイルスが、ポジティブセンス (+) センス) またはネガティブセンス (-) センス) ssRNA ウイルスである、項目 9 に記載の LNP

。

(項目 11)

前記複製可能なウイルスゲノムが、 (+) センス ssRNA ウイルスであり、前記 (+) センス ssRNA ウイルスが、ピコルナウイルスである、項目 10 に記載の LNP。

40

(項目 12)

前記ピコルナウイルスが、Seneca Valley ウイルス (SVV) または Coxsackie ウイルスである、項目 11 に記載の LNP。

(項目 13)

前記 LNP を細胞と接触させると、前記細胞によるウイルス粒子の産生がもたらされ、前記ウイルス粒子が、感染性及び溶解性である、項目 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 14)

50

前記組換えDNA分子が、外因性ペイロードタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列をさらに含む、項目1～13のいずれか1項に記載のLNP。

(項目15)

前記LNPが、外因性ペイロードタンパク質をコードする第2のポリヌクレオチド配列をさらに含む、項目1～13のいずれか1項に記載のLNP。

(項目16)

前記外因性ペイロードタンパク質が、蛍光タンパク質、酵素タンパク質、サイトカイン、ケモカイン、細胞表面受容体のリガンド、または細胞表面受容体と結合することができる抗原結合分子である、項目14または15に記載のLNP。

(項目17)

前記サイトカインが、IL-18、IL-36、LIGHT、及びIL-2から選択される、項目16に記載のLNP。

(項目18)

前記細胞表面受容体のリガンドが、Flt3リガンドである、項目16に記載のLNP。

(項目19)

前記ケモカインが、CCL21、CCL5、CXCL10、及びCCL4から選択される、項目16に記載のLNP。

(項目20)

前記抗原結合分子が、免疫チェックポイント受容体と結合して阻害することができる、項目16に記載のLNP。

(項目21)

前記免疫チェックポイント受容体が、PD1である、項目20に記載のLNP。

(項目22)

前記抗原結合分子が、DLL3、EpCam、及びCEAから選択される腫瘍関連抗原と結合することができる、項目16に記載のLNP。

(項目23)

前記抗原結合分子が、腫瘍抗原に特異的な第1のドメイン及びT細胞表面分子に特異的な第2のドメインを含む、二重特異性T細胞会合分子である、項目16～22のいずれか1項に記載のLNP。

(項目24)

前記T細胞表面分子が、CD3である、項目23に記載のLNP。

(項目25)

マイクロRNA(miRNA)標的配列(miR-TS)カセットが、前記複製可能なウイルスゲノムをコードする核酸配列に挿入され、前記miR-TSカセットが、1つ以上のmiRNA標的配列を含み、細胞内の対応するmiRNAのうちの1つ以上の発現が、前記細胞内の前記複製可能なウイルスゲノムの複製を阻害する、項目1～22のいずれか1項に記載のLNP。

(項目26)

前記1つ以上のmiRNAが、miR-124、miR-1、miR-143、miR-128、miR-219、miR-219a、miR-122、miR-204、miR-217、miR-137、及びmiR-126から選択される、項目25に記載のLNP。

(項目27)

前記miR-TSカセットが、miR-124標的配列の1つ以上のコピー、miR-1標的配列の1つ以上のコピー、及びmiR-143標的配列の1つ以上のコピーを含む、項目26に記載のLNP。

(項目28)

前記miR-TSカセットが、miR-128標的配列の1つ以上のコピー、miR-219a標的配列の1つ以上のコピー、及びmiR-122標的配列の1つ以上のコピーを含む、項目26に記載のLNP。

10

20

30

40

50

(項目 29)

前記 miR - TS カセットが、miR - 128 標的配列の 1 つ以上のコピー、miR - 204 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び miR - 219 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む、項目 26 に記載の LNP。

(項目 30)

前記 miR - TS カセットが、miR - 217 標的配列の 1 つ以上のコピー、miR - 137 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び miR - 126 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む、項目 26 に記載の LNP。

(項目 31)

前記組換え DNA 分子が、複製可能なウイルスゲノムをコードする前記ポリヌクレオチド配列を含むプラスミドである、項目 1 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 32)

前記 LNP が、カチオン性脂質、コレステロール、及び中性脂質を含む、項目 1 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 33)

前記カチオン性脂質が、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) であり、前記中性脂質が、1, 2 - ジラウロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (DLPE) または 1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (DOPE) である、項目 32 に記載の LNP。

(項目 34)

リン脂質 - ポリマー複合体をさらに含み、前記リン脂質 - ポリマー複合体が、1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - ポリ (エチレングリコール) (DSPE - PEG) または 1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - [アミノ (ポリエチレングリコール)] (DSPE - PEG - アミン) である、項目 32 または 33 に記載の LNP。

(項目 35)

前記カチオン性脂質が、D - Lin - MC3 - DMA (MC3) であり、前記中性脂質が、1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DSPC) である、項目 32 に記載の LNP。

(項目 36)

1, 2 - ジミリストイル - rac - グリセロ - 3 - メトキシポリエチレングリコール (DMG - PEG) のリン脂質 - ポリマー複合体をさらに含み、項目 34 に記載の LNP。

(項目 37)

ヒアルロン酸が、前記 LNP の表面と複合される、項目 1 ~ 36 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 38)

RGD ペプチドが、前記 LNP の表面と複合される、項目 1 ~ 36 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 39)

項目 1 ~ 37 のいずれか 1 項に記載の複数の脂質ナノ粒子を含み、前記複数の LNP が、約 50 nm ~ 約 500 nm の平均サイズを有する、治療用組成物。

(項目 40)

前記複数の LNP が、約 50 nm ~ 約 200 nm、約 100 nm ~ 約 200 nm、約 150 nm ~ 約 200 nm、約 50 nm ~ 約 150 nm、約 100 nm ~ 約 150 nm、約 200 nm ~ 約 500 nm、約 300 nm ~ 約 500 nm、約 350 nm ~ 約 500 nm、約 400 nm ~ 約 500 nm、約 425 nm ~ 約 500 nm、約 450 nm ~ 約 500 nm、または約 475 nm ~ 約 500 nm の平均サイズを有する、項目 39 に記載の治療用組成物。

(項目 41)

前記複数の LNP が、約 - 20 mV 未満、約 - 30 mV 未満、約 35 mV 未満、または

10

20

30

40

50

約 - 40 mV 未満の平均ゼータ電位を有する、項目 39 または 40 に記載の治療用組成物。

(項目 42)

前記複数の LNP が、約 - 50 mV ~ 約 - 20 mV、約 - 40 mV ~ 約 - 20 mV、または約 - 30 mV ~ 約 - 20 mV の間の平均ゼータ電位を有する、項目 41 に記載の治療用組成物。

(項目 43)

前記複数の LNP が、約 - 30 mV、約 - 31 mV、約 - 32 mV、約 - 33 mV、約 - 34 mV、約 - 35 mV、約 - 36 mV、約 - 37 mV、約 - 38 mV、約 - 39 mV、または約 - 40 mV の平均ゼータ電位を有する、項目 41 または 42 に記載の治療用組成物。

(項目 44)

前記治療用組成物を対象に投与すると、組換え DNA ポリヌクレオチドが前記対象の標的細胞に送達され、前記組換え DNA ポリヌクレオチドが、前記対象の前記標的細胞を溶解することができる感染性ウイルスを産生する、項目 39 ~ 43 のいずれか 1 項に記載の治療用組成物。

(項目 45)

前記組成物が、静脈内または腫瘍内に送達される、項目 44 に記載の治療用組成物。

(項目 46)

前記標的細胞が、がん性細胞である、項目 44 に記載の治療用組成物。

(項目 47)

がん性腫瘍の成長を阻害する方法であって、それを必要とする対象において、項目 39 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の治療用組成物を前記それを必要とする対象に投与することを含み、前記組成物の投与が、前記腫瘍の成長を阻害する、前記方法。

(項目 48)

前記投与が、腫瘍内または静脈内である、項目 47 に記載の方法。

(項目 49)

前記がんが、肺癌または肝臓癌である、項目 47 または 48 に記載の方法。

(項目 50)

組換え DNA 分子であって、複製可能なウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチド配列を含み、前記ポリヌクレオチド配列が、哺乳動物の RNA ポリメラーゼ II (Pol II) と結合できるプロモーター配列と作動可能に連結され、3' 接合部切断配列及び 5' 接合部切断配列と隣接し、前記 3' 接合部切断配列及び前記 5' 接合部切断配列が、異なる種類であり、前記複製可能なウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチドが、非ウイルスの起源である、前記組換え DNA 分子。

(項目 51)

前記 3' 接合部切断配列が、リボザイム配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、マイクロ RNA (miR) 標的配列、人工 miR (AmiR) 標的配列、ガイド RNA (gRNA) 標的配列、pri-miR 配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目 50 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 52)

前記 3' 接合部切断配列が、リボザイム配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、人工 miR (AmiR) 標的配列である、項目 51 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 53)

前記 3' 接合部切断配列が、マイクロ RNA (miR) 標的配列であり、前記 5' 接合部切断配列が、リボザイム配列、人工 miR (AmiR) 標的配列、ガイド RNA (gRNA) 標的配列、pri-miR 配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目 50 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 54)

前記 3' 接合部切断配列が、人工 miR (AmiR) 標的配列であり、前記 5' 接合部切

10

20

30

40

50

断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、リボザイム配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、pri-miR配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目50に記載の組換えDNA分子。

(項目55)

前記3'接合部切断配列が、ガイドRNA (gRNA) 標的配列であり、前記5'接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、人工miR (AmiR) 標的配列、リボザイム配列、pri-miR配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目50に記載の組換えDNA分子。

(項目56)

前記3'接合部切断配列が、pri-miR配列であり、前記5'接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、人工miR (AmiR) 標的配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、リボザイム配列、及びアプタザイム配列から選択される、項目50に記載の組換えDNA分子。

(項目57)

前記3'接合部切断配列が、アプタザイム配列であり、前記5'接合部切断配列が、マイクロRNA (miR) 標的配列、人工miR (AmiR) 標的配列、ガイドRNA (gRNA) 標的配列、pri-miR配列、及びリボザイム配列から選択される、項目50に記載の組換えDNA分子。

(項目58)

前記コードされたウイルスが、一本鎖RNA (ssRNA) ウイルスである、項目50~57のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目59)

前記ssRNAウイルスが、ポジティブセンス(+)センス)またはネガティブセンス(-)センス)ssRNAウイルスである、項目58に記載の組換えDNA分子。

(項目60)

前記(+)センスssRNAウイルスが、ピコルナウイルスである、項目59に記載の組換えDNA分子。

(項目61)

前記ピコルナウイルスが、Seneca Valleyウイルス(SVV)またはCoxsackieウイルスである、項目60に記載の組換えDNA分子。

(項目62)

前記組換えDNA分子が、非ウイルス送達ビヒクルによって細胞に導入されると、感染性の溶解性ウイルスを産生することができる、項目50~61のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目63)

前記組換えDNA分子が、外因性ペイロドタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列をさらに含む、項目50~62のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目64)

前記外因性ペイロドタンパク質が、蛍光タンパク質、酵素タンパク質、サイトカイン、ケモカイン、細胞表面受容体のリガンド、または細胞表面受容体と結合することができる抗原結合分子である、項目63に記載の組換えDNA分子。

(項目65)

前記サイトカインが、IL-18、IL-36、LIGHT、及びIL-2である、項目64に記載の組換えDNA分子。

(項目66)

前記細胞表面受容体のリガンドが、Flt3リガンドである、項目64に記載の組換えDNA分子。

(項目67)

前記ケモカインが、CCL21、CCL5、CXCL10、及びCCL4から選択される、項目64に記載の組換えDNA分子。

(項目 6 8)

前記抗原結合分子が、免疫チェックポイント受容体と結合して阻害することができる、項目 6 4 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 6 9)

前記免疫チェックポイント受容体が、PD 1 である、項目 6 8 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 0)

前記抗原結合分子が、DLL 3、E p C a m、及び C E A から選択される腫瘍関連抗原と結合することができる、項目 6 4 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 1)

前記抗原結合分子が、腫瘍抗原に特異的な第 1 のドメイン及び T 細胞表面分子に特異的な第 2 のドメインを含む、二重特異性 T 細胞会合分子である、項目 6 4 または項目 7 0 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 2)

前記 T 細胞表面分子が、CD 3 である、項目 7 1 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 3)

マイクロ RNA (mi RNA) 標的配列 (mi R - T S) カセットが、前記複製可能なウイルスゲノムをコードする核酸配列に挿入され、前記 mi R - T S カセットが、1 つ以上の mi RNA 標的配列を含み、細胞内の対応する mi RNA のうちの 1 つ以上の発現が、前記細胞内の前記コードされたウイルスの複製を阻害する、項目 5 0 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 4)

前記 1 つ以上の mi RNA が、mi R - 1 2 4、mi R - 1、mi R - 1 4 3、mi R - 1 2 8、mi R - 2 1 9、mi R - 2 1 9 a、mi R - 1 2 2、mi R - 2 0 4、mi R - 2 1 7、mi R - 1 3 7、及び mi R - 1 2 6 から選択される、項目 7 3 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 5)

前記 mi R - T S カセットが、mi R - 1 2 4 標的配列の 1 つ以上のコピー、mi R - 1 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び mi R - 1 4 3 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む、項目 7 3 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 6)

前記 mi R - T S カセットが、mi R - 1 2 8 標的配列の 1 つ以上のコピー、mi R - 2 1 9 a 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び mi R - 1 2 2 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む、項目 7 3 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 7)

前記 mi R - T S カセットが、mi R - 1 2 8 標的配列の 1 つ以上のコピー、mi R - 2 0 4 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び mi R - 2 1 9 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む、項目 7 3 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 8)

前記 mi R - T S カセットが、mi R - 2 1 7 標的配列の 1 つ以上のコピー、mi R - 1 3 7 標的配列の 1 つ以上のコピー、及び mi R - 1 2 6 標的配列の 1 つ以上のコピーを含む、項目 7 3 に記載の組換え DNA 分子。

(項目 7 9)

前記組換え DNA 分子が、複製可能なウイルスゲノムをコードする前記ポリヌクレオチド配列を含むプラスミドまたは Nano V である、項目 5 0 ~ 7 8 のいずれか 1 項に記載の組換え DNA 分子。

10

20

30

40

50