

【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7年2月3日(2025.2.3)

【国際公開番号】WO2022/150485
【公表番号】特表2024-503623(P2024-503623A)
【公表日】令和6年1月26日(2024.1.26)
【年通号数】公開公報(特許)2024-016
【出願番号】特願2023-541041(P2023-541041)
【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/86(2006.01)
C 1 2 N 15/11(2006.01)
A 6 1 K 35/768(2015.01)
A 6 1 K 45/00(2006.01)
A 6 1 K 39/395(2006.01)
A 6 1 K 48/00(2006.01)
A 6 1 K 31/7105(2006.01)
A 6 1 P 35/00(2006.01)
A 6 1 K 9/14(2006.01)
A 6 1 K 9/51(2006.01)
A 6 1 K 47/22(2006.01)
A 6 1 K 47/18(2017.01)
A 6 1 K 47/24(2006.01)
A 6 1 K 47/28(2006.01)
A 6 1 K 47/34(2017.01)
A 6 1 K 31/711(2006.01)
A 6 1 K 9/127(2025.01)
A 6 1 K 47/46(2006.01)
A 6 1 K 47/02(2006.01)
A 6 1 K 47/04(2006.01)
C 1 2 N 15/52(2006.01)
C 1 2 N 15/12(2006.01)
C 1 2 N 15/113(2010.01)

20

30

【F I】

C 1 2 N 15/86 Z Z N A
C 1 2 N 15/11 Z
A 6 1 K 35/768
A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 39/395 T
A 6 1 K 48/00
A 6 1 K 31/7105
A 6 1 P 35/00
A 6 1 K 9/14
A 6 1 K 9/51
A 6 1 K 47/22
A 6 1 K 47/18
A 6 1 K 47/24
A 6 1 K 47/28
A 6 1 K 47/34
A 6 1 K 31/711

40

50

A 6 1 K 9 / 1 2 7
 A 6 1 K 4 7 / 4 6
 A 6 1 K 4 7 / 0 2
 A 6 1 K 4 7 / 0 4
 C 1 2 N 1 5 / 5 2 Z
 C 1 2 N 1 5 / 1 2
 C 1 2 N 1 5 / 1 1 3 Z

【手続補正書】

【提出日】令和6年12月25日(2024.12.25)

10

【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】

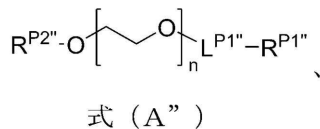
【請求項1】

脂質ナノ粒子(LNP)であって、

a. 腫瘍溶解性ウイルスをコードする合成RNAウイルスゲノム、ならびに

b. カチオン性脂質、ヘルパー脂質、構造脂質、及びPEG脂質を含み、前記PEG脂質が、式(A'')の化合物： 20

【化108】



またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

nは、すべての端点を含む10～200の整数であり、

30

$L^{P1''}$ は結合、 $-\left[(CH_2)_{0-3}-C(O)O\right]_{1-3}-$ 、 $-(CH_2)_{0-3}-C(O)O-(CH_2)_{1-3}-OC(O)-$ 、または $-C(O)N(H)-$ であり、

$R^{P1''}$ は、 C_5-C_{25} アルキルまたは C_5-C_{25} アルケニルであり、

$R^{P2''}$ は水素または $-CH_3$ であり、

前記LNPが、約0.001%～約5%のPEG脂質のモル比を有する、

前記脂質ナノ粒子(LNP)。

【請求項2】

$L^{P1''}$ は結合である、請求項1に記載のLNP。

【請求項3】

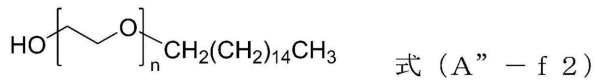
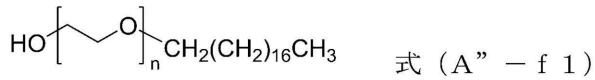
$R^{P2''}$ は水素である、請求項1または2に記載のLNP。

40

【請求項4】

前記PEG脂質は、式(A''-f1)、式(A''-f2)、もしくは式(A''-f3)の化合物：

【化 1 0 9】



10

またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 に記載の LNP。

【請求項 5】

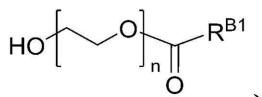
脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

- a. 腫瘍溶解性ウイルスをコードする合成 RNA ウイルスゲノム、ならびに
- b. カチオン性脂質、ヘルパー脂質、構造脂質、及び PEG 脂質を含み、前記 PEG 脂質が、

式 (B) の化合物：

【化 1 1 1】

20



式 (B)

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む 10 ～ 200 の整数であり、

R^{B1} は、C₅ - C₂₅ アルキルまたは C₅ - C₂₅ アルケニルであり、

前記 LNP が、約 0.001 % ～ 約 5 % の PEG 脂質のモル比を有する、

前記脂質ナノ粒子 (LNP)。

30

【請求項 6】

前記 LNP が、式 (A'') または式 (B) の前記 PEG 脂質を欠いている対照 LNP と比較して低減した免疫応答を *in vivo* で誘導し、場合により、前記対照 LNP 中の PEG 脂質は PEG 2K-DPG または PEG 2K-DMG である、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の LNP。

【請求項 7】

前記免疫応答が、前記 LNP の加速血液クリアランス (ABC) 及び／または抗 PEG IgM 応答である、請求項 6 に記載の LNP。

【請求項 8】

前記カチオン性脂質が COATSOME (登録商標) SS-OC であり、前記構造脂質がコレステロールであり、前記ヘルパー脂質が DSPC であり、前記 PEG 脂質が BRIJ (商標) S100 である、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の LNP。

40

【請求項 9】

前記腫瘍溶解性ウイルスが、コクサッキーウイルスまたはセネカバレーウイルス (SVV) である、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の LNP。

【請求項 10】

前記腫瘍溶解性ウイルスが前記コクサッキーウイルスであり、前記合成 RNA ウイルスゲノムが配列番号 5 との少なくとも 95 % または 100 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含み、前記 LNP が COATSOME (登録商標) SS-OC (SS-OC)、1, 2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DSPC)、コレ

50

ステロール（C h o l）、およびB R I J（商標）S 1 0 0を含み、S S - O C : D S P C : C h o l : B R I J（商標）S 1 0 0の比率（総脂質含有量に占めるパーセンテージとして）がA : B : C : Dであり、 $A + B + C + D = 100\%$ であり、 $A = 40\% \sim 60\%$ 、 $B = 10\% \sim 25\%$ 、 $C = 20\% \sim 30\%$ 、及び $D = 0.01\% \sim 3\%$ である、請求項9に記載のL N P。

【請求項11】

前記腫瘍溶解性ウイルスが前記セネカバレーウイルス（S V V）であり、前記合成RNAウイルスゲノムが配列番号68との少なくとも95%または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含み、前記L N PがC O A T S O M E（登録商標）S S - O C（S S - O C）、1, 2-ジステアロイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（D S P C）、コレステロール（C h o l）、およびB R I J（商標）S 1 0 0を含み、S S - O C : D S P C : C h o l : B R I J（商標）S 1 0 0の比率（総脂質含有量に占めるパーセンテージとして）がA : B : C : Dであり、 $A + B + C + D = 100\%$ であり、 $A = 40\% \sim 60\%$ 、 $B = 10\% \sim 25\%$ 、 $C = 20\% \sim 30\%$ 、及び $D = 0.01\% \sim 3\%$ である、請求項9に記載のL N P。

【請求項12】

腫瘍溶解性コクサッキーウイルスをコードする合成RNAウイルスゲノムを含む脂質ナノ粒子（L N P）であって、前記コクサッキーウイルスが、E F株、及びK Y株から選択されるC V A 2 1株である、前記脂質ナノ粒子（L N P）。

【請求項13】

前記コクサッキーウイルスがC V A 2 1-K Y株であり、前記C V A 2 1-K Y株が、配列番号5との少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、請求項12に記載のL N P。

【請求項14】

前記コクサッキーウイルスがC V A 2 1-E F株であり、前記C V A 2 1-E F株が、配列番号9との少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、請求項12に記載のL N P。

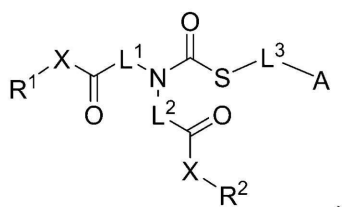
【請求項15】

前記L N Pが、カチオン性脂質、ヘルパー脂質、構造脂質、及びP E G脂質を含む、請求項12～14のいずれか1項に記載のL N P。

【請求項16】

前記カチオン性脂質が、式（I）の化合物：

【化101】



式（I）

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であり、式中、

Aは、 $-N(CH_2R^{N1})(CH_2R^{N2})$ 、または少なくとも1つのNを含む4～7員ヘテロシクリル環であり、前記4～7員ヘテロシクリル環は、0～6つの R^3 で場合により置換されており、

各Xは、独立的に、 $-O-$ 、 $-N(R^1)-$ 、または $-N(R^2)-$ であり、

R^1 は、場合により置換されている C_{1-31} 脂肪族及びステロイジルからなる群か

ら選択され、

R^2 は、場合により置換されている $C_1 - C_{31}$ 脂肪族及びステロイジルからなる群から選択され、

R^3 は、場合により置換されている $C_1 - C_6$ 脂肪族であり、

R^{N1} 及び R^{N2} は、各々独立的に、水素、ヒドロキシ- $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_2 - C_6$ アルケニル、または $C_3 - C_7$ シクロアルキルであり、

L^1 は、場合により置換されている $C_1 - C_{20}$ アルキレン鎖、及び二価で場合により置換されている $C_2 - C_{20}$ アルケニレン鎖からなる群から選択され、

L^2 は、場合により置換されている $C_1 - C_{20}$ アルキレン鎖、及び二価で場合により置換されている $C_2 - C_{20}$ アルケニレン鎖からなる群から選択され、

L^3 は結合、場合により置換されている $C_1 - C_6$ アルキレン鎖、または二価で場合により置換されている $C_3 - C_7$ シクロアルキレンであるが、

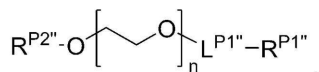
ただし、 A が $-N(CH_3)(CH_3)$ であり、 X が O であるとき、 L^3 は $C_1 - C_6$ アルキレン鎖ではないことを条件とする、

請求項 15 に記載の LNP。

【請求項 17】

前記 PEG 脂質が、式 (A'') の化合物：

【化 104】



式 (A'')

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む 10 ~ 200 の整数であり、

$L^{P1''}$ は結合、 $-\left[(CH_2)_0-3-C(O)O\right]_{1-3}-$ 、 $-(CH_2)_0-3-C(O)O-(CH_2)_1-3-OC(O)-$ 、または $-C(O)N(H)-$ であり、

$R^{P1''}$ は、 $C_5 - C_{25}$ アルキルまたは $C_5 - C_{25}$ アルケニルであり、

$R^{P2''}$ は水素または $-CH_3$ であり、

前記 LNP が、約 0.001 % ~ 約 5 % の PEG 脂質のモル比を有する、

請求項 15 または 16 に記載の LNP。

【請求項 18】

$L^{P1''}$ は結合である、請求項 17 に記載の LNP。

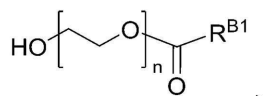
【請求項 19】

$R^{P2''}$ は水素である、請求項 17 または 18 に記載の LNP。

【請求項 20】

前記 PEG 脂質が、式 (B) の化合物：

【化 105】



式 (B)

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む 10 ~ 200 の整数であり、

R^{B1} は、 $C_5 - C_{25}$ アルキルまたは $C_5 - C_{25}$ アルケニルであり、

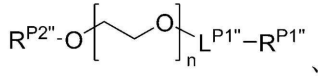
前記 LNP が、約 0.001 % ~ 約 5 % の PEG 脂質のモル比を有する、

請求項 15 または 16 に記載の LNP。

【請求項 2 1】

前記カチオン性脂質が C O A T S O M E（登録商標）S S - O C を含み、前記ヘルパー脂質が D S P C を含み、前記構造脂質がコレステロール（C h o l）を含み、前記 P E G 脂質が、式（A''）の化合物：

【化 1 0 6】



式（A''）

10

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む 1 0 ～ 2 0 0 の整数であり、

L^{P 1''} は結合であり、

R^{P 1''} は、C₅ - C₂₅ アルキルまたは C₅ - C₂₅ アルケニルであり、

R^{P 2''} は水素であり、

前記 L N P が、約 0 . 0 0 1 % ～ 約 5 % の P E G 脂質のモル比を有する、

請求項 1 5 に記載の L N P。

【請求項 2 2】

前記 P E G 脂質が、B R I J（商標）S 1 0 0、B R I J（商標）S 2 0、B R I J（商標）O 2 0、及び B R I J（商標）C 2 0 からなる群から選択される、請求項 1 5 ～ 1 9 及び 2 1 のいずれか 1 項に記載の L N P。

20

【請求項 2 3】

前記 P E G 脂質が B R I J（商標）S 1 0 0 である、請求項 2 2 に記載の L N P。

【請求項 2 4】

請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の複数の脂質ナノ粒子を含む医薬組成物。

【請求項 2 5】

前記複数の L N P が、約 5 0 n m ～ 約 1 2 0 n m の平均直径を有する、請求項 2 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 6】

前記組成物が、前記式（A''）の P E G 脂質及び／または式（I）のイオン化可能な脂質を欠いている組成物のものよりも長い i n v i v o 治療効果持続期間を有する、請求項 2 4 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

30

【請求項 2 7】

前記組成物が複数投与用に製剤化されている、請求項 2 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 8】

がん性細胞を殺傷する i n v i t r o の方法であって、前記がん性細胞を、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の L N P、または請求項 2 4 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物に、前記粒子を前記がん性細胞に細胞内送達するのに十分な条件下で曝露することを含み、カプセル化ポリヌクレオチドによって産生される前記複製可能なウイルスが、前記がん性細胞の殺傷をもたらす、前記方法。

40

【請求項 2 9】

がん罹患している対象のがんを処置するための、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の L N P を含む組成物、または請求項 2 4 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 0】

前記組成物が、前記対象に繰り返し投与されることを特徴とする、請求項 2 9 に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 3 1】

前記がんが、肺癌、乳癌、結腸癌、または膵臓癌であり、前記合成 R N A ウイルスゲノムが、K Y 株に由来するポリヌクレオチド配列を含む、請求項 2 9 ～ 3 0 のいずれかに記

50

載の組成物または医薬組成物。

【請求項 3 2】

前記がんが、膀胱癌、腎細胞癌、卵巣癌、胃癌または肝臓癌であり、前記合成 RNA ウイルスゲノムが、EF 株に由来するポリヌクレオチド配列を含む、請求項 2 9 ～ 3 0 のいずれかに記載の組成物または医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 9 5 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 9 5 9】

本開示の好適な実施形態が本明細書に示され記載されたが、そのような実施形態は、ほんの一例として提供されることが当業者に自明であろう。当業者は、多数の変化形、変更、及び置換を本開示から逸脱することなく想定するであろう。本明細書に記載される本開示の実施形態に対する種々の代替手段が、本開示の実施において採用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲が本開示の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲に含まれる方法及び構造、ならびにそれらの均等物が、それにより包含されることが意図される。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目 1)

腫瘍溶解性コクサッキーウイルスウイルスをコードする合成 RNA ウイルスゲノムを含む脂質ナノ粒子 (LNP) であって、前記コクサッキーウイルスが、K u y k e n d a l l 株、EF 株、及び KY 株から選択される C V A 2 1 株である、前記脂質ナノ粒子 (LNP)。

(項目 2)

前記コクサッキーウイルスが C V A 2 1 - K Y 株であり、前記 C V A 2 1 - K Y 株が、配列番号 5 との少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載の LNP。

(項目 3)

前記コクサッキーウイルスが C V A 2 1 - E F 株であり、前記 C V A 2 1 - E F 株が、配列番号 9 との少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載の LNP。

(項目 4)

前記コクサッキーウイルスが、配列番号 6 または 1 0 との少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有する 5 ' U T R (I R E S) 配列を含む、項目 1 に記載の LNP。

(項目 5)

前記コクサッキーウイルスが、配列番号 7 または 1 1 との少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有する P 1 配列を含む、項目 1 に記載の LNP。

(項目 6)

前記コクサッキーウイルスが、配列番号 8 または 1 2 との少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有する 3 D 配列を含む、項目 1 に記載の LNP。

(項目 7)

前記合成 RNA ウイルスゲノムが、配列番号 1 との 9 5 % 超、9 0 % 超、8 5 % 超、または 8 0 % 超の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含まない、項目 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の LNP。

10

20

30

40

50

(項目 8)

腫瘍溶解性セネカバレーウイルス (SVV) をコードする合成 RNA ウイルスゲノムを含む脂質ナノ粒子 (LNP) であって、前記合成 RNA ウイルスゲノムが、配列番号 68 との少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または 100 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、前記脂質ナノ粒子 (LNP)。

(項目 9)

前記合成 RNA ウイルスゲノムが、配列番号 68 の核酸 1 ~ 670 との少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または 100 % の配列同一性を有する 5' UTR (IRES) 配列を含む、項目 8 に記載の LNP。

10

(項目 10)

前記合成 RNA ウイルスゲノムが、S177A 変異を含む SVV VP2 タンパク質をコードする、項目 8 または 9 に記載の LNP。

(項目 11)

前記 LNP を細胞に送達すると、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 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 12)

前記合成 RNA ウイルスゲノムが、外因性ペイロードタンパク質をコードする異種ポリヌクレオチドをさらに含む、項目 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の LNP。

20

(項目 13)

外因性ペイロードタンパク質をコードする第 2 の組換え RNA 分子をさらに含む、項目 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 14)

前記外因性ペイロードタンパク質が、MLKL 4 HBD メイン、ガスダーミン D N 末端断片、ガスダーミン E N 末端断片、HMGB1 Box B ドメイン、SMAC / Diablo、メリチン、L-アミノ酸オキシダーゼ (LAO)、ディスインテグリン、TRAIL (TNFSF10)、ニトロレダクターゼ、レオウイルス FAST タンパク質、レプチン / FOSL2、 α -1, 3-ガラクトシルトランスフェラーゼ、またはアデノシンデアミナーゼ 2 (ADA2) を含むまたはそれらからなる、項目 12 または 13 に記載の LNP。

30

(項目 15)

前記ニトロレダクターゼが、NfsB または NfsA である、項目 14 に記載の LNP。

(項目 16)

前記レオウイルス FAST タンパク質が、ARV p14、BRV p15、または p14-p15 ハイブリッドである、項目 14 に記載の LNP。

(項目 17)

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、細胞表面受容体に結合することができる抗原結合分子、または細胞表面受容体のリガンドである、項目 12 または 13 に記載の LNP。

40

(項目 18)

a) 前記サイトカインが、GM-CSF、IFN γ 、IL-2、IL-7、IL-12、IL-18、IL-21、及び IL-36 γ から選択されるか、

b) 前記細胞表面受容体のリガンドが、Flt3 リガンドもしくは TNFSF14 であるか、または

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

項目 17 に記載の LNP。

(項目 19)

前記抗原結合分子が、免疫チェックポイント受容体に結合してそれを阻害することがで

50

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であり、式中、
 A は、 $-N(CH_2R^{N1})(CH_2R^{N2})$ 、または少なくとも 1 つの N を含む 4 ～ 7 員ヘテロシクリル環であり、前記 4 ～ 7 員ヘテロシクリル環は、0 ～ 6 つの R^3 で場合により置換されており、

各 X は、独立的に、 $-O-$ 、 $-N(R^1)-$ 、または $-N(R^2)-$ であり、

R^1 は、場合により置換されている C_1-C_{31} 脂肪族及びステロイジルからなる群から選択され、

R^2 は、場合により置換されている C_1-C_{31} 脂肪族及びステロイジルからなる群から選択され、

R^3 は、場合により置換されている C_1-C_6 脂肪族であり、

R^{N1} 及び R^{N2} は、各々独立的に、水素、ヒドロキシ- C_1-C_6 アルキル、 C_2-C_6 アルケニル、または C_3-C_7 シクロアルキルであり、

L^1 は、場合により置換されている C_1-C_{20} アルキレン鎖、及び二価で場合により置換されている C_2-C_{20} アルケニレン鎖からなる群から選択され、

L^2 は、場合により置換されている C_1-C_{20} アルキレン鎖、及び二価で場合により置換されている C_2-C_{20} アルケニレン鎖からなる群から選択され、

L^3 は結合、場合により置換されている C_1-C_6 アルキレン鎖、または二価で場合により置換されている C_3-C_7 シクロアルキレンであるが、

ただし、 A が $-N(CH_3)(CH_3)$ であり、 X が O であるとき、 L^3 は C_1-C_6 アルキレン鎖ではないことを条件とする、

項目 28 に記載の LNP。

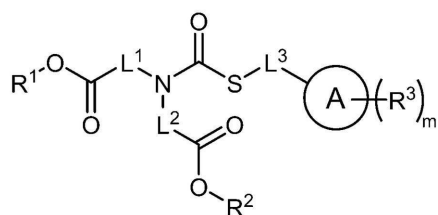
(項目 30)

チオレート of S と A に含まれる最も近い N との間の炭素原子の数が 2 ～ 4 である、項目 29 に記載の LNP。

(項目 31)

前記カチオン性脂質が、式 (I-a) の化合物：

【化 102】



式 (I-a)

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であり、式中、

m は 0、1、2、3、4、5、または 6 である、

項目 29 または 30 に記載の LNP。

(項目 32)

A が、場合により置換されている 5 ～ 6 員ヘテロシクリル環である、項目 29 ～ 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、

10

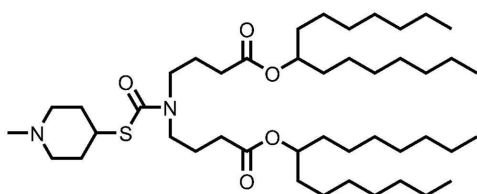
20

30

40

50

【化 1 0 3】



またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、項目 2 9 に記載の L N P。
(項目 3 4)

前記カチオン性脂質が、D L i n D M A、D L i n - K C 2 - D M A、D L i n - M C 3 - D M A (M C 3)、C O A T S O M E (登録商標) S S - L C (旧名：S S - 1 8 / 4 P E - 1 3)、C O A T S O M E (登録商標) S S - E C (旧名：S S - 3 3 / 4 P E - 1 5)、C O A T S O M E (登録商標) S S - O C、C O A T S O M E (登録商標) S S - O P、ジ ((Z) - ノナ - 2 - エン - 1 - イル) 9 - ((4 - ジメチルアミノ) ブタノイル) オキシ) ヘプタデカンジオエート (L - 3 1 9)、または N - (2 , 3 - ジオレオイルオキシ) プロピル) - N , N , N - トリメチルアンモニウムクロリド (D O T A P) から選択される、項目 2 8 に記載の L N P。

(項目 3 5)

前記ヘルパー脂質が、1 , 2 - ジステアロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D S P C)、1 , 2 - ジラウロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (D L P E)、1 , 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D O P C)、及び 1 , 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (D O P E) から選択される、項目 2 8 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の L N P。

(項目 3 6)

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 (D O T A P) であり、前記ヘルパー脂質が、1 , 2 - ジラウロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (D L P E) または 1 , 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (D O P E) である、項目 2 8 に記載の L N P。

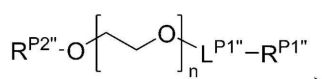
(項目 3 7)

前記構造脂質がコレステロールである、項目 2 8 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の L N P。

(項目 3 8)

前記 P E G 脂質が、式 (A ”) の化合物：

【化 1 0 4】



式 (A ”)

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む 1 0 ~ 2 0 0 の整数であり、

L^{P 1} ”は結合、- [(C H₂)_{0 - 3} - C (O) O]_{1 - 3} -、- (C H₂)_{0 - 3} - C (O) O - (C H₂)_{1 - 3} - O C (O) -、または - C (O) N (H) - であり、

R^{P 1} ”は、C₅ - C₂₅ アルキルまたは C₅ - C₂₅ アルケニルであり、

R^{P 2} ”は水素または - C H₃ であり、

前記 L N P が、約 0 . 0 0 1 % ~ 約 5 % の P E G 脂質のモル比を有する、

項目 2 8 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の L N P。

(項目 3 9)

L^{P1}は結合、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})-$ 、または $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})-$ である、項目38に記載のLNP。

(項目40)

L^{P1}は結合である、項目38に記載のLNP。

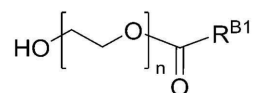
(項目41)

R^{P2}は水素である、項目38～40のいずれか1項に記載のLNP。

(項目42)

前記PEG脂質が、式(B)の化合物：

【化105】



式(B)

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

nは、すべての端点を含む10～200の整数であり、

R^{B1}は、C₅～C₂₅アルキルまたはC₅～C₂₅アルケニルであり、

前記LNPが、約0.001%～約5%のPEG脂質のモル比を有する、

項目28～37のいずれか1項に記載のLNP。

(項目43)

前記PEG脂質が、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-N-[アミノ(ポリエチレングリコール)](DSPE-PEG)、1,2-ジパルミトイル-rac-グリセロールメトキシポリエチレングリコール(DPG-PEG)、1,2-ジステアロイル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン(DSG-PEG)、1,2-ジステアロイル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン(DSG-PEG)、1,2-ジミリス托イル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン(DMG-PEG)、及び1,2-ジミリス托イル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン(DMG-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)から選択される、項目28～37のいずれか1項に記載のLNP。

(項目44)

前記PEG脂質が、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-N-[アミノ(ポリエチレングリコール)-5000](DSPE-PEG5K)、1,2-ジパルミトイル-rac-グリセロールメトキシポリエチレングリコール-2000(DPG-PEG2K)、1,2-ジステアロイル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン-5000(DSG-PEG5K)、1,2-ジステアロイル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン-2000(DSG-PEG2K)、1,2-ジミリス托イル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン-5000(DMG-PEG5K)、及び1,2-ジミリス托イル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン-2000(DMG-PEG2K)から選択される、項目28～37のいずれか1項に記載のLNP。

(項目45)

前記カチオン性脂質がCOATSOME(登録商標)SS-OCを含み、前記ヘルパー脂質がDSPCを含み、前記構造脂質がコレステロール(Chol)を含み、前記PEG脂質がDPG-PEG2000を含む、項目28に記載のLNP。

(項目46)

前記カチオン性脂質がCOATSOME(登録商標)SS-OCを含み、前記ヘルパー

10

20

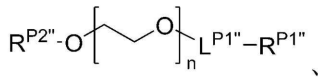
30

40

50

脂質が DSPC を含み、前記構造脂質が コレステロール (Chol) を含み、前記 PEG 脂質が、式 (A'') の化合物：

【化 106】



式 (A'')

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む 10～200 の整数であり、

L^{P1''} は結合であり、

R^{P1''} は、C₅～C₂₅ アルキルまたは C₅～C₂₅ アルケニルであり、

R^{P2''} は水素であり、

前記 LNP が、約 0.001%～約 5% の PEG 脂質のモル比を有する、

項目 28 に記載の LNP。

(項目 47)

前記 PEG 脂質が、BRIJ (商標) S100、BRIJ (商標) S20、BRIJ (商標) O20、及び BRIJ (商標) C20 からなる群から選択される、項目 28～37 及び 46 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 48)

前記 PEG 脂質が BRIJ (商標) S100 である、項目 28～37 及び 46 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 49)

SS-OC : DSPC : Chol : PEG 脂質の比率 (総脂質含有量に占めるパーセンテージとして) が A : B : C : D であり、A + B + C + D = 100% であり、

a. A = 40%～60%、B = 10%～25%、C = 20%～30%、及び D = 0.01%～3%、

b. A = 45%～50%、B = 20%～25%、C = 25%～30%、及び D = 0.01%～1%、または

c. A = 約 49%、B = 約 22%、C = 約 28%、及び D = 約 0.5% である、項目 45～48 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 50)

SS-OC : DSPC : Chol : PEG 脂質の比率 (総脂質含有量に占めるパーセンテージとして) が A : B : C : D であり、A + B + C + D = 100% であり、

a. A = 40%～60%、B = 10%～30%、C = 20%～45%、及び D = 0%～3%、

b. A = 40%～60%、B = 10%～30%、C = 25%～45%、及び D = 0.01%～3%、

c. A = 45%～55%、B = 10%～20%、C = 30%～40%、及び D = 1%～2%、

d. A = 45%～50%、B = 10%～15%、C = 35%～40%、及び D = 1%～2%、または

e. A = 約 49%、B = 約 11%、C = 約 38%、及び D = 約 1.5% である、項目 45～48 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 51)

SS-OC : DSPC : Chol : PEG 脂質の比率 (総脂質含有量に占めるパーセンテージとして) が約 A : B : C : D であり、A + B + C + D = 100% であり、

a. A = 45%～65%、B = 5%～20%、C = 20%～45%、及び D = 0%～3%、

10

20

30

40

50

b. $A = 50\% \sim 60\%$ 、 $B = 5\% \sim 15\%$ 、 $C = 30\% \sim 45\%$ 、及び $D = 0.01\% \sim 3\%$ 、

c. $A = 55\% \sim 60\%$ 、 $B = 5\% \sim 15\%$ 、 $C = 30\% \sim 40\%$ 、及び $D = 1\% \sim 2\%$ 、

d. $A = 55\% \sim 60\%$ 、 $B = 5\% \sim 10\%$ 、 $C = 30\% \sim 35\%$ 、及び $D = 1\% \sim 2\%$ 、または

e. $A = \text{約 } 58\%$ 、 $B = \text{約 } 7\%$ 、 $C = \text{約 } 33\%$ 、及び $D = \text{約 } 1.5\%$ である、
項目 45～48 のいずれか 1 項に記載の LNP。

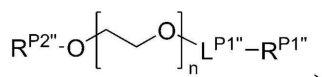
(項目 52)

脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

a. セネカバレーウイルス (SVV) をコードする合成 RNA ウイルスゲノム、ならびに

b. カチオン性脂質、ヘルパー脂質、構造脂質、及び PEG 脂質を含み、前記 PEG 脂質が、式 (A'') の化合物：

【化 107】



式 (A'')

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む $10 \sim 200$ の整数であり、

$L^{P1''}$ は結合、 $-\left[(CH_2)_{0-3}-C(O)O\right]_{1-3}-$ 、 $-(CH_2)_{0-3}-C(O)O-(CH_2)_{1-3}-OC(O)-$ 、または $-C(O)N(H)-$ であり、

$R^{P1''}$ は、 C_5-C_{25} アルキルまたは C_5-C_{25} アルケニルであり、

$R^{P2''}$ は水素または $-CH_3$ であり、

前記 LNP が、約 $0.001\% \sim \text{約 } 5\%$ の PEG 脂質のモル比を有する、

前記脂質ナノ粒子 (LNP)。

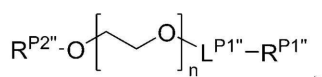
(項目 53)

脂質ナノ粒子 (LNP) であって、

a. コクサッキーウイルスをコードする合成 RNA ウイルスゲノム、ならびに

b. カチオン性脂質、ヘルパー脂質、構造脂質、及び PEG 脂質を含み、前記 PEG 脂質が、式 (A'') の化合物：

【化 108】



式 (A'')

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む $10 \sim 200$ の整数であり、

$L^{P1''}$ は結合、 $-\left[(CH_2)_{0-3}-C(O)O\right]_{1-3}-$ 、 $-(CH_2)_{0-3}-C(O)O-(CH_2)_{1-3}-OC(O)-$ 、または $-C(O)N(H)-$ であり、

$R^{P1''}$ は、 C_5-C_{25} アルキルまたは C_5-C_{25} アルケニルであり、

$R^{P2''}$ は水素または $-CH_3$ であり、

前記 LNP が、約 $0.001\% \sim \text{約 } 5\%$ の PEG 脂質のモル比を有する、

前記脂質ナノ粒子 (LNP)。

(項目 54)

10

20

30

40

50

R¹は、C₁₆－C₁₈アルキルまたはC₁₆－C₁₈アルケニルである、項目52または53に記載のLNP。

(項目55)

L^{P1}は結合、－CH₂C(O)O－、－CH₂CH₂C(O)O－、－CH₂C(O)OCH₂C(O)O－、－CH₂C(O)OCH₂CH₂OC(O)－、または－C(O)N(H)－である、項目52～54のいずれか1項に記載のLNP。

(項目56)

L^{P1}は結合である、項目52～54のいずれか1項に記載のLNP。

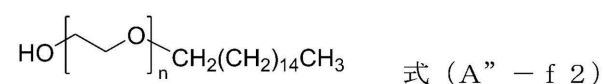
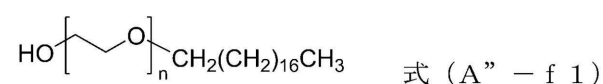
(項目57)

R^{P2}は水素である、項目52～56のいずれか1項に記載のLNP。

(項目58)

前記PEG脂質は、式(A''－f1)、式(A''－f2)、もしくは式(A''－f3)の化合物：

【化109】



またはその薬学的に許容される塩である、項目52または53に記載の方法。

(項目59)

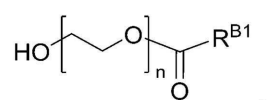
脂質ナノ粒子(LNP)であって、

a. セネカバレーウイルス(SVV)をコードする合成RNAウイルスゲノム、ならびに

b. カチオン性脂質、ヘルパー脂質、構造脂質、及びPEG脂質を含み、前記PEG脂質が、

式(B)の化合物：

【化110】



式(B)

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

nは、すべての端点を含む10～200の整数であり、

R^{B1}は、C₅－C₂₅アルキルまたはC₅－C₂₅アルケニルであり、

前記LNPが、約0.001%～約5%のPEG脂質のモル比を有する、

前記脂質ナノ粒子(LNP)。

(項目60)

脂質ナノ粒子(LNP)であって、

a. コクサッキーウイルスをコードする合成RNAウイルスゲノム、ならびに

b. カチオン性脂質、ヘルパー脂質、構造脂質、及びPEG脂質を含み、前記PEG脂質が、

式(B)の化合物：

10

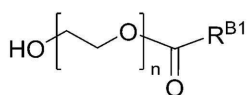
20

30

40

50

【化 1 1 1】



式 (B)

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

n は、すべての端点を含む 10～200 の整数であり、

$\text{R}^{\text{B}1}$ は、 $\text{C}_5 - \text{C}_{25}$ アルキルまたは $\text{C}_5 - \text{C}_{25}$ アルケニルであり、

前記 LNP が、約 0.001%～約 5% の PEG 脂質のモル比を有する、

前記脂質ナノ粒子 (LNP)。

10

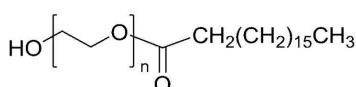
(項目 6 1)

R^1 は、 $\text{C}_{15} - \text{C}_{17}$ アルキルまたは $\text{C}_{15} - \text{C}_{17}$ アルケニルである、項目 5 9 または 6 0 に記載の LNP。

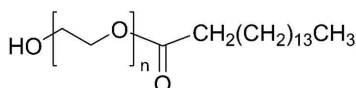
(項目 6 2)

前記 PEG 脂質は、式 (B-a) もしくは式 (B-b) の化合物：

【化 1 1 2】



式 (B-a)



式 (B-b)

20

またはその薬学的に許容される塩である、項目 5 9 または 6 0 に記載の LNP。

(項目 6 3)

n は、平均で約 20、約 40、約 50、または約 100 である、項目 5 2～6 2 のいずれか 1 項に記載の LNP。

30

(項目 6 4)

n は、平均で約 100 である、項目 5 2～6 2 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 6 5)

前記 PEG 脂質が、約 200 ダルトン～約 10,000 ダルトン、約 500 ダルトン～約 7,000 ダルトン、または約 800 ダルトン～約 6,000 ダルトンの平均分子量を有する PEG 部分を含む、項目 5 2～6 4 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 6 6)

前記 PEG 脂質が、 $\text{HO}-\text{PEG}100-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}20-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}20-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}20-\text{C}_{18}\text{H}_{35}$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}100-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}50-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}40-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}100-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$ 、 $\text{HO}-\text{PEG}40-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$ 、及び $\text{HO}-\text{PEG}50-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$ からなる群から選択される、項目 5 2～6 5 のいずれか 1 項に記載の LNP。

40

(項目 6 7)

前記 LNP が、前記式 (A'') の PEG 脂質及び／または式 (I) のイオン化可能な脂質を欠いている対照 LNP と比較して低減した免疫応答を *in vivo* で誘導し、場合により、前記対照 LNP 中の PEG 脂質は PEG2K-DPG または PEG2K-DMG である、項目 5 2～6 6 のいずれか 1 項に記載の LNP。

50

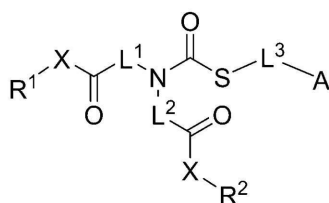
(項目 68)

前記免疫応答が、前記 LNP の加速血液クリアランス (ABC) 及び／または抗 PEG IgM 応答である、項目 67 に記載の LNP。

(項目 69)

前記カチオン性脂質が、式 (I) の化合物：

【化 113】



式 (I)

10

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であり、式中、

A は、 $-N(CH_2R^{N1})(CH_2R^{N2})$ 、または少なくとも 1 つの N を含む 4 ～ 7 員ヘテロシクリル環であり、前記 4 ～ 7 員ヘテロシクリル環は、0 ～ 6 つの R^3 で場合により置換されており、

各 X は、独立的に、 $-O-$ 、 $-N(R^1)-$ 、または $-N(R^2)-$ であり、

R^1 は、場合により置換されている $C_{1-C_{31}}$ 脂肪族及びステロイジルからなる群から選択され、

R^2 は、場合により置換されている $C_{1-C_{31}}$ 脂肪族及びステロイジルからなる群から選択され、

R^3 は、場合により置換されている C_{1-C_6} 脂肪族であり、

R^{N1} 及び R^{N2} は、各々独立的に、水素、ヒドロキシ- C_{1-C_6} アルキル、 C_{2-C_6} アルケニル、または C_{3-C_7} シクロアルキルであり、

L^1 は、場合により置換されている $C_{1-C_{20}}$ アルキレン鎖、及び二価で場合により置換されている $C_{2-C_{20}}$ アルケニレン鎖からなる群から選択され、

L^2 は、場合により置換されている $C_{1-C_{20}}$ アルキレン鎖、及び二価で場合により置換されている $C_{2-C_{20}}$ アルケニレン鎖からなる群から選択され、

L^3 は結合、場合により置換されている C_{1-C_6} アルキレン鎖、または二価で場合により置換されている C_{3-C_7} シクロアルキレンであるが、

ただし、A が $-N(CH_3)(CH_3)$ であり、X が O であるとき、 L^3 は C_{1-C_6} アルキレン鎖ではないことを条件とする、

項目 52 ～ 68 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 70)

チオレート of S と A に含まれる最も近い N との間の炭素原子の数が 2 ～ 4 である、項目 69 に記載の LNP。

(項目 71)

前記カチオン性脂質が、式 (I-a) の化合物：

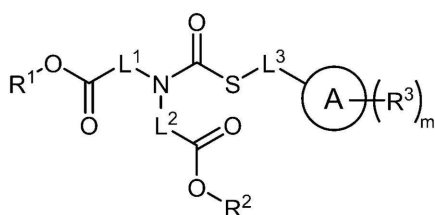
20

30

40

50

【化 1 1 4】



式 (I-a)

10

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物であり、式中、

m は 0、1、2、3、4、5、または 6 である、

項目 69 または 70 に記載の LNP。

(項目 72)

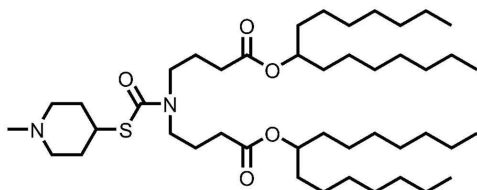
A が、場合により置換されている 5～6 員ヘテロシクリル環である、項目 69～71 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 73)

前記カチオン性脂質が、

【化 1 1 5】

20



またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、項目 69 に記載の LNP。

(項目 74)

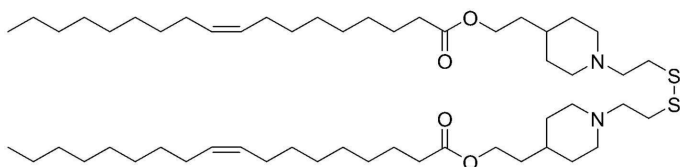
前記カチオン性脂質が、DLinDMA、DLin-KC2-DMA、DLin-MC3-DMA (MC3)、COATSOME (登録商標) SS-LC (旧名：SS-18 / 4PE-13)、COATSOME (登録商標) SS-EC (旧名：SS-33 / 4PE-15)、COATSOME (登録商標) SS-OC、COATSOME (登録商標) SS-OP、ジ((Z)-ノナ-2-エン-1-イル)9-((4-ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート(L-319)、N-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド(DOTAP)、またはそれらの混合物から選択される、項目 52～68 のいずれか 1 項に記載の LNP。

(項目 75)

前記カチオン性脂質が、式 (II-1a) の化合物：

【化 1 1 6】

40



式 (II-1a)、

または式 (II-2a) の化合物：

50

式 (11-2a)

10

20

30

40

50

3 CH₃、HO-PEG100-C(O)-CH₂(CH₂)₁₅CH₃、HO-PEG40-C(O)-CH₂(CH₂)₁₅CH₃、及びHO-PEG50-C(O)-CH₂(CH₂)₁₅CH₃から選択されるPEG脂質とを含み、式(II-1a)の化合物：コレステロール：DSPC：PEG脂質のモル比が、49：27.5：22：1.5である、項目52～81のいずれか1項に記載のLNP。

(項目84)

前記LNPが、式(II-1a)の化合物と、コレステロールと、DSPCと、HO-PEG100-CH₂(CH₂)₁₆CH₃、HO-PEG20-CH₂(CH₂)₁₆CH₃、HO-PEG20-CH₂(CH₂)₁₄CH₃、HO-PEG20-C₁₈H₃₅、HO-PEG100-C(O)-CH₂(CH₂)₁₃CH₃、HO-PEG50-C(O)-CH₂(CH₂)₁₃CH₃、HO-PEG40-C(O)-CH₂(CH₂)₁₃CH₃、HO-PEG100-C(O)-CH₂(CH₂)₁₅CH₃、HO-PEG40-C(O)-CH₂(CH₂)₁₅CH₃、及びHO-PEG50-C(O)-CH₂(CH₂)₁₅CH₃から選択されるPEG脂質とを含み、式(II-1a)の化合物：コレステロール：DSPC：PEG脂質のモル比が、49：38.5：11：1.5である、項目52～81のいずれか1項に記載のLNP。

(項目85)

前記LNPが、約1～約25の脂質窒素対リン酸(N:P)比を有する、項目52～84のいずれか1項に記載のLNP。

(項目86)

前記LNPが、約14のN:P比を有する、項目52～85のいずれか1項に記載のLNP。

(項目87)

ヒアルロン酸が、前記LNPの表面にコンジュゲートされている、項目1～86のいずれか1項に記載のLNP。

(項目88)

項目1～87のいずれか1項に記載の複数の脂質ナノ粒子を含む医薬組成物。

(項目89)

前記複数のLNPが、約50nm～約500nm、約150nm～約500nm、約200nm～約500nm、約300nm～約500nm、約350nm～約500nm、約400nm～約500nm、約425nm～約500nm、約450nm～約500nm、または約475nm～約500nmの平均直径を有する、項目88に記載の医薬組成物。

(項目90)

前記複数のLNPが、約50nm～約120nmの平均直径を有する、項目88に記載の医薬組成物。

(項目91)

前記複数のLNPが、約50nm、60nm、70nm、80nm、90nm、100nm、110nm、または約120nmの平均直径を有する、項目88に記載の医薬組成物。

(項目92)

前記複数のLNPが、約100nmの平均直径を有する、項目88に記載の医薬組成物。

(項目93)

前記複数のLNPが、約40mV～約-40mV、約20mV～約-20mV、約10mV～約-10mV、約5mV～約-5mV、または約20mV～約-40mVの平均ゼータ電位を有する、項目88～92のいずれか1項に記載の医薬組成物。

(項目94)

前記複数のLNPが、約5mV未満、約0mV未満、約-5mV未満、約-10mV未満、約-20mV未満、約-30mV未満、約-35mV未満、または約-40mV未満の平均ゼータ電位を有する、項目88～92のいずれか1項に記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

(項目 9 5)

前記複数の L N P が、約 - 5 0 m V ~ 約 - 2 0 m V、約 - 4 0 m V ~ 約 - 2 0 m V、約 - 3 0 m V ~ 約 - 1 0 m V、約 - 2 0 m V ~ 約 0 m V、約 - 1 5 m V ~ 約 5 m V、または約 - 1 0 m V ~ 約 1 0 m V の平均ゼータ電位を有する、項目 8 8 ~ 9 2 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 9 6)

前記複数の L N P が、約 - 3 0 m V、約 - 3 1 m V、約 - 3 2 m V、約 - 3 3 m V、約 - 3 4 m V、約 - 3 5 m V、約 - 3 6 m V、約 - 3 7 m V、約 - 3 8 m V、約 - 3 9 m V、または約 - 4 0 m V の平均ゼータ電位を有する、項目 9 4 または 9 5 に記載の医薬組成物。

(項目 9 7)

前記医薬組成物を対象に投与すると、組換え R N A 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 R N A 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腫瘍溶解性ウイルスを産生する、項目 8 8 ~ 9 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 9 8)

前記標的細胞が、がん性細胞である、項目 9 7 に記載の医薬組成物。

(項目 9 9)

前記組成物が、静脈内及び／または腫瘍内送達用に製剤化されている、項目 8 8 ~ 9 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 0)

前記組成物が、前記式 (A ”) の P E G 脂質及び／または式 (I) のイオン化可能な脂質を欠いている組成物のものよりも長い i n v i v o 治療効果持続期間を有する、項目 8 8 ~ 9 9 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 1)

前記組成物が、約 1 時間以上、約 2 時間以上、約 3 時間以上、約 4 時間以上、約 5 時間以上、約 6 時間以上、約 7 時間以上、約 8 時間以上、約 9 時間以上、約 1 0 時間以上、約 1 2 時間以上、約 1 4 時間以上、約 1 6 時間以上、約 1 8 時間以上、約 2 0 時間以上、約 2 5 時間以上、約 3 0 時間以上、約 3 5 時間以上、約 4 0 時間以上、約 4 5 時間以上、または約 5 0 時間以上の i n v i v o 治療効果持続期間を有する、項目 9 9 または 1 0 0 に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 2)

前記組成物が、所定の閾値を超えるまたはそれと等しい i n v i v o の半減期及び／または A U C を有する、項目 9 9 または 1 0 0 に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 3)

前記 L N P による前記合成 R N A ウイルスゲノムのカプセル化効率が、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % である、項目 8 8 ~ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 4)

前記組成物が、約 1 0 m M、約 2 0 m M、約 3 0 m M、約 4 0 m M、または約 5 0 m M の総脂質濃度を有する、項目 8 8 ~ 1 0 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 5)

前記組成物が、約 2 . 5、約 3、約 3 . 5、約 4、約 4 . 5、約 5、約 5 . 5、または約 6 の p H で製剤化されている、項目 8 8 ~ 1 0 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 6)

前記組成物が複数投与用に製剤化されている、項目 8 8 ~ 1 0 5 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 0 7)

10

20

30

40

50

後続投与が、第1の投与の少なくとも3日後、少なくとも5日後、少なくとも7日後、少なくとも9日後、少なくとも11日後、少なくとも14日後、または少なくとも21日後に投与される、項目106に記載の医薬組成物。

(項目108)

薬学的に許容される担体をさらに含む、項目88～107のいずれか1項に記載の医薬組成物。

(項目109)

腫瘍溶解性コクサッキーウイルスウイルスをコードする合成RNAウイルスゲノムを含む組換えRNA分子であって、前記コクサッキーウイルスが、Kuykendall株、EF株、及びKY株から選択されるCVA21株である、前記組換えRNA分子。

10

(項目110)

前記コクサッキーウイルスがCVA21-KY株であり、前記CVA21-KY株が、配列番号5による少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、項目109に記載の組換えRNA分子。

(項目111)

前記コクサッキーウイルスがCVA21-EF株であり、前記CVA21-EF株が、配列番号9による少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、項目109に記載の組換えRNA分子。

20

(項目112)

前記コクサッキーウイルスが、配列番号6または10による少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有する5'UTR(IRES)配列を含む、項目109に記載の組換えRNA分子。

(項目113)

前記コクサッキーウイルスが、配列番号7または11による少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有するP1配列を含む、項目109に記載の組換えRNA分子。

(項目114)

前記コクサッキーウイルスが、配列番号8または12による少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有する3D配列を含む、項目109に記載の組換えRNA分子。

30

(項目115)

前記合成RNAウイルスゲノムが、配列番号1による95%超、90%超、85%超、または80%超の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含まない、項目109～114のいずれか1項に記載の組換えRNA分子。

(項目116)

前記組換えRNA分子が、野生型コクサッキーウイルスウイルスのものとの100%の配列同一性を有するRNAウイルスゲノムを含まない、項目109～115のいずれか1項に記載の組換えRNA分子。

40

(項目117)

セネカバレーウイルス(SVV)をコードする合成RNAウイルスゲノムを含む組換えRNA分子であって、前記SVVが、キメラSVVを含み、前記合成RNAウイルスゲノムが、配列番号68との少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、前記組換えRNA分子。

(項目118)

前記腫瘍溶解性ウイルスをコードする前記ポリヌクレオチド配列に挿入されたマイクロRNA(miRNA)標的配列(miR-TS)カセットをさらに含み、前記miR-TSカセットが、1つ以上のmiRNA標的配列を含み、細胞内の対応する前記miRNA

50

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109～117のいずれか1項に記載の組換えRNA分子。

(項目119)

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-142、及びmiR-126から選択される、項目118に記載の組換えRNA分子。

(項目120)

前記miR-TSカセットが、

a. 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、

b. 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、

c. 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、または

d. 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119に記載の組換えRNA分子。

(項目121)

前記組換えRNA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、複製可能な腫瘍溶解性ウイルスを産生することができる、項目109～120のいずれか1項に記載の組換えRNA分子。

(項目122)

前記細胞が、哺乳動物細胞である、項目121に記載の組換えRNA分子。

(項目123)

前記細胞が、哺乳動物対象に存在する哺乳動物細胞である、項目122に記載の組換えRNA分子。

(項目124)

前記1つ以上のmiR-TSカセットが、1つ以上のウイルス遺伝子の5'非翻訳領域(UTR)または3'UTRに組み込まれている、項目118～123のいずれか1項に記載の組換えRNA分子。

(項目125)

前記1つ以上のmiR-TSカセットが、1つ以上のウイルス遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)、5'非翻訳領域(UTR)、または3'UTRに組み込まれている、項目118～123のいずれか1項に記載の組換えRNA分子。

(項目126)

前記組換えRNA分子が、核酸ベクターに挿入されている、項目109～125のいずれかに記載の組換えRNA分子。

(項目127)

前記核酸ベクターがレプリコンである、項目126に記載の組換えRNA分子。

(項目128)

前記合成RNAウイルスゲノムが、外因性ペイロードタンパク質をコードする異種ポリヌクレオチドをさらに含む、項目109～127に記載の組換えRNA分子。

(項目129)

前記外因性ペイロードタンパク質が、MLKL 4HBDドメイン、ガスダーミンDN末端断片、ガスダーミンEN末端断片、HMGB1 Box Bドメイン、SMAC/Diablo、メリチン、L-アミノ酸オキシダーゼ(LAAO)、ディスインテグリン、TRAIL(TNFSF10)、ニトロレダクターゼ、レオウイルスFASTタンパク質、レプチン/FOSL2、 α -1, 3-ガラクトシルトランスフェラーゼ、またはアデノシンデアミナーゼ2(ADA2)を含むまたはそれらからなる、項目128に記載の組

10

20

30

40

50

換えRNA分子。

(項目130)

前記ニトロレダクターゼが、NfsBまたはNfsAである、項目129に記載のLNP。

(項目131)

前記レオウイルスFASTタンパク質が、ARV p14、BRV p15、またはp14-p15ハイブリッドである、項目129に記載のLNP。

(項目132)

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、細胞表面受容体に結合することができる抗原結合分子、または細胞表面受容体に結合することができるリガンドである、項目128に記載の組換えRNA分子。

10

(項目133)

a) 前記サイトカインが、GM-CSF、IFN γ 、IL-2、IL-7、IL-12、IL-18、IL-21、及びIL-36 γ から選択される、

b) 前記細胞表面受容体のリガンドが、Flt3リガンドまたはTNFSF14である、

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

項目132に記載の組換えRNA分子。

(項目134)

前記抗原結合分子が、免疫チェックポイント受容体に結合してそれを阻害することができる、項目132に記載の組換えRNA分子。

20

(項目135)

前記免疫チェックポイント受容体が、PD-1である、項目134に記載の組換えRNA分子。

(項目136)

前記抗原結合分子が、腫瘍抗原に結合することができる、項目132に記載の組換えRNA分子。

(項目137)

前記抗原結合分子が、二重特異性T細胞エンゲージャー分子(BiTE)または二重特異性軽量T細胞エンゲージャー分子(LiTE)である、項目136に記載の組換えRNA分子。

30

(項目138)

前記腫瘍抗原が、HBV-コア(B型肝炎コア抗原)、HBV-pol、HbS-Ag、HPV E6、HPV E7、メルケル細胞ポリオーマラージT抗原、及びエプスタイン・バーウイルス抗原EBNA2またはBZLF1から選択されるウイルス抗原である、項目136または137に記載の組換えRNA分子。

(項目139)

前記腫瘍抗原がDLL3またはEpCAMである、項目136または137に記載の組換えRNA分子。

(項目140)

5'から3'に、プロモーター配列、5'接合部切断配列、合成RNAウイルスゲノムを含むRNA分子をコードするポリヌクレオチド配列、ポリA尾部、及び3'接合部切断配列を含む組換えDNA鑄型。

40

(項目141)

5'から3'に、プロモーター配列、5'接合部切断配列、合成RNAウイルスゲノムを含むRNA分子をコードするポリヌクレオチド配列、ポリA尾部、及び3'接合部切断配列を含む組換えDNA分子であって、前記RNA分子が、項目109~139のいずれか1項から選択される、前記組換えDNA分子。

(項目142)

前記プロモーター配列と前記5'接合部切断配列との間にリーダー配列を含む、項目1

50

4 0 または 1 4 1 に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 4 3)

5 ' から 3 ' に、プロモーター配列、リーダー配列、5 ' 接合部切断配列、合成 R N A ウィルスゲノムを含む組換え R N A 分子をコードするポリヌクレオチド配列、ポリ A 尾部、及び 3 ' 接合部切断配列を含む組換え D N A 分子。

(項目 1 4 4)

前記リーダー配列が、1 0 0 b p 未満の長さである、項目 1 4 2 または 1 4 3 に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 4 5)

前記プロモーター配列が、T 7 プロモーター配列である、項目 1 4 0 ~ 1 4 4 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 4 6)

前記ポリ A 尾部が、約 5 0 ~ 9 0 b p の長さまたは約 6 5 ~ 7 5 b p の長さである、項目 1 4 0 ~ 1 4 5 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 4 7)

前記ポリ A 尾部が、約 7 0 b p の長さである、項目 1 4 5 に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 4 8)

前記ポリ A 尾部が、約 1 0 ~ 5 0 b p、または 2 5 ~ 3 5 b p の長さである、項目 1 4 0 ~ 1 4 5 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 4 9)

前記 5 ' 接合部切断配列が、リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記 3 ' 接合部切断配列が、リボザイム配列を含むかまたはそれからなる、項目 1 4 0 ~ 1 4 8 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 0)

前記 5 ' リボザイム配列が、ハンマーヘッド型リボザイム配列であり、前記 3 ' リボザイム配列が、デルタ肝炎ウイルスリボザイム配列である、項目 1 4 9 に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 1)

前記 5 ' 接合部切断配列が、R N A s e H プライマー結合配列を含むかまたはそれからなり、前記 3 ' 接合部切断配列が、制限酵素認識配列を含むかまたはそれからなる、項目 1 4 0 ~ 1 4 8 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 2)

前記 5 ' 接合部切断配列が、リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記 3 ' 接合部切断配列が、制限酵素認識配列を含むかまたはそれからなる、項目 1 4 0 ~ 1 4 8 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 3)

前記 5 ' リボザイム配列が、ハンマーヘッド型リボザイム配列、ピストル型リボザイム配列、または修飾されたピストル型リボザイム配列を含むかまたはそれからなる、項目 1 5 2 に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 4)

前記 3 ' 接合部切断配列が、I I S 型制限酵素認識配列を含むかまたはそれからなる、項目 1 4 0 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 5)

前記 R N A 分子が、コクサッキーウイルス (C V A) の R N A ウィルスゲノムをコードする、項目 1 4 0 ~ 1 5 4 のいずれか 1 項に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 6)

前記コクサッキーウイルスが C V A 2 1 株である、項目 1 5 5 に記載の組換え D N A 分子。

(項目 1 5 7)

前記リーダー配列が、配列番号 1 4 または 1 5 による少なくとも 7 0 %、少なくとも 8

10

20

30

40

50

0 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、または100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含むかまたはそれからなる、項目155または156に記載の組換えDNA分子。

(項目158)

前記5'接合部切断配列が、配列番号18との少なくとも80 %、少なくとも90 %、または100 %の配列同一性を有するピストル型リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記5'リボザイム配列のP2モチーフが、「TTTT」のポリヌクレオチド配列を有する、項目155～157のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目159)

前記5'接合部切断配列が、配列番号17との少なくとも80 %、少なくとも90 %、または100 %の配列同一性を有するピストル型リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記5'リボザイム配列のP2モチーフが、「TTTA」のポリヌクレオチド配列を有する、項目155～157のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目160)

前記3'接合部切断配列が、BsmBI認識配列を含むかまたはそれからなる、項目155～159のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目161)

前記3'接合部切断配列が、BsaI認識配列を含むかまたはそれからなる、項目155～159のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目162)

前記プロモーター配列が、T7プロモーター配列であり、前記リーダー配列が、配列番号15によるポリヌクレオチド配列からなり、前記5'接合部切断配列が、配列番号18によるピストル型リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記ポリA尾部が、約70bpの長さであり、前記3'接合部切断配列が、BsmBI認識配列を含むかまたはそれからなる、項目156に記載の組換えDNA分子。

(項目163)

前記プロモーター配列が、T7プロモーター配列であり、前記リーダー配列が、配列番号15によるポリヌクレオチド配列からなり、前記5'接合部切断配列が、配列番号18によるピストル型リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記ポリA尾部が、約70bpの長さであり、前記3'接合部切断配列が、BsaI認識配列を含むかまたはそれからなる、項目156に記載の組換えDNA分子。

(項目164)

前記RNA分子が、セネカバレーウイルス(SVV)のRNAウイルスゲノムをコードする、項目140～154のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目165)

前記リーダー配列が、配列番号53～63のいずれか1つによる少なくとも70 %、少なくとも80 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、または100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含むかまたはそれからなる、項目164に記載の組換えDNA分子。

(項目166)

前記リーダー配列が、配列番号58による少なくとも70 %、少なくとも80 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、または100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含むかまたはそれからなる、項目164に記載の組換えDNA分子。

(項目167)

前記5'リボザイム配列が、配列番号64または65との少なくとも80 %、少なくとも85 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、または100 %の配列同一性を有するピストル型リボザイム配列であり、前記5'リボザイム配列のP2モチーフが、「TCAA」または「TTAA」のポリヌクレオチド配列を有する、項目164～166のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目168)

10

20

30

40

50

前記RNAウイルスゲノムが、配列番号68の核酸1～670との少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%の配列同一性を有する5'UTR(IRES)配列を含む、項目164～167のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目169)

前記3'接合部切断配列が、SapI認識配列を含むかまたはそれからなる、項目164～168のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目170)

前記プロモーター配列が、T7プロモーター配列であり、前記リーダー配列が、配列番号53によるポリヌクレオチド配列からなり、前記5'接合部切断配列が、配列番号64によるピストル型リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記ポリA尾部が、約70bpの長さであり、前記3'接合部切断配列が、SapI認識配列を含むかまたはそれからなる、項目164に記載の組換えDNA分子。

(項目171)

前記プロモーター配列が、T7プロモーター配列であり、前記リーダー配列が、配列番号58によるポリヌクレオチド配列からなり、前記5'接合部切断配列が、配列番号64によるピストル型リボザイム配列を含むかまたはそれからなり、前記ポリA尾部が、約70bpの長さであり、前記3'接合部切断配列が、SapI認識配列を含むかまたはそれからなる、項目164に記載の組換えDNA分子。

(項目172)

前記組換えDNA分子が、前記プロモーター配列及び前記3'接合部切断配列にわたる領域内に追加の核酸を含まない、項目140～171のいずれか1項に記載の組換えDNA分子。

(項目173)

項目140～172のいずれか1項に記載のDNA分子の*in vitro*転写、及び得られる組換えRNA分子の精製を含む、組換えRNA分子を産生する方法。

(項目174)

前記組換えRNA分子が、前記合成RNAウイルスゲノムによってコードされる前記腫瘍溶解性ウイルスにとって天然である5'末端及び3'末端を含む、項目173に記載の方法。

(項目175)

有効量の項目109～139のいずれか1項に記載の組換えRNA分子、及び哺乳動物対象への投与に好適な担体を含む組成物。

(項目176)

項目109～139のいずれか1項に記載の組換えRNA分子を含む粒子。

(項目177)

前記粒子が生分解性である、項目176に記載の粒子。

(項目178)

前記粒子が、ナノ粒子、エクソソーム、リボソーム、及びリボプレックスからなる群から選択される、項目177に記載の粒子。

(項目179)

前記エクソソームが、無傷エクソソームまたは空のエクソソームに由来する修飾エクソソームである、項目178に記載の粒子。

(項目180)

項目176～179のいずれか1項に記載の複数の粒子を含む医薬組成物。

(項目181)

前記複数の粒子が、約50nm～約500nm、約150nm～約500nm、約200nm～約500nm、約300nm～約500nm、約350nm～約500nm、約400nm～約500nm、約425nm～約500nm、約450nm～約500nm、または約475nm～約500nmの平均サイズを有する、項目180に記載の医薬組

10

20

30

40

50

成物。

(項目 1 8 2)

前記複数の粒子が、約 5 0 n m ～ 約 1 2 0 n m の平均サイズを有する、項目 1 8 0 に記載の医薬組成物。

(項目 1 8 3)

前記複数の粒子が、約 5 0 n m 、 6 0 n m 、 7 0 n m 、 8 0 n m 、 9 0 n m 、 1 0 0 n m 、 1 1 0 n m 、 または約 1 2 0 n m の平均サイズを有する、項目 1 8 0 に記載の医薬組成物。

(項目 1 8 4)

前記複数の粒子が、約 1 0 0 n m の平均サイズを有する、項目 1 8 0 に記載の医薬組成物。

(項目 1 8 5)

前記複数の粒子が、約 4 0 m V ～ 約 - 4 0 m V 、 約 2 0 m V ～ 約 - 2 0 m V 、 約 1 0 m V ～ 約 - 1 0 m V 、 約 5 m V ～ 約 - 5 m V 、 または約 2 0 m V ～ 約 - 4 0 m V の平均ゼータ電位を有する、項目 1 8 0 ～ 1 8 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 8 6)

前記複数の粒子が、約 5 m V 未満、約 0 m V 未満、約 - 5 m V 未満、約 - 1 0 m V 未満、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、項目 1 8 0 ～ 1 8 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 8 7)

前記複数の粒子が、約 - 5 0 m V ～ 約 - 2 0 m V 、 約 - 4 0 m V ～ 約 - 2 0 m V 、 約 - 3 0 m V ～ 約 - 1 0 m V 、 約 - 2 0 m V ～ 約 0 m V 、 約 - 1 5 m V ～ 約 5 m V 、 または約 - 1 0 m V ～ 約 1 0 m V の平均ゼータ電位を有する、項目 1 8 0 ～ 1 8 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 8 8)

前記複数の粒子が、約 - 3 0 m V 、 約 - 3 1 m V 、 約 - 3 2 m V 、 約 - 3 3 m V 、 約 - 3 4 m V 、 約 - 3 5 m V 、 約 - 3 6 m V 、 約 - 3 7 m V 、 約 - 3 8 m V 、 約 - 3 9 m V 、 または約 - 4 0 m V の平均ゼータ電位を有する、項目 1 8 0 ～ 1 8 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 8 9)

前記組成物を対象に送達すると、カプセル化された組換え R N A 分子が標的細胞に送達され、前記カプセル化された組換え R N A 分子が、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 1 8 0 ～ 1 8 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

(項目 1 9 0)

項目 1 0 9 ～ 1 3 9 のいずれか 1 項に記載の組換え R N A 分子を含む無機粒子。

(項目 1 9 1)

前記無機粒子が、金ナノ粒子 (G N P) 、 金ナノロッド (G N R) 、 磁性ナノ粒子 (M N P) 、 磁性ナノチューブ (M N T) 、 カーボンナノホーン (C N H) 、 カーボンフラーレン、カーボンナノチューブ (C N T) 、 リン酸カルシウムナノ粒子 (C P N P) 、 メソポーラスシリカナノ粒子 (M S N) 、 シリカナノチューブ (S N T) 、 または星状中空シリカナノ粒子 (S H N P) からなる群から選択される、項目 1 9 0 に記載の無機粒子。

(項目 1 9 2)

項目 1 9 0 または 1 9 1 に記載の無機粒子を含む組成物であって、前記粒子の平均直径が、約 5 0 0 n m 未満であるか、約 5 0 n m ～ 5 0 0 n m であるか、約 2 5 0 n m ～ 約 5 0 0 n m であるか、または約 3 5 0 n m である、前記組成物。

(項目 1 9 3)

ペイロード分子をコードする第 2 の組換え R N A 分子をさらに含む、項目 1 ～ 8 7 のいずれか 1 項に記載の L N P 、 項目 1 7 6 ～ 1 7 9 のいずれか 1 項に記載の粒子、または項目 1 9 0 もしくは 1 9 1 に記載の無機粒子。

(項目 1 9 4)

前記第2の組換えRNA分子がレプリコンである、項目193に記載のLNP、粒子、または無機粒子。

(項目195)

項目1～87のいずれか1項に記載のLNP、項目176～179のいずれか1項に記載の粒子、または項目190もしくは191に記載の無機粒子を含む医薬組成物であって、前記組成物が静脈内及び／または腫瘍内送達用に製剤化されている、前記医薬組成物。

(項目196)

前記LNP、前記粒子、または前記無機粒子の前記標的細胞が、がん性細胞である、項目195に記載の医薬組成物。

(項目197)

がん性細胞を殺傷する方法であって、前記がん性細胞を、項目1～87、176～179、または190もしくは191のいずれか1項に記載の粒子、項目109～139のいずれか1項に記載の組換えRNA分子、あるいはそれらの組成物に、前記粒子を前記がん性細胞に細胞内送達するのに十分な条件下で曝露することを含み、カプセル化ポリヌクレオチドによって産生される前記複製可能なウイルスが、前記がん性細胞の殺傷をもたらす、前記方法。

(項目198)

前記複製可能なウイルスが、非がん性細胞で産生されない、項目197に記載の方法。

(項目199)

前記方法が、*in vivo*、*in vitro*、または*ex vivo*で行われる、項目197または198に記載の方法。

(項目200)

対象のがんを処置する方法であって、前記がん罹患している対象に、有効量の項目1～87、176～179、または190もしくは191のいずれか1項に記載の粒子、項目109～139のいずれか1項に記載の組換えRNA分子、あるいはそれらの組成物を投与することを含む、前記方法。

(項目201)

前記粒子またはその組成物が、静脈内に、鼻腔内に、腫瘍内に、腹腔内に、または吸入剤として投与される、項目200に記載の方法。

(項目202)

前記粒子またはその組成物が、腫瘍内及び／または静脈内に投与される、項目200に記載の方法。

(項目203)

前記粒子またはその組成物が、前記対象に繰り返し投与される、項目200～202のいずれか1項に記載の方法。

(項目204)

前記対象が、マウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、ウマ、非ヒト霊長類、またはヒトである、項目200～203のいずれか1項に記載の方法。

(項目205)

前記がんが、肺癌、乳癌、結腸癌、または膵臓癌であり、前記合成RNAウイルスゲノムが、KY株に由来するポリヌクレオチド配列を含む、項目200～204のいずれかに記載の方法。

(項目206)

前記がんが、膀胱癌、腎細胞癌、卵巣癌、胃癌または肝臓癌であり、前記合成RNAウイルスゲノムが、EF株に由来するポリヌクレオチド配列を含む、項目200～204のいずれかに記載の方法。

(項目207)

前記がんが、肺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、前立腺癌、精巣癌、大腸癌、結腸癌、膵臓癌、肝臓癌、腎細胞癌、胃癌、頭頸部癌、甲状腺癌、悪性神経膠腫、膠芽腫、メラノーマ、B細胞慢性リンパ球性白血病、多発性骨髄腫、意義不明の単クローン性高ガンマグロ

10

20

30

40

50

ブリン血症（MGUS）、メルケル細胞癌、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、肉腫、神経芽細胞腫、神経内分泌癌、横紋筋肉腫、髄芽腫、膀胱癌、及び辺縁帯リンパ腫（MZL）から選択される、項目197～204のいずれか1項に記載の方法。

（項目208）

前記がんが、肺癌、乳癌、結腸癌、膵臓癌、膀胱癌、腎細胞癌、卵巣癌、胃癌、及び肝臓癌からなる群から選択される、項目197～204のいずれかに記載の方法。

（項目209）

前記がんが、腎細胞癌、肺癌、または肝臓癌である、項目197～204のいずれかに記載の方法。

（項目210）

前記肺癌が、小細胞肺癌または非小細胞肺癌（例えば、肺扁平上皮癌または肺腺癌）である、項目205、207、または208に記載の方法。

（項目211）

前記肝臓癌が、肝細胞癌（HCC）（例えば、B型肝炎ウイルス関連HCC）である、項目206、207、及び208のいずれかに記載の方法。

（項目212）

前記前立腺癌が、処置下で発現した神経内分泌前立腺癌である、項目207に記載の方法。

（項目213）

前記がんが、肺癌、肝臓癌、前立腺癌（例えば、CRPC-NE）、膀胱癌、膵臓癌、結腸癌、胃癌、乳癌、神経芽細胞腫、腎細胞癌、卵巣癌、横紋筋肉腫、髄芽腫、神経内分泌癌、メルケル細胞癌、またはメラノーマである、項目197～204のいずれか1項に記載の方法。

（項目214）

前記がんが、小細胞肺癌（SCLC）または神経芽細胞腫である、項目197～204のいずれか1項に記載の方法。

（項目215）

がんの処置を必要とする対象においてそれを行う方法であって、有効量のCVA21-EFウイルスを前記対象に投与することを含む、前記方法。

（項目216）

がんの処置を必要とする対象においてそれを行う方法であって、有効量のCVA21-KYウイルスを前記対象に投与することを含む、前記方法。

（項目217）

がんの処置を必要とする対象においてそれを行う方法であって、有効量のCVA21-Kuykendallウイルスを前記対象に投与することを含む、前記方法。

（項目218）

前記ウイルスが、腫瘍内及び／または静脈内に投与される、項目215～217のいずれか1項に記載の方法。

（項目219）

免疫チェックポイント阻害剤を前記対象に投与することをさらに含む、項目197～218のいずれか1項に記載の方法。

（項目220）

前記免疫チェックポイント阻害剤が、PD-1の阻害剤である、項目219に記載の方法。

（項目221）

エンジニアリングされた抗原受容体を含むエンジニアリングされた免疫細胞を投与することをさらに含む、項目197～218のいずれか1項に記載の方法。

（項目222）

がんの処置を必要とする対象においてそれを行う方法であって、治療有効量の、腫瘍溶解性コクサッキーウイルスであって、CVA21株である前記コクサッキーウイルス、ま

10

20

30

40

50

たは前記 C V A 2 1 をコードするポリヌクレオチドを前記対象に投与することを含み、前記がんが、I C A M - 1 の発現及び／または I C A M - 1 陽性がん細胞のパーセンテージに基づいて C V A 2 1 感染感受性と分類される、前記方法。

(項目 2 2 3)

がんの処置を必要とする対象においてそれを行う方法であって、

(a) 前記がんにおける I C A M 1 の発現レベル及び／または I C A M - 1 陽性がん細胞のパーセンテージを決定すること、

(b) 前記がんを、(a) で決定された I C A M - 1 の前記発現及び／または I C A M - 1 陽性がん細胞の前記パーセンテージに基づいて、コクサッキーウイルス 2 1 (C V A 2 1) 感染感受性と分類すること、ならびに

(c) 前記がんがステップ (b) で C V A 2 1 感染感受性と分類された場合、治療有効量の C V A 2 1 または前記 C V A 2 1 をコードするポリヌクレオチドを前記対象に投与すること

を含む、前記方法。

(項目 2 2 4)

コクサッキーウイルス 2 1 (C V A 2 1) または前記 C V A 2 1 をコードするポリヌクレオチドによる処置のために、がんに罹患している対象を選択する方法であって、

(a) 前記がんにおける I C A M - 1 の発現レベル及び／または I C A M - 1 陽性がん細胞のパーセンテージを決定すること、

(b) 前記がんを、(a) で決定された I C A M - 1 の前記発現レベル及び／または I C A M 1 陽性がん細胞の前記パーセンテージに基づいて、C V A 2 1 感染感受性と分類すること、

(c) 前記がんが (b) で C V A 2 1 感染感受性と分類された場合、前記 C V A 2 1 または前記 C V A 2 1 をコードする前記ポリヌクレオチドによる処置のために前記対象を選択すること、ならびに

(d) 前記選択された対象に、前記 C V A 2 1 または前記 C V A 2 1 をコードする前記ポリヌクレオチドを投与すること

を含む、前記方法。

(項目 2 2 5)

前記 C V A 2 1 株が C V A 2 1 - K Y である、項目 2 2 2 ~ 2 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50