

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7707161号
(P7707161)

(45)発行日 令和7年7月14日(2025.7.14)

(24)登録日 令和7年7月4日(2025.7.4)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 N	7/01 (2006.01)	C 1 2 N	7/01	Z N A
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	31/4738(2006.01)	A 6 1 K	31/4738	
請求項の数 25 (全183頁) 最終頁に続く				
(21)出願番号	特願2022-523911(P2022-523911)	(73)特許権者	517228342	
(86)(22)出願日	令和2年10月23日(2020.10.23)		チェックメイト ファーマシューティカ	
(65)公表番号	特表2022-554175(P2022-554175 A)		ルズ, インコーポレイテッド	
(43)公表日	令和4年12月28日(2022.12.28)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2	
(86)国際出願番号	PCT/US2020/057099		1 4 2, ケンブリッジ, 1 ブロード	
(87)国際公開番号	WO2021/081353	(74)代理人	100078282	
(87)国際公開日	令和3年4月29日(2021.4.29)		弁理士 山本 秀策	
審査請求日	令和5年10月23日(2023.10.23)	(74)代理人	100113413	
(31)優先権主張番号	62/925,120		弁理士 森下 夏樹	
(32)優先日	令和1年10月23日(2019.10.23)	(74)代理人	100181674	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 飯田 貴敏	
		(74)代理人	100181641	
			弁理士 石川 大輔	
		(74)代理人	230113332	
				最終頁に続く

(54)【発明の名称】 合成 R I G - I 様受容体アゴニスト

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) ウイルス様粒子であって、配列番号 1 1 2 ~ 1 2 9 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %または 1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を有するバクテリオファージコートタンパク質を含む、ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン R N A を含み、式：

5 ' - (N ₁ - N ₂ - X ₁) - L - (X ₂ - N ₃ - N ₄) - 3 '、[式中、

(i) (N ₁ - N ₂ - X ₁) は、連結されたヌクレオチド N ₁、N ₂ 及び X ₁ を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、

(i i) (X ₂ - N ₃ - N ₄) は、連結されたヌクレオチド X ₂、N ₃ 及び N ₄ を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、

(i i i) N ₁、N ₂、N ₃ 及び N ₄ は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5 - メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(i v) N ₁ は N ₄ と塩基対合し、

(v) N ₂ は N ₃ と塩基対合し、

(v i) N ₁ は 5 ' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X ₁ は、配列モチーフ [A U C N ₅] _x (ただし、N ₅ はグアノシンまたはイノ

シンを含み、 x はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $x = 2 \sim 4$ である)を含み、

($v i i i$) X_2 は、配列モチーフ $[C N_6 A U]_y$ (ただし、 N_6 はグアノシンまたはイノシンを含み、 y はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $y = 2 \sim 4$ である)を含み、

($i x$) L は、前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、前記リンカーが、ヌクレオチドリンカーまたは非ヌクレオチドリンカーであり、

N_1 、 N_2 、 N_3 、及び N_4 のうちの少なくとも1つはイノシンであり、ならびに／あるいは X_1 及び／または X_2 の少なくとも一方は少なくとも1個のイノシンヌクレオシドを含み、前記イノシンヌクレオシドは前記ヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、前記少なくとも1つの合成RNAアゴニストと、を含み、

前記少なくとも1つのRLRアゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

【請求項2】

前記リンカーが、ヌクレオチドリンカーである、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記ヌクレオチドリンカーがテトラループを含み、前記テトラループのヌクレオチド配列が、

- (a) $U N C G$ (ただし、 $N = A$ 、 C 、 G 、または U)、
- (b) $G N R A$ (ただし、 $N = A$ 、 C 、 G 、または U 、かつ $R = A$ または G)、
- (c) $A N Y A$ (ただし、 $N = A$ 、 C 、 G 、または U 、かつ $Y = C$ または T)、
- (d) $C U Y G$ (ただし、 $Y = C$ または T)、
- (e) $U M A C$ (ただし、 $M = A$ または C)、及び
- (f) $C U U G$ からなる群から選択される、請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

前記非ヌクレオチドリンカーが、

- (a) エチレングリコールリンカー、及び
- (b) アルキルリンカーからなる群から選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項5】

前記アゴニストが、修飾ヌクレオチド、修飾ヌクレオシド、または修飾核酸塩基、またはこれらの組み合わせを含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項6】

前記アゴニストが、ヌクレオチド間結合またはポリヌクレオチド骨格への修飾を含む、請求項1～5のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項7】

前記アゴニストが、以下の特性：

(a) 1つ以上のRLR (例えば、 $R I G-1$ 、 $M D A 5$ 及び／または $L G P 2$) に特異的に結合する；

(b) RLR媒介サイトカイン産生を増加させる；

(c) インターフェロン刺激遺伝子 ($I S G$) のRLR媒介発現を増加させる；

(d) RLR依存性細胞内シグナル伝達を増加させる；

(e) 二重鎖の安定性を増加させる；

(f) RLRに対する結合親和性を増加させる；

(g) オフターゲット結合を減少させる；

(h) 生物学的半減期を増加させる；

(i) 体内分布及びバイオアベイラビリティを増加させる；

(j) 細胞及び／または組織中への取り込みを増加及び／または増大させる；

(k) 免疫原性を低下させる；及び

(l) (a)～(k)のいずれかの組み合わせのうちの少なくとも1つ以上を示す、請求

10

20

30

40

50

項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記アゴニストを構成する前記ヌクレオチド配列がゲノム DNA 配列にも mRNA 配列にも相補的でなく、前記 R L R アゴニストが RNA 干渉に関与せず、前記 R L R アゴニストが遺伝子発現をサイレンシングしない、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記ウイルス様粒子が、リポタンパク質含有エンベロープを有さない、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記ウイルス様粒子が組換えウイルス様粒子であり、
前記組換えウイルス様粒子が、

- (a) B 型肝炎ウイルスの組換えタンパク質、
- (b) 麻疹ウイルスの組換えタンパク質、
- (c) シンドビス (S i n b i s) ウイルスの組換えタンパク質、
- (d) ロタウイルスの組換えタンパク質、
- (e) 手足口病ウイルスの組換えタンパク質、
- (f) レトロウイルスの組換えタンパク質、
- (g) ノーウォークウイルスの組換えタンパク質、
- (h) ヒトパピローマウイルスの組換えタンパク質、
- (i) B K ウイルスの組換えタンパク質、
- (j) バクテリオファージの組換えタンパク質、
- (k) RNA ファージの組換えタンパク質、
- (l) Q β ファージの組換えタンパク質、
- (m) G A ファージの組換えタンパク質、
- (n) f r ファージの組換えタンパク質、
- (o) A P 2 0 5 ファージの組換えタンパク質、
- (p) T y の組換えタンパク質、及び
- (q) (a) ～ (p) の組換えタンパク質のいずれかのフラグメントからなる群から選択される、

請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記ウイルス様粒子が RNA ファージの組換えタンパク質を含み、前記 RNA ファージが、(a) バクテリオファージ Q β 、(b) バクテリオファージ R 1 7、(c) バクテリオファージ f r、(d) バクテリオファージ G A、(e) バクテリオファージ S P、(f) バクテリオファージ M S 2、(g) バクテリオファージ M 1 1、(h) バクテリオファージ M X 1、(i) バクテリオファージ N L 9 5、(j) バクテリオファージ f 2、(k) バクテリオファージ P P 7、及び (l) バクテリオファージ A P 2 0 5 からなる群から選択される、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記ウイルス様粒子が、RNA ファージ Q β の組換えタンパク質、またはそのフラグメントを含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記バクテリオファージコートタンパク質が、配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列をそれぞれ有する RNA ファージ Q β コートタンパク質である、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 14】

前記 R L R アゴニストが前記ウイルス様粒子に非共有結合により結合している、請求項 1 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 15】

前記ウイルス様粒子に結合された少なくとも1つの抗原または抗原決定基をさらに含む、請求項1～14のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項16】

請求項1～15のいずれか1項に記載の組成物と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項17】

請求項1～15のいずれか1項に記載の組成物または請求項16に記載の医薬組成物および、対象の免疫応答を刺激するため、対象のがんを治療するかもしくはその進行を遅らせるため、または腫瘍増殖を阻害するための使用説明書を含むキットであって、必要に応じて、1つ以上のさらなる治療剤と併用して使用するための使用説明書を含む、キット。

10

【請求項18】

対象の免疫応答を刺激するため、対象のがんを治療するかもしくはその進行を遅らせるため、または腫瘍増殖を阻害するための、請求項1～15のいずれか1項に記載の組成物または請求項16に記載の医薬組成物であって、必要に応じて、1つ以上のさらなる治療剤と併用して使用するためのものである、組成物。

【請求項19】

前記1つ以上のさらなる治療剤は、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤（例えば、オプソニン化抗体）、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項18に記載の組成物。

20

【請求項20】

前記アゴニストまたは医薬組成物が、前記1つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または前記1つ以上のさらなる治療剤が前記アゴニストまたは医薬組成物の前記投与と同時に、その前もしくはその後に投与される、請求項18または19に記載の組成物。

【請求項21】

前記1つ以上のさらなる治療剤が、PD-1/PD-L1アンタゴニスト、TIM-3アンタゴニスト、VISTAアンタゴニスト、アデノシンA2ARアンタゴニスト、B7-H3アンタゴニスト、B7-H4アンタゴニスト、BTLAアンタゴニスト、CTLA-4アンタゴニスト、IDOアンタゴニスト、KIRアンタゴニスト、LAG-3アンタゴニスト、Toll様受容体3（TLR3）アゴニスト、Toll様受容体7（TLR7）アゴニスト、Toll様受容体9（TLR9）アゴニストまたはCD137（4-1BB）もしくはCD134（OX40）に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである、請求項18～20のいずれか1項に記載の組成物。

30

【請求項22】

請求項1～15のいずれか1項に記載の組成物を製造する方法であって、

（A）前記ウイルス様粒子を分解することと、

（B）前記RLRアゴニストを添加することと、

（C）前記ウイルス様粒子を再集合化することと、を含む、前記方法。

40

【請求項23】

前記分解されたウイルス様粒子の核酸を除去することをさらに含む、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

再集合化後に前記組成物を精製することをさらに含む、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

（D）抗原または抗原決定基を前記ウイルス様粒子に結合させることをさらに含む、請求項22～24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】

50

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年10月23日出願の米国仮特許出願第62／925，120号の利益を主張するものである。上記出願全体の内容を参照によって本明細書に援用するものである。

【背景技術】

【0002】

細胞内に導入された外因性核酸、特にウイルス核酸は自然免疫応答を誘導し、他の事象の中でも特にインターフェロン（IFN）産生及び細胞死をもたらす。ウイルスRNAを検知すると、RIG-I様受容体はI型インターフェロン（IFN）分泌を誘導して感染細胞及び隣接細胞における抗ウイルスIFN誘導タンパク質の発現上昇をもたらす、それによりウイルス複製を阻害する。さらに下流の事象が免疫細胞を呼び寄せ、適応免疫応答を誘発する。さらに、RIG-Iリガンドは、多くの異なるタイプの腫瘍細胞のアポトーシスを誘導することが報告されているが、正常細胞のアポトーシスは誘導しない。

【0003】

ウイルス様粒子（VLP）は、1つ以上の種類の多数のタンパク質分子から対称的な形で構築される超分子構造である。VLPはウイルスゲノムを欠いているため、非感染性である。VLPは、しばしば異種発現によって大量に生成することができ、容易に精製することができる。

【0004】

VLPは、その構造的特性及び非感染性の両方のためにワクチン学、免疫学及び医学の分野で使用されている。VLPは、おそらくはミクロピノサイトーシスまたは他の細胞取り込み経路による取り込みの後、効率的にプロセッシングされ、MHCクラスI上にクロスプライミングされることで、MHCクラスI分子上に効率的に提示されることが示されている。

【0005】

免疫調節タンパク質の活性を調節するためのさらなる改良された組成物及び方法が依然として求められている。かかる薬剤は、がん免疫療法及び慢性感染などの他の状態の治療に使用することができる。多様な治療的免疫調節用途のために、改良された送達方法を含む改良されたRIG-I様受容体リガンドの開発が求められている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は、少なくともその一部において、RIG-I様受容体（RLR）アゴニストとして機能する合成RNA分子の発見に基づくものである。本開示はまた、免疫刺激性核酸、特にRLRアゴニストをVLP（RIG-VLP）にパッケージングすることによって生物学的活性を改善するための組成物及び方法も提供する。本明細書に記載される組成物を使用することで腫瘍の治療に特に有用な強力かつ持続的な免疫応答を誘導することができる。

【0007】

したがって、いくつかの態様では、本開示は、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RIG-I様受容体（RLR）に特異的に結合する少なくとも1つの合成RIG-I様受容体（RLR）アゴニストであって、10～100ヌクレオチドの長さのリボ核酸（RNA）を含むRLRアゴニストと、を含む、組成物であって、RNAの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸もしくは三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0008】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、
(b) RI G-I様受容体(RLR)に特異的に結合する少なくとも1つの合成RI G-I様受容体(RLR)アゴニストであって、10~100ヌクレオチドの長さのリボ核酸(RNA)を含み、RNAの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸もしくは三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0009】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、RNAは一本鎖である。他の態様では、RNAの一部または全部は二本鎖である。

【0010】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、RLRアゴニストのRNAは、10~15、15~20、20~25、25~30または30~35ヌクレオチドの長さである。

【0011】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、RLRアゴニストは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを含み、第1のポリヌクレオチドは、第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するだけ十分に相補的である。いくつかの態様では、二重鎖はヘアピンを含む。いくつかの態様では、二重鎖は、10~15、15~20、20~25、25~30または30~35個の塩基対を含む。いくつかの態様では、二重鎖は、19個未満の塩基対を含む。いくつかの態様では、第1のポリヌクレオチドは、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続される。

【0012】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、RLRアゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較してRLRによって媒介される少なくとも1つの生物学的活性を与える配列モチーフを含む。

【0013】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RI G-I様受容体(RLR)に特異的に結合する少なくとも1つの合成RI G-I様受容体(RLR)アゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含む、少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含む、組成物を提供する。いくつかの態様では、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、少なくとも1つのRLRアゴニストは、ウイルス様粒子中にパッケージングされる。

【0014】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、

(b) RI G-I様受容体(RLR)に特異的に結合する少なくとも1つの合成RI G-I様受容体(RLR)アゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含む、少なくとも

10

20

30

40

50

1つの合成RLRアゴニストと、を含む、組成物を提供する。いくつかの態様では、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、少なくとも1つのRLRアゴニストは、ウイルス様粒子中にパッケージングされる。

【0015】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、RLRアゴニストは、

- (i) GT反復モチーフ、
- (ii) GA反復モチーフ、
- (iii) AUCG反復モチーフ、
- (iv) AU反復モチーフ、
- (v) ジピリミジンモチーフ、
- (vi) ジプリンモチーフ、
- (vii) ピリミジントリプレットモチーフ、
- (viii) プリントリプレットモチーフ、
- (ix) パリンドローム配列モチーフ、及び
- (x) (i) ~ (ix) のいずれかの組み合わせからなる群から選択される配列モチーフを含む。

【0016】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

- (a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、
- (b) RI G-I様受容体(RLR)に特異的に結合する少なくとも1つの合成RI G-I様受容体(RLR)アゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、

- (i) GT反復モチーフ、
- (ii) GA反復モチーフ、
- (iii) AUCG反復モチーフ、
- (iv) AU反復モチーフ、
- (v) ジピリミジンモチーフ、
- (vi) ジプリンモチーフ、
- (vii) ピリミジントリプレットモチーフ、
- (viii) プリントリプレットモチーフ、
- (ix) パリンドローム配列モチーフ、及び
- (x) (i) ~ (ix) のいずれかの組み合わせから選択される配列モチーフを含む、少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0017】

いくつかの態様では、本開示のRLRアゴニストは、配列モチーフの組み合わせを含む。いくつかの態様では、配列モチーフの組み合わせは、GT反復モチーフとプリントリプレットモチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフの組み合わせは、AUCG反復モチーフとジピリミジンモチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフの組み合わせは、AUCG反復モチーフとジプリンモチーフである。

【0018】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、少なくとも1つの改善された生物学的活性は、

- (i) RLR媒介サイトカイン産生の増加、

- (i i) インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、
- (i i i) R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、
- (i v) R L R に対する結合親和性の増加、及び
- (v) (i) ~ (i v) のいずれかの組み合わせから選択される。

【0019】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示の R L R アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して R L R 媒介 I 型インターフェロン（例えば、I F N - α 、I F N - β ）産生を増加させる配列モチーフを含む。いくつかの態様では、本開示の R L R アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して R L R 媒介 I L - 1 β 産生を増加させる配列モチーフを含む。いくつかの態様では、本開示の R L R アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して R L R 媒介 I P - 1 0 産生を増加させる配列モチーフを含む。いくつかの態様では、本開示の R L R アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して R L R 媒介 I L - 6、I L - 1 2 p 7 0、M C P - 1 及び／または M I P - 1 β 産生を増加させる配列モチーフを含む。

【0020】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示の R L R アゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、19 個未満、約 15 ~ 18 個、約 15 個、約 10 ~ 15 個、約 10 個、約 5 ~ 10 個、約 5 個、約 4、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または 4 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフ（例えば、G T G T G T）である。いくつかの態様では、配列モチーフは、19 個未満のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約 15 ~ 18 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約 15 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約 10 ~ 15 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約 5 ~ 10 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約 5 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約 4 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、G T 反復モチーフは、R L R アゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、R L R 媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、R L R に対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0021】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示の R L R アゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または 4 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 18 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 16 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 14 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 12 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその

誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 10 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 8 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 6 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは 4 個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである。いくつかの態様では、本開示の R L R アゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは G T 反復モチーフであり、G T 反復モチーフは $[G T]_n$ (ただし、 $n = 2 \sim 9$ 、 $3 \sim 7$ 、または $4 \sim 8$) である。いくつかの態様では、G T 反復モチーフは、R L R アゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、R L R 媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、R L R に対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0022】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、リンカーによって第 2 のポリヌクレオチドに接続された（機能的に連結された）第 1 のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、第 1 のポリヌクレオチドは第 2 のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は 19 個未満の塩基対を含み、第 1 のオリゴヌクレオチドの最も 5' 側のヌクレオチドが 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、R L R によって媒介される少なくとも 1 つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第 1 のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが約 14 個のグアニン及びチミンヌクレオチドの配列を含む G T 反復モチーフである、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0023】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNA フェージ Q β のウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、リンカーによって第 2 のポリヌクレオチドに接続された（機能的に連結された）第 1 のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、第 1 のポリヌクレオチドは第 2 のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は 19 個未満の塩基対を含み、第 1 のオリゴヌクレオチドの最も 5' 側のヌクレオチドが 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、R L R によって媒介される少なくとも 1 つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第 1 のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが約 14 個のグアニン及びチミンヌクレオチドの配列を含む G T 反復モチーフである、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0024】

いくつかの態様では、配列モチーフは G T 反復モチーフであり、G T 反復モチーフは $[G T]_7$ である。いくつかの態様では、改善された生物学的活性は、R L R 媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、R L R に対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0025】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも1つのR L R アゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、R L R によって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが6個のグアニン及びチミンヌクレオチドの配列を含むG T 反復モチーフである、少なくとも1つのR L R アゴニストと、を含み、少なくとも1つのR L R アゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。

10

【0026】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNA フェージQ β のウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも1つのR L R アゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、R L R によって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが6個のグアニン及びチミンヌクレオチドの配列を含むG T 反復モチーフである、少なくとも1つのR L R アゴニストと、を含み、少なくとも1つのR L R アゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。

20

【0027】

いくつかの態様では、配列モチーフはG T 反復モチーフであり、G T 反復モチーフは[G T]₃である。いくつかの態様では、配列モチーフはG T リピートモチーフであり、G T リピートモチーフは[G T]₃であり、G T リピートにそれぞれプリントリプレット及びU C G が続く。いくつかの態様では、プリントリプレットは、G G A である。いくつかの態様では、改善された生物学的活性は、R L R 媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のR L R 媒介発現の増加、R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、R L R に対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

30

【0028】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のR L R アゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、19個未満、約15～18個、約15個、約10～15個、約10個、約5～10個、約5個、約4、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むG A 反復モチーフ（例えば、G A G A G A）である。いくつかの態様では、配列モチーフは、19個未満のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むG A 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約15～18個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むG A 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約15個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むG A 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約10～15個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むG A 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約10個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むG A 反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約5～

40

50

10個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約5個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約4個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、GA反復モチーフは、RLRアゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0029】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは18個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは16個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは14個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは12個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは8個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは6個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは4個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。

【0030】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフはGA反復モチーフであり、GA反復モチーフは $[GT]_n$ （ただし、 $n=2\sim9$ 、 $3\sim7$ または $4\sim8$ ）である。いくつかの態様では、GA反復モチーフは、RLRアゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0031】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが約14個のグアニン及びアデニンヌクレオチドの配列を含むGA反復モチーフである、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0032】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが約14個のグアニン及びアデニンヌクレオチドの配列を含むGA反復モチーフである、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0033】

いくつかの態様では、配列モチーフはGA反復モチーフであり、GA反復モチーフは[GT]₇である。いくつかの態様では、GA反復モチーフは、RLRアゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0034】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、19個未満、約16個、約12~16個、約12個、約8~12個、約6、16、12、8個のアデニン、ウラシル、シトシン、及びグアニンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフ（例えば、AUCGAUCG）である。いくつかの態様では、配列モチーフは、19個未満のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約16個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約12~16個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約12個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約8~12個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは、約6個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは16個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは12個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、配列モチーフは8個のアデニン、ウラシル、シトシン及びグアニンヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。いくつかの態様では、AUCG反復モチーフは、RLRアゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0035】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは配列モチ

ーフを含み、配列モチーフはAUCG反復モチーフであり、AUCG反復モチーフは[AUCG]_n（ただし、n=2~4、または2、3、または4）である。いくつかの態様では、AUCG反復モチーフは、RLRアゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0036】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが約12個のグアニン及びアデニンヌクレオチドの配列を含むAUCG反復モチーフである、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含む、組成物を提供する。いくつかの態様では、AUCG反復モチーフは[AUCG]₃であり、少なくとも1つのRLRアゴニストはウイルス様粒子内にパッケージングされる。

【0037】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチドが配列モチーフを含み、配列モチーフが約12個のグアニン及びアデニンヌクレオチドの配列を含むAUCG反復モチーフである、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含む、組成物を提供する。いくつかの態様では、AUCG反復モチーフは[AUCG]₃であり、少なくとも1つのRLRアゴニストはウイルス様粒子内にパッケージングされる。

【0038】

いくつかの態様では、AUCG反復モチーフは、RLRアゴニストの改善された生物学的活性を提供し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0039】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストはAUCG反復モチーフを含み、モチーフの前にCGまたはジピリミジンモチーフが位置する。いくつかの態様では、AUCG反復モチーフの前にCGが位置する。いくつかの態様では、AUCG反復モチーフは[AUCG]₃であり、その前にCGが位置する。いくつかの態様では、AUCG反復モチーフは[AUCG]₃であり、その前にジピリミジンモチーフCGが位置する。

【0040】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストはAUCG

反復モチーフを含み、モチーフの前にジブリンモチーフが位置する。いくつかの態様では、ジブリンモチーフはG Aである。いくつかの態様では、A U C G反復モチーフは[A U C G]₃であり、その前にジブリンモチーフG Aが位置する。いくつかの態様では、A U C G反復モチーフの前にジブリンモチーフI Iが位置する。

【0041】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のR L RアゴニストはA U C G反復モチーフを含み、1つ以上のウリジンヌクレオシド(U)が修飾ヌクレオシドに置換されている。いくつかの態様では、修飾ヌクレオシドは、リボチミジン(T)である。いくつかの態様では、A U G C反復モチーフは[A U C G]₃であり、A U C G反復モチーフを構成する1つ以上のウリジンヌクレオシド(U)が修飾ヌクレオシドに置換されており、修飾ヌクレオシドはリボチミジン(T)である。いくつかの態様では、A U C G反復モチーフは[A U C G]₃であり、A U C G反復モチーフを構成する1つ以上のウリジンヌクレオシド(U)が修飾ヌクレオシドに置換されており、修飾ヌクレオシドはリボチミジン(T)であり、A U G C反復モチーフの前にG Gが位置する。

10

【0042】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のR L RアゴニストはA U C G反復モチーフを含み、1つ以上のグアノシンヌクレオシド(G)が修飾ヌクレオシドに置換されている。いくつかの態様では、修飾ヌクレオシドは、イノシン(I)である。いくつかの態様では、A U C G反復モチーフは[A U C G]₃であり、A U C G反復モチーフを構成する1つ以上のグアノシンヌクレオシド(G)が修飾ヌクレオシドに置換されており、修飾ヌクレオシドはリボチミジン(T)であり、A U G C反復モチーフの前にG Gが位置する。

20

【0043】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のR L RアゴニストはA U C G反復モチーフを含み、モチーフの前にI Gが位置する。いくつかの態様では、A U C G反復モチーフは[A U C G]₃であり、その前にI Gが位置する。

【0044】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のR L Rアゴニストは、A U C Gリピートを含み、1つ以上のグアノシンヌクレオシド(G)がイノシン(I)に置換されており、A U C Gリピートの前にイノシン(I)が位置する。いくつかの態様では、A U C Gリピートを構成するグアノシンヌクレオシド(G)がイノシン(I)に置換され、A U C Gリピートの前にイノシン(I)が位置し、第1のポリヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドがイノシン(I)を含む。

30

【0045】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のR L RアゴニストはA U C G反復モチーフを含み、A U C G反復モチーフは[A U C G]₂である。いくつかの態様では、配列モチーフはA U C G反復モチーフであり、A U C G反復モチーフは[A U C G]₂であり、A U C G反復モチーフの前にジブリンモチーフが位置する。いくつかの態様では、配列モチーフはA U C G反復モチーフであり、A U C G反復モチーフは[A U C G]₂であり、A U C G反復モチーフの前にジブリンモチーフが位置し、ジブリンモチーフはG Gである。

40

【0046】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のR L RアゴニストはA U C G反復モチーフを含み、A U C G反復モチーフは[A U C G]₂であり、A U C G反復モチーフの前にプリントリプレットモチーフが位置する。いくつかの態様では、プリントリプレットは、G G Gである。いくつかの態様では、配列モチーフはA U C G反復モチーフであり、A U C G反復モチーフは[A U C G]₂であり、A U C G反復モチーフの前にプリントリプレットモチーフが位置し、プリントリプレットモチーフはG G Gである。いくつかの態様では、配列モチーフはA U C G反復モチーフであり、A U C G反復モチーフは[A U C G]₂であり、A U C G反復モチーフの前にC C C C C Gが位置する。いくつかの

50

態様では、配列モチーフはAUCG反復モチーフであり、AUCG反復モチーフは[AUCG]₂であり、AUCG反復モチーフの前にTCGUCGが位置する。

【0047】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つの合成RLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストが、[AUCG]_n反復モチーフ（ただし、 $n = 2 \sim 4$ ）を含み、最も5'側のAUCG反復モチーフの前にGG、CG、またはIGが位置する、少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。いくつかの態様では、 $n = 3$ である。いくつかの態様では、AUCGモチーフ中の各Gは、イノシンに置換されている。

【0048】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つの合成RLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストが、[AUCG]_n反復モチーフ（ただし、 $n = 2 \sim 4$ ）を含み、最も5'側のAUCG反復モチーフの前にGG、CG、またはIGが位置する、少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子内にパッケージングされている、組成物を提供する。いくつかの態様では、 $n = 3$ である。いくつかの態様では、AUCGモチーフ中の各Gは、イノシンに置換されている。

【0049】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された、19個未満、約15～18個、約15個、約10～15個、約10個、約18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された19個未満のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された約15～18個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された約15個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された約10～15個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された約10個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された18個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された17

個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された16個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された15個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された14個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された13個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された12個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された11個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された10個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された9個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された8個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された7個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された6個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された5個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。いくつかの態様では、配列モチーフは、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された4個のヌクレオチド、またはその誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である。

【0050】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストはリンカーを含み、リンカーにAUが隣接する。いくつかの態様では、リンカーにはAU反復モチーフが隣接し、AU反復モチーフは $[AU]_n$ （ただし、 $n = 2 \sim 3$ ）である。いくつかの態様では、AU反復モチーフは、 $[AU]_2$ である。

【0051】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

$5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、

(i) $(N_1 - N_2 - X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2 - N_3 - N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は5'二リン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を

含み、

(v i i) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(v i i i) X_1 は X_2 と相補的であり、

(i x) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N1、N2、N3、及びN4のうちの少なくとも1つはイノシンであり、及び／または X_1 及び／または X_2 の少なくとも一方は少なくとも1個のイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、少なくとも1つの合成RNAアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0052】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5'-(N₁-N₂-X₁)-L-(X₂-N₃-N₄)-3'、[式中、

(i v) (N₁-N₂-X₁) は、連結されたヌクレオチドN₁、N₂及びX₁を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(v) (X₂-N₃-N₄) は、連結されたヌクレオチドX₂、N₃及びN₄を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(v i) N₁、N₂、N₃及びN₄は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(i v) N₁ はN₄と塩基対合し、

(v) N₂ はN₃と塩基対合し、

(v i) N₁ は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(v i i i) X_1 は X_2 と相補的であり、

(i x) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N1、N2、N3、及びN4のうちの少なくとも1つはイノシンであり、及び／または X_1 及び／または X_2 の少なくとも一方は少なくとも1個のイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、少なくとも1つの合成RNAアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0053】

いくつかの態様では、本開示のRLRアゴニストは改善された生物学的活性を有し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結

10

20

30

40

50

合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0054】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、非ヌクレオチドリinkerを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

$5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、

(i) $(N_1 - N_2 - X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2 - N_3 - N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド〜16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリinkerである] を含む、少なくとも1つのRNAアゴニストと、を含み、

イノシンが存在する場合、シチジンと塩基対合し、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0055】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、非ヌクレオチドリinkerを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

$5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、

(i) $(N_1 - N_2 - X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2 - N_3 - N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(v i i i) X_1 は X_2 と相補的であり、
 (i x) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、
 (x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリinkerである]を含む、少なくとも1つのRNAアゴニストと、を含み、
 イノシンが存在する場合、シチジンと塩基対合し、
 少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0056】

いくつかの態様では、本開示のRLRアゴニストは改善された生物学的活性を有し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0057】

いくつかの態様では、N1はイノシンを含み、N4はシチジンを含む。いくつかの態様では、N1はイノシンを含み、N4はシチジンを含み、 X_1 及び X_2 はそれぞれ12ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、N1はシチジンを含み、N4はイノシンを含む。いくつかの態様では、N2はイノシンを含み、N3はシチジンを含む。いくつかの態様では、N2はシチジンを含み、N3はイノシンを含む。いくつかの態様では、N1はグアノシンを含む。いくつかの態様では、N2はグアノシンを含む。いくつかの態様では、N1はシチジンを含む。いくつかの態様では、N2はシチジンを含む。いくつかの態様では、N1及びN2はグアノシンを含み、N3及びN4はシチジンを含む。いくつかの態様では、N1及びN2はシチジンを含み、N3及びN4はグアノシンを含む。いくつかの態様では、N1及びN2はイノシンを含み、N3及びN4はシチジンを含む。いくつかの態様では、N1及びN2はシチジンを含み、N3及びN4はイノシンを含む。

【0058】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは、式：

5'-(N₁-N₂- X_1)-L-(X_2 -N₃-N₄)-3'、[式中、

(i) (N₁-N₂- X_1) は、連結されたヌクレオチドN₁、N₂及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X_2 -N₃-N₄) は、連結されたヌクレオチド X_2 、N₃及びN₄を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃及びN₄は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N₁はN₄と塩基対合し、

(v) N₂はN₃と塩基対合し、

(vi) N₁は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリinkerである]を有し、

イノシンが存在する場合、シチジンと塩基対合し、N1はイノシンを含み、N4はシチジンを含み、 X_1 及び/または X_2 はそれぞれ少なくとも1個のイノシンを含む。いくつか

10

20

30

40

50

の態様では、N 2 はイノシンを含み、N 3 はシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はグアノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はグアノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はグアノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ 1 2 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はシチジンを含み、N 3 及び N 4 はグアノシンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はグアノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はグアノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ 1 2 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はシチジンを含み、N 3 及び N 4 はグアノシンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない。いくつかの態様では、本開示の R L R アゴニストは改善された生物学的活性を有し、改善された生物学的活性は、R L R 媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、R L R に対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0059】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示の R L R アゴニストは、式：

5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄) - 3'、[式中、

(i) (N₁ - N₂ - X₁) は、連結されたヌクレオチド N₁、N₂ 及び X₁ を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X₂ - N₃ - N₄) は、連結されたヌクレオチド X₂、N₃ 及び N₄ を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃ 及び N₄ は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N₁ は N₄ と塩基対合し、

(v) N₂ は N₃ と塩基対合し、

(vi) N₁ は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X₁ 及び X₂ はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X₁ は X₂ と相補的であり、

(ix) X₁ 及び X₂ はそれぞれ、1 2 ヌクレオチド～1 6 ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第 1 のポリヌクレオチドと第 2 のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリンカーである] を有し、

イノシンが存在する場合、シチジンと塩基対合し、N 1 及び N 2 はイノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はイノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ 1 2 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はイノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含み、X 1 及び X 2 はそれぞれ 1 2 ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はシチジンを含

10

20

30

40

50

み、N 3 及び N 4 はイノシンを含み、X 1 及び／または X 2 はそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はイノシンを含み、N 3 及び N 4 はシチジンを含み、X 1 及び X 2 はイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない。いくつかの態様では、N 1 及び N 2 はシチジンを含み、N 3 及び N 4 はイノシンを含み、X 1 及び X 2 はイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない。いくつかの態様では、本開示の R L R アゴニストは改善された生物学的活性を有し、改善された生物学的活性は、R L R 媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、R L R に対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0060】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示の R L R アゴニストは、式：
 $5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、X 1 及び X 2 はそれぞれヌクレオチド 1 2 個であり、1、2、3 または 4 個のイノシンヌクレオシドを含む]を含む。いくつかの態様では、X 1 及び X 2 はそれぞれヌクレオチド 1 3 個であり、1、2、3、4 または 5 個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、X 1 及び X 2 はそれぞれヌクレオチド 1 4 個であり、1、2、3、4、5 または 6 個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、X 1 及び X 2 はそれぞれヌクレオチド 1 5 個であり、1、2、3、4、5、6 または 7 個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、X 1 及び X 2 はそれぞれヌクレオチド 1 6 個であり、それぞれ、1、2、3、4、5、6、7、または 8 個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、X 1 及び X 2 はそれぞれヌクレオチド 1 2 個であり、少なくとも 10%、20%、30% または 40%、イノシンヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、本開示の R L R アゴニストは改善された生物学的活性を有し、改善された生物学的活性は、R L R 媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、R L R に対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0061】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、
 (a) ウイルス様粒子と、
 (b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：
 $5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、
 (i) $(N_1 - N_2 - X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N 1、N 2 及び X 1 を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、
 (i i) $(X_2 - N_3 - N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X 2、N 3 及び N 4 を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、
 (i i i) N 1、N 2、N 3 及び N 4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、
 (i v) N 1 は N 4 と塩基対合し、
 (v) N 2 は N 3 と塩基対合し、
 (v i) N 1 は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、
 (v i i) X 1 は、配列モチーフ $[AUCN_5]_x$ (ただし、N 5 はグアノシンまたはイノシンを含み、x はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $x = 2 \sim 4$ である) を含み、
 (v i i i) X 2 は、配列モチーフ $[CN_6AU]_y$ (ただし、N 6 はグアノシンまたはイノシンを含み、y はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $y = 2 \sim 4$ である) を含み、
 (i x) L は、第 1 のポリヌクレオチドと第 2 のポリヌクレオチドとを機能的に連結する

リンカーであり、

場合により、 N_1 、 N_2 、 N_3 、及び N_4 のうちの少なくとも1つはイノシンであり、イノシンヌクレオチドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、
少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0062】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5'-(N_1 - N_2 - X_1)-L-(X_2 - N_3 - N_4)-3'、[式中、

(i v) (N_1 - N_2 - X_1)は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(v) (X_2 - N_3 - N_4)は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(v i) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(i v) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(v i) N_1 は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X_1 は、配列モチーフ[AUC N_5] x (ただし、 N_5 はグアノシンまたはイノシンを含み、 x はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $x=2\sim 4$ である)を含み、

(v i i i) X_2 は、配列モチーフ[CN N_6 AU] y (ただし、 N_6 はグアノシンまたはイノシンを含み、 y はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $y=2\sim 4$ である)を含み、

(i x) Lは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

場合により、 N_1 、 N_2 、 N_3 、及び N_4 のうちの少なくとも1つはイノシンであり、イノシンヌクレオチドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、
少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0063】

いくつかの態様では、 N_5 はイノシンを含み、 N_6 はイノシンを含む。いくつかの態様では、 N_5 はグアノシンを含み、 N_6 はイノシンを含む。いくつかの態様では、 N_5 はイノシンを含み、 N_6 はグアノシンを含む。いくつかの態様では、 N_5 はグアノシン(G)を含み、 N_6 はグアノシン(G)を含む。いくつかの態様では、 $x=2$ かつ $y=2$ である。いくつかの態様では、 $x=3$ かつ $y=3$ である。いくつかの態様では、 $x=4$ かつ $y=4$ である。いくつかの態様では、 N_1 はイノシン(I)を含み、 N_4 はシチジン(C)を含む。いくつかの態様では、 N_2 はイノシン(I)を含み、 N_3 はシチジン(C)を含む。いくつかの態様では、 N_3 はイノシン(I)を含み、 N_2 はシチジン(C)を含む。いくつかの態様では、 N_4 はイノシン(I)を含み、 N_1 はシチジン(C)を含む。いくつかの態様では、 N_1 はグアノシン(G)を含む。いくつかの態様では、 N_2 はグアノシン(G)を含む。いくつかの態様では、 N_1 はシチジン(C)を含む。いくつかの態様では、 N_2 はシチジン(C)を含む。いくつかの態様では、 N_1 及び N_2 はグアノシン(G)を含み、 N_3 及び N_4 はシチジン(C)を含む。いくつかの態様では、 N_1 及び N_2 はシチ

10

20

30

40

50

ジン（C）を含み、N3及びN4はグアノシン（G）を含む。いくつかの態様では、N1及びN2はイノシン（I）を含み、N3及びN4はシチジン（C）を含む。いくつかの態様では、N1及びN2はシチジン（C）を含み、N3及びN4はイノシン（I）を含む。いくつかの態様では、本開示のRLRアゴニストは改善された生物学的活性を有し、改善された生物学的活性は、RLR媒介サイトカイン産生の増加、インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、RLRに対する結合親和性の増加、及び上記のいずれかの組み合わせである。

【0064】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストはリンカーを含み、リンカーはヌクレオチドリンカーまたは非ヌクレオチドリンカーである。いくつかの態様では、リンカーは、非ヌクレオチドリンカーである。いくつかの態様では、リンカーは、ヌクレオチドリンカーである。いくつかの態様では、ヌクレオチドリンカーはテトラループを含み、テトラループのヌクレオチド配列は、

- (a) U N C G（ただし、N = A、C、G、またはU）、
- (b) G N R A（ただし、N = A、C、G、またはU、かつR = AまたはG）、
- (c) A N Y A（ただし、N = A、C、G、またはU、かつY = CまたはT）、
- (d) C U Y G（ただし、Y = CまたはT）、
- (e) U M A C（ただし、M = AまたはC）、及び
- (f) C U U Gからなる群から選択される。

【0065】

いくつかの態様では、テトラループの配列はU U C Gである。いくつかの態様では、テトラループの配列はG A U Cである。

【0066】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストはヌクレオチドリンカーを含み、ヌクレオチドリンカーはヌクレオチド配列U U U G A UまたはU G U U Uを含む。いくつかの態様では、ヌクレオチドリンカーは、ヌクレオチド配列U U U G A Uを含む。いくつかの態様では、ヌクレオチドリンカーは、ヌクレオチド配列U G U U Uを含む。

【0067】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは非ヌクレオチドリンカーを含み、非ヌクレオチドリンカーは、

- (a) エチレングリコールリンカー、及び
- (b) アルキルリンカーからなる群から選択される。

【0068】

いくつかの態様では、非ヌクレオチドリンカーはヘキサエチレングリコールリンカーである。いくつかの態様では、非ヌクレオチドリンカーはC9アルキルリンカーである。

【0069】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは、5'ニリン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む。いくつかの態様では、アゴニストは、5'三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む。いくつかの態様では、その誘導体または類似体は、ホスホネート、チオホスホネート、ホスホロチオエート、サルフェート、スルホネート、スルファメート、チアゾリジノン、カルボキシレート、マロネート、ボロン酸、ベンゾオキサボロール、ボラノホスフェート、スクアラミドから選択されるホスフェートの生物学的等価体を含む。

【0070】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示のRLRアゴニストは、修飾ヌクレオチド、修飾ヌクレオシド、または修飾核酸塩基、またはこれらの組み合わせを含む。いくつかの態様では、アゴニストは、ヌクレオチド間結合またはポリヌクレオチド骨格への修飾を含む。

【0071】

10

20

30

40

50

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本開示の R L R アゴニストは、以下の特性：

- (a) 1つ以上の R L R（例えば、R I G-1、M D A 5 及び／または L G P 2）に特異的に結合する；
- (b) R L R 媒介サイトカイン産生を増加させる；
- (c) インターフェロン刺激遺伝子（I S G）の R L R 媒介発現を増加させる；
- (d) R L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させる；
- (e) 二重鎖の安定性を増加させる；
- (f) R L R に対する結合親和性を増加させる；
- (g) オフターゲット結合を減少させる；
- (h) 生物学的半減期を増加させる；
- (i) 体内分布及びバイオアベイラビリティを増加させる；
- (j) 細胞及び／または組織中への取り込みを増加及び／または増大させる；
- (k) 免疫原性を低下させる；及び
- (l) (a) ～ (k) のいずれかの組み合わせのうちの少なくとも1つ以上を示す。

【0072】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも1つの R L R アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：

5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄) - 3'、[式中、

(i) (N₁ - N₂ - X₁) は、連結されたヌクレオチド N₁、N₂ 及び X₁ を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(i i) (X₂ - N₃ - N₄) は、連結されたヌクレオチド X₂、N₃ 及び N₄ を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(i i i) N₁、N₂、N₃ 及び N₄ は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(i v) N₁ は N₄ と塩基対合し、

(v) N₂ は N₃ と塩基対合し、

(v i) N₁ は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X₁ 及び X₂ はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(v i i i) X₁ は X₂ と相補的であり、

(i x) X₁ 及び X₂ はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N₁ 及び N₂ はそれぞれグアノシンを含み、N₃ 及び N₄ はそれぞれシチジンを含み、X₁ 及び X₂ はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、X₁ 及び X₂ はそれぞれ少なくとも1つのイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピン RNA 内のシチジンと塩基対合し、L は、テトラループを含むヌクレオチドリンカーを含み、テトラループのヌクレオチド配列は U U C G である] を含む、少なくとも1つの R L R アゴニストと、を含み、

少なくとも1つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0073】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5'-(N₁-N₂-X₁)-L-(X₂-N₃-N₄)-3'、[式中、

(i) (N₁-N₂-X₁)は、連結されたヌクレオチドN₁、N₂及びX₁を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X₂-N₃-N₄)は、連結されたヌクレオチドX₂、N₃及びN₄を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃及びN₄は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N₁はN₄と塩基対合し、

(v) N₂はN₃と塩基対合し、

(vi) N₁は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X₁及びX₂はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X₁はX₂と相補的であり、

(ix) X₁及びX₂はそれぞれ、12ヌクレオチド~16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) Lは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N₁及びN₂はそれぞれグアノシンを含み、N₃及びN₄はそれぞれシチジンを含み、X₁及びX₂はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、X₁及びX₂はそれぞれ少なくとも1つのイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合し、Lは、テトラループを含むヌクレオチドリナーを含み、テトラループのヌクレオチド配列はUUCGである]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0074】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5'-(N₁-N₂-X₁)-L-(X₂-N₃-N₄)-3'、[式中、

(i) (N₁-N₂-X₁)は、連結されたヌクレオチドN₁、N₂及びX₁を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X₂-N₃-N₄)は、連結されたヌクレオチドX₂、N₃及びN₄を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃及びN₄は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N₁はN₄と塩基対合し、

(v) N₂はN₃と塩基対合し、

(vi) N₁は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X₁及びX₂はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌ

クレオチドであり、

(v i i i) X_1 は X_2 と相補的であり、

(i x) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N1はイノシンを含み、N2はグアノシンを含み、N3及びN4はそれぞれシチジンを含み、 X_1 及び X_2 はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、 X_1 及び X_2 はそれぞれ少なくとも1つのイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合し、Lは、テトラループを含むヌクレオチドリッガーを含み、テトラループのヌクレオチド配列はUUCGである]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0075】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄) - 3'、[式中、

(i) (N₁ - N₂ - X₁) は、連結されたヌクレオチドN₁、N₂ 及び X₁ を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X₂ - N₃ - N₄) は、連結されたヌクレオチドX₂、N₃ 及び N₄ を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃ 及び N₄ は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N₁ は N₄ と塩基対合し、

(v) N₂ は N₃ と塩基対合し、

(vi) N₁ は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N1はイノシンを含み、N2はグアノシンを含み、N3及びN4はそれぞれシチジンを含み、 X_1 及び X_2 はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、 X_1 及び X_2 はそれぞれ少なくとも1つのイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合し、Lは、テトラループを含むヌクレオチドリッガーを含み、テトラループのヌクレオチド配列はUUCGである]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0076】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：

$5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、

(i) $(N_1 - N_2 - X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2 - N_3 - N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第 1 のポリヌクレオチドと第 2 のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N_1 及び N_2 はイノシンを含み、 N_3 及び N_4 はシチジンを含み、 X_1 及び X_2 はそれぞれ 12ヌクレオチドの長さであり、 X_1 及び X_2 はそれぞれ少なくとも 1 つのイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピン RNA 内のシチジンと塩基対合し、 L は、テトラループを含むヌクレオチドリンカーを含み、テトラループのヌクレオチド配列は UUCG である] を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0077】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNA フェージ Q β のウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：

$5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、

(i) $(N_1 - N_2 - X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2 - N_3 - N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N1 及び N2 はイノシンを含み、N3 及び N4 はシチジンを含み、 X_1 及び X_2 はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、 X_1 及び X_2 はそれぞれ少なくとも1つのイノシンヌクレオチドを含み、イノシンヌクレオチドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合し、L は、テトラループを含むヌクレオチドリナーを含み、テトラループのヌクレオチド配列はUUCGである]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

10

【0078】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLR に特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、非ヌクレオチドリナーを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'、[式中、

(i) (N_1 - N_2 - X_1) は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X_2 - N_3 - N_4) は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

20

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドであり、

30

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリナーであり、

N1 及び N2 はグアノシンを含み、N3 及び N4 はシチジンを含み、 X_1 及び X_2 はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、非ヌクレオチドリナーはC9アルキルリンカーである]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

40

【0079】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLR に特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、非ヌクレオチドリナーを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'、[式中、

(i) (N_1 - N_2 - X_1) は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X_2 - N_3 - N_4) は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2

50

のポリヌクレオチドを含み、

(i i i) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(i v) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(v i) N_1 は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(v i i i) X_1 は X_2 と相補的であり、

(i x) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリinkerである] を有し、

N_1 及び N_2 はグアノシンを含み、 N_3 及び N_4 はシチジンを含み、 X_1 及び X_2 はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、非ヌクレオチドリinkerチドリinkerが、ヘキサエチレングリコールリinkerである] を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0080】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、アゴニストの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストが、配列番号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及び36からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0081】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、リinkerによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチド及び第2のポリヌクレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号37及び68、

(i i) それぞれ、配列番号38及び69、

(i i i) それぞれ、配列番号39及び70、

(i v) それぞれ、配列番号40及び71、

(v) それぞれ、配列番号41及び72、

(v i) それぞれ、配列番号 4 2 及び 7 3、
(v i i) それぞれ、配列番号 4 3 及び 7 4、
(v i i i) それぞれ、配列番号 4 4 及び 7 5、
(i x) それぞれ、配列番号 4 5 及び 7 6、
(x) それぞれ、配列番号 4 6 及び 7 7、
(x i) それぞれ、配列番号 4 7 及び 7 8、
(x i i) それぞれ、配列番号 4 8 及び 7 9、
(x i i i) それぞれ、配列番号 4 9 及び 8 0、
(x i v) それぞれ、配列番号 5 0 及び 8 1、
(x v) それぞれ、配列番号 5 1 及び 8 2、
(x v i) それぞれ、配列番号 5 2 及び 8 3、
(x v i i) それぞれ、配列番号 5 3 及び 8 4、
(x v i i i) それぞれ、配列番号 5 4 及び 8 5、
(x i x) それぞれ、配列番号 5 5 及び 8 6、
(x x) それぞれ、配列番号 5 6 及び 8 7、
(x x i) それぞれ、配列番号 5 7 及び 8 8、
(x x i i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、
(x x i i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、
(x x i v) それぞれ、配列番号 6 0 及び 9 0、
(x x v) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1、
(x x v i) それぞれ、配列番号 6 2 及び 9 2、
(x x v i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 1、
(x x v i i i) それぞれ、配列番号 6 4 及び 9 3、
(x x i x) それぞれ、配列番号 6 5 及び 9 4、
(x x x) それぞれ、配列番号 6 6 及び 9 5、
(x x x i) それぞれ、配列番号 6 7 及び 9 6、ならびに
(x x x i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 7 からなる群から選択されるヌクレオチド
配列を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成
物を提供する。

【0082】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、シチジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、配列番号 2 2、2 3、及び 2 5 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0083】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、シチジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式： $5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ [式中、 $(N_1 - N_2 - X_1)$ は第 1 のポリヌクレオチドを含み、 $(X_2 - N_3 - N_4)$ は第 2 のポリヌクレオチドを含み、第 1 のポリヌクレオチド及び第 2 のポリヌクレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、

(i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、ならびに

(i i i) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
 少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【 0 0 8 4 】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、非ヌクレオチドリンカーを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式： $5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ [式中、 $(N_1 - N_2 - X_1)$ は第 1 のポリヌクレオチドを含み、 $(X_2 - N_3 - N_4)$ は第 2 のポリヌクレオチドを含み、第 1 のポリヌクレオチド及び第 2 のポリヌクレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号 3 7 及び 6 8、

(i i) それぞれ、配列番号 3 8 及び 6 9、

(i i i) それぞれ、配列番号 3 9 及び 7 0、

(i v) それぞれ、配列番号 4 0 及び 7 1、

(v) それぞれ、配列番号 4 1 及び 7 2、

(v i) それぞれ、配列番号 4 2 及び 7 3、

(v i i) それぞれ、配列番号 4 3 及び 7 4、

(v i i i) それぞれ、配列番号 4 4 及び 7 5、

(i x) それぞれ、配列番号 4 5 及び 7 6、

(x) それぞれ、配列番号 4 6 及び 7 7、

(x i) それぞれ、配列番号 4 7 及び 7 8、

(x i i) それぞれ、配列番号 4 8 及び 7 9、

(x i i i) それぞれ、配列番号 4 9 及び 8 0、

(x i v) それぞれ、配列番号 5 0 及び 8 1、

(x v) それぞれ、配列番号 5 1 及び 8 2、

(x v i) それぞれ、配列番号 5 2 及び 8 3、

(x v i i) それぞれ、配列番号 5 3 及び 8 4、

(x v i i i) それぞれ、配列番号 5 4 及び 8 5、

(x i x) それぞれ、配列番号 5 5 及び 8 6、

(x x) それぞれ、配列番号 5 6 及び 8 7、

(x x i) それぞれ、配列番号 5 7 及び 8 8、

(x x i i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、

(x x i i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、

(x x i v) それぞれ、配列番号 6 0 及び 9 0、

(x x v) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1、

(x x v i) それぞれ、配列番号 6 2 及び 9 2、

(x x v i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 1、

(x x v i i i) それぞれ、配列番号 6 4 及び 9 3、

(x x i x) それぞれ、配列番号 6 5 及び 9 4、

(x x x) それぞれ、配列番号 6 6 及び 9 5、

(x x x i) それぞれ、配列番号 6 7 及び 9 6、ならびに

(x x x i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 7 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
 少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【 0 0 8 5 】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNA フェージ Q β のウイルス様粒子と、

(b) R L Rに特異的に結合する少なくとも1つのR L Rアゴニストであって、非ヌクレオチドリinkerを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5'-(N₁-N₂-X₁)-L-(X₂-N₃-N₄)-3'、[式中、

(i) (N₁-N₂-X₁)は、連結されたヌクレオチドN₁、N₂及びX₁を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X₂-N₃-N₄)は、連結されたヌクレオチドX₂、N₃及びN₄を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃及びN₄は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N₁はN₄と塩基対合し、

(v) N₂はN₃と塩基対合し、

(vi) N₁は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X₁及びX₂はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X₁はX₂と相補的であり、

(ix) X₁及びX₂はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) Lは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリinkerであり、

N₁及びN₂はグアノシンを含み、N₃及びN₄はシチジンを含み、X₁及びX₂はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、非ヌクレオチドリinkerはC9アルキルリinkerである]を含む、少なくとも1つのR L Rアゴニストと、を含み、少なくとも1つのR L Rアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0086】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、

(b) R L Rに特異的に結合する少なくとも1つのR L Rアゴニストであって、非ヌクレオチドリinkerを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：

5'-(N₁-N₂-X₁)-L-(X₂-N₃-N₄)-3'、[式中、

(i) (N₁-N₂-X₁)は、連結されたヌクレオチドN₁、N₂及びX₁を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X₂-N₃-N₄)は、連結されたヌクレオチドX₂、N₃及びN₄を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃及びN₄は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N₁はN₄と塩基対合し、

(v) N₂はN₃と塩基対合し、

(vi) N₁は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X₁及びX₂はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X₁はX₂と相補的であり、

(ix) X₁及びX₂はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) Lは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリinkerであり、

N1及びN2はグアノシンを含み、N3及びN4はシチジンを含み、X1及びX2はそれぞれ12ヌクレオチドの長さであり、非ヌクレオチドリinkerチドリinkerが、ヘキサエチレングリコールリinkerである]を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0087】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、アゴニストの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストが、配列番号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及び36からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、少なくとも1つのRLRアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのRLRアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0088】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つのRLRアゴニストであって、リinkerによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチド及び第2のポリヌクレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号37及び68、

(ii) それぞれ、配列番号38及び69、

(iii) それぞれ、配列番号39及び70、

(iv) それぞれ、配列番号40及び71、

(v) それぞれ、配列番号41及び72、

(vi) それぞれ、配列番号42及び73、

(vii) それぞれ、配列番号43及び74、

(viii) それぞれ、配列番号44及び75、

(ix) それぞれ、配列番号45及び76、

(x) それぞれ、配列番号46及び77、

(xi) それぞれ、配列番号47及び78、

(xii) それぞれ、配列番号48及び79、

(xiii) それぞれ、配列番号49及び80、

(xiv) それぞれ、配列番号50及び81、

(xv) それぞれ、配列番号51及び82、

(xvi) それぞれ、配列番号52及び83、

(xvii) それぞれ、配列番号53及び84、

(xviii) それぞれ、配列番号54及び85、

(xix) それぞれ、配列番号55及び86、

(x x) それぞれ、配列番号 5 6 及び 8 7、
(x x i) それぞれ、配列番号 5 7 及び 8 8、
(x x i i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、
(x x i i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、
(x x i v) それぞれ、配列番号 6 0 及び 9 0、
(x x v) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1、
(x x v i) それぞれ、配列番号 6 2 及び 9 2、
(x x v i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 1、
(x x v i i i) それぞれ、配列番号 6 4 及び 9 3、
(x x i x) それぞれ、配列番号 6 5 及び 9 4、
(x x x) それぞれ、配列番号 6 6 及び 9 5、
(x x x i) それぞれ、配列番号 6 7 及び 9 6、ならびに
(x x x i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 7 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

10

【0089】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNA フェージ Q β のウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、シチジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、配列番号 2 2、2 3、及び 2 5 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

20

【0090】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNA フェージ Q β のウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、シチジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式： $5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ [式中、 $(N_1 - N_2 - X_1)$ は第 1 のポリヌクレオチドを含み、 $(X_2 - N_3 - N_4)$ は第 2 のポリヌクレオチドを含み、第 1 のポリヌクレオチド及び第 2 のポリヌクレオチドが、

30

(i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、

(i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、ならびに

(i i i) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む] を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

40

【0091】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) RNA フェージ Q β のウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、非ヌクレオチドリンカーを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式： $5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ [式中、 $(N_1 - N_2 - X_1)$ は第 1 のポリヌクレオチドを含み、 $(X_2 - N_3 - N_4)$ は第 2 のポリヌクレオチドを含み、第 1 のポリヌクレオチド及び第 2 のポリヌクレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号 3 7 及び 6 8、

(i i) それぞれ、配列番号 3 8 及び 6 9、

50

(i i i) それぞれ、配列番号 3 9 及び 7 0、
(i v) それぞれ、配列番号 4 0 及び 7 1、
(v) それぞれ、配列番号 4 1 及び 7 2、
(v i) それぞれ、配列番号 4 2 及び 7 3、
(v i i) それぞれ、配列番号 4 3 及び 7 4、
(v i i i) それぞれ、配列番号 4 4 及び 7 5、
(i x) それぞれ、配列番号 4 5 及び 7 6、
(x) それぞれ、配列番号 4 6 及び 7 7、
(x i) それぞれ、配列番号 4 7 及び 7 8、
(x i i) それぞれ、配列番号 4 8 及び 7 9、
(x i i i) それぞれ、配列番号 4 9 及び 8 0、
(x i v) それぞれ、配列番号 5 0 及び 8 1、
(x v) それぞれ、配列番号 5 1 及び 8 2、
(x v i) それぞれ、配列番号 5 2 及び 8 3、
(x v i i) それぞれ、配列番号 5 3 及び 8 4、
(x v i i i) それぞれ、配列番号 5 4 及び 8 5、
(x i x) それぞれ、配列番号 5 5 及び 8 6、
(x x) それぞれ、配列番号 5 6 及び 8 7、
(x x i) それぞれ、配列番号 5 7 及び 8 8、
(x x i i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、
(x x i i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、
(x x i v) それぞれ、配列番号 6 0 及び 9 0、
(x x v) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1、
(x x v i) それぞれ、配列番号 6 2 及び 9 2、
(x x v i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 1、
(x x v i i i) それぞれ、配列番号 6 4 及び 9 3、
(x x i x) それぞれ、配列番号 6 5 及び 9 4、
(x x x) それぞれ、配列番号 6 6 及び 9 5、
(x x x i) それぞれ、配列番号 6 7 及び 9 6、ならびに
(x x x i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 7 からなる群から選択されるヌクレオチド
配列を含む] を含む、少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、
少なくとも 1 つの R L R アゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成
物を提供する。

【 0 0 9 2 】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、R L R アゴニストを構成するヌクレオチド配列は、ゲノム DNA 配列にも mRNA 配列にも相補的でなく、R L R アゴニストは RNA 干渉に関与せず、R L R アゴニストは遺伝子発現をサイレンシングしない。

【 0 0 9 3 】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本明細書に記載されるウイルス様粒子は、リポタンパク質含有エンベロープを有さない。

【 0 0 9 4 】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本明細書に記載されるウイルス様粒子は、組換えウイルス様粒子である。いくつかの態様では、組換えウイルス様粒子は、

- (a) B 型肝炎ウイルスの組換えタンパク質、
- (b) 麻疹ウイルスの組換えタンパク質、
- (c) シンドビス (S i n b i s) ウイルスの組換えタンパク質、
- (d) ロタウイルスの組換えタンパク質、
- (e) 手足口病ウイルスの組換えタンパク質、
- (f) レトロウイルスの組換えタンパク質、
- (g) ノーウォークウイルスの組換えタンパク質、

(h) ヒトパピローマウイルスの組換えタンパク質、
(i) B Kウイルスの組換えタンパク質、
(j) バクテリオファージの組換えタンパク質、
(k) R N Aファージの組換えタンパク質、
(l) Q β ファージの組換えタンパク質、
(m) G Aファージの組換えタンパク質、
(n) f rファージの組換えタンパク質、
(o) A P 2 0 5 ファージの組換えタンパク質、
(p) T yの組換えタンパク質、及び
(q) (a) ~ (p) の組換えタンパク質のいずれかのフラグメントからなる群から選択される。

10

【0095】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本明細書に記載されるウイルス様粒子はR N Aファージの組換えタンパク質を含み、R N Aファージは、(a) バクテリオファージQ β 、(b) バクテリオファージR 1 7、(c) バクテリオファージf r、(d) バクテリオファージG A、(e) バクテリオファージS P、(f) バクテリオファージM S 2、(g) バクテリオファージM 1 1、(h) バクテリオファージM X 1、(i) バクテリオファージN L 9 5、(j) バクテリオファージf 2、(k) バクテリオファージP P 7、及び(l) バクテリオファージA P 2 0 5 からなる群から選択される。

【0096】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本明細書に記載されるウイルス様粒子は、バクテリオファージQ β の組換えタンパク質を含む。いくつかの態様では、バクテリオファージQ β の組換えタンパク質は、配列番号1 1 2のアミノ酸配列を有するコートタンパク質を含む。いくつかの態様では、バクテリオファージQ β の組換えタンパク質は、配列番号1 1 2と少なくとも8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %または9 9 %同一のアミノ酸配列を有するコートタンパク質を含む。

20

【0097】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) 配列番号1 1 2のアミノ酸配列を有するコートタンパク質を含むR N AファージQ β のウイルス様粒子と、

30

(b) R I G - I 様受容体 (R L R) に特異的に結合する少なくとも1つの合成R I G - I 様受容体 (R L R) アゴニストであって、1 0 ~ 1 0 0 ヌクレオチドの長さのリボ核酸 (R N A) を含み、R N Aの最も5 '側のヌクレオチドが5 'ニリン酸もしくは三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、少なくとも1つの合成R L Rアゴニストと、を含み、

少なくとも1つのR L Rアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0098】

いくつかの態様では、本開示は、組成物であって、

(a) R N AファージQ β のウイルス様粒子と、

40

(b) R I G - I 様受容体 (R L R) に特異的に結合する少なくとも1つの合成R I G - I 様受容体 (R L R) アゴニストであって、配列番号2 3のヌクレオチド配列を含み、アゴニストの最も5 '側のヌクレオチドが5 'ニリン酸もしくは三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、少なくとも1つの合成R L Rアゴニストと、を含み、少なくとも1つのR L Rアゴニストがウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物を提供する。

【0099】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、R L Rアゴニストは、ウイルス粒子に非共有結合により結合される。

【0100】

50

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、R L R アゴニストは、オリゴヌクレオチド結合部位、DNA 結合部位、及びRNA 結合部位からなる群から選択されるウイルス様粒子の部位に結合される。いくつかの態様では、ウイルス様粒子は、アルギニンリッチリピートを含む。

【0101】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、本明細書に記載される組成物は、ウイルス様粒子に結合された少なくとも1つの抗原または抗原決定基を含む。いくつかの態様では、少なくとも1つの抗原または抗原決定基は、少なくとも1つの共有結合によってウイルス様粒子に結合される。いくつかの態様では、少なくとも1つの抗原または抗原決定基は、非ペプチド結合によってウイルス様粒子に結合される。他の態様では、抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子に融合される。いくつかの態様では、ウイルス様粒子は少なくとも1つの第1の結合部位を含み、抗原または抗原決定基は、(a) 抗原または抗原決定基内に天然に存在しない結合部位と、(b) 抗原または抗原決定基内に天然に存在する結合部位とからなる群より選択される少なくとも1つの第2の結合部位を含み、ウイルス様粒子に対する抗原または抗原決定基の結合は第1の結合部位と第2の結合部位との結合 (a s s o c i a t i o n) を介して行われ、場合により、結合は、少なくとも1つの非ペプチド結合を介して行われる。いくつかの態様では、第1の結合部位はアミノ基またはリシン残基を含み、第2の結合部位はスルフヒドリル基またはシステイン残基を含む。

10

【0102】

いくつかの態様では、本開示は、免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の低減もしくは阻害を必要とする対象においてそれを行うための医薬組成物であって、本開示によって提供される組成物と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。いくつかの態様では、組成物は、ポリエチエンイミン (P E I) 担体中に配合される。いくつかの態様では、P E I 担体は、J e t P E I (登録商標) である。

20

【0103】

いくつかの態様では、本開示は、細胞内の1つ以上のサイトカインの産生のR L R 媒介産生を増加させるための方法であって、細胞を本開示により提供される組成物と接触させることを含み、組成物が細胞内のR L R 媒介サイトカイン産生を増加させる、方法を提供する。いくつかの態様では、組成物は、細胞内のR L R 媒介I型インターフェロン(例えば、I F N - α 、I F N - β) 産生を増加させる。いくつかの態様では、組成物は、細胞内のR L R 媒介I L - 1 β 産生を増加させる。いくつかの態様では、組成物は、細胞内のR L R 媒介I P - 1 0 産生を増加させる。いくつかの態様では、組成物は、細胞内のR L R 媒介I L - 6、I L - 1 2 p 7 0、M C P - 1 及び/またはM I P - 1 β 産生を増加させる。

30

【0104】

いくつかの態様では、本開示は、細胞内の1つ以上のインターフェロン刺激遺伝子のR L R 媒介発現を増加させるための方法であって、細胞を本開示により提供される組成物と接触させることを含み、組成物が細胞内の1つ以上のインターフェロン刺激遺伝子のR L R 媒介発現を増加させる、方法を提供する。

40

【0105】

いくつかの態様では、本開示は、細胞内のR L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させるための方法であって、細胞を本開示により提供される組成物と接触させることを含み、組成物がR L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させる、方法を提供する。

【0106】

いくつかの態様では、本開示は、対象の免疫応答を刺激する方法であって、対象に有効量の本開示により提供される組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0107】

いくつかの態様では、本開示は、対象のがんを治療するかまたはその進行を遅らせる方

50

法であって、対象に有効量の本開示により提供される組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0108】

いくつかの態様では、本開示は、腫瘍増殖の低減または阻害をそれを必要とする対象において行う方法であって、対象に有効量の本開示により提供される組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0109】

いくつかの態様では、本開示は、免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の阻害をそれを必要とする対象において行うための方法であって、対象に有効量の本開示により提供される組成物を投与することを含み、組成物が、細胞内の1つ以上のサイトカインのR L R媒介産生を増加させるか、細胞内の1つ以上のインターフェロン刺激遺伝子のR L R媒介発現を増加させるか、及び／または細胞内のR L R依存性細胞内シグナル伝達を増加させ、それにより免疫応答を刺激するか、がんを治療もしくはその進行を遅らせるか、または腫瘍の増殖を阻害する、方法を提供する。

【0110】

いくつかの態様では、本開示により提供される組成物は、1つ以上のさらなる治療剤と併用して投与され、1つ以上のさらなる治療剤は、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤（例えば、オプソニン化抗体）、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤またはアゴニスト、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0111】

いくつかの態様では、本開示により提供される組成物は、1つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または1つ以上のさらなる治療剤がアゴニストまたは医薬組成物の投与と同時に、その前もしくはその後に投与される。

【0112】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、PD-1/PD-L1アンタゴニスト、TIM-3アンタゴニスト、VISTAアンタゴニスト、アデノシンA2ARアンタゴニスト、B7-H3アンタゴニスト、B7-H4アンタゴニスト、BTLAアンタゴニスト、CTLA-4アンタゴニスト、IDOアンタゴニスト、KIRアンタゴニスト、LAG-3アンタゴニスト、Toll様受容体3（TLR3）アゴニスト、Toll様受容体7（TLR7）アゴニスト、Toll様受容体9（TLR9）アゴニストである。

【0113】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、CD137（4-1BB）に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである。

【0114】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、CD134（OX40）に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである。

【0115】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、PD-1/PD-L1アンタゴニストである。いくつかの態様では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PDR001、KEYTRUDA（登録商標）（ペムブロリズマブ）、OPDIVO（登録商標）（ニボルマブ）、ピジリズマブ、MED10680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591、及びAMP-224からなる群から選択される。いくつかの態様では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、FAZ053、TENCENTRIQ（登録商標）（アテゾリズマブ）、BAVENCIO（登録商標）（アベルマブ）、IMFINZI（登録商標）（デュルバルマブ）、及びBMS-936559からなる群から選択される。

【0116】

10

20

30

40

50

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、TIM-3 アンタゴニストである。

【0117】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、VISTA アンタゴニストである。

【0118】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、アデノシンA2AR アンタゴニストである。

【0119】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、B7-H3 アンタゴニストである。

【0120】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、B7-H4 アンタゴニストである。

10

【0121】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、BTLA アンタゴニストである。

【0122】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、CTLA-4 アンタゴニストである。

【0123】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、IDO アンタゴニストである。

【0124】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、KIR アンタゴニストである。

20

【0125】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、LAG-3 アンタゴニストである。

【0126】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、Toll様受容体3 (TLR3) アゴニストである。いくつかの態様では、TLR3 アゴニストは、ポリイノシン酸：ポリシチジル酸 (poly I:C) である。いくつかの態様では、TLR3 アゴニストは、HILTONOL (登録商標) (poly ICLC) である。いくつかの態様では、TLR3 アゴニストは、ポリアデニル酸-ポリウリジル酸 (poly A:U) である。いくつかの態様では、TLR3 アゴニストは、RIBOXXIM (登録商標) (RGIC (登録商標) 100) である。いくつかの態様では、TLR3 アゴニストは、RIBOXXON (登録商標) (RGIC (登録商標) 50 バイオコンジュゲート) である。いくつかの態様では、TLR3 アゴニストは、RIBOXXOL (登録商標) (RGIC (登録商標) 50) である。

30

【0127】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、Toll様受容体7 (TLR7) アゴニストである。いくつかの態様では、TLR7 アゴニストは、GS-9620 (ベサトリモド) である。いくつかの態様では、TLR7 アゴニストは、イミキモド (ALDARA (商標)) である。いくつかの態様では、TLR7 アゴニストは、レシキモド (R-848) である。

【0128】

いくつかの態様では、1つ以上のさらなる治療剤は、Toll様受容体9 (TLR9) アゴニストである。いくつかの態様では、TLR9 アゴニストは、CpGオリゴデオキシヌクレオチド (CpG ODN) である。いくつかの態様では、CpG ODNは、クラスAのCpG ODN (CpG-A ODN) である。いくつかの態様では、CpG ODNは、クラスBのCpG ODN (CpG-B ODN) である。いくつかの態様では、CpG ODNは、クラスCのCpG ODN (CpG-C ODN) である。

40

【0129】

いくつかの態様では、本開示は、免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の阻害をそれを必要とする対象において行うための本開示により提供される組成物の使用であって、場合により、1つ以上のさらなる治療剤と併用するための組成物の使用を提供する。

50

【0130】

いくつかの態様では、本開示は、免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の阻害をそれを必要とする対象において行うための薬剤の製造における本開示により提供される組成物の使用であって、場合により、1つ以上のさらなる治療剤と併用するための組成物の使用を提供する。いくつかの態様では、組成物は、1つ以上のさらなる治療剤と併用して投与され、1つ以上のさらなる治療剤は、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤（例えば、オプソニン化抗体）、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、組成物は、1つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または1つ以上のさらなる治療剤が組成物の投与と同時に、その前もしくはその後に投与される。

10

【0131】

いくつかの態様では、本開示は、本開示により提供される組成物と、対象の免疫応答を刺激する、またはがんを治療またはその進行を遅らせる、または対象の腫瘍増殖を阻害する際に使用される使用説明書とを、場合により、1つ以上のさらなる治療剤と併用される使用説明書とともに含むキットを提供する。いくつかの態様では、キットは、組成物を1つ以上のさらなる治療剤と併用して投与するための使用説明書を含み、1つ以上のさらなる治療剤は、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤（例えば、オプソニン化抗体）、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、組成物は、1つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または1つ以上のさらなる治療剤が組成物の投与と同時に、その前もしくはその後に投与される。

20

【0132】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、1つ以上のさらなる治療剤は、PD-1/PD-L1アンタゴニスト、TIM-3アンタゴニスト、VISTAアンタゴニスト、アデノシンA2ARアンタゴニスト、B7-H3アンタゴニスト、B7-H4アンタゴニスト、BTLAアンタゴニスト、CTLA-4アンタゴニスト、IDOアンタゴニスト、KIRアンタゴニスト、LAG-3アンタゴニスト、Toll様受容体3（TLR3）アゴニスト、Toll様受容体7（TLR7）アゴニスト、Toll様受容体9（TLR9）アゴニストである。

30

【0133】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、1つ以上のさらなる治療剤は、CD137（4-1BB）に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである。

【0134】

上記のまたは関連する態様のいずれかにおいて、1つ以上のさらなる治療剤は、CD134（OX40）に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである。

40

【0135】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載される組成物を製造する方法であって、
(a) ウイルス様粒子を分解することと、
(b) RLRアゴニストを添加することと、
(a) ウイルス様粒子を再集合化することと、を含む、方法を提供する。

【0136】

いくつかの態様では、方法は、分解されたウイルス様粒子の核酸を除去することを含む。いくつかの態様では、方法は、再集合化後に組成物を精製することを含む。いくつかの態様では、方法は、(d) 抗原または抗原決定基をウイルス様粒子と結合させることを含む。いくつかの態様では、抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子を分解する前にウイ

50

ルス様粒子と結合させられる。他の態様では、抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子を再集合化させた後にウイルス様粒子と結合させられる。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R I G - I 様受容体 (R L R) に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストであって、10～100ヌクレオチドの長さのリボ核酸 (RNA) を含み、前記 RNA の最も 5' 側のヌクレオチドが 5' ニリン酸もしくは三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、前記 R L R アゴニストと、を含む、組成物であって

前記少なくとも 1 つの R L R アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、前記組成物。

10

(項目 2)

前記 RNA が一本鎖である、項目 1 に記載の組成物。

(項目 3)

前記 RNA が二本鎖である、項目 1 に記載の組成物。

(項目 4)

前記 RNA が、10～15、15～20、20～25、25～30 または 30～35ヌクレオチドの長さである、項目 1～3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 5)

前記 R L R アゴニストが、第 1 のポリヌクレオチドと第 2 のポリヌクレオチドとを含み、前記第 1 のポリヌクレオチドが、前記第 2 のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するだけ十分に相補的である、項目 1 に記載の組成物。

20

(項目 6)

前記二重鎖がヘアピンを含む、項目 5 に記載の組成物。

(項目 7)

前記二重鎖が、10～15、15～20、20～25、25～30 または 30～35塩基対を含む、項目 5～6 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8)

前記二重鎖が 19 個未満の塩基対を含む、項目 5～6 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9)

前記第 1 のポリヌクレオチドがリンカーによって前記第 2 のポリヌクレオチドに連結されている、項目 5～8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

30

(項目 10)

前記 R L R アゴニストが、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、前記 R L R によって媒介される少なくとも 1 つの生物学的活性を与える前記配列モチーフを含む、項目 5～9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 11)

前記配列モチーフが、

(i) G T 反復モチーフ、

(i i) G A 反復モチーフ、

(i i i) A U C G 反復モチーフ、

(i v) A U 反復モチーフ、

(v) ジピリミジンモチーフ、

(v i) ジプリンモチーフ、

(v i i) ピリミジントリプレットモチーフ、

(v i i i) プリントリプレットモチーフ、

(i x) パリンドローム配列モチーフ、及び

(x) (i) ～ (i x) のいずれかの組み合わせからなる群から選択される、項目 10 に記載の組成物。

40

(項目 12)

50

前記少なくとも1つの改善された生物活性が、
(i) R L R 媒介サイトカイン産生の増加、
(i i) インターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現の増加、
(i i i) R L R 媒介細胞内シグナル伝達の増加、
(i v) R L R に対する結合親和性の増加、及び
(v) (i) ~ (i v) のいずれかの組み合わせから選択される、項目10~11のいずれか1項に記載の組成物。

(項目13)

前記配列モチーフが、19個未満、約15~18個、約15個、約10~15個、約10個、約5~10個、約5個、約4、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含む G T 反復モチーフである、項目10~12に記載の組成物。

10

(項目14)

前記 G T 反復モチーフが、[G T]_n (ただし、n = 2 ~ 9) である、項目13に記載の組成物。

(項目15)

前記 G T 反復モチーフが、[G T]₇ である、項目13~14のいずれか1項に記載の組成物。

(項目16)

前記 G T 反復モチーフが [G T]₃ であり、前記 G T 反復モチーフにプリントリプレットモチーフ及び U C G がそれぞれ続く、項目13~14のいずれか1項に記載の組成物。

20

(項目17)

前記プリントリプレットモチーフが、G G A である、項目16に記載の組成物。

(項目18)

前記配列モチーフが、19個未満、約15~18個、約15個、約10~15個、約10個、約5~10個、約5個、約4、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含む G A 反復モチーフである、項目10~12のいずれか1項に記載の組成物。

30

(項目19)

前記 G A 反復モチーフが、[G A]_n (ただし、n = 2 ~ 9) である、項目18に記載の組成物。

(項目20)

前記 G A 反復モチーフが、[G A]₇ である、項目19に記載の組成物。

(項目21)

前記配列モチーフが、19個未満、約16個、約12~16個、約12個、約8~12個、約6、16、12、8個のアデニン、ウラシル、シトシン、及びグアニンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含む A U C G 反復モチーフである、項目10~12のいずれか1項に記載の組成物。

40

(項目22)

前記 A U C G 反復モチーフが、[A U C G]_n (ただし、n = 2 ~ 4) である、項目21に記載の組成物。

(項目23)

前記 A U C G 反復モチーフが、[A U C G]₃ である、項目22に記載の組成物。

(項目24)

前記 A U C G 反復モチーフの前に C G またはジピリミジンモチーフが位置する、項目21~23のいずれか1項に記載の組成物。

(項目25)

前記 A U C G 反復モチーフの前に C G が位置する、項目24に記載の組成物。

50

(項目 2 6)

前記ジピリミジンモチーフが、C Cである、項目 2 4 に記載の組成物。

(項目 2 7)

前記 A U C G 反復モチーフの前にジプリンモチーフが位置する、項目 2 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 2 8)

前記ジプリンモチーフが、G Aである、項目 2 7 に記載の組成物。

(項目 2 9)

前記ジプリンモチーフが、I Iである、項目 2 7 に記載の組成物。

(項目 3 0)

前記 A U C G 反復モチーフを構成する前記 U が、修飾ヌクレオシドで置換されている、項目 2 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 1)

前記修飾ヌクレオシドが、リボチミジン (T) である、項目 3 0 に記載の組成物。

(項目 3 2)

前記 A U C G 反復モチーフを構成する前記 G が、修飾ヌクレオシドで置換されている、項目 2 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 3)

前記修飾ヌクレオシドが、イノシン (I) である、項目 3 2 に記載の組成物。

(項目 3 4)

前記 A U C G 反復モチーフの前に I G が位置する、項目 2 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 5)

前記 A U C G リピートを構成する前記 G がイノシン (I) で置換され、前記 A U C G リピートの前にイノシン (I) が位置する、項目 2 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 6)

前記第 1 のポリヌクレオチドの最も 5' 側のヌクレオチドがイノシン (I) である、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 3 7)

前記 A U C G 反復モチーフが、[A U C G]₂である、項目 2 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 8)

前記 A U C G 反復モチーフの前にジプリンモチーフが位置する、項目 3 7 に記載の組成物。

(項目 3 9)

前記ジプリンモチーフが、G Gである、項目 3 8 に記載の組成物。

(項目 4 0)

前記 A U C G 反復モチーフの前にプリントリプレットが位置する、項目 3 7 に記載の組成物。

(項目 4 1)

前記プリントリプレットが、G G Gである、項目 4 0 に記載の組成物。

(項目 4 2)

前記 A U C G 反復モチーフの前に C C C C C G が位置する、項目 3 7 に記載の組成物。

(項目 4 3)

前記 A U C G 反復モチーフの前に T C G U C G が位置する、項目 3 7 に記載の組成物。

(項目 4 4)

前記配列モチーフが、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された、19 個未満、約 15 ~ 18 個、約 15 個、約 10 ~ 15 個、約 10、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または 4 個のヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むパリンドローム配列である、項目 10 ~ 12 のい

10

20

30

40

50

ずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 4 5)

前記リンカーに A U が隣接している、項目 9 ～ 4 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 4 6)

前記リンカーに A U 反復モチーフが隣接し、前記 A U 反復モチーフが $[AU]_n$ (ただし、 $n = 2 \sim 3$) である、項目 9 ～ 4 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 4 7)

前記 A U 反復モチーフが、 $[AU]_2$ である、項目 4 6 に記載の組成物。

(項目 4 8)

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの R L R アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：

$5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、[式中、

(i) $(N_1 - N_2 - X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、

(i i) $(X_2 - N_3 - N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、

(i i i) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(i v) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(v i) N_1 は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(v i i i) X_1 は X_2 と相補的であり、

(i x) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、前記第 1 のポリヌクレオチドと前記第 2 のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N_1 、 N_2 、 N_3 、及び N_4 のうちの少なくとも 1 つはイノシンであり、及び／または X_1 及び／または X_2 の少なくとも一方は少なくとも 1 個のイノシンヌクレオシドを含み、前記イノシンヌクレオシドは前記ヘアピン RNA 内のシチジンと塩基対合する] を含む、前記少なくとも 1 つの R L R アゴニストと、を含み、

前記少なくとも 1 つの R L R アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

(項目 4 9)

N_1 がイノシンを含み、 N_4 がシチジンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 0)

N_1 がシチジンを含み、 N_4 がイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 1)

N_2 がイノシンを含み、 N_3 がシチジンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 2)

N_2 がシチジンを含み、 N_3 がイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 3)

N_1 がグアノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 4)

N_2 がグアノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

10

20

30

40

50

(項目 5 5)

N 1 がシチジンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 6)

N 2 がシチジンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 7)

N 1 及び N 2 がグアノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 8)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がグアノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 9)

N 1 及び N 2 がイノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 0)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 1)

N 1 がイノシンを含み、N 4 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 2)

N 2 がイノシンを含み、N 3 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 3)

N 1 及び N 2 がグアノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 4)

N 1 及び N 2 がグアノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 5)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がグアノシンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 6)

N 1 及び N 2 がグアノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 7)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がグアノシンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 8)

N 1 及び N 2 がイノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 6 9)

N 1 及び N 2 がイノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 0)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がイノシンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 1)

N 1 及び N 2 がイノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 2)

10

20

30

40

50

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がイノシンを含み、X 1 及び X 2 がイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 3)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 2 個であり、1、2、3 または 4 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 4)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 3 個であり、1、2、3、4 または 5 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 5)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 4 個であり、1、2、3、4、5 または 6 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

10

(項目 7 6)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 5 個であり、1、2、3、4、5、6、または 7 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 7)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 6 個であり、それぞれ、1、2、3、4、5、6、7、または 8 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

(項目 7 8)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 2 個であり、少なくとも 1 0 %、2 0 %、3 0 %、または 4 0 %、イノシンヌクレオシドを含む、項目 4 8 に記載の組成物。

20

(項目 7 9)

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：

5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄) - 3'、[式中、

(i) (N₁ - N₂ - X₁) は、連結されたヌクレオチド N₁、N₂ 及び X₁ を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、

(i i) (X₂ - N₃ - N₄) は、連結されたヌクレオチド X₂、N₃ 及び N₄ を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、

(i i i) N₁、N₂、N₃ 及び N₄ は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

30

(i v) N₁ は N₄ と塩基対合し、

(v) N₂ は N₃ と塩基対合し、

(v i) N₁ は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X₁ は、配列モチーフ「AUCN₅」_x (ただし、N₅ はグアノシンまたはイノシンを含み、x はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、x = 2 ~ 4 である) を含み、

(v i i i) X₂ は、配列モチーフ「CN₆AU」_y (ただし、N₆ はグアノシンまたはイノシンを含み、y はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、y = 2 ~ 4 である) を含み、

40

(i x) L は、前記第 1 のポリヌクレオチドと前記第 2 のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

場合により、N 1、N 2、N 3、及び N 4 のうちの少なくとも 1 つはイノシンであり、前記イノシンヌクレオシドは前記ヘアピン RNA 内のシチジンと塩基対合する」を含む、前記少なくとも 1 つの合成 RNA アゴニストと、を含み、

前記少なくとも 1 つの R L R アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

(項目 8 0)

50

N 5 がイノシンを含み、N 6 がイノシンを含む、項目 7 9 に記載の組成物。

(項目 8 1)

N 5 がグアノシンを含み、N 6 がイノシンを含む、項目 8 0 に記載の組成物。

(項目 8 2)

N 5 がイノシンを含み、N 6 がグアノシンを含む、項目 8 1 に記載の組成物。

(項目 8 3)

N 5 がグアノシン (G) を含み、N 6 がグアノシン (G) を含む、項目 8 2 に記載の組成物。

(項目 8 4)

(i) $x = 2$ かつ $y = 2$ であるか、または (i i) $x = 3$ かつ $y = 3$ である、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 8 5)

$x = 4$ かつ $y = 4$ である、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 8 6)

N 1 がイノシン (I) を含み、N 4 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 8 7)

N 2 がイノシン (I) を含み、N 3 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 8 8)

N 3 がイノシン (I) を含み、N 2 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 8 9)

N 4 がイノシン (I) を含み、N 1 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 0)

N 1 がグアノシン (G) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 1)

N 2 がグアノシン (G) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 2)

N 1 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 3)

N 2 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 4)

N 1 及び N 2 がグアノシン (G) を含み、N 3 及び N 4 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 5)

N 1 及び N 2 がシチジン (C) を含み、N 3 及び N 4 がグアノシン (G) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 6)

N 1 及び N 2 がイノシン (I) を含み、N 3 及び N 4 がシチジン (C) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 7)

N 1 及び N 2 がシチジン (C) を含み、N 3 及び N 4 がイノシン (I) を含む、項目 7 9 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 9 8)

(a) ウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストであって、非ヌクレオチドリンカーを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：

$5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ 、〔式中、

10

20

30

40

50

(i) ($N_1-N_2-X_1$) は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第 1 のポリヌクレオチドを含み、

(ii) ($X_2-N_3-N_4$) は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第 2 のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は 5' ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) L は、前記第 1 のポリヌクレオチドと前記第 2 のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオチドリンカーである] を含む、前記少なくとも 1 つの合成 RNA アゴニストと、を含み、

イノシンが存在する場合、シチジンと塩基対合し、

前記少なくとも 1 つの RLR アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

(項目 99)

N_1 がイノシンを含み、 N_4 がシチジンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 100)

N_1 がシチジンを含み、 N_4 がイノシンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 101)

N_2 がイノシンを含み、 N_3 がシチジンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 102)

N_2 がシチジンを含み、 N_3 がイノシンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 103)

N_1 がグアノシンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 104)

N_2 がグアノシンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 105)

N_1 がシチジンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 106)

N_2 がシチジンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 107)

N_1 及び N_2 がグアノシンを含み、 N_3 及び N_4 がシチジンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 108)

N_1 及び N_2 がシチジンを含み、 N_3 及び N_4 がグアノシンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 109)

N_1 及び N_2 がイノシンを含み、 N_3 及び N_4 がシチジンを含む、項目 98 に記載の組成物。

(項目 110)

N_1 及び N_2 がシチジンを含み、 N_3 及び N_4 がイノシンを含む、項目 98 に記載の組

10

20

30

40

50

成物。

(項目 1 1 1)

N 1 がイノシンを含み、N 4 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 2)

N 2 がイノシンを含み、N 3 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 3)

N 1 及び N 2 がグアノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 4)

N 1 及び N 2 がグアノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 5)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がグアノシンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 6)

N 1 及び N 2 がグアノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 7)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がグアノシンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 8)

N 1 及び N 2 がイノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 1 9)

N 1 及び N 2 がイノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 0)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がイノシンを含み、X 1 及び／または X 2 がそれぞれ少なくとも 1 個のイノシンを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 1)

N 1 及び N 2 がイノシンを含み、N 3 及び N 4 がシチジンを含み、X 1 及び X 2 がイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 2)

N 1 及び N 2 がシチジンを含み、N 3 及び N 4 がイノシンを含み、X 1 及び X 2 がイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 3)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 2 個であり、1、2、3 または 4 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 4)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 3 個であり、1、2、3、4 または 5 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 5)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 4 個であり、1、2、3、4、5 または 6 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 6)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 5 個であり、1、2、3、4、5、6、または 7 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 7)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 6 個であり、それぞれ、1、2、3、4、5、6、7、または 8 個のイノシンヌクレオシドを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 8)

X 1 及び X 2 がそれぞれヌクレオチド 1 2 個であり、少なくとも 1 0 %、2 0 %、3 0 %、または 4 0 %、イノシンヌクレオシドを含む、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 2 9)

前記リンカーがヌクレオチドリンカーまたは非ヌクレオチドリンカーである、項目 9 ～ 9 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 3 0)

前記リンカーが非ヌクレオチドリンカーである、項目 1 2 9 に記載の組成物。

10

(項目 1 3 1)

前記リンカーがヌクレオチドリンカーである、項目 1 2 9 に記載の組成物。

(項目 1 3 2)

前記ヌクレオチドリンカーがテトラループを含み、前記テトラループのヌクレオチド配列が、

(a) U N C G (ただし、N = A、C、G、または U)、

(b) G N R A (ただし、N = A、C、G、または U、かつ R = A または G)、

(c) A N Y A (ただし、N = A、C、G、または U、かつ Y = C または T)、

(d) C U Y G (ただし、Y = C または T)、

(e) U M A C (ただし、M = A または C)、及び

20

(f) C U U G からなる群から選択される、項目 1 3 1 に記載の組成物。

(項目 1 3 3)

前記ヌクレオチドリンカーが、ヌクレオチド配列 U U U G A U または U G U U U を含む、項目 1 3 1 に記載の組成物。

(項目 1 3 4)

前記テトラループの配列が、U U C G である、項目 1 3 2 に記載の組成物。

(項目 1 3 5)

前記テトラループの配列が、G A U C である、項目 1 3 2 に記載の組成物。

(項目 1 3 6)

前記ヌクレオチドリンカーが、ヌクレオチド配列 U U U G A U を含む、項目 1 3 3 に記載の組成物。

30

(項目 1 3 7)

前記ヌクレオチドリンカーが、ヌクレオチド配列 U G U U U を含む、項目 1 3 3 に記載の組成物。

(項目 1 3 8)

前記非ヌクレオチドリンカーが、

(a) エチレングリコールリンカー、及び

(b) アルキルリンカーからなる群から選択される、項目 9 8 ～ 1 2 8 及び 1 3 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 3 9)

40

前記非ヌクレオチドリンカーが、ヘキサエチレングリコールリンカーである、項目 1 3 8 に記載の組成物。

(項目 1 4 0)

前記非ヌクレオチドリンカーが、C 9 アルキルリンカーである、項目 1 3 8 に記載の組成物。

(項目 1 4 1)

前記アゴニストが、5 ' ニリン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、項目 1 ～ 1 4 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 4 2)

前記アゴニストが、5 ' ミリン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、項目 1

50

～140のいずれか1項に記載の組成物。

(項目143)

前記その誘導体もしくは類似体が、ホスホネート、チオホスホネート、ホスホロチオエート、サルフェート、スルホネート、スルファメート、チアゾリジノン、カルボキシレート、マロネート、ボロン酸、ベンゾオキサポロール、ボラノホスフェート、スクアラミドから選択されるホスフェートの生物学的等価体を含む、項目141または142に記載の組成物。

(項目144)

前記アゴニストが、修飾ヌクレオチド、修飾ヌクレオシド、または修飾核酸塩基、またはこれらの組み合わせを含む、項目1～143のいずれか1項に記載の組成物。

(項目145)

前記アゴニストが、ヌクレオチド間結合またはポリヌクレオチド骨格への修飾を含む、項目1～144のいずれか1項に記載の組成物。

(項目146)

前記アゴニストが、以下の特性：

(a) 1つ以上のRLR（例えば、RIG-1、MDA5及び／またはLGP2）に特異的に結合する；

(b) RLR媒介サイトカイン産生を増加させる；

(c) インターフェロン刺激遺伝子（ISG）のRLR媒介発現を増加させる；

(d) RLR依存性細胞内シグナル伝達を増加させる；

(e) 二重鎖の安定性を増加させる；

(f) RLRに対する結合親和性を増加させる；

(g) オフターゲット結合を減少させる；

(h) 生物学的半減期を増加させる；

(i) 体内分布及びバイオアベイラビリティを増加させる；

(j) 細胞及び／または組織中への取り込みを増加及び／または増大させる；

(k) 免疫原性を低下させる；及び

(l) (a)～(k)のいずれかの組み合わせのうちの少なくとも1つ以上を示す、項目1～145のいずれか1項に記載の組成物。

(項目147)

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つの合成RLRアゴニストであって、前記アゴニストの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、前記アゴニストが、配列番号1～36からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、前記少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含み、

前記少なくとも1つのRLRアゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

(項目148)

(a) ウイルス様粒子と、

(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つの合成RLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、前記第1のポリヌクレオチドは前記第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、前記二重鎖は19個未満の塩基対を含み、前記第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、前記アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、前記RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える前記配列モチーフを含み、前記第1のポリヌクレオチド及び前記第2のポリヌクレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号37及び68、

10

20

30

40

50

(i i) それぞれ、配列番号 3 8 及び 6 9、
(i i i) それぞれ、配列番号 3 9 及び 7 0、
(i v) それぞれ、配列番号 4 0 及び 7 1、
(v) それぞれ、配列番号 4 1 及び 7 2、
(v i) それぞれ、配列番号 4 2 及び 7 3、
(v i i) それぞれ、配列番号 4 3 及び 7 4、
(v i i i) それぞれ、配列番号 4 4 及び 7 5、
(i x) それぞれ、配列番号 4 5 及び 7 6、
(x) それぞれ、配列番号 4 6 及び 7 7、
(x i) それぞれ、配列番号 4 7 及び 7 8、
(x i i) それぞれ、配列番号 4 8 及び 7 9、
(x i i i) それぞれ、配列番号 4 9 及び 8 0、
(x i v) それぞれ、配列番号 5 0 及び 8 1、
(x v) それぞれ、配列番号 5 1 及び 8 2、
(x v i) それぞれ、配列番号 5 2 及び 8 3、
(x v i i) それぞれ、配列番号 5 3 及び 8 4、
(x v i i i) それぞれ、配列番号 5 4 及び 8 5、
(x i x) それぞれ、配列番号 5 5 及び 8 6、
(x x) それぞれ、配列番号 5 6 及び 8 7、
(x x i) それぞれ、配列番号 5 7 及び 8 8、
(x x i i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、
(x x i i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、
(x x i v) それぞれ、配列番号 6 0 及び 9 0、
(x x v) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1、
(x x v i) それぞれ、配列番号 6 2 及び 9 2、
(x x v i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 1、
(x x v i i i) それぞれ、配列番号 6 4 及び 9 3、
(x x i x) それぞれ、配列番号 6 5 及び 9 4、
(x x x) それぞれ、配列番号 6 6 及び 9 5、
(x x x i) それぞれ、配列番号 6 7 及び 9 6、ならびに
(x x x i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 7 からなる群から選択されるヌクレオチド
配列を含む、前記少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストと、を含み、
前記少なくとも 1 つの R L R アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされてい
る、組成物。

(項目 1 4 9)

(a) ウイルス様粒子と、
(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストであって、シチ
ジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化
されたヘアピン RNA を含み、配列番号 2 2、2 3、及び 2 5 からなる群から選択される
ヌクレオチド配列を含む、前記少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストと、を含み、
前記少なくとも 1 つの R L R アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされてい
る、組成物。

(項目 1 5 0)

(a) ウイルス様粒子と、
(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストであって、シチ
ジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化
されたヘアピン RNA を含み、式：5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄)
- 3' [式中、(N₁ - N₂ - X₁) は第 1 のポリヌクレオチドを含み、(X₂ - N₃ - N₄)
は第 2 のポリヌクレオチドを含み、前記第 1 のポリヌクレオチド及び前記第 2 のポリヌ
クレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号 58 及び 89、
 (ii) それぞれ、配列番号 59 及び 89、ならびに
 (iii) それぞれ、配列番号 61 及び 91 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む] を含む、前記少なくとも 1 つの合成 RLR アゴニストと、を含み、
 前記少なくとも 1 つの RLR アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

(項目 151)

(a) ウイルス様粒子と、
 (b) RLR に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 RLR アゴニストであって、非ヌクレオチドリンカーを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式： $5' - (N_1 - N_2 - X_1) - L - (X_2 - N_3 - N_4) - 3'$ [式中、 $(N_1 - N_2 - X_1)$ は第 1 のポリヌクレオチドを含み、 $(X_2 - N_3 - N_4)$ は第 2 のポリヌクレオチドを含み、前記第 1 のポリヌクレオチド及び前記第 2 のポリヌクレオチドが、

(i) それぞれ、配列番号 37 及び 68、
 (ii) それぞれ、配列番号 38 及び 69、
 (iii) それぞれ、配列番号 39 及び 70、
 (iv) それぞれ、配列番号 40 及び 71、
 (v) それぞれ、配列番号 41 及び 72、
 (vi) それぞれ、配列番号 42 及び 73、
 (vii) それぞれ、配列番号 43 及び 74、
 (viii) それぞれ、配列番号 44 及び 75、
 (ix) それぞれ、配列番号 45 及び 76、
 (x) それぞれ、配列番号 46 及び 77、
 (xi) それぞれ、配列番号 47 及び 78、
 (xii) それぞれ、配列番号 48 及び 79、
 (xiii) それぞれ、配列番号 49 及び 80、
 (xiv) それぞれ、配列番号 50 及び 81、
 (xv) それぞれ、配列番号 51 及び 82、
 (xvi) それぞれ、配列番号 52 及び 83、
 (xvii) それぞれ、配列番号 53 及び 84、
 (xviii) それぞれ、配列番号 54 及び 85、
 (xix) それぞれ、配列番号 55 及び 86、
 (xx) それぞれ、配列番号 56 及び 87、
 (xxi) それぞれ、配列番号 57 及び 88、
 (xxii) それぞれ、配列番号 58 及び 89、
 (xxiii) それぞれ、配列番号 59 及び 89、
 (xxiv) それぞれ、配列番号 60 及び 90、
 (xxv) それぞれ、配列番号 61 及び 91、
 (xxvi) それぞれ、配列番号 62 及び 92、
 (xxvii) それぞれ、配列番号 63 及び 91、
 (xxviii) それぞれ、配列番号 64 及び 93、
 (xxix) それぞれ、配列番号 65 及び 94、
 (xxx) それぞれ、配列番号 66 及び 95、
 (xxxix) それぞれ、配列番号 67 及び 96、ならびに
 (xxxxii) それぞれ、配列番号 63 及び 97 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む] を含む、前記少なくとも 1 つの合成 RLR アゴニストと、を含み、
 前記少なくとも 1 つの RLR アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

(項目 152)

前記アゴニストを構成する前記ヌクレオチド配列がゲノム DNA 配列にも mRNA 配列

10

20

30

40

50

にも相補的でなく、前記 R L R アゴニストが R N A 干渉に関与せず、前記 R L R アゴニストが遺伝子発現をサイレンシングしない、先行項目のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 5 3)

前記ウイルス様粒子が、リポタンパク質含有エンベロープを有さない、先行項目のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 5 4)

前記ウイルス様粒子が組換えウイルス様粒子である、項目 1 ～ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 5 5)

前記組換えウイルス様粒子が、

(a) B 型肝炎ウイルスの組換えタンパク質、

(b) 麻疹ウイルスの組換えタンパク質、

(c) シンデビス (S i n b i s) ウイルスの組換えタンパク質、

(d) ロタウイルスの組換えタンパク質、

(e) 手足口病ウイルスの組換えタンパク質、

(f) レトロウイルスの組換えタンパク質、

(g) ノーウォークウイルスの組換えタンパク質、

(h) ヒトパピローマウイルスの組換えタンパク質、

(i) B K ウイルスの組換えタンパク質、

(j) バクテリオファージの組換えタンパク質、

(k) R N A ファージの組換えタンパク質、

(l) Q β ファージの組換えタンパク質、

(m) G A ファージの組換えタンパク質、

(n) f r ファージの組換えタンパク質、

(o) A P 2 0 5 ファージの組換えタンパク質、

(p) T y の組換えタンパク質、及び

(q) (a) ～ (p) の組換えタンパク質のいずれかのフラグメントからなる群から選択される、項目 1 5 4 に記載の組成物。

(項目 1 5 6)

前記ウイルス様粒子が R N A ファージの組換えタンパク質を含み、前記 R N A ファージが、(a) バクテリオファージ Q β 、(b) バクテリオファージ R 1 7、(c) バクテリオファージ f r、(d) バクテリオファージ G A、(e) バクテリオファージ S P、(f) バクテリオファージ M S 2、(g) バクテリオファージ M 1 1、(h) バクテリオファージ M X 1、(i) バクテリオファージ N L 9 5、(j) バクテリオファージ f 2、(k) バクテリオファージ P P 7、及び (l) バクテリオファージ A P 2 0 5 からなる群から選択される、項目 1 ～ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 5 7)

前記ウイルス様粒子が、バクテリオファージ Q β の組換えタンパク質を含む、項目 1 5 6 に記載の組成物

(項目 1 5 8)

前記ウイルス様粒子が、R N A ファージ Q β の組換えタンパク質、またはそのフラグメントを含む、項目 1 ～ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 5 9)

(a) R N A ファージ Q β のウイルス様粒子と、

(b) R L R に特異的に結合する少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストであって、1 0 ～ 1 0 0 ヌクレオチドの長さのリボ核酸 (R N A) を含み、前記 R N A の最も 5 ' 側のヌクレオチドが 5 ' ニリン酸もしくは三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、前記少なくとも 1 つの合成 R L R アゴニストと、を含み、

前記少なくとも 1 つの R L R アゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

10

20

30

40

50

(項目 160)

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、
 (b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つの合成RLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、前記第1のポリヌクレオチドは前記第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、前記二重鎖は19個未満の塩基対を含み、前記第1のオリゴヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、前記アゴニストが、
 (i) GT反復モチーフ、
 (ii) GA反復モチーフ、
 (iii) AUCG反復モチーフ、
 (iv) AU反復モチーフ、
 (v) ジピリミジンモチーフ、
 (vi) ジプリンモチーフ、
 (vii) ピリミジントリプレットモチーフ、
 (viii) プリントリプレットモチーフ、
 (ix) パリンドローム配列モチーフ、及び
 (x) (i) ~ (ix) のいずれかの組み合わせから選択される配列モチーフを含む、前記少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含み、
 前記少なくとも1つのRLRアゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

10

20

(項目 161)

(a) RNAファージQ β のウイルス様粒子と、
 (b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つの合成RLRアゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式：
 5' - (N1 - N2 - X1) - L - (X2 - N3 - N4) - 3' [式中、
 (i) (N1 - N2 - X1) は、連結されたヌクレオチドN1、N2及びX1を含む第1のポリヌクレオチドを含み、
 (ii) (X2 - N3 - N4) は、連結されたヌクレオチドX2、N3及びN4を含む第2のポリヌクレオチドを含み、
 (iii) N1、N2、N3及びN4は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、
 (iv) N1はN4と塩基対合し、
 (v) N2はN3と塩基対合し、
 (vi) N1は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、
 (vii) X1は、配列モチーフ[AUCN5]x(ただし、N5はグアノシンまたはイノシンを含み、xはその値が配列モチーフの数を示す整数であり、x = 2 ~ 4である)を含み、
 (viii) X2は、配列モチーフ[CN6AU]y(ただし、N6はグアノシンまたはイノシンを含み、yはその値が配列モチーフの数を示す整数であり、y = 2 ~ 4である)を含み、
 (ix) Lは、前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、
 場合により、N1、N2、N3、及びN4のうちの少なくとも1つはイノシンであり、前記イノシンヌクレオチドは前記ヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、前記少なくとも1つの合成RNAアゴニストと、を含み、
 前記少なくとも1つのRLRアゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

30

40

50

(項目 1 6 2)

(a) RNAファージQβのウイルス様粒子と、
(b) RLRに特異的に結合する少なくとも1つの合成RLRアゴニストであって、配列番号23のヌクレオチド配列を含み、前記アゴニストの最も5'側のヌクレオチドが5'ニリン酸もしくは三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含む、前記少なくとも1つの合成RLRアゴニストと、を含み、
前記少なくとも1つのRLRアゴニストが前記ウイルス様粒子にパッケージングされている、組成物。

(項目 1 6 3)

前記ウイルス様粒子が、配列番号112のアミノ酸配列をそれぞれ有するRNAファージQβコートタンパク質を含む、項目159～162のいずれか1項に記載の組成物。

10

(項目 1 6 4)

前記ウイルス様粒子が、配列番号112のアミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列をそれぞれ有するRNAファージQβコートタンパク質を含む、項目159～162のいずれか1項に記載の組成物。

(項目 1 6 5)

前記RLRアゴニストが前記ウイルス様粒子に非共有結合により結合している、先行項目のいずれか1項に記載の組成物。

(項目 1 6 6)

前記RLRアゴニストが、オリゴヌクレオチド結合部位、DNA結合部位、及びRNA結合部位からなる群から選択されるウイルス様粒子の部位に結合される、項目1～164のいずれか1項に記載の組成物。

20

(項目 1 6 7)

前記ウイルス様粒子の部位がアルギニンリッチリピートを含む、項目166に記載の組成物。

(項目 1 6 8)

前記ウイルス様粒子に結合された少なくとも1つの抗原または抗原決定基をさらに含む、先行項目のいずれか1項に記載の組成物。

(項目 1 6 9)

前記少なくとも1つの抗原または抗原決定基が、少なくとも1つの共有結合によって前記ウイルス様粒子に結合される、項目168に記載の組成物。

30

(項目 1 7 0)

前記少なくとも1つの抗原または抗原決定基が、非ペプチド結合によって前記ウイルス様粒子に結合される、項目168に記載の組成物。

(項目 1 7 1)

前記抗原または抗原決定基が、前記ウイルス様粒子に融合される、項目168に記載の組成物。

(項目 1 7 2)

前記ウイルス様粒子が少なくとも1つの第1の結合部位を含み、前記抗原または抗原決定基が、(a)前記抗原または抗原決定基内に天然に存在しない結合部位と、(b)前記抗原または抗原決定基内に天然に存在する結合部位とからなる群より選択される少なくとも1つの第2の結合部位を含み、

40

前記ウイルス様粒子に対する前記抗原または抗原決定基の前記結合が前記第1の結合部位と前記第2の結合部位との結合 (a s s o c i a t i o n) を介して行われ、場合により、前記結合は、少なくとも1つの非ペプチド結合を介して行われる、項目168に記載の組成物。

(項目 1 7 3)

前記第1の結合部位がアミノ基またはリシン残基を含み、前記第2の結合部位がスルフヒドリル基またはシステイン残基を含む、項目172に記載の組成物。

50

(項目 1 7 4)

免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の低減もしくは阻害を必要とする対象においてそれを行うための医薬組成物であって、項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物と、薬学的に許容される担体とを含む、前記医薬組成物。

(項目 1 7 5)

ポリエチエンイミン (P E I) 担体中に配合される、項目 1 7 4 に記載の医薬組成物。

(項目 1 7 6)

前記 P E I 担体が J e t P E I (登録商標) である、項目 1 7 5 に記載の医薬組成物。

(項目 1 7 7)

細胞内の 1 つ以上のサイトカインの産生の R L R 媒介産生を増加させるための方法であって、前記細胞を項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物と接触させることを含み、前記アゴニストが細胞内の R L R 媒介サイトカイン産生を増加させる、前記方法。

10

(項目 1 7 8)

細胞内の 1 つ以上のインターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現を増加させるための方法であって、前記細胞を項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物と接触させることを含み、前記アゴニストが細胞内の 1 つ以上のインターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現を増加させる、前記方法。

(項目 1 7 9)

細胞内の R L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させるための方法であって、前記細胞を項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物と接触させることを含み、前記アゴニストが R L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させる、前記方法。

20

(項目 1 8 0)

対象の免疫応答を刺激するための方法であって、前記対象に有効量の項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または項目 1 7 4 ～ 1 7 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

(項目 1 8 1)

対象のがんを治療するかまたはその進行を遅らせる方法であって、前記対象に有効量の項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または項目 1 7 4 ～ 1 7 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

30

(項目 1 8 2)

腫瘍増殖の低減または阻害をそれを必要とする対象において行う方法であって、前記対象に有効量の項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または項目 1 7 4 ～ 1 7 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

(項目 1 8 3)

免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の阻害をそれを必要とする対象において行うための方法であって、前記対象に有効量の項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または項目 1 7 4 ～ 1 7 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物を投与することを含み、前記アゴニストが、細胞内の 1 つ以上のサイトカインの R L R 媒介産生を増加させるか、細胞内の 1 つ以上のインターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現を増加させるか、及び／または細胞内の R L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させ、それにより前記免疫応答を刺激するか、前記がんを治療もしくはその進行を遅らせるか、または前記腫瘍の増殖を阻害する、前記方法。

40

(項目 1 8 4)

前記組成物が 1 つ以上のさらなる治療剤と併用して投与され、前記 1 つ以上のさらなる治療剤は、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤 (例えば、オプソニン化抗体)、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤またはアゴニスト、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、項目 1 8 0 ～ 1 8 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 8 5)

50

前記組成物が、前記1つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または前記1つ以上のさらなる治療剤が前記アゴニストまたは医薬組成物の前記投与と同時に、その前もしくはその後に投与される、項目184に記載の方法。

(項目186)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、PD-1/PD-L1アンタゴニスト、TIM-3アンタゴニスト、VISTAアンタゴニスト、アデノシンA2ARアンタゴニスト、B7-H3アンタゴニスト、B7-H4アンタゴニスト、BTLAアンタゴニスト、CTLA-4アンタゴニスト、IDOアンタゴニスト、KIRアンタゴニスト、LAG-3アンタゴニスト、Toll様受容体3 (TLR3) アゴニスト、Toll様受容体7 (TLR7) アゴニスト、Toll様受容体9 (TLR9) アゴニストである、項目184または185に記載の方法。

10

(項目187)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、CD137 (4-1BB) に特異的に結合するポリペプチド (例えば、抗体、またはその抗原結合部分) を含むアゴニストである、項目184または185に記載の方法。

(項目188)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、CD134 (OX40) に特異的に結合するポリペプチド (例えば、抗体、またはその抗原結合部分) を含むアゴニストである、項目184または185に記載の方法。

(項目189)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、PD-1/PD-L1アンタゴニストである、項目186に記載の方法。

20

(項目190)

前記PD-1/PD-L1アンタゴニストが、PDR001、KEYTRUDA (登録商標) (ペムブロリズマブ)、OPDIVO (登録商標) (ニボルマブ)、ビジリズマブ、MED10680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591、及びAMP-224からなる群から選択される、項目189に記載の方法。

(項目191)

前記PD-1/PD-L1アンタゴニストが、FAZ053、TENCENTRIQ (登録商標) (アテゾリズマブ)、BAVENCIO (登録商標) (アベルマブ)、IMFINZI (登録商標) (デュルバルマブ)、及びBMS-936559からなる群から選択される、項目189に記載の方法。

30

(項目192)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、TIM-3アンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目193)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、VISTAアンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目194)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、アデノシンA2ARアンタゴニストである、項目186に記載の方法。

40

(項目195)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、B7-H3アンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目196)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、B7-H4アンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目197)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、BTLAアンタゴニストである、項目186に記載の方法。

50

(項目 198)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、CTLA-4アンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目 199)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、IDOアンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目 200)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、KIRアンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目 201)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、LAG-3アンタゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目 202)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、Toll様受容体3 (TLR3) アゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目 203)

前記TLR3アゴニストが、ポリイノシン酸：ポリシチジル酸 (poly I:C) である、項目202に記載の方法。

(項目 204)

前記TLR3アゴニストが、HILTONOL (登録商標) (poly ICLC) である、項目202に記載の方法。

(項目 205)

前記TLR3アゴニストが、ポリアデニル酸-ポリウリジル酸 (poly A:U) である、項目202に記載の方法。

(項目 206)

前記TLR3アゴニストが、RIBOXXIM (登録商標) (RGIC (登録商標) 100) である、項目202に記載の方法。

(項目 207)

前記TLR3アゴニストが、RIBOXXON (登録商標) (RGIC (登録商標) 50 バイオコンジュゲート) である、項目202に記載の方法。

(項目 208)

前記TLR3アゴニストが、RIBOXXOL (登録商標) (RGIC (登録商標) 50) である、項目202に記載の方法。

(項目 209)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、Toll様受容体7 (TLR7) アゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目 210)

前記TLR7アゴニストが、GS-9620 (ベサトリモド) である、項目209に記載の方法。

(項目 211)

前記TLR7アゴニストが、イミキモド (ALDARA (商標)) である、項目209に記載の方法。

(項目 212)

前記TLR7アゴニストが、レシキモド (R-848) である、項目209に記載の方法。

(項目 213)

前記1つ以上のさらなる治療剤が、Toll様受容体9 (TLR9) アゴニストである、項目186に記載の方法。

(項目 214)

前記TLR9アゴニストが、CpGオリゴデオキシヌクレオチド (CpG ODN) であ

10

20

30

40

50

る、項目 2 1 3 に記載の方法。

(項目 2 1 5)

前記 CpG ODN が、クラス A の CpG ODN (CpG-A ODN) である、項目 2 1 4 に記載の方法。

(項目 2 1 6)

前記 CpG ODN が、クラス B の CpG ODN (CpG-B ODN) である、項目 2 1 4 に記載の方法。

(項目 2 1 7)

前記 CpG ODN が、クラス C の CpG ODN (CpG-C ODN) である、項目 2 1 4 に記載の方法。

(項目 2 1 8)

免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の阻害をそれを必要とする対象において行うための項目 1 ~ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または項目 1 7 4 ~ 1 7 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物の使用であって、場合により、1 つ以上のさらなる治療剤と併用するための前記組成物または前記医薬組成物の使用。

(項目 2 1 9)

免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の阻害をそれを必要とする対象において行うための薬剤の製造における項目 1 ~ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または項目 1 7 4 ~ 1 7 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物の使用であって、場合により、1 つ以上のさらなる治療剤と併用するための前記組成物または前記医薬組成物の使用。

(項目 2 2 0)

項目 1 ~ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または項目 1 7 4 ~ 1 7 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物と、対象の免疫応答を刺激する、またはがんを治療またはその進行を遅らせる、または対象の腫瘍増殖を阻害する際に使用される使用説明書とを、場合により、1 つ以上のさらなる治療剤と併用される使用説明書とともに含む、キット。

(項目 2 2 1)

前記アゴニストまたは医薬組成物が 1 つ以上のさらなる治療剤と併用して投与され、前記 1 つ以上のさらなる治療剤が、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤 (例えば、オプソニン化抗体)、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、項目 2 1 8 に記載の使用または項目 2 2 0 に記載のキット。

(項目 2 2 2)

前記アゴニストまたは医薬組成物が前記 1 つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または前記 1 つ以上のさらなる治療剤が前記アゴニストまたは医薬組成物の前記投与と同時に、その前もしくはその後に投与される、項目 2 2 1 に記載の使用またはキット。

(項目 2 2 3)

前記 1 つ以上のさらなる治療剤が、PD-1/PD-L1 アンタゴニスト、TIM-3 アンタゴニスト、VISTA アンタゴニスト、アデノシン A2AR アンタゴニスト、B7-H3 アンタゴニスト、B7-H4 アンタゴニスト、BTLA アンタゴニスト、CTLA-4 アンタゴニスト、IDO アンタゴニスト、KIR アンタゴニスト、LAG-3 アンタゴニスト、Toll 様受容体 3 (TLR3) アゴニスト、Toll 様受容体 7 (TLR7) アゴニスト、Toll 様受容体 9 (TLR9) アゴニストである、項目 2 1 8、2 1 9、2 2 1、もしくは 2 2 2 のいずれか 1 項に記載の使用、または項目 2 2 0 ~ 2 2 2 に記載のキット。

(項目 2 2 4)

前記 1 つ以上のさらなる治療剤が、CD137 (4-1BB) に特異的に結合するポリ

10

20

30

40

50

ペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである、項目 2 1 8、2 1 9、2 2 1、もしくは 2 2 2 のいずれか 1 項に記載の使用、または項目 2 2 0 ～ 2 2 2 に記載のキット。

(項目 2 2 5)

前記 1 つ以上のさらなる治療剤が、C D 1 3 4 (O X 4 0) に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである、項目 2 1 8、2 1 9、2 2 1、もしくは 2 2 2 のいずれか 1 項に記載の使用、または項目 2 2 0 ～ 2 2 2 に記載のキット。

(項目 2 2 6)

項目 1 ～ 1 7 3 のいずれか 1 項に記載の組成物を製造する方法であって、

(a) 前記ウイルス様粒子を分解することと、

(b) 前記 R L R アゴニストを添加することと、

(a) 前記ウイルス様粒子を再集合化することと、を含む、前記方法。

(項目 2 2 7)

前記分解されたウイルス様粒子の核酸を除去することをさらに含む、項目 2 2 6 に記載の方法。

(項目 2 2 8)

再集合化後に前記組成物を精製することをさらに含む、項目 2 2 6 または 2 2 7 に記載の方法。

(項目 2 2 9)

(d) 抗原または抗原決定基を前記ウイルス様粒子に結合させることを含む、項目 2 2 6 ～ 2 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 2 3 0)

前記抗原または抗原決定基が、前記ウイルス様粒子を分解する前に前記ウイルス様粒子と結合させられる、項目 2 2 9 に記載の方法。

(項目 2 3 1)

前記抗原または抗原決定基が、前記ウイルス様粒子を再集合化させた後に前記ウイルス様粒子と結合させられる、項目 2 2 9 に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【 0 1 3 7 】

【図 1】 様々な修飾を有する 0 . 4 n M、2 n M、及び 1 0 n M の R L R アゴニストで処理されたヒト P B M C からのサイトカイン I F N - α 2 a の分泌の定量化を示す棒グラフを示す。

【図 2】 0 . 2 n M、2 n M、2 0 n M、及び 2 0 0 n M の濃度の R I G 5 0 c (X 2 4 9 0 7) 及びイノシン置換 R I G 2 7 c (X 2 4 9 3 5) で処理されたヒト P B M C からの I F N - α 分泌の定量化を示す棒グラフを示す。

【図 3】 2 n M、2 0 n M、2 0 0 n M、及び 6 0 0 n M の濃度の Q β - R I G 2 7 (R N A ファージ Q β コートタンパク質を含む V L P にパッケージングされた R I G 2 7 c) で処理されたヒト P B M C からの I F N - α 分泌の定量化を示す棒グラフを示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 1 3 8 】

概要

R I G - I 様受容体 (R L R) は、ウイルス R N A を検出し、自然免疫応答を開始するために不可欠なサイトゾルのパターン認識受容体のファミリーである。R L R ファミリーには、R I G - I (R e t i n o i c a c i d - i n d u c i b l e g e n e I) (レチノイン酸誘導性遺伝子 I)、M D A 5 (M e l a n o m a d i f f e r e n t i a t i o n - a s s o c i a t e d g e n e 5) (メラノーマ分化関連遺伝子 5)、及び L G P 2 (L a b o r a t o r y o f g e n e t i c s a n d p h y s i o l o g y 2) の 3 つのメンバーが含まれる。これらの受容体は、免疫細胞型及び非免疫細胞型の両方で発現され、I 型及び I I I 型インターフェロン (I F N) の I R F 3、I R F 7 依存

10

20

30

40

50

性発現、及び炎症誘発性サイトカインのNF- κ B依存性発現を促進するシグナル伝達経路を調節する。

【0139】

3つのRLRファミリー受容体はいずれも、ATPアーゼ活性を有するDEXD/HボックスRNAヘリカーゼドメインを有している。このドメインは、隣接するC末端ドメインとともに、RNA結合に必要である。さらに、RIG-I及びLGP2のC末端ドメインはリプレッサドメインとして作用することが示されており、これにより、これらの受容体は活性化RNAが結合するまで不活性な立体構造を維持する。

【0140】

本開示は、二本鎖dsRNAを形成するようにフォールディングし、かつ1つ以上の改善された生物学的活性を与える1つ以上の配列モチーフを含む合成RNA分子を含むRLRアゴニストを提供するものである。本開示はまた、VLPにパッケージングされた少なくとも1つのRLRアゴニストを含む組成物であって、VLP単独と比較して免疫刺激効力、例えばサイトカイン発現の誘導が改善された組成物も提供する。これらのRIG-VLPは、例えば腫瘍に対する予防的または治療的レジメンにおいて使用される改善された免疫刺激組成物を提供する。

【0141】

RIG-I様受容体及びそのリガンド

本開示は、RIG-I様受容体(RLR)に特異的に結合してRLRを刺激する(RLRアゴニスト)合成RNAリガンドを提供する。いくつかの態様では、本開示は、がんの治療に有用であるRLRアゴニストを提供する。いくつかの態様では、本開示は、感染性疾患の治療に有用であるRLRアゴニストを提供する。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストはサイトカイン産生を誘導する。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、腫瘍微小環境のCD8+T細胞の数を増加させる。いくつかの態様では、RLRアゴニストは、防御的抗腫瘍免疫を誘導する。

【0142】

RIG-I様受容体(RLR)は、病原体関連分子パターン(PAMP)の認識を介して病原体の存在を検知するサイトゾルパターン認識受容体(PRR)として機能するDEXD/HボックスRNAヘリカーゼのファミリーを含む。特に、非自己(例えば、ウイルス性)RNAの細胞内の存在は、RLRへのRNAの結合を介して感染細胞によって検知され、抗ウイルス免疫の開始及び調節をもたらす。多くのウイルスRNAと同様、内因性mRNA及びRNAポリメラーゼIII転写産物も5'三リン酸化されているが、真核生物のmRNAは、N7がメチル化されたグアノシンに連結された5'キャップ構造を有しており、これがRIG-I活性化を妨げる。ウイルスRNAと自己RNAとのこれらの構造的な違いは、細胞内の局在化の違いとともに、ウイルスRNAの選択的検出によって、ウイルス感染に対する防御機構としてのRIG-Iの効果的な機能を可能にするものと考えられる。分子認識及び非自己RNAリガンドのRLRへの結合は特異的な細胞内シグナル事象を伝播し、その結果、1型インターフェロン(IFN)産生及び抗ウイルス遺伝子の発現を誘導する転写因子の活性化をもたらす。IFN及び炎症性サイトカイン産生のRLR媒介性誘導ならびに抗ウイルス遺伝子の発現は、免疫応答を誘発して制御ウイルス感染を抑制する(Yoneyama et al., (2015) Curr Opin Immunol 32: 48-53)。

【0143】

RIG-I(レチノイン酸誘導性遺伝子I)(RLRファミリーの主要メンバーであり、最もよく特徴付けられている)、MDA5(メラノーマ分化関連因子5)、及びLGP2(laboratory of genetics and physiology 2、マウスD11 lgp2のホモログ)の3つのRLRファミリーメンバーが同定されている。RIG-Iは自然免疫系の重要な要素であり、RNAウイルスによる感染に対する防御に重要な役割を果たしている。免疫細胞のサブセットのエンドソーム内の核酸を検出するToll様受容体TLR3、TLR7、TLR8、及びTLR9と異なり、RIG-I

10

20

30

40

50

は、すべての細胞型で発現されるサイトゾルの自然免疫受容体である (Kato et al., (2006) Nature 441 (7089): 101-105; Loo et al., (2008) J Virol 82 (1): 335-345)。RIG-IがウイルスRNAを特異的に検出して活性化されることが2つの初期の研究によって独立して確立されている (Hornung et al., (2006) Science 314 (5801): 994-997; Pichlmair et al., (2006) Science 314 (5801): 997-1001)。

【0144】

RIG-I／リガンド複合体の高分解能の構造は、RNAリガンド、特に活性化リガンドである二本鎖の5'三リン酸化RNA (ppp-dsRNA) に対するRIG-Iの結合の分子的な詳細を与える (Civril et al., (2011) EMBO Reports 12 (11): 1127-1134; Jiang et al., (2011) Nature 479 (7373): 423-427; Kowalinski et al., (2011) Cell 147 (2): 423-435; Lu et al., (2010) Structure 18 (8): 1032-1043; Luo et al., (2011) Cell 147 (2): 409-422; Wang et al., (2010) Nature Structural & Molecular Biology 17 (7): 781-787; Hornung et al., (2006) Science 314 (5801): 994-997; Pichlmair et al., (2006) Science 314 (5801): 997-1001; Schlee et al., (2009) Immunity 31 (1): 25-34)。RIG-I／RNA複合体の結晶構造は、塩基ではなく骨格に対するタンパク質結合を示し、RNA配列がRIG-I結合に影響を及ぼさないか、またはRNA配列が未だ特徴付けられていない作用または活性を示す可能性を示唆している。RIG-I様受容体との配列依存的な差次的相互作用または親和性、及びRIG-I様受容体の活性化についてのエビデンスは、当該技術分野における記載は今日までない (Schlee and Hartmann (2010) Molecular Therapy 18 (7): 1254-1262)。

【0145】

したがって、本開示は、非天然に存在する、合成された、及び／または操作されたRLRのRNAリガンドを含む合成RIG-I様受容体 (RLR) アゴニストを提供する。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、10～100ヌクレオチドの長さのリボ核酸 (RNA) を含む。いくつかの態様では、RNAは、10～15、15～20、20～25、25～30、30～35、35～40、40～45、45～50、50～55、55～60、60～65、65～70、70～75、75～80、80～85、85～90、90～95、または95～100ヌクレオチドの長さである。

【0146】

いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、一本鎖；二重鎖、ステムループまたはヘアピン構造を形成することができる自己相補配列を含む一本鎖；二本鎖；または部分二本鎖のオリゴヌクレオチドであってよい。

【0147】

いくつかの実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、完全な二本鎖である。この場合、オリゴヌクレオチドは、同じ長さを有し、互いに100%相補的な配列を有する2本の一本鎖オリゴヌクレオチドから構成される。

【0148】

いくつかの実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、部分的な二本鎖である。この場合、オリゴヌクレオチドを形成する2本の鎖は、異なる長さを有するか、互いに100%相補的ではない配列を有するか、またはその両方を有する。換言すれば、オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの完全二本鎖部分が、一方または両方の末端において一本鎖構造で連結されている。

【0149】

いくつかの実施形態では、二重鎖、ヘアピン、またはステムループ構造は、10～15、15～20、20～25、25～30、30～35、30～35、35～40、40～45、45～50、50～55塩基対を含む。

【0150】

いくつかの形態では、オリゴヌクレオチドは、19個未満の塩基対を含む二重鎖を形成する。いくつかの実施形態では、二重鎖の相補的塩基は、ヌクレオチドまたは非ヌクレオチドリinkerによって連結される。

【0151】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、一本鎖、自己相補配列を含む一本鎖、または二本鎖であり、オリゴヌクレオチドの長さは一本鎖の長さである。

【0152】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは部分的に二本鎖であり、オリゴヌクレオチドの長さは長い方の鎖の長さである。したがって、本発明のオリゴヌクレオチドは、少なくとも一方の鎖が、10～15、15～20、20～25、25～30、30～35、35～40、40～45、45～50、50～55、55～60、60～65、65～70、70～75、75～80、80～85、または85～90ヌクレオチドの長さである部分二本鎖オリゴヌクレオチドを含む。

【0153】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、二本鎖または部分二本鎖のオリゴヌクレオチドであり、少なくとも一方の鎖が少なくとも1個の5'ニまたは三リン酸基を含む。両方の鎖が5'ニまたは三リン酸基を含む場合、リン酸基の数は、2本の鎖で同じであっても異なってもよい。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、部分二本鎖オリゴヌクレオチドであり、少なくとも1つの5'ニリン酸または三リン酸を構成する5'末端の少なくとも1個のリボヌクレオチドは、長い方の鎖または短い方の鎖のどちらにあってもよく、少なくとも長い方の鎖は、10～15、15～20、20～25、25～30、30～35、35～40、40～45、45～50、50～55、55～60、60～65、65～70、70～75、75～80、80～85、または85～90ヌクレオチドの長さである。

【0154】

いくつかの態様では、相補性度は、好ましくは少なくとも50%、60%、70%、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、最も好ましくは100%である。当該技術分野で使用される場合、2個のオリゴヌクレオチド／ポリヌクレオチド間の「相補性度」という用語は、2個のオリゴヌクレオチドの重複領域内の相補的塩基のパーセンテージを指す。2個の塩基は、水素結合を介して塩基対を形成することができる場合に互いに相補的である。塩基対は、ワトソン・クリック塩基対及びゆらぎ塩基対の両方を含む。ワトソン・クリック塩基対には、A-T、C-G、A-Uが含まれ、ゆらぎ塩基対には、G-U、I-U、I-A、I-Cが含まれる。相補性度は、BLASTなどの各種のエンジンによって手動または自動のいずれかにより、当業者が当該技術分野では周知の任意の方法を用いて決定することができる。例えば、ATCGはCGAT及びCGATGGに対して100%の相補性を有し、CGTT及びCGTTGGに対して75%の相補性を有する。

【0155】

いくつかの態様では、本開示は、RIG-I様受容体(RLR)に特異的に結合するRLRアゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のポリヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドは5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含む、RLRアゴニストを提供する。

10

20

30

40

50

【0156】

いくつかの実施形態では、本開示のRLRアゴニストは、以下、すなわち、

- (i) GT反復モチーフ、
- (ii) GA反復モチーフ、
- (iii) AUCG反復モチーフ、
- (iv) AU反復モチーフ、
- (v) ジピリミジンモチーフ、
- (vi) ジ布林モチーフ、
- (vii) ピリミジントリプレットモチーフ、
- (viii) プリントリプレットモチーフ、
- (ix) パリンドローム配列モチーフ、及び
- (x) (i) ~ (ix) のいずれかの組み合わせからなる群から選択される配列モチーフを含む。

10

【0157】

いくつかの実施形態では、本開示のRLRアゴニストは、少なくとも1つの改善された生物学的活性を含み、改善された生物学的活性は、以下、すなわち、

- (i) RLR媒介サイトカイン産生の増加、
- (ii) インターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現の増加、
- (iii) RLR媒介細胞内シグナル伝達の増加、
- (iv) RLRに対する結合親和性の増加、及び
- (v) (i) ~ (iv) のいずれかの組み合わせから選択される。

20

【0158】

いくつかの実施形態では、本開示のRLRアゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、19個未満、約15~18個、約15個、約10~15個、約10個、約5~10個、約5個、約4個、約18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のグアニン及びチミンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むGT反復モチーフである。いくつかの実施形態では、GT反復モチーフは $[GT]_n$ （ただし、 $n=2\sim9$ ）である。いくつかの実施形態では、GT反復モチーフは $[GT]_7$ である。いくつかの実施形態では、GT反復モチーフは $[GT]_3$ であり、GT反復モチーフにプリントリプレット及びUCGがそれぞれ続く。いくつかの実施形態では、プリントリプレットは、GGAである。

30

【0159】

いくつかの実施形態では、配列モチーフは、19個未満、約15~18個、約15個、約10~15個、約10個、約5~10個、約5個、約4個、約18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のグアニン及びアデニンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むGA反復モチーフである。いくつかの実施形態では、GA反復モチーフは $[GA]_n$ （ただし、 $n=2\sim9$ ）である。いくつかの実施形態では、GA反復モチーフは $[GA]_7$ である。

【0160】

いくつかの実施形態では、本開示のRLRアゴニストは配列モチーフを含み、配列モチーフは、19個未満、約16個、約12~16個、約12個、約8~12個、約6個、約16、12、8個のアデニン、ウラシル、シトシン、及びグアニンヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含むAUCG反復モチーフである。

40

【0161】

いくつかの実施形態では、AUCG反復モチーフは $[AUCG]_n$ （ただし、 $n=2\sim4$ ）である。いくつかの実施形態では、AUCG反復モチーフは $[AUCG]_3$ である。

【0162】

いくつかの実施形態では、AUCG反復モチーフの前にCGまたはジピリミジンモチーフが位置する。いくつかの実施形態では、AUCG反復モチーフの前にCGが位置する。

50

いくつかの実施形態では、ジピリミジンモチーフは C C であるいくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフの前にジプリンモチーフが位置する。いくつかの実施形態では、ジプリンモチーフは G A である。いくつかの実施形態では、ジプリンモチーフは G G である。
【0163】

いくつかの実施形態では、本開示の R L R アゴニストは、A U C G 反復モチーフを含み、1つ以上のウリジンヌクレオシド (U) が修飾ヌクレオシドに置換されている。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、リボチミジン (T) である。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフは [A U C G]₃ であり、A U C G 反復モチーフを構成する1つ以上のウリジンヌクレオシド (U) が修飾ヌクレオシドに置換されており、修飾ヌクレオシドはリボチミジン (T) である。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフは [A U C G]₃ であり、A U C G 反復モチーフを構成する1つ以上のウリジンヌクレオシド (U) が修飾ヌクレオシドに置換されており、修飾ヌクレオシドはリボチミジン (T) であり、A U C G 反復モチーフの前に G G が位置する。

10

【0164】

いくつかの実施形態では、本開示の R L R アゴニストは、A U C G 反復モチーフを含み、1つ以上のグアノシンヌクレオシド (G) が修飾ヌクレオシドに置換されている。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、イノシン (I) である。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフは [A U C G]₃ であり、A U C G 反復モチーフを構成する1つ以上のグアノシンヌクレオシド (G) が修飾ヌクレオシドに置換されており、修飾ヌクレオシドはリボチミジン (T) であり、A U C G 反復モチーフの前に G G が位置する。

20

【0165】

いくつかの実施形態では、本開示の R L R アゴニストは A U C G 反復モチーフを含み、モチーフの前に I G が位置する。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフは [A U C G]₃ であり、その前に I G が位置する。

【0166】

いくつかの実施形態では、本開示の R L R アゴニストは、A U C G リピートを含み、1つ以上のグアノシンヌクレオシド (G) がイノシン (I) に置換されており、A U C G リピートの前にイノシン (I) が位置する。いくつかの実施形態では、A U C G リピートを構成するグアノシンヌクレオシド (G) がイノシン (I) に置換され、A U C G リピートの前にイノシン (I) が位置し、第1のポリヌクレオチドの最も 5' 側のヌクレオチドがイノシン (I) を含む。

30

【0167】

いくつかの実施形態では、第1のポリヌクレオチドの最も 5' 側のヌクレオチドはイノシン (I) を含む。

【0168】

いくつかの実施形態では、本開示の R L R アゴニストは A U C G 反復配列モチーフを含み、A U C G 反復モチーフは [A U C G]₂ である。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフの前にジプリンモチーフが位置する。いくつかの実施形態では、ジプリンモチーフは G G である。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフの前にプリントリプレットが位置する。いくつかの実施形態では、プリントリプレットは、G G G である。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフの前に C C C C C G が位置する。いくつかの実施形態では、A U C G 反復モチーフの前に T C G U C G が位置する。

40

【0169】

いくつかの実施形態では、本開示の R L R アゴニストはパリンドローム配列を含み、パリンドローム配列は、パリンドロームを生じる任意の順序で連結された、19個未満、約15~18個、約15個、約10~15個、約10個、約18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、または4個のヌクレオチド、またはそれらの誘導体もしくは類似体の配列を含む。

【0170】

いくつかの実施形態では、リンカーには A U が隣接する。いくつかの実施形態では、リ

50

ンカーにはAU反復モチーフが隣接し、AU反復モチーフは $[AU]_n$ （ただし、 $n=2\sim 3$ ）である。いくつかの実施形態では、AU反復モチーフは、 $[AU]_2$ である。

【0171】

いくつかの態様では、本開示は、RLRに特異的に結合するRLRアゴニストであって、シチジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも1つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式： $5'-(N_1-N_2-X_1)-L-(X_2-N_3-N_4)-3'$ 、[式中、

(i) $(N_1-N_2-X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2-N_3-N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) Lは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結するリンカーである]を含む、RNAアゴニストを提供する。

【0172】

他の態様では、本開示は、RIG-I様受容体(RLR)に特異的に結合する合成RIG-I様受容体(RLR)アゴニストであって、非ヌクレオチドリinkerを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式： $5'-(N_1-N_2-X_1)-L-(X_2-N_3-N_4)-3'$ 、[式中、

(i) $(N_1-N_2-X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2-N_3-N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 及び X_2 はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(viii) X_1 は X_2 と相補的であり、

(ix) X_1 及び X_2 はそれぞれ、12ヌクレオチド～16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) Lは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを共有結合により連結する非ヌクレオドリinkerである]を含む、合成RNAアゴニストを提供する。

【0173】

いくつかの態様では、イノシンは、RLRアゴニスト中に存在する場合、シチジンと塩基対合する。

【0174】

いくつかの実施形態では、リンカー（L）は、ヌクレオチドリンカーまたは非ヌクレオチドリンカーである。

【0175】

いくつかの態様では、本開示は、RLRに特異的に結合するRLRアゴニストであって、ヌクレオチドまたは非ヌクレオチドリンカーを含む平滑末端化されたヘアピンRNAを含むRLRアゴニストを提供する。RNAヘアピンは、最も一般的なRNAの二次構造要素の1つであり、ヘアピンのハイブリダイズされた部分すなわち「ステム」はしばしばRNAテトラループによってキャップされている。RNAテトラループは、コンパクトで安定した構造を形成する特徴的な4個のループヌクレオチドで構成されている。これらは多くの異なるヌクレオチド配列によって形成されうるが、UNC G（N=A、C、G、またはU）、GNRA（R=AまたはG）、及びCUUGテトラループが最も多くみられる。テトラループは、通常、RNAのフォールディングプロセスの開始を助け、RNA内またはRNA間の三次元的接触及びタンパク質結合のための部位を与えることによってリボヌクレオタンパク質粒子の集合を促進する。テトラループのさらなる説明は、本明細書に参照によりその全体を援用するところのCheong, H., Kim, N. and Cheong, C. (2015). RNA Structure: Tetraloops. In eLS, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.) にみられる。

【0176】

したがって、いくつかの実施形態では、本開示のRLRアゴニストは、テトラループを含むヌクレオチドリンカーを含む。いくつかの実施形態では、テトラループのヌクレオチド配列は、

- (a) UNC G（ただし、N=A、C、G、またはU）、
- (b) GNRA（ただし、N=A、C、G、またはU、かつR=AまたはG）、
- (c) ANYA（ただし、N=A、C、G、またはU、かつY=CまたはT）、
- (d) CUYG（ただし、Y=CまたはT）、
- (e) UMAC（ただし、M=AまたはC）、及び
- (f) CUUGからなる群から選択される。

【0177】

いくつかの実施形態では、ヌクレオチドリンカーは、ヌクレオチド配列UUUGAUまたはUGUUUを含む。いくつかの実施形態では、テトラループの配列はUUCGである。いくつかの実施形態では、テトラループの配列はGAUCである。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドリンカーは、ヌクレオチド配列UUUGAUを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドリンカーは、ヌクレオチド配列UGUUUを含む。

【0178】

他の態様では、本開示のRLRアゴニストは、非ヌクレオチドリンカーを含む。本明細書に記載されるように、核酸ループ（例えば、テトラループ）は、核酸二次構造にみられる一般的なエレメントである。ヌクレオチドループは、鎖内二重鎖に生じる折り畳まれたドメイン内で生じる。非ヌクレオチド連結基（例えば、非ヌクレオチドリンカー）を含むヘアピンループを含むように設計された合成核酸は、折り畳まれた二重鎖構造を架橋するいくつかのヌクレオチドを置き換えることができる。非ヌクレオチド基は、同様に非折り畳み構造内でもリンカーとして用いられている。このような連結基は、天然のヌクレオチドリンカー（例えば、テトラループ）の有用な置換となりうる。このような連結基は、例えば、1個の比較的長い非ヌクレオチド連結基で、通常ループを構成し得る数個の個々のヌクレオチドを置き換えることから、所望の二次構造を有する核酸の合成のいくつかの工程を短縮することができる。このような非天然のループまたはリンカー（例えば、非ヌクレオチドリンカー）は、生物学的状況（例えば、投与時の対象の細胞内または循環中）で

天然のループ構造に通常作用するヌクレアーゼによる分解に対する耐性を付与することができる。非ヌクレオチド連結基はまた、ヌクレオチドループ及びまたはリンカーで生じるよりも安定した折り畳み構造を与える可能性を有する。非ヌクレオチドリナーのさらなる説明は、本明細書に参照によりその全体を援用するところの Rumney and Kol (1995) J Am Chem Soc 117: 5635-5646 にみられる。
【0179】

したがって、いくつかの実施形態では、本開示の RLR アゴニストは、

(a) エチレングリコールリンカー、及び

(b) アルキルリンカーからなる群から選択される非ヌクレオチドリナーを含む。

【0180】

いくつかの実施形態では、非ヌクレオチドリナーはヘキサエチレングリコールリンカーである。いくつかの実施形態では、非ヌクレオチドリナーは C9 アルキルリンカーである。

【0181】

いくつかの実施形態では、RLR アゴニストは、5' ニリン酸部分、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、アゴニストは、5' 三リン酸部分、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、その誘導体または類似体は、ホスホネート、チオホスホネート、ホスホロチオエート、サルフェート、スルホネート、スルファメート、チアゾリジノン、カルボキシレート、マロネート、ボロン酸、ベンゾオキサボロール、ボラノホスフェート、スクアラミドから選択されるホスフェートの生物学的等価体を含む。

【0182】

いくつかの実施形態では、アゴニストは、修飾ヌクレオチド、修飾ヌクレオシド、または修飾核酸塩基、またはこれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、アゴニストは、ヌクレオチド間結合またはポリヌクレオチド骨格への修飾を含む。

【0183】

いくつかの態様では、本開示の RLR アゴニストは、以下の特性、すなわち、

(a) 1つ以上の RLR (例えば、RIG-1、MDA5 及び／または LGP2) に特異的に結合する；

(b) RLR 媒介サイトカイン産生を増加させる；

(c) インターフェロン刺激遺伝子 (ISG) の RLR 媒介発現を増加させる；

(d) RLR 依存性細胞内シグナル伝達を増加させる；

(e) 二重鎖の安定性を増加させる；

(f) RLR に対する結合親和性を増加させる；

(g) オフターゲット結合を減少させる；

(h) 生物学的半減期を増加させる；

(i) 体内分布及びバイオアベイラビリティを増加させる；

(j) 細胞及び／または組織中への取り込みを増加及び／または増大させる；

(k) 免疫原性を低下させる；及び

(l) (a) ~ (k) のいずれかの組み合わせのうちの少なくとも1つ以上を示す。

【0184】

いくつかの態様では、本開示は、RIG-I 様受容体 (RLR) に特異的に結合する合成 RIG-I 様受容体 (RLR) アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄) - 3'、[式中、

(i) (N₁ - N₂ - X₁) は、連結されたヌクレオチド N₁、N₂ 及び X₁ を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) (X₂ - N₃ - N₄) は、連結されたヌクレオチド X₂、N₃ 及び N₄ を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N₁、N₂、N₃ 及び N₄ は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを

10

20

30

40

50

含む単一のヌクレオチドを含み、

(i v) N₁はN₄と塩基対合し、

(v) N₂はN₃と塩基対合し、

(v i) N₁は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(v i i) X₁及びX₂はそれぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドであり、

(v i i i) X₁はX₂と相補的であり、

(i x) X₁及びX₂はそれぞれ、12ヌクレオチド〜16ヌクレオチドの長さで、かつ同じ長さであり、

(x) Lは、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

N₁、N₂、N₃、及びN₄のうちの少なくとも1つはイノシンであり、及び／またはX₁及び／またはX₂の少なくとも一方は少なくとも1個のイノシンヌクレオシドを含み、イノシンヌクレオシドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、合成RNAアゴニストを提供する。

【0185】

いくつかの実施形態では、N₁はイノシンを含み、N₄はシチジンを含む。いくつかの実施形態では、N₁はシチジンを含み、N₄はイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₂はイノシンを含み、N₃はシチジンを含む。いくつかの実施形態では、N₂はシチジンを含み、N₃はイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁はグアノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₂はグアノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁はシチジンを含む。いくつかの実施形態では、N₂はシチジンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はグアノシンを含み、N₃及びN₄はシチジンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はシチジンを含み、N₃及びN₄はグアノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はイノシンを含み、N₃及びN₄はシチジンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はシチジンを含み、N₃及びN₄はイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁はイノシンを含み、N₄はシチジンを含み、X₁及び／またはX₂はそれぞれ少なくとも1個のイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₂はイノシンを含み、N₃はシチジンを含み、X₁及び／またはX₂はそれぞれ少なくとも1個のイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はグアノシンを含み、N₃及びN₄はシチジンを含み、X₁及び／またはX₂はそれぞれ少なくとも1個のイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はグアノシンを含み、N₃及びN₄はシチジンを含み、X₁及びX₂はそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はシチジンを含み、N₃及びN₄はグアノシンを含み、X₁及びX₂はそれぞれイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はイノシンを含み、N₃及びN₄はシチジンを含み、X₁及び／またはX₂はそれぞれ少なくとも1個のイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はイノシンを含み、N₃及びN₄はシチジンを含み、X₁及びX₂はそれぞれ少なくとも1個のイノシンを含む。いくつかの実施形態では、N₁及びN₂はシチジンを含み、N₃及びN₄はイノシンを含み、X₁及びX₂はイノシンを含み、グアノシンヌクレオシドを含まない。いくつかの実施形態では、X₁

10

20

30

40

50

及びX 2はそれぞれヌクレオチド1 2個であり、1、2、3または4個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、X 1及びX 2はそれぞれヌクレオチド1 3個であり、1、2、3、4または5個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、X 1及びX 2はそれぞれヌクレオチド1 4個であり、1、2、3、4、5または6個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、X 1及びX 2はそれぞれヌクレオチド1 5個であり、1、2、3、4、5、6または7個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、X 1及びX 2はそれぞれヌクレオチド1 6個であり、それぞれ、1、2、3、4、5、6、7、または8個のイノシンヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、X 1及びX 2はそれぞれヌクレオチド1 2個であり、少なくとも1 0 %、2 0 %、3 0 %または4 0 %、イノシンヌクレオシドを含む。

【0 1 8 6】

いくつかの態様では、本開示は、R I G－I様受容体（R L R）に特異的に結合する合成R I G－I様受容体（R L R）アゴニストであって、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、式： $5'-(N_1-N_2-X_1)-L-(X_2-N_3-N_4)-3'$ 、[式中、

(i) $(N_1-N_2-X_1)$ は、連結されたヌクレオチド N_1 、 N_2 及び X_1 を含む第1のポリヌクレオチドを含み、

(ii) $(X_2-N_3-N_4)$ は、連結されたヌクレオチド X_2 、 N_3 及び N_4 を含む第2のポリヌクレオチドを含み、

(iii) N_1 、 N_2 、 N_3 及び N_4 は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、5－メチルウリジン、ウリジン、及びイノシンからなる群から選択されるヌクレオシドを含む単一のヌクレオチドを含み、

(iv) N_1 は N_4 と塩基対合し、

(v) N_2 は N_3 と塩基対合し、

(vi) N_1 は5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、

(vii) X_1 は、配列モチーフ $[AUCN_5]_x$ （ただし、 N_5 はグアノシンまたはイノシンを含み、 x はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $x=3$ または4である）を含み、

(viii) X_2 は、配列モチーフ $[CN_6AU]_y$ （ただし、 N_6 はグアノシンまたはイノシンを含み、 y はその値が配列モチーフの数を示す整数であり、 $y=3$ または4である）を含み、

(ix) L は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを機能的に連結するリンカーであり、

場合により、 N_1 、 N_2 、 N_3 、及び N_4 のうちの少なくとも1つはイノシンであり、イノシンヌクレオシドはヘアピンRNA内のシチジンと塩基対合する]を含む、合成RNAアゴニストを提供する。いくつかの実施形態では、 N_5 はイノシンを含み、 N_6 はイノシンを含む。いくつかの実施形態では、 N_5 はグアノシンを含み、 N_6 はイノシンを含む。いくつかの実施形態では、 N_5 はイノシンを含み、 N_6 はグアノシンを含む。いくつかの実施形態では、 N_5 はグアノシン（G）を含み、 N_6 はグアノシン（G）を含む。いくつかの実施形態では、 $x=3$ 、かつ $y=3$ である。いくつかの実施形態では、 $x=4$ 、かつ $y=4$ である。いくつかの実施形態では、 N_1 はイノシン（I）を含み、 N_4 はシチジン（C）を含む。いくつかの実施形態では、 N_2 はイノシン（I）を含み、 N_3 はシチジン（C）を含む。いくつかの実施形態では、 N_3 はイノシン（I）を含み、 N_2 はシチジン（C）を含む。いくつかの実施形態では、 N_4 はイノシン（I）を含み、 N_1 はシチジン（C）を含む。いくつかの実施形態では、 N_1 はグアノシン（G）を含む。いくつかの実施形態では、 N_2 はグアノシン（G）を含む。いくつかの実施形態では、 N_1 はシチジン（C）を含む。いくつかの実施形態では、 N_2 はシチジン（C）を含む。いくつかの実施形態では、 N_1 及び N_2 はグアノシン（G）を含み、 N_3 及び N_4 はシチジン（C）を含む。いくつかの実施形態では、 N_1 及び N_2 はシチジン（C）を含み、 N_3 及び N_4 はグアノシン（G）を含む。いくつかの実施形態では、 N_1 及び N_2 はイノシン（I）を含み、

10

20

30

40

50

N 3 及び N 4 はシチジン (C) を含む。いくつかの実施形態では、N 1 及び N 2 はシチジン (C) を含み、N 3 及び N 4 はイノシン (I) を含む。

【0187】

いくつかの実施形態では、リンカー (L) は、ヌクレオチドリンカーまたは非ヌクレオチドリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカー (L) はテトラループを含むヌクレオチドリンカーであり、テトラループのヌクレオチド配列は、

- (a) U N C G (ただし、N = A、C、G、または U)、
- (b) G N R A (ただし、N = A、C、G、または U、かつ R = A または G)、
- (c) A N Y A (ただし、N = A、C、G、または U、かつ Y = C または T)、
- (d) C U Y G (ただし、Y = C または T)、
- (e) U M A C (ただし、M = A または C)、及び
- (f) C U U G からなる群から選択される。

10

【0188】

いくつかの実施形態では、リンカー (L) は、ヌクレオチド配列 U U U G A U または U G U U U を含むヌクレオチドリンカーである。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドリンカーは、ヌクレオチド配列 U U U G A U を含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドリンカーは、ヌクレオチド配列 U G U U U を含む。

【0189】

いくつかの実施形態では、リンカー (L) はテトラループを含むヌクレオチドリンカーであり、テトラループの配列は U U G G である。いくつかの実施形態では、テトラループの配列は G A U C である。

20

【0190】

いくつかの実施形態では、リンカー (L) は、

- (a) エチレングリコールリンカー、及び
- (b) アルキルリンカーからなる群から選択される非ヌクレオチドリンカーである。

【0191】

いくつかの実施形態では、非ヌクレオチドリンカーはヘキサエチレングリコールリンカーである。いくつかの実施形態では、非ヌクレオチドリンカーは C 9 アルキルリンカーである。

【0192】

いくつかの実施形態では、R L R アゴニストは、5' ニリン酸部分、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、アゴニストは、5' 三リン酸部分、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、その誘導体または類似体は、ホスホネート、チオホスホネート、ホスホロチオエート、サルフェート、スルホネート、スルファメート、チアゾリジノン、カルボキシレート、マロネート、ボロン酸、ベンゾオキサボロール、ボラノホスフェート、スクアラミドから選択されるホスフェートの生物学的等価体を含む。

30

【0193】

いくつかの実施形態では、R L R アゴニストは、修飾ヌクレオチド、修飾ヌクレオシド、または修飾核酸塩基、またはこれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、アゴニストは、ヌクレオチド間結合またはポリヌクレオチド骨格への修飾を含む。

40

【0194】

いくつかの実施形態では、R L R アゴニストは、以下の特性、すなわち、

- (a) 1 つ以上の R L R (例えば、R I G-1、M D A 5 及び／または L G P 2) に特異的に結合する；
- (b) R L R 媒介サイトカイン産生を増加させる；
- (c) インターフェロン刺激遺伝子 (I S G) の R L R 媒介発現を増加させる；
- (d) R L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させる；
- (e) 二重鎖の安定性を増加させる；
- (f) R L R に対する結合親和性を増加させる；

50

- (g) オフターゲット結合を減少させる；
- (h) 生物学的半減期を増加させる；
- (i) 体内分布及びバイオアベイラビリティを増加させる；
- (j) 細胞及び／または組織中への取り込みを増加及び／または増大させる；
- (k) 免疫原性を低下させる；及び
- (l) (a)～(k)のいずれかの組み合わせのうちの少なくとも1つ以上を示す。

【0195】

いくつかの態様では、本開示は、RIG-I様受容体(RLR)に特異的に結合する合成RIG-I様受容体(RLR)アゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のポリヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドは5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、さらにアゴニストは配列番号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及び36からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、合成RLRアゴニストを提供する。

【0196】

いくつかの態様では、本開示は、RIG-I様受容体(RLR)に特異的に結合する合成RIG-I様受容体(RLR)アゴニストであって、リンカーによって第2のポリヌクレオチドに接続された第1のポリヌクレオチドを含む、平滑末端化されたヘアピンRNAを含み、第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと二重鎖を形成するのに十分に相補的であり、二重鎖は19個未満の塩基対を含み、第1のポリヌクレオチドの最も5'側のヌクレオチドは5'ニリン酸または三リン酸部分、またはそれらの誘導体もしくは類似体を含み、アゴニストは、配列モチーフを含まないアゴニストと比較して、RLRによって媒介される少なくとも1つの改善された生物学的活性を与える配列モチーフを含み、第1のポリヌクレオチド及び第2のポリヌクレオチドは、

- (i) それぞれ、配列番号37及び68、
- (ii) それぞれ、配列番号38及び69、
- (iii) それぞれ、配列番号39及び70、
- (iv) それぞれ、配列番号40及び71、
- (v) それぞれ、配列番号41及び72、
- (vi) それぞれ、配列番号42及び73、
- (vii) それぞれ、配列番号43及び74、
- (viii) それぞれ、配列番号44及び75、
- (ix) それぞれ、配列番号45及び76、
- (x) それぞれ、配列番号46及び77、
- (xi) それぞれ、配列番号47及び78、
- (xii) それぞれ、配列番号48及び79、
- (xiii) それぞれ、配列番号49及び80、
- (xiv) それぞれ、配列番号50及び81、
- (xv) それぞれ、配列番号51及び82、
- (xvi) それぞれ、配列番号52及び83、
- (xvii) それぞれ、配列番号53及び84、
- (xviii) それぞれ、配列番号54及び85、
- (xix) それぞれ、配列番号55及び86、
- (xx) それぞれ、配列番号56及び87、
- (xxi) それぞれ、配列番号57及び88、

(x x i i) それぞれ、配列番号 58 及び 89、
 (x x i i i) それぞれ、配列番号 59 及び 89、
 (x x i v) それぞれ、配列番号 60 及び 90、
 (x x v) それぞれ、配列番号 61 及び 91、
 (x x v i) それぞれ、配列番号 62 及び 92、
 (x x v i i) それぞれ、配列番号 63 及び 91、
 (x x v i i i) それぞれ、配列番号 64 及び 93、
 (x x i x) それぞれ、配列番号 65 及び 94、
 (x x x) それぞれ、配列番号 66 及び 95、
 (x x x i) それぞれ、配列番号 67 及び 96、ならびに
 (x x x i i) それぞれ、配列番号 63 及び 97 からなる群から選択されるヌクレオチド
 配列を含む、合成 R L R アゴニストを提供する。

【0197】

いくつかの態様では、本開示は、R I G-I 様受容体 (R L R) に特異的に結合する合成 R I G-I 様受容体 (R L R) アゴニストであって、シチジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、配列番号 22、23、及び 25 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、合成 R L R アゴニストを提供する。

【0198】

いくつかの態様では、本開示は、R I G-I 様受容体 (R L R) に特異的に結合する合成 R I G-I 様受容体 (R L R) アゴニストであって、シチジンと塩基対合するイノシンを含む少なくとも 1 つ以上のヌクレオチドを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄) - 3' [式中、(N₁ - N₂ - X₁) は第 1 のポリヌクレオチドを含み、(X₂ - N₃ - N₄) は第 2 のポリヌクレオチドを含み、第 1 のポリヌクレオチド及び第 2 のポリヌクレオチドは、

(i) それぞれ、配列番号 58 及び 89、

(i i) それぞれ、配列番号 59 及び 89、ならびに

(i i i) それぞれ、配列番号 61 及び 91 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、合成 R L R アゴニストを提供する。

【0199】

いくつかの態様では、本開示は、R I G-I 様受容体 (R L R) に特異的に結合する合成 R I G-I 様受容体 (R L R) アゴニストであって、非ヌクレオチドリナーを含む平滑末端化されたヘアピン RNA を含み、式：5' - (N₁ - N₂ - X₁) - L - (X₂ - N₃ - N₄) - 3' [式中、(N₁ - N₂ - X₁) は第 1 のポリヌクレオチドを含み、(X₂ - N₃ - N₄) は第 2 のポリヌクレオチドを含み、第 1 のポリヌクレオチド及び第 2 のポリヌクレオチドは、

(i) それぞれ、配列番号 37 及び 68、

(i i) それぞれ、配列番号 38 及び 69、

(i i i) それぞれ、配列番号 39 及び 70、

(i v) それぞれ、配列番号 40 及び 71、

(v) それぞれ、配列番号 41 及び 72、

(v i) それぞれ、配列番号 42 及び 73、

(v i i) それぞれ、配列番号 43 及び 74、

(v i i i) それぞれ、配列番号 44 及び 75、

(i x) それぞれ、配列番号 45 及び 76、

(x) それぞれ、配列番号 46 及び 77、

(x i) それぞれ、配列番号 47 及び 78、

(x i i) それぞれ、配列番号 48 及び 79、

(x i i i) それぞれ、配列番号 49 及び 80、

(x i v) それぞれ、配列番号 50 及び 81、

(x v) それぞれ、配列番号 5 1 及び 8 2、
(x v i) それぞれ、配列番号 5 2 及び 8 3、
(x v i i) それぞれ、配列番号 5 3 及び 8 4、
(x v i i i) それぞれ、配列番号 5 4 及び 8 5、
(x i x) それぞれ、配列番号 5 5 及び 8 6、
(x x) それぞれ、配列番号 5 6 及び 8 7、
(x x i) それぞれ、配列番号 5 7 及び 8 8、
(x x i i) それぞれ、配列番号 5 8 及び 8 9、
(x x i i i) それぞれ、配列番号 5 9 及び 8 9、
(x x i v) それぞれ、配列番号 6 0 及び 9 0、
(x x v) それぞれ、配列番号 6 1 及び 9 1、
(x x v i) それぞれ、配列番号 6 2 及び 9 2、
(x x v i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 1、
(x x v i i i) それぞれ、配列番号 6 4 及び 9 3、
(x x i x) それぞれ、配列番号 6 5 及び 9 4、
(x x x) それぞれ、配列番号 6 6 及び 9 5、
(x x x i) それぞれ、配列番号 6 7 及び 9 6、ならびに
(x x x i i) それぞれ、配列番号 6 3 及び 9 7 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、合成 R L R アゴニストを提供する。

【0200】

いくつかの態様では、本開示は、アゴニストを構成するヌクレオチド配列がゲノム DNA 配列にも mRNA 配列にも相補的でなく、R L R アゴニストが RNA 干渉に関与せず、R L R アゴニストが遺伝子発現をサイレンシングしない、R L R アゴニストを提供する。

【0201】

修飾核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドを含む R L R アゴニスト

いくつかの実施形態では、本開示の R L R アゴニストは、1 個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。いくつかの実施形態では、修飾 R L R アゴニストは、参照非修飾 R L R アゴニストと比較して、R L R アゴニストが導入される細胞の高い安定性、細胞内保持率、高い標的結合性、及び／または自然免疫応答の誘導の増加を含む有用な特性を有する。したがって、修飾 R L R アゴニストの使用は、低い免疫原性を有するだけでなく、標的結合の効率、核酸の細胞内保持率を高めることができる。一実施形態では、本開示によって提供されるアゴニストは、標的結合親和性を高めるように修飾された少なくとも 1 つの領域を含む 1 つ以上のオリゴヌクレオチドからなる。オリゴヌクレオチドのその標的ポリペプチド（例えば R L R 受容体）に対する親和性は、例えば、蛍光標識オリゴヌクレオチドをその標的と結合させた際の蛍光偏光度（F P）を測定することによって決定することができる（Moerke (2009) Curr Protoc Chem Biol 1 (1) : 1-15）。

【0202】

別の実施形態では、本開示により提供される R L R アゴニストは、二重鎖の安定性を高める少なくとも 1 つの修飾核酸塩基、ヌクレオシド、またはヌクレオチドを含む少なくとも 1 つの領域を含む少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドからなる。二重鎖の安定性は、二重鎖を構成する 2 本のオリゴヌクレオチド鎖が解離する温度である二重鎖の T m を測定することによって常法で決定することができ、解離は分光光度法で検出される。T m が高いほど、二重鎖の安定性は高くなる。

【0203】

一実施形態では、二重鎖安定性を増大させるように修飾されたオリゴヌクレオチドの領域は、糖の 2' 位が修飾された少なくとも 1 つのヌクレオチドを含み、最も好ましくは、2'-O-アルキル、2'-O-アルキル-O-アルキルまたは 2'-フルオロ修飾ヌクレオチドである。別の実施形態では、R L R アゴニストを構成するオリゴヌクレオチドは、ヌクレアーゼ耐性を高めるようにも修飾される。細胞は、核酸を分解することができる様々な

エキソヌクレアーゼ及びエンドヌクレアーゼを含んでいる。多くのヌクレオチド及びヌクレオシドの修飾が、非修飾オリゴヌクレオチドと比べて、修飾が組み込まれたオリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ消化に対する耐性を高めることが示されている。ヌクレアーゼ耐性は、オリゴヌクレオチドを細胞抽出物または単離ヌクレアーゼ溶液とインキュベートし、時間の経過とともに残存するインタクトなオリゴヌクレオチドの程度を通常はゲル電気泳動によって測定することによって、常法により測定される。ヌクレアーゼ耐性を高めるように修飾されたオリゴヌクレオチドは、非修飾オリゴヌクレオチドよりも長い時間にわたってインタクトで存在する。様々なオリゴヌクレオチド修飾が、ヌクレアーゼ耐性を高める、または付与することが示されている。一実施形態では、少なくとも1つのホスホロチオエート修飾を含むオリゴヌクレオチドが使用される。特定の場合では、標的結合親和性を高めるオリゴヌクレオチド修飾は、独立してヌクレアーゼ耐性も高めることができる (De Mesmaeker et al., 1995, Acc. Chem. 28: 366-374)。

【0204】

本開示で相当される特定のオリゴヌクレオチドの具体的な例としては、修飾骨格、例えば、ホスホロチオエート、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルの糖間結合、または短鎖ヘテロ原子もしくはヘテロ環の糖間結合を含むものが挙げられる。いくつかの実施形態では、ホスホロチオエート骨格（立体特異的に合成されたものを含む）を有するオリゴヌクレオチド及びヘテロ原子骨格を有するオリゴヌクレオチド、特に、 $\text{CH}_2\text{—NH—O—CH}_2$ 、 $\text{CH}_2\text{—N(CH}_3\text{)—O—CH}_2$ [メチレン（メチルイミノ）またはMMI骨格として知られる]、 $\text{CH}_2\text{—O—N(CH}_3\text{)—CH}_2$ 、 $\text{CH}_2\text{—N(CH}_3\text{)—N(CH}_3\text{)—CH}_2$ 、及び $\text{O—N(CH}_3\text{)—CH}_2\text{—CH}_2$ 骨格（天然のホスホジエステル骨格は O—P—O—CH_2 として表される）が用いられる。De Mesmaeker et al. (1995, Acc. Chem. Res. 28: 366-374) により開示されるアミド骨格も、いくつかの実施形態では使用される。オリゴヌクレオチドは、1つ以上の置換糖部分を含んでもよい。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下、すなわち、OH、SH、SCH₃、F、OCN、OCH₃OCH₃、OCH₃O(CH₂)_nCH₃、O(CH₂)_nNH₂、またはO(CH₂)_nCH₃（式中、nは1～約10である）；C₁～C₁₀の低級アルキル、アルコキシアルコキシ（当該技術分野でO-アルキル-O-アルキルとしても知られる）、置換された低級アルキル、アルカリル、またはアラリル；Cl；Br；CN；CF₃；OCF₃；O-、S-、またはN-アルキル；O-、S-、またはN-アルケニル；SOCH₃；SO₂CH₃；ONO₂；NO₂；N₃；NH₂；ヘテロシクロアルキル；ヘテロシクロアルカリル；アミノアルキルアミノ；ポリアルキルアミノ；置換されたシリル；RNA切断基；レポーター基；インターカレーター；オリゴヌクレオチドの薬物動態特性を改善する基；またはオリゴヌクレオチドの薬力学特性を改善する基及び同様の特性を有する他の置換基のうちの1つを2位に有する。一実施形態では、修飾は、2'-メトキシエトキシ（2'-O-CH₂CH₂OCH₃、2'-O-（2-メトキシエチル）または2'-MOEとしても知られる）を含む（Martin et al., Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486）。いくつかの実施形態では、修飾は、2'-メトキシ（2'-O-CH₃）、2'-プロポキシ（2'-OCH₂CH₂CH₃）、及び2'-フルオロ（2'-F）を含む。また、同様の修飾をオリゴヌクレオチド上の他の位置、特に3'末端のヌクレオチドの糖の3'位、及び5'末端のヌクレオチドの5'位に行うこともできる。また、オリゴヌクレオチドは、ペントフラノシル基の代わりにシクロブチルなどの糖模倣体を有してもよい。

【0205】

オリゴヌクレオチドは、上記に加えてまたは上記に代えて、核酸塩基（当該技術分野ではしばしば単に「塩基」と呼ばれる）の修飾または置換も含み得る。本明細書において、「非修飾」または「天然」の核酸塩基としては、アデニン（A）、グアニン（G）、チミン（T）、シトシン（C）、及びウラシル（U）が挙げられる。修飾核酸塩基としては、

天然の核酸では低頻度または一過性にしか見出されない核酸塩基、例えば、ヒポキサンチン、6-メチルアデニン、5-Meピリミジン、特に5-メチルシトシン（5-メチル-2'-デオキシシトシンとも呼ばれ、当該技術分野ではしばしば5-me-Cと呼ばれる）、5-ヒドロキシメチルシトシン（HMC）、グリコシルHMC及びグントビオシルHMC、ならびに合成核酸塩基、例えば、2-アミノアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン、5-ブロモウラシル、5-ヒドロキシメチルウラシル、8-アザグアニン、7-デアザグアニン、N6（6-アミノヘキシル）アデニン、及び2,6-ジアミノプリンが挙げられる。Kornberg, A., DNA Replication, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1980, pp 75-77; Gebeyehu, G., et al., 1987, Nucl. Acids res. 15: 4513）。当該技術分野では周知の「ユニバーサル」塩基、例えば、イノシンが含まれていてもよい。5-me-C置換は、核酸二重鎖の安定性を0.6~1.2℃増加させることが示されており（Sanghvi, Y. S., in Crooke, S. T. and Lebleu, B., eds., Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278）、現在、塩基置換としていくつかの実施形態で使用されている。

【0206】

本発明のオリゴヌクレオチドの別の修飾は、オリゴヌクレオチドの活性または細胞取り込みを増加させる1つ以上の部分または結合体をオリゴヌクレオチドに化学的に連結することを含む。このような部分としては、これらに限定されるものではないが、脂質部分、例えば、コレステロール部分、コレステリル部分（Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553）、コール酸（Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053）、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール（Manoharan et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765）、チオコレステロール（Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533）、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールまたはウンデシル残基（Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 111; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49）、リン脂質、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖（Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969）、またはアダマンタン酢酸（Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651）が挙げられる。親油性部分を含むオリゴヌクレオチド、及びかかるオリゴヌクレオチドを調製するための方法は、例えば、米国特許第5,138,045号、同第5,218,105号及び同第5,459,255号など、当該技術分野では周知である。

【0207】

本発明のオリゴヌクレオチドは、一般に体内で切断されて活性オリゴヌクレオチドを生じる1つ以上の部分を含むプロドラッグとして提供されてもよい。プロドラッグのアプローチの一例は、Imbachらにより国際公開第WO 94/26764号に記載されている。

【0208】

特定のオリゴヌクレオチド内のすべての位置が一様に修飾される必要はなく、実際には上記の修飾の2つ以上を単一のオリゴヌクレオチドまたはさらにはオリゴヌクレオチド内の単一のヌクレオチド内に組み込むことができる。

【0209】

本発明によるオリゴヌクレオチドは、好ましくは、約8~約50ヌクレオチドの長さである。本発明との関連において、これには、8~50個のモノマーを有する本明細書中で

上記に記載した非天然のオリゴマーが包含されることが理解される。

【0210】

本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、固相合成の周知の方法によって簡便かつ常法で作製することができる。このような合成のための機器は、Applied Biosystemsを含むいくつかの業者によって市販されている。このような合成のためのあらゆる他の手段を用いることができる。オリゴヌクレオチドの実際の合成は、十分に当業者の知識及び技能の範囲内である。同様の技術を用いてホスホロチオエート及びアルキル化誘導体などの他のオリゴヌクレオチドを調製することも周知である。同様の技術、ならびにピオチン、フルオレセイン、アクリジンまたはソラレン修飾アミダイト及び／またはCPG (Glen Research, Sterling Vaより市販されるもの) などの市販の修飾アミダイト及び制御細孔ガラス (CPG) 製品を使用して、蛍光標識オリゴヌクレオチド、ピオチン化オリゴヌクレオチド、またはコレステロール修飾オリゴヌクレオチドなどの他の修飾オリゴヌクレオチドを合成することもよく知られている。

【0211】

いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、1つ以上（例えば、1、2、3、または4個）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、RLRアゴニストは、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個、またはそれ以上）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RLRアゴニストは、対応する非修飾RLRアゴニストと比較して、RLRアゴニストが導入される細胞内での分解を低減させることができる。

【0212】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾ウラシルである。修飾ウラシルを有する例示的な核酸塩基及びヌクレオシドとしては、シュードウリジン (ϕ)、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 ($h o^5U$)、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 ($m o^5U$)、ウリジン5-オキシ酢酸 ($c m o^5U$)、ウリジン5-オキシ酢酸メチルエステル ($m c m o^5U$)、5-カルボキシメチルウリジン ($c m^5U$)、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 ($c h m^5U$)、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 ($m c h m^5U$)、5-メトキシカルボニルメチルウリジン ($m c m^5U$)、5-メトキシカルボニルメチル-2-チオウリジン ($m c m^5 s^2U$)、5-アミノメチル-2-チオウリジン ($n m^5 s^2U$)、5-メチルアミノメチルウリジン ($m n m^5U$)、5-メチルアミノメチル-2-チオウリジン ($m n m^5 s^2U$)、5-メチルアミノメチル-2-セレノウリジン ($m n m^5 s e^2U$)、5-カルバモイルメチルウリジン ($n c m^5U$)、5-カルボキシメチルアミノメチルウリジン ($c m n m^5U$)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン ($c m n m^5 s^2U$)、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 ($\tau m^5 s^2U$)、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^5U)、すなわち、デオキシチミン核酸塩基を有する)、1-メチルシュードウリジン ($m^1\psi$)、5-メチル-2-チオウリジン ($m^5 s^2U$)、1-メチル-4-チオシュードウリジン ($m^1 s^4\psi$)、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 ($m^3\psi$)、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^5D)、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^3U)、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 ($acp^3\psi$)、5-(イソペンテニルアミノメチル)ウリジン (inm^5U)、5-(イソペンテニルアミノメチル)-2-チオ-ウリジン (inm^5s^2U)、 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 ($\text{5}Um$)、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^2Um)、5-メトキシカルボニルメチル-2'-O-メチル-ウリジン (mcn^5Um)、5-カルバモイルメチル-2'-O-メチル-ウリジン (ncn^5Um)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2'-O-メチル-ウリジン (cmn^5Um)、3, 2'-O-ジメチル-ウリジン (m^3Um)、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^5Um)、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-プロベニルアミノ)]ウリジンが挙げられる。

【0213】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾シトシンである。修飾シトシンを有する例示的な核酸塩基及びヌクレオシドとしては、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^3C)、N4-アセチル-シチジン (ac^4C)、5-ホルミル-シチジン (f^5C)、N4-メチル-シチジン (m^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、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^2C)、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_2C)、 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^5Cm)、N4-アセチル-2'-O-メチル-シチジン (ac^4Cm)、N4, 2'-O-ジメチル-シチジン (m^4Cm)、5-ホルミル-2'-O-メチル-シチジン (f^5Cm)、N4, N4, 2'-O-トリメチル-シチジン (m^4_2Cm)、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。

【0214】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾アデニンである。修飾アデニンを有する例示的な核酸塩基及びヌクレオシドとしては、 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)

、N 6－スレオニルカルバモイル－アデノシン ($t^6 A$)、N 6－メチル－N 6－スレオニルカルバモイル－アデノシン ($m^6 t^6 A$)、2－メチルチオ－N 6－スレオニルカルバモイル－アデノシン ($ms^2 g^6 A$)、N 6，N 6－ジメチル－アデノシン ($m^6_2 A$)、N 6－ヒドロキシノルバリルカルバモイル－アデノシン ($hn^6 A$)、2－メチルチオ－N 6－ヒドロキシノルバリルカルバモイル－アデノシン ($ms^2 hn^6 A$)、N 6－アセチル－アデノシン ($ac^6 A$)、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)、N 6，2'－O－ジメチル－アデノシン ($m^6_2 Am$)、N 6，N 6，2'－O－トリメチル－アデノシン ($m^6_3 Am$)、1，2'－O－ジメチル－アデノシン ($m^6_2 Am$)、2'－O－リボシルアデノシン (リン酸) ($Ar(p)$)、2－アミノ－N 6－メチル－プリン、10
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N 6－(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。

【0215】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾グアニンである。修飾グアニンを有する例示的な核酸塩基及びヌクレオシドとしては、 α －チオ－グアノシン、イノシン (I)、1－メチル－イノシン ($m^1 I$)、ウィオシン (imG)、メチルウィオシン ($mimG$)、4－ジメチル－ウィオシン ($imG-14$)、イソウィオシン ($imG2$)、ウィブトシン (yW)、ペルオキシウィブトシン ($o_2 yW$)、ヒドロキシウィブトシン ($OhyW$)、非修飾ヒドロキシウィブトシン ($OhyW*$)、7－デアザ－グアノシン、クオシン (Q)、エポキシクオシン (oQ)、ガラクトシル－クオシン ($galQ$)、マンノシル－クオシン ($manQ$)、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 ($m^7 G$)、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 ($m^1 G$)、N 2－メチル－グアノシン ($m^2 G$)、N 2，N 2－ジメチル－グアノシン ($m^2_2 G$)、N 2，7－ジメチル－グアノシン ($m^2, ^7 G$)、N 2，N 2，7－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、N 2－メチル－6－チオ－グアノシン、N 2，N 2－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)、N 2－メチル－2'－O－メチル－グアノシン ($m^2 Gm$)、N 2，N 2－ジメチル－2'－O－メチル－グアノシン ($m^2_2 Gm$)、1－メチル－2'－O－メチル－グアノシン ($m^1 Gm$)、N 2，7－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 ($m^1 Im$)、2'－O－リボシルグアノシン (リン酸) ($Gr(p)$)、1－チオ－グアノシン、O 6－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。

【0216】

いくつかの実施形態では、本開示のRLRアゴニストは、1つ以上の前述の修飾核酸塩基の組み合わせ (例えば、前述の修飾核酸塩基の2、3または4の組み合わせ) を含む。

【0217】

特定の実施形態では、本開示のRLRアゴニストは、特定の修飾について均一に修飾される (すなわち、完全に修飾され、配列全体にわたって修飾される)。例えば、RLRアゴニストは、5－メチル－シチジン ($m^5 C$) で均一に修飾することができるが、これは、mRNA配列中のすべてのシトシン残基が5－メチル－シチジン ($m^5 C$) に置換されていることを意味する。同様に、本開示のRLRアゴニストは、上記に記載したものなどの修飾残基による置換によって、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することができる。

【0218】

本開示の R L R アゴニスト中に存在しう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、これらに限定されるものではないが、P C T 特許出願公開 W O 2 0 1 2 0 4 5 0 7 5、W O 2 0 1 4 0 8 1 5 0 7、W O 2 0 1 4 0 9 3 9 2 4、W O 2 0 1 4 1 6 4 2 5 3、及び W O 2 0 1 4 1 5 9 8 1 3 に記載されるものが挙げられる。

【0219】

本開示の R L R アゴニストは、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むことができる。これらの組み合わせは、本明細書に記載される任意の1つ以上の修飾を含むことができる。

【0220】

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、下記表1及び表2に示す。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 R L R アゴニストを形成することができる。特定の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、本開示の R L R アゴニストの天然ヌクレオチドについて部分的または完全に置換することができる。非限定的な例として、天然ヌクレオチドであるウリジンを本明細書に記載される修飾ヌクレオシドで置換することができる。別の非限定的な例では、天然ヌクレオシドであるウリジンを、本明細書に開示される修飾ヌクレオシドの少なくとも1つで部分的に置換することができる（例えば、天然ウリジンの約0.1%、1%、5%、1%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、85%、90%、95%または99.9%）。

【0221】

10

20

30

40

50

【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
	シトシンの約 50%が 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
	シトシンの約 25%がシュードイソシチジンである
	シュードイソシチジン/ウリジンの約 50%が N1-メチル-シュードウリジンであり、ウリジンの約 50%がシュードウリジンである
	シュードイソシチジン/ウリジンの約 25%が N1-メチル-シュードウリジンであり、ウリジンの約 25%が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
	シトシンの約 50%がピロロ-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
	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
	シトシンの約 25%が 5-メチル-シチジンである
	シトシンの約 50%が 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-プロモ-ウリジン
	5-メチル-シチジン/2-チオ-ウリジン

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

	5-メチル-シチジン/ウリジンの約 50%が 2-チオ-ウリジンである
	ウリジンの約 50%が 5-メチル-シチジンであり/ウリジンの約 50%が 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
	シトシンの約 50%が N4-アセチル-シチジンである
	シトシンの約 25%が 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-プロモ-ウリジン
	N4-アセチル-シチジン/2-チオ-ウリジン
	シトシンの約 50%が N4-アセチル-シチジンであり/ウリジンの約 50%が 2-チオ-ウリジンである

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 2. 修飾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 UTP
1-エチル-シュード UTP
1-メチル-シュード-U- α -チオ-TP
1-メチル-シュードウリジン TP、ATP、GTP、CTP
1-メチル-シュード-UTP/5-メチル-CTP/ATP/GTP
1-メチル-シュード-UTP/CTP/ATP/GTP
1-プロピル-シュード UTP
25 % 5-アミノアリル-CTP + 75 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP
25 % 5-アミノアリル-CTP + 75 % CTP/ 75 % 5-メトキシ-UTP + 25 % UTP
25 % 5-ブromo-CTP + 75 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP
25 % 5-ブromo-CTP + 75 % CTP/ 75 % 5-メトキシ-UTP + 25 % UTP
25 % 5-ブromo-CTP + 75 % CTP/1-メチル-シュード-UTP
25 % 5-カルボキシ-CTP + 75 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP
25 % 5-カルボキシ-CTP + 75 % CTP/ 75 % 5-メトキシ-UTP + 25 % UTP
25 % 5-エチル-CTP + 75 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP
25 % 5-エチル-CTP + 75 % CTP/ 75 % 5-メトキシ-UTP + 25 % UTP
25 % 5-エチニル-CTP + 75 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP
25 % 5-エチニル-CTP + 75 % CTP/ 75 % 5-メトキシ-UTP + 25 % UTP
25 % 5-フルオロ-CTP + 75 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP
25 % 5-フルオロ-CTP + 75 % CTP/ 75 % 5-メトキシ-UTP + 25 % UTP
25 % 5-ホルミル-CTP + 75 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP
25 % 5-ホルミル-CTP + 75 % CTP/ 75 % 5-メトキシ-UTP + 25 % UTP
25 % 5-ヒドロキシメチル-CTP + 75 % CTP/ 25 % 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

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

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
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romo-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

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

50 % 5-ブromo-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romo-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romo-CTP
5-ブromo-CTP/ 5-メトキシ-UTP
5-ブromo-CTP/1-メチル-シュード-UTP
5-ブromo-CTP/シュード-UTP
5-ブromoシチジン TP、ATP、GTP、UTP
5-ブromo-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

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

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	10
5-メトキシカルボニルメチル-UTP	
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	20
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(キャップなし)	
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	30
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	40

40

50

【表 2 - 5】

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-メトキシ-UTP + 25 % UTP	
75 % 5-プロモ-CTP + 25 % CTP/ 25 % 5-メトキシ-UTP + 75 % UTP	10
75 % 5-プロモ-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	20
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	30
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	
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	

10

20

30

40

50

【表 2 - 6】

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-プロモ-CTP/25% CTP/1-メチル-シュード UTP
75% 5-プロモ-CTP/25% CTP/ シュード-UTP
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
α-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)

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

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- α -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

10

20

【0222】

本開示によれば、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することができる。

【0223】

単一の修飾が記載されている場合、記載されたヌクレオシドまたはヌクレオチドは、修飾されたその A、U、G または C ヌクレオチドまたはヌクレオシドの 100% を表す。パーセンテージが記載されている場合、これらは、存在する A、U、G、または C 三リン酸の総量に対するその特定の A、U、G、または C 核酸塩基三リン酸のパーセンテージを表す。例えば、25% 5-アミノアリル-CTP + 75% CTP / 25% 5-メトキシ-UTP + 75% UTP の組み合わせは、シトシン三リン酸の 25% が 5-アミノアリル-CTP であり、シトシンの 75% が CTP である一方で、ウラシルの 25% が 5-メトキシ-UTP であり、ウラシルの 75% は UTP であるようなポリヌクレオチドを指す。修飾 UTP が記載されていない場合、天然の 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これらのヌクレオチドの部位の 100% に用いられている。この例では、GTP 及び ATP ヌクレオチドのすべてが非修飾のままである。

30

【0224】

RLR アゴニストの製造方法

本開示の RLR アゴニストは、これらに限定されるものではないが、インビトロの転写 (IVT) 及び合成法を含む当該技術分野で利用可能な手段によって製造することができる。酵素 (IVT) 法、固相法、液相法、複合合成法、小領域合成法、及びライゲーション法を用いることができる。一実施形態において、RLR アゴニストは、IVT 酵素合成法を用いて作製される。IVT によってポリヌクレオチドを作製する方法は、当該技術分野では周知のものであり、本明細書に参照によりその全体の内容を援用するところの国際出願 PCT/US2013/30062 に記載されている。したがって、本開示はまた、本明細書に記載される RLR アゴニストをインビトロで転写するために使用することができるポリヌクレオチド、例えば DNA のコンストラクト及びベクターを含む。

40

50

【0225】

非天然の修飾核酸塩基は、合成時または合成後にポリヌクレオチド、例えばRNAに導入することができる。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、または糖に行うことができる。特定の実施形態では、修飾は、化学合成またはポリメラーゼ酵素を用いて、ポリヌクレオチド鎖の末端またはポリヌクレオチド鎖の他の任意の場所に導入することができる。修飾核酸及びそれらの合成の例は、PCT出願PCT/US2012/058519に開示されている。修飾ポリヌクレオチドの合成については、Verma and Eckstein, Annual Review of Biochemistry, vol. 76, 99-134 (1998)にも記載されている。

10

【0226】

酵素的または化学的ライゲーション法のいずれかを使用して、ポリヌクレオチドまたはその領域を、標的化剤または送達剤、蛍光標識、液体、ナノ粒子などの異なる機能的部分と結合させてもよい。ポリヌクレオチド及び修飾ポリヌクレオチドの結合体は、Goodchild, Bioconjugate Chemistry, vol. 1 (3), 165-187 (1990)に概説されている。

【0227】

オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチドの合成、ならびにそれらのコンジュゲーション及びライゲーションについては、Taskova et al., (2017) ChemBiochem 18 (17): 1671-1682; Gooding et al., (2016) Eur J Pharm Biopharm 107: 321-40; Menzi et al., (2015) Future Med Chem 7 (13): 1733-49; Winkler J., (2013) Ther Deliv. (7): 791-809; Singh et al., (2010) Chem Soc Rev 39 (6): 2054-70; 及びLu et al., (2010) Bioconjug Chem 21 (2): 187-202にさらに記載されている。

20

【0228】

ウイルス様粒子 (VLP)

いくつかの実施形態では、本開示は、記載される少なくとも1つのRLRアゴニストとウイルス様粒子 (VLP) とを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、VLPに結合される。いくつかの態様では、RLRアゴニストはVLP内にパッケージングされる。

30

【0229】

本出願との関連でのウイルス様粒子とは、ウイルス粒子に似ているが病原性のない構造を指す。一般的にウイルス様粒子はウイルスゲノムを欠いているため、非感染性である。また、ウイルス様粒子は異種発現によって大量に生成することができ、容易に精製することができる。

【0230】

本明細書に記載される組成物における使用に適した例示的なウイルス様粒子は、この参照により本明細書にその全体の内容をそれぞれ援用するPCT公開第WO2003/024481号及び国際公開第WO2004/084940号に示されている。

40

【0231】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、組換えウイルス様粒子である。当業者は、組換えDNA技術及び一般に容易に入手可能な本明細書に記載されるウイルスコーディング配列を用いてVLPを作製することができる。例えば、ウイルスのエンベロープまたはコアタンパク質のコーディング配列は、市販のバキュロウイルスベクターを用い、ウイルスプロモーターの調節制御下で、コーディング配列と調節配列との機能的連結を可能にするような配列の適当な改変を行って、バキュロウイルス発現ベクターで発現させるように操作することができる。ウイルスのエンベロープまたはコアタンパク質のコーディング配列は、例えば細菌発現ベクターで発現させるように操作することもできる。

50

【0232】

VLPの例としては、これらに限定されるものではないが、B型肝炎ウイルス(Ulrich, et al., Virus Res. 50:141-182 (1998))、麻疹ウイルス(Warnes, et al., Gene 160:173-178 (1995))、シンドビスウイルス、口タウイルス(米国特許第5,071,651号及び同第5,374,426号)、口蹄疫ウイルス(Twomey, et al., Vaccine 13:1603-1610, (1995))、ノーウォークウイルス(Jiang, X., et al., Science 250:1580-1583 (1990); Matsui, S. M., et al., J. Clin. Invest. 87:1456-1461 (1991))のカプシドタンパク質、レトロウイルスGAGタンパク質(PCT特許出願第WO96/30523号)、レトロトランスポゾンTyタンパク質p1、B型肝炎ウイルスの表面タンパク質(WO92/11291)、ヒトパピローマウイルス(WO98/15631)、ヒトポリオーマウイルス(Sasnauskas K., et al., Biol. Chem. 380(3):381-386 (1999); Sasnauskas K., et al., Generation of recombinant virus-like particles of different polyomaviruses in yeast 3rd International Workshop "Virus-like particles as vaccines." Berlin, Sep. 26-29, 2001)、RNAファージ、Ty、frファージ、GAファージ、AP205ファージ、特にQβファージが挙げられる。

【0233】

当業者には直ちに明らかであるように、本開示のVLPは、いずれの特定の形態にも限定されない。粒子は、化学的に、または天然または非天然であってよい生物学的プロセスによって合成することができる。例として、この種の実施形態は、ウイルス様粒子またはその組換え形態を含む。いくつかの実施形態において、VLPは、口タウイルスの組換えポリペプチド；ノーウォークウイルスの組換えポリペプチド；アルファウイルスの組換えポリペプチド；細菌の繊毛または繊毛様構造を形成する組換えタンパク質；口蹄疫ウイルスの組換えポリペプチド；麻疹ウイルスの組換えポリペプチド、シンドビスウイルスの組換えポリペプチド、レトロウイルスの組換えポリペプチド；B型肝炎ウイルスの組換えポリペプチド(例えば、HBcAg)；タバコモザイクウイルスの組換えポリペプチド；フロックハウスウイルスの組換えポリペプチド；ヒトパピローマウイルスの組換えポリペプチド；ポリオーマウイルスの組換えポリペプチド、特にヒトポリオーマウイルスの組換えポリペプチド、及び特にBKウイルスの組換えポリペプチド；バクテリオファージの組換えポリペプチド、RNAファージの組換えポリペプチド；Tyの組換えポリペプチド；frファージの組換えポリペプチド、GAファージの組換えポリペプチド、AP205ファージの組換えポリペプチド、及び、特に、Qβファージの組換えポリペプチドを含む。ウイルス様粒子は、そのようなポリペプチドの1つ以上のフラグメント、及びそのようなポリペプチドのバリエーションをさらに含むか、または代替的にそれらからなるものであってよい。ポリペプチドのバリエーションは、例えば、それらの野生型ポリペプチドとアミノ酸レベルで少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、または99%の同一性を共有することができる。

【0234】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNAファージの組換えタンパク質、またはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、RNAファージは、a) バクテリオファージQβ、b) バクテリオファージR17、c) バクテリオファージfr、d) バクテリオファージGA、e) バクテリオファージSP、f) バクテリオファージMS2、g) バクテリオファージM11、h) バクテリオファージMX1、i) バクテリオファージNL95、k) バクテリオファージf2、及びl) バクテリオファージPP7からなる群から選択される。

【0235】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNAバクテリオファージQ β またはRNAバクテリオファージfrの組換えタンパク質、またはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNAバクテリオファージQ β の組換えタンパク質、またはそのフラグメントを含む。

【0236】

いくつかの実施形態において、組換えタンパク質は、RNAファージのコートタンパク質を含む。

【0237】

したがって、カプシドもしくはVLPを形成するRNAファージのコートタンパク質、またはカプシドもしくはVLPへの自己集合に適したバクテリオファージコートタンパク質のフラグメントは、本開示のさらなる実施形態である。バクテリオファージQ β のコートタンパク質は、例えば、大腸菌で組換えにより発現させることができる。また、このような発現に際し、これらのタンパク質は自然にカプシドを形成する。さらに、これらのカプシドは、固有の反復組織を有する構造を形成する。

【0238】

本開示の組成物を調製するために使用することができるバクテリオファージコートタンパク質の例としては、バクテリオファージQ β （配列番号112：PIRデータベース、Q β CPを指すアクセッション番号VCBPQb及び配列番号113：Q β A1タンパク質を指すアクセッション番号AAA16663）、バクテリオファージR17（配列番号114：PIRアクセッション番号VCBPR7）、バクテリオファージfr（配列番号115：PIRアクセッション番号VCBPRF）、バクテリオファージGA（配列番号116：GenBankアクセッション番号NP-040754）、バクテリオファージSP（配列番号117：SPCPを指すGenBankアクセッション番号CAA30374及び配列番号118：SP A1タンパク質を指すアクセッション番号）、バクテリオファージMS2（配列番号119：PIRアクセッション番号VCBPM2）、バクテリオファージM11（配列番号120：GenBankアクセッション番号AAC06250）、バクテリオファージMX1（配列番号121：GenBankアクセッション番号AAC14699）、バクテリオファージNL95（配列番号122：GenBankアクセッション番号AAC14704）、バクテリオファージf2（配列番号123：GenBankアクセッション番号P03611）、バクテリオファージPP7（配列番号124）などのRNAバクテリオファージのコートタンパク質が挙げられる。さらに、バクテリオファージQ β のA1タンパク質またはそのC末端から最大100個、150個もしくは180個のアミノ酸が欠失したC末端切断型は、Q β コートタンパク質のカプシド集合体に組み込まれる。一般に、カプシド集合体中のQ β CPに対するQ β A1タンパク質のパーセンテージは、カプシド形成を確実にする目的で制限される。

【0239】

Q β コートタンパク質はまた、大腸菌で発現するとカプシドに自己集合することが見出されている（Kozlovskaya T. M. et al., GENE 137:133-137 (1993)）。得られたカプシドまたはウイルス様粒子は、直径25 nm、T=3の準対称性の二十面体のファージ様カプシド構造を示した。さらに、ファージQ β の結晶構造も解明されている。カプシドは、180コピーのコートタンパク質を含み、これらはジスルフィド架橋によって共有結合性5量体及び6量体として連結されており（Golmohammadi, R. et al., Structure 4:543-554 (1996)）、Q β コートタンパク質のカプシドの高い安定性をもたらす。しかしながら、組換えQ β コートタンパク質から形成されたカプシドまたはVLPは、カプシド内の他のサブユニットにジスルフィドリンクを介して連結されていない、または不完全に連結されたサブユニットを含む。したがって、組換えQ β カプシドを非還元SDS-PAGEにかけると、単量体Q β コートタンパク質に相当するバンドだけでなく、Q β コートタンパク質の6量体または5量体に相当するバンドが視認される。不完全にジスルフィド結合されたサブユニットは、非還元SDS-PAGEで二量体、三量体または四量体バンドとし

10

20

30

40

50

て現れる場合がある。Q β カプシドタンパク質は、有機溶媒及び変性剤に対して特殊な耐性も示す。DMSO及びアセトニトリル濃度が30%と高く、グアニジニウム濃度が1Mと高いことは、カプシドの安定性に影響しないことが観察されている。Q β コートタンパク質のカプシドの高い安定性は、特に本発明による哺乳動物及びヒトの免疫化及びワクチン接種におけるその使用にとって有利な特質である。

【0240】

大腸菌で発現させた場合、Q β コートタンパク質のN末端メチオニンは、Stoll, E. et al., J. Biol. Chem. 252: 990-993 (1977)に記載されるN末端エドマン配列決定法によって観察されるように通常は除去される。N末端メチオニンが除去されていないQ β コートタンパク質で構成されたVLP、またはN末端メチオニンが切断されているかもしくは存在しているQ β コートタンパク質の混合物を含むVLPもまた、本開示の範囲に含まれる。

【0241】

さらなるRNAファージのコートタンパク質も、細菌宿主で発現される際に自己集合することが示されている (Kastelein, R. A. et al., Gene 23: 245-254 (1983)、Kozlovskaya, T. M. et al., Dokl. Akad. Nauk SSSR 287: 452-455 (1986)、Adhin, M. R. et al., Virology 170: 238-242 (1989)、Ni, C. Z., et al., Protein Sci. 5: 2485-2493 (1996)、Priano, C. et al., J. Mol. Biol. 249: 283-297 (1995))。Q β ファージカプシドには、コートタンパク質以外に、いわゆるリードスルータンパク質A1及び成熟タンパク質A2が含まれている。A1はUGA終止コドンにおける抑制により生成され、アミノ酸329個の長さを有する。いくつかの実施形態では、本開示で使用されるファージQ β の組換えコートタンパク質のカプシドは、A2溶解タンパク質を含んでおらず、宿主由来のRNAを含んでいる。RNAファージのコートタンパク質はRNA結合タンパク質であり、ウイルスの生活環の中で翻訳抑制因子として作用するレプリカーゼ遺伝子のリボソーム結合部位のステムループと相互作用する。相互作用の配列及び構造的要素は周知のものである (Witherell, G. W. & Uhlenbeck, O. C. Biochemistry 28: 71-76 (1989); Lim F. et al., J. Biol. Chem. 271: 31839-31845 (1996))。ステムループ及びRNAは一般的にウイルス集合に関与していることが知られている (Golmohammadi, R. et al., Structure 4: 543-555 (1996))。

【0242】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNAファージの組換えタンパク質またはそのフラグメントを含み、組換えタンパク質は、RNAファージの変異コートタンパク質、好ましくは上記に述べたRNAファージの変異コートタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、RNAファージの変異コートタンパク質は、置換による少なくとも1つのリシン残基の除去によって、または置換による少なくとも1つのリシン残基の付加によって改変されているか、あるいは、RNAファージの変異コートタンパク質は、少なくとも1つのリシン残基の欠失によって、または挿入による少なくとも1つのリシン残基の付加によって改変されている。

【0243】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNAバクテリオファージQ β の組換えタンパク質またはそのフラグメントを含み、組換えタンパク質は、配列番号112のアミノ酸配列を有するコートタンパク質、または配列番号112及び配列番号113のアミノ酸配列を有するコートタンパク質の混合物、または配列番号113の変異体を含み、好ましくはN末端メチオニンが切断されている。

【0244】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、Q β の組換えタンパク質またはそのフラ

グメントを含み、組換えタンパク質は変異体Q β コートタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、これらの変異体コートタンパク質は、置換による少なくとも1つのリシン残基の除去によって、または置換による少なくとも1つのリシン残基の付加によって改変されている。あるいは、これらの変異体コートタンパク質は、少なくとも1つのリシン残基の欠失によって、または挿入による少なくとも1つのリシン残基の付加によって改変されている。

【0245】

Q β コートタンパク質のカプシドの表面には4個のリシン残基が露出している。露出したリシン残基がアルギニンに置換されたQ β 変異体も、本発明で使用するができる。したがって、以下のQ β コートタンパク質変異体及び変異体Q β VLP、すなわち、「Q β 240」(Lys13-Arg、配列番号125)、「Q β -243」(Asn10-Lys、配列番号126)、「Q β -250」(Lys2-Arg、Lys13-Arg、配列番号127)、「Q β -251」(配列番号128)及び「Q β -259」(Lys2-Arg、Lys16-Arg、配列番号129)を本発明の実施において使用することができる。したがって、いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、a) 配列番号125のアミノ酸配列、b) 配列番号126のアミノ酸配列、c) 配列番号127のアミノ酸配列、d) 配列番号128のアミノ酸配列、及びe) 配列番号129のアミノ酸配列の群から選択されるアミノ酸配列を有するタンパク質を含む変異体Q β コートタンパク質の組換えタンパク質を含む。上記に示されたQ β コートタンパク質、変異体Q β コートタンパク質VLP及びカプシドの構造、発現及び精製については、この参照により本明細書にその全体を援用する米国公開US2003-0175290号にそれぞれ開示されている。詳細には、上記の出願の実施例18を本明細書に参照する。

【0246】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、Q β の組換えタンパク質またはそのフラグメントを含み、組換えタンパク質は上記のQ β 変異体及び対応するA1タンパク質のいずれか一方の混合物を含む。

【0247】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNAファージAP205の組換えタンパク質、またはそのフラグメントを含む。

【0248】

AP205ゲノムは、成熟化タンパク質、コートタンパク質、レプリカーゼ、ならびに、関連するファージには存在しない2つのオープンリーディングフレームからなり、溶解遺伝子及びオープンリーディングフレームが成熟化遺伝子の翻訳にある役割を果たしている(Klovins, J., et al., J. Gen. Virol. 83:1523-33 (2002))。AP205コートタンパク質は、pQb10の誘導体であり(Kozlovskaya, T. M. et al., Gene 137:133-37 (1993))、AP205リボソーム結合部位を含むプラスミドpAP283-58(配列番号79)から発現させることができる。あるいは、AP205コートタンパク質は、ベクター中に存在するリボソーム結合部位の下流のpQb185にクローニングすることもできる。いずれのアプローチも、参照によりその全体の内容を援用する米国特許第7,138,252号に記載されるようなタンパク質の発現とカプシドの形成をもたらす。ベクターpQb10及びpQb185は、pGEMベクターに由来するベクターであり、これらのベクターにクローニングされた遺伝子の発現はtrpプロモーターによって制御される(Kozlovskaya, T. M. et al., Gene 137:133-37 (1993))。プラスミドpAP283-58(配列番号130)は、XbaI部位の下流、かつAP205コートタンパク質のATG開始コドンのすぐ上流に位置する以下の配列：tc tagaATTTTCTGCGCACCCATCCCGGGTGGCGCCCAAGTGA GGAAAATCACatg(配列番号131)内に推定されるAP205リボソーム結合部位を含む。ベクターpQb185は、XbaI部位の下流かつ開始コドンの上流にシャイン・ダルガノ配列を含む(tc tagaTTAAACCCAAACGCGTAGGAGT

C A G G C C a t g、シャイン・ダルガノ配列は下線で示す。配列番号 1 3 2）。

【0249】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNA フェージ A P 2 0 5 の組換えコートタンパク質、またはそのフラグメントを含む。

【0250】

いくつかの実施形態では、A P 2 0 5 のコートタンパク質は、カプシドを形成する。このようなタンパク質は、組換えにより発現されるか、または天然の由来源から調製される。電子顕微鏡（E M）及び免疫拡散法によって証明されているように、細菌内で産生された A P 2 0 5 コートタンパク質は自然にカプシドを形成する。A P 2 0 5 コートタンパク質（配列番号 1 3 3）によって形成されるカプシドと A P 2 0 5 RNA フェージのコートタンパク質によって形成されるカプシドの構造特性は、電子顕微鏡でみた場合、ほとんど区別がつかない。A P 2 0 5 V L P は免疫原性が高く、抗原及び／または抗原決定基と連結して、反復的な向きで抗原及び／または抗原決定基を提示するワクチンコンストラクトを生成することができる。そのように提示された抗原に対して高い力価が誘発されることで、結合した抗原及び／または抗原決定基が抗体分子との相互作用を行うためにアクセス可能であり、免疫原性を有することが示される。

10

【0251】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、RNA フェージ A P 2 0 5 の組換え変異体コートタンパク質、またはそのフラグメントを含む。

【0252】

いくつかの実施形態では、アミノ酸 5 のプロリンからスレオニンへの置換を有する A P 2 0 5 コートタンパク質（配列番号 1 3 4）を含む、A P 2 0 5 V L P の自己集合能を有する変異体形態が、本開示の実施において使用される。これらの V L P、天然由来源に由来する A P 2 0 5 V L P、または A P 2 0 5 ウイルス粒子は、抗原と結合して本発明に基づく抗原の規則的かつ反復したアレイを生成することができる。

20

【0253】

A P 2 0 5 P 5 - T 変異体コートタンパク質は、p Q b 1 8 5 から直接誘導される、Q β コートタンパク質遺伝子の代わりに変異型 A P 2 0 5 コートタンパク質遺伝子を含むプラスミド p A P 2 8 1 - 3 2（配列番号 1 3 5）から発現させることができる。A P 2 0 5 コートタンパク質の発現用のベクターを、大腸菌にトランスフェクトすることで A P 2 0 5 コートタンパク質を発現させる。

30

【0254】

いくつかの実施形態では、本開示は、規則的なアレイを形成し、固有の繰り返し構造を有する野生型タンパク質と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を有するタンパク質を含む組成物を提供する。

【0255】

いくつかの実施形態では、本開示は、本発明の組成物を調製するために使用されるタンパク質をコードする核酸分子を提供する。

【0256】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物は、配列番号 1 1 2 ~ 1 2 9 に示されるアミノ酸配列のいずれかと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含むタンパク質を含む。

40

【0257】

本開示での使用に適したタンパク質はまた、カプシドもしくはカプシド様構造、または V L P を形成するタンパク質の C 末端切断変異体を含む。このような切断変異体の具体例としては、C 末端から 1、2、5、7、9、10、12、14、15、または 17 個のアミノ酸が除去された、配列番号 1 1 2 ~ 1 2 9 のいずれかに示されるアミノ酸配列を有するタンパク質が挙げられる。一般的には、これらの C 末端切断変異体は、カプシドまたはカプシド様構造を形成する能力を保持している。

【0258】

50

本開示での使用に適したさらなるタンパク質には、カプシドまたはカプシド様構造を形成するタンパク質のN末端切断変異体も含まれる。このような切断変異体の具体例としては、N末端から1、2、5、7、9、10、12、14、15、または17個のアミノ酸が除去された、配列番号112～129のいずれかに示されるアミノ酸配列を有するタンパク質が挙げられる。一般的には、これらのN末端切断変異体は、カプシドまたはカプシド様構造を形成する能力を保持している。

【0259】

本開示での使用に適したさらなるタンパク質には、カプシドまたはカプシド様構造を形成するN及びC末端切断変異体も含まれる。適当な切断変異体としては、N末端から1、2、5、7、9、10、12、14、15、または17個のアミノ酸が除去され、かつC末端から1、2、5、7、9、10、12、14、15、または17個のアミノ酸が除去された、配列番号112～129のいずれかに示されるアミノ酸配列を有するタンパク質が挙げられる。一般的には、これらのN末端及びC末端切断変異体は、カプシドまたはカプシド様構造を形成する能力を保持している。

【0260】

免疫応答を誘導する能力を保持したVLPのフラグメントは、アミノ酸約15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、350、400、450または500個の長さのポリペプチドを含むか、またはこれからなるものでありうるが、VLPを構成するサブユニットの配列の長さに依存することは明らかである。このようなフラグメントの例としては、免疫応答を増強する組成物の調製に適した、本明細書で検討するタンパク質のフラグメントが挙げられる。

【0261】

いくつかの実施形態では、VLPは、リポタンパク質エンベロープもリポタンパク質含有エンベロープも含まない。いくつかの実施形態では、VLPはエンベロープをまったく含まない。

【0262】

リポタンパク質エンベロープまたはリポタンパク質含有エンベロープの欠如、特にエンベロープの完全な欠如は、その構造及び組成がより規定されたウイルス様粒子を与える。したがって、このようなより規定されたウイルス様粒子では、副作用を最小限に抑えることができる。さらに、リポタンパク質含有エンベロープの欠如、または特にエンベロープの完全な欠如は、ウイルス様粒子への潜在的に有毒な分子及び発熱物質の取り込みを防止または最小限に抑えることができる。

【0263】

いくつかの実施形態では、本開示の組成物に使用される粒子は、B型肝炎カプシド（コア）タンパク質（HBcAg）または遊離システイン残基をなくすかまたはその数を減少させるように改変されたHBcAgのフラグメントで構成される。Zhou et al. (J. Virol. 66: 5393-5398 (1992)) によって、天然に存在するシステイン残基を除去するように改変されたHBcAgが結合して多量体構造を形成する能力を保持していることが示されている。したがって、本開示の組成物での使用に適したコア粒子としては、天然に存在するシステイン残基の1つ以上が欠失されるかまたは別のアミノ酸残基（例えば、セリン残基）で置換された改変HBcAgまたはそのフラグメントを含むものが挙げられる。

【0264】

HBcAgとは、B型肝炎コア抗原前駆体タンパク質のプロセッシングにより生成されるタンパク質である。HBcAgの多くのアイソタイプが同定されており、それらのアミノ酸配列は当業者に容易に入手可能である。例えば、配列番号136に示されるアミノ酸配列を有するHBcAgタンパク質はアミノ酸185個の長さであり、アミノ酸212個のB型肝炎コア抗原前駆体タンパク質のプロセッシングによって生成される。このプロセッシン

グによって、B型肝炎コア抗原前駆体タンパク質のN末端から29個のアミノ酸が除去される。同様に、アミノ酸185個の長さのHBcAgタンパク質は、アミノ酸214個のB型肝炎コア抗原前駆体タンパク質のプロセッシングによって生成される。

【0265】

いくつかの実施形態では、本開示の組成物は、HBcAgのプロセッシング後の形態（すなわち、B型肝炎コア抗原前駆体タンパク質のN末端リーダー配列が除去されたHBcAg）を用いて調製される。

【0266】

さらに、プロセッシングが起こらない条件下でHBcAgを生産する場合、HBcAgは一般に「プロセッシング後」の形態で発現させる。例えば、大腸菌などの細菌系は、真核細胞で通常発現されるタンパク質のリーダー配列（「シグナルペプチド」とも呼ばれる）を一般的に除去しない。したがって、タンパク質を細胞質に発現させる大腸菌発現系を使用して本開示のHBcAgを生産する場合、これらのタンパク質は、B型肝炎コア抗原前駆体タンパク質のN末端リーダー配列が存在しないように一般的に発現される。

【0267】

本開示に使用することができるB型肝炎ウイルス様粒子の調製については、例えば、WO 00/32227号、特にその実施例17～19及び21～24に、またWO 01/85208号、特にその実施例17～19、21～24、31及び41に、またさらに、係属中の米国公開第US 2003-0175290号に開示されている。後者の出願については、特に実施例23、24、31及び51を参照されたい。これら3つの文献はいずれも、本明細書に参照によって明確に援用するものである。

【0268】

本開示はまた、1つ以上のさらなるシステイン残基を欠失または置換するように改変されたHBcAgバリエントを含む。したがって、本発明のワクチン組成物には、配列番号136に示されるアミノ酸配列中に存在しないシステイン残基が欠失させられたHBcAgを含む組成物が含まれる。

【0269】

遊離システイン残基が多くの化学副反応に関与しうることが当該技術分野では周知である。これらの副反応には、ジスルフィド交換、例えば、他の物質との併用療法で注入または形成される化学物質または代謝産物との反応、またはUV光への曝露による直接的酸化及びヌクレオチドとの反応が含まれる。したがって、特に、HBcAgが核酸と結合する強い傾向を有する事実を考慮すると、毒性付加物が生成される可能性がある。したがって、それぞれは低い濃度で存在しうることが、一緒になると毒性レベルに達する可能性がある毒性付加物が複数の種間に分布する場合がある。

【0270】

上記を考慮すると、天然に存在するシステイン残基を除去するように改変されたHBcAgを組成物中に使用することの1つの利点は、抗原または抗原決定基が結合する際に毒性種が結合することができる部位の数が減るかまたは完全になくなることである。

【0271】

本開示の実施における使用に適した多くの天然に存在するHBcAgバリエントが同定されている。例えば、Yuan et al., (J. Virol. 73:10122-10128 (1999)) は、配列番号137の97位に対応する位置のイソロイシン残基がロイシン残基またはフェニルアラニン残基のいずれかに置換されたバリエントを記載している。多くのHBcAgバリエント、ならびにいくつかのB型肝炎コア抗原前駆体バリエントのアミノ酸配列が、本明細書に参照によってそれぞれの開示内容を援用するところのGenBankレポートAAF121240（配列番号138）、AF121239（配列番号139）、X85297（配列番号140）、X02496（配列番号141）、X85305（配列番号142）、X85303（配列番号143）、AF151735（配列番号144）、X85259（配列番号145）、X85286（配列番号146）、X85260（配列番号147）、X85317（配列番号148）、X852

10

20

30

40

50

98 (配列番号149)、AF043593 (配列番号150)、M20706 (配列番号151)、X85295 (配列番号152)、X80925 (配列番号153)、X85284 (配列番号154)、X85275 (配列番号155)、X72702 (配列番号156)、X85291 (配列番号157)、X65258 (配列番号158)、X85302 (配列番号159)、M32138 (配列番号160)、X85293 (配列番号161)、X85315 (配列番号162)、U95551 (配列番号163)、X85256 (配列番号164)、X85316 (配列番号165)、X85296 (配列番号166)、AB033559 (配列番号167)、X59795 (配列番号168)、X85299 (配列番号169)、X85307 (配列番号170)、X65257 (配列番号171)、X85311 (配列番号172)、X85301 (配列番号173)、X85314 (配列番号174)、X85287 (配列番号175)、X85272 (配列番号176)、X85319 (配列番号177)、AB010289 (配列番号178)、X85285 (配列番号179)、AB010289 (配列番号180)、AF121242 (配列番号181)、M90520 (配列番号182)、P03153 (配列番号183)、AF110999 (配列番号184)、及びM95589 (配列番号185)に開示されている。これらのHBcAgバリエントは、配列番号77の12、13、21、22、24、29、32、33、35、38、40、42、44、45、49、51、57、58、59、64、66、67、69、74、77、80、81、87、92、93、97、98、100、103、105、106、109、113、116、121、126、130、133、135、141、147、149、157、176、178、182及び183位に位置するアミノ酸残基に対応するアミノ酸残基を含む多くの位置でアミノ酸配列が異なる。本発明の組成物中での使用に適し、かつ本明細書の開示に従ってさらに改変することができるさらなるHBcAgバリエントが、WO00/198333、WO00/177158及びWO00/214478に記載されている。

【0272】

本開示における使用に適したHBcAgは、RLRアゴニストを封入することができるか、または結合するかもしれない他の形で付着することができるものであれば、特にRLRアゴニストをパッケージングして免疫応答を誘導することができるものであれば、いずれの生物に由来するものであってもよい。

【0273】

いくつかの実施形態では、組成物は、二量体または多量体構造を形成するように結合することができるHBcAgバリエントを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、野生型アミノ酸配列のいずれかと少なくとも80%、85%、90%、95%、97%または99%同一であるアミノ酸配列を含むHBcAgポリペプチド、及び、適当な場合に、N末端リーダー配列を除去するようにプロセッシングされたこれらのタンパク質の形態を含む。

【0274】

ポリペプチドのアミノ酸配列が、野生型アミノ酸配列のいずれか、またはその部分と少なくとも80%、85%、90%、95%、97%または99%同一であるアミノ酸配列を有するかどうかは、Bestfitプログラムなどの公知のコンピュータプログラムを使用して従来の方法で判定することができる。Bestfitまたは他の配列アライメントプログラムを使用して、特定の配列が、例えば参照アミノ酸配列と95%同一であるかどうかを判定する場合、各パラメータは、同一率(%)が参照アミノ酸配列の全長にわたって計算され、かつ参照配列中のアミノ酸残基の総数の最大5%の相同性のギャップが許容されるように設定される。

【0275】

配列番号138~181及び182~185に記載されるアミノ酸配列を有するHBcAgバリエント及び前駆体は、比較的互いに類似している。したがって、配列番号186の特定の位置に対応する位置に位置するHBcAgバリエントのアミノ酸残基について言及する場合、配列番号186に示されるアミノ酸配列のその位置に存在するアミノ酸残基を指す。これらのHBcAgバリエント間の相同性は、哺乳動物に感染するB型肝炎ウイ

ルスの間で大部分において十分に高いため、当業者であれば、配列番号 186 及び配列番号 136 に示されるアミノ酸配列、ならびに特定の HBcAg バリエーションのアミノ酸配列を検討して、「対応する」アミノ酸残基を同定することに困難はほとんどないであろう。さらに、ウッドチャックに感染するウイルス由来の HBcAg のアミノ酸配列を示す、配列番号 182 に示される HBcAg アミノ酸配列は、配列番号 186 に示されるアミノ酸配列を有する HBcAg と十分な相同性を有しているため、配列番号 182 において、配列番号 186 のアミノ酸残基 155 と 156 との間に 3 個のアミノ酸残基からなるインサートが存在することが直ちに明らかである。

【0276】

上記に述べたように、遊離システイン残基の除去は、毒性成分が HBcAg に結合できる部位の数を減少させ、また、同じまたは隣接する HBcAg 分子のリシン及びシステイン残基の架橋が起こりうる部位をなくすものである。したがって、いくつかの実施形態では、B 型肝炎ウイルスカプシドタンパク質の 1 つ以上のシステイン残基を欠失させるか、または別のアミノ酸残基で置換する。

【0277】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物は、C 末端領域（例えば、配列番号 186 のアミノ酸残基 145～185 または 150～185）が除去された HBcAg を含む。したがって、本開示の実施における使用に適したさらなる改変 HBcAg には、C 末端切断変異体が含まれる。適当な切断変異体としては、C 末端から 1、5、10、15、20、25、30、34、35 個のアミノ酸が除去された HBcAg が挙げられる。

【0278】

したがって、本開示の実施における使用に適した HBcAg には、N 末端切断変異体も含まれる。適当な切断変異体としては、N 末端から、1、2、5、7、9、10、12、14、15、または 17 個のアミノ酸が除去された改変 HBcAg が挙げられる。

【0279】

本開示の実施における使用に適したさらなる HBcAg には、N 及び C 末端切断変異体が含まれる。適当な切断変異体としては、N 末端から 1、2、5、7、9、10、12、14、15、及び 17 個のアミノ酸が除去され、かつ C 末端から 1、5、10、15、20、25、30、34 個のアミノ酸が除去された HBcAg が挙げられる。

【0280】

いくつかの実施形態では、HBcAg ポリペプチドを含む組成物は、上記に述べた切断変異体と少なくとも 80%、85%、90%、95%、97%、または 99% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0281】

いくつかの実施形態では、リシン残基を HBcAg ポリペプチドに導入して、HBcAg の VLP への抗原または抗原決定基の結合を媒介する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物は、79 位及び 80 位に対応するアミノ酸が Gly-Gly-Lys-Gly-Gly（配列番号 187）のアミノ酸配列を有するペプチドに置換されるように改変された、配列番号 186 のアミノ酸 1～144、または 1～149、1～185 を含む HBcAg を用いて調製される。これらの組成物は、抗原決定基が HBcAg の VLP に結合される実施形態において特に有用である。いくつかの実施形態では、配列番号 186 の 48 位及び 107 位のシステイン残基は、セリンに変異されている。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物は、上記に示されたアミノ酸改変をやはり有する、配列番号 138～183 のいずれかに示されるアミノ酸配列を有する対応するポリペプチドを含む。本開示の範囲内には、結合してカプシドまたは VLP を形成することができ、かつ上記に示されたアミノ酸改変を有するさらなる HBcAg バリエーションがさらに含まれる。したがって、本開示は、野生型アミノ酸配列のいずれかと少なくとも 80%、85%、90%、95%、97% または 99% 同一であるアミノ酸配列を含む HBcAg ポリペプチド、及び、適当な場合に、N 末端リーダー配列を除去するようにプロセシングされ、上記に示される改変を有するように改変されたこれらのタンパク質の形態を含む

10

20

30

40

50

組成物をさらに含む。

【0282】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物は、異なるHBcAgの混合物を含む。したがって、これらの組成物は、アミノ酸配列が異なるHBcAgで構成される。例えば、「野生型」HBcAgと、1つ以上のアミノ酸残基が改変（例えば、欠失、挿入または置換）された改変HBcAgとを含む組成物を調製することができる。

【0283】

いくつかのRNAバクテリオファージの結晶構造が決定されている（Golmohammadi, R. et al., Structure 4:543-554 (1996)）。このような情報を用いることで、表面露出残基を同定することができ、したがって、RNAファージコートタンパク質を、1つ以上の反応性アミノ酸残基を挿入または置換によって挿入することができるように改変することができる。その結果、バクテリオファージのコートタンパク質の改変形態も本開示で使用するすることができる。したがって、カプシドまたはカプシド様構造を形成するタンパク質（例えば、バクテリオファージQβ、バクテリオファージR17、バクテリオファージfr、バクテリオファージGA、バクテリオファージSP、及びバクテリオファージMS2、バクテリオファージAP205のコートタンパク質）のバリエーションも、本明細書に記載される組成物を調製するために使用することができる。

10

【0284】

上記に述べたバリエーションタンパク質の配列はそれらの野生型タンパク質の配列とは異なるが、これらのバリエーションタンパク質は一般に、カプシドまたはカプシド様構造を形成する能力を保持している。したがって、本発明は、カプシドまたはカプシド様構造を形成するタンパク質のバリエーションをさらに含む組成物、ならびにかかる組成物を調製するための方法、かかる組成物を調製するために使用される個々のタンパク質サブユニット、及びこれらのタンパク質サブユニットをコードする核酸分子をさらに含む。したがって、本開示の範囲内には、カプシドまたはカプシド様構造を形成し、結合してカプシドまたはカプシド様構造を形成する能力を保持する野生型タンパク質のバリエーション型が含まれる。

20

【0285】

抗原及び抗原決定基

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物は、ウイルス様粒子に結合した抗原または抗原決定基を含む。本開示は、所望の治療効果を考慮して選択される抗原または抗原決定基に応じて異なる組成物を提供する。本発明での使用に適した例示的な抗原または抗原決定基が、本明細書に参照によりそれらの開示内容の全体を援用するところの米国特許第7,229,624号、米国特許第6,964,769号及び米国特許第7,264,810号に開示されている。

30

【0286】

抗原は、既知のまたは由来不明の任意の抗原であってよい。抗原は、細菌、ウイルスまたは他の病原体から単離することができ、または抗原をコードする適当な核酸の発現によって得られる組換え抗原であってもよい。抗原は、プリオン、腫瘍、自己分子、非ペプチド性ハプテン分子、アレルゲン及びホルモンから単離することもできる。いくつかの実施形態では、抗原は、組換え抗原である。抗原の選択は、当然のことながら、所望の免疫学的応答及び宿主に依存する。

40

【0287】

いくつかの実施形態では、免疫応答は、VLP自体に対して誘導される。いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、それに対する増強された免疫応答が望ましい抗原／免疫原に結合、融合、または他の形で付着される。

【0288】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つの抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子に融合される。上記で概説したように、VLPは通常、集合してVLPを形成する少なくとも1つのサブユニットで構成されている。したがって、いくつかの実施形態では、抗原

50

または抗原決定基は、ウイルス様粒子またはVLPに組み込まれることが可能なタンパク質の少なくとも1つのサブユニットに融合され、キメラVLP-サブユニット-抗原融合体を形成する。

【0289】

抗原または抗原決定基の融合は、VLPサブユニット配列内への挿入によって、またはVLPサブユニットまたはVLPに組み込まれることが可能なタンパク質のN末端またはC末端のいずれかへの融合によって行うことができる。以下、VLPサブユニットとペプチドとの融合タンパク質について言及する場合、サブユニット配列の両末端への融合、またはサブユニット配列内へのペプチドの内部挿入が含まれる。

【0290】

融合はまた、切断変異体とさらに呼ばれる、サブユニット配列の一部が欠失したVLPサブユニットのバリエーションに抗原または抗原決定基配列を挿入することによって行うこともできる。切断変異体は、VLPサブユニットの配列のN末端もしくはC末端、または配列の一部の内部欠失を有することができる。例えばアミノ酸残基79～81の欠失を有する特定のVLP HBcAgは、内部欠失を有する切断変異体である。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、VLPサブユニットの切断変異体のN末端またはC末端のいずれかに融合される。同様に、VLPサブユニットの配列内へのエピトープの融合も置換によって行うことができ、例えば特定のVLP HBcAgではアミノ酸79～81が外来エピトープに置換される。したがって、以下で呼ぶところの融合は、VLPサブユニットの配列内への抗原または抗原決定基配列の挿入、VLPサブユニットの配列の一部の抗原または抗原決定基による置換、または欠失、置換もしくは挿入の組み合わせによって行うことができる。

【0291】

キメラ抗原-VLPサブユニットまたはキメラ抗原決定基-VLPサブユニットは、一般に自己集合してVLPを形成することができる。本明細書ではVLPのサブユニットに融合されたエピトープを提示するVLPもキメラVLPと呼ぶ。示されるように、ウイルス様粒子は少なくとも1つのVLPサブユニットを含むかまたはこれから構成される。いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は、キメラVLPサブユニットと非キメラVLPサブユニット（すなわち抗原が融合されていないVLPサブユニット）との混合物を含むかまたはこれから構成され、いわゆるモザイク粒子を与える。これは、VLPの形成、及びVLPへの集合を確実にするうえで有利となりうる。これらの実施形態では、キメラVLPサブユニットの割合は、1、2、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、95%またはそれ以上とすることができる。

【0292】

隣接するアミノ酸残基を、VLPのサブユニットの配列のいずれかの末端に融合されるペプチドまたはエピトープの配列のいずれかの末端に、またはVLPのサブユニットの配列内へのそのようなペプチド配列の内部挿入に付加することができる。グリシン残基及びセリン残基は、融合されるペプチドに付加される隣接配列中に使用するのに特に好ましいアミノ酸である。グリシン残基はさらなる柔軟性を与え、VLPサブユニットの配列に外来配列を融合させることによる潜在的な不安定化作用を減らすことができる。

【0293】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つの抗原または抗原決定基は、Q β コートタンパク質に融合される。エピトープがQ β のA1タンパク質の切断型のC末端に融合されるかまたはA1タンパク質内に挿入された融合タンパク質コンストラクトが記載されている（Kozlovskaya, T. M., et al., Intervirology, 39: 9-15 (1996)）。A1タンパク質は、UGA終止コドンにおける抑制によって生成され、アミノ酸329個、またはN末端メチオニンの切断を考慮に入れた場合、アミノ酸328個の長さを有する。アラニン（Q β CP遺伝子によってコードされる2番目のアミノ酸）の前のN末端メチオニンの切断は、通常、大腸菌で行われ、Q β コートタンパク質のN末端の場合も同様である。A1遺伝子の部分、UGAアンバーコードンの3'末端は

10

20

30

40

50

、アミノ酸195個の長さを有するCP伸長部をコードしている。CP伸長部の72位と73位の間への少なくとも1つの抗原または抗原決定基の挿入は、本発明のさらなる実施形態を与える（Kozlovskaya, T. M., et al., Intervirology 39: 9-15 (1996)）。C末端切断型Qβ A1タンパク質のC末端における抗原または抗原決定基の融合は、本発明のさらなる実施形態を与える。例えば、Kozlovskaya et al., (Intervirology, 39: 9-15 (1996)) は、19位で切断されたQβのCP伸長部のC末端にエピトープが融合されたQβ A1融合タンパク質について記載している。

【0294】

Kozlovskaya et al. (Intervirology, 39: 9-15 (1996)) によって記載されているように、融合エピトープを提示する粒子の集合は、モザイク粒子を形成するうえでA1タンパク質-抗原融合体及び野生型CPの両方の存在を通常は必要とする。しかしながら、ウイルス様粒子、及び本明細書では特に、少なくとも1つの抗原または抗原決定基が融合されたVLPサブユニットのみで構成されたRNAファージQβのコートタンパク質のVLPを含む実施形態も本開示の範囲内に含まれる。

【0295】

モザイク粒子の生成は、多くの方法で行うことができる。Kozlovskaya et al., Intervirology, 39: 9-15 (1996) は、3つの方法を記載しており、これらをいずれも本開示の実施に用いることができる。第1のアプローチでは、VLP上への融合エピトープの効率的な提示は、UGAコドンのTrpへの翻訳をもたらす、クローニングされたUGAサプレッサ-tRNAをコードするプラスミドを保有する大腸菌株におけるCPとCP伸長部との間にUGA終止コドンを含むQβ A1融合タンパク質をコードするプラスミドの発現によって媒介される（pISM3001プラスミド（Smiley B. K., et al., Gene 134: 33-40 (1993)））。別のアプローチでは、CP遺伝子終止コドンをUAAに改変し、A1タンパク質抗原融合体を発現する第2のプラスミドを共形質転換する。第2のプラスミドは異なる抗生物質耐性をコードし、複製起点は第1のプラスミドと適合性を有する（Kozlovskaya, T. M., et al., Intervirology 39: 9-15 (1996)）。第3のアプローチでは、Kozlovskaya et al., Intervirology, 39: 9-15 (1996) の図1に記載されるように、CP及びA1タンパク質抗原融合体はバイシストロニック形態でコードされ、Trpプロモーターなどのプロモーターに機能的に連結される。

【0296】

いくつかの実施形態では、組換えDNA技術を利用して、異種タンパク質をVLPタンパク質に融合させることができる（Kratz, P. A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 1915 (1999)）。例えば、本開示は、融合タンパク質または結合体を生成するために、抗原（またはその一部、好ましくは少なくともアミノ酸10、20または50個）に組換えにより融合されるかまたは化学的に結合された（共有結合的及び非共有結合的な結合の両方を含む）VLPを包含する。融合は必ずしも直接的である必要はないが、リンカー配列を介して生じうる。より一般的には、ウイルス様粒子に融合、連結、または他の方法で結合されたエピトープが、本発明に従って抗原として使用される場合、エピトープの一方または両方の末端にスペーサーまたはリンカー配列が付加される。このようなリンカー配列は、好ましくは、プロテアソーム、エンドソームまたは細胞の他の小胞区画のプロテアーゼによって認識される配列を含む。

【0297】

結合の1つの方法は、ペプチド結合によるものであり、結合体は、連続したポリペプチド、すなわち融合タンパク質でありうる。いくつかの実施形態において、異なるペプチドまたはポリペプチドは、互いにインフレームで連結されて連続したポリペプチドを形成する。したがって、融合タンパク質の第1の部分は抗原または免疫原を含み、第1の部分のN末端側またはC末端側の融合タンパク質の第2の部分はVLPを含む。あるいは、VLP

10

20

30

40

50

P内への内部挿入を、抗原の両末端の任意の連結配列とともに、本発明に従って使用することもできる。

【0298】

柔軟なリンカー配列（例えば、[Gly 4 Ser] 2のようなポリグリシン／ポリセリン含有配列（Huston et al., Meth. Enzymol. 203: 46-88 (1991)）を融合タンパク質の抗原とリガンドの間に挿入することができる。また、融合タンパク質は、例えば標識または精製の目的で融合タンパク質が抗体（例えばモノクローナル抗体）と結合することを可能にする「エピトープタグ」を含むように構成することもできる。エピトープタグの1つの例として、モノクローナル抗体YL1／2によって認識されるGlu-Glu-Pheトリペプチドがある。

10

【0299】

本開示はまた、VLPをコードする配列と抗原／免疫原をコードする配列とを含むキメラDNAにも関する。DNAは、例えば、バキュロウイルスで形質転換した昆虫細胞で、または酵母で、または細菌で発現させることができる。発現系に関する制限はなく、発現系の幅広い選択肢が通常の使用のために利用可能である。好ましくは、タンパク質を大量に発現させることが可能な系が用いられる。一般的に、細菌発現系がその効率のために使用される。本発明の範囲内での使用に適した細菌発現系の1つの例としてClarke et al., J. Gen. Virol. 71: 1109-1117 (1990)、Borisova et al., J. Virol. 67: 3696-3701 (1993)、及びStudier et al., Methods Enzymol. 185: 60-89 (1990)に記載されるものがある。適当な酵母発現系の1つの例として, Emr, Methods Enzymol. 185: 231-3 (1990)に記載されるものがあり、従来よりカプシドタンパク質を調製するために使用されているバキュロウイルス系も適当である。構成的または誘導性の発現系を使用することもできる。利用可能な発現系の選択及び可能な改変によって、タンパク質が得られる形態を制御することができる。

20

【0300】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つの抗原または抗原決定基は、少なくとも1つの共有結合によってウイルス様粒子に結合される。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの抗原または抗原決定基は少なくとも1つの共有結合によってウイルス様粒子に結合され、この共有結合は、それぞれ抗原または抗原決定基のアレイ及び抗原または抗原決定基VLP結合体を与える非ペプチド結合である。この抗原または抗原決定基のアレイ及び結合体は、少なくとも1つの抗原または抗原決定基が方向付けられた形でVLPに結合されることから、通常は好ましくは反復的で規則的な構造をそれぞれ有する。いくつかの実施形態では、120個以上、180個以上、270個以上、及び360個以上の抗原がVLPに結合される。反復的かつ規則的な抗原または抗原決定基-VLPアレイ及び結合体の形成は、以下より明らかとなるように、それぞれVLPに対する少なくとも1つの抗原または抗原決定基の方向付けられ、指向性を有し、規定された結合及び連結によってそれぞれ確実なものとされる。さらに、VLPの典型的な固有の高度に反復的及び組織化された構造は、有利な点として、それぞれ高度に組織化された反復的な抗原または抗原決定基-VLPアレイ及び結合体を与える高度に規則的かつ反復的な形での抗原または抗原決定基の提示に寄与する。

30

40

【0301】

Qβコートタンパク質のVLPまたはカプシドはその表面に規定の数のリシン残基を提示し、3個のリシン残基がカプシドの内部を向いてRNAと相互作用し、他の4個のリシン残基がカプシドの外部に露出した規定のトポロジーを有する。これらの規定の特性は、リシン残基がRNAと相互作用する粒子の内側に対する結合よりも、粒子の外側に対する抗原の結合にとって有利である。他のRNAファージコートタンパク質のVLPもまた、その表面に規定の数のリシン残基を有し、これらのリシン残基の規定のトポロジーを有する。

【0302】

50

いくつかの実施形態では、第1の結合部位はリシン残基であり、及び／または第2の結合部位はスルフヒドリル基またはシステイン残基を含む。いくつかの実施形態では、第1の結合部位はリシン残基であり、第2の結合部位はシステイン残基である。

【0303】

いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基はシステイン残基を介して、RNAファージのコートタンパク質のVLP、特にQβのコートタンパク質のVLPのリシン残基に結合される。

【0304】

担体としてVLPを使用することで、異なる抗原密度を有する安定した抗原アレイ及び結合体の形成がそれぞれ可能となる。特に、RNAファージのVLPの使用、及び本明細書では特にRNAファージQβのコートタンパク質のVLPの使用により、極めて高いエピトープ密度を得ることができる。特に、例えばヒトAβ1-6ペプチドをQβコートタンパク質のVLPに結合させることによって、サブユニット当たり1.5個を超えるエピトープの密度が得られている(WO2004/016282号)。高いエピトープ密度を有するRNAファージコートタンパク質のVLPの組成物の調製は、本出願の教示を用いて行うことができる。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基がVLP Qβコートタンパク質に結合される場合、サブユニット当たりの抗原または抗原決定基の平均数として0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、またはそれ以上が用いられる。

【0305】

第2の結合部位は、本明細書で定義されるように、抗原または抗原決定基に天然または非天然に存在しうる。抗原または抗原決定基上に適当な天然の第2の結合部位が存在しない場合、非天然の第2の結合部位を抗原に付加する必要がある。

【0306】

上記で述べたように、Qβコートタンパク質のVLPの表面には4個のリシン残基が露出している。通常、これらの残基は、架橋分子と反応して誘導体化される。露出したリシン残基のすべてが抗原に結合できるわけではない場合、架橋剤と反応したリシン残基は、誘導体化段階後、四級アミノ基に架橋分子が結合したままとなる。これは、1つまたは複数の正電荷の消失をもたらし、VLPの溶解性及び安定性にとって不利となりうる。後述する開示されるQβコートタンパク質変異体におけるように、リシン残基の一部のものをアルギニンに置換することにより、アルギニン残基は架橋剤と反応しないことから、正電荷の過剰な消失が防止される。さらに、アルギニンによるリシン残基の置換は、抗原との反応に利用可能な部位が少なくなるため、より明確な抗原アレイを与えることができる。

【0307】

いくつかの実施形態では、露出したリシン残基は、本明細書に開示される以下のQβコートタンパク質変異体及び変異型Qβ VLP、すなわち、Qβ-240(Lys13-Arg、配列番号125)、Qβ-250(Lys2-Arg、Lys13-Arg、配列番号127)及びQβ-259(Lys2-Arg、Lys16-Arg、配列番号129)においてアルギニンに置換される。

【0308】

いくつかの実施形態では、Qβ変異コートタンパク質は、さらにより高い密度の抗原のアレイを得るのに適したさらに1個のリシン残基を含む。この変異型Qβコートタンパク質Qβ-243(Asn10-Lys、配列番号126)をクローニングし、タンパク質を発現させ、カプシドまたはVLPを単離、精製したところ、さらなるリシン残基の導入はカプシドまたはVLPへのサブユニットの自己組織化と適合性があることが示された。したがって、抗原または抗原決定基のアレイ及び結合体を、それぞれ、Qβコートタンパク質変異体のVLPを用いて調製することができる。VLP、特にRNAファージコートタンパク質のVLPに抗原を結合させるための特に好ましい方法は、RNAファージのコートタンパク質のVLPの表面に存在するリシン残基と、抗原に付加されたシステイン

残基とを連結することである。システイン残基が第2の結合部位として効果的であるためには、スルフヒドリル基が結合に利用可能でなければならない。したがって、システイン残基はその還元状態になければならない。つまり、遊離システインまたは遊離スルフヒドリル基を有するシステイン残基が存在する必要がある。第2の結合部位として機能するシステイン残基が酸化型である場合、例えばそれがジスルフィド架橋を形成している場合、このジスルフィド架橋の例えばD T T、T C E Pまたはβ-メルカプトエタノールによる還元が必要である。還元剤の濃度及び抗原に対する還元剤のモル過剰を、各抗原について調整する必要がある。10 μM以下の低濃度から開始し、必要に応じて10～20 mM以上の還元剤の範囲で滴定範囲を試験し、担体への抗原の結合を評価した。W O O 2 / 0 5 6 9 0 5号に記載されるように低濃度の還元剤はカップリング反応と適合性があるものの、当業者であれば理解されるように、より高い濃度ではカップリング反応を阻害し、その場合、例えば透析、ゲル濾過または逆相H P L Cによって還元剤を除去するか、またはその濃度を低下させなければならない。透析または平衡化緩衝液のp Hは7より低いことが有利であり、好ましくは6である。低p Hの緩衝液と抗原活性または安定性との適合性は試験する必要がある。

【0309】

R N Aファージコートタンパク質のV L P上のエピトープ密度は、架橋剤及び他の反応条件の選択によって調節することができる。例えば、架橋剤であるS u l f o - G M B S及びS M P Hは、通常、高いエピトープ密度に達することを可能とする。誘導体化は、高濃度の反応物質によって正の影響を受けるため、反応条件の操作を用いてR N Aファージコートタンパク質のV L P、特にQ βコートタンパク質のV L Pに結合される抗原の数を制御することができる。

【0310】

非天然の第2の結合部位の設計に先立って、第2の結合部位を融合、挿入、または一般的に操作によって付与する位置を選択する必要がある。第2の結合部位の位置の選択は、例として、抗原の結晶構造に基づいたものとして行うことができる。抗原のこのような結晶構造から、分子のC末端またはN末端のアベイラビリティ（例えば溶媒へのそれらのアクセシビリティにより測定される）、またはシステイン残基などの第2の結合部位としての使用に適した残基の溶媒への曝露に関する情報を得ることができる。露出したジスルフィド架橋は、F a bフラグメントの場合と同様、例えば2-メルカプトエチルアミン、T C E P、β-メルカプトエタノールまたはD T Tによる穏やかな還元によって1個のシステイン残基に一般的に変換できることから、やはり第2の結合部位のソースとなりうる。抗原の免疫原性に影響を及ぼさない穏やかな還元条件が選択される。一般的に、自己抗原による免疫が、この自己抗原とその天然リガンドとの相互作用を阻害することを目的としている場合、第2の結合部位は天然リガンドとの相互作用部位に対する抗体の生成を可能とするように付加される。したがって、第2の結合部位の位置は、第2の結合部位またはそれを含む任意のアミノ酸リンカーによる立体障害が防止されるように選択される。さらなる実施形態では、自己抗原とその天然リガンドとの相互作用部位とは異なる部位に対する抗体応答が望ましい。かかる実施形態では、第2の結合部位は、自己抗原とその天然リガンドとの相互作用部位に対する抗体の生成を防止するように選択することができる。

【0311】

第2の結合部位の位置を選択する際のその他の基準としては、抗原のオリゴマー化状態、オリゴマー化部位、補因子の存在、ならびに抗原の改変が自己抗原の機能と、または自己抗原を認識する抗体の生成と適合するような抗原の構造及び配列中の部位を開示する実験的証拠の存在が挙げられる。

【0312】

いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、それぞれコア粒子及びV L PまたはV L Pサブユニット上の第1の結合部位と結合することができる単一の第2の結合部位または単一の反応性結合部位を含む。これはさらに、それぞれコア粒子及びV L Pと、少なくとも1個、一般的には複数個、好ましくは10、20、40、80、120、150

、180、210、240、270、300、360、400、450個を超える抗原との規定の均一な結合及び結合を確実にする。したがって、抗原上の単一の第2の結合部位または単一の反応性結合部位が与えられることで、単一かつ均一な種類の結合（binding and association）を確実にし、それぞれ極めて高度に規則的な反復配列を与える。例えば、結合が、それぞれリシン（第1の結合部位として）及びシステイン（第2の結合部位として）の相互作用を介して行われる場合、本発明の一実施形態によれば、抗原当たり1個のみのシステイン残基が、このシステイン残基が抗原上に天然または非天然に存在するかどうかによらず、VLP及びコア粒子の第1の結合部位とそれぞれ結合することができる。

【0313】

いくつかの実施形態では、抗原への第2の結合部位の操作による付与は、本発明の開示による第2の結合部位として適当なアミノ酸を含むアミノ酸リンカーの融合を必要とする。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、少なくとも1つの共有結合を介して抗原または抗原決定基に結合される。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、第2の結合部位を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、スルフヒドリル基またはシステイン残基を含む。いくつかの実施形態では、リンカーのアミノ酸はシステインである。

【0314】

いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子は少なくとも1つの第1の結合部位を含み、抗原または抗原決定基は少なくとも1つの第2の結合部位を含む。いくつかの実施形態では、第1の結合部位は、アミノ基またはリシン残基を含む。いくつかの実施形態では、第2の結合部位は、（a）上記の抗原または抗原決定基に天然には存在しない結合部位、及び（b）上記の抗原または抗原決定基に天然に存在する結合部位からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第2の結合部位は、スルフヒドリル基またはシステイン残基を含む。いくつかの実施形態では、ウイルス様粒子への抗原または抗原決定基の結合は、第1の結合部位と第2の結合部位との結合によって行われ、結合は少なくとも1つのペプチド結合を介し、抗原または抗原決定基とウイルス様粒子とは上記の結合を介して相互作用して規則的かつ反復的なアレイを形成する。いくつかの実施形態では、第1の結合部位はリシン残基であり、第2の結合部位はシステイン残基である。いくつかの実施形態では、第1の結合部位はアミノ基であり、第2の結合部位はスルフヒドリル基である。

【0315】

本開示は、広範な抗原に適用可能である。いくつかの実施形態において、抗原は、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドである。いくつかの実施形態では、抗原はDNAである。抗原は、脂質、炭水化物、または有機分子、特にニコチンなどの小さな有機分子の場合もある。

【0316】

VLPを製造し、VLPにRLRアゴニストをパッケージングする方法

それぞれ、VLPへの自己組織化をもたらすコートタンパク質及び変異コートタンパク質の発現のための方法は、その全体を援用するところの米国特許第7,138,252号に記載されている。適当な大腸菌株としては、これらに限定されるものではないが、大腸菌K802、JM109、RR1が挙げられる。適当なベクター及び菌株ならびにそれらの組み合わせは、SDS-PAGE及びカプシド形成及び集合によって、場合により、最初にゲル濾過によってカプシドを精製した後、免疫拡散アッセイ（Ouchterlony試験）または電子顕微鏡法（Kozlovskaya, T. M. et al., Gene 137:133-37（1993））でそれらを試験することにより、それぞれ、コートタンパク質及び変異コートタンパク質の発現を試験することによって同定することができる。

【0317】

RNAファージ由来のVLPを使用する利点は、手頃なコストで大量の材料の生産を可能にする、細菌におけるそれらの高い発現収率である。商業規模に拡張可能な方法を含む

10

20

30

40

50

、本明細書に記載されるウイルス様粒子を製造するための方法は、それぞれ、本明細書に参照によりそれらの全体を援用する米国特許第9,518,095号及び第9,657,065号に記載されている。

【0318】

本開示はまた、VLP及びVLP内にパッケージングされたRLRアゴニストを含む組成物を製造する方法であって、VLPをRLRアゴニストとインキュベートすることと、RNアーゼを加えることと、上記の組成物を精製することと、を含む。いくつかの実施形態では、方法は、抗原または抗原決定基を上記のウイルス様粒子と結合させる工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子をRLRアゴニストとインキュベートする前にウイルス様粒子と結合させられる。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、組成物を精製した後でウイルス様粒子と結合させられる。いくつかの実施形態では、方法は、VLPをRNアーゼとインキュベートすることと、RLRアゴニストを添加することと、組成物を精製することと、を含む。いくつかの実施形態では、方法は、抗原または抗原決定基を上記のウイルス様粒子と結合させる工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子をRNアーゼとインキュベートする前にウイルス様粒子と結合させられる。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、組成物を精製した後でウイルス様粒子と結合させられる。いくつかの実施形態では、VLPは細菌発現系で発現させられる。別の実施形態では、RNアーゼは、RNアーゼAである。

【0319】

本開示は、VLP内にパッケージングされたRLRアゴニストを含む組成物を製造する方法であって、VLPを分解することと、RLRアゴニストを加えることと、VLPを再集合させることと、を含む、方法をさらに提供する。いくつかの実施形態では、分解されたVLPは、VLPを製造する際に生成される。いくつかの実施形態では、分解されたVLPは、コートタンパク質の単離された二量体（例えば、Q β 二量体）を含む。いくつかの実施形態では、単離された二量体は、RLRアゴニストの周囲で集合してVLPを形成し、アゴニストをVLP内にパッケージングする。この方法は、分解されたVLPの核酸を除去することと、及び／または再集合後に組成物を精製することと、をさらに含むことができる。いくつかの実施形態では、方法は、抗原または抗原決定基をウイルス様粒子と結合させる工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子を分解する前にウイルス様粒子と結合させられる。いくつかの実施形態では、抗原または抗原決定基は、ウイルス様粒子を再集合させた後、好ましくは組成物を精製した後でウイルス様粒子と結合させられる。

【0320】

本開示は、VLPに抗原または抗原決定基を結合させる方法を提供する。示されるように、いくつかの実施形態では、少なくとも1つの抗原または抗原決定基は、化学的架橋によって、通常、好ましくはヘテロ二官能性架橋剤を使用することによってVLPに結合される。いくつかのヘテロ二官能性架橋剤が当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態では、ヘテロ二官能性架橋剤は、第1の結合部位、すなわちVLPまたは少なくとも1つのVLPサブユニットのリシン残基の側鎖アミノ基と反応することができる官能基、及び第2の結合部位、すなわち抗原または抗原決定基に融合され、場合により還元によって反応に利用可能となるシステイン残基と反応することができるさらなる官能基を含む。一般的には誘導体化と呼ばれるこの手順の最初の工程は、VLPと架橋剤との反応である。この反応の生成物は、活性化担体とも呼ばれる活性化VLPである。第2の工程では、未反応の架橋剤をゲル濾過や透析などの通常の方法を用いて除去する。第3の工程では、抗原または抗原決定基を活性化VLPと反応させるが、この工程は一般的にはカップリング工程と呼ばれる。未反応の抗原または抗原決定基は、場合により、第4の工程で例えば透析によって除去することができる。いくつかのヘテロ二官能性架橋剤が当該技術分野で知られている。これらには、架橋剤であるSMPH (Pierce)、Sulfo-MBS、Sulfo-EMCS、Sulfo-GMBS、Sulfo-SIAB、Sulfo

－SMPB、Sulfo-SMCC及びSVSB、SIA、及び例えばPierce Chemical Company (Rockford, Ill., USA)より販売される、アミノ基に対して反応性を有する1つの官能基及びシステイン残基に対して反応性を有する1つの官能基を有する他の架橋剤が含まれる。上記の架橋剤はいずれもチオエーテル結合を形成させる。適当な別のクラスの架橋剤として、カップリング時の抗原または抗原決定基とVLPとの間のジスルフィド結合の導入を特徴とするものがある。一実施形態では、このクラスに属する架橋剤には、例えばSPDP及びSulfo-LC-SPDP (Pierce)が含まれる。架橋剤によるVLPの誘導体化の程度は、それぞれの反応パートナーの濃度、一方の試薬の他方に対する過剰量、pH、温度及びイオン強度などの様々な実験条件によって影響されうる。カップリングの程度、すなわちVLPのサブユニット当たりの抗原または抗原決定基の量は、ワクチンの要件に合うように上述の実験条件を変えることによって調整することができる。

10

【0321】

いくつかの実施形態では、VLPに抗原または抗原決定基を結合させる方法は、VLPの表面上のリシン残基を抗原または抗原決定基上のシステイン残基と連結することを含む。いくつかの実施形態では、VLPとカップリングさせるために、第2の結合部位としてまたはその一部として、システイン残基を含むアミノ酸リンカーの抗原または抗原決定基との融合が必要となりうる。

【0322】

いくつかの実施形態では、柔軟なアミノ酸リンカーが使用される。アミノ酸リンカーの例は、(a) CGG、(b) N末端 γ 1-リンカー、(c) N末端 γ 3リンカー、(d) Igヒンジ領域 (e) N末端グリシンリンカー、(f) (G)kC(G)n、ただし、 $n=0\sim 12$ かつ $k=0\sim 5$ 、(g) N末端グリシン-セリンリンカー、(h) (G)kC(G)m(S)l(GGGGS)n、ただし、 $n=0\sim 3$ 、 $k=0\sim 5$ 、 $m=0\sim 10$ 、 $l=0\sim 2$ (配列番号188)、(i) GGC、(k) GGC-NH₂、(l) C末端 γ 1-リンカー、(m) C末端 γ 3リンカー、(n) C末端グリシンリンカー、(o) (G)nC(G)k、ただし、 $n=0\sim 12$ 及び $k=0\sim 5$ 、(p) C末端グリシン-セリンリンカー、(q) (G)m(S)l(GGGGS)n(G)oC(G)k、ただし、 $n=0\sim 3$ 、 $k=0\sim 5$ 、 $m=0\sim 10$ 、 $l=0\sim 2$ 、及び $o=0\sim 8$ (配列番号189)からなる群から選択される。

20

30

【0323】

アミノ酸リンカーのさらなる例としては、いずれも第2の結合部位としてのシステイン残基及び場合によりさらなるグリシン残基を含む、免疫グロブリンのヒンジ領域、グリシンセリンリンカー(GGGGS)n (配列番号190)、及びグリシンリンカー(G)nがある。アミノ酸リンカーの一般的な例としては、N末端 γ 1: CGDKTHTSP (配列番号191)、C末端 γ 1: DKTHTSPPCG (配列番号192)、N末端 γ 3: CGGPKPSTPPGSSGGAP (配列番号193)、C末端 γ 3: PKPSTPPGSSGGAPGGCG (配列番号194)、N末端グリシンリンカー: GCGGGG (配列番号195)、C末端グリシンリンカー: GGGGCG (配列番号196)、C末端グリシン-リシンリンカー: GKKGKGC (配列番号197)、N末端グリシン-リシンリンカー: CGKKGG (配列番号198)がある。

40

【0324】

いくつかの実施形態では、疎水性抗原または抗原決定基がVLPに結合される場合の他のアミノ酸リンカーとして、CGKKGG (配列番号199)、またはN末端リンカーについてはCGDEGG (配列番号200)が、またはC末端リンカーについてはGGKKGC (配列番号201)及びGGEDGC (配列番号202)がある。C末端リンカーの場合、末端システインは、場合によりC末端アミド化される。

【0325】

いくつかの実施形態では、ペプチドのC末端ではGGCG (配列番号203)、GGCまたはGGC-NH₂ (「NH₂」はアミド化を意味する) リンカーが、またはそのN末

50

端ではC G Gがアミノ酸リンカーとして使用される。一般に、グリシン残基が嵩高いアミノ酸と第2の結合部位として用いられるシステインとの間に挿入されることで、カップリング反応におけるより嵩高いアミノ酸の潜在的な立体障害が防止される。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーG G C - N H 2が、抗原または抗原決定基のC末端に融合される。

【0326】

抗原または抗原決定基に存在するシステイン残基は、活性化V L P上のヘテロ二官能性架橋剤と反応するためにはその還元状態にある必要がある。つまり、遊離システインまたは遊離スルフィドリル基を有するシステイン残基が存在しなければならない。結合部位として機能するシステイン残基が酸化型である場合、例えばそれがジスルフィド架橋を形成している場合、このジスルフィド架橋の例えばD T T、T C E Pまたはβ-メルカプトエタノールによる還元が必要である。W O O 2 / 0 5 6 9 0号に記載されるように低濃度の還元剤はカップリングと適合性があるが、当業者であれば理解されるように、より高い濃度ではカップリング反応を阻害し、その場合、例えば透析、ゲル濾過または逆相H P L Cによってカップリングの前に還元剤を除去するか、またはその濃度を低下させなければならない。

【0327】

上記に述べた方法によるヘテロ二官能性架橋剤を使用することによるV L Pに対する抗原または抗原決定基の結合は、方向性を有する形でV L Pと抗原または抗原決定基とのカップリングを可能にする。V L Pに抗原または抗原決定基を結合させる他の方法としては、カルボジイミドE D C、及びN H Sを使用して抗原または抗原決定基をV L Pと架橋させる方法が含まれる。さらなる方法では、抗原または抗原決定基は、グルタルアルデヒド、D S G、B M [P E O] 4、B S 3 (P i e r c e C h e m i c a l C o m p a n y , R o c k f o r d , I L L . , U S A)、またはV L Pのアミン基またはカルボキシル基に対して反応性を有する官能基を有する他の既知のホモ二官能性架橋剤などのホモ二官能性架橋剤を使用してV L Pに結合される。

【0328】

V L Pを抗原または抗原決定基に結合させる他の方法としては、例えばW O O 0 / 2 3 9 5 5号に記載されるような、V L Pをビオチン化し、抗原または抗原決定基をストレプトアビジン融合タンパク質として発現させる方法、または抗原または抗原決定基とV L Pの両方をビオチン化する方法が含まれる。この場合、抗原または抗原決定基は、ストレプトアビジンに対する抗原または抗原決定基の比率を調整することによって最初にストレプトアビジンまたはアビジンと結合させることで、次の工程で加えられるV L Pの結合に遊離結合部位が利用可能であるようにすることができる。あるいは、すべての成分を「ワンポット」反応で混合してもよい。受容体及びリガンドの可溶性形態が利用可能であり、V L Pまたは抗原もしくは抗原決定基と架橋させることが可能である場合、他のリガンド-受容体のペアを、V L Pに抗原または抗原決定基を結合させるための結合剤として使用することができる。あるいは、リガンドまたは受容体のいずれか一方を抗原または抗原決定基に融合させ、それぞれ受容体、またはリガンドに化学的に結合または融合されたV L Pへの結合を媒介することもできる。融合はまた、挿入または置換によって行うこともできる。

【0329】

医薬組成物及び製剤

特定の実施形態では、本発明は、R L Rアゴニストを、薬学的に許容される希釈剤、担体、可溶化剤、乳化剤、保存剤及び／またはアジュバントとともに含む医薬組成物を提供する。

【0330】

特定の実施形態では、許容可能な製剤材料は、好ましくは、使用される投与量及び濃度でレシピエントに対して非毒性である。特定の実施形態では、製剤材料（複数可）は、皮下（s . c）及び／または静脈内（I V）投与用である。特定の実施形態において、医薬

10

20

30

40

50

組成物は、例えば、組成物のpH、浸透圧、粘度、透明度、色、等張度、匂い、無菌性、安定性、溶解または放出速度、吸着または浸透を改変、維持または保存するための製剤材料を含むことができる。特定の実施形態において、適当な製剤材料としては、これらに限定されるものではないが、アミノ酸（グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリシンなど）；抗微生物剤；抗酸化剤（アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウムまたは亜硫酸水素ナトリウムなど）；緩衝剤（ホウ酸塩、重炭酸塩、Tris-HCl、クエン酸塩、リン酸塩または他の有機酸など）；増量剤（マンニトールまたはグリシンなど）；キレート剤（エチレンジアミン四酢酸（EDTA）など）；錯化剤（カフェイン、ポリビニルピロリドン、β-シクロデキストリンまたはヒドロキシプロピルβ-シクロデキストリンなど）；充填剤；単糖類；二糖類；及びその他の炭水化物（ブドウ糖、マンノースまたはデキストリンなど）；タンパク質（血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなど）；着色剤、香料及び希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（ポリビニルピロリドンなど）；低分子量ポリペプチド；塩を形成する対イオン（ナトリウムなど）；防腐剤（塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸または過酸化水素など）；溶媒（グリセリン、プロピレングリコールまたはポリエチレングリコールなど）；糖アルコール（マンニトールまたはソルビトールなど）；懸濁化剤；界面活性剤または湿潤剤（プルロニック（登録商標）、PEG、ソルビタンエステル、ポリソルベート20、ポリソルベート80などのポリソルベート、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサポールなど）；安定性向上剤（スクロースまたはソルビトールなど）；張度増強剤（アルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは塩化ナトリウムまたはカリウム、マンニトールソルビトールなど）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤及び／または医薬アジュバントが挙げられる（Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995)）。特定の実施形態では、製剤は、PBS；20mM NaOAc (pH 5.2)、50mM NaCl；及び／または10mM NaOAc (pH 5.2)、9%スクロースを含む。特定の実施形態において、最適な医薬組成物は、例えば、意図される投与経路、送達形式、及び所望の投与量に応じて当業者によって決定される。例えば、上記のRemington's Pharmaceutical Sciencesを参照されたい。特定の実施形態において、そのような組成物は、RLRアゴニストの物理的状態、安定性、インビボ放出速度、及び／またはインビボクリアランス速度に影響を及ぼしうる。

【0331】

特定の実施形態において、医薬組成物中の主要なビヒクルまたは担体は、本質的に水性または非水性のいずれかであってよい。例えば、特定の実施形態において、適当なビヒクルまたは担体は、注射用水、生理食塩水または人工脳脊髄液とすることができ、非経口投与用の組成物において一般的な他の材料が添加されてもよい。特定の実施形態において、生理食塩水は、等張性リン酸緩衝生理食塩水を含む。特定の実施形態において、中性緩衝生理食塩水または血清アルブミンと混合された生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。特定の実施形態において、医薬組成物は、約pH 7.0～8.5のTris緩衝液、または約pH 4.0～5.5の酢酸緩衝液を含み、ソルビトールまたはその適当な代替物をさらに含むことができる。特定の実施形態においてRLRアゴニストを含む組成物は、所望の純度を有する選択された組成物を、凍結乾燥ケーキまたは水溶液の形態の任意の配合剤（Remington's Pharmaceutical Sciences、前出）と混合することによって保存用に調製することができる。さらに、特定の実施形態では、RLRアゴニストを含む組成物は、スクロースなどの適切な賦形剤を用いて凍結乾燥物として製剤化することができる。

【0332】

特定の実施形態において、医薬組成物は、非経口送達用に選択することができる。特定の実施形態において、組成物は、吸入または例えば経口などの消化管を介した送達用に選

10

20

30

40

50

択することができる。かかる薬学的に許容される組成物の調製は、当業者の技能の範囲内である。

【0333】

特定の実施形態では、製剤成分は、投与部位に許容される濃度で存在する。特定の実施形態では、緩衝剤を用いて組成物を生理学的 pH またはわずかに低い pH、一般的には約 5 ～ 約 8 の pH 範囲内に維持する。

【0334】

特定の実施形態では、非経口投与が想定される場合、治療用組成物は、薬学的に許容されるビヒクル中に R L R アゴニストを含む、パイロジェンフリーの非経口的に許容される水溶液の形態とすることができる。特定の実施形態では、非経口注射用のビヒクルは、R L R アゴニストが無菌等張溶液として配合され、適切に保存されている無菌蒸留水である。特定の実施形態では、製剤は、製品の制御された、または持続的放出を可能とする、注射可能なミクロスフェア、生体浸食性粒子、ポリマー化合物（例えば、ポリ乳酸またはポリグリコール酸またはポリエチレンイミン（例えば、J e t P E I（登録商標））など）、ビーズまたはリポソームなどの送達ビヒクルまたは物質と、所望の分子との配合物を含むことができ、その後、これをデポー注射により投与することができる。特定の実施形態では、ヒアルロン酸も使用することができ、循環中の持続時間の延長を促進する効果を与えることができる。特定の実施形態では、埋め込み式の薬物送達装置を用いて所望の分子を導入することができる。

【0335】

特定の実施形態では、医薬組成物は、吸入用に製剤化することができる。特定の実施形態では、R L R アゴニストは、吸入用の乾燥粉末として製剤化することができる。特定の実施形態では、R L R アゴニストを含む吸入溶液を、エアロゾル投与用の噴射剤とともに製剤化することができる。特定の実施形態では、溶液を噴霧化することができる。P C T 出願第 P C T / U S 9 4 / 0 0 1 8 7 5 には経肺投与についてさらに記載されており、当該出願には、化学的に修飾されたタンパク質の肺投与について記載されている。

【0336】

特定の実施形態では、製剤を経口投与することが想到される。特定の実施形態では、この様式で投与される R L R アゴニストは、錠剤及びカプセルなどの固体剤形の配合において慣用的に使用されている担体とともに、またはこれを用いずに製剤化することができる。特定の実施形態では、カプセルは、バイオアベイラビリティが最大化され、全身循環以前の分解が最小限に抑えられるような消化管内における時点で製剤の活性部分を放出するように設計することができる。特定の実施形態では、R L R アゴニストの吸収を促進するための少なくとも 1 つのさらなる薬剤を含めることができる。特定の実施形態では、希釈剤、香味料、低融点ワックス、植物油、滑沢剤、懸濁化剤、錠剤崩壊剤、及び結合剤を用いることもできる。

【0337】

特定の実施形態では、医薬組成物は、錠剤の製造に適した非毒性賦形剤との混合物中に有効量の R L R アゴニストまたは R I G - V L P を含むことができる。特定の実施形態では、錠剤を滅菌水、または別の適切なビヒクルに溶解することによって、溶液を単位用量形態で調製することができる。特定の実施形態では、適切な賦形剤としては、これらに限定されるものではないが、例えば炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムもしくは重炭酸ナトリウム、ラクトース、もしくはリン酸カルシウムなどの不活性希釈剤；または、例えばデンプン、ゼラチン、もしくはアカシアなどの結合剤；または、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、もしくはタルクなどの潤滑剤が挙げられる。

【0338】

持続性または徐放製剤中に R L R アゴニストまたは R I G - V L P を含む製剤を含むさらなる医薬組成物は、当業者には明らかであろう。特定の実施形態では、リポソーム担体、生体浸食性微粒子または多孔質ビーズ及びデポー注射剤などの様々な他の持続性または徐放手段を製剤化するための技術も、当業者に周知である。例えば、医薬組成物を送達す

10

20

30

40

50

るための多孔質ポリマー微粒子の徐放について記載しているPCT出願PCT/US93/00829を参照されたい。特定の実施形態では、徐放性製剤は、成形物品、例えばフィルム、またはマイクロカプセルの形態の半透性ポリマーマトリクスを含むことができる。徐放性マトリクスの例としては、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号及びEP058,481）、L-グルタミン酸とγ-エチル-L-グルタメートとのコポリマー（Sidman et al., Biopolymers 22:547, 1983）、ポリ（2-ヒドロキシエチル-メタクリレート）（Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981) 及びLanger, Chem. Tech., 12:98-105 (1982)）、エチレン酢酸ビニル（Langer et al., 前出）またはポリ-D（-）-3-ヒドロキシ酪酸（EP 133,988）を挙げることができる。特定の実施形態では、徐放性組成物は、当該技術分野では周知のいくつかの方法のいずれかによって調製することができるリポソームを含んでもよい。例えば、Eppstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688-3692 (1985)；EP036,676；EP088,046及びEP143,949を参照されたい。

【0339】

インビボ投与に用いられる医薬組成物は一般的に無菌のものである。特定の実施形態では、これは、滅菌濾過膜を通す濾過によって容易に実現可能である。組成物が凍結乾燥される特定の実施形態では、この方法を用いた滅菌は、凍結乾燥及び再溶解の前または後に行うことができる。特定の実施形態において、非経口投与用の組成物は、凍結乾燥形態または溶液中で保存することができる。特定の実施形態では、非経口組成物は、滅菌アクセスポートを有する容器、例えば、皮下注射針によって穿刺可能なストッパーを有する静脈内注射用溶液のバッグまたはバイアルに一般的に入れられる。

【0340】

特定の実施形態では、医薬組成物が製剤化された後、これを、溶液、懸濁液、ゲル、エマルション、固体として、または脱水もしくは凍結乾燥された粉末として、滅菌バイアル中で保存することができる。特定の実施形態では、かかる製剤は、即時使用形態、または投与前に再溶解される形態（例えば、凍結乾燥された）のいずれかで保存することができる。

【0341】

特定の実施形態では、単回用量投与単位を与えるためのキットが提供される。特定の実施形態では、キットは、乾燥タンパク質を有する第1の容器と、水性製剤を有する第2の容器の両方を含むことができる。特定の実施形態では、シングルチャンバー型及びマルチチャンバー型のプレフィルドシリンジ（例えば、液体シリンジ及びリオシリンジ）を含むキットが含まれる。

【0342】

特定の実施形態では、治療に用いられるRLRアゴニストまたはRIG-VLPを含む医薬組成物の有効量は、例えば、治療の背景及び目的に依存する。したがって、当業者には、特定の実施形態に基づく治療用の適切な投与量レベルは、投与される分子、RLRアゴニストまたはRIG-VLPが用いられる適応症、投与経路、ならびに患者のサイズ（体重、体表面または臓器のサイズ）及び／または状態（年齢及び一般的な健康状態）に応じて異なることが理解されよう。特定の実施形態では、臨床医は、最適な治療効果を得るために、投与量を力価測定し、投与経路を変更することができる。

【0343】

特定の実施形態では、投薬の頻度は、使用される製剤中のRLRアゴニストまたはRIG-VLPの薬物動態パラメータを考慮に入れたものとなる。特定の実施形態では、臨床医は、所望の効果が得られる投与量に達するまで組成物を投与する。したがって、特定の実施形態では、組成物は、単回用量として、または時間をかけて複数用量（同量の所望の分子を含む場合も含まない場合もある）として、または埋め込み装置またはカテーテルによる連続注入として投与することができる。適切な投与量のさらなる改良が当業者によっ

て日常的に行われるが、これは当業者によって日常的に実施される業務の範囲内のものである。特定の実施形態では、適切な投与量は、適切な用量反応データを使用して決定することができる。

【0344】

特定の実施形態では、医薬組成物の投与経路は、既知の方法、例えば、経口、静脈内、腹腔内、脳内（実質内）、脳室内、筋肉内、皮下、眼内、動脈内、門脈内、または病巣内注射による経路；徐放システムによる、または埋め込み装置によるものである。特定の実施形態では、組成物は、ボーラス注射によって、または注入によって連続的に、または埋め込み装置によって投与することができる。特定の実施形態では、併用療法の個々の要素を異なる経路によって投与することができる。

10

【0345】

特定の実施形態では、組成物は、膜、スポンジ、または所望の分子を吸収またはカプセル化させた別の適切な材料を埋め込むことによって局所的に投与することができる。埋め込み装置が使用される特定の実施形態において、装置は、任意の適切な組織または器官内に埋め込むことができ、所望の分子の送達は、拡散、時限放出ボーラス、または連続投与によって行われる。特定の実施形態では、RLRアゴニストを含む医薬組成物をエクスピボで使うことが望ましい場合がある。その場合、患者から取り出された細胞、組織及び／または臓器を、RLRアゴニストまたはRIGVLPを含む医薬組成物に曝露し、その後、これらの細胞、組織及び／または臓器を患者に体内に再び移植する。

【0346】

20

特定の実施形態では、RLRアゴニストまたはRIGVLPは、アゴニストを発現及び分泌するように本明細書に記載されるような方法を使用して遺伝子操作された特定の細胞を移植することによって送達することができる。特定の実施形態において、かかる細胞は、動物またはヒトの細胞であってよく、自家、他家、または異種であってよい。特定の実施形態では、細胞は不死化することができる。特定の実施形態では、免疫応答の可能性を減らすため、周囲組織の浸潤を防ぐように細胞をカプセル化することができる。特定の実施形態では、カプセル化材料は、タンパク質産物（複数可）の放出は可能とするが、患者の免疫系または周囲組織からの他の有害な因子による細胞の破壊を防ぐ、通常は生体適合性の半透性ポリマー封入材料または膜である。

【0347】

30

いくつかの態様では、本開示は、免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の減少もしくは阻害を必要とする対象においてそれを行うための本開示に基づくRLRアゴニストまたはRIGVLPと、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、ポリエチエンイミン（PEI）担体中に配合される。いくつかの実施形態では、PEI担体は、JetPEI（登録商標）である。

【0348】

用途

本明細書に記載される組成物は、診断及び治療用途において使用することができる。例えば、検出可能に標識されたRLRアゴニストまたはRIGVLPを、試料（例えば、生物学的試料）中の標的タンパク質の存在または量を検出するためのアッセイにおいて使用することができる。組成物は、標的機能（例えば、RLR媒介性細胞シグナル伝達または応答）の阻害を試験するためのインビトロアッセイにおいて使用することができる。例えば、組成物が標的（例えばタンパク質またはポリペプチド）に結合して活性化しないいくつかの実施形態では、標的タンパク質またはポリペプチドの活性も誘導し、及び／またはそれ以外に標的タンパク質またはポリペプチドに関連する疾患を治療するうえで有用であるさらなる新規化合物を同定するために設計されたアッセイにおいて組成物をポジティブコントロールとして使用することができる。例えば、RLR活性化組成物を、RLR機能を誘導、増加、または刺激するさらなる化合物（例えば、小分子、アプタマー、または抗体）を同定するためのアッセイにおいてポジティブコントロールとして使用するこ

40

50

とができる。組成物は、以下に詳述するような治療方法において使用することもできる。

【0349】

キット

キットは、本明細書に開示されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPと、使用説明書とを含むことができる。キットは、適切な容器内に、RLRアゴニスト、1つ以上のコントロール、ならびに当該技術分野では周知の各種の緩衝液、試薬、酵素及び他の標準的な成分を含むことができる。

【0350】

容器は、少なくとも1つのバイアル、ウェル、試験管、フラスコ、ボトル、注射器、または他の容器手段を含み、その中にRLRアゴニストまたはRIG-VLPを、場合により、適当に等分して入れることができる。追加の成分が提供される場合、キットは、この成分を入れることができる追加の容器を含んでもよい。キットは、販売用に緊密に閉じ込められたRLRアゴニストまたはRIG-VLP、及び他の任意の試薬容器の手段を含んでもよい。かかる容器は、その中に所望のバイアルが保持される射出成形またはブロー成形されたプラスチック容器を含むことができる。容器及び／またはキットは、使用説明書及び／または警告が記されたラベルを含んでもよい。

【0351】

いくつかの実施形態では、本開示は、本開示により提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPを含む、または、本開示により提供される組成物と、対象の免疫応答を刺激する、またはがんを治療またはその進行を遅らせる、または対象の腫瘍増殖を阻害する際に使用される使用説明書とを、場合により、1つ以上のさらなる治療剤と併用される使用説明書とともに含むキットを提供する。

【0352】

いくつかの実施形態では、アゴニストまたは医薬組成物は、1つ以上のさらなる治療剤と併用して投与され、1つ以上のさらなる治療剤は、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤（例えば、オプソニン化抗体）、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0353】

いくつかの実施形態では、RLRアゴニストまたは医薬組成物は、1つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または1つ以上のさらなる治療剤がRLRアゴニストまたは医薬組成物の投与と同時に、その前もしくはその後に投与される。

【0354】

いくつかの実施形態では、1つ以上のさらなる治療剤は、PD-1/PD-L1アンタゴニスト、TIM-3アンタゴニスト、VISTAアンタゴニスト、アデノシンA2ARアンタゴニスト、B7-H3アンタゴニスト、B7-H4アンタゴニスト、BTLAアンタゴニスト、CTLA-4アンタゴニスト、IDOアンタゴニスト、KIRアンタゴニスト、LAG-3アンタゴニスト、Toll様受容体3（TLR3）アゴニスト、Toll様受容体7（TLR7）アゴニスト、Toll様受容体9（TLR9）アゴニストである。

【0355】

いくつかの実施形態では、1つ以上のさらなる治療剤は、CD137（4-1BB）に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである。

【0356】

いくつかの実施形態では、1つ以上のさらなる治療剤は、CD134（OX40）に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストである。

【0357】

使用方法

本発明の組成物は、RLR及び／またはRLR機能のアゴニズムの検出及び／または定

10

20

30

40

50

量化を行う多くのインビトロ及びインビボの有用性を有する。

【0358】

上記に述べた組成物は、とりわけ、対象の広範ながんまたは感染症を治療または予防するための方法において有用である。組成物は、対象、例えば、ヒト対象に、投与経路に一部依存する様々な方法を用いて投与することができる。経路は、例えば、静脈内注射または注入（IV）、皮下注射（SC）、皮内注射（ID）、腹腔内（IP）注射、筋肉内注射（IM）、腫瘍内注射（IT）またはくも膜下腔内注射とすることができる。注射は、ボラス注射または連続注入であってよい。

【0359】

投与は、例えば、局所注入、注射、またはインプラントによって行うことができる。インプラントは、シラスティック膜、または繊維などの膜を含む多孔質、非多孔質、またはゼラチン状の材料のものとすることができる。インプラントは、対象に組成物を持続的または周期的に放出するように構成することができる。例えば、本明細書に参照によりそれぞれの開示内容の全体を援用するところの米国特許出願公開第20080241223号、米国特許第5,501,856号、同第4,863,457号、及び同第3,710,795号、EP488401、及びEP430539を参照されたい。組成物は、例えば、拡散性、浸食性、または対流システムに基づく埋め込み式装置、例えば、浸透圧ポンプ、生分解性インプラント、電気拡散システム、電気浸透システム、蒸気圧ポンプ、電解ポンプ、発泡性ポンプ、圧電ポンプ、浸食ベースのシステム、または電気機械的システムによって対象に投与することができる。

【0360】

いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、局所投与によって対象に治療用に投与される。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストはVLP内にパッケージングされる。一実施形態では、RLRアゴニストは、抗原とともに治療用に投与される。他の実施形態において、VLPは抗原に結合させることができる。他の実施形態では、RLRアゴニストはVLP内にパッケージングされ、抗原に結合された別のVLPと併用して投与される。

【0361】

対象のがんを治療または予防することができる本明細書に記載されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPの適当な用量は、例えば、治療される対象の年齢、性別、及び体重、ならびに使用される特定の阻害剤化合物を含む様々な要因によって決まる。対象に投与される用量に影響する他の因子としては、例えば、がんまたは感染症の種類または重症度が挙げられる。例えば、転移性黒色腫を有する対象は、膠芽腫を有する対象とは異なる用量のRLRアゴニストまたはRIG-VLPの投与を必要としうる。他の因子としては、例えば、対象が同時または以前に罹患した他の医学的疾患、対象の一般的な健康状態、対象の遺伝的素因、食事、投与時間、排出速度、薬剤の組み合わせ、及び対象に投与される他の任意の追加の治療薬が挙げられる。また、任意の特定の対象に対する特定の投与量及び治療レジメンは、治療を行う医療従事者（例えば、医師または看護師）の判断にも依存する点を理解されたい。適当な投与量は本明細書に記載される。

【0362】

医薬組成物は、治療有効量の本明細書に記載されるRLRアゴニストまたはそのRIG-VLPを含むことができる。かかる有効量は、投与されるRLRアゴニストもしくはRIG-VLPの作用、またはRLRアゴニストもしくはRIG-VLPと1つ以上のさらなる活性剤（複数の薬剤が使用される場合）との組み合わせ効果に一部基づいて当業者が容易に決定することができる。本明細書に記載されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPの治療有効量は、個人の疾患状態、年齢、性別、及び体重などの要因、ならびに所望の反応、例えば、腫瘍増殖の低減を個人において誘発するアゴニスト（及び1つ以上のさらなる活性剤）の能力によっても異なりうる。例えば、治療有効量のRLRアゴニストまたはRIG-VLPは、当該技術分野では周知であるかまたは本明細書に記載される特定の疾患、及び／または特定の疾患の症状のいずれか1つを阻害（その重症度を軽減するか

10

20

30

40

50

またはその発生を防止する) 及び／または予防することができる。治療有効量とは、組成物の毒性または有害作用を治療上の有用な作用が上回る量でもある。

【0363】

本明細書に記載されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPのいずれかの適当なヒト用量は、例えば第I相用量漸増試験でさらに評価することができる。例えば、van Gurp et al. (2008) Am J Transplantation 8 (8) : 1711-1718; Hanouska et al. (2007) Clin Cancer Res 13 (2, part 1) : 523-531; 及びHetherington et al. (2006) Antimicrobial Agents and Chemotherapy 50 (10) : 3499-3500を参照されたい。

10

【0364】

いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPのいずれかと、1つ以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または11以上)のさらなる治療剤とを含有することで、組成物が全体として治療上有効となる。例えば、組成物は、本明細書に記載されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPとアルキル化剤とを含有することができ、アゴニスト及び薬剤は、それぞれ、組み合わせた場合に対象のがん(例えば、黒色腫)を治療または予防するうえで治療上有効な濃度である。

【0365】

かかる組成物の毒性及び治療有効性は、公知の薬学的手法によって細胞培養または実験動物(例えば、本明細書に記載されるいずれかのがんの動物モデル)において決定することができる。これらの手法は、例えば、LD₅₀(集団の50%に対して致死的な用量)及びED₅₀(集団の50%において治療効果のある用量)を決定するために使用することができる。毒性と治療効果と用量比が治療指数であり、LD₅₀/ED₅₀の比として表される。高い治療指数を示すRLRアゴニストまたはRIG-VLPが好ましい。毒性の副作用を示す組成物を使用することもできるが、患部組織の部位にこうした化合物を標的化し、正常細胞に対する傷害の可能性を最小限に抑えることによって副作用を低減するような送達システムを設計するように配慮がなされなければならない。

20

【0366】

細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータを、ヒトで使用する投与量の範囲を決定するうえで使用することができる。本明細書に記載されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPでは、治療有効用量は、最初に細胞培養アッセイから推定することができる。ある用量を動物モデルで処方することで、細胞培養で求められたEC₅₀(すなわち、症状の最大阻害の半分を達成するアゴニストの濃度)を含む循環血漿濃度範囲を得ることができる。こうした情報を用いて、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定することができる。血漿中の濃度は、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定することができる。例えば、局所投与(例えば、眼または関節への)が望ましいいくつかの実施形態では、細胞培養または動物モデリングを用いて局所部位内で治療有効濃度を得るために必要とされる用量を決定することができる。

30

【0367】

いくつかの実施形態では、本方法は、がんまたは感染症に対する他の療法と併用して行うことができる。例えば、組成物は、放射線、外科手術、標的化または細胞傷害性化学療法、化学放射線療法、ホルモン療法、免疫療法、遺伝子療法、細胞移植療法、精密医療、ゲノム編集療法、または他の薬物療法と同時に、その前、またはその後に対象に投与することができる。

40

【0368】

上記に述べたように、本明細書に記載の組成物(例えば、RLRアゴニストまたはRIG-VLP組成物)は、これらに限定されるものではないが、がん(例えば、カポジ肉腫、白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、骨髄芽球、前骨髄球、骨髄単球性、単球性赤白血病、慢性白血病、慢性骨髄性(顆粒性)白血病、慢性リンパ球性白血病、マ

50

ントル細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、バーキットリンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、真性多血症、ホジキン病、非ホジキン病、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、重鎖病、固形腫瘍、肉腫及び細胞癌、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、骨肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸肉腫、結腸直腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支癌、腎細胞癌、肝臓癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、子宮癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起細胞腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、上咽頭癌、食道癌、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系（CNS）癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸直腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼の癌、頭頸部癌、胃癌、上皮内新生物、腎臓癌、喉頭癌、肝臓癌、肺癌（小細胞、大細胞）、黒色腫、神経芽細胞腫、口腔癌（例えば、唇、舌、口及び咽頭）、卵巣癌、膵臓癌、直腸癌、呼吸器系癌、肉腫、皮膚癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌及び泌尿器系癌などの広範ながんを治療するために使用することができる。

【0369】

いくつかの実施形態では、本開示は、VLP内にパッケージングされたRLRアゴニストと、VLPに結合された抗原または抗原決定基を含むワクチンを提供する。いくつかの実施形態では、ワクチンは、VLPに結合された抗原または抗原決定基に対する免疫応答を誘導する。いくつかの実施形態では、ワクチンは予防的である。いくつかの実施形態では、ワクチンは治療的である。いくつかの実施形態では、VLPに結合された抗原または抗原決定基はがんまたは腫瘍抗原であり、したがってワクチンは抗腫瘍免疫応答を誘導する。いくつかの実施形態では、ワクチンは防御免疫を誘導する。

【0370】

いくつかの態様では、本開示は、細胞内の1つ以上のサイトカインの産生のRLR媒介産生を増加させるための方法であって、細胞を本開示により提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPと接触させることを含み、アゴニストが細胞内のRLR媒介サイトカイン産生を増加させる、方法を提供する。

【0371】

いくつかの態様では、本開示は、細胞内の1つ以上のインターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現を増加させるための方法であって、細胞を本開示により提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPと接触させることを含み、アゴニストが細胞内のインターフェロン刺激遺伝子のRLR媒介発現を増加させる、方法を提供する。

【0372】

いくつかの態様では、本開示は、細胞内のRLR依存性細胞内シグナル伝達を増加させるための方法であって、細胞を本開示により提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPと接触させることを含み、アゴニストがRLR依存性細胞内シグナル伝達を増加させる、方法を提供する。

【0373】

いくつかの態様では、本開示は、対象の免疫応答を刺激する方法であって、対象に有効量の本開示により提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLP、または本開示により提供される医薬組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0374】

いくつかの態様では、本開示は、対象のがんを治療するかまたはその進行を遅らせる方法であって、対象に有効量の本開示により提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLP、または本開示により提供される医薬組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0375】

いくつかの態様では、本開示は、腫瘍増殖の低減または阻害をそれを必要とする対象において行う方法であって、対象に有効量の本開示により提供されるRLRアゴニストまた

10

20

30

40

50

は R I G - V L P、または本開示により提供される医薬組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【0376】

いくつかの態様では、本開示は、免疫応答の刺激、がんの治療もしくはその進行を遅らせること、または腫瘍増殖の阻害をそれを必要とする対象において行うための方法であって、対象に有効量の本開示により提供される R L R アゴニストまたは R I G - V L P、または本開示により提供される医薬組成物を投与することを含み、アゴニストまたは医薬組成物が、細胞内の1つ以上のサイトカインの R L R 媒介産生を増加させるか、細胞内の1つ以上のインターフェロン刺激遺伝子の R L R 媒介発現を増加させるか、及び／または細胞内の R L R 依存性細胞内シグナル伝達を増加させ、それにより免疫応答を刺激するか、がんを治療もしくはその進行を遅らせるか、または腫瘍の増殖を阻害する、方法を提供する。

10

【0377】

R L R アゴニストとさらなる治療剤との併用

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される R L R アゴニストまたは R I G - V L P は、単独療法として対象に投与することができる。あるいは、R L R アゴニストまたは R I G - V L P は、別の治療、例えば、がんに対する別の治療との併用療法として対象に投与することもできる。例えば、併用療法は、がんを有するかまたは発症するリスクのある対象（例えば、ヒト患者）に治療上の利益をもたらす1つ以上のさらなる薬剤を対象に投与することを含むことができる。

20

【0378】

いくつかの実施形態では、本開示により提供される R L R アゴニストまたは R I G - V L P または医薬組成物は、1つ以上のさらなる治療剤と併用して投与され、1つ以上のさらなる治療剤は、化学療法、標的化抗がん療法、腫瘍溶解薬、細胞死誘導剤、オプソニン化剤（例えば、オプソニン化抗体）、細胞毒性剤、免疫療法、サイトカイン、共刺激分子の活性化剤またはアゴニスト、阻害性分子の阻害剤、ワクチン、細胞免疫療法、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0379】

いくつかの実施形態では、併用療法は、同時に（例えば、混合物として）、別々であるが同時または同時期に、または順次、投与することができる。これには、併用薬剤が治療用混合物として一緒に投与されるような投与だけでなく、併用薬剤が別々であるが同時に、例えば、同じ個人に別々の静脈内ラインを通じて投与されるような手順も含まれる。「併用」投与にはさらに、化合物または薬剤の一方を最初に投与した後、第2の化合物または薬剤を投与するような別々の投与も含まれる。

30

【0380】

いくつかの実施形態では、R L R アゴニスト、R I G - V L P、または医薬組成物は、1つ以上のさらなる治療剤の投与の前もしくはその後に投与されるか、または1つ以上のさらなる治療剤がアゴニストまたは医薬組成物の投与と同時に、その前もしくはその後に投与される。

【0381】

いくつかの実施形態では、1つ以上のさらなる治療剤は、P D - 1 / P D - L 1 アンタゴニスト、T I M - 3 アンタゴニスト、V I S T A アンタゴニスト、アデノシン A 2 A R アンタゴニスト、B 7 - H 3 アンタゴニスト、B 7 - H 4 アンタゴニスト、B T L A アンタゴニスト、C T L A - 4 アンタゴニスト、I D O アンタゴニスト、K I R アンタゴニスト、L A G - 3 アンタゴニスト、T o l l 様受容体 3 (T L R 3) アゴニスト、T o l l 様受容体 7 (T L R 7) アゴニスト、T o l l 様受容体 9 (T L R 9) アゴニストである。

40

【0382】

化学療法剤との併用

本発明の組成物との併用及び／または同時投与に適した化学療法剤としては、例えば、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマ

50

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ンジオン、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、及びピューロマイシンならびにそれらの類似体またはホモログが挙げられる。さらなる薬剤としては、例えば、代謝拮抗物質（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、5-フルオウラシルデカルバジン）、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、メルファラン、カルムスチン（BSNU）、ロムスチン（CCNU）、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、cis-ジクロロジアミン白金（II）（DDP）、プロカルバジン、アルトレタミン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、サトラプラチン、またはトリプラチンテトラニトート）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前のダウノマイシン）及びドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前のアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン（AMC））、ならびに有糸分裂阻害剤（例えば、ビンクリスチン及びビンブラスチン）及びテモゾロミドが挙げられる。

【0383】

PD-1/PD-L1アンタゴニストとの併用

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニスト、RIG-VLP、またはそれらの医薬組成物は、ヒトPD-1またはPD-L1に特異的に結合して、ヒトPD-1/PD-L1シグナル伝達によって媒介されるPD-1/PD-L1の生物学的活性及び/または下流経路（複数可）及び/または細胞プロセスまたは他のヒトPD-1/PD-L1媒介機能を阻害する1つ以上のPD-1/PD-L1アンタゴニストと併用される（例えば、併用して投与される）。

【0384】

したがって、本明細書では、PD-1/PD-L1に対する受容体結合及び/または細胞応答の誘発などのPD-1/PD-L1シグナル伝達によって媒介される下流経路及び/または細胞プロセスを含む、PD-1/PD-L1の生物学的活性を直接またはアロステリック作用により遮断、アンタゴナイズ、抑制、阻害または減少させるPD-1/PD-L1アンタゴニストが提供される。また、本明細書では、細胞または対象によって産生されるヒトPD-1またはPD-L1の量を減少させるPD-1/PD-L1アンタゴニストも提供される。

【0385】

いくつかの実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に結合して、PD-1に対するPD-L1の結合を防止、阻害または減少させるPD-1/PD-L1アンタゴニストを提供する。いくつかの態様では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-1またはPD-L1をコードするmRNAに結合して翻訳を防止する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-1またはPD-L1をコードするmRNAに結合して分解及び/またはターンオーバーを引き起こす。

【0386】

いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-1のシグナル伝達または機能を阻害する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-1のPD-L1に対する、PD-L2に対する、またはPD-L1及びPD-L2の両方に対する結合を遮断する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-1のPD-L1に対する結合を遮断する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-1のPD-L2に対する結合を遮断する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストはPD-1に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストはPD-L1に特異的に結合する。いくつかの

実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストはPD-L2 に特異的に結合する。

【0387】

いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、PD-1 のその同種リガンドに対する結合を阻害する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、PD-1 のPD-L1 に対する、PD-1 のPD-L2 に対する、またはPD-1 のPD-L1 及びPD-L2 の両方に対する結合を阻害する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、PD-1 のその同種リガンドに対する結合を阻害しない。

【0388】

いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、PD-1 またはPD-L1 に特異的に結合する単離モノクローナル抗体 (mAb) またはその抗原結合フラグメントである。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、ヒトPD-1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、ヒトPD-L1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、ヒトPD-L1 に結合してPD-L1 のPD-1 に対する結合を阻害する抗体または抗原結合フラグメントである。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、ヒトPD-1 に結合してPD-L1 のPD-1 に対する結合を阻害する抗体または抗原結合フラグメントである。

【0389】

PD-1 とそのリガンドであるPD-L1 及びPD-L2 の一方または両方との間の相互作用を阻害または阻止するいくつかの免疫チェックポイントアンタゴニストが臨床開発中であるか、または現在、がんの治療用に臨床医に利用可能となっている。

【0390】

本開示により提供される組成物、方法、及び使用のいずれかにおいてPD-1/PD-L1 アンタゴニストを含みうる抗ヒトPD-1 モノクローナル抗体、またはその抗原結合フラグメントの例としては、これらに限定されるものではないが、KEYTRUDA (登録商標) (ペムブロリズマブ、MK-3475、h409A11; いずれも本明細書に参照によりそれらの全体を包含するUS8952136、US8354509、US8900587、及びEP2170959を参照。Merck)、OPDIVO (登録商標) (ニボルマブ、BMS-936558、MDX-1106、ONO-4538; いずれも本明細書に参照によりそれらの全体を包含するUS7595048、US8728474、US9073994、US9067999、EP1537878、US8008449、US8779105、及びEP2161336を参照。Bristol Myers Squibb)、MEDI0680 (AMP-514)、BGB-A317及びBGB-108 (BeiGene)、244C8及び388D4 (本明細書に参照によりその全体を援用するWO2016106159を参照。Enumeral Biomedical)、PDR001 (Novartis)、及びREGN2810 (Regeneron) が挙げられる。したがって、いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、ペムブロリズマブである。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1 アンタゴニストは、ニボルマブである。

【0391】

本開示により提供される任意の組成物、方法、及び使用においてPD-1/PD-L1 アンタゴニストを含みうる抗ヒトPD-L1 モノクローナル抗体、またはその抗原結合フラグメントの例としては、これらに限定されるものではないが、BAVENCIO (登録商標) (アベルマブ、MSB0010718C、本明細書に参照によりその全体を援用するWO2013/79174を参照。Merck/Pfizer)、IMFINZI (登録商標) (デュルバルマブ、MEDI4736)、TECENTRIQ (登録商標) (アテゾリズマブ、MPDL3280A、RG7446; 本明細書に参照によりその全体を援用するWO2010/077634を参照。Roche)、MDX-1105 (BMS-

10

20

30

40

50

936559、12A4；いずれも本明細書に参照によりそれらの全体を援用するUS7943743及びWO2013/173223を参照。Medarex/BMS）、及びFAZ053（Novartis）が挙げられる。したがって、いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、アベルマブである。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、デュルバルマブである。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、アテゾリズマブである。

【0392】

いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、ヒトPD-1またはヒトPD-L1に特異的に結合するイムノアドヘシンである（例えば、免疫グロブリン分子のFc領域などの定常領域に融合されたPD-L1またはPD-L2の細胞外またはPD-1結合部分を含む融合タンパク質）。PD-1に特異的に結合するイムノアドヘシン分子の例は、いずれも本明細書に参照によりそれらの全体を援用するWO2010/027827及びWO2011/066342に記載されている。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、ヒトPD-1に特異的に結合するPD-L2-Fc融合タンパク質であるAMP-224（B7-DCIgとしても知られる）である。

【0393】

PD-1またはPD-L1に結合してPD-1/PD-L1のシグナル伝達経路を阻害するいずれのPD-1/PD-L1アンタゴニストも、本明細書に開示される組成物、方法、及び使用に適していることが当業者には理解されよう。

【0394】

いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、小分子、核酸、ペプチド、ペプチド模倣体、タンパク質、炭水化物、炭水化物誘導体、または糖ポリマーである。例示的な小分子PD-1阻害剤が、Zhan et al., (2016) Drug Discov Today 21(6):1027-1036に記載されている。

【0395】

本開示により提供される方法のいくつかの実施形態では、RLRアゴニストはPD-1/PD-L1アンタゴニストと併用され、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD R001、KEYTRUDA（登録商標）（ペムブロリズマブ）、OPDIVO（登録商標）（ニボルマブ）、ピジリズマブ、MEDIO680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591、及びAMP-224からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、FAZ053、TENECENTRIQ（登録商標）（アテゾリズマブ）、BAVENCIO（登録商標）（アベルマブ）、IMFINZI（登録商標）（デュルバルマブ）、及びBMS-936559からなる群から選択される。

【0396】

TIM-3アンタゴニストとの併用

いくつかの実施形態では、本開示により提供されるRLRアゴニスト、RIG-VLP、またはそれらの医薬組成物は、TIM-3アンタゴニストと併用される（例えば、併用して投与される）。TIM-3アンタゴニストは、抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドでありうる。いくつかの実施形態では、TIM-3アンタゴニストは、MGB453（Novartis）、TSR-022（Tesarro）、またはLY3321367（Eli Lilly）から選択される。

【0397】

LAG-3アンタゴニストとの併用

いくつかの実施形態では、本開示により提供されるRLRアゴニスト、RIG-VLP、またはそれらの医薬組成物は、LAG-3アンタゴニストと併用される（例えば、併用して投与される）。LAG-3アンタゴニストは、抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドでありうる。いくつかの実施形態では、LAG-3阻害剤は、LAG525（Novartis）、BMS-986016（Bristol-Myers Squibb）、TSR-033（Tesarro）、MK-4

10

20

30

40

50

280 (Merck & Co)、またはREGN3767 (Regeneron) から選択される。

【0398】

Toll様受容体 (TLR) アゴニストとの併用

いくつかの実施形態では、本開示により提供されるRLRアゴニスト、RIG-VLP、またはそれらの医薬組成物は、TLRアゴニストと併用される (例えば併用して投与される)。

【0399】

Toll様受容体 (TLR) は、病原体の認識及び自然免疫系の活性化を促進する生殖細胞系にコードされた膜貫通タンパク質のファミリーである (Hoffmann et al., (1999) Science 284:1313-1318; Rock et al., (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95:588-593)。TLRはパターン認識受容体 (PRR) であり、自然免疫系の細胞によって発現される。TLRに対する公知のリガンドの例としては、グラム陽性細菌 (TLR-2)、細菌エンドトキシン (TLR-4)、フラジェリントタンパク質 (TLR-5)、細菌DNA (TLR-9)、二本鎖RNA及びpoly I:C (TLR-3)、ならびに酵母 (TLR-2) が挙げられる。TLRのインビボ活性化は、特定のサイトカイン、ケモカイン及び成長因子が関与する自然免疫応答を開始する。すべてのTLRは、核因子κB (NF-κB) 及びマイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPキナーゼ) などの特定の細胞内シグナル伝達分子を活性化することができるが、放出されるサイトカイン及びケモカインの特定のセットは、各TLRに固有のものと考えられる。TLR7、8、及び9は、樹状細胞及び単球などの免疫細胞のエンドソームまたはリソソーム区画内に位置するTLRのサブファミリーを含む。形質細胞様樹状細胞 (pDC) で高発現されているTLR7及び9に対して、TLR8は主として骨髄系DC (mDC) 及び単球で発現される。このサブファミリーは、一本鎖RNAなどの微生物核酸の認識を媒介する。

【0400】

プリンヌクレオチドアデノシン及びグアノシンに類似した小さい、低分子量 (400ダルトン未満) の合成イミダゾキノリン化合物は、最初に同定されたTLR7及びTLR8アゴニストである。これらの化合物の多くが、抗ウイルス性及び抗がん性を示している。例えば、TLR7アゴニストのイミキモド (ALDARA (商標)) は、ヒトパピローマウイルスの特定の株によって引き起こされる皮膚病変の治療用の局所薬として米国食品医薬品局によって承認された。イミキモドはまた、基底細胞癌、ケラトアカントーマ、光線性角化症、及びボーエン病などの原発性皮膚がん及び皮膚腫瘍の治療にも有用でありうる。TLR7/8アゴニストのレシキモド (R-848) は、ヒト性器ヘルペスの治療用の局所薬として評価が行われている。

【0401】

本開示によるTLRアゴニストは、いずれのTLRアゴニストであってもよい。例えば、TLRアゴニストは、天然または合成のTLRリガンド、ムテインまたはTLRリガンドの誘導体、TLRリガンドのペプチド模倣体、TLRリガンドの生物学的機能を模倣する小分子、またはTLR受容体を刺激する抗体を包含することができる。TLRリガンドとは、TLRに結合するあらゆる分子である。

【0402】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニスト、RIG-VLP、またはそれらの医薬組成物は、TLRアゴニストと併用され、TLRアゴニストは、TLR1アゴニスト、TLR2アゴニスト、TLR3アゴニスト、TLR4アゴニスト、TLR5アゴニスト、TLR6アゴニスト、TLR7アゴニスト、TLR8アゴニスト、TLR9アゴニスト、TLR10アゴニスト、及びTLR11アゴニストからなる群から選択される。

【0403】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニストまたはRIG-

VLPは、TLR3アゴニストと併用される。TLR3アゴニストは、TLR3を介してシグナル伝達応答を引き起こすアゴニストである。例示的なTLR3アゴニストとしては、これらに限定されるものではないが、ポリイノシン：ポリシチジル酸（poly I:C）、HILTONOL（登録商標）（poly ICLC）、ポリアデニルポリウリジル酸（poly A:U）、RIBOXXIM（登録商標）（RGIC（登録商標）100）、RIBOXXON（登録商標）（RGIC（登録商標）50バイオコンジュゲート）、及びRIBOXXOL（登録商標）（RGIC（登録商標）50）が挙げられる。

【0404】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPは、ポリイノシン：ポリシチジル酸（poly I:C）と併用される。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストまたはRIG-VLPは、HILTONOL（登録商標）（poly ICLC）と併用される。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、ポリアデニルポリウリジル酸（poly A:U）と併用される。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストまたはRIG-VLPは、RIBOXXIM（登録商標）（RGIC（登録商標）100）と併用される。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストまたはRIG-VLPは、RIBOXXON（登録商標）（RGIC（登録商標）50バイオコンジュゲート）と組み合わされる。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、RIBOXXOL（登録商標）（RGIC（登録商標）50）と併用される。

【0405】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPは、TLR7アゴニストと併用される。TLR7アゴニストは、TLR7を介してシグナル伝達応答を引き起こすアゴニストである。TLR7アゴニストの非限定的な例としては、一本鎖RNA（ssRNA）、ロキソリビン（N7位及びC8位で誘導体化されたグアノシン類似体）、イミダゾキノリン化合物（例えば、イミキモド及びレシキモド）、またはそれらの誘導体が挙げられる。さらなる例示的なTLR7アゴニストとしては、これらに限定されるものではないが、GS-9620（ベサトリモド）、イミキモド（ALDARA（商標））、及びレシキモド（R-848）が挙げられる。

【0406】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPは、GS-9620（ベサトリモド）と併用される。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、イミキモド（ALDARA（商標））と併用される。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストまたはRIG-VLPは、レシキモド（R-848）と併用される。

【0407】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPは、TLR9アゴニストと併用される。TLR9アゴニストは、TLR9を介してシグナル伝達応答を引き起こすアゴニストである。例示的なTLR9アゴニストとしては、これらに限定されるものではないが、CpGオリゴデオキシヌクレオチド（CpG ODN）が挙げられる。いくつかの実施形態では、CpG ODNは、クラスAのCpG ODN（CpG-A ODN）、クラスBのCpG ODN（CpG-B ODN）、またはクラスCのCpG ODN（CpG-C ODN）である。

【0408】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニストまたはRIG-VLPは、CpGオリゴデオキシヌクレオチド（CpG ODN）と併用される。いくつかの実施形態では、CpG ODNは、クラスAのCpG ODN（CpG-A ODN）である。いくつかの実施形態では、CpG ODNは、クラスBのCpG ODN（CpG-B ODN）である。いくつかの実施形態では、CpG ODNは、クラスCのCpG ODN（CpG-C ODN）である。

【0409】

他の組み合わせ

いくつかの実施形態では、本開示によって提供される R L R アゴニスト、R I G - V L P またはそれらの医薬組成物は、V I S T A アнтаゴニスト、アデノシン A 2 A R アнтаゴニスト、B 7 - H 3 アнтаゴニスト、B 7 - H 4 アнтаゴニスト、B T L A アнтаゴニスト、C T L A - 4 アнтаゴニスト、I D O アнтаゴニスト、または K I R アнтаゴニストと併用される（例えば、併用して投与される）。

【0410】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供される R L R アゴニスト、R I G - V L P またはそれらの医薬組成物は、C D 1 3 7 (4 - 1 B B) に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストと併用される（例えば、併用して投与される）。

【0411】

いくつかの実施形態では、本開示によって提供される R L R アゴニスト、R I G - V L P またはそれらの医薬組成物は、C D 1 3 4 (O X 4 0) に特異的に結合するポリペプチド（例えば、抗体、またはその抗原結合部分）を含むアゴニストと併用される（例えば、併用して投与される）。

【0412】

本明細書に記載される R L R アゴニストまたは R I G - V L P は、以前にまたは現在投与されている療法を置換または増強することができる。例えば、R L R アゴニストまたは R I G - V L P による治療の際、1 つ以上のさらなる活性剤の投与を中止または減少させる（例えば、より低いレベルまたは投与量で投与する）ことができる。いくつかの実施形態では、以前の療法の投与を維持することができる。いくつかの実施形態では、以前の療法は、R L R アゴニストまたは R I G - V L P のレベルが治療効果をもたらすのに十分なレベルに達するまで維持することができる。これら 2 つの療法は併用して投与することができる。

【0413】

本明細書で定義される、がんの改善について対象（例えば、ヒト患者）をモニタリングする、とは、疾患パラメータの変化（例えば、腫瘍増殖の減少）について対象を評価することを意味する。いくつかの実施形態では、評価は、投与の少なくとも 1 時間、例えば、少なくとも 2、4、6、8、12、24、または 48 時間、または少なくとも 1 日、2 日、4 日、10 日、13 日、20 日以上、または少なくとも 1 週間、2 週間、4 週間、10 週間、13 週間、20 週間以上後に行われる。対象は、以下の期間、すなわち、治療開始前、治療中、または治療の 1 つ以上の要素が投与された後、のうちの 1 つ以上で評価することができる。評価は、さらなる治療の必要性を評価すること、例えば、投与量、投与頻度、または治療期間を変更するべきかどうかを評価することを含むことができる。評価はまた、選択された治療様式を追加するかまたは省略する（例えば、本明細書に記載されるがんに対するいずれかの治療を追加または省略する）必要性を評価することを含んでもよい。

【0414】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される R L R アゴニストまたは R I G - V L P は、例えば、T 細胞の活性化及び／または増殖を増加させることによって患者の T 細胞応答を調節するために投与される。T 細胞の増殖、I F N の産生及び分泌、及び／または T 細胞の細胞溶解活性の増強は、疾患または状態を治療するうえでそれらを必要とする患者にとって有益となりうる。したがって、いくつかの実施形態では、T 細胞活性化を誘導または増加させ、T 細胞増殖を増強し、I F N の産生及び／または分泌を誘導し、及び／または細胞溶解性 T 細胞応答を誘導するために、本開示の R L R アゴニストまたは R I G - V L P をそれらを必要とする患者に投与する。

【0415】

以上、本開示を、その特定の実施形態を参照しながら説明したが、当業者には、本発明の真の主旨及び範囲から逸脱することなく、様々な改変を行うことが可能であり、また、均等物を置き換えることが可能である点は理解されよう。さらに、特定の状況、材料、物

10

20

30

40

50

質の組成、プロセス、1乃至複数のプロセスのステップを、本開示の目的、主旨、及び範囲に適應させるために多くの改変を行うことができる。これらの改変はいずれも、本開示の範囲内に含まれるものとする。

【0416】

定義

特許請求の範囲及び明細書において使用される用語は、特に断りのない限り以下に記載するように定義される。親仮特許出願で使用されている用語と直接矛盾する場合には、本出願で使用されている用語が優先するものとする。

【0417】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈によってそうでない旨が明示されない限り、複数の指示対象を含む点に留意されなければならない。さらに、文脈上必要とされない限りは、単数形の使用は複数を含み、複数形の使用は単数を含むものとする。

【0418】

約：本明細書で使用される場合、「約」（あるいは「およそ」）なる用語は、当業者によって理解され、使用される文脈に応じてある程度異なる。その用語が使用される文脈を考慮しても当業者に明確でない用語の使用がある場合、「約」とは、特定の値のプラスマイナス10%以内を意味するものとする。

【0419】

アゴニスト：本明細書で使用される場合、「アゴニスト」なる用語は、その最も広い意味で使用され、本明細書に開示される天然ポリペプチドの生物学的活性を部分的または完全に促進、誘導、増加、及び／または活性化するあらゆる分子または化合物を包含する。本開示によるアゴニスト分子は、核酸（例えば、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド）、抗体または抗原結合フラグメント、天然ポリペプチドのフラグメントまたはアミノ酸配列バリエーション、ペプチド、オリゴヌクレオチド、脂質、炭水化物、及び小有機分子を含む。いくつかの実施形態では、アゴニストの存在下での活性化は、用量依存的に観察される。いくつかの態様では、測定されるシグナル（例えば、生物学的活性）は、同等の条件下でネガティブコントロールで測定されるシグナルよりも少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約100%高い。本明細書では、本開示の方法における使用に適したアゴニストを同定する方法も開示される。例えば、これらの方法として、これらに限定されるものではないが、酵素結合免疫吸収アッセイ（ELISA）、Forte Bio（C）システム、蛍光偏光（FP）アッセイ、及びラジオイムノアッセイ（RIA）などの結合アッセイが挙げられる。これらのアッセイは、アゴニストが目的のポリペプチド（例えば、受容体またはリガンド）に結合する能力を決定し、したがって、アゴニストがポリペプチドの活性を促進、増加または活性化する能力を示す。ポリペプチドの機能を活性化または促進するアゴニストの能力などのアゴニストの有効性は、機能的アッセイを使用して決定することもできる。例えば、機能的アッセイは、ポリペプチドを候補アゴニスト分子と接触させることと、ポリペプチドに通常関連する1つ以上の生物学的活性の検出可能な変化を測定することと、を含むことができる。アゴニストの効力は、通常、そのEC₅₀値（アゴニスト応答の50%を活性化するのに必要な濃度）によって定義される。EC₅₀値が低いほど、アゴニストの効力は高くなり、最大の生物学的応答を活性化するのに必要な濃度は低くなる。

【0420】

改善する：本明細書で使用される場合、「改善する」なる用語は、予防、重症度または進行の軽減、寛解、またはそれらの治療を含む、疾患状態、例えばがんの治療におけるあらゆる治療上の有益な結果を指す。

【0421】

アミノ酸：本明細書で使用される場合、「アミノ酸」なる用語は、天然アミノ酸、合成アミノ酸、ならびに天然アミノ酸と同様に機能するアミノ酸類似体及びアミノ酸模倣体のことを指す。天然に存在するアミノ酸とは、遺伝子コードによってコードされるもの、ならびに、例えばヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタミン酸、及びO-ホスホセリンなどの後で修飾されたアミノ酸である。「アミノ酸類似体」とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造（すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基に結合した α 炭素）を有する化合物（例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムなど）のことを指す。かかる類似体は、修飾されたR基（例えばノルロイシン）または修飾されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持している。アミノ酸模倣体とは、アミノ酸の一般的化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様に機能する化合物のことを指す。

10

【0422】

本明細書では、アミノ酸は、それらの一般的に知られる3文字記号によるか、またはIUPAC-IUB生化学命名法委員会により推奨される1文字記号で呼称する場合がある。同様にヌクレオチドも、広く認められている1文字の略号で呼称する場合がある。

【0423】

アミノ酸置換：本明細書で使用される場合、「アミノ酸置換」とは、所定のアミノ酸配列（出発ポリペプチドのアミノ酸配列）中の少なくとも1個の既存のアミノ酸残基の第2の異なる「置換」アミノ酸残基による置換を指す。「アミノ酸挿入」とは、所定のアミノ酸配列中への少なくとも1個のさらなるアミノ酸の組み込みを指す。挿入は通常、1個または2個のアミノ酸残基の挿入からなるが、より大きな「ペプチド挿入」、例えば、約3〜約5個、または最大で約10、15、または20個のアミノ酸残基の挿入を行うこともできる。挿入される残基（複数可）は、上記に開示したように、天然のものでも非天然のものでもよい。「アミノ酸欠失」とは、所定のアミノ酸配列からの少なくとも1個のアミノ酸残基の除去を指す。

20

【0424】

抗原：本明細書で使用される場合、「抗原」なる用語は、抗体またはMHC分子によって提示された場合にT細胞受容体（TCR）が結合することができる分子を指す。「抗原」なる用語には、本明細書で使用される場合、T細胞エピトープも包含される。抗原は、さらに免疫系によって認識されるか、及び／または体液性免疫応答及び／または細胞性免疫応答を誘導することができ、それによりBリンパ球及び／またはTリンパ球が活性化される。しかしながら、これは、少なくとも特定の場において、抗原がTヘルパー細胞エピトープ（Th細胞エピトープ）を含むかまたはこれと連結され、アジュバント中で与えられることを必要とする場合がある。抗原は、1つ以上のエピトープ（B-エピトープ及びT-エピトープ）を有しうる。上記で言うところの特異的反応とは、抗原が、その対応する抗体またはTCRと、通常は高度に選択的な形で好ましくは反応することを意味し、他の抗原によって誘発される多くの他の抗体またはTCRとは反応しないことを示すために用いられる。本明細書で使用される場合の抗原とは、いくつかの個々の抗原の混合物であってもよい。

30

40

【0425】

抗原決定基：本明細書で使用される場合、「抗原決定基」なる用語は、Bリンパ球またはTリンパ球のいずれかによって特異的に認識される抗原の部分を目指すものである。Bリンパ球が抗体産生を介して外来抗原決定基に応答するのに対して、Tリンパ球は細胞性免疫を媒介する。したがって、抗原決定基またはエピトープは、抗体によって認識される、またはMHCとの関連ではT細胞受容体によって認識される抗原の部分である。

【0426】

結合（association）：本明細書で使用される場合、第1及び第2の結合部位に適用される「結合」（association）なる用語は、好ましくは少なくとも

50

1つの非ペプチド結合を介した第1の結合部位と第2の結合部位との結合を指す。結合の性質は、共有結合、イオン性、疎水性、極性またはそれらの任意の組み合わせであってよく、好ましくは結合の性質は共有結合であり、やはりより好ましくは結合は少なくとも1つ、好ましくは1つの非ペプチド結合を介する。本明細書で使用される場合、第1及び第2の結合部位に適用される「結合」(a s s o c i a t i o n)なる用語は、本発明の組成物を形成する第1の結合部位と第2の結合部位との直接的な結合(b i n d i n g)または結合(a s s o c i a t i o n)を包含するばかりでなく、それに代えて、かつ好ましくは、本明細書においては通常、かつ好ましくはヘテロ二官能性架橋剤を使用する、本発明の組成物につながる第1の結合部位と第2の結合部位との間接的な結合(a s s o c i a t i o n)または結合(b i n d i n g)をも包含する。

10

【0427】

第1の結合部位：本明細書で使用される場合、「第1の結合部位」なる語句は、通常、好ましくは抗原または抗原決定基からなる第2の結合部位が結合することができる、通常、好ましくはウイルス様粒子からなる非天然または天然由来の要素を指す。第1の結合部位は、タンパク質、ポリペプチド、アミノ酸、ペプチド、糖、ポリヌクレオチド、天然または合成ポリマー、二次代謝産物または化合物(ビオチン、フルオレセイン、レチノール、ジゴキシゲニン、金属イオン、フェニルメチルスルホニルフルオリド)、またはそれらの組み合わせ、またはそれらの化学反応基であってよい。第1の結合部位は、通常、好ましくはウイルス様粒子の表面に位置する。複数の第1の結合部位が、通常、反復形態でウイルス様粒子の表面に存在している。好ましくは、第1の結合部位は、アミノ酸またはその化学反応基である。

20

【0428】

第2の結合部位：本明細書で使用される場合、「第2の結合部位」なる語句は、ウイルス様粒子の表面に位置する第1の結合部位が結合することができる、抗原または抗原決定基に関連した、通常、好ましくはこれからなる要素を指す。抗原または抗原決定基の第2の結合部位は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、糖、ポリヌクレオチド、天然または合成ポリマー、二次代謝産物または化合物(ビオチン、フルオレセイン、レチノール、ジゴキシゲニン、金属イオン、フェニルメチルスルホニルフルオリド)、またはそれらの組み合わせ、またはそれらの化学反応基であってよい。少なくとも1つの第2の結合部位が、抗原または抗原決定基上に存在する。したがって、「少なくとも1つの第2の結合部位を有する抗原または抗原決定基」とは、少なくとも抗原または抗原決定基及び第2の結合部位を含む抗原または抗原コンストラクトを指す。しかしながら、特に非天然由来の、すなわち抗原または抗原決定基内に天然に存在しない第2の結合部位では、これらの抗原または抗原コンストラクトは、「アミノ酸リンカー」を含む。

30

【0429】

塩基組成：本明細書で使用される場合、「塩基組成」なる用語は、グアニン(またはヒポキサンチン)+シトシン及び/またはウラシル(またはチミン)+アデニン核酸塩基からなる核酸(例えば、RNA)の全ヌクレオチドの割合を指す。

【0430】

塩基対：本明細書で使用される場合、「塩基対」なる用語は、特定の水素結合の形成を介して相互作用する、対向した相補的なポリヌクレオチド鎖、または同じ鎖の領域上の2個の核酸塩基を指す。本明細書で使用される場合、「相補的塩基対合」と互換的に使用される「ワトソン・クリック塩基対合」なる用語は、プリンは常にピリミジンと結合し、したがって、DNA分子中の核酸塩基アデニン(A)はチミン(T)と相補的な塩基対を形成し、グアニン(G)はシトシン(C)と相補的な塩基対を形成する、という塩基対合の一連の規則を指す。RNA分子ではチミンはウラシル(U)に置き換えられ、チミン(T)と同様、アデニン(A)と相補的な塩基対を形成する。相補的な塩基対同士は水素結合によって互いに結合され、水素結合の数は塩基対間で異なる。当該技術分野では周知であるように、グアニン(G)とシトシン(C)との塩基対は3個の水素結合によって結合され、アデニン(A)とチミン(T)またはウラシル(U)との塩基対は2個の水素結合に

40

50

よって結合される。

【0431】

これらの規則に従わない塩基対合相互作用が天然、非天然、及び合成核酸において生じうるが、これらは本明細書では「非ワトソン・クリック塩基対合」、あるいは「非標準的な塩基対合」と呼ばれる。「ゆらぎ塩基対」とは、ワトソン・クリック塩基対合則に従わないRNA分子中の2個の核酸塩基間の対合のことである。例えば、イノシンはグアノシンと構造的に類似しているが、2-アミノ基を欠いているヌクレオシドである。イノシンは、4種類の天然核酸塩基のそれぞれと2個の水素結合を形成することができ(Oda et al., (1991) *Nucleic Acids Res* 19:5263-5267)、研究者によって「ユニバーサル」塩基としてしばしば使用されるが、これは天然に存在するすべての塩基すなわち標準的な塩基と塩基対合できることを意味する。4つの主要なゆらぎ塩基対として、グアニン-ウラシル(G-U)塩基対、ヒポキサンチン-ウラシル(I-U)塩基対、ヒポキサンチン-アデニン(I-A)塩基対、及びヒポキサンチン-シトシン(I-C)塩基対がある。核酸命名法の一貫性を保つため、ヒポキサンチンはイノシンの核酸塩基であることからヒポキサンチンには「I」を用いる。それ以外の点では、命名法は、核酸塩基及びそれらに対応するヌクレオシドの名称に従う(例えば、グアニン及びグアノシンの両方に対して、またデオキシグアノシンに対して「G」)。ゆらぎ塩基対の熱力学的安定性は、ワトソン・クリック塩基対の熱力学的安定性と同等である。ゆらぎ塩基対は、RNA分子の二次構造の形成において役割を果たしている。

【0432】

一態様では、本開示では、1つ以上のRLR様受容体(RLR)をアゴナイズするかまたは活性化する合成RNA分子を提供するが、その場合、イノシンはシチジンと塩基対合する(I-C塩基対)位置にのみ挿入することができる。すなわち、イノシンはグアノシンを置換することができるが、他のヌクレオシドを置換することはできない。

【0433】

生物学的に活性な：本明細書で使用される場合、「生物学的に活性な」なる語句は、生物学的システム及び／または生物で活性を有する任意の物質の特性を指す。例えば、ある生物に投与された場合に、その生物に生物学的効果を有する物質は、生物学的に活性であるとみなされ、したがって「生物学的活性」を有する。核酸が生物学的に活性であるような特定の実施形態では、核酸全体の少なくとも1つの生物学的活性を共有するその核酸の部分は、一般的に「生物学的に活性な」部分と呼ばれる。

【0434】

結合した(bound)：本明細書で使用される場合、「結合した(bound)」なる用語は、例えば、共有結合(例えば、化学的結合による)、または非共有結合(例えば、イオン性相互作用、疎水性相互作用、水素結合など)であってよい結合を指す。共有結合は、例えば、エステル結合、エーテル結合、ホスホジエステル結合、アミド結合、ペプチド結合、イミド結合、炭素硫黄結合、炭素リン結合などでありうる。「結合した(bound)」なる用語は、「結合された(coupled)」、「融合した」、「結合した(associated)」及び「付着した」などの用語よりも広く、これらを包含する。さらに、ウイルス様粒子に結合しているRLRアゴニストに関して、「結合した(bound)」なる用語は、RLRアゴニストの封入、または部分的な封入も含む。したがって、ウイルス様粒子に結合しているRLRアゴニストに関して、「結合した(bound)」なる用語は、「結合された(coupled)」、「融合した」、「封入された」、「パッケージングされた」及び「付着した」などの用語よりも広く、これらを包含する。例えば、RLRアゴニストは、共有結合にも非共有結合にもよらず、実際の結合なしでVLPによって封入されうる。

【0435】

コートタンパク質：本明細書で使用される場合、「コートタンパク質(複数可)」なる用語は、バクテリオファージまたはRNAファージのカプシドアセンブリに組み込まれるバクテリオファージまたはRNAファージのタンパク質(複数可)を指す。しかしなが

10

20

30

40

50

ら、RNAファージのコートタンパク質遺伝子の特定の遺伝子産物について言う場合、「CP」なる用語が用いられる。例えば、RNAファージQβのコートタンパク質遺伝子の特定の遺伝子産物が「Qβ CP」と呼ばれるのに対して、バクテリオファージQβの「コートタンパク質」には「Qβ CP」だけでなくA1タンパク質も含まれる。バクテリオファージQβのカプシドは、主としてQβ CPで構成され、少量のA1タンパク質を含有する。同様に、VLP Qβのコートタンパク質は主としてQβ CPを含有し、少量のA1タンパク質を含有する。

【0436】

共有結合により連結された：本明細書で使用される場合、「共有結合により連結された」（あるいは、「結合された（conjugated）」、「連結された」、「付着された」、「融合された」、または「繫留された」）なる用語は、2つ以上の部分に関して使用される場合、化学的結合、組換え技術または酵素活性を含む何らかの手段によって、各部分同士が、直接的にまたは架橋剤として働く1つ以上のさらなる部分を介して互いに物理的に結合または連結されることで、各部分同士が、使用される条件（例えば生理学的条件）下で物理的な結合状態に維持されるように十分に安定した構造を形成することを指す。

【0437】

相補的な：本明細書で使用される場合、「相補的な」または「相補性」なる用語は、2本のポリヌクレオチド鎖、または同じポリヌクレオチド鎖の複数の領域を構成するヌクレオチドの配列と、これらの鎖または領域を含む二重鎖の形成との間の関係であって、2本の鎖または各領域間の連続する塩基対合の程度が二重鎖構造の形成に十分であるような関係を指す。アデニン（A）はチミン（T）またはウラシル（U）と特定の水素結合、すなわち「塩基対」を形成することが知られている。同様に、シトシン（C）はグアニン（G）と塩基対合することが知られている。また、非標準的な核酸塩基（例えば、イノシン）が天然塩基と水素結合できることも知られている。ポリヌクレオチドの第1の鎖、またはその領域、部分もしくは断片を構成するヌクレオチドの配列は、同じもしくは異なる核酸の第2の鎖、またはその領域、部分、もしくは断片を構成するヌクレオチドの配列と、第1の鎖と第2の鎖とが逆平行に配置されている場合、2本の鎖間の塩基対合の程度が、二重鎖構造が使用される条件（例えば、細胞内の生理学的条件）下で二重鎖構造を維持する場合に「十分に相補的である」と言われる。ポリヌクレオチドの相補的な鎖または領域は、非相補的であるいくつかの塩基対を含みうる点を理解されたい。相補性は「部分的」であってもよく、その場合、ポリヌクレオチドを構成する核酸塩基の一部のみが塩基対合則に従って一致する。または、核酸間の相補性は「完全」または「全体的」であってもよい。ポリヌクレオチド鎖または領域間の相補性度は、鎖または領域間のハイブリダイゼーションの効率及び強さに大きく影響するが、2つの相補的ポリヌクレオチドがすべてのヌクレオチド位置で塩基対合する必要はない。いくつかの実施形態では、第1のポリヌクレオチドは、第2のポリヌクレオチドと100%または「完全に」相補的であり、したがって、すべてのヌクレオチド位置で塩基対を形成する。いくつかの実施形態では、第1のポリヌクレオチドは、100%相補的ではなく（例えば、90%、または80%または70%相補的である）、1つ以上のヌクレオチド位置においてミスマッチヌクレオチドを含む。完全な相補性がしばしば望ましいが、実施形態によっては、1つ以上、好ましくは6、5、4、3、2、または1個のミスマッチを含む場合もある。

【0438】

接触させる：本明細書で使用される場合、「接触させる」なる用語は、2つ以上の実体間の物理的接続を確立することを意味する。例えば、細胞を薬剤（例えばRNA、脂質ナノ粒子組成物、または本開示の他の医薬組成物）と接触させることは、細胞と薬剤とに物理的接続を共有させることを意味する。インビボ、インビトロ、及びエクスピボの両方で細胞を外部実体と接触させる方法は、生物学の技術分野では周知のものである。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、単離されたRNA、ナノ粒子、または本開示の医薬組成物）と接触させる工程は、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）体内に配置されうる細胞（例えば、哺乳動物

10

20

30

40

50

細胞)との接触は、任意の適当な投与経路(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)によって行うことができる。インビトロに存在する細胞の場合、例えば、組成物を細胞の培養培地に添加することによって組成物(例えば、脂質ナノ粒子または単離されたRNA)と細胞とを接触させてもよく、これにより、トランスフェクションが行われるかまたは生じうる。さらに、複数の細胞を1つの薬剤と接触させてもよい。

【0439】

結合された(coupled):本明細書で使用される場合、「結合された(coupled)」なる用語は、共有結合による付着または強い非共有結合相互作用による付着を指す。ウイルス様粒子への抗原の結合に関して、「結合された(coupled)」なる用語は、好ましくは、共有結合による付着を指す。さらに、ウイルス様粒子への抗原の結合に関して、「結合された」なる用語は、好ましくは、少なくとも1つの非ペプチド結合による結合及び付着をそれぞれ指す。生物学的活性物質の結合のために当業者により通常使用される任意の方法を本発明において使用することができる。

10

【0440】

変性:本明細書で使用される場合、「変性」なる用語は、核酸中の塩基対合したヌクレオチド間の水素結合が切断され、二次及び／または三次核酸構造の喪失(例えば、以前にアニーリングされた鎖の分離)をもたらすプロセスを指す。変性は、核酸への外部の物質、エネルギー、または生化学的プロセスの適用によって生じうる。

【0441】

抗原提示細胞:「抗原提示細胞」または「APC」なる用語は、MHCと複合体化された外来抗原をその表面に提示する細胞である。T細胞は、T細胞受容体(TCR)を用いてこの複合体を認識する。APCの例としては、これらに限定されるものではないが、樹状細胞(DC)、末梢血単核細胞(PBMC)、単球(THP-1など)、Bリンパ芽球細胞(C1R.A2、1518 B-LCLなど)及び単球由来樹状細胞(DC)が挙げられる。APCの一部のものは、食作用または受容体介在性エンドサイトーシスにより抗原を取り込む。

20

【0442】

アポトーシス:本明細書で使用される場合、「アポトーシス」なる用語は、多細胞生物(例えばヒト)において起こるプログラムされた細胞死のプロセスを指す。アポトーシスをもたらす高度に調節された生化学的及び分子的事象は、膜ブレbbing、細胞体積の収縮、染色体DNAの凝縮及び断片化、及びmRNA崩壊を含む、観察可能で特徴的な形態学的変化を細胞にもたらしうる。アポトーシスを起こしているT細胞を含む細胞を同定する一般的な方法として、細胞をフルオロフォア結合タンパク質(アネキシンV)に曝露することがある。アネキシンVは、細胞がアポトーシスのプロセスにあることの初期の指標である原形質膜の外側小葉上のホスファチジルセリンに結合するその能力によってアポトーシス細胞を検出するために一般的に使用されている。

30

【0443】

平滑末端:本明細書で使用される場合、「平滑末端」、「平滑末端化された」なる用語は、二重鎖を構成する相補鎖の両方が、少なくとも一方の末端において1つの塩基対で終端する、二重鎖または二本鎖核酸の末端の構造を指す。したがって、二重鎖を構成するどちらの鎖も、他方よりも末端からさらに延びていない。

40

【0444】

がん抗原:本明細書で使用される場合、「がん抗原」とは、(i)新生抗原などの腫瘍特異的抗原、(ii)腫瘍関連抗原、(iii)腫瘍特異的抗原を発現する細胞、(iv)腫瘍関連抗原を発現する細胞、(v)腫瘍上の胚性抗原、(vi)自家腫瘍細胞、(vii)腫瘍特異的膜抗原、(viii)腫瘍関連膜抗原、(ix)増殖因子受容体、(x)増殖因子リガンド、及び(xi)がんに関連する任意の他の種類の抗原または抗原提示細胞または物質を指す。

【0445】

50

がん：本明細書で使用される場合、「がん」なる用語は、当該技術分野では認識されているものであり、呼吸器系がん、消化器系がん、泌尿生殖器系がん、精巣癌、乳癌、前立腺癌、内分泌系がん、及び黒色腫を含む上皮または内分泌組織の悪性腫瘍を指す。本明細書に記載されるR I G - I様受容体(R L R)アゴニストは、腎癌または黒色腫を含むあらゆる種類のがんを有するか、有することが疑われるか、または発症するリスクが高いと考えられる患者を治療するために使用することができる。例示的ながんとしては、子宮頸部、肺、前立腺、乳房、頭頸部、結腸及び卵巣の組織から発生するがんが挙げられる。この用語には、がん性及び肉腫性組織で構成される悪性腫瘍を含むがん肉腫も含まれる。「腺癌」は、腺組織に由来するがん、または腫瘍細胞が認識可能な腺構造を形成するがんを指す。

10

【0446】

細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答：本明細書で使用される場合、「細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答」なる用語は、細胞傷害性T細胞によって誘導される免疫反応を指す。CTL応答は、主としてCD8+T細胞によって媒介される。

【0447】

二重鎖：本明細書で使用される場合、「二重鎖」なる用語は、二本鎖ポリヌクレオチドの相補鎖またはそれ自体に折り返される一本鎖ポリヌクレオチドの相補的領域によって形成される構造を指す。核酸の二重鎖構造は、塩基対合の相互作用によって相補的なヌクレオチド配列が互いに結合またはハイブリダイズする結果として生じる。

【0448】

EC50：本明細書で使用される場合、「EC50」なる用語は、インビボまたはインビトロのアッセイにおいて、最大応答の50%、すなわち最大応答とベースラインとの中間の応答を誘導するアゴニストの濃度を指す。

20

【0449】

有効量：本明細書で使用される場合、「有効量」または「有効投与量」なる用語は、所望の効果を得る、または少なくとも部分的に得るうえで十分な量として定義される。

【0450】

融合：本明細書で使用される場合、「融合」なる用語は、異なる由来のアミノ酸配列のコードヌクレオチド配列のインフレームでの組み合わせによる、1つのポリペプチド鎖内でのそれらの組み合わせを指す。「融合」なる用語は、その一方の末端への融合以外に、内部融合、すなわちポリペプチド鎖内への異なる由来の配列の挿入を明示的に包含する。

30

【0451】

ヘアピンRNA：本明細書で使用される場合、「ヘアピンRNA」または「RNAヘアピン」なる用語は、相補的ヌクレオチド鎖からなる二本鎖RNA(dsRNA)ステムを含む自己相補的なRNAを指し、その相補的ヌクレオチド鎖は塩基対合して二重鎖を形成し、一方の端部において、不對ヌクレオチドからなる不對ヌクレオチドのループ(例えば、テトラループ)を含むヌクレオチドリinkerまたは柔軟な化学部分(例えば、エチレングリコール)を含む非ヌクレオチドリinkerで終端し、これらのいずれかが相補的ヌクレオチド鎖同士を連結する。RNAヘアピンは、ステムの長さ、ループ及び／またはリンカーのサイズ及び／または組成、ステム内の塩基対ミスマッチの数、及び実際のヌクレオチド配列において異なりうる。RNAヘアピンは、これらに限定されるものではないが、ヘアピンを含むRNA分子の全体的なフォールディングを導くこと、リボザイムにおける相互作用を決定すること、メッセンジャーRNA(例えば、mRNA)を分解から保護すること、RNA結合タンパク質の認識モチーフまたは構造として機能すること、及び酵素反応の基質として作用することを含む1つ以上の機能を与えることができる。RNAヘアピンの構造及び機能のさらなる説明は、S v o b o d a a n d D i C a r a (2006) C e l l M o l L i f e S c i 63(7-8):901-908、及び当該文献に含まれる参考文献に見ることができる。いくつかの実施形態では、本開示によって提供されるRLRアゴニストを構成するヘアピンRNAのステム領域は、5'三リン酸または二リン酸を有する平滑末端で終端する。

40

50

【0452】

改善された生物学的活性：本明細書で使用される場合、生物学的活性を「改善する」組成物とは、組成物の添加なしで測定された同じ生物学的活性と比較した場合に組成物の添加によって生物学的活性が何らかの形でより高くなるか、または強度が高くなるか、または逸脱することが観察されるような物質を指す。例えば、分泌されるサイトカインの量を、例えばELISAアッセイを用いて、組成物によってまたは組成物なしで処理した試料から測定することができる。組成物の非存在下でのサイトカイン分泌量と比較してサイトカイン分泌が増加する組成物の量は、生物活性を改善するのに十分な量であるといえる。一実施形態では、生物学的活性は、少なくとも約2倍、より好ましくは約3倍以上改善される。細胞傷害性T細胞の溶解活性も変化する。

10

【0453】

必要とする：本明細書で使用される場合、「予防を必要とする」、「治療を必要とする」、または「それを必要とする」対象とは、適切な医療従事者（例えば、ヒトの場合では医師、看護師、または診療看護師、非ヒト哺乳動物の場合では獣医師）の判断により、特定の治療（RIG-I様受容体アゴニストを含む組成物による治療など）から妥当な利益を得ると考えられる者を指す。

【0454】

リンカー：本明細書で使用される場合、「リンカー」（あるいは「テザー」または「スパーサー」）なる用語は、2つのポリヌクレオチド鎖または領域同士を互いに共有結合により結合、付着または連結する部分を指す。本明細書で使用される場合、ヌクレオチドを含むリンカーは、「ヌクレオチドリリンカー」（例えばテトラループ）と呼ばれる。本明細書で使用される場合、「非ヌクレオチドリリンカー」なる用語は、化学的部分を含み、ヌクレオチドを含まないリンカーを指す。非ヌクレオチドリリンカーの非限定的な例としては、エチレングリコール（例えば、ヘキサエチレングリコール）、アルキル鎖（例えば、C9アルキルリンカー）、及びスチルベンジエーテルを含むリンカーが挙げられる。リンカーのさらなる説明は、本明細書に参照によりその全体を援用するParedes et al., (2011) Methods 54: 251-259に見ることができる。

20

【0455】

LGP2：本明細書で使用される場合、「LGP2」なる用語は、RIG-I様受容体ファミリーの特定のメンバーであり、ヒトにおいてDHX58遺伝子によってコードされるLabrotatory of Genetics and Physiology 2ポリペプチドを指す。当該技術分野におけるLGP2の別名及び頭字語としては、DHX58、D11LGP2、D11Igp2e、及びRLR-3が含まれる。完全長のヒトLGP2の例示的なアミノ酸配列を表4（配列番号100）及び以下に記載する。

30

【0456】

MELRSYQWEVIMPALEGKNI I IWLPTGAGKTRAAAYVAK
RHLETVDGAKVVVLVNRVHLVTQHGE EFRRMLDGRWTVTT
LSGDMGPRAGFGHLARCHDLLICTAELLQMALTSPEEEEH
VELTVFSLIVVDECHHTHKDTVYNVIMSQYLELKLQRAQP
LPQVLGLTASPGTGASKLDGAINHVLQLCANLDTWCIMS
PQNCCPQLQEHSQQPCKQYNLCHRRSQDPFGDLLKKLMDQ
IHDHLEMP ELSRKFGTQMYEQQVVKLSEAAALAGLQEQRV
YALHLRRYNDALLIHDTVRAVDALAALQDFYHREHVTKTQ
ILCAERRLLALFDDRKNELAHLATHGPENPKLEMLEKILQ
RQFSSSNSPRGIIIFTRTRQSAHSLLLWLQQQQGLQTVDIR
AQLLIGAGNSSQSTHMTQRDQQEVIQKFQDGTNLNLVATS
VAEEGLDIPHCVVVRVYGLLTNEISMVQARGRARADQSVY
AFVATEGSRELKRELINAELETLM EQAVAAVQKMDQAEYQ
AKIRD LQQAALT KRAAQAAQRENQRQQFPVEHVQLLCINC
MVA VGHGSDLRKVEGTHHVNVNPNF SNYYNVSRDPVVINK

40

50

V F K D W K P G G V I S C R N C G E V W G L Q M I Y K S V K L P V L K V R S M L
L E T P Q G R I Q A K K W S R V P F S V P D F D F L Q H C A E N L S D L S L D
(NCBPアクセッション番号：NP_077024.2)

【0457】

局所投与：本明細書で使用される場合、「局所投与」または「局所送達」は、血管系を介したその目的とする標的組織または部位への組成物または薬剤の輸送に依存しない送達を指す。例えば、組成物は、組成物または薬剤の注射もしくは埋め込みによって、または組成物または薬剤が入った装置の注射もしくは埋め込みによって送達することができる。標的組織または部位の近傍での局所投与の後、組成物もしくは薬剤、またはそれらの1つ以上の成分は目的とする標的組織または部位へと拡散することができる。

10

【0458】

MDA5：本明細書で使用される場合、「MDA5」なる用語は、RIG-I様受容体ファミリーの特定のメンバーであり、ヒトにおいてIFIH1遺伝子によってコードされるMelanoma Differentiation-Associated Protein 5ポリペプチドを指す。当該技術分野におけるMDA5の別名及び頭字語としては、AGS7、Hlcd、IDDM19、MDA-5、RLR-2、SGMRT1、及びヘリカーゼCDメイン1により誘導されるインターフェロンが含まれる。完全長のヒトMDA5の例示的なアミノ酸配列を表4（配列番号99）及び以下に記載する。

【0459】

M S N G Y S T D E N F R Y L I S C F R A R V K M Y I Q V E P V L D Y L T F L P
A E V K E Q I Q R T V A T S G N M Q A V E L L L S T L E K G V W H L G W T R E F
V E A L R R T G S P L A A R Y M N P E L T D L P S P S F E N A H D E Y L Q L L N
L L Q P T L V D K L L V R D V L D K C M E E E L L T I E D R N R I A A A E N N G
N E S G V R E L L K R I V Q K E N W F S A F L N V L R Q T G N N E L V Q E L T G
S D C S E S N A E I E N L S Q V D G P Q V E E Q L L S T T V Q P N L E K E V W G
M E N N S S E S S F A D S S V V S E S D T S L A E G S V S C L D E S L G H N S N
M G S D S G T M G S D S D E E N V A A R A S P E P E L Q L R P Y Q M E V A Q P A
L E G K N I I I C L P T G S G K T R V A V Y I A K D H L D K K K K A S E P G K V
I V L V N K V L L V E Q L F R K E F Q P F L K K W Y R V I G L S G D T Q L K I S
F P E V V K S C D I I I S T A Q I L E N S L L N L E N G E D A G V Q L S D F S L
I I I D E C H H T N K E A V Y N N I M R H Y L M Q K L K N N R L K K E N K P V I
P L P Q I L G L T A S P G V G G A T K Q A K A E E H I L K L C A N L D A F T I K
T V K E N L D Q L K N Q I Q E P C K K F A I A D A T R E D P F K E K L L E I M T
R I Q T Y C Q M S P M S D F G T Q P Y E Q W A I Q M E K K A A K E G N R K E R V
C A E H L R K Y N E A L Q I N D T I R M I D A Y T H L E T F Y N E E K D K K F A
V I E D D S D E G G D D E Y C D G D E D E D D L K K P L K L D E T D R F L M T L
F F E N N K M L K R L A E N P E Y E N E K L T K L R N T I M E Q Y T R T E E S A
R G I I F T K T R Q S A Y A L S Q W I T E N E K F A E V G V K A H H L I G A G H
S S E F K P M T Q N E Q K E V I S K F R T G K I N L L I A T T V A E E G L D I K
E C N I V I R Y G L V T N E I A M V Q A R G R A R A D E S T Y V L V A H S G S G
V I E H E T V N D F R E K M M Y K A I H C V Q N M K P E E Y A H K I L E L Q M Q
S I M E K K M K T K R N I A K H Y K N N P S L I T F L C K N C S V L A C S G E D
I H V I E K M H H V N M T P E F K E L Y I V R E N K A L Q K K C A D Y Q I N G E
I I C K C G Q A W G T M M V H K G L D L P C L K I R N F V V V F K N N S T K K Q
Y K K W V E L P I T F P N L D Y S E C C L F S D E D

20

30

40

(NCBPアクセッション番号：NP_071451.2)

【0460】

修飾された：本明細書で使用される場合、「修飾された」または「修飾」は、ポリヌクレオチド、例えばRNAの修飾から生じる変化した状態また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形で修飾されうる。例

50

例えば、本開示のRNA分子は、非天然塩基、または生物学的活性を与える機能的配列または二次構造を含む配列モチーフの組み込みによって修飾することができる。一実施形態では、RNAは、天然リボヌクレオチドA、U、G、及びCに関連する非天然または化学的に修飾された塩基、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。

【0461】

本明細書で使用される場合、「天然の」なる用語は、ある対象について用いられる場合、対象が自然界にみられることを指す。例えば、自然界のソースから単離可能であり、実験室で人間によって人為的に改変されていない、生物（ウイルスを含む）中に存在するポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列、またはアミノ酸もしくはヌクレオチドなどのその成分は、天然のものである。

【0462】

核酸：本明細書で使用される場合、「核酸」なる用語は、一本鎖または二本鎖形態のデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド及びそれらのポリマーまたはオリゴマーを指す。特に限定されない限り、この用語には、参照核酸と同様の結合特性を有し、天然のヌクレオチドと同様の形で代謝される天然ヌクレオチドの既知の類似体を含む核酸が含まれる。ヌクレオチドのポリマーは、「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、これらに限定されるものではないが、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DNA、三重らせん形成を誘導するRNA、スレオース核酸（TNA）、グリコール核酸（GNA）、ペプチド核酸（PNA）、ロック核酸（LNA、β-D-リボ配置を有するLNA、α-L-リボ配置を有する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を含む）、またはこれらのハイブリッドが挙げられる。

【0463】

本明細書で使用されるポリヌクレオチドは、未修飾のRNAもしくはDNA、または修飾されたRNAもしくはDNAであってよい、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドで構成することができる。例えば、ポリヌクレオチドは、一本鎖及び二本鎖DNA、一本鎖及び二本鎖領域の混合物であるDNA、一本鎖及び二本鎖RNA、及び一本鎖及び二本鎖領域の混合物であるRNA、一本鎖またはより一般的には二本鎖、または一本鎖及び二本鎖領域の混合物であってよいDNA及びRNAを含むハイブリッド分子で構成することができる。さらに、ポリヌクレオチドは、RNAまたはDNA、またはRNA及びDNAの両方を含む三本鎖領域で構成されてもよい。ポリヌクレオチドはまた、安定性または他の理由のために修飾された1つ以上の修飾塩基またはDNAもしくはRNA骨格も含みうる。「修飾された」塩基としては、例えば、トリチル化塩基が挙げられる。「修飾ヌクレオシド」としては、例えば、イノシン及びRNA中に見出されるかまたはRNAを構成する場合、チミンが挙げられる。様々な修飾をDNA及びRNAに行うことができる。したがって、「ポリヌクレオチド」には、化学的、酵素的、または代謝的に修飾された形態が含まれる。

【0464】

核酸構造：本明細書で使用される場合、「核酸構造」なる用語は、核酸（例えばRNA）を構成する原子、化学成分、要素、モチーフ、及び／または核酸の配列の配置または組織を指し、及び／または核酸の2次元または3次元状態を指す場合もある。したがって、「RNA構造」なる用語は、RNA分子（例えば、mRNA）を構成する原子、化学成分、要素、モチーフ、及び／または核酸の配列の配置または組織を指し、及び／またはRNA分子の2次元及び／または3次元状態を指す場合もある。核酸構造は、組織の複雑さが大きくなる順に、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つの組織カテゴリーにさらに区分することができる。

【0465】

核酸塩基：本明細書で使用される場合、「核酸塩基」（あるいは「ヌクレオチド塩基」

10

20

30

40

50

または「窒素含有塩基」) なる用語は、核酸中に見出されるプリンまたはピリミジン複素環式化合物を指し、核酸またはその部分もしくはセグメントに改善された特性（例えば結合親和性、ヌクレアーゼ耐性、化学的安定性）を付与する天然のプリン及びピリミジンの任意の誘導体または類似体を含む。アデニン、シトシン、グアニン、チミン、及びウラシルは、主として天然核酸にみられる主要なまたは標準的な核酸塩基である。他の天然、非天然、非標準的及び／または合成核酸塩基を、本明細書に開示されるものなどの核酸に組み込むこともできる。

【0466】

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」なる用語は、核酸塩基（例えば、プリンまたはピリミジン）、またはその誘導体もしくは類似体（本明細書ではやはり「核酸塩基」と呼ばれる）に共有結合で連結された糖分子（例えば、RNA中のリボースまたはDNA中のデオキシリボース）、またはその誘導体もしくは類似体を含む化合物を指す。本明細書で使用される場合、「ヌクレオチド」なる用語は、リン酸基に共有結合で連結されたヌクレオシドを指す。本明細書において使用される場合、「リボヌクレオシド」なる用語は、リボースと核酸塩基（例えば、アデノシン（A）、シチジン（C）、グアノシン（G）、5-メチルウリジン（m⁵U）、ウリジン（U）、またはイノシン（I））とを含むヌクレオシドを指す。

【0467】

機能的に連結された：本明細書で使用される場合、ポリヌクレオチドもしくはオリゴヌクレオチドなどの核酸、またはそのフラグメントもしくはその部分は、別の核酸配列、またはフラグメントもしくはその部分と機能的関係に置かれる場合に「機能的に連結」される。

【0468】

規則的かつ反復的な抗原または抗原決定基のアレイ：本明細書で使用される場合、「規則的かつ反復的な抗原または抗原決定基のアレイ」なる用語は、それぞれコア粒子及びウイルス様粒子に対する抗原または抗原決定基の通常、好ましくは均一な空間的配置によって特徴付けられる、抗原または抗原決定基の反復パターンを一般的に指す。いくつかの実施形態では、反復パターンは、幾何学的パターンでありうる。規則的かつ反復的な抗原または抗原決定基のアレイの一般的な例は、好ましくは0.5～30ナノメートル、より好ましくは3～15ナノメートル、さらにより好ましくは3～8ナノメートルの間隔を有する、厳密に反復的な準結晶秩序の抗原または抗原決定基を有するものである。

【0469】

パッケージング：本明細書で使用される場合、「パッケージング」なる用語は、VLPに関連するRLRアゴニストの状態を指す。本明細書で使用される場合、「パッケージング」なる用語は、例えば、共有結合（例えば、化学的結合による）、または非共有結合（例えば、イオン性相互作用、疎水性相互作用、水素結合など）であってよい結合を含む。共有結合は、例えば、エステル結合、エーテル結合、ホスホエステル結合、アミド結合、ペプチド結合、イミド結合、炭素硫黄結合、炭素リン結合などでありうる。この用語には、物質の封入、または部分的な封入も含まれる。「パッケージング」なる用語には、「結合された」、「封入された」及び「付着された」などの用語が含まれる。例えば、RLRアゴニストは、共有結合にも非共有結合にもよらず、実際の結合なしでVLPによって封入されうる。いくつかの実施形態では、「パッケージングされた」なる用語は、パッケージングされた状態の核酸がDNaseまたはRNaseによる加水分解を受けないことを示す。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、VLPカプシドの内部に、最も好ましくは非共有結合による形でパッケージングされる。

【0470】

ポリヌクレオチド／オリゴヌクレオチド：本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」及び「オリゴヌクレオチド」なる用語は互換的に使用され、天然の塩基、糖及び糖間（骨格）結合からなるヌクレオチドまたはヌクレオシドモノマーの一本鎖または二本鎖ポリマーもしくはオリゴマーを指す。「ポリヌクレオチド」及び「オリゴヌクレオチド」

10

20

30

40

50

なる用語には、同様に機能する非天然の塩基、糖及び糖間（骨格）結合、またはそれらの部分を含むポリマー及びオリゴマーも含まれる。「ポリヌクレオチド」なる用語は任意の長さのヌクレオチドのポリマー形態を包含するため、ポリヌクレオチドは、ヌクレオチド配列のいずれの特定の長さにも限定されない。短いポリヌクレオチドは、当該技術分野では一般的には「オリゴヌクレオチド」と呼ばれる。本開示との関連においては、修飾によってサイトカイン産生の増加、細胞取り込みの増加及び／またはヌクレアーゼの存在下での安定性の増加を含む（ただしこれらに限定されない）1つ以上の望ましい、または有益な生物学的特性または活性が増加することから、このような修飾または置換ポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドが天然のポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドに優先してしばしば使用される。いくつかの実施形態では、本開示のアゴニストは、1つ以上の有益な特性を付与するか、または生物学的活性を増加させる（例えば、ヌクレアーゼ耐性の増加、細胞への取り込みの増加、二重鎖安定性の増加、標的ポリペプチドへの結合親和性の増加）修飾ヌクレオチドの少なくとも1つの領域を含むポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドを含む。

10

【0471】

パリンドローム配列：本明細書で使用される場合、「パリンドローム配列」（あるいは「パリンドローム」）なる用語は、自己相補的であるヌクレオチドの配列であって、5'から3'方向のヌクレオチドの配列が、相補鎖を構成するヌクレオチドの配列を5'から3'方向に読んだ場合に同じであるような配列を指す。例えば、配列5'-ACCTAGGT-3'は、その相補配列である3'-TGGATCCA-5'が、5'から3'方向に読んだ場合に20元の配列と同じであるため、パリンドローム配列である。これに対して、配列5'-AGTGGCTG-3'は、その相補配列である3'-TCAACCGAC-5'が、5'から3'方向に読んだ場合に元の配列と同じでないため、パリンドローム配列ではない。

【0472】

一実施形態では、アゴニストは第1のオリゴヌクレオチドからなり、第1のオリゴヌクレオチドの配列はパリンドローム配列である。別の実施形態では、アゴニストは第1のオリゴヌクレオチドからなり、第1のオリゴヌクレオチドはパリンドローム配列を含む。

【0473】

一実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドのパリンドローム配列は、オリゴヌクレオチドの5'末端とオリゴヌクレオチドの3'末端の両方を含み、したがって平滑末端を形成する。本発明の一実施形態では、オリゴヌクレオチドは単一のパリンドローム配列を含み、本発明の別の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、平滑末端を有するヘアピン二重鎖を形成するように、1つまたは2つの異なるオリゴヌクレオチド内の2つのパリンドロームを連結する介在配列、スパーサー、またはリンカーを挟んだ2つの相補的なパリンドロームを含む。

30

【0474】

非経口投与：本明細書で使用される場合、「非経口投与」及び「非経口投与される」ならびに他の文法的に等価な語句は、経腸及び局所投与以外の投与様式を指し、通常、注射によるものであり、これらに限定されるものではないが、静脈内、鼻腔内、眼内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外、脳内、頭蓋内、頸動脈内、及び胸骨内注射及び注入が含まれる。

40

【0475】

患者：本明細書で使用される場合、「患者」なる用語は、予防的または治療的処置のいずれかを受けるヒト及び他の哺乳動物対象を含む。

【0476】

本明細書において使用される場合、2つ以上の核酸またはポリペプチドの配列との関連での「同一率」（%）なる用語は、下記の配列比較アルゴリズム（例えば、BLASTP及びBLASTN、または当業者が利用可能な他のアルゴリズム）のうちの1つを用いて、または目視検査により測定される、最大の一致について比較し、整列させた場合に、ヌ

50

クレオチドまたはアミノ酸残基の特定の比率（％）が同じであるような2つ以上の配列または部分配列のことを指す。用途に応じて、「同一率」（％）は、比較される配列の領域にわたって、例えば、機能ドメインにわたって存在するか、あるいは、比較される2つの配列の完全長にわたって存在することができる。配列比較では、一般的に、1つの配列が、試験配列が比較される参照配列として機能する。配列比較アルゴリズムを用いる場合、試験配列及び参照配列をコンピュータに入力し、必要な場合には部分配列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムのパラメータを指定する。次いで、配列比較アルゴリズムが、指定されたプログラムパラメータに基づいて、参照配列に対する試験配列（複数可）の配列同一率（％）を算出する。2個の配列間の同一率（％）は、2個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ギャップの数及び各ギャップの長さを考慮した、2個の配列によって共有された同一位置の数の関数である（すなわち、相同率（％）＝同一位置の数／位置の総数×100）。2個の配列間の配列の比較及び同一率（％）の決定は、以下の非限定的な例に述べられるように数学的アルゴリズムを用いて実現することができる。

【0477】

比較を行うための配列の最適なアラインメントは、例えば、Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981) の局所相同性アルゴリズムによって、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443 (1970) の相同性アラインメントアルゴリズムによって、Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85: 2444 (1988) の類似性の探索法によって、これらのアルゴリズムのコンピュータ処理による実行 (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis. におけるGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA) によって、または目視検査によって（一般的には、下記のAusubel et al. を参照）実施することができる。

【0478】

配列同一率（％）及び配列類似率（％）を決定するのに適したアルゴリズムの1つの例として、Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990) に記載されるBLASTアルゴリズムがある。BLAST解析を行うためのソフトウェアは、National Center for Biotechnology Informationウェブサイトを通じて公に入手可能である。2個のヌクレオチド配列間の同一率（％）は、GCGソフトウェアパッケージ (<http://www.gcg.com>より入手可能) のGAPプログラムを使用し、NWSgapdna.CMPマトリクス及びギャップ重み=40、50、60、70、または80、及び長さ重み=1、2、3、4、5、または6を用いて求めることができる。2個のヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の同一率（％）は、ALIGNプログラム (version 2.0) に組み込まれたE. Meyers及びW. Millerのアルゴリズム (CABIOS, 4: 11-17 (1989)) を使用し、PAM120重み残基表、ギャップ長ペナルティ=12、ギャップペナルティ=4を用いて求めることもできる。さらに、2個のアミノ酸配列間の同一率（％）は、GCGソフトウェアパッケージ (<http://www.gcg.com>より入手可能) のGAPプログラムに組み込まれたNeedleman及びWunschのアルゴリズム (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)) を用い、Blossum62マトリクスまたはPAM250マトリクスのいずれか、及びギャップ重み=16、14、12、10、8、6または4、及び長さ重み=1、2、3、4、5または6を用いて求めることができる。

【0479】

本開示の核酸及びタンパク質配列をさらに「クエリー配列」として用いて公開データベースに対する検索を行って例えば関連する配列を同定することができる。かかる検索は、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-

10

20

30

40

50

10のNBLAST及びXBLASTプログラム(version 2.0)を使用して行うことができる。BLASTヌクレオチド検索をNBLASTプログラムを用い、スコア=100、ワード長さ=12として行うことで本発明の核酸分子に対して相同なヌクレオチド配列を得ることができる。BLASTタンパク質検索をXBLASTプログラムを用い、スコア=50、ワード長さ=3として行うことで本発明のタンパク質分子に対して相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較目的のギャップを含むアラインメントを得るには、Gapped BLASTを、Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25 (17) : 3389-3402の記載にしたがって用いることができる。BLAST及びGapped BLASTプログラムを用いる場合、各プログラム(例えばXBLAST及びNBLAST)のデフォルトのパラメータを用いることができる(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>を参照)。

10

【0480】

薬学的に許容される：本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」なる用語は、本明細書では、妥当なベネフィット／リスク比に釣り合う、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症をとまわずに、正しい医学的判断の範囲内でヒト及び動物の組織、臓器、及び／または体液と接触する使用に適した化合物、材料、組成物、及び／または剤形のことを指す。

【0481】

薬学的に許容される担体：本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」なる用語は、生理学的適合性を有するあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを指し、これらを含む。組成物は、薬学的に許容される塩、例えば、酸付加塩または塩基付加塩を含むことができる(例えば、Berge et al. (1977) J Pharm Sci 66 : 1-19を参照)。

20

【0482】

リン酸：本明細書で使用される「リン酸」なる用語は、リン酸の塩またはエステルを意味する。ポリリン酸は、酸素原子を共有することによって互いに連結された四面体 PO_4 (リン酸)構造単位から形成されるポリマー性オキシアニオンの塩またはエステルである。本明細書で使用される場合、「二リン酸」なる用語は、2個のリン酸構造単位を含むポリリン酸を指す。本明細書で使用される場合、「三リン酸」なる用語は、3個のリン酸構造単位を含むポリリン酸を指す。いくつかの実施形態では、本開示は、5'末端に連結された二リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含むRIG-I様受容体アゴニストを提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、5'末端に連結された三リン酸部分、またはその誘導体もしくは類似体を含むRIG-I様受容体アゴニストを提供する。いくつかの実施形態では、その誘導体または類似体は、リン酸の生物学的等価体である。

30

【0483】

リン酸の生物学的等価体：本明細書で使用される場合、「リン酸の生物学的等価体」(あるいは「リン酸模倣体」)なる用語は、リン酸に類似した物理的または化学的特性を有し、二リン酸及び三リン酸部分を含むリン酸に大まかに類似した生物学的特性を生じる化学置換基または基を指す。薬物設計において、ある生物学的等価体を別の生物学的等価体と交換する目的は、化学構造に大きな変化をもたらすことなく化合物の所望の生物学的または物理的特性を高めることである。生物学的等価体の使用は、医薬品開発において広く普及しており、例えば、毒性の低減、バイオアベイラビリティの変更、または親化合物またはリード化合物の活性または代謝の改変に使用されている(例えば、本明細書に参照によりその全体を援用するところのRye and Baell (2005) Curr Med Chem 12 (26) : 3127-3141; Elliot et al., (2012) Med Chem Com 3 (7) : 735-751を参照)。

40

【0484】

ポリヌクレオチド：本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」なる用語は、アミノ酸残基のポリマーを指して互換的に使用される。こ

50

これらの用語は、1つ以上のアミノ酸残基が対応する天然のアミノ酸の人工的な化学模倣体であるようなアミノ酸ポリマー、ならびに天然に存在するアミノ酸ポリマー及び非天然のアミノ酸ポリマーにも適用される。

【0485】

予防する：本明細書で使用される場合、「予防する」なる用語は、状態に関連して使用される場合、組成物を投与しない対象と比較して、対象における医学的状态の症状の頻度を減少させるか、またはその発症を遅らせる組成物の投与を指す。

【0486】

精製された：本明細書で使用される場合、本明細書に記載されるタンパク質（抗体またはフラグメント）のいずれかに適用される「精製された」または「単離された」なる用語は、それに天然に付随する成分（例えば、そのタンパク質を発現する原核生物中の他のタンパク質、脂質、及び核酸）から分離または精製されたポリペプチド（例えば、タンパク質または他の天然の生物学的または有機分子）を指す。一般的には、あるポリペプチドは、試料中の全タンパク質の少なくとも60（例えば、少なくとも65、70、75、80、85、90、92、95、97、または99）重量%を構成する場合に精製されている。

【0487】

参照リガンド：本明細書で使用される場合、「参照リガンド」（「参照アゴニスト」と互換的に使用される）または「参照分子」なる用語は、RIG-I様受容体リガンドを指し、それ自身と1つ以上の別個のRIG-I様受容体リガンドとの間の関係性を確立するために用いられ、その関係性は、参照リガンド及び1つ以上の別個のRIG-I様受容体リガンドの相対的アゴニスト作用である。本明細書で使用される場合、この用語は、本明細書に記載されるものなどの試験またはアッセイ（例えば、IFN誘導アッセイ）において競合物質として有用であるRIG-I様受容体リガンドまたはアゴニストを意味し、このアッセイは、RIG-I様受容体に結合する1つ以上の別個のアゴニストの発見、同定または開発に有用である。

【0488】

RIG-I：本明細書で使用される場合、「RIG-I」なる用語は、RIG-I様受容体ファミリーの特定のメンバーであり、ヒトにおいてDDX58遺伝子によってコードされるRetinoic Acid-Inducible Gene Iポリペプチドを指す。当該技術分野におけるRIG-Iの別名及び頭字語としては、DEADボックスポリペプチド58、RIGI、RLR-1、SGMRT2、及びDEXD/H-ボックスヘリカーゼ58が含まれる。完全長のヒトRIG-Iの例示的なアミノ酸配列を表4（配列番号98）及び以下に記載する。

【0489】

MTTEQRRSLQAFQDYIRKTL DPTYILSYMAPWFREEEVQ
YIQA EKNNKGPM EAATLFLKFLLELQEEGWFRGFLDALDH
AGYSGLYEAI ESWDFKKIEKLE EYRL LKRLQPEFKTRII
PTDIISDLSECLINQEC EEILQICSTKGMMAGAEKLVECL
LRSDKENWPKTLKL ALEKERNKFSELWIVEKGIKDVETED
LEDKMETSDIQIFYQEDPECQNLSEN SCPPSEVSDTNLYS
PFKPRNYQLELALPAMKGKNTIICAPTGC GKTFVSLICE
HHLKKFPQGQKGKVVF FANQIPVYEQQKSVFSKYFERHGY
RVTGISGATAENVPVEQIVENNDIIILTPQILVNNLKKGT
IPSLSIFTLMIFDECHNTSKQH PYNMIMFN YLDQKLGGS
GPLPQVIGLTASVGVGDAKNTDEALDYICKLCASLDASVI
ATVKHNLEELEQVVYKPKKFFRKVESRISDKFKYIIAQLM
RDTESLAKRICKDLENLSQIQNREFGTQKYEQWIVTVQKA
CMVFQMPDKDEESRICKALFLYTSHLRKYNDALIISEHAR
MKDALDY LKDFFSNVRAAGFDEIEQDLTQRFEEKLQELES
VSRDPSNENPKLEDLCFILQEEYHLNPETITILFVKTRAL

VDA LKNWIEGNPKLSFLKPGILTGRGKTNQNTGMTLPAQK
CILDAFKASGDHNI LIATSVADEGIDIAQC NLVILYEYVG
NVIKMIQTRGRGRARGSKCFL LTSNAGVIEKEQINMYKEK
MMNDSILRLQTWDEAVFREKILHIQT HEKFIRDSQEKP KP
VPDKENKKLLCRKCKALACYTADV RVIEECHYTVLGDAFK
ECFVSRPHPKPKQFSSF EKRAKIFCARQNC SHDWGIHVKY
KTFEIPVIKIESFVVEDIATGVQTL YSKWKDFHF EKIPFD
PAEMSK

(NCBPアクセッション番号：NP__055129.2)

【0490】

RIG-I様受容体：本明細書で使用される場合、「RIG-I様受容体」（「RLR」と略記する）なる用語は、一般的にウイルスRNAに見出される病原体関連分子パターン（PAMP）の細胞質パターン認識センサーとして機能するDEXD/HボックスRNAヘリカーゼのファミリーのすべてのメンバーを指す。リガンドと結合すると、RLRは下流の転写因子活性化にシグナルを送って1型インターフェロン（IFN）の産生及び抗ウイルス遺伝子の発現を誘導し、これにより、ウイルス感染を制御する細胞内免疫応答を誘発する。RIG-I（retinoic acid-inducible gene I）（レチノイン酸誘導遺伝子I）、MDA5（melanoma differentiation associated factor 5）（黒色腫分化関連因子5）、及びLGP2（laboratory of genetics and physiology 2 and a homolog of mouse D11lgp2）の3つのRLRメンバーが同定されている（Loo and Gale（2011）Immunity 34（5）：680-692）。

【0491】

RIG-I様受容体アゴニスト：本明細書で使用される場合、「RIG-I様受容体アゴニスト」なる用語（「RLRアゴニスト」なる用語と交換可能に使用される）は、RIG-I様受容体（RLR）に結合して、RLRシグナル伝達または他のRLR媒介機能によって媒介される生物学的活性、応答、及び／または下流経路を部分的または完全に促進、誘導、増加、及び／または活性化する核酸（例えば、RNA）を指す。RIG-I受容体アゴニストの例が本明細書に示されている。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、一本鎖核酸（例えば、RNA）である。いくつかの実施形態では、RLRアゴニストは、二本鎖核酸（例えば、RNA）である。

【0492】

安定なRNA二次構造：本明細書で使用される場合、「安定なRNA二次構造」なる用語は、生理学的条件下で持続的に維持され、低い自由エネルギー状態によって特徴付けられるRNA分子、またはその局所セグメントもしくはその部分を取りうる構造、フォールド、または立体配置を指す。安定なRNA二次構造の一般的な例としては、二重鎖、ヘアピン、及びステムループが挙げられる。安定なRNA二次構造が様々な生物学的活性を示すことは当該技術分野では周知のことである。ポリヌクレオチド二重鎖に関して使用される「安定した」なる用語は、生理学的条件下で、または核酸診断もしくは治療用途において用いられる一般的な塩及び温度条件下で二重鎖が、基本的にもっぱら二重鎖の形態としてハイブリダイズ、構造化またはアニーリングした状態を維持することを意味する。

【0493】

対象：本明細書で使用される場合、「対象」なる用語は、あらゆるヒトまたは非ヒト動物を含む。例えば、本発明の方法及び組成物は、免疫疾患を有する対象を治療するために使用することができる。「非ヒト動物」なる用語には、ヒト以外の霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などの哺乳動物及び非哺乳動物などのすべての脊椎動物が含まれる。

【0494】

T細胞：「T細胞」なる用語は、細胞表面のT細胞受容体の存在によって他の白血球と

10

20

30

40

50

区別することができる白血球の一種を指す。T細胞には、これらに限定されるものではないが、ヘルパーT細胞（別名TH細胞またはCD4+T細胞）及びサブタイプ（TH1、TH2、TH3、TH17、TH9、及びTFH細胞を含む）、細胞傷害性T細胞（TC細胞、CD8+T細胞、細胞傷害性Tリンパ球、Tキラー細胞、キラーT細胞としても知られる）、メモリーT細胞及びサブタイプ（セントラルメモリーT細胞（TCM細胞）、エフェクターメモリーT細胞（TEM及びTEMRA細胞）、ならびに常駐メモリーT細胞（TRM細胞）を含む）、制御性T細胞（Treg細胞またはサプレッサーT細胞としても知られる）及びサブタイプ（CD4+FOXP3+Treg細胞、CD4+FOXP3-Treg細胞、Tr1細胞、Th3細胞、及びTreg17細胞を含む）、ナチュラルキラーT細胞（NKT細胞としても知られる）、粘膜関連インバリアントT細胞（MAIT）、及びガンマデルタT細胞（ $\gamma\delta$ T細胞）（ $V\gamma 9/V\delta 2$ T細胞を含む）を含むいくつかのサブセットがある。上記に述べた、または上記に述べられていないT細胞のいずれか1つ以上を、本発明の使用方法における標的細胞型とすることができる。

【0495】

T細胞活性化：本明細書で使用される場合、「T細胞活性化」または「T細胞の活性化」なる用語は、その表面に抗原特異的T細胞受容体を発現する成熟T細胞が、それらの同種抗原を認識して、細胞周期に入り、サイトカインまたは溶解性酵素を分泌し、細胞ベースのエフェクター機能を開始するかまたはこれを行う能力を獲得することによって応答する細胞プロセスを指す。T細胞活性化は、完全に活性化されるために少なくとも2つのシグナルを必要とする。第1のシグナルは、抗原主要組織適合性複合体（MHC）によるT細胞抗原特異的受容体（TCR）の結合後に生じ、第2のシグナルは、その後の共刺激分子（例えば、CD28）の結合によって生じる。これらのシグナルは核に伝達されて、T細胞のクローン増殖、細胞表面上の活性化マーカーの発現増加、エフェクター細胞への分化、細胞毒性またはサイトカイン分泌の誘導、アポトーシスの誘導、またはこれらの組み合わせをもたらす。

【0496】

T細胞媒介応答：本明細書で使用される場合、「T細胞媒介応答」なる用語は、これらに限定されるものではないが、エフェクターT細胞（例えば、CD8+細胞）及びヘルパーT細胞（例えば、CD4+細胞）を含むT細胞によって媒介される任意の応答を指す。T細胞媒介応答には、例えば、T細胞傷害性及び増殖が含まれる。

【0497】

テトラループ：本明細書で使用される場合、「テトラループ」なる用語は、二重鎖の一方の末端をキャップして二重鎖を構成する2本の鎖同士を連結することでヘアピン構造に安定性を与える、ヘアピン型またはステムループ型のRNA二次構造中に見出される4塩基のループモチーフの一種を指す。

【0498】

治療剤：本明細書で使用される場合、「治療剤」なる用語は、対象に投与された場合に、治療的、診断的、及び／または予防的効果を有し、及び／または所望の生物学的及び／または薬理学的効果を誘発する任意の薬剤を指す。

【0499】

治療有効量：本明細書で使用される場合、「治療有効量」または「治療有効用量」なる用語、または本明細書で使用される同様の用語は、例えば、疾患に既に罹患している患者における状態または疾患及びその合併症を治療または少なくとも部分的に抑制する（例えば、癌の1つ以上の症状の改善）といった所望の生物学的または医学的応答を誘発する薬剤（例えば、合成RIG-I様受容体アゴニスト）の量を意味するものとする。このような使用における有効量は、治療される疾患の重症度及び患者自身の免疫系の一般的状態に応じて決められる。

【0500】

治療する：本明細書で使用される「治療する」、「治療中の」、及び「治療」なる用語は、本明細書に記載される治療的または予防的措置を指す。「治療」の方法は、かかる治

10

20

30

40

50

療を必要とする対象、例えば特定の抗原に対する高い免疫応答を必要とする対象または最終的にそのような疾患に罹る可能性のある対象に本開示のヒト抗体の投与を行うことによって、疾患または再発疾患の1つ以上の症状を予防、治療、遅延、その重症度を軽減、もしくは改善するか、またはかかる治療が行われない場合に予想される生存期間を超えて対象の生存期間を延ばすものである。

【0501】

腫瘍微小環境：本明細書で使用される場合、「腫瘍微小環境」（あるいは「がん微小環境」。TMEと略記する）なる用語は、周囲の血管ならびに免疫細胞、線維芽細胞、骨髄由来炎症細胞、及びリンパ球を含むがこれらに限定されない非がん性細胞を含む、腫瘍または新生物が存在する細胞環境を指す。シグナル伝達分子及び細胞外マトリクスもTMEを構成する。腫瘍と周囲の微小環境とは密接に関連しており、常に相互作用している。腫瘍が細胞外シグナルを放出し、腫瘍血管新生を促進し、末梢免疫寛容を誘導することによって微小環境に影響を与えることができるのに対して、微小環境中の免疫細胞は腫瘍細胞の成長及び進化に影響しうる。

【0502】

ウイルス様粒子（VLP）：本明細書で使用される場合、「ウイルス様粒子」または「VLP」なる用語は、ウイルス粒子に類似しているが病原性が示されていない構造を指す。一般的に、本開示によるウイルス様粒子は、ウイルス様粒子のタンパク質をコードする遺伝情報を有していない。一般的にVLPはウイルスゲノムを欠いているため、非感染性である。また、ウイルス様粒子は異種発現によってしばしば大量に生成することができ、容易に精製することができる。一部のウイルス様粒子は、それらのゲノムとは異なる核酸を含んでいる場合もある。示されるように、本開示によるウイルス様粒子は、ウイルスゲノムの全部または一部、特にウイルスゲノムの複製性及び感染性要素を欠いているため、非複製性及び非感染性である。本開示によるウイルス様粒子は、それらのゲノムとは異なる核酸を含んでいる場合もある。いくつかの実施形態では、本開示によるウイルス様粒子は、対応するウイルス、バクテリオファージ、またはRNAファージのウイルス性カプシドなどのウイルス性カプシドである。本明細書で互換的に使用される「ウイルス性カプシド」または「カプシド」なる用語は、ウイルスタンパク質サブユニットで構成されるマクロ分子集合体を指す。一般的に、好ましくは、ウイルスタンパク質サブユニットは、固有の反復組織を含む構造を有するウイルス性カプシド及びカプシドにそれぞれ集合し、この構造は通常、球状または管状である。例えば、RNAファージまたはHBcAgのカプシドは、正二十面体対称性の球形の形態を有する。本明細書で使用される場合、「カプシド様構造」なる用語は、上記に定義した意味においてカプシド形態に類似しているが、十分な規則性及び反復性を維持する一方で一般的な対称性集合体から逸脱しているウイルスタンパク質サブユニットで構成されたマクロ分子集合体を指す。

【0503】

バクテリオファージのウイルス様粒子：本明細書で使用される場合、「バクテリオファージのウイルス様粒子」なる用語は、バクテリオファージの構造に類似しており、非複製性及び非感染性であり、バクテリオファージの複製マシナリーをコードする1乃至複数の遺伝子を少なくとも欠いており、宿主へのウイルスの付着または侵入に関与する1乃至複数のタンパク質をコードする1乃至複数の遺伝子も通常は欠いているウイルス様粒子を指す。しかしながら、この定義には、上記の遺伝子が依然存在しているが不活性であるために、非複製性及び非感染性のバクテリオファージのウイルス様粒子となるようなバクテリオファージのウイルス様粒子も包含されるはずである。

【0504】

RNAファージコートタンパク質の180個のサブユニットの自己集合によって形成され、場合により宿主RNAを含むカプシド構造は、「RNAファージコートタンパク質のVLP」と呼ばれる。具体例として、Qβコートタンパク質のVLPがある。この特定の場合では、Qβコートタンパク質のVLPは、Qβ CPサブユニットのみから集合化させることもでき（例えば、抑制によってより長いA1タンパク質の発現を阻止するTAA

10

20

30

40

50

終止コドンを含むQ β CP遺伝子の発現によって生成される。Kozłowska, T. M., et al., Intervirology 39:9-15 (1996)を参照)、またはカプシドアセンブリ中にA1タンパク質サブユニットをさらに含む場合もある。

【0505】

ウイルス粒子：本明細書で使用される場合、「ウイルス粒子」なる用語は、ウイルスの形態学的な形態を指す。一部のウイルスのタイプでは、ウイルス粒子はタンパク質カプシドに取り囲まれたゲノムを含み、さらなる構造（例えば、エンベロープ、尾部など）を有するものもある。非エンベロープウイルス粒子は、ウイルスゲノムを取り囲んで保護するタンパク質性カプシドで構成されている。エンベロープウイルスもウイルスの遺伝物質を取り囲むカプシド構造を有するが、カプシドを取り囲む脂質二重層エンベロープをさらに有している。いくつかの実施形態では、VLPは、リポタンパク質エンベロープもリポタンパク質含有エンベロープも含まない。さらなる実施形態では、VLPはエンベロープをまったく含まない。

10

【0506】

別段の定義がなされない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語及び科学用語は、本開示が関連する技術分野における当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有するものとする。方法及び材料について以下に述べるが、本明細書に記載されるものと同様または同等の方法及び材料も、本開示の方法及び組成物の実施または試験において使用することができる。本明細書において言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、参照によりそれらの全体の内容を援用する。

20

【0507】

等価物及び範囲

当業者であれば、通常の実験以上のことを行うことなく、本明細書に記載される特定の実施形態の多くの均等物が認識されるか、または確認できるであろう。本開示の範囲は、上記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されるものである。

【0508】

特許請求の範囲において、「a」、「an」、及び「the」といった冠詞は、そうでない旨が示されるか、または他の形で文脈から明らかでない限り、1つまたは複数を意味しうる。群の1つ以上の要素間に「または」を含む請求項または記載は、そうでない旨が示されるか、または他の形で文脈から明らかでない限り、1つ、複数、またはすべての群要素が、特定の製品またはプロセスにおいて存在するか、用いられているか、または他の形で関連している場合に満たされるものとみなされる。本開示は、その群の正確に1つの要素が、特定の製品またはプロセスにおいて存在するか、用いられているか、または他の形で関連している実施形態を含む。本開示は、その群の複数の、またはすべての要素が、特定の製品またはプロセスにおいて存在するか、用いられているか、または他の形で関連している実施形態を含む。さらに、本開示は、記載される請求項のうちの1つ以上からの1つ以上の限定、要素、節、記述用語などが別の請求項に導入されるようなすべての変形、組み合わせ、及び順列を包含する点は理解されなければならない。例えば、別の請求項に従属する任意の請求項は、同じ基本請求項に従属する任意の他の請求項にみられる1つ以上の限定を含むように修正することができる。さらに、請求項が組成物を記載している場合、他の形で示されない限り、または矛盾もしくは不一致が生じることが当業者にとって明らかでない限り、本明細書に開示される目的のいずれか1つで組成物を使用する方法が含まれ、また、本明細書に開示された製造方法のいずれかまたは当該技術分野では周知の他の方法に従って組成物を製造する方法が含まれる点は理解されなければならない。

30

40

【0509】

要素がリストとして、例えば、マーカッシュ群形式で記載されている場合、要素の各部分群も開示され、いずれの要素（複数可）もこの群から除外されうる点は理解されなければならない。一般的に本発明、または本発明の態様が特定の要素、特徴などを含むものと

50

みなされる場合、本発明の特定の実施形態または本発明の態様が、かかる要素、特徴などから構成されるか、または本質的に構成されるものである点は理解されなければならない。簡単な目的で、これらの実施形態は、本明細書では具体的にこれらの文言では記載されていない。

【0510】

「含む」なる用語はオープンであることを意図し、さらなる要素またはステップが包含されることを許容するが必要としない点に留意されたい。「含む」なる用語が本明細書で使用される場合、「からなる」なる用語もしたがって包含され、開示される範囲が与えられている場合には端点を含む。さらに、他の形で示されるか、または他の形で文脈上及び当業者の理解から明白でない限り、範囲として表される値は、文脈上そうでない旨が明らかに示されない限り、範囲の下限の単位の10分の1まで、本発明の異なる実施形態に記載される範囲内の任意の特定の値または部分範囲を取り得る点は理解されなければならない。

10

【0511】

さらに、先行技術の範囲内の本発明の任意の特定の実施形態は、請求項のいずれか1つ以上から明らかに除外されうる点は理解されなければならない。かかる実施形態は、当業者には周知のものとみなされるため、その除外が明らかに本明細書に記載されていない場合であっても除外されうる。本発明の組成物のいずれの特定の実施形態（例えば、任意の核酸またはそれによりコードされるタンパク質、任意の製造方法、任意の使用方法など）も、先行技術の存在に関連するか否かによらず、あらゆる理由により、任意の1つ以上の請求項から除外されうる。

20

【0512】

すべての引用元、例えば、参考文献、刊行物、データベース、データベースエントリ、及び本明細書に引用される技術分野は、引用文献に明示的に記載されていない場合であっても、参照によって本出願に援用されるものである。引用文献と本出願の記載が矛盾する場合、本出願の記載が優先するものとする。

【実施例】

【0513】

以下の実施例を参照することにより本開示のより深い理解が得られよう。しかしながら、これらの実施例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。本明細書に述べられる実施例及び実施形態はあくまで例示的な目的のものに過ぎず、これらを考慮することで様々な改変または変更が当業者に示唆され、かかる改変及び変更は本出願の主旨及び範囲、ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれるものである点は理解されよう。

30

【0514】

実施例1：RLRアゴニストによるHuPBMCのトランスフェクションは、インビトロでサイトカイン産生を誘導する

サイトカイン誘導に様々な改変を有するRLRアゴニストの効果を決定するため、サイトカイン産生を誘導するRLRアゴニストの能力をインビトロで評価した。ヒト末梢血単核球（HuPBMC）を2人の健康なドナーから調製し、ウシ胎児血清（FCS）、L-グルタミン、及びペニシリン／ストレプトマイシンを添加した100 µLのRPMI 1640細胞培地中、標準的な96ウェル組織培養プレートに 2×10^5 細胞／ウェルの密度で播種した。図1に示されるようなRLRアゴニストによるHuPBMCの独立したトランスフェクションを、トランスフェクション試薬としてリポフェクタミン2000を用いて行った。細胞を加湿インキュベーター中、37℃で24時間インキュベートした後、細胞培養上清を回収した。上清を直ちに凍結し、-20℃で保存した。試料を、製造業者の指示に従ってU-plex MSDプラットフォームを使用してサイトカインIFN-α2a（図1）、ならびにIFN-β、IL-1β、IP-10、IL-12p70、IL-6、MCP-1及びMIP-1β（データは示さず）の分析を行うために1回解凍した。図1は、異なる改変及び／または配列モチーフを含む新規な候補RLRアゴニストで処理したヒトPBMCからのサイトカイン分泌の用量依存的誘導を示す。RLRアゴニス

40

50

トは、10 nM、2 nM、または0.4 nMのいずれかで添加した。RLRアゴニストのトランスフェクションに応じて細胞から放出されるサイトカインの量をpg/mLで示している。

【0515】

表3及び表4に、各RLRアゴニストの配列を示す。表3は、図1で試験した各化合物に対応する配列及び番号も示している。例えば、図1の化合物X25224は、リンカー「UUCG」を介して配列番号73を含む第2のオリゴヌクレオチドに連結された配列番号42を含む第1のオリゴヌクレオチドを含む「RIG7」に相当し、5'ニリン酸部分を有している。RIG7の配列は、表4にも配列番号6として記載されている。ヌクレオチドリンカーを介して連結された第1と第2のオリゴヌクレオチドを有する表3のRLRアゴニストの場合、このアゴニストは、オリゴヌクレオチド合成装置を使用して単一のオリゴヌクレオチドとして合成される。表3に示されるように、特定のRLRアゴニストは、合成リンカーを介して第2のオリゴヌクレオチドに連結された第1のオリゴヌクレオチドを有している。例えば、「RIG43a」は、C9アルキルリンカーを介して配列番号91を含む第2のオリゴヌクレオチドに連結された配列番号63を含む第1のオリゴヌクレオチドを含んでおり、「RIG43b」は、C9アルキルリンカーを介して配列番号91を含む第2のオリゴヌクレオチドに連結された配列番号63を含む第1のオリゴヌクレオチドを含み、かつ5'ニリン酸部分を含んでおり、「RIG44」は、ヘキサエチレングリコールリンカーを介して配列番号91を含む第2のオリゴヌクレオチドに連結された配列番号63を含む第1のオリゴヌクレオチドを含み、かつ5'ニリン酸部分を含んでいる。

【0516】

別の実験において、異なる濃度でIFN- α 発現を誘導する2つのRLRアゴニストの効力をさらに評価した。RIG50c (X24907) (Linehan et al., (2018) Sci. Adv. 4 (2): e1701854) 及びイノシン置換RIG27c (X24935) を、0.2 nM、2 nM、20 nM、及び200 nMの濃度で上記で述べたようにインビトロアッセイで試験した。図2は、非特異的コントロール、すなわち、培地、リポフェクタミン、または免疫血清とインキュベートしたPBMCによって誘導されるサイトカインレベルと比較した、両化合物によるIFN- α 発現の用量依存的誘導を示す。試験した、より低い濃度では、PBMCをRIG27cとインキュベートした場合に、RIG50cとのインキュベーションによって誘発されたIFN- α レベルと比較してIFN- α の分泌量は高くなった。0.2 nMまたは2 nMのRIG27cをトランスフェクトしたPBMCは、同じ濃度のRIG50cをトランスフェクトしたPBMCと比較して、それぞれ、 498 ± 87 pg/mL (167.2 ± 21 pg/mLに対して)、及び 3152 ± 200 pg/mL (2469 ± 91 pg/mLに対して)のIFN- α レベルを誘発した(図2)。

【0517】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 3:オリゴヌクレオチドの組み合わせ表

RNA	第 1 のオリゴ ヌクレオチド (FO)	第 2 のオリゴ ヌクレオチド (SO)	リンカー	5'リン酸 部分
RIG 2a (X32671)	37	68	UUCG	-
RIG 2b (X25217)	37	68	UUCG	pp
RIG 3a (X32666)	38	69	UUCG	-
RIG 3b (X25218)	38	69	UUCG	pp
RIG 4 (X25219)	39	70	UUCG	pp
RIG 5 (X25221)	40	71	UUCG	pp
RIG 6 (X25222)	41	72	UUCG	pp
RIG 7 (X25224)	42	73	UUCG	pp
RIG 8 (X25225)	43	74	UUCG	pp
RIG 9 (X25226)	44	75	UUCG	pp
RIG 10 (X25227)	45	76	UUCG	pp
RIG 11 (X25228)	46	77	UUCG	pp
RIG 12 (X25229)	47	78	UUCG	pp
RIG 13a (X32667)	48	79	UUCG	-
RIG 13b (X25230)	48	79	UUCG	pp
RIG 13c (X24921)	48	79	UUCG	ppp
RIG 14 (X25231)	49	80	UUCG	pp
RIG 15a (X32665)	50	81	UUCG	-
RIG 15b (X25232)	50	81	UUCG	pp
RIG 15c (X24923)	50	81	UUCG	ppp
RIG 16 (X25233)	51	82	UUCG	pp
RIG 18 (X25234)	52	83	UUCG	pp
RIG 20a (X32750)	53	84	UUCG	-
RIG 20b (X25235)	53	84	UUCG	pp
RIG 21 (X25237)	54	85	UUCG	pp
RIG 22a (X32672)	55	86	UUCG	-
RIG 22b (X25239)	55	86	UUCG	pp
RIG 24a (X25241)	56	87	UUCG	pp
RIG 24b (X25240)	56	87	UUCG	ppp
RIG 25 (X25242)	57	88	UUCG	pp
RIG 26 (X25243)	58	89	UUCG	pp
RIG 27a (X32669)	59	89	UUCG	-
RIG 27b (X25244)	59	89	UUCG	pp
RIG 27c (X24935)	59	89	UUCG	ppp
RIG 28a (X25245)	60	90	UUCG	pp
RIG 28b (X24936)	60	90	UUCG	ppp
RIG 35a (X32670)	61	91	UUCG	-

【表 3 - 2】

RIG 35b (X25247)	61	91	UUCG	pp
RIG 36 (X24945)	62	92	UUCG	pp
RIG 37a (X25249)	63	91	UUUGAU	pp
RIG 37b (X25248)	63	91	UUUGAU	ppp
RIG 38a (X32668)	63	91	UGUUU	-
RIG 38b (X25251)	63	91	UGUUU	pp
RIG 39 (X25253)	63	91	GAUC	pp
RIG 40 (X25255)	64	93	GAUC	pp
RIG 41 (X25257)	65	94	GAUC	pp
RIG 42 (X25259)	64	93	UUCG	pp
RIG 43a (X32673)	63	91	(C9)	-
RIG 43b (X25261)	63	91	(C9)	pp
RIG 44 (X25263)	63	91	(HEG)	pp
RIG 47 (X25265)	66	95	UUCG	pp
RIG 48 (X25267)	67	96	UUCG	pp
RIG 49a (X25269)	63	97	UUCG	pp
RIG 49b (X25268)	63	97	UUCG	ppp
RIG 50a (14L) (X32664)	63	91	UUCG	-
RIG 50b (14L) (X24943)	63	91	UUCG	pp
RIG 50c (14L) (X24907)	63	91	UUCG	ppp

(一) は 5'-リン酸を有さないことを示し、(p p) は 5' 二リン酸を示し、(p p p) は 5'三リン酸を示し、H E G =ヘキサエチレングリコールリンカーである。

【 0 5 1 8 】

実施例 2 : Q β V L P の合成

Q β V L P の合成については、本明細書に参照により援用し、下記に簡単に述べる米国特許第 9 , 5 1 8 , 0 9 5 号に記載されている。

【 0 5 1 9 】

発現プラスミド p T a c - n S D - Q b - M u t (配列番号 1 0 1) のクローニング戦略
大腸菌 RNA バクテリオファージ Q β のコートタンパク質コード遺伝子 (C) をプラスミド p S D Q b - r o u t (配列番号 1 0 9) から増幅した。このプラスミドは、アミノ酸 1 3 3 個からなる Q β コートタンパク質 (C P) 及びアミノ酸 3 2 9 個からなるリードスルータンパク質 (A 1) をコードする遺伝子 C の配列を含むものである。リードスルーを防止するために、N C B I G e n B a n k アクセッション番号 M 9 9 0 3 0 によるヌクレオチド 4 4 5 ~ 4 5 0 である T G A A C A (配列番号 1 0 2) を配列 T A A T G A (配列番号 1 0 3) で置換してある。

【 0 5 2 0 】

プラスミド p S D Q b - m u t 由来のコートタンパク質コード遺伝子 C を P C R により増幅した。内部 E c o R I 部位及び合成シャイン・ダルガノ (S D、配列番号 1 0 5) 配列を有するオリゴヌクレオチド Q b - F O R 3 / 2 (配列番号 1 0 4) を、Q b C P 遺伝子の 5' 末端にアニールする。オリゴヌクレオチド Q b l a n g - R E V 2 / 2 (配列番号 1 0 6) は内部 H i n d I I I 部位を含み、遺伝子 C の非コード領域の 3' 末端にプライ

ミングする。1054bpの増幅PCR断片には、NCBI GenBankアクセッション番号M99039のヌクレオチド46～1062（上記に述べたヌクレオチド変化を除く）及び合成SD配列が含まれる。PCR断片を制限酵素HindIII/EcoRIで消化し、得られた1036bpの断片を改変pKK223-3ベクター（Pharmacia、NCBI GenBankアクセッション番号M77749（配列番号107）のHindIII/EcoRI制限部位に挿入した。この改変pKK223-3ベクターにおいて、アンピシリン耐性遺伝子をベクターpUC4K（Pharmacia、NCBI GenBankアクセッション番号X06404、配列番号108）のカナマイシン耐性遺伝子に置き換えた。

【0521】

ベクターpTac-nSDQb-mut（配列番号109）とベクターpTacQb-mutとは、シャイン・ダルガノ配列において異なっている。このシャイン・ダルガノ配列（nSD、配列番号110）は、プラスミドpTacQb-mutからのPCRによってQβコートタンパク質コード遺伝子Cを増幅することによって導入した。内部EcoRI部位及び対応する合成シャイン・ダルガノ（nSD）配列を有するオリゴヌクレオチドnSDQb-mutEcoRIfor（配列番号111）は、QβCP遺伝子の5'末端にアニールする。

【0522】

Qβの発現。Tacプロモーター及びnSDの制御下にあるCP

大腸菌RB791株をプラスミドpTac-nSD-Qb-mut（配列番号101）で形質転換した。クローンを振とうフラスコ中で増殖させた。各フラスコにカナマイシン（25μg/ml）を含むR40培地（主培地、Hyep 7455、グリセロール）100mlを入れ、開始時点のOD₆₀₀=0.3で一晩培養物を接種した。各振とうフラスコを30℃、220rpmの撹拌下で4時間インキュベートした（OD₆₀₀=4～5）。0.5%ラクトースで4時間誘導を行った。SDS-PAGEによりタンパク質産生量を測定した。ゲルは強いタンパク質バンドを示し、QβCPとして同定された。

【0523】

Qβ-VLPの製造及び精製のためのスケールアッププロセスは、参照により本明細書に援用する米国特許第9,657,065号に開示されている。簡単に説明すると、大腸菌細胞ペレットを0.1(v/v)% Triton-X-100溶液に懸濁し、APV LAB 100 高圧液体ホモジナイザー（HPLH）を通じて700±50barで3回通過させて破碎した。次に、ホモジネートを接線流濾過（TFF）及び滅菌濾過によって処理し、及び／または遠心分離によって清澄化した。

【0524】

細胞ホモジネートを、FRACTOGEL（登録商標）EMD TMAEカラムで陰イオン交換（AIXクロマトグラフィー）を用いてさらに精製した後、0.22μM細孔径で滅菌濾過し、次いでMACRO-PREP（登録商標）セラミックハイドロキシアパタイトタイプIIカラムにロードした。

【0525】

実施例3：RLRアゴニストのVLPへのパッケージング

RLRアゴニストは、参照により本明細書に援用される米国特許第9,950,055号に記載されるようにVLP内にパッケージングすることができる。簡単に述べると、精製されたQβ二量体タンパク質を、上記の実施例2に記載されるように単離する。精製されたQβ二量体カプシドタンパク質は、後述するパッケージング工程の間にRLRアゴニストの周囲にVLPとして再集合される。

【0526】

RLRアゴニストの原液（3.3mg/mL）をNaCP1緩衝液（250mM NaCl、20nM NaPi、pH7.2）に2.2mg/mLの濃度に溶解させることによってRLRアゴニストのアニリングを行う。混合物を70℃に5分間加熱し、室温で15分間冷却した後、Qβの還元が完了するまで氷上に置く。Qβ二量体（4.165m

10

20

30

40

50

g/mL) を 5 mM DTT 及び NaCl 緩衝液中で還元する。Qβ 二量体と RLR アゴニストを室温で 1 時間振とうすることにより混合する。次に、H₂O₂ を 10 mM まで加え、Qβ RLR アゴニスト溶液を室温でさらに 1 時間振とうする。次いで、Qβ RLR アゴニスト再集合混合物を、MWCO が 100 kDa の膜で透析する。

【0527】

あるいは、RLR アゴニストを水に溶解し、0.2 × HBS 中、1、10 及び 100 nmol/mL で Qβ VLP に加え、サーモミキサー中、37℃ で 3 時間インキュベートした。過剰の核酸は、酵素による加水分解または透析によって除去した。

【0528】

実施例 4：Qβ RIG による HuPBMC のトランスフェクションは、インビトロでサイトカイン産生を誘導する

上記実施例 3 に従って作製された Qβ-RIG である Qβ-RIG 27c (配列番号 112 のアミノ酸配列を有する RNA フェージ Qβ のコートタンパク質を含む VLP にパッケージングされた、配列番号 23 のヌクレオチド配列を有する RLR アゴニスト) が、異なる濃度で IFN-α 発現を誘導する能力をさらに評価した。具体的には、Qβ-RIG 27c を、2 nM、20 nM、200 nM、及び 600 nM (RLR アゴニストに基づく濃度) の濃度で上記に述べたインビトロアッセイで試験した。図 3 は、非特異的コントロール、すなわち、培地、リポフェクタミン、または免疫血清とインキュベートした PBMC によって誘導されるサイトカイン発現レベルと比較した、Qβ-RIG 27c による IFN-α 発現の用量依存的誘導を示す。

【0529】

この結果は、Qβ VLP 送達ビヒクルを使用して RLR アゴニストをパッケージングすることができ、得られた RIG-VLP、例えば Qβ-RIG 27c が免疫血清の存在下で PBMC からの IFN-α の発現を誘導することを示している。PBMC には空のカプシドをトランスフェクトしたが、「カプシド+血清」は IFN-α 応答を誘導しない。

【0530】

実施例 5：Qβ-RIG のインビボ有効性

Qβ-RIG のインビボ有効性は、参照により本明細書に援用する米国特許第 9,950,055 号に記載されるように、前臨床動物試験で評価することができる。マウスに Qβ-RIG を皮下投与する。Qβ-RIG の免疫刺激効果は、投与後の異なる時点における免疫細胞の細胞内サイトカイン染色によって測定される。

【0531】

予防的試験では、各 Qβ-RIG とウイルス抗原を含む VLP (抗原-VLP) の皮下投与によりマウスをプライミングする。プライミング後の異なる時点で、テトラマー染色によって抗原特異的の頻度を測定する。次いで、ウイルス抗原を発現する生ウイルスでマウスをチャレンジし、チャレンジ後の抗原特異的 T 細胞の頻度を例えばテトラマーアッセイで測定する。各 Qβ-RIG の免疫刺激効果は、Qβ-RIG 及び抗原-VLP でプライミングしたマウスにおける抗原特異的 T 細胞の頻度を、抗原-VLP のみでプライミングしたマウスと比較することにより測定することができる。

【0532】

治療的試験では、マウスにウイルス抗原を発現する生ウイルスに感染させる。テトラマー染色を行って、感染後の抗原特異的 T 細胞の頻度を測定する。次いで、マウスに Qβ-RIG 及び抗原 VLP を皮下投与し、投与後の異なる時点で抗原特異的 T 細胞の頻度を測定する。各 Qβ-RIG の免疫刺激効果は、Qβ-RIG 及び抗原-VLP を投与したマウスにおける抗原特異的 T 細胞の頻度を、抗原-VLP のみを投与したマウスと比較することにより測定することができる。

【0533】

抗がん療法としての各 Qβ-RIG の効力を評価するため、マウスに A20 B 細胞リンパ腫または B16 F10 メラノーマのいずれかを両側性に皮下投与する。各 Qβ-RIG、または生理食塩水コントロールを、腫瘍チャレンジの 3~7 日後に開始して合計 3 回

10

20

30

40

50

の用量で一方の脇腹に腫瘍内（i. t.）投与して、Q β -RIG療法の局所的（処理した腫瘍）及び全身的（非処理の腫瘍）効果を評価する。体重、腫瘍体積（処理及び非処理）、及び全生存率を測定する。

【0534】

各Q β -RIGと抗がん療法、例えば抗PD1との併用について同じ腫瘍モデルを用いて試験を行う。マウスに、A20またはB16F10腫瘍細胞のいずれかを皮下投与し、上記に述べた各Q β -RIGのみ、または抗PD-1もしくは生理食塩水コントロールと併用して、腫瘍チャレンジの3～7日後に開始して週2回腹腔内投与することにより処理する。この試験には、抗PD-1のみの追加治療群も含める。抗がん性の促進を、抗PD1もしくは各Q β -RIGのみ、またはこれらを併用して処理したマウスの体重、腫瘍体積（処理及び非処理）、及び全生存率を比較することによって測定する。

10

【0535】

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 4 : 配列表

配列 番号	説明	配列
1	RIG2 核酸配列	GGATCGATCGATCGUUCGCGATCGATCGATCC
2	RIG3 核酸配列	GGAUCGAUCGAUAUUUCGAUAUCGAUCGAUCC
3	RIG4 核酸配列	GCGCGCGCGCGCGCUUCGGCGCGCGCGCGCGC
4	RIG5 核酸配列	GGCGGCGCGCCGCCUUCGGGCGGCGCGCCGCC
5	RIG6 核酸配列	GGCGGCGGCGGCGGUUCGCCGCCGCCGCCGCC
6	RIG7 核酸配列	GGCGGCCGCCCGCGUUCGCGCGGGCGGCCGCC
7	RIG8 核酸配列	CGACGUCGACGUCGUUCGCGACGUCGACGUCG
8	RIG9 核酸配列	GCACGUCGACGUGCUUCGGCACGUCGACGUGC
9	RIG10 核酸配列	GGACGUCGACGUCCUUCGGGACGUCGACGUCC
10	RIG11 核酸配列	GGUCGCGACCAUAUUUCGAUAUGGUCGCGACC
11	RIG12 核酸配列	GGAUACGUCGACGUUUCGACGUCGACGUAUCC
12	RIG13 核酸配列	GAGAGAGAGAGAGAUUCGUCUCUCUCUCUC
13	RIG14 核酸配列	GAGUCUAGACUCCGUUCGCGGAGUCUAGACUC
14	RIG15 核酸配列 (RIG45)	CGAUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGAUCG
15	RIG16 核酸配列	CCAUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGAUGG
16	RIG18 核酸配列	GAAUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGAUUC
17	RIG20 核酸配列	GGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCCC
18	RIG21 核酸配列	CCCCCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGGGGG
19	RIG22 核酸配列	GTGTGTGTGTGTGTUUCGACACACACACAC
20	RIG24 核酸配列	GTGTGTGGAUCGAUUUCGAUCGAUCCACACAC
21	RIG25 核酸配列	GGAICGAICGAICGUUCGCGAICGAICGAICC
22	RIG26 核酸配列	IIAUCIAUCIAUCIUUCGCIACIAUCIAUCC
23	RIG27 核酸配列	GGAUCIAUCIAUCIUUCGCIACIAUCIAUCC
24	RIG28 核酸配列	GGIUCGIUCGIUCGUUCGCGIUCGIUCGIUCC
25	RIG35 核酸配列	IGAUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGAUCC
26	RIG36 核酸配列	AUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGAU
27	RIG37 核酸配列	GGAUCGAUCGAUCGUUUGAUCGAUCGAUCGAUCC
28	RIG38 核酸配列	GGAUCGAUCGAUCGUGUUUCGAUCGAUCGAUCC
29	RIG39 核酸配列	GGAUCGAUCGAUCGGAUCCGAUCGAUCGAUCC
30	RIG40 核酸配列	GGCAUGCGACCUCUGUUUGAUCAAACAGAGGUCGAUGC C

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

31	RIG41 核酸配列	GGCAUGCGACCUCUGAUCAGAGGUCGCAUGCC
32	RIG42 核酸配列	GGCAUGCGACCUCUGUUUUUCGAAACAGAGGUCGCAUGCC
33	RIG47 核酸配列	TGCUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGAGCA
34	RIG48 核酸配列	TCGUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGACGA
35	RIG49 核酸配列	GGAUCGAUCGAUCGUUCGTGAUCGAUCGAUGG
36	RIG 0 核酸配列(14L)	GGAUCGAUCGAUCGUUCGCGAUCGAUCGAUCC
37	FO1 核酸配列	GGATCGATCGATCG
38	FO2 核酸配列	GGAUCGAUCGAUUAU
39	FO3 核酸配列	GCGCGCGCGCGCGC
40	FO4 核酸配列	GGCGGCGCGCCGCC
41	FO5 核酸配列	GGCGGCGCGCGCGG
42	FO6 核酸配列	GGCGGCCGCCCGCG
43	FO7 核酸配列	CGACGUCGACGUCG
44	FO8 核酸配列	GCACGUCGACGUGC
45	FO9 核酸配列	GGACGUCGACGUCC
46	FO10 核酸配列	GGUCGCGACCAUUAU
47	FO11 核酸配列	GGAUACGUCGACGU
48	FO12 核酸配列	GAGAGAGAGAGAGA
49	FO13 核酸配列	GAGUCUAGACUCCG
50	FO14 核酸配列	CGAUCGAUCGAUCG
51	FO15 核酸配列	CCAUCGAUCGAUCG
52	FO16 核酸配列	GAAUCGAUCGAUCG
53	FO17 核酸配列	GGGAUCGAUCG
54	FO18 核酸配列	CCCCCGAUCGAUCG
55	FO19 核酸配列	GTGTGTGTGTGTGT
56	FO20 核酸配列	GTGTGTGGAUCGAU
57	FO21 核酸配列	GGAICGAICGAICG
58	FO22 核酸配列	IIAUCIAUCIAUCI
59	FO23 核酸配列	GGAUCIAUCIAUCI
60	FO24 核酸配列	GGIUCGIUCGIUCG
61	FO25 核酸配列	IGAUCGAUCGAUCG
62	FO26 核酸配列	AUCGAUCGAUCG
63	FO27 核酸配列	GGAUCGAUCGAUCG
64	FO28 核酸配列	GGCAUGCGACCUCUGUUU
65	FO29 核酸配列	GGCAUGCGACCUCU

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

66	FO30 核酸配列	TGCUCGAUCGAUCG
67	FO31 核酸配列	TCGUCGAUCGAUCG
68	SO1 核酸配列	CGATCGATCGATCC
69	SO2 核酸配列	AUAUCGAUCGAUCC
70	SO3 核酸配列	GCGCGCGCGCGCGC
71	SO4 核酸配列	GGCGGCGCGCCGCC
72	SO5 核酸配列	CCGCCGCCGCCGCC
73	SO6 核酸配列	CGCGGGCGGCCGCC
74	SO7 核酸配列	CGACGUCGACGUCG
75	SO8 核酸配列	GCACGUCGACGUGC
76	SO9 核酸配列	GGACGUCGACGUCC
77	SO10 核酸配列	AUAUGGUCGCGACC
78	SO11 核酸配列	ACGUCGACGUAUCC
79	SO12 核酸配列	UCUCUCUCUCUCUC
80	SO13 核酸配列	CGGAGUCUAGACUC
81	SO14 核酸配列	CGAUCGAUCGAUCG
82	SO15 核酸配列	CGAUCGAUCGAUGG
83	SO16 核酸配列	CGAUCGAUCGAUUC
84	SO17 核酸配列	CGAUCGAUCCC
85	SO18 核酸配列	CGAUCGAUCGGGGG
86	SO19 核酸配列	ACACACACACACAC
87	SO20 核酸配列	AUCGAUCCACACAC
88	SO21 核酸配列	CGAICGAICGAICC
89	SO22 核酸配列	CIAUCIAUCIAUCC
90	SO23 核酸配列	CGIUCGIUCGIUCC
91	SO24 核酸配列	CGAUCGAUCGAUCC
92	SO25 核酸配列	CGAUCGAUCGAU
93	SO26 核酸配列	AAACAGAGGUCGCAUGCC
94	SO27 核酸配列	AGAGGUCGCAUGCC
95	SO28 核酸配列	CGAUCGAUCGAGCA
96	SO29 核酸配列	CGAUCGAUCGACGA
97	SO30 核酸配列	TGAUCGAUCGAUGG

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

98	ヒト RIG-I アミノ酸配列	MTTEQRRSLQAFQDYIRKTLDPITYILSYMAPWFREEEVQYIQAE KNNKGPMEEAATLFLKFLLELQEEGWFRGFLDALDHAGYSGLY EAIESWDFKKIEKLEEYRLLLKRLQPEFKTRIPTDIISDLSECLIN QECCEILQICSTKGMMAGAEKLVECLLRSDKENWPKTLKLALAE KERNKFSELWIVEKGIKDVETEDLEDKMETSDIQIFYQEDPECQ NLSSENSCPPSEVSDTNLYSPFKPRNYQLELALPAMKGKNTIICAP TGCGKTFVSLICEHHLKKFPQGQKGKVVFFANQIPVYEQQKS VFSKYFERHGYRVTGISGATAENVPVEQIVENNDIILTPQILVN NLKKGTPSLSIFTLMIFDECHNTSKQHPYNMIMFNYLDQKLGG SSGPLPQVIGLTASVGVGDAKNTDEALDYICKLCASLDASVIAT VKHNLEEELEQVVYKPKQKFFRKVESRISDKFKYIIAQLMRDTESL AKRICKDLENLSQIQNREFGTQKYEQWIVTVQKACMVFQMPD KDEESRICKALFLYTSHLRKYNDALIISEHARMKDALDYLKDFE SNVRAAGFDEIEQDLTQRFEEKLQELESVSRDPSNENPKLEDLC FILQEEYHLNPETITILFVKTRALVDALKNWIEGNPKLSFLKPGIL TGRGKTNTQNTGMTLPAQKCILDAFKASGDHNLIIATSVADEGID IAQCNLVILYEYVGNVIKMIQTRGRGRARGSKCFLTTSNAGVIE KEQINMYKEKMMNDSILRLQTWDEAVFREKILHIQTHEKFIRDS QEKPKVPDKENKKLLCRKCKALACYTADVRVIEECHYTVLG DAFKECFVSRPHPKPKQFSSFEEKRAKIFCARQNCSDHWGIHVK YKTFEIPVIKIESFVVEDIATGVQTLYSKWKDFHFEKIPFDPDEM SK
99	ヒト MDA5 アミノ酸配列	MSNGYSTDENFRYLISCFRARVKMYIQVEPVLDYLTFLPAEVK EQIQRVATSGNMQAVELLSTLEKGVWHLGWTRFVEALRR TGSPLAARYMNPETDLPSPSFENAHDEYLQLNLLQPTLVDKL LVRDVLDKCMEEELLTIEDRNRIAAENNGNESGVRELLKRIV QKENWFS AFLNVLRQTGNNELVQELTGSDCSESNAEIEENLSQV DGPQVEEQLLSTTVQPNLEKEVWGMENNSSSESSFADSSVSES DTSLAEGSVSCLDESLGHNSNMGSDSGTMGSDSDEENVAARAS PEPELQLRPYQMEVAQPALEGKNIIICLPTGSGKTRVAVYIAKD HLDKKKKASEPGKVIVLVNKVLLVEQLFRKEFQPFLLKWKYRVI GLSGDTQLKISFPEVVKSCDIIISTAQILENSLLNLENGEDAGVQL SDFSLIIDECHHTNKEAVYNNIMRHYLMQKLKNNRLKKNKP VIPLPQILGLTASPGVGGATKQAKAEHILKLCANLDAFTIKTV KENLDQLKNQIQEPCKKFAIADATREDPFKEKLEIMTRIQTIC QMSPMSDFGTQPYEQWAIQMEKKAKEGNRKERVCAEHLRK YNEALQINDTIRMIDAYTHLETIFYNEEKDKKFAVIEDDSDEGGD DEYCDGDEDEDDLKKPLKLDLTDRLMTLFFENNKMLKRLAE NPEYENEKLTCLRNTIMEQYTRTEESARGIIFTKTRQSAAYALSQ WITENEKFAEVGVKAHHLIGAGHSSEFKPMTQNEQKEVSKFR TGKINLLIATTVAEEGLDIKECNIVIRYGLVTNEIAMVQARGRA

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

		RADESTYVLVAHSGSGVIEHETVNDFREKMMYKAIHCVQNMK PEEYAHKILELQMQSIMEKKMKTKRNI AKHYKNNPSLITFLCK NCSVLACSGEDIHVIEKMHVNMTPEFKELYIVRENKALQKKC ADYQINGEIICKCGQAWGTMMVHKGLDLPCLKIRNFVVVFKN NSTKKQYKKWVELPITFPNLDYSECCLFSDDED
100	ヒト LGP2 アミノ酸配列	MELRSYQWEVIMPALEGKNIIIWLPTGAGKTRAAAYVAKRHLE TVDGAKVVVLVNRVHLVTQHGEFRMLDGRWTVTTLSGDM GPRAGFGHLARCHDLLICTAELLQMALTSPEEEHVELTVFSLI VVDECHHTHKDTVYNVIMSQYLELKLQRAQPLPQVLGLTASP GTGGASKLDGAINHVLQLCANLDTWCIMSPQNCCPQLQEHSQ QPCCKQYNLCHRRSQDPFGDLLKKLMDQIHDHLEMPESRKFGT QMYEQQVVKLSEAAALAGLQEQRVYALHLRRYNDALLIHDTV RAVDALAALQDFYHREHVTKTQILCAERRLLALFDDRKNELA HLATHGPENPKLEMLEKILQRQFSSSNSPRGIIFTRTRQSAHSL LWLQQQQLQTVDIRAQLLIGAGNSSQSTHMTQRDQQEVQKF QDGTLLNLLVATSVAEEGLDIPHCNVVVRVGLLTNEISMVQARG RARADQSVYAFVATEGSRELKRELINEALETLMQAVAAVQK MDQAEYQAKIRDLQQAALTKRAAQAAQRENQRQQFPVEHVQ LLCINCMVAVGHGSDLRKVEGTHHVNVNPNFSNYYNVSRDPV VINKVFKDWKPGGVISCRNCGEVWGLQMIYKSVKLPVLKVRS MLLETPQGRIQAKKWSRVFSPDFDFLQHCAENLSDLSLD
101	pTac-nSD-Qb-Mut プラスミド	GGCTGTGCAGGTCGTAAATCACTGCATAATTCGTGTCGCTCA AGGCGCACTCCCGTTCTGGATAATGTTTTTTGCGCCGACATC ATAACGGTTCTGGCAAATATTCTGAAATGAGCTGTTGACAAT TAATCATCGGCTCGTATAATGTGTGGAATTGTGAGCGGATAA CAATTTACACAGGAAACAGAATTCTAAGGAGGAAAAAAA ATGGCAAAATTAGAGACTGTTACTTTAGGTAACATCGGGAA AGATGGAAAACAACTCTGGTCCTCAATCCGCGTGGGGTAA ATCCCACTAACGGCGTTGCCTCGCTTTCACAAGCGGGTGCAG TTCCTGCGCTGGAGAAGCGTGTTACCGTTTCGGTATCTCAGC CTTCTCGCAATCGTAAGAACTACAAGGTCCAGGTAAAGATCC AGAACCCGACCGCTTGCACTGCAAACGGTTCTTGAGACCCAT CCGTTACTCGCCAGGCATATGCTGACGTGACCTTTTCGTTCA CGCAGTATAGTACCGATGAGGAACGAGCTTTTGTTTCGTACA GAGCTTGCTGCTCTGCTCGCTAGTCCTCTGCTGATCGATGCT ATTGATCAGCTGAACCCAGCGTATTAATGACTGCTCATTGCC GGTGGTGGCTCAGGGTCAAACCCGATCCGGTTATTCGGGA TCCACCGATTGATCCGCCGCCAGGGACAGGTAAGTATACCT GTCCCTTCGCAATTTGGTCCCTAGAGGAGGTTTACGAGCCTC CTACTAAGAACCGACCGTGGCCTATCTATAATGCTGTTGAAC

10

20

30

40

50

【表 4 - 6】

	TCCAGCCTCGCGAATTTGATGTTGCCCTCAAAGATCTTTTGG GCAATACAAAGTGGCGTGATTGGGATTCTCGGCTTAGTTATA CCACGTTCCGCGGTTGCCGTGGCAATGGTTATATTGACCTTG ATGCGACTTATCTTGCTACTGATCAGGCTATGCGTGATCAGA AGTATGATATTCGCGAGGGCAAGAAACCTGGTGCTTTCGGT AACATTGAGCGATTCAATTTATCTTAAGTCGATAAATGCTTAT TGCTCTCTTAGCGATATTGCGGCCTATCACGCCGATGGCGTG ATAGTTGGCTTTTGGCGCGATCCATCCAGTGGTGGTGCCATA CCGTTTGACTTCACTAAGTTTGATAAGACTAAATGTCCTATT CAAGCCGTGATAGTCGTTCCCTCGTGCTTAGTAACATAAGGATG AAATGCATGTCTAAGCTTGGCTGTTTTGGCGGATGAGAGAA GATTTTCAGCCTGATACAGATTAAATCAGAACGCAGAAAGCG GTCTGATAAAACAGAATTTGCCTGGCGGCAGTAGCGCGGTG GTCCACCTGACCCCATGCCGAACCTCAGAAGTGAAACGCCG TAGCGCCGATGGTAGTGTGGGGTCTCCCCATGCGAGAGTAG GGAAGTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAA AGACTGGGCCTTTCGTTTTATCTGTTGTTTGTGCGGTGAACGCT CTCCTGAGTAGGACAAATCCGCCGGGAGCGGATTTGAACGT TGCGAAGCAACGGCCCCGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCCG CCATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCCT GACGGATGGCCTTTTTGCGTTTCTACAAACTCTTTTGTTTATT TTTCTAGAGCCACGTTGTGTCTCAAAATCTCTGATGTTACAT TGCACAAGATAAAAAATATATCATCATGAACAATAAACTGT CTGCTTACATAAACAGTAATACAAGGAGTGTTATGAGCCAT ATTCAACGGGAAACGTCTTGCTCGAGGCCGCGATTAAATTCC AACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGAT AATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGATTGTATGG GAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAG GTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTA AACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTCCGACCATCAAGCAT TTTATCCGTAATCCTGATGATGCATGGTTACTCACCCTGCG ATCCCCGGGAAAACAGCATTCAGGTATTAGAAGAATATCC TGATTGAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTTCT GCGCCGGTTGCATTCGATTCCTGTTTGTAAATTGTCCTTTTAA AGCGATCGCGTATTTCTGCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATG AATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGT AATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAA GCTTTTGCCATTCTACCGGATTCAGTCGTCATCATGGTGA TTTCTCACTTGATAACCTTATTTTGACGAGGGGAAATTAAT AGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGAT
--	---

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

	ACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAACTGCCTCGGTGAGTTTT CTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTG ATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCG ATGAGTTTTTCTAAACGCGTGACCAAGTTTACTCATATGTAC TTAGATTGATTTAAACTTCATTTTAAATTTAAAAGGATCT AGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTT AACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAA AGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAA TCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTG GTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAG GTAACGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAATACTGTCTT CTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTA GCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGT GCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGAC TCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTG AACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGA CCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAA AGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG CTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGG TTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGT CAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGC CTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATG TTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTA CCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACG ACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGC GCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTT ACACCGCATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGC CGCATAGTTAAGCCAGTATACACTCCGCTATCGCTACGTGAC TGGGTCATGGCTGCGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGA CGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAG ACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGTCAGAGGT TTTCACCGTCATACCGAAACGCGCGAGGCAGCTGCGGTAA AGCTCATCAGCGTGGTCGTGAAGCGATTACAGATGTCTGCC TGTTTCATCCGCGTCCAGCTCGTTGAGTTTCTCCAGAAGCGTT AATGTCTGGCTTCTGATAAAGCGGGCCATGTTAAGGGCGGTT TTTTCTGTTTGGTCACTGATGCCTCCGTGTAAGGGGGATTT CTGTTTCATGGGGGTAATGATACCGATGAAACGAGAGAGGAT GCTCACGATACGGGTTACTGATGATGAACATGCCCGGTTACT GGAACGTTGTGAGGGTAAACAACCTGGCGGTATGGATGCGGC GGGACCAGAGAAAAATCACTCAGGGTCAATGCCAGCGCTTC GTTAATACAGATGTAGGTGTTCCACAGGGTAGCCAGCAGCA
--	--

10

20

30

40

50

【表 4 - 8】

		TCCTGCGATGCAGATCCGGAACATAATGGTGCAGGGCGCT GACTTCCGCGTTTCCAGACTTTACGAAACACGGAAACCGA AGACCATTTCATGTTGTTGCTCAGGTCGCAGACGTTTTGCAG CAGCAGTCGCTTCACGTTTCGCTCGCGTATCGGTGATTTCATT CTGCTAACCCAGTAAGGCAACCCCGCCAGCCTAGCCGGGTC CTCAACGACAGGAGCACGATCATGCGCACCCGTGGCCAGG ACCCAACGCTGCCCGAGATGCGCCCGGTGCGGCTGCTGGA GATGGCGGACGCGATGGATATGTTCTGCCAAGGGTTGGTTT GCGCATTCACAGTTCTCCGCAAGAATTGATTGGCTCCAATT CTTGGAGTGGTGAATCCGTTAGCGAGGTGCCGCCGGCTTCC ATTCAGGTTCGAGGTGGCCCGGCTCCATGCACCGCGACGCA ACGCGGGGAGGCAGACAAGGTATAGGGCGGCGCCTACAAT CCATGCCAACCCGTTCCATGTGCTCGCCGAGGCGGCATAAA TCGCCGTGACGATCAGCGGTCCAATGATCGAAGTTAGGCT GGTAAGAGCCGCGAGCGATCCTTGAAGCTGTCCCTGATGG TCGTCATCTACCTGCCTGGACAGCATGGCCTGCAACGCGGG CATCCCGATGCCGCCGGAAGCGAGAAGAATCATAATGGGG AAGGCCATCCAGCCTCGCGTCGCGAACGCCAGCAAGACGT AGCCCAGCGCGTCGGCCGCCATGCCGGCGATAATGGCCTG CTTCTCGCCGAAACGTTTGGTGGCGGGACCAAGTACGAAG GCTTGAGCGAGGGCGTGCAAGATTCCGAATACCGCAAGCG ACAGGCCGATCATCGTCGCGCTCCAGCGAAAGCGGTCTCTC GCCGAAAATGACCCAGAGCGCTGCCGGCACCTGTCTTACG AGTTGCATGATAAAGAAGACAGTCATAAGTGCGGCGACGA TAGTCATGCCCCGCGCCACCGGAAGGAGCTGACTGGGTT GAAGGCTCTCAAGGGCATCGGTGACGCTCTCCCTTATGCG ACTCTGCATTAGGAAGCAGCCAGTAGTAGGTTGAGGCC GTTGAGCACCGCCGCCGCAAGGAATGGTGCATGCAAGGAG ATGGCGCCCAACAGTCCCCCGGCCACGGGGCCTGCCACCA TACCCACGCCGAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCG AGCCCGATCTTCCCCATCGGTGATGTCGGCGATATAGGCGC CAGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGTGATGCCGGCCACGAT GCGTCCGGCGTAGAGGATCCGGGCTTATCGACTGCACGGT GCACCAATGCTTCTGGCGTCAGGCAGCCATCGGAAGCTGT GGTAT	10
102	終止コドン	TGAACA	
103	終止コドン	TAATGA	
104	Qb-FOR3/2 配列	GCGCGCAATTCAGGAGGTAAAAAACGATGGCAAAATTAG AGACTGTTACTTTAGG	20
105	シャイン・ダルガ ノ配列	AGGAGGTAAAAAACGATG	30

10

20

30

40

50

【表 4 - 9】

106	Qblang-REV2/2 配 列	GCATGCAAGCTTAGACATGCATTTTCATCCTTAG
107	改変 pKK223-3 クローニング ベクター	TTCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACA CATTATACGAGCCGATGATTAATTGTCAACAGCTCATTTTCAG AATATTTGCCAGAACCGTTATGATGTCGGCGCAAAAAACAT TATCCAGAACGGGAGTGCGCCTTGAGCGACACGAATTATGC AGTGATTTACGACCTGCACAGCCATAACCACAGCTTCCGATGG CTGCCTGACGCCAGAAGCATTGGTGCACCGTGCAGTCGATA AGCTCCGGATCCTCTACGCCGACGCATCGTGGCCGCGCATC ACCGGCGCCACAGGTGCGGTTGCTGGCGCCTATATCGCCGA CATCACCGATGGGGAAGATCGGGCTCGCCACTTCGGGCTCA TGAGCGCTTGTTTCGGCGTGGGTATGGTGGCAGGCCCGTGG CCGGGGGACTGTTGGGCGCCATCTCCTTGATGCACCATTC TTGCGGCGGCGGTGCTCAACGGCCTCAACCTACTACTGGGCT GCTTCCTAATGCAGGAGTCGCATAAGGGAGAGCGTCGACCG ATGCCCTTGAGAGCCTTCAACCCAGTCAGCTCCTTCCGGTGG GCGCGGGGCATGACTATCGTCGCCGCACTTATGACTGTCTTC TTTATCATGCAACTCGTAGGACAGGTGCCGGCAGCGCTCTGG GTCATTTTCGGCGAGGACCGCTTTCGCTGGAGCGCGACGATG ATCGGCCTGTCGCTTGCGGTATTCGGAATCTTGCACGCCCTC GCTCAAGCCTTCGTCACTGGTCCCGCCACCAAACGTTTCGGC GAGAAGCAGGCCATTATCGCCGGCATGGCGGCCGACGCGCT GGGCTACGTCTTGCTGGCGTTCGCGACGCGAGGCTGGATGG CCTTCCCCATTATGATTCTTCTCGCTTCCGGCGGCATCGGGA TGCCCGCGTTGCAGGCCATGCTGTCCAGGCAGGTAGATGAC GACCATCAGGGACAGCTTCAAGGATCGCTCGCGGCTCTTAC CAGCCTAACTTCGATCACTGGACCGCTGATCGTCACGGCGAT TTATGCCGCTCGGCGAGCACATGGAACGGGTTGGCATGGA TTGTAGGCGCCGCCCTATACCTTGTCTGCCTCCCCGCGTTGC GTCGCGGTGCATGGAGCCGGGCCACCTCGACCTGAATGGAA GCCGGCGGCACCTCGCTAACGGATTCACTCAAGAATT GGAGCCAATCAATTCTTGCGGAGAACTGTGAATGCGCAAAC CAACCCTTGGCAGAACATATCCATCGCGTCCGCCATCTCCAG CAGCCGCACGCGGCGCATCTCGGGCAGCGTTGGGTCCTGGC CACGGGTGCGCATGATCGTGCTCCTGTGCTTGAGGACCCGGC TAGGCTGGCGGGGTTGCCTTACTGGTTAGCAGAATGAATCA CCGATACGCGAGCGAACGTGAAGCGACTGCTGCTGCAAAAC GTCTGCGACCTGAGCAACAACATGAATGGTCTTCGGTTTCCG TGTTTCGTAAAGTCTGGAAACGCGGAAGTCAGCGCCCTGCA CCATTATGTTCCGGATCTGCATCGCAGGATGCTGCTGGCTAC

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 0】

	CCTGTGGAACACCTACATCTGTATTAACGAAGCGCTGGCATT GACCCTGAGTGATTTTTCTCTGGTCCCGCCGCATCCATACCG CCAGTTGTTTACCCTCACAACGTTCCAGTAACCGGGCATGTT CATCATCAGTAACCCGTATCGTGAGCATCCTCTCTCGTTTCA TCGGTATCATTACCCCATGAACAGAAATTCCCCCTTACACG GAGGCATCAAGTGACCAAACAGGAAAAAACCGCCCTTAACA TGGCCCGCTTTATCAGAAGCCAGACATTAACGCTTCTGGAGA AACTCAACGAGCTGGACGCGGATGAACAGGCAGACATCTGT GAATCGCTTCACGACCACGCTGATGAGCTTTACCGCAGCTGC CTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATG CAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGC CGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTTG GCGGGTGTCGGGGCGCAGCCATGACCCAGTCACGTAGCGAT AGCGGAGTGTATACTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAG ATTGTAAGTGAAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCGCA CAGATGCGTAAGGAGAAAAATACCGCATCAGGCGCTCTTCCG CTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTGCTTCGGCTGC GGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAAATACGGTTA TCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGC AAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCG TTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCAT CACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGAC AGGACTATAAAGATACCGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCT CGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCT GTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGCGCTTTCTCATAG CTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCCGGTGAGGTGCTTCGCTC CAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACC GCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGG TAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAAC AGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTT CTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAG TATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAA AAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCCGCT GGTAGCGGTGGTTTTTTTGTGTTGCAAGCAGCAGATTACGCGC AGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACG GGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAAACCTCACGTAAAGGAT TTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTACCTAGATCCT TTTAAATTAATAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATA TGAGTAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGA GGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTGTTTCATCCATAGTT
--	--

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 1】

		GCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGG GCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGAC CCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACAGCC AGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTA TCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGAAGCTAG AGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTG CCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGT ATGGCTTCATTAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGT TACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCT TCGGTCTCCGATCGTTGTGAGAAGTAAGTTGGCCGCGAGTG TTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACT GTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTA CTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCG AGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAACACGGGATAATACCGCGCC ACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGAAAACGTT CTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGA TCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTC AGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAA CAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGA CACGGAATGTTGAATACTCATACTCTTCTTTTCAATATT ATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATAC ATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAAAGAGTTTGTA GAAACGCAAAAAGGCCATCCGTCAGGATGGCCTTCTGCTT AATTTGATGCCTGGCAGTTTATGGCGGGCGTCCTGCCCCGCC ACCCTCCGGGCGGTTGCTTCGCAACGTTCAAATCCGCTCCC GGCGGATTTGTCTACTCAGGAGAGCGTTCACCGACAAAC AACAGATAAAACGAAAGGCCAGTCTTTCGACTGAGCCTT TCGTTTATTTGATGCCTGGCAGTTCCTACTCTCGCATGGG GAGACCCACACTACCATCGGCGCTACGGCGTTTCACTTCT GAGTTCGGCATGGGGTCAGGTGGGACCACCGCGCTACTGC CGCCAGGCAAAATCTGTTTATCAGACCGCTTCTGCGTTCT GATTTAATCTGTATCAGGCTGAAAATCTTCTCTCATCCGCC AAAACAGAAGCTTGGCTGCAGGTTCGACGGATCCCCGGGAA	10
			20
			30
108	改変 pKK223-3 クローニング ベクター	TCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATG CAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATG CCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGT TGCGGGGTGTGCGGGCTGGCTTAAGTATGCGGCATCAGAG CAGATTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATAC CGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCCA TTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCG GTGCGGGCCTCTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGG GATGTGCTG	

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 2】

	CAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCCAGTCA CGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTCCCCGGATCCG TCGACCTGCAGGGGGGGGGGGCGCTGAGGTCTGCCTCGT GAAGAAGGTGTTGCTGACTCATACCAGGCCTGAATCGCCC CATCATCCAGCCAGAAAGTGAGGGAGCCACGGTTGATGAG AGCTTTGTTGTAGGTGGACCAGTTGGTGATTTTGAACTTTT GCTTTGCCACGGAACGGTCTGCGTTGTCGGGAAGATGCGTG ATCTGATCCTTCAACTCAGCAAAAGTTCGATTTATTCAACA AAGCCGCCGTCCCGTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCCAGTG TTACAACCAATTAACCAATTCTGATTAGAAAACTCATCGA GCATCAAATGAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCA ATACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGA AAACTCACCAGGCAGTTCCATAGGATGGCAAGATCCTGG TATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACC TATTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGA AATCACCATGAGTGACGACTGAATCCGGTGAGAATGGCAA AAGCTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAGC CATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAACC TTATTCATTCTGATTGCGCCTGAGCGAGACGAAATACGCG ATCGCTGTAAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGAATGC AACC GGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTT CACCTGAATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAATGCTGTT TTCCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCATCATCAG GAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGAGGCATAAA TTCCGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACAT CATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTCT GGCGCATCGGGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTGCGACC TGATTGCCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATA AATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCGGCCCTCGAGCAA GACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGTAAT ACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTTTATTGTTTCATGATGATA TATTTTTATCTTGTGCAATGTAACATCAGAGATTTTGAGAC ACAACGTGGCTTTCCCCCCCCCCCCCTGCAGGTCGACGGATC CGGGGAATTTCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGA AATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGG AAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGC TAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCCGCTTTCCA GTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCC AACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCCTATTGGGCGCTCTTC CGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTTCGGC TGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAA
--	---

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 3】

	TACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAA CATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAA AAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCC CTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTG GCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCC CCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCC GCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCG TGGCGCTTTCTCAATGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCG GTGTAGGTCGTTGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACC CCCCGTTACGCCCAGCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATC GTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTG GCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATG TAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTAC GGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCT GAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGAT CCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGT TGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAG AAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGG AACGAAAACCTCACGTAAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATC AAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAATAATGAA GTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCT GACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGC GATCTGTCTATTTGTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGT CGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGC CCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACC GG CTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGC CGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTATCCGCCTCCATCC AGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCG CCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGG CATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCA GCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCC ATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCTCCTCGAT CGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGG TTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCC GTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTC ATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCC CGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAAC TTTAAAAGTGCTCATCATTGGAACGTTCTTCGGGGCGAA AACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATG TAACCCACTCGTGCACCAACTGATCTTCAGCATCTTTTAC TTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAA
--	---

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 4】

		GGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAA ATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTCAATATTATTGAAGC ATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAA TGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATT TCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTCTAAGAAACCATIATTAT CATGACATTAACCTATAAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCCT TTCGTC
109	pSDQb-rout プラスミド	TCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGC AGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCC GGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTGG CGGGTGTCTGGGGCTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGA TTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCGCAC AGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCCATTTCGCC ATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGG CCTCTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTG CAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTCA CGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTCAGACATGCATT TCATCCTTAGTTACTAAGCACGAGGAACGACTATCACGGCTT GAATAGGACATTTAGTCTTATCAAACCTTAGTGAAGTCAAAC GGTATGGCACCACCACTGGATGGATCGCGCCAAAAGCCAAC TATCACGCCATCGGCGTGATAGGCCGCAATATCGCTAAGAG AGCAATAAGCATTTATCGACTTAAGATAAATGAATCGCTCA ATGTTACCGAAAGCACCAGGTTTCTTGCCCTCGCGAATATCA TACTTCTGATCACGCATAGCCTGATCAGTAGCAAGATAAGTC GCATCAAGGTCAATATAACCATTGCCACGGCAACCGCGGAA CGTGGTATAACTAAGCCGAGAATCCCAATCACGCCACTTTGT ATTGCCCAAAAGATCTTTGAGGGCAACATCAAATTCGCGAG GCTGGAGTTCAACAGCATTATAGATAGGCCACGGTCGGTTCT TAGTAGGAGGCTCGTAAACCTCCTCTAGGGACCAAATTGCG AAGGGACAGGTATACTTACCTGTCCCTGGCGGCGGATCAAT CGGTGGATCCGGAATAACCGGATCGGGTTTTGACCCTGAGC CACCACCGGAATGAGCAGTCATTAATACGCTGGGTTTCAGC TGATCAATAGCATCGATCAGCAGAGGACTAGCGAGCAGAGC AGCAAGCTCTGTACGAACAAAAGCTCGTTCCTCATCGGTACT ATACTGCGTGAACGAAAAGGTCACGTCAGCATATGCCTGGC GAGTAACGGATGGGTCAACAAGAACCGTTTGCAGTGCAAGCG GTCGGGTTCTGGATCTTAACCTGGACCTTGTAGTTCTTACGA TTGCGAGAAGGCTGAGATACCGAAACGGTAACACGCTTCTC CAGCGCAGGAAGTGCACCCGCTTGTGAAAGCGAGGCAACGC CGTTAGTGGGATTTACCCACGCGGATTGAGGACCAGAGTTT GTTTTCCATCTTTCCCGATGTTACCTAAAGTAACAGTCTCTA

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 5】

	ATTTTGCCATCGTTTTTTTACCTCCTTCTAGAGTCATTATGGTT TTGCCATACATCAGTATGGTGTAGCAGCACTTATTATAATCT TTATTGCCTCTTAAAACTTAATCCACATCAAAACTCAAATAC TTTTAACCCAGCGTCCTGTAAGCTCTGCATTAATGAATCGG CCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTATTGGGCGCTCTT CCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTTCGGC TCGGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGG TTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTG AGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCC GCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAG CATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCC GACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCT CCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGAT ACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTC ATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTGCTTC GCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCC ACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACC CGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGT AACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGA GTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAA CAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCG GAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACC GCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTGTTGCAAGCAGCAGATTACG CGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCT ACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAACGAAAACCTCACGTAAAGG GATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGAT CCTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAGTAT ATATGAGTAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAG TGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATCCAT AGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGA GGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAG ACCCACGCTCACC GGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACAG CCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAAGTGGTCCTGCAACTTT ATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAG AGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGC CATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTAT GGCTTCATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTAC ATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGG TCCTCCGATCGTTGTCAGAAAGTAAGTTGGCCGAGTGTTATC ACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCAT GCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTGGGGGG
--	--

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 6】

		GGGGGGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGAAGAAGGTGTTGCTGA CTCATACCAGGCCTGAATCGCCCCATCATCCAGCCAGAAAAG TGAGGGAGCCACGGTTGATGAGAGCTTTGTTGTAGGTGGAC CAGTTGGTGATTTTGAACCTTTGCTTTGCCACGGAACGGTCT GCGTTGTCGGAAGATGCGTGATCTGATCCTTCAACTCAGCA AAAGTTCGATTTATTCAACAAAGCCGCCGTCCCGTCAAGTCA GCGTAATGCTCTGCCAGTGTTACAACCAATTAACCAATTCTG ATTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTA TTCATATCAGGATTATCAATACCATATTTTTGAAAAAGCCGT TTCTGTAATGAAGGAGAAAACACCGAGGCAGTCCATAG GATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCC AACATCAATACAACCTATTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAG GTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGACGACTGAATCCG GTGAGAATGGCAAAAGCTTATGCATTTCTTCCAGACTTGTT CAACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCAT CAACCAAACCGTTATTCATTCTGTGATTGCGCCTGAGCGAGAC GAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAGGA ATCGAATGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAAC AATATTTTACCTGAATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAA TGCTGTTTTCCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCATC ATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGAGGCA TAAATTCCGTCAGCCAGTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAA CATCATTTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACT CTGGCGCATCGGGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTGCGAC CTGATTGCCCCGACATTATCGCGAGCCCATTATACCCATATA AATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCGGCCTCGAGCAA GACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGATTA CTGTTTATGTAAGCAGACAGTTTTATTGTTTCATGATGATATA TTTTATCTTGTCGAATGTAACATCAGAGATTTTGAGACACA ACGTGGCTTTCCCCCCCCCCCCATTATTGAAGCATTTATCAG GGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTAG AAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGGAAA AGTGCCACCTGACGTCTAAGAAACCATTATTATCATGACATT AACCTATAAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCCTTTCGTC
110	シャイン・ダルガ ノ配列	TAAGGAGGAAAAAAAAAATG
111	nSDQb- mutEcoRIfor 配列	GCGCGCGAATTCTAAGGAGGAAAAAAAAAATGGCAAAATTA GAGACTGTACTTTAGG
112	RNA-ファージ Qβ CP	MAKLETVTLGNIGKDQKQTLVLNPRGVNPTNGVASLSQAGAV PALEKRVTVSQPSRNRKNYKVQVKIQNPTACTANGSCDPSV TRQAYADVTFSTQYSTDEERAFVRTELAALLASPLLIDAIQDL NPAY

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 7】

113	RNA-フェージ Qβ A1 タンパク質	MAKLETVTGLNIGKDGKQTLVLNPRGVNPTNGVASLSQAGAV PALEKRVTVSVSQPSNRKNYKVQVKIQNPTACTANGSCDPSV TRQAYADVTFSTQYSTDEERAFVRTELAALLASPLLIDQIDQL NPAYWTLIIAGGGSGSKPDPVIPDPIDPPPGTGKYTCFPAIWSL EEVYEPPTKNRPWPIYNAVELQPREFDVALKDLLGNTKWRDW DSRLSYTTFRGCRGNGYIDL DATYLATDQAMRDQKYDIREGK KPGAFGNIERFIYLSINAYCSLSDIAAYHADGVIVGFWRDPSSG GAIPFDFTKFDKTKCPIQAVIVVPRA
114	バクテリオファージ R17	ASNFTQFVLVNDGGTGNVTVPASNFGVAEWISSNSRSQAYK VTCSVRQSSAQNRKYTIKVEVPKVATQTVGGVELPVAAWRSY LNMELTIPIFATNSDCELIVKAMQGLLKDGNIPIAIAANS GIY
115	バクテリオファージ fr	MASNFEFVLVDNGGTGDVKVAPSNFGVAEWISSNSRSQA YKVTCSVRQSSANNRKYTVKVEVPKVATQVQGGVELPVAAW RSYMNEMELTIPVFATNDDCALIVKALQGTFTGNPIATAIAANS GIY
116	バクテリオファージ GA	MATLRSFVLVDNGGTGNVTVPVSNANGVAEWLSNNSRSQA YRV TASYRASGADKRKYAIKLEVPKIVTQVVNGVELPGSAWK AYASIDLTIPIFAATDDVTVISKSLAGLFKVGNP IAEAISSQSGFY A
117	バクテリオファージ SP CP	MAKLNQVTLSKIGKNGDQTLTLTPRGVNPTNGVASLSEAGAVP ALEKRVTVSVAQPSNRKNFKVQIKLQNPACTRDACDPSVTR SAFADVTLSTSYSTDEERALIRTELAALLADPLIVDAIDNLNPA Y
118	バクテリオファージ SP A1 タンパク質	AKLNQVTLSKIGKNGDQTLTLTPRGVNPTNGVASLSEAGAVPA LEKRVTVSVAQPSNRKNFKVQIKLQNPACTRDACDPSVTRS AFADVTLSTSYSTDEERALIRTELAALLADPLIVDAIDNLNPAY WAALLVASSGGGDNPSDPDPVVPVDPVKPPDGTGRYKCPFACY RLGSIYEVGKEGSPDIYERGDVSVTFDYALEDFLGNTNWRNW DQRLSDYDIANRRRCRNGYIDL DATAMQSDDFVLSGRYGVR KVKFPGAFGSIKYLLNIQGDWLDLSEVTAYRSYGMVIGFWTD SKSPQLPTDFTQFNSANCPVQTVIIHPS
119	バクテリオファージ MS2	MASNFTQFVLVDNGGTGDVTVPASNFGVAEWISSNSRSQA YKVTCSVRQSSAQNRKYTIKVEVPKVATQTVGGVELPVAAWR SYLNMELTIPIFATNSDCELIVKAMQGLLKDGNIPIAIAANS GI Y
120	バクテリオファージ M11	MAKLQAITLSGIGKKGDVTLNLNPRGVNPTNGVAALSEAGAVP ALEKRVTVSVSQPSNRKNYKVQVKIQNPTSCTASGTCDPSVTR SAYSDVTFSTQYSTVEERALVRTELQALLADPMLVNAIDNLN PAY
121	バクテリオファージ MX1	MAKLQAITLSGIGKNGDVTLNLNPRGVNPTNGVAALSEAGAVP ALEKRVTVSVSQPSNRKNYKVQVKIQNPTSCTASGTCDPSVTR SAYADVTFSTQYSTDEERALVRTELKALLADPMLIDAIDNLNP AY

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 8】

122	バクテリオファージ NL95	MAKLNKVTLTGIGKAGNQTLTLTPRGVNPTNGVASLSEAGAVP ALEKRVTVSVAQPSRNRKNYKVQIKLQNPTACTKDADPSVTR SGSRDVTLSFTSYSTERERALIRTELAALLKDDLIVDAIDNLNPA YWAALLAASPGGGNNPYPGVPDSPNVKPPGGTGTYRCPFACY RRGELITEAKDGACALYACGSEALVEFEYALEDFLGNEFWRN WDGRLSKYDIETHRRRCRNGYVDLDASVMQSDEYVLSGAYD VVKMQPPGTFDSPRYYLHLMGDIYVDLAEVTAYRSYGMVIGF WTDSKSPQLPTDFTRFNRHNCVPQTVIVIPSL
123	バクテリオファージ f2	ASNFTQFVLVNDGGTGNVTVAPSNFANGVAEWISSNRSQAYK VTCSVRQSSAQNRKYTIKVEVPKVATQTVGGVELPVAAWRSY LNLELTIPIFATNSDCELVKAMQGLLKDGNPIPSAIAANSY
124	バクテリオファージ PP7	MSKTIVLSVGEATRRLTEIQSTADRQIFEEKVGPLVGRRLRLTASL RQNGAKTAYRVNLKLDQADVDCSTSVCGELPKVRYTQVWS HDVTIVANSTEASRKSLYDLTKSLVATSQVEDLVVNLVPLGR
125	Qβ240 (K13R)	AKLETVTLGNI R DGKQTLVLNPRGVNPTNGVASLSQAGAVP ALEKRVTVSVSQPSRNRKNYKVQVKIQNPTACTANGSCDPSVT RQKYADVTFSTQYSTDEERAFVRTELAALLASPLLIDAIDQLN PAY
126	Qβ-243 (N10K)	AKLETVTLG K IGKD G KQTLVLNPRGVNPTNGVASLSQAGAVP ALEKRVTVSVSQPSRNRKNYKVQVKIQNPTACTANGSCDPSVT RQKYADVTFSTQYSTDEERAFVRTELAALLASPLLIDAIDQLN PAY
127	Qβ250 (K2R, K13R)	A RLETVTLGNI R DGKQTLVLNPRGVNPTNGVASLSQAGAVP ALEKRVTVSVSQPSRNRKNYKVQVKIQNPTACTANGSCDPSVT RQKYADVTFSTQYSTDEERAFVRTELAALLASPLLIDAIDQLN PAY
128	Qβ-251	AKLETVTLGNI K DGRQTLVLNPRGVNPTNGVASLSQAGAVPA LEKRVTVSVSQPSRNRKNYKVQVKIQNPTACTANGSCDPSVTR QKYADVTFSTQYSTDEERAFVRTELAALLASPLLIDAIDQLNP AY
129	Qβ-259 (K2R, K16R)	A RLETVTLGNI K DGR R QTLVLNPRGVNPTNGVASLSQAGAVP ALEKRVTVSVSQPSRNRKNYKVQVKIQNPTACTANGSCDPSVT RQKYADVTFSTQYSTDEERAFVRTELAALLASPLLIDAIDQLN PAY
130	プラスミド pAP283-58	CGAGCTCGCCCCTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCACTAT AGGGAGACCGGAATTCGAGCTCGCCCGGGGATCCTCTAGAA TTTTCTGCGCACCCATCCCGGGTGGCGCCCAAAGTGAGGAA AATCACATGGCAAATAAGCCAATGCAACCGATCACATCTAC AGCAAATAAAATTGTGTGGTCGGATCCAACCTCGTTTATCAAC TACATTTTCAGCAAGTCTGTACGCCAACGTGTTAAAGTTGG TATAGCCGAACCTGAATAATGTTTCAGGTCAATATGTATCTGT TTATAAGCGTCCTGCACCTAAACCGGAAGGTTGTGCAGATG

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 9】

	CCTGTGTCATTATGCCGAATGAAAACCAATCCATTTCGCACAG TGATTTTCAGGGTCAGCCGAAAACCTTGGCTACCTTAAAAGCA GAATGGGAAAACTCACAAACGTAACGTTGACACACTCTTCGC GAGCGGCAACGCCGGTTTGGGTTTCCTTGACCCTACTGCGGC TATCGTATCGTCTGATACTACTGCTTAAGCTTGTATTCTATAG TGTCACCTAAATCGTATGTGTATGATACATAAGGTTATGTAT TAATTGTAGCCGCGTTCTAACGACAATATGTACAAGCCTAAT TGTGTAGCATCTGGCTTACTGAAGCAGACCCTATCATCTCTC TCGTAAACTGCCGTCAGAGTCGGTTTGGTTGGACGAACCTTC TGAGTTTCTGGTAACGCCGTTCCGCACCCCGGAAATGGTCAC CGAACCAATCAGCAGGGTCATCGCTAGCCAGATCCTCTACG CCGGACGCATCGTGGCCGGCATCACCGGCGCACACAGTGCG GTTGCTGGCGCCTATATCGCCGACATCACCGATGGGGAAGA TCGGGCTCGCCACTTCGGGCTCATGAGCGCTTGTTCGGCGT GGGTATGGTGGCAGGCCCCGTGGCCGGGGGACTGTTGGGCG CCATCTCCTTGCATGCACCATTCCTTGCGGCGGCGGTGCTTC AACGGCCTCAACCTACTACTGGGCTGCTTCCTAATGCAGGAG TCGCATAAGGGAGAGCGTCGATATGGTGCCTCTCAGTACA ATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAACTCCGCTATCGC TACGTGACTGGGTCATGGCTGCGCCCCGACACCCGCCAACA CCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCC GCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGT CAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGGCAGCT TGAAGACGAAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTT AATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACT TTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCT AAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCT GATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGT ATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATCCCTTTTTTGCGGCAT TTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAG TAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTAC ATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTT CGCCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTT CTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAA GAGCAACTCGGTGCGCCGATACACTATTCTCAGAATGACTTG GTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGG CATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGA GTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGA GGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGA TCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGA AGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAG CAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAAGTGGCGAACTA
--	--

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 0】

		CTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAG GCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG GCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGT GGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAA GCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGC AACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTG CCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACT CATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTTAATTTAA AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAA AATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCC CGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCT GCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACAAAAAACCCGCTAC CAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTT TTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAAT ACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAG AACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTG TTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC GGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCG GTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGG AGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGCGAG CATTGAGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGA CAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGC ACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAG TCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTG TGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAG CAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTT GCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATA ACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCA GCCGAACGACGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCG GAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGTGGTGTGTCATGGTGGTGATCG CCAGGGTGCCGACGCGCATCTCGACTGCATGGTGCACCAAT GCTTCTGGCGTCAGGCAGCCATCGGAAGCTGTGGTATGGCC GTGCAGGTCGTAAATCACTGCATAATTCGTGTCGCTCAAGGC GCACTCCCGTTCTGGATAATGTTTTTTCGCCGACATCATAA CGGTTCTGGCAAATATTCTGAAATGAGCTGTTGACAATTAAT CATCGAACTAGTTAACTAGTACGCAAGTTCACGTAAAAAGG GTATCGCGGAATT	10
131	AP205	tctagaATTTTCTGCGCACCCATCCCGGGTGGCGCCCAAAGTGA GGAAAATCACatg	20
132	シャイン・ダルガ ノ配列	tctagaTTAACCCAACGCGTAGGAGTCAGGCCatg	30

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 1】

133	AP205 コートタンパク質	MANKPMQPITSTANKIVWSDPTRLSTTFASLLRQRVKVGIAEL NNVSGQYVSVYKRPAPKPEGCADACVIMPNNENQSIRTVISGSAE NLATLKAEWETHKRNVDTLFASGNAGLGFLDPTAAIVSSDTTA
134	AP205 コートタンパク質 (P5T)	MANK T MQPITSTANKIVWSDPTRLSTTFASLLRQRVKVGIAEL NNVSGQYVSVYKRPAPKPEGCADACVIMPNNENQSIRTVISGSAE NLATLKAEWETHKRNVDTLFASGNAGLGFLDPTAAIVSSDTTA
135	プラスミド pAP281-32	CGAGCTCGCCCCTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCACTAT AGGGAGACCGGAATTCGAGCTCGCCCGGGGATCCTCTAGAT TAACCCAACGCGTAGGAGTCAGGCCATGGCAAATAAGACAA TGCAACCGATCACATCTACAGCAAATAAAATTGTGTGGTCG GATCCAACCTCGTTTATCAACTACATTTTCAGCAAGTCTGTTA CGCCAACGTGTTAAAGTTGGTATAGCCGAACTGAATAATGTT TCAGGTCAATATGTATCTGTTTATAAGCGTCCTGCACCTAAA CCGAAGGTCAGATGCCTGTGTCAATTATGCCGAATGAAAACC AATCCATTCGCACAGTGATTTCAGGGTCAGCCGAAAACCTG GCTACCTTAAAAGCAGAATGGGAACTCACAAACGTAACGT TGACACACTCTTCGCGAGCGGCAACGCCGGTTTGGGTTTCT TGACCCTACTGCGGCTATCGTATCGTCTGATACTACTGCTTA AGCTTGATTTCTATAGTGTACCTAAATCGTATGTGTATGAT ACATAAGGTTATGTATTAATGGTAGCCGCTTCTAACGACAA TATGTACAAGCCTAATTGTGTAGCATCTGGCTTACTGAAGCA GACCTTATCATCTCTCTCGTAAACTGCCGTCAGAGTCGGTTG GGTTGGACAGACCTCTGAGTTTCTGGTAACGCCGTTCCGCAC CCCGGAAATGGTCACCGAACCATTACAGCAGGGTCATCGCTA GCCAGATCCTCTACGCCGACGCATCGTGGCCCGCATCACC GGCGCCACAGGTGCGGTGCTGGCGCCTATATCGCCGACATC ACCGATGGGGAAGATCGGGCTCGCCACTTCGGGCTCATGAT CGCTGGTTTCCGCCTGGGTATGGTGGCAGGCCCGTGGCCCG GGGGAAGTGTGGGCGCCATCTCCTTGCATGCACCATTCCTTG CGGCGGCGGTGCTCAACGGCCTCAACCTACTACTGGGCTGCT TCCTAATGCAGGAGTCGCATAAGGGAGAGCGTCGATATGGT GCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCC AACTCCGCTATCGCTACGTGACTGGGTCATGGCTGCGCCCCG ACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCT GCTTCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGG GAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACG CGCGAGGCAGCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCT ATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGAC GTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGACCCCCTAT TGGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG AGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 2】

	GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCC CTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAA ACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGC ACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGA TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCAATGATGA GCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGTCGCGGTATTATCCCGTA TTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTAT TCTCAGAATGACTTGGTGGTACCTACCAGTCACAGAAAAGC ATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCT GCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTG ACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCCTTTTTTGCA CAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAAC CGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACC ACGATGCCTGTACGAACGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATT AACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGC GCTCGGCCCTTCGGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTG GAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTG GGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGAT CGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTC AGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCT TCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGA TAATCTCATGACCAAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCA CTGAGCGGTCAGACCCCGTAGAAAGATCAAAGGATCTTCTT GAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAA AAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAA GAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGA GCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTA GGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTC GCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGAT AAGTCGTGCTTACCGGGTGGACTCAAGACGATAGGTACC GGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCA CACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGA TACCTACAGCGCGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGA AGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTC GGAACAAGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACG CCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACT TGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCT ATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGG
--	--

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 3】

		CCTTTGGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATC CCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGACGCGCAGCGA GTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGAAA CCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGT GGTGTGTCATGGTCGGTGATCGCCAGGGTGCCGACGCGCATCT CGACTGCATGGTGACCAATGCTTCTGGCGTCAGGCAGCCAT CGGAAGCTGTGGTATGGCCGTGCAGGTGCTAAATCACTGCA TAATTCGTGTCGCTCAAGGCGCACTCCCGTTCTGGATAATGT TTTTTGCGGCGACATCATAACGGTTCTGGCAAATATTCTGAA ATGAGCTGGTGACAATTAATCATCGAACTAGTTAACTAGTAC GCAAGTTCACGTAAAAAGGGTATCGCGGAATT
136	HBcAG タンパク質	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALSP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVVN YVNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPA YRPPNAPILSTLPETTIVRRRDRGRSPRRRTSPRRRRRSQSPRRR RSQSRESQCL
137	HBcAG タンパク質 変異体	MDIDPYEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALSPE HCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVVNY VNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPAY RPPNAPILSTLPETTIVRRRDRGRSPRRRTSPRRRRRSQSPRRRR SQSRESQC
138	HBcAG タンパク質 変異体	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALSP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPISRDLVVS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAY RPPNAPILSTLPETTIVRRRGRSPRRRTSPRRRRRSQSPRRRRSQ SRGSQC
139	HBcAG タンパク質 変異体	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALSP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPISRDLVVS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAY YRPTNAPILSTLPETCVIRRRGRSPRRRTSPRRRRRSQSPRRRRSQ SRGSQC
140	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMIDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALSPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGNNLEDPISRDLVVS YVNTNMGLKFRQLL WFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETT VVRRRGRSPRRRTSPRRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
141	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMIDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDNASALYREALSPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGNNLEDPISRDLVVS YVNTNMGLKFRQLL WFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETT VVRRRGRSPRRRTSPRRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 4】

142	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPTDFFPSVRDLLDTASALYREALESP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTPPA YRPPNAPILSTLPETCVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRS QSRESQC
143	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQAI LCWGDMLTLATWVGGNLEDVPSRDLVVS YVNTNVGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
144	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWDMIDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQAI LCWGDMLTLATWVGGNLEDVPSRDLVVS YVNTNVGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
145	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQAI LCWGDMLTLATWVGGNLEDVPSRDLVVS YVNTNMGLKFRQLL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
146	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQAI LCWGDMLTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTPPAYKPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRGSQC
147	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALFRDALESP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGGNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRDTVIEYLVSFVWIRTPPA YRPSNAPILSTLPETCVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRS QSRESQC
148	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTPPA YRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRS QSRESQC
149	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRHAI LCWGDMLTLATWVGGNLEDVPSRDLVVS YVNTNMGLKFRQLL YFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 5】

150	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWDMMDIDPYKEFGATV ELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALFRDALESPEHCSPHHTALRQ AILCWGELMTLATWVGANLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFR QLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R T P Q A Y R P P N A P I L S T LPETCVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
151	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALE PEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLV VS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R TPPAYRPPNAPILSTLPETT V V R R R G R S P R R R T S P R R R R S Q S P RRRRSQSRESQC
152	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATV ELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQ AILCWGDLMSLATWVGVNLEDPISRDLVVS YVNTNMGLKFR QLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R T P P A Y R P P N A P I L S T PETTVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
153	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYRDALE SPEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLV VS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R T PPAYRPPNAPILSTLPETT V V R R R G R S P R R R T S P R R R R S Q S P RRRSQSRESQC
154	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALE PEHCSPHHTALRQAILCWGDLMTLATWVGVNLEDPASRDLV VS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R T PPAYRPPNAPILSTLPETT V V R R R G R S P R R R T S P R R R R S Q S P RRRSQSRESQC
155	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYRDALE SPEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGANLEDPASRDLV VS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R T PPAYRPPNAPILSTLPETT V V R R R G R T P R R R T S P R R R R S Q S P RRRSQSRESQC
156	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATV ELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYRDALESPEHCSPHHTALRQ AILCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFR QLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R T P P A Y R P P N A P I L S T PETTVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
157	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATV ELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQ AILCWGDLMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLK RQLLWFHISCLTFGRET VIEYLV SF G V W I R T P P A Y R P P N A P I L S TLPETTVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 6】

158	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCTCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKQFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRET VIEYLVAFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
159	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREAFECSEHCPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGGNLEDPI SRDLVVS YVNTNMGLKFRQLL WFHISCLTFGRET VIEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETT VVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
160	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLXAADMDIDPYKEFGAT VELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHHTALRQ AILCWGDLITLSTWVGGNLEDPTS RDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRET VIEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRTQSRESQC
161	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDNASALYREALESPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRET VIEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
162	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHICCLTFGRET VIEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
163	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRET VIEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSREPQC
164	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLSTASALYREALESPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRET VIEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
165	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVS YVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRET VIEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILLTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 7】

166	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQAI LCWGDLMTLATWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
167	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTAAALYRDALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGNTLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTTPPAYRPPNAPILSTLPE TTVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
168	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGASMELLSFLPSDFYPSVRDLLDTASALYREALES PEHCTPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGGNLQDPTSRDLVV SYVNTNMGLKFRQLLWFHVSCCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTTP QAYRPPNAPILSTLPETCVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRR RSQSRESQC
169	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESP EHCSPHHTALRHVFLCWGDLMTLATWVGGNLEDPTSRDLVVS YVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTTPPA YRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRS QSRESQC
170	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQAI LCWGDLTTLATWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
171	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYRDALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQL LWFHISCLIFGRETVIEWYLVSFVWIRTTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC
172	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESP EHCSPHHTALRQAILCWGDLMTLATWVGVNLEDPVSRDLVVS YVNTNVGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTTPPA YRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSARRRSQSPRRRRS QSRESQC
173	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPHCSPHHTALRQAI LCWGDLMNLATWVGGNLEDPVSRDLVVGYYNTTVGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWYLVSFVWIRTTPPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRRSQSRESQC

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 8】

174	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYRDALES PEHCSPHHTALRQAILCWGDLMTLATWVGVNLEDPASRDLVV SYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTP AYRPPNAPILSTLPETTIVRRRGRTPRRRTPSPRRRRSQSPRRR SQSRESQC
175	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRALLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQIL WFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTPAYRPPNAPILSTLPETT VVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
176	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGDLMTLATWVGVNLEDPATRDLVVSYVNTNVGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
177	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQRI LCWGELMTLATWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
178	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLVISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSDFFPSVRDLLDTAAALYREALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVVNYVNTNMGLKIRQL LWFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTPAYRPPNAPILSTLPE TTVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
179	HBcAG タンパク質 バリエント	MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVE LLSFLPSAFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGDLMTLATWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQL LWFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTPAYRPPNAPILSTLPET TVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
180	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTAAALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVV NYVNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTP AYRPPNAPILSTLPETTIVRRRGRTPRRRTPSPRRRRSQSPRRR SQSRESQC
181	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPISRDLVVSY VNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIEWLVSFVWIRTTPAY RPPNAPILSTLPETCVVRRRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQ SRGSQC

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 9】

182	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGSSYQLLNFLPLDFFPDNLALVDTATALYEEELTG REHCSPHHTAIRQALVCWDELTKLIAWMSSNITSEQVRTIIVNH VNDTWGLKVRQSLWFHLSCLTFGQHTVQEFLVSFGVWIRTPAP YRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGGARASRSPRRRTSPRRRRSQSP RRRRSQSPSTNC
183	HBcAG タンパク質 バリエント	MYLFHLCLVFACVPCPTVQASKLCLGWLWDMMDIDPYKEFGSS YQLLNFLPLDFFPDNLALVDTAAALYEEELTGREHCSPHHTAIR QALVCWEELTRLITWMSSENTTEEVRIIVDHVNNTWGLKVRQT LWFHLSCLTFGQHTVQEFLVSFGVWIRTPAPYRPPNAPILSTLPE HTVIRRRGGSRAARSRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSPASNC
184	HBcAG タンパク質 バリエント	MDVNASRALANVYDLPDDFFPKIEDLVRDAKDALEPYWKSISI KKHVLIATHFVDLIEDFWQTTQGMHEIAEAIKAVIPPTTAPVPSG YLIQHDEAEIPLGDLFKEQEERIVSFQPDYPITARIHAHLKAYA KINEESLDRARLLWWHYNCLLWGEATVTNYISRLRTWLSTPE KYRGRDAPTIEAITRPIQVAQGGGRKTSTATRKPRGLEPRRRKV TTVVYGRRRSKSRERRASSPQRAGSPLPRSSSSHRSPPRK
185	HBcAG タンパク質 バリエント	MWDLRLHPSFGAACQGIFTSLLLFLVTVPVCTIVYDSCLCM DINASRALANVYDLPDDFFPKIDDLVRDAKDALEPYWRNDSIK KHVLIATHFVDLIEDFWQTTQGMHEIAEALRAIIPATTAPVPQG FLVQHEEAEEIPLGELFRYQEERLTNFQPDYPVTARIHAHLKAY AKINEESLDRARLLWWHYNCLLWGEPNVTNYISRLRTWLSTP EKYRGKDAPTIEAITRPIQVAQGGGRNKTQGVKSRGLEPRRRR VKTTIVYGRRRSKSRERRAPTQQRAGSPLPRTSRDHHRSPSPRE
186	HBcAG タンパク質 バリエント	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLDLTASALYREALSP EHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVVN YVNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETIVLEYLVSFGVWIRTPPA YRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRSPRRRTSPRRRRSQSPRRR RSQSRESQC
187	アミノ酸配列	GGKGG
188	アミノ酸リンカー	(G)kC(G)m(S)l(GGGGS)n ただし n=0~3、k=0~5、m=0~10、l=0~2
189	アミノ酸リンカー	(G)m(S)l(GGGGS)n(G)oC(G)k ただし n=0~3、k=0~5、m=0~10、l=0~2、及び o=0~8
190	アミノ酸リンカー	(GGGGS)n
191	アミノ酸リンカー	CGDKTHTSPP
192	アミノ酸リンカー	DKTHTSPPCG
193	アミノ酸リンカー	CGGPKPSTPPGSSGGAP
194	アミノ酸リンカー	PKPSTPPGSSGGAPGCG
195	アミノ酸リンカー	GCGGGG

10

20

30

40

50

【表 4 - 3 0】

196	アミノ酸リンカー	GGGGCG
197	アミノ酸リンカー	GGKKGC
198	アミノ酸リンカー	CGKKGG
199	アミノ酸リンカー	CGKKGG
200	アミノ酸リンカー	CGDEGG
201	アミノ酸リンカー	GGKKGC
202	アミノ酸リンカー	GGEDGC
203	アミノ酸リンカー	GGCG

10

20

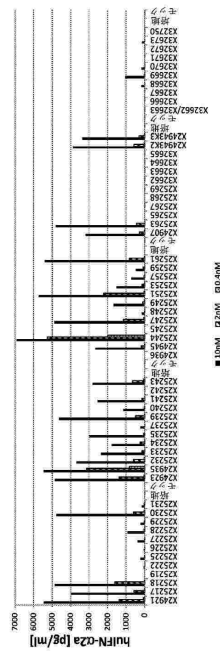
30

40

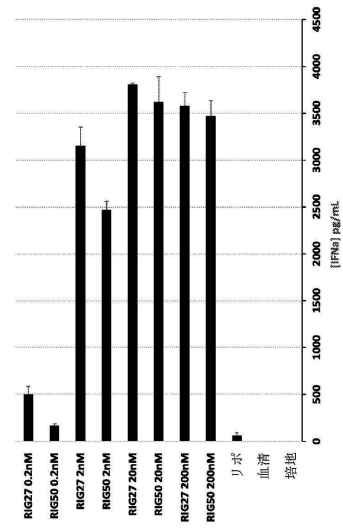
50

【図面】

【図 1】



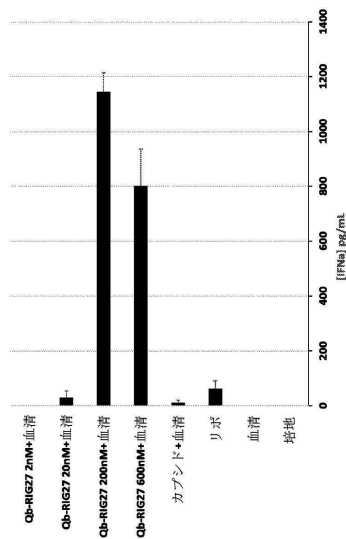
【図 2】



10

20

【図 3】



30

【配列表】

0007707161000001.app

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/519 (2006.01)	A 6 1 K	31/519	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	47/34 (2017.01)	A 6 1 K	47/34	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 N	15/117 (2010.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
		C 1 2 N	15/113	1 4 0 Z
		C 1 2 N	15/117	Z

弁護士 山本 健策

(72)発明者

クリーグ, アーサー エム.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, トローブリッジ ストリート 4 9, ナンバー 3

(72)発明者

モリス, アーロン ジェイ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 5, ブライトン, オーク スクエア アベニュー 4 9

(72)発明者

ウォルターズ, エヴァン デイビッド

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ブロードウェイ 1, 1 4 ティーエイチ フロア

審査官 野村 英雄

(56)参考文献

特表 2 0 1 1 - 5 2 2 5 2 6 (J P, A)

国際公開第 2 0 1 8 / 1 7 2 5 4 6 (W O, A 1)

特表 2 0 0 5 - 5 1 7 6 3 2 (J P, A)

国際公開第 2 0 1 6 / 0 1 1 3 2 4 (W O, A 2)

国際公開第 2 0 1 4 / 1 6 9 0 4 9 (W O, A 1)

YONG, H.Y., et al., "RIG-I like receptors as novel targets for pan-antivirals and vaccine adjuvants against emerging and re-emerging viral infections.", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, 2018年06月20日, Vol.9, Article 1379 (9 pages), DOI: 10.3389/fimmu.2018.01379, mini review

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 1 2 Q 1 / 0 0 - 3 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

P u b M e d