(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2020-514321
(P2020-514321A)
(43)公表日　令和2年5月21日(2020.5.21)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 48/00	***(2006.01)***	A61K	48/00		4C076
A61P 43/00	***(2006.01)***	A61P	43/00	121	4C084
A61P 37/04	***(2006.01)***	A61P	37/04	ZNA	4C085
A61P 35/00	***(2006.01)***	A61P	35/00		4H045
A61P 37/02	***(2006.01)***	A61P	37/02		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 361 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2019-541287 (P2019-541287)
(86)(22)出願日　平成30年2月1日 (2018.2.1)
(85)翻訳文提出日　令和1年9月10日 (2019.9.10)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/016510
(87)国際公開番号　WO2018/144775
(87)国際公開日　平成30年8月9日 (2018.8.9)
(31)優先権主張番号　62/490,523
(32)優先日　平成29年4月26日 (2017.4.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/453,465
(32)優先日　平成29年2月1日 (2017.2.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　516317171
モデルナティーエックス，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１３９，　ケンブリッジ，　テクノロジースクエア　２００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田　貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川　大輔

最終頁に続く

(54)【発明の名称】活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする免疫調節治療ｍＲＮＡ組成物

(57)【要約】
本開示は、活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ、及びこの活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡ、例えば免疫増強剤をコードするｍＲＮＡの免疫調節処置組成物を特徴とする。本開示はまた、例えば抗がん免疫応答を刺激するためにそれを使用する方法も特徴とする。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
免疫調節治療組成物であって、以下：
活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡ、及び必要に応じて
対象における前記活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡであって、
ここで、前記免疫応答は、以下：
（ｉ）Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激すること、
（ｉｉ）ＮＦκＢ経路シグナル伝達を刺激すること、
（ｉｉｉ）炎症反応を刺激すること、
（ｉｖ）サイトカイン産生を刺激すること、
（ｖ）樹状細胞の発達、活性または動員を刺激すること；及び
（ｖｉ）（ｉ）～（ｖ）のいずれかの組み合わせ
によって特徴付けられる細胞性免疫応答または体液性免疫応答を含む、
１つ以上のｍＲＮＡ；ならびに
薬学的に許容される担体、
を含む、免疫調節治療組成物。
【請求項２】
対象において前記活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡを含む、請求項１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３】
前記活性化がん遺伝子変異がＫＲＡＳ変異である、請求項１または２のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４】
前記ＫＲＡＳ変異がＧ１２変異である、請求項３に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５】
前記Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異が、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、及びＧ１２Ｒ　ＫＲＡＳ変異から選択される、請求項４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６】
前記Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異が、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２ＣのＫＲＡＳ変異から選択される、請求項４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項７】
前記ＫＲＡＳ変異がＧ１３変異である、請求項３～６のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項８】
前記Ｇ１３　ＫＲＡＳ変異がＧ１３Ｄ　ＫＲＡＳ変異である、請求項７に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項９】
前記活性化がん遺伝子変異がＨ－ＲＡＳまたはＮ－ＲＡＳ変異である、請求項１または２のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１０】
前記ｍＲＮＡが、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する、請求項１～９のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１１】
前記コンカテマーが、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、請求項１０に記載の免疫調節治療組成物。

【請求項１２】
前記コンカテマーが４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、請求項１０に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１３】
前記コンカテマーが、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、請求項１２に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１４】
前記組成物が、１、２、３、または４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含む、請求項１～９のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１５】
前記組成物が、４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個のｍＲＮＡを含む、請求項１４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１６】
前記４個のｍＲＮＡがＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄをコードする、請求項１６に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１７】
前記活性化がん遺伝子変異ペプチドが、１０～３０、１５～２５、または２０～２５アミノ酸長を含む、請求項１～１６のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１８】
前記活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、請求項１７記載の免疫調節治療組成物。
【請求項１９】
前記活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、請求項１８に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２０】
免疫調節治療組成物であって：
ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ含む１つ以上の第１のｍＲＮＡ、及び必要に応じて構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ含む１つ以上の第２のｍＲＮＡ、ならびに
薬学的に許容される担体を含み、必要に応じて前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択される質量比である、免疫原性治療組成物。
【請求項２１】
構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡを含む、請求項２０に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２２】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ、Ｖ１５５Ｍ、Ｒ２８４Ｍ、Ｒ２８４Ｋ、Ｒ２８４Ｔ、Ｅ３１５Ｑ、Ｒ３７５Ａ、及びそれらの組み合わせからなる群より選択される１つ以上の変異を含む、請求項２１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２３】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、請求項２２に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２４】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１４７Ｌ／Ｎ１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍを含む、請求項２２に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２５】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、変異Ｒ２８４Ｍ／Ｖ１４７Ｌ／Ｎ

１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍを含む、請求項２２に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２６】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１～１０及び１６４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む、請求項２１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２７】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、請求項２１～２６のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２８】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、請求項２１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項２９】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項２１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３０】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｒ、及びＧ１３Ｄから選択される、請求項２０～２９のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３１】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄから選択される、請求項３０に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３２】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、１０～３０、１５～２５、または２０～２５アミノ酸長、好ましくは２５アミノ酸長を含む、請求項２０～３１のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３３】
前記活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、請求項３２に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３４】
前記組成物が、１、２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含む、請求項２０～３３のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３５】
前記組成物が、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個のｍＲＮＡを含む、請求項３４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３６】
前記４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、請求項３５に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３７】
第１、第２、第３、第４、及び第５のｍＲＮＡを含む、請求項３６に記載の免疫調節治療組成物であって、ここで
前記第１のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；
前記第２のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；
前記第３のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；
前記第４のｍＲＮＡは、Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；そして
前記第５のｍＲＮＡは、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含み、必要に応じて
ここで、前記第１、第２、第３、第４、及び第５のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、免疫調節治療組成物。
【請求項３８】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３６～４１、７２、及び１２５に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項３７に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項３９】
ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む、請求項３８に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４０】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２６～１２８及び１３２に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項３９に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４１】
前記ｍＲＮＡが、２つ以上のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項２０～３３のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４２】
前記コンカテマーが、３、４、５、６、７、８、９または１０個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、請求項４１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４３】
前記コンカテマーが４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、請求項４２に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４４】
前記コンカテマーが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、請求項４３に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４５】
前記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、請求項４４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４６】
前記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む、請求項４４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４７】
前記コンカテマーが、配列番号４２～４７、７３及び１３７に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項４４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４８】
前記コンカテマーをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２９～１３１、１３３、及び１３８に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項４７に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項４９】
前記第１のｍＲＮＡが、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含み、前記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含み、前記第２のｍＲＮＡは、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含み、ここで前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異Ｖ１５５Ｍを含み、ここで前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項２０に記載の免疫調節治療組成物。

【請求項５０】
前記第１のｍＲＮＡ及び前記第２のｍＲＮＡが５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項４９に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５１】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、請求項４９～５０のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５２】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項５１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５３】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、請求項４９～５２のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５４】
前記コンカテマーが、配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む、請求項４９～５３のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５５】
４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドの前記コンカテマーをコードする前記ｍＲＮＡが、配列番号１６９に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項５４に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５６】
各ｍＲＮＡが少なくとも１つの化学修飾を含む、請求項１～５５のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５７】
前記化学修飾が、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、２－チオ－１－メチル－１－１－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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より選択される、請求項５６に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５８】
前記化学修飾が、シュードウリジンまたはシュードウリジン類似体からなる群より選択される、請求項５６に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項５９】
前記化学修飾がＮ１－メチルシュードウリジンである、請求項５６記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６０】
各ｍＲＮＡが、同じまたは異なる脂質ナノ粒子中に処方される、請求項１～５９のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６１】
ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが、同一または異なる脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが、同一または異なる脂質ナノ粒子に処方される、請求項２０～５９のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６２】
ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが同じ脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが異なる脂質ナノ粒子

に処方される、請求項６１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６３】
ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが、同じ脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡと同一の脂質ナノ粒子に処方される、請求項６１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６４】
ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが、異なる脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡと同じ脂質ナノ粒子に処方される、請求項６１に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６５】
前記脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、請求項６０～６４のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６６】
前記イオン性アミノ脂質が、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカンジオエート（Ｌ３１９）からなる群より選択される、請求項６５に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６７】
前記イオン性アミノ脂質が、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）及び（ＩＩｅ）のいずれかの化合物を含む、請求項６５に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６８】
前記イオン性アミノ脂質が、式（Ｉ）の化合物を含む、請求項６７に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項６９】
式（Ｉ）の前記化合物が化合物２５である、請求項６８に記載の免疫調節治療組成物。
【請求項７０】
脂質ナノ粒子であって、以下：
（ｉ）以下：
（ａ）Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｂ）Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｃ）Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｄ）Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｅ）２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡであって、ここで、前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドはＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含むｍＲＮＡ；及び
（ｆ）（ａ）～（ｄ）に記載のｍＲＮＡの任意の組み合わせ、
からなる群より選択される１つ以上の第１のｍＲＮＡ；ならびに
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ含む１つ以上の第２のｍＲＮＡ、

を含み、必要に応じて、
ここで、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、脂質ナノ粒子。
【請求項７１】
前記第１のｍＲＮＡが、Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項７０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７２】
前記第１のｍＲＮＡが、Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項７０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７３】
前記第１のｍＲＮＡが、Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項７０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７４】
前記第１のｍＲＮＡが、Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項７０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７５】
前記第１のｍＲＮＡが、（ａ）～（ｄ）に示されるｍＲＮＡの組み合わせを含む、請求項７０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７６】
前記第１のｍＲＮＡが、２個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項７０記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７７】
前記第１のｍＲＮＡが、３個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項７０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７８】
前記第１のｍＲＮＡが、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項７０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項７９】
各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、請求項７０～７８のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８０】
各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、請求項７９に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８１】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９、４０、７２、及び４１に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項７０～７５のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８２】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする前記ｍＲＮＡが、配列番号１２６、１２７、１２８、及び１３２に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項７０～７５のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８３】
前記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、請求項７８に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８４】
前記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む、請求項７８に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８５】
前記コンカテマーが、配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む、請求項７８に記

載の脂質ナノ粒子。
【請求項８６】
前記４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードする前記ｍＲＮＡが、配列番号１６９に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項７８に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８７】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、請求項７０～８６のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８８】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、請求項８７に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項８９】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項８７に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９０】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、請求項８７～８９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９１】
前記ｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位が、配列番号１７５に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項９０に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９２】
前記第１及び／または第２のｍＲＮＡが、配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む、請求項７０～９１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９３】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれポリＡテールを含む、請求項９２に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９４】
前記ポリＡテールが約１００ヌクレオチドを含む、請求項８３に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９５】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれ５’Ｃａｐ　１構造を含む、請求項９２～９４のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９６】
請求項７０に記載の脂質ナノ粒子であって、以下：
（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ；及び
（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、
を含む、脂質ナノ粒子。
【請求項９７】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれ少なくとも１つの化学修飾を含む、請求項７０～９６のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項９８】
前記化学修飾が、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より選択される、請求項９７に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項９９】
前記化学修飾が、シュードウリジンまたはシュードウリジン類似体からなる群より選択される、請求項９７に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１００】
前記化学修飾がＮ１－メチルシュードウリジンである、請求項９７に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０１】
前記第１及び／または第２のｍＲＮＡが、Ｎ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている、請求項９７に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０２】
前記脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、請求項７０～１０１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０３】
前記イオン性アミノ脂質が、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカンジエート（Ｌ３１９）からなる群より選択される、請求項１０２に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０４】
前記イオン性アミノ脂質が、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、及び（ＩＩｅ）のいずれかの化合物を含む、請求項１０２に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０５】
前記イオン性アミノ脂質が式（Ｉ）の化合物である、請求項１０４に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０６】
前記式（Ｉ）の化合物が化合物２５である、請求項１０５に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０７】
前記脂質ナノ粒子が、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール；約３８．５％のコレステロール；及び約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む、請求項７０～１０１のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０８】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、１：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１０９】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、２：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１０】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、３：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１１】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが４：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１２】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１３】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、６：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比

で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１４】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、７：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１５】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、８：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１６】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、９：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１７】
前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが１０：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、請求項７０～１０７のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１１８】
脂質ナノ粒子であって、以下：
（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ；及び
（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、を含んでおり、
ここで、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されており、かつ
ここで、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが５：１の質量比で存在する、脂質ナノ粒子。
【請求項１１９】
前記脂質ナノ粒子が、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール；及び約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む、請求項１１８に記載の脂質ナノ粒子。
【請求項１２０】
請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子と薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物。
【請求項１２１】
前記薬学的に許容される担体が緩衝液を含む、請求項１２０に記載の薬学的組成物。
【請求項１２２】
筋肉内送達用に処方されている、請求項１２０～１２１のいずれか１項に記載の薬学的組成物。
【請求項１２３】
個体におけるがんを処置または進行を遅延するのに使用するための、請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節治療組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の薬学的組成物であって、ここで前記処置は前記脂質ナノ粒子または組成物を第２の組成物と組み合わせて投与することを包含し、ここで前記第２の組成物がチェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む、免疫調節治療組成物、脂質ナノ粒子、任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物。
【請求項１２４】
個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための医薬の製造における、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子及び任意の薬学的に許容される担体の使用であって、ここで前記医薬は、脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体を含み、かつここで、前記処置は、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物及び任意の薬学的に許容される担体と組み合わせて前記医薬を投与することを包含する使用。
【請求項１２５】
請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のい

ずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の薬学的組成物を含む容器、ならびに個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための免疫調節処置組成物、脂質ナノ粒子または薬学的組成物の投与のための説明書を含む添付文書、を備えるキット。

【請求項１２６】

前記添付文書が、個体におけるがんの処置または進行の遅延のための、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、脂質ナノ粒子または薬学的組成物の投与の説明書をさらに備える、請求項１２５に記載のキット。

【請求項１２７】

請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の薬学的組成物を含む医薬、ならびに単独でまたは個体におけるがんの処置もしくは進行の遅延のための、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、医薬の投与のための説明書を含む添付文書を備えるキット。

【請求項１２８】

前記キットが、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための前記第２の医薬の投与の前、それと同時、またはその後の前記第１の医薬の投与のための説明書を含む添付文書をさらに備える、請求項１２７に記載のキット。

【請求項１２９】

前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドがＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する、請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の組成物、請求項１２３～１２４に記載の使用、または請求項１２５～１２８のいずれか１項に記載のキット。

【請求項１３０】

前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが抗体である、請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の組成物、請求項１２３～１２４に記載の使用、または請求項１２５～１２８のいずれか１項に記載のキット。

【請求項１３１】

前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合するその抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である、請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の組成物、請求項１２３～１２４に記載の使用、または請求項１２５～１２８のいずれか１項に記載のキット。

【請求項１３２】

前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である、請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の組成物、請求項１２３～１２４に記載の使用、または請求項１２５～１２８のいずれか１項に記載のキット。

【請求項１３３】

前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、テレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である、請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の組成物、請求項１２３～１２４に記載の使用、または請求

項１２５～１２８のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１３４】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、ニボルマブまたはペムブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である、請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の組成物、請求項１２３～１２４に記載の使用、または請求項１２５～１２８のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１３５】
その必要な対象において、腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍増殖を阻害するか、または抗腫瘍応答を誘導する方法であって、前記対象に対して請求項１～６９のいずれか１項に記載の免疫調節処置組成物、請求項７０～１１９のいずれか１項に記載の脂質ナノ粒子、または請求項１２０～１２２のいずれか１項に記載の組成物を投与することを包含する、方法。
【請求項１３６】
前記免疫調節処置組成物、脂質ナノ粒子または組成物が、がん治療剤と組み合わせて投与される、請求項１３５に記載の方法。
【請求項１３７】
前記免疫調節処置組成物、脂質ナノ粒子または組成物が、阻害性チェックポイントポリペプチドまたはそれをコードするポリヌクレオチドと組み合わせて投与される、請求項１３６に記載の方法。
【請求項１３８】
前記阻害性チェックポイントポリペプチドが、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ及びＬＡＧ３からなる群より選択される分子に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片である、請求項１３７に記載の方法。
【請求項１３９】
前記がんが、膵臓癌、腹膜癌、大腸癌、小腸癌、胆管癌、肺癌、子宮内膜癌、卵巣癌、生殖管癌、胃腸管癌、子宮頸癌、胃癌、尿路癌、結腸癌、直腸癌、ならびに造血及びリンパ組織のがんから選択される、請求項１３５～１３８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４０】
それを必要とする対象において、腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍増殖を阻害するか、または抗腫瘍反応を誘導する方法であって、
前記対象に免疫調節処置組成物を投与することを包含し、前記組成物は：ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ含む１つ以上の第１のｍＲＮＡ、及び必要に応じて、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ含む１つ以上の第２のｍＲＮＡであって、必要に応じて、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１：５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択される質量比である、第１のｍＲＮＡ及び前記第２のｍＲＮＡ；ならびに
薬学的に許容される担体を含み、
それによって、対象の腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍増殖を阻害するか、または抗腫瘍反応を誘導する、方法。
【請求項１４１】
前記組成物が、１、２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含む、請求項１４０記載の方法。
【請求項１４２】
前記組成物が、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個のｍＲＮＡを含む、請求項１４１に記載の方法。
【請求項１４３】
前記４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、

及びＧ１３Ｄを含む、請求項１４２記載の方法。
【請求項１４４】
第１、第２、第３、第４、及び第５のｍＲＮＡを含む、請求項１４０に記載の方法であって、ここで
前記第１のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；
前記第２のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；
前記第３のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み：
前記第４のｍＲＮＡは、Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；そして
前記第５のｍＲＮＡは、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含み、
ここで、前記第１、第２、第３、第４、及び第５のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、方法。
【請求項１４５】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む、請求項１４４に記載の方法。
【請求項１４６】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする前記ｍＲＮＡが、配列番号１２６～１２８及び１３２に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項１４４に記載の方法。
【請求項１４７】
前記ｍＲＮＡが、２つ以上のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項１４０に記載の方法。
【請求項１４８】
前記コンカテマーが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、請求項１４７に記載の方法。
【請求項１４９】
前記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、請求項１４８に記載の方法。
【請求項１５０】
前記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む、請求項１４８に記載の方法。
【請求項１５１】
前記コンカテマーが、配列番号４２～４７、７３、及び１３７に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１４８に記載の方法。
【請求項１５２】
前記コンカテマーをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２９～１３１、１３３及び１３８に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項１４８に記載の方法。
【請求項１５３】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、請求項１４０～１５２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５４】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、請求項１５３に記載の方法。
【請求項１５５】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１

７０に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項１５４に記載の方法。
【請求項１５６】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、請求項１５３～１５５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５７】
それを必要とする対象において、腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍の増殖を阻害するか、または抗腫瘍反応を誘導する方法であって、前記対象に対して脂質ナノ粒子を投与することを包含し、前記脂質ナノ粒子は：
（ｉ）以下からなる群より選択される１つ以上の第１のｍＲＮＡ：
（ｇ）Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｈ）Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｉ）Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｊ）Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；
（ｋ）２、３または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡであって、前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、前記ｍＲＮＡ；ならびに
（ｌ）（ａ）～（ｄ）に示されるｍＲＮＡの任意の組み合わせ；ならびに
（ｉｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ含む１つ以上の第２のｍＲＮＡを含み、必要に応じて
ここで、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在し、
それによって、前記対象において腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍増殖を阻害するか、または抗腫瘍反応を誘導する、方法。
【請求項１５８】
請求項１５７に記載の方法であって、前記脂質ナノ粒子が、
（ｉ）（ａ）～（ｄ）に記載のｍＲＮＡの組み合わせ；及び
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第２のｍＲＮＡであって、前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、第２のｍＲＮＡを含み、
ここで、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、方法。
【請求項１５９】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む、請求項１５８に記載の方法。
【請求項１６０】
前記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２６～１２８及び１３２に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項１５９に記載の方法。
【請求項１６１】
請求項１５７に記載の方法であって、前記脂質ナノ粒子が、
（ｉ）第１のｍＲＮＡであって、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含み、ここで、前記コンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、第１のｍ

ＲＮＡ、ならびに、
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第２のｍＲＮＡであって、前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、第２のｍＲＮＡ、を含み、
ここで、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、方法。
【請求項１６２】
前記コンカテマーが、配列番号４２～４７、７３、及び１３７に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１６１に記載の方法。
【請求項１６３】
前記コンカテマーをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２９～１３１、１３３、及び１３８に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項１６１に記載の方法。
【請求項１６４】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、請求項１５７～１６３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６５】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項１６４に記載の方法。
【請求項１６６】
前記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、請求項１６４～１６５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６７】
請求項１５７記載の方法であって、前記脂質ナノ粒子が、
（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ；及び
（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、
を含み、
ここで、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されており、前記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは５：１の質量比で存在する、方法。
【請求項１６８】
前記脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、請求項１５７～１６７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６９】
前記脂質ナノ粒子が、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール；約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む、請求項１６８に記載の方法。
【請求項１７０】
前記脂質ナノ粒子または組成物が筋肉内注射により投与される、請求項１６９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７１】
前記抗腫瘍応答がＴ細胞応答を含む、請求項１４０～１７０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７２】
前記Ｔ細胞応答がＣＤ８＋Ｔ細胞を含む、請求項１７１に記載の方法。
【請求項１７３】
チェックポイント阻害剤ポリペプチドまたはそれをコードするポリヌクレオチド、及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の組成物を投与することをさらに包含する、請

求項１４０～１７２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７４】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドがＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する、請求項１７３に記載の方法。
【請求項１７５】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが抗体である、請求項１７４に記載の方法。
【請求項１７６】
前記チェックポイントインヒビターポリペプチドが、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である、請求項１７５に記載の方法。
【請求項１７７】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である、請求項１７６に記載の方法。
【請求項１７８】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドがトレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である、請求項１７６に記載の方法。
【請求項１７９】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である、請求項１７６に記載の方法。
【請求項１８０】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が静脈内注射により投与される、請求項１７３～１７９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８１】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が２～３週間に１回投与される、請求項１８０に記載の方法。
【請求項１８２】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が２週間に１回または３週間に１回投与される、請求項１８０に記載の方法。
【請求項１８３】
前記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が、前記脂質ナノ粒子または組成物の投与の前に、それと同時に、またはその後に投与される、請求項１７３～１７９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８４】
前記対象が、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃから選択される組織学的に確認されたＫＲＡＳ変異を有する、請求項１４０～１８３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８５】
前記対象が、ＨＬＡ－Ａ１１及び／またはＨＬＡ－Ｃ＊０８から選択される組織学的に確認されたＨＬＡサブタイプを有する、請求項１４０～１８４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８６】
前記腫瘍が転移性結腸直腸癌である、請求項１４０～１８５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８７】
前記腫瘍が、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である、請求項１４０～１８５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８８】
前記腫瘍が膵臓癌である、請求項１４０～１８５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８９】
前記対象に、前記脂質ナノ粒子または組成物の投与の前に、それと同時に、またはその

後に化学療法剤を投与する、請求項１４０～１８８のいずれか１項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、２０１７年２月１日に出願された米国仮出願第６２／４５３，４６５号；２０１７年３月３日に出願された米国仮出願第６２／４６７，０６３号；２０１７年４月２６日に出願された米国仮出願第６２／４９０，５２３号；及び２０１７年８月４日に出願された米国仮出願第６２／５４１，５７１号の利益を主張する。上記に参照された出願の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００２】
開示の背景
免疫応答を調節する能力は、がん及び病原性感染症の処置を含む様々な臨床状況において、ならびに防御免疫を提供するためにワクチン応答を増強することにおいて有益である。がん及び病原性感染症などの疾患に関与する、生物学的経路及び／または分子の機能を調節するための多数の治療ツールが存在する。これらのツールとしては、例えば、低分子阻害剤、サイトカイン及び治療用抗体が挙げられる。これらのツールのいくつかは、免疫系内の細胞の活性を調節するサイトカインなど、または免疫チェックポイント阻害剤抗体、例えば、免疫応答の調節を調整する、抗ＣＴＬＡ－４もしくは抗ＰＤ－Ｌ１のような、対象における免疫応答の調節を通して機能する。
【０００３】
さらに、ワクチンは、病原体の抗原に対する免疫応答を刺激し、それによってその後の病原体への曝露に対する防御免疫を提供するために長い間使用されてきた。最近になって、腫瘍細胞上に見出される抗原を用いてワクチンが開発され、それによって抗腫瘍免疫応答性が増強されている。ワクチンに使用される抗原（複数可）に加えて、他の因子をワクチン調製物に含めるか、またはワクチン調製物と組み合わせて使用して、ワクチンに対する免疫応答をさらにブーストしてもよい。ワクチン応答性を増強するそのような因子は、当該技術分野においてアジュバントと呼ばれている。一般的に使用されるワクチンアジュバントの例としては、アルミニウムゲル及び塩、モノホスホリルリピドＡ、ＭＦ５９水中油型エマルジョン、フロイントの完全アジュバント、フロイントの不完全アジュバント、界面活性剤及び植物サポニンが挙げられる。これらのアジュバントは典型的には、タンパク質またはペプチドベースのワクチンと共に使用される。ＲＮＡベースのワクチンなどの代替型のワクチンが現在開発されている。
【０００４】
当該技術分野において、目的の抗原に対する免疫応答を増強するさらなる有効な因子の必要性が存在する。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００５】
開示の概要
本明細書で提供されるのは、身体の細胞機構を安全に誘導して目的のがんタンパク質またはその断片、例えば、活性化がん遺伝子変異ペプチドを産生し得るＲＮＡ（例えば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ））を含む、脂質ナノ粒子のような脂質ベースの組成物を含む免疫調節治療組成物である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡは修飾ＲＮＡである。ｍＲＮＡ組成物及び／またはそれを含む脂質ナノ粒子を含む、この免疫調節治療組成物は、例えば、挿入突然変異誘発の可能性という危険なく、細胞性免疫及び体液性免疫の両方を含む、がんに対するバランスの取れた免疫応答を誘導するために有用である。
【０００６】
本開示のｍＲＮＡ組成物及び／または脂質ナノ粒子を含む免疫調節治療組成物は、がん

の罹患率またはアンメットメディカルニーズの程度もしくはレベルに応じて様々な状況で利用され得る。本開示のｍＲＮＡ組成物及び脂質ナノ粒子を含む免疫調節治療組成物は、様々な段階または転移度のがんを処置及び／または予防するために利用され得る。本開示の免疫調節治療組成物及び脂質ナノ粒子は、それらがはるかに大きい抗体力価を産生し、がんワクチンを含む代替の抗がん治療よりも早く応答を生じるという点で優れた特性を有する。理論に拘束されることを望まないが、ｍＲＮＡポリヌクレオチドなどの提供される組成物は、ＲＮＡが天然の細胞機構を選択するので、翻訳時に適切なタンパク質立体配座を生じるようによりよく設計されていると考えられる。エキソビボで製造され、望ましくない細胞応答を引き起こす可能性がある伝統的な治療法及びワクチンとは異なり、提供された組成物のＲＮＡは、よりネイティブな方法で細胞系に提示される。

【０００７】

いくつかの態様では、本開示は、活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡ、及び必要に応じて、対象における活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡであって、ここでこの免疫応答が、以下：（ｉ）Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激すること；（ｉｉ）ＮＦκＢ経路シグナル伝達を刺激すること、（ｉｉｉ）炎症反応を刺激すること、（ｉｖ）サイトカイン産生を刺激すること、（ｖ）樹状細胞の発達、活性または動員を刺激すること、及び（ｖｉ）（ｉ）～（ｖ）のいずれかの組み合わせ、を特徴とする細胞性または体液性免疫応答を含む、ｍＲＮＡ；ならびに薬学的に許容される担体を含む、免疫調節治療組成物を提供する。

【０００８】

いくつかの態様では、本開示は、例えば、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激すること、ＮＦκＢ経路シグナル伝達を刺激すること、炎症応答を刺激すること、サイトカイン産生を刺激すること、または樹状細胞の発達、活性もしくは動員を刺激することによって、免疫応答を増強する、ｍＲＮＡ組成物及び／またはそれを含む脂質ナノ粒子を含む免疫調節治療組成物を提供する。免疫増強剤ｍＲＮＡによる目的の抗原に対する免疫応答の増強は、例えば、サイトカイン産生の刺激、抗原特異的ＣＤ８$^{+}$またはＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞応答などの細胞性免疫（Ｔ細胞応答）の刺激及び／または抗原特異的抗体応答などの体液性免疫（Ｂ細胞反応）の刺激をもたらす。

【０００９】

いくつかの態様において、本開示は、活性化がん遺伝子変異がＫＲＡＳ変異である免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ変異はＧ１２変異である。いくつかの態様において、Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、及びＧ１２Ｒ　ＫＲＡＳ変異から選択される。他の態様において、Ｇ１２のＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２ＣのＫＲＡＳ変異から選択される。いくつかの態様において、ＫＲＡＳ変異はＧ１３変異である。いくつかの態様において、Ｇ１３のＫＲＡＳ変異は、Ｇ１３Ｄ　ＫＲＡＳ変異である。他の態様において、本開示は、活性化がん遺伝子変異がＨ－ＲＡＳまたはＮ－ＲＡＳ変異である免疫調節治療組成物を提供する。

【００１０】

いくつかの実施形態では、当業者は、本明細書に提供される指針に基づいてＫＲＡＳ変異、ＨＬＡサブタイプ及び腫瘍タイプを選択し、そして治療のためのＫＲＡＳワクチンを調製する。いくつかの実施形態では、ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１３Ｄから選択される。いくつかの実施形態では、ＨＬＡサブタイプは、Ａ＊０２：０１、Ｃ＊０７：０１、Ｃ＊０４：０１、Ｃ＊０７：０２、ＨＬＡ－Ａ１１及び／またはＨＬＡ－Ｃ０８から選択される。いくつかの実施形態では、腫瘍の種類は、結腸直腸癌、膵臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、及び子宮内膜症）から選択される。

【００１１】

いくつかの実施形態では、ＨＲＡＳ変異は、コドン１２、コドン１３、またはコドン６

１での変異である。いくつかの実施形態では、ＨＲＡＳ変異は、１２Ｖ、６１Ｌ、または６１Ｒ変異である。

【００１２】

いくつかの実施形態では、ＮＲＡＳ変異は、コドン１２、コドン１３、またはコドン６１での変異である。いくつかの実施形態では、ＮＲＡＳ変異は、１２Ｄ、１３Ｄ、６１Ｋ、または６１Ｒの変異である。

【００１３】

いくつかの態様では、本開示は、ｍＲＮＡが、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する、上記または関連の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、このコンカテマーは、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む。

【００１４】

他の態様では、本開示は、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ（このコンカテマーがＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む）；対象におけるＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡ、を含む、免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、コンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む。

【００１５】

本開示のいくつかの実施形態は、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡを含む免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの実施形態では、少なくとも２つのペプチドエピトープは、単一のグリシンによって互いに分離されている。いくつかの実施形態では、コンカテマーは、３～１０個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む。いくつかのそのような態様では、全てのペプチドエピトープは、単一のグリシンによって互いに分離されている。他の実施形態では、少なくとも２つのペプチドエピトープがリンカーなしで互いに直接結合している。

【００１６】

いくつかの態様では、本開示は、１、２、３、または４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡ；及び対象における活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ含む１つ以上のｍＲＮＡ、を含む免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、組成物は４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個のｍＲＮＡを含む。いくつかの態様では、４個のｍＲＮＡはＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄをコードする。

【００１７】

いくつかの態様では、本開示は、活性化がん遺伝子変異ペプチドが１０～３０、１５～２５、または２０～２５アミノ酸長を含む、上記または関連の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む。いくつかの態様では、活性化がん遺伝子変異ペプチドは２５アミノ酸長を含む。

【００１８】

いくつかの態様では、本開示は、対象における活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードしているｍＲＮＡが、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードする、前述のまたは関連の実施形態のいずれか１つに記載の

免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ、Ｖ１５５Ｍ、Ｒ２８４Ｍ、Ｒ２８４Ｋ、Ｒ２８４Ｔ、Ｅ３１５Ｑ、Ｒ３７５Ａ、及びそれらの組み合わせからなる群より選択される１つ以上の変異体を含む。

【００１９】

いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異体Ｖ１５５Ｍ（例えば、配列番号１に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１３９もしくは１７０に示されるヌクレオチド配列によりコードされる）を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異体Ｖ１４７Ｌ／Ｎ１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異体Ｒ２８４Ｍ／Ｖ１４７Ｌ／Ｎ１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍを含む。

【００２０】

他の態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１～１０及び１６４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む。別の態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１３９～１４８、１６５、１６８、１７０、２０１～２０９及び２２５のいずれか１つに示されるヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様では、この構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、例えば、配列番号１４９に示されるような、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２　マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む。

【００２１】

いくつかの態様では、本開示は、前述のまたは関連の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物であって、ここで対象における活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、構成的に活性なヒトＩＲＦ３ポリペプチドをコードしている、免疫調節治療組成物を提供する。一態様では、構成的に活性なヒトＩＲＦ３ポリペプチドは、Ｓ３９６Ｄ変異体を含む。一態様では、構成的に活性なヒトＩＲＦ３ポリペプチドは、配列番号１２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１５１もしくは配列番号２１２に示されるヌクレオチド配列によりコードされる。一態様では、構成的に活性なＩＲＦ３ポリペプチドは、マウスＩＲＦ３ポリペプチドであり、例えば、配列番号１１に示されるアミノ酸配列、または配列番号１５０もしくは配列番号２１１に示されるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列を含む。

【００２２】

いくつかの態様では、本開示は、対象における活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、構成的に活性なヒトＩＲＦ７ポリペプチドをコードしている、前述のまたは関連の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。一態様では、構成的に活性なヒトＩＲＦ７ポリペプチドは、Ｓ４７５Ｄ、Ｓ４７６Ｄ、Ｓ４７７Ｄ、Ｓ４７９Ｄ、Ｌ４８０Ｄ、Ｓ４８３Ｄ、Ｓ４８７Ｄ、及びそれらの組み合わせ；アミノ酸２４７～４６７の欠失；ならびに前述の変異体及び／または欠失の組み合わせ、からなる群より選択される１つ以上の変異体を含む。一実施形態では、構成的に活性なヒトＩＲＦ７ポリペプチドは、配列番号１４～１８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む。一実施形態では、構成的に活性なヒトＩＲＦ７ポリペプチドは、配列番号１５３～１５７及び２１４～２１８のいずれか１つに示されるヌクレオチド配列によってコードされる。

【００２３】

さらに他の態様では、本開示は、ＭｙＤ８８、ＴＲＡＭ、ＩＲＦ１、ＩＲＦ８、ＩＲＦ９、ＴＢＫ１、ＩＫＫｉ、ＳＴＡＴ１、ＳＴＡＴ２、ＳＴＡＴ４、ＳＴＡＴ６、ｃ－ＦＬＩＰ、ＩＫＫβ、ＲＩＰＫ１、ＴＡＫ－ＴＡＢ１融合、ＤＩＡＢＬＯ、Ｂｔｋ、自己活性化カスパーゼ－１及びＦｌｔ３からなる群より選択されるポリペプチドをコードしている免疫増強剤ｍＲＮＡを提供する。

【００２４】

いくつかの態様では、本開示は、前述の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療

組成物であって、この組成物がさらに、がん治療剤を含む免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、この組成物はさらに、阻害性チエックポイントポリペプチドを含む。いくつかの態様では、この阻害性チエックポイントポリペプチドは、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ及びＬＡＧ３からなる群より選択される分子に特異的に結合する抗体またはその断片である。

【００２５】

他の実施形態では、この組成物はさらにリコール抗原を含む。例えば、いくつかの実施形態では、リコール抗原は感染症抗原である。

【００２６】

いくつかの実施形態では、この組成物は安定化剤を含まない。

【００２７】

いくつかの態様では、本開示は、ｍＲＮＡが脂質ナノ粒子中に処方されている、前述の実施形態のうちのいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、脂質ナノ粒子は、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカン二酸（Ｌ３１９）からなる群より選択される。いくつかの態様では、このイオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、及び（ＩＩｅ）のいずれかの化合物を含む。いくつかの態様では、このイオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）の化合物を含む。いくつかの態様では、式（Ｉ）の化合物は化合物２５である。

【００２８】

いくつかの態様では、本開示は、各ｍＲＮＡが少なくとも１つの化学修飾を含む、前述の実施形態のうちのいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、化学修飾は、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より選択される。いくつかの態様では、この化学修飾は、シュードウリジンまたはシュードウリジン類似体である。いくつかの態様では、この化学修飾は、Ｎ１－メチルシュードウリジンである。いくつかの態様では、各ｍＲＮＡは、完全に修飾されたＮ１－メチルシュードウリジンを含む。

【００２９】

いくつかの態様では、本開示は、ｍＲＮＡ組成物及び脂質ナノ粒子などの脂質ベースの組成物を含む免疫調節治療組成物を提供し、これは：ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれが含む１つ以上のｍＲＮＡ、及び必要に応じて、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれが含む１つ以上のｍＲＮＡ；ならびに薬学的に許容される担体、を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異Ｖ１５５Ｍを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位

を含む３’ＵＴＲを含む。
【００３０】
いくつかの態様では、本開示は、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｒ、及びＧ１３Ｄから選択される、前述の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄから選択される。
【００３１】
いくつかの態様では、本開示は、ｍＲＮＡが、２つ以上のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む、前述の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、このコンカテマーは、３、４、５、６、７、８、９または１０個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む。
【００３２】
いくつかの態様では、本開示は、１、２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含む、前述の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、この組成物は、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個のｍＲＮＡを含む。いくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む。
【００３３】
いくつかの態様では、本開示は、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが１０～３０、１５～２５、または２０～２５アミノ酸長を含む、前述のまたは関連する実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む。いくつかの態様では、活性化がん遺伝子変異ペプチドは２５アミノ酸長を含む。
【００３４】
いくつかの態様では、本開示は、上記ｍＲＮＡが、２つ以上のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有し、かつこのコンカテマーが配列番号４２～４７、７３及び１３７に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、上記または関連実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、コンカテマーをコードするｍＲＮＡは、配列番号１２９～１３１、１３３、１３８、１６７、１６９、１９３～１９５及び１９７～１９８に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む。
【００３５】
いくつかの態様では、本開示は、前述または関連の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物であって、この組成物が１、２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含み、このＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３６～４１、７２及び１２５に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、このＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、配列番号３９～４１、及び７２に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１２６～１２８、１３２、１９０～１９２、及び１９６に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む。
【００３６】

他の態様では、本開示は、少なくとも１つの変異体ヒトＫＲＡＳ抗原をコードするｍＲＮＡ構築物、及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドを含む、ｍＲＮＡ組成物及び／またはそれを含む脂質ナノ粒子を含む免疫調節治療組成物を提供する。例えば、ここでこのｍＲＮＡ（例えば、修飾ｍＲＮＡ）は、配列番号４８～７１のうちのいずれか１つに示されるアミノ酸配列をコードする。

【００３７】

いくつかの態様では、本開示は、各ｍＲＮＡが同じまたは異なる脂質ナノ粒子中に処方されている、上記または関連の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡは、同じまたは異なる脂質ナノ粒子中に処方されている。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡは、同じまたは異なる脂質ナノ粒子中に処方される。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡは、同じ脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡは、異なる脂質ナノ粒子に処方される。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡは、同じ脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡは、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡと同じ脂質ナノ粒子に処方される。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡは、異なる脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡは、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡと同じ脂質ナノ粒子に処方される。

【００３８】

いくつかの態様では、本開示は、免疫調節治療組成物が脂質ナノ粒子中に処方され、この脂質ナノ粒子が約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、前述の実施形態のうちのいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカン二酸（Ｌ３１９）からなる群より選択される。いくつかの態様では、このイオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、及び（ＩＩｅ）のいずれかの化合物を含む。いくつかの態様では、このイオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）の化合物を含む。いくつかの態様では、式（Ｉ）の化合物は化合物２５である。

【００３９】

特定の実施形態では、脂質ナノ粒子は、化合物２５（イオン性アミノ脂質として）、ＤＳＰＣ（リン脂質として）、コレステロール（ステロールとして）、及びＰＥＧ－ＤＭＧ（ＰＥＧ修飾脂質として）を含む。特定の実施形態では、この脂質ナノ粒子は、約２０～６０％の化合物２５：５～２５％のＤＳＰＣ：２５～５５％のコレステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む。一実施形態では、この脂質ナノ粒子は、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール：約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比（すなわち、化合物２５：ＤＳＰＣ：コレステロール：ＰＥＧ－ＤＭＧを約５０：１０：３８．５：１．５の比率）を含む。一実施形態では、この脂質ナノ粒子は、５０％の化合物２５：１０％のＤＳＰＣ：３８．５％のコレステロール：１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比（すなわち、化合物２５：ＤＳＰＣ：コレステロール：ＰＥＧ－ＤＭＧ＝５０：１０：３８．５：１．５の比率）を含む。

【００４０】

いくつかの態様では、本開示は、各ｍＲＮＡが少なくとも１つの化学修飾を含む、上記または関連の実施形態のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を提供する。いくつか

の態様では、この化学修飾は、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より選択される。いくつかの態様では、この化学修飾はシュードウリジンまたはシュードウリジン類似体である。いくつかの態様では、この化学修飾はＮ１－メチルシュードウリジンである。いくつかの態様では、各ｍＲＮＡは、完全に修飾されたＮ１－メチルシュードウリジンを含む。

【００４１】

いくつかの態様では、本開示は、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡであって、ここでこの４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含むｍＲＮＡ；構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含んでいる脂質ナノ粒子を提供する。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む。

【００４２】

いくつかの態様では、本開示は、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、前述の実施形態のうちのいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子を提供する。いくつかの態様では、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２５アミノ酸長を含む。

【００４３】

いくつかの態様では、本開示は、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡであって、ここで４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含み、このコンカテマーは、配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む、ｍＲＮＡ；構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む脂質ナノ粒子を提供する。いくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするｍＲＮＡは、配列番号１３８、配列番号１６７または配列番号１６９に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異Ｖ１５５Ｍを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１３９、配列番号１６８、または配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む。

【００４４】

他の態様では、本開示は、以下を含む脂質ナノ粒子を提供する：

Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第１のｍＲＮＡ；

Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第２のｍＲＮＡ；

Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第３のｍＲＮＡ；

Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第４のｍＲＮＡ；及び
構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第５のｍＲＮＡ。特定の実施形態では、ｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、及び１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。一実施形態では、ｍＲＮＡは、５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。

【００４５】

前述の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む。いくつかの態様では、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２５アミノ酸長を含む。

【００４６】

前述の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１２６～１２８、１３２、１９０～１９２、及び１９６に示されているヌクレオチド配列を含む。

【００４７】

前述の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異Ｖ１５５Ｍを含む。いくつかの態様では、この構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１３９、配列番号１６８、または配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む。

【００４８】

いくつかの態様では、本開示は、脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、上述の実施形態のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子を提供する。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカン二酸（Ｌ３１９）からなる群より選択される。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、及び（ＩＩｅ）のいずれかの化合物を含む。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）の化合物を含む。いくつかの態様では、式（Ｉ）の化合物は、化合物２５である。

【００４９】

いくつかの態様では、本開示は、各ｍＲＮＡが少なくとも１つの化学修飾を含む、前述の実施形態のうちのいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子を提供する。いくつかの態様では、この化学修飾は、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より選択される。いくつかの態様では、この化学修飾は、シュードウリジンまたはシュードウリジン類似体である。いくつかの態様では、この化学修飾はＮ１－メチルシュードウリジンである。

いくつかの態様では、各ｍＲＮＡは、完全に修飾されたＮ１－メチルシュードウリジンを含む。

【００５０】

いくつかの態様では、本開示は、必要に応じてがん治療に使用するための説明書と共に、がん治療に使用するための、前述のまたは関連する脂質ナノ粒子のいずれかを含む医薬品を提供する。

【００５１】

他の態様では、本開示は、以下：Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む第１の脂質ナノ粒子を提供する。

【００５２】

いくつかの態様では、本開示は、以下：Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む第２の脂質ナノ粒子を提供する。

【００５３】

いくつかの態様では、本開示は、Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含むｍＲＮＡを含む第３の脂質ナノ粒子を提供する。

【００５４】

いくつかの態様では、本開示は、以下：Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む第４の脂質ナノ粒子を提供する。

【００５５】

前述の第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む。いくつかの態様では、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは２５アミノ酸長を含む。

【００５６】

前述の第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、配列番号３９に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１２６または１９０に示されるヌクレオチド配列を含む。

【００５７】

前述の第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、配列番号４０に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１２７または１９１に示されるヌクレオチド配列を含む。

【００５８】

前述の第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、配列番号７２に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１３２または１９６に示されるヌクレオチド配列を含む。

【００５９】

前述の第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、配列番号４１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番

号１２８または１９２に示されるヌクレオチド配列を含む。
【００６０】
前述の第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異体Ｖ１５５Ｍを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１３９、配列番号１６８または配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む。
【００６１】
いくつかの態様では、本開示は、必要に応じて、がん治療に使用するための説明書と共に、がん治療に使用するための、前述のまたは関連する脂質ナノ粒子のいずれかを含む医薬品を提供する。いくつかの態様では、本開示は、必要に応じてがん治療に使用するための説明書と共に、がん治療に使用するための、前述の第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子のいずれかを含む医薬品を提供する。
【００６２】
いくつかの態様では、本開示は、必要に応じて、がん治療に使用するための、説明書とともに、がん治療に使用するための、第１、第２、第３及び第４の脂質ナノ粒子を含む医薬品を提供し、ここで：
（ｉ）第１の脂質ナノ粒子は：Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む；
（ｉｉ）第２の脂質ナノ粒子は：Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む；
（ｉｉｉ）第３の脂質ナノ粒子は：Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む；そして
（ｉｖ）第４の脂質ナノ粒子は：Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ、を含む。
【００６３】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、がんを有する対象に対して、前述のもしくは関連する免疫調節治療組成物のいずれか、または前述のもしくは関連する脂質ナノ粒子のいずれかを投与することを包含する、対象の処置方法を提供する。いくつかの態様では、この免疫調節治療組成物または脂質ナノ粒子はがん治療剤と組み合わせて投与される。いくつかの態様では、この免疫調節治療組成物または脂質ナノ粒子は、阻害性チェックポイントポリペプチドと組み合わせて投与される。いくつかの態様では、この阻害性チェックポイントポリペプチドは、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ及びＬＡＧ３からなる群より選択される分子に特異的に結合する抗体またはその断片である。
【００６４】
本明細書に提供される方法は、がんを有する対象を治療するために使用され得る。いくつかの実施形態では、がんは、膵臓、腹膜、大腸、小腸、胆道、肺、子宮内膜、卵巣、生殖管、消化管、子宮頸癌、胃、尿路、結腸、直腸ならびに造血系及びリンパ系組織のがん

から選択される。いくつかの実施形態では、がんは結腸直腸癌である。いくつかの実施形態では、がんは膵臓癌である。いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）などの肺癌である。いくつかの実施形態では、がんは、結腸直腸癌、膵臓癌及び肺癌（例えば、ＮＳＣＬＣ）からなる群より選択される。

【００６５】

本開示のｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）構築物（例えば、免疫増強剤ｍＲＮＡ、抗原コードｍＲＮＡ、またはそれらの組み合わせ）は、例えば、５’ＵＴＲ、ポリペプチドをコードするコドン最適化オープンリーディングフレーム、３’ＵＴＲ及び連結されたヌクレオシドの３’テーリング領域を含み得る。一実施形態では、ｍＲＮＡは、１つ以上のマイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）結合部位をさらに含む。

【００６６】

一実施形態では、本開示の修飾ｍＲＮＡ構築物は、完全に修飾されている。例えば、一実施形態では、ｍｍＲＮＡは、シュードウリジン（Ψ）、シュードウリジン（Ψ）及び５－メチル－シチジン（m^5C）、１－メチル－シュードウリジン（$m^1\Psi$）、１－メチル－シュードウリジン（$m^1\Psi$）及び５－メチル－シチジン（m^5C）、２－チオウリジン（s^2U）、２－チオウリジン及び５－メチル－シチジン（m^5C）、５－メトキシ－ウリジン（mo^5U）、５－メトキシ－ウリジン（mo^5U）及び５－メチル－シチジン（m^5C）、２’－Ｏ－メチルウリジン、２’－Ｏ－メチルウリジン及び５－メチル－シチジン（m^5C）、Ｎ６－メチル－アデノシン（m^6A）またはＮ６－メチル－アデノシン（m^6A）及び５－メチル－シチジン（m^5C）を含む。別の実施形態では、ｍｍＲＮＡは、シュードウリジン（Ψ）、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メトキシウリジン、または２’－Ｏ－メチルウリジン、またはそれらの組み合わせを含む。さらに別の実施形態では、ｍｍＲＮＡは、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）、シュードウリジン（Ψ）、α－チオ－グアノシン、またはα－チオ－アデノシン、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの態様では、ｍｍＲＮＡは、シュードウリジンまたはシュードウリジン類似体を含む。いくつかの態様では、ｍｍＲＮＡはＮ１－メチルシュードウリジンを含む。いくつかの態様では、各ｍｍＲＮＡは完全に修飾されたＮ１－メチルシュードウリジンを含む。

【００６７】

いくつかの実施形態では、免疫調節治療組成物中のＲＮＡポリヌクレオチドの投与量は、１用量あたり１～５μｇ、５～１０μｇ、１０～１５μｇ、１５～２０μｇ、１０～２５μｇ、２０～２５μｇ、２０～５０μｇ、３０～５０μｇ、４０～５０μｇ、４０～６０μｇ、６０～８０μｇ、６０～１００μｇ、５０～１００μｇ、８０～１２０μｇ、４０～１２０μｇ、４０～１５０μｇ、５０～１５０μｇ、５０～２００μｇ、８０～２００μｇ、１００～２００μｇ、１００～３００μｇ、１２０～２５０μｇ、１５０～２５０μｇ、１８０～２８０μｇ、２００～３００μｇ、３０～３００μｇ、５０～３００μｇ、８０～３００μｇ、１００～３００μｇ、４０～３００μｇ、５０～３５０μｇ、１００～３５０μｇ、２００～３５０μｇ、３００～３５０μｇ、３２０～４００μｇ、４０～３８０μｇ、４０～１００μｇ、１００～４００μｇ、２００～４００μｇ、または３００～４００μｇである。いくつかの実施形態では、免疫調節治療組成物は、皮内注射または筋肉内注射によって対象に投与される。いくつかの実施形態では、免疫調節治療組成物は、０日に対象に投与される。いくつかの実施形態では、免疫調節治療組成物の第２の用量は、２１日目に対象に投与される。

【００６８】

いくつかの実施形態では、２５マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、１０マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、３０マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、１００マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、５０マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、７５マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、１５０マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、４００マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、３００マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、２００マイクログラムの用量のＲＮＡポリヌクレオチドが、対象に投与される免疫調節治療組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、ＲＮＡポリヌクレオチドは、遠位リンパ節と比較して局所リンパ節において１００倍高いレベルで蓄積する。他の実施形態では、免疫調節治療組成物は、化学的に修飾されており、他の実施形態では免疫調節治療組成物は、化学的に修飾されていない。

【００６９】

いくつかの実施形態では、有効量は１～１００μｇの総用量である。いくつかの実施形態では、有効量は１００μｇの総用量である。いくつかの実施形態では、有効量は、対象に合計１回または２回投与される２５μｇの用量である。いくつかの実施形態では、有効量は、対象に合計２回投与される１００μｇの用量である。いくつかの実施形態では、この有効量は、１μｇ～１０μｇ、１μｇ～２０μｇ、１μｇ～３０μｇ、５μｇ～１０μｇ、５μｇ～２０μｇ、５μｇ～３０μｇ、５μｇ～４０μｇ、５μｇ～５０μｇ、１０μｇ～１５μｇ、１０μｇ～２０μｇ、１０μｇ～２５μｇ、１０μｇ～３０μｇ、１０μｇ～４０μｇ、１０μｇ～５０μｇ、１０μｇ～６０μｇ、１５μｇ～２０μｇ、１５μｇ～２５μｇ、１５μｇ～３０μｇ、１５μｇ～４０μｇ、１５μｇ～５０μｇ、２０μｇ～２５μｇ、２０μｇ～３０μｇ、２０μｇ～４０μｇ、２０μｇ～５０μｇ、２０μｇ～６０μｇ、２０μｇ～７０μｇ、２０μｇ～７５μｇ、３０μｇ～３５μｇ、３０μｇ～４０μｇ、３０μｇ～４５μｇ、３０μｇ～５０μｇ、３０μｇ～６０μｇ、３０μｇ～７０μｇ、３０μｇ～７５μｇの用量であり、対象に合計１回または２回投与され得る。

【００７０】

いくつかの態様では、本開示は、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ、及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含む組成物（例えばワクチン）を提供し、ここでこのＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１または２０：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で、あるいは１：１、１：２、１：３、１：４、１：５、１：６、１：７、１：８、１：９、１：１０、または１：２０というＳＴＩＮＧ：ＫＲＡＳ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ対、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡの５：１という質量比（ＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比５：１あるいはＳＴＲＩＮＧ：ＫＲＡＳ質量比１：５）で存在する。いくつかの態様では、このｍＲＮＡは、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ対、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡの１０：１という質量比（ＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比１０：１あるいはＳＴＲＩＮＧ：ＫＲＡＳ質量比１：１０）で存在する。

【００７１】
本開示の他の態様は、以下：
４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡであって、ここで、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドはＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、ｍＲＮＡ；
構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含むｍＲＮＡ；
を含む脂質ナノ粒子に関し、
ここでこのｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＲＩＮＧ質量比で存在する。
【００７２】
いくつかの態様では、本開示は、以下：
Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第１のｍＲＮＡ；
Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第２のｍＲＮＡ；
Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第３のｍＲＮＡ；
Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む第４のｍＲＮＡ；
構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第５のｍＲＮＡ；
を含む脂質ナノ粒子に関し、
ここで、この第１、第２、第３、第４及び第５のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。
【００７３】
前述及び関連の態様のいくつかでは、上記コンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む。いくつかの態様では、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む。いくつかの態様では、各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは２５アミノ酸長を含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするｍＲＮＡは、配列番号１３８、配列番号１６７または１６９に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、変異Ｖ１５５Ｍを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１３９、配列番号１６８、または配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む。
【００７４】
前述の及び関連する態様のいくつかでは、脂質ナノ粒子は、１：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在するｍＲＮＡを含む。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは２：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは３：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは４：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、５：１と

いうＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、６：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、７：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、８：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、９：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、１０：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。

【００７５】

別の態様では、本開示は、本開示の修飾ｍＲＮＡを含む脂質ナノ粒子に関する。一実施形態では、脂質ナノ粒子は、リポソームである。別の実施形態では、脂質ナノ粒子は、カチオン性及び／またはイオン性アミノ脂質を含む。一実施形態では、カチオン性及び／またはイオン性アミノ脂質は、２，２－ジリノレイル－４－メチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）またはジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）である。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、及び（ＩＩｅ）のいずれかの化合物を含む。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は式（Ｉ）の化合物を含む。一実施形態では、イオン性アミノ脂質は、化合物２５である。一実施形態では、脂質ナノ粒子はさらに、脂質ナノ粒子の外表面にコンジュゲートされた標的化部分を含む。

【００７６】

別の態様では、本開示は、本開示の修飾ｍＲＮＡまたは本開示の脂質ナノ粒子、及び薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含む、薬学的組成物に関する。

【００７７】

別の態様では、本開示は、目的の抗原（複数可）に対する免疫応答を増強する方法であって、目的の抗原に対する免疫応答が対象で増強されるように、目的の抗原（複数可）をコードする開示のｍＲＮＡ組成物及び目的の抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチド、もしくはその脂質ナノ粒子、またはそれらの薬学的組成物を、それを必要とする対象に投与することを包含する方法に関する。一態様では、対象における免疫応答を増強することは、サイトカイン（例えば、ＩＦＮ－γまたはＴＮＦ－α）産生を刺激することを包含する。別の態様では、対象における免疫応答を増強することは、抗原特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞活性、例えば、初回刺激、増殖及び／または生存を刺激すること（例えば、エフェクター／メモリーＴ細胞集団を増大させること）を包含する。一態様では、対象における免疫応答を増強することは、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞活性を刺激すること（例えば、ヘルパーＴ細胞活性を増大させること）を包含する。他の態様では、対象における免疫応答を増強することは、Ｂ細胞応答を刺激すること（例えば、抗体産生を増大させること）を包含する。

【００７８】

一態様では、本開示は、活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するための方法を提供し、ここでこの対象は、２つの異なる免疫増強剤ｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）構築物（一方または両方の構築物が、活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）構築物もまたコードするか、または投与される）を、同時にまたは連続的に投与される。一態様では、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激する免疫増強剤ｍＲＮＡ組成物を対象に投与する前に、樹状細胞の発達または活性を刺激する免疫増強剤ｍｍＲＮＡ組成物を対象に投与する。

【００７９】

他の態様では、本開示は、それを必要とする対象において腫瘍に対する免疫応答を刺激する方法を提供し、ここでこの方法は、腫瘍抗原（複数可）をコードする少なくとも１つのｍＲＮＡ構築物、及び腫瘍抗原（複数可）、もしくはその脂質ナノ粒子、またはその薬学的組成物に対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡ構築物を含む組成物の有効量を対象に投与することを包含し、その結果、腫瘍に対する免疫応答がその対象において刺激される。一態様では、腫瘍は、肝臓癌、結腸直腸癌、膵臓癌、非小細胞

肺癌（ＮＳＣＬＣ）、黒色腫癌、子宮頸癌、または頭頸部癌である。
【００８０】
別の態様では、本開示は、以下：
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む第１のｍＲＮＡ、ならびに
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第２のｍＲＮＡであって、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、第２のｍＲＮＡ、ならびに
薬学的に許容される担体、を含み
ここで、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、組成物を提供する。
【００８１】
前述の組成物のいくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーは、配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードする第１のｍＲＮＡは、配列番号１６９に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、第１のｍＲＮＡは、配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、第２のｍＲＮＡは、配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードする第２のｍＲＮＡは、ｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を有する３’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、ｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位は、配列番号１７５に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれポリＡテールを含む。いくつかの態様では、ポリＡテールは、約１００ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれ５’Ｃａｐ　１構造を含む。いくつかの態様では、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれ少なくとも１つの化学修飾を含む。いくつかの態様では、この化学修飾は、Ｎ１－メチルシュードウリジンである。いくつかの態様では、第１のｍＲＮＡは、Ｎ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている。いくつかの態様では、第２のｍＲＮＡは、Ｎ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている。いくつかの態様では、薬学的に許容される担体は緩衝液を含む。
【００８２】
別の態様では、本開示は以下：
（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ、及び
（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、ならびに
薬学的に許容される担体、を含み、
ここで、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されており、
ここで、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、組成物を提供する。
【００８３】
前述の組成物の一態様では、薬学的に許容される担体は緩衝液を含む。
【００８４】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが１：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。

【００８５】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが２：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００８６】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが３：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００８７】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが４：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００８８】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００８９】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが６：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００９０】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが７：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００９１】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが８：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００９２】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが９：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００９３】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが１０：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する組成物を提供する。
【００９４】
前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、脂質ナノ粒子に処方される組成物を提供する。いくつかの態様では、この脂質ナノ粒子は、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む。いくつかの態様では、脂質ナノ粒子は、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール；及び約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む。
【００９５】
前述のまたは関連する態様のいずれにおいても、本開示は筋肉内送達用に処方される組成物を提供する。
【００９６】
いくつかの態様では、本開示は、以下：
（ｉ）４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む第１のｍＲＮＡであって、ここで、このコンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、第１のｍＲＮＡ；ならびに
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第２のｍＲＮＡであって、この構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、第２のｍＲＮＡ、
を含む脂質ナノ粒子であって、
ここで、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、脂質ナノ粒子を提供する。

【００９７】
前述の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーは、配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードする第１のｍＲＮＡは、配列番号１６９に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、第１のｍＲＮＡは、配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、第２のｍＲＮＡは、配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードする第２のｍＲＮＡは、ｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を有する３’ＵＴＲを含む。いくつかの態様では、ｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位は、配列番号１７５に示されるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、それぞれポリＡテールを含む。いくつかの態様では、ポリＡテールは、約１００ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれ、５’Ｃａｐ　１構造を含む。いくつかの態様では、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれ、少なくとも１つの化学修飾を含む。いくつかの態様では、この化学修飾はＮ１－メチルシュードウリジンである。いくつかの態様では、この第１のｍＲＮＡはＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている。いくつかの態様では、第２のｍＲＮＡは、Ｎ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている。
【００９８】
いくつかの態様では、本開示は、以下：
（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ；及び
（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、
を含む脂質ナノ粒子であって、
ここで、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されており、
ここで、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、
脂質ナノ粒子を提供する。
【００９９】
前述の脂質ナノ粒子のいくつかの態様では、脂質ナノ粒子は、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、及び（ＩＩｅ）のいずれかの化合物を含む。いくつかの態様では、イオン性アミノ脂質は、式（Ｉ）の化合物を含む。いくつかの態様では、式（Ｉ）の化合物は、化合物２５である。いくつかの態様では、この脂質ナノ粒子は、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール；及び約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む。
【０１００】
任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、脂質ナノ粒子と薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物を提供する。いくつかの態様では、この薬学的組成物は、筋肉内送達用に処方されている。
【０１０１】
任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、個体におけるがんを処置または進行を遅延させる際に使用するための脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物を提供し、ここで、この処置は、組成物を第２の組成物と組み合わせて投与することを包含し、ここでこの第２の組成物は、チェックポイント阻害剤ポリペプチ

ド及び任意の薬学的に許容される担体を含む。
【０１０２】
任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、個体におけるがんを処置または進行を遅延するための医薬の製造における、脂質ナノ粒子及び任意の薬学的に許容される担体の使用を提供し、ここでこの医薬は、脂質ナノ粒子及び任意の薬学的に許容される担体を含み、この処置は、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせて、この医薬の投与を包含する。
【０１０３】
任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、脂質ナノ粒子を含む容器、及び任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物、ならびに個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための脂質ナノ粒子または薬学的組成物の投与の説明書を含む添付文書を備えるキットを提供する。いくつかの態様では、この添付文書は、脂質ナノ粒子または薬学的組成物を、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるためのチェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせて投与するための説明書をさらに含む。
【０１０４】
任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物を含む医薬、ならびに単独でまたはチェックポイント阻害剤ポリペプチド及び個体におけるがんを処置または進行を遅延するための任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた医薬の投与のための説明書を含む添付文書を備えるキットを提供する。いくつかの態様では、このキットは、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための第２の医薬の投与の前、それと同時、またはその後の第１の医薬の投与の説明書を含む添付文書をさらに備える。
【０１０５】
任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、本明細書に記載の脂質ナノ粒子、組成物、もしくはその使用、または脂質ナノ粒子もしくは組成物を備えるキットを提供し、ここでチェックポイント阻害剤ポリペプチドがＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する。いくつかの態様では、このチェックポイント阻害剤ポリペプチドは、抗体である。いくつかの態様では、このチェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、トレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗ＰＤ１抗体であり、ここで、抗ＰＤ１抗体がペンブロリズマブである。
【０１０６】
関連する態様では、本開示は、本開示の前述のもしくは関連する脂質ナノ粒子のいずれか、または本開示の前述のもしくは関連する組成物のいずれかを対象に投与することを包含する、それを必要とする対象において、腫瘍のサイズを減少もしくは縮小するか、または腫瘍増殖を阻害する方法を提供する。
【０１０７】
関連態様では、本開示は、本開示の前述もしくは関連脂質ナノ粒子のいずれか、または本開示の前述もしくは関連組成物のいずれかを対象に投与することを包含する、がんを有する対象において抗腫瘍応答を誘導する方法を提供する。いくつかの態様では、抗腫瘍反応はＴ細胞反応を含む。いくつかの態様では、Ｔ細胞応答はＣＤ８＋Ｔ細胞を含む。
【０１０８】

前述の方法のいくつかの態様では、この組成物は筋肉内注射によって投与される。

【０１０９】

前述の方法のいくつかの態様では、この方法は、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の組成物を投与することをさらに包含する。いくつかの態様では、このチェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、トレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である。いくつかの態様では、このチェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗ＰＤ１抗体であり、ここで、抗ＰＤ１抗体がペンブロリズマブである。

【０１１０】

任意の前述の方法または関連する方法のいくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は静脈内注射によって投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、２～３週間に１回投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、２週間に１回または３週間に１回投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、脂質ナノ粒子またはその薬学的組成物の投与の前に、それと同時に、またはその後に投与される。

【０１１１】

前述のまたは関連する方法のいずれかのいくつかの態様では、対象は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃから選択される組織学的に確認されたＫＲＡＳ変異を有する。

【０１１２】

前述のまたは関連する方法のいずれかのいくつかの態様では、対象は転移性結腸直腸癌を有する。

【０１１３】

前述のまたは関連する方法のうちのいずれかのいくつかの態様では、対象は、

非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）を有する。

【０１１４】

前述のまたは関連する方法のいずれかのいくつかの態様では、対象は膵臓癌を有する。

【０１１５】

他の態様では、本開示は、それを必要とする対象において、腫瘍のサイズを縮小もしくは減少すること、腫瘍増殖を阻害すること、または抗腫瘍反応を誘導することを包含する方法を提供し、この方法は、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ含む１つ以上の第１のｍＲＮＡ、及び必要に応じて構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ含む１つ以上の第２のｍＲＮＡ（及び必要に応じてここでこの第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１：５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択される質量比である）；ならびに薬学的に許容される担体を含む免疫調節治療組成物を対象に投与し、それにより、この対象における腫瘍のサイズを縮小もしくは減少し、腫瘍の増殖を阻害し、または抗腫瘍反応を誘導することを包含する。いくつかの態様では、この組成物は、１、２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含

む。いくつかの態様では、この組成物は、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個のｍＲＮＡを含む。いくつかの態様では、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む。

【０１１６】

他の態様では、この方法は、第１、第２、第３、第４、及び第５のｍＲＮＡを含む免疫調節治療組成物を投与することを包含し、ここで

この第１のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；

この第２のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；

この第３のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；

この第４のｍＲＮＡは、Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含み；そして

この第５のｍＲＮＡは、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含み、

ここで、この第１、第２、第３、第４、及び第５のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。

【０１１７】

いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡは、配列番号１２６～１２８及び１３２に示されるヌクレオチド配列を含む。

【０１１８】

他の態様では、この方法は、２つ以上のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡを含む免疫調節治療組成物を投与することを包含する。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端に、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む。いくつかの態様では、このコンカテマーは、配列番号４２～４７、７３、及び１３７で示される群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、コンカテマーをコードするｍＲＮＡは、配列番号１２９～１３１、１３３及び１３８に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む。

【０１１９】

いくつかの態様では、本開示は、それを必要とする対象において、腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍増殖を阻害するか、または抗腫瘍反応を誘導する方法を提供し、この方法は、以下：

（ｉ）以下からなる群より選択される１つ以上の第１のｍＲＮＡであって：

（ａ）Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；

（ｂ）Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；

（ｃ）Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；

（ｄ）Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ；

（ｅ）２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含むｍＲＮＡ（ここで、ＫＲＡＳ活性化

がん遺伝子変異ペプチドはＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む）；及び
（ｆ）（ａ）～（ｄ）に記載のｍＲＮＡの任意の組み合わせからなる群より選択される１つ以上の第１のｍＲＮＡ；ならびに
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ含む１つ以上の第２のｍＲＮＡであって、必要に応じて
ここで、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、第２のｍＲＮＡ、
を含む、脂質ナノ粒子を対象に投与し、
それによって、対象の腫瘍のサイズを縮小もしくは減少し、腫瘍増殖を阻害し、または抗腫瘍反応を誘導することを包含する。

【０１２０】

いくつかの態様では、脂質ナノ粒子は以下
（ｉ）（ａ）～（ｄ）に記載のｍＲＮＡの組み合わせ；及び
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第２のｍＲＮＡであって、ここで構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む第２のｍＲＮＡ、を含み、
ここで、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。

【０１２１】

いくつかの態様では、脂質ナノ粒子は以下
（ｉ）４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを含む第１のｍＲＮＡであって、ここで、このコンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、第１のｍＲＮＡ；ならびに
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を含む第２のｍＲＮＡであって、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、第２のｍＲＮＡ、を含み、
ここで、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。

【０１２２】

いくつかの態様では、本開示は、それを必要とする対象において、腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍増殖を阻害するか、または抗腫瘍反応を誘導する方法を提供し、この方法は、対象に対して、以下：
（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ；及び
（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、を含む脂質ナノ粒子を投与することを包含し、
ここで、この第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されており、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは５：１の質量比で存在する。いくつかの態様では、脂質ナノ粒子は、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール；及び約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む。

【０１２３】

いくつかの態様では、脂質ナノ粒子または組成物は筋肉内注射によって投与される。

【０１２４】

いくつかの態様では、抗腫瘍反応は、Ｔ細胞反応、例えば、ＣＤ８＋Ｔ細胞反応を含む。

【０１２５】

いくつかの態様では、本開示は、それを必要とする対象において腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、腫瘍増殖を阻害するか、または抗腫瘍反応を誘導する方法を提供し、この方法は、チェックポイント阻害剤ポリペプチドまたはそれをコードするポリヌクレオチド、及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の組成物と組み合わせて（その前に、それと同時に、または連続的に）本開示の免疫調節治療組成物または脂質ナノ粒子を対象に投与することを包含する。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合するＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、トレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である。

【０１２６】

いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、静脈内注射によって投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、２～３週間毎に１回投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、２週間に１回または３週間に１回投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、脂質ナノ粒子または組成物の投与の前に、それと同時に、またはその後に投与される。

【０１２７】

いくつかの態様では、本開示は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃから選択される組織学的に確認されたＫＲＡＳ変異を有する対象を処置する方法を提供する。いくつかの態様では、対象は、ＨＬＡ－Ａ１１及び／またはＨＬＡ－Ｃ＊０８から選択される組織学的に確認されたＨＬＡサブタイプを有する。

【０１２８】

いくつかの態様では、腫瘍は転移性結腸直腸癌である。いくつかの態様では、腫瘍は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である。いくつかの態様では、腫瘍は膵臓癌である。

【０１２９】

いくつかの態様では、対象は、脂質ナノ粒子または組成物の投与の前に、それと同時に、またはその後に化学療法剤が投与される。

【図面の簡単な説明】

【０１３０】

【図１】図１は、構成的に活性なＳＴＩＮＧ　ｍｍＲＮＡ構築物でトランスフェクトされたＴＦ１ａ細胞におけるＩＦＮ－β産生の刺激を示す棒グラフである。

【図２】図２は、構成的に活性なＳＴＩＮＧ構築物によるインターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ）の活性化を示す棒グラフである。ＳＴＩＮＧバリアント２３ａ及び２３ｂは、配列番号１に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント４２は、配列番号２に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント１９、２１ａ及び２１ｂは、配列番号３に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント４１は、配列番号４に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント４３は、配列番号５に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント４５は、配列番号６に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント４６は、配列番号７に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント４７は、配列番号８に相当し、ＳＴＩＮＧバリアント５６は、配列番号９に相当し、そしてＳＴＩＮＧバリアント５７は、配列番号１０に相当する。

【図３】図３Ａ～図３Ｂは、構成的に活性なＩＲＦ３構築物（図３Ａ）または構成的に活性なＩＲＦ７構築物（図３Ｂ）によるインターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ

）の活性化を示す棒グラフである。ＩＲＦ３バリアント１、３及び４は、配列番号１２に相当し、ＩＲＦ３バリアント２及び５は、配列番号１１に相当する（バリアントは異なるタグを有する）。ＩＲＦ７バリアント３６は、配列番号１８に相当し、バリアント３１は、配列番号１８のマウスバージョンである。ＩＲＦ７バリアント３２は、配列番号１７に相当し、ＩＲＦ７バリアント３３は、配列番号１４に相当する。

【図４】図４は、構成的に活性なｃＦＬＩＰ及びＩＫＫβｍＲＮＡ構築物によるＮＦκＢ－ルシフェラーゼレポーター遺伝子の活性化を示す棒グラフである。

【図５】図５は、構成的に活性なＲＩＰＫ１　ｍＲＮＡ構築物によるＮＦκＢ－ルシフェラーゼレポーター遺伝子の活性化を示すグラフである。

【図６】図６は、ＤＩＡＢＬＯ　ｍｍＲＮＡ構築物でトランスフェクトされたＳＫＯＶ３細胞におけるＴＮＦ－α誘導を示す棒グラフである。

【図７】図７は、ＤＩＡＢＬＯ　ｍｍＲＮＡ構築物でトランスフェクトされたＳＫＯＶ３細胞におけるインターロイキン６（ＩＬ－６）誘導を示す棒グラフである。

【図８】図８Ａ～図８Ｂは、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかと共処方された、ＭＣ３８ネオ抗原ワクチン構築物（ＡＤＲｖａｘ）で免疫されたマウスからの２１日目（図８Ａ）または３５日目（図８Ｂ）のＣＤ８$^{+}$単球のＩＦＮ－γ細胞内染色（ＩＣＳ）によるＭＣ３８抗原特異的応答を示すグラフである。

【図９】図９Ａ～図９Ｂは、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかと共処方された、ＭＣ３８ネオ抗原ワクチン構築物（ＡＤＲｖａｘ）で免疫したマウス由来の、脾臓もしくはＰＢＭＣ中の生きたＣＤ４５$^{+}$細胞中のＣＤ８ｂ＋細胞の割合（図９Ａ）または脾臓中もしくはＰＢＭＣ中のＣＤ８ｂ$^{+}$細胞中のＣＤ６２Ｌ^{lo}細胞の割合（図９Ｂ）を示すグラフである。

【図１０】ｃＢｉｏＰｏｒｔａｌを使用して同定された結腸直腸癌におけるＮＲＡＳ及びＫＲＡＳの変異体頻度を示す。

【図１１】図１１～図１１Ｂは、初回免疫後２１日目にＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかと共処方されたＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７ワクチン構築物で免疫したマウス由来のＣＤ８$^{+}$脾細胞の細胞内染色（ＩＣＳ）を示すグラフである。図１１Ａは、ＩＦＮ－γＩＣＳに対するＥ７特異的応答を示す。図１１Ｂは、ＴＮＦ－αＩＣＳに対するＥ７特異的応答を示す。

【図１２】図１２Ａ～図１２Ｂは、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかと共処方されたＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７ワクチン構築物で免疫したマウス由来のＣＤ８$^{+}$脾細胞の細胞内染色（ＩＣＳ）を示すグラフである。図１２Ａは、ＩＦＮ－γＩＣＳに対するＥ６特異的応答を示す。図１２Ｂは、ＴＮＦ－αＩＣＳに対する６７特異的応答を示す。

【図１３】図１３Ａ～図１３Ｂは、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかと共処方されたＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７ワクチン構築物で免疫されたマウス由来の２１日目（図１３Ａ）または５３日目（図１３Ｂ）のＣＤ８$^{+}$脾細胞のＩＦＮ－γ細胞内染色（ＩＣＳ）に対するＥ７特異的応答を示すグラフである。

【図１４】図１４Ａ～図１４Ｂは、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかと共処方されたＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７ワクチン構築物で免疫されたマウス由来の２１日目（図１４Ａ）または５３日目（図１４Ｂ）の脾臓細胞についての生きたＣＤ４５$^{+}$細胞のうちのＣＤ８ｂ$^{+}$細胞の割合を示すグラフである。

【図１５】図１５Ａ～図１５Ｂは、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかと共処方されたＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７ワクチン構築物で免疫されたマウス由来の２１日目（図１５Ａ）または５３日目（図１５Ｂ）のＣＤ８ｂ$^{+}$脾臓細胞のＥ７－ＭＨＣ１－四量体染色を示すグラフである。

【図１６】図１６Ａ～図１６Ｄは、２１日目対５３日目のＥ７四量体$^{+}$ＣＤ８細胞の比較において、Ｅ７四量体$^{+}$ＣＤ８$^{+}$細胞の大部分が「エフェクターメモリー」ＣＤ６２Ｌ^{lo}表現型を有することを示すグラフであり、これによって、この研究全体を通じてこの「エフェクターメモリー」ＣＤ６２Ｌ^{lo}表現型が維持されたことが示される。図１６Ａ（

２１日目）及び図１６Ｂ（５３日目）は、エフェクターメモリーＣＤ６２Ｌｌｏ表現型を有するＣＤ８の増大％を示す。図１６Ｃ及び図１６Ｄは、Ｅ７－四量体＋ＣＤ８の増大％がＣＤ６２Ｌｌｏであることを示す。

【図１７】図１７Ａ～図１７Ｃは、ＨＰＶ　Ｅ７を発現するＴＣ１腫瘍によるチャレンジの前またはチャレンジ時のいずれかにおいて、ＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７構築物と共にＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を用いて示されるように予防的にワクチン接種された（単独で、または抗ＣＴＬＡ－４もしくは抗ＰＤ１処置と組み合わせて）マウス由来の腫瘍容積を示すグラフであり、ＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７＋ＳＴＩＮＧ処置による腫瘍増殖の阻害を示している。あるマウスを可溶性Ｅ６／Ｅ７＋ＳＴＩＮＧ（図１７Ａ）または細胞内Ｅ６／Ｅ７＋ＳＴＩＮＧ（図１７Ｂ）で－１４及び－７日目に処置し、１日目には腫瘍チャレンジを伴った。他のマウスは１日目に及び８日目に、可溶性Ｅ６／Ｅ７＋ＳＴＩＮＧ（図１７Ｃ）を用いて処置し、１日目には腫瘍チャレンジした。

【図１８－１】図１８Ａ～１８Ｉは、ＨＰＶ　Ｅ７を発現するＴＣ１腫瘍でのチャレンジの後の、ＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７構築物と共にＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を用いて（図１８Ａ）、単独で、または抗ＣＴＬＡ－４処置（図１８Ｂ）、もしくは抗ＰＤ１処置（図１８Ｃ）と組み合わせて、示されるように治療的にワクチン接種されたマウス由来の腫瘍容積を示すグラフであり、ＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７＋ＳＴＩＮＧ処置による腫瘍増殖の阻害を示している。図１８Ｄ～図１８Ｉは、対照による処置を示す。

【図１８－２】同上。

【図１８－３】同上。

【図１９】図１９は、最初の免疫後２１日目に、示されたＡｇ：ＳＴＩＮＧ比でＳＴＩＮＧ免疫増強剤と共処方されたＡＤＲワクチン構築物で免疫されたマウス由来のＩＦＮ－γについてのＣＤ８$^+$脾細胞の細胞内染色（ＩＣＳ）を示すグラフである。ＣＤ８＋細胞を、変異体ＡＤＲ抗原組成物（３つのペプチドを含む）または野生型ＡＤＲ組成物（対照として）のいずれかで再刺激した。

【図２０】図２０は、最初の免疫後２１日目に、示されたＡｇ：ＳＴＩＮＧ比でＳＴＩＮＧ免疫増強剤と共処方されたＡＤＲワクチン構築物で免疫されたマウス由来のＴＮＦ－αについてのＣＤ８$^+$脾細胞の細胞内染色（ＩＣＳ）を示すグラフである。ＣＤ８＋細胞を、変異体ＡＤＲ抗原組成物（３つのペプチドを含む）または野生型ＡＤＲ組成物（対照として）のいずれかを用いて再刺激した。

【図２１－１】図２１Ａ～図２１Ｃは、最初の免疫後２１日目に、示されたＡｇ：ＳＴＩＮＧ比でＳＴＩＮＧ免疫増強剤と共処方されたＡＤＲワクチン構築物で免疫されたマウス由来のＩＦＮ－γについてのＣＤ８$^+$脾細胞の細胞内染色（ＩＣＳ）を示すグラフである。ＣＤ８＋細胞を、ＡＤＲ抗原組成物内に含まれる変異体または野生型（対照として）ペプチドのいずれかで再刺激した。図２１Ａは、ＡＤＲ組成物内のＡｄｐｋ１ペプチドに対する応答を示す。図２１Ｂは、ＡＤＲ組成物内のＲｅｐｓ１ペプチドに対する応答を示す。図２１Ｃは、ＡＤＲ組成物内のＤｐａｇｔ１ペプチドに対する応答を示す。

【図２１－２】同上。

【図２２】図２２は、示した異なるＡｇ：ＳＴＩＮＧ比での、ＣＡ－１３２とＳＴＩＮＧ免疫増強剤の共処方で処置したマウス由来の、ＩＦＮ－γについてのＥＬＩＳｐｏｔ分析によって測定された、ＣＡ－１３２ワクチン内のＭＨＣクラスＩエピトープに対する抗原特異的Ｔ細胞応答を示すグラフである。

【図２３Ａ】ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と共処方されたＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７ワクチン構築物で免疫されたマウスからのＡｇ：ＳＴＩＮＧ比研究の結果を示す。図２３Ａは、免疫後２１日目に示されたＡｇ：ＳＴＩＮＧ比で免疫されたマウス由来のＩＦＮ－γについてのＣＤ８＋脾細胞の細胞内染色（ＩＣＳ）を示す。

【図２３Ｂ】ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と共処方されたＨＰＶ　Ｅ６／Ｅ７ワクチン構築物で免疫されたマウスからのＡｇ：ＳＴＩＮＧ比研究の結果を示す。図２３Ｂは、示されたＡｇ：ＳＴＩＮＧ比で免疫したマウス由来の２１日目のＣＤ８＋脾細胞のＨ２－Ｋｂ／Ｅ７ペプチド四量体染色を示す。

【図２４】図２４Ａ～図２４Ｃは、ＨＰＶワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物をワクチン接種し、続いてＨＰＶ１６　Ｅ６ペプチドプール（図２４Ａ）、ＨＰＶ１６　Ｅ７ペプチドプール（図２４Ｂ）または培地（陰性対照）（図２４Ｃ）のいずれかでエキソビボ刺激したカニクイザル由来のＣＤ８＋Ｔ細胞についてのＴＮＦα細胞内染色（ＩＣＳ）結果を示す棒グラフである。
【図２５】図２５Ａ～図２５Ｃは、ＨＰＶワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物でワクチン接種し、続いてＨＰＶ１６　Ｅ６ペプチドプール（図２５Ａ）、ＨＰＶ１６　Ｅ７ペプチドプール（図２５Ｂ）または培地（陰性対照）（図２５Ｃ）のいずれかでエキソビボ刺激したカニクイザル由来のＣＤ８＋Ｔ細胞についてのＩＬ－２細胞内染色（ＩＣＳ）結果を示す棒グラフである。
【図２６】図２６は、ＨＰＶワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物でワクチン接種／免疫したカニクイザル由来の血清中の抗－Ｅ６　ＩｇＧについてのＥＬＩＳＡ結果を示すグラフである。
【図２７】図２７は、ＨＰＶワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物でワクチン接種／免疫したカニクイザル由来の血清中の抗－Ｅ７　ＩｇＧについてのＥＬＩＳＡ結果を示すグラフである。
【図２８】図２８は、ＨＰＶワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物を用いて１：１０のＳＴＩＮＧ：Ａｇ比で処置したカニクイザル由来の２５日目の血清の２倍連続希釈中の抗－Ｅ６　ＩｇＧについてのＥＬＩＳＡ結果を示すグラフである。
【図２９】図２９Ａ～図２９Ｂは、示されたＳＴＩＮＧ：Ａｇ比でＨＰＶワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物を用いて処置されたカニクイザル由来の２５日目の血清中の抗－Ｅ６　ＩｇＧ（図２９Ａ）または抗－Ｅ７　ＩｇＧ（図２９Ｂ）のＥＬＩＳＡ結果の計算された力価値を示すグラフである。
【図３０】図３０は、変異体ＫＲＡＳワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物で免疫し、続いてＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｖペプチドでエキソビボ刺激したマウス由来のＩＦＮ－γについてのＣＤ８＋脾細胞についての細胞内染色（ＩＣＳ）の結果を示すグラフである。
【図３１】図３１は、変異体ＫＲＡＳワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物で免疫し、続いてＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄペプチドでエキソビボ刺激したマウス由来のＩＦＮγについてのＣＤ８＋脾細胞についての細胞内染色（ＩＣＳ）の結果を示すグラフである。
【図３２】図３２は、変異体ＫＲＡＳワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物で免疫し、続いてＨＬＡ＊Ａ１１対立遺伝子でウイルス的に形質導入し、ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｖでパルスした Ｃｏｓ７細胞とエキソビボで共培養したマウス由来のＩＦＮγについての細胞内染色（ＩＣＳ）結果またはＣＤ８＋脾細胞を示すグラフである。
【図３３】図３３は、変異体ＫＲＡＳワクチン＋ＳＴＩＮＧ構築物で免疫し、続いてＨＬＡ＊Ａ１１対立遺伝子でウイルス的に形質導入し、ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄでパルスした Ｃｏｓ７細胞とエキソビボで共培養したマウス由来のＩＦＮ－ｇについての細胞内染色（ＩＣＳ）結果またはＣＤ８＋脾細胞を示すグラフである。
【図３４】図３４は、Ａ１１ウイルスエピトープコンカテマー＋ＳＴＩＮＧ構築物で免疫し、続いて個々のウイルスエピトープでエキソビボ刺激したマウス由来のＩＦＮ－ｇについての細胞内染色（ＩＣＳ）結果またはＣＤ８＋脾細胞を示すグラフである。
【発明を実施するための形態】
【０１３１】
詳細な説明
本明細書で提供されるのは、ｍＲＮＡ組成物及び／またはそれを含む脂質ナノ粒子を含む免疫調節治療組成物であり、これは、身体の細胞機構を安全に誘導して目的のがんタンパク質またはその断片、例えば、活性化がん遺伝子変異ペプチドを産生し得る１つ以上のＲＮＡ（例えば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ））を含んでいる。いくつかの実施形態では、このＲＮＡは修飾ＲＮＡである。本開示の免疫調節治療組成物及び脂質ナノ粒子は、例えば、挿入突然変異誘発の可能性という危険なく、細胞性免疫及び体液性免疫の両方を含む、がんに対するバランスの取れた免疫応答を誘導するために使用され得る。

【０１３２】
したがって、いくつかの態様では、本開示は、活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡ、及び必要に応じて、対象において活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡ、を含む脂質ナノ粒子などの脂質ベースの組成物を含む免疫調節治療組成物を提供し、ここで、この免疫応答は細胞性または体液性免疫を含む。
【０１３３】
一態様では、本開示は、結腸直腸癌、膵臓癌、及び非小細胞肺癌のいずれか１つを有する患者を処置し得る、４個の異なる活性化がん遺伝子変異ペプチド（例えば、ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ｖ及びＧ１３Ｄ）を含む免疫調節治療組成物を提供する。４個の異なる変異及び３つの異なるがんを標的とする能力は、本明細書に提供される組成物及び方法の大きな利点である。
【０１３４】
対象における活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡはまた、本明細書において、「免疫増強剤ｍＲＮＡ」もしくは「免疫増強剤をコードするｍＲＮＡ」、または単に「免疫増強剤」とも呼ばれる。増強された免疫応答は、細胞性応答、体液性応答、またはその両方であり得る。本明細書中で使用される場合、「細胞性」免疫応答とは、Ｔ細胞を含むかまたはそれによって媒介される免疫応答を包含することを意図しており、一方、「体液性」免疫応答とは、Ｂ細胞を含むかまたはそれによって媒介される免疫応答を包含することを意図する。免疫増強剤をコードするｍＲＮＡは、例えば、以下によって免疫応答を増強し得る、
（ｉ）Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激すること；
（ｉｉ）ＮＦκＢ経路シグナル伝達を刺激すること；
（ｉｉｉ）炎症反応を刺激すること；
（ｉｖ）サイトカイン産生を刺激すること；または
（ｖ）樹状細胞の発達、活性または動員を刺激すること；及び
（ｖｉ）（ｉ）～（ｖ）のいずれかの組み合わせ。
【０１３５】
本明細書で使用される場合、「Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激すること」とは、Ｉ型インターフェロンシグナル伝達経路の１つ以上の構成要素の活性化（例えば、そのような構成要素のリン酸化、二量体化などの改変であって、それによって経路を活性化するための改変）、インターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ）からの転写の刺激、及び／またはＩ型インターフェロン（例えば、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－ε、ＩＦＮ－κ及び／またはＩＦＮ－ω）の産生もしくは分泌の刺激を包含するものとする。本明細書中で使用される場合、「ＮＦκＢ経路シグナル伝達を刺激すること」とは、ＮＦκＢシグナル伝達経路の１つ以上の構成要素の活性化（例えば、そのような構成要素のリン酸化、二量体化などの改変であって、それによって経路を活性化するための改変）、ＮＦκＢ部位からの転写を刺激すること、及び／またはその発現がＮＦκＢによって調節される遺伝子産物の産生を刺激することを包含するものとする。本明細書中で使用される場合、「炎症反応を刺激すること」とは、炎症性サイトカイン（限定するものではないが、Ｉ型インターフェロン、ＩＬ－６及び／またはＴＮＦαを含む）の産生を刺激することを包含するものとする。本明細書中で使用される場合、「樹状細胞の発達、活性または動員を刺激すること」とは、樹状細胞の成熟、増殖及び／または機能的活性を直接的または間接的に刺激することを包含するものとする。
【０１３６】
本開示は、本明細書では免疫増強剤ｍＲＮＡ（複数可）と呼び、化学修飾ｍＲＮＡ（ｍｍＲＮＡ）を含む、活性化がん遺伝子変異ペプチド（本明細書で「目的の抗原」とも呼ばれる）に対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードする１つ以上のｍＲＮＡ構築物を含むｍＲＮＡ組成物及び／またはそれを含む脂質ナノ粒子を含む組成物を提供する。本

開示の免疫増強剤ｍＲＮＡは、例えば、目的の抗原（すなわち、活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可））に対する抗原特異的応答を刺激するように、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を活性化することによって免疫応答を増強する。

【０１３７】

本開示の免疫増強剤ｍＲＮＡは、免疫増強剤ｍＲＮＡ（例えば、免疫増強剤ｍＲＮＡと同時処方され同時投与される活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可）をコードするｍＲＮＡ構築物、または免疫増強剤ｍＲＮＡとは別に処方され投与される活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可）をコードするｍＲＮＡ構築物）と共に対象に投与される外因性抗原に対する免疫応答を増強する。免疫増強剤ｍＲＮＡの投与は、例えばサイトカイン産生、Ｔ細胞応答（例えば、抗原特異的ＣＤ８$^{+}$またはＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞応答）またはＢ細胞応答（例えば、抗原特異的抗体産生）を対象において刺激することにより対象における免疫応答を増強する。

【０１３８】

他の態様では、本開示は、１つ以上のｍＲＮＡ構築物（例えば、１つ以上のｍＲＮＡ構築物）を含む、ｍＲＮＡ組成物及び脂質ナノ粒子を含む組成物を提供し、ここでこの１つ以上のｍＲＮＡ構築物は、活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可）をコードし、同じまたは別のｍＲＮＡ構築物において、目的の抗原に対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードする。いくつかの態様において、本開示は、単独で、または活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可）をコードするｍＲＮＡと組み合わせて、免疫応答を増強する免疫増強剤ｍＲＮＡを含むナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子を提供する。本開示はまた、本明細書に記載の任意のｍＲＮＡまたはナノ粒子、例えば、本明細書に記載の任意のｍＲＮＡを含む脂質ナノ粒子を含む薬学的組成物を提供する。

【０１３９】

他の態様では、本開示は、活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可）に対する免疫応答がその対象において増強されるように、活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可）をコードする１つ以上のｍＲＮＡ及び目的のペプチド（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡ、またはその脂質ナノ粒子、またはその薬学的組成物を対象に投与することによって活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可）に対する免疫応答を増強するための方法を提供する。免疫応答を増強する方法を使用して、例えば、対象における腫瘍に対する免疫原性応答を刺激してもよい。

【０１４０】

目的のがん抗原

本開示の免疫増強剤ｍＲＮＡは、免疫応答の増強が望まれる任意の種類の抗原と組み合わせて有用であり、これには、腫瘍抗原などの目的の抗原に対する免疫応答を増強するために（同一または別々のｍＲＮＡ構築物上の）少なくとも１つの目的の抗原をコードするｍＲＮＡ配列が含まれる。したがって、本開示の免疫増強剤ｍＲＮＡは、例えば、ｍＲＮＡワクチン応答を増強し、それによって遺伝的アジュバントとして作用する。

【０１４１】

がん遺伝子変異ペプチドの活性化

一実施形態では、目的の抗原（複数可）は腫瘍抗原である。一実施形態では、腫瘍抗原は腫瘍ネオエピトープ、例えば、腫瘍抗原由来の変異体ペプチドを含む。一実施形態では、腫瘍抗原はＲａｓ抗原である。がんにおけるＲａｓ変異の包括的な調査は当技術分野において記載されている（Ｐｒｉｏｒ，Ｉ．Ａ．ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．７２：２４５７－２４６７）。したがって、がんに関連する少なくとも１つの突然変異を含むＲａｓアミノ酸配列は、目的の抗原として使用され得る。一実施形態では、腫瘍抗原は変異体ＫＲＡＳ抗原である。変異体ＫＲＡＳ抗原は、特定の治療剤に対する獲得耐性に関係している（例えば、Ｍｉｓａｌｅ，Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｎａｔｕｒｅ　４８６：５３２－５３６；Ｄｉａｚ，Ｌ．Ａ．ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｎａｔｕｒｅ　４８６：５３７－５４０を参照のこと）。

【０１４２】

ｍＲＮＡ組成物を含む機能的免疫調節治療組成物を製造する試みがなされてきたが、これらのＲＮＡ組成物の治療効果はまだ完全には確立されていない。非常に驚くべきことに、本発明者らは、Ｔ細胞応答の増強を含む、有意に増強された、そして多くの点で相乗的な免疫応答をもたらすｍＲＮＡ免疫調節治療組成物を送達するためのあるクラスの製剤を発見した。ＫＲＡＳは、ヒトのがんにおいて最も頻繁に変異するがん遺伝子である（約１５％）。このようなＫＲＡＳ変異は、ほとんどの場合少数の「ホットスポット」に保存されており、がん遺伝子を活性化する。

【０１４３】

本発明の免疫調節治療組成物は、ＫＲＡＳ変異ペプチドなどの活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む。以前の研究では、がん遺伝子変異に特異的なＴ細胞を惹起する能力が限られていることが示されていた。この研究の多くは、最も一般的なＨＬＡ対立遺伝子（Ａ２、白人の約５０％で発生）という状況で行った。より最近の研究は、あまり一般的でないＨＬＡ対立遺伝子の状況における点突然変異に対する特異的Ｔ細胞の生成を探究した（Ａ１１、Ｃ８）。これらの所見は、がんの処置に重要な意味を有する。がん遺伝子変異は、多くのがんに共通している。これらの突然変異を標的としそして腫瘍を殺すのに十分であるＴ細胞を生成する能力は、がん治療への広い適用性を有する。ｍＲＮＡを用いた抗原の送達がペプチドワクチンの送達に対してそのような有意な利点を有することは極めて驚くべきことである。したがって、本発明は、いくつかの態様では、インビボでｍＲＮＡの形態で送達される発がん性変異抗原を活性化することがＴ細胞エフェクターの生成及び記憶応答を有意に増強するという驚くべき発見に関与する。

【０１４４】

ＨＬＡクラスＩ分子は、２本のポリペプチド鎖（重鎖及び軽鎖）から構成される高度に多型の膜貫通型糖タンパク質である。ヒト白血球抗原、ヒトにおける主要組織適合遺伝子複合体は、各個体に特異的であり、そして遺伝的特徴を有する。クラスＩ重鎖は、３つの遺伝子（ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ及びＨＬＡ－Ｃ）によってコードされている。ＨＬＡクラスＩ分子は、内因性抗原をＴリンパ球に提示することによって免疫応答を確立するために重要であり、Ｔリンパ球が細胞傷害性Ｔ細胞による腫瘍細胞の排除をもたらす一連の免疫反応を開始させる。ＨＬＡクラスＩ抗原の産生レベルの変化は、悪性腫瘍において広く見られる現象であり、抗腫瘍Ｔ細胞機能の有意な阻害を伴う。それは免疫監視を回避するためにがん細胞によって使用される主要な機構の１つに相当する。ダウンレギュレートされたレベルのＨＬＡクラスＩ抗原が９０％のＮＳＣＬＣ腫瘍において検出された（ｎ＝６５）。ＨＬＡの減少または喪失は、７６％の膵臓腫瘍試料において検出された（ｎ＝１９）。結腸癌におけるＨＬＡクラスＩ抗原の発現は、腫瘍試料の９６％において劇的に減少したかまたは検出不可能であった（ｎ＝２５）。

【０１４５】

多くの証拠によって、免疫監視を回避するために腫瘍細胞によって利用される２つの一般的な戦略、すなわち免疫選択（免疫原性の低い腫瘍細胞バリアント）及び免疫破壊（ｉｍｍｕｎｏｓｕｂｖｅｒｓｉｏｎ）（免疫系の破壊）が示唆されている。ＨＬＡクラスＩ抗原の変化とＫＲＡＳコドン１２突然変異の存在との間の相関関係が証明されており、それはがん進行におけるＨＬＡクラスＩ抗原調節に対するＫＲＡＳコドン１２変異の可能な誘導効果を示唆している。多くの頻繁ながん変異は、ＨＬＡクラスＩ対立遺伝子を高親和性（ＩＣ　５０　＜＝　５０ｎｍ）７で結合すると予測され、予防的がんワクチン接種に適している場合がある。

【０１４６】

免疫調節治療開発において標的ポリペプチド配列に対して所望の免疫応答（例えば、Ｔ細胞応答）を誘発するがん抗原の生成は、依然として困難な課題である。本発明は、そのような開発に関連したハードルを克服するための技術を含む。本発明の技術の使用を通して、適切な活性化がん遺伝子変異ペプチドを選択し、そしてインビボでの有効な送達のためにペプチドをコードするｍＲＮＡを処方することによって所望の免疫応答を誘発することが可能である。

【０１４７】
免疫調節治療組成物は、ペプチドベースのワクチンまたはＤＮＡワクチンに対する独自の治療的代替物を提供する。ｍＲＮＡ含有免疫調節治療組成物が細胞に送達されると、ｍＲＮＡは、細胞内機構によってポリペプチドに翻訳され、次いでこれはポリペプチドをＭＤＣ上に提示され得、腫瘍に対する免疫応答を刺激し得る感受性断片にプロセシングし得る。

【０１４８】
本明細書に記載の免疫調節治療組成物は、少なくとも１つのがん抗原ポリペプチドまたはその免疫原性断片（例えば、がんに対する免疫応答を誘導し得る免疫原性断片）をコードするオープンリーディングフレームを有する少なくとも１つのリボ核酸（ＲＮＡ）ポリヌクレオチドを含む。この抗原性ペプチドは、活性化がん遺伝子変異を含む。いくつかの好ましい態様では、この組成物は活性化がん遺伝子変異の混合物の複数のエピトープである。多くの活性化がん遺伝子変異が当技術分野において公知である。

【０１４９】
がん遺伝子が活性化されると、それらはプログラムされた細胞死を阻害するか、及び／または異常な細胞増殖を引き起こし得る。このようながん遺伝子の活性化は、がんを引き起こし得る。ＫＲＡＳ遺伝子（Ｋｉ－ｒａｓ２キルステン（Ｋｉｒｓｔｅｎ）ラット肉腫ウイルスがん遺伝子相同体）は、小型ＧＴＰアーゼトランスダクタータンパク質をコードするがん遺伝子である。ＫＲＡＳは外部シグナルを細胞核に中継し、細胞分裂の調節に寄与する。ＫＲＡＳ遺伝子における活性化突然変異は、ＫＲＡＳタンパク質が活性状態と不活性状態との間で切り替わる能力を損なう。ＫＲＡＳ活性化は、細胞の形質転換、ならびに上皮成長因子受容体を標的とする化学療法及び生物学的療法に対する耐性の増大をもたらす。（Ｊａｎｃｉｋ，Ｓｙｌｗｉａ ｅｔ ａｌ．Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｒｅｌｅｖａｎｃｅ ｏｆ ＫＲＡＳ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｃａｎｃｅｒｓ，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｍｅｄｉｃｉｎｅ ａｎｄ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌｕｍｅ ２０１０ Ａｒｔｉｃｌｅ ＩＤ １５０９６０（２０１０））。ヒトＫＲＡＳアミノ酸配列は、以下に提供される（ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ Ｐ０１１１６）。ＫＲＡＳ変異は、多くのがんに共通しており、Ｇ１２は最も一般的なＫＲＡＳ変異の部位である。

【０１５０】
＞ｓｐ｜Ｐ０１１１６｜１－１８６
ＭＴＥＹＫＬＶＶＶＧＡＧＧＶＧＫＳＡＬＴＩＱＬＩＱＮＨＦＶＤＥＹＤＰＴＩＥＤＳＹＲＫＱＶＶＩＤＧＥＴＣＬＬＤＩＬＤＴＡＧＱＥＥＹＳＡＭＲＤＱＹＭＲＴＧＥＧＦＬＣＶＦＡＩＮＮＴＫＳＦＥＤＩＨＨＹＲＥＱＩＫＲＶＫＤＳＥＤＶＰＭＶＬＶＧＮＫＣＤＬＰＳＲＴＶＤＴＫＱＡＱＤＬＡＲＳＹＧＩＰＦＩＥＴＳＡＫＴＲＱＲＶＥＤＡＦＹＴＬＶＲＥＩＲＱＹＲＬＫＫＩＳＫＥＥＫＴＰＧＣＶＫＩＫＫＣ （配列番号１６６）

【０１５１】
変異体Ｎ－ＲＡＳタンパク質は、特定の種のがんにおいて非常に広がっており、がんワクチンとして有用である。例えば、２９％の皮膚黒色腫は、ＲＡＳ突然変異を含み、その９４％はＮ－ＲＡＳ起源のものである。これは、黒色腫による死亡の大部分を占める最も攻撃型の黒色腫の年間約２，５００件の新しい米国の症例を表している。（Ｃｈａｎｎｉｎｇ Ｄｅｒ，Ａｒｅ Ａｌｌ ＲＡＳ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ Ｃｒｅａｔｅｄ Ｅｑｕａｌ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ？，Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ ２２，２０１４，ｃａｎｃｅｒ．ｇｏｖ）。多発性骨髄腫の新しい症例は年間３０，２８０件あり、そのうち２６％がＮＲＡＳ＊である。これは年間約６，１００の新しいＮＲＡＳ＊症例に相当する。したがって、本明細書に記載のＮ－Ｒａｓワクチンは、黒色腫及び多発性骨髄腫、ならびにＮＲＡＳ変異を保有する他の悪性腫瘍の処置におけるいくつかの実施形態では有用である。

【０１５２】
したがって、いくつかの態様では、本発明は、ミスセンスＳＮＶに限定されず、しばしば治療的ワクチン接種の標的として使用するための選択的スプライシングをもたらす、１つ以上のがん遺伝子における特定の活性化変異から生じるペプチド配列をコードするｍＲ

ＮＡを提供する。いくつかの実施形態では、活性化がん遺伝子変異は、ＫＲＡＳ変異である。いくつかの実施形態では、ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２変異である。いくつかの実施形態では、Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、及びＧ１２Ｒ　ＫＲＡＳ変異から選択され、例えば、Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｓ　ＫＲＡＳ変異から選択される。いくつかの実施形態では、Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｃ　ＫＲＡＳ変異から選択される。他の実施形態では、ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１３変異であり、例えばＧ１３　ＫＲＡＳ変異は、Ｇ１３Ｄ　ＫＲＡＳ変異である。いくつかの実施形態では、活性化がん遺伝子変異は、Ｈ－ＲＡＳまたは Ｎ－ＲＡＳ変異である。

【０１５３】

一実施形態では、１つ以上のｍＲＮＡは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃから選択される１つ以上の変異、ならびにそれらの組み合わせを有するアミノ酸配列を含む変異ＫＲＡＳペプチド（複数可）をコードする。変異ＫＲＡＳ抗原の非限定的な例としては、配列番号３６～４１及び７２、１２５に示されるアミノ酸配列のうちの１つ以上を含む抗原が挙げられる。

【０１５４】

Ｇ１２ＤまたはＧ１２Ｖ変異に特異的なＣＤ８＋Ｔ細胞は、ＨＬＡ－Ａ＊０２：０１、Ａ＊０３：０１；－Ａ＊１１：０１、－Ｂ＊３５：０１、－Ｃｗ＊０８：０２及び可能性としてはその他によって拘束され得る。したがって、いくつかの実施形態では、ＫＲＡＳ変異は、ＨＬＡ－Ａ＊０２：０１、Ａ＊０３：０１；－Ａ＊１１：０１、－Ｂ＊３５：０１、または－Ｃｗ＊０８：０２によって拘束されるＴ細胞を有する対象のための免疫調節治療組成物に含めるために選択される。いくつかの実施形態では、この対象は、ＨＬＡ－Ａ＊０２：０１拘束性のＴ細胞を有する。

【０１５５】

一実施形態では、変異体ＫＲＡＳ抗原は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃから選択される変異を含む１つ以上の変異体ＫＲＡＳ　１５量体ペプチドであり、それらの非限定的な例は、配列番号３６～３８及び１２５に示される。

【０１５６】

別の実施形態では、変異体ＫＲＡＳ抗原は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃから選択される変異を含む１つ以上の変異体ＫＲＡＳ　２５量体ペプチドであり、それらの非限定的な例は、配列番号３９～４１及び７２に示される。

【０１５７】

別の実施形態では、変異体ＫＲＡＳ抗原は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃから選択される変異を含む１つ以上の変異体ＫＲＡＳ　３×１５量体ペプチド（１５量体ペプチドの３コピー）であり、その非限定的な例を配列番号４２～４４及び１８３に示す。

【０１５８】

別の実施形態では、変異体ＫＲＡＳ抗原は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃから選択される変異を含む１つ以上の変異体ＫＲＡＳ　３×２５量体ペプチド（２５量体ペプチドの３つのコピー）であり、それらの非限定的な例を配列番号４５～４７及び７３に示す。

【０１５９】

別の実施形態では、変異体ＫＲＡＳ抗原は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃの変異を含む２５量体ペプチドの１００量体コンカテマーペプチド（すなわち、配列番号３９、４０、４１及び７２の１００量体コンカテマー）である。したがって、一実施形態では、変異ＫＲＡＳ抗原は、配列番号３９、４０、４１及び７２をコードするｍＲＮＡ構築物を含む。Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃの変異体を含むペプチドのコンカテマーをコードするヌクレオチド配列の非限定的な例としては、配列番号１３８、配列番号１６７及び配列番号１６９が挙げられる。変異体ＫＲＡＳ抗原、そのアミノ酸配列、及びそれをコードするｍＲＮＡ配列のさらなる説明は、その全体の内容が、参照により

本明細書に明確に組み込まれている米国特許出願公開第６２／４５３，４６５号に開示される。

【０１６０】

本開示のいくつかの実施形態は、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡを含む免疫調節治療組成物を提供する。いくつかの実施形態では、少なくとも２つのペプチドエピトープは、単一のグリシンによって互いに分離されている。いくつかの実施形態では、このコンカテマーは、３～１０個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む。いくつかのそのような実施形態では、全てのペプチドエピトープは、単一のグリシンによって互いに分離されている。他の実施形態では、少なくとも２つのペプチドエピトープがリンカーなしで互いに直接結合されている。

【０１６１】

一実施形態では、腫瘍抗原は、免疫増強剤も含む（すなわち、腫瘍抗原に対する免疫応答を増強するポリペプチドもコードする）ｍＲＮＡ構築物によってコードされる。そのような構築物の非限定的な例としては、配列番号４８～７１に示されるアミノ酸配列の１つをコードするＫＲＡＳ－ＳＴＩＮＧ構築物が挙げられる。ＫＲＡＳ－ＳＴＩＮＧ構築物をコードするヌクレオチド配列の非限定的な例は、配列番号１６０～１６３及び２２１～２２４に示される。

【０１６２】

本開示は、免疫調節治療組成物を提供し、これは、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ（ここで、このコンカテマーは、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む）；及びＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡのような、対象におけるＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡ、を含む。そのような免疫調節組成物は、ＫＲＡＳの体細胞点突然変異を標的とし、これは、極めて特異的な腫瘍ネオ抗原だけでなく、様々な悪性腫瘍における有意な発がん性ドライバー変異も構成する。主にパッセンジャー変異である多くのネオ抗原とは異なり、ＫＲＡＳ変異体の発現の維持は、がん細胞の生存にとって重要である。なぜなら、その発現の維持は、異常な細胞増殖を促進するのに役立ち、トランケート事象（ｔｒｕｎｃａｌ　ｅｖｅｎｔ）（初期イベント、したがって多くの腫瘍細胞に存在する）と考えられるからである。

【０１６３】

ＳＴＩＮＧの免疫増強能を調べる、本明細書に記載の前臨床試験においてＫＲＡＳ変異抗原をモデル化するために、２つのモデル抗原を選択した：（１）ＨＰＶ　Ｅ６及びＥ７、ならびに（２）マウス細胞株ＭＣ３８で見出される３つの遺伝子由来の３つの点突然変異のＡＤＲコンカテマー。これらの抗原は、多くの理由からＫＲＡＳ変異抗原の適切なモデルである。例えば、ＨＰＶ　Ｅ６及びＥ７は、変異ＫＲＡＳのように、その発現が形質転換表現型にとって重要であるウイルス発がんタンパク質である。したがって、ＨＰＶ　Ｅ６及びＥ７は、変異ＫＲＡＳと同様に、それらが発がん性ドライバーであるため、適切なモデル抗原である。対照的に、３つのＡＤＲ変異体エピトープは、それらが最も可能性のあるパッセンジャー変異であるという点でステレオタイプのネオ抗原である。しかし、ＡＤＲは、以下の点で、我々のワクチンによってコードされているＫＲＡＳ抗原の他の特性をより効果的にモデル化する：（１）各抗原は、ウイルス抗原よりも免疫系によって「非自己」として認識するのがより困難である可能性が高い野生型の対応物と比較して単一のミスセンス変異を含み、そして（２）それらはコンカテマー化されている。

【０１６４】

本開示の免疫調節治療組成物は、１つ以上のがん抗原を含んでもよい。いくつかの実施形態では、この免疫調節治療組成物は、２つ以上、３つ以上、４つ以上、５つ以上、６つ以上、７つ以上、８つ以上、９つ以上の抗原、例えば、活性化がん遺伝子変異ペプチドか

ら構成される。他の実施形態では、免疫調節治療組成物は、１０００以下、９００以下、５００以下、１００以下、７５以下、５０以下、４０以下、３０以下、２０以下、または１００以下のがん抗原、例えば、活性化がん遺伝子変異ペプチドから構成される。さらに他の実施形態では、この免疫調節治療組成物は、３～１０、３～１００、５～１００、１０～１００、１５～１００、２０～１００、２５～１００、３０～１００、３５～１００、４０～１００、４５～１００、５０～１００、５５～１００、６０～１００、６５～１００、７０～１００、７５～１００、８０～１００、９０～１００、５～５０、１０～５０、１５～５０、２０～５０、２５～５０、３０～５０、３５～５０、４０～５０、４５～５０、１００～１５０、１００～２００、１００～３００、１００～４００、１００～５００、５０～５００、５０～８００、５０～１，０００、または１００～１，０００のがん抗原、例えば、活性化がん遺伝子変異ペプチドを有する。

【０１６５】

本明細書中で使用される場合、抗原決定基としても知られるエピトープは、適切な文脈において免疫系によって、具体的には抗体、Ｂ細胞、またはＴ細胞によって認識される抗原の一部である。エピトープとしては、Ｂ細胞エピトープ及びＴ細胞エピトープが挙げられる。Ｂ細胞エピトープは、特異的抗体産生Ｂ細胞による認識に必要とされるペプチド配列である。Ｂ細胞エピトープは、抗体によって認識される抗原の特定の領域を指す。エピトープに結合する抗体の部分は、パラトープと呼ばれる。エピトープは、構造及びパラトープとの相互作用に基づいて、立体配座エピトープであってもよいし、または線状エピトープであってもよい。直鎖状または連続的なエピトープは、タンパク質の特定の領域の一次アミノ酸配列によって定義される。抗体と相互作用する配列は、タンパク質上で連続して互いに隣接して位置しており、エピトープは、通常単一のペプチドによって模倣され得る。立体配座エピトープは、天然タンパク質の立体配座構造によって定義されるエピトープである。これらのエピトープは、連続的であってもまたは不連続的であってもよく、すなわちエピトープの構成要素は、折り畳まれた天然タンパク質構造において互いに接近しているタンパク質の異なる部分に位置されてもよい。

【０１６６】

Ｔ細胞エピトープは、ＡＰＣ上のタンパク質と関連して、特異的Ｔ細胞による認識に必要とされるペプチド配列である。Ｔ細胞エピトープは、細胞内でプロセシングされ、ＡＰＣの表面に提示され、そこでそれらは、ＭＨＣクラスＩＩ及びＭＨＣクラスＩを含むＭＨＣ分子に結合される。ペプチドエピトープは、エピトープにとって妥当な任意の長さであり得る。いくつかの実施形態では、ペプチドエピトープは、９～３０アミノ酸である。他の実施形態では、長さは９～２２、９～２９、９～２８、９～２７、９～２６、９～２５、９～２４、９～２３、９～２１、９～２０、９～１９、９～１８、１０～２２、１０～２１、１０～２０、１１～２２、２２～２１、１１～２０、１２～２２、１２～２１、１２～２０、１３～２２、１３～２１、１３～２０、１４～１９、１５～１８、または１６～１７アミノ酸である。

【０１６７】

いくつかの実施形態では、免疫調節治療組成物は、時には、記憶抗原とも呼ばれる、リコール抗原を含んでもよい。リコール抗原とは、以前に個人が遭遇したことがあり、そのために既存の記憶リンパ球がある抗原である。いくつかの実施形態では、リコール抗原は、個体が遭遇した可能性がある、インフルエンザ抗原などの感染性疾患抗原であってもよい。リコール抗原は、より強固な免疫応答を促進することを助ける。

【０１６８】

治療用ｍＲＮＡは、単独で、または腫瘍に対して免疫応答を有意に増強するためのチェックポイント阻害剤などの他のがん治療薬と組み合わせて送達され得る。このチエックポイント阻害剤は、免疫応答を促進することのいくつかの障害を排除することによって活性化がん遺伝子ペプチドをコードするｍＲＮＡの効果を増強し、これによって、活性化Ｔ細胞が腫瘍に対する免疫応答を効率的に促進することを可能にする。

【０１６９】

ｍＲＮＡは、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）のような担体の形態で対象に送達され得る。多数のＬＮＰが当該分野で公知である。例えば、動物モデル及びヒトにおいて様々なｓｉＲＮＡを送達するために以前に使用されたものなどのいくつかのＬＮＰは、一過性のＩｇＭ反応に関連した望ましくない炎症反応を引き起こすことが観察されており、典型的には抗原産生の減少及び免疫反応の障害を招く。ｓｉＲＮＡで観察される知見とは対照的に、一過性のＩｇＭ反応を促進するのではなく治療方法に十分なＴ細胞応答を生じる、脂質ナノ粒子ｍＲＮＡ免疫調節治療組成物が本明細書で提供される。本明細書に記載されるＬＮＰはリポソームではない。本明細書で使用されるリポソームは、コアで核酸ペイロードを有する単純な脂質二重層シェルを有する脂質ベースの構造である。

【０１７０】

目的の抗原（複数可）をコードするｍＲＮＡ構築物は、典型的には、抗原をコードする配列に加えて、ｍＲＮＡ構築物について本明細書に記載されるような他の構造特性（例えば、本明細書に記載の修飾核酸塩基、５’キャップ、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、ｍｉＲ結合部位（複数可）、ポリＡテール）を含む。適切なｍＲＮＡ構築物構成要素は、本明細書に記載のとおりである。

【０１７１】

個別化されたがん抗原－ネオエピトープ

がん抗原は、個別化されたがん抗原であってもよい。個別化された免疫調節治療組成物は、例えば、ネオエピトープまたは対象特異的エピトープもしくは抗原と呼ばれる、１つ以上の公知の、腫瘍に特異的ながん抗原、または各対象に特異的ながん抗原をコードするＲＮＡを含んでもよい。「対象特異的がん抗原」は、特定の患者の腫瘍において発現されると同定された抗原である。対象特異的がん抗原は、一般に腫瘍試料中に通常存在してもよいし、しなくてもよい。非癌性細胞において発現されないかもしくはほとんど発現されないか、または非癌性細胞における発現が癌性細胞における発現と比較して十分に減少し、ワクチン接種時に誘導される免疫応答を誘導する、腫瘍関連抗原は、ネオエピトープと呼ばれる。ネオエピトープは、腫瘍関連抗原と同様に、体に対して完全に外来性であり、したがって健康な組織に対して免疫応答を生じさせることもなく、免疫系の保護構成要素によって隠されることもないであろう。いくつかの実施形態では、ネオエピトープに基づく個別化免疫調節治療組成物は、そのようなワクチン製剤が患者の特定の腫瘍に対する特異性を最大にするので望ましい。変異由来のネオエピトープは、点突然変異、タンパク質中の異なるアミノ酸をもたらす非同義的変異；終止コドンが修飾または欠失され、Ｃ末端に新規の腫瘍特異的配列を有する、さらに長いタンパク質の翻訳をもたらすリードスルー変異；成熟ｍＲＮＡにイントロンが含まれるようにするスプライス部位変異、したがってユニークな腫瘍特異的タンパク質配列；２つのタンパク質の接合部に腫瘍特異的配列を有するキメラタンパク質を生じさせる染色体再配列（すなわち、遺伝子融合）；新規の腫瘍特異的タンパク質配列を有する新しいオープンリーディングフレームをもたらすフレームシフト変異または欠失；ならびに転座から生じ得る。したがって、いくつかの実施形態では、免疫調節治療組成物は、フレームシフト変異及び組換え、または本明細書に記載の任意の他の変異からなる群より選択される変異を含む少なくとも１つのがん抗原を含む。

【０１７２】

個別化された免疫調節治療組成物を生成するための方法は、一般に、例えば、ディープ核酸またはタンパク質シーケンシング技術を用いた変異の同定、例えば、検証ペプチド－ＭＨＣ結合予測アルゴリズムの適用を用いたネオエピトープの同定、または患者のＨＬＡ対立遺伝子に結合し得る候補Ｔ細胞エピトープのセットを作製するための他の分析技術を含み、腫瘍に存在する変異、選択されたネオエピトープに対する抗原特異的Ｔ細胞の任意の証明、または腫瘍表面上のＨＬＡタンパク質に候補ネオエピトープが結合するという実証、及びワクチンの開発に基づく。本発明の免疫調節治療組成物は、単一のネオコピーの複数コピー、単一タイプの変異に基づく複数の異なるネオエピトープ、すなわち点突然変異、種々の変異タイプに基づく複数の異なるネオエピトープ、ネオエピトープ及び他の抗原、例えば、腫瘍関連抗原またはリコール抗原を含んでもよい。

【０１７３】
変異を同定するための技術の例としては、限定するものではないが、動的対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション（ＤＡＳＨ）、マイクロプレートアレイ対角ゲル電気泳動（ＭＡＤＧＥ）、パイロシーケンシング、オリゴヌクレオチド特異的ライゲーション、ＴａｑＭａｎシステム、ならびに様々なＤＮＡ「チップ」技術、すなわち、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　ＳＮＰチップ、ならびに侵襲的開裂とそれに続く質量分析または固定化パドロックプローブ及びローリングサークル増幅による小シグナル分子の生成に基づく方法が挙げられる。
【０１７４】
ディープ核酸またはタンパク質シーケンシング技術は、当該技術分野において公知である。任意の種類の配列分析方法を使用してもよい。核酸配列決定は、全腫瘍ゲノム、腫瘍エキソーム（タンパク質をコードするＤＮＡ）、腫瘍トランスクリプトーム、またはエキソソームに対して行われ得る。リアルタイム単一分子合成による配列決定技術は、それらが配列決定されている鋳型に相補的である新生ＤＮＡ鎖に組み込まれるので、蛍光ヌクレオチドの検出に依存する。他の迅速なハイスループット配列決定法もまた存在する。タンパク質配列決定を、腫瘍プロテオームに対して行ってもよい。さらに、タンパク質質量分析法を用いて、腫瘍細胞上のＭＨＣタンパク質に結合した変異ペプチドの存在を同定するか、または確認してもよい。ペプチドは、腫瘍細胞から、または腫瘍細胞から免疫沈降するＨＬＡ分子から酸溶出され得、次いで質量分析法を用いて同定され得る。配列決定の結果は、既知の対照セットと比較されてもよく、または患者の正常組織に対して行われた配列決定分析と比較されてもよい。
【０１７５】
したがって、本発明は、Ｔ細胞エピトープなどの抗原のネオエピトープを同定及び／または検出する方法に関する。具体的には、本発明は、対象において腫瘍特異的免疫応答を誘導するのに有用な腫瘍特異的ネオエピトープを同定及び／または検出する方法を提供する。必要に応じて、これらのネオエピトープは、野生型ペプチドよりも高い親和性でクラスＩ　ＨＬＡタンパク質に結合するか、及び／または抗腫瘍ＣＤ８Ｔ細胞を活性化し得る。任意の特定の遺伝子における同一の変異は、腫瘍全体にまれに見出される。
【０１７６】
ＭＨＣクラスＩのタンパク質は、ほとんどの腫瘍細胞を含む身体のほとんど全ての細胞の表面に存在する。ＭＨＣクラスＩのタンパク質は、通常、内因性タンパク質または細胞内に存在する病原体に由来する抗原を負荷され、そして次に細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）に提示される。Ｔ細胞受容体は、ＭＨＣクラスＩの分子と複合体を形成したペプチドを認識し、結合し得る。各細胞傷害性Ｔリンパ球は、特異的なＭＨＣ／ペプチド複合体を結合し得る固有のＴ細胞受容体を発現する。
【０１７７】
コンピュータアルゴリズムを使用して、ペプチド提示複合体の形態でクラスＩまたはクラスＩＩのＭＨＣ分子によって結合され、次いでこの形態で、Ｔリンパ球のＴ細胞受容体によって認識される、Ｔ細胞エピトープ、すなわちペプチド配列などの潜在的ネオエピトープを予測し得る。ＭＨＣに結合するペプチドを同定するのに有用なプログラムの例としては、例えば、以下が挙げられる：Ｌｏｎｚａ　Ｅｐｉｂａｓｅ，ＳＹＦＰＥＩＴＨＩ（Ｒａｍｍｅｎｓｅｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ，５０（１９９９），２１３～２１９）及びＨＬＡ＿ＢＩＮＤ（Ｐａｒｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５２（１９９４）、１６３－１７５）。
【０１７８】
推定ネオエピトープが選択されると、それらはインビトロ及び／またはインビボアッセイを用いてさらに試験されてもよい。アルゴリズムの予測に基づいて選択されたネオエピトープのリストを改良するために、Ｅｌｉｓｐｏｔアッセイなどの従来のインビトロ実験室アッセイを、各患者からの単離物と共に使用してもよい。ネオエピトープワクチン、その使用方法及び調製方法は全て、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるＰＣＴ

／ＵＳ２０１６／０４４９１８に記載されている。
【０１７９】
内因性腫瘍抗原
別の実施形態では、腫瘍抗原は、インサイチュでの腫瘍細胞の破壊時に放出される腫瘍抗原などの内因性腫瘍抗原である。免疫応答が細胞内構成要素に対して刺激され得るように、細胞内構成要素の放出をもたらすインビボでの細胞死をもたらす天然の機構が存在することが当該技術分野において確認されている。そのような機構は、本明細書において免疫原性細胞死と呼ばれ、そしてネクロトーシス及びパイロトーシスを含む。したがって、一実施形態では、本開示の免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、内因性免疫原性細胞死が生じてその結果１つ以上の内因性腫瘍抗原が放出され、それによって腫瘍抗原に対する免疫応答を増強するような条件下で腫瘍を有する対象に投与される。一実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、対象における腫瘍細胞の免疫原性細胞死を刺激する「実行型ｍＲＮＡ構築物」をコードする第２のｍＲＮＡ構築物と共に腫瘍を有する対象に投与される。実行型ｍＲＮＡ構築物の例としては、ＭＬＫＬ、ＲＩＰＫ３、ＲＩＰＫ１、ＤＩＡＢＬＯ、ＦＡＤＤ、ＧＳＤＭＤ、カスパーゼ－４、カスパーゼ－５、カスパーゼ－１１、Ｐｙｒｉｎ、ＮＬＲＰ３及びＡＳＣ／ＰＹＣＡＲＤをコードする構築物が挙げられる。実行型ｍＲＮＡ構築物、及び免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と組み合わせたそれらの使用は、その全内容が参照により本明細書に明確に組み込まれる米国特許出願第６２／４１２，９３３号にさらに詳細に記載されている。
【０１８０】
がん抗原の特徴
免疫調節治療組成物に含めるために選択される活性化がん遺伝子変異ペプチドは、通常、高親和性結合ペプチドである。いくつかの態様において、活性化がん遺伝子変異ペプチドは、野生型ペプチドよりも高い親和性でＨＬＡタンパク質に結合する。活性化がん遺伝子変異ペプチドは、いくつかの実施形態では、少なくとも５０００ｎＭ未満、少なくとも５００ｎＭ未満、少なくとも２５０ｎＭ未満、少なくとも２００ｎＭ未満、少なくとも１５０ｎＭ未満、少なくとも１００ｎＭ未満、少なくとも少なくとも５０ｎＭ未満のＩＣ５０を有する。典型的には、ＩＣ５０＜５０ｎＭと予測されるペプチドは、一般に中～高親和性結合ペプチドと考えられ、ＨＬＡ結合の生化学的アッセイを用いて経験的にそれらの親和性を試験するために選択される。
【０１８１】
いくつかの実施形態では、対象特異的活性化がん遺伝子変異ペプチドは、患者の試料中で同定され得る。例えば、試料は、組織試料であっても、または腫瘍試料であってもよい。例えば、１つ以上の腫瘍細胞の試料は、対象特異的活性化がん遺伝子変異の存在について試験され得る。この腫瘍試料は、対象特異的活性化がん遺伝子変異を同定するために、全ゲノム、エキソームまたはトランスクリプトーム分析を用いて調べられ得る。
【０１８２】
あるいは、対象特異的活性化がん遺伝子変異ペプチドは、対象のエキソソームにおいて同定され得る。活性化がん遺伝子変異ペプチドが対象のエキソソーム中で同定される場合、そのようなペプチドは対象のエキソソームペプチドを代表すると言われる。
【０１８３】
エキソソームは、細胞によって脱落する小さな微小胞であり、典型的には約３０～１００ｎｍの直径を有する。エキソソームは古典的には内方への陥入及び後期エンドソーム膜のピンチオフから形成され、その結果それぞれが親細胞の細胞質の試料を含む、小さな脂質二重層小胞を含む多小胞体（ＭＶＢ）が形成される。ＭＶＢと細胞膜との融合は、これらのエキソソームの細胞からの放出、及びそれらの血液、尿、脳脊髄液、または他の体液への送達をもたらす。エキソソームは、さらなる分析のために任意のこれらの体液からも回収され得る。
【０１８４】
エキソソーム内の核酸は、腫瘍抗原に対するバイオマーカーとしての役割を有する。対

象特異的ながん抗原を同定するためにエキソソームを分析することの利点は、この方法が生検の必要性を回避するということである。これは、患者ががん抗原の同定及びワクチン接種を含む、数回の治療を受ける必要があるときに特に有利であり得る。

【０１８５】

生物学的試料からエキソソームを単離する多数の方法が、当該分野において記載されている。例えば、以下の方法を使用してもよい：示差遠心分離、低速遠心分離、陰イオン交換及び／またはゲル浸透クロマトグラフィー、スクロース密度勾配またはオルガネラ電気泳動、磁気活性化細胞選別（ＭＡＣＳ）、ナノメンブレン限外濾過濃縮、パーコール勾配単離及びマイクロ流体デバイス使用。例示的な方法は、例えば米国特許公開第２０１４／０２１２８７１号に記載されている。

【０１８６】

免疫増強剤ｍＲＮＡ

本開示の一態様は、１つ以上の目的の抗原に対する免疫応答を刺激または増強する（がん遺伝子変異ペプチド（複数可）を活性化する）ポリペプチドをコードするｍＲＮＡに関する。目的の抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するそのようなｍＲＮＡは、本明細書において、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物または化学修飾ｍＲＮＡ（ｍｍＲＮＡ）を含む免疫増強剤ｍＲＮＡと呼ばれる。いくつかの態様では、本開示は、例えば、適応免疫を誘導すること（例えば、Ｉ型インターフェロン産生を刺激することによる）、炎症応答を刺激すること、ＮＦκＢシグナル伝達を刺激すること、及び／または対象における樹状細胞（ＤＣ）の発達、活性もしくは動員を刺激することによって、それを必要とする対象において免疫応答を刺激または増強する（例えば、その対象における免疫応答を増強する）ポリペプチドをコードするｍＲＮＡを提供する。いくつかの態様では、それを必要とする対象への免疫増強剤ｍＲＮＡの投与は、対象において、細胞性免疫（例えば、Ｔ細胞媒介性免疫）、体液性免疫（例えば、Ｂ細胞媒介性免疫）、または細胞性免疫及び体液性免疫の両方を増強する。いくつかの態様では、免疫増強剤ｍＲＮＡの投与は、サイトカイン産生（例えば、炎症性サイトカイン産生）を刺激するか、抗原特異的ＣＤ８$^{+}$エフェクター細胞応答（細胞性免疫）を刺激するか、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$ヘルパー細胞応答を刺激するか、エフェクターメモリーＣＤ６２Ｌ^{lo}Ｔ細胞集団を増大するか、Ｂ細胞活性を刺激するか、または抗原特異的抗体産生を刺激し、これには前述の応答の組み合わせを包含する。

【０１８７】

いくつかの態様では、免疫増強剤ｍＲＮＡの投与は、サイトカイン産生（例えば、炎症性サイトカイン産生）を刺激し、抗原特異的ＣＤ８$^{+}$エフェクター細胞応答を刺激する。いくつかの態様では、免疫増強剤ｍＲＮＡの投与は、サイトカイン産生（例えば、炎症性サイトカイン産生）を刺激し、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$ヘルパー細胞応答を刺激する。いくつかの態様では、免疫増強剤ｍＲＮＡの投与は、サイトカイン産生（例えば、炎症性サイトカイン産生）を刺激し、エフェクターメモリーＣＤ６２Ｌ^{lo}Ｔ細胞集団を増大する。いくつかの態様では、免疫増強剤ｍＲＮＡの投与は、サイトカイン産生（例えば、炎症性サイトカイン産生）を刺激し、Ｂ細胞活性を刺激するか、または抗原特異的抗体産生を刺激する。

【０１８８】

Ｉ型インターフェロンを刺激する免疫増強剤ｍＲＮＡ

いくつかの態様では、本開示は、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達をシミュレートまたは増強し、それによってＩ型インターフェロン（ＩＦＮ）産生を刺激または増強することによって、目的の抗原に対する免疫応答を刺激または増強するポリペプチドをコードする免疫増強剤ｍＲＮＡを提供する。抗腫瘍または抗微生物適応免疫の誘導を成功させるには、Ｉ型ＩＦＮシグナル伝達が必要であることが確認されている（例えば、Ｆｕｅｒｔｅｓ、Ｍ．Ｂ．ｅｔ　ａｌ．，（２０１３）Ｔｒｅｎｄｓ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．３４：６７－７３を参照のこと）。Ｉ型ＩＦＮ（ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－ε、ＩＦＮ－κ及びＩＦＮ－ωを含む）の産生は、ウイルス感染などの微生物感染の排除において、ある役割を果たす。宿主細胞ＤＮＡ（例えば、損傷を受けた細胞または死にかけている細胞

に由来する）は、Ｉ型インターフェロン産生を誘導し得ること、及びＩ型ＩＦＮシグナル伝達経路は、適応抗腫瘍免疫の発生において、ある役割を果たすこともまた認識されている。しかし、多くの病原体及びがん細胞は、Ｉ型インターフェロン応答を減少または阻害するための機構を進化させてきた。したがって、それを必要とする対象におけるＩ型ＩＦＮシグナル伝達経路の活性化（刺激及び／または増強を含む）は、本開示の免疫増強剤ｍＲＮＡを対象に提供することによって、保護免疫を提供するためのワクチン反応の増強の場合と同様に、がん及び病原性感染症の処置を含む、広範な種々の臨床状況において対象における免疫応答を刺激または増強する。

【０１８９】

Ｉ型インターフェロン（ＩＦＮ）は、典型的にはウイルス感染の際に複数の異なる細胞型において急速に産生され、そして多種多様な効果を有することが知られている炎症誘発性サイトカインである。インビボでのＩ型ＩＦＮ産生の標準的な結果は、抗菌細胞プログラムの活性化、ならびに先天性免疫応答及び適応的免疫応答の発達である。Ｉ型ＩＦＮは、感染した細胞及び隣接する細胞において、感染性物質、特にウイルス性病原体の蔓延を制限する細胞固有の抗菌状態を誘導する。Ｉ型ＩＦＮはまた、抗原提示及びナチュラルキラー細胞機能を促進するために、先天性免疫細胞活性化（例えば、樹状細胞の成熟）を調節する。Ｉ型ＩＦＮはまた、高親和性抗原特異的Ｔ細胞及びＢ細胞応答、ならびに免疫学的記憶の発達を促進する（Ｉｖａｓｈｋｉｖ ａｎｄ Ｄｏｎｌｉｎ（２０１４）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ１４（１）：３６－４９）。

【０１９０】

Ｉ型ＩＦＮは、樹状細胞（ＤＣ）を活性化し、そして自己分泌シグナル伝達を介してそれらのＴ細胞刺激能力を促進する（Ｍｏｎｔｏｙａ ｅｔ ａｌ．，（２００２）Ｂｌｏｏｄ ９９：３２６３－３２７１）。Ｉ型ＩＦＮ曝露は、ケモカイン受容体及び接着分子（例えば、流入領域リンパ節へのＤＣ移動を促進するため）、共刺激分子、ならびにＭＨＣクラスＩ及びクラスＩＩ抗原提示の発現を増大させることによってＤＣの成熟を促進する。Ｉ型ＩＦＮ曝露後に成熟するＤＣは、防御的Ｔ細胞応答を効果的に初回刺激し得る（Ｗｉｊｅｓｕｎｄａｒａ ｅｔ ａｌ．，（２０１４）Ｆｒｏｎｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２９（４１２）及びその中の引用文献）。

【０１９１】

Ｉ型ＩＦＮは、Ｔ細胞受容体シグナル伝達と比較したＩ型ＩＦＮシグナル伝達のタイミングに大きく依存して、Ｔ細胞活性化、増殖、分化及び生存の促進または阻害のいずれかを行い得る（Ｃｒｏｕｓｅ ｅｔ ａｌ．，（２０１５）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ１５：２３１－２４２）。初期の研究では、ＭＨＣ－Ｉ発現が、複数の細胞型においてＩ型ＩＦＮに応答してアップレギュレートされることが明らかになり（Ｌｉｎｄａｈｌ ｅｔ ａｌ．，（１９７６），Ｊ Ｉｎｆｅｃｔ Ｄｉｓ １３３（Ｓｕｐｐｌ）：Ａ６６－Ａ６８；Ｌｉｎｄａｈｌ ｅｔ ａｌ．，（１９７６），Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １７：１２８４－１２８７）、これは、最適なＴ細胞刺激、分化、増殖及び細胞溶解活性のための必要条件である。Ｉ型ＩＦＮは、ＣＤ８Ｔ細胞に対して強力な同時刺激効果を発揮し、ＣＤ８Ｔ細胞の増殖及び分化を増強し得る（Ｃｕｒｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ１７４：４４６５－４４６９；Ｋｏｌｕｍａｍ ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ ２０２：６３７－６５０）。

【０１９２】

Ｔ細胞に対する効果と同様に、Ｉ型ＩＦＮシグナル伝達は、曝露のタイミング及び状況に応じて、Ｂ細胞応答に対して正及び負の両方の効果を有する（Ｂｒａｕｎ ｅｔ ａｌ．，（２００２）Ｉｎｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ １４（４）：４１１～４１９；Ｌｉｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９８）１８７（１）：７９－８７）。未成熟Ｂ細胞の生存及び成熟は、Ｉ型ＩＦＮシグナル伝達によって阻害され得る。未成熟Ｂ細胞とは対照的に、Ｉ型ＩＦＮ曝露は、ウイルス感染後または実験的免疫後のＢ細胞活性化、抗体産生及びアイソタイプスイッチを促進することが示されている（Ｌｅ Ｂｏｎ ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｊ

Ｉｍｍｕｎｏｌ １７６：４：２０７４－２０７８；Ｓｗａｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，（２０１０）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ ２０７：１４８５－１５００）。

【０１９３】

ＳＴＩＮＧ、インターフェロン調節性因子、例えば、ＩＲＦ１、ＩＲＦ３、ＩＲＦ５、ＩＲＦ７、ＩＲＦ８、及びＩＲＦ９、ＴＢＫ１、ＩＫＫｉ、ＭｙＤ８８及びＴＲＡＭを含む、Ｉ型ＩＦＮ経路シグナル伝達に関与する多数の構成要素が確認されている。Ｉ型ＩＦＮ経路シグナル伝達に関与するさらなる構成要素としては、ＴＲＡＦ３、ＴＲＡＦ６、ＩＲＡＫ－１、ＩＲＡＫ－４、ＴＲＩＦ、ＩＰＳ－１、ＴＬＲ－３、ＴＬＲ－４、ＴＬＲ－７、ＴＬＲ－８、ＴＬＲ－９、ＲＩＧ－１、ＤＡＩ及びＩＦＩ１６が挙げられる。

【０１９４】

したがって、一実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡは、Ｉ型ＩＦＮ経路シグナル伝達に関与する前述の構成要素のいずれかをコードする。

【０１９５】

ＳＴＩＮＧをコードする免疫増強剤ｍＲＮＡ

本開示は、構成的に活性な形態のＳＴＩＮＧを免疫増強剤として含む、ＳＴＩＮＧをコードするｍＲＮＡ（ｍｍＲＮＡを含む）を包含する。ＳＴＩＮＧ（ＳＴｉｍｕｌａｔｏｒ ｏｆ ＩＮｔｅｒｆｅｒｏｎ Ｇｅｎｅｓ；膜貫通タンパク質１７３（ＴＭＥＭ１７３）、ＩＲＦ３活性化のメディエータ（ＭＩＴＡ）、メチオニン－プロリン－チロシン－セリン（ＭＰＹＳ）、及びＥＲ ＩＦＮ刺激剤（ＥＲＩＳ）としても公知）は、３７９アミノ酸であり、Ｉ型ＩＦＮ及び炎症誘発性サイトカインを含む免疫応答遺伝子の転写を制御するシグナル伝達分子として機能する小胞体（ＥＲ）内在性膜貫通タンパク質である（Ｉｓｈｉｋａｗａ＆Ｂａｒｂｅｒ、（２００８）Ｎａｔｕｒｅ ４５５：６４７－６７８；Ｉｓｈｉｋａｗａ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｎａｔｕｒｅ ４６１：７８８～７９２；Ｂａｒｂｅｒ（２０１０）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ１５（１２）：７６０～７７０）。

【０１９６】

ＳＴＩＮＧは、ＤＮＡの細胞質ゾル検出を、ＴＢＫ１／ＩＲＦ３／Ｉ型ＩＦＮシグナル伝達軸に連結するシグナル伝達アダプターとして機能する。ＳＴＩＮＧのシグナル伝達アダプター機能は、環状ジヌクレオチド（ＣＤＮ）の直接感知を通して活性化される。ＣＤＮの例としては、環状ジ－ＧＭＰ（グアノシン５’－一リン酸）、環状ジ－ＡＭＰ（アデノシン５’－一リン酸）及び環状ＧＭＰ－ＡＭＰ（ｃＧＡＭＰ）が挙げられる。当初偏在性の細菌性二次メッセンジャーとして特徴付けられたＣＤＮは、ＳＴＩＮＧとの直接相互作用を介してＴＢＫ１／ＩＲＦ３／Ｉ型ＩＦＮシグナル伝達軸を活性化する、あるクラスの病原体関連分子パターン分子（ＰＡＭＰ）を構成することが現在知られている。ＳＴＩＮＧは、細菌由来のＣＤＮ及び／または宿主タンパク質環状ＧＭＰ－ＡＭＰシンターゼ（ｃＧＡＳ）由来のＣＤＮを含む、細胞のサイトゾル中の異常なＤＮＡ種及び／またはＣＤＮを感知し得る。ｃＧＡＳタンパク質は、細胞質ゾル中のＤＮＡの検出に応答してｃＧＡＭＰを産生するＤＮＡセンサーである（Ｂｕｒｄｅｔｔｅ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｎａｔｕｒｅ ４７８：５１５－５１８；Ｓｕｎ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３９：７８６～７９１；Ｄｉｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｃｅｌｌ Ｒｅｐ ３：１３５５－１３６１；Ａｂｌａｓｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｎａｔｕｒｅ ４９８：３８０－３８４）。

【０１９７】

ＣＤＮに結合すると、ＳＴＩＮＧは、二量体化し、ＴＡＮＫ結合キナーゼ１（ＴＢＫ１）との複合体の形成を促進する立体構造変化を受ける（Ｏｕｙａｎｇ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ３６（６）：１０７３－１０８６）。この複合体は、核周囲ゴルジに転位し、それがエンドリソソーム区画へのＴＢＫ１の送達をもたらし、そこでそれはＩＲＦ３及びＮＦ－κＢ転写因子をリン酸化する（Ｚｈｏｎｇ ｅｔ ａｌ．、（２００８）Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ２９：５３８－５５０）。最近の研究では、ＳＴＩＮＧが、ＴＢＫ１によるＩＲＦ３のリン酸化を特異的に促進するようにＴＢＫ１及びＩＲＦ３の

両方に結合することによって足場として機能することが示された（Ｔａｎａｋａ＆Ｃｈｅｎ、（２０１２）Ｓｃｉ Ｓｉｇｎａｌ ５（２１４）：ｒａ２０）。ＩＲＦ３依存性、ＩＲＦ７依存性及びＮＦ－κＢ依存性のシグナル伝達経路の活性化は、抗病原体及び／または抗腫瘍活性を促進する、サイトカイン及びＩ型ＩＦＮなどの他の免疫応答関連タンパク質の産生を誘導する。

【０１９８】

多くの研究が、体液性及び細胞性免疫応答を誘発するための潜在的なワクチンアジュバントまたは免疫調節剤としてのＳＴＩＮＧのＣＤＮアゴニストの使用を検討している（Ｄｕｂｅｎｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｔｈｅｒ Ａｄｖ Ｖａｃｃｉｎｅｓ １（４）：１３１－１４３、及びその中の引用文献）。初期の研究では、ＣＤＮ ｃ－ｄｉ－ＧＭＰの投与が、インビボでＳｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ感染を減弱させ、マウス感染モデルにおいて回収された細菌細胞の数を減少させたがｃ－ｄｉ－ＧＭＰは、インビトロで細菌細胞に対して観察可能な阻害または殺菌効果を示さず、細菌細胞の減少が宿主の免疫系への影響によるものであることが示唆されている（Ｋａｒａｏｌｉｓ ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ Ａｇｅｎｔｓ－Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ ４９：１０２９－１０３８；Ｋａｒａｏｌｉｓ ｅｔ ａｌ．，（２００７）Ｉｎｆｅｃｔ Ｉｍｍｕｎ ７５：４９４２－４９５０）。最近の研究は、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）産生がんワクチン（ＳＴＩＮＧＶＡＸと呼ばれる）を用いて処方された合成ＣＤＮ誘導体分子が、ＧＭ－ＣＳＦワクチン単独による免疫と比較してがんの治療動物モデルにおいてインビボで抗腫瘍効果を高めることを示し（Ｆｕ ｅｔ ａｌ．，（２０１５）Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ ７（２８３）：２８３ｒａ５２）、ＣＤＮが強力なワクチンアジュバントであることを示唆している。

【０１９９】

ヒトＴＭＥＭ１７３遺伝子にマッピングされた多型から生じる変異体ＳＴＩＮＧタンパク質は、機能獲得型または構成的に活性な表現型を示すことが記載されている。インビトロで発現させた場合、変異体ＳＴＩＮＧ対立遺伝子は、Ｉ型ＩＦＮの誘導を強力に刺激することが示された（Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ．，（２０１４）Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ３７１：５０７－５１８；Ｊｅｒｅｍｉａｈ ｅｔ ａｌ．，（２０１４）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ １２４：５５１６－５５２０；Ｄｏｂｂｓ ｅｔ ａｌ．，（２０１５）Ｃｅｌｌ Ｈｏｓｔ Ｍｉｃｒｏｂｅ １８（２）：１５７－１６８；Ｔａｎｇ＆Ｗａｎｇ，（２０１５）ＰＬｏＳ ＯＮＥ １０（３）：ｅ０１２００９０；Ｍｅｌｋｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１７）Ｊ Ａｌｌｅｒｇｙ Ｃｌｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｎ Ｐｒｅｓｓ；Ｋｏｎｉｇ ｅｔ ａｌ．，（２０１７）Ａｎｎ Ｒｈｅｕｍ Ｄｉｓ ７６（２）：４６８－４７２；Ｂｕｒｄｅｔｔｅ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｎａｔｕｒｅ ４７８：５１５－５１８）。

【０２００】

本明細書に記載の免疫増強剤として使用するための変異体ヒトＳＴＩＮＧアイソフォームを含む、構造的に活性な形態のＳＴＩＮＧをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）が本明細書に提供される。変異体ヒトＳＴＩＮＧアイソフォームを含む、ＳＴＩＮＧの構成的に活性な形態をコードするｍｍＲＮＡは、本明細書の配列表に示されている。本明細書で使用される変異体ヒトＳＴＩＮＧポリペプチドのアミノ酸残基ナンバリングは、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＰ＿９３８０２３として当該技術分野で入手可能な３７９アミノ酸残基の野生型ヒトＳＴＩＮＧ（アイソフォーム１）に使用されるものに相当する。

【０２０１】

したがって、一態様では、本開示は、アミノ酸残基１５５位に変異、特にＶ１５５Ｍ変異体などのアミノ酸置換を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。一実施形態では、ｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）は、配列番号１に示されるアミノ酸配列をコードする。一実施形態では、ＳＴＩＮＧ Ｖ１５５Ｍ変異体は、配列番号１３９、配列番号１６８または配列番号１７０に示されるヌ

クレオチド配列によってコードされる。一実施形態では、ｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）は、ｍｉＲ１２２結合部位を含む、配列番号１４９に示される３’ＵＴＲ配列を含む。

【０２０２】

他の態様では、本開示は、アミノ酸置換などの、アミノ酸残基２８４に変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。残基２８４の置換の非限定的な例としては、Ｒ２８４Ｔ、Ｒ２８４Ｍ及びＲ２８４Ｋが挙げられる。特定の実施形態では、変異ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、Ｒ２８４Ｔ変異として、例えば、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１４０もしくは配列番号２０１に示されるヌクレオチド配列によってコードされる。特定の実施形態では、変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、Ｒ２８４Ｍ変異を有し、例えば、配列番号３に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１４１もしくは配列番号２０２に示されるヌクレオチド配列によってコードされる。特定の実施形態では、変異ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、Ｒ２８４Ｋ変異を有し、例えば、配列番号４もしくは１６４に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１４２、１６５、２０３もしくは２２５に示されるヌクレオチド配列によりコードされる。

【０２０３】

他の態様では、本開示は、Ｎ１５４Ｓ変異のようなアミノ酸置換などの、アミノ酸残基１５４に変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。特定の実施形態では、変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、Ｎ１５４Ｓ変異を有し、例えば、配列番号５に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１４３もしくは配列番号２０４に示されるヌクレオチド配列によってコードされる。

【０２０４】

さらに他の態様では、本開示は、アミノ酸残基１４７に変異、例えば、Ｖ１４７Ｌ変異などのアミノ酸置換を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。特定の実施形態では、Ｖ１４７Ｌ変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、配列番号６に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１４４もしくは配列番号２０５に示されるヌクレオチド配列によってコードされる。

【０２０５】

他の態様では、本開示は、Ｅ３１５Ｑ変異のようなアミノ酸置換などの、アミノ酸残基３１５に変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。特定の実施形態では、Ｅ３１５Ｑ変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１４５もしくは配列番号２０６に示されるヌクレオチド配列によりコードされる。

【０２０６】

他の態様では、本開示は、Ｒ３７５Ａ変異のようなアミノ酸置換などの、アミノ酸残基３７５に変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。特定の実施形態では、Ｒ３７５Ａ変異を有する変異ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、配列番号８に示されるアミノ酸配列を有するか、または配列番号１４６もしくは配列番号２０７に示されるヌクレオチド配列によりコードされる。

【０２０７】

他の態様では、本開示は、前述の変異のうちの１つ以上または２つ、３つ、４つもしくはそれ以上の組み合わせを有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。したがって、一態様では、本開示は、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ、Ｖ１５５Ｍ、Ｒ２８４Ｔ、Ｒ２８４Ｍ、Ｒ２８４Ｋ、Ｅ３１５Ｑ及びＲ３７５Ａ、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択される１つ以上の変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、Ｖ１５５ＭとＲ２８４Ｔ；Ｖ１５５ＭとＲ２８４Ｍ；Ｖ１５５ＭとＲ２８４Ｋ；Ｖ１５５ＭとＶ１４７Ｌ；Ｖ１５５ＭとＮ１５４Ｓ；Ｖ１５５ＭとＥ３１５Ｑ；及びＶ１５５ＭとＲ３７５Ａからなる群より選択される変異の組み合わせを有

する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２０８】

他の態様では、本開示は、Ｖ１５５Ｍ、ならびに以下の変異：Ｒ２８４Ｔ；Ｒ２８４Ｍ；Ｒ２８４Ｋ；Ｖ１４７Ｌ；Ｎ１５４Ｓ；Ｅ３１５Ｑ；及びＲ３７５Ａのうちの１、２、３またはそれ以上を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、Ｖ１５５Ｍ、Ｖ１４７Ｌ及びＮ１５４Ｓ変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、Ｖ１５５Ｍ、Ｖ１４７Ｌ及びＮ１５４Ｓ変異、ならびに必要に応じてアミノ酸２８４で変異を有する、変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。さらに他の態様では、本開示は、Ｖ１５５Ｍ、Ｖ１４７Ｌ及びＮ１５４Ｓ変異、ならびにＲ２８４Ｔ、Ｒ２８４Ｍ及びＲ２８４Ｋから選択されるアミノ酸２８４で変異を有する、変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、Ｖ１５５Ｍ、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ、及びＲ２８４Ｔ変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、Ｖ１５５Ｍ、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ、及びＲ２８４Ｍ変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、Ｖ１５５Ｍ、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ及びＲ２８４Ｋ変異を有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２０９】

他の実施形態では、本開示は、アミノ酸残基１４７、１５４、１５５及び必要に応じて２８４で変異の組み合わせ、特にアミノ酸置換、例えば、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ、Ｖ１５５Ｍ及び必要に応じてＲ２８４Ｍを有する変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。特定の実施形態では、この変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、Ｖ１４７Ｎ、Ｎ１５４Ｓ及びＶ１５５Ｍ変異、例えば、配列番号９に示されるか、または配列番号１４７に示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を有する。特定の実施形態では、変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、Ｒ２８４Ｍ、Ｖ１４７Ｎ、Ｎ１５４Ｓ及びＶ１５５Ｍの変異、例えば、配列番号１０に示されるか、または配列番号１４８もしくは配列番号２０９に示されるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列を有する。

【０２１０】

別の実施形態では、本開示は、アミノ酸１３７～３７９からなる構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドなどの、全長３７９アミノ酸の野生型タンパク質の構成的に活性な短縮型である変異体ヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２１１】

免疫調節因子（ＩＲＦ）をコードする免疫増強剤ｍＲＮＡ

本開示は、免疫増強剤としてのＩＲＦ１、ＩＲＦ３、ＩＲＦ５、ＩＲＦ７、ＩＲＦ８、及びＩＲＦ９などのインターフェロン調節因子（Ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ Ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｆａｃｔｏｒｓ）をコードするｍＲＮＡ（ｍｍＲＮＡを含む）を提供する。ＩＲＦ転写因子ファミリーは、先天性免疫応答の間にＩ型インターフェロン（ＩＦＮ）の産生をもたらす遺伝子発現の調節に関与している。今日までに９つのヒトＩＲＦが同定されており（ＩＲＦ－１～ＩＲＦ－９）、各ファミリーメンバーはそれらのＮ末端結合ドメイン（ＤＢＤ）内で広範な配列相同性を共有している（Ｍａｍａｎｅ ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｇｅｎｅ ２３７：１－１４；Ｔａｎｉｇｕｃｈｉ ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ １９：６２３－６５５）。ＩＲＦファミリー内で、ＩＲＦ１、ＩＲＦ３、ＩＲＦ５、及びＩＲＦ７は、Ｉ型ＩＦＮ遺伝子転写の正の調節因子として特に関与している（Ｈｏｎｄａ ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｉｍｍｕｎｉｔｙ

２５（３）：３４９－３６０）。ＩＲＦ１は、Ｉ型ＩＦＮ遺伝子プロモーターを活性化することが発見された最初のファミリーメンバーであった（Ｍｉｙａｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｃｅｌｌ ５４：９０３－９１３）。ＩＲＦ１は、Ｉ型ＩＦＮ遺伝子発現に関与していることが研究により示されているが、ウイルス感染ＩＲＦ１－／－マウス線維芽細胞において、Ｉ型ＩＦＮの正常な誘導が観察され、分配性を示唆している（Ｍａｔｓｕｙａｍａ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｃｅｌｌ ７５：８３－９７）。ＩＲＦ５はまた、ウイルスまたはＴＬＲアゴニストによるＩ型ＩＦＮ誘導には不必要であることが示された（Ｔａｋａｏｋａ ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ｎａｔｕｒｅ ４３４：２４３－２４９）。

【０２１２】

したがって、いくつかの態様では、本開示は、免疫増強剤としてのヒトＩＲＦ１、ＩＲＦ３、ＩＲＦ５、ＩＲＦ７、ＩＲＦ８、及びＩＲＦ９の構成的に活性な形態をコードするｍＲＮＡを提供する。いくつかの態様では、本開示は、構成的に活性な形態のヒトＩＲＦ３及び／またはＩＲＦ７をコードするｍＲＮＡを提供する。

【０２１３】

先天性免疫応答の間に、ＩＲＦ－３はＩ型ＩＦＮの早期誘導において重要な役割を果たす。ＩＲＦ３転写因子は、構成的に発現され、潜在的形態で細胞の核と細胞質の間を往復し、リン酸化の前に主に細胞質ゾルに局在する（Ｈｉｓｃｏｔｔ（２００７）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２８２（２１）：１５３２５－１５３２９；Ｋｕｍａｒ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ ２０（１１）：４１５９－４１６８）。ＴＢＫ－１（ＴＡＮＫ結合キナーゼ１；Ｔ２Ｋ及びＮＡＫとしても公知である）及び／またはＩＫＫε（誘導性ＩκＢキナーゼ；ＩＫＫｉとしても知られる）によるＣ末端のセリン残基のリン酸化の際に、ＩＲＦ３は細胞質から核に転位する。（Ｆｉｔｚｇｅｒａｌｄ ｅｔ ａｌ．，（２００３）Ｎａｔ Ｉｍｍｕｎｏ ４（５）：４９１－４９６；Ｓｈａｒｍａ ｅｔ ａｌ．，（２００３）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３００：１１４８－１１５１；Ｈｅｍｍｉ ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ１９９：１６４１－１６５０）。ＩＲＦ３の転写活性は、これらのリン酸化及び転座事象によって媒介される。ＩＲＦ３活性化のモデルは、Ｃ末端リン酸化が、ホモ及び／またはヘテロ二量体化を促進するＩＲＦ３のコンホメーション変化（例えば、ＩＲＦ７を有する；Ｈｏｎｄａ ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ２５（３）：３４６～３６０を参照のこと）、核局在化、ならびに転写活性化補助因子ＣＢＰ及び／またはｐ３００との会合（Ｌｉｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ １９（４）：２４６５－２４７４）を誘導することを提案する。不活性なＩＲＦ３は構成的に核内外を往復するが、リン酸化ＩＲＦ３タンパク質は、ＣＢＰ及び／またはｐ３００と会合したままであり、核内に保持され、ＩＦＮ及び他の遺伝子の転写を誘導する（Ｋｕｍａｒ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ）２０（１１）：４１５９－４１６８）。

【０２１４】

ＩＲＦ３とは対照的に、ＩＲＦ７は、ほとんどの細胞で低い発現レベルを示すが、Ｉ型ＩＦＮ媒介シグナル伝達によって強く誘導され、これによってＩＲＦ３は主にＩＦＮ遺伝子の早期誘導に関与すること、及び、ＩＲＦ７は後期に関与するという考えが支持される（Ｓａｔｏ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｉｍｍｕｎｉｔｙ １３（４）：５３９－５４８）。Ｉ型ＩＦＮ受容体へのリガンド結合は、ＩＲＦ９、ＳＴＡＴ１、及びＳＴＡＴ２からなり、ＩＲＦ７遺伝子の誘導に関与しているＩＦＮ刺激遺伝子因子３（ＩＳＧＦ３）と呼ばれるヘテロ三量体転写活性化因子の活性化をもたらす（Ｍａｒｉｅ ｅｔ ａｌ．，（１９９８）ＥＭＢＯ Ｊ１７（２２）：６６６０－６６６９）。ＩＲＦ３と同様に、ＩＲＦ７は、そのＣ末端領域のセリンリン酸化後に細胞質と核との間で分配することができ、それによってその二量体化及び核移行が可能になる。ＩＲＦ７は、ＩＲＦ３とホモ二量体またはヘテロ二量体を形成し、そしてこれらの異なる二量体のそれぞれは、Ｉ型ＩＦＮ遺伝子ファミリーメンバーに異なって作用する。ＩＲＦ３は、ＩＦＮ－α遺伝子よりもＩＦＮ－β遺伝子の活性化においてより強力であるが、ＩＲＦ７は、ＩＦＮ－α及びＩＦＮ

－β遺伝子の両方を効率的に活性化する（Ｍａｒｉｅ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９８）ＥＭＢＯ　Ｊ１７（２２）：６６６０－６６６９）。

【０２１５】

本明細書に記載の免疫増強剤として使用するための変異体ヒトＩＲＦ３及び変異体ヒトＩＲＦ７アイソフォームを含む、構成的に活性な形態のＩＲＦ３及びＩＲＦ７をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）が、本明細書に提供される。変異体ヒトＩＲＦ３及びＩＲＦ７アイソフォームを含む、構成的に活性な形態のＩＲＦ３及びＩＲＦ７をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）は、本明細書の配列表に記載されている。本明細書中で使用される変異体ヒトＩＲＦ３ポリペプチドのアミノ酸残基ナンバリングは、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＰ＿００１５６２として当該技術分野で入手可能な４２７アミノ酸残基野生型ヒトＩＲＦ３（アイソフォーム１）に使用されるものに相当する。本明細書中で使用される変異体ヒトＩＲＦ７ポリペプチドのアミノ酸残基ナンバリングは、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＰ＿００１５６３として当該分野で入手可能な５０３アミノ酸残基野生型ヒトＩＲＦ７（アイソフォームａ）に使用されるものに相当する。

【０２１６】

したがって、いくつかの態様では、本開示は、例えば、アミノ酸残基３９６に変異、例えば、Ｓ３９６Ｄ変異などのアミノ酸置換などを有する、例えば、配列番号１２のアミノ酸に示されるか、または配列番号１５１もしくは配列番号２１２に示されるヌクレオチド配列によってコードされるような変異を有する、構成的に活性である、変異体ヒトＩＲＦ３タンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、ｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）構築物は、Ｓ３９６Ｄ変異、例えば、配列番号１１のアミノ酸配列に示されるか、または配列番号１５０もしくは配列番号２１１に示されるヌクレオチド配列によりコードされるような変異を含む、構成的に活性なマウスＩＲＦ３ポリペプチドをコードする。

【０２１７】

他の態様では、本開示は、構成的に活性な変異体ヒトＩＲＦ７タンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。一態様では、本開示は、１つ以上の点突然変異（野生型と比較してアミノ酸置換）を含む構成的に活性なＩＲ７タンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、タンパク質の短縮型（野生型と比較してアミノ酸欠失）を含む構成的に活性なＩＲ７タンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。さらに他の態様では、本開示は、１つ以上の点突然変異（野生型と比較したアミノ酸欠失及びアミノ酸置換の組み合わせ）も含む短縮型のタンパク質を含む構成的に活性なＩＲ７タンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２１８】

ヒトＩＲＦ７の野生型アミノ酸配列（アイソフォームａ）は、配列番号１５２もしくは２１３に示されるヌクレオチド配列によりコードされる、配列番号１３に示されている。野生型配列と比較して、点突然変異、欠失、またはその両方を含む一連の構成的に活性型のヒトＩＲＦ７を調製した。一態様では、本開示は、以下の変異：Ｓ４７５Ｄ、Ｓ４７６Ｄ、Ｓ４７７Ｄ、Ｓ４７９Ｄ、Ｌ４８０Ｄ、Ｓ４８３Ｄ及びＳ４８７Ｄ、ならびにそれらの組み合わせのうちの１つ以上を含む構成的に活性なＩＲＦ７ポリペプチドをコードしている免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。他の態様では、本開示は、配列番号１５３または配列番号２１４に示されるヌクレオチド配列によってコードされる、配列番号１４のアミノ酸配列に示されるように、変異Ｓ４７７Ｄ及びＳ４７９Ｄを含む構成的に活性なＩＲＦ７ポリペプチドをコードするｍｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。別の態様では、本開示は、配列番号１５４または配列番号２１５に示されるヌクレオチド配列によってコードされる、配列番号１５のアミノ酸配列に示される、変異Ｓ４７５Ｄ、Ｓ４７７Ｄ及びＬ４８０Ｄを含む構成的に活性なＩＲＦ７ポリペプチドをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、配列番号１５５または配列番号２１６に示されるヌクレオチド配列によりコードされる、配列番号１６のアミノ酸配

列に示される、変異Ｓ４７５Ｄ、Ｓ４７６Ｄ、Ｓ４７７Ｄ、Ｓ４７９Ｄ、Ｓ４８３Ｄ及びＳ４８７Ｄを含む構成的に活性なＩＲＦ７ポリペプチドをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。別の態様では、本開示は、配列番号１５６または配列番号２１７に示されるヌクレオチド配列によりコードされる、配列番号１７のアミノ酸配列に示される、アミノ酸残基２４７～４６７の欠失（すなわち、アミノ酸残基１～２４６及び４６８～５０３を含む）を含む構成的に活性なＩＲＦ７ポリペプチドをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。さらに他の態様では、本開示は、アミノ酸残基２４７～４６７の欠失を含み（すなわち、アミノ酸残基１～２４６及び４６８～５０３を含み）、配列番号１５７または配列番号２１８に示されるヌクレオチド配列によりコードされる、配列番号１８のアミノ酸配列に示される、変異Ｓ４７５Ｄ、Ｓ４７６Ｄ、Ｓ４７７Ｄ、Ｓ４７９Ｄ、Ｓ４８３Ｄ及びＳ４８７Ｄをさらに含む、構成的に活性なＩＲＦ７ポリペプチドをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２１９】

他の態様では、本開示は、配列番号１５８または配列番号２１９に示されるヌクレオチド配列によりコードされる配列番号１９のアミノ酸配列（例えば、制御の目的で使用される）に示されるように、残基１５２～２４６の欠失を含む（すなわち、アミノ酸残基１～１５１及び２４７～５０３を含む）短縮型ＩＲＦ７不活性「ヌル」ポリペプチド構築物をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。他の態様では、本開示は、配列番号１５９または配列番号２２０に示されるヌクレオチド配列によりコードされる（例えば、制御の目的で使用される）、配列番号２０のアミノ酸配列に示されるように、残基１～１５１の欠失を含む（すなわち、アミノ酸残基１５２～５０３を含む）短縮型ＩＲＦ７不活性「ヌル」ポリペプチド構築物をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２２０】

Ｉ型ＩＦＮを活性化する追加の免疫増強剤ｍＲＮＡ

上記のＳＴＩＮＧ及びＩＲＦ　ｍＲＮＡ構築物に加えて、本開示は、Ｉ型ＩＦＮシグナル伝達経路の活性化を通して免疫応答を増強するための免疫増強剤として使用され得るＩ型ＩＦＮシグナル伝達経路のさらなる構成要素をコードするｍＲＮＡ構築物を提供する。例えば、一実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、ＭｙＤ８８タンパク質をコードする。ＭｙＤ８８は、ＩＲＦ７の上流でシグナル伝達することが当該分野において公知である。一態様では、本開示は、１つ以上の点突然変異を有する変異型ＭｙＤ８８タンパク質などの構成的に活性なＭｙＤ８８タンパク質をコードするｍｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。一態様では、本開示は、それぞれ、配列番号７５及び７６に示されるＬ２６５Ｐ置換を有する変異体ヒトまたはマウスＭｙＤ８８タンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２２１】

別の態様では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、ＴＲＡＭ（ＴＩＣＡＭ２）タンパク質をコードする。ＴＲＡＭは、ＩＲＦ３の上流でシグナル伝達することが当該技術分野において公知である。一態様では、本開示は、１つ以上の点突然変異を有する変異体ＴＲＡＭタンパク質などの構成的に活性なＴＲＡＭタンパク質をコードするｍｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を包含する。別の態様では、本開示は、過剰発現されている野生型ＴＲＡＭタンパク質を包含する。一態様では、本開示は、配列番号７７に示されるマウスＴＲＡＭタンパク質をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）を提供する。

【０２２２】

さらに他の態様では、本開示は、構成的に活性な形態のＴＢＫ１またはＩＫＫｉを含む、ＴＡＮＫ結合キナーゼ１（ＴＢＫ１）または誘導性ＩκＢキナーゼ（ＩＫＫεとしても公知のＩＫＫｉ）をコードする免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を、免疫増強剤として提供する。ＴＢＫ１及びＩＫＫｉは、ＩＲＦ３及びＩＲＦ７をリン酸化し、それによってＩ型ＩＦＮシグナル伝達経路においてＩＲＦ３及びＩＲＦ７の上流で作用するウイルス活性化キナーゼの構成要素であることが実証されている（Ｓｈａｒｍａ，Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（２００

３）Ｓｃｉｅｎｃｅ　３００：１１４８－１１５１）。ＴＢＫ１及びＩＫＫｉは、Ｉ型ＩＦＮ遺伝子ならびにＩＦＮ誘導性遺伝子の発現を誘導する転写因子（例えば、ＩＲＦ３／７及びＮＦ－κＢ）のリン酸化及び活性化に関与している（Ｆｉｔｚｇｅｒａｌｄ，Ｋ．Ａ．ｅｔ　ａｌ．，（２００３）Ｎａｔ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　４（５）：４９１～４９６）。

【０２２３】

したがって、一態様では、本開示は、変異体ヒトＴＢＫ１アイソフォームを含む、構成的に活性な形態のＴＢＫ１を含む、ＴＢＫ１タンパク質をコードする免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。さらに他の態様では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、変異体ヒトＩＫＫｉアイソフォームを含む、構成的に活性な形態のＩＫＫｉを含むＩＫＫｉタンパク質をコードする。

【０２２４】

炎症反応を刺激する免疫増強剤ｍＲＮＡ

他の態様では、本開示は、炎症反応を刺激することによって免疫反応を増強する免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。炎症反応を刺激する因子の非限定的な例としては、ＳＴＡＴ１、ＳＴＡＴ２、ＳＴＡＴ４、及びＳＴＡＴ６が挙げられる。したがって、本開示は、構成的に活性な形態を含む、これらの炎症誘導タンパク質のうちの１つまたは組み合わせをコードする免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。

【０２２５】

本明細書に記載の免疫増強剤として使用するための変異体ヒトＳＴＡＴ６アイソフォームを含む、構成的に活性な形態のＳＴＡＴ６をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）が、本明細書に提供される。変異体ヒトＳＴＡＴ６アイソフォームを含む、ＳＴＡＴ６の構成的に活性な形態をコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）は、本明細書中の配列表に示される。本明細書中で使用される変異体ヒトＳＴＡＴ６ポリペプチドについてのアミノ酸残基ナンバリングは、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＰ＿００１１７１５５０．１として当該分野で入手可能な８４７アミノ酸残基野生型ヒトＳＴＡＴ６（アイソフォーム１）について使用されるナンバリングに相当する。

【０２２６】

一実施形態では、本開示は、Ｓ４０７Ｄ、Ｖ５４７Ａ、Ｔ５４８Ａ、Ｙ６４１Ｆ、及びそれらの組み合わせからなる群より選択される１つ以上のアミノ酸変異を含む構成的に活性なヒトＳＴＡＴ６構築物をコードするｍＲＮＡ構築物を提供する。別の実施形態では、このｍＲＮＡ構築物は、配列番号７８に示される配列などの、Ｖ５４７Ａ及びＴ５４８Ａ変異を含む構成的に活性なヒトＳＴＡＴ６構築物をコードする。別の実施形態では、このｍＲＮＡ構築物は、配列番号７９に示される配列などの、Ｓ４０７Ｄ変異を含む構成的に活性なヒトＳＴＡＴ６構築物をコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号８０に示される配列などの、Ｓ４０７Ｄ、Ｖ５４７Ａ及びＴ５４８Ａ変異を含む構成的に活性なヒトＳＴＡＴ６構築物をコードする。別の実施形態では、このｍＲＮＡ構築物は、配列番号８１に示される配列などの、Ｖ５４７Ａ、Ｔ５４８Ａ及びＹ６４１Ｆの変異を含む、構成的に活性なヒトＳＴＡＴ６構築物をコードする。

【０２２７】

ＮＦκＢシグナル伝達を刺激する免疫増強剤ｍＲＮＡ

他の態様では、本開示は、免疫応答の刺激に関与することが公知であるＮＦκＢシグナル伝達を刺激することによって免疫応答を増強する免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。ＮＦκＢシグナル伝達を刺激するタンパク質の非限定的な例としては、ｃ－ＦＬＩＰ、ＩＫＫβ、ＲＩＰＫ１、Ｂｔｋ、及びＴＡＫ－ＴＡＢが挙げられる。したがって、本開示の免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、これらのＮＦκＢ経路誘導タンパク質のうちのいずれかを、例えば、構成的に活性な形態でコードし得る。

【０２２８】

一実施形態では、本開示は、ｃ－ＦＬＩＰ（細胞カスパーゼ８（ＦＬＩＣＥ）様阻害タンパク質）タンパク質（ＣＡＳＰ８及びＦＡＤＤ様アポトーシス調節剤としても公知であ

る）、例としては、構成的に活性なｃ－ＦＬＩＰをコードするＮＦκＢシグナル伝達を活性化する免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。本明細書に記載の免疫増強剤として使用するための変異体ヒトｃ－ＦＬＩＰアイソフォームを含む、構成的に活性な形態のｃ－ＦＬＩＰをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）が本明細書に提供される。変異体ヒトｃ－ＦＬＩＰアイソフォームを含む、構成的に活性な形態のｃ－ＦＬＩＰをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍｍＲＮＡ）は、本明細書の配列表に記載されている。本明細書で使用される変異体ヒトｃ－ＦＬＩＰポリペプチドのアミノ酸残基ナンバリングは、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＰ＿００３８７０として当該技術分野で入手可能な４８０アミノ酸残基の野生型ヒトｃ－ＦＬＩＰ（アイソフォーム１）に使用されるナンバリングに相当する。

【０２２９】

一実施形態では、ｍＲＮＡは、配列番号８２に示される配列を有するものなど、２つのＤＥＤドメイン（ｐ２０ドメイン及びｐ１２ドメイン）を含むｃ－ＦＬＩＰ長（Ｌ）アイソフォームをコードする。別の実施形態では、このｍＲＮＡは、配列番号８３に示される配列を有するような２つのＤＥＤドメインを含む、アミノ酸１～２２７をコードするｃ－ＦＬＩＰ短（Ｓ）アイソフォームをコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡは、配列番号８４に示される配列を有するものなど、アミノ酸１～１９８をコードするｃ－ＦＬＩＰ　ｐ２２切断産物をコードする。別の実施形態では、このｍＲＮＡは、配列番号８５に示される配列を有するものなど、アミノ酸１～３７６をコードするｃ－ＦＬＩＰ　ｐ４３切断産物をコードする。別の実施形態では、このｍＲＮＡは、配列番号８６に示される配列を有するものなど、アミノ酸３７７～４８０をコードするｃ－ＦＬＩＰ　ｐ１２切断産物をコードする。

【０２３０】

別の実施形態では、ＮＦκＢシグナル伝達を活性化する免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、構成的に活性なＩＫＫα　ｍＲＮＡ構築物または構成的に活性なＩＫＫβ　ｍＲＮＡ構築物をコードする。一実施形態では、構成的に活性なヒトＩＫＫβポリペプチドは、配列番号８７に示す配列などのＳ１７７Ｅ及びＳ１８１Ｅの変異を含む。別の実施形態では、構成的に活性なヒトＩＫＫβポリペプチドは、配列番号８８に示される配列などの、Ｓ１７７Ａ及びＳ１８１Ａの変異を含む。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、構成的に活性なマウスＩＫＫβポリペプチドをコードする。一実施形態では、構成的に活性なマウスＩＫＫβポリペプチドは、配列番号１４８に示す配列などのＳ１７７Ｅ及びＳ１８１Ｅの変異を含む。別の実施形態では、構成的に活性なマウスＩＫＫβポリペプチドは、配列番号８９に示される配列などのＳ１７７Ａ及びＳ１８１Ａの変異を含む。別の実施形態では、このｍＲＮＡ構築物は、配列番号９１～９２（ヒト）または配列番号９５～９６（マウス）に示されるような配列を有するものなど、ＰＥＳＴ変異を含む構成的に活性なヒトまたはマウスＩＫＫαポリペプチドをコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号９３～９４（ヒト）または配列番号９７～９８（マウス）に示されるような配列を有するものなど、ＰＥＳＴ変異を含む構成的に活性なヒトまたはマウスＩＫＫβポリペプチドをコードする。

【０２３１】

別の実施形態では、本開示は、受容体相互作用タンパク質キナーゼ１（ＲＩＰＫ１）タンパク質をコードするＮＦκＢシグナル伝達を活性化する免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。免疫原性細胞死を誘導するＲＩＰＫ１構築物をコードするＤＮＡ構築物の構造は、当該分野で記載されており、例えば、Ｙａｔｉｍ、Ｎ．ｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｓｃｉｅｎｃｅ　３５０：３２８－３３４またはＯｒｏｚｃｏ，Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（２０１４）Ｃｅｌｌ　Ｄｅａｔｈ　Ｄｉｆｆｅｒ．２１：１５１１－１５２１に記載されており、そして活性なＮＦκＢシグナル伝達もまた本明細書中に示される適切なＲＮＡ構築物の設計において使用され得る（実施例を参照のこと）。一実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号９９（ヒト）または１０２（マウス）に示される配列を有するものなど、ヒトまたはマウスＲＩＰＫ１ポリペプチドのＲＩＰＫ１アミノ酸１～５５５、ならびにＩＺドメ

インをコードする。一実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１００（ヒト）または配列番号１０３（マウス）に示される配列を有するものなど、ヒトまたはマウスのＲＩＰＫ１ポリペプチドのＲＩＰＫ１アミノ酸１～５５５、ならびにＥＥ及びＤＭドメインをコードする。一実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１０１（ヒト）または１０４（マウス）に示される配列を有するものなど、ヒトまたはマウスのＲＩＰＫ１ポリペプチドのＲＩＰＫ１のアミノ酸１～５５５、ならびにＲＲ及びＤＭドメインをコードする。

【０２３２】

さらに別の実施形態では、ＮＦκＢシグナル伝達を活性化する免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、Ｂｔｋ（Ｅ４１Ｋ）ポリペプチド（例えば、配列番号１１４に示すＯＲＦアミノ酸配列をコードする）などの変異体Ｂｔｋポリペプチドなどの Ｂｔｋポリペプチドをコードする。

【０２３３】

さらに別の実施形態では、ＮＦκＢシグナル伝達を活性化する免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、構成的に活性なＴＡＫ－ＴＡＢ１などのＴＡＫ－ＴＡＢ１タンパク質をコードする。一実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１０５に示される配列を有するような、ヒトＴＡＫ－ＴＡＢ１タンパク質をコードする。

【０２３４】

追加の免疫増強剤ｍＲＮＡ

本開示は、追加の免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物を提供する。例えば、一実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、低いｐＩを有する直接ＩＡＰ結合タンパク質（ＤＩＡＢＬＯ）（ＳＭＡＣ／ＤＩＡＢＬＯとしても公知である）をコードする。本明細書の実施例に記載されているように、ＤＩＡＢＬＯ構築物は、サイトカインの放出を誘導する。一実施形態では、本開示は、配列番号１０６に示される配列（当該技術分野でＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＰ＿０６３９４０．１として開示される２３９アミノ酸ヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム１前駆体に相当する）を有するような野生型ヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム１配列をコードするｍＲＮＡ構築物を提供する。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１０７に示される配列を有するものなど、Ｓ１２６Ｌ突然変異を含むヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム１配列をコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１０８に示される配列を有するような、ヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム１のアミノ酸５６～２３９をコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、ヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム１のアミノ酸５６～２３９をコードし、配列番号１０９に示される配列を有するようなＳ１２６Ｌ変異を含む。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１１０に示される配列（当該技術分野でＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号Ｎｏ．ＮＰ＿００１２６５２７１．１として開示されている１９５アミノ酸のヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム３に相当）を有するような、野生型ヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム３配列をコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１１０に示される配列を有するような、Ｓ８２Ｌ突然変異を含むヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム３配列をコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１１１に示される配列を有するような、ヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム３のアミノ酸５６～１９５をコードする。別の実施形態では、ｍＲＮＡ構築物は、配列番号１１２に示される配列を有するような、ヒトＤＩＡＢＬＯアイソフォーム３のアミノ酸５６～１９５をコードし、Ｓ８２Ｌ変異を含む。

【０２３５】

さらなる実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、ＳＯＣ３ポリペプチド（例えば、配列番号１１５に示されるＯＲＦアミノ酸配列をコードする）をコードするか、または自己活性化カスパーゼ－１ポリペプチド（例えば、配列番号１１６～１１９示されるＯＲＦアミノ酸配列のいずれかをコードする）をコードし、これは、ｐｒｏ－ＩＬ１β及びｐｒｏ－ＩＬ１８のそれぞれの成熟型への切断を促進し得る。

【０２３６】

さらに他の実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、ＤＣ産生、活性または動員の刺激などの樹状細胞（ＤＣ）活性を調節するタンパク質をコードする。ＤＣ動員を刺激す

るタンパク質の非限定的な例は、ＦＬＴ３である。したがって、一実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、ＦＬＴ３タンパク質をコードする。

【０２３７】

免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、典型的には、ポリペプチドコード配列に加えて、ｍＲＮＡ構築物について本明細書中に記載されるような他の構造特性（例えば、本明細書に記載の修飾核酸塩基、５’キャップ、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、ｍｉＲ結合部位（複数可）、ポリＡテール）を含む。適切なｍＲＮＡ構築物成分は、本明細書に記載されているとおりである。

【０２３８】

目的のがん抗原及び免疫増強剤の組成

別の態様では、本開示は、以下をコードする少なくとも１つの化学修飾メッセンジャーＲＮＡ（例えば、修飾ｍＲＮＡ（ｍｍＲＮＡ））を含む組成物を提供する：（ｉ）目的の少なくとも１つの抗原（活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可））；及び（ｉｉ）少なくとも１つのｍＲＮＡが対象に投与されたとき、少なくとも１つの目的の抗原（活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可））に対する免疫応答を増強する少なくとも１つのポリペプチドであって、ここで前記ｍＲＮＡは１つ以上の修飾核酸塩基を含むポリペプチド。したがって、本開示は、免疫増強剤ｍＲＮＡ及び目的の抗原（活性化がん遺伝子変異ペプチド（複数可））をコードするｍＲＮＡを含む組成物を提供し、ここで単一のｍＲＮＡ構築物が目的の抗原（複数可）及び抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチドの両方をコードしてもよいし、あるいは、この組成物は、２つ以上の別々のｍＲＮＡ構築物、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡ（または第３もしくは第４のｍＲＮＡ）を含んでもよく、ここで、第１のｍＲＮＡは、少なくとも１つの目的の抗原をコードし、第２のｍＲＮＡは、抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードする（すなわち、第２のｍＲＮＡは免疫増強剤を含む）。

【０２３９】

目的の抗原（複数可）をコードする第１のｍＲＮＡ及び目的の抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードする第２のｍＲＮＡを含む実施形態では、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡを一緒に（例えば、同時投与前）共処方してもよく、例えば、同じ脂質ナノ粒子中で共処方してもよい。

【０２４０】

目的の抗原（複数可）及び目的の抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチドの両方をコードする単一のｍＲＮＡを含む実施形態では、このポリペプチドをコードする配列は、目的の抗原をコードする配列の上流または下流のいずれかでｍＲＮＡ構築物上に位置し得る。例えば、抗原と免疫刺激ポリペプチドの両方をコードするｍＲＮＡ構築物の非限定的な例としては、少なくとも１つの変異体ＫＲＡＳ抗原及び構成的に活性なＳＴＩＮＧポリペプチドをコードする、例えば、配列番号４８～７１のいずれかに１つ示されるアミノ酸配列をコードする構築物が挙げられる。一実施形態では、構成的に活性なＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号４８～５７に示されるように、構築物のＮ末端（すなわち、抗原をコードする配列の上流）に位置する。別の実施形態では、構成的に活性なＳＴＩＮＧポリペプチドは、配列番号５８～７１に示されるように、構築物のＣ末端（すなわち、抗原をコードする配列の下流）に位置する。

【０２４１】

本開示の免疫増強剤ｍＲＮＡと組み合わせて使用され得る目的の抗原をコードする様々なｍＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡワクチン）を以下にさらに詳細に記載する。

【０２４２】

ｍＲＮＡ構築物構成要素

ｍＲＮＡは、天然または非天然に存在するｍＲＮＡであってもよい。ｍＲＮＡは、以下に記載されるように、１つ以上の修飾核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドを含んでもよく、その場合、それは、「修飾ｍＲＮＡ」または「ｍｍＲＮＡ」と称され得る。本明細書中に記載されるように、「ヌクレオシド」とは、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」とも呼ばれる）と組み合わせた、糖分子（例えば、ペントースまたはリボース）またはその誘導体を含む化合物として定義される。本明細書において記載される場合、「ヌクレオチド」とは、リン酸塩基を含むヌクレオシドとして定義される。

【０２４３】

ｍＲＮＡは、５’非翻訳領域（５’－ＵＴＲ）、３’非翻訳領域（３’－ＵＴＲ）、及び／またはコード領域（例えば、オープンリーディングフレーム）を含んでもよい。構築物において使用するための例示的な５’ＵＴＲを、配列番号２１に示す。構築物において使用するための別の例示的３’ＵＴＲを、配列番号２２に示す。構築物において使用するための、ｍｉＲ－１２２及びｍｉＲ－１４２．３ｐ結合部位を含む例示的な３’ＵＴＲは、配列番号２３に示される。ｍＲＮＡは、任意の適切な数の塩基対を含んでもよく、これには、数十（例えば、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または１００）、数百（例えば、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、または９００）または数千（例えば、１０００、２０００、３０００、４０００、５０００、６０００、７０００、８０００、９０００、１０，０００）の塩基対を含み得る。任意の数（例えば、全部、いくつか、または全くない）の核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドは、置換、修飾、またはそうでなければ天然に存在しない標準的な種の類似体であってもよい。特定の実施形態では、特定の核酸塩基型の全てを修飾してもよい。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のｍＲＮＡは、５’キャップ構造、鎖終結ヌクレオチド、必要に応じてＫｏｚａｋ配列（Ｋｏｚａｋコンセンサス配列としても知られる）、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んでもよい。

【０２４５】

５’キャップ構造またはキャップ種は、リンカーによって結合された２つのヌクレオシド部分を含む化合物であり、天然に存在するキャップ、天然に存在しないキャップもしくはキャップ類似体、または抗逆キャップ類似体（ＡＲＣＡ）から選択されてもよい。キャップ種は、１つ以上の修飾ヌクレオシド及び／またはリンカー部分を含んでもよい。例えば、天然のｍＲＮＡキャップは、グアニンヌクレオチド及びその５’位において三リン酸結合によって結合された７位においてメチル化されたグアニン（Ｇ）ヌクレオチド、例えば、m^7Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇ（通常はm^7ＧｐｐｐＧと書かれている）を含んでもよい。キャップ種はまた、抗逆キャップ類似体であってもよい。可能性のあるキャップ種の非限定的なリストとしては、m^7ＧｐｐｐＧ、m^7Ｇｐｐｐｍ^{7}Ｇ、$m^7$３’ｄＧｐｐｐＧ、$m_2^{7,O3'}$ＧｐｐｐＧ、$m_2^{7,O3'}$ＧｐｐｐｐＧ、$m_2^{7,O2'}$ＧｐｐｐｐＧ、m^7Ｇｐｐｐｍ^{7}Ｇ、$m^7$３’ｄｐｐｐＧ、$m_2^{7,O3'}$ＧｐｐｐＧ、$m_2^{7,O3'}$ＧｐｐｐｐＧ、及び$m_2^{7,O2'}$ＧｐｐｐｐＧが挙げられる。

【０２４６】

ｍＲＮＡは、代わりにまたはそれに加えて、連鎖停止ヌクレオシドを含んでもよい。例えば、連鎖停止ヌクレオシドは、それらの糖基の２’及び／または３’位で脱酸素化されたヌクレオシドを含んでもよい。そのような種としては、３’デオキシアデノシン（コルジセピン）、３’－デオキシウリジン、３’－デオキシシトシン、３’－デオキシグアノシン、３’－デオキシチミン、及び２’、３’－ジデオキヌクレオシド、例えば、２’，３’－ジデオキシアデノシン、２’，３’－ジデオキシウリジン、２’，３’－ジデオキシシトシン、２’，３’－ジデオキシグアノシン、及び２’，３’－ジデオキシチミンが挙げられ得る。いくつかの実施形態では、例えば、国際特許公開第ＷＯ２０１３／１０３６５９号に記載されているように、例えば、３’末端での鎖停止ヌクレオチドのｍＲＮＡへの組み込みは、ｍＲＮＡの安定化を生じ得る。

【０２４７】

ｍＲＮＡは、代わりにまたはそれに加えて、ヒストンステムループなどのステムループを含んでもよい。ステムループは、２、３、４、５、６、７、８、またはそれ以上のヌク

レオチド塩基対を含んでもよい。例えば、ステムループは、４、５、６、７、または８ヌクレオチド塩基対を含んでもよい。ステムループは、ｍＲＮＡの任意の領域に位置し得る。例えば、ステムループは、非翻訳領域（５’非翻訳領域または３’非翻訳領域）、コード領域、またはポリＡ配列もしくはテールの中、前または後に位置し得る。いくつかの実施形態では、ステムループは、翻訳の開始、翻訳効率、及び／または転写終結などのｍＲＮＡの１つ以上の機能（複数可）に影響を及ぼし得る。

【０２４８】

ｍＲＮＡは、代わりにまたはそれに加えて、ポリＡ配列及び／またはポリアデニル化シグナルを含んでもよい。ポリＡ配列は、アデニンヌクレオチドまたはその類似体もしくは誘導体から完全に構成されてもよいし、またはほとんど構成されてもよい。ポリＡ配列は、ｍＲＮＡの３’非翻訳領域に隣接して位置するテールであってもよい。いくつかの実施形態では、ポリＡ配列は、ｍＲＮＡの核外輸送、翻訳、及び／または安定性に影響を及ぼし得る。

【０２４９】

ｍＲＮＡは、代わりにまたはそれに加えて、マイクロＲＮＡ結合部位を含んでもよい。

【０２５０】

いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、第１のコード領域と第２のコード領域との間の内部翻訳開始を可能にする、内部リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）配列を含む介在配列を有するかまたは２Ａペプチドなどの自己切断ペプチドをコードする介在配列を有する、第１のコード領域及び第２のコード領域を含むバイシストロン性ｍＲＮＡである。ＩＲＥＳ配列及び２Ａペプチドは、典型的には同じベクターからの複数のタンパク質の発現を増強するために使用される。例えば、脳心筋炎ウイルスＩＲＥＳを含む様々なＩＲＥＳ配列が当該分野で公知でありそして利用可能であり得、そして使用されてもよい。

【０２５１】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、自己切断ペプチドをコードする配列を含んでもよい。自己切断ペプチドは、限定するものではないが、２Ａペプチドであってもよい。様々な２Ａペプチドが当該技術分野において公知であり入手可能であり、用いられてもよく、これには、例としては、例えば、口蹄疫ウイルス（ＦＭＤＶ）２Ａペプチド、ウマ鼻炎Ａウイルス２Ａペプチド、Ｔｈｏｓｅａ　ａｓｉｇｎａウイルス２Ａペプチド、及びブタテスコウイルス－１２Ａペプチドが挙げられる。２Ａペプチドは、正常なペプチド結合が２Ａペプチド配列で損なわれ、１つの翻訳事象から２つの不連続タンパク質が生じるように、いくつかのウイルスによって使用され、リボソームスキッピングによって１つの転写物から２つのタンパク質を生成する。非限定的な例として、２Ａペプチドは、タンパク質配列：ＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号２４）、それらの断片またはバリアントを有し得る。一実施形態では、２Ａペプチドは、最後のグリシンと最後のプロリンとの間で切断する。別の非限定的な例として、本開示のポリヌクレオチドは、タンパク質配列ＧＳＧＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ（配列番号２４）の断片またはそのバリアントを有する２Ａペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含んでもよい。２Ａペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の一例は以下である：ＧＧＡＡＧＣＧＧＡＧＣＴＡＣＴＡＡＣＴＴＣＡＧＣＣＴＧＣＴＧＡＡＧＣＡＧＧＣＴＧＧＡＧＡＣＧＴＧＧＡＧＧＡＧＡＡＣＣＣＴＧＧＡＣＣＴ（配列番号２５）。例示的な一実施形態では、２Ａペプチドは以下の配列によってコードされる：５’－ＴＣＣＧＧＡＣＴＣＡＧＡＴＣＣＧＧＧＧＡＴＣＴＣＡＡＡＡＴＴＧＴＣＡＡＡＣＡＡＡＣＴＣＴＴＡＡＣＴＴＴＧＡＴＴＴＡＣＴＣＡＡＡＣＴＧＧＣＴＧＧＧＧＡＴＧＴＡＧＡＡＡＧＣＡＡＴＣＣＡＧＧＴＣＣＡＣＴＣ－３’（配列番号２６）。２Ａペプチドのポリヌクレオチド配列は、本明細書に記載の方法によって修飾されてもよいし、またはコドン最適化されてもよいし、及び／または当該技術分野において公知である。

【０２５２】

一実施形態では、この配列を使用して、目的の２つ以上のポリペプチドのコード領域を分離し得る。非限定的な例として、Ｆ２Ａペプチドをコードする配列は、第１のコード領

域Ａと第２のコード領域Ｂとの間にあってもよい（Ａ－Ｆ２Ａｐｅｐ－Ｂ）。Ｆ２Ａペプチドの存在は、Ｆ２Ａペプチド配列の末端でグリシンとプロリンとの間の１つの長いタンパク質の開裂をもたらし（ＮＰＧＰは、開裂されてＮＰＧ及びＰをもたらす）、したがって別個のプロテインＡ（ＮＰＧで終わる、結合されたＦ２Ａペプチドの２１アミノ酸を有する）及び分離したタンパク質Ｂ（結合したＦ２Ａペプチドの１個のアミノ酸、Ｐを有する）を作り出す。同様に、他の２Ａペプチド（Ｐ２Ａ、Ｔ２Ａ及びＥ２Ａ）については、長いタンパク質中のペプチドの存在は、２Ａペプチド配列の末端でグリシンとプロリンの間の切断をもたらす（ＮＰＧＰは、ＮＰＧ及びＰをもたらすために切断される）。プロテインＡ及びプロテインＢは、目的の同一または異なるペプチドまたはポリペプチドであってもよい。特定の実施形態では、プロテインＡは、免疫原性細胞死を誘導するポリペプチドであり、プロテインＢは、炎症性及び／または免疫応答を刺激するか、及び／または免疫応答性を調節する別のポリペプチドである（以下にさらに記載）。

【０２５３】

修飾ｍＲＮＡ

いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、１つ以上の修飾核酸塩基、ヌクレオシドまたはヌクレオチドを含む（「修飾ｍＲＮＡ」または「ｍｍＲＮＡ」と呼ばれる）。いくつかの実施形態では、修飾ｍＲＮＡは、参照未修飾ｍＲＮＡと比較して、安定性の向上、細胞内保持、翻訳の向上、及び／またはｍＲＮＡが導入される細胞の自然免疫応答の実質的な誘導の欠如などの有用な特性を有し得る。したがって、修飾ｍＲＮＡの使用は、タンパク質産生の効率、細胞内での核酸の保持を促進し得、同様に免疫原性の低下を保有し得る。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは１つ以上（例えば、１、２、３または４）の異なる修飾核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、１つ以上（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００以上の）異なる修飾核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ｍＲＮＡは、対応する未修飾ｍＲＮＡと比較して、ｍＲＮＡが導入された細胞内では分解が低下している場合がある。

【０２５５】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、修飾されたウラシルである。例示的な核酸塩基及びヌクレオシド（修飾されたウラシルを有する）としては、シュードウリジン（Ψ）、ピリジン－４－オンリボヌクレオシド、５－アザ－ウリジン、６－アザ－ウリジン、２－チオ－５－アザ－ウリジン、２－チオ－ウリジン（s^2U）、４－チオ－ウリジン（s^4U）、４－チオ－シュードウリジン、２－チオ－シュードウリジン、５－ヒドロキシ－ウリジン（ho^5U）、５－アミノアリル－ウリジン、５－ハロ－ウリジン（例えば、５－ヨード－ウリジンまたは５－ブロモ－ウリジン）、３－メチル－ウリジン（m^3U）、５－メトキシ－ウリジン（mo^5U）、ウリジン５－オキシ酢酸（cmo^5U）、ウリジン５－オキシ酢酸メチルエステル（$mcmo^5U$）、５－カルボキシメチル－ウリジン（cm^5U）、１－カルボキシメチル－シュードウリジン、５－カルボキシヒドロキシメチル－ウリジン（chm^5U）、５－カルボキシヒドロキシメチル－ウリジンメチルエステル（$mchm^5U$）、５－メトキシカルボニルメチル－ウリジン（mcm^5U）、５－メトキシカルボニルメチル－２－チオ－ウリジン（mcm^5s^2U）、５－アミノメチル－２－チオ－ウリジン（nm^5s^2U）、５－メチルアミノメチル－ウリジン（mnm^5U）、５－メチルアミノメチル－２－チオ－ウリジン（mnm^5s^2U）、５－メチルアミノメチル－２－セレノ－ウリジン（mnm^5se^2U）、５－カルバモイルメチル－ウリジン（ncm^5U）、５－カルボキシメチルアミノメチル－ウリジン（$cmnm^5U$）、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオ－ウリジン（$cmnm^5s^2U$）、５－プロピニル－ウリジン、１－プロピニル－シュードウリジン、５－タウリノメチル－ウリジン（τm^5U）、１－タウリノメチル－シュードウリジン、５－タウリノメチル

－２－チオ－ウリジン（τｍ^{5}ｓ^{2}Ｕ）、１－タウリノメチル－４－チオ－シュードウリジン、５－メチル－ウリジン（ｍ^{5}Ｕ、すなわち、核酸塩基デオキシチミンを有する）、１－メチル－シュードウリジン（ｍ^{1}Ψ）、５－メチル－２－チオ－ウリジン（ｍ^{5}ｓ^{2}Ｕ）、１－メチル－４－チオ－シュードウリジン（ｍ^{1}ｓ^{4}Ψ）、４－チオ－１－メチル－シュードウリジン、３－メチル－シュードウリジン（ｍ^{3}Ψ）、２－チオ－１－メチル－シュードウリジン、１－メチル－１－デアザ－シュードウリジン、２－チオ－１－メチル－１－デアザ－シュードウリジン、ジヒドロウリジン（Ｄ）、ジヒドロシュードウリジン、５，６－ジヒドロウリジン、５－メチル－ジヒドロウリジン（ｍ^{5}Ｄ）、２－チオ－ジヒドロウリジン、２－チオ－ジヒドロシュードウリジン、２－メトキシ－ウリジン、２－メトキシ－４－チオ－ウリジン、４－メトキシ－シュードウリジン、４－メトキシ－２－チオ－シュードウリジン、Ｎ１－メチル－シュードウリジン、３－（３－アミノ－３－カルボキシプロピル）ウリジン（ａｃｐ^{3}Ｕ）、１－メチル－３－（３－アミノ－３－カルボキシプロピル）シュードウリジン（ａｃｐ^{3}Ψ）、５－（イソペンテニルアミノメチル）ウリジン（ｉｎｍ^{5}Ｕ）、５－（イソペンテニルアミノメチル）－２－チオ－ウリジン（ｉｎｍ^{5}ｓ^{2}Ｕ）、α－チオ－ウリジン、２’－Ｏ－メチル－ウリジン（Ｕｍ）、５，２’－Ｏ－ジメチル－ウリジン（ｍ^{5}Ｕｍ）、２’－Ｏ－メチル－シュードウリジン（Ψｍ）、２－チオ－２’－Ｏ－メチル－ウリジン（ｓ^{2}Ｕｍ）、５－メトキシカルボニルメチル－２’－Ｏ－メチル－ウリジン（ｍｃｍ^{5}Ｕｍ）、５－カルバモイルメチル－２’－Ｏ－メチル－ウリジン（ｎｃｍ^{5}Ｕｍ）、５－カルボキシメチルアミノメチル－２’－Ｏ－メチル－ウリジン（ｃｍｎｍ^{5}Ｕｍ）、３，２’－Ｏ－ジメチル－ウリジン（ｍ^{3}Ｕｍ）、及び５－（イソペンテニルアミノメチル）－２’－Ｏ－メチル－ウリジン（ｉｎｍ^{5}Ｕｍ）、１－チオ－ウリジン、デオキシチミジン、２’－Ｆ－アラ－ウリジン、２’－Ｆ－ウリジン、２’－ＯＨ－アラ－ウリジン、５－（２－カルボメトキシビニル）ウリジン、及び５－［３－（１－Ｅ－プロペニルアミノ）］ウリジンが挙げられる。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、修飾されたシトシンである。例示的な核酸塩基及びヌクレオシド（修飾されたシトシンを有する）としては、５－アザ－シチジン、６－アザ－シチジン、シュードイソシチジン、３－メチル－シチジン（ｍ^{3}Ｃ）、Ｎ４－アセチル－シチジン（ａｃ^{4}Ｃ）、５－ホルミル－シチジン（ｆ^{5}Ｃ）、Ｎ４－メチル－シチジン（ｍ^{4}Ｃ）、５－メチル－シチジン（ｍ^{5}Ｃ）、５－ハロ－シチジン（例えば、５－ヨード－シチジン）、５－ヒドロキシメチル－シチジン（ｈｍ^{5}Ｃ）、１－メチル－シュードイソシチジン、ピロロ－シチジン、ピロロ－シュードイソシチジン、２－チオ－シチジン（ｓ^{2}Ｃ）、２－チオ－５－メチル－シチジン、４－チオ－シュードイソシチジン、４－チオ－１－メチル－シュードイソシチジン、４－チオ－１－メチル－１－デアザ－シュードイソシチジン、１－メチル－１－デアザ－シュードイソシチジン、ゼブラリン、５－アザ－ゼブラリン、５－メチル－ゼブラリン、５－アザ－２－チオ－ゼブラリン、２－チオ－ゼブラリン、２－メトキシ－シチジン、２－メトキシ－５－メチル－シチジン、４－メトキシ－シュードイソシチジン、４－メトキシ－１－メチル－シュードイソシチジン、リシジン（ｋ$_{2}$Ｃ）、α－チオ－シチジン、２’－Ｏ－メチル－シチジン（Ｃｍ）、５，２’－Ｏ－ジメチル－シチジン（ｍ^{5}Ｃｍ）、Ｎ４－アセチル－２’－Ｏ－メチル－シチジン（ａｃ^{4}Ｃｍ）、Ｎ４，２’－Ｏ－ジメチル－シチジン（ｍ^{4}Ｃｍ）、５－ホルミル－２’－Ｏ－メチル－シチジン（ｆ^{5}Ｃｍ）、Ｎ４，Ｎ４，２’－Ｏ－トリメチル－シチジン（ｍ$^{4}{}_{2}$Ｃｍ）、１－チオ－シチジン、２’－Ｆ－アラ－シチジン、２’－Ｆ－シチジン、及び２’－ＯＨ－アラ－シチジンが挙げられる。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、修飾されたアデニンである。例示的な核酸塩基及びヌクレオシド（修飾されたアデニンを有する）としては、α－チオ－アデノシン、２－アミノ－プリン、２，６－ジアミノプリン、２－アミノ－６－ハロ－プリン（例えば、２－アミノ－６－クロロ－プリン）、６－ハロ－プリン（例えば、６－クロロ－プリン）、２－アミノ－６－メチル－プリン、８－アジド－アデノシン、７－デアザ－

アデニン、７－デアザ－８－アザ－アデニン、７－デアザ－２－アミノ－プリン、７－デアザ－８－アザ－２－アミノ－プリン、７－デアザ－２，６－ジアミノプリン、７－デアザ－８－アザ－２，６－ジアミノプリン、１－メチル－アデノシン（m^1A）、２－メチル－アデニン（m^2A）、Ｎ６－メチル－アデノシン（m^6A）、２－メチルチオ－Ｎ６－メチル－アデノシン（ms^2m^6A）、Ｎ６－イソペンテニル－アデノシン（i^6A）、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニル－アデノシン（ms^2i^6A）、Ｎ６－（ｃｉｓ－ヒドロキシイソペンテニル）アデノシン（io^6A）、２－メチルチオ－Ｎ６－（ｃｉｓ－ヒドロキシイソペンテニル）アデノシン（ms^2io^6A）、Ｎ６－グリシニルカルバモイル－アデノシン（g^6A）、Ｎ６－トレオニルカルバモイル－アデノシン（t^6A）、Ｎ６－メチル－Ｎ６－トレオニルカルバモイル－アデノシン（m^6t^6A）、２－メチルチオ－Ｎ６－トレオニルカルバモイル－アデノシン（ms^2g^6A）、Ｎ６，Ｎ６－ジメチル－アデノシン（$m^6{}_2A$）、Ｎ６－ヒドロキシノルバリルカルバモイル－アデノシン（hn^6A）、２－メチルチオ－Ｎ６－ヒドロキシノルバリルカルバモイル－アデノシン（ms^2hn^6A）、Ｎ６－アセチル－アデノシン（ac^6A）、７－メチル－アデニン、２－メチルチオ－アデニン、２－メトキシ－アデニン、α－チオ－アデノシン、２’－Ｏ－メチル－アデノシン（Ａｍ）、Ｎ６，２’－Ｏ－ジメチル－アデノシン（m^6Am）、Ｎ６，Ｎ６，２’－Ｏ－トリメチル－アデノシン（$m^6{}_2Am$）、１，２’－Ｏ－ジメチル－アデノシン（m^1Am）、２’－Ｏ－リボシルアデノシン（リン酸塩）（Ａｒ（ｐ））、２－アミノ－Ｎ６－メチル－プリン、１－チオ－アデノシン、８－アジド－アデノシン、２’－Ｆ－アラ－アデノシン、２’－Ｆ－アデノシン、２’－ＯＨ－アラ－アデノシン、及びＮ６－（１９－アミノ－ペンタオキサノナデシル）－アデノシンが挙げられる。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基とは、修飾されたグアニンである。例示的な核酸塩基及びヌクレオシド（修飾されたグアニンを有する）としては、α－チオ－グアノシン、イノシン（Ｉ）、１－メチル－イノシン（m^1I）、ワイオシン（ｉｍＧ）、メチルワイオシン（ｍｉｍＧ）、４－デメチル－ワイオシン（ｉｍＧ－１４）、イソワイオシン（ｉｍＧ２）、ワイブトシン（ｙＷ）、ペルオキシワイブトシン（o_2yW）、ヒドロキシワイブトシン（ＯｈｙＷ）、不完全修飾型ヒドロキシワイブトシン（ＯｈｙＷ＊）、７－デアザ－グアノシン、キューオシン（Ｑ）、エポキシキューオシン（ｏＱ）、ガラクトシル－キューオシン（ｇａｌＱ）、マンノシル－キューオシン（ｍａｎＱ）、７－シアノ－７－デアザ－グアノシン（$preQ_0$）、７－アミノメチル－７－デアザ－グアノシン（$preQ_1$）、アルカエオシン（G^+）、７－デアザ－８－アザ－グアノシン、６－チオ－グアノシン、６－チオ－７－デアザ－グアノシン、６－チオ－７－デアザ－８－アザ－グアノシン、７－メチル－グアノシン（m^7G），６－チオ－７－メチル－グアノシン、７－メチル－イノシン、６－メトキシ－グアノシン、１－メチル－グアノシン（m^1G）、Ｎ２－メチル－グアノシン（m^2G）、Ｎ２，Ｎ２－ジメチル－グアノシン（$m^2{}_2G$）、Ｎ２，７－ジメチル－グアノシン（$m^{2,7}G$）、Ｎ２，Ｎ２，７－ジメチル－グアノシン（$m^{2,2,7}G$）、８－オキソ－グアノシン、７－メチル－８－オキソ－グアノシン、１－メチル－６－チオ－グアノシン、Ｎ２－メチル－６－チオ－グアノシン、Ｎ２，Ｎ２－ジメチル－６－チオ－グアノシン、α－チオ－グアノシン、２’－Ｏ－メチル－グアノシン（Ｇｍ）、Ｎ２－メチル－２’－Ｏ－メチル－グアノシン（m^2Gm）、Ｎ２，Ｎ２－ジメチル－２’－Ｏ－メチル－グアノシン（$m^2{}_2Gm$）、１－メチル－２’－Ｏ－メチル－グアノシン（m^1Gm）、Ｎ２，７－ジメチル－２’－Ｏ－メチル－グアノシン（$m^{2,7}Gm$）、２’－Ｏ－メチル－イノシン（Ｉｍ）、１，２’－Ｏ－ジメチル－イノシン（m^1Im）、２’－Ｏ－リボシルグアノシン（リン酸塩）（Ｇｒ（ｐ））、１－チオ－グアノシン、Ｏ６－メチル－グアノシン、２’－Ｆ－アラ－グアノシン、及び２’－Ｆ－グアノシンが挙げられる。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、１つ以上の前述の修飾核酸塩基の組み

合わせ（例えば、２つ、３つまたは４つの前述の修飾核酸塩基の組み合わせ）を含む。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、シュードウリジン（Ψ）、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メトキシウリジン、または２’－Ｏ－メチルウリジンである。いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、１つ以上の上述の修飾された核酸塩基の組み合わせ（例えば、上述の修飾された核酸塩基のうち２、３または４つの組み合わせ）を包含する。一実施形態では、修飾された核酸塩基は、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）であり、本開示のｍＲＮＡは、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）で完全に修飾される。いくつかの実施形態では、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）は、ｍＲＮＡ中の７５～１００％のウラシルに相当する。いくつかの実施形態では、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）は、ｍＲＮＡ中の１００％のウラシルに相当する。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、修飾されたシトシンである。例示的な核酸塩基及びヌクレオシド（修飾されたシトシンを有する）としては、Ｎ４－アセチル－シチジン（ac^4C）、５－メチル－シチジン（m^5C）、５－ハロ－シチジン（例えば、５－ヨード－シチジン）、５－ヒドロキシメチル－シチジン（hm^5C）、１－メチル－シュードイソシチジン、２－チオ－シチジン（s^2C）、２－チオ－５－メチル－シチジンが挙げられる。いくつかの実施形態では、開示のｍＲＮＡとしては、上述の修飾された核酸塩基のうちの１つ以上の組み合わせ（例えば、上述の修飾された核酸塩基の２、３、または４つの組み合わせ）が挙げられる。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、修飾されたアデニンである。例示的な核酸塩基及びヌクレオシド（修飾されたアデニンを有する）としては、７－デアザ－アデニン、１－メチル－アデノシン（m^1A）、２－メチル－アデニン（m^2A）、Ｎ６－メチル－アデノシン（m^6A）が挙げられる。いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、１つ以上の上述の修飾された核酸塩基の組み合わせ（例えば、上述の修飾された核酸塩基の２、３または４つの組み合わせ）が挙げられる。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、修飾されたグアニンである。例示的な核酸塩基及びヌクレオシド（修飾されたグアニンを有する）としては、イノシン（Ｉ）、１－メチル－イノシン（m^1I）、ワイオシン（ｉｍＧ）、メチルワイオシン（ｍｉｍＧ）、７－デアザ－グアノシン、７－シアノ－７－デアザ－グアノシン（$preQ_0$）、７－アミノメチル－７－デアザ－グアノシン（$preQ_1$）、７－メチル－グアノシン（m^7G）、１－メチル－グアノシン（m^1G）、８－オキソ－グアノシン、７－メチル－８－オキソ－グアノシンが挙げられる。いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡとしては、上述の修飾された核酸塩基の１つ以上の組み合わせ（例えば、上述の修飾された核酸塩基の２、３または４つの組み合わせ）が挙げられる。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、修飾された核酸塩基は、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）、シュードウリジン（Ψ）、α－チオ－グアノシン、またはα－チオ－アデノシンである。いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡとしては、上述の修飾された核酸塩基の１つ以上の組み合わせ（例えば、上述の修飾された核酸塩基の２、３または４つの組み合わせ）が挙げられる。

【０２６５】
いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、シュードウリジン（Ψ）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、シュードウリジン（Ψ）及び５－メチル－シチジン（m^5C）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ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、ｍＲＮＡは、１－メチル－シュードウリジン（$m^1\Psi$）及び５－メチル－シチジン（m^5C）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、２－チオウリジン（s^2U）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、２－チオウリジン及び５－メチル－シチジン（m^5C）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ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、ｍＲＮＡは、５－メトキシ－ウリジン（mo^5U）及び５－メチル－シチジン（m^5C）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、２’－Ｏ－メチルウリジンを含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、２’－Ｏ－メチルウリジン及び５－メチル－シチジン（m^5C）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、Ｎ６－メチル－アデノシン（m^6A）を含む。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、Ｎ６－メチル－アデノシン（m^6A）及び５－メチル－シチジン（m^5C）を含む。

【０２６６】
特定の実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、特定の修飾について均一に修飾されている（すなわち、完全に修飾された、配列全体にわたって修飾されている）。例えば、ｍＲＮＡは、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）または５－メチル－シチジン（m^5C）で均一に修飾されてもよく、このことは、ｍＲＮＡ配列中の全てのウリジンまたは全てのシトシンヌクレオシドが、Ｎ１－メチルシュードウリジン（$m^1\Psi$）または５－メチル－シチジン（m^5C）で置き換えられていることを意味する。同様に、本開示のｍＲＮＡは、上記で示される残基のような修飾された残基との置換によって、配列中に存在する任意の種類のヌクレオシド残基について均一に修飾され得る。

【０２６７】
いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、コード領域（例えば、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）において修飾され得る。他の実施形態では、ｍＲＮＡは、コード領域以外の領域で修飾されていてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、５’－ＵＴＲ及び／または３’－ＵＴＲが提供され、ここで一方または両方は、独立して１つ以上の異なるヌクレオシド修飾を含んでもよい。そのような実施形態では、ヌクレオシド修飾はまたコード領域にも存在し得る。

【０２６８】
本開示のｍｍＲＮＡ中に存在し得る、ヌクレオシド修飾及びそれらの組み合わせの例としては、限定するものではないが、ＰＣＴ特許出願公開：ＷＯ２０１２０４５０７５、ＷＯ２０１４０８１５０７、ＷＯ２０１４０９３９２４、ＷＯ２０１４１６４２５３、及びＷＯ２０１４１５９８１３に記載されるものが挙げられる。

【０２６９】
本開示のｍｍＲＮＡは、糖、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合に対する修飾の組み合わせを含み得る。これらの組み合わせは、本明細書に記載のいずれか１つ以上の改変を含み得る。

【０２７０】
修飾ヌクレオシド及び修飾ヌクレオシドの組み合わせの例を、以下の表１及び表２に提供する。修飾ヌクレオチドのこれらの組み合わせを用いて、本開示のｍｍＲＮＡを形成し得る。特定の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、本開示のｍＲＮＡの天然ヌクレオチドと部分的にまたは完全に置換され得る。非限定的な例として、天然のヌクレオチドウリジンは、本明細書に記載の修飾ヌクレオシドで置換されていてもよい。別の非限定的な例では、天然ヌクレオシドウリジンは、本明細書に開示されている修飾ヌクレオシドの少なくとも１つによって部分的に置換されていてもよい（例えば、約０．１％、１％、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または９９．９％の天

然ウリジン）。
【０２７１】
【表１－１】
表１．ヌクレオシド修飾の組み合わせ

修飾ヌクレオチド	修飾されたヌクレオチドの組み合わせ
α－チオ－シチジン	α－チオ－シチジン／５－ヨード－ウリジン
	α－チオ－シチジン／Ｎ１－メチル－シュードウリジン
	α－チオ－シチジン／α－チオ－ウリジン
	α－チオ－シチジン／５－メチル－ウリジン
	α－チオ－シチジン／シュードウリジン
	約５０％のシトシンはα－チオ－シチジンである
シュードイソシチジン	シュードイソシチジン／５－ヨード－ウリジン
	シュードイソシチジン／Ｎ１－メチル－シュードウリジン
	シュードイソシチジン／α－チオ－ウリジン
	シュードイソシチジン／５－メチル－ウリジン
	シュードイソシチジン／シュードウリジン
	約２５％のシトシンはシュードイソシチジンである
	シュードイソシチジン／約５０％のウリジンは、Ｎ１－メチル－シュードウリジンであり、約５０％のウリジンは、シュードウリジンである
	シュードイソシチジン／約２５％のウリジンは、Ｎ１－メチル－シュードウリジンであり、約２５％のウリジンは、シュードウリジンである
ピロロ－シチジン	ピロロ－シチジン／５－ヨード－ウリジン
	ピロロ－シチジン／Ｎ１－メチル－シュードウリジン
	ピロロ－シチジン／α－チオ－ウリジン
	ピロロ－シチジン／５－メチル－ウリジン
	ピロロ－シチジン／シュードウリジン
	約５０％のシトシンは、ピロロ－シチジンである
５－メチル－シチジン	５－メチル－シチジン／５－ヨード－ウリジン

【表１－２】

	５－メチル－シチジン／Ｎ１－メチル－シュードウリジン
	５－メチル－シチジン／α－チオ－ウリジン
	５－メチル－シチジン／５－メチル－ウリジン
	５－メチル－シチジン／シュードウリジン
	約２５％のシトシンは５－メチル－シチジンである
	約５０％のシトシンは５－メチル－シチジンである
	５－メチル－シチジン／５－メトキシ－ウリジン
	５－メチル－シチジン／５－ブロモ－ウリジン
	５－メチル－シチジン／２－チオ－ウリジン
	５－メチル－シチジン／約５０％のウリジンは、２－チオ－ウリジンである
	約５０％のウリジンは、５－メチル－シチジン／約５０％のウリジンは、２－チオ－ウリジンである
Ｎ４－アセチル－シチジン	Ｎ４－アセチル－シチジン／５－ヨード－ウリジン
	Ｎ４－アセチル－シチジン／Ｎ１－メチル－シュードウリジン
	Ｎ４－アセチル－シチジン／α－チオ－ウリジン
	Ｎ４－アセチル－シチジン／５－メチル－ウリジン
	Ｎ４－アセチル－シチジン／シュードウリジン
	約５０％のシトシンはＮ４－アセチル－シチジンである
	約２５％のシトシンはＮ４－アセチル－シチジンである
	Ｎ４－アセチル－シチジン／５－メトキシ－ウリジン
	Ｎ４－アセチル－シチジン／５－ブロモ－ウリジン
	Ｎ４－アセチル－シチジン／２－チオ－ウリジン
	約５０％のシトシンはＮ４－アセチル－シチジンであり／約５０％のウリジンは、２－チ

【表１－３】

	オ－ウリジンである

【表２－１】
表２．修飾されたヌクレオシド及びそれらの組み合わせ

１－（２，２，２－トリフルオロエチル）シュードーＵＴＰ
１－エチルーシュードーＵＴＰ
１－メチルーシュードーＵーアルファーチオーＴＰ
１－メチルーシュードウリジンＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＣＴＰ
１－メチルーシュードーＵＴＰ／５－メチルーＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
１－メチルーシュードーＵＴＰ／ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
１－プロピルーシュードーＵＴＰ
２５％　５－アミノアリルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシーＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－アミノアリルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシーＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－ブロモーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシーＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－ブロモーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシーＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－ブロモーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／１－メチルーシュードーＵＴＰ
２５％　５－カルボキシーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシーＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－カルボキシーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシーＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－エチルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシーＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－エチルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシーＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－エチニルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシーＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－エチニルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシーＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－フルオローＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシーＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－フルオローＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシーＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－ホルミルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシーＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－ホルミルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシーＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－ヒドロキシメチルーＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％

【表２－２】

５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－ヒドロキシメチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－ヨード－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－ヨード－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－メトキシ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－メトキシ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　１－メチル－シュード－ＵＴＰ
２５％　５－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
２５％　５－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％　ＵＴＰ
２５％　５－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
２５％　５－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
２５％　５－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－フェニル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－フェニル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
２５％　Ｎ４－Ａｃ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　Ｎ４－Ａｃ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　Ｎ４－Ｂｚ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ

【表２－３】

２５％　Ｎ４－Ｂｚ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　Ｎ４－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　Ｎ４－メチル－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　シュード－イソ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
２５％　シュード－イソ－ＣＴＰ＋７５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
２５％　５－ブロモ－ＣＴＰ／７５％－ＣＴＰ／シュード－ＵＴＰ
２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／２５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／７５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／５０％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
２－アミノ－ＡＴＰ
２－チオ－ＣＴＰ
２－チオ－シュードウリジン　ＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＣＴＰ
２－チオ－シュード－ＵＴＰ
２－チオ－ＵＴＰ
３－メチル－ＣＴＰ
３－メチル－シュード－ＵＴＰ
４－チオ－ＵＴＰ
５０％　５－ブロモ－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５０％　５－ヒドロキシメチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ／５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５０％　５－メチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５０％　５－メチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
５０％　５－メチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５０％　５－メチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／５０％　５－メトキ

【表２－４】

シ－ＵＴＰ＋５０％　ＵＴＰ
５０％　５－メチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５０％　５－メチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５０％　５－メチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
５０％　５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ＋５０％－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５０％　５－ブロモ－ＣＴＰ／５０％－ＣＴＰ／シュード－ＵＴＰ
５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ／２５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ／５０％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ／７５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ／ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５－アミノアリル－ＣＴＰ
５－アミノアリル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－アミノアリル－ＵＴＰ
５－ブロモ－ＣＴＰ
５－ブロモ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－ブロモ－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５－ブロモ－ＣＴＰ／シュード－ＵＴＰ
５－ブロモシチジン　ＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＵＴＰ
５－ブロモ－ＵＴＰ
５－カルボキシ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－エチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－エチニル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－フルオロ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－ホルミル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－ヒドロキシ－メチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－ヒドロキシメチル－ＣＴＰ
５－ヒドロキシメチル－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５－ヒドロキシメチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－ヒドロキシメチル－シチジン　ＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＵＴＰ
５－ヨード－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－Ｍｅ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－メトキシ　カルボニル　メチル－ＵＴＰ

【表２－５】

５－メトキシ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－メトキシ－ウリジン　ＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＵＴＰ
５－メトキシ－ＵＴＰ
５－メトキシ－ＵＴＰ
５－メトキシ－ＵＴＰ／Ｎ６－イソペンテニル－ＡＴＰ
５－メトキシ－ＵＴＰ／２５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５－メトキシ－ＵＴＰ／５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５－メトキシ－ＵＴＰ／７５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５－メトキシ－ＵＴＰ／ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
５－メチル－２－チオ－ＵＴＰ
５－メチルアミノメチル－ＵＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ（キャップ０）
５－メチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ（ｃａｐなし）
５－メチル－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％　ＵＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ／Ｎ６－Ｍｅ－ＡＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５－メチル－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
５－フェニル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－トリフルオロ－メチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ
５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ／シュード－ＵＴＰ
５－トリフルオロメチル－ＵＴＰ
５－トリフルオロメチルシチジン　ＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＵＴＰ
７５％　５－アミノアリル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－アミノアリル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－

【表２－６】

メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－ブロモ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－ブロモ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－カルボキシ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－カルボキシ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－エチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－エチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－エチニル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－エチニル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－フルオロ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－フルオロ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－ホルミル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－ホルミル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－ヒドロキシメチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－ヒドロキシメチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－ヨード－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－ヨード－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－メトキシ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－メトキシ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
７５％　５－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％１－メチル－シュード－ＵＴＰ

【表２－７】

７５％　５－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
７５％　５－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％　ＵＴＰ
７５％　５－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
７５％　５－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％１－メチル－シュード－ＵＴＰ
７５％　５－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－フェニル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－フェニル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－トリフルオロメチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
７５％　Ｎ４－Ａｃ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　Ｎ４－Ａｃ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　Ｎ４－Ｂｚ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　Ｎ４－Ｂｚ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　Ｎ４－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　Ｎ４－メチル－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　シュード－イソ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
７５％　シュード－イソ－ＣＴＰ＋２５％－ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
７５％　５－ブロモ－ＣＴＰ／２５％－ＣＴＰ／１－メチル－シュード－ＵＴＰ
７５％　５－ブロモ－ＣＴＰ／２５％－ＣＴＰ／シュード－ＵＴＰ

【表２－８】

７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／２５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／５０％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／７５％　５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ／ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
８－アザ－ＡＴＰ
アルファ－チオ－ＣＴＰ
ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％１－メチル－シュードＵＴＰ
ＣＴＰ／２５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％　ＵＴＰ
ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％１－メチル－シュードＵＴＰ
ＣＴＰ／５０％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋５０％　ＵＴＰ
ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ（キャップ０）
ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ（キャップなし）
ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％１－メチル－シュードＵＴＰ
ＣＴＰ／７５％　５－メトキシ－ＵＴＰ＋２５％　ＵＴＰ
ＣＴＰ／ＵＴＰ（キャップなし）
Ｎ１－Ｍｅ－ＧＴＰ
Ｎ４－Ａｃ－ＣＴＰ
Ｎ４Ａｃ－ＣＴＰ／１－メチル－シュードＵＴＰ
Ｎ４Ａｃ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
Ｎ４－アセチル－シチジン　ＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＵＴＰ
Ｎ４－Ｂｚ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
Ｎ４－メチル－ＣＴＰ
Ｎ４－メチル－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
シュードイソ－ＣＴＰ／５－メトキシ－ＵＴＰ
シュードＵ－アルファ－チオ－ＴＰ
シュードウリジン　ＴＰ、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＣＴＰ
シュードＵＴＰ／５－メチル－ＣＴＰ／ＡＴＰ／ＧＴＰ
ＵＴＰ－５－オキシ酢酸　Ｍｅエステル
キサントシン

【０２７２】

本開示に従って、本開示のポリヌクレオチドは、表１または表２の組み合わせまたは単一の修飾を含むように合成され得る。

【０２７３】

単一の修飾が列挙されている場合、列挙されているヌクレオシドまたはヌクレオチドは、修飾されているＡ、Ｕ、ＧまたはＣのヌクレオチドまたはヌクレオシドの１００パーセントに相当する。割合が列挙されている場合、これらは存在するＡ、Ｕ、ＧまたはＣ三リン酸の総量のうちのその特定のＡ、Ｕ、ＧまたはＣ核酸塩基三リン酸の割合を表す。例え

ば、２５％の５－アミノアリル－ＣＴＰ＋７５％のＣＴＰ／２５％の５－メトキシ－ＵＴＰ＋７５％のＵＴＰの組み合わせとは、２５％のシトシン三リン酸が、５－アミノアリル－ＣＴＰであり、一方で７５％のシトシンがＣＴＰであるポリヌクレオチドを指す；一方、ウラシルの２５％が５－メトキシＵＴＰであり、一方でウラシルの７５％はＵＴＰである。修飾されたＵＴＰが列挙されていない場合には、天然に存在するＡＴＰ、ＵＴＰ、ＧＴＰ及び／またはＣＴＰが、ポリヌクレオチド中に見出されるそれらのヌクレオチドの部位の１００％で使用される。この例では、全てのＧＴＰ及びＡＴＰヌクレオチドが未修飾のままである。

【０２７４】

本開示のｍＲＮＡ、またはその領域は、コドン最適化されていてもよい。コドン最適化法は、当該技術分野において公知であり、以下の種々の目的に有用であり得る：適切な折り畳みを保証するための宿主生物におけるコドン頻度の一致、ｍＲＮＡ安定性の向上または二次構造の低減のためのバイアスＧＣ含量、遺伝子構築または発現を障害し得る、タンデムリピートコドンまたはベースランを最小化する、転写及び翻訳制御領域をカスタマイズする、タンパク質輸送配列を挿入または除去する、コードされたタンパク質中の翻訳後修飾部位の除去／追加（例えば、グリコシル化部位）、タンパク質ドメインを追加、除去またはシャッフルする、制限部位の挿入または削除、リボソーム結合部位及びｍＲＮＡ分解部位を修飾する、翻訳速度を調節してタンパク質の種々のドメインが適切に折り畳まれることを可能にするか、またはポリヌクレオチド内の問題の二次構造を減少もしくは排除する。コドン最適化ツール、アルゴリズム及びサービスは、当該技術分野において公知であり；非限定的な例としては、ＧｅｎｅＡｒｔ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、ＤＮＡ２．０（Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ、ＣＡ）のサービス、及び／または独自の方法が挙げられる。一実施形態では、ｍＲＮＡ配列は、例えば、哺乳動物細胞における発現を最適化するため、またはｍＲＮＡの安定性を高めるために、最適化アルゴリズムを使用して最適化される。

【０２７５】

特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の任意のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有するポリヌクレオチドを含む。

【０２７６】

本開示のｍＲＮＡは、インビトロ転写（ＩＶＴ）及び合成方法を含むがこれらに限定されない、当該技術分野において利用可能な手段によって産生され得る。酵素的（ＩＶＴ）、固相、液相、複合合成法、小領域合成、及び連結法を利用してもよい。一実施形態では、ｍＲＮＡは、ＩＶＴ酵素合成法を用いて作製される。ＩＶＴによるポリヌクレオチドの製造方法は当該技術分野において公知であり、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際出願ＰＣＴ／ＵＳ２０１３／３００６２に記載されている。したがって、本開示はまた、本明細書に記載のｍＲＮＡをインビトロ転写するために使用され得るポリヌクレオチド（例えば、ＤＮＡ）、構築物及びベクターを含む。

【０２７７】

合成中または合成後に、非天然修飾核酸塩基をポリヌクレオチド、例えば、ｍＲＮＡに導入してもよい。特定の実施形態では、修飾は、ヌクレオシド間結合、プリンもしくはピリミジン塩基、または糖にあってもよい。特定の実施形態では、修飾は、ポリヌクレオチド鎖の末端に導入しても、またはポリヌクレオチド鎖内の他のどこかに導入してもよい（化学合成によるかまたはポリメラーゼ酵素による）。修飾された核酸及びそれらの合成の例は、ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１２／０５８５１９号に開示されている。修飾ポリヌクレオチドの合成はまた、Ｖｅｒｍａ　ａｎｄ　Ｅｃｋｓｔｅｉｎ，Ａｎｎｕａｌ　Ｒｅｖｉｅｗ　ｏｆ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ｖｏｌ．７６，９９－１３４（１９９８）にも記載される。

【０２７８】

酵素的または化学的ライゲーション方法のいずれかを使用して、標的化剤または送達剤

、蛍光標識、液体、ナノ粒子などのような、異なる機能部分とポリヌクレオチドまたはそれらの領域とをコンジュゲートさせてもよい。ポリヌクレオチド及び修飾ポリヌクレオチドのコンジュゲートは、Ｇｏｏｄｃｈｉｌｄ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ｖｏｌ．１（３），１６５～１８７（１９９０）に概説されている。

【０２７９】

マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）結合部位

本開示のポリヌクレオチドは、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に対するシュード受容体として作用するように設計された人工結合部位、及びそれらの組み合わせを含んでもよい。いくつかの実施形態では、そのような調節エレメントを含むポリヌクレオチドは、「センサー配列」を含むと称される。センサー配列の非限定的な例は、その内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第２０１４／０２００２６１号に記載されている。

【０２８０】

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、リボ核酸（ＲＮＡ）、例えば、メッセンジャーＲＮＡ（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）の包含もしくは組み込みは、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な発現に基づいて、本開示のポリヌクレオチド、そして今度は、それからコードされるポリペプチドの調節を提供する。

【０２８１】

ｍｉＲＮＡ、例えば、天然に存在するｍｉＲＮＡは、ポリヌクレオチドに結合し、安定性を低下させることによってまたはポリヌクレオチドの翻訳を阻害することによって、遺伝子発現を下方制御する１９～２５ヌクレオチド長の非コードＲＮＡである。ｍｉＲＮＡ配列は、「シード」領域、すなわち成熟ｍｉＲＮＡの２～８位の領域内の配列を含む。ｍｉＲＮＡシードは、成熟ｍｉＲＮＡの２～８位または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）を含んでもよく、ここで対応するｍｉＲＮＡ結合部位内のシード相補的部位には、ｍｉＲＮＡ位置１とは反対側のアデノシン（Ａ）が隣接している。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）を含んでもよく、ここで対応するｍｉＲＮＡ結合部位内のシード相補的部位には、ｍｉＲＮＡ位置１とは反対側のアデノシン（Ａ）が隣接している。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プロファイリングは、細胞または組織中のｍｉＲＮＡの有無を決定するために行われ得る。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、リボ核酸（ＲＮＡ）、例えば、メッセンジャーＲＮＡ（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相補的配列、またはマイクロＲＮＡシード相補的配列を含む。そのような配列は、例えば、その全体が参照によって本明細書に組み込まれている、米国特許出願公開第２００５／０２６１２１８号及び米国特許出願公開第２００５／００５９００５号に教示されているものなどの任意の既知のマイクロＲＮＡに相当し得、例えば、それに対する相補性を有し得る。

【０２８２】

本明細書中で使用される場合、「マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡまたはｍｉＲ）結合部位」という用語は、ｍｉＲＮＡと相互作用、会合または結合するためにｍｉＲＮＡの全部または領域に対する十分な相補性を有する、ポリヌクレオチド内、例えば、ＤＮＡ内またはＲＮＡ転写物内の配列（５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲ中を含む）を指す。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を含む本開示のポリヌクレオチドは、さらに１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位（複数可）を含む。例示的な実施形態では、

ポリヌクレオチド（例えば、リボ核酸（ＲＮＡ）、例えば、メッセンジャーＲＮＡ（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。

【０２８３】

ｍｉＲＮＡに対して十分な相補性を有するｍｉＲＮＡ結合部位は、ポリヌクレオチドのｍｉＲＮＡ媒介調節、例えば、ポリヌクレオチドのｍｉＲＮＡ媒介の翻訳抑制または分解を促進するのに十分な程度の相補性を指す。本開示の例示的な態様では、ｍｉＲＮＡに対して十分な相補性を有するｍｉＲＮＡ結合部位は、ポリヌクレオチドのｍｉＲＮＡ媒介性分解、例えば、ｍＲＮＡのｍｉＲＮＡ誘導型ＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）媒介切断を促進するのに十分な程度の相補性を指す。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の一部分のみに対して、例えば、天然に存在するｍｉＲＮＡ配列の全長の１、２、３、または４ヌクレオチド未満の部分に対して相補性であり得る。所望の調節がｍＲＮＡ分解である場合、全もしくは完全相補性（例えば、天然に存在するｍｉＲＮＡの長さの全部もしくはかなりの部分にわたる全相補性、または完全相補性）が好ましい。

【０２８４】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡシード配列と相補性（例えば、部分的または完全相補性）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配列と相補性（例えば、部分的または完全相補性）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配列と完全な相補性を有するが、１、２、または３個のヌクレオチド置換、末端付加、及び／または切断がある。

【０２８５】

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において対応するｍｉＲＮＡよりも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、またはその両方において、対応するマイクロＲＮＡよりも２ヌクレオチド短い。対応するｍｉＲＮＡよりも短いｍｉＲＮＡ結合部位は依然として、１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を組み込んでいるｍＲＮＡを分解するか、またはｍＲＮＡの翻訳を妨げ得る。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、活性ＲＩＳＣ含有Ｄｉｃｅｒの一部である対応する成熟ｍｉＲＮＡに結合する。別の実施形態では、ＲＩＳＣ中の対応するｍｉＲＮＡへのｍｉＲＮＡ結合部位の結合は、ｍｉＲＮＡ結合部位を含むｍＲＮＡを分解するか、またはｍＲＮＡが翻訳されるのを妨げる。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡに対して十分な相補性を有し、その結果、ｍｉＲＮＡを含むＲＩＳＣ複合体は、ｍｉＲＮＡ結合部位を含むポリヌクレオチドを切断する。他の実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、不完全な相補性を有し、その結果、ｍｉＲＮＡを含むＲＩＳＣ複合体がｍｉＲＮＡ結合部位を含むポリヌクレオチドの不安定性を誘発する。別の実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、不完全な相補性を有し、その結果、ｍｉＲＮＡを含むＲＩＳＣ複合体がｍｉＲＮＡ結合部位を含むポリヌクレオチドの転写を抑制する。

【０２８７】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、対応するｍｉＲＮＡから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。

【０２８８】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、対応するｍｉＲＮＡのそれぞれ、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の連続ヌクレオチドに対して相補的な、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の連続ヌクレオチドを有する。

【０２８９】

１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を本開示のポリヌクレオチドに操作することによって、問題のｍｉＲＮＡが利用可能であるという条件下で、ポリヌクレオチドを分解または翻訳の減少の標的とし得る。これは、ポリヌクレオチドの送達に対するオフターゲット効果を減少し得る。例えば、本開示のポリヌクレオチドが組織または細胞に送達されることを意図しないが、最終的に前記組織または細胞であるならば、ｍｉＲＮＡの１つ以上の結合部位が、ポリヌクレオチドの５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲに操作される場合、組織または細胞に豊富に存在するｍｉＲＮＡは、目的の遺伝子の発現を阻害し得る。

【０２９０】

逆に、特定の組織におけるタンパク質発現を増大させるために、それらが天然に存在するポリヌクレオチド配列からｍｉＲＮＡ結合部位を除去し得る。例えば、特定のｍｉＲＮＡの結合部位をポリヌクレオチドから除去して、ｍｉＲＮＡを含む組織または細胞におけるタンパク質発現を改善し得る。

【０２９１】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、細胞傷害性または細胞保護性ｍＲＮＡ治療薬を、限定するものではないが、正常細胞及び／または癌性細胞などの特定の細胞に調節するために、５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲに少なくとも１つのｍｉＲＮＡ結合部位を含み得る。別の実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、５’－ＵＴＲ及び／または３’－ＵＴＲ内に２、３、４、５、６、７、８、９、１０、またはそれ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を含み、細胞傷害性または細胞保護性ｍＲＮＡ治療薬を、限定されるものではないが、正常細胞及び／または癌性細胞などの特定の細胞に調節してもよい。

【０２９２】

複数の組織における発現の調節は、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結合部位を除去するかまたは挿入するかの決定は、ｍｉＲＮＡ発現パターン及び／または発生中の組織及び／または細胞及び／または疾患におけるそれらのプロファイリングに基づいて行ってもよい。ｍｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ結合部位、ならびにそれら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及びその中の全ての引用文献；それぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

【０２９３】

ｍｉＲＮＡ及びｍｉＲＮＡ結合部位は、その各々が、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第２０１４／０２００２６１号、同第２００５／０２６１２１８号、及び同第２００５／００５９００５号に記載されている非限定的な例を含む、任意の公知の配列に相当し得る。

【０２９４】

ｍｉＲＮＡがｍＲＮＡを調節し、それによってタンパク質発現を調節することが公知である組織の例としては、限定するものではないが、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。

【０２９５】

具体的には、ｍｉＲＮＡは、免疫細胞（造血細胞とも呼ばれる）、例えば、抗原提示細胞（ＡＰＣ）（例えば、樹状細胞及びマクロファージ）、マクロファージ、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などにおいて示差的に発現されることが公知である。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している。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を調節する。例えば、ｍｉＲ－１４２及びｍｉＲ－１４６は、免疫細胞において排他的に発現され、特に骨髄性樹状細胞において豊富に発現される。ポリヌクレオチドに対する免疫応答は、ｍｉＲ－１４２結合部位をポリヌクレオチドの３’－ＵＴＲに付加することによって遮断され得、組織及び細胞におけるより安定な遺伝子導入を可能にすることが実証されている。ｍｉＲ－１４２は、抗原提示細胞中の外因性ポリヌクレオチドを効率的に分解し、そして形質導入細胞の細胞毒性除去を抑制する（例えば、各々が、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、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を参照のこと）。

【０２９６】

抗原媒介免疫応答は、外来抗原によって引き起こされる免疫応答を指す場合があり、それは、生物に入ると、抗原提示細胞によって処理され、抗原提示細胞の表面に表示される。Ｔ細胞は、提示された抗原を認識し、そして抗原を発現する細胞の細胞傷害性除去を誘導し得る。

【０２９７】

本開示のポリヌクレオチドの５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲへのｍｉＲ－１４２結合部位の導入は、ｍｉＲ－１４２媒介分解を通して抗原提示細胞における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、それによって、ポリヌクレオチドの送達後、抗原媒介性免疫応答を妨げる。次いで、ポリヌクレオチドは、細胞傷害性排除を引き起こすことなく、標的組織または細胞において安定的に発現される。

【０２９８】

一実施形態では、免疫細胞、特に抗原提示細胞において発現されることが知られているｍｉＲＮＡの結合部位を、ｍｉＲＮＡ媒介ＲＮＡ分解を通じて抗原提示細胞におけるポリヌクレオチドの発現を抑制するために本開示のポリヌクレオチドに操作してもよく、抗原媒介性の免疫応答を抑制する。ポリヌクレオチドの発現は、免疫細胞特異的ｍｉＲＮＡが発現されていない非免疫細胞において維持される。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結合部位を除去してもよく、ｍｉＲ－１４２（及び／またはｍｉｒＲ－１４６）結合部位を、本開示のポリヌクレオチドの５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲに操作してもよい。

【０２９９】

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駆動するために、本開示のポリヌクレオチドは、単独で、またはｍｉＲ－１４２及び／またはｍｉＲ－１４６の

結合部位と組み合わせて、５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲにさらなる負の調節エレメントを含んでもよい。非限定的な例として、さらなる負の調節エレメントは、構成的減衰エレメント（Ｃｏｎｓｔｉｔｕｔｉｖｅ　Ｄｅｃａｙ　Ｅｌｅｍｅｎｔ）（ＣＤＥ）である。

【０３００】

免疫細胞特異的ｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、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が挙げられる。さらに、新規なｍｉＲＮＡは、マイクロアレイハイブリダイゼーション及びマイクロトーム分析を通じて免疫細胞において特定され得る（例えば、Ｊｉｍａ　ＤＤ　ｅｔ　ａｌ，Ｂｌｏｏｄ，２０１０，１１６：ｅ１１８－ｅ１２７；Ｖａｚ　Ｃ　ｅｔ　ａｌ．，ＢＭＣ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，２０１０，１１，２８８，その各々の内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる）。

【０３０１】

肝臓で発現されることが知られているｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｍｉＲ－１０７、ｍｉＲ－１２２－３ｐ、ｍｉＲ－１２２－５ｐ、ｍｉＲ－１２２８－３ｐ、ｍｉＲ－１２２８－５ｐ、ｍｉＲ－１２４９、ｍｉＲ－１２９－５ｐ、ｍｉＲ－１３０３、ｍｉＲ－１５１ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１５１ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１５２、ｍｉＲ－１９４－３ｐ、ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｍｉＲ－１９９ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１９９ａ－５ｐ

、ｍｉＲ－１９９ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－２９６－５ｐ、ｍｉＲ－５５７、ｍｉＲ－５８１、ｍｉＲ－９３９－３ｐ、及びｍｉＲ－９３９－５ｐが挙げられる。肝臓におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、任意の肝臓特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。肝臓特異的ｍｉＲＮＡ結合部位は、本開示のポリヌクレオチドにおいて、単独で、またはさらに免疫細胞（例えば、ＡＰＣ）ｍｉＲＮＡ結合部位と組み合わせて操作され得る。

【０３０２】

肺で発現されることが知られているｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｌｅｔ－７ａ－２－３ｐ、ｌｅｔ－７ａ－３ｐ、ｌｅｔ－７ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１２６－３ｐ、ｍｉＲ－１２６－５ｐ、ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｍｉＲ－１２７－５ｐ、ｍｉＲ－１３０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１３０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１３０ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１３０ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１３３ａ、ｍｉＲ－１３３ｂ、ｍｉＲ－１３４、ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１８ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－２４－１－５ｐ、ｍｉＲ－２４－２－５ｐ、ｍｉＲ－２４－３ｐ、ｍｉＲ－２９６－３ｐ、ｍｉＲ－２９６－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－３３７－３ｐ、ｍｉＲ－３３７－５ｐ、ｍｉＲ－３８１－３ｐ、及びｍｉＲ－３８１－５ｐが挙げられる。肺におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、任意の肺特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。肺特異的ｍｉＲＮＡ結合部位は、単独で、またはさらに本開示のポリヌクレオチド中の免疫細胞（例えば、ＡＰＣ）ｍｉＲＮＡ結合部位と組み合わせて操作してもよい。

【０３０３】

心臓で発現されることが知られているｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｍｉＲ－１、ｍｉＲ－１３３ａ、ｍｉＲ－１３３ｂ、ｍｉＲ－１４９－３ｐ、ｍｉＲ－１４９－５ｐ、ｍｉＲ－１８６－３ｐ、ｍｉＲ－１８６－５ｐ、ｍｉＲ－２０８ａ、ｍｉＲ－２０８ｂ、ｍｉＲ－２１０、ｍｉＲ－２９６－３ｐ、ｍｉＲ－３２０、ｍｉＲ－４５１ａ、ｍｉＲ－４５１ｂ、ｍｉＲ－４９９ａ－３ｐ、ｍｉＲ－４９９ａ－５ｐ、ｍｉＲ－４９９ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－４９９ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－７４４－３ｐ、ｍｉＲ－７４４－５ｐ、ｍｉＲ－９２ｂ－３ｐ、及びｍｉＲ－９２ｂ－５ｐが挙げられる。心臓におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、任意の心臓特異的マイクロＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。心臓特異的ｍｉＲＮＡ結合部位は、本開示のポリヌクレオチドにおいて、単独で、またはさらに免疫細胞（例えば、ＡＰＣ）ｍｉＲＮＡ結合部位と組み合わせて操作してもよい。

【０３０４】

神経系で発現されることが公知であるｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｍｉＲ－１２４－５ｐ、ｍｉＲ－１２５ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１２５ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１２５ｂ－１－３ｐ、ｍｉＲ－１２５ｂ－２－３ｐ、ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１２７１－３ｐ、ｍｉＲ－１２７１－５ｐ、ｍｉＲ－１２８、ｍｉＲ－１３２－５ｐ、ｍｉＲ－１３５ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１３５ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１３５ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１３７、ｍｉＲ－１３９－５ｐ、ｍｉＲ－１３９－３ｐ、ｍｉＲ－１４９－３ｐ、ｍｉＲ－１４９－５ｐ、ｍｉＲ－１５３、ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－１８３－３ｐ、ｍｉＲ－１８３－５ｐ、ｍｉＲ－１９０ａ、ｍｉＲ－１９０ｂ、ｍｉＲ－２１２－３ｐ、ｍｉＲ－２１２－５ｐ、ｍｉＲ－２１９－１－３ｐ、ｍｉＲ－２１９－２－３ｐ、ｍｉＲ－２３ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２３ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３０ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－３０ｃ－１－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｃ－２－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－３０ｄ－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｄ－５ｐ、ｍｉＲ－３２９、ｍｉＲ－３４２－３ｐ、ｍｉＲ－３６６５、ｍｉＲ－３６６６、ｍｉＲ－３８０－３ｐ、ｍｉＲ－３８０－５ｐ、ｍｉＲ－３８３、ｍｉＲ－４１０、ｍｉＲ－４２５－３ｐ、ｍｉＲ－４２５－５ｐ、ｍｉＲ－４５４－３ｐ、

ｍｉＲ－４５４－５ｐ、ｍｉＲ－４８３、ｍｉＲ－５１０、ｍｉＲ－５１６ａ－３ｐ、ｍｉＲ－５４８ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－５４８ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－５７１、ｍｉＲ－７－１－３ｐ、ｍｉＲ－７－２－３ｐ、ｍｉＲ－７－５ｐ、ｍｉＲ－８０２、ｍｉＲ－９２２、ｍｉＲ－９－３ｐ、及びｍｉＲ－９－５ｐが挙げられる。神経系で豊富なｍｉＲＮＡとしてはさらに、限定するものではないが、ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｍｉＲ－１４８ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１４８ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１５１ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１５１ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２１２－３ｐ、ｍｉＲ－２１２－５ｐ、ｍｉＲ－３２０ｂ、ｍｉＲ－３２０ｅ、ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｍｉＲ－３２３ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｍｉＲ－３２５、ｍｉＲ－３２６、ｍｉＲ－３２８、ｍｉＲ－９２２を含むニューロンで特異的に発現されるｍｉＲＮＡ、ならびに限定するものではないが、ｍｉＲ－１２５０、ｍｉＲ－２１９－１－３ｐ、ｍｉＲ－２１９－２－３ｐ、ｍｉＲ－２１９－５ｐ、ｍｉＲ－２３ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２３ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３０６５－３ｐ、ｍｉＲ－３０６５－５ｐ、ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｅ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－５ｐ、ｍｉＲ－３３８－５ｐ、及びｍｉＲ－６５７を含むグリア細胞で特異的に発現されるｍｉＲＮＡが挙げられる。任意のＣＮＳ特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、神経系におけるポリヌクレオチドの発現を調節するための本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。神経系特異的ｍｉＲＮＡ結合部位は、単独で操作されてもよいし、またはさらに本開示のポリヌクレオチド中の免疫細胞（例えば、ＡＰＣ）ｍｉＲＮＡ結合部位と組み合わせて操作されてもよい。

【０３０５】

膵臓で発現されることが公知であるｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｍｉＲ－１０５－３ｐ、ｍｉＲ－１０５－５ｐ、ｍｉＲ－１８４、ｍｉＲ－１９５－３ｐ、ｍｉＲ－１９５－５ｐ、ｍｉＲ－１９６ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１９６ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｍｉＲ－２１４－５ｐ、ｍｉＲ－２１６ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－３３ａ－３ｐ、ｍｉＲ－３３ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３７５、ｍｉＲ－７－１－３ｐ、ｍｉＲ－７－２－３ｐ、ｍｉＲ－４９３－３ｐ、ｍｉＲ－４９３－５ｐ、及びｍｉＲ－９４４が挙げられる。任意の膵臓特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、膵臓におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。膵臓特異的ｍｉＲＮＡ結合部位は、単独で操作されてもよいし、またはさらに本開示のポリヌクレオチドにおいて免疫細胞（例えば、ＡＰＣ）ｍｉＲＮＡ結合部位と組み合わせて操作されてもよい。

【０３０６】

腎臓で発現されることが知られているｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｍｉＲ－１２２－３ｐ、ｍｉＲ－１４５－５ｐ、ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｍｉＲ－１９２－３ｐ、ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｍｉＲ－１９４－３ｐ、ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｍｉＲ－２０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２０４－３ｐ、ｍｉＲ－２０４－５ｐ、ｍｉＲ－２１０、ｍｉＲ－２１６ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２１６ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２９６－３ｐ、ｍｉＲ－３０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３０ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－３０ｃ－１－３ｐ、ｍｉＲ－３０ｃ－２－３ｐ、ｍｉＲ３０ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－３２４－３ｐ、ｍｉＲ－３３５－３ｐ、ｍｉＲ－３３５－５ｐ、ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｍｉＲ－３６３－５ｐ、及びｍｉＲ－５６２が挙げられる。腎臓におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、任意の腎臓特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。腎臓特異的ｍｉＲＮＡ結合部位は、単独で、またはさらに本開示のポリヌクレオチド中の免疫細胞（例えば、ＡＰＣ）ｍｉＲＮＡ結合部位と組み合わせて操作してもよい。

【０３０７】

筋肉内で発現されることが公知であるｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｌｅｔ－７ｇ－３ｐ、ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｍｉＲ－１、ｍｉＲ－１２８６、ｍｉＲ－１３３ａ、ｍｉＲ－１３３ｂ、ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｍｉＲ－１

４３－５ｐ、ｍｉＲ－１４５－３ｐ、ｍｉＲ－１４５－５ｐ、ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－１８８－５ｐ、ｍｉＲ－２０６、ｍｉＲ－２０８ａ、ｍｉＲ－２０８ｂ、ｍｉＲ－２５－３ｐ、及びｍｉＲ－２５－５ｐが挙げられる。筋肉内のポリヌクレオチドの発現を調節するために、任意の筋肉特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。筋肉特異的ｍｉＲＮＡ結合部位は、単独で操作されてもよいし、またはさらに本開示のポリヌクレオチド中の免疫細胞（例えば、ＡＰＣ）ｍｉＲＮＡ結合部位と組み合わせて操作されてもよい。

【０３０８】

ｍｉＲＮＡはまた、限定するものではないが、内皮細胞、上皮細胞、及び脂肪細胞などの、異なる種類の細胞において示差的に発現される。

【０３０９】

内皮細胞において発現されることが知られているｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｌｅｔ－７ｂ－３ｐ、ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１００－３ｐ、ｍｉＲ－１００－５ｐ、ｍｉＲ－１０１－３ｐ、ｍｉＲ－１０１－５ｐ、ｍｉＲ－１２６－３ｐ、ｍｉＲ－１２６－５ｐ、ｍｉＲ－１２３６－３ｐ、ｍｉＲ－１２３６－５ｐ、ｍｉＲ－１３０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１３０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｍｉＲ－１７－３ｐ、ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１９ａ－３ｐ、ｍｉＲ－１９ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｍｉＲ－１９ｂ－２－５ｐ、ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－２０ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２１７、ｍｉＲ－２１０、ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｍｉＲ－２１－５ｐ、ｍｉＲ－２２１－３ｐ、ｍｉＲ－２２１－５ｐ、ｍｉＲ－２２２－３ｐ、ｍｉＲ－２２２－５ｐ、ｍｉＲ－２３ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２３ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２９６－５ｐ、ｍｉＲ－３６１－３ｐ、ｍｉＲ－３６１－５ｐ、ｍｉＲ－４２１、ｍｉＲ－４２４－３ｐ、ｍｉＲ－４２４－５ｐ、ｍｉＲ－５１３ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９２ａ－１－５ｐ、ｍｉＲ－９２ａ－２－５ｐ、ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｍｉＲ－９２ｂ－３ｐ、及びｍｉＲ－９２ｂ－５ｐが挙げられる。多くの新規なｍｉＲＮＡが、ディープシーケンシング分析から内皮細胞において発見されている（例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｖｏｅｌｌｅｎｋｌｅ Ｃ ｅｔ ａｌ．，ＲＮＡ，２０１２，１８、４７２－４８４）。任意の内皮細胞特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、内皮細胞におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。

【０３１０】

上皮細胞において発現されることが知られているｍｉＲＮＡとしては、限定するものではないが、ｌｅｔ－７ｂ－３ｐ、ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１２４６、ｍｉＲ－２００ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２００ａ－５ｐ、ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－２００ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－２００ｃ－３ｐ、ｍｉＲ－２００ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－３３８－３ｐ、ｍｉＲ－４２９、ｍｉＲ－４５１ａ、ｍｉＲ－４５１ｂ、ｍｉＲ－４９４、ｍｉＲ－８０２及びｍｉＲ－３４ａ、ｍｉＲ－３４ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－３４ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－４４９ａ、ｍｉＲ－４４９ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－４４９ｂ－５ｐ（呼吸器繊毛上皮細胞に特異的）、ｌｅｔ－７ファミリー、ｍｉＲ－１３３ａ、ｍｉＲ－１３３ｂ、ｍｉＲ－１２６（肺上皮細胞に特異的）、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－５ｐ（腎臓上皮細胞に特異的）、及びｍｉＲ－７６２（角膜上皮細胞に特異的）が挙げられる。任意の上皮細胞特異的ｍｉＲＮＡ由来のｍｉＲＮＡ結合部位を、上皮細胞におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、本開示のポリヌクレオチドに導入してもよいし、またはそこから除去してもよい。

【０３１１】

さらに、ｍｉＲＮＡの大集団が胚性幹細胞に富んでおり、幹細胞の自己複製、ならびに神経細胞、心臓、造血細胞、皮膚細胞、骨形成原細胞及び筋肉細胞などの様々な細胞系列の発達及び／または分化を制御する（例えば、Ｋｕｐｐｕｓａｍｙ ＫＴ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ．Ｍｏｌ Ｍｅｄ．２０１３，１３（５），７５７－７６４；Ｖｉｄｉｇａｌ ＪＡ ａｎｄ Ｖｅｎｔｕｒａ Ａ，Ｓｅｍｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｂｉｏｌ．２０１２

，２２（５－６），４２８－４３６；Ｇｏｆｆ ＬＡ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ，２００９，４：ｅ７１９２；Ｍｏｒｉｎ ＲＤ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓ，２００８，１８，６１０－６２１；Ｙｏｏ ＪＫ ｅｔ ａｌ．，Ｓｔｅｍ－Ｃｅｌｌｓ Ｄｅｖ．２０１２，２１（１１），２０４９－２０５７（これらの各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。胚性幹細胞で豊富なｍｉＲＮＡとしては限定するものではないが、ｌｅｔ－７ａ－２－３ｐ、ｌｅｔ－ａ－３ｐ、ｌｅｔ－７ａ－５ｐ、ｌｅｔ７ｄ－３ｐ、ｌｅｔ－７ｄ－５ｐ、ｍｉＲ－１０３ａ－２－３ｐ、ｍｉＲ－１０３ａ－５ｐ、ｍｉＲ－１０６ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－１２４６、ｍｉＲ－１２７５、ｍｉＲ－１３８－１－３ｐ、ｍｉＲ－１３８－２－３ｐ、ｍｉＲ－１３８－５ｐ、ｍｉＲ－１５４－３ｐ、ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｍｉＲ－２００ｃ－３ｐ、ｍｉＲ－２００ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－２９０、ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｍｉＲ－３０１ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３０２ａ－３ｐ、ｍｉＲ－３０２ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３０２ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－３０２ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－３０２ｃ－３ｐ、ｍｉＲ－３０２ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－３０２ｄ－３ｐ、ｍｉＲ－３０２ｄ－５ｐ、ｍｉＲ－３０２ｅ、ｍｉＲ－３６７－３ｐ、ｍｉＲ－３６７－５ｐ、ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｍｉＲ－３６９－５ｐ、ｍｉＲ－３７０、ｍｉＲ－３７１、ｍｉＲ－３７３、ｍｉＲ－３８０－５ｐ、ｍｉＲ－４２３－３ｐ、ｍｉＲ－４２３－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｍｉＲ－５２０ｃ－３ｐ、ｍｉＲ－５４８ｅ、ｍｉＲ－５４８ｆ、ｍｉＲ－５４８ｇ－３ｐ、ｍｉＲ－５４８ｇ－５ｐ、ｍｉＲ－５４８ｉ、ｍｉＲ－５４８ｋ、ｍｉＲ－５４８ｌ、ｍｉＲ－５４８ｍ、ｍｉＲ－５４８ｎ、ｍｉＲ－５４８ｏ－３ｐ、ｍｉＲ－５４８ｏ－５ｐ、ｍｉＲ－５４８ｐ、ｍｉＲ－６６４ａ－３ｐ、ｍｉＲ－６６４ａ－５ｐ、ｍｉＲ－６６４ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－６６４ｂ－５ｐ、ｍｉＲ－７６６－３ｐ、ｍｉＲ－７６６－５ｐ、ｍｉＲ－８８５－３ｐ、ｍｉＲ－８８５－５ｐ、ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｍｉＲ－９３－５ｐ、ｍｉＲ－９４１、ｍｉＲ－９６－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－９９ｂ－３ｐ及びｍｉＲ－９９ｂ－５ｐが挙げられる。多くの予測される新規のｍｉＲＮＡが、ヒト胚性幹細胞におけるディープシーケンシングによって発見される（例えば、それぞれ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、Ｍｏｒｉｎ ＲＤ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓ，２００８，１８，６１０－６２１；Ｇｏｆｆ ＬＡ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ，２００９，４：ｅ７１９２；Ｂａｒ Ｍ ｅｔ ａｌ．，Ｓｔｅｍ ｃｅｌｌｓ，２００８，２６，２４９６－２５０５）。

【０３１２】

一実施形態では、胚性幹細胞特異的ｍｉＲＮＡの結合部位は、胚性幹細胞の発生及び／または分化を調節するために、変性条件（例えば、変性疾患）で幹細胞の老化を抑制するために、または疾患条件（例えば、がん幹細胞）において幹細胞の老化及びアポトーシスを刺激するために、本開示のポリヌクレオチドの３’ＵＴＲに含まれてもよいし、またはそこから除去されてもよい。

【０３１３】

様々ながん細胞／組織及び他の疾患におけるｍｉＲＮＡの示差的発現をプロファイルするために、多くのｍｉＲＮＡ発現研究が行われている。いくつかのｍｉＲＮＡは、特定のがん細胞で異常に過剰発現され、他のものは過小発現されている。例えば、ｍｉＲＮＡは、がん細胞（ＷＯ２００８／１５４０９８、ＵＳ２０１３／００５９０１５号、ＵＳ２０１３／００４２３３３号、ＷＯ２０１１／１５７２９４）；がん幹細胞（ＵＳ２０１２／００５３２２４号）；膵臓のがん及び疾患（ＵＳ２００９／０１３１３４８号、ＵＳ２０１１／０１７１６４６号、ＵＳ２０１０／０２８６２３２号、ＵＳ８３８９２１０号）；喘息及び炎症（ＵＳ８４１５０９６号）；膵臓癌（ＵＳ２０１３／００５３２６４号）；肝細胞癌（ＷＯ２０１２／１５１２１２、ＵＳ２０１２／０３２９６７２号、ＷＯ２００８／０５４８２８、ＵＳ８２５２５３８号）；肺癌細胞（ＷＯ２０１１／０７６１４３、ＷＯ２０１３／０３３６４０、ＷＯ２００９／０７０６５３、ＵＳ２０１０／０３２３３５７号）；癌性Ｔ細胞リンパ腫（ＷＯ２０１３／０１１３７８）；結腸直腸癌細胞（ＷＯ２０１１／０２８１７５６、ＷＯ２０１１／０７６１４２）；癌陽性リンパ節（ＷＯ２０

０９／１００４３０、ＵＳ２００９／０２６３８０３号）；鼻咽頭癌（ＥＰ２１１２２３５号）；慢性閉塞性肺疾患（ＵＳ２０１２／０２６４６２６号、ＵＳ２０１３／００５３２６３号）；甲状腺癌（ＷＯ２０１３／０６６６７８）；卵巣癌細胞（ＵＳ２０１２／０３０９６４５号、ＷＯ２０１１／０９５６２３）；乳癌細胞（ＷＯ２００８／１５４０９８、ＷＯ２００７／０８１７４０、ＵＳ２０１２／０２１４６９９号）、白血病及びリンパ腫（ＷＯ２００８／０７３９１５、ＵＳ２００９／００９２９７４号、ＵＳ２０１２／０３１６０８１号、ＵＳ２０１２／０２８３３１０号、ＷＯ２０１０／０１８５６３）において示差的に発現され、その各々の内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０３１４】

非限定的な例として、特定のがん及び／または腫瘍細胞において過剰発現されるｍｉＲＮＡのｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドの３’ＵＴＲから除去して、がん細胞において過剰発現されたｍｉＲＮＡによって抑制された発現を回復させ、これによって、対応する生物学的機能、例えば、転写刺激及び／または抑制、細胞周期停止、アポトーシス及び細胞死を改善する。ｍｉＲＮＡの発現がアップレギュレートされていない正常な細胞及び組織は、影響を受けないままである。

【０３１５】

ｍｉＲＮＡはまた、血管新生などの複雑な生物学的プロセス（例えば、ｍｉＲ－１３２）を調節し得る（Ａｎａｎｄ ａｎｄ Ｃｈｅｒｅｓｈ Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｈｅｍａｔｏｌ ２０１１ １８：１７１－１７６）。本開示のポリヌクレオチドにおいて、そのようなプロセスに関与するｍｉＲＮＡ結合部位は、ポリヌクレオチドの発現を生物学的に関連する細胞型または関連する生物学的プロセスに合わせるために除去されても、または導入されてもよい。これに関連して、本開示のポリヌクレオチドは、栄養要求性ポリヌクレオチドとして定義される。

【０３１６】

いくつかの実施形態では、本開示のポリペプチドの治療ウィンドウ及び／または示差的発現（例えば、組織特異的発現）は、ポリペプチドをコードするｍＲＮＡへのｍｉＲＮＡ結合部位の組み込みによって改変され得る。一例では、ｍＲＮＡは、１つの組織型において別の組織型と比較してより高い発現を有するｍｉＲＮＡによって結合される１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を含んでもよい。別の例では、ｍＲＮＡは、同じ起源の組織の非癌性細胞と比較して、がん細胞においてより低い発現を有するｍｉＲＮＡによって結合される１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を含んでもよい。低レベルのそのようなｍｉＲＮＡを発現するがん細胞中に存在する場合、ｍＲＮＡによってコードされるポリペプチドは、典型的には発現の増大を示すであろう。

【０３１７】

肝癌細胞（例えば、肝細胞癌細胞）は、通常、正常な肝細胞と比較して低レベルのｍｉＲ－１２２を発現する。したがって、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２結合部位を含むポリペプチドをコードするｍＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡの３’－ＵＴＲ内）は、通常、正常な肝細胞において比較的低レベルのポリペプチドを発現し、比較的高レベルのポリペプチドを肝癌細胞中で発現する。

【０３１８】

いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２結合部位、少なくとも２つのｍｉＲ－１２２結合部位、少なくとも３つのｍｉＲ－１２２結合部位、少なくとも４つのｍｉＲ－１２２結合部位、または少なくとも５つのｍｉＲ－１２２結合部位を含む。一態様では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲ－１２２に結合するか、またはｍｉＲ－１２２に相補的である。別の態様では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲ－１２２－３ｐまたはｍｉＲ－１２２－５ｐに結合する。特定の態様では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、配列番号１７５と少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同一のヌクレオチド配列を含み、ここでｍｉＲＮＡ結合部位はｍｉＲ－１２２に結合する。別の特定の態様では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、配列番号１７３

と少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同一のヌクレオチド配列を含み、ここでｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲ－１２２に結合する。これらの配列を、下記表３に示す。

【０３１９】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、ｍｉＲＮＡ結合部位を含み、ｍｉＲＮＡ結合部位は、表３から選択される１つ以上のヌクレオチド配列を含み、いずれか１つ以上のｍｉＲＮＡ結合部位配列の１つ以上のコピーを含む。いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、表３から選択される少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個またはそれ以上の同じまたは異なるｍｉＲＮＡ結合部位（任意の組み合わせを含む）をさらに含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲ－１４２に結合するか、またはｍｉＲ－１４２に相補的である。いくつかの実施形態では、ｍｉＲ－１４２は、配列番号２７を含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲ－１４２－３ｐまたはｍｉＲ－１４２－５ｐに結合する。いくつかの実施形態では、ｍｉＲ－１４２－３ｐ結合部位は、配列番号２９を含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲ－１４２－５ｐ結合部位は、配列番号３１を含む。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、配列番号２９または配列番号３１と少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同一のヌクレオチド配列を含む。

【０３２０】

【表３－１】

表３．代表的なマイクロＲＮＡとマイクロＲＮＡ結合部位

配列番号	詳細	配列

【表３－２】

27	mmiR－142	GACAGUGCAGUCACCCAUAAAGUAGAAAGCACUACUAACAGCACUG GAGGGUGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGAUGAGUGUACUGUG
28	mmiR－142－3p	UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGA
29	mmiR－142－3p 結合部位	UCCAUAAAGUAGGAAACACUACA
30	mmiR－142－5p	CAUAAAGUAGAAAGCACUACU
31	mmiR－142－5p 結合部位	AGUAGUGCUUUCUACUUUAUG
171	miR－122	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUAAACU AUCAAACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCUACUGCUAGGC
172	miR－122－3p	AACGCCAUUAUCACACUAAAUA
173	miR－122－3p 結合部位	UAUUUAGUGUGAUAAUGGCGUU
174	miR－122－5p	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG
175	miR－122－5p 結合部位	CAAACACCAUUGUCACACUCCA

【０３２１】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ポリヌクレオチドの任意の位置（例えば、５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲ）で本開示のポリヌクレオチドに挿入される。

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。ポリヌクレオチド中のｍｉＲＮＡ結合部位の挿入が、対応するｍｉＲＮＡの非存在下で機能的ポリペプチドの翻訳を妨害しない限り、ポリヌクレオチド中の挿入部位はポリヌクレオチド中のどこにあってもよい；そして、ｍｉＲＮＡの存在下で、ポリヌクレオチドへのｍｉＲＮＡ結合部位の挿入、及び対応するｍｉＲＮＡへのｍｉＲＮＡ結合部位の結合は、ポリヌクレオチドを分解し得るかまたはポリヌクレオチドの翻訳を妨げ得る。

【０３２２】

いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ＯＲＦを含む本開示のポリヌクレオチド中のＯＲＦの終止コドンから下流の少なくとも約３０ヌクレオチドに挿入される。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中の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、本開示のポリヌクレオチドにおいて、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。

【０３２３】

ｍｉＲＮＡ遺伝子調節は、ｍｉＲＮＡを取り巻く配列、例えば、限定するものではないが、周囲の配列の種類、配列の種類（例えば、異種、同種、外因性、内因性、または人工）、周囲の配列中の調節エレメント及び／または周囲の配列中の構造エレメントなどの影響を受ける場合がある。ｍｉＲＮＡは、５’ＵＴＲ及び／または３’ＵＴＲによって影響を受ける場合がある。非限定的な例として、非ヒト３’ＵＴＲは、同じ配列型のヒト３’ＵＴＲと比較して、目的のポリペプチドの発現に対するｍｉＲＮＡ配列の調節効果を増大し得る。

【０３２４】

一実施形態では、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媒介遺伝子調節に影響し得る。調節エレメント及び／または構造エレメントの一例は、５’ＵＴＲ中の構造化ＩＲＥＳ（内部リボソーム進入部位）であり、これは翻訳延長因子の結合がタンパク質翻訳を開始するのに必要である。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媒介遺伝子発現に必要である（その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｍｅｉｊｅｒ　ＨＡ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ、２０１３年、３４０、８２－８５）。本開示のポリヌクレオチドは、マイクロＲＮＡ媒介遺伝子調節を増強するために、この構造化５’ＵＴＲをさらに含んでもよい。

【０３２５】

少なくとも１つのｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドの３’ＵＴＲに操作してもよい。これに関連して、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個、またはそれ以上のｍｉＲＮＡ結合部位を、本開示のポリヌクレオチドの３’ＵＴＲに操作してもよい。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結合部位を、本開示のポリヌクレオ

チドの３’ＵＴＲに操作してもよい。一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドに組み込まれたｍｉＲＮＡ結合部位は、同じでもよいし、異なるｍｉＲＮＡ部位であってもよい。本開示のポリヌクレオチドに組み込まれた異なるｍｉＲＮＡ結合部位の組み合わせは、任意の異なるｍｉＲＮＡ部位の２つ以上のコピーが組み込まれている組み合わせを含み得る。別の実施形態では、本開示のポリヌクレオチドに組み込まれた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、本開示のポリヌクレオチドの３’－ＵＴＲへの組織、細胞型、または疾患特異的ｍｉＲＮＡ結合部位の導入を通して、特定の細胞型における発現の程度（例えば、肝細胞、骨髄細胞、内皮細胞、がん細胞などを減らし得る。

【０３２６】

一実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、本開示のポリヌクレオチドにおける、３’ＵＴＲの５’末端付近、３’ＵＴＲの５’末端と３’末端との間のほぼ中間、及び／または３’ＵＴＲの３’末端付近に操作され得る。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’末端との間のほぼ中間の位置に操作され得る。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’末端との間のほぼ中間の位置に操作され得る。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’末端付近に操作され得る。

【０３２７】

別の実施形態では、３’ＵＴＲは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の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／またはこのシード配列に隣接するｍｉＲＮＡ配列に対して相補的であり得る。

【０３２８】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、対象の異なる組織または異なる細胞型において発現される２つ以上のｍｉＲＮＡ部位を含むように操作され得る。非限定的な例として、本開示のポリヌクレオチドは、対象の肝臓及び腎臓におけるポリヌクレオチドの発現を調節するために、ｍｉＲ－１９２及びｍｉＲ－１２２を含むように操作され得る。別の実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、同じ組織に対して２つ以上のｍｉＲＮＡ部位を含むように操作され得る。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドに関連する治療ウィンドウ及びまたは示差的発現は、ｍｉＲＮＡ結合部位を用いて改変され得る。例えば、死のシグナルを提供するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、それらの細胞のｍｉＲＮＡサインによってがん細胞においてより高度に発現されるように設計され得る。がん細胞が低レベルの特定のｍｉＲＮＡを発現する場合、そのｍｉＲＮＡ（または複数のｍｉＲＮＡ）に対する結合部位をコードするポリヌクレオチドは、より高度に発現されるだろう。したがって、死のシグナルを提供するポリペプチドは、がん細胞における細胞死を誘発または誘導する。同じｍｉＲＮＡのより高い発現を有する隣接する非癌性細胞は、結合部位へのｍｉＲＮＡの結合の効果、または３’ＵＴＲ中にコードされた「センサー」に起因して、このポリヌクレオチドが低レベルで発現されるので、コードされた死シグナルによる影響が少ない。逆に、細胞生存または細胞保護シグナルは、ｍｉＲＮＡが、がん細胞においてより高い発現を示す、がん及び非癌性細胞を含む組織に送達され得る－その結果、がん細胞に対するより低い生存シグナル及び正常細胞に対するより大きな生存シグナルが得られる。本明細書に記載のｍｉＲＮＡ結合部位の使用に基づいて、異なるシグナルを有する複数のポリヌクレオチドを設計して、投与してもよい。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドの発現は、少なくとも１つのセンサー配列をポリヌクレオチドに組み込むこと、及び、投与用のポリヌクレオチドを処方することによって制御され得る。非限定的な例として、本開示のポリヌクレオチドは、ｍｉ

ＲＮＡ結合部位を組み込むこと、及び本明細書に記載の任意の脂質を含むカチオン性脂質を含む脂質ナノ粒子中にこのポリヌクレオチドを処方することによって、組織または細胞に標的され得る。

【０３３１】

本開示のポリヌクレオチドは、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。組織特異的ｍｉＲＮＡ結合部位の導入を通じて、本開示のポリヌクレオチドは、組織もしくは細胞における、または生物学的条件の状況における最適なタンパク質発現のために設計され得る。

【０３３２】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、公知のｍｉＲＮＡシード配列に対して１００％の同一性を有するか、またはｍｉＲＮＡシード配列に対して１００％未満の同一性を有するｍｉＲＮＡ結合部位を組み込むように設計され得る。いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、公知のｍｉＲＮＡシード配列に対して、少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するｍｉＲＮＡ結合部位を組み込むように設計され得る。このｍｉＲＮＡシード配列は、ｍｉＲＮＡ結合親和性を減少させるために部分的に変異されてもよく、それ自体ポリヌクレオチドの下方調節を減少させる。本質的に、ｍｉＲＮＡ結合部位とｍｉＲＮＡシードとの間の一致または不一致の程度は、タンパク質発現を調節するｍｉＲＮＡの能力をさらに微調整するためのレオスタットとして作用し得る。さらに、ｍｉＲＮＡ結合部位の非シード領域における変異はまた、タンパク質発現を調節するｍｉＲＮＡの能力にも影響を及ぼし得る。

【０３３３】

一実施形態では、ｍｉＲＮＡ配列を、ステムループのループに組み込んでもよい。

【０３３４】

別の実施形態では、ｍｉＲＮＡシード配列を、ステムループのループに組み込んでもよく、ｍｉＲＮＡ結合部位をステムループの５’または３’ステムに組み込んでもよい。

【０３３５】

一実施形態では、翻訳エンハンサーエレメント（ＴＥＥ）を、ステムループのステムの５’末端に組み込んでもよく、ｍｉＲＮＡシードを、ステムループのステムに組み込んでもよい。別の実施形態では、ＴＥＥをステムループのステムの５’末端に組み込んでもよく、ｍｉＲＮＡシードを、ステムループのステムに組み込んでもよく、ｍｉＲＮＡ結合部位をステムの３’末端に、またはステムループの後の配列に組み込んでもよい。ｍｉＲＮＡシード及びｍｉＲＮＡ結合部位は、同じ及び／または異なるｍｉＲＮＡ配列に対するものであり得る。

【０３３６】

一実施形態では、ｍｉＲＮＡ配列及び／またはＴＥＥ配列の組み込みは、翻訳を増大及び／または減少し得るステムループ領域の形状を変化させる。（例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｋｅｄｄｅ ｅｔ ａｌ．，”Ａ Ｐｕｍｉｌｉｏ－ｉｎｄｕｃｅｄ ＲＮＡ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ｓｗｉｔｃｈ ｉｎ ｐ２７－３’ＵＴＲ ｃｏｎｔｒｏｌｓ ｍｉＲ－２２１ ａｎｄ ｍｉＲ－２２ ａｃｃｅｓｓｉｂｉｌｉｔｙ．”Ｎａｔｕｒｅ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ． ２０１０を参照のこと）。

【０３３７】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドの５’－ＵＴＲは、少なくとも１つのｍｉＲＮＡ配列を含み得る。ｍｉＲＮＡ配列は、限定するものではないが、１９もしくは２２ヌクレオチド配列及び／またはシードを含まないｍｉＲＮＡ配列であり得る。

【０３３８】

一実施形態では、５’ＵＴＲ中のｍｉＲＮＡ配列を使用して、本明細書に記載の開示のポリヌクレオチドを安定化し得る。

【０３３９】

別の実施形態では、本開示のポリヌクレオチドの５’ＵＴＲ中のｍｉＲＮＡ配列を使用して、限定するものではないが、開始コドンなどの翻訳開始部位のアクセス性を低下させ得る。例えば、Ｍａｔｓｕｄａ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２０１０　１１（５）：ｅ１５０５７（その全体が参照によって本明細書に組み込まれる）を参照のこと。これは、開始コドン（ＡＵＧコドンのＡが＋１である場合、－４～＋３７）の周りにアンチセンスロックド核酸（ＬＮＡ）オリゴヌクレオチド及びエキソン接合複合体（ＥＪＣ）を使用し、最初の開始コドン（ＡＵＧ）へのアクセス性を低下させる。Ｍａｔｓｕｄａは、ＬＮＡまたはＥＪＣを用いて開始コドン周辺の配列を変更することが、ポリヌクレオチドの効率、長さ及び構造安定性に影響を及ぼすことを示した。本開示のポリヌクレオチドは、翻訳開始部位へのアクセス性を減少させるために、翻訳開始部位の近くに、Ｍａｔｓｕｄａらによって記載されたＬＮＡまたはＥＪＣ配列の代わりに、ｍｉＲＮＡ配列を含んでもよい。翻訳開始部位は、ｍｉＲＮＡ配列の前であっても、後であっても、または内部であってもよい。非限定的な例として、翻訳開始部位は、シード配列または結合部位などのｍｉＲＮＡ配列内に位置してもよい。別の非限定的な例として、翻訳開始部位は、シード配列またはｍｉｒ－１２２結合部位などのｍｉＲ－１２２配列内に位置してもよい。

【０３４０】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、抗原提示細胞による抗原提示を抑制するために少なくとも１つのｍｉＲＮＡを含んでもよい。ｍｉＲＮＡは、完全なｍｉＲＮＡ配列、ｍｉＲＮＡシード配列、シードなしのｍｉＲＮＡ配列、またはそれらの組み合わせであってもよい。非限定的な例として、本開示のポリヌクレオチドに組み込まれたｍｉＲＮＡは、造血系に特異的であり得る。別の非限定的な例として、抗原提示を抑えるために本開示のポリヌクレオチドに組み込まれたｍｉＲＮＡは、ｍｉＲ－１４２－３ｐである。

【０３４１】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、目的の組織または細胞におけるコードされたポリペプチドの発現を抑制するために少なくとも１つのｍｉＲＮＡを含み得る。非限定的な例として、本開示のポリヌクレオチドは、肝臓における目的のコードされたポリペプチドの発現を抑制するために、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２結合部位を含み得る。別の非限定的な例として、本開示のポリヌクレオチドは、少なくとも１つのｍｉＲ－１４２－３ｐ結合部位、ｍｉＲ－１４２－３ｐシード配列、シードなしのｍｉＲ－１４２－３ｐ結合部位、ｍｉＲ－１４２－５ｐ結合部位、ｍｉＲ－１４２－５ｐシード配列、シードなしのｍｉＲ－１４２－５ｐ結合部位、ｍｉＲ－１４６結合部位、ｍｉＲ－１４６シード配列及び／またはシード配列なしのｍｉＲ－１４６結合部位を含み得る。

【０３４２】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、治療的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えるために免疫細胞中のｍＲＮＡ治療薬を選択的に分解するために、３’ＵＴＲ中に少なくとも１つのｍｉＲＮＡ結合部位を含み得る。非限定的な例として、ｍｉＲＮＡ結合部位は、抗原提示細胞において本開示のポリヌクレオチドをより不安定にする可能性がある。これらのｍｉＲＮＡの非限定的な例としては、ｍｉｒ－１４２－５ｐ、ｍｉｒ－１４２－３ｐ、ｍｉｒ－１４６ａ－５ｐ、及びｍｉｒ－１４６－３ｐが挙げられる。

【０３４３】

一実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、ＲＮＡ結合タンパク質と相互作用し得るポリヌクレオチドの領域内に、少なくとも１つのｍｉＲＮＡ配列を含む。

【０３４４】

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、ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡ）は、（ｉ）配列最適化ヌクレオチド配列（例えば、ＯＲＦ）及び（ｉｉ）ｍｉＲＮＡ結合部位（例えば、ｍｉＲ－１４２と結合するｍｉＲＮＡ結合部位）を含む。

【０３４５】

いくつかの実施形態では、本開示のポリヌクレオチドは、本明細書に開示のポリペプチ

ドをコードするウラシル修飾配列、及び本明細書に開示のｍｉＲＮＡ結合部位、例えば、ｍｉＲ－１４２またはｍｉＲ－１２２に結合するｍｉＲＮＡ結合部位を含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドをコードする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、本開示のポリペプチドをコードするウラシル修飾配列中の少なくとも９５％の種類の核酸塩基（例えば、ウラシル）が修飾核酸塩基である。いくつかの実施形態では、ポリペプチドをコードするウラシル修飾配列中の少なくとも９５％のウリシルは、５－メトキシウリジンである。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及びｍｉＲＮＡ結合部位を含むポリヌクレオチドが、送達剤、例えば、式（Ｉ）を有する化合物、例えば、化合物１～１４７のいずれかと共に処方される。

【０３４６】

機能的ＲＮＡエレメントを含む修飾ポリヌクレオチド

本開示は、修飾（例えば、ＲＮＡエレメント）を含む合成ポリヌクレオチドを提供し、ここで修飾は所望の翻訳調節活性を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、５’非翻訳領域（ＵＴＲ）、開始コドン、ポリペプチドをコードする全オープンリーディングフレーム、３’ＵＴＲ、及び少なくとも１つの修飾を含むポリヌクレオチドを提供し、ここでこの少なくとも１つの修飾は、所望の翻訳調節活性、例えば、ｍＲＮＡ翻訳の翻訳忠実度を促進及び／または増強する修飾を提供する。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、シス作用調節活性である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、開始コドンにおける、またはその近くの４３Ｓ開始前複合体（ＰＩＣ）またはリボソームの滞留時間の増大である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、開始コドンにおける、または開始コドンからのポリペプチド合成の開始の増大である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、完全オープンリーディングフレームから翻訳されたポリペプチドの量の増大である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、ＰＩＣまたはリボソームによる開始コドンの解読の忠実度の増大である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、ＰＩＣまたはリボソームによるリーキースキャニングの阻害または低減である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、ＰＩＣまたはリボソームによる開始コドンの解読速度の低下である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、開始コドン以外のｍＲＮＡ内の任意のコドンにおけるポリペプチド合成の開始の阻害または減少である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、完全オープンリーディングフレーム以外のｍＲＮＡ内の任意のオープンリーディングフレームから翻訳されたポリペプチドの量の阻害または減少である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、異常な翻訳産物の産生の阻害または減少である。いくつかの実施形態では、所望の翻訳調節活性は、前述の翻訳調節活性のうちの１つ以上の組み合わせである。

【０３４７】

したがって、本開示は、本明細書に記載の所望の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ＲＮＡ要素を含むポリヌクレオチド、例えば、ｍＲＮＡを提供する。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、ｍＲＮＡ翻訳の翻訳忠実度を促進及び／または増強する、配列及び／またはＲＮＡ二次構造（複数可）を含むＲＮＡエレメントを含む。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、リーキースキャニングの阻害及び／または低減などの所望の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ＲＮＡエレメントを含む。いくつかの態様では、本開示は、リーキースキャニングを阻害及び／または低減し、それによってｍＲＮＡの翻訳忠実度を促進する、配列及び／またはＲＮＡ二次構造（複数可）を含むＲＮＡエレメントを含むｍＲＮＡを提供する。

【０３４８】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡエレメントは、天然及び／または修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡエレメントは、本明細書に記載されるように所望の翻訳調節活性を提供する、連結ヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡエレメントは、安定なＲＮＡ二次構造を形成ま

たは折り畳む連結ヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含み、ここでＲＮＡ二次構造は、本明細書に記載の所望の翻訳調節活性を提供する。ＲＮＡエレメントは、そのエレメントの一次配列（例えば、ＧＣリッチエレメント）に基づいて、そのエレメントによって形成されるＲＮＡ二次構造（例えば、ステムループ）によって、ＲＮＡ分子内のエレメントの位置によって（例えば、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ内に位置する）、エレメント（例えば、「翻訳エンハンサーエレメント」）の生物学的機能及び／または活性によって、ならびにそれらの任意の組み合わせによって、同定されてもよく、及び／または特徴付けされてもよい。

【０３４９】

いくつかの態様では、本開示は、リーキースキャニングを阻害するか、及び／またはｍＲＮＡ翻訳の翻訳忠実度を促進する１つ以上の構造修飾を有するｍＲＮＡを提供し、ここで構造修飾の少なくとも１つはＧＣリッチＲＮＡエレメントである。いくつかの態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで、少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントである。一実施形態では、ＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列の約３０、約２５、約２０、約１５、約１０、約５、約４、約３、約２、または約１ヌクレオチド（複数可）上流に位置する。別の実施形態では、ＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の１５～３０、１５～２０、１５～２５、１０～１５、または５～１０ヌクレオチド上流に位置する。別の実施形態では、ＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ内のＫｏｚａｋコンセンサス配列に直接隣接して位置する。

【０３５０】

前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、任意の順序で連結された、３～３０、５～２５、１０～２０、１５～２０、約２０、約１５、約１２、約１０、約７、約６または約３ヌクレオチドの配列、それらの誘導体または類似体を含むＧＣリッチのＲＮＡエレメントを提供し、ここで、この配列組成は、７０～８０％シトシン、６０～７０％シトシン、５０％～６０％シトシン、４０～５０％シトシン、３０～４０％シトシン塩基である。前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、任意の順序で連結された、３～３０、５～２５、１０～２０、１５～２０、約２０、約１５、約１２、約１０、約７、約６または約３ヌクレオチドの配列、それらの誘導体または類似体を含むＧＣリッチのＲＮＡエレメントを提供し、ここで、この配列組成は、約８０％シトシン、約７０％シトシン、約６０％シトシン、約５０％シトシン、約４０％シトシン、または約３０％シトシンである。

【０３５１】

任意の前述のまたは関連の態様では、本開示は、任意の順序で連結された、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４もしくは３ヌクレオチドの配列、またはそれらの誘導体または類似体を含むＧＣリッチのＲＮＡエレメントを提供し、ここで、この配列組成は、７０～８０％シトシン、６０～７０％シトシン、５０％～６０％シトシン、４０～５０％シトシン、または３０～４０％シトシンである。任意の前述のまたは関連の態様では、本開示は、任意の順序で連結された、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４もしくは３ヌクレオチドの配列、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチのＲＮＡエレメントを提供し、ここで、この配列組成は、約８０％シトシン、約７０％シトシン、約６０％シトシン、約５０％シトシン、約４０％シトシン、または約３０％シトシンである。

【０３５２】

いくつかの実施形態では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで、少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含むＧ

ＣリッチＲＮＡエレメントであり、このＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列の約３０、約２５、約２０、約１５、約１０、約５、約４、約３、約２、または約１ヌクレオチド（複数可）上流に位置し、ここで、このＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、任意の順序で連結された、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、もしくは２０ヌクレオチドの配列、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、ここでこの配列組成は＞５０％シトシンである。いくつかの実施形態では、配列組成は、＞５５％シトシン、＞６０％シトシン、＞６５％シトシン、＞７０％シトシン、＞７５％シトシン、＞８０％シトシン、＞８５％シトシン、または＞９０％シトシンである。

【０３５３】

他の態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで、少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントであり、ここで、ＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列の約３０、約２５、約２０、約１５、約１０、約５、約４、約３、約２、または約１ヌクレオチド（複数可）上流に位置し、ここで、このＧＣリッチＲＮＡエレメントは、約３～３０、５～２５、１０～２０、１５～２０または約２０、約１５、約１２、約１０、約６もしくは約３ヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含み、ここで、この配列は反復ＧＣモチーフを含み、ここでこの反復ＧＣモチーフは［ＣＣＧ］ｎであり、ここでｎ＝１～１０、ｎ＝２～８、ｎ＝３～６、またはｎ＝４～５である。いくつかの実施形態では、配列は、反復ＧＣモチーフ［ＣＣＧ］ｎを含み、ここでｎ＝１、２、３、４または５である。いくつかの実施形態では、この配列は、反復ＧＣモチーフ［ＣＣＧ］ｎを含み、ここでｎ＝１、２または３である。いくつかの実施形態では、この配列は、反復ＧＣモチーフ［ＣＣＧ］ｎを含み、ここでｎ＝１である。いくつかの実施形態では、この配列は、反復ＧＣモチーフ［ＣＣＧ］ｎを含み、ここでｎ＝２である。いくつかの実施形態では、この配列は、反復ＧＣモチーフ［ＣＣＧ］ｎを含み、ここでｎ＝３である。いくつかの実施形態では、この配列は、反復ＧＣモチーフ［ＣＣＧ］ｎを含み、ここでｎ＝４（配列番号１７７）である。いくつかの実施形態では、この配列は、反復ＧＣモチーフ［ＣＣＧ］ｎを含み、ｎ＝５（配列番号１７８）である。

【０３５４】

別の態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、連結ヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントであり、このＧＣリッチＲＮＡエレメントは、表４に記載の配列のいずれか１つを含む。一実施形態では、ＧＣリッチＲＮＡエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列の約３０、約２５、約２０、約１５、約１０、約５、約４、約３、約２、または約１ヌクレオチド（複数可）上流に位置する。別の実施形態では、ＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の約１５～３０、１５～２０、１５～２５、１０～１５、または５～１０ヌクレオチド上流に位置する。別の実施形態では、ＧＣリッチのＲＮＡエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ内のＫｏｚａｋコンセンサス配列に直接隣接して位置する。

【０３５５】

他の態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで、少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、表４に記載の配列Ｖ１［ＣＣＣＣＧＧＣＧＣＣ］（配列番号１７９）、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントである。いくつかの実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ内のＫｏｚａｋコンセンサス配列の上流に直接隣接して位置する表４に記載の配列Ｖ１を含む。いくつかの実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲのＫｏｚａｋコンセンサス配列

の１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０塩基上流に位置する、表４に記載の配列Ｖ１を含む。他の実施形態では、ＧＣリッチのエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列の１～３、３～５、５～７、７～９、９～１２、または１２～１５塩基上流に位置する表４に記載の配列Ｖ１を含む。

【０３５６】

他の態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで、少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、表４に記載の配列Ｖ２［ＣＣＣＣＧＧＣ］、またはその誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントである。いくつかの実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ内のＫｏｚａｋコンセンサス配列の上流に直接隣接して位置する表４に記載の配列Ｖ２を含む。いくつかの実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列の１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０塩基上流に位置する表４に記載の配列Ｖ２を含む。他の実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列の１～３、３～５、５～７、７～９、９～１２、または１２～１５塩基上流に位置する表４に記載の配列Ｖ２を含む。

【０３５７】

他の態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで、少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、表４に記載の配列ＥＫ［ＧＣＣＧＣＣ］、またはその誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントである。いくつかの実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ内のＫｏｚａｋコンセンサス配列の上流に直接隣接して位置する表４に記載の配列ＥＫを含む。いくつかの実施形態では、ＧＣリッチのエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列の１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０塩基上流に位置する表４に記載の配列ＥＫを含む。他の実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中のＫｏｚａｋコンセンサス配列の１～３、３～５、５～７、７～９、９～１２、または１２～１５塩基上流に位置する表４に記載の配列ＥＫを含む。

【０３５８】

さらに他の態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで少なくとも１つの修飾は、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列に先行する、表４に記載の配列Ｖ１［ＣＣＣＣＧＧＣＧＣＣ］（配列番号１７９）、またはその誘導体もしくは類似体を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントであり、ここでこの５’ＵＴＲは、表４に示される以下の配列を含む：
ＧＧＧＡＡＡＴＡＡＧＡＧＡＧＡＡＡＡＧＡＡＧＡＧＴＡＡＧＡＡＧＡＡＡＴＡＴＡＡＧＡ（配列番号１８０）。

【０３５９】

いくつかの実施形態では、ＧＣリッチエレメントは、表４に示す５’ＵＴＲ配列内のＫｏｚａｋコンセンサス配列の上流に直接隣接して位置する表４に記載の配列Ｖ１を含む。いくつかの実施形態では、このＧＣリッチエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲにおけるＫｏｚａｋコンセンサス配列の１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０塩基上流に位置する表４に記載の配列Ｖ１を含み、ここでこの５’ＵＴＲは、表４に示す以下の配列を含む：
ＧＧＧＡＡＡＴＡＡＧＡＧＡＧＡＡＡＡＧＡＡＧＡＧＴＡＡＧＡＡＧＡＡＡＴＡＴＡＡＧＡ（配列番号１８０）。

【０３６０】

他の実施形態では、ＧＣリッチのエレメントは、ｍＲＮＡの５’ＵＴＲ中にＫｏｚａｋコンセンサス配列の１～３、３～５、５～７、７～９、９～１２、または１２～１５塩基上流に位置する表４に記載の配列Ｖ１を含み、ここで５’ＵＴＲは、表４に示す以下の配列を含む：

ＧＧＧＡＡＡＴＡＡＧＡＧＡＧＡＡＡＡＧＡＡＧＡＧＴＡＡＧＡＡＧＡＡＡＴＡＴＡＡＧＡ（配列番号１８０）。

【０３６１】

いくつかの実施形態では、この５’ＵＴＲは、表４に示される以下の配列を含む：ＧＧＧＡＡＡＴＡＡＧＡＧＡＧＡＡＡＡＧＡＡＧＡＧＴＡＡＧＡＡＧＡＡＡＴＡＴＡＡＧＡＣＣＣＣＧＧＣＧＣＣＧＣＣＡＣＣ（配列番号１８１）

【０３６２】

いくつかの実施形態では、この５’ＵＴＲは、表４に示される以下の配列を含む：ＧＧＧＡＡＡＴＡＡＧＡＧＡＧＡＡＡＡＧＡＡＧＡＧＴＡＡＧＡＡＧＡＡＡＴＡＴＡＡＧＡＣＣＣＣＧＧＣＧＣＣＡＣＣ（配列番号１８２）。

【０３６３】

【表４－１】

表４

配列番号	5’ UTR	5’UTR配列
176	標準	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGAGCCACC
180	UTR	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA
181	V1－UTR	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGACCCCGGCGCCGCCACC
182	V2－UTR	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGACCCCGGCGCCACC

配列番号	GC－リッチRNAエレメント	配列
	K0（伝統的なKozak コンセンサス）	[GCCA/GCC]
	EK	[GCCGCC]
179	V1	[CCCCGGCGCC]
	V2	[CCCCGGC]

【表４－２】

	$(CCG)_n$、ここでn=1－10	$[CCG]_n$
	$(GCC)_n$、ここでn=1－10	$[GCC]_n$
177	$(CCG)_n$、ここでn=4	[CCGCCGCCGCCG]
178	$(CCG)_n$、ここでn=5	[CCGCCGCCGCCGCCG]

【０３６４】

別の態様では、本開示は、少なくとも１つの修飾を含む修飾ｍＲＮＡを提供し、ここで、少なくとも１つの修飾は、ヘアピンまたはステムループを形成する、ある順番で連結されたヌクレオチドの配列、またはその誘導体もしくは類似体を含む安定なＲＮＡ二次構造を含むＧＣリッチＲＮＡエレメントである。一実施形態では、安定なＲＮＡ二次構造は、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の上流にある。別の実施形態では、安定なＲＮＡ二次構造は、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の約３０、約２５、約２０、約１５、約１０、または約５ヌクレオチド上流に位置する。別の実施形態では、安定なＲＮＡ二次構造は、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の約２０、約１５、約１０、または約５ヌクレオチド上流に位置する。別の実施形態では、安定なＲＮＡ二次構造は、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の約５、約４、約３、約２、約１ヌクレオチド上流に位置する。別の実施形態では、安定なＲＮＡ二次

構造は、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の約１５～３０、約１５～２０、約１５～２５、約１０～１５、または約５～１０ヌクレオチド上流に位置する。別の実施形態では、安定なＲＮＡ二次構造は、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列の１２～１５ヌクレオチド上流に位置する。別の実施形態では、安定なＲＮＡ二次構造は、約－３０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、約－２０～－３０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、約－２０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、約－１０～－２０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、約－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、約－５～－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌというデルタＧを有する。

【０３６５】

別の実施形態では、修飾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に機能的に連結されており、ここで修飾とオープンリーディングフレームとは異種である。

【０３６６】

別の実施形態では、ＧＣリッチのＲＮＡエレメントの配列は、グアニン（Ｇ）及びシトシン（Ｃ）核酸塩基のみから構成される。

【０３６７】

本明細書中に記載されるような所望の翻訳調節活性を提供するＲＮＡエレメントは、リボソームプロファイリングのような公知の技術を用いて同定されそして特徴付けられ得る。リボソームプロファイリングは、ｍＲＮＡに結合したＰＩＣ及び／またはリボソームの位置の決定を可能にする技術である（例えば、参照により本明細書に組み込まれるＩｎｇｏｌｉａ　ｅｔ　ａｌ．，（２００９）Ｓｃｉｅｎｃｅ　３２４（５９２４）：２１８～２３を参照のこと）。この技術は、ヌクレアーゼ消化から、ＰＩＣ及び／またはリボソームによって、ｍＲＮＡの領域またはセグメントを保護することに基づいている。保護により、「フットプリント」と呼ばれる３０ｂｐのＲＮＡ断片が生成される。ＲＮＡフットプリントの配列及び頻度は、当該分野で公知の方法（例えば、ＲＮＡ－ｓｅｑ）によって分析され得る。フットプリントは、リボソームのＡ部位にほぼ中心がある。ＰＩＣまたはリボソームが、ｍＲＮＡに沿った特定の場所または位置に滞留する場合、これらの位置に生じるフットプリントは比較的一般的であろう。ＰＩＣ及び／またはリボソームが加工性の低下を示す場所でより多くのフットプリントが生成し、ＰＩＣ及び／またはリボソームが加工性の増大を示す位置でより少ないフットプリントが生成されることが、研究により示されている（Ｇａｒｄｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１４）ｅＬｉｆｅ　３：ｅ０３７３５）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＲＮＡエレメントのうちのいずれか１つ以上を含むポリヌクレオチドに沿った別々の場所または位置でのＰＩＣまたはリボソームの滞留時間または占有時間は、リボソームプロファイリングによって決定される。

【０３６８】

高純度ＲＮＡの調製

合成的に製造されたＲＮＡの純度を高めるために、伝統的なＩＶＴ法を用いて製造されたＲＮＡとは大きく異なる性質を有するＲＮＡ調製物を製造する改良されたインビトロ転写（ＩＶＴ）プロセスを使用してもよい。これらの方法に従って製造されたＲＮＡ調製物は、定性的及び定量的に優れた組成物の製造を可能にする性質を有する。大規模な精製プロセスと組み合わせた場合でも、従来のＩＶＴプロセスを使用して生成されたＲＮＡは、改変されたＩＶＴプロセスによって生成されたＲＮＡ調製とは定性的及び定量的に異なる。例えば、精製されたＲＮＡ調製物は、伝統的なＩＶＴを用いて作られたＲＮＡ調製物と比較して免疫原性が低い。さらに、より高純度のタンパク質発現レベルの増大が、精製されたＲＮＡ調製物から生じる。

【０３６９】

伝統的なＩＶＴ反応は、ＤＮＡ鋳型を、転写緩衝液中でＲＮＡポリメラーゼならびにＧＴＰ、ＡＴＰ、ＣＴＰ、及びＵＴＰを含む等モル量のヌクレオチド三リン酸と共にインキュベートすることによって行われる。この反応から、５’末端グアノシン三リン酸を有するＲＮＡ転写産物が生成される。これらの反応はまた、免疫刺激性でありかつ付加的な影響を及ぼし得る、二本鎖及び一本鎖ＲＮＡのような多数の不純物の生成ももたらす。本明細書に記載の精製方法は、逆相補体の形成を防ぎ、したがって両種の先天性の免疫認識を

妨げる。いくつかの実施形態では、修飾ＩＶＴ法は、等モルのＮＴＰを用いた先行技術の方法を用いて作製されたＲＮＡ調製物よりも有意に低いＴ細胞活性を有するＲＮＡの産生をもたらす。先行技術は、一連のその後の精製ステップを用いてこれらの望ましくない成分を除去しようと試みている。そのような精製方法は、それらが追加の時間と資源を必要とし、そしてまた医薬製品にとって望ましくない、最終製品中の残留有機溶媒の混入をもたらすので望ましくない。逆相クロマトグラフィー（ＲＰ）のようなプロセスをスケールアップすることは労働集約的及び資本集約的である：例えば耐圧防爆設備、ＨＰＬＣカラム及び高圧、高温、可燃性溶媒等に定格された精製システムを利用すること。大規模製造のための規模及び処理能力は、これらの要因によって制限される。ＲＰプロセスにおいて利用されるアルキルアンモニウムイオン対を除去するためには、その後の精製もまた必要とされる。対照的に、本明細書に記載の方法は、現在利用されている方法（例えばＲＰ）をさらに向上させる。不純物負荷が低いほど、サイトカイン誘導汚染物質を含まない全長ＲＮＡの精製回収率が高くなり、例えば、最初は材料の品質が高い。

【０３７０】

改良ＩＶＴ法は、ＩＶＴ反応における１つ以上の反応パラメーターを操作して、先行技術のプロセスを用いて生成される１つ以上の望ましくない汚染物質なしに高機能ＲＮＡのＲＮＡ調製物を生成することを包含する。操作され得るＩＶＴ反応における１つのパラメーターは、反応混合物中の１つ以上の他のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体と比較したヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の相対量（例えば、異なるヌクレオチド量または濃度）である。例えば、ＩＶＴ反応は、過剰のヌクレオチド、例えば、一リン酸ヌクレオチド、二リン酸ヌクレオチドもしくは三リン酸ヌクレオチド及び／または過剰のヌクレオチド類似体及び／またはヌクレオシド類似体を含んでもよい。この方法は、伝統的なＩＶＴ法によって製造された製品よりも著しく純粋な高収率の製品を生成する。

【０３７１】

ヌクレオチド類似体は、ヌクレオチドの一般構造を有するか、またはヌクレオチドもしくはその一部と構造的に類似している化合物である。特に、ヌクレオチド類似体は、例えば、ヌクレオチドの核酸部分、糖部分及び／またはリン酸基の類似体を含むヌクレオチドである。ヌクレオチドとしては、例えば、ヌクレオチド一リン酸、ヌクレオチド二リン酸、及びヌクレオチド三リン酸が挙げられる。本明細書で使用されるヌクレオチド類似体は、ヌクレオチドまたはその一部と構造的に類似しているが、典型的なヌクレオチド構造（核酸塩基－リボース－リン酸）を有さない。ヌクレオシド類似体は、ヌクレオシドの一般構造を有するか、またはヌクレオシドもしくはその一部と構造的に類似している化合物である。特に、ヌクレオシド類似体は、例えば、核酸の類似体及び／またはヌクレオシドの糖部分を含むヌクレオシドである。

【０３７２】

この方法に有用なヌクレオチド類似体は、ヌクレオチドまたはその一部と構造的に類似しているが、例えば、Ｔ７によって重合可能ではない。本明細書で使用されるヌクレオチド／ヌクレオシド類似体（Ｃ、Ｔ、Ａ、Ｕ、Ｇ、ｄＣ、ｄＴ、ｄＡ、ｄＵ、またはｄＧ類似体を含む）としては、例えば、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、または酵素的キャッピングのための前駆体／基質（ワクシニア、またはリガーゼ）、キャップもしくは５’部分の連結／結合を容易にする官能基で標識されたヌクレオチド（ＩＲＥＳ）、キャップもしくは５’部分の連結を容易にするために５’ＰＯ４で標識されたヌクレオチド、または化学的もしくは酵素的に切断可能であり得る官能基／保護基で標識されたヌクレオチドが挙げられる。抗ウイルスヌクレオチド／ヌクレオシド類似体としては、限定するものではないが、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。

【０３７３】

ＩＶＴ反応は、典型的には以下のものを含む：ＲＮＡポリメラーゼ、例えば最終濃度が、例えば１０００～１２０００Ｕ／ｍＬ、例えば７０００Ｕ／ｍＬのＴ７　ＲＮＡポリメ

ラーゼ；例えば１０～７０ｎＭ、例えば４０ｎＭの最終濃度のＤＮＡ鋳型；例えば、それぞれ０．５～１０ｍＭ、例えば、７．５ｍＭの最終濃度のヌクレオチド（ＮＴＰ）；最終濃度が、例えば１２～６０ｍＭのマグネシウム、例えば、４０ｍＭの酢酸マグネシウム；例えばｐＨ７～８．５のＨＥＰＥＳまたはＴｒｉｓのような緩衝剤、例えば、４０ｍＭのＴｒｉｓ　ＨＣｌ（ｐＨ８）。いくつかの実施形態では、５ｍＭジチオトレイトール（ＤＴＴ）及び／または１ｍＭスペルミジンが含まれてもよい。いくつかの実施形態では、転写反応中にＲＮａｓｅ誘導性の分解を確実に防止するために、ＲＮａｓｅ阻害剤がＩＶＴ反応に含まれる。例えば、マウスＲＮａｓｅ阻害剤は、１０００Ｕ／ｍＬの最終濃度で利用してもよい。いくつかの実施形態では、ピロホスファターゼは、各ヌクレオチドが２単位の無機リン酸に組み込まれた後に生成された無機ピロリン酸を切断するためのＩＶＴ反応に含まれる。これによって、マグネシウムが溶液中に留まりそしてピロリン酸マグネシウムとして沈殿しないことが確実になる。例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ無機ピロホスファターゼは、１Ｕ／ｍＬの最終濃度で利用され得る。

【０３７４】

伝統的な方法と同様に、改良された方法は、ＤＮＡ鋳型と、ＡＴＰ、ＣＴＰ、ＵＴＰ、ＧＴＰ（または対応する前述の成分の類似体）及び緩衝液などの１つ以上のＮＴＰとを含む反応混合物を形成することによっても生成され得る。次いで、ＲＮＡが転写されるような条件下で反応物をインキュベートする。しかしながら、改良された方法は、最終生成物に重大な影響を及ぼし得る過剰量の１つ以上のヌクレオチド及び／またはヌクレオチド類似体の存在を利用する。これらの方法は、反応混合物中のヌクレオチド及び／またはヌクレオチド類似体の量（例えば、モル量または量）の改変を包含する。いくつかの態様では、１つ以上のヌクレオチド及び／または１つ以上のヌクレオチド類似体を、過剰に反応混合物に添加してもよい。過剰のヌクレオチド及び／またはヌクレオチド類似体は、反応混合物中のＮＴＰのような１つ以上の他のヌクレオチドの量よりも大きい任意の量である。例えば、過剰のヌクレオチド及び／またはヌクレオチド類似体は、反応混合物中の他の個々のＮＴＰのそれぞれまたは少なくとも１つの量よりも多い量であってもよいし、または等モル量よりも多い量の他のＮＴＰを指す場合もある。

【０３７５】

反応混合物に含まれるヌクレオチド及び／またはヌクレオチド類似体がＮＴＰである実施形態では、ＮＴＰは、反応混合物に含まれる他の３つ全てのＮＴＰよりも高濃度で存在し得る。他の３つのＮＴＰは、互いに等モル濃度であり得る。あるいは、他の３つのＮＴＰのうちの１つ以上が、他の１つ以上のＮＴＰとは異なる濃度であってもよい。

【０３７６】

したがって、いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応は、少なくとも１つの他のヌクレオチド三リン酸に対して等モル量のヌクレオチド三リン酸を含み得る。

【０３７７】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡはあるプロセスによって産生されるか、または以下、

（ａ）ＤＮＡテンプレートと、アデノシン三リン酸（ＡＴＰ）、シチジン三リン酸（ＣＴＰ）、ウリジン三リン酸（ＵＴＰ）、及びグアノシン三リン酸（ＧＴＰ）、及び必要に応じてグアノシン二リン酸（ＧＤＰ）を含むＮＴＰと、（例えば、Ｔ７補因子、例えばマグネシウムを含む緩衝液）とを含む反応混合物の形成。

（ｂ）ＲＮＡが転写されるような条件下で反応混合物をインキュベートすること、を包含するプロセスによって調製可能であり、

ここで、ＧＴＰ、ＣＴＰ、ＡＴＰ、及びＵＴＰのうちの少なくとも１つの濃度は、ＡＴＰ、ＣＴＰ、またはＵＴＰのうちのいずれか１つ以上の濃度より少なくとも２倍高いか、または反応はさらにヌクレオチド類似体を含み、このヌクレオチド類似体の濃度は、ＡＴＰ、ＣＴＰまたはＵＴＰのうちのいずれか１つ以上の濃度より少なくとも２倍大きい。

【０３７８】

いくつかの実施形態では、ＧＴＰの濃度対いずれか１つのＡＴＰ、ＣＴＰまたはＵＴＰの濃度の比は、少なくとも２：１、少なくとも３：１、少なくとも４：１、少なくとも５

：１、または少なくとも６：１である。ＧＴＰの濃度対、ＡＴＰ、ＣＴＰ及びＵＴＰの濃度の比は、いくつかの実施形態では、それぞれ２：１、４：１及び４：１である。他の実施形態では、ＧＴＰの濃度対、ＡＴＰ、ＣＴＰ及びＵＴＰの濃度の比は、それぞれ３：１、６：１及び６：１である。反応混合物は、ＧＴＰ及びＧＤＰを含んでもよく、そしてＧＴＰ＋ＧＤＰの濃度対ＡＴＰ、ＣＴＰまたはＵＴＰのいずれか１つの濃度の比は少なくとも２：１、少なくとも３：１、少なくとも４：１、少なくとも５：１または少なくとも６：１である。いくつかの実施形態では、ＧＴＰ＋ＧＤＰの濃度対ＡＴＰ、ＣＴＰ及びＵＴＰの濃度の比は、それぞれ３：１、６：１及び６：１である。

【０３７９】

いくつかの実施形態では、この方法は、ＲＮＡが転写されるような条件下で反応混合物をインキュベートすることを包含し、ここで反応中のリン酸塩の有効濃度は、少なくとも１５０ｍＭのリン酸塩、少なくとも１６０ｍＭ、少なくとも１７０ｍＭ、少なくとも１８０ｍＭ、少なくとも１９０ｍＭ、少なくとも２００ｍＭ、少なくとも２１０ｍＭまたは少なくとも２２０ｍＭである。反応中のリン酸塩の有効濃度は１８０ｍＭであり得る。いくつかの実施形態における反応におけるリン酸塩の有効濃度は１９５ｍＭである。他の実施形態では、反応中のリン酸塩の有効濃度は２２５ｍＭである。

【０３８０】

他の実施形態では、ＲＮＡは、ＤＮＡ鋳型及びＡＴＰ、ＣＴＰ、ＵＴＰ、ＧＴＰを含む反応混合物を形成するとき、緩衝マグネシウム含有緩衝液を使用することを包含するプロセスによって生成されるか、またはそのプロセスによって調製可能である。いくつかの実施形態では、マグネシウム含有緩衝液は、Ｍｇ２＋を含み、Ｍｇ２＋濃度に対するＡＴＰ＋ＣＴＰ＋ＵＴＰ＋ＧＴＰの濃度のモル比は、少なくとも１．０、少なくとも１．２５、少なくとも１．５、少なくとも１．７５、少なくとも１．８５、少なくとも3またはそれ以上である。Ｍｇ２＋の濃度に対するＡＴＰ＋ＣＴＰ＋ＵＴＰ＋ＧＴＰの濃度のモル比は、１．５であり得る。いくつかの実施形態では、Ｍｇ２＋の濃度に対するＡＴＰ＋ＣＴＰ＋ＵＴＰ＋ＧＴＰの濃度のモル比は１．８８である。いくつかの実施形態では、Ｍｇ２＋の濃度に対するＡＴＰ＋ＣＴＰ＋ＵＴＰ＋ＧＴＰの濃度のモル比は3である。

【０３８１】

いくつかの実施形態では、組成物は、ｄｓＲＮａｓｅ（例えば、ＲＮａｓｅＩＩＩ）処理ステップを含まないプロセスによって製造される。他の実施形態では、この組成物は逆相（ＲＰ）クロマトグラフィー精製ステップを含まないプロセスによって製造される。さらに他の実施形態では、この組成物は、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）精製ステップを含まないプロセスによって製造される。

【０３８２】

いくつかの実施形態では、ＧＴＰの濃度対、ＡＴＰ、ＣＴＰまたはＵＴＰのいずれか１つの濃度の比は、ＲＮＡを生産するために、少なくとも２：１、少なくとも３：１、少なくとも４：１、少なくとも５：１または少なくとも６：１である。

【０３８３】

生成物の純度は、既知の分析方法及びアッセイを用いて評価してもよい。例えば、逆相補体転写産物またはサイトカイン誘導性ＲＮＡ混入物の量は、高速液体クロマトグラフィー（例えば、逆相クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィーなど）、バイオアナライザーチップベースの電気泳動システム、ＥＬＩＳＡ、フローサイトメトリー、アクリルアミドゲル、再構成または代用型アッセイによって決定され得る。このアッセイは、ＲＮＡ調製物のヌクレアーゼ処理（Ｐ１、ＲＮａｓｅ　ＩＩＩ、ＲＮａｓｅ　Ｈなど）を用いて実施してもまたは用いずに実施してもよい。ヌクレアーゼ消化産物の電気泳動／クロマトグラフィー／質量分析もまた行われ得る。

【０３８４】

いくつかの実施形態では、精製ＲＮＡ調製物は、例えば全長よりも少なくとも１００、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、または９００ヌクレオチドなど、全長転写物よりも短い長さを有する混入転写物を含む。混入転写物は、例えば全長

より少なくとも１００、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、または９００ヌクレオチド短いなど、全長転写物よりも短い長さを有する逆転写産物またはフォワード転写産物（転写物）を含み得る。例示的なフォワード転写産物は、例えば、アボーティブ転写産物を含む。特定の実施形態では、この組成物は、３０ヌクレオチド未満の三リン酸ポリＵ逆相補体を含む。いくつかの実施形態では、この組成物は、全長転写物にハイブリダイズした任意の長さの三リン酸ポリＵ逆相補体を含む。他の実施形態では、この組成物は一本鎖三リン酸フォワード転写物を含む。他の実施形態では、この組成物は末端三リン酸－Ｇを有する一本鎖ＲＮＡを含む。他の実施形態では、この組成物は、１２未満のヌクレオチドまたは塩基対（フォワードまたは逆方向相補体転写物を含む）の一本鎖または二本鎖ＲＮＡを含む。これらの実施形態のいずれにおいても、組成物は、全長転写産物未満のうちのいずれか１つまたはそれらの組み合わせの５０％、４５％、４０％、３５％、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％、または０．５％未満を含み得る。

【０３８５】

送達ビヒクル

概要

本開示のｍＲＮＡは、例えば、対象に送達されたときにそれらを分解から保護するために、ナノ粒子または他の送達ビヒクル中に処方され得る。例示的なナノ粒子は、Ｐａｎｙａｍ、Ｊ．＆Ｌａｂｈａｓｅｔｗａｒ，Ｖ．Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅｖ．５５，３２９－３４７（２００３）及びＰｅｅｒ，Ｄ．ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｎａｎｏｔｅｃｈ．２，７５１－７６０（２００７）に記載されている。特定の実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、ナノ粒子内に封入されている。特定の実施形態では、ナノ粒子は、１０００ｎＭ以下、５００ｎＭ以下、または１００ｎＭ以下の少なくとも１つの寸法（例えば、直径）を有する粒子である。特定の実施形態では、ナノ粒子は脂質を含む。脂質ナノ粒子としては、限定するものではないが、リポソーム及びミセルが挙げられる。カチオン性及び／またはイオン性脂質、アニオン性脂質、中性脂質、両親媒性脂質、ＰＥＧ化脂質、及び／または構造脂質を含む、任意の数の脂質が存在し得る。そのような脂質は、単独で使用されてもよいし、または組み合わせて使用されてもよい。特定の実施形態では、脂質ナノ粒子は、本明細書に記載の１つ以上のｍＲＮＡを含む。

【０３８６】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のｍＲＮＡの脂質ナノ粒子製剤は、１つ以上（例えば、１、２、３、４、５、６、７、または８）のカチオン性及び／またはイオン性脂質を含み得る。そのようなカチオン性及び／またはイオン性脂質としては、限定するものではないが、３－（ジドデシルアミノ）－Ｎ１，Ｎ１，４－トリドデシル－１－ピペラジンエタンアミン（ＫＬ１０）、Ｎ１－［２－（ジドデシルアミノ）エチル］－Ｎ１，Ｎ４，Ｎ４－トリドデシル－１，４－ピペラジンジエタンアミン（ＫＬ２２）、１４，２５－ジトリデシル－１５，１８，２１，２４－テトラアザ－オクタトリアコンタン（ＫＬ２５）、１，２－ジリノレイルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎ－ＤＭＡ）、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノメチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－Ｋ－ＤＭＡ）、ヘプタトリアコンタ－６，９，２８，３１－テトラエン－１９－イル４－（ジメチルアミノ）ブタノエート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、２，２－ジリノレイル－４－（２－ジメチルアミノエチル）－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、２－（｛８－［（３β）－コレスト－５－エン－３－イルオキシ］オクチル｝オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（オクチル－ＣＬｉｎＤＭＡ）、（２Ｒ）－２－（｛８－［（３β）－コレスト－５－エン－３－イルオキシ］オクチル｝オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（オクチル－ＣＬｉｎＤＭＡ（２Ｒ））、（２Ｓ）－２－（｛８－［（３β）－コレスト－５－エン－３－イルオキシ］オクチル｝オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－

イルオキシ］プロパン－１－アミン（オクチル－ＣＬｉｎＤＭＡ（２Ｓ））、Ｎ，Ｎ－ジオレイル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアンモニウムクロライド（「ＤＯＤＡＣ」）；Ｎ－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル－Ｎ，Ｎ－－Ｎ－トリエチルアンモニウムクロライド（「ＤＯＴＭＡ」）；Ｎ，Ｎ－ジステアリル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアンモニウムブロミド（「ＤＤＡＢ」）；Ｎ－（２，３－ジオレオイルオキシ）プロピル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロライド（「ＤＯＴＡＰ」）；１，２－ジオレイルオキシ－３－トリメチルアミノプロパン塩化物塩（「ＤＯＴＡＰ．Ｃｌ」）；３－β－（Ｎ－－（Ｎ’，Ｎ’－ジメチルアミノエタン）－カルバモイル）コレステロール（「ＤＣ－Ｃｈｏｌ」）、Ｎ－（１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル）－Ｎ－２－（スペルミンカルボキサミド）エチル）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－アンモニウム　トリフルオロアセテート（「ＤＯＳＰＡ」）、ジオクタデシルアミドグリシルカルボキシスペルミン（「ＤＯＧＳ」）、１，２－ジオレオイル－３－ジメチルアンモニウムプロパン（「ＤＯＤＡＰ」）、Ｎ，Ｎ－ジメチル－２，３－ジオレイルオキシ）プロピルアミン（「ＤＯＤＭＡ」）、及びＮ－（１，２－ジミリスチルオキシプロプ－３－イル）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－Ｎ－ヒドロキシエチルアンモニウムブロミド（「ＤＭＲＩＥ」）が挙げられる。さらに、カチオン性脂質及び／またはイオン性脂質の多数の市販の調製物、例えば、ＬＩＰＯＦＥＣＴＩＮ（登録商標）（例としては、ＧＩＢＣＯ／ＢＲＬから入手可能なＤＯＴＭＡ及びＤＯＰＥ）、及びＬＩＰＯＦＥＣＴＡＭＩＮＥ（登録商標）（例としては、ＧＩＢＣＯ／ＢＲＬから入手可能なＤＯＳＰＡ及びＤＯＰＥ）などが用いられ得る。ＫＬ１０、ＫＬ２２、及びＫＬ２５は、例えば、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる、米国特許第８，６９１，７５０号に記載される。特定の実施形態では、その脂質は、ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡまたはＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡである。

【０３８７】

本開示の脂質ナノ粒子に使用するのに適したアニオン性脂質としては、限定するものではないが、ホスファチジルグリセロール、カルジオリピン、ジアシルホスファチジルセリン、ジアシルホスファチジン酸、Ｎ－ドデカノイルホスファチジルエタノールアミン、Ｎ－スクシニルホスファチジルエタノールアミン、Ｎ－グルタリルホスファチジルエタノールアミン、リシルホスファチジルグリセロール、及び中性脂質に結合された他のアニオン性飾基が挙げられる。

【０３８８】

本開示の脂質ナノ粒子での使用に適した中性脂質としては、限定するものではないが、ジアシルホスファチジルコリン、ジアシルホスファチジルエタノールアミン、セラミド、スフィンゴミエリン、ジヒドロスフィンゴミエリン、セファリン、及びセレブロシドが挙げられる。様々な鎖長及び飽和度の様々なアシル鎖基を有する脂質が入手可能であるか、または周知の技術によって単離されても、もしくは合成されてもよい。さらに、飽和及び不飽和脂肪酸鎖の混合物を有する脂質を使用してもよい。いくつかの実施形態では、本開示において使用される中性脂質は、ＤＯＰＥ、ＤＳＰＣ、ＤＰＰＣ、ＰＯＰＣ、または任意の関連ホスファチジルコリンである。いくつかの実施形態では、中性脂質は、スフィンゴミエリン、ジヒドロスフィンゴミエリン、またはセリン及びイノシトールなどの他の頭部基を有するリン脂質から構成され得る。

【０３８９】

いくつかの実施形態では、両親媒性脂質は、本開示のナノ粒子に含まれる。本開示のナノ粒子における使用に適した例示的な両親媒性脂質としては、限定するものではないが、スフィンゴ脂質、リン脂質、及びアミノ脂質が挙げられる。いくつかの実施形態では、リン脂質は、以下からなる群より選択される：

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－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＳＰＣ）、

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ジエーテルＰＣ）、
１－オレオイル－２－コレステリルヘミスクシノイル－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－ジアラクドノイル－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－グリセリン－３－ホスホコリン、
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－ジフタノイル－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）、及びスフィンゴミエリン。他のリン欠失化合物、例えば、スフィンゴ脂質、スフィンゴ糖脂質ファミリー、ジアシルグリセロール、及びβ－アシルオキシ酸も使用されてもよい。さらに、そのような両親媒性脂質は、トリグリセリド及びステロールなどの他の脂質と容易に混合され得る。

【０３９０】

いくつかの実施形態では、本開示のナノ粒子の脂質構成要素は、１つ以上のＰＥＧ化脂質を含み得る。ＰＥＧ化脂質（ＰＥＧ脂質またはＰＥＧ修飾脂質とも呼ばれる）は、ポリエチレングリコールで修飾された脂質である。脂質構成要素は、１つ以上のＰＥＧ化脂質を含んでもよい。ＰＥＧ化脂質は、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、及びＰＥＧ修飾ジアルキルグリセロールからなる非限定的な群より選択され得る。例えば、ＰＥＧ化脂質は、ＰＥＧ－ｃ－ＤＯＭＧ、ＰＥＧ－ＤＭＧ、ＰＥＧ－ＤＬＰＥ、ＰＥＧ－ＤＭＰＥ、ＰＥＧ－ＤＰＰＣ、またはＰＥＧ－ＤＳＰＥ脂質であってもよい。

【０３９１】

本開示の脂質ナノ粒子は、１つ以上の構造脂質を含んでもよい。本開示の脂質ナノ粒子中に存在し得る例示的で非限定的な構造脂質としては、コレステロール、フェコステロール、シトステロール、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、エルゴステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、またはα－トコフェロールが挙げられる。

【０３９２】

いくつかの実施形態では、本開示の１つ以上のｍＲＮＡは、約１ｎｍ～約９００ｎｍ、例えば、約１ｎｍ～約１００ｎｍ、約１ｎｍ～約２００ｎｍ、約１ｎｍ～約３００ｎｍ、約１ｎｍ～約４００ｎｍ、約１ｎｍ～約５００ｎｍ、約１ｎｍ～約６００ｎｍ、約１ｎｍ～約７００ｎｍ、約１ｎｍ～約８００ｎｍ、約１ｎｍ～約９００ｎｍの直径を有する脂質ナノ粒子に処方してもよい。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、約１０ｎｍ～約３００ｎｍ、約２０ｎｍ～約２００ｎｍ、約３０ｎｍ～約１００ｎｍ、または約４０ｎｍ～約８０ｎｍの直径を有し得る。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、約３０ｎｍ～約３００ｎｍ、約４０ｎｍ～約２００ｎｍ、約５０ｎｍ～約１５０ｎｍ、約７０～約１１０ｎｍ、または約８０ｎｍ～約１２０ｎｍの直径を有してもよい。一実施形態では、ｍＲＮＡは、限定するものではないが、約１０～約２０ｎｍ、約１０～約３０ｎｍ、約１０～約４０

ｎｍ、約１０～約５０ｎｍ、約１０～約６０ｎｍ、約１０～約７０ｎｍ、約１０～約８０ｎｍ、約１０～約９０ｎｍ、約２０～約３０ｎｍ、約２０～約４０ｎｍ、約２０～約５０ｎｍ、約２０～約６０ｎｍ、約２０～約７０ｎｍ、約２０～約８０ｎｍ、約２０～約９０ｎｍ、約２０～約１００ｎｍ、約３０～約４０ｎｍ、約３０～約５０ｎｍ、約３０～約６０ｎｍ、約３０～約７０ｎｍ、約３０～約８０ｎｍ、約３０～約９０ｎｍ、約３０～約１００ｎｍ、約４０～約５０ｎｍ、約４０～約６０ｎｍ、約４０～約７０ｎｍ、約４０～約８０ｎｍ、約４０～約９０ｎｍ、約４０～約１００ｎｍ、約５０～約６０ｎｍ、約５０～約７０ｎｍ、約５０～約８０ｎｍ、約５０～約９０ｎｍ、約５０～約１００ｎｍ、約６０～約７０ｎｍ、約６０～約８０ｎｍ、約６０～約９０ｎｍ、約６０～約１００ｎｍ、約７０～約８０ｎｍ、約７０～約９０ｎｍ、約７０～約１００ｎｍ、約８０～約９０ｎｍ、約８０～約１００ｎｍ、及び／または約９０～約１００ｎｍなどの間の範囲を含む約１０～約１００ｎｍの直径を有する脂質ナノ粒子に処方してもよい。一実施形態では、ｍＲＮＡは、約３０ｎｍ～約３００ｎｍ、約４０ｎｍ～約２００ｎｍ、約５０ｎｍ～約１５０ｎｍ、約７０ｎｍ～約１１０ｎｍ、または約８０ｎｍ～約１２０ｎｍ、例としてはその間の範囲の直径を有する脂質ナノ粒子に処方されてもよい。

【０３９３】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、１００ｎｍ超、１５０ｎｍ超、２００ｎｍ超、２５０ｎｍ超、３００ｎｍ超、３５０ｎｍ超、４００ｎｍ超、４５０ｎｍ超、５００ｎｍ超、５５０ｎｍ超、６００ｎｍ超、６５０ｎｍ超、７００ｎｍ超、７５０ｎｍ超、８００ｎｍ超、８５０ｎｍ超、９００ｎｍ超、または９５０超の直径を有してもよい。

【０３９４】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子の粒径は、増大しても、及び／または減少してもよい。粒径の変化は、それだけには限らないが炎症などの生物学的反応に対抗するのを助けることができ、または患者もしくは対象に送達されるｍＲＮＡの生物学的効果を増大し得る。

【０３９５】

特定の実施形態では、細胞型及び／または組織型に特異的な標的化部分を用いて、本開示のナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子を標的化することが望ましい。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、標的化部分を用いて特定の細胞、組織、及び／または臓器に標的化されてもよい。特定の実施形態では、ナノ粒子は、本明細書に記載の１つ以上のｍＲＮＡ及び標的部分を含む。例示的な非限定的標的化部分は、リガンド、細胞表面受容体、糖タンパク質、ビタミン（例えば、リボフラビン）及び抗体（例えば、全長抗体、抗体断片（例えば、Ｆｖ断片、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片、Ｆａｂ’断片、またはＦ（ａｂ’）２断片）、単一ドメイン抗体、ラクダ抗体及びその断片、ヒト抗体及びその断片、モノクローナル抗体、及び多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体））を含む。いくつかの実施形態では、標的化部分はポリペプチドであってもよい。標的化部分は、ポリペプチド全体（例えば、ペプチドまたはタンパク質）またはそれらの断片を含んでもよい。標的化部分は、典型的には、標的化部分が標的、例えば、細胞表面受容体との相互作用に利用可能であるような方式で、ナノ粒子の外面に配置される。種々の異なる標的化部分及び方法は、例えば、Ｓａｐｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｇ．Ｌｉｐｉｄ Ｒｅｓ．４２（５）：４３９－６２，２００３及びＡｂｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｌｉｐｏｓｏｍｅ Ｒｅｓ．１２：１－３，２００２に記載のものを含み、当該分野で公知かつ利用可能である。

【０３９６】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子（例えば、リポソーム）は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖などの親水性ポリマー鎖の表面コーティングを含んでもよい（例えば、Ａｌｌｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｃａ ｅｔ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａ Ａｃｔａ １２３７：９９－１０８，１９９５；ＤｅＦｒｅｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｓｏｃｉｅｔｙ １１８：６１０１－６１０４，１９９６；Ｂｌｕｍｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｃａ ｅｔ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａ Ａｃｔａ １１４９：１８０－１８４，１９９３；Ｋｌ

ｉｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｌｉｐｏｓｏｍｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２：３２１－３３４，１９９２；米国特許第５，０１３，５５６号；Ｚａｌｉｐｓｋｙ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ４：２９６－２９９，１９９３；Ｚａｌｉｐｓｋｙ，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ ３５３：７１－７４，１９９４；Ｚａｌｉｐｓｋｙ，ｉｎ Ｓｔｅａｌｔｈ Ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ Ｃｈａｐｔｅｒ ９（Ｌａｓｉｃ ａｎｄ Ｍａｒｔｉｎ，Ｅｄｓ）ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ Ｆｌａ．，１９９５を参照のこと）。１つのアプローチでは、脂質ナノ粒子を標的とするための標的部分を、ナノ粒子を形成する脂質の極性頭部基に結合させる。別のアプローチでは、標的化部分は、親水性ポリマーコーティングを形成するＰＥＧ鎖の遠位端に結合される（例えば、Ｋｌｉｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｌｉｐｏｓｏｍｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２：３２１－３３４，１９９２；Ｋｉｒｐｏｔｉｎ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ ３８８：１１５－１１８，１９９６を参照のこと）。

【０３９７】

標的化部分（複数可）を結合するための標準的な方法が使用され得る。例えば、標的化部分の結合のために活性化され得るホスファチジルエタノールアミン、または誘導体化親油性化合物、例えば、脂質誘導体化ブレオマイシンを使用してもよい。抗体標的化リポソームは、例えば、プロテインＡを組み込んだリポソームを用いて構築され得る（例えば、Ｒｅｎｎｅｉｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏ．Ｃｈｅｍ．、２６５：１６３３７－１６３４２，１９９０及びＬｅｏｎｅｔｔｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（ＵＳＡ），８７：２４４８－２４５１，１９９０を参照のこと）。抗体コンジュゲーションの他の例は、米国特許第６，０２７，７２６号に開示されている。標的化部分の例としてはまた、新生物または腫瘍に関連する抗原を含む、細胞構成要素に特異的な他のポリペプチドが挙げられる。標的化部分として使用されるポリペプチドは、共有結合を介してリポソームに結合してもよい（例えば、Ｈｅａｔｈ，Ｃｏｖａｌｅｎｔ Ａｔｔａｃｈｍｅｎｔ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｔｏ Ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ，１４９ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １１１－１１９（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．１９８７）を参照のこと）。他の標的化方法としては、ビオチン－アビジン系が挙げられる。

【０３９８】

いくつかの実施形態では、本開示の脂質ナノ粒子としては、限定するものではないが、肝細胞、結腸細胞、上皮細胞、造血細胞、上皮細胞、内皮細胞、肺細胞、骨細胞、幹細胞、間葉系細胞、神経細胞、心臓細胞、脂肪細胞、血管平滑筋細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、ベータ細胞、下垂体細胞、滑膜細胞、卵巣細胞、精巣細胞、線維芽細胞、Ｂ細胞、Ｔ細胞、網状赤血球、白血球、顆粒球、及び腫瘍細胞（原発性腫瘍細胞及び転移性腫瘍細胞を含む）を含む細胞に脂質ナノ粒子を標的化する標的化部分が挙げられる。特定の実施形態では、標的化部分は、脂質ナノ粒子を肝細胞に標的化する。他の実施形態では、標的化部分は脂質ナノ粒子を結腸細胞に標的化する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、脂質ナノ粒子を肝臓がん細胞（例えば、肝細胞がん細胞）または結腸直腸がん細胞（例えば、原発腫瘍または転移）に標的化する。

【０３９９】

脂質ナノ粒子

一組の実施形態では、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）が提供される。一実施形態では、脂質ナノ粒子は、イオン性脂質、構造脂質、リン脂質、及び１つ以上のｍＲＮＡを含む脂質を含む。本明細書に記載の各ＬＮＰは、本明細書に記載のｍＲＮＡの製剤として使用され得る。一実施形態では、脂質ナノ粒子は、イオン性脂質、構造脂質、リン脂質、ＰＥＧ修飾脂質、及び１つ以上のｍＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、イオン性脂質、ＰＥＧ修飾脂質、ステロール及びリン脂質を含む。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、約２０～６０％のイオン性脂質：約５～２５％のリン脂質：約２５～５５％のステロール；及び約０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、約５０％のイオン性脂質、約１．５％のＰＥＧ修飾脂質、約３８．５％

のコレステロール、及び約１０％のリン脂質というモル比を含む。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、約５５％のイオン性脂質、約２．５％のＰＥＧ脂質、約３２．５％のコレステロール、及び約１０％のリン脂質というモル比を含む。いくつかの実施形態では、イオン性脂質は、イオン性アミノまたはカチオン性脂質であり、中性脂質は、リン脂質であり、ステロールはコレステロールである。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０：３８．５：１０：１．５というイオン性脂質：コレステロール：ＤＳＰＣ（１，２－ジオクタデカノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）：ＰＥＧ－ＤＭＧのモル比を有する。

【０４００】

ａ．イオン性脂質

本開示は、有利な性質を有する薬学的組成物を提供する。例えば、本明細書に記載の脂質（例えば、式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、（ＩＩｅ）、（ＩＩＩ）、（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）のいずれかを有する脂質）は、哺乳動物細胞または臓器への治療剤及び／または予防剤の送達のための脂質ナノ粒子組成物において有利には使用され得る。例えば、本明細書に記載の脂質は、免疫原性がほとんどないか、または全くない。例えば、本明細書に開示される脂質化合物は、参照脂質（例えば、ＭＣ３、ＫＣ２、またはＤＬｉｎＤＭＡ）と比較して低い免疫原性を有する。例えば、本明細書に開示される脂質及び治療剤または予防剤を含む製剤は、参照脂質（例えば、ＭＣ３、ＫＣ２、またはＤＬｉｎＤＭＡ）及び同じ治療剤または予防薬を含む、対応する製剤と比較して増大した治療インデックスを有する。特に、本出願は、以下を含む薬学的組成物を提供する：

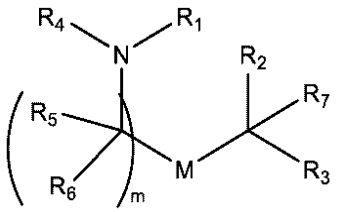
（ａ）目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド；及び

（ｂ）送達剤。

【０４０１】

いくつかの実施形態では、上記送達剤は、式（Ｉ）を有する脂質化合物であって、

【化１】



（Ｉ）、

式中

R_1は、C_{5-30}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；

R_2及びR_3は、独立して、Ｈ、C_{1-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはR_2及びR_3は、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；

R_4は、C_{3-6}炭素環、－$(CH_2)_n$Ｑ、－$(CH_2)_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、－ＣＱ$(R)_2$、及び非置換C_{1-6}アルキルからなる群より選択され、ここでＱは、炭素環、複素環、－ＯＲ、－Ｏ$(CH_2)_n$Ｎ$(R)_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－ＣＮ、－Ｎ$(R)_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ$(O)_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）R_8、－Ｏ$(CH_2)_n$ＯＲ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（＝ＮR_9）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（＝ＣＨR_9）Ｎ$(R)_2$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（ＯＲ）Ｓ$(O)_2$Ｒ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｓ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（＝ＮR_9）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（＝ＣＨR_9）Ｎ（Ｒ）

$_2$、－Ｃ（＝ＮＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（＝ＮＲ$_9$）Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）ＯＲ、及び－Ｃ（Ｒ）Ｎ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲから選択され、各ｎは独立して１、２、３、４、及び５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からなる群より選択され；

各Ｒ$_6$は、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より独立して選択され；

Ｍ及びＭ’は独立して、－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）$_2$－、－Ｓ－Ｓ－、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され；

Ｒ$_7$は、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

Ｒ$_8$は、Ｃ$_{3-6}$炭素環及び複素環からなる群より選択され；

Ｒ$_9$は、Ｈ、ＣＮ、ＮＯ$_2$、Ｃ$_{1-6}$アルキル、－ＯＲ、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（Ｒ）$_2$、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-6}$炭素環及び複素環からなる群より選択され；

各Ｒは独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

各Ｒ’は独立して、Ｃ$_{1-18}$アルキル、Ｃ$_{2-18}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より独立して選択され；

各Ｒ”は、独立して、Ｃ$_{3-14}$アルキル及びＣ$_{3-14}$アルケニルからなる群より選択され；

各Ｒ＊は、独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル及びＣ$_{2-12}$アルケニルからなる群より選択され；

各Ｙは独立してＣ$_{3-6}$炭素環であり；

各Ｘは、独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；ｍは５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、脂質化合物、

またはそれらの塩もしくは立体異性体を含む。

【０４０２】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物のサブセットとしては、

Ｒ$_1$は、Ｃ$_{5-20}$アルキル、Ｃ$_{5-20}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；

Ｒ$_2$及びＲ$_3$は、Ｈ、Ｃ$_{1-14}$アルキル、Ｃ$_{2-14}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より独立して選択されるか、またはＲ$_2$及びＲ$_3$は、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；

Ｒ$_4$は、Ｃ$_{3-6}$炭素環、－（ＣＨ２）$_n$Ｑ、－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、－ＣＱ（Ｒ）$_2$、及び非置換Ｃ$_{1-6}$アルキルからなる群より選択され、ここでＱは、炭素環、複素環、－ＯＲ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－ＣＸ$_3$、－ＣＸ$_2$Ｈ、－ＣＸＨ$_2$、－ＣＮ、－Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、及び－Ｃ（Ｒ）Ｎ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲから選択され、そして各ｎは、独立して１、２、３、４及び５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からなる群より選択され；

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からなる群より選択され；

Ｍ及びＭ’は独立して、－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選択され；

R_7は、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
各Rは独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
各R’は独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－R＊YR”、－YR”及びHからなる群より選択され；
各R”は独立して、C_{3-14}アルキル及びC_{3-14}アルケニルからなる群より選択され；
各R＊は、独立して、C_{1-12}アルキル及びC_{2-12}アルケニルからなる群より選択され；
各Yは独立してC_{3-6}炭素環であり；
各Xは独立して、F、Cl、Br、及びIからなる群より選択され；mは５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、化合物のサブセット、
またはその塩もしくは立体異性体が挙げられ、ここで、アルキル基及びアルケニル基は直鎖状でも分岐状でもよい。

【０４０３】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物のサブセットは、R_4が－$(CH_2)_nQ$、－$(CH_2)_nCHQR$、－CHQR、または－$CQ(R)_2$である場合、（ｉ）ｎが１、２、３、４もしくは５であるとき、QはN$(R)_2$ではないか、または（ｉｉ）ｎが１もしくは２であるときは、Qは５、６または７員のヘテロシクロアルキルではないものを含む。

【０４０４】

別の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、
R_1が、C_{5-30}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－R＊YR”、－YR”、及び－R”M’R’からなる群より選択され；
R_2及びR_3が、H、C_{1-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－R＊YR”、－YR”、及び－R＊OR”からなる群より独立して選択されるか、またはR_2及びR_3は、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
R_4が、C_{3-6}炭素環、－$(CH_2)_nQ$、－$(CH_2)_nCHQR$、－CHQR、－$CQ(R)_2$、及び非置換C_{1-6}アルキルからなる群より選択され、ここで、Qは、C_{3-6}炭素環、N、O、及びSから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員のヘテロアリール、－OR、－$O(CH_2)_nN(R)_2$、－C(O)OR、－OC(O)R、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－CN、－C(O)$N(R)_2$、－N(R)C(O)R、－N(R)S$(O)_2$R、－N(R)C(O)$N(R)_2$、－N(R)C(S)$N(R)_2$、－$CRN(R)_2C(O)OR$、－N(R)R_8、－$O(CH_2)_nOR$、－N(R)C(＝NR_9)$N(R)_2$、－N(R)C(＝CHR_9)$N(R)_2$、－OC(O)$N(R)_2$、－N(R)C(O)OR、－N(OR)C(O)R、－N(OR)S$(O)_2$R、－N(OR)C(O)OR、－N(OR)C(O)$N(R)_2$、－N(OR)C(S)$N(R)_2$、－N(OR)C(＝NR_9)$N(R)_2$、－N(OR)C(＝CHR_9)$N(R)_2$、－C(＝NR_9)$N(R)_2$、－C(＝NR_9)R、－C(O)N(R)OR、ならびにオキソ（＝O）、OH、アミノ、及びC_{1-3}アルキルから選択される１つ以上の置換基で置換されている、N、O、及びSから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５員～１４員のヘテロシクロアルキルから選択され、各ｎが、独立して、１、２、３、４、及び５から選択され；
各R_5が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
各R_6が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
M及びM’が独立して、－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－、－$S(O)_2$－、－S－S－、アリ

ール基、及びヘテロアリール基から選択され；
R_7が、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
R_8が、C_{3-6}炭素環及び複素環からなる群より選択され；
R_9が、H、CN、NO_2、C_{1-6}アルキル、－OR、－S（O）$_2$R、－S（O）$_2$N（R）$_2$、C_{2-6}アルケニル、C_{3-6}炭素環、及び複素環からなる群より選択され；
各Rが独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
各R’が独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－R＊YR”、－YR”及びHからなる群より選択され；
各R”が独立して、C_{3-14}アルキル及びC_{3-14}アルケニルからなる群より選択され；
各R＊が独立して、C_{1-12}アルキル及びC_{2-12}アルケニルからなる群より選択され；
各Yが独立してC_{3-6}炭素環であり；
各Xが独立して、F、Cl、Br、及びIからなる群より選択され；そして
mが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。

【０４０５】

別の実施形態では、式（I）の化合物の別のサブセットには、
R_1が、C_{5-30}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－R＊YR”、－YR”、及び－R”M’R’からなる群より選択され；
R_2及びR_3が独立して、H、C_{1-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－R＊YR”、－YR”、及び－R＊OR”からなる群より選択されるか、またはR_2及びR_3が、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
R_4が、－C_{3-6}炭素環、－（CH_2）$_n$Q、－（CH_2）$_n$CHQR、－CHQR、－CQ（R）$_2$、及び非置換C_{1-6}アルキルからなる群より選択され、ここで、Qが、C_{3-6}炭素環、N、O、及びSから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員のヘテロアリール、－OR、－O（CH_2）$_n$N（R）$_2$、－C（O）OR、－OC（O）R、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－CN、C（O）N（R）$_2$、－N（R）C（O）R、－N（R）S（O）$_2$R、－N（R）C（O）N（R）$_2$、－N（R）C（S）N（R）$_2$、－CRN（R）$_2$C（O）OR、ならびにオキソ（＝O）、OH、アミノ、及びC_{1-3}アルキルから選択される１つ以上の置換基で置換されている、N、O、及びSから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員ヘテロシクロアルキルから選択され、各nは独立して１、２、３、４、及び５から選択され；
各R_5が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
各R_6が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
M及びM’は独立して、－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、ヘテロアリール基から選択され；
R_7が、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
各Rが独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びHからなる群より選択され；
各R’が独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－R＊YR”、－YR”及びHからなる群より選択され；
各R”が独立して、C_{3-14}アルキル及びC_{3-14}アルケニルからなる群より選択

され；
各Ｒ＊が独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル及びＣ$_{2-12}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙが独立してＣ$_{3-6}$炭素環であり；
各Ｘが独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；そして
ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。
【０４０６】
さらに別の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、
Ｒ$_1$が、Ｃ$_{5-20}$アルキル、Ｃ$_{5-20}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；
Ｒ$_2$及びＲ$_3$が独立して、Ｈ、Ｃ$_{1-14}$アルキル、Ｃ$_{2-14}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはＲ$_2$及びＲ$_3$は、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
Ｒ$_4$が、Ｃ$_{3-6}$炭素環、－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑ、－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、－ＣＱ（Ｒ）$_2$、及び非置換Ｃ$_{1-6}$アルキルからなる群より選択され、ここで、Ｑは、Ｃ$_{3-6}$炭素環、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員の複素環、－ＯＲ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－ＣＸ$_3$、－ＣＸ$_2$Ｈ、－ＣＸＨ$_2$、－ＣＮ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＣＲＮ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（Ｒ）Ｒ$_8$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$ＯＲ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（＝ＮＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（＝ＣＨＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（ＯＲ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（＝ＮＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（＝ＣＨＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（＝ＮＲ$_9$）Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）ＯＲ、及び－Ｃ（＝ＮＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$から選択され、各ｎは独立して１、２、３、４、及び５から選択され；かつＱが５～１４員の複素環であり、かつ（ｉ）Ｒ$_4$が－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑであり、ｎが１もしくは２であるか、または（ｉｉ）Ｒ$_4$が－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲであり、ｎが１であるか、または（ｉｉｉ）Ｒ$_4$が－ＣＨＱＲ、及びＣＱ（Ｒ）$_2$であるならば、Ｑは５～１４員のヘテロアリールまたは８～１４員のヘテロシクロアルキルであり；
各Ｒ$_5$が独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ$_6$が、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より独立して選択され；
Ｍ及びＭ’が独立して、－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）$_2$－、－Ｓ－Ｓ－、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され；
Ｒ$_7$が、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
Ｒ$_8$が、Ｃ$_{3-6}$炭素環及び複素環からなる群より選択され；
Ｒ$_9$が、Ｈ、ＣＮ、ＮＯ$_2$、Ｃ$_{1-6}$アルキル、－ＯＲ、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（Ｒ）$_2$、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-6}$炭素環及び複素環からなる群より選択され；
各Ｒが独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’が独立して、Ｃ$_{1-18}$アルキル、Ｃ$_{2-18}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ”が独立して、Ｃ$_{3-14}$アルキル及びＣ$_{3-14}$アルケニルからなる群より選択

され；
各Ｒ＊が独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル及びＣ$_{2-12}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙが独立してＣ$_{3-6}$炭素環であり；
各Ｘが独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；そして
ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。
【０４０７】
さらに別の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の他のサブセットには、
Ｒ$_1$が、Ｃ$_{5-20}$アルキル、Ｃ$_{5-20}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；
Ｒ$_2$及びＲ$_3$が独立して、Ｈ、Ｃ$_{1-14}$アルキル、Ｃ$_{2-14}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはＲ$_2$及びＲ$_3$は、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
Ｒ$_4$は、Ｃ$_{3-6}$炭素環、－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑ、－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、－ＣＱ（Ｒ）$_2$、及び非置換Ｃ$_{1-6}$アルキルからなる群より選択され、ここで、Ｑは、Ｃ$_{3-6}$炭素環、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１個以上のヘテロ原子を有する５～１４員の複素環、－ＯＲ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－ＣＸ$_3$、－ＣＸ$_2$Ｈ、－ＣＸＨ$_2$、－ＣＮ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＣＲＮ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲから選択され；及び各ｎが独立して１、２、３、４及び５から選択され；Ｑが５～１４員の複素環であり、（ｉ）Ｒ$_4$が、－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑであり、ｎが１もしくは２であるか、または（ｉｉ）Ｒ$_4$が－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲであり、ｎが１であるか、または（ｉｉｉ）Ｒ$_4$が－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$であるならば、Ｑは５～１４員のヘテロアリールまたは８～１４員のヘテロシクロアルキルであり；
各Ｒ$_5$が独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ$_6$が独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
Ｍ及びＭ’が独立して、－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選択され；
Ｒ$_7$が、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒが独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’が独立して、Ｃ$_{1-18}$アルキル、Ｃ$_{2-18}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ”が独立して、Ｃ$_{3-14}$アルキル及びＣ$_{3-14}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｒ＊が独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル及びＣ$_{2-12}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙが独立してＣ$_{3-6}$炭素環であり；
各Ｘが独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；そして
ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。
【０４０８】

さらに別の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、
R_1が、C_{5-30}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；
R_2及びR_3が独立して、Ｈ、C_{1-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはR_2及びR_3が、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
R_4が、C_{3-6}炭素環、－$(CH_2)_n$Ｑ、－$(CH_2)_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、－ＣＱ$(R)_2$、及び非置換C_{1-6}アルキルからなる群より選択され、ここで、Ｑは、C_{3-6}炭素環、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員のヘテロアリール、－ＯＲ、Ｏ$(CH_2)_n$Ｎ$(R)_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－ＣＮ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ$(O)_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ$(R)_2$、－ＣＲＮ$(R)_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（Ｒ）R_8、－Ｏ$(CH_2)_n$ＯＲ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（＝ＮR_9）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（＝ＣＨR_9）Ｎ$(R)_2$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（ＯＲ）Ｓ$(O)_2$Ｒ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｏ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（Ｓ）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（＝ＮR_9）Ｎ$(R)_2$、－Ｎ（ＯＲ）Ｃ（＝ＣＨR_9）Ｎ$(R)_2$、－Ｃ（＝ＮR_9）Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）ＯＲ、及び－Ｃ（＝ＮR_9）Ｎ$(R)_2$から選択され、各ｎは独立して、１、２、３、４及び５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からなる群より選択され；
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からなる群より選択され；
Ｍ及びＭ’は独立して、－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）$_2$－、－Ｓ－Ｓ－、アリール基、ヘテロアリール基から選択され；
R_7は、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
R_8は、C_{3-6}炭素環及び複素環からなる群より選択され；
R_9は、Ｈ、ＣＮ、NO_2、C_{1-6}アルキル、－ＯＲ、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ$(R)_2$、C_{2-6}アルケニル、C_{3-6}炭素環及び複素環からなる群より選択され；
各Ｒは独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’は独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’’は独立して、C_{3-14}アルキル及びC_{3-14}アルケニルからなる群より選択され；
各Ｒ＊は独立して、C_{1-12}アルキル及びC_{2-12}アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙは独立してC_{3-6}炭素環であり；
各Ｘは、独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；
そして
ｍは、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。

【０４０９】
さらに別の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、
R_1が、C_{5-20}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び

－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；
Ｒ$_{2}$及びＲ$_{3}$が独立して、Ｈ、Ｃ$_{1-14}$アルキル、Ｃ$_{2-14}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはＲ$_{2}$及びＲ$_{3}$が、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
Ｒ$_{4}$が、Ｃ$_{3-6}$炭素環、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$Ｑ、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、－ＣＱ（Ｒ）$_{2}$、及び非置換Ｃ$_{1-6}$アルキルからなる群より選択され、ここで、ＱがＣ$_{3-6}$炭素環、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員のヘテロアリール、－ＯＲ、－Ｏ（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$Ｎ（Ｒ）$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－ＣＸ$_{3}$、－ＣＸ$_{2}$Ｈ、－ＣＸＨ$_{2}$、－ＣＮ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_{2}$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_{2}$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_{2}$、－ＣＲＮ（Ｒ）$_{2}$Ｃ（Ｏ）ＯＲから選択され、及び各ｎは独立して１、２、３、４及び５から選択され；
各Ｒ$_{5}$が独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ$_{6}$が独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
Ｍ及びＭ’が独立して、－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選択され；
Ｒ$_{7}$が、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒが独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’が独立して、Ｃ$_{1-18}$アルキル、Ｃ$_{2-18}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’’が独立して、Ｃ$_{3-14}$アルキル及びＣ$_{3-14}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｒ＊が独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル及びＣ$_{2-12}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙが独立してＣ$_{3-6}$炭素環であり；
各Ｘが、独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；そして
ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。

【０４１０】

さらに別の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、
Ｒ$_{1}$が、Ｃ$_{5-30}$アルキル、Ｃ$_{5-20}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；
Ｒ$_{2}$及びＲ$_{3}$が独立して、Ｈ、Ｃ$_{2-14}$アルキル、Ｃ$_{2-14}$アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはＲ$_{2}$及びＲ$_{3}$が、それらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
Ｒ$_{4}$が－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$Ｑまたは－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＣＨＱＲであり、ここでＱはＮ（Ｒ）$_{2}$であり、そしてｎは３、４及び５から選択され；
各Ｒ$_{5}$が独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ$_{6}$が独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル、Ｃ$_{2-3}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
Ｍ及びＭ’が独立して、－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）$_{2}$－、－Ｓ－Ｓ－、アリ

ール基、及びヘテロアリール基から選択され；
R_7が、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒが独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’が独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ”が独立して、C_{3-14}アルキル及びC_{3-14}アルケニルからなる群より選択され；
各Ｒ＊が独立して、C_{1-12}アルキル及びC_{1-12}アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙが独立してC_{3-6}炭素環であり；
各Ｘが独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；そして
ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。

【０４１１】

さらに別の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、
R_1が、C_{5-20}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；
R_2及びR_3が独立して、Ｈ、C_{2-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択され、あるいはR_2及びR_3はそれらが結合する原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成し；
R_4が－$(CH_2)_n$Ｑまたは－$(CH_2)_n$ＣＨＱＲであり、ここでＱが－Ｎ$(R)_2$であり、そしてｎは３、４及び５から選択され；
各R_5が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各R_6が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
Ｍ及びＭ’が独立して、－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選択され；
R_7が、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒが独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ’が独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ”が独立して、C_{3-14}アルキル及びC_{3-14}アルケニルからなる群より選択され；
各Ｒ＊が独立して、C_{1-12}アルキル及びC_{1-12}アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙが独立してC_{3-6}炭素環であり；
各Ｘが独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；そして
ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。

【０４１２】

さらに他の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、
R_1が、C_{5-30}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；

R_2及びR_3が独立して、C_{1-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはR_2及びR_3は、それらが結合する原子と一緒になって複素環または炭素環を形成し；

R_4が、－（CH_2）$_n$Ｑ、－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、及びＣＱ（Ｒ）$_2$からなる群より選択され、ここで、Ｑは－Ｎ（Ｒ）$_2$であり；そしてｎは１、２、３、４、及び５から選択され；

各R_5が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

各R_6が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

Ｍ及びＭ’が独立して、－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）$_2$－、－Ｓ－Ｓ－、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され；

R_7が、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

各Ｒが独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

各Ｒ’が独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及びＨからなる群より独立して選択され；

各Ｒ”が独立して、C_{3-14}アルキル及びC_{3-14}アルケニルからなる群より選択され；

各Ｒ＊が独立して、C_{1-12}アルキル及びC_{1-12}アルケニルからなる群より選択され；

各Ｙが独立してC_{3-6}炭素環であり；

各Ｘが独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され、そして

ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、化合物のサブセット、

またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。

【０４１３】

さらに他の実施形態では、式（Ｉ）の化合物の別のサブセットには、

R_1が、C_{5-20}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択され；

R_2及びR_3が独立して、C_{1-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはR_2及びR_3が、それらが結合する原子と一緒になって複素環または炭素環を形成し；

R_4が、－（CH_2）$_n$Ｑ、－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$からなる群より選択され、ここで、Ｑが－Ｎ（Ｒ）$_2$であり、そしてｎは１、２、３、４、及び５から選択され；

各R_5が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

各R_6が独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

Ｍ及びＭ’が独立して、－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選択され；

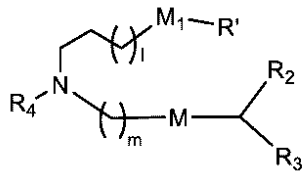
R_7が、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

各Ｒが独立して、C_{1-3}アルキル、C_{2-3}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；

各Ｒ’が独立して、C_{1-18}アルキル、C_{2-18}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－Ｙ

Ｒ”及びＨからなる群より選択され；
各Ｒ”が独立して、Ｃ$_{3-14}$アルキル及びＣ$_{3-14}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｒ＊が独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル及びＣ$_{1-12}$アルケニルからなる群より選択され；
各Ｙが独立してＣ$_{3-6}$炭素環であり；
各Ｘが独立して、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩからなる群より選択され；そして
ｍが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、及び１３から選択される、化合物のサブセット、
またはそれらの塩もしくは立体異性体が挙げられる。

【０４１４】
特定の実施形態では、式（Ｉ）の化合物のサブセットは、式（ＩＡ）の化合物：
【化２】

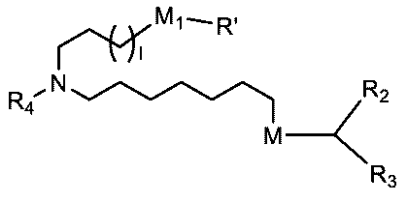

（ＩＡ），

またはその塩もしくは立体異性体を包含し、式中、ｌは１、２、３、４及び５から選択され；ｍは５、６、７、８、及び９から選択され；Ｍ$_1$は結合またはＭ’であり；Ｒ$_4$は、非置換Ｃ$_{1-3}$アルキル、または－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑであり、ここで、Ｑは、ＯＨ、－ＮＨＣ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｒ$_8$、－ＮＨＣ（＝ＮＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＮＨＣ（＝ＣＨＲ$_9$）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、ヘテロアリール、またはヘテロシクロアルキルであり；Ｍ及びＭ’は独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ’）Ｏ－、－Ｓ－Ｓ－、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され；そして
Ｒ$_2$及びＲ$_3$は独立して、Ｈ、Ｃ$_{1-14}$アルキル、及びＣ$_{2-14}$アルケニルからなる群より選択される。

【０４１５】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物のサブセットには、式（ＩＡ）の化合物、またはその塩もしくは立体異性体が含まれ、
ここで
ｌは１、２、３、４及び５から選択され；ｍは５、６、７、８、及び９から選択され；
Ｍ$_1$は結合またはＭ’であり；
Ｒ$_4$は、非置換Ｃ$_{1-3}$アルキル、または－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑであり、ここで、Ｑは、ＯＨ、－ＮＨＣ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、または－ＮＨＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$であり；
Ｍ及びＭ’は独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ’）Ｏ－、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され；そして
Ｒ$_2$及びＲ$_3$は、Ｈ、Ｃ$_{1-14}$アルキル、及びＣ$_{2-14}$アルケニルからなる群より独立して選択される。

【０４１６】
特定の実施形態では、式（Ｉ）の化合物のサブセットは、式（ＩＩ）のもの

【化３】



（ＩＩ）

またはその塩もしくは立体異性体を含み、式中、ｌは１、２、３、４及び５から選択され；M_1は結合またはＭ’であり；R_4は非置換C_{1-3}アルキル、または－（CH_2）$_n$Ｑであり、ここでｎは２、３、または４であり、そしてＱは、ＯＨ、－ＮＨＣ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、Ｎ（Ｒ）R_8、－ＮＨＣ（＝ＮR_9）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＮＨＣ（＝ＣＨR_9）Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ、ヘテロアリール、またはヘテロシクロアルキルであり；Ｍ及びＭ’は独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ’）Ｏ－、－Ｓ－Ｓ－、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され；そして

R_2及びR_3は独立して、Ｈ、C_{1-14}アルキル、及びC_{2-14}アルケニルからなる群より選択される。

【０４１７】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物のサブセットは、式（ＩＩ）の化合物、またはその塩もしくは立体異性体を含み、式中

ｌは１、２、３、４及び５から選択され；

M_1は結合またはＭ’であり；

R_4は非置換C_{1-3}アルキル、または－（CH_2）$_n$Ｑであり、ここでｎは２、３または４であり、そしてＱはＯＨ、－ＮＨＣ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、またはＮＨＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$であり；

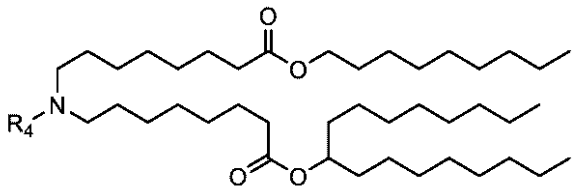
Ｍ及びＭ’は独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ’）Ｏ－、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され；そして

R_2及びR_3は独立して、Ｈ、C_{1-14}アルキル、及びC_{2-14}アルケニルからなる群より選択される。

【０４１８】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は式（ＩＩａ）のもの、

【化４】



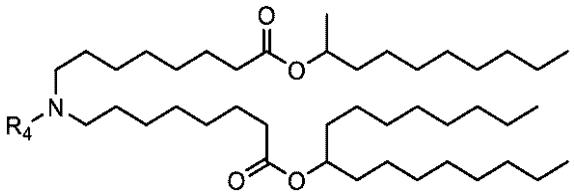
（ＩＩａ）、

またはその塩であり、式中R_4は上記のとおりである。

【０４１９】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、式（ＩＩｂ）のもの、

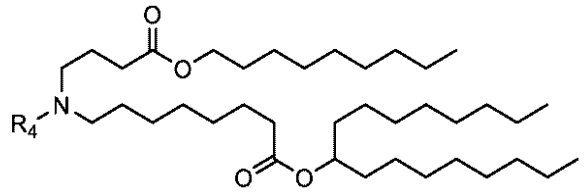
【化５】



（ＩＩｂ）、

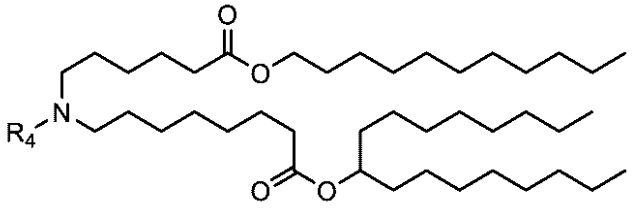
またはその塩であり、式中R_4は上記のとおりである。

【０４２０】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、式（ＩＩｃ）のもの、
【化６】



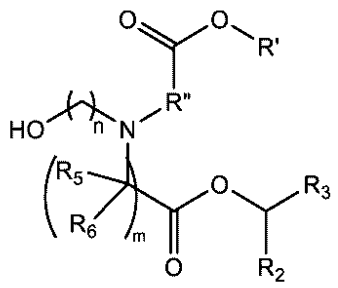
（ＩＩｃ）、

またはその塩であり、式中Ｒ$_4$は上記のとおりである。
【０４２１】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、式（ＩＩｅ）のもの：
【化７】



（ＩＩｅ）、

またはその塩であり、式中Ｒ$_4$は上記のとおりである。
【０４２２】
いくつかの実施形態では、式（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、または（ＩＩｅ）の化合物は、Ｒ$_4$を含み、これは、－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑ及び－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲから選択され、ここでＱ、Ｒ及びｎは、上記のとおりである。
【０４２３】
いくつかの実施形態では、Ｑは、－ＯＲ、－ＯＨ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－ＣＸ$_3$、－ＣＮ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｈ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｈ）（Ｒ）、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｈ）（Ｒ）、及び複素環からなる群より選択され、式中Ｒは上記のとおりである。いくつかの態様では、ｎは、１または２である。いくつかの実施形態では、Ｑは、ＯＨ、－ＮＨＣ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、または－ＮＨＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$である。
【０４２４】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、式（ＩＩｄ）のもの、
【化８】



（ＩＩｄ）、

またはその塩であり、式中Ｒ$_2$及びＲ$_3$は独立して、Ｃ$_{5-14}$アルキル及びＣ$_{5-14}$アルケニルからなる群より選択され、ｎは、２、３、及び４から選択され、Ｒ’、Ｒ’’、Ｒ$_5$、Ｒ$_6$及びｍは、上記のとおりである。
【０４２５】
式（ＩＩｄ）の化合物のいくつかの態様では、Ｒ$_2$はＣ$_8$アルキルである。式（ＩＩｄ

）の化合物のいくつかの態様では、R_3はC_5－C_9アルキルである。式（ＩＩｄ）の化合物のいくつかの態様では、ｍは５、７、または９である。式（ＩＩｄ）の化合物のいくつかの態様では、各R_5はＨである。式（ＩＩｄ）の化合物のいくつかの態様では、各R_6はＨである。

【０４２６】

別の態様では、本出願は、以下を含む脂質組成物（例えば、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ））を提供する：（１）式（Ｉ）を有する化合物；（２）必要に応じてヘルパー脂質（例えば、リン脂質）；（３）必要に応じて構造脂質（例えば、ステロール）；及び（４）必要に応じて脂質コンジュゲート（例えば、ＰＥＧ－脂質）。例示的な実施形態では、脂質組成物（例えば、ＬＮＰ）はさらに、目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、例えば、その中に封入されたポリヌクレオチドを含む。

【０４２７】

本明細書で使用される場合、「アルキル」または「アルキル基」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、またはそれ以上の炭素原子）を含む直鎖状または分枝状の飽和炭化水素を意味する。

【０４２８】

表記「C_{1-14}アルキル」とは、１～１４個の炭素原子を含む、直鎖状または分枝状の飽和炭化水素を意味する。アルキル基は必要に応じて置換されていてもよい。

【０４２９】

本明細書で使用されるとき、「アルケニル」または「アルケニル基」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、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０個またはそれ以上の炭素原子）及び少なくとも１つの二重結合を含む、直鎖状または分岐状炭化水素を意味する。

【０４３０】

表記「C_{2-14}アルケニル」とは、２～１４個の炭素原子及び少なくとも１つの二重結合を含む、直鎖状または分岐状の炭化水素を意味する。アルケニル基は、１、２、３、４またはそれ以上の二重結合を含み得る。例えば、C_{18}アルケニルは、１つ以上の二重結合を含んでもよい。２つの二重結合を含むC_{18}アルケニル基は、リノレイル基であり得る。アルケニル基は、必要に応じて置換されていてもよい。

【０４３１】

本明細書で使用されるとき、「炭素環」または「炭素環式基」という用語は、炭素原子の１つ以上の環を含む単環式または多環式系を意味する。環は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５員環であってもよい。

【０４３２】

表記「C_{3-6}炭素環」とは、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、１つ以上の二重結合を含んでもよく、そして芳香族（例えば、アリール基）であってもよい。炭素環の例としては、シクロプロピル、シクロペンチル、シクロヘキシル、フェニル、ナフチル、及び１，２ジヒドロナフチル基が挙げられる。炭素環は必要に応じて置換されてもよい。

【０４３３】

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、少なくとも１つの環が少なくとも１つのヘテロ原子を含む、１つ以上の環を含む単環式または多環式系を意味する。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もよい。環は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、または１２員環であってもよい。複素環は、１つ以上の二重結合を含んでもよく、そして芳香族（例えば、ヘテロアリール基）であってもよい。複素環の例としては、イミダゾリル、イミダゾリジニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、チアゾリル、チアゾリジニル、ピラゾリジニル、ピラゾリル、イソオキサゾリジニル、イソオキサゾリル、イソチアゾリジニル、イソチアゾリル、モルホリニル、ピロリル、ピロロリジニル、フリル、テトラヒドロフリル、チオフェニル

、ピリジニル、ピペリジニル、キノリル、及びイソキノリル基が挙げられる。複素環は必要に応じて置換されてもよい。

【０４３４】

本明細書中で使用される場合、「生分解性基」とは、対象における脂質のより速い代謝を促進し得る基である。生分解性基としては限定するものではないが、－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であり得る。

【０４３５】

本明細書で使用されるとき、「アリール基」とは、１つ以上の芳香環を含む炭素環式基である。アリール基の例としては、フェニル及びナフチル基が挙げられる。

【０４３６】

本明細書で使用される場合、「ヘテロアリール基」とは、１つ以上の芳香環を含む複素環基である。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必要に応じて置換されていてもよい。例えば、Ｍ及びＭ’は、必要に応じて置換されているフェニル、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。本明細書中の式において、Ｍ及びＭ’は、上記生分解性基のリストから独立して選択され得る。

【０４３７】

アルキル、アルケニル、及びシクリル（例えば、カルボシクリル及びヘテロシクリル）基は、特に明記しない限り、必要に応じて置換されていてもよい。任意の置換基は、限定するものではないが、ハロゲン原子（例えば、塩化物、臭化物、フッ化物、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または－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で表される）、ハロゲン化アシル（例えば、－Ｃ（Ｏ）Ｘ、式中、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）$_2$Ｒ”“、ここで各ＯＲは同一でも異なってもよいアルコキシ基であり、そしてＲ”“はアルキルまたはアルケニル基である）、ホスフェート（例えば、Ｐ（Ｏ）$_4^{3-}$）、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）$_2$ＯＨ）、チアール（例えば、－Ｃ（Ｓ）Ｈ）、硫酸塩（例えば、Ｓ（Ｏ）$_4^{2-}$）、スルホニル（例えば、Ｓ（Ｏ）$_2$－）、アミド（例えば、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ$_2$、または－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ）、アジド（例えば、－Ｎ$_3$）、ニトロ（例えば、－ＮＯ$_2$）、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、－ＮＲ$_2$、－ＮＲＨ、または－ＮＨ$_2$）、カルバモイル（例えば、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲ$_2$、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲＨ、または－ＯＣ（Ｏ）ＮＨ$_2$）、スルホンアミド（例えば、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ$_2$、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲＨ、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＨ$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｈ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｈ、または－Ｎ（Ｈ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｈ）、アルキル基、アルケニル基、及びシクリル（例えば、カルボシクリルまたはヘテロシクリル）基からなる群より選択され得る。

【０４３８】

上記のいずれにおいても、Ｒは、本明細書に定義のアルキル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、本明細書で定義の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、Ｃ$_{1-6}$アルキル基は、本明細書に記載の１、２、３、４、５、または６個の置換基でさらに置換されてもよい。

【０４３９】

式（Ｉ）、（ＩＡ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、（ＩＩｄ）、及び（ＩＩｅ）のうちいずれか１つの化合物は、該当する場合、以下の特徴の１つ以上を含む。

【０４４０】

いくつかの実施形態では、R_4は、C_{3-6}炭素環、－（CH_2）$_n$Ｑ、－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$からなる群より選択され、式中、Ｑは、C_{3-6}炭素環、Ｎ、Ｏ、Ｓ及びＰから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員の芳香族または非芳香族複素環、－ＯＲ、－Ｏ（CH_2）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－ＣＮ、－Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、及び－Ｃ（Ｒ）Ｎ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲから選択され、各ｎは独立して１、２、３、４及び５から選択される。

【０４４１】

別の実施形態では、R_4は、C_{3-6}炭素環、－（CH_2）$_n$Ｑ、－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$からなる群より選択され、ここでＱは、C_{3-6}炭素環、Ｎ、Ｏ及びＳから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員のヘテロアリール、－ＯＲ、－Ｏ（CH_2）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－ＣＮ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｒ）Ｎ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲ、ならびに、Ｎ、Ｏ及びＳから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員のヘテロシクロアルキル（オキソ（＝Ｏ）、ＯＨ、アミノ、及びC_{1-3}アルキルから選択される１つ以上の置換基で置換される）から選択され、各ｎは独立して１、２、３、４、及び５から選択される。

【０４４２】

別の実施形態では、R_4は、C_{3-6}炭素環、－（CH_2）$_n$Ｑ、－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$からなる群より選択され、ここでＱは、C_{3-6}炭素環、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員の複素環、－ＯＲ、－Ｏ（CH_2）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－ＣＮ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｒ）Ｎ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲから選択され、各ｎは独立して１、２、３、４、及び５から選択され；Ｑが５～１４員の複素環であり、かつ（ｉ）R_4が－（CH_2）$_n$Ｑであり、ｎは１もしくは２であるか、または（ｉｉ）R_4が－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲであり、ｎが１であるか、または（ｉｉｉ）R_4が－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$であるならば、Ｑは５～１４員のヘテロアリールまたは８～１４員のヘテロシクロアルキルのいずれかである。

【０４４３】

別の実施形態では、R_4は、C_{3-6}炭素環、－（CH_2）$_n$Ｑ、－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$からなる群より選択され、ここでＱは、C_{3-6}炭素環、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員のヘテロアリール、－ＯＲ、－Ｏ（CH_2）$_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－CX_3、－CX_2H、－CXH_2、－ＣＮ、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｃ（Ｒ）Ｎ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲから選択され、及び各ｎは独立して１、２、３、４及び５から選択される。

【０４４４】

別の実施形態では、R_4は非置換C_{1-4}アルキル、例えば、非置換メチルである。

【０４４５】

特定の実施形態では、本開示は、R_4が－（CH_2）$_n$Ｑまたは－（CH_2）$_n$ＣＨＱＲであり、Ｑが－Ｎ（Ｒ）$_2$であり、ｎが３、４、及び５から選択される式（Ｉ）を有す

る化合物を提供する。

【０４４６】

特定の実施形態では、本開示は、R_4が、－（ＣＨ２）$_n$Ｑ、－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲ、－ＣＨＱＲ、及び－ＣＱ（Ｒ）$_2$からなる群より選択され、ここでＱは－Ｎ（Ｒ）$_2$であり、ｎは１、２、３、４及び５から選択される、式（Ｉ）を有する化合物を提供する。

【０４４７】

特定の実施形態では、本開示は、R_2及びR_3が独立して、C_{2-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはR_2及びR_3が、それらが結合している原子と一緒になって複素環または炭素環を形成し、そしてR_4が－（ＣＨ$_2$）$_n$Ｑまたは－（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨＱＲであり、ここでＱが－Ｎ（Ｒ）$_2$であり、そしてｎは３、４及び５から選択される、式（Ｉ）を有する化合物を提供する。

【０４４８】

特定の実施形態では、R_2及びR_3が独立して、C_{2-14}アルキル、C_{2-14}アルケニル、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択されるか、またはR_2及びR_3が、それらが結合している原子と一緒になって複素環または炭素環を形成する。

【０４４９】

いくつかの実施形態では、R_1は、C_{5-20}アルキル及びC_{5-20}アルケニルからなる群より選択される。

【０４５０】

他の実施形態では、R_1は、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ”Ｍ’Ｒ’からなる群より選択される。

【０４５１】

特定の実施形態では、R_1は、－Ｒ＊ＹＲ”及び－ＹＲ”から選択される。いくつかの実施形態では、Ｙはシクロプロピル基である。いくつかの実施形態では、Ｒ＊は、C_8アルキルまたはC_8アルケニルである。特定の実施形態では、Ｒ”は、C_{3-12}アルキルである。例えば、Ｒ’’はC_3アルキルであってもよい。例えば、Ｒ”は、C_{4-8}アルキル（例えば、C_4、C_5、C_6、C_7、またはC_8アルキル）であってもよい。

【０４５２】

いくつかの実施形態では、R_1はC_{5-20}アルキルである。いくつかの実施形態では、R_1はC_6アルキルである。いくつかの実施形態では、R_1はC_8アルキルである。他の実施形態では、R_1はC_9アルキルである。特定の実施形態では、R_1は、C_{14}アルキルである。他の実施形態では、R_1はC_{18}アルキルである。

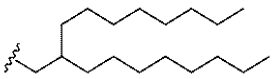
【０４５３】

いくつかの実施形態では、R_1はC_{5-20}アルケニルである。特定の実施形態では、R_1は、C_{18}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R_1はリノレイルである。

【０４５４】

特定の実施形態では、R_1は分岐されている（例えば、デカン－２－イル、ウンデカン－３－イル、ドデカン－４－イル、トリデカン－５－イル、テトラデカン－６－イル、２－メチルウンデカン－３－イル、２－メチルデカン－２－イル、３－メチルウンデカン－３－イル、４－メチルドデカン－４－イル、またはヘプタデカ－９－イル）。特定の実施形態では、R_1は、

【化９】



である。

【０４５５】

特定の実施形態では、R_1は、非置換C_{5-20}アルキルまたはC_{5-20}アルケニル

である。特定の実施形態では、Ｒ’は、置換Ｃ$_{5-20}$アルキルまたはＣ$_{5-20}$アルケニル（例えば、１－シクロプロピルノニルなどのＣ$_{3-6}$炭素環で置換されている）である。

【０４５６】

他の実施形態では、Ｒ$_1$は－Ｒ”Ｍ’Ｒ’である。

【０４５７】

いくつかの実施形態では、Ｒ’は、－Ｒ＊ＹＲ”及び－ＹＲ”から選択される。いくつかの実施形態では、ＹはＣ$_{3-8}$シクロアルキルである。いくつかの実施形態では、ＹはＣ$_{6-10}$アリールである。いくつかの実施形態では、Ｙはシクロプロピル基である。いくつかの実施形態では、Ｙはシクロヘキシル基である。特定の実施形態では、Ｒ＊はＣ$_1$アルキルである。

【０４５８】

いくつかの実施形態では、Ｒ’’は、Ｃ$_{3-12}$アルキル及びＣ$_{3-12}$アルケニルからなる群より選択される。いくつかの実施形態では、Ｙに隣接するＲ”は、Ｃ$_1$アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｙに隣接するＲ”は、Ｃ$_{4-9}$アルキル（例えば、Ｃ$_4$、Ｃ$_5$、Ｃ$_6$、Ｃ$_7$またはＣ$_8$またはＣ$_9$アルキル）である。

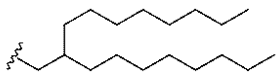
【０４５９】

いくつかの実施形態では、Ｒ’は、Ｃ$_4$アルキル及びＣ$_4$アルケニルから選択される。特定の実施形態では、Ｒ’は、Ｃ$_5$アルキル及びＣ$_5$アルケニルから選択される。いくつかの実施形態では、Ｒ’は、Ｃ$_6$アルキル及びＣ$_6$アルケニルから選択される。いくつかの実施形態では、Ｒ’は、Ｃ$_7$アルキル及びＣ$_7$アルケニルから選択される。いくつかの実施形態では、Ｒ’は、Ｃ$_9$アルキル及びＣ$_9$アルケニルから選択される。

【０４６０】

他の実施形態では、Ｒ’はＣ$_{11}$アルキル及びＣ$_{11}$アルケニルから選択される。他の実施形態では、Ｒ’はＣ$_{12}$アルキル、Ｃ$_{12}$アルケニル、Ｃ$_{13}$アルキル、Ｃ$_{13}$アルケニル、Ｃ$_{14}$アルキル、Ｃ$_{14}$アルケニル、Ｃ$_{15}$アルキル、Ｃ$_{15}$アルケニル、Ｃ$_{16}$アルキル、Ｃ$_{16}$アルケニル、Ｃ$_{17}$アルキル、Ｃ$_{17}$アルケニル、Ｃ$_{18}$アルキル、及びＣ$_{18}$アルケニルから選択される。特定の実施形態では、Ｒ’は分岐されている（例えば、デカン－２－イル、ウンデカン－３－イル、ドデカン－４－イル、トリデカン－５－イル、テトラデカン－６－イル、２－メチルウンデカン－３－イル、２－メチルデカン－２－イル、３－メチルウンデカン－３－イル、４－メチルドデカン－４－イルまたはヘプタデカ－９－イル）。特定の実施形態では、Ｒ’は、

【化１０】



である。

【０４６１】

特定の実施形態では、Ｒ’は、非置換Ｃ$_{1-18}$アルキルである。特定の実施形態では、Ｒ’は、置換Ｃ$_{1-18}$アルキル（例えば、１－シクロプロピルノニルなどのＣ$_{3-6}$炭素環で置換されているＣ$_{1-15}$アルキル）である。

【０４６２】

いくつかの実施形態では、Ｒ’’は、Ｃ$_{3-14}$アルキル及びＣ$_{3-14}$アルケニルからなる群より選択される。いくつかの実施形態では、Ｒ’’は、Ｃ$_3$アルキル、Ｃ$_4$アルキル、Ｃ$_5$アルキル、Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_7$アルキル、またはＣ$_8$アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ’’は、Ｃ$_9$アルキル、Ｃ$_{10}$アルキル、Ｃ$_{11}$アルキル、Ｃ$_{12}$アルキル、Ｃ$_{13}$アルキル、またはＣ$_{14}$アルキルである。

【０４６３】

いくつかの実施形態では、Ｍ’は－Ｃ（Ｏ）Ｏ－である。いくつかの実施形態では、Ｍ’は－ＯＣ（Ｏ）－である。

【０４６４】
他の実施形態では、Ｍ’はアリール基またはヘテロアリール基である。例えば、Ｍ’は、フェニル、オキサゾール、及びチアゾールからなる群より選択され得る。
【０４６５】
いくつかの実施形態では、Ｍは、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－である。いくつかの実施形態では、Ｍは、－ＯＣ（Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、Ｍは、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）－である。いくつかの実施形態では、Ｍは－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ’）Ｏ－である。
【０４６６】
他の実施形態では、Ｍは、アリール基またはヘテロアリール基である。例えば、Ｍは、フェニル、オキサゾール、及びチアゾールからなる群より選択され得る。
【０４６７】
いくつかの実施形態では、Ｍは、Ｍ’と同じである。他の実施形態では、Ｍは、Ｍ’とは異なる。
【０４６８】
いくつかの実施形態では、各R_5はＨである。このような特定の実施形態では、各R_6もＨである。
【０４６９】
いくつかの実施形態では、R_7はＨである。他の実施形態では、R_7はC_{1-3}アルキル（例えば、メチル、エチル、プロピル、またはｉ－プロピル）である。
【０４７０】
いくつかの実施形態では、R_2及びR_3は独立して、C_{5-14}アルキルまたはC_{5-14}アルケニルである。
【０４７１】
いくつかの実施形態では、R_2及びR_3は同じである。いくつかの実施形態では、R_2及びR_3はC_8アルキルである。特定の実施形態では、R_2及びR_3はC_2アルキルである。他の実施形態では、R_2及びR_3はC_3アルキルである。いくつかの実施形態では、R_2及びR_3はC_4アルキルである。特定の実施形態では、R_2及びR_3は、C_5アルキルである。他の実施形態では、R_2及びR_3はC_6アルキルである。いくつかの実施形態では、R_2及びR_3はC_7アルキルである。
【０４７２】
他の実施形態では、R_2及びR_3は異なる。特定の実施形態では、R_2は、C_8アルキルである。いくつかの実施形態では、R_3は、C_{1-7}（例えば、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、またはC_7アルキル）またはC_9アルキルである。
【０４７３】
いくつかの実施形態では、R_7及びR_3はＨである。
【０４７４】
特定の実施形態では、R_2はＨである。
【０４７５】
いくつかの実施形態では、ｍは５、７、または９である。
【０４７６】
いくつかの実施形態では、R_4は－$(CH_2)_n$Ｑ及び－$(CH_2)_n$ＣＨＱＲから選択される。
【０４７７】
いくつかの実施形態では、Ｑは、－ＯＲ、－ＯＨ、－Ｏ$(CH_2)_n$Ｎ（Ｒ）$_2$、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ、－ＣＸ$_3$、－ＣＮ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｈ）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｈ）（Ｒ）、－Ｎ（Ｒ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｒ）$_2$、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｓ）Ｎ（Ｈ）（Ｒ）、－Ｃ（Ｒ）Ｎ（Ｒ）$_2$Ｃ（Ｏ）ＯＲ、炭素環、及び複素環からなる群より選択される。
【０４７８】

特定の実施形態では、Ｑは、－ＯＨである。

【０４７９】

特定の実施形態では、Ｑは、置換または非置換の５～１０員ヘテロアリールであり、例えば、Ｑは、イミダゾール、ピリミジン、プリン、２－アミノ－１，９－ジヒドロ－６Ｈ－プリン－６－オン－９－イル（またはグアニン－９－イル）、アデニン－９－イル、シトシン－１－イル、またはウラシル－１－イルである。特定の実施形態では、Ｑは、例えば、オキソ（＝Ｏ）、ＯＨ、アミノ、及び$Ｃ_{1-3}$アルキルから選択される１つ以上の置換基で置換されている、置換５～１４員ヘテロシクロアルキルである。例えば、Ｑは、４－メチルピペラジニル、４－（４－メトキシベンジル）ピペラジニル、またはイソインドリン－２－イル－１，３－ジオンである。

【０４８０】

特定の実施形態では、Ｑは、非置換もしくは置換$Ｃ_{6-10}$アリール（例えば、フェニル）または$Ｃ_{3-6}$シクロアルキルである。

【０４８１】

いくつかの実施形態では、ｎは１である。他の実施形態では、ｎは２である。さらなる実施形態では、ｎは３である。特定の実施形態では、ｎは４である。例えば、$Ｒ_4$は、－$（ＣＨ_2）_2$ＯＨであり得る。例えば、$Ｒ_4$は－$（ＣＨ_2）_3$ＯＨであり得る。例えば、$Ｒ_4$は－$（ＣＨ_2）_4$ＯＨであり得る。例えば、$Ｒ_4$はベンジルであり得る。例えば、$Ｒ_4$は４－メトキシベンジルであり得る。

【０４８２】

いくつかの実施形態では、$Ｒ_4$は$Ｃ_{3-6}$炭素環である。いくつかの実施形態では、$Ｒ_4$は$Ｃ_{3-6}$シクロアルキルである。例えば、$Ｒ_4$は、例えば、ＯＨ、ハロ、$Ｃ_{1-6}$アルキルなどで必要に応じて置換されているシクロヘキシルであり得る。例えば、$Ｒ_4$は、２－ヒドロキシシクロヘキシルであり得る。

【０４８３】

いくつかの実施形態では、ＲはＨである。

【０４８４】

いくつかの実施形態では、Ｒは、非置換$Ｃ_{1-3}$アルキルまたは非置換$Ｃ_{2-3}$アルケニルである。例えば、$Ｒ_4$は、－$ＣＨ_2ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ_3$または－$ＣＨ_2ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ_2ＣＨ_3$であり得る。

【０４８５】

いくつかの実施形態では、Ｒは置換$Ｃ_{1-3}$アルキル、例えば、$ＣＨ_2$ＯＨである。例えば、$Ｒ_4$は、－$ＣＨ_2ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ_2$ＯＨであってもよい。

【０４８６】

いくつかの実施形態では、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$は、それらが結合している原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成する。いくつかの実施形態では、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$は、それらが結合している原子と一緒になって、Ｎ、Ｏ、Ｓ及びＰから選択される１つ以上のヘテロ原子を有する５～１４員の芳香族または非芳香族複素環を形成する。いくつかの実施形態では、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$は、それらが結合している原子と一緒になって、芳香族または非芳香族のいずれかで、必要に応じて置換されている$Ｃ_{3-20}$炭素環（例えば、$Ｃ_{3-18}$炭素環、$Ｃ_{3-15}$炭素環、$Ｃ_{3-12}$炭素環または$Ｃ_{3-10}$炭素環）を形成する。いくつかの実施形態では、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$は、それらが結合している原子と一緒になって、$Ｃ_{3-6}$炭素環を形成する。他の実施形態では、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$は、それらが結合している原子と一緒になって、シクロヘキシルまたはフェニル基などの$Ｃ_6$炭素環を形成する。特定の実施形態では、複素環または$Ｃ_{3-6}$炭素環は、１つ以上のアルキル基で（例えば、同じ環原子または隣接もしくは非隣接環原子で）置換されている。例えば、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$は、それらが結合している原子と一緒になって、１つ以上の$Ｃ_5$アルキル置換を保有するシクロヘキシルまたはフェニル基を形成し得る。特定の実施形態では、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$によって形成される複素環または$Ｃ_{3-6}$炭素環は、炭素環基で置換されている。例えば、$Ｒ_2$及び$Ｒ_3$は、それらが結合している原子と一緒になって、シクロヘキシルまたはフェニル基を

形成し得、これはシクロヘキシルで置換されている。いくつかの実施形態では、R_2及びR_3は、それらが結合している原子と一緒になって、シクロヘプチル、シクロペンタデカニル、またはナフチル基などのC_{7-15}炭素環を形成する。

【０４８７】

いくつかの実施形態では、R_4は－（CH_2）$_n$Q及び－（CH_2）$_n$CHQRから選択される。いくつかの実施形態では、Qは、－OR、－OH、－O（CH_2）$_n$N（R）$_2$、－OC（O）R、－CX_3、－CN、－N（R）C（O）R、－N（H）C（O）R、－N（R）S（O）$_2$R、－N（H）S（O）$_2$R、－N（R）C（O）N（R）$_2$、－N（H）C（O）N（R）$_2$、－N（H）C（O）N（H）（R）、－N（R）C（S）N（R）$_2$、－N（H）C（S）N（R）$_2$、－N（H）C（S）N（H）（R）、及び複素環からなる群より選択される。他の実施形態では、Qは、イミダゾール、ピリミジン、及びプリンからなる群より選択される。

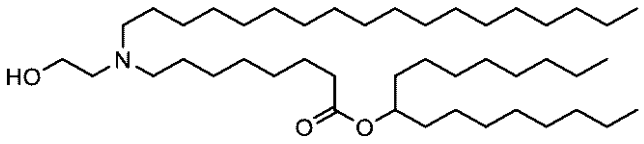
【０４８８】

いくつかの実施形態では、R_2及びR_3は、それらが結合している原子と一緒になって、複素環または炭素環を形成する。いくつかの実施形態では、R_2及びR_3は、それらが結合している原子と一緒になって、フェニル基などのC_{3-6}炭素環を形成する。特定の実施形態では、複素環またはC_{3-6}炭素環は、１つ以上のアルキル基で（例えば、同じ環原子または隣接もしくは非隣接環原子で）置換されている。例えば、R_2及びR_3は、それらが結合している原子と一緒になって、１つ以上のC_5アルキル置換を保有するフェニル基を形成し得る。

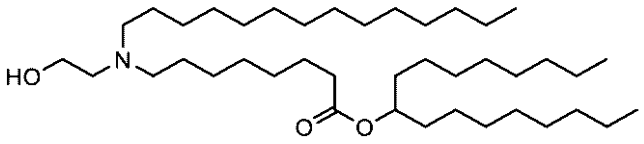
【０４８９】

いくつかの実施形態では、本開示の薬学的組成物、式（Ｉ）の化合物は、以下からなる群より選択される：

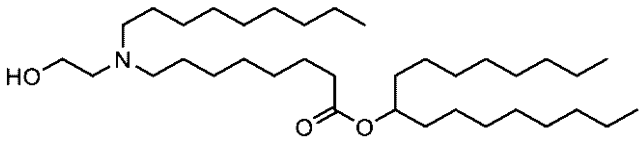
【化１１】



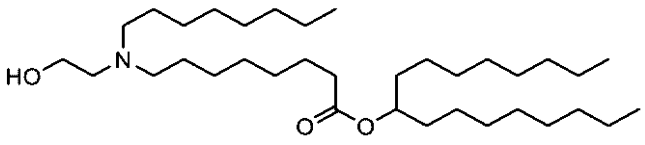
（化合物１）、



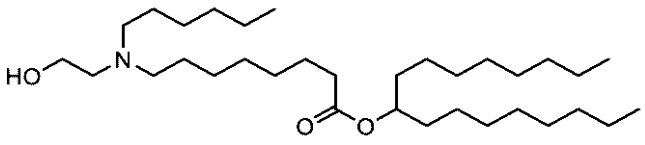
（化合物２）、



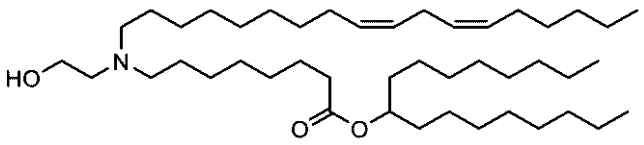
（化合物３）、



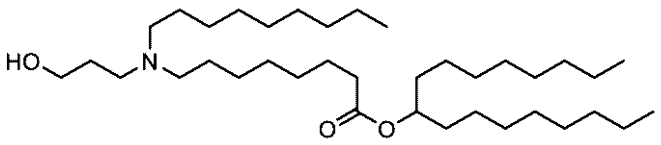
（化合物４）、



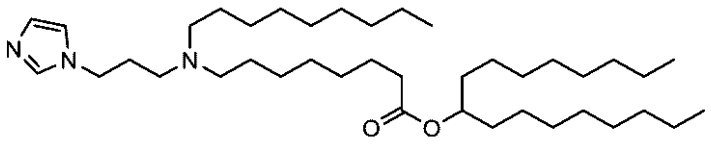
（化合物５）、



（化合物６）、

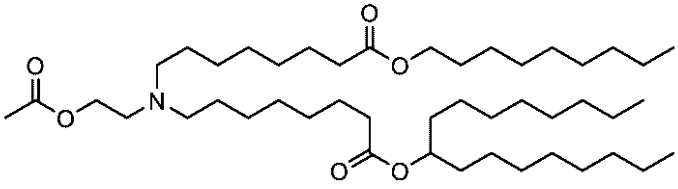


（化合物７）、

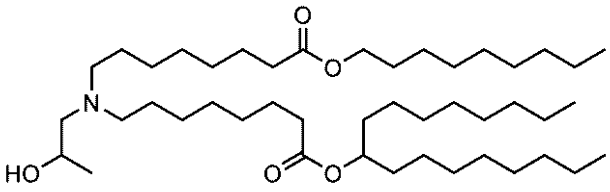


（化合物８）、

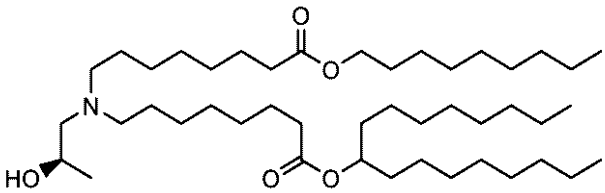
【化１２】



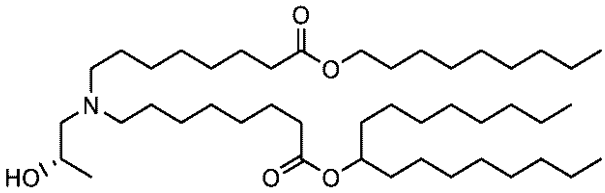
（化合物９）、



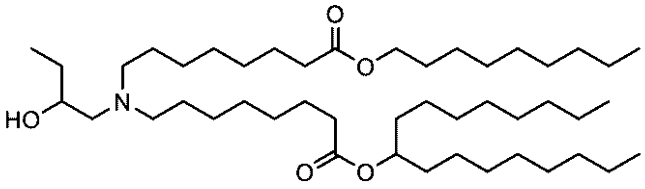
（化合物１０）、



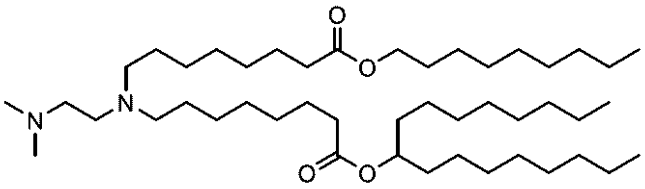
（化合物１１）、



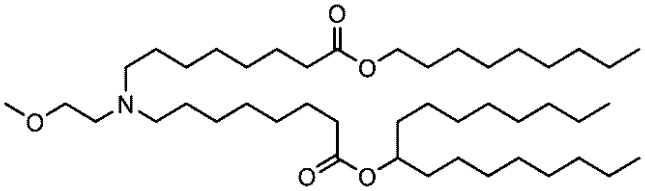
（化合物１２）、



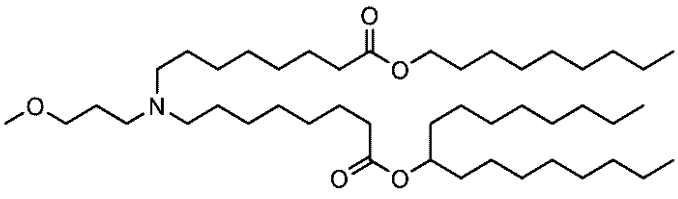
（化合物１３）、



（化合物１４）、

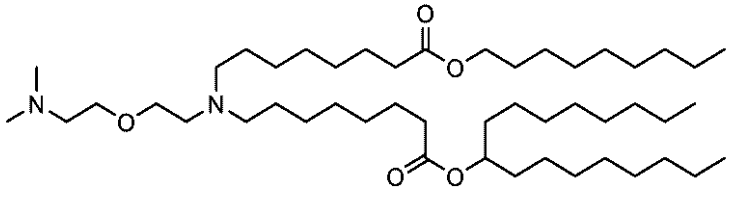


（化合物１５）、

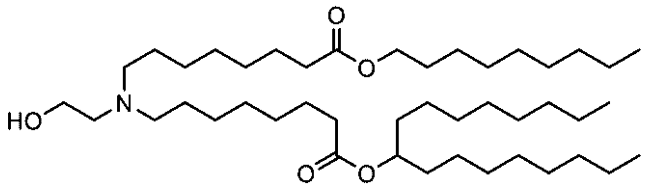


（化合物１６）、

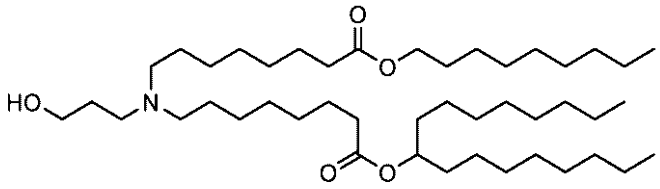
【化１３】



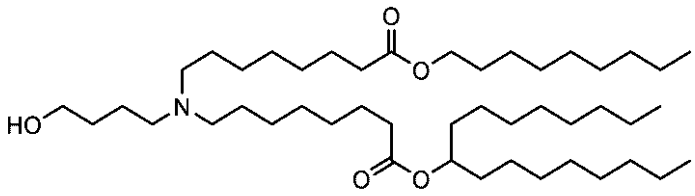
（化合物１７）、



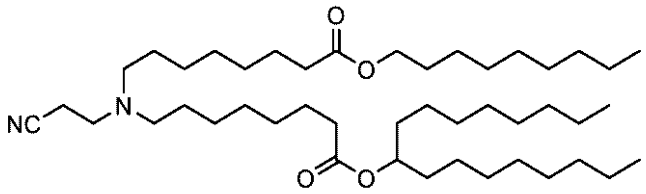
（化合物１８）、



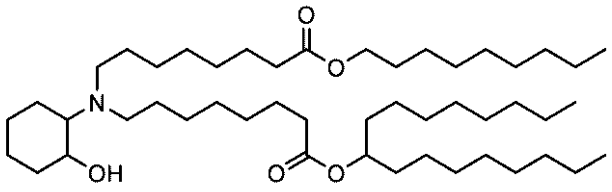
（化合物１９）、



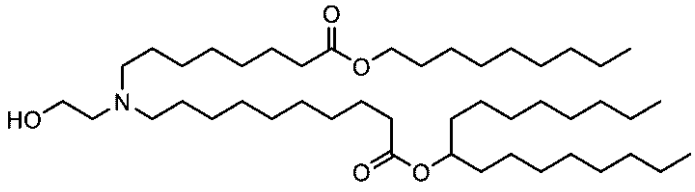
（化合物２０）、



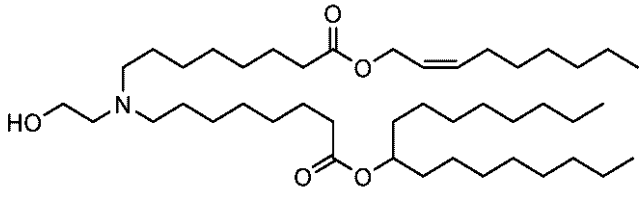
（化合物２１）、



（化合物２２）、

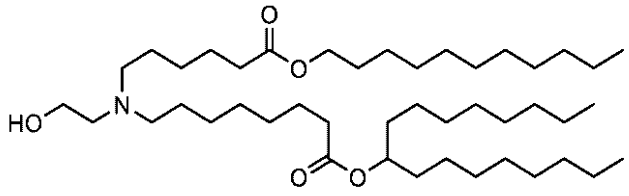


（化合物２３）、

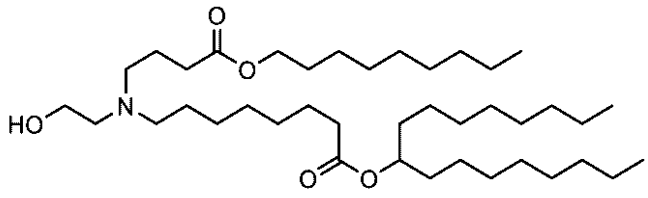


（化合物２４）、

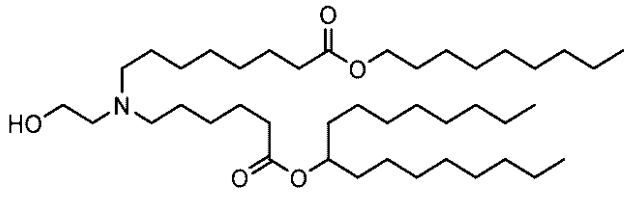
【化１４】



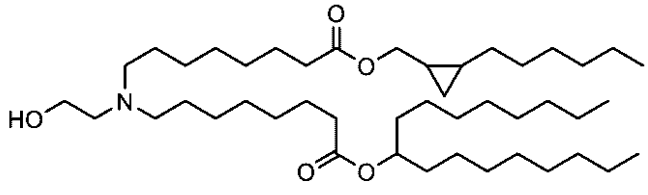
（化合物２５）、



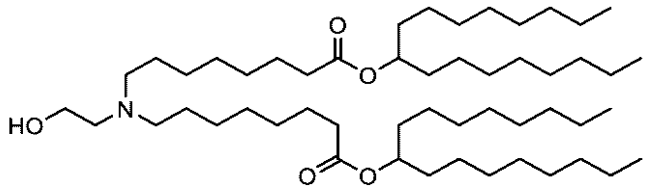
（化合物２６）、



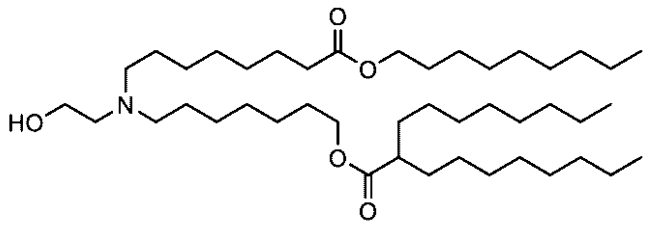
（化合物２７）、



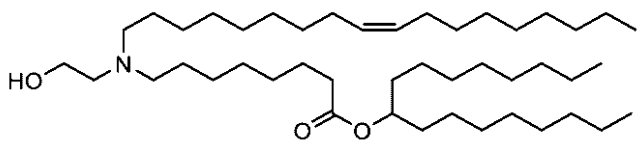
（化合物２８）、



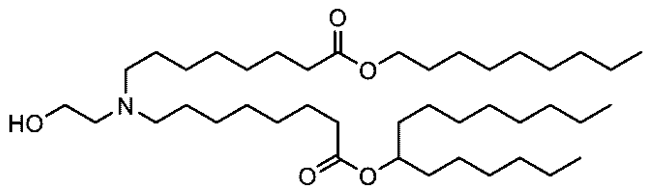
（化合物２９）、



（化合物３０）、

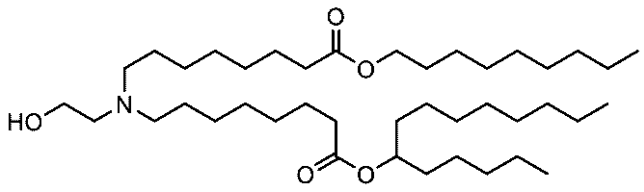


（化合物３１）、

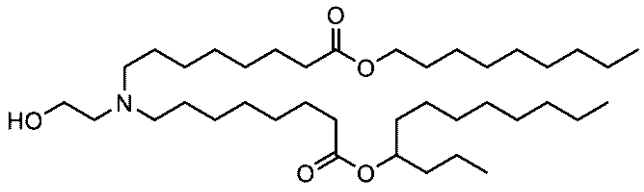


（化合物３２）、

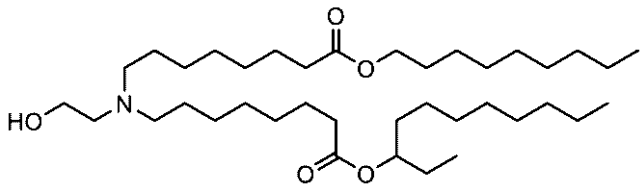
【化１５】



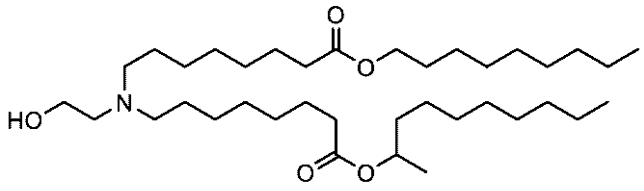
（化合物３３）、



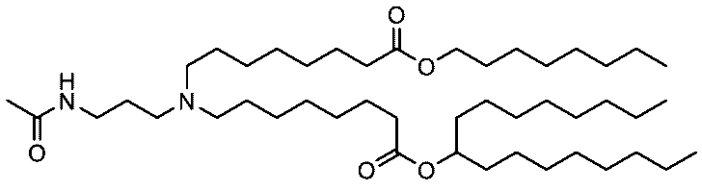
（化合物３４）、



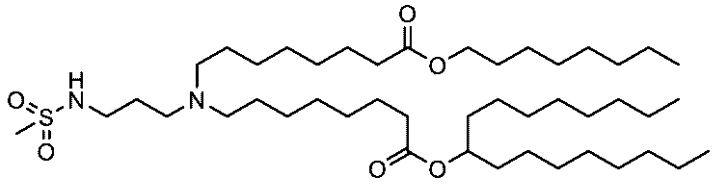
（化合物３５）、



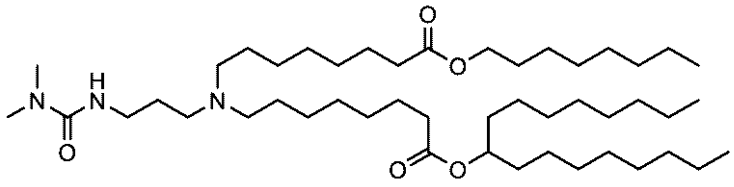
（化合物３６）、



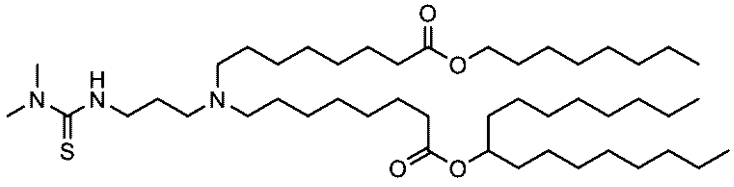
（化合物３７）、



（化合物３８）、

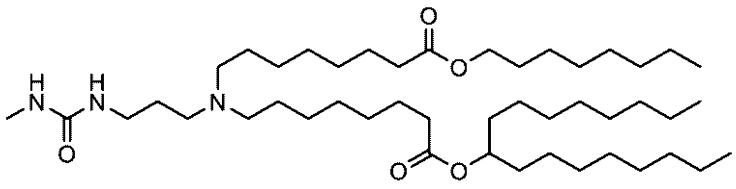


（化合物３９）、

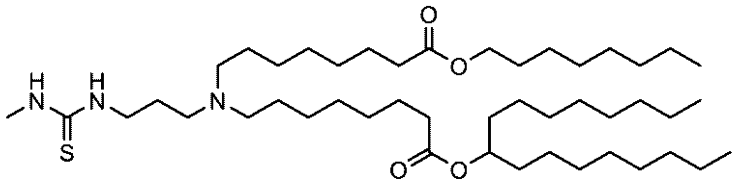


（化合物４０）、

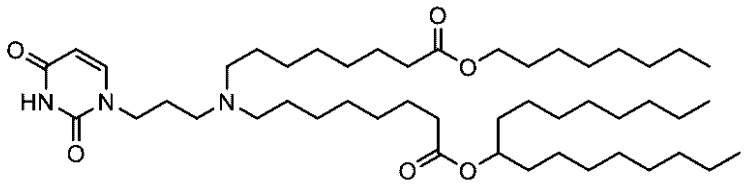
【化１６】



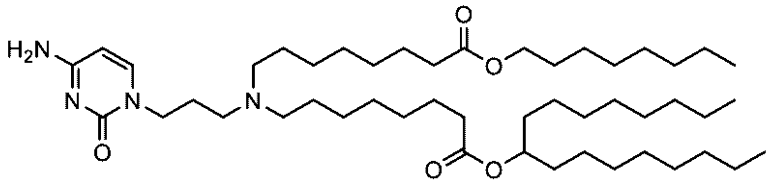
（化合物４１）、



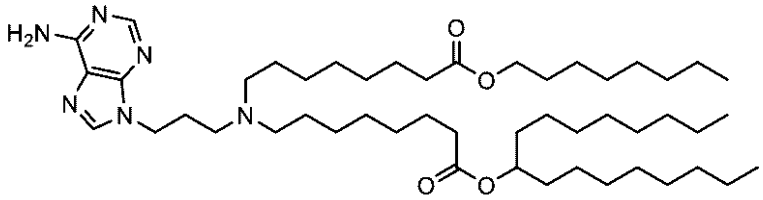
（化合物４２）、



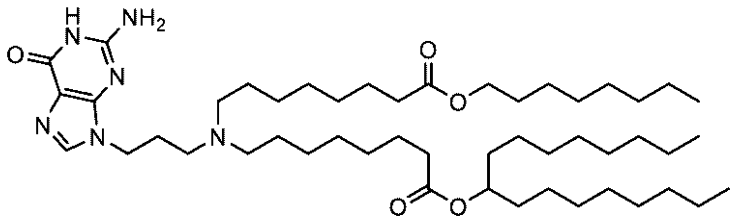
（化合物４３）、



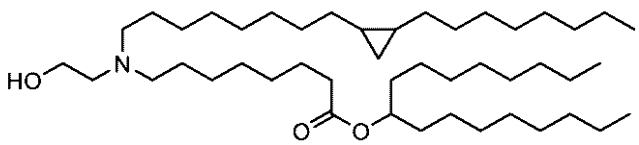
（化合物４４）、



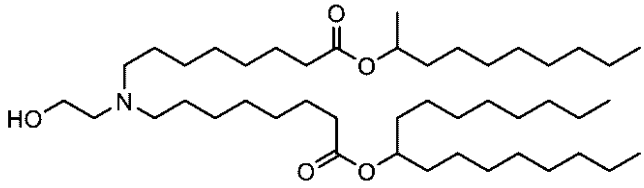
（化合物４５）、



（化合物４６）、

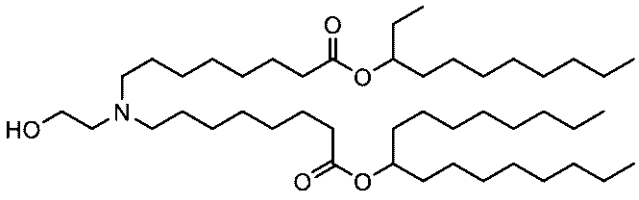


（化合物４７）、

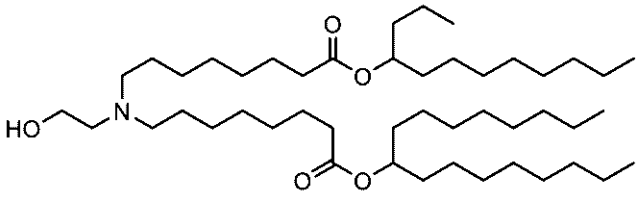


（化合物４８）、

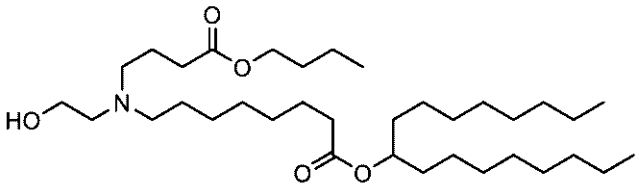
【化１７】



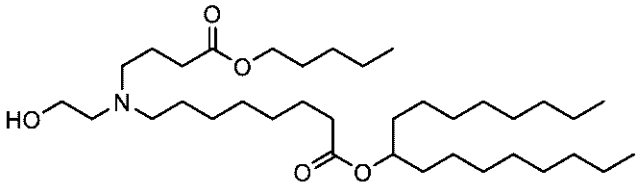
（化合物４９）、



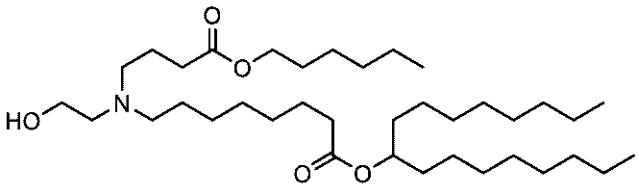
（化合物５０）、



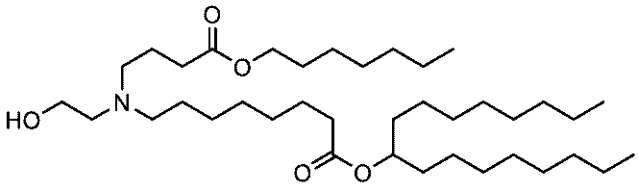
（化合物５１）、



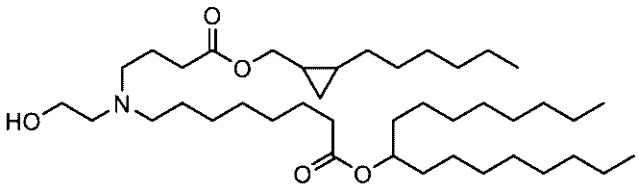
（化合物５２）、



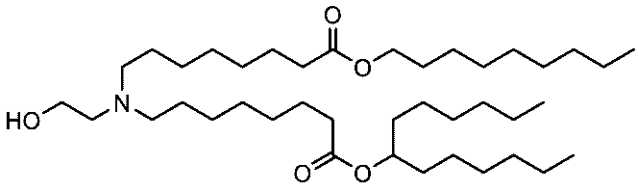
（化合物５３）、



（化合物５４）、

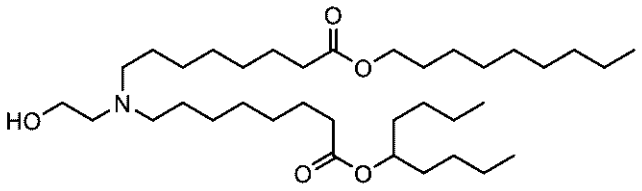


（化合物５５）、

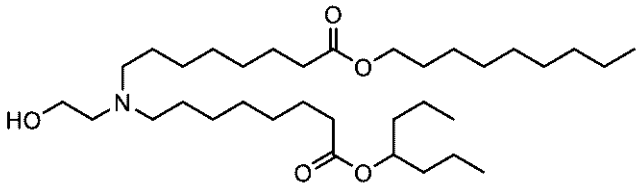


（化合物５６）、

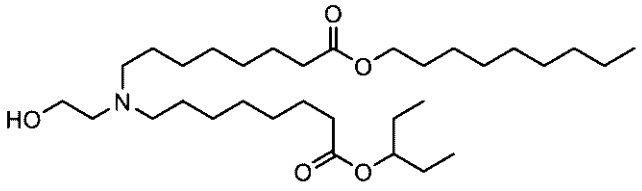
【化１８】



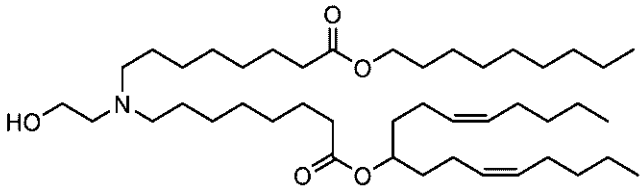
（化合物５７）、



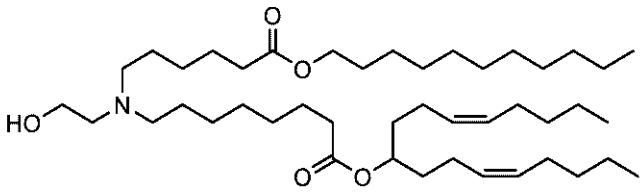
（化合物５８）、



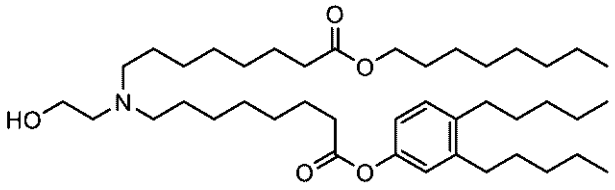
（化合物５９）、



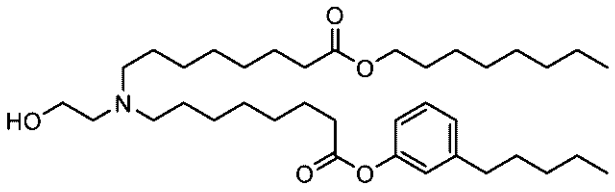
（化合物６０）、



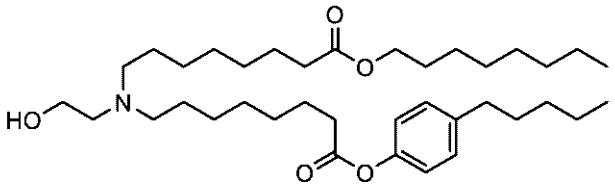
（化合物６１）、



（化合物６２）、

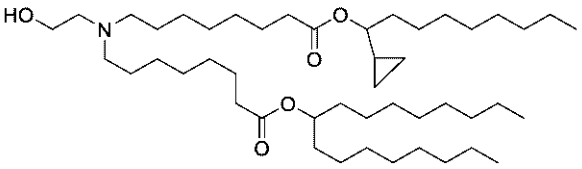


（化合物６３）、

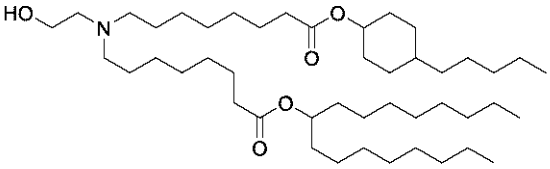


（化合物６４）、

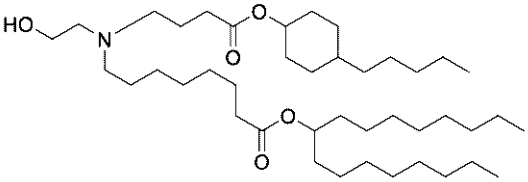
【化１９】



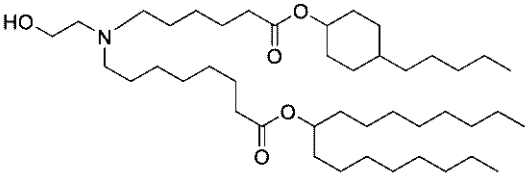
（化合物６５）、



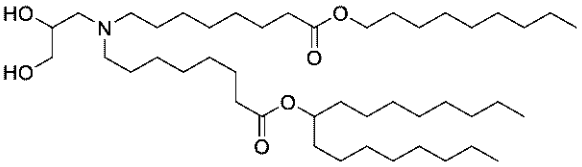
（化合物６６）、



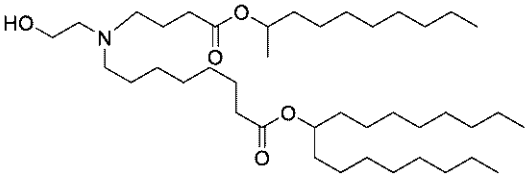
（化合物６７）、



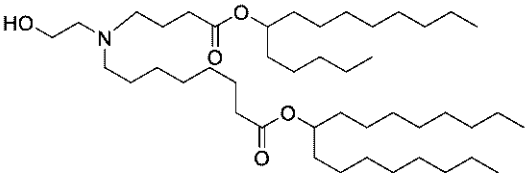
（化合物６８）、



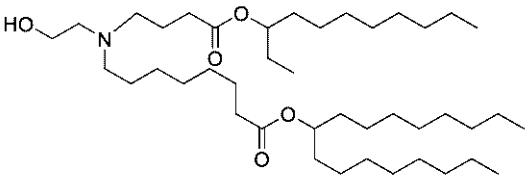
（化合物６９）、



（化合物７０）、

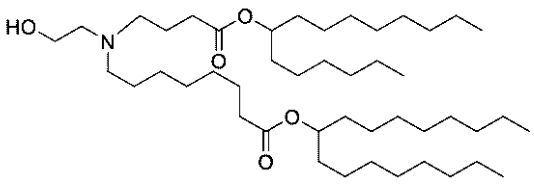


（化合物７１）、

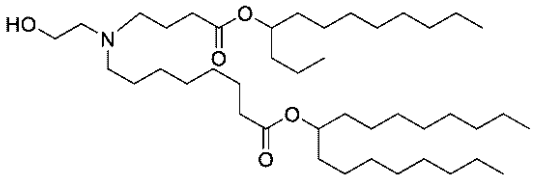


（化合物７２）、

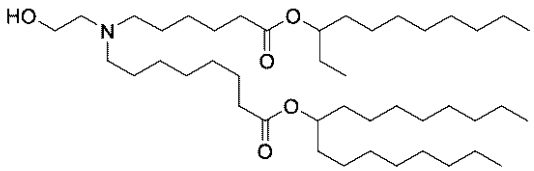
【化２０】



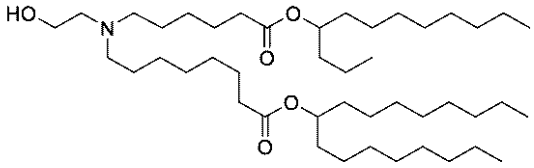
（化合物７３）、



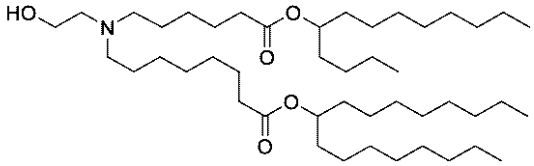
（化合物７４）、



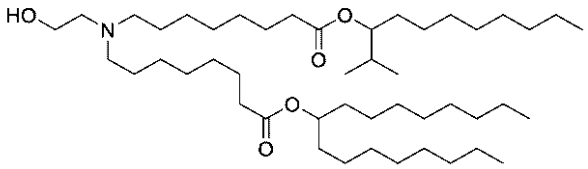
（化合物７５）、



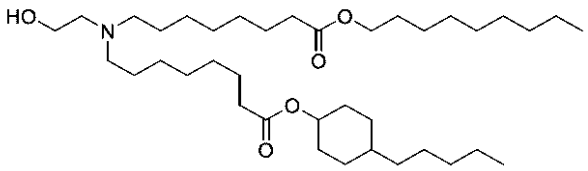
（化合物７６）、



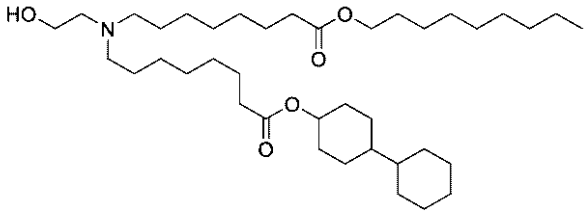
（化合物７７）、



（化合物７８）、

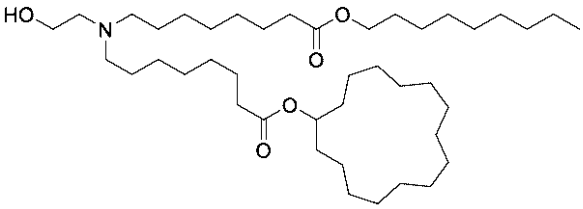


（化合物７９）、

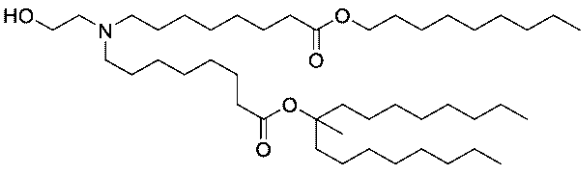


（化合物８０）、

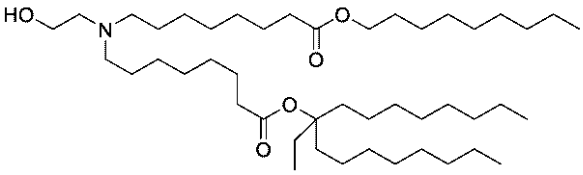
【化２１】



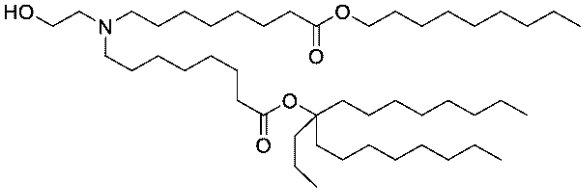
（化合物８１）、



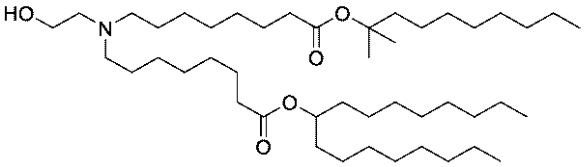
（化合物８２）、



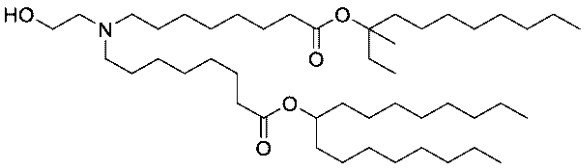
（化合物８３）、



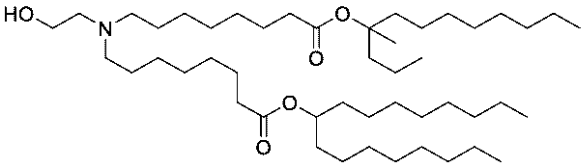
（化合物８４）、



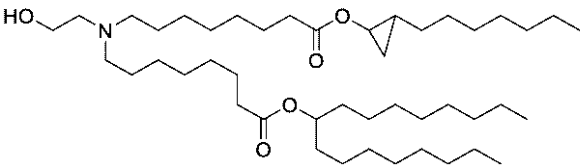
（化合物８５）、



（化合物８６）、

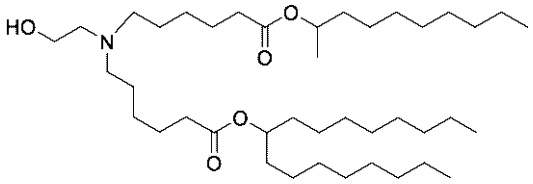


（化合物８７）、

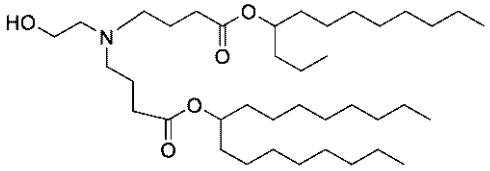


（化合物８８）、

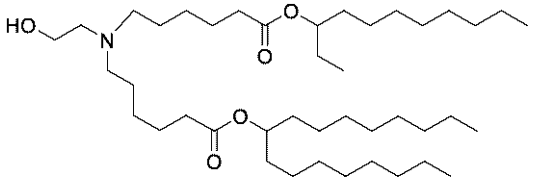
【化２２】



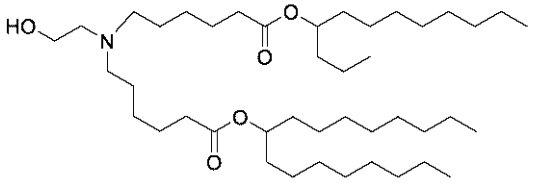
（化合物８９）、



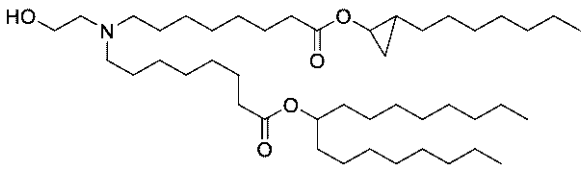
（化合物９０）、



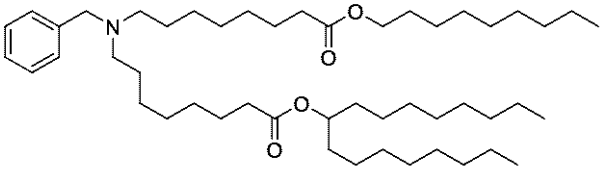
（化合物９１）、



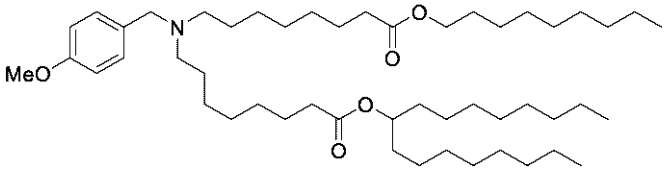
（化合物９２）、



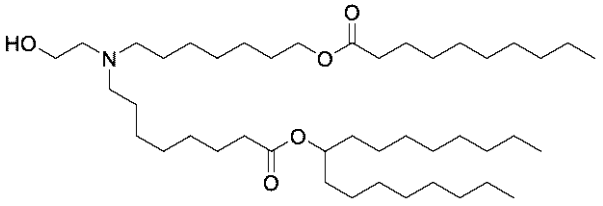
（化合物９３）、



（化合物９４）、

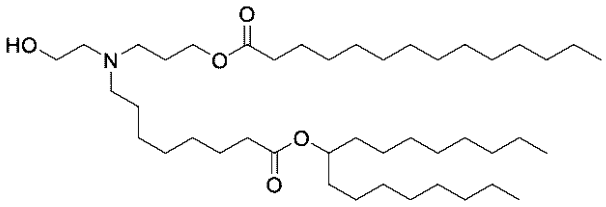


（化合物９５）、

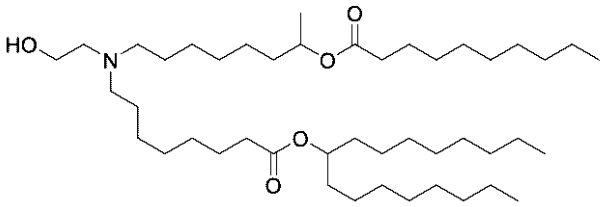


（化合物９６）、

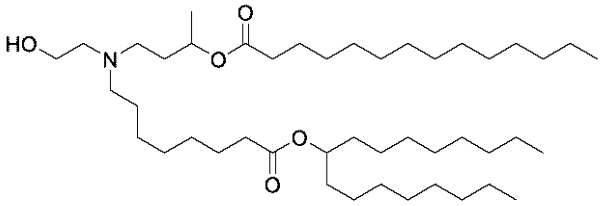
【化２３】



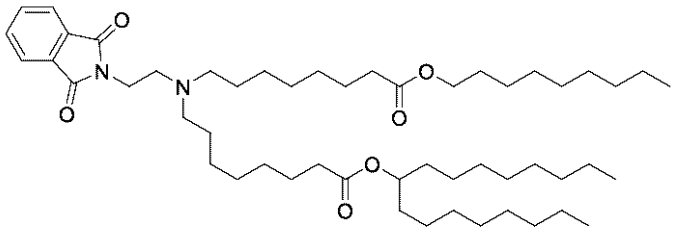
（化合物９７）、



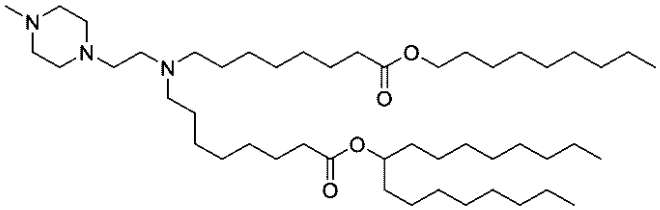
（化合物９８）、



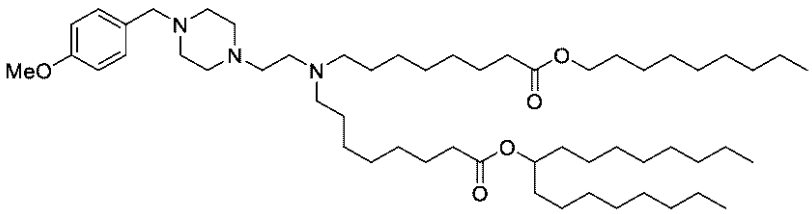
（化合物９９）、



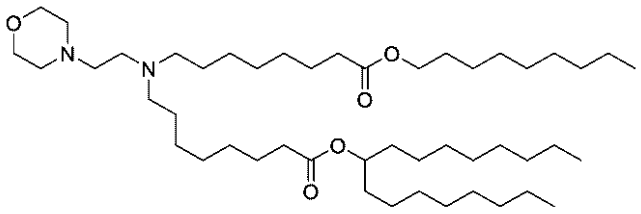
（化合物１００）、



（化合物１０１）、

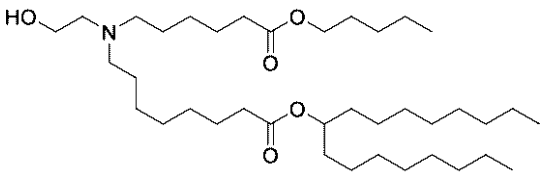


（化合物１０２）、

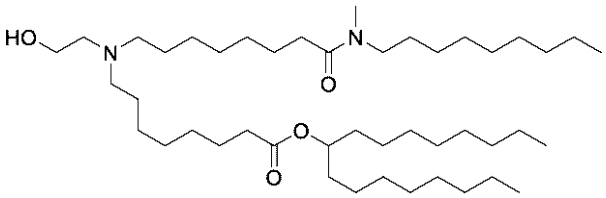


（化合物１０３）、

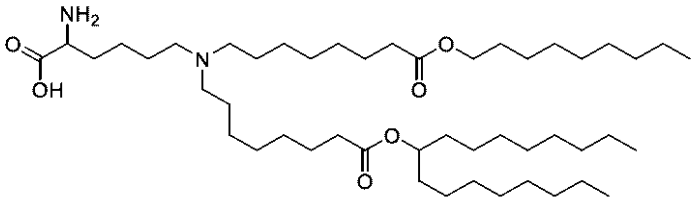
【化２４】



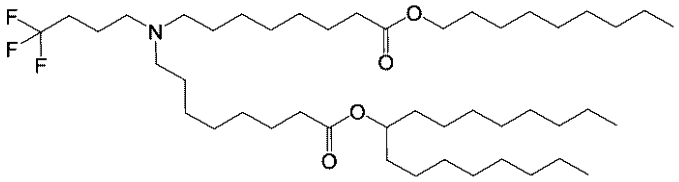
（化合物１０４）、



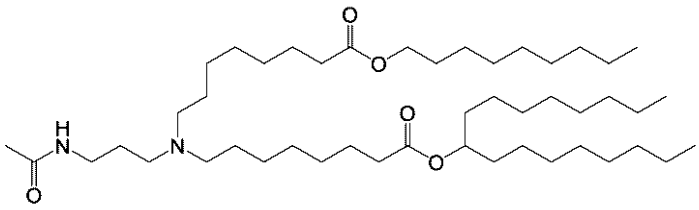
（化合物１０５）、



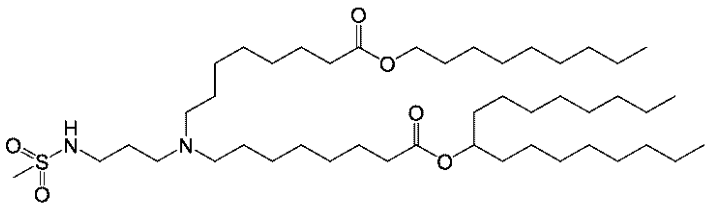
（化合物１０６）、



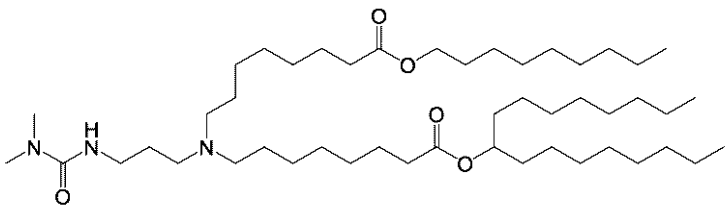
（化合物１０７）、



（化合物１０８）、

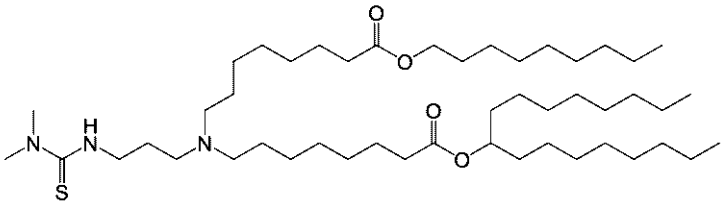


（化合物１０９）、

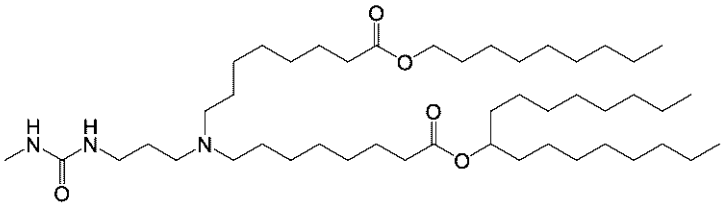


（化合物１１０）、

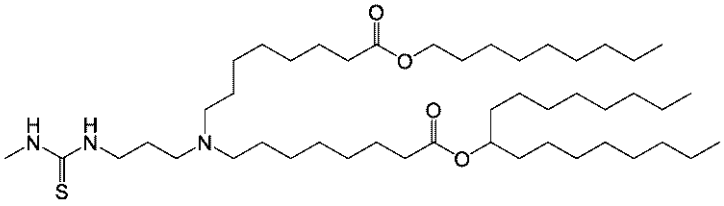
【化２５】



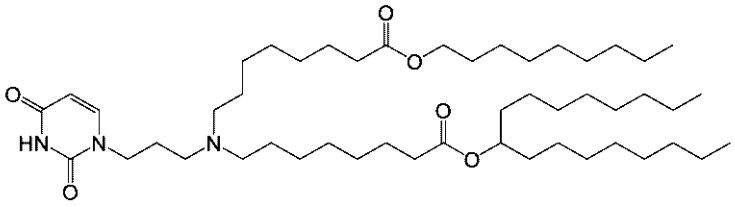
（化合物１１１）、



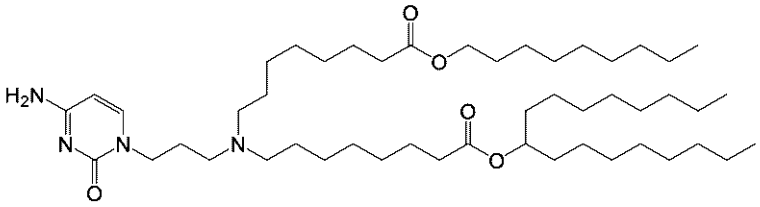
（化合物１１２）、



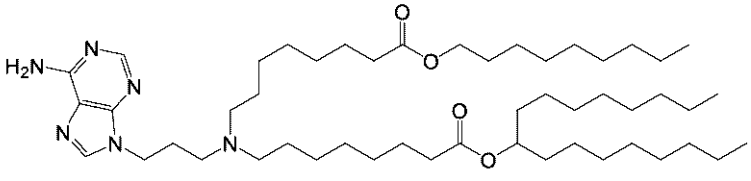
（化合物１１３）、



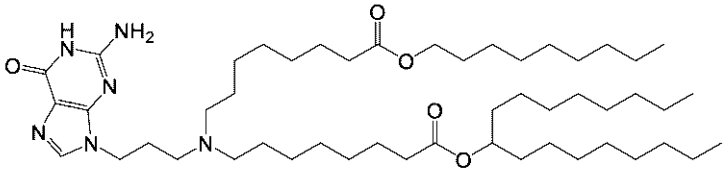
（化合物１１４）、



（化合物１１５）、

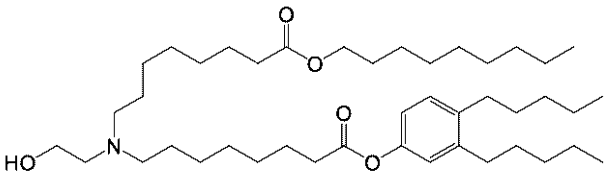


（化合物１１６）、

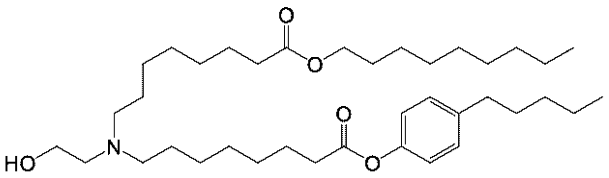


（化合物１１７）、

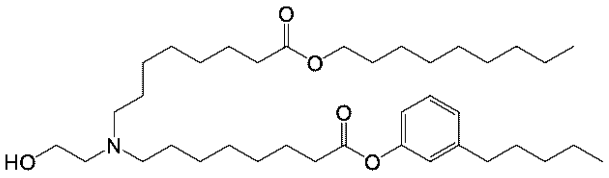
【化２６】



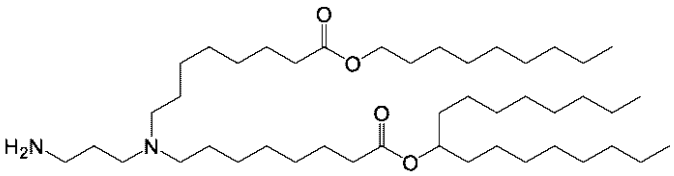
（化合物１１８）、



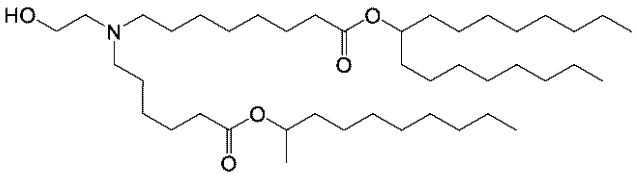
（化合物１１９）、



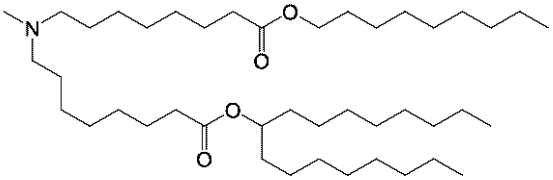
（化合物１２０）、



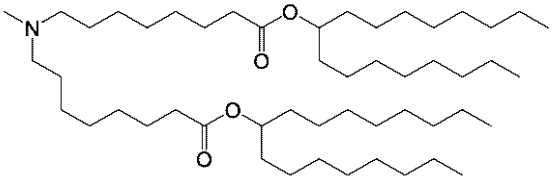
（化合物１２１）、



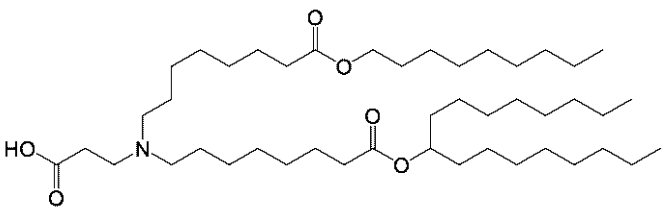
（化合物１２２）、



（化合物１２３）、

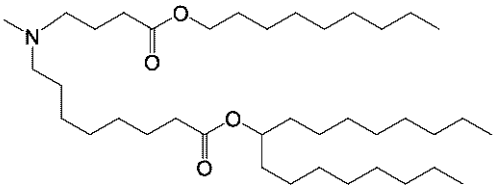


（化合物１２４）、

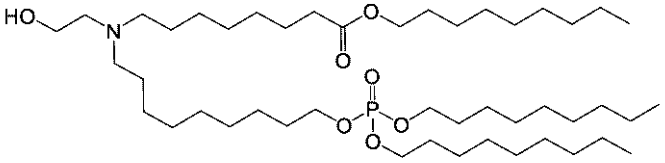


（化合物１２５）、

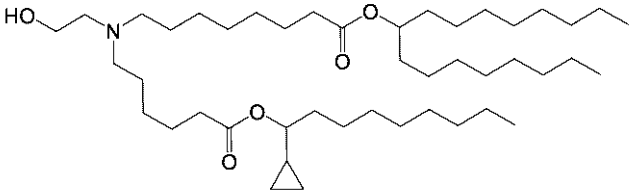
【化２７】



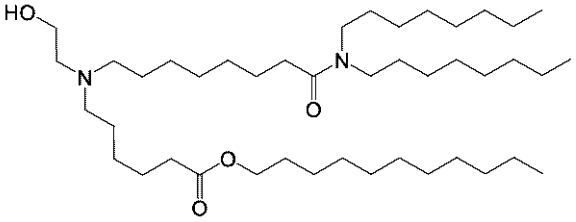
（化合物１２６）、



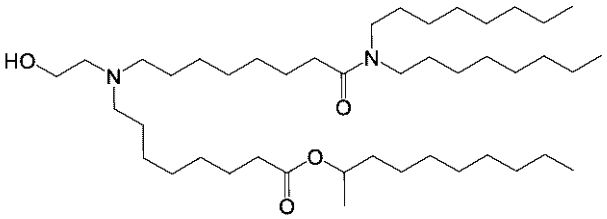
（化合物１２７）、



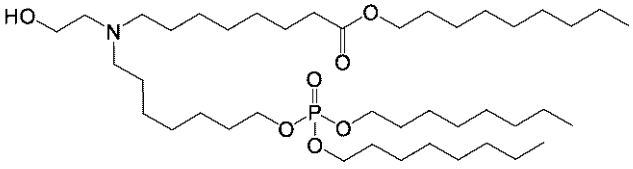
（化合物１２８）、



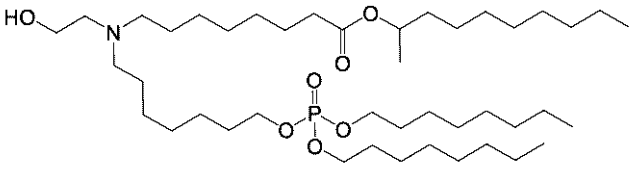
（化合物１２９）、



（化合物１３０）、

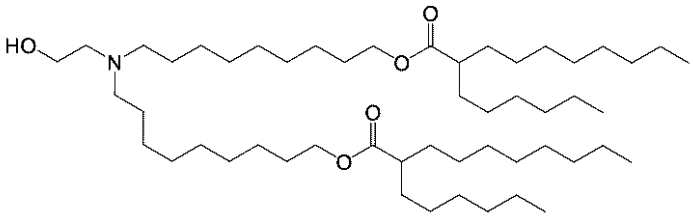


（化合物１３１）、

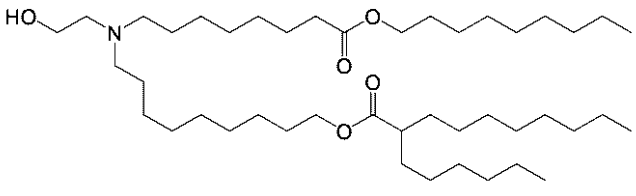


（化合物１３２）、

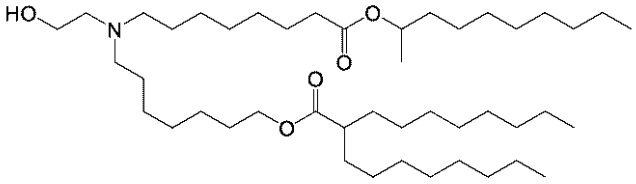
【化２８】



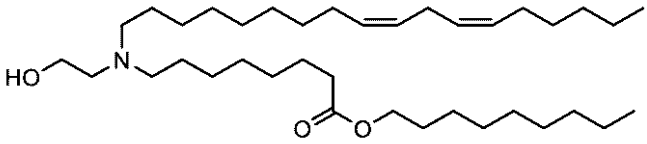
（化合物１３３）、



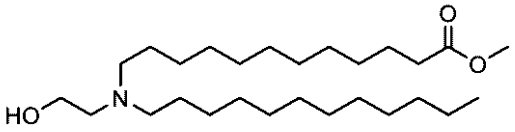
（化合物１３４）、



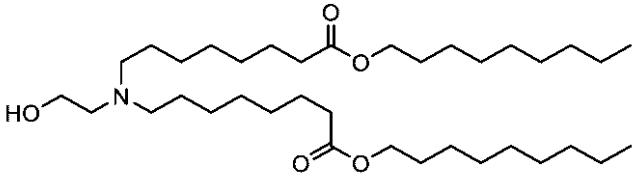
（化合物１３５）、



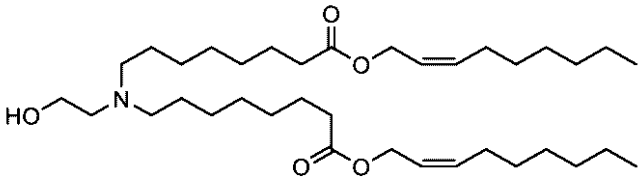
（化合物１３６）、



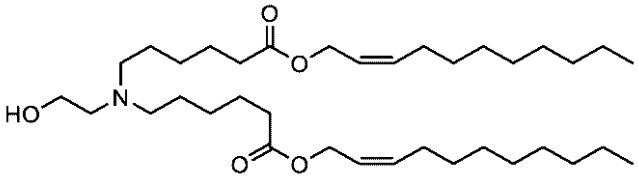
（化合物１３７）、



（化合物１３８）、

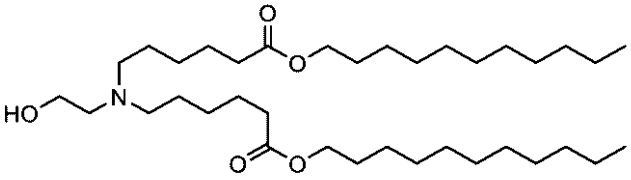


（化合物１３９）、

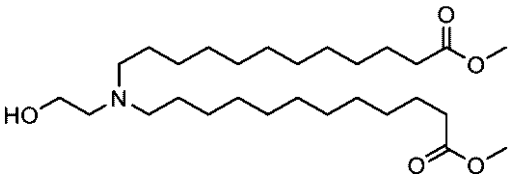


（化合物１４０）、

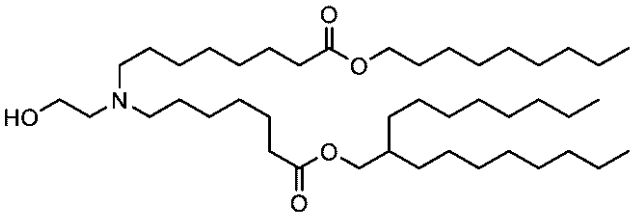
【化２９】



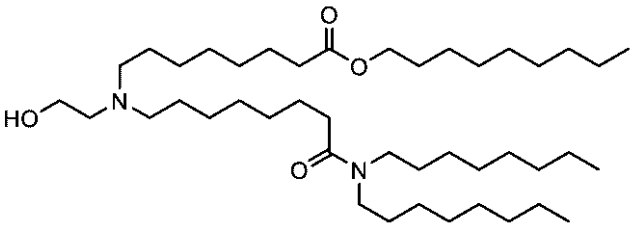
（化合物１４１）、



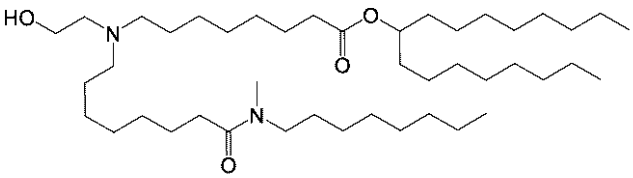
（化合物１４２）、



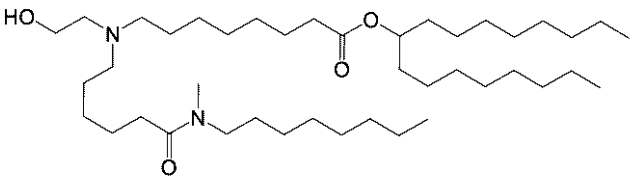
（化合物１４３）、



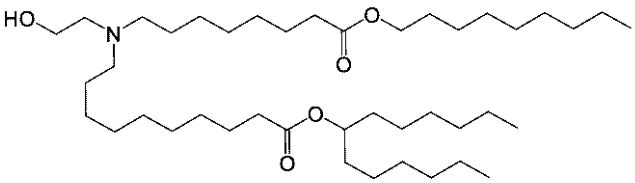
（化合物１４４）、



（化合物１４５）、

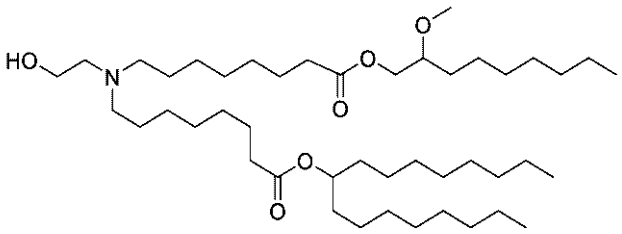


（化合物１４６）、

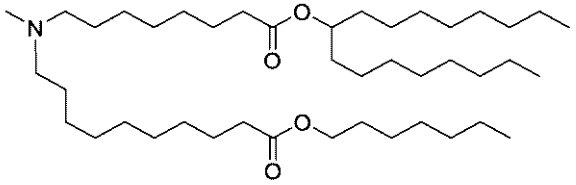


（化合物１４７）、

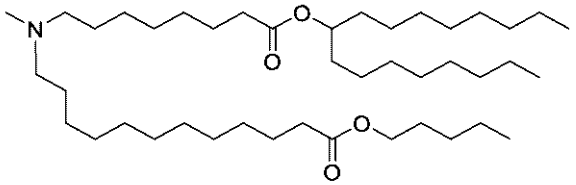
【化３０】



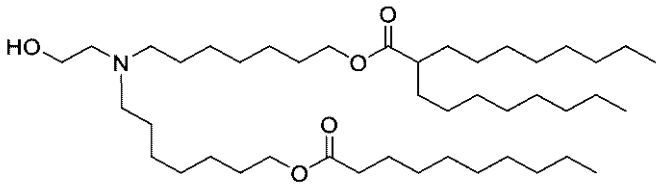
（化合物１４８）、



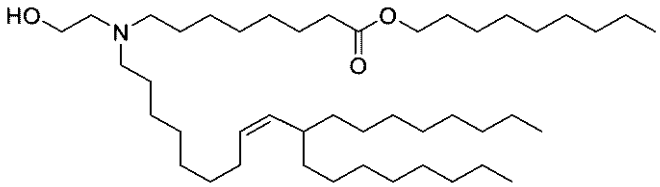
（化合物１４９）、



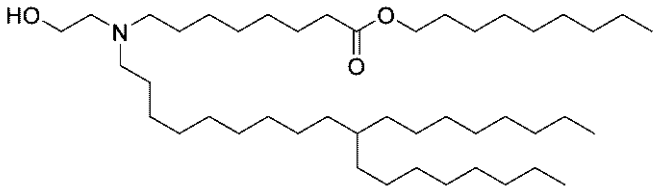
（化合物１５０）、



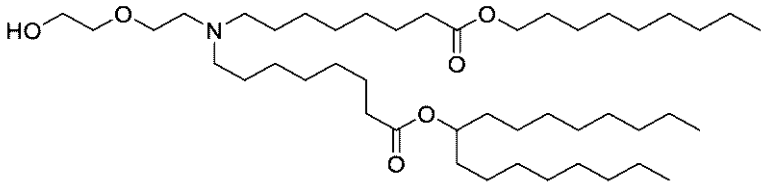
（化合物１５１）、



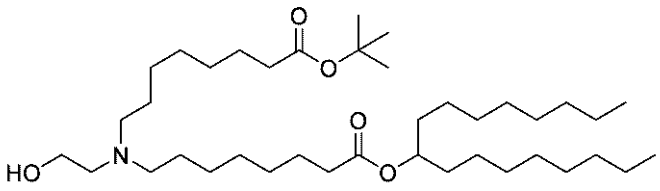
（化合物１５２）、



（化合物１５３）、

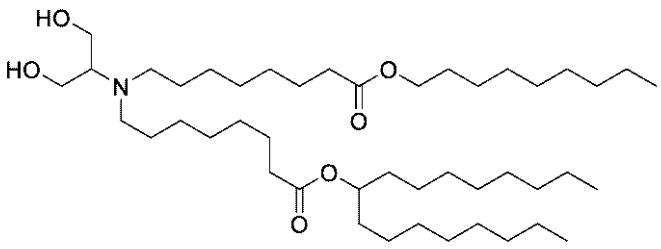


（化合物１５４）、

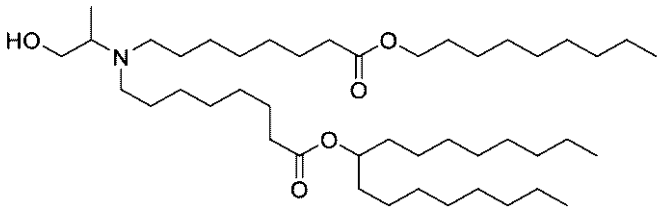


（化合物１５５）、

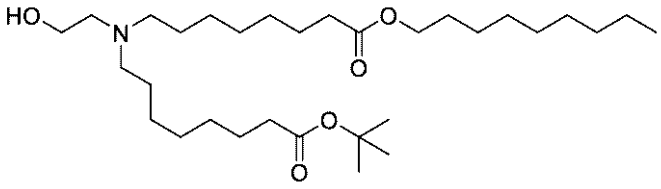
【化３１】



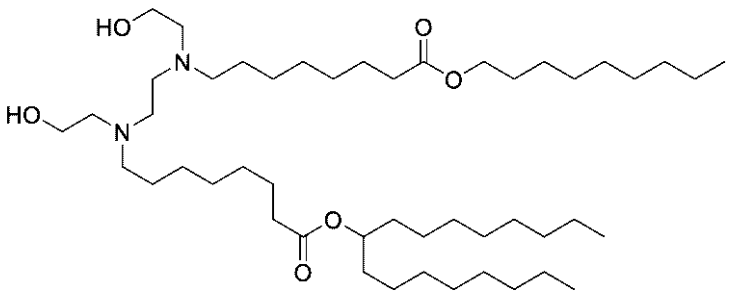
（化合物１５６）、



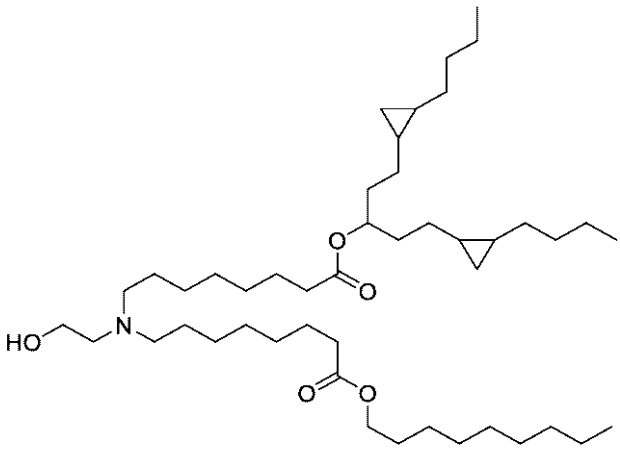
（化合物１５７）、



（化合物１５８）、

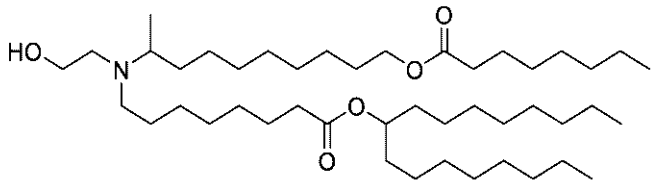


（化合物１５９）、

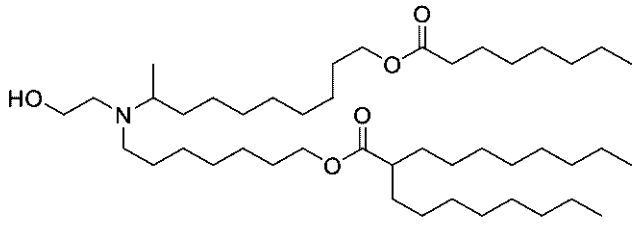


（化合物１６０）、

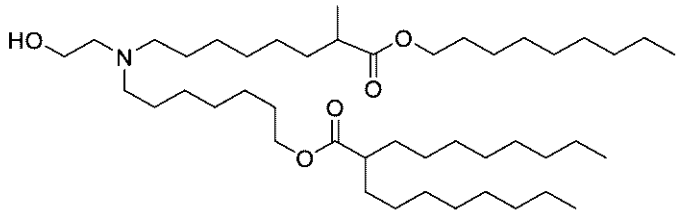
【化３２】



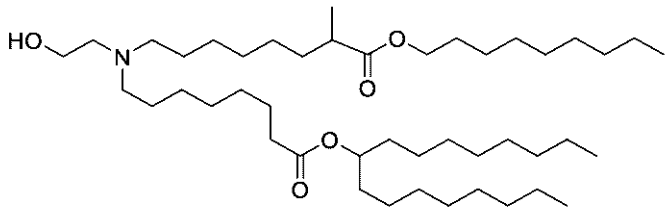
（化合物１６１）、



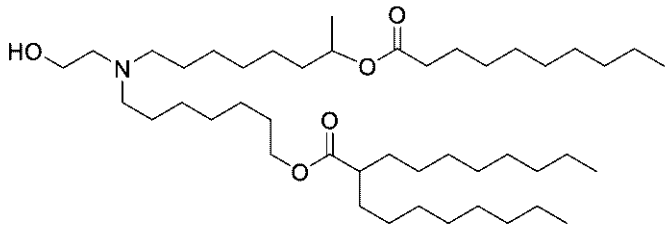
（化合物１６２）、



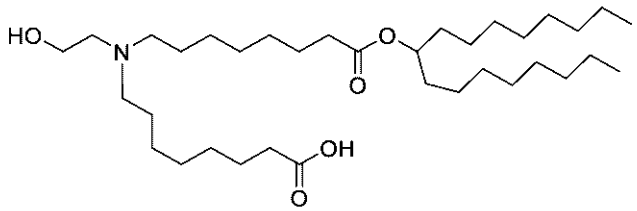
（化合物１６３）、



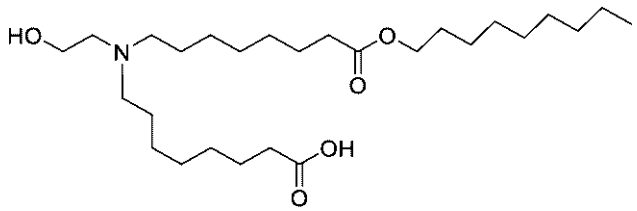
（化合物１６４）、



（化合物１６５）、

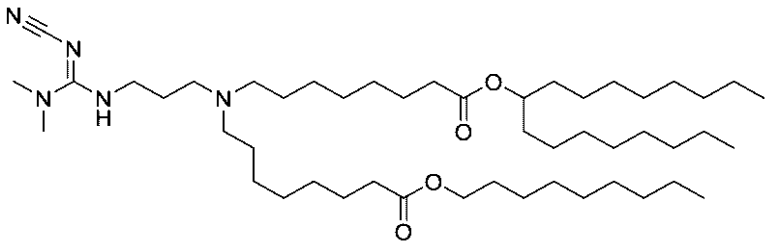


（化合物１６６）、

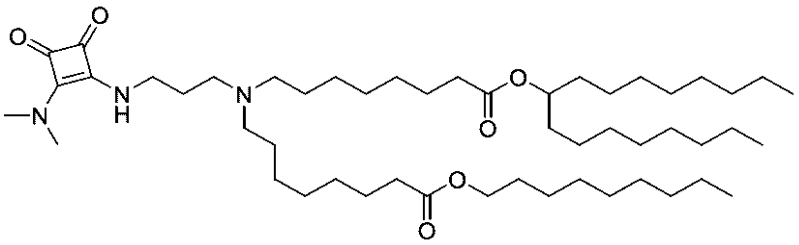


（化合物１６７）、

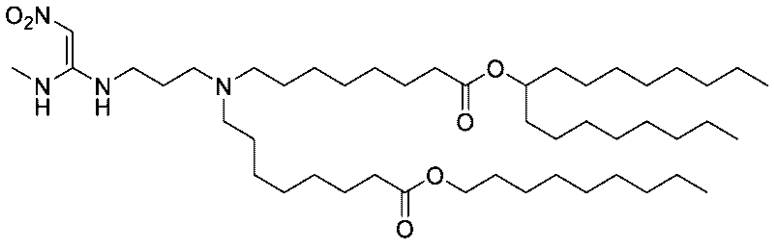
【化３３】



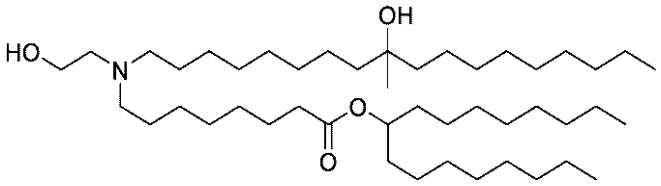
（化合物１６８）、



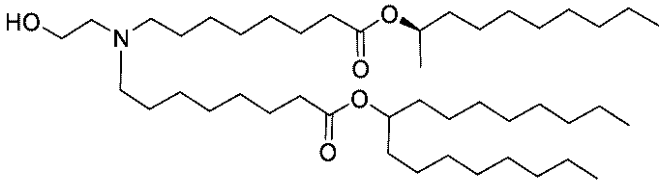
（化合物１６９）、



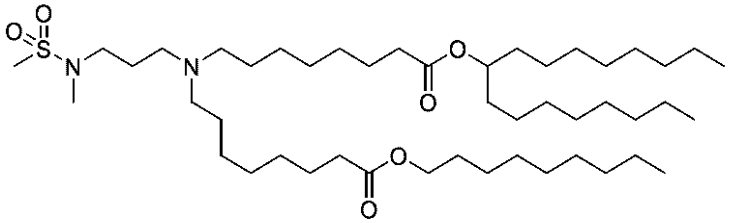
（化合物１７０）、



（化合物１７１）、

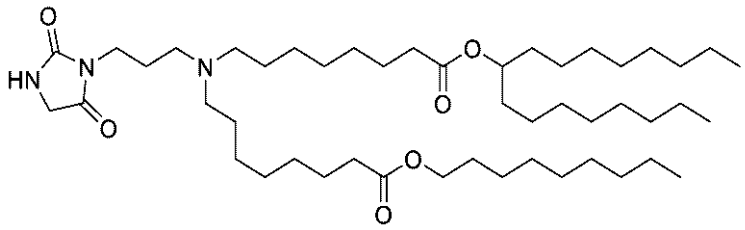


（化合物１７２）、

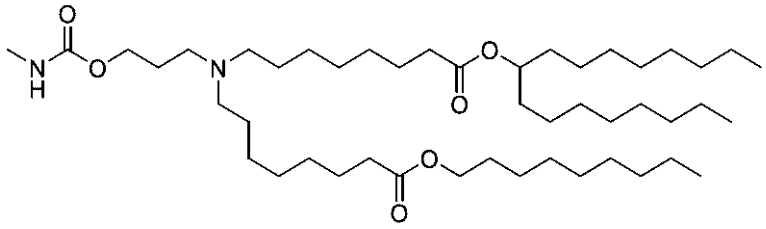


（化合物１７３）、

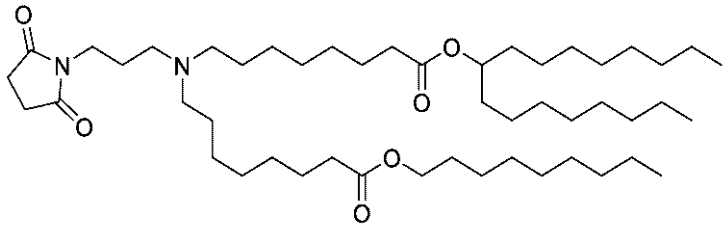
【化３４】



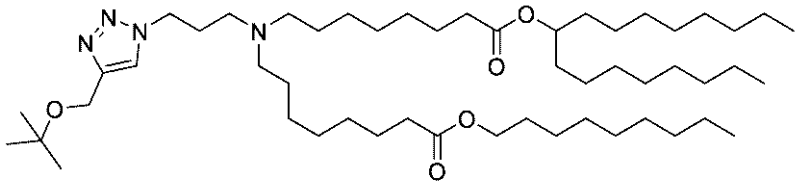
（化合物１７４）、



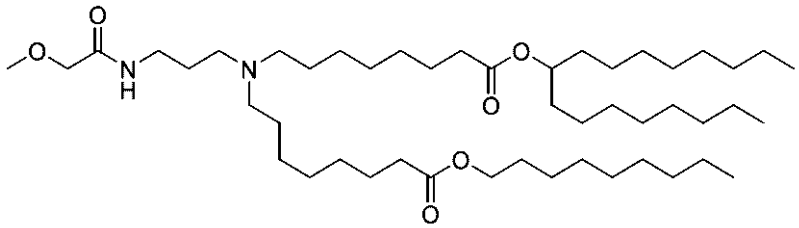
（化合物１７５）、



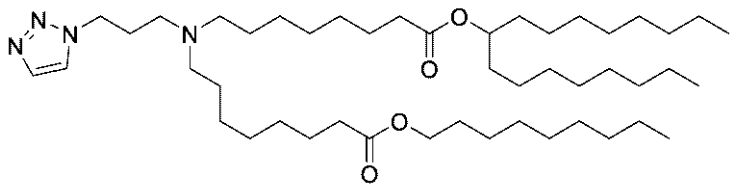
（化合物１７６）、



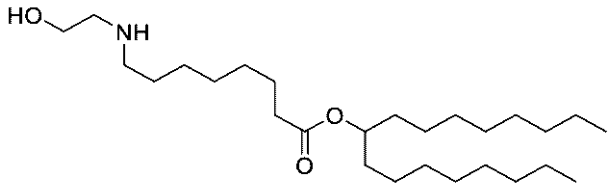
（化合物１７７）、



（化合物１７８）、

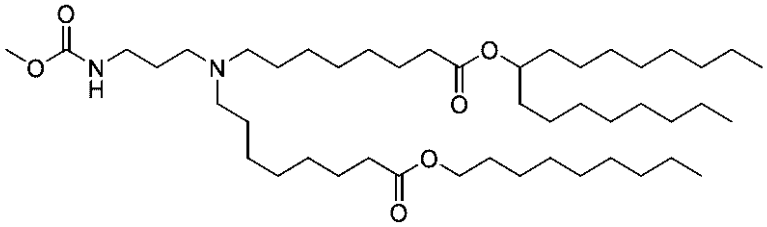


（化合物１７９）、

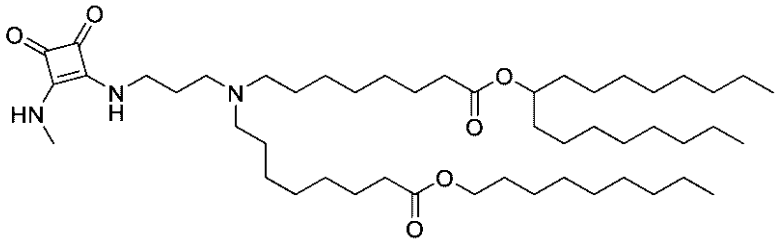


（化合物１８０）、

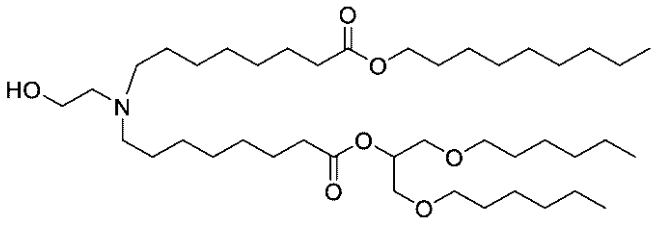
【化３５】



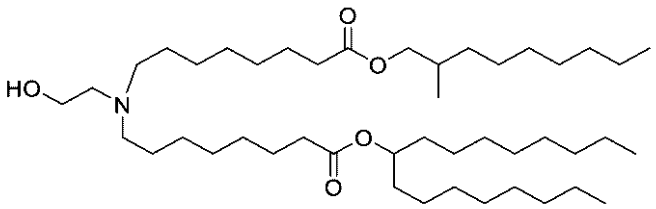
（化合物１８１）、



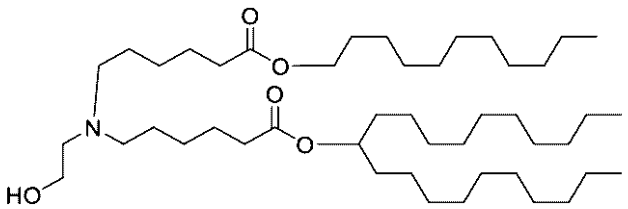
（化合物１８２）、



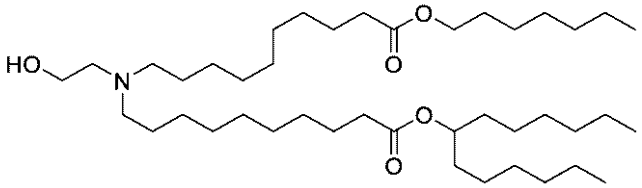
（化合物１８３）、



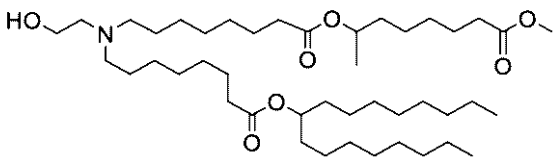
（化合物１８４）、



（化合物１８５）、

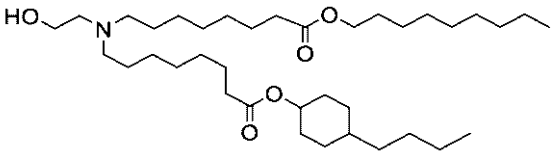


（化合物１８６）、

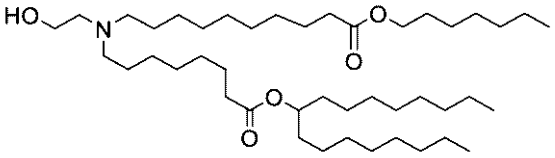


（化合物１８７）、

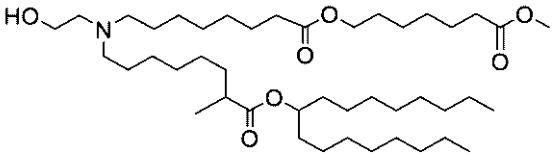
【化３６】



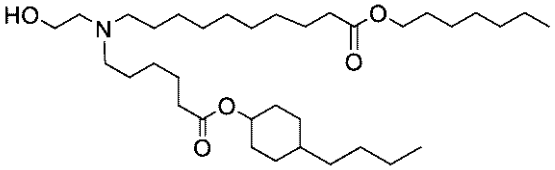
（化合物１８８）、



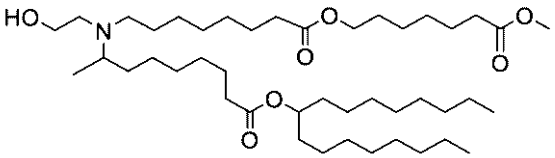
（化合物１８９）、



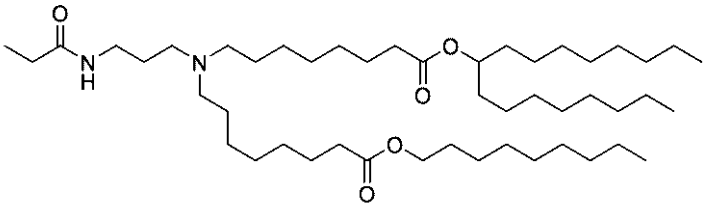
（化合物１９０）、



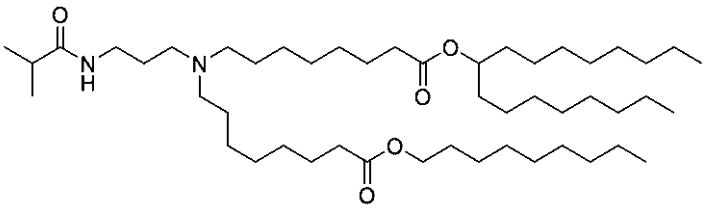
（化合物１９１）、



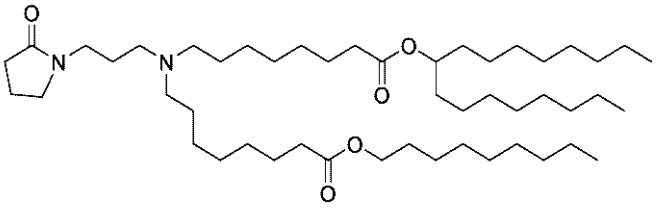
（化合物１９２）、



（化合物１９３）、

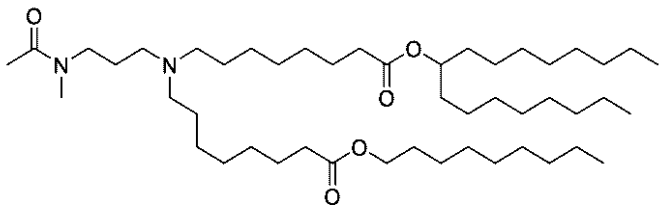


（化合物１９４）、

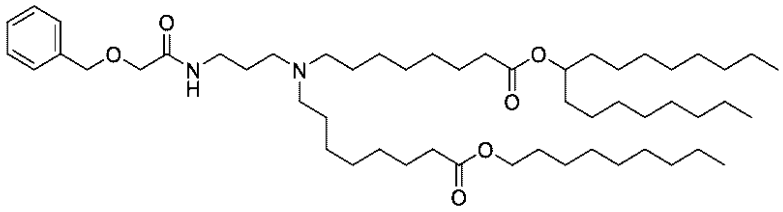


（化合物１９５）、

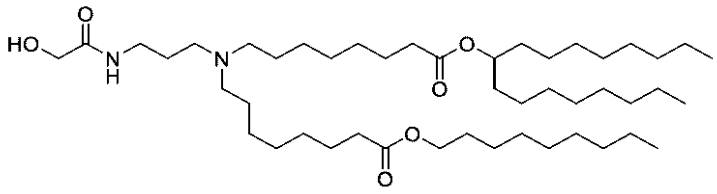
【化３７】



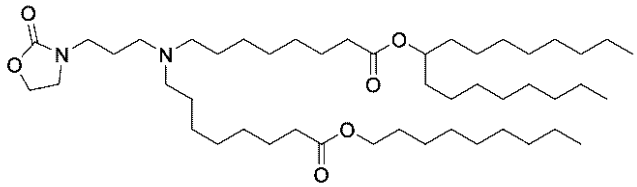
（化合物１９６）、



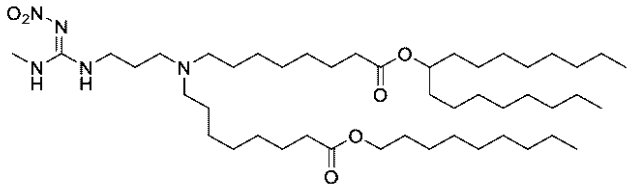
（化合物１９７）、



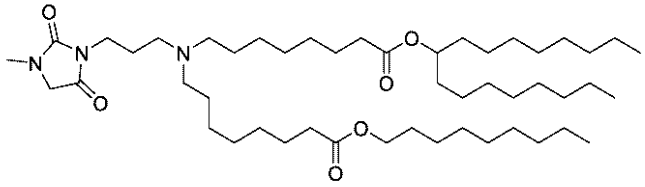
（化合物１９８）、



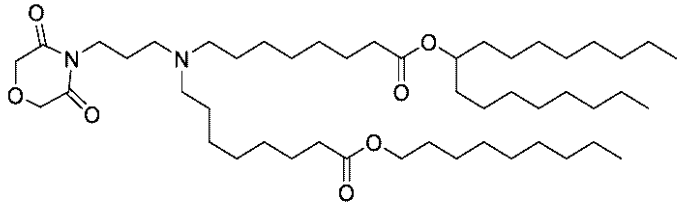
（化合物１９９）、



（化合物２００）、

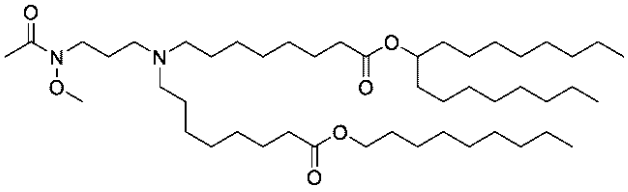


（化合物２０１）、

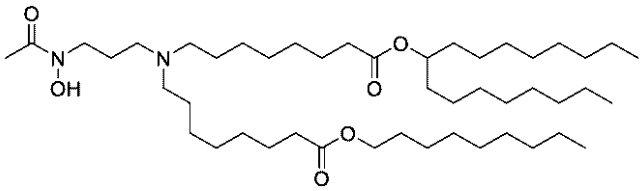


（化合物２０２）、

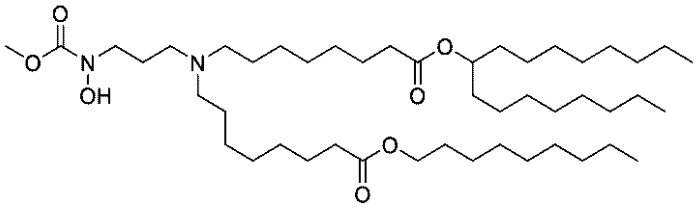
【化３８】



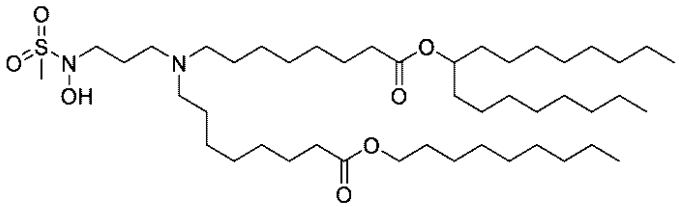
（化合物２０３）、



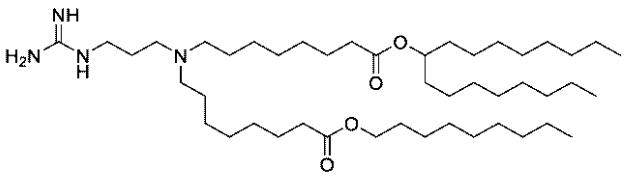
（化合物２０４）、



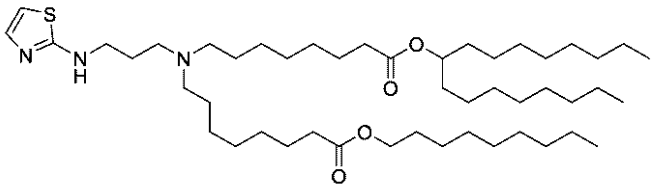
（化合物２０５）、



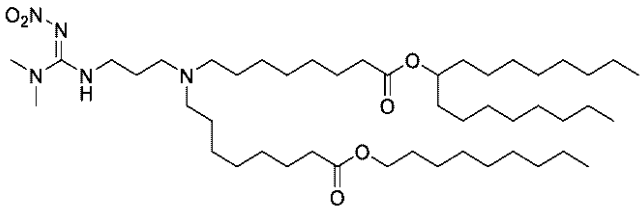
（化合物２０６）、



（化合物２０７）、

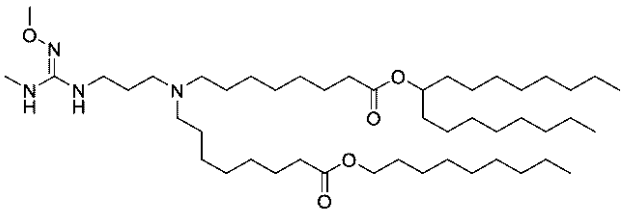


（化合物２０８）、

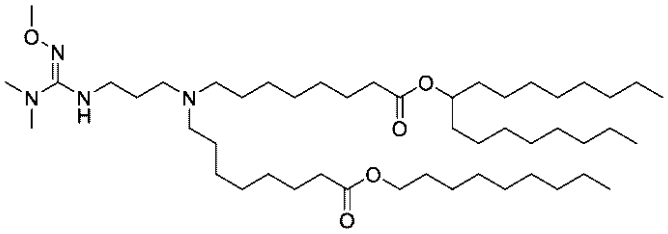


（化合物２０９）、

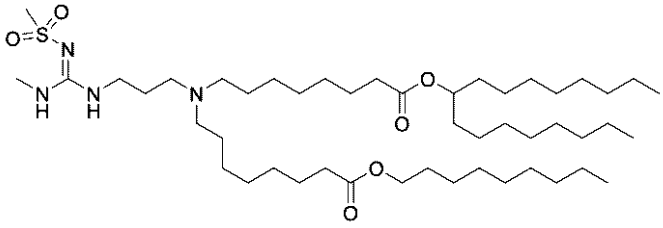
【化３９】



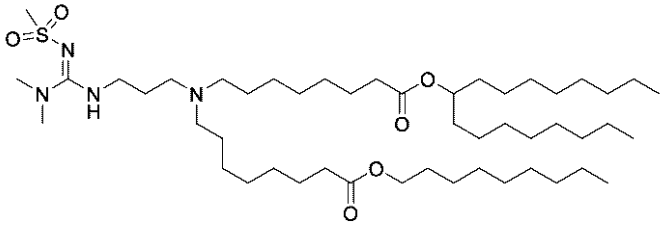
（化合物２１０）、



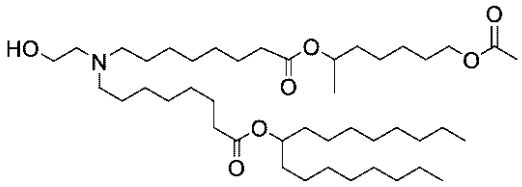
（化合物２１１）、



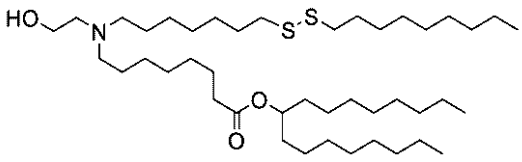
（化合物２１２）、



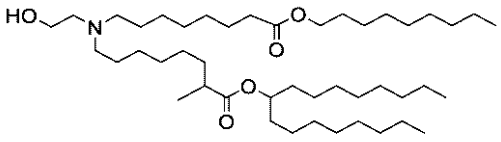
（化合物２１３）、



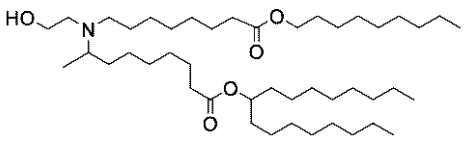
（化合物２１４）、



（化合物２１５）、

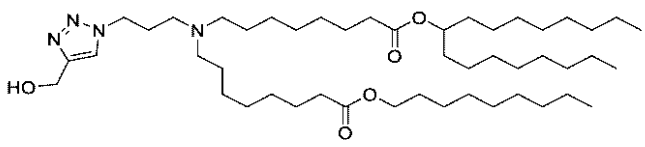


（化合物２１６）、

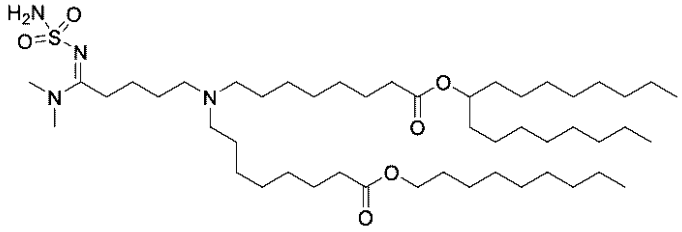


（化合物２１７）、

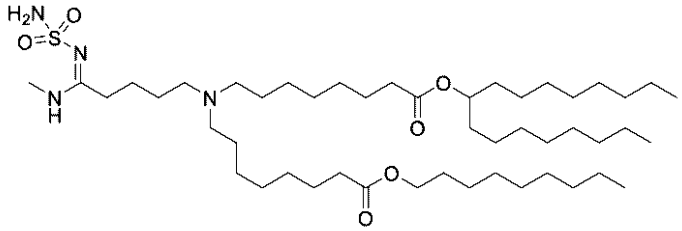
【化４０】



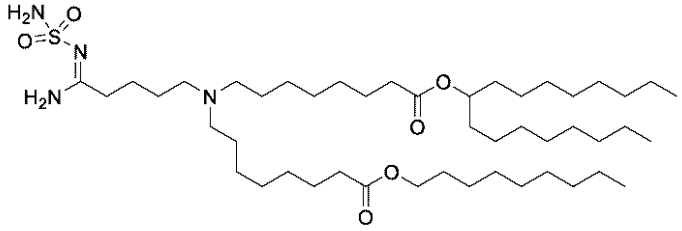
（化合物２１８）、



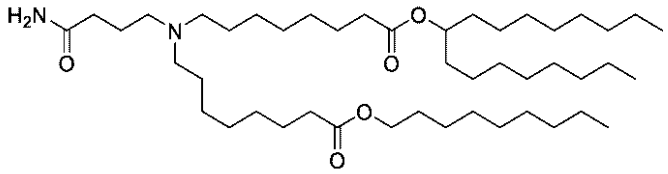
（化合物２１９）、



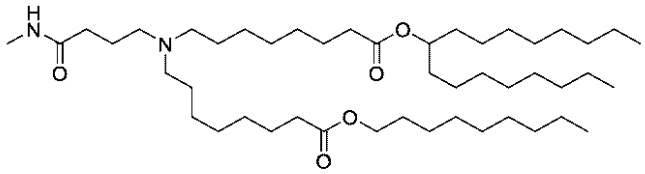
（化合物２２０）、



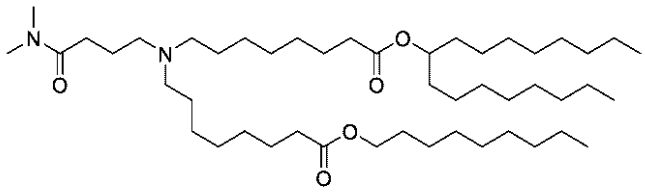
（化合物２２１）、



（化合物２２２）、

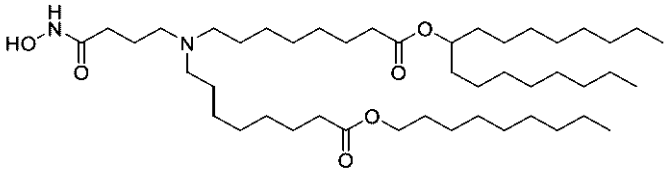


（化合物２２３）、

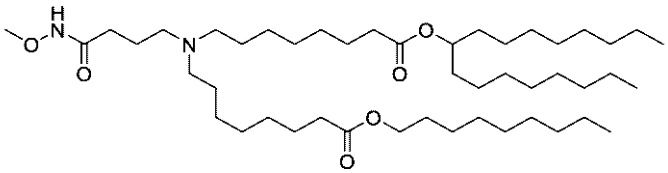


（化合物２２４）、

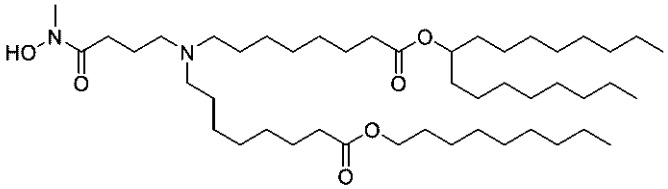
【化４１】



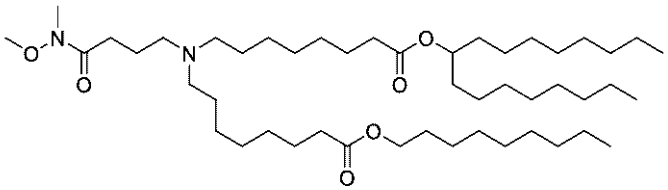
（化合物２２５）、



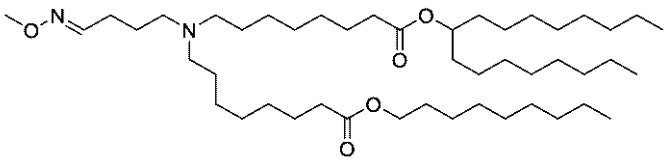
（化合物２２６）、



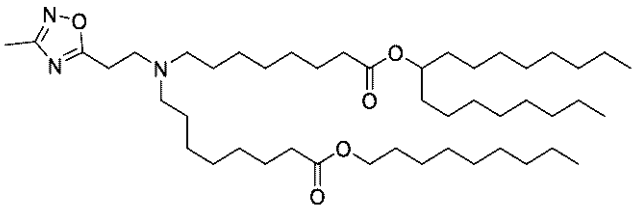
（化合物２２７）、



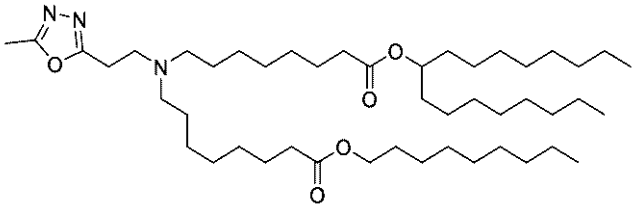
（化合物２２８）、



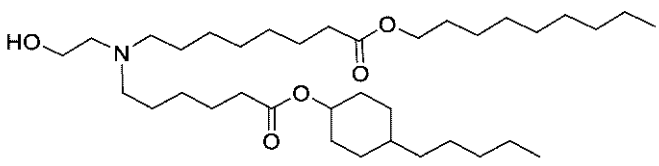
（化合物２２９）、



（化合物２３０）、



（化合物２３１）、



（化合物２３２）、

ならびにその塩及び異性体。

【０４９０】

他の実施形態では、式（Ｉ）の化合物は、化合物１～化合物１４７、またはそれらの塩もしくは立体異性体からなる群より選択される。

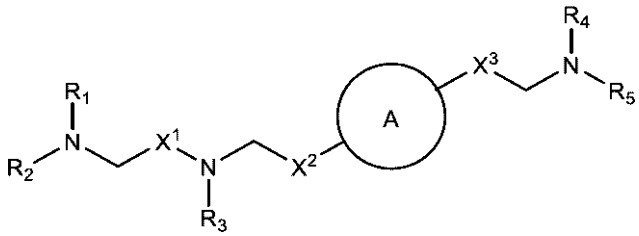
【０４９１】

いくつかの実施形態では、中心ピペラジン部分を含むイオン性脂質が提供される。本明細書に記載の脂質は、哺乳動物細胞または臓器への治療剤及び／または予防剤の送達のための脂質ナノ粒子組成物において有利に使用され得る。例えば、本明細書に記載の脂質は、免疫原性がほとんどまたは全くない。例えば、本明細書に開示されている脂質化合物は、参照脂質（例えば、ＭＣ３、ＫＣ２、またはＤＬｉｎＤＭＡ）と比較して低い免疫原性を有する。例えば、本明細書に開示される脂質と治療剤または予防剤とを含む製剤は、参照脂質（例えば、ＭＣ３、ＫＣ２、またはＤＬｉｎＤＭＡ）及び同じ治療剤または予防剤を含む対応する製剤と比較して治療指数が大きい。

【０４９２】

いくつかの実施形態では、送達剤は式（ＩＩＩ）を有する脂質化合物

【化４２】

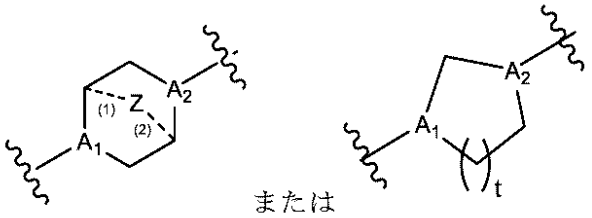


（ＩＩＩ）、

またはその塩もしくは立体異性体を含み、式

環Ａは

【化４３】



であり；

ｔは１または２であり；

Ａ$_1$及びＡ$_2$はそれぞれ独立してＣＨまたはＮから選択され；

ＺはＣＨ$_2$であるかまたは存在せず、ここでＺがＣＨ$_2$であるとき、破線（１）及び（２）はそれぞれ単結合を表し；そして、Ｚが存在しないとき、破線（１）及び（２）は両方とも存在せず；

Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、Ｒ$_4$、及びＲ$_5$は独立して、Ｃ$_{5-20}$アルキル、Ｃ$_{5-20}$アルケニル、－Ｒ”ＭＲ’、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択され；

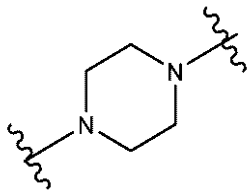
各Ｍは独立して、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－ＯＣ（Ｏ）Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）－、－Ｎ（Ｒ’）Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（Ｓ）Ｓ－、－ＳＣ（Ｓ）－、－ＣＨ（ＯＨ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ’）Ｏ－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、アリール基、ヘテロアリール基からなる群より選択され；

Ｘ^1、Ｘ^2、及びＸ^{3}は独立して、結合、－ＣＨ$_2$－、－（ＣＨ$_2$）$_2$－、－ＣＨＲ－、－ＣＨＹ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ＣＨ$_2$－、－ＯＣ（Ｏ）－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＣＨ$_2$－ＯＣ（Ｏ）－、－ＣＨ（ＯＨ）－、－Ｃ（Ｓ）－、及び－ＣＨ（ＳＨ－からなる群より選択され；

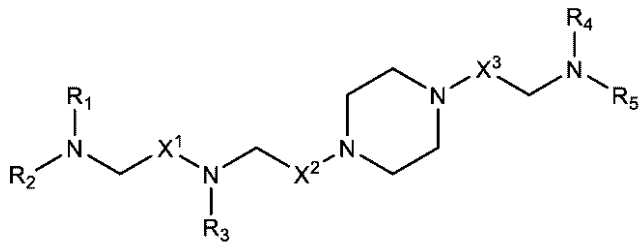
各Ｙは独立してＣ$_{3-6}$炭素環であり；

各Ｒ＊は独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル及びＣ$_{2-12}$アルケニルからなる群より選択され；

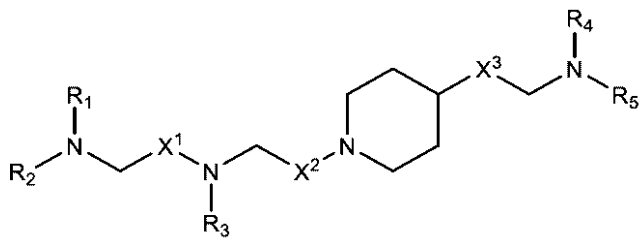
各Ｒは独立して、Ｃ$_{1-3}$アルキル及びＣ$_{3-6}$炭素環からなる群より選択され；
各Ｒ’は独立して、Ｃ$_{1-12}$アルキル、Ｃ$_{2-12}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；そして
各Ｒ’’は、独立して、Ｃ$_{3-12}$アルキル及びＣ$_{3-12}$アルケニルからなる群より選択され、
式中、環Ａが
【化４４】



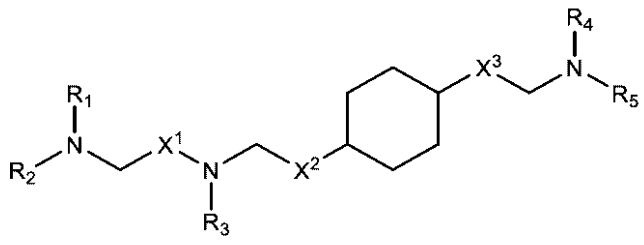
であるならば、
ｉ）Ｘ^{1}、Ｘ^{2}、及びＸ^{3}のうち少なくとも１つが－ＣＨ$_{2}$－ではないか；及び／または
ｉｉ）Ｒ$_{1}$、Ｒ$_{2}$、Ｒ$_{3}$、Ｒ$_{4}$，及びＲ$_{5}$のうちの少なくとも１つが－Ｒ”ＭＲ’である。
【０４９３】
いくつかの実施形態では、この化合物は、式（ＩＩＩａ１）－（ＩＩＩａ６）のうちいずれかである：
【化４５】



（ＩＩＩａ１）、

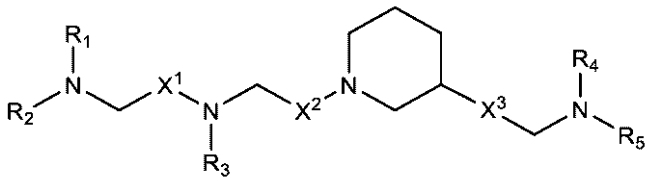


（ＩＩＩａ２）、

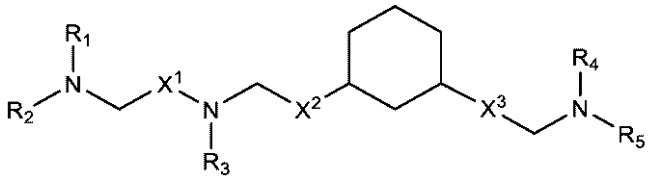


（ＩＩＩａ３）、

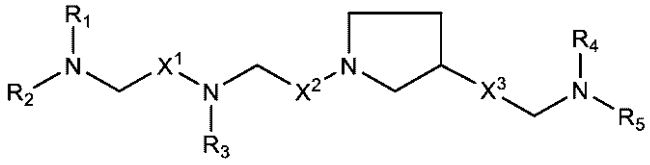
【化４６】



（ＩＩＩａ４）、



（ＩＩＩａ５）、または



（ＩＩＩａ６）。

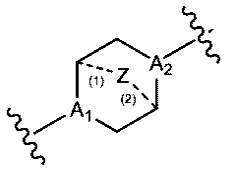
【０４９４】

式（ＩＩＩ）の化合物または（ＩＩＩａ１）－（ＩＩＩａ６）のうちのいずれかとしては、適用可能な場合以下の特徴のうちの１つ以上が挙げられる。

【０４９５】

いくつかの実施形態では、環Ａは

【化４７】

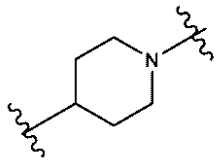


である。

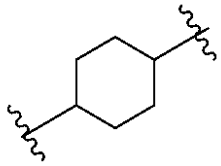
【０４９６】

いくつかの実施形態では、環Ａは、

【化４８】



または

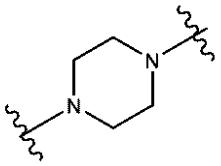


である。

【０４９７】

いくつかの実施形態では、環Ａは、

【化４９】

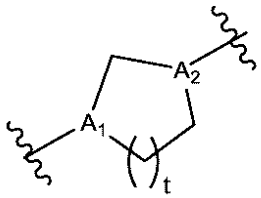


である。

【０４９８】

いくつかの実施形態では、環Ａは、

【化５０】

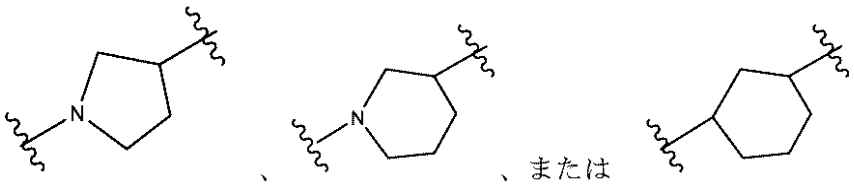


である。

【０４９９】

いくつかの実施形態では、環Ａは、

【化５１】



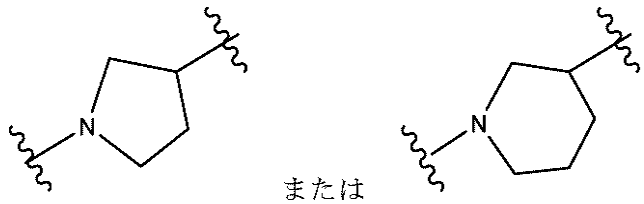
、または

である。

【０５００】

いくつかの実施形態では、環Ａは、

【化５２】



または

であり、

式中環には、Ｎ原子にＸ^{2}が接続されている。

【０５０１】

いくつかの実施形態では、ＺはＣＨ$_{2}$である。

【０５０２】

いくつかの実施形態では、Ｚは存在しない。

【０５０３】

いくつかの実施形態では、Ａ$_{1}$及びＡ$_{2}$の少なくとも１つはＮである。

【０５０４】

いくつかの実施形態では、Ａ$_{1}$及びＡ$_{2}$のそれぞれがＮである。

【０５０５】

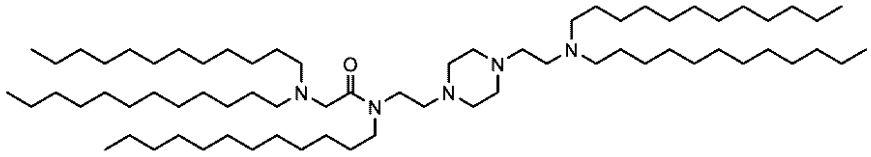
いくつかの実施形態では、Ａ$_{1}$及びＡ$_{2}$のそれぞれがＣＨである。

【０５０６】

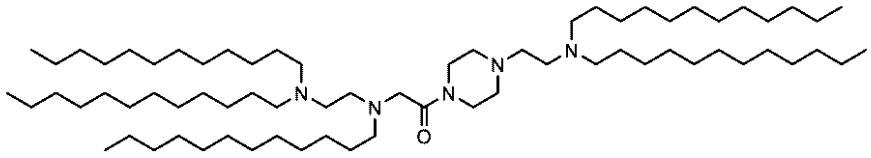
いくつかの実施形態では、Ａ$_{1}$はＮであり、Ａ$_{2}$はＣＨである。

【０５０７】
いくつかの実施形態では、A_1はＣＨであり、A_2はＮである。
【０５０８】
いくつかの実施形態では、X^1、X^2、及びX^3の少なくとも１つは－CH_2－ではない。例えば、特定の実施形態では、X^1は－CH_2－ではない。いくつかの実施形態では、X^1、X^2、及びX^3のうちの少なくとも１つは－Ｃ（Ｏ）－である。
【０５０９】
いくつかの実施形態では、X^2は－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－CH_2－、－ＯＣ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、または－CH_2－ＯＣ（Ｏ）－である。
【０５１０】
いくつかの実施形態では、X^3は－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－CH_2－、－ＯＣ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、または－CH_2－ＯＣ（Ｏ）－である。他の実施形態では、X^3は－CH_2－である。
【０５１１】
いくつかの実施形態では、X^3は結合または－（CH_2）$_2$－である。
【０５１２】
いくつかの実施形態では、R_1及びR_2は同じである。特定の実施形態では、R_1、R_2、及びR_3は同じである。いくつかの実施形態では、R_4及びR_5は同じである。特定の実施形態では、R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5は同じである。
【０５１３】
いくつかの実施形態では、R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5のうちの少なくとも１つは－Ｒ”ＭＲ’である。いくつかの実施形態では、R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5のうちの最大１つが－Ｒ”ＭＲ’である。例えば、R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つは、－Ｒ”ＭＲ’であってもよく及び／またはR_4及びR_5のうちの少なくとも１つは、－Ｒ”ＭＲ’である。特定の実施形態では、少なくとも１個のＭは、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－である。いくつかの実施形態では、各Ｍは－Ｃ（Ｏ）Ｏ－である。いくつかの実施形態では、少なくとも１個のＭは、－ＯＣ（Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、各Ｍは－ＯＣ（Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、少なくとも１個のＭは－ＯＣ（Ｏ）Ｏ－である。いくつかの実施形態では、各Ｍは－ＯＣ（Ｏ）Ｏ－である。いくつかの実施形態では、少なくとも１個のＲ”は、C_3アルキルである。特定の実施形態では、各Ｒ”は、C_3アルキルである。いくつかの実施形態では、少なくとも１個のＲ’’はC_5アルキルである。特定の実施形態では、各Ｒ”は、C_5アルキルである。いくつかの実施形態では、少なくとも１個のＲ’’はC_6アルキルである。特定の実施形態では、各Ｒ”は、C_6アルキルである。いくつかの実施形態では、少なくとも１個のＲ’’はC_7アルキルである。特定の実施形態では、各Ｒ”は、C_7アルキルである。いくつかの実施形態では、少なくとも１個のＲ’は、C_5アルキルである。特定の実施形態では、各Ｒ’は、C_5アルキルである。他の実施形態では、少なくとも１個のＲ’はC_1アルキルである。特定の実施形態では、各Ｒ’はC_1アルキルである。いくつかの実施形態では、少なくとも１つのＲ’は、C_2アルキルである。特定の実施形態では、各Ｒ’は、C_2アルキルである。
【０５１４】
いくつかの実施形態では、R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5の少なくとも１つはC_{1-2}アルキルである。特定の実施形態では、R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5のそれぞれは、C_{1-2}アルキルである。
【０５１５】
特定の実施形態では、化合物は、以下からなる群より選択される：

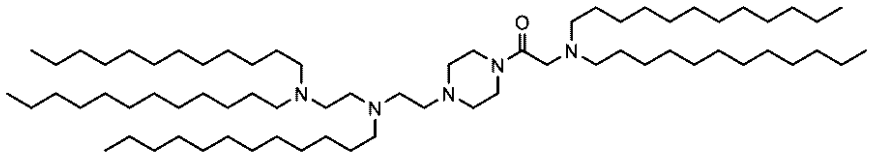
【化５３】



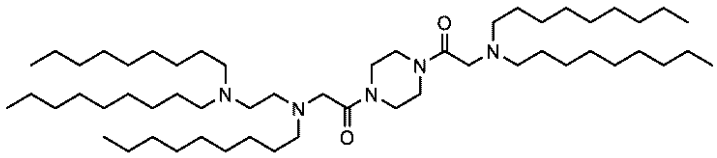
（化合物２３３）、



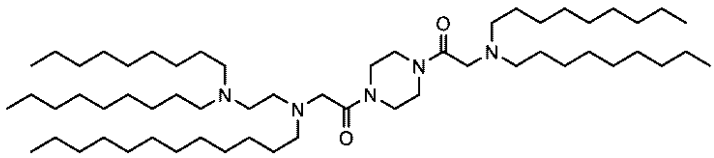
（化合物２３４）、



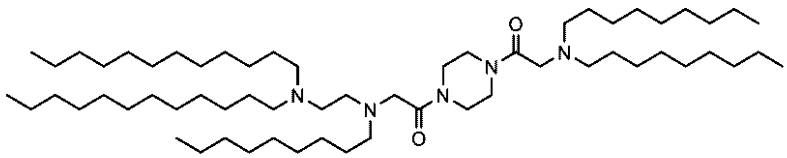
（化合物２３５）、



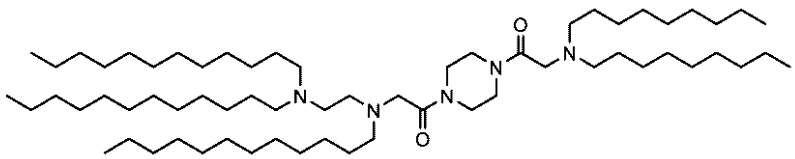
（化合物２３６）、



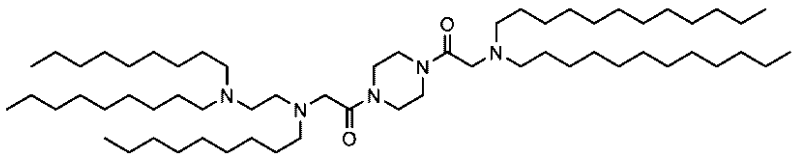
（化合物２３７）、



（化合物２３８）、

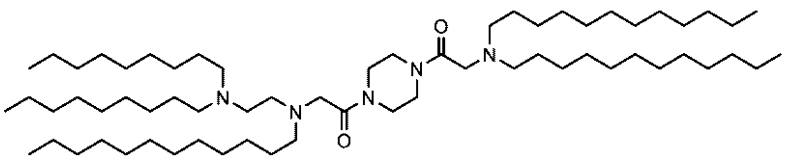


（化合物２３９）、

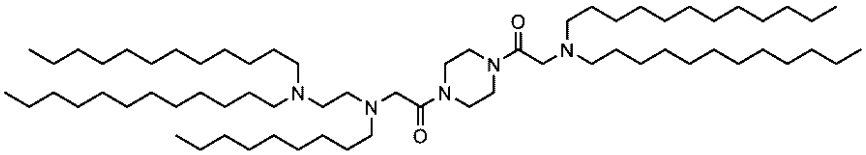


（化合物２４０）、

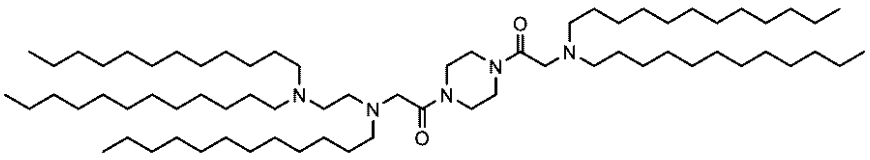
【化５４】



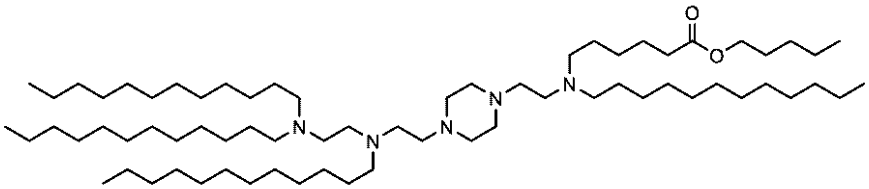
（化合物２４１）、



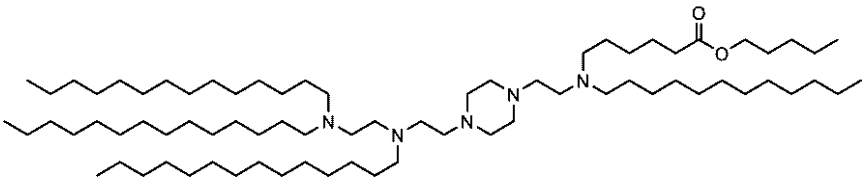
（化合物２４２）、



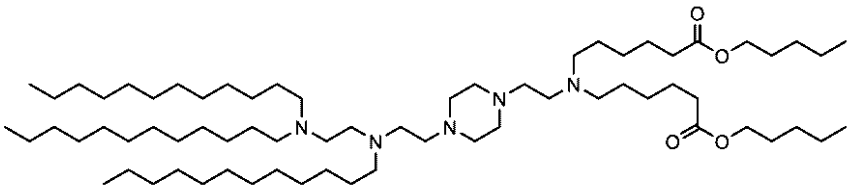
（化合物２４３）、



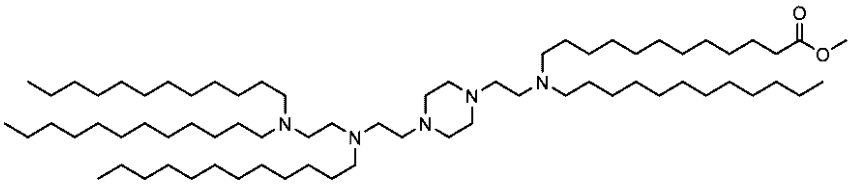
（化合物２４４）、



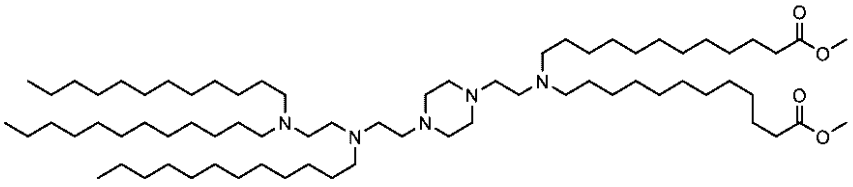
（化合物２４５）、



（化合物２４６）、

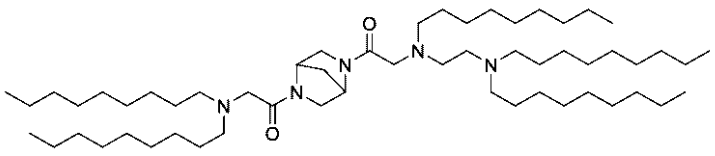


（化合物２４７）、

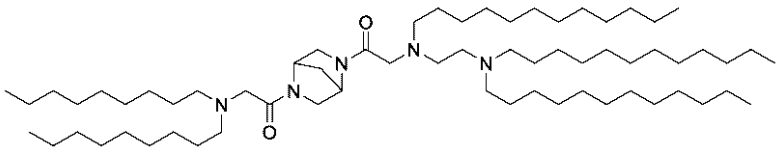


（化合物２４８）、

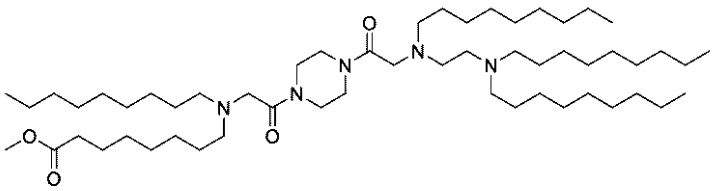
【化５５】



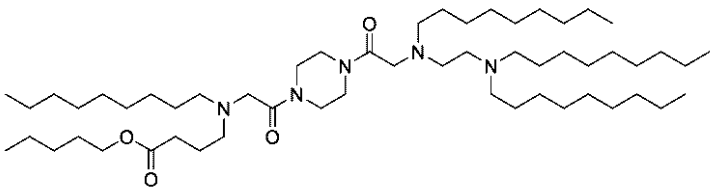
（化合物２７４）、



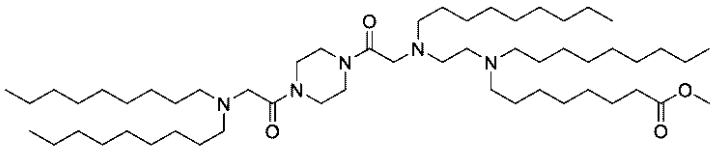
（化合物２７５）、



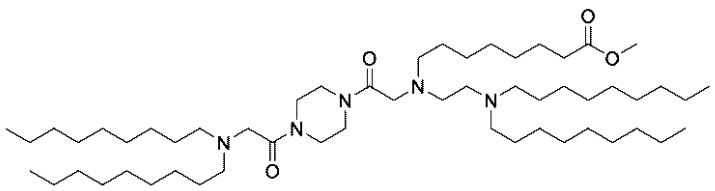
（化合物２７６）、



（化合物２７７）、

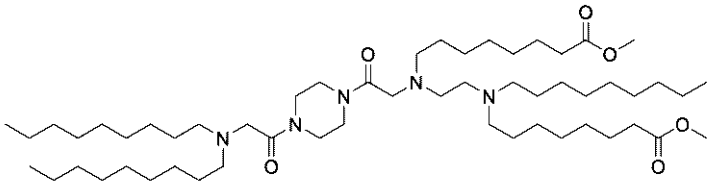


（化合物２７８）、

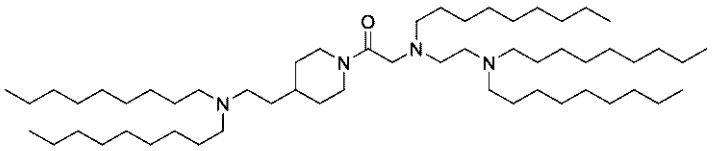


（化合物２７９）、

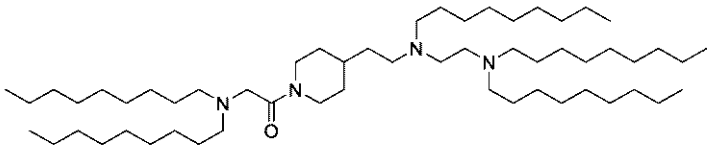
【化５６】



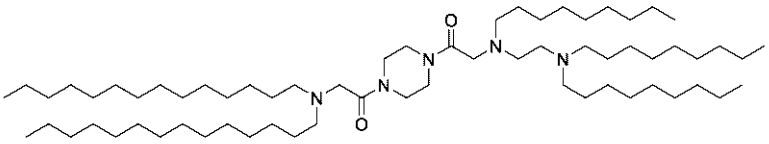
（化合物２８０）、



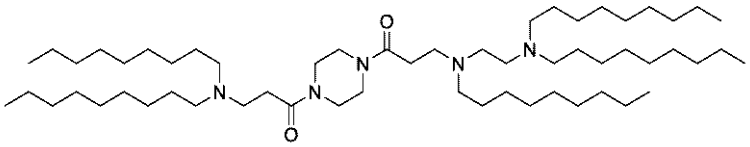
（化合物２８１）、



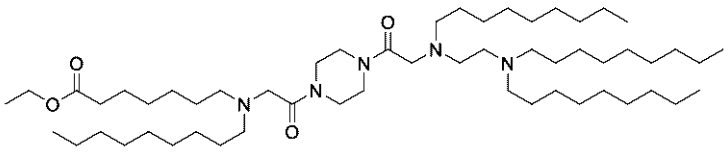
（化合物２８２）、



（化合物２８３）、

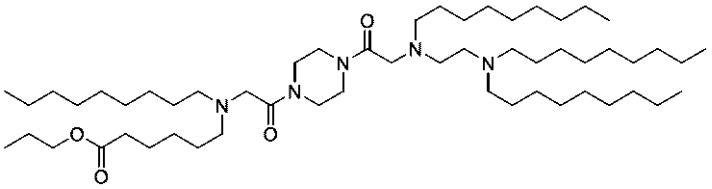


（化合物２８４）、

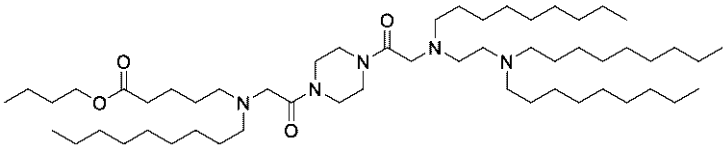


（化合物２８５）、

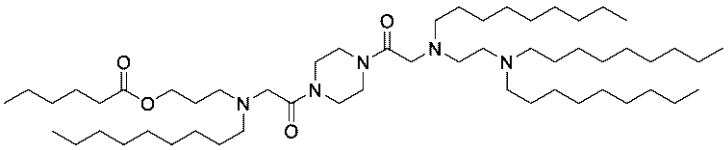
【化５７】



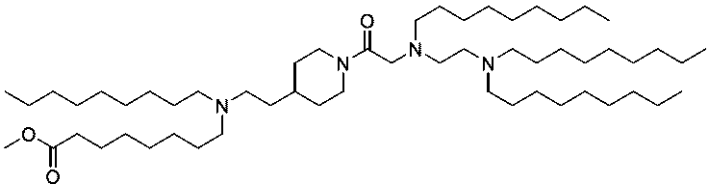
（化合物２８６）、



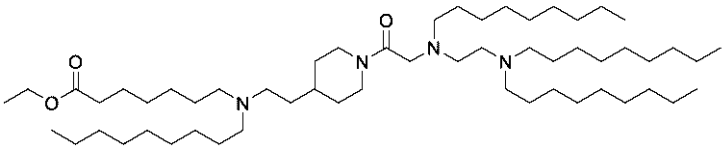
（化合物２８７）、



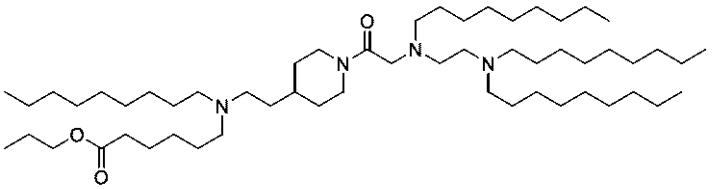
（化合物２８８）、



（化合物２８９）、

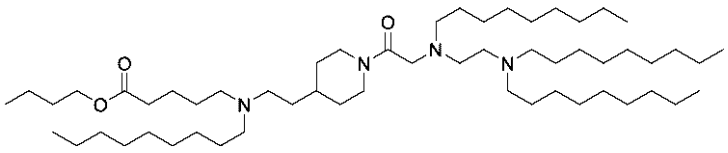


（化合物２９０）、

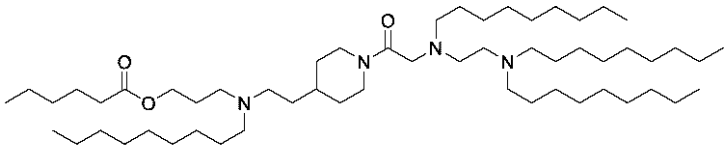


（化合物２９１）、

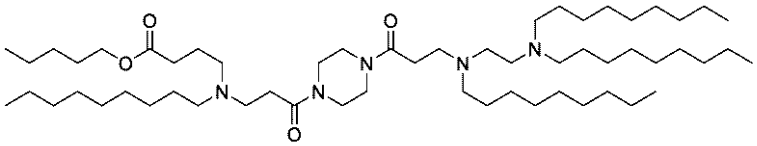
【化５８】



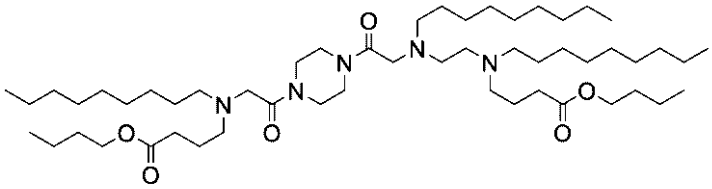
（化合物２９２）、



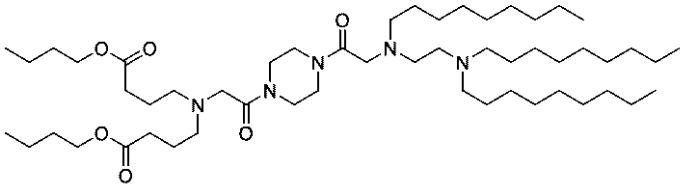
（化合物２９３）、



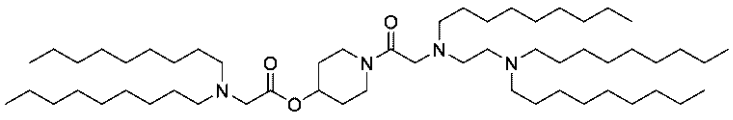
（化合物２９４）、



（化合物２９５）、

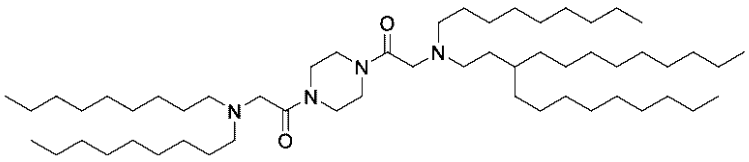


（化合物２９６）、

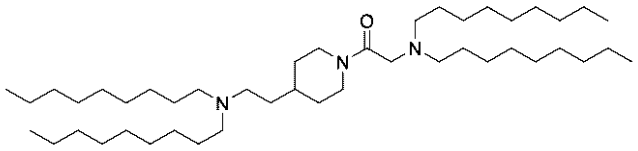


（化合物２９７）、

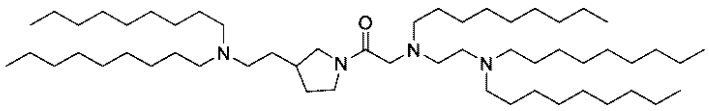
【化５９】



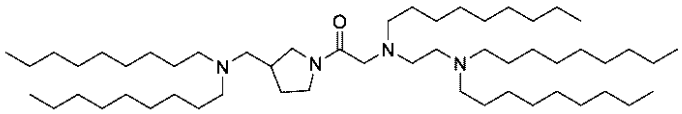
（化合物２９８）、



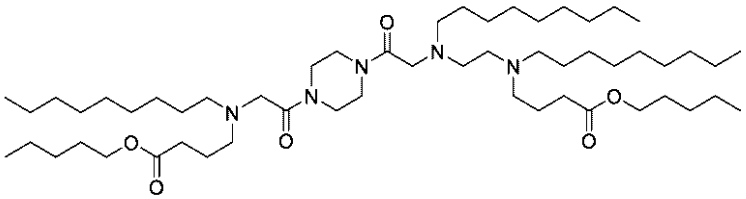
（化合物３００）、



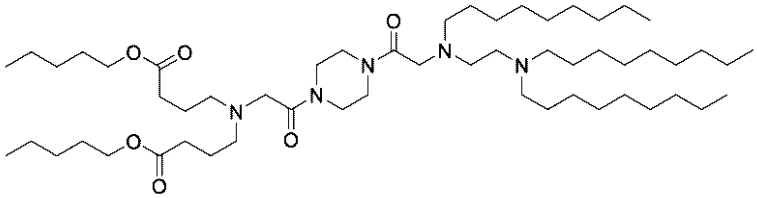
（化合物３０１）、



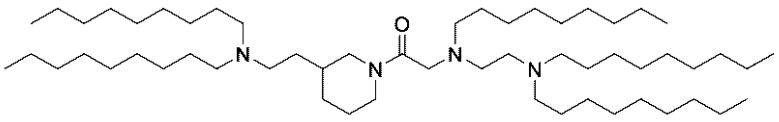
（化合物３０２）、



（化合物３０３）、

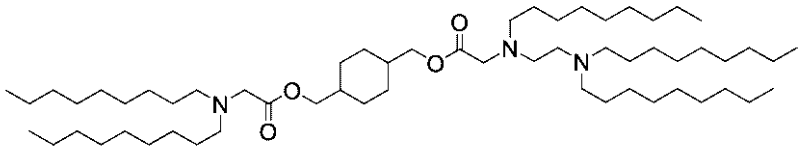


（化合物３０４）、

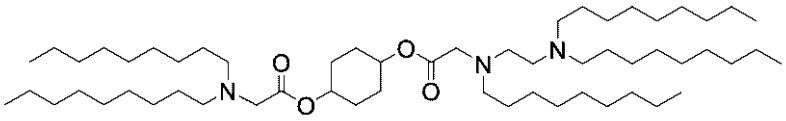


（化合物３０５）、

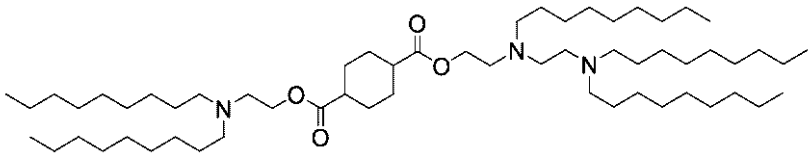
【化６０】



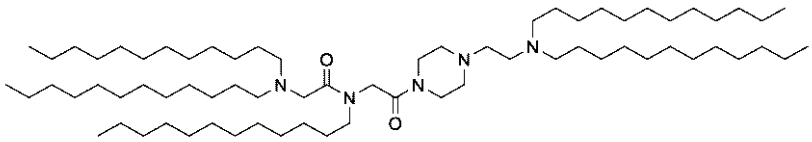
（化合物３０６）、



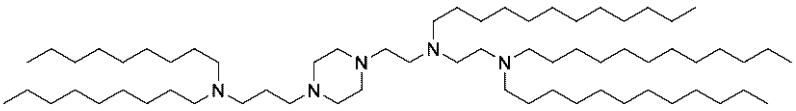
（化合物３０７）、



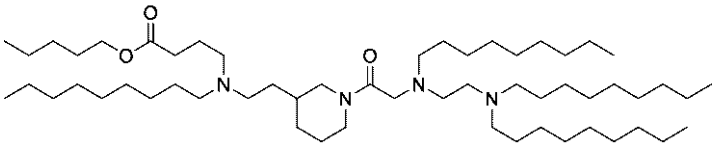
（化合物３０８）、



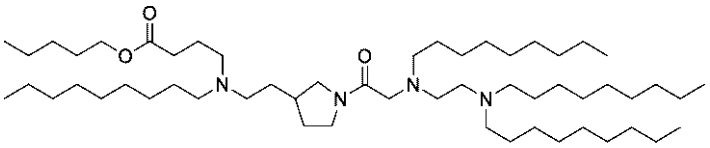
（化合物３１０）、



（化合物３１１）、

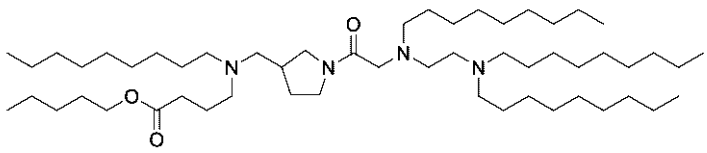


（化合物３１２）、

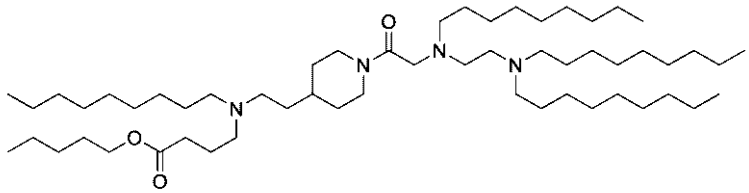


（化合物３１３）、

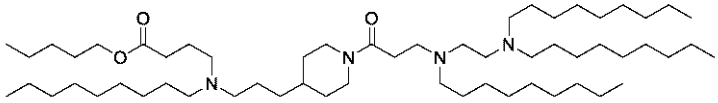
【化６１】



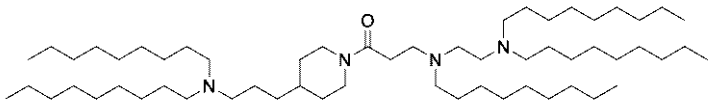
（化合物３１４）、



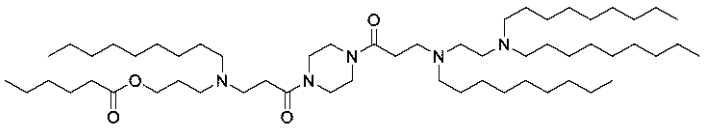
（化合物３１５）、



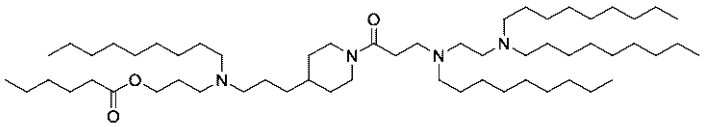
（化合物３１６）、



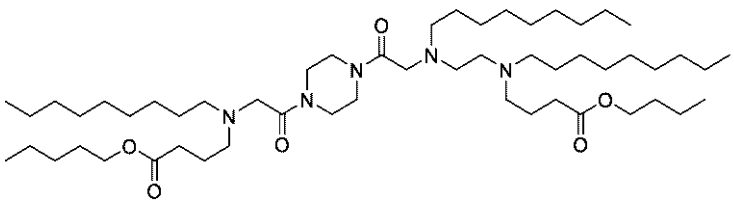
（化合物３１７）、



（化合物３１８）、

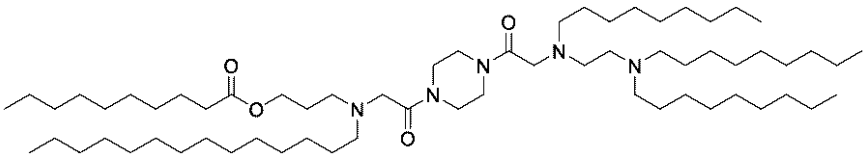


（化合物３１９）、

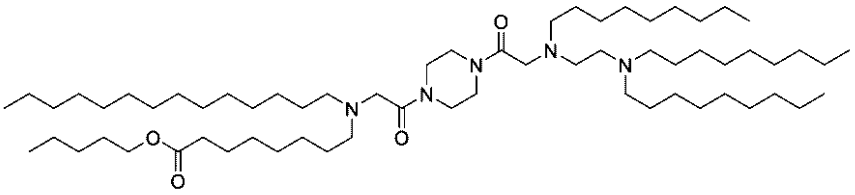


（化合物３２０）、

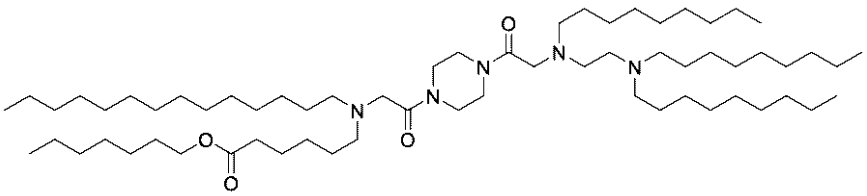
【化６２】



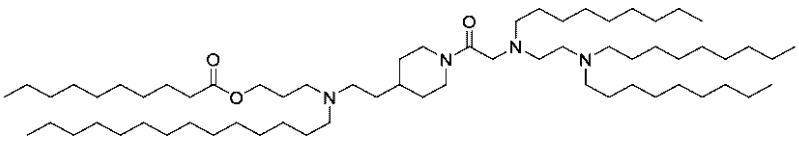
（化合物３２１）、



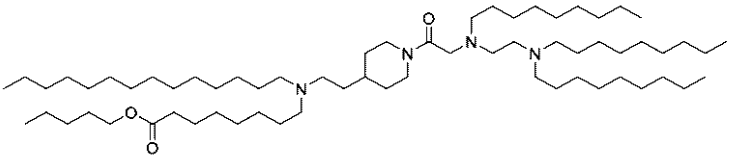
（化合物３２２）、



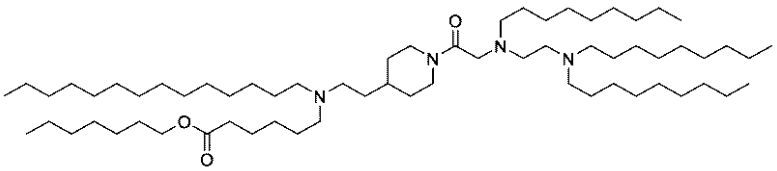
（化合物３２３）、



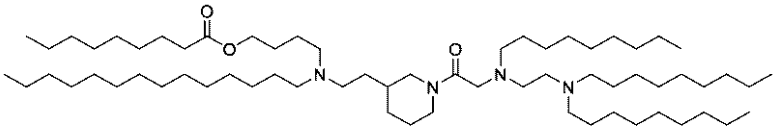
（化合物３２４）、



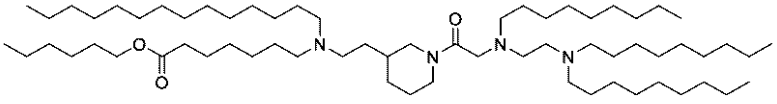
（化合物３２５）、



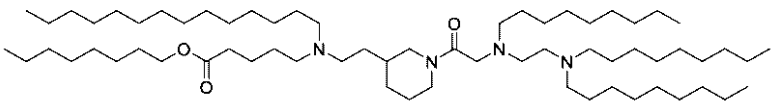
（化合物３２６）、



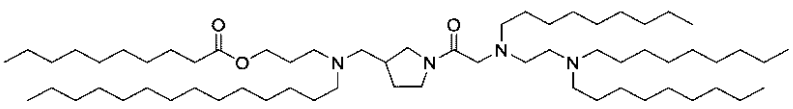
（化合物３２７）、



（化合物３２８）、

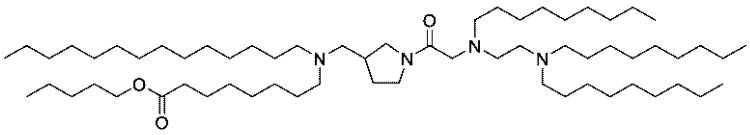


（化合物３２９）、

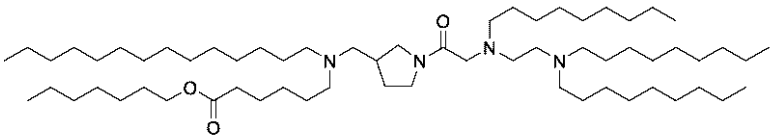


（化合物３３０）、

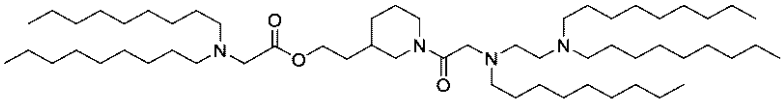
【化６３】



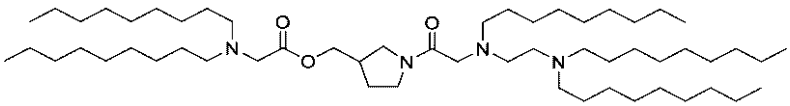
（化合物３３１）、



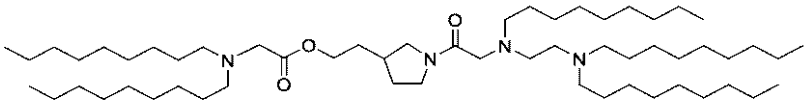
（化合物３３２）、



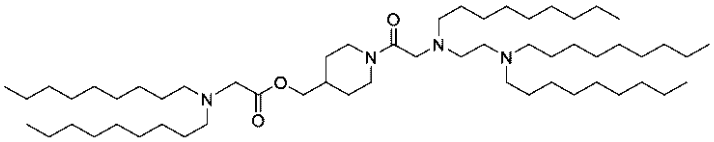
（化合物３３３）、



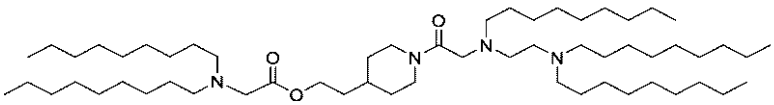
（化合物３３４）、



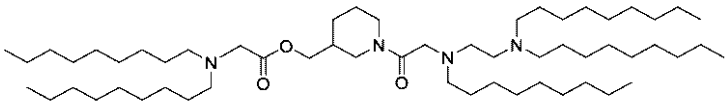
（化合物３３５）、



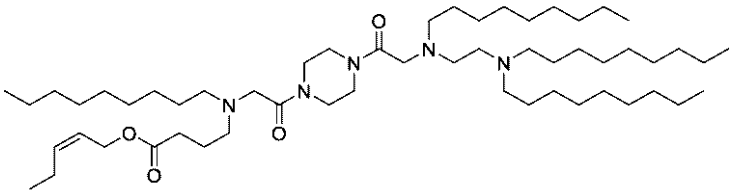
（化合物３３６）、



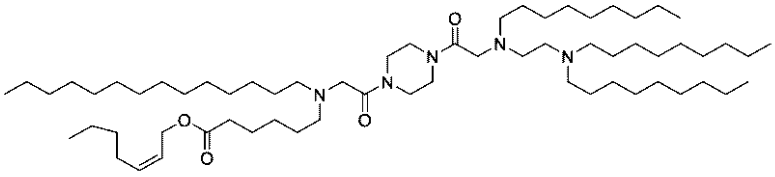
（化合物３３７）、



（化合物３３８）、

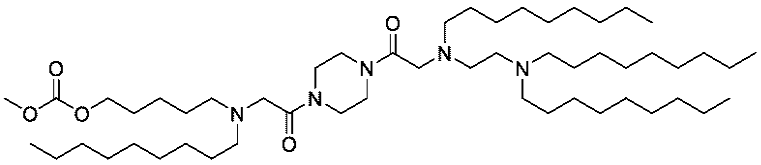


（化合物３３９）、



（化合物３４０）、及び

【化６４】



（化合物３４１）。

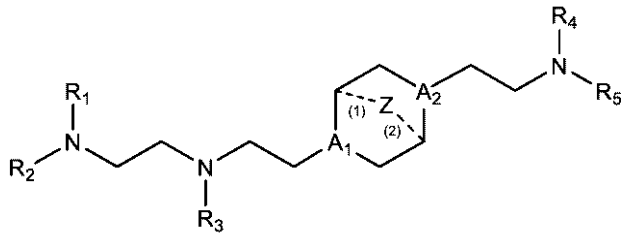
【０５１６】

いくつかの実施形態では、上記送達剤は、化合物２３６を含む。

【０５１７】

いくつかの実施形態では、上記送達剤は、式（ＩＶ）を有する化合物

【化６５】



（ＩＶ）、

またはその塩もしくは立体異性体を含み、式中

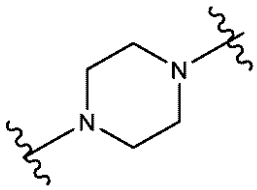
A_1及びA_2はそれぞれ独立してＣＨまたはＮから選択され、A_1及びA_2の少なくとも一方はＮであり；

ＺはＣH_2であるかまたは存在せず、ここでＺがＣH_2であるとき、破線（１）及び（２）はそれぞれ単結合を表し；そして、Ｚが存在しないとき、破線（１）及び（２）は両方とも存在せず；

R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5は、独立して、C_{6-20}アルキル及びC_{6-20}アルケニルからなる群より選択され；

式中、環Ａが、

【化６６】



であるならば、

ｉ）R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5は同じであり、ここでR_1はC_{12}アルキルでも、C_{18}アルキルでも、またはC_{18}アルケニルでもないか；

ｉｉ）R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5のうちの１つのみがC_{6-20}アルケニルから選択されるか；

ｉｉｉ）R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5のうちの少なくとも１つが、R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5の少なくとも１つの他のものとは異なる数の炭素原子を有するか；

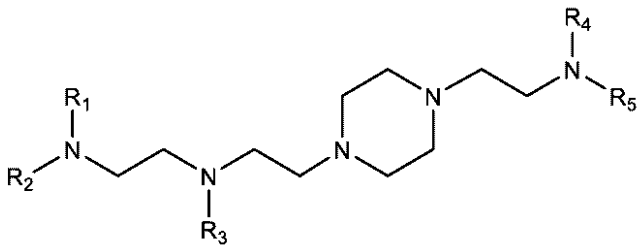
ｉｖ）R_1、R_2、及びR_3がC_{6-20}アルケニルから選択され、ならびにR_4及びR_5がC_{6-20}アルキルから選択されるか；または

ｖ）R_1、R_2、及びR_3がC_{6-20}アルキルから選択され、R_4及びR_5がC_{6-20}アルケニルから選択される。

【０５１８】

いくつかの実施形態では、化合物は、式（ＩＶａ）の化合物：

【化６７】



（ＩＶａ）

のものである。

【０５１９】

適用可能であれば、式（ＩＶ）または（ＩＶａ）の化合物は、以下の特徴のうちの１つ以上を含む。

【０５２０】

いくつかの実施形態では、ＺはＣＨ$_2$である。

【０５２１】

いくつかの実施形態では、Ｚは存在しない。

【０５２２】

いくつかの実施形態では、Ａ$_1$及びＡ$_2$の少なくとも一方はＮである。

【０５２３】

いくつかの実施形態では、Ａ$_1$及びＡ$_2$のそれぞれはＮである。

【０５２４】

いくつかの実施形態では、Ａ$_1$及びＡ$_2$のそれぞれはＣＨである。

【０５２５】

いくつかの実施形態では、Ａ$_1$はＮであり、Ａ$_2$はＣＨである。

【０５２６】

いくつかの実施形態では、Ａ$_1$はＣＨであり、Ａ$_2$はＮである。

【０５２７】

いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、Ｒ$_4$、及びＲ$_5$は同じであり、かつＣ$_{12}$アルキルでも、Ｃ$_{18}$アルキルでも、またはＣ$_{18}$アルケニルでもない。いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、Ｒ$_4$、及びＲ$_5$は同じであり、Ｃ$_9$アルキルまたはＣ$_{14}$アルキルである。

【０５２８】

いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、Ｒ$_4$、及びＲ$_5$のうちの１つのみが、Ｃ$_{6-20}$アルケニルから選択される。特定のこのような実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、Ｒ$_4$、及びＲ$_5$が同数の炭素原子を有する。いくつかの実施形態では、Ｒ$_4$はＣ$_{5-20}$アルケニルから選択される。例えば、Ｒ$_4$は、Ｃ$_{12}$アルケニルであっても、またはＣ$_{18}$アルケニルであってもよい。

【０５２９】

いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、Ｒ$_4$、及びＲ$_5$のうちの少なくとも１つは、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、Ｒ$_4$、及びＲ$_5$のうちの他の少なくとも１つとは異なる数の炭素原子を有する。

【０５３０】

特定の実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$は、Ｃ$_{6-20}$アルケニルから選択され、そしてＲ$_4$及びＲ$_5$は、Ｃ$_{6-20}$アルキルから選択される。他の実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$は、Ｃ$_{6-20}$アルキルから選択され、Ｒ$_4$及びＲ$_5$は、Ｃ$_{6-20}$アルケニルから選択される。いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$は、同数の炭素原子を有する、及び／またはＲ$_4$及びＲ$_5$は同数の炭素原子を有する。例えば、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$、またはＲ$_4$及びＲ$_5$は、６、８、９、１２、１４、または１８個の炭素原

子を有してもよい。いくつかの実施形態では、R_1、R_2、及びR_3、またはR_4及びR_5は、C_{18}アルケニル（例えば、リノレイル）である。いくつかの実施形態では、R_1、R_2、及びR_3、またはR_4及びR_5は、６、８、９、１２、または１４個の炭素原子を含むアルキル基である。

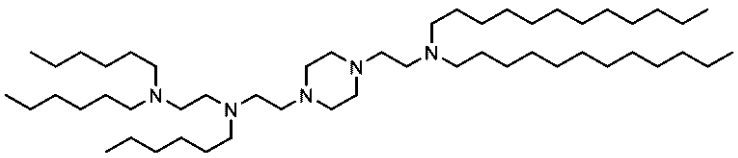
【０５３１】

いくつかの実施形態では、R_1は、R_2、R_3、R_4、及びR_5とは異なる数の炭素原子を有する。他の実施形態では、R_3は、R_1、R_2、R_4、及びR_5とは異なる数の炭素原子を有する。さらなる実施形態では、R_4は、R_1、R_2、R_3、及びR_5とは異なる数の炭素原子を有する。

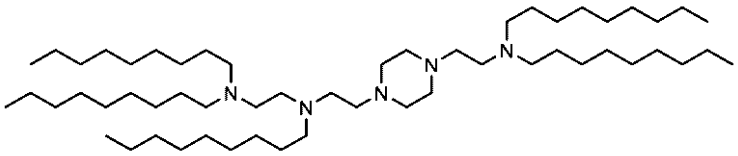
【０５３２】

いくつかの実施形態では、上記化合物は、以下からなる群より選択される：

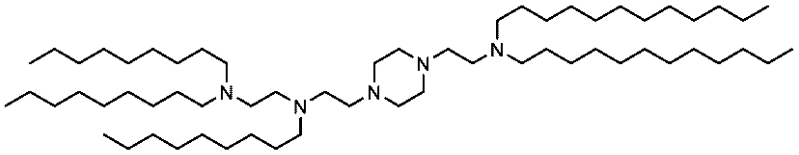
【化６８】



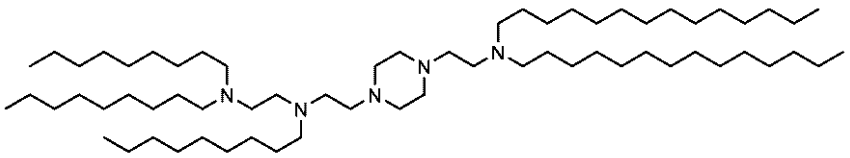
（化合物２４９）、



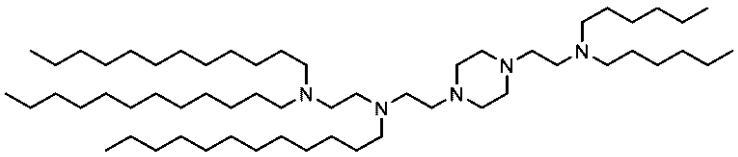
（化合物２５０）、



（化合物２５１）、

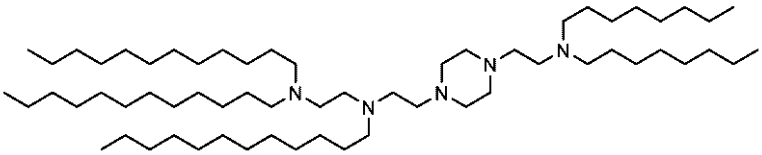


（化合物２５２）、

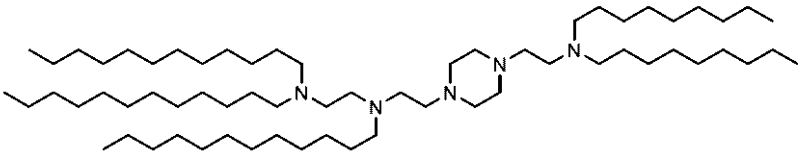


（化合物２５３）、

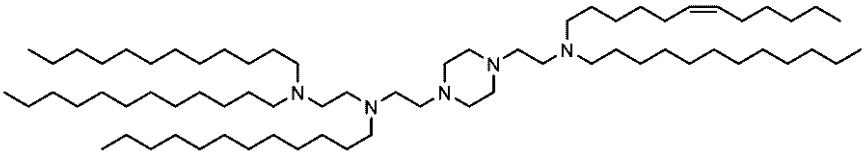
【化６９】



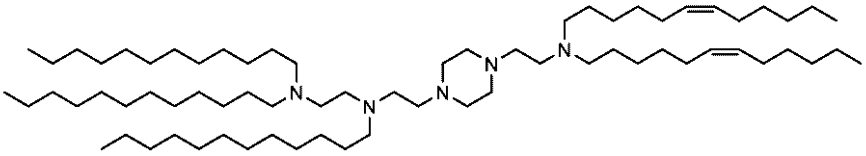
（化合物２５４）、



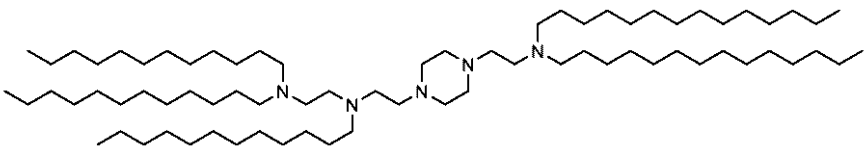
（化合物２５５）、



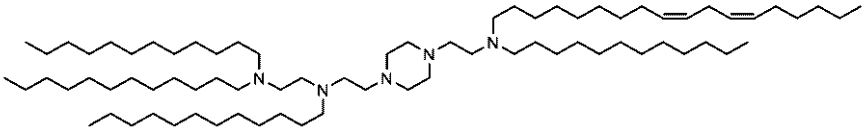
（化合物２５６）、



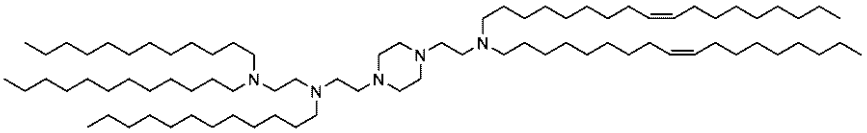
（化合物２５７）、



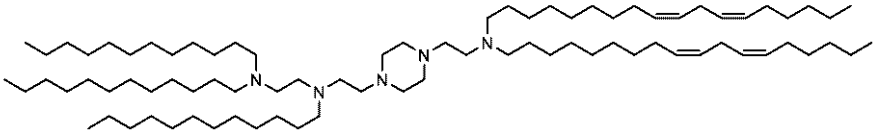
（化合物２５８）、



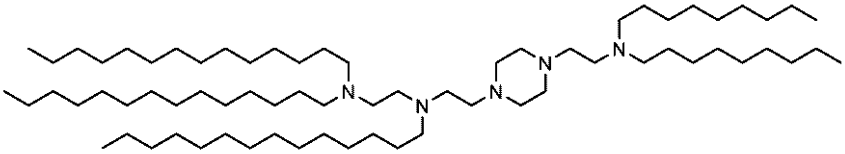
（化合物２５９）、



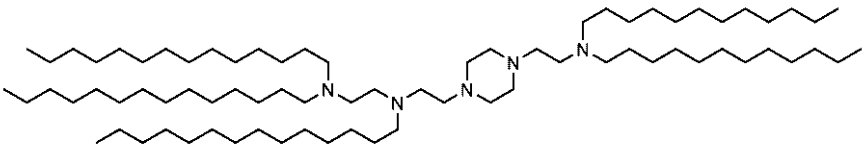
（化合物２６０）、



（化合物２６１）、

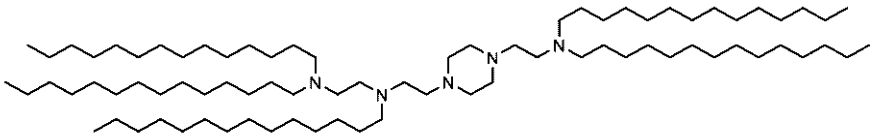


（化合物２６２）、

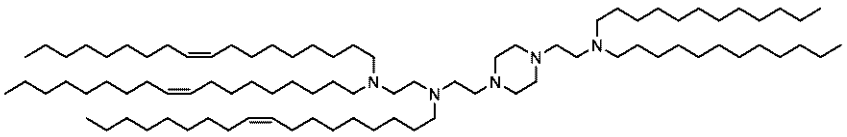


（化合物２６３）、

【化７０】

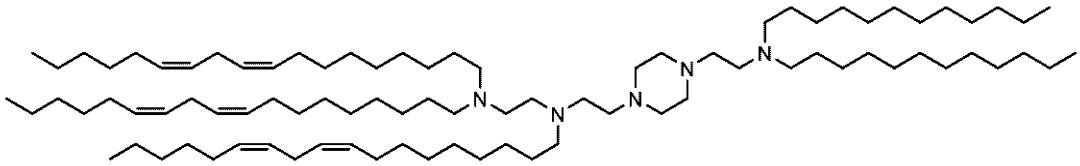


（化合物２６４）、



（化合物２６５）、

及び

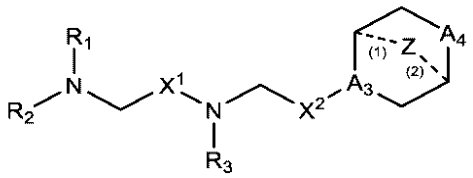


（化合物２６６）。

【０５３３】

他の実施形態では、送達剤は式（Ｖ）を有する化合物

【化７１】



（Ｖ）、

またはその塩もしくは立体異性体を含み、ここで

A_3はＣＨまたはＮであり；

A_4はCH_2またはＮＨであり；ならびにA_3及びA_4の少なくとも一方はＮまたはＮＨであり；

ＺはCH_2であるかまたは存在せず、ここでＺがCH_2であるとき、破線（１）及び（２）はそれぞれ単結合を表し；そして、Ｚが存在しないとき、破線（１）及び（２）は両方とも存在せず；

R_1、R_2、及びR_3は、独立して、C_{5-20}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ”ＭＲ’、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”、及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択され；

各Ｍは独立して、－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選択され；

X^1及びX^2は独立して、－CH_2－、－（CH_2）$_2$－、－ＣＨＲ－、－ＣＨＹ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－CH_2－、－ＯＣ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－CH_2－ＯＣ（Ｏ）－、－ＣＨ（ＯＨ）－、－Ｃ（Ｓ）－、及び－ＣＨ（ＳＨ）－からなる群より選択され；

各Ｙは独立してC_{3-6}炭素環であり；

各Ｒ＊は独立して、C_{1-12}アルキル及びC_{2-12}アルケニルからなる群より選択され；

各Ｒは独立して、C_{1-3}アルキル及びC_{3-6}炭素環からなる群より選択され；

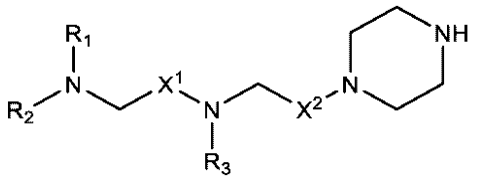
各Ｒ’は独立して、C_{1-12}アルキル、C_{2-12}アルケニル、及びＨからなる群より選択され；そして

各Ｒ”は、独立して、Ｃ$_{3-12}$アルキル及びＣ$_{3-12}$アルケニルからなる群より選択される。

【０５３４】

いくつかの実施形態では、化合物は式（Ｖａ）の化合物：

【化７２】



（Ｖａ）

のものである。

【０５３５】

適用可能であれば、式（Ｖ）または（Ｖａ）の化合物は、以下の特徴のうちの１つ以上を含む。

【０５３６】

いくつかの実施形態では、ＺはＣＨ$_2$である。

【０５３７】

いくつかの実施形態では、Ｚは存在しない。

【０５３８】

いくつかの実施形態では、Ａ$_3$及びＡ$_4$の少なくとも一方はＮまたはＮＨである。

【０５３９】

いくつかの実施形態では、Ａ$_3$はＮであり、Ａ$_4$はＮＨである。

【０５４０】

いくつかの実施形態では、Ａ$_3$はＮであり、Ａ$_4$はＣＨ$_2$である。

【０５４１】

いくつかの実施形態では、Ａ$_3$はＣＨであり、Ａ$_4$はＮＨである。

【０５４２】

いくつかの実施形態では、Ｘ^{1}及びＸ^{2}の少なくとも一方は－ＣＨ$_2$－ではない。例えば、特定の実施形態では、Ｘ^{1}は－ＣＨ$_2$－ではない。いくつかの実施形態では、Ｘ^{1}及びＸ^{2}の少なくとも一方は－Ｃ（Ｏ）－である。

【０５４３】

いくつかの実施形態では、Ｘ^{2}は－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ＣＨ$_2$－、－ＯＣ（Ｏ）－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、または－ＣＨ$_2$－ＯＣ（Ｏ）－である。

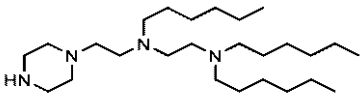
【０５４４】

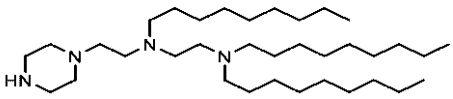
いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$は、独立して、Ｃ$_{5-20}$アルキル及びＣ$_{5-20}$アルケニルからなる群より選択される。いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$は同じである。特定の実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$は、Ｃ$_6$、Ｃ$_9$、Ｃ$_{12}$、またはＣ$_{14}$アルキルである。他の実施形態では、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$がＣ$_{18}$アルケニルである。例えば、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$は、リノレイルであってもよい。

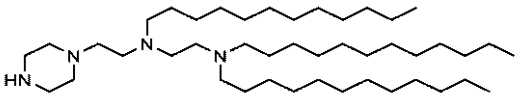
【０５４５】

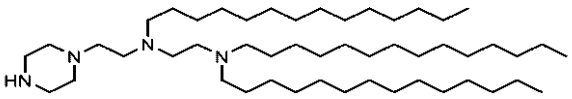
いくつかの実施形態では、化合物は、以下からなる群より選択される：

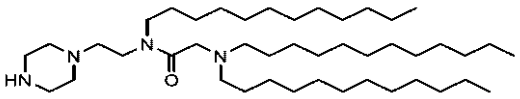
【化７３】

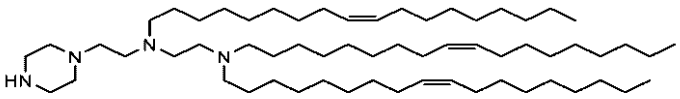

（化合物２６７）、

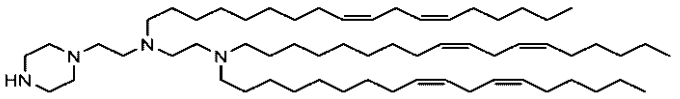

（化合物２６８）、

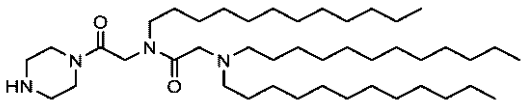

（化合物２６９）、


（化合物２７０）、


（化合物２７１）、


（化合物２７２）、

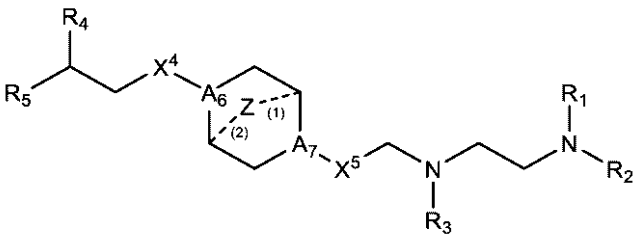

（化合物２７３）、及び


（化合物３０９）。

【０５４６】

他の実施形態では、送達剤は、式（ＶＩ）：

【化７４】


（ＶＩ）、

を有する化合物、またはその塩もしくは立体異性体を含み、ここで

A_6及びA_7はそれぞれ独立してＣＨまたはＮから選択され、ここでA_6及びA_7の少なくとも１つはＮであり；

ＺはCH_2であるかまたは存在せず、ここでＺがCH_2であるとき、破線（１）及び（２）はそれぞれ単結合を表し；Ｚが存在しないとき、破線（１）及び（２）は両方とも存在しない；

X^4及びX^5は独立して、－CH_2－、－$(CH_2)_2$－、－ＣＨＲ－、－ＣＨＹ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－CH_2－、－ＯＣ（Ｏ）－CH_2－、－CH_2－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－CH_2－ＯＣ（Ｏ）－、－ＣＨ（ＯＨ）－、－Ｃ（Ｓ）－、及び－ＣＨ（ＳＨ）－からなる群より選択され；

R_1、R_2、R_3、R_4、及びR_5はそれぞれ独立して、C_{5-20}アルキル、C_{5-20}アルケニル、－Ｒ”ＭＲ’、－Ｒ＊ＹＲ”、－ＹＲ”及び－Ｒ＊ＯＲ”からなる群より選択され；

各Ｍは独立して、－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より選択され；

各Ｙは独立して$Ｃ_{3-6}$炭素環であり；

各Ｒ＊は独立して、$Ｃ_{1-12}$アルキル及び$Ｃ_{2-12}$アルケニルからなる群より選択され；

各Ｒは独立して、$Ｃ_{1-3}$アルキル及び$Ｃ_{3-6}$炭素環からなる群より選択され；

各Ｒ’は独立して、$Ｃ_{1-12}$アルキル、$Ｃ_{2-12}$アルケニル、及びＨからなる群より選択され；そして

各Ｒ”は独立して、$Ｃ_{3-12}$アルキル及び$Ｃ_{3-12}$アルケニルからなる群より選択される。

【０５４７】

いくつかの実施形態では、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、$Ｒ_3$、$Ｒ_4$、及び$Ｒ_5$はそれぞれ独立して、$Ｃ_{6-20}$アルキル及び$Ｃ_{6-20}$アルケニルからなる群より選択される。

【０５４８】

いくつかの実施形態では、$Ｒ_1$と$Ｒ_2$とは同じである。特定の実施形態では、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、及び$Ｒ_3$は同じである。いくつかの実施形態では、$Ｒ_4$と$Ｒ_5$とは同じである。特定の実施形態では、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、$Ｒ_3$、$Ｒ_4$、及び$Ｒ_5$は同じである。

【０５４９】

いくつかの実施形態では、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、$Ｒ_3$、$Ｒ_4$、及び$Ｒ_5$のうちの少なくとも１つは$Ｃ_{9-12}$アルキルである。特定の実施形態では、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、$Ｒ_3$、$Ｒ_4$、及び$Ｒ_5$のそれぞれは、独立して、$Ｃ_9$、$Ｃ_{12}$または$Ｃ_{14}$アルキルである。特定の実施形態では、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、$Ｒ_3$、$Ｒ_4$、及び$Ｒ_5$のそれぞれは、$Ｃ_9$アルキルである。

【０５５０】

いくつかの実施形態では、$Ａ_6$はＮであり、かつ$Ａ_7$はＮである。いくつかの実施形態では、$Ａ_6$はＣＨでありかつ$Ａ_7$はＮである。

【０５５１】

いくつかの実施形態では、$Ｘ^4$は－$ＣＨ_2$－であり、かつ$Ｘ^5$は－Ｃ（Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、$Ｘ^4$及び$Ｘ^5$は－Ｃ（Ｏ）－である。

【０５５２】

いくつかの実施形態では、$Ａ_6$がＮでありかつ$Ａ_7$がＮである場合、$Ｘ^4$及び$Ｘ^5$の少なくとも一方は－$ＣＨ_2$－ではなく、例えば、$Ｘ^4$及び$Ｘ^5$の少なくとも一方は－Ｃ（Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、$Ａ_6$がＮであり、かつ$Ａ_7$がＮである場合、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、$Ｒ_3$、$Ｒ_4$、及び$Ｒ_5$の少なくとも１つは－Ｒ”ＭＲ’である。

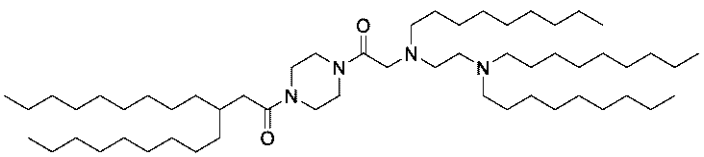
【０５５３】

いくつかの実施形態では、$Ｒ_1$、$Ｒ_2$、$Ｒ_3$、$Ｒ_4$、及び$Ｒ_5$のうちの少なくとも１つは－Ｒ”ＭＲ’ではない。

【０５５４】

いくつかの実施形態では、上記化合物は

【化７５】



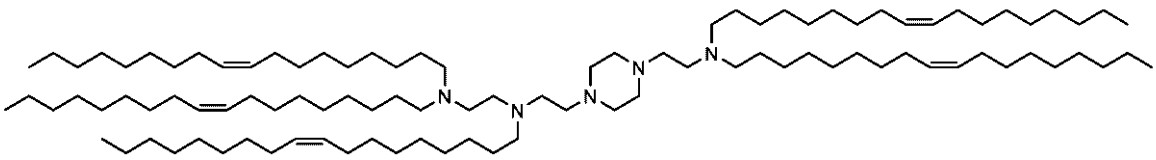
（化合物２９９）

である。

【０５５５】

他の実施形態では、上記送達剤は、以下の式：

【化７６】



（化合物３４２）

を有する化合物を含む。

【０５５６】

本明細書に開示されている脂質化合物のアミン部分は、特定の条件下でプロトン化され得る。例えば、式（Ｉ）による脂質の中心アミン部分は、典型的には、アミノ部分のｐＫａ未満のｐＨでプロトン化（すなわち、正に荷電）されており、ｐＫａを超えるｐＨでは実質的に荷電されていない。そのような脂質は、イオン性アミノ脂質と呼んでもよい。

【０５５７】

特定の一実施形態では、イオン性アミノ脂質は化合物１８である。別の実施形態では、イオン性アミノ脂質は化合物２３６である。

【０５５８】

いくつかの実施形態では、イオン性アミノ脂質、例えば、式（Ｉ）の化合物の量は、脂質組成物中で、約１モル％～９９モル％の範囲である。

【０５５９】

一実施形態では、イオン性アミノ脂質、例えば、式（Ｉ）の化合物の量は、脂質組成物中で、少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、または９９モル％である。

【０５６０】

一実施形態では、イオン性アミノ脂質、例えば、式（Ｉ）の化合物の量は、脂質組成物中で、約３０モル％～約７０モル％、約３５モル％～約６５モル％、約４０モル％～約６０モル％、及び約４５モル％～約５５モル％の範囲である。

【０５６１】

１つの特定の実施形態では、イオン性アミノ脂質、例えば、式（Ｉ）の化合物の量は、脂質組成物中で、約５０モル％である。

【０５６２】

本明細書に開示されるイオン性アミノ脂質、例えば、式（Ｉ）の化合物に加えて、本明細書に開示される薬学的組成物の脂質組成物は、リン脂質、構造脂質、ＰＥＧ－脂質、及びそれらの任意の組み合わせなどの追加の構成要素を含んでもよい。

【０５６３】

ｂ．リン脂質

本明細書に開示される薬学的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（多価）不飽和リン脂質、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。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。

【０５６４】

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。

【０５６５】

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。

【０５６６】

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つ以上の負荷電リン脂質と相互作用し得る。リン脂質の膜への融合は、脂質含有組成物（例えば、ＬＮＰ）の１つ以上の要素（例えば、治療剤）が膜を通過すること、例えば、１つ以上の要素の標的組織への送達を可能にし得る。

【０５６７】

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む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）で官能化されても、または架橋されてもよい。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付加環化を受け得る。そのような反応は、膜透過もしくは細胞認識を容易にするためにナノ粒子組成物の脂質二重層を官能化することにおいて、または標的化もしくは画像化部分（例えば、染料）などの有用な構成要素にナノ粒子組成物を結合することにおいて有用であり得る。

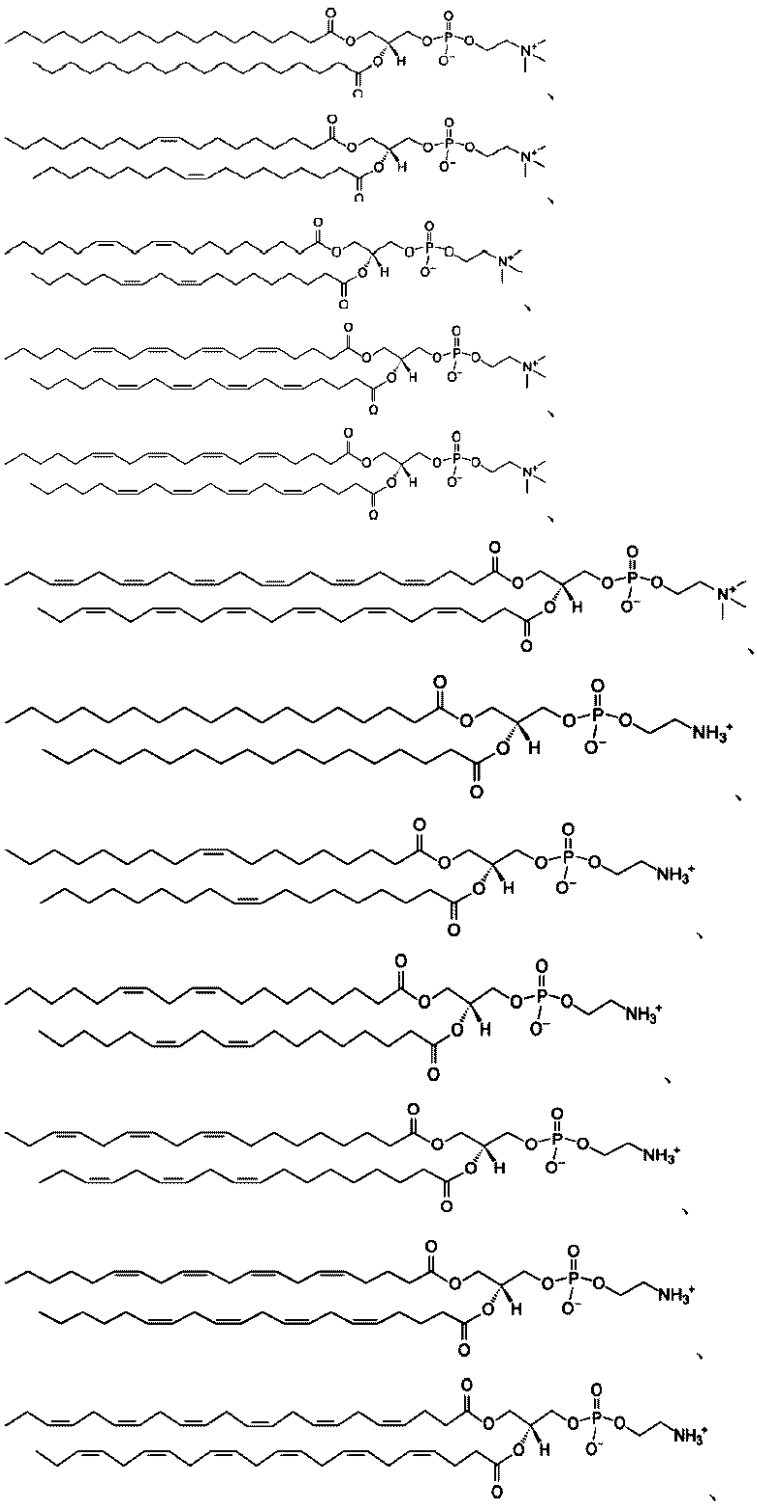
【０５６８】

リン脂質としては、限定するものではないが、グリセロリン脂質、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などが挙げられる。リン脂質としてはまた、スフィンゴミエリンなどのスフィンゴ糖脂質も挙げられる。

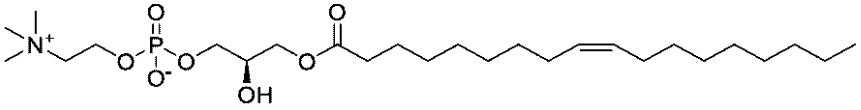
【０５６９】

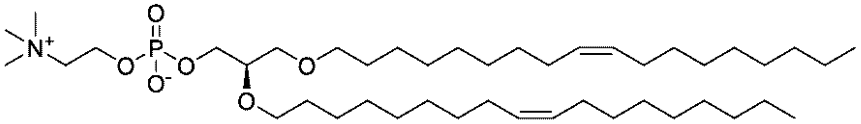
リン脂質の例としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：

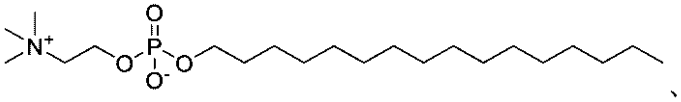
【化７７】

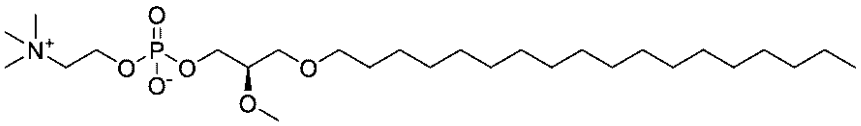


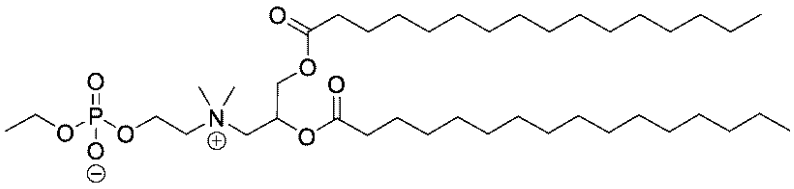
【化７８】


、


、


、

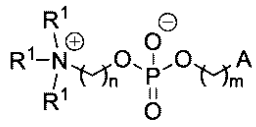

、及び


。

【０５７０】

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、ＤＳＰＣ（１，２－ジオクタデカノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）の類似体またはバリアントである。特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、式（ＩＸ）の化合物：

【化７９】



（ＩＸ）、

（またはその塩であり、式中：

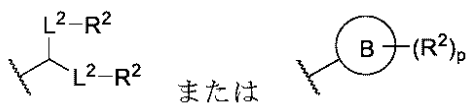
各Ｒ^{1}は独立して必要に応じて置換されているアルキルであるか；あるいは必要に応じて２つのＲ^{1}が介在原子と一緒になって連結され、必要に応じて置換されている単環式カルボシクリルまたは必要に応じて置換されている単環式ヘテロシクリルを形成するか；あるいは必要に応じて３つのＲ^{1}が介在原子と一緒になって連結され、必要に応じて置換されている二環式カルボシクリルを形成するかまたは必要に応じて置換二環式ヘテロシクリルを形成し；

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、以下の式：

【化８０】



のものであり；

Ｌ^{2}の各例は独立して、結合または必要に応じて置換されているＣ$_{1-6}$アルキレンであり、ここで必要に応じて置換されているＣ$_{1-6}$アルキレンの１つのメチレン単位は、

必要に応じて－Ｏ－、－Ｎ（Ｒ^{Ｎ}）－、－Ｓ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{Ｎ}）－、－ＮＲ^{Ｎ}Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－ＯＣ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－Ｎ（Ｒ^{Ｎ}）－、－ＮＲ^{Ｎ}Ｃ（Ｏ）Ｏ－、または－ＮＲ^{Ｎ}Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{Ｎ}）－で置換されており；

Ｒ^{2}の各実例は、独立して、必要に応じて置換されているＣ$_{1-30}$アルキル、必要に応じて置換されているＣ$_{1-30}$アルケニル、または必要に応じて置換されているＣ$_{1-30}$アルキニルであり；必要に応じて、ここで、Ｒ^{2}の１つ以上のメチレン単位は独立して、必要に応じて置換されているカルボシクリレン、必要に応じて置換されているヘテロシクリレン、必要に応じて置換されているアリーレン、必要に応じて置換されているヘテロアリーレン、－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；

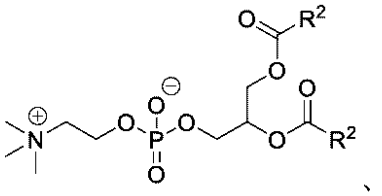
Ｒ^{Ｎ}の各実例は、独立して、水素、必要に応じて置換されているアルキル、または窒素保護基であり；

環Ｂは、必要に応じて置換されているカルボシクリル、必要に応じて置換されているヘテロシクリル、必要に応じて置換されているアリール、または必要に応じて置換されているヘテロアリールであり；そして

ｐは１または２であり；

ただし、上記化合物は式：

【化８１】



、

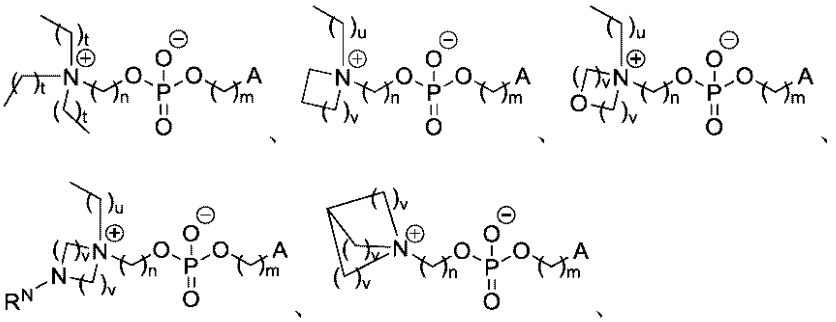
のものではなく、式中、Ｒ^{2}の各実例は、独立して、非置換アルキル、非置換アルケニル、または非置換アルキニルである。

【０５７１】

ｉ）リン脂質ヘッドの修飾

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾リン脂質ヘッド（例えば、修飾コリン基）を含む。特定の実施形態では、修飾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（ＩＸ）の実施形態では、少なくとも１つのＲ^{1}はメチルではない。特定の実施形態では、Ｒ^{1}の少なくとも１つは、水素でもまたはメチルでもない。特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、以下の式；

【化８２】

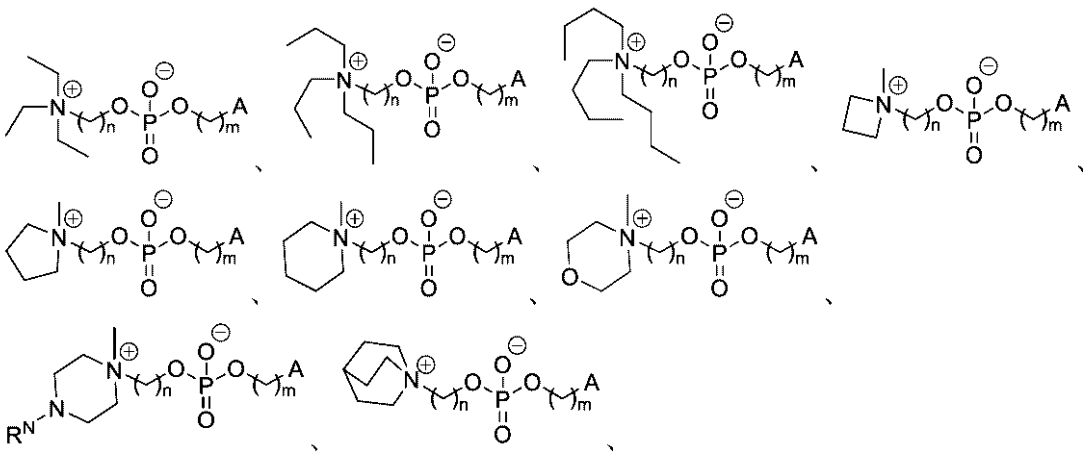


のうちの１つのもの、
またはその塩であり、式中：
各ｔは独立して１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり；
各ｕは独立して０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり；かつ
各ｖは独立して１、２、または３である。

【０５７２】

特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、以下の式：

【化８３】

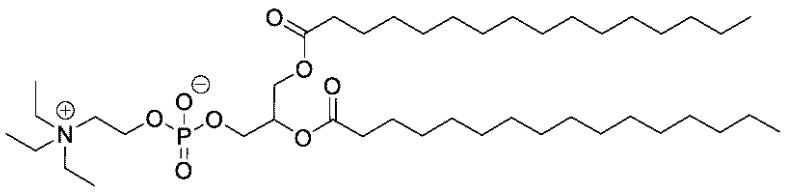


のうちの１つのもの、
またはその塩である。

【０５７３】

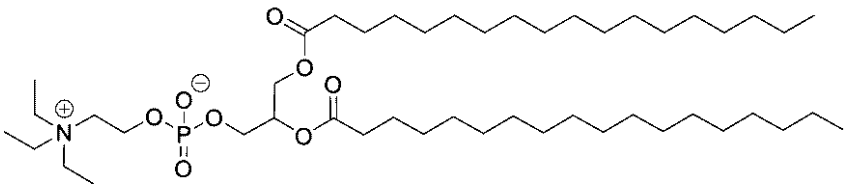
特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、以下：

【化８３－２】

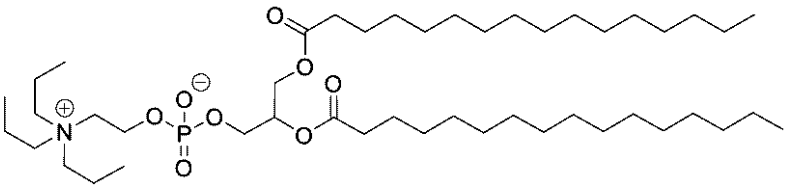


（化合物４００）

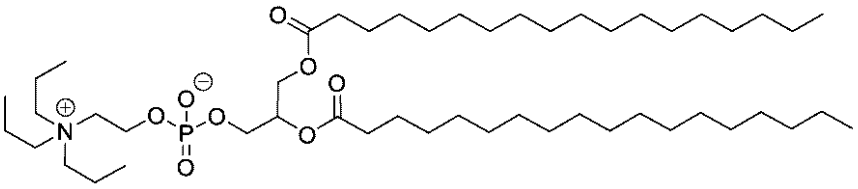
【化８４】



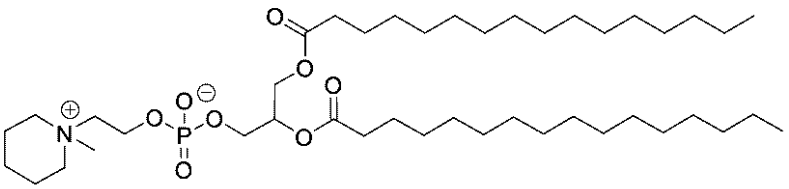
（化合物４０１）



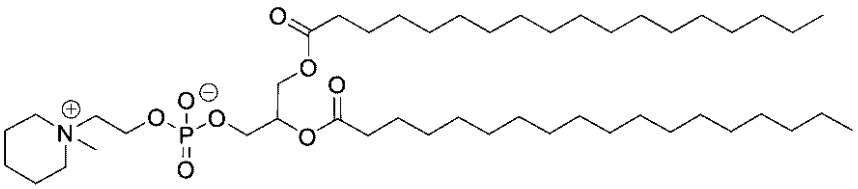
（化合物４０２）



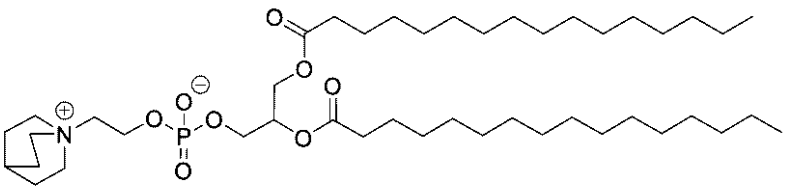
（化合物４０３）



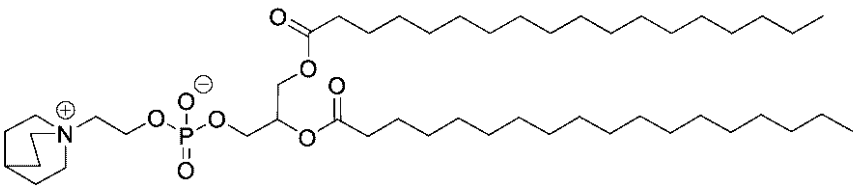
（化合物４０４）



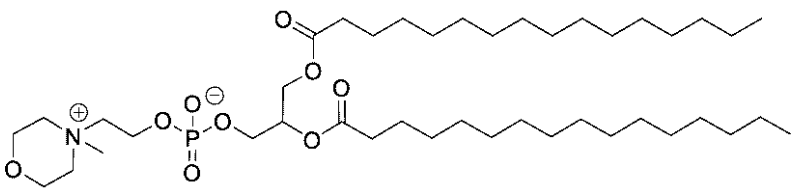
（化合物４０５）



（化合物４０６）

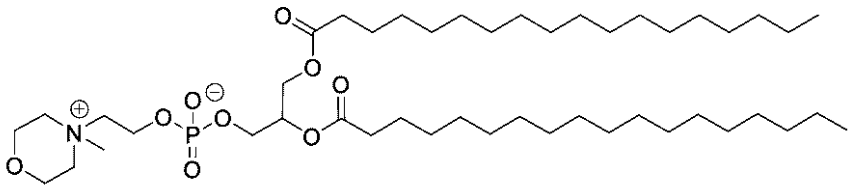


（化合物４０７）



（化合物４０８）

【化８５】



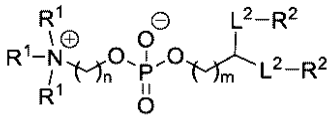
（化合物４０９）、

のうちの１つ、
またはその塩である。

【０５７４】

特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、式（ＩＸ－ａ）：

【化８６】



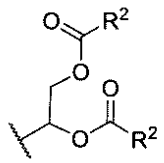
（ＩＸ－ａ）、

のもの、
またはその塩である。

【０５７５】

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾コアを含む。特定の実施形態では、本明細書に記載の修飾コアを有するリン脂質は、修飾コア構造を有する、ＤＳＰＣまたはその類似体である。例えば、式（ＩＸ－ａ）の特定の実施態様では、基Ａは、以下の式：

【化８７】

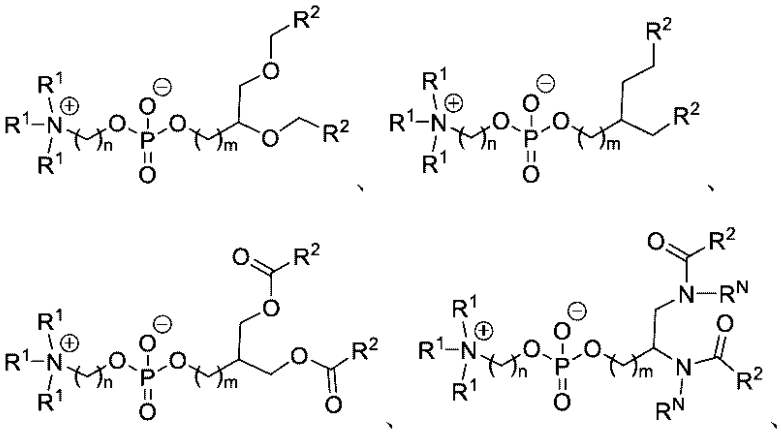


のものではない。

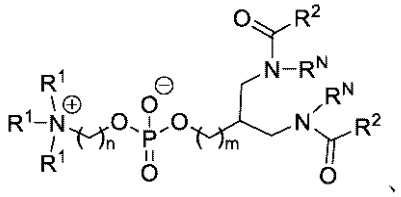
【０５７６】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ａ）の化合物は、以下の式のうちの１つ：

【化８８】



【化８９】



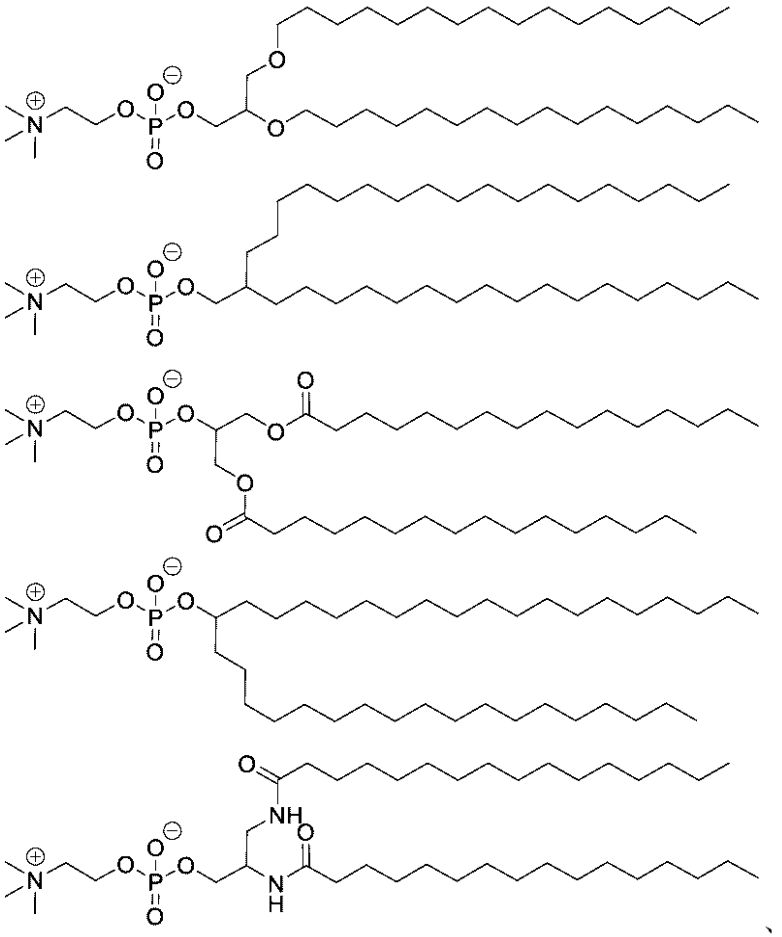
、

のもの、
またはその塩である。

【０５７７】

特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、以下：

【化９０】



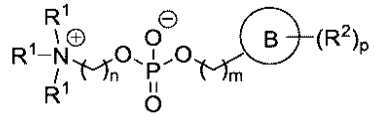
、

のうち１つ、
またはその塩である。

【０５７８】

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、グリセリド部分の代わりに環状部分を含む。特定の実施形態では、本発明において有用なリン脂質は、グリセリド部分の代わりに環式部分を有する、ＤＳＰＣ（１，２－ジオクタデカノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、またはその類似体である。特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、式（ＩＸ－ｂ）のもの：

【化９１】

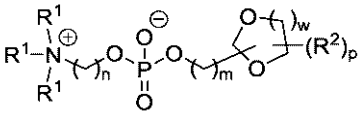

、

（ＩＸ－ｂ）、
またはその塩である。

【０５７９】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｂ）の化合物は、式（ＩＸ－ｂ－１）のもの：

【化９２】

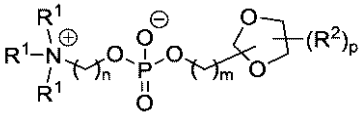

（ＩＸ－ｂ－１）、

またはその塩であり、式中：
ｗは、０、１、２、または３である。

【０５８０】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｂ）の化合物は、式（ＩＸ－ｂ－２）のもの：

【化９３】

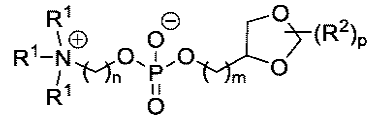

（ＩＸ－ｂ－２）、

またはその塩である。

【０５８１】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｂ）の化合物は、式（ＩＸ－ｂ－３）のもの：

【化９４】

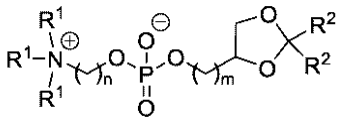

（ＩＸ－ｂ－３）、

またはその塩である。

【０５８２】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｂ）の化合物は、式（ＩＸ－ｂ－４）のもの：

【化９５】

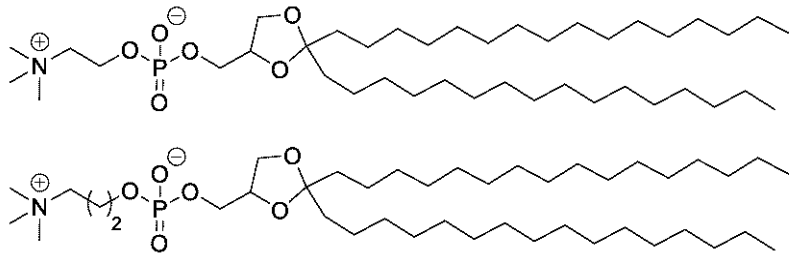

（ＩＸ－ｂ－４）、

またはその塩である。

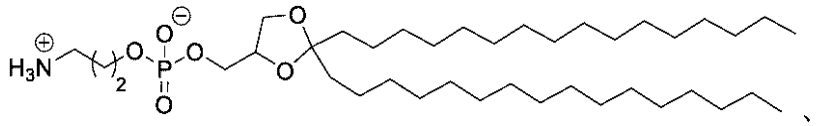
【０５８３】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｂ）の化合物は、以下：

【化９６】



【化９７】



のうちの１つのものまたはその塩である。

【０５８４】

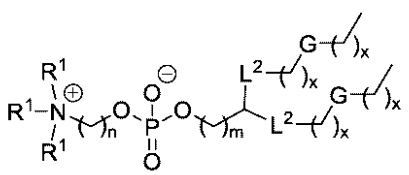
（ｉｉ）リン脂質テール修飾

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾テールを含む。特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、修飾テールを有するＤＳＰＣ（１，２－ジオクタデカノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン）、またはその類似体である。本明細書に記載される場合、「修飾テール」とは、より短いまたはより長い脂肪鎖、分岐が導入された脂肪鎖、置換が導入された脂肪鎖、１つ以上のメチレンが環状基またはヘテロ原子基によって置き換えられる脂肪鎖、またはそれらの任意の組み合わせを有するテールであり得る。例えば、特定の実施形態では、（ＩＸ）の化合物は、式（ＩＸ－ａ）のものまたはその塩であり、式中、R^2の少なくとも１つの事例は、必要に応じて、C_{1-30}アルキルで置換されているR^2のそれぞれの事例であり、ここでR^2の１つ以上のメチレン単位は、独立して、必要に応じて置換されているカルボシクリレン、必要に応じて置換されているヘテロシクリレン、必要に応じて置換されているアリーレン、必要に応じて置換されているヘテロアリーレン、－Ｎ（R^N）－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^N）－、－ＮR^NＣ（Ｏ）－、－ＮR^NＣ（Ｏ）Ｎ（R^N）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－ＯＣ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R^N）－、－ＮR^NＣ（Ｏ）Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（＝ＮR^N）－、－Ｃ（＝ＮR^N）Ｎ（R^N）－、－ＮR^NＣ（＝ＮR^N）－、－ＮR^NＣ（＝ＮR^N）Ｎ（R^N）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（Ｓ）Ｎ（R^N）－、－ＮR^NＣ（Ｓ）－、－ＮR^NＣ（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－で置き換えられる。

【０５８５】

特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、式（ＩＸ－ｃ）のもの：

【化９８】



（ＩＸ－ｃ）、

またはその塩であり、式中：

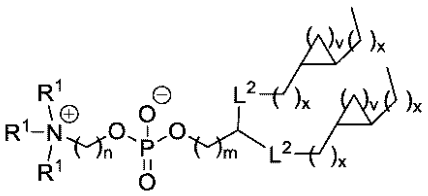
各ｘは独立して、０～３０の整数（包括的）であり；そして

各々の事例は、Ｇであり、独立して、必要に応じて置換されているカルボシクリレン、必要に応じて置換されているヘテロシクリレン、必要に応じて置換されているアリーレン、必要に応じて置換されているヘテロアリーレン、－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－からなる群より選択される。各々の可能性は、本発明の別の実施形態に相当する。

【０５８６】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｃ）の化合物は、式（ＩＸ－ｃ－１）のもの：

【化９９－１】



（ＩＸ－ｃ－１）、

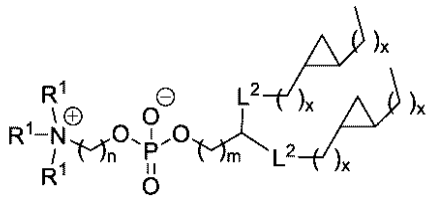
またはその塩であり、式中：

ｖの各々の事例は、独立して１、２、または３である。

【０５８７】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｃ）の化合物は、式（ＩＸ－ｃ－２）のもの：

【化９９－２】



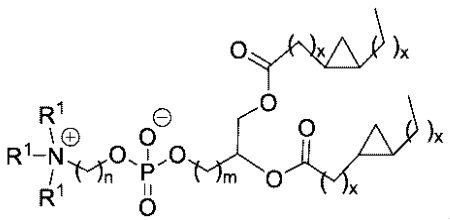
（ＩＸ－ｃ－２）、

またはその塩である。

【０５８８】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｃ）の化合物は、以下の式のもの：

【化１００】



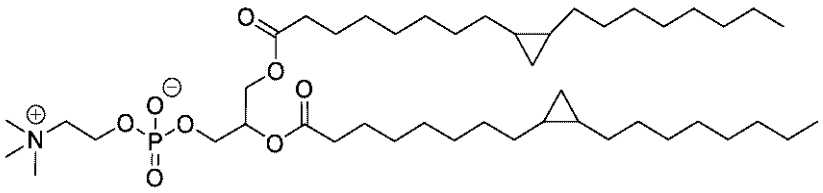
，

またはその塩である。

【０５８９】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｃ）の化合物は、以下：

【化１０１】



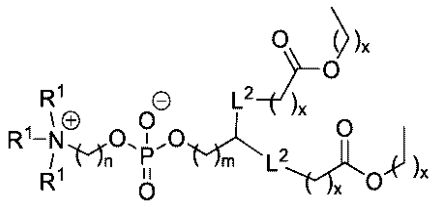
、

またはその塩である。

【０５９０】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｃ）の化合物は、式（ＩＸ－ｃ－３）のもの：

【化１０２】



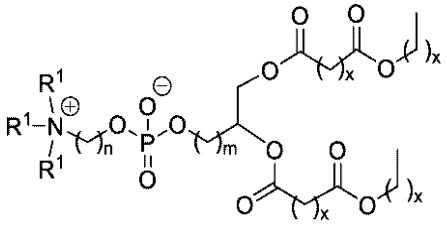
（ＩＸ－ｃ－３）、

またはその塩である。

【０５９１】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｃ）の化合物は、以下の式のもの：

【化１０３】



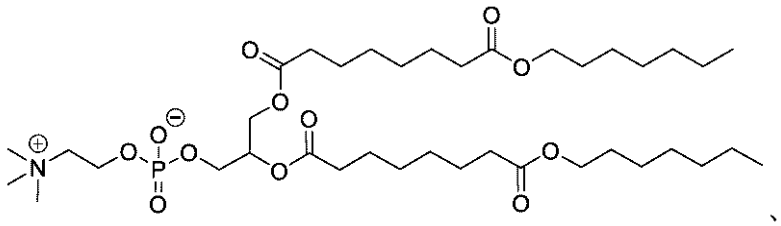
、

またはその塩である。

【０５９２】

特定の実施形態では、式（ＩＸ－ｃ）の化合物は、以下：

【化１０４】



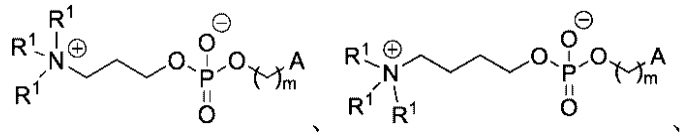
、

またはその塩である。

【０５９３】

特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、第四級アミンをホスホリル基に連結するアルキル鎖がエチレンではない（例えば、ｎが２ではない）修飾ホスホコリン部分を含む。したがって、特定の実施形態では、本発明において有用または潜在的に有用なリン脂質は、式（ＩＸ）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、特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、以下の式のうちの１つのもの：

【化１０５】



、

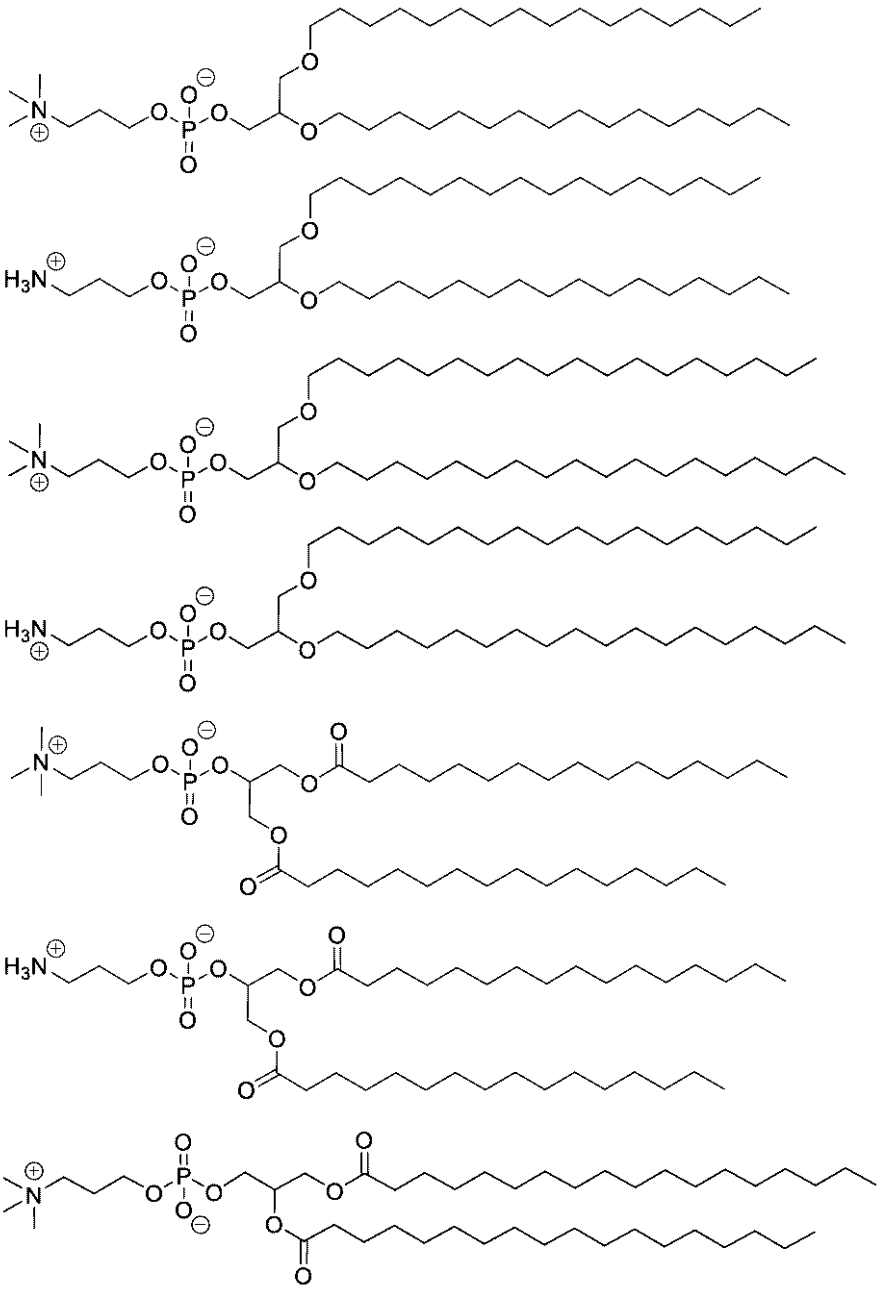
、

またはその塩である。

【０５９４】

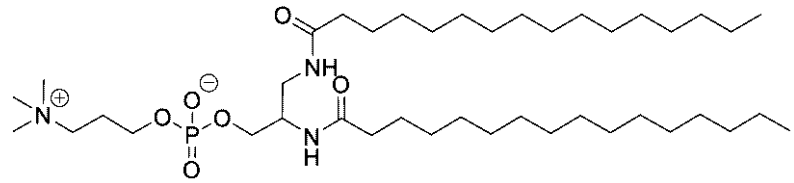
特定の実施形態では、式（ＩＸ）の化合物は、以下：

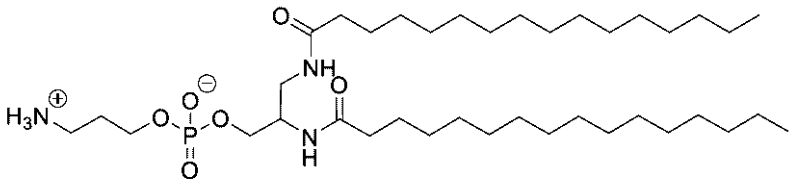
【化１０６】

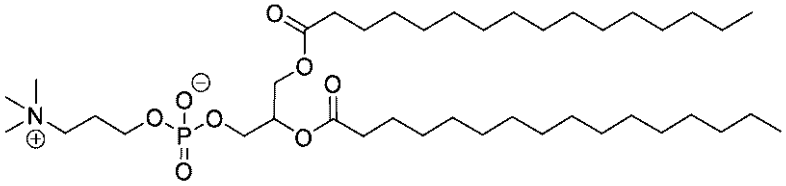


（化合物４１１）

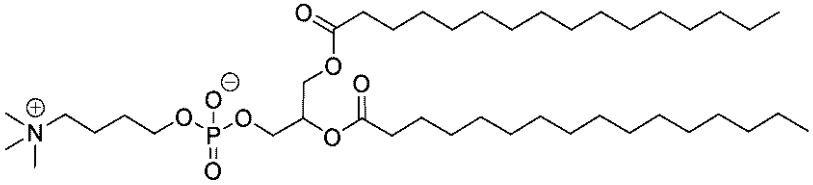
【化１０７】



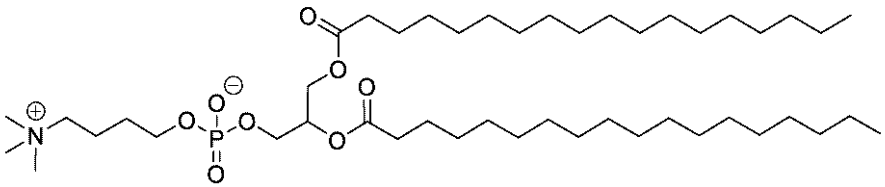




（化合物４１２）



（化合物４１３）



（化合物４１４）、

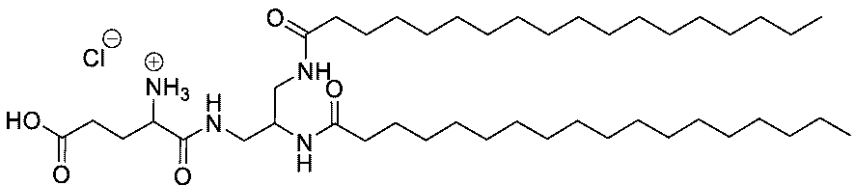
のうちの１つ、またはその塩である。

【０５９５】

ｃ．代替の脂質

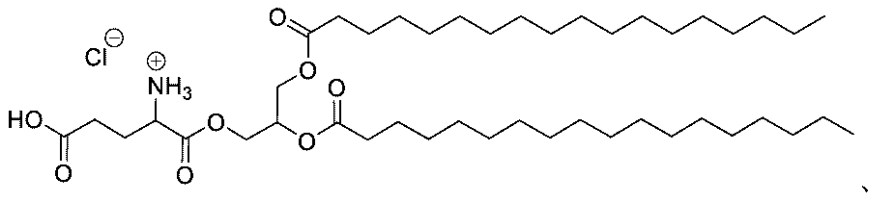
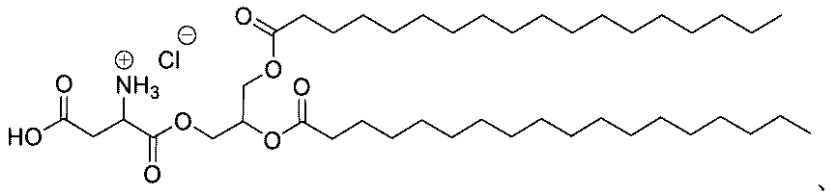
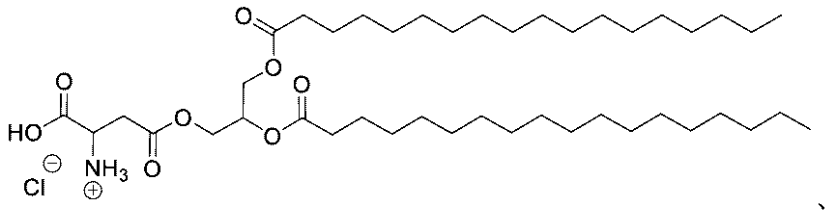
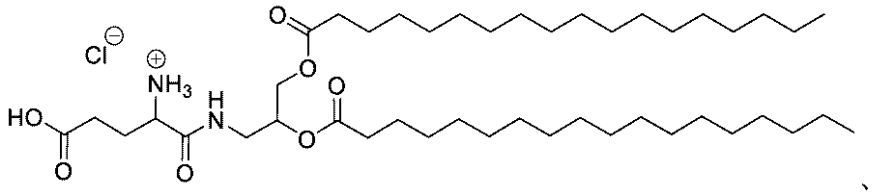
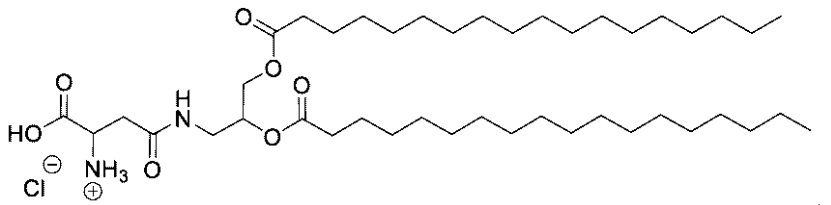
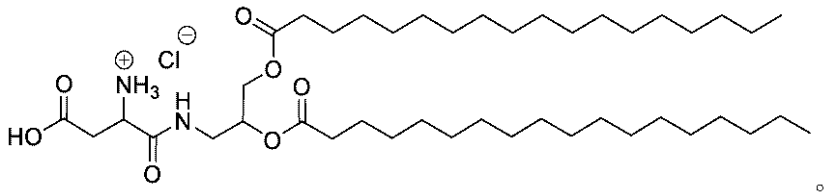
特定の実施形態では、本発明のリン脂質の代わりに代替の脂質が使用される。そのような代替脂質の非限定的な例としては以下が挙げられる：

【化１０８】



、

【化１０９】


、

、

、

、

、及び

。

【０５９６】

ｄ．構造脂質

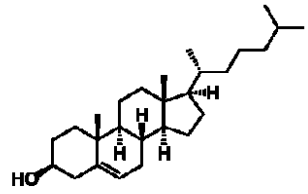
本明細書に開示される薬学的組成物の脂質組成物は、１つ以上の構造脂質を含んでもよい。本明細書中で使用される場合、「構造脂質」という用語は、ステロール及びステロール部分を含有する脂質を指す。

【０５９７】

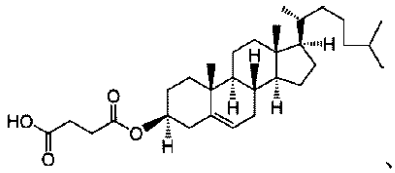
脂質ナノ粒子への構造脂質の組み込みは、粒子中の他の脂質の凝集を軽減することを補助し得る。構造脂質は、限定するものではないが、コレステロール、フェコステロール、シトステロール、エルゴステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、アルファ－トコフェロール、ホパノイド、フィトステロール、ステロイド、及びそれらの混合物を含む群から選択され得る。いくつかの実施形態では、構造脂質はステロールである。本明細書で定義される場合、「ステロール」とは、ステロイドアルコールからなるステロイドのサブグループである。特定の実施形態では、構造脂質はステロイドである。特定の実施形態では、構造脂質はコレ

ステロールである。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。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。構造脂質の例としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：

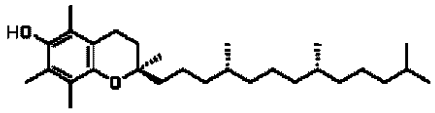
【化１１０】



、



、及び



。

【０５９８】

一実施形態では、本明細書に開示される薬学的組成物の脂質組成物中の構造脂質（例えば、コレステロールなどのステロール）の量は、約２０モル％～約６０モル％、約２５モル％～約５５モル％、約３０モル％～約５０モル％、または約３５モル％～約４５モル％の範囲である。

【０５９９】

一実施形態では、本明細書に開示される脂質組成物中の構造脂質（例えば、コレステロールなどのステロール）の量は、約２５モル％～約３０モル％、約３０モル％～約３５モル％、または約３５～約４０モル％の範囲である。

【０６００】

一実施形態では、本明細書に開示される脂質組成物中の構造脂質（例えば、コレステロールなどのステロール）の量は、約２４モル％、約２９モル％、約３４モル％、または約３９モル％である。

【０６０１】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の脂質組成物中の構造脂質（例えば、コレステロールなどのステロール）の量は、少なくとも約２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、または６０モル％である。

【０６０２】

ｅ．ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）－脂質

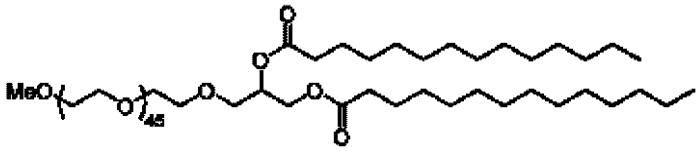
本明細書中に開示される薬学的組成物の脂質組成物は、１つ以上のポリエチレングリコール（ＰＥＧ）脂質を含み得る。

【０６０３】

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）修飾脂質を指す。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－Ｃｅｒ２０）、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。そのような脂質はまた、ＰＥＧ化脂質とも呼ばれる。例えば、ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ－ｃ－ＤＯＭＧ、ＰＥＧ－ＤＭＧ、ＰＥＧ－ＤＬＰＥ、ＰＥＧ－ＤＭＰＥ、ＰＥＧ－ＤＰＰＣ、またはＰＥＧ－ＤＳＰＥ脂質であってもよい。

【０６０４】
いくつかの実施形態では、ＰＥＧ脂質としては、限定するものではないが、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－ジステアリルグリセロール（ＰＥＧ－ＤＳＧ）、ＰＥＧ－ジパルメトレイル、ＰＥＧ－ジオレイル、ＰＥＧ－ジステアリル、ＰＥＧ－ジアシルグリカミド（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プロピル－３－アミン（ＰＥＧ－ｃ－ＤＭＡ）が挙げられる。
【０６０５】
一実施形態では、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、及びそれらの混合物からなる群より選択される。
【０６０６】
いくつかの実施形態では、ＰＥＧ脂質の脂質部分としては、約C_{14}～約C_{22}、好ましくは約C_{14}～約C_{16}の長さを有するものを含む。いくつかの実施形態では、ＰＥＧ部分、例えば、ｍＰＥＧ－NH_2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。一実施形態では、ＰＥＧ脂質は、PEG_{2k}－ＤＭＧである。
【０６０７】
一実施形態では、本明細書に記載の脂質ナノ粒子は、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。
【０６０８】
ＰＥＧ－脂質は、米国特許第８１５８６０１号及び国際公開第ＷＯ２０１５／１３０５８４Ａ２号（そ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など、当該技術分野において公知である。
【０６０９】
一般に、本明細書に記載されている様々な式の他の脂質構成要素（例えば、ＰＥＧ脂質）のいくつかは、その全体が参考として本明細書に組み込まれる、「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号に記載のとおり合成され得る。
【０６１０】
脂質ナノ粒子組成物の脂質構成要素は、ポリエチレングリコールを含む１つ以上の分子、例えば、ＰＥＧまたはＰＥＧ修飾脂質を含んでもよい。そのような種は、代わりにＰＥＧ化脂質も呼ばれてもよい。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、及びそれらの混合物を含む非限定的な群から選択され得る。例えば、ＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ－ｃ－ＤＯＭＧ、ＰＥＧ－ＤＭＧ、ＰＥＧ－ＤＬＰＥ、ＰＥＧ－ＤＭＰＥ、ＰＥＧ－ＤＰＰＣ、またはＰＥＧ－ＤＳＰＥ脂質であってもよい。
【０６１１】
いくつかの実施形態では、ＰＥＧ修飾脂質は、ＰＥＧ　ＤＭＧの修飾型である。ＰＥＧ－ＤＭＧは以下の構造を有する：

【化１１１】



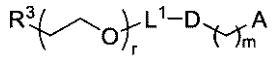
【０６１２】

一実施形態では、本発明において有用なＰＥＧ脂質は、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第ＷＯ２０１２０９９７５５号に記載されているＰＥＧ化脂質であってもよい。本明細書に記載の任意のこれらの例示的なＰＥＧ脂質は、ＰＥＧ鎖上にヒドロキシル基を含むように修飾され得る。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ように、「ＰＥＧ－ＯＨ脂質」（本明細書では「ヒドロキシ－ＰＥＧ化脂質」とも呼ばれる）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。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。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。

【０６１３】

特定の実施形態では、本発明において有用なＰＥＧ脂質は、式（ＶＩＩ）の化合物である。本明細書で提供されるのは、式（ＶＩＩ）の化合物

【化１１２】



（ＶＩＩ）、

またはその塩であり、式中：

R^3は、$-OR^O$であり；

R^Oは、水素、必要に応じて置換されているアルキル、または酸素保護基であり；

ｒは１～１００の整数（包括的）であり；

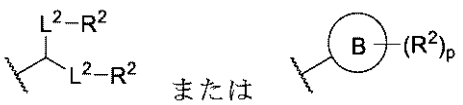
L^1は、必要に応じて置換されているC_{1-10}アルキレンであり、ここで、必要に応じて置換されているC_{1-10}アルキレンの少なくとも１つのメチレンは独立して、必要に応じて置換されているカルボシクリレン、必要に応じて置換されているヘテロシクリレン、必要に応じて置換されているアリーレン、必要に応じて置換されているヘテロアリーレン、Ｏ、Ｎ（R^N）、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^N）、NR^NC（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ）、－ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R^N）、NR^NC（Ｏ）Ｏ）、またはNR^NC（Ｏ）Ｎ（R^N）で置換されており；

Ｄは、クリックケミストリーまたは生理学的条件下で切断可能な部分によって得られる部分であり；

ｍは、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり；

Ａは、式：

【化１１３】



のものであり；

L^2の各事例は独立して結合または必要に応じて置換されているC_{1-6}アルキレンであり、ここで必要に応じて置換されているC_{1-6}アルキレンの１つのメチレン単位は必要に応じて、Ｏ、Ｎ（R^N）、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^N）、NR^NC（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R^N）、NR^NC（Ｏ）Ｏ、またはNR^NC（Ｏ）Ｎ（R^N）で置換されており；

R^2の各事例は、独立して、必要に応じて置換されているC_{1-30}アルキル、必要に応じて置換されているC_{1-30}アルケニル、または必要に応じて置換されているC_{1-30}アルキニルであり；必要に応じてここで、R^2の１つ以上のメチレン単位は独立して、必要に応じて置換されているカルボシクリレン、必要に応じて置換されているヘテロシクリレン、必要に応じて置換されているアリーレン、必要に応じて置換されているヘテロアリーレン、N（R^N）、O、S、C（O）、C（O）N（R^N）、NR^NC（O）、－NR^NC（O）N（R^N）、C（O）O、OC（O）、OC（O）O、OC（O）N（R^N）、NR^NC（O）O、C（O）S、SC（O）、－C（＝NR^N）、C（＝NR^N）N（R^N）、NR^NC（＝NR^N）、NR^NC（＝NR^N）N（R^N）、C（S）、C（S）N（R^N）、NR^NC（S）、NR^NC（S）N（R^N）、S（O）、OS（O）、S（O）O、OS（O）O、$OS(O)_2$、$S(O)_2O$、$OS(O)_2O$、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）$S(O)_2$、$S(O)_2N$（R^N）、N（R^N）$S(O)_2N$（R^N）、$OS(O)_2N$（R^N）、またはN（R^N）$S(O)_2O$で置換されており；

R^Nの各事例は独立して、水素、必要に応じて置換されているアルキル、または窒素保護基であり；

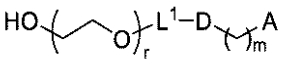
環Bは必要に応じて置換されているカルボシクリル、必要に応じて置換されているヘテロシクリル、必要に応じて置換されているアリール、または必要に応じて置換されているヘテロアリールであり；そして

pは１または２である。

【０６１４】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、ＰＥＧ－ＯＨ脂質である（すなわち、R^3は－OR^Oであり、R^Oは水素である）。特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、式（ＶＩＩ－ＯＨ）のもの：

【化１１４】



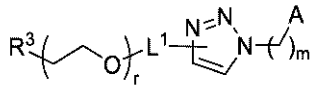
（ＶＩＩ－ＯＨ）、

またはその塩である。

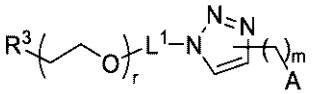
【０６１５】

特定の実施形態では、Dは、クリックケミストリー（例えば、トリアゾール）によって得られる部分である。特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、式（ＶＩＩ－ａ－１）もしくは（ＶＩＩ－ａ－２）のもの：

【化１１５】



もしくは



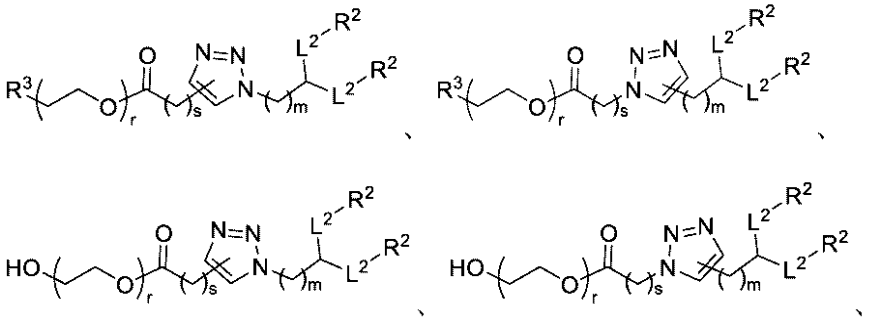
（ＶＩＩ－ａ－１）　　（ＶＩＩ－ａ－２）、

またはその塩である。

【０６１６】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

【化１１６】

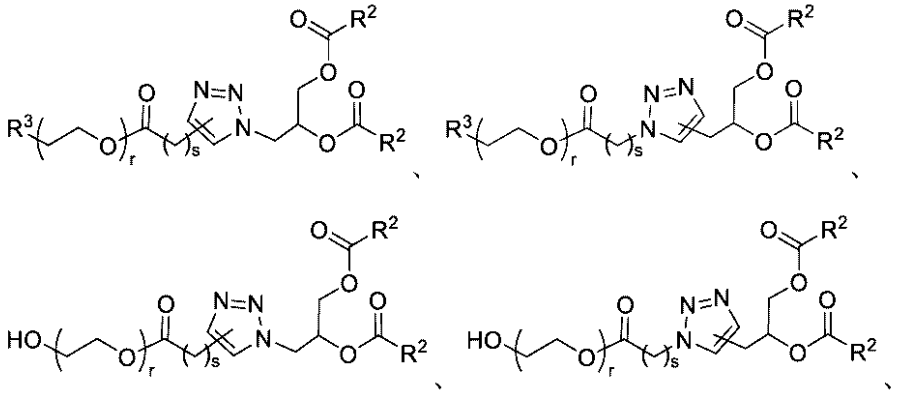


またはその塩であり、式中
ｓは、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０である。

【０６１７】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

【化１１７】

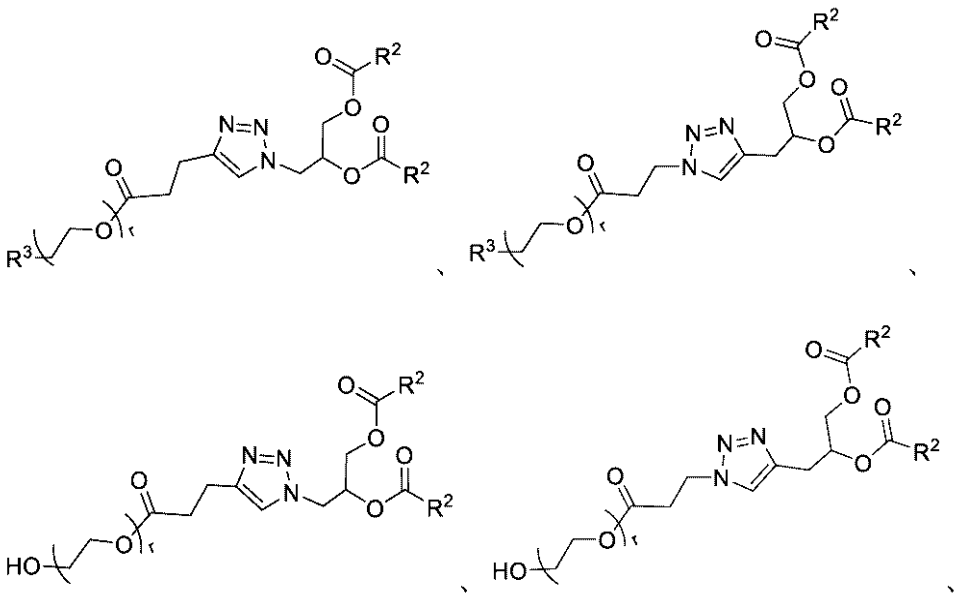


またはその塩である。

【０６１８】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

【化１１８】

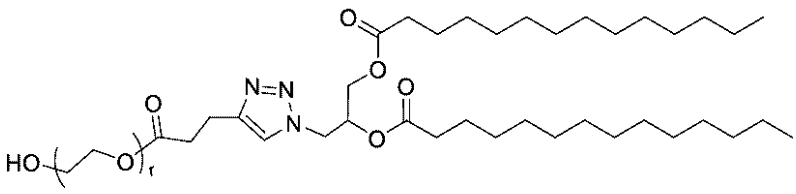


またはその塩である。

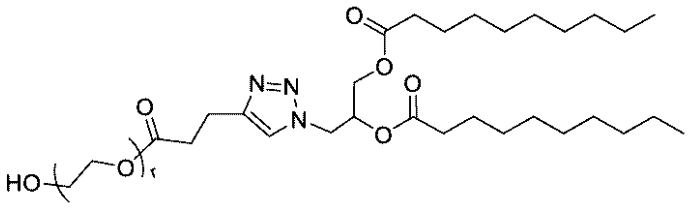
【０６１９】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

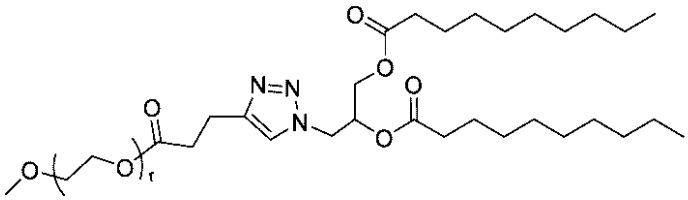
【化１１９】



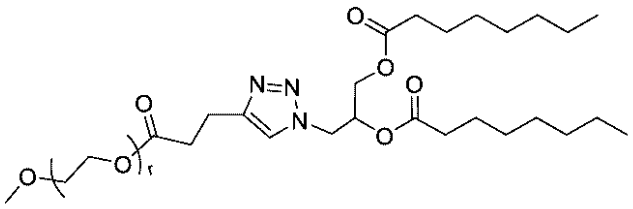
（化合物４１５）、



（化合物４１６）、



（化合物４１７）、



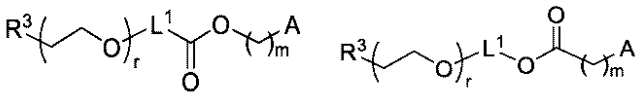
（化合物４１８）、

またはその塩である。

【０６２０】

特定の実施形態では、Ｄは、生理学的条件下で切断可能な部分（例えば、エステル、アミド、カーボネート、カルバメート、尿素）である。特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、式（ＶＩＩ－ｂ－１）または（ＶＩＩ－ｂ－２）のもの：

【化１２０】



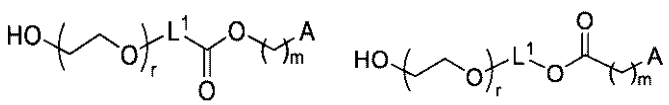
（ＶＩＩ－ｂ－１）　　（ＶＩＩ－ｂ－２）、

またはその塩である。

【０６２１】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、式（ＶＩＩ－ｂ－１－ＯＨ）または（ＶＩＩ－ｂ－２－ＯＨ）のもの：

【化１２１】



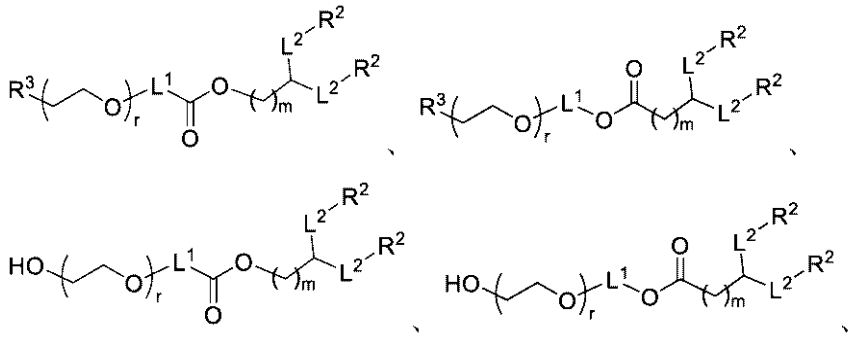
（ＶＩＩ－ｂ－１－ＯＨ）　　（ＶＩＩ－ｂ－２－ＯＨ）、

またはその塩である。

【０６２２】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

【化１２２】

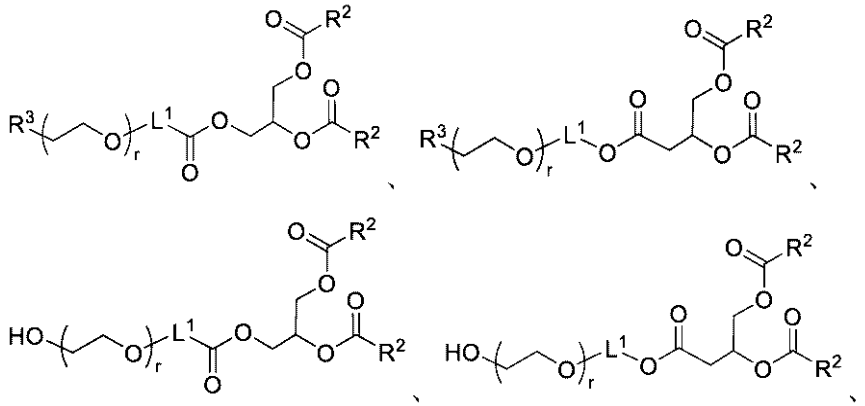


またはその塩である。

【０６２３】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

【化１２３】

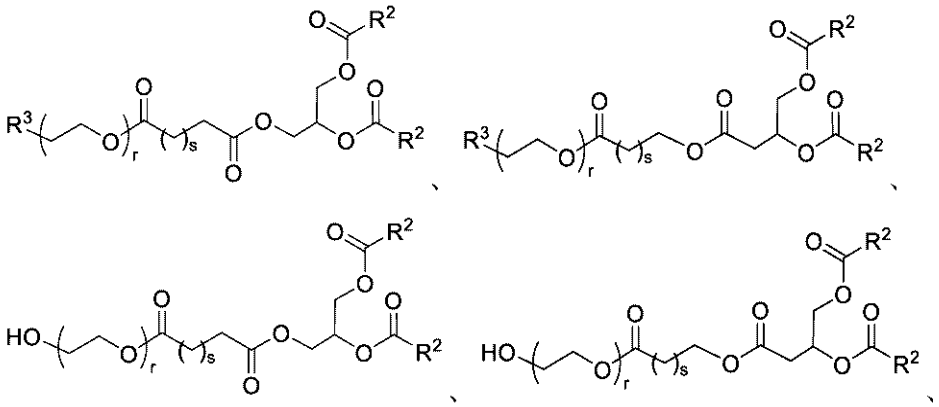


またはその塩である。

【０６２４】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

【化１２４】

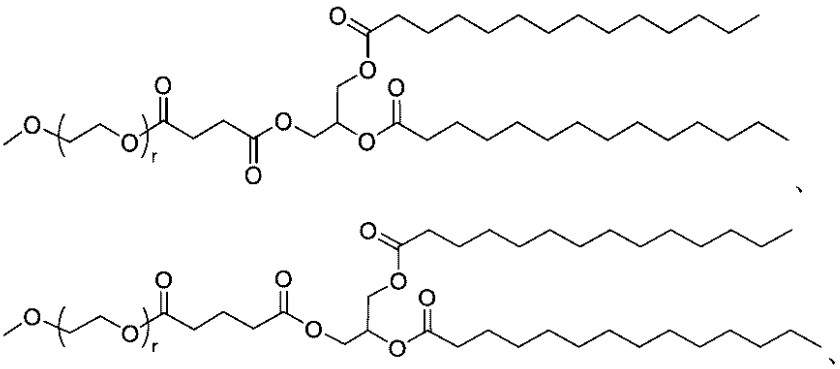


またはその塩である。

【０６２５】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩ）の化合物は、以下の式の１つのもの：

【化１２５】

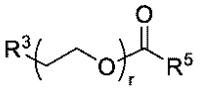


またはその塩である。

【０６２６】

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。特定の実施形態では、本発明において有用なＰＥＧ脂質は、式（ＶＩＩＩ）の化合物である。本明細書で提供されるのは、式（ＶＩＩＩ）の化合物：

【化１２６】



（ＶＩＩＩ）、

またはその塩であり、式中：

R^3は－OR^Oであり；

R^Oは水素、必要に応じて置換されているアルキルまたは酸素保護基であり；

ｒは１～１００の整数（包括的）であり；

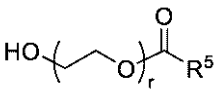
R^5は、必要に応じて置換されているC_{10-40}アルキル、必要に応じて置換されているC_{10-40}アルケニル、または必要に応じて置換されているC_{10-40}アルキニルであり；かつ必要に応じてR^5の１つ以上のメチレン基は、必要に応じて置換されていているカルボシクリレン、必要に応じて置換されているヘテロシクリレン、必要に応じて置換されているアリーレン、必要に応じて置換されているヘテロアリーレン、Ｎ（R^N）、Ｏ、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^N）、NR^NC（Ｏ）、－NR^NC（Ｏ）Ｎ（R^N）、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、ＯＣ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R^N）、NR^NC（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）Ｓ、ＳＣ（Ｏ）、Ｃ（＝NR^N）、Ｃ（＝NR^N）Ｎ（R^N）、NR^NC（＝NR^N）、NR^NC（＝NR^N）Ｎ（R^N）、－Ｃ（Ｓ）、Ｃ（Ｓ）Ｎ（R^N）、NR^NC（Ｓ）、NR^NC（Ｓ）Ｎ（R^N）、Ｓ（Ｏ）、ＯＳ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）Ｏ、ＯＳ（Ｏ）Ｏ、$OS(O)_2$、－$S(O)_2O$、$OS(O)_2O$、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）$S(O)_2$、$S(O)_2N(R^N)$、Ｎ（R^N）$S(O)_2N(R^N)$、$OS(O)_2N(R^N)$、またはＮ（R^N）$S(O)_2O$で置換され；そして

R^Nの各例は独立して、水素、必要に応じて置換されているアルキル、または窒素保護基である。

【０６２７】

特定の実施形態では、式（ＶＩＩＩ）の化合物は、式（ＶＩＩＩ－ＯＨ）のもの：

【化１２７】



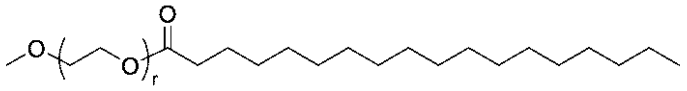
（ＶＩＩＩ－ＯＨ）、

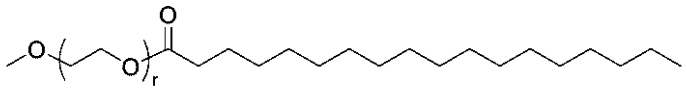
またはその塩である。いくつかの実施形態では、ｒは、４５である。

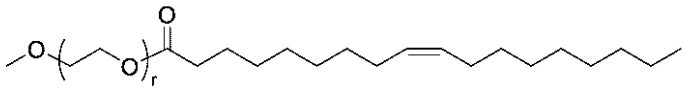
【０６２８】

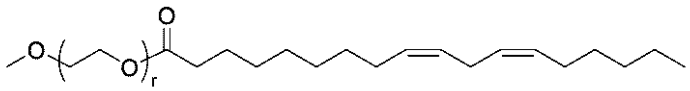
特定の実施形態では、式（ＶＩＩＩ）の化合物は、以下の式のうちの１つのもの：

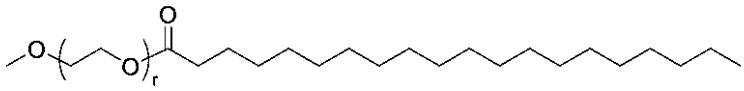
【化１２８】

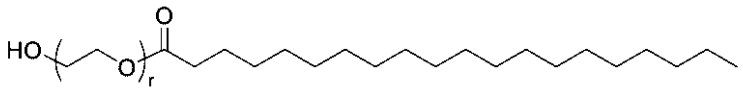

（化合物４１９）、

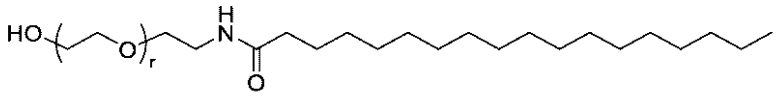

（化合物４２０）、


（化合物４２１）、

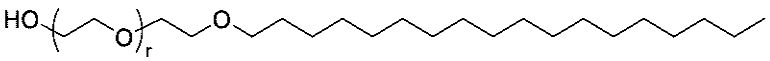

（化合物４２２）、


（化合物４２３）、


（化合物４２４）、


（化合物４２５）、

【化１２９】

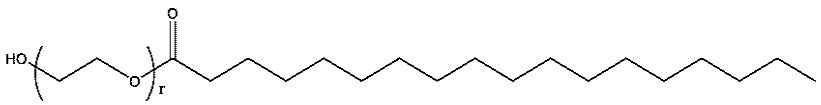

（化合物４２６）、

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。

【０６２９】

さらに他の実施形態では、式（ＶＩＩＩ）の化合物は以下：

【化１３０】

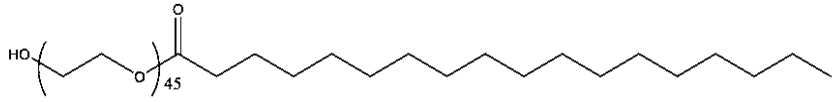

（化合物４２７）、

またはその塩である。

【０６３０】

一実施形態では、式（ＶＩＩＩ）の化合物は、

【化１３１】


（化合物４２８）

である。

【０６３１】

一実施形態では、本明細書に開示される薬学的組成物の脂質組成物中のＰＥＧ脂質の量は、約０．１モル％～約５モル％、約０．５モル％～約５モル％、約１モル％～約５モル％、約１．５モル％～約５モル％、約２モル％～約５モル％、約０．１モル％～約４モル％、約０．５モル％～約４モル％、約１モル％～約４モル％、約１．５モル％～約４モル％、約２モル％～約４モル％、約０．１モル％～約３モル％、約０．５モル％～約３モル％、約１モル％～約３モル％、約１．５モル％～約３モル％、約２モル％～約３モル％、約０．１モル％～約２モル％、約０．５モル％～約２モル％、約１モル％～約２モル％、約１．５モル％～約２モル％、約０．１モル％～約１．５モル％、約０．５モル％～約１．５モル％、または約１モル％～約１．５モル％の範囲である。

【０６３２】

一実施形態では、本明細書に開示されている脂質組成物中のＰＥＧ脂質の量は、約２モル％である。一実施形態では、本明細書に開示の脂質組成物中のＰＥＧ－脂質の量は、約１．５モル％である。

【０６３３】

一の実施形態では、本明細書に開示されている脂質組成物中のＰＥＧ脂質の量は、少なくとも約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４、４．１、４．２、４．３、４．４、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、または５モル％である。

【０６３４】

いくつかの態様では、本明細書に開示されている薬学的組成物の脂質組成物は、ＰＥＧ－脂質を含まない。

【０６３５】

ｆ．他のイオン性アミノ脂質

本明細書に開示される薬学的組成物の脂質組成物は、式（Ｉ）、（ＩＩ）、（ＩＩＩ）、（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）による脂質に加えてまたはその代わりに、１つ以上のイオン性アミノ脂質を含み得る。

【０６３６】

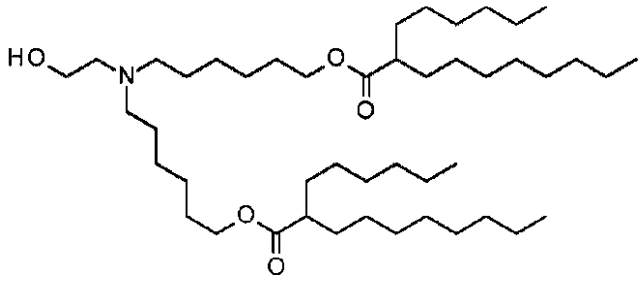
イオン性脂質は、３－（ジドデシルアミノ）－Ｎ１，Ｎ１，４－トリドデシル－１－ピペラジンエタンアミン（ＫＬ１０）、Ｎ１－［２－（ジドデシルアミノ）エチル］－Ｎ１，Ｎ４，Ｎ４－トリドデシル－１，４－ピペラジンジエタノールアミン（ＫＬ２２）、１４，２５ジトリデシル－１５，１８，２１，２４－テトラアザ－オクタトリアコンタン（ＫＬ２５）、１，２－ジリノレイルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎＤＭＡ）、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノメチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－Ｋ－ＤＭＡ）、ヘプタトリアコンタ－６，９，２８，３１－テトラエン－１９－イル４－（ジメチルアミノ）ブタン酸（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、２，２－ジリノレイル－４－（２－ジメチルアミノエチル）－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、１，２－ジオレイルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＯＤＭＡ）、（１３Ｚ，１６５Ｚ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－ノニドコサ－１３－１６－ジエン－１－アミン（Ｌ６０８）、２（｛８［（３β）－コレスト－５－エン－３－イルオキシ］オクチル｝オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（オクチル－ＣｌｉｎＤＭＡ）、（２Ｒ）－２－（｛８［（３β）］－コレスト－５－エン－３－イルオキシ］オクチル｝オキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（オクチル－ＣＬｉｎＤＭＡ（２Ｒ））、及び（２Ｓ）－２－（｛８［（３β）コレスト－５－エン－３－イルオキシ］オクチル｝オキシ）－Ｎ，Ｎジメチル－３－［（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエン－１－イルオキシ］プロパン－１－アミン（オクチル－ＣｌｉｎＤＭＡ（２Ｓ））からな

る非限定的な群から選択される。これらに加えて、イオン性アミノ脂質はまた、環状アミン基を含む脂質であってもよい。

【０６３７】

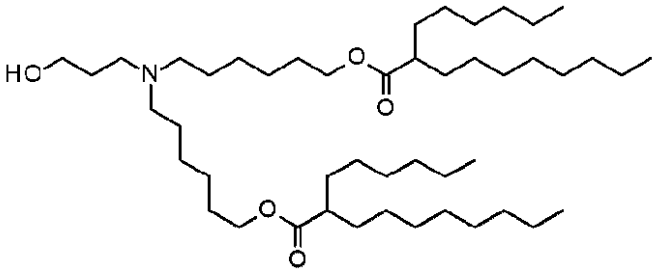
イオン性脂質はまた、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第ＷＯ２０１７／０７５５３１Ａ１号に開示されている化合物であってもよい。例えば、イオン性アミノ脂質としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：

【化１３２】

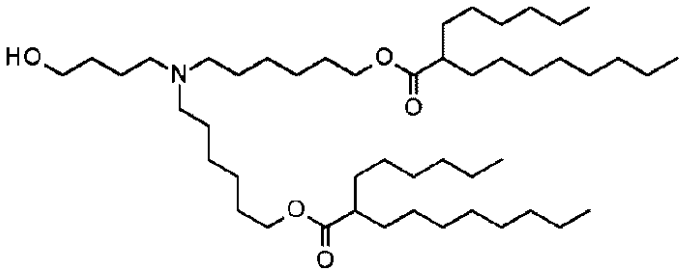


;

【化１３３】



;



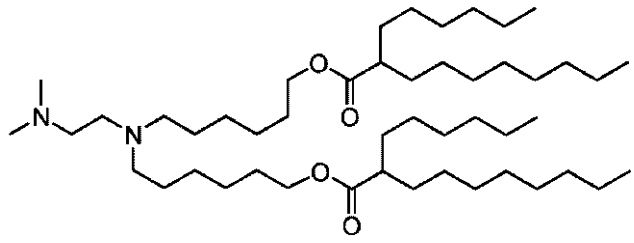
;

及びそれらの任意の組み合わせ。

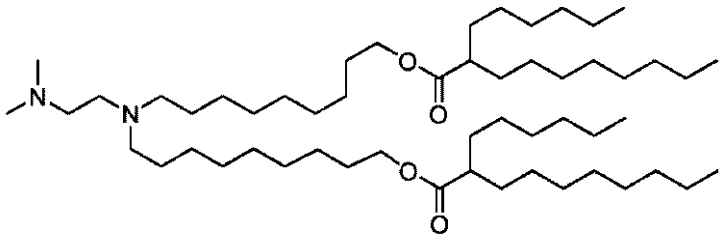
【０６３８】

イオン性脂質はまた、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第ＷＯ２０１５／１９９９５２Ａ１号に開示されている化合物であってもよい。例えば、イオン性アミノ脂質としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：

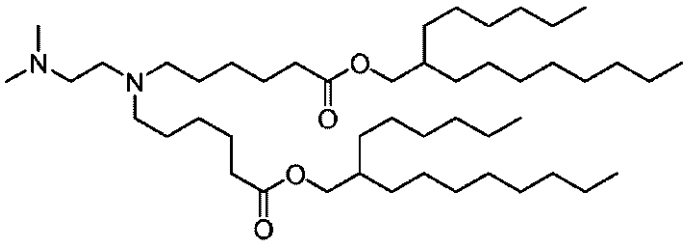
【化１３４】



;

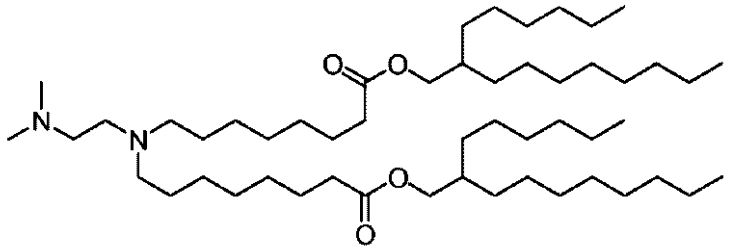


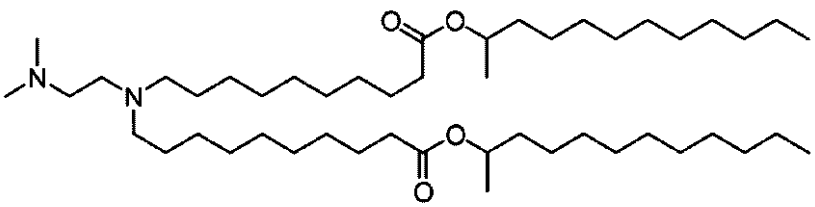
;

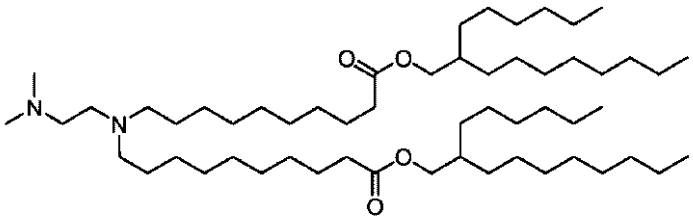


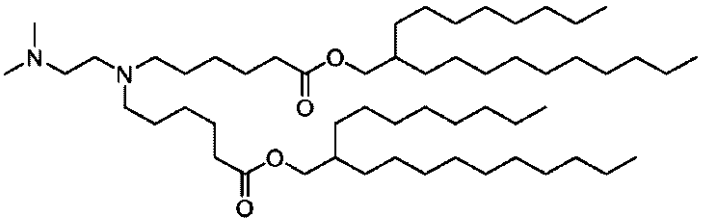
;

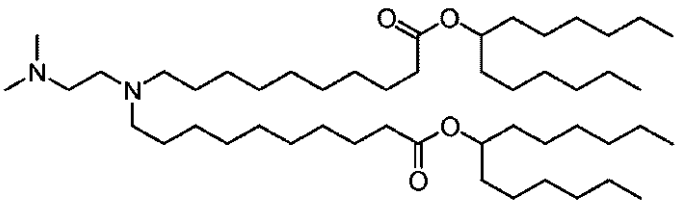
【化１３５】

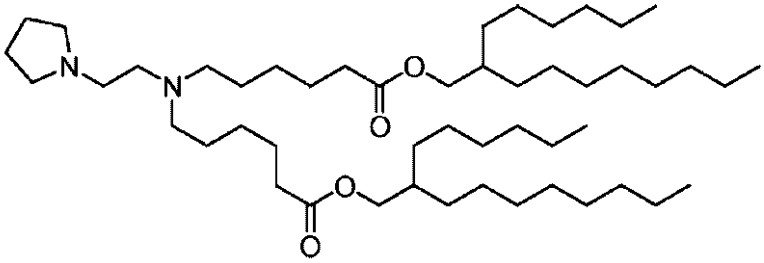

;


;

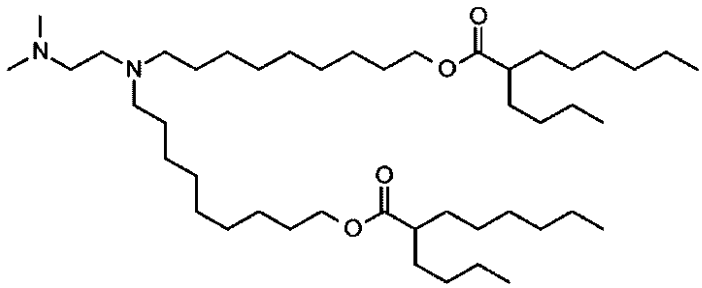

;


;


;


;

【化１３６】



;

及びそれらの任意の組み合わせ。

【０６３９】

ｇ．ナノ粒子組成物

本明細書に開示される薬学的組成物の脂質組成物は、上記のものに加えて１つ以上の構成要素を含み得る。例えば、脂質組成物は、１つ以上の透過性増強剤分子、炭水化物、ポリマー、表面改質剤（例えば、界面活性剤）、または他の構成要素を含んでもよい。例えば、透過性増強剤分子は、米国特許出願公開第２００５／０２２２０６４号に記載されている分子であってもよい。炭水化物は、単糖（例えば、グルコース）及び多糖（例えば、グリコーゲンならびにそれらの誘導体及び類似体）を含んでもよい。

【０６４０】

ポリマーは、本明細書に開示されている薬学的組成物（例えば、脂質ナノ粒子形態の薬学的組成物）を封入するかまたは部分的に封入するために含まれてもよく、及び／または使用されてもよい。ポリマーは生分解性であっても、及び／または生体適合性であってもよい。ポリマーは、限定するものではないが、ポリアミン類、ポリエーテル類、ポリアミド類、ポリエステル類、ポリカルバメート類、ポリウレア類、ポリカーボネート類、ポリスチレン類、ポリイミド類、ポリスルホン類、ポリウレタン類、ポリアセチレン類、ポリエチレン類、ポリエチレンイミン類、ポリイソシアネート類、ポリアクリレート類、ポリメタクリレート類、ポリアクリロニトリル類、及びポリアリレート類から選択され得る。

【０６４１】

脂質組成物とポリヌクレオチド範囲との間の比率は、約１０：１～約６０：１（ｗｔ／ｗｔ）であってもよい。

【０６４２】

いくつかの実施形態では、脂質組成物とポリヌクレオチドとの間の比率は、約１０：１、１１：１、１２：１、１３：１、１４：１、１５：１、１６：１、１７：１、１８：１、１９：１、２０：１、２１：１、２２：１、２３：１、２４：１、２５：１、２６：１、２７：１、２８：１、２９：１、３０：１、３１：１、３２：１、３３：１、３４：１、３５：１、３６：１、３７：１、３８：１、３９：１、４０：１、４１：１、４２：１、４３：１、４４：１、４５：１、４６：１、４７：１、４８：１、４９：１、５０：１、５１：１、５２：１、５３：１、５４：１、５５：１、５６：１、５７：１、５８：１、５９：１または６０：１（ｗｔ／ｗｔ）であり得る。いくつかの実施形態では、治療剤をコードするポリヌクレオチドに対する脂質組成物のｗｔ／ｗｔ比は、約２０：１または約１５：１である。

【０６４３】

一実施形態では、本明細書に記載の脂質ナノ粒子は、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）を、脂質：ポリヌクレオチド重量比５：１、１０：１、１５：１、２０：１、２５：１、３０：１、３５：１、４０：１、４５：１、５０：１、５５：１、６０：１もしくは７０：１で、またはある範囲またはこれらの任意の比率、例えば、限定するものではないが、５：１～約１０：１、約５：１～約１５：１、約５：１～約２０：１、約５：１～約２５：１、約５：１～約３０：１、約５：１～約３５：１、約５：１～約４０：１、約

５：１～約４５：１、約５：１～約５０：１、約５：１～約５５：１、約５：１～約６０：１、約５：１～約７０：１、約１０：１～約１５：１、約１０：１～約２０：１、約１０：１～約２５：１、約１０：１～約３０：１、約１０：１～約３５：１、約１０：１～約４０：１、約１０：１～約４５：１、約１０：１～約５０：１、約１０：１～約５５：１、約１０：１～約６０：１、約１０：１～約７０：１、約１５：１～約２０：１、約１５：１～約２５：１、約１５：１～約３０：１、約１５：１～約３５：１、約１５：１～約４０：１、約１５：１～約４５：１、約１５：１～約５０：１、約１５：１～約５５：１、約１５：１～約６０：１もしくは約１５：１～約７０：１で含んでもよい。

【０６４４】

一実施形態では、本明細書に記載の脂質ナノ粒子は、ポリヌクレオチドを、約０．１ｍｇ／ｍｌ～２ｍｇ／ｍｌ、例えば、限定するものではないが、０．１ｍｇ／ｍｌ、０．２ｍｇ／ｍｌ、０．３ｍｇ／ｍｌ、０．４ｍｇ／ｍｌ、０．５ｍｇ／ｍｌ、０．６ｍｇ／ｍｌ、０．７ｍｇ／ｍｌ、０．８ｍｇ／ｍｌ、０．９ｍｇ／ｍｌ、１．０ｍｇ／ｍｌ、１．１ｍｇ／ｍｌ、１．２ｍｇ／ｍｌ、１．３ｍｇ／ｍｌ、１．４ｍｇ／ｍｌ、１．５ｍｇ／ｍｌ、１．６ｍｇ／ｍｌ、１．７ｍｇ／ｍｌ、１．８ｍｇ／ｍｌ、１．９ｍｇ／ｍｌ、２．０ｍｇ／ｍｌまたは２．０ｍｇ／ｍｌ超などの濃度で含んでもよい。

【０６４５】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される薬学的組成物は、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）として処方される。したがって、本開示はまた、（ｉ）本明細書に記載の式（Ｉ）または（ＩＩＩ）の化合物などの送達剤を含む脂質組成物、及び（ｉｉ）目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むナノ粒子組成物を提供する。そのようなナノ粒子組成物において、本明細書に開示される脂質組成物は、目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをカプセル化し得る。

【０６４６】

ナノ粒子組成物は、典型的にはマイクロメートル以下程度の大きさであり、脂質二重層を含んでもよい。ナノ粒子組成物は、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）、リポソーム（例えば、脂質小胞）、及びリポプレックスを包含する。例えば、ナノ粒子組成物は、５００ｎｍ以下の直径を有する脂質二重層を有するリポソームであってもよい。

【０６４７】

ナノ粒子組成物は、例えば、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）、リポソーム、及びリポプレックスを含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、１つ以上の脂質二重層を含む小胞である。特定の実施形態では、ナノ粒子組成物は、水性区画によって分離された２つ以上の同心二重層を含む。脂質二重層は、官能化されてもよいし、及び／または互いに架橋されてもよい。脂質二重層は、１つ以上のリガンド、タンパク質、またはチャネルを含んでもよい。

【０６４８】

いくつかの実施形態では、本開示のナノ粒子組成物は、式（Ｉ）、（ＩＩＩ）、（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）による少なくとも１つの化合物を含む。例えば、ナノ粒子組成物は、１つ以上の化合物１～１４７、または１つ以上の化合物１～３４２を含んでもよい。ナノ粒子組成物はまた、様々な他の構成要素を含んでもよい。例えば、ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）、（ＩＩ）、（ＩＩＩ）、（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）による脂質に加えて、以下のような１つ以上の他の脂質を含んでもよい。（ｉ）少なくとも１つのリン脂質、（ｉｉ）少なくとも１つの構造脂質、（ｉｉｉ）少なくとも１つのＰＥＧ脂質、または（ｉｖ）それらの任意の組み合わせ。例えば、式ＩＩＩによる脂質が本発明の脂質ナノ粒子複合体に使用される場合、構造脂質の包含は任意であり得る。

【０６４９】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）の化合物（例えば、化合物１８、２５、２６または４８）を含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）の化合物（例えば、化合物１８、２５、２６または４８）及びリン脂質（例えば、ＤＳＰＣ）を含む。

【０６５０】
いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（ＩＩＩ）の化合物（例えば、化合物２３６）を含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（ＩＩＩ）の化合物（例えば、化合物２３６）及びリン脂質（例えば、ＤＯＰＥまたはＤＳＰＣ）を含む。
【０６５１】
いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）の化合物（例えば、化合物１８、２５、２６または４８）からなるかまたは本質的になる脂質組成物を含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）の化合物（例えば、化合物１８、２５、２６または４８）及びリン脂質（例えば、ＤＳＰＣ）からなるかまたは本質的になる脂質組成物を含む。
【０６５２】
いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（ＩＩＩ）の化合物（例えば、化合物２３６）からなるか、または本質的にそれからなる脂質組成物を含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（ＩＩＩ）の化合物（例えば、化合物２３６）及びリン脂質（例えば、ＤＯＰＥまたはＤＳＰＣ）からなるかまたは本質的になる脂質組成物を含む。
【０６５３】
一実施形態では、脂質ナノ粒子は、イオン性脂質、構造脂質、リン脂質、ＰＥＧ修飾脂質、及びｍＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、イオン性脂質、ＰＥＧ修飾脂質、ステロール及びリン脂質を含む。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、約２０～６０％のイオン性脂質：約５～２５％のリン脂質：約２５～５５％のステロール；及び約０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、約５０％のイオン性脂質、約１．５％のＰＥＧ修飾脂質、約３８．５％のコレステロール、及び約１０％のリン脂質というモル比を含む。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、約５５％のイオン性脂質、約２．５％のＰＥＧ脂質、約３２．５％のコレステロール、及び約１０％のリン脂質というモル比を含む。いくつかの実施形態では、イオン性脂質は、イオン性アミノ脂質であり、中性脂質はリン脂質であり、ステロールはコレステロールである。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０：３８．５：１０：１．５のイオン性脂質：コレステロール：ＤＳＰＣ：ＰＥＧ脂質というモル比を有する。いくつかの実施形態では、イオン性脂質は化合物１８または化合物２３６であり、ＰＥＧ脂質は化合物４２８またはＰＥＧ－ＤＭＧである。
【０６５４】
いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０：３８．５：１０：１．５の化合物１８：コレステロール：リン脂質：化合物４２８というモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０：３８．５：１０：１．５の化合物１８：コレステロール：ＤＳＰＣ：化合物４２８というモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０：３８．５：１０：１．５の化合物１８：コレステロール：リン脂質：ＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０：３８．５：１０：１．５の化合物１８：コレステロール：ＤＳＰＣ：ＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を有する。
【０６５５】
いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０：３８．５：１０：１．５の化合物２３６：コレステロール：リン脂質：化合物４２８というモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは５０：３８．５：１０：１．５の化合物２３６：コレステロール：ＤＳＰＣ：化合物４２８というモル比を有する。
【０６５６】
いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、４０：３８．５：２０：１．５の化合物１８：コレステロール：リン脂質：化合物４２８というモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、４０：３８．５：２０：１．５の化合物１８：コレステロール：ＤＳＰＣ：化合物４２８というモル比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、４０：３８．５：２０：１．５の化合物１８：コレステロール：リン脂質：ＰＥＧ－ＤＭＧというモル

比を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、４０：３８．５：２０：１．５の化合物１８：コレステロール：ＤＳＰＣ：ＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を有する。

【０６５７】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、化合物１８：リン脂質：コレステロール：化合物４２８が５０：１０：３８．５：１．５というモル比である製剤を有し得る。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、化合物１８：ＤＳＰＣ：コレステロール：化合物４２８が５０：１０：３８．５：１．５というモル比である製剤を有し得る。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、化合物１８：リン脂質：コレステロール：ＰＥＧ－ＤＭＧが５０：１０：３８．５：１．５というモル比である製剤を有し得る。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、化合物１８：ＤＳＰＣ：コレステロール：ＰＥＧ－ＤＭＧが５０：１０：３８．５：１．５というモル比である製剤を有し得る。

【０６５８】

いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、０．４未満の多分散度値を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、中性ｐＨで正味の中性電荷を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、５０～１５０ｎｍの平均直径を有する。いくつかの実施形態では、ＬＮＰは、８０～１００ｎｍの平均直径を有する。

【０６５９】

本明細書で一般的に定義されるように、「脂質」という用語は、疎水性または両親媒性の性質を有する低分子を指す。脂質は天然のものでも合成のものでもよい。脂質の種類の例としては、限定するものではないが、脂肪類、ワックス類、ステロール含有代謝産物類、ビタミン類、脂肪酸類、グリセロ脂質類、グリセロリン脂質類、スフィンゴ脂質類、糖脂質類、及びポリケチド類、ならびにプレノール脂質類が挙げられる。いくつかの例では、いくつかの脂質の両親媒性によって、それらは水性媒体中でリポソーム、小胞または膜を形成することになる。

【０６６０】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）は、イオン性脂質を含んでもよい。本明細書で使用される場合、「イオン性脂質」という用語は、当該技術分野におけるその通常の意味を有し、そして１つ以上の荷電部分を含む脂質を指し得る。いくつかの実施形態では、イオン性脂質は、正電荷または負電荷を帯びていてもよい。イオン性脂質は正に帯電していてもよく、その場合それは「カチオン性脂質」と呼ばれる場合がある。特定の実施形態では、イオン性脂質分子は、アミン基を含んでもよく、そしてイオン性アミノ脂質と称されてもよい。本明細書中で使用される場合、「荷電部分」は、形式的な電荷を帯びた化学部分、例えば、一価（＋１、または－１）、二価（＋２、または－２）、三価（＋３、または－３）などである。荷電部分は、アニオン性（すなわち、負に荷電）またはカチオン性（すなわち、正に荷電）であってもよい。正電荷部分の例としては、アミン基（例えば、一級、二級、及び／または三級アミン）、アンモニウム基、ピリジニウム基、グアニジン基、及びイミジゾリウム基が挙げられる。特定の実施形態では、荷電部分は、アミン基を含む。負に帯電した基またはその前駆体の例としては、カルボキシレート基、スルホネート基、スルフェート基、ホスホネート基、ホスフェート基、ヒドロキシル基などが挙げられる。荷電部分の電荷は、ある場合には、環境条件によって変化し得、例えば、ｐＨの変化は、その部分の電荷を変化させ得、及び／またはその部分を荷電または非荷電にし得る。一般に、分子の電荷密度は、所望のとおりに選択されてもよい。

【０６６１】

「荷電」または「荷電部分」という用語は、分子上の「部分的負電荷」または「部分的正電荷」を指すものではないことを理解されたい。「部分的負電荷」及び「部分的正電荷」という用語は、当該技術分野におけるその通常の意味を与えられる。「部分的負電荷」とは、官能基が、電子密度が結合の１つの原子に向かって引き寄せられ、原子上に部分的負電荷を生成するように分極される結合を含む場合に生じ得る。当業者は、一般的には、このように分極化し得る結合を認識する。

【０６６２】

いくつかの実施形態では、イオン性脂質はイオン性アミノ脂質であり、当該技術分野において「イオン性カチオン性脂質」と呼ばれることもある。一実施形態では、イオン性アミノ脂質は、リンカー構造を介して結合している正電荷を帯びた親水性頭部及び疎水性テールを有し得る。

【０６６３】

これらに加えて、イオン性脂質はまた、環状アミン基を含む脂質であってもよい。

【０６６４】

一実施形態では、イオン性脂質は、限定するものではないが、国際公開第ＷＯ２０１３０８６３５４号及び同第ＷＯ２０１３１１６１２６号に記載されているイオン性脂質から選択され得て；それぞれの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０６６５】

さらに別の実施形態では、イオン性脂質は、限定するものではないが、米国特許第７，４０４，９６９号（これらのそれぞれは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）の式ＣＬＩ－ＣＬＸＸＸＩＩから選択され得る。

【０６６６】

一実施形態では、脂質は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第ＷＯ２０１２１７０８８９号に記載されているものなどの切断可能な脂質であってもよい。一実施形態では、脂質は、当該技術分野で公知の方法によって、及び／または国際公開第ＷＯ２０１３０８６３５４号（それぞれの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているように合成され得る。

【０６６７】

ナノ粒子組成物は様々な方法によって特徴付けることができる。例えば、顕微鏡法（例えば、透過型電子顕微鏡法または走査型電子顕微鏡法）を使用して、ナノ粒子組成物の形態及びサイズ分布を調べてもよい。動的光散乱法または電位差測定法（例えば、電位差滴定）を用いて、ゼータ電位を測定してもよい。動的光散乱もまた粒径を決定するために利用してもよい。Ｚｅｔａｓｉｚｅｒ Ｎａｎｏ ＺＳ（Ｍａｌｖｅｒｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｌｔｄ，Ｍａｌｖｅｒｎ，Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒｓｈｉｒｅ，ＵＫ）などの機器を使用して、粒径、多分散指数、及びゼータ電位などのナノ粒子組成物の複数の特性を測定してもよい。

【０６６８】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）の化合物（例えば、化合物１８、２５、２６または４８）からなるかまたは本質的になる脂質組成物を含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）の化合物（例えば、化合物１８、２５、２６または４８）及びリン脂質（例えば、ＤＳＰＣまたはＭＳＰＣ）からなるか、または本質的にそれからなる脂質組成物を含む。

【０６６９】

ナノ粒子組成物は様々な方法によって特徴付けられ得る。例えば、顕微鏡法（例えば、透過型電子顕微鏡法または走査型電子顕微鏡法）を使用して、ナノ粒子組成物の形態及びサイズ分布を調べてもよい。動的光散乱法または電位差測定法（例えば、電位差滴定）を用いて、ゼータ電位を測定してもよい。動的光散乱もまた粒径を決定するために利用してもよい。Ｚｅｔａｓｉｚｅｒ Ｎａｎｏ ＺＳ（Ｍａｌｖｅｒｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｌｔｄ，Ｍａｌｖｅｒｎ，Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒｓｈｉｒｅ，ＵＫ）などの機器を使用して、粒径、多分散指数、及びゼータ電位などのナノ粒子組成物の複数の特性を測定してもよい。

【０６７０】

ナノ粒子のサイズは、限定するものではないが、炎症などの生物学的反応に対抗するのに役立ち得るか、またはポリヌクレオチドの生物学的効果を増大し得る。

【０６７１】

本明細書で使用される場合、ナノ粒子組成物の文脈における「サイズ」または「平均サイズ」とは、ナノ粒子組成物の平均直径を指す。

【０６７２】
一実施形態では、目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、約１０～約１００ｎｍ、例えば、限定するものではないが、約１０～約２０ｎｍ、約１０～約３０ｎｍ、約１０～約４０ｎｍ、約１０～約５０ｎｍ、約１０～約６０ｎｍ、約１０～約７０ｎｍ、約１０～約８０ｎｍ、約１０～約９０ｎｍ、約２０～約３０ｎｍ、約２０～約４０ｎｍ、約２０～約５０ｎｍ、約２０～約６０ｎｍ、約２０～約７０ｎｍ、約２０～約８０ｎｍ、約２０～約９０ｎｍ、約２０～約１００ｎｍ、約３０～約４０ｎｍ、約３０～約５０ｎｍ、約３０～約６０ｎｍ、約３０～約７０ｎｍ、約３０～約８０ｎｍ、約３０～約９０ｎｍ、約３０～約１００ｎｍ、約４０～約５０ｎｍ、約４０～約６０ｎｍ、約４０～約７０ｎｍ、約４０～約８０ｎｍ、約４０～約９０ｎｍ、約４０～約１００ｎｍ、約５０～約６０ｎｍ、約５０～約７０ｎｍ、約５０～約８０ｎｍ、約５０～約９０ｎｍ、約５０～約１００ｎｍ、約６０～約７０ｎｍ、約６０～約８０ｎｍ、約６０～約９０ｎｍ、約６０～約１００ｎｍ、約７０～約８０ｎｍ、約７０～約９０ｎｍ、約７０～約１００ｎｍ、約８０～約９０ｎｍ、約８０～約１００ｎｍ及び／または約９０～約１００ｎｍの直径を有する脂質ナノ粒子に処方される。

【０６７３】
一実施形態では、ナノ粒子は、約１０～５００ｎｍの直径を有する。一実施形態では、ナノ粒子は、１００ｎｍ超、１５０ｎｍ超、２００ｎｍ超、２５０ｎｍ超、３００ｎｍ超、３５０ｎｍ超、４００ｎｍ超、４５０ｎｍ超、５００ｎｍ超、５５０ｎｍ超、６００ｎｍ超、６５０ｎｍ超、７００ｎｍ超、７５０ｎｍ超、８００ｎｍ超、８５０ｎｍ超、９００ｎｍ超、９５０ｎｍ超、または１０００ｎｍ超の直径を有する。

【０６７４】
いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物の最大寸法は、１μｍ以下（例えば、１μｍ、９００ｎｍ、８００ｎｍ、７００ｎｍ、６００ｎｍ、５００ｎｍ、４００ｎｍ、３００ｎｍ、２００ｎｍ、１７５ｎｍ、１５０ｎｍ、１２５ｎｍ、１００ｎｍ、７５ｎｍ、５０ｎｍ、またはそれ以下）である。

【０６７５】
ナノ粒子組成物は比較的均質であり得る。多分散指数は、ナノ粒子組成物の均一性、例えば、ナノ粒子組成物の粒径分布を示すために使用され得る。小さい（例えば、０．３未満の）多分散性指数は一般に、狭い粒径分布を示す。ナノ粒子組成物は、約０～約０．２５、例えば、０．０１、０．０２、０．０３、０．０４、０．０５、０．０６、０．０７、０．０８、０．０９、０．１０、０．１１、０．１２、０．１３、０．１４、０．１５、０．１６、０．１７、０．１８、０．１９、０．２０、０．２１、０．２２、０．２３、０．２４、または０．２５という多分散指数を有し得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示のナノ粒子組成物の多分散指数は、約０．１０～約０．２０であってもよい。

【０６７６】
ナノ粒子組成物のゼータ電位は、組成物の界面動電位を示すために使用してもよい。例えば、ゼータ電位は、ナノ粒子組成物の表面電荷を表す場合がある。より高い電荷を有する種は、細胞、組織、及び体内の他の要素と望ましくなく相互作用する可能性があるので、正または負の比較的低い電荷を有するナノ粒子組成物が一般に望ましい。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるナノ粒子組成物のゼータ電位は、約－１０ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約－１０ｍＶ～約＋１５ｍＶ、約１０ｍＶ～約＋１０ｍＶ、約－１０ｍＶ～約＋５ｍＶ、約－１０ｍＶ～約０ｍＶ、約－１０ｍＶ～約－５ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋１５ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋１０ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋５ｍＶ、約－５ｍＶ～約０ｍＶ、約０ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約０ｍＶ～約＋１５ｍＶ、約０ｍＶ～約＋１０ｍＶ、約０ｍＶ～約＋５ｍＶ、約＋５ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約＋５ｍＶ～約＋１５ｍＶ、または約＋５ｍＶ～約＋１０ｍＶであってもよい。

【０６７７】
いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子のゼータ電位は、約０ｍＶ～約１００ｍＶ、約

０ｍＶ～約９０ｍＶ、約０ｍＶ～約８０ｍＶ、約０ｍＶ～約７０ｍＶ、約０ｍＶ～約６０ｍＶ、約０ｍＶ～約５０ｍＶ、約０ｍＶ～約４０ｍＶ、約０ｍＶ～約３０ｍＶ、約０ｍＶ～約２０ｍＶ、約０ｍＶ～約１０ｍＶ、約１０ｍＶ～約１００ｍＶ、約１０ｍＶ～約９０ｍＶ、約１０ｍＶ～約８０ｍＶ、約１０ｍＶ～約７０ｍＶ、約１０ｍＶ～約６０ｍＶ、約１０ｍＶ～約５０ｍＶ、約１０ｍＶ～約４０ｍＶ、約１０ｍＶ～約３０ｍＶ、約１０ｍＶ～約２０ｍＶ、約２０ｍＶ～約１００ｍＶ、約２０ｍＶ～約９０ｍＶ、約２０ｍＶ～約８０ｍＶ、約２０ｍＶ～約７０ｍＶ、約２０ｍＶ～約６０ｍＶ、約２０ｍＶ～約５０ｍＶ、約２０ｍＶ～約４０ｍＶ、約２０ｍＶ～約３０ｍＶ、約３０ｍＶ～約１００ｍＶ、約３０ｍＶ～約９０ｍＶ、約３０ｍＶ～約８０ｍＶ、約３０ｍＶ～約７０ｍＶ、約３０ｍＶ～約６０ｍＶ、約３０ｍＶ～約５０ｍＶ、約３０ｍＶ～約４０ｍＶ、約４０ｍＶ～約１００ｍＶ、約４０ｍＶ～約９０ｍＶ、約４０ｍＶ～約８０ｍＶ、約４０ｍＶ～約７０ｍＶ、約４０ｍＶ～約６０ｍＶ、及び約４０ｍＶ～約５０ｍＶであってもよい。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子のゼータ電位は、約１０ｍＶ～約５０ｍＶ、約１５ｍＶ～約４５ｍＶ、約２０ｍＶ～約４０ｍＶ、及び約２５ｍＶ～約３５ｍＶであってもよい。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子のゼータ電位は、約１０ｍＶ、約２０ｍＶ、約３０ｍＶ、約４０ｍＶ、約５０ｍＶ、約６０ｍＶ、約７０ｍＶ、約８０ｍＶ、約９０ｍＶ、及び約１００ｍＶであってもよい。

【０６７８】

ポリヌクレオチドの「カプセル化効率」という用語は、提供された初期量に対する、調製後にナノ粒子組成物によってカプセル化されるか、そうでなければナノ粒子組成物と会合するポリヌクレオチドの量を表す。本明細書で使用される場合、「カプセル化」とは、完全な、実質的な、または部分的な囲い込み、閉じ込め、包含、または内包を指し得る。

【０６７９】

カプセル化効率は、高いことが望ましい（例えば、１００％に近い）。カプセル化効率は、例えば、ナノ粒子組成物を１つ以上の有機溶媒または界面活性剤で粉砕する前後の、ナノ粒子組成物を含有する溶液中のポリヌクレオチドの量を比較することによって測定され得る。

【０６８０】

蛍光は、溶液中の遊離ポリヌクレオチドの量を測定するために使用され得る。本明細書に記載のナノ粒子組成物では、ポリヌクレオチドのカプセル化効率は、少なくとも５０％、例えば、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％であり得る。いくつかの実施形態では、カプセル化効率は少なくとも８０％であってもよい。特定の実施形態では、カプセル化効率は少なくとも９０％であってもよい。

【０６８１】

本明細書に開示される薬学的組成物中に存在するポリヌクレオチドの量は、ポリヌクレオチドのサイズ、所望の標的及び／または用途、あるいはナノ粒子組成物の他の特性、ならびにポリヌクレオチドの特性などの複数の要因に依存し得る。

【０６８２】

例えば、ナノ粒子組成物に有用なｍＲＮＡの量は、ｍＲＮＡのサイズ（長さ、または分子量として表される）、配列、及び他の特徴に依存し得る。ナノ粒子組成物中のポリヌクレオチドの相対量もまた変動し得る。

【０６８３】

本開示の脂質ナノ粒子組成物中に存在する脂質組成物及びポリヌクレオチドの相対量は、有効性及び耐容性を考慮して最適化され得る。ポリヌクレオチドとしてｍＲＮＡを含む組成物の場合、Ｎ：Ｐ比は有用な測定基準として役立ち得る。

【０６８４】

ナノ粒子組成物のＮ：Ｐ比が、発現及び忍容性の両方を制御するので、低いＮ：Ｐ比及び強い発現を有するナノ粒子組成物が望ましい。Ｎ：Ｐ比は、ナノ粒子組成物中の脂質対ＲＮＡの比に従って変わる。

【０６８５】
一般に、より低いＮ：Ｐ比が好ましい。１つ以上のＲＮＡ、脂質、及びそれらの量は、約２：１～約３０：１、例えば、２：１、３：１、４：１、５：１，６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１、１２：１、１４：１、１６：１、１８：１、２０：１、２２：１、２４：１、２６：１、２８：１、または３０：１などのＮ：Ｐ比を提供するように選択され得る。特定の実施形態では、Ｎ：Ｐ比は、約２：１～約８：１であり得る。他の実施形態では、Ｎ：Ｐ比は約５：１～約８：１である。特定の実施形態では、Ｎ：Ｐ比は５：１～６：１の間である。特定の一態様では、Ｎ：Ｐ比は約５．６７：１である。

【０６８６】
ナノ粒子組成物を提供することに加えて、本開示はまた、ポリヌクレオチドを封入することを包含する脂質ナノ粒子を製造する方法も提供する。そのような方法は、本明細書に開示されている薬学的組成物のいずれかを使用すること、及び当該分野で公知の脂質ナノ粒子の製造方法に従って脂質ナノ粒子を製造することを包含する。例えば、Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．（２０１５）「Ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｏｆ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ｗｉｔｈ ｌｉｐｉｄ ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ」Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅｖ．８７：６８～８０；Ｓｉｌｖａ ｅｔ ａｌ．（２０１５）「Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ ｆｏｒ Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ」．Ｐａｒｔ Ｉ：Ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ ａｎｄ Ｍｉｃｒｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ」Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍ．Ｔｅｃｈｎｏｌ．１６：９４０－９５４；Ｎａｓｅｒｉ ｅｔ ａｌ．（２０１５）「Ｓｏｌｉｄ Ｌｉｐｉｄ Ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ ａｎｄ Ｎａｎｏｓｔｒｕｃｔｕｒｅｄ Ｌｉｐｉｄ Ｃａｒｒｉｅｒｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ」Ａｄｖ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｕｌｌ．５：３０５－１３；Ｓｉｌｖａ ｅｔ ａｌ．（２０１５）「Ｌｉｐｉｄ ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｏｆ ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ」Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６：２９１－３０２、及びその中で引用されている引用文献を参照のこと。

【０６８７】
ナノ粒子に関連する用途
本明細書に記載の免疫調節治療組成物は、いくつかの点で現在の組成物より優れていることが発見された。第１に、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）送達は、文献に記載されているリポソームまたはプロタミンベースのアプローチを含む他の製剤より優れており、追加のアジュバントは必要ではない。ＬＮＰの使用によって、化学的に修飾されるか、または未修飾のｍＲＮＡ組成物の効果的な送達が可能になる。修飾及び未修飾の両方のＬＮＰ処方ｍＲＮＡ組成物は、従来の組成物よりもある有意な程度優れている。いくつかの実施形態では、本発明の免疫調節治療組成物は、少なくとも１０倍、２０倍、４０倍、５０倍、１００倍、５００倍または１，０００倍従来の組成物より優れている。

【０６８８】
ｍＲＮＡワクチン及び自己複製ＲＮＡワクチンを含む機能的ＲＮＡワクチンを製造する試みがなされてきたが、これらのＲＮＡワクチンの治療効果はまだ完全には確立されていない。全く驚くべきことに、本発明者らは、本発明の態様に従って、抗原生成の増強及び中和能力を有する機能的な抗体産生を含む、有意に向上され、多くの点で相乗的な免疫応答を生じる、インビボで免疫調節治療組成物を送達するためのクラスの製剤を発見した。これらの結果は、他のクラスの脂質ベース製剤に使用されるｍＲＮＡ投与量と比較して、有意に低い投与量のｍＲＮＡを投与した場合でも達成され得る。本発明の製剤は、免疫調節治療剤としての機能的ｍＲＮＡ組成物の有効性を確立するのに十分な、意外なインビボでの有意な免疫応答を実証した。さらに、自己複製ＲＮＡワクチンは、ウイルス複製経路に依存して、免疫原性応答を生じるのに十分なＲＮＡを細胞に送達する。本発明の製剤は、強い免疫応答をもたらすのに十分なタンパク質を産生するためにウイルス複製を必要としない。したがって、本発明のｍＲＮＡは、自己複製ＲＮＡではなく、ウイルス複製に必要な成分を含まない。

【０６８９】
本発明は、いくつかの態様では、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）製剤が化学修飾及び未修飾ｍＲＮＡ免疫調節治療組成物を含むｍＲＮＡ組成物の有効性を有意に高めるという驚くべき発見に関与する。ＬＮＰ中に処方されたｍＲＮＡ含有免疫調節治療組成物の有効性を、いくつかの異なる腫瘍抗原を用いてインビボで試験した。増強された免疫応答を提供することに加えて、本発明の製剤は、試験された他の組成物よりも少ない用量の抗原でより迅速な免疫応答を生じる。本発明のｍＲＮＡ－ＬＮＰ製剤はまた、異なる担体中に処方された組成物よりも定量的及び定性的に良好な免疫応答を生じる。さらに、本発明のｍＲＮＡ－ＬＮＰ製剤は、ｍＲＮＡの用量が他の組成物よりも低い場合でさえ、他の組成物より優れている。

【０６９０】
本明細書中に記載される研究において使用されるＬＮＰは、ヒトと同様に様々な動物モデルにおいてｓｉＲＮＡを送達するために以前に使用されている。ＬＮＰ製剤のｓｉＲＮＡ送達に関連してなされた観察を考慮すると、ＬＮＰががん免疫調節治療組成物に有用であるという事実は全く驚くべきことである。ＬＮＰ中に処方されたｓｉＲＮＡの治療的送達は、一過性のＩｇＭ応答に関連した望ましくない炎症応答を引き起こし、典型的には抗原産生の減少及び損なわれた免疫応答をもたらすことが観察されている。ｓｉＲＮＡで観察された知見とは対照的に、本発明のＬＮＰ－ｍＲＮＡ製剤は、一過性のＩｇＭ応答よりもむしろ予防的及び治療的方法に十分な、増強されたＩｇＧレベルを生じることが本明細書において実証される。

【０６９１】
薬学的組成物
本開示は、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤、担体または希釈剤と組み合わせて、本明細書に記載のｍＲＮＡまたはナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子）を含む薬学的組成物を包含する。特定の実施形態では、ｍＲＮＡは、ナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子中に存在する。特定の実施形態では、ｍＲＮＡまたはナノ粒子は薬学的組成物中に存在する。様々な実施形態では、この薬学的組成物中に存在する１つ以上のｍＲＮＡは、ナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子中にカプセル化されている。特定の実施形態では、第１のｍＲＮＡ対第２のｍＲＮＡのモル比は、約１：５０、約１：２５、約１：１０、約１：５、約１：４、約１：３、約１：２、約１：１、約２：１、約３：１、約４：１、または約５：１、約１０：１、約２５：１または約５０：１である。特定の実施形態では、第１のｍＲＮＡ対第２のｍＲＮＡのモル比は１：１より大きい。

【０６９２】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、目的の抗原（Ａｇ）をコードするｍＲＮＡ、及び目的の抗原に対する免疫応答を増強するポリペプチド（例えば、免疫増強剤、例えば、ＳＴＩＮＧポリペプチド）（ＩＰ）をコードするｍＲＮＡを含み、ここで目的の抗原（Ａｇ）をコードするｍＲＮＡ及び目的の抗原に対する免疫応答を増強するポリペプチド（例えば、免疫増強剤、例えば、ＳＴＩＮＧポリペプチド）（ＩＰ）をコードするｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１または２０：１というＡｇ：ＩＰ質量比で処方される（あるいは、１：１、１：２、１：３、１：４、１：５、１：６、１：７、１：８、１：９、１：１０、または１：２０というＩＰ：Ａｇ質量比）。いくつかの実施形態では、組成物は、１：１、１．２５：１、１．５０：１、１．７５：１、２．０：１、２．２５：１、２．５０：１、２．７５：１、３．０：１、３．２５：１、３．５０：１、３．７５：１、４．０：１、４．２５：１、４．５０：１、４．７５：１または５：１という目的の抗原をコードするｍＲＮＡ対、目的の抗原に対する免疫を増強するポリペプチド（例えば、免疫増強剤、例えば、ＳＴＩＮＧポリペプチド）をコードするｍＲＮＡのＡｇ：ＩＰ質量比で処方される。いくつかの実施形態では、この組成物は、目的の抗原をコードするｍＲＮＡ対、目的の抗原に対する免疫を増強するポリペプチド（例えば、免疫増強剤、例えば、ＳＴＩＮＧポリペプチド）をコードするｍＲＮＡの５：１という質量比で処方される（５：１という

Ａｇ：ＩＰ質量比；または、１：５というＩＰ：Ａｇ質量比）。いくつかの実施形態では、この組成物は、目的の抗原をコードするｍＲＮＡ対、目的の抗原に対する免疫を増強するポリペプチド（例えば、免疫増強剤、例えば、ＳＴＩＮＧポリペプチド）をコードするｍＲＮＡの１０：１という質量比で処方される（１０：１というＡｇ：ＩＰ質量比；または、１：１０というＩＰ：Ａｇ質量比）。

【０６９３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含み、ここでこのＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ及び構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１または２０：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で１、あるいは１：１、１：２、１：３、１：４、１：５、１：６、１：７、１：８、１：９、１：１０または１：２０というＳＴＩＮＧ：ＫＲＡＳ質量比で存在する。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、目的の抗原をコードするｍＲＮＡ対、目的の抗原に対する免疫を増強するポリペプチド（例えば、免疫増強剤、例えば、ＳＴＩＮＧポリペプチド）をコードするｍＲＮＡが１：１、１．２５：１、１．５０：１、１．７５：１、２．０：１、２．２５：１、２．５０：１、２．７５：１、３．０：１、３．２５：１、３．５０：１、３．７５：１、４．０：１、４．２５：１、４．５０：１、４．７５：１または５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ対、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡの５：１という質量比（５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比、または１：５というＳＴＲＩＮＧ：ＫＲＡＳ質量比）で存在する。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡ対、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡの１０：１という質量比（１０：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比、あるいは１：１０というＳＴＩＮＧ：ＫＲＡＳ質量比）で存在する。

【０６９４】

薬学的組成物は、１つ以上の追加の活性物質、例えば、治療的及び／または予防的活性物質を必要に応じて含み得る。本開示の薬学的組成物は、無菌であるか及び／または発熱物質を含まないものであり得る。薬剤の処方及び／または製造における一般的な考慮事項は、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ ２１^{ｓｔ}ｅｄ．，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ，２００５（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に見出され得る。特定の実施形態では、薬学的組成物は、ｍＲＮＡ及び脂質ナノ粒子、またはそれらの複合体を含む。

【０６９５】

本明細書に記載の薬学的組成物の製剤は、薬理学の分野において公知であるか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。一般に、そのような調製方法は、活性成分を賦形剤及び／または１つ以上の他の副成分と会合させ、次いで必要に応じて及び／または望ましい場合には、製品を、望ましい単回または複数回投与単位に分割、成形及び／または包装するステップを包含する。

【０６９６】

本開示による薬学的組成物中の、活性成分、薬学的に許容される賦形剤、及び／または任意のさらなる成分の相対量は、処置される対象の同一性、大きさ、及び／または状態に応じて、さらにその組成物が投与される経路に依存して変化する。例として、組成物は、０．１％～１００％、例えば、０．５％～７０％、１％～３０％、５％～８０％、または少なくとも８０％（ｗ／ｗ）の活性成分を含んでもよい。

【０６９７】

本開示のｍＲＮＡは、１つ以上の賦形剤を用いて以下を行うように処方され得る：（１

）安定性を増大する；（２）細胞トランスフェクションを増大させる；（３）持続放出または遅延放出（例えば、ｍＲＮＡのデポー製剤からの）を可能にする；（４）生体内分布を変える（例えば、ｍＲＮＡを特定の組織または細胞型に標的化する）；（５）インビボでｍＲＮＡによってコードされるポリペプチドの翻訳を増大させる；及び／または（６）インビボでｍＲＮＡによってコードされるポリペプチドの放出プロファイルを変える。任意のかつ全ての溶媒、分散媒体、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散剤または懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、保存剤などの従来の賦形剤に加えて、本開示の賦形剤は、限定するものではないが、リピドイド、リポソーム、脂質ナノ粒子（例えば、リポソーム及びミセル）、ポリマー、リポプレックス、コアーシェルナノ粒子、ペプチド、タンパク質、炭水化物、ｍＲＮＡでトランスフェクトされた細胞（例えば、対象への移植用）、ヒアルロニダーゼ、ナノ粒子模倣物、及びそれらの組み合わせが含まれてもよい。したがって、本開示の製剤は、一緒になってｍＲＮＡの安定性を高める、ｍＲＮＡによる細胞トランスフェクションを高める、ｍＲＮＡによってコードされるポリペプチドの発現を高める、及び／またはｍＲＮＡコードポリペプチドの放出プロファイルを変化させる各々の量の１種以上の賦形剤を含んでもよい。さらに、本開示のｍＲＮＡは、自己アセンブル核酸ナノ粒子を使用して処方され得る。

【０６９８】

薬学的組成物を配合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、当該技術分野において公知である（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，２１ｓｔ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ａ．Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ，Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ，ＭＤ，２００６（全体として参照によって本明細書に組み込まれている）を参照のこと）。通常の賦形剤媒体の使用は、任意の通常の賦形剤媒体が物質またはその誘導体と不適合であり得る場合を除いて（例えば、何らかの望ましくない生物学的効果を生じさせることによって、またはそうでなければ薬学的組成物の任意の他の構成要素（複数可）と有害な方法で相互作用することによって）、本開示の範囲内で企図され得る。賦形剤としては、例えば、粘着防止剤、酸化防止剤、結合剤、コーティング、圧縮助剤、崩壊剤、色素（着色剤）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、フィルム形成剤またはコーティング、流動促進剤（ｇｌｉｄａｎｔ）（流動促進剤（ｆｌｏｗ ｅｎｈａｎｃｅｒ））、滑剤、防腐剤、印刷インキ、吸着剤、懸濁剤または分散剤、甘味料、及び水和水が挙げられ得る。例示的な賦形剤としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：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、カルボキシメチルセルロースナトリウム、クエン酸ナトリウム、ナトリウムグリコール酸デンプン、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。

【０６９９】

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つの薬学的に許容される塩を含み得る。本開示の製剤に含まれ得る薬学的に許容される塩の例としては、限定するものではないが、酸付加塩、アルカリまたはアルカリ土類金属塩、アミンなどの塩基性残基の無機または有機酸塩；カルボン酸などの酸性残基のアルカリまたは有機塩；などが挙げられる。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、樟脳酸塩、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、ドデシルスルホン酸塩、エプタ

ンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、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、パモン酸塩、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、ピバリン酸塩、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、ならびに非毒性のアンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミンカチオンが挙げられ、これには、限定するものではないが、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、エチルアミンなどが挙げられる。

【０７００】

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種類のポリヌクレオチドを含有してもよい。非限定的な例として、この製剤は、本明細書に記載の１、２、３、４、５または５を超えるｍＲＮＡを含んでもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の製剤は、ポリペプチドをコードする少なくとも１つのｍＲＮＡ、ならびに少なくとも１つの核酸配列、例えば、限定するものではないが、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｓｎｏＲＮＡ、及びｍｉＲＮＡを含んでもよい。

【０７０１】

例えば、非経口投与用の液体剤形としては、限定するものではないが、薬学的に許容されるエマルジョン、マイクロエマルジョン、ナノエマルジョン、液剤、懸濁剤、シロップ剤、及び／またはエリキシル剤が挙げられる。活性成分に加えて、液体剤形は、当該技術分野で通常使用される不活性希釈剤、例えば、水または他の溶媒、可溶化剤及び乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、１，３－ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（特に綿実油、落花生油、とうもろこし油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、及びゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール及びソルビタンの脂肪酸エステル、ならびにそれらの混合物を含んでもよい。不活性希釈剤の他に、経口組成物は、アジュバント、例えば、湿潤剤、乳化剤及び／または懸濁剤を含んでもよい。非経口投与のための特定の実施形態では、組成物は、可溶性剤、例えば、ＣＲＥＭＡＰＨＯＲ（登録商標）、アルコール、油、改質油、グリコール、ポリソルベート、シクロデキストリン、ポリマー、及び／またはそれらの組み合わせと混合される。

【０７０２】

注射用製剤、例えば、滅菌注射用水性または油性懸濁液は、適切な分散剤、湿潤剤、及び／または懸濁剤を使用して公知の技術に従って処方されてもよい。無菌注射用製剤は、例えば、１，３－ブタンジオール中の溶液として、無毒性の非経口的に許容される希釈剤及び／または溶媒中の無菌注射用溶液、懸濁液、及び／またはエマルジョンであり得る。許容されるビヒクル及び溶媒の中では、水、リンゲル液（Ｕ．Ｓ．Ｐ．）、及び等張塩化ナトリウム溶液が使用されてもよい。無菌の不揮発性油は、溶媒または懸濁媒体として従来から使用されている。この目的のために、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む任意の無刺激性不揮発性油を使用してもよい。オレイン酸などの脂肪酸を、注射剤の調製に使用してもよい。注射用製剤は、例えば、細菌保持フィルターによる濾過によって、及び／または使用前に滅菌水または他の滅菌注射用媒体に溶解または分散され得る滅菌固体組成物の形態で滅菌剤を組み込むことによって、滅菌され得る。

【０７０３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の少なくとも１つのｍＲＮＡを含む薬学的組成物は、哺乳動物（例えば、ヒト）に投与される。本明細書で提供される薬学的組成物の

説明は主に、ヒトへの投与に適した薬学的組成物を対象としているが、そのような組成物は一般に任意の他の動物、例えば、非ヒト哺乳動物への投与に適していることが当業者には理解されよう。組成物を様々な動物への投与に適したものにするためのヒトへの投与に適した薬学的組成物の改変は十分に理解されており、当業者の獣医薬理学者は、あるとしても単に通常の実験によって、そのような改変を設計及び／または実施し得る。薬学的組成物の投与が企図される対象としては、限定するものではないが、ヒト及び／または他の霊長類；哺乳動物、例としては商業的に関連する哺乳動物、例えば、牛、豚、馬、羊、猫、犬、マウス、及び／またはラット；及び／または、鳥類、例としては、商業的に関連する鳥類、例えば、家禽、鶏、アヒル、ガチョウ、及び／または七面鳥が挙げられる。特定の実施形態では、対象は本明細書に記載の２つ以上のｍＲＮＡが提供される。特定の実施形態では、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、同時にまたは異なる時間に、例えば、順次に対象に提供される。特定の実施形態では、例えば、同じ細胞による両方のｍＲＮＡの取り込みを容易にするために、第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが、同じ薬学的組成物または製剤で対象に提供される。

【０７０４】

本開示はまた、免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含む容器を備えるキットを包含する。別の実施形態では、このキットは、免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡ、ならびに１つ以上の目的の抗原をコードする１つ以上の追加のｍＲＮＡを含む容器を備える。他の実施形態では、このキットは、免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡを含む第１の容器と、目的の１つ以上の抗原をコードする１つ以上のｍＲＮＡを含む第２の容器とを備える。特定の実施形態では、免疫応答を増強するためのｍＲＮＡ、及び抗原（複数可）をコードするｍＲＮＡ（複数可）は、同じまたは異なるナノ粒子及び／または薬学的組成物中に存在する。特定の実施形態では、ｍＲＮＡは、凍結乾燥、乾燥、またはフリーズドライされている。

【０７０５】

免疫応答を増強する方法

本開示は、対象、例えば、ヒト対象における目的の抗原に対する免疫応答を増強するための方法を提供する。一実施形態では、この方法は、目的の抗原（複数可）に対する免疫応答が増強されるように、以下をコードする少なくとも１つのｍＲＮＡ構築物を含む本開示の組成物（またはその脂質ナノ粒子、またはその薬学的組成物）を対象に投与することを包含する：（ｉ）目的の少なくとも１つの抗原、及び（ｉｉ）目的の抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチド。一実施形態では、免疫応答を増強することは、サイトカイン産生を刺激することを包含する。別の実施形態では、免疫応答を増強することは、細胞性免疫（Ｔ細胞応答）を増強すること、例えば、抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞活性を刺激すること、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞活性を刺激すること、または「エフェクターメモリー」ＣＤ６２Ｌ^{lo}Ｔ細胞の割合を増大させることを包含する。別の実施形態では、免疫応答を増強することは、抗原特異的抗体産生を刺激することなどの体液性免疫（Ｂ細胞応答）を増強することを包含する。

【０７０６】

この方法の一実施形態では、免疫増強剤ｍＲＮＡは、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激するポリペプチドをコードする（例えば、免疫増強剤は、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３、ＩＲＦ７または本明細書に記載の任意のさらなる免疫増強剤などのポリペプチドをコードする）。この方法の他の様々な実施形態では、免疫増強剤は、ＮＦκＢ経路シグナル伝達を刺激するか、炎症反応を刺激するか、または樹状細胞の発達、活性もしくは動員を刺激するポリペプチドをコードする。一実施形態では、この方法は、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激するｍＲＮＡ組成物を対象に投与する前に、樹状細胞の発達、活性または動員を刺激するｍＲＮＡ組成物を対象に投与することを包含する。例えば、樹状細胞の発達または活性を刺激するｍＲＮＡ組成物は、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激するｍＲＮＡ組成物を投与する１～３０日前、例えば、３日、５日、７日、１０日、１４日、２１日、２８日に投与され得る。

【０７０７】
本開示の免疫増強剤による、目的の抗原（複数可）に対する対象における免疫応答の増強は、限定するものではないが、実施例に記載の方法を含む、免疫応答を評価するために当該分野で確立されている様々な方法によって評価され得る。例えば、種々の実施形態では、増強は、ＩＦＮ－γもしくはＴＮＦ－αについてのＣＤ８＋細胞の細胞内染色（ＩＣＳ）のレベル、脾臓もしくは末梢のＣＤ８ｂ$^{+}$細胞の割合、または脾臓もしくは末梢の「エフェクターメモリー」ＣＤ６２Ｌ^{lo}細胞の割合によって評価される。
【０７０８】
本開示の組成物は、有効量で対象に投与される。一般に、有効量の組成物は、細胞内でのコードされたポリペプチドの効率的な産生を可能にするであろう。効率のための測定基準としては、ポリペプチド翻訳（ポリペプチド発現によって示される）、ｍＲＮＡ分解のレベル、及び免疫応答指標が挙げられ得る。
【０７０９】
治療方法
対象において目的の抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するための本開示の方法は、様々な臨床的または治療的用途に使用され得る。例えば、この方法は、腫瘍を有する対象において抗腫瘍免疫を刺激するために使用してもよい。したがって、一態様では、本開示は、それを必要とする対象において腫瘍に対する免疫原性応答を刺激する方法であって、目的の腫瘍抗原（複数可）に対する免疫応答が増強されるように：（ｉ）少なくとも１つの目的の腫瘍抗原、及び（ｉｉ）目的の腫瘍抗原（複数可）に対する免疫応答を増強するポリペプチド、をコードする少なくとも１つのｍＲＮＡ構築物を含む、本開示の組成物（またはその脂質ナノ粒子、またはその薬学的組成物）を対象に投与することを包含する方法に関与する。目的の適切な腫瘍抗原としては、本明細書に記載されている抗原（例えば、変異ＫＲＡＳ抗原を含む腫瘍ネオ抗原）が挙げられる。この方法の一実施形態では、対象に、配列番号１０７～１３０のいずれかに示される配列をコードする変異体ＫＲＡＳ抗原－ＳＴＩＮＧ　ｍＲＮＡ構築物を投与する。
【０７１０】
本開示はまた、それを必要とする対象においてがんを治療または予防する方法であって、対象に対して、本明細書に記載の少なくとも１つのｍＲＮＡ組成物（すなわち、同一または別々のｍＲＮＡ構築物中の、免疫増強剤ｍＲＮＡ及び抗原コードｍＲＮＡ）を提供または投与することを包含する方法を提供する。関連の実施形態では、対象は、ｍＲＮＡ（複数可）を含むナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子）を提供されるかまたは投与される。さらなる関連の実施形態では、対象は、本開示の薬学的組成物をその対象に提供されるかまたは投与される。特定の実施形態では、薬学的組成物は、抗原をコードするｍＲＮＡ（複数可）及び本明細書に記載の免疫刺激ポリペプチドを含むか、またはｍＲＮＡ（複数可）を含むナノ粒子を含む。特定の実施形態では、ｍＲＮＡ（複数可）はナノ粒子、例えば、脂質ナノ粒子中に存在する。特定の実施形態では、ｍＲＮＡ（複数可）またはナノ粒子は薬学的組成物中に存在する。
【０７１１】
特定の実施形態では、それを必要とする対象は癌と診断されたか、またはがんを発症する危険性があるとみなされる。いくつかの実施形態では、がんは、肝臓癌、結腸直腸癌、黒色腫癌、膵臓癌、ＮＳＣＬＣ、子宮頸癌、または頭頸部癌である。特定の実施形態では、肝臓癌は、肝細胞癌腫である。いくつかの実施形態では、結腸直腸癌は、原発腫瘍または転移である。いくつかの実施形態では、がんは造血器癌である。いくつかの実施形態では、がんは急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、骨髄ジストロフィー症候群（難治性貧血及び難治性血球減少症を含む）または骨髄増殖性新生物もしくは疾患（真性多血症、本態性血小板増多症及び原発性骨髄線維症を含む）である。他の実施形態では、がんは、血液系癌または造血系癌である。特定のがん型に対する選択性は、ｍＲＮＡ構築物に操作された適切な調節部位（複数可）（例えば、マイクロＲＮＡ）と組み合わせた、適切なＬＮＰ製剤（例えば、特定の細胞型を標的とする）の使用の組み合わ

せによって達成され得る。
【０７１２】
いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ（複数可）、ナノ粒子、または薬学的組成物は、非経口的に患者に投与される。特定の実施形態では、対象は哺乳動物、例えば、ヒトである。様々な実施形態では、対象は有効量のｍＲＮＡ（複数可）を提供される。
【０７１３】
がんを治療する方法は、対象における抗腫瘍応答を増強するか、及び／または腫瘍に対して細胞傷害性である追加の薬剤（例えば、化学療法剤）による対象の処置をさらに包含し得る。併用療法に使用するのに適した治療剤としては、プロテインチロシンキナーゼ阻害剤を含む低分子化学療法剤、ならびに以下にさらに論じるものを含むがこれらに限定されない抗がん抗体などの生物学的抗がん剤が挙げられる。併用療法は、抗腫瘍免疫を増強するための免疫チェックポイント阻害剤、例えば、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤及びＣＴＬＡ－４阻害剤を対象に投与することを包含し得る。免疫チェックポイントの他の調節因子は、ＯＸ－４０、ＯＸ－４０ＬまたはＩＣＯＳを標的とし得る。一実施形態では、免疫チェックポイントを調節する薬剤は抗体である。別の実施形態では、免疫チェックポイントを調節する薬剤は、タンパク質または低分子モジュレーターである。別の実施形態では、因子（ｍＲＮＡなど）は、免疫チェックポイントの抗体モジュレーターをコードする。併用療法に使用され得る免疫チェックポイント阻害剤の非限定的な例としては、ペムブロリズマブ、アレムツズマブ、ニボルマブ、ピジリズマブ、オファツムマブ、リツキシマブ、ＭＥＤＩ０６８０及びＰＤＲ００１、ＡＭＰ－２２４、ＰＦ－０６８０１５９１、ＢＧＢ－Ａ３１７、ＲＥＧＮ２８１０、ＳＨＲ－１２１０、ＴＳＲ－０４２、アフィマー、アベルマブ（ＭＳＢ００１０７１８Ｃ）、アテゾリズマブ（ＭＰＤＬ３２８０Ａ）、デュルバルマブ（ＭＥＤＩ４７３６）、ＢＭＳ９３６５５９、イピリムマブ、トレメリムマブ、ＡＧＥＮ１８８４、ＭＥＤＩ６４６９及びＭＯＸＲ０９１６が挙げられる。
【０７１４】
本開示の１つ以上のｍＲＮＡを含む薬学的組成物は、任意の適切な経路によって対象に投与され得る。いくつかの実施形態では、本開示の組成物は、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、滑液内、胸骨内、髄腔内、病巣内または頭蓋内注射ならびに任意の適切な注入技術）、経口、経皮または皮内、皮内、直腸内、膣内、局所（例えば、粉末、軟膏、クリーム、ゲル、ローション、及び／またはドロップによる）、粘膜、経鼻、口腔内、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；経口スプレー及び／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含む種々の経路のうち１つ以上によって投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内、筋肉内、皮内、動脈内、腫瘍内、皮下または吸入によって投与してもよい。いくつかの実施形態では、組成物は筋肉内投与される。しかし、本開示は、薬物送達の科学における可能性のある進歩を考慮に入れた任意の適切な経路による本開示の組成物の送達を包含する。一般に、最も適切な投与経路は、１つ以上のｍＲＮＡを含む薬学的組成物の性質（例えば、血流及び胃腸管などの様々な身体環境におけるその安定性）、及び患者の状態（例えば、患者が特定の投与経路に耐えることができるか否か）を含む様々な要因に依存する。
【０７１５】
特定の実施形態では、本開示の組成物は、所定の用量中で、約０．０００１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．００１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．００５ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約２ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．０００１ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．００１ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．００５ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約２ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．０００１ｍｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇ、約０．００１ｍｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇ、約０．００５

ｍｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇ、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇ、または約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇを送達するのに十分な投薬レベルで投与されてもよいが、１ｍｇ／ｋｇの用量では、対象の体重１ｋｇあたり１ｍｇのｍＲＮＡまたはナノ粒子が得られる。特定の実施形態では、本開示のｍＲＮＡまたはナノ粒子の約０．００５ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇの用量が投与され得る。

【０７１６】

用量は、所望のレベルのｍＲＮＡ発現及び／または効果（例えば、治療効果）を得るために、１日に１回以上、同じ量または異なる量で投与されてもよい。所望の投与量は、例えば、１日３回、１日２回、１日１回、隔日、３日ごと、毎週、２週間ごと、３週間ごと、または４週間ごとに送達してもよい。特定の実施形態では、所望の投与量は、複数回投与（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４またはそれ以上の投与）を用いて送達され得る。いくつかの実施形態では、単回用量は、例えば、外科的処置の前もしくは後に投与されても、または急性の疾患、障害もしくは病態の場合に投与されてもよい。任意の特定の患者に対する具体的な治療上有効、予防上有効、またはそうでなければ適切な用量レベルは、もしあれば、処置される障害の重症度及び同定；使用された１つ以上のｍＲＮＡ；使用された特定の組成物；患者の年齢、体重、一般的な健康状態、性別、及び食事；使用した特定の薬学的組成物の投与時間、投与経路、及び排泄速度；処置の期間；使用される特定の薬学的組成物と組み合わせてまたは同時に使用される薬物；そして医学の分野で周知の同様の要因を含む様々な要因に依存するであろう。

【０７１７】

本開示の免疫調節治療組成物ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）及び脂質ナノ粒子は、治療上有効な結果をもたらす任意の経路によって投与され得る。これらとしては、限定するものではないが、皮内投与、筋肉内投与、鼻腔内投与、及び／または皮下投与が挙げられる。本開示は、それを必要とする対象に本開示のＲＮＡ組成物及び脂質ナノ粒子を投与することを包含する方法を提供する。必要とされる正確な量は、対象の種、年齢、及び全身状態、疾患の重篤度、特定の組成、その投与方法、その活動方法などに応じて、対象ごとに異なるであろう。本開示のＲＮＡ組成物及び脂質ナノ粒子は、典型的には、投与の容易さ及び投薬量の均一性のために投薬単位形態で処方される。しかしながら、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物の１日の総使用量は、妥当な医学的判断の範囲内で主治医によって決定され得ることが理解されるであろう。任意の特定の患者に対する具体的な治療上有効、予防上有効、または適切な画像化用量レベルは、治療されている障害及び障害の重症度；用いた特定の化合物の活性；採用した特定の組成物；患者の年齢、体重、一般的な健康状態、性別及び食事；使用した特定の化合物の投与時間、投与経路、及び排泄速度；治療期間；使用される特定の化合物と組み合わせてまたは同時に使用される薬物；医学の分野で周知の同様の要因を含む様々な要因に依存するであろう。

【０７１８】

本明細書で提供される本開示のＲＮＡ組成物または脂質ナノ粒子の有効量は、例えば、単回投与として、または２回の５μｇ投与として投与される１０μｇという低い量であり得る。いくつかの実施形態では、有効量は１０μｇ～３００μｇの総用量である。例えば、有効量は、１０μｇ、２０μｇ、２５μｇ、３０μｇ、３５μｇ、４０μｇ、４５μｇ、５０μｇ、５５μｇ、６０μｇ、６５μｇ、７０μｇ、７５μｇ、８０μｇ、８５μｇ、９０μｇ、９５μｇ、１００μｇ、１１０μｇ、１２０μｇ、１３０μｇ、１４０μｇ、１５０μｇ、１６０μｇ、１７０μｇ、１８０μｇ、１９０μｇまたは２００μｇ、２１０μｇ、２２０μｇ、２３０μｇ、２４０μｇ、２５０μｇ、２６０μｇ、２７０μｇ、２８０μｇ、２９０μｇまたは３００μｇという総用量であってもよい。いくつかの実施形態では、有効量は１０μｇ～３００μｇの総用量である。いくつかの実施形態では、有効量は、３０μｇ～１００μｇまたは５０μｇ～２００μｇの総用量である。

【０７１９】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物及び脂質ナノ粒子は、所望の治療効果、診断効果、予防効果、または画像化効果を得るために、１日あたり、１日

あたり、１週間あたり、１ヶ月あたりなどに１回以上、対象の体重１ｋｇあたり、０．０００１ｍｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇ、０．００１ｍｇ／ｋｇ～０．０５ｍｇ／ｋｇ、０．００５ｍｇ／ｋｇ～０．０５ｍｇ／ｋｇ、０．００１ｍｇ／ｋｇ～０．００５ｍｇ／ｋｇ、０．０５ｍｇ／ｋｇ～０．５ｍｇ／ｋｇ、０．０１ｍｇ／ｋｇ～５０ｍｇ／ｋｇ、０．１ｍｇ／ｋｇ～４０ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ～３０ｍｇ、０．０１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ、０．１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ、または１ｍｇ／ｋｇ～２５ｍｇ／ｋｇを送達するのに十分な用量レベルで投与され得る（例えば、その全体が参照によって、本明細書に組み込まれる、国際公開番号ＷＯ２０１３０７８１９９に記載される単位用量の範囲を参照のこと）。所望の投与量は、１日３回、１日２回、１日１回、隔日、３日ごと、毎週、２週間ごと、３週間ごと、４週ごと、２か月ごと、３ヶ月ごと、６ヶ月ごとなどに送達されてもよい。特定の実施形態では、所望の投与量は、複数回投与（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、またはそれ以上の投与）を用いて送達されてもよい。複数回投与を採用する場合、本明細書に記載のものなどの分割投与計画を使用してもよい。例示的な実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物は、０．０００５ｍｇ／ｋｇ～０．０１ｍｇ／ｋｇ、例えば、約０．０００５ｍｇ／ｋｇ～約０．００７５ｍｇ／ｋｇ、例えば、約０．０００５ｍｇ／ｋｇ、約０．００１ｍｇ／ｋｇ、約０．００２ｍｇ／ｋｇ、約０．００３ｍｇ／ｋｇ、約０．００４ｍｇ／ｋｇ、または約０．００５ｍｇ／ｋｇを送達するために十分な投与レベルで投与され得る。

【０７２０】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物は、０．０２５ｍｇ／ｋｇ～０．２５０ｍｇ／ｋｇ、０．０２５ｍｇ／ｋｇ～０．５００ｍｇ／ｋｇ、０．０２５ｍｇ／ｋｇ～０．７５０ｍｇ／ｋｇ、または０．０２５ｍｇ／ｋｇ～１．０ｍｇ／ｋｇを送達するのに十分な用量レベルで１回または２回（またはそれ以上）投与され得る。

【０７２１】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物は、０．０１００ｍｇ、０．０２５ｍｇ、０．０５０ｍｇ、０．０７５ｍｇ、０．１００ｍｇ、０．１２５ｍｇ、０．１５０ｍｇ、０．１７５ｍｇ、０．２００ｍｇ、０．２２５ｍｇ、０．２５０ｍｇ、０．２７５ｍｇ、０．３００ｍｇ、０．３２５ｍｇ、０．３５０ｍｇ、０．３７５ｍｇ、０．４００ｍｇ、０．４２５ｍｇ、０．４５０ｍｇ、０．４７５ｍｇ、０．５００ｍｇ、０．５２５ｍｇ、０．５５０ｍｇ、０．５７５ｍｇ、０．６００ｍｇ、０．６２５ｍｇ、０．６５０ｍｇ、０．６７５ｍｇ、０．７００ｍｇ、０．７２５ｍｇ、０．７５０ｍｇ、０．７７５ｍｇ、０．８００ｍｇ、０．８２５ｍｇ、０．８５０ｍｇ、０．８７５ｍｇ、０．９００ｍｇ、０．９２５ｍｇ、０．９５０ｍｇ、０．９７５ｍｇ、または１．０ｍｇという総用量で、またはその総用量を送達するのに十分な用量レベルで、２回投与されてもよい（例えば、０日目と７日目、０日目と１４日目、０日目と２１日目、０日目と２８日目、０日目と６０日目、０日目と９０日目、０日目と１２０日目、０日目と１５０日目、０日目と１８０日目、０日目と３ヶ月後、０日目と６ヶ月後、０日目と９ヶ月後、０日目と１２ヶ月後、０日後と１８ヶ月後、０日目と２年後、０日目と５年後、または０日目と１０年後）。より高低の投与量及び投与頻度が本開示に包含される。例えば、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物は３回投与されてもまたは４回投与されてもよい。

【０７２２】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物またはそれを含む脂質ナノ粒子は、０．０１０ｍｇ、０．０２５ｍｇ、０．１００ｍｇまたは０．４００ｍｇという総用量で、またはその総用量を送達するのに十分な投薬レベルで、２回投与され得る（例えば、０日目と７日目、０日目と１４日目、０日目と２１日目、０日目と２８日目、０日目と６０日目、０日目と９０日目、０日目と１２０日目、０日目と１５０日目、０日目と１８０日目、０日目と３か月後、０日目と６か月後、０日目と９か月後、０日目と１２ヶ月後、０日目と１８ヶ月後、０日目と２年後、０日目と５年後、または０日目と１０年後）。

【０７２３】

いくつかの実施形態では、対象にワクチン接種する方法で使用するためのＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物またはそれを含む脂質ナノ粒子を、対象に対してワクチン接種をするために有効な量で１０μｇ／ｋｇ～４００μｇ／ｋｇの核酸ワクチンの単回投与量を対象に投与する。いくつかの実施形態では、対象にワクチン接種する方法で使用するためのＲＮＡ組成物またはそれを含む脂質ナノ粒子は、対象にワクチン接種するのに有効な量で１０μｇ～４００μｇの核酸ワクチンの単回投与量で対象に投与される。いくつかの実施形態では、対象にワクチン接種する方法で使用するためのＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物またはそれを含む脂質ナノ粒子は、２５～１０００μｇの単回投与量（例えば、抗原をコードするｍＲＮＡの単回投与量）として対象に投与される。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ組成物は、２５、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、５５０、６００、６５０、７００、７５０、８００、８５０、９００、９５０または１０００μｇの単回投与量として対象に投与される。例えば、ＲＮＡ組成物は、２５～１００、２５～５００、５０～１００、５０～５００、５０～１０００、１００～５００、１００～１０００、２５０～５００、２５０～１０００、または５００～１０００μｇの単回用量として対象に投与され得る。いくつかの実施形態では、対象にワクチン接種する方法で使用するためのＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物またはそれを含む脂質ナノ粒子は、２つの投与量として対象に投与され、その組み合わせは、２５～１０００μｇのＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物に等しい。

【０７２４】

本明細書に記載のＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）組成物またはそれを含む脂質ナノ粒子は、鼻腔内、気管内、または注射用（例えば、静脈内、眼内、硝子体内、筋肉内、皮内、心臓内、腹腔内、及び皮下）のような本明細書に記載の剤形に処方してもよい。

【０７２５】

いくつかの実施形態では、本開示の薬学的組成物は、別の薬剤、例えば、別の治療剤、予防剤、及び／または診断剤と組み合わせて投与されてもよい。「と組み合わせて」とは、薬剤を同時に投与しなければならない、及び／または一緒に送達するために処方しなければならないことを意味することを意図するものではないが、これらの送達方法は、本開示の範囲内である。例えば、１つ以上の異なるｍＲＮＡを含む１つ以上の組成物を組み合わせて投与してもよい。組成物は、１つ以上の他の所望の治療薬または医療手順と同時に、その前に、またはその後に投与されてもよい。一般に、各薬剤はその薬剤について決定された用量及び／またはタイムスケジュールで投与されるであろう。いくつかの実施形態では、本開示は、それらのバイオアベイラビリティーを改善し、それらの代謝を低減及び／または改変し、それらの排泄を阻害し、及び／または体内でのそれらの分布を改変する薬剤と組み合わせた、本開示の組成物の送達、またはそのイメージング、診断もしくは予防組成物を包含する。

【０７２６】

本開示の組成物と組み合わせて投与され得る例示的な治療剤としては、限定するものではないが、細胞傷害性剤、化学療法剤、及び他の治療剤が挙げられる。細胞傷害剤としては、例えば、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、エチジウムブロマイド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシネジオン（ｄｉｈｙｄｒｏｘｙａｎｔｈｒａｃｉｎｅｄｉｏｎｅ）、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、メイタンシノイド、ラシェルマイシン、及びそれらの類似体が挙げられ得る。放射性イオンも治療剤として使用されてもよく、例えば、放射性ヨウ素、ストロンチウム、リン、パラジウム、セシウム、イリジウム、コバルト、イットリウム、サマリウム、及びプラセオジムが挙げられ得る。他の治療剤としては、例えば、代謝拮抗薬（例えば、メトトレキサート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、及び５－フルオロウラシル、及びデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオテパ、クロラムブシル、ラシェ

ルマイシン、メルファラン、カルムスチン、ロムスチン、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、及びシス－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）、及びシスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン及びドキソルビシン）、抗生物質（例、ダクチノマイシン、ブレオマイシン、ミトラマイシン及びアントラマイシン）、及び抗有糸分裂剤（例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、タキソール、及びメイタンシノイド）が挙げられ得る。

【０７２７】

併用レジメンで使用する療法（治療薬または手順）の特定の組み合わせは、所望の治療薬及び／または手順の適合性、ならびに達成されるべき所望の治療効果を考慮に入れる。使用される療法が同じ障害に対して所望の効果を達成し得る（例えば、がんを処置するのに有用な組成物は、化学療法剤と同時に投与され得る）、またはそれらは異なる効果を達成し得る（例えば、有害効果の制御）ことも理解される。

【０７２８】

プログラム死受容体１／プログラム死リガンド１（ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１）とＰＤ－Ｌ２との間の相互作用を標的とするペムブロリズマブまたはニボルマブなどの免疫チェックポイント阻害剤は、最近、様々な悪性腫瘍の処置に承認されており、現在黒色腫、頭頸部扁平上皮癌（ＨＮＳＣＣ）を含む様々ながんの臨床試験で調査中である。

【０７２９】

したがって、本開示の一態様は、本開示の脂質ナノ粒子または組成物の投与の前に、対象が以前にＰＤ－１アンタゴニストで治療されている併用療法に関する。別の態様では、対象は、本開示の脂質ナノ粒子または組成物を投与する前に、ＰＤ－１に結合するモノクローナル抗体で処置されている。別の態様では、抗ＰＤ－１モノクローナル抗体療法による処置の前に、対象に本開示の脂質ナノ粒子または組成物を投与した。いくつかの態様では、抗ＰＤ－１モノクローナル抗体療法は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、ピジリズマブ、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、抗ＰＤ－１モノクローナル抗体は、ペンブロリズマブを含む。

【０７３０】

別の態様では、対象は、本開示の脂質ナノ粒子または組成物を投与する前に、ＰＤ－Ｌ１に結合するモノクローナル抗体で処置されている。別の態様では、抗ＰＤ－Ｌ１モノクローナル抗体療法による処置の前に、対象に脂質ナノ粒子または組成物を投与する。いくつかの態様では、抗ＰＤ－Ｌ１モノクローナル抗体療法は、デュルバルマブ、アベルマブ、ＭＥＤＩ４７３、ＢＭＳ－９３６５５９、エゾリズマブ、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【０７３１】

いくつかの態様では、対象は、本開示の組成物による処置の前にＣＴＬＡ－４アンタゴニストで処置されている。別の態様では、対象は、本開示の脂質ナノ粒子または組成物の投与前に、ＣＴＬＡ－４に結合するモノクローナル抗体で以前に処置されている。いくつかの態様では、抗ＣＴＬＡ－４モノクローナル抗体による処置の前に、対象に脂質ナノ粒子または組成物が投与されている。いくつかの態様では、抗ＣＴＬＡ－４抗体療法は、イピリムマブまたはトレメリムマブを含む。

【０７３２】

前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、個体におけるがんの処置または進行の遅延に使用するための脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物を提供し、ここでこの処置は、第２の組成物と組み合わせたこの組成物の投与を包含し、この第２の組成物は、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む。

【０７３３】

前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための医薬の製造における脂質ナノ粒子及び任意の薬学的に許容される担体の使用を提供し、ここでこの医薬は、脂質ナノ粒子及び任意の薬学的に許容され

る担体を含み、ここでこの処置は、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせたこの医薬の投与を包含する。

【０７３４】

任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための、脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物、ならびに脂質ナノ粒子または薬学的組成物の投与の説明書を含む添付文書を備える容器を備えるキットを提供する。いくつかの態様では、この添付文書は、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、脂質ナノ粒子または薬学的組成物の投与の説明書をさらに含む。

【０７３５】

任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物を含む医薬、ならびに単独でまたは個体におけるがんを処置または進行を遅延させるためのチェックポイント阻害剤ポリペプチドと任意の薬学的に許容される担体とを含む組成物と組み合わせたこの医薬の投与の説明書を含む添付文書を備えるキットを提供する。いくつかの態様では、このキットは、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための第２の医薬の投与の前、それと同時、またはその後の第１の医薬の投与のための説明書を含む添付文書をさらに備える。

【０７３６】

任意の前述のまたは関連する態様では、本開示は、脂質ナノ粒子、組成物もしくはそれらの使用、または本明細書に記載の脂質ナノ粒子もしくは組成物を備えるキットを提供し、ここでこのチェックポイント阻害剤ポリペプチドがＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、抗体である。いくつかの態様では、そのチェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合するＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、トレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ペンブロリズマブである、抗ＰＤ－１抗体である。

【０７３７】

関連する態様では、本開示は、本開示の任意の前述のもしくは関連する脂質ナノ粒子、または本開示の任意の前述のまたは関連する組成物を対象に投与することを包含する、それを必要とする対象における腫瘍のサイズを縮小もしくは減少するか、または腫瘍増殖を阻害する方法を提供する。

【０７３８】

関連する態様では、本開示は、本開示の任意の前述もしくは関連脂質ナノ粒子、または本開示の任意の前述もしくは関連組成物を対象に投与することを包含する、がんを有する対象において抗腫瘍応答を誘導する方法を提供する。いくつかの態様では、抗腫瘍反応は、Ｔ細胞反応を含む。いくつかの態様では、Ｔ細胞応答はＣＤ８＋Ｔ細胞を包含する。

【０７３９】

前述の方法のいくつかの態様では、上記方法はさらに、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の組成物を投与することを包含する。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する。いくつかの態様では、このチェックポイント阻害剤ポリペプチドは抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害

剤ポリペプチドは、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、トレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドは、ペンブロリズマブである、抗ＰＤ－１抗体である。

【０７４０】

任意の前述の方法または関連する方法のいくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、静脈内注射によって投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、２～３週間に１回投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、２週間に１回または３週間に１回投与される。いくつかの態様では、チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物は、脂質ナノ粒子またはその薬学的組成物の投与の前に、それと同時に、またはその後に投与される。

【０７４１】

前述のまたは関連する方法のいずれかのいくつかの態様では、対象は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃから選択される組織学的に確認されたＫＲＡＳ変異を有する。

【０７４２】

前述のまたは関連する方法のいずれかのいくつかの態様では、対象は転移性結腸直腸癌を有する。

【０７４３】

前述のまたは関連する方法のうちのいずれかのいくつかの態様では、対象は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）を有する。

【０７４４】

前述のまたは関連する方法のいずれかのいくつかの態様では、対象は膵臓癌を患っている。

【０７４５】

前述のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示は、脂質ナノ粒子と薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物を提供する。いくつかの態様では、薬学的組成物は、筋肉内送達用に処方されている。

【０７４６】

本開示の他の実施形態

Ｅ１．以下を含む免疫調節治療組成物：

活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡ；

対象において上記活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強する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をそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡであって、ここで、上記免疫応答は、以下

（ｉ）Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を刺激すること；

（ｉｉ）ＮＦκＢ経路シグナル伝達を刺激すること；

（ｉｉｉ）炎症反応を刺激すること；

（ｉｖ）サイトカイン産生を刺激すること；

（ｖ）樹状細胞の発達、活性または動員を刺激すること、及び

（ｖｉ）（ｉ）－（ｖ）のいずれかの組み合わせ；

によって特徴付けられる細胞性または体液性免疫応答を含む、１つ以上のｍＲＮＡ、なら

びに
薬学的に許容される担体。
【０７４７】
Ｅ２．上記活性化がん遺伝子変異がＫＲＡＳ変異である、実施形態１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７４８】
Ｅ３．上記ＫＲＡＳ変異がＧ１２変異である、実施形態２に記載の免疫調節治療組成物。
【０７４９】
Ｅ４．上記Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異が、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、及びＧ１２Ｒ　ＫＲＡＳ変異から選択される、実施形態３に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５０】
Ｅ５．上記Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異がＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｃ　ＫＲＡＳ変異から選択される、実施形態３に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５１】
Ｅ６．上記ＫＲＡＳ変異がＧ１３変異である、実施形態２～５のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７５２】
Ｅ７．上記Ｇ１３　ＫＲＡＳ変異が、Ｇ１３Ｄ　ＫＲＡＳ変異である、実施形態６に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５３】
Ｅ８．上記活性化がん遺伝子変異が、Ｈ－ＲＡＳまたは Ｎ－ＲＡＳ変異である、実施形態１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５４】
Ｅ９．上記ｍＲＮＡが、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する、実施形態１～８のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７５５】
Ｅ１０．上記コンカテマーが３、４、５、６、７、８、９、または１０個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、実施形態９に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５６】
Ｅ１１．上記コンカテマーが４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、実施形態９に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５７】
Ｅ１２．上記コンカテマーが、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、実施形態１１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５８】
Ｅ１３．上記コンカテマーが、ＮからＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、実施形態１２に記載の免疫調節治療組成物。
【０７５９】
Ｅ１４．上記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む、実施形態１２に記載の免疫調節治療組成物。
【０７６０】
Ｅ１５．上記組成物が、１、２、３、または４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含む、実施形態１～８のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７６１】
Ｅ１６．上記組成物が、４個の活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個のｍＲＮＡを含む、実施形態１５に記載の免疫調節治療組成物。

【０７６２】
Ｅ１７．上記４個のｍＲＮＡがＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄをコードする、実施形態１６に記載の免疫調節治療組成物。
【０７６３】
Ｅ１８．上記活性化がん遺伝子変異ペプチドが、１０～３０、１５～２５、または２０～２５アミノ酸長を含む、実施形態１～１７のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７６４】
Ｅ１９．上記活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、実施形態１８に記載の免疫調節治療組成物。
【０７６５】
Ｅ２０．上記活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、実施形態１９に記載の免疫調節治療組成物。
【０７６６】
Ｅ２１．対象において上記活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードする、実施形態１～２０のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７６７】
Ｅ２２．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、Ｖ１４７Ｌ、Ｎ１５４Ｓ、Ｖ１５５Ｍ、Ｒ２８４Ｍ、Ｒ２８４Ｋ、Ｒ２８４Ｔ、Ｅ３１５Ｑ、Ｒ３７５Ａ、及びそれらの組み合わせからなる群より選択される１つ以上の変異を含む、実施形態２１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７６８】
Ｅ２３．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、変異Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態２２に記載の免疫調節治療組成物。
【０７６９】
Ｅ２４．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、変異Ｖ１４７Ｌ／Ｎ１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態２２に記載の免疫調節治療組成物。
【０７７０】
Ｅ２５．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｒ２８４Ｍ／Ｖ１４７Ｌ／Ｎ１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍを含む実施形態２２に記載の免疫調節治療組成物。
【０７７１】
Ｅ２６．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１～１０及び１６４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む、実施形態２２に記載の免疫調節治療組成物。
【０７７２】
Ｅ２７．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、実施形態２１～２６のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７７３】
Ｅ２８．対象において上記活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、構成的に活性なヒトＩＲＦ３ポリペプチドをコードする、実施形態１～２０のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７７４】
Ｅ２９．上記構成的に活性なヒトＩＲＦ３ポリペプチドが、Ｓ３９６Ｄ変異を含む、実施形態２８に記載の免疫調節治療組成物。
【０７７５】
Ｅ３０．上記構成的に活性なヒトＩＲＦ３ポリペプチドが、配列番号１２に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態２８に記載の免疫調節治療組成物。

【０７７６】
Ｅ３１．対象において上記活性化がん遺伝子変異ペプチドに対する免疫応答を増強するポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、構成的に活性なヒトＩＲＦ７ポリペプチドをコードする、実施形態１～２０のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７７７】
Ｅ３２．上記構成的に活性なヒトＩＲＦ７ポリペプチドが、Ｓ４７５Ｄ、Ｓ４７６Ｄ、Ｓ４７７Ｄ、Ｓ４７９Ｄ、Ｌ４８０Ｄ、Ｓ４８３Ｄ、Ｓ４８７Ｄ、アミノ酸２４７～４６７の欠失、アミノ酸残基１５２～２４６の欠失、アミノ酸残基１～１５１の欠失、及びそれらの組み合わせからなる群より選択される１つ以上の変異を含む、実施形態３１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７７８】
Ｅ３３．上記構成的に活性なヒトＩＲＦ７ポリペプチドが、配列番号１４～１８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む、実施形態３１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７７９】
Ｅ３４．上記組成物ががん治療剤をさらに含む、実施形態１～３３のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７８０】
Ｅ３５．上記組成物が阻害性チェックポイントポリペプチドをさらに含む、実施形態１～３３のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７８１】
Ｅ３６．上記阻害性チェックポイントポリペプチドが、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ及びＬＡＧ３からなる群より選択される分子に特異的に結合する抗体またはその断片である、実施形態３５の免疫調節治療組成物。
【０７８２】
Ｅ３７．上記ｍＲＮＡが脂質ナノ粒子中に処方されている、実施形態１～３３のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７８３】
Ｅ３８．上記脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、実施形態３７に記載の免疫調節治療組成物。
【０７８４】
Ｅ３９．上記イオン性アミノ脂質が、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカンジオエート（Ｌ３１９）からなる群より選択される、実施形態３８に記載の免疫調節治療組成物。
【０７８５】
Ｅ４０．各ｍＲＮＡが少なくとも１つの化学修飾を含む、実施形態１～３９のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７８６】
Ｅ４１．上記化学修飾が、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より選

択される、実施形態４０に記載の免疫調節治療組成物。
【０７８７】
Ｅ４２．以下を含む免疫調節治療組成物：
ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームをそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡ；
構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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をそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡ；及び
薬学的に許容される担体。
【０７８８】
Ｅ４３．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態４２の免疫調節治療組成物。
【０７８９】
Ｅ４４．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態４３に記載の免疫調節治療組成物。
【０７９０】
Ｅ４５．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、実施形態４２～４４のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７９１】
Ｅ４６．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｒ及びＧ１３Ｄから選択される、実施形態４２～４５のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７９２】
Ｅ．４７．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ及びＧ１３Ｄから選択される、実施形態４６に記載の免疫調節治療組成物。
【０７９３】
Ｅ．４８．上記ｍＲＮＡが、２つ以上のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する、実施形態４２～４７のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０７９４】
Ｅ．４９．上記コンカテマーが、３、４、５、６、７、８、９または１０個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、実施形態４８に記載の免疫調節治療組成物。
【０７９５】
Ｅ５０．上記コンカテマーが、４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、実施形態４９に記載の免疫調節治療組成物。
【０７９６】
Ｅ５１．上記コンカテマーが、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、実施形態５０に記載の免疫調節治療組成物。
【０７９７】
Ｅ５２．上記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、実施形態５１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７９８】
Ｅ５３．上記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む、実施形態５１に記載の免疫調節治療組成物。
【０７９９】
Ｅ５４．上記組成物が、１、２、３、または４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする１、２、３、または４個のｍＲＮＡを含む、実施形態４２～４７のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０８００】
Ｅ５５．上記組成物が４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする４個

のｍＲＮＡを含む、実施形態５４に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０１】
Ｅ５６．上記４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、実施形態５４に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０２】
Ｅ５７．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、１０～３０、１５～２５、または２０～２５アミノ酸長を含む、実施形態４２～５６のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０８０３】
Ｅ５８．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、実施形態５７に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０４】
Ｅ５９．上記活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、実施形態５８に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０５】
Ｅ６０．上記コンカテマーが、配列番号４２～４７、７３及び１３７に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、実施形態５１に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０６】
Ｅ６１．上記コンカテマーをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２９～１３１、１３３及び１３８に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む、実施形態５１に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０７】
Ｅ６２．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３６～４１、７２及び１２５に示される群から選択されるアミノ酸配列を含む、実施形態５４に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０８】
Ｅ６３．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９～４１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態５４に記載の免疫調節治療組成物。
【０８０９】
Ｅ６４．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態５５に記載の免疫調節治療組成物。
【０８１０】
Ｅ６５．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２６～１２８に示される群から選択されるヌクレオチド配列を含む、実施形態６３に記載の免疫調節治療組成物。
【０８１１】
Ｅ６６．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２６～１２８及び１３２に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態６４に記載の免疫調節治療組成物。
【０８１２】
Ｅ６７．各ｍＲＮＡが同じまたは異なる脂質ナノ粒子に処方されている、実施形態４２～６６のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０８１３】
Ｅ６８．ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが、同じまたは異なる脂質ナノ粒子中に処方されている、実施形態６７に記載の免疫調節治療組成物。
【０８１４】
Ｅ６９．構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが、同一または異なる脂質ナノ粒子に処方されている、実施形態６８に記載の免疫調節治療組成物。
【０８１５】
Ｅ７０．ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが、同じ脂質

ナノ粒子に処方され、構成的活性ヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが、異なる脂質ナノ粒子に処方される、実施形態６８～６９のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。

【０８１６】

Ｅ７１．ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが、同じ脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが、ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡと同じ脂質ナノ粒子に処方される、実施形態６８～６９のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。

【０８１７】

Ｅ７２．ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡが異なる脂質ナノ粒子に処方され、構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧをコードする各ｍＲＮＡが各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードする各ｍＲＮＡと同じ脂質ナノ粒子に処方される、実施形態６８～６９のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。

【０８１８】

Ｅ７３．上記脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、実施形態６８～７２のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。

【０８１９】

Ｅ７４．上記イオン性アミノ脂質が、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカンジオエート（Ｌ３１９）からなる群より選択される、実施形態７３に記載の免疫調節治療組成物。

【０８２０】

Ｅ７５．各ｍＲＮＡが少なくとも１つの化学修飾を含む、実施形態４２～７４のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。

【０８２１】

Ｅ７６．上記化学修飾が、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より選択される、実施形態７５に記載の免疫調節治療組成物。

【０８２２】

Ｅ７７．以下を含む脂質ナノ粒子：

４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡであって、上記４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、ｍＲＮＡ；ならびに

構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有するｍＲＮＡ。

【０８２３】

Ｅ７８．上記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、実施形態７７に記載の脂質ナノ粒子。

【０８２４】

Ｅ７９．上記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及

びＧ１２Ｄを含む、実施形態７７の脂質ナノ粒子。
【０８２５】
Ｅ８０．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、実施形態７７から７９のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８２６】
Ｅ８１．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、実施形態８０に記載の脂質ナノ粒子。
【０８２７】
Ｅ８２．上記コンカテマーが配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態７７に記載の脂質ナノ粒子。
【０８２８】
Ｅ８３．４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするｍＲＮＡが、配列番号１３８に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態７７に記載の脂質ナノ粒子。
【０８２９】
Ｅ８４．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態７７～８３のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８３０】
Ｅ８５．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態８４に記載の脂質ナノ粒子。
【０８３１】
Ｅ８６．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、実施形態８４に記載の脂質ナノ粒子。
【０８３２】
Ｅ８７．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが配列番号１３９に示されるヌクレオチド配列を含む実施形態８４に記載の脂質ナノ粒子。
【０８３３】
Ｅ８８．以下を含む脂質ナノ粒子：
Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；
Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；
Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；
Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；及び
構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有するｍＲＮＡ。
【０８３４】
Ｅ８９．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、実施形態８８の脂質ナノ粒子。
【０８３５】
Ｅ９０．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、実施形態８９に記載の脂質ナノ粒子。
【０８３６】
Ｅ９１．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態８８に記載の脂質ナノ粒子。
【０８３７】

Ｅ９２．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２６～１２８及び１３２に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態８８に記載の脂質ナノ粒子。

【０８３８】

Ｅ９３．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態８８～９２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０８３９】

Ｅ９４．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態９３に記載の脂質ナノ粒子。

【０８４０】

Ｅ９５．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、実施形態９４に記載の脂質ナノ粒子。

【０８４１】

Ｅ９６．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１３９に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態９４に記載の脂質ナノ粒子。

【０８４２】

Ｅ９７．以下を含む脂質ナノ粒子：

Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；及び

構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有するｍＲＮＡ。

【０８４３】

Ｅ９８．以下を含む脂質ナノ粒子：

Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；及び

構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有するｍＲＮＡ。

【０８４４】

Ｅ９９．以下を含む脂質ナノ粒子：

Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；及び

構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有するｍＲＮＡ。

【０８４５】

Ｅ１００．以下を含む脂質ナノ粒子：

Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有するｍＲＮＡ；及び

構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有するｍＲＮＡ。

【０８４６】

Ｅ１０１．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、実施形態９７～１００のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０８４７】

Ｅ１０２．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、実施形態１０１に記載の脂質ナノ粒子。

【０８４８】

Ｅ１０３．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態９７に記載の脂質ナノ粒子。

【０８４９】
Ｅ１０４．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが配列番号１２６に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態９７記載の脂質ナノ粒子。
【０８５０】
Ｅ１０５．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号４０に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態９８に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５１】
Ｅ１０６．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２７に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態９８に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５２】
Ｅ１０７．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが配列番号７２に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態９９に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５３】
Ｅ１０８．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１３２に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態９９に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５４】
Ｅ１０９．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号４１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１００に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５５】
Ｅ１１０．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２８に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１００に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５６】
Ｅ１１１．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態９７～１１０のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８５７】
Ｅ１１２．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１１１に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５８】
Ｅ１１３．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、実施形態１１１に記載の脂質ナノ粒子。
【０８５９】
Ｅ１１４．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが配列番号１３９に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１１１に記載の脂質ナノ粒子。
【０８６０】
Ｅ１１５．対象を治療するための方法であって：
がんを有する対象に実施形態１～７６のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物または実施形態７７～１１４のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子を投与すること、を包含する、方法。
【０８６１】
Ｅ１１６．免疫調節治療組成物または脂質ナノ粒子ががん治療剤と組み合わせて投与される、実施形態１１５に記載の方法。
【０８６２】
Ｅ１１７．免疫調節治療組成物または脂質ナノ粒子が阻害性チェックポイントポリペプチドと組み合わせて投与される、実施形態１１５または１１６に記載の方法。
【０８６３】
Ｅ１１８．上記阻害性チェックポイントポリペプチドが、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ及びＬＡＧ３からなる群より選択される分子に特異的に結合する抗体または

その断片である、実施形態１１７に記載の方法。
【０８６４】
Ｅ１１９．上記がんが、膵臓、腹膜、大腸、小腸、胆管、肺、子宮内膜、卵巣、生殖器官、消化管、子宮頸管、胃、尿路、結腸、直腸、ならびに造血及びリンパ組織のがんから選択される、実施形態１１５～１１８のいずれか１つに記載の方法。
【０８６５】
Ｅ１２０．上記がんが結腸直腸癌である、実施形態１１３に記載の方法。
【０８６６】
Ｅ１２１．以下：
４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する第１のｍＲＮＡであって、上記４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｃ、及びＧ１３Ｄを含む、第１のｍＲＮＡ；ならびに
構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有する第２のｍＲＮＡ、を含み
ここで、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、脂質ナノ粒子：。
【０８６７】
Ｅ１２２．上記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、実施形態１２１に記載の脂質ナノ粒子。
【０８６８】
Ｅ１２３．上記コンカテマーが、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｄを含む、実施形態１２１に記載の脂質ナノ粒子。
【０８６９】
Ｅ１２４．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、実施形態１２１～１２３のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８７０】
Ｅ１２５．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが２５アミノ酸長を含む、実施形態１２４に記載の脂質ナノ粒子。
【０８７１】
Ｅ１２６．上記コンカテマーが配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１２１に記載の脂質ナノ粒子。
【０８７２】
Ｅ１２７．４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードする上記ｍＲＮＡが、配列番号１３８に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１２１に記載の脂質ナノ粒子。
【０８７３】
Ｅ１２８．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態１２１～１２７のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８７４】
Ｅ１２９．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１２８に記載の脂質ナノ粒子。
【０８７５】
Ｅ１３０．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、実施形態１２８に記載の脂質ナノ粒子。
【０８７６】
Ｅ１３１．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、

配列番号１３９に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１２８に記載の脂質ナノ粒子。

【０８７７】

Ｅ１３２．以下：

Ｇ１２Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有する第１のｍＲＮＡ；

Ｇ１２Ｖを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有する第２のｍＲＮＡ；

Ｇ１２Ｃを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有する第３のｍＲＮＡ；

Ｇ１３Ｄを含むＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有する第４のｍＲＮＡ；及び

構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有する第５のｍＲＮＡ、

を含む脂質ナノ粒子であって、

ここで、上記第１、第２、第３、第４、及び第５のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、脂質ナノ粒子。

【０８７８】

Ｅ１３３．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸長を含む、実施形態１３２に記載の脂質ナノ粒子。

【０８７９】

Ｅ１３４．各ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドは、２５アミノ酸長を含む、実施形態１３３の脂質ナノ粒子。

【０８８０】

Ｅ１３５．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドが、配列番号３９～４１及び７２に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１３２に記載の脂質ナノ粒子。

【０８８１】

Ｅ１３６．上記ＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするｍＲＮＡが、配列番号１２６～１２８及び１３２に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１３２に記載の脂質ナノ粒子。

【０８８２】

Ｅ１３７．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが突然変異Ｖ１５５Ｍを含む、実施形態１３２～１３６のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０８８３】

Ｅ１３８．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１３７に記載の脂質ナノ粒子。

【０８８４】

Ｅ１３９．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、少なくとも１つのｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を含む３’ＵＴＲを含む、実施形態１３８の脂質ナノ粒子。

【０８８５】

Ｅ１４０．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが配列番号１３９に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１３７に記載の脂質ナノ粒子。

【０８８６】

Ｅ１４１．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが１：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０８８７】

Ｅ１４２．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが２：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質

量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８８８】
Ｅ１４３．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが３：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８８９】
Ｅ１４４．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが４：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８９０】
Ｅ１４５．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが５：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８９１】
Ｅ１４６．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが６：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧの質量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８９２】
Ｅ１４７．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが７：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８９３】
Ｅ１４８．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが８：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１３１のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８９４】
Ｅ１４９．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが９：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１４０のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８９５】
Ｅ１５０．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが１０：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１２１～１４０のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。
【０８９６】
Ｅ１５１．以下：
（ｉ）４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する第１のｍＲＮＡであって、ここで、上記コンカテマーは、Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、第１のｍＲＮＡ、及び
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有する第２のｍＲＮＡであって、上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、第２のｍＲＮＡ、ならびに
薬学的に許容される担体、を含み、
ここで、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、組成物。
【０８９７】
Ｅ１５２．４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーが配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１５１に記載の組成物。
【０８９８】
Ｅ１５３．４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードする第１のｍＲＮＡが配列番号１６９に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１５１または１５２に記載の組成物。
【０８９９】
Ｅ１５４．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが、配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１５１～１５３のいずれか１つに記載の組成物。
【０９００】
Ｅ１５５．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが、

配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１５１～１５４のいずれか１つに記載の組成物。

【０９０１】

Ｅ１５６．上記第１のｍＲＮＡが配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む、実施形態１５１～１５５のいずれか１つに記載の組成物。

【０９０２】

Ｅ１５７．上記第２のｍＲＮＡが、配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む、実施形態１５１～１５５のいずれか１つに記載の組成物。

【０９０３】

Ｅ１５８．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードする第２のｍＲＮＡがｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を有する３’ＵＴＲを含む、実施形態１５１～１５７のいずれか１つに記載の組成物。

【０９０４】

Ｅ１５９．上記ｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位が、配列番号１７５に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１５８に記載の組成物。

【０９０５】

Ｅ１６０．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれポリＡテールを含む、実施形態１５１～１５９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９０６】

Ｅ１６１．上記ポリＡテールが約１００ヌクレオチドを含む、実施形態１６０に記載の組成物。

【０９０７】

Ｅ１６２．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれ５’Ｃａｐ　１構造を含む、実施形態１５１～１６１のいずれか１つに記載の組成物。

【０９０８】

Ｅ１６３．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれ少なくとも１つの化学修飾を含む、実施形態１５１～１６２のいずれか１つに記載の組成物。

【０９０９】

Ｅ１６４．上記化学修飾がＮ１－メチルシュードウリジンである、実施形態１６３に記載の組成物。

【０９１０】

Ｅ１６５．上記第１のｍＲＮＡがＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている、実施形態１６４に記載の組成物。

【０９１１】

Ｅ１６６．上記第２のｍＲＮＡがＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている、実施形態１６４に記載の組成物。

【０９１２】

Ｅ１６７．上記薬学的に許容される担体が緩衝液を含む、実施形態１５１～１６６のいずれか１つに記載の組成物。

【０９１３】

Ｅ１６８．以下：

（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ、及び

（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、ならびに

薬学的に許容される担体、を含み、

ここで、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されており、

ここで、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１または１０：１からなる群より選択されるＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、組成物。

【０９１４】

Ｅ１６９．上記薬学的に許容される担体が緩衝液を含む、実施形態１６８に記載の組成物。

【０９１５】

Ｅ１７０．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが１：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９１６】

Ｅ１７１．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが２：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９１７】

Ｅ１７２．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが３：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９１８】

Ｅ１７３．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが４：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９１９】

Ｅ１７４．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが５：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２０】

Ｅ１７５．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが６：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２１】

Ｅ１７６．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが７：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２２】

Ｅ１７７．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが８：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２３】

Ｅ１７８．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが９：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２４】

Ｅ１７９．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡが１０：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、実施形態１５１～１６９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２５】

Ｅ１８０．脂質ナノ粒子に処方されている、実施形態１５１～１７９のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２６】

Ｅ１８１．上記脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、実施形態１８０に記載の組成物。

【０９２７】

Ｅ１８２．上記脂質ナノ粒子が、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ：約３８．５％のコレステロール；及び約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む、実施形態１８１に記載の組成物。

【０９２８】

Ｅ１８３．筋肉内送達用に処方されている、実施形態１５１～１８２のいずれか１つに記載の組成物。

【０９２９】

Ｅ１８４．以下：

（ｉ）４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する第１のｍＲＮＡであって、ここで、上記コンカテマーは

Ｎ末端からＣ末端にＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ、及びＧ１２Ｃを含む、第１のｍＲＮＡ、及び
（ｉｉ）構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ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を有する第２のｍＲＮＡであって、上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが変異Ｖ１５５Ｍを含む、第２のｍＲＮＡ、を含み、
ここで、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは５：１のＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、脂質ナノ粒子。

【０９３０】

Ｅ１８５．４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーが配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１８４に記載の脂質ナノ粒子。

【０９３１】

Ｅ１８６．４個のＫＲＡＳ活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードする第１のｍＲＮＡが配列番号１６９に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１８４または１８５に記載の脂質ナノ粒子。

【０９３２】

Ｅ１８７．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドが配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む、実施形態１８４～１８６のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９３３】

Ｅ１８８．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードするｍＲＮＡが配列番号１７０に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１８４～１８７のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９３４】

Ｅ１８９．上記第１のｍＲＮＡが配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む、実施形態１８４～１８８のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９３５】

Ｅ１９０．上記第２のｍＲＮＡが配列番号１７６に示されるヌクレオチド配列を含む５’ＵＴＲを含む、実施形態１８４～１８８のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９３６】

Ｅ１９１．上記構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧポリペプチドをコードする第２のｍＲＮＡがｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位を有する３’ＵＴＲを含む、実施形態１８４～１９０のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９３７】

Ｅ１９２．上記ｍｉＲ－１２２マイクロＲＮＡ結合部位が、配列番号１７５に示されるヌクレオチド配列を含む、実施形態１９１に記載の脂質ナノ粒子。

【０９３８】

Ｅ１９３．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれポリＡテールを含む、実施形態１８４～１９２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９３９】

Ｅ１９４．上記ポリＡテールが約１００個のヌクレオチドを含む、実施形態１９３に記載の脂質ナノ粒子。

【０９４０】

Ｅ１９５．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれ５’Ｃａｐ１構造を含む、実施形態１８４～１９４のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９４１】

Ｅ１９６．上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡがそれぞれ少なくとも１つの化学修飾を含む、実施形態１８４～１９５のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９４２】

Ｅ１９７．上記化学修飾がＮ１－メチルシュードウリジンである、実施形態１９６に記載の脂質ナノ粒子。

【０９４３】

Ｅ１９８．上記第１のｍＲＮＡがＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている、実施形態１９７の脂質ナノ粒子。

【０９４４】

Ｅ１９９．上記第２のｍＲＮＡがＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されている、実施形態１９７の脂質ナノ粒子。

【０９４５】

Ｅ２００．以下：

（ｉ）配列番号１６７に示されるヌクレオチド配列を含む第１のｍＲＮＡ；及び

（ｉｉ）配列番号１６８に示されるヌクレオチド配列を含む第２のｍＲＮＡ、を含み、

ここで、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡはそれぞれＮ１－メチルシュードウリジンで完全に修飾されており、

ここで、上記第１のｍＲＮＡ及び第２のｍＲＮＡは５：１というＫＲＡＳ：ＳＴＩＮＧ質量比で存在する、脂質ナノ粒子。

【０９４６】

Ｅ２０１．上記脂質ナノ粒子が、約２０～６０％のイオン性アミノ脂質：５～２５％のリン脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、実施形態１８４～２００のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子。

【０９４７】

Ｅ２０２．上記脂質ナノ粒子が、約５０％の化合物２５：約１０％のＤＳＰＣ；約３８．５％のコレステロール；及び約１．５％のＰＥＧ－ＤＭＧというモル比を含む、実施形態２０１に記載の脂質ナノ粒子。

【０９４８】

Ｅ２０３．実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子と薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物。

【０９４９】

Ｅ２０４．筋肉内送達用に処方されている、実施形態２０３に記載の薬学的組成物。

【０９５０】

Ｅ２０５．個体におけるがんを処置または進行を遅延させるのにおける使用のための、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または実施形態２０３～２０４のいずれか１つに記載の薬学的組成物であって、上記処置は、第２の組成物と組み合わせた組成物の投与を包含し、ここで上記第２の組成物は、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む、脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または薬学的組成物。

【０９５１】

Ｅ２０６．個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための、医薬の製造における、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子及び任意の薬学的に許容される担体の使用であって、ここで上記医薬は、脂質ナノ粒子及び任意の薬学的に許容される担体を含み、ここで、上記処置は、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた医薬の投与を包含する、使用。

【０９５２】

Ｅ２０７．実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または実施形態２０３～２０４のいずれか１つに記載の薬学的組成物を含む容器、ならびに個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための脂質ナノ粒子または薬学的組成物の投与に関する説明書を含む添付文書を備えるキット。

【０９５３】

Ｅ２０８．上記添付文書が、個体のがんを処置または進行を遅延させるための、チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた、脂質ナノ粒子または薬学的組成物の投与の説明書をさらに含む、実施形態２０７に記載のキット。

【０９５４】

Ｅ２０９．実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、及び任意の薬学的に許容される担体、または実施形態２０３～２０４のいずれか１つに記載の薬学的組成物を含む医薬、ならびに上記医薬を単独で、または個体におけるがんを処置または進行を遅延させるためのチェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせて投与するための説明書を含む添付文書を備えるキット。

【０９５５】

Ｅ２１０．上記キットが、個体におけるがんを処置または進行を遅延させるための第２の医薬の投与の前、それと同時、またはその後の第１の医薬の投与のための説明書を含む添付文書をさらに備える、実施形態２０９に記載のキット。

【０９５６】

Ｅ２１１．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドがＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、実施形態２０３～２０４のいずれか１つに記載の組成物、実施形態２０５～２０６の使用、または実施形態２０７～２１０のいずれか１つに記載のキット。

【０９５７】

Ｅ２１２．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが抗体である、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、実施形態２０３～２０４の組成物、実施形態２０５～２０６に記載の使用、または実施形態２０７～２１０のいずれか１つに記載のキット。

【０９５８】

Ｅ２１３．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせ、から選択される抗体である、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、実施形態２０３～２０４に記載の組成物、実施形態２０５～２０６に記載の使用、または実施形態２０７～２１０のいずれか１つに記載のキット。

【０９５９】

Ｅ２１４．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、実施形態２０３～２０４に記載の組成物、実施形態２０５～２０６に記載の使用、または実施形態２０７～２１０のいずれか１つに記載のキット。

【０９６０】

Ｅ２１５．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、トレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、実施形態２０３～２０４に記載の組成物、実施形態２０５～２０６に記載の使用、または実施形態１９７～２００のいずれか１つに記載のキット。

【０９６１】

Ｅ２１６．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である、実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子、実施形態２０３～２０４に記載の組成物、実施形態２０５～２０６に記載の使用、または実施形態１９７～２００のいずれか１つに記載のキット。

【０９６２】

Ｅ２１７．それを必要とする対象において腫瘍のサイズを縮小または減少する、または腫瘍の成長を阻害する方法であって、上記対象に実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子または実施形態２０３～２０４のいずれか１つに記載の組成物を投与することを包含する、方法。

【０９６３】

Ｅ２１８．がんを有する対象において抗腫瘍応答を誘導する方法であって、上記対象に実施形態１８４～２０２のいずれか１つに記載の脂質ナノ粒子または実施形態２０３～２０４のいずれか１つに記載の組成物を投与することを包含する、方法。

【０９６４】

Ｅ２１９．上記抗腫瘍応答がＴ細胞応答を含む、実施形態２１８に記載の方法。

【０９６５】

Ｅ２２０．上記Ｔ細胞応答がＣＤ８＋Ｔ細胞を含む、実施形態２１９に記載の方法。

【０９６６】

Ｅ２２１．上記組成物が筋肉内注射によって投与される、実施形態２１７～２２０のいずれか１つに記載の方法。

【０９６７】

Ｅ２２２．チェックポイント阻害剤ポリペプチド及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の組成物を投与することをさらに包含する、実施形態２１７～２２０のいずれか１つに記載の方法。

【０９６８】

Ｅ２２３．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドがＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、またはそれらの組み合わせを阻害する、実施形態２２２に記載の方法。

【０９６９】

Ｅ２２４．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが抗体である、実施形態２２３に記載の方法。

【０９７０】

Ｅ２２５．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、ＣＴＬＡ４に特異的に結合する抗ＣＴＬＡ４抗体またはその抗原結合断片、ＰＤ１に特異的に結合する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合断片から選択される抗体、ＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはその抗原結合断片、及びそれらの組み合わせから選択される抗体である、実施形態２２４に記載の方法。

【０９７１】

Ｅ２２６．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドがアテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブから選択される抗ＰＤ－Ｌ１抗体である、実施形態２２５の方法。

【０９７２】

Ｅ２２７．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドがトレメリムマブまたはイピリムマブから選択される抗ＣＴＬＡ－４抗体である、実施形態２２５の方法。

【０９７３】

Ｅ２２８．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドが、ニボルマブまたはペンブロリズマブから選択される抗ＰＤ１抗体である、実施形態２２５の方法。

【０９７４】

Ｅ２２９．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が静脈内注射によって投与される、実施形態２２２～２２８のいずれか１つに記載の方法。

【０９７５】

Ｅ２３０．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が２～３週間に１回投与される実施形態２２９の方法。

【０９７６】

Ｅ２３１．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が２週間に１回または３週間に１回投与される実施形態２２９の方法。

【０９７７】

Ｅ２３２．上記チェックポイント阻害剤ポリペプチドを含む組成物が、脂質ナノ粒子またはその薬学的組成物の投与の前に、それと同時に、またはその後に投与される、実施形態２２２～２３１のいずれか１つに記載の方法。

【０９７８】

Ｅ２３３．上記対象が、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃから選択される

組織学的に確認されたＫＲＡＳ変異を有する、実施形態２１７～２３２のいずれか１つに記載の方法。

【０９７９】

Ｅ２３４．上記腫瘍が転移性結腸直腸癌である、実施形態２１７から２３３のいずれか１つに記載の方法。

【０９８０】

Ｅ２３５．上記腫瘍が非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である、実施形態２１７～２３３のいずれか１つに記載の方法。

【０９８１】

Ｅ２３６．上記腫瘍が膵臓癌である、実施形態２１７～２３３のいずれか１つに記載の方法。

【０９８２】

Ｅ２３７．以下を含む免疫調節治療組成物：
活性化がん遺伝子変異ペプチドをコードするオープンリーディングフレーム、及び薬学的に許容される担体または賦形剤をそれぞれ有する１つ以上のｍＲＮＡ。

【０９８３】

Ｅ２３８．上記活性化がん遺伝子変異がＫＲＡＳ変異である、実施形態２３７に記載の免疫調節治療組成物。

【０９８４】

Ｅ２３９．上記ＫＲＡＳ変異がＧ１２変異である、実施形態２３８に記載の免疫調節治療組成物。

【０９８５】

Ｅ２４０．上記Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異が、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、及びＧ１２Ｒ　ＫＲＡＳ変異から選択される、実施形態２３９に記載の免疫調節治療組成物。

【０９８６】

Ｅ２４１．上記Ｇ１２　ＫＲＡＳ変異が、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、及びＧ１２Ｓ　ＫＲＡＳ変異から選択される、実施形態２３９の免疫調節治療組成物。

【０９８７】

Ｅ２４２．上記ＫＲＡＳ変異がＧ１３変異である、実施形態２３８の免疫調節治療組成物。

【０９８８】

Ｅ２４３．上記Ｇ１３　ＫＲＡＳ変異がＧ１３Ｄ　ＫＲＡＳ変異である、実施形態２４２に記載の免疫調節治療組成物。

【０９８９】

Ｅ２４４．上記活性化がん遺伝子変異がＨ－ＲＡＳまたはＮ－ＲＡＳ変異である、実施形態２３７の免疫調節治療組成物。

【０９９０】

Ｅ２４５．上記ｍＲＮＡが、２つ以上の活性化がん遺伝子変異ペプチドのコンカテマーをコードするオープンリーディングフレームを有する、実施形態２３７～２４４のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。

【０９９１】

Ｅ２４６．少なくとも２つのペプチドエピトープが単一のグリシンによって互いに分離されている、実施形態２４５の免疫調節治療組成物。

【０９９２】

Ｅ２４７．上記コンカテマーが、３～１０個の活性化がん遺伝子変異ペプチドを含む、実施形態２４５～２４６のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。

【０９９３】

Ｅ２４８．上記全てのペプチドエピトープが単一のグリシンによって互いに分離されている、実施形態２４５～２４７のいずれか１つに記載の活性化がん遺伝子変異ペプチド。

【０９９４】
Ｅ２４９．上記少なくとも２つのペプチドエピトープがリンカーなしで互いに直接結合している、実施形態２４５～２４７のいずれか１つに記載の活性化がん遺伝子変異ペプチド。
【０９９５】
Ｅ２５０．上記組成物ががん治療剤をさらに含む、実施形態２３７～２４９のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０９９６】
Ｅ２５１．上記組成物が阻害性チェックポイントポリペプチドをさらに含む、実施形態２３７から２５０のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０９９７】
Ｅ２５２．上記阻害性チェックポイントポリペプチドが、ＰＤ－１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ及びＬＡＧ３からなる群より選択される分子に特異的に結合する抗体またはその断片である、実施形態２５１に記載の免疫調節治療組成物。
【０９９８】
Ｅ２５３．上記組成物がリコール抗原をさらに含む、実施形態２３７～２５２のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【０９９９】
Ｅ２５４．上記リコール抗原が感染症抗原である、実施形態２５３に記載の免疫調節治療組成物。
【１０００】
Ｅ２５５．上記組成物が安定化剤を含まない、実施形態２３７～２５４のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【１００１】
Ｅ２５６．上記ｍＲＮＡが脂質ナノ粒子担体中に処方されている、実施形態２３７～２５５のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【１００２】
Ｅ２５７．上記脂質ナノ粒子担体が、約２０～６０％のカチオン性脂質：５～２５％の非カチオン性脂質：２５～５５％のステロール；及び０．５～１５％のＰＥＧ修飾脂質というモル比を含む、実施形態２５６に記載の免疫調節治療組成物。
【１００３】
Ｅ２５８．上記カチオン性脂質が、例えば、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノエチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－ＫＣ２－ＤＭＡ）、ジリノレイル－メチル－４－ジメチルアミノブチレート（ＤＬｉｎ－ＭＣ３－ＤＭＡ）、及びジ（（Ｚ）－ノン－２－エン－１－イル）９－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）ヘプタデカンジオエート（Ｌ３１９）からなる群より選択される、実施形態２５７の免疫調節治療組成物。
【１００４】
Ｅ２５９．上記ｍＲＮＡが少なくとも１つの化学修飾を含む、実施形態２３７から２５８のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物。
【１００５】
Ｅ２６０．上記化学修飾が、シュードウリジン、Ｎ１－メチルシュードウリジン、２－チオウリジン、４’－チオウリジン、５－メチルシトシン、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－メチルウリジン、５－メトキシウリジン、及び２’－Ｏ－メチルウリジンからなる群より

選択される、実施形態２５９に記載の免疫調節治療組成物。
【１００６】
Ｅ２６１．がんを有する対象に、実施形態２３７～２６０のいずれか１つに記載の免疫調節治療組成物を投与することを包含する、対象を処置する方法。
【１００７】
Ｅ２６２．上記免疫調節治療組成物が、がん治療剤と組み合わせて投与される、実施形態２６１の方法。
【１００８】
Ｅ２６３．上記免疫調節治療組成物が、阻害性チェックポイントポリペプチドと組み合わせて投与される、実施形態２６１または２６０に記載の方法。
【１００９】
Ｅ２６４．上記阻害性チェックポイントポリペプチドが、ＰＤ－１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ及びＬＡＧ３からなる群より選択される分子に特異的に結合する抗体またはその断片である、実施形態２６３に記載の方法。
【１０１０】
Ｅ２６５．上記がんが、膵臓、腹膜、大腸、小腸、胆管、肺、子宮内膜、卵巣、生殖器官、消化管、子宮頸管、胃、尿路、結腸、直腸、ならびに造血及びリンパ組織のがんから選択される、実施形態２６１～２６４のいずれか１つに記載の方法。
【１０１１】
Ｅ２６６．上記がんが結腸直腸癌である、実施形態２６５に記載の方法。
【１０１２】
定義
投与：本明細書中で使用される場合、「投与する」とは、組成物を対象または患者に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への送達を標的する（例えば、特異的に送達する）ために選択され得る。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、滑液内、胸骨内、髄腔内、病巣内、または頭蓋内注射、ならびに任意の適切な注入技術）、経口、経皮、もしくは皮内、皮内、直腸内、膣内、局所用（例えば、粉末、軟膏、クリーム、ゲル、ローション、及び／またはドロップによる）、粘膜、鼻腔、口腔内、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；経口スプレー及び／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通してであってもよい。
【１０１３】
おおよそ、約：本明細書で使用される場合、「ほぼ、おおよそ（ａｐｐｒｏｘｉｍａｔｅｌｙ）」または「約、ほぼ（ａｂｏｕｔ）」とは、１つ以上の目的の値に適用される場合、述べられた参照値と同様の値を指す。特定の実施形態では、「ほぼ」または「約」という用語は、特に明記しない限り、または文脈から明らかな場合を除き、いずれかの方向（超えるかまたは下回る）で、言及した参照値の２５％、２０％、１９％、１８％、１７％、１６％、１５％、１４％、１３％、１２％、１１％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％以内におさまる値の範囲を指す（そのような数が可能な値の１００％を超える場合を除く）。
【１０１４】
がん：本明細書中で使用される場合、「がん」とは、異常な及び／または未制御の細胞増殖を含む状態である。がんという用語は良性及び悪性のがんを包含する。例示的な非限定的ながんとしては、副腎皮質癌、進行癌、肛門癌、再生不良性貧血、胆管癌、膀胱癌、骨癌、骨転移、脳腫瘍、脳癌、乳癌、小児癌、原発不明癌、キャッスルマン病、子宮頸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、ユーイングファミリー腫瘍、眼癌、胆嚢癌、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質性腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、ホジキン病、カポジ肉腫、腎細胞癌、喉頭癌及び下咽頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白

血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、骨髄異形成症候群（難治性貧血及び難治性血球減少症を含む）、骨髄増殖性新生物または疾患（真性多血症、本態性血小板増多症及び原発性骨髄線維症を含む）、肝臓癌（例えば、肝細胞癌）、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺カルチノイド腫瘍、皮膚のリンパ腫、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、鼻腔及び副鼻腔癌、鼻咽頭癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔及び口腔咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、陰茎癌、下垂体腫瘍、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、成人軟部肉腫、基底及び扁平上皮癌、黒色腫、小腸癌、胃癌、精巣癌、咽喉癌、胸腺癌、甲状腺癌、子宮肉腫、膣癌、外陰癌、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍、及びがん処置による二次がんが挙げられる。特定の実施形態では、がんは肝臓癌（例えば、肝細胞癌）または結腸直腸癌である。他の実施形態では、がんは、血液系癌または造血系癌である。

【１０１５】

切断可能なリンカー：本明細書で使用される場合、「切断可能なリンカー」という用語は、等モルレベルの複数の遺伝子が同じｍＲＮＡから産生され得るように、マルチシストロンｍＲＮＡ構築物に組み込むことができるリンカー、典型的にはペプチドリンカー（例えば、約５～３０アミノ酸長、典型的には約１０～２０アミノ酸長）を指す。切断可能なリンカーの非限定的な例としては、ピコルナウイルスにおいて最初に発見された、Ｆ２Ａ、Ｐ２Ａ、Ｔ２Ａ及びＥ２Ａを含む２Ａファミリーのペプチドが挙げられ、これは、ｍＲＮＡ構築物に組み込まれると（例えば、２つのポリペプチドドメイン間）、２ＡエレメントのＣ末端でのペプチド結合の合成をリボソームにスキップさせることによって機能し、それによって２Ａ配列の末端と下流の次のペプチドとの間の分離をもたらす。

【１０１６】

コンジュゲートされた：本明細書で使用される「コンジュゲートされた」という用語は、２つ以上の部分に関して使用される場合、その部分が直接または連結剤として働く１つ以上の追加の部分を介して物理的に会合または互いに結合して、構造が使用される条件下、例えば、生理学的条件下で部分が物理的に会合したままであるように十分に安定な構造を形成することを意味する。いくつかの実施形態では、２つ以上の部分が直接共有化学結合によってコンジュゲートされてもよい。他の実施形態では、２つ以上の部分がイオン結合または水素結合によってコンジュゲートされてもよい。

【１０１７】

接触：本明細書で使用される場合、「接触する」という用語は、２つ以上の実体の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、その細胞及びｍＲＮＡまたは脂質ナノ粒子が物理的結合を共有するように作られることを意味する。インビボ、インビトロで、及びエキソビボの両方で細胞を外部実体と接触させる方法は、生物学的分野において周知である。本開示の例示的な実施形態では、哺乳動物細胞を組成物（例えば、本開示の単離されたｍＲＮＡ、ナノ粒子、または薬学的組成物）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、哺乳動物）内に配置され得る細胞（例えば、哺乳動物細胞）とを接触させることは、任意の適切な投与経路（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。インビトロで存在する細胞の場合、例えば、組成物を細胞の培地に添加することによって組成物（例えば、脂質ナノ粒子または単離されたｍＲＮＡ）と細胞とを接触させてもよく、トランスフェクションを伴う場合もあるし、生じる場合もある。さらに、２つ以上の細胞がナノ粒子組成物によって接触されてもよい。

【１０１８】

封入する：本明細書で使用される場合、「封入する（ｅｎｃａｐｓｕｌａｔｅ）」という用語は、包み込む、囲む、または封入することを意味する。いくつかの実施形態では、化合物、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）、または他の組成物は、完全に封入されていても、部分的に封入されていても、または実質的に封入されていてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、本開示のｍＲＮＡは、脂質ナノ粒子、例えば、リポソーム中に

カプセル化されてもよい。
【１０１９】
有効量：本明細書で使用される場合、ある因子の「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、したがって、「有効量」とは、それが関係する文脈次第である。例えば、がんを処置するある因子を投与するという文脈において、ある因子の有効量とは、例えば、その因子を投与しないで得られた応答と比較して、本明細書に定義のがんの処置を達成するのに十分な量である。いくつかの実施形態では、治療有効量とは、感染、疾患、障害、及び／または病態に罹患しているかまたは感染しやすい対象に投与した場合に、その感染、疾患、障害及び／または病態を処置、その症状を改善、その発現を診断、予防及び／または遅延させるために十分である、送達される因子（例えば、核酸、薬物、治療剤、診断剤または予防薬剤）の量である。
【１０２０】
発現：本明細書中で使用される場合、核酸配列の「発現」とは、以下の事象のうちの１つ以上を指す：（１）ＤＮＡ配列からの（例えば、転写による）ＲＮＡテンプレートの生成；（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；ならびに（４）ポリペプチドまたはタンパク質の翻訳後修飾。
【１０２１】
同一性：本明細書で使用される場合、「同一性」という用語は、ポリマー分子間、例えば、ポリヌクレオチド分子間（例えば、ＤＮＡ分子及び／またはＲＮＡ分子間）及び／またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。２つのポリヌクレオチド配列の同一性パーセントの計算は、例えば、最適な比較目的のために２つの配列を整列させることによって実施され得る（例えば、最適整列のために第１及び第２の核酸配列の一方または両方にギャップを導入してもよく、及び非同一配列は比較目的で無視してもよい）。特定の実施形態では、比較目的で整列された配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％である。次いで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の配列中の位置が第２の配列中の対応する位置と同じヌクレオチドで占められているならば、その分子はその位置で同一である。２つの配列間の同一性パーセントは、ギャップの数、及び２つの配列の最適なアラインメントのために導入する必要がある各ギャップの長さを考慮に入れた、配列によって共有される同一位置の数の関数である。２つの配列間の配列の比較及び同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成され得る。例えば、２つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｌｅｓｋ、Ａ．Ｍ．，ｅｄ．，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８８；Ｂｉｏｃｏｍｐｕｔｉｎｇ：Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ａｎｄ Ｇｅｎｏｍｅ Ｐｒｏｊｅｃｔｓ，Ｓｍｉｔｈ，Ｄ．Ｗ．ｅｄ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９３；Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，ｖｏｎ Ｈｅｉｎｊｅ，Ｇ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８７；Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ｄａｔａ，Ｐａｒｔ Ｉ，Ｇｒｉｆｆｉｎ，Ａ．Ｍ．，ａｎｄ Ｇｒｉｆｆｉｎ，Ｈ．Ｇ．，ｅｄｓ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｊｅｒｓｅｙ，１９９４；及びＳｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐｒｉｍｅｒ，Ｇｒｉｂｓｋｏｖ，Ｍ．ａｎｄ Ｄｅｖｅｒｅｕｘ，Ｊ．，ｅｄｓ．，Ｍ Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９１（各々が参照によって本明細書に組み込まれる）に記載の方法などの方法を用いて決定され得る。例えば、２つのヌクレオチド配列の間の同一性パーセントは、ＰＡＭ１２０重量残基表、１２のギャップ長ペナルティ、及び４のギャップペナルティを用いて、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれているＭｅｙｅｒｓ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒのアルゴリズム（ＣＡＢＩＯＳ，１９８９，４：１１－１７）を用いて決定され得る。２つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、あるいは

、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰマトリックスを使用するＧＣＧソフトウェアパッケージ中のＧＡＰプログラムを使用して決定され得る。配列間の同一性パーセントを決定するために一般に使用される方法としては、限定するものではないが、Ｃａｒｉｌｌｏ，Ｈ．，ａｎｄ　Ｌｉｐｍａｎ，Ｄ．，ＳＩＡＭ　Ｊ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｍａｔｈ．，４８：１０７３（１９８８）（参照により本明細書に組み込まれる）に開示される方法が挙げられる。同一性を決定するための技術は、公的に利用可能なコンピュータープログラムに体系化されている。２つの配列間の相同性を決定するための例示的なコンピューターソフトウェアとしては、限定するものではないが、ＧＣＧプログラムパッケージ、Ｄｅｖｅｒｅｕｘ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１２（１）：３８７，１９８４，ＢＬＡＳＴＰ，ＢＬＡＳＴＮ、及びＦＡＳＴＡ、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｓ．Ｆ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．，２１５，４０３，１９９０が挙げられる。

【１０２２】

断片：「断片」とは、本明細書において用いる場合、ある部分を指す。例えば、タンパク質の断片は、培養細胞から単離された全長タンパク質を消化することによって得られるか、または組換えＤＮＡ技術によって得られるポリペプチドを含んでもよい。

【１０２３】

ＧＣリッチ：本明細書で使用される場合、「ＧＣリッチ」という用語は、グアニン（Ｇ）及び／またはシトシン（Ｃ）核酸塩基を含む、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）、またはその任意の部分（例えば、ＲＮＡエレメント）の核酸塩基組成、またはその誘導体もしくは類似体（ここで、ＧＣ含有量は、約５０％を超える）を指す。「ＧＣリッチ」という用語は、限定するものではないが、遺伝子、非コード領域、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、オープンリーディングフレーム、ＲＮＡエレメント、配列モチーフ、またはそれらの任意の個別の配列、断片、もしくはセグメント（約５０％のＧＣ含有量を含む）を含む、ポリヌクレオチドの全部または一部を指す。本開示のいくつかの実施形態では、ＧＣリッチのポリヌクレオチド、またはその任意の部分は、グアニン（Ｇ）及び／またはシトシン（Ｃ）核酸塩基のみから構成される。

【１０２４】

ＧＣ含量：本明細書で使用される場合、「ＧＣ含有量」という用語は、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）またはその一部（例えば、ＲＮＡエレメント）の中の核酸塩基（グアニン（Ｇ）及びシトシン（Ｃ）核酸塩基、またはその誘導体もしくは類似体のいずれかである）の割合を指す（ＤＮＡ中及びＲＮＡ中の、アデニン（Ａ）及びチミン（Ｔ）もしくはウラシル（Ｕ）ならびにそれらの誘導体もしくは類似体を含む可能性のある核酸塩基の総数から）。「ＧＣ含量」という用語は、限定するものではないが、遺伝子、非コード領域、５’または３’ＵＴＲ、オープンリーディングフレーム、ＲＮＡエレメント、配列モチーフ、またはそれらの任意の別個の配列、断片、もしくはセグメントを含むポリヌクレオチドの全部または一部を指す。

【１０２５】

遺伝子アジュバント：本明細書で使用される「遺伝子アジュバント」とは、例えば、サイトカイン産生を刺激することによって、及び／または抗原特異的なエフェクター細胞（例えば、ＣＤ８Ｔ細胞）の産生を刺激することによって、ワクチンに対する免疫応答を増強するｍＲＮＡ構築物（例えば、ｍｍＲＮＡ構築物）を指す。遺伝子アジュバントｍＲＮＡ構築物は、例えば、Ｉ型インターフェロンを刺激する（例えば、Ｉ型インターフェロン経路シグナル伝達を活性化する）か、または樹状細胞の発達もしくは活性を促進するポリペプチドをコードし得る。

【１０２６】

異種：本明細書で使用される場合「異種」とは、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、所与のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに存在しないことを示す。例えば、あるタンパク質のドメインまたはモチーフに相当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ってもよい。

【１０２７】

疎水性アミノ酸：本明細書で使用される場合、「疎水性アミノ酸」とは、非荷電の非極性側鎖を有するアミノ酸である。天然に存在する疎水性アミノ酸の例は、アラニン（Ａｌａ）、バリン（Ｖａｌ）、ロイシン（Ｌｅｕ）、イソロイシン（Ｉｌｅ）、プロリン（Ｐｒｏ）、フェニルアラニン（Ｐｈｅ）、メチオニン（Ｍｅｔ）、及びトリプトファン（Ｔｒｐ）である。

【１０２８】

免疫増強剤：本明細書で使用される「免疫増強剤」とは、例えば、限定するものではないが、サイトカイン産生、抗体産生の刺激、または抗原特異的免疫細胞（例えば、ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞またはＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞）の産生の刺激を含む、Ｔ細胞、Ｂ細胞または樹状細胞応答の刺激によって、例えば、目的の抗原に対する（免疫増強剤を投与される対象における内因性抗原または免疫増強剤と同時投与される外因性抗原のいずれか）免疫応答を増強するｍＲＮＡ構築物（例えば、ｍｍＲＮＡ構築物）を指す。

【１０２９】

開始コドン：本明細書で使用される場合、「開始コドン（ｓｔａｒｔ　ｃｏｄｏｎ）」という用語と交換可能に使用される「開始コドン（ｉｎｉｔｉａｔｉｏｎ　ｃｏｄｏｎ）」という用語は、リボソームによって翻訳され、そして連結されたアデニン－ウラシル－グアニン核酸塩基のトリプレットから構成されるオープンリーディングフレームの最初のコドンを指す。開始コドンは、アデニン（Ａ）、ウラシル（Ｕ）、及びグアニン（Ｇ）の最初の文字コードによって表され、そしてしばしば単に「ＡＵＧ」と書かれる。天然のｍＲＮＡは、開始コドンとしてＡＵＧ以外のコドン（本明細書では「代替開始コドン」と呼ばれる）を使用し得るが、本明細書に記載のポリヌクレオチドの開始コドンはＡＵＧコドンを使用する。翻訳開始の過程の間、開始コドンを含む配列は、リボソームによって結合された開始ｔＲＮＡ（Ｍｅｔ－ｔＲＮＡ$_{i}^{Ｍｅｔ}$）のアンチコドンに対する相補的塩基対合を介して認識される。オープンリーディングフレームは、本明細書中で「代替開始コドン」と呼ばれる、２つ以上のＡＵＧ開始コドンを含んでもよい。

【１０３０】

開始コドンは、翻訳開始において重要な役割を果たす。開始コドンは、リボソームによって翻訳されるオープンリーディングフレームの最初のコドンである。典型的には、開始コドンは、ヌクレオチドトリプレットＡＵＧを含むが、ある場合には、翻訳開始は異なるヌクレオチドから構成される他のコドンで起こる場合もある。真核生物における翻訳の開始は、メッセンジャーＲＮＡ分子（ｍＲＮＡ）、４０Ｓリボソームサブユニット、翻訳機構の他の構成要素（例えば、真核生物開始因子；ｅＩＦ））の間の多数のタンパク質－タンパク質、タンパク質－ＲＮＡ、及びＲＮＡ－ＲＮＡの相互作用を含む、多段階生化学プロセスである。ｍＲＮＡ翻訳開始の現在のモデルは、特定の翻訳促進ヌクレオチド含有物（Ｋｏｚａｋ配列）内に存在する最初のＡＵＧコドンに遭遇するまで５’から３’方向にヌクレオチドをスキャンすることによって、開始前複合体（あるいは「４３Ｓ開始前複合体」；「ＰＩＣ」と略される）がｍＲＮＡ上の動員部位（典型的には５’キャップ）から開始コドンに転位すると仮定する（Ｋｏｚａｋ（１９８９）ＪＣｅｌｌ　Ｂｉｏｌ１０８：２２９－２４１）。ＰＩＣによるスキャンニングは、開始Ｍｅｔ－ｔＲＮＡ$_{i}^{Ｍｅｔ}$転移ＲＮＡのアンチコドンを含むヌクレオチドとｍＲＮＡの開始コドンを含むヌクレオチドとの間の相補的塩基対合によって終了する。ＡＵＧコドンとＭｅｔ－ｔＲＮＡ$_{i}^{Ｍｅｔ}$アンチコドンとの間の生産的な塩基対合は、ＰＩＣへの大きな６０Ｓリボソームサブユニットの連結においてＰＩＣに達する一連の構造的及び生化学的事象を誘発して、翻訳伸長に適格な活性リボソームを形成する。

【１０３１】

挿入：本明細書中で使用される場合、「挿入」または「付加」とは、参照配列、例えば、天然に存在する分子に見られる配列と比較して、それぞれ、ある分子への１つ以上のアミノ酸残基またはヌクレオチドの付加をもたらす、アミノ酸またはヌクレオチド配列の変化を指す。いくつかの実施形態では、挿入は置換であってもよい。

【１０３２】

挿入部位：本明細書で使用される場合、「挿入部位」は、異種ポリペプチドのアミノ酸配列の挿入に適している足場ポリペプチドの位置または領域である。挿入部位はまた、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの位置または領域（例えば、足場ポリペプチド中の所与のアミノ酸をコードするポリヌクレオチドのコドン）を指す場合もあることを理解すべきである。いくつかの実施形態では、足場ポリペプチドへの異種ポリペプチドのアミノ酸配列の挿入は、足場ポリペプチドの安定性（例えば、立体構造安定性）、発現レベル、または全体的な二次構造にほとんどまたは全く影響を及ぼさない。

【１０３３】

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、それが関連した（自然界でも実験環境でも）構成要素の少なくともいくつかから分離されている物質または実体を指す。単離された物質は、それらが関連している物質に関連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、それらが最初に関連していた他の構成要素の少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、またはそれ以上から分離され得る。いくつかの実施形態では、単離された因子は、約８０％、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。本明細書において用いる場合、他の構成要素を実質的に含まないならば、その物質は「純粋」である。

【１０３４】

Ｋｏｚａｋ配列：「Ｋｏｚａｋ配列」（「Ｋｏｚａｋコンセンサス配列」とも呼ばれる）という用語は、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するための翻訳開始エンハンサーエレメントを指し、これは、真核生物においては５’ＵＴＲに位置する。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）を囲む単一の変異の影響の分析に続いて、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列はもともと配列ＧＣＣＲＣＣ（Ｒ＝プリン）として定義された（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、Ｋｏｚａｋ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、その全体が参照により本明細書に組み込まれるＡｎｄｒｅｗｓらの米国特許第５，８０７，７０７号；その全体が参照により本明細書に組み込まれるＣｈｅｒｎａｊｏｖｓｋｙの米国特許第５，７２３，３３２号；その全体が参照により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）。

【１０３５】

リーキースキャニング：「リーキースキャニング」として知られる現象が起こり得、それによってＰＩＣは開始コドンを迂回し、代わりに、代替のまたは代わりの開始コドンが認識されるまで下流へのスキャニングを続ける。発生頻度に応じて、ＰＩＣによる開始コドンの迂回は翻訳効率の低下をもたらし得る。さらに、この下流のＡＵＧコドンからの翻訳が起こり得るが、それは所望の処置反応を引き出すことができないかもしれない、所望されない、異常な翻訳産物の産生をもたらすであろう。ある場合には、異常な翻訳産物が実際に有害な反応を生じ得る（Ｋｒａｃｈｔ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１７）Ｎａｔ　Ｍｅｄ　２３（４）：５０１－５０７）。

【１０３６】

リポソーム：本明細書で使用される場合、「リポソーム」とは、水性内部を囲む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てもよい。リポソームとしては、単層リポソーム（ｓｉｎｇｌｅ－ｌａｙｅｒｅｄ　ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ）（当該技術分野において単層リポソーム（ｕｎｉｌａｍｅｌｌａｒ　ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ）としても知られている）及び多層リポソーム（ｍｕｌｔｉ－ｌａｙｅｒｅｄ　ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ）（当該技術分野において多層リポソーム（ｍｕｌｔｉｌａｍｅｌｌａｒ　ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ）としても知られている）が挙げられる。

【１０３７】

転移：本明細書中で使用される場合、「転移」という用語は、がんが最初に発生した場

所から原発腫瘍として身体内の離れた場所に拡がる過程を意味する。このプロセスの結果として生じた二次腫瘍は、「転移」と呼ばれる場合もある。

【１０３８】

修飾：本明細書中で使用される場合、「修飾された」または「修飾」とは、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）の変化した状態または組成もしくは構造の変化を指す。ポリヌクレオチドは、化学的、構造的、及び／または機能的を含む様々な方法で修飾され得る。例えば、ポリヌクレオチドは、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、１つ以上のＲＮＡ要素の組み込みによって構造的に修飾され得る。したがって、本開示のポリヌクレオチドは、１つ以上の修飾（例えば、それらの任意の組み合わせを含む、１つ以上の化学的修飾、構造的修飾、または機能的修飾を含み得る）から構成されてもよい。

【１０３９】

ｍＲＮＡ：本明細書で使用される場合、「ｍＲＮＡ」とはメッセンジャーリボ核酸を指す。ｍＲＮＡは天然のものであっても、天然のものでなくてもよい。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、またはリンカーなどの修飾された構成要素を含んでも、及び／または天然に存在しない構成要素を含んでもよい。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んでもよい。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の翻訳、例えば、哺乳動物細胞内でのｍＲＮＡのインビボ翻訳は、ポリペプチドを産生し得る。伝統的に、ｍＲＮＡ分子の基本的な構成要素としては、少なくともコード領域、５’－非翻訳領域（５’－ＵＴＲ）、３’ＵＴＲ、５’キャップ及びポリＡ配列が挙げられる。

【１０４０】

マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）：本明細書中で使用される場合、「マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）」とは、（例えば、ＲＮＡサイレンシングによる、例えば、ｍＲＮＡの切断による、そのポリＡテールを短くすることによる、及び／またはリボソームによるｍＲＮＡのポリペプチドへの翻訳効率を妨げることによるｍＲＮＡの不安定化による）遺伝子発現の転写後調節において機能し得る小さな非コードＲＮＡ分子である。成熟ｍｉＲＮＡは典型的には約２２ヌクレオチド長である。

【１０４１】

マイクロＲＮＡ－１２２（ｍｉＲ－１２２）：本明細書で使用される場合、「マイクロＲＮＡ－１２２（ｍｉＲ－１２２）」とは、特に示さない限り、例えば、ヒトを含む、任意の脊椎動物起源由来の任意の天然ｍｉＲ－１２２を指す。ｍｉＲ－１２２は通常肝臓で高く発現しており、そこで脂肪酸代謝を調節し得る。肝臓癌、例えば、肝細胞癌では、ｍｉＲ－１２２レベルが低下する。ｍｉＲ－１２２は、肝臓で最も高く発現しているｍｉＲＮＡの１つであり、これは限定するものではないが、ＣＡＴ－１、ＣＤ３２０、ＡｌｄｏＡ、Ｈｊｖ、Ｈｆｅ、ＡＤＡＭ１０、ＩＧＦＲ１、ＣＣＮＧ１、及びＡＤＡＭ１７を含む標的を調節する。成熟ヒトｍｉＲ－１２２は、ＡＡＣＧＣＣＡＵＵＡＵＣＡＣＡＣＵＡＡＡＵＡ（ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２－３ｐに相当する配列番号１７２）またはＵＧＧＡＧＵＧＵＧＡＣＡＡＵＧＧＵＧＵＵＵＧ（ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２－５ｐに相当する配列番号１７４）の配列を有し得る。

【１０４２】

マイクロＲＮＡ－２１（ｍｉＲ－２１）：本明細書で使用される場合、「マイクロＲＮＡ－２１（ｍｉＲ－２１）」は、他に示されない限り、例えば、ヒトを含む任意の脊椎動物起源由来の任意の天然のｍｉＲ－２１を指す。ｍｉＲ－２１レベルは、正常な肝臓と比較して、肝臓癌、例えば、肝細胞癌において増大している。成熟ヒトｍｉＲ－２１は、ＵＡＧＣＵＵＡＵＣＡＧＡＣＵＧＡＵＧＵＵＧＡ（ｈａｓ－ｍｉＲ－２１－５ｐに相当する配列番号３４）または５’－ＣＡＡＣＡＣＣＡＧＵＣＧＡＵＧＧＧＣＵＧＵ＿３’（ｈａｓ－ｍｉＲ－２１－３ｐに相当する配列番号３５）の配列を有し得る。

【１０４３】

マイクロＲＮＡ－１４２（ｍｉＲ－１４２）：本明細書で使用される場合、「マイクロＲＮＡ－１４２（ｍｉＲ－１４２）」は、他に示さない限り、例えば、ヒトを含む任意の脊椎動物起源由来の任意の天然のｍｉＲ－１４２を指す。ｍｉＲ－１４２は、典型的には骨髄細胞において高度に発現される。成熟ヒトｍｉＲ－１４２は、ＵＧＵＡＧＵＧＵＵＵＣＣＵＡＣＵＵＵＡＵＧＧＡ（ｈｓａ－ｍｉＲ－１４２－３ｐに相当する配列番号２８）またはＣＡＵＡＡＡＧＵＡＧＡＡＡＧＣＡＣＵＡＣＵ（ｈｓａ－ｍｉＲ－１４２－５ｐに相当する配列番号３０）の配列を有し得る。

【１０４４】

マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）結合部位：本明細書中で使用される場合、「マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）結合部位」とは、ｍｉＲＮＡ標的部位もしくはｍｉＲＮＡ認識部位、またはｍｉＲＮＡが結合もしくは会合する任意のヌクレオチド配列を指す。いくつかの実施形態では、ｍｉＲＮＡ結合部位は、ｍｉＲＮＡの少なくとも「シード」領域が結合するポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ）のヌクレオチド位置または領域を表す。「結合」は、伝統的なワトソン－クリックハイブリダイゼーション法則に従う場合もあり、またはマイクロＲＮＡ部位に、またはそれに隣接してｍｉＲＮＡと標的配列との任意の安定な会合を反映する場合もあることが理解されるべきである。

【１０４５】

ｍｉＲＮＡシード：本明細書中で使用される場合、ｍｉＲＮＡの「シード」領域は、成熟ｍｉＲＮＡの２～８位の領域内の配列であって、典型的にはｍｉＲＮＡ結合部位に対して完全なワトソン－クリック相補性を有する配列を指す。ｍｉＲＮＡシードは、成熟ｍｉＲＮＡの２～８位または２～７位を含んでもよい。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）を含んでもよく、ここで、対応するｍｉＲＮＡ結合部位におけるシード相補的部位には、ｍｉＲＮＡ位置１とは反対側のアデニン（Ａ）が隣接している。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）を含んでもよく、対応するｍｉＲＮＡ結合部位内のシード相補的部位には、ｍｉＲＮＡ位置１とは反対側のアデニン（Ａ）が隣接している。ｍｉＲＮＡ結合部位に言及するとき、ｍｉＲＮＡシード配列は、ｍｉＲＮＡ結合部位に結合するｍｉＲＮＡのシード配列と相補性（例えば、部分的、実質的または完全な相補性）を有すると理解されるべきである。

【１０４６】

修飾：本明細書で使用される場合「修飾された」とは、本開示の分子の変化した状態または構造を指す。分子は、化学的、構造的、及び機能的を含む多くの方法で修飾され得る。一実施形態では、本開示のｍＲＮＡ分子は、例えば、天然のリボヌクレオチドＡ、Ｕ、Ｇ及びＣに関する場合、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。キャップ構造などの非標準ヌクレオチドは、「修飾」とみなされないが、Ａ、Ｃ、Ｇ、Ｕリボヌクレオチドの化学構造とは異なる。

【１０４７】

ナノ粒子：本明細書で使用される場合、「ナノ粒子」とは、同じ材料のバルク試料と比較して新規な特性を示す、約１０００ｎｍ未満のスケールのいずれか１つの構造的特徴を有する粒子を指す。通常、ナノ粒子は、約５００ｎｍ未満、約２００ｎｍ未満、または約１００ｎｍのスケールでいずれか１つの構造的特徴を有する。また、通常、ナノ粒子は、約５０ｎｍ～約５００ｎｍ、約５０ｎｍ～約２００ｎｍ、または約７０～約１２０ｎｍのスケールのいずれか１つの構造的特徴を有する。例示的実施形態では、ナノ粒子は、約１～１０００ｎｍ程度の１つ以上の寸法を有する粒子である。他の例示的実施形態では、ナノ粒子は、約１０～５００ｎｍ程度の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程度の１つ以上の寸法を有する粒子である。球状ナノ粒子は、例えば、約５０～１００または７０～１２０ナノメートルの直径を有するであろう。ナノ粒子は、ほとんどの場合、その輸送と特性の観点から１つの単位として挙動を示す。ナノ粒子を対応するバルク材料と区別する新規な特性は、典型的には１０００ｎｍ未満のサイズスケール、または約１００ｎｍのサイズで発達するが、ナノ粒子

は、例えば、長楕円形、管状などの粒子の場合、より大きなサイズであり得ることに留意されたい。大部分の分子のサイズは上記の概要に適合するが、個々の分子は通常ナノ粒子とは呼ばれない。

【１０４８】

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、そして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。これらのポリマーはしばしばポリヌクレオチドと呼ばれる。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、限定するものではないが、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、触媒性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（ＬＮＡ、例としては、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’－アミノ官能化を有する２’－アミノ－ＬＮＡ、及び２’－アミノ官能化を有する２’－アミノ－α－ＬＮＡ）またはそれらのハイブリッドが挙げられる。

【１０４９】

核酸構造：本明細書で使用されるとき、「核酸構造」（「ポリヌクレオチド構造」と交換可能に使用される）という用語は、核酸（例えば、ｍＲＮＡ）を含む、連結ヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の原子、化学成分、要素、モチーフ、及び／または配列の配置または構成を指す。この用語はまた、核酸の二次元または三次元状態を指す。したがって、「ＲＮＡ構造」という用語は、ＲＮＡ分子（例えば、ｍＲＮＡ）を含む連結ヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の原子、化学成分、要素、モチーフ、及び／または配列の配置または構成を指すか、及び／またはＲＮＡ分子の二次元及び／または三次元状態を指す。核酸構造は、組織の複雑さが増すことに基づいて、本明細書で「分子構造」、「一次構造」、「二次構造」、及び「三次構造」と呼ばれる４つの組織カテゴリにさらに区分することができる。

【１０５０】

核酸塩基：本明細書で使用される場合、「核酸塩基」という用語（あるいは「ヌクレオチド塩基」または「窒素含有塩基」）とは、核酸またはその一部もしくはセグメントに対する改善された特性（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、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、核酸中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す。アデニン、シトシン、グアニン、チミン、及びウラシルは、主に天然核酸に見られる核酸塩基である。当該技術分野において公知であるか、及び／または本明細書に記載されるような他の天然、非天然及び／または合成核酸塩基を核酸に組み込んでもよい

【１０５１】

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）またはそれらの誘導体もしくは類似体（本明細書では「核酸塩基」とも呼ばれる）に共有結合した糖分子（例えば、ＲＮＡ中のリボースまたはＤＮＡ中のデオキシリボース）、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含むが、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。本明細書中で使用される場合、「ヌクレオチド」という用語は、核酸またはその一部もしくはセグメントに対する、化学的及び／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）の改善を付与する、ヌクレオシド間連結基（例えば、リン酸基）に共有結合したヌクレオシド、またはその任意の誘導体、類似体もしくは修飾を指す。

【１０５２】

オープンリーディングフレーム：本明細書中で使用される場合、「オープンリーディングフレーム」という用語（「ＯＲＦ」と略される）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、開始コドンで始まり終止コドンで終わる連続した一続きの重ならないインフレームコドンを含み、そしてリボソームによって翻

訳される。
【１０５３】
患者：本明細書中で使用される場合、「患者」とは、処置を求めているかもしくは処置を必要とするか、処置が必要であるか、処置を受けているか、処置を受ける対象、または特定の疾患もしくは状態に関して訓練を受けた専門家による治療中の対象を指す。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、患者はがん（例えば、肝臓癌または結腸直腸癌）に罹患している患者である。
【１０５４】
薬学的に許容される：「薬学的に許容される」という語句は、健全な医学的判断の範囲内で、合理的な利益／危険率に見合った、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症がなく、ヒト及び動物の組織と接触して使用するのに適している化合物、材料、組成物及び／または剤形を指すように本明細書で使用される。
【１０５５】
薬学的に許容される賦形剤：本明細書で使用される場合「薬学的に許容される賦形剤」という句は、本明細書に記載の化合物以外の任意の構成要素（例えば、活性化合物を懸濁または溶解し得るビヒクル）であって、患者において、実質的に無毒かつ非炎症性であるという特性を有する構成要素を指す。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、色素（着色剤）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、フィルム形成剤またはコーティング剤、香料、芳香剤、流動促進剤（流動増強剤）、潤滑剤、防腐剤、印刷インキ、吸収剤、懸濁剤または分散剤、甘味料、及び水和水が挙げられ得る。例示的な賦形剤としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：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、微結晶性セルロース、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、カルボキシメチルセルロースナトリウム、クエン酸ナトリウム、ナトリウムグリコール酸デンプン、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。
【１０５６】
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」とは、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、遊離の塩基基と適切な有機酸とを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た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、限定するものではないが、アミンなどの塩基性残基の無機酸塩または有機酸塩；カルボン酸などの酸性残基のアルカリまたは有機塩；などが挙げられる。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、ドデシルスルホン酸塩、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、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。

代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム塩、リチウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩など、ならびに無毒性アンモニウム塩、第四級アンモニウム塩及びアミンカチオンの塩が挙げられ、これらには、限定するものではないが、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、エチルアミンなどの塩を含む。本開示の薬学的に許容される塩としては、例えば、無毒性の無機または有機の酸から形成された親化合物の従来の無毒性の塩が挙げられる。本開示の薬学的に許容される塩は、塩基性部分または酸性部分を含む親化合物から、従来の化学的方法によって合成され得る。一般に、そのような塩は、これらの化合物の遊離酸または塩基形態を化学量論的量の適当な塩基または酸と、水中もしくは有機溶媒中、またはその２つの混合物中で反応させることによって調製され得る（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）。適切な塩の列挙は、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）（その各々がその全体が参照によって本明細書に組み込まれる）に見出される。

【１０５７】

ポリペプチド：本明細書中で使用される場合、「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）または合成によって産生され得るペプチド結合によって典型的に連結されるアミノ酸残基のポリマーを指す。

【１０５８】

開始前複合体（ＰＩＣ）：本明細書中で使用される場合、「開始前複合体」という用語（あるいは「４３Ｓ開始前複合体」；「ＰＩＣ」と略される）は、４０Ｓリボソームサブユニット、真核生物開始因子（ｅＩＦ１、ｅＩＦ１Ａ、ｅＩＦ３、ｅＩＦ５）、及びｅＩＦ２－ＧＴＰ－Ｍｅｔ－ｔＲＮＡ$_{i}^{Ｍｅｔ}$三元複合体（これは本質的にｍＲＮＡ分子の５’キャップに結合し得、そして結合後に５’ＵＴＲのリボソームスキャニングを行い得る）を含むリボ核タンパク質複合体を指す。

【１０５９】

ＲＮＡエレメント：本明細書中で使用される場合、「ＲＮＡエレメント」という用語は、生物学的機能を提供するか、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分子の部分、断片、またはセグメントを指す。本明細書に記載のものなどの１つ以上のＲＮＡエレメントの組み込みによるポリヌクレオチドの修飾は、修飾されたポリヌクレオチドに１つ以上の望ましい機能的特性を提供する。本明細書に記載のＲＮＡエレメントは、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、合成であっても、遺伝子操作であっても、またはそれらの任意の組み合わせであってもよい。例えば、調節活性を提供する天然に存在するＲＮＡエレメントとしては、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挙げられる。ＲＮＡエレメント、特に真核生物ｍＲＮＡ及び翻訳されたウイルスＲＮＡは、細胞内の多くの機能を媒介することに関与してい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、限定するものではないが、翻訳開始エレメント（例えば、内部リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）、Ｋｉｅｆｔ ｅｔ ａｌ．，（２００１）ＲＮＡ７（２）：１９４～２０６を参照）、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　Ｄｅｖ１１０（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）、及び触媒性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。

【１０６０】

滞留時間：本明細書で使用される場合、「滞留時間」という用語は、ｍＲＮＡ分子に沿った別々の位置または場所での開始前複合体（ＰＩＣ）またはリボソームの占有時間を指す。

【１０６１】

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、目的のある特徴または特性の全体的またはほぼ全体的な度合もしくは程度を示す定性的状態を指す。生物学的分野の当業者は、生物学的及び化学的現象が、完成するまで進行するか、及び／または完全になるか、または絶対的な結果を達成もしくは回避する場合があっても、めったにない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固有の完全性の潜在的な欠如を捉えるために本明細書で使用される。

【１０６２】

罹患している：疾患、障害、及び／または病態に「罹患している」個体は、疾患、障害、及び／または病態の１つ以上の症状と診断されているか、またはそれらの症状を示している。

【１０６３】

標的化部分：本明細書で使用される場合、「標的化部分」とは、ナノ粒子を特定の細胞、組織、及び／または器官型に標的化し得る化合物または薬剤である。

【１０６４】

治療剤：「治療剤」という用語は、対象に投与したときに、治療的、診断的、及び／または予防的効果を有するか、及び／または所望の生物学的効果及び／または薬理学的効果を引き出す任意の薬剤を指す。

【１０６５】

トランスフェクション：本明細書中で使用される場合、「トランスフェクション」という用語は、種（例えば、ｍＲＮＡなどのポリヌクレオチド）を細胞に導入するための方法をいう。

【１０６６】

翻訳調節活性：本明細書中で使用される場合、「翻訳調節活性」という用語（「翻訳調節機能」と交換可能に使用される）は、ＰＩＣ及び／またはリボソームの活性を含む翻訳装置の活性を調節する（例えば、調節する、影響する、制御する、変化させる）生物学的な機能、機構、またはプロセスを指す。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及び／または阻害する。対象：本明細書中で使用される場合、「対象」という用語は、例えば、実験的、診断的、予防的及び／または治療的な目的のために、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、及びヒトなどの哺乳動物）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。

【１０６７】

治療（処置）：本明細書で使用される場合、「処置する」という用語は、特定の感染、疾患、障害、及び／または病態の１つ以上の症状または特徴を、部分的または完全に緩和

、軽減、改善、救済、発症の遅延、進行の抑制、重症度の低下、及び／またはその頻度の低減を指す。例えば、がんを「処置する」とは、腫瘍の生存、成長、及び／または拡大を阻害することを指す場合がある。疾患、障害、及び／または病態に関連する病理の発症の危険性を減少させる目的で、疾患、障害、及び／または病態の徴候を示さない対象に対して、及び／または疾患、障害、及び／または病態の初期兆候のみを示す対象に対して、処置を施してもよい。

【１０６８】

予防：本明細書で使用される場合、「予防する」という用語は、特定の感染、疾患、障害、及び／または病態の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。

【１０６９】

腫瘍：本明細書で使用される場合、「腫瘍」とは、良性または悪性にかかわらず、組織の異常な増殖である。

【１０７０】

未修飾：本明細書中で使用される場合、「未修飾」とは、何らかの形で変更される前の任意の物質、化合物または分子を指す。未修飾とは、必ずしもそうとは限らないが、野生型または天然型の生体分子を指すことがある。分子は一連の修飾を受けてもよく、それにより各修飾分子は、その後の修飾のための「未修飾」出発分子として役立ち得る。

【１０７１】

ウリジン含有量：「ウリジン含有量」または「ウラシル含有量」という用語は互換的であり、特定の核酸配列中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割合）として表され得る。

【１０７２】

ウリジン修飾配列：「ウリジン修飾配列」という用語は、候補核酸配列のウリジン含有量及び／またはウリジンパターンに関して、異なる全体もしくは局所ウリジン含有量（より高いまたはより低いウリジン含有量）を有するか、または異なるウリジンパターン（例えば、勾配分布またはクラスタリング）を有する配列最適化核酸（例えば、合成ｍＲＮＡ配列）を指す。本開示の内容において、「ウリジン修飾配列」及び「ウラシル修飾配列」という用語は、同等であり互換的であると見なされる。

【１０７３】

「高ウリジンコドン」とは、２つまたは３つのウリジンを含むコドンとして定義され、「低ウリジンコドン」とは、１つのウリジンを含むコドンとして定義され、「無ウリジンコドン」とは、ウリジンを含まないコドンである。いくつかの実施形態では、ウリジン修飾配列は、低ウリジンコドンによる高ウリジンコドンの置換、無ウリジンコドンによる高ウリジンコドンの置換、高ウリジンコドンによる低ウリジンコドンの置換、無ウリジンコドンによる低ウリジンコドンの置換、低ウリジンコドンによる無ウリジンコドンの置換、高ウリジンコドンによる無ウリジンコドンの置換、及びそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、高ウリジンコドンは別の高ウリジンコドンで置き換えてもよい。いくつかの実施形態では、低ウリジンコドンは、別の低ウリジンコドンで置き換えてもよい。いくつかの実施形態では、無ウリジンコドンは別の無ウリジンコドンと置き換えられてもよい。ウリジン修飾配列は、ウリジン富化されても、またはウリジン希薄化されてもよい。

【１０７４】

ウリジン富化：本明細書中で使用される場合、「ウリジン富化」という用語及び文法的変形は、対応する候補核酸配列のウリジン含量に関して、配列最適化核酸（例えば、合成ｍＲＮＡ配列）中のウリジン含有量の増大（絶対値または割合値として表される）を指す。ウリジン富化は、候補核酸配列中のコドンを、含んでいるウリジン核酸塩基が少ない同義コドンで置換することによって実施され得る。ウリジン富化は、全体的（すなわち、候

補核酸配列の全長に対して）であっても、または局所的（すなわち、候補核酸配列の部分配列または領域に対して）であってもよい。

【１０７５】

ウリジン希薄化：本明細書で使用される場合、「ウリジン希薄化」という用語及び文法上の変形は、対応する候補核酸配列のウリジン含量に関して、配列最適化核酸（例えば、合成ｍＲＮＡ配列）中のウリジン含有量の減少（絶対値または割合値として表される）を指す。ウリジン希薄化は、候補核酸配列中のコドンを、含んでいるウリジン核酸塩基が少ない同義コドンで置換することによって実施され得る。ウリジン希薄化は、全体的（すなわち、候補核酸配列の全長に対して）であっても、または局所的（すなわち、候補核酸配列の部分配列または領域に対して）であってもよい。

【１０７６】

等価物及び範囲

当業者であれば、本明細書に記載の開示による具体的な実施形態に対する多くの等価物を認識するか、または通常の実験のみを用いて確認し得るであろう。本開示の範囲は、以下の説明に限定されることを意図するものではなく、むしろ添付の特許請求の範囲に記載のとおりである。

【１０７７】

特許請求の範囲において、「１つの、ある（ａ、ａｎ）」、及び「この、その（ｔｈｅ）」などの冠詞は、反対の指示がない限り、または文脈から明らかでない限り、１つまたは２つ以上を意味し得る。１つ、２つ以上、または全てのグループメンバーが、反対の指示がない限り、そうでなければその文脈から明らかでない限り、所定の生成物またはプロセスに存在するか、使用されるか、またはそうでなければ関連がある場合、グループの１つ以上のメンバー間に「または」を含む請求項または説明は、満たされると見なされる。本開示は、その群の正確に１つのメンバーが所定の生成物またはプロセス中に存在するか、使用されるか、またはそうでなければ関連する実施形態を包含する。本開示は、１つより多く、または全てのグループメンバーが所定の生成物またはプロセス中に存在するか、使用されるか、またはそうでなければ関連する実施形態を包含する。

【１０７８】

「含んでいる（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」、「有している（ｈａｖｉｎｇ）」、「有する（ｈａｖｅ）」、「有する（ｈａｓ）」という用語は、開放的で許容されることを意図しているが、追加の要素またはステップを含めることを必要としないことにも留意されたい。これらの用語が本明細書で使用される場合、したがって、「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」という用語も包含され開示される。

【１０７９】

範囲が指定されている場合は、エンドポイントが含まれる。さらに、当業者の文脈及び理解から他に示されていないかまたはさもなければ明白でない限り、範囲として表される値は、本開示の異なる実施形態において述べられた範囲内の任意の特定の値または部分範囲から、文脈上明らかにそうでないと示されない限り、その範囲の下限の単位の１０分の１までを仮定し得ることが理解される。

【１０８０】

全ての引用された出典、例えば、本明細書に引用された引用文献、出版物、データベース、データベースエントリ、及び技術は、その引用文献中に明示的に表現されない場合でさえ、参照により本出願に組み込まれる。引用された出典の記載と本出願の記載とが矛盾する場合、本出願における記載が優先するものとする。

【実施例】

【１０８１】

本開示は、以下の実施例を参照することによってより完全に理解されるであろう。しかし、それらは本開示の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書に記載される実施例及び実施形態は、例示目的のみに過ぎず、それを考慮した様々な修正または変

更が当業者に示唆され、そして本出願及び添付の特許請求の範囲の趣旨及び範囲内に含まれるべきであることが理解される。

【１０８２】

実施例１：ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物

この実施例では、構成的に活性化された形態のヒトＳＴＩＮＧをコードする一連のｍｍＲＮＡ構築物を作製し、それらがインターフェロン－β（ＩＦＮ－β）産生を刺激する能力について試験した。構築物によってコードされるヒトＳＴＩＮＧタンパク質は、１つ以上の点突然変異の導入を通して構成的に活性化された。以下の単一または組み合わせ点突然変異を試験した：（ｉ）Ｖ１５５Ｍ；（ｉｉ）Ｒ２８４Ｔ；（ｉｉｉ）Ｖ１４７Ｌ／Ｎ１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍ；及び（ｉｖ）Ｒ２８４Ｍ／Ｖ１４７Ｌ／Ｎ１５４Ｓ／Ｖ１５５Ｍ。これらの構築物は典型的には検出を容易にするためにＮ末端またはＣ末端のいずれかにエピトープタグもコードした。異なるエピトープタグを試験した（ＦＬＡＧ、Ｍｙｃ、ＣＴ、ＨＡ、Ｖ５）。さらに、全ての構築物は、キャップ１　５’キャップ（７ｍＧ（５’）ｐｐｐ（５’）ＮｌｍｐＮｐ）、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、１００ヌクレオチドのポリＡテールを含み、そして１－メチル－シュードウリジン（ｍ１Ψ）で完全に修飾された。エピトープタグを有さない、代表的な構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧ構築物のＯＲＦアミノ酸配列を配列番号１～１０に示す。構築物に使用するための例示的な５’ＵＴＲを配列番号２１に示す。構築物に使用するための例示的な３’ＵＴＲを配列番号２２に示す。構築物において使用するためのｍｉＲ－１２２及びｍｉＲ－１４２．３ｐ結合部位を含む例示的な３’ＵＴＲは、配列番号２３に示される。

【１０８３】

構成的に活性なＳＴＩＮＧ構築物がＩＦＮ－β産生を刺激し得るか否かを決定するために、その構築物をヒトＴＦ１ａ細胞にトランスフェクトした。野生型（非構成的に活性な）ヒト及びマウスＳＴＩＮＧ構築物を陰性対照として使用した。２５，０００細胞／ウェルを、９６ウェルプレートにプレートし、そしてｍｍＲＮＡ構築物（２５０ｎｇ）をＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　２０００を用いてそれらにトランスフェクトした。２４及び４８時間後、上清を回収し、そしてＩＦＮ－βレベルを標準的なＥＬＩＳＡによって決定した。その結果を図１に示しており、これによって、構成的に活性なＳＴＩＮＧ構築物が、野生型（非構成的に活性な）ヒト及びマウスＳＴＩＮＧ対照と比較して、ＩＦＮ－β産生を刺激したことが実証されている。４つ全ての変異ＳＴＩＮＧ構築物がＩＦＮ－β産生を刺激したが、Ｖ１５５Ｍ変異及びＲ２８４Ｔ変異が最も高い活性を示した。これらの結果から、構成的に活性なＳＴＩＮＧ　ｍＲＮＡ構築物が、ＩＦＮ－β産生の刺激を通して免疫応答を増強する能力が実証される。

【１０８４】

第２のセットの実験では、転写がインターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ）によって駆動されるレポーター遺伝子を用いて、構成的に活性なＳＴＩＮＧ　ｍＲＮＡ構築物のパネルが、ＳＴＩＮＧ　ＫＯレポーターマウス株においてＩＳＲＥを活性化する能力を試験した。その結果を図２に示しており、これは、構成的に活性なＳＴＩＮＧ構築物がレポーター遺伝子発現を刺激したことを示し、それによってその構築物がインターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ）を活性化できたことを示している。

【１０８５】

実施例２：ＩＲＦ３及びＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物

この実施例では、構成的に活性化された形態のＩＲＦ３またはＩＲＦ７をコードする一連のｍｍＲＮＡ構築物を作製し、それらがインターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ）を活性化する能力について試験した。エピトープタグを有さない、Ｓ３９６Ｄ点突然変異を含む、代表的な構成的に活性なマウス及びヒトのＩＲＦ３構築物のＯＲＦアミノ酸配列を、配列番号１１～１２に示す。エピトープタグを有さない、野生型ヒトＩＲＦ７構築物のＯＲＦアミノ酸配列を、配列番号１３に示す。エピトープタグを有さない、代表的な構成的に活性なヒトＩＲＦ７構築物のＯＲＦアミノ酸配列を、配列番号１４～１８に示す。エピトープタグを有さない、代表的な短縮型ヒトＩＲＦ７構築物（不活性「ヌル」

変異）のＯＲＦアミノ酸配列を、配列番号１９～２０に示す。これらの構築物は典型的には、検出を容易にするためにＮ末端またはＣ末端のいずれかにエピトープタグもコードした。異なるエピトープタグを試験した（ＦＬＡＧ、Ｍｙｃ、ＣＴ、ＨＡ、Ｖ５）。さらに、全ての構築物は、キャップ１　５’キャップ（７ｍＧ（５’）ｐｐｐ（５’）ＮｌｍｐＮｐ）、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、１００ヌクレオチドのポリＡテールを含み、そして１－メチル－シュードウリジン（ｍ１Ψ）で完全に修飾された。構築物に使用するための例示的な５’ＵＴＲを、配列番号２１に示す。構築物に使用するための例示的な３’ＵＴＲを、配列番号２２に示す。構築物において使用するためのｍｉＲ－１２２及びｍｉＲ－１４２．３ｐ結合部位を含む例示的な３’ＵＴＲを、配列番号２３に示す。

【１０８６】

転写がインターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ）によって駆動される、レポーター遺伝子を使用して、構成的に活性なＩＲＦ３及びＩＲＦ７のｍＲＮＡ構築物がＩＳＲＥを活性化する能力を試験した。その結果を図３Ａ～３Ｂに示しており、これは、構成的に活性なＩＲＦ３構築物（図３Ａ）及び構成的に活性なＩＲＦ７構築物（図３Ｂ）がレポーター遺伝子発現を刺激することを実証しており、それによってこの構築物がインターフェロン感受性応答エレメント（ＩＳＲＥ）を活性化できたことが示される。

【１０８７】

実施例３：ＩＫＫβ、ｃＦＬＩＰ及びＲＩＰＫ１免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物

この実施例では、転写がＮＦκＢシグナル伝達経路によって駆動されるルシフェラーゼレポーター遺伝子を使用して、構成的に活性なＩＫＫ、ｃＦＬＩＰ及びＲＩＰＫ１　ｍＲＮＡ構築物がＮＦκＢシグナル伝達を活性化する能力を試験した。

【１０８８】

構成的に活性なＩＫＫβ構築物は、以下の２つの点突然変異を含んでいた：Ｓ１７７Ｅ／Ｓ１８１Ｅ。構成的に活性なＩＫＫαまたはＩＫＫβ構築物は、ＰＥＳＴ変異を含んでいた。エピトープタグを有さない、構成的に活性なＩＫＫβ構築物のＯＲＦアミノ酸配列を、配列番号８７～９０に示す。エピトープタグなしで、ＰＥＳＴ変異を含む、構成的に活性なＩＫＫαまたはＩＫＫβ構築物のＯＲＦアミノ酸配列は、配列番号９１～９８に示す。構成的に活性なｃＦＬＩＰ構築物は、ｃＦＬＩＰ－Ｌ、ｃＦＬＩＰ－Ｓ（ａａ１－２２７）、ｃＦＬＩＰ　ｐ２２（ａａ１－１９８）、ｃＦＬＩＰ　ｐ４３（ａａ１－３７６）またはｃＦＬＩＰ　ｐ１２（ａａ　３７７－４８０）を含んでいた。エピトープタグを有さない、ｃＦＬＩＰ構築物のＯＲＦアミノ酸配列は、配列番号８２～８６に示される。種々の構成的に活性なＲＩＰＫ１構築物の構造は、例えば、Ｙａｔｉｍ，Ｎ．ｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｓｃｉｅｎｃｅ　３５０：３２８－３３４またはＯｒｏｚｃｏ，Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（２０１４）Ｃｅｌｌ　Ｄｅａｔｈ　Ｄｉｆｆｅｒ．２１：１５１１～１５２１にさらに記載されている。エピトープタグを有さない、構成的に活性なＲＩＰＫ１構築物のＯＲＦアミノ酸配列は、配列番号９９～１０４に示される。オープンリーディングフレームに加えて、全ての構築物は、Ｃａｐ１　５’Ｃａｐ（７ｍＧ（５’）ｐｐｐ（５’）ＮｌｍｐＮｐ）、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、１００ヌクレオチドのポリＡテールを含み、そして１－メチル－シュードウリジン（ｍ１Ψ）を用いて完全に修飾された。構築物に使用するための例示的な５’ＵＴＲを、配列番号２１に示す。構築物に使用するための例示的な３’ＵＴＲを、配列番号２２に示す。構築物における使用のためのｍｉＲ－１２２及びｍｉＲ－１４２．３ｐ結合部位を含む例示的な３’ＵＴＲを配列番号２３に示す。

【１０８９】

最初の一連の実験では、ｃＦＬＩＰまたはＩＫＫβ構築物のいずれか（１２．５ｎｇＲＮＡ）を、ＮＦκＢ－ｌｕｃレポーター遺伝子と共に、Ｂ１６Ｆ１０、ＭＣ３８またはＨＥＫ２９３細胞にトランスフェクトし、二重Ｌｕｃアッセイを、ＮＦκＢシグナル伝達の活性化の指標としてトランスフェクション２４時間後に行った。その結果を図４に示しており、これは、構成的に活性なｃＦＬＩＰ及びＩＫＫβ構築物がレポーター遺伝子発現を刺激したことを実証しており、それによって構築物がＮＦκＢシグナル伝達経路を活性化できたことが示されている。第２の一連の実験では、ＲＩＰＫ１構築物を、ＮＦκＢ－ｌ

ｕｃレポーター遺伝子と共に、Ｂ１６Ｆ１０細胞にトランスフェクトし、トランスフェクションの２４時間後にＮＦκＢシグナル伝達の活性化の指標として二重Ｌｕｃアッセイを行った。その結果を図５に示しており、これは、構成的に活性なＲＩＰＫ１構築物がレポーター遺伝子発現を刺激したことを実証しており、それによって構築物がＮＦκＢシグナル伝達経路を活性化できたことを示している。

【１０９０】

実施例４：ＤＩＡＢＬＯ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物

この実施例では、ＤＩＡＢＬＯをコードする一連のｍｍＲＮＡ構築物を作製し、それらがサイトカイン産生を誘導する能力について試験した。これらの構築物は、典型的には検出を容易にするためにＮ末端またはＣ末端のいずれかにエピトープタグもコードしていた。異なるエピトープタグを試験した（ＦＬＡＧ、Ｍｙｃ、ＣＴ、ＨＡ、Ｖ５）。さらに、全ての構築物は、キャップ１　５’キャップ（７ｍＧ（５’）ｐｐｐ（５’）ＮｌｍｐＮｐ）、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、１００ヌクレオチドのポリＡテールを含み、そして１－メチル－シュードウリジン（ｍ１Ψ）で完全に修飾された。エピトープタグを有さないＤＩＡＢＬＯ構築物のＯＲＦアミノ酸配列は、配列番号１０６～１１３に示される。構築物に使用するための例示的５’ＵＴＲは、配列番号２１に示される。構築物における使用のための例示的な３’ＵＴＲを配列番号２２に示す。構築物中の使用のためのｍｉＲ－１２２及びｍｉＲ－１４２．３ｐ結合部位を含む例示的な３’ＵＴＲを、配列番号２３に示す。

【１０９１】

ＤＩＡＢＬＯ構築物がサイトカイン産生を誘導できるか否かを決定するために、構築物をＳＫＯＶ３細胞にトランスフェクトした。１万個の細胞／ウェルを９６ウェルプレートにプレートし、そしてｍｉＲＮＡ構築物を、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　２０００を用いてそれらにトランスフェクトした。ＳＫＯＶ３細胞におけるＤＩＡＢＬＯ　ｍｍＲＮＡ構築物によるサイトカイン産生の刺激を測定した。その結果を、ＴＮＦ－αについては図６に、インターロイキン６（ＩＬ－６）については図７に示しており、多数のＤＩＡＢＬＯ　ｍｍＲＮＡ構築物がＳＫＯＶ３細胞によるサイトカインの産生を刺激することが実証されている。

【１０９２】

実施例５：免疫増強剤ｍＲＮＡは、ＭＣ３８がんワクチン応答を増強する

この実施例では、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と組み合わせて使用されるＭＣ３８ｍＲＮＡベースのがんワクチンに対する応答の効力及び耐久性を調べた。ＭＣ３８マウス腫瘍モデルを使用して、抗腫瘍Ｔ細胞応答を刺激し得るネオエピトープを含む免疫原性変異ペプチドを特定してきた（例えば、Ｙａｄａｖ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．（２０１４）Ｎａｔｕｒｅ　５１５：５７２－５７６を参照のこと）。したがって、腫瘍ネオエピトープに対する頑強で耐久性のある免疫応答をもたらすがんワクチン接種アプローチが非常に望ましい。

【１０９３】

この実施例で使用したＭＣ３８ワクチンは、Ａｄｐｇｋ、Ｄｐａｇｔ１、及びＲｅｐｓ１に由来する腫瘍ネオエピトープを含有する３つの２５量体の変異体ペプチドのＡＤＲコンカテマーをコードするｍＲＮＡ構築物であった（このワクチンは、本明細書ではＡＤＲｖａｘとも呼ばれる）。ｍＲＮＡ構築物は、容易に検出するためのＮ末端Ｈｉｓタグも含む、配列番号１２０に示されるオープンリーディングフレームをコードする。０日目及び１４日目に、対照のｍＲＮＡ構築物（ＮＴＦＩＸ）、またはＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３もしくはＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物（０．２５ｍｇ／ｋｇの用量）のいずれかと組み合わせて、マウスをＡＤＲｖａｘ　ｍＲＮＡワクチン（０．２５ｍｇ／ｋｇの用量）で筋肉内免疫した。構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤は、Ｖ１５５Ｍ変異（配列番号１に相当するマウスのバージョン）を含んでいた。構成的に活性なＩＲＦ３免疫増強剤は、Ｓ３９６Ｄ変異（配列番号１２に相当する）を含んでいた。構成的に活性なＩＲＦ７免疫増強剤は、内部欠失及び６つの点突然変異（配列番号１８に相当するマウスバージョン）を含

んでいた。ＭＣ３８ワクチン構築物及び遺伝子アジュバント構築物を、ＭＣ３脂質ナノ粒子中に共処方した。

【１０９４】

２１日目及び３５日目に、各試験群のマウス由来のＣＤ８$^{+}$脾臓細胞を、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（商標）（ＢｒｅｆｅｌｄｉｎＡ；ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓを含む）の存在下、野生型または変異体ＭＣ３８　ＡＤＲペプチド（ペプチドあたり１μｇ／ｍｌ）と共に３７℃で、４時間エキソビボで再刺激し、ＣＤ８ワクチン応答を、ＩＦＮ－γについて細胞内染色（ＩＣＳ）によって評価した。ＩＦＮ－γについての２１日目及び３５日目のＣＤ８$^{+}$脾臓細胞によるＭＣ３８　ＡＤＲ特異的応答についての代表的なＩＣＳ結果を、図８Ａ（２１日目）及び図８Ｂ（３１日目）に示す。ＴＮＦ－α及びＣＤ８＋ＰＢＭＣのＩＣＳについても同様の結果が観察された。その結果から、ＣＤ８ワクチン応答がＳＴＩＮＧ免疫増強剤構築物によって非常に増強され、そしてＩＲＦ３及びＩＲＦ７免疫増強剤構築物によって中程度に増強されたことが実証される。免疫増強剤で処置したマウスについての抗原特異的ＣＤ８応答の最初の改善が、２１日目に観察され（ＳＴＩＮＧ処置対対照について、約５％対１％）、それは３５日目までに改善し続け（対照と比較してＳＴＩＮＧ処置に対して最大１５％）、それによって応答の耐久性が実証される。

【１０９５】

生存ＣＤ４５$^{+}$細胞のうちのＣＤ８ｂ$^{+}$細胞の割合も調べた。３５日目の脾臓細胞及びＰＢＭＣについての結果を、図９Ａに示しており、これによって、遺伝子アジュバントが全ＣＤ８ｂ$^{+}$集団を拡大することが実証される。図９Ｂに示すように、大部分のＣＤ８$^{+}$脾臓細胞及びＰＢＭＣは、「エフェクターメモリー」ＣＤ６２Ｌ^{lo}表現型を有することが見出された。さらなる染色実験によって、ＳＴＩＮＧ及びＩＲＦ７免疫増強剤構築物が全Ｆｏｘｐ３$^{+}$ＴｒｅｇＣＤ４Ｔ細胞の％をわずかに減少させることが実証された（データは示さず）。追加の染色実験によって、免疫増強剤がＣＤ１３８$^{+}$形質芽細胞の％を変化させないことが実証された（データ示さず）。

【１０９６】

実施例６：ＫＲＡＳ－ＳＴＩＮＧ　ｍＲＮＡ構築物

様々な種類のがんにおけるＲａｓ変異の包括的な調査が報告されている（Ｐｒｉｏｒ、Ｉ．Ａ．ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．７２：２４５７－２４６７）。この調査によって、結腸直腸癌、膵臓癌及び非小細胞肺癌におけるＫＲＡＳの上位４つの最も頻繁な変異がＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃであることが証明された。これら４つの変異のうちの１つを含む１つ以上のＫＲＡＳペプチドをコードする一連の変異体ＫＲＡＳ　ｍＲＮＡ構築物を、ＫＲＡＳ抗腫瘍ｍＲＮＡベースのワクチンとしての使用について、調製した。さらに、ＫＲＡＳワクチン応答に対するｍＲＮＡベースの免疫増強剤の効果を調べるために、免疫増強剤としてＳＴＩＮＧをコードする配列にＮ末端またはＣ末端で連結された１つ以上の変異体ＫＲＡＳペプチドをコードする一連のｍＲＮＡ構築物を調製した。したがって、これらのＫＲＡＳ－ＳＴＩＮＧ　ｍＲＮＡ構築物において、ワクチン抗原（複数可）及び免疫増強剤は、同じｍＲＮＡ構築物によってコードされている。

【１０９７】

以下のものをコードする変異体ＫＲＡＳペプチドｍＲＮＡ構築物を調製した：Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄの変異を有する１５量体のペプチド（そのアミノ酸配列はそれぞれ配列番号３６～３８に示す）；Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄの変異を有する２５量体ペプチド（それぞれ配列番号３９～４１）；Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ変異を有する１５量体ペプチドの３つのコピー（それぞれ配列番号４２～４４）；またはＧ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ変異を有する２５量体ペプチドの３つのコピー（それぞれ、配列番号４５～４７）。さらなる構築物は、Ｇ１２Ｃ変異を有する２５量体のペプチド（それぞれ、配列番号７２～７３）または野生型２５量体ペプチド（配列番号７４）の１コピーまたは3コピーをコードした。特定の実施形態では、Ｇ１２ＣのＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶもしくはＧ１３Ｄの変異、またはそれらの組み合わせと組み合わせ

て使用され得る。これらの変異体ＫＲＡＳペプチドをコードするヌクレオチド配列は、実施例７に提供されている。

【１０９８】

Ｎ末端にＳＴＩＮＧコード配列を有する、以下のものをコードする変異体ＫＲＡＳペプチド－ＳＴＩＮＧ　ｍＲＮＡ構築物を調製した：Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ変異を有する１５量体ペプチド（そのアミノ酸配列は、それぞれ配列番号４８～５０に示す）；Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄの変異を有する２５量体ペプチド（それぞれ配列番号５１～５３）；Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ変異を有する１５量体ペプチドの３つのコピー（それぞれ配列番号５４～５６）；あるいはＧ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ変異を有する２５量体ペプチドの３つのコピー（それぞれ、配列番号５７～５９）。特定の実施形態では、Ｇ１２ＣのＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶもしくはＧ１３Ｄの変異、またはそれらの組み合わせと組み合わせて使用され得る。Ｎ末端にＳＴＩＮＧコード配列を有するこれらのＫＲＡＳペプチドＳＴＩＮＧ構築物をコードする代表的なヌクレオチド配列は、配列番号１６０及び１６２に示される。

【１０９９】

Ｃ末端にＳＴＩＮＧコード配列を有する以下をコードした変異体ＫＲＡＳペプチド－ＳＴＩＮＧ　ｍＲＮＡ構築物を調製した：Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ変異を有する１５量体ペプチド（そのアミノ酸配列は、それぞれ配列番号６０～６２に示されている）；Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄの変異を有する２５量体ペプチド（それぞれ配列番号６３～６５）；Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ変異を有する１５量体ペプチドの３つのコピー（それぞれ配列番号６６～６８）；またはＧ１２Ｄ、Ｇ１２ＶもしくはＧ１３Ｄ変異を有する２５量体ペプチドの３つのコピー（それぞれ、配列番号６９～７０）。特定の実施形態では、Ｇ１２ＣのＫＲＡＳ変異は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶもしくはＧ１３Ｄの変異、またはそれらの組み合わせと組み合わせて使用され得る。Ｃ末端にＳＴＩＮＧコード配列を有するこれらのＫＲＡＳペプチドＳＴＩＮＧ構築物をコードする代表的なヌクレオチド配列は、配列番号１６１及び１６３に示される。

【１１００】

これらの構築物はまた、検出を容易にするためにＮ末端またはＣ末端のいずれかでエピトープタグをコードし得る。異なるエピトープタグを使用してもよい（例えば、ＦＬＡＧ、Ｍｙｃ、ＣＴ、ＨＡ、Ｖ５）。さらに、全ての構築物は、キャップ１　５’キャップ（７ｍＧ（５’）ｐｐｐ（５’）ＮｌｍｐＮｐ）、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、ポリＡテールを含み、そして１－メチル－シュードウリジン（ｍ１Ψ）で完全に修飾された。構築物に使用するための例示的な５’ＵＴＲを、配列番号２１に示す。構築物に使用するための例示的な３’ＵＴＲを、配列番号２２に示す。構築物において使用するためのｍｉＲ－１２２及びｍｉＲ－１４２．３ｐ結合部位を含む例示的な３’ＵＴＲは、配列番号２３に示す。

【１１０１】

ＫＲＡＳ変異体ペプチド（複数可）ｍＲＮＡワクチン構築物またはＫＲＡＳ変異体ペプチド（複数可）ワクチン－ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物のいずれかで処置したマウスにおけるワクチン応答を試験するために、マウス（ＨＬＡ－Ａ＊１１：０１またはＨＬＡ－Ａ＊２：０１；Ｔａｃｏｎｉｃ）を、ＫＲＡＳ変異体ペプチドワクチンｍＲＮＡ構築物（例えば、配列番号３６～４７のうちの１つをコードする）またはＫＲＡＳ変異体ペプチドワクチン－ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物（例えば、配列番号４８－７１のうちの１つをコードする）を用いて免疫する。マウスを１日目及び１５日目に筋肉内に免疫し（０．５ｍｇ／ｋｇ）、そして２２日目に屠殺する。ＣＤ８ワクチン応答を試験するために、$CD8^+$脾臓細胞及びＰＢＭＣを、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（商標）（ＢｒｅｆｅｌｄｉｎＡ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を含む）の存在下で、変異体ＫＲＡＳペプチド（Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２ＶまたはＧ１３Ｄ）または野生型ＫＲＡＳペプチド（ペプチドあたり２μｇ／ｍｌ）のいずれかを用いて、セ氏３７度で、５時間エキソビボで再刺激した。次いで、ＣＤ８ワクチン応答は、ＩＦＮ－γ及び／またはＴＮＦ－αについての細胞内染

色（ＩＣＳ）によって評価し得る。ＫＲＡＳ変異体ペプチドワクチン－ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物で処置したマウスにおけるＩＦＮ－γ及び／またはＴＮＦ－αのＩＣＳ応答の増強は、ＫＲＡＳ変異体ペプチドワクチンｍＲＮＡ構築物を用いた処置と比較して、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤が、ＫＲＡＳ特異的ＣＤ８ワクチン応答を増強することを示す。

【１１０２】

実施例７：活性化がん遺伝子ＫＲＡＳ変異体ペプチドｍＲＮＡ構築物と組み合わせた免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物の使用

この実施例では、変異体ＫＲＡＳペプチドｍＲＮＡ構築物は、変異体ＫＲＡＳペプチドに対する免疫応答を増強するために、別個の構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と組み合わせて使用される。

【１１０３】

ＫＲＡＳは、癌において最も頻繁に変異するがん遺伝子であり、上皮のがん、主に肺癌、結腸直腸癌及び膵臓癌のおよそ３０％において変異している（Ｐｙｌａｙｅｖａ－Ｇｕｐｔａ Ｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｃａｎｃｅｒ，Ｖｏｌ．１１（１１）：７６１－７７４，２０１１）。これら３つの悪性腫瘍における４つの最も一般的なＫＲＡＳ変異抗原は、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃであり、これらはＫＲＡＳ変異の８０～９０％を構成する（Ｐｒｉｏｒ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２０１２ Ｍａｙ １５；７２（１０）：２４５７－２４６７；Ｃｏｘ ＡＤ ｅｔ ａｌ，Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ，Ｖｏｌ．１３（１１）：８２８－８５１，２０１１）。ＫＲＡＳ変異は、主にいくつかの「ホットスポット」で発生し、がん遺伝子を活性化する。以前の研究は、発がん性突然変異に特異的なＴ細胞を惹起する能力が限られていることを示していた。しかし、これの大部分は最も一般的なＨＬＡ対立遺伝子（Ａ２、白人の約５０％で生じる）の状況で行われた。ごく最近になって、（ａ）特異性Ｔ細胞が、あまり一般的でないＨＬＡ対立遺伝子（Ａ１１、Ｃ８）の状況で点突然変異に対して生成され得、そして（ｂ）エキソビボでこれらの細胞を増殖させ、それらを患者に移入して戻すことは、肺癌患者において劇的な腫瘍反応を媒介したことが実証された。（Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ２０１６；３７５：２２５５－２２６２ Ｄｅｃｅｍｂｅｒ ８，２０１６ＤＯＩ：１０．１０５６／ＮＥＪＭｏａ１６０９２７９）。

【１１０４】

ＫＲＡＳ変異は結腸直腸癌の約４０％に発生する。下記の表５に示すように、ＣＲＣ（結腸直腸癌）では、３つの変異（Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｄ、及びＧ１３Ｄ）のみが、この悪性腫瘍におけるＫＲＡＳ変異の９６％を占める。さらに、全てのＣＲＣ患者を、標準治療としてＫＲＡＳ変異について遺伝子型決定した。

【表５】

表５

COSMIC* 症例カウント				
	全てのがん	%	CRC	%
Ｇ１２S	1849	1%		
Ｇ１２V	9213	4%	5215	29%
Ｇ１２C	435	2%		
Ｇ１２D	13634	7%	8083	44%
Ｇ１２A	2179	1%		
Ｇ１２R	1244	1%		
G13D	5084	2%	4267	23%
		18%		96%
試験した	208629		18271	

*http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/analysis?ln=KRAS

【１１０５】

別のＣＯＳＭＩＣデータセットでは、結腸直腸癌におけるＫＲＡＳ変異のうち７３．６８％が、これらの３つの変異（Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｄ、及びＧ１３Ｄ）によって占められている（表６）。

【表６－１】

表６

	結腸	%	直腸	%	合計	%
12D	635	35.04	178	33.46	813	34.68

【表６－２】

12V	364	20.09	124	23.31	488	20.82
13D	338	18.65	88	16.54	426	18.17
						73.68

【１１０６】

Ｐｒｉｏｒらは、それぞれＨＲＡＳ、ＫＲＡＳ、及びＮＲＡＳについて、アイソフォーム特異的な点突然変異特異性を検討して要約した。各点突然変異を有する腫瘍の総数を表すデータを、ＣＯＳＭＩＣｖ５２の放出から照合した。各がん型の各アイソフォームについて最も頻度の高い変異が報告されている（Ｐｒｉｏｒらの表２を参照のこと）。さらに、二次ＫＲＡＳ変異は、ＥＧＦＲ遮断耐性患者において同定されている。ＲＡＳは、ＥＧＦＲの下流にあり、それはＥＧＦＲ遮断療法に対する耐性の機構を構成することが見出された。ＥＧＦＲ遮断耐性ＫＲＡＳ変異腫瘍は、本明細書に開示される組成物及び方法を用いて標的化され得る。少数のケースでは、同じ患者で複数のＫＲＡＳ変異が同定された（最大４つの異なる変異が同時に発生する）。Ｄｉａｚらは、ＥＧＦＲ遮断の獲得後のこれらの二次ＫＲＡＳ変異を報告しており（補遺の表２を参照のこと）、及びＭｉｓａｌｅらは、ＥＧＦＲ遮断後の二次ＫＲＡＳ変異を報告している（図３ｂ参照を参照のこと）（Ｄｉａｚ ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ ｏｆ ａｃｑｕｉｒｅｄ ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ ｔｏ ｔａｒｇｅｔｅｄ ＥＧＦＲ ｂｌｏｃｋａｄｅ ｉｎ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒｓ，Ｎａｔｕｒｅ ４８６：５３７（２０１２）；Ｍｉｓａｌｅ ｅｔ ａｌ．Ｅｍｅｒｇｅｎｃｅ ｏｆ ＫＲＡＳ ｍｕｔａｔｉｏｎｓ ａｎｄ ａｃｑｕｉｒｅｄ ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ ｔｏ ａｎｔｉ－ＥＧＦＲ ｔｈｅｒａｐｙ ｉｎ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ ４８６：５３２（２０１２））。この変異スペクトルは、結腸直腸癌における原発性腫瘍ミスセンス変異体と少なくともある程度は異なるように思われる。図１０に示すように、ＮＲＡＳは結腸直腸癌においても変異しているが、ｃＢｉｏＰｏｒｔａｌ及びＰｒｉｏｒらで利用可能な分析に基づいて、ＫＲＡＳよりも低い頻度である。

【１１０７】

結腸直腸癌におけるＫＲＡＳ変異の同定に加えて、そのような変異は非小細胞肺癌及び膵臓癌において見出されている。表７は、これら３つのがんにおける４個のＫＲＡＳ突然変異の頻度を提供する。

【表７－１】

表７

KRAS 対立遺伝子	NSCLC[1] (30% 変異体 KRAS[4]) 破壊%	結腸直腸[2] (45%変異体 KRAS[4]) 破壊%	膵臓[3] (95% 変異体 KRAS[4]) 破壊%
Ｇ１２Ｃ	46%	8%	2%
Ｇ１２Ｖ	20%	22%	30%
Ｇ１２Ｄ	11%	36%	51%
G13D	3%	19%	<1%
合計	80%	85%	83%

【表７－２】

[1]Ｍｅｌｌｅｍａ ｅｔ ａｌ．Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｏｆ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｏｕｔｃｏｍｅ ａｆｔｅｒ ｆｉｒｓｔ－ｌｉｎｅ ｐｌａｔｉｎｕｍ－ｂａｓｅｄ ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ ｉｎ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔ ｔｙｐｅｓ ｏｆ ＫＲＡＳ ｍｕｔａｔｅｄ ａｄｖａｎｃｅｄ ＮＳＣＬＣ，Ｌｕｎｇ Ｃａｎｃｅｒ ９０：２（２０１５）（表１）

[2]Ｎｅｕｍａｎｎ ｅｔ ａｌ，Ｆｒｅｑｕｅｎｃｙ ａｎｄ ｔｙｐｅ ｏｆ ＫＲＡＳ ｍｕｔａｔｉｏｎｓ ｉｎ ｒｏｕｔｉｎｅ ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｍｅｔａｓｔａｔｉｃ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ，Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ２０５（２００９）（図１）

[3]Ｋｉｒｓｔｅｎ Ｌ．Ｂｒｙａｎｔ，Ｊｏｓｅｐｈ Ｄ．Ｍａｎｃｉａｓ，Ａｌｅｃ Ｃ．Ｋｉｍｍｅｌｍａｎ，Ｃｈａｎｎｉｎｇ Ｊ．Ｄｅｒ，ＫＲＡＳ：ｆｅｅｄｉｎｇ ｐａｎｃｒｅａｔｉｃ ｃａｎｃｅｒ ｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｏｎ，Ｉｎ Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，３９：２，２０１４（図２）

[4]Ａｄｒｉｅｎｎｅ Ｄ．Ｃｏｘ ｅｔ ａｌ．，Ｄｒｕｇｇｉｎｇ ｔｈｅ ｕｎｄｒｕｇｇａｂｌｅ ＲＡＳ：Ｍｉｓｓｉｏｎ Ｐｏｓｓｉｂｌｅ？，Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ １３，８２８－８５１（２０１４）（表１）

【１１０８】

本実施例では、動物に、少なくとも１つの活性化がん遺伝子突然変異ペプチド、例えば、少なくとも１つの活性化ＫＲＡＳ変異をコードするｍＲＮＡを単独で、または免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物、例えば、構成的に活性なＳＴＩＮＧ ｍＲＮＡ構築物、例えば、配列番号１～１０のいずれかに示される配列をコードする、例えば、配列番号１に示され及び配列番号１３９に示されるヌクレオチド配列をコードしたアミノ酸配列を有する、Ｖ１５５Ｍ変異を含む構成的に活性なヒトＳＴＩＮＧタンパク質をコードするｍＲＮＡ構築物などと組み合わせて含む免疫調節治療組成物を投与する。

【１１０９】

例示的なＫＲＡＳ変異体ペプチド配列及びｍＲＮＡ構築物を表８～１０に示す。

【表８】

表８：ＫＲＡＳ変異体ペプチド配列

	9 AA 配列	15 量体	25 量体
G12D	VVGADGVGK（配列番号 121）	MKLVVVGADGVGKSAL（配列番号 36）	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ（配列番号 39）
G12V	VVGAVGVGK（配列番号 122）	MKLVVVGAVGVGKSAL（配列番号 37）	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ（配列番号 40）
G13D	VGAGDVGKS（配列番号 123）	MLVVVGAGDVGKSALT（配列番号 38）	MTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQ（配列番号 41）
G12C	VVGACGVGK（配列番号 124）	MKLVVVGACGVGKSA（配列番号 125）	MTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQ（配列番号 72）
WT			MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQ（配列番号 74）

【表９】

表 9:KRAS 変異体アミノ酸配列

KRAS 変異体	アミノ酸配列
KRAS(G12D)15 量体	MKLVVVGADGVGKSAL（配列番号 36）
KRAS(G12V)15 量体	MKLVVVGAVGVGKSAL（配列番号 37）
KRAS(G13D)15 量体	MLVVVGAGDVGKSALT（配列番号 38）
KRAS(G12D)25 量体	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ（配列番号 39）
KRAS(G12V)25 量体	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ（配列番号 40）
KRAS(G13D)25 量体	MTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQ（配列番号 41）
KRAS(G12D)15 量体^3	MKLVVVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSAL（配列番号 42）
KRAS(G12V)15 量体^3	MKLVVVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSAL（配列番号 43）
KRAS(G13D)15 量体^3	MLVVVGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALT（配列番号 44）
KRAS(G12D)25 量体^3	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ（配列番号 45）
KRAS(G12V)25 量体^3	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ（配列番号 46）
KRAS(G13D)25 量体^3	MTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQ（配列番号 47）
KRAS(G12C)25 量体	MTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQ（配列番号 72）
KRAS(G12C)25 量体^3	MTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQ（配列番号 73）
KRAS(WT)25 量体	MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQ（配列番号 74）

【表１０－１】

表 10:KRAS 変異体抗原 mRNA 配列

mRNA 名称	Orf 配列(アミノ酸)	Orf 配列(ヌクレオチド)
KRAS (G12D) 25 量体	MTEYKLVVVGADGVGKSA LTIQLIQ (配列番号 39)	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGACGGCGTG GGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGCTGATCCAG (配列番号 126)
KRAS (G12V) 25 量体	MTEYKLVVVGAVGVGKSA LTIQLIQ (配列番号 40)	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGTGGGCGTG GGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGCTGATCCAG (配列番号 127)
KRAS (G13D) 25 量体	MTEYKLVVVGAGDVGKSA LTIQLIQ (配列番号 41)	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGGCGACGTG GGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGCTGATCCAG (配列番号 128)
KRAS (G12D) 25 量体^3	MTEYKLVVVGADGVGKSA LTIQLIQMTEYKLVVVGA DGVGKSALTIQLIQMTEY KLVVVGADGVGKSALTIQ LIQ (配列番号 45)	ATGACCGAGTACAAGTTAGTGGTTGTGGGCGCCGACGGCGTG GGCAAGAGCGCCCTCACCATCCAGCTTATCCAGATGACGGAA TATAAGTTAGTAGTAGTGGGAGCCGACGGTGTCGGCAAGTCC GCTTTGACCATTCAACTTATTCAGATGACAGAGTATAAGCTG GTCGTTGTAGGCGCAGACGGCGTTGGAAAGTCGGCACTGACG ATCCAGTTGATCCAG (配列番号 129)

【表１０－２】

KRAS (G12V) 25量体^3	MTEYKLVVVGAVGVGKSA LTIQLIQMTEYKLVVVGA VGVGKSALTIQLIQMTEY KLVVVGAVGVGKSALTIQ LIQ（配列番号46）	ATGACCGAGTACAAGCTCGTCGTGGTGGGCGCCGTGGGCGTG GGCAAGAGCGCCCTAACCATCCAGTTGATCCAGATGACCGAA TATAAGCTCGTGGTAGTCGGAGCGGTGGGCGTTGGCAAGTCA GCGCTAACAATACAACTAATCCAAATGACCGAATACAAGCTA GTTGTAGTCGGTGCCGTCGGCGTTGGAAAGTCAGCCCTTACA ATTCAGCTCATTCAG（配列番号130）
KRAS (G13D) 25量体^3	MTEYKLVVVGAGDVGKSA LTIQLIQMTEYKLVVVGA GDVGKSALTIQLIQMTEY KLVVVGAGDVGKSALTIQ LIQ（配列番号47）	ATGACCGAGTACAAGCTCGTAGTGGTTGGCGCCGGCGACGTG GGCAAGAGCGCCCTAACCATCCAGCTCATCCAGATGACAGAA TATAAGCTTGTGGTTGTGGGAGCAGGAGACGTGGGAAAGAGT GCGTTGACGATTCAACTCATACAGATGACCGAATACAAGTTG GTGGTGGTCGGCGCAGGTGACGTTGGTAAGTCTGCACTAACT ATACAACTGATCCAG（配列番号190）
KRAS (G12C) 25量体	MTEYKLVVVGACGVGKSA LTIQLIQ（配列番号72）	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCTGCGGCGTG GGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGCTGATCCAG（配列番号132）
KRAS (G12C) 25量体^3	MTEYKLVVVGACGVGKSA LTIQLIQMTEYKLVVVGA CGVGKSALTIQLIQMTEY KLVVVGACGVGKSALTIQ LIQ（配列番号73）	ATGACCGAGTACAAGCTCGTGGTTGTTGGCGCCTGCGGCGTG GGCAAGAGCGCCCTCACCATCCAGCTCATCCAGATGACAGAG TATAAGTTAGTCGTTGTCGGAGCTTGCGGAGTTGGAAAGTCG GCGCTCACCATTCAACTCATACAAATGACAGAATATAAGTTA GTGGTGGTGGGTGCGTGTGGCGTTGGCAAGAGTGCGCTTACT ATCCAGCTCATTCAG（配列番号184）
KRAS (WT) 25量体	MTEYKLVVVGAGGVGKSA LTIQLIQ（配列番号74）	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGGCGGCGTG GGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGCTGATCCAG（配列番号133）

化学：ウリジン修飾されたＮ１－メチルシュードウリジン（ｍ１Ψ）
Ｃａｐ：Ｃ１
Ｔａｉｌ：Ｔ１００
５’ＵＴＲ配列（標準５’Ｆｌａｎｋ（生成ＦＰ＋Ｔ７部位＋５’ＵＴＲ）を含む）：
ＴＣＡＡＧＣＴＴＴＴＧＧＡＣＣＣＴＣＧＴＡＣＡＧＡＡＧＣＴＡＡＴＡＣＧＡＣＴＣ
ＡＣＴＡＴＡＧＧＧＡＡＡＴＡＡＧＡＧＡＧＡＡＡＡＧＡＡＧＡＧＴＡＡＧＡＡＧＡＡ
ＡＴＡＴＡＡＧＡＧＣＣＡＣＣ（配列番号２１）
５’ＵＴＲ配列（プロモーターなし）：ＧＧＧＡＡＡＴＡＡＧＡＧＡＧＡＡＡＡＧＡＡ
ＧＡＧＴＡＡＧＡＡＧＡＡＡＴＡＴＡＡＧＡＧＣＣＡＣＣ
（配列番号１３４）
３’ＵＴＲ配列（ヒト３’ＵＴＲ　ＸｂａＩなし）：ＴＧＡＴＡＡＴＡＧＧＣＴＧＧＡ
ＧＣＣＴＣＧＧＴＧＧＣＣＡＴＧＣＴＴＣＴＴＧＣＣＣＣＴＴＧＧＧＣＣＴＣＣＣＣＣ
ＣＡＧＣＣＣＣＴＣＣＴＣＣＣＣＴＴＣＣＴＧＣＡＣＣＣＧＴＡＣＣＣＣＣＧＴＧＧＴ
ＣＴＴＴＧＡＡＴＡＡＡＧＴＣＴＧＡＧＴＧＧＧＧＣＧＧＣ（配列番号２２）

【１１１０】

インビボでのＫＲＡＳ抗原応答に対するＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物の効果を調べるための最初の研究において、ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　Ｔｇマウス（Ｔａｃｏｎｉｃ、系統９６５９Ｆ、ｎ＝４）に、以下のように、変異したＫＲＡＳペプチド抗原の種々の形態をコードするｍＲＮＡを投与する：変異したＫＲＡＳをコードするｍＲＮＡ（単独でまたはＳＴＩＮＧと組み合わせて）を１日目に投与し、８日目に採血し、変異したＫＲＡＳをコードするｍＲＮＡ（単独でまたはＳＴＩＮＧと組み合わせて）を１５日目に投与し、動物を２２日目に屠殺した。試験群を、次のように表１１に示す。

【表１１】
表１１

試験群	群	試験/対照物	免疫増強剤	ビヒクル	経路	投与レジメン
KRAS-MUT	1	KRAS Ｇ１２D	なし（NTFIX）	化合物 25	IM	１日、１５日
	2	KRAS Ｇ１２V	なし（NTFIX）	化合物 25	IM	１日、１５日
	3	KRAS G13D	なし（NTFIX）	化合物 25	IM	１日、１５日
	4	KRAS G12C	なし（NTFIX）	化合物 25	IM	１日、１５日
KRAS-MUT+ STING	5	KRAS G12D	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
	6	KRAS G12V	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
	7	KRAS G13D	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
	8	KRAS G12C	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
Ag なし	9	NTFIX	NTFIX	化合物 25	IM	１日、１５日
STING のみ	10	NTFIX	STING V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日

【１１１１】
ｍＲＮＡを、０．５ｍｇ／ｋｇ（動物２０ｇあたり１０μｇ）の用量で動物に投与する。ＫＲＡＳ及びＳＴＩＮＧ構築物は、１：１の比率で投与する。エキソビボ再刺激（ペプチドあたり２μｇ／ｍｌ）を、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（Ｂｒｅｆｅｌｄｉｎ　Ａ）の存在下、セ氏３７度で４時間試験する。細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）を、ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｄ、ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｖ、ＫＲＡＳ　Ｇ１３Ｄ、ＫＲＡＳ　ＷＴ、及びペプチドなしについて試験する。
【１１１２】
ＫＲＡＳ変異をコードするｍＲＮＡを、単独でまたは構成的に活性なＳＴＩＮＧをコードするｍＲＮＡと組み合わせて、Ｔ細胞を生成する能力について試験する。ＫＲＡＳ変異をコードするｍＲＮＡの有効性は、例えば、ペプチドワクチン接種と比較される。ＳＴＩＮＧ免疫増強剤の効果は、ＫＲＡＳ変異ペプチド単独による処置と、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤との組み合わせによる処置とを比較することによって決定される。例えば、ＣＤ８ワクチン応答は、本明細書中に記載されるように、ＩＦＮ－γ及び／またはＴＮＦ－αについての細胞内染色（ＩＣＳ）によって評価され得る。ＫＲＡＳ変異体ペプチドワクチンｍＲＮＡ構築物単独での処置と比較して、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と組み合わせてＫＲＡＳ変異体ペプチドワクチンで処置したマウスにおけるＩＦＮ－γ及び／またはＴＮＦ－αに対するＩＣＳ応答の増強によって、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤は、ＫＲＡＳ特異的ＣＤ８ワクチン応答を増強することが示される。
【１１１３】
ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物が変異体ＫＲＡＳペプチド抗原ｍＲＮＡ構築物の様々な異なる形態に対する免疫応答に及ぼす影響を調べるための第２の研究において、ＨＬＡ＊Ａ＊１１：０１　Ｔｇマウス（Ｔａｃｏｎｉｃ、株９６６０Ｆ、ｎ＝４）に、以下のとおりＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と組み合わせて、種々の異なる形態の変異したＫＲＡＳペプチド抗原ｍＲＮＡ構築物をコードするｍＲＮＡを投与する：ＳＴＩＮＧと組み合わせた変異ＫＲＡＳをコードするｍＲＮＡを１日目に投与し、８日目に採血し、ＳＴＩＮＧと組み合わせて変異したＫＲＡＳをコードするｍＲＮＡを１５日目に投与し、

２２日目に動物を屠殺した。

【１１１４】

試験した変異体ＫＲＡＳ構築物の種類は以下のとおりであった：（ｉ）Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃ変異（「一重項」）のいずれかを含む単一変異体ＫＲＡＳ　２５量体ペプチド抗原をコードするｍＲＮＡ；（ｉｉ）３つの２５量体ペプチド抗原のコンカテマーをコードするｍＲＮＡ（したがって７５量体を作製する）、それぞれ１つはＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ及びＧ１３Ｄ変異を含む（「ＫＲＡＳ－３ＭＵＴ」）；（ｉｉｉ）それぞれの１つがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃ変異を含有する、４つの２５量体ペプチド抗原のコンカテマー（したがって１００量体を作製する）をコードするｍＲＮＡ（「ＫＲＡＳ－４ＭＵＴ」）；または（ｉｖ）一緒に同時投与された４つの別々のｍＲＮＡ、それぞれＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃ変異のいずれかを含む単一変異体ＫＲＡＳ　２５量体ペプチド抗原をコードする（「単一×４」）。

【１１１５】

Ｇ１２Ｄ　２５量体のアミノ酸配列及びヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号３９及び１２６に示す。Ｇ１２Ｖ　２５量体のアミノ酸配列及びヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号４０及び１２７に示す。Ｇ１３Ｄ　２５量体のアミノ酸配列及びヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号４１及び１２８に示す。Ｇ１２Ｃ２５量体のアミノ酸配列及びヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号７２及び１３２に示す。ＫＲＡＳ－３ＭＵＴ　７５量体のアミノ酸配列及びヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号１３５及び１３６に示す。ＫＲＡＳ－４ＭＵＴ　１００量体のアミノ酸配列及びヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号１３７及び１３８に示す。

【１１１６】

試験群を以下のとおり表１２に示す。

【表１２－１】

表１２

試験群	群	試験/対照材料	免疫増強剤	ビヒクル	経路	投与レジメン
KRAS－MUT一重項	1	KRAS G12D	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
	2	KRAS G12V	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
	3	KRAS G13D	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
	4	KRAS G12C	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
KRAS－MUT	5	KRAS-3MUT	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日

【表１２－２】

コンカテマー	6	KRAS-4MUT	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
単一X4	7	G12D+G12V+G12C+G13D	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日
STING のみ	8	NTFIX	STING (V155M)	化合物 25	IM	１日、１５日

【１１１７】

ｍＲＮＡを、０．５ｍｇ／ｋｇ（動物２０ｇあたり１０μｇ）の用量で動物に投与する。ＫＲＡＳ及びＳＴＩＮＧ構築物は、５：１の比率で投与する。エキソビボ再刺激（ペプチドあたり２μｇ／ｍｌ）を、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（Ｂｒｅｆｅｌｄｉｎ　Ａ）の存在下、セ氏３７度で５時間行う。細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）を、ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｄ、ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｖ、ＫＲＡＳ　Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２Ｃ、ＫＲＡＳ　ＷＴ、及びペプチドなしについて試験する。

【１１１８】
構成的に活性なＳＴＩＮＧをコードするｍＲＮＡと組み合わせてＫＲＡＳ変異をコードする種々のｍＲＮＡがＴ細胞応答を生成する能力を試験して、種々の異なるＫＲＡＳ構築物に対するＳＴＩＮＧ免疫増強剤の効果の比較を可能にする。例えば、ＣＤ８ワクチン応答は、本明細書中に記載されるように、ＩＦＮ－γ及び／またはＴＮＦ－αについての細胞内染色（ＩＣＳ）によって評価され得る。
【１１１９】
実施例８：免疫増強剤ｍＲＮＡは、ＨＰＶワクチン応答を増強する
この実施例では、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤と組み合わせて使用されるヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）Ｅ６／Ｅ７　ｍＲＮＡベースのワクチンに対する応答の効力及び耐久性を調べた。子宮頸部の微小環境におけるヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）に対する特異的免疫反応は、感染を根絶し、変異細胞を排除するのに重要な役割を果たすことが公知である。しかし、高リスクＨＰＶは、免疫細胞を調節して免疫抑制微小環境を作り出すことが知られている（例えば、Ｐｒａｔａ、Ｔ．Ｔ．ｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１４６：１１３－１２１を参照のこと）。したがって、頑強でかつ耐久性のある免疫応答をもたらすＨＰＶワクチン接種アプローチが非常に望ましい。
【１１２０】
この実施例で使用したＨＰＶワクチンは、本明細書でそれぞれｉＥ６／Ｅ７及びｓＥ６／Ｅ７と呼ばれる、細胞内または可溶性形態のＨＰＶ１６抗原Ｅ６及びＥ７のいずれかをコードするｍＲＮＡ構築物であった。可溶性フォーマットを作製するために、分泌に必要なシグナルペプチドを、抗原のＮ末端に融合した。シグナルペプチドの配列は、Ｉｇカッパ鎖Ｖ－ＩＩＩ領域ＨＡＨに由来した。０日目及び１４日目に、ｉＥ６／Ｅ７またはｓＥ６／Ｅ７　ｍＲＮＡワクチン（０．２５ｍｇ／ｋｇの用量）のいずれかを、対照ｍＲＮＡ構築物（ＮＴＦＩＸ）、またはＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３もしくＩＲＦ７免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物（０．２５ｍｇ／ｋｇの用量で）のいずれかと組み合わせてマウスに筋肉内免疫した。構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤は、Ｖ１５５Ｍ変異（配列番号１に相当するマウスのバージョン）を含んでいた。構成的に活性なＩＲＦ３免疫増強剤は、Ｓ３９６Ｄ突然変異（配列番号１２に相当する）を含んでいた。構成的に活性なＩＲＦ７免疫増強剤は、内部欠失及び６つの点突然変異（配列番号１８に相当するマウスのバージョン）を含んでいた。ＨＰＶワクチン構築物及び免疫増強剤構築物を、ＭＣ３脂質ナノ粒子中に共処方した。
【１１２１】
２１日目及び５３日目に、各試験群のマウス由来の脾臓細胞及び末梢血単核球（ＰＢＭＣ）を、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（商標）（Ｂｒｅｆｅｌｄｉｎ　Ａ；ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を含む）の存在下で、３７℃で４時間、エキソビボで、Ｅ６ペプチドプール（３７Ｅ６ペプチドを含み、その配列は配列番号３６～７２に示される）、Ｅ７ペプチドプール（２２　Ｅ７ペプチドを含み、その配列は配列番号７３～９４に示される）、Ｅ６単一ペプチド（８個の個々のペプチド）、Ｅ７単一ペプチド（７個の個々のペプチド）またはペプチドなし（対照）のいずれかを用いて、再刺激した。ＣＤ８ワクチン応答は、ＩＦＮ－γまたはＴＮＦ－αについての細胞内染色（ＩＣＳ）によって評価した。
【１１２２】
ＩＦＮ－γ及びＴＮＦ－αについての２１日目の脾臓細胞によるＥ７特異的応答についての代表的なＩＣＳ結果を、図１１Ａ（ＩＦＮ－γ）及び図１１Ｂ（ＴＮＦ－α）に示す。ＩＦＮ－γ及びＴＮＦ－αについて２１日目の脾臓細胞によるＥ６特異的応答についての代表的なＩＣＳの結果を、図１２Ａ（ＩＦＮ－γ）及び図１２Ｂ（ＴＮＦ－α）に示す。図１１Ａ～１１Ｂ及び図１２Ａ～１２Ｂの結果によって、ＳＴＩＮＧ、ＩＲＦ３またはＩＲＦ７免疫増強剤をワクチンと共処方した場合、ＣＤ８ワクチン応答（細胞内及び可溶性抗原フォーマットの両方に対する）が非常に増強されたことが実証され、ここではＥ７エピトープがＥ６エピトープよりも強くかつ変動が少なく、可溶型の抗原が、細胞内形態

の抗原よりも強い。免疫増強剤によるこの増強されたＣＤ８ワクチン応答は、それぞれ図１３Ａ及び図１３Ｂに示される、代表的な２１日目と５３日目のＥ７特異的脾臓細胞ＩＦＮ－γＩＣＳデータで明らかなように、耐久性があることが示された。脾臓細胞データと同様の結果が、ＰＢＭＣ実験について観察された（データは示さず）。

【１１２３】

生ＣＤ４５$^{+}$細胞のうちのＣＤ８ｂ$^{+}$細胞の割合も調べた。２１日目対５３日目の脾臓細胞の結果を、それぞれ図１４Ａ及び１４Ｂに示す。その結果から、免疫増強剤（特にＳＴＩＮＧ構築物）が２１日目に総ＣＤ８ｂ$^{+}$集団を拡大するが、５３日目には拡大しないことが実証される。

【１１２４】

免疫増強剤構築物がＣＤ８ワクチン応答を増強する能力は、Ｅ７－ＭＨＣ１－四量体染色によってさらに確認された。２１日目対５３日目の脾臓細胞の代表的な結果を、それぞれ図１５Ａ及び１５Ｂに示す。Ｅ７－ＭＨＣ－１－四量体染色の結果は、上で考察したＩＣＳの結果と一致したが、それらはさらに変動性であった。図１６Ａ～図１６Ｄに示すように、大部分の四量体陽性ＣＤ８細胞は、「エフェクターメモリー」ＣＣＤ６２Ｌ^{lo}表現型を有することが見出された。２１日目と５３日目のＥ７四量体$^{+}$ＣＤ８細胞の比較によって、この「エフェクター記憶」ＣＤ６２Ｌ^{lo}表現型が研究を通して維持されたことが実証された。さらなる染色実験によって、免疫増強剤が全Ｆｏｘｐ３$^{+}$Ｔｒｅｇ－ＣＤ４Ｔ細胞の％をわずかに減少させ（データ示さず）、そしてＣＤ１３８$^{+}$形質芽細胞の％を変えないこと（データは示さず）が実証された。

【１１２５】

実施例９：ＳＴＩＮＧ免疫増強剤と組み合わせたＨＰＶワクチンによる予防的または治療的なワクチン接種は、腫瘍増殖を阻害する

本実施例では、ＴＣ１腫瘍細胞でチャレンジする前、それと同時に、またはその後で、マウスをＳＴＩＮＧ免疫増強剤と組み合わせてＨＰＶワクチンで処置した。ＴＣ－１は、当該技術分野において公知のＨＰＶ１６　Ｅ７発現マウス腫瘍モデルである（例えば、Ｂａｒｔｋｏｗｉａｋ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　１１２：Ｅ５２９０－５２９９を参照のこと）。この実施例で使用したＨＰＶワクチンは、実施例８に記載したように、本明細書でそれぞれｉＥ６／Ｅ７及びｓＥ６／Ｅ７と呼ばれる、細胞内または可溶性形態のＨＰＶ１６抗原Ｅ６及びＥ７のいずれかをコードするｍＲＮＡ構築物であった。この実施例で使用した構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤は、実施例８に記載したように、Ｖ１５５Ｍ変異を含んでいた。ＨＰＶワクチン構築物及び免疫増強剤構築物を、ＭＣ３脂質ナノ粒子中に共処方した。特定のマウスをまた、免疫チェックポイント阻害剤（抗ＣＴＬＡ－４または抗ＰＤ－１のいずれか）でも処置した。

【１１２６】

ＨＰＶ＋ＳＴＩＮＧワクチン接種の予防活性を調べる第１セットの実験では、Ｃ５７／Ｂ６マウスを、（ｉ）－７日目及び－１４日目、または（ｉｉ）１日目及び８日目のいずれかで、０．５ｍｇ／ｋｇのＨＰＶ＋ＳＴＩＮＧワクチン（ｓＥ６／Ｅ７またはｉＥ６／Ｅ７のいずれかをコードする）の筋肉内注射により、その後１日目に２×１０^{5}個のＴＣ１細胞の皮下注射によって、処置した。特定のマウスもまた、６、９及び１２日目に抗ＣＴＬＡ－４または抗ＰＤ－１のいずれかを用いて処置した。経時的な腫瘍容積として報告される代表的な結果は、図１７Ａ～図１７Ｃのグラフに示され、ここで図１７Ａ及び図１７Ｂは、ｓＥ６／Ｅ７（図１７Ａ）またはｉＥ６／Ｅ７（図１７Ｂ）のいずれかで－１４及び－７日目に処置したマウスについてのデータを示し、図１７Ｃは、１及び８日目にｓＥ６／Ｅ７で処置したマウスについてのデータを示す。その結果から、ＨＰＶ＋ＳＴＩＮＧワクチン（単独でまたは免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて）で処置したマウスの全てが、対照マウス（対照ｍＲＮＡ構築物ＮＴＦＩＸを用いて、単独でまたは免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて処置した）と比較して、数週間にわたって腫瘍増殖の完全な阻害を示したことが実証される。したがって、これらの実験によって、ＳＴＩＮ

Ｇ免疫増強剤と一緒のＨＰＶワクチンによる予防的ワクチン接種（すなわち、腫瘍チャレンジの前または同時に）が、インビボでのＨＰＶ発現腫瘍細胞の増殖の防止に有効であることが実証される。

【１１２７】

ＨＰＶ＋ＳＴＩＮＧワクチン接種の治療活性を調べる第２のセットの実験では、Ｃ５７／Ｂ６マウスに１日目に2×10^{5}ＴＣ１細胞を皮下投与し、続いて０．５ｍｇ／ｋｇのＨＰＶ＋ＳＴＩＮＧワクチン（ｓＥ６／Ｅ７をコードする）を８日及び１５日に筋肉内注射することにより処置した。特定のマウスはまた、１３、１６及び１９日目に抗ＣＴＬＡ－４または抗ＰＤ－１のいずれかで処置した。経時的な腫瘍容積として報告されている代表的な結果は、図１８Ａ～１８Ｉのグラフに示されている。その結果から、対照ｍＲＮＡ構築物ＮＴＦＩＸを単独でもしくは免疫チェックポイント阻害剤（図１８Ｄ～１８Ｆ）と組み合わせて処置した対照マウス、または対照ＤＭＸＡＡ構築物と組み合わせてｓＥ６／Ｅ７構築物を用いて単独でもしくは免疫チェックポイント阻害剤（図１８Ｇ～図１８Ｉ）と組み合わせて処置した対照マウスと比較して、ＨＰＶ＋ＳＴＩＮＧワクチンで（単独でまたは免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて）処置したマウスが腫瘍退縮を示した（図１８Ａ～図１８Ｃ）ことが示される。したがって、これらの実験によって、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤と共にＨＰＶワクチンを用いた治療的ワクチン接種（すなわち、腫瘍チャレンジ後）がインビボでＨＰＶ発現腫瘍の退縮を誘導するのに有効であることが実証される。

【１１２８】

実施例１０：ｍＲＮＡワクチン設計における最適抗原：免疫増強剤の質量比の決定

この実施例では、異なるＡｇ：免疫増強剤比で免疫増強剤と組み合わせて目的の抗原で処理した動物で試験を行い、続いて抗原に対するＴ細胞応答を調べて、目的のこの抗原に対する免疫応答を増強するのに最適なＡｇ：免疫増強剤の比率を確認した。

【１１２９】

第１セットの実験では、構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤構築物と組み合わせて、実施例５に記載されているように、Ａｄｐｇｋ、Ｄｐａｇｔ１、及びＲｅｐｓ１由来の腫瘍ネオエピトープを含む３つの２５量体変異ペプチドのＡＤＲコンカテマーをコードするＭＣ３８ワクチン（このワクチンは本明細書においてＡＤＲｖａｘとも呼ばれる）を用いてマウスを処置した。この実施例で使用した構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤は、実施例１に記載したように、Ｖ１５５Ｍ変異を含んでいた。下の表１３にまとめた研究デザインにより、ＡＤＲｖａｘ及びＳＴＩＮＧ構築物を、様々なＡｇ：ＳＴＩＮＧ比で脂質ナノ粒子（化合物２５（Ｃｍｐ２５）を含む）中に共処方した。

【表１３】

表１３

群	Ag:STING比	Ag用量（μg）	STING用量（μg）	NTFIX(μg)	総mRNA(μg)	ビヒクル	経路	投与レジメン
1	Ag対照なし	0	3	3	6	Cmp25	IM	１日、１５日
2	1:1	3	3	0				
3	5:1		0.6	2.4				
4	10:1		0.3	2.7				
5	20:1		0.15	2.85				
6	1:0（STING なし）		0	3				
7	1:1	5	5	0	10			
8	1：0（STING なし）		0	5				

【１１３０】

マウスに１日目及び１５日目に筋肉内投与した。２１日目に、各試験群のマウス由来のＣＤ８＋脾臓細胞を、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（商標）（Ｂｒｅｆｅｌｄｉｎ Ａ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を含む）の存在下で、セ氏３７℃で４時間エキソビボで、野生型または変異体ＭＣ３８ ＡＤＲペプチド（ペプチドあたり１μｇ／ｍｌ、プール）を用いて再刺激し、ＣＤ８ワクチン応答を、ＩＦＮ－γまたはＴＮＦ－αについて細胞内染色（ＩＣＳ）によって評価した。ＩＦＮ－γについての２１日目のＣＤ８$^{+}$脾臓細胞によるＭＣ３８ ＡＤＲ特異的応答についての代表的なＩＣＳの結果を、図１９に、そしてＴＮＦ－αについては図２０に示す。さらに、ＡＤＲｖａｘ内の３つの個々のエピトープ（すなわち、ペプチドＡｄｐｋ１、Ｒｅｐｓ１及びＤｐａｇｔ１）のそれぞれに対するＣＤ８ワクチン応答も、個々のエピトープで刺激した後のＩＦＮ－γについてＩＣＳによって評価した。その結果を図２１Ａ（ペプチドＡｄｐｋ１について）、図２１Ｂ（ペプチドＲｅｐｓ１について）及び図２１Ｃ（ペプチドＤｐａｇｔ１について）示す。

【１１３１】

その結果から、試験した全てのＡｇ：ＳＴＩＮＧ比（１：１～２０：１の範囲）が、対照と比較してＳＴＩＮＧのアジュバント効果を示したことが実証される。全体としてＡＤＲｖａｘ抗原について、最適なＡｇ：ＳＴＩＮＧ比は、５：１であることが見出された。ＡＤＲｖａｘ内の個々のペプチドエピトープについて、Ａｄｐｇｋ１ペプチドについての最適Ａｇ：ＳＴＩＮＧ比は、５：１であったが、Ｒｅｐｓ１ペプチドについての最適Ａｇ：ＳＴＩＮＧ比は、１０：１であった（第３ペプチド、Ｄｐａｇｔ１に対する応答は、当該技術分野で知られているようにそれが非優性エピトープであることと一致して、ＳＴＩＮＧの有無にかかわらず極めて低かった）。ＳＴＩＮＧはまた、用量反応が観察されると（データは示さず）、ＣＤ４５＋Ｔ細胞のうちのＣＤ８＋細胞の総割合を増大させることが見出され、そして用量反応が観察されると（データ示さず）、ＣＤ４４ｈｉ－ＣＤ８＋細胞（エフェクター／記憶サブセット）のうちのＣＤ６２Ｌ細胞の総割合を増大させることが見出された。さらに、ＰＢＭＣ細胞から得られた結果は、脾臓細胞の結果と一致した（データは示さず）。したがって、これらの実験によって、ＳＴＲＩＮＧがＡＤＲｖａｘ抗原に対する免疫応答を増強する際の免疫増強剤として作用する能力が確認され、そしてさらに、処置にとって最適なＡｇ：免疫増強剤比率の決定が実証され、１：１以外の比率が最適である（例えば、５：１または１０：１の比が１：１よりも効果的である）ことが見いだされた。その結果からさらに、最適なＡｇ：免疫増強剤の比率が、使用される目的

の特定の抗原に応じて異なる場合があることが示されている。

【１１３２】

第２のセットの実験では、非ヒト霊長類を、下記の表１４にまとめられた研究デザインに従って、種々のＡｇ：ＳＴＩＮＧ比で構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤構築物と組み合わせて（化合物２５を含む脂質ナノ粒子）、実施例８に記載したように、細胞内Ｅ６／Ｅ７をコードするＨＰＶワクチン（ｉＥ６／Ｅ７）で処置した。

【表１４－１】

表１４

群	処置	Ag:STING 比	μg Ag	μg STING	μg NTFIX	n	総 Ag 用量
1	STING のみ	－	－	100	－	3	100μg
2	Ag:STING	1:1	50	50	－		
3	Ag:STING	5:1	83.33	16.67	－		
4	Ag:STING	10:1	90.9	9.09			

【表１４－２】

5	Ag のみ	－	90	－	10		

【１１３３】

最初の投与（筋肉内投与）の２４時間後に臨床所見は観察されず、注射部位の反応はなく、初期の処置は安全に受けられたことが示されている。１日目の初回投与後、動物は２週間の回復期間を有し、次いで１４日目に２回目の投与を受け、続いてさらに２週間の回復期間を与えられる。さらなる安全性分析は、２、１６及び３０日目に臨床病理学（臨床化学、血液学及び凝固）により決定される。ＣＤ４及びＣＤ８細胞に対するＩＦＮ－γに対する抗抗体及びＥＬＩＳｐｏｔ分析またはＩＣＳを行って、試験された様々な比率でＳＴＩＮＧによるＨＰＶワクチンに対する免疫応答の増強を評価する。

【１１３４】

第３のセットの実験では、既知のマウスエピトープを用いたモデルコンカテマー抗原を、構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤と様々な比率で組み合わせてマウスで試験した。本明細書でＣＡ－１３２と呼ぶコンカテマー抗原は、ＣＢ６マウスのＭＨＣクラスＩ及びクラスＩＩ抗原上に提示されると考えられる２０の既知のマウスエピトープを含む。これらのエピトープは、文献に由来するエピトープの公共データベースであるＩＥＤＢ．ｏｒｇウェブサイトから入手した。クラスＩエピトープは、ＭＨＣクラスＩ分子上に提示されてＣＤ８＋応答を誘発すると予想されるが、クラスＩＩエピトープは、ＭＨＣクラスＩＩ分子上に提示されてＣＤ４＋Ｔ細胞応答を誘発すると予想される。ＣＡ－１３２抗原構築物は、クラスＩ及びクラスＩＩエピトープの両方をコードし、ＣＤ４及びＣＤ８のＴ細胞応答の両方の評価を可能にする。さらに、コンカテマー抗原にクラスＩＩエピトープを含めること（したがってＣＤ４応答を引き起こすこと）は、より強いＣＤ８Ｔ細胞応答を誘導するのに役立つと考えられている。したがって、ＣＡ－１３２抗原の設計へのアプローチは、他のコンカテマー抗原構築物の設計においても使用され得る。

【１１３５】

ＣＡ－１３２抗原構築物及びＳＴＩＮＧ免疫増強剤構築物を、化合物２５を含む脂質ナノ粒子中に共処方し、そして以下の投与量でＣＢ６マウスに筋肉内投与した：ＣＡ－１３２単独を１μｇ、３μｇまたは１０μｇで、ＳＴＩＮＧ単独を３μｇで、ＣＡ－１３２＋ＳＴＩＮＧをそれぞれ３μｇまたはそれぞれ１μｇ（１：１の比率）、ＣＡ－１３２を３μｇ及びＳＴＩＮＧを１μｇ（Ａｇ：ＳＴＩＮＧの比率が３：１）またはＣＡ－１３２を１μｇ及びＳＴＩＮＧを３μｇ（Ａｇ：ＳＴＩＮＧの比が１：３）。ＣＡ－１３２抗原構築物内のクラスＩエピトープに対する抗原特異的Ｔ細胞応答を、ＩＦＮ－γについてのＥＬＩＳｐｏｔ分析によって調べ、その結果を図２２に示す。その結果から、ＳＴＩＮＧを用いて処方した場合、クラスＩエピトープに対するＩＦＮ－γ応答の増大が実証された。

【１１３６】
第４の一連の実験では、実施例８に記載のＨＰＶワクチンモデルを用いて、構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤に対するＥ６／Ｅ７抗原の様々な比率の効果を研究した。マウスを、１：１、５：１、１０：１、２０：１または０．４：１というＡｇ：ＳＴＩＮＧ比で、Ｖ１５５Ｍ構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と組み合わせたｉＥ６／Ｅ７　ｍＲＮＡワクチン（３μｇまたは５μｇ）を用いて筋肉内免疫した。ＨＰＶワクチン構築物及び免疫増強剤構築物を、ＭＣ３脂質ナノ粒子中に共処方した。対照ｍＲＮＡ（ＮＴＦＩＸ）のみと組み合わせたＨＰＶワクチンまたはＳＴＩＮＧを対照として使用した。

【１１３７】
２１日目に、各試験群のマウス由来の脾臓細胞を、Ｅ７ペプチドプール（実施例８に記載）を用いてＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（商標）（Ｂｒｅｆｅｌｄｉｎ　Ａ；ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓを含む）の存在下で、３７℃で４時間、エキソビボで再刺激した。ＣＤ８ワクチン応答は、ＩＦＮ－γについて細胞内染色（ＩＣＳ）によって評価された。その結果を図２３Ａに示す。その結果、ＳＴＩＮＧが試験した全てのＡｇ：ＳＴＩＮＧ比で抗原特異的Ｔ細胞応答を増強したことが実証される。最大の増強は、ＳＴＩＮＧと１：１の比率の高用量の抗原（５μｇ）で処置したマウスで、及び０．４：１のＡｇ：ＳＴＩＮＧ比率（３μｇのＡｇ対７μｇのＳＴＩＮＧ）で処置したマウスで観察された。

【１１３８】
試験した様々なＡｇ：ＳＴＩＮＧ比で、ＨＰＶモデルにおいてＣＤ８ワクチン応答をＳＴＩＮＧが増強する能力を、Ｈ２－Ｋｂ／Ｅ７ペプチド四量体染色によってさらに確認した。２１日目の脾臓細胞についての代表的な結果を図２３Ｂに示す。Ｅ７－ＭＨＣ－１－四量体染色の結果は、上で考察したＩＣＳの結果と一致したが、それらはより変動性であった。

【１１３９】
要約すると、これらの研究は、目的の抗原に対する免疫応答を増強するＳＴＩＮＧ免疫増強剤構築物の能力を確認し、そして処置のための最適なＡｇ：ＳＴＩＮＧ比の決定を実証した。

【１１４０】
実施例１１：非ヒト霊長類におけるＳＴＩＮＧによる免疫増強
この実施例では、非ヒト霊長類（カニクイザル）を、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤と組み合わせてＨＰＶワクチンをコードするｍＲＮＡで処置し、続いて抗原特異的Ｔ細胞及び抗体応答を評価した。この実施例で使用したＨＰＶワクチン構築物は、実施例８に記載されている。この実施例で使用した構成的に活性なＳＴＩＮＧ免疫増強剤構築物は、実施例８に記載したようにＶ１５５Ｍ変異を含んでいた。ＨＰＶワクチ構築物及び免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物は、化合物２５：コレステロール：ＤＳＰＣ：ＰＥＧ－ＤＭＧをそれぞれ５０：３８．５：１０：１．５の比で含む脂質ナノ粒子に共処方した。異なる比率のＳＴＩＮＧ：Ａｇを試験した。対照動物は、ＨＰＶ抗原単独またはＳＴＩＮＧ免疫増強剤単独のいずれかをコードするｍＲＮＡで処置した。

【１１４１】
２～５歳で体重２～５ｋｇの１５匹のオスのカニクイザルを、以下の表１５に示す研究デザインに従って処置した。

【表１５－１】

表１５

群	詳細	比率	総 mRNA（μg）	NTFIX	STING（μg）	ＨＰＶ Ag（μg）	n
1	Ag のみｙ		100	10		90	3
2	STING のみ		100		100	0	3
3	STING:Ag	1:1	100		50	50	3

【表１５－２】

4	STING:Ag	1:5	100		17	83	3
5	STING:Ag	1:10	100		9	91	3

【１１４２】

投与前試料のＰＢＭＣを、－４日目に収集し、続いて１日目及び１５日目に動物をｍＲＮＡ　ＬＮＰを用いて筋肉内で処置した。投与後試料のＰＢＭＣを、２９日目に収集した。研究中には毒性も他の主な臨床観察も注目されず、ｍＲＮＡ　ＬＮＰの忍容性が良好であることが示された。

【１１４３】

ＳＴＩＮＧ免疫増強剤が抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を増強する能力を調べるために、ＴＮＦα及びＩＬ－２についての細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）を実施した。ＰＢＭＣを、ＨＰＶ１６　Ｅ６ペプチドプールまたはＨＰＶ１６　Ｅ７ペプチドプールを用いて、３７℃で、６時間エキソビボで刺激した。ＰＭＡ／イオノマイシンでの刺激を陽性対照として使用し、培地単独での刺激を陰性対照として使用した。

【１１４４】

ＴＮＦαのＩＣＳの代表的な結果を図２４Ａ～図２４Ｃに示しており、ここで図２４Ａは、Ｅ６ペプチドプールによるエキソビボ刺激の結果を示し、図２４Ｂは、Ｅ７ペプチドプールによるエキソビボ刺激の結果を示しており、図２４Ｃは、培地対照によるエキソビボ刺激の結果を示す。抗原単独で免疫した投与前群と投与後群との間では、ＴＮＦα＋ＣＤ８Ｔ細胞頻度の増大は観察されなかった（群１）。ＳＴＩＮＧ処置のみによる免疫（群２）は、ＴＮＦα＋ＣＤ８Ｔ細胞頻度に対してわずかな効果を及ぼした。対照的に、ＳＴＩＮＧ＋Ａｇで免疫した群（群３、４、５）は、抗原特異的ＴＮＦα＋ＣＤ８Ｔ細胞の有意な増大を示した。さらに、「マッチング」抗原用量のＳＴＩＮＧ：Ａｇ（１：１０の比）で免疫した第５群は、群１及び群２の対照と比較した場合、抗原特異的ＴＮＦα＋ＣＤ８Ｔ細胞の有意な増大を示した。

【１１４５】

ＩＬ－２のＩＣＳについての代表的な結果を、図２５Ａ～図２５Ｃに示しており、ここで図２５Ａは、Ｅ６ペプチドプールによるエキソビボ刺激の結果を示し、図２５Ｂは、Ｅ７ペプチドプールによるエキソビボ刺激の結果を示し、図２５Ｃは、培地対照を用いたエキソビボ刺激の結果を示す。投与前と投与後との間のＩＬ－２＋ＣＤ８Ｔ細胞頻度の穏やかな増大が、全ての免疫動物において観察された（第１～５群）。しかし、ＩＬ－２＋ＣＤ８Ｔ細胞の増大は、ＳＴＩＮＧ：Ａｇを１：１と１：５の比で処置した群（第３群及び４群）において最も検出可能であり、一方でＳＴＩＮＧ：Ａｇを１：１０の比で処置した動物では、対照と比較して増大したＩＬ－２＋ＣＤ８Ｔ細胞の増大を示さなかった。ＩＬ－２の増大は、活性Ｔ細胞応答中にＴ細胞のサブセットがＩＬ－２を分泌するという公知の能力と一致する。

【１１４６】

抗原特異的抗体応答に対するＮＨＰ中のＳＴＩＮＧ：Ａｇ処置の効果を調べるために、Ｅ６特異的ＥＬＩＳＡ及びＥ７特異的ＥＬＩＳＡを実施した。プレートを、組換えＥ６（Ｐｒｏｓｐｅｃ；＃ＨＰＶ－００５　Ｈｉｓ　ＨＰＶ１６　Ｅ６）または組換えＥ７（Ｐ

ｒｏｔｅｉｎＸ；＃２００３２０７　Ｈｉｓ　ＨＰＶ１６　Ｅ７）のいずれかでコーティングした。Ａｌｐｈａ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌからのマウス抗Ｅ６モノクローナル抗体（＃ＨＰＶ１６Ｅ６１－Ｍ）を陽性対照として使用した。Ｆｉｓｈｅｒ／Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓのマウス抗Ｅ７モノクローナル抗体（＃２８０００６－ＥＡ）を陽性対照として使用した。Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈの抗マウスＩｇＧ－ＨＲＰ抗体（＃７１５－０３５－１５０）を、陽性対照の二次抗体として使用した。Ａｂｃａｍの抗サルＩｇＧ－ＨＲＰ（＃ａｂ１１２７６７）を、ＮＨＰ血清に対する二次抗体として使用した。

【１１４７】

プレートを、組換えＥ６またはＥ７（５００ｎｇ／ウェル；１００μｌ／ウェル）を用いて、４℃で一晩コーティングし、次いでＴＢＳ　ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋを用いて室温で１時間ブロックした。一次抗体を加え（１００μｌ／ウェル）、そして室温で１時間インキュベートした。陽性対照抗体を段階希釈した。ＮＨＰ血清を１：５０００に希釈した。洗浄後、二次抗体を添加し（１００μｌ／ウェル）、そして室温で１時間インキュベートした。陽性対照抗マウスＩｇＧ－ＨＲＰを、１：５０００に希釈した。ＮＨＰ血清については、抗サルＩｇＧ－ＨＲＰを１：３０，０００に希釈した。色を５分間（抗Ｅ６）または１０分間（抗Ｅ７）発色させ、次いで停止させて４５０ｎｍで読み取った。

【１１４８】

抗ＨＰＶ１６　Ｅ６　ＩｇＧに関する代表的な結果を図２６に示す。抗ＨＰＶ１６　Ｅ７　ＩｇＧについての代表的な結果を、図２７に示す。抗Ｅ６及び抗Ｅ７の両方についての結果によって、特に１：５及び１：１０の比のＳＴＩＮＧ：Ａｇで動物を処置すると、抗原特異的抗体応答が増大することが示されている。

【１１４９】

抗原特異的ＩｇＧ応答をさらに研究するために、２５日目の血清について２倍希釈系列を用いてさらなるＥＬＩＳＡ研究を行った。図２８に示すように、１：１０のＳＴＩＮＧ：Ａｇ比で処置した動物についての２倍希釈系列は、ＨＰＶワクチン単独で処置した動物と比較して、抗ＨＰＶ１６　Ｅ６特異的ＩｇＧ抗体のレベルにおいて明らかな増強を示した。抗Ｅ６　ＩｇＧ及び抗Ｅ７　ＩｇＧについての２５日目の血清２倍希釈系列を用いたこれらのＥＬＩＳＡ研究からの計算された力価値を、それぞれ図２９Ａ及び２９Ｂに示す。特に抗Ｅ６特異的応答についての計算された力価値は、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤による増強を確認し、１：１０のＳＴＩＮＧ：Ａｇ比が最大の増強を示す。

【１１５０】

したがって、非ヒト霊長類研究に関して本明細書に記載される結果によって、ＳＴＩＮＧがインビボでｍＲＮＡワクチン抗原に対する抗原特異的Ｔ細胞及び抗体応答を免疫増強することが確認される。

【１１５１】

実施例１２：ＨＬＡ＊Ａ１１トランスジェニックマウスにおける種々のＫＲＡＳ－ＳＴＩＮＧワクチンフォーマットの免疫原性

この実施例では、変異体ＫＲＡＳペプチド抗原ｍＲＮＡ構築物の様々な異なる形態に対する免疫応答に対するＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物の効果を調べるために、ＨＬＡ＊Ａ＊１１：０１　Ｔｇマウス（Ｔａｃｏｎｉｃ、株９６６０Ｆ、ｎ＝３）に、以下のように、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡ構築物と組み合わせて、種々の異なる形態の変異されたＫＲＡＳペプチド抗原ｍＲＮＡ構築物をコードするｍＲＮＡを投与した：ＳＴＩＮＧと組み合わせて、変異したＫＲＡＳをコードするｍＲＮＡを、０日目及び１４日目に投与し、２１日目に動物を屠殺した。マウスは、０日目に６～９週齢であった。ｍＲＮＡを０．５ｍｇ／ｋｇの用量で動物に投与した（動物２０ｇあたり１０μｇ）。ＫＲＡＳ及びＳＴＩＮＧ構築物を、５：１の比率（Ａｇ：ＳＴＩＮＧ）で投与する。

【１１５２】

試験した変異したＫＲＡＳ構築物の種類は以下のとおりであった：（ｉ）Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃ変異のいずれかを含有する単一変異体ＫＲＡＳ　２５量

体ペプチド抗原をコードするｍＲＮＡ（「単量体」）；（ｉｉ）３つの２５量体ペプチド抗原のコンカテマーをコードするｍＲＮＡ（したがって７５量体を作製する）、それぞれ１つがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ及びＧ１３Ｄ変異を含む（「ＫＲＡＳ－３ＭＵＴコンカテマー」）；（ｉｉｉ）４つの２５量体ペプチド抗原のコンカテマーをコードするｍＲＮＡ（したがって１００量体を作製する）、それぞれ１つがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｄ及びＧ１２Ｃ変異を含む（「ＫＲＡＳ－４ＭＵＴコンカテマー」）；または（ｉｖ）一緒に同時投与された４つの別々のｍＲＮＡ、それぞれがＧ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＤまたはＧ１２Ｃ変異のいずれかを含む単一の変異体ＫＲＡＳ　２５量体ペプチド抗原（「プールされた単量体」）をコードする。構築物のアミノ酸及びヌクレオチド配列は、実施例７に記載のとおりである。Ａ１１ウイルスエピトープコンカテマー抗原もまたＳＴＩＮＧまたは対照ｍＲＮＡ（ＮＴＦＩＸ）（「有効なＡ１１　Ａｇ」）と組み合わせて試験した。

【１１５３】

試験群を以下のとおり表１６に示す：

【表１６】

表１６

試験群	群	試験/対照物質	免疫増強剤	ビヒクル	経路	投与レジメン
KRAS－MUT単量体	1	KRAS G12D	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
	2	KRAS G12V	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
	3	KRAS G13D	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
	4	KRAS G12C	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
KRAS－MUTコンカテマー	5	KRAS－3MUT	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
	6	KRAS－4MUT	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
	7	KRAS－4MUT.var1	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
プールした単量体	8	G12D+G12V+G12C+G13D	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
有効なA11 Ags	9	Ａ１１ウイルスエピトープコンカテマー	STING（V155M）	化合物25	IM	１日、１４日
	10	Ａ１１ウイルスエピトープコンカテマー	NTFIX	化合物25	IM	１日、１４日

【１１５４】

ＫＲＡＳ抗原に対する抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を評価するための第１セットの実験では、マウス由来の２１日目の脾臓細胞を、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（Ｂｒｅｆｅｌｄｉｎ Ａ）の存在下で、セ氏３７℃で５時間、ＫＲＡＳ単量体ペプチド（ペプチドあたり２μｇ／ｍｌ）で、エキソビボで再刺激した。細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）（ＩＦＮ－γ）を、ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｄ（ａａ＊７／８－１６）、ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｖ（ａａ＊７／８－１６）、ＫＲＡＳ　Ｇ１３Ｄ（ａａ＊７／８－１６）、Ｇ１２Ｃ（ａａ＊７／８－１６）、ＫＲＡＳ　ＷＴ（ａａ＊７／８～１６）及びペプチドなしについて行った。

【１１５５】

ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｖ特異的応答についてのＩＣＳの結果を図３０に示す。ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄ特異的応答についてのＩＣＳの結果を図３１に示す。これらの結果により、抗ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｖ及び抗ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄ特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞が、対応するＫＲＡＳ－ＳＴＩＮＧワクチン（単量体またはコンカテマー）で免疫されそして同族ペプチドで再刺激されたマウスにおいて検出されたことが実証される。ＫＲＡＳ変異を単量体またはコンカテマーとしてマウスに投与した場合、匹敵する％のＩＦＮ－ガンマ陽性ＣＤ８＋Ｔ細胞

が見られた。Ｇ１２Ｖで観察された応答は、Ｇ１２Ｄで観察された反応よりも強かった。この実験では、抗ＫＲＡＳ　Ｇ１２Ｃ及び抗ＫＲＡＳ　Ｇ１３Ｄ応答は観察されなかった（データ示さず）。

【１１５６】

ＫＲＡＳ抗原に対する抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を評価するための第２のセットの実験では、マウス由来の２１日目の脾臓細胞を、対応するＫＲＡＳペプチド（Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２ＤまたはＷＴ対照）、続いてＩＣＳ（ＩＦＮ－γ）を用いてパルスしたＨＬＡ＊Ａ１１発現標的細胞（Ｃｏｓ７－Ａ１１細胞）と共培養した。ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｖ特異的応答についてのＣｏｓ７－Ａ１１共培養の結果を図３２に示す。ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄ特異的応答についてのＣｏｓ７－Ａ１１共培養の結果を図３３に示す。これらの結果から、抗ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｖ及び抗ＫＲＡＳ－Ｇ１２Ｄ特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答が、対応するＫＲＡＳ－ＳＴＩＮＧワクチン（単量体またはコンカテマー）で免疫され、Ｇ１２ＶまたはＧ１２Ｄでパルスされた Ａ１１＋発現細胞株で再刺激されたマウスにおいて検出されたことが実証される。したがって、ＫＲＡＳ抗原に対する抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答の検出に関するこの第２セットの実験における結果は、同族ペプチドによる再刺激を用いた第１セットの実験からの結果と非常に類似していた。

【１１５７】

最後に、既知のＡ＊１１拘束性ウイルスエピトープに対する抗原特異的応答を増強するＳＴＩＮＧの能力を、Ａ１１ウイルスエピトープコンカテマーで免疫したマウス由来の２１日目の脾臓細胞を用いて評価した。Ａ１１－トランスジェニックマウス（表１６の処置群９）においてＳＴＩＮＧと組み合わせて抗原として使用するために、８つのウイルスエピトープ（ＥＢＶ　ＢＲＬＦ１、ＦＬＵ、ＨＩＶ　ＮＥＦ、ＥＢＶ、ＨＢＶコア抗原、ＨＣＶ、ＣＭＶ及びＢＣＬ－２Ｌ１）（各２５アミノ酸）をコンカテマー化して、ｍＲＮＡによってコードした。Ａ１１ウイルスエピトープコンカテマーも、ＮＴＦＩＸ対照ｍＲＮＡと同時投与した（表１６の処置群１０）。８つのエピトープのうち５つ（ＥＢＶ　ＢＲＬＦ１、ＦＬＵ、ＨＩＶ　ＮＥＦ、ＥＢＶ、ＨＢＶコア抗原）を、比較的低い予測ＩＣ５０を有するＡ１１結合剤として検証した；他の３つのエピトープ（ＨＣＶ、ＣＭＶ及びＢＣＬ－２Ｌ１）は、Ａ１１に対してより中程度の予測される親和性を有していたが、実験的には検証されていない。ウイルスエピトープについてのアミノ酸配列、ならびにそれらのＩＣ５０を、以下の表１７に示す。

【表１７】

表１７

遺伝子	ペプチド	ann_IC50	順位%	文献検証
EBV BRLF1	ATIGTAMYK（配列番号 226）	6.03	0.2	Y
FLU	SIIPSGPLK（配列番号 227）	5	0.25	Y
HIVNEF	AVDLSHFLK（配列番号 228）	20.31	0.25	Y
EBV	AVFDRKSDAK（配列番号 229）	55.63	0.5	Y
HBV コア抗原	YVNVNMGLK（配列番号 230）	69.82	0.5	Y
HCV	RVCEKMALY（配列番号 231）	304.91	1.3	
CMV	KLGGALQAK（配列番号 232）	736.59	1.6	

【１１５８】

２１日目の脾臓細胞を、個々のＡ＊１１ウイルスエピトープを用い、続いてＩＣＳ（ＩＦＮ－γ及びＴＮＦ－α）を用いてエキソビボで再刺激して、抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を検出した。抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答が、８つのウイルスエピトープのうちの４つ（ＥＢＶ、ＥＢＶ　ＢＲＬＦ１、ＦＬＵ及びＨＩＶ　ＮＥＦ）について観察され、図３４に示されるように、ＳＴＩＮＧはこれらの４つのウイルスエピトープについてＴ細胞応答を増強した。

【１１５９】
Ａｇ：ＳＴＩＮＧ比は５：１で、ＳＴＩＮＧ免疫増強剤ｍＲＮＡと組み合わせて、低用量（１０μｇ）または高用量（３０μｇ）のいずれかで、ＫＲＡＳ－４ＭＵＴコンカテマーを使用して、ＨＬＡ＊Ａ１１トランスジェニックマウスにおいて反復試験を行った。ＳＴＩＮＧ免疫増強剤構築物によるＧ１２Ｖ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞応答の有意な増強が再び観察され、最大の増強は試験した高用量の抗原（３０μｇ）で見られた。
【１１６０】
したがって、ＨＬＡ＊Ａ１１トランスジェニックマウスについて本明細書に記載される結果によって、ＳＴＩＮＧが、抗原特異的Ｔ細胞抗ＫＲＡＳ応答、ならびに他のＡ１１拘束性ウイルス抗原に対する抗ウイルス応答を免疫増強し、ワクチン抗原に対する応答を種々の形式（単量体及びコンカテマー）で免疫増強し得ることが実証される。
【１１６１】
他の実施形態
本開示をその詳細な説明と併せて開示してきたが、前述の説明は例示を意図したものであり、添付の特許請求の範囲によって定義される本開示の範囲を限定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、及び変更は、以下の特許請求の範囲内にある。
【１１６２】
本明細書に記載の全ての引用文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【表１８－１】
配列表のまとめ

配列番号	配列
1	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (huSTING(V155M);エピトープタグなし)
2	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDtLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (Hu STING(R284T);エピトープタグなし)
3	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDmLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (hu STING (R284M);エピトープタグなし)
4	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDkLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (Hu STING (R284K);エピトープタグなし)
5	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFsVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (Hu STING(N154S);エピトープタグなし)
6	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAlCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL

【表１８－２】

	LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (Hu STING(V147L);エピトープタグなし)
7	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQqPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (Hu STING (E315Q);エピトープタグなし)
8	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLaTDFS (Hu STING (R375A);エピトープタグなし)
9	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISALCEKGNFSMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (Hu STING(V147L/N154S/V155M);エピトープタグなし)
10	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISALCEKGNFSMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDMLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (Hu STING(R284M/V147L/N154S/V155M);エピトープタグなし)
11	METPKPRILPWLVSQLDLGQLEGVAWLDESRTRFRIPWKHGLRQDAQMADFGIFQAWAEASGAYTPG KDKPDVSTWKRNFRSALNRKEVLRLAADNSKDPYDPHKVYEFVTPGARDFVHLGASPDTNGKSSLPH SQENLPKLFDGLILGPLKDEGSSDLAIVSDPSQQLPSPNVNNFLNPAPQENPLKQLLAEEQWEFEVT AFYRGRQVFQQTLFCPGGLRLVGSTADMTLPWQPVTLPDPEGFLTDKLVKEYVGQVLKGLGNGLALW QAGQCLWAQRLGHSHAFWALGEELLPDSGRGPDGEVHKDKDGAVFDLRPFVADLIAFMEGSGHSPRY TLWFCMGEMWPQDQPWVKRLVMVKVVPTCLKELLEMAREGGASSLKTVDLHIDNSQPISLTSDQYKA YLQDLVEDMDFQATGNI (スーパーマウス IRF3 S396D;エピトープタグなし)
12	MGTPKPRILPWLVSQLDLGQLEGVAWVNKSRTRFRIPWKHGLRQDAQQEDFGIFQAWAEATGAYVPG RDKPDLPTWKRNFRSALNRKEGLRLAEDRSKDPHDPHKIYEFVNSGVGDFSQPDTSPDTNGGGSTSD

【表１８－３】

	TQEDILDELLGNMVLAPLPDPGPPSLAVAPEPCPQPLRSPSLDNPTPFPNLGPSENPLKRLLVPGEE WEFEVTAFYRGRQVFQQTISCPEGLRLVGSEVGDRTLPGWPVTLPDPGMSLTDRGVMSYVRHVLSCL GGGLALWRAGQWLWAQRLGHCHTYWAVSEELLPNSGHGPDGEVPKDKEGGVFDLGPFIVDLITFTEG SGRSPRYALWFCVGESWPQDQPWTKRLVMVKVVPTCLRALVEMARVGGASSLENTVDLHIDNSHPLS LTSDQYKAYLQDLVEGMDFQGPGET (スーパーヒト IRF3 S396D;エピトープタグなし)
13	MALAPERAAPRVLFGEWLLGEISSGCYEGLQWLDEARTCFRVPWKHFARKDLSEADARIFKAWAVAR GRWPPSSRGGGPPPEAETAERAGWKTNFRCALRSTRRFVMLRDNSGDPADPHKVYALSRELCWREGP GTDQTEAEAPAAVPPPQGGPPGPFLAHTHAGLQAPGPLPAPAGDKGDLLLQAVQQSCLADHLLTASW GADPVPTKAPGEGQEGLPLTGACAGGPGLPAGELYGWAVETTPSPgpqpaalttgeaaapesphqae pylspspsactavqepspgaldvtimykgrtvlqkvvghpsctflygppdpavratdpqqvafpspa elpdqkqlryteellrhvapglhlelrgpqlwarrmgkckvywevggppgsaspstpacllprncdt pifdfrvffqelvefrarqrrgsprytiylgfgqdlsagrpkekslvlvklepwlcrvhlegtqrEG VSSLDSSSLSLCLSSANSLYDDIECFLMELEQPA (野性型 Hu IRF7 アイソフォーム A；P037 エピトープタグなし)
14	MALAPERAAPRVLFGEWLLGEISSGCYEGLQWLDEARTCFRVPWKHFARKDLSEADARIFKAWAVAR GRWPPSSRGGGPPPEAETAERAGWKTNFRCALRSTRRFVMLRDNSGDPADPHKVYALSRELCWREGP GTDQTEAEAPAAVPPPQGGPPGPFLAHTHAGLQAPGPLPAPAGDKGDLLLQAVQQSCLADHLLTASW GADPVPTKAPGEGQEGLPLTGACAGGPGLPAGELYGWAVETTPSPgpqpaalttgeaaapesphqae pylspspsactavqepspgaldvtimykgrtvlqkvvghpsctflygppdpavratdpqqvafpspa elpdqkqlryteellrhvapglhlelrgpqlwarrmgkckvywevggppgsaspstpacllprncdt pifdfrvffqelvefrarqrrgsprytiylgfgqdlsagrpkekslvlvklepwlcrvhlegtqrEG VSSLDSSdLdLCLSSANSLYDDIECFLMELEQPA (構成的に活性な Hu IRF7 S477D/S479D；P033 エピトープタグなし)
15	MALAPERAAPRVLFGEWLLGEISSGCYEGLQWLDEARTCFRVPWKHFARKDLSEADARIFKAWAVAR GRWPPSSRGGGPPPEAETAERAGWKTNFRCALRSTRRFVMLRDNSGDPADPHKVYALSRELCWREGP GTDQTEAEAPAAVPPPQGGPPGPFLAHTHAGLQAPGPLPAPAGDKGDLLLQAVQQSCLADHLLTASW GADPVPTKAPGEGQEGLPLTGACAGGPGLPAGELYGWAVETTPSPgpqpaalttgeaaapesphqae pylspspsactavqepspgaldvtimykgrtvlqkvvghpsctflygppdpavratdpqqvafpspa elpdqkqlryteellrhvapglhlelrgpqlwarrmgkckvywevggppgsaspstpacllprncdt pifdfrvffqelvefrarqrrgsprytiylgfgqdlsagrpkekslvlvklepwlcrvhlegtqrEG VSSLDdSdLSdCLSSANSLYDDIECFLMELEQPA (構成的に活性な Hu IRF7 S475D/S477D/L480D；P034 エピトープタグなし)
16	MALAPERAAPRVLFGEWLLGEISSGCYEGLQWLDEARTCFRVPWKHFARKDLSEADARIFKAWAVAR GRWPPSSRGGGPPPEAETAERAGWKTNFRCALRSTRRFVMLRDNSGDPADPHKVYALSRELCWREGP GTDQTEAEAPAAVPPPQGGPPGPFLAHTHAGLQAPGPLPAPAGDKGDLLLQAVQQSCLADHLLTASW GADPVPTKAPGEGQEGLPLTGACAGGPGLPAGELYGWAVETTPSPgpqpaalttgeaaapesphqae pylspspsactavqepspgaldvtimykgrtvlqkvvghpsctflygppdpavratdpqqvafpspa elpdqkqlryteellrhvapglhlelrgpqlwarrmgkckvywevggppgsaspstpacllprncdt pifdfrvffqelvefrarqrrgsprytiylgfgqdlsagrpkekslvlvklepwlcrvhlegtqrEG VSSLDdddLdLCLdSANdLYDDIECFLMELEQPA (構成的に活性な Hu IRF7 S475D/S476D/S477D/S479D/S483D/S487D；P035 エ

【表１８－４】

	ピトープタグなし)
17	MALAPERAAPRVLFGEWLLGEISSGCYEGLQWLDEARTCFRVPWKHFARKDLSEADARIFKAWAVAR GRWPPSSRGGGPPPEAETAERAGWKTNFRCALRSTRRFVMLRDNSGDPADPHKVYALSRELCWREGP GTDQTEAEAPAAVPPPQGGPPGPFLAHTHAGLQAPGPLPAPAGDKGDLLLQAVQQSCLADHLLTASW GADPVPTKAPGEGQEGLPLTGACAGGPGLPAGELYGWAVETTPSPEGVSSLDSSSLSLCLSSANSLY DDIECFLMELEQPA (構成的に活性な短縮型 Hu IRF7 1-246 + 468-503；P032 エピトープタグなし)
18	MALAPERAAPRVLFGEWLLGEISSGCYEGLQWLDEARTCFRVPWKHFARKDLSEADARIFKAWAVAR GRWPPSSRGGGPPPEAETAERAGWKTNFRCALRSTRRFVMLRDNSGDPADPHKVYALSRELCWREGP GTDQTEAEAPAAVPPPQGGPPGPFLAHTHAGLQAPGPLPAPAGDKGDLLLQAVQQSCLADHLLTASW GADPVPTKAPGEGQEGLPLTGACAGGPGLPAGELYGWAVETTPSPEGVSSLDdddLdLCLdSANdLY DDIECFLMELEQPA (構成的に活性な短縮型 Hu IRF7 1-246 + 468-503 プラス S475D/S476D/S477D/S479D/S483D/S487D；P036 エピトープタグなし)
19	MALAPERAAPRVLFGEWLLGEISSGCYEGLQWLDEARTCFRVPWKHFARKDLSEADARIFKAWAVAR GRWPPSSRGGGPPPEAETAERAGWKTNFRCALRSTRRFVMLRDNSGDPADPHKVYALSRELCWREGP GTDQTEAEAPAAVPPPQgpqpaalttgeaaapesphqaepylspspsactavqepspgaldvtimyk grtvlqkvvghpsctflygppdpavratdpqqvafpspaelpdqkqlryteellrhvapglhlelrg pqlwarrmgkckvywevggppgsaspstpacllprncdtpifdfrvffqelvefrarqrrgspryti ylgfgqdlsagrpkekslvlvklepwlcrvhlegtqrEGVSSLDSSSLSLCLSSANSLYDDIECFLM ELEQPA (短縮型 Hu IRF7 1-151 + 247-503；P038 エピトープタグなし;ヌル変異)
20	MGGPPGPFLAHTHAGLQAPGPLPAPAGDKGDLLLQAVQQSCLADHLLTASWGADPVPTKAPGEGQEG LPLTGACAGGPGLPAGELYGWAVETTPSPgpqpaalttgeaaapesphqaepylspspsactavqep spgaldvtimykgrtvlqkvvghpsctflygppdpavratdpqqvafpspaelpdqkqlryteellr hvapglhlelrgpqlwarrmgkckvywevggppgsaspstpacllprncdtpifdfrvffqelvefr arqrrgsprytiylgfgqdlsagrpkekslvlvklepwlcrvhlegtqrEGVSSLDSSSLSLCLSSA NSLYDDIECFLMELEQPA (短縮型 Hu IRF7 152-503；P039 エピトープタグなし;ヌル変異)
21	TCAAGCTTTTGGACCCTCGTACAGAAGCTAATACGACTCACTATAGGGAAATAAGAGAGAAAAGAAG AGTAAGAAGAAATATAAGAGCCACC (5’ UTR)
22	TGATAATAGGCTGGAGCCTCGGTGGCCATGCTTCTTGCCCCTTGGGCCTCCCCCCAGCCCCTCCTCC CCTTCCTGCACCCGTACCCCCGTGGTCTTTGAATAAAGTCTGAGTGGGCGGC (3’ UTR)
23	TGATAATAGGCTGGAGCCTCGGTGGCCATGCTTCTTGCCCCTTGGGCCCAAACACCATTGTCACACT CCATCCCCCCAGCCCCTCCTCCCCTTCCTCCATAAAGTAGGAAACACTACATGCACCCGTACCCCCG TGGTCTTTGAATAAAGTCTGAGTGGGCGGC (3’ UTR mi-122 及び mi-142.3p 部位を有する)
24	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (2A ペプチドアミノ酸配列)

【表１８－５】

25	GGAAGCGGAGCTACTAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCT (2A ペプチドをコードするヌクレオチド配列)
26	TCCGGACTCAGATCCGGGGATCTCAAAATTGTCGCTCCTGTCAAACAAACTCTTAACTTTGATTTAC TCAAACTGGCTGGGGATGTAGAAAGCAATCCAGGTCCACTC (2A ペプチドをコードするヌクレオチド配列)
27	GACAGUGCAGUCACCCAUAAAGUAGAAAGCACUACUAACAGCACUGGAGGGUGUAGUGUUUCCUACU UUAUGGAUGAGUGUACUGUG (miR-142)
28	UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGA (miR-142-3p)
29	UCCAUAAAGUAGGAAACACUACA (miR-142-3p 結合部位)
30	CAUAAAGUAGAAAGCACUACU (miR-142-5p)
31	AGUAGUGCUUUCUACUUUAUG (miR-142-5p 結合部位)
32	AACGCCAUUAUCACACUAAAUA (miR-122-3p)
33	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG (miR-122-5p)
34	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA (miR-21-5p)
35	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU (miR-21-3p)
36	MKLVVVGADGVGKSAL (KRAS(G12D)15 量体)
37	MKLVVVGAVGVGKSAL (KRAS(G12V)15 量体)
38	MLVVVGAGDVGKSALT (KRAS(G13D)15 量体)
39	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12D)25 量体)
40	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12V)25 量体)
41	MTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQ (KRAS(G13D)25 量体)
42	MKLVVVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSAL (KRAS(G12D)15 量体^3)
43	MKLVVVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSAL (KRAS(G12V)15 量体^3)
44	MLVVVGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALT (KRAS(G13D)15 量体^3)

【表１８－６】

45	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12D)25 量体^3)
46	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12V)25 量体^3)
47	MTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQ (KRAS(G13D)25 量体^3)
48	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMKLVVVGADGVGKSAL (KRAS(G12D)15 量体_nt.STING(V155M))
49	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMKLVVVGAVGVGKSAL (KRAS(G12V)15 量体_nt.STING(V155M)
50	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMLVVVGAGDVGKSALT (KRAS(G13D)15 量体_nt.STING(V155M)
51	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12D)25 量体_nt.STING(V155M))
52	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAE

【表１８－７】

	ELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGL KGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPL DCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMS QYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEE VTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMTEYKLVVVG AVGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12V)25量体_nt.STING(V155M)
53	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAE ELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGL KGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPL DCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMS QYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEE VTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMTEYKLVVVG AGDVGKSALTIQLIQ (KRAS(G13D)25量体_nt.STING(V155M)
54	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMKLV VVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSAL (KRAS(G12D)15量体^3_nt.STING(V155M))
55	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMKLV VVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSAL (KRAS(G12V)15量体^3_nt.STING(V155M)
56	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMLVV VGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALT (KRAS(G13D)15量体^3_nt.STING(V155M)
57	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL

【表１８－８】

	LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMTEY KLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKSALTI QLIQ (KRAS(G12D)25量体^3_nt.STING(V155M))
58	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMTEY KLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTI QLIQ (KRAS(G12V)25量体^3_nt.STING(V155M)
59	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSATNFSLLKQAGDVEENPGPMTEY KLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKSALTI QLIQ (KRAS(G13D)25量体^3_nt.STING(V155M)
60	MKLVVVGADGVGKSALATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTL WGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLL SIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLR LILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKD RVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPES QNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLP LRTDFS (KRAS(G12D)15量体_ct.STING(V155M))
61	MKLVVVGAVGVGKSALATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTL WGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLL SIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLR LILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKD RVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPES QNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLP LRTDFS (KRAS(G12V)15量体_ct.STING(V155M)
62	MLVVVGAGDVGKSALTATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTL WGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLL

【表１８－９】

	SIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLR LILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKD RVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPES QNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLP LRTDFS (KRAS(G13D)15量体_ct.STING(V155M)
63	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALV LLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCP LRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLA WSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQ TGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLE DILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELL ISGMEKPLPLRTDFS (KRAS(G12D)25量体_ct.STING(V155M))
64	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALV LLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCP LRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLA WSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQ TGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLE DILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELL ISGMEKPLPLRTDFS (KRAS(G12V)25量体_ct.STING(V155M)
65	MTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALV LLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCP LRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLA WSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQ TGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLE DILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELL ISGMEKPLPLRTDFS (KRAS(G13D)25量体_ct.STING(V155M)
66	MKLVVVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSALKLVVVGADGVGKSALATNFSLLKQAGDVEENPGPMP HSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEE LRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGL KGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLP LDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFA MSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEE KEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (KRAS(G12D)15量体^3_ct.STING(V155M))
67	MKLVVVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSALKLVVVGAVGVGKSALATNFSLLKQAGDVEENPGPMP HSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEE LRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGL KGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLP

【表１８－１０】

	LDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFA MSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEE KEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (KRAS(G12V)15 量体^3_ct.STING(V155M)
68	MLVVVGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALTLVVVGAGDVGKSALTATNFSLLKQAGDVEENPGPMP HSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEE LRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGL KGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLP LDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFA MSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEE KEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS (KRAS(G13D)15 量体^3_ct.STING(V155M)
69	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGADGVGKS ALTIQLIQATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPP EHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYY SLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPE LQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYS NSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNN CRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLR TDFS (KRAS(G12D)25 量体^3_ct.STING(V155M))
70	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKS ALTIQLIQATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPP EHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYY SLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPE LQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYS NSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNN CRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLR TDFS (KRAS(G12V)25 量体^3_ct.STING(V155M)
71	MTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKS ALTIQLIQATNFSLLKQAGDVEENPGPMPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPP EHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYY SLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNMAHGLAWSYYIGYLRLILPE LQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYS NSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNN CRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLR TDFS (KRAS(G13D)25 量体^3_ct.STING(V155M)
72	MTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12C)25 量体)
73	MTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGACGVGKS

【表１８－１１】

	ALTIQLIQ (KRAS(G12C)25 量体^3)
74	MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQ (KRAS(WT)25 量体)
75	MSAGDPRVGSGSLDSFMFSIPLVALNVGVRRRLSLFLNPRTPVAADWTLLAEEMGFEYLEIRELETR PDPTRSLLDAWQGRSGASVGRLLELLALLDREDILKELKSRIEEDCQKYLGKQQNQESEKPLQVARV ESSVPQTKELGGITTLDDPLGQTPELFDAFICYCPNDIEFVQEMIRQLEQTDYRLKLCVSDRDVLPG TCVWSIASELIEKRCRRMVVVVSDDYLQSKECDFQTKFALSLSPGVQQKRPIPIKYKAMKKDFPSIL RFITICDYTNPCTKSWFWTRLAKALSLP (ヒト myd88(L265P)；P4027 エピトープタグなし)
76	MAAGGPGAGSAAPVSSTSSLPLAALNMRVRRRLSLFLNVRTQVAADWTALAEEMDFEYLEIRQLETQ ADPTGRLLDAWQGRPGASVGRLLELLTKLGRDDVLLELGPSIEEDCQKYILKQQQEEAEKPLQVAAV DSSVPRTAELAGITTLDDPLGHMPERFDAFICYCPSDIQFVQEMIRQLEQTNYRLKLCVSDRDVLPG TCVWSIASELIEKRCRRMVVVVSDDYLQSKECDFQTKFALSLSPGAHQKRPIPIKYKAMKKEFPSIL RFITVCDYTNPCTKSWFWTRLAKALSLP (mouse myd88(L265P)；P4028 エピトープタグなし)
77	MGVGKSKLDKCPLSWHKKDSVDADQDGHESDSKNSEEACLRGFVEQSSGSEPPTGEQDQPEAKGAGP EEQDEEEFLKFVILHAEDDTDEALRVQDLLQNDFGIRPGIVFAEMPCGRLHLQNLDDAVNGSAWTIL LLTENFLRDTWCNFQFYTSLMNSVSRQHKYNSVIPMRPLNSPLPRERTPLALQTINALEEESQGFST QVERIFRESVFERQQSIWKETRSVSQKQFIA (Mouse TRAM (TICAM2)；P4033 エピトープタグなし)
78	MSLWGLVSKMPPEKVQRLYVDFPQHLRHLLGDWLESQPWEFLVGSDAFCCNLASALLSDTVQHLQAS VGEQGEGSTILQHISTLESIYQRDPLKLVATFRQILQGEKKAVMEQFRHLPMPFHWKQEELKFKTGL RRLQHRVGEIHLLREALQKGAEAGQVSLHSLIETPANGTGPSEALAMLLQETTGELEAAKALVLKRI QIWKRQQQLAGNGAPFEESLAPLQERCESLVDIYSQLQQEVGAAGGELEPKTRASLTGRLDEVLRTL VTSCFLVEKQPPQVLKTQTKFQAGVRFLLGLRFLGAPAKPPLVRADMVTEKQARELSVPQGPGAGAE STGEIINNTVPLENSIPGNCCSALFKNLLLKKIKRCERKGTESVTEEKCAVLFSASFTLGPGKLPIQ LQALSLPLVVIVHGNQDNNAKATILWDNAFSEMDRVPFVVAERVPWEKMCETLNLKFMAEVGTNRGL LPEHFLFLAQKIFNDNSLSMEAFQHRSVSWSQFNKEILLGRGFTFWQWFDGVLDLTKRCLRSYWSDR LIIGFISKQYAASLLLNEPDGTFLLRFSDSEIGGITIAHVIRGQDGSPQIENIQPFSAKDLSIRSLG DRIRDLAQLKNLYPKKPKDEAFRSHYKPEQMGKDGRGYVPATIKMTVERDQPLPTPELQMPTMVPSY DLGMAPDSSMSMQLGPDMVPQVYPPHSHSIPPYQGLSPEESVNVLSAFQEPHLQMPPSLGQMSLPFD QPHPQGLLPCQPQEHAVSSPDPLLCSDVTMVEDSCLSQPVTAFPQGTWIGEDIFPPLLPPTEQDLTK LLLEGQGESGGGSLGAQPLLQPSHYGQSGISMSHMDLRANPSW (STAT6 V547A/T548A)；P008 エピトープタグなし)
79	MSLWGLVSKMPPEKVQRLYVDFPQHLRHLLGDWLESQPWEFLVGSDAFCCNLASALLSDTVQHLQAS VGEQGEGSTILQHISTLESIYQRDPLKLVATFRQILQGEKKAVMEQFRHLPMPFHWKQEELKFKTGL RRLQHRVGEIHLLREALQKGAEAGQVSLHSLIETPANGTGPSEALAMLLQETTGELEAAKALVLKRI QIWKRQQQLAGNGAPFEESLAPLQERCESLVDIYSQLQQEVGAAGGELEPKTRASLTGRLDEVLRTL VTSCFLVEKQPPQVLKTQTKFQAGVRFLLGLRFLGAPAKPPLVRADMVTEKQARELSVPQGPGAGAE STGEIINNTVPLENSIPGNCCSALFKNLLLKKIKRCERKGTESVTEEKCAVLFSASFTLGPGKLPIQ LQALDLPLVVIVHGNQDNNAKATILWDNAFSEMDRVPFVVAERVPWEKMCETLNLKFMAEVGTNRGL

【表１８－１２】

	LPEHFLFLAQKIFNDNSLSMEAFQHRSVSWSQFNKEILLGRGFTFWQWFDGVLDLTKRCLRSYWSDR LIIGFISKQYVTSLLLNEPDGTFLLRFSDSEIGGITIAHVIRGQDGSPQIENIQPFSAKDLSIRSLG DRIRDLAQLKNLYPKKPKDEAFRSHYKPEQMGKDGRGYVPATIKMTVERDQPLPTPELQMPTMVPSY DLGMAPDSSMSMQLGPDMVPQVYPPHSHSIPPYQGLSPEESVNVLSAFQEPHLQMPPSLGQMSLPFD QPHPQGLLPCQPQEHAVSSPDPLLCSDVTMVEDSCLSQPVTAFPQGTWIGEDIFPPLLPPTEQDLTK LLLEGQGESGGGSLGAQPLLQPSHYGQSGISMSHMDLRANPSW (STAT6（S407D）；P009 エピトープタグなし)
80	MSLWGLVSKMPPEKVQRLYVDFPQHLRHLLGDWLESQPWEFLVGSDAFCCNLASALLSDTVQHLQAS VGEQGEGSTILQHISTLESIYQRDPLKLVATFRQILQGEKKAVMEQFRHLPMPFHWKQEELKFKTGL RRLQHRVGEIHLLREALQKGAEAGQVSLHSLIETPANGTGPSEALAMLLQETTGELEAAKALVLKRI QIWKRQQQLAGNGAPFEESLAPLQERCESLVDIYSQLQQEVGAAGGELEPKTRASLTGRLDEVLRTL VTSCFLVEKQPPQVLKTQTKFQAGVRFLLGLRFLGAPAKPPLVRADMVTEKQARELSVPQGPGAGAE STGEIINNTVPLENSIPGNCCSALFKNLLLKKIKRCERKGTESVTEEKCAVLFSASFTLGPGKLPIQ LQALDLPLVVIVHGNQDNNAKATILWDNAFSEMDRVPFVVAERVPWEKMCETLNLKFMAEVGTNRGL LPEHFLFLAQKIFNDNSLSMEAFQHRSVSWSQFNKEILLGRGFTFWQWFDGVLDLTKRCLRSYWSDR LIIGFISKQYAASLLLNEPDGTFLLRFSDSEIGGITIAHVIRGQDGSPQIENIQPFSAKDLSIRSLG DRIRDLAQLKNLYPKKPKDEAFRSHYKPEQMGKDGRGYVPATIKMTVERDQPLPTPELQMPTMVPSY DLGMAPDSSMSMQLGPDMVPQVYPPHSHSIPPYQGLSPEESVNVLSAFQEPHLQMPPSLGQMSLPFD QPHPQGLLPCQPQEHAVSSPDPLLCSDVTMVEDSCLSQPVTAFPQGTWIGEDIFPPLLPPTEQDLTK LLLEGQGESGGGSLGAQPLLQPSHYGQSGISMSHMDLRANPSW (STAT6（S407D/V547A/T548A）；P010 エピトープタグなし)
81	MSLWGLVSKMPPEKVQRLYVDFPQHLRHLLGDWLESQPWEFLVGSDAFCCNLASALLSDTVQHLQAS VGEQGEGSTILQHISTLESIYQRDPLKLVATFRQILQGEKKAVMEQFRHLPMPFHWKQEELKFKTGL RRLQHRVGEIHLLREALQKGAEAGQVSLHSLIETPANGTGPSEALAMLLQETTGELEAAKALVLKRI QIWKRQQQLAGNGAPFEESLAPLQERCESLVDIYSQLQQEVGAAGGELEPKTRASLTGRLDEVLRTL VTSCFLVEKQPPQVLKTQTKFQAGVRFLLGLRFLGAPAKPPLVRADMVTEKQARELSVPQGPGAGAE STGEIINNTVPLENSIPGNCCSALFKNLLLKKIKRCERKGTESVTEEKCAVLFSASFTLGPGKLPIQ LQALSLPLVVIVHGNQDNNAKATILWDNAFSEMDRVPFVVAERVPWEKMCETLNLKFMAEVGTNRGL LPEHFLFLAQKIFNDNSLSMEAFQHRSVSWSQFNKEILLGRGFTFWQWFDGVLDLTKRCLRSYWSDR LIIGFISKQYAASLLLNEPDGTFLLRFSDSEIGGITIAHVIRGQDGSPQIENIQPFSAKDLSIRSLG DRIRDLAQLKNLYPKKPKDEAFRSHYKPEQMGKDGRGFVPATIKMTVERDQPLPTPELQMPTMVPSY DLGMAPDSSMSMQLGPDMVPQVYPPHSHSIPPYQGLSPEESVNVLSAFQEPHLQMPPSLGQMSLPFD QPHPQGLLPCQPQEHAVSSPDPLLCSDVTMVEDSCLSQPVTAFPQGTWIGEDIFPPLLPPTEQDLTK LLLEGQGESGGGSLGAQPLLQPSHYGQSGISMSHMDLRANPSW (STAT6（V547A/T548A/Y641F）；P011 エピトープタグなし)
82	SAEVIHQVEEALDTDEKEMLLFLCRDVAIDVVPPNVRDLLDILRERGKLSVGDLAELLYRVRRFDLL KRILKMDRKAVETHLLRNPHLVSDYRVLMAEIGEDLDKSDVSSLIFLMKDYMGRGKISKEKSFLDLV VELEKLNLVAPDQLDLLEKCLKNIHRIDLKTKIQKYKQSVQGAGTSYRNVLQAAIQKSLKDPSNNFR LHNGRSKEQRLKEQLGAQQEPVKKSIQESEAFLPQSIPEERYKMKSKPLGICLIIDCIGNETELLRD TFTSLGYEVQKFLHLSMHGISQILGQFACMPEHRDYDSFVCVLVSRGGSQSVYGVDQTHSGLPLHHI RRMFMGDSCPYLAGKPKMFFIQNYVVSEGQLEDSSLLEVDGPAMKNVEFKAQKRGLCTVHREADFFW SLCTADMSLLEQSHSSPSLYLQCLSQKLRQERKRPLLDLHIELNGYMYDWNSRVSAKEKYYVWLQHT

【表１８－１３】

	LRKKLILSYT (hu-cFLIP-L；P1006 エピトープタグなし)
83	SAEVIHQVEEALDTDEKEMLLFLCRDVAIDVVPPNVRDLLDILRERGKLSVGDLAELLYRVRRFDLL KRILKMDRKAVETHLLRNPHLVSDYRVLMAEIGEDLDKSDVSSLIFLMKDYMGRGKISKEKSFLDLV VELEKLNLVAPDQLDLLEKCLKNIHRIDLKTKIQKYKQSVQGAGTSYRNVLQAAIQKSLKDPSNNFR LHNGRSKEQRLKEQLGAQQEPVKKS (hu-cFLIP-S(1-227)；P1007 エピトープタグなし)
84	SAEVIHQVEEALDTDEKEMLLFLCRDVAIDVVPPNVRDLLDILRERGKLSVGDLAELLYRVRRFDLL KRILKMDRKAVETHLLRNPHLVSDYRVLMAEIGEDLDKSDVSSLIFLMKDYMGRGKISKEKSFLDLV VELEKLNLVAPDQLDLLEKCLKNIHRIDLKTKIQKYKQSVQGAGTSYRNVLQAAIQKSLKD (hu-cFLIP-p22(1-198)；P1008 エピトープタグなし)
85	SAEVIHQVEEALDTDEKEMLLFLCRDVAIDVVPPNVRDLLDILRERGKLSVGDLAELLYRVRRFDLL KRILKMDRKAVETHLLRNPHLVSDYRVLMAEIGEDLDKSDVSSLIFLMKDYMGRGKISKEKSFLDLV VELEKLNLVAPDQLDLLEKCLKNIHRIDLKTKIQKYKQSVQGAGTSYRNVLQAAIQKSLKDPSNNFR LHNGRSKEQRLKEQLGAQQEPVKKSIQESEAFLPQSIPEERYKMKSKPLGICLIIDCIGNETELLRD TFTSLGYEVQKFLHLSMHGISQILGQFACMPEHRDYDSFVCVLVSRGGSQSVYGVDQTHSGLPLHHI RRMFMGDSCPYLAGKPKMFFIQNYVVSEGQLEDSSLLEVD (hu-cFLIP-p43(1-376)；P1009 エピトープタグなし)
86	GPAMKNVEFKAQKRGLCTVHREADFFWSLCTADMSLLEQSHSSPSLYLQCLSQKLRQERKRPLLDLH IELNGYMYDWNSRVSAKEKYYVWLQHTLRKKLILSYT (hu-cFLIP-p12(377-480)；P1010 エピトープタグなし)
87	MSWSPSLTTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQETGEQIAIKQCRQELSPRNRERWCLEIQIMRRLTH PNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRKYLNQFENCCGLREGAILTLLSDIASALRYLHEN RIIHRDLKPENIVLQQGEQRLIHKIIDLGYAKELDQGELCTEFVGTLQYLAPELLEQQKYTVTVDYWSFGTLAF ECITGFRPFLPNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGTVKFSSSLPYPNNLNSVLAERLEKWLQLMLM WHPRQRGTDPTYGPNGCFKALDDILNLKLVHILNMVTGTIHTYPVTEDESLQSLKARIQQDTGIPEEDQELL QEAGLALIPDKPATQCISDGKLNEGHTLDMDLVFLFDNSKITYETQISPRPQPESVSCILQEPKRNLAFFQLRK VWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAAMMNLLRNNSCLSKMKNSMASMSQQLKAKLDFFKTSIQIDLEK YSEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVELCGRENEVKLLVERMMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQ ARELYRRLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEKKVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMN EDEKTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVSGSPDSMNASRLSQPGQLMSQPSTASNSLPEPAKKSEEL VAEAHNLCTLLENAIQDTVREQDQSFTALDWSWLQTEEEEHSCLEQAS (huIKK2ca(S177E/S181E)；P4005 エピトープタグなし)
88	MSWSPSLTTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQETGEQIAIKQCRQELSPRNRERWCLEIQIMRRLTH PNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRKYLNQFENCCGLREGAILTLLSDIASALRYLHEN RIIHRDLKPENIVLQQGEQRLIHKIIDLGYAKELDQGALCTAFVGTLQYLAPELLEQQKYTVTVDYWSFGTLAF ECITGFRPFLPNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGTVKFSSSLPYPNNLNSVLAERLEKWLQLMLM WHPRQRGTDPTYGPNGCFKALDDILNLKLVHILNMVTGTIHTYPVTEDESLQSLKARIQQDTGIPEEDQELL QEAGLALIPDKPATQCISDGKLNEGHTLDMDLVFLFDNSKITYETQISPRPQPESVSCILQEPKRNLAFFQLRK VWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAAMMNLLRNNSCLSKMKNSMASMSQQLKAKLDFFKTSIQIDLEK YSEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVELCGRENEVKLLVERMMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQ ARELYRRLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEKKVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMN

【表１８－１４】

	EDEKTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVSGSPDSMNASRLSQPGQLMSQPSTASNSLPEPAKKSEEL VAEAHNLCTLLENAIQDTVREQDQSFTALDWSWLQTEEEEHSCLEQAS (huIKK2null(S177A/S181A)；P4006 エピトープタグなし)
89	MSWSPSLPTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQATGEQIAIKQCRQELSPKNRNRWCLEIQIMRRLNHPN VVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRRYLNQFENCCGLREGAVLTLLSDIASALRYLHENRIIHRDLK PENIVLQQGEKRLIHKIIDLGYAKELDQGELCTEFVGTLQYLAPELLEQQKYTVTVDYWSFGTLAFECITGFRPFLPN WQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGAVKFSSSLPFPNNLNSVLAERLEKWLQLMLMWHPRQRGTDPQYGP NGCFRALDDILNLKLVHVLNMVTGTVHTYPVTEDESLQSLKTRIQENTGILETDQELLQKAGLVLLPDKPATQCISD SKTNEGLTLDMDLVFLLDNSKINYETQITPRPPPESVSCILQEPKRNLSFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQ GQRAAMMSLLRNNSCLSKMKNAMASTAQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYKEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVEQ CGRENDVKHLVERMMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQARELYRKLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQ AIQSFEKKVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDERTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVSGSP DSMNVSRLSHPGQLMSQPSSACDSLPESDKKSEELVAEAHALCSRLESALQDTVKEQDRSFTTLDWSWLQMEDEE RCSLEQACD (muIKK2ca(S177E/S181E)；P4002 エピトープタグなし)
90	MSWSPSLPTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQATGEQIAIKQCRQELSPKNRNRWCLEIQIMRRLNHPN VVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRRYLNQFENCCGLREGAVLTLLSDIASALRYLHENRIIHRDLK PENIVLQQGEKRLIHKIIDLGYAKELDQGALCTAFVGTLQYLAPELLEQQKYTVTVDYWSFGTLAFECITGFRPFLPN WQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGAVKFSSSLPFPNNLNSVLAERLEKWLQLMLMWHPRQRGTDPQYGP NGCFRALDDILNLKLVHVLNMVTGTVHTYPVTEDESLQSLKTRIQENTGILETDQELLQKAGLVLLPDKPATQCISD SKTNEGLTLDMDLVFLLDNSKINYETQITPRPPPESVSCILQEPKRNLSFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQ GQRAAMMSLLRNNSCLSKMKNAMASTAQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYKEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVEQ CGRENDVKHLVERMMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQARELYRKLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQ AIQSFEKKVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDERTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVSGSP DSMNVSRLSHPGQLMSQPSSACDSLPESDKKSEELVAEAHALCSRLESALQDTVKEQDRSFTTLDWSWLQMEDEE RCSLEQACD muIKK2null(S177A/S181A)；P4003 エピトープタグなし)
91	MERPPGLRPGAGGPWEMRERLGTGGFGNVCLYQHRELDLKIAIKSCRLELSTKNRERWCHEIQIMKK LNHANVVKACDVPEELNILIHDVPLLAMEYCSGGDLRKLLNKPENCCGLKESQILSLLSDIGSGIRY LHENKIIHRDLKPENIVLQDVGGKIIHKIIDLGYAKDVDQGELCTEFVGTLQYLAPELFENKPYTAT VDYWSFGTMVFECIAGYRPFLHHLQPFTWHEKIKKKDPKCIFACEEMSGEVRFSSHLPQPNSLCSLV VEPMENWLQLMLNWDPQQRGGPVDLTLKQPRCFVLMDHILNLKIVHILNMTSAKIISFLLPPDESLH SLQSRIERETGINTGSQELLSETGISLDPRKPASQCVLDGVRGCDSYMVYLFDKSKTVYEGPFASRS LSDCVNYIVQDSKIQLPIIQLRKVWAEAVHYVSGLKEDYSRLFQGQRAAMLSLLRYNANLTKMKNTL ISASQQLKAKLEFFHKSIQLDLERYSEQMTYGISSEKMLKAWKEMEEKAIHYAEVGVIGYLEDQIMS LHAEIMELQKSPYRRQGDLMESLEQRAIDLYKQLKHRPSDHSYSDSTEMVKIIVHTVQSQDRVLKEL FGHLSKLLGCKQKIIDLLPKVEVALSNIKEADNTVMFMQGKRQKEIWHLLKIACTQAAARALVGAAL EGAVAPQAAAWLPPAAAEHDHALACVVAPQDGEAAAQMIEENLNCLGHLAAIIHEANEEQGNSMMNL DWSWLTE ヒト構成的活性 IKK アルファ（PEST 変異）P.4013 エピトープタグなし
92	MERPPGLRPGAGGPWEMRERLGTGGFGNVCLYQHRELDLKIAIKSCRLELSTKNRERWCHEIQIMKK LNHANVVKACDVPEELNILIHDVPLLAMEYCSGGDLRKLLNKPENCCGLKESQILSLLSDIGSGIRY

【表１８－１５】

	LHENKIIHRDLKPENIVLQDVGGKIIHKIIDLGYAKDVDQGELCTEFVGTLQYLAPELFENKPYTAT VDYWSFGTMVFECIAGYRPFLHHLQPFTWHEKIKKKDPKCIFACEEMSGEVRFSSHLPQPNSLCSLV VEPMENWLQLMLNWDPQQRGGPVDLTLKQPRCFVLMDHILNLKIVHILNMTSAKIISFLLPPDESLH SLQSRIERETGINTGSQELLSETGISLDPRKPASQCVLDGVRGCDSYMVYLFDKSKTVYEGPFASRS LSDCVNYIVQDSKIQLPIIQLRKVWAEAVHYVSGLKEDYSRLFQGQRAAMLSLLRYNANLTKMKNTL ISASQQLKAKLEFFHKSIQLDLERYSEQMTYGISSEKMLKAWKEMEEKAIHYAEVGVIGYLEDQIMS LHAEIMELQKSPYRRQGDLMESLEQRAIDLYKQLKHRPSDHSYSDSTEMVKIIVHTVQSQDRVLKEL FGHLSKLLGCKQKIIDLLPKVEVALSNIKEADNTVMFMQGKRQKEIWHLLKIACTQAAARALVGAAL EGAVAPQAAAWLPPAAAEHDHALACVVAPQDGEAAAQMIEENLNCLGHLAAIIHEANEEQGNSMMNL DWSWLTE ヒト構成的活性 IKK アルファ（PEST 変異）P.4014 エピトープタグなし
93	MSWSPSLTTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQETGEQIAIKQCRQELSPRNRERWCLEIQIMRR LTHPNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRKYLNQFENCCGLREGAILTLLSDIASALR YLHENRIIHRDLKPENIVLQQGEQRLIHKIIDLGYAKELDQGELCTEFVGTLQYLAPELLEQQKYTV TVDYWSFGTLAFECITGFRPFLPNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGTVKFSSSLPYPNNLNSV LAERLEKWLQLMLMWHPRQRGTDPTYGPNGCFKALDDILNLKLVHILNMVTGTIHTYPVTEDESLQS LKARIQQDTGIPEEDQELLQEAGLALIPDKPATQCISDGKLNEGHTLDMDLVFLFDNSKITYETQIS PRPQPESVSCILQEPKRNLAFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAAMMNLLRNNSCLSKMK NSMASMSQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYSEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVELCGRENEVKLLVER MMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQARELYRRLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEK KVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDEKTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVA GAPDAMNAARLAQPGQLMAQPATAANALPEPAKKAEELVAEAHNLCTLLENAIQDTVREQDQSFTAL DWSWLQTEEEEHSCLEQAS ヒト構成的活性 IKK ベータ（PEST 変異）P.4015 エピトープタグなし
94	MSWSPSLTTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQETGEQIAIKQCRQELSPRNRERWCLEIQIMRR LTHPNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRKYLNQFENCCGLREGAILTLLSDIASALR YLHENRIIHRDLKPENIVLQQGEQRLIHKIIDLGYAKELDQGELCTEFVGTLQYLAPELLEQQKYTV TVDYWSFGTLAFECITGFRPFLPNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGTVKFSSSLPYPNNLNSV LAERLEKWLQLMLMWHPRQRGTDPTYGPNGCFKALDDILNLKLVHILNMVTGTIHTYPVTEDESLQS LKARIQQDTGIPEEDQELLQEAGLALIPDKPATQCISDGKLNEGHTLDMDLVFLFDNSKITYETQIS PRPQPESVSCILQEPKRNLAFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAAMMNLLRNNSCLSKMK NSMASMSQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYSEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVELCGRENEVKLLVER MMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQARELYRRLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEK KVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDEKTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVA GAPDAMNAARLAQPGQLMAQPATAANALPEPAKKAEELVAEAHNLCTLLENAIQDTVREQDQSFTAL DWSWLQTEEEEHSCLEQAS ヒト構成的活性 IKK ベータ（PEST 変異）P.4016 エピトープタグなし
95	MERPPGLRPGAGGPWEMRERLGTGGFGNVSLYQHRELDLKIAIKSCRLELSSKNRERWCHEIQIMKK LDHANVVKACDVPEELNFLINDVPLLAMEYCSGGDLRKLLNKPENCCGLKESQILSLLSDIGSGIRY LHENKIIHRDLKPENIVLQDVGGKTIHKIIDLGYAKDVDQGELCTEFVGTLQYLAPELFENKPYTAT VDYWSFGTMVFECIAGYRPFLHHLQPFTWHEKIKKKDPKCIFACEEMTGEVRFSSHLPQPNSLCSLI VEPMESWLQLMLNWDPQQRGGPIDLTLKQPRCFALMDHILNLKIVHILNMTSAKIISFLLPCDESLH

【表１８－１６】

	SLQSRIERETGINTGSQELLSETGISLDPRKPASQCVLDGVRGCDSYMVYLFDKSKTVYEGPFASRS LSDCVNYIVQDSKIQLPIIQLRKVWAEAVHYVSGLKEDYSRLFQGQRAAMLSLLRYNANLTKMKNTL ISASQQLKAKLEFFRKSIQLDLERYSEQMTYGISSEKMLKAWKEMEEKAIHYSEVGVIGYLEDQIMS LHTEIMELQKSPYGRRQGDLMESLEQRAIDLYKQLKHRPPDHLYSDSTEMVKIIVHTVQSQDRVLKE LFGHLSKLLGCKQKIIDLLPKVEVALSNIKEADNTVMFMQGKRQKEIWHLLKIACTQAAARALVGAA LEGAVAPPVAAWLPPALADREHPLTCVVAPQDGEALAQMIEENLNCLGHLAAIIREANEDQSSSLMS LDWSWLAE マウス構成的活性 IKK アルファ（PEST 変異）P.4017 エピトープタグなし
96	MERPPGLRPGAGGPWEMRERLGTGGFGNVSLYQHRELDLKIAIKSCRLELSSKNRERWCHEIQIMKK LDHANVVKACDVPEELNFLINDVPLLAMEYCSGGDLRKLLNKPENCCGLKESQILSLLSDIGSGIRY LHENKIIHRDLKPENIVLQDVGGKTIHKIIDLGYAKDVDQGELCTEFVGTLQYLAPELFENKPYTAT VDYWSFGTMVFECIAGYRPFLHHLQPFTWHEKIKKKDPKCIFACEEMTGEVRFSSHLPQPNSLCSLI VEPMESWLQLMLNWDPQQRGGPIDLTLKQPRCFALMDHILNLKIVHILNMTSAKIISFLLPCDESLH SLQSRIERETGINTGSQELLSETGISLDPRKPASQCVLDGVRGCDSYMVYLFDKSKTVYEGPFASRS LSDCVNYIVQDSKIQLPIIQLRKVWAEAVHYVSGLKEDYSRLFQGQRAAMLSLLRYNANLTKMKNTL ISASQQLKAKLEFFRKSIQLDLERYSEQMTYGISSEKMLKAWKEMEEKAIHYSEVGVIGYLEDQIMS LHTEIMELQKSPYGRRQGDLMESLEQRAIDLYKQLKHRPPDHLYSDSTEMVKIIVHTVQSQDRVLKE LFGHLSKLLGCKQKIIDLLPKVEVALSNIKEADNTVMFMQGKRQKEIWHLLKIACTQAAARALVGAA LEGAVAPPVAAWLPPALADREHPLTCVVAPQDGEALAQMIEENLNCLGHLAAIIREANEDQSSSLMS LDWSWLAE マウス構成的活性 IKK アルファ（PEST 変異）P.4018 エピトープタグなし
97	MSWSPSLPTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQATGEQIAIKQCRQELSPKNRNRWCLEIQIMRR LNHPNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRRYLNQFENCCGLREGAVLTLLSDIASALR YLHENRIIHRDLKPENIVLQQGEKRLIHKIIDLGYAKELDQGELCTEFVGTLQYLAPELLEQQKYTV TVDYWSFGTLAFECITGFRPFLPNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGAVKFSSSLPFPNNLNSV LAERLEKWLQLMLMWHPRQRGTDPQYGPNGCFRALDDILNLKLVHVLNMVTGTVHTYPVTEDESLQS LKTRIQENTGILETDQELLQKAGLVLLPDKPATQCISDSKTNEGLTLDMDLVFLLDNSKINYETQIT PRPPPESVSCILQEPKRNLSFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAAMMSLLRNNSCLSKMK NAMASTAQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYKEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVEQCGRENDVKHLVER MMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQARELYRKLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEK KVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDERTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVA GAPDAMNVARLAHPGQLMAQPASACDALPESDKKAEELVAEAHALCSRLESALQDTVKEQDRSFTTL DWSWLQMEDEERCSLEQACD マウス構成的活性 IKK ベータ（PEST 変異）P.4019 エピトープタグなし
98	MSWSPSLPTQTCGAWEMKERLGTGGFGNVIRWHNQATGEQIAIKQCRQELSPKNRNRWCLEIQIMRR LNHPNVVAARDVPEGMQNLAPNDLPLLAMEYCQGGDLRRYLNQFENCCGLREGAVLTLLSDIASALR YLHENRIIHRDLKPENIVLQQGEKRLIHKIIDLGYAKELDQGELCTEFVGTLQYLAPELLEQQKYTV TVDYWSFGTLAFECITGFRPFLPNWQPVQWHSKVRQKSEVDIVVSEDLNGAVKFSSSLPFPNNLNSV LAERLEKWLQLMLMWHPRQRGTDPQYGPNGCFRALDDILNLKLVHVLNMVTGTVHTYPVTEDESLQS LKTRIQENTGILETDQELLQKAGLVLLPDKPATQCISDSKTNEGLTLDMDLVFLLDNSKINYETQIT PRPPPESVSCILQEPKRNLSFFQLRKVWGQVWHSIQTLKEDCNRLQQGQRAAMMSLLRNNSCLSKMK NAMASTAQQLKAKLDFFKTSIQIDLEKYKEQTEFGITSDKLLLAWREMEQAVEQCGRENDVKHLVER

【表１８－１７】

	MMALQTDIVDLQRSPMGRKQGGTLDDLEEQARELYRKLREKPRDQRTEGDSQEMVRLLLQAIQSFEK KVRVIYTQLSKTVVCKQKALELLPKVEEVVSLMNEDERTVVRLQEKRQKELWNLLKIACSKVRGPVA GAPDAMNVARLAHPGQLMAQPASACDALPESDKKAEELVAEAHALCSRLESALQDTVKEQDRSFTTL DWSWLQMEDEERCSLEQACD マウス構成的活性 IKK ベータ（PEST 変異）P.4020 エピトープタグなし
99	MQPDMSLNVIKMKSSDFLESAELDSGGFGKVSLCFHRTQGLMIMKTVYKGPNCIEHNEALLEEA KMMNRLRHSRVVKLLGVIIEEGKYSLVMEYMEKGNLMHVLKAEMSTPLSVKGRIILEIIEGMCYLHG KGVIHKDLKPENILVDNDFHIKIADLGLASFKMWSKLNNEEHNELREVDGTAKKNGGTLYYMAPEHL NDVNAKPTEKSDVYSFAVVLWAIFANKEPYENAICEQQLIMCIKSGNRPDVDDITEYCPREIISLMK LCWEANPEARPTFPGIEEKFRPFYLSQLEESVEEDVKSLKKEYSNENAVVKRMQSLQLDCVAVPSSR SNSATEQPGSLHSSQGLGMGPVEESWFAPSLEHPQEENEPSLQSKLQDEANYHLYGSRMDRQTKQQP RQNVAYNREEERRRRVSHDPFAQQRPYENFQNTEGKGTAYSSAASHGNAVHQPSGLTSQPQVLYQNN GLYSSHGFGTRPLDPGTAGPRVWYRPIPSHMPSLHNIPVPETNYLGNTPTMPFSSLPPTDESIKYTI YNSTGIQIGAYNYMEIGGTSSSGGIKKEIEAIKKEQEAIKKKIEAIEKEIEA (huRIPK1(1-555).IZ.TM；TH1021 エピトープタグなし)
100	MQPDMSLNVIKMKSSDFLESAELDSGGFGKVSLCFHRTQGLMIMKTVYKGPNCIEHNEALLEEA KMMNRLRHSRVVKLLGVIIEEGKYSLVMEYMEKGNLMHVLKAEMSTPLSVKGRIILEIIEGMCYLHG KGVIHKDLKPENILVDNDFHIKIADLGLASFKMWSKLNNEEHNELREVDGTAKKNGGTLYYMAPEHL NDVNAKPTEKSDVYSFAVVLWAIFANKEPYENAICEQQLIMCIKSGNRPDVDDITEYCPREIISLMK LCWEANPEARPTFPGIEEKFRPFYLSQLEESVEEDVKSLKKEYSNENAVVKRMQSLQLDCVAVPSSR SNSATEQPGSLHSSQGLGMGPVEESWFAPSLEHPQEENEPSLQSKLQDEANYHLYGSRMDRQTKQQP RQNVAYNREEERRRRVSHDPFAQQRPYENFQNTEGKGTAYSSAASHGNAVHQPSGLTSQPQVLYQNN GLYSSHGFGTRPLDPGTAGPRVWYRPIPSHMPSLHNIPVPETNYLGNTPTMPFSSLPPTDESIKYTI YNSTGIQIGAYNYMEIGGTSSSGSDGSGSGSGSITIRAAFLEKENTALRTEIAELEKEVGRCENIVS KYETRYGPL (huRIPK1(1-555).EE.DM；TH1022 エピトープタグなし)
101	MQPDMSLNVIKMKSSDFLESAELDSGGFGKVSLCFHRTQGLMIMKTVYKGPNCIEHNEALLEEAKMM NRLRHSRVVKLLGVIIEEGKYSLVMEYMEKGNLMHVLKAEMSTPLSVKGRIILEIIEGMCYLHGKGV IHKDLKPENILVDNDFHIKIADLGLASFKMWSKLNNEEHNELREVDGTAKKNGGTLYYMAPEHLNDV NAKPTEKSDVYSFAVVLWAIFANKEPYENAICEQQLIMCIKSGNRPDVDDITEYCPREIISLMKLCW EANPEARPTFPGIEEKFRPFYLSQLEESVEEDVKSLKKEYSNENAVVKRMQSLQLDCVAVPSSRSNS ATEQPGSLHSSQGLGMGPVEESWFAPSLEHPQEENEPSLQSKLQDEANYHLYGSRMDRQTKQQPRQN VAYNREEERRRRVSHDPFAQQRPYENFQNTEGKGTAYSSAASHGNAVHQPSGLTSQPQVLYQNNGLY SSHGFGTRPLDPGTAGPRVWYRPIPSHMPSLHNIPVPETNYLGNTPTMPFSSLPPTDESIKYTIYNS TGIQIGAYNYMEIGGTSSSGSDGSGSGSGSLEIRAAFLEKENTALRTRAAELRKRVGRCRNIVSKYE TRYGPL (huRIPK1(1-555).RR.DM；TH1023 エピトープタグなし)
102	MQPDMSLDNIKMASSDLLEKTDLDSGGFGKVSLCYHRSHGFVILKKVYTGPNRAEYNEVLLEEG KMMHRLRHSRVVKLLGIIIEEGNYSLVMEYMEKGNLMHVLKTQIDVPLSLKGRIIVEAIEGMCYLHD KGVIHKDLKPENILVDRDFHIKIADLGVASFKTWSKLTKEKDNKQKEVSSTTKKNNGGTLYYMAPEH LNDINAKPTEKSDVYSFGIVLWAIFAKKEPYENVICTEQFVICIKSGNRPNVEEILEYCPREIISLM ERCWQAIPEDRPTFLGIEEEFRPFYLSHFEEYVEEDVASLKKEYPDQSPVLQRMFSLQHDCVPLPPS

【表１８－１８】

	RSNSEQPGSLHSSQGLQMGPVEESWFSSSPEYPQDENDRSVQAKLQEEASYHAFGIFAEKQTKPQPR QNEAYNREEERKRRVSHDPFAQQRARENIKSAGARGHSDPSTTSRGIAVQQLSWPATQTVWNNGLYN QHGFGTTGTGVWYPPNLSQMYSTYKTPVPETNIPGSTPTMPYFSGPVADDLIKYTIFNSSGIQIGNH NYMDVGLNSQPPNNTCKEESTSGGIKKEIEAIKKEQEAIKKKIEAIEKEIEA (msRIPK1(1-555).IZ.TM；TH1024 エピトープタグなし)
103	MQPDMSLDNIKMASSDLLEKTDLDSGGFGKVSLCYHRSHGFVILKKVYTGPNRAEYNEVLLEEG KMMHRLRHSRVVKLLGIIIEEGNYSLVMEYMEKGNLMHVLKTQIDVPLSLKGRIIVEAIEGMCYLHD KGVIHKDLKPENILVDRDFHIKIADLGVASFKTWSKLTKEKDNKQKEVSSTTKKNNGGTLYYMAPEH LNDINAKPTEKSDVYSFGIVLWAIFAKKEPYENVICTEQFVICIKSGNRPNVEEILEYCPREIISLM ERCWQAIPEDRPTFLGIEEEFRPFYLSHFEEYVEEDVASLKKEYPDQSPVLQRMFSLQHDCVPLPPS RSNSEQPGSLHSSQGLQMGPVEESWFSSSPEYPQDENDRSVQAKLQEEASYHAFGIFAEKQTKPQPR QNEAYNREEERKRRVSHDPFAQQRARENIKSAGARGHSDPSTTSRGIAVQQLSWPATQTVWNNGLYN QHGFGTTGTGVWYPPNLSQMYSTYKTPVPETNIPGSTPTMPYFSGPVADDLIKYTIFNSSGIQIGNH NYMDVGLNSQPPNNTCKEESTSGSDGSGSGSGSITIRAAFLEKENTALRTEIAELEKEVGRCENIVS KYETRYGPL (msRIPK1(1-555).EE.DM；TH1025 エピトープタグなし)
104	MQPDMSLDNIKMASSDLLEKTDLDSGGFGKVSLCYHRSHGFVILKKVYTGPNRAEYNEVLLEEG KMMHRLRHSRVVKLLGIIIEEGNYSLVMEYMEKGNLMHVLKTQIDVPLSLKGRIIVEAIEGMCYLHD KGVIHKDLKPENILVDRDFHIKIADLGVASFKTWSKLTKEKDNKQKEVSSTTKKNNGGTLYYMAPEH LNDINAKPTEKSDVYSFGIVLWAIFAKKEPYENVICTEQFVICIKSGNRPNVEEILEYCPREIISLM ERCWQAIPEDRPTFLGIEEEFRPFYLSHFEEYVEEDVASLKKEYPDQSPVLQRMFSLQHDCVPLPPS RSNSEQPGSLHSSQGLQMGPVEESWFSSSPEYPQDENDRSVQAKLQEEASYHAFGIFAEKQTKPQPR QNEAYNREEERKRRVSHDPFAQQRARENIKSAGARGHSDPSTTSRGIAVQQLSWPATQTVWNNGLYN QHGFGTTGTGVWYPPNLSQMYSTYKTPVPETNIPGSTPTMPYFSGPVADDLIKYTIFNSSGIQIGNH NYMDVGLNSQPPNNTCKEESTSGSDGSGSGSGSLEIRAAFLEKENTALRTRAAELRKRVGRCRNIVS KYETRYGPL (msRIPK1(1-555).RR.DM；TH1026 エピトープタグなし)
105	MSTASAASSSSSSSAGEMIEAPSQVLNFEEIDYKEIEVEEVVGRGAFGVVCKAKWRAKDVAIKQIES ESERKAFIVELRQLSRVNHPNIVKLYGACLNPVCLVMEYAEGGSLYNVLHGAEPLPYYTAAHAMSWC LQCSQGVAYLHSMQPKALIHRDLKPPNLLLVAGGTVLKICDFGTACDIQTHMTNNKGSAAWMAPEVF EGSNYSEKCDVFSWGIILWEVITRRKPFDEIGGPAFRIMWAVHNGTRPPLIKNLPKPIESLMTRCWS KDPSQRPSMEEIVKIMTHLMRYFPGADEPLQYPCQEFGGGGGQSPTLTLQSTNTHTQSSSSSSDGGL FRSRPAHSLPPGEDGRVEPYVDFAEFYRLWSVDHGEQSVVTAP (ヒト TAK1-TAB1；P4031 エピトープタグなし)
106	MAALKSWLSRSVTSFFRYRQCLCVPVVANFKKRCFSELIRPWHKTVTIGFGVTLCAVPIAQKSE PHSLSSEALMRRAVSLVTDSTSTFLSQTTYALIEAITEYTKAVYTLTSLYRQYTSLLGKMNSEEEDE VWQVIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSEMAAEAAYQTGADQASITARNHIQLVKLQVEEVH QLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQEAYLRED (Diablo.1;エピトープタグなし)
107	MAALKSWLSRSVTSFFRYRQCLCVPVVANFKKRCFSELIRPWHKTVTIGFGVTLCAVPIAQKSEPHS LSSEALMRRAVSLVTDSTSTFLSQTTYALIEAITEYTKAVYTLTSLYRQYTSLLGKMNLEEEDEVWQ VIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSEMAAEAAYQTGADQASITARNHIQLVKLQVEEVHQLS

【表１８－１９】

	RKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQEAYLRED (Diablo.1(S126L);エピトープタグなし)
108	MAVPIAQKSEPHSLSSEALMRRAVSLVTDSTSTFLSQTTYALIEAITEYTKAVYTLTSLYRQYT SLLGKMNSEEEDEVWQVIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSEMAAEAAYQTGADQASITARN HIQLVKLQVEEVHQLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQEAYLRED (Diablo.1(56-239);エピトープタグなし)
109	MAVPIAQKSEPHSLSSEALMRRAVSLVTDSTSTFLSQTTYALIEAITEYTKAVYTLTSLYRQYT SLLGKMNLEEEDEVWQVIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSEMAAEAAYQTGADQASITARN HIQLVKLQVEEVHQLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQEAYLRED (Diablo.1(56-239/S126L);エピトープタグなし)
110	MAALKSWLSRSVTSFFRYRQCLCVPVVANFKKRCFSELIRPWHKTVTIGFGVTLCAVPIAQAVYTLT SLYRQYTSLLGKMNSEEEDEVWQVIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSEMAAEAAYQTGADQ ASITARNHIQLVKLQVEEVHQLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQEAYLRED (Diablo.3；TH2003 エピトープタグなし)
111	MAALKSWLSRSVTSFFRYRQCLCVPVVANFKKRCFSELIRPWHKTVTIGFGVTLCAVPIAQAVY TLTSLYRQYTSLLGKMNLEEEDEVWQVIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSEMAAEAAYQTG ADQASITARNHIQLVKLQVEEVHQLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQEAYLRED (Diablo.3(S82L)；TH2001 エピトープタグなし)
112	MAVPIAQAVYTLTSLYRQYTSLLGKMNSEEEDEVWQVIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSE MAAEAAYQTGADQASITARNHIQLVKLQVEEVHQLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQ EAYLRED (Diablo.3(56-195)；TH2002 エピトープタグなし)
113	MAVPIAQAVYTLTSLYRQYTSLLGKMNLEEEDEVWQVIIGARAEMTSKHQEYLKLETTWMTAVGLSE MAAEAAYQTGADQASITARNHIQLVKLQVEEVHQLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQ EAYLRED (Diablo.3(56-195/S82L);エピトープタグなし)
114	MAAVILESIFLKRSQQKKKTSPLNFKKRLFLLTVHKLSYYKYDFERGRRGSKKGSIDVEKITCVETV VPEKNPPPERQIPRRGEESSEMEQISIIERFPYPFQVVYDEGPLYVFSPTEELRKRWIHQLKNVIRY NSDLVQKYHPCFWIDGQYLCCSQTAKNAMGCQILENRNGSLKPGSSHRKTKKPLPPTPEEDQILKKP LPPEPAAAPVSTSELKKVVALYDYMPMNANDLQLRKGDEYFILEESNLPWWRARDKNGQEGYIPSNY VTEAEDSIEMYEWYSKHMTRSQAEQLLKQEGKEGGFIVRDSSKAGKYTVSVFAKSTGDPQGVIRHYV VCSTPQSQYYLAEKHLFSTIPELINYHQHNSAGLISRLKYPVSQQNKNAPSTAGLGYGSWEIDPKDL TFLKELGTGQFGVVKYGKWRGQYDVAIKMIKEGSMSEDEFIEEAKVMMNLSHEKLVQLYGVCTKQRP IFIITEYMANGCLLNYLREMRHRFQTQQLLEMCKDVCEAMEYLESKQFLHRDLAARNCLVNDQGVVK VSDFGLSRYVLDDEYTSSVGSKFPVRWSPPEVLMYSKFSSKSDIWAFGVLMWEIYSLGKMPYERFTN SETAEHIAQGLRLYRPHLASEKVYTIMYSCWHEKADERPTFKILLSNILDVMDEES (Btk(E41K)；P4029 エピトープタグなし)
115	MVTHSKFPAAGMSRPLDTSLRLKTFSSKSEYQLVVNAVRKLQESGFYWSAVTGGEANLLLSAEPAGT FLIRDSSDQRHFFTLSVKTQSGTKNLRIQCEGGSFSLQSDPRSTQPVPRFDCVLKLVHHYMPPPGAP SFPSPPTEPSSEVPEQPSAQPLPGSPPRRAYYIYSGGEKIPLVLSRPLSSNVATLQHLCRKTVNGHL DSYEKVTQLPGPIREFLDQYDAPL (SOCS3；P4030 エピトープタグなし)

【表１８－２０】

116	MRMKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGEADQTSGNYLNMQDSQGVLSSFPAPQAVQDNPAMP TSSGSEGNVKLCSLEEAQRIWKQKSAEIYPIMDKSSRTRLALIICNEEFDSIPRRTGAEVDITGMTM LLQNLGYSVDVKKNLTASDMTTELEAFAHRPEHKTSDSTFLVFMSHGIREGICGKKHSEQVPDILQL NAIFNMLNTKNCPSLKDKPKVIIIQACRGDSPGVVWFKDSVGVSGNLSLPTTEEFEDDAIKKAHIEK DFIAFCSSTPDNVSWRHPTMGSVFIGRLIEHMQEYACSCDVEEIFRKVRFSFEQPDGRAQMPTTERV TLTRCFYLFPGH (IZ_hsCASP1（自己活性化ヒトカスパーゼ 1）；P2024 エピトープタグなし)
117	MRMKQLEDKIEELLSKIYHLENEIARLKKLIGEADQTSGNYLNMQDSQGVLSSFPAPQAVQDNPAMP TSSGSEGNVKLCSLEEAQRIWKQKSAEIYPIMDKSSRTRLALIICNEEFDSIPRRTGAEVDITGMTM LLQNLGYSVDVKKNLTASDMTTELEAFAHRPEHKTSDSTFLVFMSHGIREGICGKKHSEQVPDILQL NAIFNMLNTKNCPSLKDKPKVIIIQACRGDSPGVVWFKDSVGVSGNLSLPTTEEFEDDAIKKAHIEK DFIAFCSSTPDNVSWRHPTMGSVFIGRLIEHMQEYACSCDVEEIFRKVRFSFEQPDGRAQMPTTERV TLTRCFYLFPGH (DM_hsCASP1（自己活性化ヒトカスパーゼ 1）；P2025 エピトープタグなし)
118	MRMKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERSAPSAETFVATEDSKGGHPSSSETKEEQNKEDG TFPGLTGTLKFCPLEKAQKLWKENPSEIYPIMNTTTRTRLALIICNTEFQHLSPRVGAQVDLREMKL LLEDLGYTVKVKENLTALEMVKEVKEFAACPEHKTSDSTFLVFMSHGIQEGICGTTYSNEVSDILKV DTIFQMMNTLKCPSLKDKPKVIIIQACRGEKQGVVLLKDSVRDSEEDFLTDAIFEDDGIKKAHIEKD FIAFCSSTPDNVSWRHPVRGSLFIESLIKHMKEYAWSCDLEDIFRKVRFSFEQPEFRLQMPTADRVT LTKRFYLFPGH (IZ_mmCASP1（自己活性化マウスカスパーゼ 1）；P2026 エピトープタグなし)
119	MRMKQLEDKIEELLSKIYHLENEIARLKKLIGERSAPSAETFVATEDSKGGHPSSSETKEEQNKEDG TFPGLTGTLKFCPLEKAQKLWKENPSEIYPIMNTTTRTRLALIICNTEFQHLSPRVGAQVDLREMKL LLEDLGYTVKVKENLTALEMVKEVKEFAACPEHKTSDSTFLVFMSHGIQEGICGTTYSNEVSDILKV DTIFQMMNTLKCPSLKDKPKVIIIQACRGEKQGVVLLKDSVRDSEEDFLTDAIFEDDGIKKAHIEKD FIAFCSSTPDNVSWRHPVRGSLFIESLIKHMKEYAWSCDLEDIFRKVRFSFEQPEFRLQMPTADRVT LTKRFYLFPGH (DM_mmCASP1（自己活性化マウスカスパーゼ 1）；P2027 エピトープタグなし)
120	MHHHHHHHHHHGKPIPNPLLGLDSTGIPVHLELASMTNMELMSSIVHQQVFPTEAGQSLVISAS IIVFNLLELEGDYRGRVLELFRAAQLANDVVLQIMELCGATR (ADR コンカテマーHIS タグあり)
121	VVGADGVGK (KRAS G12D 9 量体)
122	VVGAVGVGK (KRAS G12V 9 量体)
123	VGAGDVGKS (KRAS G13D 9 量体)
124	VVGACGVGK (KRAS G12C 9 量体)
125	MKLVVVGACGVGKSA

【表１８－２１】

	(KRAS G12C 15量体)
126	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGACGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGC TGATCCAG (KRAS G12D 25量体ヌクレオチド配列)
127	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGTGGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGC TGATCCAG (KRAS G12V 25量体ヌクレオチド配列)
128	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGGCGACGTGGGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGC TGATCCAG (KRAS G13D 25量体ヌクレオチド配列)
129	ATGACCGAGTACAAGTTAGTGGTTGTGGGCGCCGACGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTCACCATCCAGC TTATCCAGATGACGGAATATAAGTTAGTAGTAGTGGGAGCCGACGGTGTCGGCAAGTCCGCTTTGAC CATTCAACTTATTCAGATGACAGAGTATAAGCTGGTCGTTGTAGGCGCAGACGGCGTTGGAAAGTCG GCACTGACGATCCAGTTGATCCAG (KRAS G12D 25量体^3ヌクレオチド配列)
130	ATGACCGAGTACAAGCTCGTCGTGGTGGGCGCCGTGGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTAACCATCCAGT TGATCCAGATGACCGAATATAAGCTCGTGGTAGTCGGAGCGGTGGGCGTTGGCAAGTCAGCGCTAAC AATACAACTAATCCAAATGACCGAATACAAGCTAGTTGTAGTCGGTGCCGTCGGCGTTGGAAAGTCA GCCCTTACAATTCAGCTCATTCAG (KRAS G12V 25量体^3ヌクレオチド配列)
131	ATGACCGAGTACAAGCTCGTAGTGGTTGGCGCCGGCGACGTGGGCAAGAGCGCCCTAACCATCCAGC TCATCCAGATGACAGAATATAAGCTTGTGGTTGTGGGAGCAGGAGACGTGGGAAAGAGTGCGTTGAC GATTCAACTCATACAGATGACCGAATACAAGTTGGTGGTGGTCGGCGCAGGTGACGTTGGTAAGTCT GCACTAACTATACAACTGATCCAG (KRAS G13D 25量体^3ヌクレオチド配列)
132	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCTGCGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGC TGATCCAG (KRAS G12C 25量体ヌクレオチド配列)
133	ATGACCGAGTACAAGCTGGTGGTGGTGGGCGCCGGCGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGC TGATCCAG (KRAS WT 25量体ヌクレオチド配列)
134	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGAGCCACC (5’ UTR配列；プロモーターなし)
135	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKS ALTIQLIQ (KRAS(G12D G12V G13D) 75量体 “3MUT” aa. seq)
136	ATGACCGAGTACAAGCTCGTTGTAGTCGGCGCCGACGGCGTGGGCAAGAGCGCCTTGACCATCCAGT TGATCCAGATGACCGAATATAAGTTGGTGGTGGTAGGCGCAGTGGGAGTTGGCAAGTCAGCACTCAC AATTCAGCTCATTCAAATGACAGAATACAAGTTAGTCGTTGTAGGAGCAGGCGACGTCGGCAAGAGT GCCTTAACCATTCAACTAATCCAG (KRAS(G12D G12V G13D) 75量体 “3MUT” nt. seq)

【表１８－２２】

137	MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQMTEYKLVVVGAGDVGKS ALTIQLIQMTEYKLVVVGACGVGKSALTIQLIQ (KRAS(G12D G12V G13D G12C) 100 量体 “4MUT” aa. seq)
138	ATGACCGAGTACAAGCTCGTGGTCGTCGGCGCCGACGGGGTAGGCAAGTCCGCTCTGACCATTCAGC TCATCCAGATGACGGAGTACAAACTCGTGGTAGTGGGAGCCGTGGGTGTGGGCAAGAGCGCGCTCAC CATCCAACTCATCCAAATGACCGAATATAAACTCGTCGTGGTGGGAGCCGGCGACGTGGGAAAGAGC GCCCTTACCATCCAGTTAATCCAGATGACAGAATACAAGCTGGTGGTGGTCGGTGCCTGCGGCGTGG GTAAGTCCGCCCTGACAATCCAGCTGATCCAG (KRAS(G12D G12V G13D G12C) 100 量体 “4MUT” nt. seq)
139	ATGCCCCACAGTAGCCTCCACCCCAGCATCCCCTGCCCCAGAGGCCACGGCGCACAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGTCTGGTGACCCTGTGGGGTCTGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCTGCG GTACCTCGTGCTGCATCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAAGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCTCCTACTGGAGAACCGTCAGAGCCTGCCTCG GCTGTCCCCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTCCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCCAACGC CGTGGGCCCCCCCTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCTTGGCCCCCGCCGAGATCTCCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACATGGCCC ATGGCCTTGCCTGGTCCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCCGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAAAGACTGTACATCCTG CTGCCCCTGGACTGCGGCGTGCCCGACAACCTTAGCATGGCCGACCCCAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCCCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAAGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCGGACGCCCCCGAGAGCCAAAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGGAGCCCGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAAGTGCTGAGACACCTGAGACAG GAAGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGAAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCCAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCCGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCCCTGCCCCTGAGAACCGACTTCAGC (huSTING(V155M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列)
140	ATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACGTGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACACCCTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGGAGCCTGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACACCTGAGACAG

【表１８－２３】

	GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCTAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCTGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTGAGAACCGACTTCAGC （Hu STING(R284T);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
141	ATGCCCCACAGCAGCCTGCACCCCTCCATCCCCTGTCCCAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCTTATGGGGCCTGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTCCTGCACCTGGCCAGCCTCCAGCTGGGCCTGCTGCTCAACGGCGTGTGTAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GTTGCCCACTGAGAAGAGGAGCTCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACTCGCTGCCCAACGC TGTGGGCCCCCCCCTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGTCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTCCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCCGCCGAGATAAGCGCCGTTTGCGAGAAGGGCAACTTCAACGTGGCCC ATGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACTTACGCCTGATCCTGCCCGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCATTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTATATCCTG CTGCCCCTGGACTGCGGCGTGCCCGACAACCTGAGCATGGCCGACCCCAACATCAGATTCCTGGACA AGCTCCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGAATCAAAGACAGAGTGTATAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTACTGGAGTACGCCACCCCCTTGCAGACCCTG TTTGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACATGCTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCCGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAAGAGCCCGCCGACGACAGCAGCTTCAGCTTAAGCCAGGAGGTGCTGAGACATCTGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTCAAGACCAGCGCTGTGCCCTCTACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCCGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCCCTGCCCCTGAGAACAGACTTCAGC （hu STING（R284M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
142	ATGCCCCATAGCAGCCTGCACCCCAGCATCCCCTGCCCCAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTCCTGCTGAGCGCATGCCTGGTCACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTCGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATATAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCTTGCCTCG GCTGCCCCCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTTTACTACAGCCTGCCCAACGC TGTGGGCCCCCCTTTCACGTGGATGCTCGCCCTGCTGGGACTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTTAAGGGCCTAGCCCCCGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAATGTGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCCGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAATCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCCCTGGACTGCGGCGTGCCCGACAACCTCAGCATGGCCGACCCCAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGATCGCGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAAAACGGCCAGAGAGCCGGAACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACACCCCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAAGCTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGATATCCTCGCCGACGCCCCCGAGAGCCAGAACAACTGCAGGCTGATCGC GTACCAGGAGCCCGCTGACGACAGCAGCTTTAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACATCTGCGTCAA GAGGAAAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCTCCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCCAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCCGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCACTGCCCCTCAGAACCGACTTCAGC （Hu STING（R284K);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
143	ATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC

【表１８－２４】

	GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAGCGTGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGGAGCCTGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACACCTGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCTAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCTGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTGAGAACCGACTTCAGC （Hu STING(N154S);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
144	ATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCCTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACGTGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGGAGCCTGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACACCTGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCTAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCTGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTGAGAACCGACTTCAGC （Hu STING(V147L);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
145	ATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACGTGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG

【表１８－２５】

	CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGCAGCCTGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACACCTGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCTAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCTGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTGAGAACCGACTTCAGC （Hu STING（E315Q);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
146	ATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACGTGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGGAGCCTGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACACCTGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCTAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCTGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTGGCCACCGACTTCAGC （Hu STING（R375A);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
147	ATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCCTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAGCATGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGGAGCCTGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACACCTGAGACAG

【表１８－２６】

	GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCTAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCTGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTGAGAACCGACTTCAGC （Hu STING(V147L/N154S/V155M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
148	ATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTGGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTCTACTACAGCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTGCTGGGCCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCCTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAGCATGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACATGCTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCCGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATCGC CTACCAGGAGCCTGCCGACGACAGCAGCTTCAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACACCTGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCTAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCTGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTGAGAACCGACTTCAGC （Hu STING(R284M/V147L/N154S/V155M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
149	TGATAATAGGCTGGAGCCTCGGTGGCCTAGCTTCTTGCCCCTTGGGCCTCCCCCCAGCCCCTCCTCC CCTTCCTGCACCCGTACCCCCCAAACACCATTGTCACACTCCAGTGGTCTTTGAATAAAGTCTGAGT GGGCGGC （miR122 結合部位を含む STING V155M 構築物中で用いられる 3’ UTR）
150	ATGGAGACCCCCAAGCCTAGAATCCTGCCCTGGCTGGTGAGCCAGCTGGACCTGGGCCAGCTGGAGG GCGTAGCCTGGCTGGACGAGAGCAGAACCAGATTCAGAATCCCCTGGAAGCACGGCCTGAGACAAGA CGCCCAGATGGCCGACTTCGGCATCTTCCAGGCCTGGGCCGAGGCCAGCGGCGCCTACACCCCTGGC AAGGATAAGCCCGATGTGAGCACCTGGAAGAGAAACTTCAGAAGCGCCCTGAACAGAAAGGAGGTGC TGAGACTGGCCGCCGACAATAGCAAGGACCCCTACGACCCCCACAAGGTGTACGAGTTCGTTACCCC CGGCGCCAGGGACTTCGTGCACCTGGGCGCCAGCCCCGACACCAACGGCAAGAGCAGCCTGCCCCAC AGCCAGGAGAACCTGCCCAAGCTGTTCGATGGCCTGATCCTGGGCCCCCTGAAGGACGAGGGCAGCA GCGACCTGGCCATCGTGAGCGACCCTAGCCAGCAGCTGCCCTCCCCCAACGTGAACAACTTCCTGAA CCCCGCCCCCCAGGAGAACCCCCTGAAGCAACTGCTGGCCGAGGAGCAGTGGGAGTTCGAGGTGACC GCCTTCTACAGAGGCAGACAGGTGTTCCAGCAGACCCTGTTCTGCCCCGGCGGCCTGAGACTGGTAG GCAGCACCGCTGACATGACCCTGCCCTGGCAGCCCGTGACCCTGCCCGACCCCGAAGGCTTTCTGAC CGACAAGCTGGTGAAGGAGTACGTCGGCCAAGTGCTGAAGGGCCTGGGCAACGGCCTGGCCCTGTGG CAGGCCGGCCAGTGCCTGTGGGCCCAGAGACTCGGCCACAGCCACGCCTTCTGGGCCCTGGGCGAGG AACTCCTGCCCGATAGCGGCAGAGGCCCCGACGGCGAGGTGCACAAGGACAAGGACGGCGCCGTGTT CGACCTGCGCCCCTTCGTGGCCGACCTGATCGCCTTCATGGAGGGCAGCGGCCACAGCCCCAGATAT ACCCTGTGGTTCTGCATGGGCGAGATGTGGCCCCAGGACCAGCCCTGGGTGAAGAGACTGGTGATGG

【表１８－２７】

	TGAAGGTGGTGCCCACCTGCCTGAAAGAGCTGCTGGAGATGGCCAGAGAGGGCGGCGCCAGCTCCCT GAAAACCGTGGACCTGCACATTGACAACAGCCAGCCCATCAGCCTGACCAGCGACCAGTACAAGGCC TACCTGCAGGACCTGGTGGAGGACATGGACTTCCAGGCCACCGGCAACATC （スーパーマウス IRF3 S396D;エピトープタグなし）
151	ATGGGCACCCCCAAGCCCAGAATCCTGCCCTGGCTGGTGAGCCAGCTGGACCTGGGCCAGCTGGAGG GAGTGGCCTGGGTGAACAAGAGCAGAACCAGATTCAGAATCCCCTGGAAGCACGGCCTCAGACAGGA CGCCCAGCAGGAGGACTTCGGCATTTTTCAGGCTTGGGCCGAGGCCACCGGCGCCTACGTGCCCGGC AGAGACAAGCCCGACCTGCCCACCTGGAAAAGAAACTTCAGAAGCGCCTTGAATAGAAAGGAGGGCC TGAGACTGGCCGAGGACAGAAGCAAGGACCCCCACGACCCTCACAAGATCTACGAGTTCGTGAATAG CGGCGTGGGCGACTTTAGCCAGCCCGACACCAGCCCCGACACCAACGGCGGCGGCAGCACCAGCGAC ACGCAGGAGGACATCCTGGATGAACTGCTGGGCAACATGGTGCTGGCCCCCCTGCCCGATCCCGGCC CCCCTTCGCTTGCCGTGGCCCCCGAGCCCTGCCCCCAGCCCCTGAGAAGCCCCTCTCTGGATAACCC CACCCCCTTCCCCAACCTGGGCCCCAGCGAGAATCCACTGAAGAGACTTCTGGTCCCCGGCGAGGAG TGGGAGTTCGAGGTGACCGCCTTCTACAGAGGCAGACAGGTGTTCCAGCAGACCATCAGCTGCCCCG AAGGCCTGAGATTAGTGGGCAGCGAAGTGGGCGACAGGACCCTGCCCGGGTGGCCCGTGACCCTGCC CGATCCCGGCATGAGCCTGACCGACAGAGGTGTGATGAGCTACGTGAGACACGTGCTGAGCTGCCTG GGCGGCGGCCTGGCACTGTGGAGAGCCGGCCAGTGGCTGTGGGCCCAGAGACTGGGCCACTGCCACA CCTACTGGGCCGTGAGCGAGGAGCTGCTGCCCAACAGCGGCCACGGCCCCGACGGCGAGGTGCCCAA GGACAAGGAAGGGGGCGTGTTCGACCTGGGCCCCTTCATCGTAGACCTGATCACCTTTACCGAGGGC AGCGGCAGGAGCCCCAGATACGCCCTGTGGTTCTGCGTGGGCGAAAGCTGGCCCCAGGACCAGCCCT GGACCAAGAGACTGGTGATGGTGAAGGTAGTGCCCACCTGCCTGAGAGCCTTAGTGGAGATGGCCAG AGTGGGCGGGGCCAGCAGCCTGGAGAACACCGTGGATCTTCACATCGACAACAGCCACCCCCTGAGC CTGACCAGCGACCAGTACAAGGCCTACCTGCAGGACCTGGTGGAGGGCATGGACTTCCAGGGCCCCG GCGAGACC （スーパーヒト IRF3 S396D;エピトープタグなし）
152	ATGGCGCTGGCCCCCGAAAGAGCCGCCCCCAGAGTCCTCTTCGGCGAATGGCTCCTTGGCGAAATTT CGTCGGGCTGCTACGAGGGCTTACAATGGCTGGATGAGGCGAGAACCTGTTTCAGGGTGCCCTGGAA ACACTTCGCCAGAAAGGATCTAAGCGAAGCAGATGCTAGAATTTTTAAGGCTTGGGCCGTGGCCAGG GGAAGATGGCCCCCCTCGAGCAGAGGCGGCGGCCCTCCCCCCGAGGCAGAAACGGCCGAGAGAGCCG GATGGAAAACCAATTTCAGATGCGCCCTGAGATCTACAAGAAGATTCGTGATGCTTAGAGACAACAG CGGAGATCCCGCCGATCCCCATAAGGTGTATGCCCTGTCCCGGGAGCTGTGCTGGAGGGAAGGGCCT GGCACTGACCAGACCGAAGCCGAAGCCCCCGCGGCCGTGCCGCCGCCCCAAGGAGGCCCACCAGGCC CTTTCCTCGCTCACACCCACGCCGGTCTGCAAGCCCCGGGACCTCTACCTGCCCCTGCCGGCGATAA AGGCGACCTGTTGCTGCAGGCCGTCCAACAGAGCTGCCTGGCCGATCATCTGCTCACAGCCAGCTGG GGCGCTGACCCCGTCCCAACAAAGGCCCCCGGTGAGGGCCAAGAAGGCCTGCCTCTGACCGGCGCCT GTGCCGGCGGCCCTGGCCTGCCTGCTGGCGAGCTGTACGGATGGGCTGTCGAAACCACTCCCTCCCC CGGCCCCCAACCTGCGGCCCTGACAACCGGCGAGGCAGCCGCACCCGAAAGCCCCCACCAGGCCGAA CCCTACCTCAGTCCCAGCCCCTCCGCCTGCACCGCTGTGCAGGAGCCCAGCCCCGGTGCTCTGGACG TAACAATCATGTACAAAGGCAGAACCGTGCTTCAGAAGGTGGTTGGACACCCCTCCTGTACTTTTCT CTACGGCCCCCCCGACCCTGCCGTGAGAGCTACCGACCCGCAACAGGTGGCCTTTCCCTCGCCCGCC GAACTGCCCGATCAAAAACAGCTGAGATACACCGAGGAGCTGCTGAGACACGTGGCGCCGGGCTTAC ACCTAGAGTTGAGAGGCCCCCAACTCTGGGCCAGACGCATGGGCAAGTGTAAGGTGTACTGGGAGGT

【表１８－２８】

	CGGGGGCCCTCCCGGCTCTGCCAGCCCCAGCACCCCTGCTTGTCTCTTGCCCAGAAACTGTGATACC CCCATCTTCGACTTCCGTGTATTTTTCCAGGAACTGGTCGAGTTTAGAGCCAGACAGAGACGAGGCA GCCCCAGATATACAATCTACCTCGGCTTCGGCCAGGACCTGAGTGCCGGCAGACCTAAGGAGAAGTC GCTGGTCCTAGTGAAGTTAGAGCCCTGGCTATGTAGAGTGCACCTGGAGGGCACCCAGAGAGAAGGA GTGAGCAGCCTGGACAGCAGCAGCCTGAGTCTGTGCCTGAGCTCCGCCAACTCGCTGTATGATGACA TCGAGTGTTTCCTCATGGAGCTGGAGCAGCCCGCC (野性型 Hu IRF7 アイソフォーム A；P037 エピトープタグなし)
153	ATGGCCCTTGCCCCTGAGCGGGCCGCCCCCAGAGTGTTATTCGGCGAGTGGCTGCTGGGCGAGATCA GCAGCGGCTGCTACGAGGGACTGCAGTGGCTGGACGAGGCTAGAACCTGCTTCAGAGTGCCCTGGAA GCATTTCGCCAGAAAAGACCTGAGCGAGGCTGATGCTAGAATCTTCAAAGCCTGGGCTGTGGCCCGA GGAAGATGGCCCCCCAGCAGCAGAGGAGGCGGCCCTCCTCCCGAGGCCGAAACCGCAGAGCGTGCTG GCTGGAAAACCAACTTTAGGTGTGCCCTGAGGAGCACCAGAAGATTCGTTATGCTCAGAGACAACAG CGGGGACCCCGCCGACCCGCACAAGGTGTACGCCTTAAGTAGGGAGCTGTGCTGGAGAGAGGGACCG GGGACCGACCAAACCGAGGCTGAGGCGCCCGCCGCCGTTCCACCTCCCCAGGGTGGTCCCCCAGGGC CCTTTCTGGCACACACCCACGCCGGATTACAGGCGCCAGGGCCCTTACCCGCCCCCGCCGGAGACAA AGGCGACCTCCTGCTGCAAGCCGTGCAACAAAGCTGCCTGGCCGATCACTTACTAACCGCTAGCTGG GGCGCCGATCCTGTTCCCACCAAGGCCCCCGGTGAAGGGCAAGAAGGACTGCCCTTAACCGGCGCCT GTGCCGGAGGCCCTGGTCTGCCAGCCGGCGAGCTGTACGGTTGGGCTGTCGAAACAACACCCAGTCC GGGCCCACAGCCTGCCGCTCTGACCACCGGCGAAGCCGCCGCCCCCGAGAGCCCACACCAGGCTGAA CCCTACCTGAGCCCCAGCCCCAGCGCCTGCACCGCTGTGCAGGAGCCTAGCCCCGGCGCTCTTGATG TGACAATAATGTACAAGGGCAGGACCGTGCTGCAAAAGGTCGTGGGCCATCCGTCGTGTACCTTTCT GTACGGCCCTCCAGACCCCGCGGTTAGAGCCACCGACCCCCAGCAAGTCGCCTTCCCCTCCCCCGCC GAACTGCCCGACCAAAAGCAGCTGCGGTACACAGAAGAACTACTTAGACACGTGGCCCCCGGTCTGC ACTTGGAGCTGAGAGGCCCCCAGCTCTGGGCCAGAAGAATGGGCAAGTGCAAAGTGTACTGGGAGGT GGGCGGCCCACCCGGCTCAGCTTCGCCCTCCACACCCGCATGCCTGCTGCCCAGAAATTGCGACACG CCCATCTTCGATTTTAGAGTGTTCTTTCAGGAGTTGGTGGAGTTCAGAGCCAGACAAAGACGCGGCA GCCCCAGATACACCATTTACCTCGGCTTCGGCCAGGACCTCAGCGCTGGCAGACCCAAGGAGAAGAG TCTGGTCCTCGTGAAGCTGGAGCCCTGGCTGTGCAGAGTGCACCTGGAGGGCACCCAGCGTGAAGGC GTGAGCAGCCTGGATTCAAGCGACCTGGACCTATGCCTAAGCAGCGCTAACTCACTGTACGACGATA TCGAATGCTTCCTGATGGAACTGGAGCAGCCTGCC (構成的に活性な Hu IRF7 S477D/S479D；P033 エピトープタグなし)
154	ATGGCCCTGGCACCCGAGAGGGCCGCCCCCAGGGTGCTCTTCGGCGAGTGGTTACTAGGCGAAATTA GCAGCGGCTGCTATGAAGGCCTTCAGTGGCTGGACGAGGCCAGAACCTGCTTTAGAGTTCCCTGGAA GCACTTCGCCCGGAAAGATCTCTCTGAAGCCGACGCCAGAATATTCAAGGCCTGGGCTGTCGCCAGG GGCAGGTGGCCACCCTCCAGCCGAGGTGGCGGCCCTCCCCCTGAGGCTGAGACTGCGGAAAGGGCGG GCTGGAAGACCAATTTCAGATGCGCTCTGAGAAGCACCAGACGTTTTGTGATGCTAAGAGACAATAG CGGCGATCCCGCCGACCCCCATAAGGTATACGCACTGAGCCGAGAGCTCTGTTGGAGAGAAGGCCCC GGCACCGACCAGACCGAGGCTGAAGCCCCTGCAGCCGTGCCCCCCCCTCAAGGCGGGCCCCCCGGCC CCTTCCTGGCCCATACCCATGCAGGGTTACAAGCACCCGGGCCCTTGCCCGCCCCAGCGGGAGACAA GGGCGACCTCTTACTGCAGGCCGTGCAACAAAGTTGTCTGGCGGACCACCTGCTGACCGCATCATGG GGCGCGGATCCTGTGCCCACCAAGGCACCCGGCGAAGGCCAGGAGGGCCTGCCCTTGACCGGCGCCT GCGCTGGCGGACCCGGCCTACCTGCTGGCGAACTGTATGGCTGGGCCGTAGAGACGACTCCCAGCCC

【表１８－２９】

	TGGCCCACAACCCGCGGCTTTGACCACCGGCGAAGCCGCCGCCCCCGAGTCTCCGCACCAGGCCGAG CCTTACCTCAGCCCAAGCCCTAGCGCCTGCACCGCCGTGCAAGAACCTAGCCCCGGAGCCCTGGATG TGACAATCATGTACAAGGGTAGAACCGTACTGCAAAAGGTGGTGGGTCATCCCAGCTGCACCTTTCT TTACGGCCCACCCGACCCTGCCGTGCGAGCCACAGACCCACAACAGGTCGCCTTCCCAAGCCCCGCC GAACTGCCCGATCAGAAACAGCTGAGATATACAGAGGAGCTTCTGCGGCACGTAGCTCCCGGCCTAC ATCTCGAGCTGAGGGGCCCACAACTGTGGGCCAGACGCATGGGCAAATGCAAGGTCTACTGGGAAGT GGGAGGCCCCCCCGGCAGCGCATCTCCCAGCACGCCCGCGTGCCTGCTGCCTAGAAATTGCGACACC CCCATCTTTGACTTCCGGGTATTCTTTCAGGAGCTGGTAGAGTTCAGAGCCAGGCAGCGGAGGGGCT CCCCCAGATACACAATCTACCTGGGCTTCGGACAGGACCTGTCCGCCGGCCGCCCCAAGGAAAAGAG CCTGGTGCTGGTGAAGCTGGAGCCCTGGCTGTGTAGGGTACACCTCGAAGGCACCCAGAGAGAAGGA GTGAGCTCGCTTGATGACAGCGATCTGTCGGATTGCCTTAGCAGCGCCAACAGCCTGTATGATGATA TCGAGTGCTTCCTTATGGAACTGGAGCAGCCCGCC （構成的に活性な Hu IRF7 S475D/S477D/L480D；P034 エピトープタグなし）
155	ATGGCCCTAGCCCCCGAAAGAGCAGCTCCCAGAGTGCTGTTCGGCGAATGGCTGCTTGGCGAGATCA GCAGCGGCTGCTACGAAGGCCTGCAGTGGCTGGACGAAGCCCGCACCTGTTTCAGAGTGCCCTGGAA GCACTTCGCTAGAAAGGATTTGAGCGAGGCTGATGCTAGAATCTTTAAGGCTTGGGCTGTGGCAAGA GGCAGATGGCCGCCTAGTAGCAGAGGGGGCGGACCTCCCCCCGAGGCTGAGACCGCTGAGAGAGCAG GGTGGAAAACCAACTTCAGATGCGCGCTGAGAAGCACCCGAAGATTCGTGATGCTACGTGACAATAG CGGCGACCCCGCCGACCCCCACAAAGTGTACGCCCTGTCCCGAGAACTTTGCTGGAGAGAGGGACCC GGCACCGATCAAACAGAGGCTGAGGCCCCGGCCGCTGTACCCCCGCCCCAAGGAGGCCCCCCAGGCC CCTTTCTGGCTCATACACATGCCGGCCTGCAGGCACCCGGGCCCCTCCCGGCTCCTGCCGGCGACAA GGGCGATCTCCTTCTCCAGGCCGTGCAGCAGAGCTGCCTGGCCGATCACCTGCTGACCGCCTCGTGG GGCGCCGACCCCGTGCCCACCAAAGCCCCGGGTGAAGGCCAAGAGGGGCTCCCTTTAACCGGAGCAT GCGCCGGAGGCCCCGGCCTGCCAGCCGGCGAGTTATATGGCTGGGCTGTGGAGACCACACCCTCCCC CGGCCCTCAACCCGCTGCCCTGACCACCGGTGAGGCCGCCGCCCCCGAGAGCCCACACCAGGCCGAA CCCTACCTGAGCCCTAGCCCTAGCGCCTGCACCGCCGTGCAAGAACCCAGCCCCGGAGCCCTGGATG TGACCATTATGTACAAGGGCCGGACAGTGCTGCAAAAGGTTGTGGGACACCCGAGCTGCACCTTTCT GTACGGTCCGCCTGACCCCGCCGTGAGAGCCACGGACCCGCAGCAGGTGGCCTTCCCCTCACCCGCG GAGCTGCCCGACCAAAAGCAACTCAGATACACAGAAGAACTATTGCGTCACGTCGCGCCCGGCCTGC ATCTGGAGCTGAGAGGCCCCCAGCTCTGGGCCAGAAGGATGGGCAAATGCAAGGTGTACTGGGAGGT GGGAGGCCCCCCCGGCAGCGCCAGCCCCAGCACTCCCGCGTGCCTGCTGCCCAGAAATTGCGACACT CCCATCTTCGATTTCAGGGTGTTCTTCCAGGAGCTGGTGGAGTTCAGAGCCAGGCAGAGAAGGGGTA GCCCCAGATACACAATCTATCTAGGCTTTGGACAAGATCTGAGCGCCGGCCGGCCTAAGGAAAAAAG CCTGGTGCTGGTAAAGCTGGAGCCGTGGCTTTGTAGAGTGCACCTGGAGGGGACGCAGCGAGAGGGC GTGAGCAGCTTAGACGACGATGACTTGGATCTGTGTCTCGACAGCGCCAACGACTTGTACGACGACA TCGAGTGCTTCCTGATGGAACTGGAGCAGCCCGCC （構成的に活性な Hu IRF7 S475D/S476D/S477D/S479D/S483D/S487D；P035 エピトープタグなし）
156	ATGGCCCTGGCCCCCGAGAGAGCCGCCCCCAGAGTGCTCTTCGGCGAGTGGCTGCTGGGCGAGATAA GCAGCGGCTGCTACGAAGGTCTGCAGTGGCTAGACGAGGCCAGAACCTGCTTTAGAGTGCCCTGGAA GCACTTCGCTCGAAAGGACCTGTCCGAGGCCGATGCTAGAATTTTTAAGGCTTGGGCCGTCGCTAGG GGAAGATGGCCCCCTAGCAGTAGAGGCGGCGGCCCCCCTCCCGAAGCCGAGACGGCCGAGAGGGCCG

【表１８－３０】

	GCTGGAAAACCAATTTCAGATGCGCCCTGAGGAGCACCCGCAGGTTCGTAATGCTGCGAGACAATAG CGGCGATCCTGCGGATCCTCACAAGGTTTACGCCTTGAGTAGAGAACTGTGCTGGCGGGAGGGCCCC GGAACCGACCAGACGGAGGCAGAGGCACCCGCTGCCGTGCCCCCCCCCTCAAGGAGGACCCCCTGGAC CCTTTCTGGCCCACACCCACGCTGGTCTGCAGGCCCCAGGCCCACTGCCCGCCCCAGCGGGCGATAA GGGTGACCTGCTCCTACAGGCGGTGCAACAGAGCTGTCTGGCCGACCACCTGTTGACCGCCAGCTGG GGGGCCGACCCGGTGCCCACCAAAGCTCCCGGAGAGGGCCAAGAAGGCCTCCCACTAACTGGCGCCT GCGCCGGGGGCCCGGGATTACCCGCCGGCGAGCTGTATGGCTGGGCCGTGGAGACCACGCCCAGCCC CGAGGGCGTGTCGTCCCTGGACAGCAGCAGCCTGAGCCTGTGCCTGAGCTCCGCCAACAGCCTGTAT GACGACATCGAGTGCTTCCTGATGGAGCTGGAACAACCCGCC （構成的に活性な短縮型 Hu IRF7 1-246 + 468-503；P032 エピトープタグなし）
157	ATGGCACTGGCGCCTGAAAGAGCCGCTCCGCGTGTGCTCTTCGGCGAGTGGCTGCTGGGCGAGATCA GCTCCGGCTGCTACGAGGGTCTACAGTGGCTGGACGAGGCCAGAACCTGTTTTAGAGTGCCCTGGAA GCACTTCGCGAGAAAGGACCTGAGCGAGGCCGACGCCAGAATCTTCAAAGCCTGGGCAGTGGCTAGG GGCAGATGGCCTCCCAGCAGCCGGGGCGGCGGCCCACCCCCCGAGGCCGAAACCGCCGAAAGAGCTG GCTGGAAGACCAACTTCAGATGCGCCCTGAGAAGCACCAGAAGATTTGTCATGCTGAGAGATAATTC AGGAGACCCCGCCGACCCTCACAAGGTGTACGCCCTGTCCAGAGAGCTGTGTTGGAGAGAGGGCCCC GGAACCGACCAGACCGAGGCCGAGGCTCCAGCTGCCGTGCCACCCCCCCAAGGCGGACCACCCGGCC CCTTCTTGGCACATACGCACGCCGGCCTCCAGGCTCCCGGCCCTCTGCCCGCCCCTGCTGGTGACAA AGGCGATCTGCTGCTGCAAGCCGTCCAGCAATCCTGCTTGGCTGACCACCTGCTGACCGCTAGCTGG GGAGCCGACCCCGTTCCCACCAAGGCTCCCGGAGAAGGACAGGAGGGCCTGCCCCTTACCGGCGCTT GCGCGGGGGGCCCTGGCTTGCCTGCCGGCGAACTGTACGGCTGGGCCGTGGAGACCACGCCTTCCCC CGAGGGCGTGTCCAGCCTGGACGATGATGACCTGGATCTGTGCCTGGACAGCGCCAACGACCTGTAC GATGACATCGAGTGCTTTTTGATGGAGCTGGAGCAGCCCGCC （構成的に活性な短縮型 Hu IRF7 1-246 + 468-503 プラス S475D/S476D/S477D/S479D/S483D/S487D；P036 エピトープタグなし）
158	ATGGCCCTGGCCCCCGAGAGAGCCGCGCCCAGAGTGCTGTTCGGCGAATGGCTGCTGGGCGAGATCA GCAGCGGCTGCTATGAGGGCCTGCAGTGGCTCGACGAAGCCAGGACGTGCTTCAGAGTCCCCTGGAA GCACTTCGCCAGAAAGGATCTGAGCGAGGCTGACGCCAGAATCTTCAAGGCCTGGGCAGTTGCGCGT GGGAGATGGCCCCCCAGCTCGCGGGGCGGCGGTCCCCCCCCTGAGGCCGAGACCGCCGAAAGAGCCG GATGGAAAACCAACTTTCGATGCGCCCTCAGAAGCACCAGACGGTTTGTGATGCTGAGAGATAACAG CGGCGACCCTGCAGACCCCCATAAAGTGTATGCCCTGAGCAGAGAGCTGTGTTGGCGAGAGGGCCCC GGAACCGACCAAACCGAGGCCGAGGCCCCCGCCGCCGTACCCCCCCCTCAAGGCCCCAGCCTGCTG CTCTGACCACGGGAGAAGCCGCCGCTCCTGAGAGCCCCCACCAAGCCGAGCCCTATCTGAGCCCTAG CCCCAGCGCCTGCACCGCCGTGCAGGAGCCCTCACCGGGCGCCCTAGACGTGACCATCATGTACAAG GGGCGCACGGTGCTGCAAAAGGTGGTGGGCCACCCCAGCTGCACCTTCCTGTACGGCCCCCCCGACC CTGCCGTGAGAGCCACCGACCCCCAGCAAGTCGCCTTCCCCAGCCCCGCCGAGCTGCCCGACCAGAA GCAGCTGAGGTACACCGAGGAGTTGCTGAGACATGTGGCCCCCGGCTTGCACCTCGAGCTGAGAGGC CCGCAGCTCTGGGCCAGAAGAATGGGCAAGTGCAAGGTGTACTGGGAGGTGGGCGGCCCCCCCGGCA GCGCGAGCCCAAGCACCCCGGCCTGCCTGCTGCCTAGAAACTGCGACACCCCTATCTTCGACTTCAG AGTATTTTTCCAGGAGCTGGTCGAGTTCAGGGCCAGACAGCGTAGAGGCAGCCCCAGATACACCATC TACCTTGGATTCGGCCAGGACCTGAGCGCCGGCAGACCCAAAGAGAAGTCCCTGGTACTGGTGAAGC

10 20 30 40

【表１８－３１】

	TAGAGCCCTGGCTGTGTAGGGTGCATCTGGAAGGCACCCAAAGAGAGGGCGTAAGCTCGCTTGACAG CAGCAGCCTCAGCCTGTGCCTGAGCAGCGCTAACAGCTTATACGACGACATCGAGTGCTTCCTGATG GAGCTGGAACAACCCGCC （短縮型 Hu IRF7 1-151 + 247-503；P038 エピトープタグなし;ヌル変異）
159	ATGGGCGGCCCTCCCGGGCCTTTCCTGGCCCATACACACGCCGGCCTACAGGCTCCTGGCCCTCTGC CCGCCCCGGCCGGCGACAAGGGCGACCTCCTGCTGCAGGCCGTGCAGCAGTCCTGTCTGGCCGACCA CCTGCTGACTGCTAGCTGGGGCGCCGATCCCGTGCCCACCAAGGCCCCAGGAGAGGGGCAAGAGGGC CTGCCTCTAACCGGCGCATGCGCAGGTGGACCAGGCCTCCCCGCCGGCGAGCTGTATGGTTGGGCCG TGGAGACAACCCCCAGCCCCGGCCCGCAGCCTGCTGCGCTGACCACAGGCGAGGCCGCTGCCCCTGA GAGCCCCCACCAAGCTGAACCCTACCTGAGCCCCAGCCCCTCTGCCTGCACAGCGGTGCAGGAGCCC AGTCCCGGCGCCTTGGACGTGACCATCATGTATAAGGGCAGGACTGTGTTACAAAAGGTAGTGGGCC ACCCAAGTTGTACCTTTCTGTACGGGCCCCCCGACCCAGCCGTGCGCGCCACCGACCCCCAGCAGGT GGCCTTCCCCAGCCCCGCTGAGTTGCCCGATCAGAAACAACTCCGGTACACCGAGGAATTACTTAGA CATGTGGCTCCCGGCCTGCATCTGGAGCTTAGAGGTCCACAGTTGTGGGCCAGAAGAATGGGCAAGT GCAAGGTTTATTGGGAGGTCGGAGGCCCCCCGGGCAGCGCCAGCCCCAGCACCCCCGCCTGTCTTCT GCCCAGAAACTGCGACACCCCAATCTTCGATTTCAGAGTGTTTTTCCAGGAACTGGTGGAGTTCAGA GCAAGGCAAAGAAGAGGCAGCCCTAGATACACCATCTACCTGGGCTTTGGCCAAGACCTGAGCGCCG GCAGACCCAAGGAAAAATCCCTGGTCCTGGTGAAACTGGAGCCCTGGCTGTGCAGAGTCCACCTGGA GGGCACCCAGAGAGAGGGCGTGAGCAGCCTGGACTCGAGCAGCCTGTCCCTGTGTCTGAGCAGCGCG AATTCGCTATATGACGACATCGAATGCTTTCTGATGGAGCTGGAACAGCCCGCC （短縮型 Hu IRF7 152-503；P039 エピトープタグなし;ヌル変異）
160	ATGCCTCACAGCAGCCTCCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TCGTGCTTTTAAGCGCCTGCTTGGTGACCCTTTGGGGCTTGGGCGAGCCTCCAGAGCACACCTTGAG ATATTTGGTGCTCCACCTGGCCAGCCTTCAGCTGGGCTTGTTACTCAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCGTGTCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCCTTGCTTCTTCTCAGTATCTACTTCTACTACTCCCTGCCTAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCACTGCTCGGCCTCAGCCAGGCCCTGAACATCTTGTTG GGCTTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACATGGCCC ACGGATTGGCTTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGCGCGGCGCAGTGAGCCAGAGACTGTATATTCTG CTGCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACAGCATCTATGA GCTGCTCGAGAATGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTATAGTCAAGCTGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATTCTGGCTGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCCGACTGATCGC CTACCAGGAACCAGCCGACGACAGCAGCTTCAGTCTTTCTCAGGAGGTTCTTCGCCACTTGCGCCAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACCTCCGCAGTCCCTAGCACCAGCACCATGA GTCAGGAGCCGGAGCTATTAATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTTCCACTCCGAACCGACTTCAGCGC CACCAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCAGGTGACGTTGAGGAGAATCCGGGACCTATGACCGAGTAC AAGCTGGTGGTTGTGGGCGCCGACGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGCTGATCCAG （KRAS(G12D)25 量体_nt.STING(V155M)）
161	ATGACCGAGTACAAGCTAGTAGTCGTGGGCGCCGACGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTCACCATCCAGC

【表１８－３２】

	TAATCCAGGCCACCAACTTCAGCTTGCTCAAGCAGGCCGGCGACGTGGAGGAGAACCCAGGCCCTAT GCCTCACAGCAGCCTTCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCCTG GTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCTGAGCACACCCTGAGAT ATCTGGTGCTTCACCTGGCCAGTTTACAGCTGGGCCTGCTTCTTAACGGCGTGTGCAGCCTGGCCGA GGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCCTGCCTAGGC TGCCCTCTGAGAAGAGGCGCTCTGTTGCTACTTTCCATCTACTTCTACTACTCCCTGCCTAACGCCG TGGGCCCTCCTTTCACTTGGATGCTGGCGTTGCTGGGTCTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTTCTCGG TCTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACATGGCCCAC GGACTCGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAATCA GAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGCGGGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTATATACTTCT TCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACAAG CTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACTCCATTTATGAGC TGCTCGAGAATGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTGTT CGCCATGAGCCAGTACAGTCAGGCTGGATTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGTTC TGCAGGACACTGGAGGACATACTAGCAGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCAGACTGATTGCCT ACCAGGAGCCTGCGGACGACAGCTCCTTCAGTCTGAGTCAGGAGGTGTTGCGGCACTTACGCCAAGA AGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACTAGCGCTGTGCCTAGCACCAGCACAATGTCA CAGGAGCCGGAATTGCTAATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTCCCATTACGTACCGACTTCAGC (KRAS(G12D)25 量体_ct.STING(V155M))
162	ATGCCTCACAGCAGCCTTCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TAGTGCTCCTTAGCGCCTGCCTCGTGACCCTATGGGGCTTAGGCGAGCCTCCAGAGCACACCTTGAG ATACCTCGTCCTCCACCTGGCTAGTCTACAGCTGGGCCTTCTCCTCAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCGTGCCTGG GCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCACTGCTGTTACTCAGCATCTACTTCTACTACTCACTGCCAAACGC CGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCTTGCTCGGATTGAGCCAGGCCCTGAACATTTTACTG GGATTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAACATGGCCC ACGGCCTAGCTTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGCGTGGAGCGGTGAGCCAGAGACTGTATATCCTC CTGCCTCTGGACTGCGGAGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGCAACTCAATCTACGA GCTGTTGGAGAATGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCCCTCTGCAGACCCTG TTCGCCATGAGCCAGTACTCTCAGGCAGGCTTCAGCAGAGAGGACAGACTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGACATCCTGGCGGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAACTGCCGGCTTATCGC CTACCAGGAGCCAGCAGACGACAGCAGCTTCTCTCTCTCACAAGAGGTACTGCGCCATCTTCGCCAG GAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACATCCGCCGTACCTAGCACCAGCACCATGT CTCAGGAACCGGAACTGTTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCACTGCGCACCGACTTCAGCGC CACCAACTTCTCCCTACTGAAGCAAGCCGGTGACGTTGAAGAGAACCCTGGCCCTATGACCGAGTAC AAGCTGGTAGTAGTAGGCGCCGACGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTGACCATCCAGCTGATCCAGATGA CTGAATATAAGCTTGTCGTCGTGGGCGCAGATGGCGTTGGTAAGAGCGCACTTACAATTCAACTCAT TCAGATGACGGAGTATAAGCTGGTGGTGGTCGGAGCTGACGGCGTAGGCAAGAGTGCCCTTACTATT CAGCTAATTCAG (KRAS(G12D)25 量体^3_nt.STING(V155M))

【表１８－３３】

163	ATGACCGAGTACAAGCTTGTGGTGGTTGGCGCCGACGGCGTGGGCAAGAGCGCCTTAACCATCCAGC TTATCCAGATGACAGAGTATAAGCTAGTGGTGGTCGGCGCAGACGGAGTGGGAAAGAGTGCATTAAC TATTCAACTCATCCAAATGACCGAATACAAGCTAGTAGTTGTGGGTGCAGATGGCGTCGGCAAGTCT GCACTGACAATTCAGCTCATCCAGGCCACCAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCCGGCGACGTGGAGG AGAACCCTGGCCCTATGCCTCACAGCAGCCTGCACCCTAGCATCCCTTGCCCTAGAGGCCACGGCGC CCAGAAGGCCGCCCTGGTGCTGCTGAGCGCCTGCCTGGTGACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCTCCT GAGCACACCCTGAGATACCTAGTTTTGCACCTGGCTTCTCTGCAGCTGGGCCTACTGCTCAACGGCG TGTGCAGCCTGGCCGAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATACAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGT GAGAGCATGCTTAGGCTGCCCTCTGAGAAGAGGCGCTCTGCTCCTCTTGTCCATCTACTTCTACTAC TCGCTACCTAACGCCGTGGGCCCTCCTTTCACCTGGATGCTGGCCCTCTTGGGATTAAGCCAGGCCC TGAACATCTTGCTGGGACTGAAGGGCCTGGCCCCTGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAA CTTCAACATGGCCCACGGACTCGCTTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCTGAG CTGCAGGCCAGAATCAGAACCTACAACCAGCACTACAACAACCTGCTGCGGGGAGCAGTGAGCCAGA GACTGTATATTCTGCTCCCTCTGGACTGCGGCGTGCCTGACAACCTGAGCATGGCCGACCCTAACAT CAGATTCCTGGACAAGCTGCCTCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGACAGAGTGTACAGC AACAGCATTTACGAGCTGCTGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACCC CTCTGCAGACCCTGTTCGCCATGAGCCAGTACTCCCAGGCAGGATTCAGCAGAGAGGACAGACTGGA GCAGGCCAAGCTGTTCTGCCGTACTCTTGAGGACATCCTTGCAGACGCCCCTGAGAGCCAGAACAAC TGCCGGTTGATTGCCTACCAGGAACCGGCAGACGACAGCTCATTCTCCTTGTCTCAGGAGGTCCTTA GACACCTGCGGCAGGAGGAGAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCAGCCTGAAGACATCCGCCGTGCCTAG CACGTCTACCATGTCCCAGGAGCCGGAACTGCTAATCAGCGGCATGGAGAAGCCTCTGCCTCTCAGG ACCGACTTCAGC (KRAS(G12D)25 量体^3_ct.STING(V155M))
164	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNGVCSLA EELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILL GLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYIL LPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDkLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQ EEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFST (Hu STING (R284K) var;エピトープタグなし)
165	ATGCCCCATAGCAGCCTGCACCCCAGCATCCCCTGCCCCAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC TGGTCCTGCTGAGCGCATGCCTGGTCACCCTGTGGGGCCTGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCTGAG ATACCTGGTGCTGCACCTCGCCAGCCTGCAGCTGGGCCTGCTGCTGAACGGCGTGTGCAGCCTGGCC GAGGAGCTGAGACACATCCACAGCAGATATAGAGGCAGCTACTGGAGAACCGTGAGAGCTTGCCTCG GCTGCCCCCTGAGAAGAGGCGCCCTGCTGCTGCTGAGCATCTACTTTTACTACAGCCTGCCCAACGC TGTGGGCCCCCCTTTCACGTGGATGCTCGCCCTGCTGGGACTGAGCCAGGCCCTGAACATCCTGCTG GGCCTTAAGGGCCTAGCCCCCGCCGAGATCAGCGCCGTGTGCGAGAAGGGCAACTTCAATGTGGCCC ACGGCCTGGCCTGGAGCTACTACATCGGCTACCTGAGACTGATCCTGCCCGAGCTGCAGGCCAGAAT CAGAACCTACAATCAGCACTACAACAACCTGCTGAGAGGCGCCGTGAGCCAGAGACTGTACATCCTG CTGCCCCTGGACTGCGGCGTGCCCGACAACCTCAGCATGGCCGACCCCAACATCAGATTCCTGGACA AGCTGCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCATCAAGGATCGCGTGTACAGCAACAGCATCTACGA GCTGCTGGAAAACGGCCAGAGAGCCGGAACCTGCGTGCTGGAGTACGCCACACCCCTGCAGACCCTG

10 20 30 40

【表１８－３４】

	TTCGCCATGAGCCAGTACAGCCAGGCCGGCTTCAGCAGAGAGGACAAGCTGGAGCAGGCCAAGCTGT TCTGCAGAACCCTGGAGGATATCCTCGCCGACGCCCCCGAGAGCCAGAACAACTGCAGGCTGATCGC GTACCAGGAGCCCGCTGACGACAGCAGCTTTAGCCTGAGCCAGGAGGTGCTGAGACATCTGCGTCAA GAGGAAAAGGAGGAGGTGACCGTGGGCTCCCTGAAGACCAGCGCCGTGCCCAGCACCAGCACCATGA GCCAGGAGCCCGAGCTGCTGATCAGCGGCATGGAGAAGCCACTGCCCCTCAGAACCGACTTCAGCAC C (Hu STING (R284K) var;エピトープタグなし)
166	MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAGQEEYSAM RDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVKDSEDVPMVLVGNKCDLPSRTVDTKQAQDLA RSYGIPFIETSAKTRQRVEDAFYTLVREIRQYRLKKISKEEKTPGCVKIKKC ヒト KRAS sp/P01116[1-186]
167	5’ $^{7Me}G_{ppp}G_{2',OMe}$GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACCAUGACCGAG UACAAGCUCGUGGUCGUCGGCGCCGACGGGGUAGGCAAGUCCGCUCUGACCAUUCAGCUCAUCCAGA UGACGGAGUACAAACUCGUGGUAGUGGGAGCCGUGGGUGUGGGCAAGAGCGCGCUCACCAUCCAACU CAUCCAAAUGACCGAAUAUAAACUCGUCGUGGUGGGAGCCGGCGACGUGGGAAAGAGCGCCCUUACC AUCCAGUUAAUCCAGAUGACAGAAUACAAGCUGGUGGUGGUCGGUGCCUGCGGCGUGGGUAAGUCCG CCCUGACAAUCCAGCUGAUCCAGUGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUG GGCCUCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUUCCUGCACCCGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAG UGGGCGGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAUCUAG$_{OH}$3’ ここで： A,C G & U = それぞれ、AMP、CMP、GMP & N1-ΨUMP である；Me = メチル；p = 無機リン酸塩 (KRAS コンカテマー mRNA 配列；CX-012908)
168	5’ $^{7Me}G_{ppp}G_{2',OMe}$GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACCAUGCCCCAC AGUAGCCUCCACCCCAGCAUCCCCUGCCCCAGAGGCCACGGCGCACAGAAGGCCGCCCUGGUGCUGC UGAGCGCCUGUCUGGUGACCCUGUGGGGUCUGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCUGCGGUACCUCGU GCUGCAUCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCCGAAGAGCUG AGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCUCCUACUGGAGAACCGUCAGAGCCUGCCUCGGCUGUCCCC UGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUCCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCCAACGCCGUGGGCCC CCCCUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUGGGCCUGAAG GGCUUGGCCCCCGCCGAGAUCUCCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACAUGGCCCAUGGCCUUG CCUGGUCCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCCGAGCUGCAGGCCAGAAUCAGAACCUA CAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAAAGACUGUACAUCCUGCUGCCCCUG GACUGCGGCGUGCCCGACAACCUUAGCAUGGCCGACCCCAACAUCAGAUUCCUGGACAAGCUGCCCC AGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGAGCUGCUGGA GAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCCCUGCAGACCCUGUUCGCCAUG AGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAAGCCAAGCUGUUCUGCAGAA CCCUGGAGGACAUCCUGGCGGACGCCCCCGAGAGCCAAAACAACUGCAGACUGAUCGCCUACCAGGA GCCCGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAAGUGCUGAGACACCUGAGACAGGAAGAGAAG GAGGAGGUGACCGUGGGAAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCCAGCACCAGCACCAUGAGCCAGGAGC CCGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCCCUGCCCCUGAGAACCGACUUCAGCUGAUAAUAGGC

【表１８－３５】

	UGGAGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUUCCUGCAC CCGUACCCCCCAAACACCAUUGUCACACUCCAGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGCAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAUCUAG$_{OH}$3’ ここで: A、C G & U = それぞれ、AMP、CMP、GMP & N1-ΨUMP である;Me = メチル；p = 無機リン酸塩；下線 = miR-122 結合部位 (STING mRNA 配列；CX-012871)
169	AUGACCGAGUACAAGCUCGUGGUCGUCGGCGCCGACGGGGUAGGCAAGUCCGCUCUGACCAUUCAGC UCAUCCAGAUGACGGAGUACAAACUCGUGGUAGUGGGAGCCGUGGGUGUGGGCAAGAGCGCGCUCAC CAUCCAACUCAUCCAAAUGACCGAAUAUAAACUCGUCGUGGUGGGAGCCGGCGACGUGGGAAAGAGC GCCCUUACCAUCCAGUUAAUCCAGAUGACAGAAUACAAGCUGGUGGUGGUCGGUGCCUGCGGCGUGG GUAAGUCCGCCCUGACAAUCCAGCUGAUCCAG (KRAS(G12D G12V G13D G12C) 100 量体 “4MUT” nt. seq)
170	AUGCCCCACAGUAGCCUCCACCCCAGCAUCCCCUGCCCCAGAGGCCACGGCGCACAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGUCUGGUGACCCUGUGGGGUCUGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCUGCG GUACCUCGUGCUGCAUCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAAGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCUCCUACUGGAGAACCGUCAGAGCCUGCCUCG GCUGUCCCCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUCCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCCAACGC CGUGGGCCCCCCCUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCUUGGCCCCCGCCGAGAUCUCCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACAUGGCCC AUGGCCUUGCCUGGUCCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCCGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAAAGACUGUACAUCCUG CUGCCCCUGGACUGCGGCGUGCCCGACAACCUUAGCAUGGCCGACCCCAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCCCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAAGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCGGACGCCCCCGAGAGCCAAAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGGAGCCCGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAAGUGCUGAGACACCUGAGACAG GAAGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGAAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCCAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCCGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCCCUGCCCCUGAGAACCGACUUCAGC (huSTING(V155M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列)
171	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUAAACUAUCAAACGCCAUUAUCACACU AAAUAGCUACUGCUAGGC (mir-122)
172	AACGCCAUUAUCACACUAAAUA (mir-122-3p_
173	UAUUUAGUGUGAUAAUGGCGUU (mir-122-3p 結合部位)
174	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG (mir-122-5p)
175	CAAACACCAUUGUCACACUCCA (mir-122-5p 結合部位)
176	GGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC (5’ UTR)
177	CCGCCGCCGCCG

【表１８－３６】

178	CCGCCGCCGCCGCCG
179	CCCCGGCGCC (V1)
180	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA (5’ UTR)
181	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGACCCCGGCGCCGCCACC (V1-UTR)
182	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGACCCCGGCGCCACC (V2-UTR)
183	MKLVVVGACGVGKSAMKLVVVGACGVGKSAMKLVVVGACGVGKSA (KRAS G12C 15 量体^3)
184	ATGACCGAGTACAAGCTCGTGGTTGTTGGCGCCTGCGGCGTGGGCAAGAGCGCCCTCACCATCCAGC TCATCCAGATGACAGAGTATAAGTTAGTCGTTGTCGGAGCTTGCGGAGTTGGAAAGTCGGCGCTCAC CATTCAACTCATACAAATGACAGAATATAAGTTAGTGGTGGTGGGTGCGTGTGGCGTTGGCAAGAGT GCGCTTACTATCCAGCTCATTCAG (KRAS G12C 25 量体^3 ヌクレオチド配列)
185	UCAAGCUUUUGGACCCUCGUACAGAAGCUAAUACGACUCACUAUAGGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAG AGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC (5’ UTR)
186	UGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCCAGCCCCUCCUCC CCUUCCUGCACCCGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC (3’ UTR)
187	UGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCCAAACACCAUUGUCACACU CCAUCCCCCCAGCCCCUCCUCCCCCUUCCUCCAUAAAGUAGGAAACACUACAUGCACCCGUACCCCCG UGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC (3’ UTR mi-122 及び mi-142.3p 部位を有する)
188	GGAAGCGGAGCUACUAACUUCAGCCUGCUGAAGCAGGCUGGAGACGUGGAGGAGAACCCUGGACCU (2A ペプチドをコードするヌクレオチド配列)
189	UCCGGACUCAGAUCCGGGGAUCUCAAAAUUGUCGCUCCUGUCAAACAAACUCUUAACUUUGAUUUAC UCAAACUGGCUGGGGAUGUAGAAAGCAAUCCAGGUCCACUC (2A ペプチドをコードするヌクレオチド配列)
190	AUGACCGAGUACAAGCUGGUGGUGGUGGGCGCCGACGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUGACCAUCCAGC UGAUCCAG (KRAS G12D 25 量体ヌクレオチド配列)
191	AUGACCGAGUACAAGCUGGUGGUGGUGGGCGCCGUGGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUGACCAUCCAGC UGAUCCAG (KRAS G12V 25 量体ヌクレオチド配列)
192	AUGACCGAGUACAAGCUGGUGGUGGUGGGCGCCGGCGACGUGGGCAAGAGCGCCCUGACCAUCCAGC UGAUCCAG (KRAS G13D 25 量体ヌクレオチド配列)
193	AUGACCGAGUACAAGUUAGUGGUUGUGGGCGCCGACGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUCACCAUCCAGC UUAUCCAGAUGACGGAAUAUAAGUUAGUAGUAGUGGGAGCCGACGGUGUCGGCAAGUCCGCUUUGAC CAUUCAACUUAUUCAGAUGACAGAGUAUAAGCUGGUCGUUGUAGGCGCAGACGGCGUUGGAAAGUCG GCACUGACGAUCCAGUUGAUCCAG (KRAS G12D 25 量体^3 ヌクレオチド配列)
194	AUGACCGAGUACAAGCUCGUCGUGGUGGGCGCCGUGGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUAACCAUCCAGU

【表１８－３７】

	UGAUCCAGAUGACCGAAUAUAAGCUCGUGGUAGUCGGAGCGGUGGGCGUUGGCAAGUCAGCGCUAAC AAUACAACUAAUCCAAAUGACCGAAUACAAGCUAGUUGUAGUCGGUGCCGUCGGCGUUGGAAAGUCA GCCCUUACAAUUCAGCUCAUUCAG (KRAS G12V 25量体^3ヌクレオチド配列)
195	AUGACCGAGUACAAGCUCGUAGUGGUUGGCGCCGGCGACGUGGGCAAGAGCGCCCUAACCAUCCAGC UCAUCCAGAUGACAGAAUAUAAGCUUGUGGUUGUGGGAGCAGGAGACGUGGGAAAGAGUGCGUUGAC GAUUCAACUCAUACAGAUGACCGAAUACAAGUUGGUGGUGGUCGGCGCAGGUGACGUUGGUAAGUCU GCACUAACUAUACAACUGAUCCAG (KRAS G13D 25量体^3ヌクレオチド配列)
196	AUGACCGAGUACAAGCUGGUGGUGGUGGGCGCCUGCGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUGACCAUCCAGC UGAUCCAG (KRAS G12C 25量体ヌクレオチド配列)
197	AUGACCGAGUACAAGCUCGUGGUUGUUGGCGCCUGCGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUCACCAUCCAGC UCAUCCAGAUGACAGAGUAUAAGUUAGUCGUUGUCGGAGCUUGCGGAGUUGGAAAGUCGGCGCUCAC CAUUCAACUCAUACAAAUGACAGAAUAUAAGUUAGUGGUGGUGGGUGCGUGUGGCGUUGGCAAGAGU GCGCUUACUAUCCAGCUCAUUCAG (KRAS G12C 25量体^3ヌクレオチド配列)
198	AUGACCGAGUACAAGCUGGUGGUGGUGGGCGCCGGCGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUGACCAUCCAGC UGAUCCAG (KRAS WT 25量体ヌクレオチド配列)
199	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAGAGCCACC (5’ UTR配列；プロモーターなし)
200	AUGACCGAGUACAAGCUCGUUGUAGUCGGCGCCGACGGCGUGGGCAAGAGCGCCUUGACCAUCCAGU UGAUCCAGAUGACCGAAUAUAAGUUGGUGGUGGUAGGCGCAGUGGGAGUUGGCAAGUCAGCACUCAC AAUUCAGCUCAUUCAAAUGACAGAAUACAAGUUAGUCGUUGUAGGAGCAGGCGACGUCGGCAAGAGU GCCUUAACCAUUCAACUAAUCCAG (KRAS(G12D G12V G13D) 75量体 “3MUT” nt. seq)
201	AUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACGUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACACCCUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGGAGCCUGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACACCUGAGACAG

【表１８－３８】

	GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCUAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCUGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUGAGAACCGACUUCAGC （Hu STING(R284T);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
202	AUGCCCCACAGCAGCCUGCACCCCUCCAUCCCCUGUCCCAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCUUAUGGGGCCUGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUCCUGCACCUGGCCAGCCUCCAGCUGGGCCUGCUGCUCAACGGCGUGUGUAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GUUGCCCACUGAGAAGAGGAGCUCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACUCGCUGCCCAACGC UGUGGGCCCCCCCUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGUCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUCCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCCGCCGAGAUAAGCGCCGUUUGCGAGAAGGGCAACUUCAACGUGGCCC AUGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACUUACGCCUGAUCCUGCCCGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCAUUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUAUAUCCUG CUGCCCCUGGACUGCGGCGUGCCCGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCCAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUCCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGAAUCAAAGACAGAGUGUAUAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUACUGGAGUACGCCACCCCCUUGCAGACCCUG UUUGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAUGCUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCCGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAAGAGCCCGCCGACGACAGCAGCUUCAGCUUAAGCCAGGAGGUGCUGAGACAUCUGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUCAAGACCAGCGCUGUGCCCUCUACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCCGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCCCUGCCCCUGAGAACAGACUUCAGC （hu STING （R284M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
203	AUGCCCCAUAGCAGCCUGCACCCCAGCAUCCCCUGCCCCAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUCCUGCUGAGCGCAUGCCUGGUCACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUCGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUAUAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCUUGCCUCG GCUGCCCCCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUUUACUACAGCCUGCCCAACGC UGUGGGCCCCCCUUUCACGUGGAUGCUCGCCCUGCUGGGACUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUUAAGGGCCUAGCCCCCGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAAUGUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCCGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAAUCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCCCUGGACUGCGGCGUGCCCGACAACCUCAGCAUGGCCGACCCCAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGAUCGCGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAAAACGGCCAGAGAGCCGGAACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACACCCCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAAGCUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGAUAUCCUCGCCGACGCCCCCGAGAGCCAGAACAACUGCAGGCUGAUCGC GUACCAGGAGCCCGCUGACGACAGCAGCUUUAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACAUCUGCGUCAA GAGGAAAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCUCCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCCAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCCGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCACUGCCCCUCAGAACCGACUUCAGC （Hu STING （R284K);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
204	AUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC

【表１８－３９】

	GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAGCGUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGGAGCCUGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACACCUGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCUAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCUGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUGAGAACCGACUUCAGC （Hu STING(N154S);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
205	AUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCCUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACGUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGGAGCCUGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACACCUGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCUAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCUGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUGAGAACCGACUUCAGC （Hu STING(V147L);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
206	AUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACGUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG

【表１８－４０】

	CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGCAGCCUGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACACCUGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCUAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCUGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUGAGAACCGACUUCAGC （Hu STING（E315Q);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
207	AUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACGUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGGAGCCUGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACACCUGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCUAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCUGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUGGCCACCGACUUCAGC （Hu STING（R375A);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
208	AUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCCUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAGCAUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGGAGCCUGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACACCUGAGACAG

【表１８－４１】

	GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCUAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCUGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUGAGAACCGACUUCAGC （Hu STING(V147L/N154S/V155M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
209	AUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUGGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUCUACUACAGCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUGCUGGGCCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCCUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAGCAUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAUGCUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCCGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUCGC CUACCAGGAGCCUGCCGACGACAGCAGCUUCAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACACCUGAGACAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCUAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCUGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUGAGAACCGACUUCAGC （Hu STING(R284M/V147L/N154S/V155M);エピトープタグなし;ヌクレオチド配列）
210	UGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCUAGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCCAGCCCCUCCUCC CCUUCCUGCACCCGUACCCCCCAAACACCAUUGUCACACUCCAGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGU GGGCGGC （miR122 結合部位を含む STING V155M 構築物中で用いられる 3’ UTR）
211	AUGGAGACCCCCAAGCCUAGAAUCCUGCCCUGGCUGGUGAGCCAGCUGGACCUGGGCCAGCUGGAGG GCGUAGCCUGGCUGGACGAGAGCAGAACCAGAUUCAGAAUCCCCUGGAAGCACGGCCUGAGACAAGA CGCCCAGAUGGCCGACUUCGGCAUCUUCCAGGCCUGGGCCGAGGCCAGCGGCGCCUACACCCCUGGC AAGGAUAAGCCCGAUGUGAGCACCUGGAAGAGAAACUUCAGAAGCGCCCUGAACAGAAAGGAGGUGC UGAGACUGGCCGCCGACAAUAGCAAGGACCCCUACGACCCCCACAAGGUGUACGAGUUCGUUACCCC CGGCGCCAGGGACUUCGUGCACCUGGGCGCCAGCCCCGACACCAACGGCAAGAGCAGCCUGCCCCAC AGCCAGGAGAACCUGCCCAAGCUGUUCGAUGGCCUGAUCCUGGGCCCCCUGAAGGACGAGGGCAGCA GCGACCUGGCCAUCGUGAGCGACCCUAGCCAGCAGCUGCCCUCCCCCAACGUGAACAACUUCCUGAA CCCCGCCCCCCAGGAGAACCCCCUGAAGCAACUGCUGGCCGAGGAGCAGUGGGAGUUCGAGGUGACC GCCUUCUACAGAGGCAGACAGGUGUUCCAGCAGACCCUGUUCUGCCCCGGCGGCCUGAGACUGGUAG GCAGCACCGCUGACAUGACCCUGCCCUGGCAGCCCGUGACCCUGCCCGACCCCGAAGGCUUUCUGAC CGACAAGCUGGUGAAGGAGUACGUCGGCCAAGUGCUGAAGGGCCUGGGCAACGGCCUGGCCCUGUGG CAGGCCGGCCAGUGCCUGUGGGCCCAGAGACUCGGCCACAGCCACGCCUUCUGGGCCCUGGGCGAGG AACUCCUGCCCGAUAGCGGCAGAGGCCCCGACGGCGAGGUGCACAAGGACAAGGACGGCGCCGUGUU CGACCUGCGCCCCUUCGUGGCCGACCUGAUCGCCUUCAUGGAGGGCAGCGGCCACAGCCCCAGAUAU ACCCUGUGGUUCUGCAUGGGCGAGAUGUGGCCCCAGGACCAGCCCUGGGUGAAGAGACUGGUGAUGG

【表１８－４２】

	UGAAGGUGGUGCCCACCUGCCUGAAAGAGCUGCUGGAGAUGGCCAGAGAGGGCGGCGCCAGCUCCCU GAAAACCGUGGACCUGCACAUUGACAACAGCCAGCCCAUCAGCCUGACCAGCGACCAGUACAAGGCC UACCUGCAGGACCUGGUGGAGGACAUGGACUUCCAGGCCACCGGCAACAUC （スーパーマウス IRF3 S396D;エピトープタグなし）
212	AUGGGCACCCCCAAGCCCAGAAUCCUGCCCUGGCUGGUGAGCCAGCUGGACCUGGGCCAGCUGGAGG GAGUGGCCUGGGUGAACAAGAGCAGAACCAGAUUCAGAAUCCCCUGGAAGCACGGCCUCAGACAGGA CGCCCAGCAGGAGGACUUCGGCAUUUUUCAGGCUUGGGCCGAGGCCACCGGCGCCUACGUGCCCGGC AGAGACAAGCCCGACCUGCCCACCUGGAAAAGAAACUUCAGAAGCGCCUUGAAUAGAAAGGAGGGCC UGAGACUGGCCGAGGACAGAAGCAAGGACCCCCACGACCCUCACAAGAUCUACGAGUUCGUGAAUAG CGGCGUGGGCGACUUUAGCCAGCCCGACACCAGCCCCGACACCAACGGCGGCGGCAGCACCAGCGAC ACGCAGGAGGACAUCCUGGAUGAACUGCUGGGCAACAUGGUGCUGGCCCCCCUGCCCGAUCCCGGCC CCCCUUCGCUUGCCGUGGCCCCCGAGCCCUGCCCCCAGCCCCUGAGAAGCCCCUCUCUGGAUAACCC CACCCCCUUCCCCAACCUGGGCCCCAGCGAGAAUCCACUGAAGAGACUUCUGGUCCCCGGCGAGGAG UGGGAGUUCGAGGUGACCGCCUUCUACAGAGGCAGACAGGUGUUCCAGCAGACCAUCAGCUGCCCCG AAGGCCUGAGAUUAGUGGGCAGCGAAGUGGGCGACAGGACCCUGCCCGGGUGGCCCGUGACCCUGCC CGAUCCCGGCAUGAGCCUGACCGACAGAGGUGUGAUGAGCUACGUGAGACACGUGCUGAGCUGCCUG GGCGGCGGCCUGGCACUGUGGAGAGCCGGCCAGUGGCUGUGGGCCCAGAGACUGGGCCACUGCCACA CCUACUGGGCCGUGAGCGAGGAGCUGCUGCCCAACAGCGGCCACGGCCCCGACGGCGAGGUGCCCAA GGACAAGGAAGGGGGCGUGUUCGACCUGGGCCCCUUCAUCGUAGACCUGAUCACCUUUACCGAGGGC AGCGGCAGGAGCCCCAGAUACGCCCUGUGGUUCUGCGUGGGCGAAAGCUGGCCCCAGGACCAGCCCU GGACCAAGAGACUGGUGAUGGUGAAGGUAGUGCCCACCUGCCUGAGAGCCUUAGUGGAGAUGGCCAG AGUGGGCGGGGCCAGCAGCCUGGAGAACACCGUGGAUCUUCACAUCGACAACAGCCACCCCCUGAGC CUGACCAGCGACCAGUACAAGGCCUACCUGCAGGACCUGGUGGAGGGCAUGGACUUCCAGGGCCCCG GCGAGACC （スーパーヒト IRF3 S396D;エピトープタグなし）
213	AUGGCGCUGGCCCCCGAAAGAGCCGCCCCCAGAGUCCUCUUCGGCGAAUGGCUCCUUGGCGAAAUUU CGUCGGGCUGCUACGAGGGCUUACAAUGGCUGGAUGAGGCGAGAACCUGUUUCAGGGUGCCCUGGAA ACACUUCGCCAGAAAGGAUCUAAGCGAAGCAGAUGCUAGAAUUUUUAAGGCUUGGGCCGUGGCCAGG GGAAGAUGGCCCCCCUCGAGCAGAGGCGGCGGCCCUCCCCCCGAGGCAGAAACGGCCGAGAGAGCCG GAUGGAAAACCAAUUUCAGAUGCGCCCUGAGAUCUACAAGAAGAUUCGUGAUGCUUAGAGACAACAG CGGAGAUCCCGCCGAUCCCCAUAAGGUGUAUGCCCUGUCCCGGGAGCUGUGCUGGAGGGAAGGGCCU GGCACUGACCAGACCGAAGCCGAAGCCCCCGCGGCCGUGCCGCCGCCCCAAGGAGGCCCACCAGGCC CUUUCCUCGCUCACACCCACGCCGGUCUGCAAGCCCCGGGACCUCUACCUGCCCCUGCCGGCGAUAA AGGCGACCUGUUGCUGCAGGCCGUCCAACAGAGCUGCCUGGCCGAUCAUCUGCUCACAGCCAGCUGG GGCGCUGACCCCGUCCCAACAAAGGCCCCCGGUGAGGGCCAAGAAGGCCUGCCUCUGACCGGCGCCU GUGCCGGCGGCCCUGGCCUGCCUGCUGGCGAGCUGUACGGAUGGGCUGUCGAAACCACUCCCUCCCC CGGCCCCCAACCUGCGGCCCUGACAACCGGCGAGGCAGCCGCACCCGAAAGCCCCCACCAGGCCGAA CCCUACCUCAGUCCCAGCCCCUCCGCCUGCACCGCUGUGCAGGAGCCCAGCCCCGGUGCUCUGGACG UAACAAUCAUGUACAAAGGCAGAACCGUGCUUCAGAAGGUGGUUGGACACCCCUCCUGUACUUUUCU CUACGGCCCCCCCGACCCUGCCGUGAGAGCUACCGACCCGCAACAGGUGGCCUUUCCCUCGCCCGCC GAACUGCCCGAUCAAAAACAGCUGAGAUACACCGAGGAGCUGCUGAGACACGUGGCGCCGGGCUUAC ACCUAGAGUUGAGAGGCCCCCAACUCUGGGCCAGACGCAUGGGCAAGUGUAAGGUGUACUGGGAGGU

10 20 30 40

【表１８－４３】

	CGGGGGCCCUCCCGGCUCUGCCAGCCCCAGCACCCCUGCUUGUCUCUUGCCCAGAAACUGUGAUACC CCCAUCUUCGACUUCCGUGUAUUUUUCCAGGAACUGGUCGAGUUUAGAGCCAGACAGAGACGAGGCA GCCCCAGAUAUACAAUCUACCUCGGCUUCGGCCAGGACCUGAGUGCCGGCAGACCUAAGGAGAAGUC GCUGGUCCUAGUGAAGUUAGAGCCCUGGCUAUGUAGAGUGCACCUGGAGGGCACCCAGAGAGAAGGA GUGAGCAGCCUGGACAGCAGCAGCCUGAGUCUGUGCCUGAGCUCCGCCAACUCGCUGUAUGAUGACA UCGAGUGUUUCCUCAUGGAGCUGGAGCAGCCCGCC (野性型 Hu IRF7 アイソフォーム A；P037 エピトープタグなし)
214	AUGGCCCUUGCCCCUGAGCGGGCCGCCCCCAGAGUGUUAUUCGGCGAGUGGCUGCUGGGCGAGAUCA GCAGCGGCUGCUACGAGGGACUGCAGUGGCUGGACGAGGCUAGAACCUGCUUCAGAGUGCCCUGGAA GCAUUUCGCCAGAAAAGACCUGAGCGAGGCUGAUGCUAGAAUCUUCAAAGCCUGGGCUGUGGCCCGA GGAAGAUGGCCCCCCAGCAGCAGAGGAGGCGGCCCUCCUCCCGAGGCCGAAACCGCAGAGCGUGCUG GCUGGAAAACCAACUUUAGGUGUGCCCUGAGGAGCACCAGAAGAUUCGUUAUGCUCAGAGACAACAG CGGGGACCCCGCCGACCCGCACAAGGUGUACGCCUUAAGUAGGGAGCUGUGCUGGAGAGAGGGACCG GGGACCGACCAAACCGAGGCUGAGGCGCCCGCCGCCGUUCCACCUCCCCAGGGUGGUCCCCCAGGGC CCUUUCUGGCACACACCCACGCCGGAUUACAGGCGCCAGGGCCCUUACCCGCCCCCGCCGGAGACAA AGGCGACCUCCUGCUGCAAGCCGUGCAACAAAGCUGCCUGGCCGAUCACUUACUAACCGCUAGCUGG GGCGCCGAUCCUGUUCCCACCAAGGCCCCCGGUGAAGGGCAAGAAGGACUGCCCUUAACCGGCGCCU GUGCCGGAGGCCCUGGUCUGCCAGCCGGCGAGCUGUACGGUUGGGCUGUCGAAACAACACCCAGUCC GGGCCCACAGCCUGCCGCUCUGACCACCGGCGAAGCCGCCGCCCCCGAGAGCCCACACCAGGCUGAA CCCUACCUGAGCCCCAGCCCCAGCGCCUGCACCGCUGUGCAGGAGCCUAGCCCCGGCGCUCUUGAUG UGACAAUAAUGUACAAGGGCAGGACCGUGCUGCAAAAGGUCGUGGGCCAUCCGUCGUGUACCUUUCU GUACGGCCCUCCAGACCCCGCGGUUAGAGCCACCGACCCCCAGCAAGUCGCCUUCCCCUCCCCCGCC GAACUGCCCGACCAAAAGCAGCUGCGGUACACAGAAGAACUACUUAGACACGUGGCCCCCGGUCUGC ACUUGGAGCUGAGAGGCCCCCAGCUCUGGGCCAGAAGAAUGGGCAAGUGCAAAGUGUACUGGGAGGU GGGCGGCCCACCCGGCUCAGCUUCGCCCUCCACACCCGCAUGCCUGCUGCCCAGAAAUUGCGACACG CCCAUCUUCGAUUUUAGAGUGUUCUUUCAGGAGUUGGUGGAGUUCAGAGCCAGACAAAGACGCGGCA GCCCCAGAUACACCAUUUACCUCGGCUUCGGCCAGGACCUCAGCGCUGGCAGACCCAAGGAGAAGAG UCUGGUCCUCGUGAAGCUGGAGCCCUGGCUGUGCAGAGUGCACCUGGAGGGCACCCAGCGUGAAGGC GUGAGCAGCCUGGAUUCAAGCGACCUGGACCUAUGCCUAAGCAGCGCUAACUCACUGUACGACGAUA UCGAAUGCUUCCUGAUGGAACUGGAGCAGCCUGCC (構成的に活性な Hu IRF7 S477D/S479D；P033 エピトープタグなし)
215	AUGGCCCUGGCACCCGAGAGGGCCGCCCCCAGGGUGCUCUUCGGCGAGUGGUUACUAGGCGAAAUUA GCAGCGGCUGCUAUGAAGGCCUUCAGUGGCUGGACGAGGCCAGAACCUGCUUUAGAGUUCCCUGGAA GCACUUCGCCCGGAAAGAUCUCUCUGAAGCCGACGCCAGAAUAUUCAAGGCCUGGGCUGUCGCCAGG GGCAGGUGGCCACCCUCCAGCCGAGGUGGCGGCCCUCCCCCUGAGGCUGAGACUGCGGAAAGGGCGG GCUGGAAGACCAAUUUCAGAUGCGCUCUGAGAAGCACCAGACGUUUUGUGAUGCUAAGAGACAAUAG CGGCGAUCCCGCCGACCCCCAUAAGGUAUACGCACUGAGCCGAGAGCUCUGUUGGAGAGAAGGCCCC GGCACCGACCAGACCGAGGCUGAAGCCCCUGCAGCCGUGCCCCCCCCUCAAGGCGGGCCCCCCGGCC CCUUCCUGGCCCAUACCCAUGCAGGGUUACAAGCACCCGGGCCCUUGCCCGCCCCAGCGGGAGACAA GGGCGACCUCUUACUGCAGGCCGUGCAACAAAGUUGUCUGGCGGACCACCUGCUGACCGCAUCAUGG GGCGCGGAUCCUGUGCCCACCAAGGCACCCGGCGAAGGCCAGGAGGGCCUGCCCUUGACCGGCGCCU GCGCUGGCGGACCCGGCCUACCUGCUGGCGAACUGUAUGGCUGGGCCGUAGAGACGACUCCCAGCCC

10 20 30 40

【表１８－４４】

	UGGCCCACAACCCGCGGCUUUGACCACCGGCGAAGCCGCCGCCCCCGAGUCUCCGCACCAGGCCGAG CCUUACCUCAGCCCAAGCCCUAGCGCCUGCACCGCCGUGCAAGAACCUAGCCCCGGAGCCCUGGAUG UGACAAUCAUGUACAAGGGUAGAACCGUACUGCAAAAGGUGGUGGGUCAUCCCAGCUGCACCUUUCU UUACGGCCCACCCGACCCUGCCGUGCGAGCCACAGACCCACAACAGGUCGCCUUCCCAAGCCCCGCC GAACUGCCCGAUCAGAAACAGCUGAGAUAUACAGAGGAGCUUCUGCGGCACGUAGCUCCCGGCCUAC AUCUCGAGCUGAGGGGCCCACAACUGUGGGCCAGACGCAUGGGCAAAUGCAAGGUCUACUGGGAAGU GGGAGGCCCCCCCCGGCAGCGCAUCUCCCAGCACGCCCGCGUGCCUGCUGCCUAGAAAUUGCGACACC CCCAUCUUUGACUUCCGGGUAUUCUUUCAGGAGCUGGUAGAGUUCAGAGCCAGGCAGCGGAGGGGCU CCCCCAGAUACACAAUCUACCUGGGCUUCGGACAGGACCUGUCCGCCGGCCGCCCCAAGGAAAAGAG CCUGGUGCUGGUGAAGCUGGAGCCCUGGCUGUGUAGGGUACACCUCGAAGGCACCCAGAGAGAAGGA GUGAGCUCGCUUGAUGACAGCGAUCUGUCGGAUUGCCUUAGCAGCGCCAACAGCCUGUAUGAUGAUA UCGAGUGCUUCCUUAUGGAACUGGAGCAGCCCGCC （構成的に活性な Hu IRF7 S475D/S477D/L480D；P034 エピトープタグなし）
216	AUGGCCCUAGCCCCCGAAAGAGCAGCUCCCAGAGUGCUGUUCGGCGAAUGGCUGCUUGGCGAGAUCA GCAGCGGCUGCUACGAAGGCCUGCAGUGGCUGGACGAAGCCCGCACCUGUUUCAGAGUGCCCUGGAA GCACUUCGCUAGAAAGGAUUUGAGCGAGGCUGAUGCUAGAAUCUUUAAGGCUUGGGCUGUGGCAAGA GGCAGAUGGCCGCCUAGUAGCAGAGGGGGCGGACCUCCCCCCGAGGCUGAGACCGCUGAGAGAGCAG GGUGGAAAACCAACUUCAGAUGCGCGCUGAGAAGCACCCGAAGAUUCGUGAUGCUACGUGACAAUAG CGGCGACCCCGCCGACCCCCACAAAGUGUACGCCCUGUCCCGAGAACUUUGCUGGAGAGAGGGACCC GGCACCGAUCAAACAGAGGCUGAGGCCCCGGCCGCUGUACCCCCGCCCCAAGGAGGCCCCCCAGGCC CCUUUCUGGCUCAUACACAUGCCGGCCUGCAGGCACCCGGGCCCCUCCCGGCUCCUGCCGGCGACAA GGGCGAUCUCCUUCUCCAGGCCGUGCAGCAGAGCUGCCUGGCCGAUCACCUGCUGACCGCCUCGUGG GGCGCCGACCCCGUGCCCACCAAAGCCCCGGGUGAAGGCCAAGAGGGGCUCCCUUUAACCGGAGCAU GCGCCGGAGGCCCCGGCCUGCCAGCCGGCGAGUUAUAUGGCUGGGCUGUGGAGACCACACCCUCCCC CGGCCCUCAACCCGCUGCCCUGACCACCGGUGAGGCCGCCGCCCCCGAGAGCCCACACCAGGCCGAA CCCUACCUGAGCCCUAGCCCUAGCGCCUGCACCGCCGUGCAAGAACCCAGCCCCGGAGCCCUGGAUG UGACCAUUAUGUACAAGGGCCGGACAGUGCUGCAAAAGGUUGUGGGACACCCGAGCUGCACCUUUCU GUACGGUCCGCCUGACCCCGCCGUGAGAGCCACGGACCCGCAGCAGGUGGCCUUCCCCUCACCCGCG GAGCUGCCCGACCAAAAGCAACUCAGAUACACAGAAGAACUAUUGCGUCACGUCGCGCCCGGCCUGC AUCUGGAGCUGAGAGGCCCCCAGCUCUGGGCCAGAAGGAUGGGCAAAUGCAAGGUGUACUGGGAGGU GGGAGGCCCCCCCGGCAGCGCCAGCCCCAGCACUCCCGCGUGCCUGCUGCCCAGAAAUUGCGACACU CCCAUCUUCGAUUUCAGGGUGUUCUUCCAGGAGCUGGUGGAGUUCAGAGCCAGGCAGAGAAGGGGUA GCCCCAGAUACACAAUCUAUCUAGGCUUUGGACAAGAUCUGAGCGCCGGCCGGCCUAAGGAAAAAAG CCUGGUGCUGGUAAAGCUGGAGCCGUGGCUUUGUAGAGUGCACCUGGAGGGGACGCAGCGAGAGGGC GUGAGCAGCUUAGACGACGAUGACUUGGAUCUGUGUCUCGACAGCGCCAACGACUUGUACGACGACA UCGAGUGCUUCCUGAUGGAACUGGAGCAGCCCGCC （構成的に活性な Hu IRF7 S475D/S476D/S477D/S479D/S483D/S487D；P035 エピトープタグなし）
217	AUGGCCCUGGCCCCCGAGAGAGCCGCCCCCAGAGUGCUCUUCGGCGAGUGGCUGCUGGGCGAGAUAA GCAGCGGCUGCUACGAAGGUCUGCAGUGGCUAGACGAGGCCAGAACCUGCUUUAGAGUGCCCUGGAA GCACUUCGCUCGAAAGGACCUGUCCGAGGCCGAUGCUAGAAUUUUUAAGGCUUGGGCCGUCGCUAGG GGAAGAUGGCCCCCUAGCAGUAGAGGCGGCGGCCCCCCUCCCGAAGCCGAGACGGCCGAGAGGGCCG

【表１８－４５】

	GCUGGAAAACCAAUUUCAGAUGCGCCCUGAGGAGCACCCGCAGGUUCGUAAUGCUGCGAGACAAUAG CGGCGAUCCUGCGGAUCCUCACAAGGUUUACGCCUUGAGUAGAGAACUGUGCUGGCGGGAGGGCCCC GGAACCGACCAGACGGAGGCAGAGGCACCCGCUGCCGUGCCCCCCCCUCAAGGAGGACCCCCUGGAC CCUUUCUGGCCCACACCCACGCUGGUCUGCAGGCCCCAGGCCCACUGCCCGCCCCAGCGGGCGAUAA GGGUGACCUGCUCCUACAGGCGGUGCAACAGAGCUGUCUGGCCGACCACCUGUUGACCGCCAGCUGG GGGGCCGACCCGGUGCCCACCAAAGCUCCCGGAGAGGGCCAAGAAGGCCUCCCACUAACUGGCGCCU GCGCCGGGGGCCCGGGAUUACCCGCCGGCGAGCUGUAUGGCUGGGCCGUGGAGACCACGCCCAGCCC CGAGGGCGUGUCGUCCCUGGACAGCAGCAGCCUGAGCCUGUGCCUGAGCUCCGCCAACAGCCUGUAU GACGACAUCGAGUGCUUCCUGAUGGAGCUGGAACAACCCGCC （構成的に活性な短縮型 Hu IRF7 1-246 + 468-503；P032 エピトープタグなし）
218	AUGGCACUGGCGCCUGAAAGAGCCGCUCCGCGUGUGCUCUUCGGCGAGUGGCUGCUGGGCGAGAUCA GCUCCGGCUGCUACGAGGGUCUACAGUGGCUGGACGAGGCCAGAACCUGUUUUAGAGUGCCCUGGAA GCACUUCGCGAGAAAGGACCUGAGCGAGGCCGACGCCAGAAUCUUCAAAGCCUGGGCAGUGGCUAGG GGCAGAUGGCCUCCCAGCAGCCGGGGCGGCGGCCCACCCCCCGAGGCCGAAACCGCCGAAAGAGCUG GCUGGAAGACCAACUUCAGAUGCGCCCUGAGAAGCACCAGAAGAUUUGUCAUGCUGAGAGAUAAUUC AGGAGACCCCGCCGACCCUCACAAGGUGUACGCCCUGUCCAGAGAGCUGUGUUGGAGAGAGGGCCCC GGAACCGACCAGACCGAGGCCGAGGCUCCAGCUGCCGUGCCACCCCCCCAAGGCGGACCACCCGGCC CCUUCUUGGCACAUACGCACGCCGGCCUCCAGGCUCCCGGCCCUCUGCCCGCCCCUGCUGGUGACAA AGGCGAUCUGCUGCUGCAAGCCGUCCAGCAAUCCUGCUUGGCUGACCACCUGCUGACCGCUAGCUGG GGAGCCGACCCCGUUCCCACCAAGGCUCCCGGAGAAGGACAGGAGGGCCUGCCCCUUACCGGCGCUU GCGCGGGGGGCCCUGGCUUGCCUGCCGGCGAACUGUACGGCUGGGCCGUGGAGACCACGCCUUCCCC CGAGGGCGUGUCCAGCCUGGACGAUGAUGACCUGGAUCUGUGCCUGGACAGCGCCAACGACCUGUAC GAUGACAUCGAGUGCUUUUUGAUGGAGCUGGAGCAGCCCGCC （構成的に活性な短縮型 Hu IRF7 1-246 + 468-503 プラス S475D/S476D/S477D/S479D/S483D/S487D；P036 エピトープタグなし）
219	AUGGCCCUGGCCCCCGAGAGAGCCGCGCCCAGAGUGCUGUUCGGCGAAUGGCUGCUGGGCGAGAUCA GCAGCGGCUGCUAUGAGGGCCUGCAGUGGCUCGACGAAGCCAGGACGUGCUUCAGAGUCCCCUGGAA GCACUUCGCCAGAAAGGAUCUGAGCGAGGCUGACGCCAGAAUCUUCAAGGCCUGGGCAGUUGCGCGU GGGAGAUGGCCCCCCAGCUCGCGGGGCGGCGGUCCCCCCCCUGAGGCCGAGACCGCCGAAAGAGCCG GAUGGAAAACCAACUUUCGAUGCGCCCUCAGAAGCACCAGACGGUUUGUGAUGCUGAGAGAUAACAG CGGCGACCCUGCAGACCCCCAUAAAGUGUAUGCCCUGAGCAGAGAGCUGUGUUGGCGAGAGGGCCCC GGAACCGACCAAACCGAGGCCGAGGCCCCCGCCGCCGUACCCCCCCCUCAAGGCCCCAGCCUGCUG CUCUGACCACGGGAGAAGCCGCCGCUCCUGAGAGCCCCCACCAAGCCGAGCCCUAUCUGAGCCCUAG CCCCAGCGCCUGCACCGCCGUGCAGGAGCCCUCACCGGGCGCCCUAGACGUGACCAUCAUGUACAAG GGGCGCACGGUGCUGCAAAAGGUGGUGGGCCACCCCAGCUGCACCUUCCUGUACGGCCCCCCCGACC CUGCCGUGAGAGCCACCGACCCCCAGCAAGUCGCCUUCCCCAGCCCCGCCGAGCUGCCCGACCAGAA GCAGCUGAGGUACACCGAGGAGUUGCUGAGACAUGUGGCCCCCGGCUUGCACCUCGAGCUGAGAGGC CCGCAGCUCUGGGCCAGAAGAAUGGGCAAGUGCAAGGUGUACUGGGAGGUGGGCGGCCCCCCCGGCA GCGCGAGCCCAAGCACCCCGGCCUGCCUGCUGCCUAGAAACUGCGACACCCCUAUCUUCGACUUCAG AGUAUUUUUCCAGGAGCUGGUCGAGUUCAGGGCCAGACAGCGUAGAGGCAGCCCCAGAUACACCAUC UACCUUGGAUUCGGCCAGGACCUGAGCGCCGGCAGACCCAAAGAGAAGUCCCUGGUACUGGUGAAGC

10 20 30 40

【表１８－４６】

	UAGAGCCCUGGCUGUGUAGGGUGCAUCUGGAAGGCACCCAAAGAGAGGGCGUAAGCUCGCUUGACAG CAGCAGCCUCAGCCUGUGCCUGAGCAGCGCUAACAGCUUAUACGACGACAUCGAGUGCUUCCUGAUG GAGCUGGAACAACCCGCC （短縮型 Hu IRF7 1-151 + 247-503；P038 エピトープタグなし;ヌル変異）
220	AUGGGCGGCCCUCCCGGGCCUUUCCUGGCCCAUACACACGCCGGCCUACAGGCUCCUGGCCCUCUGC CCGCCCCGGCCGGCGACAAGGGCGACCUCCUGCUGCAGGCCGUGCAGCAGUCCUGUCUGGCCGACCA CCUGCUGACUGCUAGCUGGGGCGCCGAUCCCGUGCCCACCAAGGCCCCAGGAGAGGGGCAAGAGGGC CUGCCUCUAACCGGCGCAUGCGCAGGUGGACCAGGCCUCCCCGCCGGCGAGCUGUAUGGUUGGGCCG UGGAGACAACCCCCAGCCCCGGCCCGCAGCCUGCUGCGCUGACCACAGGCGAGGCCGCUGCCCCUGA GAGCCCCCACCAAGCUGAACCCUACCUGAGCCCCAGCCCCUCUGCCUGCACAGCGGUGCAGGAGCCC AGUCCCGGCGCCUUGGACGUGACCAUCAUGUAUAAGGGCAGGACUGUGUUACAAAAGGUAGUGGGCC ACCCAAGUUGUACCUUUCUGUACGGGCCCCCCGACCCAGCCGUGCGCGCCACCGACCCCCAGCAGGU GGCCUUCCCCAGCCCCGCUGAGUUGCCCGAUCAGAAACAACUCCGGUACACCGAGGAAUUACUUAGA CAUGUGGCUCCCGGCCUGCAUCUGGAGCUUAGAGGUCCACAGUUGUGGGCCAGAAGAAUGGGCAAGU GCAAGGUUUAUUGGGAGGUCGGAGGCCCCCCGGGCAGCGCCAGCCCCAGCACCCCCGCCUGUCUUCU GCCCAGAAACUGCGACACCCCAAUCUUCGAUUUCAGAGUGUUUUUCCAGGAACUGGUGGAGUUCAGA GCAAGGCAAAGAAGAGGCAGCCCUAGAUACACCAUCUACCUGGGCUUUGGCCAAGACCUGAGCGCCG GCAGACCCAAGGAAAAAUCCCUGGUCCUGGUGAAACUGGAGCCCUGGCUGUGCAGAGUCCACCUGGA GGGCACCCAGAGAGAGGGCGUGAGCAGCCUGGACUCGAGCAGCCUGUCCCUGUGUCUGAGCAGCGCG AAUUCGCUAUAUGACGACAUCGAAUGCUUUCUGAUGGAGCUGGAACAGCCCGCC （短縮型 Hu IRF7 152-503；P039 エピトープタグなし;ヌル変異）
221	AUGCCUCACAGCAGCCUCCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UCGUGCUUUUAAGCGCCUGCUUGGUGACCCUUUGGGGCUUGGGCGAGCCUCCAGAGCACACCUUGAG AUAUUUGGUGCUCCACCUGGCCAGCCUUCAGCUGGGCUUGUUACUCAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCGUGUCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCCUUGCUUCUUCUCAGUAUCUACUUCUACUACUCCCUGCCUAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCACUGCUCGGCCUCAGCCAGGCCCUGAACAUCUUGUUG GGCUUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACAUGGCCC ACGGAUUGGCUUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGCGCGGCGCAGUGAGCCAGAGACUGUAUAUUCUG CUGCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACAGCAUCUAUGA GCUGCUCGAGAAUGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUAUAGUCAAGCUGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUUCUGGCUGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCCGACUGAUCGC CUACCAGGAACCAGCCGACGACAGCAGCUUCAGUCUUUCUCAGGAGGUUCUUCGCCACUUGCGCCAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACCUCCGCAGUCCCUAGCACCAGCACCAUGA GUCAGGAGCCGGAGCUAUUAAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUUCCACUCCGAACCGACUUCAGCGC CACCAACUUCAGCCUGCUGAAGCAGGCAGGUGACGUUGAGGAGAAUCCGGGACCUAUGACCGAGUAC AAGCUGGUGGUUGUGGGCGCCGACGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUGACCAUCCAGCUGAUCCAG （KRAS(G12D)25 量体_nt.STING(V155M)）
222	AUGACCGAGUACAAGCUAGUAGUCGUGGGCGCCGACGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUCACCAUCCAGC

【表１８－４７】

	UAAUCCAGGCCACCAACUUCAGCUUGCUCAAGCAGGCCGGCGACGUGGAGGAGAACCCAGGCCCUAU GCCUCACAGCAGCCUUCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCCUG GUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCUGAGCACACCCUGAGAU AUCUGGUGCUUCACCUGGCCAGUUUACAGCUGGGCCUGCUUCUUAACGGCGUGUGCAGCCUGGCCGA GGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCCUGCCUAGGC UGCCCUCUGAGAAGAGGCGCUCUGUUGCUACUUUCCAUCUACUUCUACUACUCCCUGCCUAACGCCG UGGGCCCUCCUUUCACUUGGAUGCUGGCGUUGCUGGGUCUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUUCUCGG UCUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACAUGGCCCAC GGACUCGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAUCA GAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGCGGGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUAUAUACUUCU UCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACAAG CUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACUCCAUUUAUGAGC UGCUCGAGAAUGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUGUU CGCCAUGAGCCAGUACAGUCAGGCUGGAUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGUUC UGCAGGACACUGGAGGACAUACUAGCAGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCAGACUGAUUGCCU ACCAGGAGCCUGCGGACGACAGCUCCUUCAGUCUGAGUCAGGAGGUGUUGCGGCACUUACGCCAAGA AGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACUAGCGCUGUGCCUAGCACCAGCACAAUGUCA CAGGAGCCGGAAUUGCUAAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUCCCAUUACGUACCGACUUCAGC (KRAS(G12D)25 量体_ct.STING(V155M))
223	AUGCCUCACAGCAGCCUUCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UAGUGCUCCUUAGCGCCUGCCUCGUGACCCUAUGGGGCUUAGGCGAGCCUCCAGAGCACACCUUGAG AUACCUCGUCCUCCACCUGGCUAGUCUACAGCUGGGCCUUCUCCUCAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCGUGCCUGG GCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCACUGCUGUUACUCAGCAUCUACUUCUACUACUCACUGCCAAACGC CGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCUUGCUCGGAUUGAGCCAGGCCCUGAACAUUUUACUG GGAUUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAACAUGGCCC ACGGCCUAGCUUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGCGUGGAGCGGUGAGCCAGAGACUGUAUAUCCUC CUGCCUCUGGACUGCGGAGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGCAACUCAAUCUACGA GCUGUUGGAGAAUGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCCCUCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACUCUCAGGCAGGCUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGACAUCCUGGCGGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAACUGCCGGCUUAUCGC CUACCAGGAGCCAGCAGACGACAGCAGCUUCUCUCUCUCACAAGAGGUACUGCGCCAUCUUCGCCAG GAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACAUCCGCCGUACCUAGCACCAGCACCAUGU CUCAGGAACCGGAACUGUUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCACUGCGCACCGACUUCAGCGC CACCAACUUCUCCCUACUGAAGCAAGCCGGUGACGUUGAAGAGAACCCUGGCCCUAUGACCGAGUAC AAGCUGGUAGUAGUAGGCGCCGACGGCGUGGGCAAGAGCGCCCUGACCAUCCAGCUGAUCCAGAUGA CUGAAUAUAAGCUUGUCGUCGUGGGCGCAGAUGGCGUUGGUAAGAGCGCACUUACAAUUCAACUCAU UCAGAUGACGGAGUAUAAGCUGGUGGUGGUCGGAGCUGACGGCGUAGGCAAGAGUGCCCUUACUAUU CAGCUAAUUCAG (KRAS(G12D)25 量体^3_nt.STING(V155M))

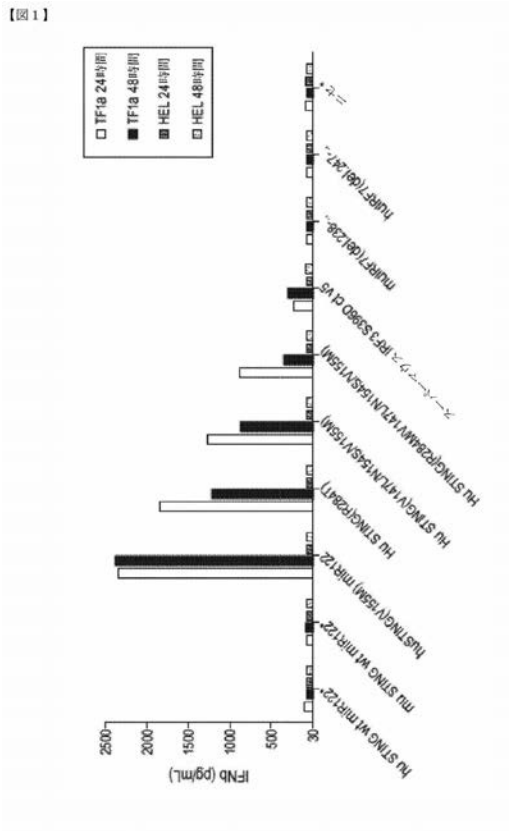
【表１８－４８】

224	AUGACCGAGUACAAGCUUGUGGUGGUUGGCGCCGACGGCGUGGGCAAGAGCGCCUUAACCAUCCAGC UUAUCCAGAUGACAGAGUAUAAGCUAGUGGUGGUCGGCGCAGACGGAGUGGGAAAGAGUGCAUUAAC UAUUCAACUCAUCCAAAUGACCGAAUACAAGCUAGUAGUUGUGGGUGCAGAUGGCGUCGGCAAGUCU GCACUGACAAUUCAGCUCAUCCAGGCCACCAACUUCAGCCUGCUGAAGCAGGCCGGCGACGUGGAGG AGAACCCUGGCCCUAUGCCUCACAGCAGCCUGCACCCUAGCAUCCCUUGCCCUAGAGGCCACGGCGC CCAGAAGGCCGCCCUGGUGCUGCUGAGCGCCUGCCUGGUGACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCUCCU GAGCACACCCUGAGAUACCUAGUUUUGCACCUGGCUUCUCUGCAGCUGGGCCUACUGCUCAACGGCG UGUGCAGCCUGGCCGAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUACAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGU GAGAGCAUGCUUAGGCUGCCCUCUGAGAAGAGGCGCUCUGCUCCUCUUGUCCAUCUACUUCUACUAC UCGCUACCUAACGCCGUGGGCCCUCCUUUCACCUGGAUGCUGGCCCUCUUGGGAUUAAGCCAGGCCC UGAACAUCUUGCUGGGACUGAAGGGCCUGGCCCCUGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAA CUUCAACAUGGCCCACGGACUCGCUUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCUGAG CUGCAGGCCAGAAUCAGAACCUACAACCAGCACUACAACAACCUGCUGCGGGGAGCAGUGAGCCAGA GACUGUAUAUUCUGCUCCCUCUGGACUGCGGCGUGCCUGACAACCUGAGCAUGGCCGACCCUAACAU CAGAUUCCUGGACAAGCUGCCUCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGACAGAGUGUACAGC AACAGCAUUUACGAGCUGCUGGAGAACGGCCAGAGAGCCGGCACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACCC CUCUGCAGACCCUGUUCGCCAUGAGCCAGUACUCCCAGGCAGGAUUCAGCAGAGAGGACAGACUGGA GCAGGCCAAGCUGUUCUGCCGUACUCUUGAGGACAUCCUUGCAGACGCCCCUGAGAGCCAGAACAAC UGCCGGUUGAUUGCCUACCAGGAACCGGCAGACGACAGCUCAUUCUCCUUGUCUCAGGAGGUCCUUA GACACCUGCGGCAGGAGGAGAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCAGCCUGAAGACAUCCGCCGUGCCUAG CACGUCUACCAUGUCCCAGGAGCCGGAACUGCUAAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCUCUGCCUCUCAGG ACCGACUUCAGC (KRAS(G12D)25 量体^3_ct.STING(V155M))
225	AUGCCCCAUAGCAGCCUGCACCCCAGCAUCCCCUGCCCCAGAGGCCACGGCGCCCAGAAGGCCGCCC UGGUCCUGCUGAGCGCAUGCCUGGUCACCCUGUGGGGCCUGGGCGAGCCCCCCGAGCACACCCUGAG AUACCUGGUGCUGCACCUCGCCAGCCUGCAGCUGGGCCUGCUGCUGAACGGCGUGUGCAGCCUGGCC GAGGAGCUGAGACACAUCCACAGCAGAUAUAGAGGCAGCUACUGGAGAACCGUGAGAGCUUGCCUCG GCUGCCCCCUGAGAAGAGGCGCCCUGCUGCUGCUGAGCAUCUACUUUUACUACAGCCUGCCCAACGC UGUGGGCCCCCCUUUCACGUGGAUGCUCGCCCUGCUGGGACUGAGCCAGGCCCUGAACAUCCUGCUG GGCCUUAAGGGCCUAGCCCCCGCCGAGAUCAGCGCCGUGUGCGAGAAGGGCAACUUCAAUGUGGCCC ACGGCCUGGCCUGGAGCUACUACAUCGGCUACCUGAGACUGAUCCUGCCCGAGCUGCAGGCCAGAAU CAGAACCUACAAUCAGCACUACAACAACCUGCUGAGAGGCGCCGUGAGCCAGAGACUGUACAUCCUG CUGCCCCUGGACUGCGGCGUGCCCGACAACCUCAGCAUGGCCGACCCCAACAUCAGAUUCCUGGACA AGCUGCCCCAGCAGACCGGCGACCACGCCGGCAUCAAGGAUCGCGUGUACAGCAACAGCAUCUACGA GCUGCUGGAAAACGGCCAGAGAGCCGGAACCUGCGUGCUGGAGUACGCCACACCCCUGCAGACCCUG UUCGCCAUGAGCCAGUACAGCCAGGCCGGCUUCAGCAGAGAGGACAAGCUGGAGCAGGCCAAGCUGU UCUGCAGAACCCUGGAGGAUAUCCUCGCCGACGCCCCCGAGAGCCAGAACAACUGCAGGCUGAUCGC GUACCAGGAGCCCGCUGACGACAGCAGCUUUAGCCUGAGCCAGGAGGUGCUGAGACAUCUGCGUCAA GAGGAAAAGGAGGAGGUGACCGUGGGCUCCCUGAAGACCAGCGCCGUGCCCAGCACCAGCACCAUGA GCCAGGAGCCCGAGCUGCUGAUCAGCGGCAUGGAGAAGCCACUGCCCCUCAGAACCGACUUCAGCAC C (Hu STING (R284K) var;エピトープタグなし)

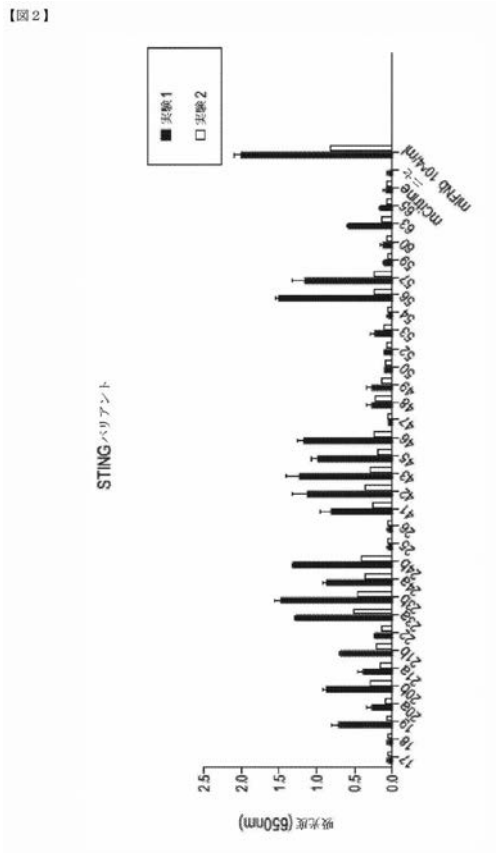
【表１８－４９】

226	ATIGTAMYK（EBV BRLF1 ペプチド）
227	SIIPSGPLK（FLU ペプチド）
228	AVDLSHFLK（HIV NEF ペプチド）
229	AVFDRKSDAK（EBV ペプチド）
230	YVNVNMGLK（HBV コア抗原ペプチド）
231	RVCEKMALY（HC ペプチド）
232	KLGGALQAK（CMV ペプチド）

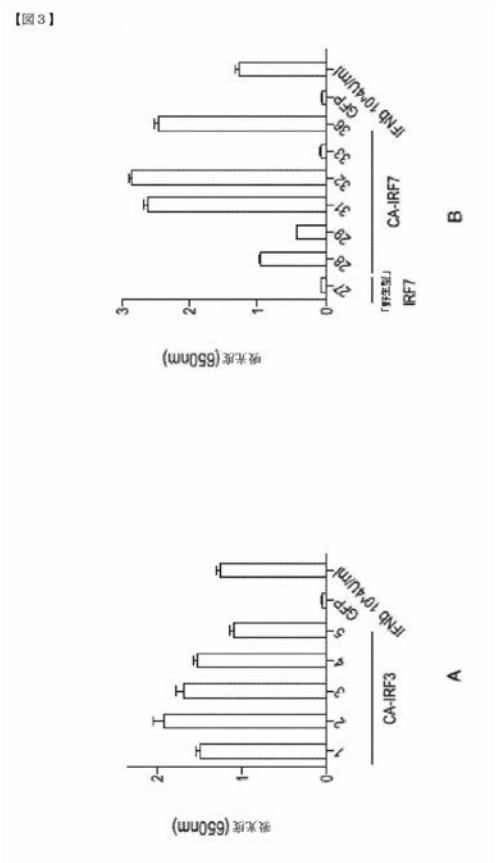
【図１】



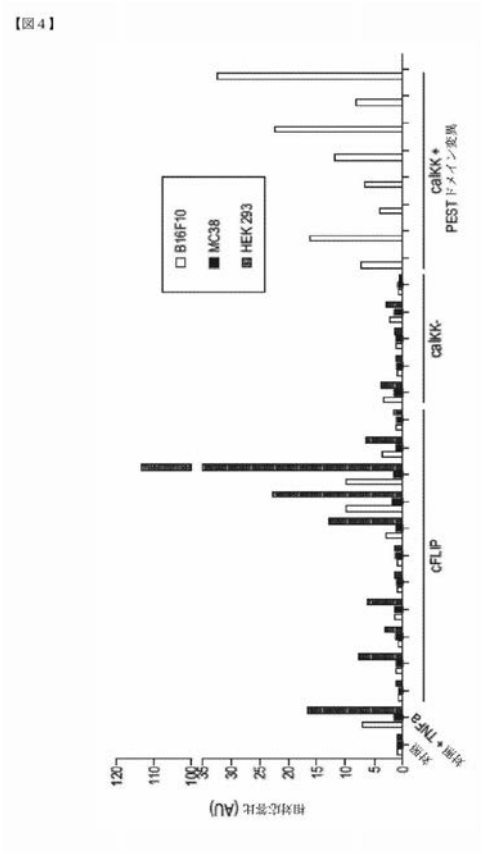
【図２】



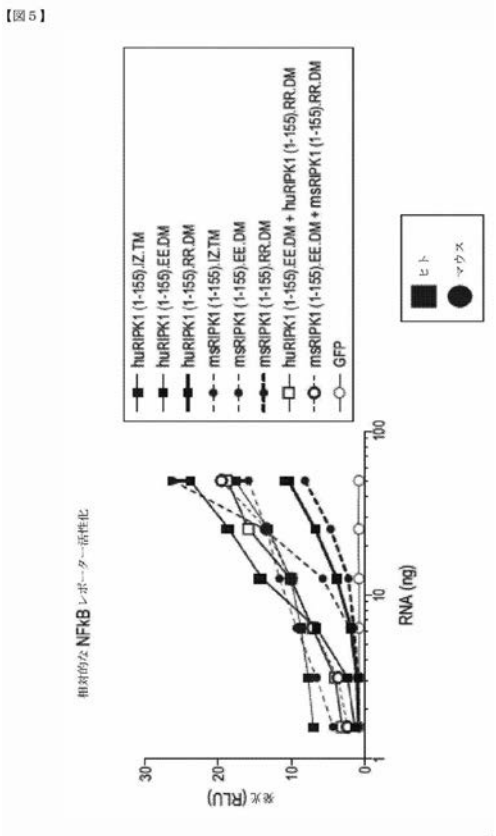
【図３】


【図3】
A
B
CA-IRF3
CA-IRF7
IRF7
IFNb 10^4ul/ml
GFP
蛍光度 (650nm)

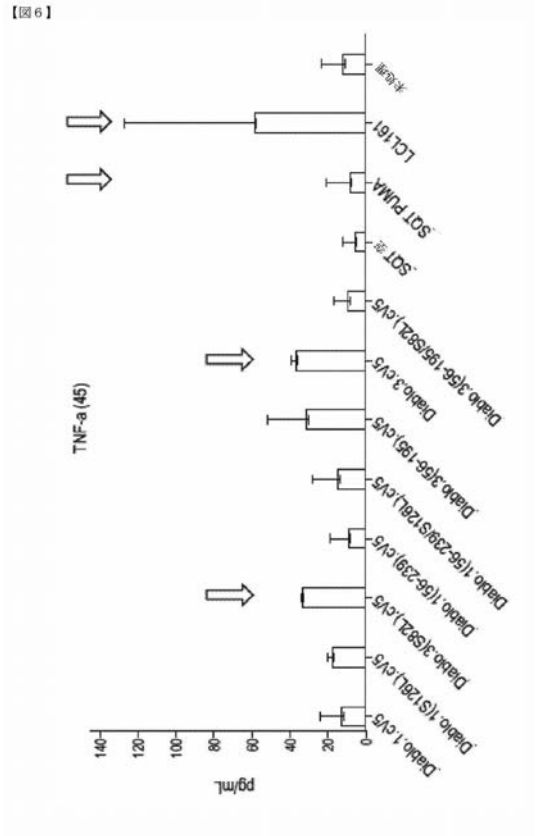
【図４】


【図4】
B16F10
MC38
HEK 293
cFLIP
calKK-
calKK+
PEST ドメイン変異
相対応答比 (AU)

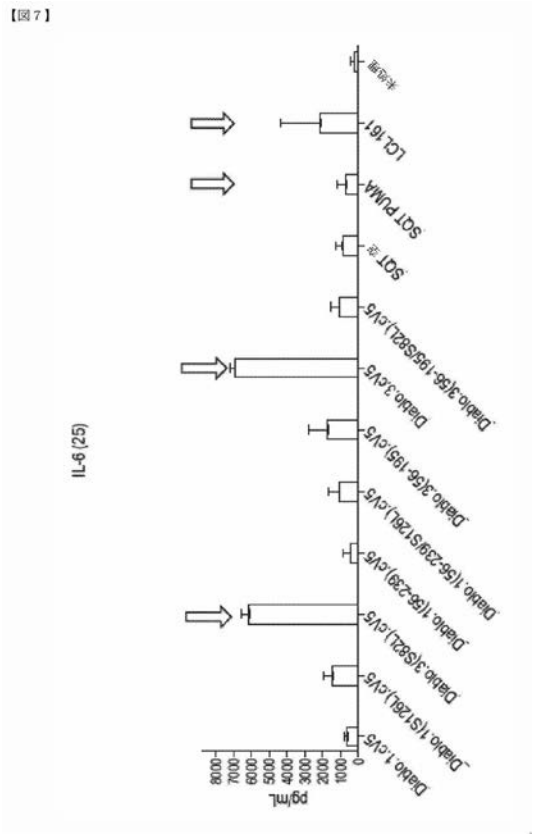
【図５】


【図5】
huRIPK1 (1-155).IZ.TM
huRIPK1 (1-155).EE.DM
huRIPK1 (1-155).RR.DM
msRIPK1 (1-155).IZ.TM
msRIPK1 (1-155).EE.DM
msRIPK1 (1-155).RR.DM
huRIPK1 (1-155).EE.DM + huRIPK1 (1-155).RR.DM
msRIPK1 (1-155).EE.DM + msRIPK1 (1-155).RR.DM
GFP
ヒト
マウス
RNA (ng)
変化 (RLU)

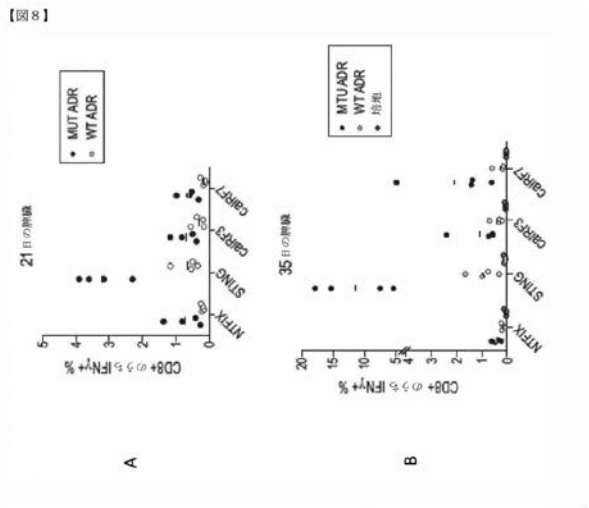
【図６】


【図6】
未処理
LCL161
SGT PLMA
SGT 変
Diablo.3(56-195)(S62L).cV5
Diablo.3(56-195).cV5
Diablo.1(56-239)(S128L).cV5
Diablo.1(56-239).cV5
Diablo.3(S62L).cV5
Diablo.1(S128L).cV5
TNF-a (45)
pg/mL

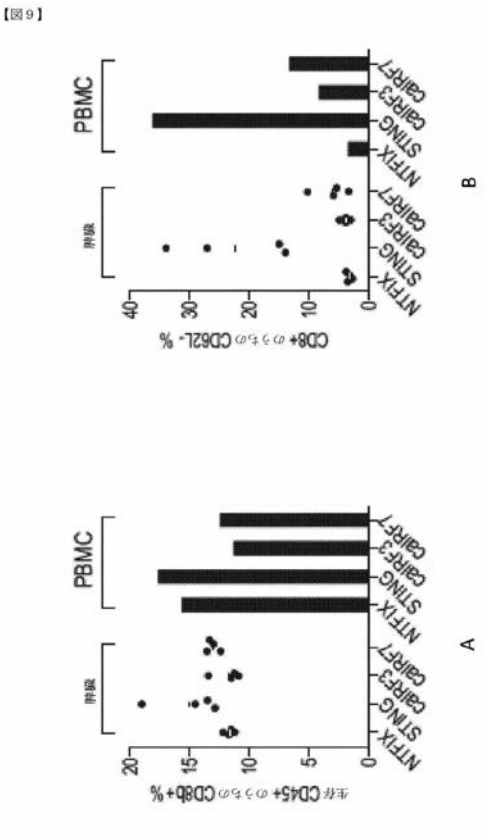
【図７】


【図7】
IL-6 (25)
pg/mL
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
Diabo.1.cVS
Diabo.1(S126L).cVS
Diabo.3(S82L).cVS
Diabo.1(86-239).cVS
Diabo.1(56-239)(S126L).cVS
Diabo.3(56-195).cVS
Diabo.3.cVS
Diabo.3(56-195)(S82L).cVS
SGT-突
SGT-PUMA
LCL-161
未処理

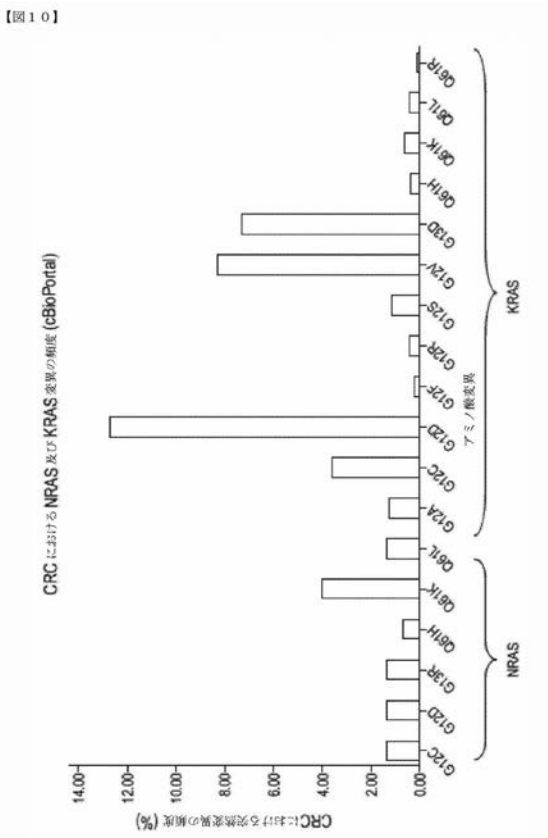
【図８】


【図8】
MUT ADR
WT ADR
21日の腫瘍
CD8+ のうち IFNγ+ %
CalRT
CalR3
STING
NTFIX
A
MTU ADR
WT ADR
培地
35日の腫瘍
CD8+ のうち IFNγ+ %
CalRT
CalR3
STING
NTFIX
B

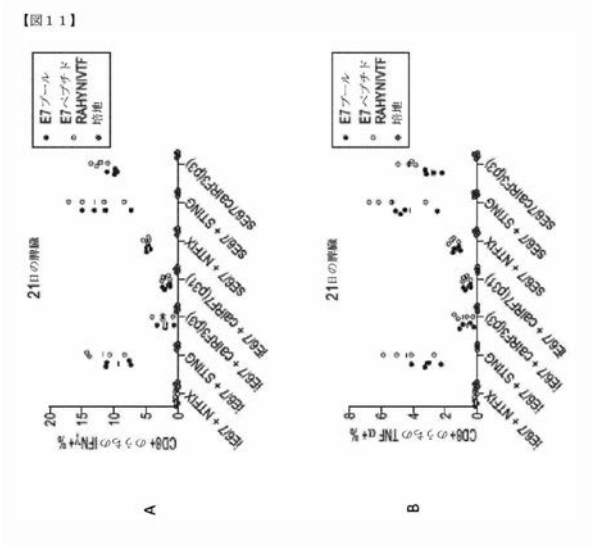
【図９】


【図9】
PBMC
腫瘍
生存 CD45+ のうち CD8b+ %
CalRT
CalR3
STING
NTFIX
A
PBMC
腫瘍
CD8+ のうち CD62L- %
CalRT
CalR3
STING
NTFIX
B

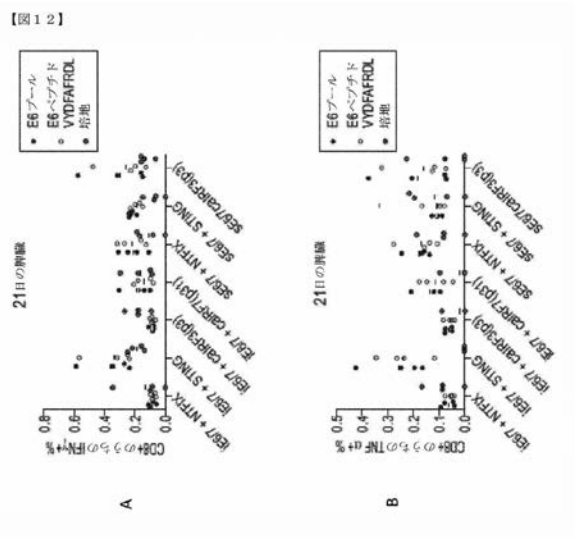
【図１０】


【図10】
CRC における NRAS および KRAS 変異の頻度 (cBioPortal)
CRCにおける突然変異の頻度 (%)
アミノ酸変異
KRAS
NRAS
G12C
G12D
G13R
G61H
G61K
G61L
G12A
G12C
G12D
G12F
G12R
G12S
G12V
G13D
G61H
G61K
G61L
G61R

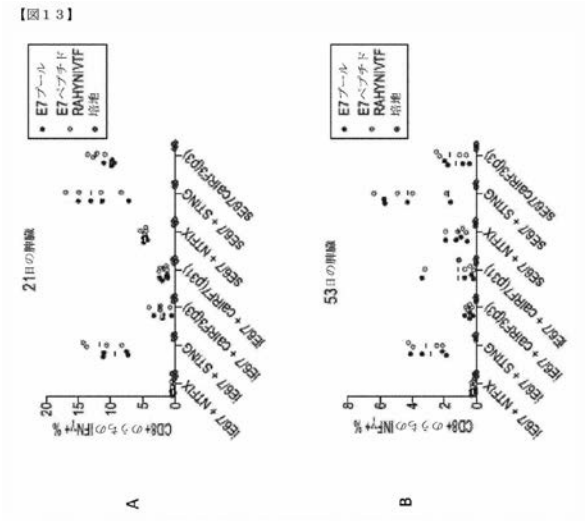
【図１１】



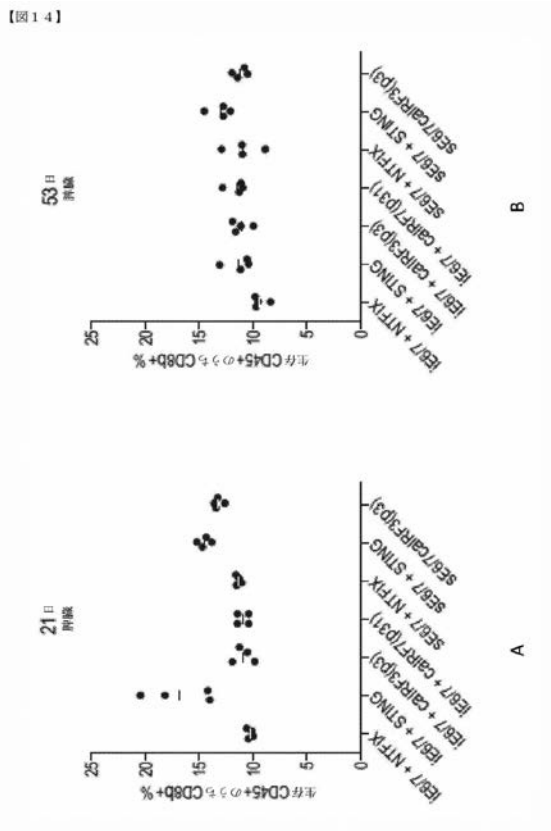
【図１２】



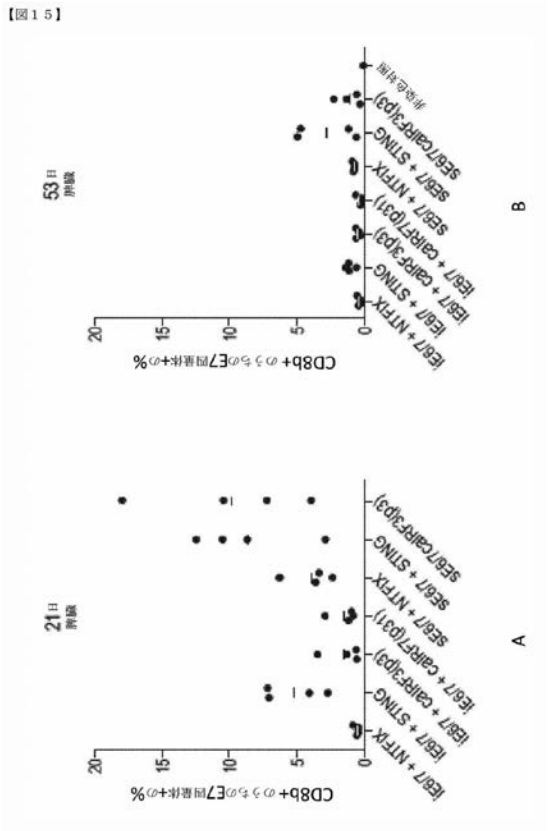
【図１３】



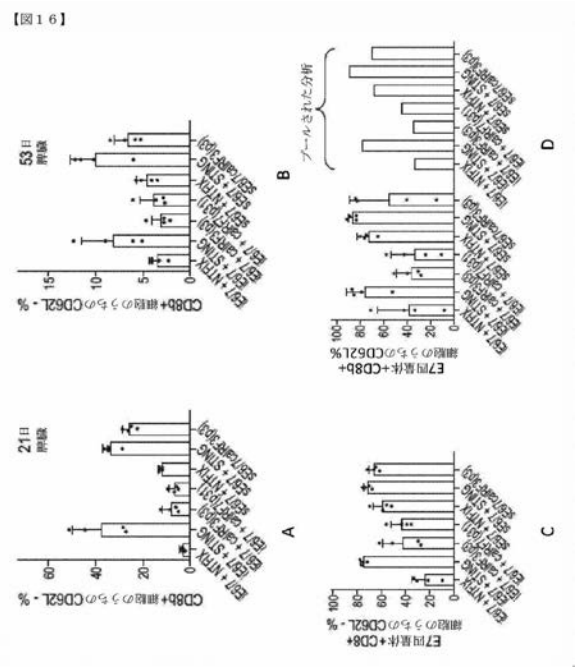
【図１４】



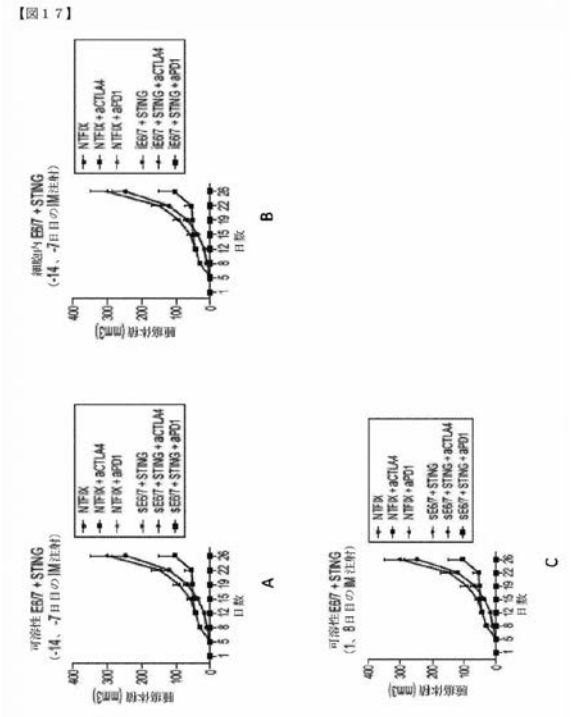
【図１５】



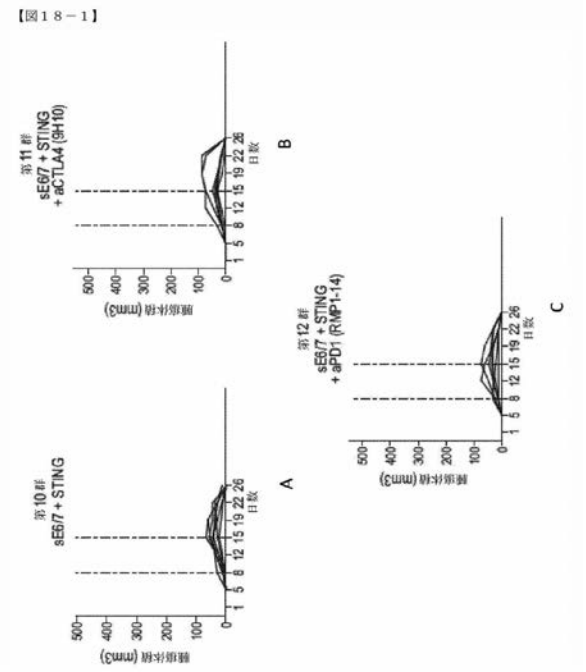
【図１６】



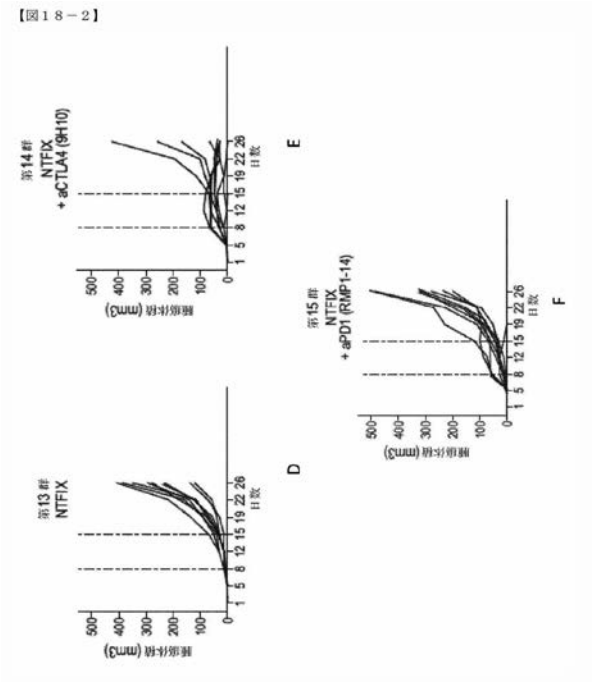
【図１７】



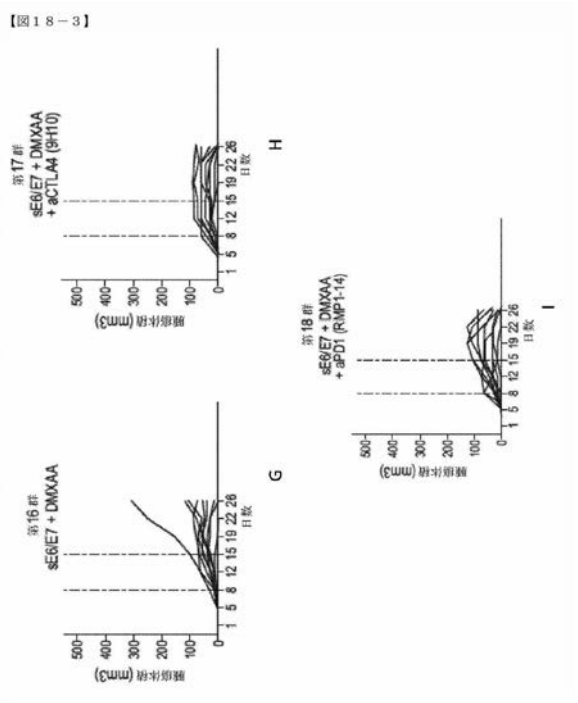
【図１８－１】



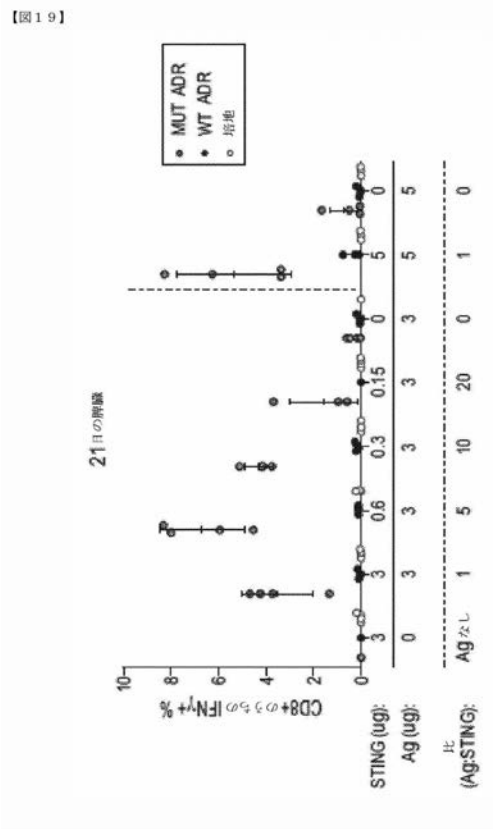
【図１８－２】



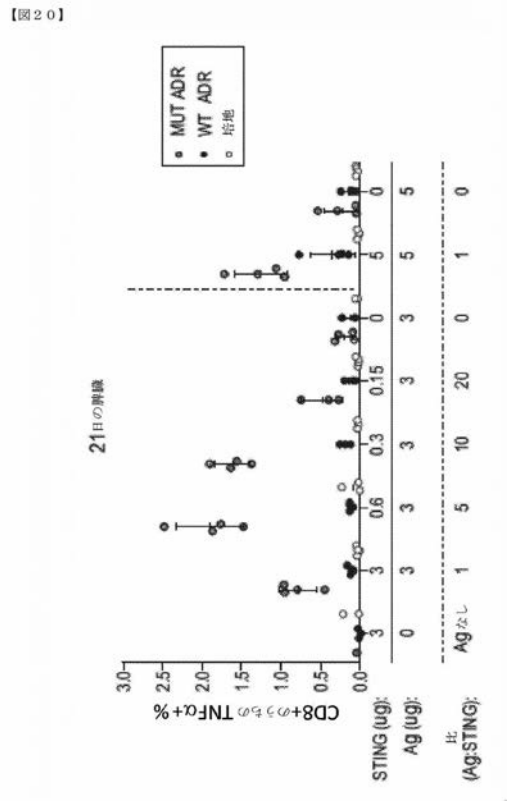
【図１８－３】



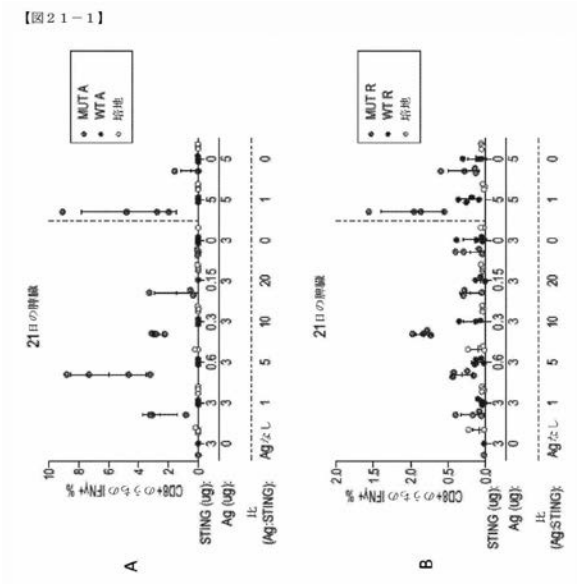
【図１９】



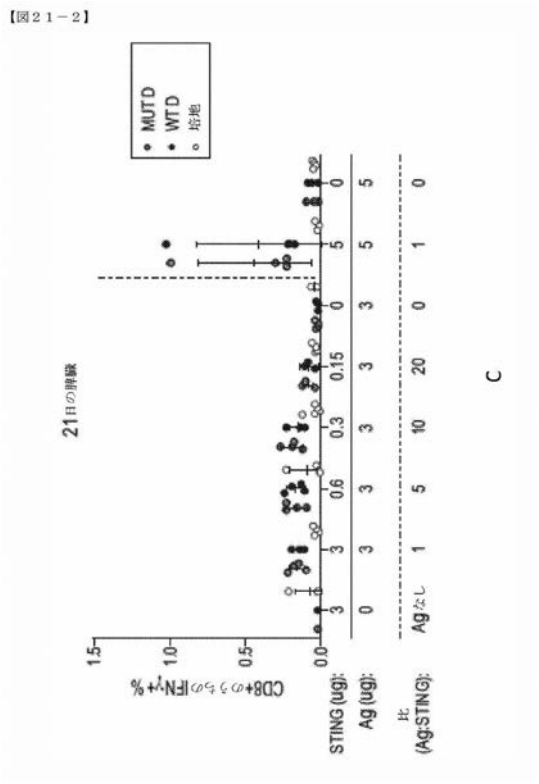
【図２０】



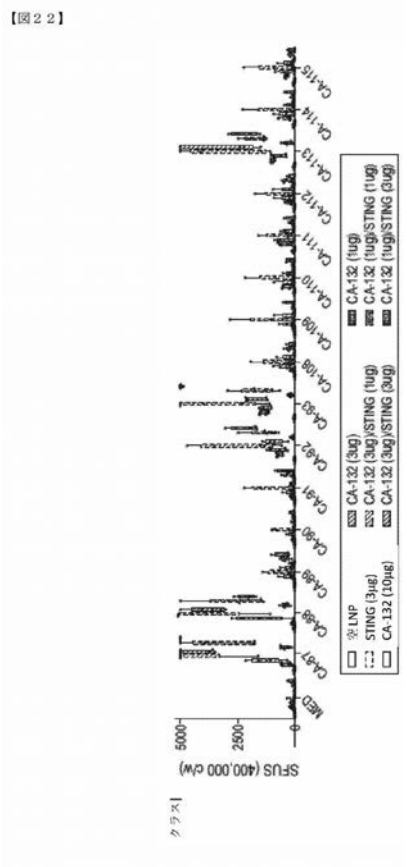
【図２１－１】



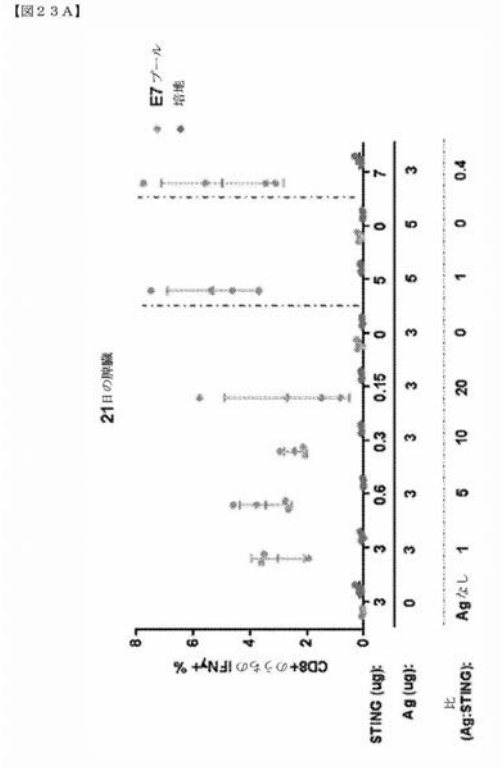
【図２１－２】



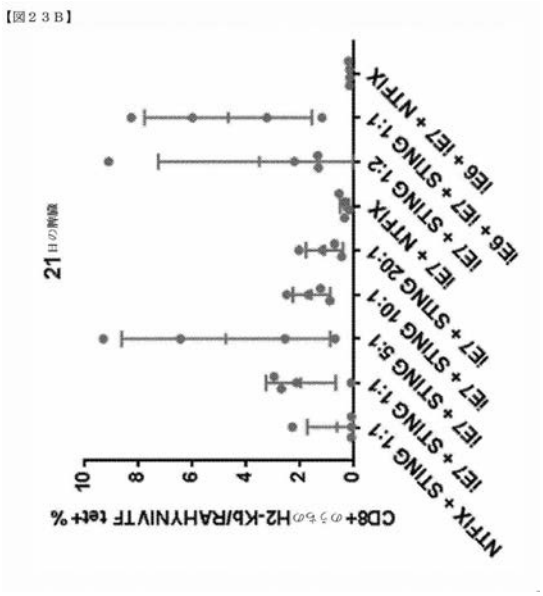
【図２２】



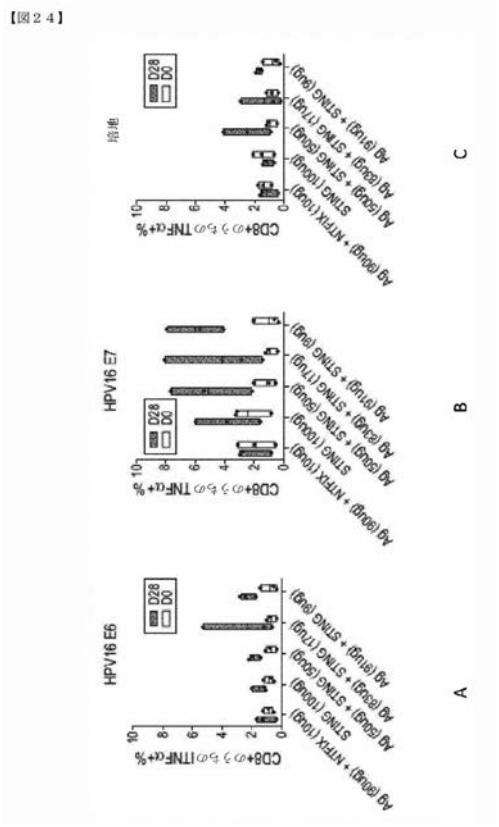
【図２３Ａ】



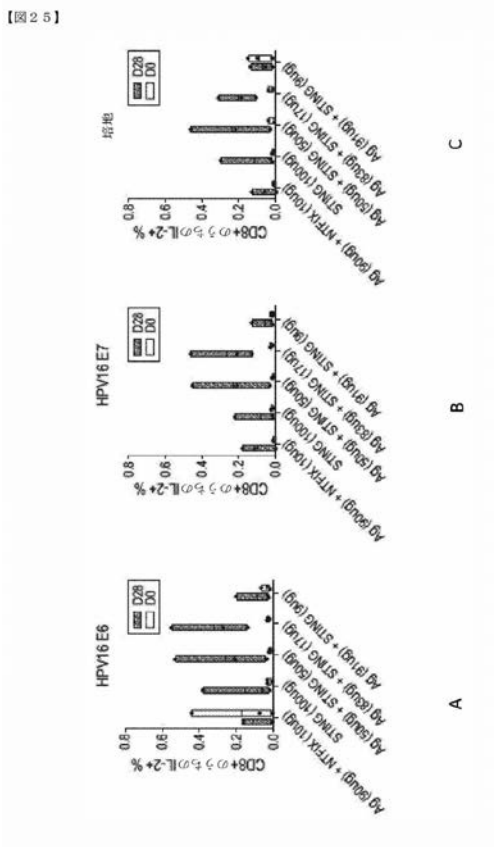
【図２３Ｂ】



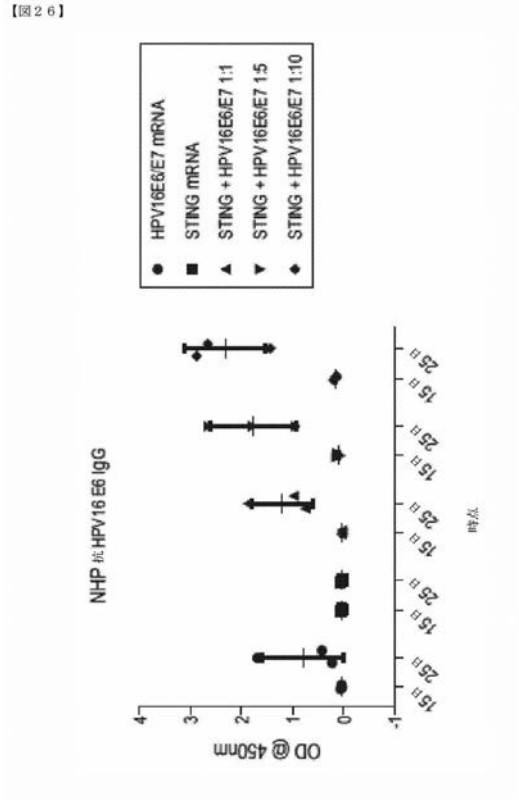
【図２４】



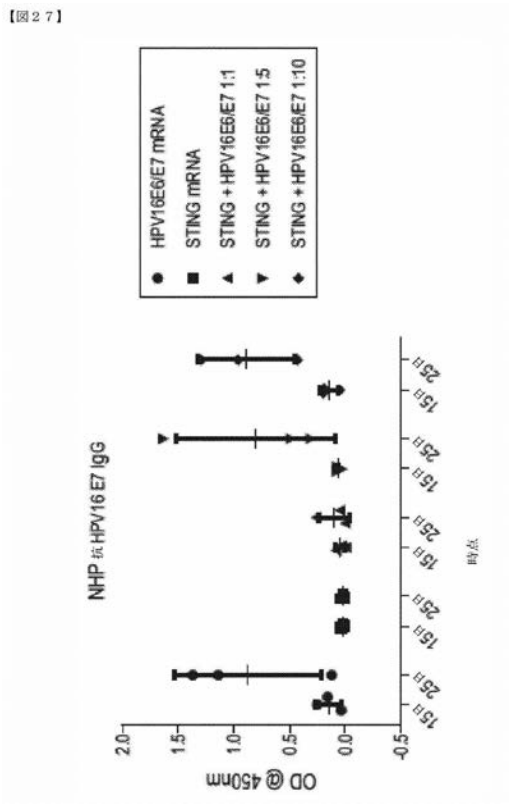
【図２５】



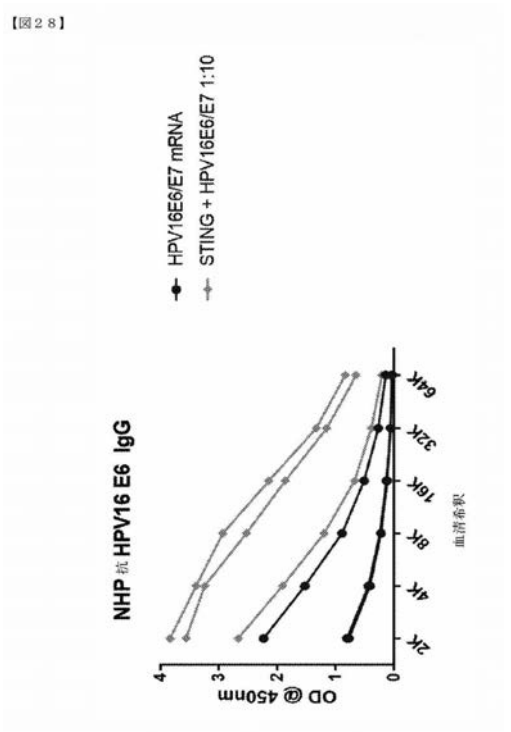
【図２６】



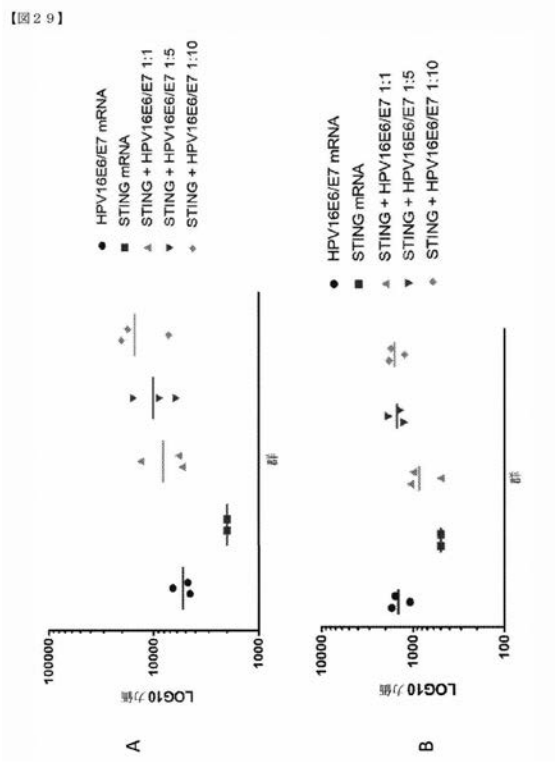
【図２７】



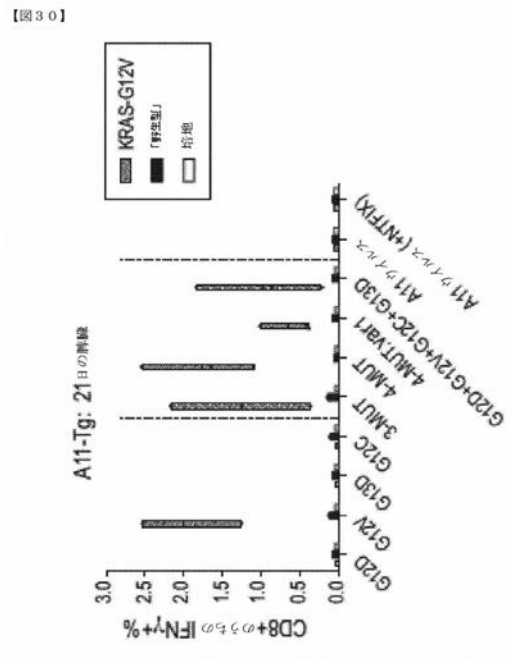
【図２８】



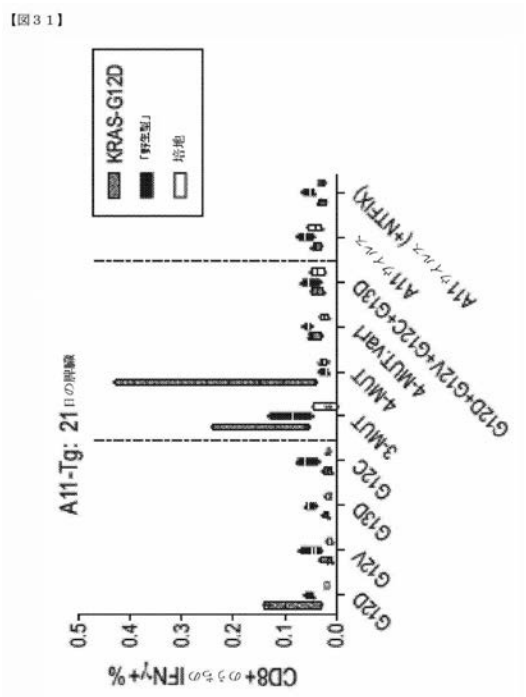
【図２９】



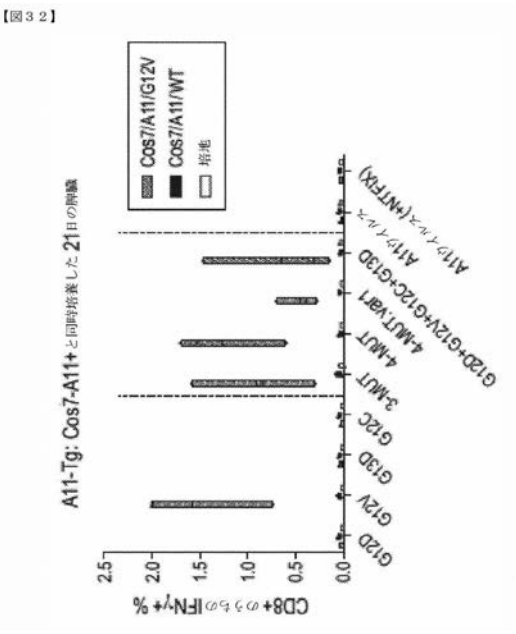
【図３０】



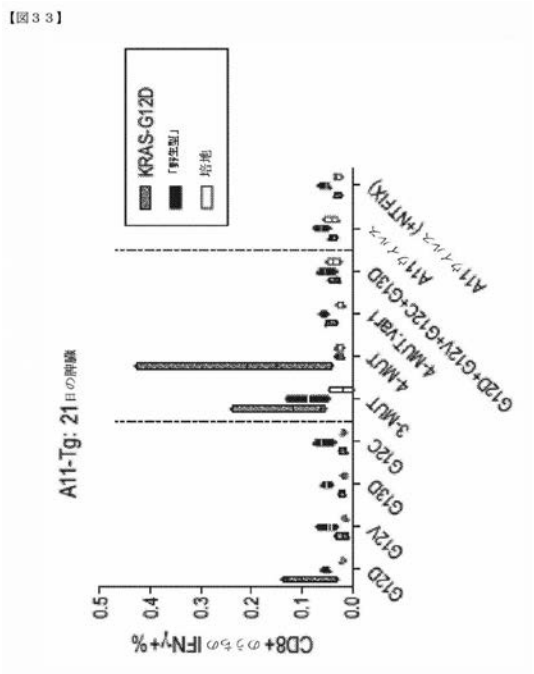
【図３１】



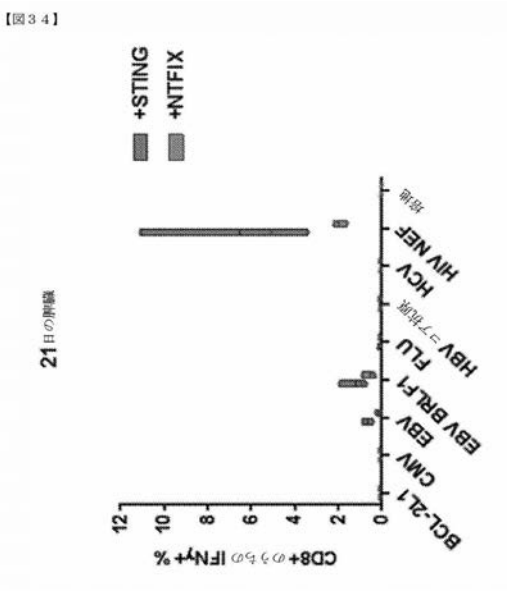
【図３２】



【図３３】



【図３４】



【配列表】
2020514321000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2018/016510

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/00 A61K39/39
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/202937 A1 (TARGOVAX ASA [NO]) 22 December 2016 (2016-12-22) page 1, line 4 - line 13 page 7, line 19 - page 10, line 22 page 11, line 6 - line 9 page 12, line 24 - page 13, line 27 page 16, line 10 - line 16 page 21, line 18 - line 30 page 51, line 31 - page 55, line 11; claims 18, 21-25 ----- -/--	1-20, 30-36, 41-48, 56-60, 65-69, 123, 125-143, 147-152

[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
25 April 2018	14/05/2018

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	Montero Lopez, B

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2018/016510

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2009/046738 A1 (CUREVAC GMBH [DE]; BARNER MARIJKE [DE]; PROBST JOCHEN [DE]; LANDER THO) 16 April 2009 (2009-04-16) page 1, paragraph 1 page 6, line 1 - line 28 page 11, line 26 - page 12, line 30 page 26, line 14 - page 40, line 33 page 45, line 21 - page 46, line 16	1-20, 30-36, 41-48, 56-60, 65-69, 123, 125-143, 147-152
A	US 2014/044755 A1 (NAOI TOMOYUKI [JP] ET AL) 13 February 2014 (2014-02-13) page 1, paragraph 0002 page 1, paragraph 0014 - page 2, paragraph 0022 page 15, paragraph 0169 - page 16, paragraph 0177	1-189
A	TRAN ERIC ET AL: "T-Cell Transfer Therapy Targeting Mutant KRAS in Cancer", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 375, no. 23, 8 December 2016 (2016-12-08), pages 2255-2262, XP002780492, cited in the application the whole document	1-189
A	WO 2015/123532 A1 (GLOBEIMMUNE INC [US]) 20 August 2015 (2015-08-20) page 3, paragraph 0009 page 4, paragraph 0016 - page 6, paragraph 0023 page 11, paragraph 0054 - page 13, paragraph 0057 page 14, paragraph 0060 - page 17, paragraph 0069	1-189
A	CORRALES LETICIA ET AL: "The host STING pathway at the interface of cancer and immunity", JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, vol. 126, no. 7, July 2016 (2016-07), pages 2404-2411, XP002780493, the whole document	1-189
A,P	WO 2017/020026 A1 (MODERNATX INC [US]) 2 February 2017 (2017-02-02) page 1, line 31 - page 3, line 3 page 5, line 21 - page 6, line 3 page 14, line 16 - page 15, line 32; examples	1-189

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2018/016510

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016202937 A1	22-12-2016	AU 2016280770 A1	04-01-2018
		CA 2989373 A1	22-12-2016
		CN 107922472 A	17-04-2018
		EP 3310808 A1	25-04-2018
		KR 20180021072 A	28-02-2018
		WO 2016202937 A1	22-12-2016
WO 2009046738 A1	16-04-2009	AU 2008309930 A1	16-04-2009
		CA 2696768 A1	16-04-2009
		CN 101820899 A	01-09-2010
		EP 2197481 A2	23-06-2010
		JP 5139529 B2	06-02-2013
		JP 6012423 B2	25-10-2016
		JP 6031131 B2	24-11-2016
		JP 2010540672 A	24-12-2010
		JP 2013067633 A	18-04-2013
		JP 2015110613 A	18-06-2015
		RU 2010118024 A	20-11-2011
		US 2010291156 A1	18-11-2010
		US 2013202645 A1	08-08-2013
		US 2016317636 A1	03-11-2016
		US 2016346370 A1	01-12-2016
		WO 2009046738 A1	16-04-2009
		WO 2009046974 A2	16-04-2009
US 2014044755 A1	13-02-2014	AU 2013291125 A1	22-01-2015
		CA 2878314 A1	23-01-2014
		CN 104471062 A	25-03-2015
		EP 2873732 A1	20-05-2015
		HK 1207113 A1	22-01-2016
		HK 1207666 A1	05-02-2016
		JP 6272226 B2	31-01-2018
		JP WO2014013995 A1	07-07-2016
		SG 11201502954T A	28-05-2015
		TW 201408324 A	01-03-2014
		US 2014044755 A1	13-02-2014
		WO 2014013995 A1	23-01-2014
WO 2015123532 A1	20-08-2015	NONE	
WO 2017020026 A1	02-02-2017	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		テーマコード（参考）
A61K 38/02	*(2006.01)*	A61K	38/02	
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	N
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	39/395	T
A61K 9/51	*(2006.01)*	A61K	45/00	
A61K 9/127	*(2006.01)*	A61K	9/51	
A61K 47/69	*(2017.01)*	A61K	9/127	
A61K 47/24	*(2006.01)*	A61K	47/69	
A61K 47/28	*(2006.01)*	A61K	47/24	
A61K 47/22	*(2006.01)*	A61K	47/28	
A61K 47/18	*(2006.01)*	A61K	47/22	
C12N 15/12	*(2006.01)*	A61K	47/18	
C07K 14/705	*(2006.01)*	C12N	15/12	
C07K 14/725	*(2006.01)*	C07K	14/705	
C07K 16/28	*(2006.01)*	C07K	14/725	
C12N 15/13	*(2006.01)*	C07K	16/28	
A61K 39/00	*(2006.01)*	C12N	15/13	
A61K 39/39	*(2006.01)*	A61K	39/00	H
C12N 15/62	*(2006.01)*	A61K	39/39	
		C12N	15/62	

(31)優先権主張番号 62/467,063
(32)優先日 平成29年3月3日(2017.3.3)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/541,571
(32)優先日 平成29年8月4日(2017.8.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策
(72)発明者 フアン, エリック イーーチュン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１１８, ボストン, ウェアハム ストリート ９０, ユニット ３０２
(72)発明者 ツェ, ジィーーワー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３９, ケンブリッジ, テクノロジー スクエア ２００
(72)発明者 イアコヴェッリ, ジャレッド
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４５１, ウォルサム, リッチ ストリート ２０

ナンバー２
(72)発明者　マッキーニー，　クリスティン
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１３９，　ケンブリッジ，　ハイランド　アベニュー　７３
(72)発明者　バリアンテ，　ニコラス
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１３９，　ケンブリッジ，　ノーフォーク　ストリート　７０

Ｆターム(参考)　4C076 AA19 AA65 BB15 CC06 CC07 CC27 CC41 DD49F DD63F DD70F EE23F EE59 EE59F FF16
4C084 AA02 AA03 AA13 AA19 BA44 DA27 MA02 MA24 MA38 MA66 NA05 ZB021 ZB051 ZB071 ZB091 ZB092 ZB261 ZB262 ZC751
4C085 AA03 AA14 AA38 BB01 CC23 CC31 EE01 EE03 EE06 FF12 FF13 GG03
4H045 AA10 AA11 AA30 BA41 CA40 CA41 DA50 DA76 DA86 EA31 FA74