(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-510777
(P2025-510777A)
(43)公表日　令和7年4月15日(2025.4.15)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N 15/11	*(2006.01)*	C12N	15/11	ZZNA	4B065
C12N 15/88	*(2006.01)*	C12N	15/88	Z	4C076
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/10		4C084
C12N 15/113	*(2010.01)*	C12N	15/113	Z	4C086
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	105	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全294頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-556411(P2024-556411)
(86)(22)出願日　令和5年3月24日(2023.3.24)
(85)翻訳文提出日　令和6年10月24日(2024.10.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/016192
(87)国際公開番号　WO2023/183550
(87)国際公開日　令和5年9月28日(2023.9.28)
(31)優先権主張番号　63/323,748
(32)優先日　令和4年3月25日(2022.3.25)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/405,142
(32)優先日　令和4年9月9日(2022.9.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/419,924
最終頁に続く

(71)出願人　513084469
モデルナティエックス インコーポレイテッド
ＭｏｄｅｒｎａＴＸ，Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ビニー・ストリート３２５
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100170520
弁理士　笹倉 真奈美
(74)代理人　100221545
弁理士　白江 雄介
(72)発明者　リード，デイビッド
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　半減期が延長されたメッセンジャーリボ核酸

(57)【要約】
本開示は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、５′ＵＴＲ、ポリペプチドをコードするコード領域、及び３′ＵＴＲを含む当該ポリヌクレオチド、ならびにそれらを含む脂質ナノ粒子を特徴とする。本開示のポリヌクレオチド及び／または脂質ナノ粒子は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの半減期及び／または発現の持続時間を増加させることにより、ポリペプチドのレベル及び／または活性を増加させることができる。また、本明細書では、本開示の脂質ナノ粒子を用いて対象における疾患または障害を処置する方法も開示される。
【選択図】図１Ａ

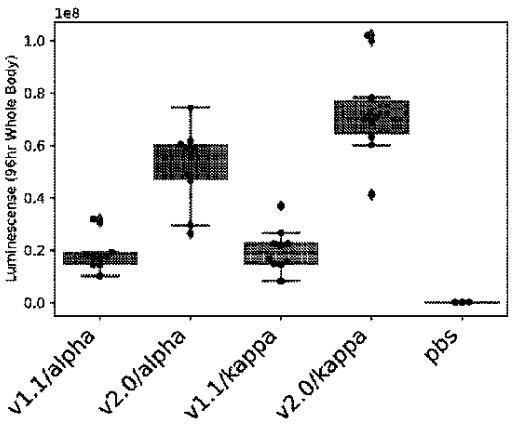


FIG. 1A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
５′ＵＴＲ、ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム、及び３′ＵＴＲを含む、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）であって、前記３′ＵＴＲは、以下：
（ｉ）配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対して少なくとも９８％同一であるヌクレオチド配列、または
（ｉｉ）配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列、またはその欠失バリアントを含み、前記欠失バリアントは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から１～７５個の連続したヌクレオチドが欠失しているものであり、前記核酸配列またはその前記欠失バリアントは、以下：
ａ）前記核酸配列またはその前記欠失バリアント内に挿入される１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位、及び／または
ｂ）前記核酸配列またはその前記欠失バリアント内に挿入される、ＴＥＮＴリクルート配列、ＦＵＴ８リクルート配列、１つ以上の識別及び比率決定（ＩＤＲ）配列、１つ以上のリボソーム会合検出アッセイ（ＲＥＤＡ）配列、または１つ以上のＩＤＲ配列と１つ以上のＲＥＤＡ配列との組み合わせ、を含むように改変される、前記メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）。
【請求項２】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１３９の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項３】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１３９に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４０の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項６】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４１の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項７】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４１に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項８】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４２の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項９】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４２に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１０】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４３の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１１】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４３に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲ

ＮＡ。
【請求項１２】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４４の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１３】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４４に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１４】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４５の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１５】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４５に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１６】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４６の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１７】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４６に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１８】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１４７の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項１９】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４７に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２０】
前記３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、前記核酸配列は、前記核酸配列内に挿入される１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を含むように改変される、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２１】
前記１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、配列番号１４８～１５７から選択される、請求項２０に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２２】
前記１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも１つの配列番号１４９のコピー及び少なくとも１つの配列番号１５０のコピーを含む、請求項２０に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２３】
前記１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも３つの配列番号１５０のコピーを含む、請求項２０に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２４】
前記１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも２つの配列番号１４９のコピーを含む、請求項２０に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２５】
前記１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも２つの配列番号１４９のコピー及び少なくとも１つの配列番号１５０のコピーを含む、請求項２０に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２６】
前記１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも３つの配列番号１４８のコピーを含む、請求項２０に記載のｍＲＮＡ。
【請求項２７】

前記３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、前記核酸配列は、前記核酸配列内に挿入されるＴＥＮＴリクルート配列を含むように改変される、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項２８】

前記３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、前記核酸配列は、前記核酸配列内に挿入されるＦＵＴ８リクルート配列を含むように改変される、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項２９】

前記３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、前記核酸配列は、前記核酸配列内に挿入される１つ以上のＩＤＲ配列を含むように改変される、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項３０】

前記３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、前記核酸配列は、前記核酸配列内に挿入される１つ以上のＲＥＤＡ配列を含むように改変される、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項３１】

前記欠失バリアントでは、１～６０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項３２】

前記欠失バリアントでは、１～５０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項３３】

前記欠失バリアントでは、１～４０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項３４】

前記欠失バリアントでは、１～３０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

【請求項３５】

前記欠失バリアントでは、１～２０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している、請求項１に記載のｍＲＮＡ。

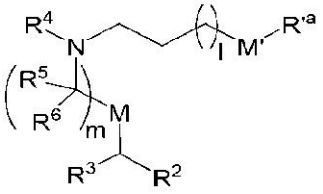
【請求項３６】

前記欠失バリアントでは、１～１０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列

番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項３７】
前記欠失バリアントでは、１０個未満の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項３８】
前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項３９】
前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４０】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１３９に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４１】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４０に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４２】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４１に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４３】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４２に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４４】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４３に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４５】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４４に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４６】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４５に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４７】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４６に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４８】
前記３´ＵＴＲは、配列番号１４７に示される核酸配列を含み、前記５´ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む、請求項１に記載のｍＲＮＡ。
【請求項４９】
前記ｍＲＮＡは、終止カセットを含む、先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５０】
前記終止カセットは、配列番号１５８～１７４から選択される、請求項４９に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５１】
前記終止カセットは、ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧ（配列番号１６５）またはＵＡＡＧＣＣＣＣＵＣＣＧＧＧＧ（配列番号１６４）である、請求項５０に記載のｍＲＮＡ。

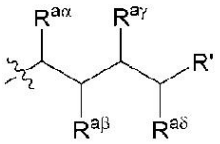
【請求項５２】
前記ｍＲＮＡは、５′末端キャップを含む、先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５３】
前記５′末端キャップは、ｍ^{7}ＧｐｐｐＧ$_{2}$′ＯＭｅ、ｍ７Ｇ－ｐｐｐ－Ｇｍ－Ａ、ｍ７Ｇ－ｐｐｐ－Ｇｍ－ＡＧ、Ｃａｐ０、Ｃａｐ１、ＡＲＣＡ、イノシン、Ｎ１－メチル－グアノシン、２′－フルオロ－グアノシン、７－デアザ－グアノシン、８－オキソ－グアノシン、２－アミノ－グアノシン、ＬＮＡ－グアノシン、２－アジドグアノシン、Ｃａｐ２、Ｃａｐ４、５′メチルＧキャップ、またはこれらの類似体を含む、請求項５２に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５４】
前記ｍＲＮＡは、ポリＡ領域を含む、先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５５】
前記ポリＡ領域は、少なくとも約１０、少なくとも約２０、少なくとも約３０、少なくとも約４０、少なくとも約５０、少なくとも約６０、少なくとも約７０、少なくとも約８０、少なくとも約９０ヌクレオチドの長さであるか、または少なくとも約１００ヌクレオチドの長さである、請求項５４に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５６】
前記ポリＡ領域は、約１０～約２００、約２０～約１８０、約５０～約１６０、約７０～約１４０、または約８０～約１２０ヌクレオチドの長さを有する、請求項５４に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５７】
前記ポリＡ領域は、Ａ１００－ＵＣＵＡＧ－Ａ２０－ｉｎｖｅｒｔｅｄデオキシ－チミジンを含む、請求項５４～５６のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５８】
前記ｍＲＮＡは、少なくとも１つの化学修飾核酸塩基、糖、骨格、またはこれらの任意の組み合わせを含む、先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項５９】
前記少なくとも１つの化学修飾核酸塩基は、シュードウラシル（ψ）、Ｎ１－メチルシュードウラシル（ｍ１ψ）、１－エチルシュードウラシル、２－チオウラシル（ｓ２Ｕ）、４′－チオウラシル、５－メチルシトシン、５－メチルウラシル、５－メトキシウラシル、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項５８に記載のｍＲＮＡ。
【請求項６０】
前記ポリペプチドには、分泌タンパク質、膜結合タンパク質、または細胞間タンパク質が含まれる、先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ。
【請求項６１】
前記ポリペプチドは、サイトカイン、抗体、ワクチン、受容体、酵素、ホルモン、転写因子、リガンド、膜輸送体、構造タンパク質、ヌクレアーゼ、またはこれらの成分、バリアントもしくは断片である、請求項６０に記載のｍＲＮＡ。
【請求項６２】
先行請求項のいずれか１項に記載のｍＲＮＡ及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。
【請求項６３】
請求項１～６１のいずれか１項に記載のｍＲＮＡを含む、脂質ナノ粒子。
【請求項６４】
前記脂質ナノ粒子は、以下：
（ｉ）イオン化脂質、
（ｉｉ）リン脂質、
（ｉｉｉ）構造脂質、及び

（ｉｖ）ＰＥＧ－脂質
を含む、請求項６３に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項６５】
前記脂質ナノ粒子は、式（Ｉ）：
【化１】



（Ｉ）

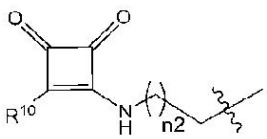
の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体を含み、
式中、Ｒ′^{a}は、Ｒ′^{分枝}であり、ここで、
Ｒ′^{分枝}は、
【化２】



であり（ここで、
【化３】



は、結合点を示し、
Ｒ^{aα}、Ｒ^{aβ}、Ｒ^{aγ}、及びＲ^{aδ}は、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ$_{2～12}$アルキル、及びＣ$_{2～12}$アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ^{2}及びＲ^{3}は、それぞれ独立して、Ｃ$_{1～14}$アルキル及びＣ$_{2～14}$アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ^{4}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び
【化４】



（ここで、
【化５】



は、結合点を示し、

R^{10}は、N（R）$_2$であり、各Rは、独立して、$C_{1\sim6}$アルキル、$C_{2\sim3}$アルケニル、及びHからなる群から選択され、n2は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び10からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各R^5は、独立して、$C_{1\sim3}$アルキル、$C_{2\sim3}$アルケニル、及びHからなる群から選択され、
各R^6は、独立して、$C_{1\sim3}$アルキル、$C_{2\sim3}$アルケニル、及びHからなる群から選択され、
M及びM´は、それぞれ独立して、－C（O）O－及び－OC（O）－からなる群から選択され、
R´は、$C_{1\sim12}$アルキルまたは$C_{2\sim12}$アルケニルであり、
lは、1、2、3、4、及び5からなる群から選択され、
mは、5、6、7、8、9、10、11、12、及び13からなる群から選択される、請求項63または64に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項66】
前記脂質ナノ粒子は、以下：
（a）（i）化合物II、（ii）コレステロール、及び（iii）PEG－DMGもしくは化合物I、
（b）（i）化合物VI、（ii）コレステロール、及び（iii）PEG－DMGもしくは化合物I、
（c）（i）化合物II、（ii）DSPCもしくはDOPE、（iii）コレステロール、及び（iv）PEG－DMGもしくは化合物I、
（d）（i）化合物VI、（ii）DSPCもしくはDOPE、（iii）コレステロール、及び（iv）PEG－DMGもしくは化合物I、
（e）（i）化合物II、（ii）コレステロール、及び（iii）化合物I、
（f）（i）化合物II、（ii）DSPCもしくはDOPE、（iii）コレステロール、及び（iv）化合物I、
（g）（i）化合物B、（ii）DSPCもしくはDOPE、（iii）コレステロール、及び（iv）PEG－DMGもしくは化合物I、
（h）（i）化合物B、（ii）コレステロール、及び（iii）化合物I、または
（i）（i）化合物B、（ii）DSPCもしくはDOPE、（iii）コレステロール、及び（iv）化合物I
を含む、請求項63～65のいずれか1項に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項67】
前記脂質ナノ粒子は、化合物II及び化合物Iを含む、請求項63～65のいずれか1項に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項68】
前記脂質ナノ粒子は、化合物B及び化合物Iを含む、請求項63～65のいずれか1項に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項69】
前記脂質ナノ粒子は、化合物II、DSPC、コレステロール、及び化合物Iを含む、請求項63～65のいずれか1項に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項70】
前記脂質ナノ粒子は、約20～60％のイオン化脂質、5～25％のリン脂質、25～55％のコレステロール、及び0．5～15％のPEG脂質のモル比で構成される、請求項63～69のいずれか1項に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項71】
前記脂質ナノ粒子は、静脈内、皮下、筋肉内、鼻腔内、眼内、直腸、肺または経口送達用に製剤化される、請求項63～70のいずれか1項に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項72】
請求項63～71のいずれか1項に記載の脂質ナノ粒子を含む医薬組成物。

【請求項７３】
請求項６３～７１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子を含む、細胞。
【請求項７４】
ポリペプチドの発現を増加させる方法であって、請求項６３～７１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子を細胞に投与することを含む、前記方法。
【請求項７５】
請求項６３～７１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子を細胞に送達する方法であって、前記細胞を前記脂質ナノ粒子とインビトロ、インビボまたはエクスビボで接触させることを含む、前記方法。
【請求項７６】
疾患または障害を有するヒト対象に、請求項６３～７１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子を送達する方法であって、それを必要とする前記ヒト対象に有効量の前記脂質ナノ粒子を投与することを含む、前記方法。
【請求項７７】
疾患または障害の処置、予防、もしくは症状の予防を必要とするヒト対象における、その疾患または障害の処置、予防、もしくは症状の予防方法であって、有効量の請求項６３～７１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子を前記ヒト対象に投与することを含む、前記方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２２年３月２５日に出願された米国仮出願第６３／３２３，７４８号、２０２２年９月９日に出願された米国仮出願第６３／４０５，１４２号、及び２０２２年１０月２７日に出願された米国仮出願第６３／４１９，９２４号に対する優先権の利益を主張するものであり、参照によりそれらの内容が本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００２】
メッセンジャーリボ核酸（ｍＲＮＡ）の効力を高めるための試みは、オープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を最適に配列設計したｍＲＮＡに焦点が置かれてきた。しかしながら、ＲＮＡバイオロジーを活用することにより、ｍＲＮＡ発現の潜在力及び持続力をさらに改善する必要がある。
【発明の概要】
【０００３】
本開示は、とりわけ、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）であって、（ａ）５′ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、（ｂ）終止エレメント（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含むコード領域、及び（ｃ）３′ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含む当該ポリヌクレオチド、ならびにそれらを含むＬＮＰ組成物を提供する。一実施形態では、コード領域は、ペプチドまたはポリペプチドペイロード（例えば、治療ペイロードもしくは予防ペイロード）をコードするポリヌクレオチド配列（例えば、ｍＲＮＡ、例えば、オープンリーディングフレーム（ＯＲＦ））を含む。一実施形態では、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）または当該ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドは、本明細書に記載される５′ＵＴＲ、３′ＵＴＲ、または終止エレメントを欠くバージョンよりも、レベル及び／または活性（例えば、発現量または半減期）が増加している。一実施形態では、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）のレベル及び／または活性が増加している。一実施形態では、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの発現のレベル、活性、及び／または持続時間が増加している。また本明細書では、対象における、疾患もしくは障害を処置するために、または所望の生物学的効果を促進するために、本明細書に開示されるポリヌクレオチドを含むＬＮＰ組成物を使用する方法も開示される。任意のＯＲＦは、開

示されるエレメント、例えば、ポリペプチドまたはペプチド（例えば、細胞内、膜貫通、それとも分泌かにかかわらず）をコードするＯＲＦと組み合わされ得ることが理解されるであろう。本開示のさらなる態様を以下でさらに詳細に説明する。

【０００４】

具体的には、いくつかの実施形態において本明細書では、５´ＵＴＲ、ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム、及び３´ＵＴＲを含む、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）が提供され、ここで３´ＵＴＲは、以下：

（ｉ）配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対して少なくとも９８％同一であるヌクレオチド配列、または

（ｉｉ）配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列、またはその欠失バリアントを含み、当該欠失バリアントは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から１～７５個の連続したヌクレオチドが欠失しているものであり、当該核酸配列またはその当該欠失バリアントは、以下：

ａ）当該核酸配列またはその当該欠失バリアント内に挿入される１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位、及び／または

ｂ）当該核酸配列またはその当該欠失バリアント内に挿入される、ＴＥＮＴリクルート配列、ＦＵＴ８リクルート配列、１つ以上の識別及び比率決定（ＩＤＲ）配列、１つ以上のリボソーム会合検出アッセイ（ＲＥＤＡ）配列、または１つ以上のＩＤＲ配列と１つ以上のＲＥＤＡ配列との組み合わせ、を含むように改変される。

【０００５】

ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１３９の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３´ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１３９に示される核酸配列を含む３´ＵＴＲを提供する。

【０００６】

ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４０の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３´ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４０に示される核酸配列を含む３´ＵＴＲを提供する。

【０００７】

ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４１の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３´ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４１に示される核酸配列を含む３´ＵＴＲを提供する。

【０００８】

ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４２の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３´ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４２に示される核酸配列を含む３´ＵＴＲを提供する。

【０００９】

ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４３の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３´ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４３に示される核酸配列を含む３´ＵＴＲを提供する。

【００１０】

ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４４の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３´ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４４に示される核酸配列を含む３´ＵＴＲを提供する。

【００１１】

ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４５の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３´ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態

において、本開示は、配列番号１４５に示される核酸配列を含む３′ＵＴＲを提供する。
【００１２】
ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４６の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３′ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４６に示される核酸配列を含む３′ＵＴＲを提供する。
【００１３】
ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４７の核酸配列に対して少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列を含む３′ＵＴＲを提供する。ある特定の実施形態において、本開示は、配列番号１４７に示される核酸配列を含む３′ＵＴＲを提供する。
【００１４】
本開示のいくつかの態様において、３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、当該核酸配列は、当該核酸配列内に挿入される１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を含むように改変される。いくつかの例では、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、配列番号１４８～１５７から選択される。いくつかの実施形態において、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも１つの配列番号１４９のコピー及び少なくとも１つの配列番号１５０のコピーを含む。いくつかの実施形態において、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも３つの配列番号１５０のコピーを含む。いくつかの実施形態において、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも２つの配列番号１４９のコピーを含む。いくつかの実施形態において、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも２つの配列番号１４９のコピー及び少なくとも１つの配列番号１５０のコピーを含む。いくつかの実施形態において、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位は、少なくとも３つの配列番号１４８のコピーを含む。
【００１５】
本明細書で提供されるいくつかの態様において、３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、当該核酸配列は、当該核酸配列内に挿入されるＴＥＮＴリクルート配列を含むように改変される。
【００１６】
本明細書で提供されるいくつかの実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、当該核酸配列は、当該核酸配列内に挿入されるＦＵＴ８リクルート配列を含むように改変される。
【００１７】
本明細書で提供されるいくつかの例において、３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、当該核酸配列は、当該核酸配列内に挿入される１つ以上のＩＤＲ配列を含むように改変される。
【００１８】
本明細書で提供されるいくつかの態様において、３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７の核酸配列に対応するヌクレオチド配列を含み、当該核酸配列は、当該核酸配列内に挿入される１つ以上のＲＥＤＡ配列を含むように改変される。
【００１９】
本明細書で提供されるいくつかの態様において、欠失バリアントでは、１～６０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４

２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している。本明細書で提供されるいくつかの態様において、欠失バリアントでは、１～５０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している。本明細書で提供されるいくつかの態様において、欠失バリアントでは、１～４０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している。本明細書で提供されるいくつかの態様において、欠失バリアントでは、１～３０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している。本明細書で提供されるいくつかの態様において、欠失バリアントでは、１～２０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している。本明細書で提供されるいくつかの態様において、欠失バリアントでは、１～１０個の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している。本明細書で提供されるいくつかの態様において、欠失バリアントでは、１０個未満の連続したヌクレオチドが配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７から欠失している。

【００２０】

上記ｍＲＮＡのいずれかのある特定の実施形態において、５′ＵＴＲは、配列番号５０に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％同一であるヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２１】

本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１３９に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２２】

本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４０に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２３】

本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４１に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２４】

本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４２に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２５】

本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４３に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２６】

本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４４に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２７】

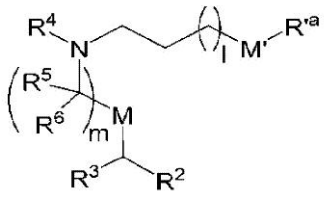
本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４５に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。

【００２８】

本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４６に

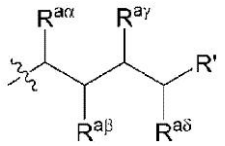
示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。
【００２９】
本明細書で提供されるある特定の実施形態において、３′ＵＴＲは、配列番号１４７に示される核酸配列を含み、５′ＵＴＲは、配列番号５０に示される核酸配列を含む。
【００３０】
上記ｍＲＮＡのいずれかのある特定の態様において、ｍＲＮＡは、終止カセットを含む。いくつかの実施形態において、終止カセットは、配列番号１５８～１７４から選択される。いくつかの実施形態において、終止カセットは、ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧ（配列番号１６５）またはＵＡＡＧＣＣＣＣＵＣＣＧＧＧＧ（配列番号１６４）である。
【００３１】
上記ｍＲＮＡのいずれかのある特定の態様において、ｍＲＮＡは、５´末端キャップを含む。いくつかの実施形態において、５´末端キャップは、$m^7GpppG_{2'OMe}$、ｍ７Ｇ－ｐｐｐ－Ｇｍ－Ａ、ｍ７Ｇ－ｐｐｐ－Ｇｍ－ＡＧ、Ｃａｐ０、Ｃａｐ１、ＡＲＣＡ、イノシン、Ｎ１－メチル－グアノシン、２´－フルオロ－グアノシン、７－デアザ－グアノシン、８－オキソ－グアノシン、２－アミノ－グアノシン、ＬＮＡ－グアノシン、２－アジドグアノシン、Ｃａｐ２、Ｃａｐ４、５´メチルＧキャップ、またはこれらの類似体を含む。
【００３２】
上記ｍＲＮＡのいずれかのある特定の態様において、ｍＲＮＡは、ポリＡ領域を含む。いくつかの実施形態において、ポリＡ領域は、少なくとも約１０、少なくとも約２０、少なくとも約３０、少なくとも約４０、少なくとも約５０、少なくとも約６０、少なくとも約７０、少なくとも約８０、少なくとも約９０ヌクレオチドの長さであるか、または少なくとも約１００ヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態において、ポリＡ領域は、約１０～約２００、約２０～約１８０、約５０～約１６０、約７０～約１４０、または約８０～約１２０ヌクレオチドの長さを有する。いくつかの実施形態において、ポリＡ領域は、Ａ１００－ＵＣＵＡＧ－Ａ２０－ｉｎｖｅｒｔｅｄデオキシ－チミジンを含む。
【００３３】
上記ｍＲＮＡのいずれかのある特定の態様において、ｍＲＮＡは、少なくとも１つの化学修飾核酸塩基、糖、骨格、またはこれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの化学修飾核酸塩基は、シュードウラシル（ψ）、Ｎ１－メチルシュードウラシル（ｍ１ψ）、１－エチルシュードウラシル、２－チオウラシル（ｓ２Ｕ）、４´－チオウラシル、５－メチルシトシン、５－メチルウラシル、５－メトキシウラシル、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。
【００３４】
上記ｍＲＮＡのいずれかのある特定の態様において、ポリペプチドには、分泌タンパク質、膜結合タンパク質、または細胞間タンパク質が含まれる。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、サイトカイン、抗体、ワクチン、受容体、酵素、ホルモン、転写因子、リガンド、膜輸送体、構造タンパク質、ヌクレアーゼ、またはこれらの成分、バリアントもしくは断片である。
【００３５】
本明細書では、上記ｍＲＮＡのいずれか１つ、及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物も提供される。
【００３６】
また、本明細書では、上記ｍＲＮＡのいずれか１つを含む脂質ナノ粒子も提供される。いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、（ｉ）イオン化脂質、（ｉｉ）リン脂質、（ｉｉｉ）構造脂質、及び（ｉｖ）ＰＥＧ－脂質を含む。いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、式（Ｉ）：

【化１】



（Ｉ）

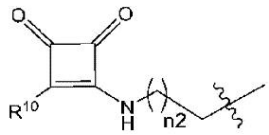
の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体を含み、
式中、Ｒ´^{a}は、Ｒ´^{分枝}であり、ここで、
Ｒ´^{分枝}は、
【化２】



であり（ここで、
【化３】



は、結合点を示し、
Ｒ^{aα}、Ｒ^{aβ}、Ｒ^{aγ}、及びＲ^{aδ}は、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ$_{2～12}$アルキル、及びＣ$_{2～12}$アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ^{2}及びＲ^{3}は、それぞれ独立して、Ｃ$_{1～14}$アルキル及びＣ$_{2～14}$アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ^{4}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び
【化４】



（ここで、
【化５】



は、結合点を示し、
Ｒ^{10}は、Ｎ（Ｒ）$_{2}$であり、各Ｒは、独立して、Ｃ$_{1～6}$アルキル、Ｃ$_{2～3}$アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各Ｒ^{5}は、独立して、Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{2～3}$アルケニル、及びＨからなる群から選択され、
各Ｒ^{6}は、独立して、Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{2～3}$アルケニル、及びＨからなる群から選択され、
Ｍ及びＭ´は、それぞれ独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－及び－ＯＣ（Ｏ）－からなる群から

選択され、
Ｒ´は、Ｃ$_{1}$～$_{12}$アルキルまたはＣ$_{2}$～$_{12}$アルケニルであり、
ｌは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択され、
ｍは、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３からなる群から選択される。
【００３７】
いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、以下を含む：
（ａ）（ｉ）化合物ＩＩ、（ｉｉ）コレステロール、及び（ｉｉｉ）ＰＥＧ－ＤＭＧもしくは化合物Ｉ、
（ｂ）（ｉ）化合物ＶＩ、（ｉｉ）コレステロール、及び（ｉｉｉ）ＰＥＧ－ＤＭＧもしくは化合物Ｉ、
（ｃ）（ｉ）化合物ＩＩ、（ｉｉ）ＤＳＰＣもしくはＤＯＰＥ、（ｉｉｉ）コレステロール、及び（ｉｖ）ＰＥＧ－ＤＭＧもしくは化合物Ｉ、
（ｄ）（ｉ）化合物ＶＩ、（ｉｉ）ＤＳＰＣもしくはＤＯＰＥ、（ｉｉｉ）コレステロール、及び（ｉｖ）ＰＥＧ－ＤＭＧもしくは化合物Ｉ、
（ｅ）（ｉ）化合物ＩＩ、（ｉｉ）コレステロール、及び（ｉｉｉ）化合物Ｉ、
（ｆ）（ｉ）化合物ＩＩ、（ｉｉ）ＤＳＰＣもしくはＤＯＰＥ、（ｉｉｉ）コレステロール、及び（ｉｖ）化合物Ｉ、
（ｇ）（ｉ）化合物Ｂ、（ｉｉ）ＤＳＰＣもしくはＤＯＰＥ、（ｉｉｉ）コレステロール、及び（ｉｖ）ＰＥＧ－ＤＭＧもしくは化合物Ｉ、
（ｈ）（ｉ）化合物Ｂ、（ｉｉ）コレステロール、及び（ｉｉｉ）化合物Ｉ、または
（ｉ）（ｉ）化合物Ｂ、（ｉｉ）ＤＳＰＣもしくはＤＯＰＥ、（ｉｉｉ）コレステロール、及び（ｉｖ）化合物Ｉ。
【００３８】
いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、化合物ＩＩ及び化合物Ｉを含む。いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、化合物Ｂ及び化合物Ｉを含む。いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、化合物ＩＩ、ＤＳＰＣ、コレステロール、及び化合物Ｉを含む。いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、約２０～６０％のイオン化脂質、５～２５％のリン脂質、２５～５５％のコレステロール、及び０．５～１５％のＰＥＧ脂質のモル比で構成される。いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子は、静脈内、皮下、筋肉内、鼻腔内、眼内、直腸、肺または経口送達用に製剤化される。
【００３９】
本明細書では、上記脂質ナノ粒子のいずれか１つを含む医薬組成物も提供される。本明細書では、上記脂質ナノ粒子のいずれか１つを含む細胞も提供される。
【００４０】
いくつかの実施形態において、本明細書では、ポリペプチドの発現を増加させる方法であって、上記脂質ナノ粒子のいずれか１つを細胞に投与することを含む、当該方法も提供される。
【００４１】
本明細書ではまた、上記脂質ナノ粒子のいずれか１つを細胞に送達する方法であって、当該細胞を当該脂質ナノ粒子とインビトロ、インビボまたはエクスビボで接触させることを含む、当該方法も提供される。
【００４２】
いくつかの例において、本明細書ではまた、疾患または障害を有するヒト対象に上記脂質ナノ粒子のいずれか１つを送達する方法であって、それを必要とするヒト対象に有効量の脂質ナノ粒子を投与することを含む、当該方法も提供される。
【００４３】
また、本明細書で提供される他の態様は、疾患または障害の処置、予防、もしくは症状の予防を必要とするヒト対象における、その疾患または障害の処置、予防、もしくは症状の予防方法であって、有効量の上記脂質ナノ粒子のいずれか１つを当該ヒト対象に投与することを含む、当該方法である。

【００４４】
また、本明細書で提供される他の態様は、疾患または障害の処置、予防、もしくは症状の予防を必要とするヒト対象における、その疾患または障害の処置、予防、もしくは症状の予防方法であって、有効量の上記脂質ナノ粒子のいずれか１つを当該ヒト対象に投与することを含む、当該方法である。
【００４５】
本発明の他の特徴及び利点が、以下の発明を実施するための形態及び図面から、ならびに特許請求の範囲から明らかになるであろう。
【図面の簡単な説明】
【００４６】
【図１Ａ】アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）を有するｍＲＮＡ構築物によってコードされたルシフェラーゼの発現量を表すグラフである。投与してから９６時間後の全身ｆｆＬｕｃ活性を示している。
【図１Ｂ】アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）を有するｍＲＮＡ構築物によってコードされたルシフェラーゼの発現量を表すグラフである。投与してから７２時間後の全身ｆｆＬｕｃ活性を示している。
【図１Ｃ】アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）を有するｍＲＮＡ構築物によってコードされたルシフェラーゼの発現量を表すグラフである。投与してから０～４日後の全身ｆｆＬｕｃ活性を示している。
【図１Ｄ】アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）を有するｍＲＮＡ構築物によってコードされたルシフェラーゼの発現量を表すグラフである。肝臓における発現量を示している。
【図１Ｅ】アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）を有するｍＲＮＡ構築物によってコードされたルシフェラーゼの発現量を表すグラフである。脾臓における発現量を示している。
【図１Ｆ】アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）を有するｍＲＮＡ構築物によってコードされた標的タンパク質の発現量を表すグラフである。投与してから９６時間後の血清における標的タンパク質（すなわち、ＥＰＯ）の発現量を示している。
【図１Ｇ】アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）を有するｍＲＮＡ構築物によってコードされた標的タンパク質の発現量を表すグラフである。投与してから０～４日後の血清における標的タンパク質（すなわち、ＥＰＯ）の発現量を示している。
【図２Ａ】コントロール３´ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３´ＵＴＲ、またはイオタ３´ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５´ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。ＬＳＫ＋造血幹細胞及び前駆細胞における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｂ】コントロール３´ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３´ＵＴＲ、またはイオタ３´ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５´ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを

表すグラフである。脾臓樹状細胞における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｃ】コントロール３′ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。脾臓マクロファージにおける平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｄ】コントロール３′ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。脾臓好中球における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｅ】コントロール３′ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。脾臓単球における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｆ】コントロール３′ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。脾臓好酸球における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｇ】コントロール３′ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。脾臓ＣＤ４＋Ｔ細胞における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｈ】コントロール３′ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。脾臓ＣＤ８＋Ｔ細胞における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図２Ｉ】コントロール３′ＵＴＲ（図中の説明では「トリプル」と示される）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡ構築物によってコードされている場合の、免疫細胞における、投与してから１日後、２日後、及び３日後の全体的な平均蛍光強度またはｍＯＸ４０Ｌ＋細胞パーセンテージを表すグラフである。脾臓Ｂ細胞における平均蛍光強度及び％ｍＯＸ４０Ｌ＋細胞を示している。
【図３Ａ】示された時点での３種のＦａＤｕ細胞株における、示された構築物がトランスフェクトされた細胞のＦＡＮＣＡ（各試料の上段）及びヌクレオリン（各試料の下段）タンパク質レベルを示す画像である。ＦＡＮＣＡ発現量の倍数変化は、ローディングコントロール及び野生型（ＷＴ）平均値に対して正規化して算出した。
【図３Ｂ】ヌクレオリンに対して正規化し、ＷＴ　ＦａＤｕ細胞株でのＦＡＮＣＡ平均発現量に対する倍数変化として表される、ＦＡＮＣＡ発現レベルを示すグラフである。

【図４】１ｕｇのＧＦＰ　ｍＲＮＡ構築物をトランスフェクトしたＦａＤｕ－ＷＴ、ＦａＤｕ－ＫＯ、または１ｕｇのＦＡＮＣＡ構築物をトランスフェクトしたＦａＤｕ－ＫＯを、トランスフェクションの２４時間後に、示した濃度のマイトマイシンＣ（ＭＭＣ）で処理した場合の生存率を示すグラフである。生存率は、処理してから５日後にＣｅｌｌ　Ｔｉｔｅｒ　Ｇｌｏを用いて評価した。
【図５Ａ】コントロール（Ｃｔｌ）または１，３－ブタジエンジエポキシド（ＤＥＢ）及びＭＭＣで処理した細胞における、細胞周期Ｇ２＿Ｍ期にある細胞の蓄積を示すグラフである。ＷＴ－ＧＦＰはＧＦＰ　ｍＲＮＡをトランスフェクトしたＦａＤｕ　ＷＴ細胞を指し、ＫＯ－ＧＦＰはＧＦＰ　ｍＲＮＡをトランスフェクトしたＦａＤｕ　ＫＯ細胞を指し、ＦＡＮＣＡ＿０１～ＦＡＮＣＡ－０４はＦＡＮＣＡ構築物をトランスフェクトしたＦａＤｕ　ＫＯ細胞を指す。トランスフェクションは、処理の６時間前に行った。
【図５Ｂ】図５Ａのデータに関するＧ２Ｍの頻度（平均値±ＳＤとして提示）を示すグラフである。統計的有意性は、スチューデントのｔ検定を用いて算出した。＊Ｐ＜０．０５、＊＊Ｐ＜０．０１、＊＊＊Ｐ＜０．００１、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１。
【図６Ａ】コントロール（Ｃｔｌ）または１，３－ブタジエンジエポキシド（ＤＥＢ）及びＭＭＣで処理した細胞における、細胞周期Ｇ２＿Ｍ期にある細胞の蓄積を示すグラフである。ＷＴ－ＧＦＰはＧＦＰ　ｍＲＮＡをトランスフェクトしたＦａＤｕ　ＷＴ細胞を指し、ＫＯ－ＧＦＰはＧＦＰ　ｍＲＮＡをトランスフェクトしたＦａＤｕ　ＫＯ細胞を指し、ＦＡＮＣＡ＿０１～ＦＡＮＣＡ－０４はＦＡＮＣＡ構築物をトランスフェクトしたＦａＤｕ　ＫＯ細胞を指す。トランスフェクションは、処理の７２時間前に行った。
【図６Ｂ】図６Ａのデータに関するＧ２Ｍの頻度（平均値±ＳＤとして提示）を示すグラフである。統計的有意性は、スチューデントのｔ検定を用いて算出した。＊Ｐ＜０．０５、＊＊Ｐ＜０．０１、＊＊＊Ｐ＜０．００１、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１。
【図６Ｃ】ヌクレオリンに対して正規化し、ＷＴ　ＦａＤｕ細胞株でのＦＡＮＣＡ発現レベルに対する倍数変化として表される、ＦＡＮＣＡ発現レベルを示すグラフである。
【図７】投与してから６時間及び４８時間後のオボアルブミン濃度を示している。評価したｍＲＮＡは、カッパ３´ＵＴＲ（配列番号１３９）及びｖ１．１　５´ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）のいずれかを有するものであった。どちらのｍＲＮＡも、同じ「アルファ」プロセスを用いて調製した。
【図８】ｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）及びカッパ３´ＵＴＲ（配列番号１３９）を含むｍＲＮＡを利用した場合の抗体応答を示す棒グラフである。
【図９】ＦＵＴ８配列が存在しない場合と比較した、３´ＵＴＲ内のＦＵＴ８配列の効果を示す棒グラフである。左から右へ、ＰＢＳコントロール、ｖ１．０　ＵＴＲを含有するｍＲＮＡ、ｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）及び再最適化コード配列を有するｍＲＮＡ、「デルタ」終止カセット及び「ＦＵＴ８」配列を有する３´ＵＴＲを（２）のエレメントに加えて有するｍＲＮＡ（当該３´ＵＴＲは配列番号１４０に対応する）、及び２つの陽性コントロールを示している。
【図１０】赤血球凝集素をコードするｖ２．０　５´ＵＴＲ　ｍＲＮＡの存在により、マウスにおける免疫原性が高まることを示す概略図である。
【図１１】ｖ２．０　５´ＵＴＲ及びｖ２．０　３´ＵＴＲの存在により、インビトロにおいて、赤血球凝集素をコードするｍＲＮＡの発現が増強されることを示す棒グラフである。
【発明を実施するための形態】
【００４７】
ｍＲＮＡの効力及び持続性は、（１）細胞質に送達されたｍＲＮＡが、リボソームと適切かつ生産的に会合することを確実にすること、及び（２）当該ｍＲＮＡが所望のタンパク質産物を活発に産生することに費やす時間を最大にすること、により最適化され得る。ｍＲＮＡの配列は、こうした態様全体の働きにおける、重要な決定因子である。
【００４８】
本明細書では、とりわけ、前記ｍＲＮＡの効力及び／または持続性を増加させるために

、３′非翻訳領域（ＵＴＲ）の配列を最適化することができる、という発見が開示される。いくつかの実施形態において、３′ＵＴＲとｍＲＮＡの５′ＵＴＲ及び／または終止エレメントとを組み合わせた配列の組み合わせは、例えば、ｍＲＮＡの半減期及び／または発現の持続時間を延長することによって前記ｍＲＮＡの効力及び／または持続性を増加させるために、最適化され得る。いくつかの実施形態において、本開示は、ｍＲＮＡまたは当該ｍＲＮＡによってコードされるポリペプチドの有効性（例えば、レベル及び／または活性）を増加させ得る、最適化された３′ＵＴＲを含む、ポリヌクレオチド及び脂質ナノ粒子組成物を提供する。

【００４９】

１．非翻訳領域（ＵＴＲ）

非翻訳領域（ＵＴＲ）は、開始コドン前（５′ＵＴＲ）及び終止コドン後（３′ＵＴＲ）の翻訳されないポリヌクレオチドの核酸セクションである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含む本発明のポリヌクレオチド（例えば、リボ核酸（ＲＮＡ））、例えば、ｍＲＮＡは、ＵＴＲ（例えば、５′ＵＴＲもしくはその機能的断片、３′ＵＴＲもしくはその機能的断片、またはこれらの組み合わせ）をさらに含む。

【００５０】

ＵＴＲは、ポリヌクレオチドにおけるコード領域に対して同種または異種であり得る。いくつかの実施形態において、ＵＴＲは、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするＯＲＦに対して同種である。いくつかの実施形態において、ＵＴＲは、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするＯＲＦに対して異種である。

【００５１】

いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、２つ以上の５′ＵＴＲまたはその機能的断片を含み、それらの各々は、同じまたは異なるヌクレオチド配列を有する。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、２つ以上の３′ＵＴＲまたはその機能的断片を含み、それらの各々は、同じまたは異なるヌクレオチド配列を有する。

【００５２】

いくつかの実施形態では、５′ＵＴＲもしくはその機能的断片、３′ＵＴＲもしくはその機能的断片、またはこれらの任意の組み合わせが、配列最適化される。

【００５３】

いくつかの実施形態では、５′ＵＴＲもしくはその機能的断片、３′ＵＴＲもしくはその機能的断片、またはこれらの任意の組み合わせは、少なくとも１つの化学修飾核酸塩基、例えば、Ｎ１－メチルシュードウラシルまたは５－メトキシウラシルを含む。

【００５４】

ＵＴＲは、調節的役割（例えば、安定性、局在化及び／または翻訳効率の増加または低下）を提供する特徴を有し得る。ＵＴＲを含むポリヌクレオチドは、細胞、組織、または生物に投与され得、１つ以上の調節的特徴は、常法を用いて測定され得る。いくつかの実施形態において、５′ＵＴＲまたは３′ＵＴＲの機能的断片は、それぞれ、完全長５′または３′ＵＴＲの１つ以上の調節的特徴を含む。

【００５５】

天然の５′ＵＴＲには、翻訳の開始において役割を果たす特徴がある。それらは、リボソームが多くの遺伝子の翻訳を開始するプロセスに関与することが一般的に知られているコザック配列のようなシグネチャーを保有する。コザック配列は、コンセンサスＣＣＲ（Ａ／Ｇ）ＣＣＡＵＧＧ（配列番号１２５）を有し、配列中、Ｒは、開始コドン（ＡＵＧ）の３塩基上流のプリン（アデニンまたはグアニン）であり、開始コドンの後には別の「Ｇ」が続く。５′ＵＴＲはまた、伸長因子の結合に関与する二次構造を形成することが知られている。

【００５６】

特定の標的器官で豊富に発現される遺伝子に通常見られる特徴を操作することによって、ポリヌクレオチドの安定性及びタンパク質産生を増強し得る。例えば、肝臓で発現され

るｍＲＮＡ（アルブミン、血清アミロイドＡ、アポリポタンパク質Ａ／Ｂ／Ｅ、トランスフェリン、アルファフェトプロテイン、エリスロポエチン、または第ＶＩＩＩ因子等）に５′ＵＴＲを導入すると、肝細胞株または肝臓におけるポリヌクレオチドの発現が増強され得る。同様に、他の組織特異的ｍＲＮＡの５′ＵＴＲを使用して、その組織での発現を改善することは、筋肉（例えば、ＭｙｏＤ、ミオシン、ミオグロビン、ミオゲニン、ヘルクリン（Ｈｅｒｃｕｌｉｎ））、内皮細胞（例えば、Ｔｉｅ－１、ＣＤ３６）、骨髄細胞（例えば、Ｃ／ＥＢＰ、ＡＭＬ１、Ｇ－ＣＳＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＤ１１ｂ、ＭＳＲ、Ｆｒ－１、ｉ－ＮＯＳ）、白血球（例えば、ＣＤ４５、ＣＤ１８）、脂肪組織（例えば、ＣＤ３６、ＧＬＵＴ４、ＡＣＲＰ３０、アディポネクチン）及び肺上皮細胞（例えば、ＳＰ－Ａ／Ｂ／Ｃ／Ｄ）で可能である。

【００５７】

いくつかの実施形態において、ＵＴＲは転写物のファミリーから選択され、当該転写物ファミリーのタンパク質は、共通の機能、構造、特徴または特性を共有する。例えば、コードされるポリペプチドは、タンパク質のファミリー（すなわち、少なくとも１つの機能、構造、特徴、局在化、起源、または発現パターンを共有する）に属し得、これらは特定の細胞、組織または発生中のある時期に発現される。遺伝子またはｍＲＮＡのいずれかのＵＴＲを、同じまたは異なるタンパク質ファミリーの任意の他のＵＴＲと交換して、新たなポリヌクレオチドを創出することができる。

【００５８】

いくつかの実施形態では、５′ＵＴＲ及び３′ＵＴＲは異種であり得る。いくつかの実施形態では、５′ＵＴＲは、３′ＵＴＲとは異なる種に由来し得る。

【００５９】

国際特許出願公開国際特許出願公開第ＷＯ／２０１４／１６４２５３号（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）は、ＯＲＦに隣接する領域として、本発明のポリヌクレオチドに利用され得る例示的ＵＴＲのリストを提供している。

【００６０】

本出願のさらなる例示的ＵＴＲとしては、限定されないが、以下の核酸配列に由来する１つ以上の５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲが挙げられる：α－またはβ－グロビン等のグロビン（例えば、Ｘｅｎｏｐｕｓ、マウス、ウサギ、またはヒトグロビン）、強力なＫｏｚａｋ翻訳開始シグナル、ＣＹＢＡ（例えば、ヒトシトクロムｂ－２４５αポリペプチド）、アルブミン（例えば、ヒトアルブミン７）、ＨＳＤ１７Ｂ４（ヒドロキシステロイド（１７－β）デヒドロゲナーゼ）、ウイルス（例えば、タバコエッチウイルス（ＴＥＶ）、ベネズエラウマ脳炎ウイルス（ＶＥＥＶ）、デングウイルス、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）（例えば、ＣＭＶ前初期１（ＩＥ１））、肝炎ウイルス（例えば、Ｂ型肝炎ウイルス）、シンドビスウイルス、またはＰＡＶオオムギ黄萎ウイルス）、熱ショックタンパク質（例えば、ｈｓｐ７０）、翻訳開始因子（例えば、ｅｌＦ４Ｇ）、グルコース輸送体（例えば、ｈＧＬＵＴ１（ヒトグルコース輸送体１））、アクチン（例えば、ヒトαまたはβアクチン）、ＧＡＰＤＨ、チューブリン、ヒストン、クエン酸回路酵素、トポイソメラーゼ（例えば、５′ＴＯＰモチーフ（オリゴピリミジントラクト）を欠くＴＯＰ遺伝子の５′ＵＴＲ）、リボソームタンパク質Ｌａｒｇｅ３２（Ｌ３２）、リボソームタンパク質（例えば、ｒｐｓ９等のヒトまたはマウスリボソームタンパク質）、ＡＴＰシンターゼ（例えば、ＡＴＰ５Ａ１またはミトコンドリアH^+－ＡＴＰシンターゼのβサブユニット）、成長ホルモンｅ（例えば、ウシ（ｂＧＨ）またはヒト（ｈＧＨ））、伸長因子（例えば、伸長因子１α１（ＥＥＦ１Ａ１））、マンガンスーパーオキシドジスムターゼ（ＭｎＳＯＤ）、筋細胞エンハンサー因子２Ａ（ＭＥＦ２Ａ）、β－Ｆ１－ＡＴＰアーゼ、クレアチンキナーゼ、ミオグロビン、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、コラーゲン（例えば、Ⅰ型コラーゲンアルファ２（Ｃｏｌ１Ａ２）、Ⅰ型コラーゲンアルファ１（Ｃｏｌ１Ａ１）、ＶＩ型コラーゲンアルファ２（Ｃｏｌ６Ａ２）、ＶＩ型コラーゲンアルファ１（Ｃｏｌ６Ａ１））、リボフォリン（例えば、リボフォリンⅠ（ＲＰＮⅠ））、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質（例えば、ＬＲＰ１）、カルジオトロフィン様

サイトカイン因子（例えば、Ｎｎｔ１）、カルレティキュリン（Ｃａｌｒ）、プロコラーゲン－リジン、２－オキソグルタル酸５－ジオキシゲナーゼ１（Ｐｌｏｄ１）、及びヌクレオバインディン（例えば、Ｎｕｃｂ１）。

【００６１】

いくつかの実施形態において、５′ＵＴＲは、β－グロビン５′ＵＴＲ、強力なコザック翻訳開始シグナルを含有する５′ＵＴＲ、シトクロムｂ－２４５αポリペプチド（ＣＹＢＡ）５′ＵＴＲ、ヒドロキシステロイド（１７－β）デヒドロゲナーゼ（ＨＳＤ１７Ｂ４）５′ＵＴＲ、タバコエッチウイルス（ＴＥＶ）５′ＵＴＲ、ベネズエラウマ脳炎ウイルス（ＴＥＥＶ）５′ＵＴＲ、非構造タンパク質をコードする風疹ウイルス（ＲＶ）ＲＮＡの５′近位オープンリーディングフレーム、デングウイルス（ＤＥＮ）５′ＵＴＲ、熱ショックタンパク質７０（Ｈｓｐ７０）５′ＵＴＲ、ｅＩＦ４Ｇ　５′ＵＴＲ、ＧＬＵＴ１　５′ＵＴＲ、これらの機能的断片及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

【００６２】

任意の遺伝子またはｍＲＮＡに由来する野生型ＵＴＲが、本発明のポリヌクレオチドに組み込まれ得る。いくつかの実施形態において、ＵＴＲは、例えば、ＯＲＦに対するＵＴＲの配向もしくは位置の変更によって、または追加のヌクレオチドの包含、ヌクレオチドの欠失、ヌクレオチドの交換もしくは転位によってバリアントＵＴＲが得られるように、野生型または天然のＵＴＲに対して変更され得る。いくつかの実施形態では、５′または３′ＵＴＲのバリアント（例えば、野生型ＵＴＲの変異体、または１つ以上のヌクレオチドがＵＴＲの末端に付加されているかもしくはＵＴＲの末端から除去されているバリアント）が利用され得る。

【００６３】

さらに、１つ以上の合成ＵＴＲが、１つ以上の非合成ＵＴＲと組み合わせて使用され得る。例えば、Ｍａｎｄａｌ　ａｎｄ　Ｒｏｓｓｉ，Ｎａｔ．Ｐｒｏｔｏｃ．２０１３　８（３）：５６８－８２（参照によりその内容が全体として本明細書に組み込まれる）を参照のこと。

【００６４】

ＵＴＲまたはその一部は、それらが選択された転写物と同じ方向に配置され得るか、または方向もしくは位置が変更され得る。したがって、５′及び／または３′ＵＴＲは、逆位にされ、短縮され、延長され、または１つ以上の他の５′ＵＴＲもしくは３′ＵＴＲと組み合わされ得る。

【００６５】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、複数のＵＴＲ（例えば、二重、三重、もしくは四重の５′ＵＴＲまたは３′ＵＴＲ）を含む。例えば、二重ＵＴＲは、同じＵＴＲの２つのコピーを、直列または実質的に直列のいずれかで含む。例えば、二重ベータ－グロビン３′ＵＴＲが使用され得る（参照によりその内容が全体として本明細書に組み込まれるＵＳ２０１０／０１２９８７７を参照のこと）。

【００６６】

本発明のポリヌクレオチドは、特徴の組み合わせを含み得る。例えば、ＯＲＦは、強力なコザック翻訳開始シグナルを含む５′ＵＴＲ及び／またはポリＡ尾部の鋳型化付加のためのオリゴ（ｄＴ）配列を含む３′ＵＴＲによって隣接され得る。５′ＵＴＲは、同じ及び／または異なるＵＴＲからの第１のポリヌクレオチド断片及び第２のポリヌクレオチド断片を含み得る（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＵＳ２０１０／０２９３６２５を参照のこと）。

【００６７】

他の非ＵＴＲ配列が、本発明のポリヌクレオチド内の領域または小領域として使用され得る。例えば、イントロンまたはイントロン配列の一部が、本発明のポリヌクレオチドに組み込まれ得る。イントロン配列を組み込むことにより、タンパク質産生ならびにポリヌクレオチドの発現レベルが増加し得る。いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオ

チドは、ＵＴＲの代わりに、またはそれに加えて配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）を含む（例えば、参照によりその内容が全体として本明細書に組み込まれるＹａｋｕｂｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．２０１０３９４（１）：１８９－１９３を参照のこと）。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、５′ＵＴＲ配列の代わりにＩＲＥＳを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ＯＲＦ及びウイルス性カプシド配列を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、合成５′ＵＴＲを非合成３′ＵＴＲと組み合わせて含む。

【００６８】

いくつかの実施形態では、ＵＴＲはまた、少なくとも１つの翻訳エンハンサーポリヌクレオチド、翻訳エンハンサーエレメント（複数可）（総称して「ＴＥＥ」、これはポリヌクレオチドから産生されるポリペプチドまたはタンパク質の量を増加させる核酸配列を指す）を含み得る。非限定的な例として、ＴＥＥは、転写プロモーターと開始コドンとの間に位置し得る。いくつかの実施形態では、５′ＵＴＲはＴＥＥを含む。

【００６９】

一態様では、ＴＥＥは、限定されないが、キャップ依存性またはキャップ非依存性翻訳などの核酸の翻訳活性を促進し得る、ＵＴＲ中の保存エレメントである。

【００７０】

ａ．５′ＵＴＲ配列

５′ＵＴＲ配列は、ｍＲＮＡへのリボソームのリクルートに重要であり、翻訳において役割を果たすことが報告されている（Ｈｉｎｎｅｂｕｓｃｈ Ａ，ｅｔ ａｌ．，（２０１６）Ｓｃｉｅｎｃｅ，３５２：６２９２：１４１３－６）。

【００７１】

本明細書ではとりわけ、ポリペプチドをコードする、とりわけ５′ＵＴＲを含むポリヌクレオチドが開示される。一実施形態では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、（ａ）５′ＵＴＲ（例えば、表１に示されるようなものまたはそのバリアントもしくは断片）、（ｂ）コード領域、ならびに（ｃ）終止エレメント及び３′ＵＴＲ（例えば、表２に示されるようなものまたはそのバリアントもしくは断片）を含み、ＬＮＰ組成物はそれらを含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、表１に示されている配列またはそのバリアントもしくは断片（例えば、その機能的バリアントまたは断片）を含む５′ＵＴＲを含む。このような５′ＵＴＲは、天然では見出されない構築物に組み込まれる（例えば、このような５′ＵＴＲは、合成である、天然に存在する５′ＵＴＲの配列が変更されている、天然で見出されるものの切断または伸長したバージョンである、化学的に修飾された塩基を含む、天然で見出され得るものとは異なるＯＲＦ配列の５′にある等）ことが理解されるであろう。

【００７２】

一実施形態では、５′ＵＴＲは、表１に示されている配列または表１に示されている５′ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列、あるいはそのバリアントまたは断片を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６、配列番号５７または配列番号５８に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。

【００７３】

一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５０に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５１に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５２に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５３に対して少なくとも８０％

、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５４に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５５に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５６に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５７に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５８に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。

【００７４】

一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号６４に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。

【００７５】

一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５０の配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５０の配列からなる。

【００７６】

一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号６４の配列を含む。一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号６４の配列からなる。

【００７７】

一実施形態では、表１に示されている５′ＵＴＲ配列は、Ａである第１ヌクレオチドを有する。一実施形態では、表１に示されている５′ＵＴＲ配列は、Ｇである第１ヌクレオチドを有する。一実施形態では、表１に示されている５′ＵＴＲ配列は、ＡＧである２個の第１ヌクレオチドを有する。一実施形態では、表１に示されている５′ＵＴＲ配列は、ＧＡである２個の第１ヌクレオチドを有する。

【表１－１】

表１：５´ＵＴＲ配列

配列番号	配列名	配列
50	A1	GGAAAUCGCAAAAUUUGCUCUUCGCGUUAGAUUUCUUUUAGUUUUCUCGCAACUAGCAAGCUUUUUGUUCUCGCC
51	A5	GGAAAUCCCCACAACCGCCUCAUAUCCAGGCUCAAGAAUAGAGCUCAGUGUUUUGUUGUUUAAUCAUUCCGACGUGUUUUGCGAUAUUCGCGCAAAGCAGCCAGUCGCGCGCUUGCUUUUAAGUAGAGUUGUUUUUCCACCCGUUUGCCAGGCAUCUUUAAUUUAACAUAUUUUUAUUUUUCAGGCUAACCUACGCCGCCACC
52	A6	GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAUCUCCCUGAGCUUCAGGGAGCCCCGGCGCCGCCACC
53	A7	GGAAACCCCCCACCCCCGUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAUCUCCCUGAGCUUCAGGGAGCCCCGGCGCCGCCACC
54	A8	GGAGAACUUCCGCUUCCGUUGGCGCAAGCGCUUUCAUUUUUUCUGCUACCGUGACUAAG
55	A9	GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC
56	A11（参照）	GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGACCCCGGCGCCGCCACC
57	A2	GGAAAUCGCAAAAUUUGCUCUUCGCGUUAGAUUUCUUUUAGUUUUCUCGCAACUAGCAAGCUUUUUGUUCUCGCCGCCGCC
58	A3	GGAAAUCGCAAAAUUUUCUUUUCGCGUUAGAUUUCUUUUAGUUUUCUUUCAACUAGCAAGCUUUUUGUUCUCGCCGCCGCC

【表１－２】

59	A4	GGAAAUCGCAAAA $(N_2)_x$ $(N_3)_x$ CU $(N_4)_x$ $(N_5)_x$ CGCGUUAGAUUUCUU UUAGUUUUCU N_6 N_7 CAACUAGC AAGCUUUUUGUUCUCGCC $(N_8$ CC)x （N_2）xはウラシルであり、xは０～５の整数（例えば、x＝３または４）であり、 （N_3）xはグアニンであり、xは０～１の整数であり、 （N_4）xはシトシンであり、xは０～１の整数であり、 （N_5）xはウラシルであり、xは０～５の整数（例えば、x＝２または３）であり、 N_6はウラシルまたはシトシンであり、 N_7はウラシルまたはグアニンであり、 N_8はアデニンまたはグアニンであり、 xは０～１の整数である。
60	A27	GGAAAAUUUUAGCCUGGAACGUUAGAUAACUGUCCUGUUG UCUUUAUAUACUUGGUCCCCAAGUAGUUUGUCUUCCAAA
61	A12	GGAAACUUUAUUUAGUGUUACUUUAUUUUCUGUUUAUUUG UGUUUCUUCAGUGGGUUUGUUCUAAUUUCCUUGGCCGCC
62	A13	GGAAAAUCUGUAUUAGGUUGGCGUGUUCUUUGGUCGGUUG UUAGUAUUGUUGUUGAUUCGUUUGUGGUCGGUUGCCGCC
63	A14	GGAAAAUUAUUAACAUCUUGGUAUUCUCGAUAACCAUUCG UUGGAUUUUAUUGUAUUCGUAGUUUGGGUUCCUGCCGCC
64	A15	GGAAAUUAUUAUUAUUUCUAGCUACAAUUUAUCAUUGUAU UAUUUUAGCUAUUCAUCAUUAUUUACUUGGUGAUCAACA
65	A16	GGAAAUAGGUUGUUAACCAAGUUCAAGCCUAAUAAGCUUG GAUUCUGGUGACUUGCUUCACCGUUGGCGGGCACCGAUC
66	A17	GGAAAUCGUAGAGAGUCGUACUUAGUACAUAUCGACUAUC GGUGGACACCAUCAAGAUUAUAAACCAGGCCAGA

【表１－３】

67	A18	GGAAACCCGCCCAAGCGACCCCAACAUAUCAGCAGUUGCC CAAUCCCAACUCCCAACACAAUCCCCAAGCAACGCCGCC
68	A19	GGAAAGCGAUUGAAGGCGUCUUUUCAACUACUCGAUUAAG GUUGGGUAUCGUCGUGGGACUUGGAAAUUUGUUGUUUCC
69	A20	GGAAACUAAUCGAAAUAAAAGAGCCCCGUACUCUUUUAUU UCUAUUAGGUUAGGAGCCUUAGCAUUUGUAUCUUAGGUA
70	A21	GGAAAUGUGAUUUCCAGCAACUUCUUUUGAAUAUAUUGAA UUCCUAAUUCAAAGCGAACAAAUCUACAAGCCAUAUACC
71	A22	GGAAAUCGUAGAGAGUCGUACUUACGUGGUCGCCAUUGCA UAGCGCGCGAAAGCAACAGGAACAAGAACGCGCC
72	A23	GGAAAUCGUAGAGAGUCGUACUUAGAAUAAACAGAGUCGG GUCGACUUGUCUCUGAUACUACGACGUCACAAUC
73	A24	GGAAAAUUUGCCUUCGGAGUUGCGUAUCCUGAACUGCCCA GCCUCCUGAUAUACAACUGUUCCGCUUAUUCGGGCCGCC
74	A25	GGAAAUCUGAGCAGGAAUCCUUUGUGCAUUGAAGACUUUA GAUUCCUCUCUGCGGUAGACGUGCACUUAUAAGUAUUUG
75	A26	GGAAAGCGAUUGAAGGCGUCUUUUCAACUACUCGAUUAAG GUUGGGUAUCGUCGUGGGACUUGGAAAUUUGUUGCCACC
76	A28	GGAAAUUUUUUUUUGAUAUUAUAAGAGUUUUUUUUUGAUA UUAAGAAAAUUUUUUUUUGAUAUUAGAAGAGUAAGAAGAA AUAUAAGACCCCGGCGCCGCCACC
77	A29	GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGA GCCAAAAAAAAAAAACC
78	A30	GGAAAUCUCCCUGAGCUUCAGGGAGUAAGAGAGAAAAGAA GAGUAAGAAGAAAUAUAAGACCCCGGCGCCGCCACC
79	A31	GCCRCC、配列中、Ｒ＝ＡまたはＧである
80	A32	GGACUCACUAUUUGUUUUCGCGCCCAGUUGCAAAAA

【００７８】

一実施形態では、５´ＵＴＲは、配列番号５０のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、式Ａ：

$GGAAAUCGCAAAA(N_2)_x(N_3)_xCU(N_4)_x(N_5)_xCGCGUUAGAUUUCUUUAGUUUUCUN_6N_7CAACUAGCAAGCUUUUUGUUCUCGCC(N_8CC)_x$（配列番号５９）

の核酸配列を含み、式中、

$(N_2)_x$はウラシルであり、ｘは０～５の整数（例えば、ｘ＝３または４）であり、

（Ｎ３）$_x$はグアニンであり、ｘは０～１の整数であり、
（Ｎ４）$_x$はシトシンであり、ｘは０～１の整数であり、
（Ｎ５）$_x$はウラシルであり、ｘは０～５の整数（例えば、ｘ＝２または３）であり、
Ｎ６はウラシルまたはシトシンであり、
Ｎ７はウラシルまたはグアニンであり、
Ｎ８は、アデニンまたはグアニンであり、ｘは０～１の整数である。

【００７９】

一実施形態では、（Ｎ２）$_x$はウラシルであり、ｘは０である。一実施形態では、（Ｎ２）$_x$はウラシルであり、ｘは１である。一実施形態では、（Ｎ２）$_x$はウラシルであり、ｘは２である。一実施形態では、（Ｎ２）$_x$はウラシルであり、ｘは３である。一実施形態では、（Ｎ２）$_x$はウラシルであり、ｘは４である。一実施形態では、（Ｎ２）$_x$はウラシルであり、ｘは５である。

【００８０】

一実施形態では、（Ｎ３）$_x$はグアニンであり、ｘは０である。一実施形態では、（Ｎ３）$_x$はグアニンであり、ｘは１である。

【００８１】

一実施形態では、（Ｎ４）$_x$はシトシンであり、ｘは０である。一実施形態では、（Ｎ４）$_x$はシトシンであり、ｘは１である。

【００８２】

一実施形態では、（Ｎ５）$_x$はウラシルであり、ｘは０である。一実施形態では、（Ｎ５）$_x$はウラシルであり、ｘは１である。一実施形態では、（Ｎ５）$_x$はウラシルであり、ｘは２である。一実施形態では、（Ｎ５）$_x$はウラシルであり、ｘは３である。一実施形態では、（Ｎ５）$_x$はウラシルであり、ｘは４である。一実施形態では、（Ｎ５）$_x$はウラシルであり、ｘは５である。

【００８３】

一実施形態では、Ｎ６はウラシルである。一実施形態では、Ｎ６はシトシンである。

【００８４】

一実施形態では、Ｎ７はウラシルである。一実施形態では、Ｎ７はグアニンである。

【００８５】

一実施形態では、Ｎ８はアデニンであり、ｘは０である。一実施形態では、Ｎ８はアデニンであり、ｘは１である。

【００８６】

一実施形態では、Ｎ８はグアニンであり、ｘは０である。一実施形態では、Ｎ８はグアニンであり、ｘは１である。

【００８７】

一実施形態では、５′ＵＴＲは、配列番号５０のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも５０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも６０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも７０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも９０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも９５％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも９６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも９７％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも９８

％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、配列番号５０に対して少なくとも９９％の同一性を有する配列を含む。

【００８８】

一実施形態では、５´ＵＴＲは、配列番号６４のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも６４％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも６４％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも６０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも７０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも９０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも９５％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも９６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも９７％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも９８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、配列番号６４に対して少なくとも９９％の同一性を有する配列を含む。

【００８９】

一実施形態では、５´ＵＴＲは、配列番号５５のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも５５％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも５５％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも６０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも７０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも９０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも９５％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも９６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも９７％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも９８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、配列番号５５に対して少なくとも９９％の同一性を有する配列を含む。

【００９０】

一実施形態では、５´ＵＴＲは、配列番号５６のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも５６％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも５６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも６０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも７０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも９０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも９５％の

同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも９６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも９７％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも９８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、配列番号５６に対して少なくとも９９％の同一性を有する配列を含む。

【００９１】

一実施形態では、５´ＵＴＲは、配列番号５８のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも５８％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも５８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも６０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも７０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも９０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも９５％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも９６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも９７％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも９８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、配列番号５８に対して少なくとも９９％の同一性を有する配列を含む。

【００９２】

一実施形態では、５´ＵＴＲは、配列番号７６のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも７６％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも７６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも６０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも７０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも９０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも９５％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも９６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも９７％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも９８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、配列番号７６に対して少なくとも９９％の同一性を有する配列を含む。

【００９３】

一実施形態では、５´ＵＴＲは、配列番号７８のバリアントを含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも７８％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも７８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも６０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも７０％の同一

性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも９０％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも９５％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも９６％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも９７％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも９８％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、配列番号７８に対して少なくとも９９％の同一性を有する配列を含む。

【００９４】

一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、または８０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも１０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも２０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも３０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも４０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも５０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６０のバリアントは、少なくとも６０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７０のバリアントは、少なくとも７０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号８０のバリアントは、少なくとも８０％のウリジン含有量で構成される。

【００９５】

一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、６４％、６０％、７０％、または８０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも１０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも２０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも３０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも４０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも６４％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも６０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも７０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも８０％のウリジン含有量で構成される。

【００９６】

一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５５％、６０％、７０％、または８０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも１０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも２０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも３０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも４０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも５５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも６０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも７０％のウリジン含有量で構成される。一

実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも８０％のウリジン含有量で構成される。

【００９７】

一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５６％、６０％、７０％、または８０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも１０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも２０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも３０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも４０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも５６％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも６０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも７０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも８０％のウリジン含有量で構成される。

【００９８】

一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５８％、６０％、７０％、または８０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも１０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも２０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも３０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも４０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも５８％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも６０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも７０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも８０％のウリジン含有量で構成される。

【００９９】

一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、７６％、６０％、７０％、または８０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも１０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも２０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも３０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも４０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも７６％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも６０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも７０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも８０％のウリジン含有量で構成される。

【０１００】

一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％、７８％、６０％、７０％、または８０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも５％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも１０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも２０％の

ウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも３０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも４０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも７８％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも６０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも７０％のウリジン含有量で構成される。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも８０％のウリジン含有量で構成される。

【０１０１】

一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、少なくとも２、３、４、５、６または７個の連続したウリジン（例えば、ポリウリジントラクト）を含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、少なくとも１～７、２～７、３～７、４～７、５～７、６～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、２～６、または３～５個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、４個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、５個の連続したウリジンを含む。

【０１０２】

一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、少なくとも２、３、４、５、６または７個の連続したウリジン（例えば、ポリウリジントラクト）を含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、少なくとも１～７、２～７、３～７、４～７、５～７、６～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、２～６、または３～５個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、４個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、５個の連続したウリジンを含む。

【０１０３】

一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、少なくとも２、３、４、５、６または７個の連続したウリジン（例えば、ポリウリジントラクト）を含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、少なくとも１～７、２～７、３～７、４～７、５～７、６～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、２～６、または３～５個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、４個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、５個の連続したウリジンを含む。

【０１０４】

一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、少なくとも２、３、４、５、６または７個の連続したウリジン（例えば、ポリウリジントラクト）を含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、少なくとも１～７、２～７、３～７、４～７、５～７、６～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、２～６、または３～５個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、４個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、５個の連続したウリジンを含む。

【０１０５】

一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、少なくとも２、３、４、５、６または７個の連続したウリジン（例えば、ポリウリジントラクト）を含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、少なくとも１～７、２～７、３～７、４～７、５～７、６～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、２～６、または３～５個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアント

におけるポリウリジントラクトは、４個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、５個の連続したウリジンを含む。

【０１０６】

一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、少なくとも２、３、４、５、６または７個の連続したウリジン（例えば、ポリウリジントラクト）を含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、少なくとも１～７、２～７、３～７、４～７、５～７、６～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、２～６、または３～５個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、４個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、５個の連続したウリジンを含む。

【０１０７】

一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、少なくとも２、３、４、５、６または７個の連続したウリジン（例えば、ポリウリジントラクト）を含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、少なくとも１～７、２～７、３～７、４～７、５～７、６～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、２～６、または３～５個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、４個の連続したウリジンを含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントにおけるポリウリジントラクトは、５個の連続したウリジンを含む。

【０１０８】

一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、３個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、４個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５０のバリアントは、５個のポリウリジントラクトを含む。

【０１０９】

一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、３個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、４個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号６４のバリアントは、５個のポリウリジントラクトを含む。

【０１１０】

一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、３個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、４個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５５のバリアントは、５個のポリウリジントラクトを含む。

【０１１１】

一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、３個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、４個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５６のバリアントは、５個のポリウリジントラクトを含む。

【０１１２】

一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、３個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号５８のバリアントは、４個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態

では、配列番号５８のバリアントは、５個のポリウリジントラクトを含む。
【０１１３】
一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、３個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、４個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号７６のバリアントは、５個のポリウリジントラクトを含む。
【０１１４】
一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、３個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、４個のポリウリジントラクトを含む。一実施形態では、配列番号７８のバリアントは、５個のポリウリジントラクトを含む。
【０１１５】
一実施形態では、ポリウリジントラクトのうちの１個以上が、異なるポリウリジントラクトに隣接している。一実施形態では、ポリウリジントラクトの各々、例えば、全てが互いに隣接し、例えば、ポリウリジントラクトの全てが連続している。
【０１１６】
一実施形態では、ポリウリジントラクトのうち１個以上が、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、３０、４０、５０または６０個のヌクレオチドによって分離されている。一実施形態では、ポリウリジントラクトの各々、例えば、全てが１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、３０、４０、５０または６０個のヌクレオチドによって分離されている。
【０１１７】
一実施形態では、第１ポリウリジントラクト及び第２ポリウリジントラクトが、互いに隣接している。
【０１１８】
一実施形態では、後続の、例えば、第３、第４、第５、第６もしくは第７、第８、第９、または第１０ポリウリジントラクトは、第１ポリウリジントラクト、第２ポリウリジントラクト、または後続のポリウリジントラクトのいずれか１つから１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、３０、４０、５０または６０個のヌクレオチドによって分離されている。
【０１１９】
一実施形態では、第１ポリウリジントラクトは、後続のポリウリジントラクト、例えば、第２、第３、第４、第５、第６もしくは第７、第８、第９、または第１０ポリウリジントラクトから１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、３０、４０、５０または６０個のヌクレオチドによって分離されている。一実施形態では、後続のポリウリジントラクトのうち１個以上が、異なるポリウリジントラクトに隣接している。
【０１２０】
一実施形態では、５′ＵＴＲは、コザック配列（例えば、ＧＣＣＲＣＣヌクレオチド配列（配列番号７９）、ここで、Ｒはアデニンまたはグアニンである）を含む。一実施形態では、コザック配列は、５′ＵＴＲ配列の３′末端に配置される。
【０１２１】
一実施形態では、本明細書に開示される５′ＵＴＲ配列を含むポリヌクレオチドは、ペイロード（例えば、治療または予防ペイロード）をコードするコード領域を含む。
【０１２２】
一態様において、本明細書に開示される５′ＵＴＲ配列を含むポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）は、ＬＮＰとして製剤化される。一実施形態では、ＬＮＰ組成物は、（ｉ

）イオン化脂質（例えば、アミノ脂質）、（ｉｉ）ステロールまたは他の構造脂質、（ｉｉｉ）非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、及び（ｉｖ）ＰＥＧ脂質を含む。

【０１２３】

別の態様では、本開示のＬＮＰ組成物は、対象における、疾患もしくは障害を処置する方法、または免疫応答を阻害する方法で使用される。

【０１２４】

一態様において、治療ペイロードまたは予防ペイロード（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をコードする本明細書に開示されるポリヌクレオチドを含むＬＮＰ組成物は、追加の薬剤（例えば、本明細書に記載されるようなもの）と共に投与され得る。

【０１２５】

ｂ．終止エレメント＋３′ＵＴＲ配列

翻訳終止コドンであるＵＡＡ、ＵＡＧ、及びＵＧＡは、遺伝暗号の重要な構成要素であり、ｍＲＮＡの翻訳終結を合図するものである。タンパク質合成中、終止コドンはタンパク質放出因子と相互作用し、この相互作用によりリボソーム活性が調節され得、したがって翻訳に影響が及ぶ（Ｔａｔｅ　ＷＰ，ｅｔ　ａｌ．，（２０１８）Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｓｏｃ　Ｔｒａｎｓ，４６（６）：１６１５－１６２）。

【０１２６】

３′ＵＴＲ配列は、ｍＲＮＡの翻訳、半減期、及び細胞内局在に影響を及ぼすことが示されている（Ｍａｙｒ　Ｃ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂ　Ｐｅｒｓｐ　Ｂｉｏｌ　２０１９　Ｏｃｔ　１；１１（１０）：ａ０３４７２８）。

【０１２７】

本明細書では、とりわけ、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、当該ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、もしくは当該ポリヌクレオチドそれ自体の半減期の増加、発現量の増加及び／または活性の増加を付与する３′ＵＴＲと組み合わせた終止エレメントを有する、当該ポリヌクレオチドが開示される。一実施形態では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、（ａ）５′ＵＴＲ、（ｂ）コード領域、ならびに（ｃ）終止エレメント及び３′ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含み、ＬＮＰ組成物はそれらを含む。

【０１２８】

本明細書ではとりわけ、ポリペプチドをコードする、とりわけ３′ＵＴＲを含むポリヌクレオチドが開示される。一実施形態では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、（ａ）５′ＵＴＲ（例えば、表１に示されるようなものまたはそのバリアントもしくは断片）、（ｂ）コード領域、ならびに（ｃ）終止エレメント及び３′ＵＴＲ（例えば、表２に示されるようなものまたはそのバリアントもしくは断片）を含み、ＬＮＰ組成物はそれらを含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、表２に示されている配列またはそのバリアントもしくは断片（例えば、その機能的バリアントまたは断片）を含む３′ＵＴＲを含む。このような３′ＵＴＲは、天然では見出されない構築物に組み込まれる（例えば、このような３′ＵＴＲは、合成である、天然に存在する３′ＵＴＲの配列が変更されている、天然で見出されるものの切断または伸長したバージョンである、化学的に修飾された塩基を含む、天然で見出され得るものとは異なるＯＲＦ配列の３′にある等）ことが理解されるであろう。

【０１２９】

一実施形態では、３′ＵＴＲは、表２に示されている配列または表２に示されている３′ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列、あるいはそのバリアントまたは断片を含む。一実施形態では、３′ＵＴＲは、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、または配列番号１４７に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の同一性を有する配列を含む。

【表２－１】

表２：３´ＵＴＲ配列（イタリック体は終止カセット、太字はｍｉＲ結合部位）

配列番号	配列名	配列
配列番号 139	D1	*UAAAGCUCCCCGGGG*GCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCC CUUGGGCCUCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUUCCUGCACCC GUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC
配列番号 140	D2	*UAACUCUA*ACCUCGACCCUCCUCACACACCUCUCUCAACU AUUGAGAAGAUCGGAACAGCUCCUUACUCUGAGGAAGUUG GUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC
配列番号 141	D3	*UAAAGCUCCCCGGGG***CAAACACCAUUGUCACACUCCA**GCC UCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCC**CAAACACCAU** **UGUCACACUCCA**UCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUUCCUGC ACCCGUACCCCC**CAAACACCAUUGUCACACUCCA**GUGGUC UUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC （太字はｍｉＲ１２２結合部位）
配列番号 142	D4	*UAAAGCUCCCCGGGG***UCCAUAAAGUAGGAAACACUACA**GC UGGAGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCCCAA

【表２－２】

		ACACCAUUGUCACACUCCAUCCCCCCAGCCCCUCCUCCCC UUCCUGCACCCGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUG AGUGGGCGGC (太字はｍｉＲ－１４２－３ｐ及びｍｉＲ１２２結合部位)
配列番号 143	D5	*UAAAGCUCCCCCGGGGGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCC* CUUGGGCCUCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCCJUCCUGCACCC GUACCCCC**CAAACACCAUUGUCACACUCCA**GUGGUCUUUG AAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC (太字はｍｉＲ１２２結合部位)
配列番号 144	D6	*UAAGCCCCUCCGGGG***CAAACACCAUUGUCACACUCCA**GCC UCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCC**CAAACACCAU** **UGUCACACUCCA**UCCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCCUUCCUGC ACCCGUACCCCCC**CAAACACCAUUGUCACACUCCA**GUGGUC UUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC (太字はｍｉＲ１２２結合部位)
配列番号 145	D7	*UAAGCCCCUCCGGGG***UCCAUAAAGUAGGAAACACUACA**GC CUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCC**UCCAUAAAG** **UAGGAAACACUACA**UCCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCCUUCCU GCACCCGUACCCCCC**CGCAUUAUUACUCACGGUACGA**GUGG UCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC （太字はｍｉＲ－１４２－３ｐ及びｍｉＲ－１２６－３ｐ結合部位）
配列番号 146	D8	*UAAGCCCCUCCGGGG***UCCAUAAAGUAGGAAACACUACA**GC UGGAGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCC**CAA** **ACACCAUUGUCACACUCCA**UCCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCC UUCCUGCACCCGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUG AGUGGGCGGC (太字はｍｉＲ－１４２－３ｐ及びｍｉＲ１２２結合部位)
配列番号 147	D9	*UAAGCCCCUCCGGGGG*CCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCC CUUGGGCCUCCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCCJUCCUGCACCC

【表２－３】

		GUACCCCC**CAAACACCAUUGUCACACUCCA**GUGGUCUUUG AAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC (太字はｍｉＲ１２２結合部位)

【０１３０】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イ

タリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＣＣＵＣＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１３９）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１３９のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１３１】

一実施形態では、配列番号１３９に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。

【０１３２】

一実施形態では、配列番号１３９に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。

【０１３３】

一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１３９の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０１３４】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１３９に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１３９に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。

【０１３５】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＧＵＣＵＡＡＧＣＵＧＧＡＧＣＣＵＣＣＵＧＡＧＡＧＡＣＣＵＧＵＧＵＧＡＡＣＵＡＵＵＧＡＧＡＡＧＡＵＣＧＧＡＡＣＡＧＣＵＣＣＵＵＡＣＵＣＵＧＡＧＧＡＡＧＵＵＧＧＵＡＣＣＣＣＣＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４０）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４０のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１３６】

一実施形態では、配列番号１４０に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では

、半減期の増加は、約１０倍以上である。
【０１３７】
一実施形態では、配列番号１４０に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。
【０１３８】
一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４０の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。
【０１３９】
一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４０に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４０に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。
【０１４０】
一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＵＣＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４１）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４１のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。
【０１４１】
一実施形態では、配列番号１４１に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。
【０１４２】
一実施形態では、配列番号１４１に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。
【０１４３】
一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４１の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。
【０１４４】
一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４１に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４１に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。
【０１４５】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧＵＣＣＡＵＡＡＡＧＵＡＧＧＡＡＡＣＡＣＵＡＣＡＧＣＵＧＧＡＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＵＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４２）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４２のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１４６】

一実施形態では、配列番号１４２に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。

【０１４７】

一実施形態では、配列番号１４２に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。

【０１４８】

一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４２の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０１４９】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４２に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４２に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。

【０１５０】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＣＣＵＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４３）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４３のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１５１】

一実施形態では、配列番号１４３に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減

期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。

【０１５２】

一実施形態では、配列番号１４３に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。

【０１５３】

一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４３の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０１５４】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４３に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４３に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。

【０１５５】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＧＣＣＣＣＵＣＣＧＧＧＧＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＵＣＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４４）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４４のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１５６】

一実施形態では、配列番号１４４に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。

【０１５７】

一実施形態では、配列番号１４４に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。

【０１５８】

一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４４の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０１５９】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４４に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４４に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％

、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。

【０１６０】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＧＣＣＣＣＵＣＣＧＧＧＧＵＣＣＡＵＡＡＡＧＵＡＧＧＡＡＡＣＡＣＵＡＣＡＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＧＣＣＵＣＣＡＵＡＡＡＧＵＡＧＧＡＡＡＣＡＣＵＡＣＡＵＣＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＣＧＣＡＵＵＡＵＵＡＣＵＣＡＣＧＧＵＡＣＧＡＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４５）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４５のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１６１】

一実施形態では、配列番号１４５に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。

【０１６２】

一実施形態では、配列番号１４５に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。

【０１６３】

一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４５の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０１６４】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４５に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４５に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。

【０１６５】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＧＣＣＣＣＵＣＣＧＧＧＧＵＣＣＡＵＡＡＡＧＵＡＧＧＡＡＡＣＡＣＵＡＣＡＧＣＵＧＧＡＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＵＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４６）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４６のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１６６】

一実施形態では、配列番号１４６に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期

の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。

【０１６７】

一実施形態では、配列番号１４６に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。

【０１６８】

一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４６の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０１６９】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４６に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４６に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。

【０１７０】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは終止エレメント及び３´ＵＴＲを含み、配列（イタリック体は終止エレメント）は、ＵＡＡＧＣＣＣＣＵＣＣＧＧＧＧＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣＣＵＵＧＧＧＣＣＵＣＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣＧＵＡＣＣＣＣＣＣＣＡＡＡＣＡＣＣＡＵＵＧＵＣＡＣＡＣＵＣＣＡＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号１４７）またはそのバリアントもしくは断片（例えば、配列番号１４７のヌクレオチドのうちの最初の１、２、３、４、５、６個、またはそれを超えるヌクレオチドを欠く断片）である。

【０１７１】

一実施形態では、配列番号１４７に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加（例えば、ポリヌクレオチドの半減期が約１．５～１０倍増加）する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約６倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約７倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約８倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約９倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約１０倍以上である。

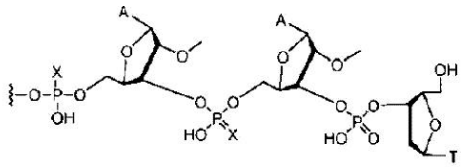
【０１７２】

一実施形態では、配列番号１４７に示されている３´ＵＴＲ配列またはそのバリアントもしくは断片を有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。

【０１７３】

一実施形態では、増加は、３´ＵＴＲを有しない、異なる３´ＵＴＲを有する、または配列番号１４７の３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０１７４】
一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１４７に示されている３´ＵＴＲ配列または配列番号１４７に示されている３´ＵＴＲ配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％の同一性を有する配列を含む。
【０１７５】
２．３´安定化領域
本明細書では、とりわけ、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、（ａ）５´ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、（ｂ）終止エレメント（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含むコード領域、（ｃ）３´ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、及び（ｄ）３´安定化領域を含む当該ポリヌクレオチドが開示される。また、それらを含むＬＮＰ組成物も本明細書に開示される。
【０１７６】
一実施形態では、ポリヌクレオチドは、３´安定化領域（例えば、安定化尾部、例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含む。３´安定化領域（例えば、代替の核酸塩基、糖、及び／または骨格を含む３´安定化領域）を含有するポリヌクレオチドは、安定性の増加、高い発現レベルの恩恵を受け得るので、治療用組成物において使用するのに特に有効であり得る。
【０１７７】
一実施形態では、３´安定化領域は、ポリＡ尾部（例えば、８０～１５０個、例えば、１２０個のアデニンを含むポリＡ尾部（配列番号１２３））を含む。一実施形態では、ポリＡ尾部は、１個以上の非アデノシン残基（例えば、１個以上のグアノシン、例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含む。一実施形態では、ポリＡ尾部は、ＵＣＵＡＧ配列（配列番号４４）を含む。一実施形態では、ポリＡ尾部は、配列番号４４の上流に約８０～１２０個（例えば、１００個）のアデニンを含む。一実施形態では、ポリＡ尾部は、配列番号４４の下流に約１～４０個（例えば、２０個）のアデニンを含む。
【０１７８】
一実施形態では、３´安定化領域は、少なくとも１つの代替ヌクレオシドを含む。一実施形態では、代替ヌクレオシドは、ｉｎｖｅｒｔｅｄチミジン（ｉｄＴ）である。一実施形態では、代替ヌクレオシドは、３´安定化領域の３´末端に配置される。
【０１７９】
一実施形態では、３´安定化領域は、式ＶＩＩ：
【化６】



の構造またはその塩を含み、式中、各Ｘは独立してＯまたはＳであり、Ａはアデニンを表し、Ｔはチミンを表す。
【０１８０】
一態様において、本明細書では、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、（ａ）５´ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、（ｂ）終止エレメント（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含むコード領域、（ｃ）３´ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、及び（ｄ）３´安定化領域（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含む当該ポリヌクレオチドが開示される。
【０１８１】
一態様において、本明細書に開示される安定化領域を含むポリヌクレオチドを含むＬＮＰ組成物は、（ｉ）イオン化脂質（例えば、アミノ脂質）、（ｉｉ）ステロールまたは他

の構造脂質、（ｉｉｉ）非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、及び（ｉｖ）ＰＥＧ脂質を含む。

【０１８２】

別の態様では、本開示のＬＮＰ組成物は、対象における、疾患もしくは障害を処置する方法、または免疫応答を阻害する方法で使用される。

【０１８３】

一態様において、治療ペイロードまたは予防ペイロード（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をコードする、本明細書に開示されるポリヌクレオチドを含むＬＮＰ組成物は、追加の薬剤（例えば、本明細書に記載されるようなもの）と共に投与され得る。

【０１８４】

３．マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）結合部位

本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、調節エレメント、例えば、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）結合部位、転写因子結合部位、構造化ｍＲＮＡ配列及び／またはモチーフ、内因性核酸結合分子の疑似受容体として作用するように操作された人工結合部位、ならびにこれらの組み合わせを含み得る。

【０１８５】

いくつかの実施形態では、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、目的のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含み、さらに１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位（複数可）を含む。ｍｉＲＮＡ結合部位（複数可）の包含または組み込みにより、天然に存在するｍｉＲＮＡの組織特異的及び／または細胞型特異的発現に基づいて、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）、ひいては、それにコードされるポリペプチドが調節される。

【０１８６】

ｍｉＲＮＡ（例えば、天然に存在するｍｉＲＮＡ）は、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に結合する１９～２５ヌクレオチド長の非コードＲＮＡであり、ポリヌクレオチドの安定性を低下させること、またはその翻訳を阻害することのいずれかによって遺伝子発現を下方制御する。ｍｉＲＮＡ配列は、「シード」領域、すなわち、成熟ｍｉＲＮＡの２～８位の領域にある配列を含む。ｍｉＲＮＡシードは、成熟ｍｉＲＮＡの２～８または２～７位を含み得る。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡシードは、７ヌクレオチド（例えば、成熟ｍｉＲＮＡのヌクレオチド２～８）を含み得、対応するｍｉＲＮＡ結合部位のシード相補部位は、ｍｉＲＮＡ１位に対するアデノシン（Ａ）と隣接している。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡシードは、６ヌクレオチド（例えば、成熟ｍｉＲＮＡのヌクレオチド２～７）を含み得、対応するｍｉＲＮＡ結合部位のシード相補部位は、ｍｉＲＮＡ１位に対するアデノシン（Ａ）と隣接している。例えば、Ｇｒｉｍｓｏｎ Ａ，Ｆａｒｈ ＫＫ，Ｊｏｈｎｓｔｏｎ ＷＫ，Ｇａｒｒｅｔｔ－Ｅｎｇｅｌｅ Ｐ，Ｌｉｍ ＬＰ，Ｂａｒｔｅｌ ＤＰ；Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ．２００７ Ｊｕｌ ６；２７（１）：９１－１０５を参照のこと。標的細胞または組織のｍｉＲＮＡプロファイリングを実施して、細胞または組織におけるｍｉＲＮＡの存在または非存在を判定することができる。いくつかの実施形態では、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、１つ以上のマイクロＲＮＡ結合部位、マイクロＲＮＡ標的配列、マイクロＲＮＡ相補配列、またはマイクロＲＮＡシード相補配列を含む。このような配列は、米国公開ＵＳ２００５／０２６１２１８及び米国公開ＵＳ２００５／００５９００５（これらの各々の内容は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）で教示されたもの等、任意の既知のマイクロＲＮＡに対応し得る（例えば、相補性を有し得る）。

【０１８７】

本明細書で使用される場合、「マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡまたはｍｉＲ）結合部位」という用語は、核酸分子内（例えば、ＤＮＡ内または５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲを含めたＲＮＡ転写物内）の配列を指し、ｍｉＲＮＡの全てまたは領域に対して、当該ｍｉＲＮＡと相互作用、会合、または結合するのに十分な相補性を有する。いくつかの実施形態では、目的のポリペプチドをコードするＯＲＦを含む本開示の核酸分子（例えば、Ｒ

ＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位（複数可）をさらに含む。例示的な実施形態では、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲは、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位（複数可）を含む。

【０１８８】

ｍｉＲＮＡ結合部位がｍｉＲＮＡに対して十分な相補性を有するとは、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）のｍｉＲＮＡ介在性調節（例えば、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）のｍｉＲＮＡ介在性翻訳抑制または分解）を促進するのに十分な相補性の程度を指す。本開示の例示的な態様では、ｍｉＲＮＡ結合部位がｍｉＲＮＡに対して十分な相補性を有するとは、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）のｍｉＲＮＡ介在性分解（例えば、ｍｉＲＮＡのガイドによるＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）介在性ｍＲＮＡ切断）を促進するのに十分な相補性の程度を指す。ｍｉＲＮＡ結合部位は、例えば、１９～２５ヌクレオチドのｍｉＲＮＡ配列、１９～２３ヌクレオチドのｍｉＲＮＡ配列、または２２ヌクレオチドのｍｉＲＮＡ配列に対して相補性を有し得る。ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡの一部のみ（例えば、天然に存在するｍｉＲＮＡ配列の全長より１、２、３、または４ヌクレオチド少ない部分）に対して相補的であり得る。所望の調節がｍＲＮＡ分解である場合、相補性が最大限または完全である（例えば、天然に存在するｍｉＲＮＡの長さの全てまたはかなりの部分にわたり相補性が最大限であるかまたは相補性が完全である）ことが好ましい。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡシード配列との相補性（例えば、部分的または完全な相補性）を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡシード配列との完全な相補性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡ配列との相補性（例えば、部分的または完全な相補性）を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡ配列との完全な相補性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、１、２、または３つのヌクレオチド置換、末端付加、及び／または切断を別にすれば、ｍｉＲＮＡ配列との完全な相補性を有する。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、対応するｍｉＲＮＡと同じ長さである。他の実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、５′末端、３′末端、またはその両方で、対応するｍｉＲＮＡより１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１または１２ヌクレオチド（複数可）短い。さらに他の実施形態では、マイクロＲＮＡ結合部位は、５′末端、３′末端、またはその両方で、対応するマイクロＲＮＡより２ヌクレオチド短い。ｍｉＲＮＡ結合部位が対応するｍｉＲＮＡよりも短いとしても、ｍｉＲＮＡ結合部位の１つ以上が組み込まれているｍＲＮＡの分解、または当該ｍＲＮＡの翻訳の防止は可能である。

【０１９１】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、Ｄｉｃｅｒを含有する活性ＲＩＳＣの一部である対応する成熟ｍｉＲＮＡを結合させる。別の実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位がＲＩＳＣ中の対応するｍｉＲＮＡへ結合することにより、ｍｉＲＮＡ結合部位を含有するｍＲＮＡが分解されるか、またはｍＲＮＡの翻訳が妨げられる。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡを含むＲＩＳＣ複合体が、ｍｉＲＮＡ結合部位を含む核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）を切断するよう、ｍｉＲＮＡ結合部位はｍｉＲＮＡに対して十分な相補性を有する。他の実施形態では、ｍｉＲＮＡを含むＲＩＳＣ複合体が、ｍｉＲＮＡ結合部位を含む核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に不安定性を誘導するよう、ｍｉＲＮＡ結合部位は不完全な相補性を有する。別の実施形態では、ｍｉＲＮＡを含むＲＩＳＣ複合体が、ｍｉＲＮＡ結合部位を含む核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の転写を抑制するよう、ｍｉＲＮＡ結合部位は不完全な相補性を有する。

【０１９２】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、対応するｍｉＲＮＡからの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１または１２個のミスマッチ（複数可）を有する。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、対応するｍｉＲＮＡの少なくとも約１０、少なくとも約１１、少なくとも約１２、少なくとも約１３、少なくとも約１４、少なくとも約１５、少なくとも約１６、少なくとも約１７、少なくとも約１８、少なくとも約１９、少なくとも約２０、または少なくとも約２１個の連続したヌクレオチドに対して相補的な、それぞれ、少なくとも約１０、少なくとも約１１、少なくとも約１２、少なくとも約１３、少なくとも約１４、少なくとも約１５、少なくとも約１６、少なくとも約１７、少なくとも約１８、少なくとも約１９、少なくとも約２０、または少なくとも約２１個の連続したヌクレオチドを有する。

【０１９３】

１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に操作導入することによって、該当するｍｉＲＮＡが利用可能であれば、当該核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）を、分解のための、または翻訳の低減のための標的とすることができる。これにより、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の送達に際するオフターゲット効果が低減され得る。例えば、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）が、ある組織または細胞に送達されることは意図されていないが、結局、当該組織または細胞に行き着く場合、その組織または細胞で豊富なｍｉＲＮＡは、そのｍｉＲＮＡの１つまたは複数の結合部位が核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲに操作導入されていれば、目的の遺伝子の発現を阻害し得る。

【０１９４】

例えば、当業者であれば、リンパ系細胞以外の細胞型での発現を最小限にするために、１つ以上のｍｉＲ結合部位が核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に含められ得ることを理解するであろう。１つの実施形態では、ｍｉＲ１２２結合部位が使用され得る。別の実施形態では、ｍｉＲ１２６結合部位が使用され得る。さらに別の実施形態では、これらのｍｉＲ結合部位の複数のコピーまたは組み合わせが使用されてもよい。

【０１９５】

逆に、特定の組織でのタンパク質発現量を増加させるために、ｍｉＲＮＡ結合部位が天然に存在する核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）配列から、そのｍｉＲＮＡ結合部位が除去され得る。例えば、特定のｍｉＲＮＡに対する結合部位が、そのｍｉＲＮＡを含有する組織または細胞でのタンパク質発現を改善するために、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）から除去され得る。

【０１９６】

複数の組織での発現の調節は、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位（例えば、１つ以上の異なるｍｉＲＮＡ結合部位）の導入または除去によって達成され得る。ｍｉＲＮＡ結合部位を除去または挿入するかどうかの決定は、発症及び／または疾患において組織及び／または細胞におけるｍｉＲＮＡ発現パターン及び／またはそれらのプロファイリングに基づいて行われ得る。ｍｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ結合部位、ならびにその発現パターン及び生物学における役割の同定が報告されている（例えば、Ｂｏｎａｕｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ Ｄｒｕｇ Ｔａｒｇｅｔｓ ２０１０ １１：９４３－９４９、Ａｎａｎｄ ａｎｄ Ｃｈｅｒｅｓｈ Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｈｅｍａｔｏｌ ２０１１ １８：１７１－１７６、Ｃｏｎｔｒｅｒａｓ ａｎｄ Ｒａｏ Ｌｅｕｋｅｍｉａ ２０１２ ２６：４０４－４１３（２０１１ Ｄｅｃ ２０．ｄｏｉ：１０．１０３８／ｌｅｕ．２０１１．３５６）、Ｂａｒｔｅｌ Ｃｅｌｌ ２００９ １３６：２１５－２３３、Ｌａｎｄｇｒａｆ ｅｔ ａｌ，Ｃｅｌｌ，２００７ １２９：１４０１－１４１４、Ｇｅｎｔｎｅｒ ａｎｄ Ｎａｌｄｉｎｉ，Ｔｉｓｓｕｅ Ａｎｔｉｇｅｎｓ．２０１２ ８０：３９３－４０３、及びそれらの中の全参考文献。これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【０１９７】

ｍｉＲＮＡ及びｍｉＲＮＡ結合部位は、米国公開第２０１４／０２００２６１号、第２００５／０２６１２１８号、及び第２００５／００５９００５号（これらの各々は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載の非限定的な例を含む任意の既知の配列に対応し得る。

【０１９８】

ｍｉＲＮＡがｍＲＮＡ、それによってタンパク質発現を調節すると知られている組織の例としては、限定されないが、肝臓（ｍｉＲ－１２２）、筋肉（ｍｉＲ－１３３、ｍｉＲ－２０６、ｍｉＲ－２０８）、内皮細胞（ｍｉＲ－１７－９２、ｍｉＲ－１２６）、骨髄細胞（ｍｉＲ－１４２－３ｐ、ｍｉＲ－１４２－５ｐ、ｍｉＲ－１６、ｍｉＲ－２１、ｍｉＲ－２２３、ｍｉＲ－２４、ｍｉＲ－２７）、脂肪組織（ｌｅｔ－７、ｍｉＲ－３０ｃ）、心臓（ｍｉＲ－１ｄ、ｍｉＲ－１４９）、腎臓（ｍｉＲ－１９２、ｍｉＲ－１９４、ｍｉＲ－２０４）、及び肺上皮細胞（ｌｅｔ－７、ｍｉＲ－１３３、ｍｉＲ－１２６）が挙げられる。

【０１９９】

具体的には、ｍｉＲＮＡは、免疫細胞（造血細胞とも称される）、例えば、抗原提示細胞（ＡＰＣ）（例えば、樹状細胞及び単球）、単球、単球、Ｂリンパ球、Ｔリンパ球、顆粒球、ナチュラルキラー細胞等で特異的に発現することが知られている。免疫細胞特異的ｍｉＲＮＡは、免疫原性、自己免疫、感染に対する免疫応答、炎症、ならびに遺伝子治療及び組織／臓器移植後の望ましくない免疫応答に関与する。免疫細胞特異的ｍｉＲＮＡはまた、造血細胞（免疫細胞）の発生、増殖、分化及びアポトーシスの多くの態様も調節する。例えば、ｍｉＲ－１４２及びｍｉＲ－１４６は、免疫細胞で排他的に発現し、特に骨髄樹状細胞で豊富である。核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に対する免疫応答は、ポリヌクレオチドの３´ＵＴＲにｍｉＲ－１４２結合部位を付加することで遮断することができ、それによって、組織及び細胞におけるより安定した遺伝子導入が可能になることが実証されている。ｍｉＲ－１４２は、抗原提示細胞において外因性核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）を効率的に分解し、形質導入細胞の細胞傷害性排除を抑制する（例えば、Ａｎｎｏｎｉ Ａ ｅｔ ａｌ．，ｂｌｏｏｄ，２００９，１１４，５１５２－５１６１、Ｂｒｏｗｎ ＢＤ，ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ ｍｅｄ．２００６，１２（５），５８５－５９１、Ｂｒｏｗｎ ＢＤ，ｅｔ ａｌ．，ｂｌｏｏｄ，２００７，１１０（１３）：４１４４－４１５２。これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【０２００】

抗原介在性免疫応答とは、生物に侵入した場合に抗原提示細胞によって処理され、抗原提示細胞の表面に提示される外来抗原によって誘発される免疫応答を指し得る。Ｔ細胞は、提示された抗原を認識し、その抗原を発現する細胞の細胞傷害性排除を誘導し得る。

【０２０１】

ｍｉＲ－１４２結合部位を本開示の核酸分子の５´ＵＴＲ及び／または３´ＵＴＲに導入することで、ｍｉＲ－１４２介在性の分解を介して抗原提示細胞での遺伝子発現を選択的に抑制し、抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）における抗原提示を制限し、それにより、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）送達後の抗原介在性免疫応答を防ぐことができる。次いで、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、細胞傷害性排除を誘発することなく、標的組織または細胞で安定に発現される。

【０２０２】

１つの実施形態では、免疫細胞、特に抗原提示細胞で発現されることが知られているｍｉＲＮＡの結合部位を、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に操作導入して、ｍｉＲＮＡ介在性のＲＮＡ分解を介して抗原提示細胞での核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の発現を抑制し、抗原介在性免疫応答を抑えることができる。核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の発現は、免疫細胞特異的ｍｉＲＮＡが発現されない非免疫細胞で維持される。例えば、いくつかの実施形態では、肝臓特異的タンパク質に対する免疫原性反応を防ぐために、任意のｍｉＲ－１２２結合部位が除去さ

れ得、ｍｉＲ－１４２（及び／またはｍｉｒＲ－１４６）結合部位が本開示の核酸分子の５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲに操作導入され得る。

【０２０３】

ＡＰＣ及びマクロファージにおける選択的分解及び抑制をさらに推進するために、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）には、さらなる負の調節エレメントが、５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲ内に、単独で、またはｍｉＲ－１４２及び／またはｍｉＲ－１４６結合部位と併せて含まれ得る。非限定的な例として、さらなる負の調節エレメントは、構成的崩壊エレメント（Ｃｏｎｓｔｉｔｕｔｉｖｅ　Ｄｅｃａｙ　Ｅｌｅｍｅｎｔ（ＣＤＥ））である。

【０２０４】

免疫細胞特異的ｍｉＲＮＡには、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ａ－２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ａ－３ｐ、ｈｓａ－７ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｃ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｅ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｍｉＲ－１０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１１８４、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｆ－１－－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｆ－２－－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｆ－５ｐ、ｍｉＲ－１２５ｂ－１－３ｐ、ｍｉＲ－１２５ｂ－２－３ｐ、ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１２７９、ｍｉＲ－１３０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１３０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｍｉＲ－１３２－５ｐ、ｍｉＲ－１４２－３ｐ、ｍｉＲ－１４２－５ｐ、ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｍｉＲ－１４６ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１４６ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１４６ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１４７ａ、ｍｉＲ－１４７ｂ、ｍｉＲ－１４８ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１４８ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１５０－３ｐ、ｍｉＲ－１５０－５ｐ、ｍｉＲ－１５１ｂ、ｍｉＲ－１５５－３ｐ、ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｍｉＲ－１５ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１５ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１５ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１５ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１６－１－３ｐ、ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１８１ａ－２－３ｐ、ｍｉＲ－１８２－３ｐ、ｍｉＲ－１８２－５ｐ、ｍｉＲ－１９７－３ｐ、ｍｉＲ－１９７－５ｐ、ｍｉＲ－２１－５ｐ、ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｍｉＲ－２１４－５ｐ、ｍｉＲ－２２３－３ｐ、ｍｉＲ－２２３－５ｐ、ｍｉＲ－２２１－３ｐ、ｍｉＲ－２２１－５ｐ、ｍｉＲ－２３ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－２３ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－２４－１－５ｐ，ｍｉＲ－２４－２－５ｐ、ｍｉＲ－２４－３ｐ、ｍｉＲ－２６ａ－１－３ｐ、ｍｉＲ－２６ａ－２－３ｐ、ｍｉＲ－２６ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２６ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２７ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２７ｂ－３ｐ，ｍｉＲ－２７ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－２８－３ｐ、ｍｉＲ－２８－５ｐ、ｍｉＲ－２９０９、ｍｉＲ－２９ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２９ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２９ｂ－１－５ｐ、ｍｉＲ－２９ｂ－２－５ｐ、ｍｉＲ－２９ｃ－３ｐ、ｍｉＲ－２９ｃ－５ｐ，、ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｅ－５ｐ、ｍｉＲ－３３１－５ｐ、ｍｉＲ－３３９－３ｐ、ｍｉＲ－３３９－５ｐ、ｍｉＲ－３４５－３ｐ、ｍｉＲ－３４５－５ｐ、ｍｉＲ－３４６、ｍｉＲ－３４ａ－３ｐ、ｍｉＲ－３４ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｍｉＲ－３６３－５ｐ、ｍｉＲ－３７２、ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｍｉＲ－３７７－５ｐ、ｍｉＲ－４９３－３ｐ、ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｍｉＲ－５４２、ｍｉＲ－５４８ｂ－５ｐ、ｍｉＲ５４８ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－５４８ｉ、ｍｉＲ－５４８ｊ、ｍｉＲ－５４８ｎ、ｍｉＲ－５７４－３ｐ、ｍｉＲ－５９８、ｍｉＲ－７１８、ｍｉＲ－９３５、ｍｉＲ－９９ａ－３ｐ、ｍｉＲ－９９ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９９ｂ－３ｐ、及びｍｉＲ－９９ｂ－５ｐが含まれるがこれらに限定されない。さらに、新規ｍｉＲＮＡは、マイクロアレイハイブリダイゼーション及びミクロトーム分析により免疫細胞で同定され得る（例えば、Ｊｉｍａ　ＤＤ　ｅｔ　ａｌ，Ｂｌｏｏｄ，２０１０，１１６：ｅ１１８－ｅ１２７、Ｖａｚ　Ｃ　ｅｔ　ａｌ．，ＢＭＣ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，２０１０，１１，２８８。これらの各々の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）において、当該核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の任意の位置（例えば、５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲ）で挿入される。いくつかの実施形態では、５′ＵＴＲは、ｍｉＲＮＡ結合部位を含む。いくつかの実施形態では、３′ＵＴＲは、ｍｉＲＮＡ結合部位を含む。いくつかの実施形態では、５′ＵＴＲ及び３′ＵＴＲは、ｍｉＲＮＡ結合部位を含む。核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）における挿入部位は、ｍｉＲＮＡ結合部位の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）への挿入が、対応するｍｉＲＮＡの非存在下での機能的ポリペプチドの翻訳を妨害しない限り、また、ｍｉＲＮＡの存在下では、ｍｉＲＮＡ結合部位の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）への挿入及びｍｉＲＮＡ結合部位の対応するｍｉＲＮＡへの結合により、ポリヌクレオチドを分解することができるかまたは核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の翻訳を妨げることができる限り、核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）内のどこでもよい。

【０２０６】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ＯＲＦを含む本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）において、ＯＲＦの終止コドンから少なくとも約３０ヌクレオチド下流に挿入される。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、本開示のポリヌクレオチドにおいて、ＯＲＦの終止コドンから少なくとも約１０ヌクレオチド、少なくとも約１５ヌクレオチド、少なくとも約２０ヌクレオチド、少なくとも約２５ヌクレオチド、少なくとも約３０ヌクレオチド、少なくとも約３５ヌクレオチド、少なくとも約４０ヌクレオチド、少なくとも約４５ヌクレオチド、少なくとも約５０ヌクレオチド、少なくとも約５５ヌクレオチド、少なくとも約６０ヌクレオチド、少なくとも約６５ヌクレオチド、少なくとも約７０ヌクレオチド、少なくとも約７５ヌクレオチド、少なくとも約８０ヌクレオチド、少なくとも約８５ヌクレオチド、少なくとも約９０ヌクレオチド、少なくとも約９５ヌクレオチド、または少なくとも約１００ヌクレオチド下流に挿入される。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）において、ＯＲＦの終止コドンから約１０ヌクレオチド～約１００ヌクレオチド、約２０ヌクレオチド～約９０ヌクレオチド、約３０ヌクレオチド～約８０ヌクレオチド、約４０ヌクレオチド～約７０ヌクレオチド、約５０ヌクレオチド～約６０ヌクレオチド、約４５ヌクレオチド～約６５ヌクレオチド下流に挿入される。

【０２０７】

ｍｉＲＮＡ遺伝子調節は、ｍｉＲＮＡの周囲の配列、例えば、限定されないが、周囲配列の種、配列のタイプ（例えば、異種、同種、外因性、内因性、または人工）、周囲配列の調節エレメント及び／または周囲配列の構造エレメントによって影響され得る。ｍｉＲＮＡは、５′ＵＴＲ及び／または３′ＵＴＲによって影響され得る。非限定的な例として、非ヒト３′ＵＴＲは、同じ配列タイプのヒト３′ＵＴＲと比較して、目的のポリペプチドの発現に対するｍｉＲＮＡ配列の調節効果を高め得る。

【０２０８】

１つの実施形態では、５′ＵＴＲの他の調節エレメント及び／または構造エレメントは、ｍｉＲＮＡ介在性の遺伝子調節に影響を与え得る。調節エレメント及び／または構造エレメントの１つの例は、５′ＵＴＲの構造化ＩＲＥＳ（配列内リボソーム進入部位）であり、これは、タンパク質の翻訳を開始するための翻訳伸長因子の結合に必要なものである。５′ＵＴＲにおけるこの二次構造化エレメントへのＥＩＦ４Ａ２の結合は、ｍｉＲＮＡ介在性の遺伝子発現に必要である（Ｍｅｉｊｅｒ　ＨＡ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２０１３，３４０，８２－８５、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、マイクロＲＮＡ介在性の遺伝子調節を増強させるために、この構造化５′ＵＴＲをさらに含み得る。

【０２０９】

少なくとも１つのｍｉＲＮＡ結合部位が、本開示のポリヌクレオチドの３′ＵＴＲに操作導入され得る。この文脈において、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ

、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、少なくとも１０、またはそれを超えるｍｉＲＮＡ結合部位が、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の３′ＵＴＲに操作導入され得る。例えば、１～１０、１～９、１～８、１～７、１～６、１～５、１～４、１～３、２、または１つのｍｉＲＮＡ結合部位が、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の３′ＵＴＲに操作導入され得る。１つの実施形態では、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に組み込まれるｍｉＲＮＡ結合部位は、同一のｍｉＲＮＡ部位であり得るかまたは異なるｍｉＲＮＡ部位であり得る。本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に組み込まれる、異なるｍｉＲＮＡ結合部位の組み合わせには、異なるｍｉＲＮＡ部位のいずれかの２つ以上のコピーが組み込まれている組み合わせが含まれ得る。別の実施形態では、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）に組み込まれるｍｉＲＮＡ結合部位は、体内の同じまたは異なる組織を標的とし得る。非限定的な例として、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）の３′ＵＴＲにおける組織特異的、細胞型特異的、または疾患特異的なｍｉＲＮＡ結合部位の導入を介して、特定の細胞型（例えば、肝細胞、骨髄細胞、内皮細胞、がん細胞等）における発現の程度が低減され得る。

【０２１０】

１つの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）における３′ＵＴＲの５′末端付近、３′ＵＴＲの５′末端と３′末端とのほぼ中間、及び／または３′ＵＴＲの３′末端付近に操作導入され得る。非限定的な例として、ｍｉＲＮＡ結合部位は、３′ＵＴＲの５′末端付近及び３′ＵＴＲの５′末端と３′末端とのほぼ中間に操作導入され得る。別の非限定的な例として、ｍｉＲＮＡ結合部位は、３′ＵＴＲの３′末端付近及び３′ＵＴＲの５′末端と３′末端とのほぼ中間に操作導入され得る。さらに別の非限定的な例として、ｍｉＲＮＡ結合部位は、３′ＵＴＲの５′末端付近及び３′ＵＴＲの３′末端付近に操作導入され得る。

【０２１１】

別の実施形態では、３′ＵＴＲは、１、２、３、４、５、６、７、８、９つ、または１０のｍｉＲＮＡ結合部位を含み得る。ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡシード配列、及び／またはシード配列に隣接するｍｉＲＮＡ配列に相補的であり得る。

【０２１２】

本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、異なる組織、細胞型、または生物学的条件におけるｍｉＲＮＡの発現パターンに基づいて、特定の組織、細胞型、または生物学的条件におけるより標的化された発現のために操作され得る。組織に特異的なｍｉＲＮＡ結合部位の導入を介して、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、組織もしくは細胞における、または生物学的条件との関連における、最適なタンパク質発現のために設計され得る。

【０２１３】

いくつかの実施形態では、免疫細胞においてｍＲＮＡ治療薬を選択的に分解させるために、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）では、少なくとも１つのｍｉＲＮＡ結合部位を３′ＵＴＲに含ませて、治療薬の送達によって引き起こされる望ましくない免疫原性反応を抑制することができる。非限定的な例として、ｍｉＲＮＡ結合部位により、本開示の核酸分子（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、抗原提示細胞において、より不安定になり得る。こうしたｍｉＲＮＡの非限定的な例を、以下の表３に示す。

【表３】

表３：ｍｉＲＮＡ結合部位の配列

配列名	配列番号	配列
miR122 bs	148	CAAACACCAUUGUCACACUCCA
miR-142-3p bs	149	UCCAUAAAGUAGGAAACACUACA
miR-126-3p bs	150	CGCAUUAUUACUCACGGUACGA
miR-142	151	GACAGUGCAGUCACCCAUAAAGUAGAAAGCACU ACUAACAGCACUGGAGGGUGUAGUGUUUCCUAC UUUAUGGAUGAGUGUACUGUG
miR-142-3p	152	UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGA
miR-142-5p	153	CAUAAAGUAGAAAGCACUACU
miR-142-5p 結合部位	154	AGUAGUGCUUUCUACUUUAUG
miR-126	155	CGCUGGCGACGGGACAUUAUUACUUUUGGUACG CGCUGUGACACUUCAAACUCGUACCGUGAGUAA UAAUGCGCCGUCCACGGCA
miR-126-5p	156	CAUUAUUACUUUUGGUACGCG
miR-126-5p 結合部位	157	CGCGUACCAAAAGUAAUAAUG

【０２１４】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、ｍｉＲ１２２　ｂｓ（すなわち、上記表３に示されている配列番号１４８）を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、ｍｉＲ－１４２－３ｐ　ｂｓ（すなわち、上記表３に示されている配列番号１４９）を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、ｍｉＲ－１２６－３ｐ　ｂｓ（すなわち、上記表３に示されている配列番号１５０）を含む。

【０２１５】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、２つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、１、２、３、４、５、６、７、８、９つ、または１０のｍｉＲＮＡ結合部位を含む。いくつかの実施形態において、２つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位が存在する場合、ｍｉＲＮＡ結合部位は同一のものである。いくつかの実施形態において、２つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位が存在する場合、ｍｉＲＮＡ結合部位は（例えば、上記表３に列挙されているｍｉＲＮＡ結合部位のいずれかの任意の組み合わせ）。いくつかの実施形態において、２つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位が存在する場合、各ｍｉＲＮＡ結合部位の間には、約１～２５個のヌクレオチドが存在することがある。例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、または２５個のヌクレオチドが、各ｍｉＲＮＡ結合部位の間に存在することがある。

【０２１６】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、ｍｉＲ１４２－３ｐ　ｂｓ及びｍｉＲ－１２６－３ｐ　ｂｓの両方を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、３つのｍｉＲ－１４２－３ｐ　ｂｓのコピーを含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、２つのｍｉＲ－１４２－３ｐ　ｂｓのコピーを含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸分子の３´ＵＴＲは、２つのｍｉＲ－１４２－３ｐ　ｂｓのコピー及び１つのｍｉＲ－１２６－３ｐ　ｂｓのコピーを含む。いくつかの実施形

態において、本明細書に記載される核酸分子の３′ＵＴＲは、３つのｍｉＲ１２２ｂｓのコピーを含む。

【０２１７】

４．ヌクレオチドキャップ

本開示はまた、５′キャップ及び本発明のポリヌクレオチド（例えば、発現されることになるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド）の両方を含むポリヌクレオチドも含む。

【０２１８】

天然のｍＲＮＡの５′キャップ構造は、核外移行に関与するものであり、ｍＲＮＡの安定性を高め、ｍＲＮＡキャップ結合タンパク質（ＣＢＰ）を結合させる。このことは、ＣＢＰとポリ（Ａ）結合タンパク質との会合による成熟環状ｍＲＮＡ種の形成を介して、細胞におけるｍＲＮＡの安定性及び翻訳適格性の原因となる。キャップはさらに、ｍＲＮＡスプライシング中に５′近位イントロンの除去を補助する。

【０２１９】

内因性ｍＲＮＡ分子は、５′末端でキャップされ得、末端グアノシンキャップ残基と、ｍＲＮＡ分子の５′末端転写センスヌクレオチドとの間に５′－ｐｐｐ－５′－三リン酸結合を生成する。この５′－グアニル酸キャップは次いで、Ｎ７－メチル－グアニル酸残基を生成するようにメチル化され得る。ｍＲＮＡ５′末端の末端及び／または末端前方転写ヌクレオチドのリボース糖もまた、任意に２′－Ｏ－メチル化され得る。グアニル酸キャップ構造の加水分解及び切断を介した５′－デキャッピングにより、ｍＲＮＡ分子等の核酸分子が分解の標的となり得る。

【０２２０】

いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチド（例えば、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド）は、キャップ部分を組み込む。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、デキャッピングを防止し、したがってｍＲＮＡの半減期を増加させる、非加水分解性キャップ構造を含む。キャップ構造の加水分解には、５′－ｐｐｐ－５′－ホスホロジエステル結合の切断が必要とされるため、キャッピング反応中に修飾ヌクレオチドが使用され得る。例えば、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ（Ｉｐｓｗｉｃｈ，ＭＡ）のＶａｃｃｉｎｉａ Ｃａｐｐｉｎｇ Ｅｎｚｙｍｅを、製造業者の指示に従って、α－チオ－グアノシンヌクレオチドと共に使用して、５′－ｐｐｐ－５′キャップにホスホロチオエート結合を創出することができる。α－メチル－ホスホネート及びセレノ－リン酸ヌクレオチド等のさらなる修飾グアノシンヌクレオチドが使用され得る。

【０２２２】

さらなる修飾としては、限定されないが、ポリヌクレオチドの５′末端及び／または５′末端前方ヌクレオチドのリボース糖における、その糖環の２′－ヒドロキシル基の２′－Ｏ－メチル化（前述の通り）が挙げられる。複数の異なる５′キャップ構造を用いて、ｍＲＮＡ分子として機能するポリヌクレオチド等の核酸分子の５′キャップを生成することができる。本明細書において合成キャップ類似体、ケミカルキャップ、ケミカルキャップ類似体、または構造的もしくは機能的キャップ類似体とも称されるキャップ類似体は、キャップ機能を保持しながら、その化学構造において天然の（すなわち、内因性、野生型または生理学的）５′－キャップとは異なる。キャップ類似体は、本発明のポリヌクレオチドに化学的に（すなわち、非酵素的に）または酵素的に合成及び／または連結され得る。

【０２２３】

例えば、抗リバースキャップ類似体（ＡＲＣＡ）キャップは、５′－５′－三リン酸基によって連結された２つのグアニンを含有し、１つのグアニンが、Ｎ７メチル基に加えて３′－Ｏ－メチル基を含有する（すなわち、Ｎ７，３′－Ｏ－ジメチル－グアノシン－５′－三リン酸－５′－グアノシン（m^7Ｇ－３′ｍｐｐｐ－Ｇ、これは同様に３′Ｏ－Ｍ

ｅ－ｍ^{7}Ｇ（５′）ｐｐｐ（５′）Ｇとも称され得る）。他方の非修飾グアニンの３′－Ｏ原子は、キャップされたポリヌクレオチドの５′末端ヌクレオチドに連結される。Ｎ７－及び３′－Ｏ－メチル化グアニンにより、キャップされたポリヌクレオチドの末端部分がもたらされる。

【０２２４】

別の例示的なキャップはｍＣＡＰであり、これは、ＡＲＣＡと同様であるが、グアノシン上に２′－Ｏ－メチル基を有する（すなわち、Ｎ７，２′－Ｏ－ジメチル－グアノシン－５′－三リン酸－５′－グアノシン、ｍ^{7}Ｇｍ－ｐｐｐ－Ｇ）。

【０２２５】

別の例示的なキャップは、ｍ^{7}ＧｐｐｐＧ$_{2'OMe}$またはｍ^{7}Ｇ－ｐｐｐ－Ｇｍ－Ａ（すなわち、Ｎ７，グアノシン－５′－三リン酸－２′－Ｏ－ジメチル－グアノシン－アデノシン）である。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、キャップは、ジヌクレオチドキャップ類似体である。非限定的な例として、ジヌクレオチドキャップ類似体は、ボラノリン酸基またはホスホロセレノエート（ｐｈｏｓｐｈｏｒｏｓｅｌｅｎｏａｔｅ）基を用いて異なるリン酸位置で修飾され得、例えば、米国特許第８，５１９，１１０号（その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる）に記載されるジヌクレオチドキャップ類似体などである。

【０２２７】

別の実施形態では、キャップは、当該技術分野において既知の、及び／または本明細書に記載されるキャップ類似体のＮ７－（４－クロロフェノキシエチル）置換ジヌクレオチド形態のキャップ類似体である。キャップ類似体のＮ７－（４－クロロフェノキシエチル）置換ジヌクレオチド形態の非限定的な例としては、Ｎ７－（４－クロロフェノキシエチル）－Ｇ（５′）ｐｐｐ（５′）Ｇ及びＮ７－（４－クロロフェノキシエチル）－ｍ$^{3'-O}$Ｇ（５′）ｐｐｐ（５′）Ｇキャップ類似体が挙げられる（例えば、Ｋｏｒｅ ｅｔａｌ．Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２０１３ ２１：４５７０－４５７４（その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる）に記載されている様々なキャップ類似体及びキャップ類似体の合成方法を参照のこと）。別の実施形態では、本発明のキャップ類似体は、４－クロロ／ブロモフェノキシエチル類似体である。

【０２２８】

本発明のポリヌクレオチドはまた、より真正な５′－キャップ構造を生成するために、酵素を使用して（ＩＶＴまたは化学合成のいずれであっても）製造後にキャップされ得る。本明細書で使用される場合、「より真正な」という語句は、内因性または野生型の特徴を構造的または機能的のいずれかで厳密に反映または模倣する特徴を指す。すなわち、「より真正な」特徴は、先行技術の合成特徴もしくは類似体などと比較した場合に、内因性、野生型、天然もしくは生理学的細胞機能及び／または構造をより良く代表するか、または１つ以上の点で対応する内因性、野生型、天然もしくは生理学的特徴よりも優れている。本発明のより真正な５′キャップ構造の非限定的な例は、とりわけ、当該技術分野において既知の合成５′キャップ構造と（または野生型、天然もしくは生理学的５′キャップ構造と）比較した場合に、キャップ結合タンパク質の結合を増強し、半減期を増加させ、５′エンドヌクレアーゼに対する感受性を減少させ、及び／または５′デキャッピングを減少させるようなものである。例えば、組換えワクシニアウイルスキャッピング酵素及び組換え２′－Ｏ－メチルトランスフェラーゼ酵素は、ポリヌクレオチドの５′末端ヌクレオチドとグアニンキャップヌクレオチドとの間に古典的な５′－５′－三リン酸結合を作成し得、キャップグアニンは、Ｎ７メチル化を含有し、ｍＲＮＡの５′末端ヌクレオチドは２′－Ｏ－メチルを含有する。そのような構造は、Ｃａｐ１構造と称される。このキャップは、例えば、当該技術分野において既知の他の５′キャップ類似体構造と比較した場合に、より高い翻訳能力及び細胞安定性、ならびに細胞性炎症性サイトカインの活性化の減少をもたらす。キャップ構造としては、７ｍＧ（５′）ｐｐｐ（５′）Ｎ１ｐＮ２ｐ（

キャップ０）、７ｍＧ（５′）ｐｐｐ（５′）Ｎ１ｍｐＮｐ（キャップ１）、及び７ｍＧ（５′）－ｐｐｐ（５′）Ｎ１ｍｐＮ２ｍｐ（キャップ２）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２２９】

非限定的な例として、キメラポリヌクレオチドを製造後にキャップすると、キメラポリヌクレオチドのほぼ１００％がキャップされ得るため、より効率的であり得る。これは、キャップ類似体がインビトロ転写反応の過程でキメラポリヌクレオチドに連結される場合の約８０％とは対照的である。

【０２３０】

本発明によれば、５′末端キャップは、内因性キャップまたはキャップ類似体を含み得る。本発明によれば、５′末端キャップは、グアニン類似体を含み得る。有用なグアニン類似体としては、イノシン、Ｎ１－メチル－グアノシン、２′フルオロ－グアノシン、７－デアザ－グアノシン、８－オキソ－グアノシン、２－アミノ－グアノシン、ＬＮＡ－グアノシン、及び２－アジド－グアノシンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２３１】

本明細書では、ＲＮＡポリメラーゼ、例えば、野生型ＲＮＡポリメラーゼまたはそのバリアント、例えば、本明細書に記載されるようなバリアントなどを使用して、リボ核酸（ＲＮＡ）合成のための共転写キャッピング方法に使用され得るものを含む例示的なキャップもまた提供される。１つの実施形態では、ＲＮＡを「ワンポット」反応で生成する場合、個別のキャッピング反応を必要とすることなく、キャップを付加することができる。したがって、本方法は、いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド鋳型を、インビトロ転写反応条件下においてＲＮＡポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させて、ＲＮＡ転写物を生成することを含む。

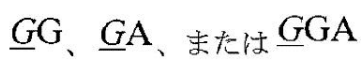
【０２３２】

本明細書で使用される場合、「キャップ」という用語はｉｎｖｅｒｔｅｄＧヌクレオチドを含み、ｉｎｖｅｒｔｅｄＧヌクレオチドの３′側に１個以上の追加のヌクレオチド、例えば、ｉｎｖｅｒｔｅｄＧヌクレオチドの３′側及び５′～５′ＵＴＲ、例えば、本明細書に記載される５′ＵＴＲに１個、２個、３個、またはそれを超えるヌクレオチドを含み得る。

【０２３３】

例示的なキャップは、

【化７】

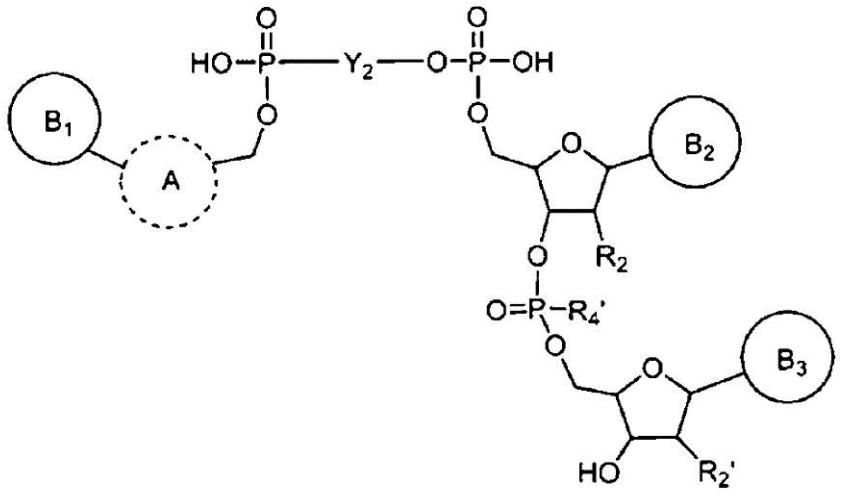


の配列を含み、下線を引いたイタリック体のＧは、ｉｎｖｅｒｔｅｄＧヌクレオチドであり、それに５′－５′－三リン酸基が続く。

【０２３４】

１つの実施形態では、キャップは、式（Ｉ）

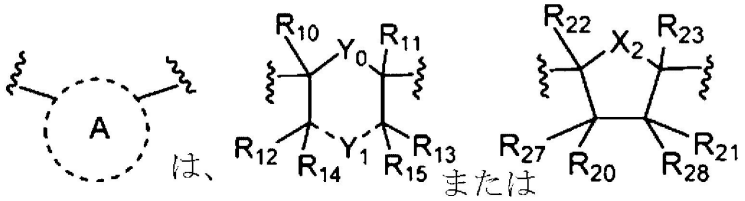
【化８】



（Ｉ）

の化合物、またはその立体異性体、互変異性体もしくは塩を含み、式中、

【化９】



であり、

環Ｂ１は、修飾または非修飾グアニンであり、

環Ｂ２及び環Ｂ３は各々独立して、核酸塩基または修飾核酸塩基であり、

Ｘ２は、Ｏ、Ｓ（Ｏ）ｐ、ＮＲ２４またはＣＲ２５Ｒ２６であり、ここでｐは０、１、または２であり、

Ｙ０は、ＯまたはＣＲ６Ｒ７であり、

Ｙ１は、Ｏ、Ｓ（Ｏ）ｎ、ＣＲ６Ｒ７、またはＮＲ８であり、ここでｎは０、１、または２であり、

各－－－は単結合であるか、または存在せず、ここで各－－－が単結合である場合、ＹｉはＯ、Ｓ（Ｏ）ｎ、ＣＲ６Ｒ７、またはＮＲ８であり、各－－－が存在しない場合、Ｙ１は無効であり、

Ｙ２は、（ＯＰ（Ｏ）Ｒ４）ｍ（ここでｍは０、１、もしくは２である）、または－Ｏ－（ＣＲ４０Ｒ４１）ｕ－Ｑ０－（ＣＲ４２Ｒ４３）ｖ－（ここでＱ０は、結合、Ｏ、Ｓ（Ｏ）ｒ、ＮＲ４４、もしくはＣＲ４５Ｒ４６であり、ｒは０、１、もしくは２であり、ｕ及びｖの各々は、独立して１、２、３、もしくは４である）であり、

各Ｒ２及びＲ２´は、独立してハロ、ＬＮＡ、またはＯＲ３であり、

各Ｒ３は、独立してＨ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、またはＣ２～Ｃ６アルキニルであり、Ｒ３は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、またはＣ２～Ｃ６アルキニルである場合、ハロ、ＯＨ及び１つ以上のＯＨまたはＯＣ（Ｏ）－Ｃ１～Ｃ６アルキルで任意に置換されるＣ１～Ｃ６アルコキシルのうちの１つ以上で任意に置換され、

各Ｒ４及びＲ４´は、独立してＨ、ハロ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、ＯＨ、ＳＨ、ＳｅＨ、またはＢＨ３－であり、

Ｒ６、Ｒ７、及びＲ８の各々は、独立して－Ｑ１－Ｔ１であり、ここでＱ１は、結合ま

たはハロ、シアノ、ＯＨ及びＣ１～Ｃ６アルコキシのうちの１つ以上で任意に置換されるＣ１～Ｃ３アルキルリンカーであり、Ｔ１は、Ｈ、ハロ、ＯＨ、ＣＯＯＨ、シアノ、またはＲｓ１であり、ここでＲｓ１は、Ｃ１～Ｃ３アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、Ｃ２～Ｃ６アルキニル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシル、Ｃ（Ｏ）Ｏ－Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ３～Ｃ８シクロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、ＮＲ３１Ｒ３２、（ＮＲ３１Ｒ３２Ｒ３３）$^{+}$、４～１２員ヘテロシクロアルキル、または５員もしくは６員ヘテロアリールであり、Ｒｓ１は、ハロ、ＯＨ、オキソ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、ＣＯＯＨ、Ｃ（Ｏ）Ｏ－Ｃ１～Ｃ６アルキル、シアノ、Ｃ１～Ｃ６アルコキシル、ＮＲ３１Ｒ３２、（ＮＲ３１Ｒ３２Ｒ３３）$^{+}$、Ｃ３～Ｃ８シクロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、４～１２員ヘテロシクロアルキル、及び５員または６員ヘテロアリールからなる群から選択される１つ以上の置換基で任意に置換され、

Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１３、Ｒ１４、及びＲ１５の各々は、独立して、－Ｑ２－Ｔ２であり、ここでＱ２は、結合または任意に１つ以上のハロ、シアノ、ＯＨ及びＣ１－Ｃ６アルコキシで置換されるＣ１－Ｃ３アルキルリンカーであり、Ｔ２は、Ｈ、ハロ、ＯＨ、ＮＨ２、シアノ、ＮＯ２、Ｎ３、Ｒｓ２、またはＯＲｓ２であり、ここでＲｓ２は、Ｃ１－Ｃ６アルキル、Ｃ２－Ｃ６アルケニル、Ｃ２－Ｃ６アルキニル、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ６－Ｃ１０アリール、ＮＨＣ（Ｏ）－Ｃ１－Ｃ６アルキル、ＮＲ３１Ｒ３２、（ＮＲ３１Ｒ３２Ｒ３３）$^{+}$、４～１２員のヘテロシクロアルキル、または５員もしくは６員のヘテロアリールであり、Ｒｓ２は、ハロ、ＯＨ、オキソ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、ＣＯＯＨ、Ｃ（Ｏ）Ｏ－Ｃ１－Ｃ６アルキル、シアノ、Ｃ１－Ｃ６アルコキシル、ＮＲ３１Ｒ３２、（ＮＲ３１Ｒ３２Ｒ３３）$^{+}$、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ６－Ｃ１０アリール、４～１２員のヘテロシクロアルキル、及び５員または６員ヘテロアリールからなる群から選択される１つ以上の置換基で任意に置換され、あるいはＲ１２はＲ１４と共にオキソであり、またはＲ１３はＲ１５と共にオキソであり、

Ｒ２０、Ｒ２１、Ｒ２２、及びＲ２３の各々は、独立して－Ｑ３－Ｔ３であり、ここでＱ３は、結合またはハロ、シアノ、ＯＨ及びＣ１～Ｃ６アルコキシのうちの１つ以上で任意に置換されるＣ１～Ｃ３アルキルリンカーであり、Ｔ３は、Ｈ、ハロ、ＯＨ、ＮＨ２、シアノ、ＮＯ２、Ｎ３、ＲＳ３、またはＯＲＳ３であり、ここでＲＳ３は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、Ｃ２～Ｃ６アルキニル、Ｃ３～Ｃ８シクロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、ＮＨＣ（Ｏ）－Ｃ１～Ｃ６アルキル、モノ－Ｃ１～Ｃ６アルキルアミノ、ジ－Ｃ１～Ｃ６アルキルアミノ、４～１２員ヘテロシクロアルキル、または５員もしくは６員ヘテロアリールであり、Ｒｓ３は、ハロ、ＯＨ、オキソ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、ＣＯＯＨ、Ｃ（Ｏ）Ｏ－Ｃ１～Ｃ６アルキル、シアノ、Ｃ１～Ｃ６アルコキシル、アミノ、モノ－Ｃ１～Ｃ６アルキルアミノ、ジ－Ｃ１～Ｃ６アルキルアミノ、Ｃ３～Ｃ８シクロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、４～１２員ヘテロシクロアルキル、及び５員または６員ヘテロアリールからなる群から選択される１つ以上の置換基で任意に置換され、

Ｒ２４、Ｒ２５、及びＲ２６の各々は独立して、ＨまたはＣ１～Ｃ６アルキルであり、

Ｒ２７及びＲ２８の各々は、独立してＨもしくはＯＲ２９であるか、またはＲ２７及びＲ２８が共にＯ－Ｒ３０－Ｏを形成し、各Ｒ２９は、独立してＨ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、またはＣ２～Ｃ６アルキニルであり、Ｒ２９は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、またはＣ２～Ｃ６アルキニルである場合、ハロ、ＯＨ及び１つ以上のＯＨまたはＯＣ（Ｏ）－Ｃ１～Ｃ６アルキルで任意に置換されるＣ１～Ｃ６アルコキシルのうち１つ以上で任意に置換され、

Ｒ３０は、ハロ、ＯＨ及びＣ１～Ｃ６アルコキシルのうち１つ以上で任意に置換されるＣ１～Ｃ６アルキレンであり、

Ｒ３１、Ｒ３２、及びＲ３３の各々は、独立してＨ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ３～Ｃ８シクロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、４～１２員ヘテロシクロアルキル、または５員もしくは６員ヘテロアリールであり、

Ｒ４０、Ｒ４１、Ｒ４２、及びＲ４３の各々は、独立してＨ、ハロ、ＯＨ、シアノ、Ｎ３、ＯＰ（Ｏ）Ｒ４７Ｒ４８、もしくは１つ以上のＯＰ（Ｏ）Ｒ４７Ｒ４８で任意に置換され

るＣ１～Ｃ６アルキルであるか、または１つのＲ４１及び１つのＲ４３が、それらが結合している炭素原子及びＱ０と共にＣ４～Ｃ１０シクロアルキル、４～１４員ヘテロシクロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、もしくは５～１４員ヘテロアリールを形成し、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、フェニル、または５～６員ヘテロアリールの各々は、ＯＨ、ハロ、シアノ、Ｎ３、オキソ、ＯＰ（Ｏ）Ｒ４７Ｒ４８、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、ＣＯＯＨ、Ｃ（Ｏ）Ｏ－Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルコキシル、アミノ、モノ－Ｃ１～Ｃ６アルキルアミノ、及びジ－Ｃ１～Ｃ６アルキルアミノのうち１つ以上で任意に置換され、

Ｒ４４は、Ｈ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、またはアミン保護基であり、

Ｒ４５及びＲ４６の各々は、独立してＨ、ＯＰ（Ｏ）Ｒ４７Ｒ４８、または１つ以上のＯＰ（Ｏ）Ｒ４７Ｒ４８で任意に置換されるＣ１～Ｃ６アルキルであり、

Ｒ４７及びＲ４８の各々は、独立してＨ、ハロ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、ＯＨ、ＳＨ、ＳｅＨ、またはＢＨ３－である。

【０２３５】

本明細書に提供されるようなキャップ類似体は、２０１７年４月２０日公開の国際公開ＷＯ２０１７／０６６７９７（その全体が参照によって本明細書に組み込まれる）に記載されているキャップ類似体のいずれかを含む場合があると理解されるべきである。

【０２３６】

いくつかの実施形態では、Ｂ２の中央位置は、非リボース分子、例えば、アラビノースなどであり得る。

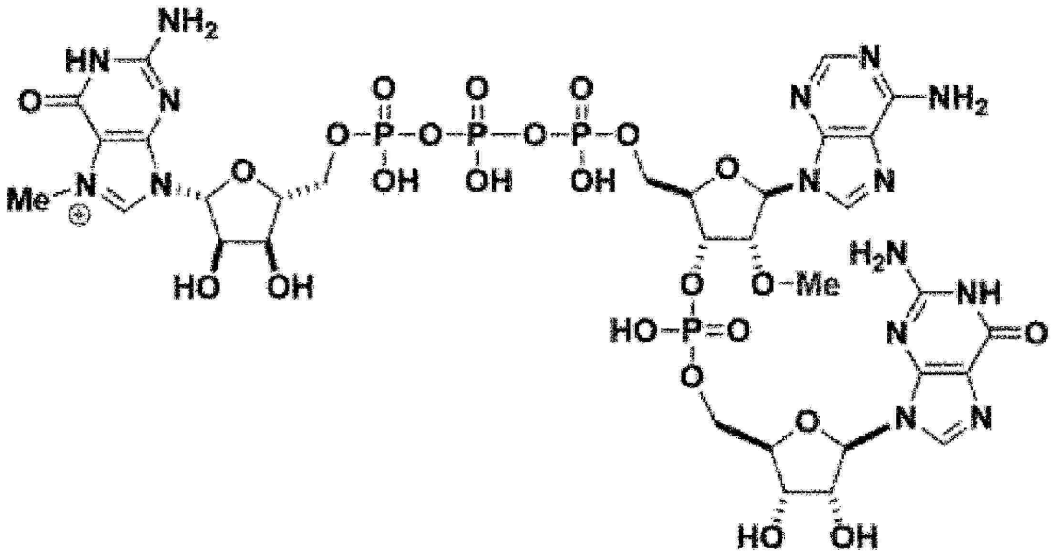
【０２３７】

いくつかの実施形態では、Ｒ２は、エチルに基づく。

【０２３８】

したがって、いくつかの実施形態では、キャップは、以下の構造：

【化１０】



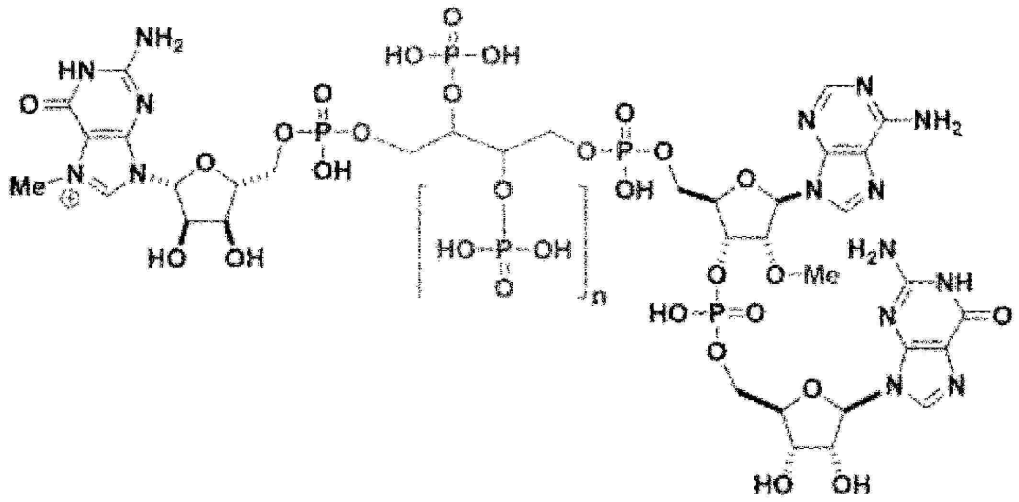
（ＩＩ）

を含む。

【０２３９】

他の実施形態では、キャップは、以下の構造：

【化１１】



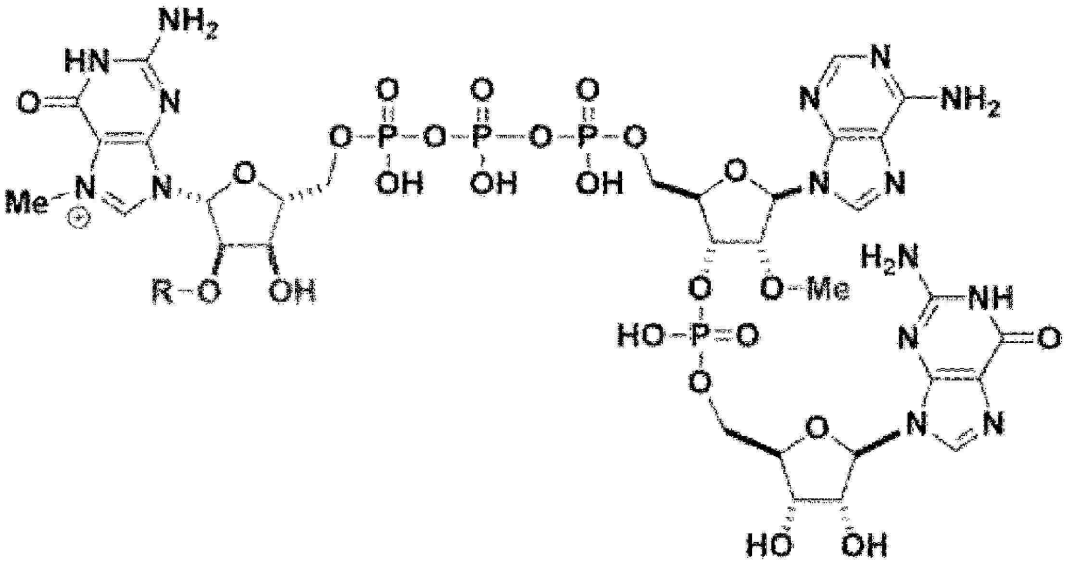
（ＩＩＩ）

を含む。

【０２４０】

さらに他の実施形態では、キャップは、以下の構造：

【化１２】



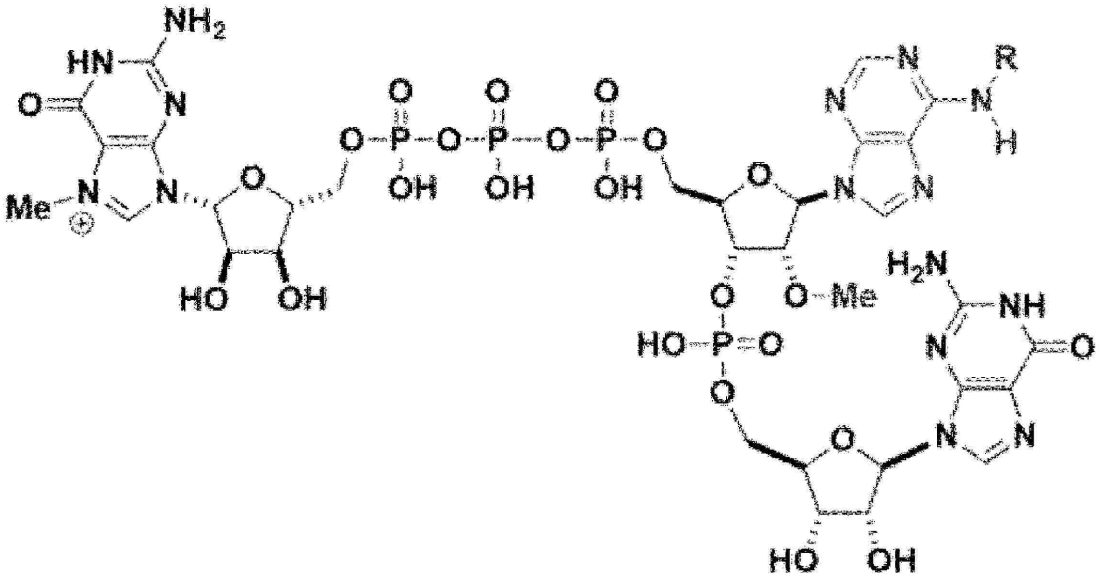
（ＩＶ）

を含む。

【０２４１】

さらに他の実施形態では、キャップは、以下の構造：

【化１３】



（Ｖ）

を含む。

【０２４２】

いくつかの実施形態では、Ｒは、アルキル（例えば、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル）である。いくつかの実施形態では、Ｒは、メチル基（例えば、Ｃ$_1$アルキル）である。いくつかの実施形態では、Ｒは、エチル基（例えば、Ｃ$_2$アルキル）である。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、キャップは、以下の配列から選択される配列を含む：ＧＡＡ、ＧＡＣ、ＧＡＧ、ＧＡＵ、ＧＣＡ、ＧＣＣ、ＧＣＧ、ＧＣＵ、ＧＧＡ、ＧＧＣ、ＧＧＧ、ＧＧＵ、ＧＵＡ、ＧＵＣ、ＧＵＧ、及びＧＵＵ。いくつかの実施形態では、キャップはＧＡＡを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＡＣを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＡＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＡＵを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＣＡを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＣＣを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＣＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＣＵを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＧＡを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＧＣを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＧＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＧＵを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＵＡを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＵＣを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＵＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＵＵを含む。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、キャップは、以下の配列から選択される配列を含む：m^{7}ＧｐｐｐＧ、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＡ、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＣ、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＧ、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＵ、m^{7}ＧｐｐｐＣｐＡ、m^{7}ＧｐｐｐＣｐＣ、m^{7}ＧｐｐｐＣｐＧ、m^{7}ＧｐｐｐＣｐＵ、m^{7}ＧｐｐｐＧｐＡ、m^{7}ＧｐｐｐＧｐＣ、m^{7}ＧｐｐｐＧｐＧ、m^{7}ＧｐｐｐＧｐＵ、m^{7}ＧｐｐｐＵｐＡ、m^{7}ＧｐｐｐＵｐＣ、m^{7}ＧｐｐｐＵｐＧ、及びm^{7}ＧｐｐｐＵｐＵ。

【０２４５】

いくつかの実施形態では、キャップは、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＡを含む。いくつかの実施形態では、キャップは、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＣを含む。いくつかの実施形態では、キャップは、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップは、m^{7}ＧｐｐｐＡｐＵを含む。いくつかの実施形態では、キャップは、m^{7}ＧｐｐｐＣｐＡを含む。いくつか

の実施形態では、キャップは、$m^7GpppCpC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppCpG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppCpU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppGpA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppGpC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppGpG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppGpU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppUpA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppUpC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppUpG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppUpU$を含む。

【０２４６】

キャップは、いくつかの実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7G_{3'OMe}pppApA$、$m^7G_{3'OMe}pppApC$、$m^7G_{3'OMe}pppApG$、$m^7G_{3'OMe}pppApU$、$m^7G_{3'OMe}pppCpA$、$m^7G_{3'OMe}pppCpC$、$m^7G_{3'OMe}pppCpG$、$m^7G_{3'OMe}pppCpU$、$m^7G_{3'OMe}pppGpA$、$m^7G_{3'OMe}pppGpC$、$m^7G_{3'OMe}pppGpG$、$m^7G_{3'OMe}pppGpU$、$m^7G_{3'OMe}pppUpA$、$m^7G_{3'OMe}pppUpC$、$m^7G_{3'OMe}pppUpG$、及び$m^7G_{3'OMe}pppUpU$。

【０２４７】

いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppApA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppApC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppApG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppApU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppCpA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppCpC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppCpG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppCpU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppGpA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppGpC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppGpG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppGpU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppUpA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppUpC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppUpG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppUpU$を含む。

【０２４８】

キャップは、他の実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pA$、$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pC$、$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pG$、$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pU$、$m^7G_{3'OMe}ppp{C_{2'OMe}}pA$、$m^7G_{3'OMe}ppp{C_{2'OMe}}pC$、$m^7G_{3'OMe}ppp{C_{2'OMe}}pG$、$m^7G_{3'OMe}ppp{C_{2'OMe}}pU$、$m^7G_{3'OMe}ppp{G_{2'OMe}}pA$、$m^7G_{3'OMe}ppp{G_{2'OMe}}pC$、$m^7G_{3'OMe}ppp{G_{2'OMe}}pG$、$m^7G_{3'OMe}ppp{G_{2'OMe}}pU$、$m^7G_{3'OMe}ppp{U_{2'OMe}}pA$、$m^7G_{3'OMe}ppp{U_{2'OMe}}pC$、$m^7G_{3'OMe}ppp{U_{2'OMe}}pG$、及び$m^7G_{3'OMe}ppp{U_{2'OMe}}pU$。

【０２４９】

いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}ppp{A_{2'OMe}}pU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}ppp{C_{2'OMe}}pA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}ppp{C_{2'OMe}}pC$を含む

。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pG$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pU$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pA$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pC$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pG$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pU$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pA$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pC$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pG$を含む
。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pU$を含む
。

【０２５０】

キャップは、さらに他の実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7GpppG_{2'OMe}$、$m^7GpppA_{2'OMe}pA$、$m^7GpppA_{2'OMe}pC$、$m^7GpppA_{2'OMe}pG$、$m^7GpppA_{2'OMe}pU$、$m^7GpppC_{2'OMe}pA$、$m^7GpppC_{2'OMe}pC$、$m^7GpppC_{2'OMe}pG$、$m^7GpppC_{2'OMe}pU$、$m^7GpppG_{2'OMe}pA$、$m^7GpppG_{2'OMe}pC$、$m^7GpppG_{2'OMe}pG$、$m^7GpppG_{2'OMe}pU$、$m^7GpppU_{2'OMe}pA$、$m^7GpppU_{2'OMe}pC$、$m^7GpppU_{2'OMe}pG$、及び$m^7GpppU_{2'OMe}pU$
。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppA_{2'OMe}pA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppA_{2'OMe}pC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppA_{2'OMe}pG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppA_{2'OMe}pU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppC_{2'OMe}pA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppC_{2'OMe}pC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppC_{2'OMe}pG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppC_{2'OMe}pU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppG_{2'OMe}pA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppG_{2'OMe}pC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppG_{2'OMe}pG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppG_{2'OMe}pU$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppU_{2'OMe}pA$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppU_{2'OMe}pC$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppU_{2'OMe}pG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7GpppU_{2'OMe}pU$を含む。

【０２５２】

いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7Gpppm^6A_{2'Ome}pG$を含む。いくつかの実施形態では、キャップは、$m^7Gppp{e^6}A_{2'Ome}pG$を含む。

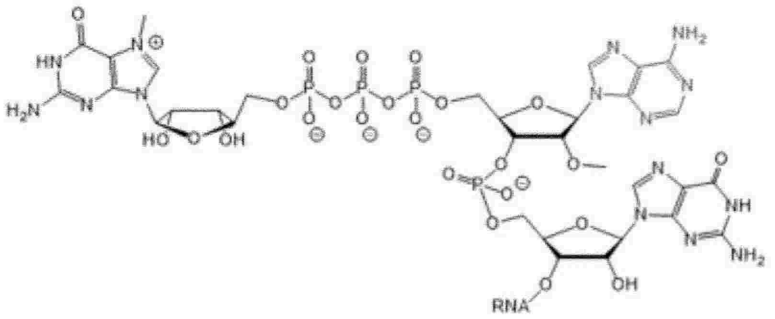
【０２５３】

いくつかの実施形態では、キャップはＧＡＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＣＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＵＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップはＧＧＧを含む。

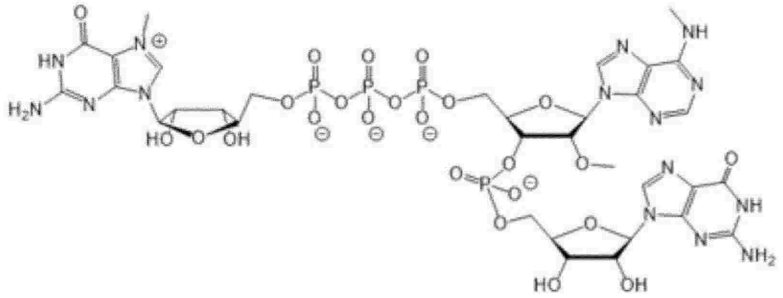
【０２５４】

いくつかの実施形態では、キャップは、以下の構造のいずれか１つを含む：

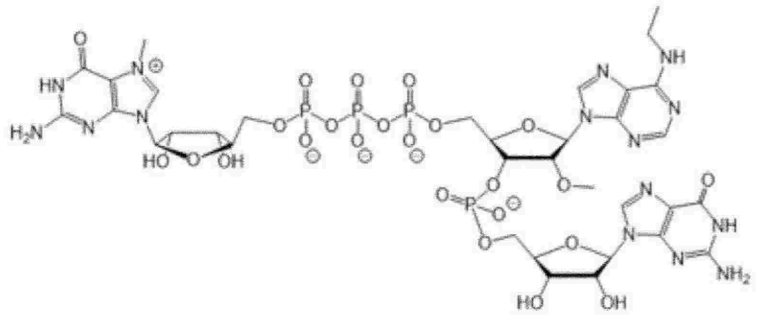
【化１４】



（ＶＩ）、



（ＶＩＩ）、または



（ＶＩＩＩ）。

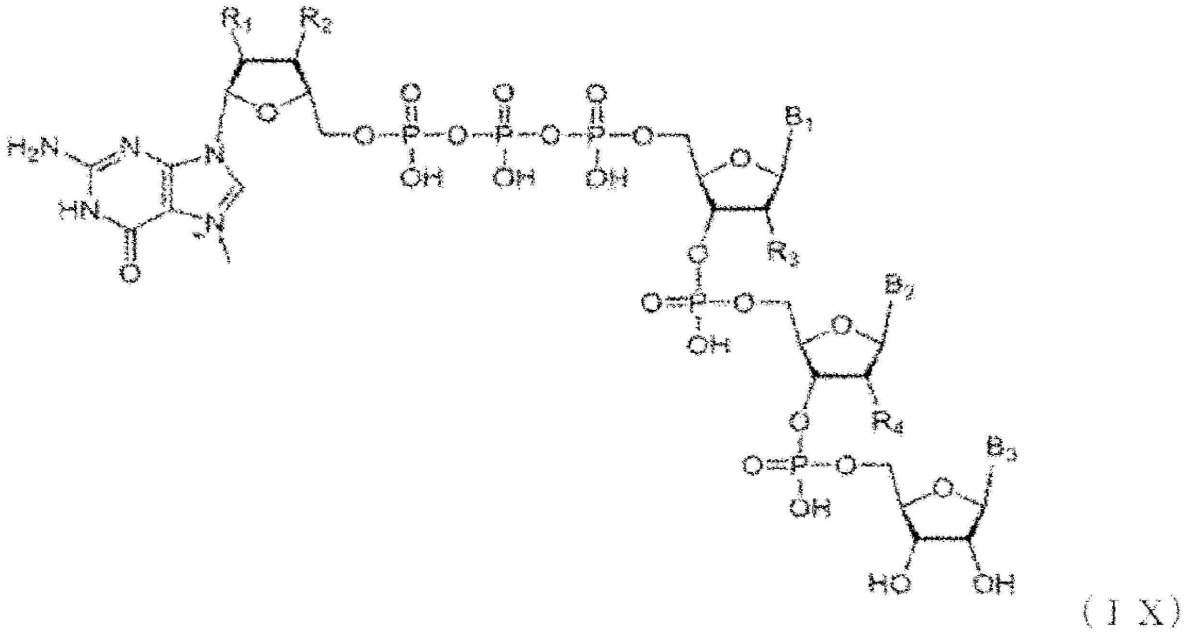
【０２５５】

いくつかの実施形態では、キャップは、^{m7}ＧｐｐｐＮ$_1$Ｎ$_2$Ｎ$_3$を含み、ここでＮ$_1$、Ｎ$_2$、及びＮ$_3$は任意であり（すなわち、存在し得ないか、または１つ以上が存在し得る）、独立して天然、修飾、または非天然ヌクレオシド塩基である。いくつかの実施形態では、^{m7}Ｇは、例えば、３´位でさらにメチル化される。いくつかの実施形態では、^{m7}Ｇは、３´位でのＯ－メチルを含む。いくつかの実施形態では、Ｎ$_1$、Ｎ$_2$、及びＮ$_3$は、存在する場合、任意に独立してアデニン、ウラシル、グアニジン、チミン、またはシトシンである。いくつかの実施形態では、Ｎ$_1$、Ｎ$_2$、及びＮ$_3$のうちの１つ以上（または全て）が、存在する場合、例えば、２´位でメチル化される。いくつかの実施形態では、Ｎ$_1$、Ｎ$_2$、及びＮ$_3$のうち１つ以上（または全て）が、存在する場合、２´位にＯ－メチルを有する。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、キャップは、以下の構造：

【化１５】



（ＩＸ）

を含み、

式中、Ｂ１、Ｂ２、及びＢ３は、独立して天然、修飾、または非天然ヌクレオシド塩基であり、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及びＲ４は、独立してＯＨまたはＯ－メチルである。いくつかの実施形態では、Ｒ３はＯ－メチルであり、Ｒ４はＯＨである。いくつかの実施形態では、Ｒ３及びＲ４はＯ－メチルである。いくつかの実施形態では、Ｒ４は、Ｏ－メチルである。いくつかの実施形態では、Ｒ１はＯＨであり、Ｒ２はＯＨであり、Ｒ３はＯ－メチルであり、Ｒ４はＯＨである。いくつかの実施形態では、Ｒ１はＯＨであり、Ｒ２はＯＨであり、Ｒ３はＯ－メチルであり、Ｒ４はＯ－メチルである。いくつかの実施形態では、Ｒ１及びＲ２のうちの少なくとも１つはＯ－メチルであり、Ｒ３はＯ－メチルであり、Ｒ４はＯＨである。いくつかの実施形態では、Ｒ１及びＲ２のうちの少なくとも１つはＯ－メチルであり、Ｒ３はＯ－メチルであり、Ｒ４はＯ－メチルである。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、Ｂ１、Ｂ３、及びＢ３は、天然のヌクレオシド塩基である。いくつかの実施形態では、Ｂ１、Ｂ２、及びＢ３のうちの少なくとも１つは、修飾または非天然塩基である。いくつかの実施形態では、Ｂ１、Ｂ２、及びＢ３のうちの少なくとも１つは、Ｎ６－メチルアデニンである。いくつかの実施形態では、Ｂ１は、アデニン、シトシン、チミン、またはウラシルである。いくつかの実施形態では、Ｂ１はアデニンであり、Ｂ２はウラシルであり、Ｂ３はアデニンである。いくつかの実施形態では、Ｒ１及びＲ２はＯＨであり、Ｒ３及びＲ４はＯ－メチルであり、Ｂ１はアデニンであり、Ｂ２はウラシルであり、Ｂ３はアデニンである。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、キャップは、以下の配列から選択される配列を含む：ＧＡＡＡ、ＧＡＣＡ、ＧＡＧＡ、ＧＡＵＡ、ＧＣＡＡ、ＧＣＣＡ、ＧＣＧＡ、ＧＣＵＡ、ＧＧＡＡ、ＧＧＣＡ、ＧＧＧＡ、ＧＧＵＡ、ＧＵＣＡ、及びＧＵＵＡ。いくつかの実施形態では、キャップは、以下の配列から選択される配列を含む：ＧＡＡＧ、ＧＡＣＧ、ＧＡＧＧ、ＧＡＵＧ、ＧＣＡＧ、ＧＣＣＧ、ＧＣＧＧ、ＧＣＵＧ、ＧＧＡＧ、ＧＧＣＧ、ＧＧＧＧ、ＧＧＵＧ、ＧＵＣＧ、ＧＵＧＧ、及びＧＵＵＧ。いくつかの実施形態では、キャップは、以下の配列から選択される配列を含む：ＧＡＡＵ、ＧＡＣＵ、ＧＡＧＵ、ＧＡＵＵ、ＧＣＡＵ、ＧＣＣＵ、ＧＣＧＵ、ＧＣＵＵ、ＧＧＡＵ、ＧＧＣＵ、ＧＧＧＵ、ＧＧＵＵ、ＧＵＡＵ、ＧＵＣＵ、ＧＵＧＵ、及びＧＵＵＵ。いくつかの実施形態では、キャップは、以下の配列から選択される配列を含む：ＧＡＡＣ、ＧＡＣＣ、ＧＡＧＣ、ＧＡＵＣ、ＧＣＡＣ、ＧＣＣＣ、ＧＣＧＣ、ＧＣＵＣ、ＧＧＡＣ、ＧＧＣＣ、ＧＧＧＣ、ＧＧＵＣ、ＧＵＡＣ

、ＧＵＣＣ、ＧＵＧＣ、及びＧＵＵＣ。

【０２５９】

キャップは、いくつかの実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7G_{3'OMe}pppApApN$、$m^7G_{3'OMe}pppApCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppApGpN$、$m^7G_{3'OMe}pppApUpN$、$m^7G_{3'OMe}pppCpApN$、$m^7G_{3'OMe}pppCpCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppCpGpN$、$m^7G_{3'OMe}pppCpUpN$、$m^7G_{3'OMe}pppGpApN$、$m^7G_{3'OMe}pppGpCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppGpGpN$、$m^7G_{3'OMe}pppGpUpN$、$m^7G_{3'OMe}pppUpApN$、$m^7G_{3'OMe}pppUpCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppUpGpN$、及び$m^7G_{3'OMe}pppUpUpN$（式中、Ｎは、天然、修飾、または非天然ヌクレオシド塩基である）。

【０２６０】

キャップは、他の実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pApN$、$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pGpN$、$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pUpN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pApN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pGpN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pUpN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pApN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pGpN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pUpN$、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pApN$、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pCpN$、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pGpN$、及び$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pUpN$（式中、Ｎは、天然、修飾、または非天然ヌクレオシド塩基である）。

【０２６１】

キャップは、さらに他の実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7GpppA_{2'OMe}pApN$、$m^7GpppA_{2'OMe}pCpN$、$m^7GpppA_{2'OMe}pGpN$、$m^7GpppA_{2'OMe}pUpN$、$m^7GpppC_{2'OMe}pApN$、$m^7GpppC_{2'OMe}pCpN$、$m^7GpppC_{2'OMe}pGpN$、$m^7GpppC_{2'OMe}pUpN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pApN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pCpN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pGpN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pUpN$、$m^7GpppU_{2'OMe}pApN$、$m^7GpppU_{2'OMe}pCpN$、$m^7GpppU_{2'OMe}pGpN$、及び$m^7GpppU_{2'OMe}pUpN$（式中、Ｎは、天然、修飾、または非天然ヌクレオシド塩基である）。

【０２６２】

キャップは、他の実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppA_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppC_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppG_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、及び$m^7G_{3'OMe}pppU_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$（式中、Ｎは、天然、修飾、または非天然ヌクレオシド塩基である）。

【０２６３】

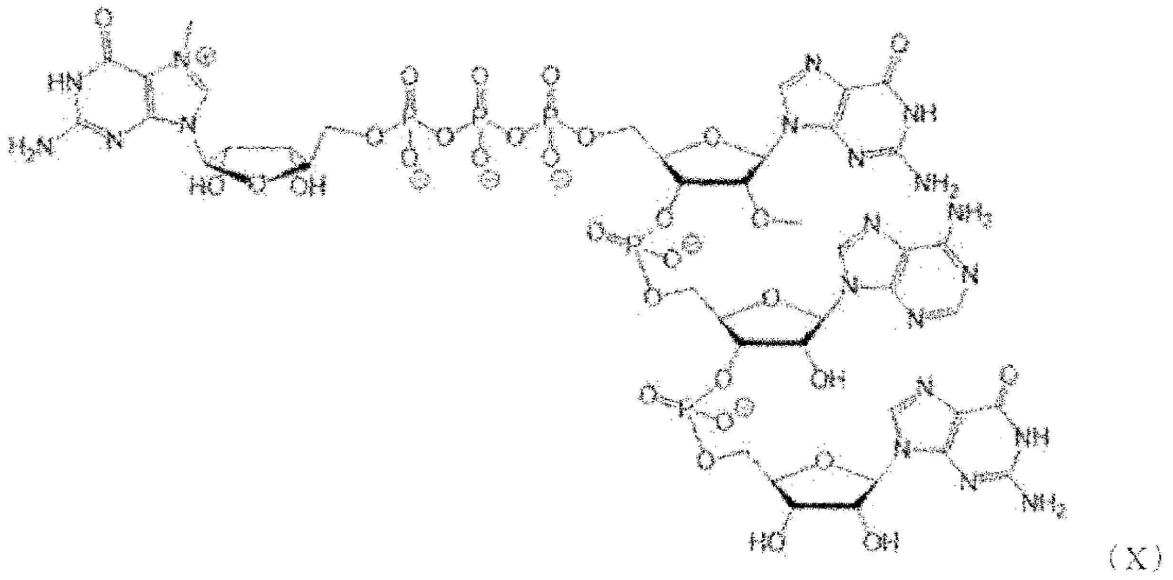
キャップは、さらに他の実施形態では、以下の配列から選択される配列を含む：$m^7GpppA_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7GpppA_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7GpppA_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、$m^7GpppA_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$

、$m^7GpppC_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7GpppC_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7GpppC_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、$m^7GpppC_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、$m^7GpppG_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$、$m^7GpppU_{2'OMe}pA_{2'OMe}pN$、$m^7GpppU_{2'OMe}pC_{2'OMe}pN$、$m^7GpppU_{2'OMe}pG_{2'OMe}pN$、及び$m^7GpppU_{2'OMe}pU_{2'OMe}pN$（式中、Ｎは、天然、修飾、または非天然ヌクレオシド塩基である）。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、キャップは、ＧＧＡＧを含む。いくつかの実施形態では、キャップは、以下の構造：

【化１６】



（Ｘ）

を含む。

【０２６５】

５．終止エレメント

翻訳終止コドンであるＵＡＡ、ＵＡＧ、及びＵＧＡは、遺伝暗号の重要な構成要素であり、ｍＲＮＡの翻訳終結を合図するものである。タンパク質合成中、終止コドンはタンパク質放出因子と相互作用し、この相互作用によりリボソーム活性が調節され得、したがって翻訳に影響が及ぶ（Ｔａｔｅ　ＷＰ，ｅｔ　ａｌ．，（２０１８）Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｓｏｃ　Ｔｒａｎｓ，４６（６）：１６１５－１６２）。

【０２６６】

本明細書では、とりわけ、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、当該ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、もしくは当該ポリヌクレオチドそれ自体の半減期の増加、発現量の増加及び／または活性の増加を付与する終止エレメント、を含むコード領域を有する、当該ポリヌクレオチドが開示される。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、（ａ）５′ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、（ｂ）終止エレメント（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含むコード領域、及び（ｃ）３′ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含み、ＬＮＰ組成物はそれらを含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、表４に示されている終止エレメントを含むコード領域を含む。

【０２６７】

本明細書で使用される場合、終止エレメントは、終止コドンを含む核酸配列を指す。終止コドンは、ＤＮＡの場合にはＴＧＡ、ＴＡＡ及びＴＡＧから、またはＲＮＡの場合には

ＵＧＡ、ＵＡＡ及びＵＡＧから選択され得る。一実施形態では、終止エレメントは、２つの連続した終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、３つの連続した終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、４つの連続した終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、５つの連続した終止コドンを含む。

【０２６８】

一実施形態では、終止エレメントは、複数の同一の終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、複数の異なる終止コドンを含む。

【０２６９】

一実施形態では、終止エレメントは、１つ以上の終止コドンの上流及び／または下流に、少なくとも１、２、３、４、５、または１０個のヌクレオチドをさらに含む。一実施形態では、終止エレメントは、１つ以上の終止コドンの上流に、少なくとも１、２、３、４、５、または１０個のヌクレオチドをさらに含む。一実施形態では、終止エレメントは、１つ以上の終止コドンの下流に、少なくとも１、２、３、４、５、または１０個のヌクレオチドをさらに含む。

【０２７０】

本発明はまた、終止コドンエレメント及び本明細書に記載されるポリヌクレオチドの両方を含むポリヌクレオチドも含む。いくつかの実施形態では、終止コドンエレメントは、終止コドン領域を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドのコード領域は、終止エレメントを含む。いくつかの実施形態では、終止エレメントは、ポリヌクレオチドの３´ＵＴＲ配列の上流（例えば、前）にある。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、３´非翻訳領域（ＵＴＲ）の前に少なくとも２つの終止コドンを含み得る。終止コドンは、ＤＮＡの場合にはＴＧＡ、ＴＡＡ及びＴＡＧから、またはＲＮＡの場合にはＵＧＡ、ＵＡＡ及びＵＡＧから選択され得る。いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、ＤＮＡの場合には終止コドンＴＧＡ、またはＲＮＡの場合には終止コドンＵＧＡ、及び１つの追加の終止コドンを含む。さらなる実施形態では、追加の終止コドンは、ＴＡＡまたはＵＡＡであり得る。別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、３つの連続した終止コドン、４つの終止コドン、またはそれを超える終止コドンを含む。

【０２７２】

表４に示されている配列を含む終止エレメントにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加し得る、及び／またはポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベルまたは活性が増加し得ることが観察されている。

【０２７３】

一実施形態では、表４に示されている終止エレメントを有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドの半減期が増加するか、またはポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、産生量）が増加する。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５～２０倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９もしくは２０倍、またはそれを超える。一実施形態では、半減期の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、半減期の増加は、約４倍である。一実施形態では、半減期の増加は、約５倍以上である。

【０２７４】

一実施形態では、表４に示されている終止エレメントを有するポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、発現の産生量または持続時間）が増加する。一実施形態では、終止エレメントにより、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベル及び／または活性（例えば、検出可能なレベルまたは活性）が、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、または１４日間、約１．５～２０倍増加する。一実施形態では、終止エレメントにより、

ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのレベルまたは活性が、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、または１４日間、検出可能になる。

【０２７５】

一実施形態では、活性の増加は、約１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９もしくは２０倍であるか、またはそれを超える。一実施形態では、活性の増加は、約１．５倍以上である。一実施形態では、活性の増加は、約２倍以上である。一実施形態では、活性の増加は、約３倍以上である。一実施形態では、活性の増加は、約４倍以上である。一実施形態では、活性の増加は、約５倍以上である。

【０２７６】

一実施形態では、増加は、終止エレメントを有しない、異なる終止エレメントを有する、または表４に示されている終止エレメントを有しない、他の類似のポリヌクレオチドと比較される。

【０２７７】

一実施形態では、終止エレメントは、表４に示されている配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１５８、配列番号１５９、配列番号１６０、配列番号１６１、配列番号１６２、配列番号１６３、配列番号１６４、配列番号１６５、配列番号１６６、配列番号１６７または配列番号１６８、配列番号１６９、配列番号１７３または配列番号１７４の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１５８の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１５９の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６０の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６１の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６２の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６３の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６４の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６５の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６６の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６７の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６８の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１６９の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１７３の配列を含む。一実施形態では、終止エレメントは、配列番号１７４の配列を含む。

【０２７８】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、カッパ終止カセット（すなわち、ＵＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧ（配列番号１６５）またはイオタ終止カセット（すなわち、ＵＡＡＧＣＣＣＣＵＣＣＧＧＧＧ（配列番号１６４）を含む。

【０２７９】

一実施形態では、（ｂ）のコード領域は、式Ｂ：

$X_{-3}-X_{-2}-X_{-1}-U-A-A-X_{1}-X_{2}-X_{3}-X_{4}-X_{5}-X_{6}-X_{7}-X_{8}-X_{9}-X_{10}-X_{11}-X_{12}$（配列番号１７０）

（式中、

X_{1}は、ＧまたはＡである、

X_{2}、X_{4}、X_{5}、X_{6}またはX_{7}は、それぞれ独立してＣまたはＵである、

X_{3}は、ＣまたはＡである、

X_{8}、X_{10}、X_{11}、X_{12}、X_{-1}またはX_{-3}は、それぞれ独立してＣまたはＧである、

X_{9}は、ＧまたはＵである、及び／または

X_{-2}は、ＡまたはＵである）

のコンセンサス配列を含む終止エレメントを含む。

【０２８０】

一実施形態では、X_{1}は、Ｇである。一実施形態では、X_{1}は、Ａである。

【０２８１】

一実施形態では、X_2は、Ｃである。一実施形態では、X_2は、Ｕである。
【０２８２】
一実施形態では、X_4は、Ｃである。一実施形態では、X_4は、Ｕである。
【０２８３】
一実施形態では、X_5は、Ｃである。一実施形態では、X_5は、Ｕである。
【０２８４】
一実施形態では、X_6は、Ｃである。一実施形態では、X_6は、Ｕである。
【０２８５】
一実施形態では、X_7は、Ｃである。一実施形態では、X_7は、Ｕである。
【０２８６】
一実施形態では、X_3は、Ｃである。一実施形態では、X_3は、Ａである。
【０２８７】
一実施形態では、X_8は、Ｃである。一実施形態では、X_8は、Ｇである。
【０２８８】
一実施形態では、X_{10}は、Ｃである。一実施形態では、X_{10}は、Ｇである。
【０２８９】
一実施形態では、X_{11}は、Ｃである。一実施形態では、X_{11}は、Ｇである。
【０２９０】
一実施形態では、X_{12}は、Ｃである。一実施形態では、X_{12}は、Ｇである。
【０２９１】
一実施形態では、X_{-1}は、Ｃである。一実施形態では、X_{-1}は、Ｇである。
【０２９２】
一実施形態では、X_{-3}は、Ｃである。一実施形態では、X_{-3}は、Ｇである。
【０２９３】
一実施形態では、X_9は、Ｇである。一実施形態では、X_9は、Ｕである。
【０２９４】
一実施形態では、X_{-2}は、Ａである。一実施形態では、X_{-2}は、Ｕである。
【０２９５】
一実施形態では、式Ｂ（配列番号１７０）のコンセンサス配列は、ＧＣ含有量が高い（例えば、約５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または９９％のＧＣ含有量）。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約５０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約６０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約７０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約８０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約９０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約９９％である。
【０２９６】
一実施形態では、（ｂ）のコード領域は、式Ｃ：
$X_{-3}-X_{-2}-X_{-1}-U-G-A-X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}$（配列番号１７１）
（式中、
X_{-3}、X_{-1}、X_2、X_5、X_6、X_7、X_8、X_9、またはX_{12}は、それぞれ独立してＧまたはＣである、
X_{-2}、X_3、またはX_4は、それぞれ独立してＡまたはＣである、
X_1は、ＡまたはＧである、及び／または
X_{10}またはX_{11}は、それぞれ独立してＣまたはＵである）
のコンセンサス配列を含む終止エレメントを含む。
【０２９７】
一実施形態では、X_{-3}は、Ｇである。一実施形態では、X_{-3}は、Ｃである。
【０２９８】
一実施形態では、X_{-1}は、Ｇである。一実施形態では、X_{-1}は、Ｃである。
【０２９９】

一実施形態では、X_2は、Ｇである。一実施形態では、X_2は、Ｃである。
【０３００】
一実施形態では、X_5は、Ｇである。一実施形態では、X_5は、Ｃである。
【０３０１】
一実施形態では、X_6は、Ｇである。一実施形態では、X_6は、Ｃである。
【０３０２】
一実施形態では、X_7は、Ｇである。一実施形態では、X_7は、Ｃである。
【０３０３】
一実施形態では、X_8は、Ｇである。一実施形態では、X_8は、Ｃである。
【０３０４】
一実施形態では、X_9は、Ｇである。一実施形態では、X_9は、Ｃである。
【０３０５】
一実施形態では、X_{12}は、Ｇである。一実施形態では、X_{12}は、Ｃである。
【０３０６】
一実施形態では、X_{-2}は、Ａである。一実施形態では、X_{-2}は、Ｃである。
【０３０７】
一実施形態では、X_3は、Ａである。一実施形態では、X_3は、Ｃである。
【０３０８】
一実施形態では、X_4は、Ａである。一実施形態では、X_4は、Ｃである。
【０３０９】
一実施形態では、X_1は、Ａである。一実施形態では、X_1は、Ｇである。
【０３１０】
一実施形態では、X_{10}は、Ｃである。一実施形態では、X_{10}は、Ｕである。
【０３１１】
一実施形態では、X_{11}は、Ｃである。一実施形態では、X_{11}は、Ｕである。
【０３１２】
一実施形態では、式Ｃ（配列番号１７１）のコンセンサス配列は、ＧＣ含有量が高い（例えば、約５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または９９％のＧＣ含有量）。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約５０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約６０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約７０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約８０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約９０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約９９％である。
【０３１３】
一実施形態では、（ｂ）のコード領域は、式Ｄ：
$X_{-3}-X_{-2}-X_{-1}-U-A-G-X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}$（配列番号１７２）
（式中、
X_{-3}、X_{-1}、X_2、X_3、X_{10}は、それぞれ独立してＧまたはＣである、
X_{-2}またはX_9は、それぞれ独立してＡまたはＵである、
X_1またはX_4は、それぞれ独立してＡまたはＧである、
X_5またはX_8は、それぞれ独立してＡまたはＣである、及び／または
X_6、X_7、X_{11}またはX_{12}は、それぞれ独立してＣまたはＵである）
のコンセンサス配列を含む終止エレメントを含む。
【０３１４】
一実施形態では、X_{-3}は、Ｇである。一実施形態では、X_{-3}は、Ｃである。
【０３１５】
一実施形態では、X_{-1}は、Ｇである。一実施形態では、X_{-1}は、Ｃである。
【０３１６】
一実施形態では、X_2は、Ｇである。一実施形態では、X_2は、Ｃである。
【０３１７】

一実施形態では、X_3は、Ｇである。一実施形態では、X_3は、Ｃである。

【０３１８】

一実施形態では、X_{10}は、Ｇである。一実施形態では、X_{10}は、Ｃである。

【０３１９】

一実施形態では、X_{-2}は、Ａである。一実施形態では、X_{-2}は、Ｕである。

【０３２０】

一実施形態では、X_9は、Ａである。一実施形態では、X_9は、Ｕである。

【０３２１】

一実施形態では、X_1は、Ａである。一実施形態では、X_1は、Ｇである。

【０３２２】

一実施形態では、X_4は、Ａである。一実施形態では、X_4は、Ｇである。

【０３２３】

一実施形態では、X_5は、Ａである。一実施形態では、X_5は、Ｃである。

【０３２４】

一実施形態では、X_8は、Ａである。一実施形態では、X_8は、Ｃである。

【０３２５】

一実施形態では、X_6は、Ｃである。一実施形態では、X_6は、Ｕである。

【０３２６】

一実施形態では、X_7は、Ｃである。一実施形態では、X_7は、Ｕである。

【０３２７】

一実施形態では、X_{11}は、Ｃである。一実施形態では、X_{11}は、Ｕである。

【０３２８】

一実施形態では、X_{12}は、Ｃである。一実施形態では、X_{12}は、Ｕである。

【０３２９】

一実施形態では、式Ｄ（配列番号１７２）のコンセンサス配列は、ＧＣ含有量が高い（例えば、約５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または９９％のＧＣ含有量）。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約５０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約６０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約７０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約８０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約９０％である。一実施形態では、ＧＣ含有量は、約９９％である。

【表４－１】

表４：終止エレメント

配列番号	配列情報	配列
158	C1(参照)	UGAUAAUAG
159	C2	UAAUAGUAA
160	C3	UAAGUCUAA
161	C4	UAAAGCUAA
162	C5	UAAGUCUCC
163	C6	UAAGGCUAA
164	C7	UAAGCCCCUCCGGGG
165	C8	UAAAGCUCCCCGGGG
166	C9	UAAGCCCCU
167	C10	UAAAGCUCC
168	C11	UAGGGUUAA
169	C15	UAAGCACCC
170	C12(UAA コンセンサス)	X_{-3}-X_{-2}-X_{-1}-U-A-A-X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12} 式中、 X_1は、GまたはAである、 X_2、X_4、X_5、X_6またはX_7は、それぞれ独立してCまたはUである、 X_3は、CまたはAである、 X_8、X_{10}、X_{11}、X_{12}、X_{-1}またはX_{-3}は、それぞれ独立してCまたはGである、 X_9は、GまたはUである、及び／または X_{-2}は、AまたはUである。
171	C13(UGA コンセンサス)	X_{-3}-X_{-2}-X_{-1}-U-G-A-X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12} 式中、 X_{-3}、X_{-1}、X_2、X_5、X_6、X_7、X_8、X_9、またはX_{12}は、それぞれ独立してGまたはCである、 X_{-2}、X_3、またはX_4は、それぞれ独立してAまたはCである、 X_1は、AまたはGである、及び／または X_{10}またはX_{11}は、それぞれ独立してCまたはUである。

【表４－２】

172	C14(UAG コンセンサス)	X_{-3}-X_{-2}-X_{-1}-U-A-G-X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12} 式中、 X_{-3}、X_{-1}、X_2、X_3、X_{10}は、それぞれ独立してＧまたはＣである、 X_{-2}またはX_9は、それぞれ独立してＡまたはＵである、 X_1またはX_4は、それぞれ独立してＡまたはＧである、 X_5またはX_8は、それぞれ独立してＡまたはＣである、及び／または X_6、X_7、X_{11}またはX_{12}は、それぞれ独立してＣまたはＵである。
173	C16	UGAUAGUAA
174	C17	UAAAGCGCU

【０３３０】

一態様において、本明細書では、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、（ａ）５′ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、（ｂ）終止エレメント（例えば、表４に示されているようなもの）を含むコード領域、及び（ｃ）３′ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含む当該ポリヌクレオチドが開示される。

【０３３１】

６．ポリＡ尾部

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、ポリＡ尾部をさらに含む。さらなる実施形態では、安定化のため、ポリＡ尾部に末端基が組み込まれ得る。他の実施形態では、ポリＡ尾部は、デス－３′ヒドロキシル尾部を含む。

【０３３２】

安定性を高めるために、ＲＮＡプロセシング中に長鎖アデニンヌクレオチド（ポリＡ尾部）がｍＲＮＡ分子等のポリヌクレオチドに付加され得る。転写直後、転写物の３′末端が切断されて、３′ヒドロキシルが遊離し得る。次いで、ポリＡポリメラーゼにより、ＲＮＡにアデニンヌクレオチド鎖が付加される。ポリアデニル化と称されるプロセスでは、例えば、およそ８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０または２５０残基長を含む、およそ８０～およそ２５０残基長であり得るポリＡ尾部が付加される。１つの実施形態では、ポリＡ尾部の長さは、１００ヌクレオチドである（配列番号１２１）。

ａａａａａａａａａａ ａａａａａａａａａａ ａａａａａａａａａａ ａａａａａａａａａａ ａａａａａａａａａａ ａａａａａａａａａａ ａａａａａａａａａａ ａａａａａａａａａａ（配列番号１２１）

【０３３３】

ポリＡ尾部はまた、構築物が核から搬出された後に付加され得る。

【０３３４】

本発明によれば、安定化のため、ポリＡ尾部に末端基が組み込まれ得る。本発明のポリヌクレオチドは、デス－３′ヒドロキシル尾部を含み得る。それらは、Ｊｕｎｊｉｅ Ｌｉ，ｅｔ ａｌ．（Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．１５，１５０１－１５０７，Ａｕｇｕｓｔ ２３，２００５、参照によりその内容が全体として本明細書に組み込まれる）によって教示されるような構造部分または２′－Ｏメチル修飾も含み得る。

【０３３５】

本発明のポリヌクレオチドは、ヒストンｍＲＮＡを含む代替ポリＡ尾部構造を有する転写物をコードするように設計され得る。Ｎｏｒｂｕｒｙによれば、「末端ウリジル化もまた、ヒト複製依存性ヒストンｍＲＮＡ上で検出されている。こうしたｍＲＮＡのターンオーバーは、染色体ＤＮＡ複製の完了または阻害後の潜在的に毒性のあるヒストン蓄積の防止に重要であると考えられる。これらのｍＲＮＡは、３´ポリ（Ａ）尾部の欠如によって区別され、その機能は代わりに、安定なステムループ構造及びその同種ステムループ結合タンパク質（ＳＬＢＰ）によって想定され、後者は、ポリアデニル化ｍＲＮＡ上のＰＡＢＰの機能と同じ機能を果たす」（Ｎｏｒｂｕｒｙ，“Ｃｙｔｏｐｌａｓｍｉｃ ＲＮＡ：ａ ｃａｓｅ ｏｆ ｔｈｅ ｔａｉｌ ｗａｇｇｉｎｇ ｔｈｅ ｄｏｇ，”Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ；ＡＯＰ，２０１３年８月２９日にオンラインで公開；ｄｏｉ：１０．１０３８／ｎｒｍ３６４５）参照によりその内容が全体として本明細書に組み込まれる。

【０３３６】

特有のポリＡ尾部の長さは、本発明のポリヌクレオチドにある特定の利点を提供する。一般に、ポリＡ尾部の長さは（存在する場合）、３０ヌクレオチドを超える。別の実施形態では、ポリＡ尾部の長さは、３５ヌクレオチドを超える（例えば、少なくとも約３５、４０、４５、５０、５５、６０、７０、８０、９０、１００、１２０、１４０、１６０、１８０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、６００、７００、８００、９００、１，０００、１，１００、１，２００、１，３００、１，４００、１，５００、１，６００、１，７００、１，８００、１，９００、２，０００、２，５００、及び３，０００ヌクレオチドまたはそれを超える）。

【０３３７】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドまたはその領域は、約３０～約３，０００ヌクレオチド（例えば、３０～５０、３０～１００、３０～２５０、３０～５００、３０～７５０、３０～１，０００、３０～１，５００、３０～２，０００、３０～２，５００、５０～１００、５０～２５０、５０～５００、５０～７５０、５０～１，０００、５０～１，５００、５０～２，０００、５０～２，５００、５０～３，０００、１００～５００、１００～７５０、１００～１，０００、１００～１，５００、１００～２，０００、１００～２，５００、１００～３，０００、５００～７５０、５００～１，０００、５００～１，５００、５００～２，０００、５００～２，５００、５００～３，０００、１，０００～１，５００、１，０００～２，０００、１，０００～２，５００、１，０００～３，０００、１，５００～２，０００、１，５００～２，５００、１，５００～３，０００、２，０００～３，０００、２，０００～２，５００、及び２，５００～３，０００）を含む。

【０３３８】

いくつかの実施形態では、ポリＡ尾部は、ポリヌクレオチド全体の長さまたはポリヌクレオチドの特定の領域の長さと比べて設計される。この設計は、コード領域の長さ、特定の特徴または領域の長さに基づくか、またはポリヌクレオチドから発現される最終的な産物の長さに基づき得る。

【０３３９】

この文脈において、ポリＡ尾部は、ポリヌクレオチドまたはその特徴よりも長さが１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または１００％長い場合がある。ポリＡ尾部はまた、それが属するポリヌクレオチドの部分として設計され得る。この文脈において、ポリＡ尾部は、構築物の全長、構築物の領域または構築物の全長からポリＡ尾部を引いた長さの１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、もしくは９０％またはそれを超え得る。さらに、ポリＡ結合タンパク質に対する操作導入された結合部位及びポリヌクレオチドの結合により、発現が増強され得る。

【０３４０】

また、複数の異なるポリヌクレオチドは、ポリＡ尾部の３´－末端で修飾ヌクレオチドを使用して３´－末端を介してＰＡＢＰ（ポリ－Ａ結合タンパク質）を介して互いに連結

され得る。トランスフェクション実験は、関連する細胞株で実行され得、タンパク質産生は、トランスフェクションの１２時間、２４時間、４８時間、７２時間及び７日後にＥＬＩＳＡによってアッセイされ得る。

【０３４１】

いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、ポリＡ－Ｇカルテット領域を含むように設計される。Ｇカルテットは、４個のグアニンヌクレオチドが環状で水素結合した配置であり、ＤＮＡ及びＲＮＡの両方でＧリッチ配列によって形成され得る。本実施形態では、Ｇカルテットは、ポリＡ尾部の末端に組み込まれる。結果として得られるポリヌクレオチドは、様々な時点で、安定性、タンパク質産生及び半減期を含む他のパラメータについてアッセイされる。ポリＡ－Ｇカルテットは、１２０ヌクレオチドのポリＡ尾部（配列番号５１）を単独で使用した場合に見られるタンパク質産生の少なくとも７５％に相当する、ｍＲＮＡからのタンパク質産生をもたらすことが発見されている。

ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ　ａａａａａａａａａａ（配列番号５１）

【０３４２】

いくつかの実施形態では、ポリＡ尾部は、非アデノシン残基（例えば、グアノシン）を断続的に有する混合ポリＡ尾部である。いくつかの実施形態では、ポリＡ尾部は、グアニル化されている。理論に束縛されることは望まないが、いくつかの実施形態では、混合ポリＡ尾部により、ｍＲＮＡが急速な脱アデニル化から保護され得る、と考えられている。

【０３４３】

いくつかの実施形態では、ポリＡ尾部は、１つ以上の非アデノシン残基を含む。いくつかの実施形態では、非アデノシン残基はグアノシンである。いくつかの実施形態では、ポリＡ尾部は、１～２０（例えば、１～１５、１～１０、１～５、１５～２０、１０～２０、５～２０、２～１５、５～１０、１～５、２～１０、または５～１５）の非アデノシン残基（例えば、グアノシン）を含む。例えば、ポリＡ尾部は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、またはそれを超える非アデノシン残基（例えば、グアノシン）を含み得る。いくつかの実施形態では、ポリＡ尾部における残基の少なくとも１％（例えば、少なくとも２％、５％、１０％、１５％、２０％、または２５％）が、非アデノシン残基（例えば、グアノシン）である。いくつかの実施形態では、ポリＡ尾部は、グアニル化されている（例えば、１つ以上のグアノシン残基を含む）。

【０３４４】

一実施形態では、１つ以上の非アデノシン残基を含むポリＡ尾部は、化学的に合成される。

【０３４５】

一実施形態では、３´ＵＴＲは、１つ以上のターミナルヌクレオチジルトランスフェラーゼ（ＴＥＮＴ）を、３´ＵＴＲを含むポリヌクレオチドにリクルートする、ＴＥＮＴリクルート配列（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含む。一実施形態では、ＴＥＮＴは、ＴＥＮＴ４（例えば、ＴＥＮＴ４Ａ及び／またはＴＥＮＴ４Ｂ）である。理論に束縛されることは望まないが、いくつかの実施形態では、１つ以上のＴＥＮＴ（例えば、ＴＥＮＴ４Ａ及び／またはＴＥＮＴ４Ｂ）が、断続的な非アデノシン残基（例えば、グアノシン）を有する混合ポリＡ尾部を生成し、ｍＲＮＡを急速な脱アデニル化から保護する、と考えられている。

【０３４６】

例示的なＴＥＮＴリクルート配列としては、

ＣＡＣＣＧＣＧＵＵＡＵＣＣＧＵＵＣＣＵＣＧＵＡＧＧＣＵＧＧＵＣＣＵＧＧＧＧＡＡＣＧＧＧＵＣＧＧＣＧＧ（配列番号９１）及び

ＣＣＡＣＣＣＣＣＡＧＣＧＣＣＡＣＣＡＣＣＧＣＵＧＣＣＧＵＣＧＣＣＡＣＣＧＣＧＵ

ＵＡＵＣＣＧＵＵＣＣＵＣＧＵＡＧＧＣＵＧＧＵＣＣＵＧＧＧＧＡＡＣＧＧＧＵＣＧＧＣＧＧＣＣＧＧＵＣＧＧＣＵＵＣＵＧＵＵＵＵＡ（配列番号９２）
が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３４７】

一実施形態では、ＴＥＮＴリクルート配列は、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列を含む。一実施形態では、ＴＥＮＴリクルート配列は、配列番号９１のヌクレオチド配列を含む。

【０３４８】

一実施形態では、ＴＥＮＴリクルート配列は、配列番号９２のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、もしくは２０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列を含む。一実施形態では、ＴＥＮＴリクルート配列は、配列番号９２のヌクレオチド配列を含む。

【０３４９】

一実施形態では、３´ＵＴＲは、１つ以上（例えば、２、３、４、５つ、またはそれを超える）のＴＥＮＴリクルート配列（例えば、１つ以上の本明細書に記載されるＴＥＮＴリクルート配列）を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、１つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、２つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、３つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、４つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、５つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。例えば、３´ＵＴＲにおける複数のＴＥＮＴリクルート配列は、同一であり得るかまたは異なり得る。

【０３５０】

一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列を含む、ＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列を含む、ＴＥＮＴリクルート配列を含む。

【０３５１】

一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列を含むＴＥＮＴリクルート配列の１つ以上（例えば、２、３、４、５つ、またはそれを超える）を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列を含む、１つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列をそれぞれ含む、２つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下

で異なるヌクレオチド配列をそれぞれ含む、３つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列をそれぞれ含む、４つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列をそれぞれ含む、５つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。

【０３５２】

一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列を含むＴＥＮＴリクルート配列の１つ以上（例えば、２、３、４、５つ、またはそれを超える）を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列をそれぞれ含む、２つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列をそれぞれ含む、３つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列をそれぞれ含む、４つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９１のヌクレオチド配列をそれぞれ含む、５つのＴＥＮＴリクルート配列を含む。

【０３５３】

７．追加の３´ＵＴＲエレメント

Ａ）識別及び比率決定（ＩＤＲ）

識別及び比率決定（ＩＤＲ）配列とは、標的生体分子の配列と組み合わせた場合に、標的生体分子を識別するのに役立つ生体分子（例えば、核酸またはタンパク質）の配列である。典型的には、ＩＤＲ配列は、標的生体分子の配列内に組み込まれるか、またはそれに付加され、標的分子を識別するための参照として使用され得る異種配列である。したがって、いくつかの実施形態では、核酸（例えば、ｍＲＮＡ）は、（ｉ）目的標的配列（例えば、治療用及び／または抗原性のペプチドまたはタンパク質をコードするコード配列）、及び（ｉｉ）固有のＩＤＲ配列を含む。

【０３５４】

ＲＮＡ種（例えば、所与のコード配列を有するＲＮＡ）は、他のＲＮＡ種（例えば、異なるコード配列（複数可）を有するＲＮＡ（複数可））のＩＤＲ配列とは異なるＩＤＲ配列を含み得る。したがって、各ＩＤＲ配列は特定のＲＮＡ種を識別するので、ＩＤＲ配列の存在量を測定して、組成物中の各ＲＮＡ種の存在量を決定することができる。ＲＮＡ種を識別するために異なるＩＤＲ配列を使用すると、他の方法では完全長ＲＮＡのＰＣＲベースまたはクロマトグラフィーベースの分析を使用して区別することが困難であり得る、コード配列及び／または長さが類似したＲＮＡ種を含有する多価ＲＮＡ組成物（例えば、複数のＲＮＡ種を含有する）の分析が可能になる。

【０３５５】

多価ＲＮＡ組成物中の各ＲＮＡ種は、多価ＲＮＡ組成物における別のＲＮＡ種のＩＤＲ配列の配列異性体ではないＩＤＲ配列を含み得る（例えば、ＩＤＲ配列は、たとえ組成物中の別のＩＤＲ配列が異なる配列を有していても、それらの配列と同数のアデノシンヌクレオチド、同数のシトシンヌクレオチド、同数のグアニンヌクレオチド、及び同数のウラシルヌクレオチドを有しない）。同一のヌクレオチド組成物を有すると、配列異性体は同じ質量を有するようになり、質量ベースの識別法（例えば、質量分析）を使用して配列異性体を区別することが課題となる。

【０３５６】

多価ＲＮＡ組成物中の各ＲＮＡ種は、多価ＲＮＡ組成物中の他の各ＲＮＡ種のＩＤＲ配列の質量とは異なる質量を有するＩＤＲ配列を含み得る。例えば、各ＩＤＲ配列の質量は、他のＩＤＲ配列の質量とは、少なくとも９Ｄａ、少なくとも２５Ｄａ、少なくとも２５

Ｄａ、または少なくとも５０Ｄａ異なり得る。異なる質量のＩＤＲ配列を使用すると、ＲＮＡの逆転写、増幅、または配列決定を必要としない質量ベースの分析方法（例えば、質量分析）を使用して、異なるＩＤＲ配列を含むＲＮＡ断片を区別することが可能になる。

【０３５７】

ＲＮＡ組成物中の各ＲＮＡ種は、異なる長さのＩＤＲ配列を含み得る。例えば、各ＩＤＲ配列は、０～２５ヌクレオチドから独立して選択される長さを有し得る。核酸の長さは核酸がクロマトグラフィーカラムを通過する速度に影響を与えるため、異なるＲＮＡ種に対して異なる長さのＩＤＲ配列を使用すると、クロマトグラフィーベースの方法（例えば、ＬＣ－ＵＶ）を使用して、異なるＩＤＲ配列を有するＲＮＡ断片を区別することが可能になる。

【０３５８】

ＩＤＲ配列は、開始コドン「ＡＵＧ」を含むＩＤＲ配列が存在しないように選択され得る。ＩＤＲ配列が開始コドンを欠いていることにより、ＩＤＲ配列内及び／またはＩＤＲ配列から下流のヌクレオチド配列の望ましくない翻訳が防止される。

【０３５９】

ＩＤＲ配列は、制限酵素の認識部位を含むＩＤＲ配列が存在しないように選択され得る。一例では、ＸｂａＩの認識部位「ＵＣＵＡＧ」を含むＩＤＲ配列は存在しない。制限酵素の認識部位（例えば、ＸｂａＩ認識部位「ＵＣＵＡＧ」）を欠いていることにより、ＩＤＲ配列または転写されたＲＮＡの配列に影響を及ぼすことなく、インビトロ転写のためのＤＮＡ鋳型の生成及び修飾に制限酵素を使用することができる。

【０３６０】

Ｂ）ＦＵＴ８

いくつかの実施形態では、３´ＵＴＲは、ＦＵＴ８配列を含む。例えば、ＦＵＴ８配列は、以下の配列を含む：

ＣＵＧＡＧＡＧＡＣＣＵＧＵＧＵＧＡＡＣＵＡＵＵＧＡＧＡＡＧＡＵＣＧＧＡＡＣＡＧＣＵＣＣＵＵＡＣＵＣＵＧＡＧＧＡＡＧＵＵＧ配列番号９３。一実施形態では、３´ＵＴＲは、配列番号９３のヌクレオチド配列、あるいはそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそれから１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０ヌクレオチド以下で異なるヌクレオチド配列を含む、ＦＵＴ８配列を含む。いくつかの実施形態において、ＦＵＴ８配列は、３´ＵＴＲに存在する本明細書に記載されるｍｉＲＮＡ結合部位のいずれかと組み合わされ得る。

【０３６１】

Ｃ）リボソーム会合検出アッセイ（ＲＥＤＡ）

ＲＥＤＡは、細胞内脂質ナノ粒子－核酸の取り込み及び製造された核酸ｍＲＮＡの翻訳の効力ならびに有効性を評価するために使用され得る。当該アッセイは、細胞における翻訳ステップ中にリボソームに結合したｍＲＮＡを測定するために、リボソーム会合検出アッセイ（ＲＥＤＡ）のいくつかの態様を組み込んでいる。当該アッセイは、実際のタンパク質発現を必要とするものではなく、むしろ、有効であるｍＲＮＡの取り込み及びリボソームとの会合、したがって、有効である細胞内翻訳を実証することによって、細胞内タンパク質産生におけるｍＲＮＡ等の核酸の有効性を表すものである。

【０３６２】

故に、いくつかの実施形態において、本明細書に記載される３´ＵＴＲ配列のいずれかは、ＲＥＤＡにおけるｑＰＣＲによって検出され得る配列を含む。

【０３６３】

ＲＮＡ種（例えば、所与のコード配列を有するＲＮＡ）は、他のＲＮＡ種（例えば、異なるコード配列（複数可）を有するＲＮＡ（複数可））のＲＥＤＡ配列とは異なるＲＥＤＡ配列を含み得る。したがって、各ＲＥＤＡ配列により特定のＲＮＡ種が識別されるので、ＲＥＤＡ配列の存在量を測定して、組成物中の各ＲＮＡ種の存在量を決定することができる。ＲＮＡ種を識別するために異なるＲＥＤＡ配列を使用すると、他の方法では完全長

ＲＮＡのＰＣＲベースまたはクロマトグラフィーベースの分析を使用して区別することが困難であり得る、コード配列及び／または長さが類似したＲＮＡ種を含有する多価ＲＮＡ組成物（例えば、複数のＲＮＡ種を含有する）の分析が可能になる。

【０３６４】

多価ＲＮＡ組成物中の各ＲＮＡ種は、多価ＲＮＡ組成物における別のＲＮＡ種のＲＥＤＡ配列の配列異性体ではないＲＥＤＡ配列を含み得る（例えば、ＩＤＲ配列は、たとえ組成物中の別のＲＥＤＡ配列が異なる配列を有していても、それらの配列と同数のアデノシンヌクレオチド、同数のシトシンヌクレオチド、同数のグアニンヌクレオチド、及び同数のウラシルヌクレオチドを有しない）。同一のヌクレオチド組成物を有すると、配列異性体は同じ質量を有するようになり、質量ベースの識別法（例えば、質量分析）を使用して配列異性体を区別することが課題となる。

【０３６５】

多価ＲＮＡ組成物中の各ＲＮＡ種は、多価ＲＮＡ組成物中の他の各ＲＮＡ種のＲＥＤＡ配列の質量とは異なる質量を有するＲＥＤＡ配列を含み得る。例えば、各ＲＥＤＡ配列の質量は、他のＲＥＤＡ配列の質量とは、少なくとも９Ｄａ、少なくとも２５Ｄａ、少なくとも２５Ｄａ、または少なくとも５０Ｄａ異なり得る。異なる質量のＲＥＤＡ配列を使用すると、ＲＮＡの逆転写、増幅、または配列決定を必要としない質量ベースの分析方法（例えば、質量分析）を使用して、異なるＩＤＲ配列を含むＲＮＡ断片を区別することが可能になる。

【０３６６】

ＲＮＡ組成物中の各ＲＮＡ種は、異なる長さのＲＥＤＡ配列を含み得る。例えば、各ＩＤＲ配列は、０～２５ヌクレオチドから独立して選択される長さを有し得る。核酸の長さは核酸がクロマトグラフィーカラムを通過する速度に影響を与えるため、異なるＲＮＡ種に対して異なる長さのＲＥＤＡ配列を使用すると、クロマトグラフィーベースの方法（例えば、ＬＣ－ＵＶ）を使用して、異なるＲＥＤＡ配列を有するＲＮＡ断片を区別することが可能になる。

【０３６７】

ＲＥＤＡ配列は、開始コドン「ＡＵＧ」を含むＲＥＤＡ配列が存在しないように選択され得る。ＩＤＲ配列が開始コドンを欠いていることにより、ＲＥＤＡ配列内及び／またはＲＥＤＡ配列から下流のヌクレオチド配列の望ましくない翻訳が防止される。

【０３６８】

ＲＥＤＡ配列は、制限酵素の認識部位を含むＲＥＤＡ配列が存在しないように選択され得る。一例では、ＸｂａＩの認識部位「ＵＣＵＡＧ」を含むＲＥＤＡ配列は存在しない。制限酵素の認識部位（例えば、ＸｂａＩ認識部位「ＵＣＵＡＧ」）を欠いていることにより、ＩＤＲ配列または転写されたＲＮＡの配列に影響を及ぼすことなく、インビトロ転写のためのＤＮＡ鋳型の生成及び修飾に制限酵素を使用することができる。

【０３６９】

８．開始コドン領域

本発明はまた、開始コドン領域及び本明細書に記載されるポリヌクレオチドの両方を含むポリヌクレオチドも含む。いくつかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、開始コドン領域と類似している領域、または開始コドン領域のように機能する領域を有し得る。

【０３７０】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドの翻訳は、開始コドンＡＵＧではないコドン上で開始し得る。ポリヌクレオチドの翻訳は、限定されないが、ＡＣＧ、ＡＧＧ、ＡＡＧ、ＣＴＧ／ＣＵＧ、ＧＴＧ／ＧＵＧ、ＡＴＡ／ＡＵＡ、ＡＴＴ／ＡＵＵ、ＴＴＧ／ＵＵＧ等の代替的な開始コドン上で開始し得る（Ｔｏｕｒｉｏｌ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ ｔｈｅ Ｃｅｌｌ ９５（２００３）１６９－１７８及びＭａｔｓｕｄａ ａｎｄ Ｍａｕｒｏ ＰＬｏＳ ＯＮＥ，２０１０ ５：１１を参照のこと。参照によりその各々の内容が全体として本明細書に組み込まれる）。

【０３７１】
非限定的な例として、ポリヌクレオチドの翻訳は、代替的開始コドンＡＣＧで始まる。別の非限定的な例として、ポリヌクレオチド翻訳は、代替的開始コドンＣＴＧまたはＣＵＧで始まる。さらに別の非限定的な例として、ポリヌクレオチドの翻訳は、代替的開始コドンＧＴＧまたはＧＵＧで始まる。
【０３７２】
翻訳を開始させるコドン（限定されないが、開始コドンまたは代替的開始コドン等）に隣接するヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの翻訳効率、長さ及び／または構造に影響を及ぼすことが知られている（例えば、Ｍａｔｓｕｄａ ａｎｄ Ｍａｕｒｏ ＰＬｏＳ ＯＮＥ，２０１０ ５：１１を参照のこと。参照によりその内容が全体として本明細書に組み込まれる）。翻訳を開始させるコドンに隣接するヌクレオチドのいずれかをマスクすることは、ポリヌクレオチドの翻訳開始位置、翻訳効率、長さ及び／または構造を変更するために使用され得る。
【０３７３】
いくつかの実施形態では、マスクされた開始コドンまたは代替的開始コドンで翻訳開始の可能性を低減するためにコドンをマスクするためにまたは隠すために、開始コドンまたは代替的開始コドンの近くでマスキング剤が使用され得る。マスキング剤の非限定的な例には、アンチセンスロック核酸（ＬＮＡ）ポリヌクレオチド及びエキソン－接合部複合体（ＥＪＣ）が含まれる（例えば、マスキング剤ＬＮＡポリヌクレオチド及びＥＪＣを記載しているＭａｔｓｕｄａ ａｎｄ Ｍａｕｒｏ（ＰＬｏＳ ＯＮＥ，２０１０ ５：１１）（その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい）。
【０３７４】
別の実施形態では、マスキング剤は、翻訳が代替的開始コドンで開始する可能性を増加させるためにポリヌクレオチドの開始コドンをマスクするために使用され得る。いくつかの実施形態では、翻訳が、マスクされた開始コドンまたは代替開始コドンの下流の開始コドンまたは代替開始コドン上で開始されることになる可能性を増加させるために、マスキング剤が最初の開始コドンまたは代替開始コドンをマスクするために使用され得る。
【０３７５】
いくつかの実施形態では、開始コドンまたは代替開始コドンは、ｍｉＲＮＡ結合部位の完全相補体内に位置し得る。ｍｉＲＮＡ結合部位の完全な相補体は、マスキング剤と同様、ポリヌクレオチドの翻訳、長さ及び／または構造の制御を補助し得る。非限定的な例として、開始コドンまたは代替開始コドンは、ｍｉＲＮＡ結合部位の完全相補体の中央に位置し得る。開始コドンまたは代替的開始コドンは、第１のヌクレオチド、第２のヌクレオチド、第３のヌクレオチド、第４のヌクレオチド、第５のヌクレオチド、第６のヌクレオチド、第７のヌクレオチド、第８のヌクレオチド、第９のヌクレオチド、第１０のヌクレオチド、第１１のヌクレオチド、第１２のヌクレオチド、第１３のヌクレオチド、第１４のヌクレオチド、第１５のヌクレオチド、第１６のヌクレオチド、第１７のヌクレオチド、第１８のヌクレオチド、第１９のヌクレオチド、第２０のヌクレオチドまたは第２１のヌクレオチドの後に位置し得る。
【０３７６】
別の実施形態では、ポリヌクレオチドの開始コドンは、ポリヌクレオチドの翻訳を開始コドンではないコドンで始めさせるためにポリヌクレオチド配列から除去され得る。ポリヌクレオチドの翻訳は、除去された開始コドンの後のコドンでまたは下流の開始コドンもしくは代替的開始コドンで始まり得る。非限定的な例では、開始コドンＡＴＧまたはＡＵＧは、翻訳を下流の開始コドンまたは代替的開始コドンで開始させるためにポリヌクレオチド配列の最初の３ヌクレオチドとして除去される。開始コドンが除去されたポリヌクレオチド配列は、翻訳の開始、ポリヌクレオチドの長さ及び／またはポリヌクレオチドの構造を制御するためにまたは制御を試みるために、下流の開始コドン及び／または代替的開始コドンのための少なくとも１つのマスキング剤をさらに含み得る。
【０３７７】

９．ｍＲＮＡエレメントの組み合わせ

本明細書に開示されるポリヌクレオチドのいずれかは、以下のエレメントのうちの１、２、３つ、または全てを含み得る：５´ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、コード領域、終止エレメント＋３´ＵＴＲ（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、及び任意に３´安定化領域（例えば、本明細書に記載されるようなもの）。また、それらを含むＬＮＰ組成物も本明細書に開示される。

【０３７８】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、表１に記載される５´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片及び配列番号１３９の配列を含む終止エレメント＋３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、キャップ構造（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、またはポリＡ尾部（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、３´安定化領域（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。

【０３７９】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、配列番号５０の配列を含む５´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片及び配列番号１３９の配列を含む終止エレメント＋３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、キャップ構造（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、またはポリＡ尾部（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、３´安定化領域（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。

【０３８０】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、配列番号５６の配列を含む５´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片及び配列番号１３９の配列を含む終止エレメント＋３´ＵＴＲまたはそのバリアントもしくは断片を含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、キャップ構造（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、またはポリＡ尾部（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、３´安定化領域（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。

【０３８１】

いくつかの実施形態では、５´ＵＴＲは配列番号５０であり、３´ＵＴＲは、配列番号１３９または配列番号１４４である。例えば、５´ＵＴＲは配列番号５０であり、３´ＵＴＲは配列番号１３９であるか、または５´ＵＴＲは配列番号５０であり、３´ＵＴＲは配列番号１４４である。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、キャップ構造（例えば、本明細書に記載されるようなもの）、またはポリＡ尾部（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、３´安定化領域（例えば、本明細書に記載されるようなもの）をさらに含む。

【０３８２】

いくつかの実施形態では、表３から選択されるｍｉＲＮＡ結合部位配列のいずれか１つ以上が、表４に示される終止カセットのいずれか１つと組み合わされ得る。加えて、いくつかの実施形態では、ＴＥＮＴリクルート配列が、表３から選択されるｍｉＲＮＡ結合部位配列のいずれか１つ以上及び表４に示される終止カセットのいずれか１つと組み合わされ得る。さらに、いくつかの実施形態では、ＦＵＴ８配列が、表３から選択されるｍｉＲＮＡ結合部位配列のいずれか１つ以上及び表４に示される終止カセットのいずれか１つと組み合わされ得る。

【０３８３】

１０．治療ペイロードまたは予防ペイロード

本明細書では、とりわけ、本明細書に記載される５´ＵＴＲ、本明細書に記載される３´ＵＴＲ、及び／または終止エレメントを含むコード領域を有するポリヌクレオチドであって、当該コード領域は、ペイロード（例えば、治療ペイロードまたは予防ペイロード）をコードする配列をさらに含む、当該ポリヌクレオチドが開示される。一実施形態では、コード領域は、１つのペイロードをコードする。一実施形態では、コード領域は、２つ以

上のペイロード（例えば、２、３、４、５、６つ、またはそれを超えるペイロード、例えば、同じまたは異なるペイロード）をコードする。一実施形態では、各ペイロードをコードする配列は、ポリヌクレオチド内で隣接している。一実施形態では、各ペイロードをコードする配列は、少なくとも１～１０００個のヌクレオチドによって分離されている。いくつかの実施形態では、治療ペイロードまたは予防ペイロードは、分泌タンパク質、膜結合タンパク質、もしくは細胞間タンパク質、またはそのペプチド、ポリペプチド、もしくは生物学的に活性な断片をコードするｍＲＮＡで構成される。

【０３８４】

また、本明細書では、ペイロード（例えば、治療ペイロードまたは予防ペイロード）をコードするコード領域を含むポリヌクレオチド、を含むＬＮＰも開示される。いくつかの実施形態では、治療ペイロードまたは予防ペイロードは、分泌タンパク質、膜結合タンパク質、もしくは細胞間タンパク質、またはそのペプチド、ポリペプチド、もしくは生物学的に活性な断片をコードするｍＲＮＡで構成される。

【０３８５】

いくつかの実施形態では、治療ペイロードまたは予防ペイロードは、分泌タンパク質、またはそのペプチド、ポリペプチドもしくは生物学的に活性な断片をコードするｍＲＮＡで構成される。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、サイトカイン、またはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、抗体またはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、酵素またはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、ホルモンまたはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、リガンド、またはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、ワクチン（例えば、抗原、免疫原性エピトープ）、またはその成分、バリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、ワクチンは、予防用ワクチンである。いくつかの実施形態では、ワクチンは、治療用ワクチン（例えば、がんワクチン）である。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、成長因子またはその成分、バリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、分泌タンパク質には、免疫調節因子（例えば、免疫チェックポイントアゴニストまたはアンタゴニスト）が含まれる。

【０３８６】

いくつかの実施形態では、治療ペイロードまたは予防ペイロードは、膜結合タンパク質、またはそのペプチド、ポリペプチドもしくは生物学的に活性な断片をコードするｍＲＮＡで構成される。いくつかの実施形態では、膜結合タンパク質には、ワクチン（例えば、抗原、免疫原性エピトープ）、またはその成分、バリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、ワクチンは、予防用ワクチンである。いくつかの実施形態では、ワクチンは、治療用ワクチン（例えば、がんワクチン）である。いくつかの実施形態では、膜結合タンパク質には、リガンド、そのバリアントまたは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、膜結合タンパク質には、膜輸送体、そのバリアントまたは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、膜結合タンパク質には、構造タンパク質、そのバリアントまたは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、膜結合タンパク質には、免疫調節因子（例えば、免疫チェックポイントアゴニストまたはアンタゴニスト）が含まれる。

【０３８７】

いくつかの実施形態では、治療ペイロードまたは予防ペイロードは、細胞内タンパク質、またはそのペプチド、ポリペプチドもしくは生物学的に活性な断片をコードするｍＲＮＡで構成される。いくつかの実施形態では、細胞内タンパク質には、酵素またはそのバリ

アントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、細胞内タンパク質には、転写因子、またはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、細胞内タンパク質には、ヌクレアーゼ、またはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。いくつかの実施形態では、細胞内タンパク質には、構造タンパク質、またはそのバリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）が含まれる。

【０３８８】

いくつかの実施形態では、治療ペイロードまたは予防ペイロードは、サイトカイン、抗体、ワクチン（例えば、抗原、免疫原性エピトープ）、受容体、酵素、ホルモン、転写因子、リガンド、膜輸送体、構造タンパク質、ヌクレアーゼ、成長因子、免疫調節因子、またはこれらの成分、バリアントもしくは断片（例えば、生物学的に活性な断片）から選択される。

【０３８９】

いくつかの実施形態では、治療ペイロードまたは予防ペイロードには、タンパク質またはペプチドが含まれる。

【０３９０】

本明細書に開示される調節エレメント（例えば、５´ＵＴＲ、終止エレメント、３´ＵＴＲ、安定化領域（例えば、ｉｄＴまたは修飾ポリＡ尾部））は、本明細書で記載されるペイロードをコードするＯＲＦと共に使用され得ることが理解されるであろう。本明細書に開示される調節エレメントは、モジュール方式で使用され得る、すなわち、当該技術分野の他の調節エレメントと組み合わせたｍＲＮＡ構築物中で使用され得ること（例えば、ＯＲＦ及び当該技術分野の他の調節領域と組み合わせた本発明の５´ＵＴＲ）、または本明細書に開示される他の調節エレメント（例えば、本発明の５´ＵＴＲと本発明の３´ＵＴＲ等）と組み合わせて使用され得ることがさらに理解されるであろう。さらに、本発明の終止エレメントは、終止コドンを欠く所望のＯＲＦと組み合わせて使用され得ることが理解されるであろう。また、所望のＯＲＦが終止コドンを含む場合、最終構築物には追加の終止コドンまたは終止エレメントが含まれないことも理解されるであろう。いくつかの実施形態では、所望のＯＲＦの終止コドンは、本明細書に記載される終止エレメントで置き換えられ得る。

【０３９１】

１１．ポリヌクレオチドの作製方法

本開示はまた、本明細書に開示されるポリヌクレオチドまたはその相補体を作製する方法も提供する。いくつかの態様では、本明細書に開示されるポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）は、インビトロ転写を使用して構築され得る。

【０３９２】

他の態様では、本明細書に開示されるポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）は、オリゴヌクレオチド合成を使用して化学合成によって構築され得る。他の態様では、本明細書に開示されるポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）は、宿主細胞を使用することによって作製される。ある特定の態様では、本明細書に開示されるポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）は、ＩＶＴ、化学合成、宿主細胞発現、または当該技術分野において既知の任意の他の方法のうちの１つ以上の組み合わせによって作製される。

【０３９３】

天然に存在するヌクレオシド、天然に存在しないヌクレオシド、またはこれらの組み合わせは、候補ヌクレオチド配列に存在する天然のヌクレオシドを完全にまたは部分的に置き換えることができ、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードする配列最適化ヌクレオチド配列（例えば、ｍＲＮＡ）に組み込まれ得る。次いで、結果として得られるｍＲＮＡは、タンパク質を産生するそれらの能力及び／または治療成果を生み出すそれらの能力に関して検査され得る。

【０３９４】

ＲＮＡは、当該技術分野において周知の方法を使用して合成的に作製され得るが、１つ

の実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、ＲＮＡ転写物の産生をもたらす条件下で、ＤＮＡ鋳型をＲＮＡポリメラーゼ（例えば、Ｔ７ＲＮＡポリメラーゼまたはＴ７ＲＮＡポリメラーゼバリアント）と接触させることによって合成される。

【０３９５】

いくつかの態様では、本開示は、ＩＶＴ（インビトロ転写）反応を実施する方法を提供し、本方法は、ＲＮＡ転写物の産生をもたらす条件下で、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下においてＤＮＡ鋳型をＲＮＡポリメラーゼ（例えば、Ｔ７ＲＮＡポリメラーゼ、例えば、Ｔ７ＲＮＡポリメラーゼバリアントなど）と接触させることを含む。

【０３９６】

本開示の他の態様は、キャッピング方法、例えば、共転写キャッピング方法または当該技術分野において既知の他の方法を提供する。１つの実施形態では、キャッピング方法は、ポリヌクレオチド鋳型を、インビトロ転写反応条件下においてＴ７ＲＮＡポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させて、ＲＮＡ転写物を生成することを含む。

【０３９７】

ＩＶＴ条件には通常、プロモーターを含有する精製した線状ＤＮＡ鋳型、ヌクレオシド三リン酸、ジチオスレイトール（ＤＴＴ）及びマグネシウムイオンを含む緩衝系、ならびにＲＮＡポリメラーゼが必要である。転写反応に用いられる厳密な条件は、特定のアプリケーションに必要なＲＮＡの量に依存する。典型的なＩＶＴ反応は、ＤＮＡ鋳型を、ＲＮＡポリメラーゼ及びヌクレオシド三リン酸（ＧＴＰ、ＡＴＰ、ＣＴＰ、及びＵＴＰ（またはヌクレオチド類似体）を含む）と共に、転写緩衝液中でインキュベートすることによって行われる。５′末端グアノシン三リン酸を有するＲＮＡ転写物は、この反応から生じる。

【０３９８】

デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）は、単にＲＮＡポリメラーゼに対する核酸鋳型である。ＤＮＡ鋳型は、目的のポリペプチド（例えば、抗原性ポリペプチド）をコードするポリヌクレオチドを含み得る。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ鋳型は、目的のポリヌクレオチドをコードするポリヌクレオチドから５′に位置し、当該ポリヌクレオチドに作動可能に連結されたＲＮＡポリメラーゼプロモーター（例えば、Ｔ７ＲＮＡポリメラーゼプロモーター）を含む。ＤＮＡ鋳型はまた、目的とする遺伝子の３′末端に位置するポリアデニル化（ポリＡ）尾部をコードするヌクレオチド配列も含み得る。

【０３９９】

目的とするポリペプチドには、生物製剤、抗体、抗原（ワクチン）、及び治療用タンパク質が含まれるが、これらに限定されない。「タンパク質」という用語は、ペプチドを包含する。

【０４００】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物はＩＶＴ反応の生成物であり、当業者によって理解されるように、ＲＮＡ分子を作製するためのＤＮＡ鋳型は、塩基相補性に基づいて既知である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物は、ポリＡ尾部に連結された目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）である。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは修飾ｍＲＮＡ（ｍｍＲＮＡ）であり、これは、少なくとも１つの修飾ヌクレオチドを含むものである。

【０４０１】

ヌクレオチドは、窒素塩基、五炭糖（リボースまたはデオキシリボース）、及び少なくとも１つのリン酸基を含む。ヌクレオチドには、ヌクレオシド一リン酸、ヌクレオシド二リン酸、及びヌクレオシド三リン酸が含まれる。ヌクレオシド一リン酸（ＮＭＰ）は、リボースに連結した核酸塩基及び単一のリン酸を含み、ヌクレオシド二リン酸（ＮＤＰ）は、リボースに連結した核酸塩基及び２つのリン酸を含み、ヌクレオシド三リン酸（ＮＴＰ）は、リボースに連結した核酸塩基及び３つのリン酸を含む。ヌクレオチド類似体は、一般的なヌクレオチド構造を有するか、またはヌクレオチドと構造的に類似している化合物

である。例えば、ヌクレオチド類似体としては、ヌクレオチドの核酸塩基の類似体、糖の類似体、及び／またはリン酸基（複数可）の類似体が挙げられる。

【０４０２】

ヌクレオシドは、窒素塩基及び五炭糖を含む。したがって、ヌクレオシドにリン酸基を加えることでヌクレオチドになる。ヌクレオシド類似体は、一般的なヌクレオシド構造を有するか、またはヌクレオシドと構造的に類似している化合物である。例えば、ヌクレオシド類似体としては、ヌクレオシドの核酸塩基の類似体及び／または糖の類似体が挙げられる。

【０４０３】

別段示されない限り、「ヌクレオチド」という用語は、天然に存在するヌクレオチド、合成ヌクレオチド及び修飾ヌクレオチドを含むと理解されるべきである。本明細書に提供されるような、例えば、ＩＶＴ反応におけるＲＮＡの産生に使用される、天然に存在するヌクレオチドの例としては、アデノシン三リン酸（ＡＴＰ）、グアノシン三リン酸（ＧＴＰ）、シチジン三リン酸（ＣＴＰ）、ウリジン三リン酸（ＵＴＰ）、及び５－メチルウリジン三リン酸（m^5ＵＴＰ）が挙げられる。いくつかの実施形態では、アデノシン二リン酸（ＡＤＰ）、グアノシン二リン酸（ＧＤＰ）、シチジン二リン酸（ＣＤＰ）、及び／またはウリジン二リン酸（ＵＤＰ）が使用される。

【０４０４】

ヌクレオチド類似体の例としては、抗ウイルスヌクレオチド類似体、リン酸類似体（可溶性または固定化、加水分解性または非加水分解性）、ジヌクレオチド、トリヌクレオチド、テトラヌクレオチド、例えば、キャップ類似体、または酵素キャッピングの前駆体／基質（ワクシニアもしくはリガーゼ）、キャップまたは５′部分（ＩＲＥＳ）のライゲーション／複合化を促進するための官能基で標識されたヌクレオチド、キャップまたは５′部分のライゲーションを促進するための５′PO_4で標識されたヌクレオチド、あるいは化学的または酵素的に切断され得る官能基／保護基で標識されたヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。抗ウイルス性ヌクレオチド／ヌクレオシド類似体の例としては、ガンシクロビル、エンテカビル、テルビブジン、ビダラビン及びシドフォビルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４０５】

修飾ヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含み得る。例えば、本開示のＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）としては、シュードウリジン（ψ）、１－メチルシュードウリジン（ｍ１ψ）、１－エチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４′－チオウリジン、２－チオ－１－メチル－１－デアザ－シュードウリジン、２－チオ－１－メチル－シュードウリジン、２－チオ－５－アザ－ウリジン、２－チオ－ジヒドロシュードウリジン、２－チオ－ジヒドロウリジン、２－チオ－シュードウリジン、４－メトキシ－２－チオ－シュードウリジン、４－メトキシ－シュードウリジン、４－チオ－１－メチル－シュードウリジン、４－チオ－シュードウリジン、５－アザ－ウリジン、ジヒドロシュードウリジン、５－メチルウリジン、５－メトキシウリジン（ｍｏ５Ｕ）及び２′－Ｏ－メチルウリジンから選択される修飾核酸塩基が挙げられてよい。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、前述した修飾核酸塩基のうち少なくとも２つの（例えば、２つ、３つ、４つまたはそれを超える）組み合わせを含む。

【０４０６】

本明細書に提供されるようなヌクレオシド三リン酸（ＮＴＰ）は、非修飾もしくは修飾ＡＴＰ、修飾もしくは非修飾ＵＴＰ、修飾もしくは非修飾ＧＴＰ、及び／または修飾もしくは非修飾ＣＴＰを含んでよい。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、未修飾ＡＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、修飾ＡＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、未修飾ＵＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、修飾ＵＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、未修飾ＧＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、修飾ＧＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、未修飾ＣＴＰを

含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、修飾ＣＴＰを含む。

【０４０７】

ＩＶＴ反応に含まれるヌクレオシド三リン酸及びキャップ類似体の濃度は異なり得る。いくつかの実施形態では、ＮＴＰ及びキャップ類似体は、反応において等モル濃度で存在する。いくつかの実施形態では、反応中のキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）対ヌクレオシド三リン酸のモル比は、１：１よりも高い。例えば、反応中のキャップ類似体対ヌクレオシド三リン酸のモル比は、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１、１５：１、２０：１、２５：１、５０：１、または１００：１であってよい。いくつかの実施形態では、反応中のキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）対ヌクレオシド三リン酸のモル比は、１：１よりも低い。例えば、反応中のキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）対ヌクレオシド三リン酸のモル比は、１：２、１：３、１：４、１：５、１：６、１：７、１：８、１：９、１：１０、１：１５、１：２０、１：２５、１：５０、または１：１００であってよい。

【０４０８】

ＩＶＴ反応におけるＮＴＰの組成もまた異なり得る。例えば、ＡＴＰは、ＧＴＰ、ＣＴＰ及びＵＴＰより過度に使用され得る。非限定的な例として、ＩＶＴ反応は、７．５ミリモルのＧＴＰ、７．５ミリモルのＣＴＰ、７．５ミリモルのＵＴＰ、及び３．７５ミリモルのＡＴＰを含み得る。同じＩＶＴ反応が、３．７５ミリモルのキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）を含んでよい。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、１：１：１：０．５：０．５である。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、１：１：０．５：１：０．５である。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、１：０．５：１：１：０．５である。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、０．５：１：１：１：０．５である。

【０４０９】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、シュードウリジン（ψ）、１－メチルシュードウリジン（$m^1\psi$）、５－メトキシウリジン（mo^5U）、５－メチルシチジン（m^5C）、α－チオ－グアノシン及びα－チオ－アデノシンから選択される修飾核酸塩基を含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、前述した修飾核酸塩基のうち少なくとも２つの（例えば、２つ、３つ、４つまたはそれを超える）組み合わせを含む。

【０４１０】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、シュードウリジン（ψ）を含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、１－メチルシュードウリジン（$m^1\psi$）を含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、５－メトキシウリジン（mo^5U）を含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、５－メチルシチジン（m^5C）を含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、α－チオ－グアノシンを含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）は、α－チオ－アデノシンを含む。

【０４１１】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド（例えば、ＲＮＡポリヌクレオチド、例えば、ｍＲＮＡポリヌクレオチドなど）は、特定の修飾について均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、すなわち、全配列を通して修飾される）。例えば、ポリヌクレオチドは、１－メチルシュードウリジン（$m^1\psi$）で均一に修飾され得、これは、ｍＲＮＡ配列における全てのウリジン残基が１－メチルシュードウリジン（$m^1\psi$）で置き換えられることを意味する。同様に、ポリヌクレオチドは、上記のいずれかのもの等の修飾残基で置き換えることにより、配列中に存在する任意のタイプのヌクレオシド残基について均一に修飾され得る。あるいは、ポリヌクレオチド（例えば、ＲＮＡポリヌクレオチド、例え

ば、ｍＲＮＡポリヌクレオチドなど）は、均一に修飾されていなくともよい（例えば、部分的に修飾される、すなわち、配列の一部が修飾される）。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【０４１２】

いくつかの実施形態では、緩衝系はトリスを含有する。ＩＶＴ反応において使用されるトリスの濃度は、例えば、少なくとも１０ｍＭ、少なくとも２０ｍＭ、少なくとも３０ｍＭ、少なくとも４０ｍＭ、少なくとも５０ｍＭ、少なくとも６０ｍＭ、少なくとも７０ｍＭ、少なくとも８０ｍＭ、少なくとも９０ｍＭ、少なくとも１００ｍＭまたは少なくとも１１０ｍＭのリン酸であり得る。いくつかの実施形態では、リン酸の濃度は、２０～６０ｍＭまたは１０～１００ｍＭである。

【０４１３】

いくつかの実施形態では、緩衝系はジチオスレイトール（ＤＴＴ）を含有する。ＩＶＴ反応において使用されるＤＴＴの濃度は、例えば、少なくとも１ｍＭ、少なくとも５ｍＭ、または少なくとも５０ｍＭであり得る。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応において使用されるＤＴＴの濃度は、１～５０ｍＭまたは５～５０ｍＭである。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応において使用されるＤＴＴの濃度は、５ｍＭである。

【０４１４】

いくつかの実施形態では、緩衝系はマグネシウムを含有する。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応中に存在するＮＴＰ対マグネシウムイオン（Mg^{2+}、例えば、$MgCl_2$）のモル比は、１：１～１：５である。例えば、ＮＴＰ対マグネシウムイオンのモル比は、１：１、１：２、１：３、１：４または１：５であってよい。

【０４１５】

いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応中に存在するＮＴＰ＋キャップ類似体（例えば、ＧＡＧなどのトリヌクレオチドキャップ）対マグネシウムイオン（Mg^{2+}、例えば、$MgCl_2$）のモル比は、１：１～１：５である。例えば、ＮＴＰ＋トリヌクレオチドキャップ（例えば、ＧＡＧ）対マグネシウムイオンのモル比は、１：１、１：２、１：３、１：４または１：５であってよい。

【０４１６】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、スペルミジン（例えば、１～３０ｍＭの濃度）、ＴＲＩＴＯＮ（登録商標）Ｘ－１００（ポリエチレングリコールｐ－（１，１，３，３－テトラメチルブチル）－フェニルエーテル）及び／またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を含有する。

【０４１７】

成長するＲＮＡ鎖の３´末端に対するヌクレオシド三リン酸（ＮＴＰ）の付加は、ポリメラーゼ、例えば、Ｔ７ＲＮＡポリメラーゼ、例えば、本開示のＴ７ＲＮＡポリメラーゼバリアント（例えば、Ｇ４７Ａ）のうちいずれか１つ以上などによって触媒される。いくつかの実施形態では、ＲＮＡポリメラーゼ（例えば、Ｔ７ＲＮＡポリメラーゼバリアント）は、０．０１ｍｇ／ｍｌ～１ｍｇ／ｍｌの濃度で反応（例えば、ＩＶＴ反応）中に存在する。例えば、ＲＮＡポリメラーゼは、０．０１ｍｇ／ｍＬ、０．０５ｍｇ／ｍｌ、０．１ｍｇ／ｍｌ、０．５ｍｇ／ｍｌまたは１．０ｍｇ／ｍｌの濃度で反応中に存在してよい。

【０４１８】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、ＩＶＴポリヌクレオチドである。慣例では、ｍＲＮＡ分子の基本構成要素には、少なくともコード領域、５´ＵＴＲ、３´ＵＴＲ、５´キャップ及びポリ－Ａ尾部が含まれる。本開示のＩＶＴポリヌクレオチドは、ｍＲＮＡとして機能し得るが、例えば、核酸ベースの治療薬を使用しての効果的なポリペプチド産生の既存の問題を克服するのに役立つ、それらの機能的及び／または構造的設計の特徴において、野生型ｍＲＮＡとは区別される。

【０４１９】

ＩＶＴポリヌクレオチドの一次構築物は、第１の隣接領域及び第２の隣接領域と隣接し

ている、連結されたヌクレオチドの第１の領域を含む。この第１の領域は、コードされた治療ペイロードまたは予防ペイロードを含み得るが、これに限定されない。第１の隣接領域は、５′非翻訳領域（ＵＴＲ）、例えば、ポリペプチドの天然５′ＵＴＲ、または限定されないが、異種５′ＵＴＲもしくは合成５′ＵＴＲ等の非天然５′ＵＴＲをコードする核酸のうちのいずれかの５′ＵＴＲとして機能する、連結されたヌクレオシドの配列を含み得る。治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするＩＶＴは、その５末端に、１つ以上のシグナル配列をコードするシグナル配列領域を含み得る。隣接領域は、１つ以上の完全または不完全な５′ＵＴＲ配列を含む、連結されたヌクレオチドの領域を含み得る。隣接領域はまた、５′末端キャップも含み得る。第２の隣接領域は、治療ペイロードもしくは予防ペイロードの天然３′ＵＴＲ、または限定されないが、異種３′ＵＴＲもしくは合成３′ＵＴＲ等の非天然３′ＵＴＲをコードし得る、１つ以上の完全または不完全な３′ＵＴＲを含む、連結されたヌクレオチドの領域を含み得る。隣接領域はまた、３′尾部配列も含み得る。３′テーリング配列は、ポリＡ尾部、ポリＡ－Ｇカルテット及び／またはステムループ配列であり得るが、これらに限定されない。

【０４２０】

追加的及び例示的なＩＶＴポリヌクレオチド構造の特徴及びポリヌクレオチドの作製方法は、２０１７年５月１８日に出願された国際ＰＣＴ出願ＷＯ２０１７／２０１３２５に開示されており、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０４２１】

１２．精製

他の態様では、本明細書に開示されるポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）は、精製され得る。本明細書に記載されるポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）の精製には、ポリヌクレオチドのクリーンアップ、品質保証及び品質管理が含まれ得るが、これらに限定されない。クリーンアップは、限定されないが、ＡＧＥＮＣＯＵＲＴ（登録商標）ビーズ（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，Ｄａｎｖｅｒｓ，ＭＡ）、ポリＴビーズ、ＬＮＡ（商標）オリゴＴ捕捉プローブ（ＥＸＩＱＯＮ（登録商標）Ｉｎｃ．，Ｖｅｄｂａｅｋ，Ｄｅｎｍａｒｋ）、または限定されないが、強アニオン交換ＨＰＬＣ、弱アニオン交換ＨＰＬＣ、逆相ＨＰＬＣ（ＲＰ－ＨＰＬＣ）、及び疎水性相互作用ＨＰＬＣ（ＨＩＣ－ＨＰＬＣ）等のＨＰＬＣベースの精製方法等の当該技術分野で既知の方法によって実施され得る。「精製されたポリヌクレオチド」のように、ポリヌクレオチドに関連して使用される場合、「精製された」という用語は、少なくとも１つの夾雑物から分離されているものを指す。本明細書で使用される場合、「夾雑物」は、別の物質を不適当、不純または粗悪にする任意の物質である。したがって、精製されたポリヌクレオチド（例えば、ＤＮＡ及びＲＮＡ）は、それが天然に見出されるものとは異なる形態もしくは環境で存在するか、またはそれを処理または精製法に供する前に存在していたものとは異なる形態もしくは環境で存在する。

【０４２２】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）の精製により不純物が除去され、それによって、望ましくない免疫応答が低減または除去され得る（例えば、サイトカイン活性の低減）。

【０４２３】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）は、カラムクロマトグラフィー（例えば、強アニオン交換ＨＰＬＣ、弱アニオン交換ＨＰＬＣ、逆相ＨＰＬＣ（ＲＰ－ＨＰＬＣ）、及び疎水性相互作用ＨＰＬＣ（ＨＩＣ－ＨＰＬＣ）、または（ＬＣＭＳ））を用いて、投与前に精製される。いくつかの実施形態では、カラムクロマトグラフィー（例えば、強アニオン交換ＨＰＬＣ、弱アニオン交換ＨＰＬＣ、逆相ＨＰＬＣ（ＲＰ－ＨＰＬＣ）、及び疎水性相互作用ＨＰＬＣ（ＨＩＣ－ＨＰＬＣ）、または（ＬＣＭＳ））で精製された、本明細書で開示される治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするポリヌクレオチドでは、異なる精製法で精製された治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするポリヌクレオチドと比較して、治療ペイロードまたは予防ペイ

ロードの発現が増加する。
【０４２４】
いくつかの実施形態では、カラムクロマトグラフィー（例えば、強アニオン交換ＨＰＬＣ、弱アニオン交換ＨＰＬＣ、逆相ＨＰＬＣ（ＲＰ－ＨＰＬＣ）、及び疎水性相互作用ＨＰＬＣ（ＨＩＣ－ＨＰＬＣ）、または（ＬＣＭＳ））で精製されたポリヌクレオチドは、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードする。いくつかの実施形態では、精製されたポリヌクレオチドは、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードする。
【０４２５】
いくつかの実施形態では、精製されたポリヌクレオチドは、少なくとも約８０％純粋、少なくとも約８５％純粋、少なくとも約９０％純粋、少なくとも約９５％純粋、少なくとも約９６％純粋、少なくとも約９７％純粋、少なくとも約９８％純粋、少なくとも約９９％純粋、または約１００％純粋である。
【０４２６】
品質保証及び／または品質管理検査は、限定されないが、ゲル電気泳動、ＵＶ吸光度、または分析用ＨＰＬＣ等の方法を用いて行われ得る。
【０４２７】
別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、限定されないが、逆転写酵素ＰＣＲを含む方法によって配列決定され得る。
【０４２８】
１３．ポリヌクレオチドの化学修飾
上記のように、核酸（例えば、ｍＲＮＡ核酸等のＲＮＡ核酸）の修飾ヌクレオシド及びヌクレオチドが本発明のポリヌクレオチドに含まれ得る。「ヌクレオシド」とは、糖分子（例えば、ペントースまたはリボース）またはその誘導体と、有機塩基（例えば、プリンまたはピリミジン）またはその誘導体（本明細書では「核酸塩基」とも称される）との組み合わせを含有する化合物を指す。「ヌクレオチド」は、リン酸基を含むヌクレオシドを指す。修飾ヌクレオチドは、１つ以上の修飾または非天然ヌクレオシドを含めるため、任意の有用な方法で、例えば、化学的に、酵素的に、または組換え的に合成され得る。核酸は、連結されたヌクレオシドの領域（複数可）を含み得る。かかる領域は、可変の骨格結合を有し得る。この結合は、標準的なホスホジエステル結合であり得、その場合、核酸は、ヌクレオチドの領域を含むことになろう。
【０４２９】
修飾ヌクレオチドの塩基対合は、標準的なアデノシン－チミン、アデノシン－ウラシル、またはグアノシン－シトシン塩基対のみならず、非標準塩基または修飾塩基を含むヌクレオチド及び／または修飾ヌクレオチド間で形成される塩基対も包含し、ここで、水素結合供与体と水素結合受容体の配置により、非標準塩基と標準塩基間、または２つの相補的非標準塩基構造間の水素結合が、例えば、少なくとも１つの化学修飾を有する核酸において可能になる。かかる非標準的塩基対合の一例は、修飾ヌクレオチドイノシンとアデニン、シトシン、またはウラシルとの間の塩基対合である。塩基／糖またはリンカーの任意の組み合わせが、本開示の核酸に組み込まれ得る。
【０４３０】
いくつかの実施形態では、核酸（例えば、ｍＲＮＡ核酸等のＲＮＡ核酸）中の修飾核酸塩基は、Ｎ１－メチル－シュードウリジン（ｍ１ψ）、１－エチル－シュードウリジンン（ｅ１ψ）、５－メトキシ－ウリジン（ｍｏ５Ｕ）、５－メチル－シチジン（ｍ５Ｃ）、及び／またはシュードウリジン（ψ）を含む。いくつかの実施形態では、核酸（例えば、ｍＲＮＡ核酸等のＲＮＡ核酸）中の修飾核酸塩基は、５－メトキシメチルウリジン、５－メチルチオウリジン、１－メトキシメチルシュードウリジン、５－メチルシチジン、及び／または５－メトキシシチジンを含む。いくつかの実施形態では、ポリリボヌクレオチドは、限定されないが、化学修飾を含む前述した修飾核酸塩基のいずれかのうちの少なくとも２つ（例えば、２、３、４つ、またはそれを超える）の組み合わせを含む。
【０４３１】

いくつかの実施形態では、本開示のＲＮＡ核酸は、核酸の１つ以上または全てのウリジン位置にＮ１－メチル－シュードウリジン（ｍ１ψ）置換を含む。

【０４３２】

いくつかの実施形態では、本開示のＲＮＡ核酸は、核酸の１つ以上または全てのウリジン位置にＮ１－メチル－シュードウリジン（ｍ１ψ）置換、及び核酸の１つ以上または全てのシチジン位置に５－メチルシチジン置換を含む。

【０４３３】

いくつかの実施形態では、本開示のＲＮＡ核酸は、核酸の１つ以上または全てのウリジン位置にシュードウリジン（ψ）置換を含む。

【０４３４】

いくつかの実施形態では、本開示のＲＮＡ核酸は、核酸の１つ以上または全てのウリジン位置にシュードウリジン（ψ）置換、及び核酸の１つ以上または全てのシチジン位置に５－メチルシチジン置換を含む。

【０４３５】

いくつかの実施形態では、本開示のＲＮＡ核酸は、核酸の１つ以上または全てのウリジン位置にウリジンを含む。

【０４３６】

いくつかの実施形態では、核酸（例えば、ｍＲＮＡ核酸等のＲＮＡ核酸）は、特定の修飾について均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、全配列を通して修飾される）。例えば、核酸は、Ｎ１－メチル－シュードウリジンで一様に修飾されていることができ、これは、ｍＲＮＡ配列内の全てのウリジン残基が、Ｎ１－メチル－シュードウリジンに置き換えられていることを意味する。同様に、核酸は、上記のもの等の修飾残基で置き換えることにより、配列中に存在する任意のタイプのヌクレオシド残基について均一に修飾され得る。

【０４３７】

本開示の核酸は、分子の全長に沿って部分的または完全に修飾されてよい。例えば、本開示の核酸中、またはその所定の配列領域中（例えば、ポリＡ尾部を含むまたは除くｍＲＮＡ中）で、１つ以上もしくは全てまたは所与のタイプのヌクレオチド（例えば、プリンもしくはピリミジン、またはＡ、Ｇ、Ｕ、Ｃのいずれか１つ以上もしくは全て）が均一に修飾され得る。いくつかの実施形態では、本開示の核酸中（またはその配列領域中）の全てのヌクレオチドＸは、修飾ヌクレオチドであり、ここで、Ｘは、ヌクレオチドＡ、Ｇ、Ｕ、Ｃのいずれか１つ、または組み合わせＡ＋Ｇ、Ａ＋Ｕ、Ａ＋Ｃ、Ｇ＋Ｕ、Ｇ＋Ｃ、Ｕ＋Ｃ、Ａ＋Ｇ＋Ｕ、Ａ＋Ｇ＋Ｃ、Ｇ＋Ｕ＋ＣまたはＡ＋Ｇ＋Ｃのいずれか１つであり得る。

【０４３８】

核酸は、約１％～約１００％の修飾ヌクレオチド（全体的なヌクレオチド含有量に関して、または１つ以上の種類のヌクレオチド、すなわち、Ａ、Ｇ、ＵもしくはＣのうちいずれか１つ以上に関してのいずれか）、あるいは任意の介在するパーセンテージ（例えば、１％～２０％、１％～２５％、１％～５０％、１％～６０％、１％～７０％、１％～８０％、１％～９０％、１％～９５％、１０％～２０％、１０％～２５％、１０％～５０％、１０％～６０％、１０％～７０％、１０％～８０％、１０％～９０％、１０％～９５％、１０％～１００％、２０％～２５％、２０％～５０％、２０％～６０％、２０％～７０％、２０％～８０％、２０％～９０％、２０％～９５％、２０％～１００％、５０％～６０％、５０％～７０％、５０％～８０％、５０％～９０％、５０％～９５％、５０％～１００％、７０％～８０％、７０％～９０％、７０％～９５％、７０％～１００％、８０％～９０％、８０％～９５％、８０％～１００％、９０％～９５％、９０％～１００％、及び９５％～１００％）を含有してよい。任意の残りのパーセンテージは、非修飾Ａ、Ｇ、Ｕ、またはＣの存在によって占められることが理解されるであろう。

【０４３９】

核酸は、最低でも１％～最大１００％の修飾ヌクレオチド、または任意の介在するパー

センテージ、例えば、少なくとも５％の修飾ヌクレオチド、少なくとも１０％の修飾ヌクレオチド、少なくとも２５％の修飾ヌクレオチド、少なくとも５０％の修飾ヌクレオチド、少なくとも８０％の修飾ヌクレオチド、もしくは少なくとも９０％の修飾ヌクレオチドなどを含有してよい。例えば、核酸は、修飾ウラシルまたはシトシン等の修飾ピリミジンを含有してよい。いくつかの実施形態では、核酸におけるウラシルの少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２５％、少なくとも５０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％または１００％が、修飾ウラシル（例えば、５－置換ウラシル）で置き換えられる。修飾ウラシルは、単一の固有の構造を有する化合物で置き換えられ得るか、または異なる構造（例えば、２、３、４つ、またはそれを超える固有の構造）を有する複数の化合物で置き換えられ得る。いくつかの実施形態では、核酸におけるシトシンの少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２５％、少なくとも５０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％または１００％が、修飾シトシン（例えば、５－置換シトシン）で置き換えられる。修飾シトシンは、単一の固有の構造を有する化合物で置き換えられ得るか、または異なる構造（例えば、２、３、４つ、またはそれを超える固有の構造）を有する複数の化合物で置き換えられ得る。

【０４４０】

１４．配列最適化及びその方法

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、本明細書に開示されるポリペプチドをコードする配列最適化ヌクレオチド配列（例えば、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするポリヌクレオチド）を含む。いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含み、当該ＯＲＦは、配列最適化されている。

【０４４１】

本明細書に開示される配列最適化ヌクレオチド配列は、対応する野生型ヌクレオチド酸配列及び他の既知の配列最適化ヌクレオチド配列とは異なり、例えば、これらの配列最適化核酸は、固有の組成特性を有する。

【０４４２】

いくつかの実施形態では、参照野生型ヌクレオチド配列中のウラシルまたはチミン核酸塩基のパーセンテージに対して、配列最適化ヌクレオチド配列中のウラシルまたはチミン核酸塩基のパーセンテージは変更されている（例えば低下している）。かかる配列は、ウラシル修飾またはチミン修飾配列と称される。ヌクレオチド配列中のウラシルまたはチミン含有率は、配列中のウラシルまたはチミンの数をヌクレオチドの総数で割り、１００を掛けることによって決定され得る。いくつかの実施形態では、配列最適化ヌクレオチド配列は、参照野生型配列中のウラシルまたはチミン含有量よりも低いウラシルまたはチミン含有量を有する。いくつかの実施形態では、本開示の配列最適化ヌクレオチド配列中のウラシルまたはチミン含有量は、参照野生型配列中のウラシルまたはチミン含有量よりも多く、参照野生型配列と比較した場合、有益な効果（例えば、発現量及び／またはシグナル伝達応答の増加）が依然として維持される。

【０４４３】

いくつかの実施形態では、本開示の最適化配列は、配列においてウラシルまたはチミン（ＤＮＡの場合）を固有の範囲で含有する。最適化配列のウラシルまたはチミン含有量は、様々な方法（例えば、理論最小値に対する（％ＵＴＭまたは％ＴＴＭ）、野生型に対する（％ＵＷＴまたは％ＴＷＴ）、及び総ヌクレオチド含有量に対する（％ＵＴＬまたは％ＴＴＬ）最適化配列のウラシルまたはチミン含有量）で表され得る。ＤＮＡでは、ウラシル（Ｕ）の代わりにチミン（Ｔ）が存在することが認識されており、Ｕが現れる場合はＴで置換することになる。ＲＮＡでは、チミン（Ｔ）の代わりにウラシル（Ｕ）が存在することが認識されている。当業者であれば、ＤＮＡ配列中のチミンがウラシルに置換されることによりＤＮＡ配列が与えられると、ＲＮＡ配列を直ちに得ることができる。したがって、例えば、ＲＮＡについての％ＵＴＭ、％ＵＷＴ、または％ＵＴＬに関する全開示は、ＤＮＡについての％ＴＴＭ、％ＴＷＴ、または％ＴＴＬに等しく適用できる。

【０４４４】
ウラシルまたはチミン理論最小値に対するウラシルまたはチミン含有量とは、配列最適化ヌクレオチド配列中のウラシルまたはチミンの数を、仮想ヌクレオチド配列中のウラシルまたはチミンの総数で割り、１００を掛けることによって決定されるパラメータを指し、当該仮想ヌクレオチド配列では、仮想配列中の全コドンが、可能な限り低いウラシルまたはチミン含有量の同義コドンで置き換えられている。このパラメータを、本明細書では％ＵＴＭまたは％ＴＴＭとして略記する。
【０４４５】
いくつかの実施形態において、本開示のウラシル修飾配列では、連続したウラシルの数が、対応する野生型核酸配列に対して減少している。例えば、２つの連続したロイシンは、４ウラシルのクラスターを含む配列ＣＵＵＵＵＧによってコードされ得る。かかる部分配列は、例えば、ウラシルクラスターを除去する、ＣＵＧＣＵＣで代用され得る。フェニルアラニンは、ＵＵＣまたはＵＵＵによってコードされ得る。故に、ＵＵＵによってコードされるフェニルアラニンがＵＵＣにより置き換えられたとしても、当該同義コドンは依然としてウラシルペア（ＵＵ）を含有する。したがって、コードされたポリペプチドにおけるフェニルアラニンの数を変更することなしには排除することができないウラシルペア（ＵＵ）の最小数は、配列中のフェニルアラニンの数によって確立される。
【０４４６】
いくつかの実施形態において、本開示のウラシル修飾配列では、ウラシルトリプレット（ＵＵＵ）の数が、野生型核酸配列に対して減少している。いくつかの実施形態において、ウラシル修飾配列では、ウラシルペア（ＵＵ）の数が、野生型核酸配列中のウラシルペア（ＵＵ）の数に対して減少している。いくつかの実施形態において、本開示のウラシル修飾配列では、ウラシルペア（ＵＵ）の数が、野生型核酸配列における可能な限り最小のウラシルペア（ＵＵ）の数に対応している。
【０４４７】
「野生型核酸配列におけるウラシルペア（ＵＵ）に対するウラシルペア（ＵＵ）」という語句は、配列最適化ヌクレオチド配列におけるウラシルペア（ＵＵ）の数を、対応する野生型ヌクレオチド配列におけるウラシルペア（ＵＵ）の総数で割り、１００を掛けることによって決定されるパラメータを指す。このパラメータを、本明細書では％ＵＵｗｔとして略記する。いくつかの実施形態では、ウラシル修飾配列は、１００％未満の％ＵＵｗｔを有する。
【０４４８】
いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、ウラシル修飾配列を含む。いくつかの実施形態では、ウラシル修飾配列は、少なくとも１つの化学修飾核酸塩基（例えば、５－メトキシウラシル）を含む。いくつかの実施形態では、本開示のウラシル修飾配列における核酸塩基（例えば、ウラシル）の少なくとも９５％は、修飾核酸塩基である。いくつかの実施形態では、ウラシル修飾配列におけるウラシルの少なくとも９５％は、５－メトキシウラシルである。
【０４４９】
いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、配列最適化されている。
【０４５０】
配列最適化されたヌクレオチド配列（ヌクレオチド配列は、本明細書において「核酸」とも称される）は、参照配列（例えば、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードする野生型配列）に対して少なくとも１つのコドン修飾を含む。したがって、配列最適化された核酸において、少なくとも１つのコドンが、参照配列（例えば、野生型配列）中の対応するコドンとは異なる。
【０４５１】
一般に、配列最適化された核酸は、少なくとも参照配列中のコドンを同義コドン（すなわち、同じアミノ酸をコードするコドン）で置換することを含むステップによって生成される。かかる置換は、例えば、コドン置換マップ（すなわち、コドン最適化された配列に

おける各アミノ酸をコードするコドンを提供する表）を適用することによって、または一組の規則（例えば、グリシンが中性アミノ酸の隣にある場合、グリシンはある特定のコドンによってコードされるが、それが極性アミノ酸の隣にある場合、それは別のコドンによってコードされる）を適用することによって達成され得る。コドン置換（すなわち、「コドン最適化」）に加えて、本明細書に開示される配列最適化方法は、有害なモチーフの除去（不安定化モチーフ置換）等の、厳密にコドン最適化を目的とするものではない追加の最適化ステップを含む。こうした配列最適化核酸（例えば、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）を含む組成物及び製剤は、コードされている機能的に活性な治療ペイロードまたは予防ペイロードのインビボ発現を促進するために、それを必要とする対象に投与され得る。

【０４５２】

追加的及び例示的な配列最適化方法は、２０１７年５月１８日に出願された国際ＰＣＴ出願ＷＯ２０１７／２０１３２５に開示されており、その内容の全体が、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４５３】

１５．脂質ナノ粒子の脂質含有量

上述のように、脂質に関して、本明細書に開示される送達媒体として使用するためのＬＮＰは、（ｉ）イオン化脂質、（ｉｉ）ステロールまたは他の構造脂質、（ｉｉｉ）非カチオン性ヘルパー脂質またはリン脂質、及び、任意に（ｉｖ）ＰＥＧ脂質を含む。これらのカテゴリーの脂質は、以下でより詳細に記載される。

【０４５４】

いくつかの実施形態では、本発明の核酸は、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）組成物として製剤化される。脂質ナノ粒子は、典型的には、目的の核酸カーゴと共に、アミノ脂質、リン脂質、構造脂質及びＰＥＧ脂質成分を含む。本発明の脂質ナノ粒子は、当該技術分野で一般に知られている成分、組成物、及び方法を用いて生成され得る（例えば、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０５２３５２、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０６８３００、ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０３７５５１、ＰＣＴ／ＵＳ２０１５／０２７４００、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０４７４０６、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６０００１２９、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０１４２８０、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０１４２８０、ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０３８４２６、ＰＣＴ／ＵＳ２０１４／０２７０７７、ＰＣＴ／ＵＳ２０１４／０５５３９４、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／５２１１７、ＰＣＴ／ＵＳ２０１２／０６９６１０、ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０２７４９２、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０５９５７５、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０６９４９１、ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０６９４９３、及びＰＣＴ／ＵＳ２０１４／６６２４２を参照のこと。これらの全ては、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

【０４５５】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、他の脂質成分に対して、モル比２０～６０％のアミノ脂質を含む。例えば、脂質ナノ粒子は、モル比２０～５０％、２０～４０％、２０～３０％、３０～６０％、３０～５０％、３０～４０％、４０～６０％、４０～５０％、または５０～６０％のアミノ脂質を含み得る。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、モル比２０％、３０％、４０％、５０、または６０％のアミノ脂質を含む。

【０４５６】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、他の脂質成分に対して、モル比５～２５％のリン脂質を含む。例えば、脂質ナノ粒子は、モル比５～３０％、５～１５％、５～１０％、１０～２５％、１０～２０％、１０～２５％、１５～２５％、１５～２０％、２０～２５％、または２５～３０％のリン脂質を含み得る。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、モル比５％、１０％、１５％、２０％、２５％、または３０％の非カチオン性脂質を含む。

【０４５７】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、他の脂質成分に対して、モル比２５～５５％の構造脂質を含む。例えば、脂質ナノ粒子は、モル比１０～５５％、２５～５０％、２５～４５％、２５～４０％、２５～３５％、２５～３０％、３０～５５％、３０～５０％

、３０～４５％、３０～４０％、３０～３５％、３５～５５％、３５～５０％、３５～４５％、３５～４０％、４０～５５％、４０～５０％、４０～４５％、４５～５５％、４５～５０％、または５０～５５％の構造脂質を含み得る。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、モル比１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、または５５％の構造脂質を含む。

【０４５８】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、他の脂質成分に対して、モル比０．５～１５％のＰＥＧ脂質を含む。例えば、脂質ナノ粒子は、モル比０．５～１０％、０．５～５％、１～１５％、１～１０％、１～５％、２～１５％、２～１０％、２～５％、５～１５％、５～１０％、または１０～１５％のＰＥＧ脂質を含み得る。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、モル比０．５％、１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、または１５％のＰＥＧ－脂質を含む。

【０４５９】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、モル比２０～６０％のアミノ脂質、５～２５％のリン脂質、２５～５５％の構造脂質、及び０．５～１５％のＰＥＧ脂質で構成される。

【０４６０】

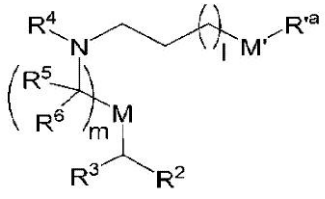
いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、モル比２０～６０％のアミノ脂質、５～３０％のリン脂質、１０～５５％の構造脂質、及び０．５～１５％のＰＥＧ脂質で構成される。

【０４６１】

イオン化アミノ脂質

いくつかの態様では、本開示は、式（Ｉ）：

【化１７】



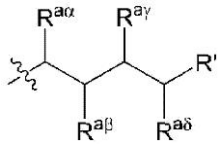
（Ｉ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、

式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、ここで、

Ｒ´分枝は、

【化１８】



であり（ここで、

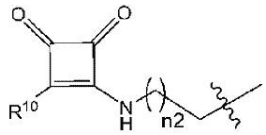
【化１９】



は、結合点を示し、

Ｒａα、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ２～１２アルキル、及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択される）、

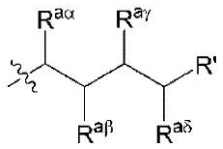
Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び
【化２０】



（ここで、
【化２１】



は、結合点を示し、
Ｒ１０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各Ｒ５は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、
各Ｒ６は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、
Ｍ及びＭ´は、それぞれ独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－及び－ＯＣ（Ｏ）－からなる群から選択され、
Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｌは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択され、
ｍは、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３からなる群から選択される。
【０４６２】
式（Ｉ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、
Ｒ´分岐は、
【化２２】

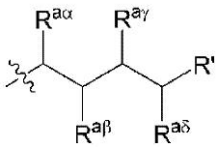


であり、
【化２３】



は、結合点を示し、Ｒａα、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２であり、各Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、５であり、ｍは、７である。
【０４６３】
式（Ｉ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、

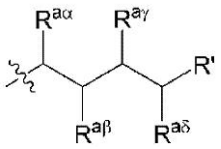
Ｒ´分岐は、
【化２４】



であり、
【化２５】



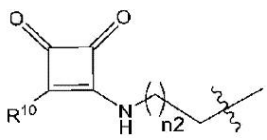
は、結合点を示し、Ｒａα、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２であり、各Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、３であり、ｍは、７である。
【０４６４】
式（Ｉ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、
Ｒ´分岐は、
【化２６】



であり、
【化２７】

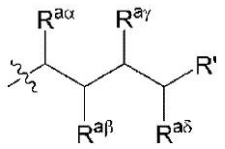


は、結合点を示し、Ｒａαは、Ｃ２～１２アルキルであり、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、
【化２８】



であり、Ｒ１０は、ＮＨ（Ｃ１～６アルキル）であり、ｎ２は、２であり、Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、５であり、ｍは、７である。
【０４６５】
式（Ｉ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、
Ｒ´分岐は、

【化２９】



であり、

【化３０】

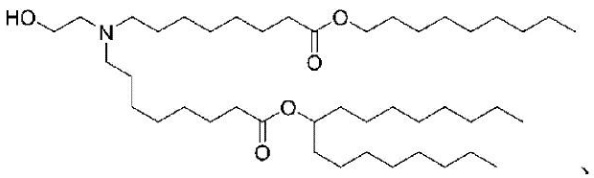
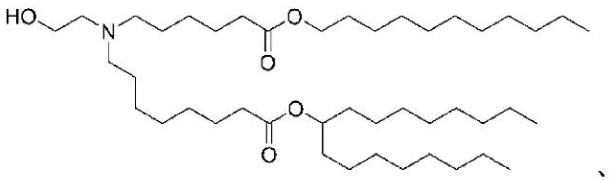
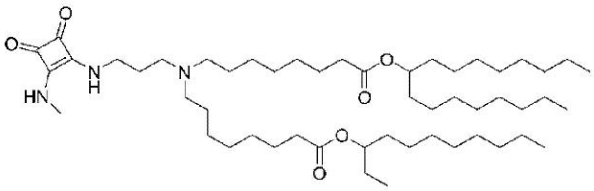
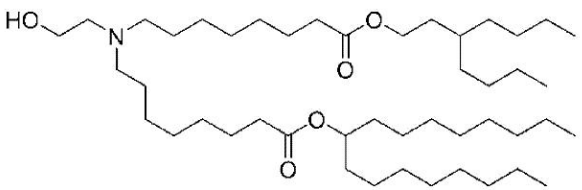


は、結合点を示し、Ｒａα、Ｒａβ、及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒａγは、Ｃ２～１２アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２であり、各Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、５であり、ｍは、７である。

【０４６６】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、

【化３１】

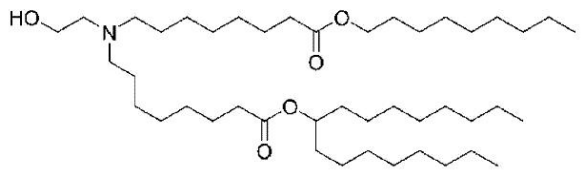

、

、

、及び


から選択される。

【０４６７】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、

【化３２】



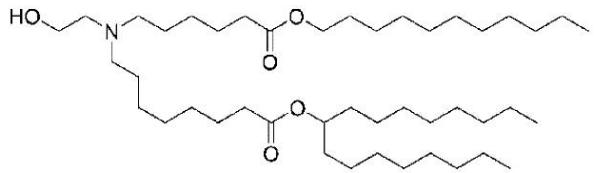
（化合物ＩＩ）

である。

【０４６８】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、

【化３３】

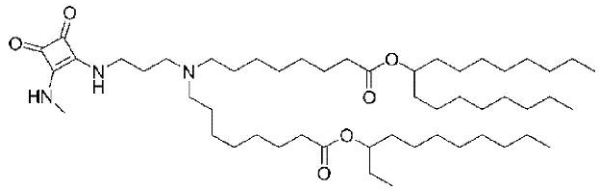


である。

【０４６９】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、

【化３４】

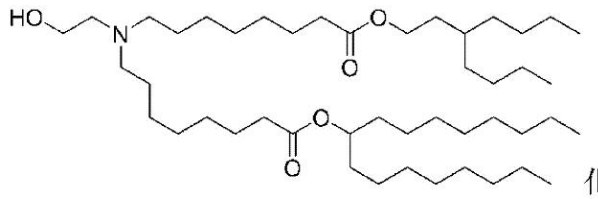


である。

【０４７０】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、

【化３５】



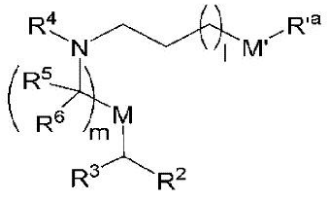
化合物（Ｂ）

である。

【０４７１】

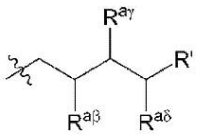
いくつかの態様では、本開示は、式（Ｉａ）：

【化３６】



（Ｉａ）

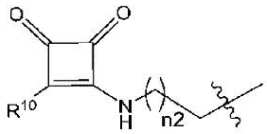
の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、
式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、ここで、
Ｒ´分枝は、
【化３７】



であり（ここで、
【化３８】



は、結合点を示し、
Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ２～１２アルキル、及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び
【化３９】

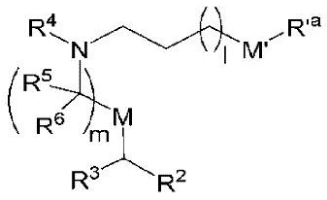


（ここで、
【化４０】



は、結合点を示し、
Ｒ１０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各Ｒ５は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、
各Ｒ６は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、
Ｍ及びＭ´は、それぞれ独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－及び－ＯＣ（Ｏ）－からなる群から選択され、
Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｌは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択され、
ｍは、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３からなる群から選択される。
【０４７２】
いくつかの態様では、本開示は、式（Ｉｂ）：

【化４１】



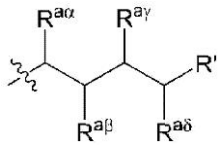
（Ｉｂ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、

式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、ここで、

Ｒ´分枝は、

【化４２】



であり（ここで、

【化４３】



は、結合点を示し、

Ｒａα、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ２～１２アルキル、及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択される）、

Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択され、

Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）であり、

各Ｒ５は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、

各Ｒ６は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、

Ｍ及びＭ´は、それぞれ独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－及び－ＯＣ（Ｏ）－からなる群から選択され、

Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、

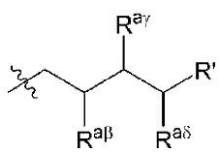
ｌは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択され、

ｍは、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３からなる群から選択される。

【０４７３】

式（Ｉ）または（Ｉｂ）のいくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、Ｒ´分岐は、

【化４４】



であり、

【化４５】

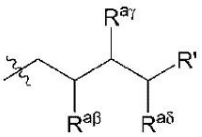


は、結合点を示し、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２であり、各Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、５であり、ｍは、７である。

【０４７４】

式（Ｉ）または（Ｉｂ）のいくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、Ｒ´分岐は、

【化４６】



であり、

【化４７】

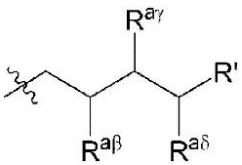


は、結合点を示し、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２であり、各Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、３であり、ｍは、７である。

【０４７５】

式（Ｉ）または（Ｉｂ）のいくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、Ｒ´分岐は、

【化４８】



であり、

【化４９】

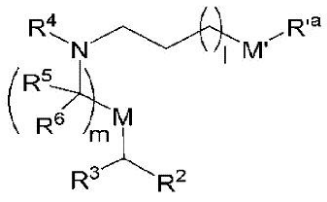


は、結合点を示し、Ｒａβ及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒａγは、Ｃ２～１２アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２であり、各Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、５であり、ｍは、７である。

【０４７６】

いくつかの態様では、本開示は、式（Ｉｃ）：

【化５０】



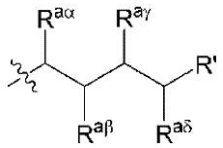
（Ｉｃ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、

式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、ここで、

Ｒ´分枝は、

【化５１】



であり（ここで、

【化５２】



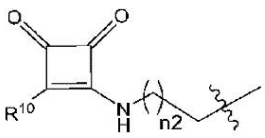
は、結合点を示し、

Ｒａα、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ２～１２アルキル、及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択される）、

Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択され、

Ｒ４は、

【化５３】



（ここで、

【化５４】



は、結合点を示し、

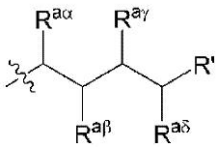
Ｒ１０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）であり、

各Ｒ５は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、

各Ｒ６は、独立して、Ｃ１～３アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、

Ｍ及びＭ´は、それぞれ独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－及び－ＯＣ（Ｏ）－からなる群から選択され、

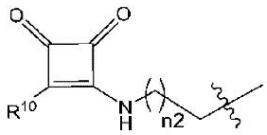
Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｌは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択され、
ｍは、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３からなる群から選択される。
【０４７７】
いくつかの実施形態では、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐であり、Ｒ´分岐は、
【化５５】



であり、
【化５６】



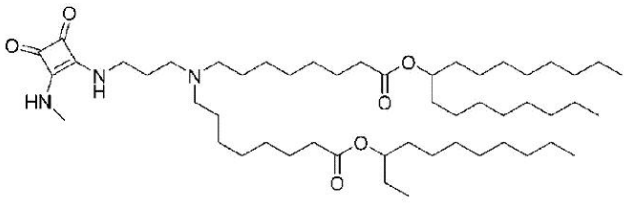
は、結合点を示し、Ｒａβ、Ｒａγ、及びＲａδは、それぞれＨであり、Ｒａαは、Ｃ２～１２アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ１～１４アルキルであり、Ｒ４は、
【化５７】



であり、
【化５８】



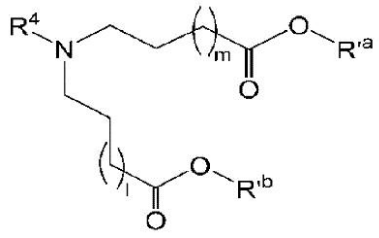
は、結合点を示し、Ｒ１０は、ＮＨ（Ｃ１～６アルキル）であり、ｎ２は、２であり、各Ｒ５は、Ｈであり、各Ｒ６は、Ｈであり、Ｍ及びＭ´は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）Ｏ－であり、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、ｌは、５であり、ｍは、７である。
【０４７８】
いくつかの実施形態では、式（Ｉｃ）の化合物は、
【化５９】



（化合物Ａ）

である。
【０４７９】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ）：

【化６０】



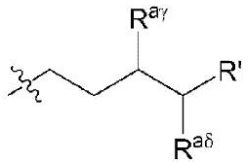
（ＩＩ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、

式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐またはＲ´環式であり（ここで、

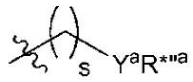
Ｒ´分岐は

【化６１】



であり、Ｒ´環式は

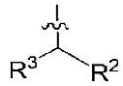
【化６２】



である）、

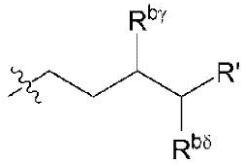
Ｒ´ｂは、

【化６３】



または

【化６４】



であり

（ここで、

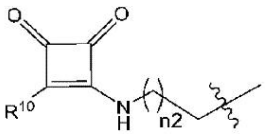
【化６５】



は、結合点を示し、

Ｒａγ及びＲａδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ１～１２アルキル、及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、Ｒａγ及びＲａδのうちの少なくとも１つは、Ｃ１～１２アルキル及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、

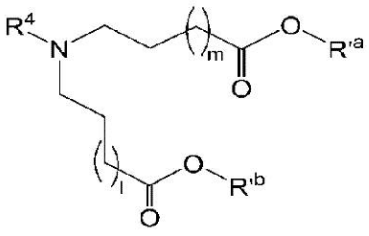
Ｒｂγ及びＲｂδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ１～１２アルキル、及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、Ｒｂγ及びＲｂδのうちの少なくとも１つは、Ｃ１～１２アルキル及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び
【化６６】



（ここで、
【化６７】

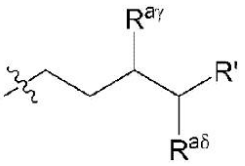


は、結合点を示し、
Ｒ１０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
Ｙａは、Ｃ３～６炭素環であり、
Ｒ＊”ａは、Ｃ１～１５アルキル及びＣ２～１５アルケニルからなる群から選択され、
ｓは、２または３であり、
ｍは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択され、
ｌは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択される。
【０４８０】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ａ）：
【化６８】



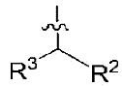
（ＩＩ－ａ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、
式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐またはＲ´環式であり（ここで、
Ｒ´分岐は、
【化６９】

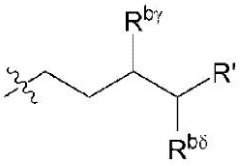


であり、Ｒ´ｂは、

【化７０】



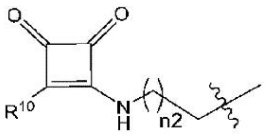
または
【化７１】



であり
ここで、
【化７２】



は、結合点を示し、
ＲａγおよびＲａδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ１～１２アルキル、およびＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、ＲａγおよびＲａδのうちの少なくとも１つは、Ｃ１～１２アルキルおよびＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、
ＲｂγおよびＲｂδは、それぞれ独立して、Ｈ、Ｃ１～１２アルキル、およびＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、ＲｂγおよびＲｂδのうちの少なくとも１つは、Ｃ１～１２アルキルおよびＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ２およびＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキルおよびＣ２～１４アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、および５からなる群から選択される）、および
【化７３】

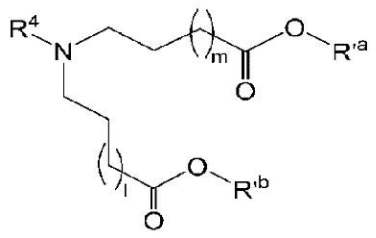


（ここで、
【化７４】



は、結合点を示し、
Ｒ１０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、およびＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、および１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｍは、１、２、３、４、５、６、７、８、および９から選択され、
ｌは、１、２、３、４、５、６、７、８、および９から選択される。
【０４８１】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ｂ）：

【化７５】



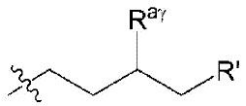
（ＩＩ－ｂ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、

式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐またはＲ´環式であり（ここで、

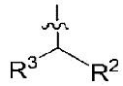
Ｒ´分岐は、

【化７６】



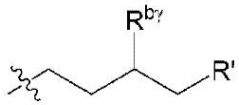
であり、Ｒ´ｂは、

【化７７】



または

【化７８】



であり、

ここで、

【化７９】



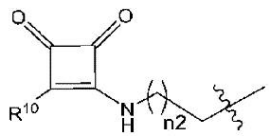
は、結合点を示し、

Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれ独立して、Ｃ１～１２アルキル及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、

Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択される）、

Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び

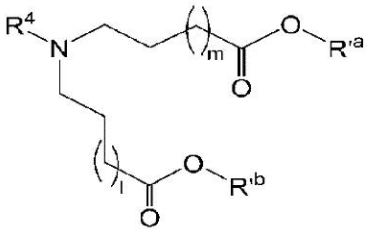
【化８０】



（ここで、
【化８１】

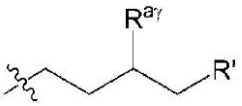


は、結合点を示し、
ＲＡ１０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｍは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択され、
ｌは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択される。
【０４８２】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ｃ）：
【化８２】

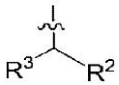


（ＩＩ－ｃ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、
式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐またはＲ´環式であり（ここで、
Ｒ´分岐は、
【化８３】



であり、Ｒ´ｂは、
【化８４】

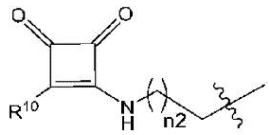


であり、
ここで、
【化８５】



は、結合点を示し、
ＲａＡγは、Ｃ１～１２アルキル及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び

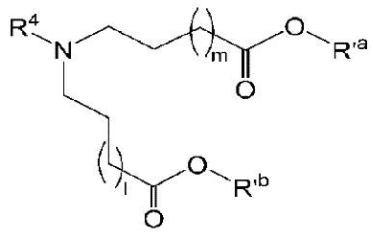
【化８６】



（ここで、
【化８７】

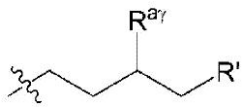


は、結合点を示し、
ＲⅠ０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｍは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択され、
ｌは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択される。
【０４８３】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ｄ）：
【化８８】

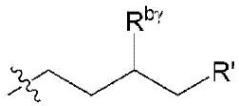


（ＩＩ－ｄ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、
式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐またはＲ´環式であり（ここで、
Ｒ´分岐は、
【化８９】



であり、Ｒ´ｂは、
【化９０】

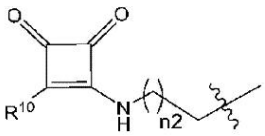


であり、
ここで、

【化９１】



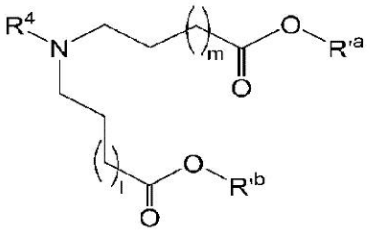
は、結合点を示し、
Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれ独立して、Ｃ１～１２アルキル及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び
【化９２】



（ここで、
【化９３】

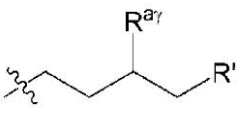


は、結合点を示し、
Ｒ１０は、Ｎ（Ｒ）２であり、各Ｒは、独立して、Ｃ１～６アルキル、Ｃ２～３アルケニル、及びＨからなる群から選択され、ｎ２は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０からなる群から選択される）からなる群から選択され、
各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｍは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択され、
ｌは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択される。
【０４８４】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ｅ）：
【化９４】



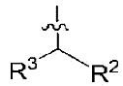
（ＩＩ－ｅ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、
式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐またはＲ´環式であり（ここで、
Ｒ´分岐は、
【化９５】



であり、Ｒ´ｂは、

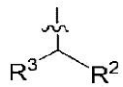
【化９６】



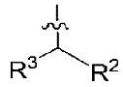
であり、
ここで、
【化９７】



は、結合点を示し、
Ｒａγは、Ｃ１～１２アルキル及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、
Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキル及びＣ２～１４アルケニルからなる群から選択される）、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）であり、
Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルまたはＣ２～１２アルケニルであり、
ｍは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択され、
ｌは、１、２、３、４、５、６、７、８、及び９から選択される。
【０４８５】
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、ｍ及びｌは、それぞれ独立して、４、５、及び６から選択される。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、ｍ及びｌは、それぞれ５である。
【０４８６】
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、各Ｒ´は、独立して、Ｃ２～５アルキルである。
【０４８７】
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´ｂは、
【化９８】

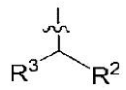


であり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´ｂは、
【化９９】

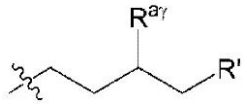


であり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ６～１０アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合

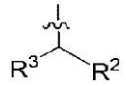
物のいくつかの実施形態では、Ｒ´ｂは、
【化１００】



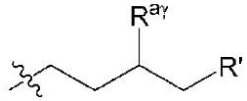
であり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ８アルキルである。
【０４８８】
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、
【化１０１】



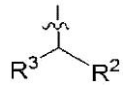
であり、Ｒ´ｂは、
【化１０２】



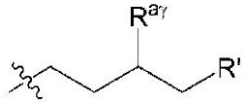
であり、Ｒａγは、Ｃ１～１２アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ６～１０アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、
【化１０３】



であり、Ｒ´ｂは、
【化１０４】

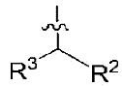


であり、Ｒａγは、Ｃ２～６アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ６～１０アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、
【化１０５】



であり、Ｒ´ｂは、

【化１０６】

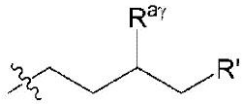


であり、Ｒａγは、Ｃ２～６アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ８アルキルである。

【０４８９】

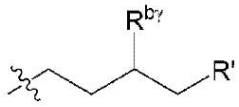
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１０７】



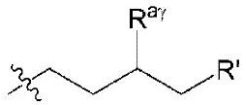
であり、Ｒ´ｂは、

【化１０８】



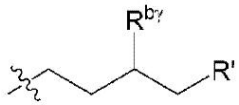
であり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ１～１２アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１０９】



であり、Ｒ´ｂは、

【化１１０】



であり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ２～６アルキルである。

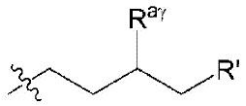
【０４９０】

式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、ｍ及びｌは、それぞれ独立して、４、５、及び６から選択され、各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、各Ｒ´は、独立して、Ｃ２～５アルキルである。

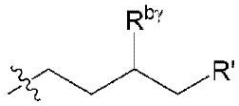
【０４９１】

式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

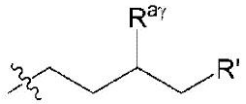
【化１１１】



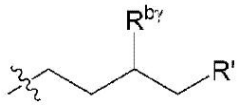
であり、Ｒ´ｂは、
【化１１２】



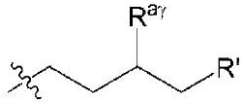
であり、ｍ及びｌは、それぞれ独立して、４、５、及び６から選択され、各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルであり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ１～１２アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、
【化１１３】



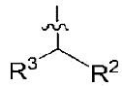
であり、Ｒ´ｂは、
【化１１４】



であり、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、各Ｒ´は、独立して、Ｃ２～５アルキルであり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ２～６アルキルである。
【０４９２】
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、
【化１１５】



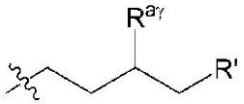
であり、Ｒ´ｂは、
【化１１６】



であり、ｍ及びｌは、それぞれ独立して、４、５、及び６から選択され、Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、Ｒａγは、Ｃ１～１２アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ６～１０アルキルである。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（Ｉ

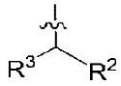
Ｉ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１１７】



であり、Ｒ´ｂは、

【化１１８】

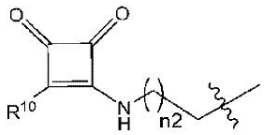


であり、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、Ｒ´は、Ｃ２～５アルキルであり、Ｒａγは、Ｃ２～６アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ８アルキルである。

【０４９３】

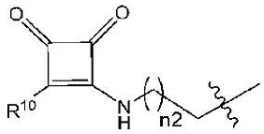
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ４は、

【化１１９】



であり、ここで、Ｒ１０は、ＮＨ（Ｃ１～６アルキル）であり、ｎ２は、２である。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ４は、

【化１２０】

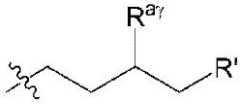


であり、ここで、Ｒ１０は、ＮＨ（ＣＨ３）であり、ｎ２は、２である。

【０４９４】

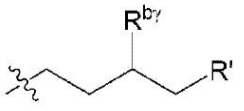
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１２１】



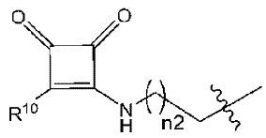
であり、Ｒ´ｂは、

【化１２２】



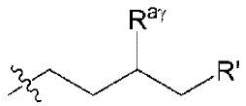
であり、ｍ及びｌは、それぞれ独立して、４、５、及び６から選択され、各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルであり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ１～１２アルキルであり、Ｒ４は、

【化１２３】



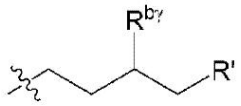
であり、ここで、Ｒ１０は、ＮＨ（Ｃ１～６アルキル）であり、ｎ２は、２である。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１２４】



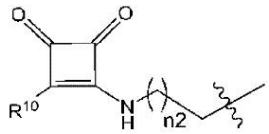
であり、Ｒ´ｂは、

【化１２５】



であり、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、各Ｒ´は、独立して、Ｃ２～５アルキルであり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ２～６アルキルであり、Ｒ４は、

【化１２６】

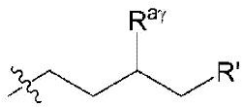


であり、ここで、Ｒ１０は、ＮＨ（ＣＨ３）であり、ｎ２は、２である。

【０４９５】

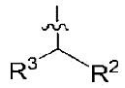
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１２７】



であり、Ｒ´ｂは、

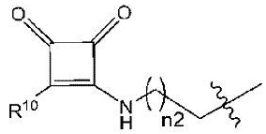
【化１２８】



であり、ｍ及びｌは、それぞれ独立して、４、５、及び６から選択され、Ｒ´は、Ｃ１～

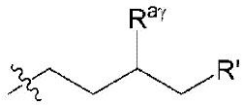
１２アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ６～１０アルキルであり、Ｒａγは、Ｃ１～１２アルキルであり、Ｒ４は、

【化１２９】



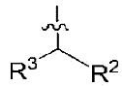
であり、ここで、Ｒ１０は、ＮＨ（Ｃ１～６アルキル）であり、ｎ２は、２である。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１３０】



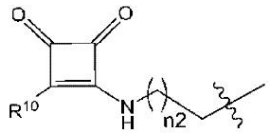
であり、Ｒ´ｂは、

【化１３１】



であり、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、Ｒ´は、Ｃ２～５アルキルであり、Ｒａγは、Ｃ２～６アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ８アルキルであり、Ｒ４は、

【化１３２】



であり、ここで、Ｒ１０は、ＮＨ（ＣＨ３）であり、ｎ２は、２である。

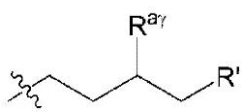
【０４９６】

式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２、３、または４である。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２である。

【０４９７】

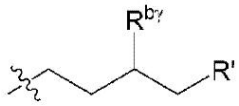
式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１３３】



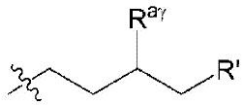
であり、Ｒ´ｂは、

【化１３４】



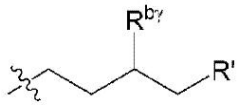
であり、ｍ及びｌは、それぞれ独立して、４、５、及び６から選択され、各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキルであり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ１～１２アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２、３、または４である。式（ＩＩ）、（ＩＩ－ａ）、（ＩＩ－ｂ）、（ＩＩ－ｃ）、（ＩＩ－ｄ）、または（ＩＩ－ｅ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´分岐は、

【化１３５】



であり、Ｒ´ｂは、

【化１３６】

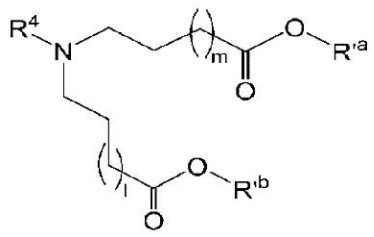


であり、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、各Ｒ´は、独立して、Ｃ２～５アルキルであり、Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれＣ２～６アルキルであり、Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２である。

【０４９８】

いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ｆ）：

【化１３７】



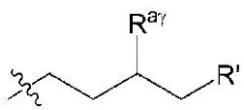
（ＩＩ－ｆ）

の化合物もしくはそのＮ－オキシド、またはその塩もしくは異性体に関し、

式中、Ｒ´ａは、Ｒ´分岐またはＲ´環式であり（ここで、

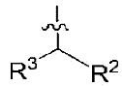
Ｒ´分岐は、

【化１３８】



であり、Ｒ´ｂは、

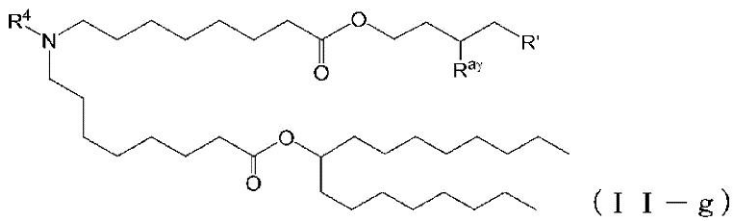
【化１３９】



であり、
ここで、
【化１４０】



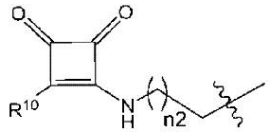
は、結合点を示し、
Ｒａγは、Ｃ１～１２アルキルであり、
Ｒ２及びＲ３は、それぞれ独立して、Ｃ１～１４アルキルである）、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、１、２、３、４、及び５からなる群から選択される）であり、
Ｒ´は、Ｃ１～１２アルキルであり、
ｍは、４、５、及び６から選択され、
ｌは、４、５、及び６から選択される。
【０４９９】
式（ＩＩ－ｆ）の化合物のいくつかの実施形態では、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、ｎは、２、３、または４である。
【０５００】
式（ＩＩ－ｆ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ´は、Ｃ２～５アルキルであり、Ｒａγは、Ｃ２～６アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ６～１０アルキルである。
【０５０１】
式（ＩＩ－ｆ）の化合物のいくつかの実施形態では、ｍ及びｌは、それぞれ５であり、ｎは、２、３、または４であり、Ｒ´は、Ｃ２～５アルキルであり、Ｒａγは、Ｃ２～６アルキルであり、Ｒ２及びＲ３は、それぞれＣ６～１０アルキルである。
【０５０２】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ｇ）：
【化１４１】



（ＩＩ－ｇ）

の化合物に関し、式中、
Ｒａγは、Ｃ２～６アルキルであり、
Ｒ´は、Ｃ２～５アルキルであり、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び

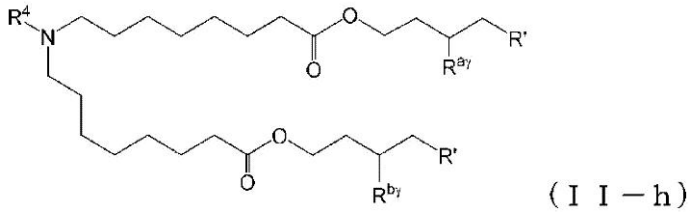
【化１４２】



（ここで、
【化１４３】

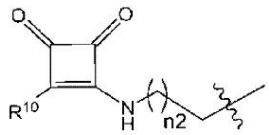


は、結合点を示し、Ｒ１０は、ＮＨ（Ｃ１～６アルキル）であり、ｎ２は、１、２、及び３からなる群から選択される）からなる群から選択される。
【０５０３】
いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩ－ｈ）：
【化１４４】



（ＩＩ－ｈ）

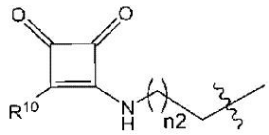
の化合物に関し、式中、
Ｒａγ及びＲｂγは、それぞれ独立して、Ｃ２～６アルキルであり、
各Ｒ´は、独立して、Ｃ２～５アルキルであり、
Ｒ４は、－（ＣＨ２）ｎＯＨ（ここで、ｎは、３、４、及び５からなる群から選択される）、及び
【化１４５】



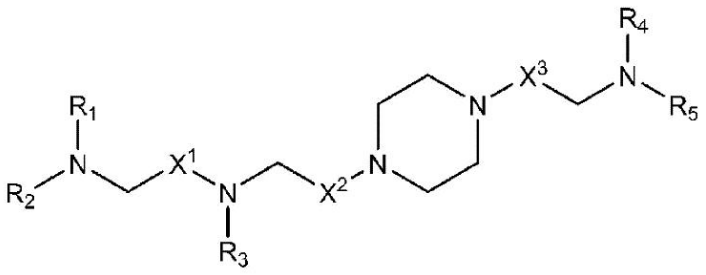
（ここで、
【化１４６】



は、結合点を示し、Ｒ１０は、ＮＨ（Ｃ１～６アルキル）であり、ｎ２は、１、２、及び３からなる群から選択される）からなる群から選択される。
【０５０４】
式（ＩＩ－ｇ）または（ＩＩ－ｈ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ４は、
【化１４７】



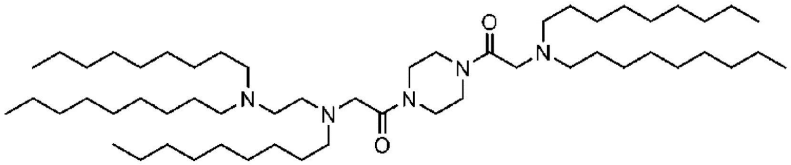
であり、ここで、
　Ｒ１０は、ＮＨ（ＣＨ３）であり、ｎ２は、２である。
【０５０５】
　式（ＩＩ－ｇ）または（ＩＩ－ｈ）の化合物のいくつかの実施形態では、Ｒ４は、－（ＣＨ２）２ＯＨである。
【０５０６】
　いくつかの態様では、本開示は、式（ＩＩＩ）：
【化１４８】



（ＩＩＩ）

を有する化合物、またはその塩もしくは異性体に関し、式中、
　Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４、及びＲ５は、独立して、Ｃ５～２０アルキル、Ｃ５～２０アルケニル、－Ｒ”ＭＲ´、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群から選択され、
　各Ｍは、独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－ＯＣ（Ｏ）Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（Ｓ）Ｓ－、－ＳＣ（Ｓ）－、－ＣＨ（ＯＨ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ´）Ｏ－、－Ｓ（Ｏ）２－、アリール基、及びヘテロアリール基からなる群から選択され、
　Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３は、独立して、結合、－ＣＨ２－、－（ＣＨ２）２－、－ＣＨＲ－、－ＣＨＹ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－ＣＨ２－、－ＣＨ２－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ＣＨ２－、－ＯＣ（Ｏ）－ＣＨ２－、－ＣＨ２－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＣＨ２－ＯＣ（Ｏ）－、－ＣＨ（ＯＨ）－、－Ｃ（Ｓ）－、及び－ＣＨ（ＳＨ）－からなる群から選択され、
　各Ｙは、独立して、Ｃ３～６炭素環であり、
　各Ｒ＊は、独立して、Ｃ１～１２アルキル及びＣ２～１２アルケニルからなる群から選択され、
　各Ｒは、独立して、Ｃ１～３アルキル及びＣ３～６炭素環からなる群から選択され、
　各Ｒ´は、独立して、Ｃ１～１２アルキル、Ｃ２～１２アルケニル、及びＨからなる群から選択され、
　各Ｒ”は、独立して、Ｃ３～１２アルキル及びＣ３～１２アルケニルからなる群から選択され、ここで、
　ｉ）Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３のうちの少なくとも１つは、－ＣＨ２－ではない、及び／または
　ｉｉ）Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４、及びＲ５のうち少なくとも１つは、－Ｒ”ＭＲ´である。
【０５０７】
　いくつかの実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４、及びＲ５は、それぞれＣ５～２０アルキルであり、Ｘ１は、－ＣＨ２－であり、Ｘ２及びＸ３は、それぞれ－Ｃ（Ｏ）－である。
【０５０８】
　いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩ）の化合物は、

【化１４９】



（化合物ＶＩ）

またはその塩もしくは異性体である。

【０５０９】

リン脂質

本明細書に開示される脂質ナノ粒子組成物の脂質組成物は、１つ以上のリン脂質、例えば、１つ以上の飽和もしくは（ポリ）不飽和リン脂質またはこれらの組み合わせを含み得る。一般に、リン脂質は、リン脂質部分及び１つ以上の脂肪酸部分を含む。

【０５１０】

リン脂質部分は、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、２－リゾホスファチジルコリン、及びスフィンゴミエリンからなる非限定的な群から選択され得る。

【０５１１】

脂肪酸部分は、例えば、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、アルファ－リノレン酸、エルカ酸、フィタン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサペンタエン酸、及びドコサヘキサエン酸からなる非限定的な群から選択され得る。

【０５１２】

特定のリン脂質は、膜への融合を促進し得る。例えば、カチオン性リン脂質は、膜（例えば、細胞膜または細胞内膜）の１つ以上の負に帯電したリン脂質と相互作用し得る。膜へのリン脂質の融合により、脂質含有組成物（例えば、ＬＮＰ）の１つ以上の要素（例えば、治療薬）が膜を通過することが可能になり得、例えば、１つ以上の要素の標的組織への送達ができるようになる。

【０５１３】

分岐、酸化、環化、及びアルキンを含む修飾及び置換を有する天然種を含めた、非天然リン脂質種もまた企図される。例えば、リン脂質は、１つ以上のアルキン（例えば、１つ以上の二重結合が三重結合で置き換えられているアルケニル基）で官能化または架橋され得る。適切な反応条件下で、アルキン基は、アジドへの曝露時に銅触媒による環化付加を受ける可能性がある。かかる反応は、膜浸透もしくは細胞認識を促進するためにナノ粒子組成物の脂質二重層を官能化するのに、またはナノ粒子組成物を標的化部分もしくはイメージング部分（例えば、色素）などの有用な構成成分にコンジュゲートするのに有用であり得る。

【０５１４】

リン脂質としては、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、及びホスファチジン酸等のグリセロリン脂質が挙げられるが、これらに限定されない。リン脂質としてはまた、スフィンゴミエリン等のリンスフィンゴ脂質も挙げられる。

【０５１５】

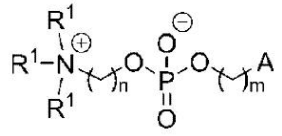
いくつかの実施形態では、本発明のリン脂質は、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＳＰＣ）、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＬＰＣ）、１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＭＰＣ）、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＯＰＣ）、１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＰＰＣ）、１，２－ジウ

ンデカノイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＵＰＣ）、１－パルミトイル－２－オレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＰＯＰＣ）、１，２－ジ－Ｏ－オクタデセニル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（１８：０　Ｄｉｅｔｈｅｒ　ＰＣ）、１－オレオイル－２コレステリルヘミスクシノイル（ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｙｌｈｅｍｉｓｕｃｃｉｎｏｙｌ）－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＯＣｈｅｍｓＰＣ）、１－ヘキサデシル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（Ｃ１６　Ｌｙｓｏ　ＰＣ）、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジフィタノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＭＥ　１６．０　ＰＥ）、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、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－ｒａｃ－（１－グリセロール）ナトリウム塩（ＤＯＰＧ）、スフィンゴミエリン、及びこれらの混合物を含む。

【０５１６】

ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、ＤＳＰＣの類似体またはバリアントである。ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、式（ＩＶ）：

【化１５０】



（ＩＶ）

の化合物またはその塩であり、式中、

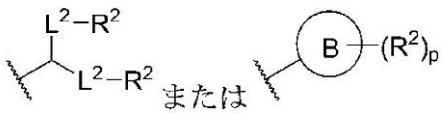
各Ｒ１は、独立して、任意に置換されるアルキルであるか、または任意に、２つのＲ１が、介在原子と一緒に接続されて、任意に置換される単環式カルボシクリルもしくは任意に置換される単環式ヘテロシクリルを形成するか、または任意に、３つのＲ１が、介在原子と一緒に接続されて、任意に置換される二環式カルボシクリルもしくは任意に置換される二環式ヘテロシクリルを形成し、

ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり、

ｍは、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり、

Ａは、式：

【化１５１】



のものであり、

Ｌ２の各例は、独立して、結合または任意に置換されるＣ１～６アルキレンであり、ここで、任意に置換されるＣ１～６アルキレンの１つのメチレン単位は、任意に、Ｏ、Ｎ（ＲＮ）、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、またはＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）で置き換えられ、

Ｒ２の各例は、独立して、任意に置換されるＣ１～３０アルキル、任意に置換されるＣ１～３０アルケニル、または任意に置換されるＣ１～３０アルキニルであり、任意に、Ｒ

２の１つ以上のメチレン単位は、独立して、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、Ｎ（ＲＮ）、Ｏ、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）Ｓ、ＳＣ（Ｏ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｓ）、Ｃ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、Ｓ（Ｏ）、ＯＳ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２Ｏ、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｏ、Ｓ（Ｏ）２、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、またはＮ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｏで置き換えられ、

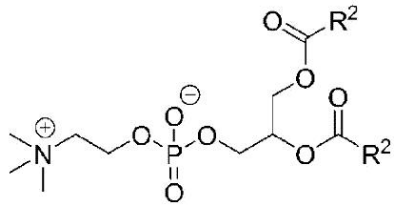
ＲＮの各例は、独立して、水素、任意に置換されるアルキル、または窒素保護基であり、

環Ｂは、任意に置換されるカルボシクリル、任意に置換されるヘテロシクリル、任意に置換されるアリール、または任意に置換されるヘテロアリールであり、

ｐは、１または２であり、

ただし、当該化合物は、式：

【化１５２】



（式中、Ｒ２の各例は、独立して、非置換アルキル、非置換アルケニル、または非置換アルキニルである）のものではない。

【０５１７】

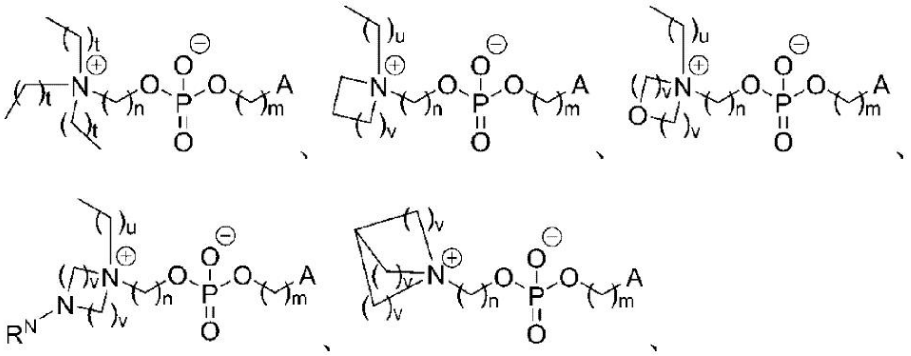
いくつかの実施形態では、リン脂質は、米国出願第６２／５２０，５３０号に記載されているリン脂質のうち１つ以上であってよい。

【０５１８】

ｉ）リン脂質頭部の修飾

ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、修飾リン脂質頭部（例えば、修飾コリン基）を含む。ある特定の実施形態では、修飾された頭部を有するリン脂質は、修飾四級アミンを有するＤＳＰＣ、またはその類似体である。例えば、式（ＩＶ）の実施形態では、Ｒ１のうちの少なくとも１つは、メチルではない。ある特定の実施形態では、Ｒ１のうちの少なくとも１つは、水素またはメチルではない。ある特定の実施形態では、式（ＩＶ）の化合物は、下記式：

【化１５３】

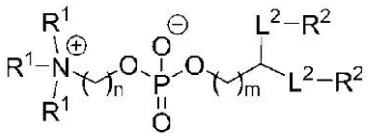


のうちの１つの化合物またはその塩であり、式中、
各ｔは、独立して、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり、
各ｕは、独立して、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり、
各ｖは、独立して、１、２、または３である。

【０５１９】

ある特定の実施形態では、式（ＩＶ）の化合物は、式（ＩＶ－ａ）：

【化１５４】



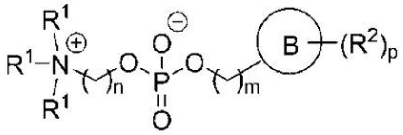
（ＩＶ－ａ）

の化合物またはその塩である。

【０５２０】

ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、グリセリド部分の代わりに環式部分を含む。ある特定の実施形態では、本発明において有用であるリン脂質は、グリセリド部分の代わりに環式部分を有するＤＳＰＣ、またはその類似体である。ある特定の実施形態では、式（ＩＶ）の化合物は、式（ＩＶ－ｂ）：

【化１５５】



（ＩＶ－ｂ）

の化合物またはその塩である。

【０５２１】

（ｉｉ）リン脂質尾部の修飾

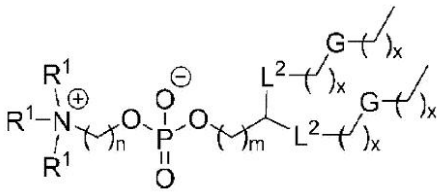
ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、修飾尾部を含む。ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、修飾尾部を有するＤＳＰＣ、またはその類似体である。本明細書に記載される場合、「修飾尾部」は、より短いもしくはより長い脂肪族鎖、分岐が導入されている脂肪族鎖、置換基が導入されている脂肪族鎖、１つ以上のメチレンが環状もしくはヘテロ原子基によって置き換えられている脂肪族鎖、またはこれらの任意

の組み合わせ、を有する尾部であり得る。例えば、ある特定の実施形態では、（ＩＶ）の化合物は、式（ＩＶ－ａ）の化合物、またはその塩であり、式中、Ｒ２の少なくとも１つの例では、Ｒ２の各例は、任意に置換されるＣ１～３０アルキルであり、Ｒ２のうちの１つ以上のメチレン単位は、独立して、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、Ｎ（ＲＮ）、Ｏ、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）Ｓ、ＳＣ（Ｏ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｓ）、Ｃ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、Ｓ（Ｏ）、ＯＳ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２Ｏ、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｏ、Ｓ（Ｏ）２、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、またはＮ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｏで置き換えられる。

【０５２２】

ある特定の実施形態では、式（ＩＶ）の化合物は、式（ＩＶ－ｃ）：

【化１５６】



（ＩＶ－ｃ）

の化合物またはその塩であり、式中、

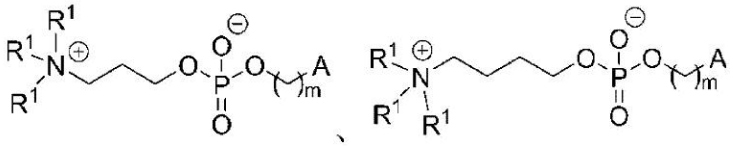
各ｘは、独立して、０～３０（両端を含む）の整数であり、

各例では、Ｇは、独立して、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、Ｎ（ＲＮ）、Ｏ、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）Ｓ、ＳＣ（Ｏ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｓ）、Ｃ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、Ｓ（Ｏ）、ＯＳ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２Ｏ、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｏ、Ｓ（Ｏ）２、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、またはＮ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｏからなる群から選択される。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【０５２３】

ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、修飾ホスホコリン部分を含み、四級アミンをホスホリル基に連結するアルキル鎖は、エチレンではない（例えば、ｎは２ではない）。したがって、ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、式（ＩＶ）の化合物であり、式中、ｎは、１、３、４、５、６、７、８、９、または１０である。例えば、ある特定の実施形態では、式（ＩＶ）の化合物は、下記式：

【化１５７】



のうちの１つの化合物またはその塩である。

【０５２４】

代替脂質

ある特定の実施形態では、本発明において有用であるか、または潜在的に有用であるリン脂質は、修飾ホスホコリン部分を含み、四級アミンをホスホリル基に連結するアルキル鎖は、エチレンではない（例えば、ｎは２ではない）。したがって、ある特定の実施形態では、リン脂質は有用である。

【０５２５】

ある特定の実施形態では、代替脂質が、本開示のリン脂質の代わりに使用される。

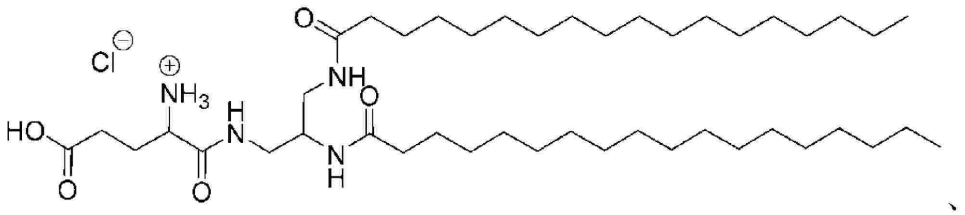
【０５２６】

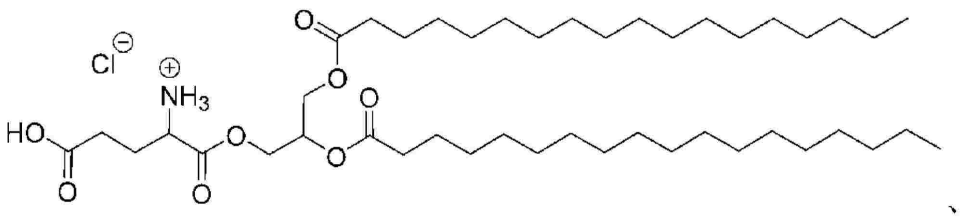
ある特定の実施形態では、本発明の代替脂質は、オレイン酸である。

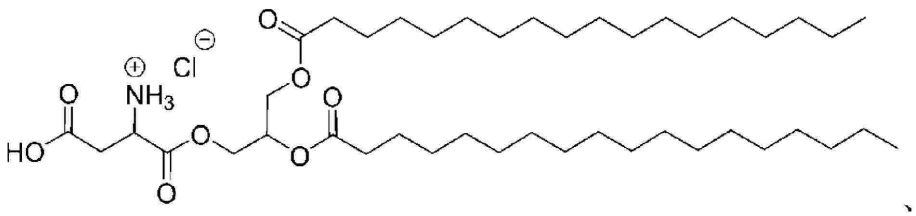
【０５２７】

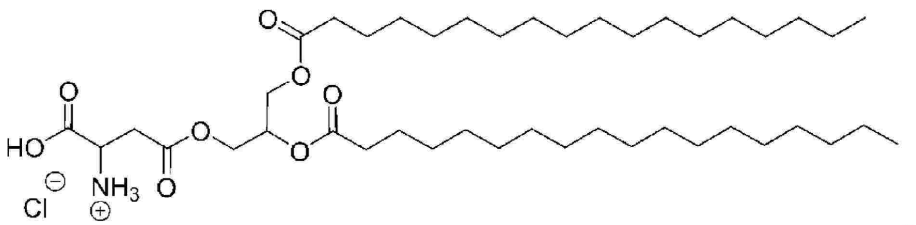
ある特定の実施形態では、代替脂質は、以下のうちの１つである：

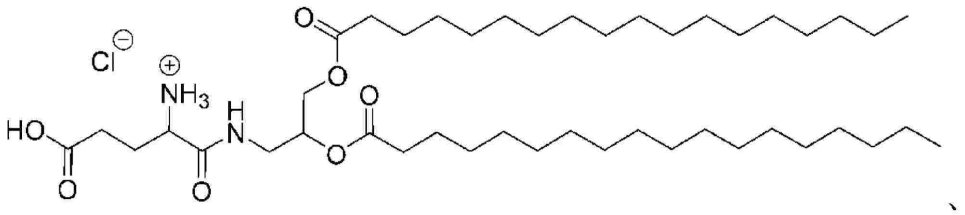
【化１５８－１】

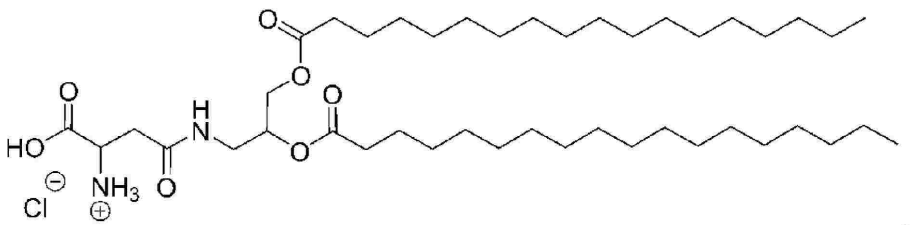

、


、

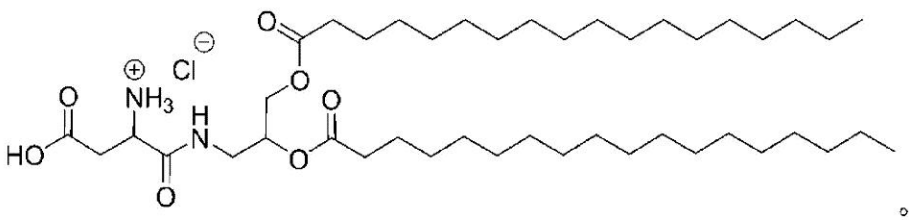

、


、


、


、及び

【化１５８－２】


。

【０５２８】

構造脂質

本明細書に開示される医薬組成物の脂質組成物は、１つ以上の構造脂質を含み得る。本明細書で使用される場合、「構造脂質」という用語はステロールを指し、ステロール部分を含有する脂質も指す。

【０５２９】

脂質ナノ粒子内に構造脂質を組み込むことは、粒子内における他の脂質の凝集を軽減するのに役立つ場合がある。構造脂質は、コレステロール、フェコステロール、シトステロール、エルゴステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、アルファ－トコフェロール、ホパノイド、フィトステロール、ステロイド、及びこれらの混合物を含むがこれらに限定されない群から選択され得る。いくつかの実施形態では、構造脂質はステロールである。本明細書で定義される場合、「ステロール」は、ステロイドアルコールからなるステロイドのサブグループである。ある特定の実施形態では、構造脂質はステロイドである。ある特定の実施形態では、構造脂質はコレステロールである。ある特定の実施形態では、構造脂質は、コレステロールの類似体である。ある特定の実施形態では、構造脂質は、アルファ－トコフェロールである。

【０５３０】

いくつかの実施形態では、構造脂質は、米国出願第６２／５２０，５３０号に記載されている構造脂質のうち１つ以上であってよい。

【０５３１】

ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）脂質

本明細書に開示される医薬組成物の脂質組成物は、１つ以上のポリエチレングリコール（ＰＥＧ）脂質を含み得る。

【０５３２】

本明細書で使用される場合、「ＰＥＧ脂質」という用語は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）で修飾された脂質を指す。ＰＥＧ脂質の非限定的な例としては、ＰＥＧ修飾ホスファチジルエタノールアミン及びホスファチジン酸、ＰＥＧ－セラミドコンジュゲート（例えば、ＰＥＧ－ＣｅｒＣ１４またはＰＥＧ－ＣｅｒＣ２０）、ＰＥＧ修飾ジアルキルアミン及びＰＥＧ修飾１，２－ジアシルオキシプロパン－３－アミンが挙げられる。かかる脂質は、ＰＥＧ化脂質とも称される。例えば、ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ－ｃ－ＤＯＭＧ、ＰＥＧ－ＤＭＧ、ＰＥＧ－ＤＬＰＥ、ＰＥＧ－ＤＭＰＥ、ＰＥＧ－ＤＰＰＣ、またはＰＥＧ－ＤＳＰＥ脂質であり得る。

【０５３３】

いくつかの実施形態では、ＰＥＧ脂質としては、１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロールメトキシポリエチレングリコール（ＰＥＧ－ＤＭＧ）、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）］（ＰＥＧ－ＤＳＰＥ）、ＰＥＧ－ジステリルグリセロール（ｄｉｓｔｅｒｙｌ ｇｌｙｃｅｒｏｌ）（ＰＥＧ－ＤＳＧ）、ＰＥＧ－ジパルメトレイル（ｄｉｐａｌｍｅｔｏｌｅｙｌ）、ＰＥＧ－ジオレイル、ＰＥＧ－ジステアリル、ＰＥＧ－ジアシルグリカミド（ｄｉａｃｙｌｇｌｙｃａｍｉｄｅ）（ＰＥＧ－ＤＡＧ）、ＰＥＧ－ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（ＰＥＧ－ＤＰＰＥ）、またはＰＥＧ－１，２－ジミリスチルオキシルプロピル（ｄｉｍｙｒｉｓｔｙｌｏｘｌｐｒｏｐｙｌ）－３－アミン（ＰＥＧ－ｃ－ＤＭＡ）が挙げられるがこれらに限定されない。

【０５３４】

１つの実施形態では、ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ修飾ホスファチジルエタノールアミン、ＰＥＧ修飾ホスファチジン酸、ＰＥＧ修飾セラミド、ＰＥＧ修飾ジアルキルアミン、ＰＥＧ修飾ジアシルグリセロール、ＰＥＧ修飾ジアルキルグリセロール、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

【０５３５】

いくつかの実施形態では、ＰＥＧ脂質の脂質部分としては、約Ｃ１４～約Ｃ２２、好ま

しくは、約Ｃ１４～約Ｃ１６の長さを有するものが挙げられる。いくつかの実施形態では、ＰＥＧ部分、例えば、ｍＰＥＧ－ＮＨ２は、約１０００、２０００、５０００、１０，０００、１５，０００または２０，０００ダルトンのサイズを有する。１つの実施形態では、ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ２ｋ－ＤＭＧである。

【０５３６】

１つの実施形態では、本明細書に記載される脂質ナノ粒子は、非拡散性ＰＥＧであるＰＥＧ脂質を含み得る。非拡散性ＰＥＧの非限定的な例としては、ＰＥＧ－ＤＳＧ及びＰＥＧ－ＤＳＰＥが挙げられる。

【０５３７】

ＰＥＧ脂質は、米国特許第８１５８６０１号及び国際公開第ＷＯ２０１５／１３０５８４　Ａ２号（それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているもの等、当該技術分野において既知である。

【０５３８】

概して、本明細書に記載される様々な式の他の脂質成分（例えば、ＰＥＧ脂質）のいくつかは、「Ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎｓ　ａｎｄ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｆｏｒ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　ｏｆ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　Ａｇｅｎｔｓ」と題される、２０１６年１２月１０日に出願された国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０００１２９号（その全体が参照により組み込まれる）に記載されているように合成され得る。

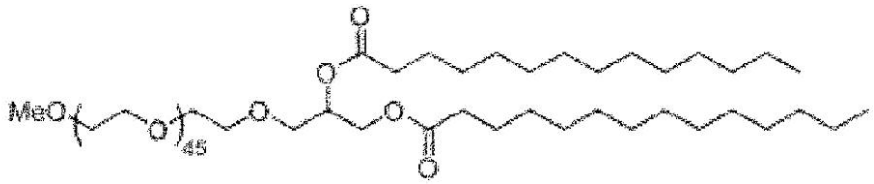
【０５３９】

脂質ナノ粒子組成物の脂質成分は、ＰＥＧまたはＰＥＧ修飾脂質等のポリエチレングリコールを含む１つ以上の分子を含み得る。かかる種は、代わりとしてＰＥＧ化脂質と称されることがある。ＰＥＧ脂質は、ポリエチレングリコールで修飾された脂質である。ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ修飾ホスファチジルエタノールアミン、ＰＥＧ修飾ホスファチジン酸、ＰＥＧ修飾セラミド、ＰＥＧ修飾ジアルキルアミン、ＰＥＧ修飾ジアシルグリセロール、ＰＥＧ修飾ジアルキルグリセロール及びこれらの混合物を含む非限定的な群から選択してよい。例えば、ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ－ｃ－ＤＯＭＧ、ＰＥＧ－ＤＭＧ、ＰＥＧ－ＤＬＰＥ、ＰＥＧ－ＤＭＰＥ、ＰＥＧ－ＤＰＰＣ、またはＰＥＧ－ＤＳＰＥ脂質であり得る。

【０５４０】

いくつかの実施形態では、ＰＥＧ修飾脂質は、ＰＥＧ　ＤＭＧの修飾形態である。ＰＥＧ－ＤＭＧは、以下の構造を有する。

【化１５９】



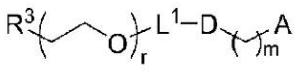
【０５４１】

１つの実施形態では、本発明において有用なＰＥＧ脂質は、国際公開第ＷＯ２０１２０９９７５５号（参照によりその内容が全体として本明細書に組み込まれる）に記載されているＰＥＧ化脂質であり得る。本明細書に記載されるこれらの例示的なＰＥＧ脂質のいずれかは、ＰＥＧ鎖上にヒドロキシル基を含むように修飾され得る。ある特定の実施形態では、ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ－ＯＨ脂質である。本明細書で一般的に定義される場合、「ＰＥＧ－ＯＨ脂質」（本明細書では「ヒドロキシ－ＰＥＧ化脂質」とも称される）は、脂質上に１つ以上のヒドロキシル（－ＯＨ）基を有するＰＥＧ化脂質である。ある特定の実施形態では、ＰＥＧ－ＯＨ脂質は、ＰＥＧ鎖上に１つ以上のヒドロキシル基を含む。ある特定の実施形態では、ＰＥＧ－ＯＨまたはヒドロキシ－ＰＥＧ化脂質は、ＰＥＧ鎖の末端に－ＯＨ基を含む。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

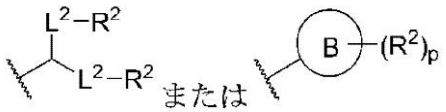
【０５４２】

ある特定の実施形態では、本発明において有用なＰＥＧ脂質は、式（Ｖ）の化合物であ

る。本明細書では、式（Ｖ）：
【化１６０】


（Ｖ）、

の化合物またはその塩が提供され、式中、
Ｒ３は、－ＯＲＯであり、
ＲＯは、水素、任意に置換されるアルキル、または酸素保護基であり、
ｒは、１～１００（両端を含む）の整数であり、
Ｌ１は、任意に置換されるＣ１～１０アルキレンであり、ここで、任意に置換されるＣ１～１０アルキレンの少なくとも１つのメチレンは、独立して、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、Ｏ、Ｎ（ＲＮ）、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、またはＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）で置き換えられ、
Ｄは、クリックケミストリーによって得られる部分であるか、または生理的条件下で切断可能な部分であり、
ｍは、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり、
Ａは、式：
【化１６１】

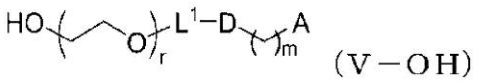

のものであり、
Ｌ２の各例は、独立して、結合または任意に置換されるＣ１～６アルキレンであり、ここで、任意に置換されるＣ１～６アルキレンの１つのメチレン単位は、任意に、Ｏ、Ｎ（ＲＮ）、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、またはＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）で置き換えられ、
Ｒ２の各例は、独立して、任意に置換されるＣ１～３０アルキル、任意に置換されるＣ１～３０アルケニル、または任意に置換されるＣ１～３０アルキニルであり、任意に、Ｒ２の１つ以上のメチレン単位は、独立して、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、Ｎ（ＲＮ）、Ｏ、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）Ｓ、ＳＣ（Ｏ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｓ）、Ｃ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、Ｓ（Ｏ）、ＯＳ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２Ｏ、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｏ、Ｓ（Ｏ）２、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、またはＮ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｏで置き換えられ、
ＲＮの各例は、独立して、水素、任意に置換されるアルキル、または窒素保護基であり、
環Ｂは、任意に置換されるカルボシクリル、任意に置換されるヘテロシクリル、任意に置換されるアリール、または任意に置換されるヘテロアリールであり、

ｐは、１または２である。

【０５４３】

ある特定の実施形態では、式（Ｖ）の化合物は、ＰＥＧ－ＯＨ脂質である（すなわち、Ｒ３は、－ＯＲＯであり、ＲＯは、水素である）。ある特定の実施形態では、式（Ｖ）の化合物は、式（Ｖ－ＯＨ）：

【化１６２】



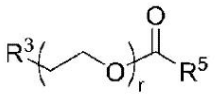
（Ｖ－ＯＨ）

の化合物またはその塩である。

【０５４４】

ある特定の実施形態では、本発明において有用なＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ化脂肪酸である。ある特定の実施形態では、本発明に有用なＰＥＧ脂質は、式（ＶＩ）の化合物である。本明細書では、式（ＶＩ）：

【化１６３】



（ＶＩ）、

の化合物またはその塩が提供され、式中、

Ｒ３は、－ＯＲＯであり、

ＲＯは、水素、任意に置換されるアルキル、または酸素保護基であり、

ｒは、１～１００（両端を含む）の整数であり、

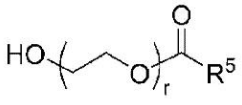
Ｒ５は、任意に置換されるＣ１０～４０アルキル、任意に置換されるＣ１０～４０アルケニル、または任意に置換されるＣ１０～４０アルキニルであり、任意に、Ｒ５の１つ以上のメチレン基は、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、Ｎ（ＲＮ）、Ｏ、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）Ｓ、ＳＣ（Ｏ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）、Ｃ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）、ＮＲＮＣ（＝ＮＲＮ）Ｎ（ＲＮ）、Ｃ（Ｓ）、Ｃ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）、ＮＲＮＣ（Ｓ）Ｎ（ＲＮ）、Ｓ（Ｏ）、ＯＳ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｏ、ＯＳ（Ｏ）２Ｏ、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）Ｏ、Ｓ（Ｏ）２、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２、Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、Ｎ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、ＯＳ（Ｏ）２Ｎ（ＲＮ）、またはＮ（ＲＮ）Ｓ（Ｏ）２Ｏで置き換えられ、

ＲＮの各例は、独立して、水素、任意に置換されるアルキル、または窒素保護基である。

【０５４５】

ある特定の実施形態では、式（ＶＩ）の化合物は、式（ＶＩ－ＯＨ）：

【化１６４】



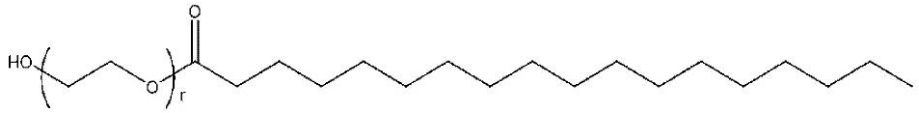
（ＶＩ－ＯＨ）

の化合物またはその塩である。いくつかの実施形態では、ｒは４５である。

【０５４６】

さらに他の実施形態では、式（ＶＩ）の化合物は、

【化１６５】

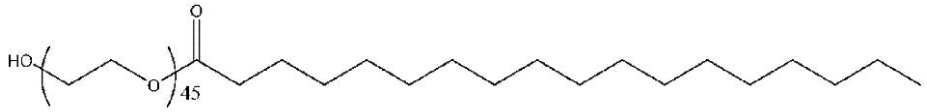


またはその塩である。

【０５４７】

１つの実施形態では、式（ＶＩ）の化合物は、

【化１６６】



（化合物Ｉ）

である。

【０５４８】

いくつかの態様では、本明細書に開示される医薬組成物の脂質組成物は、ＰＥＧ脂質を含まない。

【０５４９】

いくつかの実施形態では、ＰＥＧ－脂質は、米国出願第６２／５２０，５３０号に記載されているＰＥＧ脂質のうちの１つ以上であり得る。

【０５５０】

いくつかの実施形態では、本発明のＰＥＧ脂質には、ＰＥＧ修飾ホスファチジルエタノールアミン、ＰＥＧ修飾ホスファチジン酸、ＰＥＧ修飾セラミド、ＰＥＧ修飾ジアルキルアミン、ＰＥＧ修飾ジアシルグリセロール、ＰＥＧ修飾ジアルキルグリセロール、及びこれらの混合物が含まれる。いくつかの実施形態では、ＰＥＧ修飾脂質は、ＰＥＧ－ＤＭＧ、ＰＥＧ－ｃ－ＤＯＭＧ（ＰＥＧ－ＤＯＭＧとも称される）、ＰＥＧ－ＤＳＧ及び／またはＰＥＧ－ＤＰＧである。

【０５５１】

いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、式Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのいずれかのイオン化可能なカチオン性脂質、ＤＳＰＣを含むリン脂質、構造脂質、及びＰＥＧ－ＤＭＧを含むＰＥＧ脂質を含む。

【０５５２】

いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、式Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのいずれかのイオン化可能なカチオン性脂質、ＤＳＰＣを含むリン脂質、構造脂質、及び式ＶＩを有する化合物を含むＰＥＧ脂質を含む。

【０５５３】

いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、式Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのイオン化可能なカチオン性脂質、式ＩＶを有する化合物を含むリン脂質、構造脂質、及び式ＶまたはＶＩを有する化合物を含むＰＥＧ脂質を含む。

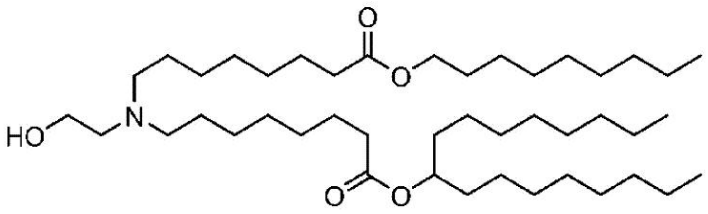
【０５５４】

いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、式Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのイオン化可能なカチオン性脂質、式ＩＶを有する化合物を含むリン脂質、構造脂質、及び式ＶまたはＶＩを有する化合物を含むＰＥＧ脂質を含む。

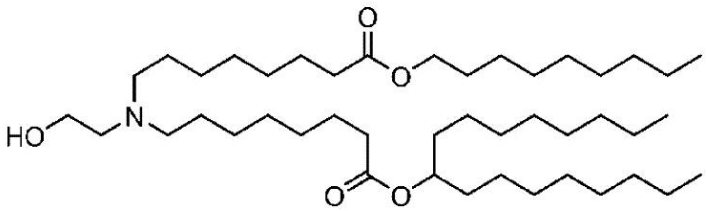
【０５５５】

いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、式Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのイオン化可能なカチオン性脂質、式ＩＶを有するリン脂質、構造脂質、及び式ＶＩを有する化合物を含

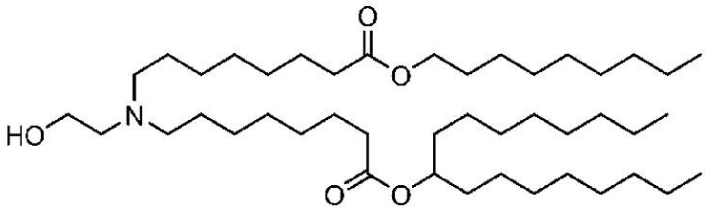
むＰＥＧ脂質を含む。
【０５５６】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、
【化１６７】



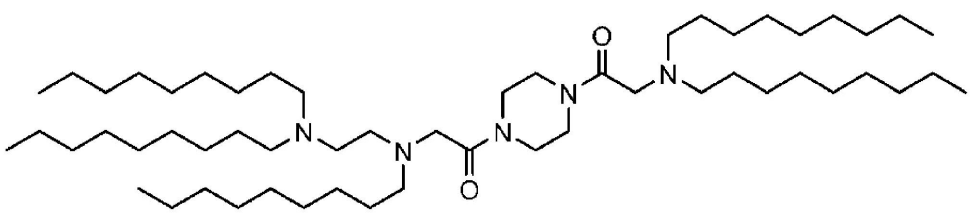
のイオン化可能なカチオン性脂質及び式ＶＩを含むＰＥＧ脂質を含む。
【０５５７】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、
【化１６８】



のイオン化可能なカチオン性脂質及びオレイン酸を含む代替脂質を含む。
【０５５８】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、
【化１６９】

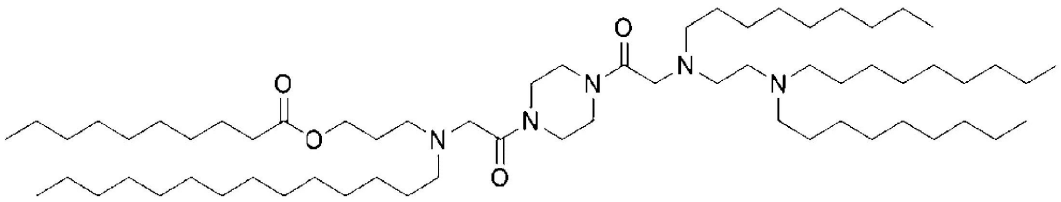


のイオン化可能なカチオン性脂質、オレイン酸を含む代替脂質、コレステロールを含む構造脂質、及び式ＶＩを有する化合物を含むＰＥＧ脂質を含む。
【０５５９】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、
【化１７０】



のイオン化可能なカチオン性脂質、ＤＯＰＥを含むリン脂質、コレステロールを含む構造脂質、及び式ＶＩを有する化合物を含むＰＥＧ脂質を含む。

【０５６０】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、
【化１７１】



のイオン化可能なカチオン性脂質、ＤＯＰＥを含むリン脂質、コレステロールを含む構造脂質、及び式ＶＩを有する化合物を含むＰＥＧ脂質を含む。
【０５６１】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約２：１～約３０：１のＮ：Ｐ比を含む。
【０５６２】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約６：１のＮ：Ｐ比を含む。
【０５６３】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約３：１のＮ：Ｐ比を含む。
【０５６４】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約１０：１～約１００：１のイオン化可能なカチオン性脂質成分対ＲＮＡのｗｔ／ｗｔ比を含む。
【０５６５】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約２０：１のイオン化可能なカチオン性脂質成分対ＲＮＡのｗｔ／ｗｔ比を含む。
【０５６６】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約１０：１のイオン化可能なカチオン性脂質成分対ＲＮＡのｗｔ／ｗｔ比を含む。
【０５６７】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約５０ｎｍ～約１５０ｎｍの平均直径を有する。
【０５６８】
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、約７０ｎｍ～約１２０ｎｍの平均直径を有する。
【０５６９】
本明細書で使用される場合、「アルキル」、「アルキル基」、または「アルキレン」という用語は、１個以上の炭素原子（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、またはそれを超える炭素原子）を含む直鎖または分岐鎖飽和炭化水素であり、任意に置換されるものを意味する。「Ｃ１～１４アルキル」という表記は、炭素原子を１～１４個含む、任意に置換される直鎖または分岐鎖の飽和炭化水素を意味する。別段の定めのない限り、本明細書に記載されるアルキル基は、非置換アルキル基及び置換アルキル基の両方を指す。
【０５７０】
本明細書で使用される場合、「アルケニル」、「アルケニル基」、または「アルケニレン」という用語は、２個以上の炭素原子（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、またはそれを超える炭素原子）及び少なくとも１つの二重結合を含む、直鎖または分岐鎖の炭化水素であり、任意に置換されるものを意味する。「Ｃ２～１４アルケニル」という表記は、２～１４個の炭素原子及び少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を含む、任意に置換される直鎖または分岐鎖の炭化水素を意味する。アルケニル基は、炭素－炭素二重結合を１、２、３

、または４つ以上含んでよい。例えば、Ｃ１８アルケニルは、二重結合を１つ以上含んでよい。二重結合を２つ含むＣ１８アルケニル基は、リノレイル基であってよい。別段の定めのない限り、本明細書に記載されるアルケニル基は、非置換アルケニル基及び置換アルケニル基の両方を指す。

【０５７１】

本明細書で使用される場合、「アルキニル」、「アルキニル基」、または「アルキニレン」という用語は、２個以上の炭素原子（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個、またはそれを超える炭素原子）及び少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を含む、直鎖または分岐鎖の炭化水素であり、任意に置換されるものを意味する。「Ｃ２～１４アルキニル」という表記は、２～１４個の炭素原子及び少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を含む、任意に置換される直鎖または分岐鎖の炭化水素を意味する。アルキニル基は、炭素－炭素三重結合を１、２、３、または４つ以上含んでよい。例えば、Ｃ１８アルキニルは、炭素－炭素三重結合を１つ以上含んでよい。別段の定めのない限り、本明細書に記載されるアルキニル基は、非置換アルキニル基及び置換アルキニル基の両方を指す。

【０５７２】

本明細書で使用される場合、「炭素環」または「炭素環式基」という用語は、炭素原子の環を１つ以上含む、任意に置換される単環系または多環系を意味する。環は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０員の環であってよい。「Ｃ３～６炭素環」という表記は、３～６個の炭素原子を有する単環を含む、炭素環を意味する。炭素環は、炭素－炭素二重結合または炭素－炭素三重結合を１つ以上含んでよく、非芳香族または芳香族（例えば、シクロアルキル基またはアリール基）であってよい。炭素環の例としては、シクロプロピル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、フェニル基、ナフチル基、及び１，２ジヒドロナフチル基が挙げられる。本明細書で使用される場合、「シクロアルキル」という用語は、非芳香族炭素環を意味し、二重結合または三重結合のいずれも含んでよく、または含まなくてもよい。別段の定めのない限り、本明細書に記載される炭素環は、非置換炭素環基及び置換炭素環基の両方、すなわち、任意に置換される炭素環を指す。

【０５７３】

本明細書で使用される場合、「複素環」または「複素環式基」という用語は、任意に置換される単環系または環を１つ以上含む多環系であり、その少なくとも１つの環が、ヘテロ原子を少なくとも１個含む環系を意味する。ヘテロ原子は、例えば、窒素原子、酸素原子、または硫黄原子であってよい。環は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３または１４員の環であってよい。複素環は、二重結合または三重結合を１つ以上含んでよく、非芳香族または芳香族（例えば、ヘテロシクロアルキル基またはヘテロアリール基）であってよい。複素環の例としては、イミダゾリル基、イミダゾリジニル基、オキサゾリル基、オキサゾリジニル基、チアゾリル基、チアゾリジニル基、ピラゾリジニル基、ピラゾリル基、イソオキサゾリジニル基、イソオキサゾリル基、イソチアゾリジニル基、イソチアゾリル基、モルホリニル基、ピロリル基、ピロリジニル基、フリル基、テトラヒドロフリル基、チオフェニル基、ピリジニル基、ピペリジニル基、キノリル基、及びイソキノリル基が挙げられる。本明細書で使用される場合、「ヘテロシクロアルキル」という用語は、非芳香族複素環を意味し、二重結合または三重結合のいずれも含んでよく、または含まなくてもよい。別段の定めのない限り、本明細書に記載される複素環は、非置換複素環基及び置換複素環基の両方、すなわち、任意に置換される複素環を指す。

【０５７４】

本明細書で使用される場合、「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、または「ヘテロアルキニル」という用語はそれぞれ、ヘテロ原子（例えば、酸素、硫黄、窒素、ホウ素、ケイ素、リン）を１個以上（例えば、１、２、３、または４個）さらに含む、本明細書で定義されているようなアルキル基、アルケニル基、アルキニル基を指し、その１個以上のヘテロ原子は、親炭素鎖内の隣接炭素原子間に挿入されている、及び／またはその１

個以上のヘテロ原子は、炭素原子と親分子との間、すなわち結合点の間に挿入されている。別段の定めのない限り、本明細書に記載されるヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、またはヘテロアルキニルは、非置換ヘテロアルキル及び置換ヘテロアルキル、非置換ヘテロアルケニル及び置換ヘテロアルケニル、または非置換ヘテロアルキニル及び置換ヘテロアルキニルの両方、すなわち、任意に置換されるヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、またはヘテロアルキニルを指す。

【０５７５】

本明細書で使用される場合、「生分解性基」は、哺乳動物実体における脂質のより迅速な代謝を促進する場合がある基である。生分解性基は、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（Ｓ）Ｓ－、－ＳＣ（Ｓ）－、－ＣＨ（ＯＨ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ´）Ｏ－、－Ｓ（Ｏ）２－、アリール基、及びヘテロアリール基からなる群から選択されてよいが、これらに限定されない。本明細書で使用される場合、「アリール基」は、１つ以上の芳香環を含む任意に置換される炭素環式基である。アリール基の例としては、フェニル基及びナフチル基が挙げられる。本明細書で使用される場合、「ヘテロアリール基」は、１つ以上の芳香環を含む任意に置換される複素環式基である。ヘテロアリール基の例としては、ピロリル、フリル、チオフェニル、イミダゾリル、オキサゾリル、及びチアゾリルが挙げられる。アリール基及びヘテロアリール基の両方とも、任意に置換されてよい。例えば、Ｍ及びＭ´は、任意に置換されるフェニル、オキサゾール、及びチアゾールからなる非限定的な群から選択され得る。本明細書の式において、Ｍ及びＭ´は、上記の生分解性基の一覧から独立して選択され得る。別段の指定がない限り、本明細書に記載されるアリール基またはヘテロアリール基は、非置換及び置換基、すなわち、任意に置換されるアリール基またはヘテロアリール基の両方を指す。

【０５７６】

アルキル基、アルケニル基、及びシクリル基（例えば、カルボシクリル基及びヘテロシクリル基）は、別段の定めのない限り、任意に置換されていてよい。任意の置換基は、ハロゲン原子（例えば、塩化物基、臭化物基、フッ化物基、またはヨウ化物基）、カルボン酸（例えば、Ｃ（Ｏ）ＯＨ）、アルコール（例えば、ヒドロキシル、ＯＨ）、エステル（例えば、Ｃ（Ｏ）ＯＲ　ＯＣ（Ｏ）Ｒ）、アルデヒド（例えば、Ｃ（Ｏ）Ｈ）、カルボニル（例えば、Ｃ（Ｏ）Ｒ、あるいはＣ＝Ｏによって表される）、ハロゲン化アシル（例えば、Ｃ（Ｏ）Ｘ、ここで、Ｘは、臭化物、フッ化物、塩化物、及びヨウ化物から選択されるハロゲン化物である）、炭酸塩（例えば、ＯＣ（Ｏ）ＯＲ）、アルコキシ（例えば、ＯＲ）、アセタール（例えば、Ｃ（ＯＲ）２Ｒ”’、ここで、各ＯＲは、同一であり得るかまたは異なり得るアルコキシ基であり、Ｒ”’は、アルキル基またはアルケニル基である）、リン酸塩（例えば、Ｐ（Ｏ）４３－）、チオール（例えば、ＳＨ）、スルホキシド（例えば、Ｓ（Ｏ）Ｒ）、スルフィン酸（例えば、Ｓ（Ｏ）ＯＨ）、スルホン酸（例えば、Ｓ（Ｏ）２ＯＨ）、チアール（例えば、Ｃ（Ｓ）Ｈ）、硫酸塩（例えば、Ｓ（Ｏ）４２－）、スルホニル（例えば、Ｓ（Ｏ）２）、アミド（例えば、Ｃ（Ｏ）ＮＲ２、またはＮ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ）、アジド（例えば、Ｎ３）、ニトロ（例えば、ＮＯ２）、シアノ（例えば、ＣＮ）、イソシアノ（例えば、ＮＣ）、アシルオキシ（例えば、ＯＣ（Ｏ）Ｒ）、アミノ（例えば、ＮＲ２、ＮＲＨ、またはＮＨ２）、カルバモイル（例えば、ＯＣ（Ｏ）ＮＲ２、ＯＣ（Ｏ）ＮＲＨ、またはＯＣ（Ｏ）ＮＨ２）、スルホンアミド（例えば、Ｓ（Ｏ）２ＮＲ２、Ｓ（Ｏ）２ＮＲＨ、Ｓ（Ｏ）２ＮＨ２、Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）２Ｒ、Ｎ（Ｈ）Ｓ（Ｏ）２Ｒ、Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）２Ｈ、またはＮ（Ｈ）Ｓ（Ｏ）２Ｈ）、アルキル基、アルケニル基、及びシクリル基（例えば、カルボシクリル基またはヘテロシクリル基）からなる群から選択され得るが、これらに限定されない。前述のいずれにおいても、Ｒは、本明細書で定義されているようなアルキル基またはアルケニル基である。いくつかの実施形態では、置換基自体が、例えば、本明細書で定義されているような１、２、３、４、５または６個の置換基でさらに置換されていてもよい。例えば、Ｃ１～６アルキル基は、本明細書で定義されているような１、２、３、４、５または６個の置換基でさらに置換されていても

よい。

【０５７７】

窒素を含有する本開示の化合物は、本開示の他の化合物を得るために、酸化剤（例えば、３－クロロペルオキシ安息香酸（ｍＣＰＢＡ）及び／または過酸化水素）での処理によって、Ｎ－オキシドに変換され得る。したがって、示され、かつ特許請求される全ての窒素含有化合物には、原子価及び構造により許される場合、示されるような化合物及びそのＮ－オキシド誘導体（Ｎ→ＯまたはＮ＋－Ｏ－と表され得る）の両方が含まれるとみなされる。さらに、他の例において、本開示の化合物中の窒素は、Ｎ－ヒドロキシ化合物またはＮ－アルコキシ化合物に変換され得る。例えば、Ｎ－ヒドロキシ化合物は、ｍＣＰＢＡ等の酸化剤による親アミンの酸化によって調製され得る。また、示され、かつ特許請求される全ての窒素含有化合物には、原子価及び構造により許される場合、示されるような化合物ならびにそのＮ－ヒドロキシ誘導体（すなわち、Ｎ－ＯＨ）及びＮ－アルコキシ誘導体（すなわち、Ｎ－ＯＲ、ここで、Ｒは、置換または非置換Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルケニル、Ｃ１～Ｃ６アルキニル、３～１４員の炭素環または３～１４員の複素環である）のいずれもが包含されるともみなされる。

【０５７８】

ｍＲＮＡ－脂質付加物

ある特定のイオン性脂質は、脂質－ポリヌクレオチド付加物を形成しやすいことが判明している。特に、第三級アミン基を含むイオン性脂質は、ポリヌクレオチド（ｍＲＮＡなど）と相互作用することが可能な第二級アミン及び反応性アルデヒド種の一方または両方に分解して、イオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物を形成する可能性があり、これは、逆相イオン対クロマトグラフィー（ＲＰ－ＩＰ　ＨＰＬＣ）によって検出され得る。例えば、第三級アミンの酸化によりＮ－オキシドが形成される場合があり、これが、そのアミンで酸／塩基触媒加水分解を受け、ｍＲＮＡと付加物を形成し得るアルデヒド及び第二級アミンを生成し得る。したがって、いくつかの態様では、イオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物は、アルデヒド－ｍＲＮＡ付加物という不純物である。

【０５７９】

かかる付加物は、ｍＲＮＡの翻訳を妨害する可能性があり、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）で製剤化されたｍＲＮＡ製品の活性に影響を与える可能性があることも判明している。したがって、イオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の含量が低減したＬＮＰ組成物を、例えば、ｍＲＮＡの約２０％未満、約１０％未満、約５％未満、または約１％未満がＲＰ－ＩＰ　ＨＰＬＣで測定され得るイオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の形態で、調製及び使用することが有利であり得る。したがって、いくつかの態様によれば、ＬＮＰ組成物は、ｍＲＮＡの１０％未満、５％未満、または１％未満を含む、約１０％未満、約５％未満、または約１％未満がＲＰ－ＩＰ　ＨＰＬＣで測定され得るイオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の形態で、提供される。

【０５８０】

いくつかの態様では、組成物中の脂質アルデヒドの量は、５０ｐｐｍ未満を含む約５０ｐｐｍ未満である。さらに、または代替的に、いくつかの態様では、組成物中のＮ－オキシド化合物の量は、５０ｐｐｍ未満を含む約５０ｐｐｍ未満である。さらに、または代替的に、いくつかの態様では、組成物中の遷移金属、例えば、Ｆｅの量は、５０ｐｐｍ未満を含む約５０ｐｐｍ未満である。さらに、または代替的に、いくつかの態様では、組成物中のハロゲン化アルキル化合物の量は、５０ｐｐｍ未満を含む約５０ｐｐｍ未満である。さらに、または代替的に、いくつかの態様では、組成物中のアルデヒド化合物の量は、５０ｐｐｍ未満を含む約５０ｐｐｍ未満である。さらに、または代替的に、いくつかの態様では、組成物中のケトン化合物の量は、５０ｐｐｍ未満を含む約５０ｐｐｍ未満である。さらに、または代替的に、いくつかの態様では、組成物中の共役ジエン化合物の量は、５０ｐｐｍ未満を含む約５０ｐｐｍ未満である。

【０５８１】

いくつかの態様では、組成物は、イオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の形成に対して安定である。いくつかの態様では、組成物中のイオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の量は、約２５℃以下の温度で保存した場合、１日で平均２％未満の率を含む、１日で平均約２％未満の率で増加する。いくつかの態様では、組成物中のイオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の量は、約５℃以下の温度で保存した場合、１日で平均０．５％未満の率を含む、１日で平均約０．５％未満の率で増加する。いくつかの態様では、組成物中のイオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の量は、冷蔵温度で保存した場合、１日で平均約０．５％未満の率で増加し、任意で、冷蔵温度は約５℃である。

【０５８２】

イオン性脂質－ポリヌクレオチド付加物という不純物の含量が減少した脂質媒体（例えば、ＬＮＰ）組成物は、Ｎ－オキシド及びアルデヒドの一方または両方の形成を阻害する方法によって調製され得る。かかる方法は、第三級アミン基を含むイオン性脂質を含む組成物を、例えば、組成物を還元剤で処理すること、組成物をキレート剤で処理すること、組成物のｐＨを調整すること、組成物の温度を調整すること、及び組成物中の緩衝液を調整することによって、Ｎ－オキシド及びアルデヒドの一方または両方の形成を阻害するように処理することを含み得る。かかる方法は、イオン性脂質をポリヌクレオチドと合わせる前に、イオン性脂質を捕捉剤で処理すること、イオン性脂質を還元性処理剤で処理すること、イオン性脂質を還元剤で処理すること、イオン性脂質をキレート剤で処理すること、ポリヌクレオチドを還元剤で処理すること、及びポリヌクレオチドをキレート剤で処理することのうちの１つ以上を含み得る。

【０５８３】

上記のいずれかによれば、捕捉剤、還元性処理剤、及び／または還元剤は、アルデヒド、ケトン、無水物、及び／またはジエン化合物と反応する薬剤であり得る。当該捕捉剤は、（Ｏ－（２，３，４，５，６－ペンタフルオロベンジル）ヒドロキシルアミン塩酸塩）（ＰＦＢＨＡ）、メトキシアミン（例えば、メトキシアミン塩酸塩）、ベンジルオキシアミン（例えば、ベンジルオキシアミン塩酸塩）、エトキシアミン（例えば、エトキシアミン塩酸塩）、４－［２－（アミノオキシ）エチル］モルホリン二塩酸塩、ブトキシアミン（例えば、ｔｅｒｔ－ブトキシアミン塩酸塩）、４－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）、１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン（ＤＡＢＣＯ）、トリエチルアミン（ＴＥＡ）、ピペリジン４－カルボキシレート（ＢＰＰＣ）、及びこれらの組み合わせから選択される１つ以上を含み得る。還元性処理剤は、ホウ素化合物（例えば、水素化ホウ素ナトリウム及び／またはビス（ピナコラト）ジボロン）を含み得る。還元性処理剤は、ホウ素化合物、例えば、水素化ホウ素ナトリウム及びビス（ピナコラト）ジボロンの一方または両方を含み得る。キレート剤は、固定化イミノ二酢酸を含み得る。還元剤は、固定化還元剤、例えば、シリカ固定化ジフェニルホスフィン（Ｓｉ－ＤＰＰ）、アガロース固定化チオール（Ａｇ－チオール）、シリカ固定化システイン（Ｓｉ－システイン）、シリカ固定化チオール（Ｓｉ－チオール）、またはそれらの組み合わせを含み得る。還元剤は、遊離の還元剤、例えば、メタ重亜硫酸カリウム、チオグリコール酸ナトリウム、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン（ＴＣＥＰ）、チオ硫酸ナトリウム、Ｎ－アセチルシステイン、グルタチオン、ジチオスレイトール（ＤＴＴ）、シスタミン、ジチオエリトリトール（ＤＴＥ）、ジクロロジフェニルトリクロロエタン（ＤＤＴ）、ホモシステイン、リポ酸、またはそれらの組み合わせを含み得る。

【０５８４】

上記のいずれかによれば、ｐＨは、ｐＨ約７～約９であり得るか、またはそれに調整され得る。

【０５８５】

上記のいずれかによれば、緩衝液は、リン酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、コハク酸ナトリウム、ヒスチジン、ヒスチジン－ＨＣｌ、リンゴ酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、及びＴＲＩＳ（トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン）から選択され得る。上記の

いずれかによれば、緩衝液は、ＴＲＩＳであり得るか、または約２０ｍＭ～約１５０ｍＭのＴＲＩＳであり得るかもしくはそれに調整され得る。

【０５８６】

上記のいずれかによれば、組成物の温度は、２５℃以下であり得るか、またはそれに調整され得る。

【０５８７】

組成物は、遊離の還元剤または抗酸化剤も含み得る。

【０５８８】

１６．例示的な追加のＬＮＰ成分

界面活性剤

ある特定の実施形態では、本開示の脂質ナノ粒子は、任意に１つ以上の界面活性剤を含む。

【０５８９】

ある特定の実施形態では、界面活性剤は、両親媒性ポリマーである。本明細書で使用される場合、両親媒性「ポリマー」は、オリゴマーまたはポリマーを含む両親媒性化合物である。

【０５９０】

例えば、両親媒性ポリマーは、２つ以上のＰＥＧモノマー単位等のオリゴマー断片を含み得る。例えば、本明細書に記載される両親媒性ポリマーは、ＰＳ　２０であり得る。

【０５９１】

例えば、両親媒性ポリマーは、ブロックコポリマーである。

【０５９２】

例えば、両親媒性ポリマーは、凍結保護剤である。

【０５９３】

例えば、両親媒性ポリマーは、約３０℃及び大気圧において、水中で２×１０－４Ｍ未満の臨界ミセル濃度（ＣＭＣ）を有する。

【０５９４】

例えば、両親媒性ポリマーは、約３０℃及び大気圧において、水中で約０．１×１０$^{-4}$Ｍ～約１．３×１０$^{-4}$Ｍの範囲の臨界ミセル濃度（ＣＭＣ）を有する。

【０５９５】

例えば、両親媒性ポリマーの濃度は、例えば、凍結または凍結乾燥前の製剤中で、そのおよそのＣＭＣ～ＣＭＣの約３０倍（例えば、そのＣＭＣの最大約２５倍、約２０倍、約１５倍、約１０倍、約５倍、または約３倍）の範囲である。

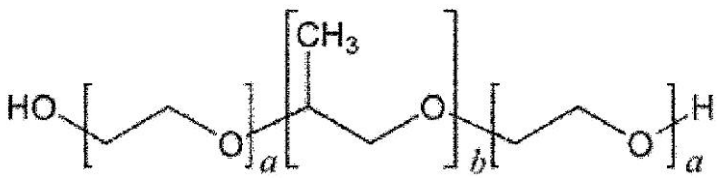
【０５９６】

例えば、両親媒性ポリマーは、ポロキサマー（Ｐｌｕｒｏｎｉｃ（登録商標））、ポロキサミン（Ｔｅｔｒｏｎｉｃ（登録商標））、ポリオキシエチレングリコールソルビタンアルキルエステル（ポリソルベート）、及びポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）から選択される。

【０５９７】

例えば、両親媒性ポリマーは、ポロキサマーである。例えば、両親媒性ポリマーは、以下の構造のものである：

【化１７２】



式中、ａは、１０～１５０の整数であり、ｂは、２０～６０の整数である。例えば、ａは約１２でありｂは約２０であるか、またはａは約８０でありｂは約２７であるか、また

はａは約６４でありｂは約３７であるか、またはａは約１４１でありｂは約４４であるか、またはａは約１０１でありｂは約５６である。

【０５９８】

例えば、両親媒性ポリマーは、Ｐ１２４、Ｐ１８８、Ｐ２３７、Ｐ３３８、またはＰ４０７である。

【０５９９】

例えば、両親媒性ポリマーは、Ｐ１８８（例えば、ポロキサマー１８８、ＣＡＳ番号９００３－１１－６、Ｋｏｌｌｉｐｈｏｒ　Ｐ１８８としても知られる）である。

【０６００】

例えば、両親媒性ポリマーは、ポロキサミン（例えば、ｔｅｔｒｏｎｉｃ　３０４またはｔｅｔｒｏｎｉｃ　９０４）である。

【０６０１】

例えば、両親媒性ポリマーは、３ｋＤａ、１０ｋＤａ、または２９ｋＤａの分子量を有するポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）等のＰＶＰである。

【０６０２】

例えば、両親媒性ポリマーは、ＰＳ　２０等のポリソルベートである。

【０６０３】

ある特定の実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。

【０６０４】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、界面活性剤を含む。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、両親媒性ポリマーである。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。

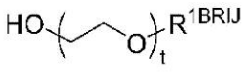
【０６０５】

例えば、非イオン性界面活性剤は、ポリエチレングリコールエーテル（Ｂｒｉｊ）、ポロキサマー、ポリソルベート、ソルビタン、及びこれらの誘導体からなる群から選択される。

【０６０６】

例えば、ポリエチレングリコールエーテルは、式（ＶＩＩＩ）：

【化１７３】



（ＶＩＩＩ）

の化合物またはその塩もしくは異性体であり、式中、

ｔは、１～１００の整数であり、

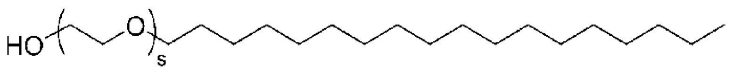
R^{1BRIJ}は、独立して、Ｃ$_{10\sim40}$アルキル、Ｃ$_{10\sim40}$アルケニル、またはＣ$_{10\sim40}$アルキニルであり、任意に、R^{5PEG}の１つ以上のメチレン基は、独立して、Ｃ$_{3\sim10}$カルボシクリレン、４～１０員のヘテロシクリレン、Ｃ$_{6\sim10}$アリーレン、４～１０員のヘテロアリーレン、－Ｎ（R^{N}）－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{N}）－、－ＮR^{N}Ｃ（Ｏ）－、－ＮR^{N}Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{N}）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－ＯＣ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R^{N}）－、－ＮR^{N}Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（＝ＮR^{N}）－、－Ｃ（＝ＮR^{N}）Ｎ（R^{N}）－、－ＮR^{N}Ｃ（＝ＮR^{N}）－、－ＮR^{N}Ｃ（＝ＮR^{N}）Ｎ（R^{N}）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（Ｓ）Ｎ（R^{N}）－、－ＮR^{N}Ｃ（Ｓ）－、－ＮR^{N}Ｃ（Ｓ）Ｎ（R^{N}）－、－Ｓ（Ｏ）－、－ＯＳ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＳ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＳ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｏ－、－ＯＳ（Ｏ）$_2$Ｏ－、－Ｎ（R^{N}）Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）Ｎ（R^{N}）－、－Ｎ（R^{N}）Ｓ（Ｏ）Ｎ（R^{N}）－、－ＯＳ（Ｏ）Ｎ（R^{N}）－、－Ｎ（R^{N}）Ｓ（Ｏ）Ｏ－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｎ（R^{N}）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（R^{N}）－、－Ｎ（R^{N}）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（R^{N}）－、－ＯＳ（Ｏ）$_2$Ｎ（R^{N}）－、または－Ｎ（R^{N}）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｏ－で置き換えられ、

R^Nの各例は、独立して、水素、$C_{1\sim6}$アルキル、または窒素保護基である。

【０６０７】

いくつかの実施形態では、R^{1BRIJ}は、C_{18}アルキルである。例えば、ポリエチレングリコールエーテルは、式（ＶＩＩＩ－ａ）：

【化１７４】



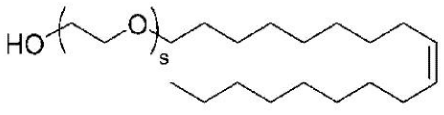
（ＶＩＩＩ－ａ）

の化合物、またはその塩もしくは異性体である。

【０６０８】

いくつかの実施形態では、R^{1BRIJ}は、C_{18}アルケニルである。例えば、ポリエチレングリコールエーテルは、式（ＶＩＩＩ－ｂ）：

【化１７５】



（ＶＩＩＩ－ｂ）

の化合物、またはその塩もしくは異性体である。

【０６０９】

いくつかの実施形態では、ポロキサマーは、ポロキサマー１０１、ポロキサマー１０５、ポロキサマー１０８、ポロキサマー１２２、ポロキサマー１２３、ポロキサマー１２４、ポロキサマー１８１、ポロキサマー１８２、ポロキサマー１８３、ポロキサマー１８４、ポロキサマー１８５、ポロキサマー１８８、ポロキサマー２１２、ポロキサマー２１５、ポロキサマー２１７、ポロキサマー２３１、ポロキサマー２３４、ポロキサマー２３５、ポロキサマー２３７、ポロキサマー２３８、ポロキサマー２８２、ポロキサマー２８４、ポロキサマー２８８、ポロキサマー３３１、ポロキサマー３３３、ポロキサマー３３４、ポロキサマー３３５、ポロキサマー３３８、ポロキサマー４０１、ポロキサマー４０２、ポロキサマー４０３、及びポロキサマー４０７からなる群から選択される。

【０６１０】

いくつかの実施形態では、ポリソルベートは、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）２０、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）４０、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）６０、またはＴｗｅｅｎ（登録商標）８０である。

【０６１１】

いくつかの実施形態では、ソルビタンの誘導体は、Ｓｐａｎ（登録商標）２０、Ｓｐａｎ（登録商標）６０、Ｓｐａｎ（登録商標）６５、Ｓｐａｎ（登録商標）８０、またはＳｐａｎ（登録商標）８５である。

【０６１２】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子中の非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．０００１ｗ／ｖ％～約１ｗ／ｖ％（例えば、約０．００００５ｗ／ｖ％～約０．５ｗ／ｖ％、または約０．０００１ｗ／ｖ％～約０．１ｗ／ｖ％）の範囲である。

【０６１３】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子中の非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．０００００１ｗｔ％～約１ｗｔ％（例えば、約０．０００００２ｗｔ％～約０．８ｗｔ％、または約０．０００００５ｗｔ％～約０．５ｗｔ％）の範囲である。

【０６１４】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子中のＰＥＧ脂質の濃度は、約０．０１モル％～約５０モル％（例えば、約０．０５モル％～約２０モル％、約０．０７モル％～約１０モル％、約０．１モル％～約８モル％、約０．２モル％～約５モル％、または約０．２５モ

ル％～約３モル％）の範囲である。
【０６１５】
アジュバント
いくつかの実施形態では、本発明のＬＮＰは、任意に、１つ以上のアジュバント（例えば、グルコピラノシル脂質アジュバント（ＧＬＡ）、ＣｐＧオリゴデオキシヌクレオチド（例えば、クラスＡまたはＢ）、ポリ（Ｉ：Ｃ）、水酸化アルミニウム、及びＰａｍ３ＣＳＫ４）を含む。
【０６１６】
他の成分
本発明のＬＮＰは、任意に、前述のセクションに記載されているものに加えて、１つ以上の成分を含み得る。例えば、脂質ナノ粒子は、ビタミン（例えば、ビタミンＡまたはビタミンＥ）またはステロール等の１つ以上の疎水性小分子を含み得る。
【０６１７】
また、脂質ナノ粒子は、１つ以上の透過促進分子、炭水化物、ポリマー、表面改質剤、または他の成分を含み得る。例えば、透過促進分子は、米国特許出願公開第２００５／０２２２０６４号に記載されている分子であり得る。炭水化物には、単糖（例えば、グルコース）及び多糖類（例えば、グリコーゲンならびにその誘導体及び類似体）が含まれ得る。
【０６１８】
脂質ナノ粒子をカプセル化または部分的にカプセル化するために、ポリマーを含めてもよい及び／または使用してもよい。ポリマーは、生分解性及び／または生体適合性であり得る。ポリマーは、ポリアミン、ポリエーテル、ポリアミド、ポリエステル、ポリカルバメート、ポリ尿素、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリイミド、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリアセチレン、ポリエチレン、ポリエチレンイミン、ポリイソシアネート、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリアクリロニトリル、及びポリアリレートから選択され得るが、これらに限定されない。例えば、ポリマーとしては、ポリ（カプロラクトン）（ＰＣＬ）、エチレン酢酸ビニルポリマー（ＥＶＡ）、ポリ（乳酸）（ＰＬＡ）、ポリ（Ｌ－乳酸）（ＰＬＬＡ）、ポリ（グリコール酸）（ＰＧＡ）、ポリ（乳酸－ｃｏ－グリコール酸）（ＰＬＧＡ）、ポリ（Ｌ－乳酸－ｃｏ－グリコール酸）（ＰＬＬＧＡ）、ポリ（Ｄ，Ｌ－ラクチド）（ＰＤＬＡ）、ポリ（Ｌ－ラクチド）（ＰＬＬＡ）、ポリ（Ｄ，Ｌ－ラクチド－ｃｏ－カプロラクトン）、ポリ（Ｄ，Ｌ－ラクチド－ｃｏ－カプロラクトン－ｃｏ－グリコリド）、ポリ（Ｄ，Ｌ－ラクチド－ｃｏ－ＰＥＯ－ｃｏ－Ｄ，Ｌ－ラクチド）、ポリ（Ｄ，Ｌ－ラクチド－ｃｏ－ＰＰＯ－ｃｏ－Ｄ，Ｌ－ラクチド）、ポリアルキルシアノアクリレート、ポリウレタン、ポリ－Ｌ－リジン（ＰＬＬ）、ヒドロキシプロピルメタクリレート（ＨＰＭＡ）、ポリエチレングリコール、ポリ－Ｌ－グルタミン酸、ポリ（ヒドロキシ酸）、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリ（エステルアミド）、ポリアミド、ポリ（エステルエーテル）、ポリカーボネート、ポリエチレン及びポリプロピレン等のポリアルキレン、ポリ（エチレングリコール）（ＰＥＧ）等のポリアルキレングリコール、ポリアルキレンオキシド（ＰＥＯ）、ポリ（エチレンテレフタレート）等のポリアルキレンテレフタレート、ポリビニルアルコール（ＰＶＡ）、ポリビニルエーテル、ポリ（ビニルアセテート）等のポリビニルエステル、ポリ（ビニルクロリド）（ＰＶＣ）等のポリビニルハライド、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）、ポリシロキサン、ポリスチレン、ポリウレタン、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース等の誘導体化セルロース、ポリ（メチル（メタ）アクリレート）（ＰＭＭＡ）、ポリ（エチル（メタ）アクリレート）、ポリ（ブチル（メタ）アクリレート）、ポリ（イソブチル（メタ）アクリレート）、ポリ（ヘキシル（メタ）アクリレート）、ポリ（イソデシル（メタ）アクリレート）、ポリ（ラウリル（メタ）アクリレート）、ポリ（フェニル（メタ）アクリレート）、ポリ（メチルアクリレート）、ポリ（イソプロピルアクリレート）、ポリ（イソブチルアクリレート）、ポリ（オクタデシルア

クリレート）ならびにこれらのコポリマー及び混合物等のアクリル酸のポリマー、ポリジオキサノン及びそのコポリマー、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリプロピレンフマレート、ポリオキシメチレン、ポロキサマー、ポロキサミン、ポリ（オルト）エステル、ポリ（酪酸）、ポリ（吉草酸）、ポリ（ラクチド－ｃｏ－カプロラクトン）、トリメチレンカーボネート、ポリ（Ｎ－アクリロイルモルホリン）（ＰＡｃＭ）、ポリ（２－メチル－２－オキサゾリン）（ＰＭＯＸ）、ポリ（２－エチル－２－オキサゾリン）（ＰＥＯＺ）、ならびにポリグリセロールが挙げられ得る。

【０６１９】

表面改質剤としては、アニオン性タンパク質（例えば、ウシ血清アルブミン）、界面活性剤（例えば、ジメチルジオクタデシル－臭化アンモニウム等のカチオン性界面活性剤）、糖または糖誘導体（例えば、シクロデキストリン）、核酸、ポリマー（例えば、ヘパリン、ポリエチレングリコール、及びポロキサマー）、粘液溶解剤（例えば、アセチルシステイン、マグワート、ブロメライン、パパイン、クレロデンドルム、ブロムヘキシン、カルボシステイン、エプラジノン、メスナ、アンブロキソール、ソブレロール、ドミオドール、レトステイン、ステプロニン、チオプロニン、ゲルソリン、チモシンβ４、ドルナーゼアルファ、ネルテネキシン、及びエルドステイン）、ならびにＤＮアーゼ（例えば、ｒｈＤＮアーゼ）が挙げられ得るが、これらに限定されない。表面改質剤は、ナノ粒子内及び／またはＬＮＰの表面上に（例えば、コーティング、吸着、共有結合、または他のプロセスによって）配置され得る。

【０６２０】

脂質ナノ粒子はまた、１つ以上の官能化脂質を含み得る。例えば、脂質は、適切な反応条件下でアジドに曝露された際に環化付加反応を受け得るアルキン基で官能化され得る。特に、脂質二重層はこの様式において、膜浸透、細胞認識、またはイメージングを促進するのに有用な１つ以上の基で官能化され得る。ＬＮＰの表面はまた、１つ以上の有用な抗体とコンジュゲートされてもよい。標的細胞への送達、イメージング、及び膜浸透に有用な官能基及びコンジュゲートは、当該技術分野において周知である。

【０６２１】

これらの成分に加えて、脂質ナノ粒子は、医薬組成物に有用な任意の物質を含み得る。例えば、脂質ナノ粒子は、限定されないが、１つ以上の溶媒、分散媒、希釈剤、分散助剤、懸濁助剤、造粒助剤、崩壊剤、充填剤、流動化剤、液体ビヒクル、結合剤、表面活性剤、等張剤、増粘または乳化剤、緩衝剤、潤滑剤、油、防腐剤、及び他の種等の１つ以上の薬学的に許容される賦形剤または補助成分を含み得る。また、ワックス、バター、着色剤、コーティング剤、香味剤、及び芳香剤等の賦形剤を含んでもよい。薬学的に許容される賦形剤は、当該技術分野において周知である（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ´ｓ Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，２１ｓｔ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ａ．Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ；Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ，Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ，ＭＤ，２００６を参照のこと）。

【０６２２】

希釈剤の例としては、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウムラクトース、スクロース、セルロース、微結晶セルロース、カオリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、コーンスターチ、粉末糖、及び／またはこれらの組み合わせが挙げられ得るが、これらに限定されない。造粒剤及び分散剤は、ジャガイモデンプン、トウモロコシデンプン、タピオカデンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、粘土、アルギン酸、グアーガム、柑橘類パルプ、寒天、ベントナイト、セルロース及び木材製品、天然スポンジ、カチオン交換樹脂、炭酸カルシウム、ケイ酸塩、炭酸ナトリウム、架橋ポリ（ビニルピロリドン）（クロスポビドン）、カルボキシメチルデンプンナトリウム（デンプングリコール酸ナトリウム）、カルボキシメチルセルロース、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム（クロスカルメロース）、メチルセルロース、アルファ化デンプン（デンプン１５００）、微結晶性デンプン、水不溶性デンプン、カルボ

キシメチルセルロースカルシウム、ケイ酸アルミニウムマグネシウム（ＶＥＥＧＵＭ（登録商標））、ラウリル硫酸ナトリウム、四級アンモニウム化合物、及び／またはこれらの組み合わせからなる非限定的なリストから選択され得る。

【０６２３】

表面活性剤及び／または乳化剤としては、天然乳化剤（例えば、アカシア、寒天、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、トラガカント、ツノマタ、コレステロール、キサンタン、ペクチン、ゼラチン、卵黄、カゼイン、羊毛脂、コレステロール、ワックス、及びレシチン）、コロイド粘土（例えば、ベントナイト［ケイ酸アルミニウム］及びＶＥＥＧＵＭ（登録商標）［ケイ酸マグネシウムアルミニウム］）、長鎖アミノ酸誘導体、高分子量アルコール（例えば、ステアリルアルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、モノステアリン酸トリアセチン、ジステアリン酸エチレングリコール、モノステアリン酸グリセリル、及びモノステアリン酸プロピレングリコール、ポリビニルアルコール）、カルボマー（例えば、カルボキシポリメチレン、ポリアクリル酸、アクリル酸ポリマー、及びカルボキシビニルポリマー）、カラギーナン、セルロース誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、粉末セルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース）、ソルビタン脂肪酸エステル（例えば、モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン［ＴＷＥＥＮ（登録商標）２０］、ポリオキシエチレンソルビタン［ＴＷＥＥＮ（登録商標）６０］、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン［ＴＷＥＥＮ（登録商標）８０］、モノパルミチン酸ソルビタン［ＳＰＡＮ（登録商標）４０］、モノステアリン酸ソルビタン［ＳＰＡＮ（登録商標）６０］、トリステアリン酸ソルビタン［ＳＰＡＮ（登録商標）６５］、モノオレイン酸グリセリル、モノオレイン酸ソルビタン［ＳＰＡＮ（登録商標）８０］）、ポリオキシエチレンエステル（例えば、モノステアリン酸ポリオキシエチレン［ＭＹＲＪ（登録商標）４５］、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリエトキシル化ヒマシ油、ステアリン酸ポリオキシメチレン、及びＳＯＬＵＴＯＬ（登録商標））、スクロース脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル（例えば、ＣＲＥＭＯＰＨＯＲ（登録商標））、ポリオキシエチレンエーテル（例えば、ポリオキシエチレンラウリルエーテル［ＢＲＩＪ（登録商標）３０］）、ポリ（ビニル－ピロリドン）、モノラウリン酸ジエチレングリコール、オレイン酸トリエタノールアミン、オレイン酸ナトリウム、オレイン酸カリウム、オレイン酸エチル、オレイン酸、ラウリン酸エチル、ラウリル硫酸ナトリウム、ＰＬＵＲＯＮＩＣ（登録商標）Ｆ　６８、ＰＯＬＯＸＡＭＥＲ（登録商標）１８８、臭化セトリモニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、ドクサートナトリウム、及び／またはこれらの組み合わせが挙げられ得るが、これらに限定されない。

【０６２４】

結合剤は、デンプン（例えば、コーンスターチ及びデンプンペースト）、ゼラチン、糖類（例えば、スクロース、グルコース、デキストロース、デキストリン、糖蜜、ラクトース、ラクチトール、マンニトール）、天然及び合成ガム（例えば、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、アイリッシュモスの抽出物、パンワーガム（ｐａｎｗａｒ　ｇｕｍ）、ガティガム、イサポールハスク（ｉｓａｐｏｌ　ｈｕｓｋ）の粘液、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、微結晶セルロース、酢酸セルロース、ポリ（ビニル－ピロリドン）、ケイ酸マグネシウムアルミニウム（ＶＥＥＧＵＭ（登録商標）、及びカラマツアラビノガラクタン）、アルギナート、ポリエチレンオキシド、ポリエチレングリコール、無機カルシウム塩、ケイ酸、ポリメタクリレート、ワックス、水、アルコール、ならびにこれらの組み合わせ、または任意の他の好適な結合剤であり得る。

【０６２５】

防腐剤の例としては、抗酸化剤、キレート剤、抗菌防腐剤、抗真菌防腐剤、アルコール防腐剤、酸性防腐剤、及び／または他の防腐剤が挙げられ得るが、これらに限定されない

。抗酸化剤の例としては、アルファトコフェロール、アスコルビン酸、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、モノチオグリセロール、メタ重亜硫酸カリウム、プロピオン酸、没食子酸プロピル、アスコルビン酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、及び／または亜硫酸ナトリウムが挙げられるが、これらに限定されない。キレート剤の例としては、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、クエン酸一水和物、エデト酸二ナトリウム、エデト酸二カリウム、エデト酸、フマル酸、リンゴ酸、リン酸、エデト酸ナトリウム、酒石酸、及び／またはエデト酸三ナトリウムが挙げられる。抗菌防腐剤の例としては、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、ベンジルアルコール、ブロノポール、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、クロルヘキシジン、クロロブタノール、クロロクレゾール、クロロキシレノール、クレゾール、エチルアルコール、グリセリン、ヘキセチジン、イミド尿素、フェノール、フェノキシエタノール、フェニルエチルアルコール、硝酸フェニル水銀、プロピレングリコール、及び／またはチメロサールが挙げられるが、これらに限定されない。抗真菌防腐剤の例としては、ブチルパラベン、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸、ヒドロキシ安息香酸、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、及び／またはソルビン酸が挙げられるが、これらに限定されない。アルコール防腐剤の例としては、エタノール、ポリエチレングリコール、ベンジルアルコール、フェノール、フェノール化合物、ビスフェノール、クロロブタノール、ヒドロキシベンゾアート、及び／またはフェニルエチルアルコールが挙げられるが、これらに限定されない。酸性防腐剤の例としては、ビタミンＡ、ビタミンＣ、ビタミンＥ、ベーターカロテン、クエン酸、酢酸、デヒドロアスコルビン酸、アスコルビン酸、ソルビン酸、及び／またはフィチン酸が挙げられるが、これらに限定されない。他の防腐剤としては、トコフェロール、酢酸トコフェロール、メシル酸デフェロキサミン、セトリミド、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、エチレンジアミン、ラウリル硫酸ナトリウム（ＳＬＳ）、ラウリルエーテル硫酸ナトリウム（ＳＬＥＳ）、亜硫酸水素ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カリウム、メタ重亜硫酸カリウム、ＧＬＹＤＡＮＴ　ＰＬＵＳ（登録商標）、ＰＨＥＮＯＮＩＰ（登録商標）、メチルパラベン、ＧＥＲＭＡＬＬ（登録商標）１１５、ＧＥＲＭＡＢＥＮ（登録商標）ＩＩ、ＮＥＯＬＯＮＥ（商標）、ＫＡＴＨＯＮ（商標）、及び／またはＥＵＸＹＬ（登録商標）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６２６】

緩衝剤の例としては、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液、塩化アンモニウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオン酸カルシウム、グルセプト酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、ｄ－グルコン酸、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、ラクトビオン酸カルシウム、プロパン酸、レブリン酸カルシウム、ペンタン酸、二塩基性リン酸カルシウム、リン酸、三塩基性リン酸カルシウム、水酸化リン酸カルシウム、酢酸カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、カリウム混合物、二塩基性リン酸カリウム、一塩基性リン酸カリウム、リン酸カリウム混合物、酢酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、二塩基性リン酸ナトリウム、一塩基性リン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム混合物、トロメタミン、アミノ－スルホン酸緩衝液（例えば、ＨＥＰＥＳ）、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルギン酸、パイロジェンフリー水、等張食塩水、リンガー液、エチルアルコール、及び／またはこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。潤滑剤は、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、シリカ、タルク、麦芽、ベヘン酸グリセリル、硬化植物油、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ラウリル硫酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、及びこれらの組み合わせからなる非限定的な群から選択され得る。

【０６２７】

油の例としては、アーモンド、アンズ核、アボカド、ババス、ベルガモット、カシス種

子、ボラージ、杜松、カモミール、カノーラ、キャラウェイ、カルナウバ、ヒマシ、シナモン、カカオバター、ココナッツ、タラ肝、コーヒー、トウモロコシ、綿実、エミュー、ユーカリ、月見草、魚、亜麻仁、ゲラニオール、ヒョウタン、グレープシード、ヘーゼルナッツ、ヒソップ、ミリスチン酸イソプロピル、ホホバ、ククイナッツ、ラバンジン、ラベンダー、レモン、アオモジ、マカデミアナッツ、ゼニアオイ、マンゴーシード、メドウフォームシード、ミンク、ナツメグ、オリーブ、オレンジ、オレンジラフィー、パーム、パーム核、トウニン、ピーナッツ、ポピーシード、パンプキンシード、ナタネ、米ぬか、ローズマリー、ベニバナ、ビャクダン、サザンカ、セイボリー、シーバックソーン、ゴマ、シアバター、シリコーン、大豆、ヒマワリ、ティーツリー、アザミ、ツバキ、ベチバー、クルミ、及び小麦胚芽油、ならびにステアリン酸ブチル、トリカプリル酸グリセリル、トリカプリン酸グリセリル、シクロメチコン、セバシン酸ジエチル、ジメチコン３６０、シメチコン、ミリスチン酸イソプロピル、鉱油、オクチルドデカノール、オレイルアルコール、シリコーン油、及び／またはこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【０６２８】

追加的及び例示的な脂質ナノ粒子及び化合物は、２０２０年９月１８日に出願された国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２０／０５１６０９号に開示されており、その内容の全体が、参照により本明細書に組み込まれる。

【０６２９】

１７．ＬＮＰ組成物の使用方法

本開示は、例えば、インビトロまたはインビボで、細胞（例えば、標的細胞）に送達され得るＬＮＰ組成物を提供する。インビトロでのタンパク質発現については、ＬＮＰ及び細胞をエクスビボでインキュベートすることによって、細胞をＬＮＰと接触させる。かかる細胞は、その後、インビボ導入され得る。インビボにおけるタンパク質発現については、ＬＮＰを対象に投与することによって細胞をＬＮＰと接触させて、それにより、対象内の細胞中または細胞上でのタンパク質発現を増加させるかまたは誘導する。例えば、１つの実施形態では、ＬＮＰは静脈内投与される。別の実施形態では、ＬＮＰは筋肉内投与される。さらに他の実施形態では、ＬＮＰは、皮下、結節内及び腫瘍内からなる群から選択される経路によって投与される。

【０６３０】

インビトロ送達については、１つの実施形態では、ＬＮＰ及び標的細胞をエクスビボでインキュベートすることによって、細胞をＬＮＰと接触させる。１つの実施形態では、細胞はヒト細胞である。様々な型の細胞でＬＮＰによるトランスフェクションが可能であることが実証されている。

【０６３１】

別の実施形態では、例えば、少なくとも３０分、少なくとも１時間、少なくとも２時間、少なくとも３時間、少なくとも４時間、少なくとも５時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、または少なくとも２４時間、細胞をＬＮＰと接触させる。

【０６３２】

１つの実施形態では、１回の処理／トランスフェクションのために細胞をＬＮＰと接触させる。別の実施形態では、複数回の処理／トランスフェクション（例えば、同じ細胞の２、３、４回またはそれを超える処理／トランスフェクション）のために、細胞をＬＮＰと接触させる。

【０６３３】

別の実施形態では、インビボ送達のために、ＬＮＰを対象に投与することによって細胞をＬＮＰと接触させて、それにより、核酸を対象内の細胞に送達する。例えば、１つの実施形態では、ＬＮＰは静脈内投与される。別の実施形態では、ＬＮＰは筋肉内投与される。さらに他の実施形態では、ＬＮＰは、皮下、結節内及び腫瘍内からなる群から選択される経路によって投与される。

【０６３４】

一態様において、本明細書では、細胞における治療ペイロードまたは予防ペイロードの発現量を増加させる方法であって、本明細書に開示されるＬＮＰ組成物を細胞に投与することを含む当該方法が提供される。

【０６３５】

関連する態様において、本明細書では、細胞における治療ペイロードまたは予防ペイロードの発現量を増加させる方法で使用するためのＬＮＰ組成物が提供される。

【０６３６】

別の態様では、本開示は、対象における治療ペイロードまたは予防ペイロードの発現量を増加させる方法であって、本明細書に開示されるＬＮＰ組成物の有効量を対象に投与することを含む当該方法を提供する。

【０６３７】

関連する態様において、本明細書では、対象における治療ペイロードまたは予防ペイロードの発現量を増加させる方法で使用するためのＬＮＰ組成物が提供される。

【０６３８】

さらに別の態様において、本明細書では、本明細書に開示されるＬＮＰ組成物を送達する方法が提供される。

【０６３９】

関連する態様において、本明細書では、細胞にＬＮＰ組成物を送達する方法で使用するためのＬＮＰ組成物が提供される。

【０６４０】

一実施形態では、当該方法または使用は、インビトロ、インビボまたはエクスビボで、細胞をＬＮＰ組成物と接触させることを含む。

【０６４１】

一実施形態では、本開示のＬＮＰ組成物を、例えば、エクスビボまたはインビボで細胞と接触させ、分泌ポリペプチド、細胞内ポリペプチドまたは膜貫通ポリペプチドを対象に送達するために使用することができる。

【０６４２】

一態様において、本開示は、本明細書に開示されるＬＮＰ組成物を、疾患または障害（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を有する対象に送達する方法を提供する。

【０６４３】

関連する態様において、本明細書では、疾患または障害（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を有する対象にＬＮＰ組成物を送達する方法で使用するためのＬＮＰ組成物が提供される。

【０６４４】

別の態様において、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に開示されるＬＮＰ組成物の有効量を投与することを含む当該方法が提供される。

【０６４５】

関連する態様において、本明細書では、対象にＬＮＰ組成物の有効量を投与することを含む、対象における免疫応答を調節する方法で使用するためのＬＮＰ組成物が提供される。

【０６４６】

別の態様において、本明細書では、分泌ポリペプチド、細胞内ポリペプチドまたは膜貫通ポリペプチドを対象に送達する方法が提供される。

【０６４７】

一態様において、本明細書では、疾患もしくは障害の処置方法、予防方法、またはその症状の予防方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に開示されるＬＮＰ組成物の有効量を投与することを含む当該方法が提供される。

【０６４８】

関連する態様において、本明細書では、対象における疾患もしくは障害の処置方法、予

防方法、またはその症状の予防方法であって、それを必要とする対象に、ＬＮＰ組成物の有効量を投与することを含む当該方法で使用するためのＬＮＰ組成物が提供される。

【０６４９】

いくつかの実施形態では、当該方法または組成物を用いることにより、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするｍＲＮＡの発現及び／またはレベルが増加する。

【０６５０】

いくつかの実施形態では、当該方法または組成物を用いることにより、治療ペイロードまたは予防ペイロードをコードするｍＲＮＡの発現及び／またはレベルが持続する。

【０６５１】

いくつかの実施形態では、当該方法または組成物を用いることにより、治療ペイロードまたは予防ペイロードの発現及び／またはレベルが増加する。

【０６５２】

いくつかの実施形態では、当該方法または組成物を用いることにより、治療ペイロードまたは予防ペイロードの発現及び／またはレベルが持続する。

【０６５３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される機能的効果のいずれか１つは、以下の細胞と比較される：

（ａ）本明細書に開示されるＬＮＰ組成物と接触していない細胞、または

（ｂ）本明細書に記載される５´ＵＴＲ、本明細書に記載される３´ＵＴＲ及び／または本明細書に記載される終止エレメントを含むコード領域を含むポリヌクレオチド、を含むＬＮＰと接触していない細胞。

【０６５４】

１８．併用療法

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される処置方法または組成物の使用は、追加の薬剤と組み合わせて本明細書に開示されるＬＮＰを投与することを含む。一実施形態では、追加の薬剤は、疾患または障害（例えば、自己免疫疾患）の標準治療である。一実施形態では、追加の薬剤は、ｍＲＮＡである。

【０６５５】

いくつかの態様において、本方法または組成物を受ける対象は、１種以上の標準治療法で処置されている。他の態様において、本方法または組成物を受ける対象は、１種以上の標準治療法または抗がん治療に反応していない。

【０６５６】

１９．医薬組成物

本開示は、本明細書に開示されるＬＮＰ組成物のいずれかを含む医薬製剤を提供する。

【０６５７】

本開示のいくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせた組成物及び複合物に製剤化される。医薬組成物は、任意に、１つ以上の追加の活性物質（例えば、治療上及び／または予防上活性な物質）を含み得る。本開示の医薬組成物は、無菌及び／またはパイロジェンフリーであり得る。薬学的薬剤の製剤化及び／または製造における一般考慮事項は、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ ２１ｓｔ ｅｄ．，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ，２００５に見出すことができる。

【０６５８】

いくつかの実施形態では、組成物は、ヒト、ヒト患者または対象に投与される。本開示の目的で、「活性成分」という語句は一般に、本明細書に記載されるように送達されるポリヌクレオチドを指す。

【０６５９】

本明細書に提供される医薬組成物の説明は、主にヒトへの投与に適した医薬組成物に向けられているが、かかる組成物は一般に、任意の他の動物（例えば、非ヒト動物、例えば

、非ヒト哺乳類）への投与に適することが当業者により理解されるであろう。様々な動物への投与に適した組成物を提供するために、ヒトへの投与に適した医薬組成物を改変することは十分に理解されており、当業者である獣医薬理学者は、通常の実験（もしあれば）を行うだけで、そのような改変を設計及び／または実施することができる。医薬組成物の投与が考えらえる対象としては、ヒト及び／または他の霊長類、哺乳類が挙げられるがこれらに限定されない。

【０６６０】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、皮下、静脈内、腹腔内、筋肉内、関節内、滑膜内、胸骨内、髄腔内、肝内、病巣内、頭蓋内、心室内、経口、吸入スプレー、肺、局所、直腸、経鼻、バッカル、経膣、または植込リザーバー、筋肉内、皮下、もしくは皮内送達用に製剤化される。他の実施形態では、ポリヌクレオチドは、皮下または静脈内送達用に製剤化される。

【０６６１】

本明細書に記載の医薬組成物の製剤は、薬理学分野で既知の、または今後開発される任意の方法によって調製することができる。概して、かかる調製方法は、活性成分を、賦形剤及び／または１つ以上の他の補助成分と会合した状態にするステップと、次いで、必要に応じて及び／または所望により、生成物を所望の単回または多回用量単位に分割、成形及び／またはパッケージングするステップとを含む。

【０６６２】

本開示による医薬組成物中の活性成分、薬学的に許容される賦形剤、及び／または任意の追加成分の相対量は、処置される対象の素性、体つき、及び／または状態に応じて、さらには組成物が投与される経路に応じて変動することになる。例として、組成物は、０．１％～１００％（例えば、０．５％～５０％、１％～３０％、５％～８０％、または少なくとも８０％）（ｗ／ｗ）の活性成分を含み得る。

【０６６３】

２０．製剤及び送達

本開示のｍＲＮＡを含むポリヌクレオチドは、１つ以上の賦形剤を用いて製剤化され得る。

【０６６４】

１つ以上の賦形剤の機能は、例えば、（１）安定性を高める、（２）細胞トランスフェクションを増加させる、（３）持続放出もしくは遅延放出させる（例えば、ポリヌクレオチドのデポー製剤から）、（４）体内分布を変化させる（例えば、特定の組織または細胞型をポリヌクレオチドの標的にする）、（５）コードされたタンパク質のインビボにおける翻訳を増加させる、及び／または（６）コードされたタンパク質のインビボにおける放出プロファイルを変化させることである。ありとあらゆる溶媒、分散媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散助剤または懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、防腐剤等の従来の賦形剤に加えて、本開示の賦形剤としては、限定されないが、リピドイド、リポソーム、脂質ナノ粒子、ポリマー、リポプレックス、コアシェル型ナノ粒子、ペプチド、タンパク質、ポリヌクレオチドをトランスフェクトした細胞（例えば、対象に移植するための細胞）、ヒアルロニダーゼ、ナノ粒子模倣物及びこれらの組み合わせが挙げられ得る。したがって、本開示の製剤は、１つ以上の賦形剤を、それぞれ合わせて、ポリヌクレオチドの安定性を高め、ポリヌクレオチドによる細胞トランスフェクションを増加させ、ポリヌクレオチドがコードするタンパク質の発現を増加させ、及び／またはポリヌクレオチドがコードするタンパク質の放出プロファイルを変化させる量で含み得る。さらに、本開示のポリヌクレオチドは、自己組織化核酸ナノ粒子を用いて製剤化され得る。

【０６６５】

本明細書に記載される医薬組成物の製剤は、薬理学分野において既知の、または今後開発される任意の方法によって調製され得る。概して、かかる調製方法は、活性成分を、賦形剤及び／または１つ以上の他の補助成分と会合させるステップを含む。

【０６６６】

本開示による医薬組成物は、単回単位用量として、及び／または複数の単回単位用量として、バルクで調製、パッケージング、及び／または販売され得る。本明細書で使用される場合、「単位用量」とは、所定量の活性成分を含む医薬組成物の個別の量を指す。活性成分の量は、概して、対象に投与されることになる活性成分の投薬量及び／またはかかる投薬量の便宜的な割合（例えば、かかる投薬量の２分の１または３分の１等）に等しい。

【０６６７】

本開示による医薬組成物中の活性成分、薬学的に許容される賦形剤、及び／または任意の追加成分の相対量は、処置される対象の素性、体つき、及び／または状態に応じて、さらには組成物が投与される経路に応じて変動し得る。例えば、組成物は、０．１％～９９％（ｗ／ｗ）の活性成分を含み得る。例として、組成物は、０．１％～１００％（例えば、０．５～５０％、１～３０％、５～８０％、少なくとも８０％）（ｗ／ｗ）の活性成分を含み得る。

【０６６８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の製剤は、少なくとも１つのポリヌクレオチドを含有する。非限定的な例として、製剤は、１、２、３、４または５つのポリヌクレオチドを含有する。

【０６６９】

本明細書で使用される場合、医薬製剤は、所望の特定の剤形に適するように、限定されないが、ありとあらゆる溶媒、分散媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散助剤または懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、防腐剤、及び同様のものを含む、薬学的に許容される賦形剤をさらに含み得る。医薬組成物を製剤化するための様々な賦形剤及び組成物を調製するための技術は、当該技術分野で既知である（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ，２１ｓｔ　Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ａ．Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ　＆　Ｗｉｌｋｉｎｓ，Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ，ＭＤ，２００６を参照のこと）。任意の従来の賦形剤媒体が、任意の望ましくない生物学的作用を生じさせること、または他の点では医薬組成物の任意の他の成分（複数可）と有害な様式で相互作用すること等により、物質またはその誘導体と不適合であり得る場合を除き、従来の賦形剤媒体の使用は、本開示の範囲内であると企図され得る。

【０６７０】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子の粒径は、増加及び／または減少する。粒径の変更により、限定されないが、炎症等の生物学的反応の抑制を促進させることができるか、または哺乳類に送達される修飾ｍＲＮＡの生物学的効果が高まり得る。

【０６７１】

医薬組成物の製造に使用される薬学的に許容される賦形剤としては、不活性希釈剤、界面活性剤及び／または乳化剤、防腐剤、緩衝剤、潤滑剤、及び／または油が挙げられるが、これらに限定されない。かかる賦形剤は、任意に、本開示の医薬製剤中に含められ得る。

【０６７２】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、コレステロール等の分子を隔離できるナノ構造体で投与されるかもしくはそれと共に投与されるか、そのナノ構造体に製剤化されるか、またはそのナノ構造体と共に送達される。こうしたナノ構造体及びこうしたナノ構造体の作製方法の非限定的な例が、米国特許公開第ＵＳ２０１３０１９５７５９号に記載されている。こうしたナノ構造体の例示的な構造は、米国特許公開第ＵＳ２０１３０１９５７５９号に示されており、その例示的な構造には、コア及びそのコアを取り囲むシェルが含まれ得る。

【０６７３】

本開示のｍＲＮＡを含むポリヌクレオチドは、当該技術分野において既知の任意の方法を用いて細胞に送達され得る。例えば、本開示のｍＲＮＡを含むポリヌクレオチドは、脂質ベースの送達（例えば、トランスフェクション）によって、またはエレクトロポレーシ

ョンによって細胞に送達され得る。
【０６７４】
２１．定義
本開示をさらに容易に理解できるようにするため、ある特定の用語を最初に定義する。本出願で使用される場合、本明細書中に別途明示的に示されている場合を除き、次の用語の各々は、以下に記載する意味を有するものとする。追加の定義が、本出願全体を通して記載される。
【０６７５】
本発明は、群のうちの正確に１つのメンバーが、所与の生成物またはプロセス中に存在する、それに用いられる、またはさもなければそれに関連する実施形態を含む。本発明は、群のメンバーのうち２つ以上、または全てが、所与の生成物またはプロセス中に存在する、それに用いられる、またはさもなければそれに関連する実施形態を含む。
【０６７６】
本明細書及び添付の特許請求の範囲では、単数形「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、その内容に別段の明確な指示がない限り、複数の指示対象を含む。用語「ａ」（または「ａｎ」）、加えて、「１つ以上の」、及び「少なくとも１つの」は、本明細書で同じ意味で用いられる場合がある。ある特定の態様では、用語「ａ」または「ａｎ」は「単一の」を意味する。他の態様では、「ａ」または「ａｎ」という用語は、「２つ以上」または「複数」を含む。
【０６７７】
さらに、本明細書で使用される場合、「及び／または」は、２つの特定の特質または成分の各々の特定の開示が、他方を伴うまたは伴わないととらえられる。したがって、本明細書において、「Ａ及び／またはＢ」などの句で使用される、「及び／または」という用語は、「Ａ及びＢ」、「ＡまたはＢ」、「Ａ」（単独）、ならびに「Ｂ」（単独）を含むことを意図する。同様に、「Ａ、Ｂ、及び／またはＣ」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、次の態様：Ａ、Ｂ、及びＣ；Ａ、Ｂ、またはＣ；ＡまたはＣ；ＡまたはＢ；ＢまたはＣ；Ａ及びＣ；Ａ及びＢ；Ｂ及びＣ；Ａ（単独）；Ｂ（単独）；ならびにＣ（単独）の各々を包含することが意図される。
【０６７８】
特に定義しない限り、本明細書で使用される、全ての技術用語及び科学用語は、本開示が関連する分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。例えば、Ｃｏｎｃｉｓｅ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ ｏｆ Ｂｉｏｍｅｄｉｃｉｎｅ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｕｏ，Ｐｅｉ－Ｓｈｏｗ，２ｎｄ ｅｄ．，２００２，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ、Ｔｈｅ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ ｏｆ Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，３ｒｄ ｅｄ．，１９９９，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ、及びＯｘｆｏｒｄ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ Ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｒｅｖｉｓｅｄ，２０００，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓは、当業者に、本開示で使用される用語の多くの一般的な辞書を提供する。
【０６７９】
態様が「含む」という言葉を用いて本明細書に記載される場合は常に、「からなる」及び／または「から本質的になる」に関して記載される他の類似の態様も提供される。
【０６８０】
単位、接頭辞、及び記号は、それらの国際単位系（ＳＩ）で承認された形式で示される。数値範囲は、その範囲を定義する数を含むものとする。数値の範囲が列挙されている場合、その範囲の列挙された上限と下限との間に介在する各整数値、及びその各分数も、そのような値間の各部分範囲と共に具体的に開示されていると理解されるべきである。任意の範囲の上限及び下限は、独立してその範囲内に含まれ得るか、またはその範囲から除外され得、いずれか一方、いずれでもない、または両方の限界値が含まれる各範囲も、本発明内に包含される。値が明示的に列挙される場合、列挙された値とほぼ同じ数量または量

の値も本発明の範囲内であると理解されるべきである。組み合わせが開示される場合、その組み合わせの要素の各部分的組み合わせも具体的に開示されていて、本発明の範囲内である。逆に、異なる要素または要素群が個別に開示される場合、その組み合わせも開示されている。ある発明のいずれかの要素が複数の選択肢を有するものとして開示される場合、各選択肢が単独で、または他の選択肢との任意の組み合わせで除外されるその発明の例も本明細書に開示され、ある発明の２つ以上の要素がそのような除外を有し得、そのような除外を有する要素の全ての組み合わせが本明細書に開示される。

【０６８１】

ヌクレオチドは、一般に認められているそれらの１文字コードで表される。別段の指示がない限り、核酸は、５′から３′の方向で左から右に記載される。核酸塩基は、本明細書ではＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｎｏｍｅｎｃｌａｔｕｒｅ　Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎによって推奨される、それらの一般に既知の１文字記号によって表される。したがって、Ａはアデニンを表し、Ｃはシトシンを表し、Ｇはグアニンを表し、Ｔはチミンを表し、Ｕはウラシルを表す。

【０６８２】

アミノ酸は、本明細書ではＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｎｏｍｅｎｃｌａｔｕｒｅ　Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎによって推奨される、それらの一般に既知の３文字記号によって、または１文字記号のいずれかによって表される。別段の指示がない限り、アミノ酸配列は、アミノからカルボキシの方向で左から右に記載される。

【０６８３】

約：「約」という用語は、本明細書及び特許請求の範囲全体を通して数値に関連して使用される場合、当業者に周知かつ許容される精度の間隔を示し、そのような精度の間隔は±１０％である。

【０６８４】

範囲が与えられている場合、端点が含まれる。さらに、別段の指示がない限り、または文脈及び当業者の理解から明らかでない限り、範囲として表される値は、本発明の種々の実施形態において記載される範囲内の任意の特定の値または部分範囲を、文脈から別途明確に規定されない限り、範囲の下限の単位の１０分の１まで想定し得る。

【０６８５】

ウリジン含有量：「ウリジン含有量」または「ウラシル含有量」という用語は互換性があり、ある特定の核酸配列に存在するウラシルまたはウリジンの量を指す。ウリジン含有量またはウラシル含有量は、絶対値（配列中のウリジンまたはウラシルの総数）または相対値（核酸配列中の核酸塩基の総数に対するウリジンまたはウラシルのパーセンテージ）として表現され得る。

【０６８６】

終止エレメント：「終止エレメント」という用語は、本明細書で使用される場合、終止コドンを含む核酸配列を指す。終止コドンは、ＤＮＡの場合にはＴＧＡ、ＴＡＡ及びＴＡＧから、またはＲＮＡの場合にはＵＧＡ、ＵＡＡ及びＵＡＧから選択され得る。一実施形態では、終止エレメントは、２つの連続した終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、３つの連続した終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、４つの連続した終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、５つの連続した終止コドンを含む。一実施形態では、終止エレメントは、１つ以上の終止コドンの上流及び／または下流に、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１または１２個のヌクレオチドをさらに含む。

【０６８７】

３′安定化領域：「３′安定化領域」という用語は、本明細書で使用される場合、安定化されるまたは安定化する領域を指す。３′安定化領域は、核酸配列の３′末端に存在し得る。一実施形態では、３′安定化領域は、ポリＡ尾部（例えば、本明細書に記載されるようなもの）を含む。一実施形態では、３′安定化領域は、代替ヌクレオシド（例えば、ｉｎｖｅｒｔｅｄチミジン）を含む。

【０６８８】
配列同一性：配列間の配列同一性の計算は、以下のように実施され得る。２つのヌクレオチド配列の同一性の割合を決定するために、配列は、最適に比較する目的でアライメントされる（例えば、最適なアライメントのために、第１及び第２のヌクレオチド配列の一方または両方にギャップが導入され得る）。いくつかの実施形態では、比較目的でアライメントされる参照配列の長さは、当該参照配列の長さの少なくとも５０％（例えば、少なくとも６０％、７０％、８０％、９０％、または１００％）である。対応するヌクレオチド位置のヌクレオチドが比較される。第１の配列のある位置が、第２の配列の対応する位置にあるヌクレオチドと同じヌクレオチドによって占められている場合、それらの分子はその位置において同一である。２つの配列間の同一性の割合は、２つの配列の最適なアライメントのために導入される必要があるギャップの数、及び各ギャップの長さを考慮に入れた、配列同士で共有される同一位置の数の関数である。同一性の割合は、通常、アライメントの全長に対する、一致する残基数の比率を指す。配列の比較及び２つの配列間における同一性の割合の決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成され得る。いくつかの実施形態では、２つのヌクレオチド配列間の同一性の割合は、ペアワイズ配列アライメントプログラムまたはマルチプル配列アライメントプログラムを使用して決定される。例示的な配列アライメントプログラムとしては、限定されないが、ｌａｌｉｇｎプログラム（ｅｍｂｎｅｔ．ｖｉｔａｌ－ｉｔ．ｃｈ；Ｈｕａｎｇ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒ，（１９９１）Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．１２：３３７－３５７）、Ｃｌｕｓｔａｌ Ｏｍｅｇａプログラム（ｗｗｗ．ｅｂｉ．ａｃ．ｕｋ；Ｓｉｅｖｅｒｓ ｅｔ ａｌ．（２０１１）Ｍｏｌ．Ｓｙｓｔ．Ｂｉｏｌ．７：５３９）が挙げられる。いくつかの実施形態では、プログラムのデフォルトパラメータが使用される。本明細書に記載されるヌクレオチド配列は、例えば、他のファミリーメンバーまたは関連配列を同定するために、公的データベースに対して検索を行うための「クエリー配列」として使用され得る。このような検索は、ＢＬＡＳＴ（登録商標）プログラム（ｂｌａｓｔ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｈｉ．ｇｏｖ；Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ ａｌ．（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－１０）を用いて実施され得る。例えば、ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索は、ｂｌａｓｔｎプログラムで実施して、本明細書に記載されるヌクレオチド配列と同一または類似のヌクレオチド配列を取得することができる。いくつかの実施形態では、プログラムのデフォルトパラメータが使用される。

【０６８９】
代替ヌクレオシド：ヌクレオチド、ヌクレオシド、またはポリヌクレオチド（本発明のポリヌクレオチド等、例えば、ｍＲＮＡ分子）に関して、「代替ヌクレオシド」という用語は、本明細書で使用される場合、Ａ、Ｇ、ＵまたはＣリボヌクレオチドに対しての変更を指す。一般に、本明細書においては、こうした用語が、天然に存在する５′末端ｍＲＮＡキャップ部分におけるリボヌクレオチドの変更を指すとは意図されない。変更は、様々な異なる変更であり得る。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドがｍＲＮＡである場合、コード領域、隣接領域、及び／または末端領域（例えば、３′安定化領域）は、１個、２個、またはそれを超えるヌクレオシドまたはヌクレオチドの変更（任意に異なる）を含有することがある。いくつかの実施形態では、細胞に導入された代替ポリヌクレオチドは、変更されていないポリヌクレオチドと比較して、細胞内での分解が低減されることを示し得る。

【０６９０】
投与：本明細書で使用される場合、「投与」は、対象または患者に組成物を送達する方法を指す。投与方法は、身体の特定の領域または系に送達を標的化する（例えば、特異的に送達する）ように選択され得る。例えば、投与は、非経口（例えば、皮下、皮内、静脈内、腹腔内、筋肉内、関節内、動脈内、関節滑液嚢内、胸骨内、髄腔内、病巣内、もしくは頭蓋内注射、ならびに任意の好適な注入技法）、経口、経皮または皮内、皮間、直腸、膣内、局所（例えば、粉末、軟膏、クリーム、ゲル、ローション、及び／または液滴による）、粘膜、鼻腔、頬側、経腸、硝子体、腫瘍内、舌下、鼻腔内；気管内注入、気管支注

入、及び／または吸入による；口腔スプレー及び／または粉末、鼻腔スプレー、及び／またはエアロゾルとして、及び／または門脈カテーテルを介するものであってもよい。好ましい投与手段は、静脈内または皮下である。

【０６９１】

抗体分子：１つの実施形態では、抗体分子は、所望の細胞型を標的とするために使用され得る。本明細書で使用される場合、「抗体分子」は、天然に存在する抗体、操作された抗体、またはその断片（例えば、天然に存在する抗体または操作された抗体の抗原結合部分）を指す。抗体分子としては、例えば、抗体またはその抗原結合断片（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ´、Ｆ（ａｂ´）２、Ｆｖ断片、ｓｃＦｖ抗体断片、ジスルフィド連結Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、ＶＨ及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、線状抗体、ｓｄＡｂ等の単一ドメイン抗体（ＶＬまたはＶＨのいずれか）、ナノボディ、またはラクダ科ＶＨＨドメイン）、フィブロネクチンポリペプチドミニボディ等の抗原結合フィブロネクチンＩＩＩ型（Ｆｎ３）スキャフォールド、リガンド、サイトカイン、ケモカイン、またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を挙げることができる。例示的な抗体分子としては、限定されないが、ヒト化抗体分子、インタクトなＩｇＡ、ＩｇＧ、ＩｇＥまたはＩｇＭ抗体、二重または多重特異性抗体（例えば、Ｚｙｂｏｄｉｅｓ（登録商標）等）、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ´断片、Ｆ（ａｂ´）２断片、Ｆｄ´断片、Ｆｄ断片、及び単離されたＣＤＲまたはそのセット等の抗体断片、一本鎖Ｆｖ、ポリペプチド－Ｆｃ融合物、単一ドメイン抗体（例えば、ＩｇＮＡＲ等のサメ単一ドメイン抗体またはその断片）、ラクダ科抗体、マスクした抗体（例えば、Ｐｒｏｂｏｄｙ（登録商標））、Ｓｍａｌｌ Ｍｏｄｕｌａｒ ＩｍｍｕｎｏＰｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ（「ＳＭＩＰ（商標）」）、単鎖またはタンデムダイアボディ（ＴａｎｄＡｂ（登録商標））、ＶＨＨ、Ａｎｔｉｃａｌｉｎ（登録商標）、Ｎａｎｏｂｏｄｙ（登録商標）、ミニボディ、ＢｉＴＥ（登録商標）、アンキリンリピートタンパク質またはＤＡＲＰＩＮ（登録商標）、Ａｖｉｍｅｒ（登録商標）、ＤＡＲＴ、ＴＣＲ様抗体、Ａｄｎｅｃｔｉｎ（登録商標）、Ａｆｆｉｌｉｎ（登録商標）、Ｔｒａｎｓ－ｂｏｄｙ（登録商標）、Ａｆｆｉｂｏｄｙ（登録商標）、ＴｒｉｍｅｒＸ（登録商標）、ＭｉｃｒｏＰｒｏｔｅｉｎ、Ｆｙｎｏｍｅｒ（登録商標）、Ｃｅｎｔｙｒｉｎ（登録商標）、及びＫＡＬＢＩＴＯＲ（登録商標）が挙げられる。

【０６９２】

接触：本明細書で使用される場合、「接触」という用語は、２つ以上の実体間の物理的接続を確立することを意味する。例えば、細胞をｍＲＮＡまたは脂質ナノ粒子組成物と接触させることは、細胞とｍＲＮＡまたは脂質ナノ粒子とに物理的接続を共有させることを意味する。インビボ、インビトロ、及びエクスビボのいずれにおいても、細胞を外部実体に接触させる方法は、生物学分野で周知である。本開示の例示的な実施形態では、哺乳類細胞を組成物（例えば、本開示のナノ粒子、または医薬組成物）と接触させるステップは、インビボで行われる。例えば、脂質ナノ粒子組成物と、生物（例えば、哺乳類）内で処置され得る細胞（例えば、哺乳類細胞）との接触は、任意の好適な投与経路（例えば、静脈内、筋肉内、皮内、及び皮下投与を含む、生物への非経口投与）によって行われ得る。インビトロにおいて存在する細胞については、組成物（例えば、脂質ナノ粒子）及び細胞は、例えば、組成物を細胞の培養培地に添加することによって接触させられ得、トランスフェクションが伴うか、またはトランスフェクションをもたらし得る。さらに、２つ以上の細胞が、ナノ粒子組成物と接触させられることがある。

【０６９３】

送達：本明細書で使用される場合、「送達」という用語は、実体を送り先に提供することを意味する。例えば、治療薬及び／または予防薬の対象への送達は、治療薬及び／または予防薬を含むＬＮＰを対象に（例えば、静脈内、筋肉内、皮内、肺または皮下経路によって）投与することを含み得る。哺乳類または哺乳類細胞へのＬＮＰの投与は、１つ以上の細胞を脂質ナノ粒子と接触させることを含み得る。

【０６９４】

有効量：本明細書で使用される場合、薬剤の「有効量」という用語は、有益なまたは所

望の結果（例えば、臨床結果）をもたらすのに十分な量であり、そのため、「有効量」は、それが適用される状況に依存する。例えば、本開示の脂質組成物（例えば、ＬＮＰ）における標的細胞送達増強脂質の量の文脈において、標的細胞送達増強脂質の有効量は、標的細胞送達増強脂質を欠く脂質組成物（例えば、ＬＮＰ）と比較して有益なまたは所望の結果をもたらすのに十分な量である。脂質組成物（例えば、ＬＮＰ）によって達成される有益なまたは所望の結果の非限定的な例としては、トランスフェクトされた細胞のパーセンテージの増加、及び／または脂質組成物（例えば、ＬＮＰ）に会合した／それによりカプセル封入された核酸によってコードされるタンパク質の発現レベルの増加が挙げられる。対象において有効量の脂質ナノ粒子が標的細胞によって取り込まれるように、標的細胞送達増強脂質を含有する脂質ナノ粒子を投与することの文脈において、標的細胞送達増強脂質を含有するＬＮＰの有効量は、標的細胞送達増強脂質を欠いたＬＮＰと比較して有益なまたは所望の結果を達成するのに十分な量である。対象における有益なまたは所望の結果の非限定的な例としては、標的細胞送達増強脂質を欠いたＬＮＰと比較した、トランスフェクトされた細胞のパーセンテージの増加、標的細胞送達増強脂質を含有するＬＮＰに会合した／それによりカプセル封入された核酸によってコードされたタンパク質の発現レベルの増加及び／または標的細胞送達増強脂質を含有するＬＮＰに会合した／それによりカプセル封入された核酸、またはそのコードされたタンパク質のインビボでの予防効果もしくは治療効果の増加が挙げられる。いくつかの実施形態では、治療有効量の標的細胞送達増強脂質を含有するＬＮＰは、感染、疾患、障害、及び／または病状に罹患しているかまたは罹患しやすい対象に投与される際、感染、疾患、障害、及び／または病状の症状を処置する、改善する、それらを診断する、予防する、及び／またはそれらの発症を遅延させるのに十分である。別の実施形態では、有効量の脂質ナノ粒子は、標的細胞の少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％以上における所望のタンパク質の発現をもたらすのに十分である。例えば、標的細胞送達増強脂質を含有するＬＮＰの有効量は、単回静脈内注射後に、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、または３５％の標的細胞のトランスフェクションをもたらす量であり得る。

【０６９５】

発現：本明細書で使用される場合、核酸配列の「発現」は、以下の事象のうちの１つ以上を指す：（１）ＤＮＡ配列からのＲＮＡ鋳型の産生（例えば、転写による）、（２）ＲＮＡ転写物のプロセシング（例えば、スプライシング、編集、５´キャップ形成、及び／または３´末端プロセシングによる）、（３）ＲＮＡのポリペプチドまたはタンパク質への翻訳、及び（４）ポリペプチドまたはタンパク質の翻訳後修飾。

【０６９６】

エクスビボ：本明細書で使用される場合、「エクスビボ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、もしくは微生物またはその細胞もしくは組織）の外で生じる事象を指す。エクスビボ事象は、天然（例えば、インビボ）環境から最小限に変化した環境で起こり得る。

【０６９７】

断片：本明細書で使用される場合、「断片」は、一部分を指す。例えば、タンパク質の断片は、培養細胞から単離された完全長タンパク質を消化することによって得られる、または組換えＤＮＡ技法により得られるポリペプチドを含んでもよい。タンパク質の断片は、例えば、そのタンパク質の断片が当該タンパク質の機能活性を保持するように１つ以上の機能的ドメインを含む、タンパク質の一部分であり得る。

【０６９８】

異種：本明細書で使用される場合、「非相同」は、ある配列（例えば、アミノ酸配列またはアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド）が、通常は、所与のポリペプチドまたはポリヌクレオチド内に存在しないことを指し示す。例えば、一方のタンパク質のドメインまたはモチーフに対応するアミノ酸配列は、第２のタンパク質に対して異種であり得る。

【０６９９】

単離された：本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、（天然においてか実験環境においてかにかかわらず）ある物質または実体が、会合していた成分の少なくとも一部から分離されていることを指す。単離された物質は、それらが会合していた物質を基準として、様々なレベルの純度を有し得る。単離された物質及び／または実体は、それらが最初に会合していた他の成分の少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、または約９０％以上から分離され得る。いくつかの実施形態では、単離された薬剤は、約８０％超、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または約９９％超純粋である。本明細書で使用される場合、物質は、他の成分を実質的に含まない場合、「純粋」である。

【０７００】

コザック配列：「コザック配列」という用語（「コザックコンセンサス配列」とも称される）は、遺伝子またはオープンリーディングフレームの発現を増強させる翻訳開始エンハンサーエレメントを指し、真核生物では、５´ＵＴＲに位置する。コザックコンセンサス配列は、プレプロインスリン遺伝子の翻訳に対する開始コドン（ＡＵＧ）周囲の単一変異の効果分析後に、配列ＧＣＣＲＣＣ（配列番号４３）（Ｒ＝プリン）として最初に定義された（Ｋｏｚａｋ（１９８６）Ｃｅｌｌ　４４：２８３－２９２）。本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、コザックコンセンサス配列、またはその誘導体もしくは改変体を含む。（翻訳エンハンサー組成物及びその使用方法の例については、参照により全体として本明細書に組み込まれるＡｎｄｒｅｗｓ　ｅｔ　ａｌ．の米国特許第５，８０７，７０７号、参照により全体として本明細書に組み込まれるＣｈｅｒｎａｊｏｖｓｋｙの米国特許第５，７２３，３３２号、参照により全体として本明細書に組み込まれるＷｉｌｓｏｎの米国特許第５，８９１，６６５号を参照のこと）。

【０７０１】

リポソーム：本明細書で使用される場合、「リポソーム」は、水性の内部を囲う脂質含有膜を含む構造を意味する。リポソームは、１つ以上の脂質膜を有し得る。リポソームとしては、単層（ｓｉｎｇｌｅ－ｌａｙｅｒｅｄ）リポソーム（当該技術分野において単層（ｕｎｉｌａｍｅｌｌａｒ）リポソームとしても知られている）及び多層（ｍｕｌｔｉ－ｌａｙｅｒｅｄ）リポソーム（当該技術分野において多層（ｍｕｌｔｉｌａｍｅｌｌａｒ）リポソームとしても知られている）が挙げられる。

【０７０２】

修飾される：本明細書で使用される場合、「修飾される」は、本開示の分子の状態変化または構造変化（例えば、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）の組成または構造の変化）を指す。分子（例えば、ポリヌクレオチド）は、例えば、化学的方法、構造的方法、及び／または機能的方法を含む様々な方法で修飾され得る。例えば、分子（例えば、ポリヌクレオチド）は、１つ以上のＲＮＡエレメントの組み込みによって構造的に修飾され得、ここで、ＲＮＡエレメントは、１つ以上の機能（例えば、翻訳調節活性）を提供する配列及び／またはＲＮＡ二次構造（複数可）を含む。したがって、本開示の分子（例えば、ポリヌクレオチド）は、１つ以上の修飾で構成され得る（例えば、１つ以上の化学的、構造的、または機能的修飾（これらの任意の組み合わせを含む）を含み得る）。１つの実施形態では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ分子）は、例えば、天然のリボヌクレオチドＡ、Ｕ、Ｇ、及びＣと順応するように、非天然のヌクレオシド及び／またはヌクレオチドの導入によって修飾される。キャップ構造等の非標準ヌクレオチドは、Ａ、Ｃ、Ｇ、Ｕリボヌクレオチドの化学構造とは異なるが、「修飾される」とはみなされない。

【０７０３】

ｍＲＮＡ：本明細書で使用される場合、「ｍＲＮＡ」は、メッセンジャーリボ核酸を指す。ｍＲＮＡは、天然に存在するものであっても天然に存在しないものであってもよい。例えば、ｍＲＮＡは、１つ以上の核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはリンカー等の修飾及び／または天然に存在しない構成要素を含み得る。ｍＲＮＡは、キャップ構

造、鎖終結ヌクレオシド、ステムループ、ポリＡ配列、及び／またはポリアデニル化シグナルを含み得る。ｍＲＮＡは、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を有し得る。ｍＲＮＡが翻訳されると、例えば、インビボにおいてｍＲＮＡが哺乳類細胞内で翻訳されると、ポリペプチドが産生され得る。従来、ｍＲＮＡ分子の基本構成要素には、少なくとも１つのコード領域、５′非翻訳領域（５′ＵＴＲ）、３′ＵＴＲ、５′キャップ、及びポリＡ配列が含まれる。一実施形態では、ｍＲＮＡは、環状ｍＲＮＡである。

【０７０４】

ナノ粒子：本明細書で使用される場合、「ナノ粒子」は、同じ材料のバルク試料と比較して新規の特性を示す、約１０００ｎｍ未満のスケールで任意の１つの構造的特徴を有する粒子を指す。通例では、ナノ粒子は、約５００ｎｍ未満、約２００ｎｍ未満、または約１００ｎｍのスケールで任意の１つの構造的特徴を有する。同じく通例では、ナノ粒子は、約５０ｎｍ～約５００ｎｍ、約５０ｎｍ～約２００ｎｍまたは約７０～約１２０ｎｍのスケールで任意の１つの構造的特徴を有する。例示的な実施形態では、ナノ粒子は、約１～１０００ｎｍオーダーの１つ以上の寸法を有する粒子である。他の例示的な実施形態では、ナノ粒子は、約１０～５００ｎｍオーダーの１つ以上の寸法を有する粒子である。他の例示的な実施形態では、ナノ粒子は、約５０～２００ｎｍオーダーの１つ以上の寸法を有する粒子である。球状ナノ粒子であれば、例えば、約５０～１００または７０～１２０ナノメートルの直径を有することになる。ナノ粒子は、多くの場合、その輸送及び特性の点で、一単位としてふるまう。ナノ粒子を対応するバルク材料と区別する新規の特性は、典型的には、１０００ｎｍ未満のサイズスケールまたは約１００ｎｍのサイズで現れるが、例えば、楕円形、管状等である粒子については、ナノ粒子のサイズが、より大きくなり得ることに留意されたい。ほとんどの分子のサイズが上記の概説に当てはまることになるが、個々の分子は通常、ナノ粒子とは呼ばれない。

【０７０５】

核酸：本明細書で使用される場合、「核酸」という用語は、その最も広い意味で使用され、ヌクレオチドのポリマーを含む任意の化合物及び／または物質を包含する。こうしたポリマーは、ポリヌクレオチドと称される場合が多い。本開示の例示的な核酸またはポリヌクレオチドとしては、限定されないが、リボ核酸（ＲＮＡ）、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）、ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッド、ＲＮＡｉ誘導剤、ＲＮＡｉ剤、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、アンチセンスＲＮＡ、リボザイム、触媒ＤＮＡ、三重らせん形成を誘導するＲＮＡ、トレオース核酸（ＴＮＡ）、グリコール核酸（ＧＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、ロックド核酸（β－Ｄ－リボ立体配置を有するＬＮＡ、α－Ｌ－リボ立体配置を有するα－ＬＮＡ（ＬＮＡのジアステレオマー）、２′－アミノ官能基化２′－アミノ－ＬＮＡ、及び２′－アミノ官能基化２′－アミノ－α－ＬＮＡを含む、ＬＮＡ）またはこれらのハイブリッドが挙げられる。

【０７０６】

核酸塩基：本明細書で使用される場合、「核酸塩基」（あるいは「ヌクレオチド塩基」または「窒素塩基」）という用語は、核酸に見られるプリンまたはピリミジン複素環式化合物を指し、核酸またはその一部分もしくはセグメントに改善された特性（例えば、結合親和性、ヌクレアーゼ抵抗性、化学的安定性）を付与する、天然に存在するプリン及びピリミジンの任意の誘導体または類似体を含む。アデニン、シトシン、グアニン、チミン、及びウラシルは、主に天然の核酸に見られる核酸塩基である。他の天然、非天然、及び／または合成核酸塩基は、当該技術分野において既知の通り、及び／または本明細書に記載される通り、核酸中に組み込まれ得る。別段の指定がない限り、本明細書に記載される配列番号の核酸塩基配列は、天然核酸塩基及び化学修飾核酸塩基の両方を包含する（例えば、配列番号の「Ｕ」表記は、ウラシル及び化学修飾ウラシルの両方を包含する）。

【０７０７】

ヌクレオシド／ヌクレオチド：本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド」という用語は、核酸塩基（例えば、プリンまたはピリミジン）またはその誘導体もしくは類似体（同じく本明細書では「核酸塩基」と称される）に共有結合性に連結した糖分子（例えば、

ＲＮＡ中のリボースまたはＤＮＡ中のデオキシリボース）、またはその誘導体もしくは類似体を含有するが、ヌクレオシド間連結基（例えば、リン酸基）を欠く化合物を指す。本明細書で使用される場合、「ヌクレオチド」という用語は、核酸またはその一部分もしくはセグメントに改善された化学特性及び／または機能的特性（例えば、結合親和性、ヌクレアーゼ耐性、化学的安定性）を付与する、ヌクレオシド間連結基（例えば、リン酸基）に共有結合されたヌクレオシド、またはその任意の誘導体、類似体、もしくは修飾体を指す。

【０７０８】

オープンリーディングフレーム：本明細書で使用される場合、「オープンリーディングフレーム」（「ＯＲＦ」と略称される）という用語は、ポリペプチドをコードするｍＲＮＡ分子のセグメントまたは領域を指す。ＯＲＦは、開始コドンから始まり、終止コドンで終わる、重複しないインフレームコドンの連続した連なりを含み、リボソームによって翻訳される。

【０７０９】

患者：本明細書で使用される場合、「患者」は、処置を求めるかもしくは処置を必要とする可能性がある対象、処置を要求する対象、処置を受けている対象、処置を受けようとする対象、または特定の疾患もしくは病状に対して訓練を受けた専門家による治療を受けている対象を指す。特定の実施形態では、患者は、ヒト患者である。いくつかの実施形態では、患者は、例えば、本明細書に記載されるような自己免疫疾患を患っている患者である。

【０７１０】

薬学的に許容される：「薬学的に許容される」という語句は、本明細書において、賢明な医療判断の範囲内で、合理的なベネフィット／リスク比に見合って、過度の毒性、刺激、アレルギー応答、または他の問題もしくは合併症を伴わずにヒト及び動物の組織と接触して使用するのに好適な、化合物、材料、組成物、及び／または剤形を指して用いられる。

【０７１１】

薬学的に許容される賦形剤：「薬学的に許容される賦形剤」という語句は、本明細書で使用される場合、本明細書に記載される化合物以外の任意の成分（例えば、活性化合物を懸濁または溶解させることが可能なビヒクル）であり、患者において実質的に非毒性かつ非炎症性であるという特性を有するものを指す。賦形剤としては、例えば、付着防止剤、酸化防止剤、結合剤、コーティング剤、圧縮助剤、崩壊剤、染料（着色剤）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、皮膜形成剤またはコーティング剤、香味剤、香料、流動促進剤（流動増強剤）、潤滑剤、防腐剤、印刷インク、吸着剤、懸濁化剤または分散剤、甘味剤、及び水和水が挙げられ得る。例示的な賦形剤としては、限定されないが、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム（二塩基性）、ステアリン酸カルシウム、クロスカルメロース、架橋ポリビニルピロリドン、クエン酸、クロスポビドン、システイン、エチルセルロース、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、マルチトール、マンニトール、メチオニン、メチルセルロース、メチルパラベン、微結晶セルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポビドン、アルファ化デンプン、プロピルパラベン、レチニルパルミテート、シェラック、二酸化ケイ素、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、クエン酸ナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、ソルビトール、デンプン（トウモロコシ）、ステアリン酸、スクロース、タルク、二酸化チタン、ビタミンＡ、ビタミンＥ、ビタミンＣ、及びキシリトールが挙げられる。

【０７１２】

薬学的に許容される塩：本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」は、既存の酸または塩基部分をその塩形態に変換することによって（例えば、遊離塩基基を適切な有機酸と反応させることによって）親化合物が修飾される、開示される化合物の誘導体を指す。薬学的に許容される塩の例としては、アミン等の塩基性残基の無機または有機酸

塩、カルボン酸等の酸性残基のアルカリまたは有機塩、及び同様のものが挙げられるが、これらに限定されない。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、酢酸、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどに加えて、非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミンカチオン、例えば、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどを含むが、これらに限定されないものが挙げられる。本開示の薬学的に許容される塩には、例えば、非毒性の無機または有機酸から形成される、親化合物の通常の非毒性塩が含まれる。本開示の薬学的に許容される塩は、従来の化学的方法によって、塩基性または酸性部分を含有する親化合物から合成され得る。一般に、そのような塩は、こうした化合物の遊離酸または遊離塩基形態を、水中もしくは有機溶媒中、またはその２つの混合物中で（一般に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水性媒体が好ましい）、化学量論量の適切な塩基または酸と反応させることによって調製され得る。適切な塩のリストは、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ´ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１７ｔｈ ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．，１９８５，ｐ．１４１８、Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓａｌｔｓ：Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ，ａｎｄ Ｕｓｅ，Ｐ．Ｈ．Ｓｔａｈｌ ａｎｄ Ｃ．Ｇ．Ｗｅｒｍｕｔｈ（ｅｄｓ．），Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ，２００８、及びＢｅｒｇｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ，６６，１－１９（１９７７）に見出され、それらの各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０７１３】

ポリペプチド：本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」または「目的のポリペプチド」という用語は、天然に（例えば、単離または精製され）または合成的にもたらされ得る、典型的にペプチド結合によって接続された、アミノ酸残基のポリマーを指す。

【０７１４】

ＲＮＡ：本明細書で使用される場合、「ＲＮＡ」は、天然に存在し得る、または天然に存在し得ないリボ核酸を指す。例えば、ＲＮＡは、１つ以上の核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはリンカー等の修飾及び／または天然に存在しない構成要素を含み得る。ＲＮＡは、キャップ構造、鎖終結ヌクレオシド、ステムループ、ポリＡ配列、及び／またはポリアデニル化シグナルを含み得る。ＲＮＡは、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を有し得る。例えば、ＲＮＡはメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）であり得る。特定のポリペプチドをコードするｍＲＮＡが翻訳されると、例えば、インビボにおいてｍＲＮＡが哺乳類細胞内で翻訳されると、コードされたポリペプチドが産生され得る。ＲＮＡは、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、非対称干渉ＲＮＡ（ａｉＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ダイサー基質ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、低分子ヘアピン型ＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、ｍＲＮＡ、長鎖ノンコーディングＲＮＡ（ｌｎｃＲＮＡ）、及びこれらの混合物からなる非限定的な群から選択され得る。

【０７１５】

ＲＮＡエレメント：本明細書で使用される場合、「ＲＮＡエレメント」という用語は、生物学的機能を提供する、及び／または生物学的活性（例えば、翻訳調節活性）を有する、ＲＮＡ分子の一部分、断片、またはセグメントを指す。本明細書に記載されるもの等の１つ以上のＲＮＡエレメントを組み込むことによってポリヌクレオチドを修飾すると、１つ以上の望ましい機能的特性が、修飾されたポリヌクレオチドにもたらされる。本明細書に記載されるＲＮＡエレメントは、天然に存在するもの、天然に存在しないもの、合成のもの、操作されたもの、またはこれらの任意の組み合わせであり得る。例えば、天然に存在する、調節活性を提供するＲＮＡエレメントには、ウイルス、原核生物及び真核生物（例えば、ヒト）のトランスクリプトーム全体に見られるエレメントが含まれる。特定の真核生物のｍＲＮＡ及び翻訳されるウイルスＲＮＡにおけるＲＮＡエレメントは、細胞における多くの機能の媒介に関与することが示されている。例示的な天然のＲＮＡエレメントとしては、限定されないが、翻訳開始エレメント（例えば、配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）、Ｋｉｅｆｔ ｅｔ ａｌ．，（２００１）ＲＮＡ ７（２）：１９４－２０６を参照のこと）、翻訳エンハンサーエレメント（例えば、ＡＰＰ ｍＲＮＡ翻訳エンハンサーエレメント、Ｒｏｇｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７４（１０）：６４２１－６４３１を参照のこと）、ｍＲＮＡ安定性エレメント（例えば、ＡＵリッチエレメント（ＡＲＥ）、Ｇａｒｎｅａｕ ｅｔ ａｌ．，（２００７）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ ８（２）：１１３－１２６を参照のこと）、翻訳抑制エレメント（例えば、Ｂｌｕｍｅｒ ｅｔ ａｌ．，（２００２）Ｍｅｃｈ Ｄｅｖ １１０（１－２）：９７－１１２を参照のこと）、タンパク質結合ＲＮＡエレメント（例えば、鉄応答性エレメント、Ｓｅｌｅｚｎｅｖａ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ４２５（１８）：３３０１－３３１０を参照のこと）、細胞質ポリアデニル化エレメント（Ｖｉｌｌａｌｂａ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｇｅｎｅｔ Ｄｅｖ ２１（４）：４５２－４５７）、及び触媒ＲＮＡエレメント（例えば、リボザイム、Ｓｃｏｔｔ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｂｉｏｃｈｉｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ａｃｔａ １７８９（９－１０）：６３４－６４１を参照のこと）が挙げられる。

【０７１６】

実質的に：本明細書で使用される場合、「実質的に」という用語は、目的とする特徴または特性を、完全もしくはほぼ完全な範囲または程度で示す定性的状態を指す。生物学分野の当業者は、生物学的及び化学的現象が、完了に至る、及び／または完全な状態まで進行する、あるいは絶対的な結果を達成または回避することが、あったとしても稀であることを理解するであろう。したがって、「実質的に」という用語は、多くの生物学的及び化学的現象に内在する完全性の潜在的な欠如を表現するために本明細書で使用される。

【０７１７】

患う：疾患、障害、及び／または病状を「患う」個体は、疾患、障害、及び／または病状のうちの１つ以上の症状があると診断されているか、またはそれを呈する。

【０７１８】

治療薬：「治療薬」という用語は、対象に投与された場合、治療的、診断的、及び／または予防的効果を有する、及び／または所望の生物学的及び／または薬理学的効果を誘発する、任意の薬剤を指す。いくつかの実施形態では、治療薬は、治療ペイロードを含むか、または治療ペイロードである。いくつかの実施形態では、治療薬は、低分子もしくは生物学的製剤（例えば、抗体分子）を含むか、または低分子もしくは生物学的物質である。

【０７１９】

トランスフェクション：本明細書で使用される場合、「トランスフェクション」という用語は、種（例えば、ｍＲＮＡ等のポリヌクレオチド）を細胞に導入する方法を指す。

【０７２０】

翻訳調節活性：本明細書で使用される場合、「翻訳調節活性」（「翻訳調節機能」と互換的に使用される）という用語は、翻訳装置の活性を調整する（例えば、調節する、影響を与える、制御する、変える）生物学的な機能、機構、またはプロセスを指し、ＰＩＣ及

び／またはリボソームの活性が含まれる。いくつかの態様では、所望の翻訳調節活性は、ｍＲＮＡ翻訳の翻訳忠実度を促進及び／または増強する。いくつかの態様では、所望の翻訳調節活性は、リーキースキャニングを低減させる及び／または阻害する。

【０７２１】

対象：本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、例えば、実験、診断、予防、及び／または治療目的で、本開示による組成物が投与され得る任意の生物を指す。典型的な対象としては、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒト等の哺乳類）及び／または植物が挙げられる。いくつかの実施形態では、対象は、患者であり得る。

【０７２２】

処置すること：本明細書で使用される場合、「処置すること」という用語は、特定の感染症、疾患、障害、及び／または病状のうちの１つ以上の症状または特徴を、部分的もしくは完全に、軽減させる、寛解させる、改善させる、緩和させる、その発症を遅延させる、その進行を阻害する、その重症度を低減させる、及び／またはその発生率を低下させることを指す。例えば、がんを「処置すること」は、腫瘍の生存、増殖、及び／または拡散を阻害することを指し得る。処置は、疾患、障害、及び／または病状に関連する病理の発症リスクを減少させる目的で、疾患、障害、及び／または病状の兆候を呈さない対象に、及び／または疾患、障害、及び／または病状の初期兆候のみを呈する対象に施され得る。

【０７２３】

予防すること：本明細書で使用される場合、「予防すること」という用語は、特定の感染症、疾患、障害、及び／または病状のうちの１つ以上の症状または特徴の発症を、部分的または完全に阻害することを指す。

【０７２４】

未修飾：本明細書で使用される場合、「未修飾」は、任意の方法で変化させられる前の任意の物質、化合物、または分子を指す。未修飾は、生体分子の野生型または天然型を指すことがあるが、必ずしもそうではない。分子は、修飾される分子それぞれが後続の修飾のための「未修飾」開始分子として働き得る、一連の修飾を受け得る。

【０７２５】

バリアント：本明細書で使用される場合、「バリアント」という用語は、例えば、当該技術分野で認識されるアッセイによって測定したとき、野生型分子の活性、または野生型分子に対する構造類似性を、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％有する分子を指す。

【０７２６】

２２．均等物及び範囲

当業者は、単に通常の実験を用いるだけで、本明細書に記載された本開示による具体的な実施形態に対する多数の均等物を認識するか、または確認できるであろう。本開示の範囲は、以下の記載に限定されることを意図するものではなく、添付の特許請求の範囲に記載される通りである。

【０７２７】

特許請求の範囲において、「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」等の冠詞は、反する指示がない限り、それ以外では、文脈から明らかでない限り、１つ以上を意味し得る。群のうちの１つ以上の構成要素間に「または」を含む請求項または説明は、反する指示がない限り、それ以外では、文脈から明らかでない限り、群の構成要素のうちの１つ、２つ以上、または全てが、所与の生成物またはプロセスにおいて存在するか、利用されるか、または他の点で関連する場合に、当てはまるとみなされる。本開示には、群のうちの厳密に１つの構成要素が、所与の生成物またはプロセスにおいて存在するか、利用されるか、または他の点で関連する実施形態が含まれる。本開示には、群の構成要素のうちの２つ以上、または全てが、所与の生成物またはプロセスにおいて存在するか、利用されるか、または他の点で関連する実施形態が含まれる。

【０７２８】

「含む」という用語は、開放型であることが意図され、追加の要素またはステップの包摂を許容するが、それを要求するものではないことにも留意されたい。したがって、本明細書で「含む」という用語が使用される場合、「からなる」という用語も包含され、開示される。

【０７２９】

範囲が与えられている場合、端点が含まれる。さらに、別段の指示がない限り、または文脈及び当業者の理解から明らかでない限り、範囲として表される値は、本開示の種々の実施形態において記載される範囲内の任意の特定の値または部分範囲を、文脈から別途明確に規定されない限り、範囲の下限の単位の１０分の１まで想定し得ると理解されるべきである。

【０７３０】

たとえ引用の際に明示的に記載されていないとしても、本明細書で引用されている全ての引用元（例えば、参考文献、刊行物、データベース、データベースエントリ、及び技術）は、参照により本出願に組み込まれる。引用元と本出願で記述が相反する場合、本出願の記述が優先するものとする。

【実施例】

【０７３１】

本発明を以下の実施例においてさらに記載するが、これらの実施例は、特許請求の範囲に記載される本発明の範囲を限定するものではない。

【０７３２】

実施例１及び２の５′及び３′ＵＴＲに関連する配列情報を、以下の表５及び６に示す。

【表５】

表５：５´ＵＴＲ配列

名称：	配列：
v1.1 5’ UTR	GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGACCCC GGCGCCGCCACC（配列番号56）
v2.0 5’ UTR	GGAAAUCGCAAAAUUUGCUCUUCGCGUUAGAUUUCUUUUAGUUU UCUCGCAACUAGCAAGCUUUUUGUUCUCGCC（配列番号50）

【表６】

表６：終止エレメント配列（下線）を有する３´ＵＴＲ

名称：	配列：
アルファ３´ＵＴＲ／コントロール３´ＵＴＲ	UGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUG GGCCUCCCCCCCAGCCCCUCCCCUUCCUGCACCCGUACCCCC GUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC（配列番号180）
カッパ３´ＵＴＲ	UAAAGCUCCCCCGGGGGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUG GGCCUCCCCCCCAGCCCCUCCCCUUCCUGCACCCGUACCCCC GUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC（配列番号139）
イオタ３´ＵＴＲ	UAAGCCCCUCCGGGGGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUG GGCCUCCCCCCCAGCCCCUCCCCUUCCUGCACCCGUACCCCC GUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC（配列番号181）

【０７３３】

実施例１．アルファ３´ＵＴＲまたはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲまたはｖ２．０　５´ＵＴＲを有するｍＲＮＡのインビボ効果

本実施例では、アルファ３´ＵＴＲ（本明細書では「コントロール３´ＵＴＲ」とも称される）またはカッパ３´ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ１．１　５´ＵＴＲまたはｖ２．０　５´ＵＴＲを有するｍＲＮＡによってコードされた、ホタルルシフェラーゼ発光（ｆｆｌｕｃ）及び／または標的タンパク質のインビボ評価について説明する。

【０７３４】

マウスのインビボにおける２種の３´ＵＴＲ（「アルファ」または「カッパ」）の効果

を評価するため、製剤化されたｆｆＬｕｃ　ｍＲＮＡまたはｈＥＰＯ　ｍＲＮＡ化合物ＩＩ／ＤＭＧ（５０％化合物ＩＩ、１０％　ＤＳＰＣ、３８．５コレステロール、１．５％ＰＥＧ－ＤＭＧ　２５００ＭＷ）を、ＣＤ－１マウスに０．２５ｍｇ／ｋｇで静脈内投与（尾静脈へのボーラス静注）した。ｍＲＮＡ構築物は、ｖ１．１　５′ＵＴＲまたはｖ２．０　５′ＵＴＲのいずれかを有するものであった。投与してから０～４日（または０～９６時間）後に動物をイメージングした。各群に１０匹の動物を含めた。また、血清を採取し、ＥＬＩＳＡ（１２時間、４８時間、及び９６時間）によりｈＥＰＯタンパク質レベルを分析した。４日目（すなわち、９６時間後）にマウスを　　殺し、肝臓及び脾臓を解剖し、発光を分析した。

【０７３５】

この実験の結果を、図１Ａ～１Ｇに示している。ｖ２．０　５′ＵＴＲ及びカッパ３′ＵＴＲの両方を有するｍＲＮＡ構築物で、全身発光（図１Ａ～１Ｃ）、肝臓発光（図１Ｄ）、及び脾臓発光（図１Ｅ）が最も高かった。同様の効果が、血清中の標的タンパク質（すなわち、ＥＰＯ）発現についても認められた（図１Ｆ～１Ｇ）。

【０７３６】

実施例２．カッパ３′ＵＴＲまたはイオタ３′ＵＴＲのいずれかと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡのインビボ効果

本実施例では、コントロール３′ＵＴＲ（ｖ１．１）、カッパ３′ＵＴＲ、またはイオタ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡによってコードされる標的タンパク質（コドン最適化ｍＯＸ４０Ｌ）の免疫細胞における発現に関するインビボ評価について説明する。

【０７３７】

マウスのインビボにおける２つの３′ＵＴＲ（「カッパ」または「イオタ」）の効果をコントロール３′ＵＴＲと比較して評価するため、化合物ＩＩ及び化合物Ｉを含有するＬＮＰで製剤化されたｍＯＸ４０Ｌ＿Ｄ９９Ｋ　ｍＲＮＡを、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに０．５０ｍｇ／ｋｇで静脈内投与した。ｍＲＮＡ構築物は、ｖ２．０　５′ＵＴＲ、コドン最適化ｍＯＸ４０Ｌ＿Ｄ９９Ｋ　ＯＲＦ、及びカッパ３′ＵＴＲまたはイオタ３′ＵＴＲのいずれかを有するものであった。ＯＸ４０Ｌの平均蛍光強度及びｍＯＸ４０Ｌ＋細胞のパーセンテージを、投与してから１、２、及び３日後に、ＬＳＫ＋造血幹細胞及び前駆細胞（図２Ａ）、脾臓樹状細胞（図２Ｂ）、脾臓マクロファージ（図２Ｃ）、脾臓好中球（図２Ｄ）、脾臓単球（図２Ｅ）、脾臓好酸球（図２Ｆ）、脾臓ＣＤ４＋Ｔ細胞（図２Ｇ）、脾臓ＣＤ８＋Ｔ細胞（図２Ｈ）、及び脾臓Ｂ細胞（図２Ｉ）において評価した。

【０７３８】

イオタ３′ＵＴＲまたはカッパ３′ＵＴＲのいずれかを含有するｍＲＮＡは、大部分の免疫細胞におけるｍＯＸ４０Ｌの発現増加と関連していた。

【０７３９】

実施例３．ＦＡＮＣＡをコードするｍＲＮＡの合成

ヒトファンコニ貧血相補群Ａ（ＦＡＮＣＡ）ポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、例えば、配列番号１に示したＯＲＦ配列（アミノ酸）を使用することにより、構築することができる。下記表７を参照のこと。

【０７４０】

配列番号１のアミノ酸配列をコードする、例示的な配列最適化ヌクレオチド配列を、配列番号２に示す。配列番号１のアミノ酸配列をコードする、別の例示的な配列最適化ヌクレオチド配列を、配列番号３に示す。配列番号１のアミノ酸配列をコードする追加の例示的な配列最適化ヌクレオチド配列を、配列番号１４～１７に示す。下記表７を参照のこと。

【０７４１】

ｍＲＮＡ配列は、ＯＲＦ配列（ヌクレオチド）と隣接している５′ＵＴＲ領域及び３′ＵＴＲ領域の両方を含む。例示的な構築物において、５′ＵＴＲ配列及び３′ＵＴＲ配列は、それぞれ配列番号６４及び１３９である。

５′ＵＴＲ：
ＧＧＡＡＡＵＵＡＵＵＡＵＵＡＵＵＵＣＵＡＧＣＵＡＣＡＡＵＵＵＡＵＣＡＵＵＧＵＡＵ
ＵＡＵＵＵＵＡＧＣＵＡＵＵＣＡＵＣＡＵＵＡＵＵＵＡＣＵＵＧＧＵＧＡＵＣＡＡＣＡ（
配列番号６４）
３′ＵＴＲ：
ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣ
ＣＵＵＧＧＧＣＣＵＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣ
ＧＵＡＣＣＣＣＣＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（
配列番号１３９）
【０７４２】
別の例示的な構築物において、５′ＵＴＲ配列及び３′ＵＴＲ配列は、それぞれ配列番号５０及び１３９である。
５′ＵＴＲ：
ＧＧＡＡＡＵＣＧＣＡＡＡＡＵＵＵＧＣＵＣＵＵＣＧＣＧＵＵＡＧＡＵＵＵＣＵＵＵＵＡ
ＧＵＵＵＵＣＵＣＧＣＡＡＣＵＡＧＣＡＡＧＣＵＵＵＵＵＧＵＵＣＵＣＧＣＣ（配列番号５０）
３′ＵＴＲ：
ＵＡＡＡＧＣＵＣＣＣＣＧＧＧＧＧＣＣＵＣＧＧＵＧＧＣＣＵＡＧＣＵＵＣＵＵＧＣＣＣ
ＣＵＵＧＧＧＣＣＵＣＣＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＵＣＣＵＣＣＣＣＵＵＣＣＵＧＣＡＣＣＣ
ＧＵＡＣＣＣＣＣＧＵＧＧＵＣＵＵＵＧＡＡＵＡＡＡＧＵＣＵＧＡＧＵＧＧＧＣＧＧＣ（
配列番号１３９）
【０７４３】
ＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡ配列は、修飾ｍＲＮＡとして調製する。具体的には、インビトロ転写中、ｍＲＮＡがウリジンの代わりにＮ１－メチルシュードウリジンを１００％含有することを確実にするために、Ｎ１－メチルシュードウリジン－５′－三リン酸を用いて修飾ｍＲＮＡを生成することができる。あるいは、インビトロ転写中、ｍＲＮＡがウリジンの代わりに５－メトキシウリジンを１００％含有することを確実にするために、Ｎ１－メトキシウリジン－５′－三リン酸を用いて修飾ｍＲＮＡを生成することができる。さらに、ＦＡＮＣＡ－ｍＲＮＡはポリＡ尾部を導入するプライマーを用いて合成することができ、両方のｍＲＮＡ上には、m^7Ｇ－ｐｐｐ－Ｇｍ－ＡＧ　５′ｃａｐ１を組み込むためのm^7Ｇ－ｐｐｐ－Ｇｍ－ＡＧテトラヌクレオチドを介した共転写キャッピングを使用することで、キャップ構造が生成する。あるいは、ＤＮＡ鋳型のギブソンアセンブリ中に、ＦＡＮＣＡ－ｍＲＮＡを合成し、ポリＡ尾部を導入することができる。
【０７４４】
以下の実施例で使用するＦＡＮＣＡ構築物の配列を以下に記載する。「Ｇ５」に関しては、ｍＲＮＡ中の全てのウラシル（Ｕ）がＮ１－メチルシュードウラシルに置き換えられていることを意味する。

【表７－１】

表７：ＦＡＮＣＡ配列

	mRNA名	ＯＲＦ配列（アミノ酸）	ＯＲＦ配列（ヌクレオチド）	5′ ＵＴＲ配列	3′ ＵＴＲ配列	構築物配列
配列番号		**1**	**2**	**64**	**139**	**4**
	FANCA_01 化学変化：G5 キャップ：C1 PolyA尾部：100nt	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS KVIDCDSSEAY ANHSSSFIGSAL QDQASRLGVPV GILSAGMVASS VGQICTAPAET SHPVLLTVEQR KKLSSLLEFAQ YLLAHSMFSRL SFCQELWKIQS SLLLEAVWHLH VQGIVSLQELL ESHPDMHAVG SWLFRNLCCLC EQMEASCQHA DVARAMLSDF	AUGUCCGACUCCUGG GUGCCCAACUCCGCU AGCGGACAAGAUCCA GGUGGCCGCAGGAG AGCGUGGGCUGAAC UGCUUGCCGGGCGAG UGAAGCGCGAGAAG UACAACCCCGAGCGC GCCCAGAAGCUGAAG GAGAGCGCCGUACGG CUGCUGCGCAGCCAC CAGGACCUGAACGCC CUGCUGCUGGAGGU GGAGGGGCCCCUGUG CAAGAAGCUGAGCCU GUCCAAGGUGAUCG ACUGCGACAGCAGCG AGGCCUACGCCAACC ACAGCUCCUCCUUCA UCGGCUCCCGCCCUGC AGGAUCAAGCUAGCC GGCUGGGCGUUCCAG	GGAAA UUAUU AUUAU UUCUAG CUACAA UUUAUC AUUGU AUUAU UUUAGC UAUUCA UCAUUA UUUACU UGGUG AUCAAC A	UAAAGC UCCCCG GGGGCC UCGGUG GCCUAG CUUCUU GCCCCU UGGGCC UCCCCC CAGCCC CUCCUC CCCUUC CUGCAC CCGUAC CCCCGU GGUCUU UGAAU AAAGUC UGAGU GGGCGG C	配列番号4は、5′末端から3′末端まで、配列番号64の5′ UTR、配列番号2のORF配列、及び配列番号139の3′ UTRからなる。

【表７－２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		VQMFVLRGFQ	UGGGCAUCCUGAGCG			
		KNSDLRRTVEP	CCGGCAUGGUGGCCA			
		EKMPQVTVDV	GCAGCGUGGGCCAGA			
		LQRMLIFALDA	UCUGCACCGCUCCCG			
		LAAGVQEESST	CCGAGACCAGCCACC			
		HKIVRCWFGVF	CCGUGCUGCUGACCG			
		SGHTLGSVISTD	UGGAGCAGCGCAAG			
		PLKRFFSHTLT	AAGCUGUCAAGCCUG			
		QILTHSPVLKAS	CUGGAGUUCGCCCAG			
		DAVQMQREWS	UACCUGCUGGCCCAC			
		FARTHPLLTSL	AGCAUGUUCUCCCGC			
		YRRLFVMLSAE	CUGAGCUUCUGCCAG			
		ELVGHLQEVLE	GAGCUGUGGAAGAU			
		TQEVHWQRVL	CCAGUCCAGCCUGCU			
		SFVSALVVCFP	ACUGGAGGCCGCUGU			
		EAQQLLEDWV	GGCACUUACACGUGC			
		ARLMAQAFESC	AGGGCAUCGUGAGCC			
		QLDSMVTAFLV	UGCAGGAGCUACUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGG			
		FGSTRGYHGCS	UCCUGGCUGUUCCGC			
		KKALVFLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	AGCCUCCUGCCAACA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUUGCACG			
		SLAKTRLADLK	GGCAAUGCUGAGCG			
		VSIENMGLYED	ACUUCGUGCAGAUG			
		LSSAGDITEPHS	UUCGUGCUGCGCGGG			
		QALQDVEKAI	UUCCAGAAGAACUCA			
		MVFEHTGNIPV	GACCUCCCGGAGGACC			
		TVMEASIFRRP	GUGGAGCCCUGAGAA			

【表７－３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		YYVSHFLPALL	GAUGCCCCAGGUGAC			
		TPRVLPKVPDS	CGUGGACGUGCUGCA			
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			
		DKIPPSLYSTYC	UUGCCCUGGACGCUC			
		QACSAAEEKPE	UCGCUGCCGGAGUGC			
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCUCC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCUCCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCUCCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCUCCACCGAUCCC			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	UCCCACACCCUGACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	UCCCCUGUGCUGAAG			
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGCGAG			
		CQLLRHQGPSL	UGGUCCUUCGCCCGC			
		SAPHVLGLAAL	ACCCAUCCCCUGCUG			
		AVHLGESRSAL	ACCAGCCUGUACCGG			
		PEVDVGPPAPG	CGGCUGUUCGUGAU			
		AGLPVPALFDS	GCUGUCCGCCGAGGA			
		LLTCRTRDSLFF	GCUGGUGGGCCACCU			
		CLKFCTAAISYS	GCAGGAGGUGCUGG			
		LCKFSSQSRDT	AGACCCAGGAGGUGC			
		LCSCLSPGLIKK	ACUGGCAGCGCGUGC			
		FQFLMFRLFSE	UGAGCUUCGUGAGC			
		ARQPLSEEDVA	GCCCUGGUGGUGUGC			
		SLSWRPLHLPS	UUCCCCGAGGCCCAG			
		ADWQRAALSL	CAGCUCCUGGAGGAC			
		WTHRTFREVLK	UGGGUGGCCCGGCUG			

【表７－４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		EEDVHLTYQD	AUGGCCCAGGCCUUC			
		WLHLELEIQPE	GAGAGCUGCCAGCUG			
		ADALSDTERQD	GACAGCAUGGUGACC			
		FHQWAIHEHFL	GCCUUCCUGGUGGUG			
		PESSASGGCDG	CGUCAAGCAGCCCUG			
		DLQAACTILVN	GAGGGCCCAAGCGCC			
		ALMDFHQSSRS	UUCCUGAGCUACGCC			
		YDHSENSDLVF	GACUGGUUCAAGGCC			
		GGRTGNEDIISR	AGCUUCGGGUCCACC			
		LQEMVADLEL	CGCGGGUACCACGGC			
		QQDLIVPLGHT	UGCUCCAAGAAGGCC			
		PSQEHFLFEIFR	CUGGUGUUCCUGUU			
		RRLQALTSGWS	UACCUUCCUGAGCGA			
		VAASLQRQREL	GCUGGUGCCCUUCGA			
		LMYKRILLRLP	GUCGCCCCGCUACCU			
		SSVLCGSSFQA	GCAGGUGCACAUCCU			
		EQPITARCEQFF	GCACCCACCCCUGGU			
		HLVNSEMRNFC	CCCUGGCAAGUACCG			
		SHGGALTQDIT	GAGCCUGCUGACCGA			
		AHFFRGLLNAC	CUACAUCUCCCUGGC			
		LRSRDPSLMVD	CAAGACCCGGCUGGC			
		FILAKCQTKCP	CGACCUGAAGGUGA			
		LLLTSALVWWP	GCAUCGAGAACAUG			
		SLEPVLLCRWR	GGCCUGUACGAGGAC			
		RHCQSPLPREL	CUGUCCAGCGCCGGC			
		QKLQEGRQFAS	GACAUCACCGAGCCC			
		DFLSPEAASPAP	CACAGCCAGGCCCUG			
		NPDWLSAAAL	CAGGACGUGGAGAA			
		HFAIQQVREENI	GGCCAUCAUGGUGU			
		RKQLKKLDCER	UCGAGCACACCGGCA			
		EELLVFLFFFSL	ACAUCCCCGUGACCG			

【表７－５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		MGLLSSHLTSN	UGAUGGAGGGCUAGU			
		STTDLPKAFHV	AUCUUCCGGCGGCCC			
		CAAILECLEKR	UACUACGUGUCCCAC			
		KISWLALFQLT	UUCCUGCCCGCCCUG			
		ESDLRLGRLLL	CUGACACCCCGGGUG			
		RVAPDQHTRLL	CUGCCCAAGGUGCCC			
		PFAFYSLLSYFH	GACAGUCGCGUCGCC			
		EDAAIREEAFL	UUCAUCGAGAGCCUG			
		HVAVDMYLKL	AAGCGGGCCGACAAG			
		VQLFVAGDTST	AUCCCGCCCUCCCUG			
		VSPPAGRSLEL	UACUCCACCUACUGC			
		KGQGNPVELIT	CAGGCUUGCUCCGCC			
		KARLFLLQLIPR	GCCGAGGAGAAGCCC			
		CPKKSFSHVAE	GAGGACGCAGCCUUA			
		LLADRGDCDPE	GGAGUACGCGCCGAG			
		VSAALQSRQQA	CCCAACAGCGCCGAG			
		APDADLSQEPH	GAGCCACUGGGCCAG			
		LF	UUGACCGCUGCCCUG			
			GGAGAGCUGCGGGCC			
			AGCAUGACCGACCCC			
			AGCCAACGCGACGUG			
			AUCAGCGCCCAGGUG			
			GCCGUGAUCAGCGAG			
			AGGCUGCGGGCAGU			
			GCUGGGCCACAACGA			
			GGACGACAGCAGCGU			
			GGAGAUCAGCAAGA			
			UCCAGCUGAGCAUCA			
			ACACACCCAGGCUGG			
			AGCCCAGAGAGCACA			
			UGGCCGUGGACCUGC			

【表７－６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			UGCUGACCUCCUUCU			
			GCCAGAACCUGAUGG			
			CCGCAAGCAGCGUGG			
			CUCCUCCAGAACGCC			
			AAGGCCCUUGGGCUG			
			CCCUGUUCGUGCGCA			
			CCAUGUGUGGCCGCG			
			UCCUGCCAGCAGUGC			
			UGACCCGGCUGUGCC			
			AGCUUCUGCGGCACC			
			AAGGGCCCUCCCUGA			
			GCGCUCCCCACGUGC			
			UUGGGUUGGCCGCCC			
			UCGCUGUGCACCUGG			
			GCGAGAGCAGGAGC			
			GCCCUCCCGAGGUG			
			GACGUGGGGUCCUCCA			
			GCCCCAGGUGCCGGA			
			CUCCCCGUGCCAGCC			
			CUGUUCGACAGCCUG			
			CUGACUUGUCGCACC			
			CGGGACUCCCUGUUC			
			UUCUGCCUGAAGUUC			
			UGCACCGCCGCCAUC			
			UCCUACUCCCCUGUGC			
			AAGUUCUCCAGCCAG			
			UCCCGGGACACCCUG			
			UGCUCCUGCCUGUCU			
			CCCGGCCUGAUCAAG			
			AAGUUCCAGUUCCUG			
			AUGUUCCGCCUGUUC			

【表７－７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			AGCGAAGCACGCCAG			
			CCCCUGUCCGAGGAG			
			GACGUGGCCUCCCUG			
			UCCUGGCGACCCCUG			
			CACCUGCCCUCCGCC			
			GAUUGGCAGCGCGCC			
			GCCCUCAGCCUGUGG			
			ACCCACCGGACCUUC			
			CGCGAGGUGCUGAA			
			GGAGGAAGACGUGC			
			ACCUGACCUACCAGG			
			ACUGGCUGCACCUGG			
			AGCUGGAGAUCCAGC			
			CCGAAGCCGACGCCC			
			UGAGCGACACCGAGC			
			GCCAGGACUUUCACC			
			AGUGGGCCAUCCACG			
			AGCACUUUCUGCCCG			
			AGAGCAGCGCCAGUG			
			GAGGCUGCGACGGCG			
			ACCUGCAAGCCGCCU			
			GCACCAUCCUGGUGA			
			ACGCCCUGAUGGACU			
			UCCACCAGAGCUCCC			
			GCAGCUACGACCACU			
			CCGAGAACAGCGACC			
			UGGUGUUUGGAGGC			
			CGCACCGGGAACGAG			
			GACAUCAUCAGCCGC			
			CUGCAGGAGAUGGU			
			GGCCGACCUGGAGCU			

【表７－８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CCAGCAGGACCUGAU			
			CGUGCCACUGGGGCA			
			CACCCCAAGCCAGGA			
			GCACUUCCUGUUCGA			
			GAUCUUCCGCAGACG			
			CCUGCAGGCACUGAC			
			CUCCGGCUGGAGUGU			
			GGCCGCAAGCCUGCA			
			GCGCCAACGCGAGCU			
			GCUGAUGUACAAGC			
			GGAUCCUGCUGCGCC			
			UGCCCUCCUCCGUGC			
			UGUGCGGCUCCUCCU			
			UCCAGGCCGAGCAGC			
			CCAUCACCGCCCGGU			
			GCGAGCAGUUCUUCC			
			ACCUGGUGAACAGCG			
			AGAUGCGGAACUUC			
			UGCUCUCACGGCGGC			
			GCUCUGACCCAGGAC			
			AUCACCGCCCACUUC			
			UUCCGCGGCCUGCUG			
			AACGCCUGCCUGCGG			
			AGCAGGGACCCCAGC			
			CUGAUGGUCGACUUC			
			AUCCUGGCCAAGUGC			
			CAGACCAAGUGUCCC			
			CUGAUCCUGACCAGC			
			GCCCUGGUUUGGUG			
			GCCCUCACUGGAGCC			
			CGUGCUCCCUGUGUCG			

【表７－９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CUGGAGGCGGGCACUG			
			CCAGUCACCCCUGCC			
			CCGAGAGCUGCAGAA			
			GCUGCAGGAGGGCCG			
			GCAGUUCGCCAGCGA			
			CUUCCUGUCACCAGA			
			GGCAGCCUCUCCCGC			
			UCCUAACCCCGAUUG			
			GCUAUCCGCGGCCGC			
			UCUGCACUUCGCCAU			
			CCAGCAGGUGCGGGA			
			GGAGAACAUCCGGA			
			AGCAGCUGAAGAAG			
			CUGGACUGCGAGAG			
			GGAGGAGCUGCUUG			
			UGUUCCUGUUCUUCU			
			UCAGCCUGAUGGGCC			
			UGCUGUCCUCCCACC			
			UGACCAGCAACUCCA			
			CCACCGACCUGCCCA			
			AGGCCUUCCACGUGU			
			GCGCCGCCAUCCUGG			
			AGUGCCUGGAGAAG			
			CGGAAGAUCAGCUG			
			GCUGGCCCUGUUCCA			
			GCUGACCGAGAGCGA			
			CCUGCGCCUGGGGAG			
			ACUGCUGCUGCGCGU			
			GGCUCCCGACCAGCA			
			CACCAGGCUGCUGCC			
			CUUCGCCUUCUACUC			

【表７－１０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
配列番号		1	3	50	139	5
	FANCA_02 化学変化：G5	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK	AUGAGCGACAGCUG GGUGCCUAAUAGCGC CAGCGGACAGGAUCC	GGAAA UCGCAA AAUUU	UAAAGC UCCCCG GGGGCC	配列番号5は、

CCUGCUGUCCUACUU
CCACGAGGACGCCGC
CAUCCGGGAGGAGGC
CUUCCUGCACGUGGC
CGUGGACAUGUACCU
GAAGCUGGUGCAGC
UGUUCGUGGCCGGCG
ACACCUCCACCGUGA
GCCCUCCUGCUGGCC
GAAGCCUGGAGCUG
AAGGGCCAGGGCAAC
CCCGUGGAGCUGAUC
ACCAAGGCCCGCCUG
UUCCUGCUGCAGCUG
AUCCCUCGCUGCCCC
AAGAAGAGCUUCAG
CCACGUGGCCGAGCU
GCUGGCUGACAGGG
GAGACUGCGACCCCG
AGGUGAGCGCUGCCC
UGCAGAGCCGUCAAC
AAGCGGCCCCUGACG
CCGAUCUGAGCCAGG
AGCCCCACCUGUUC

【表７－１１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
	キャップ：m7Gp-ppGm-A PolyA尾部：100nt	REKYNPERAQK	UGGUGGAAGGAGAA	GCUCUU	UCGGUG	5′末端から3′末端まで、配列番号50の5′UTR、配列番号3′のORF配列、及び配列番号1390の3′UTRからなる。
		LKESAVRLLRS	GGGCGUGGGCAGAG	CGCGUU	GCCUAG	
		HQDLNALLLEV	CUACUGGCUGGACGG	AGAUU	CUUCUU	
		EGPLCKKLSLS	GUGAAGCGAGAGAA	UCUUUU	GCCCCU	
		KVIDCDSSEAY	GUACAACCCCGAGCG	AGUUU	UGGGCC	
		ANHSSSFIGSAL	AGCACAGAAGCUGA	UCUCGC	UCCCCC	
		QDQASRLGVPV	AGGAGUCAGCCGUG	AACUAG	CAGCCC	
		GILSAGMVASS	AGACUGCUGCGGAGC	CAAGCU	CUCCUC	
		VGQICTAPAET	CACCAAGACCUGAAC	UUUUG	CCCUUC	
		SHPVLLTVEQR	GCCUUACUGCUGGAA	UUCUCG	CUGCAC	
		KKLSSLLEFAQ	GUGGAGGGACCCCUG	CC	CCGUAC	
		YLLAHSMFSRL	UGCAAGAAGCUGAG		CCCCGU	
		SFCQELWKIQS	CCUGAGCAAGGUGA		GGUCUU	
		SLLLEAVWHLH	UCGACUGCGACAGCA		UGAAU	
		VQGIVSLQELL	GCGAGGCCUACGCCA		AAAGUC	
		ESHPDMHAVG	ACCACAGCAGCAGCU		UGAGU	
		SWLFRNLCCLC	UCAUCGGCAGCGCAU		GGGCGG	
		EQMEASCQHA	UGCAGGACCAAGCUU		C	
		DVARAMLSDF	CUAGGCUAGGCGUCC			
		VQMFVLRGFQ	CCGUUGGUAUCCUGA			
		KNSDLRRTVEP	GCGCCGGUAUGGUA			
		EKMPQVTVDV	GCAAGCAGCGUGGGC			
		LQRMLIFALDA	CAGAUUUGUACCGCA			
		LAAGVQEESST	CCUGCCGAGACUAGC			
		HKIVRCWFGVF	CACCCCGUGCUUCUG			
		SGHTLGSVISTD	ACCGUGGAGCAGCGG			
		PLKRFFSHTLT	AAGAAGCUGAGCAG			
		QILTHSPVLKAS	CCUGCUGGAGUUCGC			
		DAVQMQREWS	CCAGUACCUGCUUGC			
		FARTHPLLTSL	GCACAGCAUGUUCAG			
		YRRLFVMLSAE	CCGGCUGAGCUUCUG			

【表７－１２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		ELVGHLQEVLE	CCAGGAGCUGUGGA			
		TQEVHWQRVL	AGAUCCAGAGCAGCC			
		SFVSALVVCFP	UGCUGCUGGAAGCCG			
		EAQQLLEDWV	UGUGGCAUCUGCACG			
		ARLMAQAFESC	UGCAGGGCAUCGUG			
		QLDSMVTAFLV	AGCCUGCAGGAGCUG			
		VRQAALEGPSA	CUGGAAAGCCACCCA			
		FLSYADWFKAS	GACAUGCACGCCGUA			
		FGSTRGYHGCS	GGGAGUUGGCUGUU			
		KKALVFLFTFL	CCGGAACCUGUGCUG			
		SELVPFESPRYL	CCUGUGCGAGCAGAU			
		QVHILHPPLVP	GGAGGCCAGCUGUCA			
		GKYRSLLTDYI	ACACGCUGACGUAGC			
		SLAKTRLADLK	UCGCGCAAUGCUGAG			
		VSIENMGLYED	CGACUUCGUGCAGAU			
		LSSAGDITEPHS	GUUCGUGCUGCGGG			
		QALQDVEKAI	GCUUCCAGAAGAACA			
		MVTEHTGNIPV	GCGACCUCAGACGGA			
		TVMEASIFRRP	CCGUGGAACCCGAGA			
		YYVSHFLPALL	AGAUGCCACAGGUG			
		TPRVLPKVPDS	ACAGUGGACGUGCU			
		RVAFIESLKRA	GCAGCGGAUGCUGA			
		DKIPPSLYSTYC	UUUUCGCGUUAGAC			
		QACSAAEEKPE	GCACUAGCCGCAGGC			
		DAALGVRAEP	GUUCAGGAGGAGAG			
		NSAFEPLGQLT	CAGCACCCACAAGAU			
		AALGELRASMT	AGUGCGGUGCUGGU			
		DPSQRDVISAQ	UCGGCGUGUUCUCUG			
		VAVISERLRAV	GCCACACACUGGGGA			
		LGHNEDDSSVE	GCGUGAUCAGCACCG			
		ISKIQLSINTPRL	AUCCCCUGAAGCGGU			

【表７－１３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		EPREHMAVDLL	UCUUCAGCCACACCC			
		LTSFCQNLMAA	UGACCCAGAUCCUGA			
		SSVAPPERQGP	CCCAUAGCCCCGUGC			
		WAALFVRTMC	UGAAGGCAAGCGAC			
		GRVLPAVLTRL	GCCGUGCAGAUGCAG			
		CQLLRHQGPSL	CGUGAGUGGAGCUU			
		SAPHVLGLAAL	CGCACGGACCCAUCC			
		AVHLGESRSAL	GCUACUGACCAGCCU			
		PEVDVGPPAPG	AUACCGGCGCCUGUU			
		AGLPVPALFDS	CGUGAUGCUAUCCGC			
		LLTCRTRDSLFF	CGAGGAGUUGGUCG			
		CLKFCTAAISYS	GACACCUGCAGGAGG			
		LCKFSSQSRDT	UGCUGGAGACCCAGG			
		LCSCLSPGLIKK	AGGUGCACUGGCAG			
		FQFLMFRLFSE	AGAGUGCUGAGCUU			
		ARQPLSEEDVA	CGUGAGCGCCCUGGU			
		SLSWRPLHLPS	GGUGUGCUUUCCCGA			
		ADWQRAALSL	GGCACAGCAGCUGCU			
		WTHRTFREVLK	GGAAGACUGGGGUAG			
		EEDVHLTYQD	CUCGGCUUAUGGCCC			
		WLHLELEIQPE	AGGCCUUCGAGAGCU			
		ADALSDTERQD	GCCAGCUGGACAGCA			
		FHQWAIHEHFL	UGGUGACCGCCUUUC			
		PESSASGGCDG	UCGUGGUGAGGCAA			
		DLQAACTILVN	GCAGCCCUAGAAGGC			
		ALMDFHQSSRS	CCUAGCGCCUUUCUG			
		YDHSENSDLVF	AGCUACGCCGACUGG			
		GGRTGNEDIISR	UUCAAAGCCAGCUUC			
		LQEMVADLEL	GGCUCCACUCGGGGU			
		QQDLIVPLGHT	UACCACGGCUGCAGC			
		PSQEHFLFEIFR	AAGAAGGCCCUGGU			

【表７－１４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		RRLQALTSGWS	GUUCCUGUUUCACCUU			
		VAASLQRQREL	CCUGAGCGAGCUGGU			
		LMYKRILLRLP	GCCCUUCGAGUCACC			
		SSVLCGSSFQA	CCGGUACCUGCAGGU			
		EQPITARCEQFF	GCACAUCCUGCAUCC			
		HLVNSEMRNFC	ACCACUGGUCCCCGG			
		SHGGALTQDIT	GAAAUACCGGAGCCU			
		AHFFRGLLNAC	GCUGACCGACUACAU			
		LRSRDPSLMVD	CAGCCUGGCCAAGAC			
		FILAKCQTKCP	UCGGCUGGCAGACCU			
		LILTSALVWWP	GAAGGUGAGCAUCG			
		SLEPVLLCRWR	AGAACAUGGGCCUG			
		RHCQSPLPREL	UACGAGGAUCUGAG			
		QKLQEGRQFAS	CAGCGCUGGCGACAU			
		DFLSPEAASPAP	CACAGAACCGCACAG			
		NPDWLSAAAL	CCAGGCCUUGCAGGA			
		HFAIQQVREENI	CGUGGAGAAGGCCA			
		RKQLKKLDCER	UCAUGGUGUUCGAG			
		EELLVFLFFFSL	CACACCGGCAACAUC			
		MGLLSSHLTSN	CCCGUGACCGUGAUG			
		STTDLPKAFHV	GAGGCCAGCAUCUUC			
		CAAILECLEKR	CGCCGGCCAUACUAC			
		KISWLALFQLT	GUUAGCCACUUCCUG			
		ESDLRLGRLLL	CCCGCACUGCUGACU			
		RVAPDQHTRLL	CCACGCGUGCUGCCA			
		PFAFYSLLSYFH	AAGGUCCCCGAUAGC			
		EDAAIREEAFL	AGAGUGGCUUUCAU			
		HVAVDMYLKL	CGAGAGCCUGAAACG			
		VQLFVAGDTST	GGCCGACAAGAUCCC			
		VSPPAGRSLEL	ACCUAGCCUGUACAG			
		KGQGNPVELIT	CACCUACUGCCAAGC			

【表７－１５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		KARLFLLQLIPR CPKKSFSHVAE LLADRGDCDPE VSAALQSRQQA APDADLSQEPH LF	UUGUAGCGCUGCCGA GGAGAAACCGGAAG ACGCUGCACUGGGUG UUAGGGCCGAGCCCA AUAGCGCAGAGGAA CCCUUGGGCCAACUG ACUGCUGCACUUGGU GAGCUUCGGGCAAGC AUGACCGACCCCUCU CAACGGGACGUGAUC AGCGCCCAAGUGGCC GUGAUCAGCGAGCG GUUACGUGCCGUGCU GGGCCACAACGAGGA CGACAGCAGCGUGGA GAUCAGCAAGAUCCA GCUGAGCAUCAAUAC GCCUCCGACUGGAACC UCGGGAGCACACUGGC CGUGGACCUGCUGCU GACCAGCUUCUGCCA GAACUUGAUGGCCGC UAGCAGUGUGGCUCC ACCCGAACGGCAAGG ACCUUGGGCUGCGCU GUUCGUCAGGACCAU GUGUGGCCGGGUUC UUCCCGCUGUGUGUUGA CCCGGCUUUGCCAGC UGCUGCGCCAUCAAG GGCCAUCUUUGUCCG			

10

20

30

40

50

【表７－１６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			CACCUCACGUUCUGG			
			GUCUUGCUGCUCUGG			
			CCGUGCAUCUGGGCG			
			AGAGCAGAUCGGCAC			
			UGCCGGAAGUGGAC			
			GUGGGACCUCCCUGCA			
			CCUGGUGCAGGUCUU			
			CCCGUGCCAGCCUUA			
			UUCGACAGCCUGCUU			
			ACCUGCCGUACUCGG			
			GACAGCCUGUUCUUC			
			UGCCUGAAGUUCUGC			
			ACCGCCGCCAUCAGC			
			UACAGCCUGUGCAAG			
			UUCAGCAGCCAGAGC			
			CGGGACACUCUGUGU			
			AGCUGUCUGAGCCCU			
			GGCCUCAUCAAGAAG			
			UUCCAGUUCCUGAUG			
			UUCAGAUUAUUUAG			
			CGAGGCUCGGCAACC			
			UCUGAGCGAGGAGG			
			ACGUUGCCAGCCUGA			
			GUUGGCGUCCCCUAC			
			ACCUUCCCAGCGCCG			
			AUUGGCAGAGGGCU			
			GCUCUGUCCCUGUGG			
			ACUCACCGCACUUUC			
			CGGGAGGUGCUGAA			
			GGAGGAGGACGUGC			
			ACCUGACCUACCAGG			

【表７－１７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			ACUGGCUGCACCUGG			
			AGCUCGAGAUACAGC			
			CCGAAGCUGACGCCC			
			UGUCAGACACCGAGC			
			GGCAGGACUUCCACC			
			AGUGGGCCAUCCACG			
			AGCACUUCCUGCCUG			
			AGAGCAGCGCCUCAG			
			GAGGGUGUGACGGG			
			GACCUGCAAGCAGCC			
			UGCACCAUCCUGGUG			
			AACGCCCUGAUGGAC			
			UUCCACCAGAGCAGC			
			CGGAGCUACGACCAC			
			AGCGAGAACAGCGA			
			UCUAGUCUUCGGCGG			
			CAGAACAGGUAACG			
			AGGACAUCAUCAGCC			
			GGCUGCAGGAGAUG			
			GUGGCCGACCUGGAA			
			CUGCAGCAGGACCUG			
			AUUGUCCCCUUGGGU			
			CACACCCCUAGCCAG			
			GAGCACUUCCUGUUC			
			GAGAUUUUCAGGAG			
			GCGGCUGCAAGCACU			
			GACCAGCGGCUGGUC			
			UGUCGCUGCUUCCCU			
			UCAGCGUCAGCGGGA			
			GCUGCUGAUGUACA			
			AGCGGAUUCUGCUGC			

【表７－１８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			GGCUACCCAGCAGUG			
			UGCUGUGCGGCUCUA			
			GCUUUCAAGCCGAGC			
			AGCCAAUCACCGCUC			
			GCUGCGAGCAGUUCU			
			UCCACCUGGUGAACA			
			GCGAGAUGCGGAAU			
			UUCUGUUCCCACGGA			
			GGUGCUCUGACCCAG			
			GACAUCACCGCCCAU			
			UUCUUCCGGGGCCUG			
			CUGAACGCUUGUCUC			
			CGAUCGAGAGACCCC			
			AGCCUGAUGGUGGA			
			CUUCAUCCUGGCCAA			
			GUGCCAGACCAAGUG			
			UCCCCUGAUCCUGAC			
			CUCUGCCCUGGUGUG			
			GUGGCCUUCACUGGA			
			GCCCGUGUUGCUGUG			
			UCGCUGGCGGAGACA			
			UUGUCAAUCACCACU			
			GCCACGGGAGCUGCA			
			GAAGCUGCAAGAGG			
			GUCGGCAAUUCGCCU			
			CGACUUUCUGUCUC			
			CUGAAGCUGCUAGCC			
			CUGCCCCUAAUCCUG			
			ACUGGUUGUCUGCG			
			GCCGCACUACACUUU			
			GCCAUCCAGCAGGUG			

【表７－１９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			CGGGAGGAGAACAU			
			CCGGAAGCAGCUGAA			
			GAAACUGGACUGCG			
			AGCGGGAAGAGCUG			
			CUGGUGUUCCUGUUC			
			UUCUUCAGCCUGAUG			
			GGCCUGCUGAGCUCA			
			CACCUGACCAGCAAC			
			AGCACUACCGACCUG			
			CCCAAAGCCUUCCAC			
			GUGUGCGCUGCCAUC			
			CUGGAGUGCCUGGA			
			GAAGCGGAAGAUCA			
			GCUGGCUGGCCCUGU			
			UCCAGCUGACAGAGU			
			CUGAUCUUCGGCUGG			
			GGCGGUUACUCCUGA			
			GAGUAGCACCCGAUC			
			AGCAUACCAGGCUGC			
			UCCCCUUCGCAUUCU			
			ACAGCCUGCUGAGCU			
			ACUUCCACGAAGACG			
			CCGCCAUACGCGAGG			
			AAGCUUUCCUGCACG			
			UGGCCGUGGACAUG			
			UACCUGAAGCUGGU			
			GCAGCUGUUCGUUGC			
			UGGCGACACCAGCAC			
			CGUGUCACCUCCUGC			
			AGGCAGGAGCCCUGG			
			AGCUGAAAGGUCAG			

【表７－２０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			GGCAACCCCGUGGAG CUGAUCACCAAGGCC CGGCUGUUCCUGCUU CAGCUGAUACCCCGG UGCCCCAAGAAGAGC UUUAGCCACGUGGCC GAACUGCUGGCAGAC CGGGGUGAUUGCGA CCCAGAAGUGUCAGC CGCCCUUCAAAGCCG GCAACAAGCUGCCCC UGACGCCGACUUGAG CCAGGAGCCGCACCU GUUC			
	配列番号	**1**	**14**	**50**	**139**	**23**
	FANCA_03 化学変化：G5 キャップ：C1 PolyA尾部：100nt	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS KVIDCDSSEAY ANHSSSFIGSAL QDQASRLGVPV GILSAGMVASS VGQICTAPAET SHPVLLTVEQR	AUGAGCGACAGCUG GGUGCCCAACAGUGC UUCCGGGCAGGAUCC CGGCGGUAGAAGAC GGGCUUGGGCUGAG CUGCUGGCCGGCAGG GUGAAGCGGGAGAA GUACAACCCCGAGCG GGCCCAGAAGCUGAA GGAGAGUGCCGUGC GGCUGCUGCGGAGCC ACCAGGACCUGAACG CCCUCCUGCUGGAGG	GGAAA UCGCAA AAUUU GCUCUU CGCGUU AGAUU UCUUUU AGUUU UCUCGC AACUAG CAAGCU UUUUG	UAAAGC UCCCCG GGGGCC UCGGUG GCCUAG CUUCUU GCCCCU UGGGCC UCCCCC CAGCCC CUCCUC CCCUUC CUGCAC	配列番号23は、5′末端から3′末端まで、配列番号50の5′ UTR、配列番号14のORF配列、

【表７－２１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
		KKLSSLLEFAQ	UCGAGGGCCCACUGU	UUCUCG	CCGUAC	及び配列番号139の3′ UTRからなる。
		YLLAHSMFSRL	GCAAGAAGCUCAGCC	CC	CCCCGU	
		SFCQELWKIQS	UGAGCAAGGUGAUC		GGUCUU	
		SLLLEAVWHLH	GACUGUGACAGCAGC		UGAAU	
		VQGIVSLQELL	GAGGCCUACGCCAAC		AAAGUC	
		ESHPDMHAVG	CACAGCUCCCAGCUUC		UGAGU	
		SWLFRNLCCLC	AUCGGCAGCGCCCUG		GGGCGG	
		EQMEASCQHA	CAGGACCAGGCCAGC		C	
		DVARAMLSDF	AGACUGGGCGUGCCC			
		VQMFVLRGFQ	GUGGGCAUCCCUGAGC			
		KNSDLRRTVEP	GCCGGCAUGGUGGCC			
		EKMPQVTVDV	AGCUCGGUGGGCCAG			
		LQRMLIFALDA	AUCUGCACCGCUCCC			
		LAAGVQEESST	GCCGAGACCAGCCAC			
		HKIVRCWFGVF	CCCGUGCUGCUCACC			
		SGHTLGSVISTD	GUGGAGCAGCGGAA			
		PLKRFFSHTLT	GAAGCUGAGCAGCCU			
		QILTHSPVLKAS	GCUGGAGUUCGCCCA			
		DAVQMQREWS	GUACCUGCUGGCCCA			
		FARTHPLLISL	CAGCAUGUUCUCCCG			
		YRRLFVMLSAE	GCUGAGCUUUUGCCA			
		ELVGHLQEVLE	AGAGCUGUGGAAGA			
		TQEVHWQRVL	UCCAGAGCUCCCCUGC			
		SFVSALVVCFP	UGCUGGAGGCCGUG			
		EAQQLLEDWV	UGGCACCUUCACGUG			
		ARLMAQAFESC	CAGGGCAUCGUGAGC			
		QLDSMVTAFLV	CUGCAGGAACUGCUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGC			
		FGSTRGYHGCS	AGCUGGCUGUUCCGG			
		KKALVFLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			

【表７－２２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	GGCUAGCUGCCAGCA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUGGCACG			
		SLAKTRLADLK	GGCCAUGCUGAGCGA			
		VSIENMGLYED	CUUCGUGCAGAUGU			
		LSSAGDITEPHS	UCGUGCUGCGGGGCU			
		QALQDVEKAI	UCCAGAAGAAUAGC			
		MVFEHTGNIPV	GACCUACGGCGGACC			
		TVMEASIFRRP	GUGGAGCCCGAGAA			
		YYVSHFLPALL	GAUGCCCCAGGUGAC			
		TPRVLPKVPDS	CGUGGACGUGCUGCA			
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			
		DKIPPSLYSTYC	UCGCCCUGGACGCUC			
		QACSAAEEKPE	UGGCCGCUGGCCUGC			
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCAGC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCAGCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCAGCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCAGCACCGACCCA			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	AGCCACACCCUCACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	AGCCCCGUGCUGAAG			
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGGGA			
		CQLLRHQGPSL	GUGGAGCUUCGCCCG			
		SAPHVLGLAAL	GACCCACCCACUGCU			
		AVHLGESRSAL	GACUAGCCUGUACCG			
		PEVDVGPPAPG	GCGGCUGUUCGUGA			
		AGLPVPALFDS	UGCUGAGCGCAGAG			

【表７－２３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		LLTCRTRDSLFF	GAGCUGGUGGGGCCAC			
		CLKFCTAAISYS	CUGCAGGAGGUGCU			
		LCKFSSQSRDT	GGAGACCCAGGAGG			
		LCSCLSPGLIKK	UGCACUGGCAGCGGG			
		FQFLMFRLFSE	UGCUGAGCUUCGUG			
		ARQPLSEEDVA	AGCGCCCUGGUGGUG			
		SLSWRPLHLPS	UGCUUCCCCGAGGCC			
		ADWQRAALSL	CAGCAGCUCCUGGAG			
		WTHRTFREVLK	GACUGGGUGGCCCGG			
		EEDVHLTYQD	CUGAUGGCCCAGGCC			
		WLHLELEIQPE	UUCGAGAGCUGCCAG			
		ADALSDTERQD	CUGGACAGCAUGGU			
		FHQWAIHEHFL	GACCGCCUUCCUGGU			
		PESSASGGCDG	GGUGCCGGCAGGCUGC			
		DLQAACTILVN	CCUGGAAGGCCCCAG			
		ALMDFHQSSRS	CGCUUUCCUGAGCUA			
		YDHSENSDLVF	CGCCGACUGGUUCAA			
		GGRTGNEDIISR	GGCCAGCUUCGGCUC			
		LQEMVADLEL	CACCCGGGGCUACCA			
		QQDLIVPLGHT	CGGCUGCAGCAAGAA			
		PSQEHFLFEIFR	GGCCCUGGUGUUCCU			
		RRLQALTSGWS	GUUCACCUUCCUGAG			
		VAASLQRQREL	CGAGCUGGUGCCCUU			
		LMYKRILLRLP	CGAGUCACCCCGGUA			
		SSVLCGSSFQA	CCUGCAGGUGCACAU			
		EQPITARCEQFF	CCUGCAUCCUCCGCU			
		HLVNSEMRNFC	GGUGCCCGGCAAGUA			
		SHGGALTQDIT	CCGGAGCCCUGCUGAC			
		AHFFRGLLNAC	CGACUACAUCAGCCU			
		LRSRDPSLMVD	GGCCAAGACCCGGCU			
		FILAKCQTKCP	GGCCGACCUGAAGGU			

【表７－２４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		LILTSALVWWP	GAGCAUCGAGAACA			
		SLEPVLLCRWR	UGGGCCUGUACGAG			
		RHCQSPLPREL	GACCUGAGCAGCGCC			
		QKLQEGRQFAS	GGCGACAUCACCGAG			
		DFLSPEAASPAP	CCCCACAGCCAGGCC			
		NPDWLSAAAL	CUGCAAGACGUGGA			
		HFAIQQVREENI	GAAGGCCAUCAUGG			
		RKQLKKLDCER	UGUUCGAGCACACCG			
		EELLVFLFFFSL	GCAACAUCCCCGUGA			
		MGLLSSHLTSN	CCGUCAUGGAGGCCA			
		STTDLPKAFHV	GCAUCUUCCGGCGGC			
		CAAILECLEKR	CCUACUACGUGAGCC			
		KISWLALFQLT	ACUUCCUGCCCGCCC			
		ESDLRLGRLLL	UGCUGACCCCACGGG			
		RVAPDQHTRLL	UGCUGCCCAAGGUGC			
		PFAFYSLLSYFH	CCGACAGCCGGGUGG			
		EDAAIREEAFL	CCUUCAUCGAGAGCC			
		HVAVDMYLKL	UGAAGCGGGCCCGACA			
		VQLFVAGDTST	AGAUCCCACCCAGCC			
		VSPPAGRSLEL	UGUACAGCACCUACU			
		KGQGNPVELIT	GCCAGGCCUGCUCUG			
		KARLFLLQLIPR	CCGCCGAGGAGAAGC			
		CPKKSFSHVAE	CCGAGGACGCCGCAU			
		LLADRGDCDPE	UAGGCGUGCGGGCCG			
		VSAALQSRQQA	AGCCCAACAGCGCCG			
		APDADLSQEPH	AGGAACCCCUGGGGC			
		LF	AGCUGACCGCAGCCC			
			UGGGAGAGCUGCGG			
			GCCAGCAUGACCGAC			
			CCCAGCCAGCGGGAC			
			GUGAUCAGCGCCCAG			

【表７－２５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GUGGCCGUCAUCAGC			
			GAGCGGCUGCGGGCA			
			GUGCUGGGGCCACAAC			
			GAGGACGACAGCAGC			
			GUGGAGAUCAGCAA			
			GAUCCAGCUGAGCAU			
			CAACACCCCACGGCU			
			GGAACCUCGGGAGCA			
			CAUGGCCGUGGACCU			
			GCUGCUGACCAGCUU			
			CUGCCAGAACCUGAU			
			GGCCGCCUCUAGCGU			
			GGCCCCACCAGAACG			
			GCAGGGUCCCCUGGGC			
			UGCCCCGUUCGUGCG			
			GACCAUGUGCGGCCG			
			GGUUCUGCCCGCUGU			
			GCUGACCCGGCUGUG			
			CCAGCUGCUGCGGCA			
			CCAGGGCCCUAGCCU			
			GAGCGCUCCCCCACGU			
			GCUGGGCCUAGCUGC			
			CCUGGCCGUGCACCU			
			UGGGGAGUCCCGAA			
			GCGCCCUGCCCGAGG			
			UGGACGUGGGGCCCUC			
			CAGCCCCAGGUGCUG			
			GCCUUCCCGUGCCCG			
			CUCUGUUCGACAGUC			
			UGCUGACCUGCCGGA			
			CCCGGGACAGCCUGU			

【表７－２６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UCUUCUGCCUGAAGU			
			UCUGCACCGCCGCCA			
			UCAGCUACAGCCUGU			
			GCAAGUUCAGCAGCC			
			AGAGCCGGGACACCC			
			UGUGCAGCUGCCUGA			
			GCCCCGGCCUGAUCA			
			AGAAGUUCCAGUUCC			
			UGAUGUUCCGGCUG			
			UUCAGCGAAGCCCGG			
			CAGCCCCUGAGCGAG			
			GAGGACGUCGCCAGC			
			CUGUCCUGGAGACCC			
			CUGCACCUGCCCAGC			
			GCCGACUGGCAGAGA			
			GCCGCCCUGAGCCUG			
			UGGACCCACCGGACC			
			UUCCGGGAGGUGCU			
			GAAGGAAGAGGACG			
			UGCACCUGACCUACC			
			AGGACUGGCUGCACC			
			UGGAGCUGGAGAUU			
			CAGCCCGAGGCCGAC			
			GCCCUGAGCGACACC			
			GAGCGGCAGGAUUU			
			CCACCAGUGGGCCAU			
			CCACGAGCAUUUCCU			
			GCCCGAGAGCAGCGC			
			CAGCGGCGGCUGUGA			
			CGGCGACCUGCAGGC			
			CGCCUGCACCAUCCU			

【表７－２７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			GGUGAACGCCCUGAU			
			GGACUUCCACCAGAG			
			CAGCCGGAGCUACGA			
			CCACAGCGAGAACAG			
			CGACCUGGUGUUCGG			
			CGGACGGACCGGCAA			
			CGAGGACAUCAUCAG			
			CCGGCUGCAGGAGAU			
			GGUCGCCGACCUGGA			
			GUUGCAGCAGGACCU			
			GAUCGUGCCCCUGGG			
			CCACACUCCCAGCCA			
			GGAGCACUUCCUGUU			
			CGAGAUCUUCCGCCG			
			GAGACUGCAGGCCCU			
			GACCUCAGGCUGGAG			
			CGUGGCCGCCAGCCU			
			GCAACGGCAGCGGGA			
			GCUGCUGAUGUACA			
			AGCGGAUCCUGCUGC			
			GGCUGCCCAGCAGCG			
			UGCUGUGCGGCAGCA			
			GCUUCCAGGCCGAGC			
			AGCCCAUCACGGCCC			
			GGUGCGAGCAGUUC			
			UUCCACCUGGUGAAC			
			AGCGAGAUGCGGAA			
			CUUCUGCAGCCACGG			
			AGGCGCCCUGACCCA			
			GGACAUCACCGCCCA			
			CUUCUUCCGGGCCU			

【表７－２８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GCUGAACGCCUGCCU			
			GCGGAGCAGAGACCC			
			CAGCCUGAUGGUGG			
			ACUUCAUCCUGGCCA			
			AGUGCCAGACCAAGU			
			GUCCCCUGAUCCUGA			
			CCUCCGCCCUGGUGU			
			GGUGGCCCAGCCUGG			
			AGCCCGUGCUUCUGU			
			GUCGGUGGCGGGCGC			
			ACUGCCAGAGCCCUC			
			UGCCCCGGGAGCUGC			
			AGAAGCUGCAGGAG			
			GGCCGGCAGUUCGCC			
			AGCGACUUCCUGUCU			
			CCCGAGGCCGCUAGC			
			CCAGCCCCAACCCC			
			GACUGGCUGAGCGCU			
			GCCGCCCUGCACUUC			
			GCCAUCCAGCAGGUG			
			CGGGAGGAGAACAU			
			CCGGAAGCAGCUGAA			
			GAAGCUGGACUGCG			
			AGCGGGAGGAGCUG			
			CUCGUGUUCCUCUUC			
			UUCUUCAGCCUCAUG			
			GGCCUUCUGAGCAGC			
			CACCUGACCAGCAAC			
			AGCACCACCGACCUG			
			CCCAAGGCCUUCCAC			
			GUGUGCGCCGCCAUC			

【表７－２９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CUGGAGUGCCUGGA			
			GAAGCGGAAGAUCA			
			GCUGGCUGGCCCUGU			
			UCCAGCUGACCGAGA			
			GCGACCUGCGGCUGG			
			GCCGACUGCUGCUGC			
			GGGUGGCCCCAGACC			
			AGCACACCCGGCUGC			
			UGCCCUUCGCCUUCU			
			ACAGCCUGCUGAGCU			
			ACUUCCACGAGGACG			
			CUGCCAUCCGGGAGG			
			AGGCCUUUCUGCACG			
			UGGCAGUGGACAUG			
			UACCUGAAGCUGGU			
			GCAGCUGUUCGUGGC			
			CGGCGACACCAGCAC			
			CGUGUCACCACCAGC			
			CGGCCGCUCCCUGGA			
			GCUGAAGGGCCAGG			
			GCAACCCCGUGGAGC			
			UGAUCACCAAGGCCC			
			GGCUGUUCCUGCUGC			
			AGCUGAUCCCACGGU			
			GCCCCAAGAAGAGCU			
			UCAGCCACGUGGCCG			
			AGCUGCUUGCCGACC			
			GGGGAGACUGCGACC			
			CCGAGGUGAGCGCCG			
			CCUUGCAGAGCCGGC			
			AGCAGGCCGCACCUG			

【表７－３０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			ACGCCGACCUGAGCC AGGAGCCCCCACCUGU UC			
配列番号		1	15	50	139	24
	FANCA_04 化学変化：G5 キャップ：C1 PolyA尾部：100nt	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS KVIDCDSSEAY ANHSSSFIGSAL QDQASRLGVPV GILSAGMVASS VGQICTAPAET SHPVLLTVEQR KKLSSLLEFAQ YLLAHSMFSRL SFCQELWKIQS SLLLEAVWHLH VQGIVSLQELL ESHPDMHAVG SWLFRNLCCLC EQMEASCQHIA DVARAMLSDF VQMFVLRGFQ KNSDLRRTVEP	AUGAGCGACAGCUG GGUGCCCAACACGCGC CAGUGGCCAAGACCC CGGCGGUCGGAGACG AGCGUGGGCUGAGC UGCUGGCCGGACGGG UGAAGCGGGAGAAG UACAACCCCGAGCGG GCCCAGAAGCUGAAG GAGAGCGCUGUGCCG GCUGCUGCGGAGCCA CCAGGACCUGAACGC CCUGCUGCUGGAGGU GGAGGGCCCACUGUG CAAGAAGCUGAGCCU GAGCAAGGUGAUCG ACUGCGACAGCAGCG AGGCCUACGCCAACC ACAGCAGCAGCUUCA UCGGCAGCGCCCUGC AGGACCAGGCCAGCA GACUGGGCGUGCCCG UGGGCAUCCUGAGCG CCGGCAUGGUGGCCA	GGAAA UCGCAA AAUUU GCUCUU CGCGUU AGAUU UCUUUU AGUUU UCUCGC AACUAG CAAGCU UUUUG UUCUCG CC	UAAAGC UCCCCG GGGGCC UCGGUG GCCUAG CUUCUU GCCCCU UGGGCC UCCCCC CAGCCC CUCCUC CCCUUC CUGCAC CCGUAC CCCCGU GGUCUU UGAAU AAAGUC UGAGU GGGCGG C	配列番号24は、5′末端から3′末端まで、配列番号50の5′ UTR、配列番号150のORF配列、及び配列番号139の3′ UTRからなる。

【表７－３１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		EKMPQVTVDV	GCAGCGUGGGCCAGA			
		LQRMLIFALDA	UCUGCACCGCCCCGG			
		LAAGVQEESST	CCGAGACAAGCCACC			
		HKIVRCWFGVF	CCGUGCUGCUGACCG			
		SGHILGSVISTD	UGGAGCAGCGGAAG			
		PLKRFFSHILT	AAGCUGAGCAGCCUG			
		QILTHSPVLKAS	CUGGAGUUCGCCCAG			
		DAVQMQREWS	UACCUGCUGGCCCAC			
		FARTHPLLTSL	AGCAUGUUCAGCCGG			
		YRRLFVMLSAE	CUGAGCUUCUGCCAG			
		ELVGHILQEVLE	GAGCUGUGGAAGAU			
		TQEVHWQRVL	CCAGAGCAGCCUGCU			
		SFVSALVVCFP	GCUGGAGGCCGUGU			
		EAQQLLEDWV	GGCACCUGCACGUGC			
		ARLMAQAFESC	AGGGCAUCGUGAGCC			
		QLDSMVTAFLV	UGCAGGAGCUGCUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGC			
		FGSTRGYHGCS	AGCUGGCUGUUCCGG			
		KKALVHLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	GGCCAGCUGCCAGCA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUGGGCUCG			
		SLAKTRLADLK	GGCCAUGCUGAGCGA			
		VSIENMGLYED	CUUCGUGCAGAUGU			
		LSSAGDITEPHS	UCGUGCUGCGGGGCU			
		QALQDVEKAI	UCCAGAAGAACAGCG			
		MVFEHTGNIPV	ACCUGCGGCGGACCG			
		TVMEASIFRRP	UAGAGCCCGAGAAG			
		YYVSHIFLPALL	AUGCCCCAGGUGACC			
		TPRVLPKVPDS	GUGGACGUGCUGCA			

【表７－３２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			
		DKIPPSLYSTYC	UCGCACUCCGACGCCC			
		QACSAAEEKPE	UGGCCGCUGGUGUGC			
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCAGC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCAGCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCAGCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCAGCACCGAUCCC			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	AGCCACACCCUGACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	AGCCCCGUGCUGAAG			
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGGGA			
		CQLLRHQGPSL	GUGGAGCUUCGCCCG			
		SAPHVLGLAAL	GACCCAUCCCCUGCU			
		AVHLGESRSAL	GACCAGCCUGUACCG			
		PEVDVGPPAPG	GCGGCUGUUCGUGA			
		AGLPVPALFDS	UGCUGAGCGCCCGAGG			
		LLTCRTRDSLFF	AGCUGGUGGGCCACC			
		CLKFCTAAISYS	UGCAGGAGGUGCUG			
		LCKFSSQSRDT	GAGACCCAGGAGGU			
		LCSCLSPGLIKK	GCACUGGCAGCGGGU			
		FQFLMFRLFSE	GCUGAGCUUCGCGA			
		ARQPLSEEDVA	GCGCCCUGGUGGUGU			
		SLSWRPLHLPS	GCUUCCCCGAGGCCC			
		ADWQRAALSL	AGCAGCUGCUGGAG			
		WTHRTFREVLK	GACUGGGUGGCCCGG			
		EEDVHLTYQD	CUGAUGGCCCAGGCC			
		WLHLELEIQPE	UUCGAGAGCUGCCAG			

【表７－３３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		ADALSDTERQD	CUGGACAGCAUGGU			
		FHQWAIHEHFL	GACCGCCUUCCUGGU			
		PESSASGGCDG	GGUAAGGCAAGCCGC			
		DLQAACTILVN	CCUGGAGGGUCCCAG			
		ALMDFHQSSRS	CGCCUCCUGAGCUA			
		YDHSENSDLVF	CGCCGACUGGUUCAA			
		GGRTGNEDIISR	GGCCAGCUUCGGCAG			
		LQEMVADLEL	CACCCGGGGCUACCA			
		QQDLIVPLGHT	CGGCUGCAGCAAGAA			
		PSQEHFLFEIFR	GGCCCUGGUGUUCCU			
		RRLQALTSGWS	GUUCACCUUCCUGAG			
		VAASLQRQREL	CGAGCUGGUGCCCUU			
		LMYKRILLRLP	CGAGUCACCCCGGUA			
		SSVLCGSSFQA	CCUGCAGGUGCACAU			
		EQPITARCEQFF	CCUGCACCCACCCCC			
		HLVNSEMRNFC	GGUGCCCGGCAAGUA			
		SHGGALTQDIT	CCGGAGCCCUGCUGAC			
		AHFFRGLLNAC	CGACUACAUCAGCCU			
		LRSRDPSLMVD	GGCCAAGACCCGGCU			
		FILAKCQTKCP	GGCCGACCUGAAGGU			
		LILTSALVWWP	GAGCAUCGAGAACA			
		SLEPVLLCRWR	UGGGCCUGUACGAG			
		RHCQSPLPREL	GACCUGAGCAGCGCC			
		QKLQEGRQFAS	GGCGACAUCACCGAG			
		DFLSPEAASPAP	CCCCACAGCCAGGCC			
		NPDWLSAAAL	CUGCAGGACGUGGA			
		HFAIQQVREENI	GAAGGCCAUCAUGG			
		RKQLKKLDCER	UGUUCGAGCACACCG			
		EELLVFLFFFSL	GCAACAUCCCCGUGA			
		MGLLSSHLTSN	CCGUGAUGGAGGCCA			
		STTDLPKAFHV	GCAUCUUCCGGCGGC			

【表７－３４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		CAAILECLEKR	CCUACUACGUGAGCC			
		KISWLALFQLT	ACUUCCUGCCCGCCC			
		ESDLRLGRLLL	UGCUGACUCCCCGGG			
		RVAPDQHTRLL	UGCUGCCCAAGGUGC			
		PFAFYSLLSYFH	CCGACAGCCGGGUGG			
		EDAAIREEAFL	CCUUCAUCGAGAGCC			
		HVAVDMYLKL	UGAAGCGGGCCCGACA			
		VQLFVAGDTST	AGAUUCCUCCCAGCC			
		VSPPAGRSLEL	UGUACAGCACCUACU			
		KGQGNPVELIT	GCCAGGCCUGCAGUG			
		KARLFLLQLIPR	CCGCCGAGGAGAAGC			
		CPKKSFSHVAE	CCGAAGACGCCGCUC			
		LLADRGDCDPE	UGGGCGUGAGAGCC			
		VSAALQSRQQA	GAGCCCAACAGCGCC			
		APDADLSQEPH	GAGGAGCCUUUGGG			
		LF	CCAGCUGACAGCAGC			
			CCUUGGCGAGCUGCG			
			GGCCAGCAUGACCGA			
			CCCCAGCCAGCGGGA			
			CGUGAUCAGCGCCCA			
			GGUGGCCGUGAUCUC			
			CGAGAGACUGCGGGC			
			CGUGCUGGGCCACAA			
			CGAGGACGACAGCAG			
			CGUGGAGAUCAGCA			
			AGAUCCAGCUGAGCA			
			UCAACACUCCCCGGC			
			UGGAGCCCAGGGAGC			
			ACAUGGCCGUGGACC			
			UGCUGCUGACCAGCU			
			UCUGCCAGAACCUGA			

【表７－３５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UGGCCGCCUCAAGCG			
			UGGCCCCUCCAGAGC			
			GGCAAGGCCCUUGGG			
			CGGCCCUGUUCGUGC			
			GGACCAUGUGCGGCC			
			GGGUGUUGCCUGCCG			
			UGCUGACCCGGCUGU			
			GCCAGCUGCUGCGGC			
			ACCAGGGCCCUAGCC			
			UGAGCGCUCCCCACG			
			UGCUGGGGCUGGCCG			
			CCUUAGCAGUGCACC			
			UGGGCGAGUCACGG			
			AGCGCCCUGCCCGAG			
			GUGGACGUGGGCCCU			
			CCUGCGCCAGGAGCA			
			GGGCUUCCCCGUGCCC			
			GCCCUGUUCGACAGC			
			CUGCUGACCUGCCGG			
			ACCCGGGACAGCCUG			
			UUCUUCUGCCUGAAG			
			UUCUGCACCGCCGCC			
			AUCAGCUACAGCCUG			
			UGCAAGUUCAGCAGC			
			CAGAGCCGGGACACC			
			CUGUGCAGCUGCCUG			
			AGCCCCGGCCUGAUC			
			AAGAAGUUCCAGUU			
			CCUGAUGUUCCGGCU			
			GUUCAGCGAGGCCCG			
			GCAACCCCUGAGCGA			

【表７－３６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GGAGGACGUGGGCCA			
			GCCUGAGCUGGCGGC			
			CCCUGCACCUUCCCA			
			GCGCCGACUGGCAAC			
			GCGCCGCCCUGAGCC			
			UGUGGACCCACCGGA			
			CCUUCCGGGAGGUGC			
			UGAAGGAGGAGGAC			
			GUGCACCUGACCUAC			
			CAGGACUGGCUGCAC			
			CUGGAGCUGGAGAU			
			UCAGCCCGAGGCCGA			
			CGCCCUGAGCGACAC			
			CGAGCCGGCAGGACUU			
			CCACCAGUGGGCCAU			
			CCACGAGCACUUCCU			
			GCCCGAGAGCAGUGC			
			CAGCGGCGGCUGUGA			
			CGGCGACCUGCAGGC			
			CGCCUGCACCAUCCU			
			GGUGAACGCCCUGAU			
			GGACUUCCACCAGAG			
			CAGCCGGAGCUACGA			
			CCACAGCGAGAACAG			
			CGACCUGGUGUUCGG			
			AGGCCGGACCGGCAA			
			CGAGGACAUCAUCAG			
			CCGGCUGCAGGAGAU			
			GGUGGCCGACCUGGA			
			GCUGCAGCAGGACCU			
			GAUCGUGCCCCUGGG			

【表７－３７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CCACACCCCUAGCCA			
			GGAGCACUUCCUGUU			
			CGAGAUCUUUCGGCG			
			GCGGCUGCAAGCGCU			
			GACCAGCGGUUGGA			
			GCGUGGCCGCCUCCC			
			UGCAACGGCAGCGGG			
			AGCUGCUGAUGUAC			
			AAGCGGAUCCUGCUG			
			CGGCUGCCCAGCAGC			
			GUGCUGUGCGGCAGC			
			AGCUUCCAGGCCGAG			
			CAGCCCAUCACCGCC			
			CGGUGCGAGCAGUUC			
			UUCCACCUGGUGAAC			
			AGCGAGAUGCGGAA			
			CUUCUGCAGCCACGG			
			UGGCGCCCUGACCCA			
			GGACAUCACCGCCCA			
			CUUCUUCCGGGCCU			
			GCUGAACGCCUGCCU			
			GCGUAGCCCGGGACCC			
			CAGCCUGAUGGUGG			
			ACUUCAUCCUGGCCA			
			AGUGCCAGACCAAGU			
			GCCCACUGAUCCUGA			
			CCAGCGCCCUGGUGU			
			GGUGGCCCAGCCUGG			
			AGCCCGUGCUGCUGU			
			GCCGGUGGCCGACGGC			
			ACUGCCAGUCACCGC			

【表７－３８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UGCCCCGGGAGCUGC			
			AGAAGCUGCAGGAG			
			GGCCGGCAGUUCGCC			
			AGCGACUUCCUGAGC			
			CCCGAGGCUGCCAGC			
			CCUGCCCCGAACCCC			
			GACUGGCUGAGUGCC			
			GCCGCCCUGCACUUC			
			GCCAUCCAGCAGGUG			
			CGGGAGGAGAACAU			
			CCGGAAGCAGCUGAA			
			GAAGCUGGACUGCG			
			AGCGGGAGGAGCUG			
			CUGGUGUUCCUGUUC			
			UUCUUCAGCCUGAUG			
			GGCCUGCUGAGCAGC			
			CACCUGACCAGCAAC			
			AGCACCACCGACCUG			
			CCCAAGGCCUUCCAC			
			GUGUGCGCCGCCAUC			
			CUGGAGUGCCUGGA			
			GAAGCGGAAGAUCA			
			GCUGGCUGGCCCUGU			
			UCCAGCUGACCGAGU			
			CUGACCUGCGCCUGG			
			GCAGGCUGCUGCUGC			
			GGGUGGCUCCCGACC			
			AGCACACCCGGCUGC			
			UGCCCUUCGCCUUCU			
			ACAGCCUGCUGAGCU			
			ACUUCCACGAGGACG			

【表７－３９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
配列番号		1	16	50	139	25
	FANCA_05 化学変化：G5	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK	AUGUCCGACUCUUGG GUCCCCAACUCCGCC UCUGGUCAAGAUCCG GGAGGAAGGAGACG	GGAAA UCGCAA AAUUU GCUCUU	UAAAGC UCCCCG GGGGCC UCGGUG	配列番号25は、

CCGCCAUCCGGGAGG
AGGCCUUCCUGCACG
UGGCCGUGGACAUG
UACCUGAAGCUGGU
GCAGCUGUUCGUGGC
CGGCGACACCAGCAC
UGUAUCUCCACCGGC
UGGGCGGUCCCUGGA
GCUGAAGGGCCAGG
GCAACCCCGUGGAGC
UGAUCACCAAGGCCC
GGCUGUUCCUGCUGC
AGCUGAUCCCACGGU
GCCCCAAGAAGAGCU
UCAGCCACGUGGCCG
AGCUGCUGGCCGACC
GGGGAGACUGCGACC
CCGAGGUUAGUGCCG
CCCUCCAGAGCCGGC
AGCAAGCCGCCCCUG
ACGCCGACCUGAGCC
AGGAGCCCCACCUGU
UC

【表７－４０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
	キャップ：C1 PolyA尾部：100nt	LKESAVRLLRS	UGCCUGGGCGGAACU	CGCGUU	GCCUAG	5′末端から3′末端まで、配列番号50の5′ UTR、配列番号16のORF配列、及び配列番号139の3′ UTRからなる。
		HQDLNALLLEV	GUUAGCCGGACGUG	AGAUU	CUUCUU	
		EGPLCKKLSLS	UGAAGAGGGAGAAG	UCUUUU	GCCCCU	
		KVIDCDSSEAY	UACAAUCCCGAGCGC	AGUUU	UGGGCC	
		ANHSSSFIGSAL	GCACAGAAGCUCAAG	UCUCGC	UCCCCC	
		QDQASRLGVPV	GAAUCCGCAGUUAG	AACUAG	CAGCCC	
		GILSAGMVASS	GCUCCUCCGCUCUCA	CAAGCU	CUCCUC	
		VGQICTAPAET	CCAGGACCUCAACGC	UUUUG	CCCUUC	
		SHPVLLTVEQR	ACUGCUCCUCGAGGU	UUCUCG	CUGCAC	
		KKLSSLLEFAQ	CGAGGGACCACUCUG	CC	CCGUAC	
		YLLAHSMFSRL	CAAGAAGCUCUCCCU		CCCCGU	
		SFCQELWKIQS	CUCCAAGGUCAUCGA		GGUCUU	
		SLLLEAVWHLH	CUGCGACUCCUCCGA		UGAAU	
		VQGIVSLQELL	GGCCUACGCCAACCA		AAAGUC	
		ESHPDMHAVG	CUCCUCCUCCUUCAU		UGAGU	
		SWLFRNLCCLC	CGGCUCCGCCCUCCA		GGGCGG	
		EQMEASCQHA	AGAUCAAGCUUCCCG		C	
		DVARAMLSDF	CCUCGGAGUUCCUGU			
		VQMFVLRGFQ	GGGCAUCCUAAGCGC			
		KNSDLRRTVEP	CGGGAUGGUCGCAUC			
		EKMPQVTVDV	UUCCGUCGGCCAGAU			
		LQRMLIFALDA	UUGCACAGCACCCGC			
		LAAGVQEESST	CGAGACAUCCCAUCC			
		HKIVRCWFGVF	UGUCCUUCUCACCGU			
		SGHTLGSVISTD	CGAGCAGCGCAAGAA			
		PLKRFFSHTLT	GCUCUCCUCCCUCCU			
		QILTHSPVLKAS	CGAGUUUGCCCAGUA			
		DAVQMQREWS	CCUCCUCGCCCACUC			
		FARTHPLLTSL	CAUGUUCUCCCGCCU			
		YRRLFVMLSAE	CUCCUCCUGCCAGGA			
		ELVGHLQEVLE	GCUCUGGAAGAUCCA			

【表７－４１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		TQEVHWQRVL	GUCCUCCCUCCUGCU			
		SFVSALVVCFP	CGAAGCCGUCUGGCA			
		EAQQLLEDWV	UCUCCACGUCCAGGG			
		ARLMAQAFESC	CAUCGUCUCCCUCCA			
		QLDSMVTAFLV	GGAGCUCCCUCGAAUC			
		VRQAALEGPSA	CCAUCCAGACAUGCA			
		FLSYADWFKAS	CGCCGUCGGUUCUUG			
		FGSTRGYHGCS	GCUCUUCCGCAACCU			
		KKALVFLFTFL	CUGCUGCCUCUGCGA			
		SELVPFESPRYL	GCAGAUGGAAGCCUC			
		QVHILHPPLVP	CUGCCAACACGCUGA			
		GKYRSLLTDYI	CGUCGCUCGAGCCAU			
		SLAKTRLADLK	GCUCUCCGACUUCGU			
		VSIENMGLYED	CCAGAUGUUCGUCCU			
		LSSAGDITEPHS	CCGCGGCUUCCAGAA			
		QALQDVEKAI	GAAUUCCGACCUCCG			
		MVFEHTGNIPV	UCGCACAGUCGAGCC			
		TVMEASIFRRP	UGAGAAGAUGCCUC			
		YYVSHFLPALL	AGGUCACCGUCGACG			
		TPRVLPKVPDS	UCCUCCAGAGAAUGC			
		RVAFIESLKRA	UCAUCUUCGCACUGG			
		DKIPPSLYSTYC	ACGCACUAGCUGCAG			
		QACSAAEEKPE	GCGUCCAGGAGGAG			
		DAALGVRAEP	UCCUCCACCCACAAG			
		NSAEEPLGQLT	AUCGUCCGCUGUUGG			
		AALGELRASMT	UUCGGCGUCUUUAGC			
		DPSQRDVISAQ	GGGCACACCUUGGGG			
		VAVISERLRAV	UCAGUCAUCUCCACC			
		LGHNEDDSSVE	GAUCCCCUCAAGCGC			
		ISKIQLSINTPRL	UUCUUCUCCCACACC			
		EPREHMAVDLL	CUCACCCAGAUCCUC			

【表７－４２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		LTSFCQNLMAA	ACCCACUCCCCCAGUC			
		SSVAPPERQGP	CUCAAAGCCUCCGAC			
		WAALFVRTMC	GCCGUCCAGAUGCAA			
		GRVLPAVLTRL	CGCGAGUGGUCCUUU			
		CQLLRHQGPSL	GCCCGAACCCACCCA			
		SAPHVLGLAAL	CUCCUCACCUCCCUC			
		AVHLGESRSAL	UACCGCAGGCUCUUC			
		PEVDVGPPAPG	GUCAUGCUCUCCGCC			
		AGLPVPALFDS	GAAGAACUCGUCGGC			
		LLTCRTRDSLFF	CACUUGCAGGAGGUC			
		CLKFCTAAISYS	CUCGAGACCCAAGAA			
		LCKFSSQSRDT	GUCCACUGGCAGCGC			
		LCSCLSPGLIKK	GUCCUCUCCUUCGUC			
		FQFLMFRLFSE	UCCGCCCUCGUCCGUC			
		ARQPLSEEDVA	UGUUUUCCAGAGGCC			
		SLSWRPLHLPS	CAGCAGCUCCUUGAG			
		ADWQRAALSL	GAUUGGGUGGCACG			
		WTHRTFREVLK	GCUCAUGGCUCAGGC			
		EEDVHLTYQD	CUUCGAGUCCUGCCA			
		WLHLELEIQPE	GCUCGACUCCAUGGU			
		ADALSDTERQD	CACCGCCUUUCUUGU			
		FHQWAIHEHFL	UGUCCGCCAAGCUGC			
		PESSASGGCDG	UCUCGAGGGUCCUUC			
		DLQAACTILVN	GGCAUUCCUGAGCUA			
		ALMDFHQSSRS	CGCCGACUGGUUCAA			
		YDHSENSDLVF	GGCCUCCUUCGGUAG			
		GGRTGNEDIISR	CACAAGGGGCUACCA			
		LQEMVADLEL	CGGUUGCUCCAAGAA			
		QQDLIVPLGHT	GGCCCUCGUCUUCCU			
		PSQEHFLFEIFR	CUUCACCUUCCUCUC			
		RRLQALTSGWS	CGAGCUCGUCCCCUU			

【表７－４３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		VAASLQRQREL	CGAGAGUCCCCCGCUA			
		LMYKRILLRLP	CCUCCAGGUCCACAU			
		SSVLCGSSFQA	CCUCCAUCCUCCUCU			
		EQPITARCEQFF	GGUCCCCGGAAAGUA			
		HLVNSEMRNFC	CCGCUCCCUCCUCAC			
		SHGGALTQDIT	CGACUACAUCUCCCU			
		AHFFRGLLNAC	CGCUAAGACCCGACU			
		LRSRDPSLMVD	CGCCGACUUGAAGGU			
		FILAKCQTKCP	CUCCAUCGAGAACAU			
		LILTSALVWWP	GGGCCUCUACGAAGA			
		SLEPVLLCRWR	UCUCUCCAGUGCAGG			
		RHCQSPLPREL	CGACAUCACCGAGCC			
		QKLQEGRQFAS	ACACUCCCAAGCCCU			
		DFLSPEAASPAP	CCAGGACGUCGAGAA			
		NPDWLSAAAL	GGCCAUCAUGGUCUU			
		HFAIQQVREENI	CGAGCACACCGGCAA			
		RKQLKKLDCER	CAUCCCCGUCACCGU			
		EELLVFLFFFSL	CAUGGAGGCCUCCAU			
		MGLLSSHLTSN	CUUCAGACGCCCCUA			
		SITDLPKAHHV	CUACGUCUCCCACUU			
		CAAILECLEKR	UCUCCCUGCCCUCCU			
		KISWLALFQLT	AACCCCUCGGGUACU			
		ESDLRLGRLLL	CCCCAAGGUCCCCGA			
		RVAPDQHTRLL	CUCCAGAGUCGCCUU			
		PFAFYSLLSYFH	CAUCGAGUCCCUCAA			
		EDAAIREEAFL	GCGCGCAGACAAGAU			
		HVAVDMYLKL	CCCACCAUCCCUCUA			
		VQLFVAGDTST	CUCCACCUAUUGUCA			
		VSPPAGRSLEL	AGCCUGUUCUGCCGC			
		KGQGNPVELIT	CGAAGAGAAACCCGA			
		KARLFLLQLIPR	GGACGCCGCAUUAGG			

【表７－４４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（オルタナティブ）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
		CPKKSFSHVAE LLADRGDCDPE VSAALQSRQQA APDADLSQEPH LF	CGUCCGUGUGCAGAGCC CAACUCAGCUGAGGA GCCACUGGGCCAGCU AACAGCUGCACUAGG CGAGCUGAGGGCGA GUAUGACCGACCCUU CCCAGCGAGACGUCA UCUCCGCCCAAGUCG CCGUCAUUUCCGAAC GCUUGAGGGCAGUG CUGGGCCACAACGAG GACGACUCCUCCGUC GAGAUCUCCAAGAUC CAGCUCUCCAUCAAU ACACCUCGCCUGGAA CCCCGAGAGCACAUG GCCGUCGACCUCCUC CUCACCUCCUUCUGC CAGAACUUGAUGGC UGCCUCCUCCGUUGC UCCUCCGGAAAGACA AGGUCCCUGGGCCGC UCUCUUUGUCCGCAC CAUGUGUGGACGAG UGCUCCCAGCUGUCC UCACUCGCCUCUGCC AGUUGCUCCGCCACC AAGGACCCUCACUCU CUGCACCGCACGUAC UGGGACUCGCAGCAC UCGCAGUCCACCUCG			

10

20

30

40

50

【表７－４５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			GAGAAUCCCGCUCUG			
			CUCUCCCAGAAGUGG			
			ACGUGGGACCUCCUG			
			CACCUGGUGCUGGCU			
			UGCCCGUACCAGCUC			
			UCUUCGACUCCCUCC			
			UCACGUGCAGAACCC			
			GCGACUCCCUCUUCU			
			UCUGCCUCAAGUUCU			
			GCACCGCCGCCAUCU			
			CCUACUCCCUCUGCA			
			AGUUCAGCUCCCAGU			
			CACGCGACACCCUCU			
			GCUCCUGCUUGUCCC			
			CUGGCCUCAUCAAGA			
			AGUUCCAGUUCCUCA			
			UGUUCCGCCUCUUCU			
			CCGAGGCCAGACAAC			
			CCCUCUCCGAGGAGG			
			ACGUGGCUUCCCUCA			
			GUUGGAGACCCCUCC			
			ACUUGCCUUCCGCCG			
			AUUGGCAAAGAGCC			
			GCGCUCUCUCUCUGG			
			ACCCAUCGCACCUUC			
			CGCGAGGUCCUCAAG			
			GAGGAGGACGUCCAC			
			CUCACCUACCAGGAC			
			UGGCUCCACCCUCGAG			
			CUCGAGAUCCAACCC			
			GAAGCAGACGCCCUC			

【表７－４６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UCCGACACCGAACGC			
			CAGGACUUCCACCAG			
			UGGGCCAUCCACGAG			
			CACUUCCUCCCCGAA			
			AGCAGUGCUUCCGGU			
			GGUUGCGACGGGGA			
			UCUCCAAGCCGCUUG			
			CACCACCCUCGUCAA			
			CGCCCUCAUGGACUU			
			CCACCAGUCCUCCCG			
			CUCCUACGACCACUC			
			CGAGAACUCCGACCU			
			AGUGUUUGGCGGCC			
			GCACUGGAAACGAG			
			GACAUCAUCUCCCGC			
			CUCCAGGAGAUGGU			
			GGCCGAUCUCGAGCU			
			CCAGCAGGAUCUCAU			
			CGUCCCUCUCGGCCA			
			CACACCUUCGCAGGA			
			GCACUUCCUCUUCGA			
			AAUCUUCAGAAGAC			
			GCCUCCAAGCGCUCA			
			CUUCCGGUUGGUCUG			
			UGGCCGCAAGUCUCC			
			AACGCCAGAGGGAAC			
			UCCUCAUGUACAAGC			
			GCAUCCUCCUACGCC			
			UCCCUCCUCCGUCC			
			UCUGUGGGUCCUCCU			
			UCCAGGCAGAACAGC			

【表７－４７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CCAUCACUGCCCGCU			
			GUGAGCAGUUCUUCC			
			ACCUCGUCAACUCCG			
			AGAUGCGCAACUUCU			
			GUUCACACGGCGGUG			
			CACUCACCCAAGACA			
			UCACCGCGCACUUCU			
			UCCGCCGGACUCCUGA			
			ACGCCUGCUUGAGAU			
			CCCGCCGACCCAUCCC			
			UCAUGGUCGACUUCA			
			UCCUCGCCAAGUGCC			
			AGACCAAGUGUCCCC			
			UCAUCCUCACCAGUG			
			CCCUCGUUUGGUGGC			
			CCUCCCUUGAACCCG			
			UCCUCCUCUGCAGGU			
			GGAGACGCCACUGUC			
			AGUCUCCGUUACCCC			
			GCGAGCUCCAGAAAC			
			UCCAGGAGGGACGCC			
			AGUUCGCUUCCGACU			
			UCCUCUCACCCGAAG			
			CUGCUAGCCCAGCAC			
			CCAACCCUGACUGGU			
			UAUCCGCCGCCGCUU			
			UGCACUUCGCCAUCC			
			AGCAAGUGCGCGAG			
			GAGAACAUCCGCAAG			
			CAGCUCAAGAAGCUC			
			GACUGCGAGCGAGA			

【表７－４８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GGAGCUCCUCGUUUU			
			CCUCUUCUUCUUCUC			
			CCUCAUGGGCCUCCU			
			CUCAUCCCACCUCAC			
			CUCCAACUCCACCAC			
			CGACUUGCCCAAGGC			
			CUUUCACGUCUGUGC			
			CGCCAUCCUCGAGUG			
			CCUCGAGAAGCGCAA			
			GAUCUCCUGGCUCGC			
			CCUCUUCCAGCUAAC			
			AGAGUCCGACCUGAG			
			ACUCGGUCGCCUCCU			
			ACUCAGAGUCGCACC			
			CGACCAGCACACUCG			
			CCUCCUCCCCUUCGC			
			AUUCUACUCCCUCCU			
			CUCCUACUUCCACGA			
			AGACGCAGCAAUCCG			
			CGAGGAGGCCUUCCU			
			UCACGUCGCCGUCGA			
			CAUGUACCUCAAGCU			
			CGUCCAGCUCUUUGU			
			CGCGGGCGACACGAG			
			UACAGUUAGCCCUCC			
			AGCAGGUAGGUCCCU			
			CGAGCUUAAAGGCCA			
			GGGCAACCCAGUCGA			
			GCUCAUCACCAAGGC			
			CCGCCUGUUCCUGCU			
			ACAGCUCAUCCCACG			

【表７－４９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			CUGCCCCAAGAAGUC CUUCUCCCACGUAGC CGAACUCCCUCGCCGA UCGCGGAGAUUGCG ACCCCGAAGUUUCCG CUGCCUUGCAGUCAC GGCAGCAAGCAGCCC CAGACGCAGACCUCU CACAGGAGCCCCACC UCUUC			
配列番号		1	17	50	139	26
	FANCA_06 化学変化：G5 キャップ：C1 PolyA 尾部：100nt	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS KVIDCDSSEAY ANHSSSFIGSAL QDQASRLGVPV GILSAGMVASS VGQICTAPAET SHPVLLTVEQR KKLSSLLEFAQ YLLAHSMFSRL SFCQELWKIQS SLLLEAVWHLH	AUGUCAGAUUCCUG GGUGCCCAACUCCGC UAGCGGACAAGAUCC AGGUGGCCGCAGGA GAGCCUGGCGCUGAAC UGCUUGCCGGGAGA GUGAAGAGAGAGAA GUACAACCCAGAGCG CGCCCAGAAGUUAAA GGAGAGCGCCGUAA GACUGCUGCGCAGCC ACCAAGACUUAAACG CUCUGCUGCUGGAGG UGGAGGGGCCCCUGU GCAAGAAGCUGAGCC UGUCCAAGGUGAUC GAUUGUGACAGCAG	GGAAA UCGCAA AAUUU GCUCUU CGCGUU AGAUU UCUUUU AGUUU UCUCGC AACUAG CAAGCU UUUUG UUCUCG CC	UAAAGC UCCCCG GGGGCC UCGGUG GCCUAG CUUCUU GCCCCU UGGGCC UCCCCC CAGCCC CUCCUC CCCUUC CUGCAC CCGUAC CCCCGU GGUCUU UGAAU	配列番号26は、5′末端から3′末端まで、配列番号50の5′ UTR、配列番号17のORF配列、及び配列番号139の3′ UTRからなる。

【表７－５０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		VQGIVSLQELL	CGAGGCUUACGCCAA		AAAGUC	
		ESHPDMHAVG	UCAUUCAUCUUCCUU		UGAGU	
		SWLFRNLCCLC	CAUCGGCUCAGCACU		GGGCGG	
		EQMEASCQHA	GCAGGAUCAAGCAA		C	
		DVARAMLSDF	GCCGGCUGGGCGUUC			
		VQMFVLRGFQ	CAGUUGGCAUACUG			
		KNSDLRRTVEP	AGCGCCGGCAUGGUG			
		EKMPQVTVDV	GCCAGCAGCGUGGGA			
		LQRMLIFALDA	CAGAUCUGCACCGCU			
		LAAGVQEESST	CCCGCCGAGACCUCA			
		HKIVRCWFGVF	CAUCCCGUUCUGCUG			
		SGHTLGSVISTD	ACAGUUGAGCAACGC			
		PLKRFFSHTLT	AAGAAGCUGUCAAG			
		QILTHSPVLKAS	CCUGCUGGAGUUCGC			
		DAVQMQREWS	ACAGUACCUGUCAGC			
		FARTHPLLTSL	CCACAGCAUGUUUUC			
		YRRLFVMLSAE	CCGCUCAAGCUUCUG			
		ELVGHLQEVLE	CCAGGAGCUGUGGA			
		TQEVHWQRVL	AGAUCCAGUCAAGUC			
		SFVSALVVCFP	UGCUACUGGAGGCCG			
		EAQQLLEDWV	UGUGGCACUUACACG			
		ARLMAQAFESC	UGCAGGGUAUCGUG			
		QLDSMVTAFLV	UCACUGCAAGAGCUA			
		VRQAALEGPSA	CUGGAGAGCCAUCCC			
		FLSYADWFKAS	GAUAUGCACGCCGUG			
		FGSTRGYHGCS	GGGUCUUGGCUGUU			
		KKALVFLFTFL	CCGCAAUCUGUGCUG			
		SELVPFESPRYL	CCUGUGCGAACAGAU			
		QVHILHPPLVP	GGAAGCCUCCUGCCA			
		GKYRSLLTDYI	ACACGCCCGACGUUGC			
		SLAKTRLADLK	UAGAGCAAUGCUGA			

【表７－５１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		VSIENMGLYED	GUGACUUCGUUCAG			
		LSSAGDITEPHS	AUGUUCGUGCUGCGC			
		QALQDVEKAI	GGGUUCCAGAAGAA			
		MVFEHTGNIPV	CUCAGAUCUCCGGAG			
		TVMEASIFRRP	GACCGUGGAGCCUGA			
		YYVSHFLPALL	GAAGAUGCCCCAGGU			
		TPRVLPKVPDS	AACCGUGGACGUGCU			
		RVAFIESLKRA	GCAGCGGAUGUUAA			
		DKIPPSLYSTYC	UCUUUGCCCUGGACG			
		QACSAAEEKPE	CUCUCGCUGCCGGAG			
		DAALGVRAEP	UGCAGGAGGAGAGC			
		NSAEEPLGQLT	UCCACCCACAAGAUC			
		AALGELRASMT	GUGCGGUGCUGGUU			
		DPSQRDVISAQ	CGCGCUGUUUUCCGG			
		VAVISERLRAV	CCAUACCUUAGGCUC			
		LGHNEDDSSVE	CGUGAUCUCCACCGA			
		ISKIQLSINTPRL	UCCCCUGAAACGGUU			
		EPREHMAVDLL	CUUCUCCCACACACU			
		LTSFCQNLMAA	GACCCAGAUACUGAC			
		SSVAPPERQGP	CCACUCCCCUGUGUU			
		WAALFVRTMC	AAAGGCUAGCGACGC			
		GRVLPAVLTRL	CGUGCAAAUGCAACG			
		CQLLRHQGPSL	CGAGUGGUCCUUUGC			
		SAPHVLGLAAL	CCGCACCCAUCCACU			
		AVHLGESRSAL	GCUGACCAGUCUGUA			
		PEVDVGPPAPG	CCGGCGGCUGUUUGU			
		AGLPVPALFDS	UAUGCUGUCCGCCGA			
		LLTCRTRDSLFF	GGAGUUAGUGGGCC			
		CLKFCTAAISYS	ACCUGCAGGAGGUUC			
		LCKFSSQSRDT	UGGAAACCCAGGAG			
		LCSCLSPGLIKK	GUGCAUUGGCAGCGC			

【表７－５２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		FQFLMFRLFSE	GUGUUAAGCUUCGU			
		ARQPLSEEDVA	GAGCGCCCUGGUGGU			
		SLSWRPLHLPS	GUGCUUUCCCGAGGC			
		ADWQRAALSL	CCAGCAGUUACUGGA			
		WTHRTFREVLK	GGACUGGGUGGCCCG			
		EEDVHLTYQD	GCUGAUGGCCCAGGC			
		WLHLELEIQPE	CUUCGAGAGCUGCCA			
		ADALSDTERQD	GCUGGACAGCAUGG			
		FHQWAIHEHFL	UGACCGCCUUCCUGG			
		PESSASGGCDG	UGGUACGUCAAGCU			
		DLQAACTILVN	GCCCUGGAGGGCCCA			
		ALMDFHQSSRS	AGCGCCUUCCUGAGU			
		YDHSENSDLVF	UACGCUGACUGGUUC			
		GGRTGNEDIISR	AAGGCCAGCUUCGGG			
		LQEMVADLEL	UCCACCCGCGGGUAC			
		QQDLIVPLGHT	CACGGCUGCUCCAAG			
		PSQEHFLFEIFR	AAGGCCCUGGUGUUC			
		RRLQALTSGWS	CUGUUUACCUUCCUG			
		VAASLQRQREL	AGCGAGCUGGUGCCA			
		LMYKRILLRLP	UUUGAGUCUCCCCGC			
		SSVLCGSSFQA	UACCUGCAGGUGCAC			
		EQPITARCEQFF	AUCCUGCACCCACCC			
		HLVNSEMRNFC	CUGGUCCCUGGAAAG			
		SHGGALTQDIT	UACAGAUCACUGUU			
		AHFFRGLLNAC	AACCGACUACAUCUC			
		LRSRDPSLMVD	UCUGGCCAAGACCCG			
		FILAKCQTKCP	GUUAGCCGACCUGAA			
		LILTSALVWWP	GGUGUCUAUCGAGA			
		SLEPVLLCRWR	AUAUGGGCCUGUAC			
		RHCQSPLPREL	GAGGACCUGUCCAGC			
		QKLQEGRQFAS	GCCGGCGAUAUCACC			

【表７－５３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		DFLSPEAASPAP	GAGCCCCACAGCCAA			
		NPDWLSAAAL	GCCUUACAGGACGUG			
		HFAIQQVREENI	GAGAAGGCCAUUAU			
		RKQLKKLDCER	GGUGUUCGAGCACAC			
		EELLVFLFFFSL	CGGCAAUAUCCCCGU			
		MGLLSSHLTSN	GACCGUAAUGGAGG			
		STTDLPKAFHV	CUUCUAUCUUCCGGC			
		CAAILECLEKR	GGCCCUACUACGUGU			
		KISWLALFQLT	CCCACUUCCUGCCCG			
		ESDLRLGRLLL	CCCUGCUAACACCCA			
		RVAPDQHTRLL	GAGUGUUACCCAAG			
		PFAFYSLLSYFH	GUGCCCGACAGUCGC			
		EDAAIREEAFL	GUUGCCUUCAUAGA			
		HVAVDMYLKL	GAGCUUAAAGAGAG			
		VQLFVAGDTST	CCGACAAGAUCCCUC			
		VSPPAGRSLEL	CUAGUUUAUACUCCA			
		KGQGNPVELIT	CCUACUGCCAGGCUU			
		KARLFLLQLIPR	GCUCCGCCGCCGAGG			
		CPKKSFSHVAE	AGAAGCCCGAGGACG			
		LLADRGDCDPE	CAGCCUUAGGAGUA			
		VSAALQSRQQA	AGAGCUGAGCCCAAC			
		APDADLSQEPH	UCAGCCGAGGAGCCA			
		LF	CUGGGCCAGUUAACC			
			GCUGCCCUGGGAGAG			
			UUACGGGCCUCUAUG			
			ACCGACCCCAGCCAA			
			CGCGACGUUAUCUCU			
			GCCCAAGUGGCAGUG			
			AUAAGCGAGAGGCU			
			GCGGGCAGUAUUAG			
			GACACAACGAGGACG			

【表７－５４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			ACAGCAGCGUGGAG			
			AUCAGUAAGAUCCA			
			AUUAAGCAUCAACAC			
			ACCCAGGCUGGAGCC			
			CAGAGAGCACAUGGC			
			CGUGGACCUGCUGUU			
			AACCUCCUUCUGUCA			
			GAACUUAAUGGCCGC			
			AAGUAGCGUGGCUCC			
			UCCAGAACGCCAAGG			
			UCCUUGGGCUGCCUU			
			AUUCGUUCGCACCAU			
			GUGUGGCCGCGUCCU			
			GCCAGCAGUGCUGAC			
			CCGGCUGUGCCAGUU			
			ACUGCGGCACCAAGG			
			GCCCUCCCCUGAGCGC			
			UCCUCACGUGCUUGG			
			GUUGGCCGCCCUCGC			
			UGUACACUUAGGUG			
			AAAGCAGAAGCGCCC			
			UUCCUGAGGUGGAC			
			GUGGGUCCUCCAGCC			
			CCAGGUGCCGGACUC			
			CCCGUGCCAGCCCUG			
			UUCGACAGCUUACUG			
			ACUUGUCGCACCCGG			
			GACUCCCCUGUUCUUU			
			UGUCUGAAGUUCUG			
			CACCGCCGCCAUCUC			
			CUACUCACUGUGCAA			

【表７－５５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GUUCUCUAGCCAGUC			
			CCGGGAUACCCUGUG			
			CUCCUGCCUGUCUCC			
			AGGCCUGAUCAAGA			
			AGUUCCAGUUCCUGA			
			UGUUCAGACUGUUC			
			UCAGAAGCAAGACA			
			GCCUCUGUCCGAGGA			
			GGACGUGGGCCUCCUU			
			AUCCUGGCGACCCCU			
			GCACCUGCCCUCCGC			
			UGAUUGGCAAAGAG			
			CUGCACUUAGCCUGU			
			GGACCCACCGGACAU			
			UUCGCGAGGUGCUG			
			AAAGAAGAAGACGU			
			ACACCUGACCUACCA			
			AGACUGGCUGCACCU			
			GGAGCUGGAGAUCC			
			AGCCUGAAGCCGACG			
			CCCUGAGCGACACCG			
			AGCGCCAAGACUUUC			
			ACCAGUGGGCCAUAC			
			ACGAGCACUUUCUGC			
			CCGAGUCAAGCGCCA			
			GUGGAGGCUGCGAC			
			GGUGAUCUGCAAGC			
			AGCCUGCACCAUCUU			
			AGUGAACGCCCUGAU			
			GGACUUCCACCAAUC			
			UUCCCGCAGCUACGA			

【表７－５６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CCACUCCGAGAACAG			
			CGACCUGGUGUUUG			
			GAGGCCGCACUGGGA			
			ACGAGGACAUCAUU			
			AGCCGCCUGCAAGAA			
			AUGGUGGCUGACCU			
			GGAACUCCAACAGGA			
			CUUAAUCGUACCUCU			
			GGGGCACACACCAAG			
			CCAGGAGCACUUCUU			
			AUUUGAGAUAUUUA			
			GAAGACGCUUACAA			
			GCACUGACUUCAGGC			
			UGGAGUGUAGCUGC			
			AAGCCUGCAACGCCA			
			ACGCGAGCUGCUGAU			
			GUAUAAGCGGAUAC			
			UGCUGCGCCUGCCCU			
			CCUCUGUACUGUGCG			
			GCUCCUCCUUCCAGG			
			CCGAGCAGCCCAUCA			
			CCGCCCGGUGUGAGC			
			AGUUCUUCCACCUGG			
			UGAACAGCGAGAUG			
			CGGAACUUCUGUUCU			
			CACGGAGGCGCUCUG			
			ACCCAAGACAUCACA			
			GCCCACUUCUUCCGC			
			GGCCUGCUGAACGCC			
			UGUCUGCGGUCAAG			
			GGACCCCAGCCUGAU			

【表７－５７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GGUCGACUUCAUACUU			
			GGCAAAGUGUCAGA			
			CCAAGUGUCCCCCUGA			
			UCCUGACCAGCGCUC			
			UGGUUUGGUGGCCA			
			UCACUGGAGCCCGUA			
			CUCCUGUGUCGCUGG			
			AGGCGGCAUUGCCAG			
			UCACCUUUACCCCGA			
			GAACUGCAGAAGCU			
			GCAGGAGGGCCGGCA			
			GUUUGCCAGCGACUU			
			CCUGUCACCAGAGGC			
			AGCCUCUCCCGCUCC			
			UAACCCCGAUUGGCU			
			AUCCGCGGCCGCUCU			
			GCACUUCGCCAUCCA			
			GCAGGUGCGGGAGG			
			AGAACAUACGGAAA			
			CAACUGAAGAAAUU			
			AGACUGCGAGAGAG			
			AGGAGUUACUUGUG			
			UUCCUGUUCUUCUUC			
			AGUCUGAUGGGCCU			
			GCUGUCCUCCCACCU			
			GACCAGCAAUUCAAC			
			CACCGACCUGCCCAA			
			GGCCUUCCACGUUUG			
			UGCCGCCAUCCUGGA			
			GUGCCUGGAGAAGC			
			GGAAGAUUAGCUGG			

【表７－５８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			UUAGCCCUGUUUCAG CUGACCGAGAGUGA UUUACGCCUGGGGA GACUGCUGUUACGCG UGGCUCCCGACCAGC ACACCAGGCUGCUGC CUUUCGCCUUCUACA GUCUGUUAUCCUCACU UCCACGAGGACGCCG CCAUCAGAGAGGAG GCCUUCCUGCACGUG GCCGUGGACAUGUAC UUAAAGCUGGUGCA GCUGUUUGUGGCCG GCGAUACCUCCACAG UAAGCCCUCCUGCUG GCAGAAGCCUGGAGC UGAAGGGCCAGGGU AACCCCGUAGAGCUG AUUACUAAGGCCCGC CUGUUUCUGCUGCAA CUGAUCCCCUCGCUGC CCCAAGAAGAGCUUU AGCCACGUGGCCGAA UUACUGGCUGACAG GGGAGACUGUGAUC CUGAGGUGAGCGCU GCCUUACAGAGCCGU CAACAAGCGGCCCCU GACGCCGAUUUAAGC			

【表７－５９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
		1	2	50	117	27
配列番号	FANCA_07 化学変化:G5 キャップ:C1 PolyA 尾部:100nt	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS KVIDCDSSEAY ANHSSSFIGSAL QDQASRLGVPV GILSAGMVASS VGQICTAPAET SHPVLLTVEQR KKLSSLLEFAQ YLLAHSMFSRL SFCQELWKIQS SLLLEAVWHLH VQGIVSLQELL ESHPDMHAVG SWLFRNLCCLC EQMEASCQHA DVARAMLSDF VQMFVLRGFQ KNSDLRRTVEP EKMPQVTVDV	AUGUCCGACUCCUGG GUGCCCAACUCCGCU AGCGGACAAGAUCCA GGUGGCCGCAGGAG AGCGUGGGCUGAAC UGCUUGCCGGGCGAG UGAAGCGCGAGAAG UACAACCCCGAGCGC GCCCAGAAGCUGAAG GAGAGCGCCGUACGG CUGCUGCGCAGCCAC CAGGACCUGAACGCC CUGCUGCUGGAGGU GGAGGGGCCCCUGUG CAAGAAGCUGAGCCU GUCCAAGGUGAUCG ACUGCGACAGCAGCG AGGCCUACGCCAACC ACAGCUCCUCCUUCA UCGGCUCCGCCCUGC AGGAUCAAGCUAGCC GGCUGGGCGUUCCAG UGGGCAUCCUGAGCG CCGGCAUGGUGGCCA GCAGCGUGGGCCAGA	CAAGAGCCUCACCUC UUC	GGAAA UCGCAA AAUUU GCUCUU CGCGUU AGAUU UCUUUU AGUUU UCUCGC AACUAG CAAGCU UUUUG UUCUCG CC	UGAUA AUAGGC UGGAGC CUCCAC CGCGUU AUCCGU UCCUCG UAGGCU GGUCCU GGGGA ACGGGU CGGCGG GUACCC CCGUGG UCUUUG AAUAA AGUCUG AGUGG GCGGC	配列番号27は、5′末端から3′末端まで、配列番号50の5′ UTR、配列番号2のORF配列、及び配列番号117の3′ UTRからなる。

10

20

30

40

50

【表７－６０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		LQRMLIFALDA	UCUGCACCGCUCCCG			
		LAAGVQEESST	CCGAGACCAGCCACC			
		HKIVRCWFGVF	CCGUGCUGCUGACCG			
		SGHTLGSVISTD	UGGAGCAGCGCAAG			
		PLKRFFSHTLT	AAGCUGUCAAGCCUG			
		QILTHSPVLKAS	CUGGAGUUCGCCCAG			
		DAVQMQREWS	UACCUGCUGGCCCAC			
		FARTHPLLTSL	AGCAUGUUCUCCCGC			
		YRRLFVMLSAE	CUGAGCUUCUGCCAG			
		ELVGHLQEVLE	GAGCUGUGGAAGAU			
		TQEVHWQRVL	CCAGUCCAGCCUGCU			
		SFVSALVVCFP	ACUGGAGGCCGUGU			
		EAQQLLEDWV	GGCACUUACACGUGC			
		ARLMAQAFESC	AGGGCAUCGUGAGCC			
		QLDSMVTAFLV	UGCAGGAGCUACUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGG			
		FGSTRGYHGCS	UCCUGGCUGUUCCGC			
		KKALVFLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	AGCCUCCUGCCAACA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUUGCACG			
		SLAKTRLADLK	GGCAAUGCUGAGCG			
		VSIENMGLYED	ACUUCGUGCAGAUG			
		LSSAGDITEPHS	UUCGUGCUGCGCGGG			
		QALQDVEKAI	UUCCAGAAGAACUCA			
		MVTEHTGNIPV	GACCUCCGGAGGACC			
		TVMEASIFRRP	GUGGAGCCUGAGAA			
		YYVSHFLPALL	GAUGCCCCAGGUGAC			
		TPRVLPKVPDS	CGUGGACGUGCUGCA			
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			

【表７－６１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		DKIPPSLYSTYC	UUGCCCUGGACGCUC			
		QACSAAEEKPE	UCGCUGCCGGAGUGC			
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCUCC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCUCCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCUCCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCUCCACCGAUCCC			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	UCCCACACCCUGACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	UCCCCUGUGCUGAAG			
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGCGAG			
		CQLLRHQGPSL	UGGUCCUUCGCCCGC			
		SAPHVLGLAAL	ACCCAUCCCCUGCUG			
		AVHLGESRSAL	ACCAGCCUGUACCGG			
		PEVDVGPPAPG	CGGCUGUUCGUGAU			
		AGLPVPALFDS	GCUGUCCGCCGAGGA			
		LLTCRTRDSLFF	GCUGGUGGGCCACCU			
		CLKFCTAAISYS	GCAGGAGGUGCUGG			
		LCKFSSQSRDT	AGACCCAGGAGGUGC			
		LCSCLSPGLIKK	ACUGGCAGCGCGUGC			
		FQFLMFRLFSE	UGAGCUUCGUGAGC			
		ARQPLSEEDVA	GCCCUGGUGGUGUGC			
		SLSWRPLHLPS	UUCCCCGAGGCCCAG			
		ADWQRAALSL	CAGCUCCUGGAGGAC			
		WTHRTFREVLK	UGGGUGGCCCGGCUG			
		EEDVHLTYQD	AUGGCCCAGGCCUUC			
		WLHLELEIQPE	GAGAGCUGCCAGCUG			
		ADALSDTERQD	GACAGCAUGGUGACC			

【表７－６２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		FHQWAIHEHFL	GCCUUCCUGGUGGUG			
		PESSASGGCDG	CGUCAAGCAGCCCUG			
		DLQAACTILVN	GAGGGCCCAAGCGCC			
		ALMDFHQSSRS	UUCCUGAGCUACGCC			
		YDHSENSDLVF	GACUGGUUCAAGGCC			
		GGRTGNEDIISR	AGCUUCGGGUCCACC			
		LQEMVADLEL	CGCGGGUACCACGGC			
		QQDLIVPLGHT	UGCUCCAAGAAGGCC			
		PSQEHFLFEIFR	CUGGUGUUCCUGUU			
		RRLQALTSGWS	UACCUUCCUGAGCGA			
		VAASLQRQREL	GCUGGUGCCCUUCGA			
		LMYKRILLRLP	GUCGCCCCGCUACCU			
		SSVLCGSSFQA	GCAGGUGCACAUCCU			
		EQPITARCEQFF	GCACCCACCCCUGGU			
		HLVNSEMRNFC	CCCUGGCAAGUACCG			
		SHGGALTQDIT	GAGCCUGCUGACCGA			
		AHFFRGLLNAC	CUACAUCUCCCUGGC			
		LRSRDPSLMVD	CAAGACCCGGCUGGC			
		FILAKCQTKCP	CGACCUGAAGGUGA			
		LILTSALVWWP	GCAUCGAGAACAUG			
		SLEPVLLCRWR	GGCCUGUACGAGGAC			
		RHCQSPLPREL	CUGUCCAGCGCCGGC			
		QKLQEGRQFAS	GACAUCACCGAGCCC			
		DFLSPEAASPAP	CACAGCCAGGCCCUG			
		NPDWLSAAAL	CAGGACGUGGAGAA			
		HFAIQQVREENI	GGCCAUCAUGGUGU			
		RKQLKKLDCER	UCGAGCACACCGGCA			
		EELLVFLFFFSL	ACAUCCCCGUGACCG			
		MGLLSSHLTSN	UGAUGGAGGCUAGU			
		STTDLPKAFHV	AUCUUCCGGCGCCCC			
		CAAILECLEKR	UACUACGUGUCCCAC			

【表７－６３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		KISWLALFQLT	UUCCUGCCCGCCCUG			
		ESDLRLGRLLL	CUGACACCCCGGGUG			
		RVAPDQHTRLL	CUGCCCAAGGUGCCC			
		PFAFYSLLSYFH	GACAGUCGCGUCGCC			
		EDAAIREEAFL	UUCAUCGAGAGCCUG			
		HVAVDMYLKL	AAGCGGGCCGACAAG			
		VQLFVAGDTST	AUCCCGCCCUCCCUG			
		VSPPAGRSLEL	UACUCCACCUACUGC			
		KGQGNPVELIT	CAGGCUUGCUCCGCC			
		KARLFLLQLIPR	GCCGAGGAGAAGCCC			
		CPKKSFSHVAE	GAGGACGCAGCCUUA			
		LLADRGDCDPE	GGAGUACGCGCCGAG			
		VSAALQSRQQA	CCCAACAGCGCCGAG			
		APDADLSQEPH	GAGCCACUGGGCCAG			
		LF	UUGACCGCUGCCCUG			
			GGAGAGCUGCGGGCC			
			AGCAUGACCGACCCC			
			AGCCAACGCGACGUG			
			AUCAGCGCCCAGGUG			
			GCCGUGAUCAGCGAG			
			AGGCUGCGGGCAGU			
			GCUGGGCCACAACGA			
			GGACGACAGCAGCGU			
			GGAGAUCAGCAAGA			
			UCCAGCUGAGCAUCA			
			ACACACCCAGGCUGG			
			AGCCCAGAGAGCACA			
			UGGCCGUGGACCUGC			
			UGCUGACCUCCUUCU			
			GCCAGAACCUGAUGG			
			CCGCAAGCAGCGUGG			

【表７－６４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CUCCUCCAGAACGCC			
			AAGGCCCUUGGGCUG			
			CCCUGUUCGUGCGCA			
			CCAUGUGUGGCCGCG			
			UCCUGCCAGCAGUGC			
			UGACCCGGCUGUGCC			
			AGCUUCUGCGGCACC			
			AAGGGCCCUCCCCUGA			
			GCGCUCCCCACGUGC			
			UUGGGUUGGCCCGCCC			
			UCGCUGUGCACCUGG			
			GCGAGAGCAGGAGC			
			GCCCUCCCGAGGUG			
			GACGUGGGUCCCCCA			
			GCCCCAGGUGCCGGA			
			CUCCCCGUGCCAGCC			
			CUGUUCGACAGCCUG			
			CUGACUUGUCGCACC			
			CGGGACUCCCUGUUC			
			UUCUGCCUGAAGUUC			
			UGCACCGCCGCCAUC			
			UCCUACUCCCUGUGC			
			AAGUUCUCCAGCCAG			
			UCCCGGGACACCCUG			
			UGCUCCUGCCUGUCU			
			CCCGGCCUGAUCAAG			
			AAGUUCCAGUUCCUG			
			AUGUUCCGCCUGUUC			
			AGCGAAGCACGCCAG			
			CCCCUGUCCGAGGAG			
			GACGUGGCCUCCCCUG			

【表７－６５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			UCCUGGCGACCCCUG			
			CACCUGCCCUCCGCC			
			GAUUGGCAGCGCGCC			
			GCCCUCAGCCUGUGG			
			ACCCACCGGACCUUC			
			CGCGAGGUGCUGAA			
			GGAGGAAGACGUGC			
			ACCUGACCUACCAGG			
			ACUGGCUGCACCUGG			
			AGCUGGAGAUCCAGC			
			CCGAAGCCGACGCCC			
			UGAGCGACACCGAGC			
			GCCAGGACUUUCACC			
			AGUGGGCCAUCCACG			
			AGCACUUUCUGCCCG			
			AGAGCAGCGCCAGUG			
			GAGGCUGCGACGGCG			
			ACCUGCAAGCCGCCU			
			GCACCAUCCUGGUGA			
			ACGCCCUGAUGGACU			
			UCCACCAGAGCUCCC			
			GCAGCUACGACCACU			
			CCGAGAACAGCGACC			
			UGGUGUUUGGAGGC			
			CGCACCGGGAACGAG			
			GACAUCAUCAGCCGC			
			CUGCAGGAGAUGGU			
			GGCCGACCUGGAGCU			
			CCAGCAGGACCUGAU			
			CGUGCCACUGGGGCA			
			CACCCCAAGCCAGGA			

【表７－６６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GCACUUCCUGUUCGA			
			GAUCUUCCGCAGACG			
			CCUGCAGGCACUGAC			
			CUCCGGCUGGAGUGU			
			GGCCGCAAGCCUGCA			
			GCGCCAACGCGAGCU			
			GCUGAUGUACAAGC			
			GGAUCCUGCUGCGCC			
			UGCCCUCCUCCGUGC			
			UGUGCGGCUCCUCCU			
			UCCAGGCCGAGCAGC			
			CCAUCACCGCCCGGU			
			GCGAGCAGUUCUUCC			
			ACCUGGUGAACAGCG			
			AGAUGCGGAACUUC			
			UGCUCUCACGGCGGC			
			GCUCUGACCCAGGAC			
			AUCACCGCCCACUUC			
			UUCCGCGGCCUGCUG			
			AACGCCUGCCUGCGG			
			AGCAGGGACCCCAGC			
			CUGAUGGUCGACUUC			
			AUCCUGGCCAAGUGC			
			CAGACCAAGUGUCCC			
			CUGAUCCUGACCAGC			
			GCCCUGGUUUGGUG			
			GCCCUCACUGGAGCC			
			CGUGCUCCUGUGUCG			
			CUGGAGGCGGCACUG			
			CCAGUCACCCCUGCC			
			CCGAGAGCUGCAGAA			

【表７－６７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GCUGCAGGAGGGCCG			
			GCAGUUCGCCAGCGA			
			CUUCCUGUCACCAGA			
			GGCAGCCUCUCCCGC			
			UCCUAACCCCGAUUG			
			GCUAUCCGCGGCCGC			
			UCUGCACUUCGCCAU			
			CCAGCAGGUGCGGGA			
			GGAGAACAUCCCGGA			
			AGCAGCUGAAGAAG			
			CUGGACUGCGAGAG			
			GGAGGAGCUGCUUG			
			UGUUCCUGUUCUCUCU			
			UCAGCCUGAUGGGCC			
			UGCUGUCCUCCCACC			
			UGACCAGCAACUCCA			
			CCACCGACCUGCCCA			
			AGGCCUUCCACGUGU			
			GCGCCGCCAUCCUGG			
			AGUGCCUGGAGAAG			
			CGGAAGAUCAGCUG			
			GCUGGCCCUGUUCCA			
			GCUGACCGAGAGCGA			
			CCUGCGCCUGGGGAG			
			ACUGCUGCUGCGCGU			
			GGCUCCCGACCAGCA			
			CACCAGGCUGCUGCC			
			CUUCGCCUUCUCUACUC			
			CCUGCUGUCCUACUU			
			CCACGAGGACGCCGC			
			CAUCCGGGAGGAGGC			

【表７－６８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			CUUCCUGCACGUGGC CGUGGACAUGUACCU GAAGCUGGUGCAGC UGUUCGUGGCCGGCG ACACCUCCACCGUGA GCCCUCCUGCUGGCC GAAGCCUGGAGCUG AAGGGCCAGGGCAAC CCCGUGGAGCUGAUC ACCAAGGCCCGCCUG UUCCUGCUGCAGCUG AUCCCUCGCUGCCCC AAGAAGAGCUUCAG CCACGUGGCCGAGCU GCUGGCUGACAGGG GAGACUGCGACCCCG AGGUGAGCGCUGCCC UGCAGAGCCGUCAAC AAGCGGCCCCUGACG CCGAUCUGAGCCAGG AGCCCCACCUGUUC			
	配列番号	**1**	**2**	**80**	**117**	**28**
	FANCA_08 化学変化：G5 キャップ：C1	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPFRAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV	AUGUCCGACUCCUGG GUGCCCAACUCCGCU AGCGGACAAGAUCCA GGUGGCCGCAGGAG AGCGUGGGCUGAAC UGCUUGCCGGGCGAG	GGACUC ACUAUU UGUUU UCGCGC CCAGUU	UGAUA AUAGGC UGGAGC CUCCAC CGCGUU AUCCGU	配列番号28は、5′末端から3′末端まで、

【表７－６９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
	PolyA尾部：100nt	EGPLCKKLSLS	UGAAGGCGCGAGAAG	GCAAAAA	UCCUCG	配列番号80の5′ UTR、配列番号2のORF配列、及び配列番号117の3′ UTRからなる。
		KVIDCDSSEAY	UACAACCCCGAGCGC		UAGGCU	
		ANHSSSFIGSAL	GCCCAGAAGCUGAAG		GGUCCU	
		QDQASRLGVPV	GAGAGCGCCGUACGG		GGGGA	
		GILSAGMVASS	CUGCUGCGCAGCCAC		ACGGGU	
		VGQICTAPAET	CAGGACCUGAACGCC		CGGCGG	
		SHPVLLTVEQR	CUGCUGCUGGAGGU		GUACCC	
		KKLSSLLEFAQ	GGAGGGGCCCCUGUG		CCGUGG	
		YLLAHSMFSRL	CAAGAAGCUGAGCCU		UCUUUG	
		SFCQELWKIQS	GUCCAAGGUGAUCG		AAUAA	
		SLLLEAVWHLH	ACUGCGACAGCAGCG		AGUCUG	
		VQGIVSLQELL	AGGCCUACCGCCAACC		AGUGG	
		ESHPDMHAVG	ACAGCUCCUCCUUCA		GCGGC	
		SWLFRNLCCLC	UCGGCUCCCGCCCUGC			
		EQMEASCQHA	AGGAUCAAGCUAGCC			
		DVARAMLSDF	GGCUGGGCGUUCCAG			
		VQMFVLRGFQ	UGGGCAUCCUGAGCG			
		KNSDLRRTVEP	CCGGCAUGGUGGCCA			
		EKMPQVTVDV	GCAGCGUGGGCCAGA			
		LQRMLIFALDA	UCUGCACCGCUCCCG			
		LAAGVQEESST	CCGAGACCAGCCACC			
		HKIVRCWFGVF	CCGUGCUGCUGACCG			
		SGHTLGSVISTD	UGGAGCAGCGCAAG			
		PLKRFFSHTLT	AAGCUGUCAAGCCUG			
		QILTHSPVLKAS	CUGGAGUUCGCCCAG			
		DAVQMQREWS	UACCUGCUGGCCCAC			
		FARTHPLLTSL	AGCAUGUUCUCCCGC			
		YRRLFVMLSAE	CUGAGCUUCUGCCAG			
		ELVGHLQEVLE	GAGCUGUGGAAGAU			
		TQEVHWQRVL	CCAGUCCAGCCUGCU			
		SFVSALVVCFP	ACUGGAGGCCGCUGU			

【表７－７０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		EAQQLLEDWV	GGCACUUACACCGUGC			
		ARLMAQAFESC	AGGGCAUCCGUGAGCC			
		QLDSMVTAFLV	UGCAGGAGCUACUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGG			
		FGSTRGYHGCS	UCCUGGCUGUUCCGC			
		KKALVFLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	AGCCUCCUGCCAACA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUUGCACG			
		SLAKTRLADLK	GGCAAUGCUGAGCG			
		VSIENMGLYED	ACUUCGUGCAGAUG			
		LSSAGDITEPHS	UUCGUGCUGCGCGGG			
		QALQDVEKAI	UUCCAGAAGAACUCA			
		MVFEHTGNIPV	GACCUCCGGAGGACC			
		TVMEASIFRRP	GUGGAGCCUGAGAA			
		YYVSHFLPALL	GAUGCCCCAGGUGAC			
		TPRVLPKVPDS	CGUGGACGUGCUGCA			
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			
		DKIPPSLYSTYC	UUGCCCUGGACGCUC			
		QACSAAEEKPE	UCGCUGCCGGAGUGC			
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCUCC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCUCCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCUCCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCUCCACCGAUCCC			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	UCCCACACCCUGACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	UCCCCUGUGCUGAAG			

【表７－７１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGCGAG			
		CQLLRHQGPSL	UGGUCCUUCGCCCGC			
		SAPHVLGLAAL	ACCCAUCCCCUGCUG			
		AVHLGESRSAL	ACCAGCCUGUACCGG			
		PEVDVGPPAPG	CGGCUGUUCGUGAU			
		AGLPVPALFDS	GCUGUCCGCCGAGGA			
		LLTCRTRDSLFF	GCUGGUGGGCCACCU			
		CLKFCTAAISYS	GCAGGAGGUGCUGG			
		LCKFSSQSRDT	AGACCCAGGAGGUGC			
		LCSCLSPGLIKK	ACUGGCAGCGCGUGC			
		FQFLMFRLFSE	UGAGCUUCGUGAGC			
		ARQPLSEEDVA	GCCCUGGUGGUGUGC			
		SLSWRPLHLPS	UUCCCCGAGGCCCAG			
		ADWQRAALSL	CAGCUCCUGGAGGAC			
		WTHRTFREVLK	UGGGUGGCCCGGCUG			
		EEDVHLTYQD	AUGGCCCAGGCCUUC			
		WLHLELEIQPE	GAGAGCUGCCAGCUG			
		ADALSDTERQD	GACAGCAUGGUGACC			
		FHQWAIHEHFL	GCCUUCCUGGUGGUG			
		PESSASGGCDG	CGUCAAGCAGCCCUG			
		DLQAACTILVN	GAGGGCCCAAGCGCC			
		ALMDFHQSSRS	UUCCUGAGCUACGCC			
		YDHSENSDLVF	GACUGGUUCAAGGCC			
		GGRTGNEDIISR	AGCUUCGGGUCCACC			
		LQEMVADLEL	CGCGGGUACCACGGC			
		QQDLIVPLGHT	UGCUCCAAGAAGGCC			
		PSQEHFLFEIFR	CUGGUGUUCCUGUU			
		RRLQALTSGWS	UACCUUCCUGAGCGA			
		VAASLQRQREL	GCUGGUGCCCUUCGA			
		LMYKRILLRLP	GUCGCCCCGCUACCU			

【表７－７２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		SSVLCGSSFQA	GCAGGUGCACAUCCU			
		EQPITARCEQFF	GCACCCACCCCUGGU			
		HLVNSEMRNFC	CCCUGGCAAGUACCG			
		SHGGALTQDIT	GAGCCUGCUGACCGA			
		AHFFRGLLNAC	CUACAUCUCCCUGGC			
		LRSRDPSLMVD	CAAGACCCGGCUGGC			
		FILAKCQTKCP	CGACCUGAAGGUGA			
		LILTSALVWWP	GCAUCGAGAACAUG			
		SLEPVLLCRWR	GGCCUGUACGAGGAC			
		RHCQSPLPREL	CUGUCCAGCGCCGGC			
		QKLQEGRQFAS	GACAUCACCGAGCCC			
		DFLSPEAASPAP	CACAGCCAGGCCCUG			
		NPDWLSAAAL	CAGGACGUGGAGAA			
		HFAIQQVREENI	GGCCAUCAUGGUCGU			
		RKQLKKLDCER	UCGAGCACACCGGCA			
		EELLVFLFFFSL	ACAUCCCCGUGACCG			
		MGLLSSHLTSN	UGAUGGAGGCUAGU			
		STTDLPKAFHV	AUCUUCCGGCGCCC			
		CAAILECLEKR	UACUACGUGUCCCAC			
		KISWLALFQLT	UUCCUGCCCGCCCUG			
		ESDLRLGRLLL	CUGACACCCCGGGUG			
		RVAPDQHTRLL	CUGCCCAAGGUGCCC			
		PFAFYSLLSYFH	GACAGUCGCGUCGCC			
		EDAAIREEAFL	UUCAUCGAGAGCCUG			
		HVAVDMYLKL	AAGCGGCCGACAAG			
		VQLFVAGDTST	AUCCCGCCCUCCCUG			
		VSPPAGRSLEL	UACUCCACCUACUGC			
		KGQGNPVELIT	CAGGCUUGCUCCGCC			
		KARLFLLQLIPR	GCCGAGGAGAAGCCC			
		CPKKSFSHIVAE	GAGCACGCAGCCUUA			
		LLADRGDCDPE	GGAGUACGCGCCGAG			

【表７－７３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		VSAALQSRQQA APDADLSQEPH LF	CCCAACAGCGCCGAG GAGCCACUGGGCCAG UUGACCGCUGCCCUG GGAGAGCUGCGGGCC AGCAUGACCGACCCC AGCCAACGCGACGUG AUCAGCGCCCAGGUG GCCGUGAUCAGCGAG AGGCUGCGGGCAGU GCUGGGCCACAACGA GGACGACAGCAGCGU GGAGAUCAGCAAGA UCCAGCUGAGCAUCA ACACACCCAGGCUGG AGCCCAGAGAGCACA UGGCCGUGGACCUGC UGCUGACCUCCUUCU GCCAGAACCUGAUGG CCGCAAGCAGCGUGG CUCCUCCAGAACGCC AAGGCCCUUGGGCUG CCCUGUUCGUGCGCA CCAUGUGUGGCCGCG UCCUGCCAGCAGUGC UGACCCGGCUGUGCC AGCUUCUGCGGCACC AAGGGCCCUCCCCUGA GCGCUCCCCACGUGC UUGGGUUGGCCGCCC UCGCUGUGCACCUGG GCGAGAGCAGGAGC			

10

20

30

40

50

【表７－７４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GCCCUUCCCGAGGUG			
			GACGUGGGGUCCCUCCA			
			GCCCCAGGUGCCGGA			
			CUCCCCGUGCCAGCC			
			CUGUUCGACAGCCUG			
			CUGACUUGUCGCACC			
			CGGGACUCCCCUGUUC			
			UUCUGCCUGAAGUUC			
			UGCACCGCCCGCCAUC			
			UCCUACUCCCCUGUGC			
			AAGUUCUCCAGCCAG			
			UCCCGGGACACCCUG			
			UGCUCCUGCCUGUCU			
			CCCGGCCUGAUCAAG			
			AAGUUCCAGUUCCUG			
			AUGUUCCGCCUGUUC			
			AGCGAAGCACGCCAG			
			CCCCUGUCCGAGGAG			
			GACGUGGCCUCCCUG			
			UCCUGGCGACCCCUG			
			CACCUGCCCUCCGCC			
			GAUUGGCAGCGCGCC			
			GCCCUUAGCCUGUGG			
			ACCCACCGGACCUUC			
			CGCGAGGUGCUGAA			
			GGAGGAAGACGUGC			
			ACCUGACCUACCAGG			
			ACUGGCUGCACCUGG			
			AGCUGGAGAUCCAGC			
			CCGAAGCCGACGCCC			
			UGAGCGACACCGAGC			

【表７－７５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GCCAGGACUUUUCACC			
			AGUGGGCCAUCCACG			
			AGCACUUUCUGCCCG			
			AGAGCAGCGCCAGUG			
			GAGGCUGCGACGGCG			
			ACCUGCAAGCCGCCU			
			GCACCAUCCUGGUGA			
			ACGCCCUGAUGGACU			
			UCCACCAGAGCUCCC			
			GCAGCUACCGACCACU			
			CCGAGAACAGCGACC			
			UGGUGUUUGGAGGC			
			CGCACCGGGAACGAG			
			GACAUCAUCAGCCGC			
			CUGCAGGAGAUGGU			
			GGCCGACCUGGAGCU			
			CCAGCAGGACCUGAU			
			CGUGCCACUGGGGCA			
			CACCCCAAGCCAGGA			
			GCACUUCCUGUUCGA			
			GAUCUUCCGCAGACG			
			CCUGCAGGCACUGAC			
			CUCCGGCUGGAGUGU			
			GGCCGCAAGCCUGCA			
			GCGCCAACGCGAGCU			
			GCUGAUGUACAAGC			
			GGAUCCUGCUGCGCC			
			UGCCCUCCUCCGUGC			
			UGUGCGGCUCCUCCU			
			UCCAGGCCGAGCAGC			
			CCAUCACCGCCCGGU			

【表７－７６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GCGAGCAGUUCUUCC			
			ACCUGGUGAACAGCG			
			AGAUGCGGAACUUC			
			UGCUCUCACGGCGGC			
			GCUCUGACCCAGGAC			
			AUCACCGCCCACUUC			
			UUCCGCGGCCUGCUG			
			AACGCCUGCCUGCGG			
			AGCAGGGACCCCAGC			
			CUGAUGGUCGACUUC			
			AUCCUGGCCAAGUGC			
			CAGACCAAGUGUCCC			
			CUGAUCCUGACCAGC			
			GCCCUGGUUUGGUG			
			GCCCUCACUGGAGCC			
			CGUGCUCCUGUGUCG			
			CUGGAGGCGGCACUG			
			CCAGUCACCCCUGCC			
			CCGAGAGCUGCAGAA			
			GCUGCAGGAGGGCCG			
			GCAGUUCGCCAGCGA			
			CUUCCUGUCACCAGA			
			GGCAGCCUCUCCCGC			
			UCCUAACCCCGAUUG			
			GCUAUCCGCGGCCGC			
			UCUGCACUUCGCCAU			
			CCAGCAGGUGCGGGA			
			GGAGAACAUCCGGA			
			AGCAGCUGAAGAAG			
			CUGGACUGCGAGAG			
			GGAGGAGCUGCUUG			

【表７－７７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UGUUCCUGUUCUUCU			
			UCAGCCUGAUGGGCC			
			UGCUGUCCUCCCCACC			
			UGACCAGCAACUCCCA			
			CCACCGACCUGCCCCA			
			AGGCCUUCCACGUGU			
			GCGCCGCCAUCCCUGG			
			AGUGCCUGGAGAAG			
			CGGAAGAUCAGCUG			
			GCUGGCCCCUGUUCCA			
			GCUGACCGAGAGCGA			
			CCUGCGCCUGGGGAG			
			ACUGCUGCUGCGCGU			
			GGCUCCCCGACCAGCA			
			CACCAGGCUGCUGCC			
			CUUCGCCUUCUACUC			
			CCUGCUGUCCUACUU			
			CCACGAGGACGCCGC			
			CAUCCGGGAGGAGGC			
			CUUCCUGCACGUGGC			
			CGUGGACAUGUACCU			
			GAAGCUGGUGCAGC			
			UGUUCGUGGCCGGCG			
			ACACCUCCACCGUGA			
			GCCCUCCUGCUGGCC			
			GAAGCCUGGAGCUG			
			AAGGGCCAGGGCAAC			
			CCCGUGGAGCUGAUC			
			ACCAAGGCCCCGCCUG			
			UUCCUGCUGCAGCUG			
			AUCCCCUCGCUGCCCC			

【表７－７８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			AAGAAGAGCUUCAG CCACGUGGCCGAGCU GCUGGCUGACAGGG GAGACUGCGACCCCG AGGUGAGCGCUGCCC UGCAGAGCCGUCAAC AAGCGGCCCCUGACG CCGAUCUGAGCCAGG AGCCCCACCUGUUC			
配列番号		1	2	80	140	29
	FANCA_09 化学変化：G5 キャップ：C1 PolyA尾部：100nt	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRA WAFLLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS KVIDCDSSEAY ANHSSSFIGSAL QDQASRLGVPV GILSAGMVASS VGQICTAPAET SHPVLLTVEQR KKLSSLLEFAQ YLLAHSMFSRL SFCQELWKIQS SLLLEAVWHLH VQGIVSLQELL	AUGUCCGACUCCUGG GUGCCCAACUCCGCU AGCGGACAAGAUCCA GGUGGCCGCAGGAG AGCGUGGGCUGAAC UGCUUGCCGGGCGAG UGAAGCGCGAGAAG UACAACCCCGAGCGC GCCCAGAAGCUGAAG GAGAGCGCCGUACGG CUGCUGCGCAGCCAC CAGGACCUGAACGCC CUGCUGCUGGAGGU GGAGGGGCCCCUGUG CAAGAAGCUGAGCCU GUCCAAGGUGAUCG ACUGCGACAGCAGCG AGGCCUACGCCAACC	GGACUC ACUAUU UGUUU UCGCGC CCAGUU GCAAAA A	UAAGCC CCUCCG GGGGCC UCCACC GCGUUA UCCGUU CCUCGU AGGCUG GUCCUG GGGAAC GGGUCG GCGGGU ACCCCC GUGGUC UUUGA AUAAA GUCUGA	配列番号29は、5′末端から3′末端まで、配列番号80の5′ UTR、配列番号2のORF配列、及び配列番号140の3′ UTRからなる。

【表７－７９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
		ESHPDMHAVG	ACAGCUCCUCCUUCA		GUGGGC	
		SWLFRNLCCLC	UCGGCUCCGCCCUGC		GGC	
		EQMEASCQHA	AGGAUCAAGCUAGCC			
		DVARAMLSDF	GGCUGGGCGUUCCAG			
		VQMFVLRGFQ	UGGGCAUCCUGAGCG			
		KNSDLRRTVEP	CCGGCAUGGUGGCCA			
		EKMPQVTVDV	GCAGCGUGGGCCAGA			
		LQRMLIFALDA	UCUGCACCGCUCCCG			
		LAAGVQEESST	CCGAGACCAGCCACC			
		HKIVRCWFGVF	CCGUGCUGCUGACCG			
		SGHTLGSVISTD	UGGAGCAGCGCAAG			
		PLKRFFSHTLT	AAGCUGUCAAGCCUG			
		QILTHSPVLKAS	CUGGAGUUCGCCCAG			
		DAVQMQREWS	UACCUGCUGGCCCAC			
		FARTHPLLTSL	AGCAUGUUCUCCCGC			
		YRRLFVMLSAE	CUGAGCUUCUGCCAG			
		ELVGHLQEVLE	GAGCUGUGGAAGAU			
		TQEVHWQRVL	CCAGUCCAGCCUGCU			
		SFVSALVVCFP	ACUGGAGGCCGUGU			
		EAQQLLEDWV	GGCACUUACACCGUGC			
		ARLMAQAFESC	AGGGCAUCGUGAGCC			
		QLDSMVTAFLV	UGCAGGAGCUACUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGG			
		FGSTRGYHGCS	UCCUGGCUGUUCCGC			
		KKALVFLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	AGCCUCCUGCCAACA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUUGCACG			
		SLAKTRLADLK	GGCAAUGCCUGAGCG			
		VSIENMGLYED	ACUUCGUGCAGAUG			

【表７－８０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		LSSAGDITEPHS	UUCGUGUGCUGCGCGGG			
		QALQDVEKAI	UUCCAGAAGAACUCA			
		MVFEHTGNIPV	GACCUCCGGAGGACC			
		TVMEASIFRRP	GUGGAGCCUGAGAA			
		YYVSHFLPALL	GAUGCCCCAGGUGAC			
		TPRVLPKVPDS	CGUGGACGUGCUGCA			
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			
		DKIPPSLYSTYC	UUGCCCUGGACGCUC			
		QACSAAEEKPE	UCGCUGCCGGAGUGC			
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCUCC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCUCCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCUCCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCUCCACCGAUCCC			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	UCCCACACCCUGACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	UCCCCUGUGCUGAAG			
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGCGAG			
		CQLLRHQGPSL	UGGUCCUUCGCCCGC			
		SAPHVLGLAAL	ACCCAUCCCCUGCUG			
		AVHLGESRSAL	ACCAGCCUGUACCGG			
		PEVDVGPPAPG	CGGCUGUUCGUGAU			
		AGLPVPALFDS	GCUGUCCGCCGAGGA			
		LLTCRTRDSLFF	GCUGGUGGGCCACCU			
		CLKFCTAAISYS	GCAGGAGGUGCUGG			
		LCKFSSQSRDT	AGACCCAGGAGGUGC			
		LCSCLSPGLIKK	ACUGGCAGCCGCUGC			
		FQFLMFRLFSE	UGAGCUUCGUGAGC			

【表７－８１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		ARQPLSEEDVA	GCCCUGGUGGUGUGC			
		SLSWRPLHLPS	UUCCCCGAGGCCCAG			
		ADWQRAALSL	CAGCUCCUGGAGGAC			
		WTHRTFREVLK	UGGGUGGCCCGGCUG			
		EEDVHLTYQD	AUGGCCCAGGCCUUC			
		WLHLELEIQPE	GAGAGCUGCCAGCUG			
		ADALSDTERQD	GACAGCAUGGUGACC			
		FHQWATHEHFL	GCCUUCCUGGUGGUG			
		PESSASGGCDG	CGUCAAGCAGCCCUG			
		DLQAACTILVN	GAGGGCCCAAGCGCC			
		ALMDFHQSSRS	UUCCUGAGCUACGCC			
		YDHSENSDLVF	GACUGGUUCAAGGCC			
		GGRTGNEDIISR	AGCUUCGGGUCCACC			
		LQEMVADLEL	CGCGGGUACCACGGC			
		QQDLIVPLGHT	UGCUCCAAGAAGGCC			
		PSQEHFLFEIFR	CUGGUGUUCCUGUIU			
		RRLQALTSGWS	UACCUUCCUGAGCGA			
		VAASLQRQREL	GCUGGUGCCCUUCGA			
		LMYKRILLRLP	GUCGCCCCGCUACCU			
		SSVLCGSSFQA	GCAGGUGCACAUCCU			
		EQPITARCEQFF	GCACCCACCCCUGGU			
		HLVNSEMRNFC	CCCUGGCAAGUACCG			
		SHGGALTQDIT	GAGCCUGCUGACCGA			
		AHFFRGLLNAC	CUACAUCUCCCCUGC			
		LRSRDPSLMVD	CAAGACCCGGCUGGC			
		FILAKCQTKCP	CGACCUGAAGGUGA			
		LILTSALVWWP	GCAUCGAGAACAUG			
		SLEPVLLCRWR	GGCCUGUACGAGGAC			
		RHCQSPLPREL	CUGUCCAGCGCCGGC			
		QKLQEGRQFAS	GACAUCACCGAGCCC			
		DFLSPEAASPAP	CACAGCCAGGCCCUG			

【表７－８２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		NPDWLSAAAL	CAGGACGUGGAGAA			
		HFAIQQVREENI	GGCCAUCAUGGUGU			
		RKQLKKLDCER	UCGAGCACACCGGCA			
		EELLVFLFFFSL	ACAUCCCCGUGACCG			
		MGLLSSHLTSN	UGAUGGAGGCUAGU			
		STTDLPKAFHV	AUCUUCCGGCGGCCC			
		CAAILECLEKR	UACUACGUGUCCCAC			
		KISWLALFQLT	UUCCUGCCCGCCCUG			
		ESDLRLGRLLL	CUGACACCCCGGGUG			
		RVAPDQHTRLL	CUGCCCCAAGGUGCCC			
		PFAFYSLLSYFH	GACAGUCGCGUCGCC			
		EDAAIREEAFL	UUCAUCGAGAGCCUG			
		HVAVDMYLKL	AAGCGGGCCGACAAG			
		VQLFVAGDTST	AUCCCGCCCUCCCUG			
		VSPPAGRSLEL	UACUCCACCUACUGC			
		KGQGNPVELIT	CAGGCUUGCUCCGCC			
		KARLFLLQLIPR	GCCGAGGAGAAGCCC			
		CPKKSFSHVAE	GAGGACGCAGCCUUA			
		LLADRGDCDPE	GGAGUACGCGCCGAG			
		VSAALQSRQQA	CCCAACAGCGCCGAG			
		APDADLSQEPH	GAGCCACUGGGCCAG			
		LF	UUGACCGCUGCCCUG			
			GGAGAGCUGCGGGCC			
			AGCAUGACCGACCCC			
			AGCCAACGCGACGUG			
			AUCAGCGCCCAGGUG			
			GCCGUGAUCAGCGAG			
			AGGCUGCGGGCAGU			
			GCUGGGCCACAACGA			
			GGACGACAGCAGCGU			
			GGAGAUCAGCAAGA			

【表７－８３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UCCAGCUGAGCAUCA			
			ACACACCCAGGCUGG			
			AGCCCAGAGAGCACA			
			UGGCCGUGGACCUGC			
			UGCUGACCUCCUUCU			
			GCCAGAACCUGAUGG			
			CCGCAAGCAGCGUGG			
			CUCCUCCAGAACGCC			
			AAGGCCCUUGGGCUG			
			CCCUGUUCGUGCGCA			
			CCAUGUGUGGCCGCG			
			UCCUGCCAGCAGUGC			
			UGACCCGGCUGUGCC			
			AGCUUCUGCGGCACC			
			AAGGGCCCUCCCUGA			
			GCGCUCCCCACGUGC			
			UUGGGUUGGCCGCCC			
			UCGCUGUGCACCUGG			
			GCGAGAGCAGGAGC			
			GCCCUCCCGAGGUG			
			GACGUGGGUCCUCCA			
			GCCCCAGGUGCCGGA			
			CUCCCCGUGCCAGCC			
			CUGUUCGACAGCCUG			
			CUGACUUGUCGCACC			
			CGGGACUCCCCUGUC			
			UUCUGCCUGAAGUUC			
			UGCACCGCCGCCAUC			
			UCCUACUCCCCUGUGC			
			AAGUUCUCCAGCCAG			
			UCCCGGGACACCCUG			

【表７－８４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UGCUCCUGCCUGUCU			
			CCCGGCCUGAUCAAG			
			AAGUUCCAGUUCCUG			
			AUGUUCCGCCUGUUC			
			AGCGAAGCACGCCAG			
			CCCCUGUCCGAGGAG			
			GACGUGGCCUCCCUG			
			UCCUGGCGACCCCUG			
			CACCUGCCCUCCGCC			
			GAUUGGCAGCGCGCC			
			GCCCUCAGCCUGUGG			
			ACCCACCGGACCUUC			
			CGCGAGGUGCUGAA			
			GGAGGAAGACGUGC			
			ACCUGACCUACCAGG			
			ACUGGCUGCACCUGG			
			AGCUGGAGAUCCAGC			
			CCGAAGCCGACCGCC			
			UGAGCGACACCGAGC			
			GCCAGGACUUUCACC			
			AGUGGGCCAUCCACG			
			AGCACUUUCUGCCCG			
			AGAGCAGCGCCAGUG			
			GAGGCUGCGACGGCG			
			ACCUGCAAGCCGCCU			
			GCACCAUCCUGGUGA			
			ACGCCCUGAUGGACU			
			UCCACCAGAGCUCCC			
			GCAGCUACGACCACU			
			CCGAGAACAGCGACC			
			UGGUGUUUGGAGGC			

【表７－８５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CGCACCGGGAACGAG			
			GACAUCAUCAGCCGC			
			CUGCAGGAGAUGGU			
			GGCCGACCUGGAGCU			
			CCAGCAGGACCUGAU			
			CGUGCCACUGGGGCA			
			CACCCCAAGCCAGGA			
			GCACUUCCUGUUCGA			
			GAUCUUCCGCAGACG			
			CCUGCAGGCACUGAC			
			CUCCGGCUGGAGUGU			
			GGCCGCAAGCCUGCA			
			GCGCCAACGCGAGCU			
			GCUGAUGUACAAGC			
			GGAUCCUGCUGCGCC			
			UGCCCUCCUCCGUGC			
			UGUGCGGCUCCUCCU			
			UCCAGGCCGAGCAGC			
			CCAUCACCGCCCGGU			
			GCGAGCAGUUCUUCC			
			ACCUGGUGAACAGCG			
			AGAUGCGGAACUUC			
			UGCUCUCACGGCGGC			
			GCUCUGACCCAGGAC			
			AUCACCGCCCACUUC			
			UUCCGCGGCCUGCUG			
			AACGCCUGCCUGCGG			
			AGCAGGGACCCCAGC			
			CUGAUGGUCGACUUC			
			AUCCUGGCCAAGUGC			
			CAGACCAAGUGUCCC			

【表７－８６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CUGAUCCUGACCAGC			
			GCCCUGGUUUGGUG			
			GCCCUCACUGGAGCC			
			CGUGCUCCCUGUGUCG			
			CUGGAGGCGGCACUG			
			CCAGUCACCCCUGCC			
			CCGAGAGCUGCAGAA			
			GCUGCAGGAGGGCCG			
			GCAGUUCGCCAGCGA			
			CUUCCLGUCACCAGA			
			GGCAGCCUCUCCCGC			
			UCCUAACCCCGAUUG			
			GCUAUCCGCGGCCGC			
			UCUGCACUUCGCCAU			
			CCAGCAGGUGCGGGA			
			GGAGAACAUCCGGA			
			AGCAGCUGAAGAAG			
			CUGGACUGCGAGAG			
			GGAGGAGCUGCUUG			
			UGUUCCUGUUCLUCU			
			UCAGCCUGAUGGGCC			
			UGCUGUCCUCCCACC			
			UGACCAGCAACUCCA			
			CCACCGACCUGCCCA			
			AGGCCUUCCACGUGU			
			GCGCCGCCAUCCUGG			
			AGUGCCUGGAGAAG			
			CGGAAGAUCAGCUG			
			GCUGGCCCUGUUCCA			
			GCUGACCGAGAGCGA			
			CCUGCGCCUGGGGAG			

【表７－８７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			ACUGCUGCUGCGCGU			
			GGCUCCCCGACCAGCA			
			CACCAGGCUGCUGCC			
			CUUCGCCUUCUACUC			
			CCUGCUGUCCUACUU			
			CCACGAGGACGCCGC			
			CAUCCGGGAGGAGGC			
			CUUCCUGCACGUGGC			
			CGUGGACAUGUACCU			
			GAAGCUGGUGCAGC			
			UGUUCGUGGCCGGCG			
			ACACCUCCACCGUGA			
			GCCCUCCUGCUGGCC			
			GAAGCCUGGAGCUG			
			AAGGGCCAGGGCAAC			
			CCCGUGGAGCUGAUC			
			ACCAAGGCCCGCCUG			
			UUCCUGCUGCAGCUG			
			AUCCCUCGCUGCCCC			
			AAGAAGAGCUUCAG			
			CCACGUGGCCGAGCU			
			GCUGGCUGACAGGG			
			GAGACUGCGACCCCG			
			AGGUGAGCGCUGCCC			
			UGCAGAGCCGUCAAC			
			AAGCGGCCCCUGACG			
			CCGAUCUGAGCCAGG			
			AGCCCCACCUGUUC			

【表７－８８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
配列番号		1	14	50	117	30
	FANCA_010 化学変化:G5 キャップ:C1 PolyA尾部:100nt	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS KVIDCDSSEAY ANHSSSFIGSAL QDQASRLGVPV GILSAGMVASS VGQICTAPAET SHPVILTVFQR KKLSSLLEFAQ YLLAHSMFSRL SFCQELWKIQS SLLLEAVWHLH VQGIVSLQELL ESHPDMHAVG SWLFRNLCCLC EQMEASCQHA DVARAMLSDF VQMFVLRGFQ KNSDLRRTVEP FKMPQVTVDV LQRMLIFALDA LAAGVQEESST	AUGAGCGACAGCUG GGUGCCCAACACAGUGC UUCCGGGCAGGAUCC CGGCGGUAGAAGAC GGGCUUGGGCUGAG CUGCUGGCCGGCAGG GUGAAGCGGGAGAA GUACAACCCCGAGCG GGCCCAGAAGCUGAA GGAGAGUGCCGUGC GGCUGCUGCGGAGCC ACCAGGACCUGAACG CCCUCCUGCUGGAGG UCGAGGGCCCACUGU GCAAGAAGCUCAGCC UGAGCAAGGUGAUC GACUGUGACAGCAGC GAGGCCUACGCCAAC CACAGCUCCAGCUUC AUCGGCAGCGCCCUG CAGGACCAGGCCAGC AGACUGGGCGUGCCC GUGGGCAUCCUGAGC GCCGGCAUGGUGGCC AGCUCGGUGGGCCAG AUCUGCACCGCUCCC GCCGAGACCAGCCAC	GGAAA UCGCAA AAUUU GCUCUU CGCGUU AGAUU UCUUUUU AGUUU UCUCGC AACUAG CAAGCU UUUUG UUCUCG CC	UGAUA AUAGGC UGGAGC CUCCAC CGCGUU AUCCGU UCCUCG UAGGCU GGUCCU GGGGA ACGCGU CGGCGG GUACCC CCGUGG UCUUUG AAUAA AGUCUG AGUGG GCGGC	配列番号30は、5′末端から3′末端まで、配列番号50の5′ UTR、配列番号14のORF配列、及び配列番号117の3′ UTRからなる。

10

20

30

40

50

【表７－８９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		HKIVRCWFGVF	CCCGUGCUGCUCACC			
		SGHTLGSVISTD	GUGGAGCAGCGGAA			
		PLKRFFSHTLT	GAAGCUGAGCAGCCU			
		QILTHSPVLKAS	GCUGGAGUUCGCCCA			
		DAVQMQREWS	GUACCUGCUGGCCCA			
		FARTHPLLTSL	CAGCAUGUUCUCCCG			
		YRRLFVMLSAE	GCUGAGCUUUUGCCA			
		ELVGHLQEVLE	AGAGCUGUGGAAGA			
		TQEVHWQRVL	UCCAGAGCUCCCUGC			
		SFVSALVVCFP	UGCUGGAGGCCGUG			
		EAQQLLEDWV	UGGCACCUUCACGUG			
		ARLMAQAFESC	CAGGGCAUCGUGAGC			
		QLDSMVTAFLV	CUGCAGGAACUGCUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGC			
		FGSTRGYHGCS	AGCUGGCUGUUCCGG			
		KKALVFLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	GGCUAGCUGCCAGCA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUGGGCACG			
		SLAKTRLADLK	GGCCAUGCUGAGCGA			
		VSIENMGLYED	CUUCGUGCAGAUGU			
		LSSAGDITEPHS	UCGUGCUGCGGGGCU			
		QALQDVEKAI	UCCAGAAGAAUAGC			
		MVFEHTGNIPV	GACCUACGGCGGACC			
		TVMEASIFRRP	GUGGAGCCCGAGAA			
		YYVSHFLPALL	GAUGCCCCAGGUGAC			
		TPRVLPKVPDS	CGUGGACGUGCUGCA			
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			
		DKIPPSLYSTYC	UCGCCCUGGACGCUC			
		QACSAAEEKPE	UGGCCGCUGGCGUGC			

【表７－９０】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCAGC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCAGCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCAGCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCAGCACCGACCCA			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	AGCCACACCCUCACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	AGCCCCGUGCUGAAG			
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGGGA			
		CQLLRHQGPSL	GUGGAGCUUCGCCCG			
		SAPHVLGLAAL	GACCCACCCACUGCU			
		AVHLGESRSAL	GACUAGCCUGUACCG			
		PEVDVGPPAPG	GCGGCUGUUCGUGA			
		AGLPVPALFDS	UGCUGAGCGCAGAG			
		LLTCRTRDSLFF	GAGCUGGUGGGCCAC			
		CLKFCTAAISYS	CUGCAGGAGGUGCU			
		LCKFSSQSRDT	GGAGACCCAGGAGG			
		LCSCLSPGLIKK	UGCACUGGCAGCGGG			
		FQFLMFRLFSE	UGCUGAGCUUCGUG			
		ARQPLSEEDVA	AGCGCCCUGGUGGUG			
		SLSWRPLHLPS	UGCUUCCCCGAGGCC			
		ADWQRAALSL	CAGCAGCUCCUGGAG			
		WTHRTFREVLK	GACUGGGUGGCCCGG			
		EEDVHLTYQD	CUGAUGGCCCAGGCC			
		WLHLELEIQPE	UUCGAGAGCUGCCAG			
		ADALSDTERQD	CUGGACAGCAUGGU			
		FHQWAIHEHFL	GACCGCCUUCCUGGU			
		PESSASGGCDG	GGUGCGGCAGGCUGC			

【表７－９１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		DLQAACTILVN	CCUGGAAGGCCCCAG			
		ALMDFHQSSRS	CGCUUUCCUGAGCUA			
		YDHSENSDLVF	CGCCGACUGGUUCAA			
		GGRTGNEDIISR	GGCCAGCUUCGGCUC			
		LQEMVADLEL	CACCCGGGGCUACCA			
		QQDLIVPLGHT	CGGCUGCAGCAAGAA			
		PSQEHFLFEIFR	GGCCCUGGUGUUCCU			
		RRLQALTSGWS	GUUCACCUUCCUGAG			
		VAASLQRQREL	CGAGCUGGUGCCCUU			
		LMYKRILLRLP	CGAGUCACCCCGGUA			
		SSVLCGSSFQA	CCUGCAGGUGCACAU			
		EQPITARCEQFF	CCUGCAUCCUCCGCU			
		HLVNSEMRNFC	GGUGCCCGGCAAGUA			
		SHGGALTQDIT	CCGGAGCCCUGCUGAC			
		AHFFRGLLNAC	CGACUACACAUCAGCCU			
		LRSRDPSLMVD	GGCCAAGACCCGGCU			
		FILAKCQTKCP	GGCCGACCUGAAGGU			
		LILTSALVWWP	GAGCAUCCGAGAACA			
		SLEPVLLCRWR	UGGGCCUGUACGAG			
		RHCQSPLPREL	GACCUGAGCAGCGCC			
		QKLQEGRQFAS	GGCGACAUCACCGAG			
		DFLSPEAASPAP	CCCCACAGCCAGGCC			
		NPDWLSAAAL	CUGCAAGACGUGGA			
		HFAIQQVREENI	GAAGGCCAUCAUGG			
		RKQLKKLDCER	UGUUCGAGCACACCG			
		EELLVFLFFFSL	GCAACAUCCCCGUGA			
		MGLLSSHLTSN	CCGUCAUGGAGGCCA			
		STTDLPKAFHV	GCAUCUUCCGGCGGC			
		CAAILECLEKR	CCUACUACGUGAGCC			
		KISWLALFQLT	ACUUCCUGCCCCGCC			
		ESDLRLGRLLL	UGCUGACCCCACGGG			

【表７－９２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		RVAPDQHTRLL PFAFYSLLSYFH EDAAIREEAFL HVAVDMYLKL VQLFVAGDTST VSPPAGRSLEL KGQGNPVELIT KARLFLLQLIPR CPKKSFSHVAE LLADRGDCDPE VSAALQSRQQA APDADLSQEPH LF	UGCUGCCCAAGGUGC CCGACAGCCGGGUGG CCUUCAUCGAGAGCC UGAAGCGGGCCGACA AGAUCCCACCCAGCC UGUACAGCACCUACU GCCAGGCCUGCUCUG CCGCCGAGGAGAAGC CCGAGGACGCCGCAU UAGGCGUGCGGGCCG AGCCCAACAGCGCCG AGGAACCCCUGGGC AGCUGACCGCAGCCC UGGGAGAGCUGCGG GCCAGCAUGACCGAC CCCAGCCAGCGGGAC GUGAUCAGCGCCCAG GUGGCCGUCAUCAGC GAGCGGCUGCGGGCA GUGCUGGGCCACAAC GAGGACGACAGCAGC GUGGAGAUCAGCAA GAUCCAGCUGAGCAU CAACACCCCACGGCU GGAACCUCGGGAGCA CAUGGCCGUGGACCU GCUGCUGACCAGCUU CUGCCAGAACCUGAU GGCCGCCUCUAGCGU GGCCCCACCAGAACG GCAGGGUCCCCUGGGC			

【表７－９３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UGCCCUGUUCGUGCG			
			GACCAUGUGCGCCG			
			GGUUCUGCCCGCUGU			
			GCUGACCCGGCUGUG			
			CCAGCUGCUGCGGCA			
			CCAGGGCCCUAGCCU			
			GAGCGCUCCCCACGU			
			GCUGGGCCUAGCUGC			
			CCUGGCCGUGCACCU			
			UGGGGAGUCCCGAA			
			GCGCCCUGCCCGAGG			
			UGGACGUGGGCCCUC			
			CAGCCCCAGGUGCUG			
			GCCUUCCCGUGCCCG			
			CUCUGUUCGACAGUC			
			UGCUGACCUGCCGGA			
			CCCGGGACAGCCUGU			
			UCUUCUGCCUGAAGU			
			UCUGCACCGCCGCCA			
			UCAGCUACAGCCUGU			
			GCAAGUUCAGCAGCC			
			AGAGCCGGGACACCC			
			UGUGCAGCUGCCUGA			
			GCCCCGGCCUGAUCA			
			AGAAGUUCCAGUUCC			
			UGAUGUUCCGGCUG			
			UUCAGCGAAGCCCGG			
			CAGCCCCUGAGCGAG			
			GAGGACGUCGCCAGC			
			CUGUCCUGGAGACCC			
			CUGCACCUGCCCAGC			

【表７－９４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GCCGACUGGCAGAGA			
			GCCGCCCUGAGCCUG			
			UGGACCCACCGGACC			
			UUCCGGAGGUGCU			
			GAAGGAAGAGGACG			
			UGCACCUGACCUACC			
			AGGACUGGCUGCACC			
			UGGAGCUGGAGAUU			
			CAGCCCGAGGCCGAC			
			GCCCUGAGCGACACC			
			GAGCGGCAGGAUUU			
			CCACCAGUGGGCCAU			
			CCACGAGCAUUUCCU			
			GCCCGAGAGCAGCGC			
			CAGCGGCGGCUGUGA			
			CGGCGACCUGCAGGC			
			CGCCUGCACCAUCCU			
			GGUGAACGCCCUGAU			
			GGACUUCCACCAGAG			
			CAGCCGGAGCUACGA			
			CCACAGCGAGAACAG			
			CGACCUGGUGUUCGG			
			CGGACGGACCGGCAA			
			CGAGGACAUCAUCAG			
			CCGGCUGCAGGAGAU			
			GGUCGCCGACCUGGA			
			GUUGCAGCAGGACCU			
			GAUCGUGCCCCUGGG			
			CCACACUCCCAGCCA			
			GGAGCACUUCCUGUU			
			CGAGAUCUUCCGCCG			

【表７－９５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GAGACUGCAGGCCCU			
			GACCUCAGGCUGGAG			
			CGUGGCCGCCAGCCU			
			GCAACGGCAGCGGGA			
			GCUGCUGAUGUACA			
			AGCGGAUCCUGCUGC			
			GGCUGCCCAGCAGCG			
			UGCUGUGCGGCAGCA			
			GCUUCCAGGCCGAGC			
			AGCCCAUCACGGCCC			
			GGUGCGAGCAGUUC			
			UUCCACCUGGUGAAC			
			AGCGAGAUGCGGAA			
			CUUCUGCAGCCACGG			
			AGGCGCCCUGACCCA			
			GGACAUCACCGCCCA			
			CUUCUUCCGGGGCCU			
			GCUGAACGCCUGCCU			
			GCGGAGCAGAGACCC			
			CAGCCUGAUGGUGG			
			ACUUCAUCCUGGCCA			
			AGUGCCAGACCAAGU			
			GUCCCCUGAUCCUGA			
			CCUCCGCCCUGGUGU			
			GGUGGCCCAGCCUGG			
			AGCCCGUGCUUCUGU			
			GUCGGUGGCGGGCGC			
			ACUGCCAGAGCCCUC			
			UGCCCCGGGAGCUGC			
			AGAAGCUGCAGGAG			
			GGCCGGCAGUUCGCC			

【表７－９６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			AGCGACUUCCUGUCU			
			CCCGAGGCCGCUAGC			
			CCAGCCCCCAACCCCC			
			GACUGGCUGAGCGCU			
			GCCGCCCUGCACUUC			
			GCCAUCCAGCAGGUG			
			CGGGAGGAGAACAU			
			CCGGAAGCAGCUGAA			
			GAAGCUGGACUGCG			
			AGCGGGAGGAGCUG			
			CUCGUGUUCCUCUUC			
			UUCUUCAGCCUCAUG			
			GGCCUUCUGAGCAGC			
			CACCUGACCAGCAAC			
			AGCACCACCGACCUG			
			CCCAAGGCCUUCCAC			
			GUGUGCGCCGCCAUC			
			CUGGAGUGCCUGGA			
			GAAGCGGAAGAUCA			
			GCUGGCUGGCCCUGU			
			UCCAGCUGACCGAGA			
			GCGACCUGCGGCUGG			
			GCCGACUGCUGCUGC			
			GGGUGGCCCCAGACC			
			AGCACACCCGGCUGC			
			UGCCCUUCGCCUUCU			
			ACAGCCUGCUGAGCU			
			ACUUCCACGAGGACG			
			CUGCCAUCCGGGAGG			
			AGGCCUUUCUGCACG			
			UGGCAGUGGACAUG			

【表７－９７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
			UACCUGAAGCUGGU GCAGCUGUUCGUGGC CGGCGACACCAGCAC CGUGUCACCACCAGC CGGCCGCUCCCCUGGA GCUGAAGGGCCAGG GCAACCCCGUGGAGC UGAUCACCAAGGCCC GGCUGUUCCUGCUGC AGCUGAUCCCACGGU GCCCCAAGAAGAGCU UCAGCCACGUGGCCG AGCUGCUUGCCGACC GGGGAGACUGCGACC CCGAGGUGAGCGCCG CCUUGCAGAGCCGGC AGCAGGCCGCACCUG ACGCCGACCUGAGCC AGGAGCCCCACCUGU UC			
配列番号		1	2	61	117	31
	FANCA_011 化学変化：G5 キャップ：C1	MSDSWVPNSA SGQDPGGRRRA WAELLAGRVK REKYNPERAQK LKESAVRLLRS HQDLNALLLEV EGPLCKKLSLS	AUGUCCGACUCCUGG GUGCCCAACUCCGCU AGCGGACAAGAUCCA GGUGGCCGCAGGAG AGCGUGGGCUGAAC UGCUUGCCGGGCGAG UGAAGCGCGAGAAG	GGAAAC UUUAU UUAGU GUUACU UUAUU UUCUGU UUAUU	UGAUA AUAGGC UGGAGC CUCCAC CGCGUU AUCCGU UCCUCG	配列番号31は、5′末端から3′末端まで、

10

20

30

40

50

【表７－９８】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′ UTR配列	3′ UTR配列	構築物配列
	PolyA尾部：100nt	KVIDCDSSEAY	UACAACCCCGAGCGC	UGUGU	UAGGCU	配列番号610の5′ UTR、配列番号2000のORF配列、及び配列番号1170の3′ UTRからなる。
		ANHSSSFIGSAL	GCCCAGAAGCUGAAG	UUCUUC	GGUCCU	
		QDQASRLGVPV	GAGAGCGCCGUACGG	AGUGG	GGGGA	
		GILSAGMVASS	CUGCUGCGCAGCCAC	GUUUG	ACGGGU	
		VGQICTAPAET	CAGGACCUGAACGCC	UUCUAA	CGGCGG	
		SHPVLLTVEQR	CUGCUGCUGGAGGU	UUUCCU	GUACCC	
		KKLSSLLEFAQ	GGAGGGGCCCCUGUG	UGGCCG	CCGUGG	
		YLLAHSMFSRL	CAAGAAGCUGAGCCU	CC	UCUUUG	
		SFCQELWKIQS	GUCCAAGGUGAUCG		AAUAA	
		SLLLEAVWHLH	ACUGCCGACAGCAGCCG		AGUCUG	
		VQGIVSLQELL	AGGCCUACGCCAACC		AGUGG	
		ESHPDMHAVG	ACAGCUCCUCCUUCA		GCGGC	
		SWLFRNLCCLC	UCGGCUCCGCCCUGC			
		EQMEASCQHA	AGGAUCAAGCUAGCC			
		DVARAMLSDF	GGCUGGGCGUUCCAG			
		VQMFVLRGFQ	UGGGCAUCCUGAGCG			
		KNSDLRRTVEP	CCGGCAUGGUGGCCA			
		EKMPQVTVDV	GCAGCGUGGGCCAGA			
		LQRMLIFALDA	UCUGCACCGCUCCCG			
		LAAGVQEESST	CCGAGACCAGCCACC			
		HKIVRCWFGVF	CCGUGCUGCUGACCG			
		SGHTLGSVISTD	UGGAGCAGCGCAAG			
		PLKRFFSHTLT	AAGCUGUCAAGCCUG			
		QILTHSPVLKAS	CUGGAGUUCGCCCAG			
		DAVQMQREWS	UACCUGCUGGCCCAC			
		FARTHPLLTSL	AGCAUGUUCUCCCGC			
		YRRLFVMLSAE	CUGAGCUUCUGCCAG			
		ELVGHLQEVLE	GAGCUGUGGAAGAU			
		TQEVHWQRVL	CCAGUCCAGCCUGCU			
		SFVSALVVCFP	ACUGGAGGCCGUGU			
		EAQQLLEDWV	GGCACUUACACCGUGC			

【表７－９９】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		ARLMAQAFESC	AGGGCAUCGUGAGCC			
		QLDSMVTAFLV	UGCAGGAGCUACUG			
		VRQAALEGPSA	GAGAGCCACCCCGAC			
		FLSYADWFKAS	AUGCACGCCGUGGGG			
		FGSTRGYHGCS	UCCUGGCUGUUCCGC			
		KKALVFLFTFL	AACCUGUGCUGCCUG			
		SELVPFESPRYL	UGCGAGCAGAUGGA			
		QVHILHPPLVP	AGCCUCCUGCCAACA			
		GKYRSLLTDYI	CGCCGACGUUGCACG			
		SLAKTRLADLK	GGCAAUGCUGAGCG			
		VSIENMGLYED	ACUUCGUGCAGAUG			
		LSSAGDITEPHS	UUCGUGCUGCGCGGG			
		QALQDVEKAI	UUCCAGAAGAACUCA			
		MVFEHTGNIPV	GACCUCCGGAGGACC			
		TVMEASIFRRP	GUGGAGCCUGAGAA			
		YYVSHFLPALL	GAUGCCCCAGGUGAC			
		TPRVLPKVPDS	CGUGGACGUGCUGCA			
		RVAFIESLKRA	GCGGAUGCUGAUCU			
		DKIPPSLYSTYC	UUGCCCUGGACGCUC			
		QACSAAEEKPE	UCGCUGCCGGAGUGC			
		DAALGVRAEP	AGGAGGAGAGCUCC			
		NSAEEPLGQLT	ACCCACAAGAUCGUG			
		AALGELRASMT	CGGUGCUGGUUCGGC			
		DPSQRDVISAQ	GUGUUCUCCGGCCAC			
		VAVISERLRAV	ACCCUGGGCUCCGUG			
		LGHNEDDSSVE	AUCUCCACCGAUCCC			
		ISKIQLSINTPRL	CUGAAGCGGUUCUUC			
		EPREHMAVDLL	UCCCACACCCUGACC			
		LTSFCQNLMAA	CAGAUCCUGACCCAC			
		SSVAPPERQGP	UCCCCUGUGCUGAAG			
		WAALFVRTMC	GCCAGCGACGCCGUG			

【表７－１００】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		GRVLPAVLTRL	CAGAUGCAGCGCGAG			
		CQLLRHQGPSL	UGGUCCUUCGCCCGC			
		SAPHVLGLAAL	ACCCAUCCCCUGCUG			
		AVHLGESRSAL	ACCAGCCUGUACCGG			
		PEVDVGPPAPG	CGGCUGUUCGUGAU			
		AGLPVPALFDS	GCUGUCCGCCGAGGA			
		LLTCRTRDSLFF	GCUGGUGGGCCACCU			
		CLKFCTAAISYS	GCAGGAGGUGCUGG			
		LCKFSSQSRDT	AGACCCAGGAGGUGC			
		LCSCLSPGLIKK	ACUGGCAGCGCGUGC			
		FQFLMFRLFSE	UGAGCUUCGUGAGC			
		ARQPLSEEDVA	GCCCUGGUGGUGUGC			
		SLSWRPLHLPS	UUCCCCGAGGCCCAG			
		ADWQRAALSL	CAGCUCCUGGAGGAC			
		WTHRTFREVLK	UGGGUGGCCCGGCUG			
		EEDVHLTYQD	AUGGCCCAGGCCUUC			
		WLHLELEIQPE	GAGAGCUGCCAGCUG			
		ADALSDTERQD	GACAGCAUGGUGACC			
		FHQWAIHEHFL	GCCUUCCUGGUGGUG			
		PESSASGGCDG	CGUCAAGCAGCCCUG			
		DLQAACTILVN	GAGGGCCCAAGCGCC			
		ALMDFHQSSRS	UUCCUGAGCUACGCC			
		YDHSENSDLVF	GACUGGUUCAAGGCC			
		GGRTGNEDIISR	AGCUUCGGGUCCACC			
		LQEMVADLEL	CGCGGGUACCACGGC			
		QQDLIVPLGHT	UGCUCCAAGAAGGCC			
		PSQEHFLFEIFR	CUGGUGUUCCUGUU			
		RRLQALTSGWS	UACCUUCCUGAGCGA			
		VAASLQRQREL	GCUGGUGCCCUUCGA			
		LMYKRILLRLP	GUCGCCCCGCUACCU			
		SSVLCGSSFQA	GCAGGUGCACAUCCU			

【表７－１０１】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		EQPITARCEQFF	GCACCCACCCCUGGU			
		HLVNSEMRNFC	CCCUGGCAAGUACCG			
		SHGGALTQDIT	GAGCCUGCUGACCGA			
		AHFFRGLLNAC	CUACAUCUCCCCUGGC			
		LRSRDPSLMVD	CAAGACCCGGCUGGC			
		FILAKCQTKCP	CGACCUGAAGGUGA			
		LILTSALVWWP	GCAUCGAGAACAUG			
		SLEPVLLCRWR	GGCCUGUACGAGGAC			
		RHCQSPLPREL	CUGUCCAGCGCCGGC			
		QKLQEGRQFAS	GACAUCACCGAGCCC			
		DFLSPEAASPAP	CACAGCCAGGCCCUG			
		NPDWLSAAAL	CAGGACGUGGAGAA			
		HFAIQQVREENI	GGCCAUCAUGGUGU			
		RKQLKKLDCER	UCGAGCACACCGGCA			
		EELLVFLFFFSL	ACAUCCCCGUGACCG			
		MGLLSSHLTSN	UGAUGGAGGCUAGU			
		STTDLPKAFHV	AUCUUCCGGCGCCC			
		CAAILECLEKR	UACUACGUGUCCCAC			
		KISWLALFQLT	UUCCUGCCCGCCCUG			
		ESDLRLGRLLL	CUGACACCCCGGUG			
		RVAPDQHTRLL	CUGCCCAAGGUGCCC			
		PFAFYSLLSYFH	GACAGUCCGCGUCGCC			
		EDAAIREEAFL	UUCAUCGAGAGCCUG			
		HVAVDMYLKL	AAGCGGGCCGACAAG			
		VQLFVAGDTST	AUCCCGCCCUCCCUG			
		VSPPAGRSLEL	UACUCCACCUACUGC			
		KGQGNPVELIT	CAGGCUUGCUCCGCC			
		KARLFLLQLIPR	GCCGAGGAGAAGCCC			
		CPKKSFSHVAE	GAGGACGCAGCCUUA			
		LLADRGDCDPE	GGAGUACGCGCCGAG			
		VSAALQSRQQA	CCCAACAGCGCCGAG			

【表７－１０２】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
		APDADLSQEPHLF	GAGCCACUGGGGCCAG UUGACCGCUGCCCUG GGAGAGCUGCGGGCC AGCAUGACCGACCCC AGCCAACGCGACGUG AUCAGCGCCCAGGUG GCCGUGAUCAGCGAG AGGCUGCGGCAGU GCUGGGCCACAACGA GGACGACAGCAGCGU GGAGAUCAGCAAGA UCCAGCUGAGCAUCA ACACACCCAGGCUGG AGCCCAGAGAGCACA UGGCCGUGGACCUGC UGCUGACCUCCUUCU GCCAGAACCUGAUGG CCGCAAGCAGCGUGG CUCCUCCAGAACGCC AAGGCCCUUGGGCUG CCCUGUUCGUGCGCA CCAUGUGUGGCCGCG UCCUGCCAGCAGUGC UGACCCGGCUGUGCC AGCUUCUGCGGCACC AAGGGCCCUCCCUGA GCGCUCCCCACGUGC UUGGGUUGGCCCGCC UCGCUGUGCACCUGG GCGAGAGCAGGAGC GCCCUUCCCGAGGUG			

【表７－１０３】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			GACGUGGGGUCCUCCA			
			GCCCCAGGUGCCGGA			
			CUCCCCGUGCCAGCC			
			CUGUUCGACAGCCUG			
			CUGACUUGUCGCACC			
			CGGGACUCCCCUGUUC			
			UUCUGCCUGAAGUUC			
			UGCACCGCCGCCAUC			
			UCCUACUCCCCUGUGC			
			AAGUUCUCCAGCCAG			
			UCCCGGGACACCCUG			
			UGCUCCUGCCUGUCU			
			CCCGGCCUGAUCAAG			
			AAGUUCCAGUUCCUG			
			AUGUUCCGCCUGUUC			
			AGCGAAGCACGCCAG			
			CCCCUGUCCGAGGAG			
			GACGUGGCCUCCCUG			
			UCCUGGCGACCCCUG			
			CACCUGCCCUCCGCC			
			GAUUGGCAGCGCGCC			
			GCCCUCAGCCUGUGG			
			ACCCACCGGACCUUC			
			CGCGAGGUGCUGAA			
			GGAGGAAGACGUGC			
			ACCUGACCUACCAGG			
			ACUGGCUGCACCUGG			
			AGCUGGAGAUCCAGC			
			CCGAAGCCGACGCCC			
			UGAGCGACACCGAGC			
			GCCAGGACUUUCACC			

【表７－１０４】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			AGUGGGCCAUCCACG			
			AGCACUUUCUGCCCG			
			AGAGCAGCGCCAGUG			
			GAGGCUGCGACGGCG			
			ACCUGCAAGCCGCCU			
			GCACCAUCCUGGUGA			
			ACGCCCUGAUGGACU			
			UCCACCAGAGCUCCC			
			GCAGCUACGACCACU			
			CCGAGAACAGCGACC			
			UGGUGUUUGGAGGC			
			CGCACCGGGAACGAG			
			GACAUCAUCAGCCGC			
			CUGCAGGAGAUGGU			
			GGCCGACCUGGAGCU			
			CCAGCAGGACCUGAU			
			CGUGCCACUGGGGCA			
			CACCCCAAGCCAGGA			
			GCACUUCCUGUUCGA			
			GAUCUUCCGCAGACG			
			CCUGCAGGCACUGAC			
			CUCCGGCUGGAGUGU			
			GGCCGCAAGCCUGCA			
			GCGCCAACGCGAGCU			
			GCUGAUGUACAAGC			
			GGAUCCUGCUGGCGC			
			UGCCCUCCUCCGUGC			
			UGUGCGGCUCCUCCU			
			UCCAGGCCGAGCAGC			
			CCAUCACCGCCCGGU			
			GCGAGCAGUUCUUCC			

【表７－１０５】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			ACCUGGUGAACAGCG			
			AGAUGCGGAACUUC			
			UGCUCUCACGGCGGC			
			GCUCUGACCCAGGAC			
			AUCACCGCCCACUUC			
			UUCCGCGGCCUGCUG			
			AACGCCUGCCUGCGG			
			AGCAGGGACCCCAGC			
			CUGAUGGUCGACUUC			
			AUCCUGGCCAAGUGC			
			CAGACCAAGUGUCCC			
			CUGAUCCUGACCAGC			
			GCCCUGGUUUGGUG			
			GCCCUCACUGGAGCC			
			CGUGCUCCCUGUGUCG			
			CUGGAGGCGGCACUG			
			CCAGUCACCCCUGCC			
			CCGAGAGCUGCAGAA			
			GCUGCAGGAGGGCCG			
			GCAGUUCGCCAGCGA			
			CUUCCCUGUCACCAGA			
			GGCAGCCUCUCCCGC			
			UCCUAACCCCGAUUG			
			GCUAUCCGCGGCCGC			
			UCUGCACUUCGCCAU			
			CCAGCAGGUGCGGGA			
			GGAGAACAUCCGGA			
			AGCAGCUGAAGAAG			
			CUGGACUGCGAGAG			
			GGAGGAGCCUGCUUG			
			UGUUCCUGUUCUUCU			

【表７－１０６】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			UCAGCCUGAUGGGCC			
			UGCUGUCCUCCCCACC			
			UGACCAGCAACUCCA			
			CCACCGACCUGCCCA			
			AGGCCUUCCACGUGU			
			GCGCCGCCAUCCUGG			
			AGUGCCUGGAGAAG			
			CGGAAGAUCAGCUG			
			GCUGGCCCUGUUCCA			
			GCUGACCGAGAGCGA			
			CCUGCGCCUGGGGAG			
			ACUGCUGCUGCCGU			
			GGCUCCCGACCAGCA			
			CACCAGGCUGCUGCC			
			CUUCGCCUUCUACUC			
			CCUGCUGUCCUACUU			
			CCACGAGGACGCCGC			
			CAUCCGGGAGGAGGC			
			CUUCCUGCACGUGGC			
			CGUGGACAUGUACCU			
			GAAGCUGGUGCAGC			
			UGUUCGUGGCCGGCG			
			ACACCUCCACCGUGA			
			GCCCUCCUGCUGGCC			
			GAAGCCUGGAGCUG			
			AAGGGCCAGGGCAAC			
			CCCGUGGAGCUGAUC			
			ACCAAGGCCCCGCCUG			
			UUCCUGCUGCAGCUG			
			AUCCCUCGCUGCCCC			
			AAGAAGAGCUUCAG			

【表７－１０７】

	mRNA名	ORF配列（アミノ酸）	ORF配列（ヌクレオチド）	5′UTR配列	3′UTR配列	構築物配列
			CCACGUGGCCGAGCU GCUGGCUGACAGGG GAGACUGCGACCCCG AGGUGAGCGCUGCCC UGCAGAGCCGUCAAC AAGCGGCCCCUGACG CCGAUCUGAGCCAGG AGCCCCACCUGUUC			

【０７４５】

実施例４．ＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡの発現

ｍＲＮＡ　ＦＡＮＣＡ＿０１（配列番号４）及びＦＡＮＣＡ＿０２（配列番号５）はそれぞれ、ＦＡＮＣＡ（配列番号１）をコードするコドン最適化ＯＲＦと、５′ＵＴＲ及び３′ＵＴＲを含むｍＲＮＡ制御エレメントとを用いて生成した。

【０７４６】

ＦａＤｕ細胞は、Ｆａｎｃｏｎｉ　Ａｎｅｍｉａ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｌｌ　Ｌｉｎｅ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅから入手し、散発性頭頸部扁平上皮癌（ＡＴＣＣ　＃ＨＴＢ４３）に由来するものである。ＦＡＮＣＡノックアウト（ＫＯ）細胞様は、ＦＡＮＣＡ遺伝子のＮ末端を標的とするＣＡＳ９介在性の欠失により、ＦＡＮＣＡタンパク質の発現及び機能を喪失させた後、ＦａＤｕ細胞株からクローン的に誘導したものである。

【０７４７】

ＦａＤｕ、Ｔｇ（ＧＦＰ　ｍＲＮＡがトランスフェクトされたクローン誘導ＦＡＮＣＡ

－／－亜株に導入遺伝子が補完されたもの）、及びＦａＤｕ－ＫＯ細胞を、トランスフェクションの１日前の午後に、６ウェルプレートに播種した（２５０，０００～３００，０００細胞／ウェル）。その翌朝、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ＭｅｓｓｅｎｇｅｒＭＡＸ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ｒｅｆ＃ＬＭＲＮＡ００３）を用い、製造業者の指示に従って、リポフェクタミン：ｍＲＮＡの比、１．５：１ｕｌ／ｕｇの比で、必要とされる量のＦＡＮＣＡ＿０１～ＦＡＮＣＡ＿１１ ｍＲＮＡまたはＧＦＰ ｍＲＮＡ（コントロールとして）を細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションをしてから６時間後に培地を交換し、必要とされる適切な処理薬に置き換えた。トランスフェクションをしてから６、２４、４８、または７２時間後のいずれかで、細胞を１ＸＮｕＰＡＧＥ ＬＤＳサンプルバッファーにおいて溶解した。ＦＡＮＣＡタンパク質の発現量を、Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ １４６５７抗体を用いたウェスタンブロットにより測定した。タンパク質ローディングの正規化には、ヌクレオリンに対するＣｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ ８７７９２抗体を用いた。ＦＡＮＣＡ／ヌクレオリン発現量の倍数変化は、モック処理したＦａＤｕ細胞における平均発現量と比較したものである。

【０７４８】

図３Ａは、示された時点での３種のＦａＤｕ細胞株における、ＦＡＮＣＡ及びヌクレオリンのタンパク質レベルを示すウェスタンブロット画像である。ＦＡＮＣＡ発現量の倍数変化は、ローディングコントロール及び野生型（ＷＴ）平均値に対して正規化して算出した。ＦＡＮＣＡ ｍＲＮＡは、最大３日、インビトロにおいてタンパク質を発現した。

【０７４９】

図３Ｂは、ＷＴにおける平均発現量と比較した、ＦＡＮＣＡ／ヌクレオリン発現量の倍数変化を示すグラフである。全てのＦＡＮＣＡ構築物が、トランスフェクションをしてから最大７２時間、ＷＴと同等またはＷＴよりも高いタンパク質発現レベルを維持した。

【０７５０】

実施例５．ＦＡＮＣＡ ｍＲＮＡはＭＭＣ処理後の細胞生存を回復させる

ＦＡ患者は一般に、ＤＮＡ鎖間架橋剤（ＤＥＢ及びＭＭＣ等）に高感受性を示す。ＦＡＮＣＡ ｍＲＮＡの発現により、ＦＡＮＣＡ欠損細胞がＧ２＿Ｍ期の細胞周期停止から回復され得るかどうかを決定するため、ＦａＤｕ、Ｔｇ、及びＦａＤｕ－ＫＯ細胞に、１ｕｇのＧＦＰ ｍＲＮＡまたはＦＡＮＣＡ ｍＲＮＡをトランスフェクトし、２４時間後に、ＰＢＳ（モック）、ＤＥＢまたはＭＭＣで処理した。ＭＭＣの場合は、処理してから１時間後にそれを除去した。４８時間後、細胞周期解析のために、細胞を回収、固定し、ＲＮＡｓｅ Ａ存在下においてＤＡＰＩで染色した。ＦＡＮＣＡ ｍＲＮＡの発現により、ＦＡＮＣＡ欠損細胞がＭＭＣに対する感受性から回復され得るかどうかを決定するため、ＦａＤｕ、Ｔｇ、及びＦａＤｕ－ＫＯ細胞に、１ｕｇのＧＦＰ ｍＲＮＡまたはＦＡＮＣＡ ｍＲＮＡをトランスフェクトし、６時間後に、ＰＢＳ（モック）または異なる濃度のＭＭＣで処理した。ＭＭＣ存在下で培養してから５日後、続いて、処理した細胞をＣｅｌｌ Ｔｉｔｅｒ Ｇｌｏ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ ＃Ｇ７５７０）を用いて溶解して、総ＡＴＰを放出させ、発光をＢｉｏ－Ｔｅｋ Ｓｙｎｅｒｇｙ Ｈ１で読み取った。データポイントあたりの５連の複製を、未処理またはトランスフェクションコントロールに対して正規化した。

【０７５１】

図４は、１ｕｇのＧＦＰ ｍＲＮＡ構築物をトランスフェクトしたＦａＤｕ－ＷＴ、ＦａＤｕ－ＫＯ、または１ｕｇのＦＡＮＣＡ構築物をトランスフェクトしたＦａＤｕ－ＫＯを、トランスフェクションの２４時間後に、示した濃度のＭＭＣで処理した場合の生存率を示すグラフである。生存率は、処理してから５日後にＣｅｌｌ Ｔｉｔｅｒ Ｇｌｏを用いて評価した。

【０７５２】

ＦＡＮＣＡノックアウト細胞においてＦＡＮＣＡを再発現させると、生存率は野生型と同様のレベルまで回復した。

【０７５３】

実施例６．ＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡは細胞周期を部分的に回復させる

ＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡの発現により、ＤＥＢまたはＭＭＣで処理した後のＦＡＮＣＡ欠損細胞が、Ｇ２＿Ｍ期の細胞周期停止から回復され得るかどうかを決定するため、ＧＦＰまたはＦＡＮＣＡ（１ｕｇ）ｍＲＮＡをトランスフェクトしたＦａＤｕ、Ｔｇ、及びＦａＤｕ－ＫＯ細胞を、ＰＢＳでモック処理するか、または０．０５ｕｇ／ｍｌのＭＭＣ（Ｓｉｇｍａ、ｒｅｆ＃Ｍ０５０３）で１時間、もしくは０．１ｕｇ／ｍｌのＤＥＢ（Ｓｉｇｍａ、ｒｅｆ＃９０４７４）で４８時間処理した。ｍＲＮＡ構築物をトランスフェクションしてから６時間後（図３Ａ～図３Ｂ）または７２時間後（図４Ａ～図４Ｂ）に、細胞をモック処理するか、またはＭＭＣもしくはＤＥＢで処理した。追加処理から４８時間後に、０．２５％トリプシンを用いて細胞を回収し、ＰＢＳで洗浄した。

【０７５４】

製造者の指示に従い、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ　ｆｉｘａｂｌｅ　ｆａｒ　ｒｅｄ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ｒｅｆ＃Ｌ１０１２０）染色を用いて死細胞を標識した後、ＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘ／Ｃｙｔｏｐｅｒｍ（ＢＤ、ｒｅｆ＃５５４７１４）を用いて固定した。固定後、細胞を１ｕｇ／ｍｌの４′，６－ジアミジノ－２－フェニルインドール（ＤＡＰＩ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ｒｅｆ＃Ｄ２１４９０）及び１００ｕｇ／ｍｌのＲＮａｓｅＡ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、ｒｅｆ＃ＥＮ０５３１）を含有するＰＢＳ中で１５分間再構成してから、ＳＯＮＹ－ＳＨ８００Ｚを用いて分析した。

【０７５５】

図５Ａは、１μｇのＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡまたはＧＦＰ　ｍＲＮＡをトランスフェクションし、その６時間後にコントロール（ＰＢＳ）、ＤＥＢ、またはＭＭＣで処理した後の、細胞周期Ｇ２＿Ｍ期にある細胞の蓄積を示すグラフである。細胞周期分析により、１μｇのＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡ構築物をトランスフェクトすると、ＧＦＰをトランスフェクトしたＦａＤｕ－ＷＴ細胞及びＦａＤｕ　ＫＯ細胞と比較して、ＤＥＢ及びＭＭＣで処理してから４８時間後の細胞周期Ｇ２＿Ｍ期にあるＦａＤｕ　ＫＯ細胞の蓄積が、部分的に回復されることが実証された。

【０７５６】

図５Ｂは、図５Ａのデータに関するＧ２Ｍの頻度（平均値±ＳＤとして提示）を示すグラフである。

【０７５７】

図６Ａは、１μｇのＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡまたはＧＦＰ　ｍＲＮＡをトランスフェクションし、その７２時間後にコントロール（ＰＢＳ）、ＤＥＢ、またはＭＭＣで処理した後の、細胞周期Ｇ２＿Ｍ期にある細胞の蓄積を示すグラフである。細胞周期分析により、１μｇのＦＡＮＣＡ　ｍＲＮＡ構築物をトランスフェクトすると、ＧＦＰをトランスフェクトしたＦａＤｕ－ＷＴ細胞及びＦａＤｕ　ＫＯ細胞と比較して、ＤＥＢ及びＭＭＣで処理してから４８時間後の細胞周期Ｇ２＿Ｍ期にあるＦａＤｕ　ＫＯ細胞の蓄積が、部分的に回復されることが実証された。

【０７５８】

図６Ｂは、図６Ａのデータに関するＧ２Ｍの頻度（平均値±ＳＤとして提示）を示すグラフである。

【０７５９】

図６Ｃは、ヌクレオリンに対して正規化し、ＷＴ　ＦａＤｕ細胞株でのＦＡＮＣＡ発現レベルに対する倍数変化として表される、ＦＡＮＣＡ発現レベルを示すグラフである。

【０７６０】

実施例７．カッパ３′ＵＴＲと組み合わせたｖ２．０　５′ＵＴＲを有するｍＲＮＡのインビボ効果

本実施例では、ワクチン誘導性免疫応答のインビボ評価について説明する。

【０７６１】

マウスのインビボにおける、ｖ１．１　５′ＵＴＲ（配列番号５６）またはｖ２．０　５′ＵＴＲ（配列番号５０）のいずれかと組み合わせた場合のカッパ３′ＵＴＲ（配列番

号１３９）が有する効果を評価するため、ヘプタデカン－９－イル８－（（２－ヒドロキシエチル）（６－オキソ－６－（ウンデシルオキシ）ヘキシル）アミノ）オクタノエートで製剤化されたｍＲＮＡ２μｇを、ＣＬ５７ＢＬ／６マウス（Ｎ＝８）に筋肉内注射した。ｍＲＮＡは、分泌タンパク質オボアルブミンをコードするものであった。投与してから６時間後及び４８時間後に、５０μｌの血液を採取し、血清を得た。血清中のオボアルブミン濃度をＥＬＩＳＡで評価した（図７）。

【０７６２】

２８日間隔で２回投与した。血清中の抗体レベルを、２８日目（すなわち、プライム後４週間）及び４３日目（すなわち、ブースト後２週間）の２つの時点で評価した。抗体レベルはエンドポイント力価で表され、これは、オボアルブミン抗原でコーティングされたプレートへの抗体の結合を検出することができる血清の最大希釈率である。

【０７６３】

結果は、ｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）及びカッパ３´ＵＴＲ（配列番号１３９）を含むｍＲＮＡにより、プライム後に約２５倍、及びブースト後に約５倍、抗体応答が増加したことを示している（図８）。

【０７６４】

実施例８．３´ＵＴＲ内にＦＵＴ８配列を有することのインビボ効果

３´ＵＴＲ内のＦＵＴ８配列が有するはずであるｍＲＮＡに対する効果を評価するために、目的のタンパク質をコードするｍＲＮＡをＬＮＰ（化合物ＩＩ＋ＧＬ６７）として製剤化し、次いで、初代ヒト気管支上皮細胞モデル上に重ねた。いくつかの配列バリアントを評価した：

１）従来の参照配列（ｖ１．０　ＵＴＲ）

２）ｖ２．０　５´ＵＴＲ（配列番号５０）及び再最適化コード配列を有するｍＲＮＡ

３）「デルタ」終止カセット及び「ＦＵＴ８」配列を有する３´ＵＴＲを、（２）のエレメントに加えて有するｍＲＮＡ（当該３´ＵＴＲは配列番号１４０に対応する）。

【０７６５】

さらに、変異遺伝子の活性を回復させることができる２つの陽性コントロールを評価した。

【０７６６】

図９は、３´ＵＴＲ内のＦＵＴ８配列の効果を示している。結果は、ＦＵＴ８を有することにより、標的タンパク質の活性が増加することを示している。

【０７６７】

実施例９．ｖ２．０　５´ＵＴＲはマウスにおいて赤血球凝集素をコードするｍＲＮＡの免疫原性を高める

ｖ２．０　５´ＵＴＲと、イオタ終止カセットを含むｖ１．１　３´ＵＴＲ（それぞれ、配列番号５０及び１８０）とを有する、４種の赤血球凝集素（ＨＡ）タンパク質（ＨＡ１、ＨＡ２、ＨＡ３、及びＨＡ４）をコードする４種のｍＲＮＡの共製剤を、ＢＡＬＢ／ｃマウスに注射した。具体的には、当該ＵＴＲを有するＨＡ　ｍＲＮＡは、ＳＭ－１０２ＬＮＰで共製剤化した。３週間のプライムブースト間隔でＬＮＰを筋肉内に投与した。抗体レベルは、１回目の投与後及び２回目の投与後を表す、示された日（図中のｄ２１及びｄ３６）において、血清中で評価した。以下の用量を評価した：１μｇ、０．２μｇ、及び０．０４μｇ、加えて、コントロールとしてのＰＢＳ単独。４種の全ての赤血球凝集素（ＨＡ）に対する抗体価の増加が、主に１回目の投与後に認められた。２回目の投与後の脾臓において、Ｈ１及びＨ３　ＨＡに対するＣＤ４　Ｔ細胞応答への影響は認められなかった。２回目の投与後の脾臓において、Ｈ１　ＨＡに対するＣＤ８　ＣＤ１０７ａ　Ｔ細胞応答がより多くなっていることが認められた（例えば、図１０を参照のこと）。１回目の投与及び２回目の投与の６時間後に、ＩＰ－１０レベルの増加も認められた。概して、ｖ２．０　５´ＵＴＲの存在により、第１の投与後及び中間の用量レベルにおいて、免疫原性が高まった。

【０７６８】

実施例１０．ｖ２．０　５´ＵＴＲとカッパ３´ＵＴＲとの組み合わせは赤血球凝集素をコードするｍＲＮＡのインビトロ発現を増強する

実施例９と同様に、４種の赤血球凝集素（ＨＡ）タンパク質（ＨＡ１、ＨＡ２、ＨＡ３、及びＨＡ４）をコードし、ｖ１．１　５´ＵＴＲ及びｖ１．１　３´ＵＴＲ（それぞれ、配列番号５６及び１８０）またはｖ２．０　５´ＵＴＲ及びカッパ３´ＵＴＲ（それぞれ、配列番号５０及び配列番号１３９）のいずれかを有する４種のｍＲＮＡの共製剤を、細胞にトランスフェクトした。繰り返しになるが、いずれかのＵＴＲセットを有するＨＡｍＲＮＡは、ＳＭ－１０２　ＬＮＰで共製剤化した。３週間のプライムブースト間隔でＬＮＰを筋肉内に投与した。抗体レベルは、１回目の投与後及び２回目の投与後を表す、示された日において、血清中で評価した。また、４種の異なる既知のインフルエンザワクチン（ＣＲ９１１４、ＣＲ８０５９、５ｅ０４、及び２Ｂ０６）でも細胞を処理した。ｍＲＮＡを投与してから２４時間、４８時間、及び７２時間後に、ＭＦＩ陽性細胞数をモニターした。図１１に示しているように、主に７２時間にて、低用量の共製剤化ｍＲＮＡによる４種のＨＡタンパク質の発現増加が見られた。

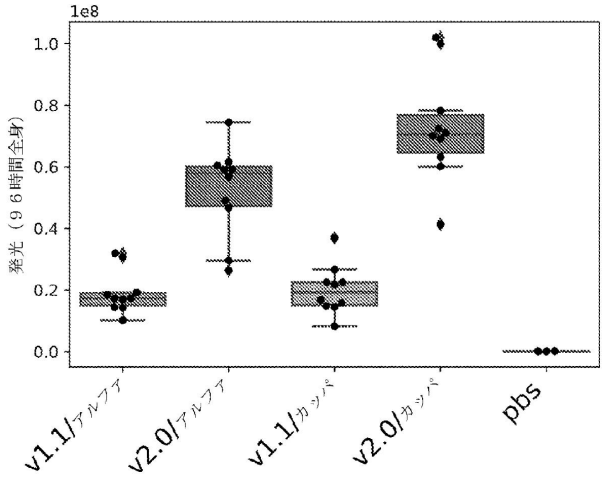
【０７６９】

他の実施形態

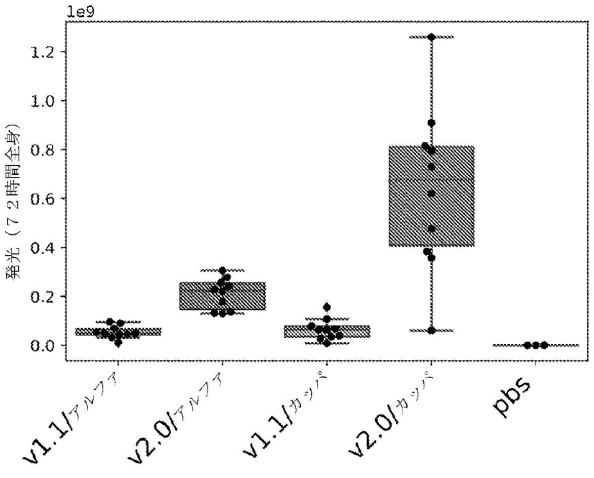
本発明を、発明を実施するための形態と共に説明してきたが、前述の説明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲の例示を意図するものであり、限定を意図するものではないことが理解されるべきである。他の態様、利点、及び変更が、以下の特許請求の範囲の範囲内にある。

【図面】

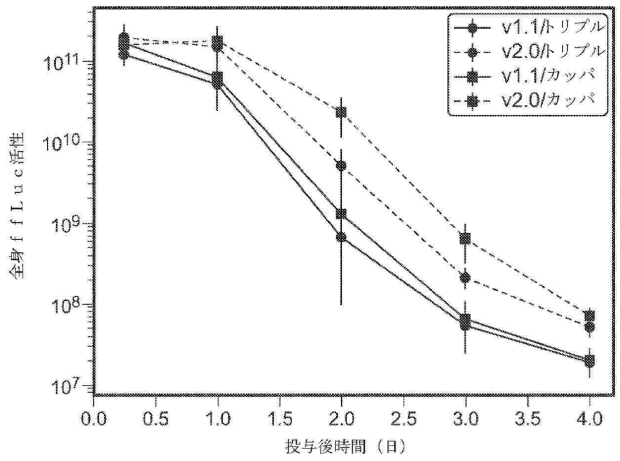
【図１Ａ】



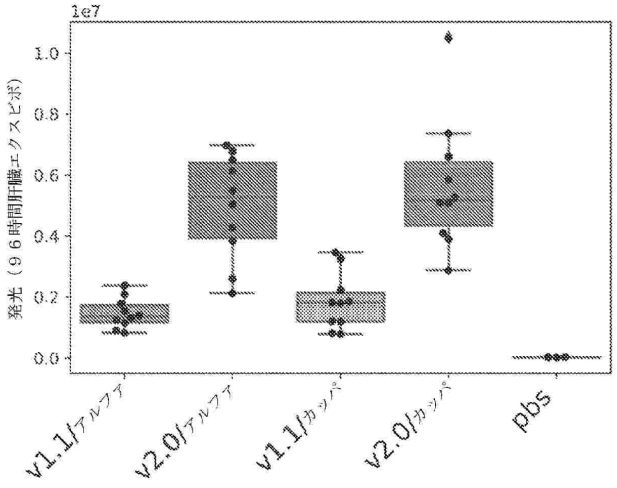
【図１Ｂ】



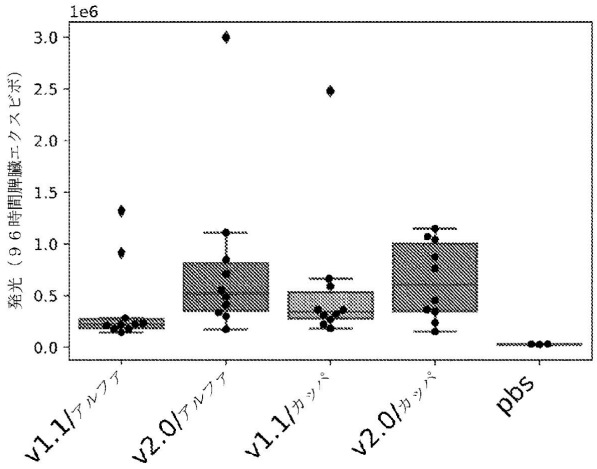
【図１Ｃ】



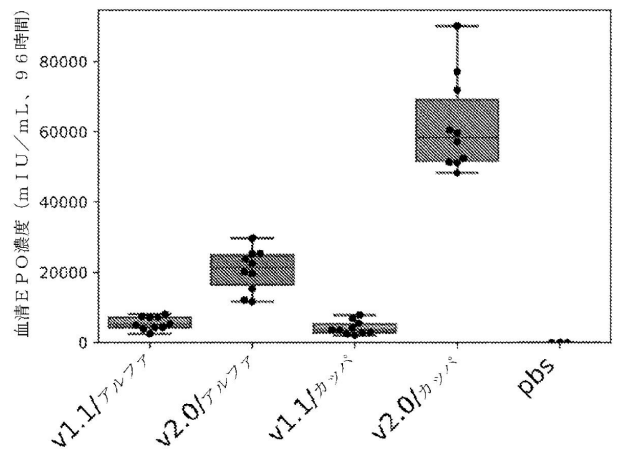
【図１Ｄ】



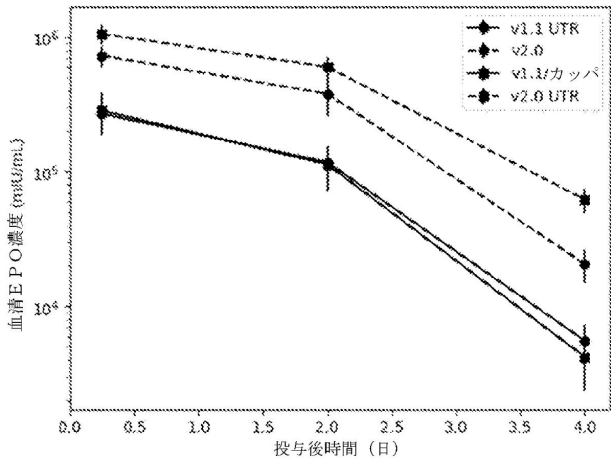
【図１Ｅ】



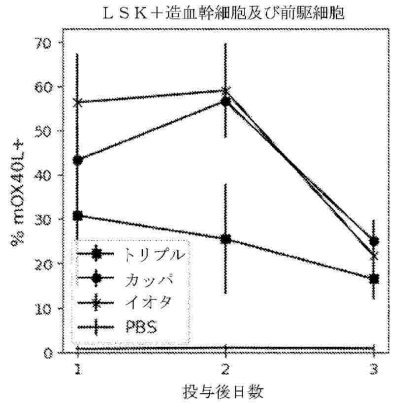
【図１Ｆ】

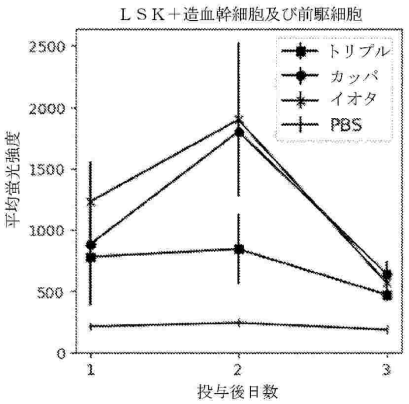


【図１Ｇ】

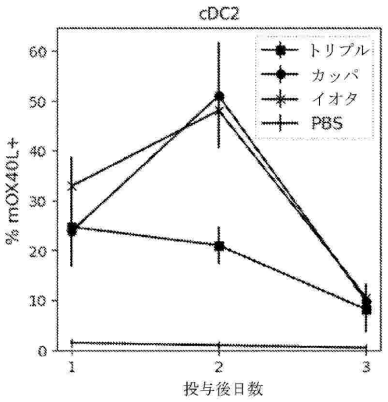


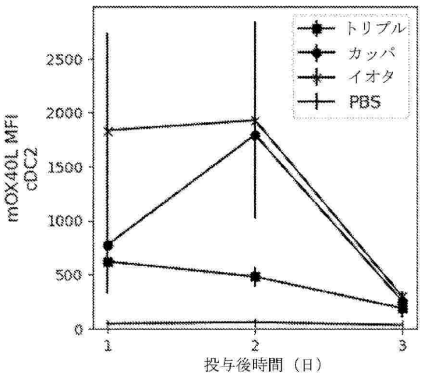
【図２Ａ】



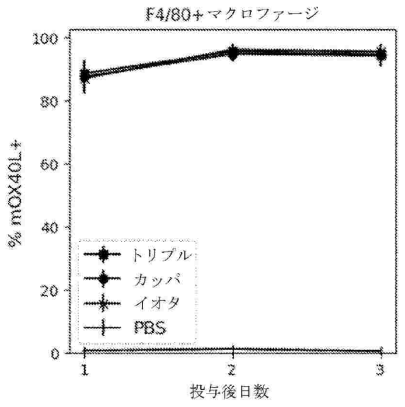


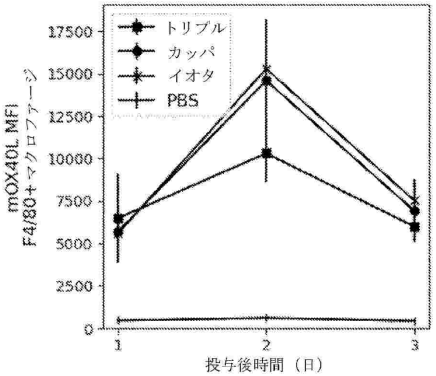
【図２Ｂ】



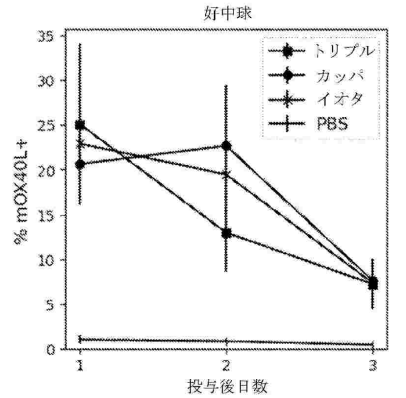


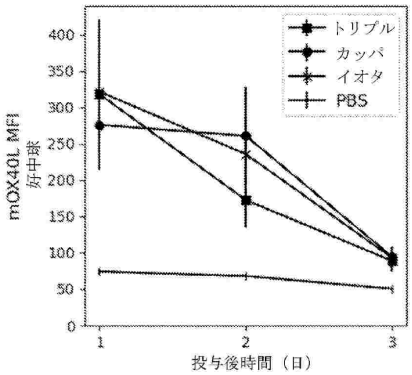
【図２Ｃ】



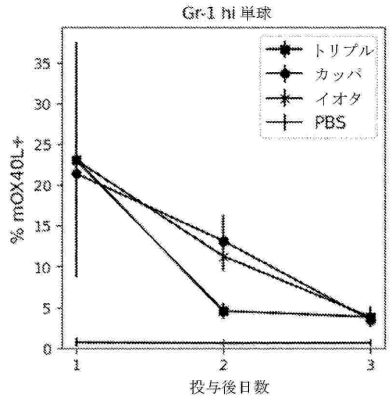


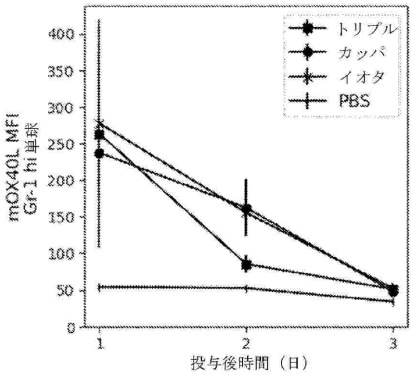
【図２Ｄ】



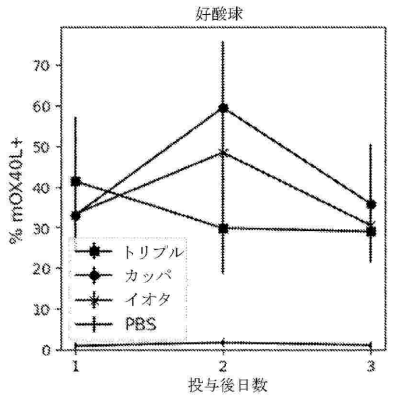


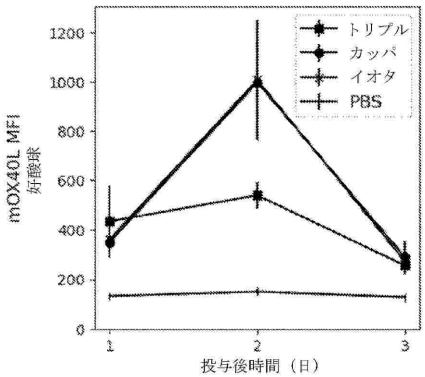
【図２Ｅ】



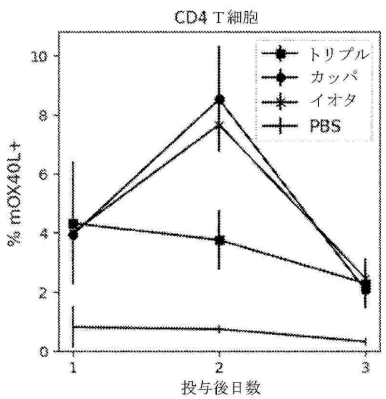


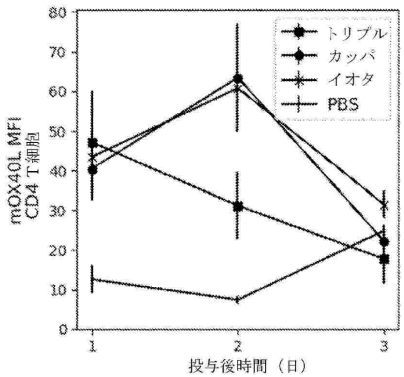
【図２Ｆ】



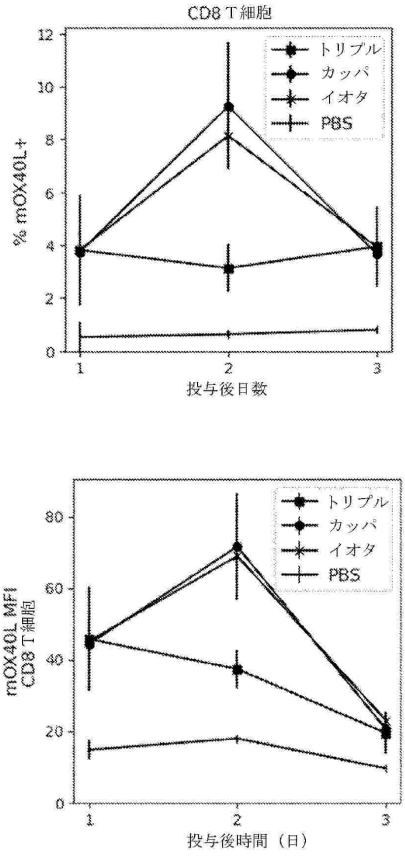


【図２Ｇ】

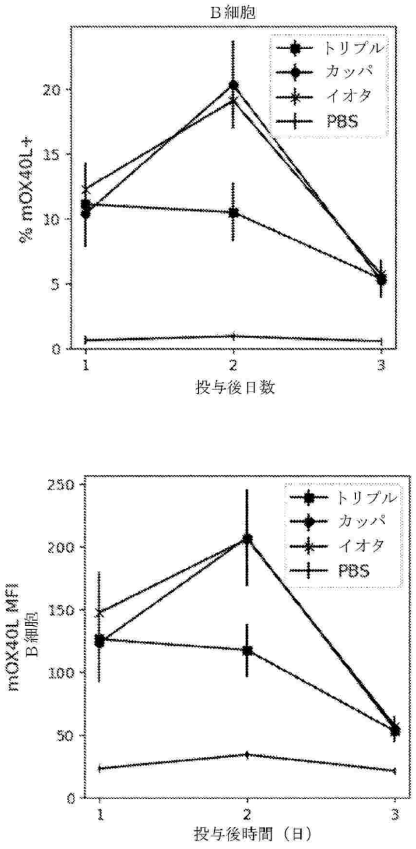




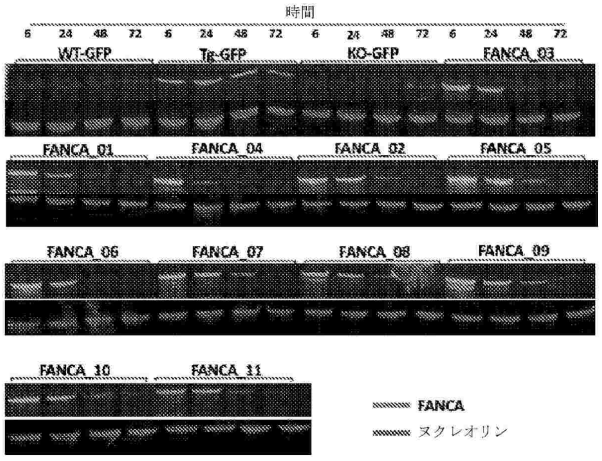
【図２Ｈ】



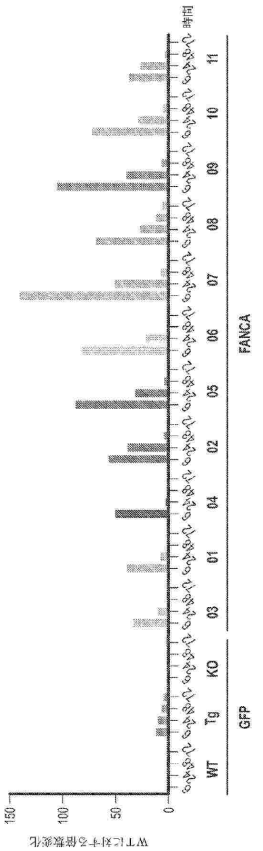
【図２Ｉ】



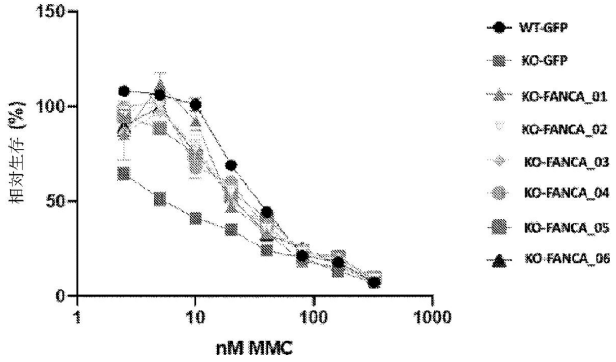
【図３Ａ】



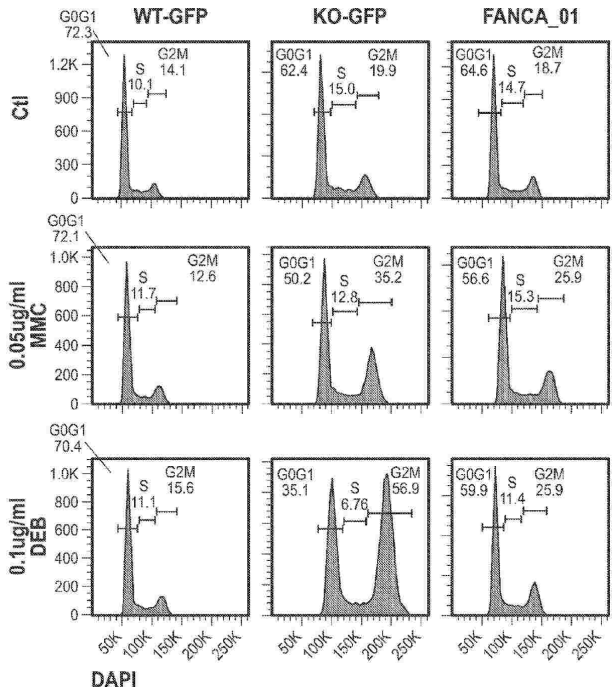
【図３Ｂ】



【図４】

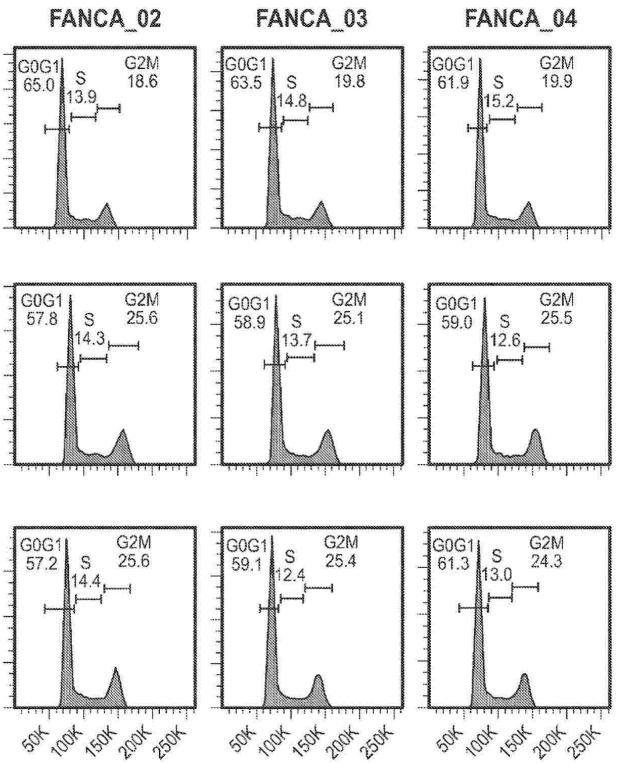


【図５－１】

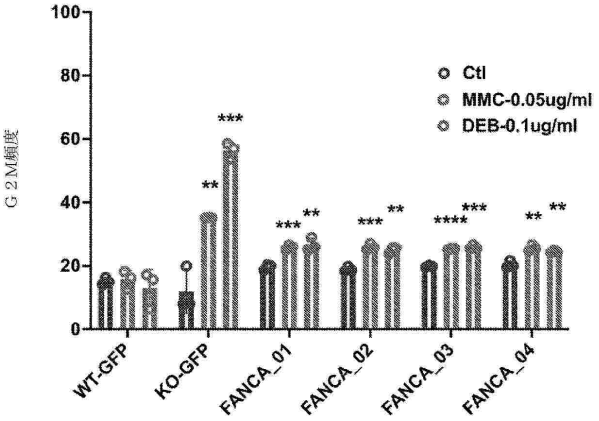


【図５－２】

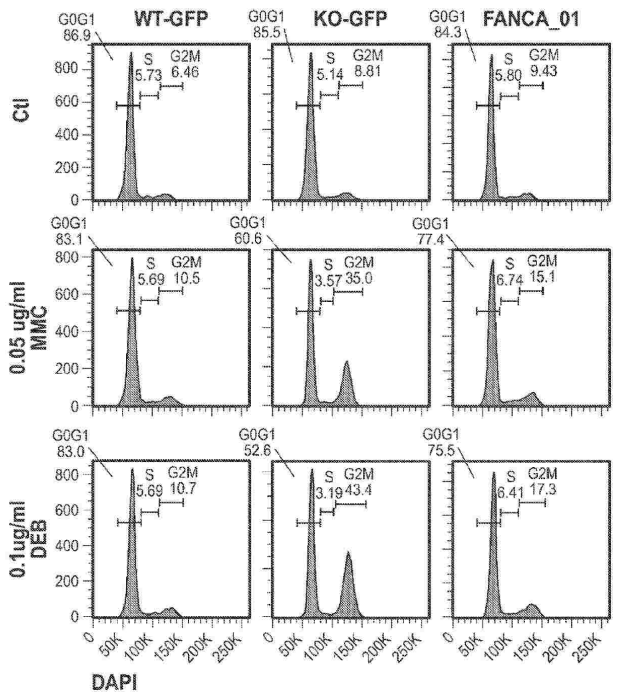
（続き）



【図５Ｂ】

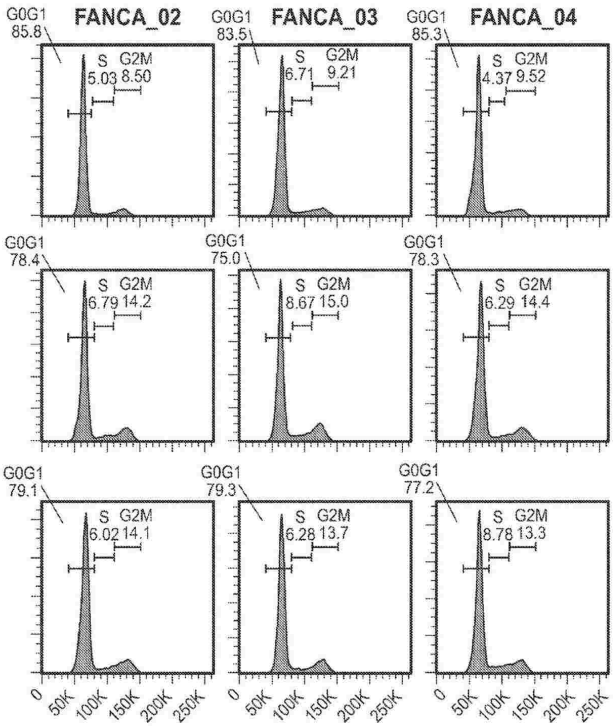


【図６－１】

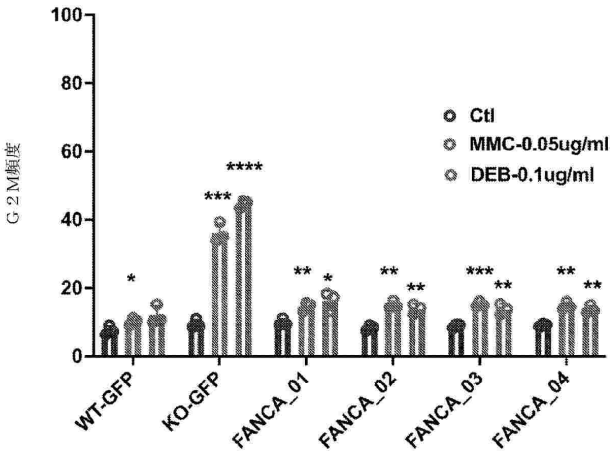


【図６－２】

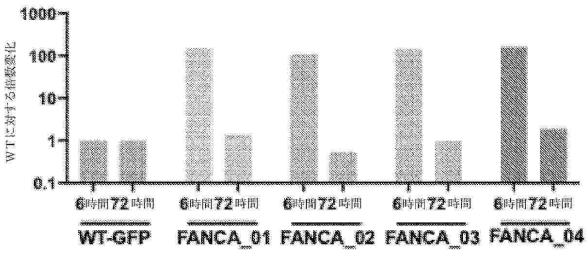
（続き）



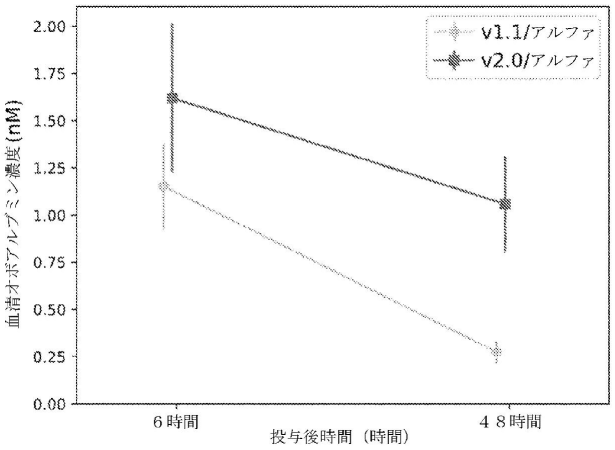
【図６Ｂ】



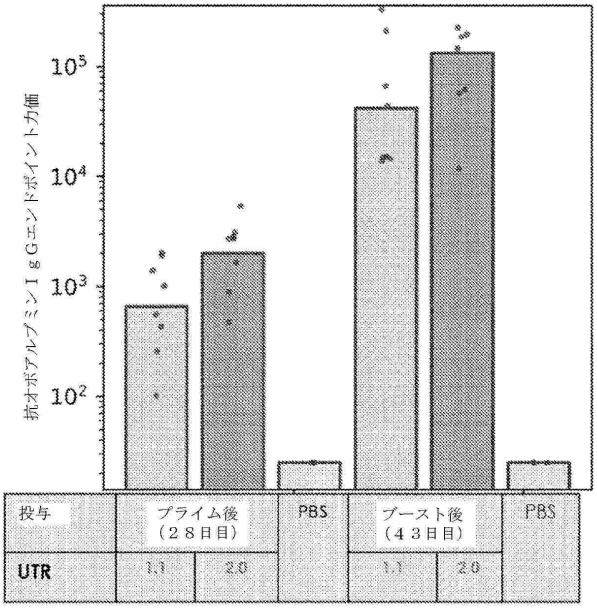
【図６Ｃ】



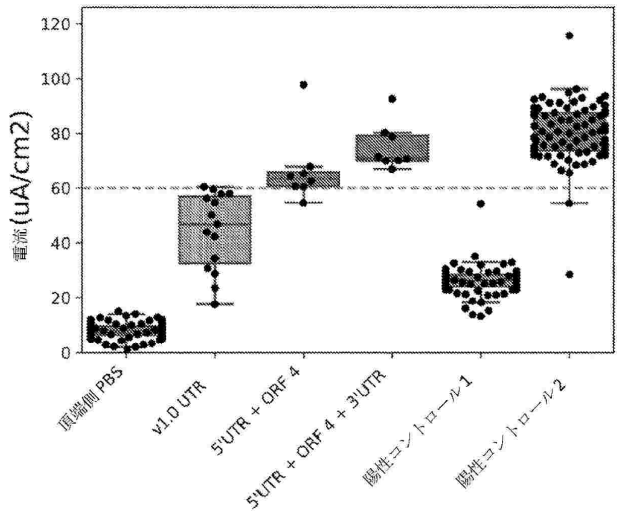
【図７】


v1.1/アルファ
v2.0/アルファ
血清オボアルブミン濃度(nM)
2.00
1.75
1.50
1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
６時間
４８時間
投与後時間（時間）

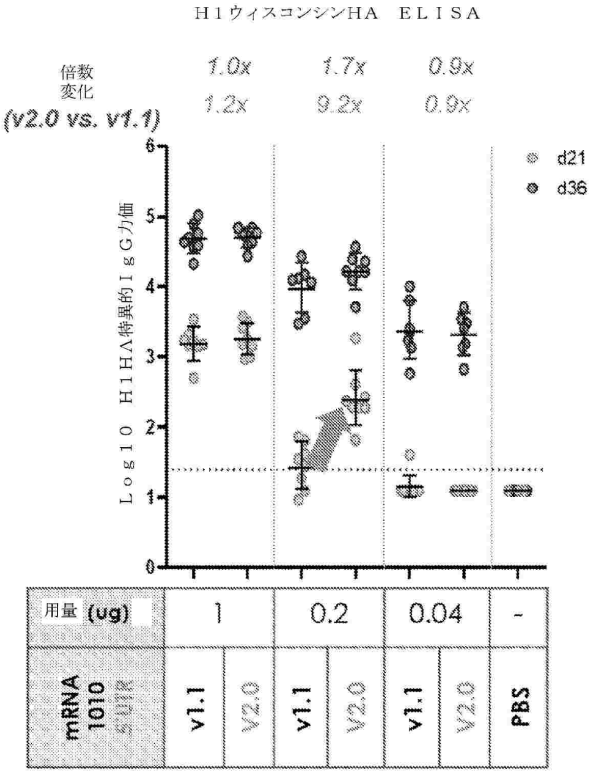
【図８】


抗オボアルブミンＩｇＧエンドポイント力価
10^5
10^4
10^3
10^2
投与
プライム後（２８日目）
PBS
ブースト後（４３日目）
PBS
UTR
1.1
2.0
1.1
2.0

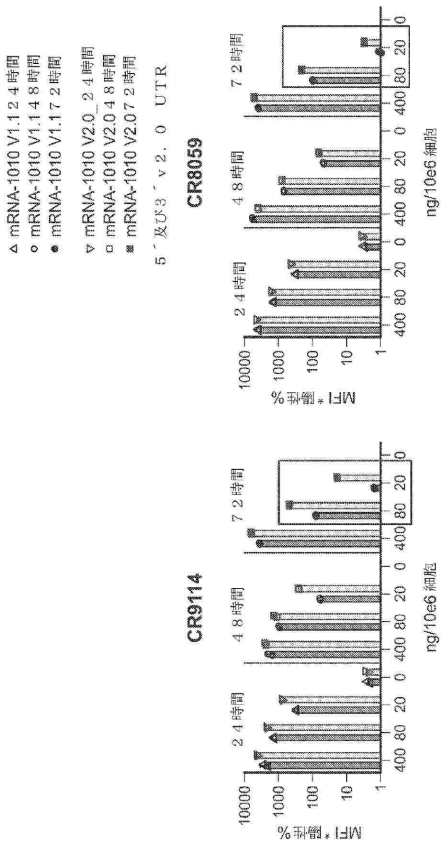
【図９】


電流(uA/cm2)
120
100
80
60
40
20
0
頂端側 PBS
v1.0 UTR
5'UTR + ORF 4
5'UTR + ORF 4 + 3'UTR
陽性コントロール 1
陽性コントロール 2

【図１０】

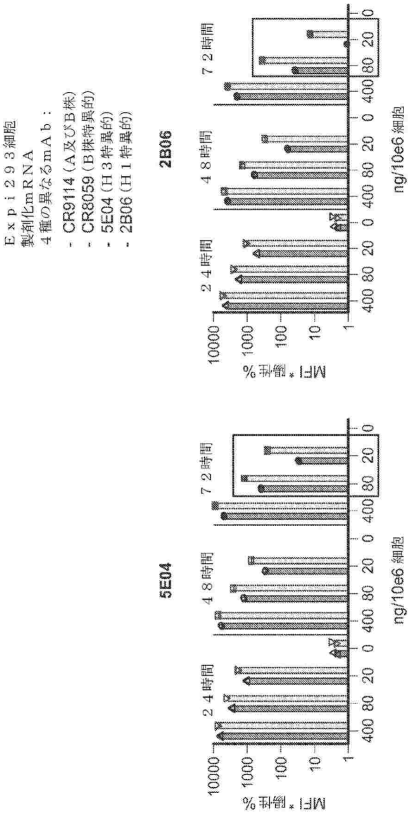

H1ウィスコンシンHA ELISA
倍数変化
(v2.0 vs. v1.1)
1.0x
1.7x
0.9x
1.2x
9.2x
0.9x
Log10 H1HA特異的IgG力価
d21
d36
用量 (ug)
1
0.2
0.04
-
mRNA 1010 5'UTR
v1.1
V2.0
v1.1
V2.0
v1.1
V2.0
PBS

【図１１－１】



【図１１－２】

（続き）



【配列表】

<u>20255107770000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/016192

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/88 A61K31/7088
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)
C12N A61K

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/262909 A2 (MODERNATX INC [US]) 30 December 2021 (2021-12-30)	1-3, 20-38, 49-77
Y	SEQ ID No 122 is 100% identical to SEQ ID	63-77
A	139 in a 110 nucleotides overlap (10-119:10-119) page 179, line 19 - page 188, line 18; claims 31-33; figure 1; table 4 page 17, line 2 - page 26, line 28 page 224, line 27 - page 264, line 5 claims 107-115 page 151, line 12 - page 158, line 5; table 3 page 192, line 26 - page 206, line 25 page 207, line 3 - page 210, line 7 page 219, line 11 - page 224, line 25 Present SEQ ID No 180 identical to SEQ ID No 105	39,40

-/--

[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
18 July 2023	26/09/2023

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	Mauhin, Viviane

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/016192

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2021/247507 A1 (MODERNATX INC [US]) 9 December 2021 (2021-12-09) Present sequence of SEQ ID No 50 is identical to SEQ ID 50 -----	1-3, 20-40, 49-77
A	WO 2021/248008 A1 (INNOVATION PHARMACEUTICALS INC [US]) 9 December 2021 (2021-12-09) Present sequence of SEQ ID No 56 corresponds to nucleotides 3-58 of the mRNA encoding SARS-CoV2 prefusion protein -----	1-3, 20-40, 49-77
Y	WO 2021/178898 A1 (FLAGSHIP PIONEERING INNOVATIONS VI LLC [US]) 10 September 2021 (2021-09-10) LIPIDV004; example 9; table 1A -----	63-77
A	WO 2017/191274 A2 (CUREVAC AG [DE]) 9 November 2017 (2017-11-09) page 49, lines 2-25 page 25, lines 20-21 page 58, line 9 - page 64, line 2 page 64, line 25 - page 65, line 14 page 65, line 16 - page 73, line 16 page 93, lines 14-27 claim 3 example 2 FANCA protein of SEQ ID No 3882 is 100% identical to present protein of SEQ ID No1 FANCA mRNA of SEQ ID No 16939 is over 80% identical to any of SEQ ID No 2-5 and 14-17 -----	1-3, 20-40, 49-77

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/016192

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed.

   b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/016192

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

2, 3, 40(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2005)

International Application No. PCT/US2023/016192

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 2, 3, 40(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 139 or a deletional variant thereof

---

2. claims: 4, 5, 41(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 140 or a deletional variant thereof

---

3. claims: 6, 7, 42(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 141 or a deletional variant thereof

---

4. claims: 8, 9, 43(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 142 or a deletional variant thereof

---

5. claims: 10, 11, 44(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 143 or a deletional variant thereof

---

6. claims: 12, 13, 45(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 144 or a deletional variant thereof

---

7. claims: 14, 15, 46(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 145 or a deletional variant thereof

---

8. claims: 16, 17, 47(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising

International Application No. PCT/US2023/016192

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 146 or a deletional variant thereof

---

9. claims: 18, 19, 48(completely); 1, 20-39, 49-77(partially)

Subject-matter relating to a mRNA having a 3'UTR comprising the nucleic acid having at least 98% identity with the sequence of SEQ ID 147 or a deletional variant thereof

---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2023/016192

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021262909 A2	30-12-2021	AU 2021297248 A1	02-02-2023
		BR 112022025991 A2	14-03-2023
		CA 3187261 A1	30-12-2021
		CN 116194151 A	30-05-2023
		EP 4168556 A2	26-04-2023
		IL 299196 A	01-02-2023
		JP 2023531511 A	24-07-2023
		KR 20230042005 A	27-03-2023
		US 2023242908 A1	03-08-2023
		WO 2021262909 A2	30-12-2021
WO 2021247507 A1	09-12-2021	AU 2021285812 A1	05-01-2023
		CA 3184474 A1	09-12-2021
		EP 4158005 A1	05-04-2023
		JP 2023527875 A	30-06-2023
		US 2023235298 A1	27-07-2023
		WO 2021247507 A1	09-12-2021
WO 2021248008 A1	09-12-2021	US 2021379058 A1	09-12-2021
		WO 2021248008 A1	09-12-2021
WO 2021178898 A1	10-09-2021	AU 2021232069 A1	03-11-2022
		BR 112022017735 A2	29-11-2022
		CA 3174553 A1	10-09-2021
		CN 115485372 A	16-12-2022
		EP 4114928 A1	11-01-2023
		JP 2023516694 A	20-04-2023
		US 2023235358 A1	27-07-2023
		WO 2021178898 A1	10-09-2021
WO 2017191274 A2	09-11-2017	EP 3452101 A2	13-03-2019
		US 2019241633 A1	08-08-2019
		US 2022025369 A1	27-01-2022
		WO 2017191274 A2	09-11-2017

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	*37/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/06	
Ａ６１Ｐ	*31/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/00	
Ａ６１Ｋ	*48/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	
Ａ６１Ｋ	*31/7105*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7105	
Ａ６１Ｋ	*47/24*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/24	
Ａ６１Ｋ	*9/127*	*(2025.01)*	Ａ６１Ｋ	9/127	
Ａ６１Ｋ	*9/51*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/51	
Ａ６１Ｋ	*9/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/14	
Ａ６１Ｋ	*47/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/28	
Ａ６１Ｋ	*47/18*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/18	
Ａ６１Ｋ	*47/34*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/34	

(32)優先日　令和4年10月27日(2022.10.27)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(81)指定国・地域　AP(BW,CV,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,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,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

ッツ州ケンブリッジ、テクノロジー・スクエア２００

(72)発明者　ジマー，マイケル アルバート

アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、テクノロジー・スクエア２００

Ｆターム（参考）　4B065　AA90X AB01 BA05 CA44

4C076　AA19 AA29 AA65 AA95 CC29 DD52 DD63 DD70 EE23

4C084　AA13 MA24 MA38 MA41 NA14 ZB081 ZB082 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262 ZB311 ZB312

4C086　AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA03 MA04 MA05 MA24 MA38 MA41 NA14 ZB08 ZB21 ZB26 ZB31